

1-naphthylisothiocyanate에 기인된 랫드의 간내성 담즙분비 정지에 대한 인진호(*Artemisia messes-schmidiana var viridis*)의 지질 및 조직병리학적 영향

김길수 · 정영길* · 김무강*

아산생명과학연구소 실험동물연구실

충남대학교 수의과대학*

(1995년 3월 15일 접수)

Effect of *Artemisia messes-schmidiana var viridis* on lipid and histopathology for 1-naphthylisothiocyanate-induced intrahepatic cholestasis in rat

Kil-soo Kim, Young-gil Jeong*, Moo-kang Kim*

Department of Laboratory Animal Research, Asan Institute for Life Sciences

College of Veterinary Medicine, Chungnam National University*

(Received March 15, 1995)

Abstract : *Artemisia messes-schmidiana var viridis*(Compositae) has been used for jaundice, hepatitis, diuretic and liver cirrhosis etc.

1-naphthylisothiocyanate(ANIT) has been used as a model compound to study mechanisms of intrahepatic cholestasis in laboratory animals as rat and mouse.

The purposes of present study are to examine pharmacological effects of *Artemisia messes-schmidiana var viridis* water extract(AMWE) on alterations of triacylglycerol, cholesterol, protein, albumin and A/G ratio levels in serum, of histopathological appearances of liver, and that of hepatic microsomal cytochrome P-450 contents.

Increased serum triacylglycerol levels by ANIT were significantly decreased with AMWE. However, AMWE post-treatment aggravated ANIT-induced cholesterol increase. Serum total protein and albumin contents, and A/G ratio were decreased in all ANIT-treated groups, and there were increased compared with control by AMWE post-treatment. Hepatic microsomal cytochrome P-450 contents were decreased in either AMWE and ANIT treatment, which greatly increased with AMWE pretreatment. On the other hand, in histological findings, our results shown that ANIT induced increase of lipid droplets and widening of sinusoidal capillary and these phenomena were disappeared with AMWE treatment.

In conclusion, AMWE have choleresis effect. Also, AMWE improved lipid metabolism, protection and regeneration of hepatocytes in ANIT-induced cholestasis.

Key words : *Artemisia messes-schmidiana var viridis*, choleresis, ANIT, cholestasis, hepatoprotective effect

본 연구는 1994년도 아산생명과학연구소 연구비의 지원에 의하여 이루어졌음.

Address reprint requests to Dr Kil-soo Kim, Department of Laboratory Animal Research, ASAN Institute for Life Sciences, Seoul 138-040, Republic of Korea.

서 론

인진호(*Artemisia meseses-schmidiana var viridis*)는 국화과(*compositae*)에 속하는 낙엽관목으로 간염, 황달, 소염성이뇨 및 간경변증 등의 치료에 예로부터 한의학 및 민간요법에서 많이 사용되어져 왔으며 기타 용도로는 소염성이뇨, 해열, 산후하열 등에도 응용된다고 알려져 있다.¹⁻⁵

담즙분비정지(*cholestasis*)는 정상적인 양의 담즙이 십이지장까지 도달하지 못하는 것을 말하며 이로 인한 증후군은 미소체내의 포합장소에서부터 십이지장까지의 과정중 어느 곳이든지 막힘이 일어나므로서 발생될 수 있다. 여러가지 물질들이 실험적인 간내성담즙분비정지를 일으킨다고 알려져 있으나, 1-naphthylisothiocyanate (ANIT)는 실험적으로 담즙분비정지성 증후군을 연구하는데 있어서 대표적으로 사용되어지는 화학물질로, ANIT가 투여된 동물의 간에서 담관상피세포와 실질포에서의 피사를 비롯한 여러가지 양상의 생화학적 및 형태학적 변화를 일으킨다고 보고되어 있다.^{6,11} 이러한 ANIT의 독성기전에 관해서 최근의 많은 연구가 간장내 cytochrome P450-의존성 즉, mixed function oxidase (MFO)system의 역할에 주목을 하고 있으나^{9,11}, 아직까지 정확한 기전은 밝혀져 있지 않다.

