Korean J. Ginseng Sci.
Vol. 19, No. 3, 291~294(1995)

노오트

인삼잎으로부터 분리된 총사포닌의 분해산물 Monogluco-Ginsenoside의 항암작용

임광식 · 정해영 · 박설희[1] · 제남경[2]
부산대학교 약학대학, [1]고려대학교 의과대학, [2]조선무약 생명과학연구원
(1995년 11월 1일 접수)

Anticancer Effect of the Hydrolyzed Monogluco-Ginsenoside of Total Saponin from Ginseng Leaf

Kwang-Sik Im, Hae-Young Chung, Sul-Hee Park[1] and Nam-Kyung Je[2]
College of Pharmacy, Pusan National University, [1]College of Medicne, Korea University, Korea
[2]Institute of Life Science Research, Chosun Pharm. & Trading Co.
(Received November 1, 1995)

Abstract□Total saponin was isolated from ginseng leaf, which was hydrolyzed in alkaline condition. The hydrolyzed products were identified as monogluco-ginsenoside, ginsenoside Rh_1, Rh_2 and compound K, which showed anticancer effects against human cancer cell lines (SNU 717, Daudi, and Jurkat).

Key words□ginseng leaf, monogluco-ginsenoside, anticancer effects.

서 론

인삼 성분중 특히 saponin류가 유효 성분으로 주목되어 주로 saponin류의 구조와 효능에 관한 연구가 많이 진행되어 왔다. 인삼의 기원 식물명은 *Panax ginseng* C.A. Meyer이며 정유가 약 0.05%(주성분은 panacene, β-element 등), 단당류가 약 1.5%(β-glucose, D-fructose), 이당류(sucrose, maltose), 삼당류(trisaccharide A, trisaccharide B, trisaccharide C), saponin이 약 4% 함유되어 있다. Saponin중 oleanolic acid로는 ginsenoside Ro, 20-S-panaxadiol로는 ginsenoside Rb_1, Rb_2, Rc, Rd가 있고, 20-S-panaxatriol로는 ginsenoside Re, Rg_1, Rg_2가 있다. 이밖에 β-sitosterol, β-sitosteryl-glucoside, panaxynol …1,9-(*cis*)-heptadecadiene-4,6-dyen-3-ol], vitamin B군, amino acid, peptide, 염기성 물질(choline) 등이 있다.[1] 특히 인삼 saponin 중 ginsenoside Rb1은 약한 진정작용,[2] 용혈 방어작용[3]이 있고 배양닭배(embryo) 지각 신경절에서 신경성장 인자의 신경돌기 성장을 촉진한다[4]고 한다. 또한 ginsenoside Rg_1에는 피로회복 촉진작용[5]이 있고, ginsenoside Rb_2, Re, Rg_1은 흰쥐 골수 세포 DNA 생합성, 단백생합성, 지질생합성을 촉진시킨다고 보고되어 있다.[6]

본 연구에서는 건조한 인삼잎으로부터 총사포닌을 추출, 분리하고 이 총사포닌을 부분 가수분해하여 구성당으로 글루코스 한 분자가 인삼사포닌의 진성 비당부인 20-S-protopanaxadiol이나 20-S-protopanaxatriol에 결합한 화합물 즉 ginsenoside Rh_2(I), ginsenoside Rh_1(II), compound K(III)을 함유하는 monogluco-ginsenoside를 얻었다. I의 화합물은 오다시마 등[7]이 홍삼으로부터 분리, 구조 결정하고, 임 등[8]이 인삼잎, 백삼 및 수삼을 원료로 합성한 바 있는 광범위한 항암효과가 있고, 독성이 거의 없는 화합물이다. II의 화합물은 코이즈미 등[9]이 백삼의 미량성분으로 분리, 구조결정한 화합물이고, III의 화합물은 요시오까 등[10]이 진세노사이드 Rc를 토양균으로 가

수분해하여 미량 얻은 후 구조결정한 화합물이다. I의 화합물은 기타가와 등[11]에 의하면 홍삼에만 미량으로 함유된 성분이며, 백삼에는 함유되어 있지 않는 성분으로 알려져 있으며, II의 화합물도 백삼에 미량밖에 함유되어 있지 않으며, 또 III의 화합물은 백삼의 한 사포닌 성분인 진세노사이드 Rc를 토양균(strain YSB-6)으로 장기간 가수분해하여 얻었으나 동일한 토양균이 보존되어 있지 않으면 동일한 방법으로는 다시 얻을 수 없는 화합물이다.

더욱이 이들 3종류의 화합물들을 함유하는 조성물 및 그 효능에 대해서는 지금까지 알려진 바 없으므로, 본 연구에서는 그 조성물의 항암작용에 대해 검토하였다.

재료 및 방법

1. 재료

경북 풍기에서 1993년 10월에 6년생 인삼잎을 채집하여 곧 수증기 처리한 다음 음건한 것을 줄기를 제거하고 잎만 가루로 하여 추출용 시료로 사용하였다.

2. 인삼잎 총사포닌의 추출 및 정제

건조 인삼잎 1 kg을 조말로하여 메탄올 2 *l*를 가한 다음 수욕상에서 5시간 가열 환류하여 추출하였다. 이를 여과지로 여과하여 메탄올 추출액을 얻었다. 이 과정을 2회 반복하여 얻은 총 추출액을 합하여 감압하에서 농축하여 메탄올 엑기스 385 g을 얻었다. 이 엑기스에 증류수 1 *l*를 가하여 현탁시킨 다음 1-부탄올 1 *l*씩으로 2회 추출하였다. 총 1-부탄올 추출액을 수산화칼륨의 5% 수용액 20 m*l*로 처리하여 홀라보노이드를 제거한 다음 증류수 100 m*l*로 세척하고, 이를 무수 황산마그네슘으로 건조한 다음 감압농축하여 부탄올엑기스 320 g을 얻었다. 부탄올엑기스를 150 m*l*의 메탄올에 가온하여 녹이고, 실온으로 식힌 후 2 *l*의 초산에칠 용매중에 강하게 교반하면서 서서히 적가하였다. 이때 생성된 침전을 여과하여 모은 다음 이를 메탄올을 이용하여 실리카젤(Merck, 70～230 mesh) 60 g에 흡착시켰다. 이 흡착물을 별도로 실리카젤 600 g을 클로로포름을 이용하여 충진시킨 칼람의 상부에 가하고, 클로로포름-메탄올(100 : 1) 혼합용매로 용출하여 색소를 제거한 다음, 메탄올 약 2 *l*로 용출하였다. 이 용출액을 감압농축하여 총 인삼사포닌 120 g을 얻었다.

3. 인삼잎 총사포닌의 알칼리 가수분해

인삼잎 총사포닌 5 g을 무수 피리딘 500 m*l*에 녹이고 여기에 고체 나트륨메톡사이드 1 g을 무수메탄올 10 m*l*에 녹인 용액을 가한 후 수욕상에서 5시간 가열 환류하였다. 반응액에 물 100 m*l*를 가하여 남은 나트륨메톡사이드를 파괴하고 감압하에서 완전히 농축하여 반응잔사 5.5 g을 얻었다. 반응잔사를 물 200 m*l*에 현탁시킨 다음 초산에칠 200 m*l*씩으로 3회 연속하여 추출하였다. 전 초산에칠 추출액을 5% 염산 수용액 200 m*l*와 물 200 m*l*로 순차로 세척하고, 무수 황산마그네슘으로 건조한 다음 감압농축하여 분해산물 1.5 g을 얻었다. 분해산물을 메탄올 50 ml에 녹인 다음 500 mg의 실리카젤에 흡착시킨 것을 실리카젤 100 g을 클로로포름을 이용하여 만든 칼람의 상부에 가한 다음 클로로포름-메탄올(20 : 1)로 전개하여 모노글루코 진세노사이드 1.08 g을 분리하였다. 이때 얻어지는 기타 화합물은 비당부 120 mg과 디글루코 진세노사이드 250 mg이었다.

4. 모노글루코 진세노사이드 혼합물의 분리 및 구조확인

모노글루코 진세노사이드 1 g을 메탄올을 이용하여 실리카젤 500 mg에 흡착시킨 후 이를 별도로 실리카젤 60 g을 클로로포름을 이용하여 충진한 칼람의 상부에 가하였다. 클로로포름-메탄올(15 : 1)의 혼합용매로 이를 전개하여 I의 화합물 305 mg, II의 화합물 285 mg, 및 III의 화합물 278 mg을 각각 얻었다. 각 화합물을 ^{13}C-NMR data로 확인하였다.

5. 모노글루코 진세노사이드의 암세포 증식억제 실험

시료의 암세포 증식에 미치는 영향을 조사하기 위하여 암세포인 SNU 717 세포(사람의 T 세포의 leukemia 세포), Daudi 세포(사람의 B 세포의 Burkitt lymphoma 세포) 및 Jurkat 세포(사람의 T 세포의 lymphoma 세포)를 사용하였다. 1.9×10^5개의 세포들을 10%의 소태아 혈청(Sigma), 1% L-glutamate, 1% penicillin/streptomycin을 함유한 RPMI-10 배지(GIPCO) 2 m*l*에서 4일간 배양하였다. 본 실험에서 얻어진 시료를 무수 에탄올에 녹인후 0.5 μg/m*l*, 1 μg/m*l*, 10 μg/m*l* 및 100 μg/m*l*의 시료를 배지에 함께 넣어 암세포와 4일간 배양하여 암세포 증식억제 효과를 조사하였다. 대조군으로는 시료를 첨가하지 않은 배지에서 암세포를 동일한 조건에서 배양하였다. 암세

포의 숫자는 haemacytometer로 측정하였으며, 암세포 증식억제율을 다음의 식에 따라 구하였다.

$$\text{암세포 증식억제율}(\%) = \frac{(\text{배양후 대조군 암세포수} - \text{배양후 시료첨가군 암세포수})}{(\text{배양후 대조군 암세포수} - \text{배양개시시 대조군 암세포수})} \times 100$$

결과 및 고찰

지금까지 인삼사포닌을 분해하는 방법으로 시바타 등[12]은 산 가수분해반응을 이용하였으나, 이 방법에 의하면 비당부의 측쇄기가 2차적 변화를 일으켜 부산물이 얻어진다. 이 부반응을 피하기 위한 방법으로는 스미스 등[13]의 스미스 분해법, 요시오까 등[14]에 의한 토양균 가수분해법 등이 있다. 그러나 이 두 방법은 사포닌의 일부를 진성 비당부로 변화시켜 비당부(aglycone)의 천연형구조 즉 진성 비당부의 구조를 확인하는데는 중요한 방법이나 그 수득률이 좋지 않아 진성 비당부의 제조적 목적에는 적합하지 않을 뿐 아니라 반응시간이 길고 조작도 복잡하다. 최근 오기하라 등[15]은 이들 결점을 해결하기 위하여 알칼리에 의한 가수분해법을 개발하였다. 그러나 이 방법도 조작은 간편하나 제조적 목적으로 사용하기에는 수득률이 높지않다.

본 논문에서는 알칼리 분해반응의 성질을 자세히 검토한 결과, 이 반응은 친핵성 이분자반응(S_N2 mechanism)으로 진행하므로 비프로톤성 용매 중에서, 또한 고농도의 강알칼리를 사용하여야 반응속도가 크고 결과적으로 수득률이 높을 것이며, 또한 이 반응의 조건을 완화한 조건으로 조절하면 부분 가수분해가 가능할 것으로 판단하며, 부분 가수분해반응을 행하여 목적화합물 I, II 및 III을 현재까지 알려진 어떤 방법에 의한 것보다 훨씬 높은 수득률로 얻을 수 있었다. 이들 화합물 I, II 및 III의 혼합물은 혈액암세포의 성장을 강력히 억제하였다. 특히, 사람 T 세포의 lymphoma 세포(Jurkat)에 대해 시료 농도 0.5 μg/ml, 1 μg/ml, 10 μg/ml, 100 μg/ml에서 각각 28.9%, 43.6%, 65.7%, 85.5%의 억제율을 나타내어 가장 강한 활성을 나타내었으며, 사람 T 세포의 leukemia 세포(SNU 717)에 대해 시료농도 0.5 μg/ml, 1 μg/ml, 10 μg/ml, 100 μg/ml에서 각각 25.4%, 47.2%, 56.0%, 62.7%의 억제율을 나타내어 중정도의 강한 활성을 나타내었다. 그리고 사람 B 세포의 lymphoma 세포(Daudi)에 대하여 시료농도 0.5 μg/ml, 1 μg/ml, 10 μg/ml, 100 μg/ml에서 각각10.5%, 22.4%, 28%, 51.5%의 약한 정도의 활성을 나타내었다. 이들 monoglucoginsenoside들의 항암작용 기전으로는 암세포 분화작용 및 혈관형성 억제작용에 의할 것으로 생각되어 연구중에 있다. I의 항암작용에 대해서는 이미

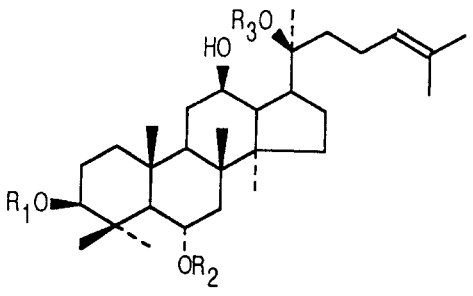

Fig. 1. Structures of compound I, II and III.
I. : R_1=β-D-glucopuranosyl, R_2=R_3=H (ginsenoside Rh_2)
II. : R_1=H, R_2=β-D-glucopuranosyl, R_3=H (ginsenoside Rh_1)
III : R_1=R_2=H, R_3=β-glucopuranosyl (compound K)

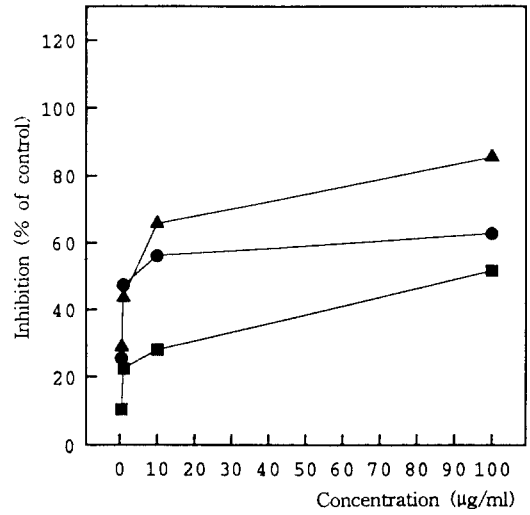

Fig. 2. Effects of mixture of compound I, II and III on cell growth. Cells were incubated for 72 hr at 37℃ and cytotoxicity was determined by hemocytometer.
▲—▲ : Jurkat, ●—● : SNU 717, ■—■ : Daudi.

