

인삼 지용성분획의 고혈당 강하작용에 관한 연구*

주충노 · 구자현** · 이희봉***

연세대학교 이과대학 생화학과

**건국대학교 의과대학 생화학교실

***강원대학교 자연대학 생화학과

(1993년 3월 23일 접수)

Study on the Hypoglycemic Action of the Fat Soluble Fraction of *Panax ginseng* C.A. Meyer in Streptozotocin Induced Diabetic Rats

Chung-No Joo, Ja-Hyun Koo** and Hee-Bong Lee***

Department of Biochemistry, College of Science, Yonsei University

***Department of Biochemistry, College of Medicine, Kyun-Kook University*

****Department of Biochemistry, College of Science, Kangwon University*

(Received March 23, 1993)

Abstract □ We attempted in this study to understand the hypoglycemic action of the fat soluble fraction of red ginseng roots in streptozotocin injected diabetic rats, through its actions on several enzymes relating to carbohydrate metabolism of the liver to compare with those of ginsenosides in streptozotocin injected diabetic rats. It was realized that the increased level of glucose, ketone bodies, lactate, non-esterified fatty acids and triacylglycerol in blood was significantly decreased and the decreased liver glycogen content of streptozotocin injected rats were appreciably moderated by intraperitoneal injection of the fat soluble fraction of red ginseng roots as shown in the saponin injected diabetic rats. The decreased activities of liver enzymes relating to carbohydrate metabolism such as phosphofructokinase, glucokinase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase and acetyl CoA carboxylase of streptozotocin induced diabetic rats were also sufficiently modified by the intraperitoneal injection of the above fat soluble fraction as shown in the ginsenoside injected streptozotocin induced rats.

Key words □ ginseng, fat soluble fraction, hypoglycemic action.

서 론

당뇨병은 복수 원인에 기인된 질환군으로 여러 가지 다양한 병리적 현상을 나타내며 기본적인 생리적 결합에 대해서는 명확히 밝혀지지 않고 있으나 당대사와 연관성을 가지고 있다는 점은 오래 전부터 알려져 있었다.

고등동물은 glucose를 주요 에너지원으로 이용하기 때문에 혈중 glucose 농도를 일정 범위에서 유지하는 것이 대단히 중요하다. 혈중 glucose 농도에 따라 insulin과 glucagon의 분비가 촉진 또는 억제되며 이와 같은 호르몬의 농도비로 근육과 지방조직으로 glucose 유입, 간에서의 glucose 이용과 생성 등이 조절되어 혈중 glucose의 항상성이 유지되는 것으로 알려져 있다. 즉 혈당이 상승하면 insulin 분비가 촉진되어 glucagon 분비가 억제되고 간에서의 glycogen 분해와

*본 연구는 1992년도 한국인삼연구소 용역연구비로 이루어진 것임.

당 신생이 억제되고 해당반응이나 hexose monophosphate shunt(HMS)의 활성이 촉진되는 한편 근육이나 지방조직으로의 glucose 유입이 촉진되어 혈당이 저하된다. 반대로 혈당이 저하되면 insulin 분비가 억제되고 glucagon이나 adrenalin 분비가 촉진되어 간에서의 glycogen 분해와 당 신생반응이 높아지고 HMS 활성, 근육이나 지방조직에서의 glucose 유입이 억제되어 혈당치가 높아진다고 한다.

고혈당에 대한 인삼 saponin의 영향 연구는 Saito¹⁾에 의한 epinephrine 고혈당, 식이성 고혈당 등에 대한 인삼의 혈당 강하작용이 보고된 이래 김²⁾은 epinephrine 고혈당에 대한 인삼 saponin의 억제작용을 관찰하고 인삼 saponin이 간과 근육에서의 glycogen 분해작용을 억제하는 것으로 풀이하였고 김과 한³⁾도 인삼이 당대사에 영향을 주는 과정에서 어떤 효소계에 작용하는 것으로 추정하였다.

한편 Petkove⁴⁾는 인삼이 고혈당에 억제적으로 작용하며 insulin의 효과에 상승적으로 작용한다고 보고하였고, Yokozawa 등⁵⁾은 부분 정제된 saponin이 정상 쥐에서의 지방질 대사 및 당류대사와 연관된 여러 가지 대사반응들을 촉진한다고 보고하였다.

본 연구실에서도 현재까지 보고된 고려인삼의 혈당 강하작용에 관한 연구결과를 배경으로 하여 인삼(홍삼) saponin의 혈당 강하작용을 추구한 바 인삼 saponin은 streptozotocin 투여로 인한 혈청성분의 변화를 개선하고, streptozotocin 투여로 활성이 저하된 간의 당대사 관련효소들(phosphofructokinase, glucokinase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase)과 acetyl CoA carboxylase의 활성을 유의적으로 증가시키며 상승된 glucose-6-phosphatase의 효소활성을 낮추는 효과가 있음을 알 수가 있었다.⁶⁾

