

셀레나이트로 유도되는 백내장에서 선삼 성분에 따른 백내장 억제효과의 비교 분석

이상목^{1,2} · 정문선³ · 정진호⁴ · 김미금^{1,5} · 위원량^{1,5} · 박정일⁶ · 이진학^{1,7}

서울대학교 의과대학 안과학교실¹, 국군수도병원 안과², 순천향대학교 의과대학 안과학교실³, 인천의료원 안과⁴,
서울대학교병원 임상의학연구소 인공안구센터⁵, 서울대학교 약학대학⁶, 분당서울대학교병원 안과⁷

목적: 백내장 동물모델인 셀레나이트 백내장 모델에서 선삼추출물을 사포닌 분획과 비사포닌 분획으로 나누어 어느 분획의 성분이 백내장 예방효과에 더 관여하는지를 밝히고자 한다.

대상과 방법: 생후 13일째의 새끼 Sprague-Dawley 쥐 101마리를 선삼군, 사포닌군, 비사포닌군, 대조군의 4군으로 나누고, 셀레나이트(15 nmol/g)를 피하주사하여 백내장을 유도한 후 1군은 선삼추출물(100 µg/g, Ginseng Science, Seoul, Korea)을, 2군은 사포닌 분획(100 µg/g)을, 3군은 비사포닌 분획(100 µg/g)을, 4군은 phosphate buffered saline을 이들 간격으로 7회 복강내로 주사하였다. 셀레나이트 주사 7일과 14일 후에 수정체를 분리하여 사진을 찍어 수정체 면적에 대한 백내장 발생면적의 비를 구하고, 그에 따라서 백내장 정도를 나누었다. 이때 분석은 맹검법을 이용하였다.

결과: 2주째 결과 분석에서 백내장 발생율은 1군 33.3%, 2군 76.4%, 3군 41.2%, 대조군 77.7%였고, 백내장 발생면적은 1군 $13.4 \pm 20.8\%$, 2군 $14.4 \pm 11.7\%$, 3군 $5.7 \pm 7.7\%$, 대조군 $15.8 \pm 12.1\%$ 로 대조군과 비교하였을 때 3군에서 유의한 백내장 발생 억제효과를 보여주었다(발생율 $p=0.001$, 발생면적 $p=0.001$). 1주째도 1군과 3군이 대조군에 비하여 유의한 백내장 발생 억제효과를 보여주었다(1군 발생율 $p=0.018$; 3군 발생율 $p=0.032$, 발생면적 $p=0.005$).

결론: 백내장 동물모델에서의 선삼추출물의 백내장 예방효과는 선삼추출물의 성분 중 사포닌 분획이 아닌 비사포닌 분획의 성분에 의해 일어남을 보여주었다.

〈대한안과학회지 2010;51(5):733-739〉

백내장은 수정체의 혼탁으로 인하여 시력이 저하되는 질환이다. 수정체는 렌즈상피세포로부터 분화된 섬유세포(fiber cell)로 구성되는데, 분화과정에서 모든 세포내 소기관들이 소실되고, 크리스탈린(crystallins)이 정교한 초분자 유기조직(supramolecular organization)을 이루어 투명성을 유지한다. 섬유세포 내에서는 단백질분해(proteolysis)가 없어, 배아(embryo)때부터 만들어진 단백질은 사망할 때까지 유지되어 나이가 들면서 수정체는 점차 커지고 무거워 진다.¹ 백내장 수정체를 분석하면, 점차 단백질 합성은 감소하고, 주요 단백질인 크리스탈린이 thiolation, glycation, phosphorylation, deamidation, crosslinking 등이 일어나 고분자 화합물을 형성하여, 불용성 크리스탈린이 증가하여 산란과 흡수가 증가하여 투명성을 잃게 된다.²⁻⁴ 또 지

질과 단백질의 산화와 glutathione 환원 시스템 간의 부조화로 산화 스트레스에 더 예민해지게 된다.⁵

백내장의 발생 기전에는 노화 이외에도 당뇨병 등의 전신질환, 자외선 조사, 외상, 흡연 및 유전과 같은 많은 요인들이 관여한다. 이러한 여러 요인들의 바탕에는 산화 스트레스에 의한 손상이 관련되어 있을 것으로 생각하고 있다.^{6,7} 산화유리기는 산화 스트레스의 원인이 되는 활성 산화물(reactive oxygen species)로 백내장 환자의 방수와 수정체에서 증가되며, in vitro 에서도 활성산화물을 이용하여 백내장을 유발할 수 있다.⁸ 수정체에 도달된 산화유리기는 DNA, 지질, 단백질을 산화시켜 세포구조의 변화와 단백질의 응집을 유도해 백내장이 발생하도록 한다. 백내장의 여러 형태 중 노년에 생기는 핵백내장이 산화 손상과 관계가 깊다.³

고농도의 셀레나이트를 이용한 백내장 동물모델은 어린 쥐에서 핵백내장을 만들 수 있는 모델로서 Ostadalova et al⁹이 발표한 후, 많은 백내장 관련 실험에서 사용되고 있는 방법이다. 현재까지 알려진 바로는 셀레나이트(sodium selenite)를 생후 10~14일된 새끼 쥐에 피하주사함으로써 4~6일 후에 심한 백내장을 유발할 수 있다.¹⁰ Sodium se-

■ 접 수 일: 2010년 1월 4일 ■ 심사통과일: 2010년 3월 16일

■ 책임저자: 이진학

경기도 성남시 분당구 구미동 300
분당서울대학교병원 안과
Tel: 031-787-7371, Fax: 031-787-4057
E-mail: jjhlee@plaza.snu.ac.kr

