

## 人蔘이 白鼠 肝藥物代謝酵素에 미치는 効果

李泰廈 · 金洛斗

서울대학교 藥學大學

(Received November 11, 1981)

Tae Ha Lee and Nak Doo Kim

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151, Korea

### The Effect of Ginseng on Hepatic Drug Metabolizing Enzyme in Rats

**Abstract**—The effect of ginseng methanol extract on hepatic drug metabolizing enzyme in rat was investigated. The ginseng methanol extract (100mg/kg) was administered orally to Sprague Dawley rats for 7 days and the contents of cytochrome P<sub>450</sub> and NADPH cytochrome c reductase in liver were measured by the method of Stanton *et al.* and Mazel respectively. The content of liver cytochrome P<sub>450</sub> and NADPH cytochrome c reductase in the rats treated with ginseng methanol extract (100mg/kg) were increased by 21.9% and 16.6% respectively and their increases were statistically significant. Single *i. p.* injection of phenobarbital (100mg/kg) to the rats produced approximately 25% increase in cytochrome P<sub>450</sub> content in this investigation and further stimulation was produced in the rats pretreated with ginseng methanol extract (100mg/kg). On the other hand, single *i. p.* injection of 95% CCl<sub>4</sub> (0.5ml/kg) showed 29% decrease in cytochrome P<sub>450</sub> content and 10.5% decrease in NADPH cytochrome c reductase activity. The degree of inhibition of cytochrome P<sub>450</sub> content in the rats pretreated with ginseng methanol extract (100mg/kg) was similar to that observed in the CCl<sub>4</sub> alone treated group, but NADPH cytochrome c reductase activity was increased by 65% in the rats pretreated with ginseng methanol extract (100mg/kg).

These results suggest that ginseng is the hepatic drug metabolizing enzyme inducing agent in the rat and the effect is similar to phenobarbital.

人蔘의 肝에 對한 保護作用은 Juhn<sup>1)</sup>이 四鹽化炭素投與後 人蔘을 投與한 群에서 分離한 肝 mitochondria 의 酸素消費量을 測定한 結果 四鹽化炭素投與群에서 酸素消費가 減少하였으나 人蔘投與群에서는 增加하였으며 正常群에서는 약간의 上昇을 觀察하였다. 또한 家兎에서 알콜投與에 依한 痲醉誘導期가 人蔘前處理로 지연되었으며 痲醉時間이 顯著히 短縮되었다. 이때 血中 알콜濃度는 低下되어 있음을 觀察하고 人蔘이 肝에서 alcohol dehydrogenase 의 活性을 增加하여 血中 알콜濃度를 低下시킨다고 하였다. 또한 95% 四鹽化炭素投與로 肝에 損傷을 준 후 人蔘投與時 SGOT 및 SGPT 의 力價가 低下하였으며 肝病變이 回復됨을 觀察하였다<sup>2)</sup>.

Cytochrome P<sub>450</sub>은 heme group 을 갖고 있는 protein 으로서 1958年 Klingenberg<sup>3)</sup>, Garfinkel<sup>4)</sup>에 의해 환원된 狀態에서 CO 와 結合하여 450nm 에서 強한 吸收 band 를 나타낸다고 하여 CO

binding pigment 인 cytochrome P<sub>450</sub>이라命名되었다. Cytochrome P<sub>450</sub>은 存在組織과 species 에 따라 다르며 結合하는 藥物들이 다른 spectrum 을 나타내는데 type I 과 type II 로 區別된다<sup>5)</sup>. 또한 microsomal flavoprotein enzyme 인 NADPH cytochrome c reductase 는 microsomal electron transport 에 關與해서 많은 化合物의 환원을 매개시킨다. 이 NADPH cytochrome c reductase 活性을 아울러 測定함으로써 phenobarbital type 또는 3-Methylcholanthrene type 로 區別할 수 있다<sup>6)</sup>. 이에 저자는 人蔘 methanol 엑기스가 Cytochrome P 450 및 NADPH cytochrome c reductase 活性에 미치는 效果를 對照群과 比較測定하고 또한 어떠한 type 의 inducer 인 지를 究明하였으며 아울러 phenobarbital 및 CCl<sub>4</sub> 와의 併用投與時 이 enzyme 에 미치는 效果를 觀察하였다.

