J. Fd Hyg. Safety 18(3), 161–165 (2003)

환경 Hormone에 대한 삼백초의 Glutathione 및 항산화 활성 효과

하배진†

신라대학교 공과대학 생명공학전공

Effects of *Saururus chinensis Baill* on Glutathione and Antioxidative Activity Against TCDD-treated Rats

Bae-Jin Ha†

Department of Bioscience and Biotechnology, College of Engineering, Silla University, Busan 617-736, Korea

ABSTRACT – The effects of *Saururus chinensis Baill* administration on the biochemical parameters of function in liver of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) treated rats were investigated. *Saururus chinensis Baill* (200 mg/kg) was administered into rats intraperitoneally for four weeks , seven days after the injection of TCDD(1 μg/kg). We examined the antioxidative enzymatic activity by measuring the level of AST and ALT in serum and SOD, Catalase, GPx, GSH and GSSG in liver tissue of rats. STT group showed 70.7% of inhibitive effect in AST activity compared to TTA group. ALT level of STT group was decreased to the level of NTT group. SOD and Catalase in TTA group were lower than in NTT group, but SOD and Catalase in STT group were increased by 82% and 55.45% respectively compared to TTA group. GSH contents in STT group were 74.20% increased compared to TTA group. GSSG contents in STT group were 61.08% decreased compared to TTA group. These results suggest that Saururus Chinensis Baill has a potent hepatoprotective effect against TCDD intoxicated rats.

Key words : TCDD, Saururus chinensis Baill, Antioxidative enzyme, Hepatotoxicity

환경 호르몬이란 생체의 호르몬 분비기능에 변화를 주는 외인성 내분비 교란물질로써, 세포의 호르몬 수용체(hormone receptor)와 결합하여 호르몬과 같은 역할을 하거나, 정상적인 호르몬과 수용체의 결합을 방해하는 것으로 알려져 있다.[1)]

이런 내분비교란물질(endocrine disrupting chemicals)은 플라스틱류, 비닐류 등의 생활 용품 및 농 공산품 그리고 농약류 등에 함유되어 있으며, 공기, 물, 흙 등의 환경속에 광범위하게 존재 한다.[2)]

현재까지 알려진 환경 호르몬 중에서 2,3,7,8-tetrachlorodi-benzo-p-dioxin(TCDD)이 가장 독성이 강한 동시에 인간이 합성한 물질 중 가장 독성이 강한 화합물로서[3)], 에스트로겐과 유사한 작용을 하므로 내분비계를 혼란시켜 체중 감소, 생식기 기형 및 기능 저하, 간독성, 암 발생, 정신 지체 및 행동장애, 발생이상 등과 같은 독성작용이 유발된다.[4,5,6)]

TCDD는 지용성이므로 생체내에 들어오면 지방 조직에 축적되어 (체내 반감기:11년) 거의 배설되지 않는 것이 특징이다.[7,8)] TCDD에 의해 야기 되는 지질대사 이상으로는 고지혈증[9)], 고콜레스테롤혈증[10)], 간 및 장 상피세포의 지방 축적 등을 초래한다. 이와 같이 TCDD는 체내 각종 대사에 이상을 초래하고 면역기능을 저하시키는 등 신체의 모든 기능에 치명적인 영향을 주는 물질이라 볼 수 있다.

또한, TCDD는 고농도(30ng/kg 이상)에서 지방조직 보다 간에 더 많이 축적된다. 동물 실험에서 TCDD에 의한 독성은 다양한 장기에서 나타나지만, 특히 간에서 심각한 문제를 일으킨다.[11,12)]

