

미나리추출물이 사염화탄소에 의한 마우스 간손상에 미치는 영향

이상일*† · 박용수 · 조수열

*계명전문대학 식품영양과
영남대학교 식품영양학과

Protective Effect of *Oenanthe javanica* Extract on the Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity in Mice

Sang-Il Lee*†, Yong-Su Park and Soo-Yeul Cho

* Dept. of Food and Nutrition, Keimyung Junior College, Taegu 705-037, Korea
Dept. of Food and Nutrition, Yeungnam University, Kyongsan 712-749, Korea

Abstract

The present work was undertaken to investigate the protective mechanism of *Oenanthe javanica* n-butanol extract on the carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice. It was observed that a striking enhancement of serum alanine aminotransferase and hepatic lipid peroxide content after carbon tetrachloride administration were markedly decreased by the pretreatment of *Oenanthe javanica* extract for 5 days. It was also observed that the hepatic aniline hydroxylase, catalase, glutathione S-transferase activity and glutathione content were not changed by the injection of *Oenanthe javanica* extract for 5 days. Whereas, hepatic xanthine oxidase activity was inhibited by the treatment of *Oenanthe javanica* extract for 5 days. After treatment with *Oenanthe javanica* extract, xanthine oxidase activity was decreased with dose and time-dependent manner as compared to control group. However, hepatic xanthine oxidase activity was not affected by the addition of *Oenanthe javanica* extract *in vitro*. These results suggest that the inhibition of hepatic xanthine oxidase activity by the injection of *Oenanthe javanica* extract is believed to be a possible protective mechanism for the carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice.

Key words : free radical generating system, free radical scavenging system, *Oenanthe javanica* extract

서 론

미나리 (*Oenanthe javanica* DC.)는 미나리과에 속하는 다년생 초본으로 민간에서 널리 재배^{1,2)}되어 식품으로 주로 이용되어지고 있으나, 한방에서도 그 열경을 혈압강하, 해열, 이뇨, 보혈, 지혈, 강장의 목적과 더불어 주독 및 폐렴의 치료에 사용^{3,4)}하고 있는 약용식물의 일종이다.

미나리에 관한 연구는 주로 vitamin에 관한 것이 대부분을 차지⁵⁻⁹⁾하고 있을 뿐, 약리작용에 관한 보고는 거의 없는 실정이었으나, 최근 미나리 methanol 추출물이 토끼에서 사염화탄소 투여로 유발된 간기능 손상에

에 치료효과를 나타낸다⁹⁾고 알려지고 있어 미나리 성분이 조직의 손상에도 유효할 것이라는 예상을 갖게하고 있다.

일반적으로 생체조직 세포의 손상은 생체막 구성성분인 다가불포화지방산의 과산화가 그 한가지 원인^{10,11)}으로 지적되고 있는데, 지질의 과산화는 생체 외적인 요인 뿐만 아니라 내적인 요인 (oxygen free radical generating system)¹²⁻¹⁵⁾에 의하여 생성된 oxygen free radical ($\cdot O_2$, O_2^- , $\cdot OH$, H_2O_2)¹⁶⁻¹⁸⁾들 때문에 야기되며, 또한 생체는 free radical의 독작용을 저지시켜주는 free radical scavenging system¹⁹⁻²²⁾이 존재하고 있어 여러가지 손상으로부터 보호받고 있다. 그러나 어떠한 원인에 의해 free radical generating system과 scavenging system 사이의 불균형이 초래되어질 때에는 조직

† To whom all correspondence should be addressed

손상, 발암, 염증, 성인병 및 노화 등과 같은 여러가지 독작용이 유발^{23,24)}된다고 한다.

본 실험에서는 미나리 성분의 생체보호작용 기전을 구명할 목적으로 여러단계를 거쳐 미나리 성분을 추출한 다음, 실험동물에 투여하면서 free radical generating system과 scavenging system에 관여하는 효소들의 활성변동을 간손상의 정도와 상호비교 검토하였다.

