

홍삼복합제의 보간 및 항산화 작용에 대한 연구

강창희 · 김동희 · 유시용[†] · 김성훈*

대전대학교 한의과대학, [†]화학연구소, *경희대학교 동서의학대학원

Study on Hepatoprotective and Antioxidant Activities of Korean Red Ginseng-Mixed Formula

Chang-Hee Kang, Dong-Hee Kim, Shi-Yong Ryu[†] and Sung-Hoon Kim*

Oriental Medical College, Taejon University, Taejon 300-716, Korea

[†]Korea Research Institute of Chemical Technology, Yusung P.O.Box 107, Taejon 305-606, Korea

*Department of Oncology, Graduate School of East-West Medical Science,
Kyunghee University, Seoul 130-701, Korea

Abstract – GRF (Korean Red Ginseng mixed formula) consists of six herbs such as Ginseng Radix rubra Koreana, Lycii Fructus, Artemisiae Capillaris Herba, Poria, and Glycyrrhizae Radix and Hoveniae Fructus. For the evaluation of hepatoprotective effect of GRF, the study was performed on protective effect against hepatic damage induced by galactosamine *in vitro* and ccl4 *in vivo* and also elucidate antioxidant activity. *In vitro* assay with 1.1 mM galactosamine, protection (%) was 44% (GR), and 58% (GRF-A) at 50 ug/ml. GRF effectively protected fatty degeneration and necrosis in murine hepatic damage induced by ccl4. For the antioxidant study, GRF inhibited hemolysis of erythrocyte and decolorized DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) free radical in a dose dependent manner more effectively than GR alone *in vitro*. GRF and GR significantly suppressed the time course (1 hr ~ 6 hr)-level of MDA (malondialdehyde) following AAPH (2,2'-azo-bis-(2-amidino -propane) dihydrochloride) treatment *in vivo* as compared with control data. From the results it can be concluded GR and GRF exerted the hepatoprotective effect by dint of antioxidant activity.

Key words – GR, GRF, galactosamine, ccl4, antioxidant, AAPH, MDA

인삼은 가공 방법에 따라 홍삼과 백삼으로 구분되는데, 홍삼은 인삼을 증기로 찌어 수치를 한것을 지칭하고 있다. 한방 문헌에서 인삼의 수침법(가공법)에 따른 氣味를 살펴보면 方藥合編에서 ‘生涼, 熱溫’, 本草備要에는 ‘生甘苦微涼’, 月池人參傳에는 ‘人參生用氣涼, 熟用氣溫’으로 분류하고 있다.¹⁾ 고려홍삼의 약리활성은 중추신경작용, 뇌신경항진 효능, 항암활성, 면역조절작용, 항당요작용, 간기능항진작용, 심혈관장애개선, 항동맥경화작용, 혈압조절작용, 갱년기작용, 항스트레스작용, 항궤양작용, 노화억제작용, 방사선장해작용 및 미약해독작용 등 다양하다.^{2,3)}

우리나라에서 고려홍삼은 전매품으로서 주로 인삼 연초연구원을 중심으로 고려홍삼에 관한 연구만 하여 왔지만 한약이 단지 약물외에 복합방이 약물간의 상호작용을 통해 더욱 유효한 효과를 발휘하고 있다는 점에서, 이제 고려홍삼과 다른 약물을 배합하여 상승 효과를 나타내는 처방의 개발이 필요하다.

이에 저자는 민간에서 음주후에 인삼 꿀차를 복용하고, 동의보감⁴⁾ 등에서도 인삼을 포함한 한방처방을 黃疸(황달)과 간질환에 활용하고 있다는 점에서 보간작용을 나타내는 한약제로 구성된 홍삼복합방과 단독 고려홍삼을 이용하여 보간작용과 항산화작용을 실험적으로 비교 평가하였던 바 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

*교신저자 : Fax : 031-205-1074

재료 및 방법

실험재료 - 고려홍삼(GR): 고려인삼학회에서 고려홍삼정 500g과 고려홍삼 강장보관 엑기스 500g을 공급받았고, 고려홍삼복방(GRF)은 고려홍삼 4, 구기자 4, 인진 4, 백복령 4g, 감초 2g 지구자 4g 등으로 구성하였다.

