

Paraquat를 투여한 생쥐 간에서 홍삼 사포닌의 항산화 효소 활성과 전기영동에 관한 연구

전 철 · 김동조 · 성금수 · 김종환* · 김지식* · 장재철#

군산대학교 화학과, *군산대학교 생물학과
(2001년 7월 25일 접수)

The Study of Hepatic Antioxidative Enzyme Activity and Electrophoresis in Mice After Treatment with Paraquat and/(or) Ginseng Saponins

Chul Chun, Dong Jo Kim, Kum Soo Sung, Jong Hwan Kim*,
Ji Sik Kim* and Che Chul Chang#

Department of Chemistry, Kunsan National University

*Department of Biology Science, Kunsan National University, Kunsan, 575-701, Korea

(Received July 25, 2001)

Abstract : This study examined effects of the active ingredients from ginseng on paraquat (PQ) toxicity. Mice were given PQ (25 mg/kg, ip) and then they were given total saponins (TS; 5 mg/kg, orally), protopanaxadiol (PD; 5 mg/kg, orally) and protopanaxatriol (PT; 5 mg/kg, orally) per day for periods of 1, 3 & 7 days. We measured the activities of superoxide dismutase (SOD), electrophoretic isozyme band, catalase (CAT) were compared in the liver of mouse that dose with PQ and/or TS, PD and PT. The activities of SOD, CAT were generally higher in PQ+PD group than others groups. Especially the activity of SOD was the highest in PQ+PD group than others groups. SOD isozyme separated into three bands by electrophoresis. One band was located to near the anode side and two bands were cathode side. As the results of treated with KCN, we were confirmed that the Cu, Zn-SOD was located to near the anode side but the Mn-SOD were cathode side. Our results suggested that an antioxidant effect of ginseng saponins elevated a protection ability to an oxidative damage by direct action of SOD, CAT and reinforced the synthetic ability of endogenous antioxidant material in living organism. Particularly, PD was a effective antioxidant compared with others.

Key words : protopanaxadiol (PD), protopanaxatriol (PT), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT)

서 론

생체가 외부로부터 방사선이나 자외선을 조사 받거나 중금속 등에 의한 체내 오염, 합성 약물의 남용 그리고 과도한 물리적, 정신적 스트레스 등을 받게 되면 생체내의 생화학적 반응에 의하여 자유 라디칼들이 생성되고 이 자유 라디칼들에 의하여 세포나 조직이 구조적, 기능적 손상을 받게 되거나 또는 과산화 지질 등의 생성으로 인하여 노화가 촉진된다.^{1,2)}

이러한 자유 라디칼로부터 생체를 보호하는 방어체계로서 SOD, CAT 및 glutathione peroxidase 등 내인성 항산화

효소³⁾가 있음이 밝혀졌으며, 이러한 항산화 효소는 조직 내에서 생성되는 자유 라디칼들을 포착 제거할 수 있다고 보고되고 있다.

Paraquat(PQ; N,N'-dimethyl-4,4'-bipyridinium : methyl viologen)는 1950년대 광범위하게 사용된 제초제의 일종으로, 1958년 영국 ICI사에서 개발하여 Gramoxone이라는 상품명으로 시판된 유기 염소계 비 선택성 제초제로서,⁴⁾ 미생물이나 식물, 동물, 인간 등에 치명적인 독성을 나타내는 것으로 알려져 있다. 이러한 독성 물질의 생산은 세포 내의 효소작용-cytochrome P450 reductase,⁵⁾ glutathione reductase,⁶⁾ diaphorase⁷⁾에 의한 PQ²⁺의 순환적 환원에 의한 PQ 라디칼의 자동산화가 슈퍼옥사이드(O₂·⁻)의 생성을 이끄는 것으로 알려져 있다.

