

血清脂質의 光酸化反應에 미치는 人蔘抽出物の 影響

백태홍·천현자·강병수·홍정태*

漢陽大學校 自然科學大學 化學科

*韓一人蔘製品 株式會社

(1989년 10월 7일 접수)

The Effect of Ginseng Extracts on Photooxidation in Serum Lipid

Tai Hong Paik, Hyun Ja Chun, Byung Soo Kang and Jeong Tai Hong*

Department of Chemistry, College of Natural Sciences, Hanyang University, Seoul 133-791

*Hanil Ginseng Manufacturing Co., Korea

(Received October 7, 1989)

Abstract□ In the presence of a photosensitizer, rose bengal, photooxidation in serum total lipids has been studied and the effects of ginseng water extract and saponins on it have reviewed. In the presence of rose bengal, serum total lipids undergo photooxidation and produce lipid hydroperoxides. On the other hand, ginseng water extract and diol saponins largely inhibit photooxidation and decrease the amount of lipid hydroperoxides in serum total lipids.

Keywords□ *Panax ginseng* C.A. Meyer, photosensitizer, rose bengal, photooxidation lipid hydroperoxide, serum lipid

서 론

생체내에서의 지질 과산화반응은 노화현상이나 동맥경화 등 여러가지 퇴행성 변화를 수반하는 각종 질병과 관련이 있어 많은 관심의 대상이 되고 있으며, 또한 과산화지질이 갖는 생리적 작용이 밝혀지고 임상적인 중요성이 인식됨에 따라 생체내에서의 과산화지질 정량은 매우 중요시하게 되었다.¹⁻³⁾

특히, 혈액내의 lipid hydroperoxide 양은 다른 조직이나 장기의 과산화지질의 정도를 반영하며, 혈액의 lipid hydroperoxide는 다른 조직으로 이동되어 래디칼 반응을 일으킬 수 있기 때문에 중요한 임상지표로 대두되고 있다.⁴⁾

혈액 lipid hydroperoxide의 생성으로는 여러가지를 들 수 있으나 그 중 하나로 광증감제에 의한 과산화반응을 생각할 수 있다.^{5,6)} 지질의 과산화반응에 대하여는 많은 보고가 있으나⁷⁻⁹⁾ 혈액 중의 지

질 과산화반응에 대한 연구는 별로 보고된 바가 없다.

따라서, 본 연구에서는 *in vitro*에서 혈청지질의 과산화반응과 인삼 물추출물 및 saponin류가 과산화반응에 미치는 영향을 lipid hydroperoxide 자체를 정량하는 방법인 ferrothiocyanate 법¹⁰⁾으로 검토하였다.

재료 및 방법

1. 혈청에서의 지질의 추출

정상인으로부터 혈액을 채취하고 3000 rpm에서 30분간 원심분리하여 혈청지질을 분리한 후 Bligh-Dyer 법¹¹⁾에 의해 total lipid를 추출하였다. 추출된 total lipid는 건조하여 무게를 잰 후 absolute ethanol에 녹여 사용하였다.

2. 인삼의 추출

인삼의 물추출물: 인삼 분말 100g에 H₂O 500 ml를 가하여 100°C에서 1시간 가열한 후 감압하에서 여과하고, 불용물은 다시 H₂O 300 ml를 가하여 2회 반복 추출하였다.

전 여과액은 3000 rpm에서 10분간 원심분리하고 상층액은 감압하에서 농축하여 freeze dryer (Mitamura Riken Kogyo Inc.)로 건조시켜 분말을 얻었다.

인삼 saponin 류: 급산산 인삼(4년근)을 70, 50 및 30% ethanol로 각각 추출하여 감압 농축한 후 농축물을 물에 녹인 다음 ether로 추출하고 물층을 수포화 n-butanol로 3회 추출하였다. 추출액은 물로 씻은 후 감압 농축하여 total saponin을 얻었다. 이 total saponin을 Han¹²⁾의 방법에 따라 diol계 saponin과 triol계 saponin으로 분획하였다.

