

## 홍삼의 전처리에 의한 사염화탄소 및 갈락토사민 유발 간독성에 대한 보호효과

이정규 · 김나영\* · 한용남\*\* · 최종원#

경성대학교 약학대학, \*동아대학교 식품영양학과, \*\*서울대학교 천연물과학연구소  
(2002년 10월 7일 접수)

### Effects of Pretreated Korean Red Ginseng on Carbon Tetrachloride and Galactosamine-induced Hepatotoxicity in Rats

Chung Kyu Lee, Na-Young Kim\*, Yong Nam Han\*\* and Jongwon Choi#

College of Pharmacy, Kyungsoong University, Pusan 608-736,

\*Dept. of Food and Nutrition, Dong-A University, Pusan 604-714 and

\*\*Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea  
(Received October 7, 2003)

**Abstract :** In present study, we examined whether or not the pretreatment of Korean Red Ginseng (KRG) could protect hepatotoxicity induced by carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) and D-galactosamine (GalN). For this study, we not only tested activity of various plasma enzymes (AST, ALT, SDH, LDH), which are used as indicators of liver disease, but also checked the change of liver components such as lipid, glutathione and cytochromes content, and several liver enzyme activity. Pretreatment of KRG for two weeks significantly reduced the elevated plasma enzyme activities induced by CCl<sub>4</sub> or GalN. Pretreatment of KRG also restored the hepatic enzymes, malonaldehyde formation, and depletion of reduced glutathione content induced by CCl<sub>4</sub> and GalN to near normal level. However,  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase activity was not affected by KRG. These results suggest that KRG shows the hepatoprotective effect by reducing lipid peroxidation, by reducing the activity of free radical generating enzymes, and by preserving the hepatic glutathione.

**Key words :** Korean red ginseng, hepatotoxicity, hepatoprotective effects, carbon tetrachloride, D-galactosamine

## 서 론

간질환은 우리 나라에서 특히 빈발하는 질환으로 이를 치유 혹은 예방하기 위한 방법의 하나로 천연물을 이용한 간기능 보호제 또는 간질환의 치료제 개발의 연구가 활발히 이루어지고 있다. 현재까지의 연구 결과로는 차전자 (*Plantago asiatica*)의 acubin의 간기능 보호작용,<sup>1~8</sup> 마리아 영경귀 (*Silybum marianum*)로부터 분리된 silybin의 간보호 작용<sup>9,10</sup> 및 이의 이성체인 silymarin<sup>11,12</sup>의 제독효과가 있고 최근에 와서는 천연자 성분<sup>13</sup>의 간 보호작용 등이 보고되고 있으나 아직도 뚜렷한 효과를 나타내는 간기능 보호 약제의 개발은 활발히 이루어지지 않고 있다.

인삼은 오래 전부터 인체에 있어서 여러 가지 신진대사를 원활하게 하는 효능이 있는 것으로 알려져 왔는데 간기능 향진에 대한 효능을 살펴보면 독성물질 해독 작용과 간장해 보호 및 간재생 촉진 작용, alcohol의 해독 촉진작용 등이 있고 간염의 치료에 유효하다고 보고하고 있다.<sup>14~17</sup> 본 연구에서는 간질환의 예방 및 치료제 개발의 일환으로 홍삼엑스의 간독성 예방 및 치료효과를 검색할 목적으로 홍삼엑스를 용량별로 경구로 투여한 다음 사염화탄소 및 D-galactosamine으로 유발되는 간독성에 대한 혈중 생화학적 변화를 관찰하고 또한 free radical의 생성계 및 해독계에 미치는 영향을 관찰함으로써 홍삼의 간장에 대한 예방 효과의 기전을 추구하고자 하였다.

## 실험재료 및 방법

### 1. 시료 및 실험동물

홍삼 시료는 한국인삼공사로부터 제공받은 홍삼분 (정관장)

#본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
(전화) 051-620-4883; (팩스) 051-628-6540  
(E-mail) jwchoi@star.ks.ac.kr

을 생리식염수에 현탁하여 경구 투여하였다. 실험동물은 한국 실험동물개발로부터 분양 받은 웅성 Sprague-Dawley계 흰쥐 ( $150 \pm 10$  g)를 1주일동안 적응시킨 후 일정한 조건 (온도:  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , 습도: 50%, 명암: 12시간 light/dark cycle)에서 사육한 후 사용하였다.

## 2. 간독성유발 및 처치

예비실험에서는 4주간 홍삼시료를 투여한 후 간독성을 유발하였고 이후 본 실험에서는 시료를 2주간 투여하였다. 갈락토사민 간중독 유발을 위하여 실험동물에 3주간 (또는 2주간) 생리식염수에 현탁한 홍삼시료 (50 및 100 mg/kg)를 1일 1회 경구투여하고 마지막 날 시료 투여 30분 후 생리식염수에 녹인 D-galactosamine · HCl (GalN, 400 mg/kg)을 복강 주사하였다. GalN 투여 24시간 후 실험동물을 처치하여 다음 과정을 진행하였다. 사염화탄소 간중독 유발은 GalN 대신 carbon tetrachloride (0.2 ml/100 g,  $\text{CCl}_4$ : olive oil, 1:1 v/v)를 투여하고 같은 방법으로 진행하였다. 대조군에는 동일량의 생리식염수나 olive oil을 투여하였다. 처치 전 8시간 동안에는 사료를 제거하고 물만 섭취케 하였으며 대조약물로는 silymarin 100 mg/kg을 사용하였다.

## 3. 효소원의 조제

실험동물을  $\text{CO}_2$  gas로 마취시킨 후 복부 정중선을 따라 절개하고 복부대동맥에서 혈액을 채취하였다. 이 혈액을 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 생화학적검사에 사용하였으며, 간장은 생리식염수로 관류하여 혈액을 제거한 간을 적출하여 여지로 혈액 및 기타 부착물질을 제거하고 평량한 다음 조직 1g당 4배량의 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.4)를 가하여 glass teflon homogenizer로 마쇄하였다. 이 마쇄액을  $600 \times g$ 에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄 부분을 제거한 상정액을  $10,000 \times g$ 에서 20분간 원심분리하였다. 이 상정액을  $105,000 \times g$ 에서 1시간 초원심분리하여 cytosolic fraction으로, 그 침전물에 동일한 양의 0.1 M potassium phosphate buffer를 가하여 현탁시킨 액을 microsomal fraction으로 하였다. 마쇄액은 glutathione 및 lipid peroxide의 함량을 측정하였으며, cytosolic fraction은 glutathione S-transferase, glutathione reductase 및  $\gamma$ -glutamylcystein synthetase 활성의 효소원으로, microsomal fraction은 cytochrome P-450, cytochrome b5, aminopyrine N-demethylase 및 aniline hydroxylase 활성 측정에 사용하였다. 이상의 모든 조작은 따로 규정이 없는 한  $4^\circ\text{C}$ 이하에서 행하였다.

## 4. 혈청 중 효소활성의 측정

### (1) Aminotransferase (AST, ALT)의 측정

Reitman과 Frankel<sup>18)</sup>의 방법에 준하여 조제된 kit (아산제약)를 사용하여 alanine transaminase (100 ml 당 DL-alanine 1,780 mg 및 a-ketoglutaric acid 29.2 mg 함유), aspartate transaminase (100 ml 당 L-aspartic acid 2,660 mg 및 a-ketoglutaric acid 29.2 mg 함유) 기질액 1.0 ml를  $37^\circ\text{C}$ 에서 5분간 preincubation 시킨후 혈청 0.2 ml를 넣어  $37^\circ\text{C}$ 에서 alanine transaminase는 30분, aspartate transaminase는 60분간 반응시킨 후 정색시액 (2,4-dinitrophenylhydrazine, 19.8 mg/100 ml 함유) 1.0 ml를 첨가하고 0.4 N-NaOH 용액 1.0 ml를 가하여 혼합한 후 10분간 실온에서 방치하고 파장 505 nm에서 흡광도를 측정하여 활성도를 표준검량선에 준하여 혈청 1 ml당 Karmen unit로 표시하였다.

