

Acetaminophen 유도 간독성에 대한 백삼과 홍삼 추출물의 간보호 효과

성금수 · 전승기* · 장재철*#

(주) H&BT Korea, *군산대학교 화학과
(2005년 7월 10일 접수, 2005년 9월 7일 수리)

Hepatoprotective Effects of White and Red Ginseng Extracts on Acetaminophen-induced Hepatotoxicity in Mice

Geum Su Seong, Seung Gi Chun* and Che Chul Chang*#

H&BT Korea Co. Ltd., Institute of Bioscience & Biotechnology

*Department of Chemistry, Gunsan National University

(Received July 10, 2005; Accepted September 7, 2005)

Abstract : Acetaminophen(APAP) is one of the most extensively used analgesics and antipyreics worldwide. In order to investigate preventive effects of white and red ginseng extracts, male ICR mice pretreated with white or red ginseng extracts(50 or 250 mg/kg/day, for 5 days, orally) before treatment with acetaminophen(800 mg/kg, i.p, single dose). In an attempt to elucidate the possible mechanism of hepatoprotective effect, superoxide dismutase(SOD), catalase(CAT), hydroperoxide, malondialdehyde(MDA) contents were studied. In pretreatment with red ginseng extract(250 mg/kg), the activities of SOD, CAT were generally highest and the hydrogen peroxide content was lowest. The levels of MDA were significantly lower in white and red ginseng extract groups than those in the APAP groups. By treatment with ginseng extract, high content of hydrogen peroxide and increased lipid peroxidation level caused by APAP could be lowered. Also, ginseng extracts were found to increase antioxidative enzyme activity. Finally, the results suggest that the antioxidant effects of (white and red) ginseng extracts prevent oxidative damage by direct antioxidant effects involving SOD, CAT and increasing the ability to synthesize endogenous antioxidants. It was concluded that ginseng can protect against APAP intoxication through its antioxidant properties.

Key words : SOD, CAT, MDA, white ginseng, red ginseng

서 론

Acetaminophen(APAP)은 진통제 및 해열제로 많이 사용되는 의약품으로 치료 용량을 복용시 APAP의 85~90%는 sulfuric acid나 glucronic acid와 conjugation되어 간대사를 통해 간독성 없이 소변으로 배설되며 2~5%는 간대사를 거치지 않고 변화되지 않은 상태로 소변으로 배설되고, 4~10%는 cytochrome P450에 의해 중간 대사산물인 N-acetyl-p-benzoquinoneimine (NAPQI)로 대사된다^{1,2)}. 그러나 과용량 복용시는 사람이나 실험동물에서 간독성을 유발하는데 대부

분이 간에서 cytochrome P450에 의해 대사되어 NAPQI가 증가하여 간독성을 나타낸다³⁾. 이러한 독성의 생성은 간 microsomal 분획의 cytochrome P450과 관련되어 일어나는 산화과정에서 조직의 거대분자와 공유결합하여 화학적으로 반응성이 큰 aryl기를 지닌 중간 대사물을 형성하여, 이 화합물에 의해 간의 glutathione의 농도가 적어도 50%정도 결핍되었을 때 간조직의 괴사를 유발해 독성을 발현하는 것으로 보고되고 있다^{4,5)}.

인삼은 지난 2000여년 동안 최고의 천연 의약제로 사용되어 왔으며, 사포닌, 정유, polyacetylene, phenol, 알칼로이드 성분 등을 포함⁶⁾하고 있다. 실험적 연구로는 홍삼 추출물이 항산화효소 활성 및 지질과산화 억제작용⁷⁾, paraquat 처리 후 SOD 활성의 증가와 MDA 함량 감소 작용⁸⁾, 홍삼 활성

#본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 063-469-4574; (팩스) 063-466-2085
(E-mail) ccchang@kunsan.ac.kr

성분이 glutathione 및 지질과산화에 미치는 항산화 효과⁹⁾, 40주령 쥐에 있어 ginsenoside의 항산화 효과¹⁰⁾, 홍삼분획물의 방사선 보호효과¹¹⁾ 등 다양한 연구들이 보고되고 있다.

이에 본 연구에서는 백삼과 홍삼 추출물의 항산화작용에 의한 간장보호 효과를 *in vivo*에서 검토하기 위하여 마우스의 간장에 급성 산화적 손상을 유발시킬 목적으로 APAP를 사용하였다.

본 연구자들은 인삼의 항산화 효과의 계속적 연구로 백삼과 홍삼 추출물을 마우스에 경구 투여 한 후 과량의 APAP를 투여하여 인삼 추출물이 독성을 유발한 간의 APAP 대사효소 활성과 지질과산화물의 생성에 미치는 영향을 검토하였다.

