

고지방급여 흰쥐의 혈청과 간의 지질 농도 및 조직 과산화지질 농도에 미치는 홍삼분말의 영향

차재영 · 전방실 · 조영수[†]
동아대학교 생명자원과학부

Effect of Korean Red Ginseng Powder on the Lipid Concentrations and Tissue Lipid Peroxidation in the Rats Fed High Fat Diet

Jae-Young Cha, Bang-Sil Jun and Young-Su Cho[†]

Faculty of Natural Resources and Life Science, Dong-A University, Busan 604-714, Korea

Abstract

Effect of Korean red ginseng (KRG) on the level of serum and liver lipids and lipid peroxidation was investigated in the rats fed high fat diet. Content of serum total cholesterol was significantly decreased ($p < 0.05$) in KRG I group and KRG II group. Content of HDL-cholesterol was significantly increased by 69.75% and 39.15% in KRG I and KRG II group compared to control group, respectively. Atherogenic index (AI) was also significantly decreased by 74.76% and 37.38% in KRG I and KRG II groups compared to control group, respectively. Serum triglyceride content was significantly decreased ($p < 0.05$) in only KRG II group. Antioxidative activity of KRG on the lipid peroxidation of serum and tissues in rats was also studied *in vivo* by measuring the formation of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). Contents of TBARS in the serum of both KRG groups were significantly decreased ($p < 0.05$) and that of nonheme iron in serum was significantly increased ($p < 0.05$) in a dose-dependent manner, which suggested that lipid peroxidation contents are inversely correlated with serum nonheme iron content. Content of TBARS in liver was significantly decreased ($p < 0.05$) in KRG I and KRG II groups, without any influence in other tissues. Content of TBARS in liver microsomal fractions stimulated by Fe^{2+} /ascorbate was significantly decreased ($p < 0.05$) in KRG I and KRG II groups, whereas this observation did not occur in liver mitochondrial fractions. When the effect of KRG on TBARS content in the liver fractions of homogenates, microsomes, and mitochondria stimulated by Fe^{2+} /ascorbate was tested *in vitro* experimental model, TBARS of liver three fractions was significantly decreased at 6 mg/mL KRG compared with those of control. These results suggested that KRG powder have hypocholesterolemic effect as well as antioxidative effect in the serum and liver of the rats fed high fat diet.

Key words: Korean red ginseng, cholesterol, antioxidation, rat

서 론

경제성장과 고도의 산업화에 따른 서구 문화의 유입은 우리나라의 식문화에도 다양한 변화를 초래하였고, 이러한 식생활 패턴 변화로 인해 동물성 식품과 지방의 섭취량이 증가함에 따라 고지질혈증, 지방간, 고혈압, 심장병, 동맥경화증 등의 순환기계 질환과 악성종양으로 인한 사망률이 크게 증가하였다(1). 이러한 만성퇴행성 질환들은 생체내 지질대사와 깊은 관련이 있는 것으로 잘 알려져 있다(2,3). 특히 혈청 콜레스테롤의 저하 효과가 있는 생리활성 성분에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있으며, 최근에는 한방이나 민간요법을 근거로 하여 체계적이고 과학적인 지질대사 개선 기능을 가지는 천연물 성분의 탐색에 관한 연구가 다방면에서 이루어지고 있다(4,5).

한편, 생체내 산화 스트레스에 의해서 생성된 생체막 과산화 지질의 증가는 조직 세포에 산화적 손상을 주어 조직의 정상적인 생리적 기능을 저하시킴으로써 동맥경화, 당뇨병, 고혈압, 심장병, 악성종양, 간질환 등의 질병을 초래하고 노화와도 깊은 상관관계를 가지게 된다(6,7).

고려인삼은 예로부터 생약제 중에서 가장 진귀한 약재로 사용되어 왔고, 최근까지 인삼의 다양한 한방적 효능이 현대 과학적 연구를 통하여 점차 밝혀지면서 고지질혈증, 간질환, 당뇨병, 악성종양(암), 스트레스, 동맥경화성질환 및 고혈압, 심부전 및 성기능장애 등에 유효한 것으로 나타나 있다(8,9). 인삼에는 가용성 사포닌 성분과 phenolic acids에 속하는 caffeic acid, saicylic acid, ferulic acids, vanillic acid, maltol, panaxynol, diol 및 triol saponin, ginsenoside Rb1 및 Rb2, cephaloridine 등의 항산화 물질이 함유되어 있는 것으로 알

[†]Corresponding author. E-mail: choys@mail.donga.ac.kr
Phone: 82-51-200-7586. Fax: 82-51-200-7505

려져 있다(10,11). Maltol(2-methyl-3,3-hydroxypyrrone)은 수삼에는 발견되지 않고, 홍삼의 증숙 과정 중 열처리에 의해서만 생성되는 홍삼의 특유성분으로 보고되고 있다(10). 인삼 성분의 항산화 활성은 투여량과 추출물의 종류에 따라 달라지는 것으로 알려져 있으나 생체내 과산화지질 억제 작용기전에 대한 연구는 거의 이루어져 있지 않은 실정이다(12,13). 이러한 작용기전의 하나로 생체내 과산화지질 농도가 혈청 또는 조직의 철분 농도와 깊은 상관관계가 있는 것으로 보고된 바 있다(14-16).

