

Glycyrrhizin의 Hypocholesterolemic Action에 관한 研究*

서울대학교 醫科大學 藥理學教室
(指導 吳 鎮 燮 教授)

金 昌 煥

=Abstract=

Studies on the Hypocholesterolemic Activities of Glycyrrhizin

Chang Hwan Kim, M.D.

Department of Pharmacology, College of Medicine, Seoul National University

(Director: Prof. Jin Sup Oh, M.D.)

Glycyrrhizin, an active constituent of Glycyrrhiza, was chemically extracted and its hypocholesterolemic activities were studied in rats.

Following were the results:

1. The Sprague Dowley rats fed with the standard diet were divided into 4 groups, 50~60 in each, and glycyrrhizin was given in doses of 0(control), 0.5, 1.0 and 2.0mg per 100gm body weight daily for 10, 20, 30, and 60 days. Glycyrrhizin showed more or less the hypocholesterolemic activities in all animals. All of the animal groups to which 1.0mg and 2.0mg of glycyrrhizin were given died before 60 days, while no mortality cases was noted in the group to which 0.5mg of glycyrrhizin was given.
2. Cholesterol administration induced hypercholesterolemia in all experimental animals, however, simultaneous administration of cholesterol with 0.5mg of glycyrrhizin suppressed the rise of the total serum cholesterol levels. The former group did not survive until 56 days, while the latter did.
3. Glycyrrhizin also suppressed the cholesterol biosynthesis and incorporation of cholesterol in the liver tissues.
4. Glycyrrhizin induced the increase of the fecal excretion of the sterol compounds.

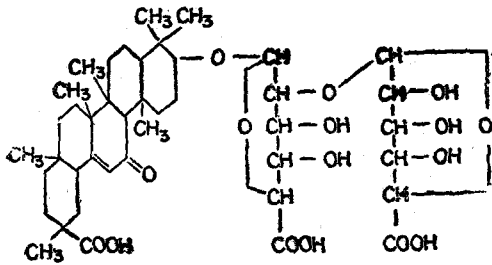
緒 論

Glycyrrhizinic acid (glycyrrhizin)는 下記와 같은 triterpenoid structure를 가지고 있는 glycyrrhetic acid의 diglucopyranosiduronic acid이다¹⁾²⁾³⁾. 그 構造에서 ring A, B, C 및 D는 stereochemistry 見地에서 보던 allopregnane과 近似하다.

Molhuysen et al.⁴⁾은 liquorice나 glycyrrhizin이 正常人에서 Na, 및 水分等을 體內에 蓄積시키고 K,를

排泄하는 作用이 desoxycorticosterone과 같은 作用을 한다고 하였다. 李⁵⁾도 glycyrrhizin의 誘導體의 하나인 2-acetoxy-11-keto Δ^{12-13} -30-acetoxymethyl-keto-oleanenic acid가 desoxycorticosterone의 作用과 類似的한 作用을 한다고 하였다. Groen et al.⁶⁾은 Addison氏病에서 glycyrrhizinic acid가 어느 程度의 電解質代謝에 效果가 있다고 하였다. Pelsler et al.⁷⁾은 Addison氏病에 對하여 glycyrrhetic acid가 glycyrrhizin에 比하여 一層 效果가 있다고 하였다. 그러나 Groen et al.⁸⁾은 Addison氏病에서 水分代謝에는 調節不能하다고 하였다. 한편 Groen et al.⁹⁾은 glycyrrhetic acid가

*本論文의 要旨는 1964年 10月 31日 第16次 大韓藥理學會 學術大會에서 發表하였음.



(Fig. 1) Glycyrrhizin (glycyrrhetic acid diglucuronide)

그 구조상 keto group나 carboxyl group가 전해질이나水分代謝에 효과가 있다고 하였다. 그리고 이 glycyrrhetic acid는 adrenocortical steroid의代謝를體內에서抑制하고 있다는 것이다.

即 이 glycyrrhizin이 adrenocortical steroid의 生成을抑制하면서 한편 體內의 cholesterol代謝에도關係가 있다는 것이다¹⁰⁾. 이點은 glycyrrhizin이 前述한 steroid의 構造를 가지고 있어 生體內에서 steroid hormone(특히 adrenal cortex hormone)과 密接한關係가 있으며 한편 이 glycyrrhizin은 一種의 saponin이다.

Saponin은 Griminger¹¹⁾에 依하면 體內에서 cholesterol과 結合體를 形成하여 一段 腸內에 排泄되면 腸壁에서 cholesterol의 再吸收을 抑制한다고 한다. 이點에 對하여 成等¹⁰⁾은 glycyrrhizin을 家兎에 經口投與하여 Griminger¹¹⁾의 saponin의 cholesterol代謝에 미치는 影響을 觀察하였든바 glycyrrhizin이 hypocholesterolemic action이 있다는 것을 推定하게 되었다. 現在까지 各種脈管系疾患 특히 動脈硬化症의 原因이 되는 各種因子中에서 가장 重要한 役割을 한다고 認定되어 學界에서 많은 關心을 가지고 있는 體內 cholesterol含量的 低下 또는 體內 cholesterol 生成抑制作用이 있는 各種條件 또는 藥物等(食事的條件, niacin¹²⁾, tripananol¹³⁾等)이 研究되고 있었다. 그리고 食事は 個體의 各種條件과 關係가 깊고, 民族에 따라 調節이 힘들고, 藥物은 이것이 動物實驗이나 人體實驗에서 充分한 效果를 얻지 못하였거나, 效果를 얻었다고 하더라도 毒性 其他 副作用으로 實用化되기 어려운 段階에 있었다. 그러나 甘草成分인 glycyrrhizin은 古來로 이를 解毒劑로 使用된바도 있고¹⁴⁾, saponin으로서 溶血作用이 적으므로 經口的 또는 非經口的으로 投與할수 있으며 그 長期投與에 있어서 比較的 副作用이 없고 同時에 前述한바 hypocholesterolemic action도

認定되어 있었다. 著者は 上記한 諸點을 考慮하여 그 機轉을 究明코져 여러가지 條件下에서 glycyrrhizin의 動物體에 對한 그 hypocholesterolemic action을 檢討하여 다음과 같은 結果를 얻었기에 茲에 報告하는 바이다.

