대한한방내과학회지 제31권 1호(2010년 3월)
Korean J. Orient.Int. Med. 2010:31(1)11-24

枳椇子 山靑木 配合이 D-galactosamine 유발 백서의 간손상에 미치는 影響

이선아, 문 구
원광대학교 한의과대학 내과학교실

Effects of Mixture with *Hovenia dulcis* Thunb and *Acer tegmentosum* Maxim on Liver Failure Induced by D-galactosamine in Rats

Seon-a Lee, Goo Moon
Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Won-Kwang University

ABSTRACT

Objectives : This study was carried out to investigate the hepatoprotective effects of mixture with *Hovenia dulcis* Thunb (HDT) and *Acer tegmentosum* Maxim(ATM) on D-galactosamine-induced liver failure in rats.

Methods : The animals were divided into 4 groups: control, with liver failure and no treatment; H1A1, with liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 1; H1A2, with liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 2; H1A4, with liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 4. The animals were treated for 3 weeks and then examinations of change of body weight, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), gamma glutamyl transpeptidase (γ-GTP), total cholesterol, triglyceride, total bilirubin, superoxide dismutase (SOD), catalase, histopathologic change, and complete blood count (CBC) were performed.

Results : All experimental groups had significantly decreased AST in serum and markedly increased activity of SOD as compared with the control group. H1A1, and H1A4 significantly decreased ALT in serum and H1A4 at 2 weeks was significantly higher on the change of body weight as compared with the control group. In histopathologic change of liver tissue by light microscopy, all experimental groups showed recovery effects of liver cells which were damaged by D-galactosamine.

Conclusions : Based upon these results, it could be assumed that a mixture of HDT and ATM has hepatoprotective and antioxidative effects on D-galactosamine-induced liver failure. Therefore, a mixture of HDT and ATM might be utilized as a protective agent in therapy for liver diseases.

Key words : *Hovenia dulcis* Thunb, *Acer tegmentosum* Maxim, D-galactosamine, Liver failure, Hepatoprotective effects

Ⅰ. 서 론

간은 실질장기 중 가장 큰 기관으로 음식물과 그 대사물, 그리고 인체의 평형을 유지하는데 필요한 여러 가지 물질들의 전환, 합성, 분해, 저장을 담당하는데, 이러한 간의 중요한 기능 중 한 가지는 해독작용으로 약물, 호르몬 및 다른 물질들을 제거하거나 배출하는 것을 말한다[1]. 따라서 내인성, 외인성 물질들의 대사에 있어 중추적인 기능을 가진 기관이기 때문에 독성물질에 노출될 수 있는 위험률이 높은데, 현대인은 과식, 과음, 과로, 공해물질, 스트레스 등에 항상 노출되어 있어 간손상이

· 교신저자: 문 구 전북 전주시 덕진구 덕진동 2가 142-1
원광대학교 전주한방병원 3내과
TEL: 063-270-1114 FAX: 063-270-1594
E-mail: gmoon@wonkwang.ac.kr

빈발하므로 지방간, 간염, 간경화, 간암 등의 간질환이 증가하고 있는 추세이다[2].

근래 민간에서 활용되고 있는 약물 중 枳椇子는 간기능 활성물질이 구명되었고, 알코올 분해효소의 활성을 높이는 것으로 나타나 간독성 해소 효능이 보고되었으며[3], 山靑木은 간의 난치병 치료에 주약으로 쓰이고 있는 등 지구자와 산청목이 간보호 효과가 있는 것으로 알려져 관심이 증대되고 있다[4].

지구자는 갈매나무과에 속하는 헛개나무의 과병을 가진 열매나 종자를 말하는데, 그 기원은 *Hovenia dulcis* Thunb 로 국내 황해도 이남 산의 계곡가에 분포되어 있다[5]. 그 性味는 平無毒, 甘酸하고, 心, 脾, 小腸으로 歸經하며, 淸熱除煩, 解毒利尿의 작용을 가지고 있어서 황달, 지방간, 간경화 등의 간기능 보호에 효능이 뛰어난 것으로 알려져 있다[6,7]. 지구자에 관한 연구로는 최 등[8]이 헛개나무 열매 추출물의 강한 항산화 효능을, 이[9]가 헛개나무 열매 추출물의 간해독 및 알코올 분해 활성작용을, 황 등[10]은 헛개나무 목부 추출물이 간효소 수치를 회복시키고, 암세포의 증식을 억제하는 효과를 있음을 보고하였다.

산청목은 단풍나무과의 낙엽활엽 소교목인 산겨릅나무로서, 그 기원은 *Acer tegmentosum* Maxim 으로 국내 중부이북 태백산 등의 계곡가에 분포되어 있다[11]. 그 性味는 淡白하고 藥性이 따뜻한 淸血利水劑로, 민간에서 벌나무라고 불리우며, 본초에서는 청해척이라 하여 消腫化毒과 止血 효능을 나타낸다[12]. 산청목에 관한 연구로는 권 등[13]은 산청목 추출물의 전자공여능과 항산화 효능에 의한 간손상 억제 효과를, 김 등[14]이 산청목 추출물이 지질과산화 함량을 억제시키는 간보호 작용을 가지고 있음을, 신 등[15]은 산청목 추출물이 간암 및 위암세포의 성장을 억제시키는 효과를 나타내었다고 보고하였다.

지구자와 산청목에 관한 각각의 생리 활성 연구는 위와 같이 활발하게 이루어지고 있으나, 산청목에 대한 인지도는 지구자에 미치지 못하고 있는 실정이며, 이 두 약물의 배합물이 가지는 간손상에 대한 효과에 관해서는 아직까지 접하지 못하였다.

이에 지구자는 일정 농도로 하고, 산청목의 농도를 변화시킨 지구자와 산청목의 배합이 간손상에 미치는 영향을 알아보고자 D-galactosamine으로 유발된 간손상 백서의 체중, 간기능, 혈청 지질, Superoxide dismutase(SOD), catalase, 간조직의 변화, complete blood count(CBC)를 관찰한 바 다음과 같은 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

1. 재 료

1) 동 물

실험동물은 230-250g의 8주령 수컷 Sprague Dawley계 백서(다물사이언스, Korea)로 실험 기간 동안 실내온도 23±2℃, 습도 50±5%를 유지하였으며, 명암은 12시간 주기로 하였다. 물과 고형사료(삼양, Korea)를 자유롭게 섭취하도록 하였다.

2) 약재 및 약물 제조

지구자는 충청북도 제천의 산지에서 채취하여 열매 부위를 선택하였으며, 산청목은 강원도 정선 가리왕산에서 채취하여 잔가지 부위를 선택하였는데, 이 두 약재는 동신대학교 한의과대학 본초학교실의 검증을 거쳐 사용하였다.

