

## 랫트의 간 손상에 대한 녹차카테킨의 보호 및 치료효과

육동연 · 이미애\* · 윤여표†

충북대학교 약학대학, 생물건강산업개발연구소, \*청주대학교 사회과학대학

### Effect of Green Tea Catechin on Acute Hepatotoxicity in Rats

Dong-Yeon Yuk, Mi-Yea Lee\*, and Yeo-Pyo Yun†

College of Pharmacy, Research Center for Bioresource and Health, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

\*College of Social Sciences, Cheongju University, Cheongju 360-764, Korea

**ABSTRACT** – Green tea catechin (GTC) is known to have a wide variety of pharmacological activities. In the present study, the effects of GTC on acute hepatotoxicity induced by carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) and galactosamine were examined in rats. Two doses (50 or 100 mg/kg) of GTC were administered to rats orally for 3 days before or after the induction of hepatotoxicity. A hepatotoxicity was induced by the intraperitoneal injection of the CCl<sub>4</sub> (0.5 ml/kg) or galactosamine (400 mg/kg). GTC (50 mg/kg) reduced the aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) level of the CCl<sub>4</sub>-intoxicated rats in the pre-treatment group (from 262±11, 80±19 to 153±33, 55±25), and also in the post-treatment group (from 156±40, 105±3 to 106±22, 55±9), respectively. And GTC (50 mg/kg) also reduced the levels of AST and ALT in both pre-treatment (from 576±24, 276±68 to 236±13, 115±13) and post-treatment (from 233±54, 137±11 to 119±23, 44±17) when induced by galactosamine. GTC also showed the inhibition of pathogenesis of hepatocyte of CCl<sub>4</sub>- and galactosamine-intoxicated rats. These results suggest that green tea catechin (GTC) may be useful for the prevention and therapy of hepatotoxic pathogenesis.

**Key words:** Green tea catechin, CCl<sub>4</sub>, Galactosamine, Hepatoprotective effect

현대인들에게는 불규칙한 식사, 스트레스, 과다한 음주 및 흡연 등으로 인하여 간기능이 손상되거나, 심하면 간질환으로 발전하는 경우가 빈번하게 일어나고 있다. 이와 같은 간기능의 손상 및 간질환은 인체에 치명적인 영향을 미치며 또한 회복하기도 어렵다. 만성간염, 간경변 및 간암등의 간질환은 거의 불치병으로 인식되어 현대인들에게 큰 위협이 되어 온 것도 사실이다. 따라서 이들 간기능 손상 및 간질환을 부작용이나 재발 없이 효과적으로 치료할 수 있는 약제의 개발이 강하게 요구되고 있다. 현재 대표적인 간장치료제로 쓰이는 silymarin의 경우 국화과에 속하는 *Silybum rarianum*의 열매에서 개발되었으며<sup>1)</sup> 또한 가장 최근 개발된 dimethyl dimethoxy biphenylate (DDB)는 오미자의 성분인 schizandrin과 유사한 인공합성물질로 간독성 치료효과가 보고된 바 있다.<sup>2)</sup> 그러나 그 질환의 심각성에 비해 치료제의 종류가 많지 않음을 볼 때 천연물에서의 간독성 해독제의 개발은 그 의미가 매우 크다고 하겠다.

한국을 비롯한 아시아권에서 많이 음용되고 있는 녹차는 다양한 생리활성을 나타내고 있다. 특히, 녹차에서 추출한

flavonoid는 매우 강한 항산화 효과를 가지고 있으며, 강력하게 세포 및 조직을 프리산소라디칼의 공격으로부터 보호할 것이라고 보고되어 있다.<sup>3)</sup> 또한 항산화효과를 가지는 천연물의 flavonoids가 간기능보호효과를 나타낸다고 보고됨에 따라 녹차의 간기능에 대한 약리활성이 기대되고 있다.<sup>4)</sup>

이에 본 연구에서는 간질환의 예방 및 치료제 개발의 일환으로 사염화탄소 및 galactosamine으로 유발되는 간독성에 녹차 카테킨의 간독성 예방 및 치료 효과를 검색할 목적으로 녹차 카테킨을 용량별로 보호의 차원에서 경구로 전투여하고 또한 치료의 차원에서는 후투여하여, 혈중의 생화학적 변화의 지표로 효소학적 변동을 측정해 녹차 카테킨의 사염화탄소 및 galactosamine 유발 간독성에 미치는 효과를 규명하고자 하였다.

### 재료 및 방법

#### 시료 및 시약

실험에서 사용된 시료 녹차카테킨, silymarin 은 삼아약품(주)으로부터 공급받아 사용하였다. 시약중 사염화탄소는 Wako Chemical Company (Tokyo, Japan)제품을 사용하였

† Author to whom correspondence should be addressed.

