

金銀花(Lonicerae Flos) Ethyl Acetate 分割의 過酸化脂質生成抑制에 관한 研究

嶺南大學校 藥學科*
鄭圭燦* · 裴基哲

Study on the Inhibition of Lipid Peroxidation by Loniceræ Flos' Ethyl Acetate Fraction

College of Pharmacy, Yeungnam University*

K. C. Chung* and K. C. Bae

Abstract

The inhibitory effects of Lonicerae Flos' fractions (benzene, CHCl₃, EtOAc and MeOH fraction, respectively) on microsomal lipid peroxidation were comparatively studied and furthermore each components of EtOAc fraction has been examined.

It is found that G component of EtOAc fraction inhibited most strongly for lipid peroxidation. Among the EtOAc fractions, G component was identified to be luteolin.

Also, EtOAc fraction showed particularly strong increment against superoxide dismutase activity.

I. 序 論

金銀花(Lonicerae Flos)는忍冬科(Caprifolaceae)에屬하는忍冬덩굴(Lonicerae Japonica Thunb.) 꽃으로 6, 7월에白色의 꽃²⁾이黃色으로된다고하여金銀花라 불리어 왔다. 꽃은 겨울에도 지지않고 지나며韓方에서는利尿,解毒,化膿症 및 精血과解毒에有效하다고記録되어 있다.⁴⁾

金銀화에 관한研究는 1979年 Sim等¹⁶⁾이 ginnol, sterol 및 glycoside를報告한 것과 1981年 Yee等²¹⁾이 chlorogenic acid, flavonoid化合物 및 tannin을報告했으며 이들物質들은 gram陽性 및 gram陰性菌에對하여抗菌作用이 있음을報告하였다. 또한 1986年 Li等⁹⁾에依하여 iso-chlorogenic acid가報告되었다.

以上과 같이 現在까지金銀花에 관한研究는 주로成分에 관한 것이며成分과藥效와의 관계에 관한研究는未裕한實情이다. 本研究에서는金銀화가膜損傷성과 관련하여抗酸化作用이 있는지를알아보고자 malondialdehyde (MDA) 含量의變動^{3,8,18,21,28)}과 superoxide dismutase(SOD) 活動變動^{7,19,20)}을 조사하고, 그成分이 어떤 것인가를 밝히고자金銀化를 benzene, CHCl₃, ethylacetate(EtOAc) 및 methanol로抽出하여 얻은 네가지分劃의活性을 비교검토 하였으며 그中活性이 가장 강한 EtOAc 分劃을 preparative TLC로 분리하고分離된成分에對하여서도活性을調査하여 보았다. 그結果 EtOAc 分劃中 luteolin으로推定되는 G分劃에서 過酸化脂質의生成을抑制시키고 SOD活性을增加시키는作用이 가장 강한 것이發見되었기에 그調査結果를報告하고자 하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

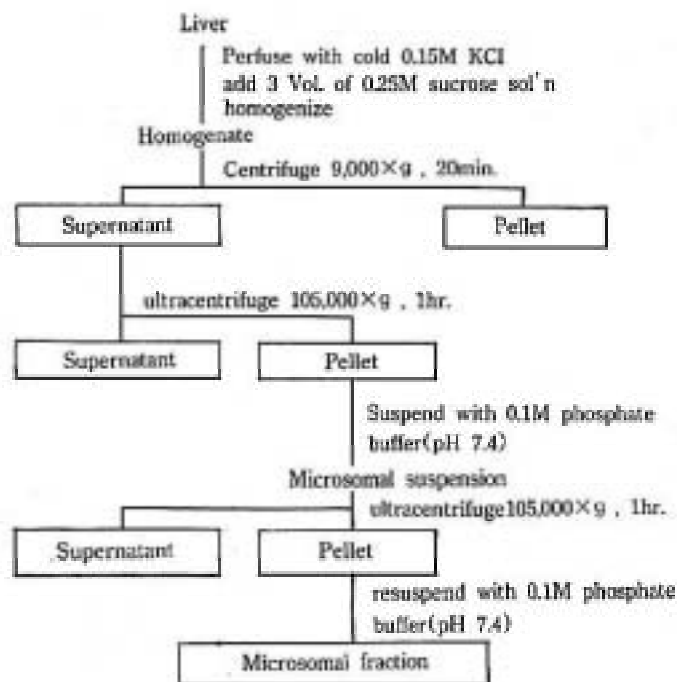
1. 實驗材料 및 試藥

金銀化는市中에서 구입하여陰乾, 細折하여使用하였으며, 實驗에使用한試藥은 malondialdehyde(MDA, Fluka), thiobarbituric acid(TBA, Sigma), 4,5,7-trihydroxy flavone(apigenin, Sigma), 3-(3,4)-dihydroxy cinnamol quinic acid(chlorogenic acid, Sigma), NADPH(Sigma) trichloroacetic acid(TCA, Junsei), Pyrogallol(Junsei) 등 이었으며 모든試藥은特級 또는一級品을使用하였다.

2. 實驗動物

本大學 動物舍에서 飼育한 20g 内外의 雄性 ICR 系 mouse를 使用하였다.

