

팔루근으로부터 추출한 다당류의 항당뇨활성 및 당노성 쥐의 글루타치온대사에 미치는 영향

정연봉* · 이종철

경성대학교 약학대학

(Received June 7, 1995)

Effect of Polysaccharide from *Trichosanthes kirilowii* on Antidiabetic Activity and Glutathione Metabolism in Hyperglycemic Rats

Yeoun-Bong Chung* and Chong-Chul Lee

College of Pharmacy, Kyungshung University, Pusan 608-736, Korea

Abstract—This investigation was aimed at the study of the antidiabetic activity and effect on hepatic glutathione metabolism of polysaccharide from *Trichosanthes kirilowii* in hyperglycemic rats with alloxan (175 mg/Kg, i.p.). As the results, the polysaccharide inhibited the increase of blood glucose, triglyceride level and lactate dehydrogenase activity, but cholesterol not changed. And it increased protein bound-SH, nonprotein bound-SH, glutathione level and inhibited the decrease of glutathione S-transferase.

Keywords □ Antidiabetic activity, glutathione metabolism, polysaccharide, *Trichosanthes kirilowii*, hyperglycemia, alloxan, glutathione S-transferase.

당뇨병은 혈중 및 뇨중의 당의 증가로 단백분해가 증가되어 ketosis 및 acidosis 따위의 증상을 나타내는 질환으로 Langerhan's islet의 β -cell에서 분비되는 insulin 작용의 절대적 또는 상대적 결핍이나 비정상적인 glucagon의 증가 또는 insulin 길항물질(예, 성장 hormone, 교감신경성 amine류, steroid 등)의 증가에 따른 탄수화물 대사 이상이 나타나는 만성 대사성 질환이다.¹⁾

이러한 당뇨병은 당뇨상태 그 자체도 많은 문제점을 갖고 있지만 당뇨상태의 지속으로 인하여 나타나는 합병증도 당뇨의 치료에 있어서 중요한 문제가 되고 있다. 대표적인 합병증으로 당뇨상태가 오래되므로써 체내의 산화적 stress가 지속되어 순환기계 및 신경계 질환과 이와 관련하여 당뇨병성 망막증을 일으킬 수도 있다.^{2,3)} 또한 당뇨상태가 장기간 지속되므로써 탄수화물 대사

뿐만 아니라 단백질 및 지질대사 등 생체내 대사조절기능에 이상을 주어 대사능력의 저하를 초래할 수도 있으므로 이에 대한 적절한 대책이 요망되고 있다.

현재까지 이러한 당뇨상태를 개선하기 위하여 sulfonylurea제^{4,5)}, biguanide제⁶⁾ 등 여러가지 경구용 혈당강하제가 이용되고 있으나 이들의 계속적인 사용에는 다소의 문제점이 있으므로 새로운 혈당강하제의 개발을 위하여 많은 연구가 진행되고 있으며 이의 일환으로 생약 제제중의 다당류^{7,11)}의 혈당강하 작용에 관한 연구도 활발히 진행중이다.

팔루근은 박과(Cucurbitaceae)에 속하는 하늘타리(*Trichosanthes kirilowii*)의 뿌리를 건조시킨 것으로 과거 민간에서 항 소갈작용의 목적으로 많이 이용되어져 왔다. 이러한 팔루근에 대한 연구로는 1979년에 단백질인 trichosanthin이 분리되었으며¹²⁾ Maraganore 등¹³⁾에 의하여 trichosanthin의 아미노산 염기서열이 알려졌으며 그외에도 saponin, fatty oil 등이 알려지고 있다. 동

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 051-620-4881 (팩스) 051-628-0540

