

## 자작나무(*Betula platyphylla* var. *japonica*) 수액에 대한 *in vivo* 생리활성

이창현 · 조영민 · 박의석<sup>2</sup> · 신창섭<sup>3</sup> · 이주연<sup>1</sup> · 정헌상<sup>1\*</sup>

한국화학시험연구원, <sup>1</sup>충북대학교 식품공학과, <sup>2</sup>(주)미드미, <sup>3</sup>충북대학교 산림학과

### *In vivo* Immune Activity of Sap of the White Birch (*Betula platyphylla* var. *japonica*)

Chang-Hyeon Lee, Young-Min Cho, Eui-Seok Park<sup>2</sup>, Chang-seob Shin<sup>3</sup>, Ju-Yeon Lee<sup>1</sup>, and Heon Sang Jeong<sup>1\*</sup>

Korea Testing & Research Institute

<sup>1</sup>Department of Food Science and Technology, Chungbuk National University

<sup>2</sup>Metome Food Co. LTD

<sup>3</sup>Department of Forest Science, Chungbuk National University

**Abstract** The sap of the white birch is one of the most widely used herbal medicines to treat gastrointestinal tract, jaundice, and various periodontal diseases. The purpose of this study was to measure the effect of white birch sap on *in vivo* immune agents in mice. The treatment of white birch sap on the forced swimming test has been used as a screening model for new immune enhancement agents. The hematological examination was significantly different in neutrophil, lymphocyte, and monocyte counts between treatment and control groups. Moreover the white birch sap changed the phagocytic index, immobility duration time, and leukocyte counts in mice.

**Key words:** *Betula platyphylla*, sap, hematological examination, immunotoxicity

## 서 론

최근 세계적으로 천연물에 대한 관심이 높아짐에 따라 천연물을 이용한 기능성 식품을 개발하여, 건강한 삶에 대한 인간의 욕구를 충족시키려는 과학자들에 의하여, 수많은 천연물이 소재로 부상하면서 부작용 없고 예방효과가 있는 식품개발에 연구가 집중되고 있다. 우리나라도 경제성장과 더불어 생활수준이 향상되고, 변천된 삶의 질이나 식생활이 청소년의 신체는 발달시켜왔지만 중장년기에 들어가면서 고칼로리 음식섭취, 운동부족으로 인한 비만, 첨단산업사회에서 오는 스트레스 등으로 각종 성인병 환자 수는 계속 증가하는 추세이다. 따라서 국내에 오래전부터 사용되어 오던 식품소재를 이용하여 국민건강을 증진하려는 연구가 많은 연구가들에 의하여 진행되어 오고 있는 실정이다(1,2).

그 중 참나무(*Betula platyphylla* var. *japonica*)은 예로부터 식용으로 뿐만 아니라 생활 곳곳에 다양하게 사용하고 있으며, 중국의 신농본초경과 우리나라의 동의보감에는 나무껍질을 백화피, 화피란 이름으로 긴요한 약재에 사용된다는 기록이 있어 이미 안전성이 확보되어 있는 자원이다. 현재에도 자일리톨 등의 원료로 사용되며, 청량감을 주며 치주질환을 예방하고 당뇨병치료제의

혈당치를 조절하거나 식품에 첨가하고 있으며(3-5), 한방에서는 황달, 신장염, 폐결핵, 신경통, 위염, 이노, 간경화 등에 요긴하게 사용되며, 수피에서부터 수액, 나무, 목질 및 그 수액을 먹고 기생하는 차가버섯까지 버릴 것이 없는 이로운 나무로 알려져 있다(6-8).

그 중 면역증진기능은 다른 어떤 생체 기능 중 영양상태에 많은 영향을 받기 때문에 관련 식품들이 많이 개발되어 있는 실정이다(9-14). 이에 이 연구에서는 자작나무 수액을 이용한 탄소제거능 및 강제수영부하시험을 통해 면역증진기능성 식품으로서의 자작나무수액 개발 가능성을 알아보려고 하였다(15-17).

## 재료 및 방법

### 원료의 채취 및 전처리

본 연구에 사용된 원료는 2008년과 2009년 4월초에 충북 단양군 소백산국립공원 일대에서 생산된 원료를 사용하였다. 수액채취는 오전과 오후로 나누어 2회 채취한 후 -40°C의 냉동실에 옮겨 급속냉동 후 -20°C의 냉동고에 저장하였다.

