

홍삼 산성 다당체 성분의 암독소 호르몬-L에 의한 지방 분해 저해 활성

황 윤 경* · 이 성 동

고려대학교 대학원 가정학과 *

고려대학교 보건전문대학 식품영양과

Inhibitory Activity of Acidic Polysaccharides of Korean Red Ginseng on Lipolytic Action of Toxohormone-L from Cancerous Ascites Fluid

Yoon-Kyong Hwang* · Sung-Dong Lee

*Dept. of Home Economics, Graduate School, Korea University**

Dept. of Food and Nutrition, Junior College of Allied Health Science, Korea University

ABSTRACT

This study was devised to observe the inhibitory effect of 7 kinds PG(PG₁, PG₂, PG₃, PG₄, PG₅, PG₆ and PG₇) and of 5 kinds PG₄(PG_{4.1}, PG_{4.2}, PG_{4.3}, PG_{4.4} and PG_{4.5}) of the acidic polysaccharide fraction from Korean red ginseng on a lipolytic action of Toxohormone-L.

Toxohormone-L is a lipolytic factor, found in ascites fluid of sarcoma-180 bearing mice and of patients with hepatoma. A substance that inhibited the lipolytic action of toxohormone-L was isolated from red ginseng powder. This substance was an acidic polysaccharides.

In vitro test showed that the inhibitory effect of PG₄ and PG_{4.3} fraction of the lipolysis by Toxohormone-L was highest percent among other treatments at concentration of 50, 100, 200, 500 and 1,000 µg/ml of reaction mixture. And total inhibitory activity(units) of PG₁ and PG₄, and PG_{4.3} was highest among other treatments at the same concentration.

서 론

인삼은 오래전부터 모든 병을 예방 및 치료하는데 효과가 있는 상약으로 고평을 받아 음에 따라¹⁾ 전 세계적으로 볼 때 차츰 그 재배면적의 증가와 더불어 생산량이 증대되고 있다.²⁾ 따라서 근래에 와서는 약용은 물론 각종 식품의 재료 또는 첨가품으로서의 건강 식품용으로 많이 활용되고 있다.³⁾

인삼은 최근에 이르기까지 다방면으로 연구되어 오고 있는 바, 이중 특히 암의 예방 또는 치료에도 효과가 우월함이 알려져^{4,5)} 각종 암세포에 대한 항암실험 결과도 보고되어 있다.^{6,7)}

저자는 최근까지 홍삼 및 백삼으로부터 암독소 호

르몬-L의 지방분해 작용을 억제하는 소위 산성다당체를 분리한 바 있고,⁸⁾ 산성 다당체가 주체인 pectic acid를 가지고 *in vitro*에서 시험해 본 결과 역시 암독소 호르몬-L에 의해 일어나는 지방분해가 억제됨을 관찰한 바 있다.⁹⁾

이와 같이 생체의 지방분해를 촉진하는 암독소 호르몬-L은 암환자의 복수 중에 존재하면서 지방조직의 세포에 작용하여 지방조직을 고갈시키며 한편으로는 뇌세포에 작용하여 식욕을 억제시키는 두 가지의 큰 작용이 있어서 암환자가 점차 쇠약의 일로를 걷게 된다고 사료된다.^{10,11)}

저자는 인삼이 갖는 여러 가지 효능 중에서 특히 암환자의 쇠약 개선에 효과가 있는 물질에 관해 흥미를 가지

고 이미 보고한 바 있는 홍삼에 대한 실험결과를 가지고 재검토할 대상으로 하였다.

그리하여 본 연구는 Sarcoma-180 흰생쥐 복수액 중에 암독소 호르몬-L이 유도하는 지방분해 작용을 저해시키는 물질인 산성 다당체를 홍삼으로부터 분리하였고 또 이와 관련하여 *in vitro*에서 억제율과 함께 인삼시료 g당 총저해활성(unit)으로 환산하여 비교, 검토하였기에 보고하는 바이다.

