Kor. J. Microbiol. Biotechnol.
Vol. 36, No. 3, 240–245(2008)

사염화탄소 유도 간독성에 대한 발효알로에의 보호효과

임병락*
(주)에이치앤비티, 생명공학연구소

Protective Effects of Fermented *Aloe vera* on Carbon Tetrachloride-induced Hepatotoxicity in Sprague-dawley Rats. Lim, Byung Lak*. *Human and Biotechnology Co., Ltd., Jeonbuk 570-982, Korea* - *Aloe vera* extract was fermented by *Lactobacillus casei*. The ability of fermented *Aloe vera* (FAV) as an antioxidant to protect against CCl_4-induced oxidative stress and hepatotoxicity in rats was investigated. The rats were administered orally with various doses of FAV with 50, 100 mg/kg for 14 consecutive days. For this study, we not only tested activity of various plasma enzymes (AST, ALT), which are used as indicators of liver disease, but also checked thse change of liver components such as superoxide dismutase and catalase activity. Pretreatment of FAV for two weeks significantly reduced the elevated plasma enzyme activities induced by CCl_4. Pretreatment of FAV also restored the hepatic enzyme, malonedialdehyde (MDA) formation. The results indicate that FAV has a protective effect against acute hepatotoxicity induced by the administration of CCl_4 in rats, and that the hepatoprotective effects of FAV may be due to both the inhibition of lipid peroxidation and the increase of antioxidant activity.

Key words : Fermented *Aloe vera*, hepatotoxicity, SOD, AST, ALT, lipid peroxidation

서 론

예로부터 민간약으로 사용되어[3, 10] 온 알로에는 백합과(Liliaceae)의 알로에 속(Aloineae)에 속하는 다년생 초본 열대 식물로서 다육질의 잎을 갖고 있는 식물이다. 원산지는 주로 아프리카로서 사막에서도 자랄 정도로 생육에 필요한 수분량의 거의 60~70%를 공기 중에서 흡수하여 생명을 유지할 정도로 끈질 긴 생명력은 오히려 신비로움을 더해 주고 있다[15].

Aloe 잎 겔은 미국을 비롯한 서구 여러 나라에서는 일찍이 가정약으로 널리 전래되어 여러 질환 즉 열 화상, 일광화상, 통증 치료와 강장제[5, 23], 피부 상처, 염증, 통풍, 류마티스, 관절염[16] 등 거의 만병 치료약 처럼 사용되어 왔다.

최근 국내에서도 알로에를 이용한 건강식품과 화장품제조에도 이용되어 한해 1,000억원대의 건강식품 시장을 형성하고 있다.

알로에 대한 국내 연구를 보면 Cho 등은 알로에 추출물이 항염증 효과를 나타냈다고 하였으며[9], Park 등은 알로에 껍질로부터 항염증 활성이 있는 물질로 aloe-emodin과 barbaloin 두 가지 물질을 분리 동정하였으며[19], Kang 등은 알로에 겔이 위염과 위궤양에 효과가 있다고 보고하였다[25].

*Corresponding author
Tel: 82-63-838-2929, Fax: 82-63-838-2930
E-mail: blim1215@naver.com

Aloe속 식물의 겔은 다량의 수분(98.5~99.5%)을 함유하고 주성분으로서 다당류 일종인 부분적으로 acetyl화된 acetylglucomannan, acetylmannan과 glucomannan 혹은 polygalacturonate(pectin) 중에서 일부 또는 전부를 함유한다[13, 24]. 이 다당류는 모두 인간에는 비소화성인 수용성의 fibrous polysaccharided인데 그의 생리 작용 때문에 요즘 연구자들에 의한 관심의 대상이 되어 연구가 활발히 진행되고 있지만, 아직 발효에 의한 알로에 베라의 성분변화 및 알로에 유효성분으로 알려진 다당체의 분자량별 생리활성에 대한 연구는 극히 미비한 실정에 있다.

