

## 아세트아미노펜에 의해 유도된 간독성 모델에서의 Theanine의 간보호 효과

우정부<sup>1\*</sup> · 김선오<sup>2\*</sup> · 성태종<sup>1</sup> · 최성길<sup>3</sup> · 조성환<sup>3</sup> · 최철웅<sup>4†</sup>

<sup>1</sup>한국국제대학교 식품과학부, <sup>2</sup>전라남도 천연자원연구원  
<sup>3</sup>경상대학교 응용생명과학부, <sup>4</sup>한국국제대학교 제약공학과

## Protective Effect of Theanine on the Acetaminophen-induced Hepatotoxicity

Jung Bu Eu<sup>1\*</sup>, Sun Oh Kim<sup>2\*</sup>, Tae Jong Seoung<sup>1</sup>, Sung Gil Choi<sup>3</sup>,  
Sung Hwaon Cho<sup>3</sup>, and Chul Yung Choi<sup>4†</sup>

<sup>1</sup>School of Food Science International University of Korea, Gyeongnam 660-759, Korea

<sup>2</sup>Jeonnam Natural Resources Research Institute, Jeonnam 529-851, Korea

<sup>3</sup>Division of Applied Life Sciences, Graduate School, Institute of Agricultural &  
Agricultural & Life Sciences, Gyeongsang National University, Gyeongnam 660-701, Korea

<sup>4</sup>Dept. of Pharmaceutical Formulation Engineering, International University of Korea, Gyeongnam 660-759, Korea

### Abstract

The hepatoprotective effects of theanine on acetaminophen (APAP)-induced hepatotoxicity were investigated *in vivo* and *in vitro*. The effects of theanine on liver toxicity induced by APAP were assessed by blood biochemical and histopathological analyses. APAP treatment (400 mg/kg) caused severe liver injury in mice as indicated by their significantly elevated plasma aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) levels. Pretreatment with theanine for 3 days attenuated the increase in ALT and AST when challenged with APAP. These protective effects of theanine against APAP-induced toxicity were consistent with the results from the histopathological examinations. We next examined the effects of theanine on the GSH concentration in liver plasma. The hepatic GSH level was significantly elevated in a dose-dependent manner by theanine treatment. The results suggest that the protective effects of theanine APAP-induced hepatotoxicity by anti-oxidative effect and GSH induction, implying that theanine should be considered a potential chemopreventive agent.

**Key words:** theanine, MDA, GSH, acetaminophen, hepatoprotection

### 서 론

우리나라뿐만 아니라 전 세계적으로 건강보조식품에 대한 법률이 제정, 시행되면서 이러한 건강기능성 식품에 대한 시장 규모가 확대되고 있다(1). 또한 일반 소비자들의 식품에 대한 취향이 건강 지향적이고, 천연 지향적이면서 안전한 식품에 대한 요구도 또한 높아지고 있다(2). 이에 건강기능 식품의 기능성과 유용성을 과학적으로 입증하고 이를 이용하고자 하는 노력이 이루어지고 있다(2).

녹차는 대표적인 현대인의 기호식품이며, 녹차의 우수성이 알려지면서 다이어트, 기능성 제품, 화장품 등의 개발이 활발히 이루어지고 있다(3,4). 녹차에는 약 50여종이 넘는 유기 화합물과 단백질, 아미노산, 카페인, 카테킨, 당질, 유기산, 비타민류와 각종 미네랄 등이 함유되어 있는 것으로 알려져 있다(5). 특히, 녹차에 함유된 aspartic acid, threonine, theanine, glutamic acid, proline, glycine 등의 아미노산 가

운데 theanine( $\gamma$ -glutamyl-ethylamide)은 녹차 아미노산 함량의 40~60%를 차지하는 주요 아미노산이다. Theanine은 다른 식물에는 거의 발견되지 않고 차와 일부 버섯 품종에만 들어있는데, 특히 녹차에 많이 함유되어 있다(녹차 잎의 약 1~2%)(3). 녹차 3~4컵에는 theanine이 100~200 mg 함유되어 있고, 녹차의 단맛을 내는 성분이다(6). 1949년 화학구조가 밝혀진 이래로(7) theanine은 caffeine과 catechins의 전구체로서 중추 신경계 보호 및 신경세포 성장 촉진 인자이며(8-10), 신경안정 및 혈압을 낮추어 정신 안정에 도움을 주는 것으로 알려져 있다(11). 그러나 아직까지 theanine의 APAP 독성에 대한 간 보호 작용에 대해서는 연구된 바가 없다.