실험동물 - 동물은 자웅 구분 없이 4주령의 Sprague Dawley계 흰쥐, ICR과 Balb/c 생쥐를 한국화학연구소에서 공급 받아 실험당일 까지 고형사료(항생제 무첨가, 삼양사료Co.)와 물을 충분히 공급하고 실온 22±2°C를 계속 유지하고 2주일간 실험실환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

시약 및 기기 - 시약은 Kreb's Ringer Buffer (KRB), 9.0 g NaCl, 0.42 g KCl, 0.99 g Glucose, NaHCO₃/1 L D.W, 4.77 g HEPES, KRB+EDTA (KRBE), EDTA, Collagenase solution, CaCl₂, Collagenase, KCl, KH₂PO₄, NaCl, NaHCO₃, Na₂HPO₄ · 7H₂O, Glucose 등은 모두 Sigma 제품을 사용하였다..

기기는 16 GA 2 inch angicath, 50 ml conical tube, hemocytometer, rat toothed forceps, 105 um 나이론 망, Liver scraper, centrifuge(Beckman), chemical analyser (CIBA- CORNING, 550 Express co., USA), cell counter(Minos, Cobas co., France), CO₂ incubator (Model VS-9108 MS, vision scientific co.), clean bench(KMC-14001, vision scientific co.), centrifuge(GS-6R, Beckman co.), inverted microscope (nikon co, Japan), light microscope (UFX-DX, Nikon), rotary vacuum evaporator (Büchi 461), autoclave (Hirayama, Japan), micropipet(Gilson, U.S.A), autostill WG25(Japan), titer plate shaker (Labline inst., U.S.A), culture flask(Falcon 3024), multi-well plate(96-well, Falcon), disposable pipet(5 ml, 10 ml, 25 ml, Falcon) 및 syringe filter(0.25 m, Falcon) 등을 사용하였다.

홍삼복합방의 제조 - 홍삼복합방을 3,000 ml round flask에 물 1000 ml을 소형추출기에 가한 후 4시간 동안 환류시킨 후 이 용액을 여과하고 rotary vacuum evaporator(Büchi 461)에서 감압 농축하였다. 농축된 용액을 round flask에 넣고 -84°C deep freezer (SANYO, Japan)에서 1시간동안 방치하고 freeze dryer(EYELA, Japan)로 4시간을 동결 건조하여 로 4시간을 동결 건조하여 6.06 g을 얻어 실험에 사용하

였다.

