

사람 혈소판으로부터 serotonin 방출반응에 대한 홍삼의 물 추출물 및 petroleum ether 추출물의 억제 효과

박화진^{1*} · 고성룡²

¹인제대학교 보건대학 임상병리학과, ²한국 인삼 연초 연구원
(1998년 4월 22일 접수)

Inhibitory Effect of Water- or petroleum Ether-extract from Red Ginseng on Serotonin Release from Human Platelets (Comparative Study Between 6-year and 4-year Old of Red Ginseng)

Hwa-Jin Park^{1*} and Sung-Ryong Ko²

¹Department of Medical Laboratory Science, College of Health Science, Inje University 607,
Obang Dong, Kimhae, 627-749, Korea

²Department of Analytic Chemistry, Korea Ginseng & Tobacco Research Institute,
Taejon 305-345, Korea

***To whom correspondence should be addressed*
(Received April 22, 1998)

Abstract : It was founded that an X-compound is contained in extracts from the root of 6-year old red ginseng (6RG) compared with that from the root of 4-year old red ginseng(4RG). Both water extract and petroleum ether extract (PEII) from 6RG or 4RG inhibited the release of [³H]-serotonin induced by platelet activating factor (PAF; 40 ng/ml). Water extract and PEII from 6RG inhibited potently PAF-induced [³H]-serotonin release compared with those from 4RG. X-compound out of both water extract and PEII from 6RG inhibited the release of [³H]-serotonin induced by collagen (100 µg/ml) or thrombin(20 U/ml). X-compound had a synergistic effect with water extract from 4RG on collagen-and thrombin-induced [³H]-serotonin release out of human platelets. The concentration(IC₅₀) of X-compound that require to inhibit 50% of [³H]-serotonin-release was 3.25 µg/ml, and it is inferred that maximum concentration of X-compound that inhibits the release of [³H]-serotonin is 10 µg/ml. Because thrombosis is resulted mainly from the irreversible aggregations which are intimately related with the serotonin release and migraine is also caused when serotonin is released, it is inferred that water extract, PEII and X-compound from 6RG have antithrombosis and antimigrainous functions by inhibiting the release of serotonin from human platelets.

Key words : 6-and 4-year old ginseng, petroleum ether extract, water extract, X-compound of 6-year old red ginseng, inhibition of serotonin release.

서 론

인삼은 재배환경(기후, 토양 등) 및 그 종에 따라 인삼의 주요 구성 성분 또는 그 효능에 많은 차이가

있다고 하는 것이 현재의 지배적인 상식이고, 최근 중국에서 재배한 고려인삼과 서양삼의 다량 유입으로 인하여 시장 개척은 고사하고 현재의 시장을 그대로 유지해 가는 것이 어려운 상황에 처해 있을 뿐만 아니

라 6년근과 4년근 홍삼의 비교 우위성도 문제시되고 있다. 따라서, 6년근 홍삼 및 4년근 홍삼이 혈전 및 편두통 유발과 관련 있는 serotonin 방출반응에 미치는 영향을 검토하는 것이 본 연구의 목적이다. Serotonin은 일반적으로 소화기관, 혈소판 및 중추신경계에서 발견되지만, 혈소판의 dense bodies에 가장 많이 농축되어 있고,¹⁾ platelet activating factor(PAF), collagen, ADP, thrombin등에 의해 자극을 받았을 때 혈소판으로부터 방출된다.²⁻⁵⁾ Thrombosis는 serotonin의 방출반응과 밀접하게 관련 있는 혈소판의 비가역적 응집에 기인하고,²⁻⁵⁾ 편두통의 주요 원인 물질은 혈소판으로부터 방출되는 serotonin이다.^{6,7)} 본 연구에서 놀랍게도 4년근 및 6년근 홍삼의 물 추출물, ethanol 추출물, methanol 추출물, acetone 추출물, chloroform 추출물 및 petroleum ether 추출물(PEII)을 가지고 성분조사를 하던 중, 6년근의 물 추출물, ethanol 추출물, methanol 추출물 및 petroleum ether 추출물에는 4년근의 그것에는 함유되어 있지 않은 어떤 X-compound가 존재하고 있었고, 4년근 및 6년근의 acetone 추출물 및 chloroform 추출물에는 똑같이 X-compound가 함유되어 있었다.⁸⁾ 홍삼 6년근의 PEII는 thrombin(20 U/ml)이 유인한 [³H]-serotonin 방출반응을 억제했고,^{9,10)} *in vitro* 및 *in vivo*에서 cyclic guanosine monophosphate(cGMP)의 생성을 촉진시킴으로써 thrombin 및 collagen이 유인한 혈소판 응집반응을 억제시켰기 때문에^{11,12)} 이들 추출물 중 6년근 홍삼의 PEII와 4년근 홍삼의 PEII를, 또한 인삼을 음용한다는 차원에서 6년근 및 4년근의 물 추출물을 가지고 PAF, collagen 및 thrombin에 의한 [³H]-serotonin 방출반응에 미치는 효과를 비교 조사하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험재료