한편, 인진호의 약효약리에 관련된 연구로는 한¹²이 인진의 성분과 유도체에 관한 생물화학적 연구로 담즙분비촉진성분이 있음을 밝혀 보고하였고, 배와 홍¹³은 토끼에 있어서 인진호의 이담작용과 간장의 microsomal cytochrome P-450함량증가를 관찰하여 보고를 하였다. 본 연구는 인진호수용성추출물이 정상 랫드의 담즙분비와 간기능에 미치는 영향과 ANIT로 유발된 간내성담즙분비정지에 대한 약리학적 효과를 검색하고 그 기전을 규명하기 위하여 랫드에 ANIT투여 전후로 인진호를 투여하여 혈청내 triacylglycerol, cholesterol, protein, albumin치, A/G ratio 그리고 간장을 비롯한 내부장기에서의 조직병리학적 소견과 간장 microsomal cytochrome P-450함량에서의 변화를 비교검토하였다.

재료 및 방법

실험동물 : 실험동물전용 고품사료(제일제당주식회사)로 사육한 180-220g의 Wistar계 웅성랫드를 12시간씩의 명암주기와 20℃내외의 온도하에서 사육하여

실험에 사용하였다.

인진호수용성추출물(*Artemisia meseses-schmidiana var viridis* water extract: AMWE)의 조제 : 인진호수용성추출물은 인진호에 10배량의 증류수를 가하여 환류냉각하에 3시간 끓인 후 냉각여과하고 잔사에 다시 10배량의 증류수를 가하여 재차 가열, 냉각, 여과한 후 두개의 여과액을 혼합하여 rotary evaporater로 농축한 다음 감압진조하여 수득물18%(w/w)에 해당하는 수용성추출물의 암갈색 분말을 얻었다.

실험군배치 및 약물투여 : 본 연구의 실험군은 랫드 10마리씩을 한 군으로 하여 6개군으로 나누어 배치하였다.

ANIT는 olive oil에 용해시켜(25mg/ml) 체중 100g 당 4.5mg을 경구투여하고 인진호추출물은 체중 100g 당 9mg을 증류수에 용해하여 경구투여하였다.

정상대조군(제 1군) : 아무런 실험적 처치를 실시하지 않았다.

인진호추출물단독투여군(제 2군) : 인진호추출물을 매일 1회씩 20일간 투여하였다.

ANIT-생리식염수투여군(제 3군) : ANIT를 매 5일 간격으로 5회(0, 5, 10, 15, 20일째)에 걸쳐 경구투여하고 동시에 생리식염수를 매일 1회씩 20일간 투여하였다.

ANIT-인진호추출물투여군(제 4군) : ANIT를 매 5일간격으로 5회(0, 5, 10, 15, 20일째)에 걸쳐 경구투여하고 동시에 인진호추출물을 매일 1회씩 20일간 투여하였다.

생리식염수-ANIT투여군(제 5군) : 생리식염수를 매일 1회씩 20일간 투여하고 ANIT를 시료채취 24시간 전에 1회 투여하였다.

인진호추출물-ANIT투여군(제 6군) : 인진호추출물을 매일 1회씩 20일간 투여하고 ANIT를 시료채취 24시간 전에 1회 투여하였다.

분석시료의 채취

혈청분리 : 랫드를 배위자세로 보정한 후 심장천자를 실시하여 혈액을 채취하고 3,000rpm에서 15분간 원심분리 후 혈청을 분리하여 혈청내 triacylglycerol, cholesterol, protein, 그리고 albumin치의 측정에 사용하였다.

간장의 채취 : 혈액채취 후 간장을 적출하여 Bansal 등의 방법¹⁴에 따라 간장 7g정도를 취하여 1:4(w/v)의 비율로 150mM KCl을 함유하는 130mM HEPES완충액(ph 7.4)으로 균질화한 후, 원심분리(700xg, 20분; 11,000xg, 30분; 105,000xg, 60분)를 실시하여 세포질

분획과 Pellet를 분리하였다. Pellet은 다시 동일한 완충액으로 부유시켜 원심분리(105,000xg에서 60분)를 재차 시행하였으며 얻어진 pellet을 건조된 1g에 대하여 완충액 1ml의 비율로 재건질화하여 마이크로솜분획을 만들고 cytochrome P-450정량때까지 -70℃에 보관하였다. 단백질정량은 Lowry등의 방법¹⁵에 따라 측정하였다. 이 모든 조작은 4℃에서 수행하였으며 남은 간장조직은 bouin용액에 넣어 고정시키고 통상적인 조직표본작성법에 따라 5µm 두께의 절편으로 만든 다음 hematoxylin-eosin염색을 하고 광학현미경하에서 조직의 변화를 관찰하였다.

