

비타민 E 흡수에 미치는 인삼 saponin분획의 영향

주충노 · 김재원

연세대학교 이과대학 생화학과

(1984년 7월 10일 접수)

The Effect of Ginseng Saponin Fraction on the Absorption of Vitamin E

Chung-No Joo and Jae-Won Kim

Department of Biochemistry, College of Science, Yonsei University,
Seoul 120, Korea

(Received July 10, 1984)

Abstract

The effect of the saponin fraction extracted from *Panax ginseng* C.A. Meyer on the absorption of α -tocopherol in rat has been investigated and realized that the saponin fraction stimulated not only the absorption of α -tocopherol (1.5-2 times that of control) but also its transport and excretion. α -tocopherol is known to be transported mainly in the form of β -lipoprotein but the present study showed that the α -tocopherol was transported in the form of albumin bound or micellar structure as well.

I. 서 론

고려인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer) 성분 중 saponin 성분은 유효 성분으로서 구조 연구를 비롯하여 생리적, 약리적 그리고 생화학적 연구 결과가 비교적 많이 보고되어 있다.

본 연구실에서도 지난 10년간 인삼 saponin에 관심을 갖고 연구하여 왔으며 특히 인삼 saponin의 계면활성에 주목하여 중성 지질이나 cholesterol과 같은 난용성 지질의 분산에 미치는 영향, 지질 흡수에 미치는 영향, pancreatic lipase나 cholesterol esterase에 의한 triglyceride, cholesterol ester의 가수분해에 미치는 영향, 장상액 중의 지질과 saponin의 micelle형성 등을 관찰하여 인삼 saponin은 체내에서의 지질분산, 지방질의 소화 및 흡수에 효과가 있다는 것을 확인하였다.¹⁻³

본 연구에서는 위와 같은 인삼 saponin의 지질 분산 및 흡수에 관한 실험결과를 토대로 하여 생체내에서 중요한 구실을 하는 지용성인 vitamin E 흡수에 미치는 인삼 saponin의 영향을 조사하였다.

II. 실험 재료 및 방법

1. 인삼 saponin의 분리 및 정제⁴⁾

급산산 인삼(4년근, 백삼, 300g당 50편급 뿌리) 분말 100g에 chloroform 500ml를 가하여 40°C에서 1시간 가열하여 지질을 제거하는 조작을 3회 되풀이하어 얻은 분말에 methanol 500ml를 가하여 60°C에서 가열 추출하는 조작을 세번 되풀이한 후 얻은 methanol용액을 감압 농축, 동결, 건조하여 약 7g의 saponin분획을 얻었다. 이것을 20% methanol 14ml에 녹여 Amberlite X-AD-2 column에 흡착시키고, 용출액의 색이 없어질 때까지 계속 물(유속 20ml/min)을 통과시켜 불순물을 제거한 다음 99% methanol용액(유속 10ml/min)으로 흡착된 saponin을 용출하였다. 이 용출액을 감압, 농축, 동결 건조하여 1.6g의 황백색 saponin혼합물을 얻었다. 이 saponin혼합물의 chromatogram(전개액: CHCl₃-MeOH-H₂O, 65:40:9, v/v/v)을 보면 Rf치가 0.22와 0.27의 것이 가장 많았고, Rf치가 0.47, 0.43, 0.41, 0.36, 0.34, 0.20, 0.17인 것이 가장 적었다. 본 실험실에서는 이것을 더 이상 정제하지 않고 사용하였다.

2. 방사성 인삼 saponin의 제조 및 정제⁵⁾

2g의 4년생 인삼 뿌리(급산산) 절편에 3.3ml의 반응 혼합물 조성(최종농도): 9.1×10^{-2} M phosphate buffer (PH 6.8), 3.6×10^{-3} M MgCl₂, 3.6×10^{-3} M MnCl₂, 1.1×10^{-1} M sucrose, 4.5×10^{-3} M ATP, 2.7×10^{-4} M NADPH, 4.5×10^{-4} M CoA, 7.3×10^{-4} M NAD⁺, 2.3×10^{-2} M nicotinamide, 9.1×10^{-3} M glutathione, 1.1×10^{-2} M Na-acetate, 1, 2-¹⁴C-acetic acid(Na-salt, 55 mCi/mmole) 300 μ Ci를 가하고 37°C에서 64시간 반응시킨 다음 물을 가하여 파쇄하고 원심분리(12,000xg, 30분)하여 상층액을 얻어 동결 건조하였다. 이것을 methanol로 추출한 다음 3배 부피의 chloroform을 가하여 불용성 부분을 제거한 후 saponin분획을 얻어 silica gel TLC 방법으로 정제하였다. 이와 같이 정제한 방사성 saponin혼합물을 Autoradiography와 HPLC(Waters Associate, Liquid Chromatograph Model 244사용, column: u-Bondapak carbohydrate analysis column과 u-Bondapak NH₂ column, solvent system: acetonitrile-H₂O-butanol(80:20:15, v/v/v), detector: RI, chart speed: 1cm/min, flow rate: 1.5ml/min) 방법으로 확인하였다.

