

EtOH 등의 독성물질에 대한 유산균발효애엽 추출물의 간세포보호효과

박완수*

경원대학교 한의과대학 병리학교실

Effect of *Artemisiae Argi* Folium Fermented with *Lactobacillus Pentosus* on Viability of Human Hepatocyte Treated with Toxicants

Wan Su Park*

Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Kyungwon University

The purpose of this study is to investigate the effect of water extract from *Artemisiae Argi* Folium Fermented with *Lactobacillus pentosus* (AFL) on viability of human hepatocyte HepG2 cells treated with hepatotoxicants such as EtOH, gallic acid, nicotine, acetaminophen, acetaldehyde, and lipopolysaccharide. AFL (0~400 ug/mL) was treated with EtOH, gallic acid, nicotine, acetaminophen, acetaldehyde, and lipopolysaccharide. And the viability of HepG2 cells was measured by MTT assay. AFL at the high concentration such as 400 ug/mL showed to increase significantly viabilities of HepG2 cells compared with hepatotoxicants (EtOH, gallic acid, nicotine, acetaminophen, and lipopolysaccharide) only (p<0.05). AFL could be supposed to have the hepatoprotective effect against hepatotoxicants such as gallic acid, EtOH, nicotine, acetaminophen, and lipopolysaccharide at the high concentration.

Key words : hepatocyte, *Lactobacillus pentosus*, *artemisiae argi* folium, fermentation, cell viability

서 론

애엽(艾葉; *Artemisiae Argi* Folium)은 국화과(Compositae; 菊科)에 속한 다년생 초본(草本)인 황해쭉(*Artemisia argyi* L.)의 잎을 말린 것으로, 여름철에 개화하기 전에 채취해서 햇볕에 말린 후 사용하는 한약의 일종이다.

한의학(韓醫學) 이론에 의하면, 애엽(艾葉)의 약성(藥性)은 온(溫)하며 소독(小毒)이 있고 신고(辛苦)한 맛을 가지고 있어, 경락을 덥혀서 출혈을 막고(溫經止血), 한사를 몰아내어 통증을 없애주는(散寒止痛) 효능이 있어서 아랫배 좌우가 차가우며 아픈 증상(少腹冷痛), 여성의 월경의 주기가 일정치 않은 것(月經不調), 여성의 자궁기능이 약화되어 임신이 어려운 경우(宮冷不孕), 피를 토하는 것(吐血), 코피가 잘나는 것(衄血), 과다한 자궁 출혈(崩漏經多), 임신성 하혈(下血) 등에 적용될 수 있는 것으로 알려져 있다¹⁻³. 한편, 외용질환을 치료하는 외용약(外用藥)으로 사용

되기도 하는데 피부소양증(皮膚癢痒症)을 치료하기도 하며 뜸(灸)의 기본재료로서 구법(灸法)에 사용되기도 한다^{1,3}.

한약에 대한 근래의 연구 중에 제형제제의 다양화를 위한 시도가 많이 이루어지고 있으며 그 중에서도 한약복합처방 혹은 한약제를 발효하여 한약의 안전성을 확보하면서 효능의 증대를 시도하거나 기존에 없었던 새로운 약효를 만들어내는 등의 다양한 연구들이 보고되고 있고, 발효쭉의 신체조법 개발이나 발효쭉의 약리적 효능 증대에 대한 연구 또한 다수 보고되어 있다^{3,4}.

다른 한편으로, 최근 들어 천연물소재의 건강식품을 비롯한 한약제품들에 대하여 안전성논란이 많아지고 있다. 천연물에 의한 간독성, 급성 간염 등 간조직에 유해한 약리적 반응을 일으키는 천연물에 대한 연구보고들⁵⁻⁷이 많기는 하지만, 이와는 반대로 한약제나 한약에 포함된 유효성분이 오히려 다른 독성물질들에 의해 유발되는 간의 병리적 변화나 간세포독성작용을 완화하는 효과를 나타낸다는 보고도 적지 않다^{3,8-12}.