혈청내 효소활성도 및 생화학적 조성의 측정 : 혈청내 triacylglycerol함량은 Handel법¹⁶, cholesterol함량은 Liebermann-Burchard반응직접법¹⁷, 총단백함량은 Biuret법¹⁸, 그리고 albumin함량은 BCG법¹⁹에 따라 각각 측정하였다.

Cytochrome P-450의 정량 : cytochrome P-450의 정량은 Omura와 Sato의 방법²⁰에 따라 간장 마이크로솜을 0.1M 인산염완충액(ph 7.5)으로 1.0mg/ml가 되도록 희석하고 분광광도계의 reference 및 시료 cuvette에 각각 1ml씩 주입한 후 Na₂S₂O₄를 약 1mg을 첨가하였다. 그리고 시료cuvette에만 일산화탄소 가스를 약 2분간 거품이 나오도록 통과시킨 후 450nm와 490nm에서의 흡광도 차이를 측정하였으며 밀리몰흡광계수(91mM⁻¹cm⁻¹)를 이용하여 P-450함량을 결정하였다.

결 과

혈청내 triacylglycerol과 cholesterol함량의 변화 : Fig 1에 나타난 바와 같이 혈청내 triacylglycerol(mg/dl) 함량은 대조군의 78.2±2.9에 비하여 인진호단독투여군에서는 79.3±5.2로 거의 변화가 없었으나 ANIT가 투여된 모든 실험군 및 대조군에서는 증가가 되었는데, 인진호전처치군에서는 98.4±6.1로 대조군의 126.6±6.4에 비하여 함량이 매우 유의하게 감소되었다.

혈청내 cholesterol(mg/dl)함량은 Fig 2에서 보여주는 바와 같이 정상군의 62.4±4.1에 비하여 인진호단독투여군에서는 60.6±3.3으로 별다른 변화가 없었고 ANIT가 투여된 두개의 대조군에서는 모두 경미하게 증가되었는데, 인진호후처치군에서는 87.5±3.1로 대조군의 71.5±3.7에 비하여 오히려 유의하게 증가되는 경향을 나타내었다.

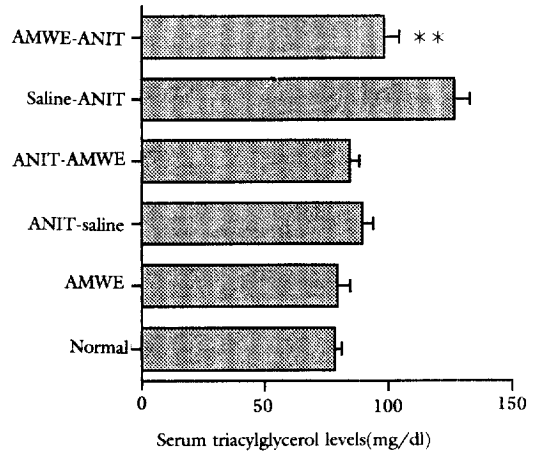


Fig 1. Effect of AMWE on serum triacylglycerol levels in ANIT-induced cholestatic rat.

Each values represent the mean ± SE.

** : p < 0.01

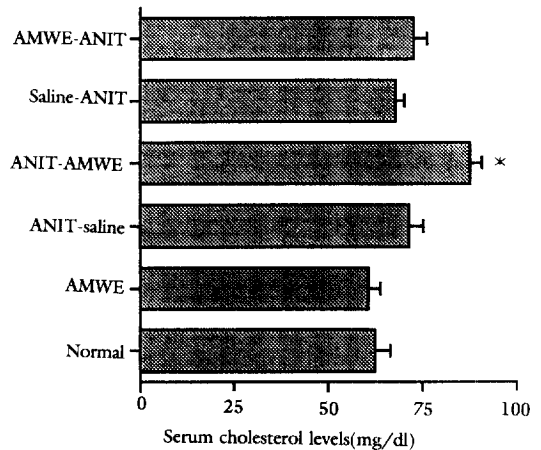


Fig 2. Effect of AMWE on serum cholesterol levels in ANIT-induced cholestatic rat.

