

인삼 사포닌 성분이 프로스타글란딘류 생성에 미치는 영향

이선희 · 박찬웅* · 이인란 · 한병훈**

이화여대 약학대학

*서울대학교 의과대학 약리학교실

**서울대학교 생약연구소

(1989년 5월 25일 접수)

Effect of Ginseng Saponins on the Biosynthesis of Prostaglandins

Sun-Hee Lee, Chan-Woong Park*, Ihn Rhan Lee and Byung Hoon Han**

College of Pharmacy, Ewha Women's University, Seoul 120-750

*Department of Pharmacology, College of Medicine, Seoul National University

**Natural Product Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea

(Received May 25, 1989)

Abstract □ The effects of Ginseng saponins on the *in vitro* biosynthesis of prostaglandins were examined in order to identify the role of some Ginseng components on the regulation of arachidonic acid metabolism. The productions of prostaglandin E₂ (PGE₂), F₂ (PGF₂), thromboxane B₂ (TXB₂) and 6-ketoprostaglandin F₁ (6-Keto-PGF₁) from [³H]-arachidonic acid were evaluated by radiochromatographic analysis with rabbit kidney microsome, human platelet homogenate and bovine aortic microsome. The amounts of the total prostaglandins produced by cyclooxygenase activity and malondialdehyde from arachidonic acid didn't show significant changes in the presence of Ginseng saponins. Both of panaxadiol and panaxatriol didn't affect the production of PGE₂ while the formations of PGF₂ and TXB₂ were markedly reduced and the production of prostacyclin was increased. The formation of TXB₂ was reduced by ginsenoside Rb₂, Rc, and Re, however the production of 6-Keto-PGF₁ was increased dose dependently up to 1 mg/ml. Moreover, platelet aggregations induced by arachidonic acid and U46619 (9.11-methanoepoxy PGH₂), TXA₂ mimetics, were also inhibited by three ginsenosides. The effect of G-Re on prostacyclin synthetase was inhibited by tranlycypromine, prostacyclin synthetase inhibitor. These results suggest that Ginseng saponins may not directly act on cyclooxygenase but affect on the divergent pathway from endoperoxide.

Keywords □ *Panax ginseng* C.A. Meyer, ginseng saponin, ginsenoside, prostaglandin E₂, F₂, thromboxane B₂, prostacyclin.

서 론

인삼의 효능에 대하여는 오랜동안 다각적 연구가 이루어졌는데 특히 Brehkman 등¹⁾이 인삼 saponin의 adaptogen 활성을 발표한 이후 긍정적인 결과들이 다수 보고되었다. 그 중에서도 심맥관계에 대한 작용,²⁾ 스트레스에 대한 방어작용,³⁾ 항염증 작용,⁴⁾ 조혈작용⁵⁾ 등의 현상들은 생체내 내인성 활성

물질인 prostaglandin류의 생리적 활성과 많은 연관성이 있다. 따라서 인삼내 성분들은 prostaglandin 생합성에 영향을 줄 수 있다고 생각할 수 있으며 그 활성성분을 찾아내는 것은 인삼의 약리작용을 체계적으로 정립하는데 중요한 역할을 할 수 있으리라 생각된다.

이에 본 연구실에서는 prostaglandin류 생합성 과정에 영향을 주는 활성성분을 검색하는 일환으로,

우선 인삼의 총 saponin, panaxadiol, panaxatriol, 3종의 ginsenoside 들의 prostaglandin 류 생합성 효소에 대한 효능을 실험하여 그 연구결과를 보고하고자 한다.

실험방법

1. 실험재료

실험에 사용한 인삼 saponin 으로는 조 saponin 을 동결건조하여 예비실험에 사용하였고 panaxadiol, panaxatriol, Ginsenoside-Rb₁ (G-Rb₁), G-Rb₂, G-Rc, G-Re, G-Rg₁은 한국인삼연구조합 및 생약연구소에서 순수분리 및 확인한 것을 공급받아 사용하였으며 Sodium arachidonate stock solution (1 mM, 10 mM)은 100 mM Tris-HCl buffer (pH 8.0)로 조제한 후 질소 gas 를 5분간 통과시켜 -20°C에 보관하였다. 기타 prostaglandin (이하 PG로 약함) 표준품인 prostaglandin E₂ (PGE₂), prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}), thromboxane B₂ (TXB₂), 6-keto-prostaglandin F_{1α} (6-keto-PGF_{1α})는 1 mg/ml 의 ethanol 용액으로 -20°C에 보관하였으며 5,7,8,9,11,12,14,15-³H(N)-Arachidonic acid (specific activity : 100 Ci/mmol) 은 NEN research products 제품을 사용하였다. Indomethacin, Calcium ionophore A23187, U46619 (9,11-methanoepoxy prostaglandin H₂) 는 ethanol 에 녹이고 phenylmethylsulfonyl fluoride 는 isopropanol 에 용해 후 각각 50 mM 의 Tris-HCl buffer (pH 7.4)로 희석하여 사용하였다.

