

第 1 回 高麗人蔘세미나

講演要旨

일 시 : 1987년 7월 10~11日
場 所 : 韓國人蔘煙草研究所

고려인삼의 폴리아세틸렌 성분

심상철·장석구
한국과학기술원 화학과

한국산 인삼은 오갈피나무과(Araliaceae)의 *Panax ginseng* C. A. Meyer로써 한국·중국 그리고 일본에서 고래로부터 신비한 효과를 가진 뛰어난 약용식물로 인정되어 왔었다.

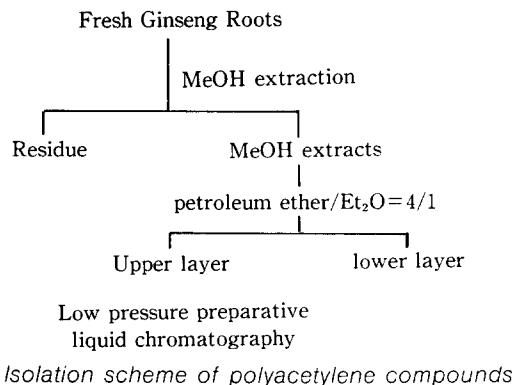
인삼에 대한 화학적인 연구는 1854년 Garriques가 처음으로 인삼에서 배당체를 분리해낸 이후로 인삼의 약리, 생리, 화학적 성분 및 구조 등이 밝혀졌고 근래 이들의 약리효과에 대한 연구도 활발히 진행되고 있다.

인삼의 구성성분들은 재배기간과 수확시기, 재배장소 그리고 추출방법 등에 따라 차이가 나지만, 보통 에테르 가용성분으로 정유, 폴리아세틸렌 화합물, 피토스테롤과 글리코사이드 등이 있고, 메탄올 가용성분으로 전분, 펩틴, 셀룰로오스, 단백질 등의 고분자 물질들을 제외한 모든 저분자 물질 등이 있는데 최근에는 이들중 인삼특유의 방향이 있을 뿐만 아니라 혈압강하작용, 항균 및 항미생물 작용, 모노아민옥시다제를 억제하는 작용등의 생리활성이 있다고 보고되고 있는 인삼의 폴리아세틸렌 성분들을 포함하는 petroleum ether 분획이 관심의 대상이 되고 있다.

그런데 폴리아세틸렌 성분들 가운데 일부를 제외하고는 그들의 화학적인 구조가 완전히 확립되어 있지 않은 실정이며 생물활성 효과도 거의 미지의 상태에 있다. 또한 최근에는 petroleum ether 분획이 leukemia L5178 Y와 Sarcoma 180 cell 등의 성장을 저해하거나 Sarcoma 180 cell에서

DNA와 RNA 그리고 단백질 합성을 저해하는 효과가 있음이 발표되었다. 그러나 이러한 생리활성 효과가 인삼에 존재하는 순수한 polyacetylene들에 의한 효과인지는 밝혀지지 않고 있다.

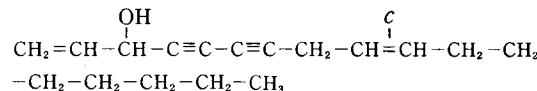
인삼의 petroleum ether fraction에 존재하는 polyacetylene 성분을 분리하기 위하여 사용하던 종전의 column 및 TLC 방법은 시료의 손실이 많으며 단일 물질로 분리하기가 매우 어렵다는 단점이 있다. 이와같은 단점을 극복하기 위해서 저압분취 액체 크로마토그래피 방법을 사용하였다. 저압분취 액체 크로마토그래피는 HPLC에서 쓰는 고압대신 50-150 psi 정도의 저압을 column chromatography에 이용하는 것이다. 이러한 방법은 종래의 column이나 TLC 방법에 비해 재현성이 높고 분리 성능이 좋아 노력을 절감하고 화합물의 손실을 막을 수 있어 미량으로 존재하는 성분의 순도를 필요로 하는 경우에 적절한 방법으로 나타났다. 또한 이러한 방법은 보통의 HPLC에 비해 약 50배 정도의 많은 시료를 한번에 분리할 수 있는 장점이 있다.



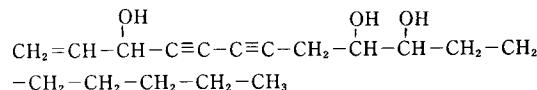
인삼중의 polyacetylene 성분을 분리하기 위하여 다음과 같은 과정을 수행하였다.

저압분취 액체 크로마토그래피로 분리한 뒤 더욱 순수하게 정제하기 위하여 고압분취 액체 크로마토그래피를 이용하였다.

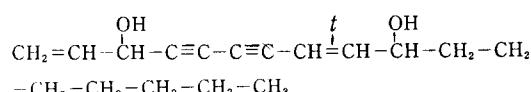
순수하게 분리된 성분들을 자외선, 적외선, 수소핵자기 공명, 탄소-13 핵자기 공명, 질량분석과 원소분석에 의하여 그 구조를 확인하였다. 분리된 성분들은 heptadeca-1, 9-dien-4, 6-diyn-3-ol과 heptadeca-1-en-4, 6-diyn-3, 9, 10-triol로 구조가 밝혀졌는데 전자는 이미 panaxynol이라고 이미 알려진 물질이다. 또한 미량 성분으로 존재하는 새로운 화합물인 heptadeca-1, 8-dien-4, 6-diyn-3, 10-diol의 구조도 위와같은 분광학적인 자료를 이용하여 구조를 확인하였다.



Heptadeca-1, 9-dien-4, 6-diyn-3-ol



Heptadeca-1-en-4, 6-diyn-3, 9, 10-triol



Heptadeca-1, 8-dien-4, 6-diyn-3, 10-diol

이러한 polyacetylene 화합물중에서 전자의 두 개는 후자의 한개의 성분에 비하여 다양으로 존재하는 성분으로 300 nm인 자외선을 조사시킨 결과 새로운 물질로 변화하는데, 변화된 물질을 순수하게 분리하여 여러 분광학적인 방법을 토대로 하여 확인한 결과 polyacetylene 성분이 산화된 물질임을 알아냈다. 산화생성물의 구조는 panaxynol의 경우는 heptadeca-1, 9-dien-4, 6-diyn-3-one이며 다른 하나는 heptadeca-1-en-4, 6-diyn-9, 10-diol-3-one임이 밝혀졌다. 또한 polyacetylene의 광산화 생성물은 상온에서 메타놀과 쉽게 반응하여 메타놀이 친핵성 공명반응을 한 성분으로 변화됨을 역시 분광학적인 자료를 이용하여 확인하였다.

인삼의 petroleum ether 추출물이 인체 장암세

포의 성장 억제에 미치는 효과를 조사해본 결과 암세포의 성장을 억제함을 관찰할 수 있었다. 인체 장암 세포인 HRT-18 세포와 HT-29 세포를 이용하여 인삼중의 폴리아세틸렌 성분과 인삼의 petroleum ether 추출물의 암세포 성장 억제 효과를 비교하였다. 폴리아세틸렌 성분과 petroleum ether 추출물은 모두 암세포의 성장을 억제하는 것으로 밝혀졌는데 특히 순수한 폴리아세틸렌 성분의 경우는 petroleum ether 추출물에 비해 약 4배 가량의 항암효과를 냄을 관찰할 수 있었다. 이러한 실험은 시험관내에서의 실험이지만 좀 더 확실한 효과를 보기 위해서는 생체내의 실험을 수행할 예정이다.

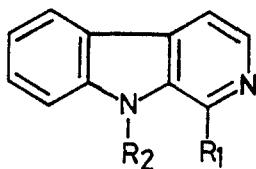
인삼의 알카로이드 성분

한용남·한병훈

서울대학교 생약연구소

고려인삼(*Panax ginseng*)은 약용 식물중에서 가장 광범위하게 연구된 것 중의 하나로서 많은 종류의 화학성분이 알려져 있다. 예를들면 saponins, phytosterols, volatile oils, saccharides, phenolic acids, flavonoids, phospholipids, amino acids, peptides, protein, peptide glycan, nucleosides, choline 및 몇가지 vitamins 등이다. 그러나 alkaloid에 관해서는 우 등이¹⁾ m-pyrrolidone의 존재를 GC/ MS 방법에 의해 증명되었으며 단리된 것으로는 cholone, niacinamide(vitamin), adenosine(nucleoside)뿐이다.

최근 연구들은²⁾ 인삼의 ether-soluble alkaloid 분획에는 적어도 12종 이상의 alkaloid가 존재하며 그 중에서 3종의 β -carboline계 alkaloid인 N⁹-formyl harman, ethyl β -carboline-1-carboxylate, perlolyrine을 단리하여 보고한 바 있다(표 참조). 인삼 alkaloid 성분 연구와 병행하여 원지(*Polygonum tenuifolia*)³⁾, 사삼(*Codonopsis lanceolata*)⁴⁾, 구기자(*Lycium chinense*)⁵⁾의 alkaloid 성분도 연구하여 norharman, har-



	R ₁	R ₂	Botanical origin	Yield isol. 10 ⁻⁵ %
Norharman	H	H	<i>Polygala tenuifolia</i>	15
			<i>Codonopsis lanceolata</i>	3.5
			<i>Allanthus malabarica</i>	—
			<i>Picrasma quassiodes</i>	—
Harman	CH ₃	H	<i>P. tenuifolia</i>	10
N ₉ -Formyl harman*	CH ₃	CHO	<i>Panax ginseng</i>	1.3
			<i>C. lanceolata</i>	4.5
			<i>Lycium chinese</i>	1.5
			<i>P. tenuifolia</i>	7
1-Carbomethoxy β-carboline	COOCH ₃	H	<i>L. chinese</i>	17
1-Carboethoxy β-carboline	COOC ₂ H ₅	H	<i>P. tenuifolia</i>	4
			<i>P. quassiodes</i>	—
			<i>A. malabarica</i>	—
			<i>Pleiocarpa mutica</i>	—
			<i>P. ginseng</i>	1.5
1-Carbobutoxy β-carboline*	COOC ₄ H ₉	H	<i>C. lanceolata</i>	6
			<i>P. tenuifolia</i>	0.8
			<i>P. tenuifolia</i>	6.3
Perlolyrine		H	<i>P. ginseng</i>	15
			<i>P. tenuifolia</i>	30
			<i>C. lanceolata</i>	18
			<i>L. chinese</i>	28
			<i>Lolium perenne</i>	—

*New compounds isolated from the plant by us.

man, methyl β-1-carboline-carboxylate, butyl β-carboline-1-carboxylate를 단리하였으며(표 참조), 이 성분들이 인삼 alkaloid 분획에도 존재함을 TLC에 의하여 확인하였다. 이 alkaloid 중에서 N₉-formyl harman, butyl β-carboline-1-carboxylate는 천연에서 처음으로 연구들에 의해 단리된 것들이다. 특기할 사항은 β-carboline계 alkaloid가 주로 강장제로 사용되는 생약에서 발견된다는 점이다. 이들 alkaloid의

생리활성으로는 harman^o] monoamine oxidase A(MAO-A)에 대해, norharman^o] MAO-B에 대해, ethyl β-carboline-carboxylate가 cAMP phosphodiesterase에 대해 특이적인 저해제 임이 알려져 있다. Ethyl β-carboline-3-carboxylate는 benzodiazepine 수용체의 연구에 중요한 시약으로 알려져 있다. 최근 인삼으로부터 위의 alkaloid 이외에 4-methyl-5-thiazol ethanol^o] 박종대 등에 의해 단리되었다.