HPLC 조건: 인삼 추출물의 total saponin, diol계 saponin 및 triol계 saponin의 HPLC 분석조건은 다음과 같다.

Model	Waters Associates Model ALC 244
Column	Lichrosorb NH ₂ Column, Merk Co.
Detector	Rl detector (Refractometer R401)
Solvent system	Acetonitrile/Water/n-Butanol (80/20/15)
Flow rate	1.5 ml/min.
Injection volume	20 μl

3. 시료의 조제

광증감제인 rose bengal은 1 mM ethanol 용액으로 만든 후 최종농도가 2×10^{-2} mM 되도록 첨가하여 사용하였다. 인삼 추출물은 증류수에 녹여 1% 수용액으로 만든 후 50 μl를 첨가하여 최종농도가 10^{-3} %가 되게 첨가하였으며, d-α-tocopherol은 10^{-2} % ethanol 용액을 만든 후 최종농도가 10^{-4} %가 되게 하였다.

4. 광산화반응

빛이 고루 조사되도록 양면을 평면으로 만든 반응용기에 반응용액 10 ml를 넣은 다음 광원으로는 Video Co. 제 projector에 부착된 300 w tungsten lamp를 사용하였으며, 실내조명과 실온에서 반응용기로부터 30 cm 거리에서 빛을 조사하였다.¹³⁾ 한

편, 광원에서 나오는 UV와 열을 제거하고 초점을 맞추기 위하여 한쪽 면이 볼록렌즈로 되어 있는 수정윤리관에 물을 채워 광원의 초점을 시료에 맞췄다.

5. 지질 과산화물의 측정

lipid hydroperoxide 측정: 혈청 중의 lipid hydroperoxide 양은 ferrothiocyanate 법¹⁰⁾으로 측정하였다. 즉, 시료 0.1 ml에 95% ethanol 4.7 ml를 가하고 30% ammonium thiocyanate 용액 0.1 ml와 3.5% HCl 용액에 녹여 만든 5% Mohr 염 용액 0.1 ml를 가하여 혼합하고 정확히 3분간 방치한 후 10초 이내에 spectronic 20 (Bauch and Lomb Co. 제)로 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Conjugated diene 측정¹⁴⁾: 시료 0.1 ml에 cyclohexane을 가한 즉시 spectrophotometer (Model SP-8-400, Pye Unicam 사)를 사용하여 234 nm에서 흡광도를 측정하였다.

6. 시약

Rose bengal은 Eastman Kodark Co. 제, d-α-tocopherol은 Sigma Co. 제 특급 시약을 사용하였으며, ammonium thiocyanate 및 Mohr 염은 Merk Co. 제를 사용하였고, hexane은 HPLC 용을 사용하였다. 그 밖의 유기용매는 특급 시약을 구입하여 정제하지 않고 사용하였다.

결과 및 고찰

1. 혈청지질의 광산화반응

혈청지질의 ethanol 용액에 광증감제인 rose bengal을 첨가하였을 때와 첨가하지 않았을 때 백색광을 조사시켜 생성된 과산화지질을 ferrothiocyanate 법과 UV 법으로 측정한 결과는 Fig. 1, 2와 같다. Fig. 1, 2에서와 같이 광증감제가 첨가되지 않았을 때 lipid hydroperoxide와 conjugated diene 양은 빛의 조사에 의해 거의 변화되지 않았으나, rose bengal을 첨가했을 때는 빛의 조사 30분 이후부터 lipid hydroperoxide와 conjugated diene의 양은 시간이 경과함에 따라 모두 증가되는 현상을 나타내었다. 따라서, 혈청지질은 광증감제의 존재하에서는 광산화반응이 크게 촉진됨을 알 수 있었다. 이 결과는 광증감제가 존재할 때는 ¹O₂의 생

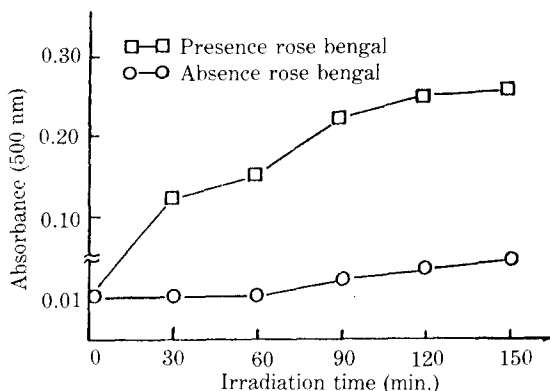


Fig. 1. Change in absorbance on photooxidation in the presence and in the absence of rose bengal. Absorbance according to lipid hydroperoxide was measured at 500 nm by ferrothiocyanate method.

