

D-Galactosamine으로 유발된 흰쥐의 간손상에 대한 치자두시탕 추출액이 미치는 영향

김진호^{1#}, 정종길^{2*}

1 : 동신대학교 한의과대학 해부학교실, 2 : 동신대학교 한의과대학 본초학교실

Effect of the Chizadochi-Tang on Hepatotoxicity of D-Galactosamine in Rats

Jin-Ho Kim^{1#}, Jong-Kil Jeong^{2*}

1 : Dept. of Anatomy, College of Oriental Medicine, Dong-Shin University
2 : Dept. of Herbology, College of Oriental Medicine, Dong-Shin university

ABSTRACT

Objectives : To investigate the hepatoprotective effect of *Gardeniae Fructus* (Ga) and *Glycine semen preparatum* (Gl) aqueous extract against D-galactosamine (D-GalN, 300mg/kg body weight) was administered to the male Sprague Dawley (SD) rats.

Materials and Methods : The study was carried out on male SD rats (age matched, weight 250±10 g). Experimental groups (Exp) divided four : Normal group (Nor) was administered saline, Control (Con) group was only received D-GalN (300 mg/kg) intraperitoneally, Exp was orally administered Ga (200 mg/kg; Ga group), Gl (700 mg/kg; Gl group), and Chizadochi-Tang (200 mg/kg+700 mg/kg, GG group) after D-GalN treatment during 14 days (n=6).

Results : D-GalN administration induced hepatotoxicity in rats which was manifested by increased levels of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP) and lactate dehydrogenase (LDH) but decreased total cholesterol (HDL C) and triglyceride (TG). The serum TG concentrations were significantly increased ([#]p<0.05) in the Ga group compared with Con. AST and ALP activities were significantly decreased ([#]p<0.05) in the all experimental groups compared with Con. ALT activities were significantly decreased ([#]p<0.05) in the Ga group compared with Con. LDH activities were significantly decreased ([#]p<0.05) in the GG group compared with Con. On the light microscopic study, a number of vacuole were observed in the Con, but decreased in experimental groups.

Conclusion : Ga aqueous extract and Chizadochi-Tang extract possesses hepatoprotective potential, thus validating its use in alleviating toxic effects of D-GalN.

Key words : D-galactosamine, *Gardeniae Fructus*, *Glycine semen preparatum*, hepatoprotective

서론

간질환은 일반적으로 간조직의 섬유화가 간경화 진행되는 다음 최종적으로 간암으로 발전되는 일련의 과정을 거치게 된다. 그 원인으로는 바이러스를 원인으로 하는 간질환, 알코올성 간질환, 약물 독성에 의한 간질환, 간 조직에 지방이 축적

되는 지방간, 인체 면역체통의 이상으로 인한 자가 면역성간 질환, 독성물질의 과대한 축적에 의한 대사성간질환 등 다양한 원인에 의해서 나타난다¹⁾.

D-galactosamine(이하 D-GalN)은 galactose의 대사장애를 통해 uridine triphosphate (UTP), uridine diphosphate (UDP) 및 uridine monophosphate (UMP) 등의 농도 감소

* 교신저자 : 정종길, 전남 나주시 대호동 252 동신대학교 한의과대학 본초학교실
· Tel : 061-330-3523 · E-mail : jgj3523@naver.com
제1저자 : 김진호, 전남 나주시 대호동 252 동신대학교 한의과대학 해부학교실
· Tel : 061-330-3512 · E-mail : piejesu@hanmail.net
· 접수 : 2013년 2월 12일 · 수정 : 2013년 3월 7일 · 채택 : 2013년 3월 22일

로 인하여 RNA의 합성을 저해하고 지질의 축적을 유도하며, 세포막 성분 중 탄수화물의 조성과 세포내 칼슘이온의 농도를 변화시켜 간 조직의 손상을 유발한다^{2,3}. D-GalN의 투여는 소엽성 국소 간세포 괴사, 염증세포의 침윤, 대식세포의 증가 등 사람의 바이러스성 간염과 유사한 증상을 초래한다⁴. D-GalN의 급성 중독 일 경우는 간조직의 괴사가, 만성중독일 경우는 간경화와 간세포성 종양이 유발된다고 하였다⁵.