본 연구에 사용한 시료는 한국담배인삼공사에서 제조한 4년근 및 6년근의 홍삼으로써 표준화된 것이며, 한국인삼연구소연구원에서 물, methanol, ethanol, chloroform, acetone 및 petroleum ether등의 용매로 추출한 시료를 제공 받았다. PAF(platelet activating factor), thrombin, collagen 및 다른 reagent들은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, Mo, USA)에서 5-Hy-

droxy [³H]-tryptamine(creatinine sulphate)은 Amersham Life Science Co.에서, 그리고, 건강한 사람의 platelet-rich plasma(PRP)는 부산 적십자 혈액원에서 구입하였다.

2. Serotonin loading

부산 적십자 혈액원에서 구입한 건강한 사람의 PRP를 125×g에서 10분 동안 25°C에서 원심한 후 적혈구를 제거시키고, PRP 40 ml에 5-Hydroxy [³H]-tryptamine(serotonin, 1 μM)을 첨가하여 37°C에서 60분간 incubation한 후 1,100×g에서 10분 동안 원심분리하고, 침전물인 platelets를 Tris-citrate-bicarbonate buffer(129 mM NaCl, 10.9 mM Na·Citrate, 8.9 mM NaHCO₃, 1 mg/ml glucose, 10 mM Tris-Hydroxymethylamino methane, 2.8 mM KCl, 0.8 mM KH₂PO₄, 2 mM EDTA, pH 6.5)¹³⁾에서 2회 세척 후, EDTA가 함유되어있지 않은 Tris-citrate-bicarbonate buffer(pH 6.9)¹³⁾로 suspending하였다. 혈소판은 EDTA가 함유되어 있지 않은 Tris-citrate-bicarbonate buffer(pH 6.9)¹³⁾에서 5×10⁸ cells/ml로 조정하였다.

3. Serotonin 방출 반응

CaCl₂ 2 mM을 함유하는 platelets(10⁸/ml)에 4년근 또는 6년근 홍삼 추출물 및 X-compound를 첨가 또는 첨가하지 않은 상태에서 반응 tube(반응계 0.5 ml)를 37°C에서 stirring하면서 2분 동안 preincubation시킨 다음 PAF(40 ng/ml), thrombin(20 U/ml) 또는 collagen(100 μg/ml)을 첨가하여 5분 동안 반응시켰다. 반응은 16.5% formaldehyde로 정지시키고, 그 후 즉시 25°C에서 1,100×g로 10분간 원심하여 생긴 상층액 300 μl를 Scint A-XF(Packard) 10 ml가 함유된 scintillation vial에 첨가하여 liquid scintillation counter로 cpm을 측정하였다. Serotonin의 방출은 Costa and Murphy의 방법¹⁴⁾에 따라 방출율(%)을 계산하였다. Petroleum ether 추출물과 이것으로부터 제조한 X-compound는 dimethylsulfoxide(DMSO)에 녹여 사용하였기 때문에, serotonin 방출율(%)은 DMSO의 효과를 적용시켜 계산하였다. 본 실험에 사용한 petroleum ether extract의 희석 농도(15 μl)에 해당하는 DMSO에 의해서는 [³H]-serotonin은 8.6% 방출되었다. 역시 PAF도 DMSO에 용해시켜 1 mg/ml로 재조합하였지만, 본 실험에 사용한 PAF의 희석 농도(40 ng/ml, 반응계 500

μl)에 해당하는 DMSO에 대해서는 [^3H]-serotonin이 방출되지 않았다.