또한 glucose와 glucagon이 함유된 perfusion medium에 인삼 saponin 혼합물을 10⁻³%가 되게 가한 후 쥐의 간 문맥을 통해 순환시킨 liver perfusion 실험결과에 의하면 인삼 saponin이 glucose 대사를 촉진함이 명백하다. 그리고 인삼 saponin은 insulin이 결여되었을 때도 glycogen 함량을 증가시키며 6-phosphogluconate dehydrogenase 활성과 acetyl CoA carboxylase 활성을 증가시키고 glucose-6-phosphatase 활성의 감소에도 크게 작용하였으나 phosphofructokinase, pyruvate kinase, glucokinase 활성은

크게 증가되지 않은 것으로 보면 streptozotocin 투여 후에 인삼 saponin을 복강투여 했을 때의 당대사 효소활성의 개선이 인삼 saponin의 직접적인 효소활성화 작용 이외에도 streptozotocin으로 인한 췌장 L島 β세포의 손상을 완화시켜 insulin 분비기능을 활성화하기 때문인 것으로 생각되지만 자세한 연구가 계속 수행되어야 할 것이다.⁷⁾

본 연구에서는 한국인삼(홍삼)의 지용성분획이 streptozotocin 투여로 인한 혈청 성분변화 및 간의 당대사 관련효소 중 인삼 saponin에 의한 영향이 컸던 phosphofructokinase, glucokinase, glucose-6-phosphatase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase과 acetyl CoA carboxylase 등의 효소활성과 간의 glycogen 함량에 미치는 영향을 관찰하고 인삼 saponin 성분의 고혈당 강하작용과 비교 검토하였다.

재료 및 방법

본 연구에 사용된 지용성분획, ginsenoside Rc, Re, Rg₁은 한국인삼연초연구소에서 공급받은 고려홍삼에서 추출한 것이다.

백서(Sprague Dawley, 170~200 g, ♂)에게 streptozotocin 70 mg/kg body weight를 1회 복강투여하고 7일간 정상사료로 사육한 당뇨군(대조군)과 streptozotocin을 1회 복강투여한 후 7일간 정상사료로 사육한 당뇨군 중 혈당치가 450 mg/100ml 이상인 쥐를 선별하여 홍삼의 지용성분획을 각각 10 mg/rat/day씩 매일 3일간 복강투여한 후 혈청성분과 간균질액의 phosphofructokinase, glucokinase, 6-phosphogluconate dehydrogenase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, glucose-6-phosphatase 및 acetyl CoA carboxylase 활성을 조사하였고 간의 glycogen 함량을 측정하였다. 모든 쥐는 streptozotocin 투여 전 16시간과 혈액 및 간 절취 전 16시간은 절식시켰다. 각 군의 하동맥에서 혈액을 채취하여 혈청을 얻었고 간 균질액 [20%(w/v)]을 얻어 효소활성을 측정하였다.

쥐를 diethyl ether로 마취한 후 복개하여 하동맥에서 혈액을 채취하여 cornical tube에 넣고 상온에서 2시간 정도 방치한 후 2000 x g에서 15분간 원심분리하여 맑은 황색 상층액을 취했다.

혈청 glucose는 glucose oxidase와 peroxidase의

짜지는 효소반응으로 생성된 산화형의 O-dianisidine의 흡광도를 425 nm에서 측정하여 정량하였다. Glucose의 표준용액으로는 각 농도(25, 50, 100, 150, 200 mg%)의 glucose 용액을 이용하였고 혈청은 같은 부피의 10%(w/v) TCA로 처리한 후 변성된 단백질 침전물을 제거한 후 상층액을 사용하였다.

혈청 β -hydroxybutyrate 양은 β -hydroxybutyrate dehydrogenase에 의한 산화반응으로 생성된 NADH의 340 nm에서의 흡광도 증가를 측정하여 정량하였다. 효소반응액(3 ml)의 조성(최종농도)은 0.1 M Tris buffer(pH 8.5), 0.1 M hydrazine hydrate(pH 8.5), 10 mM NAD⁺, β -hydroxybutyrate dehydrogenase 0.1 unit였다. β -hydroxybutyrate의 표준용액으로는 각 농도(0.048, 0.096, 0.192, 0.240 μ mole)의 β -hydroxybutyrate 용액을 사용하였고 혈청은 60% perchloric acid를 가하여 단백질을 제거한 후 상층액을 2 N KOH로 중화하였다.

혈청 acetoacetate 양은 3-hydroxybutyrate dehydrogenase의 역반응에 의한 NADH의 감소량을 측정하여 정량하였다. 효소반응액(3 ml)의 조성(최종농도)은 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.0), 5 mM NADH, D(-)- β -hydroxybutyrate dehydrogenase 0.1 unit였다. Acetoacetate의 표준용액은 각 농도(0.048, 0.096, 0.192, 0.240 μ mole)의 β -hydroxybutyrate 용액을 사용하였다. 혈청은 60% perchloric acid로 처리하여 단백질을 제거한 후 상층액을 2 N KOH로 중화하였다.