實驗方法

實驗材料

1. 實驗動物 : 體重 100~150gm의 白鼠(Sprague Dowley)를 使用하였고 實驗하기 前에 血清 total cholesterol를 測定하여 比較의 近似值를 가진 白鼠를 選擇하여 約 14日間 本教室의 標準食으로 飼育한 다음 實驗에 使用하였다.

(Table 1) Standard diet

Wheat germ	40kg
Dried skimmed milk	10kg
Fish meal	17kg
Bone meal.....	1kg
Rice bran.....	40kg
Soybean meal.....	30kg
Wheat grits.....	60kg
Iodized salt	1kg
Nopcosol.....	1kg

于先 實驗을 三段階로 區分하여 即 第1段階는 glycyrrhizin의 效果와 그 glycyrrhizin의 投與量에 따르는 效果를 觀察하기 위하여 動物을 對照群, glycyrrhizin 0.5mg/100gm B.W. 群, 1.0mg/100gm B.W. 群 및 2.0mg/100gm B.W. 群의 4群으로 各各 50~60마리씩 區分하였다. 그리고 投與前, 投與後 10日, 20日, 30日, 60日에 各各 10마리씩 decapitation하여 採血, 血清을 얻어 實驗에 使用하였다. 同時에 肝組織도 剔出하여 實驗하였다.

第2段階로는 動物에 cholesterol를 50mg/100gm B.W. 로 olive oil에 溶解시켜 經口的으로 每日 投與한 群과 또 한편 cholesterol(50mg/100gm B.W.)의 經口投與와 glycyrrhizin(0.5mg/100gm B.W.)의 注射을 併用한 兩群으로 區分하고 各群을 70마리로하여 投與前, 投與後 7日, 14日, 28日, 42日, 56日의 6회에 걸쳐 1回 10마리씩 decapitation하여 採血하였다.

第3段階로는 肝組織을 利用한 acetate-1-C¹⁴이 cholesterol로의 incorporation을 觀察함과 同時에 한편 10마리씩 4群으로 區分하여 糞便中의 cholesterol排泄量과 glycyrrhizin의 關係를 보기 위하여 對照群, chole-

sterol單獨投與群, glycyrrhizin單獨投與群, cholesterol과 glycyrrhizin 併用投與群으로 區分하여 10日間 觀察하여 그 平均値를 얻었다.

2. Glycyrrhizin의 抽出法: Karrer¹⁴⁾ 등의 方法을 modify하여 抽出하였다. 卽 甘草粉末 5.0kg에 ethanol 3.0 l를 加하여 水浴上에서 3時間 抽出하여 濾液을 取하고 殘渣에 다시 ethanol를 加하여 上記操作을 2回 反復抽出한後 濾液을 合하여 이를 約 1/3로 濃縮시켜 稀硫酸酸性에서 沈澱을 取하여 水洗하고 이를 다시 90% ethanol에 溶解시킨 다음 alcohol性 KOH溶液을 加하면서 攪拌, 充分히 沈澱시키고 濾過하여 沈澱을 얻어 alcohol로서 洗滌한後 冰醋酸에서 結晶시켰다. 이를 다시 80% ethanol에 溶解하여 活性炭으로 脫色시킨다음 alcohol溶液을 濃縮시켜 冷室에서 一晝夜 放置하면 結晶이 析出된다. 이 結晶을 다시 80% ethanol에 溶解시켜 再結晶하여 白色結晶 15.0gm를 얻었다(Decomp. 220°C). 이것을 pH 7.4의 phosphate buffer solution에 0.5mg/ml로 溶解하여 注射藥으로 調製하였다. 한편 incorporation test에 使用한 것은 4次的 再結晶을 하여 精製하였다.

3. 血清內 total cholesterol測定法: Zack et al. 법¹⁵⁾에 依하였다. 卽 約 10ml의 ethanol : acetone=50:50의 混合液을 25ml用 volumetric flask에 옮기고 여기에 血清 1.0ml를 加하여 強하게 振盪하여 hot water bath에서 內容物이 沸點에 이룰때까지 加溫한다. 이때 內容物을 充分히 흔들어야 한다.

室溫까지 冷却시킨 다음 mark까지 上記의 ethanol: acetone의 混合液으로 채우고 Whatman No. 41-H濾紙로 濾過한다. 이때 溶媒의 蒸發을 防止키 위하여 funnel 위를 watch glass로 덮는다. 이濾液 2.5ml를 30ml用 試驗管에 옮기고 hot water bath에서 solvent가 完全히 除去될때까지 加溫한다. 이 殘渣에 3.0ml의 glacial acetic acid를 加하고 約 30秒 hot water bath에서 加溫한다. 이때 standard tube로서는 working standard 溶液(cholesterol 0.1mg/ml glacial acetic acid) 1.0ml를 準備하여 여기에 glacial acetic acid를 2.0ml 加하고 또 blank tube로는 glacial acetic acid만 3.0ml 加한다. 다음에 color reagent를 各 tube에 2.0ml씩 加한다. Color reagent는 FeCl₃ 2.5gm를 25ml glacial acetic acid에 溶解시켜 冷凍室에 保管하고 必要에 따라 原液 1.0ml에 conc. H₂SO₄를 混合하여 100ml로 만든다(이때 沈澱物이 생기지 않도록 注意하여야 한다.). Color reagent를 加한後 20分間 室溫에 放置하였다가 560m μ 에서 colorimetry 한

다.