일차간세포 분리 및 배양 - 간세포분리는 먼저 준비작업으로 water bath는 41°C로 맞추고 원심분리기를 4°C로 맞춘다. 1분당 펌프 용량은 15 ml로 맞추고, 100 ml, 70% EtOH을 가지고 system을 15분동안 통과시킨 후 3차 증류수 300 ml를 가지고 1회 system을 통과시키고 마지막으로 autoclaved KRB-EDTA 50 ml를 가지고 system을 통과시키며 washing하였다. 이 후 gas valve(산소: 95%, 이산화탄소:5%)를 열고 reservoir에 KRB-EDTA 200 ml을 담고 liver perfusion전까지 계속 순환시킨다. 이러한 준비작업이 끝나면 rat의 weight를 기록하고, penthotal-sodium (10 mg/100 g.rat)으로 마취시킨 후 수술대 위에 올려놓고 내발을 trapping하였다. 개복부분을 70% EtOH로 소독 후 쥐의 목선에서 항문까지 배의 중간을 cut하고, rat toothed forceps을 사용하여 잘 잡고 복부를 절개하여 내장을 완전히 표출시킨 후, 간 문맥을 찾아내기 위해 거즈를 사용하여 내장을 오른쪽 밖으로 밀어내어 간 문맥을 찾은 다음 굵은 핀셋으로 간문맥 왼쪽 밑부분을 짚어서 간 문맥을 근육과 분리시키고, rat toothed forceps을 이용하여 실을 통과시켜, 문맥 왼쪽으로 수평을 유지하며 뽑아 내고 문맥 주위를 실로 살짝 묶는다. Rat toothed forcep을 이용하여 간 문맥을 수술에 편하게 표출시킨 후 angicath needle을 문맥에 삽입하고 전에 묶어 둔 실을 단단히 묶는다. 삽입된 angicath needle의 뒷마개를 뽑아 낸 후 피가 흘러나오는 통로에 perfusion tube를 연결시킨다. perfusion 시키는 동안 흘러나오는 피의 압력으로 인한 간세포 분리의 방해를 막기 위해 간에 연결된 큰 동맥-염통 쪽으로 향하는 것과 척추 뒷부분으로 향하는 동맥을 잘라 낸다. KRB+EDTA가 다 없어지기 전에 collagenase perfusion용액(100 ug/ml, KRB;100 ml)을 분액깔대기에 넣고 계속적으로 perfusion시킨다. 간이 perfusion에 의해서 부풀어오르면 간으로 부터 angicath needle을 빼내고 간을 분리시킨 후 KRB가 담긴 10 cm petri-dish에 넣어서 hood로 옮긴다. 분리해 낸 간은 hood에서 scraper을 이용하여 KRB가 담긴 10 cm petri-dish에서 긁어내어 간세포를 완전히 분리한 후 간세포 용액을 105 um filter에 통과시키고, 위 용액을 50 ml centrifugal tube에 옮겨 300 r.p.m에서 5분간 원심 분리시킨 후 상층액을 제거하고 pellet만을 취하여 KRB solution으로 2회 washing하고, washing 된 pellet에 percoll solution(10.8 ml percoll+1.2 ml

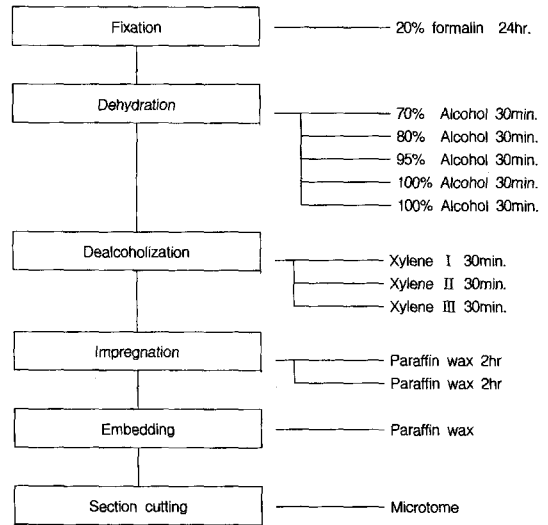
10x HBSS)을 넣고 KRB를 넣어 40 ml에 맞춘다. 다시 부드럽게 혼합 후 500 r.p.m에서 5분간 원심분리하여 상층액을 버리고 pellet을 KRB(25 ml)로 2회 washing 후 다시 500 r.p.m에서 5분간 원심분리하고, fetal bovine serum(5 ml)을 15 ml conical tube에 넣고 cell pellet을 5 ml로 희석하여 gradient를 만들고 500 r.p.m에서 5분간 원심분리하면 죽은세포와 살아있는 세포를 분리하였다. trypan blue로 cell counting한 후 hepatocytes cell을 5×10^5 cells/ml로 준비하였다. Hepatocytes cell을 24-well plate에 DEME medium (insulin 100 u/ml, glucagon 0.7 mg/ml, hydrocortisone 37.5 mg/ml, L-proline 60 mg/ml, 10% FBS)으로 5% CO₂ 37°C incubator에서 배양하였다.⁹⁾

Galctosamine 간세포독성 - 간세포를 배양한 지 1.5시간이 지난 후 배양액에 10 mM CCl₄를 함유한 배양액으로 갈아준 다음 세포독성을 유도하였고, 또한 간세포를 배양한 지 24시간이 지난 후 배양액에 1.1 mM Galn을 함유한 배양액으로 갈아준 다음 48시간 동안 세포를 배양하여 세포독성을 유도한후에 그 배양액을 채취하여 간 기능검사를 실시하였다. 각 분획은 세포독성을 유발시킬때 농도별로 동시에 처리하였다.

