

## 흰쥐에 인삼투여시 심장근 섬유막 절편 $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ -ATPase 활성의 변화

林 廷 恩 · 金 洛 斗  
서울대학교 藥學大學

### The Effects of Ginseng on $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ -ATPase Activity of Sarcolemma Fragments in Rat Hearts

Jeung Eun LIM and Nak Doo KIM  
College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151, Korea

**Abstract**—This investigation was performed to study the effect of Ginseng water extract on the cardiac sarcolemma  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase activity of rat hearts. The Ginseng water extract (100mg/kg/day) was administered orally to Sprague-Dawley rats for one, four and seven days. The fragment of sarcolemma was prepared by the method of Matsui and Erdmann and the  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase and  $\text{Mg}^{++}$ -ATPase activity were measured by the method of Martins and Doty.  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase activity in the rat heart treated with Ginseng water extract for 1 day was not significantly different from control value, but the activity was decreased by 13.4% in the rat heart treated for 4 days and was decreased by 20.4% in the 7 days treated group.  $\text{Mg}^{++}$ -ATPase activity in the rat treated with ginseng water extract was similar to control value. It may be concluded that chronic administration of Ginseng may inhibit the  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase enzyme activity, but single administration may not inhibit the activity.

**Keywords**—Ginseng water extracts ·  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase ·  $\text{Mg}^{++}$ -ATPase · cardiac sarcolemma · rats

인삼성분을 흰쥐에 경구 투여한후 이 흰쥐로부터 적출한 심장의 수축력은 정상심장과 비교할 때 수축력의 퇴화가 지연됨이 보고된바 있으며<sup>1)</sup> 또한 정상심장에 대해서도 수축력을 증가시키는 효과가 있음이 알려져 있다.<sup>2-3)</sup> Chang<sup>4)</sup>은 인삼이 강심작용이 있으며 그 작용은 강심배당체의 작용과 유사하다고 하였다. 한편 digitalis의 작용기전은 plasma membrane에 존재하는  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase 효소의 억제에 기인하는 것으로 알려져 있으며 이 효소가 digitalis 강심배당체의 수용체로서 알려져 있다.<sup>5-7)</sup> Kim등<sup>3)</sup>은 심

근  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase활성에 미치는 인삼 saponin의 영향을 in vitro에서 관찰한 결과  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase 활성이 용량에 비례하여 억제됨을 보고한 바 있다.

인삼의 작용은 일반적으로 1회 복용보다는 오래동안 복용하는 것이 효과가 있는 것으로 알려져 있으나 구체적으로 이를 밝힌 논문은 없다. 따라서 저자는 인삼을 경구적으로 투여하면서 첫째, 인삼성분이 digitalis와 같이 심근의  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase 효소에 대해서 억제작용이 있는지를 검토하였으며 둘째는 단일 효소억제작용이

있다면 인삼의 투여일수와 관련이 있는지를 관찰하고 저 본연구를 시도하였다.

## 실험재료 및 방법

### 1. 실험재료

인삼은 인삼연구소에서 구입한 홍미삼을 분쇄하여 75°C에서 물로 추출하고 추출액을 감압 농축하여 40%의 수분을 함유하도록 하였다. 인삼 수침 엑기스는 100mg/kg/day에 해당하는 양을 상온에서 생리 식염수에 용해하여 1일 1회씩 경구투여 하였다.

### 2. 시약 및 시액

Digitoxin (Merck AG Darmstadt)은 25 $\mu$ g/kg/day에 해당하는 양을 상온에서 녹여 처음 1일은 5시간 간격으로 4회 투여하고, 다음날 부터는 1일 1회씩 경구 투여 하였다.

시액 A는 0.25M sucrose, 1mM EDTA·3Tris 및 0.29g EDTA (Shiwakyu's pure chemicals)를 2M Tris(hydroxy methyl) amino ethane 1.5ml와 약 10ml의 물에 녹인후 94g sucrose (S.P.C. GR reagent)를 가하고 물로 250ml로 하여 만든 1M sucrose용액을 사용시에 4배 희석하여 시액 A로 사용하였다.