4. 肝組織內 脂肪成分 抽出法: Bragdon法¹⁶⁾에 依하여 抽出하였다. 卽 肝組織을 剔出한後 9%saline 溶液에 洗滌하여 可能한限 濾紙上에서 水分을 除去하고 torsion balance로 1.0gm를 秤量하여 Ervejem homogenizer에 넣고 methanol : chloroform=1:2의 混合液 10ml를 加하여 約 30秒 homogenize하고 hot water bath에서 約 1分間 加溫한 다음 全量을 40ml로 한다. 이것을 濾過하고 濾液 2.0 ml를 30 ml 試驗管에 옮기어 hot water bath에서 溶媒를 完全蒸發시킨다음 血清內 total cholesterol 測定時와 같은 方法으로 測定한다. 이때 cholesterol量은 mg/gm. liver wet wt.에 該當한다.

5. Liver homogenate를 使用한 cholesterol의 acetate-1-C¹⁴ incorporation 實驗: Siperstein et al. 법¹⁷⁾에 依하였다. 卽 動物을 decapitation하여 直時 肝組織을 剔出하여 cold bath에 保管한다. 이것을 pH 7.7의 phosphate buffer solution과 같이 homogenize(ice bath)하여 冷凍遠心沈澱(800×G, -1°C)시킨다. 그 上清液으로 incubate하여 生成된 cholesterol-C¹⁴을 常法에 依하여 分離하고 C¹⁴의 activity를 count하였다.

6. 糞便中 Sterol의 測定法: Aylward et al. 법¹⁸⁾에 準하여 測定하였다. 動物을 各群 5마리씩 同一飼育箱에 넣고 小便은 아래로 빠지게 하고 糞便만 남게하여 24時間 蒐集하여 100°C dry oven에서 完全乾燥 한다 다음 Soxhlet 裝置를 利用하여 4時間 ether로 糞便內 全脂質을 抽出하였다. 其中 一定量을 取하여 溶媒를 蒸發시키고 그 殘渣를 다시 chloroform에 溶解시켜 이에 對하여 血清 total cholesterol 測定時와 같은 方法으로 測定하였다. 이때 糞便中에 나오는 sterol은 大部分이 coprosterol이고 cholesterol의 量은 적다. 그러나 發色試藥에 對한 反應이 cholesterol은 25°C에서 20分, coprosterol은 85분에 最高値에 達한다. 그러므로 이 時間的差에 依하여 區分하였다. Wells et al.¹⁹⁾은 所謂 fast-acting sterol과 slow-acting sterol로 區分하고 있다.

實驗 結果

第2表에서 보는바와 같이 標準食단 가지고 飼育한 群에서는 血清內 total cholesterol 量이 實驗前, 實驗後 10日, 30日 및 60日, 4회에 걸쳐 平均値가 各各 118.6±12.6mg%, 118.9±13.8mg%, 118.2±9.6mg%, 119.7±15.6mg%로서 變動이 커이 없다는 것을 알수가 있다. 그러나 glycyrrhizin을 投與한 群에서는

(Table 2) Total Serum Cholesterol Levels in Normal Rats fed with Standard Diet (Unit. mg %)

Rat No.	1 day	10days	30days	60days
1	112	120	122	118
2	120	115	118	120
3	122	121	112	120
4	118	112	120	115
5	117	120	119	116
6	121	125	120	125
7	115	118	115	120
8	122	119	120	118
9	112	121	116	120
10	127	118	120	125
Mean	118.6	118.9	118.2	119.7
Standard Deviation	±12.6	±13.8	±9.6	±15.6

(Table 3) Effect of Glycyrrhizin(0.5mg/100gm B.W.) on Total Serum Cholesterol Levels in Rats (Unit. mg %)

Rat No.	Before admin.	10 days	20 days	30 days	60 days
1	120	110	105	100	90
2	122	118	100	95	85
3	119	109	98	90	90
4	123	115	97	97	90
5	116	108	105	100	87
6	120	119	100	100	95
7	115	100	100	98	90
8	120	115	102	105	87
9	116	103	87	85	80
10	120	102	98	90	90
Mean	119.1	109.9	99.2	96.0	88.4
Standard Deviation	±8.7	±9.2	±10.2	±9.8	±10.2

第3, 4, 5表에서 보는바와 같이 glycyrrhizin의 投與量에 따라 差異가 있다. 即 第3表에서는 glycyrrhizin 0.5mg/100gm B.W.를 投與한 群으로서 投與前, 投與後 10日, 20日, 30日 및 60日로 各各 5회에 걸쳐 測定한 結果 119.1±8.7mg%, 109.9±9.2mg%, 99.2±10.2mg%, 96.0±9.8mg% 및 88.4±10.2mg%로서 投與後 10日에는 對照群에 比하여 約 10% 低下되고, 20日에는 約 20%, 30日에는 約 25%, 60日에는 約

(Table 4) Effect of Glycyrrhizin(1.0mg/100gm B.W.) on Total Serum Cholesterol Levels in Rats(Unit. mg %)