2. 실험방법

효소원의 조제: 효소원으로는 PG 생합성효소의 분포가 조직특이성을 가지고 있기 때문에 토끼 신장 microsome (이하 RKM 으로 약함), 소 대동맥 microsome (BAM), 사람 혈소판 균질액 (HPH) 을 사용하였다. 토끼의 신장 및 소의 대동맥은 Krebs-Hensleit buffer 에서 결체조직 및 지방을 제거한 후, polytron 을 써서 균질화하고 microsome 조제는 Morrison⁹⁾ 등의 방법에 따라 9000×g 에서 20분간 원심분리 후 4겹의 gauze 로 여과하여 상층액을 취한 다음, 100,000×g 에서 60 분간 초원심분리하여 microsome pellet 을 얻었다.

이 pellet 을 다시 조직 wet weight 의 1/4 에 해당하는 buffer (50 mM, Tris-HCl, pH 7.4)에 재현탁시켜 -20°C에 보관하였다. 위의 모든 조작은 4°C에서 행하였으며 단백질 정량은 Lowry 등⁷⁾의 방법에 의거하였다. 사람 혈소판 균질액은 Michael Haurand 등⁸⁾과 S. Hammarström⁹⁾의 방법에 따라 건강한 남성지원자로부터 혈액을 채취하여 citrate 가 처리된 혈액을 180×g 에서 20분간 원심분리 후 상층액 (platelet rich plasma : 이하 PRP 로 약함) 을 다시 4,000×g 에서 20분간 원심분리하여 얻은 pellet 을 10 mM EDTA, 5 mM glucose, 0.1 mM dithiothreitol, 1.15% KCl, 10 mg/l trypsin inhibitor, 4.4 mg/l phenylmethylsulfonyl fluoride 를 함유한 10 mM phosphate buffer (pH 7.0)에 재현탁시켰고 다시 4000×g 에서 20분간 원심분리하여 pellet 을 50 mM Tris-NaCl 을 함유한 20% (v/v) glycerol 을 넣은 후 질소 gas 를 5분간 통과시키고 sonicator (Sonic 300 dismembrator, 1/5-inch probe) 를 사용하여 ice bath 상에서 1분 간격으로 12초씩 약 10회 sonicate 하였다. 그 후 Glass-Teflon homogenizer 를 사용하여 잘 현탁시켜서 HPH 로 사용하였으며, 단백질농도 5 mg/ml 로 조정하여 -20°C에 보관하였다.

In vitro PG 류 생합성 조건: 일정 단백질농도 (RKM 과 BAM 은 2 mg/ml, HPH 는 0.5 mg/ml) 를 가진 효소계에 실험하고자 하는 약물을 넣고 15분간 37°C에서 반응시킨 후 기질 [³H]-5,7,8,9,11,12,14,15-arachidonic acid 0.5 μCi (최종농도 40 μM, HPH 에서는 0.5 mM) 과 보조인자 hemoglobin 2 μM, tryptophan 5 mM¹⁰⁾ 을 넣어 뚜껑없는 시험관상에서 37°C에서 30분간 효소반응을 시켰다. HPH 에서는 반응유도체로서 calcium ionophore 인 A23187 (2 μM)¹¹⁾ 을 추가하여 반응시켰다.

Arachidonic acid 와 그 대사산물들의 측정: 각 효소반응계에 30 μM citric acid (pH 3.5) 로 효소반응을 종료시키고 2 용량의 ethylacetate 로 추출 후 vacuum dry oven 으로 organic layer 를 날려 보내고 남은 잔사를 CHCl₃ : Methanol (2 : 1) 에 용해시켜 silica gel G-60 glass plate 에 TLC 하였다. 용매 ethylacetate : acetic acid : isooctane : water = 11 : 2 : 5 : 10 에서 전개시킨 후 10% phosphomolybdic acid-ethanol 용액을 지시약으로

spot 를 확인하고, ¹²⁾ 표준품과 일치하는 spot 의 방사능을 toluene base cocktail (toluene 667 ml, Triton X-100 333 ml, PPO 5.5g, dimethyl POPOP 0.2g)에서 liquid scintillation counter (Nuclear Enterprise 8313)로 측정하였다. 각 PG 의 생성률 (cpm)은 다시 전 lane 에 대한 각 spot 의 방사능 %로 환산하여 각 대사산물 및 미반응의 arachidonic acid 의 양을 비교하였다.

혈소판 응집 반응 시험: 혈소판 응집 시험은 Feinman 등¹³⁾의 방법에 따라 platelet aggregometer (Chrono-Log Corp.)를 이용하여 혈액채취 후 2 시간 이내에 실시하였다. 약물을 37°C에서 15분간 전처리한 platelet rich plasma (PRP: 300,000 platelet/ml)에 혈소판 응집 유도제 (ADP 10 μM, sodium arachidonate 0.5 μM, U46619 0.5 μM)¹⁴⁾를 첨가 후, 5분간의 혈소판 응집을 관찰하였다. 즉, PRP 의 광투과도를 0%, platelet poor plasma (PPP)의 광투과도를 100%로 하여 반응 후 나타나는 최대의 광투과도를 혈소판 응집의 척도로 삼았다. 이 때 PPP 는 PRP 를 얻고난 나머지 혈액을 3000×g에서 20분간 4°C에서 원심분리하여 얻었으며 이를 PRP 에 첨가하여 일정 platelet 수를 유지시켰고 혈소판 농도는 platelet counter (TOA-PL 100)를 이용하여 sysmey TM system 으로 측정하였다.

