

## 영경귀로부터 분리 정제한 Silymarin 및 Silybin의 지질 과산화에 대한 항산화 효과

이백천\* · 박종옥\*\* · 류병호\*\*\*

\*순천당 제약(주), \*\*경성대학교 화학과, \*\*\*경성대학교 식품공학과

### Antioxidative Effects of Silymarin and Silybin Purified from *Silybum marianum* on Lipid Peroxidation

Baek Chen\* Lee, Jong Ok Park\*\* and Beung Ho Ryu\*\*\*

\*Sun Chon Dang Pharmaceutical Co. Pusan 604-042, Korea

\*\*Department of Chemistry, Kyungsoong University, Pusan 608-736, Korea

\*\*\*Department of Food Science and Biotechnology, Kyungsoong University, Pusan 608-736, Korea

#### Abstract

This study was undertaken to evaluate as antioxidant activity against lipid peroxidation, Silymarin and silybin extracted from *Silybum marianum* were successively purified with solvent fractionation by silica gel column chromatography. These iso-flavonoid inhibited superoxide anion production in the xanthine oxidase system. In the rat liver microsomes, silymarin or silybin rapidly inhibited lipid peroxidation which was initiated enzymatically by reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate(NADPH) or non-enzymatically by ascorbic acid or Fenton's reagent ( $H_2O_2 + Fe^{2+}$ ). Mitochondrial lipid peroxidation was also inhibited by silymarin and silybin. Silymarin and silybin inhibited on terminating radical chain reaction during lipid peroxidation in the enzymatic system of microsomes or in the linoleic acid hydroperoxide induced peroxidation system.

Key words : Silymarin, silybin, lipid peroxidation

#### 서 론

플라보노이드(flavonoid)는 식물계에 널리 분포되어 있는 폴리페놀 화합물로서 야채류, 과일류, 종실류 등에 들어 있다. 플라보노이드는 flavan핵 구조를 가진 저분자량의 폴리페놀 화합물로 페놀이 3개의 A, B 및 C(또는 pyrane)환의 기본구조로 구성되어 있는 diphenylpropane ( $C_6-C_3-C_6$ )의 골격을 지니고 있다<sup>1-3)</sup>.

플라보노이드는 식물성 성분으로 다양한 구조적 특성을 가지고 있으며 벤젠환(環)의 탄소에 -OH기와 탄소의 2와 3의 위치에 2중결합, 탄소 4번 위치에 카보닐기와 A와 B환에 결합되어 있는 -OH기에 의하여 항산화 활성을 갖는다<sup>4)</sup>.

식품으로서 섭취되는 플라보노이드는 심장병의 예방에 큰 구실을 하는 것으로 보고되었으며<sup>5,6)</sup> 인체에서 플라보노이드의 대사에서 생리활성을 나타내는 섭취량은 23~170mg/day 정도라고 보고되어 있다<sup>3)</sup>. Das<sup>6)</sup>는

폴리페놀 화합물을 건강한 사람에게 92.3mg/kg 투여한 다음 혈장내의 농도를 조사한 결과 폴리페놀 화합물이 미량으로 남아 있었으며, 노로 배설되는 폴리페놀 화합물은 유리 또는 공액결합 형태로 배설되었으나 투여량의 약 19%는 본래의 구조가 분변으로 배설되었다고 하였다.

사람에 적당한 플라보노이드의 식이섭취 농도범위는 네델란드에서는 23mg/day이고<sup>7)</sup> 미국에서는 170mg/day 정도라고 보고되고 있다<sup>8)</sup>. 식물로서 섭취되는 플라보노이드의 주요 공급원은 차류가 61%, 야채류가 13% 및 과일류가 10%를 차지하고 있다<sup>8)</sup>. 플라보노이드의 섭취는 심장질환으로 인한 사망의 감소와 상관관계가 높으며 심장병의 예방에 큰 구실을 한다. 프랑스의 남쪽 지방에서는 지방식과 담배를 즐겨함에도 불구하고 심장질환이 적은 이유는 플라보노이드가 많이 들어있는 적포도주와 올리브유 및 야채류를 많이 먹기 때문이라고 하였다<sup>9)</sup>.

