

人蔘Saponin의 酸加水分解物이 Epididymal Adipose Tissue의 脂肪代謝에 미치는 影響

都在浩, 金相達, 奥田拓道*

韓國人蔘煙草研究所

愛媛大學 醫學部 第2生化學教室*

(1982년 7월 7일 접수)

Effect of Acid Hydrolyzates of Ginseng Saponins on Lipid Metabolism in Rat Epididymal Adipose Tissue

Jae-Ho Do, Sang-Dal Kim, and Hiromichi Okuda*

Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Seoul, Korea

2nd Department of Medical Biochemistry, School of Medicine, Ehime University,*

Ehime, Japan

(Received July 7, 1982)

Abstract

Studies were carried out to clarify the effect of ginsenoside-Rb₁-Rb₂ and acid hydrolyzates of ginsenoside-Rb₁, -Rb₂ (HRb₁, HRb₂) on lipolysis and lipogenesis induced by epinephrine, glucagon, ACTH (adrenocorticotrophic hormone), TSH (thyroid-stimulating hormone) and insulin in rat adipose tissue. HRb₁, HRb₂ slightly inhibited lipolysis induced by epinephrine, glucagon and TSH. ACTH-induced lipolysis in fat tissue slices was significantly inhibited by ginsenoside-Rb₁, -Rb₂, HRb₁ and HRb₂, particularly HRb₂. None of ginsenoside-Rb₁, -Rb₂, HRb₁ and HRb₂ accelerated insulin-stimulated lipogenesis in fat cells. Among ginseng products, extract powder (freeze dried), extract powder (spray dried), red ginseng powder inhibited ACTH-induced lipolysis in adipose tissue slices, but red ginseng extract not affect them.

I. 緒 論

人蔘 saponin에 對한 研究는 1854年 Garriques¹⁾가 Canada産의 美國人蔘으로부터 얻은 無晶形物質(C₃₂H₅₆O₁₄)을 panaquilon이라고 命名한 것에서 始作되었다. 그 後 1889年 Davydow²⁾, 1906年 朝比奈³⁾, 1915年 近藤⁴⁾, 1930年 小竹⁵⁾, 1961年 Höhrhammer等⁶⁾에 이어서 1962年 Wagner - Jauregg等⁷⁾, Shibata等⁸⁾에 依해 人蔘 saponin의 研究가 활발하게 進行되었다. 田中¹⁰⁾는 人蔘 saponin을 thin layer chromatography에 依해서 Rf値가 낮은 것으로 부터 ginsenoside - Ro, - Ra, - Rb₁, - Rb₂, - Rc, - Rd, - Re, - Rf, - Rg₁, - Rg₂, - Rg₃, - Rh로 命名했다.

人蔘 saponin의 生物活性에 對해서 齊藤¹¹⁾은 ginsenoside-Rb₁을 主成分으로 하는 20(S)-protopanaxadiol系 saponin이 中樞神經抑制作用이 있다는 것을 確認했으며 ginsenoside-Rg₃은 20(S)-protopanaxatriol系의 主된 saponin으로서 中樞神經에 對해서 興奮作用을 나타낸다고 하였다. 그 外에 ginsenoside-Rg₃는 血球凝集作用이 있으며 -Rb₁은 細胞壽命延長效果 및 adjuvant 效果(Rd는 抑制效果)가 認定되었다¹²⁾. 또 ginsenoside - Rb₁, -Rc, -Rd, -Re, -Rg₃의 血清 및

肝臟 Cholesterol 合成促進^{13,15}, -Rb₁, -Rb₂의 血清蛋白의 合成促進^{16,17} 및 核 RNA 合成促進 効果^{18,19} 등이 있다고 報告되고 있다.

한편, Okuda는 人蔘의 成分中에서 antilipolytic activity를 가지고 있는 peptide²⁰ (14개의 amino acid로 構成되어 있음, 分子量 約 1,400)와 adenosine²¹을 分離하였으며 adrenaline의 脂肪分解에 對해서는 人蔘saponin이 別 影響을 미치지 못했으나 ACTH가 誘導하는 脂肪分解는 상당히 抑制시켰으며 脂肪合成도 促進시켰다고 報告하였다²².