결과 및 고찰

1. Serotonin 방출반응에 미치는 효과

(1) PAF에 의해 유인된 [^3H] serotonin 방출반응에 미치는 효과

Platelet-activating factor(PAF, 1-0-alkyl-2-acetyl-sn-glycerophosphocholine)는 platelet, macrophage, leukocytes 및 basophils 등의 세포에서 분비되는 phospholipid로서^{15, 16)} autacoid적인 작용으로 혈소판의 응집과 serotonin 방출 반응을 촉진시킬 뿐만 아니라 hypotension, 혈관 투과성 증가, 염증, 천식, 기관지 수축 등 다양한 생리활성을 가지고 있는 것으로 알려져 있다.¹⁷⁾ Petroleum ether extract(PEII)가 함유되어 있지 않은 혈소판($10^8/\text{ml}$) suspension 용액에 PAF(40 ng/ml)를 첨가하여 5분 동안 반응시켰을 때 약 $70 \pm 4\%$ ($n=4$)만큼의 [^3H]-serotonin이 방출되었고, 이것을 100%로 하였을 때 4년근(4RG) 및 6년근 홍삼(6RG)의 PEII가 [^3H]-serotonin 방출반응에 미치는 영향을 표시한 것이 Fig. 1이다. 4RG의 PEII(4PEII) 및 6RG의 PEII(6PEII)는 모두 PAF(40 ng/ml)가 유인한 [^3H]-serotonin의 방출반응을 억제했고, 그 억제 정도는 6PEII에 의한 것이 더 강했다

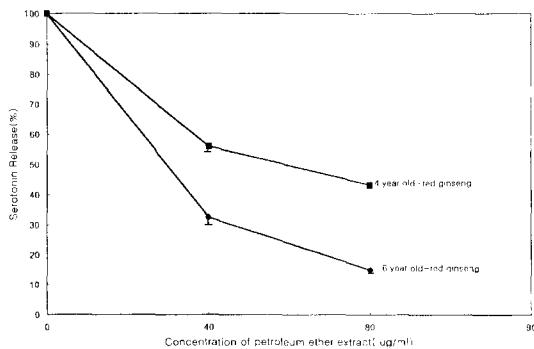


Fig. 1. Effect of petroleum ether extract from 4- or 6-year-old red ginseng on PAF-induced serotonin release out of human platelets. The degree of serotonin released by petroleum ether extract(PEII) is expressed as a percentage of that PAF(100%). PAF; platelets activating factor(40 ng/ml), PEII from 4- or 6-year-old red ginseng; 40, 80($\mu\text{g}/\text{ml}$). Data are given as the mean \pm S.D.($n=4$).

(Fig. 1). Fig. 2는 4RG 및 6RG의 물 추출물이 PAF(40 ng/ml)에 의해 유인된 [^3H]-serotonin의 방출반응에 미치는 효과를 나타내고 있다. 이들의 물 추출물 역시 PEII와 마찬가지로 PAF에 의해 유인된 [^3H]-serotonin 방출을 억제했고, 그 억제 정도는 6RG의 것에 의한 것이 4RG의 것에 의한 것보다 더욱 강했다(Fig. 2). 그리고 PAF에 의한 [^3H]-serotonin 방출반응 억제는 물 추출물보다 PEII에 의해 더 강하게 일어났다(Fig. 1, 2). Verapamil, prostacyclin(PGI₂)과 같은 항혈소판제는 cAMP의 생성을 억제시킴으로써 혈소판내 cytosolic-free Ca^{2+} 농도를 감소시킨다.^{18, 20)}

PAF는 혈소판에서 adenylate cyclase의 활성 억제를 거쳐 cAMP의 생성을 저해시킴으로써 혈소판 응집과 serotonin 방출반응을 촉진시키는 것으로 알려져 있고, 또 혈소판막의 phosphatidic acid의 생성 증가를 동반하는 phosphoinositides의 분해와 serotonin 방출반응은 서로 깊은 상관성이 있음이 알려져 있다.²¹⁻²³⁾ 따라서, 6PEII가 PAF에 의한 [^3H]-serotonin 방출반응을 억제한 것은 6PEII가 *in vivo* 및 *in vitro*에서 thrombin 및 collagen에 의한 혈소판 응집 반응에서 cAMP의 생성을 촉진시킴으로써 혈소판 응집을 억제시킨 것^{11, 22)}과 collagen에 의한 phosphatidylinositol 및 phosphatidic acid의 생성이 6PEII에 의해 억제된 것²¹⁾과 그 맥락을 같이하고 있다고 생각한다. 그러나, 6RG나 4RG의 물 추출물이 PAF에 의

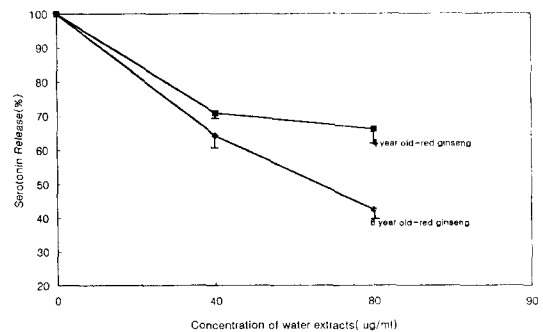


Fig. 2. Effects of water extracts from 4- or 6-year old red ginseng on PAF(40 ng/ml)-induced serotonin release out of human platelets. The degree of serotonin released by water extracts is expressed as a percentage of that PAF(100%). PAF: platelets activating factor(40 ng/ml), water extracts from 4- or 6-year-old red ginseng: 40, 80($\mu\text{g}/\text{ml}$). Data are given as the mean \pm S.D.($n=4$).

