

Morphine의 耐性 및 依存性 形成에 미치는 人蔘의 効果(II)

人蔘의 Butanol 분획이 흰쥐의 Morphine 耐性 및 Dopamine
受容體 超過敏性 형성에 미치는 影響

金學成·吳世觀·金甲喆
忠北大學校 藥學大學

Effects of *Panax Ginseng* on the Development of Morphine Induced
Tolerance and Dependence (II)

—Effects of Ginseng Butanol Fraction on the Development of Morphine
Induced Tolerance and Dopamine Receptor Supersensitivity in Rats—

Hack Seang KIM, Sei Kwan OH and Gap Cheol KIM
College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju 310, Korea

Abstract—Intraperitoneal administration of ginseng butanol fraction(GBF) to chronic morphinization in male Sprague-Dawley rats inhibited the development of tolerance to the analgesic effect and hyperthermic action of morphine. Rats were rendered tolerant to morphine by subcutaneous multiple morphine injections for a period of 8 days. The development of tolerance was evidenced by the decreased analgesic response to morphine and inhibition of tolerance by the greater analgesic response. Concomitant administration of morphine with GBF blocked the tolerance to the hyperthermic effect of morphine as evidenced by elevation of body temperature by morphine. Dopamine receptor sensitivity was enhanced in morphine tolerant rats as measured by apomorphine induced in spontaneous motor activity. GBF administration also blocked dopamine receptor supersensitivity induced by chronic morphinization.

Keywords—Ginseng butanol fraction · morphine tolerance · analgesic response · hyperthermic effect · dopamine receptor supersensitivity

김등¹⁾은 한국산 인삼의 butanol 분획이 마우스의 morphine에 대한 내성 및 의존성 형성을 억제한다고 보고 하였으나 rat에 대한 morphine의 내성 및 dopamine 수용체 초과민성 형성에 관한 연구는 전혀 보고된 바 없다. 저자들은 이에 착안하여 마약 해독제 개발을 위한 연구의 일환으로 전보¹⁾에 이어 인삼의 butanol 분획(Ginseng Butanol Fraction; GBF)이 흰쥐에 대

한 morphine의 내성 및 dopamine 수용체 초과민성 형성에 미치는 영향 등을 Puri²⁾ 및 Bhargava 등³⁾의 방법에 따라 morphine과 인삼 butanol 분획을 만성투여한 후 진통작용^{3,4)}, 체온변화⁵⁾, apomorphine투여로 인한 dopamine 수용체 초과민성^{2,3,6,7)} 등을 연구하여 몇가지 지점을 얻었기에 보고하고자 한다.

實驗方法

1. 재료 및 시약

본 실험에 사용한 인삼은 전조된 금산삼 4년근을 시중에서 구입하여 Namba 등⁸⁾의 방법에 따라 추출하여 butanol 분획을 얻었으며 사용시에는 0.9% NaCl용액에 용해하였다. morphine·HCl(대원제약)은 0.9% NaCl용액에 apomorphine·HCl(sigma)은 0.1% NaHSO₃용액에 희석하여 사용하였으며 GBF 추출시약은 시판 1급시약을 사용하였다.

2. 실험동물

대한실험동물연구소(경기도 고양군)에서 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐를 실험을 시작하기 1주일 전에 구입하여 본 대학 동물사에서 시판 고형사료로 사육한 체중 150~200g의 흰쥐를 사용하였고 1군을 8마리로 하였다.

3. 내성유도

Domino 등⁹⁾¹⁰⁾의 방법을 약간 수정하여 morphine을 증량하면서 다음과 같이 1일 2회(8:00, 16:00) 피하로 주사하였다. 1일; 10mg/kg, 2일; 20mg/kg, 3일; 30mg/kg, 4일; 50mg/kg, 5일; 60mg/kg 6일; 80/kg, 7일; 100mg/kg, 8일; 110mg/kg. 인삼 butanol 분획은 morphine 대조군을 제외한 각군에 용량별로(25, 50, 100, 200mg/kg) 1일 1회(19:00) 복강내로 주사 하였으며 대조군에는 GBF 대신 생리 식염수를 투여 하였다.