金銀化의 各 分割은 olive oil에 溶解하여 3日間 腹腔内 注射하였으며 EtOAc 分割은 10 mg/kg을 同一 方法으로 注射하였다. 肝毒性을 誘發하기 爲한 paracetamol^{13,12,13,14}도 olive oil에 溶解하여 500mg/kg을 屠殺하기 24시간 前에 1회 投與하였으며 對照群으로서는 同量의 olive oil을 投與하였다. 實驗動物은 實驗前 24시간 동안 물만 주고 絶食시킨 mouse 斷頭屠殺하여 開腹하고 肝腸을 摘出하였으며 摘出한 肝腸을 生理食鹽水로 數回 洗滌한 다음 附着物質과 水分을 除去하였다. 摘出한 mouse 肝 組織 1g 當 3倍量의 0.25M sucrose 溶液을 加해 均質化하였다. 이 均質液을 105,000×g 에서 1시간 超遠心分離하여 얻은 microsomal 分割을 過酸化脂質測定用 試料로 使用하였다. (Scheme 1) microsomal 分割의 蛋白質 定量은 bovine serum albumin(BSA)을 標準溶液으로 하여 Lowry等¹⁰의 方法으로 測定하였다.

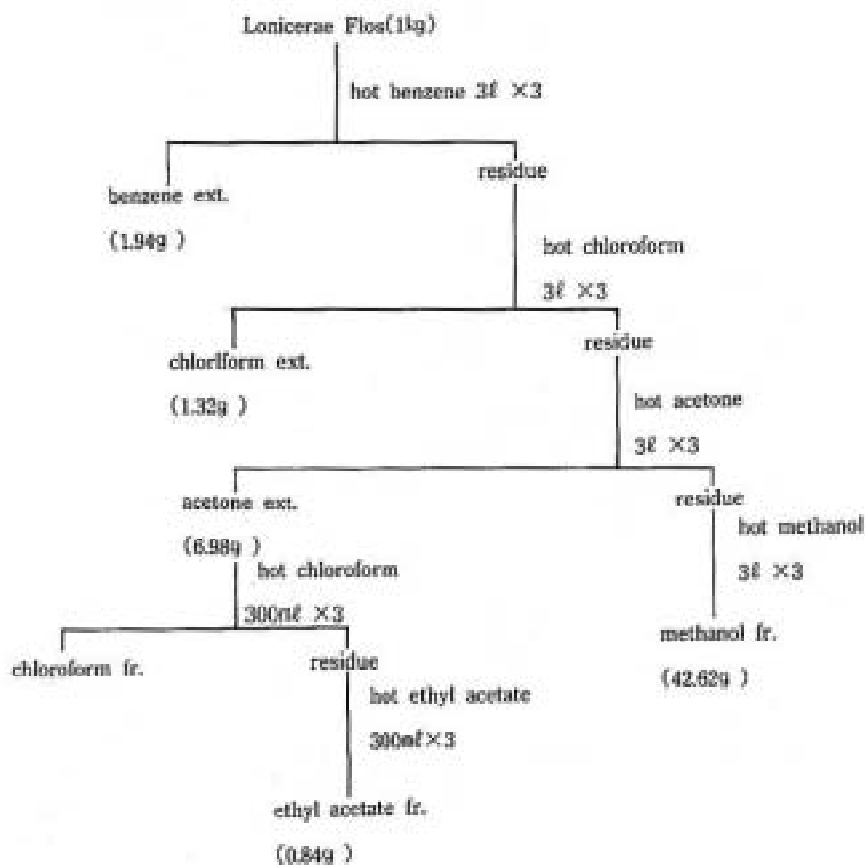


Scheme 1. Preparation of hepatic microsomal fraction.

3. 金銀化 各 分割의 抽出

實驗에 使用한 各 分割은 T. Noro 등¹⁷⁾의 抽出法에 依한 것이며 Scheme 2에 圖示하였다. 金銀化 1kg을 3ℓ의 benzene으로 3回 抽出하여 benzene fraction을 얻었다. 그 殘渣에 3ℓ의 CHCl₃으로 3回 抽出하여 CHCl₃ fraction을 얻었다. 다시 그 殘渣에 acetone으로 抽出하여 acetone fraction을 얻고 여기에 CHCl₃을 가해 CH₂Cl fraction을 除去한 다음 그 殘渣에 EtOAc fraction을 얻었다. 또한 acetone으로 處理하고 난 殘渣에 60°C MeOH를 加해 MeOH fraction을 얻었다.

상기 各 分割을 rotary evaporator로 減압, 농축한 結果, benzene fraction은 1.94g, CHCl₃ fraction은 1.32g, EtOAc fraction을 0.84g, MeOH fraction은 42.62g의 抽出物을 얻어 本 實驗에 使用하였다.



Scheme 2. Preparation of Lonicerae Flos fractions.

4. 全銀花의 EtOAc 分割의 分離

全銀花의 EtOAc 分割을 Kieselgel 60-F₂₅₄(Art, 5725)를 사용하여 展開溶媒 CHCl₃ : CH₃OH : H₂O(6 : 4 : 1 $\frac{1}{v}$)로 EtOAc의 各成分을 確認하였으며 各成分은 preparative TLC를 履行하여 分離하였다.