한 [³H]-serotonin 방출 반응을 억제하지만, 이것이 물 추출물에 의한 cAMP 생성 증가에 기인하는 것인지는 불명확하다.

(2) PAF에 의해 유도된 serotonin 방출반응에 미치는 6년근 홍삼의 X-compound의 효과

6RG 추출물에는 4RG에 없는 어떤 X-compound가 존재하고 있음이 특이한 용매계에서 전개한 TLC상에서 발견되었다.⁸⁾ 이 X-compound를 분리하기 위해 6RG의 PEII와 water extract을 petroleum ether/diethyl ether(1:1, v/v)용매계에서 전개하여 X-compound를 scrape하여 분리 정제하였다.⁸⁾ 이 X-compound의 구조와 그 본체가 무엇인지 현재로서는 알 수 없으며, 장래 그 구조를 밝힐 필요성이 있다.

6RG의 물 추출물에서 얻은 X-compound는 PAF (40 ng/ml)에 의해 유도된 [³H]-serotonin의 방출을 억제했으며, 1.25부터 10 µg/ml의 농도까지는 PAF에 의해 유도된 [³H]-serotonin 방출을 억제했지만, 그 이상의 농도 즉, 20~40 µg/ml에 의해서는 [³H]-serotonin의 방출반응이 10 µg/ml의 그것보다 약간

증가하는 경향을 보였다(Fig. 3). Fig. 3에서 볼 수 있듯이 PAF가 유도한 [³H]-serotonin 방출(70±3.7%, n=4)을 100% 또는 0%로 하였을 때 PAF가 유도한 [³H]-serotonin 방출을 50% 억제하는데 필요한 X-compound의 농도(IC₅₀)는 3.25 µg/ml인 것을 알 수 있으며, 이 농도는 collagen이 유도한 혈소판의 응집을 억제시키는 ginsenoside Rg₁(IC₅₀=6.9±1.1 µg/ml)²⁵⁾보다 강한 농도이다.

(3) X-compound가 4년근 홍삼의 물 추출물의 작용에 미치는 효과

상술한 바와같이 6RG의 물 추출물에서 분리한 X-compound는 10 µg/ml의 농도를 정점으로하여 20 µg/ml, 40 µg/ml까지 농도를 높여도 더 이상 PAF (40 µg/ml)가 유도한 [³H]-serotonin의 방출을 억제하지 않고 threshold를 이룬다(Fig. 3). 따라서 6RG의 물 추출물에서 분리·정제한 X-compound가 4RG의 물 추출물과 상승작용을 하는지를 검토하기 위하여 PAF가 유도한 [³H]-serotonin 방출을 34% 억제시켰던, 즉 66.1±4.0%(n=4)를 방출시켰던, 80 µg/ml의 4RG 물 추출물이(Fig. 2) 함유된 혈소판(10⁶/ml) suspension에 10-, 20- 및 40- µg/ml의 X-compound를 첨가하여 PAF(40 ng/ml)로 혈소판(10⁶/ml)을 자극하였다. 이때 10 µg/ml의 X-compound에 의해 약 34.5±0.18%의 [³H]-serotonin이 방출되었다(Table 1). 이것은 6RG의 물 추출물에서 정제한 X-compound는 4RG의 물 추출물 80 µg/ml이 PAF-유인 [³H]-serotonin 방출을 약 34% 억제시켰던 것(Fig. 2)보다 약 47.8% 더 억제시키고 있음을 의미한다. 그러나 X-compound의 농도를 20-, 40- µg/ml로 증가시키면, 40 µg/ml의 X-compound에 의해 [³H]-serotonin 방출은 거의 억제되지 않았다(Table 1). 이것은 6RG의 물 추출물에서 정제한 X-compound의 농도가 10 µg/ml까지는 4RG의 물 추출물과 상승적

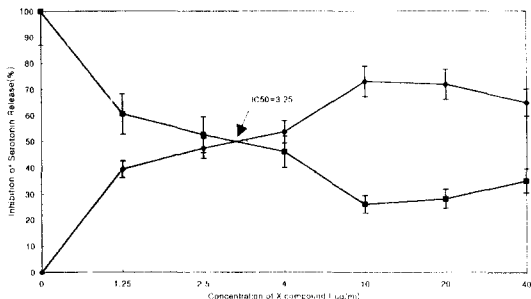


Fig. 3. Effects of X-compound on PAF (40 ng/ml)-induced serotonin release from human platelets. The degree of serotonin released by X-compound from water extracts of 6-year-old red ginseng is expressed as a percentage of collagen [100% : (Release), 0% : (Inhibition)]. Data are given as the mean±S.D.(n=4).

