

## 화분의 영양생화학적 연구

-진달래 화분(*Rhododendron mucronulatum*)이 간 Aniline Hydroxylase

활성에 미치는 영향-

권정숙 · 조수열\* · 박종민\*\* · 허근\*\*

Nutritional Biochemical Study on the Pollen Load.

-Effect of Azalea(*Rhododendron mucronulatum*) Pollen on the Hepatic  
Microsomal Aniline Hydroxylase Activity-

Chong-Suk Kwon, \*Soo-Yeul Cho, \*\*Jong-Min Park, \*\*Keun Huh

Dept. of Home Economics, Andong National University, Andong, 760-130, Korea

\*Dept. of Food & Nutrition, Yeungnam University, Kyungsan, 713-800, Korea

\*\*Dept. of Pharmacology, Yeungnam University, Kyungsan, 713-800, Korea

### Abstract

The effect of each azalea (*Rhododendron mucronulatum*) pollen extract on phase I enzyme (aniline hydroxylase) was studied in this experiment. Serum aminotransferases were not changed in mice injected each azalea pollen extract, respectively compared to control group. The hepatic microsomal aniline hydroxylase activities in the presence of each azalea pollen extract were not affected in vitro. After treatment with azalea pollen water extract, hepatic microsomal aniline hydroxylase activity was increased with dose-dependent manner as compared to control group. The increment of hepatic microsomal aniline hydroxylase activity was more powerful by the treatment of water extract. As mice received aniline after pollen butanol and water extract-pretreatment once a day for 5 days, the blood and liver levels of aniline were decreased significantly.

### 서론

화분은 꿀벌의 생명유지와 성장에 필수적인 물질이며 여왕벌의 특식인 로얄젤리의 원료로써 인간이 필요로 하는 필수 성분을 거의 함유하고 있는 완전식품으로 일컬어지고 있다. 예로부터, 화분은 강장, 강정 작용을 나타내며 신경장해, 심장병, 빈혈, 당뇨병, 전립선염<sup>1-3)</sup> 등에 대한 치료 및 예방효과가 큰 것으로 전해오고 있다. 최근에는 화분이 특수식품으로 각광을 받기 시작하고 있으나 간장에서의 해독 기전에 미치는 영향에 대한 보고는 찾아 볼 수 없다.

그러므로 진달래 화분 추출물이 외부에서 흡수되어진 여러가지 xenobiotics들을 간장에서 해독하는 과정 중, phase I 반응에 관여하는 효소인 aniline hydroxylase<sup>6, 7)</sup>에 어떤 영향을 주는가를 비교 관찰하는 한편, aniline의 혈중농도 변화와 aniline hydroxylase 활성 변동을 관련지어 동력학적인 측면에서 관찰하였다.<sup>8)</sup>

### 재료 및 방법

#### 시약 및 기기

Aniline·HCl, p-aminophenol, folin-ciocalteu reagent(이상 Wako 제), Bovine serum albumin,

NADPH(이상 Sigma제), N-(1-naphthyl) ethylenedia mine·2HCl (Fluka 제) 및 그 외 모든 시약은 시중에서 구입한 일급 이상을 사용하였다.

기기로는 high speed centrifuge(Hitachi model 20 PR-52D), pH meter(Corning model 120), UV spectrophotometer(Hitachi model 200-20) 등이었다.

진달래 화분 추출

경북 월성군 양북면 의일리에서 수집한 진달래 화분(1kg)을 Shibata 등의 방법<sup>8)</sup>에 준해 95% methanol로 24시간씩 3회 추출하여 용매를 제거한 methanol추출물을 얻고, 증류수를 가하여 수용액으로 한 다음, ether로 지용성 성분(12g)을 분리하였으며, 이 수층을 다시 물로 포화시킨 n-butanol로 추출하여 물 추출물(135g)과

n-butanol 추출물(28g)을 얻었다. (Scheme 1 참조)