고, 기타 시약은 Sigma Chemical Company (St. Louis, MO)로부터 구입하였다. Aspartate aminotransferase (AST) 및 alanine aminotransferase (ALT) Kit는 영동제약 (Korea) 제품을 구입하여 사용하였고, 기타 사용된 모든 시약들은 reagent grade 이상의 것을 사용하고 시험에 사용된 물은 탈이온 이차 증류수를 사용하였다.

### 실험동물

웅성 Sprague-Dawley 흰쥐를 샘타코(주)로부터 공급받아 사육실에서 일주일간 적응시킨 후 체중이 200-220 g에 도달했을 때 실험에 사용하였다. 사육실은 온도  $22^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ , 습도  $55\pm 5^{\circ}\text{C}$ 의 환경을 유지하며 오전 8시와 오후 8시를 기준으로 하여 12시간 주기로 명암을 바꾸어 주었다. 고품 사료와 물은 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였다.

### 투여방법

약물 투여는 전 투여(pre-treatment)와 후 투여(post-treatment)로 나누어 간 보호 및 치료 효과를 알아 보고자 했다. 시험 약물인 녹차카테킨은 50, 100 mg/kg, 양성 대조 물질인 silymarin은 100 mg/kg씩 1일 1회, 3일간 경구 투여하였고, 간 독성 유발 물질인 사염화탄소(0.5 ml/kg, 50% in olive oil), galactosamine (400 mg/kg, saline)은 마지막 날 1회 복강내 투여하였다.

전 투여(pre-treatment) 실험은 시료를 1일 1회, 3일간 경구 투여하였고, 간 독성 유발 물질인 사염화탄소, galactosamine은 마지막 날 1회 복강내 투여하였다. 후 투여(post-treatment)실험은 간 독성 유발 물질인 사염화탄소, galactosamine 을 1회 복강내 투여한 후 시료를 1일 1회, 3일간 경구 투여하였다. 독성 유발 물질 또는 마지막 시료 투여 후 24시간에 ether 마취 하에 복부 정중선을 절개하여 복부대동맥에서 채혈하였다. 혈액을 상온에서 30분간 방치 후 5,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 얻었다. 실험 동물은 군(group) 당 각각 5~10마리씩으로 하였다.

### 혈청중 AST, ALT 활성측정방법

채혈은 실험종료시 에테르 마취하에 복대정맥에서 전 채혈한 혈액을 실온에서 3시간이상 방치 응고시켜 3,000 rpm으로 15분 동안 원심 분리한 다음 혈청을 분리하여 혈청내의 AST(sGOT)와 ALT(sGPT)치를 측정하였다. AST 및 ALT 활성은 영동제약의 Kit를 사용하여 측정하였다. 즉, 시험관에 ALT 및 AST기질액을 0.5 ml씩 취하여  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 2~3분간 가온 한 후 피검 혈청 100 ul를 가하고  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 AST는 60분간, ALT는 30분간 반응시켰다. 발색액(2,4-dinitrophenylhydrazine)을 0.5 ml씩 가하여 반응을 종료시키

고 실온에서 20분간 방치한 후 0.4N NaOH 5 ml를 가하여 증류수를 대조로 하여 505nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준 검량선으로 효소활성을 구하고 단위는 U/L로 표시하였다.

### 간 조직 검사(Pathophysiology)

실험 종료시 에테르 마취로 채혈하고 간을 적출하여 간의 무게를 측정하고 간의 육안적인 소견을 관찰하였다. 실험 종료후 사염화탄소, galactosamine 및 약물 처리군에서 얻은 간조직을 10% formalin액에 고정시킨 다음 탈수 과정을 거쳐 paraffin 포매를 하며, 4~6 um두께의 조직절편을 만들어 Hematoxylin & Eosin 염색 후 광학현미경으로 관찰하였다.

### 통계학적 분석

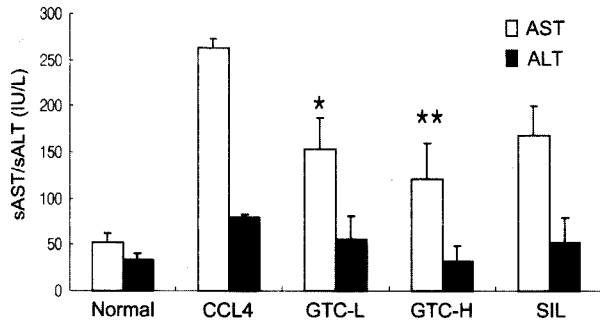
모든 실험결과는 평균치와 표준오차로 계산하였고, 각 군과의 차이는 One way-ANOVA test를 거친 후 Duncan's multiple range test 또는 Student's t-test를 행했다. p값이 5% 미만일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

