

인삼이 적혈구세포의 해당과정 및 막 투과도에 미치는 영향

연세대학교 의과대학 생리학교실

강 복 순·한 경 희

= Abstract =

Effect of Panax Ginseng Saponin on Metabolism and Ion Transport in Human Erythrocytes

Bok Soon Kang and Kyung Hee Han

Department of Physiology, Yon Sei Univesity, College of Medicine

Red cell glycolytic intermediates, metabolites and metabolic ratios were studied. Glycolytic intermediates were measured in neutralized perchloric acid extracts of red cell suspensions after 3 hr incubation at 37°C in the presence and absence of saponin. Adenosine triphosphate(ATP), adenosine diphosphate(ADP), pyruvate and lactate were measured by enzymatic procedures involving stoichiometric oxidation or reduction of a pyridine nucleotide. Glucose was determined using glucose oxidase after zinc hydroxide extraction. The redox state was calculated from the lactate dehydrogenase equilibrium. Adenosine triphosphatase activity(ATPase) was measured by determining the amount of phosphate released from ATP by washed erythrocyte membranes(ghost) during 20 min. incubation. Both total hydrolysis and the amount of hydrolysis that occurred in the presence of ouabain were measured. The second measurement yields Mg-ATPase and represents non-specific ATPase activity of the membranes. The difference between total and Mg-ATPase activity can be attributed to Na-K-ATPase. For the measurement of sodium fluxes, human erythrocytes were preincubated in ^{22}Na for 3 hr at 37°C, washed and suspended in a tracer-free medium. The amount of ^{22}Na transported out of cells at any time was determined by analysis of supernatant samples taken at various time after addition of the labeled cells to isotope-free medium. The cells and medium were separated and the radioactivity appearing in the medium was measured. From the total radioactivity in the suspension and the radioactivity appearing in the medium at known time, the rate constant for sodium release was computed.

The results are summarized as follows:

- 1) ATP and ATP/ADP were found to increase at every concentration of saponin tested whereas ADP declined at every conc. of saponin. The increase in pyruvate and lactate were observed at every conc. of saponin and thus NAD^+/NADH computed from pyruvate/lactate also increased. Glucose utilization was stimulated by saponin.
- 2) $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ activities showed a biphasic response to saponin, first increasing in lower concentration and then decreasing in higher concentration of saponin.
- 3) The efflux of sodium was significantly increased by saponin in the range of 5 to 10 mg%. The stimulatory effect of saponin on the rate constants for active(ouabain-sensitive) sodium efflux was inhibited by addition of ouabain.

* 본 연구는 1980, 1981년도 교수 연구비 및 1982년도 문교부 학술연구 조성비에 의해 수행되었음.

서 론

한방에서 많이 사용되고 있는 인삼은 항피로 효과(antifatigue effects)와 항저온효과(antihypothermal effects)의 약효를 인정받아 널리 사용되어 왔을 뿐 아니라 질병후 회복기에 보혈강장제와 체력증대의 목적으로도 많이 이용되고 있다. 따라서 많은 연구자들이 인삼의 약효에 대하여 다방면으로 규명하려고 시도하였는데 일반적으로 인삼의 작용은 주로 대사, 호흡, 발육 및 중추신경계등에 영향을 미칠 것이라고 보고되었다(이, 1962; 한 및 조, 1957; 박, 1969; 김, 1970). 그 외에, 여러연구자들의 실험보고들을 고찰해보면, 우 및 조(1957)는 흰쥐에 인삼을 투여하더라도 간장내 glycogen 함량의 변화가 없었다고 보고하였으나, Kang (1962)은 인삼 알콜추출물이 흰쥐에서 간장내 포도당 산화작용을 촉진시킨다고 보고하였고, Oura 등(1967)도 인삼 fraction 3이 흰쥐의 간장내 당대사를 변화시킨다고 하였다. 또 Bykhotisova(1970)는 인삼이 간장에서 뿐만 아니라 골격근에서도 glycogen 함량을 증가시킨다고 하였다. 한편 인삼은 당질대사뿐 아니라 지질대사에도 관여하여 인삼을 투여하면 간세포에서 cholesterol의 생합성이 증가되며(강릉, 1961) 또 phospholipid의 함량을 증가시킨다고도 한다(정, 1964).

또한 김(1932)은 인삼투여로 혈당이 감소한다고 하였고, Petkov(1957)도 실험적으로 유도된 과혈당에 대하여 인삼이 insulin과 상승작용을 한다고 하였으며, Yamada(1955)도 인삼의 효과가 정상혈당인 때보다는 혈당량이 높을 때 더 효과적으로 작용한다고 하였다.

인삼은 또 직접 막의 투과도나 막효소에도 작용하는데 이등(1979)은 저농도의 인삼알콜추출물은 mitochondria 막의 투과도를 증가시켜 이용가능한 기질의 농도를 높이기 때문에 mitochondria의 산소소모율을 증가시키며 고농도의 인삼 알콜추출물은 기질소모에 관여하는 효소의 합성을 억제시켜 mitochondria의 산소소모율을 낮춘다고 하였다. 또 이 및 강(1978)은 고농도의 인삼알콜추출물이 resealed된 적혈구막을 통한 Na^+ 이동을 증가시키는데 이는 인삼이 세포막의 integrity에 영향을 주기 때문이라고 하였다.

