

## 알코올로 유발된 흰쥐의 간손상에 대한 연근 추출물의 간 보호효과

이재준 · 박세영 · 이유미 · 이명렬<sup>†</sup>  
조선대학교 식품영양학과

### Protective Effects of Lotus Root (*Nelumbo nucifera* G.) Extract on Hepatic Injury Induced by Alcohol in Rats

Jae-Joon Lee, Se-Young Park, Yu-Mi Lee and Myung-Yul Lee<sup>†</sup>  
Department of Food and Nutrition, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

#### Abstract

This study investigated the hepatoprotective effects of an ethanol extract of lotus root (LRE) on alcohol-induced liver damage in rat. Sprague-Dawley rats weighing 100~150 g, were divided into 6 groups: basal diet group (BD), alcohol (35%, 10 mL/kg/day) treated group (ET), LRE 200 mg/kg/day treated group (BD-LREL), LRE 400 mg/kg/day treated group (BD-LREH), LRE 200 mg/kg/day and alcohol treated group (ET-LREL), and LRE 400 mg/kg/day and alcohol treated group (ET-LREH). After the administration, rats were sacrificed to get serum and liver to analyze antioxidant enzyme activity, glutathione and lipid peroxide contents. The body weight gain and feed efficiency ratio were decreased by alcohol administration, however, were gradually increased to a little lower level than the basal diet group by the combined administration of alcohol and LRE. The serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and alkaline phosphatase (ALP) activities that were elevated by alcohol were significantly decreased by LRE administration. It was also observed that thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) content, xanthine oxidase (XO), superoxide dismutase (SOD), catalase and glutathione peroxidase (GSH-Px) activities in liver that were increased by alcohol, were markedly decreased in the combined alcohol and LRE administered groups as compared with the alcohol administrated group. These effects of LRE within the alcohol groups were in a dose-dependent manner. The glutathione (GSH) content in liver was decreased by alcohol administration, however, increased after administering LRE. Taken together, these results suggest that ethanol extract of lotus root may have a possible protective effect on liver function in hepatotoxicity-induced rat by alcohol administration.

**Key words :** alcohol, hepatotoxicity, antioxidative enzymes, glutathione

#### 서 론

최근 경제수준이 향상됨에 따라 알코올의 만성적 혹은 과량 섭취로 인한 간 질환을 포함한 알코올과 관련된 만성 퇴행성 질환의 발병이 사회 문제화 되고 있다(1). 알코올은 간에서 분해되면 acetaldehyde를 생성하게 되고 생성된 acetaldehyde는 혈액을 통해 간 이외의 조직으로 운반되어 에너지 생성에 이용될 뿐만 아니라 간에서 주로 지방산 합성에 이용되기 때문에 과량의 알코올 섭취는 지방간의

원인이 된다(2). 과량 섭취된 알코올은 그 대사산물인 acetaldehyde에 의해 free radical을 생성하여 지질과산화물을 형성하고 그로 인해 간세포 파괴 및 섬유화에 관여한다고 알려져 있다(1,2).

이들 알코올 대사산물이 인체 내에서 제거되지 못하면 산화적 스트레스(oxidative stress)를 유발하게 된다(3). 산화적 스트레스는 생체막의 필수 구성성분인 불포화지방산의 탄소사슬을 공격하여 microsome, mitochondria, ribosome의 막을 손상시킨다. 이로 인해 지질과산화물의 생성을 유도하고 단백질, 세포막 및 DNA 등을 손상시켜 유전자의 변형을 초래하고 암을 비롯한 Alzheimer 질환, Parkinson씨

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

병, 본태성 고혈압, 동맥경화증, 뇌졸중, 협심증, 심근경색, 당뇨병 등 각종 질환의 원인이 된다(4).

따라서 항산화물질의 섭취나 항산화효소 활성 증가 등으로 체내 항산화를 증진시키는 것은 누적되는 산화적 손상에 대항하기 위해서 매우 중요한 것으로 보고(5-7)되고 있으며, 더불어 항산화물질을 함유한 천연 자원에 대한 관심도 증가되고 있다. 이로 인하여 생체 내 free radical의 생성을 억제하는 것이 질병예방을 위한 중요한 과제로 대두되고 있으며, 항산화물질에 대한 연구(5-7)가 다양하게 수행되고 있다.

연 (*Nelumbo nucifera*)은 연못이나 깊은 늪지에서 자라는 수련과 연속의 다년생 초본식물로, 뿌리인 연근 (*Nelumbo nucifera* Gaertn.(root))은 주로 식용으로 쓰이나 연잎, 연꽃, 연자육과 같이 약용으로도 널리 쓰여 지고 있다(8). 예로부터 연근은 연근정과, 연근찜, 연근전, 연근죽 등의 요리에도 널리 사용하고, 생식도 가능하며 생 연근을 박리하고 세절하여 건조시킨 후 분말화한 다음 밀가루와 혼용하거나 차로 이용하고 전분제조에도 이용하였다(9). 연근의 주성분은 탄수화물로 수용성 식이섬유소가 풍부하여 체내 콜레스테롤 함량을 저하시키는 작용과 변비 및 비만 예방효과가 있는 것으로 알려져 있다(10). 비타민 C도 다량 함유하고 있는데 연근 자체의 주성분인 탄수화물이 비타민 C를 보호하고 있어 쉽게 파괴되지 않는 장점이 있다. 연근에는 lecithine도 풍부하게 함유하고 있는데, lecithine은 유화력이 있기 때문에 혈관 벽에 콜레스테롤이 침착하는 것을 예방하고, 신경전달물질인 acetylcholine을 생성하여 기억력 감퇴 억제효과가 있으며 치매예방효과도 알려져 있다(11). 연근은 절단하면 실과 같은 끈끈한 점액이 나오는데 이는 당단백질의 일종인 뮤신 (mucin)으로 콜레스테롤 저하작용, 위벽보호 및 해독작용을 하는 것으로 보고되었다(12). 또한 연근에는 칼륨 함량이 높아 고혈압 환자에게 좋은 식품 재료로 알려져 있으며, 항산화물질로 알려진 polyphenol류를 다량 함유하고 있는 것으로 보고되었다(13).

연근에 대한 연구는 연근의 영양성분 및 생리활성분 분석(8,10), 연근의 갈변현상(14), 연근을 이용한 조리방법에 관한 연구(15,16), 연근전분의 특성(8) 등이 주로 수행되었으며, 연근의 생리활성성분의 효능에 관한 연구로는 뇌혈류량을 증가시키고 혈압을 강하시키는 작용(17), 당뇨병 예방효과(18), 스트레스 억제효과(19), 항암 및 신장보호 효과(20), 심혈관계 질환 예방효과(21) 등이 보고되었다. 연근의 항산화활성에 관한 연구는 in vitro에서 연근 추출물의 항산화효과와 7종의 flavonoids계통 항산화물질을 분리하여 보고(22)하였으나, 동물실험을 통한 체계적인 항산화 효능 검증에 관한 연구 보고는 미진한 편이다.