## 결 과

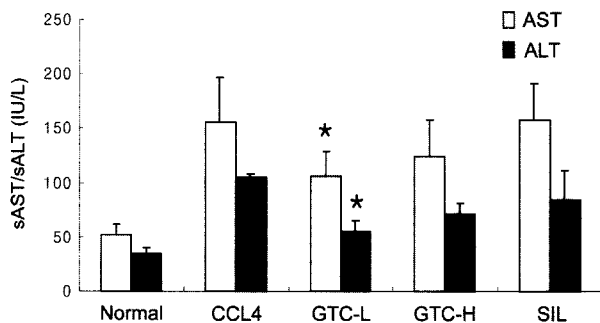
### 사염화탄소( $\text{CCl}_4$ )에 대한 간 보호 및 치료 효과

(1) 전(前) 투여 간 보호 효과 실험에서 혈청 생화학적 검사 결과, 간 독성 물질인  $\text{CCl}_4$  단독 투여군은 AST와 ALT의 효소활성이  $262.1\pm 11$  및  $80.0\pm 19$  U/L로 정상군에 비해 현저히 증가되어 간 병변을 나타내었다. 그러나 녹차카테킨 50 mg/kg을 전 투여한 군은  $\text{CCl}_4$  단독 투여군의 증가된 AST와 ALT의 효소활성이 각각  $153.7\pm 33$ ,  $55.6\pm 25$  로 약 58% 및 68%까지 억제시켜 간 독성에 보호 효과가 있음을 알 수 있었다. 또한 대조 약물로 사용한 silymarin 도  $\text{CCl}_4$  단독 투여군에 비해 AST의 효소활성은 약 63%, ALT의 효소활성은 약 65%까지 억제시켜 간 독성 보호 효과가 있음을 확인할 수 있었다(Fig. 1).

(2) 후(後) 투여 간 치료 효과 실험에서 혈청 생화학적 검사 결과, 간 독성 물질인  $\text{CCl}_4$  단독 투여군은 AST와 ALT의 효소활성이  $156.2\pm 40$  및  $105.4\pm 3$  U/L로 정상군에 비해 현저히 증가되어 간 병변을 나타내었다. 녹차카테킨 50 mg/kg을 후 투여한 군은  $\text{CCl}_4$  단독 투여군의 증가된 AST와 ALT의 효소활성을 각각 약 68% ( $106.5\pm 22$ ) 및 52% ( $55.4\pm 9$ )까지 억제시켜 간 독성 치료 효과가 있음을 알 수 있었다. 그러나 대조 약물로 사용한 silymarin 투여군은  $\text{CCl}_4$  단독 투여군에 비해 AST의 효소활성의 변화가 거의 없었고, ALT의 효소활성도 약 80% 정도만 억제시켰다 (Fig. 2). 따라서 녹차카테킨의 간 치료 효과가 대조 약물인 silymarin 보다 우수한 것을 알 수 있었다.



**Fig. 1. The preventive effect of green tea catechin on serum aminotransferase activities in CCl<sub>4</sub>-intoxicated rats.** Data are expressed as mean±S.E.M (n=7~10) (\*p<0.05; \*\*p<0.01) Key : SIL; silymarine 100 mg/kg, GTC-L; GTC 50 mg/kg, GTC-H; GTC 100 mg/kg.

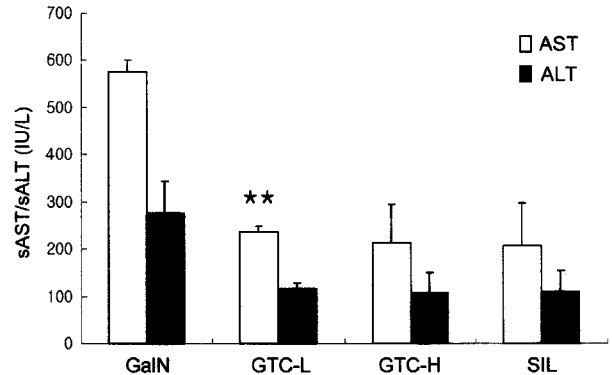


**Fig. 2. The remedial effect of green tea catechin on serum aminotransferase activities in CCl<sub>4</sub>-intoxicated rats.** Data are expressed as a mean±S.E.M (n=7~10) (\*p<0.05).

