

인삼이 토끼 적혈구막의 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 의 활성도에 미치는 영향

경희대학교 의과대학 생리학교실

강 병 남 · 고 일 섭

=Abstract=

Effect of Ginseng on Sodium-Potassium activated ATPase in Rabbit Red Cell Membrane

Byoung Nam Kang and Il Sup Koh

*Department of Physiology, School of Medicine, Kyung Hee University
Seoul, Korea*

The effect of ginseng on the ATPase activity of rabbit red cell membrane has been investigated. The experiments were also designed to determine whether the components of ginseng could be attributed to the effect on ATPase activity which dependent upon sodium plus potassium and is sensitive to ouabain. The following results were observed.

1. The activity of the $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ from red cell membrane is stimulated by ginseng, and the concentration of ginseng for half-maximal activity is about 15 mg%. The pH optimum for the ginseng sensitive component is 7.6.
2. The portion of the enzyme activity stimulated by ginseng is completely abolished by ouabain.
3. The activating effect of ginseng on the ATPase, with a given concentration of sodium in the medium, is increased by raising the potassium concentration but activity ratio is decreased.
4. The activating effect of ginseng on the ATPase, with a given concentration of potassium in the medium, is increased by raising the sodium concentration but the activity ratio is decreased.
5. The ATPase activity is increased by small amounts of calcium but inhibited by larger amounts and the rate of activity by ginseng is constant.
6. The action of ginseng on the ATPase activity was not related to the sulfhydryl group of cysteine, the amino group of lysine, the imidazole group of histidine, the guanidinium group of arginine, the carboxyl group of aspartic acid, or the hydroxyl group of threonine.
7. The activating effect of ginseng on the ATPase activity may be not due to a saponin which is contained in ginseng.

인삼에 관한 연구 가운데는 세포막의 투과성에 대한 작용에 관하여서 보고된 것은 드물다. ¹⁾李 등은 인삼 “에끼스”를 쥐, 개, 물모트에 주사한 후 histamine 유리 물질이 존재하며 쥐의 피부내에 주사하여 모세관의 투과성이 항진된다고 하였고 ²⁾金 은 인삼 “에끼스”를 경구로 반복 투여한 흰쥐에서 histamine에 의한 typane blue 피부 청반반응 양성율이 현저하게 상승하였다 한다. 이상의 실험들은 인삼의 모세혈관 투과성에 관한

것이나 세포막의 투과성에 미치는 실험에서 ³⁾鄭 은 효모세포에 인삼을 작용시켜서 포도당의 투과성을 증가시킨다고 하였고 이는 인삼에 함유된 saponin 성분과 그 밖에 다른 성분이 세포막 투과성에 관여 할 것이라고 주장하여 세포막에 인삼이 작용하여 투과성을 촉진시킨다는 것을 암시하고 있다.

그러나 생체 세포막에서 K 이온을 세포막 내로 Na 이온을 세포막 외로 전기 화학적 구배에 역행하여 능동적

운반을 하는 이온의 펌프작용과 밀접한 관련이 있는 $\text{Na}^+\text{K}^+\text{activated ATPase}$ ^{4,5,6)}에 대한 인삼의 작용에 관한 실험을 찾아 볼 수가 없다.

본 실험에서는 적혈구막 내에 있는 Na 이온과 K 이온으로 활성화되고 ouabain으로 억제되는 ATPase에 인삼을 작용하여 그 활성도에 미치는 영향을 알고저 실험하였다.

실험방법

실험동물은 건강한 토끼를 암 수 구별없이 사용하였으며 심장첨자로 채혈한 혈액을 heparin으로 응고를 방지하였다.

이렇게 채혈한 혈액을 1,000 g로 15분간 원심분리한 다음 혈장과 상층에 있는 백혈구를 제거한 후 생리 식염수로 2회 세척하고 등장성 MgCl_2 용액에 1 mM EDTA를 함유한 용액으로 다시 2회 세척하였다.

세척된 적혈구는 혈색소의 부착이 없는 적혈구막(hemoglobin-free ghost)을 얻기 위하여 Rosenberg⁷⁾ 등의 방법에 따라 30배 용량의 15 mOsM Tris-HCl buffer (pH 7.5, 8.5 mM Tris-6.5 mM HCl 혼합액)에 가하여 4°C에서 한시간동안 방치하였다. 이렇게 용혈된 적혈구를 10,000 g로 15분간 원심분리한 다음 상등액을 제거하여 막분획만을 얻었다.

침전된 막분획은 15 mOsM Tris-HCl buffer 용액에 1 mM EDTA를 혼합한 용액(pH 7.5, 8.5 mM Tris-6.5 mM HCl-1 mM EDTA 혼합액)으로 2회 원심 조작으로 세척한 다음 다시 15 mOsM Tris-HCl buffer (pH 7.5)로 1회 세척하였다.

이렇게 해서 얻은 혈색소의 부착이 없는 유백색의 막분획을 본 실험에 사용하였다.

ATPase의 활성도는 Dunham⁸⁾의 방법에 따라 측정하였다. 적혈구의 막분획 0.1 ml에 0.2 M Tris HCl buffer (pH 7.4), 20 mM MgCl_2 , 170 mM KCl, 800 mM NaCl 및 15 mM ATP을 가한 다음 증류수를 첨가하여 반응액의 총량을 1 ml로 하여 44°C에서 1시간 동안 water bath에 부치하였다. 막분획에 의한 반응이 1시간 동안 진행된 다음에 각 실험관을 얼음으로 냉각된 물속에 1분간 냉각시키고 다시 냉각된 10% trichloroacetic acid를 1 ml씩을 가하여 반응을 정지시킨 다음 15분간 원심분리하여 단백질을 침전시키고 그 상등액 1.5 ml 내에 유리된 inorganic phosphate를 Fiske-Subbarow⁹⁾법에 의하여 측정하였다. 여러 실험관에 막분획과 여러 반응액을 넣은 다음 15 mM ATP를 가할

때는 15초 간격으로 넣고 한시간 동안 반응을 진행시킨 다음에는 다시 15초 간격으로 얼음으로 냉각시킨 물속으로 이동시켜서 1분간 냉각시키고 다시 냉각된 10% trichloroacetic acid를 같은 시간 간격으로 첨가하여 여러 실험관에서 반응시간을 일정하게 유지하도록 하였다.

시약: 본 실험에 사용된 주요한 시약은 다음과 같다.

ATP는 Sigma chemical Co. 제제를 Tris(Tris-hydroxymethylaminomethane)는 Fisher 것을 사용하였다.

NaCl, KCl, MgCl_2 는 Merck 제를 ouabain은 U.S.P. 제를 각각 사용하였다.

인삼 추출물은 서울대학교 의과대학 약리학교실에서 분양받은 것을 본 실험에 사용하였다.