3. 실험동물

본 실험에 사용한 흰 쥐(Sprague Dawley)는 구입한 후 정상 사료(제일 사료(주)제품, 성분: crude protein above 19.6%, crude cellulose below 7.0%, crude ash below 9.0%, Ca below 0.6%, P below 0.4%, DCP above 16.5%, TDN above 7.3%, 항생물질 below 50 ppm)로 적당 2~3주간 사육한 후 실험에 사용하였다.

4. α -Tocopherol의 흡수에 미치는 인삼 saponin의 영향에 관한 실험

흰 쥐(150-170g, ♂)를 2군(대조군과 시험군)으로 나누어 하룻밤 절식시킨 후 대조군에게는 D- α -5-methyl-3H tocopherol(502,000cpm)을 포함한 α -tocopherol 500 μ g을, 시험군에게는 ¹⁴C-saponin(500,000cpm)을 포함한 인삼 saponin 1mg과 D- α -5-methyl-³H tocopherol(502,000cpm)을 포함한 α -tocopherol 500 μ g을 각각 50% ethanol 1ml에 녹여 경구 투여(stomach tubing)하고, 5마리씩 일정 시간후 ethyl ether로 마취하고 심장에서 직접 채혈하고 간과 신장은 채취한 후 즉시 냉동하였다. 혈액은 원심분리하여 혈청을 얻어 시료로 사용하였고 간과 신장은 10% 파쇄액을 만들어 시료로 사용하였다.

한편 흰 쥐를 2군(대조군, 시험군)으로 나누고 대조군에는 D- α -5-methyl-³H tocopherol

(520,000cpm)을 포함한 α -tocopherol 500 μ g, 시험군에는 인삼 saponin 1mg, D- α -5-methyl-³H-tocopherol(520,000cpm)을 포함한 500 μ g의 α -tocopherol을 매일 일정기간(1 ~ 2주) 경구 투여한 후에 혈액, 간, 신장을 채취하여, 혈액은 혈청으로 만들어 사료로 사용하였고, 간, 신장은 10%파쇄액을 만들어 사료로 사용하였다.

5. 흡수된 α -tocopherol의 측정

시료(혈청 또는 간, 신장 파쇄액)에 methanol과 chloroform을 가하여 시료-methanol-chloroform의 부피비가 0.8 : 2 : 1이 되도록 한 다음 2시간 방치하고 원심분리하여 불용성 침전을 제거한 후 H₂O-methanol-chloroform의 부피비가 0.9 : 1 : 1이 되도록 물과 chloroform을 가하여 원심분리하여 하층(chloroform층)과 상층(methanol-H₂O층)을 얻었다.

Pasteur pipette을 사용하여 chloroform층을 다른 시험관에 옮기고 나머지 MeOH-H₂O층을 소량의 chloroform으로 세척한 후 세척액을 처음 chloroform추출물과 합하여 질소 기체를 통과하면서 가온, 농축하고 진공, 건조하여 얻은 chloroform추출물에 500 μ g의 α -tocopherol을 가한 다음, 소량의 chloroform에 녹이고 이것을 precoated silica gel TLC plate(Merck사 제품)을 사용하여(전개 용매 : cyclohexane : chloroform : acetic acid, 60 : 30 : 10, v/v/v) α -tocopherol분획을 분리한 다음 chloroform-methanol로 용출하여 방사능(tritium)을 측정하고 이 값으로부터 흡수된 α -tocopherol양을 계산하였다. 또한 시험군의 경우는 MeOH-H₂O분획의 방사능(³C)을 측정하여 인삼 saponin의 흡수를 추정하였다.

한편 Ornstein L. (1964)⁶⁾의 방법에 따라 Disc polyacrylamide gel electrophoresis로 단백질을 분리한 후 coomassie brilliant blue R-250으로 염색하여 각 분획을 잘라 vial에 넣고 H₂O₂를 가한 다음 가온하여 gel을 녹인 후 tritium의 방사능을 측정함으로써 α -tocopherol의 이동 양상을 추적하였다.