이상과 같이 인삼이 세포내 탄수화물이나 지질함량에 변동을 일으킨다는 성격들이 보고되어 있을 뿐이며 생체내의 항상성의 유지에 매우 중요한 역할을 하고 있는 당질대사과정에 형성되는 그 중간산물의 변동에 인삼이 어떤 영향을 미치는지에 대한 보고는 거의 없

으며, 또 인삼이 세포막투과도 특히 이온의 투과도에 어떤 기전으로 영향을 미치는지에 대한 명확한 보고가 없는 실정이다. 따라서 저자는 사람의 적혈구세포를 사용하여 인삼 saponin 성분이 적혈구세포의 해당과정의 중간대사산물 및 적혈구막투과도에 미치는 영향을 관찰하고 그 약효의 기전의 일부를 규명하기 위하여, 본실험을 수행하였다.

실험재료 및 방법

1) 실험재료

건강한 성인의 신선한 혈액을 채취하여 10,000×g에서 1분간 원심분리하여(Sorvall Centrifuge, Model RC2-B, Rotor SS-34, Ivan Sorvall) 혈장과 buffy coat를 제거하고, 적혈구세포는 Tris-Ringer 용액(mM: NaCl, 120; KCl, 5.6; $MgCl_2$, 2; Na_2HPO_4 , 1; glucose, 10; tris-(hydroxymethyl) aminomethane, 24; 37°C에서 pH 7.4로 고정)으로 세번 같은 방법으로 세척하여 적혈구세포를 분리하여 실험에 사용하였다.

2) 적혈구세포에서 해당과정 중간산물의 측정

Tris-Ringer 용액으로 세척한 적혈구세포를 Tris-Ringer 용액에 hematocrit(Hct)이 25%가 되도록 가하여 적혈구세포부유액을 만들고, 이를 대조군과 실험군(incubation 용액에 인삼 saponin을 5, 10, 20, 30 및 40 mg% 농도가 포함된 경우)으로 나누어, 양군을 37°C의 수조에서 3시간동안 incubation 하였다. Incubation이 끝난직후 대조군과 실험군에서 일정량의 세포부유액을 취하여 각각의 hematocrit를 hematocrit centrifuge로 측정하였고 또 양군의 적혈구세포부유액을 3ml씩 취하고, 여기에 9 ml의 6% perchloric acid를 가하여 혼합하여 반응을 정지시키고 이를 10,000×g에서 1분간 원심분리하여 단백질을 제거하고, 각각의 상층액 8 ml씩을 취하여 여기에 methyl orange를 가하여, 이를 2M K_2CO_3 로 중화한 후 그 상층액을 취하여 Marshall 등(1957)의 효소반응법으로 glycolytic intermediates의 농도를 측정하였다. 이때 pyruvate의 농도는 lactate dehydrogenase(LDH)와 reduced nicotinamide adenine dinucleotide(NADH)로, lactate는 LDH와 oxidized nicotinamide adenine dinucleotide(NAD)로, adenosine triphosphate(ATP)는 hexokinase, glucose-6-phosphate dehydrogenase와 oxidized nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

(NADP⁺)로, 그리고 adenosine diphosphate(ADP)는 pyruvate kinase, LDH와 NADH로 각각의 반응을 진행시킨후, reduced pyridine nucleotide는 spectrophotometer(UV 240 visible spectrophotometer, Shimadzu)를 사용하여 340nm 파장에서 흡광도를 측정하였으며, 그 농도는 $\mu\text{mole/ml rbc}$ 로 나타내었다. 파장 340 nm에서 NADH와 NADPH의 extinction coefficient는 $6.22 \times 10^6 \text{cm}^2/\text{mole}$ 로 하였다. Glucose의 농도는 Raabo 및 Terkilden(1960)의 방법에 따라 zinc hydroxide와 barium hydroxide를 적혈구세포부유액에 가하여 잘 혼합한 후 10,000×g에서 1분간 원심분리하여 추출한 상층액을 glucose oxidase로 반응시켜 uv spectrophotometer로 450 nm 파장에서 흡광도를 측정하고, 그 농도를 $\mu\text{mole/ml rbc/hr}$ 로 나타내었다. Glucose 소모량과 lactate 생산량은 적혈구세포부유액을 incubation하기전(적혈구 세포부유액 일정량을 취하여 이를 얼음에 보관)과 37°C 수조에서 3시간동안 incubation시킨후의 적혈구세포부유액에서의 glucose와 lactate의 농도를 측정하고, incubation하기 전과 후의 값의 차이를 구하여 이를 $\mu\text{mole/ml rbc/hr}$ 로 나타내었다.

Redox state의 척도가 되는 pyridine nucleotide ratio는 lactate dehydrogenase equilibrium으로부터 산출하였다.

$$\text{즉 } \frac{[\text{NAD}^+]}{[\text{NADH}]} = \frac{[\text{H}^+]}{K_i} \times \frac{[\text{Pyruvate}]}{[\text{lactate}]}$$

여기서 equilibrium constant인 K_i 의 값은 1.1×10^{-11} M (Sachs, 1970)로 하였다.