본 연구에서는 애엽(艾葉)을 유산균의 일종인 *Lactobacillus pentosus*로 발효시켜 얻은 시료(AFL)가 ethanol(EtOH), gallic acid(GA), nicotine, acetaminophen(AAP), acetaldehyde(AC),

* 교신저자 : 박완수, 성남시 수정구 복정동 경원대학교 한의과대학

· E-mail : hang198@naver.com, · Tel : 031-750-8821

· 접수 : 2010/04/23 · 수정 : 2010/05/07 · 채택 : 2010/06/07

lipopolysaccharide(LPS) 등의 다양한 간독성유발물질들에 의해 손상 받은 간세포의 생존률에 미치는 영향을 알아보기 위하여 in vitro 실험을 수행하고 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 시약 및 기기

본 실험에 사용된 시약 중 dimethyl sulfoxide (DMSO), MTT(3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, a tetrazole)시약 등은 Sigma사(ST. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 각 시약의 품질은 분석용 등급 이상의 것으로 하여 사용하였다. 본 실험에 사용된 기기는 rotary vacuum evaporator (Eyela, Tokyo, Japan), freeze dryer (Eyela, Tokyo, Japan), deep freezer (Revco, NC, USA), microplate reader (Bio-Rad, CA, USA) 등이다.

2) 약제

본 실험에 사용된 약제 애엽(艾葉; *Artemisiae Argi Folium*)은 한국 서해안에서 채취, 김정환 후 사용하였으며 검증된 약제(No. 2008-01-0015)는 경원대학교 한의과대학 병리학교실에 보관되었다.

2. 방법

1) 시료의 제조

유산균발효애엽의 제조는 이미 보고한 선행연구¹³⁾의 방법에 따라 다음과 같이 시행하였다.

(1) 艾葉 추출물 제조

艾葉 50 g을 전기약탕기에 1차 증류수 1,000 mL와 함께 넣은 뒤 150분 동안 가열, 추출하였다. 추출이 끝난 뒤 추출액을 filter paper(Advantec No.2, Japan)로 감압 여과한 뒤, 여과액을 rotary vacuum evaporator를 이용하여 농축하였다. 이 농축액을 동결건조기를 이용하여 건조한 뒤 발효할 시료로 사용하였다. 동결건조 추출물은 6 g을 얻었으며 수율은 12%였다.

(2) 유산균발효애엽 추출물(AFL) 제조

위에서 제조된 艾葉 추출물을 이용하여 다음과 같이 유산균 발효애엽 추출물(AFL)을 제조하였다.

① 조효소 조제 : 조효소제인 3 g α -herbzyme (한국효소, 화성, 한국)에 증류수 100 mL를 가하고 37°C에서 30분간 침출하여 여과시킨 후 그 여액을 조효소액으로 사용하였다.

② 열수출하여 건조한 艾葉 추출물(3.0 g, pH : 5.44)을 screw cap tube 0.95 g을 담고 미리 추출된 조효소액을 2.2 mL를 첨가하여 37°C에서 2시간 효소반응하였다.

③ 효소반응 후 95°C에서 10분간 살균하였다.

④ *Lactobacillus pentosus* K34를 艾葉에 4%씩 접종하여 37°C에서 4일간 배양하였다.

⑤ 배양 후 pH는 5.42였다.

⑥ 배양 후 60°C에서 20분간 열처리한 후 동결건조하여 유산

균발효애엽 추출물(AFL) 제조를 완료, 실험에 사용하였다.

2) Cell line

실험에 사용된 세포주는 human hepatocyte(HepG2 cell line)로서 한국세포주은행(KCLB, Korea)에서 구입하였다.

3) 세포 배양

HepG2 cells은 37°C, 5% CO₂ 조건에서 10% FBS, penicillin (100 U/mL), streptomycin (100 µg/mL)이 첨가된 DMEM 배지로 배양되었다. HepG2 cells이 75 cm² flask (Falcon, USA)에서 충분히 증식된 후 배양 3일 간격으로 배양세포 표면을 phosphate buffered saline (PBS; Sigma, USA) 용액으로 씻어준 후 75 cm² flask 당 3 mL의 0.25 % trypsin-EDTA용액을 넣고 실온에서 1분간 처리한 다음 trypsin용액을 버리고 37°C에서 5분간 보관하여 세포를 탈착한 후 계대 배양하였다. 탈착된 세포는 10% FBS가 첨가된 DMEM 배양액 10 mL에 부유시킨 다음 새로운 배양용기에 옮겨 1 : 2의 split ratio로 CO₂ 배양기(37°C, 5% CO₂)에서 배양하였다.

4) 세포생존율검사

준비된 시료가 EtOH 등의 간독성물질에 의해서 유발되는 세포 독성을 방어하는 효과를 알아보기 위하여 Mosmann 등^{14,17)}의 방법을 응용하여 HepG2 cells을 대상으로 MTT assay를 실시하였다.

