

지방산 대사효소활성에 미치는 인삼 추출물의 영향

이 영 옥·정 노 팔
연세대학교 이과대학 생물학과
(1985년 4월 26일 접수)

Effect of Ginseng Extracts on the Activities of Fatty Acid Metabolism Enzymes.

Young Ok Rhee and Noh-Pal Jung

Dept. of Biology, College of Science, Yonsei University
(Received April 26, 1985)

Abstract

It has been known that the ginseng extracts activate the lipid metabolism in animal body. The experiments were undertaken to elucidate the effects of total, diol, and triol saponin of ginseng on the activities of acyl Co-A synthetase and hydroxyacyl Co-A dehydrogenase involved in fatty acid metabolism in normal albino rat liver. The acyl Co-A synthetase activity, *in vitro*, was increased by 20% with treatment of $2.5 \times 10^{-3}\%$ total saponin, by 14% with $2.5 \times 10^{-3}\%$ diol saponin, and 30% with $2.5 \times 10^{-4}\%$ triol saponin, respectively. And the enzyme activity was increased by 27% at 2 hours after intraperitoneal injection of total saponin. Hydroxyacyl Co-A dehydrogenase activity, *in vitro*, was increased by 77% with $10^{-4}\%$ total saponin, by 64% with $10^{-2}\%$ diol saponin, and by 72% with $10^{-3}\%$ triol saponin, respectively. Also, the enzyme activity, *in vivo*, was increased by 15.3% and 33% at 2 hours and 4 hours.

緒 論

고려인삼 (*Panax ginseng* C.A. Meyer)의 지질 함량 및 지질 대사에 미치는 영향은 많은 연구자들에 의해서 보고된 바 있다. 南¹⁾은 hyper-cholesterolemia를 일으킨 토끼에게 인삼 분말을 장기 경구투여하면 cholesterol의 양이 저하된다고 하였고, 權²⁾은 인삼의 saponin 분획, alkaloid 분획이 혈청과 간 조직에서 phospholipids, triglycerol, cholesterol 등의 지질 함량에 변화를 준다고 보고하였다. Joo *et al*¹⁷⁾은 인삼 saponin을 투여한 흰 쥐에게 [1,2-¹⁴C] acetate를 복강 내 주사하여 지방 조직에서 지질 합성이 크게 촉진된다고 보고하였다.

본 연구에서는 인삼 saponin 분획물들 중 total saponin, diol 계 및 triol 계 saponin이

지방산 산화과정 초기에 지방산을 활성화시키는 acyl Co-A synthetase 와 지방산 산화효소 중 hydroxyacyl Co-A dehydrogenase 활성화에 어떠한 영향을 미치는가를 추구하고자 한다.

材料 및 方法

1. 재료

(1) 본 실험에서 사용한 실험동물은 실온($20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$)의 사육실에서 표준 종합사료로 사육한 체중 150 g~250 g 에 해당되는 암 흰쥐 (Sprague Dawley)를 사용하여 그 간조직을 실험재료로 사용하였다.

인삼(*Panax ginseng*, C.A. Meyer)은 금산삼 인삼(4년근, 50편급)을 사용하였다.

(2) 시약

기질과 coenzyme A, NAD(Nicotinamide Adenine Dinucleotide), FAD(Flavin Adenine Dinucleotide), ATP(Adenosine Triphosphate), BSA(Bovine Serum Albumin), glycylglycine 등은 Sigma 사 제품을, 기타 시약은 일본의 Wako, Junsei Sanyo 사의 GR 급, 특급품을 사용하였다.

2. 방법

(1) 인삼 분획물의 영향

Total saponin 은 Shibata⁴⁾ 방법으로 추출하였고, diol 계와 triol 계 saponin 은 한⁵⁾의 방법으로 추출하여 사용하였다.

(2) 효소추출

Acyl Co-A synthetase, hydroxyacyl Co-A dehydrogenase 는 mitochondria 분획으로 Greenwalt⁶⁾, Tol and Hülsmann⁷⁾의 방법을 이용하였으며, 추출과정은 4°C 에서 수행하였고, 단백질량은 Lowry 법⁸⁾으로, 표준 단백질로는 Bovine Serum Albumin 을 사용하였다.

(3) Mitochondria 분획의 확인

10% whole homogenate, acyl Co-A synthetase 효소원인 heavy mitochondria 와 hydroxyacyl Co-A dehydrogenase 효소원인 light mitochondria 분획에서, Singer⁹⁾의 방법에 따라 succinate dehydrogenase 활성을, 주 등¹⁰⁾, 주와 한¹¹⁾의 방법으로 Malate dehydrogenase 활성을 각각 측정하였다.