꼭두서니과 (Rubiaceae)에 속하는 치자나무 (*Gardenia jasminoides* Ellis)의 열매인 梔子 (Gardniae Fructus)는 한방에서 염증, 황달, 부종, 간질환, 고혈압 등의 치료를 목적으로 사용되어져 왔다. 梔子 추출물을 이용한 간질환에 미치는 영향^{6,7} 항암효과⁸⁻¹⁰, 항염증 효과¹¹⁻¹² 항산화효과¹³⁻¹⁵ 등에 관한 연구가 주로 수행되었으며, 그 밖에 우울증과 신경퇴행성 질환에 효과¹⁶, 망막의 손상으로부터 보호¹⁷, 수면의 질을 높여주는 효과¹⁸가 있음이 연구 보고 되었다. 콩 (*Glycine max*)의 면역세포의 활성화¹⁹, 알코올성 간독성 해독작용²⁰ 신장독성에 관한 연구²¹, 간기능 활성화^{22,23}, 항산화작용^{24,25} 등에 관한 연구가 있었다. 그러나 콩을 발효한 豆豉 (Glycine semen preparatum)에 관한 연구는 아직 미약하기에, 본 연구에서는 梔子, 豆豉, 치자두시탕 추출액이 D-GalN으로 유발된 간 독성에 대한 효과를 규명하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험동물

체중 200 ± 10 g 내외의 7주령 흰쥐 (Sprague Dawley)를 샘타고 (주, 오산)로부터 구입하였다. 실험동물은 동신대학교 한의과대학 동물사육실에서 일정한 조건 (온도 : 21 ± 2 C, 습도 : 50-60%, 12시간 주기 명/암)하에서 일반 고형사료 (샘타코, 흰쥐 용)와 물을 충분히 공급하면서 1주 동안 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

2. 약물 추출

실험에 사용한 약재인 梔子和 豆豉는 동우당제약에서 구입한 후 정선하여 사용하였다. 梔子 18g와 豆豉 40g를 각각 물 600mL에 넣고 약탕기로 3시간 동안 가열한 다음 농축한 후 저온순환수조 (COOL ACE CA-1500)에서 1차 동결한 다음 동결건조기 (Samwon, SFDSMO06, 한국)로 동결 건조하여 각각 3g와 4g의 건조 분말을 얻었다.

3. 간손상 유발

정상군을 제외한 모든 실험동물은 간손상 약물인 D-GalN (Sigma Chemical Co., St Louis, MO) 300mg/kg을 0.9% 식염수 0.5 mL에 용해하여 1회 복강투여 하였다.

4. 실험군 설정 및 약물 투여

정상군(Nor)은 통상적인 사료와 물을 공급하였으며, 대조군(Con)의 실험동물은 D-GalN을 투여하여 간 손상을 유발 후부터 생리식염수 0.5 mL을 14 동안 매일 구강 투여하였다.

실험군은 D-GalN을 투여한 48시간 후부터 梔子 (Gardeniae Fructus 200 mg/kg; Ga군), 豆豉 (Glycine semen preparatum 700 mg/kg; Gi군), 치자두시탕(梔子 200 mg/kg+豆豉 700 mg/kg)를 혼합(GG군)을 각각 생리식염수 0.5 mL에 용해하여 14일 동안 구강 투여 하였다. 모든 실험군은 각각 6마리씩 사용하였다.

5. Total cholesterol, Triglyceride (TG), HDL cholesterol 함량 측정

약물 투여 10일 후 흰쥐를 pentobarbital sodium (Entobal, 한림제약)으로 마취(50mg/kg/body weight, i.p.)한 다음 복부의 정중선을 따라 절개하고 심장 채혈을 시행하였다. 혈액은 시험관에 넣어 실온에서 30분간 방치하여 혈액을 응고시킨 다음 3,000rpm에서 원심분리하여 혈청을 얻었다. Total cholesterol은 Allain등²⁶의 방법에 따라 546 nm 파장에서, HDL cholesterol은 Warnick와 Albers²⁷의 방법에 따라 546 nm 파장에서, triglyceride는 McGowan 등²⁸의 방법 505nm 파장에서 측정하였으며, 모든 시약은 Kit (ELITECH, France)를 사용하였다.

6. 혈청 Transaminase 활성 측정

혈중 중 aspartate aminotransferase (AST)와 alanine aminotransferase (ALT)의 활성 측정은 Reitman-Frankel²⁹의 방법에 따라 kit 시약 (FUJIFILM, JAPAN)을 사용하여 측정하였다. 505 nm에서 흡광도 (FUJIFILM DRI-CHEM 4000i, JAPAN)의 변화를 측정하였다.

7. Alkaline phosphatase (ALP)와 Lactate dehydrogenase (LDH) 활성 측정

활성도 측정은 Reitman-Frankel 방법에 의한 kit 시약 (아산제약, 한국)을 사용하여 ALP는 405nm에서 LDH는 340nm에서 각각 측정하였다.

