

새로운 항산화제 검색법에 의한 SOD Mimic 천연 약물의 개발-상백피의 항염증효과

정경옥, 남경수¹, 박종희, 門田 重利², 문전옥*

부산대학교 약학대학, ¹동국대학교 의과대학, ²토야마의과약과대학 화한약연구소

Development of the SOD Mimics from the Natural Product by a Novel Biosystem-Anti-inflammatory Effect of *Morus alba*

Kyoung-Ook Cheong, Kyung Soo Nam¹, Jong-Hee Park,
Shigetoshi Kadota² and Jeon-Ok Moon*

College of Pharmacy, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea;

¹College of Medicine, DongKuk University, Kyongju 780-714, Korea; and ²Research
Institute for Wakan-Yaku, Toyama Medical and Pharmaceutical University, 930-01, Japan

Abstract - Aqueous extract of *Morus alba* L. blocked the toxic effect of paraquat on *E. coli* growth. The active components in the extract may be capable of crossing the cell membranes and protect against superoxide toxicity in *E. coli*. The extract inhibited FeSO₄/H₂O₂ induced lipid peroxidation in rat liver homogenate and protected against *t*-butyl hydroperoxide caused Ac2F cell damage. Moreover, the extract showed inhibitory effect on phospholipase A₂ activity in a dose dependent manner. Anti-inflammatory effect of the extract was further investigated using the carrageenin-induced oedema model. A single administration of the extract (3 g/kg body, *p.o.*) was more effective than indomethacin. These results suggest that the isolation and identification of the active components would have significant therapeutic application to inflammation associated with oxygen radicals.

Key words - *Morus alba*: anti-inflammatory effect: antioxidant activity.

생리적인 조건하에서 3~10%의 분자상 산소는 활성산소로 변하며¹⁾ 대부분의 활성산소는 다양한 분자와 재빨리 반응하여 세포내 기능에 영향을 미친다. 활성산소와 관련 free radical은 노화, 염증, 발암, 동맥경화를 비롯한 혈관 장애, 신장 장애 및 당뇨병 등 많은 질병의 병인인이 추측되고 있으므로^{2,3)} 최근에는 활성 산소 장애를 방어하는 항산화 물질의 중요성이 이러한 질병에 대한 치료제로서의 가능성

과 관련되어 주목받고 있으며 이에 각종 항산화제의 검색이 활발히 진행되고 있다.⁴⁾

한편, Superoxide dismutase(SOD)는 활성산소인 superoxide를 hydrogen peroxide와 산소로 변화시키는 효소로서, superoxide가 깊이 관련되어 있는 질환에는 SOD가 방어 역할을 하여 임상적으로 유효하다는 보고도 있다.⁵⁾ 그러나 이들이 쉽게 신장에서 배설되며 분자량이 커서 세포내로 들어갈 수 없는 등의 제한이 따르므로⁶⁾ SOD를 활성산소 관련 질환에 직접 적용하는 것은 용이하지 않다.

*교신저자 : Fax 051-516-1183

따라서 생체내에서 SOD와 같은 작용을 하는 의약품의 개발이 요청되고 있다.

본 연구에서 도입되는 새로운 항산화제 검색법은 paraquat의 대장균에 대한 독성을 억제하는 SOD mimic 약물을 plate reader를 사용하여 96 plate well 상에서 간편하고 신속하게 많은 시료를 광범위한 용량에 걸쳐 검색할 수 있다. 전국의 생약 시장을 조사한 결과 그 치료 효과가 구전되어 오면서 많은 사람들에게 의해 간보호제 및 항염증약으로 사용되고 있는 이십여종의 민간약을 메탄올로 추출한 뒤 대장균에 대한 paraquat의 독성에 이들 추출물이 미치는 영향을 검토하였을 때 특히 상백피 추출물이 뛰어난 paraquat 독성 억제능을 보였다.

