

삼백초 에탄올 추출물의 위출혈성 스트레스 위염 억제 효과

박소영¹ · 조영제²

¹영남대학교 의과대학 생리학교실
²경북대학교 식품공학부/식품생물산업연구소

Inhibitory Activities of Ethanol Extracts from *Saururus chinensis* L. against Stress-Induced Hemorrhagic Gastritis

So-Young Park¹ and Young-Je Cho²

¹Department of Physiology/Aging-associated Vascular Disease Research Center,
College of Medicine, Yeungnam University

²School of Food Science & Biotechnology/Food & Bio-Industry Research Institute, Kyungpook National University

ABSTRACT In this study, gastritis inhibitory substance was ethanol-extracted from *Saururus chinensis* in order to examine the effect as a part of natural bioactive substance research. In an oral administration experiment, *S. chinensis* was administered at doses of 0.25 g/kg B.W. to 2 g/kg B.W., resulting in stabilization at 1.5 g/kg B.W. and an LD₅₀ of 1.81 g/kg B.W. In a chronic toxicity experiment, 0.5 g/kg B.W. of *S. chinensis* was administered for 13 weeks, but toxicity was not observed. *S. chinensis* ethanol-extracts were administered at a concentration of 250 or 500 mg/kg B.W. before induction of gastritis. Gastrorrhagia, stomach edema, cytokine production, and cell damage were reduced in a concentration-dependent manner. Therefore, *S. chinensis* ethanol extracts inhibit cell damage by stress-induced hemorrhagic gastritis in a concentration-dependent manner via inhibition of cytokine expression.

Key words: inhibitory activity, stress-induced hemorrhagic gastritis, *Saururus chinensis*, extracts

서 론

위염은 산의 분비가 증가하거나 위의 방어기전이 약해질 때 상피세포가 손상되어 발생한다. 더 심해지면 위궤양으로 진행되거나 만성적인 위염으로 진행하게 되며 만성위염은 위암과도 연관이 있다(1,2).

위염의 치료제는 산의 분비를 억제하거나 중화시키는 약물과 위의 상피세포를 산의 공격으로부터 방어하는 약물로 나눌 수 있다. 산의 분비를 억제시키는 약물로는 제산제, 히스타민 수용체 억제제(cimetidine, ranitidine, famotidine, nizatidine) 및 proton pump 억제제(omeprazole, esomeprazole, lansoprazole)가 있으며 상피세포를 보호하는 약제로는 물리화학적 방어와 trophic effect가 있는 sucral-fate, 상피세포의 재생을 증가시키는 prostaglandin 제제 그리고 *Helicobacter pylori*에 효과가 있는 bismuth 함유 제제가 있다(3,4). 이러한 약제들은 위염의 증상이 있을 때 사용하여 염증 및 증상을 완화시키는 약제들이다. 위염 환자들은 위염 증상이 있으면 치료를 하지만 증상이 없는 경우 염

증이 심하더라도 치료를 하지 않고 방치하여 만성위염으로 진행될 수 있다(1,5,6). 또한 치료를 하더라도 염증 및 증상의 완화를 유도할 수 있으나 재발이 쉽게 일어나 염증을 박멸하기는 힘든 실정이다. 위염은 쉽게 완치되지 않아 치료약을 장기적으로 사용해야 하는데 일상생활에서 오는 스트레스가 하나의 주요 요인으로 작용한다. 따라서 평소에 스트레스에 대한 염증반응을 억제하고 상피세포의 방어력을 증가시키는 물질을 예방적으로 섭취한다면 위염의 발생 빈도를 감소시킬 수 있을 것으로 생각된다(7).

삼백초(*Saururus chinensis*)는 삼백초과에 속하는 다년 초로서 우리나라를 포함한 동북아시아에 주로 분포하는 약용작물이다. 예로부터 부종, 해독, 당뇨, 고혈압, 간염 및 황달, 해독 및 간염 등의 치료에 주로 이용되고(8,9), 건강차나 나물과 같은 식품의 재료로 활용되기도 한다. 삼백초 잎에는 quercetin, quercitrin, isoquercitrin, avicularin, rutin 등 페놀성 물질들이 다량 함유되어 있어 항암 효과가 있다. 뿌리에는 아미노산, 유기산, 당류 및 가수분해형 탄닌류가 함유되어 있어 화농성 유선염, 요로통, 성인병, 고혈압 등에 효과가 있다(10-14). 이 중 flavonoid의 일종인 quercetin, quercitrin 등은 식물계에 존재하는 천연항산화제로 지방산화 억제, 활성산소의 제거 및 산화적 스트레스를 억제함으로써 노화나 암 및 심장병 등을 예방하는 효과를 나타내어 그

Received 24 February 2015; Accepted 31 March 2015

Corresponding author: Young-Je Cho, School of Food Science & Biotechnology/Food & Bio-Industry Research Institute, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea
E-mail: yjcho@knu.ac.kr, Phone: +82-53-950-7755

활용도가 높아지고 있다(15,16). 또한 삼백초는 간세포 보호 활성이 있고(17), 항균, 항산화 및 모세혈관 강화작용 등의 효과들이 있다(18-20).

따라서 본 연구에서는 천연약용작물 중 삼백초 잎 추출물의 스트레스성 위염 억제 효과를 규명하여 스트레스성 위염에 특이적으로 효과적인 기능성 원료를 확보하고자 하였다.

재료 및 방법

삼백초 에탄올 추출물 제조

건조시킨 삼백초 잎 분말 시료에 100 mL의 60% ethanol을 가하고 homogenizer로 20,000 rpm에서 1분간 균질화시킨 후 24시간 동안 교반 추출하였다. 추출액은 Whatman No. 1 filter paper(GE Healthcare Company, Buckinghamshire, UK)로 여과하고 rotary vacuum evaporator (Eyela NE, Tokyo, Japan)에서 농축한 후 동결 건조하여 사용하였다.

실험동물

실험동물은 7주된 C57BL/6J 생쥐 수컷을 사용하였으며 샴타코(Seoul, Korea)에서 구입하여 영남대학교 의과대학 동물사의 청정실에서 사육하였다. 사육조건은 오전 7시부터 오후 7시까지 12시간을 전등으로 밝게 유지하고 이후 12시간은 소등하였으며, 사육 중 식이와 물 섭취량을 측정하였다. 실험동물은 영남대학교 의과대학 동물사의 관리지침에 따라서 사육되었으며, 실험은 영남대학교 의과대학 동물윤리위원회의 승인 하에 시행하였다.

