

오리나무 열수 추출물이 실험적으로 유발된 흰쥐의 위염 및 위궤양에 미치는 영향

나천수¹ · 이상범² · 김진범¹ · 정하숙³ · 동미숙^{2*}

¹㈜생명나무, ²고려대학교 생명공학원, ³덕성여자대학교 자연과학대학

Effect of Hot Water Extract of *Alnus japonica* Steud on the Experimentally-induced Acute Gastritis and Peptic Ulcers in Rats

Chun-Soo Na¹, Sang-Bum Lee², Jin-Bum Kim¹, Ha Sook Chung³ and Mi-Sook Dong^{2*}

¹Lifetree Biotechnology Co., Ltd, Suwon 441-350, Korea

²School of Life Sciences & Biotechnology, Korea University, Seoul 136-701, Korea

³College of Natural Sciences, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea

Abstract – *Alnus japonica* Steud (*A. japonica*) have long been used in the traditional medicine for gastric disorder, hepatitis and fatty liver in Korea. Antiulcer effects of *A. japonica* hot water extract (AJ ext) were evaluated by *in vitro* antibacterial activity against *H. pylori*, by the inhibitory action against the *in vitro* gastric H⁺/K⁺-ATPase and using rat models of gastric mucosal damage and gastric ulcer induced by HCl-ethanol, indomethacin, and restraint and water-immersion stress. For the determination of antibacterial activity of AJ ext against *H. pylori*, the activity of urease which released from *H. pylori* was measured in culture. AJ ext showed weak antibacterial activity against *H. pylori* with the growth inhibitions of 37% and 61% by adding final concentrations of 500 and 1000 µg/ml culture, respectively at 24 h. To observe the inhibitory activity of AJ ext against the H⁺/K⁺-ATPase in hog gastric membrane vesicle, IC₅₀ value of AJ ext was 806.3 µg/ml. Pretreatment of AJ ext (200, 500 mg/kg, p.o.) prevented in a dose-dependent manner the acute gastritis in HCl-ethanol model and the formation of gastric ulcer in indomethacin model and restraint and water-immersion stress model. These results suggest that the AJ ext can be used for prevention and treatment of gastric mucosal damage and ulcers induced by various stress.

Key words – *H. pylori*, Proton pump inhibition, Antigastric ulcer effects, Gastric mucosal damage, *Alnus japonica* Steud

소화성 궤양은 위산과 펩신의 작용으로 위장관의 점막이 손상되어 점막하 조직이 드러나는 상태로 손상 부위에 따라 위궤양과 십이지장 궤양으로 구별한다. 한국의 소화성 궤양 발생빈도는 전 인구의 6-15%에서 일생 동안 한번 이상 발생하는 것으로 추측되며, 남자가 여자보다 약 3배 가량 발생빈도가 높은 것으로 보고되고 있다. 소화성 궤양의 증상은 상복부 통증, 구역, 구토, 복부, 팽만감, 공복시 통증, 식욕부진, 속쓰림, 흉부 작열감 등이 있을 수 있으나 무증상인 경우도 15-20%로 보고되고 있다.¹⁾ 소화성 궤양의 주요 발병원인으로는 *Helicobacter pylori* 감염, 비스테로이드계 항염증소염제 등 약물의 과다복용, 불규칙한 식습관, 음주, 정신적·육체적 스트레스 등이 알려져 있다.²⁾ 이러한 요

인들이 복합적으로 작용하여 위산의 과다분비와 위장벽의 저항력 감퇴를 일으켜 궤양을 일으킨다. 특히 최근의 연구에 의하면 소화성 궤양의 재발의 가장 큰 원인으로 *Helicobacter pylori*균의 역할이 중요한 것으로 발표되고 있다.³⁾ 약물요법은 위액을 중화시키는 Al(OH)₃ 등 제산제, 점막보호제, 진통제, 위액 분비를 억제시키는 항콜린제, 항가스트린제, muscarine receptor antagonist, histamine-2 receptor antagonist, proton pump inhibitor 등이 있다.²⁾

소화성 궤양은 발생빈도가 높은 질환임에도 불구하고 정확한 발병원인에 대해서는 잘 알려져 있지 않고, 만족할 만한 치료제가 없는 난치성 질환으로 알려져 있어, 이에 따라 다양한 천연물 유래 항궤양 효능을 가진 재료들이 활발하게 연구되고 있다. 대표적으로 애엽의 주성 추출물이 강력한 항궤양작용이 있음을 발견하였으며, 그 중 flavonoid 화합물인 eupatilin과 Jaceosidin이 유효 성분임을 확인하여 이

*교신저자 (E-mail): msdong@korea.ac.kr
(Tel): +82-2-3290-4146

를 상품명 스틸렌으로 개발되었다.⁴⁾ 그의 현초, 인삼, 고삼, 도라지, 감잎, 양배추, 복분자, 지유 및 질경이 등 여러 식용 식물 및 약용식물들이 항궤양 효능을 가진 재료로 보고된 바 있다.⁵⁻⁷⁾

