

서양고추냉이 추출물과 분리한 Kaempferol 배당체들의 브로모벤젠 처리 흰쥐에서 *In Vitro* 지질과산화억제효과

허종문, 이종호, 최종원¹, 황기욱¹, 정신교², 김문성³, 박종철^{4*}

경상대학교 식품영양학과, ¹경성대학교 약학과, ²경북대학교 식품공학과,

³동아제약, ⁴순천대학교 한약자원학과 및 유용천연자원연구소

Effect of Methanol Extract and Kaempferol Glycosides from *Armoracia rusticana* on the Formation of Lipid Peroxide in Bromobenzene-treated Rats *In Vitro*

Jong-Moon Hur, Jong-Ho Lee, Jong-Won Choi¹, Gi-Wuk Hwang¹,

Shin-Kyo Chung², Moon-Sung Kim³, Jong-Cheol Park^{4*}

Department of Food and Nutrition, Kyungsang National University,

Jinju 600-701, Korea; ¹College of Pharmacy, Kyungsung University,

Pusan 608-736, Korea; ²Department of Food Science and Technology,

Kyongpook National University, Taegu 702-701, Korea;

³Dong-A Pharm. Co., Yongin 449-900, Korea; and ⁴Department of
Oriental Medicine Resources and Research Institute of Natural Resources,

Sunchon National University, Sunchon 540-742, Korea

Abstract - Three flavonoid glycosides have been isolated from the aerial part of *Armoracia rusticana* P. (Cruciferae) in Korea and identified by means of spectral analysis as kaempferol-3-O-β-D-xylofuranoside(1), kaempferol-3-O-β-D-galactopyranoside(2) and kaempferol-3-O-β-D-xylofuranosyl(1→2)-β-D-galactopyranoside (3). When 1 mg/ml of the methanol extract from the aerial part of this plant was added, lipid peroxide formation in the bromobenzene-treated rat liver decreased by 64%. Among the components isolated from title plant, compounds 2 and 3 reduced the formation of lipid peroxide by 16% and 39% respectively at the concentration of 10⁻¹ mg/ml.

Key words - *Armoracia rusticana*: Cruciferae; kaempferol glycoside; kaempferol-3-O-β-D-xylofuranoside; kaempferol-3-O-β-D-galactopyranoside; kaempferol-3-O-β-D-xylofuranosyl(1→2)-β-D-galactopyranoside; lipid peroxide.

서양고추냉이(*Armoracia rusticana* P.)는 유럽원산의 십자화과에 속하는 다년초이다. 식용, 약용 및 향신료로 사용되는 이 식물은 고추냉이(*Wasabi japonica*)와 비슷한 향신료 식물로 뿌리를 갈거나 꺾어보면 톡 쏘는 자극성이 강한 향미가 있다. 식용으로는 유럽에서는 육류요리, 생선요리, 소시지 등의 소스를 만들 때 사용하며,¹⁾ 약용으로는 혈액순환 촉진, 식욕증진, 류마티스와 관절염의 치료, 방부제

*교신저자 : Fax 0661-52-8551

및 살균제 등으로 이용한다.²⁾ 그리고 이 식물의 뿌리에서는 glucosinolate류 화합물이 분리된 바 있다.³⁾

이와 유사한 식물인 고추냉이는 한국의 울릉도, 일본, 사할린 등 온대에서 난대지방에 걸쳐 분포하며, 향신료로 주로 이용하고 있고 우리나라에서는 봄에 전초를 봄에 채취하여 김치를 담가먹기도 한다. 한방에서는 전초를 산유체, 봄에 잔뿌리 제거하여 말린 뿌리를 산규근이라 하여 건위, 진통, 살균 등의 목적으로 사용된다.⁴⁾ 이 식물은 물이 흐르는 곳에 재배해야 하는 등 재배조건이 까다로운데 비하여 서양고추냉이는 밭에서 쉽게 재배할 수 있어서 값비싼 고추냉이의 대용으로 이용되고 있다.²⁾

지질과 산화의 제작용을 가지는 식물 검색중에 서양고추냉이 추출물의 활성을 발견하고 kaempferol 배당체를 분리하여 동정하였으므로 보고한다.

