

## 홍삼의 장기 투여가 흰쥐 간 대사효소 유도에 미치는 영향

임 흥 빈<sup>†</sup>

충북대학교 농업생명환경대학 특용식물학과

### \*Modulation of Cytochrome P-450 Induction by Long-Term Supplementation with Korean Red Ginseng to Rats.

Heung Bin Lim<sup>†</sup>

Department of Industrial Plant Science and Technology, College of Agriculture, Life and Environment Science, Chungbuk National University, 48 Gaeshin-Dong, Cheongju, Chungbuk 361-763, Korea.

**ABSTRACTS :** This study was carried out to investigate the effect of dietary supplementation with red ginseng water-extracts on the induction of microsomal cytochrome P-450 in rats. Phenobarbital (PB) and 3-methylcholanthrene (3-MC), P-450 inducers, were administered to 3- or 12-month old rats received red ginseng extracts (25 mg/kg) from 6 weeks to 12 months for 3 days. PB and 3-MC increased levels of P-450, P-450 reductase, ethoxycoumarin *O*-deethylase, benzphetamine *N*-demethylase and glutathione-*S*-transferase in the liver of rats. However, chronic administration of red ginseng significantly reduced these increase of enzyme levels induced by P-450 inducers. Chronic administration of red ginseng did not affect the induction of cytochrome b<sub>5</sub> and NADH cytochrome b<sub>5</sub> reductase by P-450 inducers. It is suggested that the induction of cytochrome P-450 system in the liver in relation to xenobiotics toxicity can be modulated by long-term supplementation with Korean red ginseng to rats.

Key words : red ginseng, enzyme induction, cytochrome P-450 inducers.

## 서 언

생체내에 흡입된 대부분의 약물이나 이물질들은 여러 가지 생체반응을 통하여 그 자체의 이화학적 성장과 생물학적인 효과가 변화된다(Zhang *et al.*, 2006). 이들 중 물에 녹는 물질들은 대사되지 않은 상태로 배설될 수 있지만 지용성 물질이 배설되기 위해서는 생체 효소반응에 의해서 보다 극성인 물질로 전환되어야 하며, 이러한 기능은 생체내에서 간, 신장, 폐, 소장 등 여러 장기에서 수행되고 있다. 이 중에서 간은 대표적인 기관이며, 일반적으로 이물질의 극성을 증가시키는 Phase I 반응과 활성화된 이물질의 작용기와 생체내 저분자 기질들 사이에 일어나는 conjugation 반응인 Phase II 반응으로 진행된다(Swinney *et al.*, 2006). Phase I 반응은 물에 대한 용해성을 증가시켜 체외대사를 촉진시키기 위해서 이물질 성분에 한 원자의 산소를 도입시키는 반응으로서 이는 간세포 endoplasmic reticulum에 존재하는 이물질대사 효소계의 cytochrome P-450이 가장 중추적인 역할을 담당하고 있다(Swinney *et al.*, 2006).

1956년 Conney 등은 benzo[a]pyrene과 같은 발암성 다핵방향족 탄화수소를 실험동물에 투여했을 때 간의 이물질대사 효소계의 활성도는 증가한다고 처음으로 보고한 이래, barbiturates, steroids, industrial chemicals, pesticides, herbicides, polycyclic aromatic hydrocarbons 등의 다양한 성분이 이물질대사 효소계를 유도한다고 보고하고 있다 (Conney *et al.*, 1956). 이와 같이 간의 이물질대사 효소계의 유도는 이물질대사 능력이나 무독화 과정을 증진시키기 위한 일종의 생체의 adaptive response 기능이라고 알려지고 있지만 몇몇 성분은 이물질대사 효소계의 유도로 인하여 오히려 생체에서의 독성이 증가한다고 보고하고 있다 (Notley *et al.*, 2005). 일반적으로 간의 이물질대사 유도제로는 phenobarbital (PB)과 3-methylcholanthrene (3-MC)이 대표적이다. PB의 투여는 간세포에 이물질대사의 중추기관인 smooth endoplasmic reticulum을 현저하게 증식시키고 이물질대사 효소인 cytochrome P-450의 합성을 증가시키는 특징을 갖고 있으며 (Yamada *et al.*, 2006), 3-MC는 cytochrome P-450과 촉매위치가 약간 다른 cytochrome P-448의 합성을 증가시키는 특징을 갖고 있다고

<sup>†</sup>Corresponding author: (Phone) +82-43-261-2521 (E-mail) heungbin@chungbuk.ac.kr  
Received November 21, 2007 / Accepted December

보고되고 있다 (Ryan *et al.*, 1979).

