

## LPS로 유도된 급성 간독성에 대한 구기자 추출물의 보호 효과

강금석 · 권륜희 · 김인덕 · 이동근 · 이재화 · 이상현 · 하종명 · 하배진<sup>#</sup>

신라대학교 의생명과학대학 제약공학과

(Received June 20, 2007; Revised September 27, 2007)

### The Preventive Effects of *Lycii fructus* Extract Against LPS-induced Acute Hepatotoxicity

Kum Suk Kang, Ryun Hee Kwon, In Deok Kim, Dong Geun Lee, Jae Hwa Lee,  
Sang Hyeon Lee, Jong Myung Ha and Bae Jin Ha<sup>#</sup>

Department of Pharmaceutical Engineering, College of Medical Life Science, Silla University,  
1-1 San, Gwaebup-dong, Sasang-gu, Busan 617-736, Korea

**Abstract** — The purpose of this study was to investigate the preventive effects of *Lycii fructus* Extract (LFE) against the acute hepatotoxicity-inducing lipopolysaccharide (LPS) in the liver. LFE of 100 mg/kg concentration was intraperitoneally administered into rats at dose of 1.5 ml/kg for 20 days. On the day 21, 1.5 ml/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 fraction, and malondialdehyde (MDA), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) in liver homogenate. LPS-treatment markedly increased the levels of GOT, GPT, LDH and MDA, and significantly decreased those of SOD, CAT and GPx. But LFE-pre-treatment decreased the levels of GOT, GPT, LDH and MDA, by 17.7%, 27.5%, 40.7% and 56.9%, respectively and increased those of SOD, CAT and GPx, by 90.5%, 78.9% and 83.8%, respectively. These results showed that the LFE had the preventive effects against the acute hepatotoxicity-inducing LPS in the liver.

**Keywords** □ *Lycii fructus*, LPS, SOD, hepatotoxicity

구기자(*Lycii fructus*)는 가지과(*Solanaceae*)에 속하는 낙엽성 소관목인 구기자 나무의 성숙한 과실로 한방에서 약용으로 사용하며, 건강 증진의 목적으로 차로도 다량 응용되고 있다.<sup>1)</sup> 구기자에는 과당과 소량의 단백질, 지방, 섬유소, 탄닌 성분, 무기질과 비타민이 골고루 함유되어 있으며,<sup>2)</sup> 생약재로 열매인 구기자는 세포복제, methionine 대사, 해독반응에 중요한 역할을 담당하는 betaine과  $\beta$ -carotene, cholesterol, glycine, linoleic acid, nicotinic acid, zeaxanthine dipalmitate, vitamin B<sub>1</sub>, vitamin B<sub>2</sub> 등이 함유되어 있으며, 잎인 구기엽에는 cytidylic acid B, hypoxanthine, inosine, pyroglutamic acid 등이 함유되어 있다. 뿌리인 지골피에는 항균성을 지닌 cinnamic acid와 kukoamine A, linoleic acid, linolenic acid 등이 존재한다.<sup>3-6)</sup>

구기자에 관한 연구로는 죽상경화증(atherosclerosis)의 유발물

질인 homocysteine의 혈중 내 함량을 감소,<sup>7)</sup> 혈중 지질 저하 효과<sup>8)</sup>, 유해산소 및 알코올의 해독효과,<sup>9)</sup> 간 보호효과 및 고지혈증 병태모델 혈청지질의 상승억제효과,<sup>10)</sup> 혈당 강하작용<sup>11)</sup> 그리고 돌연변이 억제 및 항염증,<sup>12)</sup> 항산화, 항보체 활성화,<sup>13)</sup> 항고혈압<sup>14)</sup>에 대해 보고되었다.