재료 및 방법

실험재료 – 실험에 사용한 서양고추냉이 잎은 순천대학교 약용식물원에서 재배한후 1996년 7월 채집하여 음건세절하여 시료로 사용하였으며, 한약자원학과 표본실에 보관중이다.

기기 – IR spectrum은 Bruker IFS 66 FT-IR spectrophotometer를, UV spectrum은 Shimadzu MPS-50L spectrometer를, NMR spectrum은 Bruker AM 200 spectrometer로 용매는 DMSO-*d*₆, 내부표준물질은 TMS를 사용하여 측정하였다. 용점은 Gallen Kamp Melting Point Apparatus를 사용하였고 보정하지 않았다.

시약 – 용매는 특급 및 1급 시약을, column chromatography용 충진제는 Kiesel gel 60(70~230 mesh, Merk, No. 7734)을, thin layer chromatography는 precoated Kiesel gel 60 F₂₅₄ (Merck, No. 5735)를 사용하였다.

추출 및 분획 – 서양고추냉이 잎(2.8 kg)을 음건세절하여 먼저 *n*-hexane으로 실온에서 7일간 3회 반복 추출하여 탈지한 후 MeOH를 사용하여 동일한 방법으로 추출한 다음 각각 rotary evaporator로 용매를 제거하여 MeOH 엑스 513 g을 얻었다. MeOH 엑스는 10% MeOH로 혼탁시켜 용매의 극성을 증가시키는 계통분획법에 의해 CHCl₃, EtOAc, *n*-BuOH, 물 순으로 분획한 후 감압농축하

여 각 분획분을 145 g, 27 g, 52 g 및 220 g 얻었다. 이중 EtOAc 분획분을 silica gel column chromatography를 행하여 3종의 flavonoid 배당체 화합물을 순수히 분리하였다.

Flavonoid 배당체의 분리 – 서양고추냉이의 EtOAc 가용부 엑스 27 g 중 20 g을 silica gel 20 g에 흡착시켜 CHCl₃로 충진한 silica gel column의 상층에 넣은 다음 silica gel 20 g을 그 위에 다시 충진시켜 CHCl₃-MeOH-H₂O(5:1:1, 하층), CHCl₃-MeOH-H₂O(25:8:5, 하층), CHCl₃-MeOH-H₂O(7:3:1, 하층) 및 CHCl₃-MeOH-H₂O(65:35:10, 하층)의 용매로 용출하는 column chromatography를 실시하여 subfraction을 30 ml씩 받아 3종의 화합물을 순수히 분리하였다.

화합물 1의 이화학적 특성 – Subfraction 112-114를 MeOH로 재결정하여 황색 결정분말을 얻었다. mp: 242~244°. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3374(OH), 1657(α , β -unsaturated ketone), 1607, 1605, 1506, 1456(aromatic C=C), 1365, 1282, 1179, 1056(glycosidic C-O). UV $\lambda_{\text{max}}(\text{MeOH})$ nm: 267, 355; (NaOMe) 278, 326, 407; (AlCl₃) 276, 308, 353, 410; (AlCl₃/HCl) 276, 303, 354, 409; (NaOAc) 278, 310, 374; (NaOAc/H₃BO₃) 267, 353. ¹H-NMR(DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 12.62(1H, s, C₅-OH), 8.01 (2H, d, J =8.8 Hz, H-2' & H-6'), 6.89(2H, d, J =8.8 Hz, H-3' & H-5'), 6.44 (1H, d, J =2.0 Hz, H-8), 6.21(1H, d, J =2.0 Hz, H-6), 5.33(1H, d, J =7.0 Hz, H-1"). ¹³C-NMR(DMSO-*d*₆, 100 MHz): Table I.

