

흰쥐에 있어서 구기자 추출물 첨가식이 간조직의 유해산소 및 알콜대사 효소활성에 미치는 영향

윤종국[†] · 김현희 · 채순님* · 오만진** · 이규희**

계명대학교 공중보건학과

*동원대학 피부미용과

**충남대학교 식품공학과

Hepatic Oxygen Free Radical and Alcohol Metabolizing Enzyme Activities in Rats Fed Diets Supplemented with *Lycium chinense* Ethanol Extract

Chong-Guk Yoon[†], Hyun-Hee Kim, Soon-Nim Chae*, Man-Jin Oh** and Gyu-Hee Lee**

Dept. of Public Health, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea

*Dept. of Beauty Science, Tongwon College, Kyunggi-do 464-711, Korea

**Dept. of Food Science and Technology Chungnam National University, Taejeon 305-764, Korea

Abstract

To investigate the oxygen free radical and alcohol metabolizing system in liver of rats fed diets with 30% ethanol extract of *Lycium chinense* (LCEE), Sprague-Dawley male rats weighing 225~235 g have been fed a diet supplemented with 2% or 4% LCEE for a month. The rats fed LCEE supplemented diets gained less body weight compared with the control, and had no remarkable changes of liver function. In rats fed 2% LCEE supplemented diet, hepatic cytochrome P450 contents appeared to be increased, but catalase (204.88 ± 20.06 H₂O₂ nmoles/mg protein/min), and superoxide dismutase (13.18 ± 0.74 Unit/mg protein) activities were significantly increased compared with control (120.28 ± 26.99 H₂O₂ nmoles/mg protein/min and 10.49 ± 0.80 Units/mg protein). There was no difference in hepatic glutathione content, glutathione peroxidase, and glutathione-S-transferase activities between the rats fed LCEE supplemented diets and the control diet. On the other hand, hepatic alcohol dehydrogenase activity were not changed by LCEE feeding, but hepatic aldehyde dehydrogenase activities were significantly increased in rats fed both 2 and 4% LCEE diets (5.01 ± 0.21 and 4.47 ± 0.26 μ moles NADPH/mg protein/min) compared with control (3.28 ± 0.21 μ moles NADPH/mg protein/min) and its V_{max} value was 1.9 fold increased in rats fed 2% LCEE and 1.5 fold in those fed 4% LCEE compared with control. In conclusion, it is likely that rats receiving a diet supplemented with LCEE may have the oxygen free radicals and alcohol detoxication potential.

Key words: *Lycium chinense*, oxygen free radical, alcohol metabolizing enzyme, male rat

서 론

현대에 식품산업 및 의학의 발전에 따른 기호에만 치우친 다양한 가공식품과 약물의 오남용이 오히려 건강에 문제가 제기되고 있다. 이와 같은 실정에 대체의학의 관심이 대두되고 있어, 민간요법과 건강보조식품 및 기능성식품의 과학적 검정이 요구되고 있다. 특히 동양권에서는 약품으로 인정하지만 서양권에서는 식품으로 취급하는 한약재를 가미한 식품개발이 기능성 식품으로서 의의가 클 것으로 생각된다. 이러한 한약재의 일종인 구기자는 한방에서는 보약제로서 허약, 만성소모성 질환, 신장 및 간의 보호작용, 콜레스테롤 저하작용, 혈압강화작용 등 여러 가지 질병의 예방 및 치료에 사용

된다고 되어 있으나(1), 과학적 근거는 제시되지 않고 있다. 또한 구기자는 차, 술과 같은 기호식품과 제과에 이용되고 있으나, 아직까지 생체와 관련된 기능성에 대한 연구는 미흡한 실정이다. 최근 Kim 등(2)은 구기자는 혈당과 콜레스테롤 저하작용이 있다고 보고하였으며, Kim과 Roh(3)는 실험동물에 간손상을 유발한 다음 구기자를 경구투여시에 간손상 보호작용을 관찰하였다. 특히 Yoon 등(4)은 구기자 추출물 함유 알콜을 실험동물에 음용시켰을 때 알콜에 의하여 생성된 유해산소와 acetaldehyde의 해독효소활성이 증가됨을 관찰하였다. 그러므로 구기자가 알콜로 유도된 유해물질의 해독효소활성을 증가시킨다면 구기자 추출물 자체가 유해물질 해독기구에 작용할 가능성이 있을 것으로 생각된다.

