

갈화와 갈근 열수추출물이 에탄올 투여 흰쥐의 혈청성분에 미치는 영향

조수열[†] · 장주연 · 김명주*

영남대학교 식품영양학과
*대구산업정보대학 식품영양과

Effects of *Pueraria flos* and *radix* Water-extracts on Levels of Several Serum Biomarkers in Ethanol-treated Rats

Soo-Yeul Cho[†], Joo-Yeun Jang and Myung-Joo Kim*

Dept. of Food and Nutrition, Yeungnam University, Kyongbuk 712-749, Korea

*Dept. of Food science and Nutrition, Taegu polytechnic College, Taegu 706-022, Korea

Abstract

The present study was investigated effect of each water extract from *Pueraria flos* (PF) and *Pueraria radix* (PR) on serum several biomarkers in ethanol-treated rats. Male Sprague-Dawley rats were randomly divided into six groups : Normal (None-treated group); Ethanol (only ethanol-treated group); EPF I (ethanol-treated, PF I-supplemented group); EPF II (ethanol-treated, PF II-supplemented group); EPR I (ethanol-treated, PR I-supplemented group); EPR (ethanol-treated, PR II-supplemented group). Five groups of male Sprague-Dawley rats were orally administered 25% ethanol (5 g/kg body weight/day) and sacrificed 5 weeks post treatment. Aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, alkaline phosphatase and γ -glutamyl transpeptidase activities were significantly lowered by feeding of PF or PR than those of only ethanol-treated group. Whereas serum glucose and liver glycogen contents were significantly decreased ($p<0.05$) by ethanol administration and increased by PF or PR supplement. Albumin content was significantly decreased ($p<0.05$) in only ethanol-treated group but was not shown significant difference by *Pueraria flos* or *radix* supplement. Creatinine and uric acid contents were significantly lowered ($p<0.05$) in PF and PR groups than only that of ethanol-treated group. Bilirubin contents were increased by ethanol administration and significantly decreased ($p<0.05$) by PF or PR supplement. This results indicate that *Pueraria flos* and *radix* water extract supplement improves alcoholic disorder.

Key words: *Pueraria flos*, *Pueraria radix*, ethanol, biomarker

서 론

에탄올은 약물이면서 기호품의 하나이다. 또한 열량을 공급하므로 식품으로도 정의되어질 수 있으나 과량 섭취시 신체에 독성효과를 나타내는데 이러한 효과는 에탄올 또는 그 대사산물의 직접적인 작용과 에탄올 대사시 나타나는 redox state 변화에 의한다(1).

에탄올은 분자 크기가 작고 약한 전하 때문에 신체 내에서 수동확산에 의해 모든 막을 통과할 수 있으며 혈액으로 들어가는 에탄올의 가장 일반적인 경로는 주로 공장과 회장의 위장관계를 통한 흡수이다(2). 흡수는 섭취 직후 즉각적으로 일어나며 위장관과 혈액사이에 존재하는 성분의 농도만큼 오래 지속되는데 흡수율은 사람에 따라 다르고 음료의 농도와 형태, 섭취율, 위장관 잔류식품 유무, 운동, 질병과 약물 등의 요인에 따라 다르다(3).

에탄올 투여에 의해 간손상 지표로 사용되는 aspartate

aminotransferase(AST), alanine aminotransferase(ALT), lactate dehydrogenase(LDH)의 활성은 증가되며(4), 만성중독시 alkaline phosphatase(ALP) 활성과 빌리루빈 함량은 현저하게 증가된다(5). 에탄올 중독은 간조직의 손상과 효소 활성의 변동을 초래하며 이로 인해 간의 기능과 생화학적 성분에 영향을 미치게 된다(6). 최근 이러한 에탄올성 간손상 예방 및 치료를 위한 적절한 약리적 제제에 대한 인식과 효과적 치료약물의 개발에 관심이 모아지고 있는데(7), 특히 한의학과 민간 요법에서 전통적으로 힘이 이용되고 있다.

칡(*Pueraria thunbergiana* Bentham)은 항산화물질을 함유한 다년생 덩굴성 목본으로 우리나라를 비롯하여 중국과 일본 등지에서 숙취 제거, 고혈압, 관상동맥경화증, 협심증, 당뇨병 및 해독 등에 이용되어 왔다(8-9). 국내외에서 칡의 성분 및 효능에 대한 연구가 이루어지고 있는데 칡의 항산화 성분이 보고됨으로써 칡추출물의 천연 항산화제로서의 이용성 검토가 요구되고 있다(10-13).