Malondialdehyde 측정방법: 혈소판 수 6×10^5 /ml 의 HPH 에 약물을 37°C에서 15분간 전처리 후 0.5 mM arachidonic acid 를 넣어 반응시켜 생성되는 malondialdehyde (MDA) 양을 Clerk 등¹⁵⁾의 방법을 이용하여 측정하였다. 즉, 반응액 0.5 ml 에 1 ml 의 냉 10% trichloroacetic acid 를 넣고 12,000 rpm 에서 2 분간 원심분리하여 얻은 1 ml 의 상등액에 1% thiobarbituric acid (pH 7.0) 0.5 ml 과 100°C에서 10분간 반응시킨 후 방냉하여 535 nm 에서 흡광도를 측정하고 이를 1×10^5 혈소판량에 대한 MDA 생성 μM 로 표시하였다.

통계적 분석: 실험결과와 유의성 검정은 Student's t-test 및 ANOVA 를 이용하였다.

실험결과

1. 각 효소원에서 [³H]-arachidonic acid 의 대

사율 비교

외부에서 기질로 넣어 준 [³H]-arachidonic acid 에 대하여 모든 효소원 (RKM, BAM, HPH)에서 공히 PGE₂, PGF_{2α}, TXB₂ 및 6-keto-PGF_{1α}를 모두 생성하였는데 특히 RKM에서는 PGE₂ 및 PGF_{2α}의 생성이, HPH에서는 TXA₂의 비효소적 분해산물인 TXB₂의 생성이, BAM에서는 prostacyclin의 분해산물인 6-keto-PGF_{1α}의 생성이 우세함을 확인하였다 (Table 1).

2. Cyclooxygenase를 통한 총 PG류 생성에 대한 인삼 saponin의 효과

각 효소계에서 외부에서 넣어준 기질 arachidonic acid 에 대한 총 cyclooxygenase 생성물 (PGE₂ + PGF_{2α} + TXB₂ + 6-keto-PGF_{1α})의 양은 panaxadiol, panaxatriol, G-Rb₂, G-Rc, G-Re 를 각각 500 μg/ml 씩 전처리시 RKM, BAM 및 HPH 모두에서 대조군에 비해 유의성이 없었다 (Table 2). 아울러 HPH 에서 sodium arachidonic acid 에 의한 MDA 생성은 G-Rb₂, G-Rc 및 G-Re 처치군은 대조군에 비하여 유의성 있는 변화

Table 1. Conversion characteristics of [³H] AA by RKM, BAM, and HPH

Enzyme Products	cpm source*	Percent (×10 ³ , M±S.D.)	converted (M±S.D.)	n
PGE ₂	RKM	9.2±1.0	5.9±0.7	11
	BAM	4.7±1.1	2.9±0.6	6
	HPH	7.7±1.0	5.1±0.8	15
PGF ₂	RKM	10.8±0.8	7.0±0.7	11
	BAM	5.0±1.0	3.1±0.6	6
	HPH	4.4±0.7	3.1±0.5	13
TXB ₂	RKM	4.1±1.0	2.7±0.6	5
	BAM	3.3±0.6	2.0±0.4	6
	HPH	14.2±6.0	9.7±3.8	15
6-Keto-PGF ₁	RKM	4.8±1.1	3.1±0.8	11
	BAM	14.2±4.0	8.7±2.6	6
	HPH	9.0±1.1	6.3±0.8	15

*RKM: Rabbit kidney microsomal, 2±0.2 mg protein.

BAM: Bovine aortic microsomal, 2±0.2 mg protein.

HPH: Human platelet homogenate, 0.5±0.1 mg protein.

* Substrate is 0.5 μCi of [³H] AA (final conc., 40 μM) in RKM and BAM, whereas 0.5 μCi of [³H] AA (0.5 mM) in HPH.

Table 2. Effects of ginseng saponin on the formation of total PGs by cyclooxygenase

Compound	Level of total PGs* (% M ± S.D.)		
	RKM	BAM	HPH
Control	18.7 ± 2.1	16.7 ± 1.8	23.2 ± 2.5
Panaxadiol 500 μg/ml	15.7 ± 4.2	20.2 ± 2.4	22.4 ± 2.7
Panaxatriol 500 μg/ml	15.6 ± 4.0	17.8 ± 2.2	22.6 ± 3.0
G-Rb ₂ 500 μg/ml	16.9 ± 2.0	17.4 ± 2.0	19.4 ± 2.1
G-Rc 500 μg/ml	19.1 ± 1.7	20.4 ± 2.6	17.1 ± 2.5
G-Re 500 μg/ml	20.7 ± 2.1	18.9 ± 1.6	21.6 ± 2.2

*Data were presented as percent of products formed from [³H]-AA.

Table 3. Malondialdehyde contents of human platelets produced by sodium arachidonate (0.5 mM)

Compound	Malondialdehyde	
	(μM/10 ⁹ platelet/30 min)	% of control
Control	5.0 ± 1.0	100
Epinephrine 5 mM	7.0 ± 1.2	140.7 ± 10.1
Indomethacin 40 μM	1.3 ± 0.1	26.2 ± 3.4
G-Rb ₂ 500 μg/ml	5.1 ± 0.7	102.4 ± 9.1
G-Rc 500 μg/ml	5.6 ± 0.8	113.3 ± 8.1
G-Re 500 μg/ml	5.3 ± 0.6	107.1 ± 7.8

를 보이지 않았으나 epinephrine 처치군에서 유의성 있게 증가되었고 indomethacin 처치군에서는 현저하게 억제되었음을 볼 수 있다(Table 3).