96 well plate에 1×10⁴ cells/well의 농도로 분주되도록 1×10⁵ cells/mL의 cell을 각 well 당 100 µl씩 넣고 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간동안 배양한 후 배지를 버리고 배양세포 표면을 PBS 용액으로 씻어주었다. 다음으로 배지에 녹인 시료(0, 10, 50, 100, 200, 400 µg/mL)와 독성물질들(GA, EtOH, nicotine, AAP, AC, LPS)을 각 well에 처리하고 24시간동안 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 배양이 끝난 배지를 조심스럽게 제거하고 PBS에 녹인 1 mg/mL MTT(Sigma, USA)를 100 µl씩 각 well에 처리하고 알루미늄호일로 차광시킨 후 2시간동안 같은 조건에서 배양하였다. 배양이 끝난 뒤 배양액을 모두 제거하고 DMSO를 200 µl 처리한 뒤 37°C에서 60분 방치 후 microplate reader (Molecular Devices, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정, 세포생존율을 비교하였다.

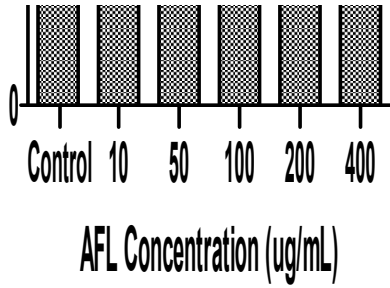
3. 통계처리

실험성적은 Mean ± S.D.로 나타내었으며, 대조군과 각 실험군과의 평균 차이는 Student t-test로 분석하여 P<0.05일 때 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1. Gallic acid(GA)와 AFL의 동시투여가 HepG2 cell의 세포생존율에 미치는 영향

GA(100 µM)와 AFL(0, 10, 50, 100, 200, 400 µg/mL)을 함께 처리하여 24시간동안 배양한 결과 AFL이 200 µg/mL 이상의 농도에서 GA 단독으로 처리한 군보다 유의하게(p<0.05) 세포생존율을 증가시키는 것으로 나타났다(Fig. 1).

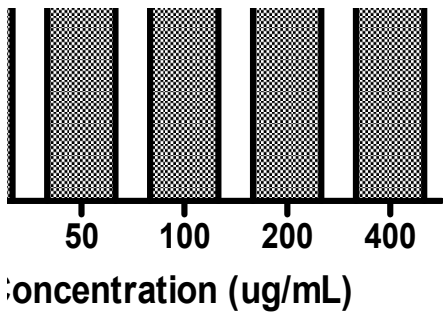


AFL(ug/mL)	0	10	50	100	200	400
GA (100 uM)	+	+	+	+	+	+
Mean	100.00	100.62	104.35	104.97	108.08	126.09
SD	6.33	4.79	7.51	5.27	3.76	9.17

Fig. 1. Effect of AFL on viability of HepG2 cell treated with gallic acid (GA; 100 uM). Cells were incubated with AFL and GA for 24 hr. Results are represented as mean ± S.D. AFL : Water extract of *Artemisiae Argi* Folium Fermented with *Lactobacillus pentosus*. Control : Treated with GA only. * represents P < 0.05 compared to the control.

2. EtOH과 AFL의 동시투여가 HepG2 cell의 세포생존율에 미치는 영향

EtOH(100 uM)과 AFL(0, 10, 50, 100, 200, 400 ug/mL)을 함께 처리하여 24시간동안 배양한 결과 AFL이 100 ug/mL 이상의 농도에서 EtOH 단독으로 처리한 군보다 유의하게(p<0.05) 세포생존율을 증가시키는 것으로 나타났다(Fig. 2).

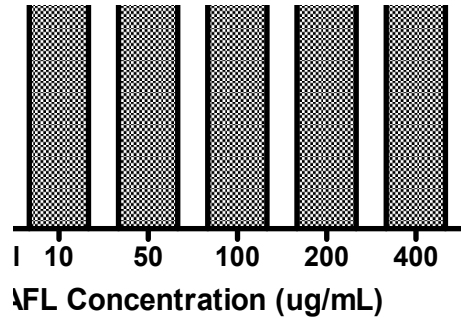


AFL(ug/mL)	0	10	50	100	200	400
EtOH (100 uM)	+	+	+	+	+	+
Mean	100.00	104.06	105.80	115.65	123.19	123.48
SD	11.52	11.85	12.01	4.19	9.71	6.41

Fig. 2. Effect of AFL on viability of HepG2 cell treated with EtOH (100 uM). Cells were incubated with AFL and EtOH for 24 hr. Results are represented as mean ± S.D. AFL : Water extract of *Artemisiae Argi* Folium Fermented with *Lactobacillus pentosus*. Control : Treated with EtOH only. * represents P < 0.05 compared to the control.