본 실험에서는 흰쥐의 지질 농도에 영향을 미치면서 각 조직의 과산화지질 생성에 유리한 생리적 환경을 만들기 위하여 시판 분말 사료에 지방(corn oil)을 20% 수준으로 첨가하고, 여기에 홍삼분말을 200 mg/rat 및 400 mg/rat 수준으로 첨가한 식이를 3주간 급여하여 혈청 및 간장 지질 농도와 조직 및 혈청의 과산화지질 농도에 미치는 영향을 검토하였으며, 혈청 과산화지질 생성의 작용기전을 밝혀내기 위하여 산화촉진 물질인 철분 함량을 측정하였다. 또한, 홍삼분말의 항산화력을 검토하기 위하여 *in vitro*계에서 흰쥐 간장의 homogenate, microsome, mitochondria 분획을 이용하여 과산화지질 생성에 미치는 영향을 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료

실험 재료인 홍삼분말은 6년근 수삼으로부터 제조한 홍삼을 시중 인삼 취급점에서 구입하여 분쇄한 후 800 mesh 분말을 얻어 실험에 사용하였다.

실험동물, 사육조건 및 식이조성

4주령의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐(효창 사이언스, 대구)를 구입하여 실험실 환경에 적응시키기 위하여 시판 고형 사료(삼양사료 주식회사, 천안)를 1주일간 급여하였다. 각 실험군에 6마리씩 체중이 동일하게 나누어 스테인레스 개별 케이지에 한 마리씩 넣어 사육실 온도 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 $50 \pm 5\%$, 명암주기 12시간(명주기: 07:00~19:00)이 자동 설정된 동물 사육실에서 사육하였다. 본 실험의 식이 조성은 Table 1과 같이 시판분말 사료에 체내 지질대사를 활성화시키면서 과산화지질 생성의 유리한 조건을 만들어주기 위하여 지방을 20% 수준으로 첨가(Control 군)하여 3주간 자유 급여시켰다.

Table 1. Composition of experimental diet

Groups	Diet composition
Control	Chow pellet diet ¹⁾ 80%+Corn oil 20%
KRG I	Chow pellet diet 80%+Corn oil 20%+KRG ²⁾ 200 mg/rat
KRG II	Chow pellet diet 80%+Corn oil 20%+KRG ²⁾ 400 mg/rat

¹⁾Chow pellet for rat was powdered to prepare the control diet.

²⁾KRG: Korean red ginseng powder.

이때 홍삼분말의 식이 첨가량은 200 mg/rat(KRG I 군) 및 400 mg/rat(KRG II 군)으로 다른 실험에서 홍삼분말 또는 홍삼 사포닌 분말 첨가량보다는 약간 많은 것으로 사료된다(17, 18). 사육기간중 식이 섭취량은 매일 일정한 시간에 측정하고, 체중은 일주일에 한번씩 측정하였다.

분석시료의 조제

실험 최종일 12시간 절식시킨 후 에테르로 가볍게 마취시켜 개복후 복부 대동맥으로부터 채혈하여 혈액을 얻었다. 혈액을 약 30분간 실온에서 방치시킨 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 얻어진 혈청으로부터 지질 농도, 과산화지질 농도 및 철분 함량을 측정하였다. 각 조직은 적출한 후 냉각된 생리식염수로 충분히 세척하고 물기를 제거한 다음 무게를 측정하고, -80°C 냉동고에서 보관하면서 분석에 사용하였다.

혈청 지질 농도 및 혈당 측정

총 콜레스테롤 농도는 Cholesterol C-test wako(Wako Junyaku, Osaka, Japan)를 이용하여 cholesterol oxidase-DAOS법으로 측정하였고, HDL-콜레스테롤 농도는 HDL-cholesterol E-test wako(Wako Junyaku, Osaka, Japan)의 효소 발생법에 의한 시판 kit로 측정하였다. 중성지질 농도는 triglyceride E-test wako(Wako Junyaku, Osaka, Japan) 및 인지질 농도는 phospholipid C-test wako(Wako Junyaku, Osaka, Japan)를 이용한 choline oxidase-DAOS법의 효소 발생법으로 측정하였다. 혈청 포도당 농도는 glucose oxidase법에 따라 조제된 시판 kit(Wako Junyaku, Osaka, Japan)를 이용하여 측정하였다.

간장 지질 추출 및 농도 측정방법

간장 총 지질은 Folch 등의 방법(19)에 준하여 추출하였다. 즉, 간장 1 g을 chloroform:methanol의 2:1 혼합액으로서 지질을 추출하여 -80°C 의 냉동고에서 보관하면서 지질분석에 이용하였다. 간장 중성지방 농도는 triglyceride E-test wako(Wako Junyaku, Osaka, Japan)를 이용하여 GPO-DAOS법에 의하여 측정하였다. 간장 총 콜레스테롤은 cholesterol C-test wako(Wako Junyaku, Osaka, Japan)를 이용하여 cholesterol oxidase-DAOS법으로 측정하였다. 간장 인지질 농도는 Bartlett의 방법(20)으로 정량하였다.

각 조직의 homogenate, microsome 및 mitochondria 분획의 조제

각 조직의 분획은 실험 최종일 12시간 절식시킨 동물에서 적출한 조직을 일정량 취하여 1.15% KCl-10 mM phosphate buffer(pH 7.4)를 4배량 첨가하여 균질화시켰다. 이 용액의 일부를 homogenate 분획으로 하고, 나머지 용액으로부터 원심분리법에 의해 microsome 및 mitochondria 분획을 조제하였다. 이렇게 얻어진 각 분획의 단백질량은 BCA protein assay kit(Pierce, Illinois, USA)를 이용하여 microplate read-

er(Model 1550, Bio-Rad Co., Tokyo, Japan)로 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

조직의 과산화지질 농도 측정

과산화지질 농도는 Wong 등의 방법(21)에 준하여 측정하였다. 즉, 단백질을 양으로 1 mg을 함유한 각 조직 분획물 용액 1 mL에 각각 thiobarbituric acid(TBA) 시약 2 mL을 가하여 잘 혼합하고, 수조상에서 30분간 가열한 후 실온에서 식혔다. 이를 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상등액을 535 nm에서 흡광도를 측정하여 지질 과산화물 농도를 나타내는 malondialdehyde를 nmol/g으로 나타내었다.

