감잎의 Phenolic Compounds가 에탄올을 투여한 흰쥐의 항산화계 및 기타 효소활성에 미치는 영향

정창주[1] · 윤준식[2] · 이명렬[1†]
[1]조선대학교 식품영양학과, [2]조선대학교 유전자과학과

Effects of Phenolic Compounds of Persimmon Leaves on Antioxidative System and Miscellaneous Enzyme Activities Related to Liver Function in Ethanol-Induced Hepatotoxicity of Rats

Chang-Ju Jeong[1], Jun-Sik Yoon[2] and Myung-Yul Lee[1†]
[1]*Dept. of Food and Nutrition, Chosun University, Kwangju 501-759, Korea*
[2]*Dept. of Genefic Science, Chosun University, Kwangju 501-759, Kerea*

Abstract

To investigate antioxidative effects of phenolic compounds separated from persimmon leaves(PL)(Diospyros kaki Thunb.) on the ethanol-induced hepatotoxicity in rat, Sprague-Dawley rats weighing 100-150 g were divided into 5 groups; control group(CON), PL(70 mg/kg) administered group(PE1), ethanol(5 mL/kg, 25%) administered group(ETH), PL(70 mg/kg) and ethanol administered group (PE2), and PL(140 mg/kg) and ethanol administered group(PE3), respectively. The antioxidative activity of persimmon leaves decreased in order of ethylacetate > interphase materials > n-butanol > chloroform > n-hexane > water fraction. The growth rate and feed efficiency ratio decreased by ethanol were gradually increased to the adjacent level of CON by administering PL. The serum activities of ALT, alkaline phosphatase and lactic acid dehydrogenase elevated by ethanol were decreased significantly. It was also observed that the activities of SOD, catalase, and GSH-Px of rat liver increased by ethanol were markedly decreased in PL administered group as compared to ETH. The GSH content of liver was decreased by ethanol, but that was increased in PE1 and PE2 compared with ETH as a dose-dependant manner. These results suggested that phenolic compounds separated from persimmon leaves have a possible protective and relievable effect on the ethanol-induced hepatotoxicity in rats.

Key words : protective effect, hepatotoxicity, TBA-reactants, antioxidative activity

서 론

감나무(*Diospyros kaki* Thunb.)는 감나무과에 속하는 낙엽활엽교목으로 우리나라 중부 이남에 널리 분포되어 잘 자라고 비교적 병충해의 피해가 적어 재배관리가 용이하다(1). 본초강목(2)에 의하면, 감은 성질이 차고 맛이 달며 독이 없을 뿐만 아니라 심폐(心肺)를 부드럽게 하고 갈증을 멎게 하며, 폐위(肺爲)와 심열을 낮게 하고, 위를 열고, 술의 열독(熱毒)을 풀며, 위사이의 열을 억제하고 구건(口乾)과 토혈(吐血)을 그치게 한다고 하였다. 우리나라와 중국, 일본 등 아시아 지역에서는 감잎을 차의 원료로 오래 전부터 많이 사용하여 왔다. 특히 생활수준이 향상됨에 따라 건강에 대한 관심이 고조되고 있는 요즈음 건강식품 특히 건강차에 대한 수요가 급증함에 따라 옛날부터 건강차로 알려져 음용하여 온 감잎차에 대한 관심과 수요도 점차 급증하고 있는 추세이다. 감잎의 효능은 본초강목 등의 여러 문헌에 나타나 있지만, 감과 감잎에 대한 국내외의 연구로는 감의 이용에 관한 연구(3-5), 일반성분분석(6), 감잎차의 제조방법(7), 감식초의 제조(8), 감연화중의 각종 효소의 변화(9) 등이 보고되었다. 최근들어 감잎차의 향기성분(10), 탄닌물질의 분포(11), 감잎차의 비타민 C의 함량(12), 조리방법에 따른 비타민 C의 변화(13), 감잎차 제조를 위한 감잎의 성장시기별 함유 성분의 변화(14), 감잎의 처리방법과 추출조건에 따른 감잎차의 비타민 C와 superoxide dismutase(SOD) 유사활성의 변화(15), polyphenol물질의 생리활성 및 특별한 생리적 기능을 갖는 생리활성 물질에 관한 연구(16) 등이 활발하게 이루어지고 있다. 감잎에 존재하는 탄닌은 감 과실에 존재하는 탄닌과 동일하게 대부분 축합형 탄닌인 leucoanthocyanidin이며(17), 이외에 gallocatechin과 catechin이 존재하며 감 과실에

†Corresponding author. E-mail : mylee@mail.chosun.ac.kr,
Phone : 82-62-230-7722, Fax : 82-62-225-7726