지구자(*Hovenia dulcis* Thunb, HDT)와 산청목(*Acer tegmentosum* Maxim, ATM) 각각 300g을 증류수 1000ml와 함께 전자식약탕기(DWP-2000M, 대웅전기산업(주), Korea)에서 3시간 전탕 추출하고 여과하였으며, 여과액 중에 미량 침전물을 제거하기 위해 고속원심분리기(Centrikon T-42K, Kontron instruments, Italy)에서 15분간 3,000rpm으로 원심분리하여 상층액을 취하였고, 상층액을 다시 감압농축(Buchi, Netherlands)하여 전량이 100ml가 되도록 농축한 후, 진공동결건조(SFDSM06, 삼원냉열엔지니어링, Korea)하여 지구자와 산청목 분말 13.5g(수율 : 4.50%), 3.5g(수율 : 1.16%)을 각각 얻

었다.

2. 방 법

1) 간손상 유발

간손상 유발은 Jonker 등[16]의 방법에 따라 D-galactosamine(GalN)을 백서의 체중 kg 당 600mg 농도로 복강주사하여 유발시켰다.

2) 투여 용량 및 실험군 분류

지구자와 산청목의 성인 60kg 기준 1일 투여량을 8g으로 산정하였으며, 이에 본 연구에서 추출한 분말의 양으로 환산하였을 경우 지구자는 6 mg/kg, 산청목은 1.55 mg/kg 이었다.

실험군 분류에 있어서 GalN으로 간손상을 유발한 후 무 처치한 군을 대조군(Control, Con, n=6)으로 하였고, 각 실험군은 GalN으로 간손상을 유발한 후 다음 날부터 지구자:산청목 비율을 1:1(6 mg/kg : 1.55 mg/kg)로 투여한 지구자1+산청목1 배합투여군(H1A1), 지구자:산청목 비율을 1:2(6 mg/kg : 3.1 mg/kg)로 투여한 지구자1+산청목2 배합투여군(H1A2), 지구자:산청목 비율을 1:4(6 mg/kg : 6.2 mg/kg)로 투여한 지구자1+산청목4 배합투여군(H1A4)으로 나누었다. 각 실험군 별로 해당하는 양을 음용수 500ml에 녹여 구강투여를 시행하였는데, 매일 자연스럽게 섭취할 수 있도록 물병에 용해시켜서 3주간 섭취하도록 하였다.

Table 1. Distribution of Groups

Groups	Treatment
Control	GalN-induced liver failure and no treatment
H1A1	GalN-induced liver failure and oral treatment with HDT(6 mg/kg) and ATM(1.55 mg/kg)
H1A2	GalN-induced liver failure and oral treatment with HDT(6 mg/kg) and ATM(3.1 mg/kg)
H1A4	GalN-induced liver failure and oral treatment with HDT(6 mg/kg) and ATM(6.2 mg/kg)

3) 체중 측정 및 혈청 분석

GalN으로 간손상을 유발시킨 후, 실험이 진행되는 3주 동안 대조군과 실험군 백서의 체중을 매주 측정하였다.

3주째에 백서를 심장천자하여 혈액을 얻었고, 고속원심분리기(Centrikon T-42K, Kontron instruments, Italy)를 이용하여 4,500rpm 에서 10분 동안 원심분리하여 혈청을 얻었다.

분리된 혈청은 측정하기 전까지는 4℃에 보관하였으며, Aspartate aminotransferase(AST)는 GOT/AST-PⅢ Slide(Fujifilm Corporation, Japan)를, Alanine aminotransferase(ALT)는 GPT/ALT-PⅢ Slide(Fujifilm Corporation, Japan)를, Gamma glutamyl transpeptidase(γ-GTP)는 γ-GTP-PⅢ Slide(Fujifilm Corporation, Japan)를, total cholesterol은 TCHO-PⅢ Slide(Fujifilm Corporation, Japan)를, triglyceride는 TG-PⅢ Slide(Fujifilm Corporation, Japan)를, total bilirubin은 TBIL-PⅢ Slide(Fujifilm Corporation, Japan)를 이용하여 Fuji Dri-chem Clinical Chemistry Analyzer(Fuji Dri-chem 4000i, Japan)로 측정하였다.

4) SOD 및 catalase의 활성 측정

실험동물로부터 간조직만을 신속히 분리하였고, 채취된 간조직은 증류수로 3회 세척한 후 0.1 mM EDTA와 50 mM phosphate buffer(pH 7.4)를 간조직 시료의 4배량으로 첨가하여 세절한 다음, 균질액을 얻기 위하여 homogenizer(JANKE & KUNKEL, ULTRA-TURRAX T25, Germany)를 이용하여 4℃에서 균질화하였다. 이 균질액으로부터 핵 분핵을 제거하기 위해 4℃에서 2,000xg으로 5분 동안 원심분리하고, 다시 4℃의 22,000xg에서 30분 동안 원심분리하여 세포질 분획과 미토콘드리아 분획으로 분리하였다. 분리된 분획 중 상층액만을 조심스럽게 제거한 후 순수 분리를 위해 16,000xg에서 10분 동안 원심분리하여 순수한 CuZnSOD를 얻었으며, 이 조효소액을 단백질 분석에 이용하였다. 미토콘드리아에 분포하는 MnSOD를 얻기 위해 전단계에서의 pellet에 50 mM phosphate buffer(pH 7.4), 0.25 M sucrose, 0.1 mM EDTA 용액 1㎖를

첨가하여 부유시킨 다음, 4℃에서 22,000xg으로 30분 동안 원심분리하여 상층액만을 분리한 후, 다시 80,000xg으로 30분간 원심분리하여 순수한 MnSOD를 얻었다. 단백질 정량은 Bio-Rad assay를 이용하여 시행하였으며, -70℃의 deep freezer에 보관하면서 실험에 이용하였다. 분리된 단백질에서 SOD의 활성도를 측정하기 위해 정량한 단백질 100 ㎍/㎕를 non-denaturing polyacrylamide gel electrophoresis를 이용하여 4℃의 저온 상태에서 30mA로 전기영동하였으며, gel은 0.05 M KH_2PO_4(pH 7.8), 1×10-4 M EDTA, 2.45 ×10-3 M NBT를 포함한 용액에서 알루미늄 호일을 덮어 계속 흔들어 주면서 20분 동안 염색하였다. 다시 gel은 0.05 M KH_2PO_4(pH 7.8), 1×10-4 M EDTA, 0.028 M TEMED, 2.8×10-5 M riboflavin 용액에서 15분 동안 2차 염색한 후 15W 형광램프 하에서 단백질 band를 확인하였으며, 그 결과는 densitometer(ImageMaster VDS, Pharmacia)를 이용하여 분석하였다.

Catalase 활성도 측정은 50 mM 인산칼슘 완충액(pH 7.2)에 기질인 10 mM H_2O_2 효소액을 가하여 최종 반응액이 3.0㎖가 되게 한 다음, 25℃에서 30초간 반응시키면서 240㎚ 파장에서 소실되는 H_2O_2의 양을 측정하였으며, 효소 활성도의 단위는 15초간에 1㎎의 단백이 반응하여 환원시킨 H_2O_2를 환산하여 나타내었다.

