



## 복분자 추출물이 Lipopolysaccharide로 유도된 간 손상에 대한 항산화 효과

김인덕 · 강금석 · 권륜희 · 하배진  
신라대학교 의생명과학대학 제약공학과

### Anti-Oxidative Effects of *Rubus coreanum* Miquel Extract on Hepatic Injury Induced by Lipopolysaccharide

In Deok Kim, Kum Suk Kang, Ryun Hee Kwon and Bae Jin Ha

Department of Pharmaceutical Engineering, College of Medical Life Science, Silla University, Busan 617-736, Korea

Received October 6, 2007; Accepted December 4, 2007

The protective effects of *Rubus coreanum* Miquel (RCM) extract against LPS-induced hepatotoxicity were studied in rats. Squarage-Dawley rats were intraperitoneally administered the RCM at 100 mg/kg per day for three weeks. Then single dose of LPS (5 mg/kg) was injected into rats. Four hours later, they were anesthetized with ether and dissected. We examined the levels of glutamate oxaloacetate transaminase (AST), glutamate pyruvate transaminase (ALT), alkaline phosphatase (ALP) and lactate dehydrogenase (LDH) in sera, superoxide dismutase (SOD) in mitochondrial fraction and catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) in liver homogenate. LPS-treatment markedly increased the levels of AST, ALT, ALP, LDH and significantly decreased those of SOD, CAT and GPx. But RCM-pre-treatment decreased the levels of AST, ALT, ALP and LDH by 57.9%, 37.4%, 62% and 69% respectively and increased those of SOD, CAT and GPx by 82.9%, 64.2% and 96.7% respectively. Subsequently, the protective effects of RCM was evaluated through histopathological examination of liver tissue. The LPS treatment increased the state of necrosis and cirrhosis surrounding the central veins (CV) and sinusoid, but RCM-treatment decreased the state of necrosis and cirrhosis in the liver tissue. These results demonstrated that protective effects of RCM against LPS-induced hepatotoxicity.

**Key words:** *Rubus coreanum* Miquel, preventive effect, Hepatotoxicity, Lipopolysaccharide.

## 서 론

간염과 유사한 간 손상을 일으키는 것으로 알려진 lipopolysaccharide(LPS)는 그람음성균의 세포벽을 구성하는 물질로 대식세포(Macrophage)나 단핵구의 활성화로 인한 cytokine 분비작용, 열, 시상하부, 부신피질 등의 활성을 유도하여 감염이나 염증을 유발하기도 한다(Jean *et al.*, 1997). LPS가 인체에 유입되면 LPS-binding protein과 결합되어 대식세포의 CD14에 인식되면 패혈성 쇼크를 일으키기도 하며, inducible nitric oxide synthase의 유전자를 활성화 시켜 NO의 생성을 증가시킨다(Dantzer

*et al.*, 1998). NO는 대식세포의 활성화로 인한 산물로 oxygen radical과 더불어 강력한 항 미생물 작용을 한다. NO가 생성될 때  $Ca^{2+}$ 의 농도가 증가하게 되고, 이로 인해 superoxide anion( $O_2^-$ )과  $H_2O_2$ 가 함께 생성, 산화력이 강한 OH로 연쇄반응을 일으켜 세포와 조직에 영향을 주어서 간접적으로 조직의 노화를 초래한다(Halliwell, 1990). 이러한 radicals는 간 세포막을 공격하여 급성 지방 변성 및 지방축적, 세포파괴를 야기하여 간독성을 유발한다(Enomoto *et al.*, 1999; Jeong *et al.*, 1999). 그 결과 지질 대사 및 산화적 스트레스를 일으킨다고 할 수가 있다. 최근 들어 식물이 함유하고 있는 phytochemical을 이용하여 세포의 손상이나 파괴를 유발하는 활성산소 생성 억제작용에 대한 연구가 많이 보고되고 있다(Borek, 2001; Kuresh and James, 2001; Middleton, 1996).

