

## 생약의 Glutathione S-transferase 활성과 Hyaluronidase 저해효과

차배천\* · 이은희 · 조재용

상지대학교 생명자원과학대학 생명산업학과

### Glutathione S-transferase Activity and Hyaluronidase Inhibitory Effect of Medicinal Plants

Bae Cheon Cha\*, Eun Hee Lee, and Jae Yong Cho

Department of Bio-Industry and Technology, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

**Abstract** – This study was carried out to evaluate glutathione S-transferase (GST) activity and hyaluronidase inhibitory effect of medicinal plants. The EtOH extracts of 20 species plants were tested. As the result, *Acorus gramineus* and *Pueraria lobata* exhibited GST activity. On the continuous experiment, the n-BuOH fraction of *Acorus gramineus* and the H<sub>2</sub>O fraction of *Pueraria lobata* showed the elevation of GST activity. On the experiment of hyaluronidase inhibitory effect, *Acorus gramineus* exhibited a potent inhibitory activity. These results suggest that the extract of *Acorus gramineus* can be applicable for the development of a new anti-inflammatory agent.

**Key words** – Glutathione S-transferase, Hyaluronidase inhibitory effect, Medicinal plants, *Pueraria lobata*, *Acorus gramineus*

현재 시판되어지고 있는 항염증제나 류머티스 관절염 치료제들은 우수한 소염 작용에도 불구하고 간 독성을 가지고 있는 것으로 알려져 있다.<sup>1-5)</sup> 특히 aspirin의 위장 장애에<sup>6)</sup> 대한 부작용을 개선하기 위해 개발된 acetaminophen은 심각한 간 독성을 가지므로<sup>7)</sup> 최근 개발된 acetaminophen 제제들은 이 부작용을 개선하기 위하여 methionine과 같은 해독 효과를 가진 약물을 배합시킨 약물들이 개발되어져 있다. 이와 같이 항염증 약물은 체내에서 소염 작용이라는 약효를 나타냄과 동시에 간 독성이라는 부작용의 양면성을 지닌 문제점을 가지고 있다. 이런 문제점을 극복하기 위해서는 항염증 효과와 함께 간에서의 약물대사 과정에서 독 작용이 아닌 해독효과를 가진 약물의 탐색이 필요하다.

간에서 일어나는 생체 내 약물대사는 주로 체내로 흡수된 약물이 약물자체 또는 약물대사효소에 의한 대사과정을 통해 활성 대사체로 변환되어 약효를 발현하고, glutathione S-transferase(GST) 등의 효소에 의해 포합반응을 거쳐 무독화되고 동시에 보다 높은 수용성을 획득하여 신장이나 담즙을 통하여 각각 뇨와 변으로 체외로 쉽게 배출되도록 한

다.<sup>8,9)</sup> 이와 같이 생체 내 약물대사 반응의 대부분은 효소가 촉매로 작용하여 반응을 촉진시키는 것으로 알려져 있으며 이처럼 일련의 약물의 극성화에 관계하는 효소군을 약물대사에 관여하는 효소라고 부르며, 이들 효소의 대표적인 것이 1상에서는 cytochrome P450(CYP450) 효소이고, 2상에서는 GST 효소이다. GST는 약물 및 단백질 알킬화체의 무독화 반응에 관여하는 약물대사효소로서 간에서는 가용성 단백질의 10%를 차지하고, 지금까지 rat의 간에서는 10%를 넘는 종류가 알려져 있고 사람에게 있어서도 다수의 종이 있는 것으로 알려져 있다. 이 효소는 glutathione (GSH)이 가지는 -SH기와 약물이 반응하도록 촉매하는 역할을 하는 효소로서, 수종의 화학물질들이 산화형으로부터 환원형으로 변환시키는 환원제로서의 작용과 포합체를 형성하는 반응을 촉진시킨다.<sup>10)</sup>

본 연구에서는 간 해독효과를 측정하기 위한 방법의 하나로 제2상에서 약물대사에 중요한 역할을 하고 있는 GST 효소의 활성화 정도를 측정하였다. 동시에 항염증 작용이 있는 물질을 검색하는 방법으로는 hyaluronidase의 저해효과를 조사하였다. Hyaluronidase는 glucuronic acid와 glucosamine이 반복하여 연결된 고분자 다당류인 hyaluronic acid의 분해효소이다.<sup>11)</sup> Hyaluronic acid는 염증 반응에 관여하