실험성적

1. 인삼농도의 영향

적혈구막 내에 있는 Na 이온과 K 이온에 의하여 활성화되는 ATPase의 활성도에 대한 인삼의 농도를 변동시켜서 작용한 결과를 Fig. 1에 도시하였다. 인삼의 농도를 0에서 100 mg%까지 증가시키면 0에서 40 mg%

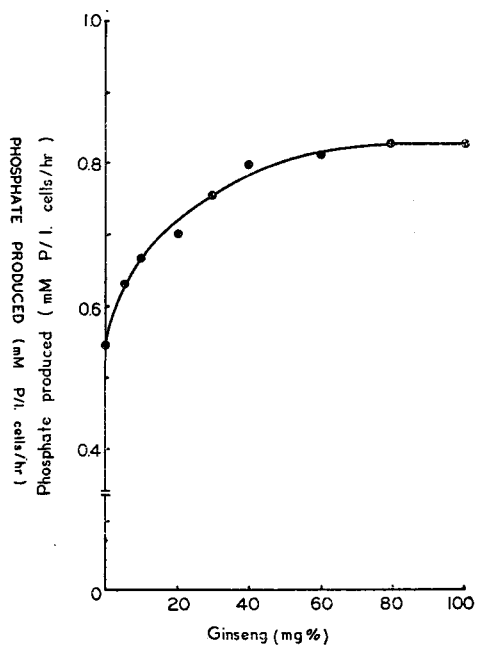


Fig. 1. The effect of ginseng concentration on the rate of liberation of phosphate from ATP by red cell ghost ATPase. Temp. 44°C; pH 7.4; ATP 1.5 mM; Mg 2 mM; Na 80 mM; K 17 mM. Duration 1 hr.

까지는 인삼의 농도 증가에 따라서 $(Na^+ + K^+)$ -ATPase의 활성도는 증가하나 40 mg%에서 100 mg%까지는 농도 증가에 따라 거의 일정한 활성도를 나타내었다. 인삼의 농도를 증가시켜서 ATPase의 활성도를 측정할 실험에서 포타슘의 농도를 17 mM로 하고 Na의 농도를 80 mM로 고정하였을때의 인삼의 Km 값은 약 15 mg%이다.

2. pH의 영향

Fig. 2에는 인삼 40 mg%를 작용시켰을때와 인삼을 작용시키지 않았을때의 pH의 영향을 도시하였다. 이때의 용액의 pH는 0.2M Tris와 0.2M HCl을 혼합하여 pH를 6.4에서 8.6까지 변동시켜서 ATPase의 활성도를 측정하였다. 인삼을 작용시켰을때와 작용시키지 않았을때의 pH의 영향은 별다른 차이를 나타내지 않았으며 최적 pH는 7.6이었다.

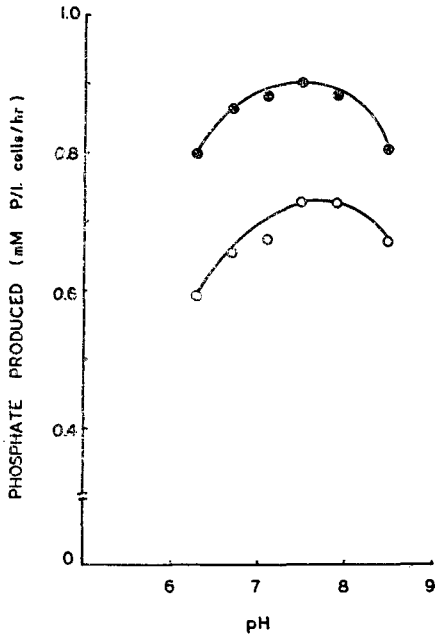


Fig. 2. The effect of pH on the ATPase activity of red cell ghosts. Temp. 44°C; ATP 1.5 mM; Mg 2 mM; K 17 mM; Na 80 mM. Duration 1 hr. ○ ginseng absent; ● ginseng 40 mg%.

3. Ouabain의 영향

Fig. 3에는 Mg^{++} ATPase와 $(K^+ + Na^+)$ -ATPase에 대한 인삼의 영향과 아울러 ouabain의 작용을 관찰한 것을 도시하였다. Mg^{++} 으로 활성화되는 ATPase에

인삼을 작용시키면 그 활성도를 촉진시키는데 이 촉진 효과는 ouabain의 작용으로 억제되지 않는다. 그러나 인삼의 작용으로 활성화된 $(Na^+ + K^+)$ -ATPase의 활성도는 ouabain으로 억제되었다. Ouabain은 여러 조직에서 $(Na^+ + K^+)$ -ATPase의 활성도를 억제하고 같은 농도의 ouabain은 세포막에서 Na이온과 K이온의 능동적 운반을 억제하므로 이온의 능동적 운반과 이 $(Na^+ + K^+)$ -ATPase와는 밀접한 관계가 있는 것으로 생각되고 있다^{9,10,11}.

본 실험에서 인삼의 작용으로 $(Na^+ + K^+)$ -ATPase의 활성도는 촉진되는데 이 촉진작용은 ouabain으로 억제되고 Mg^{++} ATPase의 촉진작용은 ouabain으로 억제되지 않는 것으로 미루어 보아 인삼은 세포막의 Na이온과 K이온의 능동적 운반에 관여하여 촉진작용을 가지고 있다는 것을 암시하는 것이다.

4. K이온 농도의 영향

반응액 내의 Na이온의 농도를 일정하게 유지하고 K

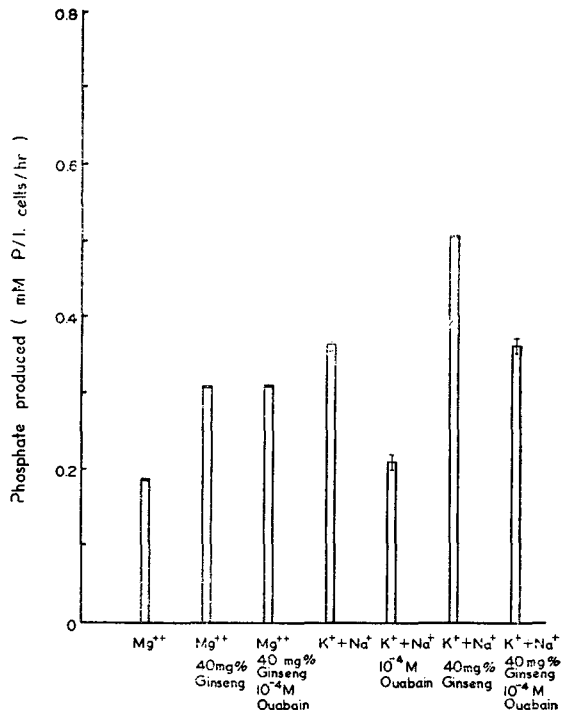


Fig. 3. The effect of ouabain in the presence of ginseng on the ATPase activity of red cell ghosts. Temp. 44°C; pH 7.4; ATP 1.5 mM; Mg 2 mM; Na 80 mM; K 17 mM; ginseng 40 mg%; Ouabain $10^{-4}M$. Duration 1 hr.