3. Nicotine과 AFL의 동시투여가 HepG2 cell의 세포생존율에 미치는 영향

Nicotine(1 mM)과 AFL(0, 10, 50, 100, 200, 400 ug/mL)을 함께 처리하여 24시간동안 배양한 결과 AFL이 200 ug/mL 이상의 농도에서 nicotine 단독으로 처리한 군보다 유의하게(p<0.05) 세포생존율을 증가시키는 것으로 나타났다(Fig. 3).

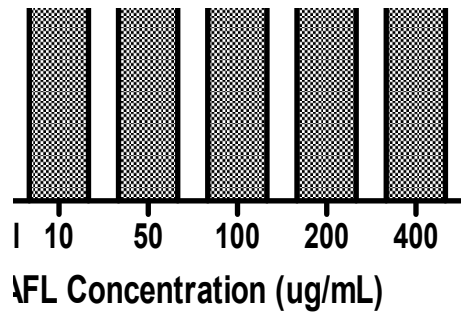


AFL(ug/mL)	0	10	50	100	200	400
Nicotine (1 mM)	+	+	+	+	+	+
Mean	100.00	101.91	104.46	108.28	113.06	131.21
SD	4.86	4.31	7.33	11.39	10.18	19.55

Fig. 3. Effect of AFL on viability of HepG2 cell treated with nicotine (1 mM). Cells were incubated with AFL and nicotine for 24 hr. Results are represented as mean ± S.D. AFL : Water extract of *Artemisiae Argi* Folium Fermented with *Lactobacillus pentosus*. Control : Treated with nicotine only. * represents P < 0.05 compared to the control.

4. Acetaminophen(AAP)과 AFL의 동시투여가 HepG2 cell의 세포생존율에 미치는 영향

AAP(2 mM)와 AFL(0, 10, 50, 100, 200, 400 ug/mL)을 함께 처리하여 24시간동안 배양한 결과 AFL이 400 ug/mL의 농도에서 AAP 단독으로 처리한 군보다 유의하게(p<0.05) 세포생존율을 증가시키는 것으로 나타났다(Fig. 4).

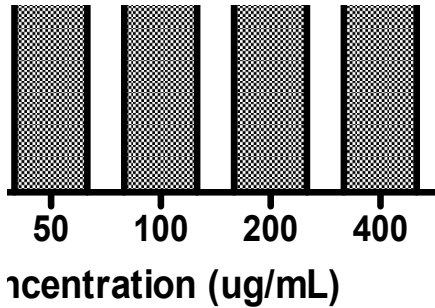


AFL(ug/mL)	0	10	50	100	200	400
AAP (2 mM)	+	+	+	+	+	+
Mean	100.00	99.37	99.37	103.14	99.06	115.36
SD	3.89	4.22	3.53	10.51	5.19	12.72

Fig. 4. Effect of AFL on viability of HepG2 cell treated with acetaminophen (AAP; 2 mM). Cells were incubated with AFL and AAP for 24 hr. Results are represented as mean ± S.D. AFL : Water extract of *Artemisiae Argi* Folium Fermented with *Lactobacillus pentosus*. Control : Treated with AAP only. * represents P < 0.05 compared to the control.

5. Acetaldehyde(AC)와 AFL의 동시투여가 HepG2 cell의 세포생존율에 미치는 영향

AC(200 uM)와 AFL(0, 10, 50, 100, 200, 400 ug/mL)을 함께 처리하여 24시간동안 배양한 결과 AFL이 400 ug/mL의 농도일 때에만 AC 단독으로 처리한 군과 비교해 유의한 변화는 나타나지 않았다(Fig. 5).

