

Chinese Cabbage 잎과 뿌리가 메탄올층의 Bromobenzene 간손상에 대한 보호효과

이효정 · 김관현 · 이은옥 · 최종원¹ · 강경선² · 윤병수³ · 김성훈*

경희대학교 동서의학 대학원, 1:경성대학교 약학과, 2: 서울대학교 수의과대학, 3:경기대학교 생물학과

Hepatoprotective Effect of the Methanol Fraction of Chinese Cabbage on Liver Injury in Rats Treated by bromobenzene

Hyo Jung Lee, Kwan Hyun Kim, Eun Ok Lee, Jong Won Choi¹,
Kyung Sun Kang², Byong Su Yoon³, Sung Hoon Kim*

Department of Oncology, Graduate School of East-West Medical Science, Kyunghee University, 1: College of Pharmacy, Kyongsung University, 2: Department of Veterinary Public Health, College of Veterinary Medicine, Seoul university, 3: Department of Biology, Kyonggi University

Chinese cabbage is a vegetable of Cruciferous family. It was usually consumed as Kimchi. It was known to have amount of vitamin c. Recently the trend for the development of functional food combined with oriental herbs. For this aim the study was performed to evaluate the hepatoprotective effect via antioxidant activity of leaf and root of Sanchon Chinese cabbage(*Brassica campestris* L.) comparatively. The methanol extracts of Chinese cabbage were tested for investigating the effects on the formation of lipid peroxide and the activities of free radical generating enzyme in vitro in bromobenzene-treated rats. The methanol extracts of chinese cabbage reduced bromobenzene-induced hepatic lipid peroxidation and inhibited the activity of xanthine oxidase. The methanol extracts of chinese cabbage did not activate aminopyrine N-demethylase, aniline hydroxylase and glutathione S-transferase. Epoxide hydrolase activity was decreased by bromobenzene, which was restored by pretreatment of the methanol extracts of chinese cabbage. The results suggest that the methanol extracts of Chinese cabbage is reduced by enhancing the activity of epoxide hydrolase.

Key words : Chinese Cabbage, antioxidant, bromobenzene, liver injury

서 론

배추는 한약명이 菘菜(송채)로서 맛이 달고 “消食下氣 清利腸胃 去胸中熱 除消渴 解酒毒”라 하여 소화작용이 있고 위장과 가슴의 소모성 열을 제거하며, 갈증과 주독(酒毒)을 풀어주는 효과¹⁾ 또한 있다고 보고되어져 있다. 또한 배추는 십자화과(Cruciferous vegetable)의 대표적 식물로써 우리나라에서 김치의 형태로써 가장 많이 섭취되고 있다. 배추의 아종으로는 배추, 청경채(파초이), 순무, 유채, 경채 등이 있으며, 계절적으로 봄배추와 가을배추로 구분되기도 한다¹⁾. 구성성분은 대부분이 수분이

지만 철분, 칼슘, 엽록소, 비타민 A, C등이 많이 함유되어 있고 침의 분비를 좋게 해서 소화를 도우며 내장의 해열 작용을 한다고 알려져 있다.

배추의 효능에 대한 연구로는 임^{2,3,4)}, 혈전⁵⁾, 황산화^{6,7,8,9)} 효과가 주로 보고되고 있는 바, 이중 황산화 실험을 이를 바탕으로 free radical을 통해 간손상을 유도하는 bromobenzene을 복강주사한^{10,11,12,13,14)} 후 산촌 배추의 잎과 뿌리 메탄올 추출물의 황산화작용을 통한 간 손상 보호 효과를 평가하기 위해, 먼저 추출물을 2주간 경구투여하고 bromobenzene으로 간 독성을 유발한 흰쥐의 in vivo 실험에서 MDA (malondialdehyde), xanthine oxidase, aminopyrine N-demethylase, aniline hydroxylase, glutathione S-transferase 및 epoxide hydrolase 등의 활성을 평가하여 유의한 결과를 얻어 보고하는 바이다.