재료 및 방법

미나리 *n*-butanol 분획의 추출

시중에서 구입한 미나리의 식용부위(잎과 줄기)를 음건한 다음 세절하고, Shibata 등²⁵⁾의 방법에 준해 methanol로 3회 추출, 여과, 감압농축하여 methanol 추출물을 얻었다. 이 추출물을 소량의 증류수로 용해시킨 후, 증류수를 포화시킨 ethylether를 가해 지용성 성분을 제거한 다음, 다시 증류수를 포화시킨 *n*-butanol을 수층에 첨가하여 교반, 정지시켜 *n*-butanol층을 분리, 감압하에서 증발 건조시켜 *n*-butanol추출분획(이하 *n*-butanol추출물로 표시)을 얻었다.

동물의 처치

실험동물은 본 대학 동물사에서 일정한 조건으로 사육한 외관상 건강한 25g 내외의 음성 ICR계 mouse를 사용하였다.

미나리 *n*-butanol추출물은 0.9% 생리식염수에 용해시킨 다음 체중 1kg당 50mg을 1일 1회 복강내로 5일간 투여하였으며, 급성 간손상의 유도는 미나리 추출물 마지막 주사 8시간 후, 50% 사염화탄소(olive oil로 희석)를 체중 1kg당 1ml씩 복강내로 투여하여 야기시켰다. 대조군은 동량의 생리식염수 및 olive oil을 복강내로 투여하였다. 실험동물은 처치된 16시간 동안 물만 주고 금식시켰다.

효소원의 조제

실험동물을 ether로 마취시킨 다음 복부정중선을 따라 개복한 후 하대정맥으로부터 혈액을 채취하고, 0.9% 생리식염수로 관류시킨 간장을 적출하여 생리식염수에 씻은 다음 여지로 압박, 간에 남아있는 혈액 및 생리식염수를 제거한 후, 간조직 1g당 4배량의 0.25M sucrose용액을 가하여 빙냉하에서 glass teflon homogenizer로 마쇄하였다. 이 마쇄균질액을 600×g에서 10분, 10,000×g에서 20분, 105,000×g에서 1시간 동안 초원심분리하여 mitochondria 분획, cytosol 분획

및 microsome 분획을 얻었다. Cytosol 분획은 glutathione S-transferase와 xanthine oxidase 활성측정의 효소원으로, microsome 분획은 aniline hydroxylase 활성측정의 효소원으로, mitochondria 분획은 catalase 활성측정의 효소원으로 사용하였다. 한편 채취한 혈액은 혈청을 분리하여 alanine aminotransferase 활성측정의 효소원으로 사용하였다.

이상의 모든 조작은 따로 규정이 없는 한 4°C에서 행하였다.

효소활성 측정

Aniline hydroxylase의 활성측정은 기질인 aniline으로부터 생성된 *p*-aminophenol을 비색정량하는 Bidlack과 Lowery²⁶⁾의 방법에 준하였으며, catalase의 활성은 기질인 hydrogen peroxide가 분해되는 정도를 측정하는 Aebi²⁷⁾의 방법에 준하였고, glutathione S-transferase의 활성은 기질인 1-chloro-2,4-dinitrobenzene과 glutathione이 반응하여 생성된 thioether의 양을 측정하는 Habig 등²⁸⁾의 방법으로, xanthine oxidase의 활성은 기질인 xanthine으로부터 생성된 뇨산의 양을 측정하는 Stirpe와 Della²⁹⁾의 방법에 준하였다. Catalase의 활성도는 분당 1mg의 단백질이 분해시킨 hydrogen peroxide량을 μ mole로, 나머지 효소들의 활성도는 분당 1mg의 단백질이 생성시킨 생성물의 양을 n mole로 나타내었다. 한편 혈청중 alanine aminotransferase의(이하 ALT라 약함) 활성은 Reitman과 Frankel의 방법³⁰⁾에 따라 조제된 Kit시약으로 측정하였고, 그 활성단위는 혈청 ml당 Karmen unit³¹⁾로 표시하였다.

간조직중 과산화지질과 glutathione의 함량측정

과산화지질의 함량측정은 malondialdehyde를 thiobarbituric acid로 비색정량하는 Ohkawa 등³²⁾의 방법에 준하였고, glutathione의 함량은 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid)로 glutathione을 비색정량하는 Ellman³³⁾의 방법에 준하여 측정하였다. 과산화지질의 함량은 간조직 g당 malondialdehyde n mole로, glutathione의 함량은 간조직 g당 μ mole로 표시하였다.

