ISSN (Print) 1225-9918
ISSN (Online) 2287-3406
Journal of Life Science 2016 Vol. 26. No. 12. 1466~1469 DOI : http://dx.doi.org/10.5352/JLS.2016.26.12.1466

- Note -

Comparison of Effects of Oriental Medicines from Rutaceae Fruits on Gastric Emptying and Intestinal Transit in Mice

Hyun-Tai Lee*

Department of Life Science & Biotechnology, Dong-eui University, Busan 47340, Korea

Received October 4, 2016 /Revised October 26, 2016 /Accepted November 10, 2016

A group of traditional folk medicines obtained from the fruits of Rutaceae plants, such as Ponciri Fructus Immaturus (PFI) from *Poncirus trifoliata* Raf., Aurantii Fructus Immaturus (AFI) and Aurantii Pericarpium (AP) from *Citrus aurantium* L., and Aurantii Nobilis Pericarpium (ANP) from *Citrus unshiu* Marc., has been widely used for improving poor gastrointestinal function in East Asia, including in China and Korea. In the present study, the effects of Rutaceae-fruit-derived folk medicines on gastrointestinal motor function were investigated and compared by measuring *in vivo* gastric emptying and intestinal transit in mice. Among the aqueous and ethanolic extracts of some Rutaceae-fruit-derived folk medicines, an ethanolic extract of AP (AP-E) significantly accelerated intestinal transit in a dose-dependent manner without affecting gastric emptying. Furthermore, the intestinal transit rate of AP-E was the highest among all extracts examined in this study, including aqueous extracts of PFI, AFI, and ANP, of which the activities of accelerating intestinal transit have been already reported.

Key words : Aurantii Pericarpium, *Citrus aurantium*, gastric emptying, intestinal transit, Rutaceae

서 론

운향과(芸香科, Rutaceae) 식물의 과실(果實)을 소재로 하는 일군의 한약재들은 우리나라와 중국 등지에서 오래 전부터, 각종 소화계 관련 질병 치료[1, 6, 8]를 포함하여 다양한 용도로 한의학에서 처방되어 왔다[3]. 이러한 운향과 과실 유래 한약재들은 flavone 배당체 성분을 공통적으로 함유하고 있으며[3, 7], 지실(枳實, Ponciri Fructus Immaturus; PFI)은 탱자나무(*Poncirus trifoliata* Raf.)의 미성숙 과실을, 지각(枳殼, Aurantii Fructus Immaturus; AFI) 및 등피(橙皮, Aurantii Pericarpium; AP)는 각각 광귤나무(*Citrus aurantium* L.)의 미성숙 과실 및 성숙 과피(果皮)를, 진피(陳皮, Aurantii Nobilis Pericarpium; ANP), 청피(靑皮, Citrii Unshiu Pericarpium), 귤핵(橘核, Citrii Unshiu Semen; CUS)은 각각 귤나무(*Citrus unshiu* Marc.)의 성숙 과피, 미성숙 과피, 성숙 과실의 종자(種子)를 지칭한다.

이러한 운향과 과실 유래 한약재들이 전통적으로 위장관 운동 관련 질환 치료를 위한 주요 약재로 처방되었다는 사실에 근거하여, 이들의 위장관 운동 기능 개선 효능을 밝히는 서양 의학적 연구들이 수행된 바 있다. 대표적인 연구 성과로서, 지실의 경우 열수 추출물[5, 6]에서, 진피는 열수[8] 및 에탄올[4] 추출물에서 마우스의 장 이송률(intestinal transit rate; ITR)을 유의적으로 증가시키는 데 반해, 청피 추출물[4, 8]은 ITR을 유의적으로 변화시키지 못한다는 사실이, 본 연구진에 의해 보고되었다. 또한, 지실 열수 추출물은 위 배출 속도(gastric emptying rate; GER)에는 유의적인 영향을 주지 않지만[6], 지각은 열수[2] 및 70% 에탄올[9] 추출물에서 GER 및 ITR를 모두 증가시킨다는 연구 결과도 보고된 바 있다. 반면, 귤핵 및 등피가 GER 또는 ITR에 미치는 영향에 대해서는 아직까지 보고된 바 없다. 본 연구에서는, 상기 운향과 과실 유래 한약재들 중 본 연구진에 의해 중점적으로 연구된 바 있는 지실, 진피, 청피 이외의 약재 3종, 즉 지각, 귤핵, 등피에 대하여 열수 및 에탄올 추출물을 제조한 후, *in vivo* 동물 실험을 통해 이들 한약재가 마우스의 GER 및 ITR에 미치는 영향을 비교 검정하였다.

