Korean J. Ginseng Sci.
Vol. 4, No. 1 (1980)

人蔘成分이 생쥐 肝의 數種 酵素活性에 미치는 영향

박 계 중·임 미 재
高麗大學校 醫科大學 生化學校室
(1980년 2월 15일 접수)

The Effect of Ginseng Extracts on the Enzyme Activity in the Liver of Swiss Mice

Gae Joong Park and Mie Jae Im
Department of Nutrition and Biochemistry, Medical College, Korea University, Seoul 110, Korea
(Received February 15, 1980)

Abstract

This study was prepared to observe some enzyme activities in the liver of mice treated with extracts of Ginseng anticancer compound, separated from the petroleum ether extracts by silicic acid chromatography, has the cytotoxic activity against cancer cells. Swiss mice, 72 heads were used for this experiment and they were divdied into control, test group I and test group II, that test group I was injected crude extract and test group II was injected anticancer compound, while the control group was injected 0.9% NaCl solution. The injections were carried out 1, 2, 4 and 8 times once a day for 1-8 day, respectively. The liver was removed carefully from the mice at 24 hours after drugs injected, and homogenized at 4°C for enzyme study. The activities of glutamic oxaloacetic transaminase(GOT) and glutamic pyruvic transaminase(GPT) were determined by Reitmen and Frankel method and lactic acid dehydrogenase activity was determined by Wroblewski methods in vitro.

The results obtained are summarized as follows;

1. The GOT activity was increased 26%, crude extract and 16%, anticancer compound than those of control at lst injected groups and decreased gradually according to increase of injection time, at 8th injected groups, the GOT activity was decresed by 16%, crude extract and 12%, anticancer compound.
2. The GPT activity was not changed significantly at lst and 2nd injected groups, but, at 4th injected groups, the GPT activity was decreased 20%, crude extract and 14%, anticancer compound. While the GPT activity was recovered to normal value at 8th injected groups.
3. At lst injected groups, the LDH activity was increased 17%, anticancer compound, while those of crude extract was shown normal value. At 2nd injected groups, the LDH activity increased 35%, crude extract while those of anticancer compound was showed normal value. And the LDH activity was recovered gradually at 4th and 8th injected groups.

I. 緖 論

오랜동안 한의학에서 영약 혹은 仙藥으로 알려져온 人蔘은 많은 科學者들의 노력으로 그 신비가 점차 벗겨지고 있다. 韓[1]은 "韓國人蔘論"에서 Brekhman[2]等이 人蔘의 total-glycoside가 갖는 藥理作用에 對하여 최근까지의 各種報文을 綜合하여 adaptogenic activity가 있다는 結論을 내린 바 있다고 지적하였다. 이 說은 反論이 없지는 않지만 많은 學者들의 共鳴을 얻고 있는데 그 內容은 生體에서 질병을 이르킬 수 있는 각종 stress에 대하여 非特異的으로 저항할 수 있는 生體自身의 能力을 强化시켜주는 效果라 풀이하고 있다. 이와같은 事實은 人蔘成分이 生體成分의 代謝에 영향을 미치는 때문이라 思料되는데 代謝에 미치는 영향은 주로 각 代謝에 관여하는 효소활성과 밀접한 관계가 있다고 하겠다. 따라서 人蔘成分과 生體內 효소活性과의 관계를 규명함은 매우 의의있는 일이라 믿어진다. 지금까지 밝혀진 人蔘의 藥理作用중 강력한 抗癌作用[3,4]이 있는 것으로 알려진 人蔘의 석유에텔추출물의 약리기전은 아직 미지이다.

김[5]은 人蔘의 석유에텔 추출물을 투여한 흰쥐 간의 L-glutamic dehydrogenase의 活性을 측정하였던 바 석유에텔 추출물은 극히 작은 농도에서도 효소의 活性을 크게 억제시킨다고 보고하였고 주[6]등은 人蔘추출물의 투여량에 따라 효소活性을 억제 혹은 상승시킨다고 보고하였으며, 또한 김[5]은 人蔘성분 가운데 같은 종류의 효소活性을 상승 혹은 억제 시키는 성분(군)이 있을 것이라고 주장한 바 있다.

