

## 인삼 추출물이 난소를 절제한 백서의 항산화효소 활성에 미치는 영향

황일영 · 하배진\*

충남대학교 의과대학 의학과  
\*신라대학교 공과대학 생명공학전공

### The Effects of Panax Ginseng Extract on Antioxidative Enzyme Activity in Ovariectomized Rats

Il-Young Hwang and Bae-Jin Ha\*

Department of Medicine, Chungnam National University, Daejeon 301-747 Korea

\*Department of Bio Science and Biotechnology, College of engineering, Silla University, Pusan 617-736, Korea

#### Abstract

In order to observe the bioactivity of ovariectomized rats, nonovariectoized (sham) group, ovariectomized (Ovx) group, ovariectomized *ginseng* total saponin (GTS)-treated (Ovx+GTS) group and ovariectomized *ginseng* water extract (GW)-treated (Ovx+GW) group were made. We measured AST (L-aspartate aminotransferase) and ALT (L-alanin aminotransferase) in sera, and MDA (malondialdehyde:lipid peroxidation), SOD (superoxide dismutase), catalase, total-glutathione (GSH+GSSG) and GPx (glutathione peroxidase) in liver tissue total homogenates of rat. AST activity of serum in Ovx group was 2.11 times increased, but ALT activity was not changed compared to Sham group. In AST activity, they tend to decrease significantly in each substance such as GTS and GW administered group. Lipidperoxides of each fraction in Ovx group were highly increased compared to Sham group. Extracts of *ginseng*-treated group markedly inhibited lipid peroxidation by 62%~72%. And as the result of the measurements of SOD, catalase, total-glutathione and GPx which are antioxidant enzyme, antioxidant enzymes in Ovx group much lower than in Sham group. But they were significantly increased in each substance such as GTS and GW, administered group. Based on the results, it is supposed that more produced free radicals decreased antioxidant enzyme. And it is also thought that extracts of *ginseng* can inhibit aging by reducing antioxidant enzyme.

**Key words** – *Ginseng*, saponin, aging, bioactivity, antioxidation

#### 서 론

현대에는 식품이 갖는 건강 기능성에 대한 관심사가 높아

지고 있는 실정이며 그 유효 성분의 해명이 진전되고 있다. 특히, 우리가 섭취하는 영양소들 중에는 과산화로 인한 손상으로부터 신체를 보호하는 영양소들이 있는데, 이들을 통틀어서 항산화 영양소라고 한다. 이들은 주로 free radical 들을 중화시켜 free radical 의 해로운 역할을 막는데, 이와 같은 free radical scavenger 들로는 비타민 C, E, 그리고  $\beta$ -

\*To whom all correspondence should be addressed  
Tel : 051-309-5466, Fax : 051-309-5684  
E-mail : bjha@silla.ac.kr

carotene 등이 있다.

그 외에도 동의보감 등에서 보아도 알 수 있듯이 인삼의 효능을 알려 퍼져있는 실정이다. 오래 전부터 한방에 많이 이용된 인삼은 주요 화학적 성분인 배당체(saponin)를 위시하여 당류와 유기산, 지용성 성분, 질소화합물, 비타민류 및 무기성분 등으로 구성되어 있으며, 이들 중 약리 효능에 가장 중요한 성분은 배당체인 인삼 사포닌으로 알려져 있다. 이렇듯 인삼 사포닌은 단순한 성분의 약리 작용뿐만 아니라 복합적이고, 다양성을 나타내는데, Ginsenoside의 구성 형태에 따라 다를 수 있다. Ginsenoside는 인삼 saponin 들 중의 하나로써 Ginseng과 배당체인 glycoside가 결합된 복합어로 인삼 배당체란 뜻을 가지고 있다.

인삼의 saponin은 다른 식물에 많이 함유되어 있는 사포닌과는 달리 용혈작용과 같은 독성을 거의 일으키지 않으면서 유효작용을 한다. 그 이유는 첫째, 인삼 사포닌은 일반 생약 사포닌과는 달리 triterpenoid의 dammarane 골격을 가진 배당체이다. 둘째, 다른 식물에서 유래된 사포닌은 극성을 띠고 있어서 용혈작용과 같은 독성을 지니고 있는 반면 인삼 사포닌은 dammarane 계 중성배당체이기 때문에 독성이 거의 없다. 셋째, 인삼 사포닌의 약리 작용이 일반 생약류의 사포닌과는 달리 현저하고 다양한 생물활성을 가지고 있다[15,18,21,23,28,31-34].

한편, 인삼사포닌 이외의 성분도 매우 중요시되고 있는데 이들 중에는 항암작용과 피로회복, 항산화, 항당뇨, 항염, 조혈기능 촉진 등의 효과를 나타내는 성분들이 함유되어 있는 것으로 밝혀지고 있다. saponin은 흡습성이 있고, 적혈구를 파괴하여 용혈작용을 나타내고 쓴맛이 있으며, 어류에 대하여 독성을 나타내기도 한다. 이런 saponin은 물을 가해 진탕하면 미세한 벌집 모양의 거품을 나타내는 성질이 있다. 라틴어의 sapo에서 유래된 어원에 따라 saponin으로 통칭하고 있는 화합물 군으로서 모든 배당체로 구성되어 있다. 산이나 alkali 또는 효소의 작용에 의하여 분해된다.