사염화탄소는 간 손상을 일으키는 대표적인 유도물질의 하나로 생체내 활면소포체의 nicotinamide adenine phosphate cytochrome P-450 monooxygenase에 의해 전자전달사슬에서 대사과정을 통하여 trichloromethyl peroxyl radical($OOCCl_3$)로 바뀌고, 이 radical이 간세포에 손상을 유도한다. 여기서 radical이란 하나 이상의 짝을 이루지 않는 전자의 불안정한 분자로서 정상적인 세포의 대사에서 생긴 대사물로 이러한 radical의 주요 공급원은 분자 산소이고 이외 외인성 생체 이물질에서 radical이 생성될 수 있는 것으로 알려져 있다. Trichloromethyl peroxyl radical($OOCCl_3$)은 소포체 막의 인지질인 polyenoic fatty acid의 methyl carbon을 공격하여 지질과산화를 야기하게 되고[21], 이때 지질과산화물의 분해산물들(malondialdehyde, 4-hydroxy-2-pentenal, 2, 4-hexadienal, 4-hydroxy-2-nonenal)이 소포체의 구조적 붕괴, 소포체내 효소의 활성저하, 단백질 합성 저해 등을 일으켜 지방간 변성을 유발하게 되고, 최종적으로 간세포 괴사로 이

어지는 독성기전을 가지고 있다[15].

이에 본 연구에서는 이러한 생리활성을 증진시키기 위해 알로에 베라 겔을 유산균으로 발효 시킨 다음 용량별로 사용하여 사염화탄소 유도 간독성에 대한 보호효과를 조사한 결과 유의한 결과를 얻었기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

시약 및 사용균주

실험에 사용한 시약은 xanthine monosodium salt, xanthine oxidase, cytochrome C, hydrogen peroxide, glutathione (reduced), β-NADPH, 1,1,3,3-tetramethoxy propanol, bovine serum albumine 등은 Sigma 제품을 사용하였고, Na_2CO_3 등 기타 시약들은 일반 특급시약을 사용하였다. 또한 알로에는 김정문알로에(주)에서 공급 받았으며, 알로에를 발효하기 위해 사용된 유산균주는 (주)에이치앤비티에 보관중인 *L. casei*를 이용하였다.

유산균을 이용한 발효알로에 제조

알로에를 발효하기 위해 사용된 유산균주는 *L. casei* 균주를 사용하였다. *L. casei*는 MRS 한천배지(Difco, Marylabnd, USA)에 배양하여 4°C에서 보관하고 3주마다 계대하면서 사용하였다. 또한 균주는 멸균된 20% glycerol(Shinyo Chem. Japan)에 배양액을 현탁하여 -70°C (Ilshin, Korea)에서 장기 보관 하였다. *L. casei*는 액체배지를 이용하여 37°C에서 정치 배양하여 활성화하였다. 활성화된 유산균 배양액을 알로에 추출물에 접종하여 37°C에서 48시간 동안 배양하였고 발효알로에 배양액을 제조하였다.

발효알로에 분자량 측정

발효알로에의 분자량 측정은 gel chromatography에 의한 Cooper의 방법에 준하여 측정하였다. 0.4M NaCl 용액으로 평형시킨 sephadex G-200 column(2.5×80 cm)에 표준당 용액을 충진하고 0.4M NaCl 용액으로 용출하여 용출부피로부터 표준곡선을 작성하였으며, 동일 column에 발효알로에 다당체를 충진하고 상기 용출액으로 용출하였다. 용출물을 phenol sulfuric acid법으로 당을 측정하여 elution volumn을 구하였으며, 분자량은 표준당 분자량의 대수값과 용출부피를 도시하여 얻어지는 표준곡선으로부터 결정하였다.

실험동물 및 식이

실험동물은 Shizuoka 실험동물센터(Shizuoka, Japan)에서 분양 받은 4주령의 ICR계 수컷 생쥐로서 실온이 20±2°C, 습도가 50±5%, 12시간 명암주기의 사육실에서 상품화된 생쥐용 사료와 물을 자유롭게 먹게 하였으며, 이와 같은 조건에서 1주일간 적응시킨 후 체중이 25~30 g의 생쥐만을 선별하고 각 실험군으로 분류하여 사용하였다.

실험동물 처리

사염화탄소 유도 간독성에 대한 발효알로에의 보호효과를 연구하기 위해서 Table 1과 같이 Sprague-Dawley rat (180~200 g) 7마리씩을 1군으로 하여 대조군과 CCl_4(CT)군, 알로에 베라 투여군(AV+CT), 발효알로에 저용량 투여군(FAVL+CT), 발효알로에 베라 고용량 투여군(FAVH+CT) 등의 시험군으로 구분하였다.