상백피는 뽕나무 *Morus alba* L.를 비롯한 동속 식물(뽕나무과 Moraceae)의 뿌리 껍질로, 민간에서는 진해, 소염, 이뇨 및 해열제 등으로 많이 사용되고 있다. 동의보감에 상백피가 사용되는 처방은 113방에 달하는데 이들의 적응증을 치료 계통별로 분류하여 집계할 때 호흡기계의 질환에 투여되는 경우가 69증례로 가장 많았다.⁷⁾ 한편, 효소적으로 혹은 활성화된 식세포로부터 생성된 반응성 산소 분자들이 내피 세포를 포함한 mammalian cell에 손상을 일으키며,^{8,9)} 산소 라디칼 생성 시스템을 실험 동물의 폐, 무릎 관절이나 발에 투여하면 혈관 투과성, 세포 침윤과 조직 상해를 증가시키는 등 활성산소와 관련 free radical들은 급성 염증에서 중요한 역할을 한다는 것이 *in vitro*와 *in vivo*연구에 의해 상당한 증거가 제시되어 있으며^{9,10)} 항산화 효소인 SOD가 급성 염증 모델에서 항염증 효과를 나타낸다고 알려져 있다.¹¹⁾ 본 연구는 특히 상백피 수층 분획이 *E. coli*에 대한 paraquat 독성을 경감시킴에 따라 이 분획의 *t*-butylhydroperoxide(*t*-BHP)에 의한 정상 간세포주(Ac2F)의 증식 저해에 미치는 효과와 Fenton 반응에 의해 생성되는 hydroxyl radical에 의한 지질과산화에 대한 억제능을 검토하여 항산화능을 살펴보고 이 분획의 phospholipase A₂(PLA₂)의 활성 저해능과 carrageenin 유도성 부종 억제능을 측정함으로써 항염증 활성을 검토하였다.

재료 및 방법

실험 재료—본 실험에 사용한 상백피는 석승물산

(부산)에서 구입한 것으로 증거표본은 부산대학교 약학대학 생약학교실(표본번호 No. 549)에 보관되어 있다. 상백피 2 kg을 메탄올로 추출한 뒤(250 g), hexane, ethylacetate 및 수층으로 나누어 사용하였다.

실험시약—Thiobarbituric acid, vitamin B₁₂, *t*-BHP, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium-bromide(MTT), dimethyl sulfoxide(DMSO), glutamine, NaNH₄HPO₄, croctalus atrox PLA₂, porcine pancreas PLA₂, carrageenin 및 indomethacin은 Sigma사(St. Louis, U.S.A.)에서 구입하여 사용하였으며, tryptic soy broth, yeast extract, bactoagar, glucose는 Difco사(Detroit, U.S.A)의 제품을 사용하였다. Fetal bovine serum 및 Dulbecco's Modified Eagle Media(DMEM)는 Gibco사(Grand Island, U.S.A)의 제품을, malondialdehyde tetrabutyl-ammonium salt는 Fluka사(Switzerland)의 제품을 사용하였다. 1-stearoyl-2-[1-¹⁴C]arachidonyl phosphatidylcholine은 Amersham Life Science사의 제품을, FeSO₄는 Wako사(Tokyo, Japan)의 제품을, paraquat는 Merck사(Darmstadt, Germany)에서 구입한 제품을 사용하였다. Fe(II)-tetrakis-N,N,N',N'(2-pyridylmethyl) ethylenediamine(Fe-TPEN)는 동경대학의 Nagano 박사로부터 제공받아 사용하였다.

균주의 배양—본 실험에 사용한 *E. coli* B B₁₂ (ATCC 29682)는 동경대학의 Nagano 박사로부터 제공받아 사용하였다. 균주는 TSY(tryptic soy yeast, 3% tryptic soy broth, 0.5% yeast extract, 2.0% bactoagar) 사면 배지에 배양하여 3주간격으로 분주하면서 유지하였다. TSY에 배양한 대장균은 50 mg/mL glucose와 1 µg/mL vitamin B₁₂를 함유하는 멸균 GM 배지(0.02% MgSO₄, 0.2% citric acid, 1% K₂HPO₄, 0.35% NaNH₄HPO₄) 10 mL에 무균적으로 가하여 37°C water bath incubator에 1000 shake/min로 16~17시간 배양하여 활성화한 뒤에 사용하였다.