*Corresponding author. E-mail: chosy@ynucc.yeungnam.ac.kr
Phone: 82-53-810-2872, Fax: 82-53-813-3813

본 실험에서는 에탄올 중독된 흰쥐의 혈액성분에 미치는 칡추출물의 보호효과를 확인하기 위하여 칡의 꽂인 갈화(*Pueraria flos*)와 뿌리인 갈근(*Pueraria radix*)으로 나누어 열수추출물을 얻은 다음 두 수준으로 나누어 급여한 후 혈청의 생화학적 검사를 관찰하였다.

재료 및 방법

실험동물의 사육

실험동물은 Sprague Dawley계의 4주령의 수컷 흰쥐 42마리를 1주일간 기본식이로 적응시킨 후 평균 체중 120 ± 10 g인 것을 난괴법에 의해 6군으로 나누어 한마리씩 분리하여 사육하였다(Table 1). 사육실 온도는 $18 \pm 2^\circ\text{C}$ 로 유지하였으며 조명은 12시간 주기(08:00~20:00)로 조절하였다.

실험식이 및 시료의 채취

본 실험에 사용한 기본식이는 AIN-93(Table 2)(14)에 준하여 조제하였으며, 단백질 급원은 카제인(Teklad Co., USA)을 공급하였고, 탄수화물 급원으로는 옥수수 전분(두산), 지방 급원으로는 대두유(제일제당)를 사용하였다. 식이에 사용된 갈화와 갈근은 대구 약령시장에서 구입하여 익건한 후 작은 절편으로 만들어 균질기로 고속 2분, 저속 3분간을 3회 반복하여 조직파쇄를 행하였다. 이 파쇄액 100 g씩을 등근풀라스크에 넣고 10배량의 증류수를 가하여 4시간동안 가열추출하고 그 여액을 회전증발농축기로 감압농축하여 동결건조한 후 사용하였다. 수득율은 갈화 27.6%, 갈근 18.1%이었다. 본 실험에 사용한 실험식이는 실험동물 체중 kg당 1일 갈화, 갈근 섭취량이 1.2 g (I)과 2.4 g (II) 수준이 되게 조제하여 5주간 급여하였다. 에탄올 투여량은 Fujii 등의 방법(15)에 의해 25% 에탄올을 5 g/kg body weight 수준으로 1일 1회 일정시각에 경구투여하였고 물은 제한없이 공급하였다.

5주간 사육한 흰쥐를 16시간 절식시킨 후 에테르로 가볍게 마취시켜 개복하고 복부대동맥으로부터 채혈하여 실온에서

Table 1. Grouping of experimental animals

Experimental groups ¹⁾	<i>Pueraria flos</i> (g/kg B.W./d)	<i>Pueraria radix</i> (g/kg B.W./d)	Ethanol administration ²⁾
Normal			..
Ethanol			+
EPF I	1.2		+
EPF II	2.4		+
EPR I		1.2	+
EPR II		2.4	+

¹⁾Normal : None-treated group

Ethanol : Ethanol treated group

EPF I : Ethanol treated, *Pueraria flos* I group

EPF II : Ethanol treated, *Pueraria flos* II group

EPR I : Ethanol treated, *Pueraria radix* I group

EPR II : Ethanol treated, *Pueraria radix* II group

²⁾+: Rats were treated with 25% ethanol (v/v) orally administration (5 g/kg body weight) at the same time once a day for 5 weeks.

Table 2. Composition of basal diet

Ingredients	Content (%)
Casein	20.0
Corn starch	39.75
Dextrinized corn starch	13.2
Sucrose	10.0
Soybean oil	7.0
Fiber	5.0
AIN-mineral mixture ¹⁾	3.5
AIN-vitamin mixture ²⁾	1.0
L-Cystine	0.3
Choline bitartrate	0.25
tert-Butylhydroquinone	0.0014

¹⁾Mineral mixture (g/kg Min. mix.) according to AIN-93

²⁾Vitamin mixture (g/kg Min. mix.) according to AIN-93

30분간 방치한 다음 $600 \times g$ 에서 10분간 원심분리하여 혈청을 얻어 시료로 사용하였다. 간조직은 채혈직 후 빼어내고 수분을 제거한 후 균질기로 빙냉하에서 마쇄하여 균질액(20% w/v)을 얻은 다음 -70°C 에서 보관 후 글리코겐 함량 측정시 사용하였다.