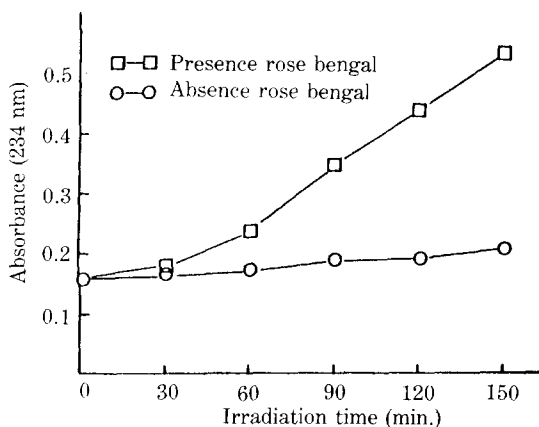


Fig. 2. Change in absorbance on photooxidation in serum total lipid in the presence and in the absence of rose bengal. Absorbance according to conjugated diene was measured at 234 nm by UV method.

성으로 혈청지질은 쉽게 광산화반응을 일으키는 것으로 생각된다.¹⁵⁾ 한편, 과산화지질의 정량법의 하나인 UV 법은 과산화지질의 간접적인 측정법이지만 ferrothiocyanate 법은 lipid hydroperoxide 자체를 직접 정량하는 방법이므로 바람직하다.

2. 인삼 saponin 류의 HPLC chromatogram

본 실험에서 사용한 total saponin과 diol계 saponin 및 triol계 saponin의 HPLC chromatogram은 Fig. 3~5와 같다.

3. 광산화반응에 미치는 인삼 물추출물 및 saponin 류의 영향

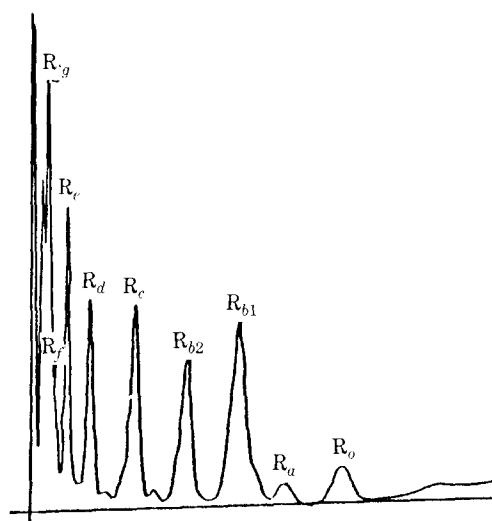


Fig. 3. HPLC chromatogram of total saponin.

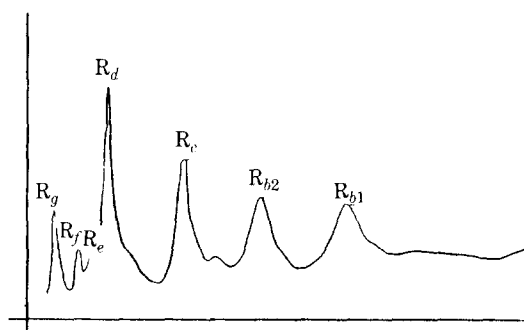


Fig. 4. HPLC chromatogram of protopanaxadiol saponins fractions separated from total saponin.

인삼 물추출물의 영향 : 혈청지질의 광산화반응에 미치는 인삼 물추출물의 영향을 알기 위하여 혈청지질의 ethanol 용액에 인삼 물추출물을 첨가한 후 백색광을 조사하여 흡광도를 측정된 결과는 Table 1과 같다.