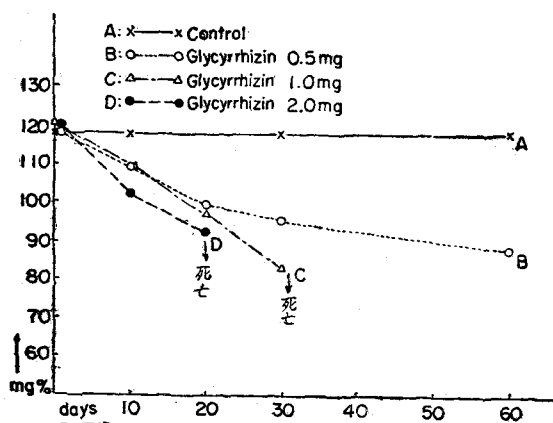
Rat No.	Before admin.	10 days	20 days	30 days	60 days
1	121	115	95	86	86
2	125	116	92	82	78
3	118	110	107	78	—
4	117	111	100	90	—
5	120	100	95	82	—
6	120	105	87	90	—
7	119	116	102	80	—
8	121	115	100	—	—
9	120	105	98	—	—
10	120	98	100	—	—
Mean	120.1	109.1	97.6	83.5	—
Standard Deviation	±5.6	±7.8	±11.2	±10.5	—

(Table 5) Effect of Glycyrrhizin(2.0mg/100gm B.W.) on Total Serum Cholesterol Levels in Rats(Unit. mg %)

Rat No.	Before admin.	10 days	20 days	30 days	60 days
1	121	105	98	80	—
2	118	105	100	90	—
3	115	95	80	86	—
4	120	108	98	—	—
5	125	100	80	—	—
6	119	87	95	—	—
7	120	100	86	—	—
8	118	100	100	—	—
9	122	115	97	—	—
10	122	117	—	—	—
Mean	120.0	103.2	92.7	—	—
Standard Deviation	±4.6	±7.2	±11.2	—	—

30%의 血清內 total cholesterol量의 低下를 招來하였다. 第4表에 있어서는 glycyrrhizin 1.0mg/100gm B.W.를 投與하였든바 投與前, 投與後 10日, 20日, 30日 및 60日로 各各 120.1±5.6mg%, 109.1±7.8mg%, 97.6±11.2mg%, 83.5±10.5mg%였고 60日에 가서는

死亡한 예가 많았다. 即 投與後 10日에는 約 10%, 20日에는 約 20%, 30日에는 約 33%의 低下가 있었으나 3例가 死亡하였고 60日에 있어서는 大部分 死亡하였다. 第5表는 glycyrrhizin 2.0mg/100gm B.W.를 投與한 것으로서 上記와 같이 5회에 걸쳐서 測定한 結果 各各 120.0±4.6mg%, 103.2±7.2mg%, 92.7±11.2mg%로서 投與後 10日에는 約 15% 低下되고, 20日에는 約 30% 低下되었고 이때부터 死亡例가 있었고 30日頃 부터는 大部分의 動物이 死亡하여 測定이 不可能하였다. 第2, 3, 4, 5表의 關係를 圖示하면 第2圖와 같다.



(Fig. 2) Effect of Glycyrrhizin on Total Serum Cholesterol Levels in Rats.

第6表에서는 cholesterol만 每日 50mg/100gm B. W를 投與한 群으로서 投與前, 投與後 14日, 28日, 42日, 56日로 5회에 걸쳐 測定한 結果 各各 120.6±8.4 mg%, 412.1±22.8mg%, 1013.5±46.2mg% 및 1165.5±62.5mg%이고 42日 以後에서는 動物中 90%以上이 死亡하였으므로 測定이 不可能하였다. 이에 比하여 第7表에서는 cholesterol 50mg/100gm B. W. 와 glycyrrhizin 0.5mg/100gm B. W.를 每日 投與한 群으로서 投與前, 投與後 7日, 14日, 28日, 42日 및 56日로 6回 測定하

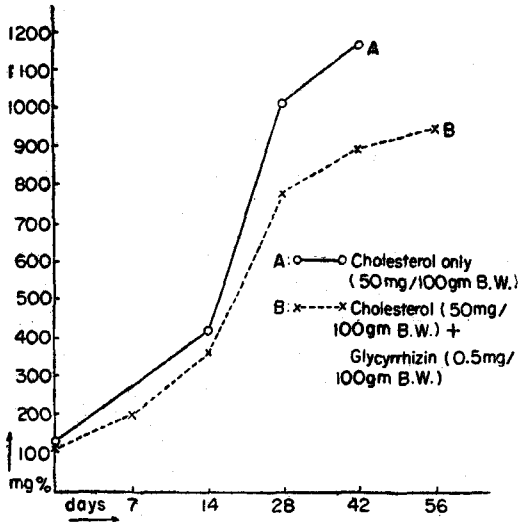
(Table 6) Effect of Cholesterol(50mg/100gm B. W.) on Total Serum Cholesterol Levels(Unit. mg %)

Rat Nn.	Before admin.	14 days	28 days	42 days	56 days
1	122	415	1015	1250	1200
2	118	420	985	1380	1000
3	120	385	1000	1115	—
4	121	455	895	980	—
5	119	395	985	1050	—
6	123	420	990	1115	—
7	125	435	1050	1200	—
8	118	398	1115	1215	—
9	120	388	1125	1350	—
10	120	410	975	1000	—
Mean	120.6	412.1	1013.5	1165.5	—
Standard Deviation	± 8.4	± 22.8	± 46.2	± 62.5	—

(Table 7) Effect of Simultaneous ration Cholesterol(50mg/100gm B. W.) and Glycyrrhizin(0.5mg/100gm B. W.) on Total Serum Cholesterol Levels in Rats(Unit. mg %)

Rat No.	Before admin.	7 days	14days	28days	42days	56days
1	120	180	320	860	920	985
2	119	200	325	736	885	925
3	122	195	385	832	980	880
4	125	215	315	798	805	895
5	115	220	295	812	925	1000
6	120	185	285	820	895	915
7	118	190	310	715	825	905
8	121	210	320	795	898	925
9	122	220	315	750	920	935
10	118	198	298	768	900	985
Mean	119.8	200.3	366.8	788.6	895.3	935.0
Standard Deviation	± 6.8	± 11.4	± 21.5	± 28.6	± 37.3	± 40.0

였든바 各各 19.8±6.8mg%, 200.3±11.4mg%, 366.8±21.5mg%, 788.6±28.6mg%, 895.3±37.3mg%, 935.0±40.0mg%로서 第6表의 各該當 測定日數의 數値에 比하여 20~50%의 低値를 볼수있어 興味로운 結果를 얻었다. 그러나 第3, 4, 5表에서 보는바와 같이



(Fig. 3) Effect of Simultaneous ration of Cholesterol and Glycyrrhizin on Total Serum Cholesterol Levels in Rats.

glycyrrhizin 0.5mg/100gm B.W. 投與群에서만이 毒性이 없이 hypocholesterolemic action이 있다는 것을 알았기 때문에 glycyrrhizin 0.5mg/100gm B.W. 投與群만 使用하였다.