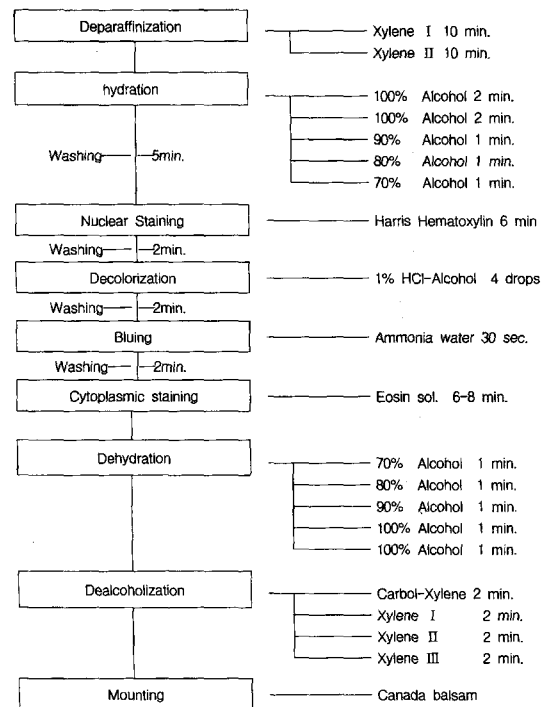
CCl₄ 중독 간손상 유발 - Rat 10마리를 1군으로 하여 실험군은 10일간 홍삼복합방을 경구투여하고, 대조군은 생리식염수를 경구투여한 후 마지막 투여 1시간 후에 CCl₄와 olive oil을 1:3으로 섞은 용액을 0.5 ml/200 g으로 경구투여하여 간손상을 유발시켰다. 간손상 유발후 24시간후에 ether로 마취하여 심장에서 채혈하여 혈청을 얻어 간기능 검사에 사용하였다.⁶⁾

간기능 검사 - 혈청중 AST 활성도 측정은 IFCC법으로, 혈청중 ALT 활성도 측정은 IFCC법으로, NAD의 형성비율(340 nm에서 흡광도의 감소율)을 직접 ALT 활성도로 계산하는 원리로서 자동생화학분석기(Express 550, Ciba-Corning co.)를 사용하여 측정하였고, 혈청중 Lactate dehydrogenase(LDH)치와 혈청중 Alkaline phosphatase(ALP)치 측정 Chemical analyzer(EXPRESS-550)으로 자동 측정 하였다.

사염화탄소와 알코올로 손상된 간조직 변화 - 적출한 간장을 10% 중성 formalin에 고정한 후 세절하여 흐르는 물에 8시간 수세한 다음 아래 scheme과 같은 과정을 거쳐 포매하였고, 이것을 microtome으로 절편을 만들어 Hematoxylin & Eosin염색을 하였다(scheme 1, 2).



Scheme 1. Procedure of preparing tissue slides.



Scheme 2. Harris hematoxylin & Eosin staining.

적혈구막의 활성산소에 대한 내성 측정 - Zhang 등의 방법⁷⁾에 따라 8주가 된 흰쥐의 혈액을 heparin 처리된 tube로 채혈하여 혈장은 취해서 버리고 적혈구층을 10 mM potassium phosphate buffered saline (pH7.4, PBS) 용액을 첨가하여 원심 분리(3,000 r.p.m,

10분)하였다. 3회 반복하여 적혈구를 세척한 다음 10 mM potassium phosphate buffered saline(pH7.4, PBS)용액으로 20% RBC용액을 만들었다. 이 용액 1 ml에 50 mM AAPH용액 1 ml과 계지홍삼탕(0.1, 0.25, 0.5, 1 mg/ml) 0.1 ml을 첨가하여 37°C에서 3시간 incubation하였다. Incubation후 계지홍삼탕 상층액을 50 ul을 취하여 2 ml saline 용액에 넣은 것을 A 용액이라 하고, AAPH만 처리된 상층액 50 ul을 취하여 2 ml 증류수에 넣은 것을 대조군 B용액이라 하였다. 각각의 두 용액을 잘 혼합한 다음 원심분리(3,000 r.p.m, 10분)하여 상층액을 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 그리고 [A용액의 흡광도/B용액의 흡광도] x100을 %hemolysis value로 계산하였다.