이에 저자는 抗癌成分이 함유된 것으로 알려진 석유에텔 추출물과 이 추출물에서 抗癌成分으로 밝혀진 성분을 정제 분리하여 흰생쥐에 투여하고 그 肝에서의 몇가지 효소활성을 측정하여 흥미있는 결과를 얻었기 이에 보고한다.

II. 材料 및 方法

1. 實驗材料

1) 人蔘 : 本實驗에 使用한 人蔘은 乾燥된 1978년도 강화산 백삼(百蔘) 6年根一等品을 구입하여 微粉碎한 후 抽出用 材料로 使用하였다.

2) 癌細胞 : 人蔘中 석유에텔 抽出物의 抗癌性 活性 測定用으로 使用한 癌細胞는 白血病性淋巴母細胞(L 1210)로서 韓國科學院 生物工學科에서 분양받아 本硏究室에서 培養하고 있는 것을 使用하였다.

3) 實驗動物 : 實驗動物은 本硏究室에서 사육번식시킨 體重 25g 내지 30g의 Swiss mouse 72마리를 對照群 Ⅰ 및 Ⅱ群으로 나누었다. 對照群은 人蔘成分대신 0.9% Nacl용액을, Ⅰ群은 人蔘의 crude extract를 Ⅱ群은 人蔘의 抗癌性分을 투여한 실험군으로 이들 各 실험群은 各해당 成分의 투여회수에 따라 다시 1회 2회 4회 및 8회 投與群등 4群으로 나누어 各 群에 動物을 6마리씩 배정하였다. 그리고 各 成分의 투여량은 動物 1마리당 1일에 2mg씩으

로 하였고 投與後 24시간에 희생하여 實驗에 使用하였다.

한편 이들 動物은 各 群別로 철제 사육장에 넣어 실온 22°C 내지 25°C, 습도 75%로 조절된 사육실에서 식이와 물은 自意로 먹게하여 사육하였다.

2. 實驗方法

1) 人蔘成分의 抽出(Crude extract)

實驗材料에 明示된 人蔘粉末을 3g씩 평량하여 Soxhlet 장치에서 석유에텔로 24시간 추출한 후 질소 gas 유통하에 감압 증발 건조시키고 그 무게를 測量하였다.

이 추출물을 crude extract로 정하고 이것은 질소 가스로 채운 용기에 넣어 냉장 보관하면서 필요시 일정량씩 취하여 사용하였다.

2) Crude extract로부터 抗癌成分 分離

상기방법으로 추출한 crude extract중 抗癌成分만을 분리하기 위하여 黃[7]의 방법에 따라 silicic acid column을 통해 分離한 바 그 방법을 要約하면 다음과 같다.

Silicic acid 15g 내지 20g을 100ml 비이커에 取하여 120°C에서 2시간 가열 후 chloroform 50ml에 녹여서 유리관에 부어 column을 만들고 chloroform 50ml로 씻어 내리고 다시 석유에텔 50ml로 씻어냈다. 그 다음 crude extract 50 내지 100mg을 column에 注入하고 석유에텔 50ml로 씻어내려 수집하고 다음 석유에텔 對 에텔 90 : 10(v/v) 50ml, 80 : 20(v/v) 50ml 및 70 : 30(v/v) 50ml등의 順次로 씻어내려 各 分劃을 수집하고 각 분획의 抗癌性 活性을 測定하여 활성이 제일 큰 70 : 30 분획성분을 실험에 사용하였다.

3) 抗癌成分의 活性測定

상기 방법에 의하여 추출된 crude extract와 silicic acid column의 각 分劃 성분의 抗癌性 活性을 測定하기 위하여 各 成分의 일정량을 秤量하여 무수 alcobol에 녹이고 멸균된 millipore disc에 無菌的으로 통과시켜 消毒된 여액을 멸균된 증류수로 필요 농도까지 희석하였다. 다음에 Fischer와 Sarto-relli[8] 법에 의하여 배양한 암세포(L 1210) 培養液에 일정량 넣어 37°C에서 24시간 배양한 후 Coulter Counter에서 암세포의 수를 측정하여 各 分劃 성분의 항암활성을 평가하였다.

4) 酵素試料 調製

Streeker[9] 방법에 따라 흰 생쥐의 간 0.5g에 10배의 phosphate 완충용액을 가하여 Homogenize 한후 3,000×g에서 30분간 원심분리하여 얻은 상층액에 같은 완충용액으로 희석한 것을 효소액으로 사용하였다.