속식물에 대한 연구로서는 Kanaoka등¹⁴⁾은 *T. japonica*로부터 β-D-glucopyranoside 및 여러가지 glyceride를 분리하였으며 또한 Yoshimura등¹⁵⁾은 *T. cucumeroides*로부터 arginine과 choline을 분리동정 하였다. 또한 팔루근에 대한 약리학적 연구로서는 이등^{16, 17)}의 보고에 의하면 생쥐의 백혈병 세포인 L1210 cell 및 육종암인 sarcoma-180 tumor cell에 대하여 항암 활성을 나타냄을 보고하였으며 본연구실에서도 팔루근으로부터 추출한 다당류의 항암 및 면역활성작용^{18, 19)}에 관하여 보고한바 있다. 또한 민간에서는 팔루근을 항암목적 뿐만아니라 수분대사의 조절 및 항당뇨의 목적으로 단독 또는 타약제와 병용하여 많이 이용하고 있다.

따라서 본 실험에서는 성인병 치료를 위한 기초자료를 얻은 목적으로 팔루근으로부터 추출한 다당류의 항당뇨 활성을 검토하고자 alloxan으로 당뇨를 유발시킨 뒤 시료를 투여하여 이의 혈당변화에 미치는 영향을 검토하고 아울러 당뇨유발에 따른 간 조직내의 지방 축적과 이로 인한 고지혈증등의 영향에 관한 검토의 일환으로 지질변화에 미치는 영향을 검토하기 위하여 혈중 cholesterol과 triglyceride의 변화 및 이와 관련하여 lactate dehydrogenase활성에 미치는 영향을 측정하였다. 아울러 최근 당뇨유발의 원인으로 활성산소의 역할이 논의되고 있는바 본 실험에서는 당뇨상태에서 유발되는 산화적 stress에 대한 시료의 작용을 검토하기 위하여 체내 항산화계의 중요한 역할을 담당하는 glutathione, non-protein bound-SH, protein bound-SH 및 glutathione S-transferase활성에 미치는 영향을 검토하였다.

실험방법

시료의 추출 - 다당류의 추출은 시중 건재상(태일약업사)에서 구입한 팔루근을 이용하여 세정, 음건 후 전보¹⁸⁾에 따라 0.5N-NaOH(1 g/5 ml)를 가하고 4°C에서 24시간 추출한 후 추출액에 2배량의 ethanol을 가하여 얻은 침전물을 물에 녹인 후 동량의 15%-trichloroacetic acid를 가하여 제단백 시켰다(12,000×g, 1 hr). 상등액에 2배량의 ethanol을 가하고 하룻밤 방치시킨 후 얻은 침전물을 2%-sodium acetate에 녹인 다음 여과하고 그 여액에 재차 4배량의 ethanol을 가하여 4°C에서 24시간 방치시켰다. 이액을 원심분리(12,000×g, 15 min)하여 얻은 침전물을 물에 녹이고 증류수를 이용하여 48시간 투석시킨 후 동결건조하여

시료(Tri-K)로 사용하였다.

실험동물 및 처치 - 본교 사육장에서 사육한 수컷의 흰쥐(180~220 g)를 이용하여 24시간 절식시킨뒤 alloxan(175 mg/Kg, i.p.)을 투여하고 48시간 후에 Glucometer(Ames 5421)를 이용하여 혈당을 측정하여 혈당이 300 mg/dl이상인 흰쥐만을 실험에 사용하였다. 시료는 생리식염수에 녹인 후 멸균하여 냉장보관하며 사용하였으며, 시료의 투여는 실험동물의 circadian rhythm을 고려하여 A.M. 09 : 00~11 : 00 사이에 1일 1회, 3일간 투여하였다.

효소원 제조 - 시료투여 최종일로부터 24시간 후 흰쥐를 ether로 마취시킨 뒤 복부 정중선을 따라 절개한 후 복부 대동맥을 통하여 혈액을 채취한 뒤 원심분리하여 혈액의 생화학적 검사에 이용하였으며, 다시 생리식염수로 관류시킨 간을 적출하여 0.1 M-potassium phosphate buffer로 10%-homogenate를 제조한 뒤 9,000×g에서 20분간 원심분리하여 cytosol을 얻은 후 이를 효소원으로 사용하였다.