### 實 驗 方 法

實驗材料—1) 人蔘 Methanol 엑기스 : 市中에서 購入한 홍삼을 粗末로 하여 methanol 로 8 시 간씩 3回 抽出하여 그 抽出液을 蒸發濃縮乾燥하였다. 抽出된 methanol 엑기스를 生理的食鹽水 에 녹여 試料로 使用하였다.

2) NADPH cytochrome c reductase 活性測定用溶液 : Solution 1—NADPH (Sigma) 5.7mg KCN 9.75mg nicotinamide (和光純藥) 366mg 을 0.05M phosphate buffer (10<sup>-3</sup>M EDTA, pH 7.6) 에 녹여 全量을 100ml 로 하여 使用하였다. Solution 2—cytochrome c 3.68mg 을 증류수에 녹여 全量을 1ml 로 하여 使用하였다. Solution 3—KCN 9.75mg nicotinamide 366mg 을 0.05M phosphate buffer (10<sup>-3</sup>M EDTA, pH 7.6) 에 녹여 全量을 100ml 로 하여 使用하였다.

3) CO gas<sup>7)</sup>: 溫度計, 적하여두, 안전관 및 가스導出管을 갖춘 底플라스크에 98% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 를 넣고 液溫은 水浴上에서 60~70°C 가 되도록 하여 적하여두로부터 90% HCOOH 를 少量씩 滴加하였다. 이때 CO gas 가 發生하여 98% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 를 通過시켜 脫水시키고 公기의 混入을 막기 위해 약 5분간 가스를 날려 보냈다. 點火하면 담청색 불꽃을 내며 燃燒함을 보아 CO 를 확인하였으며 가스捕集瓶에 물과 치환하여 捕集하였다. 捕集瓶을 hood 안에 設置된 수도꼭지와 連結시켜 每分 120ml 의 一定量의 수도물을 流出시켜 이 압력으로 放出되는 CO gas 를 實驗에 使用하였다.

4) 實驗動物 : 同一條件에서 200g 内外의 健康한 雄性 Sprague-Dawley 系 흰쥐에게 第一사료에서 구입한 高형사료를 먹여 飼育하였다.

實驗方法—1) 人蔘 methanol 엑기스가 cytochrome P<sub>450</sub> 및 NADPH cytochrome c reductase 活性에 미치는 效果에 관한 實驗

(1) microsome 分割의 製造 : 200g 内外의 흰쥐에 人蔘 methanol 엑기스 100mg/kg 을 7日間 經口로 投與하고 마지막 投與로부터 24時間 絶食시킨 다음 頭部에 타격을 加해 致死시킨 후 목을 切開하여 피를 一部 除去한 다음 신속하게 開腹하여 1.15% KCl 로 肝을 灌流하여 血液을 제거한 後 肝을 摘出하였다. 摘出した 肝을 細切하고 肝重量의 4 volume 의 0.25M sucrose 溶液을 加하여 Potter type homogenizer 를 使用하여 25초간 2번 homogenize 시켰는데 이상의 조작은 4°C 低溫室에서 行했다. homogenate 를 2°C 에서 12,000×g 로 15分間 遠心分離시키고 그 supernatant 를 gauze 여과하여 지방층과 非分散結合組織잔해 (undispersed connective tissue residue) 를 除去하였다. 여과액을 취하여 2°C 에서 105,000×g 로 65分間 遠心分離시켰다. 상등

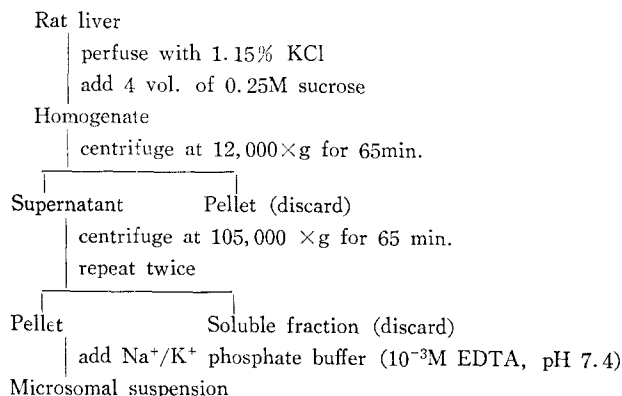


Fig. 1—Fractionation of microsomal fraction.