실험재료 및 방법

실험동물은 동물실에서 표준실험식이와 물로 자유로이 급식시키면서 키운 웅성 흰쥐로 체중 160~200g 정도의 것을 이용하였다.

지방조직의 절취를 위해 뇌에 충격을 주어 도살시킨 후 곧 고환과 신장 주위의 지방조직을 절단해 냈으며, 생쥐는 위와 같은 조건에서 사육한 웅성 DDK 종으로서 체중 17~20g 정도의 것을 이용하였다.

시료인 홍삼은 고려인삼제품 일본 총대리점으로부터 제공받았다.

독소 호르몬-L 분획의 제조는 웅성 DDK 생쥐에 Sarcoma-180 현탁액($4 \sim 5 \times 10^6$ cell / 두) 0.5ml를 복강내에 주사하고 10~14일후 복수증액을 채취하여 4℃에서 10분간 원침(1,000×g)하여 일어나는 상청액으로 하였다.

한편 지방분해 억제능의 측정은, 먼저 지방세포의 분리를 위해 Rodbell¹²⁾의 방법에 의해 흰쥐의 epididymal adipose tissue와 retroperitoneal로부터 조제하였다. 이후 지방세포(50 μ l packed volume)는 4% bovine serum albumin에 25mM HEPES(N-2-hydroxy ethyl piperazine-N'-2-ethane sulfonic acid) 등이 함유된 Hanks buffer(pH 7.4) 175 μ l, 시료 25 μ l 및 독소호르몬-L 50 μ l 등 도합 0.30ml를 37℃에서 2시간 incubation시킨다.

다음 유리지방산으로 해제된 것을 Zapf¹³⁾ 등의 방법에 의해 2%(V/V) methanol이 함유된 chloroform과 heptane이 동량 혼합된 extract soln. 3ml로 추출하고 copper reagent와 bathocuproine이 함유된 color reagent로 반응시켜 유리된 지방산의 농도를 측

정하였다.

실험결과 및 고찰

인삼의 가공과정상 차이로 구분되는 홍삼과 백삼에 대하여 이미 저자들은 암독소 호르몬-L이 유발하는 체지방 분해에 억제 작용이 있는 소위 산성다당체를 분리해 낸 바 있다.^{9, 14)} 본 실험에서는 홍삼으로부터 분리된 산성다당체 성분이 암독소 호르몬-L에 의해 일어나는 지방분해 작용에 어느 정도 억제작용이 있는지를 총괄적으로 알아보기 위해 본 연구에서는 실험결과들을 더욱 비교·검토 하고자 한다.

본 실험에 사용한 홍삼분말은 증류수 10배량으로 48시간동안 추출하여 원침하였고, 상청액을 농축한 후 48시간동안 증류수에 투석시켜 10,000 dalton이하의 분자를 투석막을 이용해 제거시켰다. 여기서 얻어진 투석내액을 농축시킨 다음 냉동건조시켜 분말화 하였다.

다음 냉동건조된 분말을 Fig. 1에 나타낸 과정과 같이 실온과 55℃에서 각각 methanol로 24시간 처리하여 ginsenoside성분을 제거하였다. 여기서 생긴 residue는 다시 실온과 55℃에서 각각 증류수로 추출하여 추출액을 한데 모아서 1/2 용량으로 농축하였다. 이 농축액에 ethanol을 4배량 가하여 혼합하고 계속 교반시켜 ethanol에 의한 침전형성을 조장시켰다. 이 침전 분획(즉 ginsenoside-free ethanol 침전물)을 증류수에 다 투석시키고 여기서 얻어지는 투석내액을 또 동결건조시켜 ethanol침전분말을 얻어냈으며 이때의 수율은 8.38%였다.