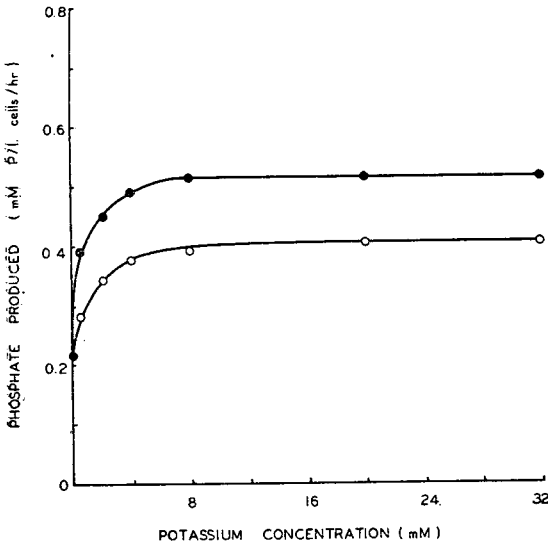


Fig. 4. The effect of potassium concentration on the ATPase activity of red cell ghosts in the presence and absence of ginseng. Na 80mM; ○ ginseng absent; ● ginseng 40 mg%.

이온의 농도를 변동시키면서 측정된 ATPase의 활성도의 변화와 여기에 일정농도의 인삼을 첨가하였을 때 나타나는 ATPase의 활성도의 변화를 관찰한 실험을 Fig. 4에 도시하였다. K 이온의 농도를 0에서 32 mM 까지 변동시켜서 작용한 실험에서 ATPase의 활성도는 K 이온의 농도가 약 8 mM에 이르기까지는 점차적으로 증가되나 그 이상의 농도에서는 농도증가에 따라서 활성도는 증가되지 않고 일정하게 나타난다.

인삼을 첨가하였을 때의 ATPase의 활성도의 증가 비

Table 1 The effect of potassium concentration on activation by ginseng of the ATPase activity of red cell ghosts.

K concentration(mM)	ATPase activity (mM P/l. cells/hr.)	Activity in the presence of ginseng(40mg%) (mM P/l. cells/hr.)	Activation (%)
0.5	0.28	0.39	39.3
2.0	0.34	0.45	32.4
4.0	0.37	0.49	32.2
8.0	0.39	0.51	30.8
20.0	0.41	0.51	24.4
32.0	0.41	0.51	24.4

율은 K 이온의 농도를 증가시키는데 따라서 감소되었다. (Table 1)

5. Na^+ 의 농도의 영향

Fig. 5에는 반응액 내의 K 이온의 농도를 일정하게 하고 Na 이온의 농도를 변동하여 ATPase의 활성도의 변동과 일정농도의 인삼을 첨가하였을 때의 ATPase의 활성도의 변동을 동시에 도시하였다. 반응액 내의 Na 이온의 농도를 0에서 160 mM 까지 증가시킨 실험에서 Na 이온의 농도가 약 50 mM에 도달할 때까지는 ATPase의 활성도는 점차적으로 증가를 나타내나 그 이상의 농도에서는 농도증가에 따라서 활성도의 증가는 나타나지 않고 거의 일정하게 나타난다.

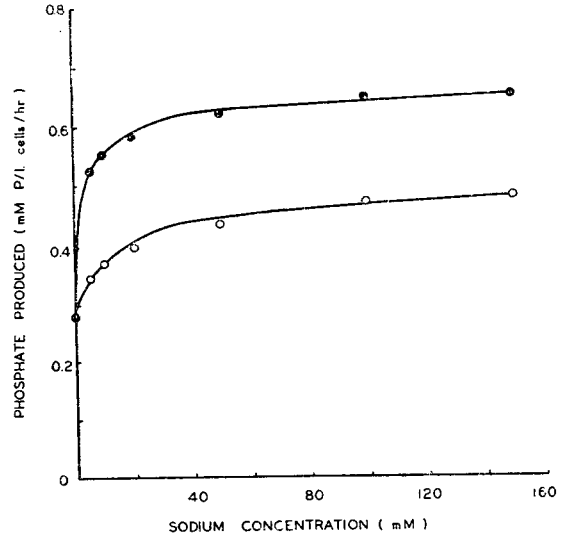


Fig. 5. The effect of sodium concentration on the ATPase activity of red cell ghosts in the presence and absence of ginseng. Temp; 44° C; pH 7.4; ATP 1.5 mM; Mg 2 mM; K 17 mM; Na 80 mM. Duration 1 hr. ○ ginseng absent; ● ginseng 40 mg%

Na 이온의 농도를 증가시키는데 따라서 인삼의 작용으로 나타나는 ATPase의 활성도의 증가율은 Na 이온의 농도가 낮을 때 보다 높을 때가 감소되는 경향이다. (Table 2)

6. Ca 이온의 영향

Ca 이온의 농도를 변동시키면서 $(\text{Na}^+\text{-K}^+)\text{-ATPase}$ 의 활성도에 미치는 영향과 여기에 일정농도의 인삼을

Table II The effect of sodium concentration on Activation by ginseng of the ATPase activity of red cell ghosts

Na concentration(mM)	ATPase activity(mM P/l. cells/hr.)	Activity in the presence of ginseng(40 mg%) (mM P/l. cells/hr.)	Activation (%)
5	0.34	0.53	56.0
10	0.37	0.55	49.0
20	0.40	0.58	45.0
50	0.43	0.62	44.2
100	0.47	0.65	38.3
150	0.48	0.65	35.4

첨가하였을 때의 변화를 Fig. 6에 도시하였다.

Ca 이온의 농도를 0에서 10 mM 까지 증가시켜서 (Na⁺+K⁺)-ATPase의 활성도를 관찰한 실험에서 Ca 이온의 농도가 0.15 mM에 도달할 때까지는 ATPase의 활성도가 증가되나 더욱 농도를 증가시키면 활성도는 억제된다.

인삼을 작용시키면 Ca 이온의 농도가 낮으면서 (Na⁺+K⁺)-ATPase의 활성도가 인삼을 작용시키지 않았을

때보다 현저하게 증가되고 Ca 이온이 높은 농도에서는 억제작용이 더 현저하게 나타난다.

Ca 이온의 농도가 0에서 0.15 mM로 증가시켜서 작용하면 (Na⁺+K⁺)-ATPase의 활성도는 증가되고 0.15 mM보다 높은 농도에서는 활성도를 억제하고 있으며 Ca⁺⁺의 최적농도는 약 0.15 mM이다. Ca이온의 최적농도 0.15 mM에서 인삼의 작용으로 (Na⁺+K⁺)-ATPase의 활성도는 약 2배 증가하였다. Ca⁺⁺는 인삼이 (Na⁺+K⁺)-ATPase의 활성도를 증가시키는 작용에 더욱 촉진시키는 작용을 한다.

