

Nepal산 Pseudo Ginseng 성분이 암독소 호르몬-L의 체지방 분해작용에 미치는 영향

이성동 · 奥田拓道*

고려대학교 보건전문대학 식품영양과, *日本 愛媛大學 醫學部 第2生化學教室

Effect of Nepalese Pseudo Ginseng Components on Lipolytic Action of Toxohormone-L from Cancerous Ascites Fluid

Sung-Dong Lee · Hiromichi Okuda*

Dept. of Food and Nutrition, Junior College of Allied Health Sciences, Korea University, Seoul 136-703, Korea

*2nd Dept. of Medical Biochemistry, School of Medicine, Ehime University, Ehime 791-02, Japan

Abstract

This study was devised to observe an inhibitory effect toward a lipolytic action of toxohormone-L from large root and small root Nepal pseudo ginseng(NPG; Nepal products) components by water extract and ethanol precipitate *in vitro*. Toxohormone-L is known to be a lipolytic factor that was partially purified from the ascites fluid of Sarcoma 180-bearing mice and of patients with hepatoma. The inhibitory effect that inhibited the lipolytic action of toxohormone-L by ethanol precipitate component of large root NPG (mean 55.5%) was higher(mean 1.37 times) than that of water extract component in final reaction concentration of 500 and 1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$, on the other side inhibitory effect of water extract component in small root NPG(mean 55.5%) was higher(mean 1.14 times) than that of ethanol precipitate component. In a way inhibitory effect of precipitate component in large root NPG(47.6%), when final reaction concentration of sample were 1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$, was about 40% lower than that of Korean red ginseng.

Key words : Nepal pseudo ginseng, lipolytic factor, toxohormone-L

서론

생체에 암이 발생하면 차츰 여위어 가기 시작하는데 그 원인은 주로 암세포로부터 분비되는 암독소 성분에 의한 것이며 이 성분을 소위 독소 호르몬-L이라고 한다¹⁾.

독소 호르몬-L이 암세포로부터 분비되면 주로 생체 지방세포에 작용하여 지방분해가 촉진되고 한편으로는 식욕증추에 작용하여 식욕감퇴를 유발시킨다²⁾. 따라서 지방 조직에서는 지방분해율의 상승과 더불어 상대적으로 체지방 조직의 감소가 일어나고 혈장중에서는 유리 지방산의 농도가 증가하면서 체내 지방대사에

이상을 초래하게 되면서 급기야 생체내 물질대사에 불균형이 초래된다.

그런데 암의 발생요인은 식품섭취와 주위 환경에 의해 기인된다는 경향이 점차 높아짐에 따라³⁾ 앞으로의 관심은 각종 공해요인은 물론 섭취하는 음식물이나 식품성분들에 관하여 집중될 것으로 예측된다. 그리하여 최근에는 암의 예방을 위해 식생활과 결부시켜 각종 식품은 물론 천연식물에서 항암성분을 찾아 내고자 하는 노력들이 점차 시도되고 있다⁴⁻⁷⁾.

이러한 관점에서 저자는 인류의 적이라고 할 수 있는 암을 미연에 방지하거나 또는 이미 발생된 암이라 하더라도 암세포의 증식을 억제할 수 있는 성분을 가능한 한 식품이나 천연식물로부터 찾아 내고자 노력하던 중 Nepal에서 민간에 전래되는 야생인삼인 Pseudo ginseng을 2종으로 나누어 가지고 기초적인 실험을

한 바 있다⁸⁾.

본 연구에서는 이미 보고된 실험 내용을 중심으로 좀 더 확대 실험하여 종합적인 견지에서 Nepal산의 Pseudo Ginseng 성분이 독소 호르몬-L의 체지방 분해작용에 미치는 영향을 관찰하였기에 그 결과를 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

재료로서 사용한 Nepal pseudo ginseng(이하 NPG)은 Dept. of Medicinal Plants의 Mr. Samar Bahadur Malla로부터 제공 받았으며, 뿌리의 굵기에 따라 큰 뿌리(약 1.5×5 cm)와 작은 뿌리(약 1.5×3 cm)의 2종으로 구분하여 이용하였다. 또한 홍삼은 고려인삼제품으로서 일본 총 대리점으로부터 제공 받았다.