5) 간조직의 광학현미경 관찰

광학현미경 관찰을 위하여 실험동물의 간조직을 적출하였으며, 적출한 조직을 4%의 paraformaldehyde를 사용하여 24시간 동안 고정시킨 다음, 70%, 80%, 90% 및 100% ethanol/xylol(1:2)액에 각각 2시간 통과시켜 탈수하고 55°C incubator에서 xylol/hard paraffin(2:1), xylol/hard paraffin(1:2) 및 hard paraffin 용액으로 3시간씩 처리한 후 paraffin 포매하였다. 이를 microtome을 사용하여 5μm 두께로 절편을 제작한 후 hematoxylin과 eosin으로 이중염색하고, 200배율로 광학현미경(Olympus BX51TF, Japan)을 이용하여 사진을 촬영하여 관찰하였다.

3. 통계 처리

각 실험군들 간의 통계적 분석은 Window용 SPSS(version 12.0)를 사용하였으며, 각 대상들의 측정값은 평균과 표준오차로 기록하였다. 각 집단간의 변수들의 차이 비교는 Kruskal-Wallis test로 시행하였고, 유의한 차이가 있는 경우 집단간의 차이를 비교하기 위하여 Mann-Whitney U test로 검정하였다. 유의수준은 $p<0.05$로 하였다[17].

III. 결 과

1. 체중 변화에 미치는 영향

지구자와 산청목을 농도별로 배합한 제제가 D-galactosamine으로 유발된 간손상 백서의 체중 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 1주째에 Control군이 2.7±10.49 g, H1A1군이 4.0±4.30 g, H1A2군이 -2.0±4.15 g, H1A4군이 15.6±9.79 g을 나타내었고, 2주째에 Control군이 41.7±10.11 g, H1A1군이 59.8±5.00 g, H1A2군이 47.6±4.47 g, H1A4군이 72.4±7.50 g을 나타내었으며, 3주째에 Control군이 104.8±8.92 g, H1A1군이 110.6±11.43 g, H1A2군이 102.2±8.18 g, H1A4군이 118.0±9.13 g을 나타내었다. 대조군에 비하여 1주째와 3주째의 각 군은 유의한 차이를 보이지 않았으며, 2주째의 H1A4 실험군에서 유의한 체중 증가를 보였다($P<0.05$)(Fig. 1).

2. AST에 미치는 영향

지구자와 산청목을 농도별로 배합한 제제가 D-galactosamine으로 유발된 간손상 백서의 AST에 미치는 영향을 관찰한 결과, Control군이 161.0±34.39 U/L, H1A1군이 64.8±13.86 U/L, H1A2군이 72.2±9.12 U/L, H1A4군이 59.6±8.24 U/L를 나타내었다. 대조군에 비하여 각 실험군 모두 유의한 감소를 보였다($P<0.05$)(Fig. 2).

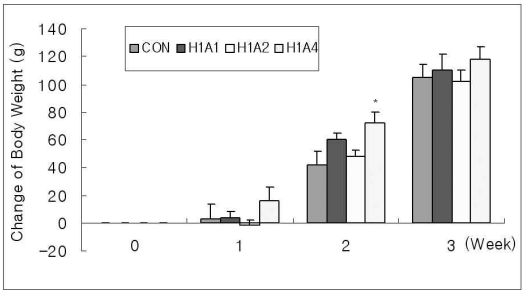

Fig. 1. Effects of *Hovenia dulcis* Thunb(HDT) and *Acer tegmentosum* Maxim(ATM) on the change of body weight in liver failure rat induced by D-galactosamine.

Control, liver failure and no treatment ; H1A1, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 1 ; H1A2, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 2 ; H1A4, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 4. Results are shown as mean±S.E. *, P<0.05 as compared with the corresponding data of control group.

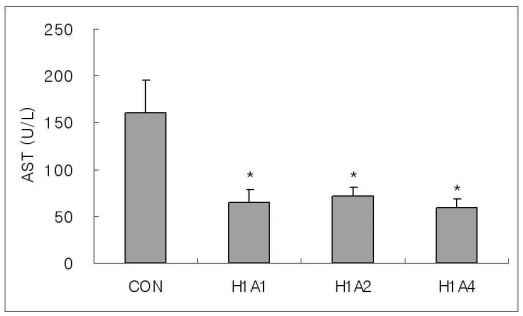

Fig. 2. Effects of *Hovenia dulcis* Thunb(HDT) and *Acer tegmentosum* Maxim(ATM) on AST in liver failure rat induced by D-galactosamine.

Control, liver failure and no treatment ; H1A1, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 1 ; H1A2, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 2 ; H1A4, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 4. Results are shown as mean±S.E. *, P<0.05 as compared with the corresponding data of control group.

3. ALT에 미치는 영향

지구자와 산청목을 농도별로 배합한 제제가 D-galactosamine으로 유발된 간손상 백서의 ALT에 미치는 영향을 관찰한 결과, Control군이 52.6±17.87 U/L, H1A1군이 17.3±1.26 U/L, H1A2군이 24.5 ±2.54 U/L, H1A4군이 18.2±2.36 U/L를 나타내었다. 대조군에 비하여 H1A1군과 H1A4군이 유의한 감소를 보였으며, H1A2군은 감소의 경향을 나타내었다(P<0.05)(Fig. 3).

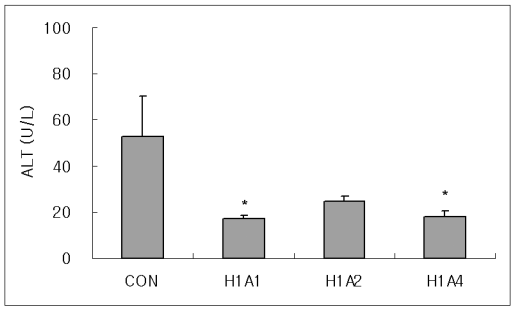

Fig. 3. Effects of *Hovenia dulcis* Thunb(HDT) and *Acer tegmentosum* Maxim(ATM) on ALT in liver failure rat induced by D-galactosamine.

Control, liver failure and no treatment ; H1A1, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 1 ; H1A2, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 2 ; H1A4, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 4. Results are shown as mean±S.E. *, P<0.05 as compared with the corresponding data of control group.

4. γ-GTP에 미치는 영향

지구자와 산청목을 농도별로 배합한 제제가 D-galactosamine으로 유발된 간손상 백서의 γ-GTP에 미치는 영향을 관찰한 결과, Control군이 5.33±0.33 mg/dL, H1A1군이 6.00±0.26 mg/dL, H1A2군이 5.83 ±0.48 mg/dL, H1A4군이 5.83±0.31 mg/dL를 나타내었다. 대조군에 비하여 각 실험군 모두는 유의한 차이를 나타내지 않았다(Fig. 4).

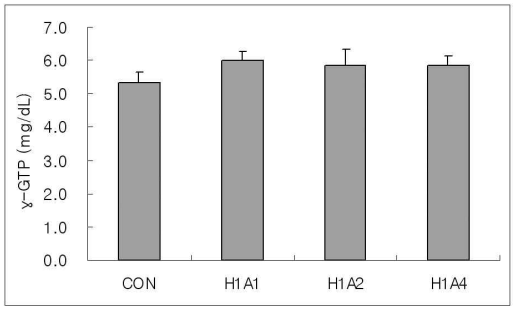

Fig. 4. Effects of *Hovenia dulcis* Thunb(HDT) and *Acer tegmentosum* Maxim(ATM) on γ-GTP in liver failure rat induced by D-galactosamine.

