

감잎 추출물이 사염화탄소로 유발된 흰쥐의 간손상에 미치는 효과

김 옥 경

대전대학교 식품영양학과

Protective Effects of Extracts of *Diospyrus kaki Folium* against Hepatotoxicity in Carbon Tetrachloride Intoxicated Rats

Ok Kyung Kim

Dept. of Food and Nutrition, Daejin University, Po Chon 487-711, Korea

Abstract

This study was done to investigate the protective effects of *Diospyrus kaki Folium* on carbon tetrachloride intoxicated rats. Male Sprague-Dawley rats (200~230 g) was used. Experimental groups were divided into normal group and CCl₄-treated group and then CCl₄-treated groups were divided into 7 groups : only CCl₄-treated group, methanol extract pretreated group, hexane fraction pretreated group, chloroform fraction pretreated group, ethylacetate fraction pretreated group, butanol fraction pretreated group and H₂O fraction pretreated group. CCl₄ treated groups were injected with CCl₄ 0.6 mg/kg (ip). The activities of alanine aminotransferase in hexane, chloroform and H₂O fraction pretreated groups were significantly decreased (p<0.05) compared to the only CCl₄-treated group and also activity of aspartate aminotransferase and hepatic malondialdehyde content in H₂O fraction pretreated group were significantly decreased (p<0.05) compared to the only CCl₄-treated group. The activity of alkaline phosphatase in chloroform and H₂O fraction pretreated groups were decreased compared to the only CCl₄-treated group but the difference was not statistically significant. The activity of γ -glutamyltranspeptidase in hexane, chloroform and ethylacetate fraction pretreated groups were significantly decreased (p<0.05) compared to the only CCl₄-treated group. The contents of cholesterol and triglyceride were not influenced in any fraction pretreated groups, but HDL-cholesterol content in hexane and chloroform fraction pretreated groups were significantly increased (p<0.05) compared to the only CCl₄-treated group. Therefore, these results demonstrate a possible hepatoprotective role of H₂O fraction of *Diospyrus kaki Folium* methanol extract in carbon tetrachloride intoxicated rats.

Key words: *Diospyrus kaki Folium*, enzyme activities, hepatoprotective, carbon tetrachloride

서 론

현대인들은 환경오염, 불규칙한 식사, 스트레스, 피로, 영양섭취의 불균형으로 면역력이 상실되고 있고, 특히 약물과 이물질의 대사과정을 통해 독성물질로부터 신체를 보호하는 간기능이 손상되어 만성간염, 간경변 및 간암의 형태로 현대인들에게 큰 위협이 되고 있다. 간세포를 비롯한 생체내 조직의 손상 원인은 유리기(free radicals : O₂⁻, H₂O₂, OH)에 의한 지질과산화 생성으로 단백질 파괴, 염색체 이상 및 적혈구 파괴 등의 세포기능 저하와 세포괴사를 일으킨다(1,2). 이들 세포독성을 일으키는 유리기 생성의 화학적 물질로는 사염화탄소(CCl₄), 클로르포름, 에탄올, 브로모벤젠 등이 있으며 특히 화합물의 합성이나 혼합물의 분리를 위해 용매로 사용되고 있는 CCl₄는 생체 세포 SER에 복합 다기능 산화 기구에 의하여 trichloromethyl radical(\cdot CCl₃)을 만들고 이는 O₂와 결합하여 trichloromethyl peroxy radical(\cdot OOCCL₃)을 생성

하며 이들은 세포막의 인지질인 polyenoic fatty acid의 methyl carbon을 공격하여 지질과산화를 야기하여 간세포 괴사를 일으킨다(3-5). 그러나 이러한 유리기에 대한 생체 조직은 superoxide dismutase, glutathione s-transferase, catalase 등과 같은 내인성 제거제(6)와 식품에 많은 vitamin A, C, E, flavonoid계 색소, polyphenol류 등의 생리활성 물질들이 유리기에 의한 조직 손상을 방어한다(7).