Fe²⁺/ascorbate에 유도된 간장 분획물의 과산화지질 농도 측정

항산화 활성은 Wong 등의 방법(21)에 따라 50 mM Tris-HCl buffer(pH 7.5) 1.5 mL에 홍삼분말 용액 0.2 mL(2, 4, 6 mg/mL), 간장 각 분획물 0.1 mL, 0.1 mM ascorbate 0.1 mL 및 5 mM FeSO₄ 0.1 mL를 첨가하여 반응액을 잘 혼합하고 37°C의 shaking water bath에서 1시간 반응시켜 지질 과산화를 유도시켰다. 이때 대조구는 시료를 첨가하지 않고 동일한 방법으로 측정하였다. 반응 후 3 M trichloroacetic acid와 2.5 N HCl의 혼합용액 0.5 mL를 가하고 3,000 rpm으로 10분간 원심분리한 후 상등액 1 mL를 취하여 0.67% TBA 1 mL를 가하여 혼합하고 끓는 물 속에서 30분간 가열하여 발색시켰다. 냉각 후 3,000 rpm에서 원심분리하여 얻은 상등액을 535 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 지질 과산화의 억제율은 각각 대조구의 흡광도에 대한 저해율(%)로 나타내었다.

비헴철 함량 측정

혈중의 비헴철 함량 측정은 Woo와 Ryu의 방법(22)에 따라 전처리한 후 원자흡수 분광분석기(Perkin Elmer Analyst 300, USA)로 측정하였다.

통계처리

실험으로부터 얻어진 결과치는 SAS program을 이용하여 one-way ANOVA로 검정하여 평균치와 표준오차로 나타내었으며, 유의성 검정은 Duncan's multiple range test로 실시하였다(23).

결과 및 고찰

식이 섭취량, 체중증가량 및 조직 무게

지방(corn oil)을 20% 함유한 시판 분말 사료를 투여한 대조군과 여기에 홍삼분말을 200 mg/rat 및 400 mg/rat 수준으로 첨가한 식이를 3주간 급여한 실험군간에 식이 섭취량, 체중증가량 및 각 장기 무게는 실험군간에 유의적인 차이는 인정되지 않았다(Table 2). Tienchi 인삼분말을 시판 분말 사료(CE-2)에 3% 수준으로 첨가하여 7주간 자유 섭취시킨 뇌

Table 2. Effect of KRG powder on food intake, body weight gain and tissue weight in high fat diet fed rats

Ingredients	Control	KRG I	KRG II
Food intake (g/day)	19.92±0.34 ^{1)NS}	21.36±0.42	20.91±0.50
Body weight gain (g/28 days)	166.30±3.40 ^{NS}	168.60±3.8	168.50±6.7
Tissue weight (g/100 g body weight)			
Liver	3.72±0.22 ^{NS}	3.39±0.13	3.59±0.30
Kidney	0.85±0.04 ^{NS}	0.81±0.02	0.84±0.04
Heart	0.42±0.03 ^{NS}	0.40±0.02	0.48±0.05
Perirenal	0.40±0.05 ^{NS}	0.43±0.03	0.55±0.10
Epididymal	1.13±0.03 ^{NS}	1.18±0.05	1.25±0.08
Spleen	0.22±0.02 ^{NS}	0.21±0.01	0.27±0.04
Brain	0.51±0.05 ^{NS}	0.58±0.04	0.64±0.08
Testis	1.40±0.07 ^{NS}	1.32±0.03	1.31±0.05

¹⁾Value are mean±SE of six rats per group.

NS: Not significant.

졸증 자발성고혈압 흰쥐(stroke-prone spontaneously hypertensive rat)에서도 체중 증가량 및 식이 섭취량에서 변화가 없는 것으로 보고되었다(24).

혈청지질 농도, 동맥경화지수 및 혈당농도

혈중의 지질농도는 심혈관계 질환인 동맥경화, 고혈압, 심장병, 고지혈증 등의 진단지표로 사용되고 있는데, 특히 고콜레스테롤혈증이 이들 혈관계 질환에서 주된 위험 인자로 지적되고 있다(25). 또한, 고중성지질혈증과 저 HDL-cholesterol 혈중농도 이들 질환의 위험 인자로 최근에 주목 받고 있으며 유럽과 미국 등에서 새로운 임상 지침이 설정되어(26), 혈중 콜레스테롤 농도뿐만 아니라 중성지질 농도를 감소시키고 HDL-cholesterol 농도를 증가시키려는 시도가 최근 천연 식물자원을 대상으로 다방면에서 활발하게 전개되고 있다(5,27).

본 실험에서도 혈청 총 콜레스테롤 농도가 대조군에 비해 KRG I군에서 유의적으로 감소(p<0.05)되었다(Table 3). 홍삼에서 추출한 사포닌을 4주간 경구 투여한 토끼에서 혈청 콜레스테롤 농도(11)와 고콜레스테롤 식이를 급여한 흰쥐에

Table 3. Effect of KRG powder on the concentration of total cholesterol, triglyceride, phospholipid, HDL-cholesterol, glucose and atherogenic index in serum of high fat diet fed rats

Ingredients	Control	KRG I	KRG II
Total cholesterol	113.85±9.34 ^{2)a3)}	65.92±15.32 ^b	101.21±9.92 ^{ab}
Triglyceride	110.41±4.19 ^a	110.80±3.45 ^a	81.00±6.28 ^b
Phospholipid	161.64±4.46 ^{NS}	166.79±5.30	166.38±4.01
HDL-cholesterol	34.97±0.69 ^c	59.36±3.99 ^a	48.66±3.64 ^b
Glucose	84.97±0.99 ^{NS}	88.66±3.27	86.07±4.99
AI ¹⁾	2.06±0.38 ^a	0.52±0.33 ^b	1.29±0.13 ^{ab}

¹⁾AI (Atherogenic index)=(total cholesterol - HDL-cholesterol)/HDL-cholesterol.

