

천년초(*Opuntia humifusa*) 추물물의 사염화탄소를 처치한 흰쥐에서의 간보호 효과

박민경* · 이영재¹ · 강은실

청운대학교 식품영양학과, ¹제주대학교 수의학과

Hepatoprotective Effect of *Cheonnyuncho* (*Opuntia humifusa*) Extract in Rats Treated Carbon Tetrachloride

Min-Kyung Park*, Young-Jae Lee¹, and Eun-Sil Kang

Department of Human Nutrition and Food Science Chungwoon University

¹Department of Veterinary Medicine, Cheju National University

Effect of *Cheonnyuncho* extract on the liver injury of rats treated carbon tetrachloride (CCl₄) was studied. *Cheonnyuncho* extract was administered at dose of 0.5 and 1 g/kg/day, p.o. for 2 weeks. CCl₄ was treated at dose of 0.5 mL/kg, i.p. 3 hours later from the last pretreatment of *Cheonnyuncho* extract. Administration of *Cheonnyuncho* extract at a dose of 1 g/kg decreased serum AST, ALT and ALP activities by 36, 41, and 22% respectively compared to CCl₄ treatment group. Increased lipid peroxidation and decreased SOD and GST activities were also recovered by pretreatment of *Cheonnyuncho* extract in liver of rats. These results suggest that *Cheonnyuncho* extract has hepatoprotective effect against liver injury.

Key words: *Cheonnyuncho*, liver, CCl₄, AST, ALT, antioxidant enzymes

서 론

최근 손바닥 선인장의 다양한 생리, 약리학적 효과가 과학적으로 입증되고 있다. Lee 등(1)은 손바닥 선인장의 성분 특성을 조사하여 주성분인 가용성 무질소물, 주요 무기질 및 아미노산 성분을 밝혔다. 또한 열매와 줄기에 각각 163.8과 71.2 mg%의 비타민 C가 함유되어 있으며 총 폴리페놀 화합물이 국내산 식물성 식품과 비교하여 상당히 높은 것으로 보고하였다. Park 등(2)은 손바닥선인장 에탄올 추출물 및 추출물 분획이 carrageenan 부종법 및 acetic acid를 이용한 진통실험에서 항염증 및 진통억제 효과가 있는 것으로 보고하였다. Wie(3)는 활성산소 및 아라키돈산으로 유도된 생쥐 뇌의 글리아 및 신경세포 손상에 대해 손바닥선인장 열매 추출물이 우수한 보호효과 있음을 보고하였다. Moon 등(4)은 손바닥 선인장의 에탄올 추출물이 대식세포를 자극하여 IL-1 beta, IL-6, TNF-alpha의 분비를 유도하며 배양 림프구의 증식을 촉진하여 면역계를 활성화할 수 있음을 시사하였다. Lee 등(5)은 손바닥 선인장 줄기 및 열매 추출물이 DPPH 라디칼에 대한 소거활성 및 tyrosinase

의 억제작용이 있어 화장품 첨가제로 활용될 수 있음을 시사하였다. 다양한 화학물질로 유도된 위점막 손상에 대한 보호효과(6), alloxan 및 streptozotocin 유도 당뇨병 모델 동물에서 혈당강하 효과(7), 선인장에서 분리된 플라보노이드의 신경보호효과(8), 혈청 LDL 콜레스테롤 저하효과(9) 등도 보고되었다.

이상에서 보고된 다양한 효능, 효과를 고려할 때 손바닥 선인장은 건강증진을 위한 기능성 식품 및 약품 소재로 연구, 개발할 가치가 높은 것으로 사료된다. 멕시코와 미국 등지에서는 요리 재료로 사용하거나 쟈, 젤리, 주스, 기타 가공품으로 식용하고 있으며 건강기능식품으로도 개발하였다. 한국에서는 제주도에서 자생 또는 경작되어 다류 등의 가공식품으로 이용되고 있다. 한편, 천년초(*Opuntia humifusa*)는 충남 아산지역에서 대량 재배되는 선인장으로 제주도의 백년초가 길고 굵은 가시가 많고 1-2m까지 자라는 반면 솜털 가시를 가지며 약 30cm로 자란다. 여름에는 물을 가까이하여 성장 번식하고 휴면기인 겨울에는 비닐하우스가 없는 노지에서도 생존하며 병충해에 강한 특징을 지니고 있다. 본 연구에서는, 천년초의 생리활성을 밝히기 위한 일환으로 천년초 줄기 추출물의 전처치가 사염화탄소(CCl₄)로 유발된 간 손상에 미치는 영향을 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

