

# 인삼 Saponin Fraction 이 흰쥐 대뇌피질 Mitochondrial ATPase 에 미치는 영향

## Effect of Ginseng Saponin on ATPase Activity of Mitochondria

서울대학교 의과대학 약리학교실

<지도 홍 사 약 교수>

유 순 용

### 1. 서 론

인삼(人蔘 *Panax Ginseng*, C. A. Meyer.)이 가지는 여러 작용 가운데 중추신경에 대한 약리작용은 흥미 있는 주제로서 많은 학자들에 의하여 다각적인 연구가 진행 되어 왔다. 현재 까지 발표된 중추신경에 대한 인삼의 약리작용은 대체로 흥분작용, 진정 내지 마비작용 그리고 소량에서 흥분 대량에서는 마비 내지 진정작용을 나타낸다는 보고들로 구분할 수 있다.

Brekman<sup>1)</sup>은 인삼이 생체에 미치는 여러 효과를 강장작용 피로 방지작용, 작업기능 증진작용등이 주된 것으로 열거하고 특히, 인삼은 중추신경계에 흥분적으로 작용한다고 했으며, 이 유효성분은 인삼 glycoside임을 밝혔다. 이어서 그는 인삼 glycoside를 토끼에 투여하여 뇌파를 검사 하였던 바 약간의 흥분성 뇌파가 있었음을 보고 하였으며, 최면제 chloral hydrate 투여로 인한 수면시간이 인삼 glycoside의 투여에 의하여 단축되었고 또 인삼 glycoside의 소량 투여는 중추신경 작용이 우수하며 장기간 투여하면 강장작용이 두드러지게 나타나 작업 및 정신능률이 향상됨을 보고 하였다. 홍<sup>2)</sup>등도 흰쥐에 ethanol extract를 투여하여 조건회피 획득 성적이 대조군에 비하여 유의하게 앞서고 조건회피 소거 성적이 대조군에 비하여 다소 늦어지는 경향이 있음을 관찰 하였고 또한 조건회피 학습기간중에 배변량은 대조군이 인삼군 보다 유의하게 많아 인삼군이 대조군에 비하여 공포에 대한 반응이 적은 경향을 관찰하여 중추신경계에 흥분적 작용이 주된 것으로 보고 하였다.

金<sup>3)</sup>은 인삼 ethanol extract가 hexobarbital에 의한 마우스의 수면시간을 연장 시킴을 관찰함으로써 인삼은 중추신경계에 억제적으로 작용할 것으로 추정 하였다.

한편 린<sup>4)</sup>등은 인삼 saponin의 소량 투여는 nembutal에 의한 마우스의 수면시간을 단축하여 중추신경계에 흥분적으로 작용하나 대량 투여는 오히려 수면시간을 연장 시킴으로서 억제적으로 작용할 것으로 보아 인삼 투여량에 따라 흥분 또는 진정작용이 나타날 것으로 판단 하였다.

인삼이 생체에 미치는 주된 성분은 saponin 및 sapogenin이지만 그 외에 panax 산, panacen 등이 있고 saponin 중에서도<sup>5)</sup> 여러 분획으로 이루어져 분획에 따라 흥분 또는 억제적으로 작용함으로 그 양상은 다양할 것으로 추측된다.

또한 채<sup>6)</sup>은 인삼 saponin의 Rat 대뇌피질절편의 산소 소비량 및 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> 소장에 대한 morphine 작용에 미치는 영향을 본 결과 인삼 saponin은 morphine에 의해 억제되었던 대뇌피질 절편의 산소 소비량을 항진 하였고 Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup>의 함량은 산소 소비량에 대응하는 변화가 뚜렷치 않았음을 관찰 하였던 바 인삼 saponin이 시험관내에서의 작용은 대뇌자극 과정에 대한 효과보다 오히려 대사 과정에 미칠것으로 추정하였다.鄭<sup>7)</sup>도 인삼 saponin은 amphetamine에 의하여 억제되었던 대뇌피질 절편의 산소 소비량을 회복시킴을 관찰함과 아울러 amphetamine 및 saponin 투여로서 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> 농도에 별 영향이 없음을 관찰하여 대뇌 자극과정에 대한 효과 보다 오히려 대사 관정에 영향을 미칠 것으로 보고 하였다.

위에서 언급한 바와 같이 인삼이 중추신경계에 대한 작용은 여러 학자에 따라 각각 상이한 결과를 보고하고 있음으로 중추신경계에 어떻게 작용할 것인가에는 현 단계로서는 명백하지 못하여 특히 cellular 또는 subcellular level에서의 인삼의 작용은 별로 보고된 바 없다. 저자는 인삼 saponin 분획의 중추신경에 대한 작용

특히 세포 level에서의 영향의 일단을 규명코저 Rat 대 뇌피질 mitochondrial ATPase(adenosine triphosphatase) 활성도에 대한 deoxycholate, ouabain 및 DNP(dinitrophenol)작용에 대하여 인삼 saponin이 어떠한 영향을 미치는가를 관찰하였다.