3. 인삼 saponin 성분이 각 PG 류 생성량에 미치는 영향

미량 비교에 의한 실험오차를 최소화하기 위해 PGE₂ 및 PGF_{2α}의 생성량은 RKM에서의 실험치료를, 6-keto-PGF_{1α}의 생성은 BAM에서, TXB₂의 생성은 HPH에서의 실험값을 채택하여 각 PG 합성량을 대조군과 비교하였다.

Panaxadiol과 panaxatriol 각각 500 μg/ml은 PGE₂ 생성량에 거의 변화를 주지 않았다(Fig.1). 그러나 PGF_{2α}의 생성에 대하여 각기 25.3, 30.0%의 억제로 유의한 차이를 보여 주었으며 TXB₂에 대한 생성은 각각 30.0, 34.2%의 억제 양상을 보이는 한편 6-keto-PGF_{1α}에 대하여는 각각 34.6, 24.1%의 현저한 증가를 가져왔다. 이와 같이 혼합물 상태의

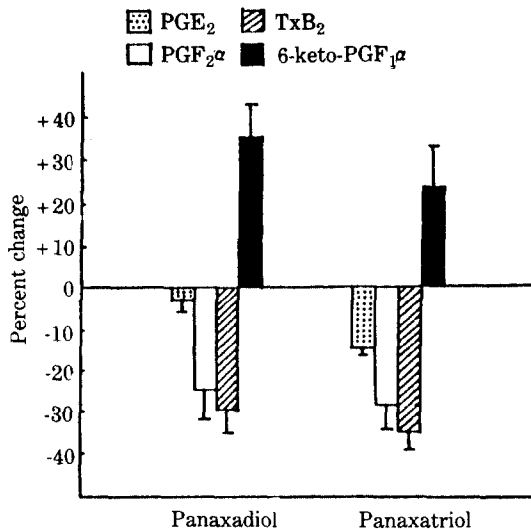


Fig. 1. Effects of panaxadiol and panaxatriol (5 × 10⁻⁴ g/ml) on the formation of PGs.

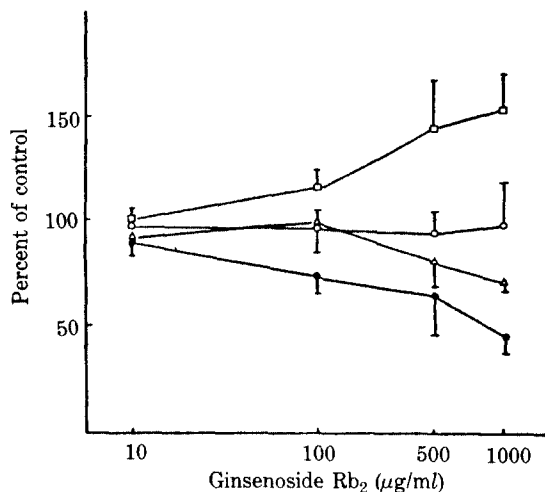


Fig. 2. Effect of G-Rb₂ on the formation of PGs (n=5). (○) PGE₂; (△) PGF₂; (●) TxB₂; (□) 6-keto-PGF₁

panaxadiol 및 panaxatriol의 전체적 효과는 cyclooxygenase 억제제는 아니며 각 PG 류의 생성 분포율을 변화시킴을 확인하였다.

G-Rb₂, G-Rc, G-Re 농도에 따른 PG 류 생성률을 대조군에 대한 %로 표시 비교하였다(Fig.2-4). PGE₂ 생성에 대하여 G-Rb₂, Rc, Re 모두 유의적 차이를 보이지 않으나 PGF_{2α}의 생성에 대하여는 G-Rb₂와 G-Rc의 경우 100 μg/ml~1 mg/ml 농

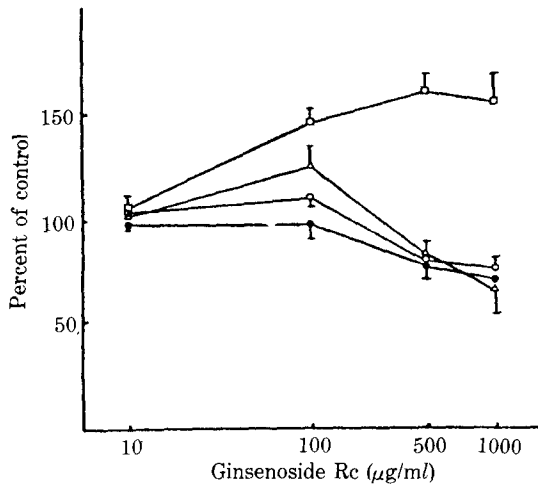


Fig. 3. Effect of G-Re on the formation of PGs (n=5). (○) PGE₂; (△) PGF₂; (●) TxB₂; (□) 6-keto-PGF₁