실험재료

Thiobarbituric acid, 1,1,3,3-tetraethoxypropane, epinephrine,

*Corresponding author: Min-Kyung Park, Dept. of Human Nutrition and Food Science, Chungwoon University, San 29 Namjang-Ri, Hongsung-Eup, Hongsung-Kun, Chungnam Korea
Tel: 82-41-630-3241
Fax: 82-41-634-8740
E-mail: mkpark@chungwoon.ac.kr

hydrogenperoxide, glutathion(GSH), GSH-reductase, NADPH, t-butylhydroperoxide, 1-chloro-2,4-dinitrobenzene, indoxyl-β-D-glucuronide(IBG), vitamin C, folin-ciocalteu reagent, gallic acid는 Sigma(St. Louis, USA) 제품을 사용하였다. 단백질 시약은 Bio-Rad(Hercules, CA, USA) 제품을 기타 시약은 일반 특급시약을 사용하였다. 천년초는 (주)천년초(아산, 충청남도)에서 재배한 것을 사용하였다.

천년초 추출물은 천년초 줄기를 동결건조하여 분쇄하고 20 배의 증류수(w/v)를 가한 후 100°C에서 10시간 증탕하여 추출하였다. 추출물을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하고 상등액을 실험동물에 처치하였다.

실험동물 및 처치

실험동물은 무게 120 g 전후의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 (주)오리엔트(가평, 경기도)로부터 구입하여 일주일간 온도 20±3°C, 상대습도 50±10%, 12시간 명암주기의 실험실 환경에 순화시킨 후 사용하였다. 사료는 (주)푸리나코리아의 흰쥐사료를 사용하였으며 음용수는 자외선 살균한 물을 자유섭취 시켰다. 천년초 추출액은 건조고형분량을 측정하고 1 g/kg 및 0.5 g/kg 체중이 되는 양을 일정시간에 1일 1회 14일 동안 경구투여 하였다(Table 1). 이때 각 군에서 투여 용량이 일정하도록 증류수를 이용하여 추출액의 농도를 조절하였으며 대조군과 CCl₄ 군은 14일 동안 증류수를 경구투여 하였다. CCl₄는 올리브유로 희석하여(1:4) 0.5 mL/kg 체중이 되도록 시료 마지막 투여 종료 3시간 후에 대조군을 제외한 모든 군에 복강주사 하였다. CCl₄ 투여 24시간 후 ether로 마취시키고 개복하여 복부 대동맥에서 혈액을 채취 하였으며 간은 적출하여 생리식염수로 세척한 뒤 -70°C에 보관하며 분석에 사용하였다.

혈청 AST, ALT 및 ALP 활성 측정

AST(aspartate aminotransferase), ALT(alanine aminotransferase) 및 ALP(alkaline phosphatase) 활성은 혈액을 상온에서 15분간 방치한 뒤 3,000 rpm, 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하고 kit((Daiichi Pure Chemicals Co., Ltd, Tokyo, Japan)를 사용하여 혈액자동분석기(Hitachi 700-110, Tokyo, Japan)로 측정하였다.

지질과산화 반응 측정

간 조직을 0.15 M-KCl 용액을 이용하여 10%-균질액을 만들고 Mihara 등(10)의 방법으로 Thiobarbituric acid reactive substances(TBARS)를 측정하였다.

항산화 효소 활성 측정

간조직을 0.25 M-sucrose 용액으로 균질화하고 600×g에서 10분간 원심분리한 후 상등액을 효소원으로 사용하였다. Superoxide dismutase(SOD) 활성은 epinephrine의 자동산화를 이용한 방법으로 측정하였다(11). 결과는 epinephrine의 자가 산화율을 50% 억제하는 효소 활성도를 1 단위로 하여 unit/mg protein으로 나

Table 1. Experimental groups

Group	Treatments
Control	Saline
CCl ₄	CCl ₄ (0.5 ml/kg, i.p., 24 hours)
CNC-0.5	CCl ₄ + <i>Cheonmyuncho</i> extract (0.5 g/kg, p.o., 2 weeks)
CNC-1	CCl ₄ + <i>Cheonmyuncho</i> extract (1 g/kg, p.o., 2 weeks)

타내었다. Catalase(CAT) 활성은 Claiborn(12)의 방법에 따라 240 nm에서 H₂O₂의 소모율을 측정하고 μmol/min/mg protein으로 계산하였다. GSH-Peroxidase(GSH-Px) 활성은 340 nm에서 NADPH의 감소를 측정하여 nmol/mni/mg protein으로 표시하였다(13). GSH-S-transferase(GST) 활성은 Habig(14)의 방법으로 측정하고 nmol CDNB/min/mg protein으로 나타내었다.