LPS는 인체 내에서 O면역부위로 인하여 항원으로 작용한다. 항원은 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(NF $\kappa$ B)가 활성화 된다. NF $\kappa$ B이 활성화되면 cytokine과 chemokine 등의 물질이 과량 분비되고 내재면역반응을 유발시

<sup>#</sup>본 논문에 관한 문의는 저자에게로  
(전화) 051-999-5466 (팩스) 051-999-5684  
(E-mail) bjha@silla.ac.kr

킨다. 그러나 패혈성 쇼크는 cytokine중에 tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ )의 과다 발현으로 apoptosis가 유도되어지는 것으로 LPS로 인한 TNF- $\alpha$ 의 비정상적 증가로 정상세포들의 사멸이 일어난다.<sup>15)</sup> 이러한 TNF- $\alpha$ 의 증가는 또한 neutrophil을 활성화 시키는데 일조하고 neutrophil의 증가로 인하여 inducible nitric oxide synthase(iNOS) 유전자가 활성화되어 NO의 생성을 증가시킨다.<sup>16)</sup> NO는 macrophage의 활성화로 인한 산물로 oxygen radical과 더불어 강력한 항 미생물 작용을 하며<sup>17)</sup> NO가 생성될 때 Ca<sup>2+</sup> 농도의 증가로 인해 superoxide anion(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)과 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 함께 생성되면 산화력이 강한 OH<sup>-</sup>로의 연쇄반응을 일으켜 세포 조직에 영향을 주어 직간접적으로 조직의 산화를 초래한다.<sup>18,19)</sup>

이에 본 연구자들은 구기자의 열수 추출액을 대상으로 간 독성 지표와 항산화효소 활성지표를 측정하여 간독성에 대한 보호 효과를 연구하였다.

**실험 방법**

**실험동물 및 식이**

실험동물은 체중 170~180 g 내외의 암컷 흰쥐(Sprague-Dawley 계 생후 7주)를 대구 효창 사이언스로부터 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 I). 정상군(NOR group)과 대조군(CON: LPS-treated group)은 0.9% saline을, 시료군(LFE: *Lycii fructus* Extract and LPS-treated group)은 구기자 추출물(100 mg/kg)을 1.5 ml/kg씩 복강 내에 20일간 매일 투여하고 21일째 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.

**구기자 추출물의 조제**

본 실험에 사용한 구기자(*L. fructus*)는 동방과학에서 구입하였다. 구기자 추출물은 구기자를 round flask에 100 g을 넣고 증류수 2,000 ml를 넣은 후 4시간씩 2회 환류 추출한 다음 여과한 여액을 동결 건조하여 얻은 37 g의 분말을 시료로 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% 생리 식염수로 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<sup>20)</sup>에 의해서 750 nm에서 흡광도를 측정하고 표준 단백 시료를 bovine serum albumin (BSA)으로 정량하였다.

**Table I** – Experimental design of rats

Experimental group	day 1~20	day 21
	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	
LFE (7)	1.5 ml/kg of <i>Lycii fructus</i> extract (100 mg/kg), i.p.	1.5 ml/kg of LPS (5 mg/kg), i.p.

NOR : normal group.  
 CON : LPS-treated group.  
 LFE : *Lycii fructus* extract and LPS-treated group.  
 The number of experiment animals is given in parenthesis.  
 LPS : lipopolysaccharide i.p : intraperitoneally.

### 간 조직 중 malondialdehyde(MDA)의 정량

간의 MDA 수치는 Ha의 방법<sup>21)</sup>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 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<sup>22)</sup>에 따라 0.2 M K-phosphate buffer(pH 7.4)를 672  $\mu$ l, 1 mM xanthine 100  $\mu$ l, 1% sodium deoxychlorate 30  $\mu$ l, 1.5 mM KCN 30  $\mu$ l, 0.2 mM cytochrome C 150  $\mu$ l를 넣은 혼합액에 sample 8  $\mu$ l를 넣고, xanthine oxidase 원액 10  $\mu$ l를 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<sup>23)</sup>을 이용하여 phosphate buffer(0.05 M pH 7.0) 1.9 ml에 sample(homogenate와 mitochondrial fraction을 800 $\times$ g에서 20분간 원심분리한 상등액 100  $\mu$ l를 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

Lawrence 등의 방법<sup>24)</sup>에 준하여 0.1 M phosphate buffer(4 mM EDTA) 400  $\mu$ l, 0.01 M Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> 70  $\mu$ l, 0.01 M GSH 70  $\mu$ l, 1.5 mM NADPH 70  $\mu$ l, H<sub>2</sub>O 360  $\mu$ l, GSSG-reductase(1.8 U/ml) 20  $\mu$ l, sample 10  $\mu$ l를 혼합하여 상온에서 1분간 방치한 후 5 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 100  $\mu$ l를 가해 잘 섞은 후 340 nm에서 90초 동안 흡광도 감소를 측정하였다.