동물 및 처치

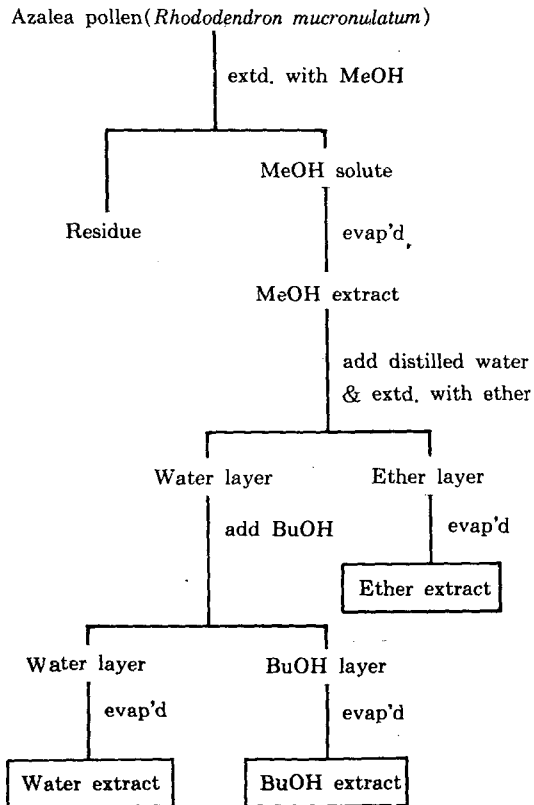
일정한 조건으로 사육한 외관상 건강한 25g 내외의 ICR계 웅성 mouse를 사용하였으며, 실험동물은 실험전 16시간동안 물만 주고 절식시켰다. 각 추출물의 투여는 10mg/kg을 실험군의 복강내로 5일간 주사하였으며, 대조군은 동량의 생리식염수를 주사하였다. Aniline의 투여는 Christensen의 방법<sup>10)</sup>에 준해 55mg/kg을 도살 1시간전에 복강내로 주사하였다.

효소의 조제

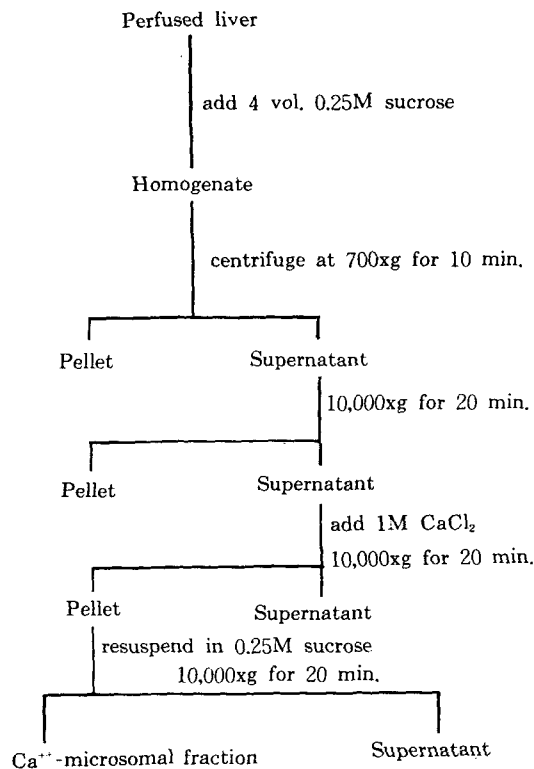
실험동물을 ether로 가볍게 마취시키고 복부 정중선을 따라 절개한 후 하대정맥에서 혈액을 취하였다. 혈액을 취한 후, 즉시 0.9% NaCl용액으로 관류시킨 간장을 적출하여 건조 1g당 0.25M sucrose 4배량을 가하여 마쇄한 마쇄액을 10,000xg에서 20분간 원심분리하여 핵, 미마쇄부분 및 mitochondria를 제거한 상등액을 취하였다. 이 상등액에 1M CaCl<sub>2</sub>용액을 가하여 최종 농도가 8mM이 되게 한 다음, 다시 10,000xg에서 20분간 원심분리하여 Ca<sup>2+</sup> microsme를 얻고<sup>11)</sup>, 0.25M sucrose용액에 현탁시켜 아래 실험의 효소원으로 사용하였다. 이상의 모든 조작은 0-4°C에서 행하였다(Scheme II 참조). 한편, 채취한 혈액은 600xg에서 20분간 원심분리하여 얻은 혈청을 아래 실험에 사용하였다.