액은 버리고 pellet 를 취하여 0.2M phosphate buffer ( $10^{-3}$ M EDTA, pH 7.4)를 가해 suspension 시켜 다시 이것을  $2^{\circ}\text{C}$ 에서  $105,000\times\text{g}$ 로 65분간 원심분리시켜 상등액은 버리고 pellet 을 microsome 으로 얻었다(Fig. 1.).

(2) Cytochrome  $\text{P}_{450}$  활성測定: 위의 방법으로 얻은 microsomal pellet 에 0.2M phosphate buffer ( $10^{-3}$ M EDTA, pH 7.4)를 가해 microsomal suspension 을 만들어 Stanton 等<sup>9)</sup>의 방법과 Takashi 等<sup>9)</sup>의 방법을 혼용하여 일정량의 microsomal suspension 을 취해 CO gas 를 1분간 bubbling 시킨 후 兩等分하여 各各 reference sample 로 使用한다. 3分後 sample 에 환원제  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$  를 少量 加해서 1分後에 450nm 와 500nm 에서 吸光度를 測定하여 그 差異를 Takashi 等<sup>9)</sup>의 방법을 利用하여 molar extinction difference 를  $104\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 로 하여 cytochrome  $\text{P}_{450}$ 의 활성을 計算하였다.

(3) NADPH cytochrome c reductase 활성測定: 0.05M phosphate buffer ( $10^{-3}$ M EDTA)를 cytochrome C의 활성이 가장 높은 pH 7.6으로 하여 NADPH cytochrome c reductase 활성測定의 suspension 液으로 使用하였으며 incubation medium 은 Table I 과 같다.

Solution 1 (NADPH 有)과 Solution 3 (NADPH 無)를 各各 2ml 取하여  $25^{\circ}\text{C}$ 에서 8분간 incubation 시킨 다음 Solution 2를 0.5ml 加하였다. 이 混合物를 다시  $25^{\circ}\text{C}$ 에서 2분간 incubation 시키고 0.5ml의 microsomal suspension 을 加하여 total volume 을 3ml 로 하여 재빨리 混和시켜 各各 sample, reference 로 하여  $25^{\circ}\text{C}$ 를 維持하면서 reaction rate 가 linear 하게 되는 3~

Table I—Composition of incubation medium.

	Solution 1	Solution 2	Solution 3
Composition	NADPH 5.7mg KCN 9.75mg nicotinamide 366mg	cytochrome c 3.68mg	KCN 9.75mg nicotinamide 366mg
Total volume	100ml (0.05M phosphate buffer, $10^{-3}$ M EDTA, pH7.6)	1ml (water)	100ml (0.05M phosphate buffer, $10^{-3}$ M EDTA, pH7.6)

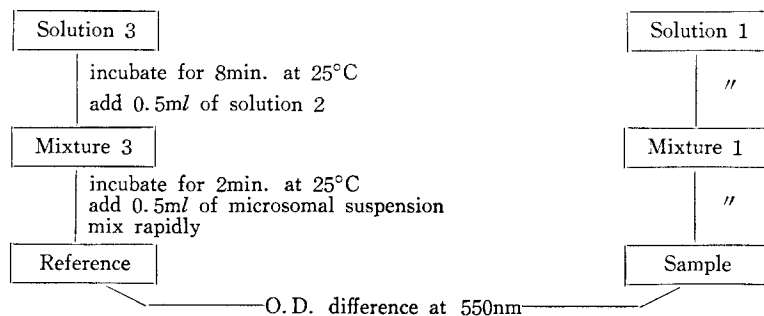


Fig. 2—Determination of activity of NADPH cytochrome c reductase.