### 실험동물

탄소제거실험과 강제수영부하실험을 위해 5주령의 수컷 Mouse (CrjBgi:CD-1(ICR), Orient Bio Inc, Seongnam, Korea)를 입수하여 온도 22±3°C, 상대습도 50±10%, 환기횟수 10-15회/시간, 조명주기 12시간 조도 200-300 Lux의 환경에서 1주일간의 순화기간을 거쳤으며 순화기간과 시험물질 투여기간 중 사료는 방사선(2.0 Mrad) 멸균 된 실험동물용 쥐사료(Purina Korea Inc, Pyeongtaek, Korea)를, 물은 자외선 살균처리 된 음용수를 자유섭취 시켰다.

\*Corresponding author: Heon Sang Jeong, Department of Food Science and Technology, Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk 361-763, Korea  
Tel: 82-43-261-2570  
Fax: 82-43-271-4412  
E-mail: hsjeong@chungbuk.ac.kr  
Received April 7, 2009; revised June 25, 2009;  
accepted June 27, 2009

### 투여경로 및 투여용량 설정

자작나무 수액은 예로부터 식용으로 사용되어 왔으며 임상에서의 적용경로 또한 경구를 통한 섭취이므로 경구를 통해 시험물질을 동물에 투여하였으며 일정량을 섭취시키기 위해 경구투여용 위관(Sonde)을 이용하여 1일 1회 강제경구투여 하였다. 투여용량의 설정은 자작나무 수액을 동결건조 하였을 때의 수율과 사람의 1일 섭취량을 고려하여 최고용량을 500 mg/kg B.W로 설정하고 공비를 0.5로 하여 중용량 및 저용량 투여용량을 250, 125 mg/kg B.W로 설정하였다.

### 탄소제거 실험

자작나무 수액이 동물의 면역반응 중 이물에 대한 탐식능에 영향을 주는지에 대해 알아보기 위해 자작나무 수액 동결건조물을 시험물질로 하여 이를 각 투여농도별 8마리씩의 수컷 ICR 마우스에 각각 125, 250, 500 mg/kg B.W의 농도로 1회 강제경구투여하고 60분이 지난 후 0.1 mL/10 g의 액량으로 주사용 먹물을 동물의 미정맥에 정맥투여하였다. 각각 2분 및 10분 지난 다음, 안와 정맥총 채혈을 통해 정맥혈을 채취하여 혈중 탄소과립의 농도를 측정함으로써 혈중 탄소 과립의 제거속도를 측정하고 동물의 간, 비장의 무게의 차이를 반영하기 위해 간과 비장을 적출한 후 무게를 측정하여 교정한 탐식지수(phagocytic index)  $\alpha$ 를 구하여 시험물질과 대조군과의 탐식능의 변화를 비교 관찰하였다.

### 강제수영부하실험

강제수영부하실험을 통해 물에서 움직임 없이 부동자세로 있는 시간을 측정, 비교함으로써 체력 혹은 인내력 증강에 의한 면역증진 효과를 검증하고자 자작나무 수액 동결건조물을 8마리씩의 동물을 한 개의 군으로 하고 1차 강제수영부하실험과 2차 강제수영부하실험을 위해 각각 2주 및 6주간 투여하고 마지막 투여 후 24시간 후에 수컷 ICR 마우스를 높이 24 cm, 둘레 10 cm, 온도 23-25°C, 20 cm 이상의 물이 들어 있는 원형 실린더 안에 넣고 6분 동안 관찰하였다. 관찰 6분 중 2분이 경과 한 후 4분 동안만 부동 시간으로 기록하고 부동시간은 마우스가 물위에 머리를 내밀고 움직임이 없으며 위쪽을 향해 떠 있을 때를 부동시간으로 측정하였다.

부동시간의 측정이 끝난 후 동물을 Ether로 마취하고 복대정맥을 통해 혈액학적 검사를 위한 혈액을 채혈하였다.