DPPH에 의한 free radical scavenging activity 측정 - Blois⁸⁾ 등의 방법을 이용하여 free radical인 0.5 mM DPPH 1 ml에 100 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4) 1 ml과 계지홍삼탕(0.1, 0.25, 0.5, 1 mg/ml)을 0.1 ml을 넣고 잘 혼합하였다. 혼합액을 37°C 압실에서 15분간 방치한 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

혈청 MDA 반응성 물질 측정 - Rat 10마리를 1군으로 하여 실험군은 계지홍삼탕을 25 mg/ml, 50 mg/ml로 경구투여하고 대조군은 생리식염수를 경구투여한 후 1시간 후에 AAPH를 50 mg/kg으로 복강 주사하였으며 AAPH처리 후 1, 3, 6시간 후에 심장에서 채혈하여 혈청을 분리하였다. Yagi등⁹⁾의 방법에 따라 혈청 100 ul에 1/12 N H₂SO₄ 4 ml과 10% phosphotungstic acid 0.5 ml을 첨가후 잘 혼합하여 실온에서 5분간 방치후 4000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 상층액을 제거한 후 침전물에 1/12 N H₂SO₄ 2 ml과 10% phosphotungstic acid 0.3 ml을 첨가하여 잘 혼합한 후 다시 원심분리하였다. 상층액을 제거한 후 침전물에 증류수 4 ml과 TBA reagent 1 ml을 첨가하여 호일로 싸서 95°C에서 1시간 방치한 후 흐르는 물에서 식힌다. n-butanol 5 ml을 첨가후 강하게 혼합하여 4000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 상층액을 excitation 515 nm, emission 553 nm에서 측정하였다.

통계처리 - Data는 SAS program을 이용하여 통계처리하였고 모든 data는 평균±SE(standard error)로 표시하였으며 각 측정인자들의 그룹간의 유의적인 차이는 GLM procedure를 이용하여 p value <0.05에서 검증하였다.

결과 및 고찰

약물간의 작용을 증시하는 본초방제학적 이론을 바탕으로 홍삼복합제에 대한 연구의 필요성이 제기되어 보간작용이 알려진 한약제를 배합한 홍삼복합방(GRF)의 보간 및 항산화작용을 고려홍삼과 비교 평가하였다.

In vitro에서 galactosamine에 의한 간손상에 미치는 영향 - 일차 배양의 쥐의 간세포를 이용하여 간 보호 작용을 갖는 천연물 검색이나 성분의 추적은 대부분 정상적인 간세포보다 간독성을 야기시키는 물질을 이용하여 인위적인 간세포 상해를 입힌 후 천연물이나 천연물의 분획이 손상된 간세포를 회복시키는 정도를 측정함으로써 가능한데, 간 독성 유도물질로는 galacto-samine과 CCl₄가 대표적인 물질로 알려져 있다. 특히 galactosamine은 저농도에서는 단백질과 RNA 합성을 억제하고 고농도를 사용할 경우 간세포막의 구조 및 기능에 변화를 일으켜 간세포 상해를 야기시키는 것으로 알려져 있다.¹⁰⁾ GPT는 정상에서 39.5이었으나 1.1 mM galactosamine을 처리하여 손상된 간세포에서는 62로 증가되었으나, 대조군에 대한 GPT 억제율은 50, 100, 200 ug/ml의 농도에서 고려홍삼은 44%, 7.5%, -8.5%로 고농도에서 약간의 독성을 나타냈으며, 고려홍삼 복합방은 57.7%, 57.7%, 53%로 단독 고려홍삼보다 저해율이 높게 나타났다 (Table I).