한편, 인삼은 예로부터 내려오는 고서에서나 현대 의학 및 실험과학 연구에서 그 생리와 효능이 많이 밝혀져 오고 있지만 과학적으로 인삼의 진정한 효과를 이해할 수 있는 그 효능 메카니즘까지의 증명은 더 필요하다고 판단된다. 따라서 전 연구에서 우리는 정상 흰쥐에 장기간 홍삼의 물 추출물을 공급했을 때 노년기까지 특이한 생리적 이상증상도 발견되지 않았고, 간에도 부담을 주지 않았으며, 노화에 따라 감소하는 생리적인 기능 (Lim *et al.*, 2005), 간의 이물질대사 기능 (Lim & Lee, 2006)을 유지하는 홍삼의 효과와 노화에 따른 간 항산화 활성변화에 대한 음양곽의 효과 (Lim & Lee, 2007)를 보고한 바 있다.

현 연구에서는 간의 이물질대사에 대한 인삼의 효능 메카니즘을 더 구명하기 위하여 생후 6주 경과시부터 12개월까지 장기간 홍삼의 물 추출물을 공급한 흰쥐에 간의 대표적인 이물질대사효소 유도제인 PB와 3-MC를 주사하여 장기간 홍삼의 투여가 간의 이물질대사 효소계 유도에 미치는 영향을 조사하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물 및 사육조건

본 연구에서 사용된 실험동물은 Sprague-Dawley(SD)계로 수컷만을 이용하였다. 흰쥐는 이유 후(분만 후 21-23일) 체중이  $50 \pm 3$  g인 개체만을 선별하여 대조군과 홍삼투여군으로 나누었고, 각 실험군마다 48마리씩 사육하였다. 흰쥐의 사육은 이유후 30일까지는 한 cage에 5마리, 3개월까지는 2마리, 그 후에는 한 마리씩 넣어 사육하였다. 실험동물의 사료는 (주) Samtako 제품의 고형사료 (조단백질 18.0% 이상, 조지방 5.0% 이상, 조섬유 4.5% 이하, 조회분 8.0% 이하, 칼슘 0.7% 이상, 인 1.2% 이상 배합사료)를 사용하였다. 대조군과 홍삼투여군은 충분한 양의 사료를 공급하였으며, 생후 6주부터 홍삼투여군은 홍삼의 물 추출물을 흰쥐의 체중변화와 음수량을 고려하여 체중 kg당 약 25 mg이 섭취되도록 식수에 녹여 공급하였다.

동물사육실의 조건은 conventional system으로 온도는  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , 습도는 40-60%, 환기는 1시간당 12-15회로 하였으며, 1일중 12시간은 200-300 Lux로 조명하고, 12시간은 모든 빛을 차단하였다. 그리고 cage는  $22 \times 32 \times 17$  cm의 polycarbonate재질로 만든 것을 사용하였으며 깔짚은 (주)Samtako 제품의 버드나무송으로 만든 것을 사용하였다.

### 2. 이물질대사효소 유도제 투여

각 시험군의 나이가 3개월, 12개월 되었을 때, 생리식염수와 이물질대사효소 유도제인 PB (80 mg/kg)과 3-MC

(20 mg/kg)를 3일 연속으로 흰쥐의 복강에 투여하였고, 다음 날 까지 절식시킨 후 희생시키고 간을 적출하였다.

### 3. 흰쥐 간 microsome 분리

적출한 간을 즉시 액체질소에 넣었으며, Lee 등의 방법 (2002)에 따라 간을 4배의 130 mM KCl을 함유한 30 mM Hepes 완충액 (pH 7.4)으로 희석하여 균질화한 다음, differential centrifugation에 의해서 microsome과 cytosol 분획을 분리하였다. Microsome을 분리하는 전 과정은  $0-4^\circ\text{C}$  저온실에서 수행하였으며  $-70^\circ\text{C}$ 에 보관하면서 각종 실험에 사용하였다.

### 4. 간의 이물질대사효소들의 활성도 측정

간의 이물질대사효소 중 cytochrome P-450과 cytochrome b<sub>5</sub>의 함량은 Omura와 Sato의 방법 (1964)에 따라 측정하였으며, NADPH cytochrome P-450 reductase 활성도는 Wiliam과 Kamin의 방법 (1962)에 준하여 microsome 분획에 의한 cytochrome c의 환원율을 이용하여 측정하였고, NADH cytochrome b<sub>5</sub>의 활성도는 Mihara와 Sato의 방법 (1975)에 따라 측정하였다. Ethoxycoumarin O-deethylase (ECOD)와 benzphetamine N-demethylase (BPDM)의 활성도는 각각 Greenlee와 Poland의 방법 (1978) 및 Thomas 등의 방법 (1976)에 따라 측정하였다. Glutathione-S-transferase (GST)는 Habig 등의 방법 (1974)에 따라 1-chloro-2,4-dinitrobenzen을 기질로 하여 측정하였고, 단백질 함량은 표준물질로 bovine serum albumin을 사용하여 Lowry 등의 방법(1951)에 따라 측정하였다.