따라서 본 연구에서는 연근이 흰쥐의 항산화체계에 미치는 영향을 검토하기 위하여 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐에게 연근 에탄올 추출물 및 알코올을 6주간 경구 투여한

후 알코올 투여로 유도된 간세포 손상에 미치는 영향을 검토하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 연근 추출물 제조

연근 (*Nelumbo nucifera* G.)은 2003년 4월 전남 무안에서 채배되어 시판되고 있는 것을 구매하여 수세하고 음건한 다음 Waren blender (Braun MR 350. CA. USA)로 조분쇄하여 시료로 사용하였다. 검색용 생리활성 물질은 건조 시료 100 g 당 80% 에탄올 500 mL을 첨가한 후 환류냉각관을 부착한 65°C의 heating mantle에서 3시간 동안 3회 추출한 다음 여과지 (Whatman No. 2)로 여과하였다. 이것의 일부를 110°C에서 건조시킨 후 고형분 함량을 추출물 수율로 계산한 다음 시료의 산화방지를 위하여 -70°C에 냉동 보관하면서 사용하였다.

### 실험동물 사육

실험동물은 평균 체중 80~100 g 정도의 Sprague Dawley 계 5주령 수컷 흰쥐를 조선대학교 실험동물센터에서 1주일 동안 일반 배합사료로 적응시킨 후, 난괴법 (randomized block design)에 따라 각 처리 군 당 8마리씩 6군으로 나누어 플라스틱 케이지 (cage)에 1마리씩 분리하여 6주간 사육하였다. 물과 식이는 제한 없이 공급하였고 사육실 온도는 18±2°C로 유지하였으며 조명은 12시간 주기 (08:00~20:00)로 조절하였다. 실험 전 기간 동안 동물의 상태를 관찰하면서 체중은 매일 같은 시각에 측정하였으며, 최종 체중에서 실험개시 전의 체중을 감하여 체중증가량을 표시하였다. 식이섭취량은 1주일 간격으로 같은 시각에 측정하였으며 사육기간의 체중증가량을 동일 기간의 식이섭취량으로 나누어 각 실험군의 식이효율 (feed efficiency ratio, FER)을 구하였다.

### 실험설계 및 실험식이

기본식이의 조성은 AIN-93 정제사료 조성(23)에 의거하여 Table 1과 같이 조제하였다. 연근 에탄올 추출물의 투여 용량은 예비실험을 토대로 저용량 투여군은 1일 흰쥐 체중 kg 당 200 mg과 고용량 투여군은 1일 흰쥐 체중 kg 당 400 mg을 투여하였다. 실험군은 Table 2와 같이 기본식이군 (BD), 알코올 투여군 (ET), 기본식기와 연근 에탄올 추출물 저용량 (200 mg/kg) 투여군 (BD-LREL), 기본식기와 연근 에탄올 추출물 고용량 (400 mg/kg) 투여군 (BD-LREH), 알코올과 연근 에탄올 추출물 저용량 (200 mg/kg) 병합 투여군 (ET-LREL) 및 알코올과 연근 에탄올 추출물 고용량 (400 mg/kg) 병합 투여군 (ET-LREH)으로 나누어 실시하였다. 연근 에탄올 추출물은 생리식염수에 용해시킨 다음 매

일 일정한 시간에 경구 투여하였으며, 정상식이군은 생리 식염수만을 투여하였다. 알코올은 Fujji 등의 방법(24)에 준하여 조제된 35% 알코올을 흰쥐 체중 kg 당 10 mL 씩 투여하였다.

Table 1. Composition of experimental basal diet

Diet composition	Basal diet (g/kg)
Casein	200.0
L-methionine	3.0
Beef tallow	100.0
Choline chloride	2.0
Corn starch	448.0
Sucrose	200.0
Cholic acid	2.0
Vitamin mixture(AIN 93) <sup>1)</sup>	10.0
Mineral mixture(AIN 93) <sup>2)</sup>	35.0

<sup>1)2)</sup>AIN-93-VX and AIN-93-MX mineral mixture vitamin mixture<sup>2)</sup>.

Table 2. Experimental group

Groups	Diet composition
BD	Basal diet <sup>1)</sup>
ET	Basal diet + EtOH <sup>2)</sup>
BD-LREL	Basal diet + LREL <sup>3)</sup>
BD-LREH	Basal diet + LREH <sup>4)</sup>
ET-LREL	Basal diet + EtOH + LREL
ET-LREH	Basal diet + EtOH + LREH

<sup>1)</sup>See the Table 1.

<sup>2)</sup>EtOH : 35 % alcohol 10 mL/kg of body weight/day.

<sup>3)</sup>LREL : Lotus root(*Nelumbo Nucifera* G.) ethanol extract(LRE) 200 mg/kg of body weight/day.

<sup>4)</sup>LREH : Lotus root(*Nelumbo Nucifera* G.) ethanol extract(LRE) 400 mg/kg of body weight/day.

### 실험동물 처치

실험동물은 처치 전 18시간 동안 절식시킨 후 CO<sub>2</sub>로 가볍게 마취시킨 다음, 개복하고 복부 대동맥에서 채혈하여 4,500 ×g에서 20분간 원심분리 후 분리한 혈청을 ALT, AST 및 ALP 활성 측정에 사용하였다. 간은 적출하여 0.9% 생리식염수로 남아 있는 혈액 및 기타 부착물질을 제거하고 여지로 수분을 제거한 후 효소 활성 저하를 예방하기 위하여 급속 동결하여 -70℃의 deep freezer에 보관하면서 항산화 관련 효소 활성 및 항산화 능력 측정에 사용하였다.

### 혈청 중 AST, ALT 및 ALP 활성 측정

혈청 aminotransferase 활성은 조제된 혈청 transaminase 측정용 kit (Shinyang Co., Seoul, Korea)를 사용하여 ALT,

AST 및 ALP 활성을 측정하였고 단위는 혈청 mL 당 karmen unit로 표시하였다. ALP 활성은 조제된 kit 시약 (Youngdong Pharm., Seoul, Korea)을 사용하여 측정하였고 단위는 king armstrong unit로 표시하였다.