오리나무(*Alnus japonica* Steud)는 자작나무과(Betulaceae)에 속하며 낙엽교목으로 전국의 산과 들에 분포되어 있다. 수피는 담자갈색이므로 지엽 및 수피를 적양이라 하며 봄, 가을에 채취하여 말린 것을 약용으로 쓴다. 현재 알려진 약효로는 간염, 간경화, 지방간 등 여러 간질환 치료에 효과가 있으며, 열매는 지혈제, 지사제, 위장병 치료약으로 사용되고 있다. 외용으로는 찢어서 도포하거나 분말 상태로 바르거나 개어서 붙이며, 민간에서는 수피를 소화불량에 사용하고 있다. 지금까지 보고된 오리나무 함유 화학성분으로는 lupenone, β -amylin, glutenol, taraxerol, betulinic acid 등 다종의 triterpenoid 외에 β -sitosterol, heptacosane, 지방족 alcohol, pyrocatechol 계열, tannin이 함유되어 있으며, flavonoids 화합물인 pilloin, salvigenin 및 5-hydroxy-4',7-dimethoxyflavone 등의 화합물이 발표된 바 있다.^{8,9)}

본 연구에서는 최근 천연물 이용 추세에 따라 민간에서도 위장병 치료에 사용되는 오리나무를 선택하여 열수 추출물이 *H. pylori*의 저해 효과와 여러 실험 위궤양 및 위염 모델에서 기존의 치료제와 효능을 비교하여 기능성식품 재료로 개발하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료 - 오리나무(어린가지 포함)는 경기도 화성시 쌍학리에서 2004년 2월에 채취하였다. 오리나무의 껍질 부분을 제거한 뒤 음지에서 약 2개월 이상 건조한 후 추출에 사용하였으며 어린가지는 수피를 포함하여 추출에 사용하였다. 건조된 목부를 작게 파쇄한 뒤, 15배 용량의 물을 첨가하여 120°C에서 4시간 동안 끓여서 1회 추출한 뒤 다시 동량의 물을 첨가하여 위와 동일한 방법으로 2회 추출을 실시하였다. 2회 추출을 실시하여 얻어진 열수추출물을 rotary evaporator (BuCHI R-220, Switzerland)로 80~85°C에서 농축한 후 8일간 동결건조 (SamWon SFDTS10K, Korea)하여 오리나무 추출분말을 얻어 실험에 사용하였다.

실험동물 - 실험동물은 5주령 체중 150~170 g의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 코아텍(평택)에서 구입하여 사육기간 중 온도는 22±2°C, 상대습도는 40~70% 및 조명시간은 12시간을 유지한 animal chamber에서 1주간 고형배합사료(퓨리나)로 적응시킨 후 난괴법 (randomized complete block design)으로 8마리씩을 한 군으로, 음성대조군(생리식염수 1 ml 투여, CON), 저용량투여군(오리나무 열수 추출물 200 mg/kg/1 ml 투여, AJ200), 고용량투여군(오리나무 열수추출물 500 mg/kg/ml 투여, AJ500) 및 양성대조군(대조약물로

omeprazole 100 mg/kg/ml 투여, Ome)의 4군으로 분류하였다. 오리나무 열수추출물은 생리식염수에 용해시킨 후 0.5% CMC에 현탁시켜 사용하였다. 투여방법은 위손상 유발법에 따라 경구투여 및 피하주사 중 적합한 방법을 선택하여 실시하였고 사료 및 음료수는 자유로이 섭취토록 하였다.

오리나무 추출물의 *H. pylori*에 대한 *in vitro* 억제 활성 실험

1) 여과지 원판법(paper disc method)

Brucella broth에 72시간 배양된 *H. pylori*(ATCC 43504)를 2,500 rpm으로 10분간 원심분리하여 흡광도가 1.2가 되도록 현탁시킨 후, 현탁액 200 ml를 취해 20 ml로 제조된 columbia blood agar 배지에 도말한 후, 여러 농도의 오리나무 열수추출물을 첨가한 멸균된 지름 8 mm paper disc (Advantec, Japan)를 올려놓고 10% CO₂ 조건하에서 37°C로 72시간 배양 후 disc 주위의 clear zone 생성유무로 항균 활성을 확인하였다.

2) 요소분해 효소(urease) 활성 측정

최소 억제농도 판정은 brucella broth (Difco, USA)를 24well plate에 넣고 *H. pylori* 균액을 well 당 ~1×10⁷ colony/ml 씩 가하고, 추출물을 well 당 1000, 500, 250, 125, 62.5, 0 mg/ml 씩 첨가한 후 37°C, 10% CO₂ incubator에서 4일간 배양하면서 매 24시간마다 시료를 채취하여 urease 활성을 측정하였다. Urease activity의 측정은 urea와 phenol red를 포함한 urea broth (Difco, USA)와 배양액 또는 시료를 5:1 비율로 섞어 1시간 동안 반응시킨 후 540 nm에서의 흡광도를 측정하여 urease activity를 결정하였다.

H⁺/K⁺-ATPase 활성도 저해 측정 - H⁺/K⁺-ATPase는 수소이온을 위의 내부로 분비시키는 작용을 하는 효소로 gastric acid로 분비시키는 마지막 작용을 하는 효소로 위궤양이나 위염에 주요한 작용을 하는 효소이다. H⁺/K⁺-ATPase의 효소원은 수태지의 위 점막층의 microsome을 분리하여 사용하였으며, ATP로부터 유리된 무기인을 Sigma사(USA)의 Kit를 사용하여 정량하여 활성도를 측정하였다. 즉, 수태지 위 점막층으로부터 제조한 proton pump 효소(10 µg 단백질)에 여러 가지 농도의 오리나무 열수추출물과 비교 화학물질(Omeprazole)을 첨가하여 30분간 반응시킨 후 ATP로부터 유리된 무기인(P_i) 함량을 정량하여 proton pump 저해 정도를 측정하였다.