현재 연구들은 인삼의 수용성 분획에서 2종의 새로운 alkaloid를 단리하고 있다. 이 물질들은 imidazole계 peptide alkaloid로서 Dragendorff 및 ninhydrin 시약에 음성이며, 인삼에 비교적 달랑함유(0.01% 이상)되어 있다. Carnosine, anserine과 이화학적 성상이 유사하지만 TLC 상에서 구별된다. 화학구조 연구가 진행되고 있다.

참고문헌

- Woo, L.K., Sch, C.S., Chang, J.J. and Shin, K.H.: Presence of α -pyrrolidone in ginseng extracts. *Yakhak Hoeji*, 13, 121(1969).
- Han, B.H., Park, M.H., Han, Y.N. and Woo, L.K.: Alkaloidal components of *Panax ginseng*. *Arch Pharm. Res.* 9, 21(1986).
- Han, B.H., Park, J.H., Park, M.H. and Han, Y.N.: β -Carboline alkaloids of *Polygala tenuifolia*. *Arch. Pharm. Res.* 8, 243(1985).
- Chang, Y.K., Kim, S.Y. and Han, B.H.: Chemical studies on the alkaloidal constituents of *Codonopsis lanceolata*. *Yakhak Hoeji*, 30, 1(1986).
- Han, B.H., Park, J.H., Park, M.H. and Han, Y.N.: Studies on the alkaloidal components of the fruits of *Lycium chinese*. *Arch. Pharm. Res.* 8, 249(1985).

홍삼 및 백삼의 획분별 항산화효과 특성에 관한 연구

최강주·김만옥·김동훈*

한국인삼연초연구소, 고려대 식품공학과*

서 론

인삼의 항산화성분들은 생체내에서 여러가지 노화현상과 관련이 많은 과산화지질의 생성을 억제¹⁻³⁾하고 천연 항산화제인 비타민E와 유사작용⁴⁾이 있다고 하였다. 한편, 품질면에서도 인삼에 함유된 지방질 성분등의 자동산화를 억제함으로써 품질안정성^{5,6)}에 기여하는 것으로 밝혀졌다. 인삼의 항산화효과에 대한 연구는 폐놀계 성분^{1,2)}, 사포닌 성분^{1,3)}, 용매별 추출물^{5,7-9)} 및 갈색화반응 액^{10,11)} 등에 대하여 보고되고 있으나 홍삼과 백삼의 제조과정에 따른 갈색화반응 특성과 관련하여 총가용성 성분의 분획물에 대한 항산화효과 특성을 비교한 연구는 찾아볼 수 없다. 따라서 본 연구

에서는 홍삼 및 백삼의 제조과정에 따른 갈색화반응과 관련 성분을 조사하고 70% 메타놀 및 물로 추출한 총가용성 성분을 7개 추출 획분으로 나누어 획분별 항산화작용을 비교한 후 항산화작용이 현저한 획분에 대하여 다시 관 크로마토그래피 및 박층 크로마토그래피를 이용하여 분리 정제한 후 항산화효과와 관련하여 성분상의 특성을 조사하였다. 아울러 인삼의 사포닌 성분에 대한 상반된 보고 내용에 대해서도 재검토하였다.

실 험

1. 시료 제조 및 성분 분석

김포산 6년근 수삼을 10월 초순에 구입하여 상법에 준하여 홍삼 및 백삼을 제조한 다음 일반성분 외에 갈색화반응과 상관성이 많은 유리당류와 유리 아미노산의 함량변화, 색도의 변화 및 물과 에탄올 추출물의 수율 등을 조사하였다. Phenolic acid는 TMS화 시킨 후 GLC로 분석^{12,13)}하였으며 총 폐놀 성분의 함량은 Folin-ciocalteau reagent¹⁴⁾로 발색시켜 750nm에서 그 함량을 조사하였다.

2. 각 획분의 분리 제조

홍삼 및 백삼의 70% 메타놀 추출물을 물에 용해 후 혼산, 에틸에테르, 초산에틸, n-부탄을 순으로 추출하여 A-D 획분으로 하고 수중은 투석외액 E획분과 내액 F획분으로 나누었다. 또한 70% 메타놀로 추출된 잔사를 다시 물로 추출하여 G획분으로 하였다.

3. 관 크로마토그래피에 의한 성분 분리

에틸 에테르 획분(Fr. B)을 silica gel-60 칼럼 (ϕ 3.5 cm×18 cm)에 톨루엔:클로로포름:아세톤(20:13:13), 클로로포름:아세톤(1:1) 및 메탄올로 순차적으로 용출시켰다. 초산 에틸 획분(Fr. C)과 사포닌 성분 획분(Fr. D)은 각각 클로로포름:메탄올:물(65:35:10, 하층) 및 메탄올로 순차적으로 용출하였다.

4. 박층 크로마토그래피에 의한 성분 분리

Fr. B와 Fr. C는 각각 silica gel GF를 0.75 mm coating한 TLC plate에 톨루엔:초산 에틸:포름산(5:4:1)으로 전개시킨 후 UV lamp(단파장: 254 nm, 장파장: 375 nm)로

chromatogram을 검출하여 분리된 각각의 band를 분취하였다. Fr. C의 사포닌 성분은 silica gel 칼럼(0.3, 5 cm×21 cm)에 클로로포름: 메탄올: 증류수(65: 35: 10, 하층)로 분리시킨 후 다시 preparative TLC로 재정제시켜 사포닌 성분을 분취하였다.

5. DPPH에 의한 환원성(수소공여능) 측정^{1,2,15)}

DPPH(1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)에 대한 수소공여능(electron donating ability, % EDA)을 측정하여 대조군에 대한 흡광도의 차를 백분율로 표시하였다.

6. TBA 값의 측정^{3,16,17)}

Linoleic acid와 0.1M phosphate buffer-ethanol 기질용액에 각 시료를 첨가하여 60°C에서 100 rpm으로 계속 진탕하면서 경시적으로 TBA 값을 측정하여 대조군에 해당하는 TBA 값과 비교하여 유지에 대한 산화억제 효과를 측정하였다.

결과 및 고찰

1) 홍삼과 백삼의 제조과정에 따른 일반성분의 조성은 거의 변화가 없었다. 그러나 총 유리아미노산은 백삼(2990.3 mg%)에 비하여 홍삼(804.7 mg%)은 73.1%가 감소되었고, 총 유리당은 백삼(155 mg/g)에 비하여 홍삼(105 mg/g)은 32.3%가 감소되어 홍삼은 마이아르형 갈색화반응이 현저하게 촉진되었음을 알 수 있었다. 그 결과 홍삼은 Lightness value(홍삼 60.7%, 백삼 82.4)가 감소된 반면에 Yellow index(홍삼 72.27, 백삼 44.27)는 현저하게 증가되었고, 물 및 일률 가용성 성분의 함량도 증가되었다.

2) 홍삼 및 백삼의 여러 획분중 환원성과 항산화작용이 가장 현저하게 나타난 B획분과 C획분에 대한 GLC 분석결과 대단히 다양하고 많은 성분들이 함유되어 있음을 확인하였다. 이들 획분들은 관 크로마토그래피에 의하여 거의 같은 획분들에 갈색 색소류 및 페놀성분들이 분리되어졌으며, 이들 성분들이 주로 함유된 획분들은 환원성과 항산화작용 사이에 관련이 큰 것으로 보였으며 페놀성분들의 경우 그 관련성은 더 크게 보였다. 한편, D획분에 대한 조사결과 사포닌 성분은 이들 작용과 관련이 적음을 알 수 있었다.

3) 박층 크로마토그래피를 이용하여 항산화작용을 강하게 나타낸 획분으로부터 분리된 band들을 조사한 결과, UV 흡수 특성, 갈색도 및 color tone의 분포는 환원성 및 항산화작용의 크기와 관련이 적었던 반면에, 총 페놀성분의 함량은 이상의 작용과 관련성이 큰 것으로 보였었다. 또한 UV spectrum 조사결과 항산화작용이 강한 band들은 대체로 230-330 nm에서 흡수 특성을 갖고, 알칼리를 첨가하면 일부 maximum absorbance가 327 nm으로 red shift가 일어나고, 이때 형성된 알칼리 염류는 용매층에서 수층으로 이행되어 이를 band에 함유된 성분들은 conjugated aromatic ring에 -COOH 또는 -OH가 결합된 페놀성분들이 주된 성분들인 것으로 사료되었다. 한편, 상당한 크기의 환원성 및 항산화작용의 크기를 나타낸 일부 band에 있어서 갈색도 및 총 페놀성분의 함량이 낮게 나타났었다. 이것은 이 성분들이 이외에도 항산화작용을 가진 성분들이 함유되어 있음을 시사하여 주고 있다.

4) 홍삼 및 백삼의 총 조 사포닌과 총 조 사포닌 중의 PT 사포닌 및 PD 사포닌 획분들은 환원성 및 항산화작용을 나타내었다. 반면에 정제된 총 사포닌, 정제된 총 사포닌중에서 분리된 PT 및 PD 사포닌과 ginsenoside-Rb₁, -Rb₂+c, -Re 및 -Rg₁ 등은 환원성 및 항산화작용을 나타내지 않았다. 따라서 인삼 사포닌의 cyclohexane ring에 결합된 -OH들과 cyclopentane ring의 side chain에 결합된 -OH는 환원성 및 항산화작용과 관련이 없는 것으로 생각된다.

1. Han.B.H., Park, M.H., Woo, L.K., Woo, W.S. and Han, Y.N.: Proceedings of the 2nd International Ginseng Symposium, Korea Ginseng Research Institute, Seoul, 13(1978).
2. Han, B.H., Park, M.H. and Han, Y.N.: *Arch. Pharm. Res.* 4 (1), 54(1981).
3. 최진호: 고려인삼의 노화억제작용에 관한 연구 (항산화작용 중심으로) 경희대학교 대학원 박사 학위 논문(1982).
4. 김정연: 약업신문(1975. 10. 20.), 약업신문사, 서울(1975).
5. 최강주, 김만우, 홍순근, 김동훈: 한국농화학회지, 26(1), 8(1983).

