

콜레스테롤 식이한 흰쥐와 생쥐에서 Panaxydol의 고콜레스테롤혈증 억제 효과

현학철[#] · 박진규 · 남기열 · 박기현

한국인삼연초연구원
(2001년 9월 27일 접수)

Hypocholesterolemic Effect of Panaxydol in High Cholesterol Diet Fed Rats and Mice

Hak-Chul Hyun[#], Jin-Kyu Park, Ki-Yeul Nam and Ki-Hyun Park
Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Taejeon 305-345, Korea
(Received September 27, 2001)

Abstract : The effect of petroleum ether soluble fraction (PESF) and panaxydol extracted from red ginseng on serum cholesterol levels was examined in rats and mice fed on a high cholesterol diet. When 2% cholesterol diet containing PESF (800 mg/kg diet) or panaxydol (100 mg/kg diet) was fed to mice for two weeks, total cholesterol and LDL-cholesterol in the serum were significantly decreased in PESF and panaxydol treated group. Panaxydol (5, 10 mg/kg b.w./day) was administered for 3 consecutive days by intraperitoneal injection in rats fed on 1% cholesterol diet. Serum total cholesterol, triglyceride and LDL-cholesterol levels of panaxydol administered group (5 mg/kg b.w./day) were decreased by 55%, 33% and 67% compared with those of the control group, respectively. However, a significant increase of serum HDL-cholesterol was observed on panaxydol administered group. Furthermore, hepatic cholesterol levels was significantly decreased in panaxydol administered group. These results suggest that panaxydol could protect hypercholesterolemia.

Key words : hypercholesterolemia, polyacetylene, panaxydol, cholesterol

서 론

과량의 콜레스테롤 섭취 및 지질대사 이상은 혈중 콜레스테롤 및 지질을 증가시켜 고콜레스테롤혈증을 유발한다. 고콜레스테롤혈증은 관상동맥질환의 주요 위험인자로서 오래 전에 알려졌으며,¹⁻²⁾ 혈청 콜레스테롤 중 LDL-cholesterol은 동맥경화의 촉진인자로서, HDL-cholesterol은 저지인자로서 잘 알려져 있다.³⁻⁴⁾ 또한 혈청 콜레스테롤 함량과 관상심장질환과 양성적 상관관계가 있다는 것이 여러 역학연구들에 의해 보고되었다.⁵⁾ 따라서 동맥경화를 비롯한 관상동맥질환을 예방하려면 혈청 콜레스테롤을 낮게 유지하는 것이 필요하다. 고콜레스테롤혈증에 대한 인삼의 효과 연구는 그 동안 인삼추

출물 및 사포닌성분 중심으로 연구가 진행되어왔다.⁶⁻⁸⁾

Joo등^{9,10)}은 인삼사포닌이 고콜레스테롤혈증 억제효과가 있음을 보고하였고, 그 작용기전은 담즙산으로 콜레스테롤 대사를 촉진시킴으로서, 이로 인해 세포내 콜레스테롤 농도가 감소함에 따라, LDL-cholesterol 수용체 합성이 촉진된 결과라고 주장하였다. Yamamoto 등¹¹⁾은 콜레스테롤 식이를 섭취시킨 흰쥐를 이용하여, 단리 정제된 ginsenoside들의 혈청 지질 성분에 미치는 효과를 조사한 결과, ginsenoside-Rb₂가 가장 유의적인 HDL-cholesterol의 증가, LDL-cholesterol 및 Triglyceride의 감소효과가 있음을 보고하였고, Yokozawa 등¹²⁾도 고콜레스테롤 식이를 한 흰쥐에서 ginsenoside-Rb₂의 고지혈증 개선작용을 보고하였다. 고콜레스테롤혈증과 관련한 인삼 비사포닌 성분의 연구에서 Qureshi 등¹³⁾은 인삼 석유에 탈추출물을 사료에 첨가하여 식이한 닭에 대한 실험에서 혈청 total-cholesterol, LDL-cholesterol 및 triglyceride 함량이 HDL-cholesterol 함량 저하없이 감소됨을 보고였으나, 그