분석시료 제조

실험 시작 16시간 전에 절식시킨 생쥐를 경추탈구 시킨 후, 간 조직을 적출하여 차가운 생리식염수로 세척한 다음 무게를 측정하였다. 간 조직은 얼음 결정상태의 생리식염수에 넣어 세절하고 3회 수세하여 혈액을 제거하였으며, sucrose/EDTA(0.25 M/1 mM) 용액을 넣고 마쇄기(glass teflon homogenizer)로 분쇄하여 10% 균질액을 만들었다. 이 균질액을 원심분리(900×g, 15분) 상등액을 취하고, 이 상등액을 2차 원심분리(24,000×g, 10분)하였다. 얻어진 상등액(cytosolic fraction)을 SOD, CAT 활성과 과산화수소 및 단백질 함량 측정 시료로 사용하였다.

한편 지질 과산화물을 측정하기 위해서 간조직을 차가운 완충용액(0.15 M KCl, 25 mM potassium phosphate buffer in 1 mM deferoxamine mesylate, pH 7.4)에 마쇄하여 원심분리한 후 시료로 사용하였다.

Superoxide dismutase(SOD) 활성도 측정

Flohe와 Otting의 방법에 의하여 측정하였다[12]. 시험관에 50 mM potassium phosphate 완충용액(containing 0.1 mM EDTA, pH = 7.8) 990 μL, 증류수 17 μL, 시료 17 μL, 5 μM xanthine 17 μL를 넣은 후 17 μL의 xanthine oxidase (시료를 가하지 않은 반응에서 흡광도 증가가 550 nm에서 분당 0.025이상이 되도록 조절한 후)를 가한 다음 25°C, 550

Table 1. Classification of experimental groups.

Group	Treatment		
	fermented *Aloe vera* (FAV) (mg/kg/day)	*Aloe vera* (AV) (mg/kg/day)	carbon tetrachloride (mg/kg/day)
NC	-	-	-
CT	-	-	5
AV+CT	-	50	5
FAVL+CT	50	-	5
FAVH+CT	100	-	5

Normal control (NC) : saline (0.1 mL) was orally administrated. CT: saline was orally administrated for 7 days before injection. AV+CT: *Aloe vera* (50 mg/kg/0.1 mL) was orally administrated for 7 days before injection. FAVL+CT: Fermented *Aloe vera* (50 mg/kg/0.1 mL) was orally administrated for 7 days before injection. FAVH+CT: Fermented *Aloe vera* (100 mg/kg/0.1 mL) was orally administrated for 7 days before injection.

nm에서 흡광도 증가속도를 측정하여 SOD 활성도를 구하였다. SOD 활성도는 위의 조건에서 cytochrome C의 환원 속도를 50% 억제하는 효소의 양을 1 unit로 표시하였다.

Hydrogen peroxide 함량 측정

Hydrogen peroxide 측정방법은 Wolff에 의한 방법을 사용하여 측정하였다[27]. 100 μM xylenol orange, 250 μM ammonium ferrous sulfate, 100 mM sorbitol, 25 mM H_2SO_4가 되도록 각각을 합한 용액을 FOX I 시약으로 조제하고, 시료 50 μL에 FOX I 시약 950 μL를 혼합한 후, 실온에서 최소 30분 이상 방치한 다음, 원심분리하여 응결된 물질을 제거하고, 560 nm에서 분광광도계로 측정하였으며, 과산화수소를 표준시약으로 하였다.

Catalase (CAT) 활성도 측정

CAT 활성도 측정은 Aebi 방법에 따라 측정하였다[1]. 50 mM 인산 완충액(pH 7.0)으로 희석시킨 측정 시료 2.0 mL에 30 mM H_2O_2 용액 1.0 mL를 넣은 후 20°C에서 파장 240 nm에서의 흡광도 변화를 측정하였다. 효소의 활성도는 1분 동안에 1 μmole의 H_2O_2를 분해시키는 효소의 양을 1 unit로 표시하였다.

Malondialdehyde(MDA)의 함량 측정

지질의 과산화물인 MDA를 Emerit 등의 방법을 이용하여 실험하였다[11]. 간조직액의 10% 균질액 0.2 mL와 0.2 N HCl 0.1 mL를 혼합하여 60°C에서 80분간 가열하여 시료를 가수분해 시킨 다음, 가수분해한 시료에 0.4 mM 1-methyl-2-phenylindole 0.65 mL와 37% HCl 0.15 mL를 넣어 혼합시키고 45°C에서 40분 동안 반응시킨 다음 원심분리(9000×g, 10분)하여 얻은 상등액의 흡광도를 586 nm에서 측정하였다. 표준 검량선을 얻기 위하여 1,1,3,3-tetramethoxypropane(TMP)을 표준품으로 사용하였다.