6. 김만욱, 최강주 : 인삼연구보고서(제품분야), 한국인삼연초연구소 p. 319-352(1981).
7. 백태홍, 홍정태, 홍순영 : 한국식품과학회지, 14(2), 130(1982).
8. 이희봉 : 인삼(Panax ginseng C. A. Meyer)의 항산화효과에 관한 연구, 충북대학 논문집, 17, 232(1978).
9. 김만욱, 최강주, 조영현, 홍순근 : 한국동화학회지, 23(3), 251(1980).
10. 오훈일, 김상달, 도재호, 이송재 : 인삼연구보고서(제조분야), 고려인삼연구소, p. 3-37(1979).
11. 최강주, 김동훈 : 고려인삼학회지, 5(1), 8(1981).
12. Krygier, K., Sosulski, F. and Hogge, L.: *J. Agric Food Chem.*, 30(2), 330(1982).
13. Krygier, K., Sosulski, F. and Hogge, L.: *J. Agric Food Chem.*, 30(2), 334(1982).
14. Hammerschmidt, P.A. and Pratt, D.E.: *J. Food Sci.*, 43, 556(1978).
15. Kirigaya, N., Kato, H. and Fujimaki, M.: *Agr. Biol. Chem.*, 32, 287(1968).
16. Mitsuda, H., Yasumoto, K. and Iwamik.: *J. Japanese Soc. Food and Nutrition*, 19(3), 60(1966).
17. Sidwell, C.G., Salwin, H., Benca, M. and Mitchell, J.H. Jr.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 31, 603(1954).

인삼의 지용성 성분이 수종 암세포의 DNA, RNA 및 단백질 합성에 미치는 영향

황우익·박길홍·백정미·한정순·이성동
고려대학교 의과대학 생화학교실

본 실험에서는 인삼 지용성 성분이 암세포 증식 억제에 미치는 영향을 관찰하였다. 인삼 petroleum ether 추출물(crude GX)을 배양액에 첨가하고 (6-H^3) thymidine·(5-H^3) uridine·L-(4, 5- H^3) leucine을 사용하여 인체 장암세포인 HRT-18·HCT-48·HT-29 및 쥐의 백혈구 암세포인 L₁₂₁₀에서 DNA·RNA 단백질 합성을 각각 측정하였다.

그 결과 50 μg of crude GX/ ml of medium

을 첨가하고 20시간 배양하였을 때 DNA, RNA 및 단백질 합성율이 HRT-18에서는 각각 39, 29, 15% 감소하였으며, HRT-48에서는 40, 76, 62% 감소하였고, HT-29에서는 27, 30, 23% 감소하였다. L₁₂₁₀은 3 mg of crude GX/ ml of medium 을 첨가하고 20시간 배양후 DNA합성이 39%, RNA합성이 48%, 단백질 합성이 56%가 감소되었다. 이와 더불어 세포수도 위와 같은 조건에서 20시간 배양 후 HRT-18은 38%, HCT-48은 33%, HT-29은 69%, L₁₂₁₀은 50%가 감소하였다.

이 결과들을 종합하면 인삼 petroleum ether 추출물은 정도 및 경향의 차이가 다소 있으나 인체 장암세포들과 쥐의 백혈구 암세포에서 모두 증식 억제 효과를 나타내었으며, DNA·RNA 단백질 합성의 감소가 동반되는 것을 확인하였다.

L1210 세포에 대한 인삼의 세포독성 물질 및 그들의 구조와 작용간의 관계

안병준·김신일**
충남대학교 약학대학·**한국 인삼연초 연구소

인삼의 석유에테르 추출물로 부터 L1210 세포 독성물질들을 분리, 그 구조를 동정한 후 구조와 작용간의 관계를 분석하였다(1, 2, 3, 4). 분리된 물질은 heptadeca-1-en-4, 6-diyn-9, 10-eopxy-3-ol(panaxydol), heptadeca-1, 9-dien-4, 6-diyn-3-ol(panaxynol), hepatdeca-1-en-4, 6-diyn-3, 9, 10-triol(panaxytriol) 및 heptadeca-1, 8t-dien-4, 6-diyn-3, 10-diol이었다. 뒤에 언급된 두 물질은 백삼에서는 처음 발견된 것이다. Panaxytriol은 흑삼에서 분리하였다고 주장되고 있으나 확증이 될만한 근거는 없다(5). 그리고 heptadeca-1, 8t-dien-4, 6-diyn-3, 10-diol도 백삼에서는 처음 분리된 것이나 산형과의 다른 식물에서는 이미 분리된 바 있다(6, 7).

이들의 L1210세포에 대한 세포독성을 scheme에 나타내었다. 여기에서 보면 panaxydol의 세포 독성(ED50=0.03 $\mu\text{g}/\text{ml}$)은 합성항암제의 독성에 비교하더라도 상위권에 속한다(예: M 덕

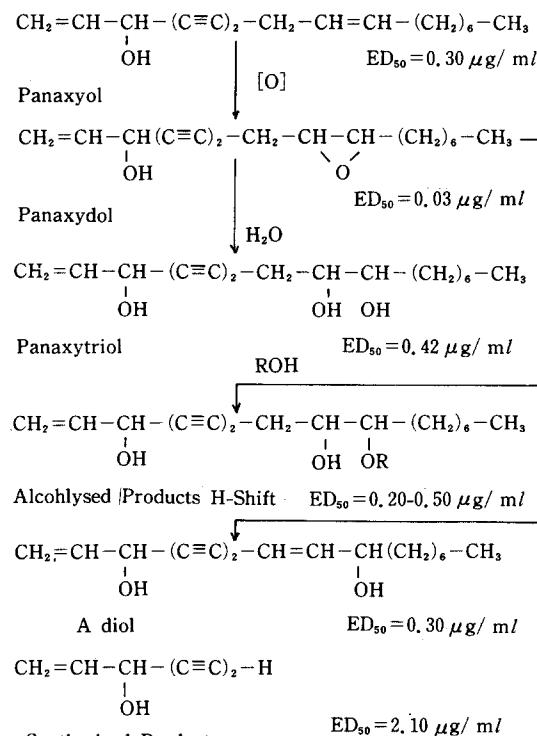
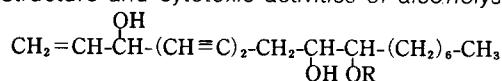
CNU의 ED₅₀=2.5 ug/ml. 그리고 panaxydol의 epoxy부분을 변형하면 세포독성이 10분의 1로 줄어드는 것을 볼 수 있다. 이와같은 작용의 감소에도 불구하고 이 polyyne들도 비교적으로는 높은 세포독성을 보이고 있어서 panaxydol과 더불어 중요한 인삼의 항암성분을 구성하고 있음을 알 수 있다.

또 한편 인삼을 제품화하는 과정에서 panaxydol이 인삼중의 다른 물질과 반응하여 역시 세포독성 물질이 2차적으로 생성되리라 생각된다. 이와같은 발상을 실증하기 위한 예비실험으로서 panaxydol을 가수분해 및 알코올분해하고 이들 분해물의 세포독성을 관찰하였다(Tab). 이들의 세포독성은 역시 panaxydol에 비하여는 줄어들었으나 대체적으로 보아 높은편이다. 지용성기의 크기가 클수록 작용이 약간씩 강화되고 있음을 볼 수 있다.

알코올 분해 산물이 좋은 세포독성을 보인다는 것은 홍삼 등 인삼의 가공제품에서 2차적으로 생성된 panaxydol 결합체들도 항암성을 발휘하리라는 가능성을 더욱 크게 한다.

위에서 얻은 천연물 및 구조변형물 모두가 세포독성을 나타내고 있다는 사실로부터 설정할 수 있는 가정은 이들이 갖고 있는 공통구조가 작용을 위한 필수구조라는 것이다. 즉 hepta-1-en-4, 6-diyn-3-ol기가 그것에 해당한다는 것이다. 이 구조부분에 해당하는 hepta-1-en-4, 6-diyn-3-ol을 합성하여 ED₅₀값을 측정하였던 바 2.10 ug/ml이었으며, 이 발견은 위의 필수구조의 존재에 대

Table. Structure and cytotoxic activities of alcoholysis products of panaxydol.



Scheme. Cytotoxic Diyins from the Panax ginseng root.

한 가정을 증명해 주고 있다.

구조와 작용을 비교해 보면 panaxydol이 다른 polyyne에 비하여 강한 작용을 보이는 것은 epoxy기의 존재 때문인 것이 틀림없다. 그러므로 이와같은 polyyne이 강한 세포독성을 갖기 위하여는 hepta-1-en-4, 6-diyn-3-ol기와 탄소 9와 10사이에 epoxy기가 존재하여야 된다.

Table. Structure and cytotoxic activities of alcoholysis products of panaxydol.

Alcoholysis products of panaxydol	R R	ED ₅₀ ug/ml
10-Methoxy-heptadeca-1-en-4, 6-dyne-3, 9-diol	CH ₃	0.48
10-Ethoxy-heptadeca-1-en-4, 6-dyne-3, 9-diol	CH ₃ CH ₂	0.48
10-Propoxy-heptadeca-1-en-4, 6-dyne-3, 9-diol	CH ₃ (CH ₂) ₂	0.45
10-Butoxy-heptadeca-1-en-4, 6-dyne-3, 9-diol	CH ₃ (CH ₂) ₃	0.31
10-Decoxy-heptadeca-1-en-4, 6-dyne-3, 9-diol	CH ₃ (CH ₂) ₉	0.30
10-Oxtadecoxy-heptadeca-1-en-4, 6-dyne-3, 9-diol	CH ₃ (CH ₂) ₁₇	0.20
10-(2-hydroxy)-ethoxy-heptadeca-1-en-4, 6-dyne-3, 9-diol	HO(CH ₂) ₂	1.72
10-(2-hydroxy ethoxy)-ethoxy-heptadeca-1-en-4, 6-dyne-3, 9-diol	HO(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂	0.94

세포독성을 강화시키는 구조적 조건을 좀 더 상세히 보면 panaxydol의 탄소 8에 있는 두 수소는 8개의 피아크를 보이는 것으로 보아 NMR coupling의 ABX의 ab-subsystem에 해당하며 그러므로 이 두 수소는 2, 3에서 동일 환경에 있지 않음을 알 수 있다. 말하자면 panaxydol의 탄소 8, 9 및 10의 부분구조는 경직한 상태(rigid)에 있음을 알 수 있다. 또한 epoxy부분은 cis형임을 coupling constant의 분석으로 쉽게 알 수 있다.

그런데 이 epoxy를 가수분해 또는 알코올분해를 하면 탄소 8의 methylene기는 doublet로 변하게 된다. 이는 이 methylene기가 양쪽 탄소와의 결합주위를 자유롭게 회전하므로서 경직상태가 없어진 것을 뜻한다. 그러면서 탄소 9와 10 사이의 configuration은 trans형으로 변해있음을 알 수 있었다. 이와같은 경직상태의 파괴 그리고 configuration의 반전이 구조적으로는 세포독성을 저하시키는 요인이 되고 있다.

이와같은 미세구조의 변화와 세포독성과의 관계 정립은 이들 물질과 receptor와의 관계, 그리고 그들의 작용선택성을 연구함에 있어서 기초적 데이터를 제공해 줄 것이다.