4分 사이에 550nm에서 1分間の 吸光度의 差를 觀察하였다(Fig. 2).

酸化型 cytochrome c는 NADPH에 의해 환원형 cytochrome c로 되어 환원되는 反應率은 microsomal suspension의 NADPH cytochrome c reductase 量에 따른다. 測定한 吸光度差를 Maze<sup>10)</sup>의 方法을 利用하여 molar extinction difference를  $19.1\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 로 하여 NADPH cytochrome c reductase 活性을 計算하였다.

(4) Protein 定量(Lowry 法)<sup>11)</sup>: Microsomal suspension 0.5ml를 取하여 4.5ml의 증류수를 加하여 희석하고 이 중 1ml를 取하였다. 使用直前に alkali性  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  液과 sodium potassium tartrate— $\text{CuSO}_4$  液을 容比 50:1로 混合하여 5ml 취해서 1ml 희석액에 加하였다. 10分 이상 방치후 Folin 試藥 0.5ml를 加하여 發色시켜 30分後 750nm에서 吸光度를 測定하여 단백질을 定量하였다.

試料(microsomal suspension)의 protein 含量은  $1.3\text{mg/ml}$  이었다.

2) Phenobarbital이 cytochrome  $\text{P}_{450}$  活性에 미치는 效果에 관한 實驗: Phenobarbital 100 mg/kg을 1回 腹腔注射한 後 12時間뒤에 1의 實驗操作에 依해 cytochrome  $\text{P}_{450}$  活性을 測定하였다.

3) 人蔘 methanol 액기스와 phenobarbital 併用投與時 cytochrome  $\text{P}_{450}$  活性에 미치는 效果에 관한 實驗: 人蔘 methanol 액기스 100mg/kg을 7日間 經口로 投與하고 그 다음날 phenobarbital 100mg/kg을 1回 腹腔注射하여 投與群으로 하고 對照群에는 증류수만 投與하여 12時間後에 1의 實驗操作에 依해 cytochrome  $\text{P}_{450}$  活性을 測定하였다.

4) 人蔘 methanol 액기스와  $\text{CCl}_4$  併用投與時 cytochrome  $\text{P}_{450}$  및 NADPH cytochrome c reductase 活性에 미치는 效果에 관한 實驗: 人蔘 methanol 액기스 100mg/kg을 7日間 經口로 投與하고 그 다음날 95%  $\text{CCl}_4$  0.5ml/kg을 1回 腹腔注射하여 投與群으로 하고 對照群에는 95%  $\text{CCl}_4$  0.5ml/kg를 1回 腹腔注射하여 12時間뒤 1의 實驗操作에 依해 cytochrome  $\text{P}_{450}$  및 NADPH cytochrome c reductase 活性을 測定하였다.

## 實驗 結果

人蔘 methanol 액기스가 Cytochrome  $\text{P}_{450}$  및 NADPH cytochrome c reductase 活性에 미치는 效果——人蔘 methanol 액기스를 7日間 經口로 投與하고 마지막 投與로부터 24時間 絶食시킨 다음 肝에서 microsome을 分離하여 cytochrome  $\text{P}_{450}$  및 NADPH cytochrome c reductase 活性을 測定한 結果 Cytochrome  $\text{P}_{450}$ 은 人蔘 methanol 액기스 投與群이  $5.901\text{nmol/g liver}$

**Table II**—Effect of ginseng methanol extract on microsomal cytochrome P<sub>450</sub> and NADPH cytochrome c reductase activities in rats.

Treatment	Microsomal cytochrome P <sub>450</sub>		NADPH cytochrome c reductase	
	(n mol/g liver)	Percent increase	( $\mu$ mol of cyt. C reduced/min/g liver)	Percent increase
Saline (2ml/kg)	4.84±0.1017 <sup>a</sup> (20) <sup>b</sup>		3.898±0.206 (8)	
Ginseng methanol extract (100mg/kg)	5.90±0.102 <sup>*</sup> (20)	21.9	4.54±0.1 <sup>*</sup> (8)	16.6

a : Mean±S. E.

b : The numbers in parentheses indicate the numbers of animals.