### (2) Sorbitol dehydrogenase (SDH)의 측정

Weisner 등<sup>19)</sup>의 방법에 준하여 0.2 M triethanolamine. HCl buffer (pH 7.4), 12 mM NADH (1%  $\text{NaHCO}_3$  용액) 및 혈청 0.25 ml를 첨가하여  $25^\circ\text{C}$ 에서 30분간 반응시키고, 즉시 4 M fructose를 넣어 파장 340 nm에서 흡광도를 읽고 이 반응액을 다시  $25^\circ\text{C}$ 에서 3분간 방치후의 흡광도 차이를 측정한 후 NADH가 3분 동안 fructose에 의해 NAD로 산화된 감소량을 ml당 mU로 표시하였다.

### (3) $\gamma$ -Glutamyltransferase ( $\gamma$ -GT)의 측정

Szasz<sup>20)</sup>의 방법에 준하여 40 mmol glycylglycine을 함유하는 완충액 (pH 8.2)의 반응액에 효소원을 가하여 405 nm에서 흡광도를 측정하여 p-nitroaniline 형성을 관찰하여 효소활성을 측정하였다.

### (4) Alkaline phosphatase (ALP)의 측정

Kind와 King<sup>21)</sup>의 방법에 따라 kit 시약으로 측정하였다. 즉 기질인 phenyl phosphate가 함유된 0.05 M carbonate buffer (pH 10.0) 2.0 ml를  $37^\circ\text{C}$ 에서 3분간 preincubation한 후 혈청 0.05 ml를 가한 후  $37^\circ\text{C}$ 에서 15분간 반응시킨 후 발색 및 반응 종료의 목적으로 발색시약을 첨가하고 500 nm에서 흡광도를 읽고 표준검량선에 준하여 효소의 활성도를 산정하였다.

### (5) Lactate dehydrogenase (LDH)의 측정

Berga와 Boida<sup>22)</sup>의 방법에 따라 조제된 kit를 사용하였다. 즉 기질액 (100 ml당 lithium lactate 2.31 g 및 tris-hydroxy-methyl aminomethane 2.42 g 함유)과 정색시액 (100 ml당 NAD 574 mg 및 1-methylphenassium metalsulfate 3.4 ml 함유)을 1:1 로 혼합하여  $37^\circ\text{C}$ 에서 5분간 preincubation 후에 시료를 가하여 잘 혼합하고  $37^\circ\text{C}$ 에서 10분간 방치하여 염산으로 반응을 종료시켜 파장 570 nm에서 흡광도를 읽고 표준곡선에 준해 그 활성도를 측정하였다.

## 5. 간조직 성분 및 효소활성 측정

### (1) 지질과산화물의 함량 측정

Ohkawa 등<sup>23)</sup>의 방법에 준하여 간 조직 1g당 9배량의 생리식염수를 가해 마쇄하고 이 마쇄액에 8.1% sodium dodecyl sulfate와 20% acetate buffer (pH 3.5) 및 발색의 목적으로 0.8% thiobarbituric acid를 가한 후 95°C에서 1시간 동안 반응시킨 후 실온에서 냉각시켜 n-BuOH : Pyridine (15:1)을 첨가하여 15분간 원심분리시킨 후 홍색의 n-BuOH : pyridine층을 취하여 파장 532 nm에서 그 흡광도를 측정하여 표준곡선에서 그 함량을 간 조직 1g당 malondialdehyde nmole로 표시하였다.

### (2) Glutathione의 정량

Richardson과 Murphy<sup>24)</sup> 및 Summer 등<sup>25)</sup>의 방법을 약간 변경하여 5% TCA와 1 mM EDTA가 함유된 10,000 g의 간장의 단백질이 제거된 상정액 일정량을 취하여 5,5-dithiobis (2-nitrobenzoic acid)와 반응하는 glutathione을 412 nm에서 560 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### (3) Cytochrome P-450의 측정

Omura와 Sato<sup>26)</sup>의 방법에 준해 시험관에 1 mM EDTA, 20% glycerol, 0.5% sodium cholate 및 0.4% Triton N-101이 함유된 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.4)에 microsomal suspension (1 mg protein/ml)을 첨가한 후 sodium dithionite를 넣고 혼합한다. 다음 CO gas를 1분간 bubbling시킨다. Bubbling이 끝난 후 파장 400-500 nm에서 흡광도를 측정하고 450-490 nm에서 흡광도의 차이를 cytochrome P-450 CO complex에 의한 흡광량 흡광계수 91 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>을 이용하여 산정하였다.

### (4) Cytochrome b5 함량

Omura와 Sato<sup>26)</sup>의 방법을 약간 변경하여 cytochrome b5의 환원형과 산화형 사이의 흡광도를 측정하였다. 즉 microsomal 용액을 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.0)로 희석시킨 다음 NADH 용액을 넣어 NADH의 최종 농도가 0.2 mM이 되도록 한 다음 424 nm와 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때의 molar extinction coefficient는 185 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>을 이용하였다.

### (5) Aminopyrine demethylase의 활성 측정

Nash<sup>27)</sup>의 방법을 약간 변경하여 반응액 2 ml 중 0.1 M Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> phosphate buffer (pH 7.5에 2 mM aminopyrine, HCl, 0.5 mM NADPH, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 150 mM KCl, 1 mM semicarbazide 및 효소액 (30-400 µg의 단백질을 가해 이 반응액을 37°C에서 30분간 반응시킨 다음 15% ZnSO<sub>4</sub>와 포화 Ba(OH)<sub>2</sub>를 가하여 반응을 종료시키고 5분간 방치 후 10분간 원심분리하여 여기서 얻은 상정액 5 ml에 발

색의 목적으로 Nash reagent를 첨가하고 60°C에서 30분간 반응시킨 후 다시 원심분리하여 상정액을 취하여 파장 415 nm에서 그 흡광도를 측정하고 표준곡선에 준하여 활성도를 산정 하였다.

### (6) Aniline hydroxylase의 활성 측정

Bidlack과 Lowry<sup>28)</sup>의 방법에 준하여 반응액 2 ml 중 10 mM MgCl<sub>2</sub> 및 150 mM KCl이 함유된 50 mM Tris. HCl 완충액 (pH 7.4)에 기질인 1 mM aniline HCl, 0.5 mM NADPH 및 효소액 (300-400 µg의 단백질을 가하여 이 액을 37°C에서 20분간 반응시킨 다음 반응을 종료시킬 목적으로 20% trichloroacetic acid를 가한 후 10분간 원심분리하여 상정액에 발색의 목적으로 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>와 0.2 N-NaOH (2% phenol 함유)를 넣고 37°C에서 30분간 반응시킨 후 파장 640 nm에서 그 흡광도를 읽고 표준곡선에서 활성도를 산정하였다.

