

## 에탄올-유발 위점막손상에 대한 애엽추출물(DA-9601)의 방어효과 및 기전에 관한 연구

오태영 · 안병옥 · 고준일 · 류병권 · 손미원 · 김순희 · 김원배 · 이은방\*

동아제약(주)연구소, 서울대학교 천연물과학연구소\*

### Studies on Protective Effect of DA-9601, an Artemisiae Herba Extract, against Ethanol-induced Gastric Mucosal Damage and its Mechanism

Tae Young OH, Byoung Ok AHN, Jun Il KO, Byung Kweon RYU, Mi Won SON, Soon Hoe KIM, Won Bae KIM and Eun Bang LEE\*

Research Laboratories, Dong-A Pharm. Co., Ltd.

47-5, Sanggal-ri, Kiheung-up, Yongin-si, Kyunggi-do 449-900, Korea

\*Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea

(Received May 12, 1997; accepted June 1, 1997)

**Abstract** – Protective effect of DA-9601, an extract of Artemisia Herb, against ethanol-induced gastric mucosal injury was evaluated in rats. In the prophylactic study, DA-9601 exhibited total protection (99.4%) against absolute ethanol-induced gastropathy. And the protective effect of DA-9601 lasted up to 2 hours, which was longer than those of other contemporary mucoprotectants. In the treatment study, DA-9601 significantly facilitated the healing of 70% ethanol-induced mucosal damage, which was superior to cetraxate, a commonly used anti-ulcer drug. The mechanisms of mucoprotection of DA-9601 were also assessed. DA-9601 increased the release of prostaglandin E<sub>2</sub> from murine neutrophils in a dose-dependent manner *in vitro*. The cytoprotective effect of DA-9601 against ethanol-induced mucosal damage was significantly diminished by the concomitant injection of N<sup>ω</sup>-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME, 5 mg/kg, i.v.), a non-specific nitric oxide (NO) synthase inhibitor, while it was not affected by preinjection of indomethacin (5 mg/kg, s.c.), a prostaglandins-depletor. And it was found that DA-9601 significantly enhanced adaptive cytoprotective action of 10% ethanol against absolute ethanol (56.9 ± 6.5 vs 23.0 ± 3.3 mm<sup>2</sup>, p < 0.05, mean ± SEM), though its exact underlying mechanism remains to be clarified. The present findings demonstrate that DA-9601 exerts gastroprotective actions for the stomach against ethanol through several different underlying mechanisms, in which prostaglandins and NO are involved. In conclusion, the results obtained suggest that DA-9601 can be useful both in prevention and treatment of ethanol-induced gastric damage.

**Keywords** □ Artemisia Herb, DA-9601, ethanol-induced gastric damage, prostaglandin, nitric oxide, cytoprotection, prevention, treatment

DA-9601은 애엽(약쑥)의 알콜추출물을 농축후 과립화한 물질로 항궤양제로의 개발이 기대되고 있으며, 항궤양작용을 나타내는 지표성분 eupatilin을 0.16~0.48%(w/w) 함유하고 있다(Lee, 1995). DA-9601은 난용성의 황록색 과립으로 냄새는 쑥의 고유향이 남아 있고 맛은 쓰다. 저자들은 수종의 실험적 위염·위궤양모델에서 DA-9601의 우수한 방어효과와 DA-9601이 위산분비에 영향을 나타내지 않

며, 점액분비촉진 등 방어인자 증강의 작용을 나타냄을 보고한 바있다(Oh 등, 1996). 또한, DA-9601은 일반약리, 급성독성 및 4주 반복투여에 의한 독성 평가에서도 안전한 것으로 밝혀졌다(Kim 등, 1996; Lee 등, 1996).

DA-9601의 주적응증인 소화성궤양(peptic ulcer)은 세계 인구의 4~5%가 일생중 적어도 한 번이상 경험하게 되는 가장 흔한 소화기질환중의 하나로 위궤양·십이지장궤양 등이 포함된다. 소화성궤양환자수는 문명의 발달과 복잡한 사회생활로 인하여 계속 증가되고 있으며, 과거 중년층 이

\* To whom correspondence should be addressed.

후의 연령대에서 호발하였으나 최근 발병연령층이 10대까지 낮아지고 있는 추세이다. 소화성궤양의 주요 발병 원인으로서는 *Helicobacter pylori* 감염증, 소염제 등의 과다사용, 불규칙한 식생활 습관, 음주, 정신적·육체적 스트레스 등이 포함된다(Halter 등, 1995). 그중 알콜에 의한 위점막손상은 대부분의 경우 자극요인배제에 의해 수일내 정상으로 회복되나 심한 경우 위장관출혈, 위천공 등 중대한 임상경로를 나타내기도 한다(Lacy와 Ito, 1982). 한편 알콜 등의 자극성 물질에 의한 위점막손상은 약한 자극물질의 전처치에 의해 크게 감소되는데 이러한 현상을 적응성 세포보호효과(adaptive cytoprotection)이라고 하며, 이는 약한 자극에 의해 프로스타글란딘, nitric oxide, 점액 등 점막보호물질의 합성 및 분비촉진과 증가된 위액량의 자극물질에 대한 희석효과 등이 관여하는 것으로 알려져 있다(Robert 등, 1983).

본 연구에서는 알콜성 위병변에 대한 DA-9601의 예방 및 치료효과를 조사하고 그 작용기전과 또한 적응성 세포보호효과에 미치는 DA-9601의 영향을 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 시험물질

DA-9601 (Lot No. DA-9601-L-04)은 표지물질인 eupatilin 함량이 0.48%로 동아제약(주) 연구소에서 공급받아 시험에 사용하였고, rebamipide는 한국오츠카(주)에서, cetraxate는 제일약품(주)에서, misoprostol은 한국셀시바가이(주)에서, indomethacin, N<sub>ω</sub>-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), 10% neutral formalin, casein, HBSS (Hank's balanced salt solution)은 미국 Sigma사에서 각각 공급받아 사용하였으며, Ca<sup>2+</sup> ionophore인 A23187은 ICN에서 구입하였고, absolute ethanol은 덕산약품(주)에서 구입하여 사용하였다. hydroxypropylmethylcellulose(HPMC, 2910 약전품)는 동아제약(주) 연구소에서, carboxymethyl cellulose(CMC)는 純正化學(Japan)에서 공급받아 사용하였다. 시험물질 투여시 DA-9601, rebamipide, cetraxate, misoprostol은 5% HPMC에, indomethacin은 1% CMC에 각각 현탁하여 사용하였으며, L-NAME는 주사용증류수에, casein, HPMC, CMC는 생리식염수에 용해시켜 사용하였다.