복분자(*Rubus coreanum* Miquel)는 우리나라 남부에

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  
E-mail: [bjha@silla.ac.kr](mailto:bjha@silla.ac.kr)

서 야생하는 과일 생약으로, 식용으로 이용되고 있을 뿐만 아니라 한방에서는 신장기능, 불임증, 음위증, 유정물설, 강장제로 쓰이고 있으며 혈액과 눈을 맑게 해주며 간을 보호하는 효능을 가지고 있다고 알려져 있다(Kim and Lee, 1991; Dan and Andrew, 1993; Kim, 1997). 또한 인간 면역세포에서 분비하는 cytokines의 하나인 IL-6와 TNF- $\alpha$ 의 분비를 촉진하는 것으로 나타났다(Park et al., 2004a). 복분자에 대한 성분 연구로는 복분자 딸기의 줄기로부터 2종의 flavan-3-ol과 1종의 proanthocyanidin 및 1종의 ellagitannin이 분리된 바 있고, 복분자 잎으로부터 4종의 flavonoids를 분리하여 그 구조를 밝힌 보고가 있다(Lee, 1995; Lee and Lee, 1995). 암세포에 대한 생육저해 효과와 세포의 자기사멸에도 효과를 나타내는 것으로 보고되었다(Kim et al., 2005; Park et al., 2004b).

본 연구에서는 복분자의 전처리 후, 간 손상 유발 물질인 LPS를 투여하여 복분자의 간손상 보호효과를 알아보았으며, 간 손상여부와 보호효과는 혈청 중의 AST, ALT, ALP, LDH를 측정하여 판단하였다. 또한 superoxide dismutase(SOD), catalase(CAT), glutathione peroxidase(GPx)와 같은 항산화 효소의 측정 및 간조직의 조직병리학적 검사를 통하여 알아보았다.

## 재료 및 방법

**실험재료.** 본 실험에 사용한 복분자(*Rubus coreanum* Miquel)는 신라바이오(부산광역시 사상구 패법동)로부터 전라북도 고창군에서 6월에 재배된 것을 채취하여 건조시켜 분말가루를 시료로 사용하였다.

**실험동물 및 식이.** 실험동물은 체중 170~180 g 내외의 생후 7주령의 Sprague-Dawley 암컷 흰쥐를 대구 효창 사이언스로부터 제공받았고 7일 동안 사육환경에 적응

시켰다. 실험흰쥐는 난괴법에 따라 총 21마리를 7마리씩 3군으로 나누었고 군별로 cage에 분리시키고 고형사료와 물을 자유롭게 섭취하도록 하였다(Table 1). Auto Control System(기기(SS-2000)을 사용하여  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 온도와  $60 \pm 5\%$  상대습도로 유지시켰다. 정상군(NOR; normal group)은 21일 동안 0.9% saline을 1.5 ml/kg의 농도로 투여하였고 대조군(CON; LPS-treated group)은 20일 동안 1.5 ml/kg 농도로 0.9% saline을 매일 투여한 후, 21일째 되는 날 5 mg/kg의 농도의 LPS를 만들어 1 ml/kg의 용량으로 복강 내로 투여하였다. 또한 시료군(RCM; *Rubus coreanum* Miquel extract and LPS-treated group)은 100 mg/kg의 농도로 복분자 추출물을 만들어 1.5 ml/kg의 용량으로 매일 투여한 후, 21일째 되는 날 LPS를 5 mg/kg의 농도로 만들어 1 ml/kg의 용량으로 복강 내로 투여하였다. LPS를 투여하고 절식시킨 뒤 4시간 후에 ether로 마취하고 희생시켜서 혈액을 채취하고 간을 적출하여 실험하였다.