### (7) Glutathione S-transferase의 활성 측정

Habig 등<sup>29)</sup>의 방법에 준하여 반응액 3.5 ml에 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 6.5)에 1 mM glutathione, 1 mM 1-chloro 2,4-dinitrobenzene 및 0.1 ml 효소액을 가하여 25°C에서 2분간 반응시킨 후 이때 생성되는 thioether를 340 nm에서 흡광도의 변화를 읽고 흡광계수 9.6 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>을 이용하여 효소의 활성도를 산정하였다.

### (8) γ-Glutamylcysteine synthetase의 활성 측정

Meister와 Richman<sup>30)</sup>의 방법에 준하여 반응액 3.5 ml 중 0.1 M tris HCl buffer (pH 8.0), 8.9 mM L-glutamic acid, 0.94 mM EDTA, 3.2 mM MgCl<sub>2</sub>, 1.35 mM ATP와 효소액 (100-300 µg 단백질을 가하여 37°C에서 10분 반응시킨 후 spectrophotometer를 이용하여 흡광도 600 nm에서 효소의 활성을 측정하였다.

### (9) Glutathione reductase의 활성 측정

Mize와 Langdon<sup>31)</sup>의 방법에 준하여 반응액 3.0 ml 중 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.5), 0.94 mM EDTA, 4.6 mM oxidized glutathione, 0.16 mM NADPH 및 효소액 (400-600 µg 단백질을 가하여 37°C에서 10분간 반응시킨 후 340 nm에서 NADPH의 감소되는 양을 측정하였다.

## 6. 단백질 정량 및 통계처리

단백질의 함량은 Lowry 등<sup>32)</sup>의 방법에 준하여 bovine serum albumin (Sigma Fr. V)을 표준품으로 하여 측정하였으며, 본 실험에서 얻어진 결과는 평균치±표준편차로 표시하였고, 통계적 유의성 검증은 Duncan's new multiple range test를 이용하였다.

## 실험결과

### 1. 홍삼의 투여용량 및 기간에 따른 혈중 aminotransferase 및 sorbitol dehydrogenase의 활성 변동

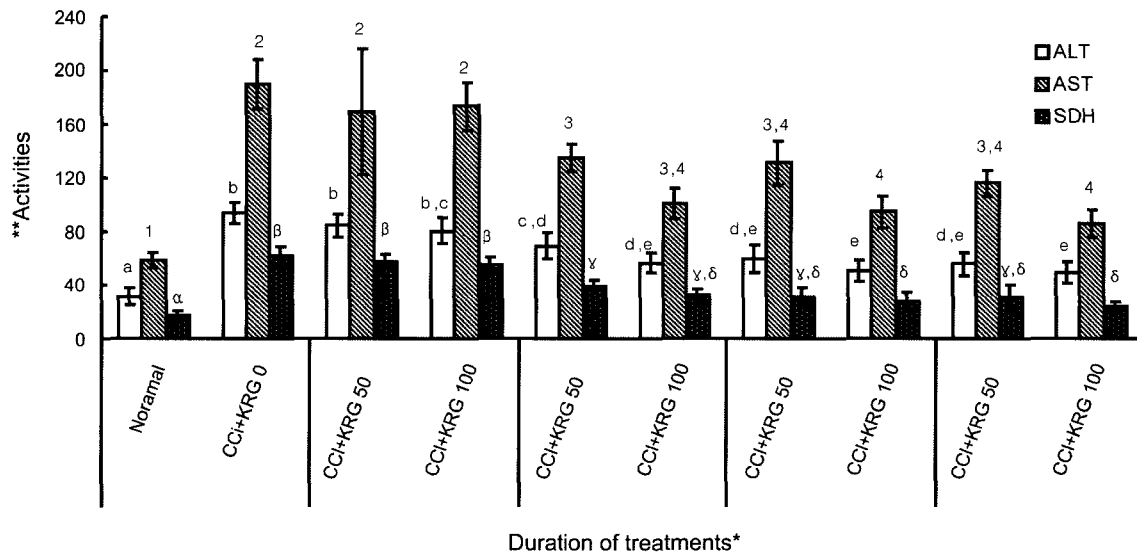
홍삼의 투여로 인한 생화학적 변화를 관찰하고 적정 투여 용량과 기간을 검토하기 위하여 홍삼시료를 50 및 100 mg/kg을 4주간 투여한 후 혈중 aminotransferase (ALT 및 AST)와 sorbitol dehydrogenase (SDH)의 활성을 관찰한 결과, 시료 50 mg/kg을 투여하고 사염화탄소 중독에 의하여 현저히 증가되던 혈 중 ALT, AST 및 SDH의 활성이 대조군 수준에는 미치지 않으나 현저히 감소되었으며, 100 mg/kg 투

여군에서도 현저히 감소하였다(Fig. 1). 이 예비실험을 토대로 하여 본 실험에서는 홍삼시료를 50 및 100 mg/kg씩 2주간 투여한 후 이후 과정을 진행하였다.

### 2. 홍삼의 전처리가 실험적 간독성에 미치는 영향

#### (1) 혈중 생화학적 변화

앞의 예비실험에서 나타난 바를 재확인하고 간기능 개선제로 널리 사용되고 있는 silymarin의 효능과 비교하기 위하여, 홍삼시료 50 및 100 mg/kg 씩 2주간 투여한 후 CCl<sub>4</sub> 중독을 한 다음 혈중 간 지표에 미치는 생화학적 변동을 관찰한 성적은 Table 1 및 2에 나타난 바와 같다. 즉 사염화탄소 중독에 의해 크게 증가되던 ALT, AST 및 SDH와  $\gamma$ -glutamyltrnas-



**Fig. 1.** Effects of pretreated Korean red ginseng (KRG) on the activities of serum alanine and aspartate aminotransferases (ALT & AST) and sorbitol dehydrogenase (SDH) in carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>)-induced hepatic rats. \*Rats were orally administered KRG once a day up to four consecutive weeks and treated with 0.2 ml/10 g of CCl<sub>4</sub> (in olive oil, 1:1 v/v) or 400 mg/kg of galactosamine · HCl (GalN) intraperitoneally 30 mins after the final treatment of KRG. Rats were decapitated 24 hrs after treatment of CCl<sub>4</sub> to collect the blood or organs. \*\*Activities; IU/L for aminotransferases and mM/ml for SDH Values are mean S.D. for five experiments and data followed by different superscript are statistically significant from normal (P<0.05) by Duncan's new multiple range test.

**Table 1.** Effects of pretreated Korean red ginseng (KRG) and silymarin on the activities of serum alanine and aspartate aminotransferases (ALT & AST) and sorbitol dehydrogenase (SDH) in carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>)- induced hepatic rats\*

Treatments and doses (mg/kg)	ALT(IU/L)	AST(IU/L)	SDH (mU/ml)
Normal	32.6±6.58a, <sup>1,2)</sup>	59.4±6.07 <sup>a</sup>	18.4±4.63 <sup>a</sup>
CCl <sub>4</sub>	93.7±7.49 <sup>b</sup>	190.2±18.2 <sup>b</sup>	61.2±7.11 <sup>b</sup>
CCl <sub>4</sub> +KRG(50)	67.5±8.27 <sup>c</sup>	135.2±11.3 <sup>c</sup>	38.2±3.25 <sup>c</sup>
CCl <sub>4</sub> +KRG(100)	56.2±7.43 <sup>c,d</sup>	100.2±11.3 <sup>d</sup>	31.7±5.06 <sup>c,d</sup>
CCl <sub>4</sub> +Silymarin(100)	48.3±8.56 <sup>d</sup>	73.2±9.97 <sup>a</sup>	25.4±3.57 <sup>a,d</sup>

\*Rats were orally administered KRG once a day for two weeks and treated with 0.2 ml/10 g of CCl<sub>4</sub> intraperitoneally 30 mins after the final treatment of KRG.