Table 1에서 보는 바와 같이 인삼 물추출물을 첨가하였을 때는 첨가하지 않았을 때에 비하여 혈청지질의 광산화반응이 억제됨을 알 수 있었다. 이것은 인삼 물추출물이 광산화반응을 억제시키 혈청지질의 lipid hydroperoxide 양의 생성을 저해시키기 때문인 것으로 생각된다.¹⁶⁾

인삼 saponin 류의 영향 : Total saponin과 diol계 saponin 및 triol계 saponin이 혈청지질의 광산화반응에 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 6과 같다. diol계 saponin을 첨가했을 때는 광산화반

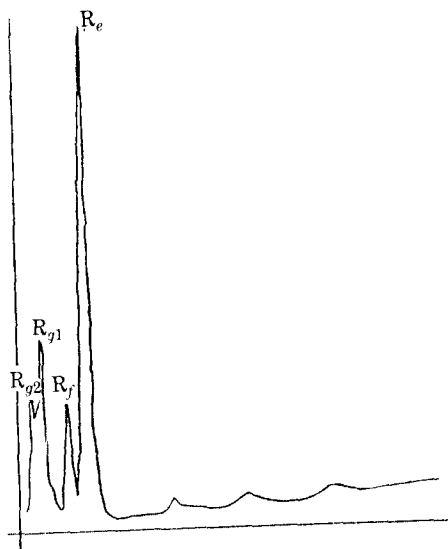


Fig. 5. HPLC chromatogram of protopanaxatriol saponin fractions separated from total saponin.

Table 1. The effect of ginseng water extract on photooxidation in the presence of rose bengal.

Irradiation time (min.)	Ginseng water extract	
	None	Addition
0	0.020	0.020
15	0.088	0.062
30	0.130	0.085
60	0.222	0.180
90	0.350	0.277
120	0.500	0.300

The final concentration of ginseng water extract was 10⁻³% in weight.

Absorbance: refer to Fig. 1.

응의 억제작용이 나타났다.

그러나 triol 계 saponin 은 오히려 광산화반응을 촉진시키는 경향을 나타내고 있었다.

이와 같이 diol 계 saponin 이 광산화반응을 억제하고 triol 계 saponin 이 촉진하는 경향을 나타내는 이유는 알 수 없었다.

Total saponin 이 광산화반응에 별 영향을 미치지 않는 것은 diol 계 saponin 과 triol 계 saponin 이 공존하므로 양쪽의 상반작용에 기인하는 것으로 생각된다.

한편, 인삼 추출물 및 인삼 saponin 류를 첨가하여

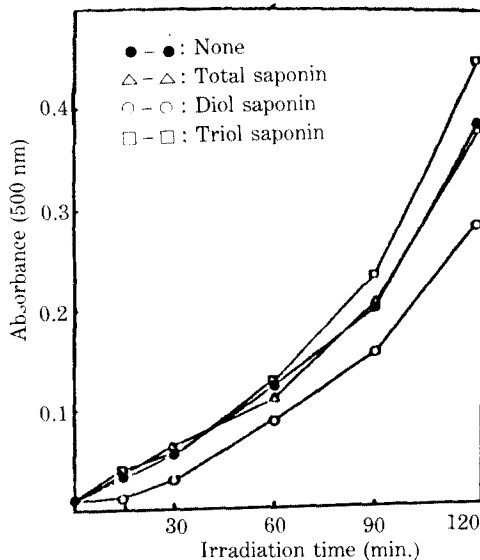


Fig. 6. The effects of ginseng total, diol, and triol saponins in the presence of rose bengal according to irradiation time.

Table 2. The effect of ginseng water extract and saponins on photooxidation in the presence of rose bengal.

Treatment	Absorbance	Relative ratio
None	0.123	100
Water extract	0.102	83
Total saponin	0.112	91
Diol saponin	0.095	77
Triol saponin	0.128	104

Relative ratio was defined assuming that of none being 100. Each final concentration was 10⁻³% in weight.