보고되어 있으나, I, II, III 혼합물이 혈액 암세포에 대하여 강한 항암작용을 나타내므로 순수 분리과정을 생략할 수 있어 대량 생산시에 대단히 경제적이다. 또한 고가의 홍삼이나 백삼을 사용하는 대신 인삼잎을 사용하여 총사포닌을 얻어 알칼리로 가수분해 함으로써 활성성분을 대량 얻을 수 있어 고부가가치를 올릴 수 있다.

요 약

인삼잎으로부터 총사포닌을 분리하여 알칼리 가수분해하여 monogluco-ginsenoside 즉 ginsenoside Rh_2 (I), ginsenoside Rh_1(II) 및 compound K(III)의 혼합물을 높은 수득율로 얻었다. 또한, 이들 I, II, III 혼합물의 혈액암세포에 대한 세포성장에 미치는 영향을 검토한 결과 Jurkat에 대해 가장 높은 활성을 나타내었으며, SNU 717에 대하여는 중정도의 활성을 나타내었다. 그리고 Daudi에 대해서는 약한 활성을 나타내었다.

인 용 문 헌

1. 神戶中醫學研究會 : 漢藥の 臨床應用. 醫齒藥出版株式會社, p. 301 (1979).
2. 齊藤洋 : 代謝, **10**, 94 (1973).
3. 高木敬次郎 : 和漢藥物學. 南山堂, p. 23 (1982).
4. Saito, H., Suda, K., Schwab, M. and Thoenen, H. : *Jap. J. Pharm.*, **27**, 445 (1977).
5. Saito, H, Yoshida, Y. and Takagi, K. : *Jap. J. Pharm.*, **24**, 119 (1974).
6. 山本昌弘 : 代謝, **10**, 119 (1973).
7. Odashima, S., Ohta, T., Kohno, H., Matsuda, T., Kitagawa, I. and Arichi, S. : *Cancer Research*, **45**, 2781 (1985).
8. 임광식, 차배천, 이상국 : 대한민국 특허공보 93-5989 (1993).
9. Kozumi, H., Sanada, S., Ida, Y. and Shoji, J. : *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 2393 (1982).
10. Yosioka, I., Sugawara, T., Imai, K. and Kitawaga, I. : *Chem. Pharm. Bull.*, **20**, 2418 (1972).
11. Kitagawa, I., Yoshikawa, M., Hayashi, T. and Taniyama, T. : 日本藥學雜誌, **103**, 612 (1983).
12. Nagai, M., Ando, T., Tanaka, N., Tanaka, O. and Shibata, S. : *Chem. Pharm. Bull.*, **20**, 1212 (1972).
13. Smith, F., Hay, G. W. and Lewis, B. A. : *Method in Carbohydrate Chemistry*, Vol. 5, Academic Press, New York and London, p. 361 (1965).
14. Yosioka, I., Fujio, M., Osamura, M. and Kitagawa, I. : *Tetrahedron Lett.*, 6303 (1966).
15. Ogihara, Y. and Nose, M. : *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1417 (1986).

Korean J. Ginseng Sci.
Vol. 19, No. 3, 295~317(1995)

Ginseng Research of China During The Past 20 Year

Wang Zhen-Gang
Professor of P.U.M.C., Hon. President CNPHARS.,
Vice Chair National Essential Drugs. CMA., Beijing, 100050, China

Ginseng (*Panax ginseng*) has been used as a tonic drug in Chinese Traditional Medicine for two thousand years. It is believed to be significantly beneficial for human health. During the past 20 years, due to the modern chemical, biological and pharmacological technology, the ginseng research of China has been developed rapidly. Major work has been carried out by many laboratories in Beijing, Shanghai and Shonzhen, etc. Since most of the research works were supported by pharmaceutical companies, many interesting papers sometimes are of confidential limitation. It is not easy to find those papers in common library. To make a comprehensive review of ginseng is very difficult and reluctant.

The following aspects will be discussed :

1. Cultivation : Cultivation of ginseng is very important and basic work. Ginseng tissue and cell culture have been used in the research work. Botanic scientists has been working hard on the species, including its locality, time, maturation, the parts to be collected. For example, the optimum condition for ginseng is between $-10^{\circ}C$ to $10^{\circ}C$ with annual rainfall. In the apothecary or the market, high quantity or rhizome is very important.
2. Chemical components : It is well known that ginseng contains many active components. Besides the proteins and carbohydrate which usually exist on most herbs and plants, ginseng contains many valuable ingredients including: volatile oil, saponins known as panoxosides or ginsenosides (Ro, Ra_1, Ra_2, Rb_1, Rg_1, ····· Rh_1), antioxidants, peptides, polysaccharides, fatty acids, alcohols, vitamin, maltol, salicylic acid and other organic acids. Rb_1, Rg_1 and some organic acids are the main researching substances at present.
3. Pharmacology and Immunology : Scientists have been studying in cardiovascular, central nervous, endocrine system, immune system, sexual development, RNA and DNA metabolism, anticancer activity and antiaging effects of ginseng. It is reported that both Rb_1 and Rg_1 extracted fron ginseng could improve memory deficits and brain fucntion as well as stimulate the immune system in animal study by many laboratories. It is reported that Rb_1 could facilitate acetylcholine (ACH) release from rat brain hippocampal slices. The increase in ACH release is not associated with an increase in calcium uptake into nerve terminals, but is associated with an increase in uptake of the precursor choline. The results may suggest that Rb_1 may be clinically useful for alleviation of some symptoms of senile domentia of the Alzheimer type (SDAT).
4. Clinical study : Promote the function of heart and mental activities in heart failure. Decrease blood sugar and promote the general healthy condition in diabetic patients. Dispel fatigue, safeguard the liver, etc. A regular daily small dose keeps on health and strong, preserves one's high complexion and assures one longevity. Recently, ginseng has been shown to increase WBC in AIDS patients. Traditional herbalists are effect on many different kinds of disease in clinical trials. Dose is very important for clinical use, and it should be paid more attention for "Ginseng Abuse", "Hyperexciting" and "Addition".

5. Future : It is no doubt, ginseng has contributed a great efficacy to human health in the past thousand years. Ginseng is a great herbal. Yet, there are many problems facing us. Most ginseng's preparations are crude. There are only full preparations in the market. Loss study on its pharmacokinetics and bioavailability.

International cooperation and scientific information exchange are most necessary. Hard work is still required. That highlight of ginseng will be arrived in the coming 21 century.

Ginseng Researches of Russia During The Past 20 Years

Yuri A. Kim

Leading Research Scientist, Institute of Cell Biophysics,
Russia Academy of Sciences, 142292 Pushchino Moscow Region, Russia

Ginseng researches in the Russia during last two decades (1975~1995), were reviewed expecially experimental with data of interactions of saponines from *Panax ginseng* C.A. Meyer on membranes. The publications on researches of ginseng were about 200 in total (papers and monographs) for 1975~1995 in Russia.

1. Ginseng, *Panax ginseng* C.A. Meyer, grows in the latifoliate forests of Primorie and Khabarovsk region in the Far East of Russia. Not much stock of ginseng in forest does not allow to provide enough raw materials to medicine industry. From 1963 in Russia, the works on ginseng, that is cultivating, researching of agriculture and biology, and gene selection have been carried out. The zones of cultivating ginseng are Primorie, middle part of Russia, Siberia, Ukraine, Belorussia and North Caucase. The technology of ginseng cultivation permits up to 1 ton of dry root of ginseng in one hectare. Many aspects of biology and cultivation of ginseng are elucidated in the monograph Malyshev A. A., Ginseng; Biology and Cultivation, 1986.
2. Cell culture of ginseng was carried out in Russia for the first time in the world and then technology of cell culture on the industrial scale followed. The collection of ginseng strains is obtained including various mutant type and wild type strains of *Panax ginseng*, *Panax quinquefolius* L. and *Panax japonicus* by using cell selection method. The researches of cell culture was carryed out in the Timiryasev Institute of Plant Physiology (Moscow).
3. The Pacific Institute of Bioorganic Chemistry (Vladivostok) focused on the researches of analysis of chemical components in cell culture suspensions. The principal active components of *Panax ginseng* cell extract were beta-D-glucoside of beta-sitosterin and the glucoside of oleanolic acid. In this Institute, wide researches of synthesis of glycosides, that is triterpenoid of dammarane series were carried out. Protopanaxadiol was synthesized from betulofolientriol in leaves of birch.
4. To compare with other countries (Korea, Japan, China), the publications in Russia are not much in the researches of Pharmacology and Immunology. In 1976 Prof. Brekhman said that future of pharmacology definitely belongs to pharmacology of health than treatment. Scientists have been studying in many aspects of ginseng, including anticancer activity and effects on immune system, central nervous system, immobilization stress and alloxan diabets, and many others. Many scientists have shown that a tincture of tissue culture biomass of ginseng cells has immunomodulatory effect on humoral immunity. It was shown that polysaccharide fractions isolated from two lines of ginseng tissue culture activated the effector functions of polymorphonuclear leucocytes and macrophages.
5. Clinical studies are applied for prevention of atherosclerosis, management of adjuvant therapy in

revitalization, and assessment of its tonic activity.

6. Study of biophysical mechanism of interaction of ginseng components with membranes (Experimental data of authors).

Depending on the concentration of substances and lipid composition of the membrane Panaxatriol, Panaxadiol and ginsenoside Rg_1 formed two types of ion-conducting structures; with low and large conductances. Ginsenoside Rb_1 began to increase the membrane conductance at concentration of about 60 μg/ml. However, as against of other substances did not observe the single channel fluctuation. The effect of total saponins and glycosides and their aglicons on thermodynamic parameters of model membranes from dipalmitoylphosphatidilcholine (DPPC) are investigated. The total saponin interacted with gel phase of lipid in polar region and does not penetrate deeper glycerol backbone of lipid molecule. Panaxadiol and ginsenosides Rb_1, Rg_1 poorly influenced on the phase transition. The total saponin and panaxadiol at high concentration (100 μg/ml) influenced on the phase transition of mixture of DPPC : Chol. Total saponin influenced specifically all erythrocyte membrane transitions in a concentration-dependent manner, i.e., on the structures of all the main membrane skeleton proteins.

The Ginseng Research of Past 20 Years in Southeast Asia

Ling Ling Yang and Kun Ying Yen

Graduate Institute of Phamacognosy Science, Taipei Medical College, Taipei, Taiwan, R.O.C.

Panax ginseng is one of the tonic natural source. It is very commonly used by Southeast people. The steam root of the Ginseng plant is called as red ginseng. The fresh ginseng was washed and sun or oven dried as White ginseng, Red ginseng has the same nature and flavor as white ginseng, but has a stronger supplementing action. It is especially suitable for Yang vacuity patterns with inversion cold in the limbs. Daily dosage : 1.5～10 mg. Containdicated in pathogen repletion patterns. In clinical doctors usually disponsed the ginseng mixed with one or more than one kinds of Chinese herbs for remedy diseases. It is Si-jun-ji-tang(四君子湯), Sheng-mai-san(生脈數), Ren-shen-tang(人蔘湯), Lin-jun-zi-tang(大君子湯), Ren-shen-yang-rong-tang(人蔘養榮湯), Bai-ha-jia-ren-shen-tang(白虎加人蔘湯) …… etc.

Ginseng is one of the famous physiological active Oriental crude drugs. In China, we call it as the Qi tonic drugs. The conception of Qi represents the native cognition of the natural phenomena in the ancient time, in which Qi is believed to be the basic element which constituents the Cosmos and produces everything in the world through movement and changes. Thus, Qi corresponds to or can be comprehended as configurative energy. Since the existence of Qi in the human body can only be perceived through its resultant activities of organs and tissues. So in the field of medicine, Qi is referred to basic element or energy which makes up the human body and supports its vital activities.

In Chinese medicine on the principles and methods of treatment are according to the diagnosis that based on an overall analysis of symptoms and including the causes, nature and location of the illness and the patient's condition. It is "ascertain the causes of a disease and give treatment". So the Qi tonic drug is usually used in the treatment deficiency of Qi. Shen(蔘) is very commonly found in traditional Chinese medicinal literatures. They are included -- 人蔘, Ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer, Araliaceae), 黨蔘, Pilose Asiabell Root; Codonopsis Pilosulae Radix (*Codonopsis piosula* Nannf., Campanulaceae); 太子蔘, Pseudostellaria Radix; (*Pseudostellaria heterophylla* Miq., Caryophyllaceae), 花旗蔘 American Ginseng, Panacis Quinquefolii Radis; (*Panax quinquefolium* L., Araliaceae) …… etc. The different preparation method, used part and distribution of Ginseng were collected. The tonic Chinese drugs for replenishing for the

vital energy and treatment of various disease is mainly based on their properties to enhance the function of immune system. This conception is now re-emphasized by modern immunotherapy of tumor. In this paper, the immuno-regulative effects of 9 kinds Ginseng on S-180 ascite tumor bearing inbred Blab/c mice, the prolongation survival time was detected. T lymphocyte and its subpopulation were used Monoclonal antibody of Anti-mouse Thy 1,2 Lyt-2 and L3T4 PE stain, then detected by the FACScan Flowcytometry (Becton Dickson). The results are shown as the follows:

1. The ascite tumor bearing mice that immune regulation of total T lymphocytes are significantly decreased than the normal group.
2. American Ginseng and Red Korea Ginseng have effectively induced total T lymphocytes different from the control group.
3. In view of the results of Helper T cell/suppresser T cell ratio, American Giinseng and White Korea Ginseng are significantly different from the control group.

Ginseng Researches of Japan During The Past 20 Years

Yukihiro Shoyama

Professor of Pharmacognosy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University, 3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812, Japan

For the past 20 years in Japan, scientific investigations on ginseng have been widely advanced because ginseng is used not only as one of the most important Chinese medicine, but also as modern medicine. Although it seems to be difficult to review shortly, following four fields; cultivation, bioactive principle, pharmacological activity, biotechnological investigation and future on ginseng researches will be discussed.