간은 영양소 및 물질 대사와 해독을 담당하는 중요한 장기이다. 알려진 간 손상 유도 물질에는 알코올, 지질과산화, 식품 중의 toxin과 항생물질, 화학 요법제, 중추신경계용 약물, 순환기계용 약물과 같은 간독성 약물 등이 있다. 특히,

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: blockstar@hanmail.net  
Phone: 82-55-751-8345, Fax: 82-55-751-8100

사염화탄소(carbon tetrachloride, CCl<sub>4</sub>), 나이트로사민(nitrosamine) 및 polycyclic aromatic hydrocarbons 등과 함께 acetaminophen(paracetamol, N-acetyl-p-aminophenol, 4-hydroxyacetanilide, APAP)은 간 내 P-450효소에 의해 대사 활성이 일어나 반응성이 큰 대사물을 생성하고 이러한 대사물들에 의해 생성된 독성 물질이 실험동물 및 인간의 간 손상을 유발시킨다고 보고되어졌다(12). APAP는 acetanilide 및 phenacetine의 주요 대사물로서 1800년대 후반기에 합성되었으나 1950년대 중반 도입된 이후 아스피린을 대용하는 즉, 위장 출혈을 일으키지 않는 해열 및 진통제로 널리 쓰이고 있다(13). 한편, APAP는 상용량(4 g/day 이하, 성인기준)에서는 안전하지만, 과량 투여 시(6 g/day 이상, 성인기준) 사람과 동물에서 간의 글루타치온(GSH) 함량을 감소시켜 치명적인 간과 신장괴사를 유발하는 것으로 알려져 있다(14-19). 사람에서는 APAP를 250 mg/kg 이상 복용하였을 경우 간조직의 50% 정도가 손상된다는 연구 결과가 있다(20). 제기되고 있는 APAP의 간 손상 기전은 두 가지 이론이 있다(21,22). 산화적 스트레스 이론으로 APAP 대사 과정에서 생성된 활성산소에 의해서 세포 괴사가 유도된다는 이론이며, 둘째, 공유 결합 이론으로 세포의 죽음을 야기하는 세포 거대분자에 대한 고반응성 APAP 대사산물의 결합이다.

이에 본 연구에서는 APAP로 유도한 간 손상 동물모델을 이용하여 theanine이 산화적 자극으로부터 간을 보호하는지에 대하여 조사하고, 기호식품 녹차의 간 보호 기능성을 실험하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

Theanine(97%)은 Toko Chemical Industry(Tokyo, Japan)에서 구입하여, 3차 증류수에 녹여 사용하였다. 시료는 산패를 방지하기 위하여, 빛을 차단하고, 실험 전에 제작하여 사용하였다.

### 실험동물

실험동물은 대한실험동물센터(서울)에서 구입한 4주령의 ICR계 수컷 생쥐를 1주일간 일정한 조건(기온 20±2°C, 습도 50%, 명암주기 12시간)에 적응시킨 후 체중이 25~30 g의 생쥐를 사용하였다. 실험동물은 생쥐 5마리를 1군으로 무작위로 분류하였다. 대조군과 APAP군은 증류수 0.1 mL/day를 투여하고, 실험군은 시료(10, 50, 200 mg/kg)를 3일 동안 경구 투여하였다. 최종 경구 투여 3시간 후에 APAP(400 mg/kg, i.p)를 복강 투여하고 12시간 절식시켰다. 실험동물은 최종 투여 18시간 후 희생하여 생체시료를 취하였다.

### DPPH 소거능

Theanine의 항산화 효과를 알아보기 위해 Matsuzaki와

Hata(23)의 방법을 변경하여 diphenylpicrylhydrazyl(DPPH)를 이용한 자유 라디칼 소거능 실험을 시험관에서 실시하였다. 시료 10 µL(in water)에 10 mM DPPH 용액 30 µL 가하여 증류수 1 mL 첨가 후 5분 동안 상온에서 방치하였으며, 방치 후 toluene을 1 mL씩 첨가 후 상등액을 취하여, 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 여기서 아무것도 첨가하지 않은 군과 ascorbic acid를 첨가한 군을 비교하였으며, 모든 실험은 3회 반복을 수행하였다.

### 지질과산화

활성산소종에 의한 산화적 스트레스를 항산화제에 의한 저해 효과를 알아보기 위해 지질과산화 실험을 시험관에서 실시하였다. 정상적인 rat의 뇌를 절취하여, tris-HCl buffer에 1 g 당 5 mL의 비율로 균질화시켜 실험에 사용될 지질을 취하여 지질과산화에 사용하였다. 이 수용액을 12,000 rpm에서 20분간 centrifuge 시킨 후 그 상등액을 300 µL 취하였다. 그 상등액에 FeSO<sub>4</sub>와 ascorbic acid를 각각 10 µM, 0.1 mM을 넣은 다음 시료를 농도별로 넣은 후 37°C water bath에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응 후 동량의 TCA를 처리하여 반응을 멈추고, 이물질을 침전시킨 후 TBA를 500 µL 넣어 과산화물의 분해 생성물인 malondialdehyde와 TBA가 반응하도록 100°C에서 20분간 가열 반응시켜 TBA 반응산물을 532 nm에서 흡광도를 측정하였다(24).

