J. Fd Hyg. Safety 14(4), 358-364 (1999)

위염 및 위궤양에 미치는 Propolis 추출물의 영향

김은주 · 정기화 · 정춘식†
덕성여자대학교 약학대학

Effects of Propolis Extract on Antigastritic and Antiulcer

Eun-Joo Kim, Ki-Hwa Jung and Choon-Sik Jeong†
College of Pharmacy, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea

ABSTRACT – Propolis, a natural resinous compound collected from honey bees, contains many biochemical constituents and has been used in traditional medicines as early as 300 B.C. Recently, it has been reported to possess many biological activities such as antibacterial, antiviral, fungicidal, local anaesthetic, immunostimulating, antiinflammatory and free radical scavenging properties. This study was performed to investigate the pharmacological effects of the propolis extract and fractions on the gastric lesion and ulcer. The ethanol extract was fractionated with hexane, toluene and ethyl acetate. Followed by bioassay on antigastric and antiulcer activity. Propolis ethanol extracts(500, 750, 1,000, 1,500 and 2,000 mg/kg) showed the protective effect on HCl · ethanol-induced gastric lesion and the antisecretory effect against Shay's gastric secretion in pylorus-ligated rats in a dose related manner. In the animal models of HCl · ethanol, aspirin-induced gastric lesion and Shay's gastric secretion, the hexane and toluene fraction of propolis significantly reduced the length of gastric lesion and the acid secretion. These data showed that the gastric protective effects of propolis might result from reduction of acid secretion through the inactivation of H^+/K^+ATPase activity.

Key words □ Gastritis, Propolis, HCl-ethanol induced gastric lesion, Shay ulceration, Gastric secretion, H^+/K^+ ATPase activity

벌집으로부터 채취한 수지상의 물질인 propolis는 독특한 방향성과 점착성을 가졌으며 성상은 채취장소와 시간에 따라 다르다. Propolis는 벌집내부에 부착되어 있는 물질로 벌집을 미생물등으로부터 보호해주는 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 어원은 라틴어의 prop(기둥)와 그리스어의 polis (도시)의 합성어로 벌들의 도시를 지탱해 주는 기둥이라는 의미를 갖고 있다.

남미를 비롯한 여러나라에서 민간요법으로 사용되는 propolis가 최근 국내에서도 건강식품으로 다양한 질환의 치료 및 예방의 목적으로 사용되 있으며 그 성분중에 포함된 flavonoid와 phenolic acid 유도체들이 나타내는 항산화작용에 기인한 다양한 약리작용에 대해 더 많은 연구와 관심이 모아지고 있다.[1-4] 특히 피부, 점막 및 구강 감염에 대한 치료효과는 propolis에서 분리동정된 다양한 물질에 기인한 것으로 적어도 150여개의 terpene류나, caffeic acid ester류[5], flavonoids 및 amino acids 등과 같은 phenylpropane 유도체들이 관여하는 것으로 알려져 있다.[1,6-8] 항균효과[10-12]와 항진균[13-15] 효과 뿐 만 아니라 방부 작용은 이들 추출물이 피부과 영역과 치과영역에서의 응용 가능성을 나타낸다.[3]

본 실험은 propolis가 건강식품의 형태로 위궤양의 증상 개선 및 치료의 목적으로 사용되고 있고 그 외 ethanol추출물이 우수한 소염진통작용을 발휘하면서도 일반적인 NSAIDs의 부작용인 위장관에 대한 부작용을 나타내지 않는다는 연구보고[16] 및 그 성분가운데 강력한 항산화 작용을 발휘한다고 알려진 flavonoids와 phenolic acid 등이 다량 함유되어 있다는 것에 착안하여 propolis가 위염 및 위궤양에 미치는 영향을 다양한 실험모델을 이용하여 평가하고자 한다. 즉, 용량을 달리한 propolis ethanol추출물을 이용하여 HCl·ethanol유발 위손상실험, 유문 결찰 4시간 후 위액 분비, pH 및 산분비량 실험을 실시하여 급성위손상에 미치는 영향을 확인하였으며 ethanol추출물을 hexane, toluene 및 ethyl acetate로 계통분획하여 각 분획이 HCl. ethanol유발

†Author to whom correspondence should be addressed.

위손상과 유문 결찰 후 위액 분비, pH 및 산분비량에 미치는 실험을 실시하여 급성 위손상에 미치는 영향과 aspirin과 초산으로 유발한 급성 위궤양과 만성 위궤양에 미치는 영향을 확인하였으며 또 그 기전을 확인하기 위해 *in vitro*에서 H^+/K^+ ATPase의 활성을 측정하여 그 유효성을 확인하였다.