5. 過酸化脂質 含量 測定

Aust and Buege 方法¹⁾에 準하여 肝 組織中の 過酸化脂質 含量을 測定하였다.

Mouse의 肝 Microsomal fraction에 TBA-HCl-TCA溶液을 添加하고 室溫에서 10分間 放置한 다음 混合液을 85℃에서 15分間 水浴中에서 反應시킨 후 冷却하여 3,000r.p.m.에서 遠心分離한 後 red color pigment를 535nm에서 吸光度를 測定하였다.

過酸化脂質 含量은 malondialdehyde(MDA)量으로 表示하였다.

6. SOD 活性 測定

SOD活性 測定 方法은 Mark-lund¹¹⁾ 등의 pyrogallol autoxidation 方法에 準해 測定하였다.

肝 上增液 50 μ l에 potassium phosphate buffer 0.1M(pH 7.0) 一定量을 넣어 37℃ 水槽에서 1分間 preincubation한 後에 pyrogallol 1M을 加하고 vortex에서 混合하여 420nm에서 3分間 吸光度를 測定하였다.

SOD活性은 pyrogallol의 自動酸化를 防止하는 酵素인 SOD의 活性을 抑制하는 能力을 control group과 比較하여 %로 表示하였다.

III. 實驗 結果

1. 全銀花 EtOAc 分割의 確認

1) TLC pattern

展開溶媒로 CHCl₃ : CH₃OH : H₂O(6 : 4 : 1 $\frac{1}{v}$)를 使用하였으며 Fig. 1에 圖示하였다.

EtOAc 分割에서 8개의 spot가 나타났으며 R_f=0.13에서 chlorogenic acid, R_f=0.61에서 luteolin, R_f=0.67에서 apigenin의 標準物質과 spot 위치가 一致하였다.

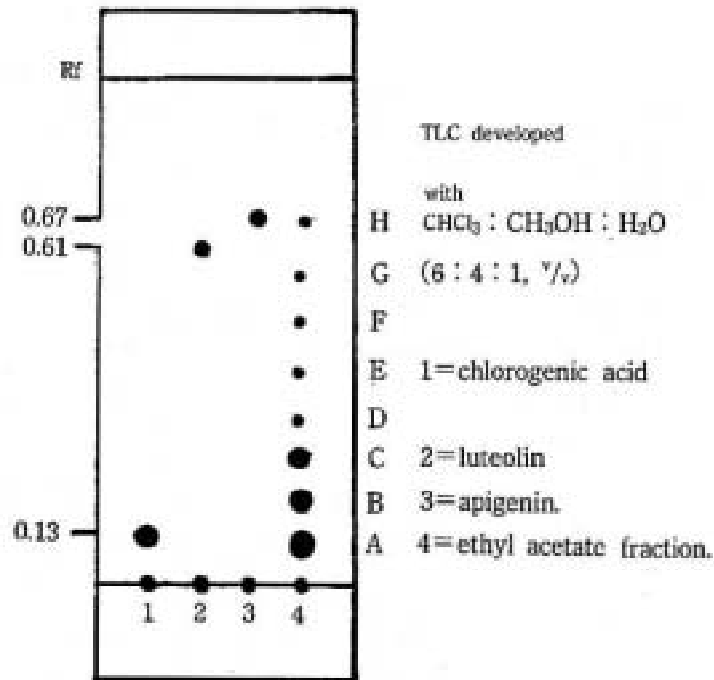


Fig. 1. TLC pattern of the ethyl acetate fraction of Lonicerae Flos.

2) HPLC profile

Fig. 2에 圖示한 바와 같이 HPLC 條件은 아래와 같다.

Column은 μ bondapak- C_{18} 을, mobile phase는 methanol : 1% acetic acid(55 : 45)을, 280 nm에서 UV吸光을 測定하였다. Injection volume은 5 μ l, flow rate는 1.0ml/min로 하여 EtO EtOAc 分割을 injection하였을 때 3分 18秒에 Chlorogenic acid, 10分 95秒에 luteolin, 13分 47秒에 apigenin의 標準物質과 retention time이 一致하였다.