**복분자 시료의 제조.** 건조중량 100 g의 복분자를 1 l의 증류수에 8시간 동안 환류냉각 후 여액을 여과하여 농축, 동결 건조하여 실험에 시료로 사용하였다.

**혈액 채취 및 간 적출.** 시료 투여 기간 종료 후 실험 동물을 ether 마취 하에서 개복한 후 심장에서 채취하여 K<sub>2</sub>EDTA로 항응고 처리한 tube(BD vacutainer)에 넣었다. 상온에서 30분간 반응후 원심분리기에 넣어 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하여 실험에 사용하였다. 간 4엽을 전부 적출하여 0.9% 생리 식염수로 세척 여지로 흡착한 후  $-70^\circ\text{C}$  저온 냉장고에 보관하여 실험에 사용하였다. 간 시료의 10배의 용액(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,  $600 \times g$ ,  $4^\circ\text{C}$ 에서 10분 원심분리한 상등액을 다시  $8,000 \times g$ ,  $4^\circ\text{C}$ 에서 10분 원심분리하여 얻은 침전물을 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0) 5 ml로 재현탁하여 미토콘드리아 분획으로 사용하였다.

**혈액 생화학용 검사.** 자동혈청생화학분석기(Fuji dri-chem 3500, Fujifilm)를 이용하여 혈청중의 aspartate aminotransferase(AST), alanine aminotransferase(ALT), alkaline phosphatase(ALP), lactate dehydrogenase(LDH)를 측정하였다.

**간 균질물과 미토콘드리아 분획물의 총 단백질량 측정.** 단백질의 정량은 Lowry et al.(1951)법으로 750 nm에서

**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.
RCM (7)	1.5 ml/kg of <i>Rubus coreanum</i> Miquel extract (100 mg/kg), i.p.	1.5 ml/kg of LPS (5 mg/kg), i.p.

NOR: normal group, CON: LPS-treated group, RCM: *Rubus coreanum* Miquel + LPS-treated group. The number of experiment animals is given in parenthesis. i.p.: intraperitoneally, LPS: Lipopolysaccharide

흡광도를 측정하였고, 표준 단백질 시료로 Bovine Serum Albumin(BSA)을 사용하였다.

**간 조직 내 미토콘드리아 분획의 superoxide dismutase (SOD) 활성 측정.** SOD 활성 측정은 Fridovich법을 변형하여 측정하였다(Beauchamp and Fridovich, 1971). Potassium phosphate buffer(100 mM  $K_2HPO_4$ , 100 mM  $KH_2PO_4$ , 200 mM KCl, 10 mM EDTA, pH 7.4)용액과 1 mM xanthine, 1% deoxycholate(DOC), 1.5 mM potassium cyanate(KCN), 0.2 mM cytochrome C를 혼합한 후 미토콘드리아 분획을 첨가한다. 마지막으로 xanthine oxidase(XOD)를 투여하여 첨가하여 550 nm의 파장에서 2분간 효소활성을 측정하였다.

**간 조직 중의 catalase(CAT)의 활성 측정.** CAT 활성 측정은 Aebi법으로 측정하였다(Aebi, 1984). 간 조직의 5배 되는 PBS(Phosphate Buffer 용액 0.05 M pH 7.0)를 첨가한 후 균질화 기기를 이용하여 간을 균질화 하였다. 측정하기에 앞서 효소의 효율에 따라 결과가 달라지므로 희석배율을 정하여 선 측정 후, 효과가 뛰어난 희석배율을 선택하여 측정하였다. 1.9 ml의 0.05 M PBS(pH 7.0)와 0.1 ml의 간 균질물을 잘 혼합한다.  $H_2O_2$  용액 1 ml를 첨가한 뒤 240 nm에서 1분 30초간 효소 활성을 측정하였다.

**간 조직 중의 glutathione peroxidase(GPx) 활성 측정.** GPx활성의 측정은 Lawrence와 Burk의 방법을 이용하여 시행하였다(Lawrence and Burk, 1976). 간조직의 4배되는 PBS(0.1 M Phosphate Buffer, pH 7.0)를 첨가한 후 균질화 기기를 이용하여 간을 균질화 하였다. 0.1 M PBS (4 mM EDTA, pH 7.0)와 0.01 M sodium azide( $NaN_3$ ), 0.01 M GSH, 1.5 mM nicotinamideadenine dinucleotide phosphate(NADPH), 1.8 u/ml oxidized Glutathione (GSSG), D.D.W를 넣고 섞는다. 그 후 간 균질물을 넣고 상온에서 1분간 방치한 후 5 mM  $H_2O_2$ 를 첨가하여 반응시키고, 340 nm에서 1분 30초간 효소활성을 측정하였다.