### 간조직 중 항산화 효소계의 활성 측정

간조직 1 g 당 4배량의 0.25 M sucrose buffer (pH 7.5)를 가하고 4℃에서 ultra turax homogenizer (Janke & Kunkel, Germany)로 10,000 ×g에서 마쇄한 후, 마쇄액은 600 ×g 4℃에서 10분간 원심분리하여 핵과 미마쇄 부분을 제거한 다음 상정액을 다시 한번 더 15,000 ×g에서 20분간 원심분리하였다. 상정액을 취하여 xanthine oxidase (XO), superoxide dismutase (SOD), catalase 및 glutathione peroxidase (GSH-Px) 활성 측정을 위한 효소원으로 사용하였다. 또한 간조직 0.1 g에 5% (W/V) sulfosalicylic acid을 가하여 마쇄한 후 10,000 ×g에서 10분간 원심분리한 다음 상정액은 GSH 함량 측정에 사용하였다. XO 활성은 Downey의 방법(25), SOD 활성은 Crapo 등의 방법(26), catalase 활성은 Aebi의 방법(27), GSH-Px 활성은 Flohe 등의 방법(28), GSH 함량은 Tietze의 방법(29)으로 측정하였다.

### 간조직 중 과산화지질 함량 측정

과산화지질 (thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) 함량 측정은 Buege와 Aust의 방법(30)에 따라 균질화한 간 조직의 단백질 함량을 일정하게 맞춘 다음 TBA 시약 (0.375% TBA in 0.25 N HCl)에 butylated hydroxytoluene의 최종 함량이 0.01%가 되도록 첨가하고, 균질액을 가하여 잘 혼합한 후 98℃로 15분간 가열한 다음 즉시 냉각시켜 1,500 ×g로 15분간 원심분리하였다. 상정액의 흡광도는 535 nm에서 측정하였는데, 과산화지질 함량은 TBA법을 사용하여 malondialdehyde (MDA) 함량으로 정량하였다.

### 단백질 함량 및 통계처리

단백질 함량은 Lowry 등의 방법(31)에 의하여 bovine serum albumin을 표준물질로 하여 측정하였다. 본 실험에서 얻은 결과는 SPSS 12.0 (Statistical package for the social science) P/C package를 이용하여 실험군당 평균과 표준오차를 계산하였고, 일원배치분산분석 (one-way ANOVA)을 실시하였으며, 사후검정은 Tukey(T)-test에 의하여 실행하였다. 본 연구에 이용된 통계적 유의성 검증은 p<0.05 수준에서 이루어졌다.

## 결과 및 고찰

### 체중증가량 및 식이효율

흰쥐에게 연근 에탄올 추출물의 농도를 달리하여 저용량

**Table 3. Change of body weight gain in alcohol and/or lotus root ethanol extract administered rats**

Groups <sup>1)</sup>	Initial body wt. (g)	Final body wt. (g)	Gained body wt. (g)
BD	134.25±2.15 <sup>2,3)NS</sup>	303.57±19.25 <sup>NS</sup>	169.32±11.23 <sup>NS</sup>
ET	133.29±1.95	282.52±17.29	149.23±13.25
BD-LREL	134.07±1.74	306.59±24.31	172.58±9.58
BD-LREH	134.71±2.01	297.08±11.64	162.37±10.47
ET-LREL	133.95±1.53	299.29±15.26	165.34±13.29
ET-LREH	134.42±1.72	293.67±20.43	159.25±13.25

<sup>1)</sup>See the legend of Table 2.<sup>2)</sup>NS : not significant.<sup>3)</sup>Values are mean ± S.E. of 8 rats per each group.

(200 mg/kg/day)과 고용량 (400 mg/kg/day) 및 알코올을 6주간 경구 투여 후 체중증가량과 식이효율을 측정한 결과는 Table 3,4와 같다.

Table 3과 같이 전 실험기간 체중증가량은 알코올 단독 투여군 (ET)이 149.23±13.25 g로 기본식이군 (BD)의 169.32±11.23 g에 비하여 약 12% 정도 감소하였으나 유의차는 없었다. 알코올과 연근 에탄올 추출물 저용량 (ET-LREL)과 고용량 (ET-LREH) 병합 투여군들은 알코올 투여로 감소된 체중을 기본식이군 (BD)에 근접토록 유의하게 증가시켰으나 투여 용량에 따른 차이는 나타나지 않았다.

**Table 4. Feed intake and feed efficiency ratio (FER) in alcohol and/or lotus root ethanol extract administered rats**

Groups <sup>1)</sup>	Total feed intake (g)	Dalily feed intake(g/day)	FER <sup>2)</sup>
BD	853.44±53.23 <sup>2)NS</sup>	20.32±2.36 <sup>2)NS</sup>	0.20±0.06 <sup>3)a</sup>
ET	853.86±72.32	20.33±1.46	0.17±0.02b
BD-LREL	895.44±33.92	21.32±3.12	0.19±0.03a
BD-LREH	847.56±65.02	20.18±2.01	0.19±0.07a
ET-LREL	797.58±51.21	18.99±1.25	0.21±0.04a
ET-LREH	835.38±69.17	19.87±2.08	0.19±0.01a

<sup>1)</sup>See the legend of Table 2.<sup>2)</sup>FER(feed efficiency ratio) : total weight gain/total feed intake.<sup>3)</sup>Mean ± S.E.(n=8), values with different superscripts in the same column are significantly different(p<0.05) between groups by Tukey(T)-test.

식이효율은 Table 4와 같이 알코올 단독 투여군 (ET)이 0.17±0.02로 기본식이군 (BD)의 0.20±0.06에 비하여 15% 정도 유의하게 저하되었으나, 연근 에탄올 추출물 단독 투여군 (BD-LREL과 BD-LREH)과 병합 투여군 (ET-LREL과 ET-LREH)은 기본식이군 (BD)과 식이효율이 유사하였다. 이와 같이 알코올 투여로 인한 식이섭취량과 체중증가량 감소는 연근 에탄올 추출물 투여로 완화시킨 것으로 나타

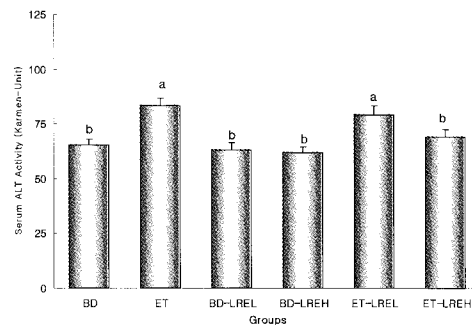
났다.