[†]Corresponding author. E-mail: jky446@kmucc.keimyung.ac.kr
Phone: 82-53-580-5230. Fax: 82-53-580-5164

이에 본 연구는 구기자의 간 보호 효능을 검토하는 일환으로 구기자를 알콜 추출 후 용매를 휘발시킨 뒤 분말로 하여 일반식이에 첨가시킨 사료로 1개월간 성장시킨 흰쥐를 처치하여 유해산소 및 알콜대사 효소활성을 측정하여 상호비교함으로써 구기자의 해독작용을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

구기자 시료조제

건조된 구기자종자를 처양균 비봉 농협에서 구입하였다. 구기자 사료를 믹서로 분말상태로 한 후 1 kg을 취하여 30% 에탄올 3 L를 가하여 환류냉각장치를 이용하여 30°C에서 72 시간 추출한 후 감압농축하여 부피를 감소시킨 후 냉동 건조한 고형물(이하 에탄올 추출물, LCEE)을 냉동고에 보관하면서 실험에 사용하였다.

동물의 사육 및 처치

실험동물은 대한실험동물센터에서 구입한 체중 180 g 내외의 외견상 건강한 Sprague-Dawley 종의 웅성 흰쥐를 시중에서 구입한 동물사료(삼양사 제품)로 적음시켜 체중 230 g 내외의 것을 실험에 사용하였다. 또한 구기자 추출물을 사료 100 g 당 2% 및 4%를 함유시켜 실험동물 사료로 사용하여 1개월간 사육하였다. 실험군은 대조군, 2% 구기자 첨가식이군(LCEE), 4% 구기자 첨가식이군(LCEE)으로 나누었다. 각 실험군은 실험동물 10마리를 사용하였다. 실험동물은 처치 전 24시간 동안 절식시켰으며 동물의 처치는 효소 활성의 일종 변동을 고려하여 일정시간에 실시할 수 있도록 시간을 조절하였다. 동물은 ether 마취시킨 다음 복부 정중선을 따라 개복한 후 복부대동맥으로부터 채혈하여 실험사시킨 후, 4°C 생리식염수로 간을 관류시켜 간조직 내에 남아있는 혈액을 제거한 다음 적출하였다.

효소 시료의 조제

적출한 간조직을 절편으로 만들고 일정량을 칭량한 후 4배량의 0.25 M sucrose 용액을 가하여 빙냉 하에서 glass teflon homogenizer로 마쇄하였다. 이 균질액을 600×g에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄부분을 제거한 상층액을 10,000×g에서 20분간 원심분리하여 mitochondria 분획을 얻었다. 한편 mitochondria 분획을 제거시킨 상층액을 105,000×g에서 1시간 동안 초원심분리하여 cytosol 분획과 microsome 분획을 분리하였다. Cytosol 분획은 xanthine oxidase(XO), glutathione peroxidase(GPx), glutathione-S-transferase(GST), superoxide dismutase(SOD), alcohol dehydrogenase(ADH) 및 aldehyde dehydrogenase(ALDH) 활성 측정에 사용하였으며, mitochondria 분획은 catalase(CAT) 활성 측정에, microsome 분획은 cytochrome P-450(CYP) 함량 및 glucose-6-phosphatase(G6Pase) 활성 측정에 사용하였다. 한편 채취

한 혈액은 응고시킨 다음 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 얻고 alanine aminotransferase(ALT) 활성 측정용 시료로 사용하였다.