Indomethacin 위 손상 실험 - 수컷 흰쥐 5마리씩을 1군으로 하여 36시간 절식시킨 후 Urushidani 등의 방법¹⁰⁾에 준하여 실험하였다. 오리나무 열수추출물을 경구투여 한 후 30분에 indomethacin (25 mg/kg)을 피하주사하고 절식, 절수 하에서 7시간 동안 방치 후 ether로 마취하여 위를 적출하여 손상지수를 구하였다. 양성 대조약물로는 omeprazole 100 mg/kg을 경구투여 하였다.

HCl-ethanol 위 손상 실험 - 수컷 흰쥐 8마리를 1군으로

하여 36시간 절식시킨 후에 Mizui 등의 방법¹¹⁾에 따라 오리나무 열수추출물을 0, 200, 500 mg/kg 농도로 0.5% carboxymethylcellulose (CMC)에 현탁 후 경구 투여하고, 이때 대조약물로는 omeprazole 100 mg/kg을 사용하였다. 오리나무 경구투여 1시간 후에 60% ethanol과 150 mM HCl (1 ml)을 경구 투여하고 절식, 절수하여 1시간 후에 ether 마취 하에 위를 적출하여 2% formalin 용액에 넣어 1시간 동안 고정시켰다. 이어서 위의 대만부를 따라 절개하여 펼친 후에 위손상 길이(mm)를 측정하여 그 합을 손상지수로 하였으며 사진을 촬영하였다.

수침 · 구속 위궤양 실험 - Hayase와 Takeuchi의 방법¹²⁾에 따라 수컷 흰쥐 8마리를 1군으로 하여 36시간 절식시킨 후 오리나무 열수추출물을 경구투여하고 30분이 지난 다음 stress cage에 넣어 수온을 $21 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 유지하면서 검상돌기가 물에 잠기도록 물 속에 넣고 8시간 동안 방치하였다. 그 후 ether 마취 하에서 위를 적출하고 2% formalin에 넣어 5분 동안 고정한 후 위의 대만부를 따라 절개한 다음 펼친 후에 발생된 궤양면적(mm^2)을 측정하여 궤양 억제율을 계산하였다. 대조약물로는 omeprazole를 경구투여 하였다.

급성위염 및 궤양의 억제율 - 각 시료의 급성위염 및 궤양에 대한 억제효과는 유발실험에서 측정된 손상길이, 궤양 지수 및 궤양면적을 다음과 같은 식으로 계산하여 억제율(%)로 나타냈다.

$$\text{저해율(\%)} = \frac{\text{대조군의 위병변길이(mm)} - \text{약물투여군의 위병변길이(mm)}}{\text{대조군의 위병변길이(mm)}} \times 100$$

결과 및 고찰

오리나무 열수 추출물의 *H. pylori*에 대한 *in vitro* 항균 작용

*H. pylori*에 대한 *in vitro* 실험은 여과지 원판법과 요소 분해효소(urease) 활성측정법을 이용하여 오리나무 열수 추출물의 *H. pylori*에 대한 항균효과를 관찰하였다.

평판 실험의 경우 원판주변에 균이 성장하지 못하여 생성되는 원형 부분의 크기를 측정하여 항균효과를 관찰하는 것이나 여러 농도 별로 측정하는 것이 오차가 크게 나타났으며 오리나무 열수추출물 농도 차에 따른 저해 정도는 잘 관찰할 수 없었다.

그러나 현재 *H. pylori* 항균력을 측정하는 방법으로 가장 많이 사용되고 있는 요소 분해효소 활성 측정법은 urease 활성도 측정이 용이하고 *H. pylori* 생균수 측정과의 상관관계가 매우 좋은 것으로 나타나서 요소 분해효소 활성도를 전 반적인 오리나무 항균작용의 assay법으로 채택하였다. 오리나무 열수추출물은 Fig. 1에서와 같이 500 $\mu\text{g/ml}$ 에서부터 *H. pylori*에 대한 항균효과를 나타내어 24시간에서 500 $\mu\text{g/}$

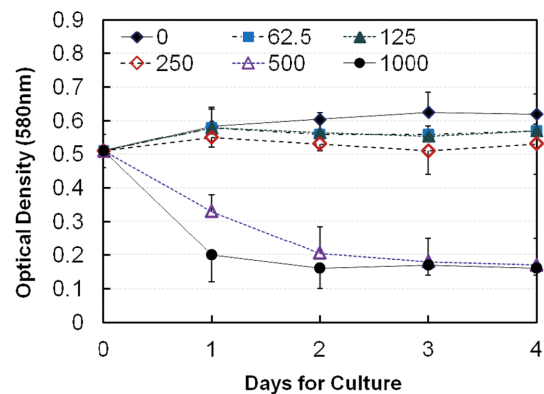


Fig. 1. Effect of AJ ext on the growth of *H. pylori*.

