

人蔘이 肝細胞 藥物代謝酵素 活性도에 미치는 影響*

The Effect of Ginseng Saponin on the Activity of Hepatic Microsomal Drug Metabolizing Enzyme System in Mouse

서울대학교 醫科大學 藥理學教室

林 定 圭·金 明 石·鄭 明 熙

緒 論

生體內 藥物代謝는 주로 肝臟에서 酸化, 還元, 加水分解 및 生合成反應을 거쳐 일어나며 보다 極性을 띤 脂質溶解도가 낮은 物質로 轉換되어 體內에서 除去된다. 肝臟에서의 藥物代謝反應들은 肝細胞 microsomal fraction의 smooth endoplasmic reticulum에 存在하는 非特異的인 藥物代謝酵素系에 依하여 觸媒되며 이 酵素들은 여러종류의 藥物 또는 化學物質에 依하여 그 活性도가 增加함이 알려져있다.

1954年 Brown, Miller 및 Miller 등은 polycyclic hydrocarbon의 化學物質을 前處理한 흰쥐와 마우스에서 肝細胞 microsomal fraction의 藥物代謝作用이 增加하는 現象을 처음 觀察하였고 그이후 phenobarbital (Conney 1960a), aminopyrine, anabolic steroid hormone (Booth 1932; Novick 1966), 3-4-benzpyrene, 3-methylcholanthrene(Brown 1954; Conney 1956, 1957 a) 등 기타 많은 藥物이 이들과 同一系列의 藥物 및 그외에 肝細胞 microsomal 藥物代謝酵素系의 觸媒作用에 依하여 代謝되는 amino azo dye, hexobarbital, zoxazolamine 등의 代謝를 促進시킴이 보고되었 으며, 이와같은 藥物前處理에 依한 肝細胞 藥物代謝作用의 增加機轉에 對하여는 상기한 藥物들이 體內에서의 蛋白質生合成을 促進하므로써 肝 microsomal 酵素의 量을 增加시키거나 또는 어떠한 機序에 依해서던지 生體內에서의 酵素의 活性를 安定하게 維持하는 結果에 依한다는 보고들이 많다. (Conney 1957 b, 1960a; Gelboin 1954; Kato 1965).

人蔘의 效能 내지는 藥理學的 作用에 關해서는 過去 50~60年동안 多方面에 걸쳐 많은 研究가 있었으며 특히 中樞神經系에 對한 作用, 抗 stress 作用에 關한 研

究가 括日할만 하였다. 化學的인 stress로 毒性이 강한 藥物인 amphetamine, cocaine, metrazol, nitromin, picrotoxin 등을 動物에 投與한 경우 人蔘은 이들 藥物의 毒作用의 出現을 抑制하고 致死量에서 動物의 生存時間을 延長시키며 (Amirov 1966; Moon 1964; Oh 1969; Park 1964) 中樞神經抑制藥物인 睡眠藥 pentobarbital을 투여할 경우 人蔘은 用量에 따라 少量에서는 動物의 睡眠時間을 短縮시키고 大量에서는 延長시킨다고 보고되었다.

이러한 人蔘의 作用에 對하여 人蔘은 소위 adaptogenic activity를 갖고 있어서 生體가 有害한 環境에 처해있을 때 中樞的인 調節作用을 通하여 生體의 抵抗力을 非特異的으로 增加시키는 結果라고 그機轉의 일부를 說明하고 있으나, 다른 기관장기 특히 肝臟에서의 藥物代謝作用에 人蔘이 影響을 미친 結果일 수도 있으리라는 可能性도 否定하지는 못하고 있다.

한편 最近에와서 人蔘은 RNA, DNA의 生合成 및 生體內 蛋白質生合成을 增加시킨다는 보고가(Hiai 1971; Oura 1971, 1972; Han 1973) 많이 나오고 있는바 이러한 蛋白質生合成促進現象은 人蔘이 肝臟에서 物質代謝에 關여하는 酵素들의 生合成도 促進할 수 있으리라는 可能性을 示唆하는 것으로, 상기한 毒性이 강한 藥物에 對한 人蔘의 抗 stress 作用도 肝細胞藥物代謝酵素의 生合成내지는 그 活性도가 人蔘에 依하여 增加한 結果일 수도 있는 것으로 假定할 수가 있다.