3) Sodium efflux의 측정

건강한 성인의 신선한 혈액을 채취하여 heparin(10 $\mu\text{g/ml}$)으로 처리된 시험관에 옮겨 Sorvall centrifuge로 10,000×g에서 1분간 원심분리하여 혈장과 buffy coat를 제거한 적혈구세포를 incubation medium(153 mM, NaCl; Tris(hydroxymethyl) aminomethane; 10 mM, glucose, 37°C에서 pH 7.4로 고정)으로 세번 같은 방법으로 세척하였다. 세척한 적혈구세포와 incubation 용액은 Hct이 40%되게 혼합하여 적혈구세포부유액을 만들고 이 부유액에 동위원소 ²²Na을 0.2 $\mu\text{Ci/ml}$ 되도록 가하여, 이를 37°C 수조에서 3시간동안 incubation한 후, 적혈구세포부유액을 10,000×g에서 1분간 원심분리하여, ²²Na loaded 적혈구세포(²²Na-loaded RBC)를 얻은 후 이를 다시 incubation 용액으로 4회 같은 방법으로 세척하여 적혈구세포의액에 남아있

는 동위원소를 제거한 후 ²²Na-efflux 실험에 사용하였다.

²²Na efflux의 측정은 ²²Na이 들어 있지 않은 medium(NaCl, 140 mM; KCl, 10 mM, Tris, 17 mM; glucose 10 mM; pH 7.4)에 ²²Na-loaded RBC를 Hct이 0.5%되게 혼합한 적혈구세포부유액을 만들어, 이를 37°C 수조에 incubation하면서, incubation 용액에 ²²Na-loaded RBC를 첨가한 시간으로부터 매 15분 간격으로 75분까지 일정량의 적혈구세포부유액을 취하여 10,000×g에서 1분간 원심분리하여 상층액을 취하여, 세포외액으로 이동된 ²²Na의 방사능을 측정하였고, 또한 incubation이 끝난 후 각각의 세포부유액 1ml에 6% PCA 1ml을 가하여 잘 혼합한 후 이를 10,000×g에서 1분간 원심분리하고 단백질을 제거한 후, 그 상층액을 얻어, 세포내와 세포외액 전체의 ²²Na 방사능을 측정하였다. 방사능의 측정은 각각의 상층액 0.5 ml에 scintillation cocktail 9.5 ml을 가하여 Liquid Scintillation Spectrometer(Model Tri-Carb 300)로 측정하였다. 이때 실험군에는 인삼 saponin을 incubation 용액에 1, 3, 5, 7, 및 9 mg%의 농도가 되도록 가하여 인삼 saponin이 적혈구막을 통한 Na⁺이동에 미치는 효과를 관찰하여 대조군의 값과 비교하였다.

4) 적혈구막소편의 제작 및 Na⁺-K⁺ ATPase 활성도의 측정

혈액은행에서 얻은 혈액과 용혈용액(1×10^{-4} M Ethylenediamine tetraacetic acid, (EDTA))과의 용적비를 1 : 10으로 혼합하여 0°C에서 20분간 incubation하여 용혈시킨후 이를 4°C에서 10,000×g로 5분간 원심 침전하여 상층액은 버리고, 적혈구세포를 분리하여, 세척용액(1×10^{-4} M EDTA; 15.3mM NaCl, 1.7 mM Tris, pH 7.4)을 가하여 같은 방법으로 적혈구 ghost가 희게 되게까지 여러번 세척하여 적혈구막소편(RBC ghost)을 얻었다. RBC ghost의 단백질농도는 Lowry (1951)의 방법으로 측정하였다.

적혈구막소편에서 sodium-potassium activated adenosine triphosphatase(Na⁺-K⁺ ATPase)의 측정은 Heinz 등의 방법에 따라 RBC ghost를 incubation 용액에 가하여 대조군과 실험군으로 나누어 37°C 수조에서 2분간 preincubation한 후 여기에 5 mM ATP를 가하여 이로부터 20분간 incubation한 후, 각각의 incubation 용액에 6% PCA를 가하여 반응을 정지시키고 바로 얼음에 담그어 냉각시킨후, 4°C에서 10,000×g로 1분간 원심분리하여, 상층액내에 유리된 inorg-

anic phosphate의 양을 Fiske-Subbarow(1929)의 비색법에 의하여 측정하였다.

Incubation 용액의 조성은 total ATPase 측정시는 40 mM NaCl, 20 mM Tris, 0.25 mM EDTA, 20 mM KCl, 5mM ATP, 5 mM MgCl₂,로 구성되어 있었으며, Mg⁺-ATPase 측정시에는 20 mM KCl 대신 20 mM choline 으로 대체하고 또 0.1 mM ouabain을 첨가시켰다.

Na⁺-K⁺ ATPase 활성도는 total ATPase와 ouabain-sensitirve ATPase와의 차로부터 산출하여 $\mu\text{mole pi/mg protein/hr}$ 로 나타내었다. Na⁺-K⁺ ATPase 활성도에 미치는 인삼 saponin의 영향은 incubation 용액내에 인삼 saponin을 첨가하여 측정된 활성도를 대조군의 값과 비교하였다.