Water-immersion restraint stress-induced(WIRS) 위염 동물 실험 모델

스트레스성 위염 동물모델로는 WIRS gastritis 모델을 확립하고자 하였다. C57BL6 수컷 생쥐를 전날 오후 6시에 식이를 제거하여 다음날 아침 8시까지 14시간 절식한 후 동물이 나오지 못하도록 잠금 장치가 설치된 작은 동물용 케이지에 넣었다. 수조에 물을 채우고 25°C가 되도록 물의 온도를 맞춘 후 생쥐를 넣은 케이지를 수조에 넣고 25°C에서 6시간 동안 유지하였다. 이때 생쥐가 케이지 벽에 매달리며 물에 잠긴 상태로 유지되었다. 6시간 후 마취제를 복강으

로 주입하여[tiletamine and zolazepam(25 mg/kg B.W.), xylazine(10 mg/kg B.W.)] 마취한 후 생쥐를 희생하여 혈액을 채취하고 혈장을 분리하였다. 혈액과 혈장은 분석 전까지 -80°C에 보관하였다. 위장은 분리, 절개하여 위장 내면의 사진을 찍고(Fig. 1) 조직학적 염색을 위하여 10% buffered formalin에 보관하거나 이후의 실험을 위하여 -80°C에 보관하였다. 상기의 조건에서 방치한 생쥐의 위 조직을 육안으로 살펴본 결과 위출혈이 발생하고 조직학적으로 위부종 및 상피세포의 손상이 발생하였으며 또한 염증성 사이토카인의 발현이 증가함을 확인하였다.

삼백초 추출물의 급성 또는 만성 독성 검사

삼백초 추출물의 급성독성 검사를 위하여 삼백초 추출물을 농도별로 0, 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2 g/kg B.W.를 한 번만 경구 투여한 후 쥐의 행동 양상을 관찰하고 생존율을 측정하였다. 일주일 후에 마취제를 복강으로 주입하여[tiletamine and zolazepam(25 mg/kg), xylazine(10 mg/kg)] 마취한 후 쥐를 희생하여 혈액을 채취한 후 혈장을 분리하고, 간과 신장의 무게를 측정한 후 -80°C에 저장하였다. 간독성 측정을 위하여 GOT(glutamate oxaloacetate transaminase)와 GPT(glutamate pyruvate transaminase)를 측정하였다. 삼백초 추출물의 만성독성 검사를 위하여 삼백초 추출물을 생쥐가 섭취하는 물에 농도별(0, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5 g/kg B.W.)로 희석하여 13주간 자유롭게 섭취시켰다. 기간 중 식이 섭취량과 물 섭취량, 몸무게 변화, 행동 양상을 관찰하였다. 13주 후에 쥐를 급성독성 실험과 마찬가지로 쥐를 희생하여 혈액을 모은 후에 간과 신장의 무게를 측정한 다음 간과 혈장을 -80°C에 저장하였다. 간독성 측정을 위하여 GOT와 GPT를 측정하였다.

스트레스성 위염에 대한 삼백초 추출물의 영향

C57BL6 수컷 생쥐를 4개 그룹(대조군, WIRS군, WIRS+ extract 250 mg/kg 군, WIRS+ extract 500 mg/kg 군)으로 나누고, 전날 오후 6시부터 식이를 제거하여 절식시켰다. 다음 날 아침 9시에 대조군과 WIRS군에는 증류수를, WIRS+ extract 250 mg/kg 군과 WIRS+ extract 500 mg/kg 군에는 삼백초 추출물을 각각 250 mg/kg과 500 mg/kg을 경구로 투여하였다. WIRS군과 WIRS+ extract 250 mg/kg 군과

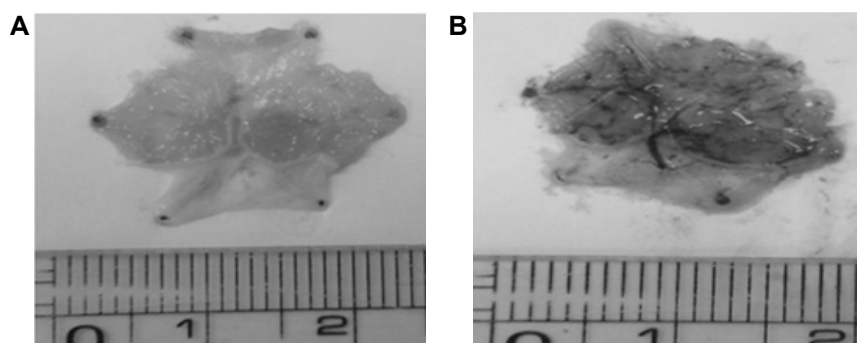


Fig. 1. Inside hemorrhage morphology of mouse stomach after stress for 6 hours by water-immersion restraint stress-induced (WIRS). (A) control group, (B) WIRS group.

WIRS+ extract 500 mg/kg 군 마우스를 소동물용 케이지에 넣고 스트레스성 위염 동물모델에 적용시켰다.

혈중 생화학적 물질 측정

간독성을 측정하기 위하여 혈장에서 GOT와 GPT를 측정하였다. 측정 kit은 아산제약(Seoul, Korea)의 transaminase kit을 이용하여 측정하였다. 혈장 tumor necrosis factor(TNF)- α 는 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 방법을 이용하여 측정하였다(Invitrogen, Camarillo, CA, USA).

Real-time PCR

유전자 발현은 real-time PCR로 분석하였다. RNA 추출은 1 mL TRI-reagent(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)에 시상하부 조직을 넣고 초음파를 이용하여 균질화시켰다. 여기에 200 μ L의 chloroform을 넣고 15초간 격렬하게 흔든 뒤 실온에서 5분간 반응시킨 다음 4°C, 13,200 rpm에서 15분간 원심분리 하였다. 분리된 상층액에 같은 부피의 isopropanol을 넣고 10분간 상온에서 반응시킨 다음 다시 4°C, 13,200 rpm으로 10분간 원심분리 하여 RNA를 침전시켰다. 침전시킨 RNA를 차가운 75% ethanol 1 mL로 세척하고 4°C, 13,200 rpm에서 5분간 원심분리 한 후 침전물을 실온에서 건조시켰다. 마지막으로 남은 RNA를 RNase가 제거된 물 30 μ L에 녹여 -70°C에서 보관하였다. RNA 농도는 Nano-drop(Thermo Fisher Scientific Inc., Wilmington, DE, USA)을 이용하여 260 및 280 nm 파장에서 측정하였다. RNA 증폭은 분리한 RNA 1 μ g을 High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit(Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)으로 cDNA로 제작한 뒤 real-time PCR을 시행하였다. Real time PCR은 95°C에서 10분의 전 반응을 거친 다음, 변성(95°C, 15초), 어닐링

(55°C, 20초) 및 연장(72°C, 35초)의 과정을 45회 반복하여 Real-Time PCR 7500 System과 Power SYBR Green PCR Master Mix(Applied Biosystems)를 이용하여 측정하였다. 내부 표준품으로는 β -actin을 사용하였으며 primer 서열은 Table 1에 나타내었다.