참고문헌

1. Ahn, B.Z., Kim, S.L. *Arch. Pharm. Res.* 8, 283(1985).
2. Ahn, B.Z., Kim, S.L., Ryu, S.H., Kang, K.S. and Lee, Y.H., Antineoplastic Natural Products and the Analogues(IX). A Review of the Series. In "the Proceedings of the 2nd Korea-China Symposium on Natural Products Sciences"ed. H.J. Chi *et al.* Seoul 1985.
3. Ahn, B.Z., Kim, S.L. *Arch. Pharm.* (Weinheim) 1987 in Press
4. Ahn, B.Z., Kim, S.L. *Arch. Pharm.* (Weinheim) 1987 in Press
5. Kitagawa, I., Yoshikura, M., Yoshihara, M., Hayashi, T. and Taniyama, T. *Yakugaku Zasshi* 103, 612(1983).
6. Schulte, K.E., Wulffhorst, G. *Arch. Pharm.* (Weinheim) 310, 285(1977).
7. Schulte, K.E., Potter, B. *Arch. Pharm.* (Weinheim) 310, 945(1977).

동물 체내에서의 ethanol 대사에 미치는 인삼 saponin의 영향

곽한식·주충노

연세대학교 이과대학 생화학과

Ethanol 대사는 주로 간에서 일어나며, 단 시간에 과량의 ethanol을 섭취하면 지질 산화나 소포체에서의 약물 대사가 방해를 받게되고, 만성적으로 ethanol을 섭취하면 초기에는 microsomal ethanol oxidizing system(MEOS)이 유발되어 ethanol이나 약물 대사가 증가되지만 계속적인 ethanol 섭취는 간의 손상을 가져오게 된다.

과량의 ethanol 섭취가 유해한 것은 ethanol 자체보다는 산화과정에서 생성된 과량의 acetaldehyde와 환원형 NADH에 기인한다. 과량의 NADH는 화학적 평형을 저해하고 대사 이상을 초래하며 혼히 지방간을 유발한다. 또한 혈액 내에 당의 농도가 감소되고(hypoglycemia) lactate 농도가 증가되어 lactic acidosis가 유발되며 신장에서의 요산 배출이 억제되어(hyperuricemia) 통풍의 원인이 되기도 한다.

Acetaldehyde는 간 세포에 극히 유해한 물질로서 간 세포 자체에 손상을 주고 mitochondria의 기능을 저해하여 간장염(hepatitis), 간경변증(cirrhosis) 등을 유발시킬 뿐만 아니라 aldehyde dehydrogenase(ALDH)의 활성을 감소시키고 vitamin의 활성화를 방해하며 심장의 근육 단백질의 합성도 억제한다. 또한 간 이외의 다른 조직, 특히 뇌에도 유해한 영향을 미친다고 한다. 따라서 간으로부터 acetaldehyde 및 NADH를 신속히 제거한다는 것은 ethanol의 유독성으로부터 간을 보호한다는 점에서 중요한 의미를 갖는다.

본 연구실에서는 인삼의 주성분인 saponin에 대한 연구의 일환으로 ethanol 대사에 미치는 인삼 saponin의 영향을 관찰한 바 있으며 적당량의 인삼 saponin은 alcohol dehydrogenase(ADH)뿐만 아니라 ALDH 및 MEOS의 활성도 촉진시키는 것을 관찰하였다.

이에 본 실험에서는 ADH, ALDH, MEOS의 활성에 미치는 인삼 saponin의 영향을 *in vivo* 및 *in vitro*에서 관찰하였으며 특히 acetaldehyde 산

화에 미치는 인삼 saponin의 영향을 중첩적으로 조사하였다.

실험 동물을 세 군으로 나누어 정상군은 물, 대조군은 물 대신 12% ethanol, 시험군은 물 대신 0.1%의 인삼 saponin 혼합물이 함유된 12% ethanol에 자유로이 접근시키면서 6일간 사육한 후 각 군의 간을 취해 효소원으로 사용하였다. 한편 acetaldehyde 분포에 관한 실험은 ^{14}C 으로 표지된 방사성 ethanol을 경구투여 또는 복강주사하여 각 세포질 분획(mitochondria 분획, cytosol 분획, microsome 분획)에서의 방사능 분포를 관찰하였다.

각 효소계는 적당량의 인삼 saponin 존재하에서 효소의 활성이 증가함이 관찰되었고 (*in vitro*), *in vivo* 실험의 경우는 ADH와 MEOS는 대조군이나 시험군이 모두 정상군보다 활성화되었으며 시험군의 활성 증가가 대조군보다 훨씬 커졌다. 한편 ALDH는 대조군, 시험군 모두 정상군보다 활성이 감소되고 있으나 시험군의 경우 그 감소도가 훨씬 경미하였다.

Ethanol을 복강투여한 후 30분 후에 간 세포에서의 acetaldehyde의 분포를 조사한 결과 대부분은 mitochondria 분획(51.7%)과 cytosol 분획(37.4%)에 분포되어 있었으나 microsome 분획에도 다소(10%) 분포하고 있음이 관찰되었고 각 분획에서의 ALDH 활성은 mitochondria 분획이 35.2%, microsome 분획이 37.1%, cytosol 분획이 17.4%였다.

한편 6일간 사육한 쥐 간을 'Quick freeze clamp technique'으로 채취하여 세포 내의 $(\text{NAD}^+)/(\text{NADH})$, $(\text{NADP}^+)/(\text{NADPH})$ 비에 미치는 인삼 saponin의 영향을 조사한 결과 정상 군의 $(\text{NAD}^+)/(\text{NADH})$ 비는 866인데 비해 대조 군은 507로 크게 저하되었으나 시험군은 676으로 정상군에 가까운 값을 나타내고 있다.

그리고 ^{14}C 으로 표지된 방사성 ethanol을 쥐에 투여한 후 방사능의 지방질로의 전환을 조사한 결과 전체 방사능의 약 1.5-2%가 지질분획에서 회수되었고 합성된 지방질중 triglyceride가 약 35-45%, cholesterol이 약 4%였다.

또한 각 군의 전자현미경 사진은 대조군은 조직

이 크게 손상되어 있음에 비해 시험군의 경우는 거의 손상되어 있지 않았다.

이와같은 실험 결과로부터 인삼 saponin은 과량의 acetaldehyde를 신속히 제거하고 $(\text{NAD}^+)/(\text{NADH})$ 비의 정상치로의 회복을 촉진함으로써 ethanol로 인한 간 손상을 보호하는 것으로 생각된다.

참고문헌

1. 태건식, 주충노, 한국생화학회지, 17, 424(1984).
2. 주충노, 김재원, 한국생화학회지, 17, 431(1984).
3. 주충노, 태건식, 주상옥, 조기승, 고려인삼학회지, 9, 1(1985).
4. Williamson, D.H., P. Lund and H.A. Krebs, *Biochem. J.*, 103, 514(1967).
5. Veech, R.L., L.V. Eggleston and H.A. Krebs, *Biochem. J.*, 115, 609(1969).
6. Lieber, C.S., *Sci. Amer.* 234, 25(1976).
7. Lieber, C.S. and L.M. Decarli, *J. Biol. Chem.*, 245, 2505(1970).

인삼 사포닌의 저밀도 지단백질 수용체(LDL receptor)의 생합성에 미치는 영향

이용우·주충노

연세대학교 이과대학 생화학과

저밀도 저단백질 (low density lipoprotein, LDL)은 지질 운반체의 한 성분이며, 혈중 LDL 농도의 증가는 고 cholesterol 혈증(hypercholesterolemia)과 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있다. 또한 동물세포 표면에 존재하는 LDL 수용체는 LDL을 흡착하여 cholesterol을 이용하는 기능 이외에 혈중에서 LDL을 제거한다는 제 2의 생리적 기능을 갖고 있으며, 혈중 LDL 농도의 조절이란 관점에서 중요한 연구과제로 되어있다.

현재까지 알려진 바에 의하면 세포 내에 cholesterol이 축적되면 1) cholesterol의 생합성 능력이 억제되고 (HMG CoA reductase 활성의 저하) 2) acyl CoA : cholesterol acyltransferase(ACAT) 활성화로 인하여 과량의 chole-

terol이 저장형인 cholesterol ester로 전환되는 반응이 촉진되며, 3) LDL receptor의 생합성이 억제된다고 한다. 특히, LDL receptor 합성의 억제는 혈중 LDL 제거를 늦추어 고 cholesterol 혈증을 유발하는 등의 문제점이 있어 많은 사람의 주목을 끌고 있다.

본 연구실에서는 인삼 사포닌이 고 cholesterol 식이로 인한 고 cholesterol 혈증을 완화하는 작용이 있음을 관찰한 바 있고, bile salt 재흡수 (enterohepatic circulation, EHC)를 방지함으로써 간 cholesterol의 bile salt로의 전환을 촉진하여 간 cholesterol 농도를 저하시키는 약제들의 연구도 활발하다.

본 연구에서는 인삼 사포닌의 고 cholesterol 혈증 억제작용 베카니즘을 규명하기 위해 고 cholesterol식이를 투여한 쥐의 LDL receptor 생합성에 미치는 인삼 사포닌(인삼 사포닌 혼합물, 정제된 ginsenoside -Rb₁, -Rb₂, -Re, -Rg₁)의 영향을 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

고 cholesterol식이만으로 사육한 대조군의 혈청 cholesterol 농도는 정상식이로 사육한 정상군에 비해 159%로서 크게 증가하였으나, 고 cholesterol식이와 인삼 사포닌을 함께 투여한 시험군의 경우는 각각 127%, 115%, 147%, 131%, 150%로서 cholesterol 농도의 증가가 현저히 감소되었다. 이것은 인삼 사포닌이 혈청 cholesterol의 저하작용을 나타내고 있음을 시사하는 것이다.

쥐 간의 cholesterol level 및 LDL receptor수를 조사한 결과, cholesterol level은 고 cholesterol 식이군인 대조군이 165%로 정상군에 비해 훨씬 크게 증가하였으나, 인삼 사포닌을 동시 투여한 시험군은 106%, 114%, 144%, 114%, 158%로서 거의 정상군에 가까운 값을 나타내었다. 한편, LDL receptor수는 대조군이 정상군의 절반 정도(54%)에 지나지 않았으나, 인삼 사포닌을 투여한 경우에는 77%, 82%, 65%, 62%, 81%로서 약 30% 정도 증가하였다. 이것은 인삼 사포닌이 간의 cholesterol 농도를 저하시킴으로써 LDL receptor 합성이 정상적으로 회복되었음을 암시하는 것으로 해석된다.

신장, 부신피질, 정소의 경우에는 간의 경우와 같은 현저한 경향은 관찰되지 않았으나 인삼 사포닌 투여군이 고 cholesterol식이로 인한 cholesterol 농도 상승 및 LDL receptor 합성 저해를 수정하는 것으로 관찰되었다.