8. 광학현미경 관찰

생쥐의 간 조직을 적출하고 Bouin 용액을 사용하여 6시간 동안 고정시킨 다음, 30, 50, 70, 80, 90, 95, 100 I, 100 II와 같이 알코올 농도를 상승시켜 탈수한 다음 xylene으로 투명화 과정을 거친 후 paraffin으로 포매하였고, 포매된 조직을 microtome을 사용하여 3 μ m 두께로 절편하였다. 절편한 조직을 slide glass 위에 부착시키고 xylene으로 paraffin을 제거한 다음 100%, 90%, 80% ethanol 과 같이 농도가 낮아지는 순으로 5분씩 담구어 함수과정을 거쳐서, Hematoxylin 과 Eosin으로 이중염색을 한 다음 탈수하였다. Canada balsam으로 봉합한 후 카메라 부착 광학현미경(Olympus BX51, Japan)으로 관찰한 후 사진을 촬영하였다.

9. 통계처리

결과 대한 통계처리는 SAS (statistical analysis system) program에 의하여 각 실험군 별로 평균치와 표준오차를 계산하였고, p-value가 최소한 0.05이하의 수준에서 유의성을

검정하였다.

결 과

1. 총 콜레스테롤 함량

치료 약물을 구강 투여한 14일 후 정상군 (72 ± 3.21 mg/dL)에 비하여 대조군 (69 ± 0.73 mg/dL)에서 다소 감소하였다. Ga군 (73 ± 5.79 mg/dL)은 정상군보다 약간 높게 나타났으며, 대조군에 비하여 다소 증가하였다. Gl군 (68 ± 2.75 mg/dL), GG군 (67 ± 3.70 mg/dL) 또한 정상군에 비하여 감소하였으나 통계적인 유의성은 없었다 (Fig. 1).

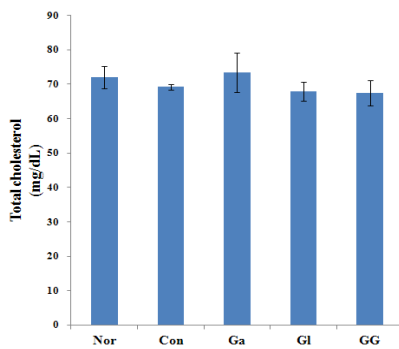


Fig. 1. The changes of cholesterol concentration. Nor, administrated saline; Con, control group administrated saline after galactosamine treatment; Ga group administrated Gardeniae Fructus 200 mg/kg/day, Gl group administrated Glycine semen preparatum 700 mg/kg/day, GG group administrated Chizadochi-Tang (Gardeniae Fructus 200 mg + Glycine semen preparatum 700 mg/kg/day). All values are mean \pm S.E.(n=6). Significant differences were compared with normal at $^*p < 0.05$ or control at $^{\#}p < 0.05$. (n=6).

2. TG의 함량

실험 결과 치료 약물을 구강 투여한 14일 후 측정된 결과 정상군 (89 ± 7.76 mg/dL)에 비하여 대조군 (62 ± 3.67 mg/dL)과 Gl군 (64 ± 5.81 mg/dL)은 통계적으로 유의성 ($^*p < 0.05$) 있게 감소하였다. GG군 (67 ± 0.07 mg/dL)과 Ga군 (83 ± 4.45 mg/dL) 또한 정상군 비하여 감소하였으며, 특히 Ga군은 대조군에 비하여 약 39% 증가하였으며, 통계적으로 유의성 ($^{\#}p < 0.05$)이 있었다 (Fig. 2).

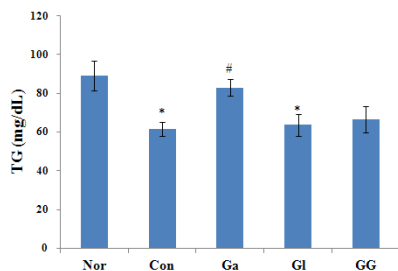


Fig. 2. The changes of triglyceride concentration. Nor, administrated saline; Con, control group administrated saline after galactosamine treatment; Ga group administrated Gardeniae Fructus 200 mg/kg/day, Gl group administrated Glycine semen preparatum 700 mg/kg/day, GG group administrated Chizadochi-Tang (Gardeniae Fructus 200 mg + Glycine semen preparatum 700 mg/kg/day). All values are mean \pm S.E.(n=6). Significant differences were compared with normal at $^*p < 0.05$ or control at $^{\#}p < 0.05$. (n=6).

kg/day, GG group administered Chizadochi-Tang (Gardeniae Fructus 200 mg + Glycine semen preparatum 700 mg/kg/day). All values are mean \pm S.E.(n=6). Significant differences were compared with normal at $^*p < 0.05$ or control at $^{\#}p < 0.05$. (n=6).