<sup>1)</sup>Values are mean±S.D. for eight experiments.

<sup>2)</sup>Data followed by different superscript are statistically significant from normal (P<0.05) by Duncan's new multiple range test.

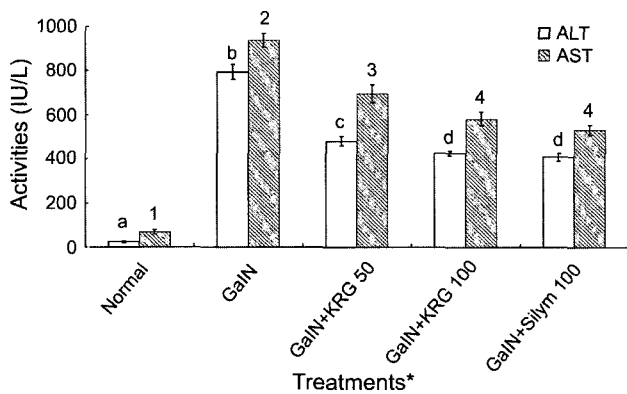
**Table 2.** Effects of pretreated Korean red ginseng (KRG) and silymarin on the activities of serum  $\gamma$ -glutamyltransferase ( $\gamma$ -GT), alkaline phosphatase (ALP) and lactate dehydrogenase (LDH) in carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>)-induced hepatic rats\*

Treatments and doses (mg/kg)	$\gamma$ -GT (mU/ml)	ALP (K-A unit)	LDH (Wroblewski unit)
Normal	26.4±4.07 <sup>a,1,2)</sup>	40.1±2.79 <sup>a</sup>	26.4±3.10 <sup>a</sup>
CCl <sub>4</sub>	64.1±2.96 <sup>b</sup>	72.7±3.56 <sup>b</sup>	46.7±3.27 <sup>b</sup>
CCl <sub>4</sub> +KRG (50)	48.3±3.97 <sup>c</sup>	61.4±3.47 <sup>c</sup>	38.6±2.49 <sup>c</sup>
CCl <sub>4</sub> +KRG (100)	39.7±4.20 <sup>d</sup>	56.2±4.29 <sup>c,d</sup>	35.2±3.37 <sup>c,d</sup>
CCl <sub>4</sub> +Silymarin (100)	36.7±2.94 <sup>d</sup>	50.6±4.25 <sup>d</sup>	31.5±2.43 <sup>a,d</sup>

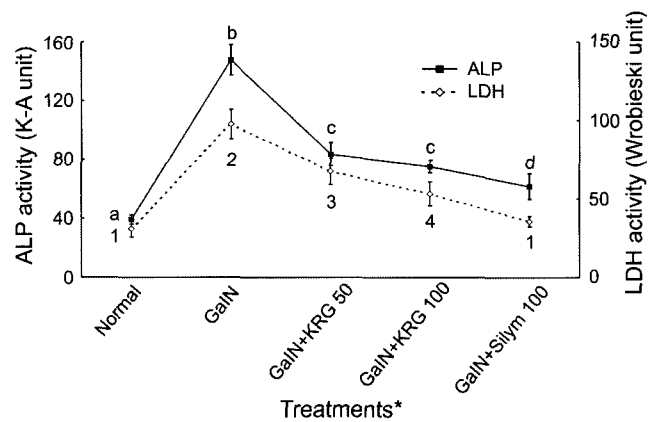
\*The assay procedure and statistical explanation were described in the footnote of Table 1.

<sup>1)</sup>Values are mean±S.D. for eight experiments.

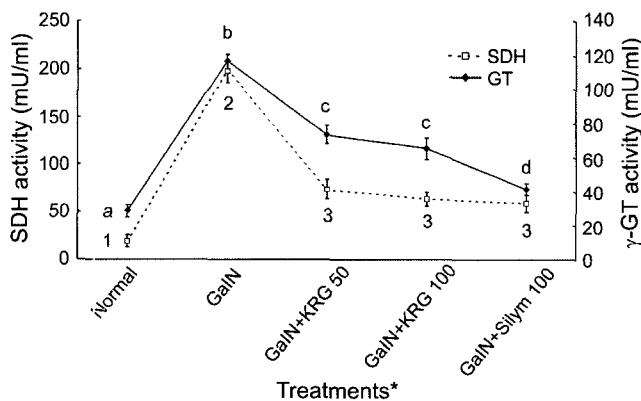
<sup>2)</sup>Data followed by different superscript are statistically significant from normal (P<0.05) by Duncan's new multiple range test.



**Fig. 2.** Effects of pretreated Korean red ginseng (KRG) and silymarin (Silym) on the serum aminotransferases (ALT & AST) in D-galactosamine (GalN)-induced hepatic rats. \*Rats were orally administered KRG once a day for two weeks and treated with 400 mg/kg of GalN intraperitoneally 30 mins after final treatment of KRG. Values are mean±S.D. for eight experiments and data followed by different superscript are statistically significant from normal (P<0.05) by Duncan's new multiple range test.



**Fig. 4.** Effects of pretreated Korean red ginseng (KRG) and silymarin (Silym) on alkaline phosphatase (ALP) and lactate dehydrogenase (LDH) in D-galactosamine (GalN)-induced hepatic rats. \*The assay procedure and statistical explanation were described in the footnote of Fig. 2. Values are mean±S.D. for eight experiments and data followed by different superscript are statistically significant from normal (P<0.05) by Duncan's new multiple range test.



**Fig. 3.** Effects of pretreated Korean red ginseng (KRG) and silymarin (Silym) on sorbitol dehydrogenase (SDH) and  $\gamma$ -glutamyltransferase ( $\gamma$ -GT) in D-galactosamine (GalN)-induced hepatic rats. \*The assay procedure and statistical explanation were described in the footnote of Fig. 2. Values are mean±S.D. for eight experiments and data followed by different superscript are statistically significant from normal (P<0.05) by Duncan's new multiple range test.

ferase ( $\gamma$ -GT), alkaline phosphatase (ALP)와 lactate dehydrogenase (LDH) 등의 활성은 홍삼의 치료로 현저히 감소되었으나 대조군 수준까지 회복되지는 않았으며, silymarin의 효능과 비교한다면 AST 활성의 경우를 제외하면 홍삼치료 100 mg/kg의 효능과 silymarin 100 mg/kg의 효능간에는 유의적인 차이가 없었다.

한편 홍삼을 50 및 100 mg/kg을 2주간 투여한 후 galactosamine으로 간독성을 유도한 다음 혈중 간지표에 미치는 생화학적 변동을 관찰한 결과는 Fig. 2~4에 나타난 바와 같다. 사염화탄소 중독시와 마찬가지로 ALT, AST, SDH,  $\gamma$ -GT, ALP 및 LDH의 활성이 대조군 수준에는 미치지 않으나 홍삼의 전처리군에서 현저히 감소하였다. Silymarin의 효과와 비교해 보아도 역시 같은 경향을 나타내었다.