재료 및 방법

실험동물

실험동물은 Shizuoka 실험동물센터(Shizuoka, Japan)에서 분양받은 4 주령의 ICR계 수컷 생쥐를 1주일간 일정한 조건(실온: 20±2°C, 습도: 50±5%, 명암주기: 12시간)에 적응시킨 후 체중이 25~30 g의 생쥐를 사용하였다. 실험동물로 생쥐 7마리를 1군으로 하여 6개 군으로 분류하였다(Table. 1). 대조군과 APAP군은 증류수 0.1 ml/day를 5일간 투여하였으며, W50AP군, W250AP군, R50AP군, 및 R250AP군은 각각의 인삼 추출물을 50 mg/kg/day 또는 250 mg/kg/day씩 5일 동안 경구 투여하였다. 5일째 최종 경구 투여 후 3시간 후에 APAP(800 mg/kg, *i.p.*, single dose)을 복강 투여하고 1일째, 3일째, 5일째에 실험을 실시하였다.

분석시료 제조 및 측정

실험 시작 16시간 전에 절식시킨 생쥐를 경추 탈구시키고 간 조직을 적출하여 차가운 생리식염수로 세척한 다음 수세하여 혈액을 제거하였으며, sucrose/EDTA(0.25 M/1 mM) 용액을 넣고 마쇄기로 분쇄하여 10% 균질액을 만들어 원심분리하여 상등액(cytosolic fraction)을 얻은 다음 SOD, CAT 활성과 Total-SH, 과산화수소, 단백질 함량 측정 시료로 사용하였다. 또한 지질 과산화물을 측정하기 위해서 간조직을 차가운 완충용액(0.15M KCl, 25 mM potassium phosphate buffer in 1 mM deferoxamine mesylate, pH 7.4.)에 마쇄하여 원심분리한 후 시료로 사용하였다.

실험 방법

(1) Superoxide dismutase(SOD) 활성도 측정

Flohe와 Otting¹²⁾의 방법에 의하여 측정하였다. 시험관에 50 mM potassium phosphate 완충용액(containing 0.1 mM

EDTA, pH=7.8) 990 µl, 증류수 17 µl, 시료 17 µl, 5 µM xanthine 17 µl를 넣은 후 17 µl의 xanthine oxidase(시료를 가하지 않은 반응에서 흡광도 증가가 550 nm에서 분당 0.025이상 이 되도록 조절한 후)를 가한 다음 25°C, 550 nm에서 흡광도 증가속도를 측정하여 SOD 활성도를 구하였다. SOD 활성도는 위의 조건에서 cytochrome C의 환원 속도를 50% 억제하는 효소의 양을 1 unit로 표시하였다.

(2) Hydrogen peroxide 함량 측정

Hydrogen peroxide 측정방법은 Wolff¹³⁾에 의한 방법을 사용하여 측정하였다. 100 µM xyleneol orange, 250 µM ammonium ferrous sulfate, 100 mM sorbitol, 25 mM H₂SO₄가 되도록 각각을 합한 용액을 FOX I 시약으로 조제하고, 시료 50 µl에 FOX I 시약 950 µl를 혼합한 후, 실온에서 최소 30분 이상 방치한 다음, 원심분리하여 응결된 물질을 제거하고, 560 nm에서 분광광도계로 측정하였으며, 과산화수소를 표준시약으로 하였다.

(3) Catalase (CAT) 활성도 측정

CAT 활성도 측정은 Aebi¹⁴⁾ 방법에 따라 측정하였다. 50 mM 인산 완충액(pH 7.0)으로 희석시킨 측정 시료 2.0 ml에 30 mM H₂O₂ 용액 1.0 ml를 넣은 후 20°C에서 파장 240 nm에서의 흡광도 변화를 측정하였다. 효소의 활성도는 1분 동안에 1 µmole의 H₂O₂를 분해시키는 효소의 양을 1 unit로 표시하였다.

(4) Total-SH 함량 측정

Total-SH의 측정 방법은 Sedlak¹⁵⁾의 방법을 이용하여 실험하였다. 시료 25 µl에 2M Tris buffer(pH 8.2), 250 µl, 10 mM 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid(DTNB) 25 µl, methanol 1 ml를 첨가하고 실온에서 15분 동안 방치한 다음 원심분리(4000×g, 20분)하여 응결된 물질을 제거하였다. 상등액을 412 nm에서 분광광도계로 흡광도를 측정하여 정량분석하였으며, glutathione을 표준시약으로 사용하였다.

