

Paraquat 투여 생쥐 간에서 홍삼 추출물이 항산화효소 활성과 지질과산화에 미치는 항산화 효과

이화재* · 김동윤** · 장재철#

*서해대학 임상병리과, **서해대학 방사선과, #군산대학교 자연과학대학 화학과
(1999년 8월 4일 접수)

Antioxidant Effects of Korean Red Ginseng Components on the Antioxidant Enzymes Activity and Lipid Peroxidation in the Liver of Mouse Treated with Paraquat

Hwa-Jae Lee*, Dong-Yun Kim** and Che-Chul Chang#

*Department of Clinical pathology, Sohae Junior college, Kunsan, Korea

**Department of Radiation, Sohae Junior college, Kunsan, Korea

#Department of Chemistry, Kunsan National University, Kunsan, Korea

(Received August 4, 1999)

Abstract : For the determination of antioxidative effects of Korean red ginseng extracts, 100 mg/kg body weight of paraquat(1,1-dimethyl-4,4-bipyrimidinium dichloride) was injected to peritoneal cavity of 6 weeks 23~27 g of ICR mail mice which were pretreated with 200 mg/kg body weight of korean red ginseng extracts(total saponin, water extracts, alcohol extracts, lipophilic extracts) and ascorbic acid for 5 days. Most of mice died of paraquat toxicity within 4 days except only 30% of ascorbic acid group. The hepatic total-SOD activity in liver was highest in ascorbic acid group and lipophilic ginseng extracts group next ($p<0.01$). The level of hepatic hydroperoxide was lowest in the order of in alcohol extracts group, lipophilic extracts group and ascorbic acid group ($p<0.01$). The highest catalase activity was induced by ascorbic acid followed by water extracts and lipophilic extracts ($p<0.01$). Finally, the lipid peroxidation level (malondialdehyde:MDA) was the lowest in water extracts group and ascorbic acid next ($p<0.01$). The highest MDA level was appeared in praquat group and next total saponin group next. In conclusion, the order of effectiveness of antioxidants was found to be ginseng water extracts > ascorbic acid > lipophilic extracts > other ginseng extracts. It was also found that any predominant antioxidant was not effective evenly to all of antioxidant test.

Key word : Paraquat, Korean Red Ginseng extracts, SOD, catalase, glutathione peroxidase, MDA.

서 론

산소의 독성에 대한 라디칼 이론에 의하면 호기성 대사 동물에서 산소는 생명유지에 필수불가결한 요소이지만 호흡 대사과정에서 superoxide radical($\cdot O_2^-$)이나 hydroxyl radical($\cdot OH$), hydrogen peroxide(H_2O_2), sin-

glet oxygen(1O_2), alkoxy radical($RO\cdot$), peroxy radical ($ROO\cdot$) 등은 반응성이 강한 유해성 라디칼 들로 알려지고 있다.^{1,3)} 이같은 라디칼은 hemoglobin이나 thiols기의 자가산화과정이나 담배, 오존 등의 흡입이나 자외선, 감마선에 과다폭폭과 adriamycin나 paraquat 같은 산화제에 노출될 때 체내 생성이 촉진된다고 보고 되고 있다.^{4,6)} 특히, 생체가 paraquat (1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridylium dichloride: methyl viologen) 같은 산화제에 자극되면 체조직내에서 전자를 받아 paraquat

본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 0654-469-4574; (팩스) 0654-466-2085
(E-mail) ccchang@kunsan.ac.kr

radical로 환원되고 다시 조직내 용존산소와 반응한 자가산화과정에서 라디칼($\cdot O_2^-$)이 생성된 것으로 보고되어 있다.⁷⁻⁹⁾

라디칼은 생체내 철이나 구리분자 등의 존재하에 Harber-Weiss 반응¹⁰⁾이나 Fenton 반응¹¹⁾ 또는 Fe^{+3} 이 O_2^- 에 의해서 Fe^{+2} 로 전환되는 과정에서 H_2O_2 와 $\cdot OH$ 같은 반응성이 강한 활성산소기들을 많이 생성하게 되고, 이러한 라디칼은 여러 반응단계를 거치면서 O_2^- , H_2O_2 , $RO\cdot$, $ROO\cdot$ 등과 같은 2차 라디칼을 생성하게 된다고 보고되고 있다.^{12,13)} 이와 같이 생성된 라디칼들은 세포막 지질 부분의 불포화지방산과 일련의 산화적 연쇄반응을 통하여 포화성 지질로 전환되면서 지질과산화 경향을 증가시킴으로서 세포의 생리적 기능을 저하시켜서 동맥경화나 고혈압, 당뇨병 및 암 등의 원인 불투명의 질병을 발생시키며 세포 노화를 촉진시킨다는 것으로 보고되고 있다.¹⁴⁻¹⁶⁾

본 연구는 인삼의 가공종인 홍삼총사포닌, 홍삼지용성추출물, 홍삼알코올추출물, 홍삼지용성분획 등이 체내과산화 수소합량 변화기여도, SOD, catalase, glutathione peroxidase(GP), malondialdehyde(MDA), 항산화제인 ascorbic acid와 같은 조건에서 비교하여 봄으로서 홍삼의 항산화 효능을 확인하게 됨으로서 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

(1) 실험동물

경남축산에서 분양 받은 4주령의 수컷 생쥐를 24±4°C로 유지시킨 사육실에서 상품화 마우스용 사료와 물을 자유롭게 먹이면서 일주일간 적응시킨 후 체중이 23~27 g인 생쥐로 paraquat 치사량 실험과 항산화 실험군으로 분류하였다.