The inhibitory activities were determined by measuring the activity of *H. pylori* urease described in Materials and Methods.

ml 농도에서 약 37.4%, 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 61.4%가 성장이 저해되었으며, 48 시간 경과 후부터는 두 농도에서 *H. pylori* 성장이 거의 정지되었다. 일반적으로 *H. pylori*의 제균요법은 항생제를 중심으로 한 제균을 하는데 한가지 항생제로는 대부분 치유가 되지 않아 현재 3제 복합요법을 사용하고 있다. 즉 기전이 다른 3가지 약제를 일정한 기간 투여하는 방법으로 약 90% 이상의 제균률을 보인다. 그러나 항생제에 의한 제균법은 항생제에 대한 내성 또는 재감염에 의한 제균 실패, 대장염과 같은 항생제 부작용 외에 약제마다 특수 부작용에 의하여 환자가 치료제의 투여를 유지하지 못하는 등 여러 문제가 있어 이에 따라 자연식품에서 추출한 성분에서 *H. pylori*의 증식을 억제할 수 있는 성분을 밝혀내기 위한 다양한 연구가 진행되었다. 유산균의 일종인 락토바실러스 균과 계란 노른자, 생약제인 복분자, 홍삼, 적포도주, 생강 및 녹차 등에서 *H. pylori* 세균 증식을 억제하는 성분이 규명되었다.^{7,13-14)} 그러나 *H. pylori* 감염을 치료하는 데 *H. pylori* 저해에 효능이 있는 것으로 보고된 16종의 한약재와 proton pump inhibitor를 함께 투여하여 대조군으로 colloidal bismuth subcitrate based triple therapy 한 결과와 비교 평가 하였을 때 한약재들은 비교적 부작용의 발생은 적었으나 제균 효과는 삼자요법에 비하여 약하게 나타나 *H. pylori* 제균에 한약재 단독 사용 보다는 보조제로서 추천하였다.¹⁵⁾ 비록 오리나무 열수추출물이 고 농도에서 항균작용을 나타내고 *H. pylori* 증식을 *in vitro*에서 저해한다고 해서 *in vivo*에서 반드시 저해하지는 않을 수 있으나 지속적인 투여에 의하여 오리나무 열수추출물이 위장관 보호제로 작용하는 데 도움을 줄 수 있을 것으로 사료되었다.

H^+/K^+ -ATPase 활성도 저해에 대한 영향 - H^+/K^+ -ATPase는 수소이온을 위 안으로 분비시키는 작용을 하는 효소로 gastric acid로 분비시키는 마지막 작용을 하는 효소로 위궤

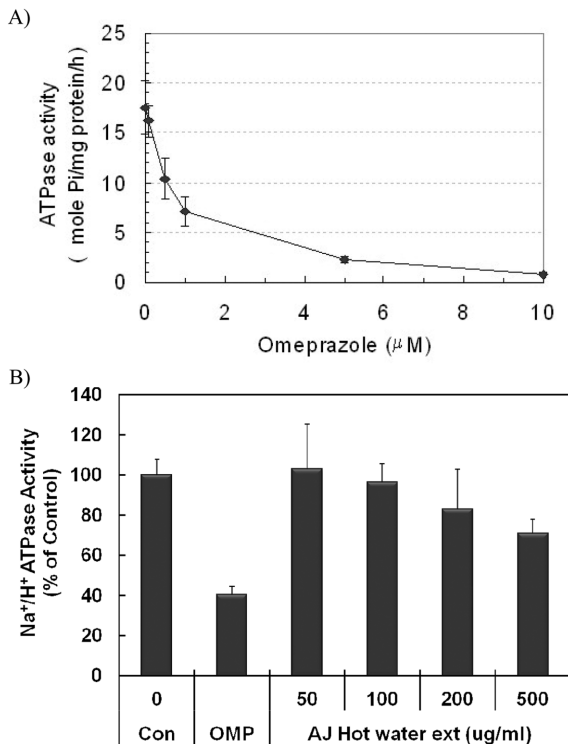


Fig. 2. The inhibitory Effect of Omeprazole (A) and AJ ext (B) against the activity of gastric H⁺/K⁺-ATPase from gastric mucosa.

양이나 위염에 주요한 작용을 하는 효소이다. Omeprazole 은 proton pump 저해제로 널리 이용되고 있으며, 위액의 pH 를 강한 산성에서 약산성으로 올려줌으로써 *H. pylori*가 위 벽에 잘 붙어서 살 수 없도록 하여 다른 항생제와 함께 *H. pylori* 제균에 사용하고 있다. 따라서 오리나무가 항균작용 을 나타냄과 동시에 proton pump를 저해한다면 이상적인 위장관 치료제 및 예방제로서의 가치를 지니게 될 것으로 사료되어 오리나무 열수추출물에 의한 proton pump 활성 저해 정도를 측정하였다. 양성 대조군으로 proton pump의 대표적 저해제인 omeprazole을 사용하여 그 저해 정도를 관찰하였을 때 omeprazole에 의하여 농도 의존적으로 proton pump 활성이 저해됨을 확인하였다(Fig. 2-A). 오리나무 열수추출물에 대한 proton pump 저해 정도를 측정하였을 때 고농도인 500 μg/ml 농도에서 약 35% 내외의 저해작용을 나타내었으며, 이때 IC₅₀ 값은 약 806.3 μg/ml 이었다. 비록 오리나무 열수추출물 고농도에 의하여 proton pump활성이 저해되더라도 오리나무 열수추출물을 건강기능식품으로 개발하게 되면 상대적으로 고용량을 경구로 투여하게 될 것이며, 위장 내의 농도가 쉽게 mg/ml 농도에 도달될 수 있을 것이므로 *H. pylori*가 성장저해와 함께 proton pump 활성 저해가 의미 있을 것으로 사료되었다.