다음 DEAE-TOYOPEARL 650 M column(28 mm×50 cm)을 0.02 M NH₄HCO₃용액으로 평형화시킨 후 위의 ethanol침전 분말액을 주입시켰고, elution은 0.02 M NH₄HCO₃용액내에 각각 0 M, 0.05 M, 0.10 M, 0.15 M, 0.20 M, 0.25 M 및 0.30 M농도의 NaCl이 함유된 용액으로 step by step으로 수행하였다. 그리하여 각기 얻어진 분획 중 비흡착분획을 PG₂, 흡착분획들을 각기 PG₂, PG₃, PG₄, PG₅, PG₆ 및 PG₇이라고 하였다. 이들 각 분획중 독소 호르몬-L에 의한 지방분해 억제효과가 PG₄성분이 가장 강하게 나타났다. 따라서 PG₄분획을 더 정제할 목적으로 0.02 M NH₄HCO₃ DEAE-TOYOPEARL 650 M column(14 mm×20

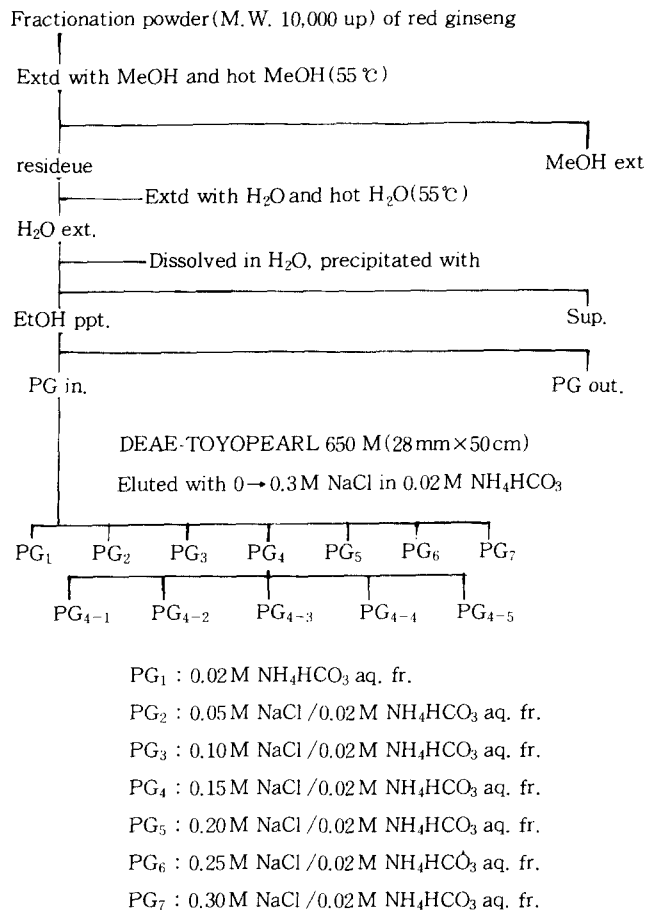


Fig. 1. Schematic flow diagram describing the major step of acidic polysaccharide isolation.

cm)에 gradient elution시켜 각 PG₄₋₁, PG₄₋₂, PG₄₋₃, PG₄₋₄ 및 PG₄₋₅의 분획을 얻었다.

한편 Fig. 1과 같이 정제하여 가는 과정에서 얻은 수율은 Fig. 2에 표시한 바와 같이 비흡착분획인 PG₁이 6.46%로서 각 PG분획 중 가장 높았고, 흡착분획 중에서는 PG₂가 0.1554%로 가장 높았다. PG분획의 수율은 각 분획을 얻어낸 순서에 따라 차츰 감소하여 PG₇은 0.0049%로서 가장 낮은 수율을 보였으며 흡착분획의 총 수율은 0.286%에 불과하였다. 또 독소 호르몬-L에 의한 지방분해 억제 효과가 높은 PG₄를 더욱 정제하여 얻은 각 분획 중 수율은 PG₄₋₃이 0.0190%로 가장 높았다.

본 실험인 홍삼에 있어서의 비흡착분획인 PG₁의 수율 6.46%는 본 실험의 정제과정과는 약간 차이가 있으나 백삼의 0.856%¹⁴⁾보다는 7.5배가 높았다. 흡착분획의 총수율에 있어서도 본 실험의 홍삼이 0.286%에 비하여 위의 백삼에서는 0.066%로 4.3배가 높았다. 또한 이¹⁵⁾ 등의 실험보고에 있어서도 조산성다당체의 수율은 홍삼이 백삼보다 동체부분에서는 2.9배, 뿌리부분에서는 2.2배가 각각 더 높았다. 따라서 일반적으로 산성다당체의 수율은 백삼보다 홍삼이 높다고 하겠다.