혈청 lactate는 lactate dehydrogenase(LDH) 반응에 의한 NADH의 생성을 340 nm에서의 흡광도 증가를 측정하여 정량하였다. 효소반응액(1 ml)의 조성(최종농도)은 0.16 M Tris-HCl buffer(pH 9.0), 0.16 M hydrazine hydrate, 0.1% glutathion(reduced), 2.4 mM NAD⁺, LDH 10 U였다. Lactate의 표준용액으로는 각 농도(40, 80, 160, 240 μ mole)의 lactate 용액을 사용하였고 혈청은 같은 부피의 10%(w/v) TCA로 처리한 후 상층액을 취하여 시료로 사용하였다.

혈청의 유리지방산의 양은 Dole⁸⁾의 방법을 변형하여 측정하였다. 표준용액으로는 heptane에 녹인 2 mM oleic acid 용액을 사용하였고, titration mixture는 90%(v/v) ethanol에 녹인 0.01%(w/v) thymol blue 용액을 사용하였다. 혈청 0.5 ml(혹은 heptane standard)에 extraction mixture(isopropanol : hep-

tane : 1 N H₂SO₄ = 40 : 10 : 1, v/v/v) 2.5 ml를 가하여 30초 동안 고무 섞어준 후 10분간 방치하였다. 여기에 혈청의 경우는 증류수 1.0 ml과 heptane 1.5 ml를 가했고, heptane standard의 경우에는 증류수 1.5 ml과 heptane 1.0 ml를 가했다. 20초 동안 고무 섞어준 후 잠시 방치하면 원심분리를 하지 않아도 두 층으로 분리된다. 상층(heptane 층)을 취하여 titration mixture 0.5 ml이 들어있는 conical tube에 옮긴 후 0.01 N NaOH 용액으로 황록색이 나타날때 까지 적정하였다.

혈청의 triacylglycerol 양은 Sigma사의 assay kit를 이용하여 정량하였다. 즉 효소적 반응에 의해 생성된 NADH에 의해 환원된 2-(p-iodophenyl)-3-p-nitrophenyl-5-phenyltetrazolium를 500 nm에서 흡광도를 측정하여 TG를 정량하였다.

각 군의 흰쥐를 16시간 절식시킨 후 간문맥에 0.9% (w/v) NaCl 용액을 주사하여 혈액을 제거한 다음 얻은 간을 면도칼로 다진 후 Teflon-pestle Wheaton Elvehjem 조직 파쇄기를 이용하여 100 mM Tris-HCl, 5 mM EDTA, 10 mM β -mercaptoethanol을 함유한 150 mM KCl 용액(pH 7.4)을 사용하여 20%(w/v) 파쇄액을 만든 다음 10,000 x g에서 15분간 원심분리하여 cell debris, 핵, 미토콘드리아를 제거하고 상층액을 효소원으로 사용하였다.

간의 glycogen은 Dubois 등⁹⁾에 의한 phenol-sulfuric acid 발색반응을 이용하여 정량하였다. 간 파쇄액에 Na₂SO₄로 포화된 30% KOH 0.5 ml와 같은 부피의 95% ethanol을 첨가한 후 840 x g에서 원심분리하여 glycogen 침전물을 얻어 3 ml 증류수에 녹인 후 적당량을 취하여 5% phenol 용액 1 ml과 96% H₂SO₄ 5 ml를 첨가하고 30분간 실온에서 방치한 후 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. Glycogen의 표준용액은 각 농도(20, 40, 60, 80, 100 μ g)의 glycogen 용액을 사용하였다.

간의 phosphofructokinase(PFK) 활성은 fructose-6-phosphate와 ATP를 기질로 사용하는 PFK 반응생성물인 fructose-1,6-bisphosphate가 aldolase, triose-phosphate isomerase(TPI) 및 glycerol-3-phosphate dehydrogenase(G-3-P DH)의 연쇄반응으로 glycerol-3-P로 전환될 때의 NADH의 감소량을 340 nm에서의 흡광도 감소로 측정하는 coupled assay 방법을 이용하여 측정하였다. 효소반응액(1 ml)의 조성(최종농도)

은 50 mM Tris-HCl buffer(pH 8.0), 10 mM $MgCl_2$, 1 mM ATP, 0.1 mM NADH, 100 mM KCl, 6 mM fructose-6-phosphate, aldolase 0.04 U, triose phosphate isomerase 2.4 U, glycerol-3-phosphate dehydrogenase 0.32 U와 효소원이었다. 상온에서 반응 혼합액에 효소액을 가하여 효소반응을 개시하였으며, 초기 반응속도를 NAD^+ 의 생성에 따른 340 nm에서의 흡광도 감소로 측정하였다.

간의 glucokinase 활성은 glucose와 ATP를 기질로 사용하는 glucokinase 반응의 생성물인 glucose-6-phosphate가 glucose-6-phosphate dehydrogenase에 의해 산화될 때 생성되는 NADPH 양을 340 nm에서의 흡광도 증가로 측정하는 coupled assay 방법을 이용하여 측정하였다. 효소반응액(1 ml)의 조성(최종농도)은 100 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4), 100 mM glucose, 5 mM $MgCl_2$, 5 mM ATP, glucose-6-phosphate dehydrogenase 0.2 U였다.