세포주의 유지—본 실험에 사용한 Ac2F cell은 Donryu rat의 정상 간세포주로서 JCRB(Japan Cancer Research Resources Bank, Tokyo, Japan)에서 구입하여 사용하였다. 이는 Fetal Bo-

vine Serum(FBS) 10%, glutamine 2%, penicillin(100 µg/mL), streptomycin(100 µg/mL) 및 amphotericin B(0.25 µg/mL)을 함유한 DMEM (complete medium)으로 37°C, 5% CO₂의 조건에서 배양하면서 75 cm² tissue culture flask (Corning)에 2~3일에 한 번씩 subculture하여 세포주를 유지하였다.

실험동물 - 실험동물은 체중 200 g 내외의 Sprague-Dawley계 rat(7~8주령, male)를 대한 동물 실험 센터에서 구입하여 사용하였다.

상백피의 paraquat 세포 독성 억제능 검토 - 활성 화한 균액 1 mL를 500 mg의 glucose와 100 µg의 vitamin B₁₂를 함유하는 멸균 GM 배지 80 mL에 무균적으로 가하였다. 이 균액 200 µL를 paraquat (final concentration 2.5 mM)를 넣어 50 µL로 맞춘 96 well plate에 가한 뒤 37°C에서 정치 배양하면서 650 nm에서 탁도를 매 시간별로 측정하여 (Microplate Reader, Packard Instrument Co. U.S.A.) 대장균의 증식 정도를 관찰하였다. 추출물은 25% DMSO에 녹여 사용하였고, 최종 DMSO의 농도가 2%를 유지하게 하였다. 대조 물질로는 뛰어난 SOD mimic 활성을 가진 것으로 보고된 바 있는 Fe-TPEN(200 µM)을 사용하였다.¹²⁾

상백피의 지질과산화 억제능 검토 - 0.2 mM FeSO₄와 3 mM 과산화수소를 포함하는 Fenton 반응계에 용량을 달리한 추출물을 가하고 흰쥐의 25% 간 균질액 0.3 mL을 가해(반응 총 용량 1 mL) 37°C에서 10분간 반응시켰다. 생성되는 지질과산화물은 15(v/v)% trichloroacetic acid, 0.125 M 염산, 0.375(v/v)% thiobarbituric acid 및 0.6 mM butylated hydroxytoluene를 포함한 정지액 3 mL을 가하여 95°C에서 30분간 반응시킨 다음 3000 rpm에서 20분간 원심 분리한 상등액의 흡광도를 535 nm에서 측정한 뒤 malondialdehyde tetrabutylammonium salt를 표준물질로 사용하여 계산하였다.¹³⁾ 용량을 달리한 약물의 지질과산화 억제능을 % inhibition으로 나타내었다.

세포 배양계에서 상백피 항산화능 실험 - 간세포주를 24 well plate에 2.5×10⁴/well로 분주하여 12시간 complete medium에서 배양한 후 Serum Free Medium(SFM)으로 갈아주고 약물을 30분간 전 처리한 후 1 mM *t*-BHP를 2시간 처리하여 살아

있는 세포의 수를 MTT assay 실시하여 측정하였다.¹⁴⁾ 즉 1 mM *t*-BHP 2시간 처리후 배지를 제거하고 phosphate buffered saline(PBS)로 세척한 뒤에 다시 새로운 SFM으로 갈아준 후 5 mg/mL의 농도로 PBS에 녹인 MTT 용액을 배지 1 mL당 0.1 mL씩 처리하였다. 이를 37°C CO₂ incubator속에서 4시간 동안 배양하여 상등액을 제거한 후 DMSO와 ethanol 1:1 혼합액 1 mL을 넣어 20분간 shaking하면서 blue formazan을 녹인 다음 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 추출물 및 *t*-BHP는 DMSO에 녹였으며 DMSO의 최종 농도는 2%가 되게 하였다.

Phospholipase A₂(PLA₂) 활성 검토 - PLA₂활성은 100 mM Tris-HCl(pH 7.4), 6 mM CaCl₂, 기질 20 nmole, 효소 및 농도를 달리한 추출물을 함유한 반응액을 37°C에서 30분간 반응한 후 생성된 유리 지방산을 Dole 등의 방법에 따라 추출하여 liquid scintillation counter로 측정하여 PLA₂활성으로 환산하였다.¹⁵⁾ 기질로는 1-stearoyl-2-[1-¹⁴C]arachidonyl phosphatidylcholine을 사용하였고 효소는 *Crotalus atrox* PLA₂(40 ng)와 *Porcine pancreas* PLA₂(30 ng)를 각각 사용하였다.