다음 각 분획에서 얻은 시료에 대한 암독소 호르몬-L 유도 지방분해 억제성적은 시료의 반응농도가 각 10, 50, 100, 200, 500 및 1,000 µg/ml일때 Table 3 및

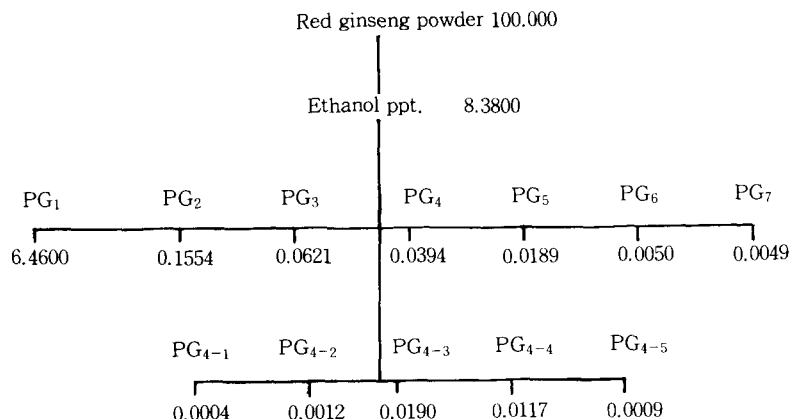


Fig. 2. Purified yield(g%) of acidic polysaccharide isolation fractions in red ginseng.

Table 1. Inhibitory effect of PG fractions on lipolysis induced by toxohormone-L. The rate of toxohormone-L induced lipolysis was 2.39 free fatty acid $\mu\text{Eq/g cells/2h}$ in the absence of PG fractions

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Fraction						
	PG ₁	PG ₂	PG ₃	PG ₄	PG ₅	PG ₆	PG ₇
10	12.2	-1.1	-2.5	-1.7	-1.5	-4.9	-6.6
50	35.8	3.3	9.0	22.0	4.2	13.6	18.4
100	44.4	10.9	24.5	42.7	27.1	25.1	25.0
200	47.3	11.6	25.9	53.2	32.0	28.1	25.9
500	62.3	12.5	35.1	72.2	52.9	42.0	27.4
1,000	80.0	19.9	45.0	87.9	77.9	61.6	31.6

Table 2. Injibitory effects of various fractions obtained by gradient elution from PG₄ on lipolysis induced by Toxohormone-L. The rate of Toxohormone-L induced lipolysis was 2.46 free fatty acid $\mu\text{Eq/g cells/2h}$ in the absence of the fractions

Conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Fraction				
	PG ₄₋₁	PG ₄₋₂	PG ₄₋₃	PG ₄₋₄	PG ₄₋₅
	Percent Inhibition				
10	13.1	20.3	11.3	26.7	-1.5
50	14.8	31.6	66.7	44.8	7.6
100	40.2	47.6	80.2	65.1	19.6
200	40.6	48.4	82.5	70.5	20.0
500	76.6	52.2	97.7	88.4	76.1
1,000	79.1	59.9	98.9	91.3	-

Table 3. Inhibitory activity of the acidic polysaccharide fractions(PG) from red ginseng on Toxohormone-L induced lipolysis

Conc. ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Fraction						
	PG ₁	PG ₂	PG ₃	PG ₄	PG ₅	PG ₆	PG ₇
10	7,881	-17	-16	-7	-3	-3	-3
50	4,625	10	11	17	2	1	2
100	2,868	17	15	17	5	1	1
200	1,528	9	8	10	3	1	1
500	805	4	4	6	2	0	0
1,000	517	3	3	3	2	0	0

*1 unit=10% inhibition /g of red ginseng

Table 4와 같다. 각 PG분획중에서는 PG₄성분이 각 농도에 따른 억제율이 가장 높았고, 다음이 PG₁, PG₅의 순위였다. 또 PG₄성분을 더욱 정제하여 얻은 각 분획중에서의 억제율은 PG_{4.3}이 가장 높고 다음이 PG_{4.4}였다.