### 시험동물

7주령의 SPF Sprague-Dawley계 흰쥐 수컷을 Charles River사(Kanagawa, Japan)로부터 구입하여 청정구역내에서 검역 및 순화사육후 시험에 사용하였다. 검역·순화기간 및 시험기간중 사육환경은 온도 23±2℃, 습도 55±15%, 환기횟수 15~20회/시간, 조도 150~300 Lux, 조명시간 12시간(07:00~19:00)의 조건을 유지하였으며, 동물은 흰쥐용 사육상자에 분리하여 수육하였다. 사료는 생쥐·흰쥐용 고형사료(2.0 M rad 방사선멸균품, 제일사료)를, 음수

는 자외선멸균 수도수를 자유섭취시켰다.

### 알콜에 의한 급성위손상에 대한 방어효과

흰쥐를 24시간 절식시킨 후에 Robert 등(1979)의 방법에 의해 DA-9601, rebamipide, ranitidine, cetraxate를 각각의 용량으로 경구투여하고 1시간 후에 무수 EtOH을 1.5 ml/head로 경구투여하였다. 1시간 후에 ether 마취하에 치사시킨 후 위를 적출하여 1% formalin 13 ml을 위내로 주입하고 1% formalin액에 넣어 1시간 동안 고정하였다. 위의 대만부를 따라 절개하여 펼친 후 실체현미경(SZH, Olympus)을 이용하여 위손상 면적을 측정 손상지수로 하고 아래의 계산식에 의해 위손상 억제율을 구하였으며, regression analysis를 통하여 ED<sub>50</sub> (mg/kg)를 계산하였다. 조직학적 검사를 위해 육안적 손상부위를 절제하여 10% formalin액에 넣어 고정하였다.

$$\text{위병변억제율 (\%)} = \frac{\text{대조군의 위손상지수(mm}^2\text{)} - \text{약물투여군의 위손상지수(mm}^2\text{)}}{\text{대조군의 위손상지수 (mm}^2\text{)}} \times 100$$

### 알콜성 위손상에 대한 약효지속시간

흰쥐를 24시간 절식시킨 후에 Mizui와 Doteuchi(1983)의 방법에 의해 약물을 경구 투여하고 각각 30분, 1, 2, 4, 7시간 후에 60% EtOH in 150 mM HCl을 1.5 ml/head로 경구 투여한 다음 다시 1시간 후에 ether 마취하에 치사시킨 후 위를 적출하여 전술한 방법에 의해 위병변면적을 측정하고 용매투여 1시간 후에 무수 EtOH을 투여한 군과 비교하여 위손상억제율을 구하였다. 각 시험물질의 용량은 60% EtOH in 150 mM HCl에 의한 급성위손상 방어효과 시험결과(Oh 등, 1996))에서 산출된 ED<sub>50</sub>(mg/kg)로 설정하였으며, DA-9601, rebamipide, cetraxate의 용량은 각각 30 mg/kg, 20 mg/kg, 50 mg/kg이었다.

### 알콜성 위손상에 대한 치료효과

흰쥐를 24시간 절식시킨 후에 Robert 등(1979)의 방법을 변형하여 70% EtOH을 1.5 ml/head 액량으로 경구투여하고 1시간 후에 DA-9601 10, 30, 100 mg/kg과 cetraxate 200 mg/kg을 경구 투여하였다. 이후 24시간 간격으로 각 약물을 1일 1회 경구투여하며, 알콜투여후 24, 48, 72 및 96시간에 ether 마취하에 치사시킨 후 위를 적출하여 경시적으로 위손상면적을 측정하여 병변지수로 하였다.

### 적응성 세포보호효과에 미치는 영향

흰쥐를 24시간 절식시킨 후에 Robert 등(1983)의 방법을 약간 변경하여 실시하였다. I군은 무수 EtOH만을 투여하고, II군은 10% EtOH를 투여하고 30분 후에 다시 absolute EtOH을 투여, III군은 DA-9601을 30 mg/kg 투여하고 4시간 후에 무수 EtOH을 투여, IV군은 III군과 동일하며 무수 EtOH 투여 30분전에 10% EtOH 투여, V·VI군은 III·IV군과 동일하나 DA-9601대신에 cimetidine 30 mg/kg을 투여

하였다. 투여경로는 모두 경구로 하였다. 무수 EtOH 투여 1시간 후에 모든 동물을 ether 마취하에 치사시킨 후 위를 적출하여 위손상 면적을 측정하였다.

#### 내인성 prostaglandin에 미치는 영향

흰쥐에 12% 카제인 용액 20 ml을 복강내로 1회 투여하고 21시간 후에 ether 마취후 개복하여 복강액을 취한후 호중구를 분리하였다. Safayhi 등(1985)의 방법에 준하여 분리한 호중구를 HBSS에 현탁시켜  $5 \times 10^6$  cells/ml로 조제한 후, DA-9601을 농도별로 가하고 37°C에서 5분간 배양하였다. 이후 ionophore A23187(최종농도 1  $\mu$ M)을 가하여 다시 5분간 배양하고 arachidonic acid(최종농도 30  $\mu$ M)를 가하여 15분간 반응하였다. 반응 배양액을 원심분리하고 상등액을 취하여 방사성면역측정법(radioimmunoassay, RIA)을 이용해서 prostaglandin E<sub>2</sub>를 정량하였다. 단백질의 정량은 Lowry법(1951)으로 측정하였다.

#### DA-9601의 약효에 대한 indomethacin 전처치의 영향

흰쥐를 24시간 절식시킨 후에 Tarnawski 등(1985)의 방법에 의해 한 군에는 용매(5% HPMC), DA-9601 100 mg/kg과 misoprostol 200  $\mu$ g/kg을 각각 경구 투여하고 1시간 후에 무수 EtOH을 1.0 ml/head로 경구 투여하고 다른 군에는 indomethacin 5 mg/kg으로 전처치하고 30분 후에 약물 및 무수 EtOH를 위와 동일한 방법으로 하였다. 1시간 후에 ether 마취하에 치사시킨 후 위를 적출하여 위손상 억제율을 구하였다.

#### DA-9601의 약효에 대한 nitric oxide의 작용

흰쥐를 24시간 절식시킨 후에 Robert 등(1979)의 방법에 의해 한 군에는 DA-9601 100 mg/kg을 경구로 투여하고, 다른 군에는 nitric oxide synthase(NOS) 억제제인 L-NAME를 5 mg/kg(i.v.)의 용량으로 DA-9601과 병용하였다. 다시 1시간 후에 무수 EtOH 1.0 ml/head를 투여하고 1시간 후 ether 마취하에 모든 동물을 치사시킨후, 위손상 억제율을 구하였다.

#### 병리조직학 검사

1% formalin액에서 고정된 검체를 위체부에서 육안손상이 관찰된 부위가 포함되도록 절취(trimming)하여 다시 10% formalin액에 후고정시킨 후 통상적인 절차를 거쳐 파라핀에 포매한 다음 microtome으로 세절후 hematoxylin-Eosin 염색을 실시하여 광학현미경으로 검사하였다.