혈당 측정 - 혈당의 측정은 Glucose oxidase method에 따라 조제된 kit시약을 사용하여 측정하였다.

Triglyceride함량 측정 - 혈중 triglyceride함량의 측정은 McGowan등²⁰⁾의 방법에 따라 조제된 kit(ASAN)시약을 사용하여 측정하였다.

Cholesterol함량 측정 - 혈중 cholesterol함량의 측정은 효소법에 따라 조제된 kit(ASAN)시약을 사용하여 측정하였다.

Lactate dehydrogenase활성 측정 - 혈중 LDH의 활성 측정은 Amador²¹⁾등의 방법에 따라 조제된 kit시약(ASAN)을 이용하여 측정하였다.

Total-SH함량의 측정 - 간 조직내의 Total-SH함량 측정은 Sedlack등²²⁾의 방법에 따라 412 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

Nonprotein bound-SH함량 측정 - 간 조직중의 nonprotein bound-SH함량의 측정은 Higash등²³⁾의 방법에 따라 412 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

Glutathione함량 측정 - 간 조직내의 glutathione함량의 측정은 Gaitonde등²⁴⁾의 방법에 따라 cystein의 양을 측정하여, non-protein bound-SH의 양에서 cystein-SH의 양을 빼어 산출하였다.

Glutathione S-transferase활성에 미치는 영향 - 간 cytosol내의 glutathione S-transferase활성의 측정은 Habig등²⁵⁾의 방법에 따라 340 nm 에서의 흡광도를

Table I— Effects of polysaccharide on blood glucose level in alloxan-induced hyperglycemic rats

Group	No. of Rats	Dose (mg/kg)	Blood Glucose(mg/dl)***	
			at 3 days	at 6 days
Negative Control	5	-	107.50± 6.37 ^(a)	117.28±28.24 ^(b)
Alloxan* Control	5	-	310.33±29.11 ^(a)	389.67±25.78 ^(a)
Alloxan + Tri-K**	5	50	324.05±20.75 ^(a)	194.84±18.25 ^(a)

* Alloxan(175 mg/kg, i.p.) treated at 3 days before sample administration.

** Tri-K(polyaccharide fraction from *Trichosanthes kirilowii*) treated for 3 days.

*** Data shows mean±S.E. and statistical significance: a) P<0.01 and b) P<0.05.

Table II— Effects of polysaccharide on total cholesterol and triglyceride contents in serum of alloxan-induced hyperglycemic rats

Group	No. of Rats	Dose (mg/kg)	Total Cholesterol (mg/dl)***	Triglyceride (mg/dl)***
Negative Control	5	-	36.01±1.78 ^(a)	56.76± 2.37 ^(a)
Alloxan* Control	5	-	48.80±2.38 ^(a)	128.95±14.52 ^(b)
Alloxan + Tri-K**	5	50	48.39±2.38 ^(a)	99.27±11.36 ^(b)

* Alloxan(175 mg/kg, i.p.) treated at 3 days before sample administration.

** Tri-K(polyaccharide fraction from *Trichosanthes kirilowii*) treated for 3 days.

*** Data shows mean±S.E. and statistical significance: a) P<0.01 and b) P<0.05.

Table III— Effects of polysaccharide on lactate dehydrogenase activities in serum of alloxan-induced hyperglycemic rats

Group	No. of Rats	Dose (mg/kg)	Lactate Dehydrogenase (μ M NADH/min)***
Negative Control	5	-	44.70±4.61 ^(a)
Alloxan* Control	5	-	84.30±8.76 ^(a)
Alloxan + Tri-K**	5	50	57.45±9.46 ^(b)

* Alloxan(175 mg/kg, i.p.) treated at 3 days before sample administration.