Hydroxyl radical(OH 라디칼) 소거활성 측정

Fenton 반응(FeSO₄/H₂O₂)에 의해 OH 라디칼을 발생시키고 OH 라디칼에 특이적으로 반응하는 indoxyl-β-D-glucuronide를 발광제로 사용하여 화학발광기(Microtiterplate Luminometer, EG&G BertholdLB96P, Germany)로 측정하였다(15). 활성정도는 vitamin C의 활성 능력과 비교하여 mole vit. C eq/g으로 표시하였다.

총 페놀함량 측정

총 페놀 화합물의 함량 측정은 folin-ciocalteu 시약으로 페놀 화합물을 발색시키고 분광광도계로 측정하였다(16). 결과는 표준물질로 gallic acid를 사용하여 mg/g으로 표시하였다.

단백질 측정

간 조직 균질액의 단백질은 Bio-Rad 시약을 사용하여 측정하였다(17).

통계처리

결과는 평균±SD로 나타내었으며, 통계적 유의성은 ANOVA와 Tucky test로 검증하였다.

결과 및 고찰

혈청 AST, ALT 및 ALP 활성

Table 2에서와 같이 사염화탄소를 처치한 군의 혈청 AST, ALT 및 ALP의 활성은 대조군과 비교하여 각각 4.3, 4.7 및 1.2 배 증가하였다. 반면, 천년초 줄기 추출물을 1g/kg 투여한 군의 AST, ALT 및 ALP의 활성은 CCl₄ 군과 비교하여 각각 약 36%, 41% 및 22% 감소하였다. 천년초 줄기 추출물을 0.5 g/kg 투여한 군의 AST, ALT 및 ALP의 활성도 CCl₄ 군과 비교하여 감소하는 경향을 보이거나 통계적 유의성은 없는 것으로 나타났다. 즉, 사염화탄소에 의해 간 손상의 지표로 사용되는 효소의 활성이 증가되었으며 천년초 줄기추출물의 전처치에 의해 활성 증가가 억제되는 결과를 보였다. 사염화탄소는 cytochrome P₄₅₀ 502E1에 의해 활성화되어 trichloromethyl radical(CCl₃ 라디칼)로 대사된다. 생성된 CCl₃ 라디칼은 핵산, 단백질, 지질 등의 세포성분과 결합하여 세포기능을 손상시키며 지단백의 분비를

Table 2. Effects of *Cheonmyuncho* extract on serum AST, ALT and ALP activities in CCl₄ intoxicated rats

Group ¹⁾	AST (U/L)	ALT (U/L)	ALP (U/L)
Control	170.4 ± 26.7 ^{a2)}	46.0 ± 2.5 ^a	966.8 ± 103.4 ^a
CCl ₄	738.4 ± 60.4 ^b	217.0 ± 20.9 ^b	1210.8 ± 160.1 ^b
CNC-0.5	684.0 ± 92.1 ^b	171.2 ± 26.5 ^{bc}	1034.0 ± 116.4 ^{ab}
CNC-1	466.8 ± 108.5 ^c	127.6 ± 35.4 ^c	938.8 ± 156.6 ^a

¹⁾Refer to Table 1.

Values are the mean ± SD.

²⁾Values with different superscripts within the same column are significantly different at p < 0.05 by the Tucky test.