筆者等은 ginsenoside-Rb₁, -Rb₂가 脂肪分解抑制力이 있다는 事實은 認定하고 있으나 ginsenoside-Rb₁, -Rb₂의 酸加水分解物이 몇가지 脂肪分解를 促進하는 hormone과 脂肪合成을 促進하는 hormone인 insulin에 對해서 어떤 影響을 미치는 가를 調査한 結果 ACTH에 對해서 ginsenoside-Rb₁, -Rb₂보다 ginsenoside-Rb₁, -Rb₂의 酸加水分解物이 強力한 脂肪分解抑制力을 나타 내었기에 그 結果를 報告하는 바이다.

II. 材料 및 方法

1. 試料

本 實驗에 使用된 試料는 ginsenoside-Rb₁, -Rb₂, 紅蔘精粉(冷凍乾燥品, 噴霧乾燥品), 紅蔘粉末, 紅蔘water extract等이며 ginsenoside-Rb₁, -Rb₂의 酸加水分解物은 Fig. 1 과 같이 調製하여 使用하였다.

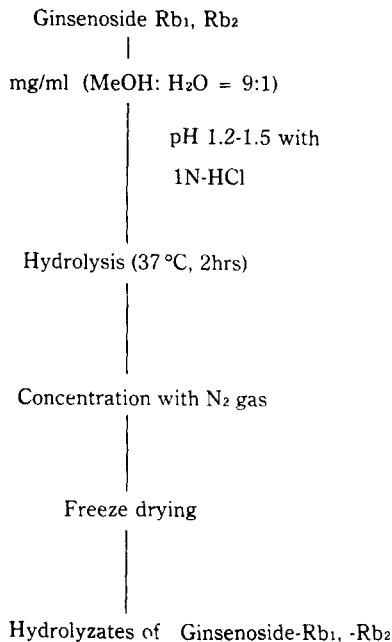


Fig. 1. Preparation of acid hydrolyzates of ginsenoside-Rb₁ and -Rb₂

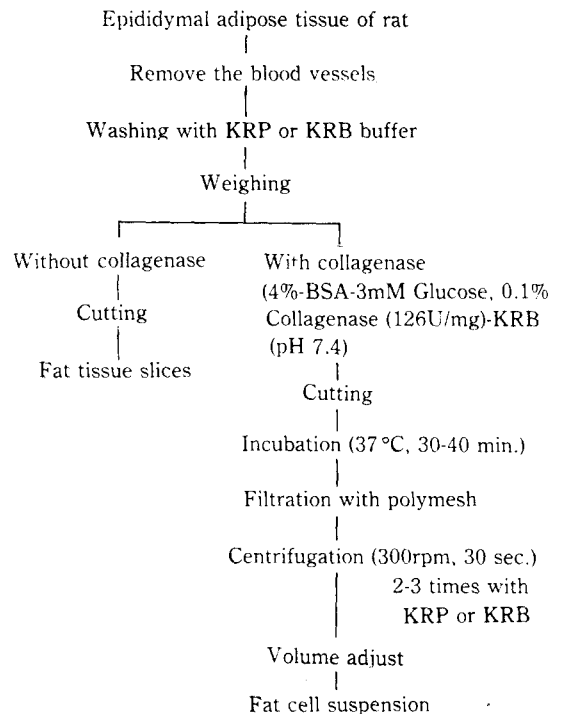


Fig. 2. Preparation of fat cells and fat tissue slices from epididymal adipose tissue of rat.

2. Epididymal adipose tissue slices 및 fat cells 의 調製

Wistar king strain rats(male, 100~150g)를 Rodbell²¹⁾의 方法에 依해서 epididymal adipose tissue를 신속히 切斷하여 Fig. 2와 같은 方法으로 調製하여 使用하였다.

3. 緩衝液

KRP buffer solution(Krebs Ringer Phosphate buffer)은 TSH, glucagon, epinephrine이 誘導하는 脂肪分解實驗에 使用했으며 NaCl 6.3g/700ml H₂O, KCl 0.32g/28ml H₂O, MgSO₄·7H₂O 0.27g/7 ml H₂O, 0.25M phosphate buffer (pH7.4) 147ml를 混合하여 pH7.4로 調節하여 使用하였다.