시료의 분석

AST와 ALT 활성도는 Reitman과 Frankel(16)의 방법에 준하여 조제된 kit 시약(아산제약)을 사용하여 활성도를 산정하였으며 Karmen unit(17)로 나타내었다. ALP 활성도는 King-King의 방법(18)에 준하여 조제된 kit 시약(아산제약)을 사용하였으며 King-Armstrong unit(19)로 나타내었다. γ -glutamyl transpeptidase(GTP) 활성과 혈당치는 kit(아산제약)를 사용하여 측정하였다. 또한 간조직 중의 글리코겐 함량은 Handel(20)의 방법에 준하여 4% sulfosalicylic acid를 가한 후 3000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상층액에 anthron reagent를 첨가하고 80°C 에서 15분간 반응시킨 후 냉각하여 620 nm에서 그 함량을 측정하였다. 알부민, 크레아티닌과 빌리루빈 함량은 kit 시약(아산제약)을 사용하여 그 함량을 구하였다. 요산 함량은 Caraway의 방법(21)에 준하여 측정하였다. 혈청에 tungstate 용액을 가하여 잘 혼합한 다음 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 취한 후 Na_2CO_3 용액을 넣고 phosphotungstate를 가하여 700 nm에서 흡광도를 측정하여 그 함량을 구하였다.

통계처리

실험 결과는 SAS package를 이용하여 실험군당 평균土 표준편차로 표시하였고 각 군간의 평균치의 통계적 유의성은 $\alpha=0.05$ 수준에서 Duncan's multiple test(22)에 의해 검정하였다.

결과 및 고찰

AST, ALT, ALP와 γ -GTP 활성도

실험식이와 에탄올 투여로 사육한 흰쥐의 혈청 AST, ALT, ALP와 γ -GTP 활성 변화는 Table 3에 나타내었다.

Table 3. Effect of each *Pueraria flos* and *radix* water extracts on serum AST, ALT, ALP and γ -GTP activities

	AST ¹⁾	ALT ¹⁾	ALP ²⁾	γ -GTP ³⁾
Normal	18.14±2.65 ^{4c}	41.11±1.70 ^{d5)}	24.28±2.36 ^c	23.67±1.29 ^d
Ethanol	37.43±6.38 ^a	52.84±3.21 ^a	35.23±2.44 ^a	27.17±0.75 ^b
EPF I	23.33±2.23 ^b	49.67±3.36 ^b	27.55±1.64 ^{bc}	26.16±0.18 ^c
EPF II	22.62±2.23 ^b	45.21±2.35 ^c	28.46±2.55 ^b	26.44±0.24 ^{bc}
EPR I	24.82±2.75 ^b	48.24±1.63 ^b	27.08±2.48 ^{bc}	27.07±0.45 ^b
EPR II	24.59±4.75 ^b	52.79±3.55 ^a	28.38±5.20 ^b	27.99±0.14 ^a

¹⁾Karmen unit, ²⁾King-Armstrong unit, ³⁾ ρ -nitroaniline nmoles. AST (aspartate aminotransferase), ALT (alanine aminotransferase), ALP (alkaline phosphatase), γ -GTP (glutamyl transpeptidase)

⁴⁾Values are mean±S.D. (n=7).

⁵⁾Means with the same letter are not significantly different (p<0.05).

혈청 중의 AST와 ALT 활성은 에탄올 투여시 현저한 증가를 보였는데 이는 Wirkner와 Poelchen(23) 및 Bedenez 등(24)의 보고와 일치하는 결과이다. 또한 갈화와 갈근 열수 추출물 급여시 대조군에 비하여 유의적으로 감소되었는데 ALT의 경우 갈화군의 감소 효과가 큰 것으로 관찰되었다. 이는 에탄올에 중독된 흰쥐에게 갈화해성탕 급여시 AST와 ALT 활성이 감소되었다는 보고(25)와 Huh와 Lee(26)의 갈근추출물 급여로 AST 활성이 저하되었다는 보고로써 뒷받침된다. 또한 Niho 등(27)은 갈화의 isoflavanoid 성분인 kakkalide가 에탄올 투여로 증가된 AST와 ALT 활성을 억제시켰다고 보고하였으며, Hong(28)도 갈화 열수추출물이 증가된 AST와 ALT 활성을 유의적으로 감소시켰다고 보고하였다. 그러나 에탄올 급성투여시 AST와 ALT 활성에는 변화가 없었다는 Zima 등의 보고(29)도 있어 에탄올 독성을 투여 기간과 투여량에 영향을 받을 것으로 사료된다.