는 미량의 catechin이 함유되어 있는 것으로 보고(18)되고 있다. 차의 맛과 기능적 특성을 나타내는 성분으로 감잎에 함유되어 있는 물질로는 catechin, epicatechin, epicatechin gallate, epigallocatechin 및 epigallocatechin gallate 등이 보고(14) 되었으며, flavonoid류로는 isoquercitrin(quercetin 3-O-β-D-glucopyranoside), quercetin 3-O-β-D-glucopyranoside-2″-gallate, kaempferol 3-O-β-D-glucopyranoside-2″-gallate 및 astragalin(kaempferol 3-*O*-β-*D*-glucopyranoside) 등이 확인되었다(19). 또한 이들 flavonoid류는 angiotensin-converting enzyme활성에 저해작용(20) 을 갖고 있는 것으로 보고되고 있다. 감잎에 함유된 tannin은 악성종양에 대한 억제효과와 뱀 독소 및 여러 박테리아 독소를 해독하는 작용(21-22), 면역기능 부활작용(23), 활성산소 유리기 소거작용(24)등이 알려져 항암성이 기대되며, 또한 감잎의 n-hexane분획은 *Salmonella typhimurium* TA100을 이용한 실험에서 항변이원성을 갖는 것으로 확인되었으며(25) 또한 sister chromatid exchange(SCE)방법에 따른 항돌연변이 효과도 우수한 것으로 알려져 있다(26). 위와 같은 *in vitro*에서의 실험결과는 감잎에 함유된 성분이 *in vivo*에서도 간세포 독성에 유효한 효능을 나타낼 수 있을 것으로 예견되나 이에 대한 실험적 연구는 미진한 편이다. Alcohol대사는 섭취된 음식물, 호르몬, 약제 및 절식 등 많은 요인에 의하여 많은 영향을 받으나 대부분의 alcohol은 세포질 효소인 alcohol dehydrogenase(ADH), acetaldehyde dehyrogenase와 NAD^+가 관여하는 반응에 의하여 대부분 acetaldehyde와 acetate로 전환되고, acetate는 acetyl CoA로 전환되어 대부분 분해되며 극히 일부는 peroxisome에서 catalase에 의해 산화가 된다(27). 그러나 alcohol을 급성으로 혹은 과량을 단기간 동안에 음용하면 세포질내의 acetaldehyde dehyrogenase나 cytochrome p-450에 의해서, 만성 혹은 소량을 장기간동안 음용하게 되면 ½ ~ ⅔이상이 세포내망계의 *microsomal ethanol oxidizing system*(MEOS)에 의해 acetaldehyde 생성량이 증가되고 증가된 acetaldehyde는 xanthine oxidase 등의 효소에 의하여 분해되는데 이때 부산물로 O_2^-, ·OH, H_2O_2와 같은 oxygen radical이 정상적인 조건에서 보다 4~8배 이상 많이 생성된다. 이때 생성된 유리산소와 세포막에 다량 함유되어 있는 철, 구리 또는 망간 등의 금속이온이 세포막의 인지질에 함유되어 있는 불포화지방산과 결합되어 지질과산화물이 생성되거나 (28) 단백질이나 DNA손상을 유발하여 산화적 세포손상이 촉진된다. 이때 생성된 지질과산화물이나 유리기에 의한 산소독성이 증가하면 소포체의 증식, 동맥경화증, 퇴행성관절염, 당뇨병 등 여러 가지 대사성 질환이나 암의 발생 및 노화가 촉진되는 것으로 알려져 의학 및 생물학분야에서 관심의 대상이 되고 있다(29). 현재 이를 예방 및 치료하기 위한 방법에 대한 보고가 다양하여 아직도 확실한 방법이 정립되어 있지는 않으나 여러 문헌 등에는 alcohol섭취로 증가된 지질과산화물량은 항지방간 인자와 항산화제 등이 충분히 공급되면 감소될 것으로 보고되고 있다(30). 따라서 본 논문에서는 여러 문헌 등을 통하여 *in vitro*에서 항산화작용을 나타내는 물질을 함유한 감잎이 *in vivo*에서 에탄올에 의한 간의 산화적 세포손상을 방지할 수 있을 것으로 추정되어 6주간 투여 후 체중증가율 및 식이효율, 혈청중의 alanine aminotransferase(ALT), alkaline phosphatase(ALP) 및 lactic acid dehydrogenase(LDH)활성과 간손상 억제효과를 확인하기 위하여 유리기 생성계효소인 xanthine oxidase(XO)활성, 해독계효소인 superoxide dismutase(SOD), , catalase, glutathione peroxidase(GSH-Px)의 활성과 지질과산화물인 thiobarbituric acid reactive substance(TBARS) 및 glutathione(GSH)함량을 측정하여 상호간에 비교·검토하였다.

재료 및 방법

실험재료

감잎은 2002년 6월 초순(vitamin C와 tannin의 함량이 가장 많은 시기)에 감나무(*Diospyros kaki* Thunb.)에서 채취하여 표면에 부착될 수 있는 불순물을 제거한 후 시료로 사용하였다. 시료 100 g과 에탄올(80 : 20, v/v) 적당량을 혼합하여 blender(Braun, MR350 CA)로 조분쇄하고 65℃에서 환류냉각기를 부착하여 12시간 씩 2회 추출한 후 millipore filter(type FH 0.5 μM)로 여과하였다. 여액을 농축하여 n-hexane, chloroform, EtOAC 및 n-BuOH로 계통분획·분리하였다. 각 분획을 45℃에서 진공농축하여 용매를 제거하고 건조한 후 각분획의 DPPH radical에 대한 항산화력을 측정하였다.

각 분획의 항산화력 측정

각 분획의 항산화력 측정은 (31-32) DPPH(1, 1,-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) 16 mg을 에탄올 100 mL에 녹이고 적당량의 에탄올로 희석하여 DPPH용액으로 하였다. 이 때 가한 에탄올의 양은 일정량의 DPPH 용액과 동량의 에탄올을 가하여 20초간 진탕한 후 517 nm에서 흡광도가 0.93 - 0.97이 되도록 하였으며, DPPH 용액 2 mL와 각각의 감잎 분획 2 mL를 시험관에 넣어 vortex mixer로 5초간 강하게 진탕한 후, 반응시간에 따른 감잎 분획의 환원성을 517 nm에서 흡광도의 감소치를 측정하였다. 대조물질로는 L-ascorbic acid 및 BHT를 사용하여 활성을 상호비교하였다.

감잎의 phenolic compounds분리

감잎을 70% acetone으로 2회 추출한 후 농축하고 n-hexane으로 세척하여 엽록소와 지질을 제거한 농축액을 각 분획의 항산화력 측정에서 항산화력이 가장 우수한 것으로 확인된 EtOAC로 용매분획하여 EtOAC분획을 얻었다. 분획을 45℃ 수욕상에서 진공농축하여 용매를 제거한 후 감압농축하고

건조하여 시료로 사용하였다.

실험동물 및 처치

체중 100~150 g의 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐를 1 주일간 고형배합사료(삼양사료)로 적응시킨 후, 난괴법(randomized complete block design)으로 1군당 6마리씩 선별하여 정상군(CON), 감잎 phenolic compounds를 체중 kg당 70 mg/kg씩 투여한 군(PE1), 에탄올만을 투여한 군(ETH), 에탄올과 감잎 phenolic compounds를 체중 kg당 70 mg/kg씩 병합투여한 군(PE2) 및 에탄올과 감잎 phenolic compounds를 체중 kg당 140 mg/kg씩 병합투여한 군(PE3)의 5군으로 분류하여 6주간 상자(cage)에 1마리씩 사육하였다(Table 1). 에탄올투여는 Fujii 등(33)의 방법에 따라 35% 에탄올을 10 mL/kg, b. w./day의 수준으로, 감잎 phenolic compounds는 예비실험을 토대로 체중 kg 당 70 mg 및 140 mg씩 함유되도록 생리식염수에 용해시키고 0.5% CMC로 현탁시켜 멸균 후 6주간 경구투여하였다. 실험기간 중 동물의 상태를 관찰하면서 체중은 1주일 간격으로, 식이섭취량은 2일 간격으로 측정하였으며, 사육기간의 체중증가량을 동일기간의 식이섭취량으로 나누어 각 실험군의 식이효율(feed efficiency ratio, FER)을 계산하였다. 실험동물은 처치 전 16시간동안 절식시킨 후 diethyl ether 마취하에 경동맥으로부터 혈액을 채취하였으며, 간은 적출하여 0.9 % 생리식염수로 남아 있는 혈액 및 기타 물질을 제거하고 무게를 측정한 후 -70℃의 deep freezer에 보관하면서 효소활성 측정에 사용하였다. 실험기간동안 고형사료 및 물은 자유로히 섭취토록 하였다.