KRB buffer solution(Krebs Ringer Bicarbonate buffer)은 ACTH가 誘導하는 脂肪分解實驗 및 insulin이 誘導하는 脂肪合成實驗에 使用했으며 그 組成은 다음과 같다. 즉, KH₂PO₄ 163mg, KCl 350mg, NaCl 6.8g, NaHCO₃ 2.1g을 증류수에 녹여 全량을 100ml로 하였다(a액). 한편, CaCl₂·2H₂O 368mg을 증류수에 녹여 全량을 100ml로 하였다(b액). a溶液과 b溶液을 使用時에 9:1(V/V)의 比率로 混合하여 pH7.4로 調節한 後 使用하였다.

4. Dole's Extract Mixture(EM solution)

脂肪分解 및 脂肪合成反應을 停止시키기 위해서 使用했으며 isopropyl alcohol 400ml와 n-heptane 100ml, 1N-H₂SO₄ 10ml를 混合한 것이다.

5. 脂肪分解

供檢試驗管에 0.25ml의 fat tissue slices(約 100mg에 상당함)와 0.1ml의 試料溶液, 0.1ml의 hormone溶液, 0.5ml의 5%-bovine serum albumin을 含有하는 KRP buffer溶液(ACTH의 경우 KRB buffer溶液)을 加하여 37°C에서 2時間 incubation시킨 後 EM solution을 5ml 加하여 反應을 停止시켰다. 5分間 振盪한 後 n-heptane 3ml와 증류수 2ml를 加하여 다시 5分間 振盪하여 n-heptane층 3ml를 取하고 여기에 thymol blue溶液(thymol blue 30mg을 증류수 30ml에 溶解시켜 ethyl alcohol을 加하여 300ml로 한것)1ml를 加하여 N₂gas를 通하면서 0.008-NaOH(4g의 NaOH를 증류수 10ml에 녹여서 그중 0.4ml를 500ml의 ethyl alcohol에 加한 것) 溶液으로 Dole의 方法²²⁾에 依하여 生成된 遊離脂肪酸을 測定하였다.

6. 脂肪合成

供檢試驗管에 5%-bovine serum albumin을 含有하는 KRB buffer溶液 0.5ml(O₂ bubbling, O₂:CO₂=95:5)와 0.25ml(ginsenoside+insulin 混合處理時) 또는 0.13ml(ginsenoside 단독處理時)의 fat cell suspension(O₂ bubbling)을 混合하여 마개를 막고 37°C에서 30分間 pre-incubation시킨 後 10 μ U insulin溶液 0.1ml와 100 μ g/ml 濃度の 各 ginsenoside 0.1ml의 混合溶液 또는 100 μ g/ml 濃度の 各 ginsenoside 0.1ml를 加하고 여기에 0.5 μ ci ¹⁴C-glucose溶液 0.05ml 및 0.12ml의 KRB buffer(ginsenoside 단독處理時)를 加하여 O₂ bubbling 한 後 다시 마개를 막고 37°C에서 30分間 incubation시켰다. EM solution 5ml를 加하여 反應을 停止시킨 後 5分間 振盪하고 n-heptane 3ml와 증류수 2ml를 加하여 다시 5分間 振盪하였다. n-Heptane층을 3ml取하고 여기에 0.05N-NaOH가 含有된 50% ethyl alcohol 3ml를 加하여 5分間 遠心分離(3,000rpm)하여 上層 1ml에 10ml의 Toluene Scintillant를 加해서 Rackard Model 3330 TRI-CARB Liquid Scintillation Spectrometer로 脂肪合成能을 測定하였다.

7. 試藥

本 實驗에 使用한 試藥中 ACTH(adrenocorticotrophic hormone)와 epinephrine은 日本 第一製藥, TSH(thyroid-stimulating hormone, from bovine pituitary), glucagon(crystalline, extracted from a mixture of bovine & porcine pancreas), insulin (from bovine pancreas)은 Sigma社, ¹⁴C-glucose(NEC-042 Glucose D-[¹⁴C(U)]-1.0mci 2.2mci/m mol)은 New England Nuclea 社의 製品을 使用하였으며 toluene scintillant는 DOTITE DPO(2,5-Diphenyloxazole) 12g과 POPOP(1,4-Bis[2-5-Phenyloxazolyl]-benzene)0.3g을 3ℓ의 toluene에 溶解시킨 것을 使用하였다. 그의 試藥은 特級 또는 一級試藥을 使用하였다.