단백질 정량

단백질 함량은 Bradford 등의 방법을 이용하여 비교 검토하였다[4]. 95% 에탄올 용액 50 mL에 Coomasie Brilliant Blue G-250 100 mg을 녹이고 85% 인산 100 mL와 물을 첨가하여 최종 부피가 1000 mL가 되도록 한 용액 5 mL을 가하고 15분간 방치한 다음, 595 nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다.

통계처리

모든 실험결과에 대한 통계처리는 각 실험군별로 평균차이가 있는가를 검증하기 위하여 분산분석(ANOVA 검증)을 수행하였으며, 투여군간의 유의성은 Student's t-test 이용하여 상호 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

*L. casei*을 이용한 발효알로에 제조 및 분자량 변화

활성화된 유산균 배양액을 알로에 추출물에 접종하여 37°C에서 48시간 동안 배양하였고 발효알로에 배양액을 제조하였다.

발효된 알로에액을 원심 분리하여 동결건조한 다음 분자량 변화를 측정한 결과 알로에 다당체의 분자량 분포는 200,000~50,000이 74%로 가장 많은 반면, 발효알로에의 경우 5,000이하 다당체 분자가 72%를 분포하였다. 이는 유산균 발효 과정중 알로에 다당체가 미생물이 분비하는 β-galactosidase에 의해서 저분자화 되었기 때문으로 사료된다.

다당체의 분자량 조성 비율은 Table 2와 같다.

혈정 중 ALT, AST의 변화

혈청중 ALT, AST 변화는 Table 3에 나타난 바와 같이 대조군은 각각 ALT 31.69±2.97 (U/L), AST 60.57±4.41 (U/L) 인데 비하여 CCl_4 단독 투여군에서는 3배정도 급격히 상승하였으나, 알로에 투여군의 경우 수치가 감소하였다.

또한 발효알로에의 경우 각각 ALT가 32.47±4.73 (U/L), 23.48±2.66 (U/L) 거의 90-80% 정도까지 정상치로 알로에 용량별 저하되었으며 AST의 경우도 각각 AST 149.82±9.32 u/mL, 127.48±7.95 u/mL로 거의 64-51%의 용량별 감소 효과를 보였다.

즉, 사염화탄소에 의해 간 손상의 지표로 사용되는 효소의 활성이 증가되었으며, 발효알로에 투여로 인해 활성 증가가 억제되는 결과를 보였다.

Table 2. Composition of fermented *Aloe vera* and *Aloe vera*

	Content of polysaccharide (%)	
	Fermented *Aloe vera*	Aloe vera
~ 200,000	2	19
200,000 ~ 50,000	6	74
50,000 ~ 5,000	20	6
~ 5,000	72	1
Total	100	100

Table 3. Schedule for treatment of rat with CCl_4, ethanol and tested chemicals and assay.

Groups	ALT (U/L)	AST (U/L)
NC	31.69±2.97	60.57± 4.41
CT	93.69±7.11**	187.32±12.59**
AV+CT	35.61±5.39	164.21± 8.13**
FAVL + CT	32.47±4.73	149.82± 9.32**
FAVH+CT	23.48±2.66	127.48± 7.95*

*p<0.05 and **p<0.01 : significantly different from NC group

흰쥐의 간독성 시험에서 사염화탄소, thioacetamide, dimetyl nitrosamin 및 ally alcohol 등 간독성 물질의 급성 투여 후 GPT 및 GOT가 상승하였다고 보고한 바 있는데[2] 본 연구결과에서 사염화탄소 투여로 AST와 ALT의 급격한 상승은 급성 간장 장애와 밀접한 관계가 있는 것으로 보이고 특히 사염화탄소 투여군에서 ALT와 AST 활성을 대조군과 비교하여 볼때 ALT나 AST 활성치보다 급상승율이 커다는 사실을 관찰할 수 있었다. 이는 급성 간염이나 중독성 감염으로 인한 결과라는 사실을 알 수 있었다.

SOD 활성도 변화

사염화탄소 유도 간독성에 대한 발효알로에의 간보호 효과를 연구하기 위해서 발효알로에를 경구 투여한 다음 사염화탄소에 의해 간의 장해를 유도하여 SOD 효소의 활성도 변화를 조사한 결과를 Fig. 1와 같았다.