\* : Statistically significant (p<0.05)

**Table III**—Effect of phenobarbital on microsomal cytochrome P<sub>450</sub> activity in rats.

Treatment	Microsomal cytochrome P <sub>450</sub>	
	(n mol/g liver)	Percent increase
Saline (2ml/kg)	4.84±0.1717 <sup>a</sup> (8) <sup>b</sup>	
Phenobarbital (100mg/kg)	6.0485±0.122 <sup>*</sup> (8)	25.0

a : Mean±S. E.

b : The numbers in parentheses indicate the numbers of animals.

\* : Statistically significant (p<0.05)

결과 phenobarbital 투여군이 6.05nmol/g liver로서 對照群 4.84nmol/g liver에 비해 25% 증가를 나타내었다(Table III).

人蔘 methanol 엑기스와 phenobarbital 併用投與時 Cytochrome P<sub>450</sub> 활성에 미치는 효과—人蔘 methanol 엑기스 100mg/kg을 7日間 經口로 投與하고 그 다음날 phenobarbital 100mg/kg을 1回 腹腔注射하여 投與群으로 하고 對照群에는 증류수만 投與하여 12時間後에 肝의 microsome을 分離하여 cytochrome P<sub>450</sub> 활성을 測定한 結果 投與群이 6.52nmol/g liver로서 對照群 4.84nmol/g liver에 비해 34.7%의 증가를 나타내었다(Table IV).

**Table IV**—Effect of concomitant administration of ginseng methanol extract and phenobarbital on microsomal cytochrome P<sub>450</sub> activity in rats.

Treatment	Microsomal cytochrome P <sub>450</sub>	
	(n mol/g liver)	Percent increase
Saline (2ml/kg)	4.84±0.1717 <sup>a</sup> (8) <sup>b</sup>	
Ginseng methanol extract (100mg/kg) and phenobarbital (100mg/kg)	6.52±0.205 <sup>*</sup> (8)	34.7

a : Mean±S. E.

b : The numbers in parentheses indicate the numbers of animals.

\* : Statistically significant (p<0.05).

로서 對照群 4.84nmol/g liver에 비해 21.9%의 증가를 나타내었으며 NADPH cytochrome c reductase는 人蔘 methanol 엑기스 投與群이 4.54 $\mu$ mol of cyt. c reduced/min/g liver로서 對照群 3.898 $\mu$ mol of cyt. c reduced/min/g liver에 비해 16.6%의 증가를 나타내었다(Table II.).

Phenobarbital이 Cytochrome P<sub>450</sub> 활성에 미치는 효과—phenobarbital 100mg/kg을 1回 腹腔注射한 후 12時間後에 microsome을 分離한 후 cytochrome P<sub>450</sub> 활성을 測定한 結果 投與群이 6.52nmol/g liver로서 對照群 4.84nmol/g liver에 비해 34.7%의 증가를 나타내었다(Table IV).

人蔘 methanol 엑기스와 CCl<sub>4</sub> 併用投與時 Cytochrome P<sub>450</sub> 및 NADPH Cytochrome c reductase 활성에 미치는 효과—人蔘 methanol 엑기스 100mg/kg을 7日間 經口로 投與하고 그 다음날 95% CCl<sub>4</sub> 0.5ml/kg을 1回 腹腔注射하여 投與群으로 하고 對照群에는 95% CCl<sub>4</sub> 0.5ml/kg만 1回 腹腔注射하여 12時間後에 肝 microsome을 分離하여 cyto-

**Table V**—Effect of concomitant administration of ginseng methanol extract and  $\text{CCl}_4$  on cytochrome  $\text{P}_{450}$  and NADPH cytochrome c reductase activities in rats.

