

# 인삼이 적혈구막을 통한 $\text{Na}^+$ 이동에 미치는 영향\*

연세대학교 의과대학 생리학교실

이 승 일 · 강 두 희

=Abstract=

## Effect of Ginseng Alcohol Extract on Sodium Movements across the Red Cell Membrane

Syng Il Lee and Doo Hee Kang

Dept. of Physiology, Yonsei Univ. College of Medicine

In an attempt to explore the effect of Ginseng on the permeability of the biological membrane to cations we have investigated the effect of Ginseng-alcohol extract on the transport of  $\text{Na}^+$  in human red blood cell preparations.

The  $\text{Na}^+$  influx was measured in intact red cells using  $^{22}\text{Na}$  as a tracer and the efflux in resealed red cells using  $^{24}\text{Na}$  as a tracer.

1. The influx of  $\text{Na}^+$  was not apparently changed by the Ginseng-alcohol extract of 20mg% in the incubation medium.

2. Similarly, 20mg% Ginseng-alcohol extract in the cellular space did not alter the efflux of  $\text{Na}^+$  from the cell. However, 50mg% of Ginseng-alcohol extract in the cell resulted in a significant increase in the  $\text{Na}^+$  efflux and this effect was magnified when the cell was suspended in the medium containing the Ginseng-alcohol extract in a concentration of 20mg%.

The results suggest that Ginseng-alcohol extract over 50mg% increase permeability of red blood cell membrane to  $\text{Na}^+$  by altering the membrane integrity.

### I. 서 론

인삼은 중국, 한국, 일본 등지에서 널리 사용되어 왔으며 항피로효과(antifatigue), 항저온(antihypothermal) 효과를 가지고 있다하여 오랫동안 한방약재로서 인삼의 가치를 인정받고 있는데 특히 인삼은 질병 후 회복기에 체력증대와 보혈강장제로서 많은 사람들이 이용하고 있다.

따라서 이같은 인삼의 성분과 약효를 규명하기 위해서 수년간 많은 연구가 진행된 바 있어서 Garriques (1854)는 Canada 산의 American ginseng 으로부터 일종의 saponin 을 분리하여 panaquilone 이라 명명한

이후 계속된 연구결과에 의하여 인삼에는 saponin 성 배당체가 포함되어 있음이 보고 되었다(近藤 등 1915, 1918, 1920, 酒井 1914, Shibata 등 1963).

한편 인삼의 약리작용에 대해서도 다방면으로 검토 되었는데 주로 대사, 호흡, 발육 및 중추신경계에 영향을 미친다고 보고하였으나(이 1962, 한 및 조 1957, 김 1970), 인삼이 세포막 투과도에 미치는 약리작용에 대한 연구보고는 드물다.

인삼이 histamine 유리작용에 관계한다는 이등(1960)의 보고에 의하면 개의 정맥에 인삼엑기스를 주사 하였을 때 혈장속에 상당량의 histamine 이 유리되었음을 관찰하고 인삼중에는 체내의 histamine 을 유리하는 물질이 함유되어 있을 것으로 추정하였다. 백(1976)등도 인삼추출액을 백혈구세포에 투여했을 때 histamine 유리가 증가함을 관찰함으로써 인삼이 세포막

\* 본 연구는 1976, 1977년도 유한 연구비의 지원으로 이루어졌음.

투과도에 영향을 미친다고 시사하였으며 정(1971)은 인삼의 주요성분인 saponin에 의해서 포도당의 세포막 투과성을 항진시킴을 증명하였고 그 외에 linoleic acid 등이 포도당대사를 촉진한다는 보고로 보아 인삼에 포함된 지방산이 대사촉진 성분으로서, 포도당의 세포막 투과에 간접적으로 작용할 가능성이 있다고 하였다. 따라서 본 실험에서는 인삼알콜추출물이 세포막을 통한 이온 투과도에 영향이 있을 것으로 생각하여 생체 세포막으로써 적혈구막을 분리하여 적혈구막을 통한 <sup>24</sup>Na의 능동적 이동과 수동적 이동에 관한 인삼효과를 비교 연구하였다.