삼백초는(Saururus Chinensis bail)는 삼백초과에 속하며 천성초(天性草) 또는 즙채라 불리는 다년생 초본이다. 삼백초의 전초는 각기(脚氣), 황달(黃疸), 임탁(淋濁), 대하(貸下), 옹종(擁腫), 수종(水腫), 적취(積聚) 등을 치료하고, 또한 급만성료도염, 전립선염, 방광염, 인질, 이질을 치료하는 효과가 있으며, 과중한 노동으로 인한 피로, 타박상으로 인한 후유증과 근육통, 골격 및 골수의 염증에 의한 통증을 치료하는 효과가 있다고 알려져 있다. 최근 들어 삼백초에 관한 연구로는 지방산 및 아미노산의 성분 연구[13)] 가 있으며, 복강대식세포로부터 nitric oxide 유리기전에 대한 연구[14)], 항돌연변이성 효과에 관한보고[15)], 항암 및 세포독성 저해효과[16)] 등이 있다. 이처럼 삼백초는 이뇨, 항균, 해독 등의 다양한 건강 증진효과가 있는 것으로 보고 되고 있으나 삼백초에 관

†Author to whom correspondence should be addressed.

한 TCDD 투여 후 간독성 보호 효과중 항산화에 관한 연구는 없는 실정이다.

최근 TCDD의 해독 혹은 독성완화와 관련된 연구가 진행되고 있다. 홍삼, 비타민, 녹용이 TCDD의 독성을 경감시킨다는 보고[17,18,19]가 있으나 이에 대한 연구는 활발히 진행되고 있지 않은 실정이다. 따라서 본 연구에서 TCDD로 유발되는 간독성에 대하여 삼백초의 효과를 알아보기 위해 rat에 TCDD로 간독성을 유발시킴과 동시에 삼백초를 투여하여 간독성 억제 효과를 조사하고자 한다.

재료 및 방법

실험동물 및 식이

실험동물은 체중 40 g(four weeks old rats)인 수컷 21마리를 대한실험동물센터로부터 제공받았고 7일 동안 실험실에서 적응시켰다. 모든 동물은 cage에 각각 분리시키고 사료와 물을 자유롭게 섭취하도록 했다. 실험동안 동물들은 22 ± 1°C의 온도와 60 ± 5°C 상대습도로 유지시켰으며, Table 1과 같이 3군으로 나누어 다음과 같이 투여하였다.

NTT군은 0.9% saline을 투여 했으며 STT군과 TTA군은 TCDD를 1 μg/kg이 되게 복강 내에 투여했다. TCDD 투여한지 일주일 후부터 STT군은 어성초를 200 mg/kg이 되게 4주 동안 격일로 복강 내에 투여하였다. 나머지 군은 생리식염수를 투여하였다.

식물 재료 및 추출

삼백초는 경상남도 덕유산 720 m의 고랭지에서 재배한 것으로 0.2 kg을 48시간 건조하고 14L water로 4시간 동안 끓였다. 그리고 자외선으로 살균시킨 후 동결 건조하여 추출물을 얻었다.

혈액 및 간 채취

실험 종료 후 실험동물을 ether 마취 하에서 개복 한 후 심장에서 채혈하여 30분 안에 3000rpm에서 10분간 원심 분리하여 혈청을 분리하였으며, 간은 적출하여 0.9% 생리식염수로 세척하여 vial에 담아 -70°C Deep freezer에 보관하였다.

Table 1. Experimental design of TCDD-treated rats

Experimental group	n	1st	8th ~ 36th
NTT	10	0.9% saline	0.9% saline
TTA	10	TCDD	
STT	10	TCDD	Saururus chinensis Baill

n : number of experimental animals
NTT : non treated group
TTA : TCDD-treated abnormal group (1 μg/kg)
STT : Saururus chinensis Baill (200 mg/kg) + TCDD(1 μg/kg)

혈청 중의 효소 활성 측정

혈청 중의 Aspartate Aminotransferase(AST)와 Alanine Aminotransferase(ALT)는 Reitman-Frankel법에 따라 조제된 kit시액(영동제약)을 사용하여 측정하였다.