### 통계처리

본 실험에 대한 모든 실험 결과는 평균치와 표준편차로 나타내었고, 통계적 유의성은 SPSS를 이용하여 ANOVA로 검정하였다.

### 실험결과 및 고찰

간에 들어오는 모든 물질은 cytochrome P450 monooxygenase와 NADPH-cytochrome P450 reductase의 효소반응에 의해서 일차적으로 변환이 일어남으로써 독성물질이 되거나 무

독성물질이 되어 인체에 영향을 미친다.<sup>25)</sup> 생체에 활성 산소가 너무 많으면 암을 발생시키거나 노화를 촉진하는 등 나쁜 영향을 미친다. 이런 활성 산소는 과식, 스트레스, 흡연, 지나친 운동으로 인한 과 호흡 등에 의해 그 양이 증가한다. 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 GOT, GPT와 LDH의 활성 변화

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.<sup>26)</sup>

GOT는 글루탐산의 아미노기를 옥살로아세트산으로 전이시켜주는 효소로 아미노기가 전이되면 글루탐산은  $\alpha$ -케토글루타르산이 되고 옥살로아세트산은 아스파르트산이 된다. GPT는 글루탐산의 아미노기를 알라닌으로 전이시켜주는 효소로 아미노기가 전이되면 글루탐산은  $\alpha$ -케토글루타르산이 되고 알라닌은 피루브산이 된다.<sup>27)</sup> LDH는 몸 안의 당이 분해되어 피루브산이 젖산으로 변할 때 작용하는 효소로, 여러 조직의 세포 중에 함유되어 있어서 세포가 파괴되면 혈중으로 유리되어 높게 나타나므로 GOT, GPT와 같이 간 질환의 지표로 사용된다.

Table II와 같이 GOT의 경우 대조군은 LPS의 간 장애 유발로 인하여 정상군에 비해 약 2.58배 증가하였고 시료군인 LFE군은 대조군과 비교하였을 때 17.7% 감소하였다. GPT의 경우에도 LPS를 투여한 대조군이 정상군에 비해 약 5.4배 정도 증가하였고, LFE군은 대조군에 비해 27.5%로 감소하는 것으로 나타났다. LDH의 경우에도 대조군이 정상군에 비해 약 5.92배 증가하였고 LFE군은 대조군에 비해 40.7%로 감소하는 것으로 나타나서 구기자 추출물이 간 보호 효과가 있음을 비교분석 할 수 있었다.

Table II - Effects of *Lycii fructus* extract on GOT, GPT and LDH levels in serum

Experimental group	GOT (U/l)	GPT (U/l)	LDH (U/l)
NOR	79.6 $\pm$ 0.57***	15.5 $\pm$ 1.00***	143 $\pm$ 8.48***
CON	204 $\pm$ 5.65	81 $\pm$ 1.15	847 $\pm$ 4.94
LFE	182 $\pm$ 2.12***	63 $\pm$ 4.94*	560.5 $\pm$ 7.77***

NOR : normal group.

CON : LPS-treated group.

LFE : *Lycii fructus* extract and LPS-treated group.

\*\*\*p<0.001, \*p< 0.01 values are mean $\pm$ SE (n=7).

GOT : glutamate oxaloacetate transaminase GPT : glutamate pyruvate transaminase.

LDH : lactate dehydrogenase.

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

항산화계 효소들은 대사과정 중 발생하는 활성 산소 중에 의해 그 활성이 비가역적으로 불활성화 될 수 있으며, 또한 지방산화에 의해 생성된 유리기도 제거하는 능력이 있다고 보고되고 있다.<sup>28,29)</sup> 생체내의 항산화 방어기구 중에서 효소적 방어 계의 하나인 SOD는 주로 mitochondria에 존재하며 superoxide radical을 환원하여 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 생성함으로써 생체를 보호한다.<sup>30,31)</sup>

생체 내 생명 현상에서 필수적인 산화환원반응의 일종으로 생성되는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 H<sub>2</sub>O와 O<sub>2</sub>로 분해하는 효소 중 하나가 CAT이다. 이것은 다수의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 생성효소들과 복합체를 형성하여 peroxisome에 주로 분포하며 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 증가에 따른 조직손상을 방어하는 효과가 있다고 알려져 있다.<sup>32,33)</sup>