## II. 실험방법 및 재료

### 1. 적혈구막을 통한 Na<sup>+</sup> influx의 측정

혈액은행에서 얻은 신선한 사람의 혈액을 3,500rpm으로 5분간 원심분리하여 (International centrifuge, size 2, model V) 그 상층액을 버리고 침전된 적혈구를 생리적 식염수로 3회 세척한 후 침전된 적혈구와 0.1 μci/ml의 <sup>22</sup>Na가 들어 있는 isotonic saline과의 용적비를 1:2로 하여 적혈구 부유액을 만들고 이를 둘로 나누어 하나는 대조군으로 하고, 다른 하나는 incubation medium에 인삼알콜추출물을 20mg%로 첨가하여 실험군으로 하였다. 이것을 실온에서 incubation 하면서 인삼알콜추출물 첨가로 부터 2, 5, 10, 30, 60, 90, 120분 경과후 각각 1ml씩 sampling한 후 즉시 원심분리하여 상층액을 제거하고 침전된 적혈구를 생리적 식염수로 2회 세척하였다. 세척된 적혈구를 50 μl씩 취하여 증류수 0.1ml를 첨가하여 용혈시킨 후 그중 50μl를 counting vial에 넣어 건조시킨 다음 Bray's solution 10ml를 가하여 Packard Tri-Carb liquid scintillation spectrometer (Model 3320 Packard instrument Co. Inc.)상에서 방사능을 측정 한후 그로부터 적혈구내로 이동한 <sup>22</sup>Na의 방사능을 산출하였다.

### 2. Resealed 적혈구(RBC) 제작 및 Na<sup>+</sup> 이동의 측정

Resealed RBC의 제작은 Schatzmann 및 Vincenzi (1969)의 방법에 의하여 시행하였다. 즉 1mM MgCl<sub>2</sub>, 1mM CaCl<sub>2</sub>, 10mM NaCl, 10mM Tris (PH 7.4) 및 <sup>24</sup>NaCl 1μci/ml가 들어있는 용혈용액 (lysing solution) 65ml에 생리적 식염수로 3회 세척한 사람의 적혈구 20ml를 넣어 주면서 135초 동안 실온에 두었다가 일

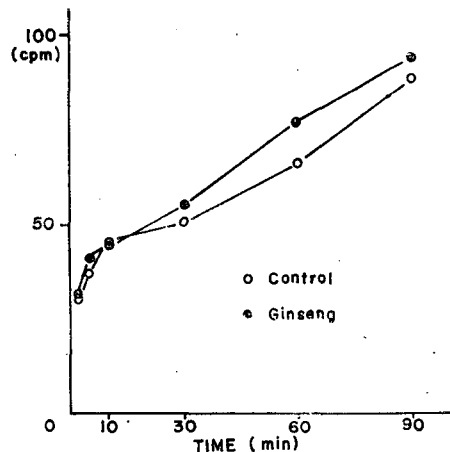
정량의 3M KCl을 첨가하여 등장성 용액이 되게 하여 resealing 시켰다. 이를 실온에서 5분간 방치한 다음 10,000×g, 0°C에서 10분간 원심분리 하였다(Sorvall RC2-B). 침전된 RBC는 2mM MgCl<sub>2</sub>, 2mM ATP, 1mM CaCl<sub>2</sub>, 140mM NaCl, 10mM KCl 및 10mM Tris(pH 7.4)로 구성된 incubation 용액으로 2회 세척하고 incubation 용액과 resealed RBC를 1:1의 비율로 혼합하여 37°C에서 incubation 하면서 incubation 용액에 resealed RBC를 혼합한 시간으로 부터 0, 2, 5, 10, 20, 40, 60분 간격으로 1ml씩 취하여 0°C에서 10,000×g로 5분간 원심분리한 후 그 상층액 50μl를 counting vial에 옮겨 건조시켰고 여기에 Bray's solution 10ml를 첨가하여 Packard Tri-Carb liquid Scintillation spectrometer (Model 3320, instrument Co. Inc)상에서 <sup>24</sup>Na의 방사능을 측정 한 후 그 값으로 부터 RBC에서 용액쪽으로 빠져나온 <sup>24</sup>Na의 방사능을 산출하였다.

