

人蔘이 心臟 收縮力과 小胞體 機能에 미치는 影響(第1報)

흰쥐 心臟의 收縮力 및 乳頭筋의 Force-Velocity 曲線에 대한 人蔘成分의 效果

吳 禹 澤 · 金 洛 斗

서울대학교 藥學大學

(Received May 17, 1983)

Uh Taek Oh and Nak Doo Kim

College of Pharmacy, Seoul National University Seoul 151, Korea

The Effect of Ginseng on Heart Contraction and Sarcoplasmic Reticulum Function(I)

The Effect of Ginseng on the Myocardial Contractility and Force-Velocity

Curves of Papillary Muscles from Rats

Abstract—The rates of deterioration of contractile forces of isolated hearts from ginseng component treated rats were determined. Rat papillary muscles were also used to study the influence of ginseng on the mechanical performance of heart. Rats weighing 200~300g were administered orally with ginseng ethanol extract (100mg/kg/day), ginseng total saponin (50mg/kg/day) and ginsenoside Rb₁ (5mg/kg/day) for a week respectively. The isolated hearts from rats were perfused with Krebs-Henseleit solution by Langendorff perfusion apparatus. The force-velocity relation was clearly seen with the load-generator equipped isotonic shortening recording apparatus. The control group was only able to maintain 60% of their initial contractile forces after 120 minutes of perfusion, whereas ginseng ethanol extract treated group was able to sustain nearly their initial strength even after 120 minutes of perfusion. The similar effects were seen in the hearts treated with total ginseng saponin and ginsenoside Rb₁. Ginseng ethanol extract did alter mechanical performance of rat ventricular myocardium. It increased both maximum velocity (V_{max}) of isotonic shortening and isometric force (P₀) and showed increased velocity of shortening significantly (P<0.05) at any one afterload.

人蔘을 1주일간 경구적으로 투여한 후 摘出した 心臟의 수축력의 退化率을 정상군의 心臟과 비교한 바 人蔘에 탄을 엑기스, 총인삼 saponin 및 ginsenoside Rb₁을 투여한 흰쥐에서 摘出した 心臟은 정상군에서 摘出した 心臟에 비해 收縮力의 退化率이 지연되었으며 ginsenoside Re 및 人蔘 벤젠 엑기스 투여군에서는 正常群의 心臟의 退化率과 차이가 없었다¹⁻²⁾.

이상의 실험결과를 흰쥐의 자발적인 심장 박동에 의한 것이었으므로 본연구에서는 적출심장을 일정한 박동수로 고정한 상태에서 수축력의 변화를 관찰하였으며 또한 흰쥐심장으로 부터 유도근을 분리하여 인삼성분에 의한 force-velocity curve의 변화를 관찰하였다.

實 驗 方 法

實驗材料—1) 인삼 에탄올 엑기스 : 홍미삼을 분쇄하여 75% 에탄올로 70°C에서 추출하고 추출액을 감압농축하여 엑기스를 얻었다. 시료의 농도는 엑기스 분말을 기준으로 하였으며 saline에 용해하여 경구투여하였다.

2) 인삼 saponin: (1) 人蔘 total saponin—人蔘 total saponin은 Shibata¹¹⁾, Namba¹²⁾ 등의 方法

을 應用하여 홍삼으로부터 抽出하였다. 조말로 한 홍삼을 Asahina式 連續抽出器로 ether 抽出物을 除去한 後 淺渣를 methanol로 水浴上에서 가열추출하였다. 抽出한 methanol fraction을 농축하여 얻은 methanol extract에 증류수를 加하여 물로 포화시킨 n-butanol로 진탕 추출한 後 水層을 분리제거하고 butanol層을 증발농축 乾燥하여 人蔘 total saponin을 얻었다.

(2) Ginsenoside Rb₁ (protopanaxadiol계 saponin)—Shibata¹¹⁾의 方法을 利用하여 얻은 ginsenoside Rb₁을 使用하였다.

3) 實驗動物: 200~300g의 健康한 雄性 Sprague-Dawley계 흰쥐를 使用하였다.