Control, liver failure and no treatment ; H1A1, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 1 ; H1A2, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 2 ; H1A4, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 4. Results are shown as mean±S.E.

5. Total cholesterol(TCHO)에 미치는 영향

지구자와 산청목을 농도별로 배합한 제제가 D-galactosamine으로 유발된 간손상 백서의 TCHO에 미치는 영향을 관찰한 결과, Control군이 39.3±5.63 mg/dL, H1A1군이 36.2±6.43 mg/dL, H1A2군이 40.8±3.09 mg/dL, H1A4군이 40.2±7.53 mg/dL를 나타내었다. 대조군에 비하여 각 실험군 모두는 유의한 차이를 나타내지 않았다(Fig. 5).

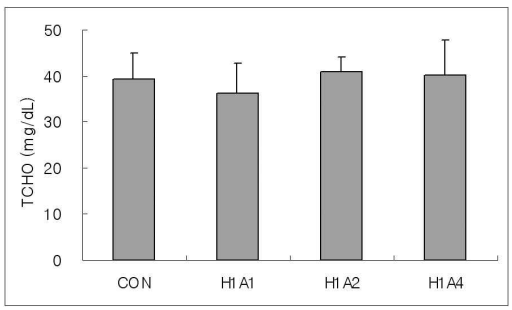

Fig. 5. Effects of *Hovenia dulcis* Thunb(HDT) and *Acer tegmentosum* Maxim(ATM) on TCHO in liver failure rat induced by D-galactosamine.

Control, liver failure and no treatment ; H1A1, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 1 ; H1A2, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 2 ; H1A4, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 4. Results are shown as mean±S.E.

6. Triglyceride(TG)에 미치는 영향

지구자와 산청목을 농도별로 배합한 제제가 D-galactosamine으로 유발된 간손상 백서의 TG에 미치는 영향을 관찰한 결과, Control군이 23.0±4.38 mg/dL, H1A1군이 13.7±4.81 mg/dL, H1A2군이 22.3±2.55 mg/dL, H1A4군이 24.7±1.89 mg/dL를 나타내었다. 대조군에 비하여 각 실험군 모두는 유의한 차이를 나타내지 않았다(Fig. 6).

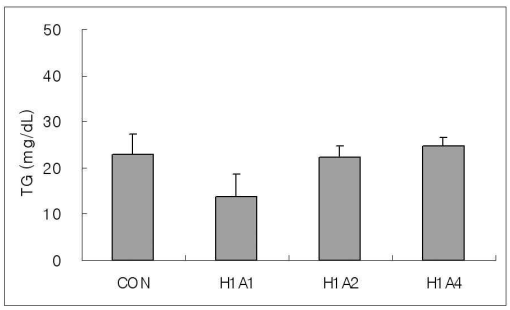

Fig. 6. Effects of *Hovenia dulcis* Thunb(HDT) and *Acer tegmentosum* Maxim(ATM) on TG in liver failure rat induced by D-galactosamine.

Control, liver failure and no treatment ; H1A1, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 1 ; H1A2, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 2 ; H1A4, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 4. Results are shown as mean±S.E.

7. Total bilirubin(TBIL)에 미치는 영향

지구자와 산청목을 농도별로 배합한 제제가 D-galactosamine으로 유발된 간손상 백서의 TBIL에 미치는 영향을 관찰한 결과, Control군이 0.53±0.05 mg/dL, H1A1군이 0.47±0.04 mg/dL, H1A2군이 0.45±0.03 mg/dL, H1A4군이 0.50±0.04 mg/dL를 나타내었다. 대조군에 비하여 각 실험군 모두는 유의한 차이를 나타내지 않았다(Fig. 7).

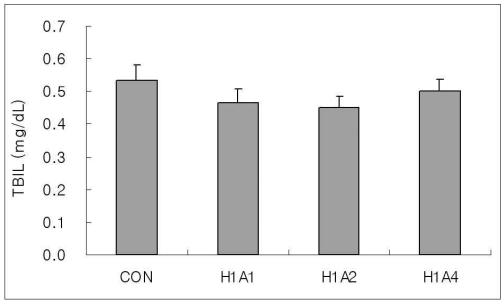

Fig. 7. Effects of *Hovenia dulcis* Thunb(HDT) and *Acer tegmentosum* Maxim(ATM) on TBIL in liver failure rat induced by D-galactosamine.

Control, liver failure and no treatment ; H1A1, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 1 ; H1A2, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 2 ; H1A4, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 4. Results are shown as mean±S.E.

8. SOD에 미치는 영향

지구자와 산청목을 농도별로 배합한 제제가 D-galactosamine으로 유발된 간손상 백서의 SOD에 미치는 영향을 관찰한 결과, Control군이 65.2±0.72 u/mg protein, H1A1군이 120.5±4.49 u/mg protein, H1A2군이 116.6±2.44 u/mg proteinl, H1A4군이 113.3±5.05 u/mg protein을 나타내었다. 대조군에 비하여 각 실험군 모두 유의한 증가를 보였다 (P<0.01)(Fig. 8).

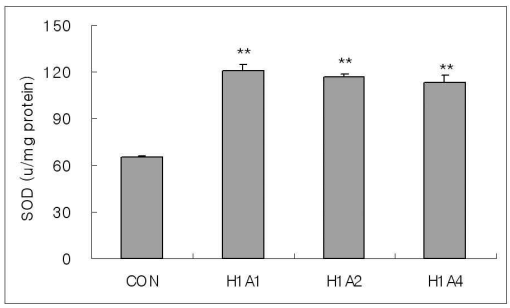

Fig. 8. Effects of *Hovenia dulcis* Thunb(HDT) and *Acer tegmentosum* Maxim(ATM) on SOD in liver failure rat induced by D-galactosamine.

Control, liver failure and no treatment ; H1A1, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 1 ; H1A2, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 2 ; H1A4, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 4. Results are shown as mean±S.E. **, P<0.01 as compared with the corresponding data of control group.

9. Catalase에 미치는 영향

지구자와 산청목을 농도별로 배합한 제제가 D-galactosamine으로 유발된 간손상 백서의 catalase에 미치는 영향을 관찰한 결과, Control군이 7.9±0.8 u/mg protein, H1A1군이 11.8±1.8 u/mg protein, H1A2군이 11.9±1.4 u/mg protein, H1A4군이 11.0±1.0 u/mg protein을 나타내었다. 대조군에 비하여 각 실험군 모두 유의한 차이를 나타내지는 않았지만, 증가의 경향을 보였다(Fig. 9).

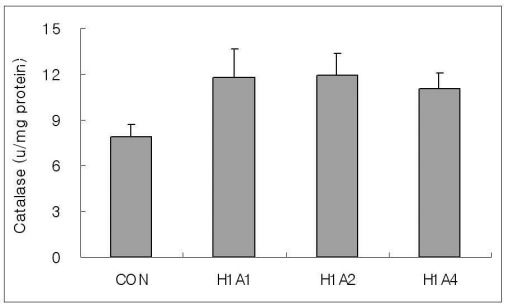

Fig. 9. Effects of *Hovenia dulcis* Thunb(HDT) and *Acer tegmentosum* Maxim(ATM) on catalase in liver failure rat induced by D-galactosamine.