* 교신저자 : 김성훈, 경기도 용인시 기흥읍 서천리1, 경희대학교 동서의학대학원
· E-mail : sungkim7@khu.ac.kr · Tel : 031-201-2179
· 접수 : 2003/05/26 · 수정 : 2003/06/30 · 채택 : 2003/09/18

재료 및 방법

1. 실험재료

본 시험에 사용된 산촌배추는 동부한농(주)에서 재배되고 있는 산촌배추 잎과 뿌리를 각각 MeOH로 실온에서 추출하여 여과하고, rotary evaporator로 농축하였다.

2. 실험동물

실험동물은 한국실험동물 센터로부터 분양 받아 본대학 동물사에서 일정한 조건(온도 : 20±1℃, 습도 : 55±3%, 명암 : 12시간 light/dark cycle)으로 1주간 적응시킨 체중 200±10g의 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐를 사용하였다. 산촌배추 잎 및 뿌리 ex를 100, 200mg/kg을 경구로 2주일간 투여하고 투여 마지막 날 bromobenzene을 Gillette등의 방법을 참조로 하여 1% tween 80에 현탁시켜 실험군에 460mg/kg을 하루에 한번씩 12시간 간격으로 2일간 복강주사 하였다. 대조군은 동일 용량의 생리식염수와 1% tween 80을 투여하였다. 실험동물은 실험전 24시간동안 물만 주고 절식시켰다.

3. 효소원의 조제

실험동물은 CO₂ gas로 마취시키고 복부 대동맥에서 혈액을 채취하고 혈청을 분리하여 transaminase활성에 사용하였고 간장은 생리식염수로 관류시켜 이물질을 제거한 후 마쇄하여 원심분리한 다음 cytosol분획은 xanthine oxidase, glutathione S-transferase의 활성 측정을 위한 효소원으로 사용하였고, 침전물은 0.1M potassium phosphate buffer(pH7.5) 4배량으로 재현탁하여 epoxide hydroxylase, aniline hydroxylase, aminopyrine N-demethylase 활성 측정의 효소원으로 사용하였다.

4. 효소활성의 측정

1) 과산화지질 함량 측정

H. Ohkawa등의 방법에 준하여 간 조직 1g당 9배량의 생리식염수를 가해 마쇄하고 이 마쇄액 0.4ml에 6.1% sodium dodecyl sulfate 0.2ml, 20% acetate buffer(pH 3.5)와 발색의 목적으로 0.8% thiobarbituric acid를 가한 후 95℃에서 1시간 동안 반응시킨후 실온에서 1시간동안 방치시키고 n-BuOH : Pyridine (15:1)을 첨가하여 잘 섞은 후 15분간 원심 분리하여 홍색의 n-BuOH : pyridine층을 취하여 파장 532nm에서 그 흡광도를 측정하여 표준곡선에서 그 함량을 간 조직 1g당 malondialdehyde(MDA) nmole로 표시하였다¹⁵⁾.

2) Xanthine oxidase 활성

Stripe와 Della의 방법에 준하여 0.1M KP buffer(pH 7.5)에 효소액을 가하고 기질로서 sodium xanthine을 가한후 반응시키고 20% TCA로 제단백한 후 생성된 uric acid를 292nm에서 측정하고 표준검량선에 준하여 활성도를 산정 하였다¹⁶⁾.

3) Aminopyrine N-demethylase의 활성 측정

Nashi¹⁷⁾의 방법에 준하여 반응액 2ml중 기질로 2mM aminopyrine 과 0.5mM NADPH, 10mM MgCl₂, 150mM KCl 및

1mM semicarbazide이 함유된 0.1M Na⁺/K⁺ phosphate buffer(pH 7.5)에 효소액(300-400mg의 단백질을) 가하여 37℃에서 15분간 반응시킨 다음 15% ZnSO₄와 포화 Ba(OH)₂를 가하여 반응을 종료시키고 원심분리하여 상침액을 취하고 발색의 목적으로 Nash 시약을 가하여 60℃에서 30분간 반응시킨 후 파장 415nm에서 그 흡광도를 측정하고 표준곡선에 준하여 활성도를 산정하였다. 효소활성의 단위는 1분간에 mg protein이 생성한 HCHO n moles로서 표시하였다.