實驗方法—1) 흰쥐 抽出心臟에 대한 實驗: (1) 人蔘成分의 投與—인삼두어群에는 人蔘엑기스는 100mg/kg/day, 人蔘 total saponin은 50mg/kg/day, ginsenoside Rb₁은 5mg/kg/day를 1주간 경구투여하였으며 대조군에는 saline을 같은 방법으로 1주간 투여하였다.

(2) 抽出心臟의 灌流^{10,13)}—흰쥐의 頭部를 強打하여 출혈 致死시킨 後 心臟을 신속히 分離하여 산소를 포화시킨 Krebs-Henseleit 溶液(4°C)에 넣었다. 抽出한 心臟의 大動脈을 通하여 캐놀라(cannula)를 插入하고 silk suture로 매어준 後 이 心臟을 Langendorff 장치에 顯垂하고 Krebs-Henseleit 溶液을 관류하였다. 관류액의 壓力을 心臟으로부터 높이 65cm에 Mariotte병과 reservoir를 장치함으로써 一定(50mmHg)하게 유지하였다. 관류액은 항상 95%O₂~5%CO₂의 혼합가스가 항상 포화되도록 하였다. 이 관류액의 온도는 31°C로 維持시켰다. 等尺性 收縮力은 心尖에 stainless steel clip과 nylon실로 連結하고 그 실은 활차를 通하여 force transducer(Biocom Model No. 1030)에 연결하여 polygraph에 기록되게하였다. Diastolic tension은 2g으로 維持하였다. 전기 자극은 백금 electrode를 사용하여 square wave로 주었으며 이 square wave의 duration time은 10m sec, 전압은 minimum threshold의 약 10% 이상 높혀주었다. 이 때의 heart rate는 300beats per minute로 하였다. 심장을 Langendorff 장치內에 固定한 後 15分 동안을 equilibrium time으로 하였으며 이 때는 心尖에 어떠한 힘도 가하지 않았다. 이 15분이 지난 後 즉시 心臟에 2g의 tension을 가함과 동시에 polygraph로 기록을 시작하였다.

2) 白鼠 心臟의 좌심실 乳頭筋에 대한 實驗: (1) 人蔘成分의 投與—전술한 방법으로 얻은 人蔘엑기스를 1日 100mg/kg씩 10日間 경구투여 하였으며 대조群에는 생리 식염수를 역시 10日間 경구투여 하였다.

(2) Muscle preparation¹⁴⁻¹⁷⁾—건강한 수컷 흰쥐(250~300g)의 두부를 강타하여 출혈, 치사시킨 後 심장을 적출하였다. 이 심장을 제빨리 절개하여 posterior left ventricular papillary muscle을 절취한 後 Krebs-Henseleit 용액이 담긴 bath에 넣었다. 이 용액은 실험이 끝날 때까지 O₂ 95%—CO₂ 5%의 혼합가스를 포화시켰다. 가늘고 긴 乳頭筋만을 선택하였으며 travacular branch가 많이 달린 유두근은 실험에서 제외시켰다¹⁴⁾. Krebs-Henseleit buffer는 혼합가스를 포화시켜 pH7.4로 하였으며 bath의 온도는 25°C로 항상 유지시켰다.

(3) Isotonic lever displacement transducer and load generator¹⁵⁾—이 system은 전자식과 영구자석을 利用하여 白鼠 좌심실의 유두근에 관성이 일정한 상태로 afterload를 걸어주기 위하여 고안된 것으로 Fig 1에서와 같다. Isotonic lever의 한쪽 끝은 금으로 합금된 가는 쇠줄을 通하여 유두근의 한쪽 끝에 연결되어 있으며 그 isotonic lever의 다른쪽 끝은 영구자석(m)으로 고정되어 있어 이 영구자석에 걸리는 자장의 변화에 따라 afterload를 조절하게 장치하였다. 전자식의 코일(1Ω)에 흐르는 직류 전류의 세기를 변화시켜 0~4g의 힘을 유두근이 받도록 설치하였다¹⁵⁾, Isotonic lever (Fig 1)는 強하고 가벼운 알루미늄으로 만들었으며 회전中心에 걸리는 관