1992년 보고에 의하면 우리나라 여성의 평균 수명은 75세로 과거에 비해서 상당히 증가되었고 65세 이상의 노년여성인구가 전 인구의 4.7%를 차지하고 있으며 이는 앞으로 더욱 증가될 것으로 예상된다. 따라서 여성은 인생의 1/3을 폐경기 후 인생을 보내게 되나 폐경후에는 estrogen의 생성 저하로 인하여 여러 가지 질병의 발병률이 높은 것으로 보고된 바 있다[28]. 특히 여성의 생식기계 질환을 치료할 목적으로

시행되는 난소절제술은 estrogen의 생성을 저하시켜서 인위적인 폐경을 야기하므로 이로 인한 심혈관계 질환의 발병에 관심이 집중되고 있다. 여성은 폐경전 수년동안 체내호르몬 생성의 점진적인 변화에 의해 월경주기가 불규칙해지고 결국에는 월경주기가 정지된다. 한 조사에 의하면 FSH는 폐경이후 1년 이내에 증가하기 시작하여 약 10년 후에는 최고치를 나타내었으며 이와 함께 혈청내 estradiol량이 급속히 감소됨을 보고하였다[6,9,11-13,22]. 그 증상 중의 하나로 급격한 노화가 진행되는 데 각 세포는 저밀도지단백의 상승으로 인하여 고지혈증을 일으켜 과산화 지질 형성을 촉진하며 따라서 각 효소의 free radical 소거기능을 저하시켜 과산화 지질 증가를 더욱 조장한다. 이때 free radical 소거기능에 관여하는 것으로 항산화 효소가 있는데 이는 노화를 막는 역할을 한다. 또한 free radical 반응성에 입각해서 노화의 기전을 찾고자 할 때 세포 내 소기관중 미토콘드리아를 따로 고려해야 할 필요성이 있다. free radical이란 valence shell에 공유되지 않은 전자를 함유하는 입자를 말한다. 주로 불포화지방산이 산화 과정에 많이 참여하게 되는데 지방이 과산화 되면 세포막의 유동성이 감소되고, 투과성과 흥분성에 변화가 오고, 세포막에 붙어 있는 효소들의 작용을 변화시키는 결과를 가져온다[6,8-11,13,14,22,24,27]. 산소 유리기(oxygen free radical)는 산소를 이용하는 세포에서 생성되는 독성이 강한 물질로서 세포막의 지질 및 단백질 등을 손상시키며 세포의 노화를 촉진시킨다. 즉, 세포에 유해한 산소유리기를 제거하는데 필요한 방어기전에는 superoxide dismutase (이하 SOD로 약함), catalase, Glutathione peroxidase (이하 GPx) 등의 항산화 효소들과 환원형 glutathione (이하 GSH로 약함), uric acid 등 여러 가지 비효소 항산화 물질 등이 존재한다. 이 중 SOD는 superoxide radical(O<sub>2</sub>·)을 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 O<sub>2</sub>로 전환시키는 역할을 하고, 이때 생성된 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>는 catalase와 GPx에 의해 제거되는데, GPx는 GSH를 산화형 glutathione (이하 GSSG로 약함)으로 산화시키면서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 제거하게 된다. 산화된 GSSG는 glutathione reductase에 의해 NADPH를 소모하면서 다시 GSH로 환원되므로 glutathione은 GSH와 GSSG의 두 가지 형태로 균형을 이루면서 존재하게 된다. 세포내의 독성 또는 산화적 손상이 일어난 경우에는 GSSG가 서서히 증가하게 되어 GSH/GSSG의 불균형을 초래함으로써 방어기전으로서의 역할이 소실된다. 따라서 GSH는 SOD와 더불어 산소유리기에 의한

세포손상을 방지하고 세포내 해독작용을 담당하는 중요한 물질로 여겨지고 있다[10,11,13,14].

그러므로, 본 연구에서는 인삼사포닌과 수층을 난소절제로 노화가 유도된 쥐에 투여되었을 때, 항산화 효과를 알아보기 위한 연구를 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험 동물 및 식이

실험동물은 체중  $160 \pm 10$  g의 female rat를 구입하여 본 실험실에서 1주일간 고형사료와 물을 자유 급식시켜 실험실에서 적응시킨 후 다음과 같이 나누었다. 동물의 체중에 따라 각각 7마리씩 4군으로 나누어 난소절제를 하지 않은 정상군(Sham)은 0.9% saline을 투여하였고 3개의 Ovx군은 각각 0.9% saline, 인삼 사포닌, 인삼 수층을 투여하였다. 난소 절제 후 인삼 사포닌을 투여하는 군(Ovx+GTS)과 인삼 수층을 투여하는 군(Ovx+GW)은 매일 쥐 무게 kg당 100mg의 GTS와 GW를 D.D.W에 용해 시켜 난소 절제 이틀 후부터 복강 내 주입하였다. 정상군(Sham)과 난소 절제군(Ovx)은 매일 쥐 무게의 300g 당 0.9% saline 0.5ml를 복강 내 주입을 실시하였다. 15주에 모든 쥐를 ether 마취시켜 해부하여, 혈액과 간을 채취하였다.