Corresponding author : Beung Ho Ryu

사람이 식품으로서 매일 플라보노이드를 섭취하고 있으나 흡수와 대사에 대하여 잘 알려져 있지 않다. 그러나 옛날부터 오랫동안 식품으로 섭취하였으므로 독성이 없으며 소화관에서 흡수된 후 대사되어 우리의 건강에 중요한 역할을 할 것으로 기대된다<sup>10-13)</sup>. 이와 같이 플라보노이드는 생리활성이 뛰어나 우리의 건강을 유지하는데 큰 역할을 한다<sup>14-17)</sup>. 현재까지 연구된 플라보노이드는 항균제<sup>14, 16)</sup>, 항바이러스제<sup>17, 18)</sup>, 항염제<sup>19)</sup>, 지질의 과산화의 억제<sup>20, 21)</sup> 및 항돌연변이의 활성<sup>22)</sup>을 나타낸다고 보고하였다.

모든 식물에 플라보노이드가 함유되어 있으나 특히 그 중에서도 국화과(Compositae)에 속하는 영경귀(*Silybum marianum* (L.) Gaerth)에 들어있는 silymarin은 플라보노이드로서 옛날부터 간장약, 담즙약 등으로 알려져<sup>23-29)</sup> 최근에 와서 생리활성에 대한 많은 연구가 진행되고 있다.

영경귀는 유럽 원산의 2년초로서 그리스 로마 시대부터 간장약으로 알려져 왔고 담즙약으로도 사용되어 왔다. 영경귀의 주요성분인 silymarin은 flavolignan으로서 이성체인 silybin, isosilybinin, silychristin 및 silydianin 등이 들어있는 혼합물이다<sup>29)</sup>. Silymarin은 간장보호작용<sup>25-26)</sup>과 알코올을 유도지질 산화의 예방<sup>27)</sup> 등 간장장애의 보호효과가 보고되었다.

따라서 본 연구는 영경귀(*Silybum marianum* (L.))에 들어 있는 플라보노이드인 silymarin과 silybin을 분리 정제하여 쥐의 간을 이용한 지질의 과산화 억제효과에 대하여 실험한 결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 재 료

영경귀(*Silybum marianum*(L.))는 시중 한의원에서 구입하여 사용하였다.

### 2. 영경귀로부터 silymarin의 분리 및 정제

영경귀 5kg을 분쇄한 후 메탄올 1ℓ로서 9시간씩 8회 추출하고 혼합액을 합하여 농축하였다. 농축엑스분을 같은 양의 물을 가하여 녹이고 석유 벤젠을 가하여 탈지한 후 수층을 초산에틸로서 추출하고 농축하여 엑스분 228g을 얻었다.

초산에틸 엑스분을 silica gel을 chromatography용 column(5×50cm)에 충전한 후 벤젠 : 초산에틸(5:1), 벤젠 : 초산에틸(1:1), 초산에틸 및 메탄올의 순서로 용출하고 벤젠 : 초산에틸(1:1) 및 초산에틸 용출획분을 합하고 여기에 메탄올을 가하여 용해시켜 하룻밤

방치시켜 담황색의 침전을 얻었다. 생성된 침전을 아세톤, 석유에테르로 재결정하여 silymarin 및 silybin의 무색 비늘형의 결정을 얻었으며<sup>30)</sup> 본 실험에 사용하였다.

### 3. Rat liver로부터 mitochondria 및 microsome의 제조

Mitochondria 및 microsome은 Wistar male rat (100~150g)의 간(liver)으로부터 적출하여 분리하였다. 쥐의 간을 적출하여 0.25M sucrose, 0.1mM EDTA 함유하는 3mM Tris·HCl buffer을 0℃로 유지한 후 적출한 간을 넣어 균질화시켰다. Mitochondria는 7,000×g로 원심분리한 후 분리하였고 이때 microsomal pellet은 0.15M KCl로 sucrose를 제거하여 사용하였다. Submitochondrial particle은 sonicator를 사용하여 4℃에서 1분동안 균질화시켰다<sup>31)</sup>. 이를 -80℃에서 동결하여 두고 사용하였다.

### 4. Microsome의 지질의 과산화 억제효과

지질의 과산화는 microsome 현탁액(0.5mg protein/ml)에 3mM ADP와 0.15mM FeCl<sub>3</sub>을 가하여 37℃에서 10분간 배양시킨 다음 각종 농도의 silymarin 및 silybin을 넣은 후 0.5mM NADPH 혹은 0.1mM ascorbic acid를 넣어 10분간 반응시켰다.

Fenton reaction은 microsomal suspension(0.5 mg protein/ml)을 3mM ADP로서 배양시킨 후 각종 농도의 silymarin 및 silybin을 첨가한 다음 1mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 0.15mM FeSO<sub>4</sub>를 첨가하였다. 일정한 시간동안 반응시킨 후, 이때 생성된 과산화 지질은 thiobarbituric acid의 방법에 의하여 분석하였다. 과산화물의 함량 변화는 535nm에서 thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS)의 흡광도로서 나타내었다<sup>32)</sup>.