Each values represent the mean ± SE.

* : p < 0.05

혈청내 총 단백질, albumin함량, 그리고 A/G ratio의 변화 : Table 1에 나열한 바와 같이 혈청내 총 단백질(g/dl)함량은 정상군에 비하여 ANIT가 투여된 모든 대조군 및 실험군에서는 감소되어 나타났는데, 인진호후처치군에서는 그 대조군에 비하여 유의하게 증가되었고 기타 인진호전처치군에서는 대조군에 비하여 유의할

Table 1. Effects of AMWE on serum total protein, albumin levels and A/G ratio in ANIT-induced cholestatic rat

Groups	Protein(g/dl)	Albumin(g/dl)	A/G ratio
Normal	5.46±0.05	3.40±0.04	1.76±0.05
AMWE	5.51±0.10	3.35±0.15	1.81±0.09
ANIT-saline	4.62±0.05	2.51±0.11	1.51±0.08
ANIT-AMWE	4.96±0.09*	2.88±0.10*	1.75±0.04*
Saline-ANIT	4.80±0.08	2.96±0.11	1.65±0.04
AMWE-ANIT	4.96±0.16	3.10±0.12	1.69±0.07

Values represent mean±SE.

AMWE(*Artemisia Messes-schmidiana var viridis* water extract): 9mg/100g per os

ANIT(1-naphthylisothiocyanate): 4.5mg/100g per os

*: p<0.05, **: p<0.01

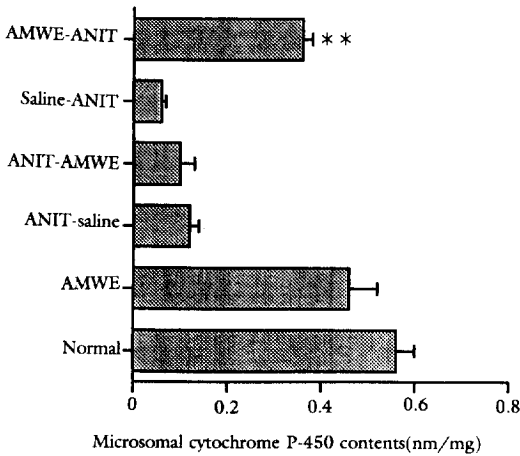


Fig 3. Effect of AMWE on hepatic microsomal cytochrome P-450 contents in ANIT-induced cholestatic rat.

Each values represent the mean±SE.

** : p<0.01

만한 변화가 관찰되지 못하였다.

혈청내 albumin(g/dl)함량은 정상군에 비하여 인진호단독투여군에서는 거의 변화가 없었으나, ANIT가 투여된 대조군 및 실험군에서는 현저한 감소를 나타내었는데 인진호후처치군에서는 그 대조군에 비하여 유

의하게 증가되었다.

A/G ratio는 정상군에 비하여 인진호단독투여는 영향을 미치지 못하였으나, ANIT의 처치가 이루어진 대조군에서는 그 비율이 낮아졌고 인진호후처치에 의하여 거의 정상군수준으로 회복되었다.

간장 마이크로솜분획내 cytochrome P-450함량의 변화 : 간장 마이크로솜분획내 cytochrome P-450(nmoles/mg)함량은 Fig 3에 나타난 바와 같이 정상군의 0.56±0.04에 비하여 인진호단독투여에 의해서는 0.46±0.06으로 다소 감소되는 변화가 있었고 ANIT가 투여된 인진호후처치 및 전처치대조군에서는 각각 0.12±0.02, 0.06±0.01로 급격한 감소를 나타내었는데, 인진호전처치군에서는 0.36±0.03으로 그 대조군에 비하여 매우 유의하게 농도가 증가되어 있음을 나타내었다.