[#]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 042-866-5596; (팩스) 042-861-1949
(E-mail) hchyun@gtr.kgtri.re.kr

분획중 활성성분이 무엇인지에 대한 언급이 되어있지 않다. 그리고 Kwon 등¹⁴⁾은 panaxydol, panaxynol 등 polyacetylene 성분이 콜레스테롤을 에스테르화하는 효소로 알려진 Acyl-CoA: Cholesterol Acyltransferase(ACAT)의 활성을 억제함을 보고하였다.

본 연구는 Qureshi 등¹³⁾ 및 Kwon 등¹⁴⁾의 연구결과를 바탕으로 *in vivo* 실험으로서 고콜레스테롤을 식이한 흰쥐와 생쥐를 사용하여 홍삼 석유에텔추출물과 이 추출물에 함유되어 있는 polyacetylene계 성분중 그 함유비율이 가장 높은 panaxydol에 대한 고콜레스테롤혈증 억제효과를 조사하기 위해 혈청 및 간 조직중 콜레스테롤을 비롯한 지질성분의 변화를 관찰한 결과를 보고하고자 한다.

실험방법

1. 홍삼석유에텔추출물 및 Panaxydol의 분리

홍삼성분의 분리는 김 등¹⁵⁻¹⁶⁾의 방법에 따라 분리하였다. 홍삼 500 g을 항온수조에서 메탄올 2리터로 3시간씩 3회 환류추출한 후 여과, 농축하여 얻은 메탄올 추출물을 물 1리터에 용해시킨 다음 석유에텔로 1리터씩 3회 추출, 농축하여 석유에텔추출물(Petroleum Ether Soluble Fraction, PESF)을 얻었다. 이 추출물을 silica gel column chromatography(Silica gel 60, Merk, 70-230 mesh)에 의해 P-III분획(Fig. 1)을 얻어 polyacetylene의 주 화합물인 panaxydol(M.W.: 260)을 HPLC(Waters Model 244, Alltech-NH2 semi preparative column)로 순수하게 분리하였다.

2. 실험동물

한국인삼연구연구원 동물사육실에서 사육한 흰쥐(Sprague-Dawley, male, 200 g) 및 생쥐(ICR, male, 20 g)를 사용하였다.

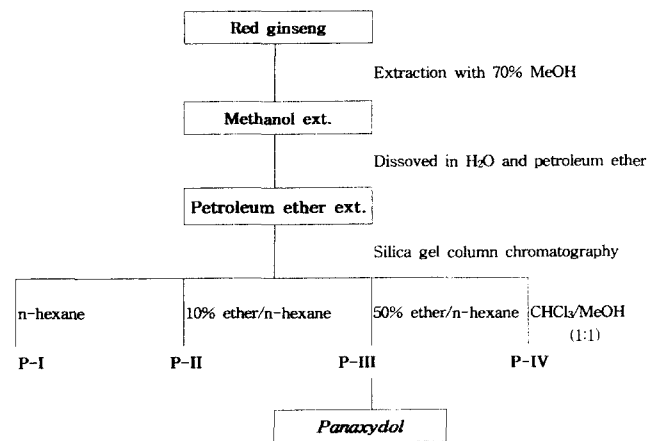


Fig. 1. Fractionation of petroleum ether extract and panaxydol.

3. 고콜레스테롤 사료

생쥐의 식이실험에 사용한 2% cholesterol 사료는 미국 ICN社에서 구입하였다. 흰쥐 복강투여 실험에 사용한 1% cholesterol 사료는 정상사료(삼양사료 주식회사 제품)를 분말화하여 cholesterol과 sodium cholate를 각각 1%와 0.5%가 되게 혼합하여 조제하였다.