성 모멘트는 $12.81g\ cm^2$ 이었다. Isotonic lever displacement transducer는 2cm 정도의 isotonic lever의 길이 변화에 정비례한 전기적 output을 내도록 조절되었다(Fig 1). 조절나사(S, Fig. 1)를 사용하여 유두근의 길이가 afterload에 의해 과도하게 늘어나는 것을 방지하였으며 항상 일정한 initial length를 유지하도록 하였다¹⁵⁾. Stimulator는 Gould impulse stimulator로서 使用하였으며 2개의 백금 전극(electrode)을 使用하여 square wave stimulus를 흰쥐 심장의 좌심실 유두근의 밑 부분에 주었다. 전기자극의 크기는 threshold의 10% 정도를 더 주었고(1.5~2.5V), duration time은 5 msec, frequency는 24 beats/min으로 하였다.

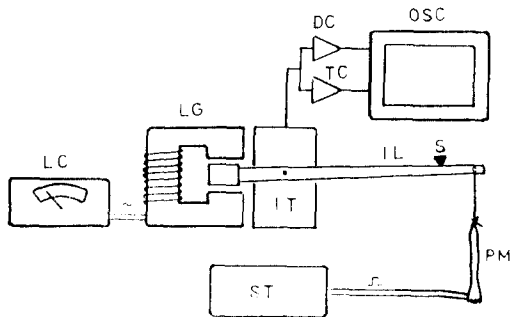


Fig. 1—Diagram of apparatus for simultaneous recording of isotonic shortening and velocity of shortening. dc: differential coupler, il: isotonic lever, it: isotonic transducer, lc: load control unit, lg: load generator, s: leverstop, osc: oscillograph, pm: papillary muscle, st: stimulator, tc: isotonic transducer coupler.

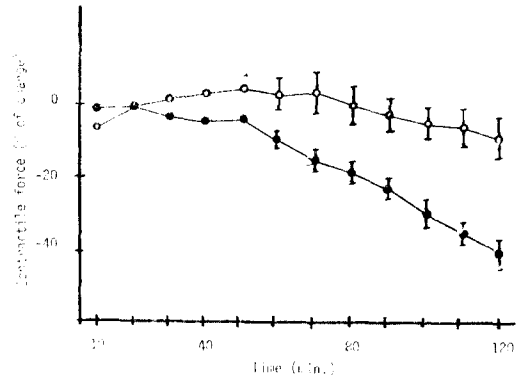


Fig. 2—Rate of deterioration of the contractile force in hearts from ginseng total extract (○—○) and physiological saline (●—●) treated rats. The numbers of animals are 3 for control and 3 for the treated rats. Bars indicate S.E.

(4) 유두근의 길이변화 및 속도의 측정—Papillary muscle의 수축길이는 isotonic force transducer를 통하여 multichannel oscillograph (Washington 400MD)에 기록하였으며 그 수축길이는 전기적으로 시간에 대해 미분시켜 같은 polygraph에 기록하였다. 이 때의 기록 종이의 속도는 50mm/sec로 하였다. Zero load에서의 maximum velocity는 force-velocity 곡선의 처음 부분이 쌍곡선에 근사하다고 가정하고^{17,18)}, 이 부분에 있는 5개의 점을 利用하여 Vmax를 구했다(Fig 5). 이 때의 preload는 250mg으로 하였다(Fig 5).

實驗 結果

摘出 心臟의 收縮力에 미치는 人蔘의 效果—正常 心臟의 수축력은 기록시작 後 80分 후에는 기준 收縮力(기록 시작 후 20分의 수축력)의 약 20%가, 120分後에는 약 45%가 억제되었다. 그러나 인삼 total extract를 경구 투여한 흰쥐의 심장은 수축력이 점차 상승하여 기록 시작 後 60分에서 최대를 나타내었으며 그 약화 되어지는 정도는 정상군에 비해 훨씬적어 120分 後에는 기준 수축력(기록 시작 後 20分의 수축력)의 약 18%가 약화되었다(Fig. 2). 人蔘 total saponin으로 전처리된 동물群은 기록 시작 後 50分에서 최대가 되었으며 120分 後에는 正常群보다 약화가 훨씬 덜 되어 20% 정도의 억제를 나타내었다(Fig. 3). Protopanaxadiol계 saponin인 ginsenoside