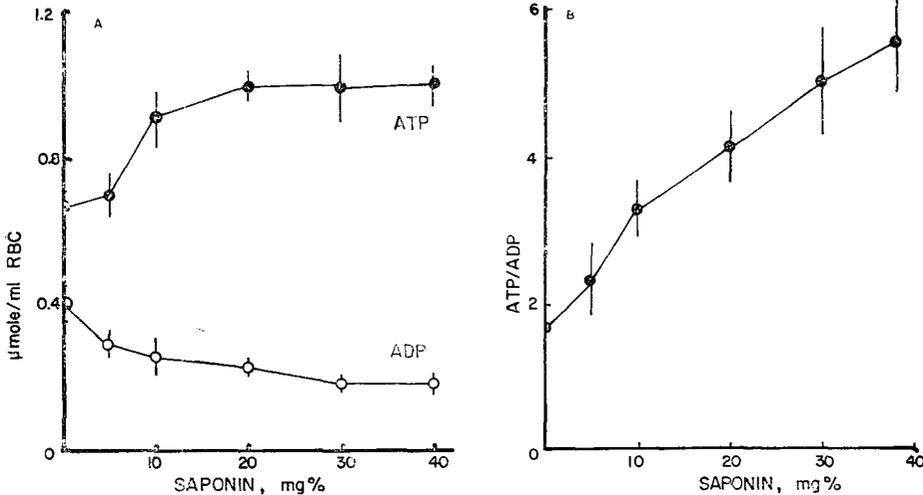
실험 성적

1) 인삼이 적혈구 해당과정의 중간산물에 미치는 영향

(1) ATP와 ADP의 농도 및 ATP/ADP의 비

적혈구세포에 인삼 saponin을 5, 10, 20, 30 및 40 mg % 농도로 가하여 적혈구해당과정의 중간산물의 농도에 미치는 영향을 관찰하고 인삼 saponin이 첨가되지 않은 대조군과 비교 관찰한 성적은 제 1도와 제 1 표에 나타내었다.

제 1도 A에 표시된 성적은 10례에서 얻은 실험결과인데 ATP 농도는 대조군이 $0.686 \pm 0.054 \mu\text{mole/ml rbc}$ 인데 인삼 saponin 농도를 5, 10, 20, 30 및 40 mg%



제 1도. 인삼 saponin이 적혈구세포의 ATP, ADP와 ATP/ADP의 비에 미치는 영향.

제 1도 A는 대조군과 인삼 saponin 투여시 적혈구세포내 ATP 및 ADP의 농도를 나타낸 값으로서, Mean±S.E.M.으로 표시 하하였다. 제 1도 B의 ATP/ADP의 비는 제 1도 A의 ATP와 ADP의 값으로부터 산출하였다. 실험례수는 10례이다.

제 1 표. 인삼 saponin이 적혈구세포내 ATP와 ADP 농도 및 ATP/ADP의 비에 미치는 영향

	Saponin(mg%)					
	0	5	10	20	30	40
ATP (μmole/ml rbc)	0.686 ±0.054	0.713 ±0.067	0.931 ±0.079	1.018 ±0.044	1.000 ±0.098	1.094 ±0.054
ADP (μmole/ml rbc)	0.404 ±0.051	0.303 ±0.045	0.275 ±0.054	0.243 ±0.025	0.196 ±0.025	0.195 ±0.030
ATP/ADP	1.72 ±0.52	2.36 ±0.49	3.38 ±0.44	4.18 ±0.55	5.10 ±0.95	5.61 ±1.34

* 실험례수 : 10례

ATP와 ADP의 농도 : μmole/ml rbc.

제 2 표. 인삼 saponin 이 pyruvate 와 lactate 의 농도 및 NAD⁺/NADH 의 비에 미치는 영향

	대조군	실 험 군				
		Saponin(mg%)				
		5	10	20	30	40
Pyruvate(μ mole/ml suspension)	0.080 ± 0.010	0.089 ± 0.026	0.132 ± 0.018	0.145 ± 0.043	0.155 ± 0.025	0.160 ± 0.005
Lactate (μ mole/ml suspension)	1.55 ± 0.16	1.68 ± 0.25	1.93 ± 0.36	2.00 ± 0.12	2.20 ± 0.06	2.21 ± 0.20
NAD ⁺ /NADH	293 \pm 16	301 \pm 27	374 \pm 15	411 \pm 20	399 \pm 22	410 \pm 28

* 실험례수 : 10례

제 3 표. 인삼 saponin 이 glucose utilization 에 미치는 영향

Saponin(mg%)					
0	5	10	20	30	40
1.06 \pm 0.240	1.12 \pm 0.22	1.50 \pm 0.11	1.69 \pm 0.04	1.98 \pm 0.08	2.00 \pm 0.10

* 실험례수 : 10례

Glucose utilization: μ mole/ml rbc/hr.

첨가했을 때의 값은 각각 0.713 \pm 0.067, 0.931 \pm 0.079, 1.018 \pm 0.044, 1.000 \pm 0.098 및 1.094 \pm 0.054 μ mole/ml rbc 로서 인삼 saponin 의 농도가 20 mg%까지는 ATP 농도가 인삼 saponin 농도에 비례하여 증가하였으나 인삼 saponin 의 농도를 그 이상 증가시켰을 때는 ATP 농도가 더 이상 항진되지는 않았다.