**(2) 지질과산화의 함량에 미치는 영향**

홍삼시료를 2주간 투여한 후 사염화탄소로 간중독을 유발

**Table 3.** Effect of pretreated Korean red ginseng (KRG) and silymarin on the hepatic lipid peroxide content in carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) and D-galactosamine (GalN)-induced hepatic rats\*

Treatments and doses (mg/kg)	CCl <sub>4</sub> -treated	GalN-treated
Normal	20.6±2.47 <sup>a,1,2)</sup>	21.8±2.19 <sup>a</sup>
CCl <sub>4</sub>	63.8±3.26 <sup>b</sup> (100)	
GalN		110.6±9.24 <sup>b</sup> (100)
CCl <sub>4</sub> +KRG (50)	47.2±3.97 <sup>c</sup> (74)	90.6±8.45 <sup>c</sup> (82)
CCl <sub>4</sub> +KRG (100)	43.8±2.94 <sup>c</sup> (69)	63.7±5.29 <sup>d</sup> (58)
CCl <sub>4</sub> +Silymarin (100)	35.6±4.11 <sup>d</sup> (56)	41.8±3.58 <sup>e</sup> (38)

\*The assay procedure and statistical explanation were described in the footnote of Fig. 2 and Table 1.

<sup>1)</sup>Values are mean±S.D. for eight experiments.

<sup>2)</sup>Data followed by different superscript are statistically significant from normal (P<0.05) by Duncan's new multiple range test. The values in parentheses represent the percentage decreasing ratio compared to CCl<sub>4</sub> or GalN.

**Table 4.** Effect of pretreated Korean red ginseng (KRG) and silymarin on the hepatic microsomal enzyme system in carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>)-induced hepatic rats\*

Treatment and dose (mg/kg)	Cyto P-450 <sup>3)</sup>	Cyto b5 <sup>3)</sup>	AH <sup>4)</sup>	AD <sup>5)</sup>
Normal	0.98±0.05 <sup>a,1,2)</sup>	0.33±0.03 <sup>a</sup>	1.28±0.17 <sup>a</sup>	3.86±0.33 <sup>a</sup>
CCl <sub>4</sub>	1.93±0.11 <sup>b</sup>	0.62±0.05 <sup>b</sup>	2.30±0.33 <sup>b</sup>	9.26±0.58 <sup>b</sup>
CCl <sub>4</sub> +KRG (50)	1.40±0.08 <sup>c</sup>	0.51±0.03 <sup>c</sup>	1.94±0.31 <sup>b,c</sup>	7.27±0.39 <sup>c</sup>
CCl <sub>4</sub> +KRG (100)	1.27±0.06 <sup>c,d</sup>	0.47±0.02 <sup>c,d</sup>	1.86±0.27 <sup>b,c</sup>	6.94±0.29 <sup>c</sup>
CCl <sub>4</sub> +Silymarin (100)	1.18±0.03 <sup>d</sup>	0.44±0.04 <sup>d</sup>	1.62±0.14 <sup>c,d</sup>	4.63±0.42 <sup>d</sup>

\*The assay procedure and statistical explanation were described in the footnote of Table 1.

<sup>1)</sup>Values are mean±S.D. for eight experiments.

<sup>2)</sup>Data followed by different superscript are statistically significant from normal (P<0.05) by Duncan's new multiple range test. Units: cytochromes, <sup>3)</sup>nmole/mg protein; <sup>4)</sup>aniline hydroxylase, *p*-aminophenol nmole/mg protein/min; and <sup>5)</sup>aminopyrine N-demethylase: HCHO nmole/mg protein/min.

**Table 5.** Effect of pretreated Korean red ginseng (KRG) and silymarin on the hepatic microsomal enzyme system in D-galactosamine (GalN)-induced hepatic rats\*

Treatments and doses (mg/kg)	Cyto P-450 <sup>3)</sup>	Cyto b5 <sup>3)</sup>	AH <sup>4)</sup>	AD <sup>5)</sup>
Normal	0.99±0.04 <sup>a,1,2)</sup>	0.30±0.03 <sup>a</sup>	1.29±0.10 <sup>a</sup>	3.78±0.24 <sup>a</sup>
GalN	2.97±0.31 <sup>b</sup>	0.97±0.04 <sup>b</sup>	3.21±0.28 <sup>b</sup>	6.80±0.42 <sup>b</sup>
GalN+KRG (50)	1.96±0.26 <sup>c</sup>	0.87±0.03 <sup>c</sup>	2.53±0.33 <sup>c</sup>	4.97±0.33 <sup>c</sup>
GalN+KRG (100)	1.77±0.13 <sup>c</sup>	0.59±0.02 <sup>d</sup>	2.36±0.26 <sup>c</sup>	4.36±0.25 <sup>d</sup>
GalN+Silymarin (100)	1.29±0.12 <sup>a</sup>	0.47±0.04 <sup>c</sup>	1.87±0.24 <sup>d</sup>	4.01±0.28 <sup>a,d</sup>

\*The assay procedure and statistical explanation were described in the footnote of Fig. 2.

<sup>1)</sup>Values are mean±S.D. for eight experiments.

<sup>2)</sup>Data followed by different superscript are statistically significant from normal (P<0.05) by Duncan's new multiple range test. Units: cytochromes, <sup>3)</sup>nmole/mg protein; <sup>4)</sup>aniline hydroxylase, *p*-aminophenol nmole/mg protein/min; and <sup>5)</sup>aminopyrine N-demethylase: HCHO nmole/mg protein/min.

한 흰쥐의 간조직 중의 지질과산화의 함량을 관찰한 결과는 Table 3에 나타난 바와 같다. 정상쥐에 사염화탄소를 투여함으로써 약 3배의 지질과산화의 함량이 증가되던 것이 홍삼 50 mg/kg의 투여군에서 현저히 억제되었으며 이러한 경향은 100 mg/kg 투여에서도 비슷하였다. 한편 D-galactosamine으로 간독성을 유발한 경우에는 정상군에서 지질과산화물의 함량이 약 5배 증가되던 것에 반해 홍삼을 투여한 군에서는 50 mg/kg의 투여용량에서 현저한 억제 현상을 보였으며 이리

한 경향은 100 mg/kg 투여에서도 비슷하였다. 또한 두 경우 모두 silymarin의 효과에는 미치지 못하였다.

### (3) Microsomal 대사효소계에 미치는 영향

홍삼시료를 투여한 후 사염화탄소로 간독성을 유발하고 간 microsomal에서의 활성산소의 생성계에 미치는 영향을 관찰한 성적이 Table 4이다. 정상 동물에 사염화탄소를 투여함으로써 간 microsomal 효소계인 cytochrome P-450, cytochrome b5, aniline hydroxylase, aminopyrine N-demethylase의 활

성이 현저히 증가되던 것이 홍삼 50 mg/kg의 투여군에서 정상군에 현저히 접근하였으며 이러한 경향은 100 mg/kg 투여에서 보다 확실하였다. 또 silymarin의 효과와 비교하면 aminopyrine N-demethylase 활성을 제외하면 비슷한 경향을 보였다.

한편 같은 조건에서 D-galactosamine으로 간독성을 유발한 경우, 간 microsomal에서의 활성산소의 생성계에 미치는 영향 Table 5에 나타난 바와 같다. 정상쥐에 D-galactosamine을 투여함으로써 간 microsomal 효소계의 각종 효소 활성이 현저히 증가되던 것이 홍삼을 투여함으로써 억제되었으며 이러한 경향은 50 mg/kg의 투여량보다 100 mg/kg 투여에서 현저하였다. 또 이상과 같은 효과는 사염화탄소 중독의 경우와는 달리 aniline hydroxylase를 제외하고서는 홍삼 100 mg/kg과 silymarin 100 mg/kg의 효과가 비슷하였다.