Fig. 1에서 보는 바와 같이 사염화탄소 투여군(CT)은 대조군에 비해 유의성($p<0.01$) 있게 감소한 반면 발효 알로에 투여군(FAV)의 활성은 유의성 있게 증가하였다.

한편 사염화탄소 투여군을 대조군으로 하여 알로에 투여군의 상호 유의성을 조사한 결과 알로에 및 발효 알로에 투여군의 활성이 유의성 있게 증가함을 보였다.

Superoxide anion을 과산화수소로 전환시켜 활성산소로부터 세포를 보호하는 SOD의 경우 사염화탄소 처치후 감소하거나[8, 17, 18, 22] 변화가 없다는 보고가 있다[18].

Catalase 활성도 변화

사염화탄소 투여로 생성된 활성산소를 제거하는 과정에서 유해한 과산화수소를 물과 산소로 전환시키는 효소는 catalase(CAT), peroxidase, GPx(glutathione peroxidase)가 있는데, 알로에와 발효알로에를 사염화탄소 투여 전 경구투여 할 경우 CAT 효소 활성을 촉진시켜 과산화수소로부터 생체 내 조직을 보호하는 알로에의 사염화탄소 독성 방어 효과를 검토하기 위해서 CAT 효소 활성을 조사하였다.

Fig. 2에서 보는 바와 같이 정상 대조군에 비해 사염화탄소 및 알로에 투여군의 효소활성은 감소하였으나 발효알로에군의 경우는 저용량 투여군은 대조군과 비슷한 수준이었으나 고용량 투여군은 대조군에 비해 활성이 유의성($p<0.01$) 있게 증가하였다.

한편 사염화탄소를 대조군으로 하여 알로에 및 발효 알로에군의 상호 유의성 상관관계를 조사한 결과 모든 알로에 투여군에서 유의성($p<0.01$) 있게 활성이 증가하였다.

이러한 결과를 종합하여 볼 때 알로에 투여군은 사염화탄소 투여군 보다 유의성 있게 CAT 활성을 증가시켜 과산화수소의 함량을 감소시킬 것으로 사료된다. 알로에와 발효알로에 투여군간의 CAT 활성을 비교해 보면 발효알로에의 투여군에서 항산화 효소 활성을 잘 유도하는 것으로 사료된다.

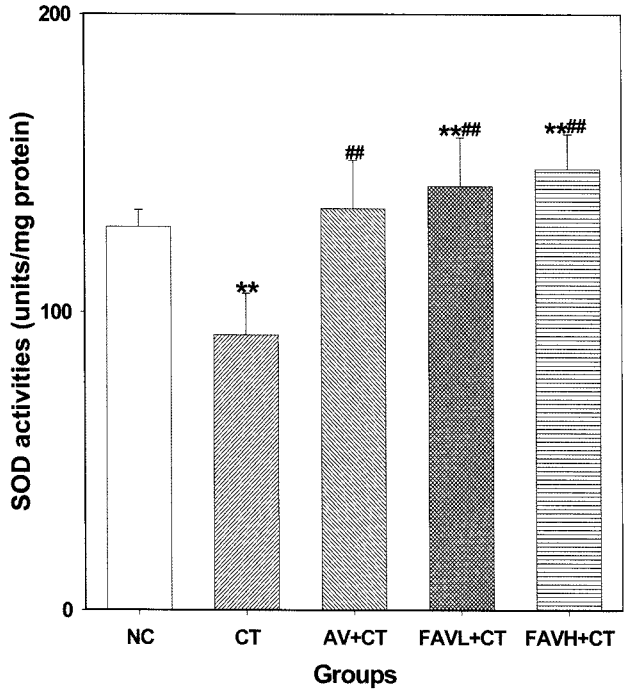

Fig. 1. Time-dependent change of SOD activities affected *Aloe vera* and fermented *Aloe vera* and CCl_4. The values represent mean±S. D. *p<0.05 and **p<0.01 : Significantly different from NC group. #p<0.05 and ##p<0.01 :Significantly different from CT group.