2. 물추출 시료의 제조

NPG의 큰 뿌리(이하 大根)와 작은 뿌리(이하 小根)중의 성분추출은 NPG분말 일정량을 실온에서 24 시간 물로 추출하였고, 여기서 얻은 상청액을 투석하되 10,000 dalton 이상과, 10,000~3,500 dalton, 3,500~1,000 dalton 그리고 1,000 dalton 이하의 투석 내액으로 구분해서 동결 건조하여 물추출분말(water extract solution powder; WESP)시료로 하였다

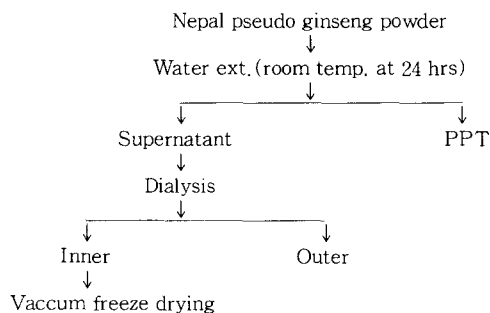


Fig. 1. Flow diagram of preparation of water extract solution powder with Nepal pseudo ginseng.

(Fig. 1 참조).

3. Ethanol 침전물 제조

Ethanol침전물은 물추출시료(WESP)의 정제물로서, Fig. 2와 같은 과정으로 부분정제 하였다. 즉 WESP에서 methanol 가용성 성분을 제거한 다음 물로 처리한 후 ethanol에 침전되는 성분으로 취하여 10,000 dalton 이상과, 10,000~3,500 dalton, 3,500~1,000 dalton 그리고 1,000 dalton 이하의 투석막으로 분리한 후 이를 동결건조하여 ethanol침전분말(ethanol precipitate powder; EPP)시료를 얻었다.

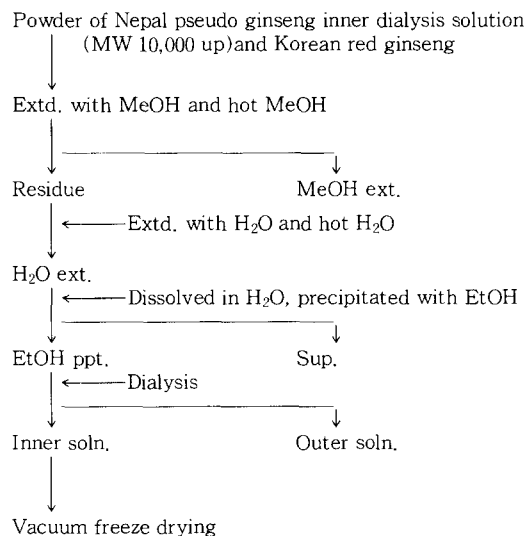


Fig. 2. Schematic flow diagram describing the major purification step of Nepal pseudo ginseng and Korean red ginseng powder.

4. 실험동물

실험동물은 본 연구실에서 사육 번식시킨 체중 150~200 g의 웅성 흰쥐(Sprague-Dawley)와 체중 17~27 g의 생쥐(Swiss mouse)를 사용하였다. 이들 동물은 시판되는 신촌사료주식회사 제품의 쥐사료와 물을 자유 급식시키면서 사육하였다.

5. 암세포

본 실험에서 사용한 암세포는 항암제 screening에 응용하고 있는 Sarcoma-180을 *in vivo* 또는 *in vitro*에서 배양, 유지하면서 실험에 사용하였다.