5) Glutamic oxaloacetic transaminase(GOT) 및 glutamic pyruvic transaninase(GPT)의 활성 측정

Reitman과 Frankel[10] 방법에 따라 GOT의 기질용액으로 L-ketogluterate(2×10^{-3}M)와 DL-aspartate(2×10^{-1}M) 혼합용액을 GPT의 기질용액으로는 L-ketoglutarate(2×10^{-3}M)와 DL-alanine (2×10^{-1}M) 혼합용액을 각각 1ml씩 취하여 시험관에 넣고 0.2ml의 효소액을 넣어 잘 섞은 후 37°C 수욕중에서 GOT는 60분간, GPT는 30분간 incubation한 후 2,4-

dinitrophenyl hydrazine(1×10^{-3} M) 1ml와 0.4N NaOH 10ml를 가하여 발색시켜 505nm에서 흡광도를 측정하여 대조군과 실험군의 효소 활성을 비교하였다.

6) Lactic acid dehydrogenase(L.D.H)의 활성측정

Cabaud Wroblewski[11]방법에 따라 pyruvate(2×10^{-4}M)와 NAD^+(1×10^{-3}M) 혼합용액 1.0ml를 기질로 상기 실험방법 4에서 얻은 효소용액 0.02ml를 샤리 pippete로 첨가한 후 37°C수욕중에서 정확히 30분간 incubation한 다음 2,4-dinitrophenyl hydrazine 1ml 및 0.4N NaOH 容液 10ml를 넣어 발색시킨 후 500nm에서 吸光度를 측정하여 酵素活性을 Cabaud Wroblewski unit로 表示하였다.

III. 結果 및 考察

1) Glutamic oxaloacetic transaminase(G.O.T) 활성

各 實驗群의 GOT활성을 측정한 成績은 Table 1 및 Fig. 1과 같다.

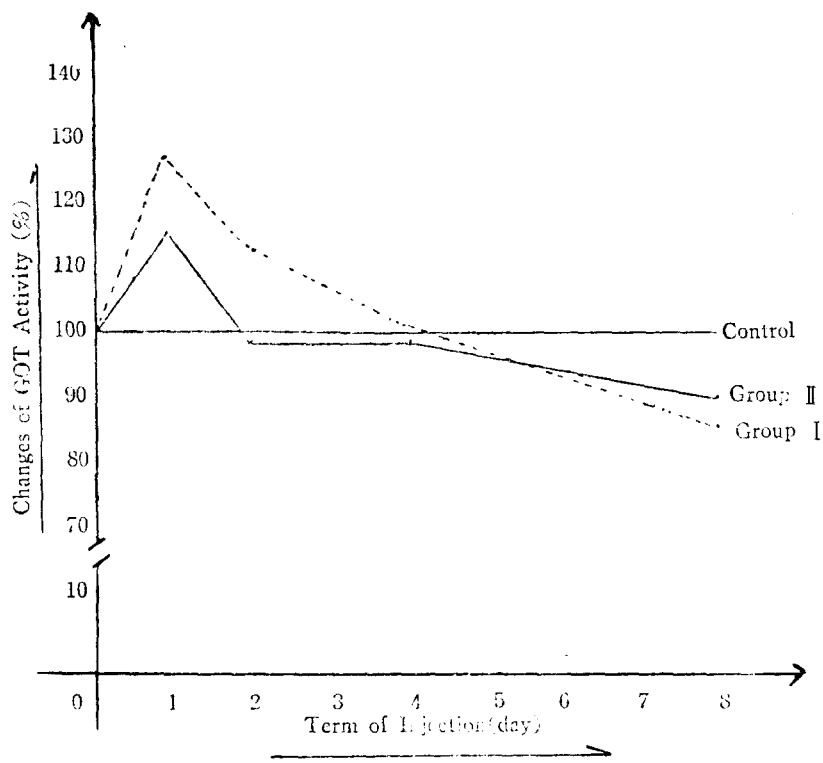

Fig. 1. The changes of GOT activity in the liver of mice treated with 2mg/head/day of crude extract and anticancer fraction of Ginseng.
Control group (injection of 0.9% NaCl)
Group I: The group treated with crude extract
Group II: The group treated with anticancer fraction

Table 1. The changes of GOT activity in the liver of mice treated with 2mg/head/day of crude extract and anticancer fraction of ginseng.

