

銀杏成分 Ginkgoic Acid의 藥理學的 研究

慶熙大學校 醫科大學 藥理學教室

韓 大 燮

=Abstract=

The Pharmacological Study on Ginkgoic Acid, a Component of Ginkgo Biloba L. Fruit

Dae Sup Han, M.D.

Department of Pharmacology, School of Medicine Kyung Hee University
Seoul, Korea

The effect of the Ginkgoic acid on the amounts of total cholesterol and triglycerides in serum from rabbit was observed. Ginkgoic acid was obtained from Ginkgo biloba L. fruits, and it was subcutaneously administered to the three days fasted rabbits.

After three days starvation, the amounts of total cholesterol and triglycerides in serum of the rabbit were markedly increased.

The increased amounts of total cholesterol and triglycerides were gradually decreased by administration of Ginkgoic acid, and were returned to the control levels after 4 days.

According to the above results, it would be concluded that Ginkgoic acid influences for the recovery of the increased amounts of total cholesterol and triglycerides by abnormal metabolism to normal on rabbit.

I. 緒 論

銀杏成分은 많은 學者들의 業績¹⁻⁹⁾이 있고 著者¹⁰⁾는 銀杏成分 bilobol의 化學的 및 藥理學的 研究에 對하여 報告한 바 있다. 계속하여 銀杏의 外種皮에서 Ginkgoic acid를 分離精製한 것을 家兔에 抑與하여 血清中 total cholesterol과 triglyceride含量變化에 미치는 影響에 對하여 實驗한 바를 報告하는 바이다.

II. 實 驗 部

1. 實驗材料

銀杏外種皮에서 分離精製하여 얻은 純粹한 Ginkgoic acid 10 g을 使用하였다.

2. 實驗動物

家兔; 體重 2.0 kg內외의 健康한 雄性家兔를 實驗 2週日 前부터 基本飼料로 飼育하여 使用하였다.

3. 實驗方法

1) 檢液調製

生理食鹽水 1 ml에 Ginkgoic acid 10 mg을 含有하도록 調製하였다.

2) 檢液投與

實驗動物을 對照群 및 實驗群으로 區分하고 各 群마다 10頭씩 配當하였다.

對照群: 實驗前 2週日間 基本飼料로 飼育한 家兔를 3日間 生理食鹽水 40 ml씩을 投與하면서 絶食시킨 다음 다시 基本飼料를 供給하면서 對照液으로 生理食鹽水를 1 ml/kg씩 1日 2回 4日間 皮下注射하였다.

實驗群: 對照群과 同一한 方法으로 絶食시킨 다음 基本飼料를 供給하면서 檢液 1.0 ml/kg을 1日 2回 4日間 皮下注射하였다.

3) 採血 및 血清分離

上記한 各群을 絶食前, 絶食後, 檢液投與後 1日, 2日, 3日, 4日의 6회에 걸쳐 採血하기 前 12時間 絶食시키고, 家兔耳靜脈으로부터 血液 3.0 ml를 採血하여 10°C에서 2時間 放置시켜 血液을 凝固시키고, 0°C에서 3,500 r.p.m.으로 30分間 遠心分離하여 血清을 얻었다

4) Total cholesterol 測定法

Zack¹¹⁾等法에 準하여 測定하였다.

試 藥

- 1) Iron stock solution($\text{FeSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.1 g/ml in glacial acetic acid)
- 2) Color reagent(Iron stock solution 0.01 ml/ml in $\text{C-H}_2\text{SO}_4$)
- 3) Cholesterol standard solution(Cholesterol 1 mg/ml in glacial acetic acid)