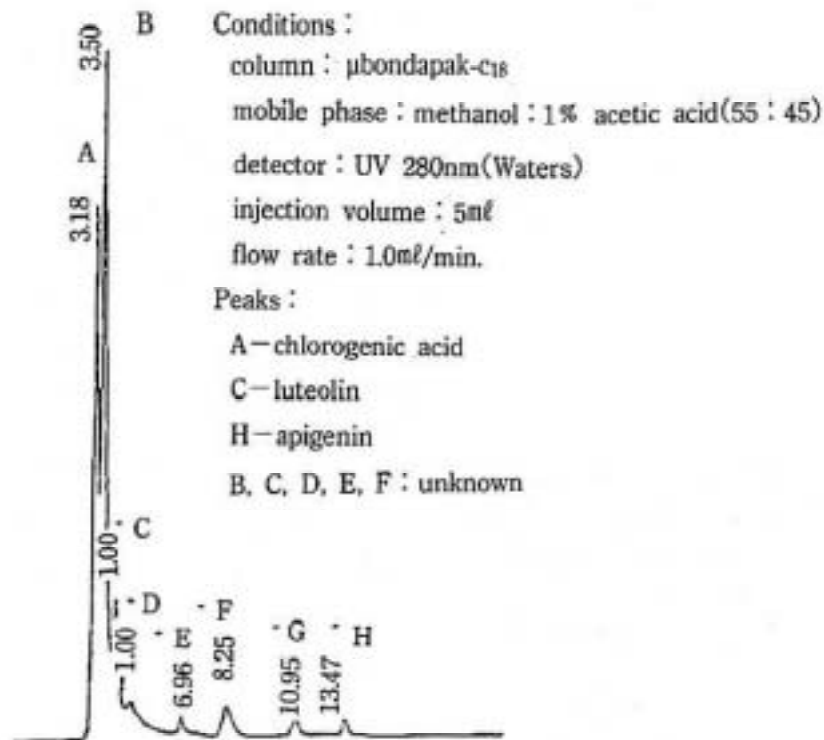


Fig. 2. HPLC profile of the ethyl acetate fraction of Lonicerae Flos.

2. 金銀花 EtOAc 分割이 過酸化脂質 生成에 미치는 影響

1) 金銀花 各 分割에 따른 過酸化脂質 生成

Paracetamol 代謝 過程에서 發生한 活性 酸素는 hydroxyl radical이 되어 세포막 구성 성분 인지질에 作用하여 lipid hydroperoxide 를 生成하고 이것은 더욱 산화되며 MDA가 生成된다. 그러므로 MDA量은 膜損傷의 指標를 나타내는데 有用하다.

抽出한 mouse肝腸을 磨碎한 다음 超遠心 分離하여 얻은 肝 microsomal의 過酸化脂質 含量變動에 어떠한 影響을 미치는지를 各 分割別로 比較 檢討한 成績이 Fig. 3이다.

正常群에서 MDA量은 1.39n mole/min · mg이었으며 paracetamol로 過酸化脂質을 誘發시킨 群에서는 MDA量이 1.87n mole/min · mg로서 正常群에 比해 약 34%의 增加를 보였다.

그러나, benzene fraction, CHCl₃ fraction, EtOAc fraction 및 MeOH fraction을 投與한 群에서 各各 1.63, 1.73, 1.34, 1.52n mole/min · mg으로 paracetamol 對照群에 比해 EtOAc 分割을 投與한 群에서 MDA生成 抑制率이 가장 높게 나타났다.

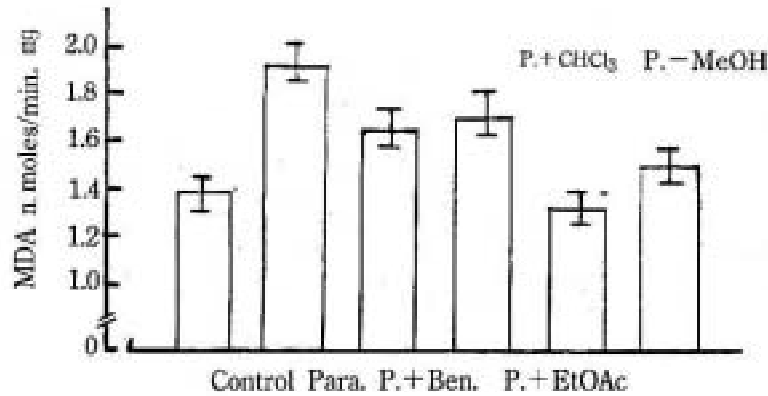


Fig. 3. Inhibitory effect of Lonicerae Flos fraction on paracetamol induced lipid peroxidation in mouse.

Control : saline, *i.p.* Paracetamol : 500mg/kg, *i. p.* Lonicerae Flos fractions : 10mg/kg, *i. p.* 3days

MDA(MalonDiAldehyde)

Mean \pm S. E. *P<0.01

2) 金銀花 EtOAc 분획의 投與容量에 따른 過酸化脂質 生成變動

分劃別 實驗에서 EtOAc 分劃이 가장 顯著하게 過酸化脂質 生成을 抑制하고 있음이 觀察되었으므로 EtOAc 分劃의 容量 依存性을 實驗하기 위하여 實驗動物에 EtOAc 分劃을 投與한 後 MDA 含量을 觀察한 成績이 Fig. 4이다.

容量(5, 10, 20, 40mg/kg) 別로 EtOAc 分劃을 投與하면서 MDA의 含量을 測定하였을 때 paracetamol 單獨 投與群의 MDA의 含量이 1.87n mole/min · mg인데 비해 添加 濃度에 따라 1.43, 1.30, 1.46, 1.49n mole/min · mg으로서 paracetamol 對照群에 비해 약 20%, 30%, 20%, 20%의 抑制率을 각각 나타냈다.

