

Lipopolysaccharide로 유발된 간독성에 대한 까마중의 효과

허예영¹ · 권륜희¹ · 하미숙² · 하배진^{1*}

¹신라대학교 의생명과학대학 제약공학과, ²마산대학 물리치료과

The Effects of *Solanum nigrum* Linne extract on the Hepatotoxicity of Rats Induced by Lipopolysaccharide

Ye-Young Heo¹, Ryun-Hee Kwon¹, Mi-Sook Ha², Bae-Jin Ha^{1*}

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

²Department of Physical Therapy, Masan University, 100 Yongdamri, Naeseo-eup, Masan, Kyungnam, 630-729, Korea

(Received June 11, 2009/Revised July 17, 2009/Accepted August 21, 2009)

ABSTRACT - This study aimed to investigate the protective effect of *Solanum nigrum* Linne total extract (SNT), *Solanum nigrum* Linne leaf extract (SNL), *Solanum nigrum* Linne root extract (SNR) on liver injury induced by Lipopolysaccharide(LPS) in Sprague-Dawley rats. SNT, SNL, SNR of 100 mg/kg concentration was intraperitoneally administered into rats at dose of 1.5 ml/kg for 20 days. on the day 1.5 ml/kg of LPS was injected. Four hours later, they were anesthetization with ether and dissected. Glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), glutamate pyruvate transaminase (GPT) were measured in serum and superoxide dismutase (SOD), catalase and glutathione peroxidase (GPX) were measured in liver homogenate. SNT, SNL, SNR extract inhibited GOT and GPT activities in LPS-induced rats, whereas increased SOD, Catalase and GPX activity in liver tissue of LPS-induced rats. These suggested that SNT, SNL, SNR could be used for functional beverage.

Key words: *Solanum nigrum* Linne, Lipopolysaccharide, Hepatotoxicity, Antioxidation

산업사회의 발달과 더불어 생산활동이 활발해짐에 따라 인체의 건강을 위협하는 공해물질들에 노출되는 기회가 많아지게 되고 이에 따른 각종 질병이 증가하는 추세에 있다¹⁾. 그 중 간질환은 여러 가지 원인에 의하여 빈번히 일어나며 특히 과도한 스트레스, 음주, 흡연 및 약물에 의하여 빈번히 일어나고 있으며 인체에 치명적인 위험을 가해 사회적으로 지대한 관심의 대상이 되고있다²⁾. 간질환은 간경화, 간경변, 알코올성 간질환 및 간염 등을 포함하는 질환으로 최근 국내 통계청이 밝힌 '사망원인 통계조사'에 따르면 한국 성인 40대에서 간질환으로 인한 사망률이 가장 높게 나타났다³⁾. 간염과 유사한 간 손상을 일으키는 것으로 알려진 Lipopolysaccharide(LPS)는 내독소(endotoxin)라고 부르며 그람음성균의 세포벽을 구성하고, 국소 염증, 항체 생산, 폐혈증과 같은 다양한 반응을 일으

키며⁴⁾, 동물이나 세포에 염증반응을 유발하며⁵⁾, LPS는 인체 내에서 O면역부위로 인하여 Ag로 작용한다. Ag는 인체 내에서 자기방어 기능으로 인하여 macrophage와 같은 항원 제시세포에 의하여 인식된다. LPS는 주로 Toll-like receptor (TLR) 계열에 의해 인식되며 CD (cluster of differentiation)-14의 결합으로 인체 내에서 방어기전을 실행시킨다. 혈장 속에 떠돌아다니는 LPS-binding protein (LBP)에 의하여 독성을 일으키는 첫 단계에 돌입한다. 인체 내로 들어온 LPS용 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 폐혈성 쇼크는 cytokine중에 tumor necrosis factor (TNF-α)의 과다 발현으로 apoptosis가 유도되어지는 것으로 LPS로 인한 TNF-α의 비정상적 증가로 정상세포들의 사멸이 일어난다⁶⁾. 이와 비슷한 간손상을 유발하는 Carbon tetrachloride(CCl₄)로 급성 간 독성을 일으켜 까마중 추출물의 간 보호 효과를 보기 위한 실험이 다