Western blotting

Western blotting electrophoresis는 Sheeba와 Asha(21)의 방법에 준하여 조직 약 30 mg을 lysis buffer에 넣고 homogenizer를 이용하여 조직을 균질화한 후 샘플 단백질을 40 μ g을 5 \times Laemmli sample buffer[0.375 M Tris-HCl, pH 6.8, 5% sodium dodecyl sulfate(SDS), 5% beta-mercaptoethanol, 50% glycerol, 0.05% bromophenol blue]에 넣고 99°C에 5분간 배양한 후 10% SDS-polyacrylamide gel을 이용하여 전기영동 하였다. 분리된 단백질을 polyvinylidene fluoride membrane(PVDF)에 옮기고 5% skim milk로 blocking 한 다음 측정하고자 하는 단백질에 대한 항체를 PVDF membrane과 4°C에서 밤새도록 배양하였다. 다음 날 2차 항체를 PVDF membrane과 함께 실온에서 1시간 동안 배양시킨 후 chemiluminescence detection reagent를 이용하여 단백질 양을 측정하였다.

Hematoxylin-eosin 염색

위장 조직의 분리는 Nakada 등(22)의 방법에 준하여 수행하였다. 위장 조직을 채취하여 10% 중성 완충 포르말린 용액에 넣어 고정시킨 뒤 파라핀 함몰 조직 절편을 제작하였다. 조직은 4 μ m 두께로 자른 후 xylene에 3분 동안 2번 처리하고, 100%, 90%, 80%, 70% 알코올에 각각 순서대로 1분씩 처리하여 파라핀을 제거한 후 세척하였다. Hematoxylin 염색을 하고 1% 염산 알코올로 분별한 후 0.2% 암모니아수로 중화를 시켰다. 조직샘플은 흐르는 물에서 빛깔

Table 1. Sequences of primer with real-time PCR

		Sequences	Size
TNF- α	Sense	5'-CTATCTCCAGGTTCTTCAA-3'	71 bp
	Anti-sense	5'-GCAGAGAGGAGGTTGACTTTC-3'	
IL-1 β	Sense	5'-GCCCATCCTCTGTGACTC-3'	71 bp
	Anti-sense	5'-AGTGCAGCTGTCTAATGGGA-3'	
IL-6	Sense	5'-GTCGGAGGCTTAATTACACATG-3'	72 bp
	Anti-sense	5'-TCAGAATTGCCATTGCCATTGCACA-3'	
Cox-2	Sense	5'-ATCCACAGCCTACAAAACA-3'	100 bp
	Anti-sense	5'-TCAGTTGAACGCCTTTTAAT-3'	
iNOS	Sense	5'-CTCCTGCCTCATGCCATT-3'	71 bp
SOD	Anti-sense	5'-TGTTCCTCTATTTTTGCCTCTTTA-3'	71 bp
	Sense	5'-CTGCTCTAATCAGGACCCATT-3'	
GPx1	Anti-sense	5'-GTGCTCCACACGTCAATC-3'	71 bp
	Sense	5'-GAAGTGCGAAGTGAATGGTG-3'	
β -Actin	Anti-sense	5'-TGGGTGTTGGCAAGGC-3'	121 bp
	Sense	5'-TGGACAGTGAGGCAAGGATAG-3'	
	Anti-sense	5'-TACTGCCCTGGCTCCTAGCA-3'	

IL-1 β : interleukin-1 β , iNOS: inducible nitric oxide synthase, SOD: superoxide dismutase, GPx1: glutathione peroxidase 1, Cox-2: cyclooxygenase-2.

을 내고 eosin으로 염색한 후 80%, 90%, 100% 에탄올에 순서대로 1분간 처리하여 탈수하고 봉입하였다. 현미경 상으로 핵은 파랗게, 세포질은 붉게 염색되었다.

통계처리

실험 결과는 평균±표준오차로 표기하였다. 각 군 간의 차이는 t-test를 사용하여 평가하였으며 95% 유의 수준을 인정하였다.

결과 및 고찰

삼백초 추출물의 급성독성 측정

생쥐를 6개 그룹으로 나누고 그룹당 20마리씩 각각 삼백초 추출물 0, 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2 g/kg씩 경구로 1회 투여한 후 일주일간 관찰하였다. 삼백초 추출물 2 g/kg 투여군에서는 24시간 이내에 14마리가 사망하였다. 삼백초 추출물 0.25, 0.5 g/kg 군에서는 생존율이 100%였으나 1 g/kg 군에서는 89.5%, 1.5 g/kg 군에서는 79%, 2 g/kg 군에서는 생존율 22.2%였다. 쥐의 50%를 사망시킬 수 있는 LD₅₀은 1.81 g/kg이었다(Fig. 2). 삼백초 추출물 투여 후 일주일간 생쥐의 식이 섭취량과 몸무게를 측정하고 Fig. 3A~3D에서와 같이 각 그룹 간 차이는 거의 없었으며 신장과 간 무게도 각 그룹 간 차이는 발생하지 않았다. 삼백초 추출물에 의한 간독성을 살펴보기 위하여 삼백초 추출물 투여 후 생쥐의 혈장 GOT와 GPT를 측정하고 Fig. 3E와 3F에서와 같이 혈중 내 GOT는 각 그룹 간 차이가 거의 없었으나 GPT는 다른 그룹에 비해 1.5 g/kg 군에서 유의하게 증가하였다. 따라서 삼백초 추출물은 1.0 g/kg 미만의 투여량에 대해서는 급성독성이 없는 것으로 확인되었다.