AST substrate 1.0 ml를 시험관에 취하여 37°C 수조에서 가온한 후 혈청을 가하고 37°C 수조에서 60분간 반응시켰다. 여기에 발색액을 가하여 mix 시킨 후 실온에서 20분간 방치하고 0.4N-NaOH를 가하여 충분히 혼합한 후 증류수를 대조로 하여 505nm에서 흡광도를 측정하였다.

AST와 실험방법은 동일하나, ALT의 측정은 ALT substrate를 사용하고 37°C 수조에서 30분간 반응시킨 후 흡광도를 측정하였다.

간 조직 중의 Superoxide Dismutase(SOD) 효소활성 측정

0.2M Phosphate buffer를 1 mM Xanthine, 1% Sodiume Deoxychlorate(DOC), 1.5 mM KCN, 0.2 mM cytochrome C를 넣은 혼합액에 homogenate 3 μl를 넣고, xanthine Oxidase(XOD)원액을 넣어 혼합한 후 550nm에서의 흡광도 변화를 측정하였다. 시료의 효소 활성도를 알아보기 위한 표준액으로서는 Sigma사의 superoxide dismutase standard를 사용하였다.

간 조직 중 Catalase의 활성 측정

phosphate buffer(0.05M pH 7.0)에 sample (homogenate을 3000 rpm에서 20분간 원심분리한 상등액 100 μl를 buffer로 희석)와 과산화수소 용액을 혼합하여 240 nm에서 1분 30초 동안 흡광도 감소를 측정하였다

간 조직 중 GSH(glutathione reduced form), GSSG (glutathione oxidized form)의 정량

GSH – Homogenate 100 μl에 25% HPO_3를 섞어 4°C, 12000 rpm에서 10분간 원심분리 한 상등액 시료로 한다. 시료 1 μl와 phosphate buffer(1 mM EDTA 함유, pH 7.4)와 OPT(o-phthalaldehyde)를 넣어 15분간 혼합한 후 360 nm에서 형광측정하였다.

GSSG – homogenate 100 μl에 25% HPO_3를 섞어 4°C, 12000 rpm에서 10분간 원심분리 한 상등액 시료로 한다. 시료 50 μl와 NEM(N-ethylmalemide)를 섞은 후 20분간 방치하고 0.1N NaOH를 가하여 혼합한다. 혼합한 액과 시료와 OPT를 섞어 15분간 혼합한 후 360 nm에서 형광측정하였다.

결과 및 고찰

혈청중의 효소 활성도 변화

TCDD로 간독성을 유도한 쥐로부터 AST와 ALT의 삼백초 효과를 Fig. 1에 나타내었다. AST의 활성도는 NTT군(32.00unit/ml)에 비해서 TTA군(73.55unit/ml)이 현저히 높게 나타났다. STT군(44.86unit/ml)은 TTA군 보다 63.95% 감소하였다. 혈청에서 AST 활성도는 STT군이 TTA군과 비교해서 70.05%로 억제되었다.

반면에, ALT활성도 변화는 TTA(29.70unit/ml)군이 NTT(25.97unit/ml)군에 비해 12.56% 증가하였다. 반면에 STT군의 활성도는 23.95unit/ml으로 TTA군과 보다 약간 낮아졌으나 유의성은 없었다.

TCDD의 생체내 흡수는 혈청 중 bilirubin, glucose, protein, cholesterol 함량뿐만 아니라 alkaline phosphatase, SGOT, SGPT 활성이 증가한다고 Hook에 의해보고 된 바 있으며[11], TCDD 투여시 GOT와 GPT 활성이 증가하는 면에서는 본 실험결과와 일치하였다. Gerig에 의하면 TCDD 투여시 hepatic mixed function oxidase의 변화[20]가 증가하는 것으로 보고 된바 있다. 본 연구결과에서도 TCDD가 간독성을 유발함을 알 수 있었으며 삼백초가 유도된 간독성을 완화시켜주는 것으로 생각된다.