### 분석시료 제조 및 측정

실험 시작 12시간 전에 절식시킨 생쥐의 혈액을 채취하여 혈액 분석에 이용하였으며, 경추 탈골시키고 간 조직을 적출하여 차가운 생리식염수 세척한 후 수세하여 혈액을 제거하였다. 혈액을 제거한 간을 식염수에 마쇄하여 지질과산화 및 GSH 함량을 측정하였으며, 간조직의 일부를 포르말린(10%)에 24시간 동안 침지하여, 조직의 병리학적 검사에 이용하였다.

### AST 및 ALT 활성

APAP를 투여하고 24시간에 각 실험군의 mice를 마취한 후 개복하여 심장으로 부터 혈액을 채취하였다. 혈액은 3000 rpm에서 15분간 원심분리 하여 얻어진 상등액으로, AST 및 ALT kit을 이용하여 Reitman-Frankel(19)의 방법을 이용하여 측정하였다.

### 간에서의 지질과산화물 함량

지질의 과산화물인 MDA를 Erdelmeier(21) 방법을 이용하여 측정하였다. 간 100 mg을 적출 후 1 mL의 tris-HCl buffer에 넣은 후 homogenization 시켰다. 이 수용액을 12,000 rpm에서 20분간 centrifuge 시킨 후 그 상등액을 300 µL 취하였다. 상등액에 동량의 TCA를 처리한 후 20 min, 3000 RPM에서 원심분리 후 상등액에 2-thiobarbituric acid(TBA)를 500 µL 넣어 과산화물의 분해 생성물인 malondialdehyde와 TBA가 반응하도록 100°C에서 20분간 가열 반응시켜

TBA 반응산물(TBA reactive substance)을 532 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 간조직 중 glutathione의 정량

10% 간조직 1 mL에 1 mM EDTA가 함유된 5% tri-chloroacetic acid를 가하여 원심분리한 후 상등액 0.5 mL를 취하였다. 0.5 mL ninhydrin 시약을 가한 후 10분간 가열하여 냉각하고 560 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이곳에서 non-protein-SH에서 cystein을 제한 값을 glutathione의 양으로 하였다(25).

#### 조직의 병리학적 검사

조직의 광학현미경적 변화를 관찰하기 위하여 간 소엽을 절제하여 10% 포르말린에 고정시킨 후 통상적인 방법으로 탈수와 청명과정을 거쳐 파라핀 왁스로 포매하였다. 포매된 조직은 5 µm 두께로 박절한 후 유리 슬라이드에 부착하고 Hematoxylin-Eosin(H&E)으로 염색한 다음, 광학현미경으로 간 조직의 손상 정도를 관찰하였다. 조직학적 검정은 각 군당 조직샘플 4개를 무작위로 선택하여 이중 맹검으로 평가하였다.

#### 통계처리

실험결과는 평균치±표준오차(mean±SE)로 나타냈으며, 대조군과 실험군과의 유의성은 ANOVA test로 분석하였다.

## 결과 및 고찰

#### 항산화 효과

전자공여 작용은 활성 라디칼에 전자를 공여하여 연쇄반응을 중단시키고 식품 내 지질산화억제나 인체 내에서의 노화를 억제하는 작용의 척도로 사용되고 있다. 따라서 본 실험에서 환원성 물질의 분석시약으로 안정한 free radical인 DPPH를 이용하여, theanine의 전자공여능을 측정하였으며, 지질과산화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 쥐 뇌의 지질을 이용한 지질과산화를 측정하였다. 수행 결과 DPPH의 실험에서 theanine의 농도 의존적으로 항산화 효과를 보이는 것을 확인할 수 있었으며, 본 실험의 최고 처리농도인 200 µg/mL에서는 Vit. C 활성의 약 72%에 달하는 높은 생리활성을 보였다. 또한 쥐의 뇌를 이용한 지질과산화에서도 동일하게 theanine의 농도에 의존적으로 항산화 효과를 보였으며, 최고농도에서는 약 Vit. C의 82% 정도의 활성을 보였다(Table 1). 이러한 결과는 Yokozawa 등(26)의 보고에 의한 동물세포 실험에서 나타난 theanine의 항산화 효과와 일치하는 것이다.