Table 1. Effects of X-compound from water extract of 6-year-old red ginseng on PAF-induced serotonin release out of human platelets. The degree of serotonin released by X-compound is expressed as a percentage of that of PAF plus water extract (4RGW, 80 µg/ml) of 4-year-old red ginseng (100%). PAF; 40 ng/ml, concentration of X-compound is 10-, 20-, 40- µg/ml, X; X-compound, 5-HT; serotonin. Data are given as the mean±S.D.(n=4)

	PAF+4RGW (80 µg/ml)	PAF+4RGW+ X (10 µg/ml)	PAF+4RGW+ X (20 µg/ml)	PAF+4RGW+ X (40 µg/ml)
5-HT Release (%)	66.1±4.0	34.5±0.18	52.5±3.16	62.4±0.22
Inhibition (%)	0	47.8	20.6	5.6

Table 2. Effects of petroleum ether extract from 4-year-old red ginseng on PAF (40 ng/ml)-induced serotonin release out of human platelets. The degree of serotonin released by petroleum ether extract (PEII) from 4-year-old red ginseng is expressed as a percentage of that of PAF plus X-compound (40 µg/ml) from PEII of 6-year-old red ginseng (100%). Data are given as the mean±S.D.(n=4)

	PAF+X-compound (40 µg/ml)	PAF+X-compound +4RG-PEII (40 µg/ml)	PAF+X-compound +4RG-PEII (80 µg/ml)
5-HT release (%)	38.5±1.9	81.3±0.7	96.4±3.1
Change of 5-HT releas (%)	0	52.7	60.9

으로 [³H]-serotonin 방출을 억제시키지만 이 농도 이상으로는 상승효과가 없기 때문에 6RG의 물 추출물이 4RG의 물 추출물보다 PAF-유인 [³H]-serotonin 방출을 더 강하게 억제시킨 것(Fig. 2)은 6RG의 물 추출물에서 분리한 X-compound에 의한 것이 아님을 추측할 수 있다.

한편, PAF(40 ng/ml)가 유인한 [³H]-serotonin 방출반응에서 6RG의 PEII에서 정제한 X-compound(40 µg/ml)에 의해 38.5%의 [³H]-serotonin이 방출되었고(Table 2), 이것은 6RG의 물 추출물에서 분리, 정제한 X-compound(40 µg/ml)가 PAF-유인 [³H]-serotonin 방출 반응을 억제한 것과 동일하고, 6RG-PEII의 X-compound는 PAF가 유인한 [³H]-serotonin 방출반응(70%)을 45% 더 억제시키고 있음을 의미한다. 그러나, 이 X-compound(40 µg/ml)와 4RG-PEII(40-, 80-µg/ml)를 함께 함유시켜 반응시켰을 때 X-compound 단독으로 첨가하여 반응시켰을 때보다 증가되어 4RG-PEII의 40 µg/ml에 의해 81.3%, 80 µg/ml에 의해 96.4%의 [³H]-serotonin이 방출되었다(Table 2). 이것은 6RG-PEII의 X-compound 단독 첨가에 의한 [³H]-serotonin 방출(38.5±1.9%)보다 4RG PEII의 40-, 80- µg/ml에 의해 각각 52.7-, 60.9-%의 [³H]-serotonin이 더 많이 방출된 것으로 계산된다(Table 2). 이것은 6RG-PEII에서 정제한 X-compound가 PAF-유인 [³H]-serotonin 방출반응을 억제시키는 것에 대해 4RG의 PEII는 negative effect를 나타내고 있음을 의미한다. 그렇지 않다면 X-compound(40 µg/ml)와 4RG-PEII(40-, 80- µg/ml)를 첨가하여 반응시