1. Cultivation of *Panax ginseng* started approximately 230 years ago in Shimane Prefecture in Japan, and the major cultivation area is now concentrated in three parts, Nagano, Fukushim and Shimane Prefectures. Continuous cultivation carried some problems regarded to the pathogen attack. Therefore, the breeding of this species has been investigated by the selection and the crossing method to fix a new strain in Japan.
2. After the structure elucidation of genuine sapogenins. 20(S)-protopanaxadiol and 20(S)-protopanaxatriol by Prof. Shibata and his co-workers, many ginsenosides have been isolated from the crude ginseng, and various *Panax* organs; leaves, flower buds and fruits. Malonylated ginsenosides were found by Prof. Kitagawa's group, and they make clear the processing mechanism of ginseng. Moreover, Japaness ginseng, *P. japonicus* has been studied, and isolated to elucidate their structures resulting in an addition of new ginsenosides.
3. Since ginsenosides posses an unique dammarane-type triterpene skeleton in a molecule, pharmacological effects of ginsenosides have been investigated widely regarding on central nervous system like spontaneous motor activity, learning and memory, cultured neuron cells and so on. However, many researchers still believe that ginseng may contain unknown bioactive principles because many pharmacological and immunological surveys for the crude ginseng extract have been done, and various kinds of effects have been reported. Recently clinical applications of Chinese medicine containing ginseng and crude ginseng for patients are increasing in Japan. Therefore, these results will be followed.
4. In this 20 years, many papers appeared in the biotechnological field of *P. ginseng* dividing into two different directions of study; the mass production of ginsenosides by culturing and the *in vitro* breeding. It became evident that cultured tissue of *P. ginseng* accumulated a higher amount of ginsenosides,

and has been developed to use as a functional and health food, furthermore as a bath essence in Japan. It was reported that hairly root culture transformed by *Agrobacterium rhizogenes* promoted the production of ginsenosides. In order to apply the culturing of *Panax* species for breeding, micropropagation systems via somatic embryogenesis and/or multiple shooting system have been set up. However, since the transplantation of regenerated plantlets via somatic embryogenesis to soil is quite difficult, the problems on breeding still remain. These results including ours will be discussed in this lecture.

5. Recently many receptors have been found in animal bodies. But in the case of ginseng, no evidence regarding receptor has been presented. This area should be expanded in order to jump and create some new idea for ginseng studies in the coming centry. Crude ginseng preparation and Chinese medicine prescription containing ginseng may increase in the clinical application. Therefore, the most important point is the quality control which still depends upon the growth environment. Moreover, residual chemicals like pesticide and insecticide in ginseng preparation is also severe point because patients should take ginseng repeatedly. Therefore, the breeding of homogeneous population and anti-pathogen strain should be promoted using the biotechnological methodology. Since ginseng has a multifunctional activity, the bioactive compounds for instance ginsenosides, polyacetylene compounds and polysaccharides, should be roughly separated and used for individual clinical application. Such ginseng researches in future will be also suggested in the lecture.

고려인삼의 화학성분에 관한 고찰

박 종 대
한국인삼연초연구원

고려인삼은 오갈피나무과(Araliaceae)에 속하는 다년생 초본으로 한국, 중국, 시베리아 동부에 자생하는 식물이나 야생인삼(산삼)은 희귀하며 상업적으로 유통되는 인삼근의 대부분은 한국, 중국 동북지역에서 재배된 고려인삼(*Panax ginseg* C.A. Meyer)의 뿌리를 가공한 것으로 백삼, 홍삼으로 구별되어진다. 백삼은 수삼을 그대로 건조 가공하는 것이며 홍삼은 수삼을 증숙하여 건조 가공 제조한 것으로 열을 가하기 때문에 입체적인 화학변화를 받는 것으로 알려져 있다.

인삼은 동양의 유구한 역사속에서 수천년 동안 만병 통치약으로 사용되어 왔고 한방에서는 上品藥으로 부작용 및 독성이 없는 효능이 인정되어 왔지만 화학성분과 약리, 생물학적 연계의 측면에서 과학적으로 연구되기 시작한 것은 최근의 일이었다.

인삼의 화학적 연구는 1854년 Garriques가 미국삼(*Panax quinquefolium*)의 뿌리에서 배당체를 분리하여 Panaquilon이라 명명하게 되므로서 이 물질이 인삼의 화학성분으로 최초로 보고되었다. 그후 인삼의 화학적 성분연구가 본격적으로 시작된 것은 1957년 소련의 Brekhman에 의해 사포닌 배당체가 인삼의 유효성분으로 분리되었고 1960년대에 이르러 일본의 Shibata, Tanaka group에 의해 인삼사포닌(3~6%)이 Triterpenoid계열의 Dammarane골격에 Glucose, Arabinose, Xylose 및 Rhamnose 등이 결합한 배당체임을 밝혔으며 Shibata 등이 이들을 TLC에서 극성의 순서에 따라 Ginsenoside-Rx라 명명하여 인삼의 유효성분이라 하였다.

현재까지 인삼의 뿌리에서 화학구조가 밝혀진 Ginsenoside는 백삼 및 홍삼을 합하여 총 30종이며 protopanaxadiol type이 19종, Protopanaxatriol type이 10종이며 Dammarane골격이 아닌 Oleanane골격의 Ginsenoside Ro 1종이다. 특히, Dammarane계열의 화학적 성질은 C-20위치의 Tertiary alcohol의 배당체 결합이 불안정하기 때문에 약산에 의해 쉽게 가수분해되고 Empty P-orbital에 SN_1 반응의 공격위치에 따라 20(S) 및 20(R)의 이성체를 형성한다. 이와 같은 반응은 수삼으로부터 홍삼제조시에도 인삼의 유기산을 촉매로 하여 홍삼의 특유성분이 생성하고 이에 대한 약리, 효능을 기대할 수 있어 많은 학자들의 관심과 노력이 모아지고 있는

실정이다.

이러한 홍삼 특유성분으로서 20(S)-Ginsenoside Rh_2, 20(S)-Ginsenoside Rg_3, 20(R)-Ginsenoside Rg_2, 20(R)-Ginsenoside Rh_1, Notoginsenoside R_4이 밝혀졌다. 아울러, 본 연구실의 김신일 박사 등은 고려홍삼으로부터 Ginsenoside Rh_1의 C-20에서 H_2O 1분자가 탈수되고 이중결합이 도입된 Ginsenoside Rh_4와 Ginsenoside Rg_3로부터 같은 기전에 의해 생성된 Ginsenoside Rg_4를 분리하여 입체적인 화학적 본태를 해석하고 Side chain의 Conformation을 Entgegen type으로 구명하였다.

백삼의 특유성분으로서는 Kitagawa 등에 의해 Malonyl-ginsenoside-Rb_1, -Rb_2, -Rc, -Rd가 밝혀졌으며 이들 성분들도 홍삼제조의 수치과정에서 Demalonylation되어 원래의 Ginsenoside로 환원되고, 일부는 Decarboxylation되어 홍삼 특유성분인 Ginsenoside-Rs_1, -Rs_2가 생성된다고 보고하였다.

한편, 사포닌 성분이외에도 약리효능면에서 약리활성이 기대되는 성분들이 지용성 분획으로 인삼근중에는 약 1~2%정도 함유되어 있고 활성성분으로서는 항산화 활성을 보여주는 Phenol계 화합물과 암세포에 세포독성을 보여주는 Polyacetylene계 등이 있다. 더군다나, 정유성분인 Sesquiterpene계 화합물은 인삼의 향기성분으로서 연구되고 있다. Phenol계 화합물은 Salicylic acid, Caffeic acid, Maltol 등 12종이 분리되어 구조가 동정되었으며, 이중 수삼의 Maltose로부터 Amino-carbonyl reaction에 의해 생성된 Maltol은 홍삼의 항산화 효과를 나타내는 활성성분으로 한병훈 교수 등에 의해 보고되었다. 아울러, 홍삼의 Ethyl acetate 가용성 분획으로부터 생리활성이 기대되는 새로운 Polyphenol의 Permethyl ether 유도체가 분리되어 잠정적인 구조가 밝혀졌으나 아직 완전한 화학적 본태가 해석되지는 못하였다. 인삼의 Polyacetylene 성분들은 최초로 Panaxynol이 분리된 이래 Panaxydol, panaxytriol, Acetylpanaxydol, Chloropanaxydol, Panaxyne 등 9종이 보고되었고 또한 Hexane 가용성 분획으로부터 이들과는 새로운 Acetylene계 화합물인 Ginsenoyne A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K 등 11종이 분리 동정되었다. 인삼의 정유성분으로서는 수삼의 Ether 가용성 분획으로부터 Azulene, Patchoulene 등 약 30여종의 Sesquiterpene계 화합물이 GC/MS로 동정되었다. 그밖에, Ether 가용성 염기성 분획에서 5종의 Methoxypyrazine, 8종의 Alkylpyrazine유도체가 확인되었고, Sesquiterpene alcohol인 panasinsanols A, B 및 Ginsenol이 분리되었다. Alkaloid성분은 Ether soluble Alkaloid와 수용성 Alkaloid성분으로 나눌 수 있는데 전자는 7종의 β-Carboline계열 성분 및 1종의 Thiazole계 성분이고 후자는 Choline 등을 들 수 있다. 일반적으로 Alkaloid는 미량으로도 뚜렷한 생리활성을 나타내기 때문에 이들에 대한 약효가 기대되고 있다.

수용성물질(50~60%)로서는 그중 중요한 것이 탄수화물로서 Polysaccharide 등을 들수 있는데 면역 부활활성, 항보체 활성, 항위궤양 효과, 항암효과 및 항당뇨효과가 보고되어 주목을 받고 있다. 고려인삼으로부터 Panaxane A-U 등 21종의 중성 및 산성 Polysaccharide 등이 분리되어 부분 화학구조가 해석되었다. 이들 구성당으로서는 Glucose, Arabinose, Galactose, Rhamnose, Xylose의 Hetero다당이며 산성다당체는 Uronic acid를 함유하고 있다.

인삼의 함질소 성분(12~15%)으로서는 아미노산과 Oligo-peptide 등으로 Okuda 등은 고려홍삼으로부터 항당뇨효과와 관련있는 Insuline like substance인 Adenosine, Pyroglutamic acid가 있다고 보고하였다. 또한 고려홍삼으로부터 홍삼 제조시 Amino-carbonyl 반응에 의한 생성된 Arg-Fru-Glc를 분리하여 혈관을 확장하는 생리활성을 보여준다고 보고하였다. 기타 유리당, 비타민, 무기성분, 유기산들도 간단히 고찰하고자 한다.

인삼의 지상부 성분으로서는 Saponin, Flavonoid에 대해서 간단히 소개하고 Ginsenoside-Rh_3, 20(R)-ginsenoside Rh_2, Ginsenoside-F_1, F_2, F_3, F_4, F_5 등을 중심으로 고찰하고자 한다.

이상과 같이 고려인삼의 약효성분을 중심으로 국내외에서 수행한 결과에 대해 본인의 연구실에서 연구한 결과와 더불어 전반적인 연구현황 및 전망들을 고찰하고자 한다.

인삼의 약리작용

김 낙 두
서울대학교 약학대학

인삼의 성분에 대한 화학적 연구가 활발하여짐에 따라 약리학적 및 치료작용에 관한 연구도 점차 증가하고 있다. 과거의 연구가 엑기스 수준에서 검토되었던 것에 비해 근래의 실험은 순수분리된 pure ginsenosides의 작용에 관한 연구보고가 주종을 이루고 있으며 약리작용도 현상적인 관찰로부터 연구 기법의 발달에 따라 세포수준에서의 작용기전이 밝혀지면서 인삼의 과학적 효능이 입증되고 있다. 인삼의 중추신경계, 순환기계, 내분비계에 대한 작용, 면역기능의 항진, 항스트레스 및 항노화작용, 항암 또는 암 예방작용 등 다양한 작용에 대해 그 기전이 밝혀지면서 인삼은 식품으로서의 효과외에 치료적 목적으로도 사용될 것으로 전망된다. 1966년부터 1995년 현재까지 medline에 수록된 인삼연구에 관한 논문을 분석한 결과 총 737편으로서 중국 : 302편, 일본 : 239편, 한국 : 37편, 기타 미국, 소련, 불가리아 및 유럽 등에서 159편이 발표되었다. 물론 누락된 부분도 있을 것으로 예상되나 전체적인 연구동향의 지표라고 보여진다. 중국의 경우 중국 국내에서 발표된 논문이 많았고 한국 국내에서 발표된 논문은 medline 검색에서 조사가 안된점이 있기는 하나 인삼연구에 중국, 일본이 주종을 이루고 있으며 한국에서 연구된 논문이 세계적으로 알려진 외국잡지에 투고가 적음은 인삼 종주국으로서 인삼 연구와 관련하여 활성화되어야 할 것으로 사료된다. 연구분야를 보면 총 737편 중 성분 및 분석이 138편, 순환기분야 82편, 중추신경계 62편, 항암효과 62편, 면역계 43편, 항노화 및 항스트레스 작용이 35편 등이 57%를 차지하고 있었다. 즉 인삼에 대한 연구가 성인병 질환인 순환기계, 중추신경계, 항암 및 면역계 등에 많은 것으로 집계되었다. Ginsenosides의 작용에 대해서는 protopanaxadiol계 및 protopanaxatriol계 saponin의 작용이 서로 상반되거나 또는 동일한 작용에 있어서 2개의 ginsenoside 중 한 성분이 우세하게 작용한다는 보고와 특히 최근에는 ginsenoside Rh_2의 항암작용과 ginsenoside Rg_3의 항혈전 및 항고혈압작용 연구 등이 주목할 만한 것으로 사료된다. 현대사회에서 stress가 각종 질병 즉 고혈압, 악성종양, 위궤양 및 당뇨병 등의 원인으로 작용할 것이라는 것이 많은 과학자들에 의해 지적되고 있다. 생리학적 기능에 대한 자율신경의 조절은 정상적으로 교감신경과 부교감 신경활동의 균형에 의해 이루어지고 있다. 따라서 이 균형이 stress에 의해 장애를 받으면 자율신경이 분포하고 있는 장기의 이상반응이 여러가지 증상으로 나타난다. 실제로 정신적 stress시 교감신경이 활성화되고 혈장 catecholamine이 증가하여 심박동 및 혈압이 증가함이 보고되고 있다. 이와 관련하여 최근 연구에서 인삼, 특히 protopanaxatriol계 사포닌이 신경말단으로부터 epinephrine의 분비를 억제하며 stress에 비해 비정상적으로 항진된 교감신경의 활성을 억제할 수 있음을 시사한바 있다.