Changes of Activity(%) / Group	Injection Term (day) 1	2	4	8
Control	100	100	100	100
Group I	126.00	112.83	100.44	84.15
Group II	116.60	97.86	98.25	88.10

Control group (injection of 0.9% NaCl).
Group I: The group treated with crude extract.
Group II: The group treated with anticancer fraction.

먼저 Ⅰ群 即 Crude extract 투여군의 GOT활성을 보면 대조군에 반하여 1회 및 2회 投與群에서는 각각 26% 및 12%가 上昇되었고 4회 投與群에서는 대조군과 같아졌고 8회 投與群에서는 오히려 16%나 低下되었다.

한편 Ⅱ군 即 항암성분 投與群에는 1회 投與群에서 16% 上昇되었다가 2회 및 4회 投與群에서 대조군과 비슷하게 되었고 8회 投與群에서 12%가 低下되었다.

2) Glutamic pyruvic transaminase(G.P.T) 활성

각 실험군의 GPT활성을 측정한 성질은 Table 2 및 Fig. 2에서 보는바와 같다.

GPT의 활성은 Ⅰ군과 Ⅱ군이 같은 경향으로 1회 및 2회 投與群에서는 대조군과 비슷하였으나 4회 投與群에서 15 내지 21% 低下되었고 8회 投與群에서는 다시 대조군과 비슷하게 되었다.

Table 2. The changes of GPT activity in the liver of mice treated with 2mg/head/day of crude extract and anticaner fraction of Ginseng.

Changes of Activity(%) / Group	Injection Term (day) 1	2	4	8
Control	100	100	100	100
Group I	108.75	100	79.70	98.61
Group II	105.19	100	85.81	100

Control group (injection of 0.9% NaCl).
Group I: The group treated with crude extract.
Group II: The group treated with anticancer fraction.

3) Lactic acid dehydrogenase(L.D.H)활성

각 실험군의 LDH활성을 측정한 성질은 Table 3 및 Fig. 2에서 보는바와 같다.

Ⅰ군의 LDH활성을 보면 대조군에 반하여 1회 投與群에서는 별 변동 없었으나 2회 및 4회 投與群에서 각각 35% 및 15% 上昇되었다가 8회 投與群에서 다시 대조군과 같게 되었다. 그리고 Ⅱ군의 LDH활성은 1회, 2회 및 4회 投與群에서 각각 17%, 8% 및 11% 上昇되었다가 8회 投與群에서 대조군과 비슷하게 되었다.