재료 및 방법

재 료

본 실험에 사용한 propolis는 오스트레일리아의 propolis ethanol 추출물을 선인상사로부터 공급받아 사용하였다.

시약 및 기기

실험에 사용한 시약으로서 sucrose(Shinyo pure Chemicals Co., Ltd), carboxymethyl cellulose(Junsei chemical Co.), absolute ethanol, n-butyl alcohol, formaldehyde, cimetidine, sucralfate(중외제약), aspirin, omeprazole(영진약품)을 사용했으며 기타 시약 및 추출용매는 분석용 일급시약을 사용하였다.

기기로서 손상 및 궤양의 측정에 쓰인 현미경은 Kyowa Tokyo의 No.870518을 사용하였으며 그 외 pH meter (Metrohm pH meter), high speed centrifuge (Sorvall RT-6000), UV spectrophotometer(Hewlett Packard HP 8452 A Diode-Array), evaporator(Eyela), tissue tearor(Biospec products, Inc. Model 985-370), ice maker(Welbilt Co.), micropipet(Gilson Co.) 등을 사용하였다.

실험동물

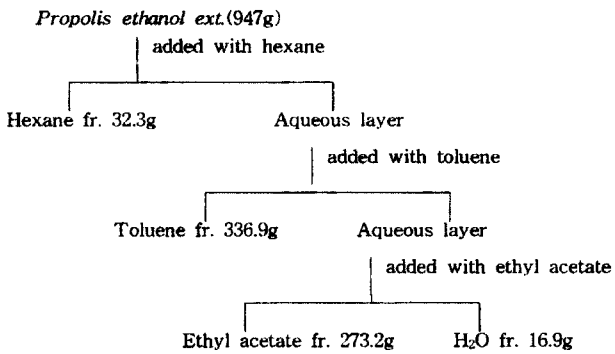
체중 150-250 g의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 22±2 °C에서 2주 이상 사육하여 실험실 환경에 적응시킨 뒤 실험에 사용하였고 고형사료(삼양사료) 및 물을 충분히 공급하였다. H^+/K^+ ATPase의 활성을 측정하기 위한 돼지의 신선한 위는 마장동에서 구입하였다.

Propolis의 추출, 분획 및 검체 조제

Propolis의 ethanol 추출물은 Schem 1과 같이 hexane, toluene 및 ethyl acetate를 사용하여 계통적으로 분획하고 각 분획물은 감압농축하여 건조시켰다. 검체는 1% CMC에 현탁하여 동물에 투여하였다.

HCl · ethanol 위손상에 대한 작용

체중 200 g 내외의 수컷 흰쥐를 사용하여 실험하였다.[17] 즉, 24시간 절식시킨 후 검체를 경구투여하고 30분 뒤에



Schem 1. Fractionation of propolis ethanol extract.

HCl. ethanol(60% ethanol에 150 mM HCl을 함유) 1 ml를 경구투여하였다. 절식, 절수하에 1시간 방치한 뒤 ether로 치사시켜 위를 적출하고 유문 및 분문부를 결찰한 뒤 위내에 2% formalin 시액 10 ml를 넣고 formalin 용액에 10분간 담구어 고정하였다. 고정이 완료되면 대만부를 절개하여 발생된 손상길이(mm)를 현미경(×10)하에서 측정하였다.

흰쥐의 위액분비량, pH 및 산분비량에 미치는 작용

체중 200 g 내외의 수컷 흰쥐를 사용하여 24시간 절식시킨 후 ether 마취하에 개복하고 위의 유문부를 결찰하고 측정하였다.[18] 즉, 흰쥐를 ether 마취하에 개복하고 위의 유문부를 결찰하고 검체를 십이지장내로 주입한 뒤 4시간 후에 치사시켜 위를 적출하여 위액을 채취하였다. 채취한 위액은 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 위액량, pH 및 산분비량을 측정하였다. 산도는 phenol red를 지시약으로 하여 0.1 N NaOH로 적정하였으며 pH 는 electrode pH meter로 측정하였다.

Aspirin에 의한 위궤양유발에 미치는 작용

체중 200 g 내외의 수컷 흰쥐를 사용하여 24시간 절식시킨 후 실험하였다.[19] 즉, 절식시킨 쥐를 ether로 마취하여 개복한 뒤 위의 유문부를 결찰한 직후 검체를 십이지장에 주사하였다. 마취에서 깨어나려고 할 때 aspirin 150 mg/kg을 경구투여하고 7시간이 경과한 뒤 과량의 ether로 치사시키고 선위부에 발생한 위손상 길이(mm)를 측정하였다.