#### APAP 유도성 간기능지표(ALT, AST)

APAP 간 독성 동물모델에서 theanine의 간 보호 효과를

**Table 1. Effect of the theanine on active oxygen radical scavenging activity and antioxidative activity**

Groups <sup>1)</sup>	LPO nmol/g (relativity %)	DPPH OD. 517 nm (relativity %)
Control	8.1±0.2 (100±4.2)	0.45±0.02 (100±13)
Vit. C	1.0±0.3 (13±5)	0.03±0.03 (7±7)
Theanine 10 µg/mL	7.2±0.2 (89±6.0)	0.34±0.09 (76±12)
Theanine 50 µg/mL	5.1±0.4 (64±3)	0.18±0.02 (42±5)
Theanine 200 µg/mL	2.9±0.7 (37±7)	0.06±0.01 (23±4)

<sup>1)</sup>The values represent mean±SD of three times of measurement per each group in the same condition.

관찰하기 위하여 간 기능의 혈액학적 지표인 ALT, AST 활성을 측정하였다. ALT, AST는 간질환의 진단에 널리 사용되는 효소로서 혈청 중 간독성으로 인해 간세포의 괴사와 간조직의 파괴가 진행됨에 따라 효소가 혈중으로 유리되어 혈장 내에서 활성이 증가함으로 이 효소의 활성은 간 손상의 지표로 이용된다(14,19). APAP 단독투여는 혈청 ALT, AST의 활성도를 정상군에 비해 각각 약 2.5배, 2.6배 이상 증가시켰다(Table 2). 이는 Lee 등(27), Lee 등(28)이 APAP를 복강투여 후 관찰한 결과와 동일하고, APAP에 의한 간 손상이 정상적으로 발생하였음을 보여주는 결과이다. APAP에 의해 증가된 혈청 속의 ALT, AST 효소는 theanine의 전 처리에 따라 APAP 단독 처리군에 비하여 이들 효소의 활성이 정상군 수준에 근접하게 농도 의존적으로 감소하는 것을 확인할 수 있었다(Table 2). 본 연구 결과 theanine을 200 mg/kg의 용량으로 3일간 전 투여하였을 때 가장 강한 간 보호 효과를 보이는 것을 알 수 있었다(Table 2). 이러한 결과로 항산화효과를 가지고 있는 theanine이 APAP 간 손상 실험모델에서 간 손상 수치를 억제하는 것을 확인하였으며, 간 손상 억제의 원인을 파악하기 위하여 추가 실험을 수행하였다.

#### 간 조직 내 지질과산화

Theanine을 농도별로 전 처리한 후 APAP를 복강 내로

**Table 2. The activities of AST and ALT in serum of the APAP-treated mice after theanine administration**

Groups <sup>1)</sup>	AST (karmen units/mL)	ALT (karmen units/mL)
Control	124±3.2 <sup>2)</sup>	80±4.2
Theanine 200 mg/kg	119±4.2	72±3.8
APAP	309±1.5**	210±15.2*
APAP+Theanine 10 mg/kg	280±7.0	189±4.5
APAP+Theanine 50 mg/kg	190±5.1*	142±7.1*
APAP+Theanine 200 mg/kg	131±3.2*	82±6.2*

<sup>1)</sup>Diet and water fed containing theanine were provided animals for 3 days followed by APAP-injection (400 mg/kg, i.p).

<sup>2)</sup>The values represent mean±SD of 5 mice per each group in the same condition.

\*\*Significantly different from control at p<0.01. \*Significantly different from APAP control at p<0.01.

Table 3. MDA formation in the APAP-treated mice liver microsome after theanine administration

Groups <sup>1)</sup>	MDA formation (nmole/1 mL/100 mg)
Control	32±4.2 <sup>2)</sup>
Theanine 200 mg/kg	34±2.2
APAP	62±7.5**
APAP+Theanine 10 mg/kg	58±6.0
APAP+Theanine 50 mg/kg	37±2.1
APAP+Theanine 200 mg/kg	29±4.1*

<sup>1)</sup>Diet and water fed containing theanine were provided animals for 3 days followed by APAP-injection (400 mg/kg, i.p).

<sup>2)</sup>The values represent mean±SD of 5 mice per each group in the same condition.

\*\*Significantly different from control at p<0.01. \*Significantly different from APAP control at p<0.01.