시액 B는 0.25M sucrose, 1mM EDTA·3Tris, 0.05% deoxycholate

시액 C는 1mM EDTA·3Tris

시액 D는 6M NaI, 7.5mM MgCl<sub>2</sub>, 및 15mM EDTA, 150mM Tris,

5% deoxycholate 용액은 deoxycholate(D.I.F. Co) 5g을 시액 A에 녹여 100ml로 하였다.

모든 시액은 2차 증류수를 사용하여 제조하였다.

Tris-ATP는 Dowex 5w-8x resin 10g을 0.4N HCl 10ml에 넣고 5분간 진탕하며 상등액을 버리고 5ml의 2차 증류수로 다시 5분간 진탕하며 resin을 흡인여과하여 건조시켰다. Na<sub>2</sub>ATP(Sigma) 2g을 5ml의 2차 증류수에 녹인 다음 resin을 가하여 15분간 교반한 후, 흡인여과하고 resin을 다시 2.5ml 2차 증류수로 세척하여 여과한 후 여액을 합하였다. pH 6.8이 되도록 Tris-salt로 중화 적정하여 259nm에서 spectrophotometer

로 정량한 후, -20°C에서 냉동보관 하였다.

### 3. 실험동물

서울대학교 실험동물 사육장에서 사육하고 있는 150~250g의 건강한 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐를 사용하였다.

### 4. 실험방법

1) 인삼 수침 엑기스 경구투여군의 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase 및 Mg<sup>++</sup>-ATPase활성 측정

A. 1일간 경구투여군(제 1군)

대조군에는 2.5ml/kg의 생리식염수를 1일 1회 경구투여 하였다. 인삼투여군에는 kg당 100mg에 해당하는 인삼을 흰쥐 무게 200g당 0.5ml되도록 생리식염수에 희석하여 1일 1회 경구투여 하였다.

인삼을 투여하고 일주야 절식시킨 후 ether 마취시킨 다음 흉부를 절개해서 심장을 적출하여 Matsui방법<sup>8)</sup>과 Erdmann방법<sup>9)</sup>을 사용하여 효소를 분리 정제하였으며, 3마리 흰쥐에서 얻은 심장을 pool해서 사용하였다.

흰쥐의 적출 심장을 세척하여 0.25M sucrose 용액으로 3회 세척한 후 sucrose 용액에 넣어 homogenization하였다. 그 용액에 5% deoxycholate를 서서히 가한 후, 氷浴중에서 30분간 완만하게 교반시켜준 후, deoxycholate가 0.1% 함유하도록 sucrose 용액으로 희석하여 10,000×g에서 30분간 원심분리하였다. 상등액을 100,000×g에서 45분간 원심분리하여 pellet를 취했다. 0.25M sucrose-1mM EDTA-0.05% deoxycholate 용액에 현탁시켜 제 2차 deoxycholate 처리를 한 후, 20,000×g에서 20분간 원심분리하여 상등액을 취하여, 다시 100,000×g에서 45분간 원심분리하여 얻은 pellet를 1mM EDTA에 현탁시킨 후, -20°C에 일주야 보관하였다. 다음날, 6M NaI-EDTA-MgCl<sub>2</sub>-Tris용액을 가하여 氷浴중에서 5분간 교반하여 NaI처리를 한 후에 1mM EDTA로 2.5배 희석하여, 35,000×g에서 30분간 원심분리하여 얻은 pellet를 1mM EDTA로 3회 세척하여 NaI를 제거하고 얻어진 효소 단백질을 Lowery 방법<sup>54)</sup>에 따라 정량하였다.