다음, 독소 호르몬-L에 의한 지방분해의 총저해활성을 인삼시료 g당 unit로 환산하여 비교한 결과는 Table 3 및 Table 4에 각각 표시하였다. 반응액 ml당 각 분획시료의 농도가 10, 50, 100, 200, 500 및 1,000 μg 일때 PG의 총저해활성은 비흡착분획인 PG₁이 각 7,881, 4,625, 2,868, 1,528, 805 및 517 units로서 가장 높았고, 흡착분획 중에서의 총저해활성은 PG₄가 각 -7, 17, 17, 10, 6 및 3 units로서 가장 높았다. 그리고 독소 호르몬-L에 의해 지방분해 억제율과 총저해활성이 다같이 높은 PG₄를 더욱 정제하기 위해 gradient elution으로 얻은 각 분획중에 있어서 총저해활성은 PG_{4.3}이 각 22, 15, 8, 4 및 2 units로서 가장 높았다. 여기서 홍삼시

료 g당 unit는 Table 1 및 Table 2에 표시한 각 PG분획과 PG₄분획의 각 억제율을 μg 당으로 환산한 후 홍삼시료 g당 함유된 해당 PG분획 및 PG₄분획의 총중량을 곱하여 각각의 홍삼시료 g당 총억제율로 산출하고 이 값의 10%를 1 unit로 정한 값이다. 그래서 홍삼시료 g당 unit로 각 PG분획들과 PG₄분획들간의 지방분해 총저해활성을 비교해 보는 것은 인삼 시료로부터 각 PG분획 및 PG₄분획 수율까지 관련하여 검토 계산한 결과이기 때문에 모든 인삼시료의 선택이나 또는 실험결과들을 상호 비교하는데 있어서 좋은 참고가 되리라 사료된다.

이러한 관점에서 저자 등이 전보¹⁵⁾에서 밝힌 홍삼과 백삼의 동체 및 뿌리부분으로부터 분리한 각각의 조산성다당체의 시료 g당 unit(1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서)는 홍삼의 동체와 뿌리가 각 1,028 및 849 units였고 백삼의 동체와 뿌리가 각 421 및 203 units였다. 또한 백삼

Table 4. Inhibitory activity of the acidic polysaccharide fractions from PG₄ fraction of red ginseng on Toxohormone-L induced lipolysis (unit*/g)

Conc. ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Fraction				
	PG _{4.1}	PG _{4.2}	PG _{4.3}	PG _{4.4}	PG _{4.5}
10	1	2	22	31	0
50	0	1	25	10	0
100	0	1	15	8	0
200	0	0	8	4	0
500	0	0	4	2	0
1,000	0	0	2	1	0

* All fractions obtained by gradient elution from PG₄ fraction of acidic polysaccharide.

의 산성다당체의 분리에 있어서는¹⁶⁾ 1,000 µg/ml농도에서 시료 g당 총저해율이 높은 비흡착분획의 PG₁이 31 units였고, 흡착분획의 PG₄는 3 units였다.

본 실험인 홍삼의 산성다당체의 분리에 있어서 동일농도인 1,000 µg/ml농도에서 시료 g당 총저해율이 높은 비흡착분획의 PG₁은 517 units였고 흡착분획의 PG₄는 3 units였다. 따라서 이상의 보고결과들을 종합해 본다면 동일한 부위의 실험재료와 또 동일 실험방법에 의거하여 홍삼 및 백삼으로부터 산성다당체를 분리하지는 않았으나 대체적으로 홍삼이 백삼보다 암독소 호르몬-L에 대한 총저해활성이 높음을 알 수 있다.