3. HDL-콜레스테롤 함량

HDL의 함량은 정상군 (46 ± 1.38 mg/dL)에 비하여 대조군 (41 ± 1.93 mg/dL), Gl군 (39 ± 1.39 mg/dL)은 통계적으로 유의성 ($^{\#}p < 0.05$)있게 감소하였다. GG군 (41 ± 3.06 mg/dL)모두 정상군에 비하여 감소하였으나 통계적으로 유의성 ($p < 0.05$)은 없었으며, Ga군 (46 ± 2.15 mg/dL)은 정상군과 비슷하였다 (Fig. 3).

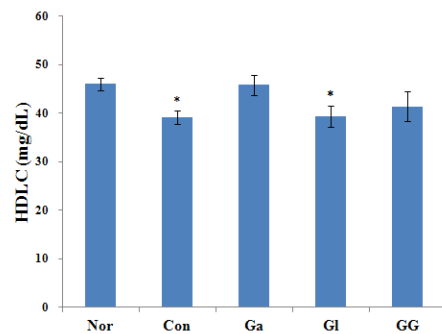


Fig. 3. The changes of HDL concentration. Nor, administrated saline; Con, control group administrated saline after galactosamine treatment; Ga group administrated Gardeniae Fructus 200 mg/kg/day, Gl group administrated Glycine semen preparatum 700 mg/kg/day, GG group administrated Chizadochi-Tang (Gardeniae Fructus 200 mg + Glycine semen preparatum 700 mg/kg/day). All values are mean \pm S.E.(n=6). Significant differences were compared with normal at $^*p < 0.05$ or control at $^{\#}p < 0.05$. (n=6).

4. AST와 ALT 활성

본 실험 결과 AST의 활성은 정상군 (83 ± 7.35 U/L)에 비하여 대조군 (121 ± 4.10 U/L), Ga군 (107 ± 6.16 U/L), Gl군 (112 ± 2.89 U/L), GG군 (109 ± 4.82 U/L) 모두 정상군에 비하여 통계적으로 유의성 ($^*p < 0.05$)있게 증가하였으나, 또한 대조군에 비하여 Ga군 12%, Gl군 약 8%, GG군 약 10% 감소하였으며, 통계적으로 유의성 ($^{\#}p < 0.05$)이 있었다 (Fig. 4). ALT의 활성은 정상군(25 ± 1.38 U/L)에 비하여 대조군(36 ± 1.60 U/L), Ga군(31 ± 1.33 U/L), Gl군(31 ± 1.83 U/L) GG군(31 ± 1.46 U/L) 통계적으로 유의성 ($^*p < 0.05$)있게 활성이 증가하였다. 그러나 Ga군은 대조군에 비하여 14% 감소하였으며, 통계적으로 유의성 ($^{\#}p < 0.05$)이 있었다 (Fig. 5).

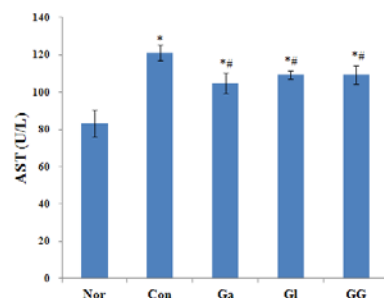


Fig. 4. The changes of AST activities. Nor, administrated saline; Con, control group administrated saline after galactosamine treatment; Ga group administrated Gardeniae Fructus 200 mg/kg/day, Gl group administrated Glycine semen preparatum 700 mg/kg/day, GG group administrated Chizadochi-Tang (Gardeniae Fructus 200 mg + Glycine semen preparatum 700 mg/kg/day). All values are mean \pm S.E.(n=6). Significant differences were compared with normal at $^*p < 0.05$ or control at $^{\#}p < 0.05$. (n=6).

Ga group administrated Gardeniae Fructus 200 mg/kg/day, GI group administrated Glycine semen preparatum 700 mg/kg/day, GG group administrated Chizadochi-Tang (Gardeniae Fructus 200 mg + Glycine semen preparatum 700 mg/kg/day), All values are mean \pm S.E.(n=6). Significant differences were compared with normal at *p<0.05 or control at #p<0.05. (n=6).

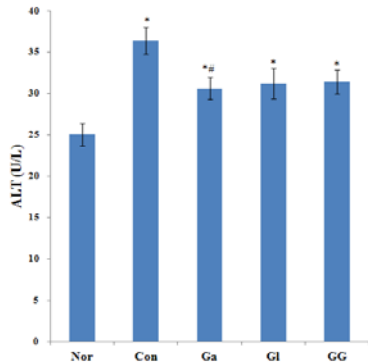


Fig. 5. The changes of ALT activities. Nor, administrated saline; Con, control group administrated saline after galactosamine treatment; Ga group administrated Gardeniae Fructus 200 mg/kg/day, GI group administrated Glycine semen preparatum 700 mg/kg/day, GG group administrated Chizadochi-Tang (Gardeniae Fructus 200 mg + Glycine semen preparatum 700 mg/kg/day), All values are mean \pm S.E.(n=6). Significant differences were compared with normal at *p<0.05 or control at #p<0.05. (n=6).

