

장평활근의 수축성에 대한 홍삼 Saponins의 효과

신동호 · 오정이 · 김현오 · 나승열 · 김재하¹ · 박학재

전남대학교 수의과대학, ¹전남대학교 의과대학

(1998년 7월 10일 접수)

Effect of Red Ginseng Saponins on Intestinal Contractility

Dong-Ho Shin, Jeong-Yee Oh, Hyeon-Oh Kim, Seung-Youl Nah,
Jae-Ha Kim¹ and Hag-Jae Park

College of Veterinary Medicine and

¹College of Medicine, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea

(Received July 10, 1998)

Abstract : Isolated rabbit jejunal segments were used to study the effects of ginseng total saponins (GTS), protopanaxatriol saponins (PT) and protopanaxadiol saponins (PD) on intestinal contractility. GTS, PT and PD caused a dose-dependent decrease in intestinal spontaneous movements, and PT was the most efficacious of them. The effect of GTS, PT and PD were not blocked by pretreatment with phentolamine (10^{-6} M), yohimbine (10^{-6} M), dl-propranolol (10^{-6} M), naloxone (10^{-6} ~ 10^{-5} M), N ω -nitro-L-arginine methyl ester (10^{-4} M), methylene blue (10^{-5} M), and N-ethylmaleimide (10^{-4} M). However, pretreatment with tetraethylammonium chloride (3×10^{-3} mM) antagonized the effect of GTS, PT and PD. Furthermore, 4-aminopyridine (1 mM) also inhibited the effect of GTS, PT and PD. The results suggest that GTS, PT and PD inhibited the spontaneous movements in isolated rabbit jejunum by causing hyperpolarization through an activation of K⁺ channels directly.

Key words: Korean red ginseng, saponins, intestinal contractility.

서 론

인삼은 고대로부터 동양의학에 널리 응용되어 왔으며,^{1,2)} 최근 인삼 성분에 대한 화학적 연구의 결과, 성분에 따른 약리학적 작용기전을 밝히려는 연구가 활발히 진행되고 있다.³⁻⁵⁾ 인삼의 혈압강하작용,^{6,7)} 진통작용,⁸⁾ 혈당저하작용,⁹⁾ 발암억제작용¹⁰⁾ 등이 다양하게 보고되고 있다. 하지만, 소화기계에 대한 인삼의 작용을 보고한 문헌은 다른 분야에 비해 적은 것이 사실이다. 문헌에 의하면 설사증을 치료하기 위해 인삼을 응용할 수 있다고 알려져 있으나,¹¹⁾ 그 작용기전을 추구하고자 하는 연구는 거의 없었다. 장벽으로부터의 분비를 감소시킨다거나, 장강으로부터의 흡수를 촉진시키는 것도 항설사작용 기전의 일부가 될 수 있겠지만,

장평활근의 운동성 감소도 항설사작용의 기전과 밀접하게 관련될 수 있기 때문에 우리는 장평활근의 운동성에 미치는 인삼의 효능을 검토할 목적으로 본 실험을 설계하였다. 척출 가토 공장편의 자동운동성에 대한 ginseng total saponins(GTS), protopanaxatriol saponins(PT), protopanaxadiol saponins(PD) 등 홍삼 saponins의 효과를 검토하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 조직표본

실험실에서 가토(1.5~2.0 kg)를 약 1주일 동안 적응시켰으며, 실험전 24시간 동안 절식시켜 실험에 사용하였다. 경동맥을 통하여 실험사시킨후 개방하여

십이지장 말단부에서 약 5 cm 정도 떨어진 부위로부터 약 20 cm 정도를 절단 채취하였다. 37°C의 modified Krebs 용액으로 장내용물을 세척한후 장간막등 불필요한 주위 조직을 제거하고, 약 2~3 cm 길이로 절단하여 사용하였다. 실험동물의 연령, 품종, 성별 등은 구별하지 않았다.