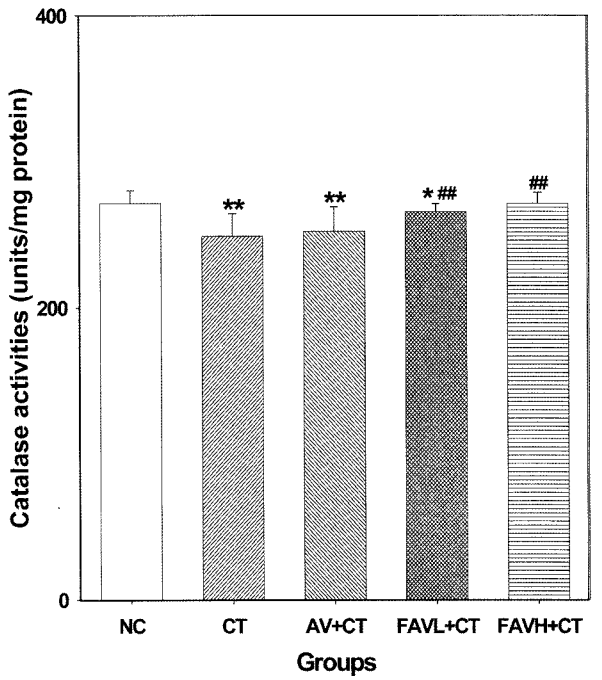

Fig. 2. Time-dependent change of catalase activities affected white ginseng, fermented ginseng and post-irradiation. The values represent mean±S. D. *p<0.05 and **p<0.01 : Significantly different from NC group. #p<0.05 and ##p<0.01 :Significantly different from CT group.

Szymonik 등의 보고와 같이 CAT 효소의 활성은 증가하는 경우도 있는 반면[26], 사염화탄소 처리 후 감소하는 경향도 있다[8, 17, 18, 22].

한편 항산화 효소는 활성 산소의 과다 생성에 의해 고갈될 수 있는 한편 화학물질에 의해 합성이 유도되기도 하므로[6, 20] 독성물질의 처치량, 기간 및 기타의 실험조건에 의해 다양한 결과를 보일 수 있다.

지질과산화물 함량 변화

에너지 생성과정에서 반응성이 매우 큰 superoxide radical (O_2^-), hydroxyl radical(OH), hydrogen peroxide(H_2O_2), singlet oxygen($^1O_2$) 등이 생성되거나, 지방산과 반응하는 alkoxy radical(RO), peroxy radical(ROO) 등과 같은 반응성이 강한 라디칼을 생성하여 불가피하게 생체내 세포에 손상을 가져오는데 이것을 free radical 또는 활성산소(active oxygen)라고 한다. 이들 활성산소에 의한 세포막의 불포화 지방산과 일련의 연쇄반응을 통하여 지질과산화의 유발을 촉진하고 그 결과로 생성되는 지질과산화물을 비롯하여 여러 가지 체내 과산화물의 함량이 증가되어 세포의 산화적 손상이 생리적 기능을 저하시키므로 노화와 유전적 장애의 원인이 되기도 한다.

알로에와 발효알로에의 지질과산화 억제작용을 연구하기 위해 MDA 함량 변화를 조사한 결과 Fig. 3에서 보는 바와 같이 사염화탄소 투여군은 대조군에 비해 유의성($p<0.01$) 있게 증가하였으며, 알로에(AV+CT), 저용량 발효알로에(FAVL+CT)투여군 역시 대조군에 비해 MDA 함량이 증가하였으나 유의성 없었다. 하지만 고용량 발효알로에(FAVH+CT)투여군은 대조군에 비해 유의성($p<0.01$) 있는 감소를 보였다.