재료 및 방법

식물 재료 및 추출물 제조

본 연구에 사용된 지각(AFI), 귤핵(CUS), 등피(AP), 지실(PFI), 진피(ANP)는 모두 대한생약제품㈜(부산, 대한민국)에서 구입하였으며, 입자 크기 5 mm미만이 되도록 각 한약재들을 분쇄한 후 열수 및 에탄올 추출을 각각 실시하였다. 열수 추출의 경우, 분쇄한 한약재 100 g에 증류수(distilled water; DW) 1 l를 가한 후 100℃에서 3시간 중탕하는 방법을 3회 반복하여 추출액을 얻었다. 에탄올 추출의 경우, 분쇄한 한약재 100 g에 에탄올 500 ml를 가하고 40℃에서 2시간 sonication

***Corresponding author**
Tel : +82-51-890-1534, Fax : +82-505-182-6871
E-mail : htlee@deu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

후 상온에서 하루 방치하는 방법을 3회 반복하여 추출액을 얻었다. 이렇게 얻은 추출액들을 여과, 감압 농축, 그리고 동결 건조의 과정을 거쳐 최종적으로 분말 상태의 추출물을 얻었다. 5종의 한약재들 중 지각, 귤핵, 등피는 열수 및 에탄올 추출을 모두 실시하였으며, ITR 측정 실험에서 양성 대조군 투여 약재로 쓰인 지실 및 진피는 열수 추출만 실시하였다. 그 결과, 최종 건중량 28.2 g (지각; AFI-W), 23.0 g (귤핵; CUS-W), 35.5 g (등피; AP-W), 31.5 g (지실; PFI-W), 38.3 g (진피; ANP-W)의 열수 추출물 및 20.5 g (지각; AFI-E), 22.1 g (귤핵; CUS-E), 16.9 g (등피; AP-E)의 에탄올 추출물을 각각의 한약재 100 g으로부터 얻을 수 있었다.

시약

본 연구에 사용된 Evans blue (catalog no. E2129), methyl cellulose (M0512), metoclopramide (M0763), phenol red (P3532), 그리고 trichloroacetic acid (T6399)는 모두 Sigma-Aldrich 社(St. Louise, MO)로부터 구입하였다.

실험 동물

㈜샘타코(오산, 대한민국)에서 구입한 수컷 4주령 ICR 마우스를 동의대학교 자연과학대학 내 동물실에서 2주 이상 사육하여 새로운 환경에 충분히 적응시킨 후, 체중 25-30 g의 개체들을 선별하여 실험에 사용하였다. 동물실은 온도 25±1℃, 습도 55±5%, 조명 시간 7 am-7 pm의 환경 조건을 항상 유지하였으며, 멸균 처리된 사료(동아원㈜, 서울, 대한민국) 및 DW를 실험 동물이 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였다. 모든 동물 실험은 동의대학교 동물실험윤리위원회의 승인 하에 동 위원회의 규정을 준수하여 수행되었다(승인 번호: R2014-007). 모든 실험 동물은 *in vivo* 실험 전 약 20시간 절식시켰으며, DW는 자유롭게 마실 수 있도록 하였다.