초산에 의한 위궤양에 대한 작용

체중 약 200 g 내외의 수컷 흰쥐를 절식시킨 후 실험하였다.[20] 즉 ether 마취하에 개복하여 위를 노출시킨 후 20 μl의 20% 초산을 전위벽의 선위부에서 subserosal layer 안으로 주입한 후 봉합하였다. 감염을 막기 위해 3일간 ampicillin 50 mg/kg/day를 경구투여하였다. 수술 후 4일째 되는 날 부터 11일 동안 1일 1회 검액을 경구투여하였다.

수술 15일째 되는 날 ether로 치사시켜 위를 적출한 후 2 % formalin으로 10분간 고정한 후 선위부에 생성된 위궤양 부위의 면적(mm^2)을 측정하여 궤양지수로 하였다.

H^+/K^+ ATPase의 활성측정

H^+/K^+ ATPase의 활성은 냉동된 membrane protein(80 μg protein)을 25 mM Imidazole buffer (pH 7.4)와 propolis ethanol 추출물, toluene 및 ethyl acetate fraction, 대조약물로서 omeprazole을 assay medium에 가하고 37°C에서 30분간 preincubation 시켰다. 20 mM $MgCl_2$, 20 mM ATP, 200 mM imidazole buffer (pH 7.4) 및 100 mM KCl 또는 증류수를 포함하는 substrate mixture를 0.5 ml 씩 가하고 37°C에서 정확히 15분간 배양하였다. 여기에 22% TCA(trichloroacetic acid) 1.0 ml를 가하여 반응을 종결시키고 4°C에서 15분간 3,000 rpm으로 원심분리한 후 상징액을 취해 ATP hydrolysis에 의해 생성된 무기인산염의 정량을 실시하였다.

Inorganic phosphate의 정량은 이상의 과정을 통해 얻은 상징액에 molybdic acid solution 0.4 ml와 aminonaphthol sulfonic acid 0.2 ml 및 증류수 2.4 ml를 가하여 혼화, 20분간 암소에서 방치 후 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. H^+/K^+ ATPase preparation 중의 protein 함량은 bovine serum albumin을 표준액으로 하여 측정하였다.[21]

위염 및 위궤양의 억제율 계산

여러 가지 실험 방법에 의해 위염 및 위궤양을 유발시켰을 때 실험약물에 의한 위염 및 위궤양의 억제 작용은 다음과 같이 그 지수 또는 길이의 억제율 (%)로 나타내었다.

$$\text{억제율}(\%) = \frac{\text{대조군의 지수 (길이)} - \text{약물군의 지수 (길이)}}{\text{대조군의 지수 (길이)}} \times 100$$

통 계 처 리

모든 실험결과는 평균치와 표준편차로 나타냈으며 대조군과 실험군간의 차이는 student's t-test를 사용하여 p 값이 5% 미만일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

실험결과 및 고찰

Propolis ethanol추출물의 위염에 미치는 영향

HCl · ethanol에 의한 위손상

Propolis ethanol 추출물 투여에 의한 HCl · ethanol 유발 위손상에 미치는 영향을 Table 1에 나타내었다. Ethanol이 직접적으로 위점막을 자극하고 점막하 근육층에 부종을 유발시켜 일시적인 허혈상태를 발생시킴으로써[22] 산화적 손상으로 인한 세포의 괴사를 유발함[23]과 동시에 HCl이 위점막에 직접적인 자극을 가하고 위운동을 항진[24]하여 급성위염을 일으키는 HCl · ethanol 위손상 모델을 사용하여 본 실험을 실시하였다. 즉, 24시간 절식시킨 흰쥐에 propolis ethanol 추출물 500, 750, 1,000, 1,500 및 2,000 mg/kg을 경구투여한 후 HCl · ethanol를 경구투여하고 위손상 정도를 측정한 결과 각각 33.6, 52.9, 58.2, 80.2 및 80.5%의 유의성 있는 억제율을 확인하였으며 용량의존적인 경향을 보였다. 그 중 1,500 mg/kg 투여군과 2,000 mg/kg 투여군의 위손상 억제율이 가장 높았으며 이는 sucralfate 324 mg/kg 투여군 보다 우수한 효과였다.