(2) 시약

실험에 사용한 sucrose, ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA-2Na), xanthine monosodium salt, xanthine oxidase, cytochrome-c, superoxide dismutase (SOD), β -nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (reduced form;NADPH), t-butyl hydroperoxide, ascorbic acid, anthraquinone-2- sulphonic acid, sulphanilamide, naphthyl ethylene diaminedihydrochloride, hydroxylamine, paraquat (1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridylum

dichloride) 등은 Sigma 제품을 사용하였고, 기타 일반 시약은 특급시약을 사용하였다.

항산화 실험약제 : 실험동물에 투여한 항산화제는 홍삼의 총사포닌 분획(total saponin fraction)과 수용성 추출물(water soluble extracts), 알코올 추출물(alcohol soluble extracts) 그리고 지용성 분획(lipophilic fraction) 등은 한국 담배인삼공사에서 제공받아 사용하였다.

(3) 실험군 설정

체중이 23~27 g 수컷 생쥐 5마리를 1군으로하여 대조군(Control), paraquat 투여군(PQ), 홍삼 총사포닌 투여후 paraquat 투여군(TS + PQ), 홍삼 수용성 추출물 투여후 paraquat 투여군(WS + PQ), 홍삼 알코올 추출물 투여후 paraquat 투여군(AS + PQ), 홍삼 지용성 분획 투여후 paraquat 투여군(LS + PQ) 그리고 ascorbic acid 투여후 paraquat 투여군(AA + PQ) 등 7개군으로 분류하였다.

(4) 실험동물 약제 투여량

홍삼의 총사포닌 분획, 수용성 추출물, 알코올 추출물, ascorbic acid는 각각 생리식염수에 그리고 홍삼의 지용성 분획은 올리브유에 각각 200 mg씩을 녹여서 생쥐 체중 kg당 0.1 ml를 매일 오전 9시에 5일간 경구 투여하였으며, paraquat 투여는 홍삼추출물 최초 투여 6일째 날에 생리식염수에 녹여 100 mg/kg/0.1 ml 용량으로 복강내에 주사하였다. Paraquat 투여 후 동일 조건에서 사육하면서 1일 4회씩 생쥐의 생존여부를 조사하였다.

(5) 분석시료 제조

생쥐에 항산화제 투여후 paraquat를 복강내 주사로 투여 24시간 후 24시간 절식시킨 생쥐를 경추탈구하고 간 조직을 적출하여 4°C의 생리식염수로 세척한 후 간 조직무게를 측정하였다. 생리식염수에 결정상태 얼음을 넣어서 4°C로 만들고 간 조직을 세절하고 3회 수세후 혈액을 제거하였다. 세절한 간조직은 조직무게 9배의 sucrose/EDTA(0.25 M/1 mM) 용액을 가하고 균질기로 분쇄하여 10% 균질액을 만들었다. 이렇게 만든 간 균질액을 1,000×g에서 10분간 원심분리로 얻은 상등액으로 SOD, catalase, GP 등 효소활성과 지질과산화 최종산물인 MDA량을 측정 시료로 사용하였다.

2. 실험방법

(1) H_2O_2 함량 측정

시료의 H_2O_2 양은 Wolf¹⁶⁾의 분광학적 방법으로 측정하였다. 즉 100 μ M xylenol orange, 250 μ M am-

monium ferrous sulfate, 100 mM sorbitol, 25 mM H₂SO₄가 되도록 각각을 합한 용액을 FOX I 시약으로 조제하고, 시료 50 μ에 FOX I시약 950 μ를 혼합한 후, 실온에서 최소 30분 이상 방치한 다음, 원심분리하여 응결된 물질을 제거하고, 560 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 과산화 수소를 표준 시약으로 하였다.

(2) SOD 활성도 측정

시료의 SOD 활성은 Flohe와 Otting의 ferricytochrome-c 환원방법¹⁷⁾으로 측정하였다. 즉 5 μM xanthine, 20 μM cytochrome c와 0.1 mM EDTA가 함유된 50 mM 인산완충액(pH 7.8)이 혼합된 반응액 2.9 ml에 희석시료 50 μ를 넣은후 50 μ의 xanthine oxidase를 가한 다음 25°C에서 550 nm에서의 흡광도 증가속도를 측정하였으며, SOD 활성도는 위의 조건에서 cytochrome c의 환원속도를 50% 억제하는 효소의 양을 1 unit로 표시하였다.