\*교신저자(E-mail) : bccha@sangji.ac.kr  
(FAX) : 033-730-0503

여 상처 치유 및 조절에 중요한 역할을 하고 있다. 고분자 hyaluronic acid는 염증 형성의 중요한 요소인 macrophage의 phagocytic ability를 저해한다. 반면, hyaluronic acid의 분해 산물 혹은 저분자 hyaluronic acid는 류머티스 관절염 등의 염증 환자에게서 특히 높은 농도로 관찰되고 있다. 이는 결국 고분자 hyaluronic acid의 분해효소인 hyaluronidase의 저해에 의해 hyaluronic acid의 고분자 형태를 유지하게 함으로서 항염증 효과를 기대할 수 있다.<sup>12)</sup>

따라서, 본 연구는 다양한 생약으로부터 간 해독작용과 함께 항염증 효과를 동시에 가지는 자원식물의 탐색을 위해 간 해독 효과는 GST 효소 활성의 측정에 의해 검색하고, 항염증 효과는 hyaluronidase 저해효과를 이용하여 20종의 생약에 대한 활성 효과를 조사하였다.

## 재료 및 방법

**실험재료** - 본 실험에 사용한 생약은 강원도 원주에서 시판되고 있는 생약을 구입하여 음건하고 세절하여 사용하였다. 이 식물들의 표본은 상지대학교 생명산업학과 응용천연물표본실에 보관중이다.

**실험기기 및 시약** - 성분 확인용 TLC plate는 Kiesel gel 60F<sub>254</sub>(Art. 5715, Merck)를 사용하였고, 효소 반응을 위한 glutathione S-transferase, 1-chloro-2,4-dinitrobenzene, 완충 용액 시약 및 환원형 glutathione과 hyaluronic acid, hyaluronidase는 Sigma사 제품을 사용하였다. 기타 시약은 Aldrich사 제품을 구입하여 사용하였고, 분석용매는 spectrometer용 용매를 사용하고 추출 용매는 1급 시약을 사용하여 실험하였다. 흡광도는 Milton-Roy spectronic Genesys-5 UV 측정기를 사용하였다.

**추출 및 분획** - 음건한 생약들은 각각 추출용기에 넣고 EtOH 500 ml 또는 1000 ml로 3회 환류 추출하여 얻어지는 용액을 농축하여 EtOH ext를 각각 얻었다. 갈근과 석창포는 얻어진 EtOH ext를 n-hexane, EtOAc 및 n-BuOH 순서로 H<sub>2</sub>O 1:1로 분배하여 얻어진 n-hexane, EtOAc, n-BuOH 및 H<sub>2</sub>O 용액을 농축하여 n-hexane, EtOAc, n-BuOH 및 H<sub>2</sub>O ext를 각각 얻었다.

**Glutathione S-transferase 활성반응 및 UV 분석법** - GST 활성은 환원형 GSH를 포함체로 하고 1-chloro-2,4-dinitrobenzene을 기질로 하는 포합 반응을 기초로 하여 실시하였다.<sup>13)</sup> GST 활성 상승의 기준이 되는 GSH와 기질의 포함체를 확인하기 위하여 다음과 같이 반응시킨 후 반응물에 대하여 UV 분석법을 검토하였다. 5 ml의 반응용 용기에 200 mM potassium phosphate 500  $\mu$ l와 GST 용액 100  $\mu$ l넣고 대조군에는 증류수 200  $\mu$ l와 GSH 용액 100  $\mu$ l

를 가한다. 반면 실험군은 증류수 199  $\mu$ l와 GSH 용액 100  $\mu$ l와 시료 1  $\mu$ l를 가한다. 이들 대조군과 실험군을 25°C에서 2분간 preincubation 시킨 후, 각각의 용기에 1-chloro-2,4-dinitrobenzene 100  $\mu$ l를 가한 후 25°C에서 1분간 반응시킨 후 20% TCA 100  $\mu$ l를 가하여 효소반응을 종결시킨 후 원심분리하고 상등액을 흡광도 UV 340-380 nm 범위 내에서 흡광도를 측정하였다.