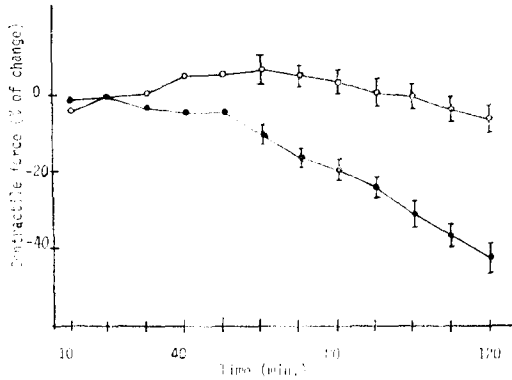


Fig. 3—Rate of deterioration of the contractile force in hearts from ginseng total saponin (○—○) and physiological saline (●—●) treated rats. The numbers of animals are 5 for the treated and 3 for the control rats. Bars indicate S.E.

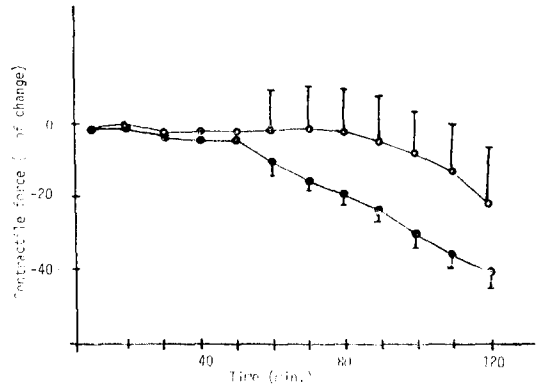


Fig. 4—Rate of deterioration of the contractile force in hearts from ginsenoside Rb1 (○—○) and physiological saline (●—●) treated rats. The numbers of animals are 3 for the treated and 3 for the control rats. Bars indicate S.E.

Rb₁으로 전처리 된 동물群에서는 total saponin群과 유사한 형태로 수축력이 弱化되는 경향을 관찰 할 수 있었다(Fig 4).

Force-Velocity Curve에 미치는 人蔘의 效果—人蔘을 경구 투여한 흰쥐의 좌심실 유두근의

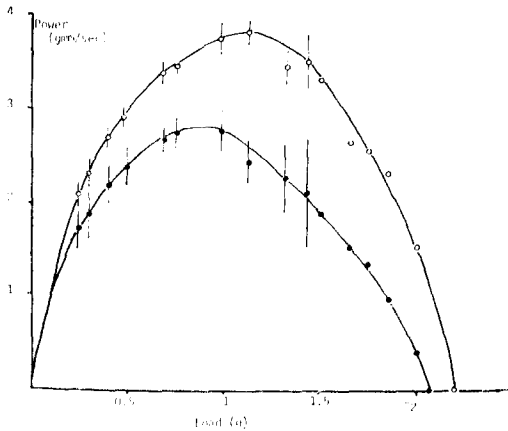


Fig. 5—Force-velocity curves of the papillary muscles from the ginseng total extract treated rats (○—○) and from the saline treated rats (●—●) at a rate of 24 beats/min. Preload was 0.25g. Temperature was 24°C. 5 rats were sacrificed for control and 3 were for the treated. Bars indicate S.E. ($P < 0.05$).

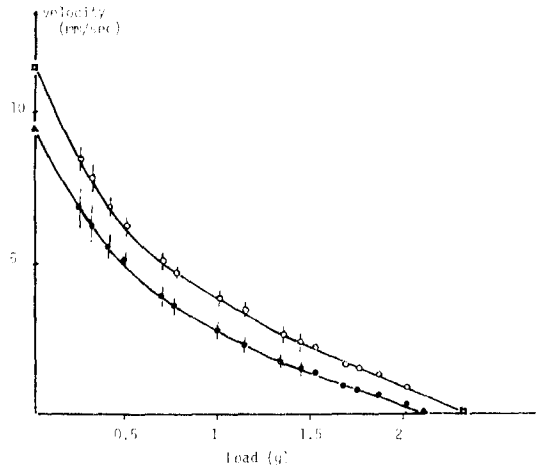


Fig. 6—Initial power (load×velocity) is increased significantly at any one afterload. Bars indicate S.E. ($p < 0.05$).