단백질의 정량

단백질의 함량은 Lowry 등³⁴⁾의 방법에 따라 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 측정하였다. 한편 실험결과와 통계처리는 student's *t*-test를 이용하여 상호 비교하였다.

결과 및 고찰

혈청 ALT의 활성과 간조직 과산화지질 함량에 미치는 미나리추출물의 영향

미나리 *n*-butanol 추출물을 5일간 복강내로 투여한 후, 사염화탄소를 주사하고 혈청 ALT의 활성변동과 간조직 과산화지질의 함량 변동을 관찰한 것이 Table 1 과 Fig. 1이다.

대조군과 미나리추출물을 5일간 투여한 군간에는 혈청 ALT의 활성이 별다른 차이가 없었다. 사염화탄소를 투여하였을 때에는 ALT의 활성이 대조군에 비하여 약 12배정도 현저하게 증가되었으나, 미나리추출물을 전처치한 다음 사염화탄소를 투여하였을 때에는 사염화탄소만을 투여한 실험군에 비하여 유의하게 감소되

Table 1. Effect of *n*-butanol extract from *Oenanthe javanica* (O) on the activity of serum alanine aminotransferase(ALT) in carbon tetrachloride-treated mice

Treatment	ALT (Karmen unit/ml of serum)
Control	26.8± 6.7
CCl ₄	316.7±21.8****
O) extract	29.9± 4.3
O) extract + CCl ₄	231.2± 18.9***

Mice were treated with *Oenanthe javanica* extract (50mg/kg) i. p. daily for 5days and carbon tetrachloride (50% CCl₄, 1.0ml/kg) i.p. for 1 day. Mice were killed 16hr after the last dose of carbon tetrachloride. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean±S.E. for 6 animals

^a Significantly different from control, ^b Significantly different from CCl₄-treated group (**p<0.01, ***p<0.001)

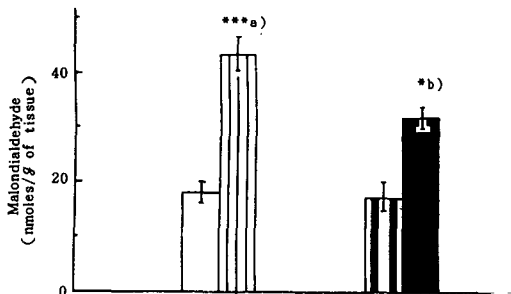


Fig. 1. Effect of *Oenanthe javanica n*-butanol extract on the level of hepatic lipid peroxide in carbon tetrachloride treated mice.

The assay procedure was described in the experimental methods. The other conditions are the same as described in the Table 1.

□ ; Control, ▨ ; CCl₄, ▩ ; *Oenanthe javanica*, ■ ; *Oenanthe javanica* + CCl₄

^a Significantly different from control, ^b Significantly different from carbon tetrachloride-treated group(*p <0.05, ***p<0.001)

었다.

간조직 과산화지질의 함량은 대조군이 조직1g당 18.2nmoles인데 비하여 사염화탄소를 투여한 군은 43.5nmoles로 약 2.4배 정도 현저하게 증가하였다. 그러나 미나리추출물을 전처치한 다음 사염화탄소를 투여하였을 때는 31.4nmole로, 사염화탄소만 투여한 군에 비하여 유의하게 감소하였다.

체중 kg당 50mg의 미나리추출물을 5일동안 실험동물에 투여하였을 때 간조직 손상의 지표로 이용되고 있는 혈청 ALT^{35,36)}의 활성과 생체막 손상의 정도를 나타내는 조직 과산화지질³⁷⁾의 함량은 대조군과 별다른 차이가 없는 것으로 보아 본 실험에 사용한 미나리추출물의 투여량과 투여기간에서는 간조직 세포에 별다른 독작용은 유발시키지 않을 것으로 생각되어진다. 한편 사염화탄소를 투여하므로써 혈청 ALT의 활성과 간조직 과산화지질의 함량이 대조군에 비해 현저하게 상승한 것은 사염화탄소에 의해 간조직손상이 야기된 것으로 사료되어지며, 미나리추출물을 전처치하므로써 두가지 parameter 모두 유의성 있게 감소되는 것으로 보아 미나리 *n*-butanol 추출물이 사염화탄소가 유도하는 간조직 손상에 보호작용이 있는 것으로 생각되어진다.