Control, liver failure and no treatment ; H1A1, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 1 ; H1A2, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 2 ; H1A4, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 4. Results are shown as mean±S.E.

10. 간조직의 변화에 미치는 영향

지구자와 산청목을 농도별로 배합한 제제가 D-galactosamine으로 유발된 간손상 백서의 병리조직학적 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 대조군의 경우 간세포의 괴사와 염증세포 침윤, 퇴화된 세포

가 나타나 손상이 관찰되었고, 각 실험군의 경우 대조군에 비하여 간소엽의 구조가 비교적 잘 유지되었고, 간세포의 염증과 괴사 정도가 적은 것으로 나타나 손상된 간세포가 회복된 형태를 나타내었다(Fig. 10).

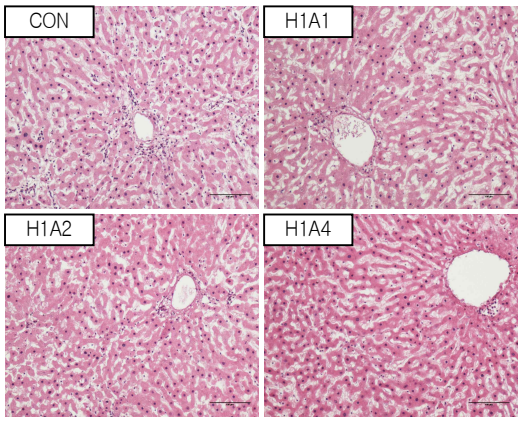

Fig. 10. Effects of *Hovenia dulcis* Thunb(HDT) and *Acer tegmentosum* Maxim(ATM) on histopathologic change by light microscopy in liver failure rat induced by D-galactosamine.

Control, liver failure and no treatment ; H1A1, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 1 ; H1A2, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 2 ; H1A4, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 4.

11. 혈액학적 변화에 미치는 영향

지구자와 산청목을 농도별로 배합한 제제가 D-galactosamine으로 유발된 간손상 백서의 CBC 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, WBC의 경우 Control군이 5.17±1.03 K/uL, H1A1군이 7.96±1.30 K/uL, H1A2군이 6.27±0.81 K/uL, H1A4군이 5.64±0.92 K/uL를 나타내었고, RBC의 경우 Control군이 8.79±0.34 M/uL, H1A1군이 8.95±0.24 M/uL, H1A2군이 9.01±0.18 M/uL, H1A4군이 8.88±0.26 M/uL를 나타내었으며, Hb의 경우 Control군이 14.38±0.70 g/dL, H1A1군이 15.43±0.50 g/dL, H1A2군이 16.47±0.34 g/dL, H1A4군이 16.20±0.36 g/dL를 나타내었고, HCT의 경우 Control군이 51.97±1.57 %, H1A1군이 52.67±1.10 %, H1A2군이 49.85±0.61 %, H1A4군이 48.48±1.14 %를 나타내었으며, PLT의 경우 Control군이 1,176.0±56.6 K/uL, H1A1군이 1,211.5±33.4 K/uL, H1A2군이 1,124.7±169.5 K/uL, H1A4군이 1,271.7±57.5 K/uL를 나타내었다. 대조군에 비하여 모두 유의한 차이를 나타내지 않았으며, RBC, Hb, HCT, PLT의 경우 비슷한 수준을 보였고, WBC의 경우 실험군 모두 유의성은 없었으나, 증가의 경향을 보였다(Fig. 11).

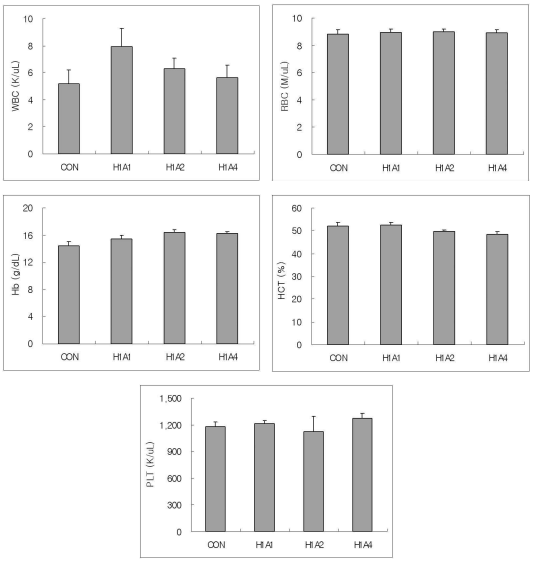

Fig. 11. Effects of *Hovenia dulcis* Thunb(HDT) and *Acer tegmentosum* Maxim(ATM) on CBC in liver failure rat induced by D-galactosamine.

Upper Left, WBC ; Upper Right, RBC ; Middle Left, Hb ; Middle Right, HCT ; Lower, PLT. Control, liver failure and no treatment ; H1A1, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 1 ; H1A2, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 2 ; H1A4, liver failure and oral treatment with HDT 1 and ATM 4. Results are shown as mean±S.E.

Ⅳ. 고 찰

간은 우리 몸에서 가장 큰 기관 중의 하나로 탄수화물, 단백질 및 지질대사의 중추적인 역할을 담당하고, 독성물질 해독 및 알부민, 혈액 응고 성분을 포함한 다양한 혈청 단백질의 생성, 담즙의 생성 및 배설 등 여러 기능을 하는 것으로 알려져 있다[18].

이러한 간이 내외요인으로 인해 그 대사기능을 상실하면 여러 가지 간질환이 발생하게 되며, 음주, 고지방식, 감염, 중독 등이 원인이 되어 이로 인해 간세포의 변성 및 괴사, 지방축적, 간 효소의 누출 등의 간손상을 받게 된다[19].

간손상 유발을 위해 사용되는 약물 중 D-galactosamine (GalN)은 간세포 내에서 uridine phosphate 중간체가 galactose 대사과정에서 소모되어 uridine 대사가 억제되고, 그 결과 RNA와 단백질 합성에 이상을 일으켜 세포막에 이상이 생기고 세포내로 많은 양의 칼슘이 유입되면서 간세포의 괴사가 일어나게 하는 것으로 알려져 있다[20].

지구자의 효능은 <本草從新>에서 '止渴除煩, 潤五臟, 解酒毒, 葛根解酒而發散 不如枳椇' 라 하였고[21], <本草綱目>에서 '止嘔逆, 解酒毒, 辟蟲毒' 이라 하였으며[22], 김 등[23]이 흰쥐에 CCL_4로 간독성을 유발시킨 뒤 지구자 추출물을 투여하였을 때 AST, ALT 및 lactate dehydrogenase(LDH)의 값이 각각 45%, 52% 및 52% 감소하였고, 알코올성 간손상을 시킨 후 지구자 추출물을 투여한 경우에는 혈중 알코올 농도가 44% 감소하였음을 보고하였다.