Methanol과 acetone 同量的 混合液 10.0 ml를 넣은 25 ml volumetric flask에 血清 0.1 ml를 注加하여 强하게 振蕩하고 water-bath上에서 内容物이 沸點에 이를 때 까지 加熱한다. 이때 内容物은 加熱하는 동안 突沸를 防止하기 爲해 계속 충분히 흔들었다. 室溫으로 冷却後 methanolacetone 混液으로 25 ml까지 채운다음 whatmann No. 41-H濾紙로 濾過한다. 이때 溶媒의 蒸發을 防止하기 爲하여 濾斗위를 watch glass로 덮고 濾過하여 全濾液이 25.0 ml가 되도록 methanol-acetone 混液으로 濾紙를 洗滌하여 주고 이濾液 1.0 ml를 30 ml 시험관에 取하여 water-bath上에서 溶媒가 完全히 除去될 때 까지 加熱한다. 溶媒가 完全히 除去된 殘渣에 3.0 ml의 glacial acetic acid를 加하고 約 30秒間 加溫한다. 이때 standard tube에는 cholesterol standard solution 1.0 ml와 glacial acetic acid 2.0 ml를 準備하고 blanc tube에는 glacial acetic acid만 3.0 ml 취한다. 이들 試驗管에 color reagent 2.0 ml를 加하여 잘 混合시킨 다음 室溫에서 20分間 放置後 波長 560 m μ 에서 吸光度를 測定하

여 total cholesterol 含量을 求하였다.

5) Triglyceride 測定法

E. Van Handel 等¹²⁾法에 準하여 測定하였다.

試 藥

- 1) Triglyceride standard solution(0.05 mg/ml in olive oil)
- 2) 0.4% Alcoholic KOH solution
- 3) 0.05 M-Sodium metaperiodate solution
- 4) 0.25 M-Sodium arsenite solution
- 5) Chromotropic acid

Methanol-acetone 混液으로 抽出한 血清濾液의 殘餘分을 30 ml 시험관 2個에 各各 1.0 ml씩 取하고 다른 2個의 시험관에는 triglyceride standard solution 1.0 ml씩 注入하여 water-bath上에서 溶媒를 完全히 蒸發시킨 후 血清抽出液試驗管, triglyceride standard 시험관, 空 시험관을 1組로 하여 2個組로 나누고 그 1組에는 0.4% alcoholic KOH 0.5 ml를 注加하고 다른 한組에는 95% ethanol 0.5 ml를 加하여 60~70°C에서 15分間 加熱하였다. 여기에 0.2 N- H_2SO_4 0.5 ml를 加한후 alcohol을 water-bath上에서 加熱除去한다. 室溫으로 冷却後 sodium metaperiodate 0.1 ml를 加하여 10分間 酸化시키고 다시 sodium arsenite 0.1 ml를 加하여 sodium metaperiodate의 作用을 中止시킨다. 다음에 各시험관에 chromotropic acid reagent 5.0 ml를 加하여 100°C에서 1시간 30분간 加溫한다. 이때 内容物이 蒸發되지 않도록 操心한다. 室溫으로 冷却시키고 波長 540 m μ 에서 吸光度를 測定하여 triglyceride의 含量을 求하였다.

Table 1. Total cholesterol contents in serum of rabbits (mg%)