(3) Catalase 활성도 측정

Catalase 활성도는 Aebi¹⁸⁾씨의 방법으로 측정하였다. 즉 50 mM 인산완충액(pH 7.0)으로 희석시킨 시료 2.0 ml에 30 mM H₂O₂ 용액 1.0 ml를 넣은 후 240 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다. Catalase의 활성도는 1 분동안에 1 μmol의 H₂O₂를 분해시키는 효소의 양을 1 unit로 표시하였다.

(4) Glutathione peroxidase 활성도 측정

GP 활성은 Flohe 등¹⁹⁾의 방법으로 측정하였다. 즉 1 mM EDTA를 함유된 0.1 M 인산완충액(pH 7.0) 500 μ에 100 μ의 측정시료, 0.24U의 glutathione reductase 100 μ와 10 mM GSH(환원형) 100 μ를 넣고 전체 반응액에서 농도가 1 mM이 되도록 NaN₃을 첨가한 후 37°C에서 10분간 incubation한 다음 파장 340 nm에서 3분 동안 NADPH의 농도 변화를 측정하며, 전체 반응은 위 반응액에 1.5 mM H₂O₂용액 100 μ를 가한 후 위와 같은 조건에서 5분간 흡광도 감소를 측정하였다. 비효소적 반응은 위와 동일한 조건으로 측정 시료 대신에 인산 완충액을 넣고 흡광도 변화를 측정하였으며, 단위는 분당 산화된 NADPH μmol을 효소 활성으로 하였다.

(5) 지질과산화 수준 측정

측정 시료의 지질과산화 수준은 지질의 최종 과산화물인 MDA를 Ohkawa 등²⁰⁾의 tribabutaric acid(TBA)법을 이용해 측정하였다. 간 조직액의 10% 균질액 0.1 ml, 8.1% sodium deoxyl sulfate 용액 0.2 ml,

20% acetic acid 용액(pH 3.5) 1.5 ml와 0.8% tribabutaric acid 용액 1.5 ml를 혼합하여 95°C에서 1시간 동안 반응시킨 후, 즉시 냉각시키고, n-butan올과 pyridine 혼합용액(15 : 1,v/v)을 가하여 격렬하게 흔든 다음 원심 분리(4,000 rpm, 10분)하여 얻은 상등액(유기층)의 흡광도를 532 nm에서 측정하였으며, 표준 검량선을 얻기 위하여 1,1,3,3-tetramethoxypropane(TMP)을 표준품으로 사용하였다.

(6) 단백질 정량 및 실험결과 유의성 판정

측정 시료의 단백질량은 Lowry 등²¹⁾의 방법으로 측정하였고, 표준으로는 bovine serum albumin을 사용하였다. 한편, 모든 실험결과와 통계처리는 student's t-test를 이용하여 실험군간의 상호 유의성을 검정하였다.

실험결과

1. 생존율의 변화

생쥐에 홍삼추출물과 ascorbic acid를 경구로 200 mg/kg body를 5일간 투여한 다음 paraquat을 100 mg/kg을 투여하고 paraquat 독성에 의한 생쥐의 생존시간을 조사한 결과, Fig. 1과 같이 대부분의 생쥐들은 paraquat 투여 4시간부터 활동력이 현저히 떨어지는 경향을 보이다가 48~72시간 사이에 대부분이 죽었고, 4일 후까지 생존율은 ascorbic acid 투여군에서만

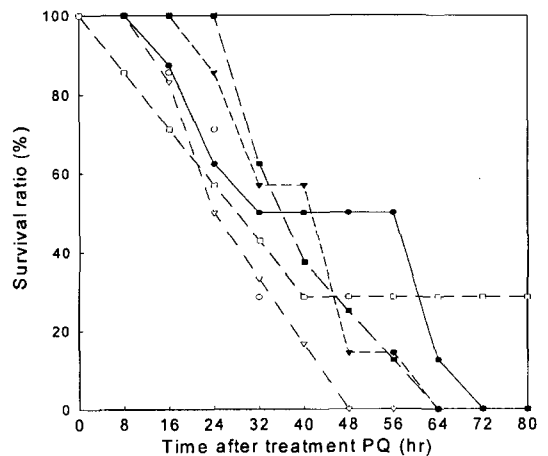


Fig. 1. Effects of red ginseng levels on survival ratio of mouse treated with paraquat. ●—●; PQ group of control, ○—○; Total saponin+PQ ▼—▼; Ginseng water extract+PQ, ▽—▽; Ginseng alcohol extract+PQ ■—■; Ginseng lipophilic fraction + PQ, □—□; Ascorbic acid+PQ