III. 結果 및 考察

1. Epinephrine에 對한 影響

Adipose tissue slices를 使用하여 epinephrine이 誘導하는 脂肪分解에 미치는 ginsenoside-Rb₁, -Rb₂ 및 ginsenoside-Rb₁, -Rb₂의 酸加水分解物의 影響을 調査한 結果는 Fig. 3과 같다.

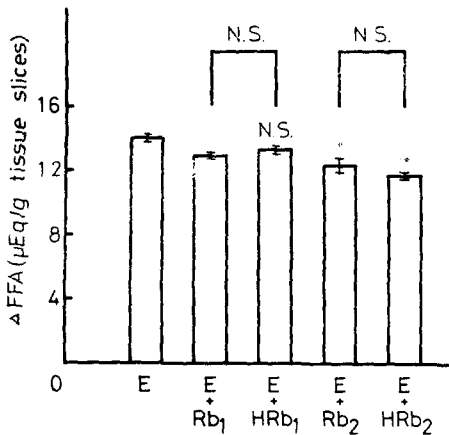


Fig. 3. Effects of ginsenosides on epinephrine-induced lipolysis in rat adipose tissue slices.

* : P<0.05 ** : P<0.001
 N.S. : not significant E : Epinephrine
 Rb₁ : ginsenoside-Rb₁ Rb₂ : Ginsenoside-Rb₂
 HRb₁ : hydrolyzate of ginsenoside-Rb₁
 HRb₂ : hydrolyzate of ginsenoside-Rb₂

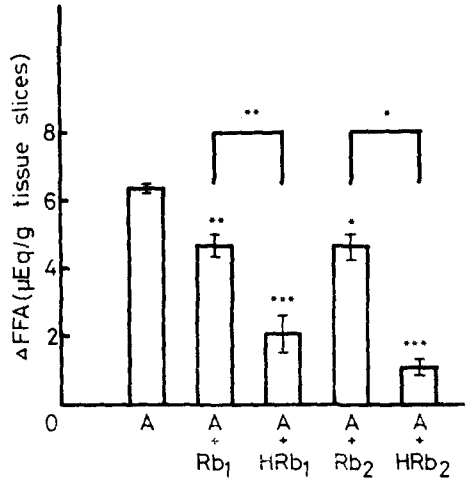


Fig. 4. Effects of ginsenosides on ACTH-induced lipolysis in rat adipose tissue slices.

* : P<0.02 ** : P<0.01 *** : P<0.001
 A : adrenocorticotrophic hormone
 Rb₁, Rb₂, HRb₁, HRb₂ are same as Fig. 3

脂肪分解沮害度가 15.3%인 ginsenoside-Rb₂의 酸加水分解物을 除外하고는 거의 影響을 미치지 않았다. 이것은 Ohminami²² 등의 9가지 人蔘 saponin이 epinephrine이 誘導하는 脂肪分解에 미치는 影響에 對해서 調査한 結果와 一致한다.

2. ACTH에 對한 影響

ACTH는 Ca²⁺의 存在下에서 活性을 나타내기 때문에 KRB buffer를 使用하여 100mM가 誘導

하는 지방분해에 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 4와 같다.

Saponins을 20 μ g/ml와 100 μ g/ml의 농도로 하여 ACTH가誘導하는 지방분해에 미치는 영향을 조사했을때 20 μ g/ml의 농도에서는 거의 영향을 미치지 못했으나 100 μ g/ml의 농도에서는 ginsenoside-Rb₁이 30%, -Rb₂가 58%의 지방분해를 阻害시켰다는 報告²³⁾와 ginsenoside-Rb₁이 ACTH가誘導하는 지방분해를 阻害했다는 Saito의報告와 類似하게 본 實驗에서도 ginsenoside-Rb₁, -Rb₂가 27%程度의 지방분해를 阻害시켰으며 HRb₁, HRb₂가 各各 67%, 83%의 阻害率을 나타내었다. 이것은 ginsenoside-Rb₁, -Rb₂를 酸加水分解 시킴으로서 지방분해를 더 抑制했다고 推測되며 ACTH가誘導하는 지방분해에 對해서는 強力한 阻害能이 있다고 생각된다.