**생약 EtOH extract 및 갈근, 석창포 분획의 GST 활성 측정** - 각 생약 EtOH ext를 DMSO 1 ml에 녹인 후 최종 농도가 0, 50, 100, 125, 250, 500, 1000  $\mu$ g/ml가 되도록 시료를 가한 후 GST 반응 및 UV 분석법에 따라 생약의 활성 상승 효과를 실시하였다. 동시에 우수한 효과를 나타낸 갈근과 석창포의 n-hexane, EtOAc, n-BuOH 및 H<sub>2</sub>O 분획에 대해서도 GST 활성 상승 효과를 실시하였다. 활성치는 실험군의 흡광도 수치를 대조군 수치와 비율로 계산하여 GST 활성을 50% 상승하는 농도를 내삽에 의해 구하고, 이를 EC<sub>50</sub> 값으로 하였다.

**Hyaluronidase의 저해활성 측정** - Hyaluronidase 억제 효과는 Rooster Comb에서 형성되는 N-acetylglucosamine의 양을 분광광도계로 측정함에 의해 활성을 판단하였다.<sup>14)</sup> 0.1 M acetate buffer(pH 3.5)에 녹인 hyaluronidase(7,900 unit/ml) 50  $\mu$ l에 생약 EtOH ext를 DMSO 1 ml에 녹인 후 최종 농도가 0, 50, 100, 125, 250, 500, 1000  $\mu$ g/ml가 되도록 20  $\mu$ l를 가하고, 효소의 활성화를 위해 12.5 mM의 CaCl<sub>2</sub> 200  $\mu$ l를 혼합한 후 37°C 수욕상에서 20분간 배양시켰다. 대조군은 생약의 EtOH ext 용액 대신에 DMSO 용액을 넣고 수욕상에서 20분간 배양하였다. Ca<sup>2+</sup>로 활성화된 hyaluronidase 용액에 0.1 M acetate buffer(pH 3.5)에 녹인 hyaluronic acid(12 mg/5 ml) 250  $\mu$ l를 첨가하여 다시 수욕상에서 40분간 배양하였다. 배양 후 0.4 N NaOH 용액 100  $\mu$ l와 0.4 M potassium tetraborate 100  $\mu$ l를 반응 혼합물에 첨가하여 끓는 수조에서 3분간 배양시킨 후 냉각시켰다. 냉각시킨 반응물에 dimethyl aminobenzaldehyde 용액(p-dimethyl aminobenzaldehyde 4 g, 100% acetic acid 350 ml 및 10 N HCl 50 ml 혼합액) 3.28 ml를 반응 혼합물에 첨가한 후 37°C 수욕상에서 20분간 배양한 후 585 nm에서 흡광도를 측정하였다. 저해비율은 다음과 같이 계산하고, 효소의 활성을 50% 저해하는 농도를 내삽에 의하여 구하고, 이를 IC<sub>50</sub> 값으로 하였다.

$$\text{Hyaluronidase Inhibition(\%)} = \frac{[(\text{ODc} - \text{ODs})/\text{ODc}] \times 100}{}$$

여기서 ODc는 대조군의 OD(optical density)이고, ODs는 시료 용액의 585 nm에서의 OD값이다.

## 결과 및 고찰

다양한 생약들로부터 우수한 간 해독효과를 나타내는 자 원식물을 탐색하기 위하여 기존의 GST 활성 측정 방법을 다음과 같이 변형하였다. GST 효소와 기질과 포합체를 사 용한 효소반응 후 최종적으로 생성된 포합체의 량을 측정 하는 UV 흡광도 측정에 있어서 지금까지 보고되어진 문헌 에 의하면 생성된 포합체가 파장 340 nm에서 최대 흡광도 를 나타내는 것으로 보고되어져 있다.<sup>15-19)</sup> 이 흡광도 수치는 수치가 증가되면 GST의 활성을 증가시켰다고 판단하는 지표로, 시료가 활성을 증대시키는가 아니면 억제시키는가 를 판단하는데 중요한 수치로서 사용되어지므로 효소반응 에 사용되는 시약뿐만 아니라 시료들도 340 nm에서 흡광 도를 나타내면 간섭 효과에 의해 활성 판단에 방해를 일으 킬 수 있다. 본 연구에서는 다양한 생약을 탐색하는 과정에 서 생약 자체가 340 nm에서 흡광도를 나타내는 황금과 황 백과 같은 생약들이 존재한다는 것이 밝혀졌다. 따라서 340 nm에서 380 nm까지 흡광도를 비교 측정한 후 생약자체가 가지는 흡광도의 간섭효과는 최소화하고 포합체의 흡광도 는 최대한 보장할 수 있는 파장을 검토한 결과 380 nm에서 GST의 활성을 측정하였다.