第6, 7表의 關係를 圖示하면 第3圖과 같다.

한편 第8表에서는 glycyrrhizin 0.5mg/100gm B.W., 1.0mg/100gm B.W., 2.0mg/100gm B.W.로 投與한 動物의 肝組織內 total cholesterol 含量을 測定한 것으로서 各各 投與前, 投與後 10日, 30日로 3回 測定하였다. 그 結果는 對照群은 6.23±0.60mg/gm, 6.12±0.75mg/gm 및 6.06±0.55mg/gm로서 큰 變化가 없고 0.5mg/100gm B.W. 投與群에서는 6.82mg±0.29mg/gm, 5.23±0.17mg/gm로서 30日에는 對照群보다 約 10% 低値이었으나 1.0mg/100gm B.W. 投與群은 7.01±0.27mg/gm, 4.23±0.50mg/gm이고 2.0mg/100gm B.W. 群에서는 7.01±0.24mg/gm, 3.69±0.30 mg/gm로서 對照群에 比하여 相當히 抑制됨을 볼수가 있다.

한편 glycyrrhizin이 肝組織에서의 cholesterol 生合成에 미치는 影響을 보기위하여 肝組織을 使用하여서 acetate-1-C¹⁴의 cholesterol incorporation의 傾向을 觀察하였든바 對照群에서는 562~670c/m/g, glycyrrhizin 0.2mg을 medium에 添加한 것은 315~330c/m/g, 0.4mg을 medium에 添加한 것은 170~255c/m/g로서 對照群에 比하여 cholesterol生合成이 相當히 抑制됨을 알수가 있었다.

(Table 8) Effect of Glycyrrhizin Doses on Total Liver Tissue Cholesterol Amount in Rats (mg/gm. wet wt.)

Date	Control	0.5mg/100gm B.W.	1.0mg/100gm B.W.	2.0mg/100gm B.W.
Before admin	6.23±0.60	—	—	—
10 days	6.12±0.75	6.82±0.29	7.01±0.27	7.01±0.24
30 days	6.06±0.55	5.23±0.17	4.23±0.50	3.69±0.30

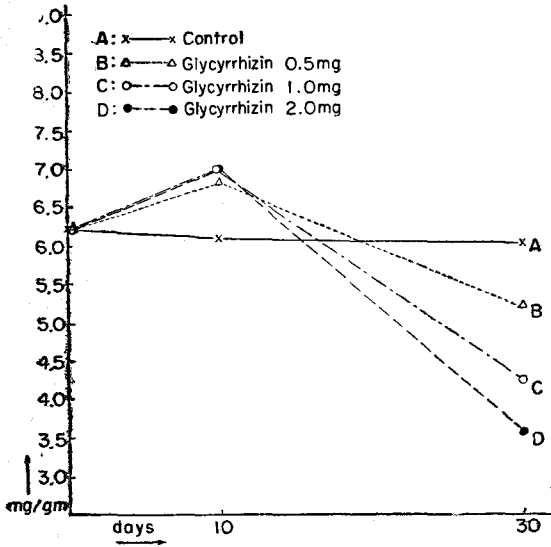
(Table 9) Effect of Glycyrrhizin on Acetate-1-C¹⁴-Cholesterol Incorporation in Liver Homogenate(c/m/g)

Groups	Control	Glycyrrhizin group	
		0.2mg	0.4mg
Group I (5)*	562	315	170
Group II (5)*	670	330	255

* Used for incorporation experiment to pool each 5 from the each different group.

第10表에서 보는바는 對照群, cholesterol 單獨投與群, glycyrrhizin 單獨投與群, cholesterol과 glycyrrhizin을 併合投與한群을 各各 10마리씩 10日間 同一 飼育場에서 키우며 糞便을 24時間 pool하여 cholesterol 量과 total sterol量을 測定하였든바 cholesterol含量은 各各 56mg/day, 425mg/day, 118mg/day, 625mg/day였고 glycyrrhizin 投與群에서는 對照群에 比하여 排泄量이 相當히 增加됨을 보았다. 한편 total sterol 含量에 있어서도 285mg/day, 926mg/day, 368mg/day 및 1105mg/day로서 亦是 glycyrrhizin 投與群에

서 排泄量이 增加됨을 보았다.



(Fig. 4) Effect of Glycyrrhizin Doses on Total Liver Tissue Cholesterol Amount in Rats.