#### 통계처리

모든 data는 mean  $\pm$  S.E.M.으로 나타내었으며, 통계처리 프로그램인 Sigmapstat를 이용하여 one way ANOVA test후 Dunnet's test 또는 Bonferroni t-test를 하여 p<0.05에서 유의성을 검증하였다.

## 결 과

### 알콜에 의한 급성위손상에 대한 방어효과

**Table 1.** Protective effect of DA-9601, rebamipide, cetraxate and ranitidine on absolute ethanol-induced gastric mucosal damage in rats

| Drug       | Dose (mg/kg, p.o.) | No. of animals | Gastric Lesion (Mean $\pm$ S.E.M., mm <sup>2</sup> ) | Inhibition (%) |
|------------|--------------------|----------------|--|----------------|
| Control    | -                  | 6              | 144.5 $\pm$ 8.6                                      | -              |
|            | 3                  | 6              | 127.0 $\pm$ 11.6                                     | 12.1           |
|            | 10                 | 6              | 104.3 $\pm$ 18.9                                     | 27.8           |
|            | 30                 | 6              | 56.5 $\pm$ 13.6*                                     | 60.9           |
|            | 100                | 6              | 6.2 $\pm$ 3.5*                                       | 95.7           |
| DA-9601    | 300                | 6              | 0.8 $\pm$ 0.5*                                       | 99.4           |
|            | 1                  | 6              | 127.7 $\pm$ 13.7                                     | 11.6           |
|            | 3                  | 6              | 79.8 $\pm$ 8.5*                                      | 44.8           |
|            | 10                 | 6              | 49.2 $\pm$ 9.6*                                      | 66.0           |
|            | 30                 | 6              | 35.7 $\pm$ 9.7*                                      | 75.3           |
| Rebamipide | 100                | 6              | 38.5 $\pm$ 6.0*                                      | 73.4           |
|            | 3                  | 6              | 134.2 $\pm$ 12.3                                     | 7.1            |
|            | 10                 | 6              | 122.5 $\pm$ 9.4                                      | 15.2           |
|            | 30                 | 6              | 61.2 $\pm$ 7.4*                                      | 57.6           |
|            | 100                | 6              | 24.8 $\pm$ 6.9*                                      | 82.8           |
| Cetraxate  | 300                | 6              | 9.8 $\pm$ 4.7*                                       | 93.2           |
|            | 1                  | 6              | 136.5 $\pm$ 20.7                                     | 5.5            |
|            | 3                  | 6              | 102.8 $\pm$ 8.3*                                     | 28.9           |
|            | 10                 | 6              | 116.5 $\pm$ 16.9                                     | 19.4           |
|            | 30                 | 6              | 110.2 $\pm$ 20.4                                     | 23.7           |
| Ranitidine | 100                | 6              | 107.7 $\pm$ 12.7                                     | 25.5           |

\*Significantly different from control (p<0.05).

이 결과를 Table I에 표하였다. 무수 EtOH 투여 1시간후의 위점막은 굵은 띠모양으로 선상출혈소견을 나타내었으며, 대조군의 경우 위점막 전체에서 출혈성 점막손상이 관찰되었다. DA-9601은 용량의존적으로 알콜 투여에 의한 위점막손상을 억제하였으며, cetraxate도 DA-9601과 유사한 효과를 보였으나 potency는 상대적으로 낮게 나타났다. DA-9601의 경우 30 mg/kg 이상 투여군에서는 대조군에 비해 유의한 손상억제효과를 나타내었으며(p<0.05), 100, 300 mg/kg 용량군에서의 손상억제율은 각각 95.7, 99.4%로 거의 정상의 소견을 나타내었다. DA-9601의 ED<sub>50</sub>는 18.0 mg/kg으로 산출되었다. 병리조직검사결과 대조군은 점막하조직의 부종과 점막층의 미란소견이 특징적으로 관찰되었으나, DA-9601 고용량군에서는 미란, 출혈, 부종 등의 조직학적 변화가 거의 관찰되지 않았다(Fig. 1). 대조약물로 사용한 rebamipide와 cetraxate도 무수 EtOH 투여에 의한 급성 위점막 손상에 대해 용량의존적인 점막보호작용을 나타내었으며, 최대효과는 rebamipide의 경우 30 mg/kg(억제율 75.3%) 용량에서, cetraxate는 300 mg/kg(억제율 93.2%) 용량에서 나타났고 각각의 ED<sub>50</sub>는 5.6, 29.0 mg/kg으로 계산되었다. 한편 대표적 H<sub>2</sub> 저해제인 ranitidine은 무수 EtOH-유발 급성 위손상에 대해 유의한 방어작용을 나타내지 않



Fig. 1. A: Histological sections of stomach from representative control rat treated orally with 1.5 ml of absolute ethanol. Note submucosal edema and extensive erosion (right). Hematoxylin and eosin.  $\times 100$ . B: Same magnification ( $\times 100$ ) of section obtained from a rat pretreated orally with DA-9601 (100 mg/kg) 1hr before the insult of absolute ethanol. No abnormalities were observed.

았으며, 용량반응성도 관찰되지 않았다.

**알콜성 위손상에 대한 약효지속시간**

본 실험에서 대조군의 위점막 손상은  $119.7 \pm 12.7(\text{mm}^2)$ 로 측정되었다. DA-9601투여군에서는 약물투여후부터 2시간까지 대조군에 대해 유의성있게 위점막손상을 억제하는 것으로 나타났다( $p < 0.05$ ). DA-9601(25 mg/kg) 투여후 30분에 86.5%의 손상억제율이 관찰되었고, 1시간 후에는 90.2%로 최대의 효과가 나타났으며, 2시간에서는 74.5%정도의 손상억제효과를 나타낸 다음 4시간 이후에는 약효를 거의 나타내지 않았다(Fig. 2). 한편 대조약물인 rebamipide와 cetraxate도 DA-9601과 유사하게 시간에 따른 반응 곡선을 나타내었으나 유의성있는 억제효과는 투약후 1시간 까지만 유지되었으며, 2시간이후에는 무효한 것으로 관찰되었다.

**알콜성 위손상에 대한 치료효과**

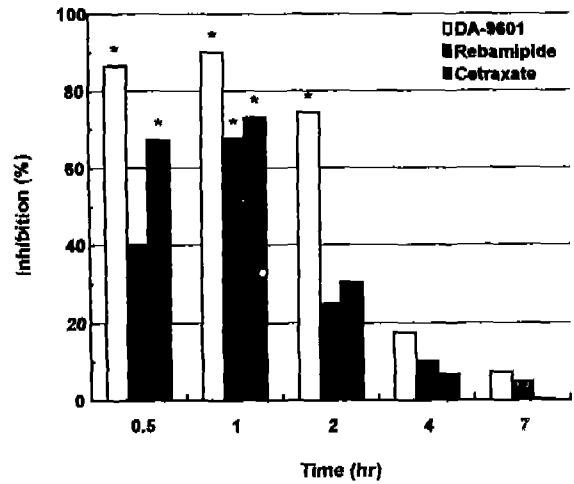


Fig. 2. Kinetics of cytoprotective effect of DA-9601, rebamipide and cetraxate against acidified alcohol-induced gastric mucosal damage in rats. □: DA-9601 30 mg/kg, ▨: Rebamipide 20 mg/kg and ▩: Cetraxate 50 mg/kg. \*Significantly different from control ( $p < 0.05$ ).