Treatment	Microsomal cytochrome $\text{P}_{450}$		NADPH cytochrome c reductase	
	(n mol/g liver)	Percent increase	( $\mu$ mol of cyt. C reduced/min/g liver)	Percent increase
$\text{CCl}_4$ (0.5ml/kg)	$3.48 \pm 0.301^a$ (8) <sup>b</sup>		$3.44 \pm 0.2$ (8)	
Ginseng methanol extract (100mg/kg) and $\text{CCl}_4$ (0.5ml/kg)	$3.51 \pm 0.107$ (8)		$5.57 \pm 0.3^*$ (8)	65
Saline (2ml/kg)	$4.84 \pm 0.1017^a$ (20) <sup>b</sup>		$3.898 \pm 0.206$ (8)	
Ginseng methanol extract (100mg/kg)	$5.90 \pm 0.102^*$ (20)	21.9	$4.54 \pm 0.1^*$ (8)	16.6

a : Mean  $\pm$  S. E.

b : The numbers in parentheses indicate the numbers of animals.

\* : Statistically significant ( $p < 0.05$ )

chrome  $\text{P}_{450}$  및 NADPH cytochrome c reductase 활성을測定한結果 cytochrome  $\text{P}_{450}$ 은 投與群이  $3.51\text{nmol/g}$  liver로서 對照群  $3.48\text{nmol/g}$  liver에 비해 別差異가 없었으며 NADPH cytochrome c reductase는 投與群이  $5.57\mu\text{mol}$  of cyt. c reduced/min/g liver로서 對照群  $3.44\mu\text{mol}$  of cyt. c reduced/min/g liver에 비해 65%의 顯著的한 增加를 보여 주었으며 이것을 人蔘 및 證류수投與群과 比較하면 다음과 같다(Table V).

### 考 察

人蔘을 7日間 餵飼에 經口投與했을 때 藥物代謝를 담당하는 肝 microsome의 cytochrome  $\text{P}_{450}$  및 NADPH cytochrome c reductase의 活性이 對照群에 비해 增加되었다.

cytochrome  $\text{P}_{450}$  活性測定の molar extinction difference는 Omura<sup>12)</sup>의 方法에 依한 CO difference spectrum의 값인  $91\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 와는 다르게 dithionite difference spectrum의 값인  $104\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 로 하여 計算하였으며 CO gas로 bubbling시킨 다음에 환원제인 Sodium hydrosulfite ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ )를 加해 測定하였다. 또한 Kato等<sup>13)</sup>의 方法에서와 같이 肝의 灌流液으로는 NaCl 보다는 KCl이 酵素活性을 높여준다 하였고 超遠心分離를 65分間 2번하여 좀 더 purification 했고 Takashi等<sup>9)</sup>의 方法에서 보는 바와 같이 CO difference spectrum 보다는 dithionite difference spectrum에서 hemoglobin 등의 妨害를 減少시킬 수 있다 하였다.

NADPH cytochrome c reductase 活性測定時 pH 7.6을 택한 것은 Phillips等<sup>14)</sup>의 報告에서와 같이 이 條件에서 cytochrome c가 가장 強力히 作用할 수 있기 때문이며 nicotinamide는 tissue nucleosidase에 依해 pyridine nucleotide의 destruction을 방지한다.

Enzyme inducer로서는 cytochrome  $\text{P}_{450}$  活性 및 NADPH cytochrome c reductase 活性을 모두 증가시키는 phenobarbital type와 cytochrome  $\text{P}_{448}$  活性을 增加시키지만 NADPH cytochrome c reductase 活性에는 別 영향이 없는 carcinogenic (3-Methylcholanthrene) type가 있다.<sup>6)</sup>

人蔘이 cytochrome  $\text{P}_{450}$  및 NADPH cytochrome c reductase 活性을 모두 增加시키는 것으로 보아 phenobarbital type인 것으로 推定되나 그 效果가 顕著하지 못하였고 따라서 長期投與時의 效果를 관찰해야 할 것으로 思料된다.

人蔘投與뒤 phenobarbital 을 投與했을 때는 phenobarbital 이나 人蔘單獨 投與時보다 상승 효과가 나타났는데 이것은 그 mechanism 面에서 더 考察해 볼 必要가 있다.