(Table 10) Effect of Glycyrrhizin on Fecal Excretion of Sterols in Rats

	Fast-acting mg/day	Slow-acting mg/day
Normal animals(10)	56	285
Cholesterol only(10)	425	926
Glycyrrhizin only(10)	118	368
Cholesterol&Glycyrrhizin(10)	625	1105

考 察

血清內 및 各組織內의 各種脂肪質 特히 cholesterol의 含量이 動脈硬化症 其他 여러가지 脈管系疾患과 密接한 關係가 있다는 報告는 우리가 最近 20年來에 많이 接하고 있다²⁰⁾²¹⁾²²⁾. 이로인하여 各國의 여러 研究者에 依하여 血清 및 各組織內 cholesterol의 含量을 低下시킬을 目的으로하는 實驗²³⁾, cholesterol의 腸壁에서의 吸收를 抑制하는 實驗, 腸管에서의 排泄을 促進하는 實驗¹⁹⁾ 및 體內에서 cholesterol의 生合成을 抑制하거나 代謝를 促進케하는 實驗²⁴⁾ 等等 많은 研究가 進行되고 있고 現在 좋은 結果도 얻은바 있다. 우리나라에서도 丁²⁵⁾, 金²⁶⁾, 南²⁷⁾ 등은 人蔘이 動脈硬化症을 豫防한다고 하였다. 卽 人蔘을 動物에 長期投與한 結果 血清內 total cholesterol 量의 低下를 招來

하며 特히 丁²⁵⁾은 aorta의 脂肪沈着이 적어짐을 報告한바 있다. 그리고 人蔘의 作用에 關하여 아직도 確實히 斷定할수는 없으나 saponin의 作用도 그 要因의 하나라고 推定하였다.

著者は 먼저 各種 saponin이 體內에서 cholesterol과 複合體를 만들어 그것이 一段 腸內에 排泄되면 다시 腸壁에서 吸收되지 않는다는 Griminger¹¹⁾의 報告를 土臺로 甘草의 主成分인 glycyrrhizin의 作用을 實驗 觀察하였다. 이 glycyrrhizin은 saponin이며 더욱 毒性이 적고 經口的으로는 相當한 量을 投與할수 있으며 非經口的으로도 投與할수 있다는 點을 考慮하여 成等¹⁰⁾의 實驗으로 glycyrrhizin이 家兔에서 hypocholesterolemic action이 있다는 報告를 한바 있다.

著者の 實驗結果로 于先 對照群에서의 血清內 total cholesterol 含量을 檢討하건대 約 2個月間 別로 變化가 없다는 것을 알수가 있다. 이點은 實驗初에 動物 選擇에 있어 血清內 total cholesterol 含量을 測定하여 近似值를 가진 動物만 選擇 實驗하였기에 均等한 數值가 나왔다고 본다. 그러나 平均値에 있어 Behr等²⁸⁾이 88.2±12.6mg%이고 著者の 實驗値는 118.6±12.6mg%로서 Behr等²⁸⁾이 報告한 數值에 比하여 約 30% 高值이다. 이는 實驗方法의 差 또는 食餌關係라고 思料된다³¹⁾. 標準食의 內容은 第1表에서 보는 바와 같고 以外에도 生肝, 野菜等을 適當 2~3回 주었다. 다음 標準食을 준 動物에 每日 glycyrrhizin을 非經口的으로 0.5mg/100gm B.W. (A群), 1.0mg/100gm B.W. (B群), 2.0mg/100gm B.W. (C群)을 投與한 것을 觀察하면 그 血清內 total cholesterol 量의 變化는 第3, 4, 5表 및 第2圖와 같다. 卽 A群에서는 對照群에 比하여 投與後 10日부터 低下되기 始作하여 60日에는 約 30%程度의 顯著한 低下를 보이고 있다. 이點은 成等¹⁰⁾의 實驗과 一致되며 glycyrrhizin이 確實히 正常時에도 hypocholesterolemic action이 있다는 것을 認定할수가 있다. 이點에 對하여는 Atherden¹⁾의 glycyrrhetic acid가 cholesterol 生合成을 抑制한다는 報告에 依하면 glycyrrhetic acid가 構造上 sterol과 類似하여 그 生合成을 抑制하며, 또 Griminger¹¹⁾의 saponin 이 sterol과 結合하여 排泄(糞便中)을 促進시킨다는 報告等으로 說明 될수있다. 그리고 B群에서도 A群과 같은 傾向이었다. 卽 投與後 10日에는 約 10%, 20日에는 約 20% 下降되고, 30日에는 死亡하는 例가 있었고, 下降率은 約 30%內外가 되었다. 그리고 C群에서는 投與後 20日까지 B群과 近似한 傾向이었으나, 30日에는 動物이 約 40% 死亡하였다.

Rossi等²⁹⁾이 報告한 DOCA는 hypocholesterolemic action이 있으며 그 反面에 atherosclerotic action도 크다고 하고, 李⁵⁾는 glycyrrhizin이 體內에서 毒性이 比較的 적으며 DOCA樣 作用이 있음을 報告하였다. 即 glycyrrhizin이 hypocholesterolemic action이 있고 DOCA樣 hormone 作用도 兼有하고 있으므로 體內의 電解質 (Na, K,) 및 水分代謝異常을 招來한다고 思料된다.

그 證據의 一端으로서 B群, C群에서 投與後 10日, 20日까지는 거의 近似한 傾向으로 作用이 나타나고 있었으나 B群은 30日以後, C群은 20日以後에 있어서는 hypocholesterolemic action은 A群에 比하여 더욱 強力하게 나타나는 것 같으나 亦是 中毒症狀이 出現하여 死亡하는 例가 많았다.

