J. Fd Hyg. Safety
Vol. 23, No. 3, pp. 222~226 (2008)

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

LPS로 유도된 급성 간독성에 대한 백작약 추출물의 보호 효과

김인덕 · 권륜희 · 허예영 · 이동근 · 이재화 · 이상현 · 하종명 · 하배진*
신라대학교 의생명과학대학 제약공학과

The Preventive Effects of Paeoniae Radix Extract against LPS-induced Acute Hepatotoxicity

In Deok Kim, Ryun Hee Kwon, Ye Young Heo, Dong Geun Lee, Jae Hwa Lee, Sang Hyeon Lee, Jong Myung Ha, and Bae Jin Ha*
Department of Pharmaceutical Engineering, College of Medical Life Science, Silla University, 1-1 San, Gwaebup-dong, Sasang-gu, Busan, 617-736, Korea.
(Received August 19, 2008/Revised August 29, 2008/Accepted September 1, 2008)

ABSTRACT – The purpose of this study was to investigate the preventive effects of *Paeoniae Radix* Extract (PRE) against the acute hepatotoxicity-inducing lipopolysaccharide (LPS) in the liver. PRE of 100 mg/kg concentration was intraperitoneally administered into rats at dose of 1.5 ml/kg for 20 days. On day 21, 5 mg/kg of LPS dissolved in saline was injected 4 hours before anesthetization. We examined the levels of glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), glutamate pyruvate transaminase (GPT), lactate dehydrogenase (LDH) in serum of rats, superoxide dismutase (SOD) in mitochondrial fractions, and malondialdehyde (MDA), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) in liver homogenates. LPS-treatment markedly increased the levels of GOT, GPT, LDH and MDA, and significantly decreased those of SOD, CAT and GPx. But PRE-pretreatment decreased the levels of GOT, GPT, LDH and MDA, by 59.7%, 43.6%, 59.6% and 63.5%, respectively and increased those of SOD, CAT and GPx, by 85.5%, 57.8% and 62.9%, respectively. These results showed that the PRE had the preventive effects against the acute hepatotoxicity-inducing LPS in the liver.

Key words: *Paeonia lactiflora* Pallas, LPS, anti-oxidation, hepatotoxicity

서 론

백작약(*Paeoniae radix*)은 미나리재비과(*Ranuclaceae*) 작약속(paeonia)에 속하는 약용작물로서 한방에서 진통, 진경, 부인약, 고혈압, 복통 및 염증 치료제로 널리 사용되고 있다[1]. 그 주된 생리활성물질로서 페오니프로린(paeoniflorin) 및 알비노프로린(albinoflorin)과 같은 여러 모노테르펜 글루코사이드(monoterpen glucoside)와 탄닌 및 페놀산 등이 잘 알려져 있다[2]. 백작약에 관한 연구로는 항혈전 작용[3], 항고지혈 작용[4-6], 항산화 작용[7,8], 혈관 확장 작용[9] 그리고 관상동맥 질환을 가진 환자에서 arachidonic acid 등에 대한 대사작용[10]에 대해 보고되었다.

*Correspondence to: Bae Jin Ha, Department of Pharmaceutical Engineering, College of Medical Life Science, Silla University, 1-1 San, Gwaebup-dong, Sasang-gu, Busan, 617-736, Korea
Tel: 051-999-5466, Fax: 051-999-5684
E-mail: bjha@silla.ac.kr

LPS는 인체 내에서 O면역부위로 인하여 항원(antigen, Ag)으로 작용한다. Ag는 인체 내에서 자기방어 기능으로 인하여 macrophage와 같은 항원 제시세포에 의하여 인식된다. LPS는 주로 Toll-like receptor (TLR)계열에 의하여 인식되며 CD (cluster of differentiation)-14의 결합으로 인체 내에서 방어기전을 실행시킨다. LPS의 주된 특성은 패혈성 쇼크를 일으키는 것이며 혈장 속에 떠돌아다니는 LPS-binding protein (LBP)에 의하여 독성을 일으키는 첫 단계에 돌입한다. 인체 내로 들어온 LPS는 LBP에 의해 복합체가 만들어지고 이것이 혈액내의 macrophage의 CD-14에 결합하게 되면 TLR-4에 인식되어져 결합되는 순간 nuclear factor kappa B (NFκB)가 활성화 된다. NFκB이 활성화되면 cytokine과 chemokine 등의 물질이 과량 분비되고 내재면역반응을 유발시킨다. 그러나 패혈성 쇼크는 cytokine중에 tumor necrosis factor (TNF-α)의 과다 발현으로 apoptosis가 유도되어지는 것으로 LPS로 인한 TNF-α의 비정상적 증가로 정상세포들의 사멸이 일어난다[11]. 이