3) 試驗管 內에서 金銀花 EtOAc 分劃 各 成分들이 過酸化脂質 含量 變動에 미치는 影響

金銀花 EtOAc 분劃을 preparative TLC로 分離하여 얻은 8가지 成分이 *in vitro*에서 肝 microsomal의 MDA 含量에 어떠한 影響을 미치는지를 알아보았다. (Fig.5)

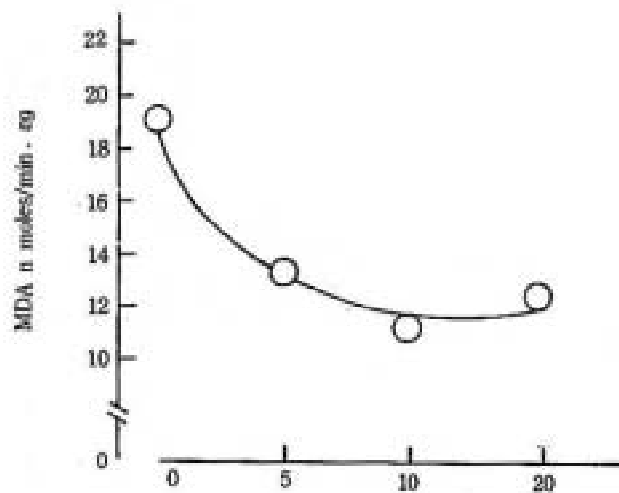


Fig. 4. Dose response of Lonicerae Flos ethyl acetate fraction on the hepatic malondialdehyde contents in mouse.

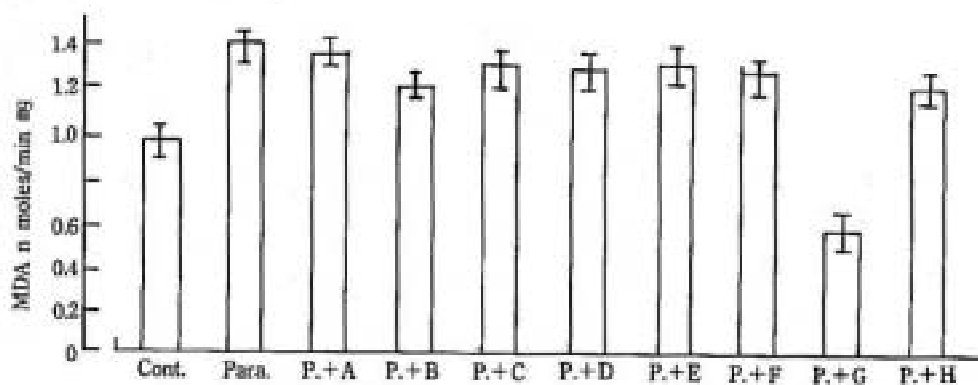


Fig. 5. Effect of Lonicerae Flos⁷ ethyl acetate components on paracetamol induced lipid peroxidation *in vitro*.

Lonicerae flos EtOAc Components(0.25mg) were incubated with paracetamol for 15 min. at 85°C.

Mean \pm S. E. * $p < 0.01$

EtOAc 分割의 各 成分들이 paracetamol이 誘導한 過酸化脂質 含量 變動에 對하여 어떠한 影響을 미치는 가를 實驗한 結果, paracetamol 對照群의 MDA 含量이 1.40nmol/min · mg인데 비해 EtOAc 分割 中 標準品으로 使用한 luteolin의 Rf値와 同一한 Rf値를 나타내는 G 成分을 添加한 群에서 生成 抑制率이 約 55%程度로 가장 有意性 있게 抑制되었으며, 다른 成分들은 약간 抑制하는 傾向만 보였다.

그리하여 以下의 實驗에서는 EtOAc G 成分만으로 實驗을 行하였다.

4) 金銀花 EtOAc 分割의 反應時間에 따른 過酸化脂質 生成

金銀花 EtOAc G 成分을 試驗管 內 一定한 溫度에서 反應時間에 따라 MDA 含量 變動에 어떠한 影響을 미치는 가를 觀察한 成績이 Fig. 6이다.

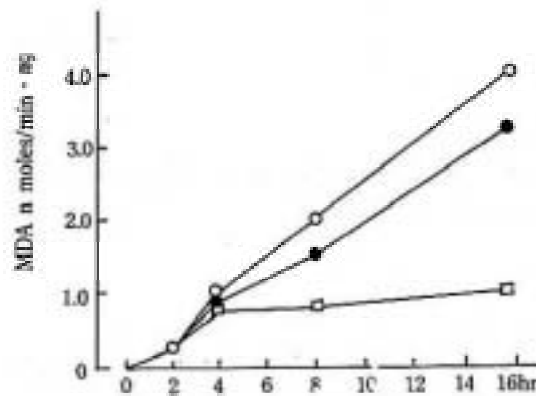


Fig. 6. Change of hepatic malondialdehyde contents induced by paracetamol *in vitro*. Control □---□, Paracetamol ○---○, Paracetamol+EtOAc G component. ●---●

paracetamol 對照群은 4시간, 8시간, 16시간이 經過될 때, 1.0, 1.9, 4.1n mole/min · mg로서 輕視적으로 MDA量이 增加되었다.

그러나, EtOAc G 成分(0.25mg/assay)을 同時 添加한 群에서는 0.8, 1.4, 3.2n mole/min · mg으로 反應時間에 따라 역시 輕視적으로 MDA量이 增加되었으나, paracetamol 對照群에 비해 MDA 成分이 抑制됨을 觀察할 수 있었다.