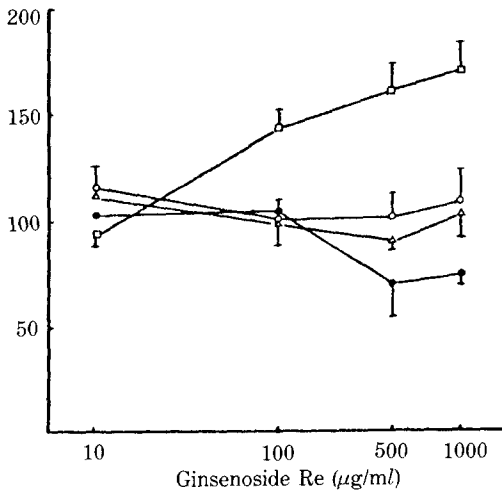


Fig. 4. Effect of G-Re on the formation of PGs (n=5). (○) PGE₂; (△) PGF₂; (●) TxB₂; (□) 6-keto-PGF₁

도에서 농도의존적으로 억제하였으나 G-Re는 별 영향을 주지 않았다. 이에 반해 세 ginsenoside 모두 HPH에서 TXB₂ 생성억제와 함께 BAM에서 6-keto-PGF_{1α}의 생성증가를 보여 주었는데 그 중 TXA₂ 생성억제 효과는 G-Rb₂가 가장 강력하였고 prostacyclin 생성증가효과는 G-Re에서 가장 두드러져(p<0.01) 500 µg/ml 농도에서 최대효과를 나타내었다.

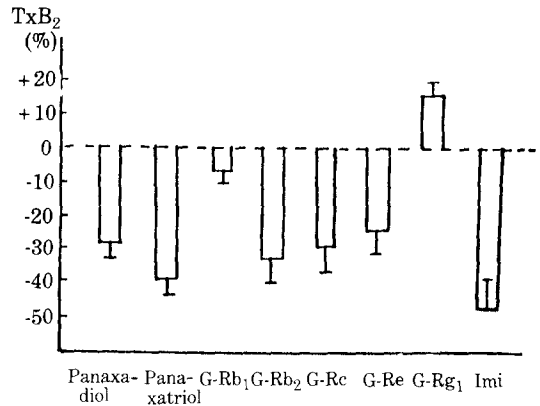


Fig. 5. Effects of ginseng saponins (500 µg/ml) on the formation TXB₂ in HPH as compared with imidazole (5 mM).

4. TXA₂ Synthetase에 대한 ginsenosides의 효과

HPH(단백농도 1 mg)에서 ginsenoside류를 500 µg/ml 전처리 후 TXB₂의 생성량을 TXA₂ synthetase에 대한 선택적 억제제인 imidazole 5 mM의 효과와 비교하였더니(Fig.5), imidazole은 농도에 비례하여 TXB₂ 생성을 감소시켰으며 ginsenoside를 같이 전처리지 TXB₂ 생성감소 효과는 상대적으로 나타났다.

5. ADP 및 arachidonic acid로 유도한 혈소판 응집에 대한 ginsenoside류의 효과

TXA₂ 생성감소 효과와 혈소판 기능을 연관시켜 확인하고자 혈소판 응집시험을 시행하였다. PRP(혈소판 수, 3-3.5×10⁸/ml)에 약물을 15분간 37°C에서 전처리 후 혈소판 응집을 유도하였을 때(Table 4), thromboxane synthetase 억제제인 imidazole(5 mM)은 ADP로 인한 혈소판 응집의 2차 wave를 없애는 정도이나 arachidonic acid로 유도된 혈소판 응집은 약 80% 억제하였다. Cyclooxygenase 억제제인 indomethacin(40 µM) 역시 ADP에 의한 혈소판 응집 중 2차 wave를 억제하였고 arachidonic acid로 인한 혈소판 응집을 약 60% 억제하였다. 이에 비해 실험에 사용한 인삼 saponin들은 ADP로 유도된 혈소판 응집에는 거의 영향을 주지 않았으나 arachidonic acid로 유도된 혈소판 응집에 있어서는 모두 농도에 비례적으로 유의적인 억제 현상을 나타내었다. 특히 500 µg/

Table 4. Effects of some ginsenosides on human platelet aggregation induced by ADP and sodium arachidonate

Compound	Percent light transmission (M ± S.D.) ^{a)}	
	ADP (10 uM)	AA-Na (1 mM)
Control	77.5 ± 2.9	74.0 ± 5.0
Imidazole 5 mM	64.6 ± 4.8	15.6 ± 3.1*
Indomethacin 40 uM	51.3 ± 4.1*	26.3 ± 5.2*
Panaxadiol 0.5 mg/ml	74.4 ± 3.5	17.5 ± 3.3*
Panaxatriol 0.5 mg/ml	78.8 ± 5.9	21.3 ± 6.8*
G-Rb ₁ 0.5 mg/ml	71.3 ± 4.7	71.9 ± 5.9
G-Rb ₂ 0.5 mg/ml	74.4 ± 5.8	18.1 ± 5.1*
G-Rc 0.5 mg/ml	78.1 ± 4.5	16.3 ± 4.8*
G-Re 0.5 mg/ml	74.3 ± 3.6	36.3 ± 9.7*
G-Rg ₁ 0.5 mg/ml	70.0 ± 5.7	14.4 ± 4.5*

a) n = 5

*; p < 0.01.