### 자료의 통계처리

모든 시험결과는 평균값과 표준오차를 사용하여 나타내었으며, 각 군간의 비교는 Student's t-test를 사용하며 대조군과 비교하여  $p$  값이 5% 미만일 때를 통계학적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

## 결과 및 고찰

### 탄소제거능 시험

자작나무 수액 동결건조물을 수컷 마우스에 각각 125, 250, 500 mg/kg B.W의 농도로 1회 강제경구 투여한 후 60분 뒤에 주사용 먹물을 정맥투여하고 혈중 탄소 과립의 제거속도를 측정하고 교정한 탐식지수(phagocytic index)  $\alpha$ 를 구하여 시험물질과 대조군과의 탐식능의 변화를 비교관찰하였다.

시험결과 동물의 체중 및 간, 비장의 무게는 대조군과 비교하여 유의성 있는 차이는 관찰되지 않았으나(Fig. 1), Fig. 2에서와 같이 탐식지수  $\alpha$ 는 대조군이  $3.368 \pm 0.291$ , 동결건조물로서 자작

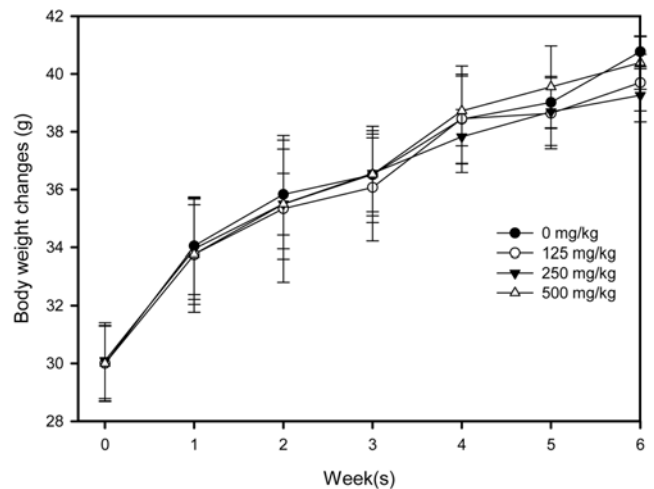


Fig. 1. Changes of body weight after administration of test samples. The data are presented as mean  $\pm$  SEM ( $n=8$ ).

나무 수액 125, 250, 500 mg/kg B.W. 용량의 투여군은 각각  $3.514 \pm 0.344$ ,  $3.927 \pm 0.326$ ,  $4.421 \pm 0.298$ 로 산출되어 자작나무 수액의 투여 농도에 따른 탐식능의 증가가 관찰되었으며, 특히 500 mg/kg B.W. 투여군의 탐식지수(phagocytic index)  $\alpha$ 는 대조군과 비교하여 유의성( $p < 0.05$ ) 있는 증가를 나타내었다.

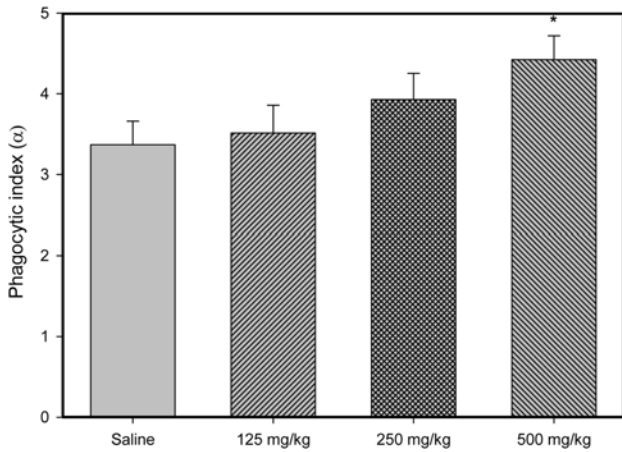
탐식지수(phagocytic index)는 혈중의 탄소입자에 대해 탐식세포들의 작용에 의해 혈중에서 탄소입자의 제거율을 간과 비장의 무게를 고려하여 일반적으로 측정하며 탐식지수(phagocytic index)의 증가는 탐식세포의 활성 증가를 나타낸다고 알려져 있다. 탄소제거능시험 결과 자작나무 수액을 투여한 모든 시험군에서 탐식지수(phagocytic index)의 증가를 나타내었다.