간의 glucose-6-phosphatase의 활성은 glucose-6-phosphate를 기질로 사용한 glucose-6-phosphatase의 반응에 의해 생성된 Pi를 정량하여 측정하였다. 효소 반응액(1 ml)의 조성(최종농도)은 35 mM histidine buffer(pH 6.5), 30 mM glucose-6-phosphate와 효소원이었다. 반응 혼합액에 효소액을 가하여 3분간 반응한 후 같은 부피의 10% TCA를 가하여 반응을 중지한 다음 생성된 Pi를 정량함으로써 활성을 측정하였다.

간의 glucose-6-phosphate dehydrogenase와 6-phosphogluconate dehydrogenase의 전체 활성을 측정하기 위한 반응액(1 ml)의 조성(최종농도)은 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.6), 10 mM $MgCl_2$, 1 mM $NADP^+$, 효소원, 5 mM glucose-6-phosphate, 5 mM 6-phosphogluconate이었고, 빛의 투과길이가 1 cm인 cuvette에 반응액을 넣고(마지막에 기질들을 가하였다) NADPH 생성에 따른 흡광도의 증가를 25°C, 340 nm에서 측정하였다. 또한 간의 6-phosphogluconate dehydrogenase 활성측정 반응액(1 ml)의 조성(최종농도)은 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.6), 10 mM $MgCl_2$, 1 mM $NADP^+$, 효소원, 5 mM 6-phosphogluconate였으며 빛의 투과길이가 1 cm인 cuvette에 반응액을 넣고(최후에 기질을 가함) NADPH 생성에 따른 흡광도의 증가를 25°C, 340 nm에서 측정하였고 두 효소의 전체활성과 6-phos-

phogluconate dehydrogenase 활성의 차이 값으로 glucose-6-phosphate dehydrogenase의 활성을 계산하였다.

간의 acetyl coenzyme A carboxylase의 활성측정은 다음과 같이 행하였다. 즉 세포내재 기질의 제거를 위해 간균질액(효소원)을 10 mM Tris-HCl(pH 7.5), 5 mM EDTA, 10 mM β -mercaptoethanol 용액으로 평형된 Sephadex G-25 column에 통과시켜 단백질 분획을 얻고 효소원의 활성을 측정하기 직전에 50 mM Tris-HCl(pH 7.5), 10 mM sodium citrate, 10 mM $MgCl_2$, 0.5 mg/ml BSA, 3.75 mM glutathine(reduced)을 함유한 용액에 37°C에서 30분간 반응시켜 acetyl CoA carboxylase를 활성화시킨 후 50 mM Tris-HCl glutathion(reduced), 3.75 mM ATP, 0.125 mM acetyl CoA, 12.5 mM $NaH^{14}CO_3$ (0.1 μ Ci/mole)를 함유한 용액에 효소원을 가하여 반응을 개시하였다. 37°C에서 10분간 반응시킨 후(전체 0.8 ml), 0.2 ml의 5 N HCl을 가하여 중지시키고 이것을 5분간 5000 rpm에서 원심분리하여 상층액을 scintillation vial에 옮긴 후, 85°C에서 가열(45~60분)하여 말린 다음 1 ml의 증류수에 녹이고 cocktail solution(PPO 10 g, POPOP 0.25 g, naphthalene 100 g, dioxane 1 l) 10 ml를 가하여 Tricarb liquid scintillation counter을 사용하여 방사능을 측정하고 acetyl CoA에 편입된 $^{14}CO_2$ 을 계산하여 생성된 malonyl CoA를 정량하였다.

결과 및 고찰

본 연구실에서 1차적으로 insulin 결핍으로 인한 당대사의 변동에 미치는 인삼사포닌의 영향을 생화학적으로 규명하기 위해 streptozotocin으로 유발시킨 당뇨병 쥐에 인삼(홍삼) saponin 혼합물 또는 정제된 ginsenoside를 복강투여한 후 혈청성분과 간의 당노병과 연관된 효소활성에 미치는 영향을 추구한 결과 streptozotocin 투여로 인하여 혈청의 glucose, ketone체, lactate, 유리지방산, triacylglycerol(TG)의 함량이 크게 증가하였고 간의 glycogen 함량과 phosphofructokinase, glucokinase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase 등의 활성이 저하되었으며 glucose-6-phosphatase 활성은 크게 증가하는 등 당뇨병 증상이 현저하였으나 인삼 saponin 혼합물이나 정제된 ginsenoside Rb₁

Table 1. Effect of ginsenoside Rc, Re, Rg₁ and the fat soluble fraction of red ginseng roots on the blood serum composition of streptozotocin induced diabetic rats