(5) 지질과산화물 함량 측정

지질의 과산화물인 MDA를 Erdelmeier¹⁶⁾ 등의 방법을 이용하여 실험하였다. 간조직액의 10% 균질액 0.2 ml와 0.2 N HCl 0.1 ml를 혼합하여 60°C에서 80분간 가열하여 시료를 가수분해 시킨 다음, 가수분해한 시료에 0.4 mM 1-methyl-2-phenylindole 0.65 ml와 37% HCl 0.15 ml를 넣어 혼합시키고 45°C에서 40분 동안 반응시킨 다음 원심분리(9000×g, 10분)하여 얻은 상등액의 흡광도를 586 nm에서 측정하였다.

표준 검량선을 얻기 위하여 1,1,3,3-tetramethoxypropane (TMP)을 표준품으로 사용하였다.

(6) 단백질 정량

단백질 함량은 Bradford¹⁷⁾ 등의 방법을 이용하여 비교 검토 하였다. 95% 에탄올 용액 50 ml에 Coomassie Brilliant Blue G-250 100 mg을 녹이고 85% 인산 100 ml와 물을 첨가하여 최종 부피가 1000 ml가 되도록 한 용액 5 ml를 가하고 15분 간 방치한 다음, 595 nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다.

(7) 통계처리

모든 실험결과와 통계처리는 student t-test법을 이용하여 상호 유의성을 검증하였다.

결 과

SOD 활성도 변화

APAP 간독성에 대한 백삼과 홍삼 추출물의 보호 효과를 연구하기 위해 인삼추출물로 전처리한 다음 APAP으로 간독성을 유도하고 SOD 효소의 활성도 변화를 조사한 결과(Fig.

1) APAP군의 활성은 대조군에 비해 유의성(p<0.01)있게 감소하였다. 백삼과 홍삼추출물의 활성은 1일째 대조군과 거의 비슷한 경향을 보였으나 3일 및 5일째는 대조군에 비해 활성이 증가하였고 APAP군에 비해서도 유의성(p<0.01)있게 증가하였다.

또한 백삼과 홍삼추출물의 투여량이 증가할수록 1일째 백삼 추출물, 5일째 홍삼 추출물 군에서 유의성 있게 활성이 증가하였다.

과산화수소 함량 변화

생체내 생성된 활성산소는 SOD 항산화효소에 의해서 과산화수소로 전환되는데, hydrogen peroxide의 함량 변화를 조사한 결과(Fig. 2), 대조군 대비 APAP군의 1일, 3일 및 5일째 과산화수소 함량이 유의성(p<0.01) 있게 증가하였으나 APAP군에 비해 백삼과 홍삼추출물 군은 전일 모두 유의성(p<0.01)있게 감소하였다. 백삼과 홍삼추출물 투여량별로 비교해 보면 백삼 추출물의 경우 투여량이 증가할수록 감소하는 경향을 보였으며 홍삼추출물군은 1일째 2.2% 유의성 있게 감소하는 경향을 보였다.

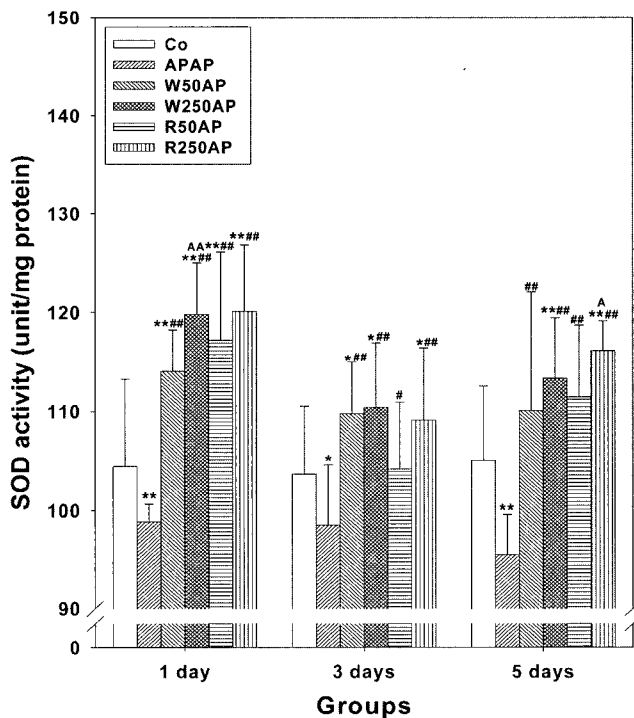


Fig. 1. The change of hepatic SOD activity in mice pretreated with ginseng extracts on acetaminophen-induced toxicity. The values represent mean ± S.D. *p<0.05 and **p<0.01: Significantly different from Co group. #p<0.05 and ##p<0.01: Significantly different from acetaminophen group. ^Ap <0.05: Significantly different from each ginseng extract group.