① *In vitro* 에서 효소활성 측정

Acyl Co-A synthetase 는 Mahler and Wakil¹²⁾, Kornberg and Pricer¹³⁾의 방법으로 측정하였고, hydroxyacyl Co-A dehydrogenase 는 Fiecchi *et al.*¹⁴⁾, Lazarow and de Duve¹⁵⁾, Lazarow¹⁶⁾ 등의 방법으로 측정하였다. 각 saponin 의 농도는 $10^{-6}\%$ ~ 10^{-1} 로 하였다.

② *In vivo* 에서 효소활성 측정

인삼 total saponin 1 mg/ml 농도로 흰 쥐의 체중 100 g 당 1 ml씩 복강 내 주사한 후 2 시간, 4 시간, 12 시간 경과된 3 group 에서 효소를 측정하였다.

結 果

1. Mitochondria 분획의 확인

Mitochondria 분획은 10% 파쇄액(whole homogenate), heavy mitochondria, light mitochondria 에서 SDH, MDH 의 활성을 비교하여서 알아보았다. Whole homogenate 는 SDH 활성이 123 enzyme unit, MDH 가 150 enzyme unit 를 나타내었으며 heavy mitochondria 에서는 SDH 활성이 35 enzyme unit, MDH 는 70 enzyme unit 로 나타낸 것에 비하여 light mitochondria 의 SDH, MDH 활성도는 각각 44 enzyme unit, 56 enzyme unit 를 나타내었다 (Fig. 1).

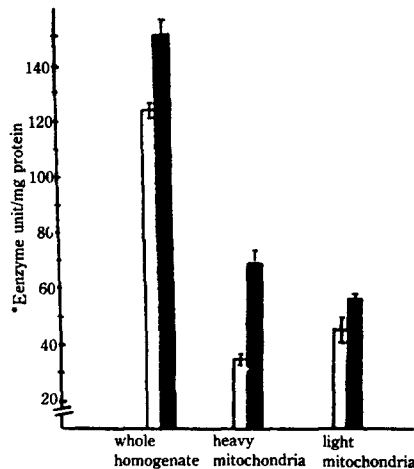


Fig. 1. Intracellular distribution of enzymes for identification of cell fraction :

*Enzyme unit: One unit was defined as an optical density change of 0.01 per minute.

succinate dehydrogenase; SDH : □
malate dehydrogenase; MDH : ■

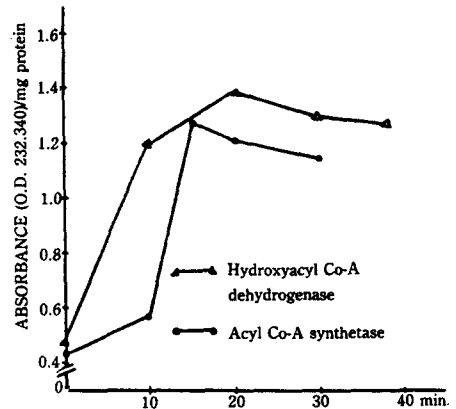


Fig. 2 The effect of increasing times of incubation on the acyl Co-A and NADH by action of acyl Co-A synthetase and hydroxyacyl Co-A dehydrogenase.

2. Acyl CoA synthetase, hydroxyacyl CoA dehydrogenase 의 시간에 따른 활성도

Acyl CoA synthetase 는 37°C 에서 15 분 후에 1.24(O.D./mg protein), hydroxyacyl CoA dehydrogenase 는 37°C 에서 20 분 후에 1.38(O.D./mg protein)로 각각 최고 활성을 나타내었다. 즉 두 효소 활성화의 시간에는 큰 차이가 없는 것으로 나타났다 (Fig. 2).

3. *In vitro*에서 acyl CoA synthetase 활성에 미치는 인삼 분획물의 영향

Total saponin 은 $5 \times 10^{-4}\%$ 농도에서 5(p<0.001), $2.5 \times 10^{-3}\%$ 농도에서 20%(p<0.001)로 가장 높았고, 보다 높은 농도에서는 증가도가 유의성(p<0.001)있게 감소되었다. Diol 계 saponin 에서는 $2.5 \times 10^{-6}\%$ ~ $2.5 \times 10^{-4}\%$ 농도서 약간씩의 증가는 있었으나 유의성은 없었고, $5 \times 10^{-4}\%$, $2.5 \times 10^{-3}\%$ 에서 11%(p<0.01), 14%(p<0.001)의 유의성있는 증가를 나타내었다. Triol 계 saponin 에서는 $2.5 \times 10^{-4}\%$ $5 \times 10^{-4}\%$ 농도에서 33%(p<

0.001), 30% ($p < 0.001$) 증가를 보이고, 보다 높은 농도에서는 활성이 억제 되었다 (Table 1).