HCl-ethanol 위궤양 모델 - HCl-ethanol 투여로 급성위염

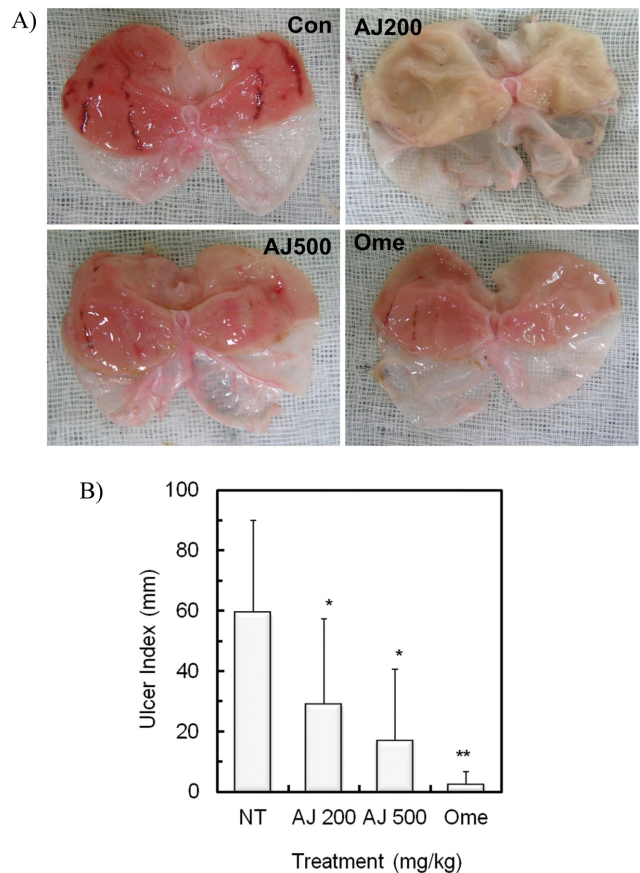


Fig. 3. Effects of AJ ext on HCl-ethanol induced gastritis in rats.

Acute gastritis was induced by treatment of 1 ml of HCl-ethanol (60% ethanol + 150 mM HCl). Each sample was administered orally 1 hr before HCl-ethanol treatment as described in material and methods. A) Pictures of rat stomach induced acute gastritis with HCl-ethanol, Con; Saline treatment, AJ200 and AJ500; Treatment of 200 and 500 mg/kg AJ ext, respectively, Ome; 100 mg/kg omeprazole treatment. B) Ulcer index of experimental group. Bars are means ± SE of 6 rats per each group. *,**are significantly different (p<0.05) between groups by one-way ANOVA. Gastric ulcers were induced by giving indomethacin (35 mg/kg, sc). Each sample was given orally 30 min before the subcutaneous administration of indomethacin as described in material and methods.

을 유발하였을 때 생리식염수만을 투여한 대조군은 위체부와 위저부 등에 출혈을 동반한 점막손상과 띠 모양의 선상 출혈이 선명하게 나타났는데 이는 Vahi 등¹⁶⁾이 보고한 알콜에 의한 위 손상의 육안소견과 일치하였다. 사진으로 볼 때 양성 대조군으로 사용한 omeprazole 군에서는 궤양이 거의 나타나지 않았으며, 대조군에 비하여 손상지수가 약 95.6%가 저해(P<0.001) 되었다(Fig. 3). 그리고 오리나무 열수추출물을 전처리 하였을 때 투여용량 모두에서 대조군과 비교하였을 때 용량 의존적으로 위병변 억제효과를 나타내었으

며(Fig 3-A), 오리나무 열수추출물 200 mg/kg과 500 mg/kg을 처리하였을 때는 각각 50.1% ($P<0.05$)와 71.2% ($P<0.001$)가 저해되었다(Fig. 3-B). 대조약물로 사용된 omeprazole은 H^+K^+ -ATPase와 비경쟁적 길항작용을 하여 강력한 위산분비 억제기능을 갖고 있는 궤양치료제이다. HCl-ethanol 위궤양은 ethanol이 위점막에 대한 직접 자극과 점막하 근육층에 부종을 유발시켜 일시적 허혈상태를 발생시켜 세포의 괴사를 유발하고, HCl이 위 운동을 항진하여 급성 위염을 유발시키는 것으로 알려져 있다.⁴⁾ 또한 이 실험모델에서 60% HCl-ethanol이 위 점막의 barrier를 파괴하여 H^+ 이온의 역확산을 유발하여 염증을 악화시키는 것으로 알려져 있다.¹⁷⁾ 그리고 이러한 HCl-ethanol에 의한 위 손상 보호 작용은 위점막 표면에 도달하여 위점막에 대한 직접적인 자극을 차단하고 HCl-ethanol에 의한 위점막의 barrier를 보호하고 H^+ 이온의 역확산을 방지하므로써 HCl에 의한 위운동 항진을 완화시켜 분비작용을 억제하는 것을 포함하여, 주로 산소 라디칼의 제거능에 기인한다고 알려져 있다.⁵⁾ 본 연구에서는 질경이나 지유가 투여용량과 관계없이 HCl-ethanol에 의한 위 손상을 보호하는 것^{5,6)}과는 달리 용량 의존적으로 HCl-ethanol 유도 급성 위염을 저해하였으며 이는 애엽 추출물의 결과와 유사하게 나타났다. 오리나무 열수추출물은 비록 고농도가 요구되나 proton pump 저해작용도 나타내므로 HCl-ethanol 유도 급성 위염 저해작용에 위산분비 저해작용도 일부 관여할 것으로 사료되었다.