효소의 활성 측정

Aniline hydroxylase 활성 측정은 Bidlack 등의 방법<sup>12)</sup>에 준해 10mM MgCl<sub>2</sub>와 150mM KCl이 함유된 50mM Tris·HCl 완충액(pH 7.4)에 1mM aniline, 0.5mM NADPH 및 효소액을 가해 37°C에서 15분간 반응을 시킨 다음, 이 때 생성된 p-aminophenol을 0.2N NaOH-2% phenol 용액으로 발색시켜 640nm에서 흡광도의 변화를 읽고 검량선에 의하여 aniline hydroxylase 활성도를 산정하였다. 효소의 활성도는 분당 1mg의 단백질이 생성하는 p-aminophenol의량을 nmoles로써 표시하였다.



Scheme 1. Extraction of azalea pollen (Rhododendron mucronulatum)



Scheme 2. Preparation of Ca<sup>++</sup>-microsomal fraction.

혈청 aminotransferase 활성은 Reitman과 Fran-  
kel 의 방법<sup>13)</sup>에 준해 조제된 kit를 사용하여 측  
정하였으며 효소의 활성도는 Karmen unit<sup>14)</sup>로  
나타내었다. 단백질은 Lowry등의 방법<sup>15)</sup>에 준해  
Bovine serum albumin을 표준품으로 측정하였  
다.

혈액과 간 조직중의 aniline 정량

혈액과 간 조직중의 aniline정량은 Norwitz등  
의 방법<sup>16)</sup>에 준하여 혈청 또는 간마쇄액에 10%  
trichloroacetic acid를 가해 제단백시킨 다음, 얻  
은 상등액에 1N-HCl과 1% sodium nitrite 용  
액 적당량을 첨가하여 5분간 방치시킨 다음, 3  
% sulfamic acid 용액과 0.75% N-(1-naphthyl)  
-ethylenediamine 용액 1.25ml를 넣어 잘 섞은  
다음 90분간 방치하여 발색시켰다. 이 반응액을  
555nm에서 흡광도의 변화를 읽고 검량선에 준  
해 aniline의 농도를 산정하였다. Aniline의 혈액  
및 간 조직중의 농도를 혈액 1ml 또는 간 조직  
1g당 mg으로 나타내었다.

결과

진달래 화분 각 추출물 투여가 혈청 amino  
transferase 활성 변동에 미치는 영향

진달래 화분 각 추출물(10mg/kg)을 5일간 투  
여한 실험군과 생리식염수만을 주사한 대조군의  
혈청중 ALT 및 AST의 활성 변동을 표 1.에 나  
타내었다.

ALT의 경우, 대조군의 효소활성이 31.7 Karmen  
unit/ml of serum인데 비하여, 진달래 화분 ether  
추출물, n-butanol 추출물 및 물 추출물을 투  
여한 실험군의 효소활성은 각각 33.8, 29.9, 28.  
1 Karmen unit/ml of serum으로써 대조군에 비  
하여 별다른 영향을 관찰할 수 없었다. 한편, AST  
의 경우에 있어서도 ALT와 유사한 양상을 나  
타내었다.

Table 1. Effect of each azalea pollen extract on the serum alanine and aspartate aminotransferase (ALT, AST) activities in mice.

Treatment	aminotransferase activity(Karmen unit/ml of serum)	
	ALT	AST
Control	31.7 ± 7.3	56.8 ± 9.5
Ether extract	33.8 ± 9.7	57.6 ± 11.4
Butanol extract	29.9 ± 7.2	55.0 ± 10.6
Water extract	28.1 ± 6.8	51.4 ± 8.3

Mice were injected each azalea pollen extract(10mg/kg) i.p. once a day for 5 days and killed 24 hr after the last dose. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are means±S.E. for 5 animals.

시험관내에서 간 aniline hydroxylase 활성에 미치는 진달래 화분 각 추출물의 영향

진달래 화분 각 추출물의 첨가 농도를 달리하면서 간 aniline hydroxylase 활성 변동을 관찰한 성적이 그림 1. 이다.

그림에서 볼 수 있듯이 진달래 화분 각 추출물을 50 $\mu$ g/ml까지 시험관에 첨가하여도 간 aniline hydroxylase 활성은 대조치와 별다른 차이가 없었으나, 100 $\mu$ g/ml되게 진달래 화분 ether 추출물과 n-butanol 추출물을 첨가하였을 때는 다소 효소의 활성이 억제되는 경향을 볼 수 있었다.