Resealed RBC를 만들때 용혈용액에 인삼추출액을 각각 20mg%, 및 50mg%로 넣어 약물의 효과를 관찰하였고 또한 RBC내부에 상기약물이 존재하고 있는 조건에서 RBC외부에 (incubation 용액에) 인삼알콜추출액 20mg%를 첨가했을 때의 효과도 비교 관찰하였다

## III. 실험 성적

### 1. 인삼이 적혈구막을 통한 <sup>22</sup>Na influx에 미치는 영향

Incubation 용액에 <sup>22</sup>Na를 첨가하고 Cell내로 이동된 방사능을 측정하여 제 1도에 표시된 것과 같은 결

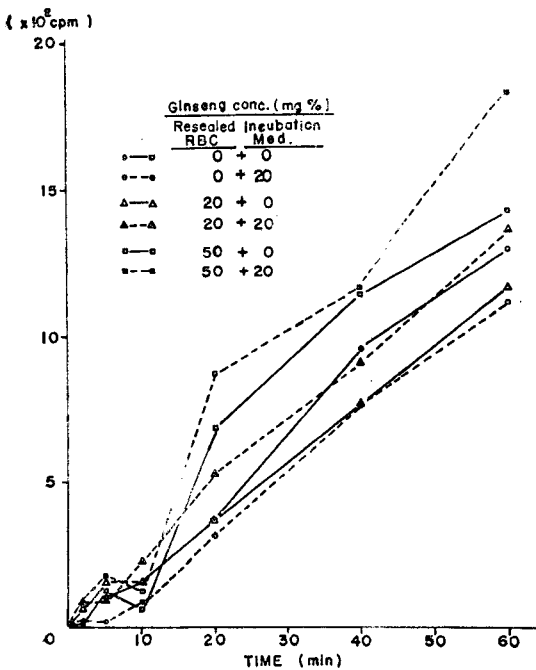


제 1도. 인삼이 <sup>22</sup>Na influx에 미치는 영향

과를 얻었다. 대조군과 인삼군의 방사능은 incubation time 30분까지는 거의 차이가 없었다. 30분 이후에는 인삼군에서 다소 높은 경향을 보였으나 통계적으로 유의한 차이는 아니었다( $p > 0.1$ ). 이 사실은 인삼알콜추출액 20mg%는 적혈구막을 통한  $^{24}\text{Na}$  이동에 별다른 영향을 미치지 않음을 나타낸다.

## 2. 인삼이 적혈구막에서 $^{24}\text{Na}$ efflux 에 미치는 영향

Resealed RBC 내의 인삼알콜추출액의 농도가 20 mg%, 50mg%로 증가할때 incubation 시간에 따라 incubation 용액쪽으로 빠져나온  $^{24}\text{Na}$ 의 방사능을 측정하였으며, 같은 조건하에서 incubation 용액에 20 mg%의 인삼추출액이 첨가되었을 때의 효과를 관찰하였다. 제 2 도에서 보는 바와 같이 incubation 용액내에 인삼추출액이 존재하지 않는 경우에는 resealed RBC 내의 인삼농도가 20mg%에서는 incubation time 20분 이후부터 적혈구로부터 빠져나온  $^{24}\text{Na}$ 의 방사능이 대조군에 비해 다소 감소되는 경향을 나타내었으나 유의적인 차이는 아니었다( $p > 0.1$ ). 그러나 resealed RBC 내의 인삼농도가 50mg%일 때는 incubation time 20분 이후  $^{24}\text{Na}$ 의 efflux가 대조군에 비해 유의하게 증가하였다( $p < 0.05$ )



제 2 도. 인삼이  $^{24}\text{Na}$  efflux 에 미치는 영향

한편 incubation 용액내에 20mg%의 인삼 추출액이 존재하는 경우에는 resealed RBC 내부에 인삼추출액이 없거나 20mg%를 함유하고 있을 때  $^{24}\text{Na}$ 의 efflux가 대조군에 비해 약간 증가되었으나 유의한 차이는 아니었다( $p > 0.1$ ). 그러나 incubation 용액내에 20mg%의 인삼추출액이 존재하고 resealed RBC 내의 인삼농도가 50mg%일 때는 대조군에 비하여  $^{24}\text{Na}$ 의 efflux가 현저히 증가하였다( $p < 0.05$ ).