Indomethacin 유도 위염 모델에 대한 오리나무 추출물의 효과 - CMC 현탁액을 먹인 대조군(NT)은 indomethacin으로 유도한 급성 궤양이 크게 나타났다(Fig. 4-A). 양성 대조군인 omeprazole을 먹인 흰쥐의 위는 궤양이 크게 저해되었다(87.9%). 오리나무 열수추출액을 전처리 하였을 때 200 mg/kg 용량에서는 대조군에 비하여 13.6% 정도 궤양이 감소되는 경향을 나타내었으나 통계학적으로 유의적이지 않았다. 그러나 고용량 500 mg/kg 전처리 하였을 때에는 궤양이 78.4%가 감소되어 유의적으로 나타났으며($P<0.01$), 개체간의 차이도 적게 나타났다(Fig. 4). Indomethacin을 포함한 비스테로이드성 약물에 의한 궤양은 prostaglandin의 생합성을 억제하여 생성되는 것으로 이는 여러 prostaglandin류와 동시 투여하면 점막침식이 보호되는 것으로 보고되었다.¹⁸⁾ 그리고 indomethacin에 의한 위장관 점막손상은 oxygen free radical에 의한 위점막의 지질과산화 및 혈관 투과성이 증가된 후 출현이 나타나며, 이러한 위점막 손상은 위장관의 hypermotility와 관련이 있으며, 이는 atropin이나 16,16-dimethyl prostaglandin E2, 항산화제 등에 의하여 저해되었다.¹⁹⁾ Han 등⁹⁾은 오리나무 목부의 diarylheptanoid와 flavonoid계 물질이 강력한 항산화 작용을 갖고 있음을 보고하였다. 따라서 오리나무 열수추출물에 의한 indomethacin 유도 위궤양을 저해시키는 작용이 저용량에서는 유의적이지 않았

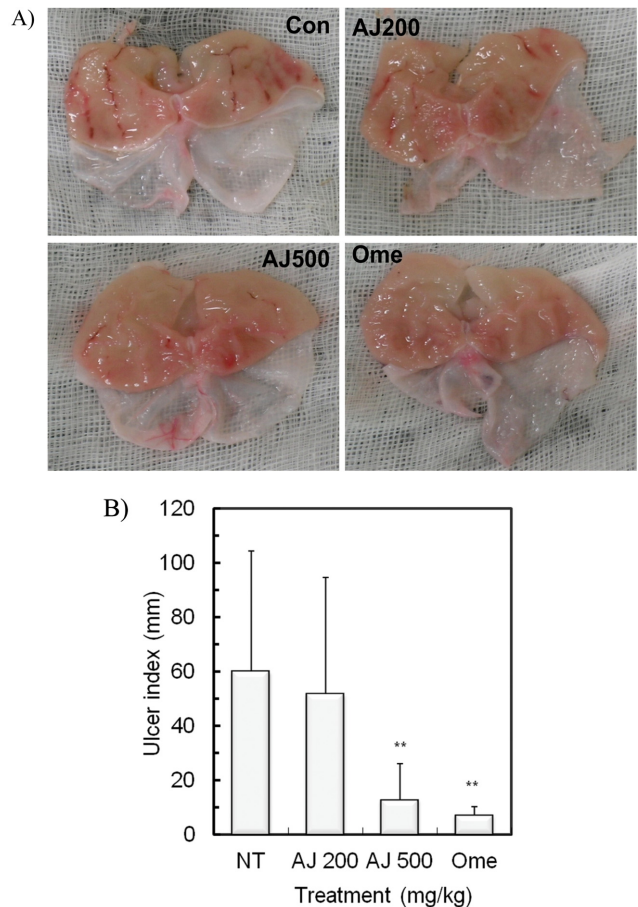


Fig. 4. Effects of AJ ext on indomethacin induced acute gastric ulcer in rats.

Gastric ulcers were induced by giving indomethacin (35 mg/kg, sc). Each sample was given orally 30 min before the subcutaneous administration of indomethacin as described in material and methods. A) Pictures of rat stomach induced acute stomach ulcer with indomethacin, Con; Saline treatment, AJ200 and AJ500; Treatment of 200 and 500 mg/kg AJ ext, respectively, Ome; 100 mg/kg omeprazole treatment. B) Ulcer index of experimental group. Bars are means \pm SE of 6 rats per each group. *,**are significantly different ($p<0.05$) between groups by one-way ANOVA.

으나 고용량에서는 매우 효과적으로 나타난 것은 위궤양 저해에 충분한 양의 항산화 물질에 의한 것으로 사료되었다.

수침·구속 스트레스 위궤양에 대한 오리나무 추출물의 효과 - 오리나무 열수추출물을 전처리한 흰쥐의 수침·구속 스트레스 위궤양에 대한 항궤양 효과는 Fig. 5에 나타났다. $21 \pm 1^\circ C$ 수조에서 8시간 동안 수침·구속을 가한 후 흰쥐의 위점막을 관찰하였을 때 Fig. 5-A와 같이 대조군에서는 출혈을 동반한 궤양이 심하게 형성되었다. 궤양이 대부분 위선에 골고루 분포되어 있었으며 미란성 출혈도 관찰되었다. Omeprazole 100 mg/kg 용량으로 처리하였을 때 Fig. 5-A와 같이 위궤양이 97% 정도가 저해되었다. 그리고