| group No. | days | | 0 | | 3 | | 4 | | 5 | | 6 | | 7 | |
|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | A | B | A | B | A | B | A | B | A | B | A | B | A | B |
| 1 | 120.7 | 118.4 | 149.7 | 146.8 | 136.7 | 138.9 | 140.4 | 122.7 | 134.5 | 112.4 | 130.5 | 112.0 | 130.5 | 112.0 |
| 2 | 107.3 | 125.3 | 150.3 | 153.2 | 146.1 | 139.3 | 138.6 | 120.6 | 136.0 | 112.9 | 136.2 | 110.4 | 136.2 | 110.4 |
| 3 | 131.4 | 103.6 | 148.6 | 154.4 | 143.4 | 131.6 | 140.5 | 121.3 | 137.8 | 120.2 | 130.4 | 117.2 | 130.4 | 117.2 |
| 4 | 127.2 | 134.5 | 153.5 | 150.1 | 147.6 | 134.6 | 142.6 | 121.5 | 138.2 | 124.5 | 137.6 | 120.3 | 137.6 | 120.3 |
| 5 | 121.6 | 123.0 | 147.2 | 152.3 | 143.5 | 133.5 | 141.9 | 124.4 | 140.0 | 114.4 | 132.3 | 111.8 | 132.3 | 111.8 |
| 6 | 112.5 | 109.2 | 151.8 | 142.6 | 145.3 | 130.8 | 142.3 | 129.8 | 141.5 | 125.5 | 138.2 | 122.5 | 138.2 | 122.5 |
| 7 | 126.1 | 121.4 | 139.8 | 138.7 | 136.0 | 126.0 | 132.5 | 128.2 | 123.4 | 129.5 | 121.5 | 120.7 | 121.5 | 120.7 |
| 8 | 122.8 | 106.1 | 159.4 | 142.3 | 148.2 | 133.7 | 143.4 | 126.4 | 139.5 | 126.0 | 130.8 | 120.5 | 130.8 | 120.5 |
| 9 | 124.2 | 112.3 | 146.3 | 152.4 | 143.3 | 131.4 | 136.7 | 120.3 | 136.0 | 112.3 | 130.3 | 112.0 | 130.3 | 112.0 |
| 10 | 110.9 | 114.2 | 149.2 | 156.5 | 139.0 | 138.2 | 139.8 | 132.5 | 127.4 | 120.3 | 127.2 | 118.4 | 127.2 | 118.4 |
| Mean | 120.5 | 116.8 | 149.6 | 148.9 | 142.9 | 133.8 | 139.9 | 124.8 | 135.4 | 119.8 | 131.4 | 116.6 | 131.4 | 116.6 |
| ±S.E. | ±6.4 | ±8.0 | ±3.5 | ±5.4 | ±3.6 | ±3.4 | ±2.1 | ±3.6 | ±4.3 | ±5.7 | ±3.8 | ±4.2 | ±3.8 | ±4.2 |

A: control group

B: experimental group

Ⅲ. 實驗成績

1. 血清中 total cholesterol含量

對照群 및 實驗群에 있어서의 total cholesterol 含量變化는 Table 1 과 Fig. 1에 提示하였다.

즉 對照群에서는 絶食前 120.5±6.4 mg%에서 3日間 絶食後 149.6±3.5 mg, 絶食後 基本飼料와 對照液投與 1日後의 含量은 142.9±3.6 mg%이고 2日後는 139.9±2.1 mg%, 3日後 135.4±4.3 mg%, 4日後 131.4±3.8 mg%이었다. 實驗群은 絶食前 116.8±8.0 mg%이던것이 3日間 絶食後 148.9±5.4 mg%로 增加하였고 基本

飼料와 檢液投與後 第 1日에는 133.8±3.4 mg%, 2日後는 124.8±3.6 mg%, 3日後 119.8±5.7 mg%. 4日後에는 116.6±4.2 mg%로 되었다.

2. 血清中 triglyceride含量

Table 2 및 Fig. 2에 提示한 바와 같이 對照群에서는 絶食前 118.4±3.2 mg%이고 3日間 絶食後에는 147.7±3.7 mg%로 增加하고 絶食後 基本飼料와 對照液投與 1日後의 含量은 144.3±6.0 mg%, 2日後 142.0±4.8 mg%, 3日後 136.6±5.0 mg%, 4日後 134.5±3.9 mg%로 되었으며 實驗群에서는 絶食前 118.5±3.5 mg%에서 3日間 絶食後에는 144.1±5.4 mg%로 增加하였고

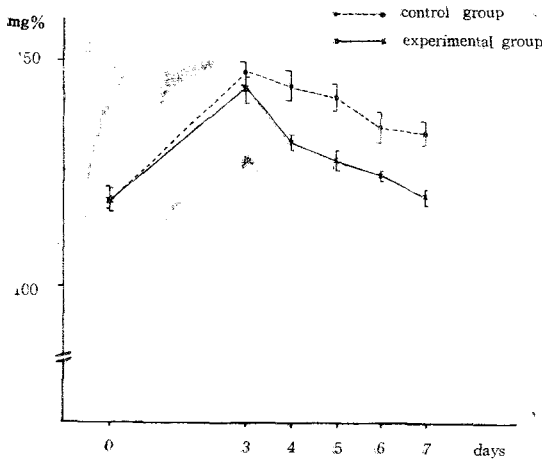


Fig. 1. Total cholesterol contents in serum of rabbits.