**간 조직의 병리학적 측정.** 간 조직을 10% formaldehyde 액(dissolved in phosphate buffer pH 7.4)으로 하루 정도 고정시킨 후, 70% alcohol에서 100% alcohol까지 순차적으로 탈수하였다. 100% xylene 처리 후, paraffin으로 포매하였다. 포매된 조직을 microtome (SRM-100)을 이용하여 5  $\mu$ m의 조직 절편을 제작 하였다. 다 Hematoxyline-Eosin으로 염색을 한 후 봉입하여 광학현미경으로 염색된 조직을 관찰하였다(Ambrogi, 1982).

**통계적 분석.** 본 실험에 대한 모든 실험 결과는 평균치와 표준편차로 나타내었고, 통계적 유의성은 SPSS를 이용한 ANOVA로 검증하였다.

## 결과 및 고찰

**혈청 중 AST 및 ALT 측정.** 복분자 추출물을 3주간 투여한 흰쥐에 LPS를 단회 투여하여 유발된 인한 간독성 발현정도를 AST와 ALT수치로 평가하였으며, 이를 Table 2에 나타내었다. AST 활성도의 경우 정상군에 비해서 LPS군이 현저히 높게 나타났으며, RCM-LPS군은 LPS군보다 57.9% 감소하였다( $p < 0.05$ ). ALT활성도에서는 LPS군이 정상군에 비해 높게 나타났으며, RCM-LPS군은 LPS보다 37.4% 감소하였다( $p < 0.05$ ).

LPS에 의하여 증가된 AST, ALT활성도는 복분자로 유의적인 감소를 보였다. 이는 복분자 추출물이 간세포의 괴사를 억제하여 혈청 중에 유리된 transaminase의 농도를 낮춘 것으로 보인다.

**혈청 중의 Alkaline phosphatase(ALP) 측정.** LPS로 간 손상을 유발시킨 경우 ALP의 수치가 2.85배 증가하여 간세포의 손상이 급속하게 진행되었음을 확인할 수 있었고, 복분자 투여군의 경우 ALP 수치를 62% 감소시킴으로서 간 기능 및 장기 손상으로부터의 보호능력을 알 수 있었다( $p < 0.001$ ).

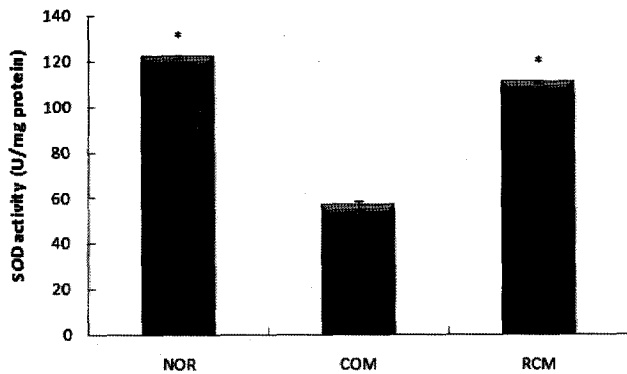
**혈청 중의 Lactate dehydrogenase(LDH)의 측정.** 실험 결과 LPS투여군은 LDH 수치가 5.92배 상승하여 조직의 파괴정도가 큼을 알 수 있었다. 하지만 복분자 투여군의 경우 69%가 억제되는 결과를 나타내었다( $p < 0.001$ ). 복분자 추출물이 독성물질로부터 간을 보호하였음을 알 수 있었다.

**미토콘드리아 분획의 Superoxide dismutase 활성 측정.** 항산화계 효소들은 대사과정 중 발생하는 활성산소 종에 의해 그 활성이 비가역적으로 불활성화 될 수 있으며, 또한 지방산화에 의해 생성된 유리기에 의해 그 능력이 저해

**Table 2.** Effects of *Rubus coreanum* Miquel extract on AST, ALT levels in sera

Experimental group	AST (U/l)	ALT (U/l)
NOR	79.66 $\pm$ 0.57***	15.5 $\pm$ 1.00***
CON	204 $\pm$ 5.65	81 $\pm$ 1.15
RCM	132 $\pm$ 7.07*	56.5 $\pm$ 1.00***

NOR: normal group, CON: LPS-treated group, RCM: *Rubus coreanum* Miquel + LPS-treated group. \*\*\* $p < 0.001$ , \* $p < 0.05$  values are mean  $\pm$  SE (n = 7).