러한 TNF-α의 증가는 또한 neutrophil을 활성화 시키는데 일조하고 neutrophil의 증가로 인하여 inducible nitric oxide synthase (iNOS) 유전자가 활성화되어 NO의 생성을 증가시킨다[12]. NO는 macrophage의 활성으로 인한 산물로 oxygen radical과 더불어 강력한 항 미생물 작용을 하며[13] NO가 생성될 때 Ca^{2+} 농도의 증가로 인해 superoxide anion (O_2^-)과 H_2O_2가 함께 생성되면 산화력이 강한 OH-로의 연쇄반응을 일으켜 세포 조직에 영향을 주어 직간접적으로 조직의 산화를 초래한다[14,15].

따라서 본 연구는 백작약 열수 추출액의 생리 효능을 체계적으로 밝혀보고자 *in vivo*에서 간 독성 지표와 항산화효소 활성지표를 측정하여 간독성에 대한 보호효과를 검증하였다.

실험 방법

실험동물 및 식이

실험동물은 체중 170～180 g 내외의 암컷 흰쥐(Sprague-Dawley계 생후 7주)를 샘타코 BIO KOREA(주)로부터 제공받았고 7일 동안 적응시켰다. 실험동물은 cage에 각각 분리시키고 고형사료와 물을 자유롭게 섭취하도록 하였다. 실험기간 동안 동물들은 22±1°C의 온도와 60±5% 상대습도로 유지된 항온항습기에서 사육시켰고 총 21마리의 흰쥐를 7마리씩 3군으로 나누었다(Table 1.). 정상군(NOR group)과 대조군(CON: LPS-treated group)은 0.9% saline을, 시료군(PRE: *Paeoniae Radix* Extract and LPS-treated group)은 백작약 추출물(100 mg/kg)을 1.5 ml/kg씩 복강 내에 20일간 매일 투여하고 21일 째 되는 날에 대조군과 시료군에서 실험동물의 간 손상을 유도하기 위해 LPS를 생리식염수로 용해시켜 1.5 ml/kg의 용량을 복강 내로 투여하였다. LPS를 투여하고 절식 시킨 뒤 4시간 후에 ether로 마취하고 희생시켜서 혈액을 채취하고 간을 적출하여 실험하였다.

백작약 추출물의 조제

본 실험에 사용한 백작약(*P. Radix)*는 부산 구포시장에서 구입하였다. 백작약 추출물은 백작약을 round flask에 200 g을 넣고 증류수 2,000 ml를 넣은 후 8시간씩 환류 냉각 추출한 다음 여과한 여액을 농축, 동결 건조하여 사용하였다.

혈액 채취 및 간 적출

시료 투여 기간 종료 후 실험동물을 ether 마취 하에 심장에서 채혈하여 실온에서 30분 간 방치한 후 3000 rpm, 4°C에서 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하고 실험에 사용할 용량을 각각 분주하여 −70°C 냉동고에 보관하여 실험에 사용하였다. 간은 4엽을 전부 적출하여 0.9% 생리식염수로 세척 여지로 흡착한 후 −70°C 냉동고에 보관하여 실험에 사용하였다.

간 무게의 5배에 해당하는 PBS (Phosphate Buffer Solution 0.05 M pH 7.4)를 넣고 간을 균질기로 균질화하여 liver homogenate로 사용하였다.