3. Glucagon에 對한 影響

Lipolytic hormone이며 hyperglycemic-glycogenolytic factor인 glucagon(最終濃度 1 \times 10⁻⁶M)이誘導하는 지방분해에 ginsenoside-Rb₁, -Rb₂, HRb₁ 및 HRb₂가 어떤 영향을 미치는 가를 조사한 결과는 Fig. 5와 같이 HRb₂가 15.7%의 阻害率을 나타낸 것을 除外하고는 거의 영향을 미치지 못했다.

4. TSH에 對한 影響

TSH(最終濃度 20mIU/ml)가誘導하는 지방분해에 미치는 ginsenoside-Rb₁, -Rb₂, HRb₁, HRb₂의 영향을 조사한 결과는 Fig. 6과 같다. Ginsenoside-Rb₁과 HRb₁이 約 16%의 지방분해를 阻害했으며 ginsenoside-Rb₂는 22%, HRb₂는 31%의 阻害率을 나타내었다. 이 결과로서 ginsenoside-Rb₁의 酸加水分解가 지방분해抑制에 對해서는 별 영향을 미치지 못했으나 ginsenoside-Rb₂의 酸加水分解는 約 10%程度의 지방분해를 더 抑制시킬 수 있다는 것을 알 수 있다.

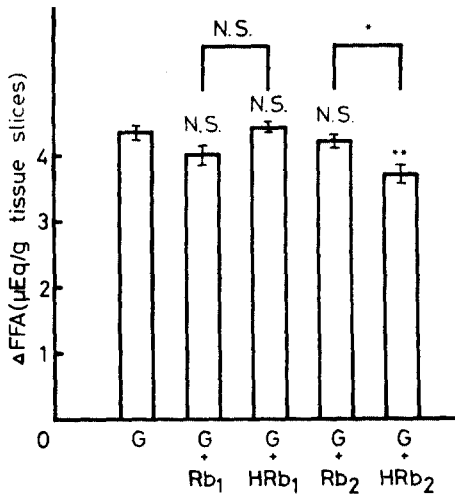


Fig. 5. Effects of ginsenosides on glucagon-induced lipolysis in rat adipose tissue slices.

* : P<0.02 ** : P<0.01
N.S. : not significant G : Glucagon
Rb₁, Rb₂, HRb₁, HRb₂ are same as Fig. 3.

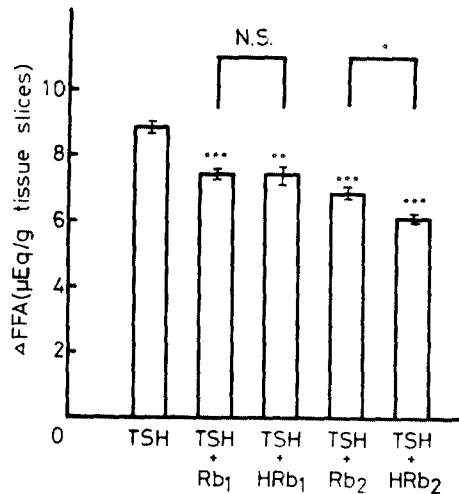


Fig. 6. Effects of ginsenosides on TSH-induced lipolysis in rat adipose tissue slices

* : P<0.02 ** : P<0.005 *** : P<0.001
TSH : thyroid stimulating hormone
N.S., Rb₁, Rb₂, HRb₁, and HRb₂ are same as Fig. 3.

5. ACTH가 誘導하는 脂肪分解에 미치는 人蔘製品の 影響

4 種의 脂肪動員을 促進하는 hormone이 誘導하는 脂肪分解에 對해서 酸加水分解된 HRb₁, HRb₂가 ginsenoside-Rb₁, -Rb₂보다 脂肪分解를 더 阻害시킨 것으로 나타났으며 특히 ACTH가 誘導하는 脂肪分解에 對해서는 그 阻害度가 상당히 크게 나타났기 때문에 ACTH가 誘導하는 脂肪分解에 對해서 몇가지 人蔘製品이 어떠한 影響을 미치는 가를 調査한 結果는 Fig. 7과 같이 紅蔘精粉(冷凍乾燥)이 32.6%, 紅蔘精粉(噴霧乾燥)이 13.0%, 紅蔘粉末이 28.3%의 阻害率을 나타내었다.