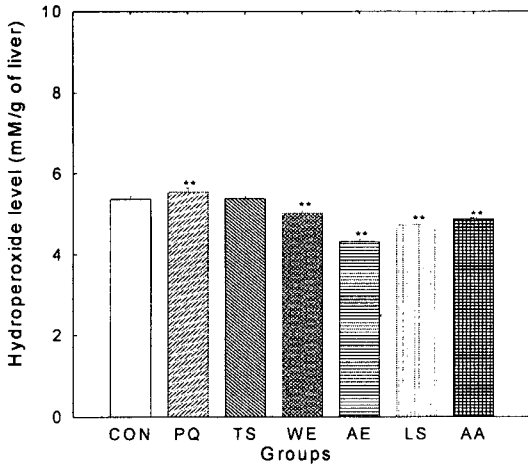


Fig. 2. Effects of red ginseng levels on hepatic hydroperoxide level of mouse treated with paraquat. □; Free control, ▨; PQ control group, ▩; Ginseng total saponin and PQ group, ▪; Ginseng water extract and PQ group, ▭; Ginseng alcohol extract and PQ group, ▮; Ginseng lipophilic fraction and PQ group, ▯; Ascorbic acid and PQ group. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$: Significantly different from control group.

28.6% 이었다.

2. H₂O₂ 함량의 변화

생쥐 간 조직내의 H₂O₂ 함량은 Fig. 2와 같이 대조군에서는 간조직 1g 당 5.37±0.07 mM이었으며, paraquat 만을 투여한 생쥐간에서는 5.54±0.12 mM로 대조군에 비하여 3.2% 증가되었다.

그러나 paraquat 투여 전 홍삼추출물 및 ascorbic acid를 투여 생쥐간에서는 paraquat 투여전 홍삼총사포닌 투여군만이 대조군과 유사한 수치를 보였을 뿐 다른 모든 군에서는 대조군보다 H₂O₂ 함량이 감소되는 현상을 보였다

홍삼수용성추출물 투여군은 93.3%, 홍삼알코올추출물에서는 80.3%가, 홍삼지용성분획 투여군에서는 88.1%가, 그리고 ascorbic acid 투여군에서는 90.7% 수준의 H₂O₂ 감소를 보였다. 한편 paraquat만 투여한 군에 비해서 모든 홍삼추출물 투여군의 H₂O₂ 함량이 낮아지는 경향을 보였는데, 홍삼알코올추출물 투여군은 paraquat 단독 투여군에 비하여 77.8% 수준으로 가장 낮은 H₂O₂ 함량을 보였다.

3. SOD 활성도 변화

생쥐에 홍삼추출물 및 ascorbic acid를 투여 후 paraquat를 복강내 주사한 다음 24시간 경과 후 간 조직에서 SOD 활성도를 측정된 결과는 Fig. 3과 같다.

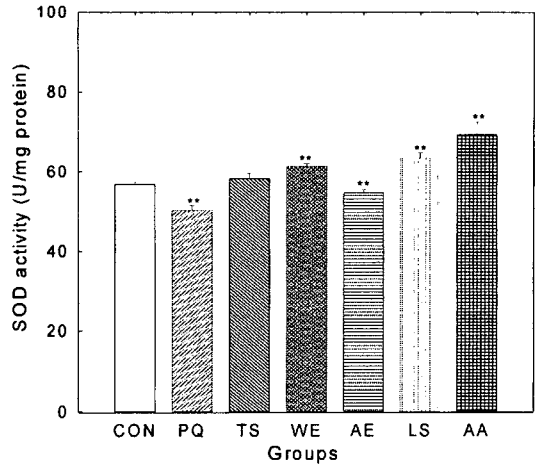


Fig. 3. Effects of red ginseng levels on hepatic SOD activity of mouse treated with paraquat. Bar symbols are as described in Fig. 2.

대조군의 SOD 활성은 56.94±0.64 U/mg protein이었다. 그러나 paraquat만 투여군에서는 50.32±1.17 U/mg protein로 대조군에 대하여 88.5%로 유의성 있게 감소하였다($p < 0.01$). paraquat 투여된 홍삼추출물을 투여한 생쥐 간에서의 SOD 활성은 대조군에 비하여 알코올추출물 투여군에서만 약간 감소하였을 뿐 모든 홍삼추출물 투여군에서 증가하였다. paraquat만의 투여군에 비하여 모든 홍삼추출물 투여군에서 높은 SOD 활성을 보였는데 총사포닌 투여군은 15.7%를, 수용성추출물 투여군은 21.7%를, 알코올추출물 투여군은 7.8%를, 그리고 지용성 추출물 투여군에서는 25.9%로 증가되었다.

한편 ascorbic acid 투여군에서의 SOD 활성은 대조군이나 paraquat 단독 투여군에 대하여 각각 21.8%, 37.6%가 증가되는 가장 높은 SOD 활성도 증가를 보였다.