삼백초 추출물의 만성독성 측정

생쥐 10마리씩 5개 그룹(0, 62.5, 125, 250, 500 mg extract/kg)으로 구분하고 삼백초 추출물을 13주간 경구 투여하여 마우스의 만성독성을 측정하였다. 생쥐가 섭취하는 물에 각각 0, 62.5, 125, 250, 500 mg/kg의 농도가 되도록

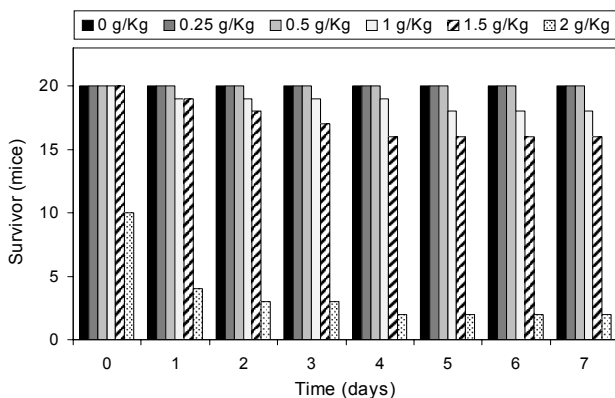


Fig. 2. Effect on survival rate of mouse by once oral administration of *Saururus chinensis* extracts.

삼백초 추출물을 희석하여 13주간 섭취시켰다. 그 결과 Fig. 4A에서와 같이 1주일마다 측정된 몸무게는 각 그룹 간에 차이가 거의 없었으며, 13주가 경과하는 동안 최종 weight gain도 그룹 간 차이는 거의 없었다. 일주일간의 하루 평균 식이 섭취량을 13주간 측정하고 Fig. 4B에서와 같이 각 그룹 간에 차이가 없었다. 물은 일주일에 2번 바꾸어 주며 하루 평균 물 섭취량을 측정하여 일주일 간의 평균치를 측정하고 Fig. 4C에서와 같이 매주 측정된 물 섭취량도 각 군 간에 차이가 없었으며 13주간의 하루 평균 물 섭취량도 차이가 없었다. 삼백초 추출물을 투여한 후 13주 경과 후 마우스의 장기들을 적출하여 신장, 간, 비장 및 심장 등의 무게를 측정하고 Fig. 5A~5D에서와 같이 유의성 있는 차이는 확인되지 않았다. 삼백초 추출물에 의한 만성 간독성을 살펴보기 위하여 삼백초 추출물을 13주간 장기적으로 경구 투여 후 혈장 GOT와 GPT를 측정하고 Fig. 5E와 5F에서와 같이 대조군과 비교하여 GOT와 GPT 농도가 삼백초 추출물의 투여에 의하여 증가되는 양상은 나타나지 않았으며, 각 그룹 간에 차이는 확인되지 않았다. 따라서 삼백초 추출물은 500 mg g/kg의 투여량에 대해서 만성독성이 없는 것으로 확인되었다.

삼백초 추출물에 의한 위장 내 출혈 억제 효과

WIRS를 유발하지 않은 생쥐(control)의 위장 내면에 비하여 WIRS를 유발한 생쥐의 위장 내면은 Fig. 1에서와 같이 위장 내 출혈이 발생하였다. 위염을 유발하기 전에 250 mg/kg 농도의 삼백초 추출물을 경구 투여한 생쥐의 경우 Fig. 6에서와 같이 위장의 출혈이 감소하는 경향을 나타내었으나 여전히 출혈이 있었으며, 500 mg/kg 농도의 삼백초 추출물을 투여한 생쥐의 경우 WIRS를 유발하지 않은 생쥐(control)와 유사한 수준으로 위장 출혈이 감소하였다. 위의 결과에 따라 삼백초 추출물의 투여가 스트레스성 위염에 의해 유발되는 위장 내면의 출혈을 억제시키는 기능을 수행하는 것으로 확인되었다.

삼백초 추출물에 의한 위 조직 부종과 세포손상 억제 효과

WIRS를 유발하지 않은 생쥐(control)의 위 조직 부종 및 세포손상에 비하여 WIRS를 유발한 생쥐의 위 조직 부종 및 세포손상 정도를 측정하기 위하여 위 조직을 10% 포르말린으로 고정하고 표본을 만들어 hematoxylin-eosin 염색 후 부종 여부와 상피세포의 손상을 계산한 결과 Fig. 7에서와 같이 대조군은 상피세포와 lamina propria가 정상으로 나타났으나 WIRS를 유발한 위 조직에서는 lamina propria에 부종이 있고 상피세포의 손상 정도가 심하였다. 삼백초 추출물 투여에 의한 위 조직 부종 및 세포손상 억제 효과를 알아보기 위하여 삼백초 추출물 250 mg/kg과 500 mg/kg을 투여한 그룹에서는 농도 의존적으로 부종의 정도와 상피세포의 손상 정도가 감소하는 경향을 나타내었다. 특히 500 mg/kg의 삼백초 추출물을 투여한 그룹에서는 정