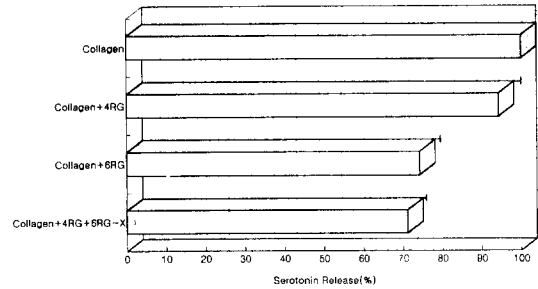


Fig. 4. Effects of water extracts from 4-, 6-year old red ginseng on collagen-induced serotonin release out of human platelets. Collagen; 100 µg/ml, water extracts of 4- or 6-year-old red ginseng; 100 µg/ml, X-compound from water extract of 6-year-old red ginseng (100 µg/ml). The degree of serotonin released by water extracts is expressed as a percentage of that of collagen (100%). Data are given as the mean±S.D.(n=4).

켰을 때 PAF-유인 [³H]-serotonin 방출반응에서 X-compound(40 µg/ml) 단독에 의한 [³H]-serotonin 방출(38.5±1.9%, Table 2)보다 더 억제되어 그 방출율은 더 낮아져야 할 것이다. 이상의 결과(Table 1, 2)로부터, 6RG의 PEII에서 정제한 X-compound는 4RG의 PEII 및 물 추출물에 비해 PAF-유인 [³H]-serotonin 방출반응을 더 강하게 억제하고 있음을 알 수 있다.

(4) Collagen에 의한 [³H]-serotonin 방출에 미치는 물 추출물의 영향

Collagen은 혈관이나 조직이 손상되었을 때 노출되어 손상된 조직이나 혈관에 점착되는 혈소판을 응집 시킴과 동시에 serotonin을 방출시키지만, 혈관이나 조직의 손상이 크면 클수록 높은 농도의 collagen이 노출되고, 높은 농도의 collagen(100 µg/ml)에 의한 [³H]-serotonin 방출반응은 collagen에 의한 혈소판 내부에 동원된 Ca²⁺이 혈소판 내부의 calmodulin과 결합하여 활성화시킨 myosin-light chain kinase에 의한 actomyosin의 인산화에 기인한다.^{26, 27)}

Fig. 4는 collagen(100 µg/ml)에 의한 [³H]-serotonin 방출반응에 미치는 4RG 및 6RG 물 추출물의 영향을 표시한 것이다. 6RG 물 추출물(100 µg/ml)은 collagen(100 µg/ml)에 의해 유인된 [³H]-serotonin의 방출반응을 억제시켰지만, 4RG 물 추출물(100 µg/ml)에 의해서는 억제되지 않았다(Fig. 4). 그러나 6RG의 물 추출물에서 분리정제한 X-compound(100 µg/ml)를 함께 첨가하여 collagen(100

$\mu\text{g/ml}$)으로 혈소판을 자극시키면 4RG 물 추출물 단독에 의한 것보다 [^3H]-serotonin 방출반응이 더 강하게 억제되었다(Fig. 4). 이것은 6RG 물 추출물에서 추출한 X-compound는 4RG 물 추출물과 함께 [^3H]-serotonin 방출반응을 상승적으로 억제하고 있음을 의미한다. 그러나, 6RG의 물 추출물 또는 이것의 X-compound가 collagen에 의한 Ca^{2+} 의 동원을 억제시키거나, 또는 actomyosin의 인산화를 억제시킴으로써 collagen($100 \mu\text{g/ml}$)에 의한 [^3H]-serotonin의 방출을 억제했는지는 현재 불명확하다.

(5) Thrombin에 의한 [^3H]-serotonin 방출반응에 미치는 영향

Thrombin은 fibrin clot를 형성시킴과 동시에 혈소판을 활성화시키는 단백질 분해 효소로서 높은 농도의 thrombin(20 U/ml)에 의한 [^3H]-serotonin 방출 반응은 높은 농도의 collagen($100 \mu\text{g/ml}$)에 의한 것과 마찬가지로 actomyosin의 인산화에 기인한다.^{26, 27)}

극히 높은 농도의 thrombin(20 U/ml)으로 혈소판($10^6/\text{ml}$)을 자극하면 [^3H]-serotonin은 $63.3 \pm 0.6\%$ 까지 방출되었고, $100 \mu\text{g/ml}$ 의 4RG 및 6RG 물 추출물은 thrombin(20 U/ml)이 유인한 [^3H]-serotonin의 방출반응을 전혀 억제시키지 않았다(Fig. 5). 이것은 6RG-PEII가 thrombin(2 U/ml)이 유인하는 [^3H]-serotonin 방출반응을 억제한다는 보고^{9, 10)}와는 상반되는 결과로서 6RG의 물 추출물과 PEII는 [^3H]-serotonin 방출반응과 혈소판 응집반응에 서로 상위하게 작용할 수 있음을 시사한다. 그러나, 6RG 물 추출물에서 정제