4. 생쥐에 대한 PESF 및 Panaxydol의 식이실험

시험군은 ICN社에서 구입한 2% cholesterol 사료를 분말화하여 PESF(800 mg/kg사료) 및 panaxydol(100 mg/kg사료)을 첨가 혼합하여 2주동안 식이하였으며, 대조군은 2% cholesterol 사료만을 식이하였다. PESF와 panaxydol의 효과를 조사하기 위하여 2주동안 사료를 식이한 후 24시간(17시간 절식) 경과 후 도살하여 혈청중 total cholesterol(TC), HDL-cholesterol(HDL-C), triglyceride(TG)를 Sigma kit 시약으로 측정하였다.

LDL-cholesterol(LDL-C)은 Qureshi¹⁷⁾의 방법에 따라 TC-HDL-C-TG/5로 계산하였으며 동맥경화지수(Atherogenic index)는 Yamamoto¹¹⁾의 방법을 적용 계산하였다.

5. 흰쥐에 대한 Panaxydol의 복강투여실험

1% cholesterol 식이와 동시에 시험군은 panaxydol(5, 10 mg/kg b.w./day)을 dimethylsulfoxide(DMSO, 50 μl)에 녹여 복강으로 1일 1회씩 3일간 연속 투여하였고, 대조군은 50 μl의 DMSO를 복강투여 하였다.

Panaxydol 투여효과 조사를 위해 panaxydol 마지막 투여 24시간(17시간 절식)후에 도살하여 TC, HDL-C, TG, LDL-C를 위와같은 방법으로 측정했고 간 조직중 Total cholesterol, Free cholesterol, Ester cholesterol은 Calson 등¹⁸⁾의 방법에 따라 측정하였다.

결과 및 고찰

PESF(800 mg/kg사료)와 panaxydol(100 mg/kg사료)를 2% cholesterol 사료에 첨가하여 2주 동안 식이한 후 혈청콜레스테롤 함량에 미치는 효과를 관찰한 결과는 Table 1에서와 같다. epoxy 화합물인 panaxydol의 불안정성을 감안하여, 일정량의 아세톤에 녹인후 분말화한 사료에 첨가하여 조제한 분말형태로 식이하였다. 2% cholesterol을 투여한 대조군에 비해 PESF와 panaxydol을 투여한 시험군은 혈청 TC가 각각 20%, 18%가 감소하였고, LDL-C의 경우는 각각 35%, 32%의 통계학적으로 유의성있게 감소하였으나 HDL-C 및 TG의 감소효과는 관찰할 수 없었다. 또한 동맥경화의 임상적 지표로 이용되고 있는 동맥경화지수(Atherogenic index)를 보면

Table 1. Effect of PESF and panaxydol on serum levels in mice

Group	Concentration in serum (mg/ml)				Atherogenic index
	TC	HDL-C	TG	LDL-C	
Normal diet	64.4 ± 3.9	30.1 ± 1.7	77.5 ± 3.5	18.8 ± 3.2	1.14
2% Cholesterol diet					
Control	141.0 ± 10.6 (100)	39.5 ± 1.7 (100)	78.9 ± 2.2 (100)	85.7 ± 4.8 (100)	2.57
+ PESF	113.0 ± 7.9* (80)	40.9 ± 1.1 (104)	82.3 ± 2.8 (104)	55.6 ± 3.9* (65)	1.76
+ panaxydol	115.0 ± 6.7* (82)	40.0 ± 0.7 (101)	81.5 ± 2.3 (103)	58.7 ± 3.2* (68)	1.88

Data are expressed as mean ± S.E. (n=10-12)

Each test groups were fed diet including PESF (petroleum ether soluble fraction, 800 mg/kg diet) or panaxydol (100 mg/kg diet) for two weeks. Values in parenthesis present percentages of control

*Significantly different from control (P<0.05)