### 5. 통계처리

모든 데이터는 평균  $\pm$  표준편차로 나타내었으며, 데이터 분석은 StatView version (4.0 Abacus Concepts, Inc. Berkeley, CA)을 이용하였고, Fisher's protected least significant difference test 혹은 Scheffe's F test에 의해 두 처리군 사이에 *p*값이 0.05보다 작은 값을 나타내었을 때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. Cytochrome P-450과 P-450 reductase 활성도 변화

Cytochrome P-450은 membrane-bound heme protein으로서 약물이나 이물질에 한 원자의 산소를 도입하는 데 중추적인 역할을 하는 것으로서 나이가 들어감에 따라 감소하는 것으로 알려져 있다 (Isin & Guengerich, 2007). 그러나 약물에 대한 inducibility와 임상적 의의가 조사되고 있으나 (Lin, 2006) 장기간 식물 추출물을 섭취했을 때 간의 이물질대사 효소 유도에 의한 유도효과에 미치는 영향에 대하여 거의 보고된 바

**Table 1.** Effect of chronic red-ginseng administration on cytochrome P-450 content and P-450 reductase activity in liver microsomes of rat treated with inducers

| Pretreatment of rats | Cytochrome P-450 <sup>a</sup> |                           | P-450 reductase <sup>b</sup> |                           |
|----------------------|-------------------------------|---------------------------|------------------------------|---------------------------|
|                      | 3 month                       | 12 month                  | 3 month                      | 12 month                  |
| <b>Control</b>       |                               |                           |                              |                           |
| Not treated          | 0.98 ± 0.08                   | 0.72 ± 0.06 <sup>#</sup>  | 106.0 ± 5.0                  | 75.2 ± 3.8 <sup>#</sup>   |
| 3-MC treated         | 2.09 ± 0.05 <sup>*</sup>      | 1.64 ± 0.08 <sup>*#</sup> | 143.7 ± 3.8 <sup>*</sup>     | 126.2 ± 7.4 <sup>*#</sup> |
| PB treated           | 2.33 ± 0.06 <sup>*</sup>      | 1.77 ± 0.09 <sup>*#</sup> | 208.2 ± 7.8 <sup>*</sup>     | 139.4 ± 5.8 <sup>**</sup> |
| <b>Ginseng</b>       |                               |                           |                              |                           |
| Not treated          | 1.16 ± 0.07 <sup>†</sup>      | 0.95 ± 0.06 <sup>†</sup>  | 122.3 ± 4.5 <sup>†</sup>     | 91.6 ± 4.4 <sup>#†</sup>  |
| 3-MC treated         | 1.92 ± 0.08 <sup>*</sup>      | 1.83 ± 0.09 <sup>*</sup>  | 147.2 ± 6.7 <sup>*</sup>     | 137.3 ± 7.7 <sup>*</sup>  |
| PB treated           | 2.15 ± 0.06 <sup>*</sup>      | 1.87 ± 0.13 <sup>*</sup>  | 181.7 ± 6.9 <sup>*</sup>     | 149.5 ± 7.4 <sup>*#</sup> |

a : nmoles/mg protein, b : nmoles/min mg protein

PB (80 mg/kg) and 3-MC (20 mg/kg) were administered by intraperitoneal injections for three days. Values are expressed as mean ± SD from 8 rats.

\*: Significantly different from not treated ( $p < 0.01$ ).

#: Significantly different from 3 month ( $p < 0.01$ ).

†: Significantly different from control group at the same age ( $p < 0.01$ ).

없다. Fig. 1은 생후 6주부터 12개월까지 약 11개월동안 홍삼의 물 추출물을 공급한 흰쥐에 이물질대사효소 유도제 3-MC와 PB를 투여하여 간 microsome에서 cytochrome P-450 함량을 측정된 결과이다. 본 실험에서 대표적인 cytochrome P-450 유도제인 3-MC와 PB를 3개월 된 대조군 흰쥐에 처리했을 때 무처리군에 비해 그 함량이 각각 약 2.1배와 2.4배 증가하는 것을 확인하였다 ( $p < 0.01$ ). 3개월에서 홍삼투여군은 대조군에 비해 cytochrome P-450 함량이 약간 증가하는 경향이었으나 3-MC와 PB를 처리하면 그 함량은 각각 1.6배와 1.8배 증가하여 대조군에 비해 낮게 유도되었다. 또한, 12개월 된 흰쥐에서 3-MC와 PB를 처리했을 때 cytochrome P-450의 함량은 무처리군에 비해 각각 2.3배와 2.4배 증가하였다 ( $p < 0.01$ ). 12개월에서도 홍삼투여군은 무처리군에 비해 cytochrome P-450의 함량은 높게 유지되었으나, 3-MC와 PB를 처리하면 그 함량이 각각 1.9배와 2.0배 정도로 3개월에서와 같이 이들의 효소유도효과를 억제하였다 ( $p < 0.01$ ). 즉 실험동물에 홍삼을 장기간 투여하고 대표적인 이물질대사 효소 유도제인 3-MC와 PB를 처리하면 이 효소유도제들에 의한 효소유도효과를 억제함을 알 수 있었다. Benzo(a)pyrene과 같이 다핵 방향족 탄화수소 화합물은 그 자체성분보다 간의 이물질대사효소에 의한 대사산물이 더 독성이 높다고 알려져 있다 (Notley *et al.*, 2005). 또한 인삼의 ginsenoside 성분 들은 간의 이물질대사 기능을 억제하는 성질이 있다고 보고되고 있다 (Chang *et al.*, 2002 ; Liu *et al.*, 2006). 따라서 장기간 홍삼의 식이는 다핵 방향족탄화수소 화합물로서 대표적인 발암제 3-MC 뿐만 아니라 항경련제 치료제로서 다양한 부반응을 일으키는 PB의 간대사효소 유도효과를 조절한다는 것을 의미하며, 이러한 작용기전이 홍삼의 항암효과의 메카니즘과 관련이 있을 것으로 판단된다. 한편, 12개월 된 흰쥐의 대조군과