6. 지방세포 정선

지방세포의 정선은 체중 150~200g의 웅성 흰쥐의 부고환 및 복막후강 주위 지방조직을 절취해서 Rodbell의 방법⁹⁾에 따라 Hans running solution (HRS)으로 세척한 후 즉시 모세혈관과 다른 조직들을 제거하고 collagenase, trypsin inhibitor 등이 함유된 bovine serum albumin solution(BSAS, collagenase solution)중에서 slice를 한 후 37℃의 수평 이동식 shaking water bath 상에서 2시간 동안 incubation 시켰다. 이 incubation된 지방 조직액을 망사로 여과하고 여액을 HRS과 함께 원심관에 넣어 500rpm에서 약 1분간씩 3회 반복 원심 세척하였다. 여기서 얻어진 지방 세포 용액을 적당히 수분을 제거한 후 정량용 지방 세포로 사용하였다.

7. 독소호르몬(Toxohormone)-L의 분리

독소호르몬-L을 분리하기 위하여 Swiss mouse에 Sarcoma-180 현탁액 0.1~0.5ml($4 \sim 5 \times 10^9$ cell)를 복강 내에 주사하고 약 2주 경과 후 복수중액을 채취하여 저온(4℃)에서 10분간 원심(1,000×G)하고 분리된 상층액을 조 독소 호르몬-L로 사용하였다.

8. Lipolysis 억제 활성 측정

독소호르몬-L에 의한 lipolysis에 미치는 각 Nepal pseudo ginseng의 활성은 다음과 같이 측정하였다. 각 Nepal pseudo ginseng의 농도별로 함유된 HRS에 4% BSAS와 지방세포를 혼합한 군을 대조군으로, 대조군에 독소호르몬-L을 첨가한 군을 실험군으로 하여 각 군을 37℃ shaking water bath에서 2시간 반응시켰다.

그 후 Zapf 등¹⁰⁾의 방법에 의해 lipolysis로 생긴 유리 지방산의 농도를 측정하여 지방산 표준곡선에서 palmitic acid로 환산해서 $\mu\text{Eq/g cell/hr}$ 단위로

표시하고 대조군과 실험군의 차를 산출하여 각 저해 활성으로 정하였다.

결과 및 고찰

저자들은 암독소(Toxohormone-L)가 유발하는 체지방분해에 대하여 저해작용이 있는 물질들을 찾아내고자 그동안 고려인삼중의 조산성 다당체 성분^{11,12)}, 진세노사이드 성분¹³⁾을, 그리고 그의 *Anaphalis sinica*¹⁴⁾, 金線蓮¹⁵⁾에서 각기 유용한 물질들을 부분적으로 분리해 낸 바 있다.

본 실험에서는 Nepal에서 민간약재로 전래되는 야생식물인 pseudo ginseng의 대근과 소근으로부터 물추출물(WESP)과 ethanol 침전물(EPP)을 각기 분리해 얻었고, 이들 시료를 대상으로 암독소의 지방분해에 대한 저해능을 시료의 반응농도별 및 투석막의 입자 크기 정도(dalton)별로 나누어 측정된 결과를 Table 1 및 Table 2에 각기 나타냈다.

Table 1에 표시한 바와 같이 NPG대근의 물추출분말 성분의 최종 반응농도가 각 500 및 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 일 때의 저해능은 10,000dalton 이상에서 각 29.8 및 51.1%로 가장 높았고, 같은 대근의 ethanol 침전분말 성분의 경우는 최종 반응농도가 각 100, 500 및 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 일 때의 저해능은 3,500~1,000dalton에서 39.3, 52.3 및 58.7%로 가장 높았다. 이에 비하여 Table 2에 표시한 NPG소근의 물추출분말 성분에서는 반응농도가 각 100, 500 및 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 일 때 3,500~1,000dalton에서 각 29.5, 48.2 및 63.8%로 저해능이 가장 높았고, 같은 소근의 ethanol 침전분말 성분의 저해능은 반응농도가 100 및 500 $\mu\text{g/ml}$ 일 때는 10,000dalton 이상에서 31.0 및 37.0%로, 반응농도가 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 일 때는 3,500~1,000dalton에서 61.9%로 각기 높았다.