Table 2. Effect of panaxydol on serum lipids of high cholesterol diet fed rats

Group	Concentration in serum (mg/ml)			
	TC	HDL-C	TG	LDL-C
Normal diet	70.2 ± 4.2	26.8 ± 1.4	50.2 ± 5.0	27.7 ± 3.7
1% Cholesterol diet + panaxydol (mg/kg b.w.)				
0	213.8 ± 30.1 (100)	19.3 ± 1.9 (100)	124.3 ± 14.4 (100)	165.9 ± 30.5 (100)
5	97.9 ± 12.1** (45)	24.9 ± 1.8 (129)	83.3 ± 5.8* (67)	55.5 ± 11.0** (33)
10	112.2 ± 12.5* (52)	23.5 ± 0.8 (122)	59.7 ± 1.5** (48)	78.3 ± 21.4* (47)

Data are expressed as mean ± S.E. (n=5-7)

Panaxydol was administered for 3 consecutive days by i.p. injection

Values in parenthesis present percentages of control

*Significantly different from control (P<0.05)

**Significantly different from control (P<0.01)

대조군의 2.57에 비해 PESF 및 panaxydol 투여군에서 1.76, 1.88로 상당히 감소됨을 관찰하였다. 실험기간중 생쥐의 사료 섭취량과 체중 증가율은 대조군과 시험군 간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다(data not shown). panaxydol 투여용량은 PESF로부터 panaxydol 추출물(12.5%)을 감안하여 투여하였다. PESF 처리군과 panaxydol 처리군간 혈청 TC 및 LDL-C의 감소효과를 비교하여 볼 때 Table 1과 같이 유의한 차이가 없었다.

Qureshie 등¹²⁾은 인삼 석유에텔추출물의 고콜레스테롤혈증 억제효과를 보고하였지만, 그 활성성분에 대해서는 언급이 없었다. 본 실험결과는 인삼 석유에텔추출물의 고콜레스테롤혈증 억제효과를 발현하는 물질이 polyacetylene계 화합물의 주요성분인 panaxydol임을 간접적으로 시사해준다.

panaxydol의 실험동물 종류 및 투여경로에 따른 효과를 알아보고자 흰쥐를 이용하여 복강투여 효과를 조사하였다. 흰쥐에 고콜레스테롤혈증을 단기에 유발시키기 위해서 콜레스테롤과 sodium cholate 섞어 조제한 사료를 식이하였다. 1% 콜레스테롤과 0.5% sodium cholate 섞어 조제한 사료를 3일 식이시 정상군에 비해 혈청 총콜레스테롤 함량이 약 3배로 단기에 고콜레스테롤혈증이 유발됨을 확인하였다(Table 2).

콜레스테롤 식이와 동시에 panaxydol을 복강투여하여 혈중 TC, TG, HDL-C 및 LDL-C의 변화를 관찰하였다. 1% 콜레스테롤 사료 식이와 병용으로 panaxydol(5, 10 mg/kg b.w./day)을 3일간 복강 투여한 시험군에서 혈청 TC는 각각 55%와 48%, 혈청 TG는 33%와 52%, LDL-C는 67%와 53%가 대조군에 비해 유의성있게 감소하였고, HDL-C는 29%와 22%가 증가함을 관찰할 수 있었다. 그리고 투여용량별 효과를 비교하여 볼 때, 10 mg/kg 투여군보다 5 mg/kg 투여군이 억제효과가 높았으나, 유의적 차이는 없었다. 또한 panaxydol 투여군(5 mg/kg b.w./day)의 간 조직중 콜레스테롤 함량변화를 보면 Fig. 2에서와 같이 total cholesterol과 ester cholesterol 함량이 대조군에 비해 각각 28%와 36%