위 배출 속도 측정

본 연구에서는 phenol red meal (0.05%, w/w in DW with 1.5% methyl cellulose)의 위 배출 속도(GER)를 측정하는 방법을 사용하였다[6]. DW에 녹인 지각, 귤핵, 등피 추출물을 각각 0.01, 0.1, 1 g/10 ml/kg씩 용량 별로 경구(peroral; p.o.) 투여하였으며, 대조군에는 DW 10 ml/kg을, 양성 대조군에는 DW에 녹인 metoclopramide 20 mg/10 ml/kg을 각각 경구 투여하였다. 시험 약물 경구 투여 후 30분 경과 시점에서 phenol red meal 1.5 ml 경구 투여하였으며, phenol red 투여 15분 후 마우스를 경추탈골하여 안락사시키고 즉시 개복한 다음, 위-식도 접합부 및 유문부를 클램프로 막은 상태로 위를 적출하여 생리 식염수로 세척하였다. 세척한 위에 0.1 N NaOH 25 ml를 가하고 균질화한 후 1시간 방치하였으며, 상층액 5 ml에 20% trichloroacetic acid (w/v) 0.5 ml를 가한 후 3,000 rpm에서 20분 동안 원심 분리하였다. 상층액 1 ml과 0.5 N NaOH 4 ml를 혼합한 후, 분광 광도계(U-3000; Hitachi 社, Tokyo, Japan)를 사용하여 560 nm에서 흡광도(A560)를 측정하였다. GER 산출을 위해, phenol red 투여 직후 마우스를 안락사시키고 상기 방법에 의해 흡광도(즉, 위 배출 0% 시의 A_{560})를 측정하였으며, 다음의 식을 활용하여 GER 값을 계산하였다.

GER (%) = {1-(시험 약물 투여 후 측정한 A_{560}/위 배출 0% 시의 A_{560})} ×100

장 이송률 측정

본 연구에서는 Evans blue 용액(5%, w/v in DW)의 장 이송률(ITR)을 측정하는 방법을 사용하였다[8]. 한약재 추출물(또는 DW) 경구 투여 후 30분 경과 시점에서 Evans blue 0.1 ml 경구 투여하였으며, Evans blue 투여 후 30분 경과 시점에서 마우스를 경추탈골하여 안락사시켰다. 이후 즉시 개복하고 소장 전체를 적출하였으며, 장간막을 포함한 소장 주변 조직들을 제거한 후 소장이 늘어나지 않도록 주의하면서 신속하게 소장 전체를 일직선으로 배열하였다. 소장 전체의 길이(유문부-맹장 입구) 및 Evans blue가 이동한 거리를 자로 측정하여 ITR의 지표로 삼았다.

ITR (%) = (Evans blue가 이동한 거리/소장 전체의 길이) × 100

통계 처리

모든 군의 실험 결과 수치는 평균±표준 오차(mean±SEM)로 나타내었다. 군 간의 유의성 검정은 일원 배치 분산 분석(one-way ANOVA) 및 Student's *t*-test를 통해 이루어졌으며, $p<0.05$일 때 유의적인 차이가 있는 것으로 판단하였다.

결과 및 고찰

지각, 귤핵, 등피 추출물이 위 운동성에 미치는 영향을 파악하기 위해 *in vivo* phenol red 위 배출 속도 측정 실험을 수행하였다(Table 1). 먼저, 양성 대조군(metoclopramide 20 mg/kg, p.o.)의 GER이 대조군에 비해 유의적으로 높았다. 지각의 경우, 열수 추출물(AFI-W) 1 g/kg 투여 시 대조군보다 GER이 유의적으로 높았으나, 에탄올 추출물(AFI-E)은 어느 용량에서도 유의적인 차이를 보이지 않았다. 지각의 열수[2] 및 70% 에탄올[9] 추출물에서 GER을 증가시킨다는 기존의 연구 결과를 고려할 때, 위 배출을 촉진시키는 지각 함유 성분들의 극성이 에탄올보다는 물과 가까울 것으로 추측된다. 한편, 귤핵 및 등피 추출물들은 어느 투여 용량에서도 대조군과 비교하여 GER의 유의적인 차이를 보이지 않았다.