간 조직 중 SOD, Catalase 측정

SOD(Super Oxide Dismutase)는 생체내의 항산화 방어기구 중에서 효소적 방어계의 하나로 superoxide radical을 환원시켜 H_2O_2로 전환시킨다.[22,23,24]

TCDD을 처치한 간조직중의 SOD 활성도는 Fig. 2에 나타내었다. TTA군(4.50U/mh protein)의 SOD 활성도는 NTT군(10.70U/mg protein) 보다 137.78% 감소하였다. STT(9.58U/mg protein)군의 SOD 활성도는 TTA군에 비해 53.03% 증가하였으며, 81.94%로 억제되었다. 이런 결과는 TCDD로 인해 생성된 과산화지질을 효율적으로 제거해 주었을 것으로 생각되며, SOD가 활성산소(O_2^-)를 H_2O_2와 O_2로 전환시켜 활성 산소에 의해 생긴 산화적 손상을 일차적 방어에 관여하며 비정상적으로 증가된 활성산소를 제거하기 위해 그 활성도가 높아진다는 Crapo[25]의 보고와 일치한다.

Catalase는 소포체에서 합성되며 골지체로 이동 부착되어 세포내 peroxisome에 존재하며, 체내에서 지방의 자동산화 및 유기물의 산화로 생성된 H2O2를 분해 및 소거하여 무독화시키는 효소로 H_2O_2의 농도가 높을 때 주로 작용한다. 또한, Catalase는 SOD에 비해 산화적 손상에 다소 민감하게 반응하는 것으로 보고 된바있다.[26]

TCDD을 처치한 간조직중의 Catalase 활성도는 Fig. 2에 나타내었으며, TTA군(1.15mU/mg protein)의 Catalase 효과는 NTT군(3.44mU/mg protein) 보다 199.13% 감소하였다. STT군의 간 조직중의 Catalase 활성도는 2.42mU/mg protein으로 TTA 군과 비교하여 52.48% 증가하였고 55.45%의 상승율을 보였으며, 이는 TCDD에 의해 형성된 free radical의 생성을 억제시킨 결과로 사료된다.

간조직 중의 GSSG, GSH 측정

GPx는 H_2O_2를 제거하면서 환원형 glutathione(GSH)을 산화형 glutathione(GSSG)으로 전화시키는 효소[27]이며, 체내에서 GSH를 기질로 하여 H_2O_2를 소거하는 효소로 catalase와

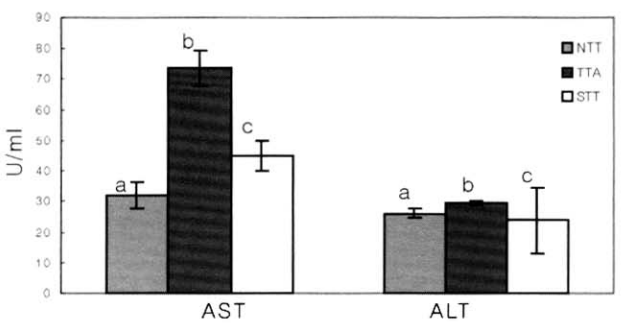

Fig. 1. Effect of STT on AST and ALT activities in serum of TCDD-treated rat All values are mean ± SD
a-c: values within a row different superscripts letters are significantly different at $p<0.05$
NTT: Non treated group
TTA: TCDD-treated abnormal group (1 μg/kg)
STT: Saururus chinensis Baill (200 mg/kg) + TCDD (1 μg/kg)