Ginsenoside가 중추신경계에 대해서 학습과 기억증진 및 항건망증작용이 보고되고 있으며, 한편 학습과 기억증진에 L-arginine으로부터 생성되는 nitric oxide가 한 매개체로 작용함이 보고되고 있는 것과 관련하여 중추신경계에서 ginsenoside가 NO에 미치는 효과를 연구하는 것도 흥미로울 것이다. 음경해면체에서 ginsenoside가 내피의존성 혈관 확장작용이 있으며 신경성 혈관 확장에 대해 증강작용이 있음을 보고하고 이 작용은 ginsennoside에 의한 NO의 유리와 관련이 있고 인삼의 최음작용과 관련이 있을 것이라는 보고는 흥미있는 결과라고 생각된다. 또한 저자의 연구에서도 수년간 ginsenoside의 순환기계에 대한 연구결과 ginsenoside가 내피의존성 혈관확장을 일으키며 이 작용은 내피에서 유리되는 nitric oxide가 주요 매개체로 작용함을 보고한 바 있다. 동맥경화증 토끼에서 식이성 ginsenoside의 투여로 동맥경화시 유발되는 혈관이완장애가 개선됨을 보고하고 이 작용은 아마도 인삼에 의한 NO의 유리와 관계가 있을 것으로 시사한 바 있다. 인삼의 작용과 nitric oxide의 생리작용을 비교해 볼때 인삼의 다양한 작용이 어떤 장기에 대한 특수한 효과라기 보다는 인체에서 유리되는 어떤 매개체에 의해서 효과가 광범위하게 나타날 것으로 추정되나 앞으로 더 많은 연구가 진행되어야 할 것이다.

고려인삼의 생리 · 생화학적 효과

정노팔 · 진승하
연세대학교 생화학과

인삼이 생물체에 미치는 여러가지 영향에 대해서는 인삼의 성분이 밝혀지기 시작한 1965년 이후부터이다. 인삼의 주요성분으로는 크게 tripenoid saponin, 질소화합물, 다당체, polyacetylene계 화합물 그리고 지질성분

등으로 나누어진다. 이러한 성분에 대한 연구는 인삼의 생물학적 연구와 함께 많은 발전을 하였다. 인삼에 대한 생리화학적인 국내의 연구는 1960년대 중반부터 시작하여 지금까지 지속되어 왔으며 국외의 경우에는 그보다 훨씬 이전부터 일본을 비롯한 동유럽 지역에서 지속적으로 연구되어 왔으며 1980년 이후에는 중국, 미국 그리고 서유럽까지 인삼연구에 참여하고 있다. 지금까지 인삼에 대한 연구를 살펴보면 인삼이 생물체에 미치는 영향은 매우 다양하며 아직까지도 많은 의문점을 보이고 있다. 여기서는 인삼이 생물체의 생리·생화학적인 측면에 대하여 기술하고자 한다.

1. 생리학적 연구

인삼추출물은 대장균이나 효모의 증식을 촉진시키며 효모의 알코올 생성을 증가시키고 있다. 또한 사람의 diploid fibroblast에서 lactate생성을 증가시키며 계배 근육세포의 성장촉진과 생존기간을 연장시키고 피부각질형성세포의 증식을 억제시키는 결과를 보였다. 진세노사이드는 배양 간세포에서 DNA의 합성과 tyrosine aminotransferase유전자 발현을 촉진시키고 암세포의 분화를 유도시켰다. 메탄올 추출물은 암세포의 세포독성물질 흡수를 촉진시켜 물질의 세포독성을 증가시키고 있으며 volatile oil과 물추출물의 alkaline분획은 세포독성을 나타내었다. 사포닌은 위의 pepsinogen분비에 대해 분비와 관련된 억제제 및 촉진제와의 작용에서 정상화시키는 작용을 보이고 있으며 이러한 작용은 주세포의 cAMP 생성량에 대한 diol계와 triol계 사포닌의 상반된 결과에서도 나타나고 있다. 인삼사포닌은 심장의 VLP(left ventricular pressure)와 AP(arotic pressure)를 감소시키며 사포닌과 진세노사이드는 혈압을 용량 의존적으로 저하시키며 이는 내피유래 이완인자에 의해 이루어짐이 관찰되었다. 그리고 진세노사이드 Rg_1과 Re는 endothelium dependent relaxation을 일으키며 내피세포에서 NO유리를 증가시킨다. 사포닌은 adrenocortical hormore의 수용체에 대한 binding affinity와 분비 그리고 adrenal gland의 catecholamine분비를 증가시켰다. 사포닌과 진세노사이드 Rd는 renal function에 중요한 기능을 수행하고 있으며 허혈로 인한 신장의 손상을 억제하며 myocardial infarct에 대한 보호효과를 나타내고 있다.

신경계에 대한 연구 : 사포닌과 진세노사이드는 대뇌피질 신경세포의 생존을 촉진시키고 비정상 상태로 유도 배양된 뇌세포 및 척수세포의 성장과 신경축색돌기의 생성 및 발달을 촉진시켰다. 시납토좀에서 진세노사이드 Rd분획의 농도 의존적인 신경전달물질의 흡수와 Rc의 GABA 흡수가 보고되었다. Rb_1은 중추신경계의 신경말단에서 choline흡수를 촉진시키고 해마의 choline uptake site 수의 증가를 가져왔다. 진세노사이드 Re와 Rf는 $GABA_A$와 $GABA_B$ 수용체와의 상호작용 결과가 간접적으로 제시되고 있다. 사포닌은 대뇌 허혈에 대한 보호효과가 있으며 에탄올에 의한 뇌 성장억제를 완화시켰으며 진세노사이드 Rg_1, Rb_2, Rd와 Rf는 소뇌의 성장을 회복시켰다. 사포닌은 adrenalectomized rate에서 hypothalamic-pituitary-adrenal sensitivity와 관련된 corticosteroid의 결합을 증가시키고 진세노사이드는 해마의 기능과 관련된 corticosterone-preferring receptor를 증가시키고 있다. 진세노사이드 Rb_1은 denate gyrus에서 long-term potentiation을 억제하였는데 이러한 사실은 사포닌은 뇌의 activity-dependent synaptic plasticity에 영향을 미친다는 직접적인 결과로 볼 수 있다. 또한 인삼에 대한 행동학적인 연구결과도 상당히 많이 도출되어 있으며 이는 자발운동량, 조건회피반응 수미로시험 등을 이용한 것으로 이와 관련된 몇가지 결과들을 보면 사포닌과 진세노사이드는 전기충격으로부터의 회피능력을 향상시키고 cyproheptadine, scopolamine 또는 cycloheximide에 의한 기억손상동물의 기억력 회복효과를 나타내고 있다. 이러한 인삼성분에 대한 학습 및 기억에 대한 효과로 인해 인삼을 nootropic agent의 범주에 포함시키고 있다.

2. 생화학적 연구(효소활성과 물질대사)

효소활성 : 사포닌은 대장균의 succinate dehydrogenase, 효모의 alcohol dehydrogenase, hexokinase, phosphoglucose isomerase, pyruvate decarboxylase 활성을 증가시키고 석유 에텔 추출물은 간의 GOT, GPT, lactate dehydrogenase의 활성을 투여량에 따른 증가 또는 감소를 보였으며 glutathione-S-transferase와 succinate dehydrogenase의 활성을 증가시켰으나 malate dehydrogenase의 활성은 감소시켰다. 메탄올 추출물은 glutathione-S-transferase, cytochrome P450, NADPH-cytochrome C reductase의 활성을 증가시켰다. 사포닌은 간의 microsomal ethanol oxidizing system, NADPH-cytochrome C reductase, DT-diaphorase, glucokinase와 aldehyde dehydrogenase의 활성을 증가시키고 tyrosine aminotransferase의 활성을 유도시켰다. 그리고 근육의 ma-

late dehydrogenase의 활성을 증가시켰다. 사포닌은 심장과 뇌의 calmodulin-dependent phosphodiesterase, 뇌 microsome의 Na^+, K^+-ATPase, 심장의 Na^+-ATPase와 K^+-dependent phosphatase의 활성을 억제하였으며 몇가지 calcium-dependent phosphodiesterase에 대해 선택적 억제제로 작용하였다. 그리고 adenylate cyclase와 guanylate cyclase에 대해서는 상반되는 작용양상을 보이고 있다. 사포닌의 효소에 대해 비특이적 활성화를 보이는 것은 사포닌이 직접적으로 효소의 conformational change를 일으켜서 효소의 활성을 촉진시키며 이러한 활성증가는 주로 surface activity에 의한 것으로 제시되고 있다.

물질대사 : 대장균에서 사포닌과 추출물에 당대사, 단백질 합성과 respiration을 촉진하고 효모의 에탄올 대사를 촉진시킨 반면 polyacetylene화합물은 백혈병 세포인 L1210의 고분자 합성을 억제시켰다. 간세포에서도 사포닌은 단백질과 DNA의 합성을 촉진시켰다. 인삼에 관한 대사관련 연구는 당대사와 지질대사에 집중되어 있으며 그 결과를 요약하면 다음과 같다. 당대사의 경우 혈당과 간의 glycogen함량을 감소시켰으며 insulin분비 증가와 glucose흡수 억제현상을 보였으며 이와 관련하여 보고된 인삼의 성분으로는 사포닌, peptide분획과 다당류 분획을 들 수 있다. 또한 이러한 효과는 생체의 탄수화물 이용을 증가시키고 glycogenesis를 감소시킴으로서 일어나는 것으로 연구자들은 생각하고 있다. 지질대사에 있어서는 혈중과 간의 총콜레스테롤과 저밀도 지단백질 그리고 triglyceride의 수준을 낮추고 HDL 콜레스테롤 양을 증가시켜 주었다. 이와 관련된 효과를 나타내는 인삼성분으로는 사포닌 성분이 주를 이루고 있다. 이러한 효과는 인삼이 cholesterogenesis와 lipogenesis를 억제하는 것으로 관련 연구자들은 제시하고 있다. 진세노사이드 Rb_1와 Rg_1은 adrenal cell에 corticotropin으로 유도시킨 steroidogenesis를 억제시키며 간과 뇌 microsome에서 지질 과산화를 억제시킨다. 인삼성분 중 panaxynol은 가장 강력한 항혈전 작용을 보이며 진세노사이드 Rg_1은 adrenaline- 또는 thrombin-induced aggregation을 억제한다.

3. 면역학적 연구

인삼사포닌은 lipopolysaccharide와 함께 종양세포에 대한 대식세포의 치사활성을 증가시키고 대식세포의 종양괴사인자 분비를 자극하며 cyclophosphamide와 같은 항암물질과의 병용투여시 종양 발생을 억제하며 항암물질에 의한 면역억제 현상을 완화시키는 반면 lymphocytic blastogenesis에 대해서는 아무런 영향을 주지않고 있다. 물추출물과 진세노사이드는 동물의 항체생성능력과 자연살해세포의 활성을 증가시키고 물추출물은 lymphocyte의 mitogenic 활성화와 DNA 합성촉진을 나타내고 helper T cell과 cytotoxic cell을 증가시켰다. 말초혈의 polymorphonuclear leucocyte의 phagocytic활성이 인삼추출물에 의해 증가되었으며 phytohaemagglutinin에 의한 lymphocyte변형이 억제되고 있다. 또한 인터페론과 함께 virus에 대한 저항성을 증가시키고 있다. 트리올계 진세노사이드는 interleukin-1과 6의 유전자 발현과 interleukin에 의해 유도되는 mRNA 전사를 촉진시킨다. 물추출물은 혈중의 immunoglobulin E의 생성을 억제시키고 contact dermatitis가 억제되었다. 이러한 면역계에 대한 인삼의 효과는 immunomodulator로서 그리고 항암제에 의한 면역억제 완화제로서의 응용 가능성을 제시하고 있다.

이와 같이 생물체의 생리기능에 대해 인삼성분은 많은 영향을 미치고 있는 것으로 나타나고 있다. 이러한 연구결과들은 여러 가지 측면에서 인삼의 응용 가능성을 제시하고 있다. 그러나 인삼에 대한 구체적인 생리학적인 기전연구가 아직도 미흡한 실정으로 기초연구에 대한 많은 여지를 남겨두고 있다. 그러나 최근들어 인삼의 생리기전과 관련된 기초생물학적 연구결과들이 보고되고 있어서 인삼연구의 새로운 장이 열릴 것으로 생각된다.

인삼 재배분야의 과거 20년 연구

밝 훈
한국인삼연초연구원

인삼재배는 ① 유전육종 유전공학 ② 영양생리 및 토양비료 ③ 병충해방제 ④ 재배방법 ⑤ 품질 ⑥ 경영 ⑦ 연구여건의 일곱 분야별고 1975년부터 1994년까지 20년간 연구결과를 종합 검토하였다.

1. 유전 · 육종 및 유전공학

농경학적형질이 변이 및 상호관계를 년도별 재배조건별로 많이 조사되었다. 그러나 순계분리에 있어서도 계통별 유전형질의 유전특성에 관한 연구가 거의 없다. 육종방법에서는 방사선과 화학약제를 사용한 돌연변이 방법을 시도되었으나 중단되었다. 교잡육종에 있어서도 이론적 또는 실용적 결과가 없다. 중간 교잡 특히 서양삼과의 교잡 필요성을 제시 형질 비교연구를 많이 하였다. 순계분리방법만이 유일한 수단으로 진행되어 200여 계통이 검정되어 왔으며 수개계통이 포장시험단계에 있다. 체세포로부터 완전개체를 만드는 기술은 아직 성공하지 못하였다. 유전공학적 방법을 인삼의 유전자구조를 밝히기 위해 기지효소를 대상으로 시작하였으며 원료삼 생산국 확인방법 개발에 사용하고 있다. 유용형질의 유전성에 관한 자료를 집적하고 적절한 육종모형이 성행되어야 할 것이다.