홍삼투여군의 cytochrome P-450의 함량은 3개월에 비해 각각 약 73%와 82% 유지하고 있었으며, 3-MC와 PB를 투여했을 때도 12개월의 정상군은 3개월에 비해 그 함량이 각각 78%와 76% 유지하였으나, 홍삼투여군은 각각 94%와 87%를 유지하였다. 즉 나이가 들어감에 따라 cytochrome P-450의 함량은 정상군이나 cytochrome P-450의 유도제인 3-MC와 PB를 투여군도 모두 감소하였으나 홍삼 투여군은 나이가 들어도 그 함량은 정상군에 비해 어느 정도 더 유지되고 있어 이와 같은 결과는 지난 연구결과와 같았다 (Lim & Lee, 2006).

Cytochrome P-450 reductase는 cytochrome P-450이 이물질을 대사할 때 필요한 전자를 NADPH로부터 주는 것을 촉매하는 효소로서 약물이나 이물질대사의 과정에 중요한 역할을 담당하고 있다 (Xu *et al.*, 2005). 장기간 홍삼의 물 추출물을 처리한 흰쥐에 cytochrome P-450 유도제인 3-MC와 PB를 투여하고, 간에서 cytochrome P-450 reductase의 활성도 변화를 측정된 결과는 Table 1에 나타나 있다. 흰쥐의 나이가 3개월 되었을 때 홍삼처리군은 정상군에 비해 cytochrome P-450 reductase의 활성도가 증가되어 있었으며 ( $p < 0.01$ ), 대조군 12개월은 3개월의 약 71%의 활성도를 유지하고 있었으나 홍삼투여군은 약 75% 유지하고 있었다. 두 시험군의 나이가 3개월과 12개월에서 모두 PB를 투여했을 때가 3-MC를 투여했을 때보다 cytochrome P-450 reductase의 활성도가 높았으며 ( $p < 0.01$ ), 3개월에서 3-MC를 처리하였을 때 홍삼투여군은 대조군과 거의 비슷한 수준이었으나 PB처리군은 홍삼투여군이 대조군보다 더 낮은 활성도를 유지하고 있었다. 그러나 유도제를 투여하지 않았을 때 12개월에서 cytochrome P-450 reductase의 활성도는 홍삼투여군이 대조군보다 높았으나 ( $p < 0.01$ ) 3-MC와 PB를 투여했을 때는 홍삼투여군은 유의성 없이 대조군에 비해 약간 높은 경향만을 나타내었다. 12개월

**Table 2.** Effect of chronic red-ginseng administration on Benzphetamine N-demethylase and Ethoxycoumarin O-deethylase activities in liver microsomes of rat treated with inducers

| Pretreatment of rats | Benzphetamine N-demethylase <sup>a</sup> |                           | Ethoxycoumarin O-deethylase <sup>b</sup> |                           |
|----------------------|--|---------------------------|--|---------------------------|
|                      | 3 month                                  | 12 month                  | 3 month                                  | 12 month                  |
| <b>Control</b>       |  |                           |  |                           |
| Not treated          | 0.80 ± 0.09                              | 0.61 ± 0.08 <sup>#</sup>  | 54.6 ± 3.5                               | 41.9 ± 4.6 <sup>#</sup>   |
| 3-MC treated         | 1.35 ± 0.09 <sup>*</sup>                 | 1.15 ± 0.07 <sup>*#</sup> | 235.6 ± 7.7 <sup>*</sup>                 | 129.3 ± 6.6 <sup>*#</sup> |
| PB treated           | 2.43 ± 0.09 <sup>*</sup>                 | 1.76 ± 0.09 <sup>*#</sup> | 120.1 ± 4.7 <sup>*</sup>                 | 94.2 ± 7.2 <sup>*#</sup>  |
| <b>Ginseng</b>       |  |                           |  |                           |
| Not treated          | 0.81 ± 0.07                              | 0.65 ± 0.08               | 42.8 ± 3.8 <sup>†</sup>                  | 37.3 ± 4.7                |
| 3-MC treated         | 1.41 ± 0.10 <sup>*</sup>                 | 1.32 ± 0.09 <sup>*</sup>  | 143.0 ± 9.5 <sup>††</sup>                | 112.2 ± 8.5 <sup>*#</sup> |
| PB treated           | 1.57 ± 0.09 <sup>††</sup>                | 1.49 ± 0.12 <sup>††</sup> | 106.3 ± 6.2 <sup>*</sup>                 | 109.2 ± 7.9 <sup>*</sup>  |