* 본 논문은 분당서울대학교병원 일반연구비(과제번호 02-2006-005)에 의해 이루어진 것임.

lenite를 복강이나 피하에 주입하면 전방수 내 과산화수소(hydrogen peroxide) 발생, 수정체 상피세포의 대사 변화, 지질의 과산화, 수정체의 환원형 glutathione (GSH)의 농도 감소가 일어나고, 여러 활성산화물이 만들어져 결국 백내장이 발생한다.¹⁰⁻¹² 셀레나이트에 의하여 백내장이 유발되는 기전은 완전히 밝혀져 있지는 않지만, 설치류에서 major calcium-activated non-lysosomal, cysteine protease인 m-calpain의 활성화가 중요한 역할을 하는 것으로 생각되고 있는데, 이러한 m-calpain을 통한 단백질분해와 β crystallins의 N-terminal extensions의 소실이 백내장 발생에 중요한 역할을 한다.¹⁰ 이와 같이 유발된 백내장은 고분자 단백질의 응집이나 이황화결합의 증가가 없다는 차이점이 있으나, 칼슘, 단백질 분해 및 불용성 단백질의 증가, GSH와 수용성 단백질이 감소되는 점이 사람의 노년 백내장 발생과 비슷하다. 그리고 백내장 발생 속도가 빠르며, 재현성이 높다는 장점이 있다. 따라서 산화 스트레스를 이용한 셀레나이트 유발 백내장은 실험동물을 대상으로 한 백내장 연구에 좋은 동물모델이다.

인삼(Panax ginseng C. A. Meyer)은 동아시아 지역에서 수 천년의 약용 역사를 가지는 식물로 신비한 힘을 가지는 약물로 생각되어지고 있다.¹³ 특히 한국, 일본, 중국에서는 한약재 중 최고로 평가받고 있다. 이러한 배경에서 동아시아 사람들은 전통적으로 인삼뿌리나 그 추출액을 심신의 피로를 회복하고 근력을 보강하고, 노화를 막고 활력을 높이는 목적으로 사용하여 왔다.¹³ Brekhman and Dardymov¹⁴가 보약으로서의 인삼의 효과에 대한 새로운 약리학적 개념-인삼이 몸의 여러 병리적 요인에 대한 비특이적 저항성을 높인다-을 도입한 이래 인삼의 효과와 약리기전, 효과를 일으키는 성분에 대한 여러 연구들이 이루어져 왔다. 역학연구나 동물실험을 통해서 밝혀진 효과들을 정리해보면, 대뇌피질의 기능을 향상시키게 되어 학습능력이나 기억력, 지적업무의 성과를 향상시키며, 암의 발생 및 암세포의 성장과 전이를 억제하고, 항암 면역력을 향상시키며, 항암제의 부작용을 줄여준다.¹³ 또한, 통증을 억제하고, 당뇨를 막으며, 간기능을 향상시키고, 혈압조절효과가 있으며, 항산화 및 노화방지 효과가 있고, 피로를 막고 항스트레스 효과를 보여주며, 여성 갱년기 증후군과 남성의 성기능장애, HIV 바이러스 성장 억제 등의 효과도 갖는다.¹³ 노화의 원인으로 생각되는 산화작용에 대한 항산화 효과로 실험동물에서 수명연장의 효과가 보고된 바 있으며,¹⁵ 본 연구팀에서도 백내장의 예방에 효과가 있음과 이 과정에서 인삼추출물의 항산화 효과가 관여할 수 있음을 보고한 바 있다.¹⁶ 앞선 연구결과를 간단히 소개하면, 셀레나이트를 이용한 백내장 동물 모델에서 인삼가공물인 선삼추출물 100 mg/kg를

2일 간격으로 7회 복강 내에 주사함으로써 백내장의 발생 면적을 1주째에 52.0%, 2주째에 56.1% 감소시킬 수 있었고, 항산화 지표인 Malondialdehyde와 glutathione, Superoxide dismutase의 활성 변화를 관찰하여 선삼추출물의 투여가 수정체 내에서 항산화 효소들의 활성을 증가시킴을 보여주어 백내장 예방효과와 관련될 수 있음을 간접적으로 보여주었다.¹⁶

이번 실험은 이전 연구의 후속연구로 선삼추출물을 사포닌 분획과 비사포닌 분획으로 나누어 두 분획 중 어느 분획의 성분이 실험동물에서 백내장 예방효과에 더 관여하는지를 밝혀서, 향후 인삼 추출물을 이용하여 백내장 예방 안약을 개발하기 위한 기초자료를 확보하기 위한 동물 실험이다.

대상과 방법

실험동물은 무게 25~35 g의 생후 13일째의 새끼 Sprague-Dawley 쥐를 사용하였다(Orient Bio Inc., Seoungnam, Korea). 새끼 쥐들은 어미 쥐와 함께 사육되었으며, 어미 쥐는 물과 음식을 자유롭게 섭취할 수 있었다. 새끼 쥐들은 환기가 잘 되고 형광불빛(330 lux)이 아침 6시에 켜지고 저녁 6시에 꺼지는 표준적인 동물실에서 사육되었으며 방온도는 21°C로 유지되었다. 모든 동물 실험은 서울대병원 임상의학연구소 전임상실험실 운영위원회(Institutional Animal Care and Use Committee)의 승인 하에 이루어졌으며 안과 및 시각 연구를 위한 동물 사용에 대한 ARVO(The Association for Research in Vision and Ophthalmology) Statement 에 따라서 시행되었다.