따라서 위의 결과들을 종합해 보면 암독소에 대한 저해능은 반응농도가 각 500 및 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 일 때의 NPG대근의 물추출분말 성분은 10,000dalton 이상에서 평균 40.5%로 가장 높았고, ethanol침전분말 성분은 3,500~1,000dalton에서 평균 55.5%로 가장 높았다. 그리고 NPG 소근에서는 물추출분말 성분과

Table 1. Inhibitory effect of large root Nepal pseudo ginseng fraction on lipolysis induced by Toxohormone-L (% inhibition)

Sample	Concentration($\mu\text{g}/\text{ml}$)	100	500	1,000
	Pore size of dialysis membrane(Dalton)			
WESP*	10,000 up	-3.4	29.8	51.1
	10,000~3,500	-4.7	26.3	37.2
	3,500~1,000	-2.5	21.9	42.9
	1,000 below	3.9	11.4	40.7
EPP**	10,000 up	25.0	41.2	47.6
	10,000~3,500	31.0	35.6	37.3
	3,500~1,000	39.3	52.3	58.7
	1,000 below	6.0	24.1	33.3

* WESP : Water extract solution powder

** EPP : Ethanol precipitate powder

Table 2. Inhibitory effect of small root Nepal pseudo ginseng fraction on lipolysis induced by Toxohormone-L (% inhibition)

Sample	Concentration($\mu\text{g}/\text{ml}$)	100	500	1,000
	Pore size of dialysis membrane(Dalton)			
WESP*	10,000 up	19.7	39.5	44.1
	10,000~3,500	8.6	20.2	36.4
	3,500~1,000	29.5	48.2	62.8
	1,000 below	15.3	43.4	48.5
EPP**	10,000 up	31.0	37.0	51.6
	10,000~3,500	8.3	15.3	45.2
	3,500~1,000	22.6	35.6	61.9
	1,000 below	19.1	24.5	38.9

* WESP : Water extract solution powder

** EPP : Ethanol precipitate powder

ethanol 침전분말 성분이 다 같이 3,500~1,000 dalton에서 각 평균 55.5 및 48.75%로 가장 높았다.

그리하여 NPG가 암독소에 미치는 저해능은 반응농도가 각 500 및 1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 일 때 NPG 대근에서는 ethanol 침전분말 성분(평균 55.5%)이 물추출분말 성분(평균 40.5%)보다 1.37배가 더 높은 저해능을 나타냈고, 소근에서는 반대로 물추출분말 성분(평균 55.5%)이 ethanol 침전분말 성분(평균 48.75%)보다 1.14배가 더 높은 저해능을 나타냈다. 따라서 NPG 대근

에서는 3,500~1,000 dalton의 ethanol 침전분말 분획 성분을, 소근에서는 3,500~1,000 dalton의 물추출분말 분획성분을 각기 분리하여 얻어냄이 더욱 효과적이라 하겠다.

다음으로 NPG와 고려홍삼의 암독소에 대한 저해능을 상호 비교하기 위해 고려홍삼을 Fig. 2와 같은 과정으로 부분정제한 10,000 dalton의 소위 고려홍삼 EPP를 얻어서 동일 조건에서 대근의 NPG와 비교한 것을 Fig. 3에 나타내었다. 즉 최종 반응농도가 1,000

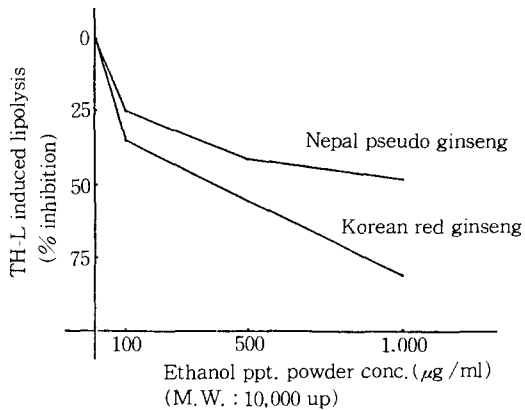


Fig. 3. Comparative inhibitory effect of red ginseng and Nepal pseudo ginseng on toxohormone-L induced lipolysis in fat cells.