Glutathione은 산화적인 손상으로부터 적혈구(red cell)를 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 flavo-protein인 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<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 lipid peroxide와 같은 peroxides의 다양한 종류들을 조절한다.<sup>34)</sup>

Table III과 같이 간 조직에서의 MDA level은 정상군에 비해 대조군이 약 3.61배 높게 나타났고 LFE군은 대조군에 비해 56.8%의 지질과산화 억제 효과를 보였다. SOD 활성정도는 대조군이 정상군에 비해서 약 2.16배 정도로 낮게 나타났고 LFE군은 대조군에 비해 90.5%의 상승효과를 보였다. 또한 CAT의 활성도는 대조군이 정상군에 비해 약 3.15배 감소를 보였으며 LFE군은 대조군에 비해 78.9%의 상승효과를 나타냈다. GPx 활성도의 경우 대조군은 정상군에 비해 약 2.87배의 감소율을 보였으며 LFE군은 대조군에 비해서 83.7%의 증가율을 보였다.

**결 론**

본 연구에서는 한방에서 약용으로 사용하고 있는 가지과(Solanaceae)에 속하는 낙엽성 소관목인 구기자 나무의 성숙한 과실인 구기자(*Lycii fructus*)의 열수 추출물을 이용하여 LPS로 유발된 급성 간독성에서의 간 보호효과를 알아보았다. 간독성이 유발된 쥐의 혈청에서의 GOT, GPT 그리고 LDH의 감소는 구기자 추출물이 간독성으로부터 간을 보호하였음을 보여주며, 간 조직에서의 MDA 감소 및 SOD, CAT, GPx의 활성도 증가 역시 구기자 추출물이 간독성으로부터 간을 보호해주었음을 시사하였다. 이러한 결과는 구기자 추출물이 LPS로 유발된 급성 간손상에서 간을 보호하는 물질로의 가능성을 시사한다.

**문 헌**

- 1) 김희선, 박영숙, 김창임 : 구기자 섭취에 의한 고지방식을 하는 흰쥐의 혈중 지질상태 변화. 한국영양학회지 **31**, 263 (1998).
- 2) Cho, J. H., Sin, J. S., Kim, E. J., Shin, S. H., Jang, J. Y., Shin, K. S., Kim, Y. B., Kang, J. K. and Hwang, S. Y. : Protective effect of *Lycii fructus* extract against hepatotoxicity induced by carbon tetrachloride. *Korean J. Lab. Ani. Sci.* **20**, 187 (2004).
- 3) Lee, B. Y., Kim, E. J., Choi, H. D., Kim, Y. S., Kim, I. H. and Kim, S. S. : Physicochemical properties of Boxthorn (*Lycii fructus*) hot water extracts by roasting conditions. *Korean J. Food Sci. Technol.* **27**, 768 (1995).
- 4) Jian, Y. : Modern Study of Chinese Drugs, Clinical Applications. Ancient Book Press of Chinese Medicine, China (1997).
- 5) Jiangsu. : Chinese Medicine Dictionary. Shanghai Science and Technology Press Shanghai, China (1979).
- 6) Yubin, J. : Pharmacological Action : Application of available composition of traditional chinese medicine. Heilongjiang Science and Technology Press, Heilongjiang (1995).
- 7) Finkelstein, J. D., Kyle, W. E. and Harris, B. J. : Methionine metabolism in mammals. Regulation of homocysteine methyl-

**Table III** - Effects of *Lycii fructus* 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	1.5±0.24***	131.12±2.20***	344.34±5.16***	29.82±2.86***
CON	5.42±0.28	73.17±3.61	215.44±1.13	11.70±0.39
LFE	3.19±0.82**	141.87±3.18**	262.05±7.60***	21.83±0.64**

NOR : normal group.  
 CON : LPS-treated group.  
 LFE : *Lycii fructus* extract and LPS-treated group.  
 \*\*\*p<0.001, \*\*p< 0.05 values are mean±SE (n=7).  
 MDA : malondialdehyde SOD : superoxide dismutase.  
 CAT : catalase GPx : glutathione peroxidase.