실험동물의 산동은 미드린-피 점안제®(phenylephrine hydrochloride 5mg/ml and tropicamide 5 mg/ml, Santen, Japan)를 이용하였고 마취는 Zoletil® 0.01 ml (Tiletamine 125 mg/ml and Zolazepam 125 mg/ml, Virbac, France), 2% xylazine HCL 0.03 ml (Rompun®, Bayer Korea, Korea)을 근육주사하였다. 실험동물의 희생은 마취가 된 상태에서 CO₂ chamber를 이용하여 시행하였고 횡경막 절개를 추가로 시행하였다.

선삼은 Kim et al¹⁷이 발표한대로, 신선한 인삼(수삼, fresh Panax ginseng C. A. Meyer)을 120°C에서 3시간 증기로 쪄 후 건조시켜 만들었는데, 이번 실험에서는 선삼을 갈아 가루로 만든 후 95% 메탄올을 첨가하여 추출해 만든 선삼추출물(Ginseng Science, Seoul, Korea)을 실험에 사용하였다. 선삼추출물 380g (인삼으로 약 2 kg 해당)을 물 1.5 L에 현탁시킨 후 부탄올(n-BuOH) 1.5 L 씩으로 3회 반복 추출하여 부탄올 가용성 분획 (사포닌 분획) 85 g과 수용성 분획 (비사포닌 분획) 290 g을 얻었다. 사포닌 분획

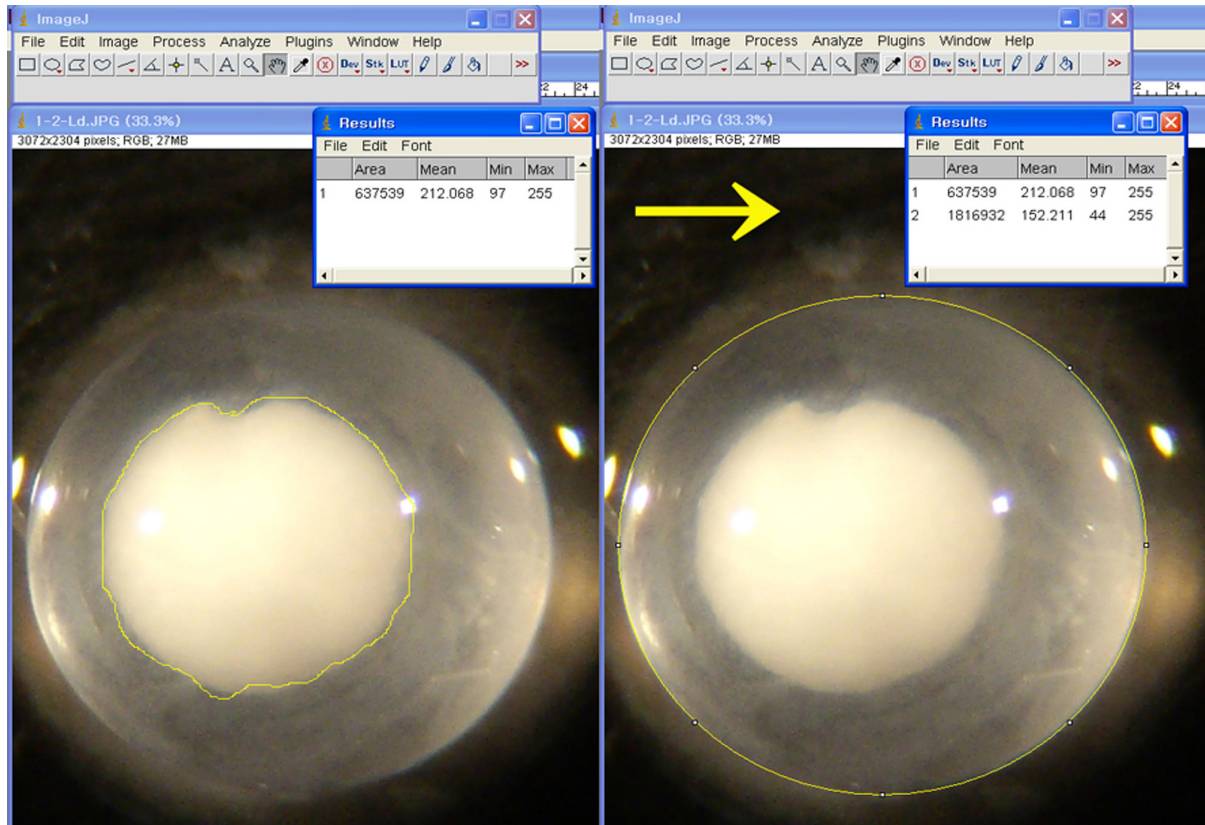


Figure 1. The methods of image analysis for lens area measurement. The cataractous lens area and total lens area was analyzed 2-dimensionally on photos of dissected lens using NIH ImageJ software.

의 주성분은 ginsenoside Rg3, Rg5, Rk1으로 각각의 함량은 16.05 %, 11.38 %, 10.07 % 이었고 이외에 사포닌 분획에는 ginsenoside Re, Rc, Rg1, Rg2, Rg6, F4, Rh4, Rk3 등이 함유되어 있었다.