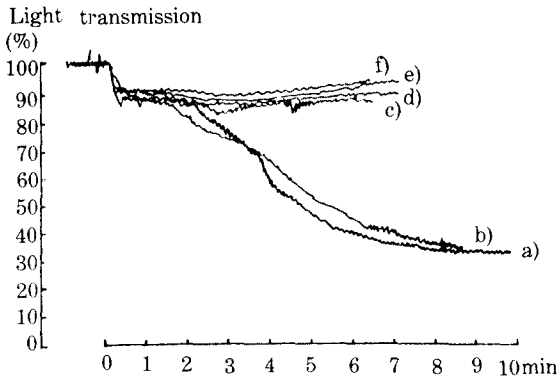


Fig. 6. Effect of ginsenosides on platelet aggregation induced by u46619 (0.5 μM, a). (b) G-Rb₁ (c) G-Rb₂ (d) G-Rc (e) G-Rc (f) G-Rg₁, 0.5 mg/ml.

m/ 농도에서 G-Rb₂, G-Rc, G-Re 의 혈소판 응집 정도는 각각 76.5, 78.1, 51.1%로서 TXB₂ 생성감소 양상과 유사하였다. 또한, TXA₂ 유사약인 U46619 (9,11-methanoepoxy PGH₂) 0.5 μM 을 혈소판 응집 유도체로 사용한 실험 (Fig.6)에서도 arachidonic acid로 유도한 혈소판 응집시험 결과와 같은 양상을 나타내 혈소판 응집억제작용이 TXA₂ synthetase 에 대한 작용임을 알 수 있었다.

Table 5. Combination effects of serotonin and ginsenosides on the production of prostacyclin in BAM

Compound	Percent of 6-keto-PGF ₁ Production	
	Percent of control	
Control	8.7 ± 1.0	100
Serotonin 10 μM	12.1 ± 1.5	130.8 ± 15.0
Serotonin 30 μM	18.4 ± 1.7	211.2 ± 20.1
G-Rb ₂ 5 × 10 ⁻⁴ g/ml	11.0 ± 1.8	120.8 ± 19.3
G-Rc 5 × 10 ⁻⁴ g/ml	13.9 ± 2.0	159.4 ± 21.8
G-Re 5 × 10 ⁻⁴ g/ml	14.0 ± 1.7	160.7 ± 18.1
Serotonin 10 uM + G-Rb ₂ 5 × 10 ⁻⁴ g/ml + G-Rc	18.4 ± 2.1*	211.2 ± 25.3
5 × 10 ⁻⁴ g/ml + G-Re	17.6 ± 2.0*	201.8 ± 24.7
5 × 10 ⁻⁴ g/ml	20.6 ± 2.4*	236.2 ± 28.4

*; p < 0.01 as compared with the effect of ginsenosides only

Table 6. Effects of ginsenosides on the biosynthesis of prostacyclin in the presence of tranylcypromine in BAM

Compound pretreated	Percent of 6-keto-PGF ₁ production ^{a)}
Tranylcypromine	
0	8.7 (100 %)
0.1 mM	8.5 (97.1%)
1 mM	7.2 (82.5%)
5 mM	4.0 (45.3%)
10 mM	2.7 (30.4%)
Tranylcypromine + G-Rb ₂	
5 × 10 ⁻⁴ g/ml + G-Rc	6.8 (78.2%)
5 × 10 ⁻⁴ g/ml + G-Re	8.6 (98.3%)
5 × 10 ⁻⁴ g/ml	8.8 (101.3%)

a) Each data were expressed as means of 5 experiments

b) () represents percent of control.

6. Prostacyclin synthetase 에 대한 ginsenoside 류의 효과

BAM (단백농도, 2mg/ml)에 5-hydroxytryptamine (serotonin)을 전처리 후 6-keto-PGF_{1α}의 생성은 농도의존적으로 증가하였다. 또한 ser-

otonin $10 \mu\text{M}$ 과 ginsenoside 를 각각 $500 \mu\text{g}/\text{ml}$ 씩 같이 전처리하였을 때 얻는 6-keto-PGF_{1 α} 의 생성증가율(+100~138%)은 serotonin($10 \mu\text{M}$) 단독 처치시의 생성증가율(+26~61%)에 비해 훨씬 크게 나타나(Talbe 5) 상승작용이 있으리라 생각되며 prostacyclin synthetase 에만 작용하는 것이 아닐 가능성을 제시해 주었다. 또한 prostacyclin synthetase 에 대한 선택적 억제제인 tranilcypromine 은 BAM 에서 농도의존적으로 6-keto-PGF_{1 α} 의 생성을 저하시켰는데 약 50%의 생성 억제 효과를 나타내는 농도인 tranilcypromine 5mM 과 ginsenoside 를 혼합하여 전처리시에는 특히 G-Rc 및 G-Re 처치군에서 prostacyclin 의 생성량을 거의 정상으로 회복시켰다(Table 6).

고 찰

인삼 saponin 성분 중 protopanaxadiol 계 saponin 인 G-Rb₂, G-Rc 는 TXB₂의 생성을 감소시키는 반면 prostacyclin 의 생성을 증가시켰다. 아울러 protopanaxatriol 계 saponin 인 G-Re 는 prostacyclin 의 생성증가 효과가 강하였으며 기타 PGE₂ 및 PGF_{2 α} 에 대한 작용은 약하였다. 이와 같이 인삼 성분이 PG 생합성량을 변화시켰다는 사실은 인삼의 여러가지 약리적 효능을 설명하는데 PG 의 관련성을 시사하는 증거라 생각되었다.

