

韓國人蔘의 抗酸化 活性 成分에 관한 研究(IV)

抗酸化 活性 成分의 抗疲勞 效果

韓秉勳 · 朴明煥 · 韓龍男 · 申祥澈*

서울대학교 生藥研究所 · 一洋藥品 工業株式會社*

(Received July 17, 1984)

Studies on the Antioxidant Components of Korean Ginseng (IV) Antifatigue Active Components

Byung Hoon Han, Myung Hwan Park, Yong Nam Han and Sang Chul Shin*

Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110, and

*Il-Yang Pharm. Ind. Co. Ltd, Seoul 132, Korea

Abstract—Active principles for the anti-fatigue activity of *Panax ginseng* were studied in mice using the swimming performance method. Ginseng water extract maximized the prolongation of swimming time 18 hours after administration. The potencies of anti-fatigue activities were found as in the order of ether soluble fraction and butanol soluble fraction as those of antioxidant activities previously determined. The anti-oxidant components, maltol, salicylic acid and vanillic acid isolated from the ether soluble fraction of *Panax ginseng* strongly exhibited the antifatigue activities, where as highly purified crystalline ginsenoside Rb₁, Re and Rg₁ did not.

韓國人蔘의 抗疲勞效果는 Brekhman등^{1,2,6)}에 의해 보고된 이래 많은 연구자들^{2~8)}에 의해 지지되어 왔다. Brekhman등⁶⁾은 유영시험을 통하여 人蔘의 抗疲勞效果를 측정하고 刺戟作用單位(stimulating action unit)로 수치화하여 이單位가 가장 높은 人蔘의 有效成分은 panaxatriol 및 이系列의 人蔘사포닌이라고 밝힌 바 있다. Saito 등은⁸⁾ 진동을 주어 완전히 지치게 한 mice에 人蔘의 각종 溶媒分劃物 및 人蔘사포닌을 투여한 후 疲勞回復效果를 檢索하고 脂溶性 分劃 및 ginsenoside Rg₁이 현저한 抗疲勞效果가 있다고 보고하였다.

이와 같은 遊泳실험 및 진동실험은 실험동물에 지속적인 스트레스를 주어 生命維持에 필요한 生體成分들을 탕진, 고갈시키며 毒性 物質의 생체내 축적을 가져오게 하여 동물의 물질대사 능력을 저하시켜 주게 하는 것으로 생각된다.

스트레스를 받은 동물에서 고갈되기 쉬운 성분들 중 하나는 抗酸化 物質일 가능성이 높다.⁹⁾ 酸素는 생물의 생명유지에 필수불가결한 分子이며 생체내에 呼吸된 후 superoxide anion 등으로 活性化되어 이용되며 이 때 hydroxy radical, singlet oxygen, hydrogen peroxide도 유리된다고 알려져 있다. 活性酸素들은 生體膜 脂質을 過酸化시키지만, 生體의 恒常性 維持 機轉에 의하여 脂質過酸化가 抑制되기도 하며 변형된 脂質은 새로운 것으로 치환되어 버리기 때문에 평상시 정상 조직의 생체막에 병리학적 변화를 일으키지 않는다고 한다. 그러나 동물에 스트레스를 주어 생체내 식이성 抗酸化劑를 부족하게 하거나 毒性 物質에 노출하게 하면 이러한 방어기전을 혼란케

하여 脂質過酸化가 촉진되어 酵素等 생체분자를 변성시키며 결국 세포의 손상을 주게 한다. 이러한 손상은 老化的 過程과 成人病에도 연관되어 있음이 밝혀지고 있다.⁹⁾

著者들은 人蔘의 抗疲勞效果가 人蔘의 抗酸化 活性 成分에 의하여 발휘될 것으로 가정하여 本 研究에 着手하였다. 이 연구에서는 이미 人蔘에서 저자들에 의해 單離된 바 있는 抗酸化 成分 들¹⁰⁻¹²⁾과 純粹히 結晶으로 精製한 人蔘사포닌¹³⁾에 대하여 育營시험을 실시하였다. 그 결과 人蔘의 抗酸化 活性 成分이 人蔘의 抗疲勞效果를 나타내는 有效成分임을 立證하였기에 報告하는 바 이다.

實驗 方法

實驗材料—본 실험에 사용한 인삼은 6年生 水蔘을 실험실에서 진 후 건조시켜 만든 紅蔘을 재료로 하였다. 紅蔘 100g을 증류수 500ml씩으로 수욕상에서 5시간 2회 抽出하여 합하고 농축한 후 (收率 34%), 증류수에 녹여 100ml로 하고 냉장고에 보관하면서 필요할 때 이를 희석하여 사용 하였다.