동물실험은 101마리의 생후 13일째의 실험동물을 대상으로 4군으로 나누어, 1군은 선삼추출물(100 µg/g)을, 2군은 사포닌 분획(100 µg/g)을, 3군은 비사포닌 분획(100 µg/g)을, 4군(양성 대조군)은 phosphate buffered saline (PBS)을 복강 내로 주사하였다(전처치). 2시간 후 셀레나이트 15 nmol/g을 피하 주사하였다. 이후 2일 간격으로 7회 각 군에 따라 정해진 실험물질을 복강내 주사하였다.

Sodium selenite 주사 후 2일 간격으로 쥐의 몸무게를 측정하였고, 백내장 발생 정도를 현미경으로 관찰하였다. 셀레나이트 주사 후 7일째에 실험동물을 산동 시킨 후 마취시켜서 사진을 찍은 후, 각 군 별로 절반의 실험동물을 무작위로 선택하여 양쪽 안구를 적출하고 희생시켰다. 남은 실험 동물에 대해서는 실험을 진행하여 14일째(생후 27일째)에 마취 후 실험동물의 양쪽 안구를 적출하고 희생시켰다. 안구적출 과정에서 수정체에 손상이 가지 않도록 주의하였고, 적출된 안구는 뒤쪽 공막을 통해 수정체 만을 분리하였다. 현미경 하에서 수정체를 사진 촬영한 후, 촬영된 사진은

맹검법을 이용하여 무작위로 이름을 붙여서 숙련된 두 명의 판정자에게 보냈다. 두 명의 판정자가 NIH imageJ software (<http://rsb.info.nih.gov/ij>)를 이용하여 전체 수정체 면적에 대한 상대적인 백내장 발생 면적의 비를 구한 후 결과를 보내주면(Fig. 1), 맹검을 해제하고 두 판정자 결과의 평균값을 구하여 분석을 시행하였다.

군 별로 대상 개체수는 충분하였으나 백내장이 발생하지 않은 눈 때문에 백내장 발생 면적의 분포는 정규분포를 따르지 않고 표준편차가 커서 모수적인 방법을 이용한 통계적 분석에는 한계가 있었다. 이러한 문제를 해결하기 위하여 먼저 백내장 면적을 다시 Grade에 따라 나누어서 각 군의 Grade별 분율이 양성 대조군과 비교하여 차이가 있는지를 분율에 대한 분석방법인 chi square test를 이용하여 비교해 보았고, 두번째로는 구해진 면적 자체를 비모수검정법인 Mann-Whitney U test를 이용하여 양성 대조군에서의 백내장 발생면적과 비교하였다. 백내장 면적의 Grade는 백내장 면적비가 1% 미만을 Grade 0 (발생 안함), 1% 이상 10% 미만을 Grade I, 10% 이상에서 20% 미만을 Grade II, 20% 이상 30% 미만을 Grade III, 30% 이상을 Grade IV로 나누었다. Chi square test 분석은 전체 그룹에서의 차이를 비교하고, 각 농도 군과 셀레나이트만 준 양성 대조

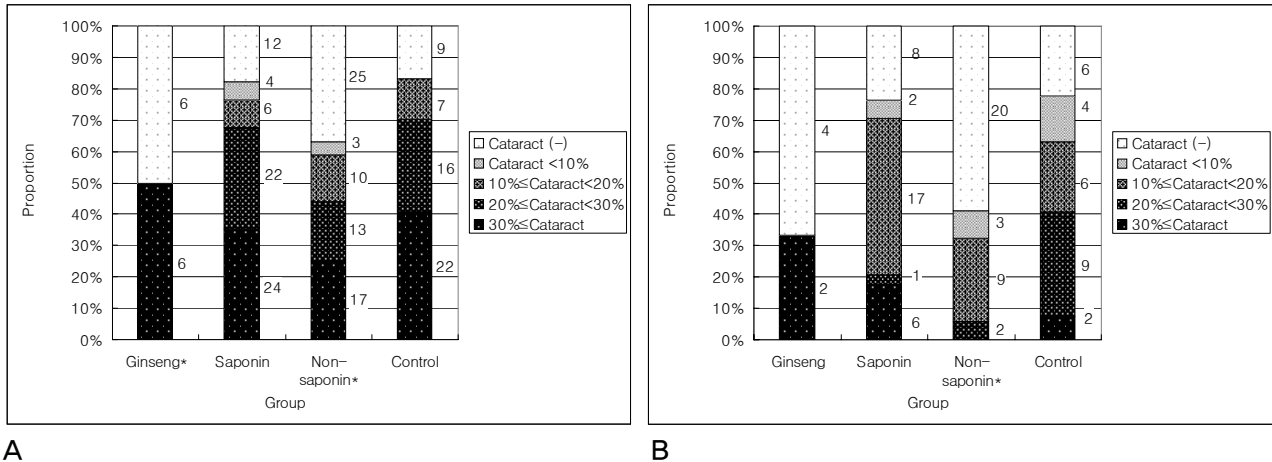


Figure 2. The protective effect of components of ginseng extract in selenite-induced cataract in the rat model. (A) Proportion according to the cataract grade at 1 week after sodium selenite injection. Numbers show total numbers of eyes in each grade. Ginseng group (Group I, $p=0.018$) and Non-saponin group (Group III, $p=0.032$) showed lower cataract grade significantly compared with the control group using chi-square test. (B) Proportion according to the cataract grade at 2 week after sodium selenite injection. Numbers show total numbers of eyes in each grade. Ginseng group ($p=0.064$) showed borderline difference but Non-saponin group ($p=0.001$) showed significantly lower cataract grade compared with the control group using chi-square test. Ginseng: ginseng (sun-sam) extract 100 $\mu\text{g/g}$ every other day injection group; Saponin: saponin component of ginseng extract 100 $\mu\text{g/g}$ every other day injection group; Non-saponin: non-saponin component of ginseng extract 100 $\mu\text{g/g}$ every other day injection group; Control (positive control): PBS every other day injection group. Asterisk (*) indicates statistical significance compared with control group.