## 2. 실험방법 및 재료

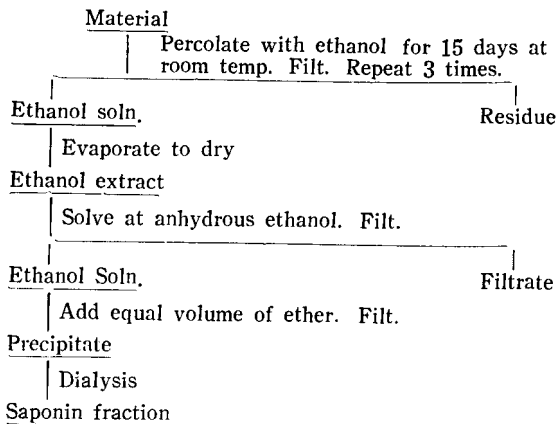
### 1) Mitochondria 추출

200gm. 내외의 흰쥐를 단두 처사하여 뇌를 적출한 후 3.5~6.0gm.의 gray matter를 9배 volume의 0.32M sucrose 용액(pH 7.4 with KOH)과 섞어 teflon homogenizer로 pestle을 10회 상하로 왕복하면서 2분간 homogenize하였다. 이 suspension을 600×g로 10분간 원심분리한 후 supernatant를 취하여 10,000×g로 15분간 원심분리하고 이에 생긴 pellet를 0.5배 volume의 상기 sucrose 용액과 섞어 2회 10,000×g로 15분간 원심분리하여 세척하였고 얻어진 sediment를 -20~-27°C에서 보관하였다. 상기 모든 조작은 4°C 이하에서 행하였으며 mitochondria의 농도는 Biuret method로 측정하였다.

### 2) 인삼 saponin fractionation

인삼(부여산 백삼) 12kg에 ethyl alcohol 60l을 가하여 15일간 3회 냉침하여 얻은 침액을 수욕상에서 증발농축하여 300gm.의 ethanol extract를 얻었다. 이 ethanol extract를 5배량의 무수 ethanol로 냉침하고 침액에 동용량의 ether를 가하여 생성된 침전을 수집하고 같은 방법으로 3회 반복한 다음 투석 시켜서 건조시킨 물질(20gm.)을 saponin fraction으로 하였다.

Separation of saponin fraction from the root of panax Ginseng



## 3) 시 약

### a) Tris-ATP

40gm.의 A6 50W×8 resin을 0.4N HCl 용액 40ml에 넣고 5분간 진탕한 다음 위 물만 따라 내고 1l의 증류수로 다시 5분간 진탕하여 위 물을 따라 내어 상등액의 pH가 5.2가 될때까지 반복한 다음 resin을 진공펌프로 흡인 하면서 여과하여 말렸다. Na<sub>2</sub>ATP 8gm을 25ml의 물에 녹인 다음 resin에 가하여 15분간 교반한 다음 흡인 여과하고 resin을 다시 5ml의 증류수로 씻어서 흡인 여과하여 여액을 합하였다. 여액은 pH가 6.8이 되도록 Tris salt로 적정하여 Tris ATP를 얻었고 Spectrophotometer로 259mμ에서 함량을 측정하여 -20°C에 보관 하였다.

b) 기타 시약은 sigma 및 Merck 회사제의 시약을 사용 하였다.

### 4) Mitochondrial ATPase 활성도 측정

각 반응액은 100mM Tris-HCl pH 7.4, 100mM NaCl, 30mM KCl, 3mM MgCl<sub>2</sub>, 3mM Tris-ATP를 함유시켰으며 saponin, DNP, ouabain 및 deoxycholate를 실험에서 지시하는 농도를 가하여 최종 전체량을 1ml로 하였다. 이 반응액을 37°C의 shaking bath에 5분간 놓아둔후 2~3mg/ml of reaction mixture가 되도록 mitochondria를 첨가하여 10분간 더 incubation하였고 5% Trichloroacetic acid를 가하여 반응을 종료시켰다. 생성된 무기인(Pi)은 이 반응액을 원침한 다음 Horwitt<sup>2)</sup>의 방법에 의해 측정하여 ATPase 활성도를 μM Pi/mg protein/hr로 표시하였다.