간 무게 10배의 solution (10 mM tris, 0.07 M saccharose, 0.1 mM EDTA, 0.2 M mannitol, in dissolved 0.1 N HCl)을 넣어 균질화한 후, 600 ×g, 4°C에서 10분간 원심분리하고 상등액을 다시 8,000 ×g, 4°C에서 10분간 원심분리하여 얻은 pellet에 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0) 5 ml 넣어 mitochondrial fraction으로 사용하였다.

혈청 중의 GOT, GPT와 LDH 활성 측정

혈청 중의 GOT, GPT와 LDH의 양은 Fuji dri-chem clinical chemistry analyzer (Fuji dri-chem 3500, Fujifilm, Japan)로 측정하였다.

간 조직의 단백질 정량

단백질의 정량은 Lowry 등의 방법[16]에 의해서 750 nm에서 흡광도를 측정하고 표준 단백 시료를 bovine serum albumin (BSA)으로 정량하였다.

간 조직 중 malondialdehyde (MDA)의 정량

간의 MDA 수치는 Ha의 방법[17]에 따라 1 ml의 sodium dodecyl sulfate (SDS; 7%)와 균질화한 간 시료를 0.5 ml과 혼합하여 37°C, 30분간 반응시킨 뒤 0.67% thiobarbituric

Table 1. Experimental design of rats

Experimental group	day 1-20	day 21
	dose of sample	dose of sample
NOR (7)	1.5 ml/kg of 0.9% saline, i.p	1.5 ml/kg of 0.9% saline, i.p
CON (7)	1.5 ml/kg of 0.9% saline, i.p	1.5 ml/kg of LPS (5 mg/kg), i.p.
PRE (7)	1.5 ml/kg of *Paeoniae Radix* extract (100 mg/kg), i.p.	

NOR : normal group
CON : LPS-treated group
PRE : Paeoniae Radix extract and LPS-treated group
The number of experiment animals is given in parenthesis.
LPS : lipopolysaccharide i.p : intraperitoneally

acid 시약을 2 ml 첨가하여 한 시간 동안 끓는 물에서 가열하였다. 가열 후 즉시 냉각시킨 뒤 부탄올 5 ml을 첨가하고 3000 rpm에서 10분간 원심분리 후 상층액을 취하여 535 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 표준 시약으로 1,1,4,4-tetraethoxypropane을 사용하였다.

간 조직 내 mitochondria 분획의 superoxide dismutase (SOD) 활성 측정

Beauchamp와 Fridovich의 방법[18]에 따라 0.2 M K-phosphate buffer (pH 7.4)를 672 μl, 1 mM xanthine 100 μl, 1% sodium deoxychlorate 30 μl, 1.5 mM KCN 30 μl, 0.2 mM cytochrome C 150 μl를 넣은 혼합액에 sample 8 μl를 넣고, xanthine oxidase 원액 10 μl를 넣은 후 Elisa를 이용하여 550 nm에서의 흡광도 변화를 2분 동안 측정하였다. 효소의 활성도는 Sigma사의 superoxide dismutase standard를 표준액으로 사용하여 비교 측정하였다.

간 조직 중 catalase (CAT)의 활성 측정

Aebi의 방법[19]을 이용하여 phosphate buffer (0.05 M pH 7.0) 1.9 ml에 sample (homogenate와 mitochondrial fraction을 800 ×g에서 20분간 원심분리한 상등액 100 μl를 buffer로 10, 20, 40, 80배 희석) 0.1 ml와 과산화수소 용액 1 ml를 혼합하여 240 nm에서 90초 동안 흡광도 감소를 측정 하였다.

간 조직 중 glutathione peroxidase (GPx)의 활성 측정

Lawrence등의 방법[20]에 준하여 0.1 M phosphate buffer (4 mM EDTA) 400 μl, 0.01 M NaN_3 70 μl, 0.01 M GSH 70 μl, 1.5 mM NADPH 70 μl, H_2O 360 μl, GSSG-reductase (1.8 U/ml) 20 μl, sample 10 μl를 혼합하여 상온에서 1분간 방치한 후 5 mM H_2O_2 100 μl를 가해 잘 섞은 후 340 nm에서 90초 동안 흡광도 감소를 측정하였다.