*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

른 논문에서 소개된 적 있다. CCl_4 는 투여 후 급격하게 간 세포에 의해서 trichloromethyl radical이 되며 (CCl_4) 각종 저장 생물학적 물질인 막 지질과 단백질, DNA를 공격하여 손상을 입힌다^{7,8)}. CCl_4 는 가장 강한 독성을 가진 물질이며 효소반응에 의해 trichloromethyl와 trichloromethyl peroxy radicals ($\cdot OOCCL_3$)을 생성하여 세포막의 인지질인 polyenoic fatty acid의 methyl carbon을 공격함으로써 지질이 산화되어 간세포 용혈을 일으킨다^{9,10)}. 이런 radicals는 세포소기관의 막 지질에 분포하는 불포화 지방산 측쇄의 methylene 결합을 공격하여 약물대사 효소 활성화와 단백질 활성을 저하시키고 간에서의 급성 지방 변성을 일으키며 lipoprotein의 생성과 유리를 차단하여 급속한 지방축적을 야기한다¹¹⁾. 따라서 CCl_4 는 radicals를 생성하고 그것으로 인하여 간세포의 파괴로 이어지며 이것은 간 독성도와 비례하여 증가하는 것으로 파악된다. 이러한 기전들로 인해 까마중 추출물이 간 보호 효과를 얼마만큼이나 나타낼 수 있는지 알아 보기 위해 이 실험을 하였다.

최근 간 질환을 치유 혹은 예방하기 위한 방법의 하나로 천연물을 이용한 간기능 개선 또는 간질환 치료제 개발의 연구가 활발히 이루어지고 있다. 까마중은 *Solanum nigrum* Linne이란 학명으로 용규, 고채, 천포초 등으로 불리우며, 약 1 mm크기의 가지과에 속하는 한해살이 초본으로 전초에는 solanine, solanargine 등 여러 가지 alkaloid와 vitamin A와 C가 들어 있다¹²⁾. 까마중의 약리활성으로는 간보호작용¹³⁾, 신장세포보호작용¹⁴⁾, 중추신경계진정¹⁵⁾, 항위궤양작용¹⁶⁾, 항 당뇨작용, 혈압강하작용, 항염증작용등이 보고되어진다. 부위별 약리활성으로는 전초에서는 갖가지 압, 상처, 치질, 종기, 습진, 가래, 설사, 신장결석, 두통, 관절염, 통풍 등에 효과가 있고, 열매에는 진해, 거담 작용이 있다¹⁷⁾.

본 연구에서는 LPS를 투여시켜 간 염증을 유발한 흰쥐의 간에서 까마중 부위별 추출물의 간 손상 보호효과를

알고자 하기 위한 것이며, superoxide dismutase(SOD), catalase(CAT), glutathione peroxidase(GPx)와 같은 항산화 효소의 측정을 통하여 이 물질을 천연 한방차로 개발하기 위한 기초자료를 얻고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 까마중은 부산 구포 시장 내 약재상으로로부터 구입하였다.

시료조제

까마중을 전체, 잎과 줄기로 나누어 각 50 g을 취하여 증류수 100 l를 넣고 60°C에서 8시간 환류냉각한 뒤 여과하여 추출액을 동결건조하여 실험 시료로 사용하였다.