## 3. 실험 성적

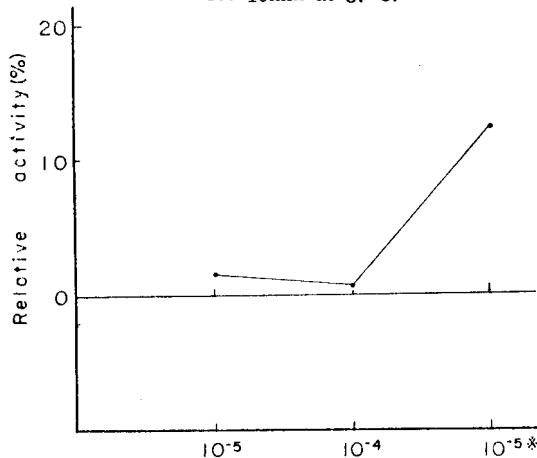
### 1) 인삼 saponin에 의한 영향

인삼 saponin을 medium에 넣고 incubation하였을 경우 saponin 농도에 의하여 흰쥐 대뇌피질의 mitochondrial ATPase 활성도에 별 영향을 미치지 아니 하였으나 대뇌피질의 mitochondria와 saponin을 5분간 미리 incubation하여 medium 속에 넣었을 때 mitochondrial ATPase 활성도에 상당한 상승을 관찰하였다. 즉 saponin을 medium에 넣고 incubation 하였을때 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-4</sup>gm.의 saponin에서 각각 41.0±6.9μM, 40.3±0.4μM로서 대조군 39.9±6.5μM에 비해 1.5%(0.8<P<0.9), 0.7%(0.8<P<0.9)의 증가로 saponin에 의한 영향을 발견하지 못하였다. 그러나 saponin을 mitochondria와 미리 incubation 한 후에 medium에 넣었을 때는 49.2±5.6μM로서 13.6%(0.001<P<0.01)의 유의한 상승을 관찰하였다(표1 그림1).

**Table 1.** Effect of various concentration of Ginseng saponin fraction on ATPase activity.

Conc. of Ginseng	ATPase activity $\mu\text{M}/\text{mg}$ protein/hr	P value	relative activity
0	$39.9 \pm 6.5$		
$10^{-5}$	$41.0 \pm 6.9$	$<0.9$	1.5%
$10^{-4}$	$40.3 \pm 0.4$	$<0.9$	0.7%
$10^{-5*}$	$49.2 \pm 5.6$	$<0.01$	13.6%

\* Indicates the mitochondria was pretreated with Ginseng prior to incubation. Incubation medium contained 100mM Tris-HCl pH 7.4, 100mM NaCl, 30mM KCl, 3mM  $\text{MgCl}_2$ , 3mM Tris-ATP. Incubation was for 10min at  $37^\circ\text{C}$ .



**Fig. 1.** Relative activity of ATPase in various concentration of Ginseng saponin fraction.

\* Indicates the mitochondria was pretreated with Ginseng prior to incubation. Incubation medium contained 100mM Tris-HCl pH 7.4, 100mM NaCl, 30mM KCl, 3mM  $\text{MgCl}_2$ , 3mM Tris-ATP. Incubation was for 10min at  $37^\circ\text{C}$ .

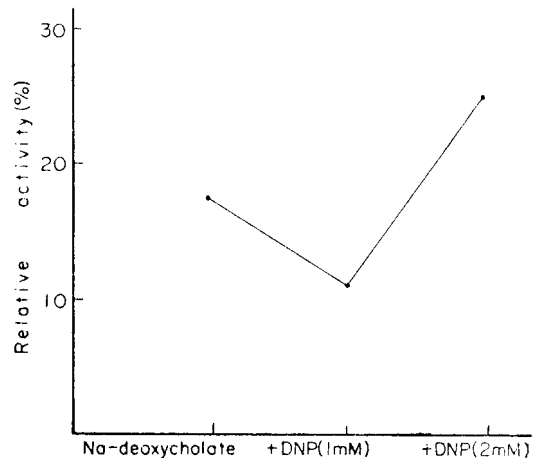
### 2) DNP 와 deoxycholate 에 의한 영향

Medium 에 deoxycholate(0.1%)만 가 하였을때 대조군  $39.8 \pm 2.4 \mu\text{M}$  에 비해  $46.6 \pm 4.0 \mu\text{M}$  ( $P < 0.001$ ) 로서 유의한 ATPase 활성도의 상승을 관찰 하였다. deoxycholate 와 DNP(1mM)로 함께 처리 하였을 경우  $44.4 \pm 2.0 \mu\text{M}$  ( $0.01 > P > 0.001$ ) 로서 또한 의미 있는 상승을 관찰 하였으나, deoxycholate 로만 처리한 경우 보다 오히려 낮은 값을 보여 주었으나 통계적으로 유의한 차이는 아니었다 ( $0.2 < P < 0.3$ ). DNP(2mM)와 deoxycholate 로 처리 하였을때는  $49.6 \pm 1.3 \mu\text{M}$  로서 역시 대조군 보다 24.6% ( $P < 0.001$ )의 증가로 유의한 상승을 보였으나 deoxycholate 만의 경우와 비교하여 유의한 상승을 발견하지 못하였다(표2 그림2).