통계처리

본 실험에 대한 모든 실험 결과는 평균치와 표준편차로 나타내었고, SPSS 통계 package를 이용하여 일원배치 분산분석(one-was analysis of variance)을 한 후 $p < 0.05$ 수준에서 Scheffe's test에 의하여 각 실험군의 평균치간의 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

혈청 중 GOT, GPT와 LDH의 활성 변화

간 조직의 손상은 세포 내부에 존재하는 효소가 혈액으로 유출되는 것을 측정하거나 pericentral necrosis를 관찰함으로써 확인할 수 있다. 따라서 간으로부터 혈액에 방출된 효소의 활성도 측정은 간 손상 연구에 있어서 가장 유용한 방법 중의 하나이다. 혈청 중 GOT와 GPT의 상승은 간 손상으로 인한 간세포의 괴사와 간조직의 파괴가 진행됨에 따라 아미노기전이효소(transaminase)가 혈중으로 유리되어 높게 나타나는 것이므로 간세포의 변성 및 괴사의 지표가 될 수 있다[22]. GOT는 글루탐산의 아미노기를 옥살로아세트산으로 전이시켜주는 효소로 아미노기가 전이되면 글루탐산은 α-케토글루타르산이 되고 옥살로아세트산은 아스파르트산이 된다. GPT는 글루탐산의 아미노기를 알라닌으로 전이시켜주는 효소로 아미노기가 전이되면 글루탐산은 α-케토글루타르산이 되고 알라닌은 피루브산이 된다[23]. LDH는 몸 안의 당이 분해되어 피루브산이 젖산로 변할 때 작용하는 효소로, 여러 조직의 세포 중에 함유되어 있어서 세포가 파괴되면 혈중으로 유리되어 높게 나타나므로 GOT, GPT와 같이 간 질환의 지표로 사용된다.

본 실험에서는 LPS 투여군은 대조군으로 하고, LPS 투여로 간손상을 유도함과 동시에 20일간 백작약 추출물을 복강투여한 실험군의 간손상 정도를 살펴보기 위해 GOT, GPT, LDH의 혈청중의 효소활성 변화를 측정하였다. Table 2와 같이 GOT의 경우 대조군은 LPS의 간 장애 유발로 인하여 정상군에 비해 약 2.21배 증가하였으나, 시료군인 PRE군은 대조군과 비교하였을 때 59.7% 감소하였다. GPT의 경우에도 LPS를 투여한 대조군이 정상군에 비해 약 3.5배 정도 증가하였고, PRE군은 대조군에 비해 43.6%로 감소하는 것으로 나타났다. 사염화탄소는 LPS와 같은 간독성 물질로서 간세포의 괴사와 간조직의 파괴를 유도하여 GOT와 GPT를 혈중으로 유출되는 것을 증가시키는데, Park

Table 2. Effects of *Paeoniae Radix* extract on GOT, GPT and LDH levels in serum

Experimental group	GOT (U/L)	GPT (U/L)	LDH (U/L)
NOR	66.10 ± 3.20^{a}	24.50 ± 1.25^{a}	141.25 ± 8.39^{a}
CON	146.50 ± 9.10^{c}	88.10 ± 2.64^{b}	624.00 ± 7.09^{c}
PRE	98.50 ± 6.24^{b}	60.40 ± 1.91^{b}	336.50 ± 5.85^{b}

NOR: normal group
CON: LPS-treated group
PRE: Paeoniae Radix extract and LPS-treated group
Values represent means ± SD (n = 7); values sharing the same superscript letter are not significantly different from each other ($p < 0.05$) by Scheffe's multiple range test.
GOT: glutamate oxaloacetate transaminase GPT: glutamate pyruvate transaminase
LDH: lactate dehydrogenase

Table 3. Effects of Paeoniae Radix extract on MDA, SOD, CAT and GPx activities in liver homogenate and mitochondrial fraction