자작나무수액 500 mg/kg B.W. 투여군의 경우 대조군과 통계학적으로 유의성 있는 탐식지수(phagocytic index)의 증가를 나타냈으며 탐식지수(phagocytic index)의 증가는 mononuclear macrophage의 탐식기능의 개선과 비특이적 면역작용의 증가에 의한 것으로 사료된다.

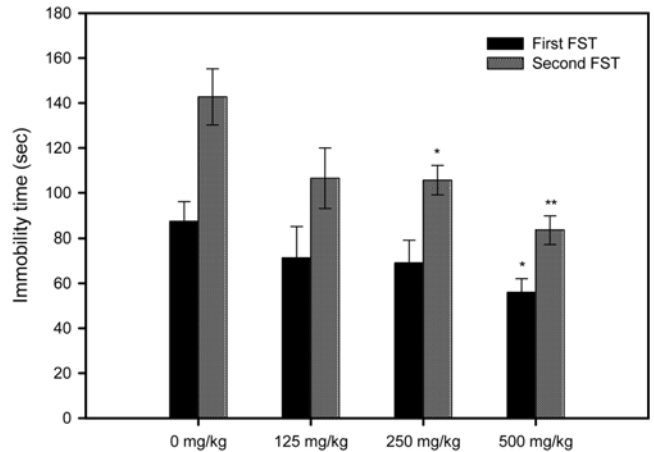
### 강제수영부하실험

자작나무 수액 동결건조물을 125, 250 및 500 mg/kg B.W의 농도로 2주간 1일 1회 강제 경구 투여 후 측정된 각 군의 평균 체중 변화에 있어서 통계학적인 차이는 관찰되지 않았다(Fig. 1). 다만, 자작나무 수액 동결건조물을 2주 투여 후 실시한 강제수영부하실험 결과 Fig. 3에서 보는 바와 같이 대조군의 4분간의 관찰 시간 중 부동시간(immobility duration time)은  $87.38 \pm 8.71$  sec, 125 mg/kg B.W.의 투여군의 부동시간은  $71.38 \pm 13.60$  sec, 250 mg/kg B.W. 투여군의 부동시간은  $69.13 \pm 10.04$  sec, 500 mg/kg B.W. 투여군의 부동시간은  $56.00 \pm 6.07$  sec로 각각 측정되었다. 시험물질 투여군의 부동시간은 saline을 투여한 대조군의 부동시간에 비해 감소하는 경향을 나타냈으며, 특히 500 mg/kg B.W.의 농도로 자작나무수액 동결건조물을 투여한 시험군의 부동시간은 대조군의 부동시간에 비해 유의성( $p < 0.05$ ) 있는 감소를 나타냈다.

6주간의 자작나무 수액 동결건조물을 투여 후 측정된 각 군의 평균 체중 또한 1차 강제수영부하실험 전 측정된 체중변화에서와 같이 통계학적인 차이는 관찰되지 않았다(Fig. 1). 강제수영부하실험 결과 Fig. 3에 나타난 결과에서 보는 바와 같이 대조군의 부동시간(immobility duration time)은  $142.75 \pm 12.50$  sec, 125 mg/



**Fig. 2. Effect of test samples treatment on Carbon Clearance Test from circulation in male mice.** The data are presented as mean±SEM (n=8). \*p<0.05, significantly different from saline treated group.



**Fig. 3. Effect of test samples on immobility time in the forced swimming test.** The data are presented as mean±SEM (n=8). \*p<0.05, \*\*p<0.01, significantly different from saline treated control group.

kg B.W.의 투여군의 부동시간은 106.50±13.49 sec, 로 통계적으로 유의성있는 차이는 없었지만 대조군의 부동시간에 비해 감소하였으며 250 mg/kg B.W. 투여군의 부동시간은 105.63±6.56 sec로 통계적으로 유의성(p<0.05)있는 부동시간의 감소가 관찰되었다. 또한 500 mg/kg B.W. 투여군의 부동시간은 83.50±6.25 sec로 대조군의 부동시간에 비해 통계적으로 매우 유의성(p<0.01) 있는 부동시간의 감소가 관찰되었다.