force-velocity curve(Fig. 5)는 정상군과 비교하여 볼때 최대 수축속도(maximum-velocity of shortening: Vmax)와 수축은 일어나지 않고 힘만 야기되는 점(P₀: isometric contractile force)의 증가를 보였다. 또한 preload(250mg)에서의 velocity는 정상군에서의 수축속도보다 유의성 있는 증가를 보였으며 그 이상의 tension을 가하여 1.5g의 tension이 걸리기 까지는 정상군에 비해 유의성 있는 수축속도의 증가를 보였다. 투여군의 전체적인 force-velocity 곡선의 형태는 수축력이 증가된 방향^{13,17)}으로 이동 되었음을 관찰할 수 있었다. 유도군의 수축길이의 차이도 관찰할 수 있었으며 특히 tension이 각각 0.68g, 0.75g, 0.97g에 미칠때는 유의성 있는 차이로 나타났다(Fig. 7).

考 察

Langendorff 장치를 使用하여 흰쥐의 정상군의 심장과 인삼성분을 단성적으로 경구투여한 후 적출한 투여군의 심장의 자발적인 운동을 관찰한 결과 수축력의 차이가 시간이 흐를수록 커다란 차이를 보이고 있다는 보고는 Kim⁸⁾ Lee¹⁰⁾에 의해 밝혀진 바 있다. 그러나 이때의 심장은 일정한 심장 박동수에 근거된 것이 아니었기 때문에 그 심장의 수축력(contractility)은 박동수의 변화에 기인된 것인지^{14,18)}를 알 수가 없었다. 따라서 본 실험은 인삼성분을 경구 투여한 후 적출한 심장과 정상군의 심장을 일정한 박동수로 운동하게 한 뒤에 그들의 수축력을 비교 검토하였다.

Langendorff 장치를 이용한 적출 심장의 실험에서 인삼의 total extract는 일정한 박동수(300 beats/min)에서 수축력의 약화를 강하게 지연시켰다. 이는 자발적인 심장운동의 관찰결과^{8,10)}와 같은 경향을 보였다. 또한 인삼 total extract를 전처리한 동물군의 심장의 수축력은 시간이 경과함에 따라 점차 상승하여 수축력의 기록 後 약 60分에서 최대가 되었는데(Fig. 2) 이것 역시 전보¹⁰⁾에서도 관찰된 경향이였다. 이는 정상군의 심장의 수축력이 기록 시작 後 20分에서 최대로 되었던 결과와 상당한 대조를 보이고 있다. 인삼 total saponin을 투여한 동물군에서도 이와 같은 현상을 관찰 할 수 있었다(Fig. 3). 인삼 total saponin의 한 성분인 ginsenoside Rb₁의 자발적인 심장운동에 미치는 영향에 대한 보고¹⁰⁾와 본실험에서의 관찰결과는 거의 같은 경향을 보이고 있다(Fig. 4).

Force-velocity curve는 Hill^{19,20)}의 연구에 의하면 근육의 active contractile component의 가장 기초적인 성질은 수축 속도(velocity of shortening: V)와 수축력(developed force: P)과의 관계가 쌍곡선 관계를 이룬다는 것이다¹⁹⁾. 또한 골격근과는 달리 심장근은 수축의 회수(frequency of contraction)를 변화시킨다든가 norepinephrine 혹은 Ca²⁺의 농도 변화등 화학적 환경에 의해 force-velocity relation에 예민한 반응을 보이고 있다고 발표되었다¹⁴⁾. 본

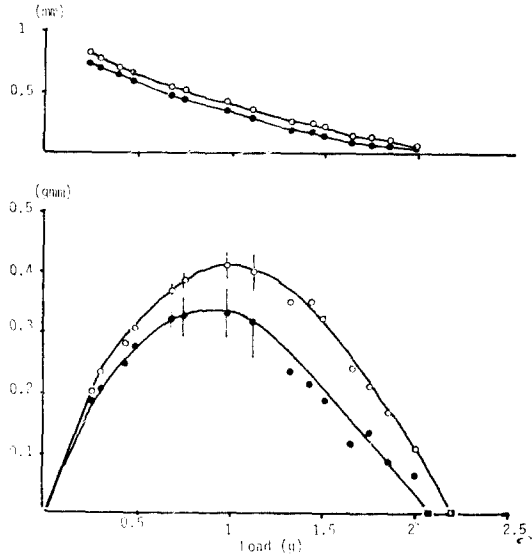


Fig. 7—above, The extent of shortening of controls (○—○) and the Ginseng total extract treated rat papillary muscles (●—●): below, Work ($\Delta L \times Load$) have been plotted as function of afterload. Bars indicate the significance of difference between two species with p value of 0.1.