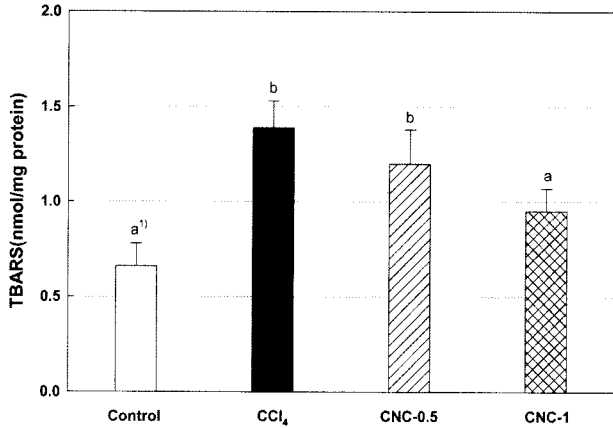


Fig. 1. Effect of *Cheonnyuncho* extract on hepatic lipid peroxidation in CCl₄ intoxicated rats.

Group; refer to Table 1. Values are the mean ± SD. ¹⁾Values with different alphabets are significantly different at $p < 0.05$ by the Tucky test.

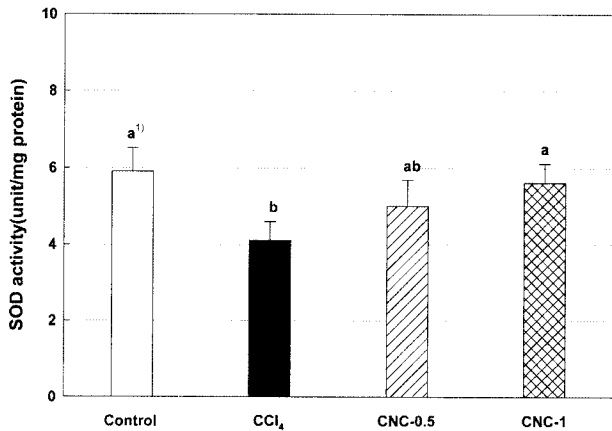


Fig. 2. Effect of *Cheonnyuncho* extract on hepatic SOD activity in CCl₄ intoxicated rats.

Group; refer to Table 1. Values are the mean ± SD. ¹⁾Values with different alphabets are significantly different at $p < 0.05$ by the Tucky test.

방해하여 지방간을 유발하거나 산소와 반응하여 trichloromethylperoxy radical(CCl₃OO 라디칼)을 생성하고 지질과산화 반응을 개시하여 미토콘드리아, 소포체 및 세포막의 투과성에 영향을 미치고 칼슘을 유출시키므로 세포파괴 등 심각한 손상을 초래한다(18). 이외에도 사염화탄소는 다양한 기전으로 세포독성을 나타내므로(19) 간 손상 작용기전 및 간 보호물질을 연구하기 위해 사용되고 있다.

간의 지질과산화 반응 및 항산화 효소 활성

사염화탄소의 투여에 의해 지질 과산화반응 산물인 TBARS가 유의적으로 증가하였으며 천년초 추출물을 1 g/kg으로 전처치한 군에서는 CCl₄ 군과 비교하여 약 42%의 감소를 보였다(Fig. 1). 천년초 추출물을 0.5 g/kg으로 투여한 군에서도 CCl₄ 군과 비교하여 TBARS가 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다. 간세포의 항산화 효소활성을 측정된 결과, Fig. 2에서 보는 것과 같이 사염화탄소에 의해 SOD가 유의적으로 감소하였으며 1 g/kg의 천년초 추출물의 전처치로 감소된 SOD가 회복되는 결과를 보였다. 그러나 CAT의 활성은 사염화탄소에 의해

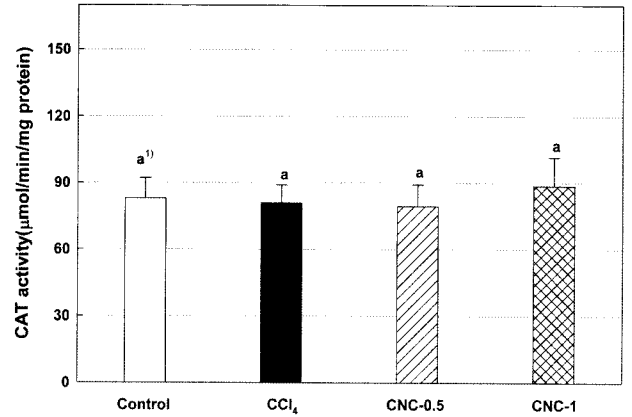


Fig. 3. Effect of *Cheonnyuncho* extract on hepatic CAT activity in CCl₄ intoxicated rats.