Experimental group	MDA (nmol/mg protein)	SOD (U/mg protein)	CAT (U/mg protein)	GPx (U/mg protein)
	liver homogenate	mitochondrial fraction	liver homogenate	liver homogenate
NOR	2.86 ± 0.06[a]	131.10 ± 1.98[c]	302.98 ± 2.44[c]	133.63 ± 4.13[b]
CON	6.68 ± 1.11[c]	77.30 ± 2.49[a]	162.83 ± 3.59[a]	52.79 ± 1.65[a]
PRE	4.25 ± 0.82[b]	25.06 ± 2.77[b]	43.91 ± 4.72[b]	103.70 ± 1.49[b]

NOR: normal group
CON: LPS-treated group
PRE: Paeoniae Radix extract and LPS-treated group
Values represent means ± SD (n = 7); values sharing the same superscript letter are not significantly different from each other ($p < 0.05$) by Scheffe's multiple range test.
MDA: malondialdehyde SOD: superoxide dismutase
CAT: catalase GPx: glutathione peroxidase

등[24]은 GOT와 GPT의 경우 사염화탄소를 투여군의 경우 정상군과 비교시 4.3, 4.5 배로 증가하였으며, 천연초 추출물을 처리시 36%, 41% 감소시켰다고 보고됨에 따라 본 연구에서도 LPS로 유도된 간손상에 의해 증가한 혈청 중의 GOT와 GPT 함량이 백작약 추출물의 처리를 통해 현저히 저하되었음을 볼 수 있었다.

또한, 혈청 중의 LDH 활성도는 LPS를 투여로 정상군에 비해 4.42배로 현저하게 증가하였으나, 백작약 추출물을 처리한 PRE군의 경우 대조군에 비해 59.6%로 유의적인 감소를 나타내는 것을 알 수 있었다. 따라서 혈중 GOT, GPT 효소활성과 연관하여 동일한 저해효과 볼 수 있었으며, LPS에 의해 유발된 간손상으로부터 백작약 추출물의 보호효과를 확인할 수 있었다.

간 조직 및 mitochondrial fraction 중 MDA, SOD, CAT 및 GPx 측정

항산화계 효소들은 대사과정 중 발생하는 활성 산소 종에 의해 그 활성이 비가역적으로 불활성화 될 수 있으며, 또한 지방산화에 의해 생성된 유리기도 제거하는 능력이 있다고 보고되고 있다[25,26]. 생체내의 항산화 방어기구 중에서 효소적 방어 계의 하나인 SOD는 주로 mitochondria에 존재하며 superoxide radical을 환원하여 H_2O_2를 생성함으로써 생체를 보호한다[27,28]. 생체 내 생명 현상에서 필수적인 산화환원반응의 일종으로 생성되는 H_2O_2를 H_2O와 O_2로 분해하는 효소 중 하나가 CAT이다. 이것은 다수의 H_2O_2 생성효소들과 복합체를 형성하여 peroxisome에 주로 분포하며 H_2O_2 증가에 따른 조직손상을 방어하는 효과가 있다고 알려져 있다[29,30]. Glutathione은 산화적인 손상으로부터 적혈구(red cell)을 보호한다. 그것은 disulfide bond에 의해서 연결된 두 개의 tripeptide에 의해서 환원된 형태(GSH)와 산화된 형태(GSSG) 사이를 순환한다. GSSG는 전자 근원과 같은 NADPH를 사용하는 flavoprotein인 glutathione reductase에 의해서 GSH로 환원된다. Glutathione은 호기적 생명체에서 해로운 부산물인 hydrogen peroxide와 organic peroxide와 함께 반응함으로써 해독 작용에서 중요한 역할을 수행한다. 이 반응에서 촉매 효소인 GPx는 selenium 원자가 공유 결합되어있는 것이 주목할 만하다. 이 효소는 H_2O_2와 lipid peroxide와 같은 peroxides의 다양한 종류들을 조절한다[20].