화합물 2의 이화학적 특성 – Subfraction 122-130를 MeOH로 재결정하여 황색의 분말결정을 얻었다. mp: 220~224°. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3457(OH), 1659(α , β -unsaturated ketone), 1605, 1560, 1491(aromatic C=C), 1362, 1262, 1183, 1062 (glycosidic C-O). UV $\lambda_{\text{max}}(\text{MeOH})$ nm: 265, 356; (NaOMe) 277, 329, 410; (AlCl₃) 277, 310, 355, 412; (AlCl₃/HCl) 275, 305, 348, 411; (NaOAc) 277, 307, 371; (NaOAc/H₃BO₃) 263, 354. ¹H-NMR(DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 8.06(2H, d, J =8.8 Hz, H-2' & H-6'), 6.85(2H, d, J =8.8 Hz, H-3' & H-5'), 6.42(1H, d, J =1.9 Hz, H-8), 6.18(1H, d, J =1.9 Hz, H-6), 5.39(1H, d,

Table I. ^{13}C -NMR data for compounds 1~3 isolated from *Armoracia rusticana*

Carbon No.	1	2	3
2	156.4	156.4	156.3
3	133.2	133.3	132.9
4	177.5	177.6	177.5
5	161.3	161.2	161.2
6	98.8	99.4	98.5
7	164.2	164.2	164.3
8	93.8	93.7	93.6
9	156.4	156.4	156.3
10	104.0	104.0	103.8
1'	120.7	120.9	120.9
2'	130.9	131.0	131.0
3'	115.4	115.1	115.2
4'	160.2	160.0	160.0
5'	115.4	115.1	115.2
6'	130.9	131.0	131.0
1''	101.8	101.7	98.3
2''	73.8	71.2	79.7
3''	75.9	73.1	73.6
4''	69.6	67.9	67.7
5''	66.0	75.6	75.8
6''		60.2	60.0
1'''			104.7
2'''			74.0
3'''			76.3
4'''			69.4
5'''			65.8

$J=7.5$ Hz, H-1''). ^{13}C -NMR(DMSO- d_6 , 100 MHz): Table I.

화합물 3의 이화학적 특성 - Subfraction 154-178를 MeOH로 재결정하여 황색의 분말결정을 얻었다. mp: 187~189°. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm $^{-1}$: 3366(OH), 1657(α , β -unsaturated ketone), 1608, 1605, 1504, 1443(aromatic C=C), 1360, 1280, 1173, 1045(glycosidic C-O). UV λ_{max} (MeOH) nm: 261, 354; (NaOMe) 273, 324, 404; (AlCl $_3$) 274, 305, 357, 407; (AlCl $_3$ /HCl) 273, 306, 349, 405; (NaOAc) 274, 305, 371; (NaOAc/H $_3$ BO $_3$) 263, 354. ^1H -NMR(DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 8.13(2H, d, $J=8.8$ Hz, H-2' & H-6'), 6.89(2H, d, $J=8.8$ Hz, H-3' & H-5'), 6.45(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 6.21(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 5.69 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-1''), 4.57(1H, d, $J=7.3$ Hz, H-1'''). ^{13}C -NMR(DMSO- d_6 , 100 MHz): Table I.

과산화지질 억제활성

실험동물 - 실험동물은 대한실험동물센터로부터 분양받아 일정한 조건(온도: 20±2°C, 습도: 50%, 명암: 12시간 light/dark cycle)으로 1주 동안 적응시킨 Sprague-Dawley계 흰쥐(200±10 g)를 사용하였다. 간 독성을 유발시킬 목적으로 Zampaglione 등의 방법 5 에 준하여 bromobenzene을 1% tween 80에 460 mg/kg되게 혼탁시켜 12시간 간격으로 2일간 복강주사하였다.

과산화지질 함량측정 - 실험동물을 CO $_2$ 로 마취시킨 후 복부 정중선을 따라 절개하고, 복부대동맥에서 채혈, 실혈사시켰다. 간을 냉동의 생리식염수로 관류시켜 조직내 혈액을 제거하고 적출하여 여지로 혈액 및 기타 이물을 제거한 후 평랑하였다. Okawa 등의 방법 6 에 준하여 간 조직 1g당 4배량의 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5)를 가하여 마쇄하였다. 이 마쇄액과 1 ml 당 일정량의 실험재료인 서양고추냉이 MeOH 추출물 또는 분리한 화합물을 함유하는 동일한 buffer를 동량 가하여 3시간 preincubation시켰다. 8.1% Sodium dodecyl sulfate와 20% acetate buffer(pH 3.5) 및 0.8% thiobarbituric acid를 가한 후 95°C에서 1시간 동안 반응시켜 실온에서 냉각하였다. n-BuOH-pyridine(15:1)을 첨가하여 15분간 원심 분리하여 생성된 흥색의 n-BuOH-pyridine층을 취하여 파장 532 nm에서 흡광도를 측정하여 표준곡선에서 그 함량을 간 조직 1g당 malondialdehyde nmole로 표시하였다.