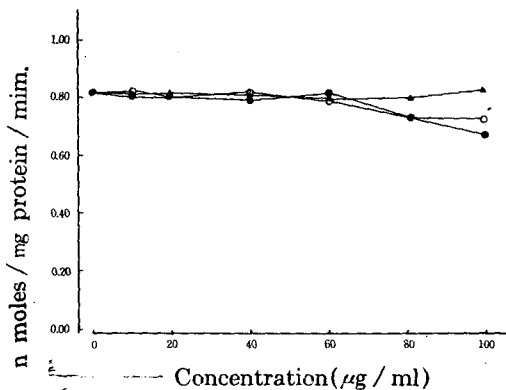


Fig. 1. Effect of each azalea pollen extract on the hepatic microsomal aniline hydroxylase activity in vitro.

The assay procedure was described in the experimental methods. Values are means for 3 separate.

experiment ; ●, ether extract ; ○, nbutanol extract ; ▲, water extract.

진달래 화분 물 추출물의 투여기간에 따른 간 aniline hydroxylase 활성 변동

진달래 화분 물 추출물(10mg/kg)의 투여 기간을 달리하면서 간 aniline hydroxylase 활성에 미치는 영향을 관찰한 성적이 표 2. 이다.

생리 식염수를 투여한 대조군의 효소 활성이 0.82 n moles/mg protein/min.이었으며, 진달

Table 2. Change of the hepatic microsomal aniline hydroxylase activity in mouse after scheduled- administrration of azalea pollen water extract.

Day	Aniline hydroxylase activity (n moles / mg protein / min.)
0	0.82 $\pm$ 0.06
1	0.91 $\pm$ 0.08
3	1.03 $\pm$ 0.06*
5	1.15 $\pm$ 0.07**
7	1.21 $\pm$ 0.10**

Mice were injected i.p. once a day with azalea pollen water extract(10mg/kg) for 1, 3, 5 or 7 days and killed 24 hr after the last injection. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are means  $\pm$  S.E. for 5 animals. Significantly different from control (\*:p<0.05, \*\*:p<0.01)

래 화분 물 추출물을 투여하면서 경시적으로 효소의 활성을 측정하였을 때, 1일 투여군에서는 0.91 n moles/mg protein/min.으로써 대조군에 비해 증가하는 경향을 관찰할 수 있었다. 그러나, 3일, 5일 및 7일간 투여한 실험군에서는 효소의 활성이 1.03, 1.15, 1.21 nmoles/mg protein/min으로써 대조군에 비해 각각 약 25%, 40%와 50%정도의 유의성있는 증가를 보였다. 그러므로, 이하의 실험에서는 5일간 투여하여 실험을 실시하였다.

진달래 화분 물 추출물의 투여용량에 따른 간 aniline hydroxylase 활성 변동.

여러 용량(2.5, 5.0, 10.0, 20.0, 40.0 mg/kg)의 진달래 화분 물 추출물을 5일간 복강내로 주사한 후, 간 aniline hydroxylase 활성을 관찰한 성적이 표3.이다.

대조군의 활성에 비하여 물 추출물을 5.0, 10.0, 20.0과 40.0 mg/kg을 투여한 실험군에서는 효소의 활성이 각각 30%, 40%, 45%와 50% 정도의 현저한 증가를 보였다. 그러므로, 이하의 실험에서는 10mg/kg을 투여하여 실험을 실시

**Table 3. Dose response for azalea pollen water extract on the hepatic microsomal aniline hydroxylase activity in mice.**

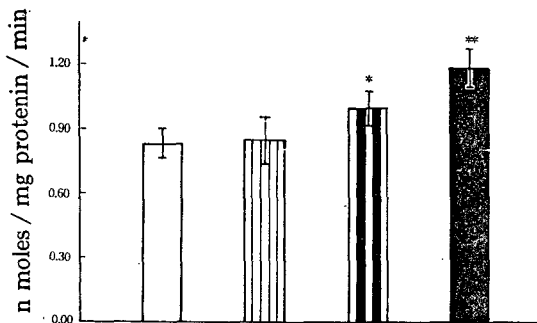
Dose(mg / kg)	Aniline hydroxylase activity (n moles / mg protein / min)
0	0.82 ± 0.06
2.5	0.98 ± 0.08
5.0	1.05 ± 0.07*
10.0	1.15 ± 0.07**
20.0	1.19 ± 0.08**
40.0	1.23 ± 0.10**

Mice were injected azalea pollen water extract i.p. once a day for 5 days and killed 24 hr after the last injection. The other conditions are the same as described in Table 2. Values are means ± S.E. for 5 animals. (\*: p < 0.05, \*\*: p < 0.01)

하였다.