주사하여 간 조직 중의 지질과산화물의 함량을 관찰하였다. 생리식염수를 투여한 대조군에 비하여 APAP을 단독 투여한 후 지질과산화물의 함량이 약 2.3배로 현저히 증가되었으나, theanine의 전처리군에서는 농도 의존적으로 감소하는 경향을 보였다(Table 3). 고농도의 theanine 투여군(200 mg/kg)의 경우 지질과산화도는 정상군과 유사한 결과를 나타내었다. 또한 theanine 단독 처리하였을 때 유의한 변화는 나타나지 않았다. 이와 같은 결과로 APAP에 의한 간 내 지질과산화가 theanine에 의해 감소한 것을 확인할 수 있었다(Table 3). 생체에서 과산화지질은 여러 가지 독성 화합물이나 약물에 의한 간 손상 유발의 가장 중요한 인자로 세포내 산화적 스트레스의 증가, 즉 유리라디칼 생성의 증가 및 항산화적 억제력의 감소에 의하여 증가되며, 노화나 동맥경화 등 많은 퇴행성 질환의 주요인자로 보고되어 있다(29). 본 연구결과 theanine이 실험동물의 간에서 농도의존적인 지질과산화 억제 효과를 보여 간 보호 작용에 대한 추가 실험을 수행하였다.

#### Glutathione의 농도

현재 지질과산화 그 자체가 세포사를 일으키기에는 불충분하다고 알려져 있다. 과산화가 유발된 지질은 GSH와 thiols 함유 단백질과 상호작용을 하며, 이러한 상호작용을 통해 산화적 스트레스 유발 시 GSH 감소와 thiols 함유 단백질의 불활성화를 가져 온다. 세포내 대부분의 주요 효소가 활성화되기 위해 필요한 thiols에 산화가 유발되면 효소의 활성이 파괴된다. 이러한 산화적 불활성화에 의해 세포사가 유발되게 된다. GSH 감소에 대한 theanine의 영향을 알아보기 위해 간조직에서 GSH 양 변화를 측정하였다. 본 실험에서는 간 내 GSH 농도에서는 APAP 단독 처리군이 2.8 µmol/0.1 g of tissue의 결과를 보여 대조군 6.2 µmol/0.1 g of tissue에 비해 GSH의 함량이 유의적으로 감소한 것을 확인할 수 있었다(Table 4). APAP에 의해 감소한 GSH의 양이 theanine 처리 농도에 의존하여 회복되는 것을 관찰할 수 있었다. 또한 theanine의 단독 처리군에서 GSH의 양이 7.8 µmol/

Table 4. GSH concentration in the APAP-treated mice liver microsome after theanine administration

Groups <sup>1)</sup>	GSH concentration
Control	6.2±0.7 <sup>2)</sup>
Theanine 200 mg/kg	7.8±0.3
APAP	2.8±0.8**
APAP+Theanine 10 mg/kg	3.4±0.4
APAP+Theanine 50 mg/kg	3.2±0.2
APAP+Theanine 200 mg/kg	5.9±0.4*

<sup>1)</sup>Diet and water fed containing theanine were provided animals for 3 days followed by APAP-injection (400 mg/kg, i.p).