그런데 비흡착분획인 PG₁성분이 흡착분획보다 더 높은 총저해활성을 보여주고 있는데 이러한 점으로 미루어 볼 때 고도의 정제를 위해서는 더 많은 정제단계가 요구되나 억제율과 수율을 감안한 총저해활성인 unit로 비교해 볼 때는 전보¹⁶⁾에서도 지적하였듯이 ethanol침전물로부터 얻어지는 단계의 조산성다당체로서 시료를 얻어내는 것이 보다 더 효율적임을 암시하였다.

그리고 Table 1 및 Table 2에서 독소 호르몬-L의 지방분해에 대한 홍삼의 PG분획농도에 따른 저해율은 모든 PG분획시료의 농도가 증가함에 따라 점차 상승되었는데 인삼시료 g당 unit로 환산하여 나타낸 Table 3 및 Table 4를 보면 반대로 감소되는 경향의 상반된 결과를 나타냈다. 이러한 점은 반응액중 각 PG 및 PG₄분획의 농도 증가에 따라 지방분해의 저해율이 정비례하지 않았기 때문이다.

요 약

고려인삼중 홍삼의 산성다당체 성분이 암독소 호르몬-L의 지방분해 저해활성의 영향을 검토하고자 본 연구를 하였다. 지방분해 및 식욕억제 인자로 알려진 암독소 호르몬-L은 Sarcoma-180을 접종한 암 mouse의 복수중 액으로부터 부분 정제하여 사용하였다.

홍삼으로부터 정제하여 얻은 각 분획의 산성다당체 성분들이 *in vitro*에서 암독소 호르몬-L 유도 지방분해를 10 µg/ml 반응농도 이상에서 억제작용이 있었고, 각 분획 중에서 반응농도가 50, 100, 200, 500 및 1,000 µg/ml일 때 억제율은 PG₄와 PG_{4.3} 성분이 가장 높았다.

그러나 인삼시료 g당 총저해활성 (unit)은 각 분획중에서 비흡착분획인 PG₁성분이 가장 높았고 다음이 흡착분획 중의 PG₄와 PG_{4.3}성분이 다음 순위였다.

참고문헌

1. 한국인삼연초연구소 : 고려인삼, 삼화인쇄주식회사, 서울, p. 7~27(1983)
2. Don Ference and Associates Ltd. : *Korean J. Ginseng Sci.*, 15(2), 152(1991)
3. 이인수 : 고려인삼학회지, 14(1), 81(1990)
4. 윤택구, 최수용 : 고려인삼학회지, 14(1), 237(1990)
5. 山本裕士, 片野光男, 馬烏英明, 副烏眞一郎, 松尾達也, 中村光成 : *The Ginseng Review*, 6, 371(1988)
6. 황우익, 오수경 : 고려인삼학회지, 8(2), 153(1984)
7. 이선희, 황우익 : 고려인삼학회지, 10(2), 141(1986)
8. Lee, S.D., Kameda, K., Takaku, T., Sekiya, K., Hirose, K., Ohtani, K., Tanaka, O. and Okuda, H. : *J. Medical and Pharmaceutical Society for WAKAN-YAKU*, 6, 141(1989)
9. 李成東, 黃允敬, 奧田拓道 : 한국식품영양학회지, 3(2), 133(1990)
10. 大浦彦吉 · 奧田拓道 · 森澤成司 · 山本昌弘 : 藥用人蔘 89, 共立出版株式會社, 東京, p.159~172(1989)
11. Okuda, H., Masuno, H. and Lee, S.J. : *Proc. 4th Internat. Ginseng Symp.*, p.145(1984)
12. Rodbell, M. : *J. Biol. Chem.*, 239, 375(1964)
13. Zapf, J., Schoenle, E., Waldvogel, M. and Froesch, E. R. : *Eur. J. Biochem.*, 113, 605(1981)
14. 李成東, 田中治, 奧田拓道 : 한국식품영양학회지, 3(1), 9(1990)
15. 이성동, 이광승, 오꾸다 히로미찌, 황우익 : 고려인삼학회지, 14(1), 10(1990)
16. 이성동 : 한국식품영양학회지, 4(2), 149(1991)