진달래 화분 각 추출물 투여에 따른 간 aniline hydroxylase 활성 변동.

진달래 화분 각 추출물을 투여한 다음, 간 aniline



**Fig. 2. Effect of each azalea pollen extract on the hepatic microsomal aniline hydroxylase activity in mice.**

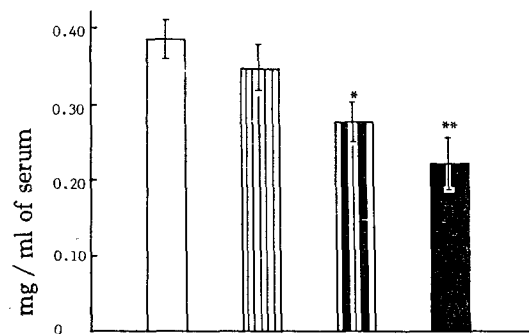
The other conditions are the same as described in Table 1. □, control ; ▨, ether extract ; ▩, n-butanol extract ; ■, water extract. Values are means ± S.E. for 5 animals. Significantly different from control(\*: p < 0.05, \*\*: p < 0.01)

hydroxylase 활성 변동을 관찰한 성적을 그림 2.에 나타내었다.

생리식염수만을 투여한 대조군의 효소 활성이 0.82 n moles / mg protein / min인데 비하여 진달래 화분 ether 추출물을 투여한 실험군의 효소 활성은 0.84 n moles / mg protein / min로써 대조군과 별다른 변화를 관찰할 수 없었다. 그러나, 진달래 화분 n-butanol 추출물과 물 추출물을 투여한 실험군에서 효소 활성은 각각 1.01 n moles / mg protein / min 과 1.15 n moles / mg protein / min로써 약 25%와 40% 정도의 현저한 효소 활성 증가를 관찰할 수 있었다.

혈액과 간 조직중의 aniline농도에 미치는 진달래 화분 각 추출물의 영향.

진달래 화분 각 추출물을 전처리한 실험군과 생리식염수를 전처리한 대조군에 aniline을 복강내로 1회 주사한 후 1시간이 경과된 다음, 혈액과 간 조직중의 aniline농도를 관찰한 성적이 그림 3-1.과 3-2.이다.



**Fig. 3-1. Effect of each azalea pollen extract on the serum aniline level in aniline-treated mice.**

Mice were injected each azalea pollen extract (long / kg) i. p. daily for 5 days, and killed 1. hr after aniline treatment (55mg / kg). The other conditions are the same as described in Fig. 2. □, control ; ▨, ether extract ; ▩, butanol extract ; ■, water extract. \* : p < 0.05, \*\* : p < 0.01.

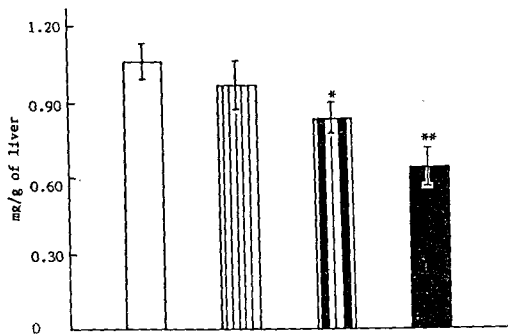


Fig. 3-2. Effect of each azalea pollen extract on the hepatic aniline level in aniline-treated mice.

Mice were injected each azalea pollen extract (long / kg) i.p. daily for 5 days, and killed 1 hr after aniline treatment (55mg / kg). The other conditions are the same as described in Fig. 2. □, control ; ▨, ether extract ; ▩, butanol extract ; ■, water extract. \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ .

Aniline만을 주사한 대조군의 혈중 농도는 0.38 mg / ml of serum 인데 비하여 진달래 화분 n-butanol 추출물과 물 추출물을 투여한 실험군에서의 혈중 농도는 0.27 mg / ml of serum 과 0.22 mg / ml of serum 으로서 약 30%와 40% 정도로 aniline의 혈중 농도가 감소함을 알 수 있었다. 그러나, ether 추출물을 투여한 실험군에서는 0.34 mg / ml of serum 으로서 다소 감소하는 경향을 보였으나 통계학적인 유의성은 관찰되지 않았다. 한편, 간 조직중의 aniline 농도도 혈청과 마찬가지로 대조군에 비해 진달래 화분 각 추출물을 투여한 실험군에서 감소됨을 관찰할 수 있었다.