Group; refer to Table 1. Values are the mean ± SD. ¹⁾Values with different alphabets are significantly different at $p < 0.05$ by the Tucky test.

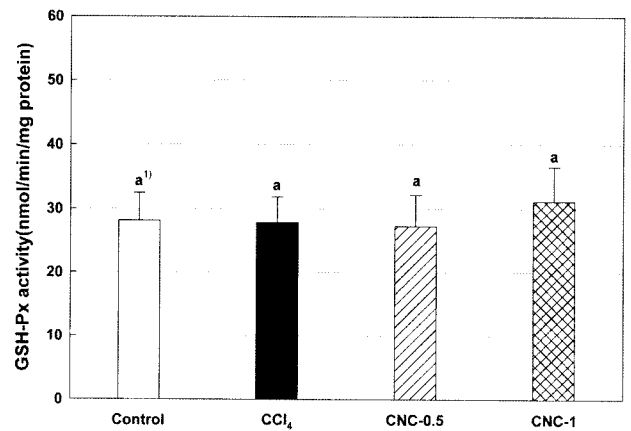


Fig. 4. Effect of *Cheonnyuncho* extract on hepatic GSH-Px activity in CCl₄ intoxicated rats.

Group; refer to Table 1. Values are the mean ± SD. ¹⁾Values with different alphabets are significantly different at $p < 0.05$ by the Tucky test.

변화를 보이지 않았다(Fig. 3). GSH-Px 또한 사염화탄소의 처치에 의해 변화가 없는 것으로 나타났다(Fig. 4). GST의 경우 Fig. 5에서처럼 사염화탄소에 의해 활성이 유의적으로 감소하였으며 1 g/kg의 천년초 추출물의 전처치에 의해 회복되는 결과를 보였다.

사염화탄소에 의해 유발된 세포손상에 있어서 지질과산화 반응은 중요한 역할을 하는데(18), 이는 CCl₃OO 라디칼에 의해서 뿐만 아니라 사염화탄소에 의해 활성화된 Kupffer 세포와 호중구에 의한 활성산소 생성이 원인일 수 있다(19). 과다하게 생성된 활성산소는 세포의 항산화제 균형에 영향을 미치고 그로 인해 지질과산화 반응 등 산화적 스트레스를 유발할 수 있는데 사염화탄소 처치 후의 항산화 효소 활성은 다양한 양상을 보이고 있다. Superoxide anion을 과산화수소로 전환시켜 활성산소로부터 세포를 보호하는 SOD의 경우, 사염화 탄소 처치 후 감소하거나(20-23) 변화가 없다는 보고가 있다(24). H₂O₂를 물과 산소로 환원하는 CAT는 사염화탄소 처치 후 감소(20-23)하거나 증가하였다(24). GSH-Px는 지질과산화물(ROOH)을 환원하므로 산화적 스트레스로부터 보호 기능을 하는 효소이다.

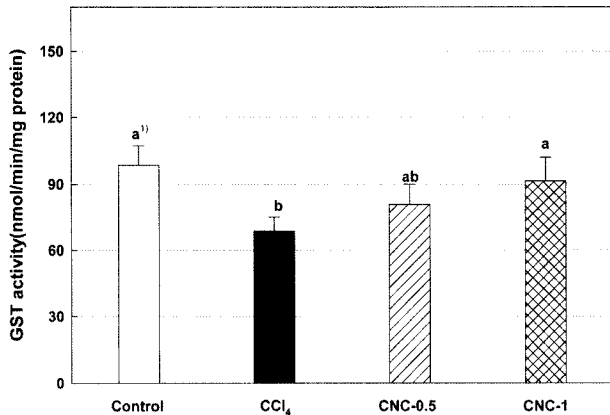


Fig. 5. Effect of *Cheonnyuncho* extract on hepatic GST activity in CCl₄ intoxicated rats.

Group; refer to Table 1. Values are the mean ± SD. ¹⁾Values with different alphabets are significantly different at *p* < 0.05 by the Tucky test.

Table 3. Content of total phenolics and hydroxyl radical scavenging activity of *Cheonnyuncho* extract

Total phenolics (mg/g dry wt)	OH · scavenging activity (μmol vit. C eq/g dry wt)
5.72 ± 0.80	132.24 ± 1.65

Values are the mean ± SD.

