

샤리버섯 메탄올 추출물이 벤조피렌을 투여한 마우스의 항산화 효소 활성화에 미치는 영향

김현정¹ · 이갑량*

*영남대학교 식품영양학과, ¹계명대학교 전통 미생물자원 개발 및 산업화 연구센터

Effect of *Ramaria botrytis* Methanol Extract on Antioxidant Enzyme Activities in Benzo(α)Pyrene-treated Mice

Hyun-Jeong Kim¹ and Kap-Rang Lee*

Department of Food and Nutrition, Yeungnam University

¹The Center for Traditional Microorganism Resources, Keimyung University

Effects of *Ramaria botrytis* methanol extract on hepatotoxicity in benzo(α)pyrene(B(α)P)-treated mice were investigated. *R. botrytis* methanol extract was intraperitoneally injected once a day for successive 5 days, followed by treatment with B(α)P on the fifth day. Antioxidant activities of *R. botrytis* methanol extract were examined by measuring the free radical-scavenging effect on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical. In DPPH method, *R. botrytis* methanol extract showed strong antioxidative activities. The increased activities of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase after B(α)P-treatment were decreased by treatment of *R. botrytis* methanol extract. Glutathione content and glutathione S-transferase activity depleted by B(α)P were significantly increased, but elevation of lipid peroxide content induced by B(α)P was decreased by *R. botrytis* methanol extract. These results suggest that *R. botrytis* methanol extract is believe to be a possible protective effect against B(α)P-induced hepatotoxicity in mice.

Key words: antioxidant activity, *Ramaria botrytis*, free radical, B(α)P

서 론

모든 생물체는 산소를 이용하여 생명유지에 필요한 에너지를 발생하는 과정에서 유해 산소로 불리는 활성산소들의 상해에 대한 근본적인 자기방어를 가지고 있다. 조직의 방어 기구에서 해리되지 못한 활성산소는 노화, 암, 관절염 등에 직·간접적으로 생체 장애를 일으키는 원인으로 알려져 있다^(1,2). 유해산소로 알려진 활성산소는 가장 안정한 형태의 산소인 3중항산소(³O₂)가 환원되면서 superoxide, hydroxy radical 과 같은 free radical과 과산화수소수가 생성되는 데, 이들은 단백질, DNA, 효소 및 T세포와 같은 면역계통의 인자를 손상시켜 질환을 일으키며, 특히 활성산소가 세포 생체막의 구성성분인 불포화지방산을 공격하여 과산화반응을 일으켜 체내과산화 지질을 축적함으로써 인해 생체 기능이 저하되고 동시에 노화 및 성인병 등의 질환을 일으키는 것으로 알려져 있다^(3,4).

이런 활성산소를 조절할 수 있는 물질로 알려진 항산화제의 개발 연구가 활발히 진행되어 효소계인 superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase 등과 천연항산화제인 tocopherol, 비타민 C, carotenoid, flavonoid, catechin, glutathione 및 합성 항산화제인 BHA, BHT, Trolox-C 등이 보고되고 있다^(1,2,4). 천연물로부터 항산화제 개발에 대한 많은 연구가 진행되어, 여러 생약재, 각종 식용식물이나 해초류, 향신료 그리고 수산물 추출물 등에서 항산화 효과가 확인되었으며, 나아가 항산화성 물질의 규명도 이루어지고 있다^(5,6). 특히 최근에는 각종 항산화성 물질이 식품에 들어있는 유지의 산패 억제 작용을 하는 것은 물론 인체내 항암, 관상동맥 질환의 예방 등의 생리적 기능도 확인되고 있다⁽⁷⁾.

한편 천연자원 중에서 버섯류는 예로부터 식용 및 약용으로 널리 이용되고 있으며 최근 들어 버섯의 항암작용, 생체 기능조절, 뇌졸중 및 심장병 등 성인병에 대한 예방 및 개선 효과도 보고되었^(8,9), 몇몇 버섯의 자실체 및 균사체에 대한 항산화 효과도 보고되어 큰비단그물버섯의 경우는 항산화 물질의 분리 및 구조가 해명되기도 하였다^(10,11).