### 고 찰

민간에서 특수 식품 내지는 보전 약품으로 널리 이용되어지고 있는 화분<sup>17, 18</sup>의 활성 성분을 연구하는 일환으로, 진달래 화분의 활성 성분을 여러 가지 용매로 추출하고 그 추출물을 mouse

에 투여한 후, 간 aniline hydroxylase 활성변동을 검토하였을 때, n-butanol 추출물과 물 추출물 분획에서 본 효소의 활성증가 현상이 관찰되었으며, 물 추출물 분획에서, 보다 강한 작용이 나타났다.

이와 같은 진달래 화분 각 추출물들의 aniline hydroxylase 활성 변동 효과는 in vitro에서는 관찰되지 않았으며, in vivo 실험에서 5일간 이상 일정량을 투여해야만 본 효소 활성이 유의성 있게 증가되었으므로, 진달래 화분의 간 aniline hydroxylase 활성 증가 효과는 단순한 직접작용이 아니고 간 세포의 복잡한 단백질 합성 기구를 개입하여 나타난 것으로 예상된다.

이와 같은 효소 활성 증가 작용과 기질 농도 변화와의 상관성을 검토할 목적으로 간장에서 aniline hydroxylase 에 의해 대사되어지는 aniline 을 model 약물로 선정하여 aniline 을 투여한 다음, 혈액과 간 조직중의 농도 변화를 관찰한 실험에서도 n-butanol 추출물과 물 추출물 투여군에서 현저한 생체내 농도감소가 관찰되었다.

이러한 결과를 앞 실험 성적과 관련지어 검토하여 볼 때, 생체내 농도 감소는 n-butanol 추출물과 물 추출물 투여에 의해 aniline hydroxylase 의 활성이 증가되어 나타난 결과라고 사료되어지며, 이들 추출물이 phase I 과정 중 type II 계 약물의 독성으로부터 생체를 보호할 것이라는 실험적인 기초 자료를 제시하였다.

간 microsomal fraction에 존재하는 aniline hydroxylase 는 약물을 비롯한 여러가지 생체 밖에서 들어간 독성 물질과 생체내의 여러 가지 대사 과정에서 생성되는 내부 독성 물질들을 대사시켜 무독화시키는 해독 과정에 관여하는 효소이다.<sup>19, 20</sup> 생명체의 노화 현상과 병태생화학적인 현상은 생체 세포에 독성을 부여하는 외인성 xenobiotics 들과 endogenous toxins 들의 노출 정도에 의존할 것이라는 학설<sup>21, 22</sup>들과 연관지어 생각할 때, 화분 성분이 간 약물 대사효소의 일종인 microsomal aniline hydroxylase 활성을 증가시키므로써 외인성 및 내인성 독성물질을 무독화시키는 작용은 화분이 여러 종류의 대사성 질환의 예방효과가 있다는 학설<sup>23</sup>과 상통하는 실험 결과라고 생각되어지며, 이 분야에 대해서

는 보다 많은 검토가 요청된다.

### 요 약

진달래 화분 각 추출물이 약물 대사 효소 활성에 미치는 영향을 검토하는 일환으로 각 추출물을 투여한 다음, 간 microsomal aniline hydroxylase 활성 변동을 관찰하는 한편, aniline의 대사에 어떤 영향을 주는가를 검토한 결과 Mouse에 진달래 화분 각 추출물을 투여하였을 때, 본 실험에 사용된 투여용량 범위에서 혈성 ALT 및 AST 활성은 대조군에 비해 별다른 차이를 관찰할 수 없었다. 시험관내 실험에서, 진달래 화분 각 추출물이 간 microsomal aniline hydroxylase 활성에는 별다른 영향을 미치지 않았다. 진달래 화분 물 추출물을 실험 동물에 투여하였을 때, 기간과 용량에 비례하여 간 microsomal aniline hydroxylase 활성이 증가되었다. 진달래 화분 각 추출물을 투여한 실험에서, n-butanol 추출물과 물 추출물 투여군에서 유의성있는 효소 활성 증가가 관찰되었다. 진달래 화분 n-butanol 추출물과 물 추출물 전처치에 의해서 혈액과 간조직내 aniline 농도가 현저히 감소되었다.

(본 연구는 1988년도 문교부 학술연구 조성비의 지원에 의한 연구의 일부임.)