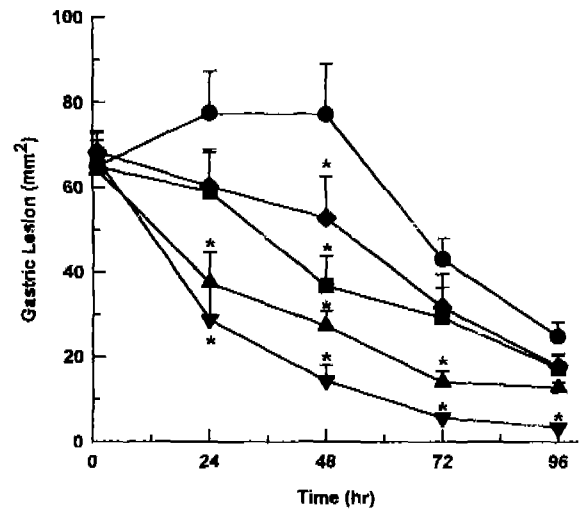


Fig. 3. Therapeutic effect of DA-9601 and cetraxate on 70% ethanol-induced gastric mucosal damage in rats. 70% ethanol was given 1hr prior to DA-9601 or cetraxate administration. ●: Control, ■: DA-9601 10 mg/kg, ▲: DA-9601 30 mg/kg, ▼: DA-9601 100 mg/kg and ◆: Cetraxate 100 mg/kg. \* Significantly different from control ( $p < 0.05$ ).

Alcohol 투여후 시간의 경과에 따른 위손상은 30분부터 시작되어 점차로 위점막 전체에 손상을 유발하고, 24시간에서 48시간까지 확대되며, 72시간후부터는 초기 30분에 비해 50% 감소된 손상지수를 나타내었고, 96시간후에는 70% 정도의 손상 소실율을 나타내며 자연치유양상을 나타내었다(Fig. 3). DA-9601은 각각의 시간대에서 용량의존적으로 치유촉진 효과를 빠르게 보였으며, 특히 30, 100 mg/kg 투여군에서는 24시간째부터 대조군에 대해 유의한 손상

**Table II.** Adaptive cytoprotective effect of DA-9601 and cimetidine on absolute ethanol-induced gastric mucosal damage in rats

| Drug          | Dose (mg/kg, p.o.) | No. of animals | Gastric Lesion (Mean $\pm$ S.E.M., mm <sup>2</sup> ) | Inhibition (%) |
|---------------|--------------------|----------------|--|----------------|
| Absolute EtOH | -                  | 7              | 96.3 $\pm$ 9.9                                       | -              |
| 10% EtOH      | -                  | 7              | 56.9 $\pm$ 6.5*                                      | 40.9           |
| +Abs. EtOH    |                    |                |  |                |
| DA-9601       | 30                 | 7              | 65.7 $\pm$ 13.3                                      | 31.8           |
| +Abs. EtOH    |                    |                |  |                |
| DA-9601       | 30                 | 7              | 23.0 $\pm$ 3.3*                                      | 76.1           |
| +10% EtOH     |                    |                |  |                |
| +Abs. EtOH    |                    |                |  |                |
| Cimetidine    | 30                 | 7              | 96.1 $\pm$ 13.6                                      | 0.2            |
| +Abs. EtOH    |                    |                |  |                |
| Cimetidine    | 30                 | 7              | 57.6 $\pm$ 6.7*                                      | 40.2           |
| +10% EtOH     |                    |                |  |                |
| +Abs. EtOH    |                    |                |  |                |

\*Significantly different from control ( $p < 0.05$ ).

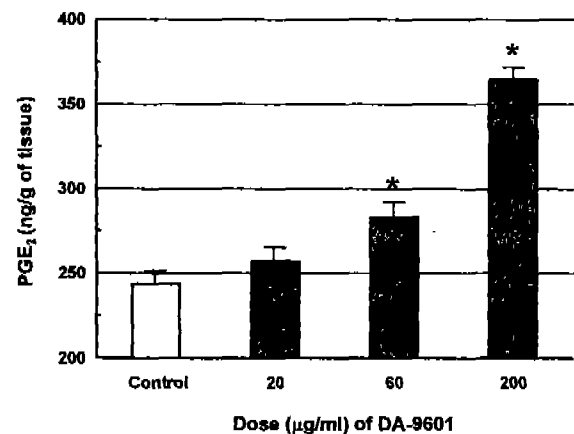
소실효과를 나타내었다( $p < 0.05$ ). DA-9601 30 mg/kg 투여군의 경우 EtOH 투여 후 24시간 및 48시간에 대조군에 비해 각각 50%와 70% 이상의 손상소실율을 나타내었으며, 100 mg/kg 투여군에서는 초기 24시간에 60% 이상의 손상억제효과를 나타내고, 48시간 이후에는 거의 정상소견으로 회복되었다. 한편 cetraxate 100 mg/kg 용량군은 DA-9601 10 mg/kg 투여군과 유사한 양상의 치유효과를 나타내었다.

#### 적응성 세포보호효과에 미치는 영향

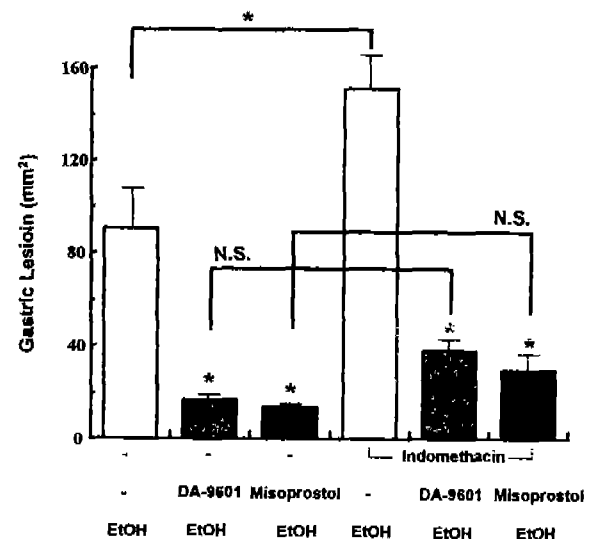
각 시험군에서의 육안손상지수는 Table II와 같다. 무수 EtOH 1 ml/head 용량을 경구투여한 대조군의 위점막손상지수는 면적은  $96.3 \pm 9.9$ 로 나타났으나 30분전에 10% EtOH를 전처치한 적응성 세포보호작용(AC)군에서는  $56.9 \pm 6.5$ 로 유의한 손상감소가 관찰되었다( $p < 0.05$ ). DA-9601 30 mg/kg을 투여하고 4시간 후에 무수 EtOH를 투여한 실험군에서의 손상지수는  $65.7 \pm 13.3$ (mm<sup>2</sup>)으로 대조군에 비해 감소경향을 나타내었으나 유의성은 없었다. 그러나, DA-9601 처치 후 10% EtOH를 다시 전처치한 시험군에서는 손상지수가 대조군과 AC 대조군에 대해  $23.0 \pm 3.3$  mm<sup>2</sup>으로 유의성 있는 손상감소를 나타내었다( $p < 0.05$ ). 한편 대조약물로 사용한 cimetidine 전처치군에서는 AC 대조군과 유사한 정도의 손상억제효과만 관찰되었다.