** Tri-K(polyaccharide fraction from *Trichosanthes kirilowii*) treated for 3 days.

*** Data shows mean±S.E. and statistical significance: a) P<0.01 and b) P<0.05.

측정하였다.

단백질 정량 - Bovine serum albumin을 표준품으로 하여 Lowry method²⁶⁾에 준하여 측정하였다.

통계처리 - 모든 실험 data는 mean±standard error로 나타내었으며, 유의성 검정은 Student's t-test로 하였다.

결과 및 고찰

혈당변화에 미치는 영향 - 추출한 시료의 혈당변화에 미치는 영향을 검토하기 위하여 alloxan으로 당뇨를 유발시킨 뒤 시료를 투여한 결과 alloxan만을 투여한 경우 혈당이 389.67 mg/dl로써 대조군에 비하여 현저한 증가양상을 나타내었으나 시료투여군의 경우는 194.84 mg/dl로써 뚜렷한 감소현상을 관찰할 수 있었다. 따라서 이러한 결과는 투여한 시료가 alloxan에 의한 고혈당을 억제할 수 있다는 가능성을 제시하였으며, 이는 투여한 시

료가 alloxan에 의하여 파괴되어진 Langerhan's islet의 β-cell을 회복시키거나 아니면 감소되어진 insulin을 증가시켜주는 작용이 있을 것이라고 추측할 수 있다.

총 cholesterol 및 triglyceride에 미치는 영향 - 시료의 투여에 따른 지방대사의 검토의 일환으로 혈중 cholesterol 및 triglyceride에 미치는 영향을 검토한 결과 Table II에서 보는바와 같이 총 cholesterol의 경우는 시료의 투여에 따른 유의할만한 감소는 나타나지 않았으나 triglyceride의 경우는 alloxan의 투여에 의해 현저히 증가하였으나 시료를 투여함에 따라 뚜렷한 감소 현상을 나타내었다. 따라서 이러한 결과는 일반적으로 당뇨상태에서는 지방대사의 증가로 인하여 간조직내에 지방이 축적되는 현상이 나타남²⁷⁾을 고려할때 본실험에서 시료로 사용한 다당류는 이러한 당뇨유발로 인하여 증가되어진 지방대사를 정상으로 회복시켜 주는것을 알 수 있었다.

Lactate Dehydrogenase활성에 미치는 영향 - 시료의 혈중 LDH활성에 미치는 영향을 검토한 결과

Table IV— Effects of polysaccharide on protein bound-SH and nonprotein bound-SH contents in liver homogenate of alloxan-induced hyperglycemic rats

Group	No. of Rats	Dose (mg/kg)	Protein bound-SH (μ M/g tissue) ^{***}	Nonprotein bound-SH (μ M/g tissue) ^{***}
Negative Control	5	-	14.58±0.35 ^a	4.66±0.38 ^a
Alloxan* Control	5	-	13.36±0.46 ^a	2.98±0.15 ^a
Alloxan + Tri-K ^{**}	5	50	13.75±0.69 ^a	3.89±0.23 ^a

* Allonan(175 mg/Kg, i.p.) treated at 3 days before sample administration.
 ** Tri-K(polysaccharide fraction from *Trichosanthes kirilowii*) treated for 3 days.
 *** Data shows mean±S.E. and statistical significance: a) P<0.01.

Table V— Effects of polysaccharide on glutathione level homogenate of alloxan-induced hyperglycemic rats

Group	No. of Rats	Dose (mg/kg)	Glutathione (μ M/g tissue) ^{**}
Negative Control	5	-	4.45±0.32 ^a
Alloxan* Control	5	-	2.65±0.28 ^b
Alloxan + Tri-K ^{**}	5	50	3.72±0.22 ^a

* Alloxan(175 mg/kg, i.p.) treated at 3 days before sample administration.
 ** Tri-K(polysaccharide fraction from *Trichosanthes kirilowii*) treated for 3 days.
 *** Data shows mean±S.E. and statistical significance: a) P<0.01 and b) P<0.05.