Ginsenoside-Rg₁, -Re, -Rb₁은 본 연구실에서 분리 정제한 것으로서¹³⁾ 人蔘의 總사포닌分劃을 silica gel column chromatography하여 각각의 사포닌을 分離하고 單一한 結晶으로 얻은 것을 acetate로 각각 유도하였다. 각 사포닌의 acetate를 silica gel column으로 정제하고 脫아세틸화하여 얻은 각 사포닌을 다시 chromatography로 정제하고 再結晶하여 사용하였다.

人蔘의 抗酸化 活性 成分인 maltol은 紅蔘에서 분리하여 재결정한 것을¹⁰⁾, salicylic acid¹³⁾는 Merck製 特級試藥을, vanillic acid¹³⁾는 vanillin으로부터 합성하여 사용하였다.

實驗動物—시판 고형 사료로 사육한 체중 23~26g의 ICR계 mouse를 各群 20마리씩으로 하고 各군의 平均體重은 同一하게 하였다.

抗疲勞效果의 測定—Brekman의 育營시험 方法을⁶⁾ 약간 변형하여 채택하였다. 시료를 경구적으로 투여하고 일정 시간후에 23~24°C의 수조에 동물을 넣고 동물이 育營하다가 완전히 지쳐 물속에 빠져 죽을 때까지의 시간(分)을 측정하였다. 對照群에는 2.4% sucrose의 水溶液 또는 1% Tween수용액을 0.25ml/25g 체중을 경구투여하였다. 檢體投與群에는 각 시료를 적절히 용해 또는 희석하여 mouse 체중 25g당 0.25ml를 각각 경구투여하였다.

實驗 結果 및 考察

人蔘의 投與用量과 抗疲勞效果—人蔘이 나타내는 抗疲勞效果의 用量-反應 關係를 알기 위해 체중 25g의 마우스에 紅蔘 0.18, 1.8, 18mg씩의 추출물을 1회 경구투여하고 18시간후 育營시간을 측정하였다. Fig. 1에 나타낸 바와 같이 用量-反應 關係는 거의 直線的이었다. 對照群에 비해 人蔘 0.18mg 投與群은 별로 效果가 없었으나 1.8 및 18mg 投與群은 각각 約 20, 45%의 育營시간이 연장되었으며 이 結果는 統計的으로 有意성이 있었다. ($P < 0.05$)

抗疲勞活性의 經時變化—紅蔘 1.8mg씩을 1회 경구투여하고 Fig. 2에 표시한 시간이 경과한 후 育營시험을 실시하였다. 抗疲勞效果는 人蔘投與後 6시간부터 나타나기 시작하여 18시간에 最高의 값을 나타내며 그 후 감소하기 시작하였으나 6일후에도 약간의 抗疲勞效果가 나타났다.

人蔘 分劃物의 抗疲勞效果—紅蔘 6.5g에 해당하는 물抽出 엑스로부터 常法에 따라 溶媒分劃하여 얻은 에테르 可溶性分劃(51mg), 水飽和 부탄올 抽出物(265mg), 最終 水戶(962mg)을 각각 1% Tween 水溶液에 녹여 280ml로 하였다. (이들 용액 0.25ml는 각각 紅蔘 5.5mg의 抽出物에

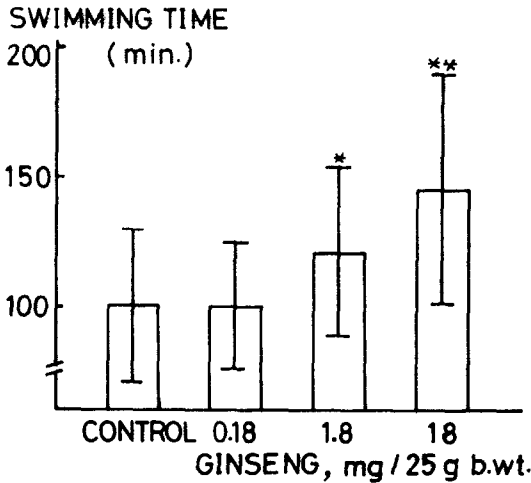


Fig. 1—Dose dependency of antifatigue activity of Korean red ginseng. (Mean±S.D.), n=20 in each group *P<0.05, **P<0.001