혈청 ALP 활성은 정상군에 비하여 에탄올 투여시 유의적으로 증가하였다. Mezey(30)는 에탄올 만성 투여시 정상군에 비해 ALP 활성이 증가되었으며, 에탄올중독자의 ALP 활성 역시 유의적으로 높았다는 Bjorneboe 등(31)의 보고와 같이 에탄올 투여시 간기능 손상 척도인 ALP 활성은 현저히 증가되었다. 실험식이 급여시 에탄올로 인해 상승된 ALP 활성이 유의적으로 억제되었으며 급여수준별 차이는 I군이 II군에 비하여 정상수준 가까이 회복되었으나 유의적이지는 않았고 부위에 따른 차이는 관찰되지 않았다.

에탄올성 간질환의 치유 지표로 사용되는 γ -GTP의 활성은 에탄올 투여시 유의적으로 증가되었으며 실험식이 급여로 감소되었는데, 갈화 열수추출물군이 갈근 열수추출물군에 비하여 감소 정도가 유의적이었으며 급여수준별 차이는 관찰되지 않았다.

혈당, 알부민, 크레아티닌, 요산과 글리코겐 함량

Table 4에는 에탄올을 투여한 흰쥐를 대상으로 췌의 부위 및 수준별 추출물을 급여에 따른 혈당, 혈청 알부민, 크레아티닌, 요산 함량 및 간조직 중의 글리코겐 함량 변화를 나타내었다.

본 실험에서 에탄올 투여군의 혈당이 정상군에 비하여 유의적으로 감소되었는데 이는 Maza 등(32)의 보고와 일치하는 결과이다. 에탄올중독시 저혈당증의 주요 기전은 에탄올에 의한 간의 당신생 저해 때문인데(33), 에탄올 대사시 NADH/NAD⁺ 비 증가는 당신생 제한단계인 옥살산 농도가 감소되어 pyruvate로부터 phosphoenolpyruvate 생성을 억제함으로써 일어난다(34). 췌 열수추출물 급여시 대조군에 비하여 혈당은 증가하는 경향을 보였으며, 갈근군에 비하여 갈화 열수추출물 급여군의 혈당치 상승효과가 큰 것으로 나타났다. 갈화의 주요 성분인 kakkalide가 에탄올 투여로 인한 혈당 상승치를 낮추었다는 Yamazaki 등(35)의 보고는 본 실험 결과와 상이한 반면, Lee(36)는 1% 갈근 catechin 급여시 에탄올 투여군에 비하여 다소 증가하는 경향이 나타난 것으로 보고하고 있다.

간조직 중 글리코겐 함량 변화 역시 혈당 변화와 유사한 양상이 관찰되었는데 정상군에 비하여 에탄올 투여시 글리코겐 함량이 유의적으로 감소되었다. 본 실험 결과는 에탄올이 글리코겐분해를 자극한 때문으로 사료되며, Kiton과 Weiner(37)는 흰쥐를 대상으로 에탄올 투여시 간조직의 글리코겐 함량이 감소됨을 확인하였는데 특히 투여 90분 후 최저치를 나타내는 것으로 보고하고 있다. 또한 Rao와 Larkin(38)은 에탄올 투여시 간조직 중의 글리코겐 함량이 저하되나 당신생 효소 활성은 증가되는데 이것은 에탄올 자체의 독성보다는 열량과 탄수화물의 섭취감소 때문으로 보고하였다. 갈화와 갈근 열수추출물 급여시 글리코겐 함량은 대조군에 비하여 유의적으로 증가되었으며, 췌의 부위별에 따른 변화는 유의적이지는 않았지만 갈화가 갈근에 비하여 효과적인 것

Table 4. Effect of each *Pueraria flos* and *radix* water extracts on serum glucose, albumin, creatinine, uric acid and liver glycogen contents (mg/dL of serum)