한편 최근 홍삼 성분과 관련한 연구를 살펴보면 PQ 유인 독

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

성에 대한 항산화 작용을 한다는 보고,⁸⁾ Rb₁, Rg₁의 항 지질과산화 효과,⁹⁾ 진세노사이드 Rd가 신장독성에 대한 보호작용,¹⁰⁾ protopanaxadiol(PD) 분획물중 Rb₁ 보다 Rb₂가 특이적으로 SOD1 유전자를 잘 유도한다는 보고,¹¹⁾ 총 사포닌(TS), PD, protopanaxatriol(PT)의 지질과산화 생성 억제효과에 대한 보고¹²⁾ 등이 있으며, 한편으로 Kim 등¹³⁾은 홍삼 사포닌의 구성 성분인 진세노사이드 9종류가 항산화 효소에 미치는 영향을 조사한 결과, 진세노사이드 Rh₂만이 CAT의 활성을 대조군보다 유의성 있게 증가시켰고, 진세노사이드 Rb₁ 및 Rc는 glutathione peroxidase 활성을 증가시켰다고 보고한 바 있다.

홍삼 추출물이나, 진세노사이드에는 항산화 활성과 노화효과가 있는 것으로 많은 보고¹⁴⁻¹⁶⁾가 있으나, 홍삼 성분 중 가장 활성을 증가시키는 항산화 활성 성분이 무엇인지에 대한 연구 결과는 일치하지 않고 있다. 따라서 보다 세부적으로 홍삼 추출물을 분리 정제하여 보다 구체적인 항산화 효과를 가져오는 성분이 무엇인지 알아보기 위해서 본 연구에서는 실험 동물로 생쥐를 이용하여 PQ 투여 후 TS, PD, PT 등을 1, 3, 7일간 경구 투여한 후, 간 조직에서의 SOD, CAT의 항산화 효소 활성도 변화 및 전기영동상의 변화를 측정 비교함으로써 홍삼의 항산화 활성 성분이 PQ 독성에 대한 항산화 효소 활성 증대 효과를 연구하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

(1) 실험동물 및 시약

실험 동물은 녹십자(주) 지정사육소인 경남축산에서 분양 받은 4주령의 수컷 생쥐를 실험동물용 사료로 7일간 사육시킨 후, 실온이 20~25°C, 습도 50~60%, 12시간 명암주기의 사육 조건에서 사료와 물을 자의로 먹게 하여, 체중이 25~30 g인 생쥐를 사용하였다. 실험에 사용한 PQ, xanthine oxidase, cytochrome c, hydrogen peroxide, bovine serum albumin, Folin-ciocalteus phenol reagent 등의 시약은 Sigma사의 제품을 사용하였고, 기타 ethyl alcohol을 비롯한 일반 시약은 특급을 사용하였다. 홍삼 사포닌은 고,¹⁷⁾ 김¹⁸⁾ 등의 방법에 따라 제조한 후 실리카겔 크로마토그래피¹⁹⁾로 분리 정제한 시료를 한국 인삼연초연구원으로부터 제공받아 사용하였다.

(2) 실험 동물 처리

ICR계 생쥐 5마리를 1군으로 하여 무처리군을 대조군으로 하고 PQ 투여군, PQ+TS 투여군, PQ+PD투여군, PQ+PT 투여군 등 5가지로 분류하여, 대조군에는 생리식염수를, 실험군에는 PQ(25 mg/kg, single dose)를 복강 투여 한 후 각

홍삼 사포닌을 생리식염수에 녹여 5 mg/kg/0.1 ml 용량으로 1, 3, 7일간 경구 투여 한 후 실험하였다.

(3) 분석 시료 처리

홍삼 사포닌을 1, 3, 7일간 경구 투여 한 후 24시간 절식 시킨 실험 동물을 경추탈구 한 후, 간 조직을 적출하고, 간 조직의 일부분을 취하여 세 번 생리적 식염수로 세척하여 혈액을 제거한 다음, sucrose/EDTA(0.25M/1 mM) 냉 용액을 넣고 마쇄기(glass teflon homogenizer)로 분쇄하여 10% 균질액을 만들었다. 이 균질액을 원심분리(20,000×g, 20분)한 후 상등액을 시료로 사용하여 SOD, CAT 활성도와 단백질 함량 및 전기영동상의 변화를 측정하는 시료로 사용하였다.

2. 실험방법

(1) SOD, CAT의 항산화 효소 및 단백질 함량 측정

전보²⁰⁾와 같이 SOD는 Flohe와 Otting의 방법²¹⁾을, CAT는 Aebi 방법²²⁾을 사용하였으며, 조직의 단백질 함량은 bovine serum albumin을 표준물질로 사용하여 Bradford 방법²³⁾에 따라 측정하였다.