a: nmoles HCHO/mg protein, b: arbitrary unit/mg protein  
 PB (80 mg/kg) and 3-MC (20 mg/kg) were administered by intraperitoneal injections for three days.  
 Values are expressed as mean ± SD from 8 rats.  
<sup>\*</sup>: Significantly different from not treated ( $p < 0.01$ ).  
<sup>#</sup>: Significantly different from 3 month ( $p < 0.01$ ).  
<sup>†</sup>: Significantly different from control group at the same age ( $p < 0.01$ ).

**Table 3.** Effect of chronic red-ginseng administration on cytochrome b<sub>5</sub> contents and cytochrome b<sub>5</sub> reductase activity in liver microsomes of rat treated with inducers

| Pretreatment of rats | Cytochrome b <sub>5</sub> <sup>a</sup> |             | Cytochrome b <sub>5</sub> reductase <sup>b</sup> |             |
|----------------------|--|-------------|--|-------------|
|                      | 3 month                                | 12 month    | 3 month  | 12 month    |
| <b>Control</b>       |  |             |  |             |
| Not treated          | 0.80 ± 0.02                            | 0.49 ± 0.02 | 2.70 ± 0.15                                      | 2.49 ± 0.18 |
| 3-MC treated         | 0.94 ± 0.03                            | 0.66 ± 0.03 | 2.79 ± 0.15                                      | 2.42 ± 0.18 |
| PB treated           | 0.97 ± 0.06                            | 0.58 ± 0.04 | 2.49 ± 0.17                                      | 2.70 ± 0.18 |
| <b>Ginseng</b>       |  |             |  |             |
| Not treated          | 0.77 ± 0.03                            | 0.53 ± 0.02 | 2.56 ± 0.15                                      | 2.73 ± 0.16 |
| 3-MC treated         | 0.96 ± 0.07                            | 0.64 ± 0.09 | 2.69 ± 0.17                                      | 2.53 ± 0.12 |
| PB treated           | 0.99 ± 0.06                            | 0.64 ± 0.06 | 2.52 ± 0.15                                      | 2.82 ± 0.20 |

a: nmoles/mg protein, b: nmoles/min mg protein  
 PB (80 mg/kg) and 3-MC (20 mg/kg) were administered by intraperitoneal injections for three days.  
 Values are expressed as mean ± SD from 8 rats.

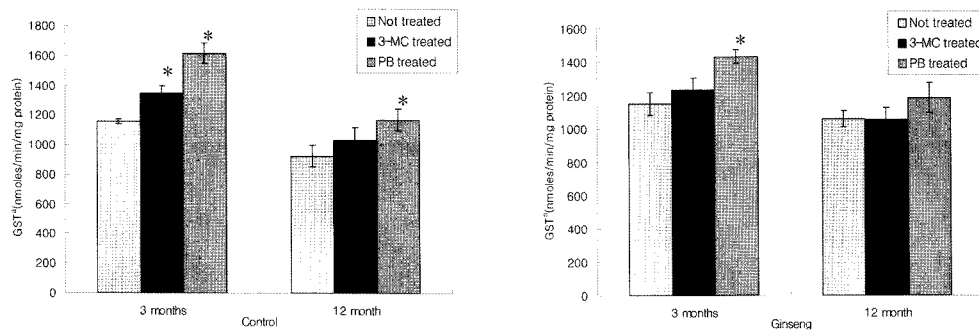
에서 홍삼투여군은 3개월에 비해 유도제를 투여 하든 안 하든 그 활성도의 감소폭이 대조군보다 적게 나타났다.