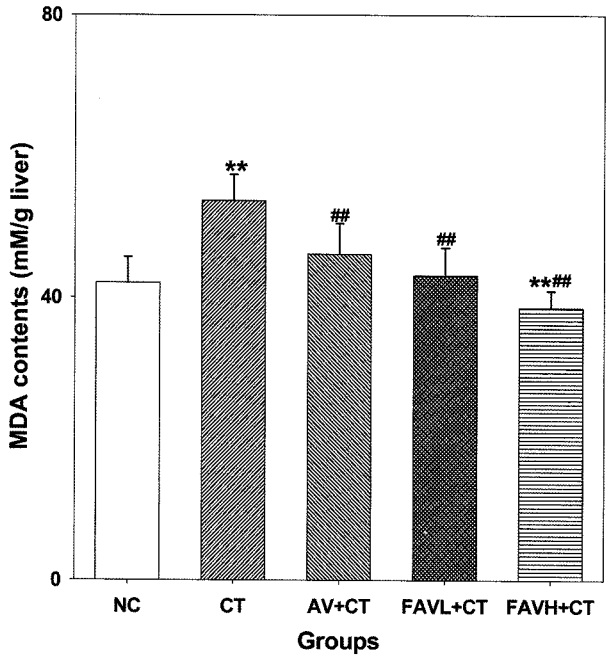

Fig. 3. Time-dependent change of MDA contents affected white ginseng, fermented ginseng and post-irradiation. The values represent mean±S. D. *$p<0.05$ and **$p<0.01$; Significantly different from NC group; #$p<0.05$ and ##$p<0.01$; Significantly different from CT group.

한편 사염화탄소 투여군을 대조군으로 해서 알로에 및 발효알로에의 상관관계를 조사한 결과 알로에 투여군은 모두 대조군에 비해 유의성($p<0.01$) 있게 MDA 함량이 감소함을 보였다.

Chandan 등도 사염화탄소 투여군에 비하여 지질과산화 감소효과를 보이는 알로에도 지질과산화 방어물질로 간세포 보호에 큰 효과를 나타낸다고 보고하였다[7].

이러한 결과들을 종합하여 볼 때 알로에를 유산균으로 발효한 결과 유효성분으로 알려진 다당체의 분자량이 저분자화 되었으며, 이를 사염화탄소 유도 간독성 유발 쥐에 복용시킨 결과 알로에 추출물에 비해 발효알로에 추출물이 용량별로 유의성 있게 지질과산화를 억제하였다. 이는 알로에의 유효성분인 다당체의 분자량이 유산균의 β-galactosidase에 의해 저분자화 되면서 생체이용률이 증진된 것으로 사료된다.

요 약

L. casei 균주를 이용하여 알로에를 발효한 결과 다당체의 분자량이 현저하게 저분자화 되었다. 사염화탄소로 유도된 흰쥐의 간과 혈청에서 간기능 활성, 항산화효소 활성 및 지질과산화에 미치는 발효알로에의 용량별 효과를 조사하였다. 14일 연속적으로 발효알로에(50, 100 mg/kg)을 경구투여 하였다. 알로에 투여군에서 SOD, CAT의 활성은 유의성 있게 활성이 증가하였으며, AST, ALT, MDA 함량을 측정한 결과 용량 의존적으로 감소하였다. 이러한 결과로 미루어 볼 때 발효알로에는 사염화탄소로 유발된 간독성에 대하여 항산화효소 활성을 증가시키며, 지질과산화를 억제하는 것으로 사료된다.

REFERENCES

1. Abei, H. E., 1983. CAT. Insight. *In Method of Enzymatic Analysis*. H. U. Bergmyer, ed. Third edition. Vol. 3. Verlag. Chemi. Weinheim, 273.
2. Balazs, T., T. K. Murray, J. M. McLaughlan, and H. C. Grice. 1961. Hepatic tests in toxicity studies on rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **3**: 71-79.
3. Boulos, L. 1983. *Medicinal plants of north africa.* Algonac Ml Reference Publications. pp. 3-92.
4. Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive mehod for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *J. Anal. Biochem.* **72**: 248-255.
5. Brown, J. S. and S. A. Marcy. 1991. The use of botanicals