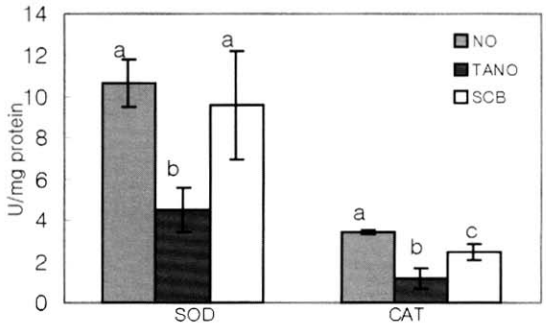

Fig. 2. Effect of STT on SOD and CAT activities in serum of TCDD-treated rat All values are mean ± SD
a-c: values within a row different superscripts letters are significantly different at $p<0.05$
NTT: Non treated group
TTA: TCDD-treated abnormal group (1 μg/kg)
STT: Saururus chinensis Baill (200 mg/kg) + TCDD (1 μg/kg)

기능은 비슷하지만 생체 내 분포부위가 다르다[28].

GSH는 cytochrome C의 환원 속도를 저하시켜 O_2^-에 대하여 소거효과(scanvenging effect)를 발현하며, 비교적 안정한 thiol radical(GS^-)을 생성시켜서 유리기를 제거하는 외에도 이물질과의 포합형성, 과산화지질 형성과정 중 생성되는 hydroperoxide의 제거 작용을 한다.[29] 즉, GSH는 동물조직 중 non protein thiols의 대부분을 차지하며 free radical의 scanvager로서, 또한 H_2O_2 및 과산화지질을 대사시키는 glutathione peroxidase의 기질이 됨으로써, 세포내 항산화제들 중에서도 가장 중요한 역할을 담당하고 있다.

TCDD을 처치한 간조직중의 GSH의 함량은 Fig. 2에 나타내었으며, TTA군(15.00nmole/mg protein)의 GSH함량은 NTT군(58.69nmole/mg protein) 보다 291.29% 감소하였다. STT군의 간 조직중의 GSH 함량은 58.13nmole/mg protein으로 TTA군과 비교하여 74.20% 증가하였으며, 98.72%로 회복되었다.

TCDD을 처치한 간조직중의 GSSG의 함량은 Fig. 3에 나타내었으며, TTA군(182.18nmole/mg protein)의 GSSG함량은 NTT군(96.91nmole/mg protein) 보다 46.80% 증가하였다. STT군의 간 조직중의 GSSG 함량은 113.10nmole/mg protein으로 TTA군과 비교하여 61.08% 감소하였으며, 81.01%로 억제되었다.

본 연구에서 TTA군이 NTT군에 비하여 많이 감소되었는데, 이 결과는 GSH를 기질로 하여 H_2O_2를 제거하는 GPx의 활성증가로 인해 GSH가 소모된 것으로 보여 지며, STT군의 함량이 정상군에 근접한 것은 삼백초에 들어 있는 생리활성 물질이 TCDD에 의해 생성된 H_2O_2 등의 free radical을 소거하여 GPx의 소모가 줄어듦으로써 GSH의 소모량도 줄어들어 나타난 결과로 사료된다.

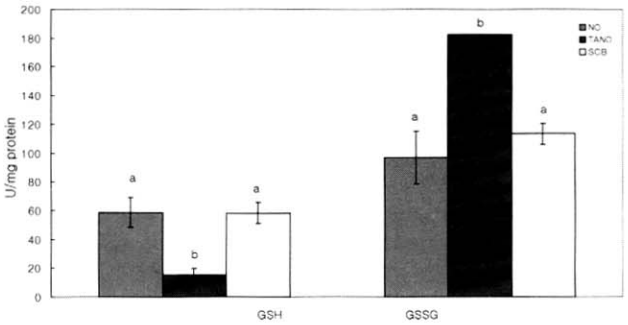

Fig. 3. Effects of STT on GSH and GSSG activities in serum of TCDD-treated rat All values are mean ± SD
a-b: values within a row different superscripts letters are significantly different at $p<0.05$
NTT: Non treated group
TTA: TCDD-treated abnormal group (1 μg/kg)
STT: Saururus chinensis Baill (200 mg/kg) + TCDD (1 μg/kg)