GSH-Px의 활성도 사염화탄소 처치에 의해 감소(21,22), 증가(23) 또는 변화가 없는(24) 다양한 결과가 보고되었다. GST는 약물대사 제2상 반응 효소로 친전자성 이물질 대사산물과 GSH의 포합을 촉매한다. 뿐만 아니라 GST는 지질과산화물을 환원하는 peroxidase의 활성이 있는 것으로도 보고되었다(25). 한편, 사염화탄소의 처치에 의해 간의 GST 활성은 감소되며 혈장에서의 활성은 증가하는데 이는 간 손상으로 인해 GST가 혈장으로 유출되기 때문인 것으로 보고되었다(26). 이로 인해, 혈장 GST는 AST 보다 사염화탄소의 간독성을 더욱 민감하고 정확하게 나타내주는 지표로 제시되었다(27). 항산화 효소는 활성산소의 과다 생성에 의해 고갈될 수 있는 한편 화학물질에 의해 합성이 유도되기도 하므로(28,29) 독성물질의 처치량, 기간 및 기타의 실험조건에 의해 다양한 결과를 보일 수 있다. 따라서 항산화 효소활성의 증감은 세포의 homeostasis의 차원에서 비 효소 형태의 항산화제를 포함한 총체적인 방어시스템의 변화와 함께 비교 해석되어야 할 것이다.

천년초 추출물의 OH 라디칼 소거활성 및 총페놀 함량

천년초 줄기 추출물은 Table 3에 나타난 것과 같이 총 페놀 화합물의 함량이 6.52 mg/g이며 132.2 μmol vit. C eq/g의 OH 라디칼 소거활성을 나타내었다.

사염화탄소로부터 간손상을 예방하는 물질의 작용기전에 관한 선행연구결과를 보면, silymarin은 항산화제로 작용하며 사염화탄소의 대사 중간산물이 간세포 지질에 결합하는 것을 억제하므로 간세포의 괴사를 감소하거나 소포체의 일산화 효소(monooxygenases)활성을 억제하므로 손상을 예방하는 것으로 보고되었다(30). 비타민 E도 지질과산화 반응을 억제하는 항산화제로 사염화탄소로부터 간세포를 보호한다(31). 홍삼 사포닌은 cytochrome P4502E1의 활성을 저해하므로 간에 대한 보호 작용을 나타내는 것으로 보고되었다(32). 즉, 사염화탄소로부터

간손상을 예방하는 물질은 대사 활성화 효소를 억제하거나 항산화 활성을 통해 간세포를 보호하는 것으로 알려지고 있다. 천년초 추출물이 어떠한 기전을 통해 사염화탄소로 유도된 간독성을 예방하는가에 대하여는 향후 연구가 요구되나 폐놀성 물질에 의한 OH 라디칼 소거 활성이 사염화탄소에 의한 항산화 효소 활성감소 및 지질과산화 반응 증가를 억제하므로 간세포 손상을 감소시키는 한 요인으로 작용하였을 것으로 추정된다.

결론적으로, 1 g/kg의 천년초 줄기 추출물의 투여는 CCl₄ (0.5 mL/kg)에 의한 혈청 AST, ALT 및 ALP 증가를 효과적으로 억제하였으며, 간의 지질과산화 반응을 감소시키고 SOD 및 GST의 활성을 회복시켰다. 이러한 결과는 천년초 줄기 추출물이 사염화탄소로 부터 간손상을 예방하는 효과가 있음을 보여주고 있다.

요 약

본 연구에서는 천년초 줄기 물추출물의 전처치가 사염화탄소로 유발한 흰쥐의 간손상에 대해 보호효과를 나타내는지 알아보고자 하였다. 천년초 추출액은 건조 고형분량을 측정하고 1 g/kg 및 0.5 g/kg 체중이 되는 양을 일정시간에 1일 1회 14일 동안 경구투여 하였다. CCl₄는 올리브유로 희석하여(1:4) 0.5 ml/kg 체중이 되도록 시료 마지막 투여 종료 3시간 후에 대조군을 제외한 모든 군에 복강주사하였다. 사염화탄소 처치에 의해 혈청 AST, ALT 및 ALP 활성이 대조군과 비교하여 각각 4.3, 4.7 및 1.2배 증가하였다. 반면, 천년초 줄기 추출물을 1 g/kg 투여한 군의 AST, ALT 및 ALP의 활성은 CCl₄ 군과 비교하여 각각 약 36%, 41% 및 22% 감소하였다. 사염화탄소에 의해 간의 지질과산화 반응이 증가하였으며 SOD 및 GST 활성이 감소하였다. 1 g/kg의 천년초 줄기 추출물의 투여는 간의 지질과산화 반응을 감소시키고 SOD 및 GST의 활성을 회복시키는 결과를 보였다. 또한, 천년초 줄기 추출물은 132.2 μmol vit. C eq/g의 OH 라디칼 소거활성을 나타내었으며 페놀화합물의 함량이 6.52 mg/g이다. 이러한 결과는 천년초 줄기 추출물의 항산화 활성 및 사염화탄소로 부터 간손상을 예방하는 효과가 있음을 보여주고 있다.