7. Cysteine의 영향

인삼의 작용으로 나타나는 (Na⁺+K⁺)-ATPase의 활성도에 cysteine의 첨가로 인한 영향을 관찰한 실험을 Fig. 7에 도시하였다. K 이온과 Na 이온을 첨가하면 Mg⁺⁺ATPase의 활성도는 더욱 증가되고 (Na⁺+K⁺)-ATPase는 인삼의 작용으로 더욱 활성도가 증가되었다. (Na⁺+K⁺)-ATPase의 활성도에 인삼과 cysteine을 동시에 작용한 것은 인삼만을 작용한 것보다 아무 차이를 나타내지 않는다. (Na⁺+K⁺)-ATPase의 활성도에 cysteine의 SH기의 영향을 고려하여도 인삼에 의

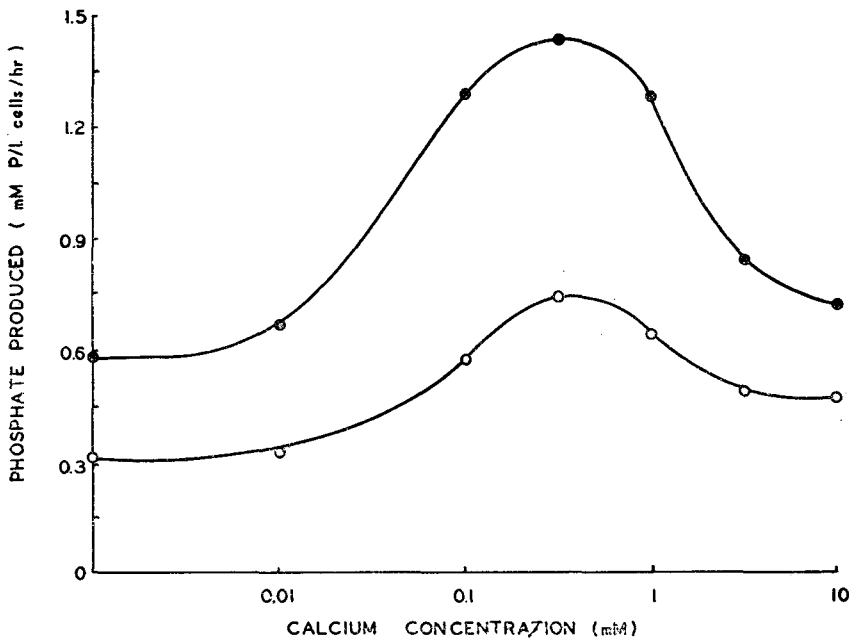


Fig. 6. The effect of calcium concentration on the ATPase activity of red cell ghosts in the presence and absence of ginseng. Temp. 44°C; pH 7.4; ATP 1.5 mM; Mg 2 mM; K 17 mM; Na 80 mM. Duration 1 hr. ○ ginseng absent; ● ginseng 40 mg%.

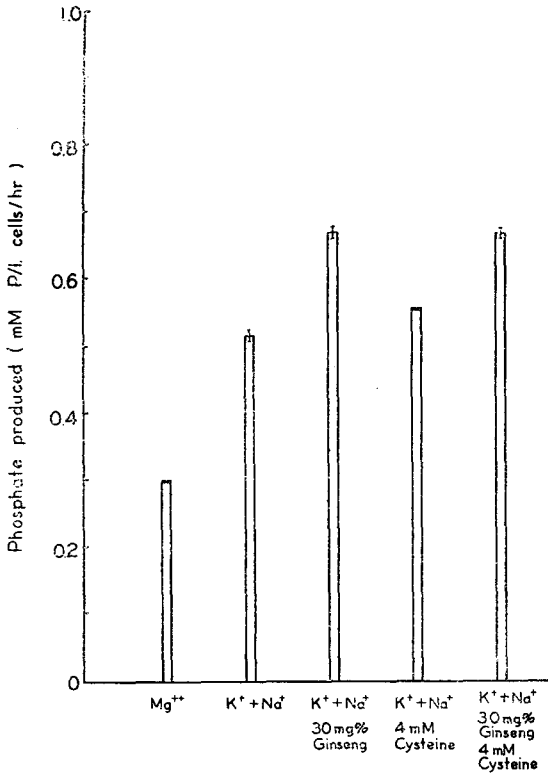


Fig. 7. The effect of cysteine in the presence of ginseng on the ATPase activity of red cell ghosts. Temp. 44°C ; pH 7.4; ATP 1.5 mM; Mg 2 mM; Na 80 mM; K 17 mM; cysteine 4 mM; ginseng 30 mg%. Duration 1 hr.

한 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase의 활성도의 증가에는 SH기가 아무 영향을 주지 않는 것으로 사료된다.

8. Lysine의 영향

Lysine이 인삼으로 인한 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase의 활성도의 증가에 미치는 영향을 보기 위하여 실험한 것을 Fig. 8에 도시하였다.

이 실험에서 인삼과 lysine을 동시에 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase에 작용하였을 때의 활성도는 인삼만을 작용시켰을 때보다 약간이 증가되어 나타나는데 이 증가는 lysine의 amino기가 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase에 대한 보완 작용으로 인해서 약간 증가시키는데 기인되는 것으로 생각된다. 인삼이 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase의 활성도를 촉진시키는 작용에는 amino기는 아무 영향을 주지 않는 것 같다.

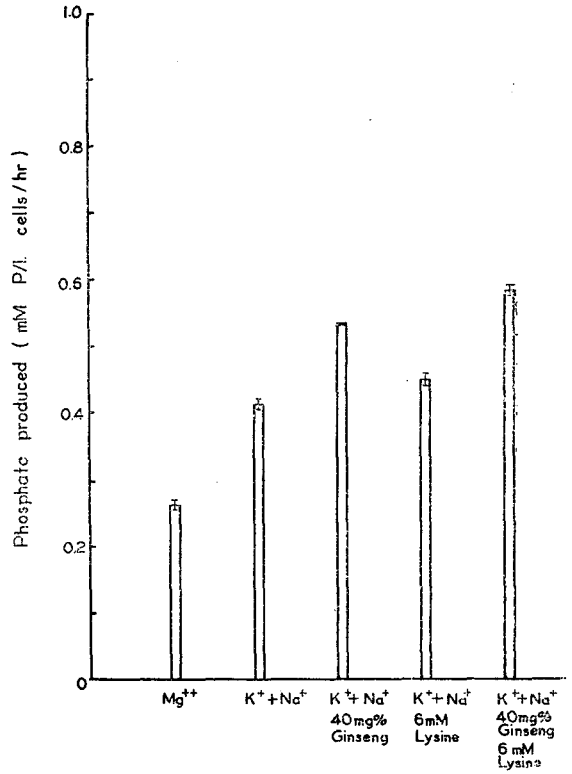


Fig. 8. The effect of lysine in the presence of ginseng on the ATPase activity of red cell ghosts. Temp. 44°C ; pH 7.4; ATP 1.5 mM; Mg 2 mM; Na 80 mM; K 17 mM; lysine 6 mM; ginseng 40 mg%. Duration 1 hr.