**갈락토사민(Galactosamine)에 대한 간 보호 및 치료 효과**

(1) 전(前) 투여 간 보호 효과 실험에서 혈청 생화학적 검사 결과, 간 독성 물질인 galactosamine 단독 투여군은 AST와 ALT의 효소활성이 576.0±24 및 276.2±120 U/L로 정상군에 비해 현저히 증가되어 간 병변을 나타내었다. 그러나 녹차카테킨 50 mg/kg을 전 투여한 군은 galactosamine 단독 투여군의 증가된 AST와 ALT의 효소활성을 각각 약 40% (236.3±13) 및 41% (115±13)까지 억제시켜 간 독성에 보호 효과가 있음을 알 수 있었다. 또한 대조 약물로 사용한 silymarin 투여군도 galactosamine 단독 투여군에 비해 AST의 효소활성을 약 37% 까지 억제시켰고 ALT의 효소활성을 약 39%까지 억제시켜 간 독성 보호 효과가 있음을 확인할 수 있었다(Fig. 3).

(2) 후(後) 투여 간 치료 효과 실험에서 혈청 생화학적 검사 결과, 간 독성 물질인 galactosamine 단독 투여군은 AST와 ALT의 효소활성이 233.7±55 및 137.4±11 U/L로 정상군에 비해 현저히 증가되어 간 병변을 나타내었다. 그러



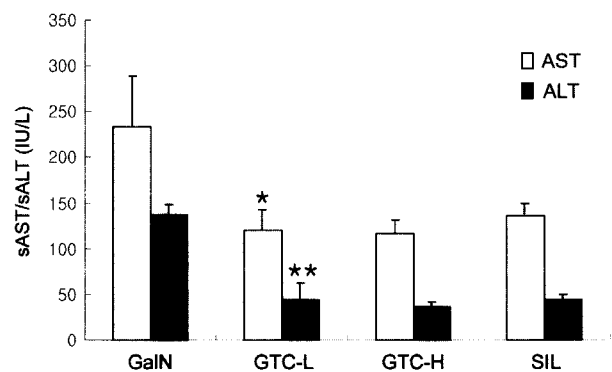
**Fig. 3. The preventive effect of green tea catechin on serum aminotransferase activities in galactosamine-intoxicated rats.**

Data are expressed as a mean±S.E.M (n=7~10) (\*\*p<0.01) Key: GalN; galactosamine, GTC-L; GTC 50 mg/kg, GTC-H; GTC 100 mg/kg, SIL; silymarin 100 mg/kg

나 녹차카테킨 50 mg/kg을 후 투여한 군에서 galactosamine 단독 투여군의 증가된 AST와 ALT의 효소활성이 각각 51% (214.0±80), 32% (108.3±41)로 감소되어 간 독성 치료 효과가 있음을 알 수 있었다. 또한 대조 약물로 사용한 silymarin 투여군도 galactosamine 단독 투여군에 비해 AST의 효소활성을 약 58% 까지 감소시켰고 ALT의 효소활성을 약 32% 까지 감소시켜 간 독성 치료 효과가 있음을 확인할 수 있었다(Fig. 4). 따라서 녹차카테킨의 간 치료 효과가 대조 약물인 silymarin 보다 우수한 것을 알 수 있었다.

**조직학적 검사**

간 조직에 대한 병리조직학 검사 결과, CCL<sub>4</sub>와 galactosamine 투여군에서 모두 중심정맥 주변의 국소적 괴

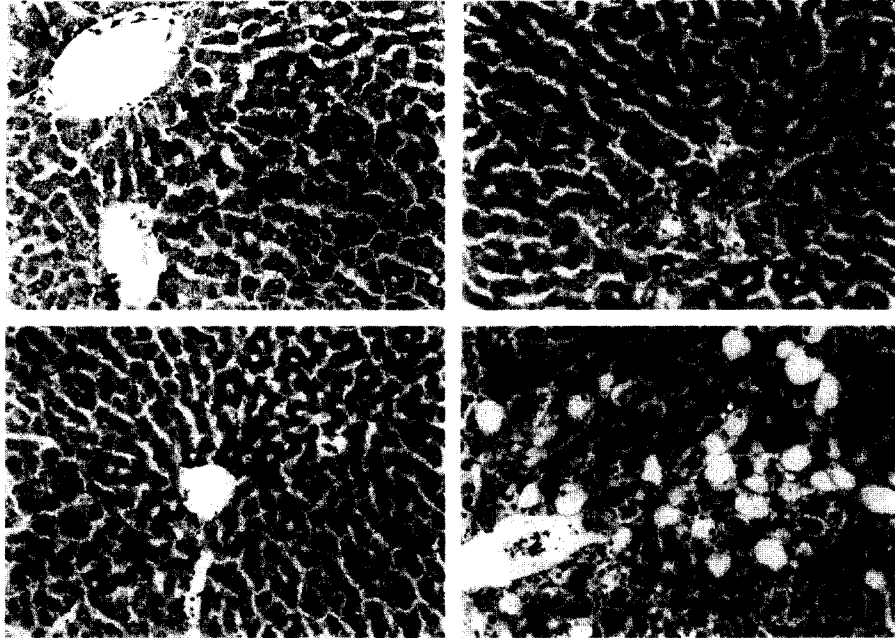


**Fig. 4. The remedial effect of green tea catechin on serum aminotransferase activities in galactosamine-intoxicated rats.**