2. 영양 · 생리 및 토양비료

광도, 광질, 온도, 수분, 무기영양, 토양물리성에 관한 생리 특성을 현지포장을 대상으로 조사하고, 실험실과 실험포장에서 모형별로 조사하여 상호관계와 최적 조건들을 찾아 포지에 따라 적용할 수 있도록 하였다. 광과 온도의 요인을 분리관리하는 개념을 도입하여 죽조림과 계절별 해가림법의 해석과 이들 적용방법을 확립하였다. 예정지 선정과 예정지관리에서 기상조건과 토양물리화학성과 관련한 이론이 정립되었으며 구체적 방법이 제시되었다. 여러가지 생리장해의 원인과 그 대책이 규명되었으나 아직도 밝혀지지 않은 것들이 남아있다. 생장조절제와 인삼생육과의 관계연구가 진행되었으나 실용화단계에 이르지 못하였다. 인삼수량을 획기적으로 증가시키는데 필요한 인삼생리 특성에 관한 연구는 극히 미진하다.

3. 병충해방제와 제초

모든 인삼병원균을 분리하여 이들의 이병과 관련된 생리 생태 특성을 밝히고 방제방법(약제의 선발, 농도 및 시기)을 확립하였다. 해충과 선충(감자썩이 선충), 소동물의 방제에 있어서도 발생생태의 연구와 이에 따른 방제방법이 확립되었다 한다. 병해와 충해 소동물의 피해방제에 있어서 농약잔류량 등 생산품 및 환경오염을 최소화하는 방법이 많이 연구되었다. 연작장해의 방지로 훈증제 사용방법이 4년근까지 성공되었으나 6년근까지는 확립되지 못하였다. 길항 미생물제는 우리나라 최초의 실용화였으나 확실성이 미흡하다. 제조방법에 관한 연구는 비교적 적은편으로 제초의 비중이 크지 않은점 때문인 것 같다. 환경요인 자동기록 병해예보장치에 의한 예방방법이 수립되어야 할 것이다.

4. 재배방법

해가림방법이 볏짚이엉에서 차광판, PE차광망으로 바뀌었다. 노지에서 부초재배로 바뀌었으며 분포무관수에서 점적관수 재배가 장려되고 있다. 논삼재배의 재작특성과 발삼재배의 예정지관리법을 조합하여 산지고정화 방법이 제시되었다. 농촌 인력부족을 극복하기 위하여 인삼재배용 기계(작반기, 수확기, 삼장가설기, 이식기 등)가 많이 개발되었다. 직파재배법의 연구가 미흡하다. 임간재배방법이 제품원료삼 생산목적으로 연구하였으나 중단되었으며 고가 산양삼 재배방법이 시도되었다.

5. 품질

내고, 내백 방제에 관한 재배조건과의 연구결과로 방제방법이 제시되었으나 가장 중요한 이들 요인이 경작자와는 아무런 관계가 없으므로 현장적용이 잘 되지 않았다. 품질의 제일요인인 대편화에 관한 연구는 근권토양미생물과 관련연구되고 있다. 재배환경과 품질요인과의 관계를 밝혀 고품질 재배방법을 밝혔다. 유효성분과 재배조건과의 관계연구 결과로 사포닌 주유효성분 견해에 대하여 내열성 질소화합물(특히 Peptides)견해를 제시하였다. 전통재배방법이 고려인삼 품질과 밀접한 관계가 있음을 밝혔다. 내공, 내백의 획기적 방제를 위한 방법의 수립에 기초자료가 되는 기작에 관한 연구는 상당히 미흡하다.

6. 경영

재배경영에 관한 연구는 재배규모에 큰 차이가 많으며 위탁재배와 협동재배의 여러 형식이 별로 고려되지 않은 채 생산비 분석 정도로 상당히 적은 편이다. 기계화와 관련하여 적정재배규모 등이 밝혀져야 한다. 인삼가격은 품질에 의하여 크게 영향받는데 품질을 고려한 재배경영분석은 전무하다. 대면적 조방적 기계화 재배보다 소면적 기술집약적 재배에 관한 경영모델이 확립되어야 할 것이다.

7. 재배연구 여건

1979년부터 인삼재배연구는 여전히 인삼연구소에 국한되었다. 고려인삼연구소가 특별법에 의하여 재단법인으로 설립되므로 연구비와 연구인력이 증가되어 크게 확기를 띠었으나 1980년 다시 인초연구소와 통합됨으로서 연구의 독립성이 위축되었다. 인삼재배연구는 인삼에 대한 이해도가 중요함에도 인삼 비전문가들의 평가와 실용화 위주 그리고 복잡한 평가방법 때문에 연구자의 연구독립성이 상실되어 실용화를 위한 기본연구가 이루어지지 못하였다. 1996년부터 홍삼전매가 자유화되므로 인삼재배연구가 크게 위축될 우려가 있어 대책수립이 필요하다. 그간 양질삼 생산연구가 가장 시급한 과제임에도 이 분야에 연구비는 가장 적게 투입되어 왔다.

인삼제품의 가공현황과 연구동향

梁 辛 源
한국인삼연초연구원

인삼은 1차 가공되어 홍삼과 백삼으로 제조되고 이를 원료로 다시 精, 차, 분말, 캡슐, 錠劑, 드링크, 토닉, 통조림, 넥타, 쥬스, 과자, 가당인삼 등으로 2차 가공되고 있다. 현재 30종 이상의 제품이 200품목 이상 제조되고 있으며 60여개 업체에서 66개국으로 수출되고 있다. 국내 인삼가공품 시장은 홍삼, 백삼 및 가공제품을 總合해서 '93년 약 2,130억의 시장규모를 보이고 있으나 UR, 제조원가의 상승 등 국내외 여러가지 불리한 여건으로 인삼시장의 전망은 밝지 못한 것으로 나타나고 있다. '91년 이후 백삼류의 국내 생산량 동향은 직삼을 포함한 본삼류의 경우 매년 생산량이 감소되어 '93년도에 962.7톤이 국내 유통되었고 태극삼은 증가되어 19.8톤이 생산되었으나 그 수량은 많이 않았다. '93년도 백삼류의 국내시장규모는 약 900억원이었고 인삼제품의 주원료인 원료 세미삼의 가격은 최근 10년간 큰 변동이 없는 것으로 조사되었다. '93년 홍삼 및 홍삼제품의 판매액은 총 580억원으로 홍삼이 98억원, 홍삼제품이 482억원으로 나타났다. 홍삼과 백삼의 가공제품류의 수출현황은 주로 精類, 드링크류, 茶類제품이 동남아지역으로 편중화 되어있고 매년 수출물량은 감소하여 92년 약 8,500만$이었으나 '94년도에는 5,400만$에 불과하여 인삼시장의 불황을 나타내고 있다.

인삼시장의 불황을 타개하고 시장을 활성화 하기 위하여 많은 관계기관과 연구분야에서 제품의 개발과 개선연구를 수행하고 있으나 가공제품 분야의 학술적인 문헌은 그다지 많지 않은 실정이다. 인삼精의 Ginsenoside의 함량과 안정성 그리고 향미 등 관능적 품질을 개선하기 위하여 인삼정의 제조시 품질에 미치는 영향인자인 추출온도, 시간, 농축방법 및 온도와 시간과의 상호관계를 밝히고자 노력하였다. 인삼의 부위별로 사포닌의 함량과 구성비가 크게 차이가 있어 세근일수록 사포닌 함량이 많고 온도가 높을수록 처리시간이 증가할수록 사포닌은 분해정도가 증가하고 pH는 감소한다고 보고하였다. 또한 저온으로 추출할수록 알콜용매의 농도가 높을수록 유동성이 좋고 특유의 고미가 있으며 사포닌의 안정화도 기할 수 있다고 하였다. 인삼드링크류는 향취미 조화와 품질안정성 확보가 가장 중요한 요건인데 침전물 생성을 방지하기 위하여 원료의 정제기법 연구, 사포닌을 포함한 주요성분과 pH 및 기타 조건과의 상호관계를 파악함으로써 드링크류의 침전물 생성을 방지할 수 있는 기법을 해결하려고 노력하였다. 침전물의 생성원인은 Ginsenoside의 당이 가수분해됨으로서 불용성화되고 결국 음료의 침전현상을 유발한다고 하였고 pH가 낮을수록, 처리온도가 높을수록 시간이 경과할수록 불용성 물질이 생성되어 부유하거나 침전한다고 하였다.

그외에 精粉과 茶類의 품질안정화 특성에 관한 연구와 인삼제품의 미생물학적 품질안정성을 확보하기 위하여 방사선 조사를 이용한 살균방법을 연구하였다. 낮은 선량(5~7 kGy)의 감마선 조사로 멸균효과를 얻을 수 있고, 또 10 kGy 선량으로 조사하였을 때 인삼사포닌, 폴리아세틸렌 화합물 등의 변이 또는 상호작용도 없이 안정하다고 하였다.

기능성 제품개발을 위한 기본연구로 유산균, 효모, 초산균 등의 발효에 미치는 영향을 규명하여 인삼첨가 발효유제품 및 기타 기능성 발효제품 제조를 위한 기본자료를 제공하였다.

제품개발 동향은 국내외 특허출원 동향을 종합하여 유추해 보면 알 수 있다. '86년 이후 국내의 인삼제품 관련 특허건수가 총 135건이 조사되었는데 제품특성상 액상제형이 58건(43%)으로 제일 많았고 용도는 건강

보조식품용이 75건(56.6%)으로 제일 높았다. 특히 '92년도 이후 특허출원 빈도가 급증한 것으로 보아 지적재산 소유권 확보에 관심이 크게 높아진 것을 알 수 있다.

최근 '94년도 이후 외국 특허현황은 총 51건의 조사대상중 국내동향과는 달리 건강보조식품 용도(7.8%)보다는 의약품용도의 특허건수(31%)가 월등히 높아 외국의 인삼제품 개발은 특정효능을 목표로한 의약품 위주로 진행되고 있음을 주목할만 하다.

앞으로의 인삼제품은 막연한 건강보조식품 형태보다는 목표효능과 용도가 정확하고 품질이 확실하며 기호에 부응할 수 있도록 과학적으로 설계되어 제조된 제품만이 높이 평가받을 수 있을 것이다.

고려인삼의 임상적 연구

윤 택 구
원자력병원

인삼은 약 2000년전부터 神農本草經, 名醫別錄 및 傷寒論에 의거하여 補氣救脫, 益血復脈, 良心安神, 生律止渴, 補肺定喘, 健脾止瀉 및 托毒合瘡효과가 있다고 알려져 동양에서 널리 복용되어 왔다. 이들 효과에 대한 기초과학적 또는 임상의학적 연구가 동양에서는 1910년대, 서양에서는 1950년대부터 수행되어 왔다.

현시점에서 볼때에 인삼의 다양한 효과, 즉 당뇨병, 심장병, 혈압 간질환, 위장관질환, 스트레스, 뇌기능, 노화, 방사선방어, 빈혈, 조혈기능, 면역기능, 체력증진, 강장효과에 대한 기초과학적 또는 작용기전에 관한 연구는 국내에서도 광범위하고 깊이있는 연구가 수행되어 왔음에도 불구하고 인삼의 어느 특정질환에 대한 치료효과 또는 예방효과를 확인하기 위한 체계적인 임상연구는 국내외를 막론하고 상상외로 많지 않다.

인삼의 임상연구가 수행되었던 분야는 체온, 맥박수, 임상증상 및 혈액학적소견, 피로회복, 작업능률향진, 빈혈, 본태성고혈압, 위장관운동, 만성위염, 당뇨병, 당혈증, 혈중 cholesterol, 혈중지질, 혈중 prolactin, 부신피질기능, 성무기력증, 발기부전, 정자결핍증, 남성불임증, 갱년기장애, 항암작용, 암예방, 재활치료, 바이러스성 급성간염, 한국인의 인삼기호도 및 복용시 부작용 등에 관한 임상연구 또는 인체를 대상으로한 연구들이 있었다.

최근에 모든 질병의 예방 또는 치료제를 식품 또는 천연물성분으로 성취하고저 하는 움직임을 감안할 때에 우리 고려인삼의 각종 질병에 대한 치료 및 예방효과에 있어서도 전설적인 효과가 아니고 현대 임상의학적방법 또는 역학적방법에 의한 체계적이고 설득력있는 연구가 수행되어서 이들 효과가 과학적으로 강력히 입증되어야 할 것이다.

Ginsenoside-Rh_1과 Rh_2에 의한 암세포 침윤 억제작용

이호영 · 차희재 · 김신일[1] · 김규원
부산대학교 분자생물학과, [1]한국인삼연초연구원

Effect of ginsenoside Rh_1 and Rh_2 on tumor cell invasion was studied by using the human HT1080 fibrosarcoma cells. Ginsenoside Rh_1 and Rh_2 caused the inhibition of invasion of HT1080 cells into a reconstituted matrigel, and the inhibitory effect of Rh_2 is stronger than that of Rh_1. To investigate whether the antiinvasive effect of Rh_1 and Rh_2 is the result of transcriptional regulation of genes responsible for laminin, type IV collagen degradation (MMP-2, MMP-9, and uPA) and their inhibitors (TIMP-2, PAI-2), we examined the mRNA level of these genes in ginsenoside Rh_1- or Rh_2-treated HT1080 cells. The mRNA levels of MMP-2, uPA, PAI, and TIMP-2 in Rh_1- or Rh_2-treated HT1080 cells were not changed. Only the mRNA level of MMP-9 was decreased in HT1080 cells treated with 100 μM of Rh_1 or 75 μM of Rh_2 after 12 hrs. To confirm the reduced expression of MMP9 gene, we examined the enzymatic activity of metalloproteinases in HT1080 cells by gelatin based zymography. The gelatinolytic activity of 92 kDa type

IV collagenase was significantly inhibited on zymography of HT1080 cells treated with Rh_1 or Rh_2. In comparison to MMP-9, the gelatinolytic activity of 72 kDa was not changed remarkably. Based on these data, we suggest that ginsenosides Rh_1 or Rh_2 caused the inhibitin of tumor cell invasion probably by inhibiting the transcription of MMP-9 which is required for the degradation of extracellular matrices.