**Table 2.** The effect on ATPase activity of Na-deoxycholate with or without various concentration of DNP.

	ATPase activity $\mu\text{M}/\text{mg}$ protein/hr	P value	relative activity
Control	$39.8 \pm 2.4$		
Na-deoxycholate	$46.6 \pm 4.0$	$<0.001$	17.0%
Na-deoxycholate +DNP(1mM)	$44.4 \pm 2.0$	$<0.001$	11.6%
Na-deoxycholate +DNP(2mM)	$49.6 \pm 1.3$	$<0.001$	24.6%

Incubation medium contained 100mM Tris-HCl pH 7.4, 100mM NaCl, 30mM KCl, 3mM  $\text{MgCl}_2$ , 3mM Tris-ATP. Incubation was for 10min at  $37^\circ\text{C}$ .



**Fig. 2.** Relative activity of ATPase in Na-deoxycholate with or without DNP.

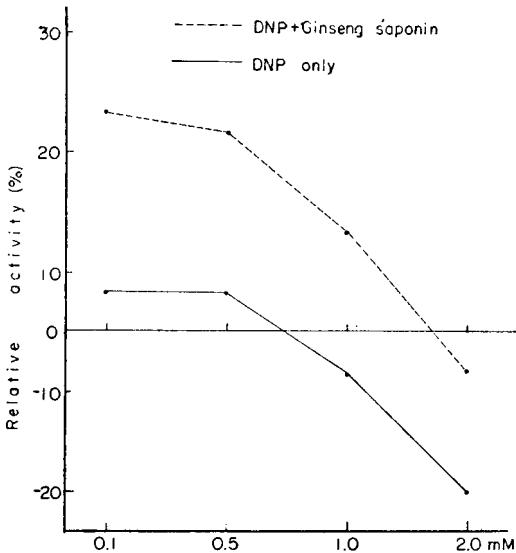
### 3) DNP 와 인삼 saponin 에 의한 영향

DNP 만을 medium 에 넣었을때 0.1, 0.5mM 에서는 ATPase 활성도에 약간의 상승을 보여 주었으나 통계적으로 의미있는 값은 아니었고 1mM, 2mM 에서는 오히려 ATPase 활성도에 억제를 보였고 DNP 2mM 에서는 의미있는 ATPase 활성도에 하강을 관찰 하였다. DNP 를 medium 에 넣고 mitochondria 를 saponin 과 미리 incubation 하여 반응시켰을때는 대조군에 비하여 상당히 ATPase 활성도를 상승 시키는 물론 DNP 각 농도에 의한 ATPase 활성도를 인삼 saponin 은 통계적으로 유의한 값으로 상승 시켰다. 특히 DNP 1mM 때 대조군 보다 저하된 ATPase 활성도가 인삼 saponin 에 의하여 의미있는 값으로 회복 되었다. 그러나 DNP 2mM 와 인삼

**Table 3.** The effect of DNP on ATPase activity with or without Ginseng saponin fraction

DNP only				DNP+Ginseng( $10^{-5}$ )*		
Conc. of DNP(mM)	ATPase activity $\mu$ M/mg protein/hr	P value	relative activity	ATPase activity $\mu$ M/mg protein/hr	P value	relative activity
0	39.9 $\pm$ 6.0					
0.1	42.9 $\pm$ 7.2	<0.1	7.5%	49.6 $\pm$ 3.3	<0.001	24.7%
0.5	42.9 $\pm$ 1.4	<0.1	7.5%	48.4 $\pm$ 1.8	<0.001	21.3%
1.0	37.5 $\pm$ 0.4	<0.3	-6.0%	46.1 $\pm$ 1.1	<0.001	15.5%
2.0	30.9 $\pm$ 1.0	<0.001	-22.5%	38.1 $\pm$ 2.1	<0.2	-4.5%

\* Indicate the mitochondria was pretreated with Ginseng prior to incubation. Incubation medium contained 100mM Tris-HCl pH 7.4, 100mM NaCl, 30mM KCl, 3mM MgCl<sub>2</sub>, 3mM Tris-ATP. Incubation was for 10 min at 37°C.



**Fig. 3.** Relative ATPase activity in DNP with or without Ginseng saponin.

saponin 을 동시에 처리 하였을 때는 38.1 $\pm$ 2.1 $\mu$ M 로서 대조군의 값을 넘지 못하였다(표3 그림3).