### 실험방법

#### 1) 인삼 saponin의 추출

인삼의 saponin 추출은 Woo법에 따라 추출하였다. 인삼 뿌리 100g를 5배의 70% ethanol로 3시간 동안 추출한 후 여과시켜 농축하였다. 이 시료 20ml에 증류수 100ml와 ether 60ml를 가하여 잘 흔들어 준 후 4시간 정도 상 분리를 시킨 후 수층을 분리하였다. 수층에 n-butanol 60ml를 가하여 butanol 층을 분리한 후, butanol 층에 증류수를 가하여 세척하였다. 증류수로 세척한 butanol층을 농축하여 동결건조한 것을 인삼 saponin으로 사용하였다.

#### 2) 인삼 수층의 추출

잘게 썬 인삼 100g당 500ml의 D.D.W를 넣어 3시간 가량 끓여서 감압여과 시킨 후 농축시켜서 동결 건조하여 인삼 수층(GW) 추출물로 실험에 사용하였다.

### 혈액 및 장기 채취

실험 종료 후 실험 동물을 ether 마취 하에서 개복 한 후 심장에서 채혈하여 30분 후  $3000 \times g$ 에서 10분간 원심 분리하여 혈청을 분리하였으며, 간장은 적출 하여 0.9% 생리식염수(saline)로 세척하여 vial에 담아  $-70^\circ\text{C}$  Deepfreezer에 보관하였다.

### 간 조직 중의 과산화지질 정량

과산화지질 정량은 간 1g를 취하여 간 무게의 5배 용량인 5ml의 0.05M Phosphate Buffer(pH 7.4)에 homogenation 시켜 마개 있는 시험관에 0.5ml씩 Triple로 취하였다. TBA (Thiobarbituric acid)변법[3]으로 7% SDS로 가용화시켜 여기에 0.67% TBA+acetic acid (1:1) 2ml를 가하여  $95^\circ\text{C}$  수욕상(Water bath)에서 50분간 가온 후 즉시 급랭시켜 butanol 5ml로  $3000 \times g$ 에서 10분간 원심분리 한 후 상등 액을 취한 후 UV spectrophotometer (UVIKON 933) 535nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 혈청 Aspartate (AST)와 Alanine (ALT) aminotransferase 활성 측정

혈청 AST, ALT 활성 도는 Reitman-Frankel method[26]를 이용해 다음과 같이 실시하였다.

#### 1) AST 측정

AST 기질액 1.0ml를 시험관에 취하여  $37^\circ\text{C}$ 에서 3분간 가온 하였다. 여기에 0.2ml의 혈청을 가하여 섞은 후  $37^\circ\text{C}$ 에서 60분간 반응시킨 뒤, 1ml의 발색 액을 가하여 잘 혼합한 후 UV spectrophotometer(UVIKON 933)로써 파장 505nm에서 D.D.W를 Blank로 하여 흡광도를 측정하였다.

#### 2) ALT 측정

ALT 측정은 ALT 기질액을 사용하였고, 혈청과 혼합 후  $37^\circ\text{C}$ 수조(Water bath) 내에서의 반응시간이 30분인 것을 제외하고는 AST 측정법과 동일하게 측정하였다.

### 간 조직중의 단백질 함량 분석(Protein Assay)

단백질의 정량은 Lowry [17] 등의 방법에 의하여 UV spectrophotometer (UVIKON 933)를 이용하여 750nm에서 흡광도를 측정하였고, Bovine Serum Albumin (BSA)을 표준으로 하여 단백질 함량을 계산하였다.

간 조직중의 Superoxide Dismutase(SOD)(5)의 활성 측정

0.2M K-phosphate buffer를 672 $\mu$ l, 1mM xanthine 100 $\mu$ l, 1% Sodium deoxychlorate(DOC) 30 $\mu$ l, 1.5mM KCN 30 $\mu$ l, 0.2mM cytochrome C 150 $\mu$ l를 넣고 Sample 5 $\mu$ l를 섞은 후, xanthine oxidase 원액을 10 $\mu$ l를 넣어 섞은 후, UV spectrophotometer (UVIKON 933)를 이용하여 550nm에서의 흡광도 감소를 2분 동안 측정하였다. Sample의 효소 활성도를 알아보기 위한 표준물질로서는 Sigma사의 Superoxide Dismutase를 사용하였다.

간 조직중의 Catalase(1)의 활성 측정

Phosphate Buffer 1.9ml에 간 조직 Sample 0.1ml와 과산화수소 용액 1ml를 혼합하여 UV spectrophotometer (UVIKON 933)를 이용하여 240nm에서 1분 30초 동안 흡광도 감소 측정을 하였다.

간 조직중의 GSH(Glutathione Reduced Form)(7), GSSG(Glutathione Oxidized Form)(25)의 정량

간 Homogenate 100 $\mu$ l에 25% HPO<sub>3</sub> 25 $\mu$ l를 섞어 4°C, 12000×g에서 10분간 원심 분리하여 Sample를 준비하였다.