Table 3는 백작약 추출물의 투여가 LPS를 투여한 흰쥐의 간과 미토콘드리아에서의 지질과산화와 항산화 효소의 함량에 미치는 영향을 측정한 것이다. Table 3에 나타난 바와 같이, 간 조직에서의 MDA level은 정상군에 비해 대조군이 약 2.33배 높게 나타났고 PRE군은 대조군에 비해 63.5%의 유의적인 지질과산화 억제 효과를 보였다. SOD 활성정도는 대조군이 정상군에 비해서 약 1.72배 정도로 낮게 나타났고 PRE군은 대조군에 비해 85.5%의 상승효과를 보였다. 또한 CAT의 활성도는 대조군이 정상군에 비해 약 1.86배 감소를 보였으며 PRE군은 대조군에 비해 57.8%의 상승효과를 나타냈다. GPx 활성도의 경우 대조군은 정상군에 비해 약 2.21배의 감소율을 보였으며 PRE군은 대조군에 비해서 62.9%의 증가율을 보였다. 또한 KIM의 연구[31]에 따르면 예로부터 식용 또는 약용식물로 사용되는 복분자의 경우 LPS로 유도된 산화적 스트레스로 인해 과산화지질의 증가와 항산화 효과가 저하되었지만, LPS에 의해 증가된 과산화지질의 함량을 감소와 항산화 효소의 증가를 시켰다는 보고와 유사하게 나타났다. 따라서 백작약 추출물은 지질과산화와 항산화 효과가 높은 것으로 판단된다.

요 약

본 연구에서는 한방에서 약용으로 사용하고 있는 미나리재비과에 속하는 다년생 초본으로 백작약의 열수 추출물을 이용하여 LPS로 유발된 급성 간독성에서의 간 보호효과를 나타내는지 살펴보고자 하였다. 간독성이 유발된 쥐의 혈청에서의 GOT, GPT 그리고 LDH의 감소는 백작약 추출물이 간독성으로부터 간을 보호하였음을 보여주며, 간

조직에서의 MDA 감소 및 SOD, CAT, GPx의 활성도 증가 역시 백작약 추출물이 간독성으로부터 간의 기능이 회복됨을 볼 수 있었다. 이러한 결과는 백작약 추출물이 LPS로 유발된 급성 간손상에 대한 보호물질로서의 가능성을 확인할 수 있었다.