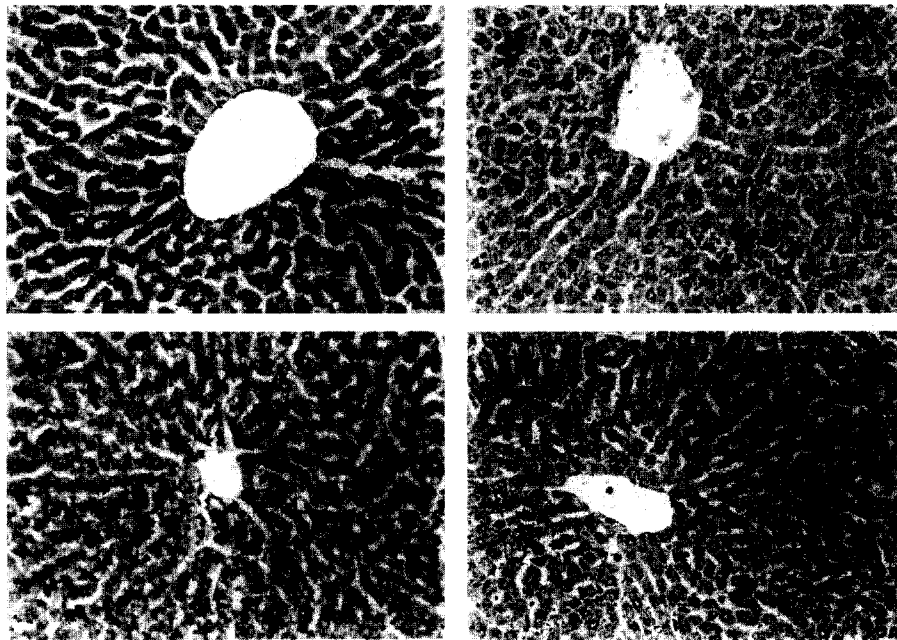
Data are expressed as a mean±S.E.M (n=7~10) (\*p<0.05; \*\*p<0.01).

사 및 지방변성, 쿠퍼세포의 비대(화살표)가 관찰되는 등 (severe) 간병변의 증후를 보여주었다. 녹차카테킨을 전투여 한 실험군 및 후투여군 모두에서 간세포는 쿠퍼세포의 비대

가 사라지는 등(mild) 유의성있는 치료 및 보호효과를 나타 내었고, 대조약물로 사용한 silymarin도 비슷한 결과를 보여 주었다(Fig. 5). Galactosamine을 사용한 실험결과에서도 녹



**Fig. 5.** The pretentive and remedial effects of green tea catechin on the hepatocyte of the  $\text{CCl}_4$ -intoxicated rats. Saline was administered before (A) and after (C)  $\text{CCl}_4$  intoxication. GTC (50 mg/kg) was administered orally into rats before (B) or after (D)  $\text{CCl}_4$  intoxication.



**Fig. 6.** The pretentive and remedial effects of green tea catechin on the hepatocyte of the galactosamine-intoxicated rats. Saline was administered before (A) and after (C) galactosamine intoxication. GTC (50 mg/kg) was administered orally into rats before (B) or after (D) galactosamine intoxication.

차카테킨은 전투여군과 후투여군 모두에서 간경변 치료효과를 나타내었다. 이러한 결과로 녹차카테킨이 간경변 소견을 유의성 있게 억제하며 간 독성 치료 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

## 고 찰

녹차는 비알콜성 음료로서 영양 및 기호식품일 뿐만 아니라 인간의 질병예방 및 치료는 물론 생리조절과 영양공급의 관점에서 볼 때 신체조절기능을 가진 식품이기도 하다. 현대 생명과학기술의 발전에 따라 녹차의 약리효과가 더욱 분명해지고 있다. 녹차는 차나무(*Camellia sinensis* L., 차나무과)의 잎을 말린 것으로, 흥분, 강심, 이뇨, 해열, 수렴 등의 약리학적 작용을 가지는데 이는 녹차중의 caffeine 성분에 의한 것이며, 혈관강화작용은 catechine 등의 catechine류에 의한 것이다. 최근 녹차의 catechine류에 대해서 다양한 생리활성이 연구되고 있으며, 이중에 catechine에 대한 활성, 즉, 암발생 억제효과,<sup>5,6)</sup> 항산화작용,<sup>7,8)</sup> 충치예방,<sup>9)</sup> 항균작용,<sup>10)</sup> 콜레스테롤 저해작용,<sup>11)</sup> 심혈관질환 예방작용<sup>12-14)</sup> 등 여러 가지 약리효과에 대한 보고가 있으며, 혈소판응집 저해활성<sup>15)</sup>도 보도된 바 있다. 그러나 녹차의 유해성은 보고되어 있지 않으므로 약으로의 개발에 밝은 장래성을 보이고 있다.