Group	Glucose (mg/100 ml)	β -hydroxy- butyrate (μ mole/ml)	Acetoactate (μ mole/ml)	Lactate (μ mole/ml)	non-esterified fatty acid (μ eq/l)	Triacyl- glycerol (mg/100 ml)
Normal group	113.9 \pm 5.63	0.29 \pm 0.18	0.10 \pm 0.01	5.99 \pm 0.34	520.5 \pm 73.7	78.3 \pm 6.59
Streptozotocin injected rats (3) control group	491.3 \pm 43.5	0.99 \pm 0.21	0.32 \pm 0.16	8.10 \pm 1.54	960.6 \pm 155.8	136.8 \pm 24.6
Streptozotocin + fat soluble roots (4)	102.6 \pm 13.5 ^{c)}	0.31 \pm 0.05 ^{c)}	0.20 \pm 0.04 ^{a)}	6.46 \pm 0.12 ^{c)}	793.3 \pm 89.6 ^{c)}	49.1 \pm 8.9 ^{c)}
Streptozotocin + ginsenoside Rc injected rats (4)	118.7 \pm 4.6 ^{c)}	0.31 \pm 0.07 ^{c)}	0.27 \pm 0.08	6.14 \pm 0.09	872.5 \pm 82.3	76.6 \pm 15.3 ^{c)}
Streptozotocin + ginsenoside Re injected rats (3)	106.6 \pm 12.6 ^{c)}	0.40 \pm 0.04 ^{c)}	0.23 \pm 0.06	6.37 \pm 0.40 ^{c)}	777.5 \pm 82.3 ^{c)}	34.6 \pm 2.8 ^{c)}
Streptozotocin + ginsenoside Rg ₁ injected rats (4)	158.4 \pm 24.4 ^{c)}	0.23 \pm 0.01 ^{c)}	0.17 \pm 0.10 ^{a)}	8.80 \pm 1.36	826.7 \pm 68.4 ^{a)}	78.6 \pm 29.5 ^{b)}

^{a)}p<0.05, ^{b)}p<0.01, ^{c)}p<0.001.

또는 Rb₂를 투여하면 상승된 혈액의 glucose, ketone체, 유리지방산, TG의 함량이 유의적으로 개선되었고 간의 glycogen 함량이 크게 증가하였으며 높아진 간의 glucose-6-phosphatase 활성이 유의적으로 감소하였고 낮아진 phosphofructokinase, glucokinase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase 등도 당뇨병 증상을 개선하는 효과가 있음을 알 수 있었다.^{6,7)}

본 연구에서는 정상군의 쥐와 streptozotocin 투여(70mg/rat/kg body weight)로 혈당치가 450 mg/100 ml 이상으로 상승된 쥐를 선정하여 지용성분획을 매일 10 mg/rat/day씩 3일간 복용투여한 후 혈청성분, 간의 glycogen 함량 및 당대사 관련효소 중 인삼 saponin의 영향이 컸던 phosphofructokinase, glucokinase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase, glucose-6-phosphatase와 acetyl CoA carboxylase 등의 활성을 조사하고 같은 조건 하에서의 정제된 ginsenoside 투여시의 영향과 비교하였다.

Table 1에 표시한 바와 같이 streptozotocin을 투여한 대조군의 혈당치, ketone체 함량, lactate량, 유리지방산량, TG량 등이 정상군에 비해 크게 상승되었다. 혈중 glucose의 세포내로의 취입이 대부분의 근세포에서는 운반체에 의한 insulin 의존성 수송이지만 간세포의 경우는 glucose의 막 투과가 자유스

럽고 세포 내외의 glucose 농도의 평형을 이루는 것으로 알려져 있다. 그러나 insulin의 분비가 적절할 때는 지방의 분해가 억제되어 혈중 유리지방산의 농도가 낮고, 지방산 합성, 중성지방의 합성이 활발하지만 당의 공급이 부족하거나 insulin이 부족한 상황 하에서는 해당계가 억제되며 지방조직으로부터의 지방동원이 촉진되고, 유리된 지방산은 간에서 당신생 반응을 촉진하여 대부분의 아미노산은 pyruvate, oxaloacetate 등을 거쳐 당신생반응의 기질이 되는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서 관찰된 streptozotocin으로 유발시킨 당뇨병 쥐의 경우에서도 glucose 함량이 크게 증가되고 있는것은 해당반응이 억제됨을 의미하며, ketone체의 증가가 당뇨병에서의 지방산 이용면을 시사하고 있는 것으로 생각된다. 그러나 streptozotocin 투여 후 人蔘의 지용성분획을 투여(3일간)하면 정제된 saponin 못지 않게 상승된 혈당치나 ketone체, lactate, 유리지방산, TG 등이 모두 유의적으로 저하되었다.

Table 2에 표시한 바와 같이 streptozotocin 투여로 저하된 간의 glycogen 함량도 정제된 ginsenoside Rc, Re 또는 Rg₁ 뿐 아니라 지용성분획의 투여로 유의적인 증가양상을 나타내었으며 오히려 지용성분획의 유의성이 정제된 ginsenoside 보다도 컸음을 알 수 있었다. Glycogen 대사제는 합성계의 glycogen synthase와 분해계의 phosphorylase가 모두 활성형과

Table 2. Effect of ginsenoside Rc, Re, Rg₁ and the fat soluble fraction of red ginseng roots on the liver glycogen content of streptozotocin induced diabetic rats

Group	Liver glycogen (mg/g liver)
Streptozotocin injected rats (3) control group	5.60±0.42
Streptozotocin+fat soluble fraction of ginseng roots (4)	16.27±1.90 ^{a)}
Streptozotocin+ginsenoside Rc injected rats (4)	18.13±2.21 ^{b)}
Streptozotocin+ginsenoside Re injected rats (3)	20.09±3.79 ^{a)}
Streptozotocin+ginsenoside Rg ₁ injected rats (4)	14.25±2.39 ^{b)}

^{a)}p<0.05, ^{b)}p<0.01, ^{c)}p<0.001.