실험에서도 force-velocity relation은 어느 정도 쌍곡선의 관계를 보였으며 이 쌍곡선의 관계를 가 정하여¹⁹⁾ Hill²⁰⁾ 등에 의하여 개발된 equation에 의해서 Vmax를 구할 수 있었다(Fig. 5).

인삼 투여군의 좌심실 유두근의 수축력은 force-velocity curve에서 Vmax뿐만 아니라 P₀의 증 가를 보임으로써 inotropic agent에 의한 수축력의 증강작용^{14,16)}과 비슷한 형태를 보이고 있다.

인삼 total extract는 어떤 tension(load)에서도 증가된 work과 power를 보인다(Fig. 6, 7). 또 한 정상군의 심장은 maximal power가 0.85g 정도의 tension에서 최대가 되었으나 인삼 total extract를 투여한 동물群에서는 1.13g 정도의 tension에서 최대의 power를 나타내었다. 이것은 유 두근이 행한 work을 나타내는 도표에서도 나타난다. 심근 수축에 의한 work이나 power가 항상 같은 변화를 보이는 것은 아니다¹⁸⁾. 그러나 인삼 total extract에 나타나는 일과 power의 곡선은 두 곡선의 증감이 같은 양상을 보인다(Fig. 6, 7). 이는 인삼 total extract가 심근 수축의 속도를 증가시킬 뿐 아니라 수축의 길이의 정도도 증가시켰기 때문이다¹⁸⁾(Fig. 7, upper). Force-velocity curve에 나타난 동력학적인 계수(P₀, Vmax)가 생체內的 근육에서 무엇을 의미하는가에 대한 고 찰은 명백하게 나온 것은 없으나 P₀의 증가는 힘을 유발시키는 부위의 증가를 뜻하고, Vmax의 증가는 힘을 유발시키는 어떤 기전(process)의 속도를 증가 시킨다는 해석을 Sonnenblick¹⁸⁾ 등은 하고 있다. 최근 생체막에 대한 연구에 의하면 생체의 막현상이 근육의 contractile element의 활 동기간(duration of activity)이나 힘을 유발시키는 기전의 속도를 중재하고 있다는 보고가 있 다¹⁹⁾. 또한 최근의 excitation coupling의 概念에 의하면 sarcoplasmic reticulum과 sarcolemma가 contractile apparatus에서의 Ca²⁺의 농도를 조절하는데 중요한 역할을 한다고 보도 되었다²²⁾. 이 러한 사실에 비추어 본 연구실에서 인삼 saponin을 경구 투여한 흰쥐에서 분리한 mitochondria나 sarcoplasmic reticulum은 정상군에 비하여 보다 장시간 그 기능을 유지한다는 사실을 밝힌 바 있 다²³⁾. 이러한 관점에서 볼때 上記한 보고와 본실험에서의 증가된 수축력과는 서로 연관되는 점 이 있다고 思料된다²⁴⁾.

結 論

人蔘 성분을 1주일간 經口的으로 投與하여 摘出した 心臟의 收縮力이 時間이 경과함에 따라 弱 化되어가는 정도를 正常群에서 摘出した 心臟과 比較 관찰하였으며 人蔘 total extract를 經口的으로 투여한 흰쥐의 좌심실근의 force-velocity curve를 정상군의 그것과 비교 검토하였다.

1. 人蔘 total extract으로 經口投與한 흰쥐에서 적출한 심장은 正常群에서 摘出した 心臟에 비해 수축력의 마비가 지연되어 진다. 정상군에서 적출된 心臟이 120分 灌流한 後 初期수축력의 약 40%가 감소된 데 비하여 人蔘 total extract는 거의 初期수축력을 유지하였다. 또한 인삼 total saponin을 경구투여한 투여군에서 적출한 심장에서도 이와 유사한 효과를 관찰할 수 있었다.