군과의 차이를 각각 비교하였다. p -value는 0.05 미만일 때 유의한 것으로 판정하였고 통계프로그램은 SPSS ver 15.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA)을 이용하였다.

결 과

백내장 발생 정도에 따른 비율은 Figure 2에 1주째와 2주째로 나누어서 다이어그램으로 보여주었고, 백내장 발생 면적에 대한 분석은 Figure 3에 그래프로 표시하였다.

선삼추출물을 준 군(1군)에서 셀레나이트 주사 1주일째는 12안 중에서 백내장이 6안(50.0%)에서 발생하였고 백내장 발생면적은 $20.5 \pm 21.8\%$ 이었고, 셀레나이트 주사 2주일째는 6안 중에서 백내장이 2안(33.3%)에서 발생하였고 백내장 발생면적은 $13.4 \pm 20.8\%$ 이었다.

사포닌을 준 군(2군)에서 셀레나이트 주사 1주일째는 68안 중에서 백내장이 56안(82.4%)에서 발생하였고 백내장 발생면적은 $23.5 \pm 14.9\%$ 이었고, 셀레나이트 주사 2주일째는 34안 중에서 백내장이 26안(76.4%)에서 발생하였고 백내장 발생면적은 $14.4 \pm 11.7\%$ 이었다.

비사포닌을 준 군(3군)에서 셀레나이트 주사 1주일째는 68안 중에서 백내장이 43안(63.2%)에서 발생하였고 백내장 발생면적은 $16.8 \pm 15.2\%$ 이었고, 셀레나이트 주사 2주

일째는 34안 중에서 백내장이 14안(41.2%)에서 발생하였고 백내장 발생면적은 $5.7 \pm 7.7\%$ 이었다.

양성 대조군인 셀레나이트만 준 군(4군)에서 셀레나이트 주사 1주일째는 54안 중에서 백내장이 45안(83.3%)에서 발생하였고 백내장 발생면적은 $25.1 \pm 14.5\%$ 이었고, 셀레나이트 주사 2주일째는 27안 중에서(전체 28안 중에서 1안은 수정체 박리과정에서 수정체낭의 파열이 발생하여 정확한 분석이 어려워 제외하였음) 백내장이 21안(77.7%)에서 발생하였고 백내장 발생면적은 $15.8 \pm 12.1\%$ 이었다.

백내장 발생율의 분석에서는 셀레나이트 주사 1주째 백내장 발생률이 1군에서는 50.0%, 2군에서는 82.4%, 3군에서는 63.2%, 4군에서는 83.3%로 선삼군과 비사포닌군이 사포닌군과 대조군에 비하여 낮았고 각 군별로 양성대조군(4군)의 비율과의 비교에서 1군과 3군은 p 값이 0.018, 0.032으로 유의한 차이를 보여주었고, 2군은 p 값이 0.942로 유의한 차이를 보여주지 못했다. 네 군 전체에 대한 분석에서도 유의한 차이를 보여주었다($p=0.012$, Fig. 2).

셀레나이트 주사 2주째 백내장 발생률은 1군에서는 33.3%, 2군에서는 76.4%, 3군에서는 41.2%, 4군에서는 77.7%로 1주째와 비슷한 결과가 유지되었고, 각 군별로 양성대조군(4군)의 비율과의 비교에서 1군은 p 값이 0.064로 경계선상의 유의성을, 3군은 p 값이 0.001로 유의한 차이를

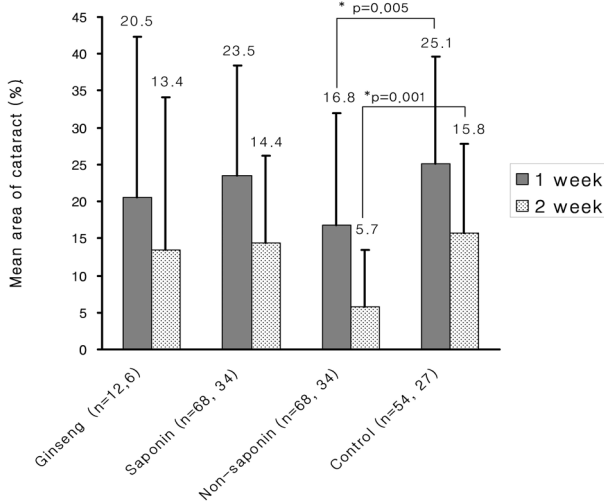


Figure 3. The mean area of the cataractous lens to the entire lens. It showed the non-saponin component of ginseng extract group has the protective effect of cataract formation in selenite-induced cataract in the rat model. This graph showed the significantly lower cataract area in non-saponin group (Group III) compared with the control group using Mann-Whitney U test. Mann-Whitney U test was used because the cataract area distribution did not follow the standard curve due to the portions of lenses without cataract. Asterisk (*) indicates statistical significance compared with positive control group.

보여주었고, 2군은 p 값이 0.201로 유의한 차이를 보여주지 못했다. 네 군 전체에 대한 분석에서도 유의한 차이를 보여주었다($p=0.001$, Fig. 2).