이러한 결과는 흰쥐에게 7% 알코올을 음용수에 첨가시켜 섭취시킨 결과 체중이 대조군에 비하여 유의하게 감소되어진 Rothwell과 Stock(32)의 연구 결과와 유사하였다. 이는 다량의 알코올을 만성적으로 섭취할 환자를 대상으로 한 실험에서도 알코올을 섭취할 때 식이섭취량의 감소와 여러 영양소의 흡수장애로 체중감소를 초래한다고 보고하였다. 이와 같이 알코올 투여로 인한 체중감소는 식이섭취량 감소로 인해서 혹은 알코올 자체의 독성효과로 인한 소화율 감소, 영양소의 흡수 장애, 그리고 고농도의 에탄올 섭취로 인한 에너지 소모가 증가했기 때문인 것으로 생각되었다.

### 혈청 중 ALT, AST 및 ALP 활성

흰쥐에게 알코올 및 연근 에탄올 추출물을 6주간 경구 투여한 후 간 손상의 지표로 사용되어지는(33) 혈청 중 ALT, AST 및 ALP 활성을 측정된 결과는 Fig. 1~3과 같다.

Fig. 1에서와 같이 혈청 중 ALT 활성은 기본식이에 연근 에탄올 추출물 저용량 (BD-LREL)과 고용량 (BD-LREH) 단독 투여군은 기본식이군 (BD)과 비교할 때 유의차가 없었으나 다소 저하되었다. 알코올 단독 투여군 (ET)은 기본식이군 (BD)에 비하여 혈청 중 ALT 활성이 유의하게 증가하였다. 알코올과 연근 에탄올 추출물 저용량 (ET-LREL)과 고용량 (ET-LREH) 병합 투여군은 알코올 단독 투여군 (ET)에 비하여 혈청 중 ALT 활성은 연근 에탄올 추출물 투여 용량이 증가할수록 감소하는 경향이였으며, 특히 고용량 투여 시 유의하게 감소하였다.

**Fig. 1. Activity of ALT in the serum of rats administered alcohol and/or lotus root ethanol extract.**

Abbreviations: See the legend of Table 2. Values are mean ± S.E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at p<0.05 by Tukey(T)-test.

Fig. 2와 같이 혈청 중 AST 활성은 알코올 단독 투여군 (ET)이 기본식이군 (BD)에 비하여 유의하게 증가되었고, 알코올과 연근 에탄올 추출물 저용량 (ET-LREL)과 고용량 (ET-LREH) 병합 투여군은 알코올 단독 투여군 (ET)에 비하여 용량 의존적으로 유의하게 감소하였다.

Fig. 3에서와 같이 혈청 중 ALP 활성도 알코올 단독 투여

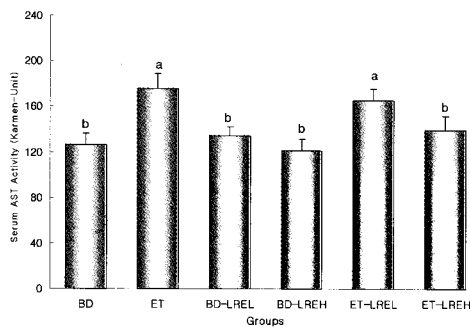


Fig. 2. Activity of AST in the serum of rats administered alcohol and/or lotus root ethanol extract.

Abbreviations: See the legend of Table 2. Values are mean ± S.E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey(T)-test.

군 (ET)이 기본식이군 (BD)에 비하여 유의하게 증가되었고, 알코올과 연근 에탄올 추출물 저용량 (ET-LREL)과 고용량 (ET-LREH) 병합 투여군은 알코올 단독 투여군 (ET)에 비하여 농도 의존적으로 감소되었으며 고용량 투여 시만 유의하게 감소되었다.

알코올 투여로 혈청 중 AST, ALT 및 ALP 활성 증가를 나타낸 결과는 Ahn 등(33)의 연구 결과와 유사하였으며, 이 결과는 알코올이 간의 대사과정에 작용하여 대사 이상을 초래함으로써 간세포 손상을 유발하고, 알코올에 의한 간세포 손상이 연근 에탄올 추출물 투여로 점차 회복되어 가는 것으로 생각된다.

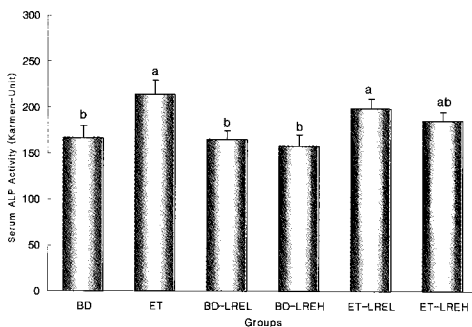


Fig. 3. Activity of ALP in the serum of rats administered alcohol and/or lotus root ethanol extract.

Abbreviations: See the legend of Table 2. Values are mean ± S.E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey(T)-test.

### 간조직 중 항산화 효소 활성

흰쥐에게 알코올 및 연근 에탄올 추출물을 6주간 경구 투여한 후 유리기 생성에 관여하는 XO 활성과 해독에 관여하는 것으로 알려진 항산화 효소인 SOD, catalase 및 GSH-Px 활성을 간조직에서 측정된 결과는 Table 5와 같다.

간조직 중 XO 활성에서, 알코올 단독 투여군 (ET)은  $39.25 \pm 2.98$  mU/mg protein으로 기본식이군 (BD)의  $26.43$

Table 5. Activities of XO, SOD, catalase and GSH-Px in liver of rats administered alcohol and/or lotus root ethanol extract

Group <sup>1)</sup>	XO <sup>2)</sup>	SOD <sup>3)</sup>	Catalase <sup>4)</sup>	GSH-Px <sup>5)</sup>
BD	$26.43 \pm 2.21^{b6)}$	$73.32 \pm 5.65^b$	$356.23 \pm 15.43^b$	$98.23 \pm 10.20^c$
ET	$39.25 \pm 2.98^a$	$98.33 \pm 5.21^a$	$482.33 \pm 21.98^a$	$142.35 \pm 13.22^a$
BD-LREL	$25.42 \pm 3.33^b$	$74.26 \pm 3.29^b$	$326.42 \pm 14.28^b$	$101.25 \pm 9.94^c$
BD-LREH	$26.99 \pm 2.14^b$	$70.25 \pm 5.23^b$	$338.47 \pm 13.21^b$	$96.26 \pm 8.91^c$
ET-LREL	$33.32 \pm 2.45^a$	$85.49 \pm 4.28^{ab}$	$456.43 \pm 25.98^a$	$117.03 \pm 12.33^b$
ET-LREH	$27.27 \pm 1.23^b$	$76.43 \pm 3.29^b$	$447.23 \pm 19.89^a$	$104.45 \pm 9.87^c$

<sup>1)</sup>See the legend of Table 2.