2. 人蔘의 알콜엑기스를 경구투여한 흰쥐 좌심실근(유두근)은 정상군의 좌심실근 보다 force-velocity curve에서 Vmax 및 P₀를 증가시켰으며 어떤 after load에서도 증가된 수축속도(velocity of shortening)를 나타냄으로써 수축력의 증가를 보였다.

이 논문은 1982년도 문교부 학술연구조성비의 지원에 의한 것이며 이에 감사를 드린다.

文 獻

1. C. Kim, 종합의학, 5, 85 (1960).
2. W.B. Wood, B.L. Roh. and R.P. White, *Jap. J. Pharmacol.*, 14, 284 (1964).
3. Y.S. Chun, B.H. Choi, C.E. Kim, K.B. Lim, and K.H. Choi, *Korean J. pharmacol.*, 2, 21 (1966).

4. J.D. Rhim, 大韓內科學會雜誌 10, 401 (1967).
5. S.K. Song, *Korean J. Pharmacol.*, 6, 9 (1970).
6. J.S. Hah, B.S. Kang, and D.H. Kang, *Yon-sei Medical J.*, 19, (1978).
7. N.D. Kim, C.K. Kim, and B.K., Kim, *Yakhak Hoeji*, 24, 15 (1980).
8. N.D. Kim, *29th Annual convention of pharmaceutical society of Korea* (1979).
9. H.Y. Toh, J.Y. Koh, and K.K. Ong, *4th Asian Symposium on Medicinal Plants and Species*, p.71 (1980).
10. N.D. Kim, and H.S. Lee, Study on the contractile force of the isolated hearts from ginseng components treated rats. *Yakhak Hoeji*, 26, 239 (1982).
11. S. Sands, N. Kondo, J. Shoj, O. Tanaka, and S. Shibata, Studies on the saponins of ginseng, *Chem. Pharm. Bull.*, 22, 421 (1974).
12. T. Namba, H. Yonshizaki, T. Tomimori, K. Kobashi, K. Mitsui, and J. Hase, Fundamental studies on the evaluation of the crude drug I. Chemical and biochemical evaluation of ginseng and related crude drugs. *Planta Medica* 25, 28 (1974).
13. C.E. Aronson and E.R. Serlick, Effects of prolonged perfusion time on the isolated perfused rat heart. *Toxicology and Applied Physiol*, 38, 479 (1926).
14. E.H. Sonnenblick, Force-velocity relations in mammalian heart muscle. *Amer. J. Physiol*, 202, 931 (1962).
15. R.L. Kaufmann, M.J. Lab, R., Hennekes, and H. Krause, Feedback inteaction of mechanical events in the isolated mammalian ventricular myocardium. *Pflugers*, 324, 100 (1971).
16. A.D. Henderson, A.S. Most, W.W. Parmley, R. Gorlin, and E. H. Sonnenblick, Depression of myocardial contractility in rats by free fatty acids during hypoxia, *Cir. Res.*, 26, (1970).
17. A.D. Henderson, D.L. Brutsaert, W.W. Parmley, E.H. Sonnenblick, Myocardial mechanics in papillary muscles of the rat and cat:
18. E.H. Sonnenblick, Implications of muscle mechanics in the reart. *Federation Proceedings* 21, 975 (1962).
19. A.V. Hill, *Proc. Roy. Soc. London*, B 126, 136 (1938).
20. A.V. Hill, *Prcc. Roy. Soc. London* B. 136, 399 (1949).
21. R.J. Niedergerke, *J. Physiol., London* 134, 569 (1956).
22. W.G. Nayler, Regulation of myocardial function-a subcellular phenomenon. *J. Molec. Cell Cardiol.*, 5, 213 (1973).
23. B.Y. Sung, and N.D. Kim, The effect of ginseng on⁴⁵Ca²⁺ uptake by sarcoplasmic reticulum fragments of rat heart. *Arch. Pharm. Res.* in press.
24. L.A. Sordahl, W.B. McCollum, W.G. Wood and A. Schwarty, Mitochondria and sarcoplasmic reticulum function in cardiac hypertrophy and failure. *Amer. J. Physiol.*, 224, 497 (1973).