

人蔘의 脂質代謝에 對한 影響

—人蔘 長期投與가 닭의 脂質代謝에 미치는 影響—

Effect of ginseng on lipid metabolism

—The Effect of Ginseng on Lipid Metabolism of Chicks—

서울대학교 의과대학 약리학교실·생화학교실

박 찬 응·정 흥 근

緒 論

人蔘의 生體代謝에 關한 研究報告는 脂質代謝, 糖代謝, 蛋白合成 및 核酸에 對한 影響等 數 많은 結果 들이 國內外에서 發表된 바 있다. 特히 脂質代謝에 있어서는 人蔘의 高血壓症 또는 動脈硬化症에 對한 效果를 追求 하려는 試圖로서 多角的인 實驗研究가 進行報告되고 있다.

金(1962)은 人蔘이 cholesterol 投與動物의 血中 cholesterol의 增加를 抑制하였으며 人蔘自體도 토끼의 血中 cholesterol과 脂質含量을 低下시킨다고 하였다. 李等(1964)은 人蔘을 長期投與한 닭에서 血清 cholesterol과 phospholipid에는 變化가 없었으나 中性脂質은 人蔘 投與群에서 낮았다고 하였다. 한편 朴(1969)은 人蔘사 포닌을 投與한 닭에서 血清總 cholesterol, phospholipid, triglyceride가 모두 增加함을 관찰하였고 Bykhovtseva等(1973), 崔等(1968), 權等(1969)도 各種動物에서 人蔘投與로 血中 cholesterol, phospholipid, 總脂質, 遊離脂肪酸 等の 增加를 發表하고 있다.

本實驗은 닭에 人蔘을 長期投與하였을 때 血中 cholesterol과 脂質의 變動을 觀察하고자 血清內 cholesterol과 總脂肪, 遊離脂肪酸, triglyceride, phospholipid 등을 測定하고 이들 薄層크로마토그래피 또는 가스크로마토그래피로 分析 比較觀察하고 몇가지 特記할 所見을 얻었기에 報告하는 바이다.

實驗方法

1) 實驗動物 및 人蔘投與

세이버種 병아리를 부화후 40日째부터 一定飼料(産卵用飼料)로 一定條件에서 飼育하였다.

〈1977年 3月 3日 接受〉

人蔘投與方法은 人蔘에 다논추출물(高麗人蔘株式會社製: 固形分 52.6%)을 닭의 體重 kg當 1日 0.4gm을 飼料에 섞어서 24個月間 飼育하였다. 飼育期間中 水分은 제한하지 않았다.

2) 材料 및 實驗方法

人蔘投與後 24個月째에 닭의 경정맥으로부터 24時間 絶食혈액을 채취하였다. 採取한 血液은 냉각후 血清을 分離하였다.

i) 脂質의 抽出

分離된 血清 0.5ml를 마개 달린 試驗官에 넣고 20倍 容量의 알콜: 에틸(3:1)을 加하고 마개를 닫고 充分히 흔들고 나서 60°C의 水浴上에서 1時間 加溫하고 이를 遠心分離하여 上層液을 減壓乾燥시켰다. 完全히 乾燥된 抽出物은 1ml의 benzen에 溶解시켜 박층크로마토그래피 試料로 使用하였다.

ii) 薄層크로마토그래피(TLC)

200mm×200mm의 유리판에 silica gel G(Merk製)를 0.3mm의 두께로 입힌후 120°C oven에서 1時間 乾燥시켰다. 冷却된 TLC板에 試料를 마이크로 파이펫으로 適用하고 petroleum ether-diethyl ether-acetic acid (90:10:1)의 混合溶液으로 展開시켰다. 展開後 溶媒를 증발시키고 ammonium molybdate-perchloric acid 試藥을 TLC板에 분무하고 이를 100°C의 dry oven에서 10分間 加熱하여 發色시켰다. TLC에 分離發色된 各種脂質은 標準脂質의 Rf值와 比較同定하였다. 標準脂質로서는 triglyceride에 對하여 tristearin 遊離脂肪酸에 對하여 stearic acid, cholesterol ester에 對하여 cholesteryl stearate 및 cholesterol이 使用되었다. (Fig. 1)

iii) 脂質의 定量

TLC판을 6개의 길로 나누고 길1과 길2에 同一試料 50μl씩을 適用하고 길5와 길6에 또 다른 同一試料를 50 μl씩 適用하고 길3과 길4는 TLC gel 對照로 두었다.