한편, 감잎(*Diospyrus kaki Folium*)은 민간에서 혈압강하, 지혈 등의 목적(8)으로 옛부터 이용되어 왔고 최근에는 감잎 차로 많이 이용되고 있으며 감잎에 대한 연구로는 감잎의 성분(9-11), 감잎차의 제조방법(12), 향기성분(13), 비타민 C의 변화(14,15), polyphenol물질(16-18), 항산화, 항돌연변이성 및 항암효과(19-23), 항알레르기(24,25), 고콜레스테롤 혈증에 대한 연구(26) 등이 보고 되었으나 CCl₄로 유발된 흰쥐의 간독성에 대한 효능 연구는 미비한 상태이다. 따라서 본 연구에서는 감잎의 methanol추출물이 CCl₄로 유발된 흰쥐의 간

Table 1. The effect of various fractions of *Diospyrus kaki* Folium on the serum ALT and AST activities in CCl₄ intoxicated rats

Experimental group ¹⁾	ALT	AST
	(KA unit/L)	(KA unit/L)
Control (I)	41.98 ± 14.09 ^{2)a3)}	93.88 ± 35.17 ^a
CCl ₄ (II)	128.62 ± 22.36 ^{d)}	237.34 ± 13.80 ^c
Hexane (III)	85.83 ± 39.39 ^b	224.12 ± 15.56 ^{bc}
Chloroform (IV)	91.31 ± 12.66 ^{bc}	239.24 ± 26.21 ^c
Ethylacetate (V)	117.06 ± 31.17 ^{bcd}	243.91 ± 3.95 ^c
Butanol (VI)	118.39 ± 34.18 ^{cd}	238.59 ± 17.36 ^c
H ₂ O (VII)	87.09 ± 16.89 ^{bc}	211.87 ± 18.19 ^b

¹⁾I ~ Saline + Olive oil, II ~ Saline + CCl₄ (1.0 mg/kg), III ~ Hexane fr. 309 mg/kg + CCl₄ (1.0 mg/kg), IV ~ Chloroform fr. 420 mg/kg + CCl₄ (1.0 mg/kg), V ~ Ethyl acetate fr. 390 mg/kg + CCl₄ (1.0 mg/kg), VI ~ Butanol fr. 810 mg/kg + CCl₄ (1.0 mg/kg), VII ~ H₂O fr. 990 mg/kg + CCl₄ (1.0 mg/kg)

²⁾Values are the mean ± S.D. (n=7).

³⁾Values with different superscripts within the same column were significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

Table 2. The effect of various fractions of *Diospyrus kaki* Folium on the serum ALP, γ -GTP activities and liver weight in CCl₄ intoxicated rats

Experimental group ¹⁾	ALP	γ -GTP	Liver weight
	(KA unit/mL)	(m u/mL)	(g/100 g B.W)
Control (I)	15.32 ± 5.51 ^{2)a3)}	38.85 ± 11.17 ^a	3.16 ± 0.24 ^a
CCl ₄ (II)	27.53 ± 6.23 ^{bc}	106.36 ± 8.73 ^b	4.18 ± 0.28 ^c
Hexane (III)	27.97 ± 4.77 ^{bc}	40.43 ± 14.42 ^a	4.28 ± 0.20 ^c
Chloroform (IV)	21.16 ± 3.33 ^{ab}	29.41 ± 10.47 ^a	4.25 ± 0.29 ^c
Ethylacetate (V)	31.65 ± 8.87 ^c	43.27 ± 34.60 ^a	4.27 ± 0.25 ^c
Butanol (VI)	34.04 ± 6.18 ^c	111.38 ± 5.83 ^b	4.25 ± 0.13 ^c
H ₂ O (VII)	23.51 ± 5.34 ^b	109.30 ± 12.97 ^b	3.80 ± 0.18 ^b

¹⁾Refer to Table 1

²⁾Values are the mean ± S.D. (n=7).