미나리추출물 투여에 의한 free radical 생성계 효소와 free radical 해독계 효소의 활성변동 및 간조직 glutathione 함량변동

사염화탄소는 microsomal mixed function oxidase에 의하여 trichloromethyl radical (·CCl₃)로 전환되어 이것이 endoplasmic reticulum 및 세포막과 같은 생체막의 과산화를 일으켜 간손상을 야기^{13,38)}시키는 것으로 알려져 있다. 그러므로 미나리추출물을 전처치하므로써 사염화탄소의 독작용이 경미하게 나타난 것이 미나리추출물의 어떠한 작용에 기인되어 나타나는지를 검토할 목적으로 미나리 *n*-butanol 추출물을 5일간 복강내로 투여한 다음 간조직 free radical 생성계와 해독계의 변동을 관찰한 성적이 Table 2이다.

Microsomal mixed function oxidase의 일종인 aniline hydroxylase의 활성을 관찰하였을 때, 대조군과 미나리추출물 투여군 사이에는 유의한 변동을 관찰할 수 없었다. 그러나 microsomal mixed function oxidase와 함께 free radical generating system의 일종으로 알려져 있으며 내외인성 핵산성 물질대사에 관여하는 cytosolic xanthine oxidase^{39,40)}의 활성을 측정하였을 때에는 미나리추출물 투여군이 대조군에 비하여 약 42% 정도

Table 2. Effect of *n*-butanol extract from *Oenanthe javanica* on the hepatic free radical generating (microsomal aniline hydroxylase and cytosolic xanthine oxidase) and scavenging systems (peroxisomal catalase, cytosolic glutathione S-transferase and glutathione) in mice

Parameters	Control	OJ extract
Aniline hydroxylase ¹⁾	0.64 ± 0.12	0.73 ± 0.08
Xanthine oxidase ¹⁾	2.12 ± 0.14	1.20 ± 0.17**
Catalase ²⁾	3.08 ± 0.41	3.65 ± 0.51
Glutathione S-transferase ³⁾	1078.51 ± 60.23	1261.92 ± 73.44
Glutathione ³⁾	4.52 ± 0.35	5.38 ± 0.44

Mice were injected *Oenanthe javanica n*-butanol extract (50mg/kg) i.p. daily for 5days, and killed 24 hours after the last dose. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± S.E. for 6 animals (**p < 0.01)

¹⁾ nmoles/mg protein/min, ²⁾ μmoles/mg protein/min, ³⁾ μmoles/g of tissue

Table 3. Dose response for *Oenanthe javanica n*-butanol extract on the hepatic xanthine oxidase activity in mice

Treatment	Dose (mg/kg)	Xanthine oxidase (n moles/mg protein/min)
Control	-	2.12 ± 0.14
OJ extract	25	1.87 ± 0.11
	50	1.20 ± 0.17**
	100	1.33 ± 0.26*

Mice were injected *Oenanthe javanica n*-butanol extract i.p. daily for 5days, and killed 24 hours after the last dose. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± S.E. for 6 animals (*; p < 0.05, **; p < 0.01)

Table 4. Change of the hepatic xanthine oxidase activity in mice after scheduled-administration of *Oenanthe javanica n*-butanol extract

Day	Xanthine oxidase (n moles/mg protein/min)
0	2.12 ± 0.14
1	2.08 ± 0.21
3	1.69 ± 0.24
5	1.21 ± 0.17*

Mice were injected i.p. daily with *Oenanthe javanica n*-butanol extract (50mg/kg) for 1, 3 or 5 days, and killed 24 hours after the last injection. The other conditions are the same as described in the Table 3 (*; p < 0.05)

현저하게 활성이 감소되었다.