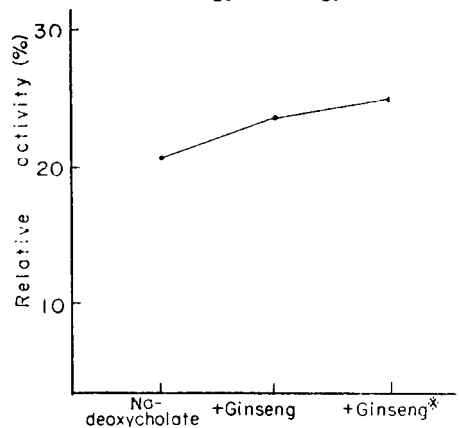
**4) Deoxycholate 와 인삼 saponin 에 의한 영향**

Deoxycholate 만 medium 에 넣었을때 mitochondrial ATPase 활성도는 대조군의 38.8 $\pm$ 3.9 $\mu$ M 에 비하여 47.3 $\pm$ 3.7 $\mu$ M 로서 21.9%(P<0.001)의 증가로 유의한 상승을 관찰 하였다. Deoxycholate 와 인삼 saponin 을 같이 medium 에 넣고 incubation 하였을 경우 48.6 $\pm$ 0.1 $\mu$ M 로서 대조군 보다 25.3%(P<0.001)로서 역시 유의한 값을 관찰 하였다. 인삼 saponin 을 mitochondria 와 미리 incubation 하여 deoxycholate 가 들어 있는 medium 에 넣었을 때 49.1 $\pm$ 0.4 $\mu$ M 로서 대조군에

**Table 4.** The effect of Ginseng saponin fraction on ATPase activity with or without deoxycholate.

	ATPase activity $\mu$ M/mg protein/hr	P value	relative activity
Control	38.8 $\pm$ 3.9		
Na-deoxycholate	47.3 $\pm$ 3.7	<0.001	21.9%
Na-deoxycholate +ginseng	48.6 $\pm$ 0.1	<0.001	25.3%
Na+deoxycholate +ginseng( $10^{-5}$ )*	49.1 $\pm$ 0.4	<0.001	26.5%

\* Indicates the mitochondria was pretreated with Ginseng prior to incubation Incubation medium contained 100mM Tris-HCl pH 7.4, 100mM NaCl, 30mM KCl, 3mM MgCl<sub>2</sub>, 3mM Tris ATP. Incubation was for 10min. at 37°C.



**Fig. 4.** Relative ATPase activity in deoxycholate with or without Ginseng.

\* Indicates the mitochondria was pretreated with Ginseng prior to incubation. Incubation medium contained 100mM Tris-HCl pH 7.4, 100mM NaCl, 30mM KCl, 3mM MgCl<sub>2</sub>, 3mM Tris ATP. Incubation was for 10min. at 37°C

비하여 26.5%( $P < 0.001$ )의 유의상 상승을 관찰하였다. 상기 세가지 실험에서 ATPase 활성도는 대조군에 비하여 각각 21.9%, 25.3%, 26.5%의 증가로 점차 증가하는 경향을 보여 주었지만 각 group 사이의 유의한 차이는 발견할 수 없었다(표4 그림4).

#### 5) Ouabain 과 인삼 saponin 에 의한 영향

원취 대뇌피질의 mitochondrial ATPase 활성도는 ouabain 0.1mM 을 medium 에 첨가 하였을 때 대조군의  $27.3 \pm 0.8 \mu\text{M}$  보다  $24.6 \pm 0.1 \mu\text{M}$  ( $0.001 < P < 0.01$ ) 로서 의미있는 억제를 보여주었다. 그러나 ouabain 과 saponin 을 함께 첨가 하였을 때  $32.2 \pm 0.5 \mu\text{M}$  로서 대조군에 비해 17.9%( $P < 0.001$ )의 증가로 ouabain 에 의해 억제된 ATPase 활성도를 대조군의 값  $27.3 \pm 0.8$

$\mu\text{M}$  보다 의미 있는 상승을 보여 주었다 ( $P < 0.001$ ) (표5 그림5).

#### 4. 고 찰

본 실험에서 인삼 saponin 분획이 mitochondrial ATPase 활성도에 미치는 영향을 본 결과 인삼 saponin 을 처음부터 medium 과 반응시킨 group 에서는 saponin 농도에 관계없이 ATPase 활성도를 증가 시키지 아니 하였으나 saponin 과 mitochondria 를 미리 5분간 incubation 한 후 medium 과 반응시킨 group 에서는 통계적으로 의미있는 증가를 보여 주었다. 이 결과에서 인삼 saponin 은 mitochondrial membrane 에 손상을 미침으로서 간접적으로 ATPase 활성도를 증가시킬 가능성과 ATP 가 ATPase 에 의해 분해되는 과정에 직접 작용했을 가능성을 시사하고 있다.

Table. 5. The effect of ouabain on ATPase activity with or without Ginseng saponin fraction.