Table 1. Composition of experimental diet

Group	Diet Composition
CON[2]	basal diet[1]
PE1	basal diet + PPL[3]
ETH	basal diet - + ETH[3]
PE2	basal diet + PPL[4] + ETH
PE3	basal diet + PPH[5] + ETH

[1] According to AIN-76 diet composition.
[2] CON : control.
[3] ETH: ethanol 25% (5 mL/kg, body weight/day, per oral).
[4] PPL : phenolic compounds of persimmon leaves(70 mg/kg, body weight/day, per oral).
[5] PPH : phenolic compounds of persimmon leaves(140 mg/kg, body weight/day, per oral).

효소원조제

간 조직 1 g당 4배량의 0.25 M sucrose buffer(pH 7.5)를 가하여 빙냉하에서 ultra turax homogenizer(10,000 × g, 2분)로 마쇄하였다. 이 마쇄액의 일부는 TBARS량 측정에 사용하고 나머지는 4℃, 600 × g 에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄 부분을 제거한 후 상징액을 15,000 × g에서 20분간 원심분리하여 mitochondria분획을 얻었다. Mitochondria분획을 제거한 상징액을 105,000 × g에서 1시간 동안 초원심분리하여 cytosol분획을 분리하였다. Mitochondria분획은 catalase활성측정에, cytosol분획은 SOD, XO 및 GSH-Px 활성측정에 사용하였다. 한편 ALT, ALP 및 LDH활성은 경동맥을 절개하여 혈액을 채취하고 실온에 20분간 방치한 다음 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 분리한 후 혈액 자동분석장치(Johnson & Johnson, 사)로 측정하였다.

효소활성 측정

간조직 중 XO활성은 Downey 등(34)의 방법, SOD활성은 Crapo 등(35)의 방법, catalase활성은 Aebi(36)의 방법, GSH-Px 활성은 Flohe 등(37)의 방법으로 측정하였다. 과산화지질 함량은 malondialdehyde량을 thiobarbituric acid로 비색정량하는 Buege 와 Aust의 방법(38), GSH함량은 Tietze(39)의 방법으로 측정하였다.

단백질 정량 및 실험결과의 통계처리

단백질의 정량은 Lowry 등(40)의 방법에 준하여 bovine serum albumin(Sigma)을 표준품으로 하여 측정하였으며, 실험결과는 SPSS Package를 이용하여 실험군당 평균 ± 표준오차로 표시하였으며 통계적 유의성 검정은 Students' t-test를 이용하여 $p<0.05$수준에서 상호 검정하였다.

결과 및 고찰

각 분획의 항산화력 측정

감잎에서 얻은 각 분획의 DPPH radical에 대한 항산화력 측정결과는 Table 2와 같다. 항산화력은 EtOAC분획에서 가장 높게 나타났으며, 특히 EtOAC분획은 대조군으로 사용된 L-ascorbic acid 및 BHT의 항산화력과 환산 비교하면, 각각 217 μg 및 346 μg에 해당하는 항산화작용을 나타냈다. DPPH법에 의한 항산화력은 각 분획을 DPPH radical과 혼합하였을 때 각 분획의 수소공여능(hydrogen donating ability)으로 인하여 나타나는 DPPH의 색깔이 탈색되는 정도를 측정하여 DPPH에 대한 환원성의 효과를 알 수 있다(29). 식물에는 항산화작용을 나타내는 성분들이 많지만, 이중 tannin성분은 활성산소 radical에 대한 높은 scavenger capacity(52)와 강한 항산화작용을 가지고 있는 것으로 보고되었으며(41,42), 이 작용은 주로 감잎에 함유된 catechin과 그 유도체들의 혼합물인 condensed tannin 및 그 외 다양한 flavonoid 성분에 의한 것으로 알려지고 있다. 본 실험에서 EtOAC분획이 가장 우수한 항산화작용을 나타낸 것은 위와 같은 성분들이 EtOAC분획으로 다량 이행되어 나타난 것으로 생각된다.

Table 2. Scavenging effects of several fractions of persimmon leaves on DPPH radical

Compounds[1)]	50% Reduction(μg)[2)]
Control	0
n-Hexane fraction	480.00<
Chloroform fraction	480.00<
Interphase materials	198.74
EtOAC fraction	63.03
n-BuOH fraction	480.00<
Water fraction	480.00<
L-Ascorbic acid	13.78
BHT	21.82

[1)] The concentrations of several fractions from persimmon leaves, L-ascorbic acid and BHT were 1.0 mg/mL and 0.1 mg/mL, respectively.
[2)] Amount required for 50% of DPPH after 30 min.

흰쥐의 체중증가율과 식이효율

6주간의 체중증가율(Table 3)에서, PE1은 CON과 유사한 증가율을 보였으나 ETH는 CON의 약 65%에 해당하는 증가를 나타냈다. 이는 알코올투여로 CON과 PE1에 비하여 약 35%정도 성장이 둔화된 것으로 보여지며, PE2과 PE3의 증가율은 1주 및 2주에서는 ETH와 유사하였으나 6주에서 PE3는 ETH보다 27%이상의 증가를 나타내어 정상군의 증가율에 근접하였다. 식이 효율에서, ETH는 CON에 비하여 약 48%이상 감소되었으나 타군들은 정상군과 유사한 식이섭취율을 나타냈다. 이 결과는 Lieber(43)가 일정량의 에탄올을 만성적으로 섭취하면 체중증가율과 식이섭취량이 감소된다는 보고와 일치하였으며, 특히 본 실험결과에서 나타난 체중감소현상은 Lieber 등(44)의 보고처럼 식이섭취량의 감소뿐만 아니라 에탄올 독성에 의한 소화율의 감소와 영양소 흡수율의 저하 및 에탄올을 과량 섭취할 때 나타날 수 있는 에너지효율의 감소 때문인 것으로 생각된다. 본 실험에서 감잎 phenolic compounds가 에탄올투여로 감소된 흰쥐의 체중증가율 및 식이효율을 정상치에 근접하도록 증가시켰음은 감잎 phenolic compounds가 에탄올에 의한 간세포독성을 해독 및 완화시킨 것으로 여겨진다.