불활성형간의 상호변환으로 조절되고 있는 것으로 알려져 있으며 streptozotocin 투여로 인해 insulin이 부족한 경우에는 glycogen synthase 활성이 저하되고 glycogen phosphorylase가 활성화 되어 glycogen의 함량이 감소되는 것으로 생각되는데 이와같은 streptozotocin 투여로 저하된 간의 glycogen 함량이 ginsenoside 투여시 뿐 아니라 지용성성분의 복강투여로 증가됨은 흥미있는 일이며 적극적인 연구가 필요할 것이다.

Insulin의 절대적 결핍인 실험적 당뇨병 쥐의 간에서의 당대사를 살펴본 연구보고에 의하면 glucokinase, glycogen synthase, phosphofructokinase, pyruvate kinase, acetyl CoA carboxylase와 같은 효소들이 억제됨이 알려져 있고 본 연구실에서 행한 실험결과에 의해서도 특히 phosphofructokinase, pyruvate kinase, glucokinase, G-6-P dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase, malic enzyme, glycogen phosphorylase, acetyl CoA carboxylase 등의 효소활성이 streptozotocin 투여로 크게 저하되었음이 확인되었으며 인삼 saponin 혼합물 또는 정제된 ginsenoside (Rb₁, Rb₂)를 복강 투여했을 경우 특히 phosphofructokinase, glucokinase, G-6-P dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase, acetyl CoA carboxylase 활성이 유의적인 상승현상을 나타내었다.^{6,7)}

본 연구에서는 수행치 못하였던 홍삼에서 정제된 ginsenoside Rc, Re, Rg₁과 지용성분획이 streptozoto-

Table 3. Effect of ginsenoside Rc, Re, Rg₁ and the fat soluble fraction of red ginseng roots on liver glucokinase of streptozotocin induced diabetic rats

Group	Glucokinase (units*/mg protein)
Streptozotocin injected rats (3) control group	11.3±1.4
Streptozotocin+fat soluble fraction of ginseng roots (4)	23.6±4.1 ^{a)}
Streptozotocin+ginsenoside Rc injected rats (4)	23.2±1.5 ^{b)}
Streptozotocin+ginsenoside Re injected rats (3)	24.0±4.5 ^{a)}
Streptozotocin+ginsenoside Rg ₁ injected rats (4)	19.0±3.7 ^{a)}

* One unit of enzyme was defined as the amount of enzyme to produce 1 nmole of NADH per minute under the experimental condition as described in the text.

^{a)}p<0.05, ^{b)}p<0.01.

cin 투여로 인하여 활성이 하강된 효소 중 인삼 saponin의 효과가 많았던 효소들에 미치는 영향을 추궁하였다. Table 3은 정제된 ginsenoside Rc, Re, Rg₁과 홍삼 지용성분획이 streptozotocin으로 유발된 당뇨병 쥐의 간 glucokinase에 미치는 영향을 비교한 것이다.

Glucokinase는 간에만 존재하는 효소로서 K_m이 높기 때문에 문맥혈당치의 변동에 따라 효소활성이 변동되는데 혈당이 높을때 활성이 높아지며 glucose와 insulin에 의해 유도되는 것으로 알려져 있는데 streptozotocin을 투여한 당뇨병 쥐의 간 glucokinase 활성은 정상군 활성의 43%에 불과하였으나 streptozotocin 투여로 고혈당이 된 쥐에게 인삼 saponin 혼합물 또는 정제된 ginsenoside (Rb₁, Rb₂)를 3일간 복강투여하면 정상군 수준 또는 정상군 수준을 상회하는 glucokinase 활성을 나타내었다. 본 연구에서 ginsenoside Rc, Re, Rg₁과 지용성분획을 복강투여하였을 때도 유의적으로 glucokinase 활성회복에 큰 효과가 있었으며 고혈당조건이 glucokinase를 더욱 활성화한 것으로 해석된다.

Table 4는 streptozotocin 투여로 저하된 간 phosphofructokinase(PFK)에 미치는 정제된 ginsenoside Rc, Re, Rg₁ 그리고 홍삼의 지용성분획의 영향을 나타낸 것이다. 주 등의 연구결과^{6,7)}에 의하면 streptozo-

tocin의 투여로 PFK의 활성은 정상군의 64%로 저하하였으나 홍삼 saponin 혼합물이나 정제된 ginsenoside Rb₁ 또는 Rb₂를 복강투여하였을 때는 PFK의 활성이 대조군 보다 각각 30~50% 상승하였고 본 실험에서 투여한 ginsenoside Rc, Re, Rg₁의 경우도 각각 대조군의 49%, 39%, 29%의 유의적인 효과를 나타내었으며 홍삼의 지용성분획도 대조군 보다 효소활성이 59%의 상승효과를 나타내었다.