한편 ADP 농도는 인삼 saponin 을 첨가함에 따라 감소되었는데, 제 1 도 A 를 보면 대조군의 ADP 농도가 0.404 \pm 0.051 μ mole/ml rbc 인데 비하여 인삼 saponin 이 5, 10, 20, 30 및 40 mg%가 들어있을 때는 각각 0.303 \pm 0.045, 0.275 \pm 0.054, 0.243 \pm 0.025, 0.196 \pm 0.025 및 0.195 \pm 0.030 μ mole/ml rbc 로서 인삼 saponin 농도가 증가함에 따라 ADP 농도는 감소되었다. 따라서 ATP 농도와 ADP 농도의 측정치를 기준으로 산출한 ATP/ADP ratio 를 제 1 도 B 에 표시하였는데, 대조군에서 ATP/ADP 의 비는 1.72 \pm 0.52 인데 비하여 인삼 saponin 이 5, 10, 20, 30 및 40 mg%투여된 실험군에서의 ATP/ADP 의 비는 각각 2.36 \pm 0.49, 3.38 \pm 0.44, 4.18 \pm 0.55, 5.10 \pm 0.95 및 5.61 \pm 1.34 로서 incubation 용액에 첨가된 인삼 saponin 농도가 증가됨에 따라 ATP/ADP 의 비도 점차 증가되었다.

(2) Pyruvate 와 lactate 의 농도

적혈구세포부유액에 인삼 saponin 을 5, 10, 20, 30 및 40 mg%의 농도로 첨가하고 pyruvate 와 lactate 의 농

도를 측정하고 이를 인삼 saponin 을 투여하지 않은 대조군과 비교 관찰한 결과는 제 2 표에 나타낸 바와 같다. 이표에 표시된 바와 같이 pyruvate 와 lactate 의 농도는 첨가된 인삼 saponin 의 농도가 5 mg%일 때는 대조군과 별 차이가 없었으며, 10 mg%이상의 농도에서는 pyruvate 및 lactate 의 농도는 대조군에 비하여 유의하게 증가되었다. 따라서 pyruvate 와 lactate 의 비로부터 계산하여 얻은 redox state 의 척도인 NAD⁺/NADH 의 비도 인삼 saponin 농도가 증가됨에 따라 증가되었다.

(3) 포도당이용(glucose utilization)

적혈구세포부유액에 인삼 saponin 을 첨가했을 때 glucose utilization 은 제 3 표에 나타낸 바와 같다. 이표에서 보면 대조군의 포도당이용은 1.064 \pm 0.24 μ mole/ml rbc/hr 인데 비하여 인삼 saponin 이 5, 10, 20, 30 및 40 mg%가 포함되었을 때는 각각 1.12 \pm 0.22, 1.50 \pm 0.11, 1.69 \pm 0.04, 1.98 \pm 0.08 1.96 \pm 0.10 μ mole/ml rbc/hr 로서 인삼 saponin 농도가 증가됨에 따라 증가되었다.

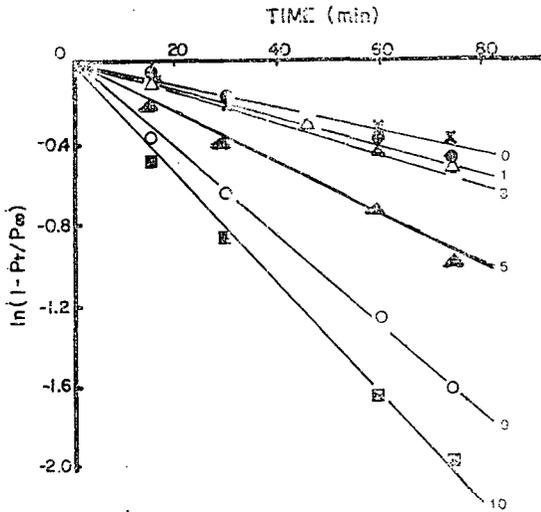
2) 인삼 saponin 이 적혈구막에서의 Na⁺-K⁺-ATPase 활성도에 미치는 영향

인삼 saponin 이 적혈구막에서의 Na⁺-K⁺-ATPase

제 4 표. 인삼 saponin 이 적혈구막소편에서 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 활성도에 미치는 영향

Saponin(mg%)					
0	5	10	20	30	40
1.560 ± 0.046	1.846 ± 0.066	2.046 ± 0.076	1.644 ± 0.073	1.028 ± 0.093	0.890 ± 0.085

* 실험배수 : 10예
 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase 활성도 : $\mu\text{mole pi/mg protein/hr}$.

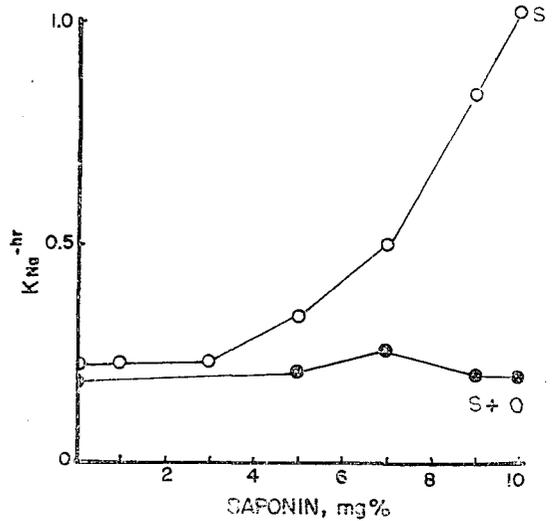


제 2 도. 인삼 saponin 이 적혈구 세포를 통한 ^{22}Na 의 efflux rate 에 미치는 영향. 세포내에 남아 있는 ^{22}Na 의 전체부유액 방사능의 분율을 시간의 함수로 semilog scale 상에 나타내었다. 숫자는 sodium flux medium 내에 투여한 saponin 농도(mg%)를 나타내었다. 실험배수는 10 예이다.