Table VI— Effects of polysaccharide on glutathione S-transferase activities in liver cytosol of alloxan-induced hyperglycemic rats

Group	No. of Rats	Dose (mg/Kg)	Glutathione S-transferase (nM/mg protein/min) ^{***}
Negative Control	5	-	121.30±10.91 ^a
Alloxan* Control	5	-	86.62± 9.52 ^b
Alloxan + Tri-K ^{**}	5	50	118.22± 9.80 ^a

* Alloxan(175 mg/Kg, i.p.) treated at 3 days before sample administration.
 ** Tri-K(polysaccharide fraction from *Trichosanthes kirilowii*) treated for days.
 *** Data shows mean±S.E. and statistical significance: a) P<0.01 vs b) P<0.05.

Table III에서 보는바와 같이 alloxan 투여군의 경우 84.30 μ M NADH/min으로 대조군에 비하여 현저히 증가하는 양상을 보였으나 시료 투여군의 경우 57.45 μ M NADH/min으로 정상수준에는 미치지 못하나 뚜렷한 증가 억제현상을 관찰할 수 있었다.

Protein bound-SH 및 nonprotein bound-SH에 미치는 영향 - 시료의 체내 thiol기의 변화에 미치는 영향을 검토하기 위하여 간장내의 protein bound-SH 및 nonprotein bound-SH에 미치는 영향을 검토한 결과 Table IV에서 보는바와 같이 alloxan의 투여로 인하여 저하되어진 thiol기의 함량이 추출한 시료를 투여함으로써 다소 회복되어지는 양상을 나타내었다. 이러한 결과는 일반적으로 체내의 산화반응과 glutathione의 양과는 상관성이 높으며 체내의 산화적 stress가 증가할 때 산화형 glutathione은 증가하고 환원형 glutathione은 감소하는 경향^{28, 29)}과 비교해볼때 유의할만

한 결과로 사료된다.

Glutathione 변화에 미치는 영향 - 시료의 투여에 따른 간장내의 glutathione대사의 변화를 살펴본 결과 Table V에서 보는바와 같이 alloxan의 투여에 의하여 감소되어지던 glutathione이 시료를 투여함으로써 정상 수준으로 회복되어 지는 것을 관찰할 수 있었다. 따라서 앞의 thiol기의 변화에 관한 결과와 마찬가지로 alloxan의 투여에 의한 산화적 stress에 대하여 시료로 사용한 다당류가 억제효과를 가짐을 간접적으로 시사해주는 좋은 결과로 사료된다. 그러나 이러한 결과가 alloxan자체에 의한 산화적 stress를 개선하는 것인지, 그렇지 않으면 alloxan에 의해 유도되어진 당뇨상태에 기인한 산화적 stress를 개선하는 것인지에 관하여서는 앞으로의 지속적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

Glutathione S-transferase 활성에 미치는 영향 - 시료의 간장내의 glutathione대사에 미치는 영향에 관한

연구의 일환으로 glutathione을 이용하여 체내 독성물질과 과산화물을 전이, 분해 시키는 효소인 glutathione S-transferase활성을 검토한 결과 Table VI에서 보는바와 같이 alloxan을 투여한 경우 다소 감소하는 양상을 나타내었으나 시료를 투여하므로써 감소되던 양상이 다소 회복됨을 알 수 있었다. 그러나 Agius등³⁰⁾에 의하면 streptozotocin을 투여한 경우 glutathione S-transferase활성이 증가함을 보고하였고 Grant등³¹⁾ 및 Watkins등³²⁾은 STZ에 의해서 glutathione S-transferase활성이 감소한다는 서로 상반된 결과를 보고하였는데 이는 사용한 동물의 종류나 종의 차이에 의하거나 또는 다른 원인에 의하여 이러한 결과가 나온것으로 추측할 수 있다. 따라서 본 실험에서 alloxan의 투여에 의한 glutathione S-transferase활성의 감소 및 시료의 투여에 따른 회복 양상에 관하여서는 더욱 자세한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