1) GSH

형광분석기(Fluorimeter)로 Sample 상등액 80 $\mu$ l와 Phosphate Buffer 1600 $\mu$ l와 OPT (O-Phthalaldehyde) 80 $\mu$ l를 15분 혼든 후 Fluorimeter (Jenway, Jenway 6200)로서 Ex.350, Em.420에서 측정하였다.

2) GSSG

형광분석기(Fluorimeter : Jenway, Jenway 6200)로 Sample 상등액 200 $\mu$ l와 NEM (N-Ethyleneamide) 80 $\mu$ l를 섞은 후 20분 방치하고, 0.14N NaOH 1720 $\mu$ l를 가하여 혼합한 후 앞에서 혼합한 Sample 200 $\mu$ l와 OPT (O-Phthalaldehyde) 80 $\mu$ l를 15분 혼든 후 Ex.350, Em.420에서 측정하였다.

간 조직 중 GPx(GSH-Peroxidase)(16)의 활성 측정

0.1M PB (Phosphate buffer) 400 $\mu$ l, 0.01M NaN<sub>3</sub> 70 $\mu$ l, 0.01M GSH 70 $\mu$ l, 1.5mM NADPH 70 $\mu$ l, H<sub>2</sub>O 360 $\mu$ l, GSSH-Reductase 20 $\mu$ l, Sample 10 $\mu$ l를 혼합하여 상온에서 1분간 방치 한 후 2mM의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 100 $\mu$ l를 가해 잘 섞은 후 UV spectrophotometer (UVIKON 933)를 이용하여 340nm에서 1분 30초간 흡광도 감소 측정을 하였다.

통계처리

본 실험에 대한 모든 실험 결과는 평균치와 표준편차로 나타내었고, 통계적 유의성은 Student's t-test에 의해 검정하였다.

결과 및 고찰

혈청 중 Aspartate aminotransferase(AST)와 Alanin aminotransferase (ALT) 활성도 변화

포유동물의 간은 아미노산 감소의 중요한 위치를 차지한다. 많은 아미노산의  $\alpha$ -amino group은 glutamate를 형성하기 위하여  $\alpha$ -ketoglutarate에 옮겨진 뒤에 산화되어 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>가 생기게 되는 탈아미노화 반응이 일어난다. Aminotransferase는  $\alpha$ -amino acid에서  $\alpha$ -keto acid까지  $\alpha$ -amino group의 전달에 촉매 작용을 한다. 또한 transaminase라고 불리는 이 효소는 일반적으로 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>로 전환하기 위해 여러 가지 아미노산에서  $\alpha$ -ketoglutarate까지  $\alpha$ -amino group들을 보낸다. Aspartate aminotransferase는 이 효소들 중에서  $\alpha$ -ketoglutarate에 aspartate의 amino group을 전달하는 촉매 작용을 한다. 포유류에서 많이 작용하는 alanine aminotransferase는  $\alpha$ -ketoglu -tarate에 alanine의 아미노기를 전달하는 촉매 작용을 한다. 대부분의 육지 척추동물들의, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>는 요소로 바뀌어 배설된다.[20]

본 실험의 결과로 보면 각 group에 의해 얻어진 AST와 ALT 활성도의 혈청 level을 Table 1에서 나타낼 수 있다.

Table 1. Effect of Ginseng Total Saponin and Ginseng Water extract on AST and ALT

Experimental group	n*	AST	ALT
		unit/ml	unit/ml
Sham	7	48.61 ± 3.31	30.45 ± 2.85
Ovx	7	102.38 ± 4.26	29.05 ± 3.07
Ovx + GTS	7	71.09 ± 2.97 <sup>a</sup>	36.67 ± 2.84 <sup>b</sup>
Ovx + GW	7	69.17 ± 4.97 <sup>a</sup>	32.93 ± 3.13 <sup>c</sup>

ALT values in ovariectomy-induced aging of rat sera

All values are mean ± SD

Significantly different from the value of Ovx group at <sup>a</sup>p<0.01,

<sup>b</sup>p<0.05 and <sup>c</sup>p<0.1

Sham : Nonovariectomized group

Ovx : Ovariectomized group

Ovx + GTS : Ovariectomized Ginseng Total Saponin (GTS) group

Ovx + GW : Ovariectomized Ginseng Water Saponin (GW) group

\*n : The Number of experimental rats

Ovx 군의 AST 활성이 Sham 군에 대해 약 2.11 배 이상 증가하였다. Ovx+GTS 군과 Ovx+GW 군은 Ovx group에 비해 58.2%와 61.8%로 유의적인 감소를 보이는 것을 보면 정상군에 가까운 회복률이 보이는 것으로 사료되었다.

간세포의 손상시 막투과성이 항진되어 혈중으로 유출되어 나오는 AST와 ALT수치는 간기능 검사에 널리 이용되고 있는 효소로 알려져 있는데 본 실험에서 그 활성도의 수치가 시간이 경과됨에 따라 증가된 것으로 보아 노화로 인한 간 조직의 손상을 볼 수 있으며 AST의 급격한 상승에 비해 ALT의 정상수치를 보면 지속적인 노화 방지 효소의 작용에 의해서 간 세포의 활성이 떨어짐으로써 만성 기능장애로 사료되어졌다. 각 시료군의 투여로 인해서 높아진 AST활성치가 낮아진 것을 보면 세포막손상이 Ovx군에 비해 적게 일어난 것으로 사료된다.