³⁾Values with different superscripts within the same column were significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

와 같다. ALP 활성도는 대조군(I)에 비하여 CCl₄를 투여한 모든 군에서 유의적인 증가를 나타내었고, CCl₄ 단독 투여군(II)과 비교하여 chloroform(IV)과 H₂O(VII)분획물을 투여한 군에서 감소를 나타내었으나 유의적인 감소는 아니었다. γ -GTP 활성도는 CCl₄ 단독 투여군(II)과 비교하여 hexane(III), chloroform(IV), ethylacetate(V)분획물을 각각 투여한 군에서 61.98%, 72.3%, 59.32%의 감소율로 유의적인 감소(p<0.05)를 나타내었다. 특히 chloroform 분획물이 ALP 및 γ -GTP의 활성도를 감소시킨 것은 CCl₄에 의한 간조직의 손상을 억제한 결과로 생각된다. 체중에 대한 간 무게의 변화는 대조군(I)에 비하여 CCl₄를 투여한 모든 군에서 유의적인 증가를 나타내었으나 CCl₄ 단독 투여군(II)에 비하여 H₂O(VII)분획물을 투여한 군에서 9%의 감소율로 유의적인 감소(p<0.05)를 나타내었다. 이는 CCl₄를 투여하면 간 세포막이 손상되어 지방 변성을 일으켜서 간의 무게가 증가한다는 보고(35)에 따라 감잎 추출물이 간의 손상을 억제하는 것으로 사료

된다.

LDH활성도 및 bilirubin함량

분획물이 LDH 활성도 및 bilirubin 함량에 미치는 영향은 Table 3과 같다. LDH활성도는 ethylacetate(V)를 투여한 군에서 CCl₄단독 투여군(II)에 비해 유의적인 증가를 나타내었으나 H₂O(VII)분획물을 투여한 군에서는 약간 감소되는 경향을 나타내었다. Bilirubin함량은 chloroform(IV)과 ethylacetate(V)를 투여한 군에서 CCl₄단독 투여군(II)에 비하여 유의적인 증가를 나타내었다. 따라서 감잎 분획물이 CCl₄독성으로 증가된 LDH활성도나 bilirubin함량의 저하 효과를 나타내지 못하였다.

TG, cholesterol 및 HDL-cholesterol함량

분획물이 TG, cholesterol 및 HDL-cholesterol함량에 미치는 영향은 Table 4와 같다. TG와 cholesterol함량은 CCl₄ 단독 투여군(II)에 비하여 나머지 모든 군에서 감소를 나타내지 못하였다. 정상 간세포내의 지질량은 합성율, 이용율 및 분비율이 평형을 이룬 상태이지만, CCl₄에 의한 간장해를 받

Table 3. The effect of various fractions of *Diospyrus kaki* Folium on the serum LDH activity and Bilirubin content in CCl₄ intoxicated rats

Experimental group ¹⁾	LDH	Bilirubin
	(Wroblewski unit/mL)	(mg/L)
Control (I)	917.25 ± 159.33 ^{2)a3)}	0.93 ± 0.17 ^a
CCl ₄ (II)	2220.86 ± 627.98 ^{bc}	1.32 ± 0.45 ^{ab}
Hexane (III)	2515.22 ± 559.11 ^{bcd}	1.34 ± 0.99 ^{ab}
Chloroform (IV)	2653.07 ± 859.82 ^{bcd}	2.25 ± 0.72 ^c
Ethylacetate (V)	3194.23 ± 570.74 ^d	2.20 ± 0.45 ^c
Butanol (VI)	2763.49 ± 584.26 ^{cd}	2.03 ± 0.63 ^{bc}
H ₂ O (VII)	1980.17 ± 561.60 ^b	1.62 ± 0.89 ^{abc}

¹⁾Refer to Table 1

²⁾Values are the mean ± S.D. (n=7).