한편, transaminase는 amino기 전이반응을 촉매하는 효소의 총칭으로 임상적으로 가장 많이 이용되고 있는 AST와 ALT가 있는데 이들 효소들은 amino acid와  $\alpha$ -keto acid와의 사이에 amino기 전이반응을 촉매하는 것으로 체내에 널리 분포되어 있다. 이들은 간손상의 지표로 널리 사용되는 효소로서 유출되는 과정은 다음과 같다. 즉 세포내의 energy 공급이 감소된 결과에 의해 세포내의 K<sup>+</sup>이온이 세포외로 유출되면 Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> 및 수분이 세포내로 유입이 된다. 그 결과 세포는 팽창되고, 세포막이 늘어나게 되어 세포질에 존재하는 AST와 ALT가 유출된다. 그러므로 혈청 중 AST와 ALT 등의 증가는 간독성으로 인한 간세포의 괴사와 간조직의 파괴가 진행됨을 의미하므로 이들 효소의 혈중 유리정도를 측정하여 간독성 연구에 이용하고 있다.<sup>16)</sup>

CCl<sub>4</sub>와 같은 간독성 물질은 체내로 흡수되어 약물대사 효소계인 cytochrome P450 system에 의해  $\cdot\text{CCl}_3$ (trichloromethyl radical)로 전환되며 간 중심부 괴사(centrilobular necrosis), 단백 합성 억제, 지방 변성 등을 야기시켜 간독성을 일으킨다고 알려져 있는데 녹차 카테킨은 양성대조 약물인 silymarin 보다 AST 및 ALT 효소활성을 유의성있게 억제하였으며, 조직학 검사결과에서도 간경변 소견을 유의성있게 억제한 것으로 보아 급·만성 간염 모델(간 세포막 파괴에 의한 과산화지질 생성)인 CCl<sub>4</sub> 간독성 모델에서 간을 보호

및 치료 효과가 있음을 알 수 있었다. 다만, 녹차카테킨 50 mg/kg을 전투여한 군의 AST와 ALT가 58%와 68%으로 실리마린 투여군의 63%, 65%와 큰 차이를 보이지는 않았지만 후투여군에서는 녹차카테킨이 68%, 52%의 활성감소를 보인 반면 실리마린투여군은 102%, 80%의 활성을 나타내어 녹차카테킨의 치료효과가 더 우수함을 알 수 있었다.

Galactosamine을 흰쥐에게 일회 투여하면 인간에게서 나타나는 간염과 유사한 간장질환을 유발한다. 아미노당인 galactosamine은 galactose<sup>17)</sup> 대사장애를 통한 uridine triphosphate, uridine diphosphate 및 uridine monophosphate 등의 농도 감소로 RNA의 합성이 저해되어 지질의 축적을 유도하고,<sup>18,19)</sup> 또한 세포막 성분중 탄수화물의 조성과 세포내 Ca<sup>2+</sup> 농도를 변화시켜 간조직의 손상을 유발한다.<sup>20,21)</sup> Galactosamine의 급성중독시에는 간괴사, 만성중독의 경우에는 간경변과 세포성 종양이 일어나게 된다.<sup>22-24)</sup> Galactosamine은 아미노당으로서 간세포내에서 대사되는 과정 중 UMP, UDP, UTP를 과도하게 소비하게 되는데, 이때 세포중 UTP의 과부족 상태는 결국 uracil-dependent RNA synthesis를 억제하게 된다. 이는 단백질합성의 억제와 세포막 구조의 변형을 가져오게 되어 바이러스성 간염과 유사한 형태의 세포 괴사를 초래하는 것으로 알려져 있다. 녹차카테킨은 양성대조물질인 silymarin과 같이 AST 및 ALT 효소활성을 현저히 억제한 것으로 보아 virus성 간염 모델과 유사한 galactosamine 간독성 모델에서 간 세포괴사 진행을 억제하여 간 보호 및 치료 효과가 있음을 알 수 있었다. 다만, 녹차 카테킨 50 mg/kg을 전투여한 군의 AST와 ALT 활성(40%, 41%)이 실리마린 투여군(37%, 39%)의 효소활성과 비슷하고 후투여군(51%, 32%) 역시 실리마린 투여군(58%, 32%)과 비슷하여 바이러스성 간염모델에서 녹차카테킨이 실리마린과 같이 우수한 간독성보호효과가 있음을 알 수 있었다.