Table I. Effect of GR and GRF on hepatic injury induced by galactosamine

Group(n=10)	Dose(ug/ml)	GPT	Protection(%)
Normal	0	39.5	100
Control(Galn)	1.1 mM	62	0
	50	52	44
	200	64	-8
GR	100	59	7.5
	200	64	-8
	50	49	57.7
GRF	100	49	57.7
	200	53	40

Protection(%) =

$$\frac{(\text{mean of control(Galn)} - \text{mean of sample})}{(\text{mean of control(Galn)} - \text{mean of normal})} \times 100$$

CCl₄에 의한 간손상 보호효과 - CCl₄에 의한 간상해는 cytochrome P₄₅₀ mixed function oxidase system에 의하여 CCl₄가 free radical로서 지질의 과산화와 hepatic enzyme release를 일으켜 지방간을 초래하는 것으로 알려져 있다.¹¹⁾ Control군에서 AST, ALT와 LDH 농도는 normal군 보다 유의적으로 증가하였으며 홍삼복합방을 경구투여시킨 3그룹에서도 normal 보다 유의적으로 증가하였으며 control과의 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 control군 보다 낮아지는 경향을 보였다. ALP 농도는 control군과 GR군이 normal군 보다 유의적으로 증가하였고 control군에 비해서 GRF군에서 유의적으로 감소하였다

(Table II).

CCl₄에 의해 손상된 간조직의 병리학적 변화 - 사염화탄소에 의한 간손상에서 정상군은 간세포의 모양이 깨끗하고 퇴화나 변성이 없었지만(Fig. 1), 대조군에서는 간세포의 모양이 불분명하고 종창과 궤사가 심하며 색깔도 불분명하여 손상의 정도가 심함을 알 수 있었지만(Fig. 2), 상대적으로 GR 투여군에서는 간세포의 종창이 심하지 않았지만 지방변성이 관찰되었고, GRF군에서도 간세포의 종창이 미약하였지만 지방변성은 관찰되지 않아 가장 효과적인 것으로 나타나 고려홍삼 복합방이 궤사와 종창에 대한 보호효과가 있음을 알 수 있었다.

Table II. Effect of GR and GRF on level of aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, alkaline phosphatase and lactate dehydrogenase in CCl₄-treated rats

Group(n=10)	Dose(mg/kg)	AST(IU/L)	ALT	ALP	LDH
Normal		163.0±18.6 ^b	48.6±3.6 ^b	215.9±20.0 ^c	2197.1±339.0 ^b
Control		290.7±11.1 ^a	75.7±6.8 ^a	369.3±25.6 ^a	5965.0±555.2 ^a
GR	50	256.4±24.2 ^a	72.0±7.8 ^a	310.2±28.1 ^{ab}	5292.0±659.5 ^a
GRF	50	261.1±20.0 ^a	64.4±4.0 ^{ab}	269.9±21.7 ^{bc}	5000.0±924.4 ^a

The different alphabet means statistical significance(p <0.05) between groups.

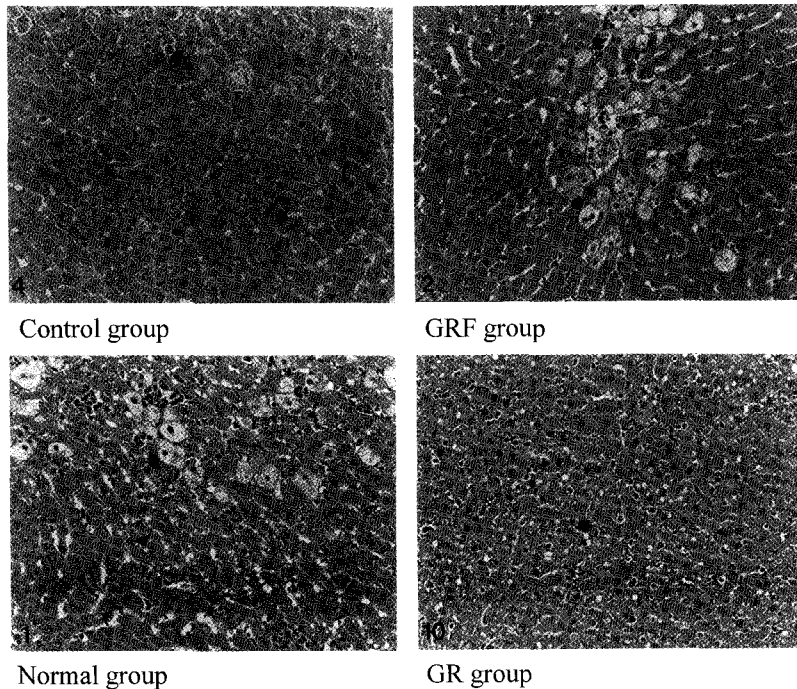


Fig 1. Light microscope of liver in normal group
 Fig 2. Light microscope of liver in control group
 Fig 4. Light microscope of liver in GR treated group
 Fig 10. Light microscope of liver in GRF treated group