한 X-compound($100 \mu\text{g/ml}$)는 thrombin(20 U/ml)에 의해 유인된 [^3H]-serotonin의 방출반응을 강하게 억제시켰고, 4RG 및 6RG의 물 추출물과 함께 6RG의 X-compound를 첨가하여 혈소판($10^6/\text{ml}$)을 thrombin(20 U/ml)으로 자극시키면 [^3H]-serotonin 방출반응이 억제되었다(Fig. 5). 이것으로 부터 6RG의 물 추출물에서 분리정제한 X-compound는 4RG 및 6RG의 물 추출물과 서로 상승적으로 thrombin에 의한 혈소판으로부터의 [^3H]-serotonin 방출반응을 억제시키고 있음을 알 수 있지만, 이 X-compound의 thrombin에 의한 actomyosin의 인산화^{26, 27)} 억제에 기인하는지는 현재 불명확하다.

결론적으로 6년근 홍삼(6RG) 및 4년근 홍삼(4RG)의 물 추출물 및 PEII는 사람 혈소판으로부터의 [^3H]-serotonin 방출을 억제하였지만, 그 억제정도는 4RG의 추출물보다 더욱 강했다. 동시에 6RG의 물 추출물 및 PEII로부터 분리·정제한 X-compound는 [^3H]-serotonin의 방출반응을 강하게 억제시킬 뿐만 아니라 4RG 추출물과 함께 [^3H]-serotonin 방출반응을 상승적으로 억제했다. 따라서 6RG 추출물은 4RG 추출물보다 [^3H]-serotonin 방출을 강하게 억제시킴을 알 수 있고, 이 강한 억제작용에는 6RG에만 존재하고 있는 어떤 X-compound가 상승작용을 하고 있음을 알 수 있다. 그러나, 현재 이 X-compound의 구조 및 [^3H]-serotonin 방출 억제 기전은 명확하지 않으며 앞으로 그 구조 및 억제 기전을 명확히 할 필요성이 있다고 생각한다.

요 약

6년근 홍삼에는 4년근 홍삼에 함유되어있지 않은 어떤 X-compound가 함유되어 있음을 발견하여, 4년근 및 6년근 홍삼 추출물이 serotonin 방출반응에 미치는 비교 연구를 수행했다. 6년근 홍삼 및 4년근 홍삼의 물 추출물 및 petroleum ether extract(PEII)는 platelet activating factor(PAF, 40 ng/ml)에 의해 유인되는 사람 혈소판으로부터의 [^3H]-serotonin 방출을 억제하였다. 또한 홍삼 6년근의 물 추출물과 PEII는 홍삼 4년근의 그것들보다 PAF에 의한 [^3H]-serotonin 방출을 더욱 강하게 억제했다. 동시에 6년근 홍삼 물 추출물 및 PEII로부터 분리·정제한 X-compound는 PAF에 의해 유인된 [^3H]-serotonin의

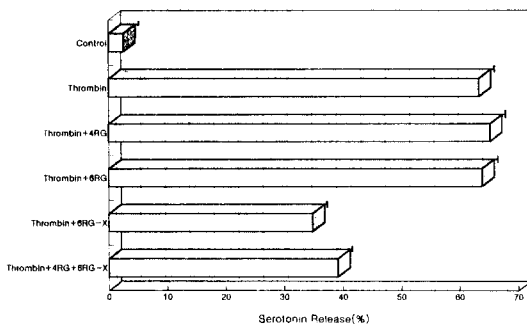


Fig. 5. Effects of water extracts and its X-compounds from 4- or 6-year-old red ginseng on thrombin-induced serotonin release. Thrombin; 20 U/ml , water extracts of 4-, 6-year-old red ginseng; $100 \mu\text{g/ml}$, X-compound from water extracts of 6 year old red ginseng; $100 \mu\text{g/ml}$. Data are given as the mean \pm S.D. (n=4).