³⁾Values with different superscripts within the same column were significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

Table 4. The effect of various fractions of *Diospyrus kaki* Folium on the serum TG, cholesterol and HDL-cholesterol contents in CCl₄ intoxicated rats

Experimental group ¹⁾	TG	Cholesterol	HDL-cholesterol
	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)
Control (I)	58.92 ± 15.81 ^{2)a3)}	62.07 ± 10.32 ^a	89.24 ± 7.51 ^c
CCl ₄ (II)	62.97 ± 19.37 ^a	71.02 ± 17.82 ^{ab}	68.21 ± 5.77 ^{ab}
Hexane (III)	119.28 ± 36.14 ^c	82.33 ± 18.47 ^{ab}	84.70 ± 8.63 ^c
Chloroform (IV)	84.81 ± 19.71 ^{ab}	89.17 ± 20.99 ^b	84.29 ± 6.74 ^c
Ethylacetate (V)	86.44 ± 26.42 ^{ab}	78.14 ± 15.22 ^{ab}	73.42 ± 8.68 ^b
Butanol (VI)	105.08 ± 39.32 ^{bc}	82.35 ± 10.54 ^{ab}	63.68 ± 6.94 ^a
H ₂ O (VII)	64.42 ± 22.40 ^a	76.22 ± 13.23 ^{ab}	75.17 ± 9.07 ^b

¹⁾Refer to Table 1

²⁾Values are the mean ± S.D. (n=7).

³⁾Values with different superscripts within the same column were significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

Table 5. The effect of various fractions of *Diospyrus kaki* Folium on the liver MDA content in CCl₄ intoxicated rats

Experimental group ¹⁾	MDA (nmole/mg protein)
Control (I)	1.24 ± 1.10 ^{2)a3)}
CCl ₄ (II)	6.88 ± 2.98 ^c
Hexane (III)	5.93 ± 2.48 ^c
Chloroform (IV)	6.02 ± 1.72 ^c
Ethylacetate (V)	5.58 ± 2.47 ^{bc}
Butanol (VI)	5.41 ± 1.47 ^{bc}
H ₂ O (VII)	3.16 ± 2.05 ^{ab}

¹⁾Refer to Table 1

²⁾Values are the mean ± S.D. (n=7).

³⁾Values with different superscripts within the same column were significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

으면 간 microsome이 cytochrome P-450에 의하여 대사되어 반응성이 높은 CCl₃기가 생성되고 이것이 간세포막계 단백질과 결합하여 세포기능을 저하시켜 TG와 cholesterol의 함량이 증가된다는 보고(36)가 있다. 본 실험에서는 감잎 분획물 투여시 지질대사와 지방간의 중요 지표중의 하나인 TG와 cholesterol의 함량은 유의성 있는 변화를 나타내지 않았지만, HDL-cholesterol은 CCl₄단독 투여군(II)에 비하여 hexane(III)과 chloroform(VI) 분획물을 투여한 군에서 각각 24.2%, 23.6%의 증가율로 유의적인 증가(p<0.05)를 나타내었다. 따라서 감잎 분획물이 지질대사에 관여하는 TG와 cholesterol에는 영향이 없고 HDL-cholesterol을 감소시킨 결과에 대하여는 동맥경화지수(26) 등과 같은 이와 관련된 연구가 이루어져야 될 것으로 사료된다.