**2. Cytochrome P-450 dependent monooxygenase 활성도 변화**

Microsomal cytochrome P-450은 많은 isozyme이 존재하는데, 그 isozyme의 expression은 기질특이성이 좌우하며, BPDm은 CYP IIB isozyme의 specific한 monooxygenase로서 cytochrome P-450c type으로 부르고 있고 반면에 ECOD는 cytochrome P-450 isozyme 중의 전형적인 nonspecific monooxygenase로서 cytochrome P-450b type으로 불리워지고 있다 (Ryan *et al.*, 1979). 사람이나 실험동물에 3-MC의 투여는 aryl hydrocarbon hydroxylase, zoxazolamine hydroxylase

와 ECOD의 활성도를 선택적으로 유도하는 특징을 갖고 있으나 PB의 투여는 간 마이크로솜에서 BPDm, testosterone 16 $\alpha$ -hydroxylase 활성도를 선택적으로 유도하는 특징을 나타낸다고 보고되고 있다 (Lee *et al.*, 2002). 따라서 Table 2는 홍삼의 물 추출물을 공급한 흰쥐에 이물질대사효소 유도제 3-MC와 PB를 투여하여 이 기질에 의해서 선택적으로 유도되는 cytochrome P-450의 monooxygenase 중의 하나인 BPDm과 ECOD의 활성도를 간의 micrososome에서 측정된 결과이다. 대조군에서 BPDm의 활성도는 3개월과 12개월에서 PB를 처리했을 때 무처리군에 비해 각 3.0배와 2.7배 증가하였으나 ( $p < 0.01$ ), 3-MC의 처리는 무처리군에 비해 1.7배와 1.9배를 증가시켜( $p < 0.01$ ), BPDm 활성도는 PB 처리가 3-MC보다 더 현저하게 유도되었다. 한편, 대조군에서 ECOD의 활성도는

## 홍삼의 장기 투여가 간 대사효소 유도에 미치는 영향



**Fig. 1.** Effect of chronic red-ginseng administration on GSH-S-transferase activity in liver cytosol of rat treated with inducers. a: nmoles/min/mg protein PB (80 mg/kg) and 3-MC (20 mg/kg) were administered by intraperitoneal injections for three days. Values are expressed as mean  $\pm$  SD from 8 rats. \*: Significantly different from control rats at the same age ( $p < 0.01$ ).

3개월과 12개월에서 3-MC를 처리했을 때 무처리군에 비해 각각 4.3배와 3.1배 증가시켰으나, PB의 처리는 무처리군에 비해 각각 2.2배와 2.2배를 증가시켜( $p < 0.01$ ), ECOD의 활성도는 3-MC 처리보다 PB보다 더 현저하게 유도되었다. 이 결과는 PB는 BPDm을, 3-MC는 ECOD를 선택적으로 유도한다는 것을 시사한다. 3개월 및 12개월 홍삼투여군에 PB를 투여하면 BPDm의 활성도를 각각 1.9배와 2.3배 증가시켜( $p < 0.01$ ) 이는 대조군에 비하여 현저히 감소한 것으로 홍삼의 장기투여가 PB에 의한 BPDm의 유도효과를 억제한다는 것을 나타내는 것이다. 또한 3-MC에 의한 ECOD의 유도효과는 홍삼 3개월 및 12개월 투여군에서 각각 3.3배와 3.0배로 12개월 투여에 의하여는 억제하지 못하였으나 3개월 투여에 의하여 현저히 억제되었음을 알 수 있다. 또한 같은 흰쥐의 나이에서 유도제를 투여 안 했을 때나 투여했을 때 모두 홍삼 투여군이 대조군보다 두 효소는 거의 낮은 활성도를 나타내었다. 이러한 결과는 다핵 방향족 탄화수소의 발암과정을 억제하거나 약물의 부반응을 억제하는 홍삼의 메카니즘을 설명할 수 있는 실마리가 되지 않을까 생각되며, 더 많은 연구가 필요하리라 판단된다. 한편 대조군 12개월에서 PB의 투여는 BPDm의 활성도를 3개월의 72%를 유도하였으나 12개월 홍삼투여군은 PB를 투여했을 때 3개월의 95%를 유도하였으며, 또한 대조군 12개월에서 3-MC의 투여는 ECOD의 활성도를 3개월의 55%를 유도하였으나 홍삼투여군은 78%를 유도하였다. 따라서 이물질대사효소 유도제에 의한 cytochrome P-450의 monooxygenase의 유도정도도 나이가 증가함에 따라 감소하는 데 장기간의 홍삼 복용은 이러한 감소효과를 조절한다고 판단된다.

### 3. Cytochrome b<sub>5</sub>와 cytochrome b<sub>5</sub> reductase 활성도 변화

Cytochrome b<sub>5</sub>는 membrane electron carrier로서 간세포 endoplasmic reticulum에 존재하는 heme protein이고 NADH