이러한 觀點에서 本研究에서는 肝細胞 microsomal 藥物代謝酵素의 觸媒作用에 依하여 酸化反應을 거쳐 代謝되는 zoxazolamine과 pentobarbital의 代謝에 對한 人蔘의 作用을 觀察하므로써 肝 microsomal 藥物代謝酵素의 活性에 미치는 影響을 究明코자 하였다.

實驗 方法

1. 實驗動物

* 本 研究는 1975年度 文敎部 研究造成費補助로 이루어졌음
(1976年 3月 5日 접수)

體重 15-25 gm의 成熟 雄性 C_3H_6 系 純種 마우스를 對照群, phenobarbital 處理群, 人蔘 10 mg/kg, 및 100 mg/kg 處理群의 4群으로 나누고, 對照群에는 0.9 % 生理食鹽水를, phenobarbital 處理群에는 phenobarbital Na 100mg/kg 를 매일 3일간 복강주사하고 마지막 주사후 24 hr이 경과후에 실험에 使用하였으며 人蔘群은 洪등(1974)의 方法으로 人蔘 alcohol ext.에서 추출해낸 人蔘 saponin을 생리식염수에 溶解하여 각각 10 mg/kg, 100 mg/kg 를 매일 복강내에 7일간注射하고 마지막 주사후 24 hr에 다음 實驗에 使用하였다.

II. In vitro microsomal 酵素活性測定

상기한 3~7일간 前處理한 마우스를 斷頭失血致死시키고 肝臟을 적출해 내어 즉시 무게 1 gm 당 3ml의 冷等張性(1.15%)KCl 용액(+0.05M tris buffer, pH7.5)에서 Potter glass homogenizer로 30초동안 homogenation 하였다. Homogenate를 冷凍遠心分離器에서 20분동안 9000×g 로 一次 遠心分離한 후에 상등액을 분리해내어 다시 9000×g 에서 15분동안 二次 遠心分離시켜 그 상등액을 microsomal 酵素로 使用하였다.

i) Pentobarbital 代謝率測定

Microsomal 酵素로서 9000×g 상등액 1 ml와 pentobarbital 3 μ mole, glucose-6-phosphate 25 μmole, $MgSO_4$ 25 μ mole, nicotinamide 100 μmole, nicotinamide adenine dinucleotide(NADP) 2.5 μmole 그리고 0.1 M phosphate buffer, pH 7.4로 구성된 5ml의 반응액을 산소공급하에서 37°C로 항온을 유지한 Dubnoff metabolic shaking incubator에서 1시간동안 incubate 한후에 반응액중에 남아있는 pentobarbital을 Brodie(1953)의 方法으로 UV-spectrophotometry 하여 측정하였다.

ii) Zoxazolamine 代謝率測定

反應液의 양 및 구성은 pentobarbital 測定에서와 같은 酵素의 基質로서 zoxazolamine 3 μmole을 pentobarbital 대신 첨가하고 酸素供給下에서 1시간동안 똑같이 incubate 하였으며 반응액중의 zoxazolamine 양은 Juchau(1965)의 方法으로 測定하였다. 9000×g 상등액의 단백질량은 Biuret 方法으로 측정하였다.

III. In vivo 藥物代謝測定

i) Pentobarbital 睡眠時間

3~7일간 phenobarbital 및 人蔘 saponin 으로 前處理한 各群의 마우스에 前處理 24시간후 0.9% saline에 용해한 pentobarbital Na을 30mg/kg 씩 복강주사한후 睡眠이 유도되어 正向反射(righting reflex)가 消失되는 時刻부터 이것이 다시 나타날 때까지를 기준으로하여 睡眠時間을 測定하였으며 實驗은 午後 2시에 各群 同時에 실시하였고 實驗室 溫度는 18°C로 유지하였다.

ii) Zoxazolamine 痲痺時間

Pentobarbital 睡眠時間測定에서의 같은 條件下에서 全群의 동물에 zoxazolamine을 1% carboxymethyl cellulose(CMC) 용액에 현탁시켜 150 mg/kg 씩 복강주사 하였으며 注射後 四肢가 마비되어 正向反射가 없어질때부터 다시 나타날때까지를 痲痺時間으로 測定하였다.