간조직중 MDA 함량

분획물의 간조직 중의 MDA 함량에 미치는 영향은 Table 5와 같다. 대조군(I)에 비하여 CCl₄를 투여한 모든 군에서 유의적인 증가를 나타내었고 ethylacetate(V), butanol(VI), H₂O(VII) 분획물을 투여한 군에서 감소를 나타내었으나 H₂O 분획물을 투여한 군에서 54.1%의 감소율로 유의적인 감소(p<0.05)를 나타내었다. CCl₄가 간세포에 free radical을 생성하여 지질과산화물을 초래하고 이들은 생체막에 구조적인 변화를 일으켜서 내부의 효소계가 파괴됨으로써 혈액 및 조직내의 과산화지질 함량이 증가된다는 보고(37-39)에 따라, 감잎 분획물 중에서도 특히 H₂O 분획물이 CCl₄에 의해 간손상을 받더라도 과산화지질 생성의 억제 효과가 있고 또 간손상 지표의 효소가 되는 ALT와 AST의 활성도를 유의적으로 감소시켰으므로 H₂O분획물이 CCl₄에 의해 유발된 간손상의 보호 효과가 있는 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 감잎의 methanol추출물을 1,000 mg/kg 용량으로 투여한 후 CCl₄로 유발된 흰쥐의 간을 보호하는 효능이 있음을 확인하고 그 추출물을 hexane, chloroform, ethylace-

tate, butanol, H₂O 등의 용매로 계통 분획하여 각 분획물에 대한 간 보호 효능을 검색하기 위하여 흰쥐에게 CCl₄를 투여하여 급성 독성을 유발시킨 후 혈청의 ALT, AST, ALP, γ -GTP 및 LDH 활성도와 bilirubin, TG, cholesterol 및 HDL-cholesterol등의 함량을 측정하고 또 간조직중의 malondialdehyde(MDA)의 함량을 측정한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다. ALT 활성도는 CCl₄단독 투여군에 비해 hexane, chloroform과 H₂O 분획물을 각각 투여한 군에서 유의적인 감소(p<0.05)를 나타내었고 AST 활성도는 H₂O 분획물을 투여한 군에서 유의적인 감소(p<0.05)를 나타내었다. ALP 활성도는 chloroform과 H₂O 분획물을 각각 투여한 군에서 감소를 나타내었으나 유의적인 감소는 아니었으며, γ -GTP 활성도는 hexane, chloroform, ethylacetate 분획물을 각각 투여한 군에서 유의적인 감소(p<0.05)를 나타내었다. 간 무게의 변화는 H₂O 분획물을 투여한 군에서 유의적인 감소(p<0.05)를 나타내었다. LDH 활성도는 ethylacetate 분획물을 투여한 군에서, bilirubin함량은 chloroform과 ethylacetate 분획물을 각각 투여한 군에서 CCl₄단독 투여군에 비해 유의적인 증가를 나타내어 CCl₄독성에 대한 감잎 분획물의 저하효과를 나타내지 못하였으며, TG와 cholesterol의 함량은 감잎 분획물을 투여한 모든 군에서 유의적인 감소를 나타내지 못하였으나 HDL-cholesterol 함량은 hexane과 chloroform 분획물을 각각 투여한 군에서 유의적인 증가(p<0.05)를 나타내었다. 간조직중의 MDA 함량은 H₂O 분획물을 투여한 군에서 유의적인 감소(p<0.05)를 나타내었다. 따라서 감잎 분획물의 CCl₄로 유발된 흰쥐의 간손상에 미치는 영향을 검토한 결과, 간세포의 변성과 괴사의 지표가 되는 ALT, AST 활성도와 free radical의 생성으로 인한 조직내의 과산화지질 함량을 유의적으로 감소시킨 H₂O 분획물에서 간손상 보호 효과가 가장 컸으며 그 다음이 chloroform 분획물이었다. 그러나 본 연구 결과 만으로는 간보호 작용을 완전히 평가 할 수 없으므로 추가적인 기전 제시와 함께 효과가 있었던 분획물들을 subfraction으로 분리하여 간손상의 예방 및 치료에 사용될 수 있는 활성물질을 개발할 가치가 있다고 사료된다.

감사의 글

본 논문은 2000학년도 대전대학교 학술연구비 지원으로 수행된 연구 결과이며 이에 감사드립니다.