4. Catalase의 활성도 변화

생쥐의 간조직 세포 내 catalase 활성도는 Fig. 4에 나타난 바와 같다. 정상 대조군의 catalase 활성도는 21.41±1.09 U/mg protein인데 비하여 생쥐에 paraquat를 투여군의 catalase 활성도는 20.72±0.30 U/mg protein으로 약간 감소를 보였다. 그러나 paraquat 투여전 홍삼추출물과 ascorbic acid를 투여한 모든 군에서는 catalase 활성이 증가되었으나 ascorbic acid에서는 특히 우수하였다. 즉 paraquat만 투여군에 비하여 홍삼총사포닌 투여군에서는 7.6%가, 홍삼수용성추출물 투여군은 27.0%를, 홍삼알코올추출물에서는 9.3%를, 홍삼지용성

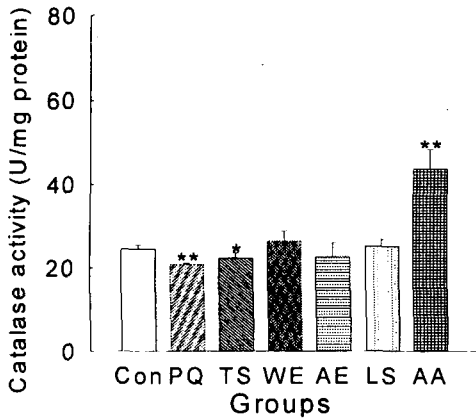


Fig. 4. Effects of red ginseng levels on hepatic catalase activity of mouse treated with paraquat. Bar symbols are as described in Fig. 2.

추출물에서는 21.2%가 증가됨으로서 홍삼추출물중에서 가장 큰 활성도를 보였다. 한편 ascorbic acid 투여군에서는 111.3% 증가하여 홍삼투여군들 보다 탁월한 catalase 활성도를 보였다.

5. Glutathione peroxidase(GP) 활성도 변화

생쥐의 간 조직내 glutathione peroxidase(GP)의 활성도 변화는 그림 5와 같이 나타났다. 정상 대조군의 GP 활성도는 3.83±0.05 U/mg protein이었으나, paraquat만의 투여군의 GP 활성도는 2.84±0.03 U/mg protein이어서 정상 대조군에 비하여 25.8%나 감소된 유의성(p<0.01) 있는 GP 감소를 보였다.

그러나 홍삼지용성추출물 투여군과 ascorbic acid 투

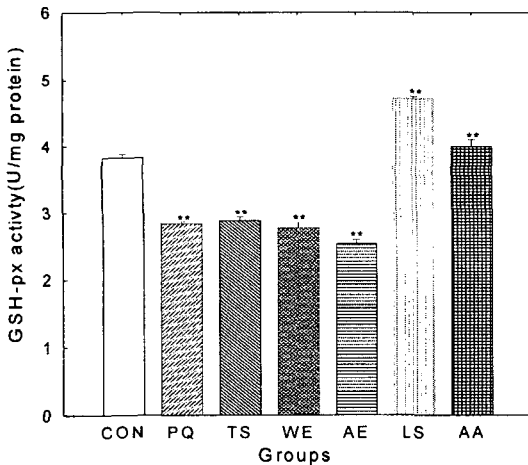


Fig. 5. Effects of red ginseng levels on hepatic glutathione peroxidase activity of mouse treated with paraquat. Bar symbols are as described in Fig. 2.

여군에서는 정상 대조군보다 높은 활성도를 보여서 paraquat 투여군에 비하여 GP가 각각 65.5%와 40.5%나 증가하여서 높은 유의성(p<0.01) 변화를 나타내 보였다(Fig. 5). 홍삼홍사포닌 투여군은 정상 대조군에 비하여 24.5%의 GP 활성도가 저하되어 paraquat만을 투여군에 비해서 1.8%만이 증가됨으로서 유의성 있는 변화를 볼 수 없었다. 홍삼의 수용성추출물군이나 알코올 추출물 투여군의 GP 활성도는 감소되어서 paraquat 단독 투여군에 비하여 각각 97.9%, 89.4%의 GP 활성도를 보였다.

6. 지질과산화 수준의 변화

Paraquat 투여전에 홍삼추출물과 ascorbic acid를 투여 받은 생쥐 간에서 지질과산화물(MDA) 수준량 변화를 알아보기 위하여 간조직내 지질과산화 최종산물인 MDA 함량을 측정된 결과 Fig. 6과 같이 나타났다. 정상 대조군에서의 MDA 함량은 간 조직 1g당 93.12±9.08 nmol MDA량 이었으나, paraquat 단독 투여군에서는 111.10±14.08 nmol로 정상 대조군에 비하여 19.3%가 증가되는 유의성(p<0.05) 있는 증가를 보였다. 홍삼추출물을 투여 후 paraquat 투여를 한 생쥐군에서 홍삼수용성추출물 투여군에서 만이 대조군에 비하여 73.8%이나 MDA량이 감소를 나타내었을 뿐, 다른 홍삼추출물 투여군에서는 대조군에 비하여 약간 증가되는 경향을 보였다. 그러나 paraquat 단독 투여군에 비해서 모든 홍삼추출물 투여군에서는 MDA 함량이 감소되는 경향 결과를 보였다. 한편, ascorbic acid 투여