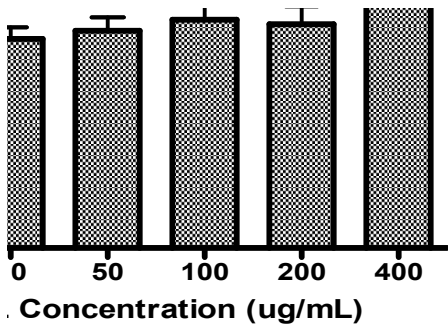


AFL(ug/mL)	0	10	50	100	200	400
Ac (200 uM)	+	+	+	+	+	+
Mean	100.00	98.77	101.23	102.77	104.31	100.92
SD	7.08	3.07	8.37	6.55	6.95	6.45

Fig. 5. Effect of AFL on viability of HepG2 cell treated with acetaldehyde (AC; 200 uM). Cells were incubated with AFL and AC for 24 hr. Results are represented as mean ± S.D. AFL : Water extract of *Artemisiae Argi Folium Fermented with Lactobacillus pentosus*. Control : Treated with AC only. * represents P < 0.05 compared to the control.

6. Lipopolysaccharide(LPS)와 AFL의 동시투여가 HepG2 cell의 세포생존율에 미치는 영향

LPS(0.5 ug/mL)와 AFL(0, 10, 50, 100, 200, 400 ug/mL)을 함께 처리하여 24시간동안 배양한 결과 AFL이 100, 400 ug/mL의 농도에서 LPS 단독으로 처리한 군보다 유의하게(p<0.05) 세포생존율을 증가시키는 것으로 나타났다(Fig. 6).



AFL(ug/mL)	0	10	50	100	200	400
LPS (0.5 ug/mL)	+	+	+	+	+	+
Mean	100	99.39	103.355	108.53	106.40	130.49
SD	5.98	5.49	6.38	6.65	8.54	18.80

Fig. 6. Effect of AFL on viability of HepG2 cell treated with lipopolysaccharide (LPS; 0.5 ug/mL). Cells were incubated with AFL and LPS for 24 hr. Results are represented as mean ± S.D. AFL : Water extract of *Artemisiae Argi Folium Fermented with Lactobacillus pentosus*. Control : Treated with LPS only. * represents P < 0.05 compared to the control.

고찰

애엽(*Artemisiae Argi Folium*)은 국화과에 속한 여러해살이 풀인 황해쭉(*Artemisia argyi* L.) 혹은 사자발쭉의 잎을 건조한 것으로, 간(肝), 비(脾), 신(腎) 등으로 귀경(歸經)하며 산한지통(散寒止痛), 온경지혈(溫經止血)하는 효능이 있어서 부인붕루(婦人

崩漏), 태동불안(胎動不安), 하복통(下腹痛), 적백리(赤白痢), 임신 중 하혈 등의 증상을 치료하며^{1,3}), 약리학적으로는 진해거담평천(鎮咳祛痰平喘), 항혈액응고(抗血液凝固), 면역증강(免疫增強), 항균(抗菌) 작용 등이²) 있는 것으로 알려져 있다. 애엽의 중요성분(major compound)으로는 약리활성을 가진 플라보노이드로서 Jaceosidin, scopoletin, isoscapoletin, Arteminolides B·C·D, Eudesmanolides 등^{19,24})이 보고된 바 있다.

김치의 숙성이나 전통된장제조시에 사용되는 발효기법을 한약이나 한약복합처방에 적용하는 시도가 최근 많이 이루어지고 있으며 발효를 이용하여 한약의 안전성을 높이고 효능의 증대를 시도하거나 새로운 약효를 발굴하는 다양한 연구들^{25,26})도 계속 보고되고 있다.

본 연구팀은 이미 발효애엽연구보고^{3,4})를 통하여 유산균발효 애엽이 대식세포에 면역활성을 나타냄과 고삼발효물과 애엽발효물의 혼합물 또한 대식세포에 대하여 면역활성을 가지고 있음을 밝힌 바 있다.

갈릭산(GA)는 약용 혹은 식용식물체에 존재하는 다양한 종류의 탄닌(tannin)으로부터 분리되는 것으로 항암작용이나 항염작용이 있는 것으로 알려져 있으나 과다사용시에는 간독성을 유발함이 보고되어 있다²⁷). 에탄올(EtOH)과 그의 분해체인 아세트알데히드(AC)는 모두 음주와 관련되어 있어 폭음이나 과음 시에 치명적인 간손상을 일으키는 것으로 보고되어 있다²⁸). 주로 흡연을 통해 섭취되는 니코틴(Nicotine)은 일반적으로 폐암 등의 호흡기질환을 유발하는 것으로 알려져 있지만, 간손상을 유발시키는 작용도 가지고 있음이 보고된 바 있다²⁹). 아세트아미노펜(AAP)은 항염제로서 널리 사용되고 있지만, 이미 과량복용시 심각한 간손상을 유발한다는, 대표적인 간독성물질로 분류된 바 있다³⁰). 지질다당체(LPS)는 그람음성균의 세포벽에서 유래되는 내독소(endotoxin)의 일종으로, 대식세포 등의 면역세포에 염증반응을 유발하는 것으로 알려져 있으며 이 또한 간조직에 독성작용을 유발함도 보고되어 있다³¹).