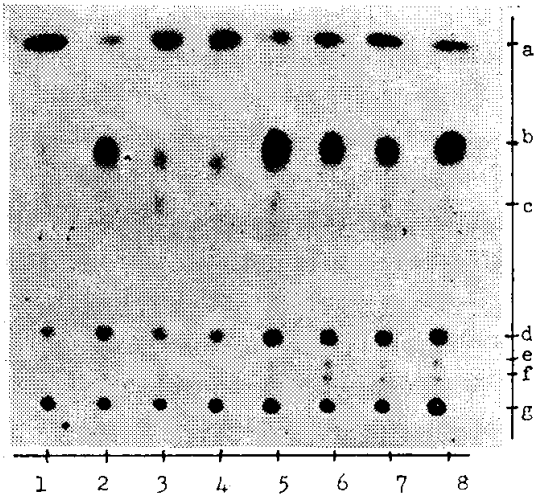


Fig. 1. Separation of neutral lipid fractions by thin-layer chromatography from total lipid extracts of hen serum.

* 1, 2, 3, 4=Control hens

5, 6, 7, 8=Ginseng-treated hens

** a: Cholesterol ester b: Triglyceride
c: Free fatty acid d: Cholesterol
e: Diglyceride f: Monoglyceride
g: Phospholipid.

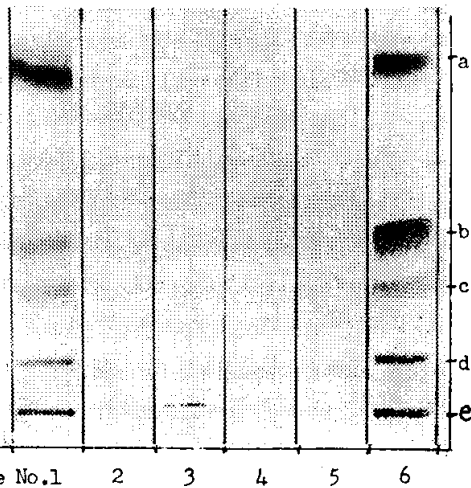


Fig. 2 Thin-layer chromatogram for quantitative analysis of neutral lipid fractions.

* a: Cholesterol ester b: Triglyceride
c: Free fatty acid d: Cholesterol
e: Phospholipid

** 1=The lane for lipid identification of a control hen serum, which is sprayed with ammonium molybdate-perchloric acid.

2=The lane for lipid detection of a control, to which the same control sample is applied.

3=The gel blank lanes. 4, 5, 6=The same lanes for lipid analysis of a Ginseng-treated hen serum, as control serum lanes.

Petroleum ether-diethyl ether-acetic acid(90:10:1)로 展開시킨 후 길1과 길6을 제외한 나머지 部分을 알미늄薄紙로 덮고 ammonium molybdate-perchloric acid 試藥으로 분무하여 길1과 길6의 展開된 脂質을 發色시켰다. (Fig. 2) 길2와 길3에서는 길1에 發色된 各種脂質의 Rf值와 同一位置의 部分을 各各 긋어내고 길4와 길5에서는 길6에 發色된 것과 Rf值가 同一한 部分을 各各 긋어내어 10ml 試驗管에 各各 옮기고 potassium dichromate 溶液을 2ml 加하고 마개를 한 후 끓는 水槽에서 45分間 加熱하였다. 이를 遠心分離한 후 上層液 1ml를 取하여 10倍로 희석하고 자외선분광 측정기(Pye Unicam)를 利用하여 350nm에서 吸光度를 測定하였다. 標準物質로는 cholesterol, cholesteryl stearate, tristearin 및 stearic acid를 試料과 같은 方法으로 TLC한 後 吸光度를 測定하여 다음과 같은 方式으로 試料內의 脂質量을 算出하였다.

$$\frac{\text{試料의 吸光度} - \text{gel對照의 吸光度}}{\text{標準脂質의 吸光度} - \text{gel對照의 吸光度}} \times \text{標準脂質量}(\mu\text{g}) = \text{試料 脂質量}(\mu\text{g})$$

iv) 脂肪酸의 分離

한가지 試料을 두개의 TLC에 展開시키고 한개의 TLC板을 發色시키고 同一 Rf 值部位에 해당하는 脂肪酸을 다른 한쪽의 TLC板에서 긋어내어 ether로 溶出시켰다.