이상의 결과를 종합해볼때 본실험에서 시료로 사용한 팔루근이 alloxan으로 유도되어진 당뇨상태의 개선작용이 있음을 알 수 있었으며 또한 이러한 당뇨상태에서 유발되어지는 간 조직내의 지방의 축적에 대하여서도 개선작용이 있음을 알 수 있었다. 특히 당뇨상태가 진행됨에 따라 체내 insulin의 감소로 혈중 glucose가 증가하므로 인하여 acetyl CoA의 생성이 증가되고 따라서 TCA cycle계의 활성화로 인하여 지방대사가 촉진된다는 사실²⁷⁾을 고려할때 투여한 시료가 acetyl CoA의 전구물질인 pyruvate의 생성과 관련이 있을 것으로 생각하여 체내에서 lactate를 pyruvate로 가역적으로 전환시키는 효소인 lactate dehydrogenase의 활성을 측정 한 결과 alloxan의 투여로 인하여 증가된 LDH의 활성도가 시료를 투여하므로써 다소 회복되는 양상을 나타냄을 알 수 있었다. 따라서 이러한 결과는 투여한 시료가 pyruvate의 대사와의 관련이 있을 것으로 사료된다. 또한 시료의 당뇨상태에서의 간 조직의 glutathione대사에 미치는 영향을 검토한 결과 alloxan의 투여로 저하되어진 glutathione이 시료를 투여하므로써 다시 회복되는 양상을 나타냄을 알 수 있었다.

특히 본실험에서 당뇨유발을 목적으로 사용한 alloxan은 강한 산화제로서 최근 이의 당뇨유발 기전과 관련하여 radical theory가 주장되고 있으며³³⁾ 또한 streptozotocin과 같은 nitrosourea계통의 화합물은 세포내 glutathione에 영향을 미쳐 간 독성을 나타내는 것으로 알려지고 있으므로³⁴⁾ 본 실험에서 당뇨상태

에서 일어난 산화적 반응이 투여한 시료에 의하여 다소 개선되어진다는 것을 짐작할 수 있는 결과로 사료된다. 또한 glutathione S-transferase는 세포질 glutathione S-transferase와 mitochondria및 소포체막 glutathione S-transferase로 대별되는데 모두 생체 거의 모든 조직에 분포하고 있지만 특히 간에 많이 함유되어져 있다.³⁵⁾ 이들은 생체내로 투여되어진 독성물질 또는 생체내의 산화적 반응의 결과 생성되어진 대사활성물등을 기질로하여 여기에 glutathione을 공유결합시켜 무독화시키는 반응의 최초단계를 촉매하는 것으로 알려져 있다. 본 실험에서 alloxan의 투여에 의하여 간장내의 glutathione S-transferase 활성의 감소는 일련의 산화반응에 의한 결과이거나 당뇨상태에 의한 세포막의 손상에 의한 결과일 것으로 사료된다. 그러나 시료를 투여한 경우 저하되어진 glutathione S-transferase의 활성이 회복되는 것을 알 수 있었으며 이러한 결과는 상기의 thiol기의 변화 및 glutathione의 변화와 관련하여 본 실험에 사용한 시료가 당뇨상태에서의 체내 glutathione대사에 유의할 만한 작용이 있을 것으로 추측된다. 따라서 앞으로 시료의 정확한 항당뇨활성기전을 살펴보기 위한 계속적인 연구와 아울러 이러한 체내의 산화반응 및 당뇨상태에서 야기되어지는 대사기능의 저하에 관한 계속적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결 론

팔루근으로부터 추출한 다당류의 항당뇨활성을 검토한 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

- 1) 추출한 다당류가 alloxan에 의한 혈중 glucose의 상승을 유의성 있게 억제 시켰다.
- 2) 추출한 다당류가 당뇨상태에서 증가되어진 혈중 triglyceride의 농도를 회복시켰다.
- 3) 당뇨유발에 따른 간 조직내의 glutathione 대사의 저하를 다소 회복시켰다.