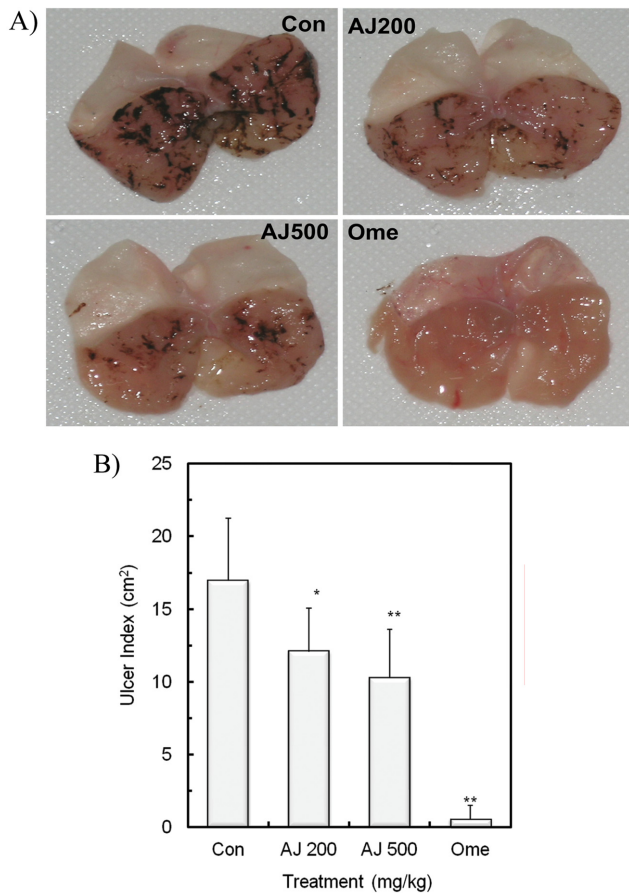


Fig. 5. Effect of AJ ext on the stomach ulcer in immersion and restraint-stress induced rat acute stomach ulcer model. A) Pictures of rat stomach induced acute stomach ulcer by immersion and restraint-stress ulcer model. Con; Saline treatment, AJ200 and AJ500; Treatment of 200 and 500 mg/kg AJ ext, respectively. Ome; 100 mg/kg omeprazole treatment. B) Ulcer index of experimental group. Bars are means±SE of 6 rats per each group. *,**are significantly different (p<0.05) between groups by one-way ANOVA.

오리나무 열수추출물을 전처리하였을 때 농도의존적으로 궤양이 유의적으로 억제되었으며, 200과 500 mg/kg을 처리군에서 각각 29%와 39.5%가 저해되었다. 수침·구속 스트레스 위궤양은 미주신경을 흥분시켜 위산분비 항진, 위운동 항진, 혈류장애 등을 유발하고 이로 인하여 위궤양이 형성된다고 보고되었다.²⁰⁾ Omeprazole의 proton pump 저해작용은 수침·구속 스트레스에 의한 위산분비 항진작용을 크게 저해시켜 거의 완전히 위궤양을 저해시켰다. 이러한 결과는 수침·구속 스트레스에 위산분비가 위궤양 형성에 큰 영향을 미치는 것을 나타내는 것으로, 오리나무 열수추출물에 의하여 농도의존적으로 위산분비가 저해되어 부분적으로 위궤양 형성을 보호하는 것으로 사료되었다.

결론

본 실험에서는 오리나무 열수추출물이 *H. pylori* 성장저해, H⁺/K⁺-ATPase 활성도 저해 및 흰쥐에서 실험적으로 유도한 급성위염, 위궤양에 미치는 영향에 대하여 실험하여 다음과 같은 결과를 얻었다. *H. pylori*에 의한 urease 활성을 측정하여 *in vitro*에서 오리나무 열수추출물의 *H. pylori*에 대한 항균작용을 관찰하였을 때, 고농도 처리에 의하여 *H. pylori* 성장이 저해되었다. 즉, 오리나무 열수추출물 처리 후 24시간에서 500 µg/ml 농도에서 약 37.4%, 1,000 µg/ml 농도에서 61.4%가 성장이 저해되었으며, 48시간 경과 후부터는 두 농도에서 *H. pylori* 성장이 거의 정지되었다. 오리나무 열수추출물에 의하여 proton pump가 매우 약하게 저해되어 500 µg/ml 고농도에서 약 35% 내외의 proton pump 저해작용을 나타내었으며, 오리나무 열수추출물에 의한 proton pump IC₅₀ 값은 약 806.3 µg/ml이었다. HCl-alcohol 유도 급성위염에서 오리나무 열수추출물 전처리에 의하여 용량의존적으로 위병변 억제효과를 나타내었으며, 200 mg/kg과 500 mg/kg 용량에서 각각 50.1% (P<0.05)와 71.2% (P<0.001)가 저해되었다. 이는 대조 약물로 사용된 omeprazole에 의한 억제 효과(95.6%)에는 크게 미치지 못했으나 대조군에 비하여 유의적으로 저해되었다. Indomethacin 유도 위궤양 모델에서 omeprazole은 위손상을 87.9% 정도 감소시켰으나 오리나무 열수추출물 200 mg/kg 용량에서는 대조군에 비하여 13.6% 정도 궤양이 감소되는 경향을 나타내었으나 유의적이지는 않았다. 그러나 오리나무 추출물 고용량인 500 mg/kg(AJ 500)을 전처리 하였을 때에는 궤양이 78.4%가 감소되어 유의적으로 나타났다(P<0.01). 21 ± 1°C 수조에서 8시간 동안 수침·구속을 가한 후 흰쥐의 위점막 손상정도를 관찰하였을 때 오리나무 열수추출물을 전처리 하였을 때 대조약물인 omeprazole에 의한 보호효과(97%)보다는 매우 약했으나, 200과 500 mg/kg 처리군에서 각각 29%와 39.5%가 저해되었으며, 궤양이 농도의존적으로 유의적으로 억제되었다. 앞으로 다양한 연구를 통하여 정확한 기전을 확인해야 할 것이나, 이상의 실험결과에서 오리나무 열수추출물에 의한 위염 및 위궤양 개선효과는 매우 약하지만 *H. pylori* 성장 저해 및 proton pump 저해 효능과 더불어 항산화 효과에 의한 것으로 예상되었다. 좀 더 상품화를 위한 연구를 통하여 앞으로 위염 및 위궤양 개선을 위한 건강기능성 식품으로 개발이 가능할 것이다.