	ATPase activity $\mu\text{M}/\text{mg}$ protein/hr	p value	relative activity
Control	$27.3 \pm 0.8$		
Duabain(0.1mM)	$24.6 \pm 0.1$	$< 0.01$	-9.9%
Ouabain+ginseng ( $10^{-5}$ )	$32.2 \pm 0.5$	$< 0.001$	+17.9%

Incubation medium containd 100mM Tris-HCl pH7.4, 100mM NaCl, 30mMKCl, 3mM MgCl<sub>2</sub>, 3mM Tris-ATP. Incubation was for 10min at 37°C.

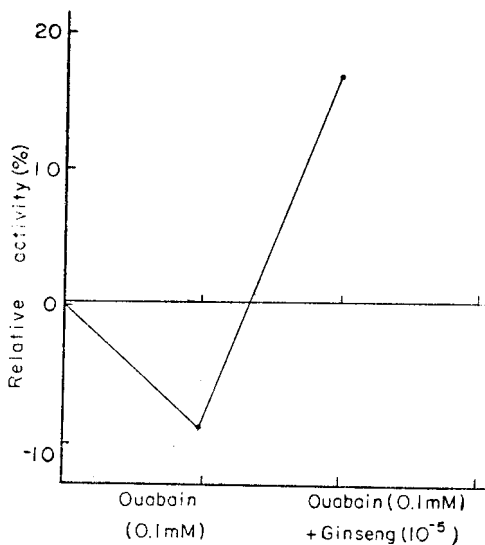


Fig. 5. Relative ATPase activity in ouabain with or without Ginseng saponin fraction.

Oxidative phosphorylation 의 enzymatic mechanism 을 설명하는 chemical coupling hypothesis<sup>9)</sup>에 의하면 산화된 ATP forming site 의 respiratory carrier(Aox) 는 high energy-intermediate<sup>10) 11) 12)</sup> (I)와 결합하여 high energy linkage(Aox~I)를 형성하고 이 결합물은 다시 coupling factor(E)<sup>13)</sup>와 반응하여 coupling factor-intermediate complex(E~I)를 형성하고 이 intermediate 는 inorganic phosphate(Pi)와 치환하여 E~P를 형성하여 ADP 와 반응하여 ATP 가 생성된다고 주장하고 있다. 상기 일련의 반응들은 가역적으로 일어남으로<sup>9) DNP 는, 궁극적으로 ATP 를 형성시키는 Aox~I 혹은 E~I 를 가수분해하여 phosphorylation 의 역현상 즉 ATP 를 가수분해 내지 dephosphorylation 을 초래한다고 생각하고 있다. Mitochondria 의 ATP-hydrolyzing system(ATPase)은 정상상태에서는 활성도가 낮으나<sup>14-16)</sup> (latent ATPase) DNP 로 처리하거나 mitochondria 를 물로 세척하거나 저장 혹은 고장 농도에 incubation 함으로서 또는 표면 활성제인 caprylate 의 처리로 mitochondrial membrane 구조에 영향을 미쳐 활성도가 높아진다고(active ATPase) 보고 되었다<sup>17) 18) 19)</sup> DNP<sup>18)</sup> 는 soluble ATPase system 에서도 ATP 의 가수분해를 증가 시킴으로 mitochondrial membran 구조에 영향을 미치지 않고 ATPase system 에 직접 작용함으로 ATPase 활성도를 증가 시킨다고 보고 되었다.</sup>

본 실험 결과에서도 표면활성제인 deoxycholate 로 처리한 ATPase 활성도와 deoxycholate 와 DNP 를 함께 처리한 group 에서의 ATPase 활성도 사이에는 별 차이를 보여주지 아니하였다. 이 결과로 DNP 의 ATPase 에

대한 작용은 mitochondrial membrane의 손상으로 ATPase 활성도에 별 영향을 받지 않는 것으로 사려되고 있다.

그러나 DNP로 처리한 ATPase 활성도와 DNP와 인삼 saponin을 같이 처리한 ATPase 활성도를 비교하면 DNP 단독으로 처리된 활성도 보다 saponin과 함께 처리된 ATPase 활성도는 통계적으로 의미있는 증가를 보여 주고 있다. 이 결과로서 인삼 saponin과 deoxycholate는 DNP에 의한 mitochondrial ATPase 활성도에 서로 다른 기전으로 영향을 미칠 가능성을 시사하고 있다. 즉 saponin은 mitochondrial membrane 구조에 손상을 미칠 가능성 보다 ATPase system 자체에 직접 작용할 가능성을 제시하고 있다. 더욱이 deoxycholate 처리로 증가된 ATPase 활성도는 인삼 saponin의 처리로 의미 있는 영향을 발견치 못하였으며 이는 saponin의 ATPase 활성도에 대한 영향은 membrane 손상에 의하여 별 영향이 없음을 시사 하였다. 아울러 이러 양상은 DNP에 의한 ATPase 활성도에 deoxycholate의 작용과 유사성이 있음을 시사하며 따라서 ATPase system에 직접 saponin이 작용할 가능성을 짚게 하고 있다.