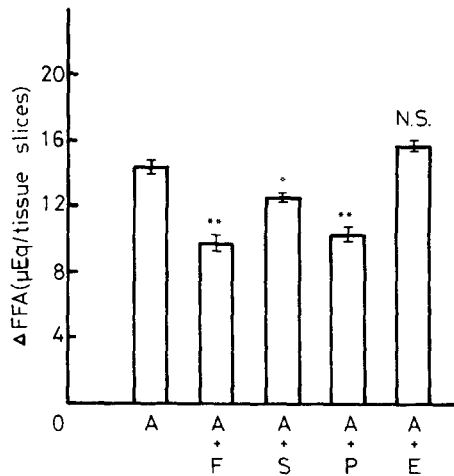


Fig. 7. Effects of red ginseng products on ACTH- induced lipolysis in rat adipose tissue slices

*: P<0.01

** : P<0.001

N.S. : not significant, A : adrenocorticotrophic hormone, F : freeze drying of red ginseng water extract, S : spray drying of red ginseng water extract, P : red ginseng powder, E : red ginseng water extract

6. 脂肪合成에 미치는 影響

Ginsenoside-Rb₁, -Rb₂와 ginsenoside-Rb₁, -Rb₂의 酸加水分解物(HRb₁, HRb₂)이 ACTH가 誘導하는 脂肪分解를 強하게 抑制시켰는데 반면에 脂肪合成에는 이들이 어떤 影響을 미치는 가를 調査하기 위해서 insulin溶液과 各 ginsenoside 溶液의 混合處理 또는 各 ginsenoside單獨으로 處理시켜서 脂肪合成能을 調査한 結果는 Fig. 8과 같다.

Fig. 8에서 보는바와 같이 ginsenoside-Rb₁, -Rb₂, HRb₁, HRb₂모두 脂肪合成에는 거의 影響을 미치지 못했다. 이 結果는 ginsenoside-Rbc group, -Rb₂, -Rbc, -Rg group, -Rg₁, -Rg₂, -Rh₁에 依해서 脂肪合成(insulin 混合處理時)이 阻害된 反面에 ginsenoside-Rb₁, -Rc는 脂肪分解를 阻害하지 않았다는 Ohminami等の 報告²⁷⁾와는 약간 相反된다.

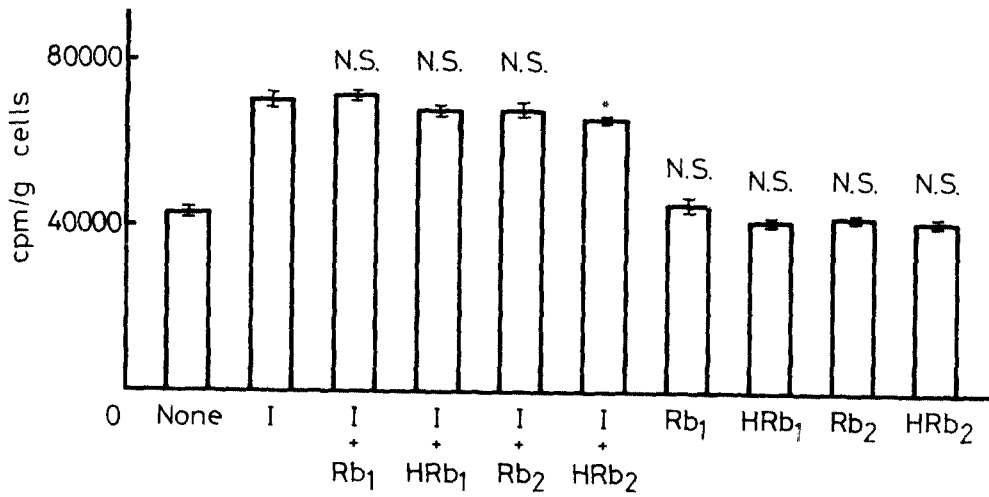


Fig. 8. Effects of ginsenosides on insulin-stimulated lipogenesis from glucose in rat adipose cells

* : P < 0.05 N.S. : not significant I : Insulin Rb₁, Rb₂, HRb₁, HRb₂ are same as Fig. 3.

要 約

Ginsenoside-Rb₁, -Rb₂와 ginsenoside-Rb₁, -Rb₂의 酸加水分解物이 epinephrine, ACTH, glucagon, TSH 및 insulin이 誘導하는 脂肪分解 및 脂肪合成에 미치는 影響을 調査한 結果를 要約하면 다음과 같다.