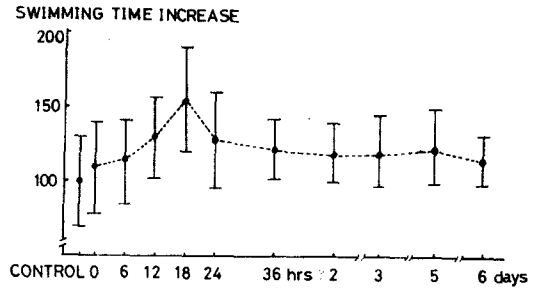


Fig. 2—Time course of antifatigue activity of Korean red ginseng after single medication. (Mean±S.D.), n=20 in each group

영시간 연장효과를 나타내었으나 최종 수층의 잔유물에는 이러한 효과가 미약하였다.

이 分劃物들이 보여주는 抗疲勞效果의 強弱의 順位는 이미 發表한 人蔘의 各 分劃物들의 抗酸化 活性의 順位¹⁰⁾와 一致하는 것으로 보아 이는 抗酸化 活性物質이 抗疲勞效果를 나타낼 가능성을 示唆하여 준다.

人蔘사포닌의 抗疲勞效果—實驗方法에 기술한 바와 같이 結晶으로 얻은 人蔘사포닌에 함유되어 있을지도 모르는 미량의 不純物을 제거하기 위하여 acetate로 유도체를 합성하고 結晶에 통과시켜 정제하고 이 유도체를 結晶으로 얻은 후 이 結晶을 다시 脫아세틸화하여 사포닌을 얻고 再結晶하여 정제한 純粹 人蔘사포닌은 220nm 이상의 波長에서 전혀 UV吸收 및 형광이 없었다. 이와 같이 철저히 정제한 ginsenoside-Rg₁, -Re 및 -Rb₁을 각각 10mg/kg 체중의 용량으로 1일 1회 3일간 경구투여하고 최종 검체 투여후 2시간에 동물을 游泳시켰다. Table II에 나타낸 바와 같이 이러한 標品 人蔘사포닌들은 거의 抗疲勞效果를 나타내지 않았지만, 付탄을 移行分劃 즉 사포닌 분획에서 강력한 항피로효과가 나타난 것은(Table I), 이 사포닌 분획중에 항산화활성 성분으로 보고된 각종 phenol성 성분이 혼입되어¹²⁾ 있기 때문이라고 생각된다. 따라서 ginsenoside

Table I—Antifatigue activity of red ginseng fractions. 5.5mg red ginseng and its fractions were orally administered once daily for 3 days. n=20 in each group

Group	Swimming time	% of increase	Significance
Control	88.1±25.9*(min.)	—	
Total ginseng	107.6±41.3	22.2	P<0.05
Ether fr.	131.9±43.0	49.7	P<0.001
BuOH fr.	117.2±42.5	33.1	P<0.001
H ₂ O	96.0±28.7	9.1	no

* mean±S.D.

Table II—Antifatigue activity of ginsenoside Rg₁, Re and Rb₁. 10mg/kg of sample was administered orally once a day for 3 days. n=20 in each group

Group	Swimming time	Significance
Control	122.4±44.6*(min.)	—
Ginsenoside Rg ₁	99.3±25.6	no
Re	125.4±41.5	no
Rb ₁	128.4±46.0	no

* mean±S.D.

Table III—Antifatigue activity of maltol, salicylic acid and vanillic acid. 10mg/kg sample was administered orally once daily for 2 days. n=20 in each group

Group	Swimming time	% of increase	Significance
Control	108.4±55.7(min.)	—	—
Maltol	162.6±63.5	59.1	P<0.001
Salicylic acid	167.5±69.4	54.5	P<0.001
Vanillic acid	159.9±73.1	47.6	P<0.001

mean±S.D.

의 항피로 효과에 대해 Saito⁸⁾ 등의 결과와 相異한 것은 서로 항피로효과를 평가한 방법의 차이 보다는 사용한 시료의 순도에 기인된 것으로 사료된다.