이 결과는 홍<sup>20</sup> 등의 인삼 기경 원지 등의 saponin에 대한 용혈효과를 비교한 실험에서 인삼 saponin의 각종 동물에 대한 용혈 작용이 다른 saponin에 비해 현저히 약하다는 보고와 관련성이 있음을 시사하고 있다

<sup>17</sup>)DNP는  $6 \times 10^{-5}M$ 까지는 DNP 농도에 비례하여 ATPase 활성도가 증가하나 과잉의 DNP에서는 mitochondria의 양과 incubation 시간과 비례한다는 보고로 미루어 보아 본 실험에서 DNP에 의해서 phosphate의 유리가 별로 증가되지 아니한 것은 DNP의 농도가 지나친 것으로 사료되고 있다.

또한<sup>21</sup>) 적혈구막의  $Na^+ - K^+$  activated ATPase와<sup>22</sup>) microsomal  $Na^+ - K^+$  activated ATPase를 억제하여 원형질막을 통한  $Na^+$ ,  $K^+$ 의 이동을 억제한다고 보고된 ouabain은<sup>23</sup>) mitochondria의 능동적  $K^+$  uptake를 방해하지 아니한다는 보고로 미루어 mitochondrial ATPase의 작용에는 별 작용이 없을 것으로 생각되나 본 실험에서는 phosphate 유리를 현저하게 감소시켰고 이 감소된 ATPase 활성도를 인삼 saponin은 현저하게 상승 시킴으로서 위에 제시한 인삼 saponin의 mitochondrial ATPase system에 대한 작용을 더욱 뒷받침하고 있다.

본 실험에서 ouabain에 의한 ATPase 활성도의 감소는 ouabain의 농도 차이에 의한 영향으로 사료되었다.

DNP<sup>24, 25</sup>)와 같이  $E \sim I$  혹은  $Aox \sim I$ 를 가수분해하여 ATP hydrolysis를 증가시키는 약물은 mitochondria

의 호흡을 증가시킴으로서 대사율을 증가시킨다는 보고로 이루어 채<sup>6)</sup> 鄭<sup>7)</sup> 등이 발표한 saponin의 morphine, amphetamine에 의해 억제된 호흡을 현저히 증가시키는 작용은 본 실험의 인삼 saponin이 ATPase 활성도를 증가시키는 작용과 관련이 있음을 추측케 하고 있다.

## 5. 결 론

- 1) 흰쥐 대뇌피질의 mitochondrial ATPase에 대한 인삼 saponin의 영향을 관찰 하였다.
- 2) Mitochondrial ATPase 활성도는 인삼 saponin을 mitochondria와 preincubation에 시켰을때 의미있는 증가를 보여 주었다.
- 3) Deoxycholate는 DNP의 mitochondrial ATPase에 대한 작용에 별 영향을 미치지 아니 하였다.
- 4) 인삼 saponin은 DNP에 의해서 변화된 ATPase 활성도를 의미있는 값으로 증가 시켰다.
- 5) 인삼 saponin은 deoxycholate에 의하여 증가된 ATPase 활성도에 별 영향을 미치지 아니 하였다.
- 6) 인삼 saponin은 ouabain에 의하여 억제된 ATPase 활성도를 의미있는 값으로 증가시켰다.
- 7) 인삼 saponin은 mitochondrial membrane에 변화를 초래하기 보다는 ATPase system에 직접 작용하여 ATPase 활성도를 증가 시킨 것으로 사료된다.

## ABSTRACT

### Effect of Ginseng saponin on ATPase activity of mitochondria

Soon Yong You, M. D.

Department of Pharmacology, College of Medicine, S. N. U.

Mitochondria catalyze a group of four reactions which are believed to represent individual steps or partial reactions in the ATP-forming process. These reactions take place in the absence of net flow of electrons down the respiratory chain.

The first of these reactions is the ATPase activity of mitochondria, which is normally very low but which is greatly stimulated by DNP, so-called "activation of Latent ATPase activity".

In an attempt to evaluate and compare the effects on ATPase activity of the Ginseng saponin, DNP, ouabain and deoxycholate, the experiments were

performed with mitochondria obtained from rat brain cortex.

The results are summarized as follow;

1. Mitochondrial ATPase activity was increased by Ginseng saponin especially when saponin was preincubated with mitochondria.

2. ATPase activity was increased by deoxycholate but of which effect did not influence on the action of DNP on ATPase activity.