한편 人工적으로 hypercholesterolemia를 招來한 動物에 對한 glycyrrhizin의 作用을 觀察하기 위하여 動物을 A, B, 兩群으로 區分하여 A群에는 cholesterol 50mg/100gm B.W. 를 食餌에 單獨混合하여 投與하고 B群은 cholesterol과 glycyrrhizin 0.5mg/100gm B.W. 를 併合投與하여 그 結果를 보았다. glycyrrhizin을 0.5mg/100gm B.W. 投與群만 使用한 것은 1.0mg/100gm B.W., 2.0mg/100gm B.W. 投與群에서는 上記한 第 3, 4, 5表에서 檢討한바와 같이 毒性이 있고 副作用이 甚하여 使用하지 않고, 副作用이 比較的 적고 hypocholesterolemic action이 있다고 思惟되는 群만을 使用한 것이다. 即 第 6, 7表와 第 3圖에서와 같이 A群에 있어서 相當한 血清內 total cholesterol量이 增加함을 觀察하였다. 그러나 A, B, 兩群을 比較하면 投與後 14日부터 벌써 差異가 顯著하며 A群은 412.1 ± 22.8mg% B群은 366.8 ± 21.5mg%로 B群에서는 A群의 約 10% 以下로 低下되었다. 28日에는 A群은 1013.5 ± 46.2mg% B群은 788.6 ± 28.6mg%로서 約 20% 低值이고 42日에는 A群이 1165.5 ± 62.5mg% B群은 895.3 ± 37.3mg%로서 亦是 約 30% 低值이었다. 그러나 A群에서는 56日頃에는 動物이 殆半 死亡하였는데 B群은 56日以後에도 全動物이 繼續 生存하여서 實驗에 使用하였다.

이點 cholesterol 大量 投與로 hypercholesterolemia를 招來한 例에 있어서 glycyrrhizin이 이를 全적으로 低下시키지는 못하였으나 上昇率이 어느 程度 抑制되며 同時에 動物이 繼續 生存하고 있는 것으로 보아서 glycyrrhizin 投與가 cholesterol 除去作用 以外에 다른 解毒作用도 이에 關與하고 있는 것으로 思惟된다. 그리고 niacin²³⁾, 人蔘^{25) 26) 27)} 其他 hypocholesterolemic

action, antiatherosclerotic action이 있는 藥物等과 같이 glycyrrhizin도 이 目的에 使用될수가 있는 것으로 推定된다. 體內組織 特히 脂肪質代謝와 密接한 關係가 있는 肝組織에 對한 作用을 觀察하기 위하여 肝內 total cholesterol 含量이 glycyrrhizin 投與로서의 影響을 觀察코져 cholesterol incorporation을 acetate-1-C¹⁴으로 實驗한바 肝內 total cholesterol 含量은 投與後 10日까지는 對照群이나 A群(0.5mg/100gm B.W.) B群(1.0mg/100gm B.W.) C群(2.0mg/100gm B.W.) 3群 다같이 變化를 認定치 못하였으나, 30日頃에는 A群이 5.23 ± 0.17mg/gm, B群이 4.23 ± 0.50mg/gm, C群이 3.69 ± 0.30mg/gm로서 對照群 6.06 ± 0.55mg/gm에 比하여 10~30%의 低值를 나타내고 있었다. 이點 liver slice를 使用하여 acetate-1-C¹⁴ incorporation을 觀察한 結果 對照群이 562 c/m/g: 670 c/m/g이고 medium에 glycyrrhizin을 0.2mg, 0.4mg 添加한 것은 各各 315 c/m/g: 330 c/m/g, 170 c/m/g: 255 c/m/g로서 相當한 量의 cholesterol 生合成이 liver homogenate에서 抑制될을 認定할수가 있다.

Atherden¹⁾이 報告한 glycyrrhetic acid가 生體內에서 cholesterol 生合成을 抑制한다고 하였고 著者가 實驗한 glycyrrhizin은 glycyrrhetic acid의 glucoside derivative 이므로 體內에서 分解하여 cholesterol 生合成을 抑制하는 것으로 推定된다. 同時에 glycyrrhizin은 cholesterol의 排泄도 促進시킴을 示唆한다. 即 第 10表에서 보는바와 같이 糞便으로 排泄되는 sterol의 量은 glycyrrhizin 投與群이 glycyrrhizin 非投與群에 比하여 增加된다. 即 對照群에서 fast-acting sterol이 56mg/day, slow-acting sterol이 285mg/day인 것이 cholesterol 投與群은 各各 425mg/day, 926mg/day, glycyrrhizin 投與群은 各各 118mg/day, 368mg/day, glycyrrhizin과 cholesterol를 併合投與한 群은 各各 625mg/day, 1105mg/day로서 增加될을 볼수가 있다.

이點 niacin²³⁾, pas³⁰⁾等에서도 같은 傾向이었으나 이것은 Griminger¹¹⁾의 報告에 依하면 saponin은 cholesterol과 結合하여 腸壁에서 再吸收가 抑制된다고 하는데 glycyrrhizin도 saponin의 一種이므로 亦是 體內에서 cholesterol과 複合體를 形成하여 一段 腸管內에 排泄된 다음에는 再吸收가 되지 않는 것으로 推定된다.

結 論

著者は 古來로부터 漢藥에서 廣範圍하게 利用되는 甘草의 有效成分인 glycyrrhizin을 分離하여 그 hypo-

cholesterolemic activity를 實驗하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 標準食으로 飼育한 白鼠 50~60마리씩을 1群으로 하여 各群에게 glycyrrhizin을 體重 100gm當 各各 0.5mg, 1.0mg 및 2.0mg씩 投與한바 各群에서 hypocholesterolemic action을 認定하였다. 이때 1.0mg, 2.0mg 兩群은 60日間投與後 副作用의 發現으로 因하여 全例가 死亡하였다. 0.5mg投與群에 있어서는 約 30%内外의 cholesterol值 低下를 招來하였으며 長期 投與가 可能하였다.

2. Cholesterol 單獨投與群은 例外없이 hypercholesterolemia를 일으켰으나, 同時에 glycyrrhizin(0.5mg/100gm B.W.) 併合投與群에 있어서는 cholesterol의 血清內含量的 上昇이 抑制되었다.

Cholesterol 單獨投與群에서는 動物이 56日以上 生存치 못하였으나 cholesterol과 glycyrrhizin 併合投與群에 있어서는 56日以上 全例繼續生存하였다.