Carrageenin 유도성 부종 억제능의 검토 - 흰쥐의 오른쪽 발바닥에 carrageenin 용액(1 mg/paw)을 피하 주사하여 생성된 부종의 용적을 1시간 간격으로 6시간 동안 Plethysmometer(7140 Ugo Basile)로 측정하였다.^{16,17)} 약물에 의한 부종 억제능은 상백피 수층 분획(체중당 1 g 및 3 g)과 indomethacin(10 mg/kg)을 carrageenin투여 30분전에 경구 투여로 전 처리함으로써 검토하였고 이 때 정상군은 생리식염수를 경구 투여하였다.

결과 및 고찰

상백피의 paraquat 독성 억제능 검토 - 제조제로 널리 사용되고 있는 paraquat는 bacteria에서 mammalian에 걸치는 넓은 범위의 유기체에 높은 독성이 있는 것으로 밝혀져 있다.¹⁸⁻²⁰⁾ *E. coli*에 paraquat를 가하면 막을 통과하여 *E. coli*내에서 효소적으로 mono cation radical(PQ⁺)로 대사되며 이는 분자상 산소와 재빨리 반응하여 superoxide를 생성하게 된다. 정상적인 보통의 배지에서

*E. coli*에 paraquat를 처리하였을 때는 발생된 superoxide에 의해 Mn-SOD의 합성이 1시간 내에 유도되어 paraquat 독성에 저항성을 가지게 되지만²⁰⁾ 본 실험에 사용한 glucose minimal(GM) 배지에서는 Mn-SOD의 합성이 쉽게 유도되지 못하여,¹²⁾ 활성산소에 의해 대부분이 죽게 되므로 9시간 배양하여도 성장하지 않는다. 또한 이 계에 SOD를 가해도 paraquat의 독성 억제능을 관찰할 수는 없는데(data not shown) 이는 외부에서 가한 SOD는 *E. coli*내로 들어갈 수가 없으므로 paraquat에 의해 세포 내에서 생긴 활성산소로부터 *E. coli*를 보호할 수 없기 때문이다.

한편, Fe-TPEN은 xanthine oxidase-cytochrome c assay에서 0.8 μ M의 농도로도 1 unit의 SOD 활성을 나타내며 paraquat의 독성으로부터 *E. coli*를 보호하는 SOD mimic 금속 착체이다.¹²⁾ 본 실험계에 Fe-TPEN을 처리하였을 때 Fe-TPEN에 의한 활성산소 제거 효과에 의해 정상 성장곡선에 가까운 곡선을 그리며 *E. coli*가 성장함을 관찰할 수 있다. 이는 Fe-TPEN이 *E. coli*막을 통과하여 세포 내로 들어가 *E. coli*내에서 paraquat에 의해 생긴 superoxide에 대해 SOD mimic으로 작용함으로써 *E. coli*를 보호하고 있음을 의미한다.

본 연구에서는 전국의 생약 시장을 조사한 결과 그 치료 효과가 구전되어 오면서 많은 사람들에게 의해 간보호제 및 항염증약으로 사용되고 있는 이십여종의 민간약을 메탄올로 추출한 뒤 대장균에 대한 paraquat의 독성에 이들 추출물이 미치는 영향을 검토하였다. 이들 중 특히 상백피 추출물이 뛰어난 paraquat 독성 억제능을 보임에 따라 이들을 hexane, ethylacetate 및 수층으로 나누어 검토하였을 때 수층이 가장 뛰어난 paraquat 독성 억제능을 보였다. Fig. 1에서 보여주는 바와 같이 상백피 수층은 농도 의존적으로 paraquat 독성을 억제하며, 2 mg/mL의 농도에서 Fe-TPEN과 거의 유사한 성장곡선을 그리는 것으로 보아 상백피 수층에 강력한 SOD mimic 작용을 하는 물질이 존재함이 시사되었다.