간 조직 중의 과산화지질(malone dialdehyde)이 미치는 영향

지질과산화는 oxygen radicals에 의해서 불포화지방산에서 일어나는 연쇄반응으로, oxygen radicals의 직접적인 작용보다는 철 이온 존재 하에 superoxide와 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 상호 작용에서 형성되는 hydroxy radical에 의해 간접적으로 일어나며 이의 주된 손상장소가 DNA나 세포막으로 알려져 있다. 이와 같은 지질과산화 반응은 여러 가지 독성 화합물이나 약물에 의한 간 손상 발생의 가장 중요한 기전으로 인정되어지고 있고, 이러한 기전으로 세포내 산화적 스트레스의 증가, 즉 free radical 생성의 증가 및 항산화적 방어력의 감소에 의해 야기된다고 볼 수 있다[2,4,12,24,27].

Table 2는 인위적으로 난소 절제하여 homogenate한 쥐의 간에 있는 과산화지질에 대한 GTS와 GW의 효과를 보여준다.

Ovx 군에서의 MDA 량은 Sham 군에 비해서 1.44배 증가하였다. Ovx+GTS군과 Ovx+GW군은 MDA 량이 Ovx 군에 비해서 각각 72%와 62%의 유의적인 억제효과를 보였다. 노화가 유도된 쥐에서 oxygen radical에 의한 간 조직 손상에 의해서 과산화지질 함량이 높게 나타났다. 이것은 노화가 유도된 쥐의 간 조직에 oxygen radical 침해를 더 많이 받았으며 이로 인해서 과산화지질이 많이 축적되어진 결과이다. GST나 GW은 oxygen radical의 세포 침윤을 억제하여서 높은 억제율을 보인 것으로 사료된다.

Table 2. Effect of Ginseng Total Saponin and Ginseng Water extract on lipid peroxidation in ovariectomy-induced aging of rat liver homogenates

Experimental Group	n	MDA contents in the liver homogenate (nmol/mg protein)	Inhibition (%)
Sham	7	6.32±0.53	-
Ovx	7	90.10±1.57	-
Ovx+GTS	7	7.11±0.13 <sup>c</sup>	72
Ovx+GW	7	7.37±0.20 <sup>c</sup>	62

All values are mean±SD

Significantly different from the value of Ovx group at <sup>a</sup>p<0.01, <sup>b</sup>p<0.05 and <sup>c</sup>p<0.1

Sham: Nonovariectomized group

Ovx: Ovariectomized group

Ovx+GTS: Ovariectomized Ginseng Total Saponin(GTS) group

Ovx+GW: Ovariectomized Ginseng Water Saponin(GW) group

\*n: The Number of experimental rats

간 조직 중의 SOD와 catalase의 활성 측정

우리 몸에 활성 산소가 너무 많으면 암을 발생시키거나 노화를 촉진하는 등 나쁜 영향을 미친다. 이런 활성 산소는 과식을 하거나 과도한 스트레스, 지나친 흡연, 지나친 운동으로 인한 과호흡 등에 의해 그 양이 증가하는데, 이러한 활성 산소를 분해시키는 역할을 하는 효소가 바로 SOD인 것이다. SOD라는 효소는 25세까지는 우리 몸에서 자연적으로 생성되므로 별 문제가 없지만 25세 이후부터는 SOD 발생량이 줄어들어서 신체는 점점 노화되어 간다. 생체내의 항산화 방어기구 중에서 효소적 방어계의 하나로 superoxide radical을 환원시켜 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 전환시키므로 산소독으로부터 생체를 보호하는 간 조직[29,30,35]중의 SOD 활성변화를 관찰한 결과는 Table 3와 같다.

Ovx 군에서의 SOD 활성수치는 Sham 군에 비해서 95.7% 정도로 상당히 낮게 나타났다. Ovx+GTS 군(0.0033 U/mg prot.)과 Ovx+GW 군(0.0025 U/mg prot.)에서의 SOD 활성수치는 Ovx 군(0.0002 U/mg prot.) 보다 상당히 높게 나왔다.

즉, SOD 활성치가 Ovx+GTS 군과 Ovx+GW 군은 개별적으로 68.9%와 51.1%로 유의성있는 상승효과를 보인 것으로 나타났다.

게다가, Ovx 군group (0.317 U/mg prot.)에서의 catalase activity는 Sham group (0.416 U/mg prot.)에서보다 상당히 낮다는 걸 알 수 있었다.

Table 3. Effect of Ginseng Total Saponin and Ginseng Water extract on superoxide dismutase and catalase values in ovariectomy-induced aging of rat liver homogenates

Experimental group	n*	Superoxide	Catalase
		dismutase (SOD) (U/mg protein)	(U/mg protein)
Sham	7	0.0047±0.0008	0.416±0.024
Ovx	7	0.0002±0.0001	0.317±0.013
Ovx+GTS	7	0.0033±0.0003 <sup>a</sup>	0.372±0.006 <sup>a</sup>
Ovx+GW	7	0.0025±0.0006 <sup>a</sup>	0.363±0.020 <sup>b</sup>

All values are mean±SD.