실험동물 및 식이

실험동물은 체중 160~170 g 내외의 생후 7주된 암컷 흰쥐(Sprague-Dawley)를 (주)샘타코에서 제공받았고 7일동안 환경에 적응시켰다. 실험동물은 난괴법(randomized complete block design)에 의해 7마리씩 5군으로 나누어 분리시키고, 고형사료와 물을 자유롭게 섭취하도록 하였으며, Table 1과 같이 군으로 나누어 다음과 같이 물질을 투여하였다. Auto Control System기인인 SS-2000을 사용하여 22 ± 1°C의 온도와 60 ± 5% 상대습도로 유지시켰다. 정상군(NOR; normal group)은 21일 동안 0.9% saline의 용량으로 1.5 ml/kg을 투여하였다. 대조군(CON; LPS-treated group)의 경우 20일 동안 1.5 ml/kg of 0.9% saline을 매일 투여한 후 21일째 되는 날 LPS를 5 mg/kg의 농도로 만들어 1 ml/kg의 용량으로 복강 내로 투여하였다. 또한 시료군(*Solanum nigrum* Linne extract and LPS-treated group)은 100 mg/kg의 농도로 까마중 추출물을 만들어 1.5 ml/kg의

Table 1. 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	
SNT (7)	1.5 ml/kg of <i>Solanum nigrum</i> Linne total extract (100 mg/kg), i.p.	1.5 ml/kg of LPS
SNL (7)	1.5 ml/kg of <i>Solanum nigrum</i> Linne leaf extract (100 mg/kg), i.p.	(5 mg/kg), i.p.
SNR (7)	1.5 ml/kg of <i>Solanum nigrum</i> Linne root extract (100 mg/kg), i.p.	

NOR : normal group

CON : LPS-treated group

SNT : *Solanum nigrum* Linne total - pretreated and LPS-posttreated group

SNL : *Solanum nigrum* Linne leaf - pretreated and LPS-posttreated group

SNR : *Solanum nigrum* Linne root - pretreated and LPS-posttreated group

I.p. : intraperitoneally LPS : Lipopolysaccharide

Table 2. Effects of *Solanum nigrum* Linne extract on SOD, Catalase and GPx activities in liver homogenate and mitochondrial fraction

Experimental group	SOD (mU/mg protein)	Catalase (U/mg protein)	GPx (mU/mg protein)
	Mitochondrial fraction	Liver homogenate	Liver homogenate
NOR	144.25 ± 1.46***	328.08 ± 6.26***	136.81 ± 1.05***
CON	75.77 ± 1.54	167.42 ± 3.01	66.49 ± 0.57
SNT	120.58 ± 0.63***	235.05 ± 15.96***	117.32 ± 0.45**
SNL	98.82 ± 2.3***	191.33 ± 0.45**	93.28 ± 5.41
SNR	87.76 ± 1.72***	266.37 ± 1.29***	132.41 ± 1.77*

NOR : normal group

CON : LPS-treated group

SNT : *Solanum nigrum* Linne total extract

SNL : *Solanum nigrum* Linne leaf extract

SNR : *Solanum nigrum* Linne root extract

***P < 0.001, **P < 0.01, *P < 0.05 values are mean ± SE

SOD : superoxide dismutase

GPx : glutathione peroxidase

Table 3. Effect of *Solanum nigrum* Linne extract on GOT and GPT levels in serum

Experimental group	GOT(U/L)	GPT(U/L)
NOR	62 ± 1.00***	21.66 ± 1.00***
CON	142.33 ± 1.00	95.00 ± 1.00
SNT	96.33 ± 1.00***	39.00 ± 1.00***
SNL	126.66 ± 1.00***	38.00 ± 1.00***
SNR	90 ± 1.00***	32.33 ± 1.00***

NOR : normal group

CON : LPS-treated group

SNT : *Solanum nigrum* Linne total extract

SNL : *Solanum nigrum* Linne leaf extract

SNR : *Solanum nigrum* Linne root extract

***P < 0.001, **P < 0.01, *P < 0.05 values are mean ± SE

GOT : glutamate oxaloacetate transaminase

GPT : glutamate pyruvate transaminase

용량으로 매일 투여하는데 이 농도를 선택한 이유는 실험실에서 여러 농도로 실험해 본 결과 저 농도로 하였을 경우 효과가 제일 크기 때문이다. 21일째 되는 날 LPS를 5 mg/kg의 농도로 만들어 1 ml/kg의 용량으로 복강 내로 투여하였다. 대조군과 시료군에서 실험동물의 지질대사 이상, 산화적 스트레스, 간 손상을 유발시켰다. LPS를 투여하고 절식 시킨 뒤 4시간 후에 ether로 마취하고 희생시켜서 혈액을 채취하고 간을 적출하여 실험하였다.