Wagner는 favonoid화합물이 반응성 산소프리라디칼을 소거하여 항산화작용을 나타내며 이것이 간세포보호작용의 기전이라고 밝힌바 있다.<sup>25)</sup> 또한, 현재 간질환치료제로써 널리 쓰이고 있는 flavonoids화합물인 silymarin은 간기능보호효과가 항산화작용 및 산소프리라디칼 소거작용에 기인한다고 보고되어 있으며,<sup>26)</sup> 강한 항산화효과를 가진 루이보스티가 사염화탄소로 유발된 간독성에 대하여 치료 및 보호효과를 나타내고 있음이 보고되었다.<sup>27)</sup> 이러한 보고들은 녹차카테킨의 간장보호효과가 CCl<sub>4</sub>와 galactosamine으로 생성된 지질과산화물에 대한 녹차카테킨의 억제작용 및 세포막안정화 효과에 기인할 것으로 사료된다. 하지만 자세한 기전을 알기 위해서는 보다 더 연구가 진행되어야 할 것이다.

이상의 결과를 종합해 볼 때, 녹차 카테킨은 서로 다른

간장 질환 동물모델인 급·만성 간염 모델(간 세포막 파괴에 의한 과산화지질 생성)인 CCl<sub>4</sub> 간독성 모델과 바이러스성 간염 모델과 유사한 galactosamine 간독성 모델에서 간장 질환의 예방 및 치료효과가 있음을 알 수 있었다.

## 감사의 글

본 연구는 삼아약품(주) 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 국문요약

녹차카테킨은 다양한 생리활성을 지닌 것으로 알려지고 있다. 본 실험에서는 사염화탄소와 갈락토사민으로 유발된 간독성에 대한 녹차카테킨의 간기능보호효과가 연구되었다. 녹차카테킨(50 mg/kg와 100 mg/kg)은 사염화탄소(0.5 ml/kg)와 갈락토사민(400 mg/kg)이 투여되기 전 그리고 투여 후 3일동안 흰쥐에 경구투여되었고, 간기능지표로 AST와 ALT를 측정하였다. 녹차카테킨(50 mg/kg)은 사염화탄소 처리된 랫드에서 상승된 혈중 AST와 ALT 활성을 전투여군(262±11, 80±19)에서 153±33, 55±25로)과 후투여군(156±40, 105±3에서 106±22, 55±9로) 모두 감소시켰다. 또한 갈락토사민으로 유도한 경우에도 AST와 ALT 수치는 전투여군(576±24, 276±68에서 236±13, 115±13로)과 후투여군(233±54, 137±11에서 119±23, 44±17로)에서 모두 유의성있게 감소된 결과를 나타내었다. 또한 간 조직학적 검사에서도 사염화탄소와 갈락토사민으로 유도된 간경변을 유의성있게 억제하였다. 이상의 결과로 볼 때 녹차카테킨은 간독성에 의한 병변을 예방 및 치료할 수 있는 신약후보물질로서의 가능성을 시사한다.