방출반응을 강하게 억제시킬 뿐만 아니라 4년근 홍삼 물 추출물과 함께 collagen(100 µg/ml) 및 thrombin(20 U/ml)에 의해 유인된 [³H]-serotonin 방출반응을 상승적으로 억제했다. 이 X-compound가 PAF(40 ng/ml)에 의한 [³H]-serotonin 방출을 50% 억제시키는데 필요한 농도(IC₅₀)는 3.25 µg/ml이며, PAF(40 ng/ml)에 의한 [³H]-serotonin의 방출을 최고로 억제시키는데 필요한 농도는 10 µg/ml이었다. PAF, collagen 및 thrombin에 의해 혈소판에서 방출되는 serotonin은 편두통 및 혈전 형성의 주요원인이 되기 때문에, PAF, collagen 및 thrombin에 의한 [³H]-serotonin방출을 억제하는 6년근 홍삼의 물 추출물, PEII 및 X-compound는 편두통 및 혈전을 억제하는 기능을 가지고 있는 것으로 사료되고, 그 기능은 4년근 홍삼의 물 추출물 또는 4년근의 PEII보다 더욱 강한 것으로 나타났다.

감사의 말씀

본 연구는 1997년도 한국담배인삼공사에서 시행한 출연연구사업의 연구결과입니다. 감사합니다.

인 용 문 헌

- Segawa, T. : Protein, *Nucleic acid and Enzyme*, Gon-Rib Express Co. (Japan), p. 1662 (1981).
- Israel, F. C., Richard, D. F. and Thomas, C. D. : *J. Clin. Invest.*, **60**, 886 (1979).
- Mustard, J. F. and Parkham, M. M. : *Pharm. Res.*, **22**, 97 (1970).
- Tollefsen, D. M., Feagler, J. R. and Majerus, P. W. : *J. Biol. Chem.*, **249**, 2646 (1974).
- Homsen-Holmsen, H. : *Thromb. Haemostasis*, **38**, 1030 (1977).
- Von Albert, H. H. : *Fortschr. Med.*, **106**, 35 (1988).
- Kromer, W. : *Fortschr. Med.*, **104**, 771 (1986).
- 박화진 : 한국담배인삼공사 홍삼사업용역연구 최종 보고서 "사람 혈소판으로부터 serotonin방출 반응에 대한 홍삼의 억제 효과 연구(홍삼 4년근과 6년근의 비교분석)", 1997년 2월 28일.
- Park, H. J., Rhee, M. H., Park, K. M., Nam, K. Y. and Park, K. H. : *Korean Biochem. J.*, **26**, 681 (1993).
- Rhee, M. H., Park, K. H., Park, H. W., Nam, K. Y. and Park, K. H. : *Korean J. Ginseng Sci.*, **17**, 127 (1993).
- Park, H. J., Rhee, M. H., Park, K. M., Nam, K. Y. and Park, K. H. : *J. Ethnopharmacology*, **49**, 157 (1995).
- Park, H. J., Lee, J. H., Song, Y. B. and Park, K. H. : *Biol. Pharm. Bull.*, **19**, 1434 (1996).
- Rittenhouse-Simmons, S. and Deykin, D. : *Biochem. Biophys. Acta*, **426**, 668 (1976).
- Costa, J. L. and Murphy, D. L. : *Nature*, **255**, 407 (1975).
- Demopoulos, C. A., pinckard, R. N. and Hanahan, D. J. : *J. Biol. Chem.*, **254**, 9355 (1979).
- Benveniste, J., Tence, M., Varence, P., Bidault, J., Boulet, C. and Polonsky, J. : *C. R. Hebd. Seances. Acad. Sci. Ser. D. Sc. Nat.*, **289**, 1037 (1979).
- Kudo, I. : *Medical Immunology*, **11**, 707 (1986).
- Geiger, J., Nolte, C., Butt, E., Sage, S. and Walter, U. : *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, **89**, 1031 (1992).
- Lapetina, E. G., Silió, J. and Ruggiero, M. : *J. Biol. Chem.*, **260**, 7078 (1985).
- Gorman, R. R., Fitzpatrick, F. A. and Miller, O. V. : *Adv. Cyclic Nucleotide Res.*, **9**, 597 (1978).
- Lapetina, E. G. : *J. Biol. Chem.*, **257**, 7314 (1982).
- Ieyasu, H., Takai, Y., Kaibuchi, Ko., Sawamura, M. and Nishizuka, Y. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **108**, 1701 (1982).
- Avdonin, P. V., Svitina-Ulitina, I. V. and Kulikov, V. I. : *Biochem. Biophys. Commun.*, **131**, 307 (1985).
- Lee, J. H. and Park, H. J. : *Kor. J. Gerontol.*, **7**, 47 (1997).
- Lee, S. R., Park, J. H., Choi, K. J. and Kim, N. D. : *Korean J. Ginseng Sci.*, **132**, 132 (1997).
- Adelstein, R. S. and Conti, M. A. : *Nature*, **256**, 597 (1975).
- Chaeko, S., Conti, M. A. and Adelstein, R. S. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **74**, 129 (1977).