4) Aniline hydroxylase의 활성측정

Bidlock와 Lowery의 방법에 준하여 반응액 2ml중 기질로 1mM aniline HCl 과 0.5mM NADPH, 10mM MgCl₂와 150mM KCl이 함유된 50mM Tris HCl 완충액(pH 7.4)에 효소액 (300-400mg의 단백질을) 가하여 37℃에서 30분간 반응시킨 다음 20% TCA 2ml를 가하여 반응을 종료시키고 원심분리하여 상침액을 취하고 발색의 목적으로 10% Na₂CO₃와 0.2N NaOH(2% phenol 함유)를 넣고 37℃에서 30분간 반응시킨후 파장 640nm에서 그 흡광도를 측정하고 표준곡선에 준하여 활성도를 산정하였다. 효소활성의 단위는 1분간에 mg protein이 생성한 p-aminophenol n moles로서 표시하였다¹⁸⁾.

5) Glutathione S-transferase의 활성측정

Habig등의 방법에 준하여 0.1M potassium phosphate buffer(pH 6.5)중에 40mM reduced glutathione를 가한 후 test에는 효소액을 넣고 blank에는 20% TCA를 가하여 반응을 정지시켜 25℃에서 5분간 반응시킨 후 blank와 시료에 기질로서 2,4-dinitrochlorobenzene을 가하여 25℃에서 2분간 반응시킨 후 각각을 원심분리하여 얻은 상침액을 파장 340nm에서 흡광도를 측정한 후 2,4-dinitrobenzene의 mole 흡광계수 9.6mM-1cm-1를 이용하여 활성도를 산정하였다¹⁹⁾.

6) Epoxide hydroxylase의 활성측정

Hammock등의 방법에 준해 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.0)에 기질로 trans-stilbene oxide(3mM,TSO)와 효소원(100~200μg 의 단백질을)을 가하여 반응액이 3.0ml가 되도록 하였다. 이 반응액을 37℃에서 20분간 반응시키고 이 때 소실되는 trans-stilbene oxide(TSO)의 양을 229nm에서 흡광도를 측정하였다²⁰⁾.

5. 단백질 정량

단백질의 함량은 Lowry등²¹⁾의 방법에 준하여 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 측정하였다.

6. 통계처리

통계적 유의성은 Duncan's multiple rage test로서 검정하였으며, p<0.05일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

결 과

1. 산촌배추 잎과 뿌리 MeOH층이 과산화지질 함량에 미치는 영향
정상군의 MDA는 17.8±2.10로 나타났는데, bromobenzene을 복강주사하였더니 50.0±1.96로 증가하였는데, 산촌배추 잎

100mg과 200mg을 전처치 한군에서는 각각 35.2±1.38과 31.1±2.00으로 유의한 억제효과를 보였고, 산촌배추 뿌리 100mg과 200mg을 전 처치 한군에서는 각각 45.8±1.43과 44.0±1.36으로 유의한 억제효과를 보였지만 배추 잎보다는 약한 활성을 보였다 (Table 1).

Table 1. Effect of Chinese cabbage on the hepatic lipid peroxidation content in bromobenzene-treated rats

Group	Dose (mg/kg)	Content
		MDA nmoles/g of tissue
Normal		17.8 ±2.10 ^e
BB	460	50.0 ±1.96 ^a
SCCH	100	35.2 ±1.38 ^c
	200	31.1 ±2.00 ^d
SCCR	100	45.8 ±1.43 ^b
	200	44.0 ±1.36 ^d

The values are mean±S.D. of three replication. ^{a-e}Sharing the same superscript letter are not significantly different from control(p<0.05). BB: Bromobenzene, SCCH: Sanchon Chinese Cabbage Herba, SCCR: Sanchon Chinese Cabbage Radix

2. 산촌배추 잎과 뿌리 MeOH층이 Xanthine oxidase 활성에 미치는 영향

bromobenzene에 의해 유도된 Xanthine oxidase 활성에서는 bromobenzene을 복강주사한 것은 3.83±0.23 증가하였는데 산촌 배추 잎,뿌리 200 mg을 전처치한 군에서는 각각 3.18±0.15과 3.31±0.18로 유의한 억제효과를 보였지만, 잎과 뿌리 100 mg에서는 효과를 보이지 않았다(Table 2).