- transferases in rat tissue. *Arch. Biochem. Biophys.* **146**, 84 (1971).
- 8) Kim, H. S., Park, Y. S. and Kim, C. I. : Changes of serum lipid profiles after eating *Lycii Fructus* in rats fed high fat diet. *Korean Nutr. Soc.* **31**, 263 (1998).
  - 9) Yoon, C. K., Kim, H. H., Chae, S. N., Oh, M. J. and Lee, G. H. : Hepatic oxygen free radical and alcohol metabolizing enzyme activities in rats fed diets supplementes with *Lycium chinense* ethanol extract. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **30**, 668 (2001).
  - 9) Kim, N. J., Youn, H. G. and Hong, N. D. : Pharmacological effects of *Lycium chinensis*. *Korean Soc. Pharmacog.* **25**, 264 (1994).
  - 10) Kang, K. I., Jung, J. Y., Koh, K. H. and Lee, C. H. : Hepetoprotective effects of *Lycium chinense* Mill fruit extracts and fresh fruit juice. *Korean J. Food Sci. Technol.* **38**, 99 (2006).
  - 11) Kim, K. S., Shim, S. H., Jeong, K. H., Cheong, C. S., Ko, K. H., Park, J. I., Huh, H., Lee, B. J. and Kim, B. K. : Anti-diabetic activity of constituent of *Lyii fructus*. *J. App. Pharmacol.* **6**, 378 (1998).
  - 12) Choi, S. I., Lee, Y. M. and Heo, T. R. : Screening of hyaluronidase inhibitory and free radical scavenging activity in vitro of traditional herbal medicine extracts. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **18**, 282 (2003).
  - 13) Park, K. M., Hwang, J. K., Shin, K. M., Kim, H. S. and Song, J. H. : Detoxicating effects of oriental herb extract mixtures on nicotine and dioxin. *Korean J. Food Sci. Technol.* **35**, 980 (2003).
  - 14) Kim, H. K., Na, G. M., Ye, S. H. and Han, H. S. : Extraction characteristics and antioxidative activity of *Lycium chinense* extracts. *Korean J. Food Pre.* **11**, 352 (2004).
  - 15) Charles, A. J. : *Immunobiology*, 5th, Life Science Publication Co, Seoul p. 76 (2002).
  - 16) 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.* **13**, 856 (1998).
  - 17) Charles, A. J. : *Immunobiology*, 5th, Life Science Publication Co, Seoul p. 350 (2002).
  - 18) Halliwell, B. : How to charactrize a biological antioxidant. *Free Radic. Res. Commun.* **9**, 598 (1990).
  - 19) Kinght, J. A. : The process and theories of aging. *Ann. Clin. Lab. Sci.* **25**, 2289 (1995).
  - 20) Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. S. and Randall, R. J. : Protein Measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 256 (1951).
  - 21) 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**, 1306 (2006).
  - 22) Beauchamp, C. and Fridovich, I. : Superoxide dismutase : improved assays and an assay applicable to acrylamide gel. *Anal Biochem.* **44**, 276 (1971).
  - 23) Aebi, H. : Catalase *in vitro*, methods. *Enzymology* **105**, 121 (1984).
  - 24) Lawrence, R. A. and Burk, R. F. : Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **71**, 952 (1976).
  - 25) 조명행 : 기초 독성학, 개정판, 영지문화사, 서울 p. 116 (2004).
  - 26) Gabriel, L. P. and William, R. H. : *Principles and Methods of Toxicology*. Raben Press, p. 407 (1982).
  - 27) 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 (1992).
  - 28) Takaharu, N. and Kiyonori, Y. : Low-dose  $\gamma$ -ray irradiation reduces oxidative damage induced by  $\text{CCl}_4$  in mouse liver. *Free Radical Biology & Medicine* **27**, 1324 (1999).
  - 29) Fridovich, I. : Biologic effects of the superoxide radicals. *Arch. Biochem. Biophys.* **247**, 1 (1986).
  - 30) Von, Sonntag. : In *The Chemical Basis of Radiation of biology*, Tylor and Francis. (ed.). London, p. 31 (1987).
  - 31) Rosen, D. R., Jakobisiak, M., Hartmann-Petersen, R., Ortega, S. and Johnston, D. J. : Mutations with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* **362**, 59 (1993).
  - 32) Tainer, J. A., Getzoff, E. D., Richardson, J. S. and Richardson, D. C. : Structure and mechanism of Cu, Zn, superoxide dismutase. *Nature* **306**, 274 (1983).
  - 33) 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 (1983).
  - 34) 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 (1983).