혈청 중 ALT, ALP 및 LDH 활성

ALT, ALP 및 LDH활성에서(Table 4), PE1은 정상군에 비하여 별다른 변화를 나타내지 않았으나 ALT의 경우 정상군보다 오히려 낮았으며 ETH는 각 효소의 활성이 정상군에 비하여 유의성있게 증가되었다. 한편 PE2와 PE3는 에탄올투여로 증가된 혈청 중 APT, ALP및 LDH활성이 에탄올만을 투여한 ETH에 비하여 많은 감소를 보였다. 간세포에는 각종 효소가 다량 존재하나 혈청에는 비교적 적은데 만일 간세포막이 손상되어 간세포내 효소가 혈청내로 유출되면 혈청내 효소활성이 증가하게 된다. 간세포손상으로 간에서 혈청으로 유출되어 활성이 증가되는 효소에는 transaminase와 dehydrogenase가 있으며 간세포손상으로 효소의 생합성이 증가되어 혈청내 활성이 증가되는 효소로는 ALP, 5'-nucleotidase 및 leucine aminopeptidase 등이 있다(45). PE2와 PE3에서 감잎 phenolic compounds를 6주간 흰쥐에 투여했을 때, 간 조직 손상의 지표로 알려진 ALT, ALP 및 LDH 활성이 정상군과 차이를 나타내지 않았는데 이는 감잎 phenolic compounds가 본 실험에서 사용된 양과 기간 내에서는 간 조직에 별다른 손상을 일으키지 않는 것으로 추정되며, 한편 감잎 phenolic compounds가 에탄올투여로 증가된 혈청 중 ALT, ALP 및 LDH활성을 에탄올만을 투여한 군에 비하여 유의성있게 감소시켰음은 에탄올에 의하여 유발된 간세포손상이 감잎 phenolic compounds투여로 완화된 것으로 여겨된다.

Table 3. The growth rate and feed efficiency ratio (FER) in ethanol and/or phenolic compounds of persimmon leaves administered ratsout

weeks / Groups	Growth rate[2)] 0	1	2	4	6	FER[3)]
CON[4)]	0	1.21±0.03	1.49±0.06	1.83±0.12	2.14±0.13	0.54±0.05
PE1	0	1.24±0.02	1.52±0.05	1.80±0.08	2.06±0.15	0.52±0.07
ETH	0	1.04±0.03[4)]^{**a}	1.23±0.07^{*a}	1.33±0.13	1.39±0.11^{*a}	0.28±0.06^{*a}
PE2	0	1.15±0.03	1.39±0.13	1.67±0.05^{*b}	1.81±0.07^{*b}	0.44±0.08
PE3	0	1.28±0.08	1.54±0.09^{*b}	1.72±0.10^{*b}	1.93±0.10^{*b}	0.52±0.07

[1)] See the legend of Table 1.
[2)] Growth rate (W_1/W_0) : Ratio of the body weight (W_1) to initial body weight (W_0).
[3)] FER : The total amount of weight increased / the total intake of food.
[4)] ^{*a} $p<0.05$ and ^{**a} $p<0.01$ vs control group(CON), and ^{*b} $p<0.05$ vs ethanol administered group(ETH), respectively.

Table 4. The activities of alanine aminotransaminase(ALT), alkaline phosphatase(ALP) and lactic acid dehydrogenase (LDH) in serum of ethanol and / or phenolic compounds of persimmon leaves administered rats

Enzyme activities	6 weeks CON[1)]	PE1	ETH	PE2	PE3
ALT (U/L)	63.20±5.89[2)]	53.00±8.11	154.00±24.00[3)]^{**a}	82.00±8.20^{*b}	57.80±6.57^{**b}
ALP (U/L)	138.20±19.54	144.00±11.67	293.50±26.50^{**a}	157.33±17.35^{*b}	187.00±8.23^{**b}
LDH (U/L)	1398.60±138.08	1471.60±144.08	2467.00±123.00^{**a}	1619.00±194.50^{*b}	1528.50±133.06^{*b}

[1)] See the legend of Table 1.
[2)] Values are mean ± S.E. of 6 rats per each group.
[3)] ^{*a} $p<0.05$ and ^{**a} $p<0.01$ vs control group (CON), and ^{*b} $p<0.05$ and ^{**b} $p<0.01$ vs ethanol treated group (ETH), respectively.