cytochrome b<sub>5</sub> reductase 혹은 cytochrome p-450 reductase로부터 전자를 받아 환원될 수 있으며, 환원된 cytochrome b<sub>5</sub>는 cytochrome P-450이 이물질을 대사하는데 보조역할을 하고, 또한 microsome의 stearyl-CoA desaturase와 반응하여 지방산의 대사에 매우 중요한 역할을 한다고 알려져 있다 (Kurian *et al.*, 2006). Table 3은 장기간 홍삼의 물 추출물을 공급한 흰쥐에 이물질대사효소 유도제 3-MC와 PB를 투여하고 간 microsome에서 cytochrome b<sub>5</sub>의 함량과 cytochrome b<sub>5</sub> reductase의 활성도를 측정된 결과이다. 3개월 대조군 흰쥐에 cytochrome P-450 유도제 3-MC와 PB를 투여했을 때 무처리군에 비해 cytochrome b<sub>5</sub>의 함량은 증가하였으나 cytochrome P-450 함량과 같이 크게 증가하지는 않았으며, cytochrome b<sub>5</sub> reductase의 활성도는 무처리군과 큰 차이를 보이지 않았다. 또한 홍삼투여군에서도 3-MC와 PB를 투여했을 때 대조군과 거의 같은 경향을 나타내었고, 12개월에서 대조군과 홍삼투여군 모두 3개월에 비해 cytochrome b<sub>5</sub>의 함량과 cytochrome b<sub>5</sub> reductase의 활성도는 감소하였다. 따라서 cytochrome b<sub>5</sub>의 함량과 cytochrome b<sub>5</sub> reductase의 활성도는 홍삼을 처리하거나 P-450의 유도제 처리에 의해 크게 영향을 받지 않는 것으로 판단된다.

### 4. GST 활성도 변화

GST는 이물질대사의 phase II conjugation 효소중의 하나로 서 간에서 glucuronidation 반응과 같이 생체내에서 산소중심의 라디칼 생성물이나 유독한 phase I 대사산물을 glutathione과 결합시켜 다른 생체 성분과 반응하지 못하도록 무독화에 큰 역할을 담당한다고 알려져 있다 (Xu *et al.*, 2005). Fig. 1은 장기간 홍삼의 물 추출물을 공급한 흰쥐에 이물질대사효소 유도제 3-MC와 PB를 투여하고 간에서 GST 활성도를 조사한 결과이다. 3개월 흰쥐에서 대조군과 홍삼투여군 모두 3-MC와 PB의 투여는 GST의 활성도를 증가시켰으나 ( $p < 0.01$ ) 대조군이 홍삼투여군보다 더 높은 활성도를 나타내었다. 그러나 12

개월에서 홍삼투여군에 3-MC와 PB를 투여했을 때 GST 활성도는 3개월 홍삼투여군의 각각 86%와 83%의 수준을 유지하였으나, 12개월에서 대조군은 GST 활성이 3개월의 정상군에 비해 각각 77%와 72%의 수준을 나타내었다. 따라서 흰쥐에 3-MC와 PB를 투여했을 때 간 이물질대사 phase II 효소인 GST도 phase I 효소들과 같이 나이가 들어감에 따라 그 활성도가 감소하는데 장기간의 홍삼의 처리는 이러한 감소효과를 완화하는 효과가 있다고 판단된다.

## 적 요

홍삼의 물추출물을 장기간 흰쥐에 급여했을 때 흰쥐 간의 이물질대사효소 활성도 유도에 미치는 영향을 조사하였다. 홍삼 물추출물의 급여농도는 25 mg/kg body weight이었으며, 간의 이물질대사효소 유도제는 항경련제 PB (80 mg/kg)와 발암제 3-MC (20 mg/kg)을 사용하였다. 간에서 이물질대사에 관여하는 cytochrome P-450의 함량, cytochrome P-450 dependent monooxygenase인 ECOD와 BPDM, cytochrome P-450 reductase와 GST의 활성도는 PB와 3-MC 투여에 의해서 대조군과 홍삼투여군 모두 크게 증가되었다. 흰쥐의 나이가 3개월에서는 두 유도제를 투여했을 때 이물질대사효소의 활성은 대조군이 인삼투여군에 비해 상대적으로 더 많이 유도되었다. 그러나 12개월에서는 두 시험군 모두 유도정도가 감소하였으나 홍삼투여군은 그 활성도 감소정도가 대조군에 비해 상대적으로 크지 않았다. 한편 두 그룹 모두 이물질대사 효소 중 cytochrome B<sub>5</sub> 함량과 cytochrome b<sub>5</sub> reductase의 활성도는 PB와 3-MC 투여에 의해서 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. 따라서 이러한 결과는 흰쥐에 홍삼의 장기간 급여는 간에서 효소유도제의 이물질대사효소유도 정도를 조절하여 무독화에 기여할 수 있다는 것을 의미한다.

## 사 사

본 논문은 2007년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의하여 연구되었으며, 이에 감사한다.