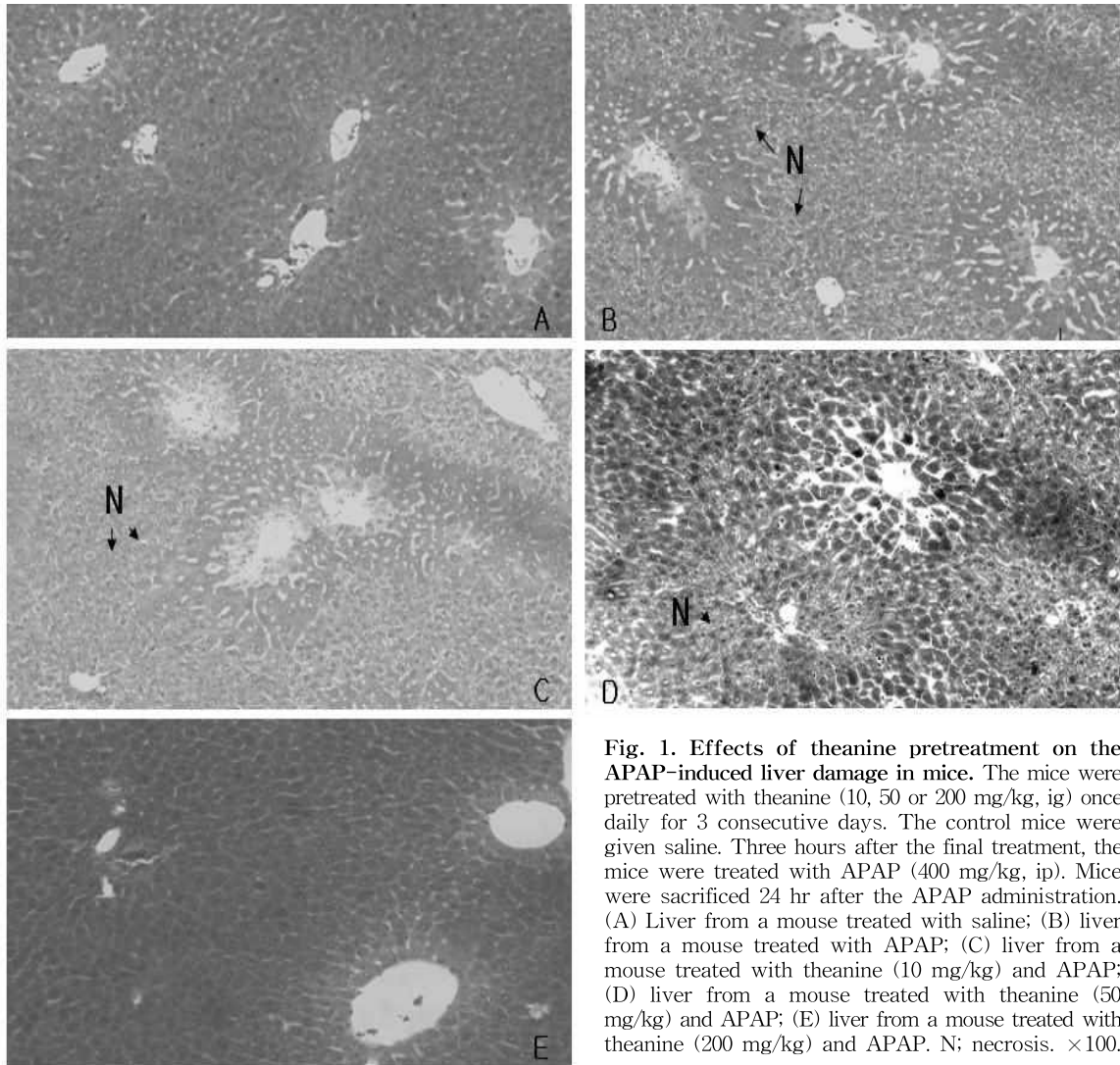
<sup>2)</sup>The values represent mean±SD of 5 mice per each group in the same condition.

\*\*Significantly different from control at p<0.01. \*Significantly different from APAP control at p<0.01.

0.1 g of tissue로 약 21% 정도 증가하여 정상조직에서 theanine의 단독처리 시 간과 심장에서 GSH의 생성이 증가한다는 기존의 연구결과(30)와 동일한 것을 확인할 수 있었으나 유의성은 없었다. 본 결과로 theanine은 GSH의 생성을 증가시켜 APAP에 의한 산화적 자극을 저해하여 간 조직의 손상을 방어하는 것을 확인할 수 있었다. 간 조직의 경우 GSH가 40%정도 고갈되었을 경우는 간독성을 나타내지 않는 것으로 보고되고 있으나(31), 80~90%정도 고갈된 경우에는 과산화적 손상을 일으키는 것으로 보고되고 있다(32). APAP에 의한 간 독성의 해독에 GSH가 중요한 역할을 하며 GSH가 고갈된 상태가 된다면 심각한 간 피사를 유발하는 것으로 알려져 있다(33-35). Theanine을 처리한 실험군에서는 APAP 처리 시 약 55%정도 감소한 GSH의 양을 정상군의 95%까지 회복시키는 것을 확인할 수 있었다. 이상의 결과로 theanine은 APAP에 의해 유발된 간세포의 손상을 동물 간세포의 지질과산화를 방지하여 세포 손상을 저해하는 것을 확인할 수 있었다.

#### Theanine에 의한 조직학적 평가

적출한 간 조직으로부터 H&E 염색을 통해 조직의 손상 정도를 관찰하였다. Fig. 1에 보는 바와 같이 지방구를 제외한 부분이 붉게 염색되었으며, 핵은 보라색으로 나타났다. APAP 단독 투여한 군에서 간세포 피사가 유발되는 것을 관찰할 수 있었는데 이는 Lee 등(35)과 동일한 결과로 정상적으로 간독성이 유발되었음을 알 수 있었다. Theanine을 농도별로 3일간 전처리한 후 APAP 처리를 통해 간독성을 유발시킨 군에서는 APAP 단독 처리군에 비해 농도 의존적으로 간세포의 피사가 감소하는 것을 광학현미경 관찰로 확인할 수 있었으며, 또한 실험 최고농도인 theanine 200 mg/kg의 농도에서는 간세포의 피사 및 변성이 조직학적 검정에서 관찰되지 않았다(Fig. 1). 본 결과로, 항산화 효과를 보인 theanine이 APAP의 aryl 생성물을 감소시켜 지질과산화를 막고, GSH가 소모되는 것을 방지하여 간세포의 피사를 방지하는 것을 알 수 있었다.