Table 1. Effects of EtOH extract of propolis on HCl · ethanol-induced gastric lesion in rats

Treatment	Dose (mg/kg p.o)	No. of animals	Lesion leng (mm)	Inhibition (%)
Control	-	6	99.75 ± 14.84	-
EtOH ext.	500	6	68.38 ± 18.66*	33.6
	750	6	47.03 ± 16.87**	52.9
	1,000	6	41.75 ± 21.93**	58.2
	1,500	6	19.75 ± 7.27***	80.2
	2,000	6	27.75 ± 6.76***	80.5
Sucralfate	324	6	22.25 ± 12.07***	77.7

The values are mean ± S.D.
* : Significantly different from the control group ($p < 0.05$)
** : Significantly different from the control group ($p < 0.01$)
*** : Significantly different from the control group ($p < 0.001$)
EtOH ext. : ethanol extract

위액분비량, pH 및 산분비량

Propolis ethanol 추출물의 위액분비량, pH 및 산분비량에 미치는 영향을 Table 2에 나타내 었다.

24시간 절식시킨 흰쥐를 ether 마취하에서 유문을 결찰하고 propolis ethanol 추출물 500, 750, 1,000, 1,500 및 2,000 mg/kg을 십이지장으로 투여한 뒤 4시간 동안 축적된 위액으로부터 위액분비량, pH 및 4시간 동안 생성된 위액의 총산량을 측정한 결과는 다음과 같다. 대조군의 위액분비량은 6.74 ± 1.21 ml/4hrs를 나타낸 반면 propolis 500, 750, 1,000, 1,500 및 2,000 mg/kg 투여군에서 각각 5.69 ± 1.67, 5.17 ± 2.38, 4.30 ± 2.45, 4.15 ± 1.24 및 3.90 ± 2.15 ml/4hrs를 나타내 용량의존적인 위액분비 감소를 확인하였으며 특히 1,500 mg/kg투여군과 2,000 mg/kg 투여군에서는 유의성 있는 감소효과를 보였다. pH는 대조군과 비교하여 약간의 상승을 관찰할 수 있었다.

Table 2. Effects of EtOH extract of propolis on gastric secretion in pylorus-ligated rats

Treatment	Dose(mg/kg, p.o.)	No. of animals	Volume (ml/4hrs)	pH	TAO(mEq/4hrs)
Control	-	6	6.74±1.21	1.23±0.02	1405.7±202.6
EtOH ext.	500	6	5.69±1.67	1.27±0.03	1016.6±159.1
	750	6	5.17±2.38	1.51±0.18	1200.4±211.7
	1,000	6	4.30±2.45	1.24±1.05	768.1±227.5
	1,500	6	4.15±1.24*	1.65±0.75	543.1±124.2*
	2,000	6	3.90±2.15**	1.75±1.21	506.8 ± 67.2*
Cimetidine	150	6	3.85±0.98**	2.48±0.48*	336.2 ± 41.8***

The values are mean ±S.D.
* : Significantly different from the control group ($p < 0.05$)
** : Significantly different from the control group ($p < 0.01$)
*** : Significantly different from the control group ($p < 0.001$)
EtOH ext. : ethanol extract
TAO : total acid output

용량을 달리한 propolis ethanol 추출물을 이용하여 HCl. ethanol 유발 위손상에 미치는 영향과 유문결찰 4시간 후의 위액분비, pH 및 산분비량을 실험한 결과 용량의존적 성향을 갖는 저해효과를 확인할 수 있었다. HCl · ethanol 유발 위손상 실험에서 propolis ethanol 추출물 1,500 mg/kg 투여군의 손상 억제율은 80.2%로 2,000 mg/kg 투여군보다도 우수했으나 유문 결찰 후의 위액분비, pH 및 위산분비량을 측정한 실험에서는 2,000 mg/kg 투여군에서 위액분비가 가장 낮았다. 유문결찰에 의해 위액분비량이 4~8 ml를 갖는다는 보고[19]는 본 실험의 대조군과 비교시 비슷한 결과를 나타내었다.