for health purpose by members of a prepaid health plan. *Research Nur. & Health* **14**: 339-347.
6. Cao, Z. and Y. Li. 2004. The chemical inducibility of mouse cardiac antioxidant and phase 2 enzymes in vivo. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **317**: 1080-1088.
7. Chandan, B. K., Saxena, A. K., Shukla, S., Sharma, N., Gupta, D. K., Suri, K. A., Suri, J., Bhadauria, M. and B. Singh. 2007. Hepatoprotective potential of Aloe barbadensis Mill. against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity. *J. Ethnopharm.* **111**: 560-566.
8. Chidambara Murthy, K. N., Jayaprakansha, G. K. and R. P. Singh. 2002. Studies on antioxidant activity of pomergranate (*Punica granatum*) peel extract using in vivo models. *J. Agric. Food Chem.* **51**: 4791-4795.
9. Cho, Y. J., An, B. J., Kim, M. U. and C. S. Shim. 2006. Anti-inflammatory effect of *Aloe vera* and *Aloe arborescens* in phophatidic acid-stimulated raw cells. *J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem.* **49**:65-69.
10. Cole, H. N. and K. K. Chen. 1943. *Aloe vera* in oriental dermatology. *Arch. Dermato. Syphil.* **47**: 250-257.
11. Emerit, J. and J. Chaudiere. 1993. Free radicals and lipid peroxidation in cell biology. *In CRC handbook of free radical and antioxidants in biomedicine* Miquel, J. Quintanilha, A. T. and Weber, H. (eds.), Vol. 1.
12. Flohe, L. and F. Otting. 1984. Superoxide dismutase assays. Methods in Enzymology **105**: 114-120.
13. Gjerstad G. 1971. Chemical studies of *Aloe vera* juice I. Amino acid analysis. *Advan. Plant Sci.* **28**: 311-315.
14. Grindlay, D. and T. Reynolds. 1986. The *Aloe vera* phenomenon. A review of the properties and modern uses of the leaf parencyma gel. *J. Ethnophram.* **16**: 117-122.
15. Halliwell, B. and J. M Gutteridge. 1985. The importance of free radicals and catalytic metal ions in human diseases. *Mol. Aspects Med.* **8**: 89-193.
16. Hanley, D. C., Solomon, W. A. B. and B. Saffran. 1982. The evaluation of natural substances in the treatment of adjuvant arthritis. *J. Am. Podiatr. Med. Assoc.* **72**: 275-283.
17. Hsiao, G., Shen, M. Y., Lin, K. H., Lan, M. H., Wu, L. Y., Chou, D. S., Lin, C. H, Su, Ch. and J. R. Sheu. 2003. Antioxidant and hepatoprotective effects of Antrodia camphorata extract. *J. Agric. Food Chem.* **51**: 3302-3308.
18. Jung, S. H., Lee, Y. S., Lim, S. S., Lee, S., Shin, K. H. and Y. S. Kim. 2004. Antioxidant activities of isoflavones from the rhizomes of *Belamcanda chinensis* on carbon tetrachloride-induced hepatic injury in rats. *Arch. Pharm. Res.* **27**: 184-188.
19. Kim, K. H., Kim, H. J., Park, J. H. and Y. G. Shin. 1996. Determination of aloesin in aloe preparation by HPLC. *Yakhak Hoeji.* **40**:177-182.
20. Kono, Y., Okada, S., Tazawa, Y., Kanzaki, S., Mura, T., Ueta, E., Nanba, E. and Y. Otsuka. 2002. Response of antioxidant enzymes mRNA in the neonatal rat liver exposed to 1,2,3,4-tetrachlorobenzo-p-dixin via lactation. *Pediatr. Int.* **44**: 481-487.
21. McCay, P. B., Lai, E. K., Poyer, J. L., DuBose, C. M. and E. G. Janzen. 1993. Oxygen and carbon-centered free radical formation during carbon tetrachloride metabolism. Observation of lipid radicals *in vivo* and *in vitro*. *J. Biol. Chem.* **259**: 2135-2143.
22. Ohta, Y., Kongo-Nishimura, M., Matsura, T., Yamada, K., Kitagawa, A. and T. Kishikawa. 2004. Melatonin prevents disruption of hepatic reactive oxygen species metabolism in rats treated with carbon tetrachloride. *J. Pineal. Res.* **36**: 10-17.
23. Panos, M. B. and J. Heimlich. 1980. Homeopathic medicine at home. J. P. Tarcher, Los Angeles. p2-99.
24. Park, C. S., Ryu, I. H. and K. S. Lee. 2001. Enzymological evaluation of oral inflammation inhibitory activity by Aloe vera peel extract. *Kor. J. Food Sci. Tech.* **33**:753-759.
25. Rowe, T. D. and L. M. Parks. 1941. Phytochemical study of *Aloe vera* leaf. *J. Am. Pharm. Assoc.* **30**: 262-268.
26. Szymonik Lesiuk, S., Czechowska, G., Stryjecha-Zimmer, M., Slomka, M., Madro, A., Celinski, K. and M. Wielosz. 2003. Catalase, superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in various rat tissues after carbon tetrachloride intoxication. *J. Hepatobiliary Pancreat Surg.* **10**: 309-315.
27. Wolff, S. P. 1994. Ferrous ion oxidation in presence of ferric ion indicator xylenol orange for measurement of hydroperoxides. *Methods in Enzymology* **233**: 182-187.

(Received May 19, 2008/Accepted Jun. 24, 2008)