Table 2. Effect of chinese cabbage on the hepatic cytosolic xanthine oxidase activity in bromobenzene-treated rats

Group	Dose (mg/kg)	Activity
		(uric acid nmole/mg protein/min)
Normal		2.31±0.17 ^c
BB	460	3.83 ±0.23 ^a
SCCH	100	3.72 ±0.19 ^b
	200	3.18 ±0.15 ^d
SCCR	100	3.81 ±0.11 ^a
	200	3.31 ±0.18 ^d

The values are mean±S.D. of three replication. ^{a-e}Sharing the same superscript letter are not significantly different from control(p<0.05).

3. 산촌배추 잎과 뿌리 MeOH층이 Aminopyrine N-demethylase의 활성에 미치는 영향

과산화지질생성 활성화 효소인 Aminopyrine N-demethylase 활성억제에서는 bromobenzene을 복강주사한 것은 9.33±0.52증가하였는데, 산촌배추 잎 200mg 전처치한 군에서는 유의적으로 8.38±0.18으로 유의한 억제효과를 보였으나 잎 100mg, 뿌리 100mg, 200mg에서도 억제하였으나 유의성은 없었다(Table 3).

4. 산촌배추 잎과 뿌리 MeOH층이 Aniline hydroxylase의 활성에 미치는 영향

과산화 지질생성 활성화 효소인 Aniline hydroxylase 활성 억제에서는 bromobenzene을 복강주사한 것은 1.34±0.099 증가하였는데 산촌배추 잎, 뿌리 200mg 전처치한 군에서 각각 0.95±0.106, 1.21±0.068으로 유의한 억제 효과를 보였으나, 산촌배

추 잎, 뿌리 100mg에서도 억제는 하였으나 유의성은 없었다 (Table 3).

Table 3. Effect of chinese cabbage on the Aminopyrine N-demethylase(AD) and Aniline hydroxylase activity(AH) in bromobenzene-treated rats

Group	Dose (mg/kg)	AD	AH
Normal		4.14 ± 0.07 ^d	0.71 ± 0.104 ^d
BB	460	9.33 ± 0.52 ^{a,b}	1.34 ± 0.099 ^a
SCCH	100	9.12 ± 0.43 ^b	1.24 ± 0.074 ^{a,b}
	200	8.38 ± 0.18 ^c	0.95 ± 0.106 ^c
SCCR	100	9.65 ± 0.44 ^a	1.33 ± 0.090 ^{a,b}
	200	9.32 ± 0.12 ^{a,b}	1.21 ± 0.068 ^b

AD: Aminopyrine N-demethylase: formaldehyde nmole/mg protein/min, AH: Aniline hydroxylase : p-aminophenol nmole/mg protein/min, The values are mean±S.D. of three replication. ^{a-e}Sharing the same superscript letter are not significantly different from control(p<0.05).

5. 산촌배추 잎과 뿌리 MeOH층이Glutathion S-transferase의 활성에 미치는 영향

Glutathion S-transferase를 매개로 하는 대사과정에 관여하여 bromobenzene이 유도하는 epoxide를 해독시키는 실험에서는 bromobenzene을 복강주사한 것은 146.2±13.9 인 것을 잎 200mg 전처치한 것은 172.8±11.5으로 유의적으로 증가하였다. 그러나 잎 100mg, 뿌리 100mg, 200mg에서는 유의적인 효과가 보이지 않았다(Table 4).

Table 4. Effect of chinese cabbage on the Glutathione S-transferase activity in bromobenzene-treated rats

Group	Dose (mg/kg)	Activity
		(1,2-dinitro-4-nitrobenzene nmole/mg protein/min)
Normal		190.7 ± 15.2 ^a
BB	460	146.2 ± 13.9 ^b
SCCH	100	161.1 ± 13.4 ^{b,c}
	200	172.8 ± 11.5 ^{a,b}
SCCR	100	151.2 ± 12.0 ^{b,c}
	200	159.5 ± 10.9 ^{b,c}

The values are mean±S.D. of three replication. ^{a-c}Sharing the same superscript letter are not significantly different from control(p<0.05).

6. 산촌배추 잎과 뿌리 MeOH층이 Epoxide hydroxylase의 활성에 미치는 영향

epoxide hydrolase에서는 bromobenzene을 복강주사한 것은 4.25±0.17인것을 산촌배추 잎 100,200 mg 전처치한 군 각각 5.36±0.22와 9.27±0.40과 뿌리 100,200 mg 전처치한 군으로 각각 5.46±0.25와 6.20±0.30으로 유의적으로 bromobenzene단독 투여한 대조군에 비해 epoxide hydrolase농도를 회복시켰다(Table 5).