Table 5는 streptozotocin 투여로 저하된 쥐의 간

Table 4. Effect of ginsenoside Rc, Re, Rg₁ and the fat soluble fraction of red ginseng roots on liver phosphofructokinase of streptozotocin induced diabetic rats

Group	Liver phosphofructokinase (units*/mg protein)
Streptozotocin injected rats (3) control group	4.09 ± 0.36
Streptozotocin + fat soluble fraction of ginseng roots (4)	6.38 ± 0.77 ^{a)}
Streptozotocin + ginsenoside Rc injected rats (4)	6.09 ± 0.56 ^{a)}
Streptozotocin + ginsenoside Re injected rats (3)	5.70 ± 0.31 ^{a)}
Streptozotocin + ginsenoside Rg ₁ injected rats (4)	5.27 ± 0.11 ^{a)}

* One unit of enzyme was defined as the amount of enzyme to produce 1 nmole of NADH per minute under the experimental condition as described in the text.

^{a)} p < 0.05.

Table 5. Effect of ginsenoside Rc, Re, Rg₁ and the fat soluble fraction of ginseng roots on liver glucose-6-phosphatase dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase of streptozotocin induced diabetic rats

Group	Glucose-6-phosphate dehydrogenase (unit*/mg protein)	6-phosphogluconate dehydrogenase (unit*/mg protein)
Streptozotocin injected rats (3) control group	2.910.08	9.11 ± 1.01
Streptozotocin + fat soluble fraction of ginseng roots (4)	7.85 ± 0.74 ^{c)}	19.10 ± 1.17 ^{c)}
Streptozotocin + ginsenoside Rc injected rats (4)	6.48 ± 1.46 ^{b)}	17.64 ± 2.35 ^{b)}
Streptozotocin + ginsenoside Re injected rats (3)	5.00 ± 1.52 ^{b)}	17.87 ± 1.58 ^{b)}
Streptozotocin + ginsenoside Rg ₁ injected rats (4)	4.68 ± 2.30 ^{a)}	15.93 ± 3.83 ^{a)}

* One unit of enzyme was defined as the amount of enzyme to produce 1 nmole of NADH per minute under the experimental condition as described in the text.

^{a)} p < 0.05, ^{b)} p < 0.01, ^{c)} p < 0.001.

glucose-6-phosphate dehydrogenase와 6-phosphogluconate dehydrogenase에 미치는 정제된 ginsenoside Rc, Re, Rg₁ 그리고 홍삼의 지용성분획의 영향을 나타낸 것이다. Saponin 혼합물이나 정제된 ginsenoside Rb₁ 또는 Rb₂의 복강투여의 경우^{6,7)}와 같이 streptozotocin 투여로 활성이 저하된 glucose-6-phosphate dehydrogenase와 6-phosphogluconate dehydrogenase 활성이 ginsenoside Rc, Re, Rg₁의 복강투여로 유의적인 활성화 효과가 관찰되었으며 홍삼 지용성성분의 투여 경우도 활성화작용이 현저하였다.

Insulin이 부족한 상황하에서는 당 신생반응에 관여하는 효소들이 활성화되는 것으로 알려져 있으며 streptozotocin을 투여하였을 때 glucose-6-phosphatase(G-6-phosphatase)의 활성은 정상군보다 2배나 현저하게 증가함을 관찰되었는데 streptozotocin을 투여한 대조군에 인삼 saponin 혼합물이나 정제된 ginsenoside(Rb₁, Rb₂)를 투여했을 경우 G-6-phosphatase 활성이 대조군의 84%, ginsenoside Rb₁의 경우는 대조군의 82%, ginsenoside Rb₂의 경우는 대조군의 84%로 낮추어졌다.⁶⁾ Table 6은 streptozotocin 투여로 상승된 쥐의 간 glucose-6-phosphatase 활성에 미치는 정제된 ginsenoside Rc, Re, Rg₁과 홍삼 지용성분획의 영향을 나타낸 것이며 정제된 ginsenoside Rc, Re, Rg₁의 경우도 G-6-phosphatase 활성이 유의적으로 감소하였으며 홍삼의 지용성성분도 ginsenoside 투여시와 같이 유의적인 G-6-phosphatase 활성 저하작용을 나타내었다.

Streptozotocin 투여로 저하된 쥐의 간 acetyl CoA carboxylase 활성에 미치는 정제된 ginsenoside Rc,

Table 6. Effect of ginsenoside Rc, Re, Rg₁ and the fat soluble fraction of red ginseng roots on liver glucose-6-phosphatase of streptozotocin induced diabetic rats

Group	Liver glucose-6-phosphatase (Pi nmole/min/mg protein)
Streptozotocin injected rats (3) control group	68.8± 11.4
Streptozotocin + fat soluble fraction of ginseng roots (4)	28.5± 5.90 ^{a)}
Streptozotocin + ginsenoside Rc injected rats (4)	34.6± 3.60 ^{a)}
Streptozotocin + ginsenoside Re injected rats (3)	28.0± 9.50 ^{a)}
Streptozotocin + ginsenoside Rg ₁ injected rats (4)	30.4± 8.50 ^{a)}

^{a)}p<0.05.