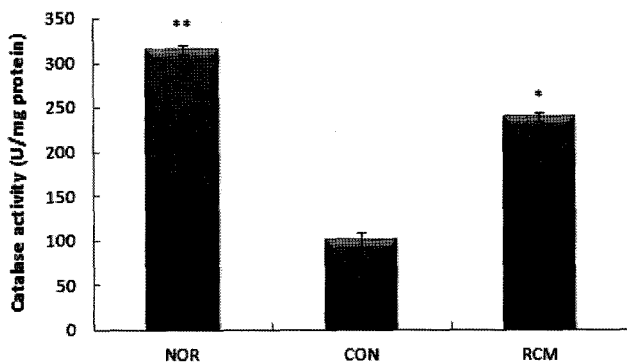


**Fig. 1.** Effects of *Rubus coreanum* Miquel fractions on superoxide dismutase activities in mitochondrial fraction. NOR: normal group, COM: LPS-treated group, RCM: *Rubus coreanum* Miquel + LPS-treated group. \**p* < 0.05 value are mean ± SE (n = 7).

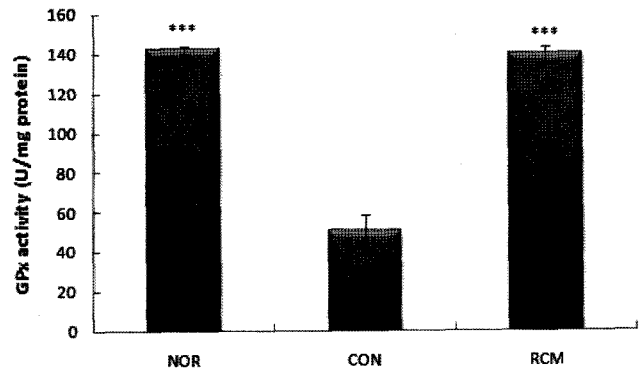
되는 것으로 보고되어 있다(Fridovich, 1986). 생체 내 항산화 방어기구 중 효소적 방어계의 하나인 SOD는 주로 미토콘드리아에 존재하며 superoxide radical을 환원하여 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 생성해 생체를 보호한다(Rosen *et al.*, 1993; Tainer *et al.*, 1983). LPS로 간독성이 유발한 쥐의 미토콘드리아 분획의 SOD의 함량은 Fig. 1에 나타내었다.

Mitochondria의 SOD 활성도 변화는 정상군이 LPS군에 비해 높게 나타났다. RCM-LPS군은 LPS군 보다 82.9% 증가됨을 알 수 있었다. LPS에 의하여 감소된 SOD는 RCM-LPS군에서 유의적인 증가를 보이며(*p* < 0.05), 이는 LPS에 의한 NO의 과도생성이 유발한 산화적 스트레스를 억제한 것으로 사료된다.

**간 조직 내의 catalase 활성측정.** 생체 내 생명 현상에서 필수적인 산화환원반응의 일종으로 생성된 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 다



**Fig. 2.** Effects of *Rubus coreanum* Miquel on catalase activities in Liver homogenate. NOR: normal group, CON: LPS-treated group, RCM: *Rubus coreanum* Miquel + LPS-treated group \*\**p* < 0.01, \**p* < 0.05 value are mean ± SE (n = 7).



**Fig. 3.** Effects of *Rubus coreanum* Miquel fractions on glutathione peroxidase activities in Liver homogenate. NOR: normal group, CON: LPS-treated group, RCM: *Rubus coreanum* Miquel + LPS-posttreated group. \*\*\**p* < 0.001 value are mean ± SE (n = 7).