2. 실험조건 및 방법

준비된 장편을 modified Krebs solution(120 mM NaCl, 5.9 mM KCl, 2.5 mM CaCl₂, 1.2 mM MgCl₂, 15.4 mM NaHCO₃, 1.2 mM NaH₂PO₄, 11.5 mM dextrose, pH 7.4)이 들어 있는 10 ml 용적의 항온순환수욕조에 매달았다. 항온순환수욕조내의 온도는 37°C로 유지하면서 95% O₂와 5% CO₂ 혼합 gas를 계속 공급하였다. 조직을 매단후 약 60분 동안 기다려 자동운동이 일정하게 되었을 때 실험을 시작하였으며, 2 g의 resting tension 하에서 실험하였다. 장편의 수축력은 Grass FT 03 force displacement transducer를 통해서 Grass model 79 recorder상에 기록하였다. Agonists의 투여는 누적 농도 schedule로 하였으며, 투여 간격은 10분으로 하였다. Agonist 투여 후 최대반응을 비교하였으며, agonist 투여전 수축곡선 길이와 투여후 수축곡선 길이의 차를 백분율로 비교하였다. Antagonists는 agonists 투여 10~15분전에 투여하였다.

3. 약물

사용한 약물은 GTS, PT, PD(이상 한국인삼연초연구소), yohimbine HCl, prazosin HCl, dl-propranolol HCl, naloxone HCl, N^o-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), methylene blue, N-ethylmaleimide, tetraethylammonium chloride(TEA-Cl), 4-aminopyridine(이상 Sigma)등이었다. 모든 약물은 증류수에 용해시켰으며, 약물의 1회 투여량은 100 µl로 하였다.

4. 통계 처리

결과는 mean±S.E.M.으로 표시하였으며, 각 실험군간의 유의성 검정은 paired Student's t-test로 하였다.

결 과

1. 척출 가토 공장편의 자동운동성에 대한 홍삼 saponins의 효과

홍삼 saponins은 척출 가토 공장편의 자동운동성을

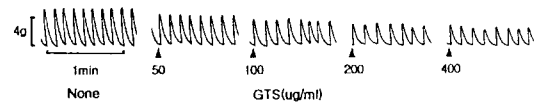


Fig. 1. The inhibitory effect of ginseng total saponins (GTS) on the contractility of isolated rabbit jejunum (representative tracings from 5 trials).

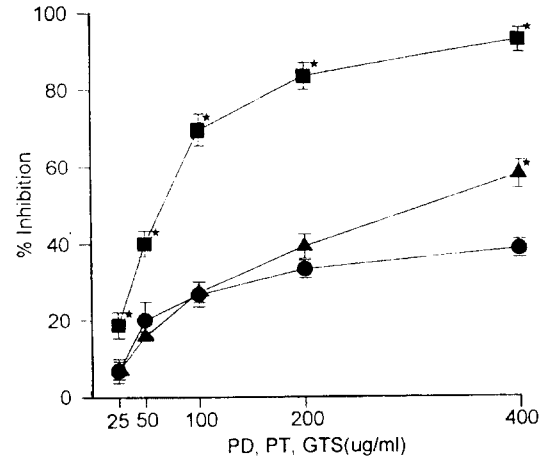


Fig. 2. The inhibitory effect of PD, PT, or GTS on the spontaneous movements of isolated rabbit jejunum. Values are shown as mean±SEM (n=5). *p<0.05, compared with the PD groups at the corresponding dose. PD, ●; PT, ▲; GTS, ■.

용량의존적으로 감소시켰다(Fig. 1). 감소의 정도는 이들 홍삼 saponins간에 차이가 있었으며, PT에 의한 감소반응이 가장 심하였다(Fig. 2).