#### 내인성 prostaglandin에 미치는 영향

Fig. 4에서와 같이 흰쥐 neutrophil에 DA-9601을 가한 후 복강내 PGE<sub>2</sub>의 생성량은 용량의존적으로 증가하였다. 대조군에서의 PGE<sub>2</sub>의 양은 245 ng/g of tissue이었으며, DA-9601 20  $\mu$ g/ml 첨가군에서는 약한 증가 경향을 나타내었으며, 60, 200  $\mu$ g/ml 첨가군에서는 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 보였으며( $p < 0.05$ ), 특히 200  $\mu$ g/ml 투여군에서는 PGE<sub>2</sub>의 양이 49.6% 증가하였다.



**Fig. 4.** DA-9601 stimulates the prostaglandin E<sub>2</sub> secretion in rat peritoneal neutrophils. \*Significantly different from control ( $p < 0.05$ ).



**Fig. 5.** Effect of indomethacin pretreatment on mucoprotective action of DA-9601 and misoprostol against absolute ethanol. -: vehicle, E: absolute ethanol (1.5 ml/head), D: DA-9601 (100 mg/kg), M: misoprostol (200  $\mu$ g/kg) and I: indomethacin (5 mg/kg). \*Significantly different from control ( $p < 0.05$ ).

#### DA-9601의 약효에 대한 indomethacin 전처치의 영향

Fig. 5에서와 같이 무수 EtOH 단독투여군에 비해 DA-9601 100 mg/kg 투여군과 misoprostol 200  $\mu$ g/kg 투여군에서는 각각 91.5%, 92.9%의 유의한 위점막 보호효과가 관찰되었다( $p < 0.05$ ). 한편 indomethacin 5 mg/kg을 전처치한 시험군에서는 무수 EtOH 투여 후 손상지수가 EtOH만 투여한 군에 비해 66.9%나 증가된 것으로 나타났다( $p < 0.05$ ). 그러나 indomethacin 전처치 후 DA-9601과 misoprostol을 투여한 시험군에서의 위점막 손상은 대조군에 비해 각각 88.6, 89.2%의 손상억제효과가 관찰되었다( $p < 0.05$ ). 시험기간중 각 군에서의 임상증상관찰결과 misoprostol 200  $\mu$ g/kg 투

**Table III.** Protective effect of DA-9601 and L-NAME on absolute ethanol-induced gastric mucosal damage in rats

| Drug             | Dose (mg/kg) | No. of animals | Gastric Lesion (Mean $\pm$ S.E.M., mm <sup>2</sup> ) | Inhibition (%) |
|------------------|--------------|----------------|--|----------------|
| Control          | -            | 8              | 111.5 $\pm$ 7.2                                      | -              |
| DA-9601          | 100          | 7              | 12.4 $\pm$ 4.4*                                      | 88.9           |
| L-NAME           | 5            | 8              | 180.7 $\pm$ 28.1*                                    | -62.1          |
| DA-9601 + L-NAME | 100 +5       | 8              | 77.8 $\pm$ 9.1***                                    | 30.2           |

\*Significantly different from control ( $p < 0.05$ ). \*\*Significantly different from DA-9601 group ( $p < 0.05$ ).

여군에서는 indomethacin의 전처치여부에 상관없이 모든 개체에서 수양성 설사(watery diarrhea)를 나타내었으나 DA-9601 투여군에서는 설사 등의 일반증상이 관찰되지 않았다.

#### DA-9601의 약효에 대한 nitric oxide의 작용

무수 EtOH 투여전에 nitric oxide synthase (NOS) inhibitor인 L-NAME(5 mg/kg)를 전처치한 시험군에서는 무수 EtOH 단독투여군에 비해 유의하게 손상증가가 관찰되었으며( $p < 0.05$ , Table III), DA-9601 100 mg/kg 투여군에서는 알콜성 위손상에 대해 88.9%의 유의한 손상억제효과가 관찰되었다( $p < 0.05$ ). 한편, DA-9601과 L-NAME 동시 투여군에서는 EtOH 단독투여군에 비해 유의한 손상억제효과를 나타내었으나, DA-9601 단독투여군에 비해서 유의하게 손상정도가 증가된 것으로 관찰되었다( $p < 0.05$ ).

## 고 찰

소화성 궤양의 병인론해석에 있어 'no acid, no ulcer' (Schwarz, 1910)와 'balance theory' (Shay와 Sun, 1963)가 주류를 이루어왔는데 전자는 후자보다 먼저 제시된 이론으로 초기의 십이지장궤양에 초점이 맞추어져 있는 것이고, 후자는 위·십이지장궤양 모두에서 적용할수 있는 이론이라 할 수 있다. 일반적으로 위궤양 환자에서의 손상범위는 대개 위점막에 국한되기도 하나 간혹 악화된 경우에는 근육층까지 궤양이 진행되며, 심할 경우에는 천공(perforation)으로 인해 치명적인 급성복막염이 생기기도 한다(Silen, 1988). Galli 등(1988)은 급성 점막손상시 mast cell의 역할을 강조하였는데, mast cell은 미세혈관수축을 일으키는 histamine을 분비시킬 뿐 아니라(Jacobson 등, 1996; Wallace 등, 1992) adenosine, platelet-activating factor(PAF), serotonin, prostacycline 및 leukotriene 등 염증매개물질의 방출을 유도시켜(Befus, 1989; Hogaboam 등, 1993) 위점막 손상을 궤양으로 진행시키는데 탈과립된 mast cell이 많을수록 손상의 정도가 심해진다고(Beck 등, 1989; Karmeli 등, 1991).