단백질 농도가 1mg/ml 되도록 1mM EDTA에 현탁시켜 이 효소 부유액을 -20°C에서 보관하며, 실험시 실온 용해하여 ATPase활성을 측정

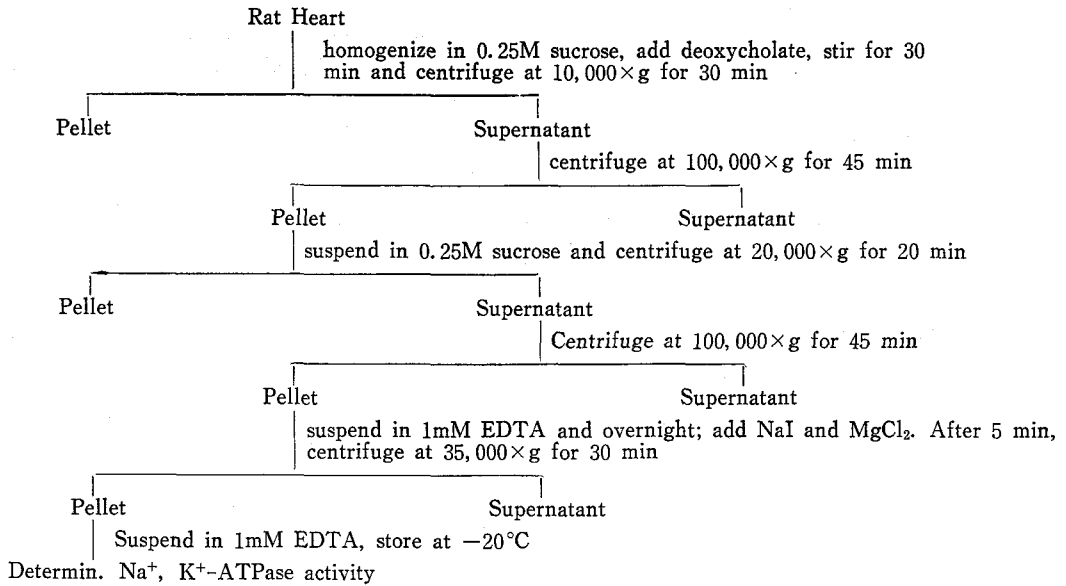


Fig. 1. Scheme of fractionation of sarcolemma from rat heart.

하였다.

이상의 조작은 0°C~4°C에서 시행하였다(Fig. 1).

B. 4일간 경구투여군(제Ⅱ군)

대조군에는 2.5ml/kg/day의 생리식염수를 4일간 투여하였다. 처치군에는 인삼 수침액기스 100mg/kg/day/2.5ml 생리식염수를 4일간 경구 투여하였다.

대조군과 인삼투여군 각각 3마리씩의 흰쥐를 제 I군과 같은 방법으로 처리하여 얻은 효소 단백질의 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase 및 Mg<sup>++</sup>-ATPase 활성을 측정하였다.

C. 7일간 경구투여군(제Ⅲ군)

대조군에는 2.5ml/kg/day의 생리식염수를 7일간 경구투여하였다. 인삼투여군에는 인삼 수침액기스 100mg/kg/day/2.5ml 생리식염수를 7일간 경구투여하였다.

대조군과 처치군 각각 3마리씩의 흰쥐를 제 I군과 같은 방법으로 처리하여 얻은 효소 단백질의 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase 및 Mg<sup>++</sup>-ATPase 활성을 측정하였다.

2) Digitoxin 경구투여군의 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase 및 Mg<sup>++</sup>-ATPase 활성 측정(제Ⅳ군)

대조군에는 2.5ml/kg/day의 생리식염수를 처치군에는 digitoxin 25μg/kg/2.5ml 생리식염수를

처음 1일은 digitalization을 위해 5시간 간격으로 4회, 다음날부터는 1일 1회씩 2일간 투여하였다.

대조군과 약물투여군 각각 3마리씩을 제 I군과 같은 방법으로 처리하여 얻은 효소 단백질의 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase 및 Mg<sup>++</sup>-ATPase 활성을 측정하였다.