백내장 발생면적 자체의 통계적인 분석은 정규분포를 따르지 않고 표준편차가 커서 일부에서만 통계적 유의성을 보였다. 3군(1주째 $p=0.005$, 2주째 $p=0.001$)이 양성대조군인 4군과 비교하였을 때 통계적으로 유의한 백내장 발생면적의 감소를 보였다(Fig. 3).

고찰

우리는 이번 실험을 통하여 이전에 밝힌 바 있는 선삼추출물에 의한 동물모델에서의 백내장 발생 억제효과가 선삼추출물의 사포닌 분획 보다는 비사포닌 분획에 들어있는 성분에 의하여 이루어짐을 보여주었다.

인삼의 사포닌은 알코올 또는 페놀과 당의 복합체로 이루어진 복잡한 탄수화물 구조로 인삼의 여러가지 효과에서 중요한 역할을 하는 것으로 생각되고 있다.¹³ 하지만, 사포닌 이외의 비사포닌 부분도 인삼의 약리작용에 크게 기여하는 것으로 알려져 있다. 특히 panaxydol, panaxynol, pa-

naxytriol 등의 polyacetylene 계열의 물질이 항암, 항산화 효과를 나타낸다.^{18,19} 그 외에도 페놀 복합체는 노화방지 효과를 가지며, 전체 인삼추출물의 60~70%를 차지하는 panaxans A-U의 당류는 혈당강화, 면역강화, 항괴양 효과를 갖는다.¹³ ispinene, ocinene 등의 지용성 물질은 진통, 소염 등의 작용을 나타낸다. 특히 비사포닌의 중요성은 adenosine, acidic peptide, 망간을 포함한 물질 등 당뇨병제 물질이 함유되어 있어 최근에 주목을 받고 있다.¹³

인삼은 고온에서 가열하면 전분입자가 호화되어 조직이 견고해지고, 각종 효소의 불활성화가 일어나면서, 구성 성분의 변화가 생긴다.¹⁷ 그 대표적인 예가 인삼을 100℃에서 3시간 동안 증숙 건조한 홍삼과 120℃에서 인삼을 3시간 증숙 건조시킨 선삼(Sun ginseng)으로, 화학적 성분에 변화가 생겨 생리학적 활성이 증가된다. 특히, 선삼에는 Rk2, Rk3, Rs3, Rs4, Rs5 등 홍삼에는 없는 새로운 사포닌이 더 많이 함유되어 있으며, 20(S)-Rg3, 20(R)-Rg3, Rk1, Rg5 등의 성분이 증강되어 홍삼보다 강한 항산화효과와 항암효과를 갖는 것으로 생각되는데,^{17,20} 이는 인삼에 있는 사포닌의 성분 변화에 의한 것으로 생각되고 있다.^{21,22}

이번 실험을 통하여 우리가 알아내려고 한 것은 기존에 항산화 작용을 주로 하는 것으로 알려져 있는 비사포닌 분획과 항산화효과가 강화된 선삼의 사포닌 분획 중 어느 분획의 물질에 의하여 백내장 예방 효과가 나타나는가 하는 점이었고, 결과적으로 비사포닌 분획이 주로 백내장 발생 예방에 효과가 있다는 것을 보여주었다.

대부분의 약용 식물이 그렇듯이 천연물로서의 인삼은 여러 성분들의 복합체로 이루어져 있다.¹³ 인삼의 효능에 대한 과학적인 연구를 위해서는 인삼의 특정 작용이 어떤 성분과 상관관계를 갖는지를 살펴보는 것이 중요하다. 그 때문에 1990년대부터 인삼의 여러 가지 작용이 어떤 성분들에 의하여 나타나는지에 대한 분석이 이루어지고 있으며,^{13,23-25} 고온을 이용한 가공방법으로 약리작용을 나타내는 성분을 증가시키려는 노력이 이루어지고 있다.¹⁷ 아직도 인삼의 성분과 기능과의 관계가 완벽히 밝혀지지는 않았지만 기능에 따라서 지금까지 어느 정도 밝혀지거나 추정되고 있는 활성성분은 다음과 같다.¹³ 먼저, 대뇌피질의 기능을 향상에는 G-Rb1, G-Rg1, G-Rg2가 활성성분으로 작용하고, 통증을 억제하는데 G-Rf, Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, PT saponin 이 활성성분으로 작용할 것으로 생각된다. 항암효과와 관련하여 암세포 성장을 막는 데는 G-Rg3, G-Rg5, G-Rh2, G-Rp1, polyacetylene compounds (panaxydol, panaxynol, panaxytriol)이 효과를 가지고, 암세포의 전이를 막는 데는 G-R3, G-Rb2가 효과를 가지고, 항암제의 항암능력을 향상시키는 데에는 G-Rh2, panaxytriol이 효과

를 가지고, 항암제의 부작용을 줄이는 데에는 20(S)-Rg3가 효과를 가진다.^{13,24,25} 면역력을 향상시키는데 G-Rh2가 효과를 가지고, 당뇨를 막는 데는 G-Rb2, G-Rh2, acidic peptide, adenosine, pyroglutamic acid가 효과를 가지며, 간기능을 향상시키는데 G-Rb1, G-Rg1, G-Rf, G-Ro, ginseng extracts가 효과를 가진다. 혈압조절에는 G-Ro, G-Rb1, G-Re, G-Rg1, G-Rg3, PT components가 효과를 보이고, 피로를 막고 항스트레스 효과에는 G-Rg1, G-Rb1가 효과를 보인다. 노화의 원인으로 생각되는 산화작용에 대한 항산화 효과로 실험동물에서 수명연장의 효과가 보고된 바 있는데, 페놀 복합체, polyacetylene compounds가 효과를 보인다.¹⁵ 이번 연구결과를 이와 같은 기존 연구결과들과 비교하여 보면, 기존의 실험 결과에서도 항산화 효과가 주로 polyacetylene 계열, 페놀 복합체 등에 의해서 유도되는 것으로 나타나고 있기 때문에, 상기 성분들을 주축으로 하는 비사포닌 분획이 선삼의 백내장 예방 효과를 나타내었을 가능성을 제시하는 이번 연구결과와 상당히 일치한다.