한편 미나리추출물이 free radical scavenging system의 활성을 유도하므로써 해독작용이 나타난 것인지를 검토할 목적으로 mitochondrial catalase, cytosolic glutathione S-transferase의 활성 및 간조직 glutathione의 함량을 측정하였을 때, 대조군과 미나리추출물 투여군 사이에는 유의한 차이가 없었다.

이러한 실험성적들을 종합하여 볼 때, 사염화탄소에 의하여 유도된 급성 간손상을 미나리추출물이 억제하는 현상은 약물대사효소인 microsomal mixed function oxidase 및 free radical scavenging system의 변동보다는 xanthine oxidase의 활성변동과 상관성이 있을 것으로 사료되어지며, 최근 xanthine oxidase가 xenobiotics의 대사에도 관여할 것이라는 가설¹⁴⁾이 제시되고 있어 이를 뒷받침할 수 있을 것으로 생각된다.

미나리추출물의 투여용량과 투여기간에 따른 간조직 xanthine oxidase 활성변동

미나리 추출물의 투여에 의한 간조직 xanthine oxidase의 활성 억제현상이 어떠한 원인에 의해 나타나는지 검토할 목적으로 미나리 *n*-butanol 추출분획의 투여량과 투여기간을 달리하면서 간조직 xanthine oxidase 활성에 미치는 영향을 관찰한 성적이 Table 3과 4이다.

생리식염수만을 주사한 대조군의 활성에 비하여 미나리 추출물의 투여량을 증가시키므로써 본 효소의 활성은 반비례하여 감소되었으며, 50mg/kg이상의 투여군에서 유의성 있게 감소하였다.

한편 간조직 xanthine oxidase의 활성을 유의하게 감소시킨 50gm/kg의 미나리추출물을 투여기간을 달리하면서 주사한다음 xanthine oxidase의 활성 변동을 관찰하였을 때, 대조군에 비하여 미나리추출물의 투여기간이 증가할수록 본 효소의 활성은 반비례하여 감소하였으며, 5일 이상 투여군에서 유의한 감소가 관찰되었다.

이러한 실험성적으로 보아 미나리 추출물이 생체내에서 간조직 xanthine oxidase의 활성을 시간 및 용량의존적으로 억제하고있음을 알수가 있다.

미나리추출물이 시험관내에서 간조직 xanthine oxidase 활성에 미치는 영향

미나리추출물에 의한 간조직 xanthine oxidase의 활성 억제현상이 미나리 *n*-butanol 추출물의 직접적인 작용에 의해 나타나는 것인지를 검토할 목적으로 시험관내에 미나리추출물의 첨가농도를 증가시켜 가면서 xanthine oxidase의 활성을 관찰한 성적이 Fig. 2이다.

미나리추출물을 200μg/ml까지 시험관내에 첨가하여도 간조직 xanthine oxidase의 활성은 대조치와 별다른 변동은 관찰되지 않았다.

이러한 실험결과로 보아 미나리추출물 투여에 의한 간조직 xanthine oxidase의 활성 억제현상은 미나리추

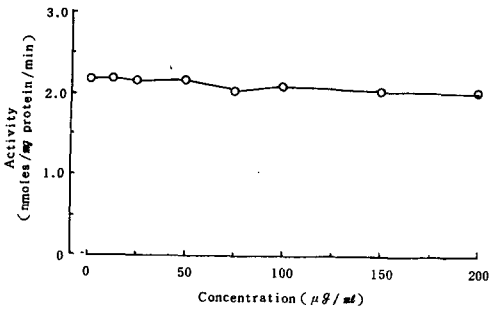


Fig. 2. Effect of *Oenanthe javanica* *n*-butanol extract on the hepatic xanthine oxidase activity *in vitro*.

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

출물이 효소의 활성에 직접적인 영향을 주므로써 나타나는 것은 아닌것으로 사료되어진다.

이상의 모든 실험성적들과 문헌상의 지견들을 종합하여 볼 때, 미나리 *n*-butanol 추출분획은 free radical generating system의 일종인 간 조직 xanthine oxidase의 활성을 억제시키므로써 사염화탄소에 의한 급성 간 조직 손상을 예방 내지는 치료해 줄 것으로 생각되어진다.