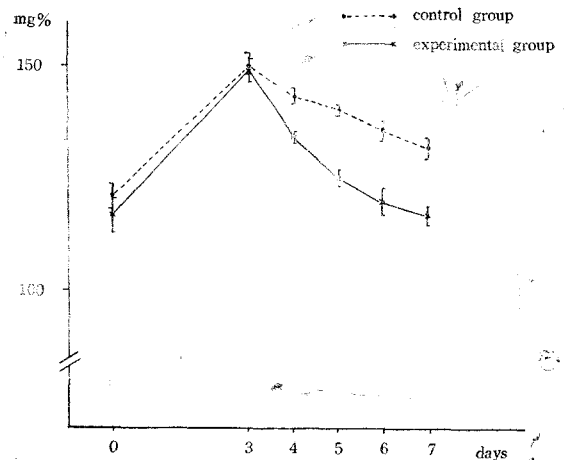


Fig. 2. Triglyceride contents in serum of rabbits.

Table 2. Triglyceride contents in serum of rabbits (mg%)

| group No. | days | | 0 | | 3 | | 4 | | 5 | | 6 | | 7 | |
|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|---|
| | A B | | A B | | A B | | A B | | A B | | A B | | A B | |
| | A | B | A | B | A | B | A | B | A | B | A | B | A | B |
| 1 | 120.0 | 109.4 | 153.4 | 148.7 | 150.2 | 130.2 | 150.4 | 125.4 | 147.7 | 125.0 | 145.4 | 120.4 | | |
| 2 | 118.2 | 118.1 | 157.0 | 152.4 | 150.5 | 134.0 | 147.2 | 134.0 | 139.4 | 124.5 | 138.3 | 119.2 | | |
| 3 | 122.1 | 116.3 | 153.8 | 149.5 | 151.2 | 127.6 | 145.0 | 125.4 | 138.2 | 125.2 | 135.0 | 120.4 | | |
| 4 | 116.4 | 119.2 | 147.5 | 142.7 | 147.0 | 128.4 | 147.2 | 127.2 | 140.4 | 124.7 | 138.7 | 120.6 | | |
| 5 | 117.3 | 118.0 | 142.3 | 143.0 | 138.6 | 132.9 | 136.5 | 132.0 | 130.8 | 130.3 | 130.5 | 120.8 | | |
| 6 | 126.4 | 120.8 | 149.5 | 138.2 | 145.0 | 129.6 | 142.3 | 124.5 | 135.5 | 120.5 | 135.2 | 114.7 | | |
| 7 | 110.0 | 114.2 | 138.7 | 137.4 | 136.4 | 132.2 | 130.6 | 130.4 | 128.6 | 121.3 | 129.4 | 114.3 | | |
| 8 | 119.2 | 113.4 | 145.2 | 139.5 | 142.5 | 131.5 | 140.7 | 131.5 | 130.3 | 130.8 | 130.0 | 127.5 | | |
| 9 | 114.5 | 118.5 | 140.4 | 140.5 | 132.7 | 135.4 | 138.4 | 123.8 | 135.2 | 123.5 | 130.3 | 119.6 | | |
| 10 | 120.7 | 127.3 | 149.2 | 149.0 | 148.5 | 138.8 | 141.7 | 134.1 | 139.6 | 130.9 | 132.2 | 125.0 | | |
| Mean | 118.4 | 118.5 | 147.7 | 144.1 | 144.3 | 132.1 | 142.0 | 128.8 | 136.6 | 125.7 | 134.5 | 120.3 | | |
| ±S.E. | ±3.2 | ±3.5 | ±3.7 | ±5.4 | ±6.0 | ±2.9 | ±4.8 | ±3.6 | ±5.0 | ±1.8 | ±3.9 | ±3.0 | | |

A: control group

B: experimental group

다시 基本飼料와 檢液投與 1日後 132.1±2.9 mg, 2日後 128.8±3.6 mg%, 3日後 125.7±1.8 mg%, 4日後에는 120.3±3.0 mg%로 減少되었다.