**Fig. 1.** Effects of theanine pretreatment on the APAP-induced liver damage in mice. The mice were pretreated with theanine (10, 50 or 200 mg/kg, ig) once daily for 3 consecutive days. The control mice were given saline. Three hours after the final treatment, the mice were treated with APAP (400 mg/kg, ip). Mice were sacrificed 24 hr after the APAP administration. (A) Liver from a mouse treated with saline; (B) liver from a mouse treated with APAP; (C) liver from a mouse treated with theanine (10 mg/kg) and APAP; (D) liver from a mouse treated with theanine (50 mg/kg) and APAP; (E) liver from a mouse treated with theanine (200 mg/kg) and APAP. N; necrosis.  $\times 100$ .

## 요 약

아세트아니모펜(APAP)으로 유도된 간독성 모델에 미치는 theanine의 간 보호 작용에 대하여 간 기능 지표효소의 활성 측정, 항산화 및 GSH량 측정, 조직학적 변화 등을 통해 확인하였다. Theanine은 그 자체로 항산화 효과를 보였으며, 과량 투여된 APAP에 의해 발생하는 간조직의 지질과산화의 감소와 GSH가 회복되는 것을 동물실험을 통해 확인할 수 있었다. 또한 지질과산화와 GSH의 감소로 인해 발생한 간세포의 손상이 theanine의 처리 농도에 비례하여 감소하는 것을 간수치 검사와 간조직 검사를 통해 최종 확인하였다. 지금까지 간보호에 효과를 보이는 녹차의 카테킨이 주로 연구되어 왔으나, 본 연구를 통해 녹차의 theanine도 간 보호 작용을 알 수 있었다. 이러한 연구 결과는 주 아미노산 성분인 theanine을 강화시킨 기능성 녹차 및 건강기능식품 개발의 기초 자료로 활용 가능할 것으로 사료된다.

## 감사의 글

이 논문은 2005년 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국 학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구임(KRF-2005-003-F00036).

## 문 헌

1. Kim HK. 2004. Current status and prospect of nutraceuticals. *Food Ind Nutr* 9: 1-14.
2. Shim CK. 2004. Implementation and policy direction of the Korean health functional food law and its regulations. *Food Sci Ind* 37: 37-40.
3. Goto T, Yoshida Y, Amano I, Horie H. 1996. Simultaneous analysis of individual catechins and caffeine in green tea. *Foods & Food Ingred J Jpn* 170: 46-51.
4. Graham HN. 1992. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. *Prev Med* 21: 334-350.
5. Hasegawa R, Chujo T. 1995. Preventive effects of green tea against liver oxidative DNA damage and hepatotoxicity