인삼사포닌이 위선세포내 Cyclic Nucleotide 생성 및 위산분비에 미치는 영향

김혜영 · 이승철 · 김경환
연세대학교 의과대학 약리학교실

인삼은 소화기계 질환을 포함한 여러 질병의 치유에 사용되어 왔으며, 인삼사포닌, acidic polysaccharide, methanol extract 등이 위궤양 환자나 위궤양 실험동물 모델에서 치유효과를 나타내었다. 기전으로는 histamine H_2 receptor blocker로서의 작용과 위점막에 대한 보호효과, 위점막 혈류증가 등이 제시되고 있다. 상기 연구들은 생체내 실험동물을 이용한 연구로서 확실한 기전을 규명하기 어려운 점이 있다. 본 연구는 인삼사포닌의 위산분비에 미치는 영향 및 기전을 밝히고자 인체 및 가토로부터 위선세포를 분리한 후 인삼사포닌 및 ginsenoside Rb_1, Rb_2, Rg_1, Rh_2를 투여하고, 비자극 및 자극상태의 위선세포내 생성되는 cAMP 및 cGMP 수준과 [^{14}C]-aminopyrine 축적비율을 통한 위산분비의 변동을 측정하였다. 위산분비 촉진제로서 histamine(10^{-4} M)과 IBMX (10^{-4} M)를 사용하였다. 인삼사포닌은 1 mg/ml의 농도에서 비자극 및 자극상태의 위산분비를 20~25% 억제하였으며, 위선세포내 cyclic nucleotide 생성엔 영향을 주지 않았다. 실험에 사용한 4종의 ginsenoside 중 ginsenoside Rh_2만이 인삼사포닌과 유사하게 위산분비를 억제하였다. Ginsenoside Rb_1, Rb_2, Rg_1, Rh_2 모두 위선세포내 cAMP 및 cGMP 생성을 촉진시켰으며, cAMP 생성은 비처치군의 230~740%, cGMP 생성은 비처치군의 260~810%를 나타내었다. 결론적으로 인삼사포닌의 위산분비 억제효과는 각각의 ginsenosides의 혼합효과로 나타나며, 인삼사포닌의 위산분비 억제부위는 histamine에 의한 위산분비 과정 중 cAMP 다음 단계인 단백질 인산화 과정이나 proton pump에 대한 직접적인 효과로 추정되며 또한 cAMP이외의 다른 위산분비 관련 신호전달 과정에 대한 영향도 배제할 수 없다.

Ginseng Total Saponin Protects Striatal Dopaminergic Neurotoxicity Induced by Multiple Methamphetamine in Mouse

Hack-Seang Kim, Ki-Wan Oh and George C. Wagner[1]
College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju, Korea
[1]*Department of Psychology, Rutgers University, NJ, USA*

Methamphetamine-induced dopaminergic neurotoxicity has been studied after multiple doses of methamphetamine. Multiple doses of methamphetamine cause substantial and long-lasting depletions of striatal dopamine (DA) and its metabolites. Neurochemical evidences indicate that DA in the corpus striatum plays a key role in motor function. Therefore, we are interested in the effects of ginseng total saponin (GTS) on depletions of striatal DA and its metabolites after multiple doses of methamphetamine.

GTS was pretreated intraperitoneally twice with 2-hour inter-injection interval 2 hours prior to the methamphetamine injection. Methamphetamine 10 mg/kg was injected subsutaneously four times with 2-hour inter-injection interval. One week after the injection of methamphetamine, mice were sacrificed, brains were removed, and striatal tissue was dissected out and stored in liquid nitrogen until time of

assay by HPLC with electrochemical detection for DA, 3,4-dihydroxyphenyl acetic acid (DOPAC) and homovanillic acid (HVA).

The four injections of methamphetamine 10 mg/kg resulted in significant depletions of striatal DA, DOPAC and HVA, compared to the saline control mice in agreement with previous reports. Pretreatment with two injections of GTS 100 mg/kg inhibited the methamphetamine-induced DA, DOPAC and HVA depletions and GTS 50 mg/kg inhibited the methamphetamine-induced DA and DOPAC depletions.

It is concluded that GTS can, in part, prevent the methamphetamine-induced neurotoxicity, exerting its potential to inhibit the striatal dopaminergic neurotransmitters depletions.

Methamphetamine의 행동과다와 정신적 의존성형성에 미치는 인삼사포닌의 억제효과

김학성 · 오기완 · 류항묵[1] · 조대현[1] · 오세관[2] · 박우규[3] · 장춘곤[3]
충북대학교 약학대학, [1]국립보건안전연구원, [2]미시시피의대, [3]한국화학연구소

Methamphetamine을 마우스의 복강내로 1회 투여하면 행동과다와 반복적으로 투여하면 정신적 의존성이 형성된다. 아울러 이 정신적 의존성이 형성된 마우스는 dopamine수용체 초과민성이 형성되어 중추신경계의 dopamine신경의 기능항진을 유발하여 심각한 중독증상을 초래하게 된다. 따라서 본 연구실에서는 이와 같은 중독증에 대한 효과적인 예방 및 치료제의 개발을 위하여 본 실험을 실시하였다.

Methamphetamine으로 초래되는 행동과다는 tilting-type ambulometer를 이용하여 측정하였으며 마우스의 정신적 의존성은 약물에 의한 장소선호과제법(conditioned place preference task)으로 측정하였다. 그리고 그 작용기전중의 일부를 규명하기 위하여 중추신경계의 dopamine수용체 초과민성형성 억제실험은 정신적 의존성이 형성된 마우스에 있어서 apomorphine투여에 의해 증가되는 자발운동에 대한 억제작용을 측정하였으며 인삼사포닌의 dopamine신경계에 미치는 항dopamine 효과를 검토하기 위하여 climbing behavior test를 실험하였다.

인삼사포닌을 마우스의 복강내로 전처치한 결과 methamphetamine의 행동과다와 정신적 의존성 형성을 억제하였다. 이러한 인삼사포닌의 억제작용은 정신적 의존성 형성의 기전중의 일부인 dopamine수용체 초과민성 형성 억제작용과 인삼사포닌의 항dopamine 효과에 기인하는 것으로 사료된다.

정상 및 기억감퇴 유도동물의 수동회피반응에 대한 홍삼사포닌의 효과

진승하 · 현학철 · 경종수 · 최금희 · 박진규 · 남기열
한국인삼연초연구원

한방적으로 인삼은 여러가지 대사관련 질환 뿐만 아니라 불안신경증, 우울증이나 건망증 및 기억감퇴와 같은 정신질환에 임상적으로 활용되어 왔다. 우리는 이와 같이 중추신경계와 관련된 기억·학습에 대한 인삼의 효능을 알아보고자 홍삼을 부위별(동체, 지근, 미삼)로 원료를 배합하여 diol(PD)계와 triol(PT)계 사포닌의 비율이 각기 다른 조사포닌을 사용하여 정상 및 기억력 감퇴 유도 동물(마우스)의 기억력을 평가하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 사용된 홍삼 추출물의 PD/PT 비율은 1.24(No. 1), 1.47(No. 2), 2.41(No. 3)이었다.
2. 홍삼 조사포닌의 급성투여시 No. 1은 100 mg/kg.bw의 농도에서 No. 2는 50 mg/kg.bw의 농도에서 반응잠시의 연장 경향을 보였으나 유의성은 없었다. 그러나 No. 3의 경우는 모든 처리군에서 대조군과 차이를

보이지 않았다.

3. 홍삼 조사포닌의 아급성투여시 No. 1은 50 mg/kg.bw의 농도에서 반응잠시의 연장경향을 보였으나 유의성은 없었다. 그러나 No. 2와 3의 경우는 모든 처리군에서 대조군과 차이를 보이지 않았다.
4. 기억감퇴 유도 동물에서 홍삼 사포닌 No. 1은 50 mg/kg.bw의 농도에서 그리고 No. 2는 100 mg/kg.bw의 농도에서 유의한 반응잠시의 연장효과를 보였다.

모리스 수미로 시험에 의한 실험동물의 공간인지능에 미치는 홍삼 사포닌의 효과

진승하 · 경종수 · 강윤희 · 남기열
한국인삼연초연구원

인삼은 한방적으로 기억과 관련된 질환이나 노화에 따른 뇌기능 저하에 오래전부터 임상적으로 활용되어 왔다. 우리는 수동회피반응 시험을 통하여 인삼의 기억증진 효과를 입증하였으나 인삼을 고농도로 투여시 자발운동량의 감소를 관찰하였기 때문에 수미로 시험을 통한 인삼의 효과를 확인하고자 하였다. 사용된 인삼은 홍삼을 부위별(동체, 지근, 미삼)로 원료를 배합하여 diol(PD)계와 triol(PT)계 사포닌의 비율이 각기 다른 조사포닌과 엑기스를 사용하여 실험동물(마우스)의 기억력을 평가하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 사용된 홍삼 추출물의 PD/PT 비율은 1.24(No. 1), 1.47(No. 2), 2.41(No. 3)이었다.
2. 홍삼 조사포닌의 급성투여시 No. 1 투여군은 50, 100 mg/kg.bw의 농도에서 목표지점까지의 도달시간의 단축효과를 보였으며, 100 mg/kg.bw의 농도에서는 시행시점간의 유의성있는 유영시간의 단축효과를 나타내었다. 또한 홍삼 투여군 모두는 유의한 공간인지능에 대한 향상효과를 보였다. No. 2 투여군의 경우 50 mg/kg.bw의 농도에서 대조군에 비해 기억 유지능 및 공간 인지능이 향상되었으나 유의성은 보여지지 않았다.
3. 홍삼 엑기스의 급성투여시 No. 1과 2는 200 mg/kg.bw의 농도에서 기억 유지능이 개선되는 경향을 보였으며 유의한 공간 인지능의 향상을 보였다. 그러나 No. 3 투여군의 경우는 모든 처리군에서 대조군과 차이를 보이지 않았다.
4. 홍삼 엑기스의 아급성투여시 No. 1은 200 mg/kg.bw의 농도에서 유영시간의 단축 경향을 보였으며 No. 2 투여군에서는 대조군에 비해 차이가 보여지지 않았다.

Effects of *Panax ginseng* on the Hippocampal Plasticity in Reponse to Entorhinal Cortex Lesion and the Detrimental Changes of Passive Avoidance Response

조소현 · 신경호 · 이영재 · 천연숙 · 전보권
고려대학교 의과대학 약리학교실

This study was carried to evaluate the antiamnestic effect of *Panax ginseng* components, particulary saponins and alkaloids, and also the protective effects of them on the neural plasticity, which may be induced in response to the entorhinal cortex (EC) lesion. The experimental meterials were male Sprague-Dawley rats (240± 20 g) and crude extracts of saponins and alkaloids from white *Panax ginseng*. The detrimental effect of electroconvulsive shock (60 mA, 0.9 sec., 200 Hz) on the passive avoidance response was inhibited by both of pre- and post-treatments with crude extract of ginseng saponins (SAP) and alkaloids (ALK), and by pretreatment with aminoguanidine (AG), an irreversivle inhibitor of diamine oxidase. And

also the detrimental scopolamine effect was inhibited by pretreatment with ALK and AG or by posttreatment with SAP and ALK. The unilateral EC lesion resulted in the chromatolysis of CA1 and dentate gyrus (DG) and the decrease of pyramidal cell number in the regions of CA1, CA3, and DG by the day 7. The chromatolysis was prevented by treatment with SAP, ALK, or AG for 7 days, but the decreases of pyramidal cell number in the hippocampal formation were slightly attenuated by all of them. The acetylcholinesterase (AChE) reactivity of hippocampal formation was significantly decreased by the EC lesion, and the crude extracts of ginseng saponins and alkaloids significantly attenuated the decrease of AChE reactivity, but AG slightly affected it. These results suggest that the antiamnestic effects of crude saponin and alkaloid extracts from white *P. ginseng* may be ascribed partly to their protective activities on the hippocampal damage precipitated by EC lesion.

고려인삼 Extract 성분이 쥐(Rat)의 장기에서 Polyamine 대사에 미치는 영향

홍성백 · 조영동
연세대학교 이과대학 생화학과

Polyamine은 자연계에 널리 존재하는 물질로써 세포의 성장, 발생, 분화 및 노화에 중요한 역할을 한다. 이물질의 합성과정은 Ornithine decarboxylase(ODC)와 S-adenosylmethionine decarboxylase(SAMDC)에 의해 조절되어진다. 이러한 Polyamine 대사에 고려인삼이 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위해 먼저 Rat에 인삼 extract를 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 6개월 단위로 0.5 g/*l* 농도로 복용시킨 후 rat에서 여러 장기들 즉, Brain, Liver, Spleen, Prostate, Testis를 떼어낸 세포 추출액에서 Polyamine 합성의 중요한 조절효소인 Ornithine decarboxylase(ODC)와 S-adenosylmethionine decarboxylase(SAMDC)의 활성변화를 대조군과 비교하였다. 또한 이들 장기에서 Polyamine인 Putrescine, Spermidine과 Spermine의 함량변화를 대조군과 비교하였다. 그 결과 ODC의 활성변화는 인삼 extract를 먹인 시험군이 대조군과 비교해 볼때 인삼 extract를 먹인 시험군의 Ornithine decarboxylase와 S-adenosylmethionine decarboxylase의 activity가 각각의 장기에서 대체적으로 높게 나타나는 경향을 보였다.

Polyamine의 함량변화는 인삼 extract를 복용한 기간마다, 각각의 장기에 따라 각기 다르게 나타났는데 대체적으로 인삼 extract를 복용한 시험군이 대조군에 비해 어느 정도 높게 나타나는 경향을 보였다.

고려인삼의 Saponin 성분이 쥐(Rat)의 장기에서 Polyamine 대사에 미치는 영향

최연식 · 조영동
연세대학교 이과대학 생화학과

Rat에 인삼 Saponin성분을 복용시킨 후 각 장기에서의 세포성장, 발생, 분화, 노화에 중요하게 작용하는 Polyamine대사의 변화를 관찰하였다. 먼저 인삼을 1, 2, 3, 4 그리고 6개월 복용한 rat에서 여러 장기들 즉, Brain, Liver, Spleen, Prostate, Testis를 떼어내 세포추출액에서 Polyamine합성의 중요한 조절효소인 Ornithine decarboxylase(ODC)와 S-adenosylmethionine decarboxylase(SAMDC)의 활성변화를 대조군과 비교하였다. 또한 이들 장기에서 Polyamine인 Putrescine, Spermidine과 Spermine의 함량변화를 대조군과 비교하였다. 그 결과 6개월 동안 ODC의 활성변화는 대조군에 비해 뚜렷한 차이를 보여 주지 않았으나 SAMDC의 활성변화는 개월 수마다 그리고 장기마다 대조군에 비해 각기 다른 차이를 보여 주었다.