<sup>2)</sup>mU/g protein

<sup>3)</sup>Decreased NADPH  $\mu$ mol/min/mg protein

<sup>4)</sup> $\mu$ mol/min/mg protein

<sup>5)</sup>Decreased  $H_2O_2$   $\mu$ mol/min/mg protein

<sup>6)</sup>Mean ± S.E.(n=8), values with different superscripts in the same column are significantly different ( $p < 0.05$ ) between groups by Tukey(T)-test.

$\pm 2.21$  mU/mg protein에 비하여 약 48% 정도 유의하게 증가되었다. 이는 실험동물에 알코올을 만성적으로 투여할 때 간조직의 XO 활성이 증가된다는 보고와 일치하였다(34). 알코올과 연근 에탄올 추출물 저용량 병합 투여군 (ET-LREL)의  $33.32.11 \pm 2.45$  mU/mg protein과 고용량 병합 투여군 (ET-LREH)의  $27.27 \pm 1.23$  mU/mg protein은 알코올 단독 투여군 (ET)에 비하여 XO 활성이 용량 의존적으로 저하되는 경향이었으며, 특히 연근 에탄올 추출물 고용량 병합 투여군 (ET-LREH)이 알코올 단독 투여군 (ET)에 비하여 유의하게 저하되었다. 이는 알코올을 실험동물에게 만성적으로 섭취시킬 때 XO 활성의 증가로 oxygen free radical이 생성되었으며, 연근 에탄올 추출물 투여 후 free radical의 생성을 감소시킨 것으로 생각된다.

간조직 중 SOD 활성은 기본식이군 (BD)의  $73.32 \pm 5.65$  unit/mg protein에 비하여 알코올 단독 투여군 (ET)은  $98.33 \pm 5.21$  unit/mg protein으로 알코올 투여로 인하여 약 25% 정도 증가하였다. 알코올 단독 투여군 (ET)에 비하여 알코올과 연근 에탄올 추출물 저용량 병합 투여군 (ET-LREL)과 고용량 병합 투여군 (ET-LREH)은 SOD 활성이 용량 의존적으로 감소되었다. SOD는 superoxide anion radical ( $O_2^-$ )을 보다 반응성이 약한 과산화수소 ( $H_2O_2$ )로 전환시키며, 생성된  $H_2O_2$ 는 GSH-Px, catalase 등의 작용에 의해  $H_2O$ 로 무독화 됨으로써 산소독으로부터 생체를 보호하는  $O_2^-$  소거효소이다. 알코올을 투여할 때 체내 SOD는 구성 성분인 Cu, Mn 및 Zn 등 미량원소의 고갈에 의하여 활성이 감소된다는 연구 결과(35)도 있지만, 알코올을 급성 또는 만성 투여 후 mitochondria superoxide의 증가로 인하여 SOD 활성이 증가된 것(125)으로 생각된다. 이는 SOD가 활성산소 ( $O_2^-$ )를  $H_2O_2$ 와  $O_2$ 로 전환시켜 활성산소에 의해 생긴 산화적 손상의 일차적 방어에 관여하며 비정상적으로 증가된 활성산소를 제거하기 위해 그 활성이 높아졌다는

보고(26,36)와 유사한 경향이였다.

Catalase 활성은 알코올 단독 투여군 (ET)이  $482.33 \pm 21.98$  unit/mg protein로 기본식이군 (BD)의  $356.23 \pm 15.43$  unit/mg protein에 비하여 약 37% 정도 유의하게 증가되었으며, 이는 SOD의 작용에 의해 생성된  $H_2O_2$ 를 분해하기 위해 catalase 활성이 증가된 것으로 생각된다(37). 알코올과 연근 에탄올 추출물 저용량 병합 투여군 (ET-LREL)의  $456.43 \pm 25.98$  unit/mg protein과 고용량 병합 투여군 (ET-LREH)의  $447.23 \pm 19.89$  unit/mg protein은 알코올 단독 투여군 (ET)에 비하여 간조직의 catalase 활성이 감소되었으나 유의차가 없었다. 조직의 catalase는 대사과정 중 발생하는 활성산소종의 유리기를 제거할 뿐만 아니라 이들 활성산소에 의해 그 활성이 비가역적으로 불활성화될 수 있다고 알려져 있다. Catalase는 세포내 소포체에서 합성되며, 골지체로 이동 부착되어 세포내 peroxisome에 존재하고, 체내에서 지방의 자동산화 및 유기물의 산화로 생성된  $H_2O_2$ 를 분해 및 소거하여 무독화시키는 효소로  $H_2O_2$ 의 농도가 높을 때 주로 작용하며 SOD에 비하여 산화적 손상에 다소 민감하게 반응하는 것으로 보고(38)되어 있다.

GSH-Px 활성은 알코올 단독 투여군 (ET)이  $142.35 \pm 13.22$  unit/mg protein로 기본식이군 (BD)의  $98.23 \pm 10.20$  unit/mg protein에 비하여 약 45% 정도 유의하게 증가되었다. 알코올 투여군 (ET, ET-LREL과 ET-LREH)들 간에는 유의차를 보여 연근 에탄올 추출물 저용량 병합 투여군 (ET-LREL)의  $117.03 \pm 12.33$  unit/mg protein과 고용량 병합 투여군 (ET-LREH)의  $104.45 \pm 9.87$  unit/mg protein은 알코올 단독 투여군 (ET)에 비하여 용량 의존적으로 감소하였다. GSH-Px는  $H_2O_2$ 와 환원형 GSH의 반응에 관여하여 산화형 GSSG을 생성하며 이 GSSG는 GSSG reductase의 도움으로 NADPH에 의해 다시 GSH로 환원되는데 catalase와 유사한 기능을 가지고 있다(39). 또한 GSH-Px는 간조직의  $H_2O_2$  농도가 낮을 때에도 작용하며, Se을 함유하는 항산화효소로 비타민 E와 함께 과산화물을 제거함으로써 세포막의 손실을 방어한다(40).

따라서 만성 알코올을 투여할 때 GSH-Px 활성이 증가된다는 Ko 등(41)의 연구와 유사하였으며, 이는 GSH-Px가 체내 물질 대사 중 발생하는 과산화물을 환원하는 항산화 효소로서 알코올의 산화작용으로 인해 증가되는 산화물들을 환원하기 위한 것으로 보고(42) 되었다. 즉 알코올의 섭취가 간조직 내 GSH 양을 감소시키고, 이차적으로 free radical 생성에 의한 지질과산화반응을 일으킨다는 보고(43,44)와 관련됨을 보여준다. 따라서 연근 에탄올 추출물을 투여할 때 간조직 내 지질과산화물의 생성이 감소되어지는 것으로 확인되었으며, 이는 연근 에탄올 추출물이 체내 산화적 손상을 예방하는 항산화효과가 있는 것으로 생각된다.