3) 효소활성 실험

총 ATPase 활성을 측정하기 위한 배양액의 조성은 NaCl 100mM, KCl 10mM, MgCl<sub>2</sub> 5mM, EDTA-tris 1mM, Tris-HCl buffer (pH 7.4) 50 mM, enzyme protein 50μg, Tris-ATP 2mM로서 총량이 1ml되도록 하였다.

Tris-ATP를 제외한 medium을 3분간 preincubation시킨 후 Tris-ATP를 가하여 반응을 시작하고 정확히 10분간 incubation시켰다. Ice cold 10% trichloroacetic acid 1ml를 가하여 반응을 종결시키고 ice bath에 5분간 방치한 후, 2,000 rpm에서 원심분리하였다. 상등액 1ml를 취하여 screw cap tube에 넣어 유리되는 inorganic phosphate의 양을 Martin-Doty방법으로 측정하였다.

Mg<sup>++</sup>-ATPase 활성은 NaCl, KCl을 제외한 medium을 사용하여 측정하였고, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase 활성은 총 ATPase 활성에서 Mg<sup>++</sup>-ATPase 활성을 제한 것으로서, ATPase 활성은 nMpi/mg protein/h로 표시하였다.

**실험 결과**

**1. 인삼 1일 투여군의 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase 및 Mg<sup>2+</sup>-ATPase 활성**

인삼 수침 엑기스를 1일 투여한 군에서의 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase 활성은 대조군이 196.8 nMpi/mg protein/h, 인삼투여군은 199.0 nMpi/mg protein/h로 유의성 있는 차이가 관찰되지 않았다.

Mg<sup>2+</sup>-ATPase활성도 유의성있는 차이가 관찰되지 않았다.

**2. 인삼 4일간 경구투여군 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase 및 Mg<sup>2+</sup>-ATPase 활성**

인삼 수침 엑기스를 4일간 경구투여한 군에서는 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase활성은 대조군이 196.03 nMpi/mg protein/h, 투여군은 169.63 nMpi/mg

protein/h로 13.5%의 유의성있는 역제가 관찰되었으며, Mg<sup>2+</sup>-ATPase 활성은 유의성 있는 차이가 관찰되지 않았다.

**3. 인삼 7일간 경구투여군의 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase 및 Mg<sup>2+</sup>-ATPase 활성**

인삼 수침 엑기스를 7일간 경구투여할 군에서의 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase 활성은 대조군이 192.73 nMpi/mg protein/h, 투여군이 153.38 nMpi/mg protein/h로 20.7%의 유의성 있는 역제가 관찰되었다.

Mg<sup>2+</sup>-ATPase 활성은 유의성 있는 차이가 관찰되지 않았다.

**4. Digitoxin경구투여군의 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase 및 Mg<sup>2+</sup>-ATPase활성**

Digitoxin을 경구투여한 군에서의 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase활성은 대조군이 191.7 nMpi/mg protein/

**Table I.** Cardiac Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase and Mg<sup>2+</sup>-ATPase activity of the rat treated with ginseng water extract

Ginseng Treatment (100mg/kg/day)		Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> -ATPase activity		Mg <sup>2+</sup> -ATPase activity	
		nMpi/mg protein/h	% change	nMpi/mg protein/h	% change
7days	Control	192.73±6.27 <sup>a</sup> (7) <sup>b</sup>		113.11±3.56 (7)	
	Treated	153.38±4.49* (7)	-20.39	118.23±5.63 (7)	+4.53
4 days	Control	196.03±2.67 (3)		119.16±3.56 (3)	
	Treated	169.63±8.54* (3)	-13.47	121.83±1.51 (3)	+1.74
1 day	Control	196.80±1.27 (3)		125.40±3.68 (3)	
	Treated	199.00±1.69 (3)	+ 1.11	125.50±3.61 (3)	+0.08

a : Mean±S.E.    b : Parenthesis indicate the number of experiments    \* : Statistically significant

**Table II.** Cardiac Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase and Mg<sup>2+</sup>-ATPase activity of the rat treated with Digitoxin.