## IV. 고 찰

적혈구막을 통한  $\text{Na}^+$ 의 이동양상은 다음 세가지로 대별할 수 있다(Flynn 및 Maizels 1949, Glynn 1956, Post 및 Jolly 1957). 첫째  $\text{Na}^+$ 이 전기화학적 전위차에 따라 수동적으로 세포내로 들어오거나 나가는 과정이며, 둘째는  $\text{Na}^+$ 이 1:1 교환확산(exchange diffusion)에 의해서 세포막을 통해 이동되는 과정이 있다. 이 교환확산은 carrier mediated transport 이긴하지만 이에 의해서는 net  $\text{Na}^+$  transport는 없다(Glynn 1956, Glynn 1964, Judah 및 Ahmed 1964). 세번째로  $\text{Na}^+$ 은 전기화학적 전위차에 역행하여 이동되는 능동적 이동(active transport) 과정에 의하여 운반되며  $\text{Na}^+$ 의 능동적 efflux는  $\text{K}^+$ 의 능동적 influx와 stoichiometrically 연관되어 있고 에너지원으로 ATP를 사용한다고 알려져 있다(Dunham 및 Glynn 1961, Glynn 1956, Hoffman 1962, Sen 및 Post 1964).

인삼추출액이  $\text{Na}^+$ 이동에 미치는 영향에 대하여 이등(1976)은 저농도의 인삼추출액이 개구리 상피세포막을 통한  $\text{Na}$  투과도를 증가시키므로써 SCC (short circuit current)를 증가시키고 고농도에서는  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  ATPase 활성도를 억제하므로써 SCC를 감소시킨다고 보고하였다. 이와 같은 인삼의 이중효과에 대해 이등(1976)은 고농도의 인삼추출물을 투여하였을 때 SCC가 감소하는 것은 인삼추출물로 인한 투과도 증가에 비해  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  ATPase의 활성도가 더 억제당했기 때문이며 인삼추출물이  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  ATPase 활성도를 억제함에도 불구하고 낮은 농도를 투여했을 때 SCC가 증가되는 것은 인삼추출물중 어느 성분이 ADH나 c-AMP 처럼 점막측 세포막의  $\text{Na}^+$  투과도를 증가시키기 때문이라고 추측하였다.

한편 백등(1976)의 연구보고에 의하면 인삼추출액이 stearic acid 인공단분자막에 침투되는 것으로 보아 인삼이 표면활성 물질로서 작용할 것이라고 하였다. 일반적으로 saponin은 적혈구막을 비롯하여 여러가지

생제막의 막 구성요소의 일부를 파괴시키므로서 세포막의 투과도와 구조상의 변화를 야기시킨다고 알려져 있다(seufert 1965, Bangham 등 1962, Husson 및 Luzzati 1963).

본 실험에서 resealed RBC 내부의 인삼추출농도가 20mg%일때는 Na<sup>+</sup>efflux에 유의한 차를 보이지 않았고(제 2 도 참조), incubation medium 20mg%의 인삼추출액의 존재할때 Na<sup>+</sup>influx가 영향을 받지 않았는데(제 1 도 참조) 이는 인삼농도 20mg%는 적혈구막을 통한 Na<sup>+</sup>이동에 별로 영향을 주지 않음을 나타낸다. 그러나 resealed RBC 내부의 인삼농도가 50mg% 존재할때는 Na<sup>+</sup>efflux가 현저히 증가하였으며(p < 0.05), 이 같은 증가는 외부에 20mg%의 인삼추출액을 첨가할 때는 더욱 현저하였다.

그런데 세포막을 통한 Na<sup>+</sup>의 이동은 세포막의 Na<sup>+</sup>에 대한 투과도와 세포내부의 Na<sup>+</sup> 농도 그리고 pump activity에 의해 좌우되므로 실제 인삼추출액이 어느 과정에서 작용하는지는 정확히 알 수 없으나 아마도 인삼성분중 saponin이 세포막의 integrity를 변화시키므로서 Na<sup>+</sup> 투과도에 영향을 주는 것으로 추측되며 앞으로 K<sup>+</sup>과 연관을 맺어 연구하므로서 인삼 영향에 대한 보다 명확한 기전을 알 수 있을 것이라고 사료된다.

## V. 결 론

인삼알칼추출물이 적혈구막을 통한 Na<sup>+</sup> 이동에 미치는 영향을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 인삼추출액 20mg%에서는 적혈구막을 통한 Na<sup>+</sup>이동에 영향을 주지 않았다.

2. 인삼추출액이 적혈구 내부에 50mg%로 존재할때는 Na<sup>+</sup> efflux가 현저히 증가하였으며 이 증가효과는 외부에 20mg%의 인삼추출액을 첨가했을 때 더욱 현저하였다.