문 헌

- Moody, C.S. and Hassan, H.M.: Mutagenicity of oxygen free radicals. *Proc. Natl. Acsd. SCI.*, **79**, 2855-2859 (1982)
- Junqueira, V.B.C., Simiz, K., Videla, L.A. and Barros, S.B.: Dose dependent study of the effects of acute lindamce administration on rat liver superoxide anion production antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation. *Toxicology*, **41**, 193-204 (1996)

3. McCay, P.B., Lai, E.K., Poyer, J.L., Dubose, C.M. and Janzen, E.G. : Oxygen and carbon-centered free radical formation during carbon tetrachloride metabolism. *J. Biol. Chem.*, **259**, 2135-2143 (1984)
4. Butler, T.C. : Reduction of carbon tetrachloride *in vivo* and reduction of carbon tetrachloride and chloroform *in vitro* by tissues and constituents. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **134**, 311-319 (1990)
5. Connor, H.D., Thurman, R.G., Grizi, M.D. and Mason, R.P. : The formation of a novel free radical metabolite from CCl₄ in the perfused rat liver and *vivo*. *J. Biol. Chem.*, **261**, 4542-4547 (1986)
6. Hassan, H.M. : Free radical. *Biol. Med.*, **5**, 377-385 (1988)
7. Byers, T. and Perry, G. : Dietary carotenes, vitamin C and vitamin E as protective antioxidants in human cancers. *Ann. Rev. Nutr.*, **12**, 135-159 (1992)
8. 江蘇新醫院編 : 中藥大辭典. 上海科學技術出版社, p.1527 (1978)
9. Kim, J.K. and Kim, K.S. : Studies on the chemical constituent of persimmon leaf. *Sang Ju National Polytechnic University Thesis Collection*, **12**, 95-97 (1982)
10. Joung, S.Y., Lee, S.J., Sung, N.J., Jo, J.S. and Kang, S.K. : The chemical composition of persimmon (Diospyros Kaki, Thumb) leaf tea. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **24**, 720-726 (1995)
11. Chung, S.H., Moon, K.D., Kim, J.K., Seong, J.H. and Sohn, T.H. : Changes of components in persimmon leaves during growth for processing persimmon leaves tea. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **26**, 141-146 (1994)
12. Cha, W.S. and Kim, K.S. : The effect of processing method on the quality of persimmon leaf tea. *Sang Ju National Polytechnic University Thesis Collection*, **23**, 109-111 (1984)
13. Choi, S.H. : The aroma components of duchung tea and persimmon leaf tea. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **22**, 405-410 (1990)
14. Park, J.O. and Kim, H.J. : Studies on ascorbic acid contents in persimmon leaves tea by different cooking methods. *Korean Home Economics Association*, **17**, 31-38 (1976)
15. Naoko, S. and Keiko, L. : The relationship between vitamin C and polyphenol content in persimmon leaves. *J. Japanese Soc. Nutr. Food Sci.*, **44**, 213-219 (1991)
16. Seong, J.H. : The natural removal of astringency in sweet persimmon fruit and distribution of tannin substance. *Ph. D. Thesis*, Kyung Pook National Univ., Korea (1986)
17. Matsuo, T. and Ito, S. : The chemical structure of Kaki tannin from immature fruit of the persimmon. *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 1637-1639 (1978)
18. Uchida, S., Ohta, H., Niwa, M., Mori, A., Nanaka, G., Nishioka, I. and Ozaki, M. : Prolongation of life span of stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP) ingesting persimmon tannin. *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 1049-1051 (1990)
19. Choi, S.W., Kang, W.W., Chung, S.K. and Cheom, S.H. : Antioxidative activity of flavonoids in persimmon leaves. *Food and Biotech.*, **5**, 119-123 (1996)
20. Moon, S.H., Kim, J.O., Rhee, S.H., Park, K.Y., Kim, K.H. and Rhew, T.H. : Antimutagenic effects and compounds identified from hexane fraction of persimmon leaves. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **22**, 307-312 (1993)