간조직은 알코올 투여로 유도된 산화적 스트레스에 의한 free radical 발생이 증가함에 따라 세포의 환경을 보호하기 위하여 항산화효소 즉 SOD, catalase 및 GSH-Px 활성이 증가되어지며, 증가된 효소의 활성이 연근 에탄올 추출물 병합 투여로 유의적인 감소효과를 나타내어 항산화제로의 활용성과 간 보호 기능으로서의 가능성이 예상된다.

#### 간조직 중 GSH 함량

흰쥐에게 연근 에탄올 추출물 저용량 (200 mg/kg/day)과 고용량 (400 mg/kg/day) 및 알코올을 6주간 경구 투여 후 간조직 중 GSH 함량 변화를 측정된 결과는 Fig. 4와 같다.

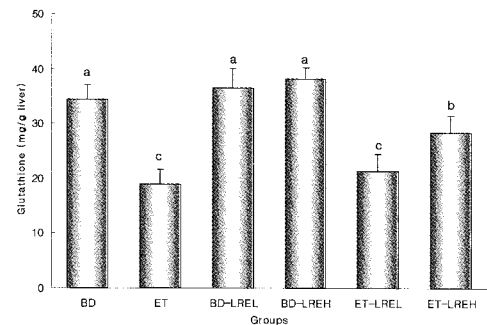


Fig. 4. Concentration of GSH in the liver of rats administered alcohol and/or lotus root ethanol extract.

Abbreviations: See the legend of Table 2. Values are mean  $\pm$  S.E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey(T)-test.

간조직 중 GSH 함량은 알코올 단독 투여군 (ET)의  $18.93 \pm 2.69$  nM/mg protein은 기본식이군 (BD)의  $34.33 \pm 2.69$  nM/mg protein에 비하여 약 45% 정도 유의하게 감소하였다. 연근 에탄올 저용량 단독 투여군 (BD-LREL)의  $36.45 \pm 23.71$  nM/mg protein과 고용량 단독 투여군 (BD-LREH)의  $38.21 \pm 1.10$  nM/mg protein은 기본식이군 (BD)에 비하여 간조직 중 GSH 함량이 용량 의존적으로 증가되었으나 유의차는 없었다. 알코올과 연근 에탄올 추출물 저용량 병합 투여군 (ET-LREL)은  $21.33 \pm 3.21$  nM/mg protein과 고용량 병합 투여군 (ET-LREH)은  $28.31 \pm 3.25$  nM/mg protein으로 알코올 단독 투여군 (ET)에 비하여 용량 의존적으로 증가되었으며, 특히 고용량을 투여할 때 유의하게 증가하였다. GSH는 cytochrome c의 환원 속도를 저하시켜  $O_2$ 에 대하여 소거효과를 발현하며, nonprotein thiols의 대부분을 차지하고, 비교적 안정한 thiol radical (GS-)을 생성시켜서 유리기를 제거하는 기능 이외에도 이물질과의 포함형성, 과산화지질 형성과정 중 생성되는 hydroperoxide의 제거작용을 한다(45). 또한 GSH는 free radical의 scavenger로 GSH-Px의 기질이며, 여러 세포에서 높은 함량으로 존재함으로써 방어를 돕고 높은 산소 농도에 노출되어 활성이 없어지는 효소를 재생시킬 수 있는 항산화

물질이다. 알코올은 epinephrine, corticosteroid, glucagon 등의 호르몬 분비를 촉진하여 간으로부터 GSH의 유출을 증가시키므로 조직 내 GSH 감소가 일어나며, 이차적으로는 free radical에 의한 지질과산화반응을 유도하는 것으로 알려져 있다(43). Speisky 등(46)은 간 조직의 GSH 함량이 저하되는 기전은 항산화작용으로 소모되는 것 이외에도 알코올 대사산물인 acetaldehyde와 GSH의 결합에 의해서도 저하된다고 보고하였다.

본 연구결과 알코올 투여로 간조직 중 GSH 함량은 감소되어졌고 GSH-Px 활성은 높았는데 이는 간 손상 시 GSH-Px 활성이 증가하여 GSH의 방출이 많아지므로 조직의 GSH 함량이 감소한다는 보고(47)와 유사한 경향을 나타냈다. 또한 알코올 단독 투여군 (ET)보다 알코올과 연근 에탄올 추출물 저용량 (ET-LREL)과 고용량 (ET-LREH) 병합 투여군의 GSH 함량이 증가된 것은 연근 에탄올 추출물 투여가 알코올에 의해 생성된 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 등의 free radical을 소거하여 GSH-Px 소모가 감소함으로써 GSH 소모량도 감소되었다. 이는 알코올 투여로 손상된 간조직의 보호에 도움을 줄 수 있을 것이라는 가능성을 제시해 주었다.

#### 간조직 중 지질과산화물 함량

연근 에탄올 추출물 200 mg/kg/day과 400 mg/kg/day 및 알코올을 6주간 단독 혹은 병합 경구 투여 후 흰쥐 간조직 중 지질과산화물 함량을 측정된 결과는 Fig. 5와 같다.

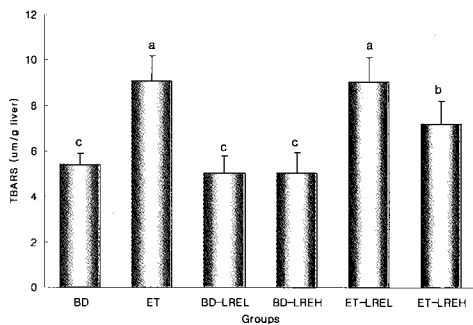


Fig. 5. Concentration of TBARS in the liver of rats administered alcohol and/or lotus root ethanol extract.

Abbreviations: See the legend of Table 2. Values are mean  $\pm$  S.E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey(T)-test.