활성도에 미치는 영향은 제 4 표에 나타내었는데 인삼이 첨가되지 않은 대조군에서의 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 활성도는 $1.560 \pm 0.046 \mu\text{mole pi/mg protein/hr}$ 이었으나 인삼 saponin 을 5, 10, 20, 30 및 40 mg%로 첨가하였을 때 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 의 활성도는 각각 1.846 ± 0.066 , 2.046 ± 0.076 , 1.644 ± 0.073 , 1.028 ± 0.093 및 $0.890 \pm 0.085 \mu\text{mole pi/mg protein/hr}$ 로써 인삼 saponin 농도가 10 mg%까지는 농도에 비례하여 증가되었으나, 첨가된 인삼농도가 20 mg%이상에서는 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 활성도는 오히려 대조군에 비하여 감소되었다.

3) 인삼 saponin 이 사람적혈구에서 ^{22}Na efflux 에 미치는 영향

인삼 saponin 성분이 적혈구막을 통한 ^{22}Na efflux 에 미치는 실험적은 제 2 도 및 제 3 도에 도시한바와



제 3 도. 인삼 saponin 이 적혈구세포 ^{22}Na 의 efflux rate constant 에 미치는 영향.

제 2 도의 ^{22}Na 의 efflux rate 의 직선의 경사도에서 ^{22}Na 의 efflux rate constant ($^{\circ}k_{\text{Na}}$)의 값을 산출하였다. S 는 flux medium 내에 인삼 saponin 투여시에 얻은 k_{Na} 을 대조군의 $^{\circ}k_{\text{Na}}$ 와 비교한 것이고, S+O 는 flux medium 내에 10^{-4}M 의 ouabain 을 투여하고, saponin 을 투여했을 때의 k_{Na} 을 나타낸 것이다.

같다. ^{22}Na efflux 는 제 2 도에 나타낸 바와 같이 sodium flux medium 내에 인삼 saponin 농도가 1 및 3 mg%되도록 첨가했을 때는 대조군과 별차이가 없었으나, sodium flux medium 내에 인삼 saponin 의 농도가 5, 7, 9 및 10mg% 농도로 포함시켰을 때는 ^{22}Na efflux 는 인삼 saponin 농도에 비례하여 유의있게 증가되었다.

제 3 도는 제 2 도의 ^{22}Na efflux 의 직선의 경사도에서 산출한 ^{22}Na efflux 의 rate constant ($^{\circ}k_{\text{Na}}$)와 sodium flux medium 내에 가한 인삼 saponin 농도와 의 상관관계를 나타낸 것인데, 이 그림 상단의 곡선에

서 보는 바와 같이 인삼 saponin 농도가 1 및 3 mg% 농도로 첨가했을 때는 $^{\circ}k_{Na}$ 는 대조군과 별 차이가 없었으나, 인삼 saponin 농도가 5 mg% 이상으로 첨가되었을 때는 $^{\circ}k_{Na}$ 가 유의있게 증가되었다. 제 3도의 하단에 도시된 곡선은 sodium flux medium 내에 $10^{-4}M$ 의 ouabain을 첨가하고, 인삼 saponin 농도를 달리하였을 때 측정된 $^{\circ}k_{Na}$ 를 나타낸 것인데 대조군이나 인삼투여군에서의 $^{\circ}k_{Na}$ 는 동일한 값을 보였으며, 인삼 saponin에 의한 $^{\circ}k_{Na}$ 의 증가현상은 ouabain에 의하여 완전히 억제되었다.

고 찰

본 실험에서 인삼 saponin 성분은 적혈구세포해당과정 중간산물인 ATP, pyruvate의 농도, 당의 소모량 및 lactate 생산량을 모두 증가시켰으며 ADP의 농도는 감소시켰고, 실험측정치를 기준으로 산출한 ATP/ADP의 비와 NAD⁺/NADH의 비도 모두 증가되었다.

인삼이 해당과정 중간대사 효소계에 미치는 영향은 간, 심장근육 및 E. coli 등에서 관찰되었다. 즉 Han 등(1979)은 인삼 메타놀추출물은 생쥐의 심장근육의 ATP와 Phosphocreatine의 함량을 크게 증가시켰고, 또 creatine phosphokinase와 이에 연관된 pyruvate kinase, hexokinase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, lactate dehydrogenase 등의 효소활성들이 모두 현저하게 증가되었음을 관찰하였으며 이와같은 효소계 활성도의 증가는 인삼 메타놀추출물이 세포내의 에너지관계대사를 촉진시킨 결과라고 하였다.

본 실험에서도 인삼 saponin은 적혈구세포해당과정 중간산물인 ATP의 함량을 증가시켰는데 적혈구세포해당과정에서 ATP 합성은 ①, 1,3-diphosphoglycerate가 phosphoglycerate kinase의 작용을 받아 3-phosphoglycerate로 되는 단계(PGK step)와 ② phosphoenol pyruvate가 pyruvate kinase의 작용을 받아 pyruvate로 되는 단계(PK step)에서 생산된다. 그러므로 본 실험성과 Han 등(1979)의 성적들을 미루어 인삼에 의한 ATP생산의 증가는 인삼이 적혈구세포해당과정의 PGK와 P.K의 활성을 촉진시킨 것으로 생각되며, 아울러 ADP의 농도로는 감소되고, ATP/ADP의 비 역시 증가된 것으로 생각된다.