### 5. Mitochondria의 지질의 과산화

Mitochondria의 지질 과산화는 Recknagel 등의 방법<sup>31)</sup>에 따라 분석하였다. 쥐간에서 분리한 submitochondrial particle(0.3mg protein/ml)을 50mM HEPES, pH 7.0, 2mM ADP, 0.1mM FeCl<sub>3</sub>, 0.1mM NADPH의 반응혼합액 1ml에 각종 농도의 silymarin과 silybin을 첨가한 후 5분간 반응시킨 다음 microsome의 과산화와 같은 방법으로 측정하였다.

### 6. Linoleic acid의 hydroperoxide에 의한 연쇄반응

Linoleic acid hydroperoxide를 얻기 위하여 linoleic acid(1nmol)를 50℃에서 72시간 암소에 방치하였

다. 반응시킨 linoleic acid의 hydroperoxide는 50~55 $\mu$ mol을 함유하였다. 혼합 반응용액은 10mM linoleic acid를 50 $\mu$ M EDTA와 0.1mM FeSO<sub>4</sub>을 함유한 PBS(140mM NaCl, 10mM phosphate, pH 7.4)에 현탁시킨 후 전체의 hydroperoxide농도가 16 $\mu$ M이 되도록 하여 37 $^{\circ}$ C에서 배양한 후 lipid peroxide는 TBA법에 의하여 측정하였다<sup>32)</sup>.

7. 단백질의 정량

단백질의 정량은 Lowry 등의 방법<sup>33)</sup>에 따라 측정하였다.

결과 및 고찰

1. Superoxide anion의 억제효과

지질의 과산화에 의하여 생성되는 superoxide anion에 대한 silymarin 및 silybin의 억제율을 Fig. 1에 나타내었다.

본 실험에서 silymarin의 경우 5, 25 및 50 $\mu$ M 첨가시 억제율은 각각 38.4, 64.5 및 88.6%의 억제효과를 나타내었으며 silymarin의 첨가 용량이 증가할수록 높은 억제율을 나타내었다. 또 silybin의 경우 5, 25 및 50 $\mu$ M 첨가하여 O<sub>2</sub><sup>-</sup>의 억제 효과는 각각 44.8, 73.9 및 92.3%의 억제율을 나타내었다. 이상의 실험결과로 silymarin 및 silybin에 의한 O<sub>2</sub><sup>-</sup>의 억제 효과는 용량의존형으로 나타났다. Xanthine oxidase에 의한 O<sub>2</sub><sup>-</sup>의 유리는 Haberweiss reaction(superoxide anion-

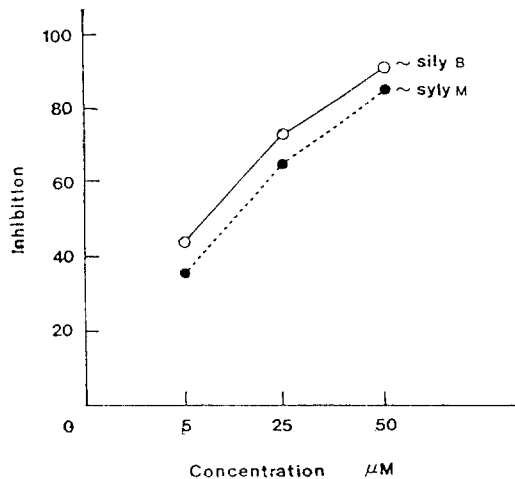


Fig. 1. Inhibitory effects of silymarin and silybin by the reduction of NBT by superoxide anion generated from the xanthine oxidase system.

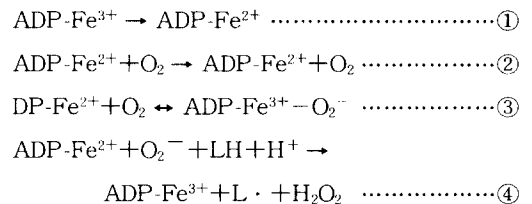
driven Fenton reaction)에 의하여 일어나는데 이는 반응성 산소 유리의 중요한 생리학적 경로이다<sup>34,35)</sup>. O<sub>2</sub><sup>-</sup>는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 또는 반응성 OH기의 생성 및 생체내 거대 분자의 손상에 의하여 직접 또는 간접적으로 유리되어 나온다<sup>36)</sup>. 본 실험의 결과에 의하면 silymarin 및 silybin은 용량의존형에 의하여 xanthine oxidase system에 유리되어 나오는 O<sub>2</sub><sup>-</sup>을 소거시킨다. 따라서 silymarin 및 silybin은 O<sub>2</sub><sup>-</sup>유도에 의한 손상을 예방하는데 유익한 작용을 할 것이다.