全脂質中の 脂肪酸을 分離하기 위하여 비누화반응을 시행하였다. 즉 benzen에 溶解되어 있는 全脂質을 減壓乾燥시키고 alcoholic KOH (0.5N) 溶液을 加하고 熱탕에서 30分間 加熱하였다. 加熱도중 증발되는 alcohol을 때때로 보충하여 주었다. alcohol을 減壓증발시키고 증류수에 溶解시킨 후 비누화되지 않은 cholesterol을 ether를 利用한 分割分離法으로 除去하였다. 다음 수용액을 黃酸 酸性으로 하고 ether로 遊離脂肪酸을 溶出시켰다.

v) 脂肪酸의 methyl ester 製造

脂肪酸을 가스 크로마토그래피로 分析하기 앞서 methyl ester를 만들었다. 原理를 요약하면 ether溶液의 脂肪酸에 N-nitroso-N-methyl urea를 加하고 濃 NaOH를 試驗官벽을 따라 加하면 diazomethane이 發生되면서 ether에 포착되어 ether중의 脂肪酸 carboxyl group을 ester化하게 되는 것이다.

Ether層을 分離하고 증류수로 반복세척하여 남아 있는 NaOH를 제거하고 ether를 減壓 증발시킨 후 dichloromethane으로 溶解시킨 脂肪酸의 methyl ester를 가스 크로마토그래피 하였다.

vi) 가스크로마토그래피

지방산의 가스크로마토그래피에는 Pye Unicam GCV를 사용하였으며 다음과 같은 條件에서 施行하였다.

Column (4mm×1.5m)은 10% DEGS로 피막된 80-100mesh의 diatomite로 충전하였다. Column temperature는 175°C, carrier gas는 질소로서 flow rate 30 ml/min로 하고 flame ionization detector를 이용하여 detector의 온도 200°C에서 chart speed 1cm/min에서 지방산시료 및 標準지방산을 column에 주입하여 분석하였다.

標準지방산은 Sigma社製 지방산 methyl ester kit를 사용하였으며 사용된 ester는 lauric, myristic, palmitic, palmitoleic, stearic, oleic, linoleic, 및 arachidic acid의 methyl ester를 사용하였다.

각 지방산의 定性은 시료와 표준 지방산의 gas chromatogram上的 retention time을 각 peak에서 측정하여 同定하였고 시료중의 지방산의 構成比는 각 peak에서의 면적비를 표준 chromatogram과 비교하여 算出하였다.

結 果

1) 血清中性脂肪

닭의 血清內 中性脂肪酸은 Table 1.에서와 같이 635.5±50.1mg%였으며 이중 cholesterol은 44.1±8.7mg%이고 cholesterol ester는 260.0±47.0mg%였다. 또 triglyceride는 241.0±79.0mg%였고 遊離脂肪酸은 90.1±27.5mg%였다.

한편 人蔘을 長期投與한 닭의 血清內 中性脂肪의 變化를 보면 (Table 2) 總脂肪量은 985.2±171.3mg%로서 對照群에 比하여 현저한 增加를 보였으며 (p<0.005) cholesterol ester는 201.0±40.8mg%로서 약간의 減少를 보였으나 cholesterol은 84.2±21.0mg%로서 對照群에 比하여 현저한 增加를 나타내었다 (p<0.005) 또한 遊離脂肪酸은 88.9±22.1mg%로서 對照群과 別差異를 보이지 않았으나 triglyceride는 611.0±140.2mg%로서 현저한 增加를 보였다.

Table 1. The Contents of Serum Neutral Lipid Fractions of Control Hens

Exp. No.	Cholesterol ester (mg/100ml)	Cholesterol (mg/100ml)	Triglyceride (mg/100ml)	Free fatty acid (mg/100ml)	Sum. (mg/100ml)
1	304.0	50.9	164.0	53.4	572.5
2	317.0	35.7	126.0	109.0	587.7
3	171.0	56.9	344.0	67.8	639.7
4	261.0	35.8	278.0	129.0	703.8
5	229.0	46.3	324.0	76.2	675.5
6	280.0	39.2	210.0	105.0	634.2
Mean±S.D.	260.0±47.4	44.1±8.7	241.0±79.9	90.1±27.5	635.5±50.1