그런데 적혈구세포내 ATP의 40%는 적혈구세포막을 통한 Na⁺과 K⁺의 능동적인 이동에 필요한 energy원으로 이용된다고 한다(Hoffman, 1962). Whittam과 Ager(1965)등도 사람의 적혈구세포에서 능동적인

양이온(cation)의 이동이 당진대사(glucose metabolism)와 밀접한 관계가 있음을 시사하였으며, 또 세포막을 통하여 Na⁺을 세포외로 그리고 K⁺을 세포내로 이동시키는 pump의 기능은 세포내 ATP 농도에 비례하고, 또 적혈구세포 해당과정을(rate of glycolytic sequence)과 능동적인 양이온의 이동율(rate of active cation transport)은 상호 couple되어 나타난다고 하였다. 한편 Hoffman(1967)은 적혈구세포막을 통한 능동적인 Na⁺의 이동에 이용된 ATP의 양과 phosphoglycerate kinase step에서의 ATP의 재생량과는 상호 couple되어 있음을 시사하였으며, 또 Jones 등(1963)도 쥐의 신장 microsome에서 phosphoglycerate kinase의 활성도와 Na⁺-K⁺-ATPase 활성도는 상호 couple되어 있음을 시사하였다. 그러므로 본 실험에서 얻은 적혈구세포를 통한 Na⁺의 이동이 인삼 saponin 투여로 증가되었는데 이는 인삼이 Na⁺의 능동적인 이동에 필요한 energy를 충분히 공급함으로써, pump 기능을 활성화시킨 것으로 생각된다. 또 인삼은 적혈구막 효소인 Na⁺-K⁺-ATPase의 활성도를 증가시켰으며, 이 효소의 활성화 역시 Na⁺의 이동을 촉진시키는 요소가 된 것으로 생각되며, Hoffman이나 Jones 등이 제시한 것처럼, Na⁺의 이동과 적혈구신진대사는 couple되어 나타남을 알 수 있다. 또한 인삼에 의해 증가된

ATP가 에너지원으로 이용되었음을 시사하는 실험적인 증거는 Na⁺의 능동적인 이동은 Na⁺-K⁺-ATPase 활성도의 강력한 억제제인 ouabain을 투여하므로써 인삼농도와 무관하게 Na⁺의 이동은 모두 억제되었다. 그러므로 인삼 saponin에 의해 증가된 Na⁺의 이동은 세포막에 존재하는 sodium pump의 활성화와 이 pump의 기능이 원활히 이루어지기 위해 필요한 energy원인 ATP의 충분한 공급에 기인한 결과임을 알 수 있다.

또한 pyruvate와 lactate의 농도도 인삼 saponin에 의하여 모두 증가되었는데, 이는 pyruvate kinase와 lactate dehydrogenase의 활성도가 촉진된 것을 시사하는 결과이며 본 실험에서 직접 측정하지는 않았으나, Han 등(1979)은 심장근에서 인삼이 pyruvate kinase와 lactate dehydrogenase의 활성을 모두 촉진시켰다는 성적을 미루어 인삼 saponin도 적혈구세포해당과정에서 이들 효소의 활성도를 촉진하므로써 pyruvate와 saponin의 농도가 증가되었을 것으로 생각된다.

이와같이 인삼 saponin에 의한 lactate dehydrogenase의 활성화는 NADH에서 NAD로의 산화를 촉진시키고, 따라서 NAD⁺/NADH의 비가 증가된 것으로 생각된다.

이와같이 NAD의 공급이 증가되면 이차적으로 glycer-aldehyde phosphate dehydrogenase step에서의 반응이 촉진되고, 결과적으로 적혈구세포의 신진대사는 전체적으로 향진될 것으로 생각된다.

인삼이 당대사에 미치는 영향은 여러 연구자들에 의해 보고되었다. 즉 Petkov(1959)는 실험적으로 유도한 과혈당에 대하여 인삼은 insulin의 효과에 상승적으로 작용하며, 그 양이 과다할때는 그 자체가 혈당을 낮춘다고 하였다. 또 Yamada(1955)는 인삼의 작용은 정상혈당때보다는 adrenalin 과혈당과같은 혈당량이 높을 때 더 효과적으로 작용한다고 하였다. 정(1971)은 glucose가 들어있는 효모배양액에 인삼추출물을 투여할 때 인삼추출물이 세포내로의 glucose 이동을 촉진한다고 하였으며 Kang(1962)은 간절편에서 인삼이 glucose의 산화를 촉진한다고 보고하였다.

본실험에서도 인삼은 glucose의 이용을 증가시켰는데 이는 아마도 인삼이 적혈구세포에서 glucose의 산화를 촉진시켰을 가능성을 암시하고 있다.

이상과 같이 인삼은 적혈구세포 해당과정을 전반적으로 촉진시켰는데 그 기전을 규명키 위해서는 추후 적혈구세포 해당과정의 모든 효소계의 활성도를 측정함으로써 명확한 기전을 규명할 수 있을 것으로 생각되는 바이다.