혈액 채취 및 간 적출

시료 투여 기간 종료 후 실험동물을 ether 마취 하여서 개복한 후 하대정맥에서 채취한 각 혈액은 헤파린 관으로 옮긴 후 상온에서 30분간 반응시켜 3000 rpm에서 10분간 혈액을 원심 분리한 후 혈청을 분리하여 사용하였다. 간

4엽을 전부 적출하여 0.9% 생리 식염수로 perfusion 한 후 세척 여지로 흡착한 후 -70°C deep freezer에 보관하여 실험에 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 10 min 원심분리한 상등액을 다시 8,000 ×g, 4°C에서 10 min 원심분리하여 얻은 pellet에 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0) 5 ml 넣어 mitochondrial fraction으로 사용하였다.

쥐 혈청 중의 GOT와 GPT 측정

혈청 중의 GOT, GPT의 level은 FUJI DRI-CHEM CLINICAL CHEMISTRY CHEMISTRY ANALYZER (FUJI DRI-CHEM 3500, FUJIFILM)로 측정하였다.

간 균질물과 미토콘드리아 분획물의 총 단백질량 측정

단백질의 정량은 Lowry¹⁸⁾ 등의 방법에 의해서 750 nm에서 흡광도를 측정하고 표준 단백 시료를 bovine serum albumin (BSA)로 정량하였다.

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

SOD 효소 활성 측정은 Beauchamp와 Fridovich법¹⁹⁾의 변형된 방법에 따라 0.2 M K- Potassium phosphate buffer (100 mM K₂HPO₄, 100 mM KH₂PO₄, 200 mM KCl, 10 mM EDTA, pH 7.4)를 672 µl, 1 mM xanthine 100 µl, 1% deoxycholate (DOC) 30 µl, 1.5 mM potassium cyanate (KCN) 30 µl, 0.2 mM cytochrom C 150 µl를 혼합하여 준비한 후 mitochondria 분획 8 µl넣고, xanthine oxidase (XOD)를 10 µl 투여하여 혼합한 후 Elisa를 이용하여 550 nm에서의 흡광도 변화를 2분간 측정하였다. 효소의 활

성도는 표준액으로 Sigma사의 superoxide dismutase standard를 사용하여 측정하였다.

간 조직 중 catalase (CAT)의 활성 측정

CAT 효소 활성 측정은 Aebi법으로 측정하였다²⁰⁾. 간 조직의 5배되는 PBS (Phosphate Buffer 용액 0.05 M pH 7.0)를 첨가하고 균질화 기기를 이용하여 간을 균질화 하였다. 측정하기에 앞서 효소의 효율에 따라 결과가 달라지므로 회석배율을 정하여 선 측정 후 일정 회석배율에서 가장 좋은 효과가 보이는 회석배율을 선택하여 측정하였다. 1.9 ml의 0.05 M PBS (pH 7.0)와 0.1 ml의 간 균질화물을 첨가하여 잘 혼합한다. 혼합한 뒤 H₂O₂용액 1 ml를 첨가한 뒤 240 nm에서 1분 30초간 측정하였다.