효소 활성도 측정

혈청 중 ALT 활성도 측정은 Reitman과 Frankel의 방법(5)에 따라 조제된 kit 시약(아산제약)을 사용하였으며, 활성도 단위는 혈청 mL 당 Karmen 단위(6)로 표시하였다. XO 활성 측정은 Stirpe와 Della Corte의 방법(7), GPx 활성 측정은 Paglia와 Valentine의 방법(8), GST는 Habig 등의 방법(9), 그리고 간조직 중 microsome 분획의 G6Pase 활성도 측정은 Hasushi 등의 방법(10)에 준하여 측정하였다. SOD 활성 측정은 hematoxylin 자동산화의 억제정도를 관찰하는 Martin 등의 방법(11)에 의하여 측정하였으며 hematoxylin 및 효소액을 가해 25°C에서 반응시켜 생성된 hematein을 560 nm에서 측정하여 효소의 활성도를 산정하였다. 활성도 단위는 hematoxylin의 자동산화를 50% 억제하는 정도를 1 unit로 나타내었다. CAT 활성 측정은 Aebi의 방법(12)에 준하였으며, ADH와 ALDH 활성 측정은 Bergmeyer의 방법(13)으로 측정하였다.

Cytochrome P-450(CYP) 함량 측정

간조직 중 CYP의 함량 측정은 Omura와 Sato의 방법(14)에 준하여 시험관에 microsomal suspension(4 mg protein/mL)을 넣고 needle을 통해 1분간 CO gas를 통기시킨 후 환원제로 sodium dithionite(Na₂S₂O₄) 30 mg을 넣어 잘 혼합한 다음, 1분간 CO gas를 통기시켰다. 이상의 조작은 2~4°C에서 행하였다.

CO gas의 통기가 끝난 후 spectrophotometer를 이용하여 400~500 nm에서 microsomal suspension에 CO bound microsome 간의 difference spectrum을 그렸다. 450~490 nm에서 흡광도의 차이를 CYP CO complex에 의한 흡광량으로 하고 CYP CO complex의 분자흡광계수($\epsilon = 91 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$)를 이용하여 CYP의 양을 계산하였다. Microsome의 CYP 양은 단백질 1 mg당 nmole로 표시하였다.

간조직 GSH 함량 측정

GSH의 함량은 Ellman의 방법(15)에 따라 비단백성 sulfhydryl group을 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid)로 발색시켜 412 nm에서 비색 정량하였다. GSH의 함량 단위는 간조직 1 g당 μmole 로 나타내었다.

간조직 단백질 정량

단백질 정량은 Lowry 등의 방법(16)에 준하여 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 측정하였다.

통계 검정

실험 성적의 통계처리는 Student's t-test(17)로 하였으며 유의수준은 0.05 이하로 하였다.

결과 및 고찰

성장기간 동안 체중증가량과 간상해의 검색

구기자 알콜 추출분말을 첨가시킨 식이를 1개월간 성장시키는 동안 체중변동을 나타낸 것이 Fig. 1과 같다. 2% 구기자 추출물 첨가식으로 성장한 실험군(2% LCEE) 및 4% 구기자 추출물 첨가식으로 성장한 실험군(4% LCEE) 모두 대조군보다 체중증가율이 다소 낮게 나타났으며 통계적인 유의성은 없었다. 그리고 4% LCEE군이 2% LCEE군보다 체중증가율이 다소 낮게 나타남을 알 수 있었다. 한편, 체중 당 간 무게, 간조직 중 단백질 함량, 혈청 ALT 활성과 간손상시 활성이 감소된다는 간조직 중 glucose-6-phosphatase 활성(10)은 구기자 첨가식으로 성장시킨 실험군과 대조군간에는 별다른 차이를 볼 수 없었다(Table 1).