5. ALP와 LDH 활성

본 연구에서 ALP의 활성은 정상군 (438 \pm 30.95 U/L) 비하여 대조군 (799 \pm 48.31 U/L)과 실험군인 Ga군 (642 \pm 26.51 U/L), GI군 (631 \pm 21.97 U/L), GG군 (662 \pm 22.83 U/L) 모두 통계적으로 유의성 (*p<0.05)있게 활성이 증가하였다. 그러나 대조군에 비하여 Ga군 약 20%, GI군 약 22%, GG군 약 18% 감소하였으며 통계적으로 유의성 (#p<0.05)이 있었다 (Fig. 6). LDH 활성은 정상군 (401 \pm 76.16 mg/dL)에 비하여 대조군 (896 \pm 64.00 mg/dL)과 실험군인 Ga군 (624 \pm 61.73 mg/dL), GI군 (685 \pm 73.99 mg/dL), GG군 (485 \pm 63.06 mg/dL) 모두 통계적으로 유의성 (*p<0.05)있게 활성이 증가하였으나, 대조군에 비하여 실험군인 Ga군의 활성은 약 31%, GG군은 약 46% 감소하여 유의성 (#p<0.05)이 있었다 (Fig. 7).

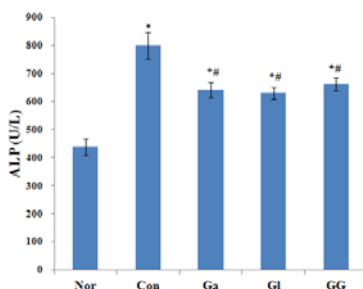


Fig. 6. The changes of ALP activities. Nor, administrated saline; Con, control group administrated saline after galactosamine treatment; Ga group administrated Gardeniae Fructus 200 mg/kg/day, GI group administrated Glycine semen preparatum 700 mg/kg/day, GG group administrated Chizadochi-Tang (Gardeniae Fructus 200 mg + Glycine semen preparatum 700 mg/kg/day), All values are

mean \pm S.E.(n=6). Significant differences were compared with normal at *p<0.05 or control at #p<0.05. (n=6).

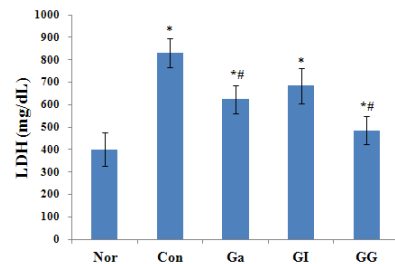


Fig. 7. The changes of LDH activities. Nor, administrated saline; Con, control group administrated saline after galactosamine treatment; Ga group administrated Gardeniae Fructus 200 mg/kg/day, GI group administrated Glycine semen preparatum 700 mg/kg/day, GG group administrated Chizadochi-Tang (Gardeniae Fructus 200 mg + Glycine semen preparatum 700 mg/kg/day), All values are mean \pm S.E.(n=6). Significant differences were compared with normal at *p<0.05 or control at #p<0.05. (n=6).

6. 간조직의 변화

본 실험결과 대조군 간세포에서는 소수의 액포들이 관찰되었으며, 세포질이 일부분들이 강한 호산성을 보였다 (Fig. 8A). Ga군 (Fig. 8B), GI군 (Fig. 8C), GG군 (Fig. 8D)의 간세포는 공포들이 거의 관찰되지 않았으며, 세포질의 국소적인 호염기성도 보이지 않았다.

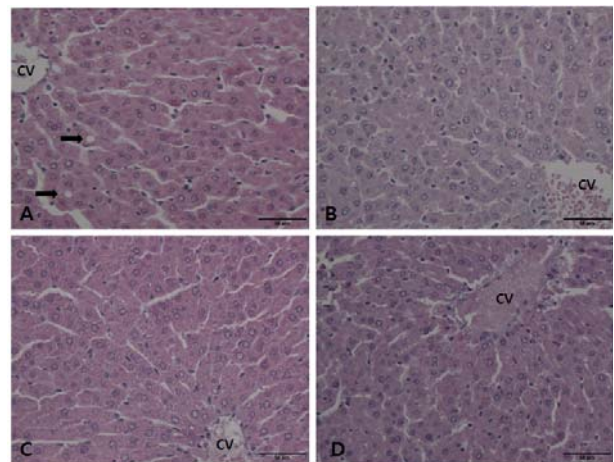


Fig. 8. Histological sections of liver. (A), D-GalN treated liver showing damage to hepatocytes with hepatocellular vacuolization (arrows); (B), Ga group administrated Gardeniae Fructus 200 mg/kg/day; (C), GI group administrated Glycine semen preparatum 700 mg/kg/day; (D), GG group administrated Chizadochi-Tang (Gardeniae Fructus 200 mg + Glycine semen preparatum 700 mg/kg/day), Hematoxylin-Eosin stain, Original magnification \times 400

고찰

간 손상을 유발하는 약물인 D-GalN은 약물의 간독성 억제 또는 치료 효과를 검증하기 위한 동물 모델의 유발에 가장 보편적으로 사용하고 있다. D-GalN에 의한 간 손상은 급성 간염바이러스와 비슷하게 간의 손상을 유발한다^{31,32}.