이상의 실험 결과로 인삼추출액 20 mgmg%에서는 Na<sup>+</sup>이동에 영향이 없고 50mg%에서 세포막 integrity에 영향을 주어 Na<sup>+</sup>efflux를 증가시키는 것으로 생각된다.

## Reference

1) Garriques.; *Panax quinquefolia L. Annal. d. Chem. W. Pharmac. Bd.* 90. 231, 1854; 민병기: 조선의학회잡지, 19: 68, 1927에서 인용

2) 酒井: 동경의학회잡지, 28: 8, 1918.; 민병기: 조선의학회잡지, 19: 69, 1927에서 인용.  
 3) 近藤, 田中, 山口, 天野: 조선인삼의 성분연구 보고. 약학잡지. 401: 799, 1915, 440: 747. 1918. 466: 1027, 1920.  
 4) Flynn, F., and M. Maizels.; *Cation control in human erythrocytes. J. Physiol. (London).* 110: 301, 1949.  
 5) Glynn, I.M.; *Sodium and potassium movements in human red cells. J. Physiol. (London).* 134: 218, 1956.  
 6) Post, R.L., and P. C. Jolly; *The linkage of sodium, potassium and ammonium active transport across the human erythrocyte membrane. Biochem. Biophys. Acta.* 25: 118, 1957.  
 7) 한구동, 조형원: 대사과정에 미치는 인삼의 영향에 관한 연구. 제 1보. rat의 체중 및 기초대사량에 미치는 영향에 대하여. 서울대학교 논문집(자연과학). 6: 124, 1957.  
 8) 이우주, 장운섭, 이세규: 인삼의 histamine 유리 작용에 관한 연구. 최신의학. 3: 37, 1960.  
 9) Dunham, E. T., and I. M. Glynn.; *Adenosinetriphosphatase activity and the active movements of alkali metal ions. J. Physiol. (London).* 165: 274, 1961.  
 10) Bangham, A. D., R. W. Horen., A. M. Glauert., J. T. Dingle and J.A. Lucy.; *Action of saponin on biological cell membranes. Nature.* 196: 935, 1962.  
 11) 이명수: 인삼이 기초대사에 미치는 영향. 중앙의학. 2(5): 509, 1962.  
 12) Hoffman, J.F.; *The active transport of sodium by ghosts of human red blood cells. J. Gen. Physiol.* 45: 837 1962.  
 13) Shibata, S.; *Studies on the constituents of japanese and chinese crude drugs. XI. Panaxadiol, a saponin of ginseng roots. Chem. and Pharm. Bull.* 11: 759, 1963.  
 14) Husson, F. and V. Luzzati; *Structure of red cell ghosts and effect of saponin treatment. Nature.* 197: 822, 1963.  
 15) Glynn, I. M.; *The action of cardiac glycosides on ion movements. Pharmacol. Rev.* 16: 381. 1964.

- 16) Judah, J. D. and K. Ahmed.; *The biochemistry of sodium transport. Biol. Rev.* 39 : 160, 1964.
- 17) Sen, A.K. and R. L. Post.; *Stoichiometry and localization of adenosine-triphosphate dependent sodium and potassium transport in the erythrocyte. J. Biol. Chem.* 239 : 345 1964.
- 18) Seufert, W.D.; *Induced permeability changes in reconstituted cell membrane structure. Natur.* 207 : 174, 1965.
- 19) Schatzmann, H.J. and F.F. Vincenzi.; *Calcium movements across the membrane of human red cells. J. Physiol.* 201 : 369, 1969.
- 20) 김주영 : 고려인삼이 흰쥐의 몸무게에 미치는 영향. 대한생리학회지. 4(2) : 71, 1970.
- 21) 정노관 : 인삼의 효과에 관한 세포생리학적 연구. 대한생리학회지. 5(1) : 15, 1971.
- 22) 백광세, 이철영, 이경남, 송선옥, 강두희 : 인삼추출물이 생체세포막 및 *artificial lipid monolayer*에 미치는 영향. 대한생리학회지. 10(1) : 17, 1976.
- 23) 이중우, 김희중, 강두희 : 인삼알룰루출물이 개구리 피부를 통한 *short circuit current*에 미치는 영향, 대한생리학회지. (10)1 : 35, 1976.