이상 실험결과를 보아서 식이에 4%까지의 구기자를 함유시킬 경우 간조직에 별다른 이상을 관찰할 수 없었다. 그러나 구기자 추출물 첨가식으로 실험동물들 성장시킬 경우 체중증가율은 대조군에 비하여 다소 떨어지는 경향을 보여줌을

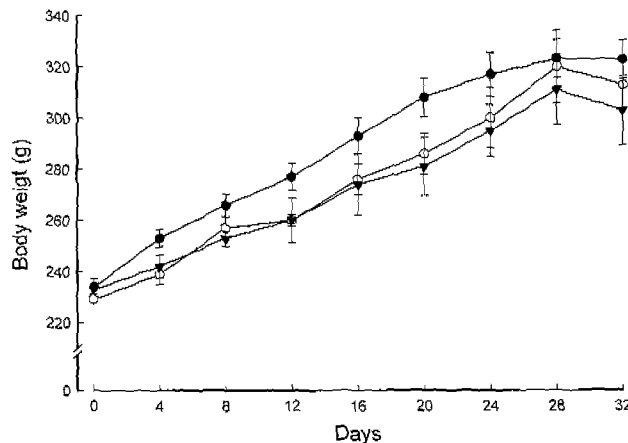


Fig. 1. Growth of rats fed a diet supplemented 2% or 4% *Lycium chinense* ethanol extract.

Each value represents the mean of 10 rats.
●—●: Control, ○—○: 2% group fed *Lycium chinense* ethanol extract, ▼—▼: 4% group fed *Lycium chinense* ethanol extract.

Table 1. Effect of *Lycium chinense* ethanol extract (LCEE) on the liver weight per body weight (LW/BW, %), homogenate protein content, serum ALT and hepatic glucose-6-phosphatase (G6Pase) activities in rats

Days	Control	2% LCEE	4% LCEE
LW/BW (%)	2.58±0.05 ¹⁾	2.68±0.08	2.70±0.02
Homogenate protein ²⁾	160.00±1.52	165.51±17.21	179.76±12.60
ALT ³⁾	29.40±1.01	31.10±1.52	35.12±2.35
Liver G6Pase ⁴⁾	15.24±1.33	14.58±1.33	18.06±3.31

¹⁾Each value represents the mean±SE of 10 rats.

²⁾mg/g of tissue.

³⁾Karmen unit/mL of serum.

⁴⁾nmoles pi/mg protein/min.

알 수 있었다.

유해산소 생성효소 활성

생체 내에서 세포의 상해, 노화의 원인이 되며 방사선, 유해공해물질, 화학물질 등에 의하여 생성되는 유해산소는 세포상해를 유발시키는 것으로 알려져 있으며(18), XO와 microsomal cytochrome P450(CYP) 함량은 이러한 유해산소 생성에 관여하는 것으로 알려져 있다(19,20). Ethanol을 실험동물에 만성투여시 XO 활성이 증가된다는 보고(21)가 있으며, CCl₄(22), toluene(23) 및 bromobenzene(24) 등을 실험동물에 투여시에도 본 효소활성이 증가된다고 하였다. 또한 Kim 등(25)은 실험동물에 5% 알콜을 2개월간 음용시킨 경우 간조직 중 microsomal CYP 활성인 aniline hydroxylase 활성이 유도된다고 하였다. 특히 본 연구진이 구기자를 함유한 알콜을 실험동물에 음용시킬 경우 간조직 중 XO 및 microsomal CYP 활성이 높게 됨을 관찰하였다(4).

본 실험결과에서는 구기자 2%, 4% 함유시킨 식이로 성장시킨 흰쥐에 있어서 XO 활성이 대조군과 별다른 차이를 볼 수 없었으며, 간조직 중 microsomal CYP 함량은 2%, 4%의 구기자를 함유시킨 실험군에 있어서 각각 29%, 21% 증가되었으며 유의성은 없었다(Table 2).

이상 실험결과를 보아서 구기자가 유해산소 생성에는 별다른 관련성이 없으리라 생각되며, microsomal CYP 함량이 유도되는 경향을 보아서 독성물질대사에 영향을 미칠 것으로 사료된다.