인삼 사포닌의 혈청 cholesterol 농도 저하작용이 LDL에 대한 LDL receptor의 친화력 증가에 기인하는 것인지, LDL receptor수의 증가에 기인하는 것인지를 알아보기 위하여, 정상 쥐의 간으로부터 분리한 원형질막을 LDL receptor source로 사용하여 각각 다른 농도(10^{-5} % - 10^{-2} %)의 인삼 사포닌 존재하에서 ^{125}I -LDL에 대한 결합활성을 측정한 결과, 인삼 사포닌 존재하에서 LDL receptor의 활성이 변하지 않았음을 확인하였다. 이것은 인삼 사포닌이 LDL에 대한 LDL receptor의 친화력에는 별다른 영향이 없으나, 고 cholesterol식이로 인해 LDL receptor수가 감소되는 것을 막아줌으로써 고 cholesterol식이로 인한 혈중 cholesterol 농도 증가를 억제하는 것으로 생각된다.

이와같은 인삼 사포닌의 혈중 콜레스테롤 농도 저하작용은 간의 경우 인삼 사포닌이 acyl-CoA : cholesterol acyltransferase(ACAT) 활성 및 담즙산 합성을 촉진하여 세포내 cholesterol 농도를 저하시켜 고 cholesterol 농도로 인한 LDL receptor 합성 억제를 완화함으로써, 고 cholesterol 혈증 유발을 억제하는 것으로 해석된다.

참고문헌

1. Brown, M.S., S.E. Dana and J.L. Goldstein(1974) *J. Biol. Chem.* **249**, 787.
2. Brown, M.S., S.E. Dana and J.L. Goldstein(1975) *J. Biol. Chem.* **250**, 4025.
3. Goldstein, J.L., S.E. Dana and M.S. Brown(1974) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **71**, 4288.
4. Goldstein, J.L. and M.S. Brown(1976) *Cell* **9**, 663.
5. Goldstein, J.L. and M.S. Brown(1986) *Science* **232**, 34.
6. Kang, B.H. and C.N. Joo(1986) *Korean Biochem. J.* **19**(No.2) 168.
7. Kang, B.H. and C.N. Joo(1986) *Korean Biochem. J.* **19**(No.2) 173.

8. Stoudemire, J.B., G. Renaud, D.M. Shames and R.J. Havel(1984) *J. Lipid Res.* **25**, 33.
9. Yamin, T.T., G.M. Thompson and A.W. Albert(1983) *Biochim. Biophys. Acta* **754**, 134.
10. 최주영(1987) 연세대학교 석사학위논문

인삼 성분이 배양한 계배의 신경 및 근유 세포에 미치는 효과에 관한 연구

김 영 중

서울대학교 약학대학

인삼에 대한 연구는 근래에 고도로 발달된 분석 기기의 개발, 동위원소의 이용, 생명과학기술의 급속한 발전으로 새로운 국면에 접어들게 되었다. 인삼은 생체내에서 여러 생리작용에 관여하여 다양한 약리효과를 나타낸다고 수많은 학자들에 의하여 보고되었으나 아직까지도 체계화된 정설을 찾지 못하고 있다. 이는 인삼의 효과가 비특이적이며, 상당히 많은 용량을 장기간에 걸쳐 투여하지 않으면 그 효과를 기대하기 힘들고, 인삼의 효과를 체계화하는데 적합한 방법을 찾기가 어렵기 때문인 것으로 해석할 수 있다. 이러한 점에 착안하여 인삼의 약효 및 그 작용기전에 대한 연구에 새로운 방법을 모색해 보려는 시도로 세포수준에서 그 작용기전을 규명할 수 있는 방법인 일차세포 배양법(primary cell culture법)을 도입해 볼 수 있겠다.

일차세포 배양법은 1960년대 이후에 급속히 발달한 실험수단으로 DNA의 replication과 transcription, 단백질 합성, energy metabolism 등의 intracellular activity의 연구에 이용할 수 있으며 핵에서 부터 세포질로의 RNA의 이동, hormone receptor complex의 translocation, metabolite pools에서의 fluctuation 등의 intracellular flux 등을 연구하는데도 이용되며, 영양, 김염, 바이러스나 화학물질에 의하여 유도되는 transformation, 약물작용 등의 ecology 등을 연구하는데, 또한 세포와 세포사이의 상호작용을 연구하는데 적합한 방법으로 고도의 기술을 요구하나 다른 장기나 기관의 영향을 배제한 상태

에서 단시간에 세포수준에서 생리활성물질의 작용을 규명할 수 있는 방법이다. 이 방법은 동일한 유전자를 가지는 세포만을 선택적으로 배양할 수 있으며, 세포성장에 관여하는 여러 환경조건을 변화시킬수 있어 이의 영향을 밝힐 수 있으며 세포의 생존기간이 짧아 짧은 기간내에 목적하는 결과를 얻을 수 있으며, 약물이나 홀몬, 방사선 등위원소 사용시 동물을 사용하는 것보다 대사, 축식, 배설의 영향이 없으므로 극히 적은 양으로 그 효과를 정량적으로 밝힐 수 있는 장점이 있다.

본 연구는 인삼의 효과를 체계화 해보려는 연구의 일환으로 동물전체를 사용하지 않고 인삼이 관여한다고 알려진 생리작용이 일어나는 장기나 기관의 세포를 일차조직 배양법으로 체외에서 배양하면서 이에 작용하는 인삼의 효과를 세포 수준에서 밝혀 보기 위하여 수행되었다. 본 연구에서는 인삼의 효과를 우선 일찍부터 인삼의 유효성분으로 주목되어온 dammarane계 사포닌 계통의 성분과, 최근에 antilipolytic activity를 갖는다고 보고된 단백질 계통의 성분 등을 이용하여 계배(Chick embryo)의 신경 및 근육세포에 미치는 영향을 현미경하에서 관찰하였다. 인삼의 수용성 엑기스, 50% 알콜 엑기스, 백삼 사포닌, protopanaxadiol 및 protopanaxatriol glycosides, ginsenoside Rb₁, ginsenoside Rd, ginsenoside R₀, Ra, Rb₁의 혼합물을 배양액 1ml당 70μg의 인삼 사포닌을 함유하도록 하여 일령이 12일된 계배의 dorsal root ganglia(DRG)를 적출하여 준비한 배양액으로 조직배양시키면서 현미경으로 관찰하였다.

배양시킨 DRG에서 신경섬유의 생성은 실험에 사용한 모든 인삼 사포닌에 의해 촉진되었을 뿐만 아니라 신경섬유의 수도 증가되어 밀집된 신경섬유군을 관찰할 수 있었다. 또한 인삼 사포닌은 신경세포축색돌기 자체를 더욱 길고 굵게 발달시키며 조직배양한 DRG의 생존기간도 연장시키는 것을 볼 수 있었다. 인삼 사포닌이 어떻게 신경섬유의 생성을 촉진시키는지를 알아보기 위하여 우선 조직배양에 필수성분인 계배 추출물을 배양액중에서 제거시키고 인삼의 효과를 살펴보았다. 배양액에서 계배 추출물을 제거하고 DRG를 배양했을 때

계배의 DRG에서의 신경섬유의 생성 및 성장은 현저하게 억제되었다. 그러나 인삼 사포닌은 배양액 중에서 계배 추출물의 부재시에 일어나는 신경섬유의 성장억제를 어느정도 극복시키는 것을 볼 수 있었다. 이는 Saito 등의 ginsenoside Rb₁이 신경성장인자(nerve growth factor) 존재하에서는 계배의 DRG에서 신경섬유생성을 촉진시키나 ginsenoside Rb₁ 자체만으로는 신경섬유를 생성시키지 못한다는 보고와 일치하지 않는다. 이와같은 상반된 결과를 설명하기에는 두 실험에서 사용한 배양액의 조성과 각 성분의 함량이 다르다는 것만으로는 충분치 않아 본 연구실에서 현재 세밀한 연구가 진행중에 있다. 한편 실험에 사용한 모든 인삼 사포닌은 DRG이외에 배양한 중추신경계 세포나 근육세포에는 아무런 영향을 미치지 않는 것을 관찰할 수 있었다. 그러나 인삼 단백성분은 배양한 계배의 뇌, 척수 및 근육세포의 성장을 촉진시키는 것을 혈미경에서 관찰할 수 있었으며 특히 저분자량의 단백 분획물이 효과를 크게 나타내는 것을 알 수 있었다. 이러한 인삼 단백성분의 세포성장 촉진효과는 인삼 사포닌이 체외에서 배양한 뇌, 척수 및 근육세포에 별다른 효과를 나타내지 않는 것과 비교해 볼때 주목할 만하다 하겠다. 이상과 같은 혈미경으로 관찰한 배양한 세포에 미치는 인삼의 효과를 뒷받침하기 위해서는 배양세포에서 일어나는 생리작용에 관여하는 효소의 활성이나 단백질과 핵산합성 및 세포성장, 발달에 관여하는 물질에 대한 일련의 생화학적 연구가 뒤따라야 하겠다.

인삼 사포닌이 물핀의 내성 및 의존성 형성과 소실에 미치는 영향

김학성·오기완·박우규·Toki Satoshi*
Yamano Shigeru*

충북대학교 약학대학

*Faculty of Pharmaceutical Sciences,
University of Fukuoka, Japan

인삼 사포닌(ginseng saponins; GS), 프로토파나사트리올 사포닌(protopanaxadiol

saponins; PD), 프로토파나사트리올 사포닌(protopanaxatriol saponins; PT)과 morphine을 mouse에 만성적으로 투여하여 내성 및 의존성 형성과 소실에 미치는 영향, 간중 비단백 SH 함량변화와 내성 형성과의 관계를 검토했다. 또한 *in vitro*에서 GS, PD, PT, Rb₁, Rb₂, Rg, Re 그리고 solvent system에 의한 PT 각 분획들의 morphine 6-dehydrogenase에 미치는 영향을 측정함으로써 활성성분을 추적하였다.

GS, PD 및 PT는 물핀의 내성 및 의존성 형성을 억제하였고 또 소실을 촉진시켰다. 한편, 간중 비단백 SH 함량도 증가시켰고 이러한 증가는 내성 및 의존성 형성 억제 정도와 같은 경향을 나타내었다.

Toki 및 그 공동연구자들은 투여된 물핀의 일부가 morphine 6-dehydrogenase에 의하여 morphinone으로 대사되고 생성된 morphinone은 opiate 수용체의 SH와 covalent binding을 함으로써 진통력은 1/2로 약화되고 독성은 morphine의 10배 정도로 증가되며 이때 간중 비단백 SH가 비효소적으로 morphinone과 conjugation되어 배설되므로 해독작용이 촉진된다고 보고한 바 있다. 인삼 사포닌은 morphine 6-dehydrogenase의 작용을 억제시켜 morphinone의 생성을 감소시키고, 또 간중 비단백 SH 함량을 증가시키므로 morphinone-glutathione conjugates가 형성되어 배설이 촉진되는 이중작용이 morphine의 내성 및 의존성 형성 억제 작용 기전중의 하나로 추정된다 (Fig. 1).