## 참고문헌

- Campos, R., Garrido, A., Guerra, R. and Valenzuela, A. : Silybin dihemisuccinate protects against glutathione depletion and lipid peroxidation induced by acetaminophen on rat liver. *Planta Medica*, **55**, 417-419 (1989).
- Martindale. : *The extra pharmacopoeia*, the Pharmaceutical Press, p. 1613 (1989).
- Anton Rietveld and Sheila Wiseman : Antioxidant effects of tea: Evidence from human clinical trials. *J. Nutr.*, **133**, 3285S-3292S (2003).
- Miguez M.P., Anundi I., Sainz-Prado L. A., Lindros K. O.: Hepatoprotective mechanism of silymarin: No evidence for involvement of cytochrome P450 2E1. *Chemico-Biological Interactions*, **91**(1), 51-63 (1994).
- Bu-Abbas A, Clifford MN, Walker R. : Marked antimutagenic potential of aqueous green tea extracts: Mechanism of action. *Mutagenesis*, **9**, 325-331 (1994).
- Stoner G. D., Mukhtar H. : Polyphenols as cancer chemopreventive agents. *J. Cell Biochem.*, **22**(Suppl), 169-180 (1995).
- Serafini M., Ghiselli A., Ferro Luzzi A. : In vivo antioxidant effects of green tea and black tea in man. *Eur. J. Clin. Nutr.*, **50**, 28-32 (1996).
- Uchida S., Ozaki M., Suzuki K., Shikita M. : Radioprotective effects of (-)-epigallocatechin 3-O-gallate (green-tea tannin) in mice. *Life Sci.*, **50**, 147-152 (1992).
- Saeki Y., Ito Y., Shibata M., Sato Y., Takazoe I., Okuda K. : Antimicrobial action of green tea extract, flavono flavor, copper chlorophyll against oral bacteria. *Bull. Tokyo Dental Coll.*, **34**, 33-37 (1993).
- Ikgai H., Nakae T., Hara Y., Shimamura T. : Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. *Biochim. Biophys. Acta*, **1147**, 132-136 (1993).
- Muramatsu K., Fukuyo M., Hara Y. : Effect of green tea catechins on plasma cholesterol level in cholesterol-fed rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)*, **32**, 613-622 (1986).
- Uchida S., Ozaki M., Akashi T., Yamashita K., Niwa M., Taniyama K. : Effects of (-)-epigallocatechin-3-O-gallate (green tea tannin) on the life span of stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, **22**, S302-S303 (1995).
- Yokozawa T., Oura H., Nakagawa H., Sakanaka S., Kim M. : Effects of component of green tea on the proliferation of vascular smooth cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **59**, 2134-2136 (1995).
- Yamaguchi Y., Hayashi M., Yamazoe H., Kuntomo M. : Preventive effects of green tea extract on lipid abnormalities in serum, liver and aorta of mice fed an atherogenic diet. *Nippon Yakurigaku Zasshi*, **97**, 329-337 (1991).
- Kang W.S., Lim I.H., Yuk D.Y., Chung K.H., Park J.B., Yoo H.S., Yun Y.P. : Antithrombotic activities of green tea catechins and (-)-epigallocatechin gallate. *Thrombosis research*, **96**(3), 229-237 (1999).
- Plaa, G.L. and Charbonneau, M. : Detection and evaluation of chemically induced liver injury. In *Principles and Methods of*

- Toxicology* (Hayes, A. W., Ed). pp. 839-870, Raven Press., New York (1994).
17. Zieve, L., Anderson, W.R. and Dozeman. R. : Hepatic regenerative enzyme activity after diffuse injury with galactosamine: relationship to histologic alterations. *J. Lab. Clin. Med.*, **112**, 575-582 (1988).
  18. Decker, K. and Keppler, D. : Galactosamine-induced liver injury. In progress in liver disease. (Popper, H. and Schaffer, F., ed.), vol. 14, p. 183, Grune and Stratton, New York (1973).
  19. Wang, J.F. and Wendel, A. : Studies on the hepatotoxicity of galactosamine/endotoxin or galactosamine/TNF in the perfused mouse liver. *Biochem. Pharmacol.*, **39**, 267-270 (1990).
  20. El-Mofty, S.K., Scrutton, M.C., Serroni, A., Nicolini, C. and Farber, J.L. : Early, reversible plasma membrane injury in galactosamine-induced liver cell death. *Am. J. Pathol.*, **79**, 579-595 (1975).
  21. Keppler, D., Lesch, R., Reutter, W. and Decker, K. : Experimental hepatitis induced by D-galactosamine. *Exp. Mol. Pathol.*, **9**, 279-290 (1968).
  22. Farber, J.L., Gill, G. and Konishi, Y. : Prevention of galactosamine-induced liver cell necrosis by uridine. *Am. J. Pathol.*, **72**, 53-62 (1973).
  23. Iller, E.C. and Miller, J.A. : Hepatocarcinogenesis by chemicals. In *Progress in liver disease* (Popper, H. and Schaffner, F., ed.), vol. 5, p. 699. Grune & Stratton, New York (1972).
  24. Lesch, R., Reutter, W., Keppler, D. and Decker, K. : Liver restitution after acute galactosamine hepatitis: Autoradiographic and biochemical studies in rats. *Exp. Mol. Pathol.*, **12**, 58-69 (1970).
  25. Wagner, H. : Antihepatotoxic flavonoids. In: Cody, V. Middleton, E. and Harborne, J. B. (eds) : *Plant flavonoids in biology and medicine*: Biomedical pharmacological and structure-activity. A. R. Liss Inc. New York. p.14 (1986).
  26. Letteron, P., Labbe, G., Degott, C., Berson, A., Fromenty, B., Delaforge, M., Larrey, D. and Pessayre, D. : Mechanism for the protective effects of silymarin against carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation and hepatotoxicity in mice. *Biochem. Pharmacol.*, **39**, 2027-2034 (1990).
  27. Ulicna, O, Greksak, M, Vancova, O, Zlatos, L, Galbavy, S, Bozek P, Nakano, M: Hepatoprotective effect of rooibos tea (*aspalathus linearis*) on CCl<sub>4</sub>-induced liver damage in rats. *Physiol. Res.*, **52**, 461-466 (2003).