간 조직 중 glutathione peroxidase (GPx)의 활성 측정

GPx활성의 측정은 spectrometric 측정법을 이용한 Lawrence²¹⁾의 방법을 이용하여 시행하였다. 간조직의 4배되는 PBS (0.1 M Phosphate Buffer, pH 7.0)를 첨가하고 균질화 기기를 이용하여 간을 균질화 하였다. 0.1 M PBS(4 mM EDTA, pH 7.0)와 0.01 M sodium azide(NaN₃), 0.01 M GSH, 1.5 mM nicotinamideadenine dinucleotide phosphate (NADPH), 1.8 u/ml oxidized Glutathion (GSSG)를 D.D.W에 섞는다. 그 후 간 균질화물을 넣은 후 1분간 상온에서 방치한 후 5 mM H₂O₂을 첨가하여 반응시킨 후 340 nm에서 1분 30초간 측정하였다.

통계적 분석

본 실험에 대한 실험 결과는 평균차와 표준편차로 나타내었고, 통계적 분석은 SPSS를 이용한 one-way ANOVA로 검정하였고, 유의성은 p < 0.05로 하였다.

결 과

SOD 효소 활성에 대한 효과

Superoxide anion은 호기적 대사과정에서 여러 가지 생화학적 반응으로 생성되며, 이것으로부터 생성되는 hydroxyl radical은 조직 및 거대분자를 파괴하여 기능을 상실케 한다. 미토콘드리아에서의 MnSOD를 포함하여 세포질의 Cu·Zn SOD는 O₂⁻ 불균화반응을 촉매하여 과산화수소로 빠르게 전환시켜 산소 자유기를 방어하는 중요한 기능을 가진다²²⁾. SOD는 활성산소(·O₂⁻)를 보다 반응성이 약한 H₂O₂로 전환시키는 효소로 생체내 해독 체계중 하나이다²³⁾. 간 조직에서의 SOD 활성정도는 LPS를 투여한 대조군이 정상군에 비해서 약 1.5배 정도로 낮게 나타났고 대조군에 비해 SNT군 65%, SNL군 33.66%, SNR군 17.50%의 상승효과를 나타내어 정상군으로 회복됨을 보였다. SOD효소 활성에 대한 효과는 까마중의 전체혼합물에서 가장 큰 효

과를 나타내었다. 대조군에서 LPS의 투여로 간염증을 유발하여 SOD 활성정도가 감소한 것으로 나타났고 대조군보다 시료군이 SOD 활성정도가 증가한 것으로 보아 활성산소의 생성을 억제하여 손상된 간조직의 기능을 회복시킨 것으로 사료된다.

Catalase효소 활성에 대한 효과

Catalase는 hydrogen peroxide를 물로 환원시키는 역할을 담당하는 효소로서 SOD와 함께 체내 항산화효소계의 근간을 이루고 있다. 일반적으로 스트레스에 의해 각종 대사가 증진되어 활성산소가 생성되고 이로 인해 SOD의 활성이 증가될 경우 catalase활성도 함께 증가하는 것으로 알려져 있다²⁴⁾. Catalase는 세포내에서 생성된 과산화수소를 소거하여 세포내 peroxisomes에 주로 분포되어 있고 H₂O₂농도가 높을 때 주로 작용한다²⁵⁾. catalase 활성정도는 LPS를 투여한 대조군이 정상군에 비해서 약 3.1배 정도로 낮게 나타났고 대조군에 비해 SNR군 61.58%, SNT군 42.09%, SNL군 14.88%의 상승효과를 나타내어 정상군으로 회복됨을 보였다. catalase효소활성에 대한 효과는 SOD의 효과와는 달리 까마중의 뿌리에서 가장 큰 효과를 보였다. LPS가 간염증을 유발시켜 catalase함량이 감소된 것으로 사료되어지며 대조군보다 시료군이 catalase가 증가된 것은 활성산소를 제거함으로써 생체 내 대사과정에서 생성된 유독한 과산화물로부터 생체조직을 보호하여 손상된 간조직의 기능을 회복시킨 것으로 사료된다.