이에 본 연구에서는 장마가 끝난 직후부터 초가을까지 우리나라 야산에 대량으로 자라는 식용버섯이며, 항변이원성 및 항암 효과, 면역세포 활성화 등의 생리활성 효과^(12,13)가 알

*Corresponding author : Kap-Rang Lee, Department of Food and Nutrition, Yeungnam University, Kyoungsan 712-749, Korea
Tel: 82-53-810-2871
Fax: 82-53-813-3813
E-mail: krlee@yu.ac.kr

려진 싸리버섯(*Ramaria botrytis*) 추출물에 대한 free radical 소거작용에 의한 항산화능 및 항산화 효소계에 미치는 영향에 대한 항산화 효과를 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

시료의 조제

싸리버섯(*Ramaria botrytis*(Fr.) Rick)은 충청도 속리산에서 채취하여 건조한 다음, warring blender를 이용하여 3,000 rpm에서 5분 동안 분쇄하여 분말화 하였다. 분말시료(1.3 kg)에 먼저 10배량의 80% methanol을 첨가한 후 환류냉각기를 설치한 수욕조상에서 8시간 동안 3회 반복 추출한 후 여과한 다음, 여액을 감압농축시켜 메탄올 추출물(230 g)로 사용하였다.

싸리버섯 추출물의 DPPH 라디칼 소거작용 측정

싸리버섯 메탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 Yoshikawa 등의 방법⁽¹⁴⁾에 의해 다음과 같이 측정하였다. 0.1 M의 초산 완충액(pH 5.5)에 시료 및 0.2 mM DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 용액을 가하여 10초간 진탕한 후 37°C에서 30분간 반응시킨 다음, 이 반응액을 분광광도계(Spectronic GENESYS 5, MILTON ROY)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. Free radical 소거작용은 공존시킨 DPPH 50%를 환원시키는 데 필요한 시료의 농도로서 나타내었고 기존의 항산화제인 tocopherol 및 BHA와 비교하여 분석하였다.

실험 동물

실험 동물은 평균 체중이 25~30 g인 ICR계 마우스(male)를 사용하여 온도(18±2°C), 습도(65±2%)와 명암주기(12시간)가 자동적으로 조절되는 사육실에서 7일간 일반사료로 예비사육하여 환경에 적응시킨 후, 난괴법에 따라 군당 10마리씩 4군으로 구분하여 실험하였다. 각 실험군은 대조군(C), 싸리버섯 메탄올 추출물 처리군(S), benzo(α)pyrene (B(α)P) 단독 처리군(B) 그리고 싸리버섯 메탄올 추출물을 전 처리한 다음 B(α)P를 처리한 군(SB)으로 하였다.

시료투여, 간 독성 유발 및 효소원 조제

싸리버섯 메탄올 추출물은 마우스 체중 kg당 50 mg 수준으로 생리식염수에 녹여 5일간 1일 1회 일정시간에 복강주사 하였으며, 또한 급성 간 손상의 유도는 시료 투여한 다음 5일째에 B(α)P를 DMSO(dimethylsulfoxide)에 녹여 마우스 체중 kg당 0.3 mg 수준으로 1회 복강 주사하여 유발시켰다. 마우스를 해부하기 12시간 전에 물만 주고 식이공급을 중단하였으며 B(α)P 투여 24시간 경과 후에 처치하였다. 실험동물을 에테르로 마취한 후, 개복하여 간을 생리식염수로 관류하여 간 조직에 남은 혈액을 제거한 다음 적출하였다. 적출한 간 조직 1 g당 4배량의 0.1 M 인산완충액(pH 7.4)을 가하여 균질기로 마쇄시킨 후, 4°C 이하에서 600×g로 10 분간 원심분리하였다. 그 상등액을 10,000×g로 20 분간 원심분리하여 침전물은 미토콘드리아 분획물로 catalase 활성 측정에 사용하였고, 상등액은 다시 105,000×g에서 1시간 동안 초원심분리하여 cytosolic fraction과 microsomal fraction을 각각 얻

었다. Cytosolic fraction은 glutathione peroxidase(GSH-Px), glutathione S-tansferase(GST) 그리고 superoxide dismutase(SOD) 활성 측정에 사용하였다.