2. 홍삼 saponins에 의한 자동운동성 감소반응에 대한 phentolamine, yohimbine 및 dl-propranolol의 영향

Adrenergic α 수용체 antagonist인 phentolamine (10⁻⁶ M)이나 α₂ 수용체를 비교적 선택적으로 차단하는 yohimbine(10⁻⁶ M)의 전처치후 GTS, PT 및 PD 25~400 µg/ml 투여에 의한 용량의존적인 자동운동성 감소반응을 관찰하였으나, 아무런 영향이 없었다. Adrenergic β수용체 antagonist 인 dl-propranolol(10⁻⁶ M)의 전처치도 역시 이들 홍삼 saponins에 의한 자동운동성 감소반응을 억제하지는 못하였다.

3. 홍삼 saponins에 의한 자동운동성 감소반응에 대한 naloxone의 영향

Opioid 수용체 antagonist인 naloxone(10⁻⁶~10⁻⁵ M)

Table 1. Effect of naloxone (NAL) on GTS, PT and PD-induced inhibitory action of spontaneous movements in isolated rabbit jejunum (n=4-6)

Pretreatment	GTS ($\mu\text{g/ml}$)		PT ($\mu\text{g/ml}$)		PD ($\mu\text{g/ml}$)
	200		50	100	200
None	44.3 \pm 4.38		39.7 \pm 9.27	70.6 \pm 8.39	28.4 \pm 1.27
NAL (10^{-6}M)	52.5 \pm 9.55		48.5 \pm 10.67	68.1 \pm 8.51	30.1 \pm 8.67
NAL (10^{-5}M)	46.4 \pm 9.86		52.8 \pm 10.60	74.3 \pm 4.73	34.1 \pm 5.27

Values are expressed as a percentage of decrease in length of contractile curve (mean \pm S.E.M.).

Table 2. Effect of N^o-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), methylene blue (MBL) and N-ethylmaleimide (EMAL) on GTS, PT and PD-induced inhibitory action of spontaneous movements in isolated rabbit jejunum (n=4-6)

Pretreatment	GTS ($\mu\text{g/ml}$)		PT ($\mu\text{g/ml}$)		PD ($\mu\text{g/ml}$)	
	100	200	50	100	100	200
None	26.6 \pm 4.56	40.0 \pm 6.07	44.5 \pm 5.34	70.3 \pm 4.39	23.3 \pm 4.49	29.5 \pm 4.89
L-NAME (10^{-4}M)	27.1 \pm 7.72	35.8 \pm 8.21	51.1 \pm 4.56	68.7 \pm 4.93	23.3 \pm 7.41	30.8 \pm 8.46
MBL (10^{-5}M)	24.4 \pm 1.82	37.2 \pm 3.58	50.2 \pm 4.99	70.1 \pm 5.55	20.3 \pm 3.11	27.7 \pm 2.27
EMAL (10^{-3}M)	58.8 \pm 2.98	73.3 \pm 1.67	71.2 \pm 5.69	84.9 \pm 4.13	57.1 \pm 7.99	67.9 \pm 8.99

Values are expressed as a percentage of decrease in length of contractile curve (mean \pm S.E.M.).

Table 3. Effect of tetraethylammonium chloride (TEA) and 4-aminopyridine (4-AP) on GTS, PT and PD-induced inhibitory action of spontaneous movements in isolated rabbit jejunum (n=4-6)

Pretreatment	GTS ($\mu\text{g/l}$)		PT ($\mu\text{g/ml}$)		PD ($\mu\text{g/ml}$)	
	100	200	50	100	100	200
None	25.6 \pm 4.85	40.1 \pm 5.73	51.5 \pm 5.20	73.1 \pm 5.26	20.2 \pm 3.58	26.5 \pm 2.79
TEA (3 mM)	17.9 \pm 0.62	31.4 \pm 6.34	30.6 \pm 7.00	48.4 \pm 7.51*	14.2 \pm 8.11	18.1 \pm 6.05
TEA (10 mM)	3.4 \pm 1.83*	7.5 \pm 2.57*	5.4 \pm 2.56*	12.1 \pm 3.25*	0*	3.3 \pm 1.73*
4-AP (1 mM)	11.1 \pm 5.34	16.4 \pm 4.36*	16.7 \pm 7.56*	39.9 \pm 4.99*	9.2 \pm 5.82	13.4 \pm 3.47*

Values are expressed as a percentage of decrease in length of contractile curve (mean \pm S.E.M.). *p<0.05 compared with none treated group.