Polyamine의 함량변화는 인삼의 sponin성분을 복용한 기간마다 각기 다른데 대체적으로 saponin성분을 복용한 기간이 늘어남에 따라 대조군에 대한 변화의 증감정도가 차이를 보였다.

이러한 결과는 polyamine대사와 saponin성분에 관한 연구분야에 도움이 될 것으로 사려된다.

고려인삼으로부터의 Agmatine Iminohydrolase의 정제 및 특성 규명

김효섭 · 조영동
연세대학교 이과대학 생화학과

고등식물에서 polyamine은 arginine이나 ornithine으로부터 합성된다. Arginine은 우선 agmatine으로 decarboxylation되고 agmatine은 N-carbamoyl putrescine을 거쳐 putrescine으로 된다. Agmatine iminohydrolase(EC 3.5.3.12)는 agmatine을 hydrolysis시켜 N-carbamoyl putrescine과 ammonia를 생성하는 과정을 촉매하는 효소이다. 그러나, 이 효소가 이러한 중요한 역할을 하는 효소중의 하나임에도 아직까지 인삼에서는 연구된 적이 없었다. 이에 2년생 인삼뿌리로부터 agmatine iminohydrolase를 황산암모늄 분별침전, DEAE-Toyopearl anion exchange chromatography, Hydroxyapatite chromatography, Agmatine-CH-sepharose 4B affinity chromatography에 의해 정제하였다. 정제하여 얻은 효소의 비활성도는 465.4 nmole/hr/mg이었고 SDS-PAGE에 의해서 70,000 dalton에서 단일 단백질 띠를 보였으며, native pore gradient gel electrophoresis에 의해 분자량을 결정하였을 때는 71,000 dalton의 위치에서 단일 단백질 띠를 보였다. 따라서 이 효소는 분자량 71,000 정도의 monomer로 된 효소임을 알 수 있었다. 이 효소의 최적 pH는 9.0이었고 최적온도는 37℃였으며, agmatine에 대한 K_m과 V_{max}는 각각 8.3 mM과 14.35 nmole/hr이었다. 그리고 이 효소는 Co^{2+}, Fe^{2+}, Mn^{2+} 등의 금속에 의해서는 활성화되는 반면, Ca^{2+}, Mg^{2+} 등의 금속에 대해서는 억제받는 경향을 보였다. Putrescine, cadaverine, spermidine, spermine 등의 polyamine들에 의해서도 억제받았으며, 특히 putrescine에 의해 강한 억제를 받았다. 이러한 결과들은 polyamine이 인삼의 성장에 영향을 주고 있음을 밝히는 중요한 결과로 생각된다.

인삼에서 S-Adenosylmethionine Decarboxylase의 정제와 특성에 관한 연구

이용선 · 송재환 · 조영동
연세대학교 이과대학 생화학과

고년생 인삼에서(*Panax ginseng* C.A. Meyer) 뿌리로부터 황산암모늄 분별침전, DEAE-Sepharose 6B 크로마토그래피를 수행하여 S-adenosylmethionine decarboxylase(SAMDC)를 정제하였다. 정제한 SAMDC의 비활성도는 1.33 mg/ml이었고, SDS-polyacrylamide gel 전기영동 경과 66,000 dalton의 단일 단백질 띠를 얻었으며 gel filtration 크로마토그래피에서 native의 분자량은 13,300 dalton으로 homodimer임을 알 수 있었다.

이 효소의 적정 pH와 적정 반응온도는 8.0과 37℃이었으며 K_m과 V_{max}값은 각각 86 μM과 0.0188 nmole $^{14}CO_2$ /hr이었다. 이 효소는 agmatine과 methylglyoxal bis(guanylhydrazone(MGBG))에 의해 competetive inhibition을 받으며 suicide inhibition을 받으며 suicide inhibitor인 5′-{[(z)-4-amino-2-butenyl]methylamino}-5′-deoxyadenosine(MDL)에 의해 noncompetitive inhibition을 받았다. Agmatine과 MGBG 그리고 MDL에 대한 K_i값은 각각 187 μM, 6.99 μM, 25.6 μM이었다. 인삼의 SAMDC는 carbonyl group modifying group reagents와 sulfhydryl group modifying reagents에 대해 활성이 감소되었으며 Fe^{2+}, Mg^{2+}, Mn^{2+} 등의 metal ion에 의해 activity가 증가하였다. 이러한 결과는 인삼 polyamine대사에 기여할 것으로 생각된다.

Metabolism of Ginseng Saponins by Human Intestinal Bacteria

Jong-Hwan Sung, H. hasegawa, S. Matsumiya, M. Uchiyama, Joo-Young Ha[1], Moon-Soon Lee[1] and Jae-Doo Huh[1]

Itto Institute of Life Science, Japan, [1]IL-HWA Co. Ltd.

The Metabolism of ginseng saponins by human intestinal bacteria was studied using human feces under anaerobic conditions. Ginsenoside-Rb_1, -Rb_2 and -Rc (protopanaxadiol type) were mainly metabolized to compound-K (C-K), 20-*O*-[α-L-arabinopyranosyl(1→6)-β-D-glucopyranosyl]-20(*S*)-protopanaxadiol (compound-Y, C-Y), 20-*O*-[α-L-arabinofuranosyl(1→6)-β-D-glucopyranosyl]-20(*S*)-protopanaxadiol (ginsenoside-Mc, Mc), respectively, and ginsenoside-Rg_1 and -Re (protopanaxatriol type) to their aglycone, 20(*S*)-protopanaxatriol, though the pathway and rate of metabolism were affected by fermentation medium. C-K was not decomposed any more, while C-Y and ginsenoside-Mc were both gradually hydrolyzed to C-K.

Effects of Ginsenosides on the Glutamate Release and Intracellular Calcium Levels in Cultured Rat Cerebellar Neuronal Cells

Seikwan Oh, Hack Seang Kim[1] and Yeon Hee Seong[2]

Department of Pharmacology and Toxicology, University of Mississippi Medical Center Jackson, USA.
[1]College of Pharmacy, [2]College of Veterinary Medicine,
Chungbuk National University, Cheongju, Korea

These studies were designed to examine the effects of ginsenosides on glutamate neurotransmission. In primary cultures of rat cerebellar granule cells, ginsenosides (Rb_1, Rc and Rg_1, 500 μg/m*l*) increased glutamate release which was measured by HPLC, but Re did not show an elevation of glutamate release. However, all of these ginsenosides down-regulated N-methyl-D-aspartate (NMDA)-induced glutamate release. Rc strongly increased glutamate release and elevated intracellular calcium concentrations ($[Ca^{2+}]_i$) which was measured by ratio fiuorometry with FURA-2 AM. These results indicate that ginsenosides have a homeostatic effect on glutamate neurotransmission, and there is a structure-function relationship among the ginsenosides tested.

생쥐 대식세포의 활성시 신호전달에 미치는 인삼사포닌 성분들의 영향

신은경 · 박한우 · 정노팔

연세대학교 대학원 생물학과

대식세포의 활성시 신호전달에 미치는 인삼성분의 영향을 알아보기 위하여 생쥐의 복강에서 추출한 대식세포를 이용하여 아래와 같은 실험을 수행하여 신호전달에 미치는 인삼성분의 영향을 알아보았다. Lectin수용체에 의하여 매개되는 식세포작용과 세포내 칼슘농도의 변화에 미치는 여러 가지 인삼사포닌 성분의 영향을 조사하였다. 또한 PKC(protein kinase C) 억제제인 H7과 G-단백질 억제제인 PT(pertussis toxin)과 함께 인

삼사포닌 성분을 처리하여 대식세포의 식세포활성을 측정하였다. 그리고 인삼사포닌 성분과 Ginsenoside, PT 등을 대식세포에 처리하여 세포내 칼슘농도를 측정하였다.

실험결과 인삼사포닌 성분은 대식세포의 식세포활동을 증가시켰으며, H7을 이용하여 PKC를 억제시켰을 때에도 식세포작용은 억제되지 않았으며, 인삼사포닌 성분들에 의하여 H7 처리군도 식세포작용은 증가하였으며, 또한 세포내의 칼슘의 증가를 촉진했으며, PT에 의하여 식세포활동이 억제되었을 때 Ginsenoside Rg_2와 Rb_2는 억제효과를 상쇄하는 작용을 나타냈다. H7에 의하여 lectin수용체에 의하여 매개되는 식세포작용은 억제되지 않았는데 FcR을 통한 식세포작용은 H7에 의하여 억제된다는 실험결과와 비교해 보면 이들은 서로다른 신호전달 기작을 가지고 있음을 알 수 있다. 또한 PT에 의하여 억제된 식세포 작용이 Ginsenoside Rg_2와 Rb_2에 의하여 회복되는 것은 계속 연구해야 할 대상이다.

RAPD를 이용한 고려인삼과 외국인삼의 구별

신최순 · 박상용 · 조재성 · 임용표
충남대학교 농과대학

RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA) 이용 가능성에 대한 연구와 국내에 분포하고 있는 인삼의 동질성을 확인하기 위하여 국내 전지역에 재배되고 있는 인삼을 수집해서 국내 재배 계통의 동질성 여부와 변이를 검토하여 궁극적으로 중국인삼 등 외국인삼과의 차이점을 밝혀 밀수입되는 중국인삼을 효율적으로 감별하고 고려인삼의 특수성을 과학적으로 증명하기 위하여 본 실험을 실시하였다.

*Panax ginseng*내에서의 국내변이와 외국지역내에서의 변이를 보기위해 국내에서 17종, 북한 개성의 1종, 중국 재배인삼 6종, 일본 재배종 1종 등 국내외 25종을 대상으로 9개 primer를 이용하여 RAPD를 수행했고, 얻은 band를 이용하여 유사도를 측정하고 유사계수를 기초로한 결과 A 및 B그룹으로 크게 나누어졌다. A그룹은 진안 1, 4, 5, 무주 1, 2, 3, 남원, 제천 등 18개 지역의 인삼이 속하며, B그룹은 집안, 무송, 석주, 장우, 장야 등 7개 지역 인삼이 속하는 2개의 큰 그룹으로 나누어 졌다. A그룹은 국내지역 인삼이 주가되며, B그룹은 진안 2, 3번을 포함하나 국외지역 인삼이 주가되었다. 종합해 보면 국내종은 밀접한 유연관계가 형성되며 중국종은 비교적 먼 관계로 나타남을 보여, 금후 이에 대한 실용화 연구를 첨가한다면 충분히 국내산 인삼과 외국산 인삼을 구별할 수 있다고 사료되었다.

RAPD를 이용한 *Panax* Species 및 *P. ginseng*내 변이 분석

신최순 · 박상용 · 신은명 · 권기원 · 조재성 · 임용표
충남대학교 농과대학

Panax species 사이의 지리학적인 변이의 측정을 위하여 5가지 *Panax* species를 9개의 primer를 사용하여 RAPD를 수행하였다. Primer A02는 18개 A10은 31개 등 각 primer에 따라 다형현상이 다양하게 관찰되었다. 평균 밴드의 수는 24개이고 증폭된 DNA단편의 크기는 0.2 kb~2.5 kb이며 9개 Primer의 polymorphism범위는 95.0%(A13)에서 100%(A02, A04, A07, A09, A10, A11, A12, A20)로 거의 모든 primer에서 다형현상이 관찰되었다. 전체 215개의 증폭된 band 중에서 2개 밴드는 monomorphic했던 바 213개의 polymorphic band를 얻을 수 있었다. 다섯가지 인삼종의 분석은 유전적 거리인 유사계수(Similarity Coefficient)가 0.42~0.67을 보여 주었다. 유전적 거리(Genetic Distance, GD)는 Japanese *Panax*와 American *Panax*의 GD가 0.42로 가장 가까운 관계를 보여주었다. 그리고 가장 먼 관계에 있는 것은 5 Species 중에서 *Panax ginseng*으로 나타났다.

*Panax ginseng*계통 사이에서 유전적 다양성 관계를 탐색하기 위하여 Russia와 Japan, 한국에서 9개 계통을 수집하여 RAPD를 수행하였다. 9개 primer에 의해 증폭된 산물의 숫자는 12개(A02), 29개(A11)로 다양하게 나타났고, primer당 평균 20개의 밴드가 관찰되었다. 증폭된 DNA 조각의 크기는 0.2~2.5 kb 정도였다. 다

형현상의 범위는 64.7%(A13)에서 100%(A02)로 나타났으며, 모두 179개의 증폭된 band에서 161개의 polymorphism이 관찰되었다. 9개의 *Panax ginseng*은 두 그룹으로 분류되었다. A그룹은 청경종, KG101, 황숙종이 여기에 속하며 GD 0.17의 유사계수이며, B그룹은 자경 79742, 자경 81783, 진자경, 소련진자경, 미마끼가 여기에 속하며 GD 0.31의 유사계수에 달한다. A그룹 내의 3계통은 유전적 근원이 유사하며 B그룹 자경계통은 계통들 사이에 현저한 변이를 보였다.