간조직 중 항산화효소활성

유리기 생성계에는 XO, cytochrome p-450 등이 있고 해독계로는 SOD, catalase 및 GSH-Px와 같은 항산화 효소와 GSH, ascorbic acid, sulfhydryl groups, uric acid, vitamin A, vitamin E 및 bilirubin 등과 같은 비효소계물질 등이 있다(46-49). 감잎 phenolic compounds를 6주간 투여 후 흰쥐에서 유리기 생성계 효소인 XO활성을 측정한 결과는 Table 5와 같다. 에탄올만을 투여한 ETH의 효소활성은 CON에 비하여 많은 증가를 나타냈으나 본 실험기간내에서는 유의성있는 변화는 아니었으며 감잎 phenolic compounds를 투여하여 에탄올투여로 증가된 효소활성이 ETH에 비하여 감소는 되었으나 유의한 변화는 아니었다. 본 실험에서 에탄올투여로 XO활성이 CON에 비하여 증가를 나타냈는데 이는 xenobiotics투여시 급성 간 손상이 유발되어 간세포가 괴사되고 핵분해가 초래되며(50) 또한 간이 손상될 때 ATP가 감소되어 일련의 purine체 분해대사가 촉진되고 purine체의 최종 분해과정에 관여하여 XO활성을 증가시키므로써 O_2^-생성이 증가되고 이로 인하여 세포의 산화적 손상이 증가되어 나타난 결과로 보고되고 있다(51,52). 본 실험에서 감잎 phenolic compounds 병합투여군이 에탄올만을 투여한 군에 비하여 낮은 효소활성을 나타냈는데 이는 감잎 phenolic compounds가 에탄올투여로 증가된 oxygen free radicals의 생성을 억제한 것으로 생각되어진다. 유리기 해독계 효소인 SOD활성에서(Table 5), 에탄올만을 투여한 ETH는 CON에 비하여 높은 증가를 나타냈으나 감잎 phenolic compounds투여군인 PE2와 PE3은 공히 정상치에 유사하게 감소되었다. SOD는 superoxide anion(O_2^-)을 보다 반응성이 약한 과산화수소(H_2O_2)로 전환시키는 O_2^- 소거효소이다(53,54). 본 실험에서 ETH의 효소활성이 CON에 비하여 크게 증가된 것은 에탄올투여로 생성된 활성산소(O_2^-)를 소거하려는 자연적인 생리적응현상으로 보여지며 감잎 phenolic compounds투여로 에탄올에 의해 증가된 활성이 통계적으로 유의하게 감소되었는데 이는 감잎 phenolic compounds투여로 활성산소 생성작용이 억제되어 나타난 결과로 생각된다. Catalase활성도 SOD 활성의 경우와 유사한 경향을 나타냈고 특이한 점은 감잎 phenolic compounds만을 투여한 PE1의 활성이 CON보다 오히려 낮았으며 감잎 phenolic compounds을 투여하여 에탄올투여로 증가된 효소활성이 CON의 활성과 유사하게 감소되었다. Catalase는 간 세포내 peroxisomes에 주로 분포되어 있으며 체내에서 지방의 자동산화 및 유기물의 산화로 생긴 H_2O_2를 분해하여 무독화시키는 free radical scavenging 효소 중 하나로 GSH-Px에 비해 Km값이 높기 때문에 H_2O_2의 농도가 높을 때 주로 작용한다(55). 본 실험에서 에탄올투여로 catalase활성이 증가된 것은 H_2O_2와 같은 free radicals생성이 증가되어 나타난 것으로 여겨지고 감잎 phenolic compounds 투여로 효소활성이 감소되었음은 에탄올투여로 손상된 간세포가 차츰 회복되어 가고 있는 것으로 생각된다. GSH-Px활성에서, 에탄올투여로 CON에 비하여 높은 증가를 나타냈으나 감잎 phenolic compounds투여로 CON이나 PE1보다는 높지만 ETH보다는 유의한 감소효과를 나타냈다. GSH-Px는 세포질과 사립체내에 존재하므로 사립체내에서 생성된 H_2O_2의 소거에 일차적으로 작용하고 Km 값이 낮으므로 H_2O_2의 농도가 낮을 때에도 작용한다(55). 또한 selenium(Se)을 함유하는 항산화계 효소로 체내에서 $NADP^+$를 전자수용체로 작용하여 glutathione(GSH)를 산화형 glutathione(GSSG)과 물 그리고 기타 과산화물생성반응을 촉매 함으로써(56) 조직의 과산화적 손상을 방지하고 산소독을 해독하는 효소(57)로 생체내 분포부위가 다르며 철분, 비타민 E 및 필수지방산이 결핍하게 되면 그 활성이 감소되고 산화적 스트레스에 의해 상승되는 것으로 알려져 있다. 이때 생성된 GSSG는 NADPH를 전자공여체로 glutathione reductase에 의해 GSH로 환원되며 NADPH는 주로 hexose monophosphate pathway(HMP)에 의해서 공급되어진다(58). 본 실험에서 ETH의 GSH-Px활성이 CON에 비하여 유의하게 증가된 것은 에탄올의 간세포 독성작용으로 H_2O_2생성이 증가되어 효소활성이 상승된 것으로 생각되며 6주동안 감잎 phenolic compounds를 투여하여 ETH에 비하여 통계적으로 유의한 감소를 나타낸 것은 감잎 phenolic compounds가 에탄올투여로 생성된 free radicals을 시간이 경과함에 따라 차츰 감소시켰기 때문으로 여겨진다.

Table 5. The activities of SOD, catalase, XO and GSH-Px in liver of ethanol and/ or phenolic compounds of persimmon leaves administered rats

Enzyme activity	6 weeks				
	CON[1)]	PER	EtOH	PERL	PERH
SOD[2)]	55.87±4.54	51.67±2.68	111.17±14.46*a	55.58±10.27*b	52.01±3.43*b
Catalase[3)]	1582.00±131.96	1225.00±115.07	2135.75±129.07*a	1583.50±154.34*b	1520.75±201.99*b
X O[4)]	26.98±2.68	35.50±3.60	45.97±3.56	46.20±2.21	31.30±1.95
GSH-Px[5)]	166.58±8.88	162.00±18.84	225.57±12.10*a	198.43±12.93ab	188.82±15.03*b

[1)] See the legend of Table 1. [2)] μmol / min / mg protein.
[3)] decreased H_2O_2 μmol / min / mg protein.
[4)] mU / g protein.
[5)] decreased NADPH μmol / min / mg protein, Values are mean ± S.E. of 6 rats per each group.
[6)] *a $p<0.05$ vs control group (CON), and *b $p<0.05$ vs ethanol treated group (ETH), respectively.

간조직중 과산화지질함량

흰쥐에 감잎 phenolic compounds를 6주간 투여 후 측정한 간조직중 생성된 과산화지질함량은 Table 6과 같다. 에탄올투여로 과산화지질함량이 CON에 비하여 많이 증가되어 유의한 변화를 나타냈으나 감잎phenolic compounds는 에탄올투여로 증가된 함량을 ETH에 비하여 ⅓~ ½정도 용량의존적으로 감소시켰으며 PE1의 경우 그 함량이 CON보다 오히려

낮았다. 지질과산화반응은 여러 가지 독성화합물이나 약물에 의한 손상된 간 독성 발생의 가장 중요한 기전이며 이러한 기전은 세포내 산화적 스트레스의 증가, 즉 free radicasl 생성 증가 및 항산화적 방어력의 감소로 인하여 야기되는 것으로 보고되고 있다(59). 본 실험에서는 급성 혹은 만성적인 에탄올투여가 간조직중 지질과산화물함량을 증가시킨다는 보고(60)와 같이 에탄올만을 투여한 ETH가 CON에 비하여 높은 간 TBA반응성물질량의 증가를 나타냈는데 이는 에탄올의 분해산물인 acetaldehyde가 cytosolic xanthine oxidase와 작용하여 부산물로 생성된 O_2^-의 증가로 세포막의 불포화지질과 결합하여 생성된 결과로 여겨지며, 감잎phenolic compounds가 에탄올에 의해 증가된 간TBA반응성물질량을 CON과 유사하게 감소시켰는데 이는 감잎phenolic compounds가 에탄올투여로 간에서 생성된 지질과산화물함량의 증가를 억제하여 나타난 결과로 생각된다.

Table 6. The contents of TBARS in liver of ethanol and / or phenolic compounds of persimmon leaves administered rats

Content \ Group	6 weeks				
	CON[1)]	PE2	ETH	PE2	PE3
TBARS (μm/g liver)	9.30±0.69[2)]	7.97±0.34	19.81±1.01[3)*a]	12.51±3.08	8.75±0.32[**b]

[1)] See the legened of Table 1
[2)] Values are mean ± S.E. of 6 rats per each group
[3)] [*a] $p<0.05$ vs control groups(CON), and [*b] $p<0.05$ and [**b] $p<0.01$ vs ethanol administered group (ETH), respectively.