참고문헌

1. 생약교재편찬위원회: 생약학. 동명사, 서울, pp.372-373 (2000).
2. Tanaka, T., Kataoka, M., Tsuboi, N. and Kouno, I.: New monoterpene glycoside esters and phenolic constituents of *Paeoniae Radix*, and increase of water solubility of proanthocyanidins in the presence of paeoniflorin. *Chem. Pharm. Bull*., **48**, 201-207 (2000).
3. Kang, S.S., Kim, J.S., Kim, E.M. and Yun-Choi, H.S.: Platelet anti-aggregation of Paeony root. *Kor. J. Pharmacogn*., **22**, 215-218 (1991).
4. Ro, H.S., Ko, W.K., Park, K.K., Cho, Y.H. and Park, H.S.: Antihyperlipidemic effects of Bupleuri radix, *Paeoniae radix* and *Uncariae ramulus et Uncus* on experimental hyperlipidemia in rats. *J. Applied. Pharm*., **5**, 43-47 (1997).
5. Ro, H.S., Ko, W.K., Yang, H.O., Park, K.K., Cho, Y.H. and Park, H.S.: Effect of several solvent extracts from *Paeoniae radix* on experimental hyperlipidemia in rats. *J. Kor. Pharm. Sci*., **27**, 145-151 (1997).
6. Ro, H.S., Ko, W.K., Yang, H.O., Park, K.K., Cho, Y.H., Lee, Y.E. and Park, H.S.: Isolation of hyperlipidemic substances from methanol extract of *Paeoniae radix*. *J. Kor. Pharm. Sci*., **29**, 55-60 (1999).
7. Kim, Y.E., Lee, Y.C., Kim, H.K. and Kim, C.J.: Antioxidative effect of ethanol fraction for several Korean medicinal plant hot water extracts. *Korean J. Food & Nutr.*, **10**, 141-144 (1997).
8. Bang, M.H., Song, J.C., Lee, S.Y., Park, N.K. and Baek, N.I.: Isolation and structure determination of antioxidants from the root of *Paeonia lactiflora. J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol*., **42**, 170-175 (1999).
9. Goto, H., Shimada, Y., Akechi, Y., Kohta, K., Hattori, M. and Terasawa, K.: Endothelium-dependent vasodilator effect of extract prepared from the root of *Paeonia lactiflora* on isolated rat aorta. *Planta. Med*., **62**, 436-439 (1996).
10. Liu, J.: Effect of Paeonia ovovata 801 on metabolism of thromboxane B2 and arachidonic acid and platelet aggregation in patients with coronary heart disease and cerebral thrombosis. *Chung-Huai. Chih*., **63**, 477-481 (1983).
11. Charles, A.J.: Immunobiology, 5th, Life Science Publication Co, Seoul, pp.76-77 (2002).
12. Dantzer, R., Bluthe, R.M., Gheusi, G., Cremona, S., Laye, S., Parnet, P. and Kelley, K.W. : Molecular basis of sickness behavior. *Annals N. Y. Acad. Sci*. **856**, 126-134 (1998).
13. Charles, A.J.: Immunobiology, 5th, Life Science Publication Co, Seoul, pp.350-352 (2002).
14. Halliwell, B.: How to charactrize a biological antioxidant. *Free Radic. Res. Commun*. **9**, 1-32 (1990).
15. Kinght, J. A.: The process and theories of aging. *Ann. Clin. Lab. Sci*. **25**, 1-12 (1995).
16. Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.S. and Randall, R.J: Protein Measurenment with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem*. **193**, 256-261 (1951).
17. Ha, B.J., Lee, S.H., Kim, H.J. and Lee, J.Y.: The role of salicornia herbacea in ovariectomy-induced oxidative stress. *Biol. Pharm. Bull*. **29**, 1305-1309 (2006).
18. Beauchamp, C. and Fridovich, I.: Superoxide dismutase : improved assays and an assay applicable to acrylamide gel. *Anal Biochem*. **44**, 276-287 (1971).
19. Aebi, H.: Catalase in vitro, Methods. *Enzymology.* **105**, 121-126 (1984).
20. Lawrence, R. A. and Burk, R.F.: Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. **71**, 952-958 (1976).
21. 조명행: 기초 독성학, 개정판, 영지문화사, 서울, pp.115-116 (2004).
22. Gabriel, L.P. and William, R., Hewitt.: Principles and Methods of Toxicology. *Raben Press*, 407-445 (1982).
23. McPhalen, C.A., Vincent, M.G. and Jansonius, J.N.: X-ray structure refinement and comparison of three forms of mitochondrial aspartate aminotransferase. *J. Mol. Biol*. **225**, 495-517 (1992).
24. Park, M.K., Lee, Y.J., and Kang, E.S.: Hepatoprotective effect of Cheonnyuncho (Opuntia humifusa) extract in rats treated carbon tetrachloride. *Korean J. Food. Sci. Technol*. **37**, 822-826 (2005).
25. Fridovich, I.: Biologic effects of the superoxide radicals. *Arch. Biochem. Biophysm* **247**, 1-15 (1986).
26. Von, S.: The Chemical Basis of Radiation of biology. *Tylor and Francis*, 3rd Ed. London, pp.31-33. (1987).
27. Rosen, D.R., Jakobisiak, M., Hartmann-Petersen, R., Ortega, S. and Johnston, D.J.: Mutations with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* **362**, 59-62 (1993).
28. 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).
29. Gutteridge, J.M.C., Beard, A.P.C. and Quinlan, G.J.: Superoxide-dependent lipid peroxidation. Problem with the use of catalase as a specific probe for Fenton-derived hydroxyl radicals. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. **117**, 901-907 (1983).
30. Yosjikawa, T., Murakami, M., Yoshida, N., Seto, O. and Kondo, M.: Effects of superoxide dimutase and catalase on disseminated intravascular coagulation in rats. *Thromb. Haemostas* **50**, 869-872 (1983).
31. Kim, I.D., Kang, K.S., Kwon, R. H., Ha, B.J.: Anti-oxidative effects of Rubus *coreanum* Miquel extract on hepatic injury induced by lipopolysaccharide. *Korean soc. environ. toxicol*. **23**, 347-352 (2007).