조직병리학적 변화 : 간장조직의 변화는 Fig 4, 5, 6에 나타난 바와 같이, 인진호단독투여군에서는 정상대조군에 비해 동모양혈관(sinusoidal capillary)내 별모양큰포식세포(kupffer cell)의 증가 및 간삼조(portal triad)주위에 결합조직의 증가 이외에는 전체적으로 특이한 변화가 없었다. ANIT가 투여된 인진호후처치대조군에서는 정상대조군에 비하여 간세포내 지방소적양 공포의 증가, 동모양혈관의 확장 및 별모양큰포식세포의 증가를 관찰할 수 있었다. 인호후처치군에서는 그 대조군에 비하여 지방소적 및 동모양혈관이 정상대조군과 차

이가 없었으며 세포분열중인 간세포가 비교적 많이 관찰되었다. 한편 인진호전처치군 및 그 대조군에서의 결과는 인진호후처치대조군에서 관찰되는 양상과 커다란 차이가 없었다.

고 찰

인진호(*Artemisia Messes-schmidiana var viridis*)는 동아시아를 중심으로 널리 자생하는 국화과(Compositae)에 속하는 낙엽관목으로^{1,5}, 鄉藥集成方 및 本草綱目에는 인진호가 황달과 기타 간질환의 처방에 대해 이용되고 있다고 하였다^{21,22}.

인진호의 성분중 정유와 scoparon류가 이담작용을 나타낸다고 보고되어져 있는데^{3,23}, 관심을 끄는 것은 이들 각 성분들이 상호간에 상협작용이 있다는 점이며 특히, 인진호단독보다는 대황, 산치자등이 복합적으로 처방된 약제가 더욱 최담효과가 뛰어났다는 보고³이다.

1-naphthylisothiocyanate(ANIT)는 백색 침상결정의 성상을 띠고 과거에는 pyrethrum과 더불어 살충제로도 사용되다가 있는 화학물로 실험적으로 간내성담즙분비 정지의 기전을 연구하는데 사용되고 있다. ANIT가 투여된 동물의 간에서는 담관상피세포와 실질세포에서의 괴사를 비롯한 여러가지 형태의 생화학적 및 형태학적 변화가 일어난다고 보고되어져 있다^{6,9}. 이러한 ANIT의 독성기전에 관해서 최근의 많은 연구^{9,11}들은 간장내 cytochrome P450-의존성 즉, mixed function oxidase (MFO)system의 역할에 주목을 하고 있으나, 아직까지 정확한 기전은 밝혀져 있지 않다.

본 연구의 결과를 살펴보면, 혈청내 triacylglycerol 함량은 정상군에 비하여 인진호단독투여에 의하여는 거의 영향을 받지 않았으나 ANIT가 투여된 군에서는 모두 증가가 되었는데 특히, 인진호전처치군 및 그 대조군에서는 증가가 뚜렷하였으며, 인진호처치에 따라 함량이 낮아지는 경향을 보이고 인진호전처치군에서는 그 대조군에 비하여 매우 유의하게 낮은 수치를 나타내었다. 이러한 양상은 ANIT처치로 정상적인 담즙분비가 이루어지지 않아 십이지장내에서 식이성지방의 유제화가 감소됨에 따라 혈중의 triacylglycerol의 함량이 증가된것으로 보여지며 인진호는 이러한 상황에서 최담효과를 발휘하여 체장 lipase가 작용하기 쉬운 환경을 제공한 것으로 사료된다. 반면에 cholesterol함량에서는 ANIT처치로 인한 증가가 인진호처치로 더욱 증가되는 상반되는 결과가 나왔는데, ANIT로 인한 cholesterol함

량의 증가는 통상적으로 약물의 중독시 간장의 담즙정체와 같은 담도계의 이상으로 담즙으로의 분비가 되지 못하고 역류하거나 담즙산으로의 대사부전으로 증가될 수 있고 간세포내 lysosomal cholesterol esterase의 기능 손상으로 인한 이화작용의 저하로 일어날 수 있다는 사실²⁴에 관련을 지을 수 있을 것이다. 그러나 본 연구에서는 인진호처치에 따라 대조군에 비하여 더욱 cholesterol함량이 증가한 점은 명확하게 구분지을 수는 없으나 인진호가 간내 cholesterol의 절대적인 합성을 증가시키거나 혹은 지질용해성의 성질이 있지 않은가 추측된다.