문 헌

- 1) National diabetes data group: Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. *Diabetes* **28**, 1039 (1979).

- 2) Barnes, A. J., Locke, P. and Scudder, P. R.: Is hyperviscosity a treatable component of diabetic microcirculatory disease?. *Lancet* **2**, 789 (1977).
- 3) Ashton, N.: Studies of the retinal capillaries in relation to diabetic and other retinopathies. *Br. J. Ophthalmol.* **47**, 521 (1963).
- 4) Krall, L. P.: Oral hypoglycemics, *Joslin's Diabetes Mellitus*, 12th ed., p412, Lea and Febiger, Philadelphia (1985).
- 5) Lebovitz, H. E. and Feinglos, M. N.: The oral hypoglycemic agents, *Diabetes Mellitus-Theory and Practice*, 3rd ed., p591, Exc erpta Medica (1983).
- 6) Holle, A., Mangels, W., Dryer, M., Kuhnau, J. and Rudiger, H. W.: Biguanide treatment increase the number of insulin receptor sites on human erythrocytes. *N. Engl. J. Med.* **305**, 563 (1981).
- 7) Tomoda, M., Gonda, R., Kasahara, Y. and Hikino, H.: Glycan structures of ganoderans B and C, hypoglycemic glycans of *Ganoderma lucidum* fruit bodies. *Phytochem.* **25**, 2817 (1986).
- 8) Konno, C., Mizuno, T. and Hikino, H.: Isolation and hypoglycemic activity of lithospermans A, B and C, glycans of *Lithospermum erythrorhizon* roots. *Planta Medica* **157** (1985).
- 9) Takahashi, M., Konno, C. and Hikino, H.: Isolation and hypoglycemic activity of coixans A, B and C, glycans of *Coix lachryma-jobi* var. *ma-yuen* seeds. *Planta Medica* **64** (1986)
- 10) Konno, C., Sugiyama, K., Kano, M., Takahashi, M. and Hikino, H.: Isolation and hypoglycaemic activity of panaxans A, B, C, D and E, glycans of *Panax ginseng* roots. *Planta Medica* **434** (1985).
- 11) Hikino, H., Konno, C., Takahashi, M., Murakami, M., Kato, Y., Karikura, M. and Hayashi, T.: Isolation and hypoglycemic activity of dioscorans A, B, C, D, E, and F: Glycans of *Dioscorea japonica* rhizophors. *Planta Medica* **168** (1986).
- 12) Shanghai Institute of Biochemistry in *Nucleic Acids and Proteins: The Proceedings of Symposium on Nucleic Acids and Proteins*, p. 318-323, Van-Nosstrand Reinhold Co., New York. (1979).
- 13) Maraganore, J. M., Joseph, M. and Bailey, M. C.: Purification and characterization of trichosanthin. *J. Biol. Chem.* **262**, 11628 (1987).
- 14) Kanaoka, M., Yoshizaki, M. and Fujino, H.: Studies on the constituents of *Trichosanthes* Species. I. On the neutral ether extracts of the dried roots of *Trichosanthes japonica* Regel, *Trichosanthes kirilowii* Maxim. and *Trichosanthes cucumeroides* Maxim. *Chem. Pharm. Bull.* **30**, 2570 (1982).
- 15) Yoshimura, K.: *Bulletin of the Kagoshima Imperial College of Agriculture and Forestry* **4**, 35 (1921).
- 16) Lee, J. H., et al.: Antineoplastic natural products and the analogues(XI): Cytotoxic activity against L1210 cell of some raw drugs from the oriental medicine and folklore. *Kor. J. Pharmacogn.* **17**, 286 (1986).
- 17) Lee, Y. H., et al.: Antineoplastic natural products and the analogues(X): Antitumor activity of *Trichosanthes kirilowii* on L1210 and S-180 tumors. *J. Pharm. Soc. Korea* **30**, 193 (1986).
- 18) Chung, Y. B., Lee, C. C., Park, S. W. and Lee, C. K.: Studies on antitumor and immunopotentiating activities of polysaccharides from *Trichosanthes* Rhizome. *Arch. Pharm. Res.* **13**, 285 (1990).
- 19) Park, S. W., Chung, Y. B., Kim, H. K. and Lee, C. K.: Immunopotentiating and antitumor activities of purified lectins and polysaccharides from *Trichosanthes* Rhizoma and *Taraxii* Herba. *J. Appl. Pharmacol.* **2**, 126 (1994).
- 20) McGowan, M. W., Artiss, J. D., Strandberg, D. R.: A peroxidase-coupled method for the colorometric determination of serum triglycerides. *Clin. Chem.* **29**, 538 (1983).
- 21) Amador, E., Dorfman, L. E. and Wacker, W. E. C.: Serum lactic dehydrogenase in: An analytical assessment of current assays. *Clin. Chem.* **9**, 391 (1963).
- 22) Sedlak, J. and Lindsay, R. H.: Estimation of total protein-bound and nonprotein-bound sulfhydryl groups in tissue with Ellmans reagent. *Anal. Biochem.* **25**, 192 (1968).
- 23) Higashi, T.: Critical review on the determination