### 문 헌

1. 김 병 호 : 신약봉황, 선진문화사, pp 242 (1982)
2. 増山忠俊 : 화분의 건강법, 일본 Journal 출판, pp 146 - 163.
3. Toshinori Furukawa, Terutaka Numoto, Makoto Ishii, Yoshiaki Isobe, Fumi o Kimura : Pharmacological studies on cernilton, a new remedy for prostatitis or prostatomegaly(1). *J. Med. Soc. Toho, Japan.* 15, 190.(1968)
4. Masatake Ozake, Kiyomi Shirakawa, Michie Funabashi : Pharmacological studies on cernilton, a new remedy for prostatitis or prostatomegaly(2). *J. Med. Soc. Toho, Japan.* 15, 201.(1968)
5. Ryuta Ito, Makoto Ishii, Shozo Yamashita : Antigenicity and general pharmacology of cernilton pollen - extract. *應用藥理*, 28, 529(1984)
6. Phillipson, C. E., Ioannides, C., Delaforge, M. & Parke, D.V. : Studies on the substrate - binding sites of liver microsomal cytochrome p - 448. *Biochem. J.*, 207, 51(1982)
7. Gram, T.E., Guarino, A. M., Schroeder, D. H., Davis, D. C., Regan, R.L. & Gillette, J. R. : The effect of starvation on the kinetics of drug oxidation by hepatic microsomal enzymes from male and female rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 175, 12.(1970)
8. Shoeman, D.W., Chaplin, M.D. & Mantering, G.J. : Induction of drug metabolism. III. Further evidence for the formation of a new p - 450 hemoprotein after treatment of rats with 3 - methylcholanthrene. *Mol. Pharmacol.*, 5, 412.(1969)
9. Shibata, S., Fujita, M., Itokawa, H., Tanaka, O. & Ishii, T. : Studies on the constituents of japanese and chinese crude drugs. *Chem. Pharm. Bull.*, 11, 759(1963)
10. Christensen, H.E. : Toxic substance list. 63 (1974)
11. Kamath, S.A. & Narayan, K.A. : Interaction of  $Ca^{++}$  with endoplasmic reticulum of rat liver. *Anal. Biochem.*, 48, 53(1972)
12. Bidlack, W.R. & Lowery, G.L. : Multiple drug metabolism. p - nitroanisole reversal of acetone enhanced aniline hydroxylation. *Biochem. Pharmacol.*, 31, 311(1982)
13. Reitman, S. & Frankel, S. : A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am. J. Clin. Pathol.*, 28, 56(1957)
14. Karmen, A. : A note on the spectrophotometric assay of glutamic oxalacetic transaminase in human blood serum. *J. Clin. Invest.*, 34, 131(1955)
15. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.

- L. & Randall, R.J. : Protein measuremet with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265(1951)
16. Norwitz, G., Keliher, P.N. : Spectrophotometric determination of aniline by the diazotization-coupling method with N-(1-Naphthyl)ethylenediamine as the coupling agent. *Anal. Chem.*, 53, 1238(1981)
17. 성 은 찬 : 꽃가루의 신비, 전국 농업 기술자협회 출판부. 1988
18. Roma R. Bell, Elizabeth J. Thornber, Jenny L.L. Seet, Maria T. Groves, Merissa P. Ho & David T. Bell : Composition and protein quality of honeybee-collected pollen of *Eucalyptus marginata* & *Eucalyptus calophylla*, *J. Nutr.*, 113,2479(1983)
19. Croci, T. & Williams, G.M. : Activities of several phase I and phase II xenobiotics biotransformation enzymes in cultured hepatocytes from male and female rats. *Biochem. Pharmacol.*, 34, 3029(1985)
20. Goldstein, A., Aronow, L. & Kalman, S.M. : *Principles of drug action*. 2nd Ed. Wiley Biochemical Health Pub., 242(1974)
21. Billings, R.E., McMahon, R.E., Ashmore, J., and Wagle, S.R. : The metabolism of drugs in isolated rat hepatocytes. A comparison with in vivo drug metabolism and drug metabolism in subcellular liver fractions. *Drug. Metab. Dispos.*, 5(1977)
22. Thurman, R.G., and Kauffman, F.C. : Factors regulating drug metabolism in intact hepatocytes. *Pharmacol. Rev.*, 31229(1980)

(Received January 25, 1989)