단백질의 함량 및 통계처리 - 단백질의 함량은 Lowry 등의 방법 7 에 준하여 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 측정하였다. 실험결과의 통계처리는 Duncan's new multiple range test를 이용하였다.

결과 및 고찰

서양고추냉이 잎을 hexane으로 탈지한 후 MeOH 추출물을 계통분획하여 얻은 EtOAc 가용분획을 silica gel column chromatography를 행하여 3종의 kaempferol 배당체를 분리하였다.

화합물 1은 FeCl $_3$, Mg/HCl 반응에서 양성을 나타내며 IR spectrum에서는 3374 cm $^{-1}$ 에서 hy-

roxy1기], 1567 cm⁻¹에서 α , β -unsaturated ketone 그리고 1607, 1605, 1506 cm⁻¹에서 관측된 aromatic double bond에 기인한 흡수대는 flavonoid의 일반적인 성상과 일치한다. Molisch test 반응에서 양성과 함께 IR spectrum의 1056 cm⁻¹에서 C-O 흡수 band 관측으로 이 화합물은 flavonoid 배당체로 추정되며, UV spectrum은 MeOH 용매에서 band I의 355 nm로 flavonoid C-3의 free hydroxyl기가 치환된 화합물임을 암시하였다.⁸⁾ Shift reagent에 의한 변화⁹⁾에서 MeOH에 NaOAc를 첨가하였을 때 band II가 11 nm 장파장 이동하므로 C-7위치의 free hydroxyl기, NaOMe를 첨가하여 MeOH용매의 band I과 비교하였을 때 52 nm 장파장 이동으로 C-4'위치의 free hydroxyl기, AlCl₃와 AlCl₃/HCl 비교에서 band I이 변화를 보이지 않으므로 B-ring에 *ortho* dihydroxyl기가 존재하지 않음을 추정할 수 있다. ¹H-NMR spectrum에서 *meta* coupling하는 두 aromatic proton의 signal δ 6.44(1H, *J*=2.0 Hz), 6.21(1H, d, *J*=2.0 Hz)과 *ortho* coupling을 하고 있는 두 aromatic proton 유래의 signal δ 8.01(2H, d, *J*=8.8 Hz), 6.89(2H, d, *J*=8.8 Hz)외에, anomeric proton signal이 δ 5.33(1H, d, *J*=7.0 Hz)에서 관측되었다. ¹³C-NMR spectrum은 당부분을 제외한 chemical shift 값이 kaempferol⁹⁾과 비슷하며 당은 anomeric carbon을 제외한 4개의 carbon data는 D-methylxylofuranose의 문헌치¹⁰⁾와 유사한 signal이 δ 73.8(C-2'), 75.9(C-3'), 69.6(C-4'), 66.0 (C-5')에서 관측되었다. 이상의 data를 종합하여 볼때 화합물 1은 kaempferol-xyloside로 추정 가능하였다. 당부분과 aglycone의 결합위치는 UV에서 MeOH용매로 측정하였을 때 band I이 355 nm로 관측되고 문헌치 kaempferol의 ¹³C-NMR chemical shift 값과 비교하였을 경우 C-3이 고자장 shift하므로 C-3 위치에 당이 결합하고 있음을 알 수 있다. 따라서 화합물 1은 kaempferol-3-O- β -D-xylofuranoside로 동정하였다. 이 화합물은 서양고추냉이 잎에서 처음 분리한 물질이다.

화합물 2의 정성반응과 IR, UV 및 ¹H-NMR spectral data는 화합물 1과 유사하다. ¹³C-NMR spectrum에서도 비당부의 signal이 화합물 1과

유사하며, 당부분은 D-galactopyranose 유래의 signal δ 101.7(C-1'), 71.2(C-2'), 73.1(C-3'), 67.9(C-4'), 75.6(C-5'), 60.2(C-6')이 관측된다. 당의 결합위치도 화합물 1과 비슷한 data를 볼수 있으므로 이 화합물의 화학구조는 kaempferol-3-O- β -D-galactopyranoside로 결정하였다. 문헌치 data¹¹⁾와 일치하며 서양고추냉이에서는 처음으로 분리되었다.