(2) SOD Isozyme 전기영동

SOD isozyme의 전기영동은 10% polyacrylamide gel을 사용하여 Laemmli의 방법²⁴⁾에 따라 실험하였으며, isozyme band의 발색은 전기영동이 끝난 gel을 Rao 방법²⁵⁾에 따라 2.5 mM NBT 용액에 25분 동안 반응시킨 후 암실에서 50 mM 인산 완충액으로 20분간 반응시킨 후 증류수에서 50분 동안 광 반응시켰다. 발색이 끝난 gel은 7.5% glacial acetic acid 용액에 저장하였고, Cu, Zn-SOD isoforms의 규명은 3 mM KCN or 5 mM H₂O₂에서 30분간 전처리 한 뒤 상기의 발색 과정에 따랐다.

(3) CAT Isozyme 전기영동

CAT isozyme의 전기영동은 7% polyacrylamide gel를 사용하여 Laemmli의 방법에 따라 실험하였으며, isozyme band의 발색은 영동이 끝난 겔을 Anderson 등²⁶⁾ 방법에 따라 3.27 mM H₂O₂에 25분 동안 반응시킨 후 증류수로 세척한 다음 겔을 1%(w/v) potassium ferricyanide와 1%(w/v) ferric chloride용액에 30분간 발색시켰다. 발색이 끝난 gel은 7.5% glacial acetic acid 용액에 저장하였다.

(4) 통계처리

모든 실험결과의 통계처리는 Sigma plot에 의한 student's t-test를 이용하여 상호 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

1. SOD 활성도 변화

생쥐 간 조직에서 SOD 활성도는 Fig. 1에서 보는 바와

같이 1일째 대조군은 93.78±9.79 unit(U)/mg protein, PQ 투여군은 95.41±4.02 U/mg protein이며, 3일째 대조군은 92.57±6.04 U/mg protein, PQ 투여군은 97.84±7.50 U/mg protein이며, 7일째 대조군은 85.70±5.47 U/mg protein, PQ 투여군은 82.51±5.30 U/mg protein이었다. 일반적으로 PQ 투여 후 홍삼 사포닌 투여군은 대조군과 PQ 투여군 보다 모두 활성도 증가를 보였다.

상호 유의성을 검정한 결과 대조군에 비하여 PQ+TS, PQ+PD 투여군이 3, 7일째 유의성(p<0.05) 있게 증가하였고, PQ 투여군을 대조군으로 하여 비교한 결과 사포닌 투여군 모두 1일째, 3일째는 증가하였고 7일째는 PQ+TS (p<0.05), PQ+PT(p<0.05), PQ+PD(p<0.01) 투여군이 유의성 있게 증가하였다. 또한, PQ+TS 투여군을 대조군으로 하여 PD, PT를 비교해 본 결과 PQ+PD 투여군이 PQ+PT 투여군 보다 높은 활성을 보였다.

이러한 SOD의 활성도 결과에 대해서, Kim 등¹⁵⁾은 SOD 유전형 전사를 하는데 있어서 TS와 PT은 전사 유도를 증가시키지 못하는 반면 PQ+PD군은 유의성 있게 증가시키며, Chang 등¹¹⁾은 PD성분의 함유량비 증가에 비례적으로 유해산소제거효소의 전사촉진이 대조군에 비해 3배 이상 촉진됨을

관찰할 수 있었다는 보고, Wang 등²⁷⁾이 활성산소의 손상으로 부터 PD와 PT의 SOD 활성도를 조사한 결과 PD가 PT보다 활성도가 높음을 보고한 바 있다.

또한 산화적 스트레스에 대하여 진세노사이드 Rd 투여가 SOD 활성을 증가 시킨다는 보고^{10,14)}와 본 실험과 유사한 결과를 보였다.

이러한 결과를 종합하여 볼 때 PD성분이 SOD의 활성도를 가장 유의성 있게 증가시키는 것으로 생각되며, 앞으로 PQ의 투여량 조정과 홍삼 사포닌의 세분화된 분획물 투여, 투여량 및 투여일에 따라 다양하고 지속적인 실험이 수행되어야 될 것으로 생각된다.