9. Histidine의 영향

인삼으로 촉진되는 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase의 활성도에 대한 histidine의 영향을 관찰한 실험을 Fig. 9에 도시하였다. histidine과 인삼을 동시에 작용한 실험에서 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase의 활성도는 인삼만을 작용시켰을 때보다 증가되는데 이 증가현상은 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase에 histidine만을 작용하였을 때 histidine의 imidazole기가 이 효소의 보완작용으로 나타나는 것으로 생각된다.

인삼의 작용으로 촉진되는 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase 활성도에는 histidine이 가지고 있는 imidazole기는 아무 영향을 주지 않는 것으로 생각된다.

10. Aspartic acid의 영향

인삼의 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase의 활성도에 대한 촉진작

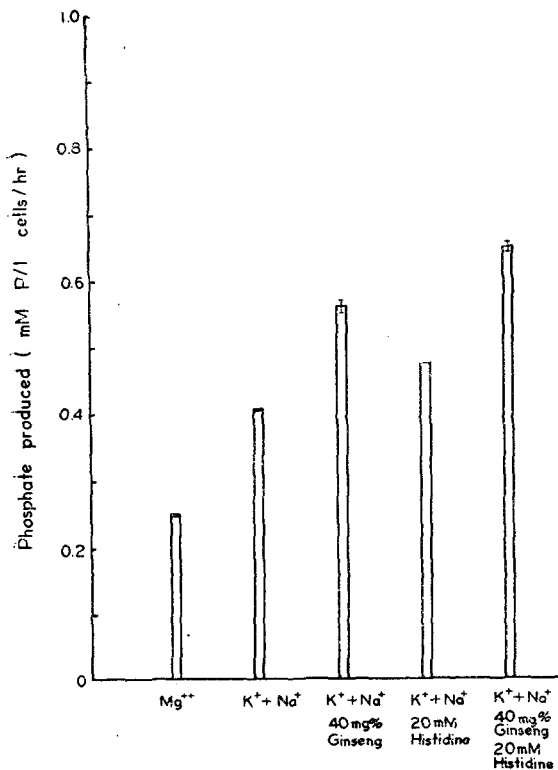


Fig. 9. The effect of histidine in the presence of ginseng on the ATPase activity of red cell ghosts. Temp. 44°C; pH 7.4; ATP 1.5mM; Mg 2 mM; Na 80 mM; K 17 mM; histidine 20 mM; ginseng 40mg%. Duration 1 hr.

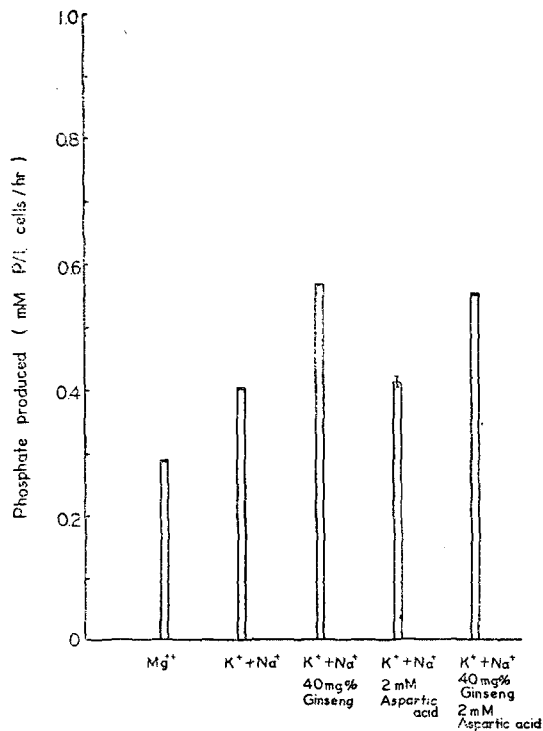


Fig. 10. The effect of aspartic acid in the presence of ginseng on the ATPase activity of red cell ghosts. Temp. 44°C; pH 7.4; ATP 1.5 mM; Mg 2 mM; Na 80mM; K 17mM; aspartic acid 2mM; ginseng 40 mg%. Duration 1 hr.

용에 aspartic acid를 첨가하여 나타나는 작용을 관찰한 실험을 Fig. 10에 도시하였다.

인삼과 aspartic acid를 동시에 작용하여 (Na⁺+K⁺)-ATPase의 활성도의 증가는 인삼만을 작용하였을때와 거의 같은 증가 현상이 나타난다. (Na⁺+K⁺)-ATPase에 대한 aspartic acid만의 작용을 고려한다 해도 aspartic acid가 가지고 있는 COOH기는 인삼의 이 효소에 대한 촉진작용과는 아무 영향을 미치지 못하는 것으로 생각된다.

11. Threonine의 영향

(Na⁺+K⁺)-ATPase의 활성도에 대한 인삼의 촉진작용에 threonine을 작용시켜서 나타나는 영향을 본 실험 Fig. 11에 도시하였다.

인삼과 threonine을 동시에 작용시켜서 활성화되는

(Na⁺+K⁺)-ATPase의 활성도는 인삼만을 작용하였을 때의 활성도와 같다.

인삼으로 인한 이 효소의 촉진작용은 threonine이 가지고 있는 OH기와는 아무 관련이 없는 것으로 사료된다.

12. Saponin의 영향

Saponin을 (Na⁺+K⁺)-ATPase에 작용시킨 것과 인삼에 saponin을 동시에 가하여 첨가 작용을 관찰한 실험을 Fig. 12에 도시하였다.

Saponin은 (Na⁺+K⁺)-ATPase의 활성화를 촉진시킨다. 인삼과 saponin을 동시에 작용시키면 인삼으로 활성화된 ATPase의 활성도보다 더 활성도를 촉진시키고 있다. 인삼의 농도 40 mg%를 작용시킨 것과 100 mg%를 작용시킨 것은 그 촉진작용이 거의 같은 정도

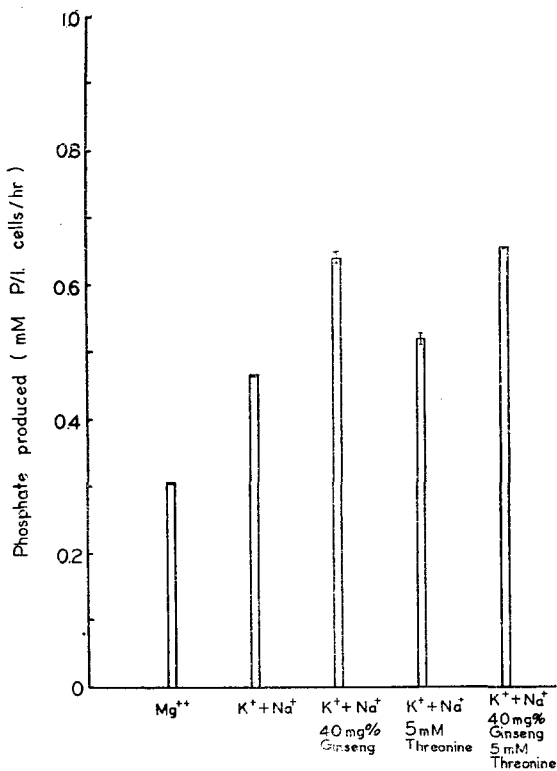


Fig. 11. The effect of threonine in the presence of ginseng on the ATPase activity of red cell ghosts. Temp. 44°C; pH 7.4; ATP 1.5 mM; Mg 2 mM; Na 80 mM; K 17 mM; threonine 5 mM; ginseng 40 mg%. Duration 1 hr.