산청목은 淸血利水劑로서 혈액을 맑게 하고, 간을 해독하며, 소변을 잘 나오게 하는 효능이 있어서 간염, 간경화 등의 일체 간질환에 탁월한 치료효과가 있는 것으로 알려져 있으며[4,24], 홍 등[25]이 산청목 줄기 추출물의 생리 활성을 검정한 결과, 높은 프리 라디칼 소거 활성능을 나타내어 강한 항산화 활성 효과를 가지고 있으며, 이 외에도 우수한 항지질과산화 활성과 항미생물 활성작용을 나타내었다고 보고하였다.

근래 간에 관한 생리 활성 약물로 관심이 증대되고 있는 지구자와 산청목 추출물에 관한 단일 연구들은 위에서와 같이 진행되어 그 효과가 보고되고 있으나, 두 약물의 배합물이 가지는 간손상 회복 효과에 관한 연구 보고는 아직 접하지 못하였다.

이에 지구자와 산청목의 농도별 배합이 간손상에 미치는 영향을 알아보고자 D-galactosamin (GalN)으로 유발된 간손상 백서의 체중, 간기능, 혈청 지질, SOD, catalase, 간조직의 변화, CBC를 관찰한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

지구자와 산청목을 농도별로 배합한 제제가 간손상 백서의 체중 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 대조군에 비하여 1주째와 3주째의 각 군은 유의한 차이를 보이지 않았으며, 2주째 지구자와 산청목 1대 4 비율의 배합군(H1A4)에서 유의한 증가를 보였다.

유 등[26]은 흰쥐에서의 알코올 유도 간손상 후 정상군에 비하여 체중이 감소하였으며, 지구자 추출물 투여시 대조군에 비하여 체중이 증가의 경향이 있음을 보고하였다. 정 등[27]은 흰쥐에 GaIN으로 간중독을 시킨 경우 체중과 간중량이 감소했으며, 황금 · 인진 · 작약 · 치자의 복합제제를 투여했을 시 대조군과 비교할 때 체중은 증가의 경향을, 간중량은 유의성 있는 증가를 보여주었다고 보고하였다. 본 연구에서는 2주째에 대조군에 비하여 지구자와 산청목을 농도별로 배합한 제제가 GalN으로 감소된 체중을 회복시키는 작용이 발휘되는 것으로 나타났으며, 배합 비율 중 H1A4군이 유의성 있게 증가되었기 때문에 효과적인 것으로 사료된다.

간기능에 미치는 영향을 알아보기 위하여 혈청 중 AST, ALT 및 γ-GTP를 관찰하였다. 혈청 aminotransferase인 AST와 ALT는 오랫동안 간질환 진단에 활용되어 왔고, 다른 질환과의 감별 등에 널리 이용되고 있으며, 간장애, 심근경색, 간염, 지방간, 간경변증, 근질환, 간종양 등에서 증가된다[28,29].

지구자와 산청목을 농도별로 배합한 제제가 간손상 백서의 aminotransferase 활성에 미치는 영향을 관찰한 결과, 대조군에 비하여 AST의 경우 지구자와 산청목을 배합한 각 실험군 모두 유의한 감소를 보였으며, ALT의 경우 지구자와 산청목 1대 1 비율의 배합군(H1A1)과 지구자와 산청목 1대 4 비율의 배합군(H1A4)이 유의한 감소를 보였고, 지구자와 산청목 1대 2 비율의 배합군(H1A2)은 감소의 경향을 나타내었다.

간세포 손상은 수송 기능 및 세포막 투과성에 변화를 초래하여 결국 세포로부터 효소들을 혈액으로 방출시키며, 이에 AST와 ALT의 순환계로의 방출 정도는 간조직 및 세포의 손상 상태를 파악할 수 있음을 의미하는데[30], 본 연구에서 AST와 ALT가 감소한 것으로 보아 지구자와 산청목 배합 투여는 간손상 보호 활성을 촉진하는 것으로 사료된다.

본 연구에서 지구자와 산청목 배합군을 설계함에 있어, 지구자는 일정농도로 하고 산청목 비율을 2배수로 증량시켜, 세 가지 실험군의 농도 비율에 차이를 두었는데, AST와 ALT 수치의 감소정도가 증량시킨 산청목의 농도에 비례하여 더 좋은 결과를 나타내지는 않았다. 즉, 산청목의 농도 비율을 높여도 의미있는 효과가 나타나지 않았으므로, 본 연구의 지구자와 산청목 투여 용량 범위 안에서 산청목의 증량과 간기능 회복은 관계없다고 사료된다.

γ-GTP는 γ-glutamyl기를 다른 amino-acid 또는 peptide로 전이하는 효소로 간담도계 질환을 진단하는데 주요하게 활용되는 지표이며[29], 지구자와 산청목을 농도별로 배합한 제제가 간손상 백서의 γ-GTP에 미치는 영향을 관찰한 결과, 대조군에 비하여 각 실험군 모두는 유의한 차이를 나타내지 않았으며, 따라서 지구자와 산청목 배합제제는 γ-GTP에 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

김 등[31]은 순수 ethanol을 경구 투여하여 알코올 간손상을 유발시킨 쥐에게 지구자를 투여한 후 혈액과 간조직을 검사한 결과, 지구자를 투여한 경우 알코올 분해대사에 관여하는 alcohol dehydrogenase와 acetaldehyde를 분해하는 aldehyde dehydrogenase 효소 활성이 약 30~60% 이상 증가하는 것이 확인되었고, 간해독작용의 주요지표인 Gultathione S-Transferase 효소가 120~300% 이상 활성화되는 효과를 보고하였다.

본 실험 결과 AST, AST 는 유의성 있는 감소를 보였으나, 알코올에 의한 간장애 지표인 γ-GTP는 알코올 분해 활성효과가 있는 지구자를 투여했음에도 불구하고 유의한 차이를 나타내지 않았는데, 이는 알코올성 간손상을 시키지 않고, GalN으로 간손상을 유발했기 때문으로 사료되며, 향후 알코올성 간손상을 시킨 후 지구자와 산청목 배합군이 γ-GTP의 변화에 미치는 영향에 대하여 추가적인 연구를 할 필요가 있다고 사료된다.

혈청 중 total cholesterol(TCHO)은 관상동맥질환 발생과 상관성이 있기 때문에 중요시되고 있으며, triglyceride(TG)는 장관에서 소화 흡수되고, 주로 림프관으로부터 흉관을 통하여 혈류로 들어가며, TG의 가수분해로 생긴 유리 지방산은 대부분 세포로 들어가 이용되나, 일부는 지방조직에서 TG로 재합성되면서 저장되는데, 이러한 TG의 상승은 음식물로 섭취되는 지방의 증가와 지방 처리 기능의 저하로 인하여 발생된다[29].

본 연구에서 지구자와 산청목을 농도별로 배합한 제제가 간손상 백서의 TCHO과 TG에 미치는 영향을 관찰한 결과, 대조군에 비하여 각 실험군 모두는 유의한 차이를 나타내지 않았으며, 따라서 지구자와 산청목 배합제제는 지질대사에 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

혈액 내 빌리루빈의 농도는 빌리루빈의 생성과 간세포의 접합능과 배설능에 의해서 좌우된다. 정상적으로 혈액 내 총 빌리루빈의 농도는 1 mg/dL 이하로 낮게 유지되며, 직접 빌리루빈의 상승은 간이나 담도계 질환에서 특징적으로 나타난다[18].