實驗 結果

I. In vitro pentobarbital 代謝率

人蔘 saponin 및 phenobarbital로 前處理한 마우스의 肝細胞 9000×g 상등액의 pentobarbital 代謝能을 測定하였다. Table I에서의 같이 saline를 투여한 對照群의 pentobarbital 代謝率은 9.47 μmole/gm prot./hr였으며 人蔘 saponin 前處理群에서는 10 mg/kg 및 100mg/kg 투여군 同等하게 對照群에 비해 差異를 나타내지 않았다. 한편 phenobarbital 100 mg/kg를 前處置한 群에서는 pentobarbital 代謝率이 15.39 μ mole/gm prot./hr로서 對照群에 비해 有意한(P<0.05) 代謝率의 增加를 나타내었다.

Table 1. Effect of pretreatment with Ginseng saponin on the pentobarbital metabolizing enzyme system in liver microsomes of mouse.

Pretreatment	Daily dose	No. of mouse	μmoles pentobarbital metabolized/gm prot./hr
Control	—	9	9.47±2.87
Phenobarbital	100mg/kg	9	15.38±2.45
Ginseng saponin			
I.	10mg/kg	13	9.75±5.64
II.	100mg/kg	13	9.39±1.89

II. In vitro zoxazolamine 代謝率

Table II에서의 같이 saline 투여 對照群의 zoxazo-

Table 2. Effect of pretreatment with Ginseng saponin on the zoxazolamine metabolizing enzyme system in liver microsomes of mouse.

Pretreatment	Daily dose	No. of mouse	μ moles zoxazolamine metabolized/gm prot./hr
Control	—	9	16.22 \pm 3.43
Phenobarbital	100mg/kg	9	51.61 \pm 2.36
Ginseng saponin			
I.	10mg/kg	13	27.84 \pm 4.45
II.	100mg/kg	13	27.34 \pm 4.27

lamine 代謝率은 16.22 μ mole/gm prot./hr 였으며 phenobarbital 前處理群은 51.61 μ mole/gm prot./hr 로서 대조군에 비해 有意한 ($P < 0.001$) 증가를 보였다. 한편 人蔘 saponin 前處理群에서는 10 mg/kg 群과 100 mg/kg 群이 각각 27.84, 27.34 μ mole/gm prot./hr 로서 對照群에 비해서 70%가 增加하였으며 統計學的으로도 有意한 ($P < 0.001$) 代謝率의 增加를 보였으나 人蔘 各群間에는 差異를 나타내지 않았다.

III. In vivo pentobarbital 睡眠時間 및 zoxazolamine 痲痺時間

肝細胞 microsomal 藥物代謝酵素에 依하여 代謝가 이루어지는 藥物에 있어서 生體內에서의 藥理作用의 増減 내지는 그作用持續時間의 長短은 肝 microsomal 藥物代謝酵素活性度の 増減과 密接한 關係를 갖기 마련이거니와 本實驗에서 使用한 短時効性 barbital 인 pentobarbital 과 中樞性骨格筋弛緩藥인 zoxazolamine 도 microsomal 酵素的 活性가 增加함에 따라 體內에서의 藥理作用持續時間이 短縮되는 것이 窺히었다. Table III 과 IV 에서와 같이 잘알려진 肝細胞 microsomal 藥物代謝酵素的 in-

Table 3. Duration of paralysis after injection of 150mg/kg zoxazolamine intraperitoneally into mouse pretreated with Ginseng saponin.

Pretreatment	Daily dose	Paralysis time(min)
Control	—	43.06 \pm 21.92
Phenobarbital	100mg/kg	7.48 \pm 5.35
Ginseng saponin		
I.	10mg/kg	29.78 \pm 15.95
II.	100mg/kg	29.40 \pm 14.18

ducer 인 phenobarbital 處理群에서는 pentobarbital 睡眠時間 및 zoxazolamine 痲痺時間이 對照群에 비해 현저히 短縮되어있다. 그러나 人蔘 saponin 투여군에 있어서는 두藥物의 作用時間이 對照群과 比較할때는 一般的으로 短縮되어 있는 경향을 보이고 있으나 統計學的으로는 크게 有意한 差異는 나타내지는 못했으며 또한 10 mg/kg 處理群과 100 mg/kg 處理群 사이에서도 두藥物의 作用持續時間에 차이를 보이지 않았다.