Table 5. Effect of chinese cabbage on the Epoxide hydrolase activity in bromobenzene-treated rats

Group	Dose (mg/kg)	Activity
		(1,2-dinitro-4-nitrobenzene nmole/mg protein/min)
Normal		190.7 ± 15.2 ^a
BB	460	146.2 ± 13.9 ^b
SCCH	100	161.1 ± 13.4 ^{b,c}
	200	172.8 ± 11.5 ^{a,b}
SCCR	100	151.2 ± 12.0 ^{b,c}
	200	159.5 ± 10.9 ^{b,c}

The values are mean±S.D. of three replication. ^{a-c}Sharing the same superscript letter are not significantly different from control(p<0.05).

고찰

배추는 십자화과(Cruciferous vegetable)의 대표적 식물¹⁾로써 우리나라에서는 주로 김치의 형태로써 가장 많이 섭취되고 있지만 최근에는 서양배추가 등장하면서 보다 경쟁력을 가지는 배추의 품종개발과 타 한약재를 배합하는 기능성 식품개발 연구가 진행되고 있다. 이러한 목적의 일환으로 현재 우리나라에서 가장 좋은 품종중의 하나인 동부한농의 산초배추 잎과 뿌리의 메타놀층을 이용하여 bromobenzene으로 유발한 간장독성을 유발한 흰쥐의 지질과산화 생성에 대해 관찰하였다^{10,11,12,13,14)}. 내외성 요인에 의해 야기되는 친전자성 물질을 포함하는 free radical은 생체내에서 조식손상, 발암 및 염증 등을 초래하여 최근에는 노화과정과 이에 따르는 각종 성인병의 원인으로 추정되고 있다. 일반적으로 간의 해독작용은 간세포의 smooth endoplasmic reticulum에 존재하는 약물대사효소계에 의해 해독또는 불활성되어 체외로 배출되는 oxidative 및 nonsynthetic 단계인 phase 1과 포함 및 synthetic 단계로 glucuronic acid나 sulfate를 포함함으로써 독성을 감소 시키는 반응의 phase 2단계로 나눌 수 있다. 그중 phase 1반응에는 xanthine oxidase가, phase 2반응에는 superoxide dismutase, epoxide를 분해하는 epoxide hydrolase가 관계한다²²⁾.

과산화지질은 혈중에서 고지혈증을 유발하고, 비만과 각종 심장질환을 야기하며 간에서도 지방간을 초래하고, 피부의 노화를 촉진하는 것으로 알려져있다. 이는 주로 malondialdehyde (MDA)나 4-hydroxynonenal (HNE)형태로 존재하므로 이를 측정하여 과산화정도를 평가한다. MDA의 측정에서 산초배추 잎과 뿌리 모두 100mg/kg, 200 mg/kg 용량에서 bromobenzene 처하고 생리식염수를 투여한 대조군에 비해 유의하게 모두에서 지질과산화의 생성을 감소시켰다(Table 1). Xanthine oxidase는 cytosole 분획에 존재하는 molybden 함유산화효소로서 생화학적 반응을 촉매하는 과정에서 반응액중의 산소분자를 전자수용체를 활용하고 있으므로 superoxide anion, hydrogen peroxide 및 최종적으로 hydroxyl radical을 생성하며 유해작용을 나타낸다. 산초배추의 잎과 뿌리는 모두bromobenzene에 의해 유도된 xanthine oxidase활성을 200 mg/kg 고용량에서 대조군에 비해 유의한 억제효과를 보였다(Table 2). 해독계 1형의 약물을 대사시키는 효소로서 aminopyrine · HCL을 기질로 하여 formaldehyde를 생성하는 aminopyrine demethylase(AD)의 활성과 해독계2형의 약물을 대사시키는 aniline · HCL을 기질로 하여 p-aminophenol을 생성하는 aniline hydroxylase(AH)의 활성에서 산초 배추잎은 AD와 AH를 200 mg/kgDML 고농도에서 유의하게 억제하는 효과를 보였지만, 배추뿌리는 같은 고농도에서 AH만 유의하게 억제하였다(Table 3). 다른 해독계에 관여하는 glutathione S-transferase는 생체내 과산화물질의 해독계에 관여하는 selenium-independent glutathion peroxidase의 활성과 비례하며, 이때는 endogenous reactant인 glutathion을 요구한다²³⁾. 본 실험에서는 배추잎만이 glutathione S-transferase활성을 200mg/kg의 고농도에서 대조군에 비해 유의한 회복효과를 보였