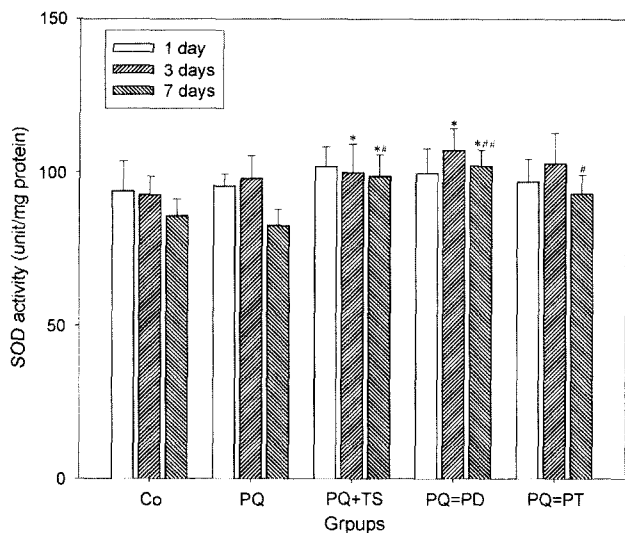


Fig. 1. Effect of red ginseng saponins on the activity of SOD in the hepatic of mice treated with paraquat. Co, control: saline were orally administered. PQ: paraquat (25 mg/kg, single dose) was ip on 1st day. TS: total saponin (5 mg/kg, 0.1 ml) were orally administered for 1, 3, 7days after 1 day PQ treatment. PD: protopanaxadiol saponins (5 mg/kg, 0.1 ml) were orally administered for 1, 3, 7days after 1 day PQ treatment. PT: protopanaxatriol saponins (5 mg/kg, 0.1 ml) were orally administered for 1, 3, 7days after 1 day PQ treatment. *p<0.05, **P<0.01 : Significantly different from control group. #p<0.05, ##p<0.01 : Significantly different from paraquat group.

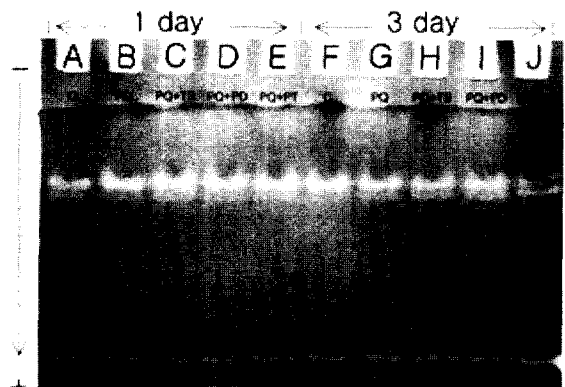


Fig. 2. Photograph of polyacrylamide gel stained for SOD activity in the hepatic of mice treated with PQ and/or red ginseng saponins. A~E; treated with PQ and/or TS, PD, PT for 1 day. F~J; treated with PQ and/or TS, PD, PT for 3 days. A, F; control. B, G; PQ. C, H; PQ+TS. D, I; PQ+PD. E, J; PQ+PT.

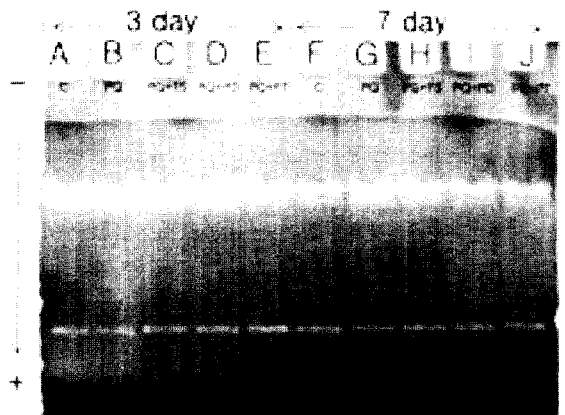


Fig. 3. Photograph of polyacrylamide gel stained for SOD activity in the hepatic of mice treated with PQ and/or red ginseng saponins. A~E; treated with PQ and/or TS, PD, PT for 3 days. F~J; treated with PQ and/or TS, PD, PT for 7 days. A, F; control. B, G; PQ. C, H; PQ+TS. D, I; PQ+PD. E, J; PQ+PT.