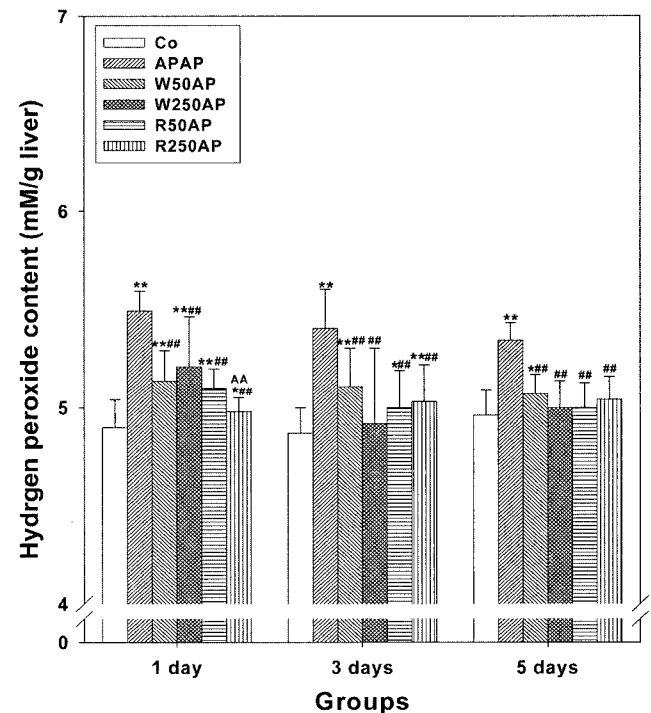


Fig. 2. The change of hepatic hydrogen peroxide content in mice pretreated with ginseng extracts on acetaminophen-induced toxicity. The values represent mean ± S.D. *p<0.05 and **p<0.01: Significantly different from Co group. ##p<0.01: Significantly different from acetaminophen group. ^Ap <0.01: Significantly different from each ginseng extract group.

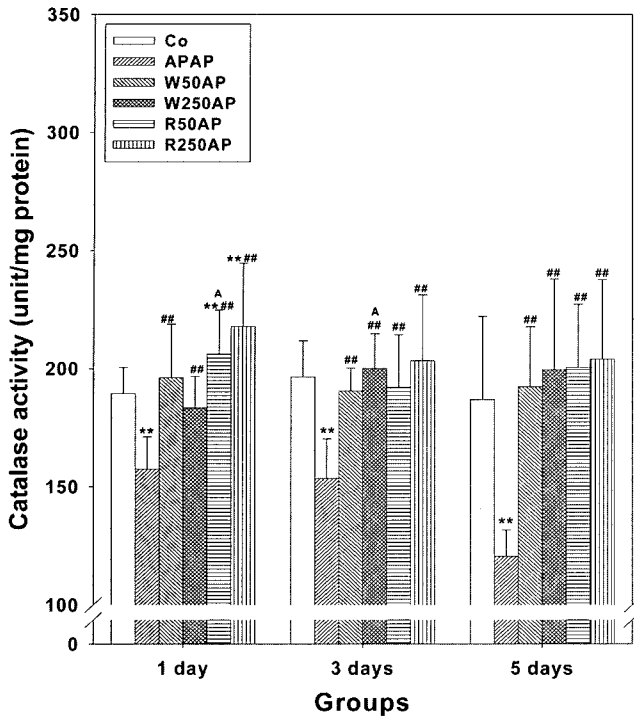


Fig. 3. The change of hepatic catalase activity in mice pretreated with ginseng extracts on acetaminophen-induced toxicity. The values represent mean \pm S.D. ** $p < 0.01$: Significantly different from Co group. ## $p < 0.01$: Significantly different from acetaminophen group. ^ $p < 0.05$: Significantly different from each ginseng extract group.