간조직중 GSH함량

흰쥐에 감잎EtOAC분획을 6주간 투여 후 측정한 간조직중 GSH함량은 Table7과 같다. 에탄올투여로 CON에 비하여 GSH함량이 많이 감소되었으나 감잎phenolic compounds투여(PE2 및 PE3)로 ETH에 비하여 유의적으로 증가되었는데 PE3의 경우 CON보다 11%이상 상승되었다. 간에서 GSH는 외부의 산화적 손상에 대한 세포의 방어작용을 나타내는 효소인 glutathione-S-transferase(GST)와 GSH-Px의 기질로 작용하여 세포내 지질과산화물과 이물질 제거, 아미노산 수송 및 thiol기의 저장고로서, 또한 여러 가지 해독반응, 단백질이나 DNA합성 등 생체내에서 생물학적으로 중요한 반응에 직접 관여한다(61). 에탄올투여에 의한 간조직중 GSH함량의 감소기전에 대해서는 아직도 많은 논란이 있으나 문헌상에 나타난 연구 결과들을 보면 에탄올 대사산물인 acetaldehyde가 GSH와 직접 작용하여 함량이 감소된다든지(60), 에탄올투여로 생성된 과산화지질이 GSH와 반응하여 산화됨으로서 GSH함량이 감소된다든지(61), GSH합성전구체인 cysteine이나 lysine이 에탄올 대사산물인 acetaldehyde와 반응함으로서 간접적으로 GSH함량이 감소된다(62)는 보고 등이 있다. 또한 에탄올이 각종 호르몬 분비를 촉진시켜 조직내 GSH함량이 감소되고 이차적으로 free radicals에 의한 지질과산화반응이 촉진된다든지(63), 이와는 반대로 조직내 GSH함량의 감소로 지질과산화반응이 일어난 후에 이차적으로 GSH함량의 고갈이 촉진된다는 보고(64)도 있다. 본 실험에서 에탄올투여로 간 중 GSH함량이 CON에 비하여 낮게 나타났는데 이를 Table5에 나타난 결과와 관련지어 볼 때 GSH를 기질로 하여 H_2O_2를 제거하는 GSH-Px의 활성이 증가되어 GSH가 소모된 것으로 추정되며, 또한 PE2과 PE2의 GSH함량이 ETH보다 높게 나타난 것은 감잎phenolic compounds가 에탄올에 의해 생성된 H_2O_2 등의 free radical를 소거하여 GSH-Px를 소모시킴으로서 그 함량이 감소되어 나타난 현상으로 여겨진다. 이 결과를 Table 6에 나타난 감잎phenolic compounds 투여군의 TBARS함량이 ETH보다 감소된 것과 연관지어 볼 때 GSH함량과 지질과산화물함량사이에는 역상관 관계가 있음을 알 수 있다.

Table 7. The contents of GSH in liver of ethanol and/or phenolic compounds of persimmon leaves administered rats

Content \ Group	4 weeks				
	CON[1)]	PE1	ETH	PE2	PE3
GSH (mg/g liver)	46.45±2.67[2)]	43.96±1.78	33.45±2.38[3)*a]	49.82±3.21[*b]	51.50±2.84[**b]

[1)] See the legend of Table 1
[2)] Value are mean ± S.E. of 6 rats per each group
[3)] [*a] $p<0.05$ vs control groups (CON), and [*b] $p<0.05$ and [**b] $p<0.01$ vs ethanol administered group(ETH), respectively.

요 약

감잎 phenolic compounds가 흰쥐에서 에탄올투여로 생성된 oxygen free radical대사와 각종 효소활성에 미치는 영향을 검토하기 위하여 실험동물을 정상군, 감잎 phenolic compounds 투여군(70 mg/kg), 에탄올 단독투여군, 에탄올과 감잎 phenolic compounds 소량 병합투여군(70 mg/kg), 에탄올과 감잎 phenolic compounds 대량 병합투여군(140 mg/kg)의 5군으로 나누어 6주간 사육하여 체중증가율, 식이효율 및 혈청중 ALT, ALP 및 LDH활성 측정과 간손상 억제효과를 검토하기 위하여 간조직중 유리기 생성계 효소인 XO활성, 유리기 해독계 효소인 SOD, calaase 및 GSH-Px활성과 지질과산화물인 TBARS 및 GSH함량을 측정한 결과는 다음과 같다. 각 분획의 항산화력은 EtOAC, n-BuOH, chloroform, n-hexane, water 분획순으로 EtOAC분획의 항산화력이 가장 우수하였다. 에탄올만을 투여한 군은 정상군에 비하여 체중증가율과 식이효율이 유의적으로 감소되었고 감잎 phenolic compounds를 병합투여한 군은 체중증가율과 식이효율이 정상군에 근접하게 상승되었다. 간 손상의 지표로 알려진 ALT, ALP 및

LDH활성은 에탄올투여로 정상군에 비하여 유의하게 증가되었으나 감잎 phenolic compounds를 투여하여 ETH에 비하여 많은 감소를 보였다. 간조직중 유리기 생성계 효소인 XO활성은 에탄올투여로 정상군에 비하여 큰 폭의 증가를 보였으나 본 실험기간내에서는 유의성있는 변화는 아니었으며 감잎 phenolic compounds를 투여하여 에탄올투여로 증가된 효소활성이 ETH에 비하여 감소는 되었으나 유의한 변화는 아니었다. 유리기 해독계 효소인 SOD, catalase 및 GSH-Px활성은 에탄올투여로 정상군에 비하여 크게 증가되었으나 감잎 phenolic compounds투여로 ETH에 비하여 뚜렷한 저하효과를 나타냈다. TBA반응성생산물량에서 에탄올투여로 과산화지질함량이 CON에 비하여 많이 증가되어 유의한 변화를 나타냈으나 감잎phenolic compounds는 에탄올투여로 증가된 함량을 ETH에 비하여 ⅓~ ½정도 용량의존적으로 감소시켰으며 PE1의 경우 그 함량이 CON보다 오히려 낮았다. 또한 에탄올투여로 감소된 간조직중 GSH함량은 감잎 phenolic compounds투여로 정상군보다 증가되었다. 이상의 실험결과에서 감잎 phenolic compounds가 에탄올투여로 증가된 유리기 해독계 효소인 GSH-Px활성을 큰 폭으로 감소시키고 에탄올투여로 감소된 비효소적 항산화작용을 나타내는 GSH함량을 다량 증가시킴으로서 지질과산화물에 대한 방어력이 증강되어 나타난 결과로 여겨지며, 또한 혈청중의 ALT, ALP 및 LDH활성을 유의성있게 감소시키므로서 감잎 phenolic compounds가 에탄올에 의한 간세포 손상에 대한 해독 및 보호작용이 있는 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 목포대학교 식품산업기술연구센터 연구비 지원에 의해 이루어진 연구결과의 일부이며, 이에 감사를 드립니다.