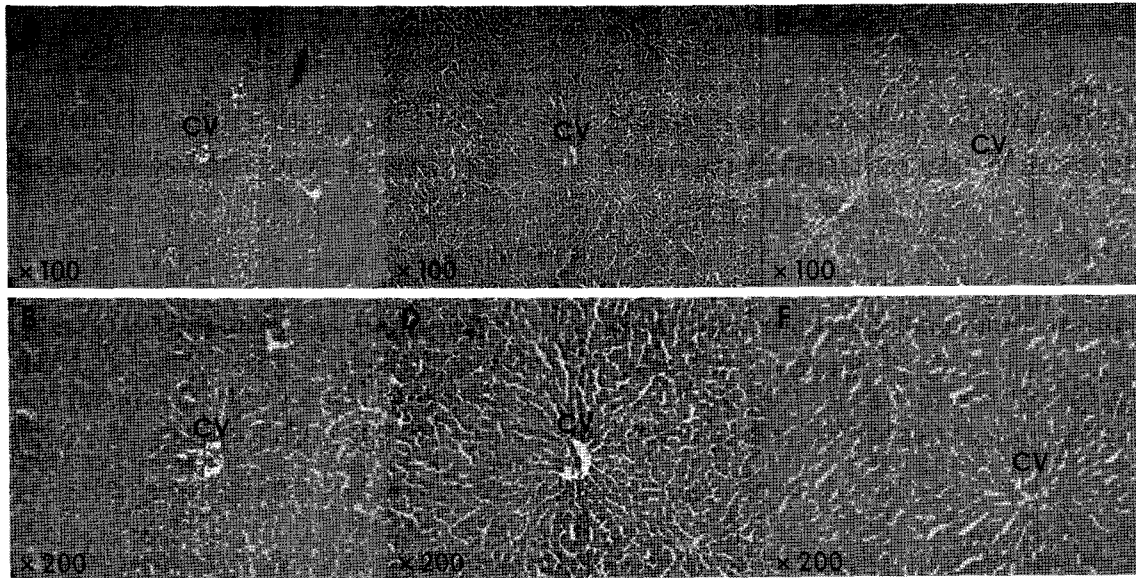
수의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 생성효소들과 복합체를 형성하여 peroxisome에 주로 분포하며 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 증가에 따른 조직손상을 방어하는 효과가 있다고 알려져 있다(Gutteridge *et al.*, 1983; Yosjikawa *et al.*, 1983). CAT 활성도는 Fig. 2에 나타내었다. 간 조직 내의 CAT 활성도는 정상군이 비해 LPS군이 3.13배 감소되었으며, 이는 LPS가 catalase의 활성을 감소시킨 것으로 사료된다. RCM-LPS군의 경우 CAT 활성도가 64.2%로 유의적인 증가를 보였다(*p* < 0.05). 이를 통해 복분자 추출물이 LPS의 독성을 억제시켜서 CAT 활성도가 증가된 것으로 사료된다.

**간 조직 내의 Glutathione peroxidase 활성측정.** Glutathione(GSH)은 산화적인 손상으로부터 적혈구를 보호하며 disulfide bond에 의해서 연결된 두 개의 tripeptide에 의해서 환원된 형태(GSH)와 산화된 형태(GSSG) 사이를 순환한다. Glutathione은 산소 이용시에 유해한 부산물인 hydrogen peroxide와 organic peroxide와 함께 반응함으로써 해독 작용에서 중요한 역할을 수행한다. GPx는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 lipid peroxide와 같은 다양한 종류의 peroxides를 조절한다. 이러한 조절작용을 통해 생체를 보호하는 GPx의 활성도는 Fig. 3에서 나타냈다. 정상군과

**Table 3.** Effects of *Rubus coreanum* Miquel extract on ALP, LDH levels in sera

Experimental group	ALP (U/l)	LDH (U/l)
NOR	27.83 ± 4.34***	143 ± 8.48***
CON	77.33 ± 4.16	847 ± 4.92
RCM	46.33 ± 0.57***	359 ± 2.82***

NOR: normal group, CON: LPS-treated group, RCM: *Rubus coreanum* Miquel + LPS-treated group. \*\*\**p* < 0.001 values are mean ± SE (n = 7).