D-GalN에 의한 간독성은 여러 기관의 직접적 또는 간접적으로 항산화작용에 영향을 미치며 또한 간의 효소 지표들을 변화시킨다고 하였다³²⁾. 그러나, D-GalN에 의한 간 손상 결과 총 콜레스테롤 함량의 변화에는 큰 변화가 없고, 중성지방 함량은 다소 낮아진다고 하였으며, 혈중 HDL은 다소 낮아진다고 하였다¹⁻⁵⁾. 본 연구 결과에서도 총 콜레스테롤 함량의 변화에는 큰 변화가 없는 것으로 나타났다. 반면, 중성지방과 HDL의 함량은 다소 낮아졌으나, Ga 추출물 투여군에서 정상군과 비슷한 수준으로 향상된 결과를 보여주었다. 이와 같은 결과로 보아 梔子 추출물의 투여가 D-GalN에 의한 손상의 결과 나타나는 지방성 물질의 함량을 정상군 수준으로 회복하는데 가장 효과적인 것으로 사료되었다.

실험동물에 D-GalN을 투여하면 간 손상으로 간경화가 나타나면 transaminase의 활성으로 증가 한다고 하였다³⁻⁵⁾. 본 실험의 결과에서도 대조군에서는 정상군에 비하여 통계적으로 유의성있게 증가하였으나, AST의 활성은 모든 실험군에서 감소하였으며, ALT의 활성은 梔子 추출액을 투여한 Ga군에서 감소하였다. 이와 같은 결과로 보아 梔子和 豆豉 추출물의 투여가 D-GalN의 간독성으로부터 나타나는 간세포의 손상의 억제 또는 회복 효과에 의하여 transaminase의 활성이 감소하였을 것으로 사료되었다. ALP는 만성간염이나 간경변증에서도 올라갈 수 있으나, 담즙이 간세포에서 잘 배출되지 못하거나 담도가 막혔을 때 현저히 증가한다³⁻⁵⁾. 또한 LDH는 급성 간부전 결과 증가한다고 하였다³³⁾. 본 실험 결과에서도 ALP의 활성은 대조군에서 현저히 증가하였으나, 모든 실험군에서는 대조군에 비하여 통계적으로 유의성있게 감소하였다. 한편 LDH의 활성은 대조군은 정상군에 비하여 유의성있게 증가하였으며, 실험군은 Ga군과 GG군에서 통계적으로 유의성있게 대조군에 비하여 감소하였다. 이와 같은 결과는 梔子 추출물과 豆豉 추출물 모두에서 간 독성의 치료 효과를 확인 할 수 있었다. D-GalN의 독성에 의하여 간조직의 국소적인 괴사, 간세포의 공포화등이 나타난다고 하였다^{33,34)}. 본 연구에서는 조직학적인 관찰을 통하여 혈액학적인 결과를 보다 더 확증하기 위하여 시행하였다. 그 결과 대조군에 비하여 모든 실험군에서 D-GalN에 의한 간조직의 치료효과가 있는 것으로 사료되었다.

이상의 결과로 보아 D-GalN의 투여로 유발된 간 손상에 대한 보호 효과는 梔子 추출물이 가장 높은 것으로 나타났으며, 豆豉 추출물은 다소 낮았다. 또한 梔子和 豆豉를 혼합하여 투여한 실험군에서는 梔子 투여군에 비하여 다소 낮은 효과를 나타냈으나 전반적으로 간 보호 효과가 있는 것으로 사료 되었다. 앞으로 투여 약물의 용량, 투여 기간, 梔子和 豆豉의 혼합 비율에 대한 연구가 지속되어야 할 것으로 사료되었다.