Table 1. Effect of total saponin, diol and triol-saponin of ginseng on the acyl Co-A synthetase activity in rat liver *in vitro*

Conc.(%)	*Enzyme unit/mg protein \pm S.D.					
	Total saponin	*** R.A.	Diol saponin	*** R.A.	Triol saponin	*** R.A.
**Control	35.16 \pm 0.17	100	35.16 \pm 0.17	100	35.16 \pm 0.71	100
2.5 $\times 10^{-6}$	31.03 \pm 1.14 ^a	88	35.40 \pm 0.57	101	36.00 \pm 0.07 ^a	102
2.5 $\times 10^{-5}$	35.39 \pm 0.55	101	37.10 \pm 0.57	106	38.00 \pm 0.48 ^a	108
2.5 $\times 10^{-4}$	36.24 \pm 3.19	104	36.60 \pm 1.45	104	46.70 \pm 1.85 ^a	133
5 $\times 10^{-4}$	36.85 \pm 0.21 ^a	105	39.10 \pm 1.63 ^b	111	46.00 \pm 0.90 ^a	130
2.5 $\times 10^{-3}$	41.94 \pm 0.62 ^a	120	40.00 \pm 0.55 ^a	114	37.10 \pm 0.09 ^a	106
5 $\times 10^{-3}$	39.15 \pm 0.72	112	32.30 \pm 0.24 ^a	92	30.00 \pm 0.81 ^a	85
2.5 $\times 10^{-2}$	38.36 \pm 0.55	110	34.30 \pm 0.90	98	29.00 \pm 0.88 ^a	83

*Enzyme unit; One unit was defined as an optical density change of 0.01 per minute

**Control; Control was added 0.2ml buffer (glycylglycin buffer 5mM pH 8.0) instead of ginseng fractions.

***R.A.; Relative activity was expressed assuming that of control being 100.

a:p<0.001, b:p<0.01 to control.

4. *In vitro*에서 hydroxyacyl CoA dehydrogenase 활성에 미치는 인삼 분획물의 영향

Total saponin 에서는 $10^{-5}\%$ 에서 66% ($p < 0.01$)로 활성 증가도가 높게 나타났고 $10^{-4}\%$, $10^{-5}\%$ 농도에서도 각각 77% ($p < 0.001$), 56% ($p < 0.001$)로 효소의 활성이 증가하였다.

Diol 계 saponin 의 영향은 $10^{-4}\%$ 농도에서 25% ($p < 0.02$), $10^{-3}\%$ 에서는 46% ($p < 0.01$), $10^{-2}\%$ 에서는 64% ($p < 0.001$)의 높은 활성을 나타낸 후 $10^{-1}\%$ 에서는 대조군보다 다소 억제되었으나 유의성은 없었다.

Triol 계 saponin 의 $10^{-4}\%$, $10^{-3}\%$ 농도에서 각각 64% ($p < 0.01$), 72% ($p < 0.01$)의 증가를 나타내었다 (Table 2).

5. *In vitro*에서 acyl CoA synthetase 와 hydroxyacyl CoA dehydrogenase 활성에 미치는 total saponin 의 영향

Acyl CoA synthetase 의 활성도는 total saponin 을 주사한 후 2 시간 경과된 실험군에서 27% ($p < 0.02$) 효소활성이 증가되었고, 4 시간, 12 시간 실험군에서는 8.7%, 34.46% ($p < 0.01$) 억제되었다.

Hydroxyacyl CoA dehydrogenase 도 2 시간과 4 시간 실험군에서 15.3% ($p < 0.01$), 33% ($p < 0.01$)로 유의성 있는 증가를 나타내었고, 12 시간 실험군은 대조군보다 다소 감소되었으나 유의성은 없었다 (Table 3).