효소 활성도 측정

SOD의 활성 측정은 Marklund와 Marklund의 방법⁽¹⁵⁾에 준하여 cytochrome C를 50% 억제하는 enzyme량을 1 unit로 산정하였고, catalase의 활성은 Aebi⁽¹⁶⁾의 방법으로 기질인 10 mM 과산화수소용액 및 효소액을 가하여 25°C에서 반응시켜 240 nm에서 소실되는 과산화수소의 양을 측정하였다. GSH-Px의 활성은 Paglia와 Valentine의 방법⁽¹⁷⁾에 준하여 NADPH, hydrogen peroxide 및 산화형 글루타치온이 NADPH에 의해 환원될 때 NADPH의 감소량을 340 nm에서 흡광도를 측정하여 나타냈으며, 그리고 GST 활성은 Habig 등⁽¹⁸⁾의 방법에 준하여 기질인 2,4-dinitrochlorobenzene과 환원형 글루타치온을 기질로 하여 생성된 GSH-DNCB 공액의 분자흡광계수 9.6 mM⁻¹cm⁻¹를 이용하여 산정하였다. 단백질의 정량은 Lowry 등⁽¹⁹⁾의 방법에 준하여 bovine serum albumin(Sigma-Aldrich Chem. Co., St. Louis, MO, USA)을 표준품으로 하여 측정하였다.

간 조직중의 글루타치온과 지질과산화물 함량 측정

간 조직중의 글루타치온 함량은 Ellman의 방법⁽²⁰⁾에 의하여 비단백성 sulfhydryl group을 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid로 발색시켜 412 nm에서 비색정량한 다음, 그 함량은 간 조직 1 g당 μmole로 나타내었다. 그리고 지질과산화물의 함량은 Ohakawa 등⁽²¹⁾의 방법에 의한 TBA법을 이용하여 생성된 malondialdehyde(MDA) 양을 측정하여 간 조직 1 g당 생성된 MDA nmole로 표시하였다.

통계 처리

실험결과는 통계 처리하여 평균치와 표준편차를 계산하였으며, 각 실험군 간의 유의성 검정은 SAS program을 이용하여 5% 수준에서 Duncan's multiple range test를 이용하여 통계분석 하였다.

결과 및 고찰

싸리버섯 추출물의 DPPH 라디칼 소거작용

먼저 *in vitro*에서 싸리버섯 추출물의 항산화능은 기존에 잘 알려져 있는 항산화제인 tocopherol 및 BHA와 비교하여 싸리버섯 메탄올 추출물의 DPPH radical 소거효과를 검토한 결과, Table 1과 같이 싸리버섯 메탄올 추출물은 강한 항산화 활성을 나타내었고, 이는 차 등이 보고한⁽²²⁾ 약용식물인 구절초, 속단, 만형자 메탄올 추출물의 경우와 DPPH radical 소거능이 유사함을 알 수 있었다.

항산화 효소 활성 변화

SOD, catalase 그리고 GSH-Px는 생체의 방어시스템을 파괴하는 자유 라디칼의 생성과 이에 따른 과산화지질의 생성을 효과적으로 억제할 뿐만 아니라 생체내에서 자유 라디칼에 대한 제거 작용을 하는 효소이다. 이들 효소는 간에서 일

Table 1. Radical scavenging effect of *Ramaria botrytis* methanol extract on DPPH radical method

Sample	50% reduction (mg) ¹⁾
Tocopherol	0.022
BHA	0.015
<i>Ramaria botrytis</i> MeOH ext.	0.109

¹⁾Amount required for 50% reduction of DPPH (2×10^{-7} mL 0.079 mg) solution.

Table 2. Effect of *Ramaria botrytis* methanol extract on the activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase in liver of B(α)P-treated mice

Group ¹⁾	SOD (unit ²⁾ /mg protein)	Catalase (decreased H ₂ O ₂ nmoles/g protein/min)
C	13.05 \pm 1.67 ^{b3)}	3.12 \pm 0.32 ^b
S	13.11 \pm 1.72 ^b	3.18 \pm 0.26 ^b
B	18.96 \pm 1.62 ^a	4.08 \pm 0.24 ^a
SB	13.47 \pm 1.56 ^b	3.38 \pm 0.23 ^b

¹⁾C: Control group.

S: *Ramaria botrytis* methanol extract group.

B: B(α)P group.

SB: *Ramaria botrytis* methanol extract+B(α)P group.

²⁾Unit: 1 unit of SOD activity was defined as the which inhibited the oxidation of pyrogallol by 50%.

³⁾The values are mean \pm S.D. (n=10).

Values with a common superscript letter within the same column are not significantly different (p<0.05).