6. 방사능의 측정

수용성 시료의 방사능 측정은 ppo 10g, popop 0.25g, naphthalene 100g을 Dioxane 1 l 에 녹인 scintillation cocktail을 사용하여 Packard Tricarb. 300 Liquid Scintillation Spectrometer로 방사능을 측정하였다.

7. 시 약

본 실험에 사용된 DL- α -tocopherol은 Junsei사 제품 특급을 사용하였으며, NAD⁺, CoA, NADPH, Amberlite XAD-2는 sigma사 제품, nicotinamide, ATP, sucrose, silicagel for TLC glutathione은 Merck사 제품, ppo, popop는 Fisher사 제품, 1, 2 - ³C - Na-acetate는 New England Nuclear제품, D- α -5-methyl-tocopherol은 Amersham제품을 사용하였고 유기 용매는 특급을 사용하였다.

III. 결과 및 고찰

고등동물에서의 지질의 흡수에는 두가지 분비물 즉 pancreatic secretion과 biliary secretion이 중요한 구실을 한다는 것은 잘 알려져 있는 사실이며 주⁷⁾의 연구에 의하면 중성지방은 pancreatic lipase에 의하여 부분적으로 monoglyceride, free fatty acid가 생성되고 이것들이 bile salt와 함께 혼성 micelle을 형성하여 중성지질을 용해함으로써 microvilli나 점막을 쉽게 통과하게 된다는 것이다.

이와 같은 micelle 형태의 흡수 개념은 비단 중성지방이나 cholesterol같은 지질에만 한정되

는 것이 아니라 vitamin A나 vitamin E와 같은 지용성 vitamin도 유사한 mechanism으로 흡수 되는 것으로 알려져 있다.⁶⁾

주동^{1~3)}의 연구 결과에 의하면 1%의 인삼 saponin 존재 하에서 물의 표면장력은 1/2로 낮아 지고 인삼 saponin의 임계 미셀 농도(critical micellar concentration, 이하 CMC로 약기)는 순수한 수용액에서는 약 2%이지만 cholesterol(31mM) 존재 하에서는 0.1%로 저하된다고 한다. 이와 같은 실험 결과는 소량의 인삼 saponin이 난용성 지질의 분산에 효과적임을 뜻하는 것이다. 한편 Na-cholate의 CMC는 cholesterol과 공존시 5mM정도이지만 인삼 saponin(0.2%)과 공존할 때는 CMC가 1mM로 저하된다는 실험 결과도 인삼 saponin이 Na-cholate의 cholesterol용해력을 크게 증가한 것이라고 보아야 할 것이다. pancreatic lipase나 cholesterol esterase에 의한 triglyceride, cholesterol ester의 가수분해에 미치는 영향을 조사한 실험 결과도 인삼 saponin이 Na-cholate와 같은 지질의 분산력을 갖고 있음을 나타내는 것이며 최근 본 실험실에서는 위의 장강액에 인삼 saponin을 가하면 장강액중의 지질이 saponin과 함께 micelle을 형성하며 혈청 리포단백질의 지질(triglyceride, cholesterol, phospholipid)과 micelle을 형성한다는 것도 알게되었다.⁷⁾

이와 같은 실험 결과로 부터 인삼 saponin은 동물체내에서 bile salt, phospholipid와 함께 중성지방, cholesterol, 지용성 비타민과 같은 지질의 소화, 흡수를 촉진할 뿐 아니라 지질의 이동에도 효과가 있을 것으로 예상된다.

D- α -5-methyl-³H-tocopherol(502,000cpm)을 함유한 500 μ R의 α -tocopherol을 단독으로 또는 1mg의 인삼 saponin과 함께 경구 투여(stomach tubing) 한 쥐의 혈청, 간, 신장의 α -tocopherol흡수량을 방사능을 측정하여 계산한 결과 혈청(Table1)의 경우 α -tocopherol을 투여한지 2시간 30분 후에 대조군 모두 α -tocopherol의 최고 흡수량을 나타내었으며 시험군의 흡수량은 대조군의 1.76배나 되었다. 그러나 3시간 후부터 25시간까지의 양군의 흡수량은 모두 거의 일정 수준을 유지하고 있었다.

Table 1. Absorption of α -tocopherol in the serum of rats fed orally(stomach tubing) with α -tocopherol(500 μ R) containing D- α -5-methyl-³H-tocopherol(502,000 cpm) with 1mg of ginseng saponin containing ¹⁴C-ginseng saponin(500,000 cpm) (test group) and/or without ginseng saponin (control group) on time course.