4. 진통성 내성 측정

Morphine 단성 중독상태로 유도된 흰쥐의 진통성 내성은 tail flick 장치를 이용하여 일정량의 morphine 투여로 반응하는 진통효과의 증감정도를 비교하여 측정하였다. 온도 자극에 의한 tail flick 반응시간은 마지막 morphine 투여 12시간 후에 기본반응시간(T_o)을 정하고 morphine 8mg/kg을 복강내 투여한 후 30, 60, 90분에 진통작용을 측정하였다. 꼬리 피부의 손상을 방지하기 위하여 반응시간 20초를 cut off time으로 하였다. 각 흰쥐에 대한 진통효과는 다음식을 이용하여 계산하였다³⁾.

$$\text{Percent analgesia} = \frac{T_o - T_t}{T_o - T_o} \times 100$$

T_o : morphine 투여전 반응시간

T_t : morphine 투여 t분 후의 반응시간

T_c : 최장반응시간(cut off time)

5. 체온변화 측정

Morphine 단성 중독상태로 유도된 흰쥐군에 마지막 morphine 투여 12시간 후에 tele thermometer(Natsume)를 이용하여 직장체온을 측정 하였고 morphine 8mg/kg을 복강내 투여한 후 peak time인 60분 후에 직장체온을 측정하여 비교하였다

6. Apomorphine 유도로 인한 dopamine 수용체 초파민성

Morphine의 단성 투여시 형성되는 dopamine 수용체 초파민성은 Puri²⁾와 Bhargava³⁾법에 의하여 DA agonist인 apomorphine으로 인한 자발운동의 증가를 측정하였다. 단성 중독상태로 유도된 흰쥐군에 마지막 morphine 투여 24시간 후에 circular activity cage(높이 20cm, 폭 11cm, 반지름 17.5cm, 6 beam) 6대를 이용하여 자발운동을 측정하였다. apomorphine 투여전 흰쥐 6마리를 각각 activity cage에 1마리씩 넣고 5분 동안 적응 시키고 15분 동안 자발운동을 측정한 후 20분간 휴식 시킨다. 각 군에 apomorphine 4mg/kg을 복강내 주사한 후 activity cage에 흰쥐를 넣고 5분 동안 적응 시키고 15분 동안 자발운동을 측정하였다. apomorphine 투여 후 15분 동안 각 동물의 자발운동수를 apomorphine 투여 전 15분 동안의 각 해당동물 자발운동수의 100분율로 환산하여 %±S.E.로 나타내었다.

진통작용, 체온변화, 자발운동변화 등을 GBF 처리군과 대조군을 비교하여 통계적 유의성을 student의 t-test로 검정하였다.

實驗結果 및 考察

1. GBF의 진통성 내성형성 억제효과

Morphine이나 GBF의 진통작용에 대한 진류효과 유무를 확인하기 위하여 morphine 8mg/kg 투여 30분 전에 용량별 각군에 대한 T_o 를 비교하였으나 통계적으로 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다. (Table I).

Morphine 8mg/kg을 복강내 투여한 후 30, 60,

Table I. The base line of analgesia and temperature 12 hr after the last morphine injection in rats

Dose	Analgesia(sec)	Temperature, °C
Mor+Sal	4.07±0.16	37.50±0.07
Mor+GBF 25mg/kg	4.10±0.07	37.40±0.14
Mor+GBF 50mg/kg	4.12±0.28	37.45±0.17
Mor+GBF 100mg/kg	4.03±0.08	37.48±0.07
Mor+GBF 200mg/kg	4.10±0.23	37.40±0.27

90분에 진통작용을 측정한 결과 Fig. 1에 나타난 바와 같이 30분에서 morphine만 처리한 대조군은 4%의 진통효과를 나타낸 반면 Mor+GBF 25mg/kg처리군은 14%, Mor+GBF 50mg/kg 처리군은 19%, Mor+GBF 100mg/kg 처리군은 25%, Mor+GBF 200mg/kg처리군은 32%씩 매우 유의성 있는($p<0.001$) 진통효과를 나타내어 GBF는 용량에 따라 morphine의 진통성 내성형성을 현저하게 억제하였다.