2. 쥐간의 microsome에서 지질 과산화에 대한 항산화 효과

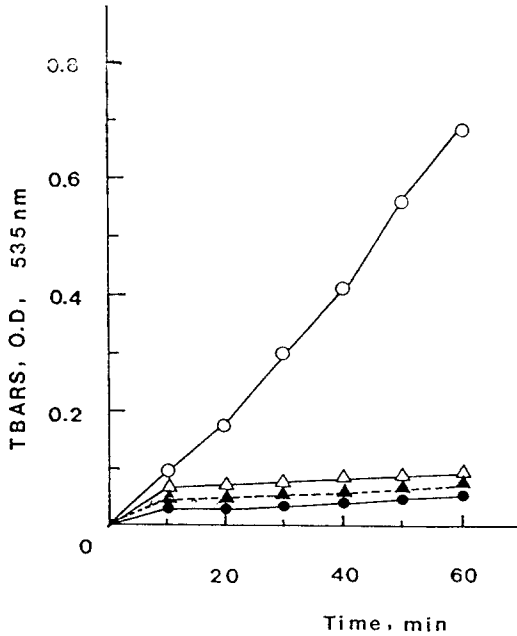
Microsome은 세포원형질의 망상조직에서 용이하게 지질의 산화가 일어날 수 있고 각 조직에 쉽게 과산화물을 운반시키게 된다. 영성퀴에서 분리 정제한 silymarin과 silybin에 대한 지질 과산화를 알아보기 위하여 쥐의 간에서 microsome을 분리하여 항산화효과를 검토하였다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 microsome 현탁액에 NADPH와 Fe<sup>3+</sup>을 첨가한 다음 산화 억제효과를 조사한 결과 50 $\mu$ M silymarin 및 50 $\mu$ M silybin에서 TBARS의 생성이 현저히 억제되었다. 이를 항산화효과가 이미 알려져 있는 dl- $\alpha$ -tocopherol과 비교 시험한 결과 50 $\mu$ M dl- $\alpha$ -tocopherol은 silymarin 및 silybin과 동일 농도에서의 항산화효과보다 약간 낮은 결과를 나타내었다. NADPH 및 Fe<sup>3+</sup> 유도지질의 과산화는 NADPH 의존 cytochrome P-450 reductase에의 활성에 의하여 잘 일어나므로<sup>34)</sup> 본 실험에 사용된 silymarin 및 silybin은 효소작용에 의한 산화 억제효과가 있을 것으로 사료된다.

세포막의 지질의 산화는 고도불포화지방산의 함량에 영향을 받고 있을 뿐 아니라 효소적 또는 비효소적으로 유리기가 생성되어 세포막에 자극을 주어 일어난다<sup>35)</sup>.

Microsome에서의 NADPH 의존 지질의 과산화는 다음의 식에 따라 일어난다고 생각할 수 있다.



Peroxidation system으로 제시된 Fe<sup>2+</sup>에서 Fe<sup>3+</sup>는 cytochrome P-450 reductase의 NADPH 의존 활성에 의하여 효소적으로 일어나거나 ascorbic acid와 같



**Fig. 2. Antioxidative effect of silymarin or silybin on the lipid peroxidation initiated by NADPH and FeCl<sub>3</sub> in rat liver microsomes as described in methods.** The amount of peroxidated products is expressed as the change in absorbance of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) at 535nm, ○-○, control; △-△, dl-α-tocopherol(50μM); ▲-▲, silymarin(50μM); ●-●, silybin(50μM).

은 환원제의 첨가에 의하여 비효소적으로 일어난다. 본 연구에 사용된 silymarin 및 silybin은 여러 가지 요인에 의하여 지질 과산화화 일어나는 동안 유리기의 측쇄 반응의 시발과 종결 반응에 효과가 있는 것으로 생각된다.