5) 試驗管 內에서 NADPH에 對한 金銀花 EtOAc 成分이 過酸化脂質 生成에 미치는 影響

paracetamol 代謝課程에서 NADPH는 redox cycle의 補助因子로 作用하고 있다.

그리하여 試驗管 內에서 NADPH에 의해서 誘導^{6,15)}된 過酸化脂質 含量 變動에 EtOAc G

成分이 어떠한 影響을 미치는지를 檢討한 成績이 Fig. 7이다.

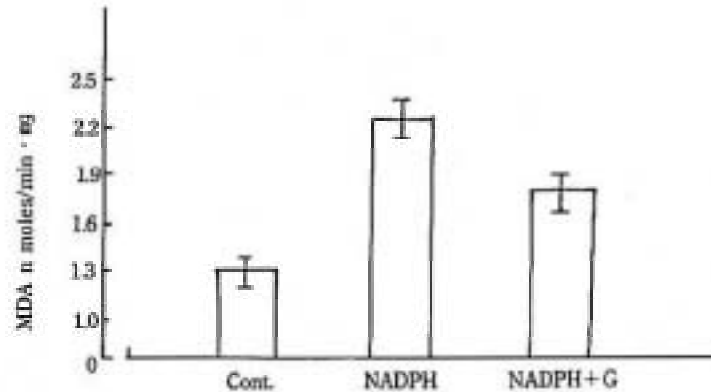


Fig. 7. Inhibitory effect of Lonicerae Flos' ethyl acetate components on NADPH induced peroxidation *in vitro*.

EtOAc G component(0.25mg) were incubated with 5mM NADPH for 15 min. at 85°C. Mean ± S.E. *P < 0.05

5mM NADPH를 反應液에 添加하여 反應시켰을 때 MDA 含量이 2.28n mole/min · mg인데 비해 EtOAc G 成分을 同時에 添加한 群에서는 1.9n mole/min · mg로서 약 16% MDA生成을 抑制시킴을 알 수 있었다.

6) 金銀花 EtOAc 分割이 SOD 活性에 미치는 影響

paracetamol 過量 投與시 肝 P-450 system을 통하여 發生한 活性 酸素는 SOD에 의해 H₂O₂로 바뀌어 다음 代謝課程에서 安定하게 바뀌지만 그렇지 못한 경우에는 hydroxyradical(OH)이 되어 過酸化脂質을 誘發한다고 알려져 있다.¹⁵⁾

위와 같은 觀點에서 볼때 過酸化脂質生成과 SOD 活性間에는 密接한 關係가 있다.

그리하여 本 實驗에서는 抽出한 mouse 肝腸을 磨碎 遠心分離하여 얻은 上澄液에서 EtOAc 分割이 SOD活性에 미치는 影響을 檢討하였다. (Table. 1)

Paracetamol(500mg/kg. i. p.)을 投與하고 난 後 肝腸中에서 pyrogallol의 自動酸化를 抑制하는 initial rate는 24.42로 나타난데 비해 金銀花 EtOAc 分割(10mg/kg. i. p.)을 3時間 投與한 群의 initial rate는 19.44로 paracetamol 對照群에 비해 pyrogallol의 自動變化率이 약 20%程度 抑制됨을 알 수 있었다.

7) 試驗管 內에서 金銀花 EtOAc 分割의 投與 容量에 따른 SOD 活性 變動

實驗動物에서 金銀花 EtOAc 分割이 pyrogallol의 自動酸化率을 抑制하고 있음이 觀察되었

Table 1. Effect of Lonicerae Flos' EtOAc fraction on hepatic superoxide dismutase(SOD) activity in mouse

EtOAc fra.	Rates of autoxidation ($\Delta A_{420} \times 10^3$)	Inhibition/Control (%)
Control	17.44 ± 1.02	—
Paracetamol	24.42 ± 1.13	—
EtOAc fra. + Para.	19.44 ± 1.06*	20.4

Mean ± S.E. *P < 0.05

으므로 *in vitro*에서 용량을 달리하여 EtOAc 분획을添加하였을 때의 SOD 활성變動을觀察한成績이 Fig. 8이다

容量(0.5, 1, 2, 4mg/assay)別로 EtOAc分획을添加하면서 酵素의 活性을 測定하였을 때 olive oil만을添加한 對照群의 pyrogallol 自動變化 initial rate가 21.63인데 비해 0.5mg, 1mg, 2mg, 4mg을添加時에는 initial rate가 19.24, 18.91, 18.61, 18.07로서 自動酸化 抑制率이 各各 11.0, 12.6, 14.0, 16.5%로 容量 依存的으로 抑制됨을 觀察할 수 있었다.

8) 試驗管 內에서 金銀花 EtOAc 成分이 SOD 活性에 미치는 影響

金銀花 EtOAc 分획을 preparative TLC하여 얻은 8가지 成分 中 G 成分에서 過酸化脂質 生成 抑制 效果가 가장 顯著하였으므로 이 G 成分이 SOD 活性에 미치는 影響을 試驗管 內에서 觀察한 것이 Table 2이다.