Significantly different from the value of Ovx group at <sup>a</sup>p<0.01, <sup>b</sup>p<0.05 and <sup>c</sup>p<0.1, respectively.

Sham: Nonovariectomized Ginseng Total Saponin (GTS) group

Ovx: Ovariectomized group

Ovx+GTS: Ovariectomized Ginseng Total Saponin (GTS) group

Ovx+GW: Ovariectomized Ginseng Water extract (GW) group

\*n: the number of experimental rats

Catalase는 microsome에서 합성되며 골지체로 이동 부착되어 세포내 peroxisome에 존재하는 내인적으로 생성된 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 H<sub>2</sub>O와 O<sub>2</sub>로 바꾸는 촉매 역할을 한다[1,35].

Table 3에서 보면 Ovx 군에서의 catalase 활성치는 Sham 군과 비교했을 때 23.8% 감소를 보였다. 즉, Ovx 군(0.317 U/mg prot.)에서의 catalase activity는 Sham 군(0.416 U/mg prot.)에서보다 상당히 낮게 나타났다.

Ovx+GTS 군(0.372 U/mg prot.)과 Ovx+GW군(0.363 U/mg prot.)에서의 catalase activity는 Ovx group (0.416 U/mg

prot.)에서보다 각각 55.6%와 46.5%로 상당히 높게 나왔다.

간 조직 중 Glutathione reduced form(GSH), Glutathione oxidized form(GSSG)의 정량 및 GSH-peroxidase의 활성도 변화

Glutathione은 산화적인 손상으로부터 red cell을 보호한다. 그것은 disulfide bond에 의해서 연결된 두개의 tripeptide에 의해서 환원된 형태(GSH)와 산화된 형태(GSSG)사이를 순환한다. GSSG는 전자 근원과 같은 NADPH를 사용하는 flavoprotein인 Glutathione reductase에 의해서 GSH로 환원된다. Glutathione은 aerobic life에서 해로운 부산물인 hydrogen peroxide와 organic peroxide과 함께 반응 반응함으로써 해독작용에서 중요한 역할을 수행한다[10].

이 반응에서 촉매 효소인 Glutathione peroxidase는 selenium (Se) 원자에 부착되어 공유적으로 결합하는 것이 주목할 만 하다. Total glutathione은 환원된 형태(GSH)와 산화된 형태(GSSG)로 구성되어있다. Glutathione peroxidase (GPx)와 Glutathione reductase는 Glutathione에 의해서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 lipid peroxide 와 같은 peroxides의 다양한 종류들을 조절한다[10,19].

Table 4에서 보면 간 조직 중의 Ovx 군은 total glutathione 량이 Sham 군에 비해서 1.2배 정도 낮게 나타났다.

Ovx+GTS 군과 Ovx+GW군에서 total glutathione 량은 Ovx 군에 비해서 각각 40.3%와 59.9%의 상승작용의 효과를 가지는 것으로 보였다.

Table 4. Effect of Ginseng Total Saponin and Ginseng Water extract on reduced-glutathione (GSH), oxidized- glutathione (GSSG), GSH+GSSG and GSSG/(GSH+GSSG) values in ovariectomy-induced aging of rat liver homogenates

Experimental group	n*	GSH	GSSG	GSH+GSSG	GSSG
		nmol/mg protein	nmol/mg protein	nmol/mgprotein	GSH+GSSG
Sham	7	23.25±0.08	2.84±0.48	26.09±0.56	0.11
Ovx	7	18.19±1.29	3.41±0.32	21.60±1.61	0.16
Ovx+GTS	7	21.38±0.44 <sup>b</sup>	3.05±0.06 <sup>c</sup>	23.43±0.50	0.13
Ovx+GW	7	21.19±0.65 <sup>b</sup>	3.16±0.11 <sup>c</sup>	24.35±0.76	0.13

All values are mean±SD

Significantly different from the value of Ovx group at <sup>a</sup>p <0.01, <sup>b</sup>p<0.05 and <sup>c</sup>p<0.1, respectively

Sham: Nonovariectomized group

Ovx: Ovariectomized group

Ovx+GTS: Ovariectomized Ginseng Total saponin (GTS) group

Ovx+GW: Ovariectomized Ginseng Water extract (GW) group

\*n: the number of experimental rats

Table 5. Effect of Ginseng Total Saponin and Ginseng Water extract on GSH-peroxidase value in ovariectomy-induced aging of rat liver homogenates

Experimental group	n*	GSH-peroxidase
		U/mg protein
Sham	7	0.162 ± 0.012
Ovx	7	0.136 ± 0.006
Ovx+GTS	7	0.152 ± 0.003 <sup>b</sup>
Ovx+GW	7	0.147 ± 0.011 <sup>c</sup>

All values are mean ± SD

Significantly different from the value of Ovx group at <sup>a</sup>p<0.01,

<sup>b</sup>p<0.05 and <sup>c</sup>p<0.1, respectively

Sham: Nonovariectomized group

Ovx: Ovariectomized group

Ovx+GTS: Ovariectomized Ginseng Total saponin (GTS) group

Ovx+GW: Ovariectomized Ginseng Water extract (GW) group

\*n: the number of experimental rats

GTS와 GW는 total glutathione량에서 볼 수 있듯이 결과적으로, 노화가 인위적으로 유도된 쥐의 간 조직에서 GSH 대신에 작용한 것으로 사료되어진다. 그래서 GSSG의 양적인 변화를 보이지 않는 것으로 생각되어졌다.