- of glutathione in biological preparations. *Proteins, Nucleic Acid and Enzyme* **33**, 1370 (1988).
- 24) Gaitonide, M. K.: A spectrophotometric method for the direct determination, of cysteine in the presence of other naturally occurring amino acids. *Biochem. J.* **104**, 627 (1967).
- 25) Habig, W. H., Pabist, M. J. and Jakoby W. B.: Glutathione S-transferase.: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* **249**, 7130 (1974).
- 26) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Rendall, R. J.: Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265 (1951).
- 27) Grey, N. J., Karl, I. and Kipnis, D. M.: Physiologic mechanism in the development of starvation ketosis in man. *Diabetes* **24**, 10 (1975).
- 28) Kaplowitz, N., Aw, T. Y. and Ookhtens, M.: The regulation of hepatic glutathione. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **25**, 715 (1985)
- 29) Thor, H., Smith, M. T., Hartzell, P., Bellomo, G., Jewell, S. A. and Orrenius, S.: The metabolism of menadione(2-methyl-1,4-naphthoquinone)by isolated hepatocytes. *J. Biol. Chem.* **257**, 12419 (1982)
- 30) Agius, C. and Gidari, A. S.: Effect of streptozotocin on the glutathione S-transferase on mouse liver cytosol. *Biochem. Pharmacol.* **34**, 811 (1985).
- 31) Grant, M. H. and Duthie, S. J.: Conjugation reactions in hepatocytes isolated from streptozotocin-induced diabetic rats. *Biochem. Pharmacol.* **36**, 3647 (1987).
- 32) Watkins, J. B., Sanders, R. A. and Beck, L. V.: The effect of long-term streptozotocin-induced diabetes in the hepatotoxicity of bromobenzene and carbon tetrachloride and hepatic biotransformation in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **93**, 329 (1988).
- 33) Grankvist, K., Marklund, S., Shelin, J. and Tljedal, I. B.: Superoxide dismutase, catalase, and scavengers of hydroxyl radical protect against the toxic action of alloxan on pancreatic islet cells *in vitro*. *Biochem. J.* **182**, 17 (1979).
- 34) Reed, D. J.: Nitrosoureas. In: Sies, H.(eds.), Oxidation Stress. Academic Press, London, p. 115 (1985).
- 35) 土田成記, 佐藤清美: Glutathione S-transferase isozyme, glutathione 研究の エポシク. 蛋白質, 核酸, 酵素, 臨時増刊, **33**, 1564(1988).