운향과 과실 유래 한약재들이 장 운동에 미치는 효과를 비교하기 위해 *in vivo* Evans blue 장 이송률 측정 실험을 수행하였다(Table 2). 본 연구진의 이전 연구를 통해 활성이 입증된

Table 1. Effects of metoclopramide and Rutaceae extracts on GER in mice (n=8 for each group)

Treatment	Dose (mg/kg, p.o.)	GER (%), mean±SEM
Control	-	62.83±4.42
Metoclopramide	20	78.41±4.75*
AFI-W	10	64.36±4.78
	100	67.14±3.97
	1,000	73.79±3.34*
AFI-E	10	61.90±5.22
	100	63.53±4.07
	1,000	69.02±3.99
CUS-W	10	58.88±3.14
	100	63.09±3.99
	1,000	64.27±4.48
CUS-E	10	60.05±4.08
	100	61.29±3.86
	1,000	61.77±4.31
AP-W	10	61.17±3.75
	100	63.98±4.64
	1,000	70.35±5.13
AP-E	10	62.42±5.09
	100	67.08±4.74
	1,000	70.85±4.38

* $p<0.05$ vs. control.

Table 2. Effects of Rutaceae extracts on ITR in mice (n=8 for each group)

Treatment	Dose (mg/kg, p.o.)	ITR (%), mean±SEM
Control	-	57.89±3.51
PFI-W	1,000	73.19±4.53*
ANP-W	1,000	72.90±4.25*
AFI-W	10	63.50±4.52
	100	64.84±3.53
	1,000	71.47±3.81*
AFI-E	10	60.09±4.25
	100	65.72±4.50
	1,000	66.29±4.78
CUS-W	10	59.10±5.19
	100	57.09±4.60
	1,000	62.20±4.77
CUS-E	10	56.81±5.21
	100	59.90±3.97
	1,000	59.05±5.03
AP-W	10	60.72±3.64
	100	63.34±4.47
	1,000	67.05±5.31
AP-E	10	62.92±4.40
	100	69.98±3.35*
	1,000	75.27±4.17*

* $p<0.05$ vs. control.

바 있는 지실(PFI-W) 및 진피(ANP-W) 열수 추출물 1 g/kg [5, 6, 8]을 양성 대조군에 투여하였으며, 두 양성 대조군 모두 대조군에 비해 ITR이 유의적으로 높았다. 지각의 경우, GER 실험 결과와 마찬가지로 열수 추출물(AFI-W) 1 g/kg 투여 시 대조군보다 ITR이 유의적으로 높았으나, 에탄올 추출물(AFI-E)은 어느 용량에서도 유의적인 차이를 보이지 않았다. 귤핵 추출물들은 어느 투여 용량에서도 대조군의 ITR과 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다. 등피의 경우, 열수 추출물(AP-W)은 어느 용량에서도 대조군과 비교하여 ITR의 유의적인 차이를 보이지 않았지만, 에탄올 추출물(AP-E)은 100 mg/kg 및 1 g/kg 투여 시 ITR이 대조군에 비해 유의적으로 높았으며 ITR의 용량 의존적 증가 양상이 뚜렷하게 나타났다. 이는 등피 에탄올 추출물의 ITR 증가 효능에 대한 최초의 보고이다. 또한, ITR 증가 효과가 이미 보고된 바 있는 지실, 진피, 지각 열수 추출물들과 1 g/kg 투여 시의 ITR을 직접 비교하였을 때에도, 등피 에탄올 추출물이 수치 상으로 가장 높은 75.27±4.17%를 기록하였다(지실 73.19±4.53%, 진피 72.90±4.25%, 지각 71.47±3.81%).

이상과 같이, 본 연구에서는 운향과 과실 유래 한약재들이 *in vivo* GER 및 ITR에 미치는 영향을 비교 검정하였다. 이는 hesperidin, limonin, naringin, poncirin, synephrine 등 공통 성분을 다수 함유하는 이 한약재들 간의 위장관 운동 기능 개선 효과를 *in vivo* 동물 실험을 통해 직접 비교한 최초의 연구 자료로서 의미를 가진다. 특히, 등피의 경우 본 연구를 통해 에탄올 추출물에서의 탁월한 장 이송률 증가 효능을 최초로 보고하였으며, 향후 이 추출물의 위장관 운동 기능 개선 활성에 대한 심화 연구가 수행될 계획이다.

감사의 글

본 연구는 국립 농업 과학원 농업 과학 기술 연구 개발 사업(과제 번호: PJ010828022016)의 지원에 의해 수행되었음.