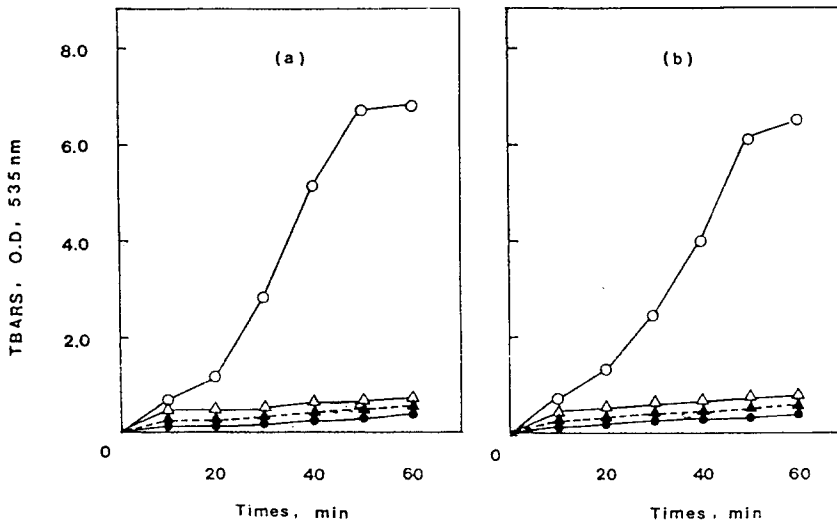
한편 본 실험에서는 silymarin 및 silybin이 비효소적으로 유도되는 지질의 과산화에 효과가 있는지 알아보기 위하여 검토한 결과를 Fig. 3에 나타내었다.

위의 microsome을 이용하여 cytochrome P-450 환원효소와 연관이 있는 ascorbic acid와 Fe<sup>3+</sup>의 첨가에 의하여 유도되는 과산화물은 silymarin 및 silybin에 의하여 현저히 억제됨을 알 수 있었다. 또 Fenton's 시약(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>+Fe<sup>2+</sup>)에 의하여 유도되는 지질의 과산화물도 비슷한 경향으로 억제되었다.

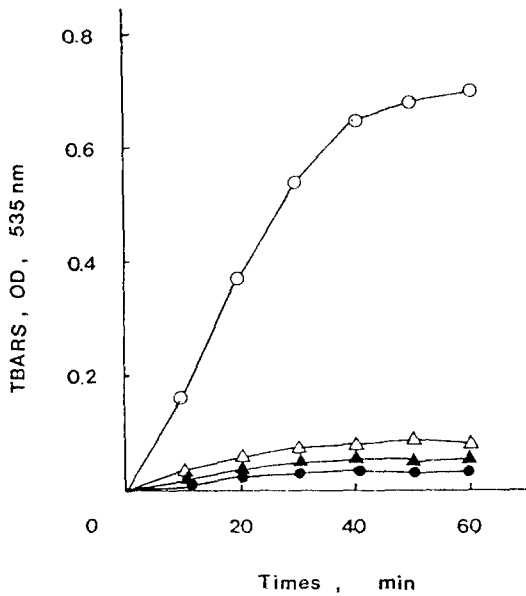
이러한 실험결과로 보아 silymarin 및 silybin은 microsome에서의 효소적(NADPH) 및 비효소적(ascorbic acid 및 Fenton reaction) 시스템으로 유발되는 과산화물의 생성을 억제하는 강력한 항산화효과가 있는 것으로 판단된다.

3. Mitochondria의 과산화에 의한 항산화 효과

Mitochondria에서 흔히 일어날 수 있는 반응으로 mitochondria가 산화적 스트레스를 꾸준히 받는다. Mitochondrial electron transport system에서 양쪽의 전기가 흘러나오면 유리되어 나오고 O<sub>2</sub><sup>-</sup>가 방출되



**Fig. 3. Antioxidative effect of the silymarin(5μM) or silybin(5μM) on lipid peroxidation initiated ascorbic acid and FeCl<sub>3</sub>(A) of Fenton reaction(B) in rat liver microsomes.** The amount of peroxidated products is expressed as the change in absorbance of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) at 535nm, ○-○, control; △-△, dl-α-tocopherol(50μM); ▲-▲, silymarin(50μM); ●-●, silybin(50μM).