인삼의 약리작용은 다방면으로 研究報告된 바 그중에서 營養 및 생화학적으로 관심이 쏠

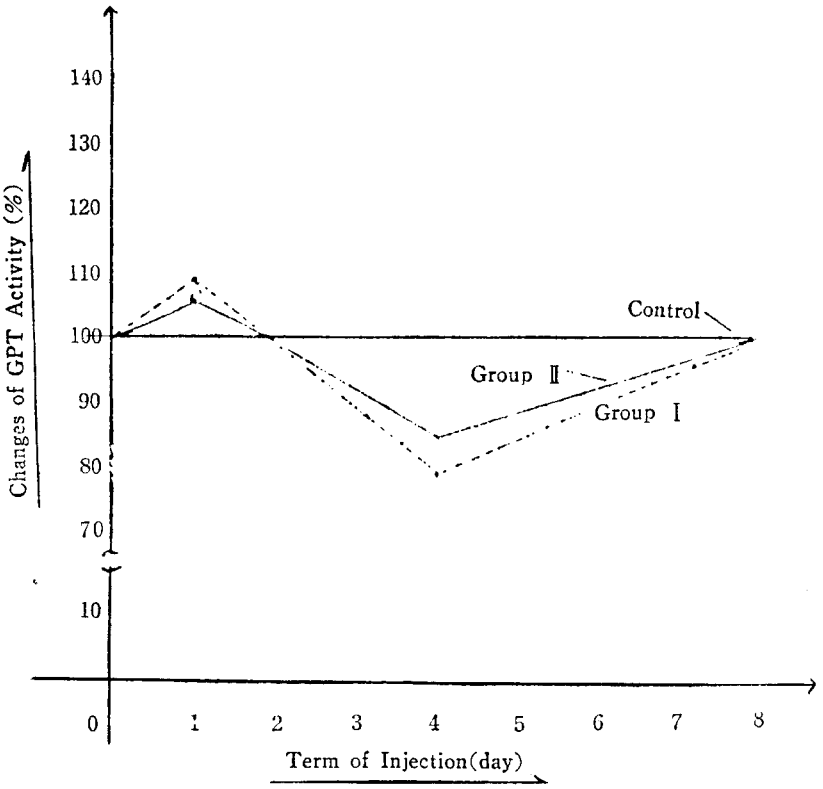

Fig. 2. The changes of GPT activity in the liver of mice treated with 2mg/head/day of crude extract and anticancer fraction of Ginseng.
Control group (injection of 0.9% NaCl)
Group I: The group treated with crude extract
Group II: The group treated with anticancer fraction.

Table 3. The changes of LDH activity in the liver of mice treated with 2mg/head/day of crude extract and anticancer fraction of Ginseng.

Changes of Activity(%) / Group	Injection Term (day)			
	1	2	4	8
Control	100	100	100	100
Group I	104.45	135.57	115.44	102.64
Group II	117.14	108.77	111.53	105.64

Control group (injection of 0.9% NaCl).
Group I: The group treated with crude extract.
Group II: The group treated with anticancer fraction.

리는 것은 체내 기초대사[12], 피로회복[13], 당질대사[14], 脂質代謝[15] 및 蛋白質代謝[16]에도 크게 영향을 미친다는 점이다. 그리고 이와같은 諸作用은 주로 인삼중 水用性 성분인 saponin에 起因된다고 보고되었는데 最近 黃[4]은 인삼의 脂溶性 성분중에 항암성분이 있음을 보고하여 새로운 각도에서 주목되고 있다.

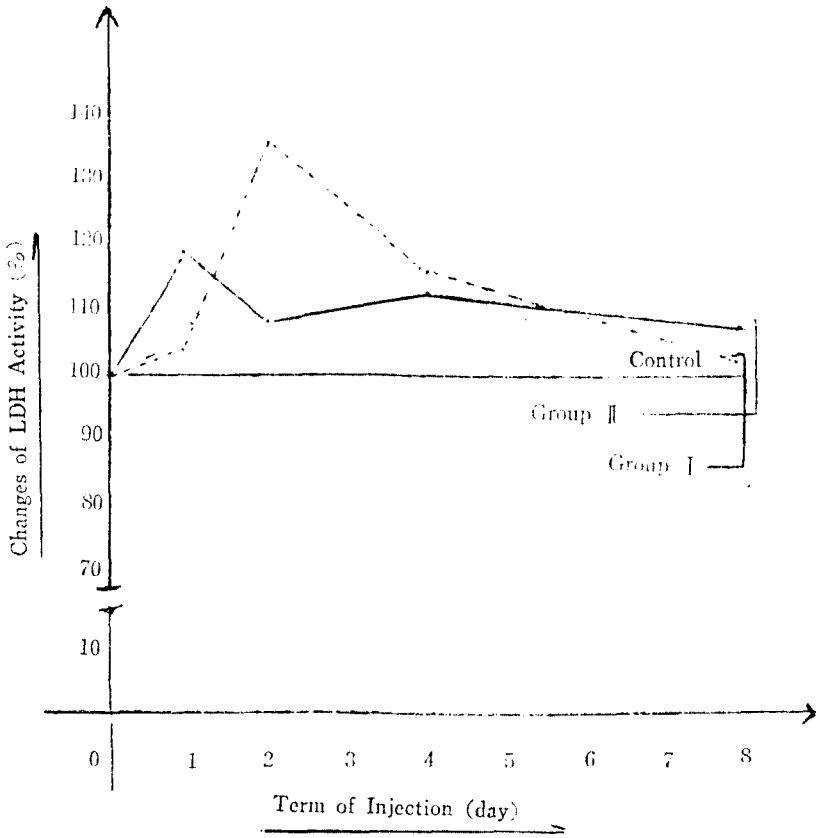

Fig. 3. The changes of LDH activity in the liver of mice treated with 2mg/head/day of crude extract and anticancer fraction of Ginseng.
Control group (injection of 0.9% NaCl)
Group I: The group treated with crude extract
Group II: The group treated with anticancer fraction.