다(Table 4). 간 해독작용중 epoxide 해독계는 중요한데, epoxide 독성유발 model로는 bromobenzene을 흔히 사용하고 있다^{10,11,12,13,14)}. Bromobenzene은 mixed function oxidation system에 의하여 독성이 강한 bromobenzene-3,4-oxide로 전환되며 이 epoxide를 대사시켜 독성이 없는 bromobenzene-3,4-oxide로 대사시키는 효소가 epoxide hydrolase인데 기타 해독계의 glutathione S-transferase 해독효소와 작용하여 glutathione s-transferase에 의하여 bromobenzene glutathione으로 배설된다^{10,12)}. 본 실험에서는 산초배추 잎과 뿌리 모두 100mg/kg, 200 mg/kg 용량에서 epoxide hydrolase의 활성이 대조군에 비해 유의하게 증가되었다(Table 5). 이는 산초배추 잎과 뿌리의 메탄올층이 bromobenzene으로 유도 흰쥐내의 지질과산화 억제 활성을 epoxide hydrolase활성을 통해 수행하는 것으로 보인다. 이상의 결과로 보아 배추의 잎과 뿌리 메타놀 추출물은 항산화작용을 통해 bromobenzene으로 야기된 간 손상을 보호하는 효과를 나타내는 것으로 볼 수 있지만 보다 자세한 기전연구가 더욱 수행되어야 할 것으로 사료된다.

결론

산초배추의 잎과 뿌리의 간손상 보호효과를 평가하기 위해 산초배추의 잎과 뿌리의 메타놀층을 2주간 경구투여하고 bromobenzene으로 간을 손상하여 항산화 활성을 측정함으로써 간손상에 대한 보호효과를 평가하였다. Bromobenzene만 단독 투여한 대조군에 비해 산초배추 잎과 뿌리의 메타놀층은 모두 지질과산화 생성을 감소 시켰고, xanthine oxidase 활성에서는 잎 200 mg/kg과 뿌리 200 mg/kg에서 활성이 유의하게 억제하였으며, epoxide hydrolase의 활성은 대조군에 비해 유의하게 증가되었다. 그러나 배추잎은 AD와 AH를 200 mg/kg의 고농도에서 유의하게 억제하는 효과를 보였지만, 배추뿌리는 같은 고농도에서 AH만 유의하게 억제하였고, glutathione S-transferase활성에서는 배추잎만이 고농도에서 유의한 회복효과를 보였다. 이상의 결과로 보아 배추의 잎과 뿌리가 항산화작용을 통해 bromobenzene으로 야기된 간손상을 보호하는 효과를 발현하는 것으로 보이지만, 보다 심도 있는 기전연구가 계속 수행되어야 할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 과정은 Biogreen 21의 연구비 지원에 의해 수행되었는 바 감사드립니다.

참고문헌

1. 염태환 역편: 방약합편, 의약사, 163, 1973.
2. Hu H., Ahn N.S., Yang X., Lee Y.S., Kang K.S. Ganoderma lucidum extract induces cell cycle arrest and apoptosis in MCF-7 human breast cancer cell. Int J Cancer. 102(3):250-3. 2002.