강제수영부하시험은 체력 혹은 인내력 증강에 의한 면역증진 효과를 검증해 볼 수 있으며 면역력이 감소한 환자들에서 관찰되는 neutrophil phagocytosis, lymphocyte의 증식 저하, IL-2의 분비저하 등 또한 나타나 이러한 증상을 억제 또는 개선함을 평가함으로써 면역증진효과를 검색하는 좋은 모델로 알려져 있다. 자작나무 수액의 2주 및 6주 투여 후 실시한 강제수영부하시험결과 자작나무 수액의 투여는 농도의존적인 부동시간이 단축되는 경향을 나타냈으며 2주 투여 후 시행한 강제수영부하시험결과에 500 mg/kg B.W. 투여군의 부동시간은 대조군에 비해 통계학적으로 유의적인 부동시간의 감소가 관찰되었으며 6주 투여 후 시행한 강제수영부하시험에서도 250 mg/kg B.W. 및 500 mg/kg B.W. 투여군의 부동시간은 대조군과 비해 통계학적으로 유의성 있는 단축을 나타냈다.

또한 대조군의 부동시간에 대한 자작나무 수액 투여군의 부동시간 차이는 2주 투여후의 감소차보다 6주 투여후의 부동시간의 감소차가 큰 것으로 나타났으며 강제수영부하시험 후 실시한 혈액학적 검사 결과에서도 자작나무 수액의 2주 투여보다는 6주간의 투여 후 실시한 강제수영부하시험 후의 혈액학적검사에서 대

조군의 neutrophil, lymphocyte 및 monocyte의 수보다 뚜렷이 증가가 나타났다.

**혈액학적 성상변화**

1차 강제수영부하시험 시행 후 전혈을 취하여 혈구자동측정기 (ADVIA 120 Hematology system, Bayer Health Care, UK)를 사용하여 시행한 혈액학적 검사 결과 자작나무 수액 125 mg/kg B.W. 투여군의 총백혈구(WBC)수는 1.25±0.18 K/μL로 대조군의 0.86±0.16 K/μL에 비해 증가하였으며 Lymphocyte와 Eosinophil 또한 각각 1.00±0.15와 0.06±0.01 K/μL로 대조군에 비해 증가하였으나 통계학적 차이는 관찰되지 않았다(Table 1).

Monocyte 수는 0.02±0.00 K/μL로 대조군과 비교하여 유의성(p<0.05) 있는 증가가 관찰되었다. 자작나무 수액 250 및 500 mg/kg B.W. 투여군의 WBC의 수는 대조군과의 차이가 관찰되지 않았으나 WBC 중의 Neutrophil의 수는 대조군의 0.18±0.04 K/μL에 비해 각각 0.11±0.03 및 0.11±0.02 K/μL로 수적 감소가 관찰되었다.

2차 강제수영부하시험 시행 후 시행한 혈액학적 검사 결과 총백혈구(WBC)수는 대조군이 1.67±0.28 K/μL으로 측정되었으나 125, 250 및 500 mg/kg B.W.의 자작나무 수액 투여군의 총백혈구(WBC) 수는 각각 2.59±0.39, 1.99±0.16 및 2.66±0.67 K/μL로 대조군과 비교하여 총백혈구(WBC)의 수가 높게 측정되었으며 Neutrophil의 수 역시 대조군이 0.19±0.03 K/μL인데 비해 125, 250 및 500 mg/kg B.W.의 자작나무 수액 투여군은 각각 0.27±0.04, 0.39±0.06 및 0.48±0.09 K/μL로 대조군에 비해 높은 수치를 나타냈다(Table 2).

**Table 1. Effect of test sample treatment on Hematology after first forced swimming test**

Test Sample	Dose (mg/kg)	N	WBC (K/μL)	WBC Differential Counting (K/ul)				
				Neutrophil	Lymphocyte	Monocyte	Eosinophil	Basophil
Saline	0	8	0.86±0.16 <sup>1)</sup>	0.18±0.04	0.64±0.13	0.00±0.00	0.03±0.01	0.00±0.00
Freeze dried sap of the white birch	125	8	1.25±0.18	0.18±0.03	1.00±0.15	0.02±0.00*	0.06±0.01	0.00±0.00
Freeze dried sap of the white birch	250	8	0.81±0.17	0.11±0.03	0.68±0.14	0.00±0.00	0.01±0.00	0.00±0.00
Freeze dried sap of the white birch	500	8	0.87±0.16	0.11±0.02	0.73±0.14	0.01±0.00	0.02±0.01	0.00±0.00