약물의 지질과산화능 검토 - Fenton 반응에 의해 생성된 hydroxy radical은 흰쥐의 간 균질액에 지질과산화를 유도한다. 이들 반응계에 0.08 mg/mL, 0.40 mg/mL과 1.00 mg/mL의 농도가 되도록 상백피 수층 분획을 가하여 지질과산화를 억제 정도를

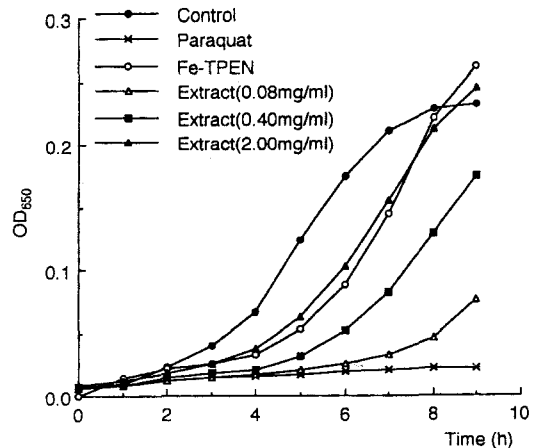


Fig. 1. Effect of the aqueous extract of *Morus alba* on the paraquat toxicity in *E. coli*.

측정하여 *in vitro*에서의 상백피 수층의 항산화능을 검토하였다. 이때 Fenton 반응을 일으키지 않은 정상균의 지질과산화 정도를 0으로 보고 Fenton 반응만을 유도시켰을 때의 지질과산화 정도를 100으로 보아 상백피 수층의 지질과산화 억제능을 백분율로 표시할 때 0.08 mg/mL, 0.40 mg/mL과 1.00 mg/mL에서 각각 14.7%, 39.2% 및 80.3%로 상백피 수층 분획은 농도 의존적으로 hydroxy radical에 의한 간 균질액의 지질과산화를 억제하였다 (IC₅₀ 0.57 mg/mL)(Table I).

Liver cell 배양계에서의 항산화능 검토 - Oxidative stress에 의한 세포 손상 연구에 널리 사용되는 model물질인 *t*-BHP를 세포 독성 유발 물질로 사용하여²¹⁾ 상백피 수층 분획을 전처리 하였을 경우 *t*-BHP의 간세포주에 대한 세포 독성에 미치는 영향을 살펴보았다. 상백피 수층은 control의 cell viability를 100%로 하였을 때, 72 μ g/mL과 720

Table I. Effects of aqueous extract of *Morus alba* on the lipid peroxidation of rat liver homogenate induced by FeSO₄ and H₂O₂

Groups	Concentration (mg/ml)	nmole of MDA	Inhibition (%)
Normal		0.5	100
Control		21.5	0
<i>Morus alba</i>	0.08	17.9	14.7
	0.40	12.7	39.2
	1.00	4.7	80.3

µg/mL 농도에서 cell viability가 각각 67.71%와 70.71%로 1 mM *t*-BHP처리군의 57.88%보다 다소 높은 viability를 보여주었다(Table II).

PLA₂ 활성 저해능 검토 - PLA₂는 세균에서부터 고등동물에 이르기까지 광범위하게 세포막, 과립, 분비액 중에 존재하는 효소로서 glycerophospholipid의 2번 위치의 ester결합을 가수분해하여 유리 지방산과 lysophospholipid를 생성한다. 다양한 질병과 관련되는 eicosanoid의 전구 물질인 arachidonic acid는 막인지질의 2번 위치에 결합하고 있으므로 PLA₂ 활성화로 유리되어 염증 반응을 매개하는 것으로 알려져 있다.²²⁾ 기원을 달리한 두 종류의 *Crotalus atrox* PLA₂와 Porcine pancreatic PLA₂의 활성에 미치는 상백피 수층 분획의 영향을 검토하였을 때 농도 의존적인 PLA₂ 억제 효과를 관찰하였고 이 분획의 IC₅₀은 0.85 mg/ml로 계산되었다(Table III).