전처치후 GTS, PT 및 PD에 의한 자동운동성 감소반응을 검토하였으나, 아무런 영향이 없었다(Table 1).

4. 홍삼 saponins에 의한 자동운동성 감소반응에 대한 L-NAME, methylene blue 및 N-ethylmaleimide의 영향

홍삼 saponins에 의한 자동운동성 감소반응을 nitric oxide(NO)가 증가하는지를 검토하였다. NO synthase 억제제로 알려진 L-NAME(10^{-4}M)나 guanylate cyclase 억제제인 methylene blue(10^{-5}M)을 전처치후 GTS, PT 및 PD의 작용을 살펴보았으나, 별다른 영향을 관찰할 수 없었다(Table 2). cAMP의 증가도 평활근의 억제작용을 증가할 수 있기 때문에, adenylyate cyclase 억제제인 N-ethylmaleimide(10^{-4}M) 전처치후 GTS, PT 및 PD의 작용을 검토하였으나, 이들 홍삼 saponins의 자동운동성 감소반응이 억제되지 않았다(Table 2).

5. 홍삼 saponins에 의한 자동운동성 감소반응에 대한 TEA 및 4-AP의 영향

K⁺ channel blocker인 tetraethylammonium chloride(TEA)나 4-aminopyridine(4-AP)을 전처치후에 GTS, PT 및 PD의 작용을 검토하였다. TEA 3 mM의 전처치에 의해 이들 홍삼 saponins의 작용이 억제되었으나 유의성은 없었다. 하지만 TEA 10 mM에 의해서는 유의성있게 억제되었다(Table 3). 또한 4-AP(1 mM)에 의해서도 GTS, PT 및 PD의 작용이 억제되었다(Table 3).

고 찰

본 실험에 사용한 홍삼 saponins(GTS, PT 및 PD)은 모두 척출 가토 공장편의 자동운동성을 용량의존적으로 억제하였다. 장평활근의 운동성은 매우 복잡

한 기전에 의해 조절되고 있다. 따라서 홍삼 saponins에 의한 척출 가토 공장편의 자동운동성 감소반응 중개 기전을 추구하고 위해 몇가지 가능성을 검토하였다.

Muscarinic receptor나 α_1 -adrenoceptor의 흥분은 일반적으로 수축성 증가를 일으키지만,^{12,13)} β -adrenoceptor나 α_2 -adrenoceptor의 흥분은 장의 운동성을 감소시킨다.¹⁴⁻¹⁶⁾ 하지만 α_1 -adrenoceptor의 흥분이 장평활근의 억제력을 일으킨다는 보고도 있다.¹⁷⁾ 그래서 홍삼 saponins의 작용에 대한 adrenoceptors의 중개 가능성을 검토하였다. α -adrenoceptor antagonist로 알려진 phentolamine, α_2 -adrenoceptor에 보다 선택적인 antagonist로 알려진 yohimbine, 그리고 β -adrenoceptor antagonist로 알려진 dl-propranolol 등의 전처치가 홍삼 saponins의 자동운동성 억제작용에 아무런 영향도 미치지 못 하였다. 이는 홍삼 saponins의 자동운동성 억제작용의 중개에 adrenoceptors가 관여하지 않음을 시사하고 있다. Guinea-pig 회장편의 전기자극에 의한 twitch response가 morphine이나 opioid peptides에 의해 억제되며, naloxone이 이 억제를 길항한다는 것도 잘 알려져 있다.³⁾ 따라서 opioid receptor antagonist인 naloxone의 영향을 검토해 보았다. 하지만 홍삼 saponins의 자동운동성 억제작용이 naloxone 전처치에 의해서도 아무런 영향을 받지 않았다. 이로써 opioid receptor의 중개 가능성도 배제시켰다.