이번 연구는 셀레나이트를 이용한 동물실험 모델에서 선삼추출물이 백내장 발생을 억제하였다는 기존의 실험 결과에서 한 단계 더 나아가, 백내장 발생 억제를 일으키는 성분은 주로 사포닌 분획보다는 비사포닌 분획에 포함된 성분이라는 단서를 제시하는 실험으로서, 향후 백내장 발생 억제를 일으키는 성분을 정확히 밝혀내기 위한 단초를 마련한 연구라는 데에서 의의를 갖는다고 하겠다. 또한, 이러한 과정을 통하여 궁극적으로는 선삼추출물을 이용하여 안약 형태의 백내장 예방약제를 개발할 수 있는 가능성을 열었다는 데에 그 의미가 있다. 기존의 연구에서 선삼추출물로 만든 안약을 토끼에 점안하여 전방수를 분석하였을 때 사포닌 성분이 검출되지 않아서 점안군을 제외하였고, 점안약으로는 기대하는 효과를 얻기 어려울 것으로 판단한 바 있다.¹⁶ 하지만 이번 실험을 통하여 사포닌 성분이 아니라 비사포닌 성분이 백내장 예방 효과를 가지는 것으로 보임에 따라서 비사포닌 성분을 점안약으로 만들어서 안내 침투가 가능한 지를 살펴보는 새로운 연구가 필요함을 알 수 있게 되었다. 다만, 비사포닌 분획에 들어있는 여러가지 성분 중에서 어떤 성분이 백내장 예방에 효과가 있는지에 대한 분석이 완벽히 이루어지지 못한 한계가 있어서, 해당 성분들을 분리하여 추가적인 실험이 필요할 것으로 생각된다.

결론적으로, 이 실험은 우리 연구팀에서 기존에 밝힌 바 있는 백내장 동물모델에서의 선삼추출물의 백내장 예방효과가 선삼추출물의 성분 중 비사포닌 분획의 성분에 의해 일어남을 보여준 실험논문으로서 향후 선삼추출물의 백내장 예방효과 연구와 백내장 예방약제 개발을 위한 초석이 될 것으로 기대한다.

참고문헌

- 1) Sue Menko A. Lens Epithelial Cell Differentiation. *Exp Eye Res* 2002;75:485-90.
- 2) Bloemendal H, de Jong W, Jaenicke R, et al. Ageing and vision: structure, stability and function of lens crystallins. *Prog Biophys Mol Biol* 2004;86:407-85.
- 3) Beebe DC. The lens. In: Kaufman PL, Alm A, eds. *Adler's Physiology of The Eye*, 10th ed. St. Louis: Mosby, 2002; chap. 5.
- 4) Hejtmancik JF, Piatigorsky J. Lens proteins and their molecular biology. In: Albert DM, Jakobiec FA, eds. *Principles and Practice of Ophthalmology*, 2nd ed. Philadelphia: Saunders, 2000; v. 2. chap. 101.
- 5) Palmquist BM, Philipson B, Barr PO. Nuclear cataract and myopia during hyperbaric oxygen therapy. *Br J Ophthalmol* 1984; 68:113-7.
- 6) Babizhayev MA, Deyev AI, Lindberg LF. Lipid peroxidation as a possible cause of cataract. *Mech Ageing Dev* 1988;44:69-89.
- 7) Babizhayev MA, Deyev AI. Lens opacity induced by lipid peroxidation products as a model of cataract associated with retinal disease. *Biochim Biophys Acta* 1989;1004:124-33.
- 8) Beckman KB, Ames BN. The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev* 1998;78:547-81.
- 9) Ostadaloja I, Babicky A, Obenberger J. Cataract induced by administration of a single dose of sodium selenite to suckling rats. *Experientia* 1978;34:222-3.
- 10) Shearer TR, Ma H, Fukiage C, Azuma M. Selenite nuclear cataract: review of the model. *Mol Vis* 1997;3:8-16.
- 11) David LL, Shearer TR. State of sulfhydryl in selenite cataract. *Toxicol Appl Pharmacol* 1984;74:109-15.
- 12) Wendel A. *Selenium in biology and medicine*, 1st ed. Vol. 1. New York: Springer-Verlag, 1989; 70-3.
- 13) Choi KT. Botanical characteristics, pharmacological effects and medicinal components of Korean Panax ginseng C A Meyer. *Acta Pharmacol Sin* 2008;29:1109-18.
- 14) Brekhman II, Dardymov IV. New substances of plant origin which increase nonspecific resistance. *Annu Rev Pharmacol* 1969; 9:419-30.
- 15) Oura H, Oita Y. Effect of Korean red ginseng powder on the survival rate of rat. *Ginseng Rev* 1989;1:228-37.
- 16) Jung MS. Inhibitory Effect of Sun Ginseng Extract on Cataractogenesis in Rat [dissertation]. Cheongju, Korea: Chungbuk National University, 2009;1-39.
- 17) Kim WY, Kim JM, Han SB, et al. Steaming of ginseng at high temperature enhances biological activity. *J Nat Prod* 2000;63:1702-4.
- 18) Kim SI, Lee YH, Kang KS, et al. 10-Acetylpanaxytriol, a new cytotoxic polyacetylene from Panax ginseng. *Yakhak Hoeji* 1989;33:118.
- 19) Ahn BZ, Kim SI, Lee YH. Acetylpanaxydol and panaxydol-chlorohydrin, two new polyenes from Korean ginseng with cytotoxic activity against L1210 cells. *Arch Pharm (Weinheim)*. 1989;322:223-6.
- 20) Keum YS, Park KK, Lee JM, et al. Antioxidant and Anti-Tumor Promoting Activities of the Methanol Extract of Heat-Processed Ginseng. *Cancer Lett* 2000;150:41-8.
- 21) Lee YJ, Kim HY, Kang KS, et al. The Chemical and Hydroxyl Radical Scavenging Activity Changes of Ginsenoside-Rb1 by Heat Processing. *Bioorg Med Chem Lett* 2008;18:4515-20.
- 22) Kang KS, Kim HY, Baek SH, et al. Study on the hydroxyl radical scavenging activity changes of ginseng and ginsenoside-Rb2 by heat processing. *Biol Pharm Bull* 2007;30:724-8.
- 23) Zhang JT, Qu ZW, Liu Y, Deng HL. Preliminary study on antiamnesic