고콜레스테롤 조건으로 배양한 Hep G2세포의 LDL 수용체 유전자의 발현과 Acyl CoA Cholesterol Acyl Transferase 활성도에 미치는 인삼성분의 영향

임그리워 · 박성출 · 박종환 · 노연희 · 구자현
건국대하교 의과대학 생화학교실

여러 동물실험을 통하여 제시되어 왔던 인삼성분의 혈청 콜레스테롤 감소효과에 대한 기전을 밝히기 위하여 사람의 간종양세포로부터 유래된 Hep G2 세포를 대상으로 콜레스테롤이 10 μg/ml 첨가된 무혈장 RPMI1640 배지에 총사포닌, ginsenoside-Rb_1, -Rb_2 및 비사포닌 성분을 각각 10^{-2}~10^{-6}%되게 가한 실험군, 인삼성분이 첨가되지 않은 대조군, 그리고 콜레스테롤과 인삼성분이 첨가되지 않은 정상군의 배지조건으로 Hep G2세포를 37℃에서 8시간 동안 배양하고 각 군으로부터 세포를 수거하여 총콜레스테롤을 정량한 결과 총사포닌과 두 ginsenoside 처리군에서는 최대 51%까지 콜레스테롤이 감소한 반면 대조군에서는 137%로 증가하였으며 비사포닌 처리군은 10^{-2}~10^{-4}%군에서만 대조군에 비하여 콜레스테롤이 감소함을 관찰하였다. 이러한 세포내 콜레스테롤의 감소와 간세포의 acyl CoA cholesterol acyl transferase(ACAT) 활성도와의 상관관계를 밝히기 위하여 [4-^{14}C]cholesterol과 [1-^{14}C]oleic acid를 기질로 하여 각 실험군에서 가장 콜레스테롤이 많이 감소된 두 군씩을 선택하여 ACAT의 활성도를 측정한 결과 모든 군에서 대조군에 비하여 ACAT의 활성이 증가함을 관찰하였다. 그리고 다른 연구에서 보고된 인삼성분의 저밀도 지단백질(LDL) 수용체의 활성도 증가효과가 수용체 유전자의 발현 증가에 기인한 것인지의 여부를 알아보기 위하여 각 배양세포로부터 총RNA를 추출하고 ^{32}P 표지 cDNA probe를 slot blot hybridization을 실시하여 LDL수용체에 대한 mRNA 발현 정도를 측정한 결과 총사포닌의 10^{-3}%군과 ginsenoside-Rb_2의 10^{-5} 및 10^{-6}%군을 제외하고는 전반적으로 114내지 215% 정도로 그 발현이 증가하였다. 이상의 결과로 볼때 인삼성분에 의한 혈청 콜레스테롤의 감소효과는 간세포에서의 LDL수용체 유전자의 발현증가에 의한 LDL수용체 분자수의 증가와 이로 인한 혈액으로부터의 LDL의 수거 증가 그리고 간세포에서의 ACAT활성의 증가로 인한 콜레스테롤 대사의 증진에 기인된 것으로 판단되었다.

Matrigel에 배양한 유선상피세포의 증식과 분화에 미치는 홍삼 사포닌의 영향

백기주 · 윤정현 · 김동염 · 전성실 · 정해영 · 김남득
부산대학교 약학대학 약학과

유선상피세포의 증식과 분화에 미치는 홍삼(*Panax ginseng*) 사포닌의 영향을 조사하기 위해 흰쥐 유선조직으로부터 유선조직 절편을 분리한 후 세포외 기질 단백질인 Matrigel과 혼합한 후 EGF, human transsferrin, insulin, hydrocortisone 등을 함유한 serum free medium에서 4주간 배양하였다. Duct, web, stellate, squamous, lobuloduct의 구조를 가진 총 5종의 다세포 구조물들이 생성되었다. 이들에 증식과 분화에 미치는 홍삼 사포닌의 영향을 조사하기 위해 사포닌을 10^{-6}, 10^{-7}, 10^{-8}, 10^{-9} M로 희석한 뒤 배지에 첨가한 실험군과 사포닌을 첨가하지 않은 대조군으로 나누어 배양하였다. 24 multiwell plate의 각 well에 유선조직 미세절편(duct와 end-

bud를 함유하는 organoids) 약 100개와 Matrigel을 혼합하여 분주하고 serum free medium으로 배양하였으며 1주일에 3회 배지 교환을 하였다. 배양 1주부터 다세포 구조물들이 생성되기 시작하였으며 4주경에는 각 구조물의 특징을 감별할 수 있게 되었다. 현미경하에서 각 다세포 구조물의 발생 빈도를 조사한 결과 각 well에 생성된 총 다세포 구조물의 수는 시험군과 대조군 사이에 큰 차이가 없었으나 각각의 다세포 구조물 발생 빈도는 차이가 있었다. Duct와 stellate 구조물의 발생 빈도에는 사포닌 농도 차이에 따른 유의성 있는 변화는 없었다. 그러나 web와 lobuloduct의 구조물의 발생 빈도는 유의성 있게 증가시켰으며 squamous 구조물은 유의성 있게 감소하였다. 특히 squamous 구조물은 조직검사 결과 편평상피화생 조직임을 알 수 있었다. 이것은 주로 흡연자들의 구강 점막과 기도에 발생하거나 Vitamin A가 부족한 환자에 발생하는 조직으로 비정상적인 만성 자극이 있는 경우에 발생하는 것으로 구강 백반증(leukoplakia)의 전 조직 상태이다. 그리고 lobuloduct 구조물은 내강에 casein을 함유하는 분화가 잘된 구조물이었다. 따라서 홍삼 사포닌이 편평상피화생의 발생을 억제하고 lobuloduct 구조물의 발생빈도를 증가시킨 것으로 보아 Matrigel에 배양한 유성상피세포들의 증식 및 분화에 영향을 미친 것으로 사료되며 홍삼 사포닌의 정상 세포 및 암세포 분화 작용에 대한 연구가 필요하리라 생각된다.

홍삼 Saponin의 항산화작용 활성화 기전에 관한 연구

김정선 · 김규원[1] · 김남득 · 정해영
부산대학교 약학과, [1]분자생물학과

· **목적** : 암, 동맥경화, 간질환, 당뇨병 등의 질환 및 노화과정에 활성산소가 관여하므로 본 연구에서는 홍삼 saponin이 생체내에서 끊임없이 생성되는 활성산소를 제거하는 능력을 활성화시키는 지를 검토하기 위하여 간조직 및 신장조직에서 내인성 항산화물질을 측정하고, 또한 그 항산화작용 기전을 규명하고자 한다.

· **방법** : ICR 웅성생쥐(25~30 g)에 홍삼 saponin, 4, 20, 100 mg/kg을 복강주사하여 간조직 및 신장조직에서 내인성 항산화물질 및 지질과 단백질의 산화 정도를 측정하였다.

· **결과** : 홍삼 saponin을 4, 20, 100 mg/kg을 복강주사한 후 간조직에서 활성산소 생성능 및 내인성 항산화물질을 측정한 결과, 총 free radical의 경우 홍삼 saponin의 양이 증가할수록 총 free radical의 양이 감소하였으며, 또한 지질과산화 산물인 malondialdehyde의 양과 단백질 산화의 지표인 단백질 carbonyl기의 양도 홍삼 saponin 투여군에서는 대조군보다 감소하였다. 또한 내인성 항산화물질인 nonprotein-SH, Cu,Zn-SOD, catalase, GSH peroxidase 및 GSH reductase의 경우 홍삼 saponin 투여군에서는 대조군보다 유의성있게 증가하였다. 신장조직의 경우 홍삼 saponin 투여군은 대조군과 비교시 catalase 및 GSH reductase의 활성이 유의성있게 증가되었으며, 또한 malondialdehyde와 carbonyl기의 양이 유의성있게 감소되었다. 그러므로 홍삼 saponin은 간조직 및 신장조직에서 내인성 항산화물질의 증가로 세포의 구성성분인 지질 및 단백질의 산화로부터 보호작용을 나타낼 것으로 사료되었다.

인삼추출물의 B 및 T 임파구에 대한 세포증식 촉진효과

이혜연 · 이한수
강원대학교 자연과학대학 생물학과

본 연구에서는 쥐(mouse)의 spleen이나 lymph node로부터 분리된 B, T 임파구세포들에 대해 인삼(Red ginseng)의 추출물(물 또는 ethanol extracts)이나 saponin, polysaccharide 성분 등이 B, T 임파구 세포의 성장/증식과 세포활성에 어떠한 영향을 미치는지를 조사함으로써 인삼의 면역활성 효능을 세포단계에서 확

인하고자 하였다. 먼저 기내 세포배양상에서 안정되게 유지되어 온 임파구 tumor 세포 line들에 대해 조사한 결과, B세포 line인 Daudi(human burkitt lymphoma)나 T세포 line인 Jurkat(monkey lymphoblastic leukemia) 모두 인삼의 수용성 추출물에 의해 세포증식이 1.5배 내지 3배 정도의 높은 수준으로 촉진되었으며, 인삼의 saponin, polysaccharide 성분 등도 강한 세포증식 촉진효과를 발휘하였다. 반면에 임파구 tumor line이 아닌 세포들에 대해서는 이러한 세포증식 촉진양상이 나타나지 않았고, 인삼의 ethanol 추출물을 첨가하였을 시에도 B, T임파구 tumor세포 line들의 세포증식은 별 영향을 받지 않았다. 쥐의 spleen이나 lymph node로부터 분리하여 초기배양된 정상적인 B, T임파구 세포들에 대해 인삼의 수용성 추출물, saponin, polysaccharide성분 등을 첨가하였을 때에도 B, T임파구들의 세포증식은 1.5배 내지 4배 정도까지 촉진되었다. 아울러 인삼의 수용성 성분들은 대체적으로 B임파구 보다는 T임파구 세포에 대해 더 높은 세포증식 촉진효과를 보이는 것으로 나타났다. 또한 T임파구와는 달리 B임파구의 경우 인삼의 ethanol 추출물에 의해서도 세포증식이 촉진되었다. 결과적으로 인삼의 추출물- 특히 수용성 성분은 B, T임파구 세포들 모두의 세포증식을 촉진하는 효능을 가지고 있다고 판단된다. 특히 인삼의 추출물이 임파구에 대해 일반적인 세포증식 촉진제로 알려진 Concanavalin A, bacterial lipopolysaccharide, pokeweed/red kidney bean lectin 등에 비해 훨씬 높은 수준으로 B, T세포의 증식을 촉진하는 것으로 보아 인삼에는 강력한 임파구세포 성장촉진제(potent mitogen)가 함유되어 있는 것으로 추정된다.

Ginsenoside Rg_1의 $pp60^{c\text{-}src}$ Kinase 활성과 세포증식에 대한 촉진효과

홍희연 · 유경수 · 최중갑
전남대학교 약학대학

홍삼의 성분중 8가지 사포닌(G-Rb_1, Rb_2, Rc, Rd, Re, Rf, Rg_1, Rg_2)과 인삼 총사포닌(GTS)이 NIH 3T3 세포에서 $pp60^{c\text{-}src}$ kinase 활성을 미치는 영향을 검색한 결과, 이들 중 G-Rg_1이 16.7 μg/ml 농도에서 18시간 처리시 c-src protein tyrosine kinase의 활성을 가장 증가시켰다(2~4배). 그러나, c-src kinase의 tyrosine 잔기(Y-416, 527)를 변형시킨 세포를 G-Rg_1으로 처리했을 때 c-src kinase의 활성 및 c-src 단백질 양의 변화는 나타나지 않았다. 또한 G-Rg_1에 의해 증가되었던 c-src kinase 활성이 EGTA를 가해 세포외 칼슘이온을 제거하거나 PKC 저해제(H-7) 처리함으로써 감소하는 결과를 보였다. 이들 결과로부터 G-Rg_1에 의한 c-src kinase의 활성증가는 세포의 칼슘이온 농도, PKC와 관련된 것으로 보이며 c-src kinase의 단백질 양의 증가에 의해서라기 보다는 그 kinase의 tyrosine 잔기의 인산화 상태에 따른 specific activity의 증가에 의한 것으로 추측된다. 한편 G-Rg_1은 25 μg/ml에서 3일 동안 배양했을 때 NIH 3T3 세포의 증식을 1.4~1.6배 촉진시켰다.

고려인삼 미토콘드리아의 nad2 유전자 구조분석

김갑식 · 박지창 · 최광태
한국인삼연초연구원 유전생리부

고려인삼 미토콘드리아내 유전자중 NADH dehydrogenase subunit2 유전자(nad2)를 cloning하였던 바, 5개의 exon으로 구성되어 있었다.

*Eco*RI library clone인 2.1 kb DNA 단편에 exon a와 b가 존재하고 있었으며, *Pst*I library에서 exon c, d, e를 함유하는 clone을 선발하였던 바, 4개 clone ND2C1(3.4 kb), ND2C2(1.8 kb), ND2D1(0.8 kb), ND2D2(2.6 kb)에서 이 유전자 exon 부위에 전체 염기서열을 분석할 수 있었다.

달맞이꽃에서와 같이 인삼에서도 exon a와 b는 exon c, d, e와 DNA상에서 상당히 멀리 떨어진 위치에

존재하고 있으며 각 exon 사이에는 달맞이꽃에서와 같은 크기의 intron들이 있었고 각 exon들이 염기서열에서도 97%이상의 높은 homology를 보여 인삼에서의 nad2 유전자가 잘 보존되어 있음을 알 수 있었다.

Genuine Mono- 및 Diglucoginsenoside의 제조에 관한 연구

장은하 · 제남경[1] · 임광식
부산대학교 신약개발연구소, [1]조선무약 생명공학연구소

인삼의 주성분인 ginsenoside는 항균작용, 소염작용 등 광범위한 생리활성을 가지고 있어, 화학적 및 생리활성에 관한 연구가 활발히 진행되어 왔다. 최근 진성 aglycone에 glucose 한분자가 결합한 ginsenoside-Rh_2가 광범위한 항암효과를 가진다는 보고이래 monoglucoside의 중요성이 대두되었다. 발표자는 retro-synthesis 및 total ginsenoside의 modified alkaline hydrolysis에 의하여 다른 방법으로 얻기 어려운 수종의 mono- 및 diglucoside의 제조에 성공, 그 결과를 보고하고자 한다.

인삼의 가열추출 과정 중 사포닌의 가수분해 특성과 분해억제

김천석 · 최강주 · 고성룡 · 김석창 · 성현순
한국인삼연초연구원

인삼추출물의 가열추출 농축과정 중 인삼사포닌은 수용액 상태에서 가열온도가 높고 가열시간이 증가됨에 가수분해 현상이 현저하였으며, pH가 낮고 가열시간과 온도가 증가됨에 따라 C_{20} 위치의 glucose결합은 가수분해가 촉진되어 prosapogenin으로 전환되는 것이 주된 분해 요인이었다. 이와 같은 가수분해 현상은 protopanaxadiol과 protopanaxatriol의 C_3와 C_6에 결합된 glucoside결합은 전자밀도 계산결과 전기음성도가 −0.223으로 낮은 제2급 탄소에 결합되어 대체로 안정하였으나 C_{20} 위치의 glucoside결합은 전기음성도가 −0.295로 높은 제3급 탄소에 결합되어 약산용액의 가열조건에서도 산가수분해가 용이하였다. 한편 홍삼중 유기산 함량은 citric acid 13.34 mg/g, malonic acid 8.78 mg/g, oxalic acid 3.70 mg/g, malic acid 2.13 mg/g, succinic acid 0.44 mg/g으로 이들을 합한 총유기산 당량(4.69×10^{-4} N/g)에 상당하는 당량의 중탄산 소다 등을 첨가하여 중화시킨 홍삼추출물의 경우는 가열처리에 따라 사포닌의 가수분해가 없고 매우 안정하였다.