Carrageenin 유도성 부종 억제 효과 검토 - Carrageenin 유도성 부종은 nonsteroid anti-inflammatory drugs(NSAID)에 매우 민감하여 새로운 NSAID의 연구를 위한 유용한 염증 유발 물질로 사용되고 있다. 이런 형태의 부종의 초기 상태는 histamine과 serotonin에 의해 매개되며, 후기 상태의 매개 물질은 arachidonate 대사 물질로 추

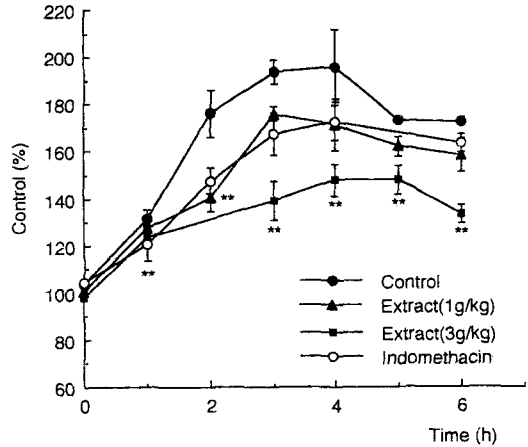


Fig. 2. Effect of the aqueous extract of *Morus alba* on the carrageenin-induced oedema in rat. Significantly different from the carrageenin-treated control (**p<0.01)(n=6).

정된다.²³⁾ Carrageenin의 발바닥 피하 주사로 유도된 흰쥐의 부종 반응은 상백피 수층 분획을 경구 투여하였을 때 농도 의존적으로 저해되었는데 1g/kg에서는 항염증제로 사용되고 있는 indomethacin에 필적하는 효과를, 3g/kg의 고용량으로는 indomethacin보다 탁월한 부종 억제 효과를 나타내었다(Fig. 2).

결론

활성산소와 관련 free radical이 염증을 비롯해 많은 질병의 병인인이 추측되고 있으므로 항산화물질이 이러한 질병의 치료제로서의 가능성과 관련되어 주목받고 있다. *E. coli*에 대한 paraquat의 독성에 약물이 미치는 영향을 plate reader를 사용하여 microplate상에서 검토하였을 때 특히 상백피 수층이 뛰어난 독성 억제능을 보임으로서 이 분획에 *E. coli*의 막을 통과하여 paraquat에 의해 생성된 superoxide를 제거함으로써 paraquat의 독성으로부터 *E. coli*를 보호할 수 있는 물질이 함유되어 있음이 시사되었다. 이 분획은 *t*-BHP에 의한 정상 간세포주(Ac2F)의 증식 저해에 미치는 효과와 Fenton 반응에 의해 생성되는 hydroxyl radical에 의한 지질과산화에 대한 억제능을 검토하였을 때 항산화능을 나타내었으며 PLA₂의 활성 저해능과 carrageenin 유도성 부종 억제능을 측정할 때 높

Table II. Effects of protective activity of the aqueous extract of *Morus alba* on Ac2F cell damage induced by *t*-butyl hydroperoxide

Groups	Concentration (µg/ml)	Cell Viability (%)
Control		100
<i>t</i> -BHP		57.9
<i>Morus alba</i>	7.2	56.8
	72	67.7
	720	70.7

Table III. Inhibition of aqueous extract of *Morus alba* on phospholipase A₂ activity

Concentration (mg/ml)	Inhibition (%)	
	<i>Crotalus atrox</i> PLA ₂	Porcine pancreatic PLA ₂
0.08	15.6	10.1
0.40	29.4	30.7
2.00	71.7	69.5

은 항염증 활성을 보여주었다.

상백피는 민간에서와 동의보감에서 진해, 소염, 이뇨 및 해열제로 빈번히 사용되고 있지만 아직 그 유효 성분에 대해서는 명백히 밝혀져 있지 않다. 본 연구진은 상백피 수층에 항염증 활성을 나타내는 유효 성분이 함유되어 있을 가능성이 제시됨에 따라 주성분의 구조 규명 및 활성 연구를 지속적으로 수행하고자 한다.