를 나타내는데 여기에 같은 양의 saponin을 각각 첨가하여 보면 인삼의 농도차에 관계없이 saponin으로 촉진되는 부위가 같이 나타난다. 이 실험으로 인삼으로 인한 $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ 의 활성도를 촉진하는 작용은 인삼이 함유하고 있는 saponin에 의하여 나타나는 것이 아니라 다른 성분이 관여하는 것으로 생각된다.

고 찰

토끼 적혈구막에서 Mg 이온 ATPase는 Na 이온과 K 이온으로 활성화되고 이 활성화된 부위는 ouabain으로 억제되는 ATPase를 분리할 수 있다. 이같은 ATPase는 사람 적혈구막^{5,6,12}이나 squid의 축삭돌기 껍질¹³ 또는 콩팥의 세뇨관¹⁴과 간¹⁵세포막에서도 분리되며 이들 세포막 내에 있는 ATPase들은 양적으로 차

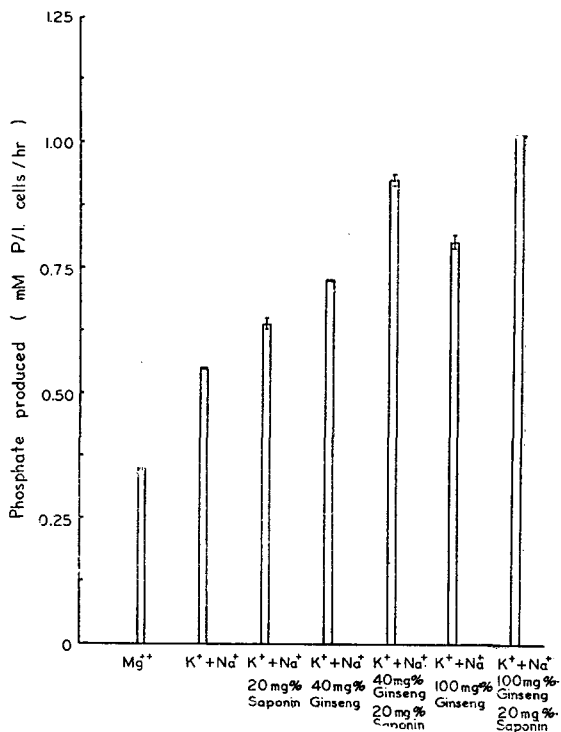


Fig. 12. The effect of saponin at two different levels of ginseng on the ATPase activity of red cell ghosts. Temp. 44°C; pH 7.4; ATP 1.5 mM; Mg 2 mM; Na 80 mM; K 17 mM; saponin 20 mg%. Duration 1 hr.

이가 있으나 근본적으로 같은 특징을 가지고 있어 세포막에서 이루어지는 이온의 능동적 운반과 밀접한 관련을 가지고 있다는 사실을 여러 연구자⁴⁻⁶들이 주장하고 있다.

토끼 적혈구막에서 Na 이온과 K 이온으로 활성화되는 ATPase에 인삼을 작용시켜서 그 영향을 관찰한 본 실험(Fig 1)에서 $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ 의 활성도는 인삼의 농도증가에 따라서 더욱 촉진되며 인삼의 Km 값은 약 16 mg%이다. 세포막에서 이온의 능동적 운반과 밀접한 관계가 있는 이 $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ 의 활성도를 인삼이 촉진시키고 있다는 것은 인삼이 세포막에서 이루어지는 이온의 능동적 운반을 촉진시키는 작용이 있다는 것을 암시하고 있는 것이다.

적은 양의 cardiac glycosides는 적혈구막에서 K 이온과 Na 이온의 능동적 운반을 특이하게 억제한다는 것

이 알려져 이 작용은 세포막에서 양이온의 능동적 운반과 수동적 운반을 구별하는데 사용되어 왔다¹⁶⁻¹⁹. Skou 는 계²⁰의 신경이나 토끼의 뇌²¹에서 분리한 효소에서 *g-strophanthin* 은 Na 이온과 K 이온으로 활성화되는 ATPase 를 억제하고 Mg 이온으로 활성화되는 ATPase 에는 억제작용이 나타나지 않는 점을 들어 Na 이온과 K 이온으로 활성화되는 ATPase 와 이온의 능동적 운반이 밀접한 관련을 가지고 있다는 것을 암시하였다. 또한 *g-strophanthin* 은 세포막에서 이온의 능동적 운반을 억제하는 Km 값은 $3-7 \times 10^{-8}$ ²²⁻²⁴이고 적혈구에서 분리한 (Na⁺+K⁺)-ATPase 의 활성도를 억제하는 Km 값은 $1.3 \times 10^{-7} M$ ⁶, 또는 $10^{-7} M$ ⁵이므로 별로 농도차이를 나타내지 않고 있다. 이 같은 실험들이 *g-strophanthin* 은 세포막에서 이온의 능동적 운반을 억제하고 같은 농도의 *g-strophanthin* 은 세포막에 있는 (Na⁺+K⁺)-ATPase 의 활성도를 억제하고 있으므로 이온의 능동적 운반과 (Na⁺+K⁺)-ATPase 의 활성도는 서로 밀접한 관련을 가지고 있다는 것을 뒷받침하고 있는 것이다.

본 실험(Fig. 3)에서 (Na⁺+K⁺)-ATPase 에 인삼을 작용시키면 이 효소의 활성도는 촉진되는데 여기에 ouabain 을 작용시키면 인삼에 의한 촉진작용은 완전히 억제되고 인삼으로 촉진된 Mg⁺⁺-ATPase 의 활성도는 ouabain 으로 억제되지 않는다.

인삼으로 촉진되는 (Na⁺+K⁺)-ATPase 의 활성도는 특이하게 ouabain 으로 억제되므로 인삼은 세포막에서 이온의 능동적 운반을 촉진시키는 작용이 있다는 것을 더욱 뒷받침하고 있다.

Whittam¹³과 Glynn²⁵ 등은 양이온들은 세포막의 효소계에서 각기 다른 친화성을 가진 반응부위가 있어서 한쪽은 Na 이온에 의하여 다른 부위는 K 이온에 의하여 결합되어 활성화된다고 하고 이 (Na⁺+K⁺)-ATPase 는 세포막 내부측에는 Na 이온과 외부측에는 K 이온과 친화성을 가지고 있다고 주장한 바 있다. 한편 ghost 세포막은 K 이온이나 Na 이온에 대한 투과성이 높으니까 이온들이 반응액 내에 가해진다면 친화성을 가진 부위에 작용할 것이다.