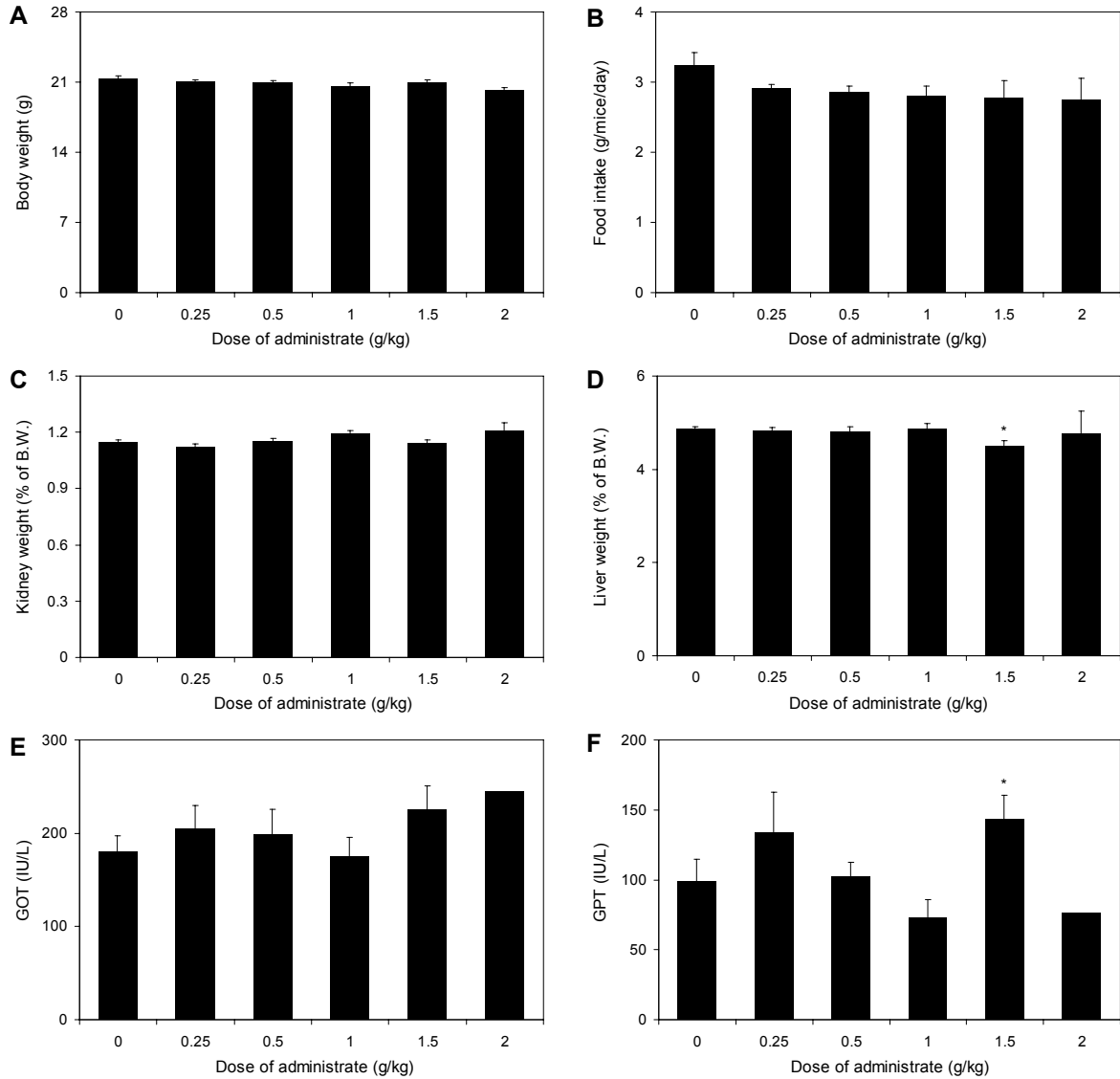


Fig. 3. Effect on growth of mouse by once oral administration of *Saururus chinensis* extracts. (A) body weight, (B) feeding amount/d, (C) kidney weight, (D) liver weight, (E) GOT, (F) GPT. * $P < 0.05$ vs. dose of 0 g/kg.

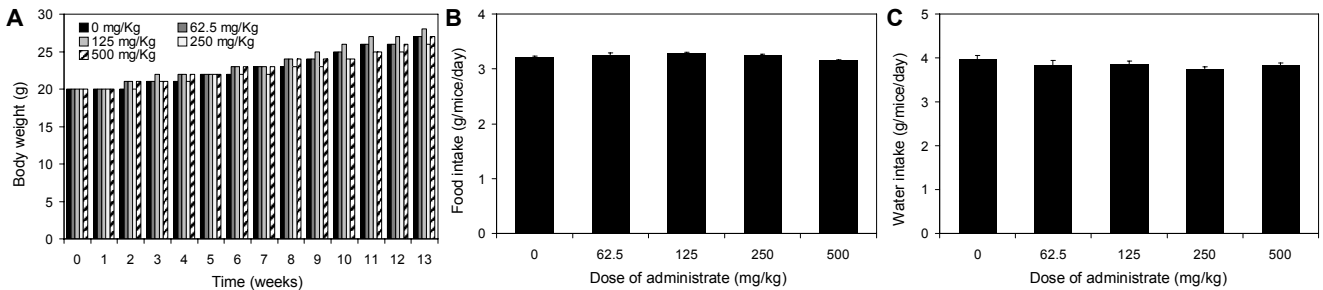


Fig. 4. Effect on growth of mouse by oral administration for 13 weeks of *Saururus chinensis* extracts. (A) body weight, (B) feeding amount/d, (C) intake amount of water kidney.

상세포와 유사한 구조를 보이고 있었다. 따라서 삼백초 추출물의 투여가 스트레스성 위염에 의해 유발되는 위 조직 부종 및 세포손상에 대하여 억제 효과가 있는 것으로 확인되었다.

삼백초 추출물에 의한 염증 cytokine의 억제 효과

Interleukin-6(IL-6)와 interleukin-1β(IL-1β)는 monocyte, macrophage, B-cell, dendritic cell, endothelial