References

1. Fang, Y. S., Shan, D. M., Liu, J. W., Xu, W., Li, C. L., Wu, H. Z. and Ji, G. 2009. Effect of constituents from fructus aurantii immaturus and radix paeoniae alba on gastrointestinal movement. *Planta Med.* **75**, 24-31.
2. Huang, W., Huang, X., Xing, Z., Qiu, X., Wang, Y., Fan, R., Liu, W., Ren, P., Liu, Z. and Zhou, H. 2011. Meranzin hydrate induces similar effect to Fructus Aurantii on intestinal motility through activation of H_1 histamine receptors. *J. Gastrointest. Surg.* **15**, 87-96.
3. Kim, J. 2010. *Pharmacognosy*, pp. 407-414, 2nd ed., Dong

Myeong Publishers: Seoul, Korea.
4. Lee, H. T. 2014. Prokinetic activity of ethanolic extracts from dried *Citrus unshiu* peels in mice. *J. Life Sci.* **24**, 260-265.
5. Lee, H. T., Seo, E. K., Chung, S. J. and Shim, C. K. 2005. Effect of an aqueous extract of dried immature fruit of *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. on intestinal transit in rodents with experimental gastrointestinal motility dysfunctions. *J. Ethnopharmacol.* **102**, 302-306.
6. Lee, H. T., Seo, E. K., Chung, S. J. and Shim, C. K. 2005. Prokinetic activity of an aqueous extract from dried immature fruit of *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. *J. Ethnopharmacol.* **102**, 131-136.
7. Nugroho, A., Park, M. G., Jin, S. E., Choi, J. S. and Park, H. J. 2009. Quantitative analsysis of flavanone glycosides and peroxynitrite scavenging effect of the five oriental medicinal drugs (Aurantii nobilis Pericarpium, Citrii unshiu Pericarpium, Citrii unshiu Semen, Aurantii Fructus, Poncirii Fructus). *Kor. J. Pharmacogn.* **40**, 370-375.
8. Ryu, J. H. and Lee, H. T. 2013. Effects of dried *Citrus unshiu* peels on gastrointestinal motility in rodents. *Arch. Pharm. Res.* **36**, 641-648.
9. Zhang, Y. J., Huang, W., Huang, X., Wang, Y., Wang, Z., Wang, C., Zhong, B. W., Sheng, C. X., Wang, B., Zhang, S. F., Su, N. X., Liu, Z. Q., Zhou, H. H. and Ren, P. 2012. Fructus Aurantii induced antidepressant effect via its monoaminergic mechanism and prokinetic action in rat. *Phytomedicine* **19**, 1101-1107.

초록 : 운향과 식물의 과실 유래 한약재들이 마우스의 위 배출 속도 및 장 이송률에 미치는 영향 비교

이현태*
(동의대학교 생명응용학과)

운향과(Rutaceae) 식물의 과실을 소재로 하는 일군의 한약재들은 위장관 운동 기능 항진을 목적으로 우리나라와 중국 등지에서 오래 전부터 널리 사용되어 왔으며, 대표적인 약재로 각각 탱자나무 및 광귤나무의 미성숙 과실인 지실 및 지각, 각각 광귤나무 및 귤나무의 성숙 과피인 등피 및 진피 등이 있다. 본 연구에서는, 이러한 운향과 과실 유래 한약재들이 위장관 운동 기능에 미치는 영향을 검정하고 이 약재들 간의 효능을 비교하기 위해, 이들 한약재의 열수 및 에탄올 추출물을 제조하여 마우스에 경구 투여한 후 위 배출 속도 및 장 이송률을 측정하는 실험을 수행하였다. 본 연구는, 공통 성분을 다수 함유하는 운향과 과실 유래 한약재들 간의 위장관 운동 기능 개선 효과를 *in vivo* 동물 실험을 통해 직접 비교한 최초의 연구 자료로서 의미를 가진다. 특히, 등피 에탄올 추출물 투여 시 위 배출 속도에는 유의적인 변화 없이 장 이송률의 유의적 및 용량 의존적 증가 양상을 보였으며, 이전 연구들을 통해 장 이송률 증가 효능이 보고된 바 있는 지실, 지각, 진피 열수 추출물 투여군들과 비교했을 때에도 수치 상으로 등피 에탄올 추출물의 장 이송률이 가장 높았다.