참고문헌

1. Lee, T.B. (1982) Illustrated Flora of Korea. Hayngmunsa, Seoul., 612
2. Lee, S.J. (1983) Illustrated Botanical List, Komunsa, Seoul, p.1016
3. Sohn, T.H. Choi, J.U. Cho, R.K. and Seong, H.M. (1978) Studies on the Utilization of Persimmons (Part 5). Investigation of the Optimum Thickness of Film Bag for Polyethylene Film Storage of Astringent Variety. Korean J. Food Sci. Technol., 10, 73-77
4. Park, W.K. and Yoo, Y.H. (1976) Effect of gas concentration during the storage of persimmon. J. Korean Soc. Food Nutr., 5, 11-17
5. Park, W.K. Yoo, Y.H. and Hyun, J.S. (1975) Study on the manufacture jam with korean persimmon. J. Korean Soc. Food Nutr., 4, 25-29
6. 김진구 · 김광수 (1982) 감엽성분에 관한 연구. 상주농업전문대학 논문집, 21, 95-97
7. 차원섭 · 김광수 (1984) 시엽차 제조방법이 제품의 품질에 미치는 영향. 상주농업전문대학 논문집, 23, 109-111
8. Hong, J.H. Lee, G.M. and Hur. S.H. (1996) Production of vinegar using deteriorated deastringent persimmons during low temperature storage. J. Korean Soc. Food Nutr., 25, 123-128
9. Shin, S.R. Moon, K.D. Lee, K.H. and Kim, K.S. (1991) Change in the enzyme activities pectines and structure of persimmon fruit during softening., J. Korean Soc. Food Nutr., 22, 611-616
10. Choi, C.H. (1990) The Aroma Components of Duchung Tea and Persimmon Leaf Tea. Korean J. Food Sci. Technol., 22, 405-411
11. 성종환 (1986) 감시의 자연탈삽현상 및 탄닌물질의 분포. 박사학위논문, 경북대학교
12. Joung, S.Y. Lee, S.J. Sung, N.J. Jo, J.S. and Kang, S.K. (1995) The chemical composition of persimmon (Diospyros kaki, Thumb) leaf tea. J. Korean Soc. Food Nutr., 24, 720-726
13. Park, J.O. and Kim, H.J. (1976) Studies on Ascorbic Acid contents in Persimmon leaves tea by different cooking methods. Journal of the Korean Home Economics Association, 17, 31-61
14. Chung, S.H. Moon, K.D. Kim, J.K. and Seong, J.H. (1994) Change of chemical components in persimmon leaves during growth for processing persimmon leaves tea. Korean J. Food Sci. Technol., 26, 141-146
15. Park, Y.J. Kang, M.H. Kim, J.I. Park, O.J. Lee, M.S. and Jang, H. (1995) Changes of viamin C and superoxide dismutase(SOD)-like activity of persimmon leaf tea by processing method and extraction condition. Korean J. Food Sci. Technol., 27, 281-285
16. Choi, U. Shin, D.H. Chang, Y.S. and Shin, J.I. (1992) Screening of Natural Antioxidant from Plant and Their Antioxidative Effect. Korean J. Food Sci. Technol., 24, 142-148
17. Bate-Smith, E.C. (1975) Phytochemistry of proanthocyannidins. Phytochemistry, 14, 1107-1118
18. Joslyn, M.A. (1970) Methods in food analysis. Academic