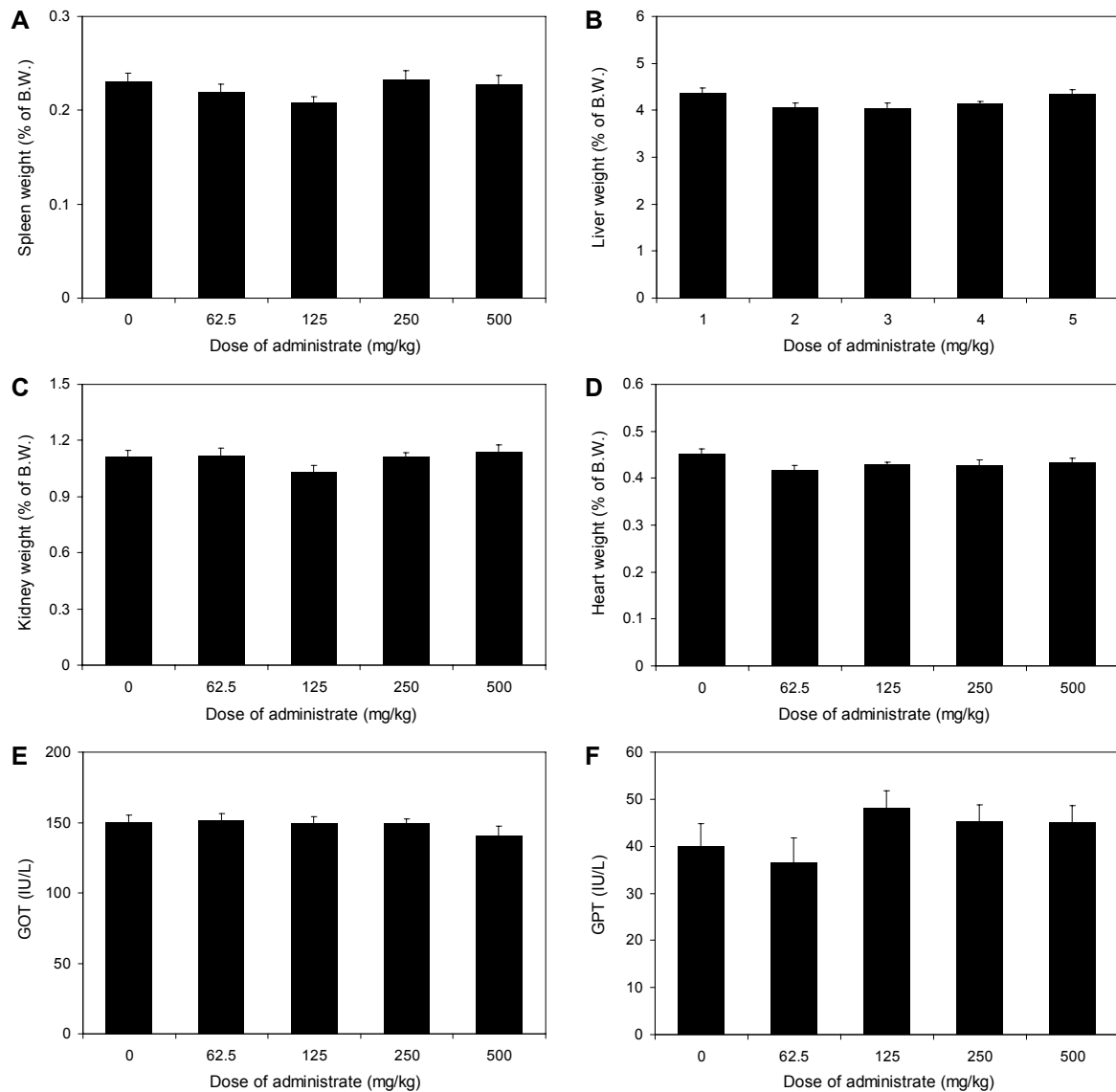


Fig. 5. Effect on growth of mouse by oral administration for 13 weeks of *Saururus chinensis* extracts. (A) spleen weight, (B) liver weight, (C) kidney weight, (D) heart weight, (E) GOT, (F) GPT.

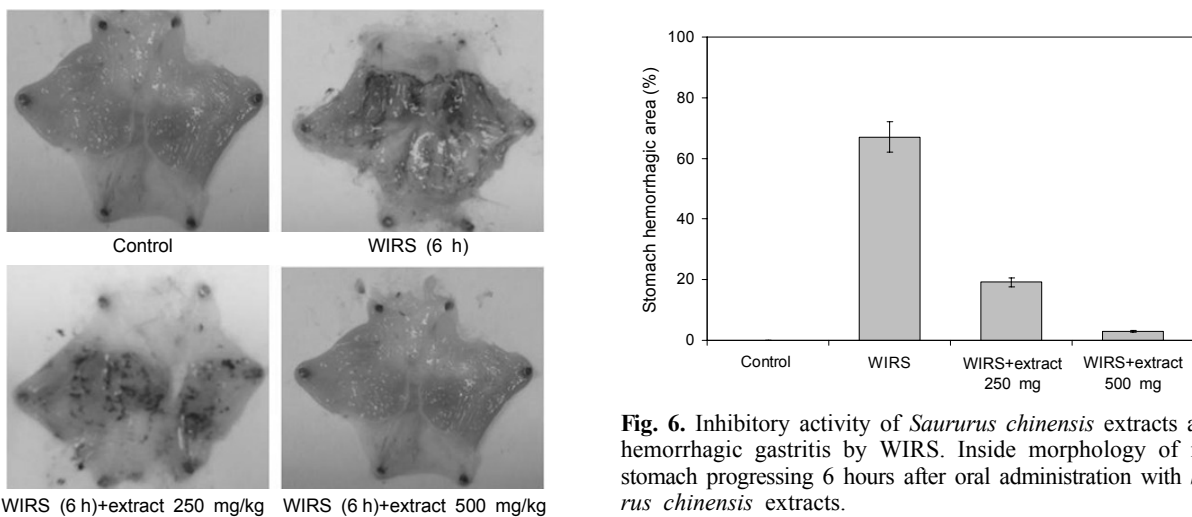


Fig. 6. Inhibitory activity of *Saururus chinensis* extracts against hemorrhagic gastritis by WIRS. Inside morphology of mouse stomach progressing 6 hours after oral administration with *Saururus chinensis* extracts.

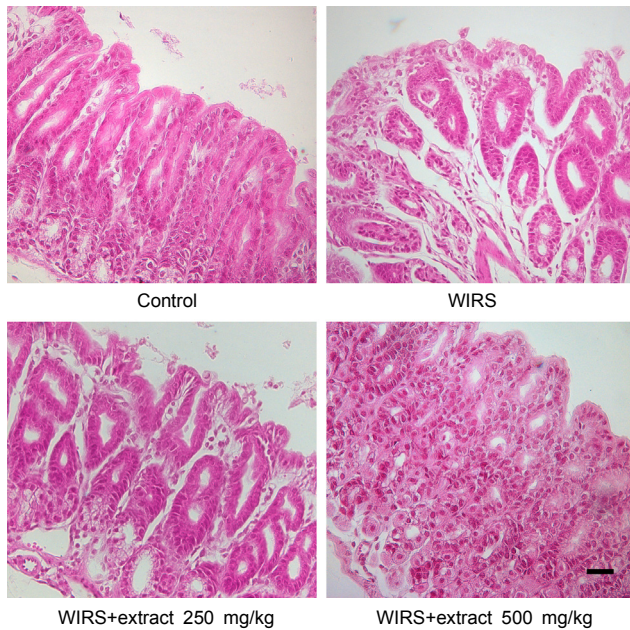


Fig. 7. Morphology of stomach tissue by hematoxylin-eosin stain with 10% formalin.

cell, neutrophil과 hepatocyte에서 분비되며, TNF- α , IL-2 등과 함께 proinflammatory cytokine으로 여러 면역학적 작용들과 연관이 있다. 특히 IL-1 β 는 T-cell의 activation, B-cell의 maturation, NK cell의 activity를 활성화한다. 삼백초 추출물에 의하여 염증성 사이토카인 IL-6와 IL-1 β 의 발현(expression) 억제 정도를 측정된 결과 Fig. 8A와 8B에서와 같이 WIRS 유발 후 삼백초 추출물을 투여하지 않은 생쥐 혈액의 IL-6와 IL-1 β 발현 수준과 비교하여 WIRS 유발 후 250, 500 mg/kg의 삼백초 추출물을 주입한 실험군에서는 IL-6(Fig. 8A)와 IL-1 β (Fig. 8B)의 발현 정도가 대조군 수준으로 유의성 있게 감소하는 것을 확인하였다. 따라서 삼백초 추출물의 투여에 의하여 스트레스성 위염에 동반되는 염증성 cytokine의 감소가 일어나 위염 억제 효과가 있는 것으로 확인되었다. Cho와 An(23)은 청목노상 뽕잎 추출물이 염증성 cytokine을 감소시킴으로써 항염증기능을 나타

내었다고 보고한 결과에서 유추해 볼 때 삼백초 추출물이 IL-6나 IL-1 β 등의 cytokine을 감소시키는 결과를 나타냄에 따라 염증 억제 기능을 가지는 것이 입증되었다.