Cyclooxygenase 활성을 측정하는 방법으로는 cyclooxygenase 작용시 보조인자인 산소소모율을 측정¹⁶⁾하거나 arachidonic acid 에서 cyclooxygenase 에 의해 생성되는 1 차 중간대사물질인 PGH₂ 및 PGG₂의 양을 측정¹⁷⁾하거나 또는 arachidonic acid 로부터 지질과산화작용에 의해 생성되는 Aldehyde 인 MDA 의 양을 측정¹⁵⁾하는 방법이 있다. 그러나 본 실험에서는 oxygen electrode 의 사용이 불가능할 뿐 아니라, 중간대사산물인 endoperoxide 는 매우 불안정하여 표준품 자체도 실험실내 조제 및 순수분리, 확인과정을 거쳐야 하는 어려운 점 때문에 A. Erman 등¹⁸⁾의 실험에서와 같이 MDA 양의 측정과 아울러 총 PG 생성량을 비교하였다. Cyclooxygenase 억제제와는 달리 panaxadiol 및

panaxatriol, 실험에 사용한 ginsenoside 들은 모두 MDA 생성 및 총 PG 류 생성에 변화를 주지 않는 점으로 미루어 cyclooxygenase 에는 영향이 없다고 생각된다.

인삼 saponin 의 맥관계에 대한 효과에 대하여는 β -adrenergic receptor 의 활성화에 의할 것이라는 주장이 있으나 혈관계 생리와 지질대사와는 불가분의 관계에 있으므로 PG 류의 영향을 무시할 수 없는 형편에 있다. 왜냐하면 PGE₂는 혈관확장작용, PGF_{2 α} 는 혈관수축작용이 있는데 catecholamine 은 PGE₂ 생합성을 촉진시키고 PGE₂ 생합성에 조절인자로서 renin 뿐 아니라 Na⁺농도 및 삼투압 외에도 peptide hormone 들이 관계함이 보고되어¹⁹⁾ 있어 혈압의 변동 및 지질대사 혈관의 수축 이완작용이 연관성을 갖고 있음을 알 수 있다. 이와 같은 복잡한 연결성이 바로 인삼 saponin 의 맥관계에 대한 효과를 대변해 줄 수 있으리라 예상하였으나, 실험에 사용한 모든 saponin 성분들이 PGE₂ 및 PGF_{2 α} 생합성에 대하여는 큰 영향을 주지 못한 반면, 정도의 차이는 있으나 TXA₂ 생성감소와 아울러 prostacyclin 생성증가를 가져 왔다. TXA₂는 혈관수축작용 외에 혈소판 응집작용이 있으며 prostacyclin 은 혈관확장작용 외에도 혈소판 응집 억제작용과 아울러 혈소판에서 세포보호작용이 있어 혈관계의 균형을 이루고 있다. TXA₂ synthetase 억제작용을 나타내는 약물은 혈소판 응집억제작용을 통해 항혈전제(antithrombotic agent)로서의 활용 가치가 높다.

실제로 TXA₂ synthetase 에 대한 선택적인 억제제로는²⁰⁾ imidazole 외에 imidazole 유도체로서 OKY 1581[sodium (E)-3-[4-(3-pyridylmethyl)-phenyl]-2-methacrylate], 4-[2-(1H-imidazol-1-yl)ethoxy]-benzoic acid hydrochloride(UK-37248, Dazoxiben), CGS 12970[3-methyl-2-(3-pyridyl)-1-indoleoctanoic acid], SQ 29, 548 [1S-[1,2(5Z),3 β ,4]]-7-[3-[[2-[(phenylamino)carbonyl]hydrazino]methyl]-7-oxabicyclo[2,2,1]hept-2-yl]-5-heptenoic acid 등이 있다. 그런데 imidazole 은 TXA₂ 생성억제와 함께 현저한 PGE₂ 생성증가를 보이는데 비해 사용한 ginsenoside 들은 PGE₂의 상보적인 증가는 보이지 않는 반면

prostacyclin 생성의 증가를 나타내었는데 이는 TXA₂ synthetase 억제제 중 dazoxiben에서도 같은 결과를 보였다. 한편, ginsenoside들의 TXB₂ 생성을 억제시키는 강도와 prostacyclin 생성증가효과가 평행 관계를 보이지 않아 TXA₂ synthetase에 대한 직접적인 억제제라고 단정할 수 없는 형편이었으므로 TXA₂ 유사약인 U46619¹⁴⁾에 의해 유도되는 혈소판 응집반응시험을 시행하였다. U46619로 유도된 혈소판 응집에 대하여 각각의 ginsenoside들은 arachidonic acid로 유도된 혈소판응집시험과 같은 결과를 나타내었으므로 작용함을 확인하였다.

Ginsenoside들의 prostacyclin 생성증가 작용은 TXA₂ 생성억제 작용과 산술적 상보관계에 있지 않고 prostacyclin synthetase를 자극하는 다른 약물들²¹⁾ 즉 suloctidil (10 μM), Dipyridamole (1-100 μM)과 유사한 경향을 보이고 있어 TXA₂ synthetase 억제작용 외에도 다른 prostacyclin 생성유도 기전이 있으리라 가정하고, 우선 prostacyclin synthetase에 대한 agonist 작용을 정검하였다. Prostacyclin synthetase 억제제로 보고된 tranlycypromine 5 mM²²⁾로 prostacyclin synthetase가 억제된 반응계에서 각각의 ginsenoside는 prostacyclin 생성을 회복시켰는데 그 중 G-Re만이 tranlycypromine에 대하여 비상경적 억제반응을 나타내었다. PGI₂ 및 그 유사체들은 사람 혈소판에서 세포보호 효과를 가지므로 상기 작용의 중요성은 더욱 가중된다.