抗酸化 活性物質의 抗疲勞效果—人蔘에서 單離한 바 있는 抗酸化劑인 maltol¹⁰⁾, salicylic acid, vanillic acid¹²⁾를 10mg/kg 체중의 用量으로 育營시간 측정된 20, 2 시간에 경구 투여하였다. Table III에서와 같이 對照群에 比해 maltol投與群이 59%, salicylic acid 投與群이 55%, vanillic acid 投與群이 48%의 育營시간 연장효과를 보여주었다. 이 결과는 통계적으로 有意性이 매우 높았다. (P<0.001)

人蔘에는 위에서 언급한 抗酸化活性 成分 이외에도 다수의 항산화 成分이 함유되어 있다.¹⁰⁾ 최근 著者등은 人蔘의 部탄을 移行 分劃(粗사포닌分劃)에서 isomaltol- α -D-glucopyranoside¹⁴⁾, 2-ketopropyl- α -D-glucopyranoside¹⁴⁾, 몇가지의 nucleoside를 單離한 바 있다. nucleoside중 guanosine¹⁵⁾은 抗酸化 活性이 있는 것으로 報告되어있다. 이들 人蔘成分에 대한 抗疲勞效果 및 抗酸化 活性 등의 生物活性을 곧 검토할 계획이다.

結 論

韓國人蔘의 抗疲勞效果를 育營시험을 통하여 측정하고 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 人蔘은 마우스 25g체중당 人蔘 1.8mg 이상의 용량에서 1회 경구 투여후 18시간에 최고의 抗疲勞效果를 나타내었으며 이 活性은 投與用量에 比例하였다.
2. 人蔘의 에테르可溶分劃과 部탄을 可溶分劃에서 抗疲勞效果가 나타났으며 純粹히 精製하여 結晶으로 얻은 ginsenoside Rg₁, -Re, -Rb₁은 이러한 作用이 없었다.
3. 人蔘으로부터 抗酸化 活性 成分으로 單離한 maltol, salicylic acid, vanillic acid가 현저한 抗疲勞效果를 나타내었다.

文 獻

1. I.I. Brekhman, *Ginseng*, State Publishing House for Medical Literature, Leningred (1957).
2. V.T. Bykov and I.N. Naidenova, Preliminary studies on ginseng active principle, *Chung Yao Tong Pao* 3, 101 (1957).
3. M.A. Medvedev, The effect of ginseng on the working performance of radio operators. Papers on the study of ginseng and other medical plants of the far east issue 5, 237 (1963).
4. I.I. Brekhman and I.V. Dardymov, New substances of plant origin which increase non-specific resistance. *Ann. Review Pharmacol.* 9, 419 (1969).
5. H. Kitagawa and R. Iwaki, Pharmacological study on *Panax ginseng*. *Fol. Pharmacol. Jap.* 57, 348 (1963).
6. I.I. Brekhman and I.V. Dardymov, Pharmacological investigation of glycosides from ginseng and *Elutherococcus*. *Lloydia* 32, 46 (1969).
7. W. Sterner and A.M. Kirchdorfer, Comparative work load tests on mice with a standardized ginseng extract and a ginseng-containing geriatric pharmaceutical preparation. *Z. Gerontol.* 3, 307 (1970).
8. H. Saito, Y. Yoshida and K. Takagi, Effect of *Panax ginseng* root on exhaustive exercise in mice. *Japan J. Pharmacol.* 24, 119 (1974).
9. P.B. McCay and J.L. Poyer, Enzyme-generated free radicals as initiators of lipid peroxidation in biological membranes, *The Enzymes of Biological Membranes*, edited by A. Martonosi, Vol. 4, 239-256 (1976), Plenum Press, New York.
10. B.H. Han, M.H. Park, L.K. Woo, W.S. Woo and Y.N. Han, Studies on the antioxidant components of Korean ginseng (I). *Korean Biochem. J.* 12, 33 (1979).
11. B.H. Han, S.Y. Yoo, M.H. Park and H.J. Lee, Antioxidant activity screening on crude drugs. *Kor. J. Pharmacog.* 10, 108 (1979).
12. B.H. Han, M.H. Park and Y.N. Han, Studies on the antioxidant components of Korean ginseng (III). Identification of phenolic acids. *Arch. Pharm. Res.* 4, 53 (1981).
13. B.H. Han, M.H. Park, Y.N. Han, L.K. Woo, U. Sankawa, S. Yahara and O. Tanaka, Degradation of ginseng saponins under mild acidic conditions. *Planta Medica* 44, 146 (1982).
14. B.H. Han, M.H. Park and Y.N. Han, New substances 2-ketopropyl- α -D-glucopyranoside and isomaltol- α -D-glucopyranoside, Program, The 31st Ann. Conv. Pharm. Soc. Korea, D-23 & D-24.
15. D.C. Claggett and T.J. Galen, *Arch. Biochem. Biophys.* 146, 196 (1971).