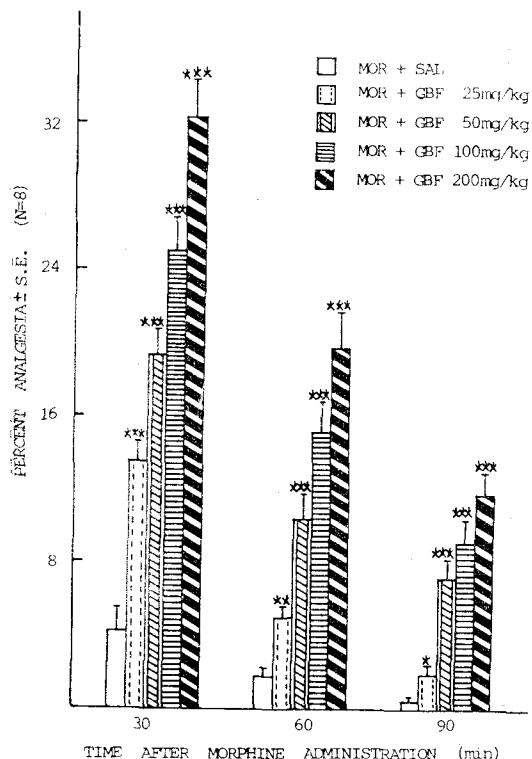


Fig. 1. Effects of GBF on tolerance to the analgesic action of morphine in rats.

*; $p<0.05$ **; $p<0.01$ ***; $p<0.0001$

2. GBF의 체온상승에 대한 내성형성 억제 효과

흰쥐에 있어서 Bhargava⁵⁾에 의하면 morphine에 대한 체온변화는 소량(8mg/kg)에서는 체온상승(hyperthermia)이 나타나고 과량(40mg/kg)에서는 체온하강(hypothermia)이 나타난다고 보고 하였다. morphine이나 GBF의 체온변화에 대한 잔류효과 유무를 확인하기 위하여 morphine 8mg/kg투여 30분 전에 용량별 각 군에 대한 체온을 비교하였으나 통계적으로 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다. (Table I). morphine 8mg/kg을 투여한 후 60분에 직장체온을 측정한 결과 Fig. 2에 나타난 바와 같이 morphine만 처리한 대조군은 1°C정도 상승 하였으나 Mor+GBF 25mg/kg처리군은 1.3°C($p<0.05$), Mor+GBF 50mg/kg 처리군은 1.5°C($p<0.05$), Mor+GBF 100mg/kg 처리군은 1.6°C($p<0.01$), Mor+GBF 200mg/kg 처리군은 1.7°C($p<0.01$)씩 유의성 있는 체온상승을 나타내었다. morphine 8mg/kg을 정상 흰쥐에 투여하면 체온이

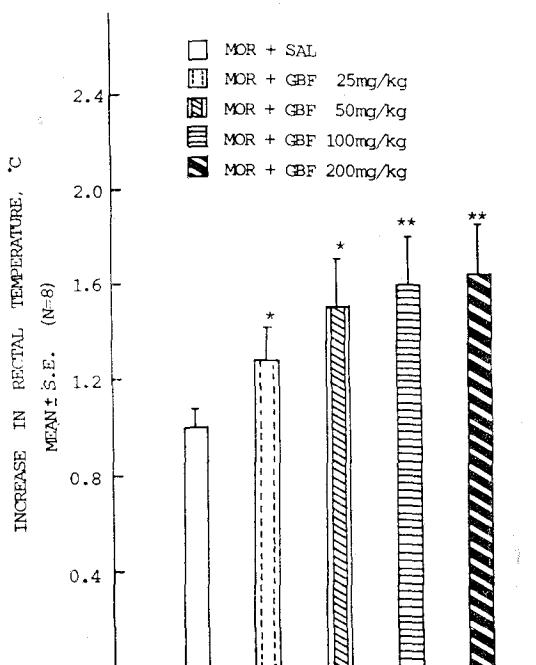


Fig. 2. Effects of GBF on tolerance to the hyperthermic action of morphine in rats.