유해산소의 해독효소 활성

일반적으로 유해산소에 의한 조직손상은 유해산소의 생성계와 해독계의 불균형에 의하여 초래되는 것으로 알려져 있다(26,27). 그러므로 유해산소에 의한 조직세포의 상해는 유해산소의 생성계 뿐만 아니라 해독계에도 영향을 받기 때문에 본 실험조건에서 유해산소해독에 관여하는 효소 및 생리활성물질을 측정된 것이 Table 3과 같다.

2% 구기자 추출물 첨가식으로 성장시킨 흰쥐에 있어서 superoxide 해독에 관여하는 간 SOD 활성은 대조군에 비하여 약 26%의 유의한(p<0.05) 증가를 보였으나 4% 구기자 함유 식이 조건에서는 대조군과 별다른 차이를 볼 수 없었다. 이와 같은 결과를 설명하기는 어려우나, 일반적으로 생체 내에서는 생리활성물질의 용량(dose)에 따라 생리기능이 민감

Table 2. Effect of *Lycium chinense* ethanol extract (LCEE) on the activities of hepatic xanthine oxidase (XO) and CYP content in rats

Groups enzyme activities	Control	2% LCEE	4% LCEE
Cytosolic XO ²⁾	3.18±0.37 ¹⁾	3.00±0.28	2.67±0.11
Microsomal CYP ³⁾	0.42±0.02	0.54±0.06	0.51±0.02

¹⁾Each value represents the mean±SE of 10 rats.

²⁾XO: Xanthine oxidase; nmoles uric acid/mg protein/min.

³⁾CYP: Cytochrome P-450; nmoles cytochrome P-450/mg protein.

Table 3. Effect of *Lycium chinense* ethanol extract (LCEE) on the activities of oxygen free radical scavenging enzymes and GSH content in rats

Groups Enzyme activities	Control	2% LCEE	4% LCEE
SOD ²⁾	10.49 ± 0.80 ¹⁾	13.18 ± 0.74*	11.48 ± 0.42
Catalase ³⁾	120.28 ± 26.99	204.88 ± 20.06*	190.69 ± 21.77
GSH ⁴⁾	3.59 ± 0.02	3.91 ± 1.09	3.14 ± 0.13
GPx ⁵⁾	7.26 ± 0.71	7.02 ± 0.22	8.61 ± 0.36
GST ⁶⁾	385.62 ± 19.49	406.66 ± 18.15	401.20 ± 9.98

¹⁾Each value represents the mean ± SE of 10 rats.

²⁾SOD : Superoxide dismutase; Unit^g/mg protein (^g50% inhibition of autooxidation of hematoxylin).

³⁾Reduced H₂O₂ nmoles/mg protein/min.

⁴⁾µmoles/g of tissue.

⁵⁾NADPH oxidized nmoles/mg protein/min.

⁶⁾2,4-dinitrobenzene-glutathione conjugate nmoles/mg protein/min.

*Significantly different from control (p<0.05).

하게 나타날 것으로 생각되지만 이 점에 대해서는 추후 연구 검토되어야 할 과제로 남아 있다.

특히 H₂O₂의 해독에 관여하는 간조직 중 catalase 활성 (26,27)은 2% 및 4% 구기자 추출물 첨가식으로 성장시킨 원취에 있어서 대조군에 비하여 각각 약 70%, 59%의 유의한 (p<0.05) 증가를 보였다.

그러나 유해산소 해독에 관여하는 glutathione 및 이의 대사관련 효소인 GPx와 GST 활성은 구기자 식이군과 대조군 간에는 별다른 차이를 볼 수 없었다.

이상 실험결과를 종합해 볼 때 구기자는 유해산소 해독에 관여함을 시사해주고 있으며 이는 구기자가 SOD, catalase 활성을 유도함으로써 나타난 결과로 생각된다.