결 론

본 연구에서는 D-GalN으로 유발된 흰쥐의 간손상에 대한 梔子, 豆豉, 梔子和 豆豉 혼합물의 투여 효과를 구명하고자 시행하였다. 실험결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. D-GalN의 투여로 다소 낮아진 혈중 TG와 HDL의 수준은 梔子추출물 투여한 실험군 (Ga 군)에서 정상군과 비슷한 수준으로 회복 되었다
2. D-GalN의 투여로 대조군의 AST와 ALT의 활성은 정상군에 비하여 통계적으로 유의성 (*p<0.05) 있게 증가 하였다. 그러나 AST의 활성은 대조군에 비하여 모든 실험군에서 그리고 ALT의 활성은 Ga군에서 유의성 (#p<0.05)있게 감소하였다.
3. D-GalN의 투여로 대조군의 ALP와 LDH의 활성은 정상군에 비하여 유의성 (*p<0.05) 있게 증가하였다. 그러나 ALP의 활성은 모든 실험군에서 그리고 LDH의 활성은 Ga군과 GG군에서 유의성 (#p<0.05)있게 감소하였다.
4. 조직병리학적 관찰 결과 대조군의 간세포에서는 공포들이 관찰되었으나 모든 실험군에서는 아주 미약하거나 관찰되지 않았다.

이상의 결과로 보아 D-GalN의 투여로 유발된 간 손상에 대한 보호 효과는 梔子 추출물이 가장 높은 것으로 나타났으며, 豆豉 추출물은 다소 낮았다. 또한 梔子和 豆豉 추출물의 배합에 의한 치료 효과를 극대화하기 위한 연구가 앞으로 이루어져야 할 것으로 사료되었다.

참고문헌

1. Murakmi T, Kim T, Nakamura H. Hepatitis, cirrhosis and hepatoma. J Magn Reson Imaging. 1998 ; 8 : 346-58.
2. Decker K, Keppler D. Galactosamine hepatitis: key role of the nucleotide deficiency period in the pathogenesis of cell injury and cell death. Rev Physiol Biochem Pharmacol. 1974 ; 71 : 77-106.
3. Wang J, Wendel A. Studies on the hepatotoxicity of galactosamine endotoxin or galactosamine/TNF in the perfused mouse liver. Biochem Pharmacol. 1990 ; 39 : 267-70.
4. Keppler D, Lesch R, Reutter W, Decker K. Experimental hepatitis induced by D-galactosamine. Exp Mol Pathol. 1968 ; 9 : 279-90.
5. Farber JL, Gill G, Konishi Y. Prevention of galactosamine-induced liver cell necrosis by uridine. Am J Pathol. 1973 ; 72 : 53-62.
6. Kim SJ, Kim JK, Lee DU, Kwak JH, Lee SM. Genipin protects lipopolysaccharide-induced apoptotic liver damage in D-galactosamine sensitized mice. Eur J Pharmacol. 2010 ; 635(1-3) : 188-93.
7. Lee SJ, Oh PS, Lim KT. Hepatoprotective and hypolipidaemic effects of glycoprotein isolated from Gardenia jasminoides ellis in mice. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2006 ; 33(10) : 925-33.