	Glucose	Creatinine	Albumin	Uric acid	Glycogen ¹⁾
Normal	66.40±5.10 ^{2)a3)}	0.76±0.02 ^c	4.10±0.10 ^a	3.45±0.26 ^b	4.36±0.90 ^a
Ethanol	55.79±2.94 ^d	0.87±0.06 ^a	3.75±0.24 ^b	5.40±0.12 ^a	2.39±0.36 ^c
EPF I	63.60±4.06 ^{ab}	0.77±0.02 ^c	3.78±0.15 ^b	3.78±0.57 ^b	3.30±0.45 ^b
EPF II	60.94±3.86 ^{bc}	0.81±0.03 ^b	3.61±0.27 ^b	3.61±0.32 ^b	3.02±0.50 ^{bc}
EPR I	58.60±5.81 ^{cd}	0.78±0.02 ^b	3.65±0.29 ^b	3.65±0.59 ^b	2.84±0.78 ^{bc}
EPR II	57.54±1.13 ^{cd}	0.81±0.05 ^b	3.67±0.14 ^b	3.92±0.29 ^b	2.72±0.39 ^{bc}

¹⁾mg/g of tissue.

²⁾Values are mean±S.D. (n=7).

³⁾Means with the same letter are not significantly different (p<0.05).

으로 관찰되었다.

알부민은 혈청 단백질 중 약 60%를 차지하며 세포의 영양 단백의 보급원으로서 빌리루빈, 지방산, 비타민, 약물 등 각종 성분을 결합·운반한다. 본 실험에서 알부민 함량은 정상군에 비해 대조군에서 유의적으로 감소되었는데 이는 에탄올 투여시 혈청 알부민 함량이 감소하였다는 Maza 등(32)과 에탄올성 간경변 환자의 경우 정상인에 비해 알부민 함량이 유의적으로 감소되었다는 Camps 등(33)의 보고와 일치한다. 에탄올을 투여한 환쥐에 있어 칡의 부위 및 급여수준에 따른 영향은 관찰되지 않았는데 이는 혈청 알부민이 정상군에 비해 에탄올 투여시 유의적 함량 변화가 나타나지 않은 반면 갈근 catechin 급여시 유의적으로 감소되었다는 Lee(36)의 보고와는 상이한 결과이다.

신장 배설능의 척도로 이용되는 혈청의 크레아티닌 함량은 에탄올 투여시 유의적으로 증가되었으며 갈화와 갈근 열수추출물 급여시 유의적으로 감소되었는데 I 수준이 II 수준에 비하여 감소정도가 현저하였다.

에탄올 투여시 정상군에 비하여 유의적으로 증가된 혈청의 요산 함량은 갈화와 갈근 열수추출물 급여시 정상수준으로 회복되었으며 칡의 부위와 급여수준에 따른 차이는 관찰되지 않았다. 고요산혈증은 에탄올중독의 일반적인 증상(34)으로 에탄올이 adeninenucleotide로의 전환을 촉진함으로써 요산의 합성을 증가시키고(40) 나아가 신장을 통한 요산 배설을 억제시킨(41) 때문으로 사료된다.

총빌리루빈, 직접 빌리루빈과 간접 빌리루빈 함량

실험식이와 에탄올을 투여하여 사육한 환쥐의 혈청 중 총 빌리루빈, 직접 빌리루빈 및 간접 빌리루빈 함량 변화를 Table 5에 나타내었다.

혈중 빌리루빈 함량은 중독성 빌리루빈 간장해나 폐쇄성, 용혈성 황달, 만성 에탄올중독의 경우 증가된다(42-44). 임상적으로 간접 빌리루빈치가 높은 황달은 용혈성 질환이나 신생아에게 주로 나타나며 직접 빌리루빈치가 높은 황달은 간염, 간경변 및 담즙 울체증 등에서 나타난다.