일반적으로 體內代謝에 영향을 미친다는 것은 그 代謝에 關與하는 酵素活性과 密接한 關係가 있으리라는 것이 충분히 豫見된다.

그래서 본 실험에서는 最近 관심사로 대두된 인삼중 脂溶性 성분이 간의 數種 酵素活性에 미치는 영향을 觀察하고저 swiss mouse를 대상으로 인삼중 석유에텔 추출물(crude extract)과 이 crude extract에서 부분적으로 정제된 항암성분을 分離 投與하고 投與期間別로 GOT, GPT 및 LDH활성을 측정 比較한 것이다.

먼저 각 실험군의 GOT활성에 있어서 주목되는 점은 Ⅰ군(crude extract 投與群)이나 Ⅱ군(抗癌成分投與群) 모두 대조군에 비하여 1회 投與群은 그 활성이 上昇(1군 : 26%, Ⅱ군: 16%)되었다가 投與回數의 增加(2회 및 4회)에 따라 점차 대조군과 비슷하게 되었고 8회 投與時에는 오히려 低下된 점이다.

이와같이 初期에(1回投與時) GOT활성이 上昇된 점에 대한 원인은 다음 몇가지의 가능성을 생각할 수 있겠다. 即 첫째로 GOT는 aspartic acid⇆oxalcacetic acid 反應을 가역적

으로 促進시키는 酵素로서 蛋白質代謝와 密接한 關係가 있다는 점을 감안하여 인삼성분의 投與가 체내 蛋白質 代謝에 어떤 영향을 미쳤으리라는 점이고 두번째로는 transaminase (GOT, GPT)가 간기능을 확인하는데 필요한 酵素라는 점에서 投與한 인삼성분의 毒性으로 인하여 간기능 저하에 기인될 수 있다는 점이고 세째로는 인삼성분이 直接 酵素를 활성화시키는데 기인되는 점등을 들 수 있겠다.

그런데 실제로 세번째 가능성에 대하여는 追究하기도 어렵고 또 現在로서 가부를 논하기는 더욱 어렵다. 그러나 두번째 가능성은 매우 희박하여 논할 필요가 없는 것으로 思料된다. 왜냐하면 洪[17] 등이 인삼의 毒性문제에서 밝힌바와 같이 거의 毒性이 없다는 점과 본 성적에서도 投與回數의 增加에 따라 오히려 酵素活性이 대조군과 비슷하게 정상화 되어가기 때문이다. 따라서 첫째로 지적한 가능성이 가장 큰 것으로 믿어진다. 또 이와같은 사실은 인삼성분이 체내 당질지질 및 蛋白質 대사에 크게 영향을 미친다는 보고[9,10]와도 일치하기 때문이다.

다음에 2회 및 4회 投與時 GOT활성이 대조군과 비슷하게 되었음은 初期(1回投與群)에 일어났던 대사변동이 適應되어 감을 나타낸 현상이라 생각되며 8회 投與時 대조군 보다 低下되었음은 初期에 上昇되었던 정도의 차이이므로 다시 회복될 가능성이 있고 이와같은 현상은 朱[6]가 지적한 바와 같이 인삼성분의 投與된 量(8回 投與는 總 10mg이 投與되었음)과 관계가 있는 것으로 추측된다.

다음에 GPT의 활성을 보면 crude extract投與群(Ⅰ군) 및 항암성분 投與群(Ⅱ군) 다 같이 1회 및 2회 投與時 대조군과 別 差異없었으며 4회 투여시 低下되었다가 8회 투여시 다시 대조군과 비슷하게 회복되었다.

GPT는 체내에서 아미노酸 代謝中 Vit.-B_6-PO_4助酵素 存在下에서 Alanine⇆Pyruvic acid와 glutamic acid⇆α-ketoglutaric acid의 反應을 促進시키는 酵素로서 GOT와 같이 간장 내 주요한 transaminase라는 점에서 GOT활성과 비슷한 경향으로 변동될 것으로 예상하였는데 약간 예민한 反應을 보인 점이 相異하였다.