Table 2. The Contents of Serum Neutral Lipid Fractions of Ginseng-treated Hens

Exp. No.	Cholesterol ester (mg/100ml)	Cholesterol (mg/100ml)	Triglyceride (mg/100ml)	Free fatty acid (mg/100ml)	Sum. (mg/100ml)
1	172.0	94.0	642.0	53.4	961.4
2	219.0	59.2	419.0	83.4	780.6
3	211.0	121.0	593.0	104.0	1029.0
4	243.0	74.5	661.0	72.6	1051.1
5	253.0	78.0	761.0	121.0	1213.0
6	154.0	66.9	434.0	88.2	743.1
7	156.0	95.6	764.0	99.8	1115.4
Mean±S.D.	201.0±40.8	84.2±21.0	611.0±140.2	88.9±22.1	985.2±111.3
P value	.01 <P.<05	P.<005	P.<005	N.S.	P.<005

** N.S.=Statistically not significant.

2) 脂肪酸分析

血清內 總脂肪을 비누화하여 methyl ester로 만들어 그 脂肪酸조성을 分析한 結果는 Table 3에 보이는 바와 같다. 가스크로마토그램에서 포착된 脂肪酸은 lauric acid, myristic acid, palmitic acid, palmitoleic acid, stearic acid, oleic acid, linoleic acid, arachidic acid, linolenic acid로 同定되었으며 이들의 구성비는 對照群과 人蔘投與群間에 別差異를 보이지 않았다.

Table 3. Fatty acid composition of saponifiable fractions from total lipid extracts of hen serum determined by gas chromatography

Fatty acid	Group	Control	Ginseng
Lauric acid		1.1(wt%)	1.3(wt%)
Myristic acid		1.7	1.9
Palmitic acid		24.9	25.0
Palmitoleic acid		4.7	4.6
Stearic acid		13.5	11.3
Oleic acid		40.0	43.3
Linoleic acid		13.9	11.9
Arachidic acid		trace	trace
Linolenic acid		0.4	0.8

* Each value is expressed as mean.

또 血清으로부터 遊離脂肪酸을 따로 分離하여 그것들의 組成을 가스크로마토그래피로 分析한 結果를 Table 4에 보여 주고 있다. 遊離脂肪酸으로 존재하는 脂肪酸들의 組成은 總脂肪에서의 脂肪酸들과 差異가 없었으며 構成비는 對照群과 人蔘投與群間에는 亦是 差異가 없었으나 總脂肪을 비누화하여 얻은 脂肪酸에는 oleic acid가 40%였는데 比하여 遊離脂肪酸의 경우 20%內外였으며 總脂肪에서 혼적정도를 나타내었던 arachidic

Table 4. Fatty acid composition of free fatty acid fraction of hen serum determined by gas chromatography

Fatty acid	Group	Control	Ginseng
Lauric acid		3.9(wt%)	2.9(wt%)
Myristic acid		19.4	11.5
Palmitic acid		20.4	23.1
Palmitoleic acid		8.5	5.4
Stearic acid		18.2	15.4
Oleic acid		18.3	29.7
Linoleic acid		7.9	10.4
Arachidic acid		3.1	1.8
Linolenic acid		0.5	0.5

* Each value is expressed as mean.

acid가 遊離脂肪酸에서 2%內外를 보였다.

考 察

人蔘의 脂質代謝에 對한 影響은 人蔘이 心脈管系疾患에 널리 利用되고 있어 많은 學者들의 관심을 끌었다. 特히 高血壓乃至 동맥경화증과 血中 cholesterol과의 關係 및 이에 미치는 人蔘의 效果等은 많은 研究報告들이 있어왔으며 그 作用物質과 樣相을 究明하려는 시도가 행하여졌다. 丁(1964), 金等(1962)은 cholesterol 飼料로 飼育한 實驗物質에서 人蔘은 血中 cholesterol의 上昇을 抑制한다고 하였으며 李等(1964)은 人蔘이 放射線에 依한 닭의 血中 脂質上昇을 抑制한다고 報告한바 있다 그러나 朴(1969), 崔(1968), Bykhovtseva (1973), 權等(1969)은 人蔘엑스 또는 人蔘사포닌 投與로 된 쥐, 토끼 등의 實驗動物에서 cholesterol, phospholipid, 總脂肪 또는 遊離脂肪酸 등이 增加한다고 하였다.