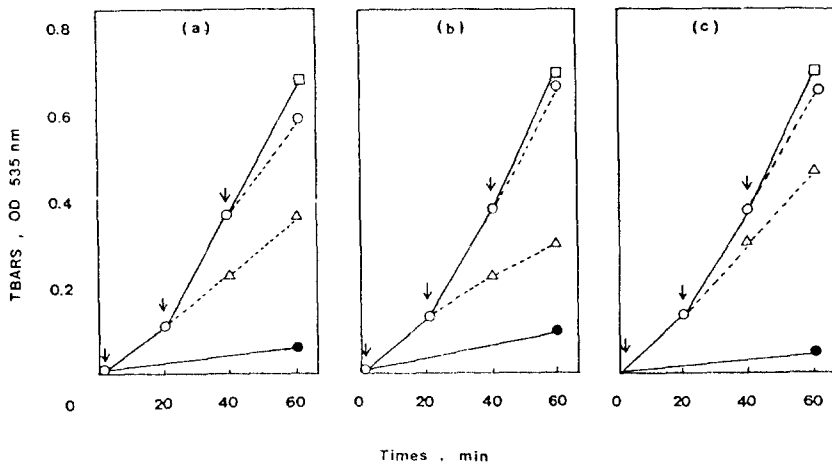
**Fig. 4. Antioxidative effect of silymarin, silybin and dl- $\alpha$ -tocopherol(reference) on lipid oxidation in rat liver mitochondria.** ○-○ ; Control,  $\triangle$ - $\triangle$  ; dl- $\alpha$  tocopherol,  $\blacktriangle$ - $\blacktriangle$  ; silymarin (50 $\mu$ M), ●-● ; silybin(50 $\mu$ M).

어 유리산소로서 반응하고 결과적으로 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>을 생성하게 된다. 생성되는 지질 과산화물은 mitochondria 기능에 영향을 받아 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로부터 유도된 hydroxyl기(·

OH)에 의하여 생성된다. Mitochondria의 일부분의 지질의 과산화는 ADP와 Fe<sup>3+</sup>의 존재하에서 NADH 및 NADPH에 의하여 일어나게 된다<sup>31)</sup>. Microsome의 지질 과산화에 있어서 ubiquinone 및 ubiquinol은 역시 ADP와 ascorbic acid에 의하여 유도되는 mitochondria의 지질 과산화를 억제한다고 하였다<sup>36)</sup>. Fig. 4에서 보는 바와 같이 silymarin 및 silybin을 첨가한 실험에서 mitochondria의 지질 과산화물의 생성을 억제하였으며 비교 실험한 dl- $\alpha$ -tocopherol과 거의 비슷한 억제효과를 나타내었다.

**4. 유리기 연쇄반응의 종결에 대한 억제효과**

Silymarin 및 silybin의 항산화 효과가 지질이 과산화하는 동안 유리기 연쇄반응의 종결과정에서 부분적으로 억제가 가능하다면 지질 과산화의 초발과정에서 형성된 유리기의 소거에 대한 억제효과를 검토할 필요가 있다<sup>32)</sup>. Fig. 5는 효소로서 지질의 과산화를 microsome에서 NADPH 및 Fe<sup>3+</sup>로서 반응시킨 후 시료인 silymarin, silybin과 대조군으로 dl- $\alpha$ -tocopherol을 첨가한 다음 20, 40, 60분간 반응시키면서 과산화물이 생성되는 경향을 조사하였다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 silymarin 및 silybin은 microsome내에서 연쇄반응의 억제에도 작용하는 것으로 나타났다. Linoleic acid와 Fe<sup>2+</sup>의 자동산화는 silymarin 및 silybin의 첨가로 현저하게 억제되는 것을 볼 수 있었다. 이와 같은 결과는 silymarin과 silybin이 지질 과산화물에 의해



**Fig. 5. Antioxidant effect of the silymarin, silybin and dl- $\alpha$ -tocopherol(reference) on terminating chain reaction of lipid peroxidation in rat liver microsomes.** Lipid peroxidation was initiated enzymatically by additions of NADPH and FeCl<sub>3</sub> to rat liver microsomes. This reaction was incubated at the time, 0(●), 20min( $\triangle$ ) and 40min(○). Silymarin(A), silybin(B) and dl- $\alpha$ -tocopherol(C) was added as final concentration (50 $\mu$ M) indicated by an arrow in the Figure. □, without addition of any compound.

생성되는 과산화 유리기의 소거에 효과가 있는 것으로 판단된다.

플라보노이드의 항산화 활성에 대한 구조적 특성을 보면 폴리페놀의 구조에서 hydroxyl기를 갖고 있었는데 본 연구에 사용된 silymarin 및 silybin은 hydroxyl기를 가지고 있다.

Silymarin은 A-환(ring)에 hydroxyl기를 가지고 있고 B-환에는 methoxy기, hydroxyl기를 가지고 있어 항산화활성이 있는 것으로 판단된다. Silymarin 및 silybin은 isoflavonoid의 구조에서 잘 알려진 바와 같이 C-5와 C-3에 hydroxyl기가 없으나 C-4위치에 carbonyl기가 2가 이온으로 구조에 의하여 봉쇄작용으로 과산화 억제효과가 있는 것으로 생각된다. 이 같은 결과는 각종 플라보노이드에 대한 연구와 비슷한 경향이있다<sup>6, 11, 29)</sup>.