알코올에 의하여 초래된 간조직의 손상 정도를 확인하기 위하여 측정하는 산소 라디칼 유래 조직의 산화성 손상 지표 중의 하나인 지질과산화물 (TBARS) 함량은 알코올 단독 투여군 (ET)이  $9.06 \pm 3.11$  Um/g로 정상식이군 (BD)의  $5.39 \pm 2.14$  Um/g에 비하여 약 68% 정도 유의하게 증가되었다. 알코올과 연근 에탄올 추출물 고용량 병합 투여군 (ET-LREH)은  $7.21 \pm 2.49$  Um/g로 알코올 투여로 증가된 간조직의 과산화지질 함량을 감소시켰다. 이는 급성 혹은 만

성적인 알코올 투여로 알코올 부산물인 acetaldehyde에 의하여 다양한 free radical의 생성 증가로 acetaldehyde가 세포질 내에서 XO와 작용하여 부산물로 superoxide 생성이 증가되어 세포막의 불포화지방산과 결합하여 지질과산화물이 증가한다는 연구(48)와, Yoon과 Rhee(49)의 체내 항산화물질인 GSH 함량이 증가되는 등 방어기구가 강화되면 지질과산화물 함량은 감소된다는 보고와 유사하였으며, 본 연구에서도 알코올과 연근 에탄올 추출물을 병합 투여할 때 알코올 단독 투여할 때 보다 GSH 함량은 증가되었고 지질과산화물 함량은 감소된 것으로 나타났다.

#### 요 약

연근 에탄올 추출물이 알코올 투여로 유발된 간 손상에 미치는 영향을 알아보기 위하여 흰쥐에게 기본식이군 (BD), 알코올 투여군 (ET), 기본식사와 연근 에탄올 추출물 저용량 (200 mg/kg) 투여군 (BD-LREL), 기본식사와 연근 에탄올 추출물 고용량 (400 mg/kg) 투여군 (BD-LREH), 알코올과 연근 에탄올 추출물 저용량 (200 mg/kg) 병합 투여군 (ET-LREL) 및 알코올과 연근 에탄올 추출물 고용량 (400 mg/kg) 병합 투여군 (ET-LREH)의 6군으로 나누어 6주간 사육하였다. 체중증가량은 알코올 단독 투여군 (ET)이 기본식이군 (BD)에 비하여 감소되었으나 유의차가 없었다. 알코올과 연근 에탄올 추출물 저용량 (ET-LREL)과 고용량 (ET-LREH) 병합 투여군은 알코올 투여로 감소된 체중을 기본식이군 (BD)에 근접하게 증가시켰다. 식이효율은 알코올 단독 투여군 (ET)이 기본식이군 (BD)에 비하여 유의하게 저하되었으나, 알코올 단독 투여군 (ET)을 제외한 모든 실험군의 식이효율은 유사하였다. 알코올 투여로 증가된 혈청 중 AST, ALT 및 ALP 활성은 연근 에탄올 추출물 경구 투여로 저하되었다. 간조직 중 XO 활성은 알코올 단독 투여군 (ET)이 기본식이군 (BD)에 비하여 유의하게 증가되었고 연근 에탄올 추출물 투여로 알코올 투여로 증가된 XO 활성을 용량 의존적으로 감소시켰다. 간조직 중 SOD와 GSH-Px 활성은 알코올 단독 투여군 (ET)이 기본식이군 (BD)에 비하여 현저히 증가되었는데 이는 알코올 투여로 생성된 활성 산소를 소거하려는 생리 적응 현상으로 사료되며, 연근 에탄올 추출물 투여로 SOD 활성이 용량 의존적으로 유의하게 감소하였다. 간조직 중 catalase 활성도 알코올 단독 투여군 (ET)이 기본식이군 (BD)에 비하여 유의하게 증가되었으나 연근 에탄올 추출물 투여로 증가된 활성을 용량 의존적으로 감소시켰지만 유의차는 없었다. 간조직 중 GSH 함량은 알코올 단독 투여군 (ET)이 기본식이군 (BD)에 비하여 유의하게 감소되었으며, 알코올과 연근 에탄올 추출물 고용량 투여군 (ET-LREH)은 알코올 투여로 감소된 GSH 함량을 기본식이군 (BD)에 근접토록 증가시켰

다. 간조직 중 과산화지질 함량은 알코올 단독 투여군 (ET) 이 기본식이군 (BD)에 비하여 증가되었으나, 알코올과 연근 에탄올 추출물 고용량 병합 투여군 (ET-LREH)은 알코올 투여로 증가된 과산화지질 함량을 유의하게 저하시켰다. 이상의 결과 연근 에탄올 추출물은 알코올 투여로 증가된 혈청 AST, ALT 및 ALP 활성과 간조직의 과산화지질 함량, XO, SOD, GSH-Px 및 catalase 활성을 저하시켜 알코올로 유도된 지방간 및 손상된 간조직을 보호하는 항산화효과가 있는 것으로 추정된다.