알콜대사 효소활성 및 ALDH의 반응속도

본 연구진이 발표한 전보(4)에서 구기자 함유 알콜을 2개월간 음용시킨 실험동물 있어서 간조직 중 ADH 및 ALDH 활성을 측정된 결과 이들 효소량이 알콜만 섭취한 대조실험군보다 높게 나타남을 관찰하였다. 그러므로 알콜 중 함유된 구기자 성분이 과연 이들 효소활성을 유도시킬 수 있는지를 규명코자 2%, 4%의 구기자 분말을 첨가시킨 식이로 1개월간 성장시킨 실험동물에 있어서 알콜대사 효소활성을 측정 한 것이 Table 4와 같다. 2% 및 4% 구기자 첨가식이군 모두 간조직 중 ADH 활성은 대조군에 비하여 약 16% 증가되는 경향을 보였다. 특히 ALDH 활성은 2% 구기자 식이군이 대조군에 비하여 53%의 유의한(p<0.001) 증가를 보였으며, 4% 구기자 식이군 역시 대조군에 비하여 약 36%의 유의한 (p<0.01) 증가를 보였다.

구기자 추출물 첨가식으로 성장한 원취의 간에 있어서 ALDH 활성이 높게 나타나는 원인을 규명코자 acetaldehyde 농도를 변경시키면서 간조직 중 ALDH 활성을 측정하여 double reciprocal plot로 나타낸 것이 Fig. 2와 같다. 구기자 추출물 첨가식이군 및 대조군 모두 Km 치는 980 mM로서 동일한 값을 나타내었으나, Vmax치는 2% 및 4% 구기자 식이군 모두

Table 4. Effect of *Lycium chinense* ethanol extract (LCEE) on the activities of hepatic alcohol (ADH) or aldehyde dehydrogenase (ALDH) in rats

Groups Enzymes activities	Control	2% LCEE	4% LCEE
ADH ²⁾	2.15 ± 0.25 ¹⁾	2.50 ± 0.20	2.52 ± 0.05
ALDH ³⁾	3.28 ± 0.21	5.01 ± 0.21***	4.47 ± 0.26**

¹⁾Each value represents the mean ± S.E. of 10 rats.

^{2),3)}µmoles NADH/mg protein/min.

** , ***Significantly different from the control (p<0.01, p<0.001).

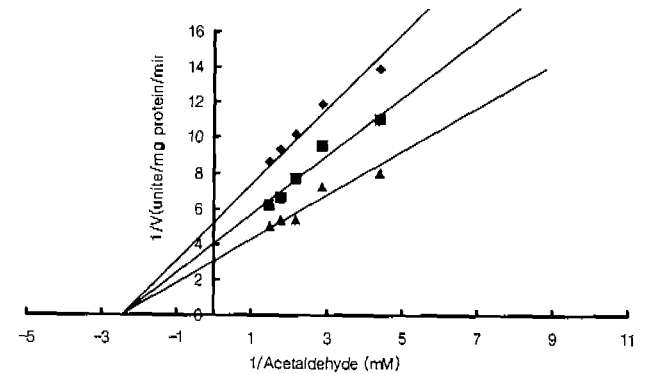


Fig. 2. Double reciprocal plots of liver acetaldehyde dehydrogenase using acetaldehyde as a substrate in the control and groups fed a diet supplemented 2% or 4% ethanol extract of *Lycium chinense*.

The assay mixture consists of various concentration of acetaldehyde, 70 mM Na₄P₂O₇ · 10H₂O and 0.1 mL of pooled liver supernatant (2 mg of protein) into a final volume of 3.0 mL. Each value is the mean of 3 experiments.

◆: Control, ▲: 2% group fed *Lycium chinense* ethanol extract (LCEE), ■: 4% group fed *Lycium chinense* ethanol extract (LCEE).

대조군보다 각각 71%(660 nmole/), 40%(526 nmole/mg protein/min)의 증가를 보였다.