끝으로 LDH활성을 보면 GOT의 경우와 같이 初期에 上昇되었다가 점차 대조군과 비슷하게 회복됨을 알 수 있어 GOT項에서 지적한 바와 같이 인삼의 crude extract 또는 항암성분 投與가 投與初期에 蛋白質代謝를 약간 促進할 뿐 毒性 등은 없는 것으로 思料된다.

IV. 要 約

인삼으로부터 석유에텔에 추출되는 crude extract와 crude extract로부터 silicic acid column에 의해 분리된 항암성분이 酵素活性에 미치는 영향을 관찰하고저 swiss mouse를 대상으로 crude extract와 항암성분을 1日 마리당 2mg씩을 8일(8회)간 복강내 주사하면서 1, 2, 4 및 8회 投與群의 간장중 GOT GPT 및 LDH활성을 측정한 바 다음과 같은 結果를 얻었다.

1) GOT의 활성은 1회 투여군에서 crude extract 投與群은 26%, 함암성분 投與群은 16%

의 增加를 보였으나, 投與回數의 增加에 따라 GOT의 활성이 점차 감소하여 8회 投與群에서는 crue dextract 投與群이 16% 항암성분, 投與群이 12% 감소하는 결과를 얻었다.

2) GPT의 활성은 1회 및 2회 投與群에서는 대조군에 비해 두 물질 모두 별 차이가 없으나 4회 投與群에서 crude extract 投與群은 20%, 항암성분 投與群은 14% 활성이 감소하였다가 8회 投與群에서 두 군 모두 정상회복됨을 보여 주었다.

3) LDH의 활성은 1회 投與群에서 항암성분 投與群은 17% 增加를 보인 반면, crude extract 投與群은 정상 範圍였다. 2회 投與群에서는 crude extradt 投與群이 35% 增加를 보였으나 항암성분 投與群은 정상 範圍내였다. 4회 投與群에서는 양물질 投與群이 모두 정상 範圍로 回復되었다.

參 考 文 獻

1. 한병훈 : 한국 인삼론, 생약학회지, **3**, 151 (1972).
2. Brekhman I.I.: Annual Review of pharmacol, 9419, (1969).
3. Hwang W.I. and Cha, S.M.: A cytotoxic compound from panax Ginseng, Federation proceeding **34**, (3), 806, (1975).
4. Hwang W.I: A study on the cytotxic Activity of Extract of panax Ginseng Root against some cancer cells, *The Korean J. of Biochem*, **8**, 1, 1976.
5. 김태봉, 이희성, 김훈 : 인삼의 유효성분에 관한 생화학적연구(Ⅸ), 한국생화학회지, **8**(2), 149, (1975).
6. 주충노, 윤병희, 이상직, 한정호 : 인삼 Saponin의 생화학적연구(Ⅳ), 한국생화학회지, **7**(3), 231, (1974).
7. 황우익 : 인삼의 항암작용에 관한 연구, 전매청 기술연구소보고, (1976).
8. Fischer's G.A and Sartorelli, A.C: Development, Mainte-nance and Assay of Drug resistances, In method in Medical Research, **10**, 247, Yearbook Medical Publisbers Chicago, (1964).
9. Strecker, H.J.: *Arch, Biochem, Biophy*. **32**, 448, (1951).
10. Reitman, S. and Frankel S.: Method of procedure I, *Am. J. Clin. Path.*, **28**, 56 (1957).
11. Wroblewski F. and La Due J.S.: *Proc. So. Exper. Biol. & Med.*, **90**, 210, (1955).
12. 김주영 : 고려인삼이 흰쥐의 몸무게에 미치는 영향, 대한생리학회지, **4**, 271, (1970).
13. Brekman I.I.: 약용인삼, 중앙전매기술연구소, 인삼문헌특집, **4**, 69, (1970).
14. 우원식, 조항원 : 인삼이 쥐의 간 glycogen량에 미치는 영향에 대하여, 서울대학교논문집, **6**:129, (1957).
15. 김애랑 : 인삼과 Niacine이 토끼의 지질대사에 미치는 영향에 대하여, 한국의학, **5**:1, (1962).
16. Hikokichi oura et al.: Purification of prostisol and the Effect of its Fraction on DNA synthesis of Rat Bone Marrow Cells, 6th Drug. Symposum Tokyo ( )
17. 洪思岳, 金濟勉 : 인삼, 길경 및 원지 Saponin에 대한 독성비교, 중앙의학, **5**:609, (1963).