- mechanism of ginsenoside Rg1 and Rb1. Clin Med J 1990;103:932-8.
- 24) Yun TK, Lee YS, Lee YH, et al. Anticarcinogenic effect of Panax ginseng C.A. Meyer and identification of active compounds. J Korean Med Sci 2001;16:S6-18.
- 25) Lee SY, Kim GT, Roh SH, et al. Proteomic analysis of the anti-cancer effect of 20S-ginsenoside Rg3 in human colon cancer cell lines. Biosci Biotechnol Biochem 2009;73:811-6.

=ABSTRACT=

Analysis of the Effective Fraction of Sun Ginseng Extract in Selenite Induced Cataract Rat Model

Sang Mok Lee, MD^{1,2}, Jung Moon Sun, MD³, Jin Ho Jeong, MD⁴, Mee Kum Kim, MD^{1,5},
Won Ryang Wee, MD^{1,5}, Jeong Hill Park, PhD⁶, Jin Hak Lee, MD^{1,7}

Department of Ophthalmology, Seoul National University College of Medicine¹, Seoul, Korea

Department of Ophthalmology, The Armed Forces Capital Hospital², Seongnam, Korea

Department of Ophthalmology, Soonchunhyang University College of Medicine³, Cheonan, Korea

Department of Ophthalmology, Incheon Medical Center⁴, Incheon, Korea

Artificial Eye Center of Clinical Research Institute, Seoul National University Hospital⁵, Seoul, Korea

Seoul National University College of Pharmacy⁶, Seoul, Korea

Department of Ophthalmology, Seoul National University Bundang Hospital⁷, Seongnam, Korea

Purpose: To compare the protective effects of saponin and non-saponin Sun-ginseng extract fractions in a selenite-induced rat cataract model.

Methods: A total of 101 Sprague-Dawley rat pups were divided into four groups by treatment: Sun-ginseng, saponin fraction, non-saponin fraction, and control. For induction of cataracts, sodium selenite 15 nmol/g was injected subcutaneously in 13 day-old rat pups. Sun-ginseng extract 100 µg/g (Group I, Ginseng Science, Seoul, Korea), saponin fraction 100 µg/g (Group II), non-saponin fraction 100 µg/g (Group III), and phosphate buffered saline (Control group) were injected intraperitoneally every two days for a total of seven injections. The rats were sacrificed and their lenses were dissected and photographed at day 7 and 14, and the cataracts were graded according to the ratio of the cataract area to the total lens area. The blind method was used for the evaluation of the cataract area.

Results: At day 14, cataract formation rates (CFR) were 33.3% in group I, 76.4% in group II, 41.2% in group III, and 77.7% in the control group. The mean cataract area (MCA) was $13.4 \pm 20.8\%$ in group I, $14.4 \pm 11.7\%$ in group II, $5.7 \pm 7.7\%$ in group III, and $15.8 \pm 12.1\%$ in the control group. Group III showed statistically significant results compared with those of control group (CFR $p=0.001$, MCA $p=0.001$). We observed significantly lower incidence and smaller mean cataract area in Group I and Group III at day 7 compared with the control group (Group I, CFR $p=0.018$; Group III, CFR $p=0.032$, MCA $p=0.005$).

Conclusions: The protective effects of Sun-ginseng extract are caused by the components in the non-saponin fraction, not by those in the saponin fraction, in a selenite-induced cataract rat model.

J Korean Ophthalmol Soc 2010;51(5):733-739

Key Words: Cataract, Rat, Saponin, Selenite, Sun ginseng

Address reprint requests to Jin Hak Lee, MD

Department of Ophthalmology, Seoul National University Bundang Hospital

#300 Gumi-dong, Bundang-gu, Seongnam 463-707, Korea

Tel: 82-31-787-7371, Fax: 82-31-787-4057, E-mail: jjhlee@plaza.snu.ac.kr