**Table I.** Glutathione S-transferase activity of ethanol extract of medicinal plants

Sample	EC <sub>50</sub> (μg/ml)
<i>Acorus gramineus</i> (석창포)	417.9
<i>Adenophora triphylla</i> (사삼)	>1000
<i>Amomum tsao-ko</i> (초과)	>1000
<i>Anemarrhena asphodeloides</i> (지모)	>1000
<i>Angelica gigas</i> (당귀)	>1000
<i>Atractylodes lancea</i> (창출)	>1000
<i>Croton tiglium</i> (과두)	>1000
<i>Eriobotrya japonica</i> (비파엽)	>1000
<i>Eucommia ulmoides</i> (두충)	>1000
<i>Glycyrrhiza glabra</i> (감초)	>1000
<i>Hordeum vulgare</i> (맥아)	817.3
<i>Lonicera japonica</i> (금은화)	850.3
<i>Paeonia obovata</i> (적작약)	>1000
<i>Phellodendron amurense</i> (황백)	>1000
<i>Plantago asiatica</i> (차전자)	>1000
<i>Pueraria lobata</i> (갈근)	456.3
<i>Rhus javanica</i> (오배자)	>1000
<i>Scutellaria baicalensis</i> (황금)	>1000
<i>Smilax china</i> (토복령)	>1000
<i>Xanthium strumarium</i> (창이자)	832.7
Silymarin	308.6

20종 생약의 EtOH ext.에 대하여 시료의 최종농도가 0-1000 μg/ml 범위의 7개 농도에서 실험하여 EC<sub>50</sub>를 구한 결 과, Table I에 나타난 것과 같이 비교물질로 사용한 silymarin 의 EC<sub>50</sub> 308.6 μg/ml 보다는 약하나 GST 활성 상승효과를 지닌 생약으로서 석창포가 EC<sub>50</sub> 417.9 μg/ml에서 갈근이 EC<sub>50</sub> 456.3 μg/ml의 농도에서 GST 활성을 보였다.

갈근은 칩(*Pueraria lobata*)의 주피를 제거한 뿌리로, 전분 을 주성분으로 하여 isoflavonoids 계열 성분과 triterpenoids, sterol 등을 함유하고 있다. 약리 효과로서는 진정작용, 진경 효과, 순환기에 대한 효과 등이 알려져 있으며, 한방에서는 발한, 해열이나 스트레스 저항 등에 응용되어 갈근탕이나, 갈 근해독탕으로 조제되어 감기약에 사용되어지고 있다.<sup>20)</sup> 석창 포(*Acorus gramineus*)는 약간 편압된 원주형이고 흔히 분기 되며 잎이 붙어 있던 자리는 고리테가 있고, 바깥면은 적갈 색 내지 어두운 녹색이고 많은 마디가 연속되며 고르지 않은 잎, 가지 뿌리가 남아 있는 생약으로, 성분으로는 정유 가 0.5-0.9%를 차지하고 asarone, humulene, caryophyllen 등과 기타 phenol 물질이 함유되어 있다. 약리 작용은 진정, 외분비선의 분비 항진에 의한 건위작용, 이뇨, 항진균 및 혈 압강하효과가 있는 것으로 알려져 한방에서는 진정, 진통, 건위제로서 사용되어지는 생약이다.<sup>21)</sup>

1차 해독작용 검색 결과, 우수한 해독효과를 보인 갈근과 석창포에 대해서는 이들 생약의 활성 주성분을 탐색하기 위 한 연속 실험으로서 갈근과 석창포의 EtOH 엑스를 용매별 의 극성을 이용하여 4종류의 n-hexane, EtOAc, n-BuOH 및 H<sub>2</sub>O로 분획한 후 각각 얻어진 분획의 용매를 제거한 후 얻 어진 엑스에 대하여서도 2차 해독작용을 검색 한 결과, Table II와 Table III에 각각 나타난 것과 같이 석창포의 n-BuOH 엑스가 EC<sub>50</sub> 236.6 μg/ml로서 가장 강력한 GST 활성효과 를 보임으로서 극성이 큰 사포닌 배당체들이 GST 활성 작 용에 관여하는 것으로 추정되었고 EtOAc 엑스도 526.4 μg/ml 농도에서 GST 활성을 보였다. 갈근은 물층 엑스와 n-BuOH 엑스가 각각 435.5 μg/ml와 685.1 μg/ml에서 GST 활성효과를 나타냄으로서 극성의 화합물들이 GST 활성 효 과에 관여하고 있음을 알 수 있었다.