GPx 효소활성에 대한 효과

Glutathione은 glutamate, cysteine, glycine으로 구성된 tripeptide로서 세포기능에 있어 항산화제로써 중요한 역할을 하며, uric acid, Vitamin C 등과 함께 생체내 주요 수용성 항산화제 중 하나이다. 세포내 단백질 또는 peptide의 생리적, 화학적 조절뿐만 아니라 활성산소와 xenobiotics의 무독화에 관여한다. 특히 직접적인 활성산소의 소거제나 glutathione peroxidase의 cofactor로 작용하여 활성산소에 대한 높은 보호효과를 나타낸다. Glutathione은 체내에서 환원형(GSH)과 산화형(GSSG)으로 존재하는데, 무독화에 참여한 GSH는 GSSG로 산화된 후 glutathione reductase에 의해 다시 GSH로 환원된다. 그러므로 GSH와 GSSG는 체내에 얼마만큼의 산화적 손상이 있었는지의 척도가 될 수 있다²⁶⁾. GPx활성정도는 LPS 투여로 대조군이 정상군에 비해서 약 2배 정도로 낮게 나타났고, 대조군에 비해 SNR군 93.75%, SNT군 72.29%, SNL군 38.10%의 상승효과를 나타내어 정상군으로 회복됨을 보였다. GPx또한 catalase와 같이 뿌리에서 가장 큰 효과를 나타내었다. LPS가 간염증을 유발하여 GPx함량이 감소된 것으로 나타났고, 대조군보다 시료군이 GPx 활성정도가 높게 나타난 것으로 보아 활성산소에 대한 보호효과를 나타내어는 것으로 사료된다.

GOT와 GPT의 효소활성에 대한 효과

GOT, GPT 효소들은 일반적으로 NH_4^+ 로 전환하기 위해 여러 가지 아미노산에서 α -ketoglutarate까지 α -amino group 들을 보낸다. GOT는 이 효소들 중에서 α -ketoglutarate에 aspartate의 amino group을 전달하는 촉매작용을 한다²⁷⁾. GPT는 α -ketoglutarate에 alanine의 아미노기를 전달하는 촉매 작용을 한다. 혈청 중 GOT와 GPT 효소 level의 상승은 간 손상으로 인한 간세포의 괴사와 간조직의 파괴가 진행됨에 따라 transaminase가 혈중으로 유리되어 높은 level을 나타내는 것이므로 간세포의 변성 및 괴사의 지표가 될 수 있다²⁸⁾. GOT level에 있어서 LPS를 투여한 대조군이 정상군에 비해 약 0.4배정도 증가하였으며 대조군에 비해 SNT 57.25%, SNL 19.50%, SNR 65.56%의 상승효과를 보였다. GPT 역시 정상군에 비해 대조군에서 level이 약 0.2배 증가하고 대조군에 비해 SNR군 93.18%, SNT군 90%, SNL군 80%의 상승효과를 나타내어 정상군으로 회복됨을 보였다. GOT의 효소활성은 까마중의 뿌리에서 효과가 더 높았고, GPT는 까마중의 전체 추출물에서 더 좋은 효과를 보였다. LPS로 대조군의 혈청 중 GOT, GPT level이 증가한 것으로 보아 LPS로 간에 염증을 유발하여 간세포의 변성과 괴성을 유발한 것이라고 사료된다. LPS로 대조군의 혈청 중 GOT, GPT level이 증가한 것으로 보아 LPS로 간에 염증을 유발하여 간세포의 변성과 괴성을 유발한 것이라고 사료된다.

고 찰

본 연구에서 LPS로 유도된 간독성에서 까마중 추출물이 보호효과를 가진다고 사료되어진다. CCl_4 에 의한 간손상 모델에서 까마중의 보호 효과가 알려져 있으며, CCl_4 에 의한 간손상 기전은 앞서 서론부분에서 설명한 바 있다. CCl_4 로 간독성이 유발 되는 것과 같이 LPS로 인한 염증으로 간독성이 일어나는 것을 본 연구에서 확인 할 수 있었다. 이것은 Lin 연구에²⁹⁾서도 독성 기전이 ROS에 의한 것이기 때문으로 생각되어진다고 하였다. 위의 결과로 보아 LPS의 독성은 간 독성 모델로써 쓰여 질 수 있을 것으로 판단된다. 본 논문에서는 LPS에 의한 간손상에서 까마중의 효과를 관찰하였다. 앞으로 까마중으로 조직 실험과 세포실험을 통하여 까마중 추출물의 간보호 효과에 대해 더 연구 할 것이다.