따라서 본 실험결과는 식이 중 구기자 성분이 알콜 해독에 관여하는 ADH 및 ALDH 활성을 유도시킴을 시사해주고 있으며, 특히 알콜 해독에 중요한 역할을 하는 ALDH 활성을 현저하게 유도시킴을 알 수 있다.

이상 실험결과를 종합해 볼 때 식이 중 구기자 성분은 알콜 해독에 효능이 있을 것으로 생각되며 이는 구기자 성분이 알콜 해독에 관여하는 aldehyde dehydrogenase(ALDH) 효소 단백질성이 유도된 것으로 추정되나 이에 대하여 확인할 필요가 있다고 생각되며 이후 연구할 과제로 남아있다.

요 약

원취에 있어서 구기자 추출물 첨가식이 간조직의 유해산소대사기구와 알콜대사에 어떠한 효과가 있는지를 알아보기 위하여 구기자 알콜 추출물을 사료에 2%, 4%를 첨가시켜 1개월간 사육한 후 처치하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 구기자 추출물 첨가식으로 성장하는 동안 체중증가율은 대조군보다 오히려 약간 감소되는 경향을 보였으며 간기능은

대조군과 별다른 차이가 없었다. 간조직의 xanthine oxidase 활성은 구기자 첨가식이군과 대조군 간에는 별다른 차이를 볼 수 없었으며 cytochrome P450 함량은 2% 및 4% 구기자 추출물 첨가식이군이 대조군보다 높게 나타나는 경향을 보였다. 그리고 간조직의 catalase 활성은 2% 및 4% 구기자 추출물 첨가식이군 모두 대조군보다 유의한($p < 0.05$) 증가를 보였으나 두 실험군 간에는 별다른 차이를 볼 수 없었다. 또한 superoxide dismutase 활성은 2% 구기자 추출물 첨가식이군이 대조군보다 유의한($p < 0.05$) 증가를 보였으며, 4% 구기자 추출물 첨가식이군은 대조군과는 별다른 차이가 없었으나 2% 구기자 추출물 첨가식이군에 비해서는 다소 감소하는 경향을 보였다. 그러나 glutathione 함량, glutathione-S-transferase 활성은 구기자 추출물 첨가식이군과 대조군 간에는 별다른 차이를 볼 수 없었다. 한편 간조직의 alcohol dehydrogenase 활성은 2% 및 4% 구기자 추출물 첨가식이군이 대조군보다 높게 나타나는 경향을 보였으며, 특히 aldehyde dehydrogenase 활성은 2% 및 4% 구기자 추출물 첨가식이군 모두 대조군보다 유의한($p < 0.001$) 증가를 보였다. 그리고 구기자 추출물 첨가식이군과 대조군의 Km치는 980 mM로 동일한 값을 나타내었으나, Vmax치는 2% 및 4% 구기자 추출물 첨가식이군이 대조군보다 각각 71%(660 nmole) 및 40%(526nmole)로 증가하였다. 이상 실험결과는 식이 중 구기자 알콜 추출물 첨가는 유해산소 및 알콜의 해독효과를 나타냄을 시사해 주고 있다.