**Table II.** Glutathione S-transferase activity of solvent fractions from *Acorus gramineus*

Sample	EC <sub>50</sub> (μg/ml)
n-Hexane	>1000
EtOAc	526.4
n-BuOH	236.6
H <sub>2</sub> O	>1000
Silymarin	308.6

**Table III.** Glutathione S-transferase activity of solvent fractions from *Pueraria lobata*

Sample	EC <sub>50</sub> (μg/ml)
n-Hexane	>1000
EtOAc	>1000
n-BuOH	685.1
H <sub>2</sub> O	435.5
Silymarin	308.6

**Table IV.** Hyaluronidase inhibitory activity of ethanol extract of medicinal plants

Sample	IC <sub>50</sub> (μg/ml)
<i>Acorus gramineus</i> (석창포)	155.2
<i>Adenophora triphylla</i> (사삼)	>1000
<i>Amomum tsao-ko</i> (초과)	>1000
<i>Anemarrhena asphodeloides</i> (지모)	>1000
<i>Angelica gigas</i> (당귀)	>1000
<i>Atractylodes lancea</i> (창출)	>1000
<i>Croton tiglium</i> (파두)	614.5
<i>Eriobotrya japonica</i> (비파엽)	563.5
<i>Eucommia ulmoides</i> (두충)	>1000
<i>Glycyrrhiza glabra</i> (감초)	>1000
<i>Hordeum vulgare</i> (맥아)	>1000
<i>Lonicera japonica</i> (금은화)	>1000
<i>Paeonia obovata</i> (적작약)	>1000
<i>Phellodendron amurense</i> (황백)	>1000
<i>Plantago asiatica</i> (차전자)	>1000
<i>Pueraria lobata</i> (갈근)	>1000
<i>Rhus javanica</i> (오배자)	343.0
<i>Scutellaria baicalensis</i> (황금)	>1000
<i>Smilax china</i> (토복령)	275.0
<i>Xanthium strumarium</i> (창이자)	>1000
Ketoprofen	67.8

**Table V.** Hyaluronidase inhibitory activity of solvent fractions from *Acorus gramineus*

Sample	IC <sub>50</sub> (μg/ml)
n-Hexane	145.4
EtOAc	91.1
n-BuOH	>1000
H <sub>2</sub> O	>1000
ketoprofen	67.8

한편, hyaluronidase 저해효과의 실험 결과에서는 Table IV에 나타난 것과 같이, 석창포, 토복령, 오배자, 비파엽, 파두 등의 순으로 대조군으로 사용된 ketoprofen보다는 미흡하나 hyaluronidase 저해효과를 나타내었다. 우수한 GST 활성효

과를 나타낸 갈근은 hyaluronidase 저해효과를 나타내지 않았다. 또한 가장 강한 효과를 나타낸 석창포에 대해서는 분획별 hyaluronidase 저해효과 실험 결과 Table V에 나타난 것처럼 EtOAc 분획이 IC<sub>50</sub> 91.1 μg/ml로서 IC<sub>50</sub> 155.2 μg/ml인 EtOH ext. 보다 높은 활성을 보임으로서 석창포의 hyaluronidase 저해효과의 활성 주성분 분획임을 알 수 있었다.

## 결론

이상의 실험 결과 천연물로부터 해독 효과를 가진 생약의 검색을 위해 20종 생약에 대하여 GST 활성 상승효과를 실험한 결과 석창포와 갈근이 가장 우수한 GST 활성효과를 나타내었고, 활성 주성분은 분획별로 검색한 결과 석창포는 n-BuOH 분획이, 갈근은 물 분획이 활성 주성분인 것을 알았다. 특히 석창포는 hyaluronidase 저해효과의 활성 주성분 분획은 EtOAc 분획으로서 GST 활성효과의 분획과는 차이를 보였지만 항염증 작용의 기초자료로서 활용할 수 있는 hyaluronidase 저해효과도 나타냄으로서 소염제가 가지는 간독성의 부작용을 극복할 수 있는 항염증 천연자원으로서의 개발 가능성을 시사하고 있다.