본 연구에서는 EtOH, GA, nicotine, AAP, AC, LPS 등의 다양한 간독성유발물질들에 의해 손상받은 간세포의 생존율에 미치는 유산균발효애엽 물추출물(AFL)의 영향에 대해서 알아보았다. 다양한 발효균주 중에 유산균은 김치발효균으로 이미 알려져 있어서 그 안정성이 확인된 균주이기 때문에 애엽의 발효균주로서 선택되었다. 발효가 끝난 뒤 살균처리를 위해 60℃에서 20분간 처리함으로써 한약재발효의 품질안전성을 확보하는 단계를 두었으며, 대부분의 한약이나 한약재가 물로 끓여 복용되기 때문에 본 실험에서도 열수추출, 즉 뜨거운 물로 추출하는 방법을 사용하였다.

GA와 AFL을 함께 처리하여 24시간동안 배양한 결과 AFL가 200 ug/mL 이상의 농도에서 GA 단독으로 처리한 군보다 유의하게(p<0.05) 세포생존율을 증가시키는 것으로 나타났으며, EtOH과 AFL을 함께 처리하여 24시간동안 배양한 결과에서는 AFL이 100 ug/mL 이상의 모든 농도에서 EtOH 단독으로 처리한 군보다 유의하게(p<0.05) 세포생존율을 증가시키는 것으로 나타났고, nicotine과 AFL을 함께 처리하여 24시간동안 배양한 결

과에서는 AFL이 200 ug/mL 이상의 농도에서 nicotine 단독으로 처리한 군보다 유의하게($p<0.05$) 세포생존율을 증가시키는 것으로 나타났으며, AAP와 AFL을 함께 처리하여 24시간동안 배양한 결과에서는 AFL이 400 ug/mL 의 농도에서 AAP 단독으로 처리한 군보다 유의하게($p<0.05$) 세포생존율을 증가시키는 것으로 나타내었다. 그리고 LPS와 AFL을 함께 처리하여 24시간동안 배양한 결과에서는 AFL이 100, 400 ug/mL의 농도에서 LPS 단독으로 처리한 군보다 유의하게($p<0.05$) 세포생존율을 증가시키는 것으로 나타났고, 그러나 AC와 AFL을 함께 처리한 결과에서는 유의한 변화가 나타나지 않아 AC로부터 간세포를 보호하는 효능이 나타나지 않았다.

이상의 결과는 황해쭉(*Artemisia argyi* L.)을 기원으로 하는 애엽(*Artemisiae Argi Folium*)을 유산균(*Lactobacillus pentosus*)으로 발효시켜 얻은 물추출물(AFL)이 EtOH, GA, nicotine, AAP, LPS 등의 간독성물질들에 의한 간조직세포의 손상을 완화하는 효능이 있음을 알려주는 것이다.

결 론

GA와 AFL을 함께 처리하여 24시간동안 배양한 결과 AFL가 200 ug/mL 이상의 농도에서 GA 단독으로 처리한 군보다 유의하게($p<0.05$) 세포생존율을 증가시키는 것으로 나타났으며, EtOH과 AFL을 함께 처리하여 24시간동안 배양한 결과에서는 AFL이 100 ug/mL 이상의 모든 농도에서 EtOH 단독으로 처리한 군보다 유의하게($p<0.05$) 세포생존율을 증가시키는 것으로 나타났고, nicotine과 AFL을 함께 처리하여 24시간동안 배양한 결과에서는 AFL이 200 ug/mL 이상의 농도에서 nicotine 단독으로 처리한 군보다 유의하게($p<0.05$) 세포생존율을 증가시키는 것으로 나타났으며, AAP와 AFL을 함께 처리하여 24시간동안 배양한 결과에서는 AFL이 400 ug/mL 의 농도에서 AAP 단독으로 처리한 군보다 유의하게($p<0.05$) 세포생존율을 증가시키는 것으로 나타내었다. 그리고 LPS와 AFL을 함께 처리하여 24시간동안 배양한 결과에서는 AFL이 100, 400 ug/mL의 농도에서 LPS 단독으로 처리한 군보다 유의하게($p<0.05$) 세포생존율을 증가시키는 것으로 나타났고, 이러한 결과는 황해쭉(*Artemisia argyi* L.)을 기원으로 하는 애엽(*Artemisiae Argi Folium*)을 유산균(*Lactobacillus pentosus*)으로 발효시켜 얻은 물추출물(AFL)이 EtOH, GA, nicotine, AAP, LPS 등의 간독성물질들에 의한 간조직세포의 손상을 고농도에서 완화하는 효능을 가지고 있음을 알려주는 것이다.