Time (hrs)	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	5.0	12.0	24.0
Control	0.56	0.35	0.61	0.48	0.78	0.63	0.63	0.61	0.75
Test	0.80	0.68	0.85	1.11	1.38	1.04	0.93	1.01	0.96
Ratio of test/control	1.44	1.91	1.40	2.34	1.76	1.52	1.48	1.66	1.28
¹⁴ C-radio-activity (cpm/ml)	345	300	385	375	300	315	-	-	-

The values(average of 4 - 5 rats) are expressed as μ R/ml calculated from the total ³Hactivity in each extract.

간(Table2)의 경우 대조군은 α -tocopherol투여 후 2-3시간 사이에서 최고 흡수량을 나타내었는데 비해서 시험군은 2시간 후에 최고 흡수량을 나타내다가 2-3시간 사이에서 일단 감소 경향을 나타내고 있다. 3시간 후에 시험군과 대조군의 흡수된 α -tocopherol의 양을 비교하면 시험군이 대조군의 2배나 되었다. 한편 3시간 후 대조군의 경우는 약 24시간까지 거의 일

정 수준을 유지하고 있었으나 시험군의 경우는 5시간 후부터 흡수된 α -tocopherol량이 경감되었다. 이와 같은 실험 결과는 인삼 saponin이 α -tocopherol의 흡수를 촉진할 뿐 아니라 간에서의 배설작용을 촉진하는 것으로 예측된다.

Table 2에 표시된 바와 같이 신장의 경우는 시험군이 대조군보다 흡수된 α -tocopherol 양은 언제나 많았으며 간에서의 α -tocopherol 흡수량의 시간에 따른 감소와 연관성이 있는 것으로 생각된다.

Table 2. Absorption of α -tocopherol in the liver of rats fed orally(stomach tubing) with α -tocopherol (500 μ g) containing D- α -5-methyl 3 H-tocopherol (502,000 cpm) with 1mg of ginseng saponin containing 14 C-ginseng saponin (500,000 cpm) (test group) and/or without ginseng saponin (control group) on time course.

Group \ Time (hrs)	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	5.0	12.0	24.0
Control	0.80	0.91	1.05	1.12	1.84	1.12	0.80	1.02	1.28
Test	1.07	1.92	2.04	2.48	1.84	2.31	1.42	1.37	1.22
Ratio of test/control	1.34	2.12	1.95	2.22	1.63	2.07	1.78	1.34	0.95
14 C-radio-activity (cpm/g)	750	950	825	801	780	714	-	-	-

The values(average of 4 - 5 rats) are expressed as μ g/g tissue calculated from the total 3 H activity in each extract.

Table 3. Absorption of α -tocopherol in the kidney of rats fed orally(stomach tubing) with α -tocopherol(500 μ g) containing D - α -5-methyl 3 H-tocopherol(502,000 cpm) with 1mg of ginseng saponin containing 14 C-ginseng saponin (500,000cpm) (test group) and/or without ginseng saponin(control group) on time course.

Group \ Time (hr.)	0.5	0.0	1.5	2.0	2.5	3.0	5.0	12.0	24.0
Control	0.78	0.79	0.84	1.17	0.43	0.90	0.77	0.60	0.88
Test	0.86	1.06	1.17	1.39	0.87	1.01	1.18	1.40	1.45
Ratio of test/control	1.10	1.34	1.39	1.19	2.03	1.12	1.53	2.33	1.65
14 C-radio-activity (cpm/g)	265	260	415	485	380	260	-	-	-

The values(average of 4 - 5 rats) are expressed as μ g/g tissue calculated from the total 3 H activity in each extract.

α -tocopherol을 장기간(4일-14일) 투여하였을 때는 대조군, 시험군 모두 8일째까지 증가하였으나 신장의 경우를 제외하고는 α -tocopherol 흡수량의 증가는 더이상 관찰되지 않았으며 8일째의 혈청, 간, 신장에 흡수된 α -tocopherol 양은 시험군이 대조군에 비하여 각각 1.4배, 1.7배, 1.7배 였다. (Table 4)

Pennock 등¹⁰의 연구 결과에 의하면 vitamin E 중 α -tocopherol이 다른 isomer보다 생리적 활성이 우수하다는 것은 α -tocopherol이 다른 isomer보다 소장으로부터의 흡수가 잘 되기 때문이라고 하였으나, Gloor 등⁹은 α -tocopherol의 배설 속도가 다른 isomer(γ -tocopherol) 보다 느리다고 보고하였다. 또 isomer들의 조직으로의 침투의 차이가 그 원인이라는 보고도 있다.¹²

Tocopherol은 lymphatic pathway를 통하여 lymph로 이동되고 plasma와 결합하여 β -lipo-

Table 4. Absorption of α -tocopherol in the blood serum, liver and kidney of rats fed orally(stomach tubing) with α -tocopherol(500 μ g) containing D- α -5-methyl H-tocopherol (502, 000cpm) with 1mg of ginseng saponin(test group) and/or without ginseng saponin(control group) per day per rat on time course.