혈청내 총 단백(g/dl) 및 albumin(g/dl)함량은 ANIT에 의하여 감소되었고 인진호후처치군에서는 그 대조군에 비하여 유의하게 증가되었는데, 이러한 양상은 A/G ratio에서도 유사하게 나타났다. 혈청내 총 단백 및 albumin함량은 인진호단독투여에 의하여 다소 증가되거나 거의 영향을 받지 않아 인진호단독투여는 체내 간장의 단백대사에 커다란 영향을 미치지 않았으나, ANIT에 의한 간실질장애에 따른 단백합성의 저하를 인진호가 개선시킨다고 추정할 수가 있다. 그리고 인진호후처치군과 전처치군사이의 차이는 ANIT의 투여횟수 및 시간경과에 따른 차이로 볼 수가 있다. 단백 및 RNA합성억제제가 ANIT독성을 경감시킨다는 보고²⁵와는 다소 불일치하는 결과로 ANIT로 인한 간손상에서 인진호가 발휘하는 개선효과는 단백질의 항상성은 결정적인 요인이 아닐 수도 있다는 가능성을 제시하고 있다.

간장 마이크로솜분획내 cytochrome P-450의 함량은 정상군에 비하여 인진호투여와 ANIT투여에 의하여 낮아지고 인진호전처치군에서는 그 대조군에 비하여 cytochrome P-450함량이 높은데, 이러한 결과는 ANIT의 독성작용이 간내 마이크로솜 cytochrome P-450을 경유하여 즉, mixed function oxidase를 통해서 대사가 되고 그 대사산물에 의하여 주도될 것이라고 보고된 연구결과^{9,10}를 토대로 본다면 인진호의 ANIT에 대한 길항작용은 약물대사효소계에 있어서의 경쟁적 길항작용 내지는 효소유도의 억제 결과로 볼 수가 있다. 그리고 인진호의 약리작용도 cytochrome P-450의존성의 약물대사체를 경유하여 발현되는 것으로 사료가 된다. 조직병리학적 소견에서는 ANIT의 간세포에 미치는 형태학적인 변화 즉, 간세포내 지방소적의 증가와 sinusoidal capillary의 확장등의 변화를 인진호후처치대조군에서 관찰할 수 있었으며, 인진호의 처치에 의하여 그러한 병변이 교정되는 것으로 보아 인진호에는 간세포 재생의 효과가 있음을 알 수가 있었다. 그러나 인진호

전처치군에서의 간세포재생효과가 미약한 것으로 보아 인진호의 작용은 ANIT가 대사된 후 그 대사산물에 작용을 나타내는 것으로 여겨진다.

이상의 결과를 종합하면 인진호는 이담효과가 있어 간장내 지질대사를 개선시키며 간세포의 보호 및 재생작용이 있어 ANIT로 인한 담즙분비정지에 있어서의 회복효과가 있음을 알 수 있었다. 그러나 본 연구에서는 인진호의 효과가 ANIT의 대사억제에 의한 것인지 혹은 ANIT의 대사산물에 대한 작용에 의한 것인지에 대한 증거를 규명하지는 못하였고 이들 사이에는 매우 복잡한 기전이 관련이 되어 있을 것으로 생각된다. 아울러 향후 인진호의 용량 및 투여기간을 달리하거나 또는 해부학적으로 담낭이 있는 다른 실험동물을 대상으로 보다 구체적인 실험이 진행되어 진다면, 담즙분비정지의 증후를 극복하는 단서가 밝혀질 것이며 인진호의 유효성분을 중심으로 신약으로의 개발화가 이루어 질 것이다.

결 론

인진호(*Artemisia messes-schmidiana var viridis*)는 민간요법에서 간염, 황달, 소염성이뇨, 간경변증등의 치료에 이용되어져 오고있는 국화과에 속하는 낙엽관목이다.

1-naphthylisothiocyanate(ANIT)는 랫드와 마우스 같은 실험동물을 대상으로 실험적으로 간내성 담즙분비정지(intrahepatic cholestasis)를 유발하는 대표적인 화학물질로, 간에서 담관상피세포와 실질세포에서의 괴사를 비롯한 여러가지 양상의 생화학적 및 형태학적 변

화를 일으킨다.

본 연구는 인진호수용성추출물이 ANIT로 유발된 간내성담즙분비정지(intrahepatic cholestasis)에 대한 약리학적 효과를 검색하고 그 기전을 규명하기 위하여 랫드에 ANIT투여 전후로 인진호를 투여하여 혈청내 triacylglycerol, cholesterol, protein, albumin, 그리고 A/G ratio, 간장의 조직병리학적 소견, 그리고 간장 마이크로솜분획내 cytochrome P-450함량에서의 변화를 비교검토하였다.