2. Superoxide dismutase isozyme 전기영동

SOD isozyme은 3개의 band로 염색강도가 강하게 발현되었으며, 음극 쪽에 2개의 band가 상대적으로 약하게 발현되었고, 양극 쪽으로 1개의 band로 구성되었다(Fig. 2, 3). 그리고 KCN 전처리를 통해서 음극 쪽에 위치해 있는 2개의 band가 Mn-SOD이고 양극 쪽에 위치해 있는 1개의 band가 Cu, Zn-SOD임을 확인할 수 있었다(Fig. 4, 5). 한편, 각 실험조건에 따른 SOD isozyme 전기영동상의 band수와 염색강

도의 변화는 나타나지 않았다. Choi²⁸⁾는 산화적 스트레스에 대한 SOD isozyme은 Cu, Zn-SOD, Mn-SOD으로 구성된 2개의 band가 나타났으나, 염색강도의 변화는 확인 할 수 없었다고 보고하였으며, Chang 등¹¹⁾은 PD계 사포닌이 유해산 소제거효소 전사 유도를 증대시킨다고 보고하였다. 하지만, 본 실험에서 나타난 band 수와 염색강도의 변화를 확인 할 수 없는 결과는 동일하게 나타났으며, 전기영동상의 isozyme band 수 및 염색강도의 변화를 확인하기 위해서는 앞으로 좀 더 많은 연구가 병행되어야겠다.

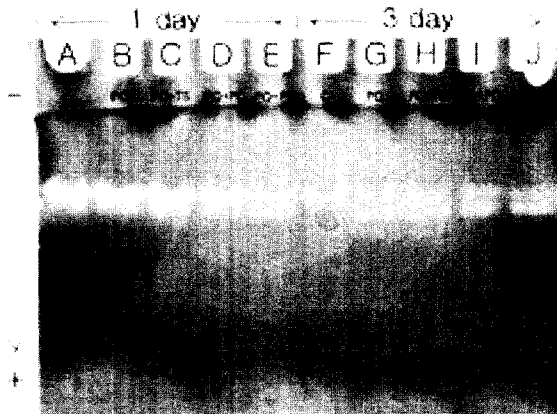


Fig. 4. Photograph of polyacrylamide gel stained for SOD activity in the hepatic of mice treated with PQ and/or red ginseng saponins. The gels were incubated with 3 mM KCN or 5 mM H₂O₂ for 30 min before staining for SOD activity. A~E; treated with PQ and/or TS, PD, PT for 1 day. F~J; treated with PQ and/or TS, PD, PT for 3 days. A, F; control. B, G; PQ. C, H; PQ+TS. D, I; PQ+PD. E, J; PQ+PT.

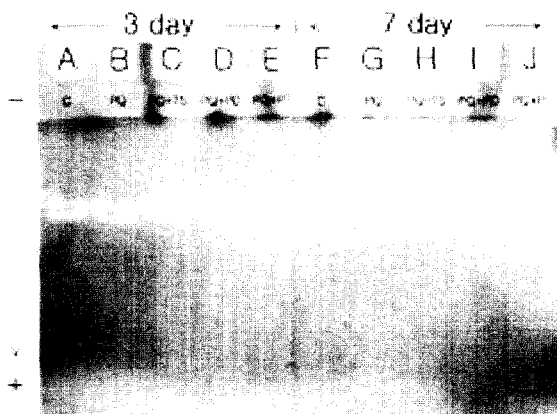


Fig. 5. Photograph of polyacrylamide gel stained for SOD activity in the hepatic of mice treated with PQ and/or red ginseng saponins. The gels were incubated with 3 mM KCN or 5 mM H₂O₂ for 30 min before staining for SOD activity. A~E; treated with PQ and/or TS, PD, PT for 3 days. F~J; treated with PQ and/or TS, PD, PT for 7 days. A, F; control. B, G; PQ. C, H; PQ+TS. D, I; PQ+PD. E, J; PQ+PT.