Group	Time (day)	Blood serum			Liver			Kidney		
		4	8	14	4	8	14	4	8	14
Control		0.65	0.82	0.80	2.90	4.76	4.88	0.57	1.02	1.94
Test		0.82	1.17	1.10	3.11	5.49	5.35	0.95	1.72	2.39
Ratio of test/control		1.27	1.43	1.38	1.07	1.65	1.10	1.67	1.69	1.23

The values(average of 4-5 rats) are expressed as μ g/ml or μ g/g tissue calculated from the total³H activity in each extract.

Table 5. Distribution of radioactivity in the blood serum lipoproteins of rats fed with α -tocopherol(500 μ g) containing D-5-methyl ³H-tocopherol(502, 000cpm)

Fractions	% of radioactivity		
	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3
β -lipoprotein	67.72	86.56	79.87
α -lipoprotein	N. D*	N. D*	N. D*
Albumin	32.28	2.82	8.20
Prealbumin	-	10.62	11.39

*Not detected the lipoproteins were fractionated by disc polyacrylamide gel electrophoresis.

protein으로 편입되어 운반되는 것으로 알려져 있으며,¹³⁾ 흡수된 α -tocopherol의 혈액에서의 운반 양상을 관찰한 본 실험 결과(Table 5)에서도 대부분의 α -tocopherol이 β -lipoprotein과 결합하고 있었음을 확인하였다. 한편 상당량의 방사능이 albumin-prealbumin분획에서도 탐지되는 것으로 보아 albumin과의 결합, micelle형의 이동이 예측되었으나 아직은 연구의 여지가 많다고 생각한다.

앞에서 논한 인삼 saponin의 지질 분산력과 본 연구의 실험 결과를 감안하면 인삼 saponin이 α -tocopherol의 흡수를 촉진할 것으로 쉽게 예측된다.

IV. 요 약

인삼 성분(saponin)이 α -tocopherol의 흡수에 미치는 영향을 흰 쥐를 사용하여 관찰한 결과 인삼 saponin은 α -tocopherol의 흡입을 1.5~2배 촉진 할 뿐 아니라 이동 및 배설을 촉진 하는 것으로 관찰되었고, α -tocopherol은 주로 β -lipoprotein형으로 이동되지만 albumin 과 결합하거나 또는 micelle 형으로의 이동도 가능한 것으로 예측된다.

사 사 본 연구는 한국 인삼연초연구소의 연구 보조비로 이루어진 것으로 이에 감사를 드린다.

인용문헌

1. 주충노, 최임순, 이상직, 조성희, 손명희, 한국생화학회지, **6**, 185(1973)
2. Joo, C.N. and S.J.Lee, *Korean Biochem J.* **10**, 59(1977)
3. 주충노, 제 2차 국제 인삼 심포지움(서울), (1978)
4. Kim, J. W., H. B. Lee and C. N. Joo, *Korean Biochem. J.*, **16**, 142(1983)
5. Joo, C. N., J. H. Koo, H. B. Lee, J. B. Yoon and Y. S. Byun, *Korean Biochem. J.*, **15**, 189(1982)
6. ornstein, I., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **121**, 321(1964)
7. Joo, C. N., Ph. D. thesis, University of Liverpool. (1963)
8. Ganguly, J., P. V. Subbaian and S. Parthasarathy, In "Current trends in the biochemistry of lipids" ed. by J. Ganguly and R. M. S. Smell, Academic Press. New York, pp 67(1972)
9. 주충노, 이회봉, 김재원, 과학식, 미발표(1984)
10. Pennock, J. F., F. W. Hemming and J. D. Kerr *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, **17**, 542 (1964)
11. Gloor, U., J. Warsch, U. Schweiter and O. Wiss, *Helv. chim. Acta.* **49**, 2303(1966)
12. Pearson, C. K. and M. McC Barnes, *Br J. Nutr.*, **24**, 581(1970)
13. Baker, H., O. Frank, S. Feingold and C. M. Leevg, *Nature*, **215**, 84(1967)