## LITERATURE CITED

- Chang TK, Chen J, Benetton SA (2002) In vitro effect of standardized ginseng extracts and individual ginsenosides on the catalytic activity of human CYP1A1, CYP 1A2, and CYP 1B1. *Drug Metab. Dispos.* 30(4):378-384.
- Conney AH, Miller EC, Miller JA (1956) The metabolism of methylated aminoazo dyes. V. Evidence for induction of enzyme synthesis in the rat by 3-methylcholanthrene. *Cancer Res.* 16(5):450-459.
- Greenlee WF, Poland A (1978) An improved assay of 7-ethoxycoumarin O-deethylase activity. Induction of hepatic enzyme activity in C57BL/6J and DBA/2J mice by phenobarbital, 3-methylcholanthrene and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 205(3):596-605.
- Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB (1974) Glutathione-S-transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 249(22):7130-7139.
- Isin EM, Guengerich FP (2007) Complex reactions catalyzed by cytochrome P450 enzymes. *Biochim Biophys. Acta* 1770(3):314-329.
- Kurian JR, Chin NA, Longlais BJ, Hayes KL, Trepanier LA (2006) Reductive detoxification of arylhydroxylamine carcinogens by human NADH cytochrome b<sub>5</sub> reductase and cytochrome b<sub>5</sub>. *Chem. Res. Toxicol.* 19(10):1366-1373.
- Lee HC, Hwang SG, Lee YG, Sohn HO, Lee DW, Hwang SY, Kwak YS, Wee JJ, Joo WH, Cho YK, Moon JY (2002) In vivo effects of *Panax ginseng* extracts on the cytochrome P450-dependent monooxygenase system in the liver of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-exposed guinea pig. *Life Sci.* 71(7):759-769.
- Lee YG, Sohn HO, Lee DW, Lim HB (2002) The effect of water-extract of *Epimedium koreanum* Nakai on age-related changes of the xenobiotic metabolizing enzyme system in the liver of rats. *Kor. J. Medicinal Crop Sci.* 10(1):29-36.
- Lin JH (2006) CYP induction-mediated drug interactions : in vitro assessment and clinical implications. *Pharm Res.* 23(6):1089-1116.
- Lim HB, Lee DW (2006) The effect of Korean red ginseng water extract on aging-related changes in the xenobiotic metabolizing enzyme system in the liver of rats. *Kor. J. Medicinal Crop Sci.* 14(6):329-335.
- Lim HB, Lee DW (2007) Long-term supplementation of *Epimedium koreanum* Nakai in rats and its effect on in vitro antioxidant status with age. *Food Sci. Biotechnol.* 16(3):404-408.
- Lim HB, Sohn HO, Lee DW (2005) Physiological changes with age by the chronic administration of Korean red ginseng in sprague-dawley rats. *Kor. J. Medicinal Crop Sci.* 13(5):242-248.
- Liu Y, Ma H, Zhang JW, Deng MC, Yang L (2006) Influence of ginsenoside Rh<sub>1</sub> and F<sub>1</sub> on human cytochrome P450 enzymes. *Planta Med.* 72(2):126-131.
- Lowry OH, Rosebrough HJ, Farr AL, Randall RJ (1951) Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193(1):265-275.
- Mihara K, Sato R (1978) Detergent-solubilized NADH-cytochrome b<sub>5</sub> reductase. *Methods Enzymol.* 52:102-108.
- Notley LM, Crewe KH, Taylor PJ, Lennard MS, Gillam EM (2005) : Characterization of the human cytochrome P450 forms involved in metabolism of tamoxifen to its alpha-hydroxy and alpha, 4-dihydroxy derivatives. *Chem Rev Toxicol*, 18(10):1611-1618.
- Omura T, Sato R (1964) The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature. *J. Biol. Chem.* 239:2370-2378.
- Ryan DE, Thomas PE, Korzeniowski D, Levin W (1979) : Separation and characterization of highly purified forms of liver microsomal cytochrome P-450 from rats treated with polychlo-

- minated biphenyls, phenobarbital and 3-methylcholanthrene. J. Biol. Chem. 254(4):1365-1374.
- Swinney R, Hsu S, Tomlinson G** (2006) Phase I and phase II enzyme polymorphisms and childhood cancer. J. Investig. Med. 54(6):303-320.
- Thomas PE, Lu AY, Ryant D, West SB, Kawalek J, Levin W** (1976) Multiple forms of rat liver cytochrome P-450. Immunochemical evidence with antibody against cytochrome P-448. J. Biol. Chem. 251(5):1385-1395.
- William CH Jr, Kamin M** (1962) Microsomal triphosphopyridine nucleotide- cytochrome C reductase of liver. J. Biol. Chem. 237:587-595.
- Xu C, Li CY, Kong AN** (2005) Induction of phase I, II and III drug metabolism/transport by xenobiotics. Arch. Pharm. Res. 28:249-268.
- Yamada H, Ishii Y, Yamamoto M, Oguri K** (2006) Induction of the hepatic cytochrome P450 2B subfamily by xenobiotics: research history, evolutionary aspect, relation to tumorigenesis, and mechanism. Curr. Drug Metab. 7(4):397-409.
- Zhang JY, Wang Y, Prakash C** (2006) Xenobiotic-metabolizing enzymes in human lung. Curr. Drug Metab. 7(8):939-948.