Digitoxin	Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> -ATPase activity		Mg <sup>2+</sup> -ATPase activity	
	nMpi/mg protein/h	% change	nMpi/mg protein/h	% change
Control	191.7±2.26* (5) <sup>b</sup>		115.4±3.19 (5)	
Treated	69.74±2.47* (5)	-63.62	127.9±1.56* (5)	+10.83

a : Mean±SE    b : Parenthesis indicate the number of experiments    \* : Statistically significant

h, 투여군이 69.74 nMpi/mg protein/h로 63.62%의 유의성 있는 억제에 관찰하였다.  $Mg^{2+}$ -ATPase 활성은 대조군이 115.4 nMpi/mg protein/h, 투여군이 127.9 nMpi/mg protein/h로 10.8%의 증가가 관찰되었다.

## 고 찰

인삼은 전통적으로 강장약으로 사용되어 왔으며 또한 1회 복용보다는 장기간 복용함으로써 약효가 발현되는 것으로 믿고 있다. 그러나 대부분의 인삼에 대한 연구 결과는 *in vitro*에서 1회 적용으로 나타난 실험결과를 발표하고 있으며 실제로 그 결과에 있어서 현저한 효능의 차이가 인정되는 실험결과는 많지가 않다. 또한 대부분의 인삼에 대한 연구는 *in vitro*에서 실시한 것이며 경구적으로 장기간 복용시킨후의 결과에 대한 보고는 많지가 않다.

저자등이 흰쥐에 인삼을 1주인삼(쥐의 수명은 2년으로 볼때 이 1주간투여는 사람에게 7개월 투여한 효과입) 투여한후 심장을 적출하여 그 수축력의 변화를 관찰한 결과 비처치군에 비해 수축력의 퇴화 속도가 느림을 보고한 바 있다.<sup>1-2)</sup> 인삼을 단 1회 투여시와 만성적으로 투여시의 효과를 비교한 논문은 없다.

혈장세포막에는  $Na^+$  및  $K^+$ 이온 수송에 관여하는  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase 효소가 있으며<sup>10)</sup> 이 효소의 억제는 심근의 수축력과 관련이 있음이 잘 알려져 있으며<sup>5)</sup> 또한 인삼이 이 효소에 미치는 영향에 대해서는 많은 실험결과가 보고 되고 있다<sup>3-4)</sup>. Kim등은 백서 심장에 미치는 인삼의 영향을 *in vitro*에서 실험한 결과 인삼은 양성 변력 작용이 있으며  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase 활성은 인삼의 용량에 비례하여 억제됨을 보고 한바 있다<sup>3)</sup>. 또한 Kim등<sup>11)</sup>은 토끼 적혈구막  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase 활성에 미치는 인삼 alcohol엑기스의 영향을 관찰한 결과 저농도에서는 활성이 증가 되었고 고농도에서는 감소 됨을 관찰한바 있다. Kang 등<sup>22)</sup>은 인삼 알콜엑기스를 농도를 증가시키며 적혈구막  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase 활성을 관찰한 실험에서 농도증가에 따라  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase 활성이 증가한다고 하였다. 따라서 저자등은 인삼을 경

구적으로 투여시 심근의  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase에 어떤 영향을 미치며 그 효과는 투여기간과 관계가 있는지를 관찰하고자 하였다. Digitalis에 의한 심근 수축력의 증가는  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase 활성의 억제에 기인되는 것으로 알려져 있음으로 digitoxin을 2일간 투여한후 흰쥐 심장을 적출하여 혈장세포막의  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase 활성에 미치는 효과를 검토한 결과  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase 활성이 63.62%의 유의성 있는 감소가 관찰되었다. 인삼 수침 엑기스를 흰쥐에 1일 kg당 100mg을 1주일 경구투여 하면서 혈장세포막의  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase 활성에 미치는 효과는 1일간투여군에서는 유의성있는 증가가 관찰되지 않았으며 4일과 1주일 투여군에서는 각각 투여일에 비례하여 활성이 억제됨을 관찰하였다.