Table 7. Effect of ginsenoside Rc, Re, Rg₁ and the fat soluble fraction of ginseng roots on acetyl CoA carboxylase of streptozotocin induced diabetic rats

Group	Acetyl CoA carboxylase (malonyl CoA nmoles/ min/mg protein)
Streptozotocin injected rats (3) control group	0.123± 0.040
Streptozotocin + fat soluble fraction of ginseng roots (4)	0.279± 0.041 ^{b)}
Streptozotocin + ginsenoside Rc injected rats (4)	0.195± 0.037
Streptozotocin + ginsenoside Re injected rats (3)	0.187± 0.034
Streptozotocin + ginsenoside Rg ₁ injected rats (4)	0.195± 0.040 ^{a)}

^{a)}p<0.05, ^{b)}p<0.01.

Re, Rg₁과 홍삼의 지용성성분의 영향을 관찰한 결과 (Table 7) 앞서 행한 홍삼사포닌 혼합물이나 ginsenoside Rb₁, Rb₂과는 달리 ginsenoside Rg₁만이 유의적인 acetyl CoA carboxylase 활성화를 나타내었고 ginsenoside Rc와 Re는 유의적인 활성화작용을 나타내지 않았다. 그러나 홍삼의 지용성분획은 acetyl CoA carboxylase를 크게 활성화하였으며 유의성이

가장 컸으며 자세한 연구가 더 수행되어야 할 것이다.

요 약

흰쥐에게 streptozotocin을 투여하여 L₁β 세포장해로 인한 insulin 분비의 저해로 당뇨병을 유발시킨 후 당뇨병과 밀접한 연관성을 갖는 것으로 예측되는 간의 몇 가지 효소(phosphofructokinase, glucokinase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase, glucose-6-phosphatase와 acetyl CoA carboxylase)에 미치는 홍삼의 지용성성분의 영향을 관찰하고 정제된 ginsenoside Rc, Re, Rg₁의 영향과 비교하였다.

Streptozotocin(70 mg/body weight)을 1회 투여 후 7일간 정상사료로 사육한 당뇨병군(대조군) 중 혈당치가 450 mg/100 ml 이상인 것을 선정하여 정제된 ginsenoside Rc, Re, Rg₁ 또는 홍삼의 지용성성분을 매일 10 mg/rat/day씩 3일간 복강투여하여 간의 glycogen 함량과 상기한 당 대사관련효소의 활성을 조사한 결과 상승된 혈청의 glucose량, ketone체량, lactate량, 유리형의 지방산량과 TG량이 ginsenoside Rc, Re, 또는 Rg₁을 투여했을 때 모두 유의적으로 저하되었고 지용성분획을 투여하였을 때도 정제된 saponin 못지않게 저하작용을 나타내었다. 간의 glycogen 함량도 정제된 ginsenoside 투여 때와 같이 지용성분획의 투여로 유의적인 증가양상을 나타내었으며 오히려 지용성분획의 유의성이 더 컸었다. Streptozotocin 투여로 활성이 저하된 glucokinase, phosphofructokinase, ginsenoside Rc, Re, Rg₁ 또는 지용성분획의 복강투여로 모두 유의적인 활성화복 현상을 나타내었다.

Streptozotocin 투여로 활성이 저하된 glucose-6-phosphate dehydrogenase와 6-phosphogluconate dehydrogenase 활성도 ginsenoside Rc, Re, Rg₁의 복강투여, 지용성성분의 복강투여에서 모두 유의적인 활성화 작용을 나타내었다. 그리고 streptozotocin 투여로 상승된 쥐의 간 glucose-6-phosphatase 활성은 ginsenoside Rc, Re, Rg₁이나 지용성성분 모두 유의적인 G-6-phosphatase 활성 저하작용을 나타내었다.

Streptozotocin 투여로 저하된 쥐의 간 acetyl CoA carboxylase 활성은 홍삼 사포닌 혼합물이나 정제된 ginsenoside Rb₁, Rb₂의 투여로 상승되지 않으나^{6,7)}

ginsenoside Rg₁만이 유의적인 acetyl CoA carboxylase 활성화를 나타내었을 뿐 ginsenoside Rc와 Re는 유의적인 활성화 작용을 나타내지 않았다. 그러나 지용성분획은 acetyl CoA carboxylase를 크게 활성화 하였으며 자세한 연구가 수행되어야 할 것이다.

인용문헌

1. Saito.: 臨床醫學, **8**, 822(1916).
2. 김하근: 朝鮮醫學會誌, **22**, 221(1932).
3. 김영근, 한병훈: 醫學會誌, **7**, 18(1963).
4. Petkov, W.: *Arznmittelforschung*, **9**, 305(1959).
5. Yokozawa, T., Seno, H. and Oura, H.: *Chem. Pharm. Bull.*, **23**, 3095(1975).
6. 주충노, 김주현: 고려인삼학회지, **16**, 190(1992).
7. 주충노, 윤수희, 이향숙, 김용덕, 이희봉, 구자현: 고려인삼학회지, **16**, 198(1992).
8. Dole, V.P.: *J. Clin. Invest.*, **35**, 150(1956).
9. Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, S.K., Rebers, P.A. and Smith, F.: *Anal. Chem.*, **28**, 350-356(1956).