3. Ginseng saponin significantly elevated the altered ATPase activity by DNP.

4. Ginseng saponin did not influence the ATPase activity elevated by deoxycholate.

5. Ginseng saponin significantly elevated ATPase activity which was depressed by ouabain.

6. It is suggested that Ginseng saponin enhanced mitochondrial ATPase activity through the direct action upon the ATPase system rather than the alteration of mitochondrial membrane structure.

## REFERENCES

1. Brekhman, I.I. and Dardymov, I.V.: *New substances of plant origin which increase non-specific resistance. Ann. Rev. of pharmacol.* 9: 419, 1969.
2. 洪思岳·吳鎮燮·朴贊雄·張鉉甲·金應賓: 인삼의 중추신경계에 대한 작용, 大韓藥理學雜誌. 6: 69, 1970.
3. 金喆: *The similarity of panax Ginseng with 5-hydroxy tryptamine in some pharmacological aspect. 綜合醫學.* 5: 85, 1960.
4. 吳鎮燮·朴贊雄·文東淵: 인삼의 중추신경계에 대한 작용: 大韓藥理學雜誌 5: 23, 1969.
5. 紫田承二: 藥用 Ginseng 의 有効成分 蛋白質 核酸 酵素 12: 32, 1967.
6. 朴贊雄: 인삼 saponin 이 morphine 에 의한 Rat 대뇌피질절편 산소 소비량 및  $Na^+$ ,  $K^+$ , 소장 에 미치는 영향. 대한약리학잡지. 5: 29, 1969.
7. 鄭英桓: 인삼 saponin 이 Rat 대뇌피질절편 산소 소비량 및  $Na^+$ ,  $K^+$  소장 에 대한 Amphetamine 작용에 미치는 영향. 서울의대잡지. 12: 81, 1971.
8. Horwitt, B.N.: *Determination of inorganic serum phosphate by means of stannous chloride. J. Biol. Chem.* 193: 537, 1952.
9. Lehninger, A.L.: *Biochemistry*, pp. 388-389, Worth publisher INC. New York, N. Y. 1970.
10. Boyer, P.D.: *Phosphohistidine. Science*, 141: 1147, 1963.
11. Peter, J.B. and Boyer, P.D.: *The formation of Bound phosphohistidine from Adenosine Triphosphate-p 32 in mitochondria. J. Biol. Chem.* 238: 1180, 1963.
12. Peter, J.B. et al.: *Bound phosphohistidine as an intermediate in a phosphorylation reaction of oxidative phosphorylation catalyzed by mitochondrial extracts. J. Biol. chem.* 238: 1182, 1963.
13. Conover, T.E.: Prairie, R.L. and Racker, E.: *A new coupling factor required by submitochondrial particles extracted with phosphatides. J. Biol. chem.* 238: 2831, 1963.
14. Lehninger, A.L.: *Biochemistry*, p. 387, Worth Publisher INC. New York, N. Y. 1970.
15. Harper, H.A.: *Review of Physiological Chemistry*, p. 187, Lange Medical Library 12th Ed. 1967.
16. Lehninger, A.L.: *The mitochondrion*, p. 92, W.A. Benjamin, INC. New York, 1965.
17. Lardy, H.A., and Wellman, H.: *The catalytic effect of 2, 4-dinitrophenol on adenosine triphosphate hydrolysis by cell particles and soluble enzymes, J. Biol. chem.* 201: 357, 1953.
18. Lardy, H.A. and Wellman, H.: *Ibid.*
19. Perry, S.V. and Chappell, J.B.: *The action of 2, 4-dinitrophenol on myosine and mitochondrial adenosine triphosphatase system. Biochem. J.* 65: 469, 1957.
20. 洪思岳·金濟勳·金東秀·李桓振·李容采·李喆和·韓大燮·宋雄奎·金暎洙·高柱珣: 人蔘 桔梗 및 遠志 saponin 에 대한 毒性比較(第二報). 中央醫學, 5: 6, 609, 1963.
21. Post, R.L., Merritt, C.R., Kinsolving, C.R. and Albright, C.D.: *Membrane ATPase as a participant in the active transport of  $Na^+$  and  $K^+$  in human erythrocyte, J. Biol. chem.* 235: 1796, 1960.
22. Palmer, R.F., Lasseter, K.C. and Melvin, S.L.: *Stimulation of  $Na^+$  and  $K^+$  dependent ATPase by ouabain. Arch Bioche Biophys* 113: 689, 1966.

23. Lehninger, A.L.: *The mitochondrion*. p. 161. W. A. Benjamin, INC. New York. 1965.
24. Lardy, H. A. and Wellman, H.: *Oxidative Phosphorylation: Role of inorganic phosphate and acceptor system in control of metabolic rates*. J. Biol. Chem., 195: 215, 1952.
25. Goodman and Gilman: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 4th Ed. pp. 1481-1982. The Macmillan Co. 1970.
-