*; $p<0.05$ **; $p<0.01$

1.8°C 상승하는데 GBF 처리군은 이와 유사한 효과를 나타내어 GBF는 morphine 만성 투여시 형성되는 hyperthermia에 대한 내성을 유의성 있게 억제하였다.

3. GBF의 dopamine수용체 초파민성 형성 억제 효과

자발운동을 측정한 결과 Fig. 3에 나타난 바와 같이 morphine과 GBF를 투여하지 않고 saline만 투여한 군은 자발운동수가 720이었고 morphine만 투여한 군은 480이었다. Mor+GBF 25mg/kg 처리군은 560, Mor+GBF 50mg/kg 처리군은 655, Mor+GBF 100mg/kg 처리군은 675, Mor+GBF 200mg/kg 처리군은 650으로 나타나 morphine만 처리한 군은 morphine 만성투여시 자발운동이 억제되었으나 Mor+GBF를 처리한 군은 자발운동이 억제되지 않는 경향을 보이고 있다.

Apomorphine 4 mg/kg을 투여한 후 15분 동안 자발운동을 측정한 결과 Fig. 4에 나타난 바와

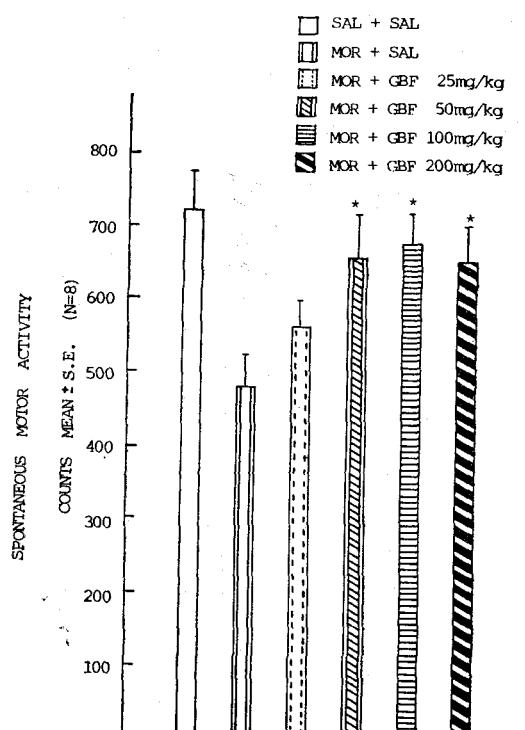


Fig. 3. Effects of GBF on the spontaneous motor activity during withdrawal in morphine dependent rats.

*; p<0.05 compared with Mor+Sal group.

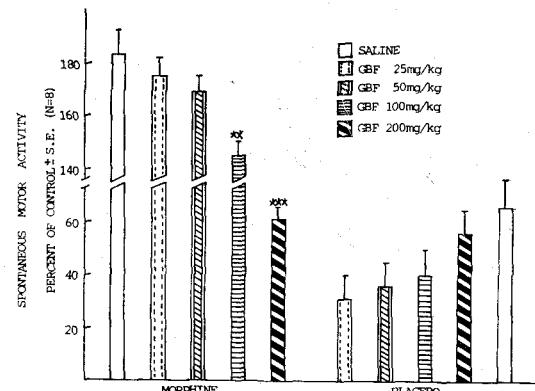


Fig. 4. Effects of GBF on the development of supersensitivity of dopamine receptor induced by morphine.

**; p<0.01 **; p<0.001

같이 apomorphine 투여 전에 측정한 해당 각군에 대한 자발운동수와 비교하여 볼때 morphine만 처리한 대조군은 185% 증가하였고 Mor+GBF 25mg/kg 처리군은 175%, Mor+GBF 50 mg/kg 처리군은 170%, Mor+GBF 100g/kg 처리군은 145%(p<0.01), Mor+GBF 200mg/kg 처리군은 60%(p<0.001)로 유의성 있게 dopamine 수용체 초파민성 형성을 억제하였다. apomorphine 4mg/kg 투여후 saline만 처리한 군은 65% 증가하였고 GBF만 처리한 군은 25mg/kg 처리군은 30%, 50mg/kg 군은 35%, 100mg/kg 군은 40%, 200mg/kg 군은 55%씩 자발운동이 증가 하였다.