반응액 내의 K 이온의 농도를 증가시키면서 (Na⁺+K⁺) ATPase 의 활성도의 변동과 여기에 인삼을 작용시킨 실험(Fig. 4)에서 Na 이온의 농도를 일정하게 유지하고 K 이온의 농도만을 증가시키면 농도의 증가에 따라서 이 효소의 활성도는 증가되고 일정한 농도에 도달하면 활성도의 증가는 나타나지 않는다. 이 현상은 K 이온의 증가로 인하여 K 이온과 친화성이 높은

부위가 K 이온으로 점유되는 것이 증가되어 효소의 활성도를 증가시키거나 이 반응부위가 K 이온의 농도증가로 포화되면 그 이상 활성도의 증가가 나타나지 않는 것으로 해석된다.

K 이온의 농도를 증가시키는데 따라서 인삼의 작용으로 인한 (Na⁺+K⁺)-ATPase 의 활성도의 증가율은 감소되었다(Table 1). K 이온의 농도가 낮은 부위에서 K 이온과 Na 이온의 농도비율은 낮아 있어 Na 이온이 K 이온의 반응부위에 치환이 일어나서 K 이온의 활성화효과는 낮아지나 Na 이온의 활성화효과는 높아지고 인삼의 K 이온의 반응부위와 친화성이 높아지나 K 이온의 농도가 높은 부위에서는 K 이온과 Na 이온으로 이온의 반응부위가 포화되면 인삼의 친화성이 감소되어 이 효소의 활성도의 증가율이 감소되는 것으로 사료된다.

K 이온의 농도를 일정하게 유지하고 Na 이온의 농도 증가로 나타나는 (Na⁺+K⁺)-ATPase 의 변동과 여기에 인삼을 첨가하여 나타나는 작용을 관찰한 실험(Fig. 5)에서 Na 이온의 증가에 따라서 이 효소의 활성도는 증가되며 Na 이온이 일정한 농도에 도달하면 그 이상 Na 이온의 농도를 증가시켜도 활성도는 증가되지 않았다.

Na 이온의 농도증가로 인한 활성도의 증가는 Na 이온의 증가로 Na 이온의 반응부위가 점유되는데 따라서 활성도가 증가되다가 이온의 반응부위가 Na 이온으로 포화되면 더 증가하지 못하는 것으로 해석된다.

Na 이온의 농도를 증가시키는데 따라서 인삼의 작용으로 나타나는 (Na⁺+K⁺)-ATPase 의 활성도의 증가율은 Na 이온의 농도가 낮은 부위에서는 증가되나 농도가 높아지는데 따라서 감소되었다(Table 2).

Na 이온의 농도가 낮은 부위에서는 K 이온과 Na 이온의 농도비율은 높아져 있어 K 이온이 Na 이온의 반응부위에 치환이 일어나서 Na 이온의 활성화효과는 감소되나 K 이온의 활성화효과는 증가되고 인삼이 Na 이온의 반응부위와 친화성이 증가되는 것으로 생각된다. Na 이온의 농도가 낮은 부위에서는 K 이온과 Na 이온의 농도비율은 낮아져서 Na 이온의 활성화효과가 증가될 것이나 양이온의 반응부위가 이온의 농도증가로 포화되면 인삼의 친화성이 감소되어 이 효소의 활성도의 증가율이 감소되는 것으로 해석된다.

K 이온이나 Na 이온의 이 효소에 대한 반응부위에 인삼은 결합할 수 있다는 것을 암시하고 있다.

Ca 이온은 낮은 농도에서 (Na⁺+K⁺)-ATPase 의 활성도를 증가시키고 높은 농도에서는 활성도를 감소시켜 Ca 이온의 최적농도는 0.5 mM 이다. 이 최적농도에서 인삼으로 촉진된 (Na⁺+K⁺)-ATPase 의 활성도

의 증가율은 Ca 이온의 농도가 낮을 때 비하여 증가되지 않는다. Ca 이온은 $(\text{Na}^+\text{+K}^+)\text{-ATPase}$ 의 활성도에 대한 인삼의 촉진작용에 아무 영향을 미치지 않는다.

반응액내에 인삼과 동시에 cysteine, lysine, histidine, aspartic acid 및 threonine 등을 각각 작용을 시켜서 $(\text{Na}^+\text{+K}^+)\text{-ATPase}$ 의 활성도의 변동을 관찰한 실험 (Fig. 7, 8, 9, 10, 11)에서 아무 영향이 나타나지 않았다. 이는 cysteine의 SH 기, lysine의 NH_2 기, histidine의 imidazole 기, aspartic acid의 COOH 기, 및 threonine의 OH 기가 인삼의 이 효소에 대한 촉진작용에는 아무 영향을 주지 않는 것으로 생각된다.

인삼에는 상당량의 saponin^{26,27}이 함유되어 있다는 바 이 saponin이 $(\text{Na}^+\text{+K}^+)\text{-ATPase}$ 의 활성도에 대한 인삼의 촉진작용에 관여하는지를 알고자 인삼에 saponin을 첨가한 실험 (Fig. 12)에서 saponin만을 $(\text{Na}^+\text{+K}^+)\text{-ATPase}$ 에 작용시키면 이 효소의 활성도를 증가시킨다. 그러나 같은 양의 saponin을 각각 40 mg%의 인삼과 100 mg%의 인삼에 동시에 첨가시키면 이 효소의 활성도는 증가되나 인삼의 농도 차이와는 관계없이 saponin의 첨가효과가 같이 나타난다.

인삼이 함유하고 있는 saponin이 이 효소의 활성도에 관여한다면 100 mg%의 인삼내에는 40 mg%의 인삼내보다 saponin의 함유량이 2.5배는 높아야 함으로 100 mg%의 인삼에 saponin을 작용시킬 때는 40 mg%의 인삼에 동량의 saponin을 첨가했을 때보다 saponin의 첨가작용으로 나타나는 $(\text{Na}^+\text{+K}^+)\text{-ATPase}$ 의 활성도도 2.5배가 증가되어야 할 것이다. 그러나 인삼의 농도차이에 관계없이 saponin의 첨가작용이 같이 나타난다는 것은 인삼의 이 효소의 활성도를 촉진시키는 작용은 인삼이 함유하고 있는 saponin과는 관련이 없이 다른 성분에 의한 작용으로 사료된다.

인삼은 세포막 내에 있는 $(\text{Na}^+\text{+K}^+)\text{-ATPase}$ 의 활성도를 증가시키는 것으로 미루어 보아 이 효소가 밀접한 관계가 있는 Na 이온을 세포막 외로 K 이온의 세포막 내로 능동적 운반을 하는 작용을 촉진시키는 작용이 있다는 것을 암시하고 있으나 인삼이 함유하고 있는 어느 성분이 이 작용에 관여하는지는 앞으로의 실험에 기대된다.