요 약

본 연구에서는 LPS를 투여시켜 간손상을 유발한 흰쥐의 간에서 까마중 추출물의 간손상 보호효과를 알고자 하기 위한 것이며, 이 물질을 천연 한방차로 개발하기 위한 기초자료를 얻고자 하였다.

본 실험에서는 생후 7주 암컷 흰쥐 총 35마리를 7마리씩 나누어 NOR, CON, SNT, SNL, SNR 5군으로 분리하여 실험하였다. 정상군은 20일 동안 1.5 ml/kg of 0.9% saline을 투여하고 대조군은 20일 동안 1.5 ml/kg of 0.9% saline을 매일 투여한 후 21일째 되는 날 LPS를 5 mg/kg의 농도로 만들어 1.5 ml/kg의 용량으로 복강 내로 투여하였다. 시료군(SNT, SNL, SNR)에는 100 mg/kg 농도의 각각의 분획을 1.5 ml/kg씩 복강 내에 20일간 매일 투여하고 21일째 되는 날에 LPS를 1.5 ml/kg의 용량을 복강 내로 투여하여 희생시켰다.

GOT, GPT는 혈청을 사용하여 측정하였고, SOD, catalase, GPx는 간 조직을 사용하여 실험하였다. SNT, SNL, SNR group들은 LPS로 유도된 쥐의 혈청에서 GOT와 GPT활성을 억제하였고, 반면에 SOD, catalase, GPx의 활성은 LPS로 유도된 쥐의 간 조직에서 정상의 수치로 높아졌다. 이것은 SNT, SNL, SNR들이 기능성 음료로서의 가능성이 보여진다.

참고문헌

1. Kim OK. Protective effects of extracts of Diospyrus kaki Folium against hepatotoxicity in carbon tetrachloride intoxicated rat. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 97-101 (2001).
2. Wang J. and A. Wendel. Studies on the hepatotoxicity of galactosamine endotoxin or galactosamine/TNF in the perused mouse liver. *Biochem. Pharmacol.* **39**, 267-270 (1990).
3. Heo SH, Kim YJ, Main contents and handbook of health functional food act. *J. Food Sci. Ind.* **36**, 26-30 (2003).
4. Kiyoshi Takeda, Tsuneyasu Kaisho and Shizuo Akira. Toll-like receptors. *Annu Rev Immunol.* **21**, 335-76. (2003).
5. Rangel-Frausto, M.S., Pittet, D., Costigan, M., Hwang, T., Davis, C.S. and Wenzel, R.P. The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). *J. Am. Med. Assoc.* **273**, 117-123 (1995).
6. Charles, A., J.: Immunobiology, 5th, Life science Publication Co, Seoul, pp.76-77 (2002).
7. Recknagel R.O., Carbon tetrachloride hepatotoxicity, *Pharmacol. Rev.*, **65**, 145-208, (1967).
8. Takaharu N. and Kiyonori Y., Low-dose-ray irradiation-reduces oxidative damage induced by CCl_4 in mouse liver, *Free Radical Biology & Medicine*, **27**(11/12), 1324-1333, (1999).
9. Butler, T. C. Reduction of carbon tetrachloride in vivo and reduction of carbon tetrachloride and chloroform in vitro by tissues and tissues constituents, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **134**, 311-319. (1990).
10. McCay, P. B., Lai, E. K., Poyer, J. L., Dubose, C. M., and E. G. Janzen, Oxygen and carbon-centered free radical formation during carbon tetrachloride metabolism, *J. Biol. Chem.* **259**, 2135-2143 (1984).
11. C. S. Jeong, K. W. Jung, and J. S. Jeong, Hepatoprotective Effect of Subfractions of *Carthamus tinctorius* L. Semen on the Reversal of Biotransformation Enzyme Activities in CCl_4 -induced