삼백초 추출물이 WIRS에 의한 inducible nitric oxide synthase(iNOS) 발현에 미치는 영향

Nitric oxide(NO)는 다양한 생물학적 기능을 조절하는 유리라디칼로 염증성 질환의 발병에 관여한다. NO의 생성에는 NO synthase(NOS)라는 효소가 작용한다. NOS에는 constitutive NOS(cNOS)와 inducible NOS(iNOS) 두 종류가 있는데, iNOS의 protein expression이 감소함으로써 염증 억제 효과를 기대할 수 있다.

NO 생성에 관여하는 iNOS 단백질 발현 정도를 조사하기 위하여 immunoblot analysis를 이용하여 western blot으로 측정된 결과 Fig. 9A에서와 같이 iNOS expression은 대조군에 비하여 WIRS 유발군에서 증가하는 경향을 나타내었다. 삼백초 추출물을 투여한 그룹은 WIRS 유발 후 삼백초 추출물을 투여하지 않은 군에 비하여 유의성 있게 iNOS expression 정도가 감소하는 경향을 나타내어 삼백초 추출물의 투여에 의해 염증 억제 효과가 있음을 확인하였다. 또한 산화성 스트레스를 나타내는 인자인 nitrotyrosine의 발현 정도도 Fig. 9B에서와 같이 iNOS 발현과 유사한 경향을 나타내었다. 삼백초 추출물을 투여한 그룹에서는 WIRS 유발 후 삼백초 추출물을 투여하지 않은 군에 비하여 nitrotyrosine expression 정도가 유의성 있게 감소하는 결과를 나타내었다. 이러한 결과는 삼백초 추출물의 투여에 의해 염증 억제와 산화성 스트레스의 억제 효과가 있음을 나타내고 있다. So 등(24)과 Byun 등(25)은 약용작물인 산더덕과 현삼 추출물에 의해 대식세포에서 iNOS와 COX-2 발현이 저해되어 염증 억제 효과가 있다고 보고하였으며, 본 연구에서도 약용작물의 일종인 삼백초 추출물에서 iNOS에 대해 높은 억제 효과를 나타내는 것으로 보아 NO와 상호 작용을 가진 iNOS의 발현 억제에 의해 염증반응의 억제 효과를 기대할 수 있었다.

이상의 결과에서와 같이 삼백초 추출물은 WIRS로 유도

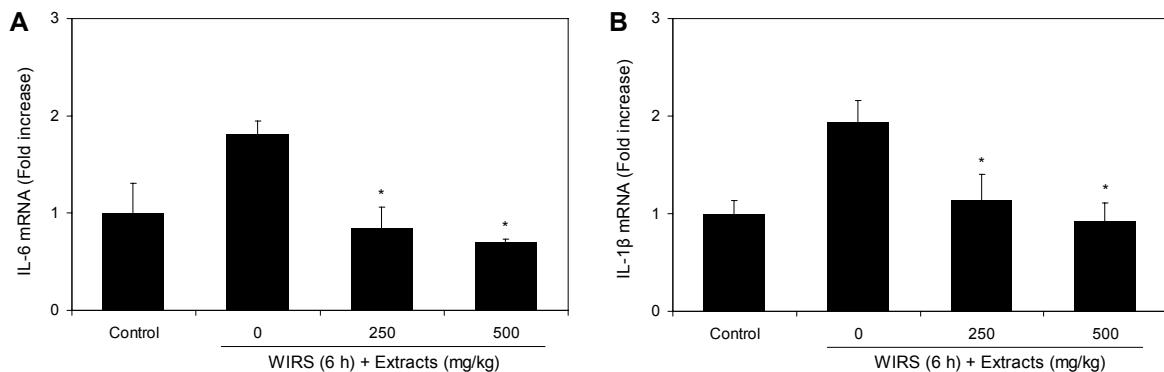


Fig. 8. Effect of *Saururus chinensis* extracts against interleukin-6 (IL-6) and interleukin-1 β (IL-1 β) expression by WIRS. * $P < 0.05$ vs. WIRS group.

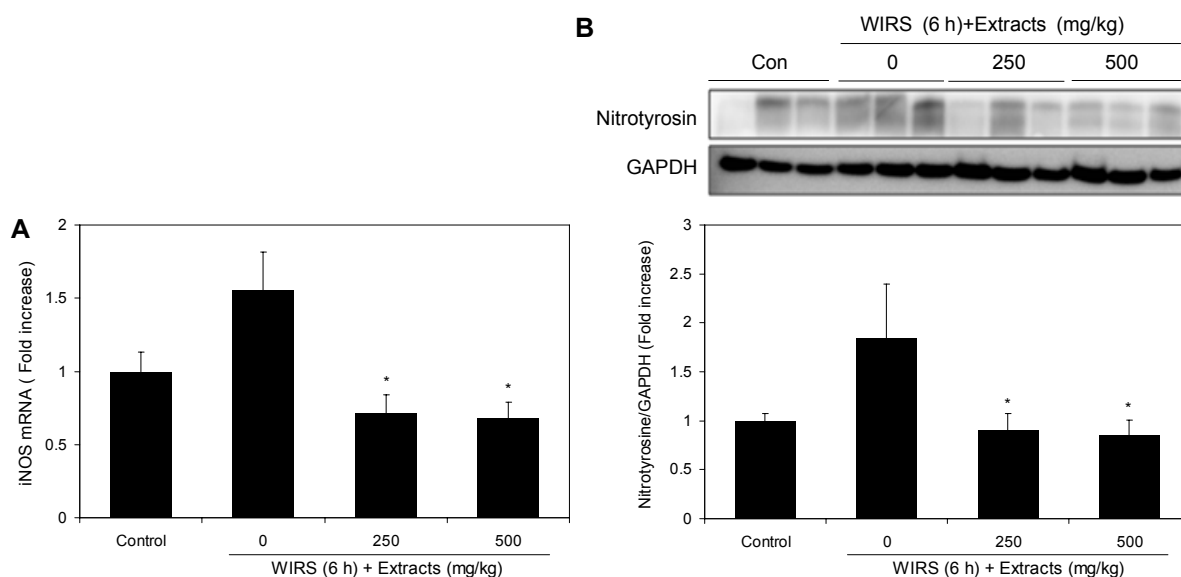


Fig. 9. Effect of *Saururus chinensis* extracts against inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression by WIRS. * $P < 0.05$ vs. WIRS group.