결 론

인삼 saponin이 사람 적혈구세포 해당과정 중간산물과 적혈구막을 통한 Na⁺의 이동에 미치는 영향을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 인삼 saponin은 적혈구세포 ATP의 농도를 증가시키고, ADP의 농도로 감소시켰으며, ATP/ADP의 비도 증가시켰다.

2) 인삼 saponin은 적혈구세포 pyruvate의 농도와 lactate의 농도를 증가시켰으며, NAD⁺/NADH의 비도 증가시켰다.

3) 적혈구 세포 포도당의 소모량은 인삼에 의해 향진되었다.

4) 적혈구막을 통한 Na⁺의 이동은 인삼에 의해 촉진되었으며, ouabain 투여로 인삼에 의한 Na⁺이동의 증가는 완전히 억제되었다. 또 적혈구막효소인 Na⁺-K⁺-ATPase활성도 역시 인삼농도가 낮을때는 활성화되었으며, 그 농도가 높을때는 억제되는 이중효과를 나타내었다.

이상의 결과로 미루어 적혈구세포 해당과정이 인삼 saponin에 의하여 전체적으로 촉진되었음을 알 수 있었다.

REFERENCES

- 1) Bykhovisova, T.L.: *The effect of ginseng preparation and eleuterococcus roots on carbohydrate metabolism. Izv. Akad. Nauk. SSSR Ser. Biol. 35:915, 1970.*
- 2) 정노팔 : 인삼의 효과에 관한 세포생리학적 연구. 제 II편. 포도당의 투과에 미치는 영향. 대한생리학회지, 5:15, 1971.
- 3) 정혜원 : *Insam Munhun, Teukjip. 2:38, 1964.*
- 4) Cho, J.S. T.H. Chung, C.S. Kwak and J.Y. Kim: 인삼 성분이 당질의 산화 및 생성에 미치는 효능. 한국 생화학회지, 10:23, 1977.
- 5) Joo, C.N., Y.D. Cho and H.Y. Kwon: *Biochemical studies on Ginseng Saponin(XII). The effect of Ginseng saponin on bacterial growth. 한국생화학회지, 11:113, 1978.*
- 6) Heinz, E. and J.F. Hoffman: *Phosphate incorporation and Na⁺-K⁺-ATPase activity in human red blood cell ghost. J. Cell Comp. Physiol. 65:31, 1965.*
- 7) Hoffman, J.F.: *Cation transport and structure of the red cell plasma membrane. Circulation. 26:1201, 1962.*
- 8) Jones, C.P and J.F. Hoffman: *The role of membrane phosphocreatine kinase in the control of glycolytic rate by active cation transport in human red blood cells. J. gen. Physiol. 50:893, 1967.*
- 9) Jones, V.D., J.L. Norrus and E.J. London: *Interaction of a rat-kidney endoplasmic reticulum fraction with glycolytic enzymes. Biochim. Biophys. Acta 71:227, 1963.*
- 10) Kang, S.S.: *The action of Panax ginseng on the glucose oxidation of the rat liver in vitro. 서울의대잡지, 3:157, 1962.*
- 11) 김하식 : 조선인삼 각종 성분의 약리학적 작용에 대하여. 조선의대잡지, 21:647, 1931.
- 12) 이중우, 김인교, 강두희 : 인삼알콜추출물이 쥐간 mitochondria의 산소소모율에 미치는 영향. 대한생리학회지, 13:1, 1979.
- 13) 이승일, 강두희 : 인삼이 적혈구막을 통한 Na⁺ 이동에 미치는 영향. 대한생리학회지, 12:1~5,

- 1978.
- 14) Lee, H.J., T.R. Han and S.J. Kim: *Effect of Panax ginseng on enzyme activity Korean Biochem. J.* 12:10, 1979.
- 15) Lowry, O.H, N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall: *Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem.* 193:265, 1951.
- 16) Marshall, W.E., J.M. Goldinger and A. Omachi: *The influence of anaerobiosis on human erythrocyte metabolism. Proc. Soc. Exp. Biol.* 154:356, 1977.
- 17) Oura, H.K., Tsukada, S., Hiai and S. Nakashima: *Proc. Symp. Chem. Physiol Pathol.* 7:110, 1967.
- 18) 우원식, 조형원 : 대사과정에 미치는 인삼의 영향에 관한 연구. II Rat의 간 glycogen 량에 미치는 영향에 대하여. 서울대학교 논문집(자연과학분야). 6:129, 1957.
- 19) Petkov, W: *Pharmacological studies of the drug ginseng. Arzneimittel forschung* 9:305, 1959.
- 20) Raabo, E. and T.C. Terkildsen: *On the enzymatic determination of blood glucose. Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 12:402, 1960.
- 21) Whittam, R. and M.E. Ager: *The connexion between active cation transport and metabolism in erythrocytes. Biochem, J.* 97:214, 1965.
- 22) Williamson, D.H., P. Lund and H.A. Krebs: *The redox state of free nicotinamide adenine dinucleotide in the cytoplasm and mitochondria of rat liver. Biochem J.* 103:514, 1967.
- 23) Yamada, H.Y.: *Pharmacological studies on panax ginseng. Folia Pharmacol. Jap.* 51:390, 1955.