²⁾Values are means±SE of six rats per group.

³⁾Among the group, values with different letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

NS: Not significant.

서도 인삼분말은 혈중 총 콜레스테롤 농도가 감소된 것으로 보고되었다(8). 고콜레스테롤혈증 흰쥐에 인삼분말을 5주간 급여한 실험에서도 혈청 총 콜레스테롤 농도가 감소하고, 간장 콜레스테롤 합성 조절효소인 β -hydroxy- β -methylglutaryl-CoA(HMG-CoA) reductase 활성은 현저히 저해되었으나 acyl-CoA: cholesterol acyltransferase(ACAT) 활성은 변화가 없었다고 하였다(28). 또한, white leghon 수탉에 4주간 인삼분말을 급여한 실험에서도 혈중 총 콜레스테롤 농도가 감소하고 간장 HMG-CoA reductase 및 cholesterol 7- α -hydroxylase 활성이 저해되었다고 하였다(9). 따라서, 인삼 또는 홍삼에는 혈중 콜레스테롤 농도를 감소시키는 작용이 강한 것으로 다시 한번 확인되었다.

혈청 HDL-cholesterol은 항동맥경화의 지표로서 주로 간장에서 합성되고 다른 지단백질과는 달리 혈관벽에 침착되어 있는 LDL-cholesterol을 분해하여 간장으로 운반하여 에너지로 이용하거나 체외 배설을 촉진하는 작용을 함으로서 심혈관계 질환의 유발 위험성을 감소시킬 수 있는 유익한 작용을 하는 것으로 알려져 있다(29). 이러한 HDL-cholesterol 농도는 일반적으로 식이 인자에 의해서는 크게 영향을 받지 않지만, 식물성 생리활성 물질에 의해서는 증가되는 것으로 보고되고 있다(5,27). HDL-cholesterol 농도는 대조군에 비해 KRG I 및 KRG II군에서 각각 유의적으로 증가($p < 0.05$)하였다(Table 3). 고콜레스테롤 식이를 급여한 흰쥐에서도 인삼분말 급여는 혈중 총 콜레스테롤 농도를 감소시키고 HDL-cholesterol 농도를 증가시켰으며(8), Tienchi 인삼분말 섭취에 의해서는 HDL의 주요구성 단백질인 apo A1이 상승함으로서 동맥경화 지수의 하나인 apo B/apo A1 비율이 저하하여 항동맥경화 작용이 있음을 시사되었다(24). 이러한 HDL-cholesterol 농도의 증가는 apo E가 존재함으로써 VLDL에 의한 HDL의 상승이 아니라 말초조직의 콜레스테롤을 간 조직에 역전송하는 역할을 담당하는 HDL의 상승에 기인함으로써 지질 개선효과를 가진 것으로 시사되어진다(24). 동맥경화 지수는 대조군에 비해 홍삼분말 식이 급여로 총 콜레스테롤 농도의 감소와 HDL-cholesterol 농도 증가에 의해 KRG I군에 유의적으로 감소($p < 0.05$)하였으며, KRG II군에서는 유의적으로 감소경향($p < 0.05$)을 나타내었다. Framingham Heart study에서는 동맥경화 지수가 3.5 이하이면 관상동맥 질환의 발생 위험으로부터 안전한 수준이며, 적어도 4.5 이하를 유지하도록 권장하고 있다(30). 최근, 녹차, 감자, 양파와 같은 식물성 폴리페놀 화합물이 많이 들어있는 식품의 섭취량이 많을수록 심장 순환계 질환에 의한 사망률과 암으로 인한 사망률이 낮다는 임상적 역학조사 결과가 있어서, 이들 물질의 유효성이 더욱 주목받고 있는 실정이다(31). 따라서 홍삼분말 식이는 고콜레스테롤 개선에 의한 동맥경화 억제작용이 강한 것으로 나타나 동맥경화와 같은 혈관계 질환의 예방 및 개선에 도움을 줄 것으로 사료된다. 혈청 중성지질 농도는 대조군에 비해 KRG II군에서 유의적으로 감소($p < 0.05$)하

였으나, KRG I군에서는 대조군과 차이가 없이 나타나 홍삼분말의 첨가 수준에 의해 영향을 받는 것으로 나타났다. 인삼분말 또는 그 추출물인 사포닌을 4주간 경구 투여한 토끼(11), 흰쥐(8,28) 및 white leghon 수탉(9)에서도 혈중 중성지질 농도가 감소하였다고 보고되었다. 이러한 혈중 중성지방 및 VLDL의 저하 기작으로서는 간장에서 중성지방 및 VLDL 합성 저하, 혈장 중에서 lipoprotein lipase 활성화에 의한 VLDL의 이화촉진, 그리고 말초조직으로부터의 지방산 동원 감소로 크게 대별될 수 있다(32). 인삼분말의 경구 투여에 의한 토끼에서의 혈중 중성지질 감소가 lipoprotein lipase 활성 증가에 의한 것으로 보고하고 있으며(11), 또한 유리지방산의 감소에 기인하는 것으로도 시사되어있다(8). 그러나 혈중 인지질 농도는 각 실험군간에 차이가 나타나지 않았다. 혈당치에 미치는 홍삼분말의 영향은 실험군간에 통계상의 유의한 차이는 인정되지 않았다.