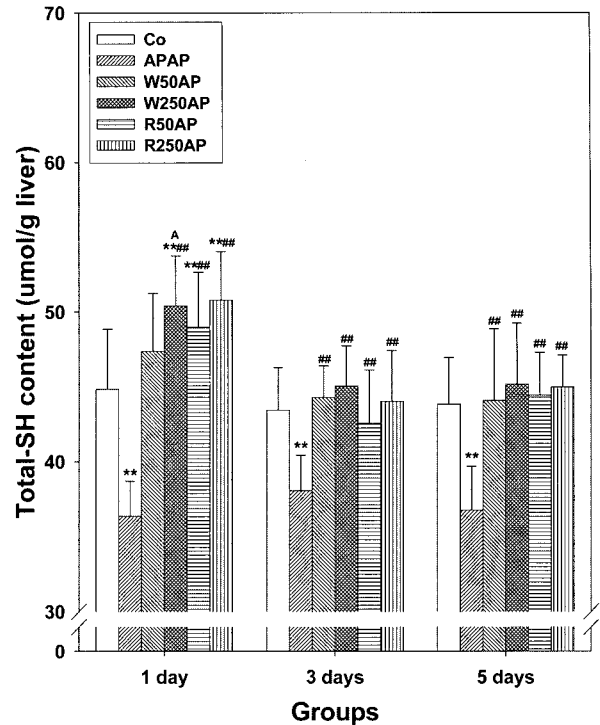


Fig. 4. The change of hepatic total-SH content in mice pretreated with ginseng extracts on APAP-induced toxicity. The values represent mean \pm S.D. * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$: Significantly different from Co group. # $p < 0.05$ and ## $p < 0.01$: Significantly different from APAP group. Ap $p < 0.05$: Significantly different from each ginseng extract group.

CAT 활성도 변화

백삼과 홍삼 추출물을 전처리한 후 catalase의 효소 활성을 조사한 결과(Fig. 3), APAP군의 catalase 효소 활성은 대조군에 비해 유의성($p < 0.01$)있게 감소하였다. APAP군 대비 백삼과 홍삼추출물군은 모든 인삼추출물군에서 유의성($p < 0.01$)있게 활성이 증가하였다. 백삼과 홍삼추출물 투여량별로 비교해 보면 백삼 추출물의 경우 1일째 250 mg군에서만 6.6%로 유의성($p < 0.05$)있게 감소하였을 뿐 나머지 조건에서 활성이 증가하였지만 유의차는 없었다.

Total-SH 함량 변화

백삼과 홍삼 추출물을 전처리한 후 APAP의 간 독성을 유도한 후 total-SH의 함량을 조사한 결과(Fig. 4), APAP군은 대조군 보다 1일, 3일 및 5일째 유의성 있게($p < 0.01$) 감소하였으나 APAP군 대비 백삼과 홍삼추출물 군은 전일 모든 군에서 유의성($p < 0.01$)있게 증가하였다. 또한 백삼과 홍삼추출물 투여량에 따라 250 mg 군이 50 mg 군보다, 백삼이 홍삼보다 함량이 많았으며, 대조군 대비 1일째에는 증가하였으나 3일 및 5일째에는 대조군과 비슷한 함량을 보였다.

MDA 수준에 미치는 영향

인삼 추출물로 전처리한 다음 APAP 간독성을 유도한 후 MDA의 함량을 조사한 결과(Fig. 5), APAP군은 대조군에 비해 유의성($p < 0.01$)있게 증가하였고, 백삼과 홍삼추출물군의 경우 대조군에 비해 함량이 유의성($p < 0.01$)있게 감소하였으며 APAP군 대비 백삼과 홍삼추출물의 모든 군에서도 유의성 있게 감소하였다. 백삼과 홍삼추출물 투여량별로 비교해 보면 백삼 추출물의 경우 비슷한 수준을 보였으나 홍삼추출물군의 경우 50 mg 군 대비 250 mg군에서 1일째 1.9% 증가하였지만, 3일 및 5일째 각각 10.9%($p < 0.01$), 3.2%로 함량이 감소하였다.

고 찰

APAP는 급성 산화적 간손상의 유발 시험모델로 널리 사용되는 약물¹⁸⁾로서 타이레놀과 같은 해열·진통제의 주성분으로 적정 농도를 복용할 경우 생체내 항산화 방어 기구에 의해 무독화되어 배설됨으로써 안전하다고 알려져 있으나, 과용량 복용시 활성대사체인 N-acetyl-p-benzoquinoneimine