어는 약물 대사 효소계에서 내인성 물질이나 외부에서 투여되어진 독성물질을 최종적으로 무독화 시키는 과정에 관여하는 또 다른 해독계에 관여한다고 알려져 있다⁽²³⁾. 먼저 SOD는 생체 이물질로 인하여 생성된 superoxide radical을 H₂O₂로 바꾸어 주며, 여기서 생성된 H₂O₂는 다시 GSH-Px와 catalase의 작용에 의해 H₂O로 배설됨으로써 활성산소에 의한 산화적 손상으로부터 생체를 보호하는 효소이다⁽²⁴⁾. SOD 효소의 활성은 Table 2에서와 같이 B(α)P 단독 투여군이 대조군에 비하여 유의적으로 증가하였는데 이러한 결과는 B(α)P의 투여로 인하여 생성된 자유라디칼에 의해 SOD 활성이 증가된 것으로 보여진다. 또한 싸리버섯 메탄올 추출물을 투여한 후 B(α)P를 투여한 군은 B(α)P 단독 투여군에 비해 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 싸리버섯 메탄올 추출물의 투여로 자유 라디칼 생성이 억제된 것으로 생각되며, B(α)P 투여시 증가된 SOD 활성이 노루궁뎅이 버섯 추출물의 투여시 감소되었다는 보고⁽²⁵⁾와 유사한 경향이였다. Catalase의 활성은 B(α)P 단독 투여군이 대조군에 비해 유의적으로 증가하였으며, 싸리버섯 메탄올 추출물을 투여한 후 B(α)P를 투여한 군은 B(α)P 단독 투여군에 비해 유의성 있게 감소하였다(Table 2).

그리고 GSH-Px는 생체내 존재하는 항산화제인 글루타치온을 기질로 하여 과산화지질과 H₂O₂의 분해를 촉매시키는 효소로서 catalase와 기능은 같으나 생체내 분포 부위가 다르면서 유리기를 물로 변환시켜 생성된 활성 산소를 체외로 배설시키는 효소이다^(26,27). GSH-Px의 활성은 Table 3와 같이 대조군에 비하여 B(α)P 단독 투여군은 유의성 있게 증가하였

Table 3. Effect of *Ramaria botrytis* methanol extract on the activities of glutathione peroxidase (GSH-Px) and glutathione S-transferase (GST) in liver of B(α)P-treated mice

Group ¹⁾	GSH-Px (μ moles/mg protein/min)	GST (nmoles/mg protein/min)
C	21.27 \pm 0.78 ^{c2)}	180.1 \pm 18.82 ^a
S	20.34 \pm 1.21 ^c	165.9 \pm 17.73 ^{ac}
B	28.17 \pm 1.24 ^a	131.8 \pm 14.36 ^b
SB	23.86 \pm 1.13 ^b	151.1 \pm 11.19 ^c

¹⁾The meanings of groups refer to Table 2.

²⁾The values are mean \pm S.D. (n=10).

Values with a common superscript letter within the same column are not significantly different (p<0.05).

Table 4. Effect of *Ramaria botrytis* methanol extract on the contents of glutathione (GSH) and lipid peroxide in liver of B(α)P-treated mice

Group ¹⁾	GSH content (μ moles/g of tissue)	Lipid peroxide content (MDA nmoles/g of tissue)
C	5.61 \pm 0.78 ^{a2)}	17.2 \pm 6.91 ^a
S	4.96 \pm 0.72 ^a	17.4 \pm 5.17 ^a
B	3.73 \pm 1.22 ^b	30.3 \pm 4.54 ^b
SB	5.34 \pm 1.56 ^a	20.4 \pm 7.33 ^{bc}

¹⁾The meanings of groups refer to Table 2.

²⁾The values are mean \pm S.D. (n=10).

Values with a common superscript letter within the same column are not significantly different (p<0.05).

고, 싸리버섯 메탄올 추출물과 B(α)P를 투여한 군은 B(α)P 단독 투여군에 비해 유의적으로 감소되었다. 일반적으로 유리기에 의한 세포손상은 유리기를 생성하는 효소량 증가나 소거 효소량 감소에 기인되는 것으로 알려져 있으며, 특히 유리기에 의한 세포손상을 효과적으로 억제시키기 위해서는 단일효소의 증가보다 여러 소거 효소들이 복합적으로 증가될 때 더욱 효과적이라는 보고⁽²⁸⁾와 같이, 싸리버섯 메탄올 추출물은 B(α)P의 투여로 생성된 유해 활성 산소를 소거시키기 위해 유리기 해독계 효소로 알려진 SOD, catalase 및 GSH-Px 효소의 소거 효과를 증대시켜 세포손상으로부터 생체를 보호하는 작용을 하는 것으로 사료된다.