김 등¹¹⁾은 인삼을 포함한 8종의 생약(인삼, 지황, 향부자, 당귀, 과향, 보두, 감초, 천산갑)으로 처방된 민간약을 결손약물의 효과발현 유무를 관찰하는 방법으로 마약 중독자에게 투여한 결과 천산갑이 효력이 있다고 보고 하였으나 천산갑 이외의 인삼을 포함한 7종의 생약도 추출 및 투여용량, 실험동물 실험방법 등에 따라 효력이 다를 수 있는 것으로 사료된다. 김 등¹¹⁾에 의하면 인삼의 butanol 분획은 마우스에 있어서도 morphine의 내성과 의존성 형성을 크게 억제함이 밝혀졌다.

Morphine을 반복 투여하면 dopaminergic system의 전달이 만성적으로 차단되어 post dopamine receptor에 초파민 현상이 발현된다. 이러한 사실은 morphine을 만성적으로 처리한 동물에 dopamine agonist인 apomorphine이나 piribedil을

투여하면 정상적인 경우보다 초과민적으로 반응을 나타내는 것으로 알 수 있다.

본 연구에서도 morphine을 단성적으로 처리한 군에서는 apomorphine에 대하여 초과민적으로 반응을 나타내었으나 GBF를 병용 투여한 군에서는 투여 용량에 따라서 초과민 형성을 억제하는 경향을 나타내었으며 진통성 내성형성 억제도 같은 경향을 보였다. 이러한 현상은 Bhargava³⁾가 지적했듯이 dopamine 수용체 초과민 현상과 진통성 내성과는 밀접한 관계가 있다는 주장과도 일치되는 점이라고 할 수 있다.

結 論

Morphine과 GBF를 용량별로 (25, 50, 100, 200 mg/kg) 동시 투여하여 인삼의 butanol 분획이 흰쥐의 morphine 내성 및 dopamine 수용체 초과민성 형성을 미치는 영향을 연구한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. GBF는 용량에 따라 morphine의 진통성 내성형성을 현저하게 억제하였다.
2. GBF는 용량에 따라 morphine 소량 투여로 인한 체온상승에 대한 내성을 억제하였다.
3. GBF는 용량에 따라 dopamine 수용체 초과민성 형성을 억제하였다.

謝辭—본 연구는 1984~1985년도 문교부 학술 연구조성비로 수행 되었음.

〈1984년 12월 5일 접수 : 12월 27일 수리〉

文 獻

1. Kim, H.S. and Oh, S.K.: The 33rd annual convention of the pharmaceutical society of Korea, pp. 83, Seoul, October 1984.
2. Puri, S.K. and Lal, H.: *Psychopharmacologia*, 32, 113 (1973).
3. Bhargava, H.N.: *Life Science*, 27, 117 (1980).
4. Lewis, J.W., Bentley, K.W. and Cowan, A.: *Ann. Rev. Pharmacol.*, 11, 241 (1971).
5. Bhargava, H.N. and Kim, H.S.: *J. Pharm. Exp. Ther.*, 220, 34 (1982).
6. Collier, H.O.J.: *Nature*, 220, 228 (1968).
7. Lal, H.: *Life Science*, 17, 483 (1975).
8. Namba, T., Youshizaki, M., Tomimori, T., Kobashi, K., Mitsui, K. and Hase, J., *Yakugaku Zasshi*, 94, 252 (1974).
9. Domino, E.F. and Wilson, A.: *J. Pharm. Exp. Ther.*, 184, 18 (1983).
10. Bhargava, H.N. and Matwyshyn, G.A.: *Eur. J. Pharmacol.*, 44, 25 (1977).
11. Kim, Y.E., Suh, H.S., Kim, W.K., and Kim, K. S.: *Seoul Univ. J.*, 18, 83 (1967).