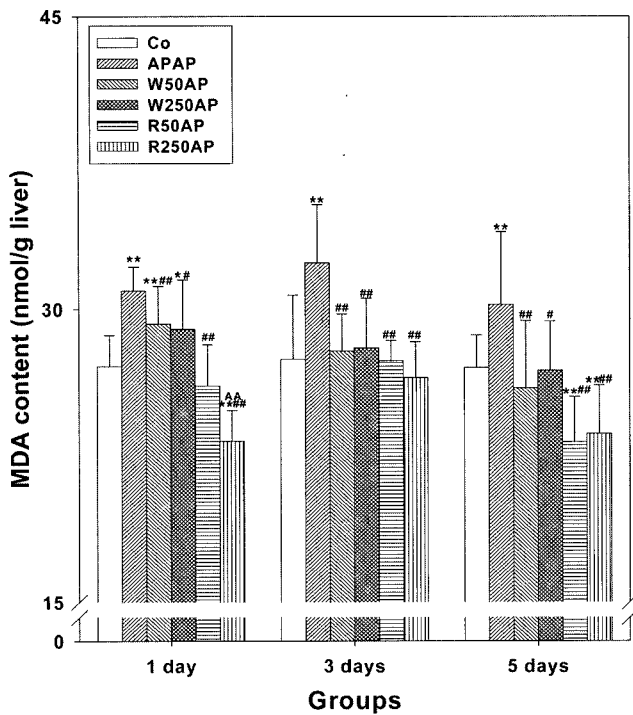


Fig. 5. The change of hepatic MDA content in mice pretreated with ginseng extracts on acetaminophen-induced toxicity. The values represent mean \pm S.D. * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$: Significantly different from Co group. # $p < 0.05$ and ## $p < 0.01$: Significantly different from acetaminophen group. ^Ap < 0.01 : Significantly different from each ginseng extract group.

(NAPQI)을 무독화시키는 glutathione이 오히려 고갈됨으로써 세포막의 산화적 손상 및 세포내 거대분자가 파괴되어 간세포가 손상되는 것으로 알려져 있다^{19,20}. 따라서 APAP에 의한 급성 간손상 과정에는 glutathione 함량 감소와 대사 활성체에 의한 지질과산화 반응이 일어난다²¹. 지질과산화 반응은 간장 기능의 부진을 야기하는 기본적인 기전 중의 하나로 중요시되어 왔으며 이러한 지질과산화 반응에 의한 간손상 예방과 관련한 기전은 glutathione의 대사 및 밀접하게 관련되어 있을 뿐만 아니라²², 간조직 내에서 superoxide를 제거하는 SOD, 그리고 과산화수소를 제거하는 CAT, glutathione peroxidase과 같은 항산화 효소들도 중요한 역할을 담당하는데 이러한 효소들은 대사 활성체에 의한 지질과산화 반응의 연쇄적 진행을 차단한다²³.

본 연구에서는 마우스의 산화적 간손상에 대한 인삼 추출물의 보호효과를 검토하기 위해 마우스에 인삼 추출물을 경구투여하여 5일간 전처리한 다음 APAP을 복강 투여(800 mg/kg, single dose)하여 급성 산화적 손상을 유발시킨 후 1일, 3일 및 5일째 간조직을 채취하여 균질액으로 만든 다음 원심분리하여 사이토졸 분획에서 항산화 효소 활성 및 지질

Table 1. Pretreatment with ginseng extracts

Group	Treatment	
	Ginseng extracts ^a (mg/kg/day)	APAP ^b (mg/kg)
Co	-	-
APAP ^d	-	800
White ginseng 50 + APAP (W50AP)	50	800
White ginseng 250 + APAP (W250AP)	250	800
Red ginseng 50 + APAP (R50AP)	50	800
Red ginseng 250 + APAP (R250AP)	250	800

^aWhite or red ginseng extracts were orally administered for 5 days.
^bAPAP(800 mg/kg, 0.1 ml) was intraperitoneally(i.p) administered after treatment of saline, white or red ginseng extracts.
^cSaline(0.1 ml) was orally administered for 5 days.
^dAPAP was i.p administered after saline(0.1 ml) was orally administered for 5 days.

과산화물의 함량변화를 실험하였다.

먼저 APAP에 의한 급성 간손상에 대한 백삼과 홍삼 추출물의 보호 기전을 규명하고자 SOD, hydrogen peroxide, CAT 등 항산화 효소들의 활성 변화를 검토하였다. 인삼 추출물 및 투여량 별로 SOD 활성을 비교 실험한 결과, APAP 단독 군은 대조군에 비해 활성도가 유의성 있게 감소한 반면 인삼 추출물 군은 3일 및 5일째에는 활성도가 유의성 있게 증가하였으며, 투여량에는 큰 차이를 보이지 않았다. 이처럼 SOD의 활성이 증가하게 된 것은 생체내의 미토콘드리아의 전자전달계와 세포질 속의 peroxisome에서 대량 생성되는 superoxide radical의 소거를 담당하는 효소인 SOD의 활성을 사포닌 성분들이 복합적으로 작용하여 활성을 더욱 촉매하여 증가한 것으로 생각된다.