간장지질 농도

홍삼분말 투여에 의해 혈중 총 콜레스테롤 및 중성지질 농도의 감소와는 달리 간장 콜레스테롤, 중성지질 및 인지질 농도는 각 실험군간에 차이가 없었다(Table 4). 본 실험의 결과가 콜레스테롤과 인삼분말을 첨가한 식이를 급여한 흰쥐 간장에서 콜레스테롤 및 중성지질 농도가 대조군과 차이가 없는 것으로 보고된 결과와 일치하였다(28). 그러나 고콜레스테롤 급여 흰쥐에서 홍삼 섭취는 간장 콜레스테롤과 중성지질 농도를 저하시켰으나, 인지질 농도는 오히려 증가시킨 것으로 보고된 바 있다(8). 따라서 실험동물의 간장 지질 농도에 미치는 인삼 또는 홍삼분말 섭취에 의한 영향은 인삼과 홍삼의 제조과정 과정에서 일어나는 화학변화에 의하여 생성된 물질에 의하여 각 제품간의 차이로 일치하지 않는 것으로 생각되어진다.

혈중 과산화지질 및 비헴철 농도

혈중 과산화지질 농도를 TBARS법으로 측정된 결과, 대조군 20.92 nmol/mL에 비해 KRG I군 15.85 nmol/mL로 감소되는 경향이 나타났고, KRG II군에서는 11.12 nmol/mL로 유의적으로 감소($p < 0.05$)되었다(Table 5). 이러한 혈중 과산화지질 농도의 감소는 혈중에 존재하는 지질 농도와 항산화 작용을 하는 비타민, 토코페롤, 플라보노이드 등의 성분 함량이 많이 존재할 때도 관계 있는 것으로 알려져 있다(7,33). 담배 흡연자를 대상으로 한 실험에서 홍삼, vitamin C 및 E, β -carotene인 항산화제를 4주간 섭취한 흡연 집단에서는 이

Table 4. Effect of KRG powder on concentrations of liver lipid in high fat diet fed rats (mg/g liver)

Ingredient	Control	KRG I	KRG II
Triglyceride	25.49 ± 2.51 ^{1)NS}	30.96 ± 3.05	23.97 ± 2.51
Cholesterol	2.27 ± 0.22 ^{NS}	2.76 ± 0.27	2.14 ± 0.22
Phospholipid	12.23 ± 1.36 ^{NS}	13.87 ± 1.37	10.74 ± 1.12

¹⁾Value are mean ± SE of six rats per group. NS: Not significant.

Table 5. Effect of KRG powder on the concentrations of serum Fe²⁺ and TBARS in high fat diet fed rats

Ingredients	(TBARS=nmol/mL, Fe ²⁺ =ppm)		
	Control	KRG I	KRG II
TBARS ¹⁾	20.90 ± 2.94 ^{2)a3)}	15.85 ± 1.65 ^{ab}	11.12 ± 1.97 ^b
Fe ²⁺	37.07 ± 1.00 ^a	23.97 ± 1.66 ^b	23.20 ± 0.23 ^b

¹⁾TBARS: Thiobarbituric acid reactive substances.

²⁾Value are mean ± SE of six rats per group.

³⁾Among the group, values with different letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

를 섭취하지 않은 흡연집단에 비해 혈중 과산화지질 농도가 크게 감소하였으며, 이때 혈중 항산화 작용을 하는 vitamin C, β-carotene, α-tocopherol 함량이 증가되는 것으로 보고된 바 있다(33). 천연에 존재하는 필수 미량원소로 지방산화를 촉진시키는 물질로 알려져 있는 철은 체내 H₂O₂를 제거하는 catalase의 구성 성분이며, 체내의 비타민 C의 함량과 H₂O₂의 농도차에 의해서 과산화지질 반응에 영향을 미치는 것으로 보고된 바 있어 생체내 과산화지질 반응을 조사하는데 있어서 비헬철 함량 측정은 중요한 요인이 된다(14-16, 34). 혈중 비헬철 함량은 대조군 37.07 ppm에 비해 KRG I군에서 23.97 ppm으로 유의적으로 감소(p<0.05)되었으며, KRG II군에서도 23.20 ppm으로 유의적으로 감소(p<0.05)되었다(Table 5). 본 실험에서도 혈중 과산화지질 농도와 비헬철 농도 사이에 상관관계가 나타나 생체내 과산화지질 반응에 철 성분의 영향이 있는 것을 시사하며, 이러한 결과는 간장 과산화지질 함량이 철분 함량에 의해 영향을 받는다는 본 연구자들과 Murakami 등의 결과(15,16)와도 일치하였다.

각 조직의 과산화지질 농도

과산화지질 반응은 여러 가지 독성화합물과 약물에 의한 병태 생리학적 현상이나 조직의 손상정도를 나타내는 가장 중요한 기전으로 인정되고 있으며, 일반적으로 생체 조직의 세포막 손상은 세포막을 구성하고 있는 지질 성분인 불포화 지방산의 과산화가 한가지 요인으로 지적되고 있는데, 이는 생체외적인 요인뿐만 아니라 내적인 요인에 의하여 생성된 oxygen free radical들 때문에 야기된다(35). 또한 생체는 free radical의 작용을 저지시켜주는 free radical scavenging system사이의 불균형이 초래될 때에는 조직의 손상, 발암, 염증, 성인병 및 노화 등과 같이 여러 가지 유해작용이 유발된다. 흰쥐에 3주간 홍삼분말을 경구 투여한 후 각 조직에서 과산화지질 반응 과정에서 만들어지는 최종산물인 MDA 함량 변화는 Table 6과 같다. 각 조직에 있어서 MDA의 상대적 함량은 간장, 고환, 뇌, 심장, 신장, 비장 순으로 나타났다. 간장에서의 MDA 함량은 대조군에 비해 KRG I군 및 KRG II군에서 각각 유의적으로 감소(p<0.05)하였다. 그러나 다른 조직에서는 유의성 있는 변화는 나타나지 않았다. 마우스 간장에서 활성산소에 의해 생성된 과산화지질의 최종산물인 MDA 함량이 홍삼성분의 사포닌을 비롯한 특정성분에 의해 감소되었는데, 이는 생체내의 SOD와 catalase 등의 과산화지질에

Table 6. Effect of KRG powder on the TBARS¹⁾ concentration of tissues in high fat diet fed rats