본 실험에서 혈청 중의 빌리루빈 함량은 정상군에 비하여 에탄올을 투여한 대조군에서 유의적으로 증가되었는데 이는 Perillo 등(45)의 보고와 일치하는 결과이다. 반면, Cho와 Kim(46) 역시 에탄올 투여시 총빌리루빈은 유의적으로 증

Table 5. Effect of each *Pueraria flos* and *radix* water extracts on serum bilirubin contents (mg/dL)

	Total bilirubin	Direct bilirubin	Indirect bilirubin
Normal	2.37±0.93 ^{1,2)}	1.19±0.06 ^d	1.90±0.31 ^d
Ethanol	5.95±0.55 ^a	2.30±0.47 ^a	5.30±0.85 ^a
EPF I	3.16±0.57 ^c	2.09±0.46 ^{bc}	2.73±0.35 ^{bc}
EPF II	4.58±0.78 ^b	2.29±0.49 ^b	2.73±0.46 ^{bc}
EPR I	3.49±0.27 ^c	1.66±0.46 ^{cd}	3.15±0.30 ^b
EPR II	3.33±0.69 ^c	1.37±0.37 ^d	2.27±0.40 ^{cd}

¹⁾Values are mean±S.D. (n=7).

²⁾Means with the same letter are not significantly different ($p < 0.05$).

가되었으나 직접 빌리루빈 함량에는 영향을 미치지 않았다고 보고하고 있어 다소 상이한 결과이다.

또한 갈화와 갈근 열수추출물 급여에 의해 빌리루빈 함량의 증가가 유의적으로 억제되었는데, 특히 갈근 II군은 직접 빌리루빈과 간접 빌리루빈 함량이 정상수준 가까이 회복되었다. 급여수준에 따른 차이는 총빌리루빈의 경우 갈화 I 군이 II 군에 비해 유의적인 감소를 보였을 뿐 다른 변화는 관찰되지 않았다.

요약

갈화와 갈근의 에탄올성 간손상 환쥐의 혈액학적 성분에 미치는 영향을 구명하기 위하여 에탄올을 투여한 환쥐에게 갈화와 갈근을 수준별로 5주간 급여한 후 효과를 관찰하였다. 간손상 지표 효소인 혈청 AST, ALT, ALP와 γ -GTP 활성은 에탄올 투여로 증가되었으나 칡추출물 급여로 감소되었으며, γ -GTP의 경우 갈화추출물이 갈근추출물에 비하여 유의적이지는 않지만 활성 감소효과가 큰 것으로 관찰되었다. 혈청 혈당치와 간조직의 글리코겐 함량은 에탄올 투여시 정상군에 비하여 유의적인 감소가 관찰되었으며 칡추출물 급여시 증가되었다. 칡의 부위에 따른 차이는 갈근추출물에 비해 갈화추출물이 함량 증가효과가 큰 것으로 나타났다. 알부민 함량은 대조군이 정상군에 비하여 유의적으로 감소되었으며 칡추출물 급여에 의한 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 총빌리루빈, 직접 빌리루빈, 간접 빌리루빈, 크레아티닌과 요산 함량은 정상군에 비하여 에탄올군에서 유의적으로 증가되었으며 갈화와 갈근급여군에서 감소되었다. 이상의 결과에서 갈화와 갈근추출물이 에탄올 투여로 인한 간조직 손상 지표효소의 활성을 감소시켜 에탄올성 간손상의 예방 및 치료에 효과적일 것으로 사료된다.

감사의 글

본 논문은 1999년도 한국학술진흥재단 신진연구인력 연구장려금에 의하여 지원되었으며 이에 감사드립니다.

문헌

- Thurman, R.D. : Hepatic alcohol oxidation and its metabolic liability. *Fed. Proc.*, **36**, 1640-1646 (1977)
- Holtzbecker, M.D. and Wells, A.E. : Elimination of ethanol in humans. *Can. Soc. Forens. Sci. J.*, **17**, 182-193 (1984)
- Wilkinson, P.K. : Pharmacokinetics of ethanol; a review. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **4**, 6-21 (1980)
- Robbins, L.S. and Gotran, R.S. : *Pathological basis of disease*. W.B. Saunders company, Philadelphia, London, Toronto, p. 1009 (1979)
- Perrillo, R.P., Grifin, R., Kecskemeti, K.D., Launder, J.J. and Zuckerman, G.R. : Alcoholic liver disease presenting with marked elevation of serum alkaline phosphatase. *Digest. Dis.*, **23**, 1061-1066 (1978)
- Figneroa, R.B. and Klotz, A.P. : Alteration of liver alcoholic cirrhosis. *Gastroenterology*, **43**, 40-45 (1962)