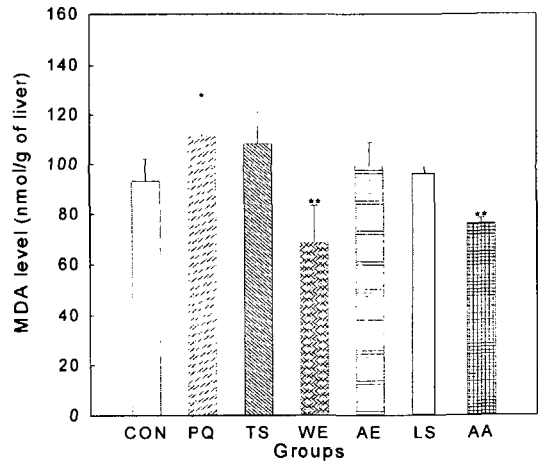


Fig. 6. Effects of red ginseng levels on hepatic MDA level of mouse treated with paraquat. Bar symbols are as described in Fig. 2.

생쥐군에서의 MDA 함량은 대조군 및 paraquat 단독 투여군에 비하여 유의성($p < 0.01$)있는 감소를 보였다.

고 찰

인삼의 항산화작용은 phenol 성분이 Fe^{+3} 와 강한 킬레이트를 형성하기 때문이라는 견해와²²⁻²⁴⁾ saponin 성분이 간 조직내의 내인성 항산화물질의 함량을 증가시키기 때문이라는 주장도 있고, DNA 합성증가를 통한 단백질 합성 촉진과 암 발생을 억제시키거나 노화를 억제하는 효과가 있다는 보고들도 있고, 방사선 조사 등 물리적 유해인자로부터 생체를 보호한다는 주장들도 보고되고 있다.²⁵⁻²⁸⁾

그러나 인삼의 항산화작용에 대한 기전은 단일성분에 의한 것이라기 보다는 스트레스에 대한 정상화 과정에서 인삼과 친화도가 높은 일부 특이체질이 비특이적 효소반응에 의해서 저항력이 높아진다는 적응설을 주장하는 견해^{28,29)}가 있는 반면, 인삼성분 투여시 SOD의 활성도 증가나 지질과산화 반응을 억제시키지 못 하였다는 주장^{30,31)}도 있으나 인삼의 항산화 활성 성분과 그 작용기전에 대하여 현재까지 확실히 밝혀져 있지 않고 있다.

그러나 생체내에는 SOD, catalase 및 GP와 같은 항산화효소나 glutathione이나 albumin 등의 항산화물질이 존재하고 있어서 활성산소 라디칼을 포착하여 제거하거나 생성을 억제하기 때문에³²⁾ 조직내 항산화효소의 활성이나 항산화물질 농도 수준은 생체의 방어체계에 많은 영향을 미칠 수 있는 것으로 보고되고 있다.

Scott³³⁾는 동물체에 전리방사선을 조사하면 반응성이 강한 활성산소 라디칼 생성이 촉진된다는 보고를 하면서 항산화효소들이 방사선에 대한 생체내 저항성을 나타내는데 중요한 역할을 하는 것으로 알려지고 있다. 이런 주장은 *in vitro* 상에 소량의 H_2O_2 처리는 SOD 활성이 증가된다고 하였고,³⁴⁾ 흰쥐에서 SOD의 결핍은 세포막 지질과산화를 증가하게 하는 산화적 손상의 원인이 된다는 보고³⁵⁾ 들이 있다.

활성산소기에 의한 세포 손상의 지표가 되는 지질과산화 현상은 $\cdot O_2^-$, $\cdot OH$, H_2O_2 같은 유독성 라디칼들이 생성된다는 보고들도 있다. 이들은 비효소적 반응에 의해서 항산화적 방어력이 약화되기 때문이며 생체내 항산화효소의 활성이나 항산화물질의 역할과도 관련이 있는 것으로 알려지고 있다. 그 예로서 흰쥐에 구

리를 일정기간 결핍시킨 후 간에서의 Cu, Zn-SOD나 catalase, GP 같은 효소들의 활성도가 저하되고 지질과산화물(MDA)의 수준이 증가되었다는 보고³⁶⁾가 있고, 흰쥐에 저 선량(0.25 Gy)의 방사선을 조사한 흰쥐 간에서는 SOD 효소활성이 증가하면 과산화지질의 함량은 저하된다는 보고³⁷⁾도 있다.

생체내에서 자연적으로 생성되는 활성산소 라디칼은 그 수명이 매우 짧기 때문에 라디칼 자체를 *in vivo* 상태에서 검출하기는 어려운 것으로 알려지고 있는데, H_2O_2 의 체내 축적은 지질과산화를 촉진시키기 때문에 생체내 H_2O_2 량은 지질과산화의 수준을 예측하는 지표로 삼고있다.^{39,40)}

Catalase는 호기성 미생물뿐 아니라 동물·식물을 포함하여 자연계에 널리 분포되고 있는 효소로서 미토콘드리아와 peroxisome 내에서는 입자에 결합된 상태로, 적혈구내에서는 용해된 상태로 존재한다고 보고되고 있다. 특히 포유동물 조직내에서의 catalase 활성은 매우 다양하여 간이나 신장에서는 그 활성도가 높은 반면에 뇌나 결합조직에서는 catalase 활성도가 낮은 특성을 가지고 있어서 산화적 손상으로부터 세포를 보호하는데 결정적 역할을 한다고⁴¹⁾ 알려지고 있어서 catalase에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다.