Table 4. Duration of hypnosis after injection of 50mg/kg pentobarbital sodium intraperitoneally into mouse pretreated with Ginseng saponin

Pretreatment	Daily dose	Sleeping time (min.)
Control	—	92.80 \pm 14.31
Phenobarbital	100mg/kg	15.62 \pm 7.42
Ginseng saponin		
I.	10mg/kg	75.24 \pm 30.32
II.	100mg/kg	60.65 \pm 12.34

考 按

Zoxazolmine (2-amino-5-chlorobenzoxazole)은 spinal cord 의 polysynaptic pathway 를 抑制하므로써 中樞的으로 骨格筋을 弛緩시키는 藥物로서 肝細胞 microsomal 藥物代謝酵素에 依하여 구조중 benzene ring 에 hydroxylation 이 일어나서 不活性인 6-hydroxy-zoxazolamine 의 형태로 排泄된다. (Conney:1960b). Microsomal zoxazolamine hydroxylating 酵素系는 polycyclic hydrocarbon 인 3,4-benzpyrene, 3-methylcholanthrene 과 phenobarbital 등에 依하여 活性도가 增加하며 生體에서의 zoxazolamine 作用時間도 또한 이 藥물들에 依하여 短縮된다(Conney 1960 a).

Pentobarbital 은 短時効性 barbital 睡眠藥으로 肝細胞 microsomal 酵素系에 依하여 side chain oxidation 이 일어나서 alcohol 유도체로 不活性化된다(Goldstein 1975). 한편 microsomal pentobarbital oxidative 酵素는 같은 barbital인 phenobarbital에 依하여는 그活性도가 增加하고 體內에서의 作用持續時間도 短縮되나 zoxazolamine 代謝酵素에서와는 달리 3,4-benzpyrene 같은 polycyclic hydrocarbon 에 依하여는 活性度の 增加가 나타나지 않음이 밝혀져 있다(Conney:1960 a)

本研究에 있어서 人蔘 saponin 은 肝細胞 microsomal

酵素에 의한 zoxazolamine의代謝率は增加시킨反面 pentobarbital의代謝率에는變化를 미치지 않았으며 이는人蔘 saponin 10mg/kg 및 100mg/kg 前處理의 경우 다마찬가지였으며 마치 polycyclic hydrocarbon 들이 zoxazolamine의 대사는促進시키나 pentobarbital 代謝率에는 영향을 미치지 않는 현상과 같았다. 그러나 生體에서 이 두藥物の作用 即 zoxazolamine 痲痺 및 pentobarbital 睡眠의 持續時間은 統計學的으로는 크게 有意義하지 못하나 人蔘 saponin 前處理 動物에서 일반적으로 短縮되는 경향을 보이고 있다. 특히 pentobarbital의 경우 microsomal pentobarbital oxidative 酵素의 活性도가 人蔘 saponin에 의하여增加되지 못했음에도 불구하고 睡眠時間의 短縮 경향을 보이고 있는 바 이러한 現象은 人蔘이 中樞神經系에 對하여 用量에 따라 또는 實驗狀況에 따라 興奮 또는 抑制의으로 作用한다는 說을(Oh 1969; Hong 1970, 1974; Chin 1974) 고려해볼때 本實驗條件에서의 人蔘 saponin은 中樞神經系에 興奮의인 效果를 나타낸 結果라고도 생각할 수 있겠다.

한편 zoxazolamine 경우에 있어서는 microsomal zoxazolamine hydroxylating 酵素의 活性도는 人蔘 saponin에 의하여 比較的 現저히 增加한데 반해 生體에서의 痲痺時間이 같은 정도로 短縮되지 못했다. 이러한 結果에 대한 몇가지 理論的인 可能性으로 첫째 實驗條件에서의 같은 人蔘 saponin의 用量과 處理期間으로는 肝 microsomal 酵素系의 活性도를 最大로 增加시킬 수 있는 條件이 못되므로 實驗結果에서의 같은 정도의 代謝率 增加로는 生體에서의 作用持續時間을 현저히 短縮시키지는 못했을 可能性이 있으며 둘째로 7일간 的 人蔘 saponin 복강주사가 동일한 경로로 부여한 zoxazolamine의 吸收機轉을 阻害하므로서 血中 zoxazolamine의 有效濃도가 낮아졌을 可能性, 그리고 셋째로 人蔘의 中樞的인 作用이 역시 主作用部位가 中樞神經系인 zoxazolamine의 作用에 拮抗的이었을 可能性을 생각할 수 있겠으며 앞으로 追究해볼 사항으로 思料된다.