본 연구에서 지구자와 산청목을 농도별로 배합

한 제제가 간손상 백서의 total bilirubin(TBIL)에 미치는 영향을 관찰한 결과, GalN으로 유발된 간손상에서 대조군의 수치가 0.55 mg/dL의 수준을 보여 주었고, 각 실험군 모두 유의한 차이를 나타내지 않았으며, 이에 지구자와 산청목 배합제제는 빌리루빈의 대사에 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

SOD는 반응성이 높으며 독성을 유발하는 라디칼인 superoxide anion radical을 과산화수소수로 dismutation시키는 역할을 담당하는 효과적인 항산화 효소이다[32].

본 연구에서 지구자와 산청목을 농도별로 배합한 제제가 SOD에 미치는 영향을 관찰한 결과, 대조군에 비하여 각 실험군 모두 유의한 증가를 보여주어 지구자와 산청목 배합제제는 항산화 작용이 발휘되는 것으로 사료된다. 정 등[33]은 SOD 유사활성은 소수의 식물에서만 나타난다고 보고하였고, 권 등[13]은 lipopolysaccharide(LPS) 투여로 유발된 흰쥐의 간손상에 대한 산청목 추출물의 SOD 유사활성 관찰에서 aqueous fraction에서 높은 활성을 나타내었음을 보고하였는데, 본 연구의 지구자와 산청목을 배합한 제제가 SOD 유사활성을 증가시키는 결과도 이와 부합되는 것으로 사료된다.

Catalase는 과산화수소가 분해되어 물과 산소가 만들어지는 반응을 촉매하는 효소이며 간 속에 많이 존재하는데, 해독작용 즉 몸에 해로운 물질을 빠르게 없애주는 작용을 하는 효소들 중의 하나이다[34].

본 연구에서 지구자와 산청목을 농도별로 배합한 제제가 간손상 백서의 catalase에 미치는 영향을 관찰한 결과, 대조군에 비하여 각 실험군 모두 증가의 경향을 보였으나, 유의한 차이를 나타내지 않았는데, 유 등[26]이 알코올로 유발된 간손상에 대하여 지구자 추출물 투여는 catalase의 활성에 향상 효과가 발휘되지 않았음을 보고한 것과 같은 결과로 사료된다.

지구자와 산청목을 농도별로 배합한 제제가 간손상 백서의 간조직의 형태학적 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 대조군의 경우 간세포의 괴사와 염증세포 침윤, 퇴화된 세포가 나타나 손상이 관찰되었고, 각 실험군의 경우 대조군에 비하여 간소엽의 구조가 비교적 잘 유지되었고, 간세포의 염증과 괴사 정도가 적은 것으로 나타나 손상된 간세포가 회복된 형태를 나타내었다.

마 등[35]은 사염화탄소로 유발된 간손상 백서에서 지구자 추출액 투여군은 대조군에 비하여 간세포 변성이 감소하였음을 보고하였는데, 본 연구의 결과와 부합하는 것으로 사료된다.

권 등[13]은 LPS 투여로 유발된 간손상 흰쥐에서 간조직을 병리조직학적으로 검사한 결과 산청목 추출물 투여군이 대조군에 비하여 간세포의 염증과 괴사의 정도가 적은 것으로 나타났다고 보고하였는데, 본 연구에서도 이와 같은 결과가 발현된 것으로 사료된다.

지구자와 산청목을 농도별로 배합한 제제가 CBC 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 대조군에 비하여 모두 유의한 차이를 나타내지 않았으며, WBC의 경우 유의성은 없었으나 증가의 경향을, RBC, Hb, HCT, PLT의 경우에는 비슷한 수준을 나타낸 것으로 보아 지구자와 산청목의 배합 투여는 혈액학적 소견에 영향을 미치는 않는 것으로 사료된다.

마 등[35]은 사염화탄소로 유발된 간손상 백서에서 WBC, RBC는 증가의 경향을, Hb, HCT는 유의한 증가를, PLT는 유의한 감소를 나타내었고, 지구자 추출액을 투여한 경우에는 PLT가 사염화탄소를 처치한 경우 감소했던 부분이 33% 증가되었음을 보고하였는데, 본 연구에서 PLT가 H1A4군에서 대조군보다 약간 증가의 경향을 보여주고 있는 것과 유사한 결과를 나타낸 것으로 사료된다.

본 연구에서 D-galactosamine으로 간손상을 유발시킨 백서에 대하여 지구자와 산청목 배합제제를 투여한 실험군은 지구자와 산청목 배합제제를 투여하지 않은 대조군에 비하여 혈청 내 AST,

ALT 수치의 유의성 있는 감소와 SOD 활성의 유의성 있는 증가가 확인되었으며, 간조직의 병리조직학적 관찰에서 간세포의 손상 정도를 줄여주는 것으로 나타났으며, 체중 변화에 있어서는 2주째의 H1A4군에서 유의한 증가를 나타내었다. 그러나 γ-GTP, TCHO, TG, TBIL, catalase 활성 및 혈액학적 변화를 비교 관찰한 결과 대조군에 비하여 각 실험군은 유의한 변화를 보이지 않았다.

따라서 지구자와 산청목 배합제제는 간손상 보호 활성을 촉진시켜 간기능을 회복시키는 효과가 있음을 알 수 있었고, 프리 라디칼을 제거하는 항산화 효소를 증가시켜 간을 보호하는 효과가 있음을 확인할 수 있었다. 이로 보아 임상에서 간효소 수치가 증가하는 간질환 및 산화스트레스로 인한 질병을 치료할 때 지구자와 산청목 배합제제를 사용하여 간기능을 회복시킴과 동시에 항산화 효과를 높일 수 있을 것으로 사료된다.

그러나 지구자와 산청목 농도별 배합제제에 있어서 효과적인 산청목의 투여비율은 명확하게 확인할 수 없었으므로, 향후 지구자와 배합되는 산청목의 농도 비율에 대한 심도있는 연구가 요망된다.

V. 결 론

지구자와 산청목의 농도별 배합이 간손상에 미치는 영향을 알아보고자 D-galactosamine으로 유발된 간손상 백서의 체중, 간기능, 혈청 지질, SOD, catalase, 간조직의 변화, CBC를 관찰한 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 체중 변화에 있어서 대조군에 비하여 2주째의 지구자와 산청목 1대 4 비율의 배합군(H1A4)에서 유의한 증가를 나타내었으며, 1주째와 3주째의 각 실험군은 유의한 차이를 보이지 않았다.
2. AST 변화에 있어서 대조군에 비하여 각 실험군 모두 유의한 감소를 보였다.
3. ALT 변화에 있어서 대조군에 비하여 지구자와 산청목 1대 1 비율의 배합군(H1A1), 지구자와 산청목 1대 4 비율의 배합군(H1A4)이 유의한 감소를 보였으며, 지구자와 산청목 1대 2 비율의 배합군(H1A2)은 감소의 경향을 나타내었다.
4. γ-GTP, TCHO, TG, TBIL의 변화에 있어서 대조군에 비하여 각 실험군 모두는 유의한 차이를 나타내지 않았다.
5. SOD 변화에 있어서 대조군에 비하여 각 실험군 모두 유의한 증가를 보였다.
6. Catalase 변화에 있어서 대조군에 비하여 각 실험군 모두 유의한 차이를 나타내지는 않았지만, 증가의 경향을 보였다.
7. 간조직의 변화에 있어서 대조군에 비하여 각 실험군 모두 간소엽의 구조가 비교적 잘 유지되었고, 간세포의 염증과 괴사 정도가 적은 것으로 나타나 손상된 간세포가 회복된 형태를 나타내었다.
8. 혈액학적 검사에 있어서 대조군에 비하여 각 실험군 모두 유의한 차이를 나타내지 않았다.