이상과 같이 G-Rb₂, G-Rc, G-Re는 arachidonic acid로부터 cyclooxygenase를 통해 생성된 endoperoxide로부터 각각의 생합성 효소를 통한 생합성 과정 특히, TXA₂ synthetase 및 prostacyclin synthetase에 작용하리라고 사료된다.

요 약

인삼 성분이 prostaglandin 등 arachidonic acid 대사산물 생성에 미치는 영향을 실험함으로써 인삼의 약리학적 작용기전을 간접적으로 모색하였다. 즉, [³H]-arachidonic acid를 기질로 넣어주

고 토끼 신장 microsome, 소의 대동맥 microsome, 정상 성인의 혈소판 homogenate 등을 효소원으로 한 *in vitro* 생합성 과정에 변화를 주는 수종 인삼 saponin 성분의 효과를 검정하였다. 실험에 사용한 인삼 saponin 성분은 panaxadiol, panaxatriol 및 protopanaxadiol계 saponin류인 Ginsenoside Rb₂ (G-Rb₂), Ginsenoside Rc (G-Rc) 및 protopanaxatriol계 saponin류인 Ginsenoside Re (G-Re)이었다.

1. Arachidonic acid로부터 생성된 총 cyclooxygenase 반응생성물 및 malondialdehyde의 양은 실험에 사용한 인삼 saponin 성분의 전 농도 범위에서 유의적인 변화를 보이지 않았는데 이는 인삼 saponin 성분들은 cyclooxygenase에 직접 작용하지 않는다는 것을 설명해 준다.

2. Panaxdiol (500 μg/ml)은 PGE₂ 생성에는 영향이 없으나 PGF₂ 및 TXB₂의 생성을 감소시켰으며 동시에 6-keto-PGF_{1α}의 생성은 증가시켰다. Panaxatriol도 유사한 양상을 보였다.

3. G-Rb₂, Rc, Re에 의해 TXB₂의 생성은 농도의존적으로 감소하였으나 6-keto-PGF_{1α}의 생성은 유의적으로 증가하였다. 또한 arachidonic acid와 TXA₂ 유사제인 U46619 (9,11-methanoepoxy PGH₂)로 유도한 혈소판 응집 현상은 세 ginsenoside에 의해 억제되었다. G-Re의 6-keto-PGF_{1α} 생성증가 효과는 prostacyclin 합성효소억제에 의해 길항하였다.

이상의 결과와 같이 인삼 saponin 성분들은 arachidonic acid로부터 cyclooxygenase를 통해 일단 생성된 endoperoxide에서 각각의 prostaglandin을 생성하는 효소, 특히 G-Rb₂는 TXA₂ synthetase에 강력한 억제제로, G-Re는 prostacyclin 생합성에 촉진제로 실험관계 균형에 기여하리라 생각된다.

인용문헌

1. Brehman, I.I. and Dardymov, I.I.: *Ann. Rev. Pharmacol.*, **9**, 419 (1969).
2. Donald, H., Clifford, D.V.M., Lee, Do Chil, Kim, Chong Yul and Lee, Myung O.: *Comparatives*

- Medicine East and West*, **7**(3), 253 (1978).
3. Bittles, A.H., *et al.*: *Gerontology*, **25**, 125 (1979).
 4. Otsuka, *et al.*: *Yakanyaku Zusshi*, **101**(12), 1113 (1981).
 5. Yamamoto, *et al.*: *Proceedings of the 1st International Ginseng Symposium*, 129 (1974).
 6. Morrison, A.R., *et al.*: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **205**(1), 1 (1978).
 7. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951).
 8. Haurand, M., *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **260**(28), 15059 (1985).
 9. Hammarstrom, S., *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **74**(9), 3691 (1977).
 10. Needleman, P., *et al.*: *Ann. Rev. Biochem.*, **55**, 69 (1986).
 11. Lawrene: *Biochem. Pharmacol.*, **32**(20), 3023 (1983).
 12. Dyerberg, J. and Bang, H.O.: *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **40**, 589 (1980).
 13. Feinman, R.D., *et al.*: *J. Lab. Clin. Med.*, **90**, 125 (1977).
 14. Nicolaou, K.C. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**(6), 2566 (1979).
 15. Clerk, F.D. and van Neuten, J.M.: *Biochem. Pharmacol.*, **32**(5), 765-771 (1983).
 16. Yoshimoto, T., *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **252**(16), 5871 (1977).
 17. Hamberg, M., *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **71**(9), 3400 (1974).
 18. Erman, A., *et al.*: *Biochem. Pharmacol.*, **33**(1), 79 (1984).
 19. Wuthrich, R.P., *et al.*: *Biochem. Pharmacol.*, **35**(14), 2297 (1986).
 20. Ogletree, M.L., *et al.*: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **234**(2), 405 (1985).
 21. Boeynaems, J.M., *et al.*: *Prostaglandins*, **32**(1), 145 (1986).
 22. Suchen, L. Hong, *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **255**(20), 9538 (1980).