#### (4) Glutathione S-transferase 활성에 미치는 영향

홍삼을 투여한 후 CCl<sub>4</sub>로 간중독을 유발한 흰쥐에서 활성산소의 제거계 효소인 간 cytosolic glutathione S-transferase의 활성에 미치는 영향을 관찰한 성적이 Table 6이다. 정상쥐에 사염화탄소를 투여함으로써 현저히 억제되던 효소의 활성은 홍삼의 전처리에 의해 증가되었으며 이러한 경향

은 100 mg/kg 투여에서 보다 확실하였다. 한편 홍삼을 투여한 후 D-galactosamine 간독성을 유발하여 간 cytosolic glutathione S-transferase의 활성에 미치는 영향을 관찰한 결과 정상군에 비하여 현저히 억제되던 효소의 활성이 홍삼 50 mg/kg의 투여에서 증가되었으며 이러한 경향은 100 mg/kg 투여에서도 유사하였다. 또한 이상의 효과는 모두 silymarin의 효과와 비슷하게 나타났다.

#### (5) 간조직중 glutathione의 농도 및 glutathione 생성계에 미치는 영향

홍삼 (50, 100 mg/kg)을 2주간 투여한 후 CCl<sub>4</sub>를 투여하고 간 조직 중의 glutathione의 농도 및 glutathione의 생성계에 미치는 영향을 관찰한 결과는 Table 7에 나타난 바와 같다. 정상 쥐에 사염화탄소를 투여함으로써 정상군에 비하여 현저히 억제되던 간조직 중의 glutathione의 농도와 glutathione reductase의 활성이 홍삼 50 mg/kg의 용량에서 증가되었으며 이러한 경향은 100 mg/kg 투여에서는 보다 확실하였다. 한편 사염화탄소 중독에 의해 억제되는  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase의 활성은 홍삼의 전처리로서는 회복 경향을 보이지 않았으나 silymarin에 의해서는 정상 수준 가까이 회복되었다.

**Table 6.** Effects of pretreated Korean red ginseng (KRG) and silymarin on the hepatic glutathione S-transferase activity in carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) and D-galactosamine (GalN)-induced hepatic rats\*

Treatments and doses (mg/kg)	CCl <sub>4</sub> -treated	GalN-treated
Normal	250.8±18.4 <sup>a,1,2)</sup>	253.6±11.2 <sup>a</sup>
CCl <sub>4</sub>	155.5±16.4 <sup>b</sup> (100)	-
GalN	-	120.8±10.7 <sup>b</sup> (100)
CCl <sub>4</sub> +KRG (50)	180.6±10.7 <sup>b,c</sup> (116)	170.2±15.8 <sup>c</sup> (141)
CCl <sub>4</sub> +KRG (100)	200.3±14.6 <sup>c,d</sup> (129)	190.3±13.4 <sup>c,d</sup> (158)
CCl <sub>4</sub> +Silymarin (100)	220.3±17.5 <sup>c</sup> (142)	200.4±14.8 <sup>d</sup> (166)

\*The assay procedure and statistical explanation were described in the footnote of Fig. 2 and Table 1.

<sup>1)</sup>Values are mean±S.D. for eight experiments.

<sup>2)</sup>Data followed by different superscript are statistically significant from normal (P<0.05) by Duncan's new multiple range test. Unit: CDNE nmole/mg protein/min The values in parentheses represent the percentage increasing ratio compared to CCl<sub>4</sub> or GalN.

**Table 7.** Effects of pretreated Korean red ginseng (KRG) and silymarin on the hepatic glutathione concentration (GT), activities of glutathione reductase (GR) and  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase ( $\gamma$ -GCS) in carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>)-induced hepatic rats\*

Treatments and doses (mg/kg)	GT <sup>3)</sup>	GR <sup>4)</sup>	$\gamma$ -GCS <sup>5)</sup>
Normal	5.30±0.55 <sup>a,1,2)</sup>	29.0±2.11 <sup>a</sup>	14.50±2.43 <sup>a</sup>
CCl <sub>4</sub>	2.48±0.29 <sup>d</sup>	13.3±1.46 <sup>d</sup>	7.68±0.54 <sup>c</sup>
CCl <sub>4</sub> +KRG (50)	3.94±0.36 <sup>c</sup>	20.4±1.08 <sup>c</sup>	8.92±0.72 <sup>b,c</sup>
CCl <sub>4</sub> +KRG (100)	4.57±0.41 <sup>b,c</sup>	22.8±1.17 <sup>b,c</sup>	8.72±0.59 <sup>b,c</sup>
CCl <sub>4</sub> +Silymarin (100)	4.83±0.33 <sup>a,b</sup>	25.2±2.10 <sup>b</sup>	10.20±1.26 <sup>b</sup>

\*The assay procedure and statistical explanation were described in the footnote of Table 1.

<sup>1)</sup>Values are mean±S.D. for eight experiments.

<sup>2)</sup>Data followed by different superscript are statistically significant from normal (P<0.05) by Duncan's new multiple range test. Units: <sup>3)</sup> $\mu$ mole/g of tissue; <sup>4)</sup>glutathione nmole/mg protein/min and <sup>5)</sup>P, nmole/mg protein/min.

**Table 8.** Effects of pretreated Korean red ginseng (KRG) and silymarin on the hepatic glutathione concentration (GT), activities of glutathione reductase (GR) and  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase ( $\gamma$ -GCS) in D-galactosamine (GalN)-induced hepatic rats\*

Treatments and doses (mg/kg)	GT <sup>3)</sup>	GR <sup>4)</sup>	$\gamma$ -GCS <sup>5)</sup>
Normal	5.31±0.46 <sup>a,1,2)</sup>	29.2±2.92 <sup>a</sup>	16.80±2.11 <sup>a</sup>
GalN	1.98±0.21 <sup>b</sup>	10.8±1.53 <sup>b</sup>	6.17±0.83 <sup>b</sup>
GalN+KRG (50)	4.12±0.38 <sup>c</sup>	19.8±1.90 <sup>c</sup>	6.29±0.67 <sup>b</sup>
GalN+KRG (100)	4.54±0.40 <sup>c,d</sup>	21.7±1.87 <sup>c</sup>	6.37±0.80 <sup>b</sup>
GalN+Silymarin (100)	4.87±0.52 <sup>a,d</sup>	23.0±1.54 <sup>c</sup>	12.40±0.54 <sup>c</sup>

\*The assay procedure and statistical explanation were described in the footnote of Fig. 2.

<sup>1)</sup>Values are mean±S.D. for eight experiments.

<sup>2)</sup>Data followed by different superscript are statistically significant from normal ( $P<0.05$ ) by Duncan's new multiple range test.

Units: <sup>3)</sup> $\mu$ mole/g of tissue; <sup>4)</sup>glutathione nmole/mg protein/min and <sup>5)</sup>P, nmole/mg protein/min.

한편 홍삼을 전처리 한 후 D-galactosamine을 투여하고 간조직 중의 glutathione의 농도 및 glutathione의 생성계에 미치는 영향을 관찰한 성적이 Table 8이다. 정상쥐에 D-galactosamine을 투여함으로써 정상군에 비하여 현저히 억제 되던 간 조직 중의 glutathione의 농도와 glutathione reductase의 활성이 홍삼을 50 mg/kg의 투여에서 증가되었으며 이러한 경향은 100 mg/kg 투여에서도 유사하였다. 한편  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase의 활성은 D-galactosamine의 투여로서 억제되었으나 홍삼의 전처리로서는 별다른 영향이 없었다. 이에 반해 silymarin 투여군에서는 뚜렷한 회복 경향을 나타내었다.