<sup>1)</sup>Values are mean±SD (n=8)

\*p<0.05

Table 2. Effect of test sample treatment on Hematology after second forced swimming test

Test Sample	Dose (mg/kg)	N	WBC (K/ $\mu$ L)	WBC Differential Counting (K/ $\mu$ L)				
				Neutrophil	Lymphocyte	Monocyte	Eosinophil	Basophil
Saline	0	8	1.67 $\pm$ 0.28 <sup>1)</sup>	0.19 $\pm$ 0.03	1.40 $\pm$ 0.25	0.02 $\pm$ 0.01	0.07 $\pm$ 0.05	0.00 $\pm$ 0.00
Freeze dried sap of the white birch	125	8	2.59 $\pm$ 0.39	0.27 $\pm$ 0.04	2.09 $\pm$ 0.36	0.02 $\pm$ 0.00	0.19 $\pm$ 0.08	0.00 $\pm$ 0.00
Freeze dried sap of the white birch	250	8	1.99 $\pm$ 0.16	0.39 $\pm$ 0.06*	1.41 $\pm$ 0.18	0.05 $\pm$ 0.02	0.14 $\pm$ 0.05	0.00 $\pm$ 0.00

<sup>1)</sup>Values are mean $\pm$ SD (n=8)

\*p<0.05

특히 250 mg/kg B.W. 투여군과 500 mg/kg B.W. 투여군에서는 통계적으로 유의성(p<0.05) 있는 감소 역제가 관찰되었다. lymphocyte의 수적 변화 또한 대조군의 lymphocyte 수 1.40 $\pm$ 0.25 K/ $\mu$ L와 비교하여 250 mg/kg B.W.의 자작나무 수액의 lymphocyte 수를 제외한 자작나무 수액 125 및 500 mg/kg B.W.의 투여군의 lymphocyte수는 각각 2.09 $\pm$ 0.36과 1.95 $\pm$ 0.36 K/ $\mu$ L로 높게 측정되었다. 자작나무 수액 동결건조물 250과 500 mg/kg B.W. 투여군의 Monocyte 수 또한 대조군의 0.02 $\pm$ 0.01 K/ $\mu$ L에 비해 각각 0.05 $\pm$ 0.02와 0.05 $\pm$ 0.01 K/ $\mu$ L로 측정되었으며 특히 500 mg/kg B.W. 투여군의 monocyte 수는 대조군과 통계적으로 유의성(p<0.05) 있는 차이가 관찰되었다.

이상의 결과로부터 자작나무 수액동결건조물의 투여는 체액성 면역의 증가를 통한 체내 이물질의 제거율을 증가 시켰으며, 부동시간(immobility time)의 감소와 백혈구계 세포수의 증가를 나타내었다. 특히 6주간 자작나무 수액동결건조물을 투여 후 시행한 강제수영부하시험(FST)에서 2주간 투여한 결과보다 부동시간(immobility time)의 감소와 백혈구계 세포 수의 증가가 보다 명확하게 관찰되었다. 이는 자작나무 수액의 장기적인 섭취가 단기적인 섭취에 비해 비특이적 면역의 증가와 더불어 체력과 내내력의 증가에 의한 면역력증가에 보다 효과가 있을 것으로 판단된다.

## 요 약

면역증진기능성 식품으로서 자작나무 수액의 개발 가능성을 확인하기 위하여 자작나무로부터 채취한 수액을 동결건조하여 이를 수컷 ICR mouse에 경구 투여한 후 탄소제거시험과 부동시간 측정을 통해 면역증진 효과를 살펴보았다. 탄소제거 시험에서 500 mg/kg B.W.의 용량으로 자작나무 수액 동결건조물을 투여하였을 때 평균생리식염수만을 투여한 대조군에 비해 유의성있는(p<0.05) 탐식지수(phagocytic index)의 증가가 있었으며, 강제수영부하시험(FST) 결과 부동시간(immobility time)은 2주간 500 mg/kg B.W.의 용량으로 시험물질을 투여한 동물에서 대조군의 부동시간과 비교하여 유의적으로 감소하였다(p<0.05). 125, 250, 500 mg/kg의 용량으로 6주간 투여한 동물에서 대조군 보다 부동시간이 감소하였다. 특히 250, 500 mg/kg 용량 투여군에서 통계적으로 유의한(p<0.05) 부동시간의 감소가 관찰되었으며, 혈액학적 검사결과 백혈구계 세포 수의 증가를 나타내었다.