In vitro 항산화 작용에 미치는 영향 - 적혈구막의 활성산소들의 공격에 대한 저항성을 측정하는 적혈구막의 효소활성에 대한 내성실험에서는 실험쥐에서 얻은 적혈구에 peroxy radical generator인 AAPH를 가하여 용혈되는 정도를 측정하였는데, oxidative stress에 의하여 유발되는 용혈정도는 적혈구막에 대한 활성산소에 대한 내성을 측정하는 기준이 되는데¹²⁾ GRF군에서 적혈구막의 hemolysis가 적게 일어나 활

성산소에 대한 내성이 가장 강하게 나타났으며 모든 군에서 농도의 양이 증가할수록 hemolysis가 감소됨을 알 수 있었다(Table III). DPPH에 의한 free radical scavenging activity test에서도 GRF군에서 좋은 효과가 나타났으며 1 mg/ml 농도에서는 standard로 사용된 BHT(0.5 mg/ml) 효과의 97.33%에 해당하는 효과를 나타내었다(Table IV).

In vivo 항산화 작용에 미치는 영향 - Free radical 반응에 의한 산화적 손상의 지표로서 혈청중에 존재하는 TBA 반응성물질(TBARS)의 함량을 측정 비교하였는데, TBA¹³⁾는 지질과산화물 뿐만 아니라 단백질의 산화물과도 반응하여 complex를 형성하기 때문에 생체내의 전체적인 oxidative stress에 대한 결과를 볼 수 있다. 따라서 본 실험에서는 free radical generator¹²⁾인 AAPH 모든 시간대에서 control군에서 normal군 보다 MDA 농도가 높게 나타났으며 특히 GRF군의 낮은 농도에서 시간에 따른 감소폭이 큰 것을 알 수 있었다(Table V).

Table III. Effect of GR and GRF on hemolysis % of erythrocytes *in vitro*

Group(n=10)	Dose conc. mg/ml	% hemolysis
GR	0.1	15.35
	0.25	14.50
	0.5	14.05
	1	11.05
GRF	0.1	7.10
	0.25	6.16
	0.5	4.72
	1	4.99

Table IV. Effect of GR and GRF on free radical scavenging activity

Group	Dose conc. mg/ml	% activity
BHT	0.5	100
GR	0.1	8.26
	0.25	8.40
	0.5	8.77
	1	11.40
GRF	0.1	20.78
	0.25	43.34
	0.5	78.71
	1	97.33

결 론

약물간의 작용을 증시하는 본초방제학적 이론을 바탕으로 홍삼복합제에 대한 연구의 필요성이 제기되어 보간작용이 알려진 한약제를 배합한 홍삼복합방(GRF)의 보간 및 항산화작용을 고려홍삼과 비교 평가하였다. 1.1 mM Galactosamine을 처리한 간세포에 대해 GPT를 측정하여 평가한 보호율이 GR은 50 ug/ml에서 44%, GRF는 50-100 ug/ml에서 58%로 유효하게 나타났고, ccl4 동물실험에서 ALT와 ALP는 GRF에서만 대조군에 비해 유의한 보호효과를 보였고 조직 병리도 대조군에서 간종창, 궤사, 지방변성이 있었지