감사의 글

본 연구의 일부는 청운대학교 학술연구조성비 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Lee YC, Hwang KH, Han DH, Kim SD. Compositions of *Opuntia ficus-indica*. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 847-853 (1997)
2. Park EH, Hwang SE, Kahng JH. Anti-inflammatory activity of *Opuntia ficus-indica*. J. Pharmacol. Soc. Korea 42: 621-626 (1998)
3. Wie MB. Protective effect of *Opuntia ficus-indica* and *Saururus Chinensis* on free radical induced neuronal injury in mouse cortical cell cultures. J. Pharmacol. Soc. Korea 44: 613-619 (2000)
4. Moon CJ, Kim SJ, Ahn MJ, Lee SJ, Park SJ, Jeong KS, Yoon DY, Choe YK, Shin TK. Effect of *Opuntia ficus-indica* extract on immune cell activation. Korean J. Life Sci. 10: 362-364 (2000)
5. Lee NH, Yoon JS, Lee BH, Choi BW, Park KH. Screening of the radical scavenging effects, tyrosinase inhibition and anti-allergic activities using *Opuntia ficus-indica*. Korean. J. Pharmacogn. 31: 412-415 (2000)

6. Lee EB, Hyun JE, Li DW, Moon YI. Effect of *Opuntia ficus-indica* var. saboten stem on gastric damages in rats. Arch. Pharmacol. Res. 25: 67-70 (2002)
7. Shin J, Han MJ, Lee YC, Moon YI, Kim DH, Han MJ, Lee YC, Moon YI, Kim DH. Antidiabetic activity of *Opuntia ficus-indica* var. saboten on db/db mice. Korean. J. Pharmacogn. 33: 332-336 (2002)
8. Dok-Go H, Lee KH, Kim HJ, Lee EH, Lee J, Song YY, Lee YH, Jin C, Lee YS, Cho J. Neuroprotective effects of antioxidative flavonoids, quercetin, (+)-dihydroquercetin and quercetin 3-methyl ether, isolated from *Opuntia ficus-indica* var. saboten. Brain Res. 965: 130-136 (2003)
9. Cardenas Medellin ML, Serna Saldivar SO, Velazco de la Garza J. Effect of raw and cooked nopal (*Opuntia ficus-indica*) ingestion on growth and profile of total cholesterol, lipoproteins, and blood glucose in rats. Arch. Latinoam. Nutr. 48: 316-323 (1998)
10. Mihara M, Uchiyama M, Fukuzawa K. Thiobarbituric acid value on fresh homogenate of rat as a parameter of lipid peroxidation in aging, CCl₄ intoxication and vitamin E deficiency. Biochem. Med. 23: 302-311 (1980)
11. Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. J. Biol. Chem. 247: 3170-3175 (1972)
12. Claiborne A. Catalase activity. In CRC Handbook of Method for Oxygen Radical Research. Greenwald RA (ed). CRC Press Inc. Florida, USA. pp. 283-284 (1986)
13. Del Maestro RF, McDonald W. Oxidative enzyme in tissue homogenates. In CRC Handbook of Method for Oxygen Radical Research. Greenwald RA (ed). CRC Press Inc. Florida, USA. pp. 291-296 (1986)
14. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferase. J. Biol. Chem. 249: 7130-7139 (1974)
15. Tsai CH, Stern A, Chiou JF, Chern CL, Liu TZ. Rapid and specific detection of hydroxyl radical using an ultra-weak chemiluminescence analyzer and low-level chemiluminescence emitter: Application to hydroxyl radical-scavenging ability of aqueous extracts of food constituents. J. Agric. Food Chem. 49: 2137-2141 (2001)
16. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. Methods Enzymol. 299: 152-178 (1999)
17. Bradford MM. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72: 248-254 (1976)
18. Weber LW, Boll M, Stampfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. Crit. Rev. Toxicol. 33: 105-136 (2003)