Paracetamol(10mg/assay)를添加하였을 때의 pyrogallol 自動酸化 initial rate가 27.75로 나타난데 비해 EtOAc G 成分(0.25mg/assay)을 同時에添加하였을 때의 initial rate는 19.25로서 약 40% 抑制됨을 알 수 있었다.

Table 2. Effect of Lonicerae Flos' EtOAc fraction on the hepatic SOD activity *in vitro*.

EtOAc G comp.	Rates of autoxidation ($\Delta A_{420} \times 10^3$)	Inhibition/Control (%)
Control	19.75 ± 2.15	—
Paracetamol	27.75 ± 2.08	—
EtOAc G. + Para.	19.25 ± 1.98*	30.6

Mean ± S.E. *P < 0.05

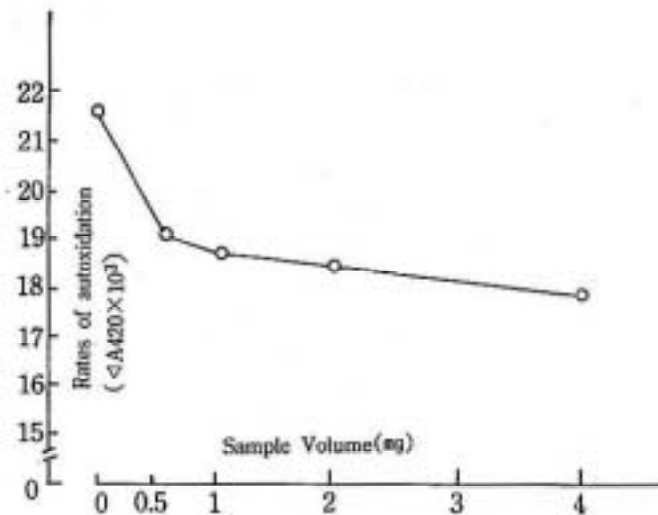


Fig. 8. Dose response of Lonicerae Flos' ethyl acetate fraction on the hepatic superoxide dismutase activity *in vitro*.

IV. 考 察

本實驗結果, 金銀花의 EtOAc 分割이 benzene, CHCl_3 , MeOH 分割에 비해 抗酸化作用과 關聯된 過酸化脂質 生成 抑制 效果가 比較的 強하게 나타났다.

過量의 paracetamol에 의해 誘發된 過酸化脂質 生成에^{5,12,14} 金銀花 EtOAc 分割을 前處理한 群에서 過酸化脂質 生成 抑制效果는 顯著하게 나타났다. 이것은 金銀花의 EtOAc 分割 中에 過酸化脂質 生成 抑制作用과 關聯된 成分이 存在할 것으로 推測되며 EtOAc 分割을 preparative TLC 하여 얻은 8가지 成分으로 試驗管 內에서 過酸化脂質 含量 變動을 觀察하였을 때 G 成分 中에서 抑制 效果가 가장 높았다.

또, 이 G 成分은 확인한 결과 TLG와 HPLC에서 Luteolin의 R_f 치와 Peak에서 일치하므로 미루어 G 성분은 luteolin으로 推定할 수 있었다.

Cytochrome P-450 system 補助因子인 NADPH에 의한 過酸化脂質 生成에 대한 EtOAc G 成分의 抑制效果도 NADPH 依存性을 나타냄을 알 수 있었다.

또한, EtOAc 分割이 다른 分割에 비해 pyrogallol 自動酸化 抑制 效果도 顯著한 것으로 나타났으며, EtOAc 分割의 濃度에 따른 效果도 濃度依存性을 나타냈다.

以上の 實驗成績을 綜合해 볼 때 金銀花 EtOAc 分割 中 luteolin으로 推定되는 G 成分이 過酸化脂質 生成 抑制 效果와 SOD 活性을 增加시켜 줌으로써 抗酸化作用 및 細胞膜을 保護해

줄 것으로 思料되나, 이러한 作用이 어떠한 기전에 依해서 일어나는지에 관해서는 더욱 더 具體的인 研究가 이루어져야 할 것이다.

V. 結 論

金銀花가 膜損傷과 關聯된 抗酸化 作用이 있는지를 알아 보고자 MDA 含量 變動을 觀察하고, 그 成分은 어떠한 것인가를 밝히고자 本 實驗을 行하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 金銀花 各 分割이 mouse의 肝 microsomal의 MDA 生成 抑制 效果는 EtOAc 分割에서 가장 顯著하였으며 投與 容量에 따른 MDA 生成 抑制 效果는 濃度依存性이 있었다.

2. 金銀花 EtOAc 分割을 preparative TLC하여 얻은 8가지 成分으로 試驗管 內에서 MDA 生成 抑制에 미치는 影響을 관찰해 보았다.

3. *In vitro* 反應時間에 따른 MDA 含量 變動은 4hr, 8hr, 16hr이 지남에 따라 paracetamol 對照群이 1.0, 1.9, 4.1 n mole/min · mg인데 비해 金銀花 EtOAc G 成分을 同時에 添加한 群은 0.8, 1.4, 3.2n mole/min · mg로 나타났다.