## 요 약

본 연구는 지질의 과산화에 대한 항산화 효과를 조사하기 위하여 엉겅퀴(*Silybum marianum*)로부터 silymarin 및 silybin을 정제하여 실험하였다.

Silymarin 및 silybin은 xanthine oxidase system에서 superoxide anion의 생성을 억제하였다. 쥐의 간 mitochondria에서는 silymarin 및 silybin은 reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH)에 의해 효소적 또는 ascorbic acid 또는 Fenton's reagent에 의하여 비효소적으로 유도되는 지질의 과산화를 억제하였다. 또 mitochondria의 지질 과산화도 silymarin 및 silybin에 의하여 억제되었고 NADPH 의존 cychrome P-450 reductase에 의한 Fe<sup>2+</sup>의 산화도 silymarin 및 silybin에 의하여 억제되었다.

Silymarin 및 silybin은 microsomes의 효소 시스템 및 linoleic acid hydroperoxide induced peroxidation system에서 지질의 과산화의 연쇄반응에서 유리기의 억제효과가 있었다.

## 참고문헌

1. Harborne, J.B., Mabry, T. J., and Mabry, H.: The flavonoids. London: Chapman and Hall(1975).
2. Herrmann, K.: Flavonols and flavones in plants, A review. *J. Food Technol.* 11, 433(1976).
3. Kuhnau, J.: The flavonoids. A class of semi-essential food components, Their role in human nutrition. *World Rev. Nutr. Diet.*, 24, 117(1976).
4. Cody, V.: Crystal and molecular structure of flavonoids. In *Plant Flavonoids in Biology and Medicine II*. Biochemical, Cellular, and Medicinal Properties, p. 29. Alan R. Liss, New York, NY USA. (1988).
5. Bravo, L., Abia, R., Eastwood, M.A., and Saura-Calixto, F.: Degradation of polyphenols (catechin and tannic acid) in the rat intestinal tract. Effect on colonic fermentation and faecal output. *Brit. J. Nutr.* 71, 933,(1994).
6. Das, N.P.: Studies on flavonoid metabolism. Absorption and metabolism of(+)-catechin in Man. *Biochem. Pharmacol.*, 20, 3435 (1971).
7. Hertog, M.G.L., Hollman, P.C.H., Katan, M.B., and Kromhout, D.: Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determination in adults in The Netherlands. *Nutr. Cancer*, 21 (1993).
8. Hertog, M. G. L., Feskens, E. J. M., Hollman, P. C. H., Katan, M. B., and Kromhout, D.: Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease. The Zutphen elderly study. *Lancet* 342, 1007 (1993)
9. Renaud, S., and De Lorgeril, M.: Wine, alcohol, platelets and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet* 339, 1523 (1992).
10. Pierpoint, W.S.: Flavonoids in the human diet. In *Plant Flavonoids in Biology and Medicine*. Biochemical, Pharmacological and Structure-Activity Relationships, p. 125. Alan R. Liss, New York, NY, USA (1986).
11. Middleton, E., Jr. and Kandswami, C.: The impact of plant flavonoids on mammalian biology. Implications for immunity, inflammation and cancer. In the *Flavonoids, Advances in Research Since 1986*. (J.B. Harborne, ed.), p. 619, Chapman and Hall, London, UK (1993).
12. Ratty, A.K. and Das, N.P.: Effects of flavonoids on nonenzymic lipid peroxidation. Structure activity relationship. *Biochem. Med. Metabol. Biol.*, 39, 69 (1988).
13. Hackett, A.M.: The metabolism of flavonoid compounds in mammals. In *Plant Flavonoids in Biology and Medicine*. Biochemical, Pharmacological and Structural Activity Relationships, p. 177, Alan R. Liss, New York, USA (1986).
14. Cody, V., Middleton, E., and Harborne, J. B., eds. *Plant flavonoids in biology and medicine*-Biochemical, pharmacological and structure-activity relationships. New York. Alan R. Liss, (1986).
15. 박종욱, 류병호. : 사람 LDL 수식에 의한 녹차의 항산화활성, *한국식품과학회지*, 28, 850(1996).
16. Das, N.P. : *Flavonoids in biology and medicine III* -Current issues in flavonoids research. Singapore. Singapore University Press (1990).
17. Nonaka, G., Nishioka, L., Nishizawa, M., Yamagishi, T., Kashiwada, Y., Dutschman, G. E., Bodner, A. J., Kilkuskie, R. E., Cheng, Y.-C., and Lee, K.-H. : Anti-AIDS agents 2, Inhibitory effects of tannins on HIV reverse transcriptase and HIV replication in H9 lymphocyte cells. *J. Natl. Prod.*, 53, 587 (1990).