간 조직중의 GST 활성

B(α)P이 체내에서 산화되어 생성된 diepoxide가 세포내의 글루타치온과 포함체를 형성하는데 이때 GST가 이 반응을 촉진하고 이 포함체는 신속하게 배설되어 해독된다고 알려져 있다⁽²⁹⁾. 또한 GST는 체내에서 변이성 물질, 발암성 물질, 독성물질 등의 대사산물 그리고 내인성 독소들 중에서 친전자성물질 등에 환원형 글루타치온을 포함시켜 glutathione thioester를 형성하는 반응을 촉매하며, 또한 Se-independent GSH-Px 활성도를 가지고 있어 지질과산화로부터 생체를 보호하는 작용을 한다⁽³⁰⁾. 간 조직 중의 GST활성의 변화는 대조군에 비하여 B(α)P 단독 투여군에서 유의적으로 감소하였고, 싸리버섯 메탄올 추출물을 투여한 후 B(α)P를 투여한 군에서는 B(α)P 단독 투여군에 비해 유의성 있게 증가하였다(Table 3). 이것은 발암원인 B(α)P 투여시 생성된 free radical

을 글루타치온이 대사시켜 체외로 배출하되는데 이용되므로 글루타치온 함량이 저하되고 해독기구에 관여하는 효소인 GST의 활성화도 감소되지만, 싸리버섯 메탄올 추출물의 투여시 B(α)P 투여로 감소되었던 GST의 활성화 감소를 대조군 수준으로 회복시켜 체내 독성물질이 전이 또는 분해시키고, 글루타치온 함량이 증가되어 독성을 해독시킨 것으로 보여진다. 즉 싸리버섯 메탄올 추출물은 GST의 활성을 증가시켜 독성물질을 체외로 배출시켜 해독작용을 하는 것으로 보여지며, 또한 싸리버섯 중에는 합황화합물중에서 cysteine이 다량 존재⁽¹³⁾하므로 항발암 효소로 알려진 GST의 활성화 유도에 관여한 것으로 생각된다.

간 조직중 글루타치온과 지질과산화물의 함량 변화

글루타치온과 지질과산화물의 함량 변화는 Table 4와 같다. 글루타치온은 활성산소, 과산화지질 그리고 친전자성 물질들이 세포내에서 최종적으로 무독화되는 과정에 관여하며, 지질과산화물의 환원 및 간 해독에서 중요한 역할을 담당한다⁽³¹⁾. 간 조직중의 글루타치온 함량은 B(α)P 단독 투여군이 대조군에 비해 현저히 감소되었으며, 싸리버섯 메탄올 추출물투여한 후 B(α)P를 투여한 군은 B(α)P만 투여한 군에 비하여 증가하는 경향을 나타내었다. 이것은 B(α)P이 체내로 흡수되면서 조직에 산화적 스트레스 환경을 유발하여 이를 해독하기 위한 글루타치온의 소모로 글루타치온 함량이 감소되었다가, 싸리버섯 메탄올 추출물 투여시 체내 글루타치온의 소모를 덜어주어 그 함량이 증가된 것으로 보여진다. 또한 B(α)P 투여시 글루타치온을 기질로 사용하여 과산화수소를 제거하는 GSH-Px의 활성화 증가로 인해 글루타치온 소모가 증가된 것으로 보여지며, 싸리버섯 메탄올 추출물을 투여함으로써 생성된 과산화수소량이 적어 GSH-Px의 소모가 줄어들고 글루타치온의 소모량도 감소되어 B(α)P 단독 투여군 보다 증가한 것으로 사료된다.