이상의 실험결과를 종합해 볼 때 지구자와 산청목 배합제제는 혈청 내 AST, ALT 수치의 유의성 있는 감소와 SOD 활성의 유의성 있는 증가가 관찰되어 간기능 회복 및 항산화 효과를 나타내는 것으로 사료된다. 이에 임상에서 간효소 수치가 증가하는 간질환 및 산화 스트레스로 인한 각종 성인병을 치료할 때 활용가능성이 높을 것으로 기대된다.

감사의 글

이 논문은 2009년도 원광대학교 교내연구비 지원에 의해 수행됨.

참고문헌

1. Frank HN. The CIBA Collection of Medical Illustrations Volume 3 Part Ⅲ. 서울: 도서출판 정담; 2000, p. 35-44.
2. 우홍정, 이장훈, 김영철, 강병기, 김강산, 강윤호 등. 간계내과학. 서울: 동양의학연구원; 2001, p. 296-314.
3. 나천수, 정남철, 양규환, 김세현, 정하숙, 동미숙. 헛개나무 과병 열수추출분획물의 간보호 및 혈중 알콜 저하 작용. 약학회지. 2004;48(1):34-40.
4. 김일훈. 신약. 서울: 광제원; 1994, p. 78-9.
5. 김창민, 신민교, 안덕균, 이경순. 중약대사전. 서울: 도서출판 정담; 1998, p. 5079-81.
6. 정보섭. 향약대사전. 서울: 영림사; 1998, p. 291-2.
7. 태보신. 임상한약사전. 서울: 의성당; 1994, p. 105.
8. 최정국, 한효상, 이영종. 산화동물 모델 흰쥐 간세포에 대한 지구자와 지구지의 항산화 효과 연구. 대한본초학회지. 2009;24(3):129-38.
9. 이동일. 헛개나무 열매로부터 분리한 (+)-catechin의 간해독 및 알콜 분해 활성에 관한 연구. 강원대학교 대학원 박사학위논문. 2004.
10. 황현익, 이인순, 문혜연. 헛개나무 추출물의 간기능 개선작용 및 간암세포 증식억제 효능 검정. 한국생물공학회 학술대회논문집. 2003;12:279-83.
11. 이영노. 원색 한국식물도감. 서울: 교학사; 2004, p. 452.
12. 안덕균. 원색 한국본초도감. 서울: 교학사; 2002, p. 523.
13. 권하나, 박정륭, 전정례. 산겨릅나무 추출물의 항산화 및 간기능 보호 효과. 한국식품영양과학회지. 2008;37(11):1389-94.
14. 김성훈, 박희준, 최종원. 산겨릅나무에서 분리한 salidroside의 간보호 효과. 동의생리병리학회지. 2008;22(6):1525-31.
15. 신인철, 사재훈, 심태흠, 이진하. 산겨릅나무 추출물의 이화학적 특성과 암세포 성장 억제 효과. 한국응용생명화학회지. 2006;49(4):322-7.
16. Jonker AM, Dijkhuis FW, Kroese FG, Hardonk MJ, Grond J. Immunopathology of acute galactosamine hepatitis in rats. Hepatology. 1990;11(4):622-7.
17. 한상숙, 이상철. SPSS 간호·보건 통계분석. 서울: 현문사; 2006, p. 186-8, 228-30.
18. 고문수. 생화학적 간기능 검사의 임상적 적용. 동국의학. 2009;15(2):48-59.
19. 김정제, 김병운, 우홍정, 김덕호, 최서형. 동의간계내과학. 서울: 집문당; 1986, p. 27-36.
20. Tran-Thi TA, Phillips J, Falk H, Decker K. Toxicity of D-galactosamine for rat hepatocytes in monolayer culture. Exp Mol Pathol. 1985;42(1):89-116.
21. 吳儀洛. 本草從新. 상해: 상해과학기술출판사; 1982, p. 207.
22. 李時珍. 本草綱目. 북경: 인민위생출판사; 1982, p. 1845-6.
23. 김성문, 강성희, 마진열, 김진현. 헛개나무로부터 생리활성물질의 추출 및 효능에 관한 연구. 한국생물공학회지. 2006;21(1):11-5.
24. 솔뫼. 산 속에서 만나는 몸에 좋은 식물 148. 서울: 동학사; 2006, p. 153-4.
25. 홍보경, 엄석현, 이찬옥, 이지원, 정종현, 김재광. 산겨릅나무 줄기추출물의 생리 활성 및 유효성분 분리. 한국약용작물학회지. 2007;15(4):296-303.
26. 유양희, 정국영, 이유현, 전우진, 이부용. 세포 및 동물모델에서의 알코올에 의해 유발된 간손상에 대한 지구자 추출물의 보호 효과. 한국식품영양과학회지. 2009;38(2):154-9.
27. 정명현, 엄기진. 생약복합제제의 흰쥐 약물성 간장애에 대한 보호작용. 생약학회지. 1995;26(4):390-410.
28. Molander DW, Wroblesk F, La Due JS. Serum glutamic oxalacetic transaminase as an index of hepatocellular integrity. J Lab Clin Med. 1955;46(6):831-9.
29. 이귀녕, 이종순. 임상병리파일. 서울: 의학문화

사; 1993, p. 122, 151-2, 256, 278-81.
30. Zimmerman HJ, Seeff LB. Enzymes in hepatic disease In: Goodly, E.E., (Ed), Diagnostic Enzymology. Philadelphia: Lea and Febiger Publisher; 1970, p. 1-38.
31. 김민회, 정우택, 이진하, 박영식, 신명기, 김호상 등. 중국산과 국내산 헛개 나무 열매의 체내 알코올 분해능 및 간해독작용. 한국약용작물학회지. 2000;8(3):225-33.
32. Shim SI, Chung JW, Lee JM, Hwang KT, Sone J, Hong BS et al. Hepatoprotective effects of black rice on superoxide anion radicals in HepG2 cells. Food Science and Biotechnology. 2006;15(6):993-6.
33. 정성제, 이진희, 송효남, 성낙술, 이승은, 백남인. 약용 식물 추출물의 항산화 활성 검색. 한국응용생명화학회지. 2004;47(1):135-40.
34. Baudrimont I, Ahouandjivo R, Creppy EE. Prevention of lipid peroxidation induced by ochratoxin A in vero cells in culture by several agents. Chem Biol Interact. 1997;104(1):29-40.
35. 마진열, 김상웅. 수컷 SD에 CCl_4 처리후 지구자 추출액의 간보호 효과 연구. 한국한의학연구원논문집. 2006;12(1):103-9.