사사

이 연구는 2003년도 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구비로 수행되었으며, 이에 감사 드립니다.

인용문헌

1. 현진해 (2002) 우리나라 실정에 맞는 소화성 궤양의 치료 : 소화성 궤양의 진단과 내시경검사-소화성 궤양 증상 환자의 진단에 내시경 검사가 반드시 필요한가? 제13회 대한소화기학회 세미나 **13**: 81-90.
2. Ramakrishnan, K. and Salinas, R. C. (2007) Peptic ulcer disease. *Am. Fam. Physician* **76**: 1005-1012.
3. Gisbert, J. P., Pajares, R. and Pajares, J. M. (2007) Evolution of *Helicobacter pylori* therapy from a meta-analytical perspective. *Helicobacter*. **12** Suppl 2: 50-58.
4. Oh, T. Y., Ryu, K. R., Park, J. B., Lee, S. D., Kim, W. B., Yang, J. and Lee, E. B. (1996) Studies on antiulcer effects of DA-9601, an Artemisia herba extract against experimental gastric ulcers and its mechanism. *J. Appl. Pharmacol.* **4**: 111-121.
5. Lee, J. J., Choi, H. S., Lee, J. W., Jung, C. J. and Lee, M. Y. (2005) The effects of ethylacetate fraction of *Sanguisorba officinalis* L. on experimentally induced acute gastritis and peptic ulcers in rats. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **34**: 1545-1552.
6. Won, Y. J., Na, M. S. and Lee, M. Y. (2004) Effects of ethylacetate fraction of Plantain (*Plantago asiatica* L.) on experimentally induced gastric mucosal damage and gastric ulcers in rats. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **33**: 659-667.
7. Lee, S. Y., Shin, Y. W. and Hahm, K. B. (2008) Phytochemicals: mighty but ignored weapons against *Helicobacter pylori* infection. *J. Dig. Dis.* **9**: 129-139.
8. Nomura, M., Tokoroyama, T. and Kubota, T. (1981) Biarylheptanoids and other constituents from wood of *Alnus japonica*. *Phytochemistry* **20**: 1097-1104.
9. Han, H. K., Choi, S.-S., Kim, Y.-R., Kim, H.-J., Kang, G.-M., Dong, M.-S., Na, C.-S. and Chung, H. S. (2006) Diarylheptanoid and flavonoid with antioxidant activity from *Alnus japonica* Steud on DPPH free radical scavenging assay. *J. Food Sci. Nutr.* **11**: 171-175.
10. Urushidani, T., Okabe, S., Takeuchi, K. and Takagi, K. (1977) Effects of various amino acids on indomethacin-induced gastric ulcers in rats. *Jpn. J. Pharmacol.* **27**: 316-319.
11. Mizui, T. and Doteuchi, M. (1983) Effect of polyamines on acidified ethanol-induced gastric lesion in rats. *Jpn. J. Pharmacol.* **33**: 939-945.
12. Hayase, M. and Takeuchi, K. (1986) Gastric acid secretion and lesion formation in rats under water-immersion stress. *Dig. Dis. Sci.* **31**: 166-171.
13. Lee, Y. and Chang, H. C. (2008) Isolation and characterization of Kimchi lactic acid bacteria showing anti-*Helicobacter pylori* activity. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **36**: 110-114.
14. Yang, S. W., Ho, J. N., Lee, Y. H., Shin, D. H., Hong, B. S. and Cho, H. Y. (2004) Isolation and characterization of *Helicobacter pylori* Urease inhibitor from *Rubus coreanus* Miquel. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **33**: 769-777.
15. Lin, J. and Huang, W. -W. (2009) A systematic review of treating *Helicobacter pylori* infection with Traditional Chinese Medicine *World J. Gastroenterol.* **15**: 4715-4719.
16. Vahi, R., Guttman, F. M. and Mimaker, B. (1979) Mechanism of cytoprotective effects of PGE₂. *Surg. Forum* **30**: 332-334.
17. Robert, A., Nezamis, J. E., Lancaster, C. and Hanchar, A. J. (1979) Cytoprotection by prostaglandins in rats. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl and thermal injury. *Gastroenterol.* **77**: 433-443.
18. Whittle, B. J. (1977) Mechanisms underlying gastric mucosal damage induced by indomethacin and bile-salts, and the actions of prostaglandins. *Br. J. Pharmacol.* **60**: 455-460.
19. Takeuchi, K., Ueshima, K., Hironaka, Y., Fujioka, Y., Matsumoto, J. and Okabe, S. (1991) Oxygen free radicals and lipid peroxidation in the pathogenesis of gastric mucosal lesions induced by indomethacin in rats. Relation to gastric hypermotility. *Digestion* **49**: 175-184.
20. Suwa, T., Fukushima, K. and Koyogoku, K. (1984) Effect of anti-ulcer agent, 2'-carboxymethoxy-4,4'-bis(3-methyl-2-butenyloxy) chalcone (SU-88), on the biosynthesis of gastric sulfated mucosubstances in restrained and waterimmersed rats. *Jpn. J. Pharmacol.* **34**: 89-94.

(2012. 2. 4 접수; 2012. 2. 24 심사; 2012. 2. 27 게재확정)