국문요약

삼백초가 TCDD 투여로 유발된 rat의 간손상에 미치는 효과를 알아보기 위해 NTT, TTA, STT군의 3군으로 각각 10마리씩 나누어 TCDD를 투여하고 4주 동안 물질을 투여하였다. 4주 후 희생시켜서 생체 내 간 조직 활성 효과 및 항산화 효과를 관찰한 결과 1. AST 활성도는 STT군이 TTA군과 비교해서 70.05%의 억제 효과를 보였다. 반면에, ALT활성도는 STT군이 TTA군에 비해 24.00% 감소하였으며 64.80%의 억제 효과를 보였다. 2. SOD는 TTA군이 NTT군보다 137.78% 감소하였으며, STT군은 TTA군에 비해 81.94%로 상승되었다. Catalase는 TTA군은 NTT군 보다 199.13% 감소하였으며, STT군의 catalase 활성도는 TTA 군과 비교하여 52.48% 증가하였고 55.45%의 회복율을 보였다. 3. TTA군의 GSH함량은 NTT군 보다 291.29% 감소하고 STT군은 TTA군과 비교하여 74.20% 증가하였으며, 98.72%로 회복되었다. TTA군의 GSSG함량은 NTT군 보다 46.80% 증가하였고 STT군의 간 조직중의 GSSG 함량은 TTA군과 비교하여 61.08% 감소하였으며, 81.01%로 억제되었다.

참고문헌

1. Matsumura, F Mechanismof action of dioxin-type chemicals, pesticides and other xenobiotics affecting nutrition alindexs. Am *J. Clin Nutr,* **61,** 695S-701S (1995).
2. Safe, S H Polychlorinated biphenyls (PCBs) environmental impact, biochemicaland toxic responses and implications for risk assessment Crit *Rev Toxicol,* **24,** 87-149 (1994).
3. Schwetz, B A, Sparchu, G L, Row, V K, Gehrung, P J, and Emerson, J L Toxicology of chlorinated dibenzo-p-dioxin

Environ Health Perspect, **5,** 87-99 (1973).