## 인용문헌

- Lewis, J. H. (2003) Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: pathology and clinical presentation of hepatotoxicity. *In* Kaplowitz, N. and DeLeve, L. D.(ed.), *Drug-Induced Liver Diseases*, 377-404. Marcel Dekker. New York, NY.
- Boelsterli, Urs A. (2003) Diclofenac-induced liver injury: a paradigm of idio-syncratic drug toxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **192**: 307-322.
- Fry, S. W. and Seeff, L. B. (1995) Hepatotoxicity of analgesics and anti-inflammatory agents. *Gastroenterol. Clin. North Am.* **24**: 875-905.
- Rabinovitz, M. and VanThiel, D. H. (1992) Hepatotoxicity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Am. J. Gastroenterol.* **87**: 1696-1704.
- Tolman, K. G. (1990) Hepatotoxicity of antirheumatic drugs. *J. Rheumatol.* **17**: 6-11.
- Hawkey, C. J. (1994) Review article: aspirin and gastrointestinal bleeding. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **8**: 141-146.
- Cohen, S. D., Hoivik, D. J., and Khairallah, E. A. (1998) Acetaminophen-induced hepatotoxicity, *In* Plaa, G. I. and Hewitt, W. R.(ed.), *Toxicology of the Liver*, 159-186. Taylor & Francis. Washington, DC.
- Wrighton, S. A. and Stevens, J. C. (1992) The human hepatic cytochromes P450 involved in drug metabolism. *Crit. Rev. Toxicol.* **22**: 1-21.
- Hartley, D. P., Ruth, J. A., and Petersen, D. R. (1995) The

- Hepatocellular Metabolism of 4-Hydroxynonal by Alcohol Dehydrogenase, Aldehyde Dehydrogenase, and Glutathione S-transferase. *Arch. Biochem. Biophys.* **316**: 197-205.
10. Rushmore, T. H. and Kong, A. N. (2002) Pharmacogenomics, regulation and signaling pathways of phase I and II drug metabolizing enzymes. *Curr. Drug Metab.* **3**: 481-490.
  11. Meyer, K. (1947) The biological significance of hyaluronic acid and hyaluronidase. *Physiol. Rev.* **27**: 335-359.
  12. Ghosh, P. (1994) The role of hyaluronic acid(hyaluronan) in health and disease: interactions with cells, cartilage and components of synovial fluids. *Clin. Exp. Rheumatol.* **12**: 82-85.
  13. Habig, W. H., Pabst, M. J., and Jakoby, W. B. (1974) Glutathione S-transferases. *J. Biol. Chem.* **249**: 7130-7139.
  14. Lee, N. H., Lee, S. J., Jung, D. S., Bu, H. J., Yang, H. C., and Riu, K. Z. (2001) Screening of the tyrosinase inhibition and hyaluronidase inhibition activities, and radical scavenging effects using plants in cheju. *Kor. J. Pharmacogn.* **32**: 175-180.
  15. Stoelting, M. S. and Tjeerdema, R. S. (2000) Glutathione-dependent bio-transformation of 1-chloro-2,4-dinitrobenzene in arterial and venous blood of the striped bass(Morone saxatilis). *Aquat. Toxicol.* **50**: 177-187.
  16. Song, M. R., Choe, S. N., and Park, K. H. (1998) Glutathione S-transferase activity and its changes to chemical pollution in edible shells and fishes. *Korean J. Food Sci. Technol.* **30**: 206-212.
  17. Chang, M., Zhang, F., Shen, L., Paus, N., Alam, I., Breemen, R. B. van, Blond, S. Y., and Bolton, J. L. (1998) Inhibition of glutathione S-transferase Activity by the quinoid metabolites of equine estrogens. *Chem. Res. Toxicol.* **11**: 758-765.
  18. Zang, K. and Wong, P. (1996) Inhibition of the efflux of glutathione-S-conjugates by plant polyphenols. *Biochem. Pharmacol.* **52**: 1631-1638.
  19. Ishikawa, T., Kobayashi, K., Sogame, Y., and Hayashi, K. (1989) Evidence for leukotriene C4 transport mediated by an ATP-dependent glutathione S-conjugate carrier in rat heart and liver plasma membranes. *FEBS Lett.* **259**: 95-98.
  20. Kwon, C. H. (1974) Studies on the effect of Gal Geun Tang upon stress resistance of rats. *Kor. J. Pharmacog.* **5**: 217-222.
  21. Jeong, H. W., Kang, S. Y., and Bak, S. W. (1999) Effect of rhizoma *Acori graminei* extract on blood pressure and regional cerebral blood flow in rats. *Kor. J. Herbology.* **14**: 81-88.

(2004년 2월 26일 접수)