3. CAT 활성도 변화

CAT 활성도는 Fig. 6에서 보는 바와 같이 1일째 대조군은 150.46±12.09 unit(U)/mg protein, PQ 투여군은 151.12±10.9 U/mg protein이며, 3일째 대조군은 123.18±11.08 U/mg protein, PQ 투여군은 132.47±12.7 U/mg protein이며, 7일째 대조군은 146.33±9.28 U/mg protein, PQ 투여군은 174.00±11.4 U/mg protein이었다. 대조군과 PQ 투여군을 비교해 보면 1일째는 비슷한 활성도를 보였으나 3일째와 7일째에서는 각각 8%, 19%로 활성도 증가를 보였고, 홍삼 사포닌 투여 날짜별로 비교해 보면 1일째에 비하여 3일째는 전반

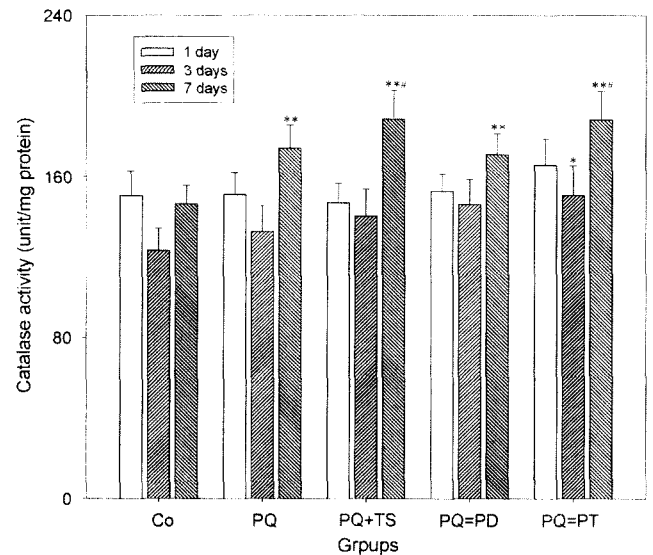


Fig. 6. Effect of red ginseng saponins on the activity of catalase in the hepatic of mice treated with paraquat. Co, control: saline were orally administered. PQ: paraquat (25 mg/kg, single dose) was ip on 1st day. TS : total saponin (5 mg/kg, 0.1 ml) were orally administered for 1, 3, 7days after 1 day PQ treatment. PD: panaxadiol saponins (5 mg/kg, 0.1 ml) were orally administered for 1, 3, 7 days after 1 day PQ treatment. PT: panaxatriol saponins (5 mg/kg, 0.1 ml) were orally administered for 1, 3, 7 days after 1 day PQ treatment. *p<0.05, **P<0.01 : Significantly different from control group. #p<0.05 : Significantly different from paraquat group.

적으로 감소하는 경향을 보였으나, 7일째는 1일째 보다 활성 증가를 보였다.

PQ 투여 후 홍삼 사포닌 투여군은 대조군과 PQ 투여군 보다 모두 활성의 증가를 보였다. 한편, PQ 투여 후 홍삼 사포닌 투여군 사이에서의 활성을 비교해 보면 1일, 3일째에 PQ+PT 투여군이 다른 투여군에 비해서 활성이 증가하였으며, 7일째에는 PQ, PQ+TS, PQ+PD, PQ+PT 투여군의 활성도가 유의성($p < 0.01$) 있게 증가하였으며, PQ 투여군 대비 PQ+PD와 PQ+PT 투여군을 비교하면 날짜 별로 조금씩 활성도에 차이가 있으나 일정한 경향은 보이지 않았다.

이러한 실험 결과에 대해서 Deng 등⁹⁾의 산화적 스트레스로부터 ginsenoside Rg₁ 투여가 H₂O₂, OH·, OCl⁻의 생성을 억제하는 CAT의 활성을 증가시킨다는 보고와 Kim 등¹³⁾의 9종의 사포닌 분획물을 생쥐에 투여한 결과 G-Rh₂ 만이 CAT 활성을 유의성($p < 0.05$) 있게 증가한다고 보고, 전 등²⁹⁾의 감마선 조사군은 대조군에 비하여 활성도가 증가하다가 감소하는 경향인 반면에 홍삼추출물 투여군의 활성도는 감마선 조사군에 비해서 빠르게 회복됨을 관찰할 수 있었다고 보고한 내용과도 유사하였다.

이러한 결과를 볼 때 홍삼 사포닌 분획물을 투여함으로써 CAT 활성을 높여주고, 사포닌 분획물의 종류에 따라 CAT 활성도에 차이가 나타남을 볼 수 있었다. 또한 최근에 PD계 사포닌이 PT 사포닌 보다 항산화 활성이 있는 것으로 보고¹¹⁾되고 있으나 PQ로 유도된 산화적 스트레스에서는 PT 사포닌이 더 활성으로 나타내는 것으로 조사되어 앞으로 그 활성 분체 및 효소 활성 증가의 작용을 좀더 폭넓게 규명해야 할 것으로 생각된다.