Table 2. Effect of total saponin, diol and triol-saponin of ginseng on the hydroxyacyl Co-A dehydrogenase activity in rat liver *in vitro*

Conc.(%)	*Enzyme unit/mg protein \pm S.D.		*Enzyme unit/mg protein \pm S.D.		*Enzyme unit/mg protein \pm S.D.	
	Total saponin	R.A. ^{***}	Diol saponin	R.A. ^{***}	Triol saponin	R.A. ^{***}
**Control	43.5 \pm 4.50	100	43.5 \pm 4.50	100	43.5 \pm 4.50	100
10 ⁻⁶	47.1 \pm 4.36 ^a	108	44.1 \pm 5.53	102	47.5 \pm 7.90	109
10 ⁻⁵	72.4 \pm 3.26 ^a	166	48.0 \pm 4.36	111	59.5 \pm 4.47 ^b	137
10 ⁻³	68.0 \pm 4.99 ^a	156	63.2 \pm 5.47 ^b	146	75.0 \pm 3.24 ^a	172
10 ⁻²	60.2 \pm 2.60 ^a	138	71.1 \pm 2.36 ^a	164	58.3 \pm 0.78 ^a	134
10 ⁻¹	54.0 \pm 3.26 ^b	124	42.3 \pm 2.48	97	52.5 \pm 3.88 ^c	120

*Enzyme unit; same as in Table 1.

**Control; Control was added 0.2ml of buffer (Tris-HCl buffer 60mM pH 7.4) instead of ginseng fractions.

***R.A.; same as in Table 1.

a:p<0.001, b:p<0.02 to control.

Table 3. Effect of total saponin of ginseng on the acyl Co-A synthetase and hydroxyacyl Co-A dehydrogenase activity in rat liver *in vivo*

treatment	*Enzyme unit/mg protein \pm S.D.	
	acyl Co-A synthetase	Hydroxyacyl Co-A dehydrogenase
2 hrs.	Saline	23.00 \pm 0.32
	Total saponin	29.40 \pm 1.06 ^c
	Change rate compared with control (100%)	127.00
4 hrs.	Saline	24.50 \pm 0.99
	Total saponin	22.36 \pm 1.33
	Change rate compared with control (100%)	91.30
12 hrs.	Saline	21.62 \pm 1.09
	Total saponin	14.17 \pm 1.09 ^b
	Change rate compared with control (100%)	65.54

*Enzyme unit; same as in Table 1.

Saline was injected 1ml(1mg/ml) per 100g rat body weight, instead of total saponin.

Total saponin was injected 1ml(1mg/ml) per 100g rat body weight.

b:p<0.01, c:p<0.02 to control.

6. *In vitro*에서 succinate dehydrogenase 활성에 미치는 total saponin의 영향
SDH 활성도는 total saponin 처리 후 2시간, 4시간 실험군에서 9.04%, 100.6% 활성 증가를 보이다가 12시간 실험군에서는 대조군의 수준을 나타내었다 (Table 4).

Table 4. Effect of total saponin of ginseng on the succinate dehydrogenase activity in rat *in vivo*

	Treatment	*Enzyme unit/mg protein	Change rate compared with control (100%)
2 hrs.	Saline	52.00	100.00
	Total saponin	56.70	109.04
4 hrs.	Saline	53.06	100.00
	Total saponin	106.45	200.60
12 hrs.	Saline	55.00	100.00
	Total saponin	53.50	97.30

*Enzyme unit; same as in Table 1.

Saline was injected 1ml(1mg/ml) per 100g rat body weight, instead of total saponin.

Total saponin was injected 1ml(1mg/ml) per 100g rat body weight.

考 察

In vitro 에서 acyl Co-A synthetase 활성은 total saponin, diol 계 및 triol 계 saponin 농도 $2.5 \times 10^{-4} \sim 2.5 \cdot 10^{-3} \%$ 농도범위에서 유의성 ($p < 0.01$) 있게 증가되었고, hydroxyacyl Co-A dehydrogenase 는 saponin 농도 $10^{-5} \sim 10^{-2} \%$ 범위에서 활성이 증가되었다. 이와 같은 결과는 주와 이¹⁷⁾의 보고에서 효소활성에는 인삼 saponin 의 적정농도가 필요하며, 각 효소계마다 요구되는 적정농도가 다르다고 밝힌 결과와 일치한다. 인삼 처리후 시간에 따른 효소활성도의 영향에 관한 연구는 Jung and Kim¹⁸⁾의 diol 계 및 triol 계 saponin 에 tryptophan pyrrolase 활성이 각각 12 시간, 3 시간 후에 증가했다는 보고와 이¹⁹⁾는 $[1, 2-^{14}C]$ acetate 를 섞은 방사선 인삼 saponin 을 흰 쥐에 경구 투여시 3 시간 후에 간에서 흡수되었고, 5 시간 후에는 체내에서 분해되기 시작하였다고 보고하였다. 본 실험에서 total saponin 을 주입한 후 acyl Co-A synthetase 의 활성이 2 시간 경과된 실험군에서 27% 증가되었고, hydroxyacyl Co-A dehydrogenase 활성은 2 시간, 4 시간 경과된 실험군에서는 15.3%, 33%의 유의성있는 증가를 나타내었고, 12 시간 경과된 실험군에서는 감소되었다. 이와같이 복강 내에 saponin 을 주사한 후 시간에 따른 효소활성의 증가는 효소의 종류에 따라 활성촉진 시간이 각기 차이가 있음을 나타낸다. Acyl Co-A synthetase 가 12 시간 후 대조군에 비해 34.46% 억제된 것은 현 단계의 실험으로는 그 이유를 설명하기 힘들다. SDH 활성은 *in vitro* 시 $10^{-5} \sim 10^{-4} \%$ saponin 농도에서 효소활성이 증가(80%)된다고 보고된 바(주와 한, 1976; 주와 이, 1977) 있으며, 본 실험의 *in vitro* 에서 total saponin 처리 후 4 시간에 SDH 활성이 100.6% 증가된 것으로 보아, 복강 내 주입된 total saponin 은 4 시간 경에 체내에서 $10^{-5} \sim 10^{-4} \%$ 수준임을 기대할 수 있다.