## 감사의 글

연구는 산림청 임업기술연구개발사업(과제번호:20090146)의 지원에 의하여 이루어진 것으로 연구비 지원기관에 감사드립니다.

## 문 헌

1. Lim HB, Lee DW, Lee JS. Influence of long-term supplementation with Korean red ginseng on *in vivo* antioxidant capacities in rats. Food Sci. Biotechnol. 18: 234-238 (2009)
2. Chol EJ, Kim GH. Effect of *Elsholtzia splendens* extracts on the blood lipid profile and hepatotoxicity of the mice. Food Sci. Biotechnol. 17: 413-416 (2008)
3. Suh JW. Pharmaceutical agent containing the *Betula platyphylla Sukatchev var. japonica* Hara extract as an effective ingredient and its use. Korean Patent. 14,692 (2007)
4. Shin OM. Manufacture for functional soybean paste and soy sauce using Birch Sap. Korean Patent. 94,091 (2005)
5. Kim KD, Kim SY, Lee JK, Noh BS. Effects of xylose and xylitol on the organic acid fermentation of Kimchi. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 889-895 (2000)
6. Hwang YJ, Noh GW, Kim SH. Effect of *Inonotus obliquus* extracts on proliferation and caspase-3 activity in human gastro-intestinal cancer cell lines. Korean J. Nutr. 36: 18-23 (2003)
7. Hong HO. Effects of *Inonotus obliquus* extract on blood glucose levels in genetically diabetic mice. Korean J. Nutr. 40: 601-605 (2007)
8. Park YK, Kim JS, Jeon EJ, Kang MH. The improvement of chaga mushroom(*Inonotus obliquus*) extract supplementation on the blood glucose and cellular DNA damage in streptozotocin - Induced diabetic rats. Korean J. Nutr. 42: 5-13 (2009)
9. Chen CZ, Chen GL. Effects of *Cordyceps sinensis* on murine T lymphocyte subsets. Chin. Med. J. 104: 4-8 (1991)
10. Lee SH, Lim BO, Choue RW. Immunoregulatory effects of water extracts of *Scutellariae Radix* in DSS-induced inflammatory bowel disease animal model. Korean J. Nutr. 37: 431-439 (2004)
11. Kuo YC, Tsai WJ, Shiao MS, Chen CF, Lim CY. *Cordyceps sinensis* as an immunomodulatory agent. Am J. Chin. Med. 24: 111-125 (1996)
12. Kwon J, Lee SJ, So JN, Oh CH. Effects of *Schizandra chinensis* fructus on the immunoregulatory action and apoptosis of L1210 cells. Korean J. Food Sci. Technol. 33: 384-388 (2001)
13. Ryu HS, Kim HS. Effect of *Zingiber officinale* roscoe extracts on mice immune cell activation. Korean J. Nutr. 37: 23-30 (2004)
14. Zakari-Rungkat, Nurahman, E Prangdimurt, Tejasari. Antioxidant and Immno enhancement activities of ginger(*Zingiber officinale* roscoe) extracts and compounds in *in vitro* and *in vivo* mouse and human system. Nutraceuticals & Food. 8: 96-104 (2003)
15. Gonda RM, Tomoda N, Shimizu M, Kanari. Characterization of an acidic polysaccharide from the seeds of *Malva vericillata* stimulation the phagocytic activity of cells of the RES. Planta Med. 56: 73-76 (1990)
16. Shin HY, Park SJ, Seo SW, Hong SH, Uma JY, Lee SH, Lee SH, Shin JY, Shin TY, Park YS, Yang DC, Kim HM. Gamibojungikki-tang decreases immobility time on the forced swimming test and increases interferon-production from MOLT-4 cells. J. Ethnopharmacology. 102: 113-119 (2005)
17. Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. Nature. 266: 730-732 (1977)