21. Moon, S.H., Kim, J.O. and Park, K.Y. : Antimutagenic compounds identified from chloroform fraction of persimmon leaves. *J. Food Sci. Nutr.*, **1**, 203-207 (1996)
22. Song, H.S., Lee, H.K., Jang, H.D., Kim, J.I., Park, O.J., Lee, M.S. and Kang, M.H. : Antimutagenic effects of persimmon leaf tea extracts in sister chromatid exchange (SCE) assay system. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **25**, 232-239 (1996)
23. Moon, S.H., Kim, K.H. and Park, K.Y. : Antitumor effect persimmon leaves *in vivo* using sarcoma-180 cells. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **25**, 865-870 (1996)
24. Park, M.H., Cheong, C. and Bae, M.J. : Effect of polyphenol compounds from persimmon leaves on allergic contact dermatitis. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **29**, 111-115 (2000)
25. Park, M.H., Choi, C.C., Son, G.M., Bong, J.A. and Bae, M.J. : Effect of polyphenol compounds from persimmon leaves on antiallergy. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **29**, 116-119 (2000)
26. Park, J.Y., Park, E.M., Lee, M.K., Jang, J.Y., Kim, M.J. and Cho, S.Y. : Effect of persimmon leaves extract on serum and liver concentrations in hypercholesterolemic rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **29**, 537-542 (2000)
27. Rao, V.C. and Nehendale, H.M. : Colchicine antimiosis abolishes CCl₄ autoprotection. *Toxicol. Pathol.*, **19**, 597-606 (1991)
28. Reitman, S. and Frankel, S. : A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. Pathol.*, **28**, 58-61 (1957)
29. Kawano, S., Nakagawa, H. and Toga, H. : Investigation on physiological values of blood in industrial workers, Report 3. Serum Colloid reaction and enzyme activity values. *Sangyo Igaku*, **24**, 275-283 (1982)
30. Szaz, G. : A kinetic photometric method for serum γ -glutamyltrans peptidase. *Chin. Chem.*, **16**, 124-136 (1969)
31. King, J. : Effect of hydrogen ion concentration on lactate dehydrogenase (LDH) assays. *Clin. Chem.*, **18**, 1443 (1972)
32. Bruce, C., Shull, H.L. and Philip, K.L. : Mechanism of interference by hemoglobin in the determination of total bilirubin. I. Method of Malloy-Evelyn. *Clinical Chemistry*, **26**, 1, 22-25 (1980)
33. Belcher, J.D. and Egan, J.O. : A microenzymatic method to measure cholesterol and triglyceride in lipoprotein subfractions separated by density gradient ultracentrifugation from 200 microliters of plasma or serum. *J. Lipid Res.*, **32**, 359-370 (1991)
34. Uchiyama, M. and Mihara, M. : Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal. Biochem.*, **86**, 271 (1978)
35. Menson, I.S., Kendal, R.Y., Dewae, H.A. and Newell, D.J. : Effect of onions on blood fibrinolytic activity. *Brit. Med. J.*, **3**, 351-362 (1968)
36. Hayes : *Principles and Methods of Toxicology*. Raben Press, USA, p.407-445 (1982)
37. Widman, F.K. : *Clinical interpretation of laboratory tests*. 9th, F.A. Davis Co., Philadelphia, p.295 (1983)
38. Takeda, S., Funo, S., Izuka, A., Kase, Y., Arai, I., Ohkura, Y., Sudo, K., Kiuchi, N., Yoshida, C., Maeda, S., Abrada, M. and Hosoya, E. : Pharmacological studies on schizandra fruits. III. Effects of wuweizisu C, a ligand component of schizandra fruits, on experimental liver injuries in rats. *Folia Pharmacol. Japon.*, **85**, 194-208 (1985)
39. Noll, T. and Groot, H. : The critical steady state hypoxic conditions in carbon tetrachloride induced lipid peroxidation in rat liver microsomes. *Biochim. Biophys. Acta*, **795**, 356-362 (1984)