結 論

人蔘이 肝細胞 microsomal 藥物代謝酵素에 미치는影響을 in vitro 및 in vivo에서 觀察하였다. 人蔘 saponin 10mg 및 100mg/kg를 7일동안 복강주사하여 前處理한 C_3H_1 系 純種 마우스의 肝臟 9000×g 상등액에서 microsomal 酵素에 의한 pentobarbital 및 zoxazolamine 代謝率을 測定하였으며 아울러 生體內에서의 pe-

ntobarbital 睡眠時間과 zoxazolamine 痲痺時間도 測定하였다. 人蔘 saponin의 前處理는 肝臟9000×g 상등액에 의한 zoxazolamine의 代謝率을 增加시켰으며 또한 in vivo에서 zoxazolamine 痲痺時間도 短縮시켰다 한편 pentobarbital의 9000×g 상등액에 의한 代謝率은 人蔘 saponin에 의하여 영향을 받지 않았으나 in vivo에서의 pentobarbital 睡眠時間은 약간 短縮되는 경향을 보였다. 以上에서 人蔘 saponin은 polycyclic hydrocarbon의 microsomal 酵素 inducer에서와 같이부분적으로 microsomal 藥物代謝酵素의 活性도를 增加시키는 것으로 여겨졌으며 pentobarbital 睡眠時間이 microsomal 酵素의 活性도 增加되어 短縮되는 경향을보인 것은 人蔘 saponin이 本實驗條件에서는 中樞神經系에 興奮的으로 作用한 結果일 것으로 判斷하였다.

ABSTRACT

The Effect of Ginseng Saponin on the Activity of Hepatic Microsomal Drug-Metabolizing Enzyme System in Mouse

J. K. Lim., M. S. Kim., M. H. Chung

Department of Pharmacology, College of Medicine, Seoul National University

A study was carried out to observe the influence of ginseng on the activity of microsomal drug-metabolizing enzyme system in mouse liver.

Ginseng saponin fraction, when given to male adult C_3H_1 mice for 7 days in the dosages of 10 mg/kg and 100mg/kg, stimulated the metabolism of zoxazolamine by the liver 9000×g supernatant, but it did not affect the rate of pentobarbital metabolism. The duration of zoxazolamine paralysis as well as pentobarbital hypnosis in the intact animal, however, somewhat shortened by ginseng saponin.

It was found that pretreatment of mouse with ginseng saponin caused an increase in the activity of hepatic microsomal enzyme system which metabolizes zoxazolamine and was paralleled in vivo by a shortened duration of zoxazolamine paralysis. The ability of ginseng saponin to shorten the duration of pentobarbital hypnosis in the intact mice was not paralleled by a pentobarbital metabolism by the liver 9000×g supernatant. It can not be exclu-

ded from this point that the central stimulant effect of ginseng may functionally antagonize the hypnotic action of pentobarbital.