18. Nakane, H., Ono, K. : Differential inhibitory effects of some catechin derivatives on the activities of human immunodeficiency virus reverse transcriptase and cellular deoxyribonucleic and ribonucleic acid polymerases. *Biochemistry*, **29**, 2841(1990).
19. Middleton, E., and Kandaswami, C. : Effects of flavonoids on immune and inflammatory functions. *Biochem. Pharmacol.* **43**, 1167 (1992).
20. Kandaswami, C., and Middleton, E. : Free radical scavenging and antioxidant activity of plant flavonoids. *Adv. Exp. Med. Biol.* **366**, 351(1994).
21. Sudina, G.F., Mirzoeva, O. K., Pushkareva, M. A., Korshunova, G. A., Sumbutya, N. V., and Varfolomeev, S. D. : Caffeic acid phenethyl ester as a lipoxxygenase inhibitor with antioxidant properties. *FEBS Lett.* **329**, 24, 1993
22. Namiki, M. : Antioxidant /antimutagens in food. *Cri. Rev. Food Sci. Nutr.*, **29**, 273 (1990).
23. Rauen, H. M. and Schriewer, H. : Die antihepatotoxische Wirkung von Silymarin bei experimentellen Leberschagungen der Ratte durch Tatrachlorkohlenstoff, D-Galaktosamin und Allylalkohol. *Arzneimittelforsch.* **21**, 1194 (1971).
24. Mourelle, M., Murrel, P., Favari, L. and Franco, T. : Prevention of CCl<sub>4</sub>-induced cirrhosis by silymarin. *Fund. Clin. Pharmacol.*, **3**, 183 (1989).
25. Nikino, N., Kiso, Y., Wagner, H. and Fiebig, M. : Antihepatotoxic actions of flavonolignans from *Silybum marianum* fruits, *Planta Med.*, **50**, 248 (1984).
26. Ferenci, P., Dragosics B, Dittrich, H., Frank, H., Benda, L., Lochs, H., Meryn, S., Rase, W. and Schneider, B. : Randomized controlled trial of silymarin treatment in patients with cirrhosis of the liver. *J. Hepatol.*, **9**, 105 (1989).
27. Muriel, P., and Mourelle, M. : Prevention by silymarin of membrane alterations in acute CCl<sub>4</sub> liver damage. *J. Appl. Toxicol.*, **10**, 275 (1990).
28. Hahn, G., Lehmann, H. D., Kurten, M., Uebel, H. and Vogel, G. : Zur Pharmakologie und Toxikologie von Silymarin, des antihepatotoxischen Wirkprinzips aus *Silybum marianum* (L.) Gaertn., *Arzneimittelforsch.*, **18**, 698 (1968).
29. Valenzuela, A., Guerra, R. and Videla, L. A. : Antioxidant properties of the flavonoids silybin and (+)-cyanidanol 3: comparison with butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *Planta Med.*, **6**, 438 (1986).
30. 이백천 : 영정퀴로부터 정제한 Silymarin 및 silybin의 지질과 산화 및 low density lipoprotein의 산화에 대한 항산화 활성, 경성대학교 박사학위논문 (1996).
31. Rechnagel, R. O., Glende, E. A., Waller, R. L. and Lowrey, K. : Lipid peroxidation, biochemistry, measurement and significance in liver cell injury, in plaa, G. and Hewitt, W. R. (Eds.), *Toxicology of the liver*, Raven R. Press, New York, p. 218 (1982).
32. Buege, J. A. and Aust, S. D. : Microsomal lipid peroxidation, *Method in Enzymology*, **30**, 301 (1978).
33. Lowry, O.H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randell, R. J. : Protein measurement with the Folin phenol reagent., *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951).
34. Johnson, D. and Lardy, H. : in "Methods in Enzymology," Vol. 10, ed. by R. W. Estabrook and M. Pullman, Academic Press, New York, p. 94 (1967).
35. Fridovich, I. : Xanthine oxidase, in Handbook of Method for oxygen radical research. (Greenwald, R.A., ed.), 51, *CRC Press, Boca Raton FL* (1985).
36. Cross, C. E., Halliwell, B., Borish, E. T., Pryor, W. H., Ames, A. N., Saul, R. L., McCord, J. M., and Harman, D. : Oxygen radicals and guman disease. *Ann. Int. Med.*, **107**, 526 (1987).

---

(1997년 2월 20일 접수)