**Fig. 4.** Histopathological Examination in liver tissue of *Rubus coreanum* Miquel and LPS-treated Rat (H&E). A: Normal group ( $\times 100$ ), B: Normal group ( $\times 200$ ), C: LPS-treated group ( $\times 100$ ), D: LPS-treated group ( $\times 200$ ), E: *Rubus coreanum* Miquel + LPS-treated group ( $\times 100$ ), F: *Rubus coreanum* Miquel + LPS-treated group ( $\times 200$ ).

LPS군을 비교시 LPS군에서 GPx의 활성도는 낮게 나타났으며, RCM-LPS군의 경우 LPS군에 비해 GPx 활성도가 96.7%로 유의적인 증가율을 보였다( $p < 0.001$ ). 이는 복분자 추출물이 LPS에 의한 산화적 스트레스를 억제효과가 있는 것으로 사료된다.

**조직 병리학적 검사.** 복분자 추출물의 간 보호효과를 평가하기 위해 Hematoxyline-Eosin으로 염색하여 광학 현미경(100배, 200배)으로 관찰하였으며, 그 결과는 Fig. 4에 나타내었다. 정상군에서 동물의 간 조직은 중심정맥(central veins)을 중심으로 잘 짜여진 소엽구조를 관찰할 수 있었으나, LPS를 투여한 군의 간조직은 중심정맥 주위의 간세포 괴사와 경화가 보여진다. 이에 비해 RCM-LPS군에서는 세포 괴사가 완화되어 간세포 변성면적이 작아짐으로서 중심정맥 주변에 조직 손상도가 상당히 개선되었음을 보여 주었다. 이는 AST 및 ALT 등을 포함하는 간기능의 지표가 되는 분석 자료가 RCM-LPS군에서 개선효과를 보인 것과 부합하는 결과이다.

이러한 결과는 장기간 섭취한 복분자 열수추출물의 LPS에 의하여 유도되는 간 독성에 대한 예방적 보호효과, 자양강장기능, 항산화 효과를 가지고 있음을 보여주는 것으로 간질환 치료제로의 개발이 가능할 것으로 사료된다.

## 참고문헌

Aebi, H. (1984). Catalase *in vitro* methods. *Enzymology*, **105**,

- 121-126.  
 Ambrogi, L.P. (1982). Manual of histological and special staining technics. *Armed. Forces. Institute of Pathology*, **33**, 407-445.  
 Beauchamp, C. and Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.*, **44**, 276-287.  
 Borek, C. (2001). Antioxidant health effects of aged garlic extract. *The Journal of Nutrition*, **131**, 1010-1025.  
 Cha, H.S., Park, K.S. and Park, K.M. (2001). Physiological activities of *Rubus coreanus* Miquel. *Korean J. Food. Sci. Technol.*, **33**, 409-415.  
 Dan, B. and Andrew, G. (1993). Chinese herbal medicine; materia medica. *Eastland Press*, **8**, 375-392.  
 Dantzer, R., Bluthe, R.M., Gheusi, G., Cremona, S., Laye, S., Parnet, P. and Kelley, K.W. (1998). Molecular basis of sickness behavior. *Annals N. Y. Acad. Sci.*, **856**, 126-134.  
 Enomoto, N., Yamashina, S. and Kono, H. (1999). Development of a new simple rat model of early alcohol-induced liver injury based on sensitization of kupffer cells. *Hepatology*, **29**, 1680-1689.  
 Fridovich, I. (1986). Biologic effects of the superoxide radicals. *Arch. Biochem. Biophys.*, **247**, 1-15.  
 Gabriel, L.P. and Hewitt, R.W. (1982). Principles and methods of toxicology. *Raven Press*, **8**, 407-445.  
 Gutteridge, J.M.C., Beard, A.P.C. and Quinlan, G.J. (1983). 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.  
 Halliwell, B. (1990). How to characterize a biological antioxidant. *Free Radic. Res. Commun.*, **9**, 1-12.  
 Jean, L., Bret, D. and Christophe, C. (1997). Systemic capsaicin pretreatment fails to block the decrease in food-moti-