또한 人蔘投與뒤  $\text{CCl}_4$  를 投與했을 때 cytochrome  $\text{P}_{450}$  및 NADPH cytochrome c reductase 活性을 測定한 結果 Kenneth 等<sup>15)</sup>의 報告에 依한 바 phenobarbital type 인 것으로 推定되며 人蔘 methanol 액기스를 投與한 다음  $\text{CCl}_4$  를 投與하면 증류수를 投與한 다음  $\text{CCl}_4$  를 投與했을 때 보다 cytochrome  $\text{P}_{450}$  活性이 더 많이 低下되었는데 이것은  $\text{CCl}_4$  가 cytochrome  $\text{P}_{450}$  에 依해 reductive dechlorination 되어 active toxic compound 인 trichloromethyl radical 을 形成<sup>16)</sup>하기 때문인 것으로 思料된다.

### 結 論

1. 人蔘 methanol 액기스를 7日間 投與時 microsomal cytochrome  $\text{P}_{450}$  및 NADPH cytochrome c reductase 活性이 對照群에 비해 各各 21.9%, 16.6% 增加하여 有意性있는 效果를 나타내었다.

2. 人蔘 methanol 액기스와 phenobarbital 을 併用 投與時 cytochrome  $\text{P}_{450}$  活性이 各各의 單獨 投與時보다 25% 增加되었다.

3. 人蔘 methanol 액기스와  $\text{CCl}_4$  를 併用投與했을 때 cytochrome  $\text{P}_{450}$  및 NADPH cytochrome c reductase 活性을 測定한 結果 cytochrome  $\text{P}_{450}$  活性은 併用投與群과  $\text{CCl}_4$  單獨投與群이 別 差異가 없었으나 NADPH cytochrome c reductase 活性은 併用投與群이  $\text{CCl}_4$  單獨投與群보다 65%의 顯저한 增加를 나타내었다.

以上의 結果를 綜合하여 볼 때 人蔘은 enzyme inducing agent 로서의 效果가 있으며 그 效果는 phenobarbital type 인 것으로 推定된다.

### 文 獻

1. S. K. Juhn, The effect of ginseng extract on the respiration of normal and carbon tetrachloride-treated rat liver tissue, *Choesin Euihak*, **5**, 631 (1962).
2. D. R. Hahn, *Proceedings of the 2nd International Ginseng Symposium*, Korea Ginseng Research Institute (1978).
3. M. Klingenberg, *Arch. Biochem. Biophys.*, **75**, 376 (1958).
4. D. Garfinkel, *Arch. Biochem. Biophys.*, **77**, 493 (1958).
5. H. A. Sasame, and J. R. Gilleffe, *Mol. Pharmacol.*, **5**, 123 (1969).
6. P. C. Gary, and P. S. Gerald, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **52**, 507 (1980).
7. 金明惠: 藥學碩士學位論文, 서울大學校 (1979).
8. R. H. Stanton, and M. A. Q. Khan, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **24**, 668 (1966).
9. M. Takashi K. Masahiro, T. Akira, T. Yoshiro, and S. Koichi, *Analytical Biochem.*, **75**, 596 (1976).
10. P. Mazel, *Fundamentals of drug metabolism and drug disposition*, ed. by La Du, B. N., Mandel, H. G. and Way, E. L. (1972).
11. O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, and R. J. Randall, *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951).
12. T. Omura, and R. Sato, *J. Biol. Chem.*, **239**, 2370 (1964).
13. R. Kato, P. Vassanelli, G. Frontion, and E. Chiesara, *Biochem. Pharmacol.*, **13**, 1037(1964).
14. A. L. Phillips, and R. G. Langdon, *J. Biol. Chem.*, **237**, 2652 (1962).
15. A. S. Kenneth, P. C. Gary, C. F. George, and F. Nelson, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **23**, 171 (1972).
16. V. P. Dennis, *Drug Toxicity* (edited by J. W. Gorrod.), 140 (1979).