본 실험의 결과에서 인삼 saponin 성분은 지방산 대사효소활성을 *in vitro* 와 *in vivo* 모두에서 증가시켰고, 이러한 효소활성 증가로 saponin 은 지방산 산화를 용이하게 할 뿐 아니라, 체내에서 지질의 축적을 감소시켜 주리라 생각한다.

要 約

1. Acyl Co-A synthetase 활성은 *in vitro* 에서 total saponin $2.5 \times 10^{-3}\%$ 농도에서 20% 증가되고, diol 계 saponin $2.5 \times 10^{-3}\%$ 에서 14%, triol 계 saponin $2.5 \times 10^{-4}\%$ 에서 33% 각각 증가되었다. Total saponin 만을 처리한 *in vivo* 에서는 처리 후 2 시간에서만 효소활성이 27% 증가하였다.

2. Hydroxyacyl Co-A dehydrogenase 활성은 *in vitro* 에서 $10^{-5}\%$, total saponin 에서 66%, $10^{-2}\%$ diol 계 saponin 에서 64% 각각 증가되고 triol 계 saponin $10^{-3}\%$ 농도에서도 72% 증가되었다. 또한 *in vivo* 에서는 total saponin 처리 2 시간, 4 시간 후에 15.3%, 33%의 활성증가를 나타내었다.

參 考 文 獻

1. 南延植 : 大韓生化學會誌, 1(6), (1961).
2. 權寧韶, 吳鎮燮 : 대한 약리학 잡지, 5(1), 1, (1969).
3. Joo, C.N, H.B. Lee and D.S. Kim : *Korean Biochem. J.*, 10(2), 17, (1977).
4. Shibata, S., T. Ando, and O. Tanaka : *Chem. Pharm. Bull.*, 14(10), 1157, (1966).
5. 한병훈 : 한국 인삼연초연구소 연보, (1981).
6. Greenwalt, J.W. : In *Method in Enzymology*, S.P. Colowick and N.O. Kaplan. A.P. Inc. N.Y., 31, 310, (1974).
7. Tol, A.V. and W.C. Hülsmann : *Biochim. Biophys. Acta.*, 189, 342, (1969).
8. Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr, and R.J. Randall : *J. Biol. Chem.*, 193, 265(1951).
9. Singer, T.P. : In *Method in Enzymology*, (S.P. Colowick and N.O. Kaplan, A.P. Inc., N.Y.), 53, 466, (1978).
10. 주충노, 최임순, 정노팔, 이상직, 김옥희 : 한국 생화학회지, 7, 75, (1974).
11. 주충노, 한정호 : 한국 생화학회지, 9, 43, (1976).
12. Mahler, H.R. and S.J. Wakil : *J. Biol. Chem.*, 204, 453, (1953).
13. Kornberg, A. and W.E. Pricer, JR. : *J. Biol. Chem.*, 204, 329, (1953).
14. Fiecchi, A., G. Kienle, A. Scala, G. Galli and R. Paoletti : *Eur. J. Biochem.*, 38, 516, (1973).
15. Lazarow, P.B. and C. de Duve : *Natl. Acad. Sci.*, 73(6), 2043, (1976).
16. Lazarow, P.B. : *J. Biol. Chem.*, 253(5), 1522, (1978).
17. 주충노, 이상직 : 한국 생화학회지, 10(2), 59, (1977).
18. Jung, N.P. and S.C. Kim : *Korean J. Zoology*, 21(3), 79, (1978).
19. 이희봉 : 연세 대학원 생화학과, 박사 학위 논문, (1983).