간 조직중의 지질과산화물의 함량은 B(α)P만 투여한 군에서 대조군에 비하여 유의적인 증가를 보였다. 이는 B(α)P과 같은 생체 이물질의 대사시 약물대사 효소계로부터 생성된 여러 자유라디칼들이 지질과산화를 증가시켰다는⁽³²⁾ 보고와 일치하였다. 반면에 싸리버섯 메탄올 추출물을 투여한 후 B(α)P를 투여한 군은 B(α)P만 투여한 군에 비하여 유의성 있는 감소를 나타내었다. 이러한 결과는 Chang 등⁽³³⁾의 목이버섯 추출물을 투여한 후 B(α)P만 투여한 군 보다 간 조직내 과산화물 함량이 억제되었다는 보고와 유사하였다. 이것은 싸리버섯 메탄올 추출물 투여로 B(α)P에 의해 유도되는 자유라디칼 생성이 감소되어 지질과산화가 억제된 것으로 보여진다. 그리고 간 조직의 지질과산화물이 감소되는 것은 생체내에서 지질과산화물 생성 반응이 자유라디칼 제거능을 가진 싸리버섯 메탄올 추출물의 항산화적 방어계의 작용에 의해 억제된 것으로 생각된다.

요 약

싸리버섯 메탄올 추출물의 항산화 효능을 DPPH법에 의한 free radical 소거작용능 및 B(α)P로 간 독성이 유발된 마우스에서 항산화 효소, 글루타치온 및 과산화지질 함량 변화에

미치는 영향으로 살펴보았다. 먼저 싸리버섯 메탄올 추출물의 항산화능을 DPPH radical 소거 작용법으로 시험한 결과 싸리버섯 추출물은 강한 자유라디칼 소거 효과를 나타내었다. 또한 B(α)P투여로 인한 간 조직중의 SOD, catalase 그리고 GSH-Px의 활성화는 유의적으로 증가되었다가, 싸리버섯 메탄올 추출물의 전 처리로 이들 활성이 유의적으로 감소하였다. 반면, GST 활성화와 간 조직중의 글루타치온 함량은 B(α)P 단독군에서는 감소되었다가 싸리버섯 메탄올 추출물 투여시 유의적인 증가를 보였다. 그러나 지질과산화물 함량은 B(α)P 투여시 증가되었다가 싸리버섯 메탄올 추출물의 투여시 유의적으로 감소되었다. 이상의 결과로 싸리버섯 메탄올 추출물은 항산화계 효소의 활성화 증가로 인한 B(α)P에 의한 간 손상에 대한 보호효과를 가지는 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단 목적기초연구(R03-2002-000-00019-0(2002))지원으로 수행되었음에 감사드립니다.

문 헌

1. Block, G. and Langseth, L. Antioxidant vitamins and disease prevention. *Food Technol.* 48: 80-91 (1994)
2. Fukuzawa, K. and Takaishi, Y. Antioxidants. *J. Act. Oxy. Free Rad.* 1: 55-70 (1990)
3. Hatano, T. Constituents of natural medicines with scavenging effects on active oxygen species-Tannins and related polyphenols-. *Natural Med.* 49: 357-363 (1995)
4. Masaki, H., Sasaki, S., Atsumi, T. and Sakurai, H. Active oxygen scavenging activity of plants extracts. *Bull. Pharm.* 18: 162-166 (1995)
5. Lim, D.K., Choi, U. and Shin, D.H. Antioxidant activity of ethanol extract from Korean medicinal plants. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 28: 83-89 (1996)
6. Ahn, C.K., Lee, Y.C. and Yeom, C.A. Antioxidant and mixture effects of curry spices extracts obtained by solvent extraction. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32: 491-499 (2000)
7. Ko, M.S., Shin, K.M. and Lee, M.Y. Effects of *Hijikia fusiforme* ethanol extract on antioxidative enzymes in ethanol-induced hepatotoxicity of rat liver. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 31: 87-91 (2002)
8. Mori, K., Toyomasu, T., Nanba, H. and Kuroda, H. Antitumor activities of edible mushrooms by oral administration, pp. 1-6. In: *Scientific and Technical Aspects of Cultivating Edible Fungi.* Kyoto, Japan (1986)
9. Chihara, G., Hamuro, T., Maeda, Y. and Fukuoka, F. Fractionation and purification of the polysaccharide with marked antitumor activity, especially lentinan from *Lentinus edodes*. *Cancer Res.* 30: 2776-2781 (1970)
10. Hayashi, T., Kanetoshi, A., Ikura, M. and Shirahama, H. Bolegrevitolol a new lipid peroxidation inhibitor from the edible mushroom *Suillus grevillei*. *Chem. Pharm. Bull.* 37: 1427-1532 (1989)
11. Jung, I.C. and Lee, J.S. Antioxidative effect of mycelium-free culture broth extracts of *Pleurotus ostreatus*. *J. Korean Soc. Hyg. Sci.* 51: 19-24 (1999)
12. Kim, J.M. and Jung, Y.M. Immune regulatory and antitumor effect of *Ramaria botrytis* extract. *Korean J. Vet. Publ.* 19: 181-190 (1995)
13. Kim, H.J., Lee, I.S. and Lee, K.R. Antimutagenic and anticancer effects of *Ramaria botrytis* (Fr.) rick extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 28: 1321-1325 (1999)
14. Yoshikawa, M., Harada, E., Miki, A., Tsukamoto, K., Liang, S.,