3. Glycyrrhizin이 肝組織內에서의 cholesterol 生合成 및 蓄積을 抑制하였다.

4. Glycyrrhizin 投與로 糞便內에 sterol 化合物의 排泄量이 增加되었다.

(欄筆함에 있어서 指導와 校閱을 하여주신 吳鎭燮 教授와 始終 後援하여주신 洪思岳副教授에게 深甚한 謝意를 表하는 바입니다.)

References

1. Atherden, L. M., : Studies with Glycyrrhetic Acid: Inhibition of Metabolism of Steroids in vitro. *Biochem. J.* **69**; 75, 1958
2. Beaton, J. M., et al. : Chemistry of the diglucopyranosiduronic acid of glycyrrhetic acid. *J. Chem. Soc.*, 3126, 1955
3. Lythgoe, B., et al. : Structure of the glycyrrhetic acid derivatives. *J. Chem. Soc.* 1983, 1950
4. Molhuysen, J. A. et al. : A liquorice extract with desoxy-cortone like action. *Lancet*, **2**; 381, 1950
5. Lee, C. H. : Relation between Pharmacological Effect of 2-Acetoxy 11-Keto $\Delta^{12:13}$ 30-Acetoxy-methyl Keto Oleanenic Acid and Adrenocortical Secretions. *Seoul J. Med.*, **5**; 291, 1964
6. Groen, J., et al. : Observation during the treatment of Addison's disease with liquorice, glycyrrhetic acid and its derivatives. *Acta Med. Scand. Suppl.*, 745, 1956
7. Pelsler, H. E., et al. : Studies on treatment of Addison's disease with glycyrrhetic acid. *Metabolism*, **2**; 322, 1953
8. Greon, J., et al. : Extract of liquorice for the treatment of Addison's disease. *New Eng. J. Med.*, **244**; 471, 1951
9. Greon, J., et al. : Studies on structure of glycyrrhetic acid. *Ned. Tijdschr. Genesk.* **97**; 3290, 1953
10. Sung, N. E., et al. : The effect of glycyrrhizin on cholesterol metabolism. *Korean. J. Biochem.*, **1**; 37, 1964
11. Griminger, P., et al. : Dietary Saponin and Plasma Cholesterol in the chicken. *Proc. Soc. Expl. Biol. Med.*, **99**; 424, 1958
12. Friedman, M., et al. : EVALUATION OF NICOTINIC ACID AS AN HYPOCHOLESTEREMIC AND ANTI-ATHEROGENIC SUBSTANCE. *J. Clin. Invest.*, **38**; 1328, 1960
13. Douglas, J. F., : A New Inhibitor of in vitro Cholesterol Biosynthesis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **117**; 190, 1964
14. Karrer, P. et al. : The effect of glycyrrhizin on detoxication, *Helvetica Acta.* **4**; 100, 1921
15. Zack, B., et al. : RAPID ESTIMATION OF FREE AND TOTAL CHOLESTEROL. *Am. J. Clin. Path.*, **24**; 1307, 1954
16. Bragdon, H. J., : COLORIMETRIC DETERMINATION OF BLOOD LIPIDES. *J. Biol. Chem.*, **190**; 513, 1951
17. Siperstein, M. D., et al. : Studies on the relationship between glucose oxidation and intermediary metabolism. *J. Clin. Invest.*, **37**; 1185, 1958
18. Aylward, F., et al. : Lipid excretion: 1. Sterol and sterol esters. *Brit. J. Nutr.*, **16**; 339, 1962
19. Wells, W. W., et al. : An evaluation of the use of digitonin for the analysis of faecal steroids. *Nature*, **189**; 483, 1961
20. Orvis, H. H., et al. : SERUM CHOLESTEROL

- IN NORMAL MALES VERSUS MALES WITH CORONARY HEART DISEASE: DIFFERENCES WITH RESPECT TO AGE. *Am. J. Med. Sci.*, **241**; 167, 1961
21. Havel, R. J., et al.: Serum lipoproteins, cholesterol and triglycerides in coronary heart disease. *Metabolism*, **11**; 195, 1962
22. Méndez, J., et al.: Factors Influencing Serum Cholesterol Levels of Central American Children. *Am. J. Clin. Nutr.*, **9**; 143, 1961
23. Hunter, J. D., et al.: Nicotinic Acid Therapy in Coronary Disease. *Am. Heart J.*, **63**; 143, 1962
24. Chappel, C. et al.: An Inhibitor of Cholesterol Biosynthesis. *Nature*, **201**; 497, 1964
25. Chung, H. W.: Effect of Panax Ginseng, Platycodon Glandflorum, and INH on lipid metabolism of rabbit during long term cholesterol administration. *Koren J. Biochem.*, **1**; 25, 1964
26. Kim, H. C.: Effect of Ginseng and Niacin on lipid metabolism of rabbits fed cholesterol. *Korean J. Med.*, **5**; 21, 1962
27. Nam, C.C.: The experimental studies on the influence of ginseng to the Atherosclerosis in rabbits. *Korean J. Int. Med.*, **4**; 231, 1961
28. Beher, W. T. et al.: Time Course of Fecal Steroid-C¹⁴ Excretion in Various Rodents. *Am. J. Physiol.*, **205**; 1159, 1963
29. Rossi, G. B. et al.: Desoxycorticosterone Acetate(DCA) and Experimental Atherosclerosis in Cholesterol-Fed Rabbits. *Nature*, **203**; 252, 1965
30. Byun, S. K.: Experimental studies on the effect of PAS on cholesterol metabolism. *Korean J. Int. Med.*, **6**; 692, 1963
31. Sung, N. E.: Studies on the Lipid Metabolism. *Seoul J. Med.*, **3**; 247, 1962