Ginsenoside-Rb₁, -Rb₂보다 ginsenoside-Rb₁, -Rb₂의 酸加水分解物인 HRb₁, HRb₂가 epinephrine, TSH, glucagon이 誘導하는 脂肪分解를 약간 더 抑制하는 경향이였다. HRb₁, HRb₂는 ginsenoside-Rb₁, -Rb₂보다 ACTH가 誘導하는 脂肪分解를 더 強하게 抑制시켰으며 HRb₂는 83%의 脂肪分解를 抑制시켰다. 人參製品中 紅參精粉(냉동건조), 紅參精粉(분무건조) 紅參粉末이 ACTH가 誘導하는 脂肪分解를 抑制시켰다. HRb₁, HRb₂, ginsenoside-Rb₁, -Rb₂모두 脂肪合成을 促進시켰다.

参 考 文 献

1. Garriques, S. : *Ann. Chem. Pharm.*, **90**, 231(1854)
2. Davydow : *Pharm. Zeitschr. Russland.*, **29**, 97(1889)
3. 朝比奈泰彦, 田口文太 : *藥學雜誌*, **25**, 549(1906)
4. 近藤平三郎, 田中治 : *藥學雜誌*, **35**, 779(1915)
5. 小竹無二郎 : *日化*, **51**, 357(1930)
6. Höhrhammer, L., Wagner, H., Lay, B. : *Pharm. Ztg.*, **106**, 1307(1961)
7. Wagner-Jauregg, Th., Roth, M. : *Pharm. Acta. Helv.*, **37**, 352(1962)
8. Shibata, S., Fujita, M., Itokawa, H., Tanaka, O., Ishij, T. : *Tetrahedron Lett.*, **10**, 419(1962)
9. Shibata, S., Fujita, M., Itokawa, H., Tanaka, O., Ishij, T. : *Chem. Pharm. Bull.*, **11**, 759(1963)

10. 田中治：代謝, **10**, 監時増刊號 和漢藥, 548 (1973)
11. 齊藤 洋：藥用人蔘セミナー講演要旨集, 15 (1979)
12. 庄司順三：化學の領域, **35**, 414 (1981)
13. Sakakibara, K., Shibata, Y., Higashi, T., Sanada, S., Shoji, J. : *Chem. Pharm. Bull.*, **23**, 1009 (1975)
14. Gommori, K., Miyamoto, F., Shibata, Y., Higashi, T., Sanada, S., Shoji, J. : *Chem. Pharm. Bull.*, **24**, 2985 (1976)
15. Ikehara, M., Shibata, Y., Higashi, T., Sanada, S., Shoji, J. : *Chem. Pharm. Bull.*, **26**, 2844 (1978)
16. Shibata, Y., Nozaki, T., Higashi, T., Sanada, S., Shoji, J. : *Chem. Pharm. Bull.*, **24**, 2818 (1976)
17. Shibata, Y., Natsuno, Y., Higashi, T. : *Chem. Pharm. Bull.*, **26**, 3822 (1978)
18. Iijima, M., Higashi, T., Sanada, S., Shoji, J. : *Chem. Pharm. Bull.*, **24**, 2400 (1976)
19. Iijima, M., Higashi, T. : *Chem. Pharm. Bull.*, **27**, 2130 (1979)
20. Okuda, H. : *Proceedings of the 2nd International Ginseng Symposium*, 75, Korea Ginseng Research Institute, Korea (1978)
21. Okuda, H., Yoshida, R. : *Proceedings of the 3rd International Ginseng Symposium*, 53, Korea Ginseng Research Institute, Korea (1980)
22. Ohminami, H., Kimura, Y., Okuda, H., Tani, T., Arichi, S., Hayashi, T. : *Planta medica*, **41**, 351 (1981)
23. Saito, Y., Matsuoka, N., Yamamoto, M., Kumagai, A. and Okuda, H. : *Proc. Sym. WAKAN-YAKU*, **10**, 93 (1977)
24. Rodbell, M. : *J. Biol. Chem.*, **239**, 375 (1964)
25. Dole, V. P. : *J. Clin. Invest.*, **35**, 150 (1956)