각 분획물의 위염 및 위궤양에 미치는 영향

HCl · ethanol에 의한 위손상

Propolis 각 분획물이 HCl · ethanol 유발 위손상에 미치는 영향을 Table 3에 나타내었다. Propolis ethanol 추출물을 계통분획 한 후 각 분획을 그 수득률에 따라 흰쥐에 경구투여한 후 HCl · ethanol 유발 위손상에 대한 방어작용을 측정한 결과 대조군의 위손상 길이는 84.8±30.3 mm였으나 propolis hexane 분획물 100 mg/kg, toluene 분획물 800 mg/kg, ethyl acetate 분획물 700 mg/kg 및 H_2O분획물 50 mg/kg 투여군은 각각 41.8±18.9, 24.0±12.8, 19.2±10.7, 및 39.4±28.1 mm의 위손상 길이를 보여 50.7, 71.7, 77.4 및 53.5 %의 저해율을 확인할 수 있었다. 특히 toluene 분획물과 ethyl acetate 분획물은 대조약물인 sucralfate의 위손상 억제율보다 우수한 효과를 보였다. Propolis의 ethanol 추출물, toluene 및 ethyl acetate 분획물에서 40~80%의 유의성있는 방어효과가 확인되었다.

위액분비량, pH 및 산분비량

Table 3. Effects of each fraction of propolis on HCl · EtOH-induced gastric lesion in rats

Treatment	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	Lesion length (mm)	Inhibition (%)
Control	-	6	84.8±30.3	-
Hexane fr.	100	6	41.8±18.9*	50.7
Toluene fr.	800	6	24.0±12.8**	71.7
EtOAc fr.	700	6	19.2±10.7***	77.4
H_2O fr.	50	6	39.4±28.1*	53.5
Sucralfate	324	6	28.0±13.0*	67.0

The values are mean ±S.D.
* : Significantly different from the control group ($p < 0.05$)
** : Significantly different from the control group ($p < 0.01$)
*** : Significantly different from the control group ($p < 0.001$)
EtOAC : ethyl acetate

Propolis ethanol 추출물 및 분획물의 투여가 의한 위액분비량, pH 및 산분비량에 미치는 영향을 Table 4에 나타내었다.

24시간 절식시킨 흰쥐를 ether 마취하에서 유문을 결찰하고 propolis hexane, toluene, ethyl acetate 및 H_2O분획물을 그 수득율을 근거로 하여 각각 100, 800, 700 및 50 mg/kg을 십이지장으로 투여한 뒤 4시간 동안 축적된 위액으로부터 위액분비량, pH 및 4시간 동안 생성된 위액의 총 산량을 측정한 결과 대조군의 위액분비량은 7.38±0.84 ml/4hrs를 나타내었으나 hexane, toluene, ethyl acetate 및 H_2O분획물 투여군에서는 각각 5.18±0.87, 3.02±1.12, 4.94±0.32 및 5.66±1.37 ml/4hrs의 위액분비 감소를 보였다. 특히 toluene 분획물을 투여한 경우에는 60.0 %의 위액분비 효과를 나타내 유의성있는 감소효과를 관찰할 수 있었다. pH의 경우도 대조군의 경우 1.64±0.97의 강한 산성이었으나 propolis hexane, toluene, ethylacetate 및 물분획

Table 4. Effects of each fraction of propolis on gastric secretion in pylorus-ligated rats

Treatment	Dose(mg/kg, i.d.)	No. of animals	Volume (ml)	pH	TAO(mEq/4hrs)
Control	-	6	7.38±0.84	1.65±0.07	1103.2±166.4
Hexane fr.	100	6	5.18±0.87	1.77±0.06	628.5±173.2
Toluene fr.	800	6	3.02±1.12**	2.48±0.48*	232.8±154.5*
EtOAc fr.	700	6	4.94±0.32*	1.94±0.14	400.0±122.7
H_2O fr.	50	6	5.66±1.37	1.98±0.28	656.4±136.3
Cimetidine	150	6	1.80±0.70***	3.15±1.36**	75.9±54.4***

The values are mean ±S.D.
* : Significantly different from the control group ($p < 0.05$)
** : Significantly different from the control group ($p < 0.01$)
*** : Significantly different from the control group ($p < 0.001$)
EtOAC : ethyl acetate
TAO : total acid output

투여군에서 약간 상승했으며 특히 toulene 분획불 투여군에서는 2.48±0.48를 나타냄으로써 유의성있는 pH 상승을 확인할 수 있었다. 대조약물인 cimetidine 투여는 위액분비량뿐만 아니라 pH의 상승도 관찰 할 수 있었다.

Aspirin에 의한 위궤양

Proplis toluene 분획물과 ethylacetate 분획물이 aspirin 유발 위손상에 미치는 영향을 Table 5에 나타내었다.