한편, GP는 체내에 축적된 H_2O_2 이나 지질과산화물을 분해하는 과정에 glutathione을 기질로 하는 효소로서 분자내에 cysteine을 가진-SH 대신 selenium(Se)을 가지고 있어서, 과산화물이나 지질과산화물을 분해하여 알코올로 전환시키고, 자신은 selenic acid로 산화되는 NADP 의존성 효소로 알려지고 있다.^{42,43)}

한편, Takahashi⁴⁴⁾는 selenium이 부족할 때는 GP의 활성도가 낮아진다고 했는데 이는 paraquat 단독 처리군에서 GP의 활성이 저하된 것을 보면 아마도 paraquat가 GP내의 selenium ion과 chelate 반응하여 GP의 활성도가 낮아지는 것으로 생각되나, 홍삼지용성 분획은 낮아진 selenium의 농도를 조절하는 잠재적 효능이 존재함으로써 paraquat의 금속이온에 대한 chelate 반응에도 불구하고 GP의 활성이 증가되는 것으로 생각된다. 그러나 김 등⁴⁵⁾은 paraquat로 처리한 쥐의 적혈구내에서 $\cdot O_2^-$ 의 생성이 증가하였으나 지질과산화는 촉진되지 않았다는 보고가 있었고, 체중 kg 당 $4 \times 10^{-5}M$ 의 paraquat를 투여를 하였을 때 NADPH 의존성 지질과산화가 50%나 억제되었다는 보고⁴⁰⁾를 하였다.

따라서 홍삼추출물 투여 후 paraquat 처리로 지질과

산화 반응이 억제된데 대한 원인은 SOD나 catalase 같은 항산화효소의 활성작용과 홍삼 성분내 sulfhydryl group이나 또는 albumin과 같은 내인성 항산화물질의 합성능력을 강화시킴으로서 산화물에 대한 생체의 방어력이 향상되어 나타난 결과일 것으로 생각되며, 이같은 추정에는 향후 홍삼의 사포닌 성분뿐만 아니라 수용성추출물이나 지용성 분획에 대한 항산화작용이나 항산화 활성 성분을 명확히 규명하는 연구가 지속적으로 진행되어야 할 것으로 생각된다.

요 약

본 연구에서 홍삼의 항산화 효과를 알아보기 위하여 생쥐에 홍삼의 총사포닌 분획, 수용성 추출물, 알코올 추출물, 지용성 분획과 ascorbic acid를 투여(200 mg/kg/0.1 ml)한 후 paraquat(PQ) 100 mg/kg을 복강투여 하였을 때 활성산소 라디칼의 생성을 촉진시킨 후 간에서 H₂O₂ 함량, SOD, catalase, GP의 량을 측정하고 결과 총사포닌 투여군을 제외한 홍삼추출물 투여 후 PQ투여군 치가 PQ 단독 처리군에 비하여 H₂O₂ 생성량이 유의성(p<0.01) 있게 감소 억제되었다. 한편 항산화효소의 활성은 PQ 단독 처리군에 비하여 SOD는 홍삼추출물 투여 모든 군에서 유의성있는 증가를 하였고, catalase는 수용성 추출물과 지용성 분획 투여군에서 증가하였으며, GP는 지용성 분획에서 유의성(p<0.01)있는 증가를 보였다. 그리고 지질과산화에서 PQ처리하는 지질과산화 경향 MDA량이 증가되는 것을 볼 수 있었고, 홍삼추출물 투여는 PQ단독 처리군에 비하여 지질과산화 경향에서 MDA량은 억제되는 경향을 보였다.