## 고 찰

내외인성 요인에 의하여 생성된 친전자성 물질을 포함하는 free radical들은 체내에서 여러 가지 독작용을 유발하며, 해독 기구의 작용으로 무독화 된다. 홍삼추출물이 간질환에 대한 예방효과가 있는지를 검색할 목적으로 홍삼을 투여한 실험동물에서 free radical의 생성계와 해독계의 활성에 미치는 영향을 관찰한 결과 사염화탄소의 투여로 현저히 증가되던 혈청 중 생화학적 변동이 현저히 감소하였다. 체내로 흡수된 사염화탄소는 간장 내 약물대사효소계에 의하여  $\cdot\text{CCl}_3$  (trichloromethyl radical)로 전환되어 간 중심부 괴사, 단백합성 억제, 지방변성 등을 일으킨다고 알려져 있다.<sup>33)</sup> 한편, 아미노당인 galactosamine은 galactose의 대사 장애를 통한 UTP, UDP 및 UMP 등의 농도 감소로 RNA의 합성이 저해되어 지질의 축적을 유도하고,<sup>34,35)</sup> 또한 세포막 성분중 탄수화물의 조성고 세포 내  $\text{Ca}^{++}$ 농도를 변화시켜 간조직의 손상을 유발한다고 알려져 있다.<sup>36,37)</sup> Galactosamine의 급성 중독시에는 간괴사, 만성중독의 경우에는 간경변과 세포성 종양을 일어나게 된다.<sup>38-40)</sup> 사염화탄소와 D-galactosamine에 의한 간독성을 유발하기 전에 실험동물에 홍삼 시료를 투여하고 혈중 생화학적 변동을 관찰

하였던 바 간독성의 경감작용이 있음을 확인하였다.

일반적으로 생체조직 세포막의 손상은 세포막 구성성분인 polyunsaturated fatty acid의 과산화가 그 한가지 요인으로 지적되고 있는데, 지질과산화의 생체 외적인 요인뿐만 아니라 내적인 요인에 의하여 생성된 oxygen free radical들 때문에 야기되며, 지질과산화는 세포의 지질성분인 불포화 지방산에 활성산소가 첨가되어 과산화된 지질을 지질과산화이라고 한다. 특히 생체 내에서 과산화 현상은 세포막의 주요 구성 성분인 인지질을 구성하는 불포화 지방산이 활성 산소와 결합하여 생기게 되는데 이러한 현상은 불포화 지방산 구성성분이 많고 인지질의 함량이 풍부한 mitochondria, microsome, erythrocyte 및 platelet 등의 막에서 쉽게 일어날수 있다. 이러한 지질성분의 과산화 작용 결과 결국은 생체 내에서 정상적인 작용을 상실하게 되고 또한 세포괴사 등을 일으키는 것으로 알려져 있다.<sup>41)</sup> 즉 독성물질 등 여러 가지 인자에 의하여 생성된 oxygen radical과 반응한 불포화 지방산은 불포화 지방산의 radical이 되고 산소와 결합하여 hydroxyepoxide를 생성하며 triene 이상의 불포화지방산은 hydroperoxide, endoperoxide 및 polyepoxide 등과 같은 지질과산화물이 생성되어 malondialdehyde로 분해된다.<sup>42)</sup>

과산화지질은 자동산화 반응에 의한 다가 불포화지방산에 산소가 부가된 생산물의 총칭으로 이의 생성은 병태 생리 현상이나 조직의 손상 정도를 나타내는 지표로서, 세포막의 투과성을 항진시킬 뿐만 아니라 전반적인 세포독성을 초래하여 세포기능을 저하시키며 괴사에 관여하여 노화현상이나 이에 따른 여러 가지 질환의 병리현상을 유발하여 발암의 과정에도 관여 할 것이라는 점<sup>43,44)</sup>을 고려하여 홍삼의 전처리에 의하여 사염화탄소와 D-galactosamine에 의하여 유도되는 지질과산화물에 어떠한 영향을 주는 가를 관찰하였던 바, 사염화탄소와 D-galactosamine에 의하여 현저히 증가되던 지질과산화의 함량이 홍삼의 전처리로 억제되었다. 이러한 지질과산화의 함량 변화의 기전을 추구할 목적으로 활성산소의 생성계



및 해독계를 중심으로 관찰하였다. 간 microsomal 효소계인 cytochrome P-450, cytochrome b5, aminopyrine N-demethylase와 aniline hydroxylase 활성에 대한 홍삼의 영향을 검토하였을 때 사염화탄소와 D-galactosamine의 투여로 현저히 증가된 효소의 활성이 홍삼의 용량별 투여로서 억제되었다. 이리 미루어 볼 때 홍삼은 활성산소의 생성계인 microsomal 효소계를 조절함으로써 지질과산화의 생성을 억제시키는 것으로 생각된다.

활성산소의 해독계로서 glutathione의 포합효소<sup>43)</sup>인 glutathione S-transferase (GST)의 활성 변동을 관찰한 실험에서 사염화탄소와 D-galactosamine의 단독 투여로 glutathione S-transferase의 활성이 현저히 감소되던 것이 홍삼을 전·후 투여함으로써 대조군 수준에는 미치지 않으나 유의적으로 증가되었다.

진전지성 물질들과 활성산소 및 과산화지질의 최종 무독화 과정에는 필연적으로 glutathione이 요구되며, 이 물질의 세포 내 함량 유지에는 합성계 효소와 해독반응 후 생성되는 산화형 glutathione의 재환원 효소<sup>45,46)</sup>가 관여하고 있다. 홍삼을 전후 투여하고 사염화탄소와 D-galactosamine에 의한 glutathione의 함량 감소를 경감시키는 기전을 구명 할 목적으로 합성계의 rate-limiting 효소<sup>47,48)</sup>인  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase ( $\gamma$ -GT)의 활성과 glutathione reductase의 활성 변동을 홍삼을 전처리 한 후 관찰하였을 때,  $\gamma$ -GT의 활성은 별다른 영향을 보이지 않았으나, glutathione reductase의 활성은 사염화탄소와 D-galactosamine의 단독 투여군 보다 홍삼을 전처리함으로써 현저히 증가되었다. 이와 같은 결과로 보아 GST의 활성이 사염화탄소와 D-galactosamine의 투여로 현저히 억제되던 것이 홍삼을 치료로 증가되는 현상은 간 조직중의 glutathione의 함량 변동에 의하여 나타나는 것으로 생각되며, glutathione의 함량의 조절은 glutathione reductase의 활성 변동에 의하여 조절되고 있는 것으로 사료된다.

## 결 론

홍삼으로부터 사염화탄소 및 D-galactosamine에 의하여 유도되는 간독성의 예방 효과를 검색할 목적으로 홍삼을 전처리하고 사염화탄소와 D-galactosamine을 투여하고 혈 중 생화학적 변동, 간 조직 중 지질과산화의 함량, 활성산소의 생성계 효소 및 해독계 효소를 검색하여 본 결과 다음과 같은 결론을 얻었다. 사염화탄소와 D-galactosamine의 투여로서 현저히 증가되던 ALT, AST, SDH,  $\gamma$ -GT, ALP 및 LDH의 활성이 홍삼 (50, 100 mg/kg)을 2주간 전처리로 현저히 억제되었다. 사염화탄소와 D-galactosamine의 투여로서 현저히 증

가되던 간조직 중의 지질과산화의 함량이 홍삼의 전후 투여로 억제되었다. 사염화탄소와 D-galactosamine의 투여로서 현저히 증가되던 간 microsomal 효소계 (cytochrome P-450, cytochrome b5, aniline hydroxylase, aminopyrine N-demethylase)의 활성이 홍삼의 전처리로 억제되었다. 사염화탄소와 D-galactosamine의 투여로서 현저히 억제되던 glutathione S-transferase 활성, glutathione의 농도, glutathione reductase의 활성이 홍삼의 전후 투여로 증가되었으며,  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase의 활성에는 별다른 영향이 없었다. 이상의 실험 성적을 종합하여 볼 때 홍삼의 전처리는 활성산소의 생성계인 microsomal 효소계의 조절과 glutathione을 개입하여 해독작용에 관여하는 효소인 glutathione S-transferase와 glutathione reductase의 활성이 증가되어 사염화탄소 및 D-galactosamine의 대사를 촉진시킴으로서 이로 인해 유도되는 간독성을 예방 및 치료할 수 있을 것으로 사료된다.