Superoxide radical($\cdot O_2$) 소거 기능을 담당하는 SOD의 활성 작용으로 생성된 부산물인 hydrogen peroxide 함량은 대조군에 비해 APAP 단독 군의 함량이 유의성 있게 증가하였으나 APAP 단독 군에 비해서는 유의성 있게 감소하였다. 이는 SOD 항산화 효소가 superoxide radical을 과산화수소로 전환시키고 다시 이를 무독화시키는 항산화효소로서 CAT, peroxidase 및 GSH를 기질로 이용하는 GPx에 의해서 과산화수소를 무해한 물과 산소로 전환시킴으로서 대사과정 중에 생성된 활성산소를 소거하는 역할을 한 것으로 사료된다.

APAP 대사과정 중 생성된 활성산소를 소거하는 과정에서 발생된 중간산물인 과산화수소를 소거하는 catalase 활성은 대조군에 비해 APAP군은 유의성 있게 감소한 반면 인삼 추출물 군은 유의성 있게 활성 증가를 보였다. 이는 paraquat 유도 급성 간독성을 유발 시킨 후 홍삼 추출물의 SOD와 catalase의 활성을 조사한 결과 홍삼 추출물이 항산화 효소의 활성을 촉진시켜 생체내에 과산화수소 함량이 유의성 있게 감소하였다고 보고²⁴)와 일치한다.

APAP 유도 간독성으로 인한 MDA 함량 변화를 조사한 결과, APAP군은 SOD, CAT 등의 항산화 효소 활성이 감소됨으로 인해 지질과산화물 함량이 유의성 있게 증가하였다. 하지만 인삼 추출물을 전처리한 다음 APAP을 투여한 실험군에서는 항산화 효소 활성이 증가하여 지질과산화물 함량이 APAP군에 비해 유의성 있게 감소하였다. 따라서 인삼 추출물의 전처리로 인해 마우스 간 조직의 산화적 손상이 강하게 억제됨을 알 수 있었다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 백삼과 홍삼 추출물은 APAP 활성 대사체에 의한 급성 산화적 간손상에 대해 마우스의 간에서 항산화 효소의 합성 증가를 유도하거나 항산화 효소의 활성을 촉매하여 생체내에서 생성하는 활성산소를 효율적으로 소거하는 소거제로서의 기능을 갖고 있을 뿐만 아니라, 지질 과산화 작용을 효과적으로 억제한 것으로 보아 비효소적 항산화작용을 나타내는 GSH이나 알부민과 같은 내인성 항산화 물질의 합성능력을 강화하는 작용을 하고 있는 것으로 생각된다.

요 약

백삼과 홍삼 추출물이 APAP에 의한 산화적 급성 간손상에 대한 보호효과를 마우스를 대상으로 검토한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 백삼과 홍삼 추출물의 간장보호 활성에 관한 기전을 규명하고자 항산화효소인 SOD, CAT의 활성도는 APAP를 복강 주사한 실험군에서 대조군에 비해 효소활성이 감소하였고, 백삼과 홍삼추출물을 전처리한 실험군에서는 APAP군에 비해 효소 활성도가 증가하는 경향을 보였다.

2. 지질과산화물의 함량은 APAP를 복강 주사한 실험군이 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였고 백삼과 홍삼 추출물을 전처리한 실험군에서는 APAP군에 비해 지질과산화물의 생성을 유의성 있게 억제하였다.

3. 백삼과 홍삼 추출물의 투여량을 각각 50 mg/kg, 250 mg/kg으로 최대 5일간 전처리하여 APAP의 급성 간손상에 대한 보호효과를 조사한 결과 인삼 추출물의 투여량에는 크게 영향을 받지 않는 것으로 보였다.

따라서 백삼과 홍삼 추출물은 APAP의 활성 대사체에 의한 급성 산화적 간손상을 억제하였으며, 이는 인삼 추출물 성분이 항산화 효소와 항산화물질로 구성된 항산화 방어 체계를 통한 것임을 알 수 있다. 본 연구의 결과를 바탕으로 백삼과 홍삼 추출물이 간장 보호제로서의 개발 가능성이 있으며, APAP 중독에 매우 효과적인 치료제로서 임상에서 활용될 수 있다고 생각된다.