최근 nitric oxide(NO)가 평활근의 억제작용을 중개하는 데 중요한 역할을 한다고 알려지고 있다.¹⁸⁻²¹⁾ 따라서 홍삼 saponins에 의한 자동운동성 감소반응 중개에 NO가 관여하는지를 검토하였다. NO synthase 억제제로 알려진 L-NAME나 guanylate cyclase 억제제인 methylene blue 전처치후 홍삼 saponins의 억제작용을 살펴보았으나 별다른 영향을 관찰할 수 없었다. 이는 홍삼 saponins에 의한 자동운동성 감소반응이 NO의 생산이나 cGMP의 증가에 의한 것이 아님을 보여 준 것이다.

cAMP도 평활근의 수축성을 중개하는 중요한 second messenger 중의 하나이며, cAMP의 증가는 평활근의 억제작용을 중개할 수도 있기 때문에,^{22,23)} adenylate cyclase 억제제인 N-ethylmaleimide의 영향을 살펴보았으나, N-ethylmaleimide가 홍삼 saponins에 의한 억제작용을 차단하지 못 하였다. 사실 cGMP나 cAMP는 평활근의 억제작용을 중개하는 데

관여하는 중요한 second messengers이다. 그러나 홍삼 saponins에 의한 장평활근 자동운동성 감소반응을 중개하는 기전에는 이들이 관여하지 않음을 시사하고 있다.

K⁺ channel activation은 hyperpolarization을 일으킴으로써 평활근에 억제적으로 작용할 수가 있다.²⁴⁻²⁶⁾ 따라서 우리는 홍삼 saponins이 직접 K⁺ channels을 활성화시켜서 장평활근의 자동운동성을 억제하는 것이 아닌가 검토하였다. 본 실험에서 K⁺ channels blocker인 tetraethylammonium chloride나 4-aminopyridine의 전처치가 홍삼 saponins의 작용을 유의하게 억제하였다. 따라서 홍삼 saponins이 직접 K⁺ channel을 활성화시켜서 자동운동성 억제를 일으킨 결과로 추론할 수 있다. 하지만 이미 몇가지 중요한 second messengers가 배제된 상태에서 과연 무엇이 이들을 대신해서 그 역할을 했는지 본 실험의 결과만 가지고 이야기하기는 어렵다.

결론적으로 GTS, PT, PD 등은 척출 가토 공장편의 자동운동성 감소를 일으켰으며, 이들 홍삼 saponins이 직접 K⁺ channels을 활성화시켜, hyperpolarization을 일으킴으로써, 척출 가토 공장편의 자동운동성 감소가 일어난 것으로 추론하였다.

요 약

척출 가토 공장편의 자동운동성에 대한 ginseng total saponins(GTS), protopanaxatriol saponins(PT) 및 protopanaxadiol saponins(PD) 등의 효과를 검토하였다. GTS, PT 및 PD는 모두 척출 가토 공장편의 자동운동성을 용량의존적으로 감소시켰으며, 감소의 정도는 이들 홍삼 saponins간에 차이가 있었다. PT에 의한 감소반응이 가장 심하였다.

홍삼 saponins에 의한 자동운동성 감소반응이 phentolamine(10^{-6} M), yohimbine(10^{-6} M), dl-propranolol(10^{-6} M), naloxone(10^{-6} ~ 10^{-5} M), L-NAME(10^{-4} M), methylene blue(10^{-5} M), N-ethylmaleimide(10^{-4} M) 등의 전처치에 의해서는 억제되지 않았다. 하지만 TEA(3~10 mM) 및 4-AP(1 mM)의 전처치는 GTS, PT 및 PD에 의한 자동운동성 감소반응을 유의하게 억제하였다.