알콜은 위점막의 직접자극에 의해 출혈과(Szabo 등, 1985) 점막하 근육층에 부종을 유발시키고 (Oates와 Hakkinen, 1988), 미세혈액순환의 정체로(Wallace 등, 1982) 급성위염을 유발한다(Robert 등, 1979). 알콜에 의한 위점막 손상시 초기에는 허혈상태(ischemia)와 점막내 ATP양 감소(Menguy와 Masters, 1974) 및 미세순환억제(Silen 등, 1981)가 관찰된다. 알콜에 의한 위손상의 육안소견은 위점막내 전반에 걸쳐 발생하고 있으며, 특징으로는 선상으로 길게 출혈 소견이 관찰되며(Vahi 등, 1979), 위점막의 barrier를 파괴하여 H<sup>+</sup> ion의 back diffusion을 유발하여 염증을 악화시킨다(Wallace 등, 1982). 알콜 투여후 위점막에 생기는 손상은 15분부터 육안으로 관찰할수 있으며, PG의 전처치에 의해 손상이 억제되고(Tarnawski 등, 1985), 이러한 면에서 궤양치유시 PG에 의한 미세혈류량 증가가 매우 중요한 요소로 알려지고 있다(Holzer 등, 1990; Holzer 등, 1991).

본 실험에서 DA-9601은 무수 ethanol 점막 손상에 대하여 육안검사에서도 거의 정상에 가까운 99.4%의 우수한 효과와, 용량의존적인 방어작용이 관찰되었으며, 병리조직 검사에서도 정상조직과 유사한 소견을 나타내었다. Ranitidine의 경우는 알콜 손상에 의한 위점막 방어효과를 볼수가 없었으며, 이는 Miyata 등(1991)의 실험에서와 같이 H<sub>2</sub>-antagonist는 alcohol성 위손상에 대해 유효성이 확인되지 않는다는 보고와 일치하는 결과이다. 약물의 작용지속시간 검토결과 rebamipide와 cetraxate가 투여 1시간후에 최대 효과를 보인후 2시간경과 후에는 약효가 거의 소실되는데 반해 DA-9601은 투여 30분 후부터 약효가 인정되며 위점막 보호효과도 2시간에서까지도 유효한 것으로 관찰되었다. 이러한 점은 기존의 점막보호제들이 갖는 약효의 속효성이 없고, 약효의 작용지속시간이 짧은 단점을 보완할수 있는 DA-9601의 특징이라고 할수 있다. 또한, 알콜 투여후 치료효과를 조사한 실험결과에서 DA-9601은 대조약물보다 우수한 손상치유 촉진작용을 나타내었는데, 이는 DA-9601이 알콜성 위점막 손상후 H<sup>+</sup> ion의 역확산을 용량의존적으로 유의하게 차단하여 지속적인 손상형성을 억제한다는 시험결과(미발표자료)와 상관이 있는 것으로 판단되었다. 이러한 실험 결과로 DA-9601은 알콜 투여 전후의 예방 및 치료 효과 작용이 대조 약물보다 우수하고 약효의 발현시간도 속효성과 지속성의 성질을 모두 갖춘 것으로 생각되었다.

'Cytoprotection'이란 일반적으로 PG의 혈류순환 개선, 점액분비, bicarbonate ion 등의 여러 작용에 의해 위점막 상해의 방어 및 치료효과를 개선시키는 작용으로 알려져 있다(Guslandi, 1985; Reinhart 등, 1983). 알콜에 의해 손상받은 위점막은 다른 자극이 없다면 5~7일 후면 정상으로 회복되며, 공격인자 억제제제 보다는 방어인자 억제제 체계의 약물을 투여하거나 PG 체제를 투여하면 손상치유가 빠른 것으로 보고되었다(Lacy와 Ito, 1982). 내인성 PG에 대

한 영향을 검토한 결과 DA-9601은 *in vitro* 상태에서 용량 의존적으로 PG의 생성을 증가시키는 것으로 나타나 DA-9601에 의한 세포보호작용에 있어 PG의 역할이 중요한 것으로 판단되었다. 그러나, 내인성 PG를 고갈시키기 위해 indomethacin을 전처치한 이후에도 DA-9601은 알콜성 점막손상을 유의하게 억제하는 것으로 나타났다. 이는 DA-9601의 점막보호 작용기전이 rebamipide와는 적어도 부분적으로 상이함을 시사하는 결과이며, PG 이외에 또 다른 작용기전이 DA-9601의 약효에 관여함을 추측케 하였다. Rebamipide의 경우 정상 랫드에서 PG의 분비를 용량의존적으로 증가시키고, 알콜에 의한 위점막 손상을 막아주지만 indomethacin 전처치에 의한 PG고갈 후에는 위점막 보호작용이 소실되는 것으로 보고되었다(Yamasaki 등, 1987).

PG와 유사하게 세포보호작용을 갖는 물질로 nitric oxide (NO)의 역할이 최근 주목받고 있다. NO는 혈관 내피세포에서 아미노산인 L-arginine으로부터 형성되어지고 (Palmer 등, 1987) 국소부위에서 혈류 속도를 조절하며 (Masuda 등, 1995; Pique 등, 1992), 위점막 보호에 관여하는데 (Lambrecht와 Peskar, 1992; Peskar 등, 1991), carbenoxolone이나 sucralfate와 같은 항궤양제의 보호효과에도 관여한다고 알려져 있다 (Konturek 등, 1992). 또한, NO는 위에서 점액의 분비를 증가시키며 (Brown 등, 1993), PAF나 histamine 같은 염증유발인자를 장내의 mast cell에서 안정화시키고 (Caplan 등, 1994; Kanwar 등, 1994), 알콜에 의한 위점막의 출혈성 손상 정도를 감소시킨다 (MacNaughton 등, 1989). 본시험에서 NO synthase inhibitor인 L-NAME 전처리는 cyclooxygenase inhibitor인 indomethacin 전처리와 마찬가지로 알콜성 점막손상에 대한 감수성을 유의하게 증가시켰는데, 이는 점막보호작용에 있어서 PG뿐 아니라 NO의 역할도 중요함을 간접적으로 시사하는 결과이다. 한편, L-NAME와 DA-9601을 동시에 투여한 군에서는 알콜에 의한 점막손상을 유의하게 억제하였으나, DA-9601 단독투여군에 비해서는 유의한 손상 증가를 나타내어 PG뿐 아니라 NO 역시 DA-9601에 의한 점막보호작용에 있어 중요한 매개물질로 판단되었다.