7. Han, S.H., Kim, J.B., Min, S.G. and Lee, C.H. : The effect of *Puerariae radix* catechins administration on liver function in carbon tetrachloride-treated rats. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **24**, 713-719 (1995)
8. Tseung, K.Y., Chou, Y.P., Chang, L.Y. and Fan, L.L. : Pharmacological studies on *Radix Puerariae* I. *Chin. Med. J. Engl.*, **1**, 335-342 (1975)
9. Fan, L.L., Dennis, D.O. and Wand, W.J.P. : Pharmacologic studies on *Radix Puerariae*. Effect of puerariae on regional myocardial blood-flow and cardiac hemodynamics in dogs with acute myocardial ischemia. *Chin. Med. J.*, **98**, 821-832 (1985)
10. Lee, Y.G. : A study on the hepatoprotective effect of *Pueraria lobata*, *Ziziphus jujuba* and *Schizandra chinensis*. *Ph.D. Dissertation*, Yeungnam University (1994)
11. Fan, L.L., Zeng, G.Y., Zhou, Y.P., Zhang, L.Y. and Cheng, Y.S. : Pharmacologic studies on *Radix Puerariae*. Effect of Puerariae on coronary circulation, cardiac hemodynamics and myocardial metabolism in dogs. *Chin. Med. J.*, **95**, 145-150 (1982)
12. Son, H.W. : Antioxidant effect of pueraria root extract. *M.S. Thesis*, Chungnam National University (1990)
13. Keung, W.M. : Biochemical-studies of a new class of alcohol-dehydrogenase inhibitors from *Radix Puerariae*. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **17**, 1254-1260 (1993)
14. Reeves, P.G., Nielson, R.H. and Fahey, G.C. : AIN-93 purified diets for laboratory rodents : final report of the American Institute of nutrition Ad Hoc Writing Committ on the reformation of the AIN-93 rodent diet. *J. Nutr.*, **123**, 1939-1951 (1993)
15. Fujii, M., Ohmachi, T., Sagami, I. and Watanabe, M. : Liver microsomal drug metabolism in ethanol-treated hamsters. *Biochem. Pharmacol.*, **34**, 3881-3884 (1985)
16. Reitman, S. and Frankel, S. : A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. Pathol.*, **28**, 56-63 (1957)
17. Karmen, A. : A note on the spectrophotometric assay of glutamic oxaloacetic transferase in human blood serum. *J. Clin. Invest.*, **34**, 131-133 (1955)
18. King, P.R.N. and King, E.T. : Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolyzed with amino antipyrene. *J. Clin. Pathol.*, **7**, 332 (1959)
19. Tiez, N.W. : *Fundamental of clinical chemistry*. 2nd ed., W. B. Saunders, Philadelphia, p.606-606 (1959)
20. Handel, E.V. : Estimation of glycogen in small amount of tissue. *Anal. Biochem.*, **11**, 256-265 (1965)
21. Caraway, W.T. : Stand. methods. *Clin. Chem.*, **4**, 239-245 (1965)
22. Snedecor, G.W. and Cochran, W.G. : *Statistical methods*. 6th ed., Iowa State University Press, Iowa, p.1 (1967)
23. Wirkner, K. and Poelchen, W. : Influence of long-term ethanol treatment on rat liver aniline and *p*-nitrophenol hydroxylation. *Alcohol*, **13**, 69-74 (1996)
24. Bedenez, I.D.P., Simon, F.B.B., Bardow, L.G. and Lucas, D. : Cytochrome P-450 2E1 activity and oxidative stress in alcoholic patients. *Alcohol Alcohol.*, **35**, 98-103 (2000)
25. Woo, H.J. : Effect of galwhahaejungtang on liver function in ethanol-ingested rats. *Ph.D. Dissertation*, Kyung Hee University (1983)
26. Huh, I.H. and Lee, S.J. : Pharmacological studies on butanol fraction of *Pueraria radix*. *Yakhak Hoeji*, **27**, 263-270 (1983)
27. Niho, Y., Yamazaki, T., Nakajima, Y., Itoh, H., Takeshita, T., Kinjo, J. and Nohara, T. : Pharmacological studies on *Puerariae flos*. The effects of *Puerariae flos* on alcohol-induced unusual metabolism and experimental liver injury in mice. *Yakugaku Zasshi*, **110**, 604-611 (1990)
28. Hong, C.P. : Experimental studies on the effect of flos *Puerariae* (Kalwha). *M.S. Thesis*, Kyung Hee University (1987)