ANIT처치로 혈청내 triacylglycerol치는 정상군에 비하여 증가가 되었고, 인진호전처치에 의하여 이러한 증가는 매우 유의하게 감소되었다. ANIT처치로 cholesterol치는 증가되었는데, 인진호후처치군에서는 더욱 증가되었다. 혈청내 총단백과 albumin함량 및 A/G ratio는 ANIT가 투여된 모든 대조군 및 실험군에서는 감소되어 나타났는데, 인진호후처치군에서는 그 대조군에 비하여 유의하게 증가되었다. 간장의 마이크로솜분획내 cytochrome P-450(nmoles/mg)함량은 정상군에 비하여 인진호와 ANIT가 투여된 군에서 감소되었는데, 인진호전처치군에서는 그 대조군에 비하여 매우 유의하게 증가되었다. 한편, 조직학적 소견에서 ANIT투여에 의하여 간세포내에 지방소적양 공포의 현저한 증가와 동모양혈관의 확장이 관찰되었고 인진호를 투여하면 이러한 소견은 나타나지 않았고 정상군과 거의 유사한 소견을 나타내었다.

결론적으로 인진호는 이담효과가 있어 간장내 지질대사를 개선시키며 간세포의 보호 및 재생작용이 있어 ANIT로 인한 담즙분비정지에 있어서의 회복효과가 있음을 알 수 있었다.

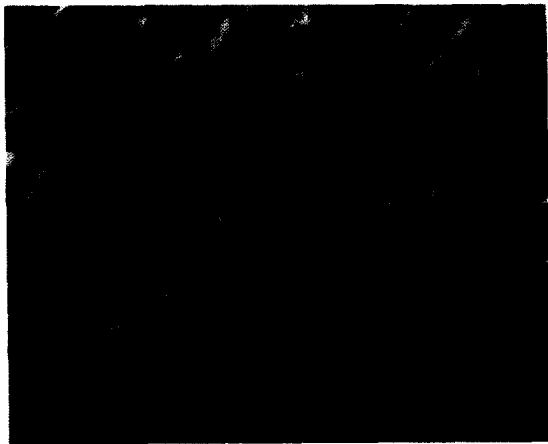
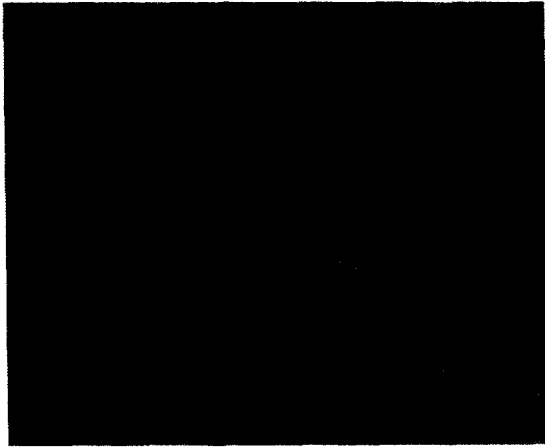
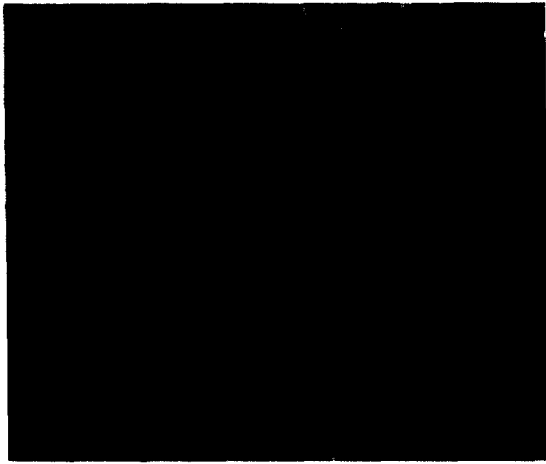
Legends for figures

Fig 4. Liver of the normal control rat. H-E stain, $\times 200$.