## 감사의 말씀

본 연구는 2001년도 한국인삼공사 출연금으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## 인용문헌

1. Yun (Choi), H. S. and Chang I-M.: *Kor. J. Pharmacogn.*, **8**, 125 (1977).
2. Chang, I-M. and Yun (Choi), H. S.: *ibid*, **9**, 139 (1978).
3. Chng, I-M., Park, Y. C. and Yun (Choi), H. S.: *Korean Biochem. J.*, **15**, 200 (1982).
4. Yang, K. H., Kwon, T. J., Choe, S. Y., Yun, H. S. and Chang, I-M.: *Drug Chem. Toxicol.*, **6**, 429 (1983).
5. Chang, I-M., Ryu, J. C., Park, Y. C., Yun (Choi), H. S. and Yang, K. H.: *Ibid*, **6**, 443 (1983).
6. Chang, I-M., Chang, K. S. and Yun, H. S.: *Kor. J. Pharmacogn.*, **14**, 95 (1983).
7. Chang, I-M., Yun, H. S., Kim, Y. S. and Ahn, J. W.: *Ann. Report Natural Prod. Res. Inst.*, Seoul Nat. Univ., **23**, 59 (1984).
8. 장일무, 윤혜숙, 양규환: 생약연구소업적집 (서울대학교), **23**, 90 (1984).
9. Desplaces, A., Choppi, J., Voge, G. and Trost, W.: *Arzneim. Forschung.*, **25**, 86 (1975).
10. Choppin, J. and Desplaces, A.: *Arzneim. Forschung.*, **29**, 63 (1979).
11. Ramellini, G. and Meldolesi, J.: *Ibid.*, **26**, 69 (1976).
12. Bindoli, A., Cavallini, L. and Siliprandi, N.: *Biochem. Phar-*

- macol.*, **26**, 2405 (1977).
13. Kim, B. S., Kim, H. K., Choi, J. W. and Lee, C. K.: *Kor. J. Pharmacogn.*, **27** (1), 47 (1996).
  14. Hahn, D. R.: *Proc. 2nd Intl Ginseng Symp.*, **135**(1978).
  15. Song, J. H., Park, M. J., Kim, E. and Kim, Y. C.,: *Yakhak Hoeji*, **34** (5), 341 (1990).
  16. Joo, C. N.: *Proc. 4th Intl Ginseng Symp.*, Korean Ginseng and Tobacco Research Institute, **63** (1984).
  17. Matsuda, H., Samukawa, K. and Kuho, M.: *Planta Medica*, **57**, 52 (1991).
  18. Reitman, S. and Frankel, S. K.: *Amer. J. Clin. Pathol.*, **28**, 56 (1957).
  19. Weisner, I. S., Rawnsley, H. M., Brooks, F. P. and Senior, J. R.: *Am. J. Dig. Dis.* **10**, 147 (1965).
  20. Szasa, F.: *Clin. Chem.*, **15**, 124(1969).
  21. Kind, P. R. N. and King, E. J.: *J. Clin. Pathol.*, **7**, 322 (1954).
  22. Berga, L. and Btoida, D.: *Sigma Tech. Bull.*, 500-8-60 (1960).
  23. Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yaki, K.: *Anal. Biochem.*, **95**, 351 (1979).
  24. Richardson, R. J. and Murphy, S. D.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **31**, 505 (1975).
  25. Summer, K. H. and Greim, H.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **96**, 566 (1980).
  26. Omura, T. and Sato, R.: *J. Biol. Chem.*, **239**, 2370 (1964).
  27. Nash, T.: *J. Biol. Chem.*, **55**, 416 (1953).
  28. Bidlack, W. R. and Lowry, G. L.: *Biochem. Pharmacol.*, **31**, 311 (1982).
  29. Habig, W. H., Pabist, M. J. and Jakoby, W. B.: *J. Biol. Chem.*, **249**, 7130 (1974).
  30. Meister, A. and Richman, P. G.: *J. Biol. Chem.*, **250**, 1422 (1975).
  31. Mize, C. E. and Langdon, R. G.: Hepatic glutathione reductase.: *J. Biol. Chem.*, **237**, 1589 (1962).
  32. Lowry, O. H., Rodebrough, N. J. Farr, A. L. and Randall, R. J.: *Ibid.*, **193**, 265 (1951).
  33. Noll, T. and de Groot, H.: *Biochem. Biophys. Acta.*, **795**, 356 (1984).
  34. Decker, K. and Kepper, D.: Galactosamine-induced liver injury in *Progress in Liver Disease*, Popper, H. and Schaffer, F.(eds.), Grune & Stratton, New York, vol. 14, p. 183 (1973).
  35. Wang, J. and Wendel, A.: *Biochem. Pharmacol.*, **39**, 267 (1968).
  36. Keppler, D., Lesch, R., Reutter, W. and Decker, K.: *Exp. Mol. Pathol.*, **9**, 279 (1968).
  37. El-Mofty, S. K., Scrutton, M. C., Serroni, A., Nicolini, C. and Farber, J. L.: *Am. J. Pathol.*, **79**, 579 (1975).
  38. Farber, J. L., Gill, G. and Konishi, Y.: *Am. J. Pathol.*, **72**, 53 (1973).
  39. Lesch, R., Reutter, W., Keppler, D. and Decker, K.: *Exp. Mol. Pathol.*, **12**, 58 (1969).
  40. Miller, E. C. and Miller, J. A.: Hepatocarcinogenesis by chemicals in *Progress in liver disease*, Popper, H. and Schaffner, F.(eds.), Grune & Stratton, New York, Vol. 5, p. 699 (1972).
  41. Zieve, L., Anderson, W. R. and Dozeman, R.: *J. Lab. Clin. Med.*, **112**, 575 (1988).
  42. Vengerovskii, A. I., Sedykh, I. M., Novozheeva, T. P. and Saratikov, A. S.: *Patol. Fiziol. Eksp. Ter.*, **2**, 37 (1990).
  43. Ahokas, J. T., Davies, C., Ravenscroft, P. J. and Emmerson, B. T.: *Biochem. Pharmacol.*, **33**, 1929 (1984).
  44. Ahokas, J. T., Nichollas, F. A., Ravenscroft, P. J. and Emmerson, B. T.: *Ibid. Pharmacol.*, **34**, 2157 (1985).
  45. Dodds, M. G. and Foord, R. D.: *Br. J. Pharmacol.*, **40**, 227 (1970).
  46. Ahokas, J. T., Davies, C., Ravenscroft, P. J. and Emmerson, B. T.: *Biochem. Pharmacol.*, **33**, 1929 (1984).
  47. Klassen, C. D. and Fitzgerraid, T. J.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **191**, 548 (1974).
  48. Ahokas, J. T., Nichollas, F. A., Ravenscroft, P. J. and Emmerson, B. T.: *Biochem. Pharmacol.*, **34**, 2157 (1985).