인 용 문 헌

- Packer, L. : *Methods in Enzymology*, Academic Press, New York, 233, p. 2-230 (1994).
- Halliwel, B., Gutteridge, J. M. C. : *Free Radicals in Biology and Medicine*, second edition, Press Clarendon Oxford, p. 1-150 (1989).
- Graft, E., John, R. M., Robert, G. B. and John, W. E. : *Biol. Chem.* **259**, 3620 (1984).
- Misra, H. and Fridovich, I. : *J. Biol. Chem.*, **247**, 6960 (1972).
- Fujimoto, S., Kawakami, N., Ohara, A. : *Biol. Pharm. Bull.*, **18**(3), 396 (1995).
- Nanneke, A. A. V. D. W., Johannes, F. L. M. V. O. and Asbeck, B. S. V. : *Am. Rev. Respir. Dis.*, **145**, 180 (1992).
- Kukieka, E., Cederbaum, A. I. : *Biochem. Biophys.* **308**, 70 (1994).
- Nanneke, A. A. V. D. W., Johannes, F. L. M. V. O., Aaltvanduk, J. V. and Asbeck, B. S. V. : *Biochem. Pharm.*, **39**, 1665 (1991).
- Salovsky, P. and Shopova, V. : *Environ. research.*, **60**, 44 (1993).
- Fridovich, I. : *Archiv. Biochem. Biophys.*, **247**, 1 (1986).
- Thomas, C., Glenn, F. V. and Christine, C. W. : *Biochem Pharmacol.*, **15**, 1967 (1993).
- Nelson, M. J., Cowling, R. A. and Seitz, S. P. : *Biochem. J.*, **33**, 4966 (1994).
- Fridovich, I. : *J. Biol. Chem.*, **264**, 7761 (1989).
- Prayer, W. A. : Free radicals and lipid peroxidation : Academic Press, San Diago, C.A, p. 1-24 (1994).
- Morel, F., Doussiere, J. and Vignalis, P. : *Eur. J. Biochem.* **201**, 523 (1991).
- Wolff, S. P. : *Methods in Enzymology*, Academic press, New York, 233, p. 182-189 (1990).
- Flohe, L. and Otting, F. : *Methods in Enzymology*, Academic press, New York, 105, p. 93~104 (1984).
- Aebi, H. E. : *Methods of Enzymatic analysis*. Bergmyer, H.U.(eds.). Third edition, Vol. 3, Verlag. Chemi. Weinheim, 3, p. 273-285 (1982).
- Flohe, L. and Gunzler, W.A. : *Methods in Enzymology*, Academic press, New York, 105, p. 114-121 (1984).
- Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K. : *Anal. Biochem.*, **95**, 351 (1979).
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951).
- Han, B. H., Park, M. H. and Han, Y. N. : *Korean Biochem. J.*, **18**, 337 (1985).
- 박명규 : 고려인삼(KOREA GINSENG), 한국인삼연초연구회, p. 63-206 (1994).
- Shin, J. G., Park, J. W., Pyo, J. K., Kim, M. S. and Chung, M. H. : *Korean Biochem. J.*, **14**, 189 (1990).
- 오미현, 정혜영, 양관석, 김규원, 정한영, 오우리희꼬끼치, 요코자와다카꼬 : *한국생화학지* **25**, 492 (1992).
- Sato, K., Mochizuki, M., Saiki, Ik., Yoo, Y. Ch., Azuma, I. : *Biol. Pharm. Bull.*, **17**, 635 (1994).
- 김창한, 이명섭, 이경호 : *고려인삼학회지*, **19**, 27 (1995).
- 주충노 : *고려인삼학회지*, **17**, 250 (1993).
- 박종대 : *고려인삼학회지*, **20**, 389 (1996).
- 박정일, 박만기, 한병훈 : *고려인삼학회지*, **15**, 257 (1996).
- Brekhman, I. I., and Dardymow, I. V. : *Ann. Rev. Phar-*

- macol.*, **9**, 419 (1969).
32. Klimek, J., Schap, A. P. and Kimura, T. : *Biochim. Biophys Acta.*, **752**, 127 (1983).
 33. Scott, M. D., Meshnick, S. R. and Eaton, J. W. : *J. Biochem.*, **264**, 2498 (1989).
 34. 이병래, 김명철, 차종희 : *조선의대논문집*, **16**, 201 (1991).
 35. Bartoli, G. M., Giannattasio, B. G., Palozza, P. and Citadini, A. : *Biochem. Biophys. Acta.*, **966**, 214 (1988).
 36. Balevska, P. S., Russanov, E. M. and Kassabava, T. A. : *J. Biochem.*, **13**, 483 (1981).
 37. Goldberg, D. M. and Spooner, R. J. : *Methods in Enzymology*, Academic press, New York, 233, p. 258 (1994).
 38. 한병훈, 박만기, 이은실 : *고려인삼학회지*, **15**, 112 (1993).
 39. Puntarulo, S. and Cederbaum, A.I. : *Biochem. Pharma.*, **38**, 2911 (1989).
 40. Misra, H. P. and Gorsky, L. D. : *J. Biol. Chem.*, **256**, 94 (1981).
 41. Farr, S. B., Touati, D. and Kogoma, T. : *J. Bacteriol.*, **170**, 1837 (1988).
 42. Gaetani, G. F., Galiano, S., Canepa, L., Ferraris, A. M. and Kirkman, H. N. : *Blood*, **73**, 334 (1989).
 43. Harman, L.S., D.K., Carver, J.S. and Mason, R.P. : *Mol. Biophy. Sci.* **42**, 1642 (1985).
 44. Takahashi K. and Cohen H. J. : *Blood*, **68**, 640 (1986).
 45. 김명철, 박재운, 채기영, 천영욱, 박평심, 차종희 : *조선대학교 의대 논문집*, **16**, 253 (1991).