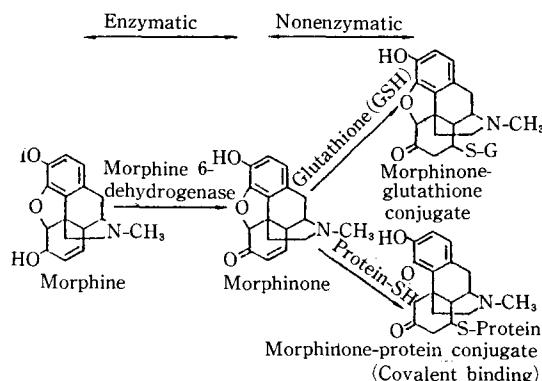


Fig.1. Metabolism of morphine to morphinone and its SH conjugates.

인삼의 산지별, 년근별, 부위별 및 원료 삼별사포닌 및 액기스 함량

최강주·고성룡·김석창·김만욱
한국인삼연초연구소

서 론

최근 인삼 및 인삼제품류의 해외시장이 동남아는 물론 구미지역에까지 신장되어가고 수요자층의 사고방식과 품질관리도 과학화되어감에 따라 유효성분의 함량이 높고 균일한 품질을 요구해 오고 있는 실정이다. 그러나 인삼은 산지별¹⁾, 년근별^{2,3)}, 부위별³⁻⁵⁾ 및 채굴시기⁶⁾ 등에 따라 사포닌이나 액기스 함량 등이 상이한 것으로 보고되고 있다. 그러므로 원료삼에 대한 유효성분의 함량이나 그 조성 등에 대한 자료는 인삼류 및 인삼제품류 제조시는 물론 품질검사기준을 설정하는데도 꼭 필요한 자료라고 생각된다. 물론 인삼의 유효성분은 사포닌 성분외에도 많은 유효성분들이 계속 보고되고 있으나 품질관리를 수행함에 있어서는 인삼의 주된 유효성분인 동시에 인삼속 식물에만 함유된 사포닌성분을 중심으로 수행되어지고 있다. 따라서 이와같은 목적의 일환으로 산지별, 년근별, 부위별 및 원료삼별 사포닌 및 액기스함량을 조사하였다.

실 험

1. 50% 에탄올 추출 액기스 및 물추출 액기스 함량

대한약전의 묽은 에탄올 액기스 및 수성 액기스 정량법에 준하였다.

2. 중량법에 의한 조사포닌 (crude saponin) 함량

수포화 부탄을방법⁷⁾으로 조사포닌 분획을 분리 농축후 중량법으로 조사하였다.

3. 비색정량법에 의한 총사포닌 (total saponin) 함량

수포화 부탄을방법으로 조사포닌 분획을 추출한 후 vanillin-H₂SO₄ 비색법⁸⁻¹⁰⁾으로 정량하였으며 ginsenoside-Re을 표준검량선으로 사용하였다.

4. 액체 크로마토그래프에 의한 ginsenoside 분석^{2,11)}

Lichrosorb NH₂ column (ID 4.6 mm×200 mm)에 acetonitrile : water : n-butanol (80 : 20 : 15, v/v)로 전개시켜 주종 사포닌 6종 Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Re, Rg₁ 외에 Ro, Ra, Rf, Rg₂을 분석하였다.

5. 박층 크로마토그래프에 의한 사포닌패턴조사¹¹⁾

Silica gel plate에 크로로포름 : n-부탄올 : 메탄올 : 물 (20 : 40 : 15 : 20, v/v)으로 전개후 30% 칭산으로 분무 가온시켜 확인하였다.

결과 및 고찰

1. 산지별 인삼의 사포닌 및 액기스함량

18개 산지별 인삼의 동체 및 미삼부위의 평균 함량치는 다음과 같았으며 동체부위에 비하여 미삼부위가 사포닌 및 50% 에탄올 액기스의 함량이 높았고 조성면에서는 PD사포닌의 조성비율이 높았다.

2. 년근별 인삼의 사포닌 및 액기스함량

년근별로 볼때 2년근의 함량이 가장 낮고 3년근과 4년근 그리고 5년근과 6년근의 함량이 대체로

(단위 : 대건물 %)

부위별	함량	Rb ₁	Rb ₂	Rc	Rd	Re	Rg ₁	주종* 사포닌	PD/ PT ^{**}	조사 포닌	50%에탄올 액기스
동체부위		0.56 ±0.40	0.20 ±0.4	0.37 ±0.16	0.19 ±0.06	0.46 ±0.17	0.51 ±0.07	2.30 ±0.90	1.38 ±0.46	3.57 ±0.77	30.81 ±5.44
미삼부위		1.84 ±0.55	0.79 ±0.25	1.17 ±0.28	0.55 ±0.24	0.97 ±0.21	0.54 ±0.09	5.82 ±1.43	2.87 ±0.46	7.82 ±1.18	36.82 ±4.63

* 주종사포닌 : Rb₁+Rb₂+Rc+Rd+Re+Rg₁

** PD/ PT : Rb₁+Rb₂+Rc+Rd/ Re+Rg₁

(단위 : 대건물 %)

년 균별	합 량	주종사포닌	PD/PT ^{**}	조사포닌	총사포닌	50%에탄올 엑기스	물엑기스
2 년	2.21	1.18	4.83	3.30	32.76		
3 년	3.30	1.20	6.47	4.46	33.85		
4 년	3.37	1.31	6.40	4.43	31.87		
5 년	4.66	1.56	8.01	5.70	34.99		
6 년	4.71	1.45	8.06	5.74	33.23		

* 주 종 사 포 닌 : $R_o + R_a + R_{b_1} + R_{b_2} + R_c + R_d + R_e + R_f + R_{g_1} + R_{g_2}$ ** PD / PT : $R_a + R_{b_1} + R_{b_2} + R_c + R_d / R_e + R_f + R_{g_1} + R_{g_2}$

(단위 : 대건물 %)

부위별	합 량	주종 사포닌	PD/ PT	조사 포닌	총사 포닌	50%에탄 올 엑기스
자근	6.06	1.50	11.28	6.75	32.94	
동체/껍질	7.60	1.13	12.45	9.01	27.90	
피종	2.70	1.06	4.77	3.38	28.30	
중심부	1.02	0.72	2.37	1.09	26.86	

(단위 : 대건물 %)

부위별	합 량	주종 사포닌	PD/ PT	조사 포닌	총사 포닌	50%에탄 올 엑기스
자근	3.94	1.58	6.54	5.11	31.48	
세미	8.31	1.97	13.25	9.86	39.49	

유사한 경향이었으며 고년근이 될수록 이들 함량이 증가하였고, PD사포닌의 함유비율이 증가되었다.

3. 부위별 인삼의 사포닌 및 엑기스함량

6년근 인삼의 부위별 사포닌 및 엑기스함량은

부위에 따라 현저하게 상이하였다. 세미, 껍질 및 뇌두부위는 사포닌함량이 높았으며 PD사포닌의 비율이 높았고, 동체부위의 중심부와 피종부가 가장 낮았다. 한편 백삼류의 가공방법에 따라 사포닌 및 엑기스함량이 상이하였다는 보고¹²⁾는 백삼류 제조시 사용한 부위의 함량차가 주된 원인이 되는 것을 알 수 있다.

4. 흥미삼류의 사포닌 및 엑기스함량

흥미삼류에 따라 사포닌함량이 상이하였으며 미삼류의 직경이 작을수록 함량이 높았다. 즉, 극세미>>세미>중미>대미의 순이었고 동일 미삼류의 경우는 제조년도에 관계없이 거의 유사하였다. 한편 50% 에탄올 엑기스는 36.2-39.4%, 물엑기스는 46.5-50.2%로 미삼류간에 함량차가 적고 대체로 유사하였다.

5. 장기 저장된 흥삼의 사포닌 및 엑기스함량

서로 흥삼 30지의 대조구(1986년 제조)와 넌도별 제조된 흥삼의 저장기간에 따른 사포닌패턴은 거의 변화가 없었고 사포닌 및 엑기스함량도 거의

(단위 : 대건물 %)

합 량 총미삼(제조년도)	주종사포닌	PD/PT	조사포닌	총사포닌	50%에탄올 엑기스	물엑기스
대미 (1984) (1985)	2.45 2.38	1.45 1.40	5.72 5.60	4.11 4.04	36.25 37.17	47.03 46.89
중미 (1984) (1985)	3.04 3.15	1.41 1.47	6.46 6.59	4.57 4.65	36.16 37.87	48.22 48.92
세미 (1984) (1985)	5.80 5.62	2.15 2.36	9.20 9.17	6.56 6.38	37.67 38.25	50.28 50.10
부세미 (1984) (1985)	9.23 9.56	2.75 2.75	13.66 14.13	9.90 10.50	39.46 39.01	47.63 46.54

홍삼등급	함량	주종사포닌	PD/PT	조사포닌	총사포닌	50%에탄올 엑기스	물액기스
홍 삼	2.26	1.19	4.28	2.97	35.30	41.07	
(지 삼30자)	±0.06	±0.02	±0.09	±0.14	±0.49	±0.80	

* 대조구를 포함 9년간 년도별 제조 조장된 홍삼 10구의 평균치

유사하였다. 따라서 동일등급의 홍삼일 경우 유효 성분의 함량이나 그 조성이 제조년도에 상관없이 거의 유사함을 알 수 있었고, 아울러 저장기간에 따라서도 사포닌 성분의 분해나 감소가 없음을 알 수 있었다. 이와같은 결과는 3년간 저장된 시료에서 감소경향을 나타났다는 최¹³⁾의 보고와는 상이하였다.

참고문헌

- 송기준 : 경희대학교 대학원 박사학위논문(1986).
- 장진규, 이광승, 권대원, 남기열, 최진호 : 한국 영양학회지 12(1), 37(1983).
- 이종화, 남기열, 최강주 : 식품과학회지 10(2), 263(1978).
- 이종화, 박훈, 이정명 : 한국농화학회지, 22 (1), 99(1980).
- 홍순근, 박은규, 이춘영, 김명운 : 약학회지, 23(3 & 4), 245(1979).
- Tanaka, O., et al: Proceedings of the 3rd International Ginseng Symposium, Korea Ginseng Res. Inst., Seoul, Korea(1980).
- 고려인삼창 : 고려인삼 GMP 기준서(1986).
- Hiai, S., Oura, H., Hamanaka, H. and Odaka, Y.: *Planta Medica* 28, 131(1975).
- Hiai, S., Oura, H. and Nakajima, T.: *Planta Medica*, 29, 166(1976).
- Woo, L.K., Han, B.H., Baik, D.W. and Park, D. S.: Journal of the Pharmaceutical Society of Korea 17, 129(1973).
- 최강주, 박종대, 김석창, 고성룡 : 사포닌화합물의 분리 및 정제, 한국인삼연초연구소 보고서 (1984).
- 김만옥, 최강주, 조영현 : 인삼연구보고, 고려인삼연구소 p. 375-392(1978).
- 최진호, 변대석, 박길동 : 한국식량영양학회지, 12(4), 350(1983).