'Adaptive cytoprotection(AC)'이란 경미한 자극(mild irritant)의 전처치로 인해 위내의 방어 기전이 자극 받아 연속적인 강한 자극(noxious irritant)에 대처하여 점막 보호작용을 나타내는 것으로 정의될 수 있다 (Hatakeyama 등, 1993). AC의 정확한 작용기전은 아직 밝혀지지 않았지만 정도의 자극이 위점막에서의 생리적 막을 구축하고, 위액분비를 자극하여 강한 자극물질을 희석함으로써 보호효과를 나타낸다고 추정되고 있다 (Allen 등, 1986; Duppy 등, 1988). 과거에는 내인성 PG가 AC에 있어 주작용 물질로 알려졌는데 (Robert 등, 1978), 그 이유로는 AC가 indomethacin 전처치로 방해되며, 또한 경미한 자극시 위점막에서의 PG 생성

이 확인되었기 때문이다 (Chaudhury와 Robert, 1980). 그러나, 그 후 PG의 생성이 완전히 억제되어도 AC 현상이 가능하다고 보고되었으며 (Hawkey 등, 1988), 또한 indomethacin의 AC 억제작용에 대해 회의적인 연구결과가 보고되었고 (Wallace, 1988). Balaa (1989)는 PG와는 다른 내인성 보호물질의 존재를 주장하였으며, 후에 AC 작용에 있어 NO도 위점막 보호작용에 중요한 역할을 하는 매개체로 알려졌다 (Hatakeyama 등, 1993, Tepperman과 Soper, 1994). 본 시험결과 대조약물인 cimetidine이 AC에 대해 어떠한 작용도 나타내지 못한데 반해 DA-9601은 10% 알콜의 AC 작용을 유의하게 상승시켜 현재까지 밝혀진 약리작용 외에 또다른 작용기전이 DA-9601의 위점막 보호효과에 관여할 수 있다고 추정되었다. DA-9601의 AC 증강효과에 대해서는 좀더 깊이 있는 약리학적 검토가 진행될 것으로 믿는다.

이상의 결과에서, 애엽추출물인 DA-9601은 알콜성 위점막 손상에 대해 99% 이상의 우수한 방어효과를 나타내고, 약효지속시간 및 치료효과에 있어서도 기존의 항궤양제보다 우수한 유효성을 나타내며, 이러한 위점막 보호작용에 있어 적어도 내인성 PG와 NO가 관여됨을 알 수 있었다. 이는 DA-9601이 알콜성 위손상에 대해 예방목적 뿐 아니라 치료제로서도 유용성이 높음을 시사하는 결과로 판단된다.

## 감사의 글

본 연구의 일부는 1996년도 보건복지부 보건의료기술연구사업의 지원에 의해 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Allen, A., Hutton, D. A., Leonard, A. J., Pearson, J. P. and Sellers, L. A. (1986). The role of mucus in the protection of the gastroduodenal mucosa. *Scand. J. Gastroenterol.* **21**(suppl. 125), 71-77.
- Balaa, M. A. (1989). Release of protective products, different from prostaglandins, by rat stomachs exposed to mild irritant. *Dig. Dis. Sci.* **34**, 429-435.
- Beck, P. L., Morris, G. P. and Wallace, J. L. (1989). Reduction of ethanol-induced gastric damage by sodium cromoglycate and FPL 52694. Role of leukotrienes, prostaglandins and mast cells in the protective mechanism. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **67**, 287-293.
- Befus, A. D. (1989). Mast cells that are polymorphic. *Reg. Immunol.* **2**, 176-187.
- Brown J. F., Hanson, P. J. and Whittle, B. J. (1993). Nitric oxide generators and cGMP stimulate mucus secretion by rat gastric mucosal cells. *Am. J. Physiol.* **265**, G418-G422.
- Caplan, M. S., Hedlund, E. and Hill, N. (1994). The role of endogenous nitric oxide and platelet-activating factor in hypoxia-induced intestinal injury in rats. *Gastroenterology* **106**, 346-352.

- Chaudhury, T. K. and Robert, A. (1980). Prevention by mild irritants of gastric necrosis produced in rats by sodium taurocholate. *Dig. Dis. Sci.* **25**, 830-836.
- Duppy, D., Kronauge, J. F., Jones, A. G. and Szabo, S. (1988). Gastric mucosal protection may be mediated through increases in vascular permeability which create a histodilutional barrier. *Gastroenterology* **94**, A615.
- Galli, S. J., Wershil, B. K., Bose, R., Walker, P. A. and Szabo, S. (1988). Ethanol-induced acute gastric injury in mast cell-deficient and congenic normal mice. Evidence that mast cells can augment the area of damage. *Am. J. Pathol.* **128**, 131-140.
- Guslandi, M. (1985). Ulcer-healing drugs and endogenous prostaglandins. *Int. J. Clin. Pharm. Ther. Toxicol.* **23**, 398-402.
- Halter, F. (1995). Pathology of peptic ulcer disease. *Sucralfate* (D. Hollander & G. N. J. Tytgat, Plenum Medical Co.) pp. 1-13, New York.
- Hatakeyama, Y., Matsuo, M., Tomoi, M., Mori, J. and Kohsaka, M. (1993). Multiple mediators and mechanisms are involved in the adaptive cytoprotection provided by certain mild irritants. *Japan. J. Pharmacol.* **63**, 251-256.
- Hawkey, C. J., Kemp, R. T., Walt, R. P., Bhaskar, N. K., Davies, J. and Filipowicz, B. (1988). Evidence that adaptive cytoprotection in rats is not mediated by prostaglandins. *Gastroenterology* **94**, 948-954.
- Hogaboam, C. M., Bissonnette, E. Y., Chin, B. C., Befus, A. D. and Wallace, J. L. (1993). Prostaglandins inhibit inflammatory mediator release from rat mast cells. *Gastroenterology* **104**, 122-129.
- Holzer, P., Pabst, M. A., Lippe, I. T., Peskar, B. A., Livingston, E. H. and Guth, P. H. (1990). Afferent nerve-mediated protection against deep mucosal damage in the rat stomach. *Gastroenterology* **98**, 839-848.
- Holzer, P., Raybould, H. E., Lippe, I. T., Amann, R., Livingston, E. H., Peskar, B. M., Peskar, B. A., Tache, Y. and Guth, P. H. (1991). Role of sensory neuropeptides in gastric mucosal damage and protection. In: Garner, A., O'Brien, P. E., eds. *Mechanisms of injury, protection, and repair of the upper gastrointestinal tract*. Chichester: John Wiley, 103-113.
- Jacobson, E. D., Linford, R. H. and Grossman, M. I. (1996). Gastric secretion in relation to mucosal blood flow studied by a clearance technic. *J. Clin. Invest.* **45**, 1-13.
- Kanwar, S., Wallace, J. L. and Befus, D. (1994). Nitric oxide synthesis inhibition increases epithelial permeability via mast cells. *Am. J. Physiol.* **266**, G222-G229.
- Karmeli, F., Eliakim, R., Okon, E. and Rachmiliewitz, D. (1991). Gastric mucosal damage by ethanol is mediated by substance P and prevented by ketotifen, a mast cell stabilizer. *Gastroenterology* **100**, 1201-1216.
- Kim, O. J., Kang, K. K., Kim, D. H., Baik, N. G., Ahn, B. O., Kim, W. B. and Yang, J. (1996). Four-week oral toxicity study of DA-9601, an antiulcer agent of *Artemisia* spp. extract, in rats. *J. Appl. Pharmacol.* **4**, 354-363.
- Konturek, S. J., Brzozowski, T., Majka, J. and Czarnobilski, K. (1992). Nitric oxide in gastroprotection by sucralfate, mild irritant and nocloprost: role of mucosal blood flow. *Gastroenterology* **102**, A101.
- Lacy, E. R. and Ito, S. (1982). Microscopic analysis of ethanol damage to rat gastric mucosa after treatment with a prostaglandin. *Gastroenterology* **83**, 619-625.
- Lambrecht, N. and Peskar, B. M. (1992). Role of nitric oxide (NO) in the gastroprotection by mild irritants in the rat stomach. *Gastroenterology* **102**, A105.
- Lee, E. B. (1995). The effect of *Artemisia Herba* on gastric lesion and ulcers in rats with isolation of cupatilin, in Unesco Regional Seminar on the Chemistry, Pharmacology and clinical use of flavonoid compounds. pp. 13-20, Oct. 11-15, Chungnam National Univ. Taejon, Korea.
- Lee, E. B., Cheon, S. A., Lee, E. S., Kim, O. K., Ko, S. T., Yu, K. J., Shin, D. S., Kang, S. Y., Kim, S. H. and Sohn, M. H. (1996). General Pharmacology of *Artemisia* extract powder, DA-9601. *J. Appl. Pharmacol.* **4**, 174-183.
- Lowry, O. H., Rosenbrought, N. J., Forr, A. L. and Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
- MacNaughton, W. K., Cirino, G. and Wallace, J. L. (1989). Endothelium derived relaxing factor has protective action in the stomach. *Life Sci.* **45**, 1869-1876.
- Masuda, E., Kawano, S., Nagano, K., Tsuji, S., Takei, Y., Tsuji, M., Oshita, M., Michida, T., Kobayashi, I., Nakama, A., Fusamoto, H. and Kamada, T. (1995). Endogenous nitric oxide modulates ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. *Gastroenterology* **108**, 58-64.
- Menguy, R. and Masters, B. S. (1974). Gastric mucosal energy metabolism and 'stress ulceration'. *Ann. Surg.* **180**, 538-548.
- Miyata, K., Kamato, T., Nishida, A. and Honda, K. (1991). Studies on the mechanism for the gastric mucosal protection by famotidine in rats. *Japan. J. Pharmacol.* **55**, 211-222.
- Mizui, T. and Doteuchi, M. (1983). Effect of polyamines on acidified ethanol-induced gastric lesions in rats. *Japan. J. Pharmacol.* **33**, 939-945.
- Oates, P. J. and Hakkinen, J. P. (1988). Studies on the mechanism of ethanol-induced gastric damage in rats. *Gastroenterology* **94**, 10-21.
- Oh, T. Y., Ryu, B. K., Park, J. B., Lee, S. D., Kim, W. B., Y. J. and Lee, E. B. (1996). Studies on antiulcer effects of DA-9601, an *Artemisiae Herba* extract against experimental gastric ulcers and its mechanism. *J. Appl. Pharmacol.* **4**(2), 111-121.
- Palmer, R. M. J., Ferrige, A. G. and Moncada, S. (1987). Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* **327**, 523-526.
- Peskar, B. M., Respondek, M., Mller, K. M. and Peskar, B. A. (1991). A role for nitric oxide in capsaicin-induced gastroprotection. *Eur. J. Pharmacol.* **198**, 113-114.
- Pique, J. M., Esplugues, J. V. and Whittle, B. J. (1992). Endogenous nitric oxide as a mediator of gastric mucosal vasodilation during acid secretion. *Gastroenterology* **102**, 168-174.
- Reinhart, W. H., Mller, O. and Halter, F. (1983). Influence