Fig 5. Liver of the ANIT-saline group. Many lipid droplet-like structures were seen in the cytoplasm of hepatocyte.

S: sinusoidal capillary, CV: central vein, arrowhead: lipid droplet-like structure. H-E stain, $\times 400$.

Fig 6. Liver of the AMWE-ANIT group. Similar with normal control rat in hepatocyte. H-E stain, $\times 400$.



참 고 문 헌

1. 육창수, 양한석, 김태휘 등. 현대생약학. 서울: 학창사, 1993; 241-244.
2. 문관심. 약초의 성분과 이용. 서울: 일월서각, 1991; 601-603.
3. 難波恒雄. 原色和漢藥圖鑑(下卷). 東京: 保育社, 1980; 38-41.
4. 臺灣植物誌編輯委員會. *Flora of Taiwan Vol IV* Taiwan: Epoch Publishing Co, 1978; 786-787.
5. Hsu HY, Chen YP, Shen SJ, et al. *Oriental Materia Medica*. HongKong: Oriental Healing Arts Institute, 1986; 275-277.
6. Plaa GL, Priestly BG. Intrahepatic cholestasis induced by drugs and chemicals. *Pharmacol Rev* 1976; 28: 207-273.
7. Bulle F, Mavier P, Zafrani ES, et al. Mechanism of γ -glutamyl transpeptidase release in serum during intrahepatic and extrahepatic cholestasis in the rat: A histochemical, biochemical and molecular approach. *Hepatology* 1990; 11: 545-550.
8. Alpini G, Lenzi R, Zhai WR, et al. Bile secretory function of intrahepatic biliary epithelium in the rat. *Am J Physiol* 1989; 20: G124-G133.
9. Plaa GL. Toxic responses of the liver. In: Amdur MO, Doull J, K laassen CD, eds. *Casarett and Doull's Toxicology*. 4th ed. NewYork: Pergamon Press, 1991; 342-344.
10. Elhawari AM, Plaa GL. Impairment of hepatic mixed-function oxidase activity by-and-naphthylisothiocyanate: Relationship to hepatotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 1979; 48: 445-458.
11. Traiger GJ, Vyas KP, Hanzlik RP. Effect of thiocarbonyl compounds on -naphthylisothiocyanates induced hepatotoxicity and the urinary excretion of [35S] -naphthylisothiocyanate in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 1984; 72: 504-512.
12. 한덕용. 한국인진성분과 그 유도체에 관한 생물 화학적 연구. 대한약학회지 1966; 10: 20-25.
13. 배영숙, 홍영숙. 인진호의 담즙분비기전에 관하여. 한국생활과학연구원 논총 1980; 25: 151-160.
14. Bansal SK, Love J, Gurtoo HL. High pressure liquid chromatographic separation of multiple forms of cytochrome P-450. *Biochem Biophys Res Commun* 1983; 117: 268-274.
15. Lowry OH, Rosebrough HJ, Farr AB, et al. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.
16. Van Handel E, Zilversmit DB. Micromethod for the direct determination of serum triglyceride. *J Lab Clin Med* 1957; 50: 152-157.
17. Kim E, Goldberg M. Serum cholesterol assay using a stable Liebermann-Burchard reagent. *Clin Chem* 1969; 15: 1171-1179.
18. Gornall AG, Bardawill CJ, David MM. Determination of serum proteins by means of the biuret reagent. *J Biol Chem* 1949; 177: 751-766.
19. Dumas BJ, Biggs HG. Determination of serum albumins. *Standard methods of clinical chemistry*. Washington: American Association for Clinical Chemistry, 1972; 7: 175-188.
20. Omura T, Sato R. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. II. solubilization, purification and properties. *J Biol Chem* 1964; 239: 2379-2385.
21. 世宗命撰. 鄉藥集成方. 서울: 杏林書院, 1942; 613-623.
22. 李時珍. 本草綱目. 서울: 高文社, 1973; 549-550.
23. 上海科學技術出版社. 中藥大辭典(下卷). 香港: 尙武印書館, 1975; 91-103.
24. 강운세 등 11인. 생화학. 서울: 고문사, 1989; 229-326.
25. Klaassen CD, Watkins JB. Mechanisms of bile formation, hepatic uptake, and biliary excretion. *Pharmacol Rev* 1984; 36(1): 1-67.