참고문헌

1. Davis, M. : Protective agents for acetaminophen overdoses, *Semin Liver Dis.* **6**, 138-147, (1986)
2. Mine, D. J., Kissinger, P. T. : Evidence for the involvement of N-acetyl-p-benzoquinoneimine in acetaminophen metabolism, *Biochem. Pharmacol.* **28**, 3285-3290, (1979).
3. Jollow, D. J., Mitchell, J. R. and Potter, W. Z. : Acetaminophen-induced hepatic necrosis. Role of covalent binding in vivo. *J. Pharmacol Exp Ther.* **187**, 195-202 (1973).
4. Mitchell, J. R., Thorgeirsson, S. S., Potter, W. Z., Jollow, D. J. and Kaiser, H. : Acetaminophen-induced hepatic injury protective role glutathine in man and rationale for therapy. *Clin. Pharmacol. Ther.* **16**, 676-684 (1974).
5. Hong, R. W., Rounds, J. D., Helton, W. S., Robinson, M. K. and Wilmore, D. W. : Glutamine preserves liver glutathione after lethal hepatic injury. *Ann. Surg.* **215**, 114-119 (1992).
6. Park, M. G. : Korean ginseng, p. 63-82, *Korean ginseng research institute* (1994).
7. Sung, K. S., Ghun, C., Kwon, Y. H., Kim, K. H., and Chang, C. C. : Effect of red ginseng component on antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation in the liver of mouse. *J. Ginseng Res*, **24**, 29-34 (2000).
8. Lee, H. J., Kim, D. Y. and Chang, C. C. : Antioxidant effects of korean red ginseng components on the antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation in the liver of mouse treated with paraquat., **23**, 182-189 (1999)
9. Sung, K. S., Chun C., Kwon, Y. H, and Chang, C. C. : Effects of red ginseng component administration on lipid peroxidation levels in mice liver. *J. Ginseng Res*, **24**, 176-182 (2000).
10. Kim, K. H., Sung G. S. and Chang, C. C.: Effects of the antioxidative components to ginsenoside in the liver of 40-week old mice. *J. Ginseng Res*, **24**, 162-167 (2000).
11. Kim, D. U. and Chang, C. C. : Radioprotective effect of the ginseng components on antioxidant enzymes, glutathione and lipid peroxidation of liver in γ -irradiated mice. *J. Ginseng Res*, **22**, 1-10 (1998).
12. Flohe, L. and Otting, F.: Superoxide dismutase assays. *Methods in Enzymology*, **105**, 93-104 (1984).
13. Wolff, S. P.: Ferrous ion oxidation in presence of ferric ion indicator xylenol orange for measurement of hydroperoxides. *Methods in Enzymology*, **233**, 182-189 (1994).
14. Aebi, H. E. : CAT. Insight : Methode of enzymatic an analysis. p. 273-285, H. U. Bergmyer, ed. Third edition. Vol 3. *Verlag. Chemi. Weinheim* (1982).
15. Sedlak, S. and Lindsay, R. H. : Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal. Biochem.*, **25**, 192-205 (1968).

16. Ge'rard-Monnier, D., Erdelmeier, I., Re'gnard, K., Moze-Henry, N., Yadan, J. C. and Chaudie're, J. : Reactions of 1-methyl-2-phenylindole with malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals. Analytical applications to a colorimetric assay of lipid peroxidation. *Chem. Res. Toxicol.*, **11**, 1176-1183 (1998).
17. Bradford, M. M. : A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *J. Anal. Biochem*, **72**, 248-254 (1976).
18. Oleg, M., Miriam, W. L., Kenneth, R., Laishun, C., Ghung, Y. and Masayori, I. : Acetaminophen toxicity. *The Journal Biological Chemistry*, **274**, 10348-10335 (1999).
19. Rahe ja, K. L., Linscheer, W. G., Cho, C. D. and Mahany, D. : Protective effect of propylthiouracil independent of its hypothyroid effect on acetaminophen toxicity in the rat. *The journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **220**, 427-433 (1981).
20. Yonamine, M., Aniya, Y., Yokomakura, T., Koyama, T., Nagamine, T. and Nakanishi, H. : Acetaminophen-derived activation of liver microsomal glutathione S-transferase of rats. *Jpn. J. Pharmacol.*, **72**, 175-181 (1996).
21. Fisher, L. j., Green, M. D. and Harman, A. W. : Levels of acetaminophen and its metabolites in mouse tissues after a toxic dose. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **221**, 407-413 (1982).
22. Yung, J. H., Chiu, L. C. and Ooi, V. : Effect of polysaccharide peptide on glutathione and protection against paracetamol-induced hepatotoxicity in the rat. *Clin. Pharmacol*, **16**, 723-729 (1994).
23. Vendemiale, G., Altomare, E., Grattagliano, I. and Albano, O. : Increased plasma levels of glutathione and malondialdehyde after acute ethanol ingestion in humans. *J. Hepatol.*, **9**, 359-365 (1989).
24. Kim, D. J. : Effect of red ginseng saponins on antioxidative enzymes and materials in the liver of mice treated with paraquat. Ph D. thesis, Univ. of Gunsan (2000).