Table 5에서 보면 GPx 활성은 간조직 중에서 보면 모든 군에서 볼 때 유의적인 변화가 없는 것으로 보여졌다.

## 요 약

노화과정에 산소라디칼이 관여할 가능성을 노화유도된 쥐를 동물모델로 하여 알아보았다. 난소를 절제한 rat와 난소를 절제하지 않은 정상 rat에서의 생리활성에 미치는 인삼 추출물의 효과를 연구하였다. 난소를 절제한 rat에 각각 GTS (Ovx+GTS 군)와 GW (Ovx+GW 군)를 투여하고, 이것과 비교하기 위해 난소를 절제한 대조군(Ovx군)과 마지막으로 난소를 절제하지 않은 정상군(Sham군)으로 하여 항산화효과에 관한 실험방법으로 진행하였다. 노화유도된 쥐의 각 조직에서 lipid peroxidation이 증가되었고 free radical반응이 더 심하게 일어난 간 조직에서 노화진행이 그만큼 촉진되었음을 알 수 있었다. 산소라디칼반응이 항진된 원인을 규명코자 간 조직에서 미토콘드리아와 세포질분획에서 항산화효소의 활성을 조사한 결과, SOD와 glutathion reductase활성이 감소되었으며 노화나 지질과산화는 심하게 진행되었던 간 조직에서 이들 항산화효소의 활성감소가

심한 경향을 나타내었다. 생체는 free radical을 조절할 수 있는 다양한 항산화계가 존재하여 free radical을 효율적으로 제거함으로써 생체의 항상성을 유지할 수 있다. 이러한 항산화계에는 superoxide dismutase (SOD), glutathion (GSH) peroxidase, GSH reductase, GSH S-transferase, catalase 등의 항산화효소가 있다. SOD는 반응성을 가진 산소species인 superoxide anion을 macrophage와 polymorphonuclear leucocyte의 항균작용같은 세포방어기구에서 중요한 역할을 한다. 원칙상 눈, 피부등의 byaus이 공기중의 산소에 노출되면 oxidative stress가 커짐으로서 조직이 훼손되나 SOD같은 효소에 의해 보호되고 손상이 방지되는 것으로 알려지고 있다. 실제로 신체부위에 적용해 보면 쉽게 활성상실이 일어나므로 fatty acid와 공유결합시켜 효과적으로 superoxide radical을 제거할 수 있다. AST의 활성은 Ovx군이 Sham군에 비해 2.11배 높게 나타났으며, ALT 활성은 변화가 나타나지 않았다. AST 활성에서는 각각의 물질을 투여한 군에서는 유의적인 감소 경향을 보였다. 과산화지질함량은 Ovx군이 Sham군에 비해 높게 나타났으며, 각각의 인삼추출물을 투여한 군에서는 62%~72%의 저해율을 보였다. 항산화 효소들은 Sham군에 비해 Ovx 군에서 낮게 나타났는데, 각 물질의 투여군에서는 유의성있는 증가를 보였다. 이러한 결과에서 보듯이, 난소 절제로 생성된 많은 free radical은 항산화효소에 의해서 감소되었으며, 그리고 인삼 추출물이 항산화 효소 대신에 노화를 저해하는 작용을 하는 것으로 사료되었다.

## 참 고 문 헌

1. Aebi, H. 1984. Catalase *in vitro*; Packer L, ed Methods in Enzymology. N.Y. Academic **105**, 121-126.
2. Albrecht, D.K., H. Kappus and H. Remmer. 1978. Lipid peroxidation and cell damage isolated Hepatocytes due to Bromotrachloromethane. Toxicol. and Appl. Pharm. **46**, 499-505.
3. Ha, Bae-jin. 1985. Studies on the Antilipidperoxidation effect of Brazilin and Hematoxylin. Doctor's degree dissertation.
4. Baek, Yrongs-Ho, K.W. Kim and T.H. Nam. 1997. Effects of aerobic exercise on hepatic antioxidant enzymes in cholesterol-dietary rats. *Kor. J. Gerontol.* **7**(3), 55-64.
5. Beauchamp, C., and I. Fricovich, 1971. Improved