화합물 3의 정성반응과 분광학적 data도 화합물 1, 2와 매우 유사하여 kaempferol 배당체로 추정하였다. ¹H-NMR spectrum에서 anomeric proton peak가 δ 5.69(1H, d, *J*=7.6 Hz), 4.57(1H, d, *J*=7.3 Hz)에서 두 개가 관측되어 당은 2 mole 이 결합하고 있음을 알 수 있다. ¹³C-NMR spectrum에서 당의 종류는 galactose와 xylose임을 알수 있으며, 결합위치는 galactose의 C-2 위치가 화합물 2와 비교하였을 때 8.8 ppm 고자장 이동하므로서(Table I) 이 위치에 xylose가 결합하고 있음을 알 수 있다. 따라서 화합물 3의 화학구조는 kaempferol-3-O- β -D-xylofuranosyl(1→2)- β -D-galactopyranoside로 결정하였다.

Bromobenzene은 xenobiotic성 간독소의 일종으로 생체의 cytochrome P-450 monooxygenase에 의해 bromobenzene 3, 4-oxide로 전환된다. 세포내에 해독기능을 하는 제2상 반응이 충분하면 이 epoxide는 epoxide hydrolase에 의해 독성이 없는 bromobenzene 3, 4-dihydro- diol로 대사되거나 또는 glutathione S-transferase에 의하여 bromobenzene glutathione으로 배설되나, 그렇지 못한 경우에 세포내의 단백질과 공유결합하여 acylation시킴으로써 간장괴사를 유발시킨다.¹²⁾

식용, 약용 및 향신료로 쓰이고 있는 서양고추냉이 잎 MeOH 추출물과 분리한 flavonoid 배당체를 이용하여 bromobenzene에 의해 흰쥐 간에서 유발된 과산화지질의 생성억제효과를 시험관내에서 실현하였다. 서양고추냉이 잎 MeOH 추출물을 시험관내에서 1 mg/ml와 10⁻¹ mg/ml 농도에서 모두 64%의 과산화지질 생성을 억제하는 효과가 관찰되었다(Table II). 이 식물에서 분리한 3종의 kaempferol 배당체의 과산화지질에 대한 억제활성은 10⁻² mg/ml 농도로 시험관내에 첨가하였을 때는 거의 역

Table II. Effect of methanol extract and compounds isolated from *Armoracia rusticana* on the hepatic lipid peroxidation in bromobenzene-treated rats *in vitro*

Group	Conc. (mg/ml)	content	Inhibition (%)
		MDA n mole/g of tissue	
Control	0	58.4±7.68 ^a	
methanol extract	1	20.8±1.84 ^b	64
	10 ⁻¹	21.2±3.31 ^b	64
kaempferol-3-O-β-D-xylofuranoside	10 ⁻¹	57.7±1.07 ^a	2
	10 ⁻²	58.2±0.94 ^a	0
kaempferol-3-O-β-D-galactopyranoside	10 ⁻¹	49.1±0.95 ^c	16
	10 ⁻²	57.2±0.97 ^a	2
kaempferol-3-O-β-D-xylofuranosyl(1→2)-galactopyranoside	10 ⁻¹	35.4±1.09 ^d	39
	10 ⁻²	57.5±1.17 ^a	2

The values are mean±S.D. of three replications.

Means sharing the same superscript letter are not significantly different from control (p<0.05).

제작용이 없었으나, 10⁻¹ mg/ml 농도에서는 kaempferol-3-O-β-D-galactopyranoside와 kaempferol-3-O-β-D-xylofuranosyl(1→2)-β-D-galactopyranoside는 각각 16%와 39%의 억제효과가 나타났다.