- Yamahara, J. and Murakami, N. Antioxidant constituents from the fruit hulls of Mangosteen originating in Vietnam. *Yakugaku Zasshi* 114: 129-133 (1994)
15. Marklund, S. and Marklund, C.T. Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* 47: 469-474 (1974)
 16. Aebi, H. Catalase, Vol. 2, pp. 673-698. In: *Methods of Enzymatic Analysis*. Bergmeyer, H. U. (eds.). Academic Press, New York, USA (1974)
 17. Paglia, E.D. and Valentine, W.N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.* 70: 158-169 (1967)
 18. Häbig, W.H., Pabst, M.J. and Jakoby, W.B. Glutathione S-transferase: The first enzymatic step in mercapturic acid reaction. *Anal. Biochem.* 249: 7130-7139 (1974)
 19. Lowry, O.H., Rosebrough, N.H., Farr, A.L. and Randall, R.J. Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275 (1951)
 20. Ellman, G. L. Tissue sulfhydryl group. *Arch. Biochem. Biophys.* 82: 70-72 (1959)
 21. Ohkawa, H., Ohishi, N., and Yaki, K. Assay for lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95: 351-358 (1979)
 22. Cha, B.C., and Lee, S.B. Antioxidative and free radical scavenging effects of *Rhus Javanica* Linne. *Korean J. Med. Crop Sci.* 6: 181-187 (1998)
 23. McCord, J.M. and Fridovich, I. Superoxide dismutase: An enzymic function for erythrocyte protein (Hemocuprein). *J. Biol. Chem.* 244: 6049-6055 (1969)
 24. Forman, H.J. and Fridovich, I. Superoxide dismutase: A comparison of rate constants. *Arch. Biochem. Biophys.* 158: 396-401 (1973)
 25. Park, S.H., Kim, J.Y., Chang, J.S., Oh, E.J., Kim, O.M., Bae, J.T., Kim, H.J., Hae, D.J. and Lee, K.R. Protective effect of *Hericium erinaceus* extracts on hepatic injury induced by benzo(α)pyrene in mice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30: 928-932 (2001)
 26. Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. Roles of free radicals and catalytic metal ions in human disease, Vol. 186, pp. 1-12. In: *Methods in Enzymology*. Fleischer, S. and Packer, L. (eds.). Academic Press, New York, USA (1990)
 27. Leibovitz, B.E. and Siegel, B.V. Aspects of free radical reactions in biological systems: Aging. *J. Gerontol.* 35: 45-53 (1980)
 28. Ko, M.S., Shin, K.M. and Lee, M.Y. Effects of *Hijikia fushiforme* ethanol extract on antioxidative enzymes in ethanol-induced hepatotoxicity of rat liver. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 31: 87-91 (2002)
 29. Bompard, G.J., Prevot, D.S. and Basacands, J.L. Rapid automated analysis of glutathione reductase, peroxidase and S-transferase activity: Application to cisplatin induced toxicity. *Clin. Biochem.* 23: 501-504 (1990)
 30. Nair, S.C., Salome, M.J., Varghese, C.D., Panikkar, B. and Panikkar, K.R. Effect of saffron on thymocyte proliferation, intracellular glutathione levels and its antitumor activity. *Bio. Factor* 4: 51-55 (1992)
 31. Cohen, G.M. and Freedman, R.B. Roles and functions of glutathione. *Biochem. Soc. Trans.* 10: 78-85 (1982)
 32. Chei, H.S. Lipid peroxidation and its nutritional significance. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 23: 867-871 (1994)
 33. Chang, J.S., Kim, H.J., Bae, J.T., Park, S.H., Lee, S.E., Kim, O.M. and Lee, K.R. Inhibition effects of *Auricularia auricula-judae* methanol extract on lipid peroxidation and liver damage in benzo(α)pyrene-treated mice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 27: 712-717 (1998)

(2002년 12월 26일 접수; 2003년 3월 7일 채택)