결론적으로 GTS, PT 및 PD 등은 척출 가토 공장편에서 직접 K⁺ channels을 활성화시켜, hyperpolarization

zation을 일으킴으로써 자동운동성의 감소를 일으키는 것으로 추론하였다.

감사의 말씀

이 연구는 1995년도 고려인삼학회의 연구비에 의하여 수행되었다.

인 용 문 헌

1. Liu, C. X. and Xiao, P. G. : *J. Ethnopharmacol.*, **36**, 27 (1992).
2. 고지훈, 김영숙, 김혜영, 나기정, 도재호, 박종대, 박진규, 박화진, 백남인, 이성식, 이종화, 이형욱, 정기택 : 고려인삼, 한국인삼연초연구원, 대전, p.91 (1994).
3. Watanabe, J., OH, K. W., Kim, H. S., Takahashi, M. and Kaneto, H. : *J. Pharmacobio-Dyn.*, **11**, 453 (1988).
4. Park, S. C., Noh, Y. H. and Koo, J. H. : *Korean J. Ginseng Sci.*, **19**(3), 212 (1995).
5. Kim, C. H., Lee, M. S. and Lee, K. H. : *Korean J. Ginseng Sci.*, **19**(1), 27 (1995).
6. Saito, H., Morita, M. and Takag, K. P. : *Japanese J. Pharmacol.*, **23**, 43 (1973).
7. Takagi, K., Saito, H. and Nabata, H. : *Japanese J. Pharmacol.*, **22**, 245(1972).
8. Ramarao, P. and Bhargava, H. N. : *Gen. Pharmacol.*, **21**, 877 (1990).
9. Kimura, M., Waki, I. and Kikuchi, T. : *Proc. Symp. Wakan Yaku*, **14**, 125 (1981).
10. Han, M. D. and Kim, J. P. : *J. Korean Med. Assoc.*, **26**, 1126 (1983).
11. 고지훈, 김영숙, 김혜영, 나기정, 도재호, 박종대, 박진규, 박화진, 백남인, 이성식, 이종화, 이형욱, 정기택 : 고려인삼, 한국인삼연초연구원, 대전, p.94 (1994).
12. Bolton, T. B. : *J. Physiol.*, **220**, 647 (1972).
13. Bauer V. : *Br. J. Pharmacol.*, **72**, 201 (1981).
14. Kosterlitz, H. W. and Watt, A. T. : *J. Physiol.*, **177**, 11 (1965).
15. Drew, G. M. : *Br. J. Pharmacol.*, **64**, 293 (1978).
16. Vizi, E. S. : *Br. J. Pharmacol.*, **35**, 10 (1969).
17. 김경호 : 전남대학교 대학원 박사학위 논문 (1983).
18. Rottan, S. and Chakder, S. : *Gastroenterology*, **100**, A485 (1991).
19. Toda, N., Baba, H. and Okamura, T. : *Japanese J. Pharmacol.*, **53**, 281 (1990).
20. Thornburry, K. D., Ward, S. M., Da ziel, H. H., Carl, A., Westfall, D. P. and Sanders, K. M. : *Am. J. Physiol.*, **261**, G553 (1991).
21. Tottrup, A., Svane, D. and Forman, A. : *Am. J. Physiol.*, **260**, G385 (1991).
22. Scheid, C. R., Honeyman, T. W. and Fay, F. S. : *Nature(Lond)*, **277**, 32 (1979).
23. Parker, I., Ito, Y., Kuriyama, H. and Miledi, R. : *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, **230**, 207 (1987).
24. Furukawa, K., Iton, T., Kajiwara, M., Kitamura, K., Suzuki, H., Ito, Y. and Kuriyama, H. : *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **218**, 248 (1981).
25. Meisheri, K. D., Cipkus, L. A. and Taylor, C. J. : *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **245**, 751 (1988).
26. Hamilton, T. C., Weir, S. W. and Weston, A. H. : *Br. J. Pharmacol.*, **88**, 103 (1986).