본 실험에서는 이 효소의 억제와 효능 또는 독성의 발현과의 상관 관계에 대해서는 검토하지는 않았으나 인삼을 1주일 이상 경구투여시 심근의 퇴화율이 억제된다는 저자등의 실험결과와 연관시켜 볼때 이 효소의 억제와 어떤 관련성이 있지 않나 사료되며 1회 투여 보다는 장기간의 인삼투여가 더 효능면에서 효과적일 수 있다는 경험적인 효과를 뒷받침하는 결과라고 사료된다.

## 결 론

1. 인삼 수침 엑기스 1일간 경구투여군의  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase 활성은 대조군은 196.8 nMpi/mg protein/h, 투여군은 199.0 nMpi/mg protein/h로 유의성 있는 차이가 관찰되지 않았으며,  $Mg^{2+}$ -ATPase 활성도 유의성 있는 차이가 관찰되지 않았다.
2. 인삼 수침 엑기스 4일간 경구투여군의  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase 활성은 대조군은 196.03 nMpi/mg protein/h, 투여군은 169.63 nMpi/mg protein/h로 13.5%의 유의성 있는 억제가 관찰되었고,  $Mg^{2+}$ -ATPase 활성은 유의성 있는 차이가 관찰되지 않았다.
3. 인삼 수침 엑기스 7일간 경구투여군의  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase 활성은 대조군은 192.73 nMpi/mg protein/h, 투여군은 153.38 nMpi/mg protein/h

로 20.4%의 유의성있는 억제 효과가 관찰되었고, Mg<sup>2+</sup>-ATPase 활성은 유의성있는 차이가 관찰되지 않았다.

이상의 실험결과로 보아 인삼은 경구로 투여시 심장의 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase 활성에 대해 억제 효과가 있으며 이 효과는 1회 복용으로는 별 효과가 없으나 3일간 이상 복용시부터 효과가 나타나며 그 효과는 투여일의 증가와 더불어 더 억제되었다.

謝辭—본 논문은 1984년도 서울대학교 병원 임상 연구비 보조로 이루어진 것임.

〈1985년 3월 18일 접수 : 4월 30일 수리〉

## 문헌

1. Kim, N.D., Kim, B.K. and Lee, H.S.: *Yakhak Hoeji*, 26, 239 (1982).
2. Oh, U.T. and Kim, N.D.: *Yakhak Hoeji*, 27, 155 (1983).
3. Kim, N.D., Kim, C.K., Han, B.H. and Lee, S.S.: *Yakhak Hoeji*, 24, 15 (1980).
4. Chang, P.H.: *Peiking Y-Hsciao Wen Hsciao*, 2, 101 (1959).
5. Schwartz, A., Lindenmayer, G.E. and Allen, J.C.: *Pharmacol. Rev.*, 27, 3 (1975).
6. Schwartz, A.: *Circulation Res.*, 39, 2 (1976).
7. Yamamoto, S., Akera, T., Kim, D.H. and Brody, T.M.: *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 217, 70 (1981).
8. Matsui, H. and Schwartz, A.: *Biochim. Biophys. Acta*, 128, 380 (1966).
9. Erdmann, E., Philipp, G. and Scholz, H.: *Biochem. Pharmacol.* 29, 3219 (1980).
10. Skou, J.C.: *Biochem. Biophys. Acta*, 22, 394 (1957).
11. Kim, H.J. et al.: *Yonsei J. Med. Sci.*, 20, 116 (1977).
12. Kang, B.N. and Koh, I.S.: *Korean J. Physiol.*, 8, 55 (1974).