요 약

미나리의 해독작용 기전을 구명하기 위하여 미나리 *n*-butanol 추출분획을 실험동물에 전처치한 다음, 간독소인 사염화탄소를 투여하고 급성 간손상의 정도를 확인함과 동시에 조직손상과 관련된 free radical 생성계 및 해독계효소의 활성에 미치는 영향을 검토하였다. 사염화탄소를 투여하였을 때 혈청 ALT 활성 및 간조직 과산화지질의 함량이 대조군에 비하여 현저히 증가되었으나, 미나리추출물을 전처치하므로써 증가현상이 유의하게 억제되었다. 한편 미나리추출물 (50mg/kg)을 실험동물에 투여하였을 때, 간조직의 free radical 생성계 효소인 aniline hydroxylase의 활성 및 free radical 해독계 효소인 catalase 및 glutathione S-transferase의 활성과 간조직 glutathione의 함량은 유의한 변동을 나타내지 않았다. 그러나 free radical 생성계 효소의 일종인 간조직 xanthine oxidase의 활성은 미나리 추출물의 투여량과 투여기간에 반비례하여 감소되었으며, 50mg/kg 및 5일간 투여군에서 유의한 억제현상을 관찰할 수 있었다. 시험관내에 미나리 추출물의 첨가농도를 증가시켜가면서 간조직 xanthine oxidase의 활성을 측정하였을 때 효소의 활성은 변동이 없었다. 이상의 실험성적들을 종합해 볼 때, 미나리 *n*-butanol

추출분획은 free radical 생성계 효소인 간조직 xanthine oxidase의 활성을 조절하므로써 사염화탄소에 의한 간손상을 보호해 줄 것으로 사료되어진다.

문 헌

1. 안학수 : 한국 농식품 자원명람. 일조각, p.155(1982)
2. 이창복 : 대한식물도감. 향문사, p.581(1983)
3. 赤松金芳 : 新訂和漢藥. 醫齒藥出版, p.198(1974)
4. 유태중 : 식품 카르테. 박영사, p.28(1982)
5. 정영주 : 한국상용 식품중의 비타민 함량조사보고 (총 비타민 B₂의 함량에 대하여). 중앙화학연구소 보고, 6, 84(1957)
6. 양충호 : 한국상용 식품중의 비타민 함량조사보고 (총 carotene의 함량에 대하여). 중앙화학연구소 보고, 6, 86(1957)
7. 이윤식, 문영명, 김덕순 : 몇가지 식품중 비타민 함량 분석. 현대의학, 5, 115(1966)
8. 박종식 : 채소류의 가식부위에 따른 비타민 C 함량에 대하여. 덕성여대 논문집, 1, 139(1972)
9. 서화중, 이명렬 : 미나리 추출물이 가토의 간장기능에 미치는 영향. 한국영양식량학회지, 14, 72(1985)
10. Rao, K. S. and Recknagel, R. O. : Early onset of lipoperoxidation in rat liver after carbon tetrachloride administration. *Exp. Mol. Pathol.*, 9, 271(1946)
11. Curtis, M. T., Gilfor, D. and Farber, J. L. : Lipid peroxidation increased the molecular order of microsomal membranes. *Arch. Biochem. Biophys.*, 235, 644(1984)
12. Granger, D. N. and Parks, D. A. : Role of oxygen radical in the pathogenesis of intestinal ischemia. *The Physiologist*, 26, 159(1983)
13. Freeman, B. A. and Crapo, J. D. : Biology of disease. : Free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.*, 47, 412(1982)
14. Nohl, H. and Jordan, W. : The metabolic fate of mitochondrial hydrogen peroxide. *Eur. J. Biochem.*, 11, 203(1980)
15. Fridovich, I. : Superoxide dismutase. *Ann. Rev. Biochem.*, 44, 147(1975)
16. Pryor, W. A. : *Free radical in biology*. Elsevier, Amsterdam, p.331(1977)
17. Greenwald, R. A. and Moy, W. W. : Inhibition of collagen gelation by action of the superoxide radical. *Arthritis Rheumat.*, 22, 251(1979)
18. Simon, R. H., Scoggin, C. M. and Patterson, D. : Hydrogen peroxide cause the fetal injury to human fibroblasts exposed to oxygen radicals. *J. Biol. Chem.*, 226, 7181(1981)
19. Fried, R. : Enzymatic and nonenzymatic assay of superoxide dismutase. *Biochemie*, 57, 657(1957)
20. Flohe, L., Gunzler, W. A. and Schock, H. H. : Glutathione peroxidase. : A selenoenzyme. *FEBS Lett.*, 32, 132(1973)
21. Boyland, E. and Chasseud, L. F. : The role of glutathione and glutathione S-transferase in mercapturic