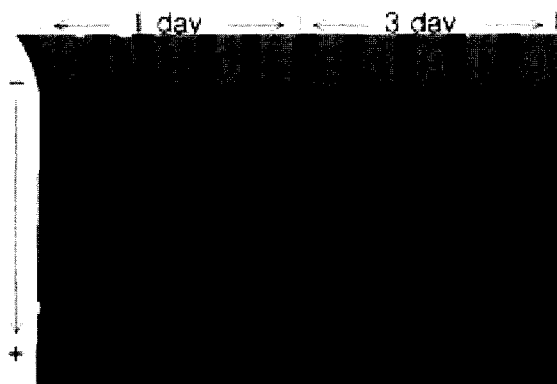


Fig. 7. Photograph of polyacrylamide gel stained for CAT activity in the hepatic of mice treated with PQ and/or red ginseng saponins. A~E; treated with PQ and/or TS, PD, PT for 1 day. F~J; treated with PQ and/or TS, PD, PT for 3 days. A, F; control. B, G; PQ. C, H; PQ+TS. D, I; PQ+PD. E, J; PQ+PT.

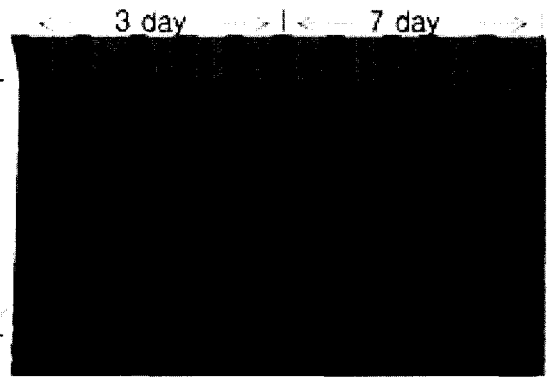


Fig. 8. Photograph of polyacrylamide gel stained for CAT activity in the hepatic of mice treated with PQ and/or red ginseng saponins. A~E; treated with PQ and/or TS, PD, PT for 3 days. F~J; treated with PQ and/or TS, PD, PT for 7 days. A, F; control. B, G; PQ. C, H; PQ+TS. D, I; PQ+PD. E, J; PQ+PT.

4. Catalase isozyme 전기영동

CAT isozyme은 음극 쪽에 강하게 발현되는 1개의 band로 나타났다(Fig. 7). 한편, 각 실험 조건에 따른 CAT isozyme 전기영동상의 band수와 염색강도의 변화는 확인 할 수 없었다(Fig. 8). Choi²⁸⁾는 산화적 스트레스에 대한 catalase isozyme의 염색강도가 상대적으로 약한 1개의 band가 음극쪽에 위치하였고, 강한 1개의 band로 구성된 두 개의 band가 나타났으며 band수의 변화는 나타나지 않은 반면 염색강도는 다소 감소하는 경향을 나타내었다고 보고하였으며, Chang 등¹¹⁾은 PD, PT계 사포닌 중에서 PD계 사포닌이 유해산소 제거효소 전사 유도를 증대시켜 CAT의 활성을 증대시킨다고 보고하였으나, 본 실험에서 나타난 band수와 염색강도 변화로는 확인 할 수 없었다. 이러한 전기영동상의 명확한 염색강도의 변화를 확인하기 위해서는 앞으로 좀더 많은 연구가 진행되어야 한다고 사료된다.

요 약

ICR계 4주령 생쥐에 PQ를 투여한 후 TS, PD, PT를 경구 투여하여 생쥐 간에 미치는 항산화 효소(SOD, CAT) 활성 증대 효과를 알아보기 위하여 효소 활성도와 전기영동상 밴드의 변화를 조사하였다. SOD의 활성은 PQ+PD 투여군, CAT의 활성은 PQ+PD 투여군이 활성화되었으며, SOD isozyme은 전기영동상에서 3개의 밴드를 나타내었는데 이중 한 개의 밴드는 음극에 가까이 위치하고 다른 2개의 밴드는 양극 쪽에 위치하였고, KCN 처리한 결과 Cu, Zn-SOD는 음극 쪽에 위치한 반면 Mn-SOD는 양극 쪽에 있었다. 이러한 결과를 종합하여 볼 때 홍삼 사포닌의 항산화 효과는 항

산화 효소인 SOD, CAT의 직접적인 작용으로 인하여 산화적 손상에 대한 보호 능력을 증대시키는 것으로 생각된다.