Ingredient	(nmol/g tissue)		
	Control	KRG I	KRG II
Liver	221.67 ± 23.41 ^{2)a3)}	155.79 ± 4.24 ^b	139.14 ± 19.74 ^b
Brain	60.32 ± 3.33 ^{NS}	58.31 ± 2.42	65.90 ± 3.29
Heart	48.60 ± 2.87 ^{NS}	45.07 ± 2.64	51.31 ± 3.88
Kidney	25.15 ± 0.51 ^{NS}	24.04 ± 0.77	25.83 ± 1.50
Spleen	20.95 ± 0.83 ^{NS}	20.26 ± 0.70	19.49 ± 0.60
Testis	60.74 ± 3.42 ^{NS}	62.26 ± 1.98	61.45 ± 2.06
Liver fraction			
Microsome	152.25 ± 14.84 ^a	88.95 ± 8.54 ^b	96.47 ± 9.96 ^b
Mitochondria	98.51 ± 19.21 ^a	97.98 ± 13.60 ^a	83.20 ± 12.55 ^a

¹⁾TBARS: Thiobarbituric acid reactive substances.

²⁾Value are mean ± SE of six rats per group.

³⁾Among the group, values with different letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test. NS: Not significant.

대해 방어기구로 존재하는 항산화 효소의 활성도 증가에 따른 것으로 설명하고 있다(36). 한편, 간장으로부터 분획한 microsome의 세포막 과산화지질 함량은 대조군에 비해 KRG I군 및 KRG II군에서 각각 유의적으로 감소(p<0.05)되었으나, 홍삼분말 첨가수준에 의한 유의적인 차이는 없었다. Mitochondria 분획에서는 각 군간에 유의적인 변화는 없었으나, 대조군에 비해 KRG II군에서 15.54% 낮게 나타났다. 홍삼 사포닌은 carbon tetrachloride 유도 간장해를 개선시키는 기작으로 간장 microsome cytochrom P450 관련 monooxygenase 활성 저해에 의한 과산화지질 생성 억제와 관련성이 있다고 하였다(13).

이러한 인삼의 항산화 작용은 phenolic acid에 속하는 caffeic, ferulic, vanillic acid 등의 항산화 물질이 Fe³⁺와 강한 킬레이트를 형성하기 때문인 것으로 전해지고 있다. 또한 수삼의 형태에서는 발견되지 않고 홍삼을 제조하는 증숙과정의 열처리에 의해 생성되는 홍삼특유의 성분으로 알려진 maltol (2-methyl-3, 3-hydroxypyron)이 항산화 활성을 가지는 성분으로 확인된 바 있다(10,11).

간장에서 생성된 과산화지질의 최종산물인 MDA 함량이 홍삼분말 또는 사포닌을 비롯한 특정 성분에 의해 감소되었는데, 이러한 감소 효과를 *in vitro* 실험계에서 간장 세포 각 분획을 이용하여 세포막 과산화지질 함량에 미치는 영향을 검토하기 위하여 0, 2, 4, 및 6 mg/mL 농도로 각 반응액에 첨가하여 MDA 함량을 측정된 결과는 Table 7과 같다. 간 조직의 homogenate 및 microsome 분획에서는 6 mg/mL 농도에서만 유의적으로 감소(p<0.05)하고, 이보다 낮은 농도에서는 오히려 증가하는 경향을 나타내었다. 그러나 mitochondria 분획에서는 홍삼분말의 무첨가구에 비교해 2, 4 및 6 mg/mL 첨가구에서 모두 유의적으로 감소(p<0.05)하는 경향이 나타나 *in vivo* 및 *in vitro* 실험계에서 나타난 결과와는 상당히 다른 양상을 보였다. DPPH법은 tocopherol, ascorbate, flavonoid 화합물 등의 항산화 활성을 나타내는 생리활성 물질에 의해 환원됨으로서 짙은 자색의 탈색 정도를

Table 7. Antioxidative activities of KRG powder in liver fractions as measured by the TBARS¹⁾ method

Concentration (mg/mL)	Homogenate	Microsome	Mitochondria
0	100.01 ± 4.05 ^{2a3)}	100.07 ± 3.64 ^{a)}	100.21 ± 2.96 ^{a)}
2.0	135.18 ± 18.38 ^{b)}	120.03 ± 5.06 ^{ab)}	35.01 ± 2.78 ^{b)}
4.0	90.59 ± 8.26 ^{ab)}	117.86 ± 6.90 ^{ab)}	38.16 ± 4.69 ^{b)}
6.0	71.37 ± 3.39 ^{b)}	72.09 ± 5.20 ^{b)}	27.81 ± 6.37 ^{b)}

¹⁾TBARS: Thiobarbituric acid reactive substances.

²⁾Value are mean ± SE of three samples per group.

³⁾Among the group, values with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

흡광도 감소율로 측정하는데, 이때 흡광도 감소율이 강할수록 항산화 효과가 강한 것으로 알려져 있다(37). 인삼 수용성 추출물 2 mg/mL을 첨가하여 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)법으로 *in vitro* 항산화 활성을 측정한 실험에서 free radical scavenging 활성이 오히려 증가하여 이 농도의 첨가에 의해서는 항산화 효과가 없는 것으로 보고된 바 있다(12). 또한, 흰쥐 간장 microsome 지질 과산화 실험계를 이용한 꾸지뽕나무 열매 추출 분획물의 과산화 지질 억제작용에서도 일정 농도 이하에서는 오히려 지질 과산화물의 생성을 촉진시키는 것으로 보고된 바 있다(38). 따라서, 생체내 간장에서 세포막 과산화지질의 생성을 억제시키기 위해서는 일정농도 이상을 섭취해야만 그러한 효과를 발휘할 것으로 사료되어진다.