REFERENCES

- Amirov, R.O., E.B. Abudulova: *The problem of the non-specific elevation by drugs and the resistance of the body to the action of toxic substances. Abstract of Korean Ginseng Studies. The Research Institute. Office of Monopoly R. O. K.* 1975.
- Booth, J., Gillette, J.R.: *The effect of anabolic steroids on drug metabolism by microsomal enzymes in rat liver. J. Pharmacol. Exp. Ther.* 137:374, 1962.
- Brodie, B.B., J.J., Burns L.C. Mark, P.A. Lief, E. Bernstein: *The fate of pentobarbital in man and dog and a method for its estimation in biological material. J. Pharmacol. Exp. Ther.* 109:26, 1953.
- Brown, R.R., Miller, J.A., Miller, E.C.: *The metabolism of methylated aminoazo dyes. IV. Dietary factors enhancing demethylation in vitro J. Biol. Chem.* 209:211, 1954.
- Chin, H.W.: *Effect of ginseng saponin on the patterns of open-field behavior in mice. Seoul J. Med.* 15(2):1, 1974.
- Conney, A.H., Miller, E.C. Miller, J.A. *The metabolism of methylated aminoazo dyes. V. Evidence for induction of enzyme synthesis in the rat by 3-methylcholanthrene. Cancer Res.* 16: 450, 1956.
- Conney, A.H., E.C. Miller, J.A. Miller: *Substrate induced synthesis and other properties of benzpyrene hydroxylase in rat liver. J. Biol. Chem.* 228:753, 1957a.
- Conney, A.H., R.R. Brown, J.A. Miller, E. C. Miller: *The metabolism of methylated aminoazo dyes. VI. Intracellular distribution and properties of the demethylase system. Cancer Res.* 17:628, 1957b.
- Conney, A.H., C. Davison, R. Gastel, J.J. Burns: *Adaptive increase in drug metabolizing enzymes induced by phenobarbital and other drugs. J. Pharmacol. Exp. Ther.* 130:1, 1960a.
- Conney, A.H., N. Trousof, J.J. Burns: *The metabolic fate of zoxazolamine in man. J. Pharmacol. Exp. Ther.* 128:333, 1960b.
- Gelboin, H.V., Blackburn, N.R.: *The stimulatory effect of 3-methylcholanthrene hydroxylase activity in several rat tissues: Inhibition by actinomycin D and puromycin. Cancer Res.* 24: 356, 1964.
- Goldstein, A., L. Aronow, S.M. Kalman: *Principles of drug action. 2nd Ed. Wiley.* 1974.
- Han, B.H., Kim, C.H., Han, Y.N.: *Stimulating effect of Panax saponins on the C14 leucine incorporation. Korean Biochem. J.* 6 (2):63, 1973.
- Hiai, S., H. Oura, K. Tsukada, Y. Hirai: *Stimulating effect of Panax ginseng extract on RNA polymerase activity in rat liver nucleus. Chem Pharm. Bull.* 19(8):1656, 1971.
- Hong, S.A., Oh, J.S., Park, C.W., Chang, H.K., E.C. Kim: *Effect of Panax ginseng on the central nervous system. Effects of Panax ginseng on the conditioned avoidance response in the rats. Korean J. Pharmacol.* 6(2):1, 1970.
- Hong, S.A., Park, C.W., Kim, J.H., Kim, M. S.: *The effects of ginseng saponin on animal behavior. Korean J. Pharmacol.* 10(2):1, 1974.
- Juchau, M.R., R.L. Cram, G.L. Plaa, J.R. Fouts: *The induction of benzpyrene hydroxylase in the isolated perfused rat liver. Biochem. Pharmacol.* 14:473, 1965.
- Kato, R., L. Loeb, H.V. Gelboin: *Microsome-specific stimulation by phenobarbital in amino acid incorporation in vivo. Biochem. Pharmacol.* 14:1164, 1965.
- Moon, Y.B.: *Influence of Panax ginseng and chlorpromazine on metrazol and picrotoxin convulsion. Chunnam Uidae Chapchi* 1:31, 1964.
- Novick, W.J., C.M. Stohler, J. Swagdzis: *The influence of steroids on drug metabolism in the mouse. J. Pharmacol. Exp. Ther.* 151: 139, 1966.
- Oh, J.S., Park, C.W., Moon, D.Y.: *Effects of Panax ginseng on the central nervous system. Korean J. Pharmacol.* 5(1):23, 1969.
- Oura, H., S. Hiai, S. Nakashima, K. Tsukada: *Stimulating effect of the root of Panax ginseng on the incorporation of labeled precursors into*

rat liver DNA. Chem. Pharm. Bull. 19(3):453,
1971.

Oura, H., K. Tsukada, H. Nakagawa: *Effect
of Radix ginseng on cytoplasmic polyosome in*

rat liver. Chem. Pharm. Bull. 20(2):219, 1972.
Park, D.L.: *Effect of Panax ginseng on X-ray*

irradiation and synergistic study on nitromin.
Thesis of Catholic Med. Coll. 5,6:201, 1962