인삼모질록병의 발생 생태 및 방제연구

오승환·조대희·유연현·김영호·이순구

한국인삼연초연구소

1. 서 론

인삼모질록병은 *Rhizoctonia solani* Kuhn에 의하여 발생하는 것으로 한국에서 이병이 처음 기록된 것은 이조시대이고 그 이후 Nakada 및 이 등에 의한 보고가 있었으며 모질록병에 의한 인삼의 피해는 5-50%나 되고 밀파할수록 이병이 많이 발생하는 것으로 알려져 있다.

*R. solani*는 다법성균으로 여러가지 작물에 모질록병을 일으키므로 이를 균사용합형에 따라 구분표시하는 것이 보통인데 인삼모질록병인 *R. solani*에 대한 균사용합형이나 병발생 생태 등에 대한 조사연구가 미흡하고 이병의 방제에 이용하였던 PCNB는 잔류문제로 방제 약제의 대체가 시급한 실정이다. 따라서 본 연구는 인삼의 모질록병을 일으키는 *R. solani*의 균사용합형을 동정하고 모질록병 발생 생태와 방제 약제를 선발하여 인삼묘생산의 안정을 기하고자 실시하였다.

2. 재료 및 방법

인삼묘포토양 또는 질록병에 걸린 인삼묘에서 분리한 24개 균주를 가지고 일본 Sumitomo 농약 연구소에서 분양받은 Standard isolates를 가지고 Ogoshi의 방법에 의하여 균사용합형을 결정하였으며 농가포장에서의 병발생조사, 과종깊이에 따른 발아전 입고병발생, 균사용합형별 인삼모질록병발생, 모질록병발생과 온도관계 등을 조사하였으며 지하의 줄기와 땅위 줄기의 강도 및 줄기표면의 Cuticle층 형성을 iodine-Potassium iodine H₂SO₄법으로 염색하여 비교하였다. 인삼에서 많이

분리된 군사용합형을(AG) 가지고 여러가지 작물에 대한 병원성을 검사하여 기주범위를 조사하였다. *R. solani*에 대한 방제를 위하여 Zentmeyer 법으로 실내 screen을 하여 Pot 및 포장시험을 실시하였다.

3. 결과 및 고찰

인삼모질록병은 여러가지 병균에 의하여 발생하는데 이중에서 *R. solani*에 의한 인삼모질록병은 양직보다는 반양직 또는 토직에서 많이 발생하며 파종깊이를 깊이 할수록 빨아전 입고병이 많이 발생하였다. 포장조사에서 깊이 파종하여 지하부 줄기(연백화된 부분)가 긴 포장에서 *R. solani*에 의한 모질록병이 많이 발생하는 경향이었으며 줄기의 연백화된 부분의 표면에는 Cuticle층의 발달이 잘 되지 않았다. 이런 현상은 묘삼 뿐만 아니라 2년근, 3년근, 4년근에서도 같은 경향이었으며 줄기의 강도도 지하부에 있는 줄기보다 땅위부분의 착색된 줄기가 더 컸다. 모질록병에 걸린 인삼에서 또는 묘포토양에서 분리한 24개 군주의 군사용합형은 AG2가 75%로 가장 많았으며 인삼의 빨아전 입고는 AG2-1과 AG4에 의해서 심하게 발생하였고 빨아후 입고는 AG-2-2에 의해서 심했다. 인삼에서 많이 분리된 AG2의 기주범위는 십자화과인 무우, 배추와 인삼에 모질록증상을 일으켰다. 인삼모질록병을 일으키는 *R. solani*인 AG2 군주에 대한 실내 약제 설발에서 결과가 좋았던 몇가지 약제를 가지고 Pot시험과 포장시험(자연발병 및 인공접종포장)결과 그 방제효과가 좋았던 약제는 tolclofos-methyl, Pencycuron 등이 있었다.

인삼의 모질록병은 토양전염성병이므로 양직과 같은 이병균의 오염이 적은 토양을 이용하는 육묘방법을 이용하고 가능하면 얕게 파종하여 발병을 적게하는 것이 바람직하며 적절한 약제를 적기에 사용하면 방제문제가 없을 것이다.

참고문헌

1. 이성환, 정후섭, 최승윤, 나용준 1968 인삼묘포의 병충해연구, 문교부학술연구보고서(농학계).
2. 이순구 1985 *Pythium* 및 티병원균에 의한 인삼 모질록병의 병원학적 연구 pp.47, 서울대학교 대학원 박사학위논문.
3. 오승환, 유연현, 조대휘, 이장호 1984 인삼의 주

요 병해방제연구, 한국인삼연초연구소 보고서(재배편).

4. 오승환, 유연현, 조대휘, 이장호 1985 인삼의 주요 병해방제연구, 한국인삼연초연구소 보고서(재배편), p.133-157.
5. 오승환, 조대휘, 김영호, 유연현, 조대휘 1986 인삼의 주요 병해방제연구, 한국인삼연초연구소 보고서(재배편), p.137-169.
6. Ogoshi, Akira 1972 Grouping of *Rhizoctonia solani* Kuhn with hyphal anastomosis. Ann. Phytopathol. Soc. Jap. 38: 117-122.

고려인삼의 유효성분에 미치는 재배조건의 영향

박 훈·이미경·이종화
한국인삼연초연구소

서 론

옛부터 산지에 따라 인삼품질이 다르다고 기록되어 있다. 인삼의 유효성분은 품질평가의 기준이 되어야 할 것이다. 인삼의 유효성분으로 알려진 것이 수종 있다. 그러나 유효성분만으로 품질평가를 할 수 있는 단계에 이르려면 유효성분의 정의가 확립되어야 하며 유효성분이외의 품질과 유효성분과의 관계 등도 밝혀져야 한다. 재배조건과 유효성분과의 관계를 유효성분의 결정과정상 필요하며 또한 가장 놓은 생산조건의 구명에도 필요하다. 산지포장을 대상으로 사포닌을 조사한 것을 중심으로 해석하였다.

재료 및 방법

1984-1986년의 산지포장 시료를 대상으로 saponin을 분석하였다. 광도와 온도를 달리한 조건에서 재배하여 조사하기도 하였다. 생육시기별 및 생리장애 삼에 대하여도 조사하였다.

결과 및 고찰

근중의 무기성분과는 P, K, Fe, Mn, Cu가 사포닌 함량과 관계가 있으며 년도에 따라 차이가 있다. 토양의 인삼함량이 많을수록, 질산태 질소가 적을수록 사포닌 함량이 높았다. 암모니아 태가

많을수록 사포닌이 많아지는 경향이다. 토양물리성과는 수분, 액상, 공극율과 부 상관이나 유의성이 없다. 토양화학성이나 물리성으로 볼때 재배조건이 나쁜조건에서 사포닌 함량이 높아진다. 관행재배보다 부초재배나 논삼재배에서 함량이 적어지는 경향을 보인다.

사포닌이 많을수록 내백울이 많고 지심률도 감소되었다. 근조직이 스폰지상이거나 내공이 된 것은 건전한 삼보다 saponin이 많다. 광도는 15%에서 가장 높아지는 경향이며 온도가 높을수록 높아졌다. 생육시기별로는 9월과 10월에 가장 낮아진다. 재배조건과 saponin 함량과의 관계를 보면 재배조건이 나쁜경우 또 재배조건이 나빠서 생리장애를 받는 경우 사포닌이 증가하고 전래의 수확시기에 사포닌이 가장 낮아지고 있음은 사포닌이 유효성분이라고 하더라도 많을수록 좋다고 볼 수는 없을 것 같다.

참고문헌

- 재배조건이 원료삼의 내공, 내백 소질에 미치는 영향연구, 한국인삼연초연구소(1984).
- 재배조건이 홍삼품질에 미치는 영향연구, 인삼연구보고서(재배분야) 한국인삼연초연구소(1985).
- 재배조건이 홍삼의 내공 내백에 미치는 영향연구, 인삼연구보고서(재배분야) 한국인삼연초연구소(1986).

Maltol(2-methyl-3-hydroxy- γ -pyrone)의 항산화작용에 대한 연구

정명희·박종완·김명석·임정규
서울의대 약리학교실

Maltol(2-methyl-3-hydroxy- γ -pyrone)은 인삼의 한 성분으로서 항산화작용이 있음이 보고되었다. 그러나 보고된 이 화합물의 항산화작용에 대한 보다 확실한 증거를 제시하고 항산화작용의 효능 평가를 위하여 다음과 같은 관점에서 실험을 수행하여 이에 그 결과를 보고한다.

1. in vitro 지질과산화반응에 대한 maltol의 효과

in vitro 지질과산화반응은 여러 반응계에 의하여 유도할 수 있으며 각 반응계는 서로 다른 기작

으로 지질과산화를 일으키므로 여러 반응계에 의하여 일어나는 지질과산화반응에서 그 억제효과를 검토하여야 확실한 증거를 얻을 수 있다. 뿐만 아니라 지질과산화반응은 이 반응계에서 생성된 분해산물을 측정하여 반응 정도를 판정하는데 이때 각 분해산물은 지질과산화의 판정 지표로서 장단점을 가지고 있기 때문에 적어도 한가지 이상의 분해산물의 측정을 통하여 항산화효과를 검정하는 것이 바람직하다. 이런 점을 고려하여 mouse 간 조직 microsome 분획에서 다음 네가지 반응계를 이용하여 지질과산화를 유도하였다.

a. 이 분획에 존재하는 NADPH-dependent cytochrome P₄₅₀ reductase를 통하여 유발하는 효소반응계

(1) NADPH/ Fe⁺⁺⁺-ADP

(2) NADPH/ paraquat

b. 이 효소를 거치지 않고 반응을 유발하는 비효소반응계

(1) ascorbate/ Fe⁺⁺

(2) Cu⁺⁺/ H₂O₂

이와같은 반응계를 이용함으로서 금속이온 종류에 따르는 지질과산화, 약물에 의한 지질과산화 및 내인성 물질을 통한 지질과산화 등 지질과산화에 다양화를 기하였다. 그리고 지질과산화 검정에 있어서도 다음 세가지의 분해산물 즉 malondialdehyde(MDA), 형광 물질, hydrocarbon(ethane 혹은 ethylene)을 정량하여 판정지표로 사용하였다.