한 위염의 출혈 및 세포손상을 농도 의존적으로 억제하는 효과가 있었다. 또한 염증반응의 억제에도 효과가 있음을 확인하였다. 이러한 결과는 염증성 사이토카인의 발현을 억제하는 mechanism에 의한 것으로 판단되었다. 따라서 삼백초 추출물의 투여는 스트레스성 위염의 예방적인 효과를 볼 수 있다고 생각되었다.

요 약

천연 생리활성 물질 탐색 연구의 일환으로 삼백초로부터 위염 억제 물질을 추출하여 효능을 검정하였다. 삼백초 추출물 0.25~2 g/kg B.W.를 마우스에 경구 투여한 결과 1.5 g/kg B.W. 미만 투여량의 급성독성 실험에서 안정성을 나타내었으며 LD₅₀은 1.81 g/kg B.W.였다. 삼백초 추출물 0.5 g/kg B.W.를 마우스에 경구 투여한 만성독성 실험에서는 13주간의 투여기간 동안 독성이 없는 것으로 나타났다. 위염을 유발시키기 전에 삼백초 추출물을 250 및 500 mg/kg B.W. 농도로 미리 섭취시킨 결과 위출혈 및 위부종과 세포손상 농도 의존적으로 감소하였다. 또한 사이토카인의 발현도 억제되었다. 따라서 삼백초 추출물은 스트레스성 위염에 의한 출혈 및 세포손상을 농도 의존적으로 억제하는 효과가 있으며, 그 mechanism은 염증성 사이토카인의 발현 억제에 의한 것이라 생각되었다.

감사의 글

본 연구는 2012년 지식경제부에서 시행한 지역산업개발사업의 기술개발 결과이며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Ham JS. 1996. Gastritis, peptic ulcer, functional gastroenteric trouble. *J Korean Med Assoc* 39: 630-632.
- Chao C, Hellmich MR. 2010. Gastrin, inflammation, and carcinogenesis. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 17: 33-39.
- Ding SZ, Goldberg JB, Hatakeyama M. 2010. *Helicobacter pylori* infection, oncogenic pathways and epigenetic mechanisms in gastric carcinogenesis. *Future Oncol* 6: 851-862.
- Kwak I. 1997. The relationship of *Helicobacter pylori* infection and upper gastrointestinal diseases in Korean adults. *Korean J Aerosp Environ Med* 7: 59-67.
- Min YI. 1992. Remedy of gastritis. *J Korean Med Assoc* 35: 895-901.
- de Fonesca A, Kaunitz JD. 2010. Gastroduodenal mucosal defense. *Curr Opin Gastroenterol* 26: 604-610.
- Ock CY, Hong KS, Choi KS, Chung MH, Kim YS, Kim JH, Hahm KB. 2011. A novel approach for stress-induced gastritis based on paradoxical anti-oxidative and anti-inflammatory action of exogenous 8-hydroxydeoxyguanosine. *Biochem Pharmacol* 81: 111-122.
- Kwon JA. 1999. A second series about *Saururus chinensis* and *Houttuynia cordata* Thunberg. *J Korea Orient Drug* 2: 28-32.
- Park JH, Lee CK. 2000. *The encyclopedia of medicinal plants*. Shinil Books, Seoul, Korea. p 202-203.
- Lee YN. 2002. *Flora of Korea*. Kyo-Hak Publishing Co., Ltd., Seoul, Korea. p 218-219.
- Choe KH. 1999. A study on chemical composition and anti-microbial activity of Saururaceae growing in Korea. *PhD Dissertation*. Kyung Hee University, Seoul, Korea. p 45-63.
- A Society for Korea Medicinal Botany. 2001. *Medicinal botany*. Hakchang Publishing Co., Seoul, Korea. p 176.
- Choe KH, Yoon CH, Kwon SJ. 1994. A study on chemical composition of Saururaceae growing in Korean on flavonoid constituents of *Saururus chinensis*. *Anal Sci Technol* 7: 11-15.
- Park JH, Lee JK. 2000. *The encyclopedia of medicinal plants*.

- Shinil Books, Seoul, Korea. p 202-203.
15. Kim SK, Ban SY, Kim JS, Chung SK. 2005. Change of anti-oxidant activity and antioxidant compounds in *Saururus chinensis* by extraction conditions. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 48: 89-92.
 16. Kwak JW, Kwon CH. 1988. Pharmacological studies on *Saururus chinensis* Baill. *MS Thesis*. Kyung Hee University, Seoul, Korea. p 39.
 17. Kwon SH. 1996. The isolation of anti-hepatotoxic constituents from *Saururus chinensis*. *MS Thesis*. Seoul National University, Seoul, Korea. p 40.
 18. Lee, ST, Lee YH, Choi YJ, Lee YH, Cho JS, Heo JS. 2001. Yield and bioactive component on different compost amounts and culture method of *Saururus chinensis* Baill. *Korean J Medicinal Crop Sci* 9: 220-224.
 19. Lee ST, Park JM, Lee HK, Kim MB, Cho JS, Heo JS. 2000. Component comparison in different growth stages and organs of *Saururus chinensis* Baill. *Korean J Medicinal Crop Sci* 8: 312-318.
 20. Kim BH, Song WS. 2000. The dyeability and antimicrobial activity of *Saururus chinensis* (I). *J Korean Home Econ Assoc* 38: 1-9.
 21. Sheeba MS, Asha VV. 2009. *Cardiospermum halicacabum* ethanol extract inhibits LPS induced COX-2, TNF- α and iNOS expression, which is mediated by NF- κ B regulation, in RAW 264.7 cells. *J Ethnopharmacol* 124: 39-44.
 22. Nakada SL, Crothers JM Jr, Machen TE, Forte JG. 2012. Apical vacuole formation by gastric parietal cells in primart culture: effect of low extracellular Ca²⁺. *Am J Physiol Cell Physiol* 12: 1301-1311.
 23. Cho YJ, An BJ. 2008. Anti-inflammatory effect of extracts from *Cheongmoknosang* (*Morus alba* L.) in lipopolysaccharide-stimulated raw cells. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 51: 44-48.
 24. So MS, Lee JS, Yi SY. 2004. Induction of nitric oxide and cytokines in macrophages by *Codonopsis lanceolata*. *Korean J Food Sci Technol* 36: 986-990.
 25. Byun SH, Yang CH, Kim SC. 2005. Inhibitory effect of *Scrophulariae Radix* extract on TNF- α , IL-1 β , IL-6 and nitric oxide production in lipopolysaccharide-activated Raw 264.7 cells. *Korean J Herbology* 20: 7-16.