- assays and an assay applicable to acryla mide gels. *Anal Biochem.* **44**, 276-278.
6. Bestetti, G.E., M.J. Reymond, F. Blanc, C.E. Boujon, B. Furrer and G.L. Rossi. 1991. Functional and morphological changes in the hypothalamo-pituitary-gonadal axis of age female rats. *Biol. Reprod.* **45**, 221-228.
  7. Elman G.L. 1959. Tissue Sulphydryl groups. *Arch biochem. Biophys.* **82**, 70-77.
  8. Farber, J.L. 1982. Membrane Injury and Calcium Homeostasis in the Pathogenesis of Coagulative Necrosis. *Lab. Invest.* **47**, 114-123.
  9. Finch, C.E., S.G. Kohama and G.M. Pasinetti, 1992. Ovarian steroid and neurotoxin models of brain aging in rodents, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **648**, 119-124.
  10. Gillette, J.R. 1977. Formation of reactive metabolites of foreign compounds and their covalent binding to cellular constituents. *American Physiological Society.*
  11. Greer, G. 1992. The Change : Women, Aging and the Menopause, A. A. Knopf. N.Y.
  12. Horoton, A.A. 1987. Lipid peroxidation and Mechanisms of Toxicity. *CRC Critical Reviews in Toxicology* **18**, 27-29.
  13. Kalra, S.P.A. Sahu and P.S. Kalra. 1993. Ageinf of the neuropeptidergic signals in rats. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* **46**, 11-9.
  14. Kalu, D. N. 1991. The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. *Bone miner.* **15**, 175-192.
  15. Kim, H. S., C.G. Jang and M.K. Lee. 1990. Antinarcotic effects of the standardized ginseng extract G115 on morphine. *Planta Medica.* **56**, 158-163.
  16. Lawrence, R.A. and R.F. Burke. 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res Commun.* **71**, 952-958.
  17. Lowy. O.H., N.J. Rosenbrough, A.S. Farr and R.J. Randall, 1951. Protein Measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 256-261.
  18. Matsuda, H., I. Samukawa and M. Kubo. 1991. Anti-hepatic activity of ginsenoside, *Ro. Planta. Medica.* **57**, 523-526.
  19. Meister, a. and M.E. Anderson. 1983. Glutathione. *Ann. Rev. Biochem.* **52**, 711-761.
  20. McPhalen, C.A., M.G. Vincent and J.N. Jansonius. 1992. X-ray structure refinement and comparison of three forms of mitochondrial aspartate aminotransferase. *J. Mol. Biol.* **225**, 495-517.
  21. Nah, S. Y. 1997. Ginseng ; recent advances and trends. *Korean J. Ginseng Sci.* **21**(1), 1-12.
  22. Nelson, J.F. and L.S. Felicio. 1990. Hormonal influences on reproductive aging in mice, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **592**, 8-12.
  23. Papkoff, H., T.A. Bewley and J. Ramachandran, 1978. Physicochemical and biological characterization of pregnant mare serum gonadotrophin and its subunits. *Biochem. Biophys. Acta.* **532**(1), 373-377.
  24. Plaa, G. L. and H. Witschi. 1976. Chemicals, drugs, and lipid peroxidation. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **16**, 125-141.
  25. Racker E. 1955. GSSG from bakers yeast and beef liver. *J. Biol., Chem,* **17**, 855-862.
  26. Reitman.S. and S.K. Frankel. 1957. A colorimetric method for determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. Pathol.* **28**, 56-62.
  27. Reynolds, E.S. and M.T. Moslen. 1980. Free radical damage in liver, in *Free Radicals in Biology* **4**, 49-56.
  28. Rhee, Y.H., J. H. Ahn, J. Choe, K.W. Kang and C. Joe, 1990. Inhibition of mutagenesis and transformation by root extracts of Panax ginseng in vitro. *Planta. Medica.* **57**, 125-128.
  29. Roberts, V.A., C.L. Fishor, S.M. Redford, D.E. McRee, H.E. Parge, E.D. Getzoff, and J.A. Tainer. 1991. Mechanism and atomic stucture of superoxide dismutase. *free Radical Res. Comm.* **1**, 269-278.
  30. Rosen, D.R., et al. 1993. Mutations with familial an-yotrophic lateral sclerosis. *Natuer,* **362**, 59-62.
  31. Sherman, D., M. Nelken. and P.F. Kraicer. 1982. Preimplantation losses of zygotes in superovulated immature rats. *Gamete Res.* **6**, 1-10.
  32. Shibata, S., T. Ando, and O. Tanaka. 1966. Chemical studies on the oriental plant druds. XVII. The pro-sapogenin of the ginseng saponins (ginsenosides-Rb1, -Rb2, and -Rc). *Chem. Pharm. Bull.* **14**(10), 1157-1161.
  33. Sun, X. B., T. Matsumoto and H. Yamada. 1992. Anti-ulcer activity and mode of action of the polysaccharide fraction from the leaves of Panax ginseng. *Planta. Medica.* **58**, 432-435.
  34. Takaka, T., K. Kameda, Y. Matsuura, K. Sekiya and H. Okuda. 1990. Studies insulin-like substances in korean red ginseng. *Planta. Medica.* **56**, 27-30.
  35. Tainer, J.A., E.D. Getzoff, J.S. Richardson and D.C. Richardson. 1983. Structure and mechanism of Cu, Zn, superoxide dismutase. *Nature* **306**, 284-287.

(Received April 25, 2002; Accepted June 20, 2002)