29. Zima, T., Lovak, L. and Stipek, S. : Plasma xanthine oxidase level and alcohol administration. *Alcohol Alcohol.*, **28**, 693-694 (1993)
30. Mezey, E. : Alcoholic liver disease.: Roles of alcohol and malnutrition. *Am. J. Clin. Nutr.*, **33**, 2709-2718 (1980)
31. Bjorneboe, G.E.A., Johnson, J., Bjornebae, A., Rousseau, B., Peterson, J.I., Norum, K.R., Marland, J. and Drevon, C.A. : Effect of alcohol consumption on serum concentration of 25-hydroxy vitamin D₃, retinol and retinol binding protein. *Am. J. Clin. Nutr.*, **44**, 678-682 (1986)
32. Maza, M.P., Hirsc, S., Petermann, M., Suazo, M., Ugarte, G. and Bunout, D. : Changes in microsomal activity in alcoholism and obesity. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **24**, 605-610 (2000)
33. Frenkel, N., Singer, D.L., Arky, R., Belicher, S.J., Anderson, I. and Silbert, C.K. : Alcohol hypoglycemia I . Carbohydrate metabolism of patients with clinical alcohol hypoglycemia and experimental reproduction of the syndrome with pure ethanol. *J. Clin. Invest.*, **42**, 1112-1133 (1963)
34. Forman, D.T. : The effect of ethanol and its metabolites on carbohydrate, protein and lipid metabolism. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, **18**, 181-189 (1988)
35. Yamazaki, T., Nakajima, Y., Niho, Y., Hosono, T., Kurashige, T., Kinjo, J. and Nohara, T. : Pharmacological studies on *Puerariae flos* protective effects of kakkalide of ethanol-induced lethality and acute hepatic injury in mice. *J. Pharmacy and Pharmacology*, **49**, 831-833 (1997)
36. Lee, C.H. : Biological effects of Korean *Puerariae radix* catechins on liver function in rats administered with ethanol. *J. Food Sci. Nutr.*, **2**, 138-143 (1997)
37. Kiton, K.E. and Weiner, H. : Ethanol and acetaldehyde metabolism: past, present and future. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **19**, 928-938 (1995)
38. Rao, G.A. and Larkin, E.C. : Symposium. Nutritional factors and oxidative stress in experimental alcoholic liver disease in rats. *J. Nutr.*, **127**, 986S-989S (1997)
39. Camps, J., Pizarro, I., Praits, E., Ville, A.L., Turner, P.R., Masana, L. and Joven, J. : Plasma lipoprotein alterations in patients with chronic hepatocellular liver disease resulting from alcohol abuse ; effects of alcohol intake cessation. *J. Hepatology*, **21**, 704-709 (1994)
40. Faller, J. and Fox, I.H. : Ethanol-induced hyperuricemia. Evidence for increased urate production by activation of adenine nucleotide turnover. *New Eng. J. Med.*, **307**, 1598-1602 (1982)
41. Lieber, C.S., Jones, D.P., Mendelson, J., DeCarli, L. and Davidson, C.S. : Fatty liver, hyperlipidemia and hyperuricemia produced by prolonged alcohol consumption despite adequate dietary intake. *Trans. Assoc. Am. Physicians*, **76**, 289-300 (1963)
42. Baker, H.J., Lindsey, J.R. and Weisbroth, S.J. : *The laboratory rat*. Academic Press, Inc., New York, Vol. II, p.123-123 (1984)
43. Goodman, A., Goodman, L.S. and Gilman, A. : *The pharmacological basis of therapeutics*. 6th ed., Macmillan Publishing Co., INC, New York, p.1615-1615 (1975)
44. Beeson, P.B., McDermott, W. and Wyngaarden, J.B. : *Textbook of medicine*. Saunders Company, Philadelphia, p.77-77 (1979)
45. Perillo, R.P., Griffin, R., Decskemeti, K.D., Lander, J.J. and Zuckerman, G.R. : Alcoholic liver disease presenting with marked elevation of serum alkaline phosphatase. *Digest. Dis.*, **23**, 1061-1066 (1978)
46. Cho, M.H. and Kim, C.S. : Studies on the interrelationship between changes of blood components and histopathological damage of liver in the ethanol-administered rats. *The Journal of Soonchunhyang University*, **9**, 217-228 (1986)