과산화지질이 생체에 중대한 영향을 미치므로 이에 대한 연구는 활발히 진행되고 있다. 즉 과산화지질은 생체의 외적, 내적 요인에 의하여 생성된 oxygen radical이 세포의 성분이나 기질, 특히 세포막에 다량 존재하는 불포화지방산에 작용하여 세포막의 손상이나 세포괴사 등의 독성을 유발한다. 생체는 정상적인 대사과정 중에서도 free radical이 생성되고 과산화지질이 생성되지만, 이러한 free radical을 제거하는 제거계가 있어 생체를 조직의 과산화로부터 보호한다. 그러나 어떤 원인에 의해 조직의 free radical 제거계의 활성이 저하되거나 free radical 생성계의 촉진으로 이들 간의 균형이 깨어졌을 때 조직손상, 발암, 염증, 성인병 및 노화 등과 같은 여러 가지 독작용이 유발된다.¹³⁾ 여러 질병들의 원인이 될 수 있는 과산화지질의 생성 억제 실험에서 서양고추냉이의 활성이 관찰되었다. 이 식물에 대한 생체내 실험 등 구체적인 약리기전 규명과 분리한 flavonoid 화합물과 유사구조간의 구조활성상관관계는 계속 실험중이다.

결 론

식용, 약용 및 향신료로 이용되고 있는 서양고추냉이 잎 MeOH 추출물의 분획물 중 EtOAc 가용분획

을 silica gel column chromatography를 행하여 3종의 flavonoid 배당체 화합물을 분리하였다. 정성반응과 IR, UV, ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR 등의 분광학적 분석방법을 이용하여 EtOAc 가용부에서 분리한 화합물의 화학구조는 kaempferol-3-O-β-D-xylofuranoside, kaempferol-3-O-β-D-galactopyranoside와 kaempferol-3-O-β-D-xylofuranosyl(1→2)-β-D-galactopyranoside의 kaempferol 배당체로 동정하였다.

Bromobenze에 의해 간독성이 유도된 흰쥐의 간조직 과산화지질에 대한 시험관내 억제활성에서는 MeOH 추출물 1 mg/ml와 10⁻¹ mg/ml 농도에서 모두 64%의 과산화지질생성 억제효과를 나타내었다. 분리한 kaempferol 배당체인 kaempferol-3-O-β-D-galactopyranoside와 kaempferol-3-O-β-D-xylofuranosyl(1→2)-β-D-galactopyranoside는 10⁻¹ mg/ml 농도에서 각각 16%와 39%의 억제활성이 관찰되었다.

사 사

이 논문은 농림수산부에서 시행한 농림수산특정연구사업(첨단기술개발과제, 과제번호: 296076)연구비지원에 의한 연구결과의 일부로서 이에 감사드립니다.

인용문헌

- 장명숙 (1991) 서양요리. 30. 신팡출판사.

2. 최영진 (1992) 향료·약미·향신료 식물백과. 292. 오성출판사.
3. Kornaral, G. and Philippe, M. (1980) Capillary GC of glucosinolate-derived horseradish constituents. *Phytochemistry* 19: 1789-1793.
4. 김재길 (1984) 원색천연약물대사전(상). 487. 남산당.
5. Zampaglione, N., Jollow, D. J., Mitohell, J. R., Manrick, M. and Gillette, J. R. (1973) Role of detoxifying enzymes in bromobenzene-induced liver necrosis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 187: 218-227.
6. Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yaki, K. (1979) Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95: 351-358.
7. Lowry, O. H., Rodebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
8. Mabry, T. J., Markham, K. R. and Thomas, M. B. (1970) The systematic identification of flavonoids. 44. Springer, N.Y.
9. Harbone, J. B. and Mabry, H. (1975) The flavonoids. 60. Chapman and Hall, London.
10. Agawal, P. K. (1992) NMR spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides. *Phytochemistry* 31: 3307-3330.
11. Agrawal P. K. (1989) Carbon-13 NMR of flavonoids. 334. Elsevier.
12. Croci, T. and Williams, G. M. (1985) Activity of several phase I and phase II xenobiotics biotransformation enzymes in cultured hepatocytes from male and female rats. *Biochem. Pharmacol.* 34: 3029-3034.
13. Leibovitz, B. E. and Siegel, B. V. (1980) Aspects of free radical reaction in biological system. *Aging J. Gerontol.* 35: 45-50.

(1998년 7월 20일 접수)