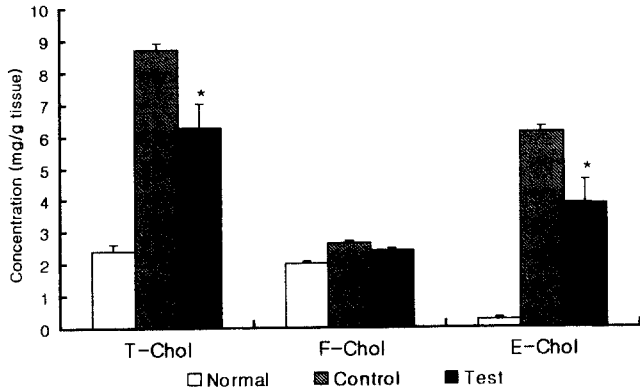


Fig. 2. Effect of panaxydol on hepatic cholesterol of cholesterol fed rats. Panaxydol was administered for 3 consecutive day by i.p. injection (5 mg/kg b.w.). Data are expressed as mean \pm S.E. (n=5-7). An asterisk indicates a values significantly different from control value by student's t-test ($p < 0.05$). T-Chol: total cholesterol, F-Chol: free cholesterol, E-Chol: ester Cholesterol.

감소하였으나 free cholesterol의 변화는 없었다. 고콜레스테롤 식이를 투여하면 ACAT 활성이 촉진되며,¹⁹⁻²⁰⁾ 이 효소에 의한 콜레스테롤의 에스테르화는 콜레스테롤의 장내흡수, 간의 lipoprotein 합성, 동맥경화질환에 있어서 에스테르화된 콜레스테롤 축적 등에 중요한 역할을 한다고 알려져 있으며,²¹⁾ 또한 ACAT 활성억제는 고콜레스테롤혈증 및 동맥경화의 예방 및 치료에 유용한 지표가 되는 것으로 알려져 있다.²²⁾ Kwon¹⁴⁾ 등은 인삼에 존재하는 polyacetylene 성분(panaxydol, panaxynol, panaxytriol)이 ACAT의 활성을 억제시킴을 보고하였다. 따라서 panaxydol의 고콜레스테롤혈증 방어효과는 panaxydol이 ACAT의 활성을 억제시켜, 장에서의 식이콜레스테롤 흡수가 저해되어 나타난 결과일 가능성이 크고, 또한 간내의 에스테르화 콜레스테롤 감소는 콜레스테롤의 장내흡수 저하 또는 간내의 ACAT 활성억제로 인하여 콜레스테롤의 에스테르화가 억제된 결과로서 나타날 수 있는 결과라 사료된다.

이상의 실험결과로 미루어 볼 때, 홍삼 석유에틸추출물(PESF)과 이 분획중 주요 polyacetylene계 함유성분인 panaxydol은 혈청중 TC, TG 및 LDL-C의 함량을 감소시켜 주고 간조직에서도 콜레스테롤의 축적을 억제하는 작용이 있는 것으로 평가되며, 또한 PESF의 고콜레스테롤혈증 억제활성은 이에 함유되어 있는 panaxydol이 주요 활성성분일 가능성을 시사해준다. PESF 및 panaxydol의 이러한 고콜레스테롤혈증에 대한 개선작용은 ACAT 활성과 관련한 콜레스테롤 흡수저해에 의한 것으로 사료된다. 또한 콜레스테롤 생합성 미치는 PESF 및 panaxydol의 영향에 대해서는 고콜레스테롤 식이를 한 본 실험결과로서는 알 수 없으나, Qureshi 등¹³⁾의 정상사료에 PESF를 첨가한 닭의 실험에서, HMG-CoA

reductase, cholesterol 7 α -hydroxylase 및 lipogenic enzyme 들의 활성이 억제됨을 보고한 점 등을 고려하여 볼 때, panaxydol이 콜레스테롤 생합성 과정에도 관여할 것으로 사료되어 이에 대한 효과를 연구중에 있다.

요 약

인삼의 석유에틸추출물(PESF) 및 이 추출물중 함유성분인 panaxydol이 고콜레스테롤 식이를 한 흰쥐와 생쥐의 혈청 및 간조직중 콜레스테롤 및 지질성분에 미치는 영향을 조사한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 2% 콜레스테롤 사료에 PESF(800 mg/kg사료) 및 panaxydol(100 mg/kg사료)을 첨가하여 2주동안 식이한 혈청중 지질성분의 변화는 대조군에 비해 PESF와 panaxydol을 투여한 시험군에서 혈청 TC가 각각 20%, 18%, LDL-C는 각각 35%, 32% 유의하게 감소되었다.