3. F. L. Chung, G. Kelloff, V. Steele, B. Pittman, E. Pittman, D. Jiao, J. Rigotty, C. I. Choi, A. Rivenson. Chemopreventive efficacy of arylalkyl isothiocyanates and N-acetylcysteine for lung tumorigenesis in Fischer rats. *Cancer Res.* 15;56(4):772-8. 1996.
4. T. J. Smith, Z. Guo, F. P. Guengerich, C. S. Yang. Metabolism of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) by human cytochrome P450 1A2 and its inhibition by phenethyl isothiocyanate. *Carcinogenesis.* 17(4):809-13. 1996.
5. Y. Morimitsu, K. Hayashi, Y. Nakagawa, F. Horio, K. Uchida, T. Osawa. Antiplatelet and anticancer isothiocyanates in Japanese domestic horseradish, wasabi. *Biofactors.* ;13(1-4):271-6. 2000.
6. A. Degenhardt, H. Knapp, P. Winterhalter. Separation and purification of anthocyanins by high-speed countercurrent chromatography and screening for antioxidant activity. *J Agric Food Chem.* Feb;48(2):338-43. 2000.
7. A. R. Prottogente, A. S. Pannala, G. Paganga, L. Van Buren, E. Wagner, S. Wiseman, F. Van De Put, C. Dacombe, C. A. Rice-Evans. The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition. *Free Radic Res.* Feb;36(2):217-33. 2002.
8. Plumb GW, Lambert N, Chambers SJ, Wanigatunga S, Heaney RK, Plumb JA, Aruoma OI, Halliwell B, Miller NJ, Williamson G. Are whole extracts and purified glucosinolates from cruciferous vegetables antioxidants? *Free Radic Res.* 25(1):75-86. 1996.
9. Blois, MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 26, 1199-1200. 1985.
10. Jong-Cheol Park, Jae-Sue Choi, Sang-Ho Song, Myeong-Rak Choi, Kwang-Young Kim and Jong-won Choi. Hepatoprotective effect of extracts and phenolic compound from marine algae in bromobenzene-treated Rats. *Kor. J. Pharmacogn.* 28(4): 239-246. 1997.
11. Yeon-Hee Yoon, Soon-Jae Rhee Effects of korean Green Tea, Oolong Tea and Black Tea Beverage on the antioxidative detoxification in Rat Poisoned with Cadmium. *Korean J Nutrition* 27(10):1007-1017. 1994.
12. Eun Ju Kim, Chung Kyu Lee and Jong Won Choi The effect of Scoparone on the Hepatic Bromobenzene metabolizing enzyme system in Rats. *Kor. J. Pharmacogn.* 23(2): 81-88. 1992.
13. Kyoung Soon Kim, Sang hyun Lee, Yeon Sil Lee, Sang Hoon Jung, Youmie Park, Kuk Hyun Shin, Bak-Kwang Kim(2003) Anti-oxidant activities of the extracts from the herbs of *Artemisia apiacea*. *Journal of Ethnopharmacology* 85:69-72. 2003.
14. Kim HJ, Chang WK, Kim MK, Lee SS, Choi, Dietary factors and gastric cancer in Korea: a case-control study. *Int J Cancer* 97(4):531-5. 2002.
15. Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yaki, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95: 351-358. 1979.
16. Stripe. F. and Della Corte. E. The reaction of rat liver xanthine oxidase: Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (Type D) to oxidase (Type O). *J. Biol. Chem.* 244: 3855-3863. 1969.
17. Nash. T. The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the Fehling reaction. *J. Biol. Chem.* 55: 412-416. 1953.
18. Bidlack. W. R. and Lowry. G. L. Multiple drug metabolism: p-Nitroanisole reversal of acetone enhanced aniline hydroxylation. *Biochem. Pharmacol.* 31: 311-317. 1982.
19. Habig. W. H., Pabist. M. J. and Jakoby. W. B. The first step in mercapturate acid formation. *J. Biol. Chem.* 249: 7130-7139. 1974.
20. Hasegawa. L. S. and Hammock. B. D. Spectrophotometric assay for mammalian cytosolic epoxide hydrolase using trans-stilbeneoxide as the substrate. *Biochem. Pharmacol.* 31: 1979-1984. 1982.
21. Lowry. O. H., Rodebrough. N. J. Farr. A. L. and Randall. R. J. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275. 1951.
22. Francisco J. Romero, Francisco Bosch-Morell, María J. Romero, Enrique J. Jareño, Belén Romero, Nuria Marín, and Joaquin Romá: Lipid Peroxidation Products and Antioxidants in Human Disease, *Environmental Health Perspectives*, Supplement 5, 106, 1998.
23. J T Ahokas, F A Nicholas, P J Ravenschoft, B T Emmerson: Inhibition of purified rat liver glutathion S-transferase isozymes by diuretic drugs, *Biochem. Pharmacol.* 34, 2157, 1985.