- in rate treated with 2-nitropane. *Food Chem Toxicol* 33: 961-970.
6. Ashihara H, Sano H, Crozier A. 2008. Caffeine and related purine alkaloids: biosynthesis, catabolism, function and genetic engineering. *Phytochemistry* 69: 841-856.
  7. Friedman M, Mackey BE, Kim HJ, Lee IS, Lee KR, Lee SU, Kozukue E, Kozukue N. 2007. Structure-activity relationships of tea compounds against human cancer cells. *J Agric Food Chem* 24: 243-253.
  8. Casimir J, Jadot J, Renard M. 1960. Separation and characterization of N-ethyl- $\gamma$ -glutamine from *Xerocomus badius*. *Biochim Biophys Acta* 39: 462-468.
  9. Crozier A, Yokota T, Jaganath IB, Marks SC, Saltmarsh M, Clifford MN. 2006. Secondary metabolites in fruits, vegetables, beverages and other plant-based dietary components. In *Plant Secondary Metabolites*. Blackwell, Oxford, England. Chapter 7, p 208-302.
  10. Sakato A. 1949. The chemical constituents of tea. III. A new amide theanine. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 23: 262-267.
  11. Pacheco GS, Panatto JP, Fagundes DA, Scaini G, Bassani C, Jeremias IC, Rezin GT, Constantino L, Dal-Pizzol F, Streck EL. 2009. Brain creatine kinase activity is inhibited after hepatic failure induced by carbon tetrachloride or acetaminophen. *Metab Brain Dis* 24: 383-394.
  12. Guengerich FP, Kim DH, Iwasaki M. 1991. Role of human cytochrome P-450 IIE1 in the oxidation of many low molecular weight cancer suspects. *Chem Res Toxicol* 4: 168-179.
  13. Imaeda AB, Watanabe A, Sohail MA, Mahmood S, Mohamadnejad M, Sutterwala FS, Flavell RA, Mehal WZ. 2009. Acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice is dependent on Tlr9 and the Nalp3 inflammasome. *J Clin Invest* 119: 305-314.
  14. Lee WM. 2004. Acetaminophen and the US Acute Liver Failure Study Group: lowering the risks of hepatic failure. *Hepatology* 40: 6-9.
  15. Laine JE, Auriola S, Pasanen M, Juvonen RO. 2009. Acetaminophen bioactivation by human cytochrome P450 enzymes and animal microsomes. *Xenobiotica* 39: 11-21.
  16. Fischer LJ, Green MD, Harman AW. 1986. Levels of acetaminophen and its metabolites in mouse tissue after a toxic dose. *J Pharmacol Exp Ther* 219: 281-286.
  17. Sun J, Schnackenberg LK, Beger RD. 2009. Studies of acetaminophen and metabolites in urine and their correlations with toxicity using metabolomics. *Drug Metab Lett* 3: 130-136.
  18. Marchetti A, Rossiter R. 2009. Managing acute acetaminophen poisoning with oral versus intravenous N-acetylcysteine: a provider-perspective cost analysis. *J Med Econ* 12: 384-391.
  19. Clissold SP. 1986. Paracetamol and phenacetin. *Drugs* 4: 46-59.
  20. Hinson JA, Roberts DW, James LP. 2010. Mechanisms of acetaminophen-induced liver necrosis. *Handb Exp Pharmacol* 196: 369-405.
  21. Jaeschke H, Bajt ML. 2006. Intracellular signaling mechanisms of acetaminophen-induced liver cell death. *Toxicol Sci* 89: 31-41.
  22. Schwabe RF, Uchinami H, Qian T, Bennett BL, Lemasters JJ, Brenner DA. 2004. Differential requirement for c-Jun NH2-terminal kinase in TNF $\alpha$ - and Fas-mediated apoptosis in hepatocytes. *FASEB J* 18: 720-722.
  23. Matsuzaki T, Hata Y. 1985. Antioxidative activity of tea leaf catechins. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 59: 129-134.
  24. Wang EJ, Li Y, Lin M, Chen L, Stein A, Reuhl KR, Yang CS. 1996. Protective effects of garlic and related organosulfur compounds on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 136: 146-154.
  25. Wu YL, Piao DM, Han XH, Nan JX. 2008. Protective effects of salidroside against acetaminophen-induced toxicity in mice. *Biol Pharm Bull* 31: 1523-1529.
  26. Yokozawa T, Dong E, Chung HY, Oura H, Nakagawa H. 1997. Inhibitory effect of green tea on injury to a cultured renal epithelial cell line, LLC-PK1. *Biosci Biotechnol Biochem* 61: 204-206.
  27. Lee YS, Han OK, Jeon TW, Lee ES, Kim KJ, Park CW, Kim HJ. 2002. Effect of Astragali radix extract on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Korean J Oriental Physiol Pathol* 16: 707-713.
  28. Lee KJ, You HJ, Park SJ, Chung YC, Jeong TC, Jeong HG. 2001. Hepatoprotective effects of *Platycodon grandiflorum* on acetaminophen-induced liver damage in mice. *Cancer Lett* 174: 73-81.
  29. Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climet I, Lenz AG, Ahn BW, Shaltiel S, Stadtman ER. 1990. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol* 186: 464-478.
  30. Sugiyama T, Sadzuka Y. 2004. Theanine, a specific glutamate derivative in green tea, reduces the adverse reactions of doxorubicin by changing the glutathione level. *Cancer Lett* 212: 177-184.
  31. Yeung JH, Chiu LC, Ooi VE. 1994. Effect of polysaccharide peptide (PSP) on glutathione and protection against paracetamol-induced hepatotoxicity in the rat. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 16: 723-729.
  32. Biaglow JE, Varnes ME, Roizen-Towle L, Clark EP, Epp ER, Astor MB, Hall EJ. 1986. Biochemistry of reduction of nitro heterocycles. *Biochem Pharmacol* 35: 77-90.
  33. Vermeulen NPE, Bessems JGM, Van de Straat R. 1992. Molecular aspects of paracetamol-induced hepatotoxicity and its mechanism-based prevention. *Drug Metab Rev* 24: 367-407.
  34. Cohen SD, Khairallah EA. 1997. Selective protein arylation and acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug Metab Rev* 29: 59-101.
  35. Lee KJ, You HJ, Park SJ, Kim YS, Chung YC, Jeong TC, Jeong HG. 2001. Hepatoprotective effects of *Platycodon grandiflorum* on acetaminophen-induced liver damage in mice. *Cancer Lett* 174: 73-81.

(2009년 12월 9일 접수; 2010년 1월 15일 채택)