Press, New York, p.701
19. Choi, S.W. Kang, W.W. Chung, S.K. and Cheon, S.H. (1996) Antioxidative activity of flavonoids in persimmon leave. Foods and Biotechnology, 5, 119-127
20. Kameda, K. Takaku, T. Okuda, H. and Kimura, Y. (1987) Inhibitory effects of various flavonoids isolated from leaves of persimmon on angiotensin-coverting enzyme activity. J. Natl. Products, 50, 680-692
21. Kim, B.G. Rhew, Y.H. Choe, E.S. Chung, H.Y. Park, K.Y. and Rhee, S.H. (1993) Effect of selected persimmon leaf components aganist Sarcoma 180 induced tumor in mice. J. Korean Soc. Food Nutr., 22, 307-315
22. Okonogi, T. Hattori, Z. Ogiso, A. and Mitsui, S. (1970) Detoxification by persimmon tannin of snake venoms and bacterial toxins. Toxico., 17, 524-535
23. Glatthaar, B.E. Homig, D.H. and Fladmoe, A.V. (1979) Inhibition of chemical carcinogen induced neoplasia by coumarins and α-angelicalactone. Cancer Res., 37, 1051-1063
24. Uchida, S. Edamatsu, R. Hiramatsu, M. Mori, A. Nonaka, G. Nishioka, I. Niwa, M. and Ozaki, M. (1987) Condensed tannins scavenge active oxygen free radicals. Med. Sci. Res., 15, 831-841
25. Moon, S.H. Kim, J.O. Rhee, S.H. Park, K.Y. Kim, K.H. and Rhew, T.H. (1993) Antimutagenic effects and compounds identified from hexane fraction of persimmon leaves. J. Korean Soc. Food Nutr., 22, 307-318
26. Song, H.S. Lee, H.K. Jang, H.D. Kim, J.I. Park, O.J. Lee, M.S. and Kang, M.H. (1996) Antimutagenic effects of persimmion leaf tea extracts in Sister Chromated Exchange(SCE) Assay System. J. Koraen Soc. Food Nutr., 25, 232-241
27. Lieber, C.S, (1994) Alcohol and the liver. Gastro., 106, 1085-1097
28. Lieber, C.S. and DeCarli, L.M. (1970) Hepartic microsomal ethanol oxidizing system : *In vitro* characteristics and adaptive properties *in vivo*. J. Biol. Chem.,. 245, 2505-2516
29. Yoshikawa, T. and Kondo, M. (1989) Free radical lipid peroxidation and vitamin E in liver injury. In "*Handbook of free radical and antioxidants in biomedicine*" Jaine, M., Alexander, T. and Qintanihala, H.(eds), Weber, CRC Press., 2, p.167-178
30. Hong, Y.S. Ham, Y.A. and Sung, N.E. (1984) The effects of vitamin A and E on lipid peroxidation administered rat liver microsomes. Ewha Med., 7, 3-9
31. Fujji, M. Ohmachi, T. Sagami, I. and Watanabe, M. (1985) Liver microsomal drug metabolism in ethanol treated hamsters. Biochem. Pharmacol., 34, 3881-3890
32. Blois, M.S. (1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature, 181, 1199-1206
33. Kirigaya, N. Kato, H. and Fujimarki, M. (1971) Studies on antioxidant activity of non-enxymatic browning reactions (III). Fractionation of browning reaction solution between ammonoa and D-glucose and antioxidant activity of the resulting fractions. J. Agr. Chem. Soc. (Japan), 45, 292-301
34. Crapo, C.H. McCord, J.M. and Fridovich, I. (1978) Preparation and assay of superoxide dismutase, Methods enzymol. ed. Fleischer S and Packer L., Academic press, New York, 53, p.382-422,
35. Aebi, H. (1974) Catalase, Methods of enzymatic analysis, Bergmeyer HU, Bergmeyer, J and Grabi, M., eds. 3rd ed., Verlag. chemie., 2, p.673-688
36. Downry, J.M. Miura, Y. Eddy, L.J. Chambers, D.E., Mellert, T. Hearse, D.J. and Yellon, D.M. (1987) Xanthine oxidase is not a source of free radicals in the ischemic rabbit heart. J. Mol. Cell Cardiol., 19 ,1053-1067
37. Flohe, L. Wolfgng, A. and Gunzler, W.A. (1984) Assay of glutathine peroxidase. In Methods in enzymatic analysis. Packer. L. eds. Academic Press, Inc., New York, p.114-124
38. Buege, J. A. and Aust, S.D. (1969) Microsomal lipid peroxidation. In "*Methods in enzymoogy*" Packer, L. (ed.), Academic Press, New York, 27, 502-511
39. Tietze, F. (1969) Enzymatic methods for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione. Anal. Biochem., 27, 502-513
40. Lowry, C.H. Rsenbrough, N.J. Farr, A.L. and Randall, R. J. (1951) Protein measurement with folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 265-275
41. Su, J.D. Osawa, T. Kawakishi, S. and Namiki, M. (1988) Tannin antioxidants from *Osbeckia chinensis*. Phytochemistry, 27, 1315-1322
42. Okamura, H. Mimura, A. Yakou, Y. Niwano, M. and Takahama, Y. (1993) Antioxidant activity of tannins and flavonoids in *Eucalyptus rostrata*. Phytochemistry, 33, 557-563
43. Lieber, C.S. (1986) The influence of alcohol on nutritional status. Nutr. Rev., 46, 24-35
44. Lieber, C.S. and DeCarli, L.M. (1986) The feeding of ethanol in liquid diet. *Alcoholim* : Clin. Exp. Res., 10, 550-560
45. Zimmerman, H.J. (1981) Chemical hepatic injury and its detection, in toxicology of the liver, Plaa, G. L. and Hewitt, W. R., eds., Raven press, 22, p.1-10
46. Stocker, R. and Frei, B. (1991) Endogenous antioxidant

defences in human blood plasma. In oxidative stress, Sies, H. ed. Academic Press, New York, 60, p.213-224

47. Fridovich, I. (1986) Bilogical effects of the superoxide radical, Arch. Biochem. Biophys., 247, 1-45
48. Fridovich, I. (1989) Superoxide dismutases, J. Biol. Chem., 264, 7761-7770
49. Fridovich, I. (1975) Superoxide dismutase, Annu. Rev. Biochem., 44, 147-151
50. Robbins, S.L. and Kumar, V.K. (1987) Basic pathology, Saunders, New York, p.14-21
51. Smuckler, E.A. and Koplitz, M. (1969) The effects of carbon tetrachloride and ethione on RNA synthesis in vivo and in isolated rat liver nuclei. Arch. Biochem. Biophs., 132, 62-71
52. Krenitsky, T.A. (1973)Xanthine oxidase and aldehyde oxidase in purine and purine analogue metabolism. Exp. Med. Biol. p.151-169
53. McCord, J.M. and Fridovich, I. (1969) Superoxide dismutase an enzymatic function for erythrocuprein (hemocuprin), J. Biol. Chem., 244, 6049-6059,
54. Fred, J. Yost, J. and Fridovich, I. (1976) Superoxide and hydrogen peroxide in oxygen damage. Arch. Biochem. Biophys., 175, 514-519
55. Dolphin, D. Forman, A. Berg, D.C. Fajce, J. and Felton, R, H. (1971) Compounds I of catalase and horeradish peroxidase. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 68, 614-623
56. Jones,D. P. Eklow, L. Thor, H. and Orrenius, S. (1981) Metabolism of hydrogen peroxide in islated hepatocytes : relative contributions of catalase and glutathione peroxidase in decomposition of endogenously generated H_2O_2. Arch. Biochem. Biophys., 210, 505-513
57. Recknagel, R.O. Glende, E.A, and Hruszkewyez, A.M. (1977) Chemical mechanisms in carbon tetrachloride toxicity. in "Free radicals in biology" Pryor, W. A. (ed.), Academic Press, New York, p.91-110
58. Plaa, G.L. and Wistschin, H. (1976) Chemicals, drugs and lipid peroxidations. Am.. Rev. Toxicol. Pharmacol., 16, 125-131
59. Lieber, C.S. (1980) Interaction of ethanol witr drug, hepatotoxic agent, carcinogen and vitamins. Alcoholism, 25, 157-164
60. Vina, J. Estrella, J.M. Guerro, C. and Romero, F.J. (1980) Effects of ethanol on glutathione concenturation in islated hepatocytes. Biochem. J., 188, 549-558
61. Videlia, L.A. Femanded, V, Valenzuela, A. and Ugarte, G. (1980) The effects of chronic alcohol on glutathione in islated hepatocytes. Biochem. J., 188, 549-556
62. Lieber, C.S. (1980) Increased loss and decreased synthesis of hepatic glutathione after acute alcohol administration. Phamacol. Biochem. Behav., 13, 17-29
63. Aykac, G. Usnal, M. Yalcin, S. Kocak-Toker,N. Sivas, A. and Oh, H. (1985) The effects of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione peroxide, and glutathione transferase in rats. Toxico., 36, 73-77
64. Girotti, A.W. Thomas, J.P. and Jordan, J.E. (1985) Inhibitory effect of Zinc(II) on free radical lipid peroxidation in erythrocyte membranes. J. Free Rad. Bio. Med., 1, 395-404

(접수 2004년 1월 7일, 채택 2004년 2월 25일)