8. Tseng TH, Chu CY, Huang JM, Shiow SJ, Wang CJ. Crocetin protects against oxidative damage in rat primary hepatocytes. *Cancer Lett*. 1995 ; 97 : 61-7.
9. Hwang SM, Lee YJ, Yoon JJ, Lee SM, Kang DG, Lee HS. *Gardenia jasminoides* inhibits tumor necrosis factor- α -induced vascular inflammation in endothelial cells. *Phytother Res*. 2010 ; 24(2) : 214-9.
10. Kim ES, Jeong CS, Moon A, Genipin, a constituent of *Gardenia jasminoides* Ellis, induces apoptosis and inhibits invasion in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Oncol Rep*. 2012 ; 27(2) : 567-72.
11. Fuy Y, Liu B, Liu J, Liu ZX, Liang D, Li F, Li D, Cao Y, Zhang X, Zhang N, Yang Z, Geniposide, from *Gardenia jasminoides* Ellis, inhibits the inflammatory response in the primary mouse macrophages and mouse models. *Int Immunopharmacol*. 2012 ; 14(4) : 792-8.
12. Lee J, Lim KT. Preventive effect of phyto glycoprotein (27 kDa) on inflammatory factors at liver injury in cadmium chloride-exposed ICR mice. *J Cell Biochem*. 2011 ; 112(2) : 694-703.
13. Han YN, Oh HK, Hwang KH, Lee MS. Antioxidant components of gardenia fruit. *Korean J pharmacogn*. 1994 ; 25 : 226-32.
14. Kim ML. Antioxidative activity of extracts from *Gardenia jasminoides* and quality characteristics of noodle added *Gardenia jasminoides* powder. *Korean J Food Cookery Sci*. 2006 ; 22 : 237-43.
15. Pham TQ, Cormier F, Farnworth E, Tong VH, Van Calsteren MR. Antioxidant properties of rocin from *Gardenia jasminoides* Ellis and study of the reactions of crocin with linoleic acid and crocin with oxygen. *J Agric Food Chem*. 2000 ; 48 : 1455-61.
16. Kim JH, Kim GH, Hwang KH. Monoamine Oxidase and Dopamine β -Hydroxylase Inhibitors from the Fruits of *Gardenia jasminoides*. *Biomol Ther*. 2012 ; 20(2) : 214-9.
17. Yamauchi M, Tsuruma KJ, Imai S, Nakahishi T, Umigai N, Shimaxawa M, Hara H. Crocetin prevents retinal degeneration induced by oxidative and endoplasmic reticulum stresses via inhibition of caspase activity. *Eur J Pharmacol*. 2011 ; 650(1): 110-9.
18. Juratsune H, Umigai N, Takeno R, Kajimoto Y, Nakano T. Effect of crocetin from *Gardenia jasminoides* Ellis on sleep: a pilot study. *Phytomedicine*. 2010 ; 17(11) : 840-3.
19. Shabat Y, Lichtenstein Y, Zolotarov L, Ben Ya'acov A, Ilan Y. Hepatoprotective effect of DT56a is associated with changes in natural killer T cells and regulatory T cells. *J Dig Dis*. 2012 ; 24(10) : 1751-2980.
20. Shivashankara AR, Axmidah A, Haniadka R, Rai MP, Baliga MS. Dietary agents in the prevention of alcohol-induced hepatotoxicity: preclinical observations. *Food Funct*. 2012 ; 3(2) : 101-9.
21. Ekor M, Emerole GO, Farombi EO. Phenolic extract of soybean (*Glycine max*) attenuates cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Food Chem Toxicol*. 2010 ; 48(4) : 1005-12.
22. Ronis MJ, Chen Y, Jo CH, Simpson P, Badger TM. Diets containing soy protein isolate increase hepatic CYP3A expression and inducibility in weanling male rats exposed during early development. *J Nutr*. 2004 ; 134(12) : 3270-6.
23. Anderson GD, Rositkl G, Mohustsy MA, Elmer GW. Drug interaction potential of soy extract and *Panax ginseng*. *J Clin Pharmacol*. 2003 ; 43(6) : 643-8.
24. Jeon HY, Seo DB, Shin HJ, Lee SJ. Effect of *Aspergillus oryzae*-challenged germination on soybean isoflavone content and antioxidant activity. *J Agric Food Chem*. 2012 ; 60(11) : 2807-14.
25. Jang EH, Ko JH, Ahn CW, Lee HH, Shin JK, Chang SJ, Park CS, Kang JH. In vivo and in vitro application of black soybean peptides in the amelioration of endoplasmic reticulum stress and improvement of insulin resistance. *Life Sci*. 2010 ; 86(7-8) : 267-74.
26. Allain CC, Poon LS, Chan CSG. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem*. 1974 ; 20 : 470-5.
27. Warnick RG, Albers JJ. A comprehensive evaluation of the heparin-manganese precipitation procedure for estimating high density lipoprotein cholesterol. *J Lipid Res*. 1978 ; 19 : 65-76.
28. McGowan MW, Artiss JD, Strandbergh DR, Zak B. A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. *Clin Chem*. 1983 ; 29 : 538-42.
29. Reitman S, Frankel AS. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am J Clin Pathol*. 1957 ; 28 : 56-63.
30. Chaung SS, Lin OC, Lin J, Yu KH, Hsu YF, Yen MH. The hepatoprotective effects of *Limonium sinense* against carbon tetrachloride and beta-d-galactosamine intoxication in rats. *Phytother Res*. 2003 ; 17 : 784-91.
31. Nakagiri R, Hashizume E, Kavahashi S, Sakai Y, Kamiya T. Suppression by *Hydrangeae Dulcis* Folium of d-galactosamine-induced liver injury in vitro and in vivo. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2003

- ; 67 : 2641-3.
32. Tang XH, Gao L, Gao J, Fan YM, Xu LZ, Zhao XN, et al. Mechanisms of hepatoprotection of Terminalia catappa L. extract on d-galactosamine-induced liver damage. *Am J Chin Med*, 2004 ; 32 : 509-19.
 33. Kotoh K, Kato M, Kohjima M, Uanaka M, Miyazaki M, Kakamura K, Enjoji M, Nakamura M, Takayanagi R. Lactate dehydrogenase production in hepatocytes is increased at an early stage of acute liver failure. *Exp Ther Med*, 2011 ; 2(2) : 195-9.
 34. Raj PV, Nitesh K, Prada J, Sankhe MN, Rao JV, Rao CM, Udupa N, Effect of lecithin on D-galactosamine induced hepatotoxicity through mitochondrial pathway involving Bcl-2 and Bax. *Indian J Clin Biochem*, 2011 ; 26(4) : 378-84.