$\mu\text{g/ml}$ 일 때 NPG의 저해율은 고려홍삼에 비하여 약 60%에 불과하므로 결국 약 40%가 낮았다.

이상의 여러 결과들로 미루어 볼 때 NPG는 다른 여러 生藥材와 마찬가지로 여러가지 성분으로 이루어져 있으므로 만일 더 순수하게 정제된다면 이보다 더 낮은 농도에서도 저해효과가 나타나리라고 사료되는 바이다.

요 약

Nepal산인 Nepal pseudo ginseng(NPG)의 大根과 小根 2종에 있어서 물추출 성분과 ethanol 침전성분이 암독소(Toxohormone-L)가 유도하는 지방분해에 미치는 영향을 관찰하고자 본 연구를 시도하였다. 지방질 분해인자로 알려진 독소호르몬-L은 Sarcoma-180 癌생쥐의 복수종양으로부터 부분정제하여 이용하였다. 암독소가 유도하는 지방분해 저해능은 반응의 최종농도가 500 및 1,000 dalton 일 때 大根의 NPG는 ethanol 침전성분(평균 55.5%)이 물추출 성분보다 평균 1.37배 더 높았으나, 小根의 NPG는 반대로 물추출 성분(평균 55.5%)이 평균 1.14배 더 높았다. 한편 大根의 NPG의 ethanol 침전성분이 지방분해에 미치는 저해능(47.6%)을 최종 반응농도가 1,000 $\mu\text{g/ml}$

일 때 고려홍삼의 ethanol 침전성분(79.8%)에 비교하면 약 60%에 불과하였다.

감사의 말

이 논문은 1993년도 고려대학교 특별연구비의 보조에 의하여 연구되었으며, 연구비의 보조에 감사드립니다.

참고문헌

- Masuno, H., Yoshimura, H., Ogawa, N. and Okuda, H. : *Eur. J. Cancer & Clin. Oncol.*, 20 (9), 1177(1984)
- Okuda, H., Masuno, H. and Lee, S. J. : *Proc. 4th Internat. Ginseng.*, p. 145(1984)
- 景鴻基 : 癌, p.22(1987)
- 李泰勳, 白廷美, 黃祐翊 : 高麗大學校 醫科大學 論文集, 25(1), 365, (1988)
- Hwang, W. I. and Son, H. S. : *Korean J. Biochem.*, 20(2), 49(1988)
- 黃祐翊, 李成東, 孫興秀, 白羅慶, 池裕煥 : 韓國營養糧學會誌, 19(5), 494, (1990)
- Hwang, W. I., Lee, S. D., Okuda, H. and Joo, C. N. : *Manda Enzyme symp.* '91 抄錄集, (1991)
- 李成東, 奧田拓道 : 韓國食品營養學會誌, 4(1), 75 (1991)
- Rodbell, M., : *J. Biochem.*, 239, 375(1964)
- Zapf, J., Schoedle, E., Waldbogel, M., Sand, M. and Froesch, E.R. : *Eur. J. Biochem.*, 113, 605(1981)
- 李成東, 田中治, 奧田拓道 : 韓國食品營養學會誌, 3(1), 9(1990)
- 李成東, 黃允敬, 奧田拓道 : 韓國食品營養學會誌, 3(2), 133(1990)
- 李成東, 黃祐翊 : 高麗人參學會誌, 15(2), 106(1991)
- 李成東, 奧田拓道 : 高麗大學校 保健專門大學 醫學技術論集, 16(1), 75(1989)

15. 李成東, 奥田拓道 : 韓國食品營養學會誌, 2(2), 27(1989).

(1993년 5월 20일 수리)