결 론

적혈구막 내에 있는 Na 이온과 K 이온으로 활성화되는 ATPase에 대한 인삼의 작용을 알고자 토끼 적혈구로 ghosts 세포를 만들어 $(\text{Na}^+\text{+K}^+)\text{-ATPase}$ 에 대

한 인삼의 작용과 작용기전도 아울러 실험하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 인삼은 $(\text{Na}^+\text{+K}^+)\text{-ATPase}$ 에 작용하여 활성도를 촉진시킨다. 인삼의 K_m 값은 15 mg%이다. 인삼의 이 효소에 대한 작용은 pH의 영향을 받으며 최적 pH는 7.6이다.

2) 인삼은 $(\text{Na}^+\text{+K}^+)\text{-ATPase}$ 의 활성도를 증가시키나 이 증가된 것은 ouabain으로 억제된다.

3) K 이온의 농도 증가로 $(\text{Na}^+\text{+K}^+)\text{-ATPase}$ 의 활성도에 대한 인삼의 작용은 증가되나 증가율은 감소된다. Na 이온의 농도증가로 인삼의 이 효소에 대한 활성도는 증가되나 증가율은 감소한다.

4) Ca 이온이 낮은 농도에서는 $(\text{Na}^+\text{+K}^+)\text{-ATPase}$ 의 활성도는 증가되고 높은 농도에서는 감소된다. 이 효소에 대한 인삼의 작용은 Ca 이온으로 활성도의 증가율은 변하지 않는다.

5) 인삼의 $(\text{Na}^+\text{+K}^+)\text{-ATPase}$ 의 활성도를 촉진시키는 작용에는 SH, NH_2 , imidazole, COOH, 및 OH 기등은 아무 영향을 주지 않는다.

6) 인삼이 함유하는 saponin은 인삼의 $(\text{Na}^+\text{-K}^+)\text{-ATPase}$ 의 활성도를 증가시키는 작용과는 관련이 없다.

참 고 문 헌

- 1) 李宇柱, 張靈雙, 李世珪 : 人蔘의 Histamine 遊離作用에 관한 研究. 최신의학 3:37, 1960.
- 2) 金惠聖 : 인삼이 Histamine의 모세혈관투과성 항진작용에 미치는 영향에 관한 연구. 중앙의학 5(2):235, 1963.
- 3) 鄭魯八 : 인삼의 효과에 관한 세포생리학적 연구. 대학생리학회지 5(1):15, 1971.
- 4) Hoffman, J.F.: The link between metabolism and the active transport of Na in human red cell ghosts *Federatiion Proc.* 19:127, 1960.
- 5) Post, R.L., C.R. Merrit, G.R. Kinsolving, and C.D. Albright: Membrane adenosinetriphosphatase as a participane in the active transport of sodium and potassium in the human erythrocyte. *J. Biol. Chem.* 237:1796, 1960.
- 6) Dunham, E.T., and I.M. Glynn: Adenosinetriphosphatase activity and the active movements of alkali metal ions. *J. Physiol. (London)* 156:274, 1961.

- 7) Rosenberg, S.A., and G. Guidotti: *The protein of human erythrocyte membranes. I. preparation, solubilization, and partial characterization.* *J. Biol. Chem.* 243:1985, 1968.
- 8) Fiske, C.H. and Y. Subbarow: *The coloremtric determination of phosphorus.* *J. Biol. Chem.* 65:375, 1925.
- 9) Duggan, D.E. and R.M. Noll: *Effects of ethacrynic acid and cardiac glycosides upon membrane adenosinetriphosphatase of renal cortex.* *Arch. Biochem.* 109:388, 1965.
- 10) Caldwell, P.C. and R.D. Keynes: *Effect of ouabain on efflux of sodium from squid giant axon.* *J. Physiol.* 148:8, 1959.
- 11) Judah, J.D., and K. Ahmed: *Inhibitors of transport and cation activated ATPase.* *J. Cell & Comp. Physiol.* 64:355, 1964.
- 12) Whittam, R.: *Asymmetrical stimulation of membrane adenosinetriphosphatase in relation to active cation transport.* *Biochem. J.* 84:110, 1962.
- 13) Bonting, S.L., and L.L. Caravaggio: *Sodium-potassium activated adenosinetriphosphatase in squid giant axon.* *Nature (London)* 194:1180, 1962.
- 14) Spater, H.W., A.B. Novikoff, and B. Masek.: *Adenosinetriphosphatase activity in cell membrane of kidney tubule cells.* *J. Biophys. & Biochem. Cytol.* 4:765, 1958.
- 15) Essner, E. A.B. Novikoff, and B. Masek.: *Adenosinetriphosphatase and 5-nucleotidase activities in plasma membrane of liver cells revealed by electron microscopy.* *J. Biophys. & Biochem. Cytol.* 4:711, 1958.
- 16) Schatzmann, J.H.: *Herzglykoside als Hemmstoffe für den aktiven kalium-und Natrium transport durch die Erythrocytenmembran.* *Helv. Physiol. Acta.* 11:346, 1953.
- 17) Glynn, I.M.: *The action of cardiac glycosides on sodium and potassium movements in human red cells.* *J. Physiol. (London)* 136:148, 1957.
- 18) Kofoed-Johnson, V.: *The effect of g-strophanthin (ouabain) on the active transport of sodium through the isolated frog skin.* *Acta Physiol. Scand.* 42, suppl. 145:87, 1958.
- 19) Whittam, R.: *Potassium movements and ATP in human red cells.* *J. Physiol. (London)* 140:479, 1958.
- 20) Skou, J.C.: *Further investigations on a (Mg⁺⁺ + Na⁺) activated adenosinetriphosphatase possible related to the active, linked transport of Na⁺ and K⁺ across the nerve membrane.* *Biochem. Biophys. Acta.* 42:6, 1960.
- 21) Skou, J.C.: *Preparation from mammalian brain and kidney of the enzyme system involved in active transport of Na⁺ and K⁺.* *Biochem. Biophys. Acta.* 58:314, 1962.
- 22) Kahn, J.B. and G.H. Acheson: *Effects of cardiac glycosides and other lactones, and of certain other compounds, on cation transfer in human erythrocytes.* *J. Pharmacol. Ethpel. Therap.* 115:305, 1955.
- 23) Solomon, A.K., T.J. Gill, and G.L. Gold: *The kinetics of cardiac glycosides inhibition of potassium transport in human erythrocytes.* *J. Gen. Physiol.* 40:327, 1956.
- 24) Gill, T.S. and A.K. Solomon: *Effect of ouabain on sodium flux in human red cells.* *Nature* 83:1127, 1959.
- 25) Glynn, I.M.: *Activation of adenosinetriphosphatase activity in a cell membrane by external potassium and internal sodium.* *J. Physiol.* 160:18, 1962b
- 26) Hiroshi Saito: *Pharmacological properties of panax ginseng roots.* *Metabolism and disease.* 10:556, 1973.
- 27) Osamu, Tanaka: *Chemical constituents of ginseng* *Metabolism and disease.* 10:548, 1973.