本實驗 結果는 人蔘을 長期投與할 경우 닭의 血中 脂質의 上昇을 보여주었으며 脂肪酸의 조성 및 構成比에는 別變化를 일으키지 않는 것으로 나타났다. 血中 脂質의 上昇은 特히 triglyceride의 增加가 현저하였다. 또한 人蔘을 長期投與한 닭은 朴等(1977)에 依하면 肝內 脂肪細胞의 현저한 增加를 나타내었다고 한다. 本實驗의 結果만으로는 作用本態를 論할수는 없겠으나 以上の 實驗結果로 미루어 人蔘은 肝內 脂肪 축적을 조장하며 이로 因하여 血中 triglyceride의 증가를 초래할 것으로 생각된다.

結 論

人蔘을 長期投與한 닭의 脂質代謝에 對한 影響을 觀察코저 부화후 40日째부터 24個月間 人蔘飼料로 飼育한 後 닭의 血清內 脂質을 TLC 및 GC로 分析한 結果 다음과 같은 所見을 얻었다.

1. 닭의 血清內 總脂肪量은 人蔘長期投與로 현저하게 增加되었다.
2. 血清內 cholesterol ester는 人蔘投與群과 對照群間에 큰 差異를 보이지 않았으나 cholesterol은 人蔘長期投與로 현저하게 增加하였다.
3. 血清內 遊離脂肪酸은 人蔘投與群과 對照群間에 別 差異를 보이지 않았으나 triglyceride는 人蔘投與群에서 현저한 增加를 보였다.
4. 血清內 脂質의 脂肪酸 구성은 lauric acid, myristic acid, palmitic acid, palmitoleic acid, stearic acid, oleic

acid, linoleic acid, arachidic acid, linolenic acid인 것으로 나타났으며 이들의 構成比는 對照群과 人蔘投與群間의 差異는 볼 수 없었다.

以上과 같은 所見은 人蔘長期投與는 生體脂質代謝에 지대한 影響을 미칠것을 보여주는 것이라 생각된다.

(本實驗에 協助하여주시신 李基寧教授와 申相久先生께 感謝드립니다)

ABSTRACT

Effect of ginseng on lipid metabolism

—The Effect of Ginseng on Lipid Metabolism of Chicks—

Chan Woong Park

*Department of Pharmacology
and*

Hong Keun Chung

*Department of Biochemistry, College of Medicine,
Seoul National University*

The effect of long term administration of ginseng extract on lipid metabolism of chicks was studied.

The chicks were fed for 24 months with the diet containing ginseng extract (0.4gm/kg body weight).

From blood serum, the neutral fat was extracted and analyzed by thin-layer chromatography and gas chromatography. The results are as follow.

1. The total fat content of serum was significantly increased by long term administration of ginseng.

2. The concentration of cholesterol ester was not different from control group compared with ginseng-treated group, but the concentration of cholesterol

was greatly increased by ginseng treatment.

3. The free fatty acid concentration of serum did not show any difference between control group and ginseng-treated group but the concentration of triglyceride was significantly increased by long term administration of ginseng.

4. The fatty acid composition of serum did not show any difference between control group and ginseng-treated group. It suggest that the lipid metabolism of chicks might be greatly influenced by long term administration of ginseng extract.

REFERENCES

- 權寧韶, 吳鎮燮 : 人蔘 Alkaloid fraction이 脂質代謝에 미치는 影響. 대한 약리학잡지 5:1, 1969.
- 金薰昌 : 人蔘과 Niacin이 家兔의 脂質代謝에 미치는 影響에 對하여. 韓國醫學, 5:21, 1962.
- 朴鍾玢 : 人蔘 Saponin fraction이 白鼠 脂質代謝에 미치는 影響. 中央醫學 16:41, 1969.
- 朴贊雄, 羅鳳嶺 : 人蔘 長期投與가 닭의 各臟器組織에 미치는 影響. 未發表
- 丁海源 : 人蔘 도라지 및 INH가 家兔의 脂質代謝에 미치는 影響. 大韓生化會雜誌, 1:25, 1964.
- 李基寧, 吳鎮燮, 成樂應, 洪恩岳, 金楨嶺 : 人蔘의 家鷄에 關한 實驗的 研究. 第2報 人蔘을 長期 經口 投與한 닭에 對한 放射能의 影響. 서울大學校論文集(醫藥系), 15:26, 1964.
- 崔澤圭, 洪恩岳 : 脂質代謝와 人蔘脂肪酸類 및 精油에 關한 研究. 대한 약리학잡지, 4:17, 1968.
- Bykhovtseva, T.L. and M.F.Dzadzizeva: *Influence of the liquid extract of ginseng roots on some indices of fat metabolism. Izv. Akad. Nauk SSSR. Ser. Biol., No. 3:442, 1973.*