사 사

이 연구는 1996년도 한국학술진흥재단의 학제간 연구지원사업 공모과제 연구비에 의해 이루어진 것이며 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Chance, B., Sies, H. and Boveris, A. (1979) Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol. Rev.* 59: 527-605.
- Kator, K. (1988) Aging. In Nakano, M. (ed.). Active oxygen-molecular mechanism of its production, scavenging and effect in organism. 475-483. Kyourits Press, Tokyo.
- Schwarz, K. B. (1996) Oxidative stress during viral infection: A review. *Free Radic. Biol. Med.* 21: 641-649.
- Rice-Evans, C. A. and Diplock, A. T. (1993) Current status of antioxidant therapy. *Free Radic. Biol. Med.* 15: 77-86.
- Greenwald, R. (1990) Superoxide dismutase and catalase as therapeutic agents for human disease, a critical review. *Free Radic. Biol. Med.* 8: 201-209.
- Huber, W., Saifer, M. G. P. and Williams, L. D. (1980) "Biological and clinical aspects of superoxide and superoxide dismutase". Vol.11B, Bannister, W. H. and Bannister, J. V. (eds.), 395-407. Elsevier/North-Holland, New York.
- Ryu, K. S. and Ahn, D. K. (1980) Studies on root bark of mulberry tree(I). *Kor. J. Pharmacogn.* 11: 85-94.
- Fantone, J. C. and Ward, P. A. (1982) Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocyte-dependent inflammatory reactions. *Am. J. Pathol.* 107: 397-418.
- Ward, P. A. (1991) Mechanism of endothelial cell injury. *J. Lab. Clin. Med.* 118: 421-425.
- Schraufstatter, I. U., Hyslop, P. A., Jackson, J. and Cochrane, C. C. (1987) Oxidant injury of cells. *Int. J. Tissue React.* 9: 317-324.
- Oyanagui, Y. (1976) Participation of superoxide anions at the prostaglandin phase of carrageenin foot-oedema. *Biochem. Pharmacol.* 25: 1465-1472.
- Nagano, T., Hirano, T. and Hirobe, M. (1989) Superoxide dismutase mimics based on iron *in vivo*. *J. Biol. Chem.* 264: 9243-9249.
- Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K. (1979) Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95: 351-358.
- Sladowski, D., Steer, S. J., Clothier, R. H. and Balls, M. (1993) An improved MTT assay. *J. Immunol. Method.* 157: 203-207.
- Dole, V. P. and Meinertz, H. (1960) Microdetermination of long chain fatty acids in plasma and tissues. *J. Biol. Chem.* 235: 2595-2599.
- Yukihiko, O., Lujian, X. and Motoyoshi, S. (1996) Antiinflammatory effect of *Trichosanthes kirilowii* Maxim. and its effective parts. *Biol. Pharm. Bull.* 19: 1046-1048.
- Jih, P. W., Mei, F. H., Shue, L. R., Chien, C. C., Jon, S. K. and Che, M. T. (1992) Anti-inflammatory and analgesic effects of magnolol. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 346: 707-712.
- Tsuchiya, T., Imaeda, A., Kiho, T. and Ukai, S. (1995) Detoxification of paraquat poisoning: Effects of carbohydrate sulfate, alkylsulfate and alkylsulfonate on active oxygen. *Biol. Pharm. Bull.* 18: 1700-1704.
- Tsuchiya, T., Yoshida, T., Imaeda, A., Kiho, T. and Ukai, S. (1995) Paraquat poisoning: Effects of alkylsulfates and alkylsulfonates on paraquat poisoning in mice and rats. *Biol. Pharm. Bull.* 18: 523-528.
- Hassan, H. M. and Fridovich, I. (1979) Paraquat and *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 254: 10846-10852.
- Christopher, H. K., Daniel, F. C., Gray, W. W. and Willian, A. P. (1992) *t*-Butyl hydroperoxide-induced radical production in rat liver mitochondria. *Free Radic. Biol. Med.* 12: 381-387.

22. Samuelsson, B. (1983) Leukotriens: Mediators of immediate hypersensitivity reactions and inflammation. *Science*. 220: 568-575.
23. Di Rosa M., Giroud J. P. and Willoughby, D. A. (1971) Studies of the mediators of the acute

inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. *J. Pathol.* 104: 15-29.

(1997년 11월 22일 접수)