2. Panaxydol(5, 10 mg/kg b.w./day)을 1% 콜레스테롤 식이와 병용으로 3일간 복강 투여한 결과, 혈청 TC, TG 및 LDL-C가 대조군에 비해 유의성있게 감소하였고, 간 조직중 콜레스테롤 함량도 유의적으로 감소되었다.

3. PESF 및 panaxydol은 고콜레스테롤혈증을 억제하는 생리활성이 있고, 또한 PESF에서의 이러한 작용은 이 추출물중에 함유되어 있는 panaxydol이 크게 관여한 것으로 사료되며, 그 기전은 본 실험결과만으로는 알 수 없지만, 여러 문헌상 결과로 미루어 볼 때, 콜레스테롤 흡수억제에 기인할 것으로 추정된다.

인용문헌

1. Wald N. J. and Law M. R. : *Atherosclerosis*, **118**(Suppl.), S1 (1995).
2. Law M. R. and Bald N. J. : *Eur. J. Nutr.* **48**, 305 (1994).
3. Brown, M. S. and Goldstein, J. L. : *N. Engl. J. Med.*, **305**, 515 (1981).
4. Castelli, W. P., Dogle, J. T. and Gordon, T. : *Circulation*, **52**, 11 (1975).
5. Law M. R. and Wald, N. J. : *Eur. J. Clin. Nutr.*, **48**, 305 (1990).
6. Lim, C. J., Park, E. H., Rhee, D. K., Lee, S. J., S. K. : *Kor. Biochem. J.*, **14**, 188 (1981).
7. Joo, C. N. : *Proc. 3rd Int. Ginseng Symp.(Seoul)*, p. 27 (1980).
8. Ikehara, M., Shibata, Y., Higashi, T., Sanda, S. and Shoji, J. : *Chem. Pharm. Bull.*, **26**, 2844 (1978).
9. Joo, C. N., Kim, D. S. and Koo, J. H. : *Kor Biochem. J.*, **13**, 51 (1980).

10. Joo, C. N., Lee, H. B., Lee, Y. W. and Kang, I. C. : *Pro. 5th Int. Ginseng Symp.(Seoul)*, p. 47 (1989).
11. Yamamoto, M. and kumagai, A. : *Proc. 4th Int. Ginseng Symp.(Seoul)*, p. 13 (1984).
12. Yokozawa, T., Kobayashi, T., Kawai, A., Oura, H. and Kawashima, Y. : *Chem. Pharm. Bull.*, 33, 722 (1985).
13. Qureshi, A. A., Abuirmeileh, N., Din, Z. Z., Ahmad, Y. Burger, W. C. and Elson, C. E. : *Atherosclerosis*, 48, 81 (1983).
14. Kwon, B. M., Kim, M. K., Lee S. H., Kim, J. A. Lee, I. R. and Kim Y. K. : *Planta Med.*, 63, 550 (1997).
15. Kim, S. I. : *Ph. D. Dissertation*, College of Pharmacy, Chungnam National University (1988).
16. Kim, M. W. : *Annual Report of Ginseng Research*, Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, p. 127 (1988).
17. Qureshi, A. A., Abuirmeileh, N., Burger, W. C., Din, Z. Z. and Elson, C. E. : *Atherosclerosis*, 46, 203 (1983).
18. Carlson, S. E. and Goldfarb, S. : *Clinica Chimica Acta*, 79, 575 (1977).
19. Norum K. R., Lilljeqvist A. C. and Drevon C. A. : *Scand. J. Gastroenterol.* 12, 281 (1977).
20. Field F. J., Cooper A. D. and Ericson S. K. : *Gastroenterol.*, 83, 873 (1982).
21. Sliscovic D. R. and White A. D. : *Trends Pharm. Sci.* 12, 194 (1991).
22. Carr T. P., Hamilton R. I. and Redel I. L. : *J. Lipid. Res.* 36, 25 (1995).