- of long-term 16, 16-dimethyl prostaglandin E<sub>2</sub> treatment on the rat gastrointestinal mucosa. *Gastroenterology* **85**, 1003-1010.
- Robert, A., Lancaster, C., Hanchar, A. J. and Nezamis, J. E. (1978). Mild irritants prevent gastric necrosis through prostaglandin formation: histological study. *Gastroenterology* **74**, 1086.
- Robert, A., Nezamis, J. E., Lancaster, C. and Davis, J. P. (1983). Mild irritants prevent gastric necrosis through "adaptive cytoprotection" mediated by prostaglandins. *Am. J. Physiol.* **245**, G113-G121.
- 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. *Gastroenterology* **77**, 433-443.
- Safayhi, H., Tiegs, G. and Wendel, A. (1985). A novel biologically active seleno organic compound-V: Inhibition by Ebselen (PZ51) of rat peritoneal neutrophil lipooxygenase. *Biochem. Pharmacol.* **34**, 2691-2694.
- Schwarz, K. (1910). Ueber penetrirende Magen und Jejunalgeschw. *Beitr. Klin. Chir.* **67**, 96-128.
- Shay, H. and Sun, D. C. H. (1963). Etiology and pathology of gastric and duodenal ulcer. In *Gastroenterology* (Buchus, H. L. & Saunders, W. B. Co.) pp. 420-465, Philadelphia and London.
- Silen, W. (1988). Experimental models of gastric ulceration and injury. *Am. J. Physiol.* **255**, 6395-6402.
- Silen, W., Merhav, A. and Simson, J. N. L. (1981). The pathophysiology of stress ulcer disease. *World J. Surg.* **5**, 165-174.
- Szabo, S., Trier, J. S., Brown, A. and Schnoor, J. (1985). Early vascular injury and increased vascular permeability in gastric mucosal injury caused by ethanol in the rat. *Gastroenterology* **88**, 228-236.
- Tarnawski, A., Hollander, D., Stachura, J., Krause, W. J. and Gergely, H. (1985). Prostaglandin protection of the gastric mucosa against alcohol injury- a dynamic time-related process. *Gastroenterology* **88**, 334-352.
- Tepperman, B. L. and Soper, B. D. (1994). Nitric oxide synthase induction and cytoprotection of rat gastric mucosa from injury by ethanol. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **72**, 1308-1312.
- Vahi, R., Guttman, F. M. and Mitmaker, B. (1979). Mechanism of cytoprotective effects of PGE<sub>2</sub>. *Surg. Forum* **30**, 332-334.
- Wallace, J. L. (1988). Increased resistance of the rat gastric mucosa to hemorrhagic damage after exposure to an irritant: role of the "mucooid cap" and prostaglandin synthesis. *Gastroenterology* **94**, 22-32.
- Wallace, J. L., McKnight, G. W. and Befus, A. D. (1992). Capsaicin-induced hyperemia in the stomach: possible contribution of mast cells. *Am. J. Physiol.* **263**, G209-G214.
- Wallace, J. L., Morris, J. P., Krause, E. J. and Greaves, S. E. (1982). Reduction by cytoprotective agents of ethanol-induced damage to the rat gastric mucosa: a correlated morphological and physiological study. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **60**, 1686-1699.
- Yamasaki, K., Kanbe, T., Chijiwa, T., Ishiyama, H. and Morita, S. (1987). Gastric mucosal protection by OPC-12759, a novel antiulcer compound, in the rat. *Eur. J. Pharmacol.* **142**, 23-29.