### 참고문헌

- Mezey, E. (1980) Alcoholic liver disease: role of alcohol and malnutrition. *Am. J. Clin. Nutr.*, 33, 2709-2718
- Keshavarizian, A., Fields, J.Z., Vaeth, J. and Holmes, E. W. (1994) The differing effects of acute and chronic alcoholic on gastric and intestinal permeability. *Am. J. Gastro.*, 89, 2205-2212
- Pryor, W.A. (1977) Free radical in biology. In involvement of radical reaction in aging and carcinogenesis in medicine chemistry. Elsevier Amsterdam., 331-361
- Hur, S.K., Kim, S.S., Heo, Y.H., Ahn, S.M., Lee, B.G. and Lee, S.K. (2001) Effect of the grapevine shoot extract on free radical scavenger activity and inhibition of pro-inflammatory mediator production in raw macrophages. *J. Applied. Pharmaol.*, 9, 188-193
- Jeong, S.J., Lee, H., Song, N.H., Lee, S.E. and Baeg, I. (2004) Natural products chemistry: screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 33, 28-33
- Lim, D.K., Choi, U. and Shin, D.H. (1996) Antioxidative activity of ethanol extract from Korean medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 28, 83-89
- Cho, S.Y., You, B.J., Chang, M.H., Lee, S.J., Sung, N.J. and Lee, E.H. (1994) Screening for the antioxidants in unused marine resources by the polarographic method. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 26, 417-421
- Yang, H.C., Kim, Y.H., Lee, T.K. and Cha, Y.S. (1985) Physicochemical properties of lotus root. *J. Korean Agri. Chem. Soc.*, 28, 239-244
- 강성국. (2005) 백련을 이용한 가공식품의 개발. 무안군 백련학술세미나, Mokpo, Korea, p,1-11
- Han, S.J. and Koo, S.J. (1993) Study of the chemical composition in bamboo, shoot, lotus root and burdock. *Korean J. Soc. Food Sci.*, 9, 82-87
- 황안국. (1998) 한방영양학. 한울출판사. 서울, p. 111-112.
- 정보섭, 신민교. (1990) 도해 생약 대사전. 영림사, 서울, p.208, 514-517, 1010-1012
- Xiao, J.H., Zhang, J.H., Chen, H.L., Feng, X.L. and Wang, J.L. (2005) Inhibitory effects of isoliensinine on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. *Planta Med.*, 71, 225-330
- Moon, S.M., Kim, H.J. and Ham, K.S. (2003) Purification and characterization of polyphenol oxidase from lotus root (*Nelumbo nucifera* G.). *Korean J. Food Sci. Technol.*, 35, 91-796
- Kim, Y.S., Jeon, S.S. and Jung, S.T. (2002) Effect of lotus powder on the baking quality of white bread. *Korean J. Soc. Food Cookery Sci.*, 18, 413-425
- Park, I.B., Park, J.W., Kim, J.M., Jung, S.T. and Kang, S.G. (2005) Quality of soybean paste(*Doenjang*) prepared with lotus root powder. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 34, 519-523
- Park, S.H., Sihm, E.H., Koo, J.G., Lee, T.H. and Han, J.H. (2005) Effects of *Nelumbo nucifera* on the regional cerebral blood flow and blood pressure in rats. *J. East Asian Dietary Life.*, 15, 49-56
- Ko, B.S., Jun, D.W., Jang, J.S., Kim, J.H. and Park, S. (2006) Effect of *Sasa Borealis* and white lotus roots and leaves on insulin action and secretion *in vivo*. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 38, 114-120
- Won, H.T. (2004) Effects of *Nodus Neoumbinis Nhizomatis* extracts on sociopsychological stress in mice. MS Thesis. Dongshin University
- Cho, S.I. and Kim, H.W. (2003) Beneficial effect of *Nodus Neoumbinis Nhizomatis* extracts on cisplatin-induced kidney toxicity in rats. *Korean J. Herbology.*, 18, 127-134
- Quan, J.Q. (2002) Cardiovascular pharmacological effects of bibenzylisoquinoline alkaloid derivatives. *Acta. Phramacol. Sin.*, 23, 1086-1092
- Jung, H.A., Kim, J.E., Chung, H.Y. and Choi, J.S. (2003) Antioxidant principles of *nelumbo nucifera* stamens. *Arch. Pharm. Res.*, 26, 279-285
- Reeves, P.G., Nielson, F.H. and Fahey Jr, G.C. (1993) AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J. Nutr.*, 123, 1939-1951
- Fujji, H., Ohmachi, T., Sagami, I. and Watanabe, M. (1985) Liver microsomal drug metabolism in



- ethanol-treated hamsters. *Biochem. Pharmacol.*, 34, 3881-3884.
25. Downey, 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, 1053-1060
  26. Crapo, J.D., 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, 382-393
  27. Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. *Method Enzymol.*, 105, 121-126
  28. Flohe, L., Wolfng, A. and Gunzler, W.A. (1984) Assay of glutathione peroxidase. In *Methods Enzymol.*, 105, 114-130
  29. Tietze, F. (1969) Enzymatic methods for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione. *Anal. Biochem.*, 27, 502-522
  30. Buege, J.A. and Aust, S.D. (1978) The thiobarbituric acid assay. In *Methods Enzymol.*, 52, 306-307
  31. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275
  32. Rothwell, N.J. and Stock, M.J. (1984) Influence of alcohol and sucrose consumption on energy balance and brown fat activity in the rat. *Metabolism.* 33, 768-771
  33. Ahn, Y.T., Bae, J.S., Kim, Y.H., Lim, K.S. and Huh, C.S. (2005) Effects of fermented milk intake on hepatic antioxidative systems in alcohol treated rats. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 37, 631-635
  34. Oei, H.H., Stroo, W.E., Burton, K.P. and Schaffer, S.W. (1982) Xanthin oxidase in producing oxidative stress in the heart of chronically ethanol treated rats. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 38, 453-461
  35. Karkkainen, P., Mussalo-Rauhamaa, H., Poikolainen, K and Lehto, J. (1988) Alcohol intake correlated with serum trace elements. *Alcohol.* 23, 279-282
  36. Chang, N.S. and Ryu, S.M. (2001) Antioxidative effects of green tea powder diet against ethanol-induced oxidative damage in rat brain region. *Korean J. Nutr.*, 34, 525-531
  37. Kim, K.A., Park, H.J., Lee, J.S., Kim, J.W., Kim, C.J., Shin, I.S., Han, S.M. and Lim, S.B. (2003) The inhibitory effect of *Achyranthis bidentata radix* extract on cytochrome p450-catalyzed reactions in human liver microsomes. *J. Korean Oriental Med.*, 24, 40-46
  38. Johansson, L.H. and Borg, L.A. (1988) A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue sample. *Anal. Biochem.*, 174, 331-336.
  39. Paglia, D.E. and Valentine, W.N. (1967) Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab Clin. Med.*, 70, 158-169
  40. Bompert, G.J., Prevot, D.S. and Bascabds, J.L. (1990) Rapid automated analysis of glutathione reductase, peroxidase and S-transferase activity: application to cisplatin-induced toxicity. *Clin. Biochem.*, 23, 501-504
  41. Ko, M.S., Shin, K.M. and Lee, M.Y. (2002) 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
  42. Cho, S.Y., Jang, J.Y. and Kim, M.J. (2001) Effects of Pueraria flos and radix water-extracts on levels of several serum biomarkers in ethanol-treated rats. *Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 30, 92-96
  43. Speisky, H., Kera, Y., Penttila, K.E., Israel, Y. and Lindros, K.O. (1988) Depletion of hepatic glutathione by ethanol occurs independently of ethanol metabolism. *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 12, 224-228
  44. Roberforid, M. and Calderon, P.B. (1995) Free radicals and oxidation phenomena in biological system. Marcel Dekker, Inc., New York, p.136-142
  45. Meister, A. and Anderson, M.E. (1983) Glutathione. *Annu. Rev. Biochem.*, 52, 711-716
  46. Aykac, G., Uysal, M., Yalcin, S., Kocak-Toker, N., Sivas, A. and Oz, H. (1985) The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicol.*, 36, 71-76
  47. Lieber, C.S. (1980) Increased loss and decreased synthesis of hepatic glutathione after acute alcohol administration. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 13, 17-21
  48. Nordmann, R., Ribiere, C.M. and Rouach, H. (1992) Implication of free radical mechanisms in ethanol-induced cellular injury. *Free Radic. Bio. Med.*, 12, 219-248
  49. Yoon, T.H. and Rhee, S.J. (1994) Effects of Korean green tea, oolong tea and black tea beverage on the antioxidative detoxification in rat poisoned with cadmium. *Korean J. Nutr.*, 27, 1007-1017