앞으로 독성물질들에 의한 간조직세포의 손상방어제로서 AFL의 효용성에 대한 보다 자세한 연구가 필요한 것으로 판단되는 바이다.

감사의 글

본 연구는 2010년도 경원대학교 연구비지원에 의하여 수행된 연구결과입니다.

참고문헌

1. 전국한의과대학 공동교재편찬위원회. 본초학. 서울, 영림사, pp 405-407, 1991.
2. 김호철. 한약약리학. 서울, 집문당, pp 309-311, 2001.
3. 박완수. Gallic acid 등으로 유발된 대식세포 내 hydrogen peroxide 생성억제에 대한 유산균발효애엽 추출물의 영향. 동의생리병리학회지 23(2):438-442, 2009.
4. 박완수, 김도훈. 고삼과 애엽의 발효 혼합물이 에탄올과 니코틴으로 유발된 마우스 대식세포 내 hydrogen peroxide 생성 감소에 미치는 영향. 동의생리병리학회지 22(5):1293-1298, 2008.
5. Zhou, S.F., Xue, C.C., Yu, X.Q., Wang, G. Metabolic activation of herbal and dietary constituents and its clinical and toxicological implications: an update. Curr Drug Metab. 8(6):526-553, 2007.
6. Savvidou, S., Goulis, J., Giavazis, I., Patsiaoura, K., Hytioglou, P., Arvanitakis, C. Herb-induced hepatitis by *Teucrium polium* L. report of two cases and review of the literature. Eur J Gastroenterol Hepatol. 19(6):507-511, 2007.
7. Saad, B., Azaizeh, H., Abu-Hijleh, G., Said, O. Safety of traditional arab herbal medicine. Evid Based Complement Alternat Med. 3(4):433-439, 2006.
8. Yuan, L.P., Chen, F.H., Ling, L., Dou, P.F., Bo, H., Zhong, M.M., Xia, L.J. Protective effects of total flavonoids of *Bidens pilosa* L. (TFB) on animal liver injury and liver fibrosis. J Ethnopharmacol. 116(3):539-546, 2008.
9. Yen, F.L., Wu, T.H., Lin, L.T., Cham, T.M., Lin, C.C. Nanoparticles formulation of *Cuscuta chinensis* prevents acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. Food Chem Toxicol. 46(5):1771-1777, 2008.
10. Lin, H.M., Tseng, H.C., Wang, C.J., Lin, J.J., Lo, C.W., Chou, F.P. Hepatoprotective effects of *Solanum nigrum* Linn extract against CCl₄-induced oxidative damage in rats. Chem Biol Interact. 171(3):283-293, 2008.
11. Balderas-Renteria, I., Camacho-Corona, Mdel R., Carranza-Rosales, P., Lozano-Garza, H.G., Castillo-Nava, D., Alvarez-Mendoza, F.J., Tamez-Cantú, E.M. Hepatoprotective effect of *Leucophyllum frutescens* on Wistar albino rats intoxicated with carbon tetrachloride. Ann Hepatol. 6(4):251-254, 2007.
12. Kim, E.Y., Kim, E.K., Lee, H.S., Sohn, Y., Soh, Y., Jung, H.S., Sohn, N.W. Protective effects of *Cuscuta* semen against dimethylnitrosamine-induced acute liver injury in Sprague-Dawley rats. Biol Pharm Bull. 30(8):1427-1431, 2007.
13. Park, W.S. Effect of *Sacchromyces cerevisiae*-Fermented *Artemisiae Argi Folium* on Nitric oxide Production of