우리나라를 비롯한 동양권 연구자들의 임상실험에 적용한 인삼분말 투여량은 1.8~7.5 g으로 그 중 2.7~4.5 g 정도가 가장 많이 투여되고 있다(39). 서구권의 경우는 인삼을 의약품으로 분류하여 안전성과 관련 사례보고를 기준으로 하루 복용량을 1~2 g 정도로 규정하고 임상실험에서는 대부분 1 g 이하로 되어있다(39).

이상의 실험에서 고지방식을 급여한 흰쥐에서 홍삼분말 첨가는 혈중의 콜레스테롤 농도와 과산화지질 농도를 낮추는 효과를 나타내었다. 이러한 결과는 홍삼제조시 화학반응에 의하여 생성된 물질에 의한 효과라고 생각되어지며 앞으로 인간에 의한 성인병 예방 및 노화 방지에 일익을 할 것으로 생각되어진다.

요 약

생리활성 물질을 함유하고 있는 홍삼분말의 섭취수준에 따른 고지방식 급여 흰쥐의 지질 농도 및 과산화지질 농도에 미치는 영향을 검토하기 위하여 200 mg/rat 및 400 mg/rat 수준으로 홍삼분말을 첨가하여 3주간 자유섭취시켰다. 혈청 총 콜레스테롤 농도는 대조군에 비해 KRG I군과 KRG II군에서 유의적으로 감소($p < 0.05$)경향을 나타내었다. 혈청 HDL-cholesterol 농도는 대조군에 비해 KRG I군 및 KRG II군에서 각각 69.75% 및 39.15% 증가하였고, 동시에 동맥경화 지수는 각각 74.76% 및 37.38% 감소하였다. 혈청 중성지질 농도는

대조군에 비해 KRG II군에서만 유의적으로 감소($p < 0.05$)하였다. 혈청 지질의 과산화물 생성지표인 TBARS는 대조군에 비해 KRG I군과 KRG II군에서 유의적으로 감소($p < 0.05$)하였다. 과산화지질 촉매물질로 작용하는 혈중 비헴철 함량을 측정된 결과, 대조군에 비해 홍삼분말 첨가군에서 유의성 있게 감소하여 혈청 과산화지질 농도와 상관관계를 나타내었다. 간장에서의 MDA 함량은 대조군에 비해 KRG I군 및 KRG II군에서 유의적으로 감소($p < 0.05$)하였다. 간장으로부터 분획한 microsome의 세포막 과산화지질 농도는 대조군에 비해 KRG I군 및 KRG II군에서 유의적으로 감소($p < 0.05$)하고, mitochondria 분획에서는 효과가 없었다. 홍삼분말을 0, 2, 4, 및 6 mg/mL 농도로 간장 세포 분획의 반응액에 첨가하여 MDA 함량을 측정하였을 때, homogenate 및 microsome 분획에서는 6 mg/mL 농도에서만 유의적으로 감소($p < 0.05$)하고, mitochondria 분획에서는 2, 4 및 6 mg/mL 첨가군에서 모두 유의적으로 감소($p < 0.05$)하였다. 이상의 실험에서 고지방식을 급여한 흰쥐에서 홍삼분말 첨가는 혈중의 콜레스테롤 농도와 과산화지질 농도를 낮추는 효과를 나타내었다.

감사의 글

본 논문은 2001년도 동아대학교 학술연구비(공모과제)의 지원에 의하여 수행된 연구결과로 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Annual report on the cause of death statistics. 2000. National Statistical Office, Republic of Korea.
2. Plaa GL, Witschi H. 1976. Chemicals, drugs and lipid peroxidation. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 16: 125-131.
3. Alordmann R, Riberre C, Rouah H. 1990. Ethanol induced lipid peroxidation and oxidative stress in extrahepatic tissues. *Alcohol* 25: 231-237.
4. Yotsumoto H, Yanagita T, Yamamoto K, Ogawa Y, Cha JY, Mori Y. 1997. Inhibitory effect of Oren-Gedoku-to and its components on cholesteryl ester synthesis in cultured human hepatocyte HepG2 cells. Evidence from the cultured HepG2 cells and *in vitro* assay of ACAT. *Planta Med* 63: 141-145.
5. Kim BK, Shin GK, Jeon BS, Bae DW, Cha JY. 2001. Cholesterol-lowering effect of mushroom powder in hyperlipidemic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 510-515.
6. Suzuki S, Hinokio Y, Komatu K, Ohtomo M, Onoda M, Hirai S, Hirai M, Hirai A, Chiba M, Kasuga S, Akai H, Toyota T. 1999. Oxidative damage to mitochondrial DNA and its relationship to diabetic complications. *Diabetes Res Clin Pract* 45: 161-168.
7. Miyake Y, Yamamoto K, Tsujihara N, Osawa T. 1998. Protective effects of lemon flavonoids on oxidative stress in diabetic rats. *Lipid* 33: 689-695.
8. Yamamoto M, Uemura, Nakama S, Uemiya M, Kumagai A. 1983. Serum HDL-cholesterol-increasing and fatty liver-improving actions of Panax ginseng in high cholesterol diet-fed rats with clinical effect on hyperlipidemia in man. *Am J Chin Med* 11: 96-101.
9. Nam KY. 2002. Clinical application and efficacy of Korean

- ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer). *J Ginseng Res* 26: 111-131.
10. Wei JX. 1982. Studies on the constituents of Korean red ginseng the isolation and identification of 3-hydroxy-2-methyl-4-pyrone. *Yao Xue Xue Bao* 17: 549-550.
 11. Inoue M, Wu CZ, Dou DQ, Chen YJ, Ogihara Y. 1999. Lipoprotein lipase activation by red ginseng saponins in hyperlipidemia model animals. *Phytomedicine* 6: 257-265.
 12. Kim YK, Guo Q, Packer L. 2002. Free radical scavenging activity of red ginseng aqueous extracts. *Toxicology* 172: 149-156.
 13. Kim HJ, Chun YJ, Park JD, Kim SI, Roh JK, Jeong TC. 1997. Protection of rat liver microsomes against carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation by red ginseng saponin through cytochrome P450 inhibition. *Planta Med* 63: 415-418.
 14. Chiba H, Takasaki M, Masuyama R, Uehara M, Kanke Y, Suzuki K, Goto S. 1998. Time course of change in hepatic lipid peroxide level in iron-deficient rats. *J Jpn Soc Nutr Food Sci* 51: 201-206.
 15. Cha JY, Kim HJ, Cho YS. 2000. Effect of water-soluble extract from leaves of *Morus alba* and *Cudrania tricuspidata* on the lipid peroxidation in tissues of rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 531-536.
 16. Murakami A, Kishimoto M, Kawaguchi M, Matsuura T, Ichikawa T. 1998. Lipid peroxides and their relatives in organs of female rats fed diets containing excessive heme iron. *J Jpn Soc Nutr Food Sci* 51: 9-15.
 17. Jeong TC, Kim HJ, Park JI, Ha CS, Park JD, Kim SI, Roh JK. 1997. Protective effects of red ginseng saponins against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in Sprague Dawley rats. *Planta Med* 63: 136-140.
 18. Jeon BH, Kim C, Park KS, Lee JW, Park JB, Kim KJ, Kim SH, Chang SJ, Nam KY. 2000. Effect of Korea red ginseng on the blood pressure in conscious hypertensive rats. *Gen Pharmacol* 35: 135-141.
 19. Folch J, Leesm M, Sloane-Starley GH. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226: 467-509.
 20. Bartlett GR. 1981. Colorimetric assay methods for free and phosphorylated glyceric acids. *J Biochem* 14: 127-134.
 21. Wong SF, Holliwell B, Richmond R, Skowroneck WR. 1981. The role of superoxide and hydroxyl radical in the degradation of hyaluronic acid induced by metal ions and by ascorbic acid. *J Inorganic Biochem* 14: 127-134.
 22. Woo SJ, Ryu SS. 1983. Preparation method for atomic absorption spectrophotometry of food samples. *Korean J Food Sci Technol* 15: 225-230.
 23. Duncan DB. 1959. Multiple range and multiple F tests. *Biometrics* 1: 1-42.
 24. Ogawa H, Sakai M, Takatera K, Meguro T. 1997. Effect of tienchi ginseng powder on blood pressure and lipid metabolism in SHRSP (stroke-prone spontaneously hypentensive-rats). *J Jpn Soc Nutr Food Sci* 50: 127-132.
 25. Inkeles S, Eisenberg D. 1981. Hyperlipidemia and coronary atherosclerosis. *Medicine* (Baltimore) 60: 110-123.
 26. Manninen V, Tenkanen L, Koskinen P, Huttunen JK, Mann-tari M, Heinonen OP, Frick MH. 1992. Triglycerides and LDL-cholesterol concentrations on coronary heart disease risk in the Helsinki Heart Study. *Circulation* 85: 37-45.
 27. Cha JY, Kim HJ, Jun BS, Cho YS. 2000. Effect of water extract of leaves from *Morus alba* and *Cudrania tricuspidata* on the lipid concentration of serum and liver in rats. *Agric Chem Biotechnol* 43: 303-308.
 28. Do KM, Park YB, Bok SH, Lee MK, Jeong TS, Choi MS. 2001. Alteration of lipid metabolism by ginseng supplements with different levels of vitamin E in high cholesterol-fed rats. *J Food Sci Nutr* 6: 66-72.
 29. Gordon T, Casfelli WP, Hjortland MC, Kennel WB, Dawher TR. 1977. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart diseases, the Framingham study. *Am J Med* 62: 707-714.
 30. Castelli WP, Garrison RJ, Wilson PWF, Abborr RD, Kalou-sdian S, Kannel WB. 1986. Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels, the Framingham study. *JAMA* 256: 2835-2845.
 31. Knekt P, Jarvinen R, Reunanen A, Martela J. 1997. Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. *Br Med J* 312: 478-481.
 32. Cha JY, Mameda Y, Oogami K, Yamamoto K, Yanagita T. 1998. Association between hepatic triacylglycerol accumulation induced by administering orotic acid and enhanced phosphatidate phosphohydrolase activity in rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 62: 508-513.
 33. Kim AS, Lee BM. 2001. Protective effects of antioxidant supplementation on plasma lipid peroxidation in smokers. *J Toxicol Environ Health A* 63: 583-589.
 34. Singh RK, Barrant MA. 1990. Lipid peroxidation effects of a novel iron compound, ferric maltol. A comparison with ferrous sulphate. *J Pharm Pharmacol* 42: 276-279.
 35. Rouach H, Fataccioli V, Gentil M, French SW, Morimoto M, Nordmann R. 1997. Effect of chronic ethanol feeding on lipid peroxidation and protein oxidation in relation to liver pathology. *Hepatology* 25: 351-355.
 36. Sung KS, Chun C, Kwon YH, Kim KH, Chang CC. 2000. Effects of red ginseng component on the antioxidative enzymes activities and lipid peroxidation in the liver of mice. *J Ginseng Res* 24: 29-34.
 37. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26: 1199-1204.
 38. Park JC, Choi JS, Choi JW. 1995. Effects of the fraction from the leaves, fruits, stems and roots of *Cudrania tricuspidata* and flavonoids on lipid peroxidation. *Kor J Pharmacogn* 26: 377-384.
 39. Nam KY, Park JD. 2000. Usage and dosage of ginseng radix (*Panax ginseng* C. A. Meyer) based upon traditional and recent scientific clinical applications. *J Ginseng Res* 24: 99-105.

(2002년 11월 14일 접수; 2003년 1월 13일 채택)