4. Poland, A,and Knuston J C 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin andrelated halogenated aromatic hydrocarbons examination of the mechanism of toxicity *Ann Rev Pharmacol Toxicol* , **22,** 517-554 (1982).
5. Kociba, R J, Keeler, P A, Park, C N, and Gehring, P J 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). results of a 13-week oral toxicity study in rats *Toxicol Appl. Pharmacol* , **35,** 553-574 (1976).
6. Theobald, H M, and peterson, R F In utero and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin effects on development of the male and female reproductive system of the mourse *Toxicol Apple Pharmacol,* **145,** 124-135 (1997).
7. Huff J., Lucier G., Tritscher A., Carcinogenesis of TCDD : Experimental, mechanistic, and epidemiologic evidence. *Annu Rev Pharmacol Toxicol,* **34,** 343-372 (1994).
8. Mukerjce D., Health impact of polychloinated di-benzo-p-dioxin: a critical review. *J. Air Waste Mang. Assoc.* **48,** 157-165 (1998).
9. Swift, L. L., Gasiewicz, T. A, Dunn, D., soule, P. D., and Neal, R. A., Characterization of the hyperlipidemia in guniea pigs indued by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. *Toxicol. Apple pharmacol,* **59,** 489-499 (1981).
10. Dibartolomeis, M. J., Moore, R. W., Peterson, R. E., and jefcoate, C. R. Hypersholesterolemia and the regulation of ladrenal steroidogenesis in 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin treated rats. *Toxicol. Apple pharmacol,* **85,** 213-323 (1986).
11. Hook, G. E., Haseman, J. K. and Lucier, G.W. Induction and suppression of hepatic and extrahepatic microsomal foreign-compound metabolizing enzyme systems by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Chem. Biol. Interact.* **10,** 199-214 (1975).
12. Brewster, D. W., Madhukar, B. V. and Matsumura, F. Influence of 2,3,7,8-TCDD on the protein composition of the plasma membrane of hepatic cells from the rat. *Biochem. Biophys. Res. Common.,* **107,** 68-74 (1982).
13. 정덕상, Saururus Chinesis 의 지방산 및 아미노산의 성분 연구. Cheju univ. Jour. (Natural Sci.), 35, 111 (1992)
14. 전길환, 신민교, 송호준, 三白草 腹腔 大食細胞로부터 Nitric Oxide(NO) 형태변환에 대한 연구. *대한학의학회지*, 19-23 (1998).
15. 이상호, 박철우, 박경아, 이영춘, 김무남, 하영래, 삼백초 Hexane 분획물의 Heterocyclic Amine 돌연변이성 조정효과. *한국환경성돌연변이발암원학회지*, **18**, 26 (1998).
16. 이인선, 삼백초 열수출물의 항암 및 세포독성 저해 효과. *농산물저장유통학회지* **8**, 213-216 (2001).
17. 황석연, 김시관, 김신희, 곽이성, 정영진, 2,3,7,8-trtrachlorodibenzo-p-dioxin 투여로 급성독성을 유도한 웅성 기니픽에 있어 임상화학지수에 미치는 홍삼의 효과. *한국식품영양과학회지*, **28**, 1349-354 (1999).
18. Lind, P. M., Larsson, S., Johansson, Melhus, H., Wikstrom, M., Lindhe, O. and Orberg, Bone tissue composition, dimensions and strength in female rats given an increased dietary level ofvitaminA or exposed to 3,3',4,4',5-pentchlorobiphenyl (PCB 126) alone or incombination with vitamin C *Toxicol,* **151,** 11-23 (2000).
19. 황석연, 양진배, 장철수, 이영찬, 이형철 다이옥신-유도 독성에 대한 녹용 추출물의 방어효과 *동의생리병리학회지*, **16**(4), 674-679 (2002).
20. Gerig, J B, jones, G, Butler, W H,and Barnes, J H Toxic effect 2,3,7,8-trtrachlorodibenzo-p-dioxin *Food Cosmet Toxicol* , **11,** 585-595 (1973).
21. Cunningham, H M, and Wilhams, D T Effect of trtrachlorodi-benzo-p-dioxin on growth rate and synthesis of lipid and proteins in rats *Bull Environ Contam* **7**, 45-51 (1972).
22. Roberts, V. A., Rosenbrough. N.J., Farr, A.S. and Randall, R.J., Protein Mearusement with folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.* **193**, 256-259 (1951).
23. Rosen, D.R., etal., Mutations with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Naturer*, **362,** 59-62 (1993).
24. Tainer, J. A., Getzoff, E. D., Richardson, J. S., and Richardson, D. C., Structure and mechanism of Cu, Zn, superoxide dismutase, *Nature.* **306,** 274-287 (1983).
25. Crapo, H. C., McCord, M. J. and Fridovich, I., Preparation and assay of superoxide dismutase, In Methods in enzymology, Fleischer, S.. and Packer, I. (eds), *Academic Press, New York,* **52,** 382-393 (1978).
26. Vendemaile, G., Altomare, E., Grattagliano, I.. and Albano, O.: *J. Hepatol.,* **9**, 359 (1989).
27. Jones, D. P., Eklow, L., Thor, h.and Orrenius, S., Metabolism of hydrogen peroxide in isolated hepatocytes relative contribution of catalase and glutathione peroxidase in decomposiotion of endogenously generated H_2O_2. *Arch. Biochem. Biophys.* **21,**505-516 (1981).
28. Aylac, G. : The effect of chronic ethanol indigestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, plutathione peroxidase and glutathione trnsferase in rat. *Toxicol.,* **35,** 71-78 (1985).
29. Meister, A. and Anderson, M.E. : Glutathione. *Annu. Rev. Biochem.,* **52,** 711-716 (1983)..