문 헌

1. 정진섭, 신민교 : 도해향약 대사전. 영림사, 서울, p.86-828 (1990)
2. Kim, N.J., Youn, W.G., and Hong, N.D. : Pharmacological effect of *Lycium chinense*. *Kor. J. Pharmacogn.*, **25**, 264-271 (1994)
3. Kim, B.W. and Roh, K.S. : Study on the activity of GOT and GPT in the hepatotoxic rat treated *Lycium chinese* mill. *Kor. J. Biomed. Lab. Sci.*, **6**, 187-192 (2000)
4. Yoon, C.G., Jeon, T.W., Oh, M.J., Lee, G.H. and Jeon, J.H. : Effect of the ethanol extract of *Lycium chinese* on the oxygen free radical and alcohol metabolizing enzyme activities in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **29**, 268-273 (2000)
5. Reitman, S. and Frankel, S. : A Colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. pathol.*, **28**, 56-63 (1957)
6. Karmen, A. : A note on the spectrophotometric assay of glutamic oxaloacetic transaminase in human blood serum. *J. Clin. Invest.*, **34**, 131-133 (1955)
7. Stirpe, F. and Della Corte, E. : The regulation of rat liver xanthine oxidase: Conversion *in vitro* of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O). *J. Biol. Chem.*, **244**, 3855-3863 (1969)
8. Paglia, E.D. and Valentine, W.N. : Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.*, **70**, 158-169 (1967)
9. Habig, W.H., Pabist, M.J. and Jakoby, W.B. : Glutathione S-transferase : The first enzymatic step in mercapturic and formation. *J. Biol. Chem.*, **249**, 7130-7139 (1974)
10. Hasushi, Y., Tescke, R. and Lieber, C.S. : Increased CCl₄ hepatotoxicity and its metabolism after chronic ethanol consumption. *Gastroenterology*, **66**, 415-422 (1974)
11. Martin, J.P. Jr., Dailey, M. and Sugarman, E. : Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autooxidation. *Arch Biochem. Biophys.*, **255**, 329-336 (1987)
12. Aebi, H. : Catalase. In *Methods of Enzymatic Analysis*, Bergmeyer, H.U. (ed.), Academic Press, New York, Vol. 2, p.673-684 (1974)
13. Bergmeyer, H.U. : *Methods of Enzymatic Analysis*. Academic Press, New York, Vol. 2, p.428-429 (1974)
14. Omura, T. and Sato, R. : The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes: Evidence for its hemoprotein nature. *J. Biol. Chem.*, **239**, 2370-2378 (1964)
15. Ellman, G.L. : Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem. Biophys.*, **82**, 70-77 (1959)
16. Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275 (1951)
17. Scheffler, W.C. : *Statistics for the Biological Sciences*. Addison-Wesley Publishing Co., USA, p.84-89 (1980)
18. Cotran, R.S., Kurma, V. and Collin, T. : Cellular pathology I. In *Robbins Pathologic Basis of Disease*, 6th ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia, p.1-29 (1999)
19. Oyanagui, Y. : SOD and active oxygen modulators. Nihon Igakukan, Tokyo, p.17-36 (1989)
20. Yoon, C.G., Lee, M.K. and Lee, S.I. : Effect of growth on the enzyme activities of oxygen free radical generating and scavenging system in CCl₄-treated rats. *Kor. J. Gerontol.*, **8**, 35-42 (1998)
21. Oei, H.H., Stroo, W.E., Burton, K.P. and Schaffer, S.W. : A possible role of xanthine oxidase in producing oxidative stress in the heart of chronically ethanol treated rats. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, **38**, 453-461 (1982)
22. Yoon, C.G., Lee, S.I. and Shin, J.K. : Effect of carbon tetrachloride on the changes of xanthine oxidase activity in rats previously fed low or high protein diet. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **20**, 527-537 (1991).
23. Jeon, T.W., Kang, H.Y. and Yoon, C.G. : Effect of toluene administration on the activity of serum xanthine oxidase in rats. *Korean J. Toxicol.*, **11**, 279-288 (1995)
24. Yoon, C.G. and Lim, Y.S. : Effect of ethanol pretreatment on the serum and liver xanthine oxidase activity in bromobenzene treated rats. *J. East Asian of Dietary Life*, **7**, 21-27 (1997)
25. Kim, J.W., Shin, J.K. and Yoon, C.G. : Effect of ethanol pretreatment on the bromobenzene metabolism in rats. *Korean J. Toxicol.*, **11**, 253-259 (1995)
26. Chow, C.K. and Tappel, A.L. : Response of glutathione peroxidase to dietary selenium in rats. *J. Nutr.*, **104**, 444-451 (1974)
27. Leibovitz, B.E. and Siegel, B.V. : Aspects of free radical reaction in biological systems: aging. *J. Gerontol.*, **35**, 45-56 (1980)

(2001년 4월 10일 접수)