Table V. Effect of GR and GRF on level of Malondialdehyde in AAPH-treated rats

Group(n=10)	Dose(mg/kg)	Time 1*(pmol/ml)	Time 3**	Time 6***
Normal		2.58 ± 0.05 ^d	2.58 ± 0.05 ^c	2.58 ± 0.05 ^b
Control		3.29 ± 0.05 ^a	3.12 ± 0.04 ^a	3.19 ± 0.08 ^a
GR	25	2.83 ± 0.10 ^{bc}	2.85 ± 0.06 ^b	2.63 ± 0.06 ^b
	50	2.79 ± 0.10 ^{cd}	2.90 ± 0.13 ^b	2.81 ± 0.11 ^b
GRF	25	3.06 ± 0.12 ^b	2.75 ± 0.08 ^{bc}	2.56 ± 0.22 ^b
	50	2.90 ± 0.04 ^{bc}	2.88 ± 0.04 ^b	2.75 ± 0.10 ^b

Data represents the mean ± SE

The different alphabet means statistical significance(p < 0.05) between groups.

* : 1 hour after treatment of AAPH

** : 3 hour after treatment of AAPH

*** : 6 hour after treatment of AAPH

만 실험군에서 모두 간 보호효과를 보였지만 GRF가 가장 효과적이었다. 항산화효과의 측정에서 GR과 GRF가 모두 hemolysis를 억제하였고, DPPH에 대한 scavenging activity를 증가시켰지만 GRF가 보다 우수하였고, AAPH 처리후 1,3,6 시간별 MDA 측정은 GR은 AAPH 처리후 1시간에, GRF는 시간이 경과함에 따라 점차 대조군에 비해 유의한 항산화효과를 나타냈다. 이상의 결과로 보아 홍삼복합방과 단독 홍삼은 항산화작용을 통해 보간작용을 나타내는 것으로 사료된다.

사 사

이 연구는 고려인삼학회 1999년도 자유공모과제에 의해 수행된 일부 내용인 바 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. 강소중의학원편 (1978) 중약대사전 상편, 상무인서관, 29-33.
2. 한국인삼연초연구원 (1996) 최신고려인삼(성분 및 효능편), 1-3, 56-115.
3. 김완기 등편(1993) 고려삼의 임상효과(임상실험효과 연구 제1집), 171-182, 한국담배인삼공사
4. 허준 (1976) 동의보감, 남산당, 720.
5. Berry, M. N., Friend D.S. (1969) Primary culture of rat hepatocytes, *J. Cell. Biol.* 43: 506-520.
6. Denis P., Jules B.Gapriel L. P. (1988) Potentiation of ccl4 induced liver injury by ketonic and ketogenic compounds:role of the ccl4 dose, *Toxicology and applied phramacology* 94: 183-190.
7. Zhang, A.Q., Zhu Q.Y., Luk, Y. S.(1997) Inhibitory effects of jasmine green tea epicatechin isomers on free radical-induced lysis of red blood cells. *Life Sciences* 61: 383-394.
8. Blois, M.S.: Antioxidant determination by use of stable free radical. *Scienc*, 181: 1199-1200 (1958).
9. Yagi K(1976) A simple fluorometric assay for lipidperoxide in blood plasma. *Biochem Med.* 15: 212-216.
10. Kiso, Y. M. and Hikino H. (1983) Assay method for anti-hepatotoxic activity using galactosamine-induced cytotoxicity in primary cultured hepatocytes. *J. Nat. Prod.* 46: 841.
11. Cotran kumar Robinsons (1989) Robinson pathologic basis of disease. W.B. Saunders Co. 13-14. 21: 945-946.
12. Niki, E., Komuro, E., Takahashi, M., Urano, S., Ito, E. and Terao, K. (1988) Oxidative hemolysis of erythrocytes and its inhibition by free radical scavengers. *J. Biol. Chem.* 263: 19809-19814.
13. Yu, B.P., Lee, D.W., Marler, C.G. and Choi, J.H. (1990) Mechanism of food restriction ; Protection of cellular hemeostasis. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 193: 13-15.
14. Zhan, Hao, Uliu Chuangui, Zhaou, Jianhuang (1989) Protective effects of Lycium barbarum polysaccharide against physical stress and CCl4 induced tissue lipid metabolism changes in rats and mice. *Zhongguo Yaolixue Yu Dulixue Zazhi.* 3(3): pp.164-168.

(2000년 10월 12일 접수)