인용문헌

- Bawman, P. D. : Aging and the cell cycle *in vivo* and *in vitro*. In "CRC handbook of cell biology of aging" Cristofalo, V. J. Adelman, R. C. and Roth, G. S.(eds.), CRC press, Florida, pp. 117 (1986).
- Stocker, R. and Frei, B. : Endogenous antioxidant defences in human blood plasma. In "Oxidative stress" Sies, H.(eds.), Academic Press, New York, pp. 213 (1991).
- Kinnula, V. L., Crapo, J. D. and Raivio, K. O. : *Lab Invest.*, **73**, 3 (1995).
- Windholz, M. : The merck index. MERCK & CO, 10th edi. USA, No.6894 (1983).
- Gage, J. C. : *J. Biochem*, **109**, 757 (1968).
- Richmond, R. and Halliwell, B. : *J. Inorg. Biochem.*, **17**, 95 (1982).
- Liochev, S. I. and Fridovich, I. : *Free Radic Biol Med.*, **16**, 555 (1994).
- 이화재, 김동윤, 장재철 : *고려인삼학회지*, **23**, 182 (1999).
- Deng, H. L. and Zhang, J. T. : *Chin. Med. J.*, **104**, 395 (1991).
- Yokozawa, T., Liu, Z. W. and Dong, E. : *Nephron*, **78**, 201 (1998).
- Chang, M. S., Choi, K. J. and Rho, H. M. : *J. Ginseng Res.*, **23**, 44 (1999).
- Choi, J. H. and Oh, S. K. : *Korean Biochem. J.*, **17**, 445 (1984).
- Kim, J. S., Kim, K. W., Choi, K. J., Kwak, Y. K., Im, K. S., Lee, K. H. and Chung, H. Y. : *J. Ginseng Sci.*, **20**, 173 (1996).
- Yokozawa, T. and Owada, S. : *Nephron*, **81**, 200 (1999).
- Kim, Y. H., Park, K. H. and Rho, H. M. : *J. Biol. Chem.*, **271**, 24539 (1996).
- Sung, J. H., Hasegawa, H., Ha, J. Y. and Park, J. D. : *Kor. J. Pharm.*, **28**, 35 (1997).
- Ko, S. R., Kim, S. C. and Choi, K. J. : *Kor. J. Pharmacogn.*, **23**, 24 (1992).
- Kim, S. K., Kwak, Y. S., Kim, S. Y., Hwang, S. Y., Ko, Y. S. and Yoo, C. M. : *J. Ginseng Res.*, **22**, 155 (1998).
- Shibata, S. : *Proceedings of International Ginseng Symposium*, 69 (1974).
- 김경현, 성금수, 장재철 : *고려인삼학회지*, **24**, 162 (2000).
- Flohe, L. and Otting, F. : *Methods in Enzymology*, Academic Press, New York, 105, pp.101 (1984).
- Aebi, H. E. : *CAT. Insight : Methode of enzymatic An analysis*. H. U. Bergmyer, ed. Third edition. Vol 3. Verlag. Chemi. Weinheim, p. 273 (1982).
- Bradford, M. M. : *J. Anal. Biochem.*, **72**, 248 (1976).
- Laemmili, U. K. : *Nature*, **227**, 680 (1970).
- Rao, M. V., Paliyath, G. and Ormrod, D. P. : *Plant Physiol.*, **110**, 125 (1996).
- Anderson, M. D., Prasad, T. K. and Steward, C. R. : *Plant Physiol.*, **109**, 1247 (1995).
- Wang, X. M., Jiang, Y., Zhong, G. G. and Sun, X. X. : *Chung Kuo Chung Yao Chin.*, **18**, 113 (1993).
- Choi, G. J. : *Pestic. Biochem. Physiol.*, **59**, 1 (1997).
- 전 철, 장재철 : *고려인삼학회지*, **17**, 29 (1993).
- Yamaoka, K., Edamatsu, R. and Mori, A. : *Free. Radic. Biol. Med.*, **11**, 299 (1991).