- Macrophage Treated with Toxicants. *동의생리병리학회지* 23(4):883-887, 2009.
14. Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*. 65(1-2):55-63, 1983.
 15. Ferrari, M., Fornasiero, M.C., Isetta, A.M. MTT colorimetric assay for testing macrophage cytotoxic activity in vitro. *J Immunol Methods*. 131(2):165-172, 1990.
 16. Oez, S., Platzer, E., Welte, K. A quantitative colorimetric method to evaluate the functional state of human polymorphonuclear leukocytes. *Blut*. 60(2):97-102, 1990.
 17. Gerlier, D., Thomasset, N. Use of MTT colorimetric assay to measure cell activation. *J Immunol Methods*. 94(1-2):57-63, 1986.
 18. Roesler, J., Hecht, M., Freihorst, J., Lohmann-Matthes, M.L., Emmendorffer, A. Diagnosis of chronic granulomatous disease and of its mode of inheritance by dihydrorhodamine 123 and flow microcytofluorometry. *Eur J Pediatr*. 150(3):161-165, 1991.
 19. Kim, M.J., Kim, D.H., Lee, K.W., Yoon, D.Y., Surh, Y.J. Jaceosidin induces apoptosis in ras-transformed human breast epithelial cells through generation of reactive oxygen species. *Ann NY Acad Sci*. 1095: 483-495, 2007.
 20. Jeong, M.A., Lee, K.W., Yoon, D.Y., Lee, H.J. Jaceosidin, a pharmacologically active flavone derived from *Artemisia argyi*, inhibits phorbol-ester-induced upregulation of COX-2 and MMP-9 by blocking phosphorylation of ERK-1 and -2 in cultured human mammary epithelial cells. *Ann NY Acad Sci*. 1095: 458-466, 2007.
 21. Lee, H.G., Yu, K.A., Oh, W.K., Baeg, T.W., Oh, H.C., Ahn, J.S., Jang, W.C., Kim, J.W., Lim, J.S., Choe, Y.K., Yoon, D.Y. Inhibitory effect of jaceosidin isolated from *Artemisia argyi* on the function of E6 and E7 oncoproteins of HPV 16. *J Ethnopharmacol*. 98(3):339-343, 2005.
 22. Adams, M., Efferth, T., Bauer, R. Activity-guided isolation of scopoletin and isoscapoletin, the inhibitory active principles towards CCRF-CEM leukaemia cells and multi-drug resistant CEM/ADR5000 cells, from *Artemisia argyi*. *Planta Med*. 72(9):862-864, 2006.
 23. Lee, S.H., Kim, H.K., Seo, J.M., Kang, H.M., Kim, J.H., Son, K.H., Lee, H., Kwon, B.M., Shin, J., Seo, Y. Arteminolides B, C, and D, new inhibitors of farnesyl protein transferase from *Artemisia argyi*. *J Org Chem*. 67(22):7670-7675, 2002.
 24. Tan, R., Jia, Z. Eudesmanolides and Other Constituents from *Artemisia argyi*. *Planta Med*. 58(4):370-372, 1992.
 25. 조수인, 김형우, 이근지. 동백 발효 추출물 단기 투여의 활성에 대한 연구. *대한본초학회지* 21(2):55-62, 2006.
 26. 한효상, 박완수, 이영중. 艾葉 발효 추출물의 면역활성에 관한 연구. *대한본초학회지* 23(3):103-112, 2008.
 27. Galati, G., Lin, A., Sultan, A.M., O'Brien, P.J. Cellular and in vivo hepatotoxicity caused by green tea phenolic acids and catechins. *Free Radic Biol Med*. 40(4):570-580, 2006.
 28. Lieber, C.S. Alcoholic fatty liver: its pathogenesis and mechanism of progression to inflammation and fibrosis. *Alcohol*. 34(1):9-19, 2004.
 29. Sheng, H.P., Yuen, S.T., So, H.L., Cho, C.H. Hepatotoxicity of prenatal and postnatal exposure to nicotine in rat pups. *Exp Biol Med (Maywood)*. 226(10):934-939, 2001.
 30. Gandhi, A., Guo, T., Ghose, R. Role of c-Jun N-terminal kinase (JNK) in regulating tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) mediated increase of acetaminophen (APAP) and chlorpromazine (CPZ) toxicity in murine hepatocytes. *J Toxicol Sci*. 35(2):163-173, 2005.
 31. Kaur, G., Tirkey, N., Chopra, K. Beneficial effect of hesperidin on lipopolysaccharide-induced hepatotoxicity. *Toxicology*. 226(2-3):152-160, 2006.