Ⅳ. 考 察

1. 血清中 total cholesterol 含量에 對하여

對照群에서는 絶食前 120.5±6.4 mg%에서 絶食後 149.6±3.5 mg%로 增加하고 絶食後 對照液投與後 第1日에는 142.9±3.6 mg%로 3日間 絶食後의 含量보다 약간 감소하고 다시 2日後 139.9±2.1 mg%, 3日後 135.4±4.3 mg%, 4日後 131.4±3.8 mg%로 徐徐히 감소됨을 관찰할수 있었으며 實驗群에서는 絶食前 116.8±8.0 mg%에서 絶食後에는 148.9±5.4 mg%로 增加하고 3日間 絶食後 基本飼料와 檢液投與後 第1日에는 138.8±3.4 mg%, 2日後 124.8±3.6 mg%, 3日後 119.8±5.7 mg, 4日後는 116.6±4.2 mg%로 有意性있는 감소율을 보여 주었다.

2. 血清中 triglyceride含量에 對하여

對照群에서는 絶食前 118.4±3.2 mg%에서 3日間 絶食後 147.7±3.7 mg%로 增加하였고 對照液投與後 第1일에 144.3±6.0 mg%, 2日後 142.0±4.8 mg%, 3日後 136.6±5.0 mg, 4日後 134.5±3.9 mg%로서 4日後의 測定値는 絶食後의 測定値에 比하여 약 10%의 감소율을 나타내었으며 實驗群에서는 絶食前 118.5±3.5 mg%에서 絶食後 144.1±5.4 mg%로 增加하였고 檢液投與後 第1日에는 132.1±2.9 mg%, 128.8±3.6 mg, 3日後 125.7±1.8 mg%, 4日後 120.3±3.0 mg%로서 絶食後의 測定値에 比하여 약 20%의 감소율을 보여 絶食前의 거의 正常値로 恢復됨을 관찰 할수 있었다.

Ⅴ. 結 論

以上과 같은 實驗成績 및 考察을 通하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1) 3日間 絶食後의 家兔血清中 total cholesterol 및 triglyceride含量은 현저히 增加하였다.

2) 檢液으로 銀杏成分 ginkgoic acid를 投與한 實驗群에서의 total cholesterol含量은 絶食前의 거의 正常値로 恢復되었다.

3) 檢液投與後의 triglyceride含量變化에 있어서도 有意性있는 감소율을 보여 絶食前의 正常値로 거의 恢復되었다.

以上の 結果로 미루어보아 銀杏成分 ginkgoic acid는 家兔血清中 非正常代謝로 增加된 total cholesterol 및 triglyceride의 含量을 正常値로 恢復시키는데 意義있는 것으로 思料되는 바이다.

REFERENCES

- 1) Schwarzenbach: *Jahresberichte über die Fortschritt der Chem.* 529 (1857)
- 2) Bechamp: *Ann. Chem. et Phys.*, [4] 1, 228 (1860)
- 3) U. Suzuki: *Bull. Coll. Agricult. Tckyo*, 4, 1-23:25-67 (1900).
- 4) Langley: *Journ. Americ. Chem. Soc.* 29, 1513-15 (1907).
- 5) 吉村清常: *日本化學雜誌* 37, 863 (1916)
- 6) 川村實平: *Jap. J. Chem.* 3, 89-108 (1928).
- 7) 中澤浩一: *日本藥學雜誌* 61, 174 (1931).
- 8) 古川周: *Soc. Papers of Inst. Phys. Chem. Research* 19, 29(1932).
- 9) 李東烈: *Ginnol*이 家兔呼吸에 미치는 影響. *大韓藥理學雜誌* Vol 3, No 1, 19-25 (1967)
- 10) 韓大燮: 銀杏成分 *Bilobol*의 化學的 및 藥理學的 研究. *The Seoul J. of Med.* Vol. 5, No. 4, 7-16 (1964).
- 11) B. Zak, et al.: *Am. J. Clin. Path.*, 24: 1307 (1954)
- 12) E. Van Handel and D.B. Zilversmit: *J. Lab. Clin. Med.*, 50: 152 (1957).