Absorbance: refer to Fig. 1.

1시간 동안 광조사시킨 후 흡광도를 측정하여 상대적인 비로 나타낸 결과는 Table 2와 같다.

4. 광산화반응에 미치는 인삼 물추출물과 d-α-tocopherol 의 비교

인삼 물추출물이 혈청지질의 광산화반응에 미치는 억제작용을 ¹O₂와 free radical 의 quencher 인 항산화제로 알려져 있는 d-α-tocopherol 의 작용과 비교하기 위하여 혈청지질의 ethanol 용액에 인삼 물추출물(최종농도 10⁻³%)과 d-α-tocopherol(최종농도 10⁻⁴%)을 각각 첨가한 후 1시간 동안 광조

Table 3. The effect of ginseng water extract and d-tocopherol on photooxidation in presence of rose bengal.

Treatment	Absorbance	Relative ratio
None	0.122	100
Ginseng water extract	0.094	77
d-tocopherol	0.100	81

Relative ratio was defined assuming that of none being 100. The final concentration of ginseng water extract was 10⁻³% in weight. The final concentration of d-tocopherol was 10⁻⁴% in weight.

Absorbance: refer to Fig. 1.

사시킨 결과는 Table 3과 같다. Table 3에서와 같이 인삼 물추출물의 경우에는 23%의 억제효과를 나타낸 데 비하여 d- α -tocopherol은 19%의 억제효과를 나타내었다. 이것은 인삼 물추출물이 'O₂와 free radical quencher의 항산화제로 작용함으로써 혈청지질의 lipid hydroperoxide의 생성을 억제시키는 것으로 생각된다.

요 약

광증감제인 rose bengal의 존재하에서 혈청지질의 광산화반응 및 인삼 물추출물과 saponin류의 광산화반응에 미치는 영향을 검토한 결과는 다음과 같다.

혈청지질은 rose bengal의 존재하에서 광산화반응을 일으켜 lipid hydroperoxide를 생성하였다.

한편, 인삼 물추출물 및 diol계 saponin은 광산화반응을 크게 억제하여 혈청지질의 lipid hydroperoxide 양의 생성을 저해시켰다.

인용문헌

1. Tappel, A.L.: *Adr. Exp. Med. Biol.*, **97**, 111 (1978).
2. Seranian, A., et al.: *Ann. Rev. Nutr.*, **5**, 365 (1978).
3. Black, H.S. et al.: *J. Invest. Dermatol.*, **65**, 412 (1972).
4. Kaplan, N.O. and Colwick, S.P.: *Methods in Enzymology*, Academic Press, New York, Vol. 100, p. 293 (1984).
5. Trush, M.A., et al.: *Biochem. Pharmacol.*, **31**(21), 3335 (1982).
6. Yamauch, R. and Matsushita, S.: *Agric. Biol. Chem.*, **43**(10), 2157 (1979).
7. Carlsson, D.J. et al.: *Can. J. Chem.*, **52**, 3728 (1974).
8. Girrotti, A.W. et al.: *Photochem. Photobiol.*, **41**(3), 267 (1985).
9. Lee, T.Y. et al.: *J. Kor. Oilchem. Soc.*, **5**(1), 25 (1988).
10. Paik, T.H., et al.: *J. Kor. Olichem. Soc.*, **5**(1), 25 (1988).
11. Bligh, E.C. and Dyer, W.: *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 911 (1959).
12. Han, B.H. and Kim, N.D.: *Kor. J. Pharmacol.*, **10**(2), 61 (1979).
13. Paik, T.H., et al.: *J. Kor. Olichem. Soc.*, **4**(2), 25 (1987).
14. Kaplan, N.O. and Colwick, S.P.: *Methods in Enzymology*, Academic Press, New York, Vol. 100, p. 331 (1984).
15. Ranby, B. and Rabek, J.F.: *Singlet Oxygen*, John Wiley and Sons, Inc., New York, p. 262 (1978).
16. Paik, T.H., et al.: *Kor. J. Food. Sci. Technol.*, **14**(2), 130 (1982).