19. Edwards MJ, Keller BJ, Kauffman FC, Thurman RG. The involvement of Kupffer cells in carbon tetrachloride toxicity. Toxicol. Appl. Pharmacol. 119: 275-279 (1993)
20. Ohta Y, Kongo-Nishimura M, Matsura T, Yamada K, Kitagawa A, Kishikawa T. Melatonin prevents disruption of hepatic reactive oxygen species metabolism in rats treated with carbon tetrachloride. J. Pineal Res. 36: 10-17 (2004)
21. Jung SH, Lee YS, Lim SS, Lee S, Shin KH, Kim YS. Antioxidant activities of isoflavones from the rhizomes of *Belamcanda chinensis* on carbon tetrachloride-induced hepatic injury in rats. Arch. Pharm. Res. 27: 184-188 (2004)
22. Chidambara Murthy KN, Jayaprakasha GK, Singh RP. Studies on antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel extract using *in vivo* models. J. Agric. Food Chem. 50: 4791-4795 (2002)
23. Hsiao G, Shen MY, Lin KH, Lan MH, Wu LY, Chou DS, Lin CH, Su CH, Sheu JR. Antioxidative and hepatoprotective effects of *Antrodia camphorata* extract. J. Agric. Food Chem. 51: 3302-3308 (2003)
24. Szymonik Lesiuk S, Czechowska G, Stryjecka-Zimmer M, Slomka M, Madro A, Celinski K, Wielosz M. Catalase, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase activities in various rat tissues after carbon tetrachloride intoxication. J. Hepatobiliary Pancreat Surg. 10: 309-315 (2003)
25. Yang Y, Sharma R, Zimniak P, Awasthi YC. Role of alpha class glutathione S-transferase as antioxidant enzymes in rodent tissues. Toxicol. Appl. Pharmacol. 182: 105-115 (2002)
26. Igarashi T, Muramatsu H, Ohmori S, Ueno K, Kitagawa H, Satoh T. Plasma glutathione S-transferase in carbon tetrachloride treated rats and its association to hepatic cytosolic isozymes. Jpn. J. Pharmacol. 46: 211-216 (1988)
27. Clarke H, Egan DA, Heffernan M, Doyl S, Byrne C, Kilty C, Ryan MP. Alpha-glutathione S-transferase (alpha-GST) release, an early indicator of carbon tetrachloride hepatotoxicity in the rat. Hum. Exp. Toxicol. 16: 154-157 (1997)
28. Cao Z, Li Y. The chemical inducibility of mouse cardiac antioxidants and phase 2 enzymes *in vivo*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 317: 1080-1088 (2004)
29. Kono Y, Okada S, Tazawa Y, Kanzaki S, Mura T, Ueta E, Nanba E, Otsuka Y. Response of anti-oxidant enzymes mRNA in the neonatal rat liver exposed to 1,2,3,4-tetrachlorobenzo-p-dioxin via lactation. Pediatr. Int. 44: 481-487 (2002)
30. Lettern P, Labbe G, Degott C, Berson A, Fromenty B, Delaforge M, Larrey D, Pessayre D. Mechanism for the protective effects of silymarin against carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation and hepatotoxicity in mice. Evidence that silymarin acts both as an inhibitor of metabolic activation and as a chain-breaking antioxidant. Biochem. Pharmacol. 39: 2027-2034 (1990)
31. Biasi F, Albano E, Chiarpotto E, Corongiu FP, Pronzato MA, Maranari UM, Parola M, Dianzani MU, Poli G. *In vivo* and *in vitro* evidence concerning the role of lipid peroxidation in the mechanism of hepatocyte death due to carbon tetrachloride. Cell Biochem. Funct. 9: 111-118 (1991)
32. Kim HJ, Chun YJ, Park JD, Kim SI, Roh JK, Jeong TC. Protection of rat liver microsomes against carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation by red ginseng saponin through cytochrome P450 inhibition. Planta Med. 63: 415-418 (1997)

(2005년 6월 19일 접수; 2005년 9월 12일 채택)