24시간 절식시킨 흰쥐를 유문결찰하여 propolis의 toluene 분획물 800 mg/kg과 ethyl acetate 분획물 700 mg/kg을 십이지장내로 주입하고 aspirin 200 mg/kg을 경구투여한 후 발생한 위저부에 발생한 위손상을 확인한 결과 propolis ethyl acetate 분획물은 대조군의 위손상을 61.5% 감소시켰으며 toluene 분획물의 경우에는 94.8%의 위손상 감소율을 나타내 유의성있는 감소효과를 보였다. 또한 대조군인 cimetidine 투여군에서는 77.0%의 감소율을 나타내 propolis toluene 및 ethyl acetate 분획물보다 낮은 저해율을 나타내었다. Aspirin에 의한 위손상은 aspirin이 PG의 생합성을 억제하며 과량의 축적된 위액으로 인해 산, pepsin이 증가되어 위점막을 파괴하거나 산의 역확산을 증가시켜 위점막 보호벽을 파괴시키고 위점막 미세순환의 울혈 그리고 혈관투과성을 증가시킴으로써 위손상을 일으킨다고 보고[25]를 통해 본 실험에서의 결과는 기전을 찾는데 도움을 줄 것으로 생각된다.

Table 5. Effects of toluene fraction and EtOAc fraction of propolis on aspirin-induced

Treatment	Dose (mg/kg p.o)	No. of animals	Lesion length (mm)	Inhibition (%)
Control	-	6	25.2±11.0	-
EtOAc fr.	700	6	9.7±7.8*	61.5
Toluene fr.	800	6	1.3±1.6***	94.8
Cimetidine	150	6	5.8±2.7***	77.0

The values are mean ± S.D.
* : Significantly different from the control group ($p < 0.05$)
*** : Significantly different from the control group ($p < 0.001$)
EtOAC : ethyl acetate

초산에 의한 위궤양

Propolis toluene 분획물과 ethyl acetate 분획물의 초산유발 궤양에 미치는 영향을 Table 6에 나타내었다. 초산궤양에 대한 자연치료 효과와 PGE의 생성에 관한 연구를 통해 초산궤양의 치료효과를 PGE_2의 증가에 의한 효과라고 보고하였다.[26]

초산궤양을 유발시킨후 11일동안 propolis toluene 분획물 700 mg/kg과 ethyl acetate 분획물 800 mg/kg을 1일 1회 경구투여한 후 위손상 억제정도를 측정한 결과 각각 88.3%, 60.0%의 위손상 억제율을 나타내었다. Cimetidine 투여군에서는 80.0%의 위손상 억제율을 나타내어 propolis toluene 분획물 투여군이 우수한 궤양 억제율을 나타내었다. Ethyl acetate 분획물에 비해 toluene 분획물의 위궤양 억제율이 30% 이상 우수한 것으로 나타났다. 이는 초산에 의한 만성 위궤양에서 toluene분획물이 유의성있는 치료효과를 나타내어 만성궤양에서의 효과가 있음을 알 수 있었다. 또한 초산

Table 6. Effects of toluene fraction and EtOAc fraction on acetic acid-induced ulcer in rats

Treatment	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	Lesion area (mm^2)	Inhibition (%)
Control	-	6	6.0±6.9	-
Toluene fr.	800	6	0.7±0.6*	88.3
EtOAc fr.	700	6	2.4±1.7	60.0
Cimetidine	100	6	1.2±0.5*	80.0

The values are mean ±S.D.
* : Significantly different from the control group ($p < 0.05$)
EtOAC : ethyl acetate

Table 7. Inhibitory effect of toluene and ethylacetate fraction of propolis on H^+/K^+ ATPase activity at pH 6.4 and pH 7.4 in hog gastric microsomes.

Treatment	Stock Conc. (μg/ml)	Inhibition (%) pH 7.4 A	pH 7.4 A*1/10	pH 6.4 A	pH 6.4 A*1/10	IC_{50} (μg/ml)
Toluene	67	36	8	73	12	30
EtOAc	68	49	8	47	8	77
OME	35	57	2	95	38	5

EtOAC : ethyl acetate
OME : omeprazol
A : inhibtion ratio of stock conc
A*1/10 : inhibtion ratio of stock conc*1/10

유발 위궤양의 치료는 점막 회복 뿐만 아니라 점막하 근육층의 생성을 비롯한 모든 조직세포의 정상적인 성숙을 뜻하므로 그 의의가 크다고 하겠다.