각 반응계에 의하여 1시간 동안에 일어나는 지질과산화반응을 MDA 생성을 통하여 maltol의 효과를 관찰하였을 때 maltol은 모든 반응계에서 일어나는 MDA 생성에 현저한 억제효과를 나타내었다. 각 반응계에 따라서 약간의 차이는 있지만 대체로 50 uM에서 억제효과를 나타내기 시작하여 500 uM에서 최대 억제효과(60-80% 억제)를 나타내었다. 이와같은 지질과산화 억제효과는 형광물질 측정을 통하여 관찰하였을 때에도 유사한 양상을 나타내었다. 이들 반응계에 의한 hydrocarbon의 생성 역시 maltol은 현저히 억제하였다. 이 경우에는 1 mM에서 최대 효과를 나타내었으며 ascorbate/ Fe⁺⁺와 NADPH/ Fe⁺⁺-ADP 반응계에 의한 ethane 생성은 60%까지 Cu⁺⁺/ H₂O₂

Table 1. Comparison of antioxidant potencies between maltol and various antioxidants (based on 50%-inhibitory concentrations).

Assay systems	Reaction systems	Maltol	Antioxidants		
			p-PDA	BHA	BHT
MDA assay	Paraquat/NADPH	1	26.4	44.1	28.7
	Fe ²⁺ -ascorbate	1	4.7	23.7	11.6
	Cu ²⁺ -H ₂ O ₂	1	58.4	170.6	71.5
	Fe ³⁺ /ADP-NADPH	1	27.9	135.0	32.2
Ethane assay	Fe ²⁺ -ascorbate	1	87.8	49.7	42.3

반응계에 의한 ethylene 생성은 80%까지 감소시켰다.

2. Maltol과 기존 알려진 항산화제와의 효능 비교

항산화작용의 유무이외에도 기존 항산제인 p-phenylenediamine, BHA 및 BHT와 그 효능(potency)를 비교함으로써 maltol의 항산화효과를 평가하는데 객관적인 기준을 마련코자 하였다. 효능비교는 각 반응계에서 MDA 및 hydrocarbon의 생성을 50% 억제하는 농도(IC_{50})을 측정하여 IC_{50} 의 역수를 취한 후 maltol의 값을 1로 하여 비교하였으며 그 결과는 아래표와 같다.

이 표에서 알 수 있는 바와 같이 반응계와 지질과산화 측정방법에 따라 차이를 보이고 있으나 대체적으로 maltol은 p-phenylenediamine의 1/5-1/80, BHT의 1/20-1/170, 그리고 BHT의 1/10-1/40 정도의 항산화작용을 나타내고 있다.

3. 심근의 산소 paradox(hypoxia-reoxygenation injury)에 대한 maltol 보호효과

생체의 생리적 현상에 의하여 일어나는 과산화반응에 의한 조직손상에 maltol의 보호효과를 관찰하기 위하여 심근의 산소 paradox를 이용하였다. 즉 심근이 저산소상태에 노출되어 있다가 갑자기 산소가 공급될 때 반응성 산소대사물이 생성되며 이로 인하여 심근은 손상을 받는다(이를 산소 paradox라 함). 이는 심근경색 또는 심장이식 수술시 적출심장의 기능저하의 주요 기전으로 시사되고 있다.

이와같은 산소 paradox를 유발하기 위하여 흰쥐 심장을 적출하여 대동맥을 Langendorff 장치

에 연결하여 역관류하면서 관류액(Krebs-Henseleit 용액)을 N₂로 포화시켜 저산소증으로 만든 후 O₂로 재공급하여 심근에 손상을 유발하였다.

이때 심근 손상의 지표로 심근 세포막의 지질과 산화와 세포질 호소의 유출을 측정하였으며 지질과산화는 MDA를, 세포질 호소는 lataate dehydrogenase(LDH)와 creatine phosphokinase(CPK)를 각각 관류액에서 측정하였다.

예상과 같이 산소를 재공급할 때 관류액에 MDA, CPK 및 LDH의 급격한 증가를 관찰하므로서 산소 paradox에 의한 심근 손상을 확인할 수 있었으며 이에 maltol은 현저한 보호효과를 나타내었다. 즉 상기조건에서 1mM maltol 용액을 0.5 ml/min의 속도로 infusion 하였을 때 관류액에서의 상기 세 물질의 농도가 80-90%까지 감소되어 maltol의 현저한 보호효과를 관찰할 수 있었다.

ethane을 호기(expired air)에서 측정하여 관찰하였으며 이에 maltol의 효과를 관찰하였다.

4. *in vivo*에서의 지질과산화반응에 대한 maltol의 효과

Maltol의 항산화효과를 최종적으로 *in vivo*에서 그 효과를 나타낼 수 있어야 한다. *in vivo*에서의 지질과산화는 흰쥐에 CCl₄(100 ul/100g wt)을 투여하여 생성되는 ethane을 호기(expired air)에서 측정하여 관찰하였으며 이에 maltol의 효과를 관찰하였다.

CCl₄ 투여에 의하여 호기중에 현저한 ethane 함량의 증가가 초래되었으며 특히 phenobarbital로 전처리된 쥐에서는 더욱 생성이 증가되어 CCl₄

에 의한 지질과산화가 간에서 일어남을 알 수 있었다. 한편 maltol로 CCl_4 투여전 42, 24, 18시간전에 전처치(200 mM 용액 0.5 ml/ 100g wt)하였을 때 ethane 생성은 거의 완전히 억제되었다. 이와같은 maltol의 효과는 같은 방법으로 V.E. (25 mg/kg)를 투여하였을 때와 동일하였다. 따라서 maltol은 *in vivo*에서도 항산화효과를 나타낼 수 있을 것으로 생각되었다.

5. Maltol의 항산화작용의 기전에 관한 연구

지질과산화반응의 유도에는 각종 반응성 산소대사물($\text{O}_2\cdot$, H_2O_2 , $\text{OH}\cdot$ 및 ${}^1\text{O}_2$), 약물라디칼(특히 생체에서 독성을 유발하는 redox-cycling 약물) 및 금속이온(특히 생리적으로 지질과산화반응에 관여하는 철이온) 등이 관여하므로 이들에 대한 maltol의 상호작용을 검토하므로써 maltol의 항산화작용의 기전을 알아보려고 시도하였으며 이에 다음과 같은 결과를 얻었다.

(1) $\text{O}_2\cdot$ radical에 대한 작용

Xanthine/xanthine oxidase 반응계에 의한 epinephrine의 adrenochrome으로의 산화에 maltol은 전혀 영향을 미치지 아니하였다.

(2) H_2O_2 에 대한 작용

H_2O_2 와 maltol을 반응시켰을 때 H_2O_2 의 농도에 전혀 변화가 없었다.

(3) ${}^1\text{O}_2$ 에 대한 작용

D_2O 용액에서 rosel bengal을 UV에 노출시켰을 때 일어나는 NADPH의 산화에 maltol은 전혀 영향을 미치지 아니하였다.

(4) Paraquat radical에 대한 작용

anaerobic 조건에서 dithionite에 의한 환원으로 생성되는 paraquat radical의 600 nm에서의 흡광도는 maltol에 의하여 전혀 영향을 받지 아니하였다.

(5) $\text{OH}\cdot$ radical에 대한 작용

H_2O_2 의 Fe^{++} 에 의한 분해는 maltol에 의하여 촉진되었다. 그러나 Fe^{++} 의 강력한 chelator인 EDTA 및 DETAPAC은 거의 완전히 억제하였다. 이는 maltol이 철이온과 결합으로 새로운 spectrum을 형성하여 철이온과 complex를 형성한다는 실험결과에 비추어 볼때 기타 다른 철이온 chelator와는 성질이 다름을 알 수 있다.

한편 maltol은 H_2O_2 와 Fe^{++} 에 의하여 반응하여 272 nm에서의 흡광도가 소실되었다. 그리고 maltol은 Fe^{++} 와 H_2O_2 에 의한 methional로부터의 ethylene 생성을 억제하였다.

이상의 결과를 종합하여 볼때 maltol은 철이온과 complex 형성보다는 $\text{OH}\cdot$ 을 scavenge함으로서 항산화효과를 나타낼 것으로 추측되었다.

이상의 연구결과를 종합하여 볼때 maltol은 비록 기존 항산화제보다는 그 효능은 약하지만 확실히 항산화효과가 있음을 알 수 있으며 아마도 이와 같이 작용은 $\text{OH}\cdot$ 의 제거에 의한 것으로 추측되었다. Maltol의 이와같은 작용은 생체에서 일어나는 산화반응에도 그 효과를 나타낼 수 있을 것으로 생각되었다.

인삼조직의 기내배양

최광태·양덕준·안인옥

한국인삼연초연구소

인삼은 종자를 통하여 번식할 수 있으나 채종하는데 3-4년이 소요됨과 동시에 1회 채종량이 대단히 적은 작물로서 다른 작물에 비하여 우수품종 육성에 오랜 세월이 필요하며, 또한 우수한 품종을 육성하였다 하더라도 동일한 유전자형을 지닌 개체증식에도 상당한 시일이 요구되므로, 이러한 불편하고 어려운 점을 해결하는데 조직세포를 기내 배양하여 단시간내에 개체를 증식할 수 있는 조직 배양기술이 적용될 수만 있다면 이는 인삼의 우수 품종 육성 및 증식에 획기적인 방안이라 할 수 있겠다. 인삼의 조직배양은 소련의 Butenko가 인삼의 잎, 줄기, 화기, 뿌리 등의 조직에서 callus를 유기한 것으로 비롯하여 일본, 미국, 중국, 한국 등의 몇몇 학자들에 의하여 callus 유기, callus에서 기관 재분화등에 관한 연구가 많이 수행되고 있으나 아직까지 체계적으로 되어있지 않은 실정이다.

본 연구는 인삼의 조직을 기내배양하여 형성된 조직세포의 재분화능과 Ti-plasmid에 의하여 형질전환된 인삼 조직세포(crown gall tumor)의

특성을 구명하기 위하여 수행되었는 바, 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

① 인삼 callus의 재분화는 자엽 callus의 경우 44%, 상배축 callus는 12%, 뿌리 callus는 8%로서 자엽 callus의 shoot 화율이 가장 높았다.

② IBA 5 mg/l 첨가된 배양기에서 배양된 callus로 부터 embryogenic callus가 많이 유기되었다.

③ 유기된 embryogenic callus를 IBA 0.5 mg/l 첨가된 배양기에 접종하였을 때 shoot 분화가 양호하게 일어났다.

④ IBA 1-3 mg/l 첨가된 배양기에서 rootlet 분화가 양호하게 일어났다.

⑤ *Agrobacterium tumefaciens*에 의하여 인삼

으로부터 crown gall tumor의 형성이 가능하였으나 탈분화는 무척 어려웠다.

⑥ Tumor callus는 phytohormone free 배지에서 생육이 왕성하였으며, auxin과 cytokinin 첨가시 오히려 생육이 억제되었다.

⑦ Tumor callus는 암 상태에서 생육이 양호하였으며 normal callus에 비해 생육이 훨씬 빨랐다.

⑧ Tumor callus는 nopaline을 함유하고 있으며 protein pattern은 normal callus와 매우 상이하였다.

⑨ Tumor callus의 crude saponin 함량과 ginsenoside pattern은 정상뿌리 조직과 매우 유사한 경향을 보였다.