- acid biosynthesis. *Adv. Enzymol.*, **32**, 173 (1969)
22. Tappel, A. L. : Lipid peroxidation damage to cell components. *Fed. Proc.*, **32**, 1870 (1973)
 23. Chow, C. K. and Tappel, A. L. : Response of glutathione peroxidase to dietary selenium in rats. *J. Nutr.*, **104**, 444 (1974)
 24. Leibovitz, B. E. and Siegel, B. V. : Aspects of free radical reactions in biological system. : Aging. *J. Gerontol.*, **35**, 45 (1980)
 25. Shibata, S., Ando, T. and Tanaka, O. : Chemical studies on the oriental plant drugs XVI: The prosapogenin of the ginseng saponins (Ginsenosides-Rb₁, -Rb₂, and -Rc). *Chem. Pharm. Bull.*, **4**, 1157 (1966)
 26. Bidlack, W. R. and Lowery, G. L. : Multiple drug metabolism. : *p*-nitroanisol reversal of acetone enhanced aniline hydroxylation. *Biochem. Pharmacol.*, **31**, 311 (1982)
 27. Aebi, H. : Catalase. In "Methods of enzymatic analysis" Bergmeyer, M. U. (ed.), Academic Press, N. Y., Vol. 2, p.673 (1974)
 28. Habig, W. H., Pabist, M. J. and Jakoby, W. B. : Glutathione S-transferase. *J. Biol. Chem.*, **249**, 7130 (1974)
 29. Stirpe, F. and Della, C. E. : The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.*, **244**, 3855 (1969)
 30. Reitman, S. and Frankel, S. : A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. Pathol.*, **28**, 58 (1957)
 31. Karmen, A. : A note on the spectrophotometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood serum. *J. Clin. Invest.*, **34**, 131 (1955)
 32. Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yaki, K. : Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, **95**, 351 (1979)
 33. Ellman, G. L. : Tissue sulfhydryl group. *Arch. Biochem. Biophys.*, **82**, 70 (1959)
 34. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951)
 35. Wroblewski, F. and La Due, J. S. : Serum glutamic-pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. *Proc. Exp. Biol. Med.*, **91**, 569 (1956)
 36. Takeda, Y., Ichihara, A., Tanioka, H. and Inoue, H. : The biochemistry of animal cells. The effect of corticosteroids on leakage of enzyme from dispersed rat liver cells. *J. Biol. Chem.*, **239**, 3590 (1964)
 37. Plaa, G. L. and Witschin, H. : Chemicals, drugs and lipid peroxidation. *Am. Rev. Toxicol. Pharmacol.*, **16**, 125 (1976)
 38. Simon, R. H., Scoggin, C. M. and Patterson, D. : Hydrogen peroxide causes the fetal injury to human fibroblasts exposed to oxygen radicals. *J. Biol. Chem.*, **266**, 7181 (1981)
 39. Krenitsky, T. A. : Xanthine oxidase and aldehyde oxidase in purine and purine analogue metabolism. *Exp. Med. Biol.*, **41**, 57 (1973)
 40. Duke, E. J., Joyce, P. and Ryan, J. P. : Characterization of alternative molecular forms of xanthine oxidase in the mouse. *Biochem. J.*, **131**, 187 (1973)
 41. Rajagopalan, K. V. : Xanthine oxidase and aldehyde oxidase. In "Enzymatic basis of detoxication" Jakoby, W. B. (ed.), Academic Press, N. Y., Vol. 1, p.295 (1980)

(1993년 1월 10일 접수)