H^+/K^+ ATPase 활성

Propolis toluene 분획물과 ethyl acetate 분획물 투여군이 H^+/K^+ ATPase 활성에 미치는 영향은 Table 7과 같다. 위의 벽세포는 세포막 펌프로 알려진 H^+/K^+ ATPase에 의하여 위산을 분비한다. 이 pump의 기능을 억제하면 기초분비는 물론 자극에 의한 위산분비가 억제되어 위염 및 위궤양에 대한 효과를 확인 할 수 있으리라 생각되어 활성을 확인하였다.

대조군의 H^+/K^+ ATPase 활성 저해로 인한 흡광도는 0.349였으며 propolis toluene 및 ethyl acetate 분획물 67, 68 μg/ml 에서는 pH 7.4에서 억제율이 각각 36, 49%였다. 또 propolis toluene 및 ethyl acetate 분획물 6.7, 6.8 μg/ml 에서는 pH 7.4에서 억제율이 각각 8, 8%였다. Propolis toluene 및 ethyl acetate 분획물 67, 68 μg/ml 에서는 pH 6.4에서 억제율이 각각 73, 47% 였다. 또 propolis toluene 및 ethyl acetate 분획물 6.7, 6.8 μg/ml 에서는 pH 6.4에서 억제율이 각각 12, 8%였다. 이들의 IC_{50}은 toluene 및 ethyl acetate 분획물에서 30, 77 μg/ml로 나타났으며 대조약물인 omeprazol의 경우 IC_{50}은 5 μg/ml였다.

본 실험의 결과 ethanol 추출물의 항위염 작용을 용량별로 HCl · ethanol 유발 실험결과 유의성 있는 억제효과를 얻었으며 Shay위액분비량 실험결과 pH에는 영향이 없었으나 유의성 있는 위액분비 감소경향을 나타내었다. 또한 계통분획을 실시하여 얻은 각분획물의 HCl · ethanol 유발 실험과 Shay's위액분비량 실험결과 ethyl acetate, toluene 분획물에서 유의성 있는 효과를 확인하였다. 또 toluene, ethyl acetate 분획물의 aspirin유발위궤양, 초산유발만성위궤양 실험에서 유의성 있는 억제효과를 얻었다.

이러한 결과들을 종합해 볼 때 propolis ethanol추출물 및 분획물의 위손상 억제효과 및 항위궤양작용은 H^+/K^+ ATPase 활성 억제를 통한 위산 분비억제에 기인한 것으로 생각된다.

감사의 말씀

본 연구는 99학년도 덕성여자대학교 연구비의 지원으로 수행된 것으로 연구비 지원에 깊이 감사드립니다.

국문요약

벌집으로부터 채취한 수지상의 물질인 propolis는 다양한 생화학적 성분을 함유하며 기원전 300년부터 사용되어 온 전통약물이다. 최근 항균, 항 바이러스, 항진균, 국소마취, 면역 활성, 항염, 항산화 작용등의 생물학적 활성이 보고된 바 있다. 본 연구에서는 위염과 위궤양에 미치는 propolis 추출물과 분획물의 약물학적 효과를 평가하고자 에탄올 추출물을 hexane, toluene, ethyl acetate로 분획하여 항위염 및 항위궤양 활성을 조사하였다. Propolis 에탄올 추출물은 염산 · 에탄올 위손상, Shay의 위액 분비 실험에서 용량 의존적인 보호효과를 나타내었고 hexnae과 toluene 분획물은 염산 · 에탄올 위손상, aspirin에 의한 위손상, Shay의 위액 분비 실험에서 위손상과 위액분비를 감소시켰다. propolis 추출물과 분획물의 위염 및 위궤양에 대한 보호효과는 H^+/K^+ ATPase activity의 억제에 의한 위액분비의 감소에 의한 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Arvouet G. A.; Vennat, B.; Pourrat, A.; Legret, P. Standardization of a propolis extract and identification of the main constituents. *Journal de Pharmacie de Beltique (Belgium)*, **49**, 462-468 (1994).
2. Gonzalez R., Corcho I., Remirez D., Rodriguez S., Ancheta O., Merino N., Gonzalez A., Pascual C. Hepa-

toprotective effects of propolis extract on carbon tetrachloride-induced liver injury in rats. *Phytother. Res.* **9**(2), 114-117 (1995).