- Hepatotoxic Rat, *J. Fd Hyg. Safety* **14**(2), 172-178. (1999).
12. Ikeda T, Tsumagari H, Nohara T., Steroidal oligoglycosides from *Solanum nigrum*. *Chempharm Bull (Tokyo)*. Jul; **48**(7); 1062-4 (2000).
 13. Raju K, Anbuganapathi G, Gokulakrishnan V, Raj Kapoor B, Jayakar B, Manian S. Effect of dried fruits of *Solanum nigrum* LINN against CCl₄-induced hepatic damage in rats. *Biol pharm Bull*. Nov; **26**(11): 1618-9 (2003).
 14. Cytoprotective role of *Solanum nigrum* against gentamicin-induced kidney cell (Vero cells) damage in vitro. *Fitoterapia*. Jun; **72**(5): 481-6 (2001).
 15. Perez RM, Perez JA, Garcia LM, Sossa H., Neuropharmacological activity of *Solanum nigrum* fruit. *J Ethnopharmacol*. Aug; **62**(1): 43-8 (1998).
 16. Akhtar MS, Munir M., Evaluation of the gastric antiulcerogenic effects of *Solanum nigrum*, *Brassica oleracea* and *Ocimum basilicum* in rats., *J Ethnopharmacol*. Nov; **27**(1-2): 163-76 (1989).
 17. H.M. Lin, H.C. Tseng, C.J. Wang, C.C. Chyau, K.K. Liao, P.L. Peng, F.P. Chou, Induction of autophagy and apoptosis by the extract of *Solanum nigrum* Linn in HepG2 cells, *J. Agric. Food Chem*. **55**, 3620-3628 (2007).
 18. Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.S. and Randall, R.J. Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 256-261 (1951).
 19. Beauchamp, C. and Fridovich, I. Superoxide dismutase improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.*, **44**, 276-287 (1971).
 20. Aebi, H.(1984). Catalase in vitro methods. *Enzymology*, **105**, 121-126.
 21. Lawrence, R.A and Burk, R.F. Glutathione peroxidase activity in selsnium-deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Comun.*, **71**, 952-958 (1976).
 22. Freeman. B. A and J. D.Crapo. Biology of disease free radicals and tissue injury. *Lab. Invest* 47412-426 (1982) .
 23. Crapo H. C., M. J. McCord. and I. Fridovich. Preparation and assay of superoxide dismutase., In "*Methods in enzymology*". New York: Fleischer, S. and Packer, I.(eds). Academic press. 382 (1978).
 24. vergmeyer H. U., eds. Aebi H. Catalase in methods of enzymatic analysis. New York. *Academic press* **2**, 673-684 (1974).
 25. Bergmeyer. H. U., J. Bergmeyer. and M. Grabl (eds.). Aebi H. Catalase. In "*Methods of enzymatic analysis*". *Verlag chemie* **3**, 273 (1983).
 26. Johns D. V., L. A .Brown. and P. Sternberg. Variability in glutathione dependent detoxication in vivo and its relevance to detoxication of chemical mixtures. *Toxicology* **105**, 267-274 (1995).
 27. McPhalen, C. A., M. G. Vincent and J. N. Jansonius. X-ray structure refinement and comparison of three forms of mitochondrial aspartate aminotransferase. *J. Mol. Biol.* **225**, 495-517 (1992).
 28. Gabriel L. P. and R. H. William. Hayes. Principles and Methods of Toxicology. *Raben Press*, 407-445 (1982).
 29. Lin HM et al., Hepatoprotective effects of *Solanum nigrum* Linn extract against CCl₄-induced oxidative damage in rats, *Chem Biol Interact.* **15**; 171(3): 283-93 (2008).