4. NADPH에 對한 金銀花 EtOAc G 成分이 MDA生成에 미치는 影響은 NADPH 添加群은 2.3n mole/min · mg인데 비해 同時 添加群은 1.8n mole/min · mg로 나타났다.

5. 金銀花 EtOAc 分割이 SOD 生活에 미치는 影響을 檢討한 結果 mouse의 酵素活性이 약 20% 增加되었다.

6. 試驗管 內에서 金銀花 EtOAc 分割의 濃도에 따른 SOD 活性 變動은 濃度 依存性을 나타냈다.

7. 시험관 內에서 金銀花 EtOAc G 成分은 SOD 活性을 약 30% 增加시켰다.

以上の 實驗結果에서 金銀花 EtOAc 分割 中 luteolin으로 推定되는 G 成分의 過酸化脂質 生成 抑制 效果는 NADPH를 利用해서 過酸化脂質을 生成하는 課程을 抑制하는 것과 SOD 活性 增加에 의해서 이러한 效果가 나타남을 알 수 있었다.

參 考 文 獻

1. Buege J. A. and Aust S. D. (1978) Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, Vol. 52, 302.
2. 鄭普燮, 金一赫, 金在佳, 南山堂(1984) 原色天然物大事典 上卷 112.

3. Fridovicht(1978) The biology of oxygen radicals. *Science*, 201, 875
4. 陳在仁,(1982) 圖說漢方醫藥大事典(中國藥學大典), I, 160, 講談社
5. Jollow D. J., Mitchell J. R. Potter W. Z., Davis D. C., Gillette J.R. and Brodie B. B.(1973) Acetaminophen-induced hepatic necrosis II. Role of covalent binding *in vivo*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 187, 195.
6. Kappus H.(1986) Overview of enzyme systems involved in bioreduction of drugs and in redox cycling. *Biochem. Pharmacol.*, 35(1), 1.
7. Keele B. B. Jr., McCord J.M. and Fridovitch I (1970) Superoxide dismutase from *Escherichia coli* B. *J. Biol. Chem.*, 245(22), 6176
8. Kikugawa K. (1984) Age pigment : Relationship between lipid peroxidation and formation of fluorescent pigments. *EISEI KAGAKU*, 30(6), 333
9. Li Buoting(1986) Comparative analysis of the chlorogenic acid and isochlorogenic acid in flower and cone of *Lonicerae Japonica* Thunb. *Zhongcaoyao*, 17(6), 10-11
10. Lowry O. H., Resebrough W. J., Farr A. L., Randall R.J.(1949) Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biochem* 47, 469.
11. Marklund S. and Marklund G.(1974) Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.*, 47, 469
12. Mitchell J. R., Jollow D. J., Potter W. Z., Davis D. C., Gillette J. R. and Brodie B. B. (1973) Acetaminophen-induced hepatic necrosis I. Role of drug metabolism. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 187, 185
13. Potter W. Z., Davis D. C., Mitchell J. R., and Brodie B. B.(1973) Acetaminophen-induced hepatic necrosis III. Cytochrome P-450 mediated covalent binding *in vitro*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 187, 203
14. Potter W. Z., Davis D. C., Mitchell J. R., Jollow D. J., Gillette J. R. and Brodie B.B. (1973) Acetaminophen-induced hepatic necrosis IV. Protection role of glutathione. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 187, 211
15. Poulsen H. E., Lerche A. and Skovgaard L. T. (1985) Acetaminophen metabolism by the perfused rat liver twelve hours after acetaminophen overdose. *Biochemical Pharm.*, 34(20), 3729
16. Sim K. S., Moon C. K., Cheonno, J.H., Park D. S.(1979) Ginnol, sterols and glycosides

- from *Lonicerae Flos*. Seoul Taehakkyo. *Yakhak Nonmunjip*, 4, 49
17. Tadataka N., Yasushi O. Toshio M. Akira U. and Seigo F. (1983) Inhibitors of Xanthine oxidase from the flowers and bud of *Daphne genkwa*. *Jhem. Pharm. Bull.*, 31(11), 3984
 18. Tom W. M., Fong L. Y. Y., Woo D. Y. H. Vitoon Prasongwatana and Boyde T. R. C. (1984) Microsomal lipid peroxidation and oxidative metabolism in rat liver influence of Vitamin A intake. *Chem. Biol. Interactions*, 50, 361
 19. Vance P. G. and Keele B. Jr.(1972) Superoxide dismutase from *Streptococcus mutans*. *J. Biol. Chem.*, (15), 4782.
 20. Weistger R. A. and Fridovich I.(1973) Superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.*, 248(10), 3582.
 21. Wong-L., Yee L. (1981) Studies on the components of the flowers of *Lonicerae Japonica* Thumb. and their antibacterial activities. *Hsiang-Kang Ch' in Hui Hsueh Yuan H sueh Pao*, 8, 115
 22. Wright J. R., Colby H. D. and Miles P. R.(1980) Lipid peroxidation in guinea pig lung microsomes. *Biochem. Biophys. Acta.*, 619, 374.
 23. Yost F. J. and Fridovich I.(1976) Superoxide and hydrogen peroxide in oxygen damage. *Arch. Biochem. Biophys.*, 175, 514.