- vated behavior induced by lipopolysaccharide and interleukin-1 $\beta$ . *Brain Research Bul.*, **42**, 443-449.
- Jeong, C.S., Jung, K.W. and Jeong, J.S. (1999). Hepatoprotective effect of subfractions of *Carthamus tinctorius* L. Semen on the reversal of biotransformation enzyme activities in CCl<sub>4</sub>-induced hepatotoxic rats. *J. Fd. Hyg. Safety*, **14**, 172-178.
- Kim, E.J., Lee, Y.J., Shin, H.K. and Park, J.H. (2005). Induction of apoptosis by the aqueous extract of *Rubus coreanum* in HT-29 human colon cancer cells. *Nutrition*, **21**, 1141-1148.
- Kim, H.C. and Lee, S.I. (1991). Comparison of the pharmacological effects of kinds of *Rubi Fructus*. *J. Herbology*, **6**, 3-12.
- Kim, T.J. (1997). Korean resources plants. *Seoul University Republished*, **11**, 276-285.
- Kuresh, A.Y. and James, A.J. (2001). A possible emerging role of phytochemicals in improving age-related neurological dysfunctions: A multiplicity of effects. *Free Radical Biology and Med.*, **30**, 583-594.
- Kwak, J.S., Kim, K.S. and Kim, D.H. (1995). The changes of the liver tissue induced by lipopolysaccharide. *The Kyungpook University Medical Journal*, **36**, 507-521.
- Lawrence, R.A. and Burk, R.F. (1976). Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **71**, 952-958.
- Lee, H.Y. (2003). Screening of biological activities of the extracts from *Rubus coreanus* Miq. *Korean J. Medicinal Crop. Sci.*, **11**, 5-12.
- Lee, M.W. (1995). Phenolic compounds from the leaves of *Rubus coreanum*. *Korean J. Pharmacogn.*, **39**, 200-204.
- Lee, Y.A. and Lee, M.W. (1995). Tannins from *Rubus coreanum*. *Korean J. Pharmacogn.*, **6**, 27-30.
- Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.S. and Randall, R.J. (1951). Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 256-261.
- Middleton, E. (1996). Biological properties of plant flavonoids an overview. *Int. J. Pharmacognosy*, **34**, 344-348.
- Park, J.H., Lee, H.S., Mun, H.C., Kim, D.H., Seong, N.S., Jung, H.G., Bang, J.K. and Lee, H.Y. (2004a). Effect of Ultrasonification process on enhancement of immunostimulatory activity of *Ephedra sinica* Stapf and *Rubus coreanus* Miq. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **19**, 113-117.
- Park, J.H., Lee, H.S., Mun, H.C., Kim, D.H., Seong, N.S., Jung, H.G., Bang, J.K. and Lee, H.Y. (2004b). Improvement of anticancer activation of ultrasonicated extracts from *Acanthopanax senticosus* Harms, *Ephedra sinica* Stapf and *Rubus coreanus* Miq. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **12**, 273-278.
- Rosen, D.R., Jakobisiak, M., Hartmann, R.P., Ortega, S. and Johnston, D.J. (1993). Mutations with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature*, **362**, 59-62.
- Tainer, J.A., Getzoff, E.D., Richardson, J.S. and Richardson, D.C. (1983). Structure and mechanism of Cu, Zn, superoxide dismutase. *Nature*, **306**, 274-287.
- Takaharu, N. and Kiyonori, Y. (1999). Low-dose  $\gamma$ -ray irradiation reduces oxidative damage induced by CCl<sub>4</sub> in mouse liver. *Free Radical Biology & Medicine*, **27**, 1324-1333.
- Yang, H.M., Lim, S.S., Lee, Y.S., Shin, H.K., Oh, Y.S. and Kim, J.K. (2007). Comparison of the Anti-inflammatory effects of the extracts from *Rubus coreanus* and *Rubus occidentalis*. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **39**, 342-347.
- Yosjikawa, T., Murakami, M., Yoshida, N., Seto, O. and Kondo, M. (1983). Effects of superoxide dimutase and catalase on disseminated intravascular coagulation in rats. *Thromb. Haemostas.*, **50**, 869-872.