3. Dobrowolski J.W., Vohora S.B., Sharma K., Shah S.A., Naqvi S.A.H., Dandiya P.C. Antibacterial, antifungal, antiamoebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *J. Ethnopharmacol.* **35**(1), 77-82 (1991).
4. Han S K, Park H K. Effect of ethanol extracted propolis (EEP) on fat oxidation of meat products. *Korean J. Animal Science* **38**(1), 94-100 (1996)
5. Hansson C., Ezzelarab M., Sterner O. Oxidative activation of the propolis hapten isoprenyl caffeate. *Acta Derm. Venereol.* **75**(1), 34-36 (1995).
6. Ellnain-Wojtaszek, M., Marcinek, A., Kowalewski, Z., Hladon, B., Sloderbach, A. Standardization of propolis extracts using the quantitative determination of flavonoids. *Herba Polonica* (Poland), **36**(4), 145-153 (1990).
7. Ellnain-Wojtaszek, M., Hladon, B., Walkowiak, A., Kowalewski, Z. Chemical composition of bee products and their application in therapy. Farmacja Polska (Poland), **48**, 1-9 (1992).
8. Bankova V., Christov R., Stoev G., Popov S. Determination of phenolics from propolis by capillary gas chromatography. *J. Chromatogr.* **607**, 150-153 (1992).
9. Tomas B.F.A., Ferreres F., Amparo Blazquez M., Garcia V.C., Tomas L.F. High performance liquid chromatography of honey flavonoids. *J. Chromatogr.* **634**(1), 41-46 (1993).
10. Bankova V., Marcucci MC., Simova S., Nikolova N., Kujumgiev A., Popov S. Antibacterial diterpenic acids from Brazilian propolis. Z Naturforsch[C] (GERMANY) **51**, 27-80 (1996).
11. Tatefuji T., Yamauchi H., Ikeda M., Ando S., Kurimoto M Effect of propolis obtained in Brazil on infectivity of viruses. Jpn. *J. Pharmacogn.* **47(1)**, 60-64 (1993).
12. Tosi B., Donini A., Romagnoli C., Bruni A. Antimicrobial activity of some commercial extracts of propolis prepared with different solvents. *Phytother. Res.* **10**(4), 335-336 (1996).
13. Lisa, M.; Leifertova, I.; Baloun, J. Contribution to the antifungal effect of propolis. *Folia Pharm.*, **13**(1), 29-44, (1989).
14. Higashi K.O., De Castro S.L. Propolis extracts are effective against Trypanosoma cruzi and have an impact on its interaction with host cells. *J. Ethnopharmacol.* **43**(2), 149-155 (1994).
15. De Castro, S. L. and Higashi, K. O. Effect of different formulations of propolis on mice infected with trypanosoma cruzi. *J. Ethnopharmacology* (Ireland), **46** (1), 55-58 (1995).
16. Reuter BK, Cirino G, Wallace JL. (1994) Markedly reduced intestinal toxicity of a diclofenac derivative. *Life. Sci.* **55**, PL1-8.
17. Mizui T. and Doteuchi M. Effect of polyamines on acidified HCl. ethanol induced gastric lesion in rats. *Jpn. J. Pharmacol.* **33**, 939 (1983).
18. Shay H., Komarov S.A., Fels S.S. and Meranze D. A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat. Gastroenterology **5**, 43-61 (1945).
19. Okabe S., Takeuchi K., Nakamura K. and Takagi K. Jpn. *J. Pharmacol.* **24**, 363 (1974)
20. Takagi K. and Okabe S. *Jpn. J. Pharmacol.* **24**, 363 (1969)
21. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A. L., and Randall, R.J. Protein measurement with the phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275 (1951).
22. Oates, S and Pfeiffer, C. J. Studies on the mechanism of ethanol-induced gastric lesions in rats. *Gastroenterology* **94**, 10-21 (1988).
23. Robert, A., Nezaims, J. E., Lancaster, C. And Hanchar, A. J. Cytoprotection by prostaglandins in rats; Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl and thermal injury. *Gastroenterology* **77**, 433443 (1979).
24. Kurebatashi, Y., Ikeda, T. And Osada, Y. Cytoprotective action of cetrexate against HCl · Ethanol-induced gastric lesion in rats. *Jpn. J. Pharmacol.* **46**, 17-25 (1988).
25. Kontrek, S. J., Borozowsky, T. And Radecki, T. Protective action of omeprazole, a benzimidazole derivative on gastric mucosal damage by aspirin and ethanol in rats. *Digestion* **27**, 159-164 (1983).
26. Uchida, M., Kawano, O., Misaki, N. and Irino, O. Healing process of acetic acid-induced gastric ulcer and gastric mucosal prostaglandin E generation level in rats. *jpn. J. Pharmacol.* **50**, 366 (1989).