동의신경정신과 학회지
J. of Oriental Neuropsychiatry
Vol. 18. No. 2, 2007

枳葛湯이 C57BL/6형 생쥐의 알코올섭취량에 미치는 영향

변순임, 김성곤*, 김종우, 황의완
경희대학교 한의과대학 신경정신과학교실,
부산대학교 의과대학 신경정신과학교실*

Influence of Gigaltang on Alcohol Intake Amount in C57BL/6 mice

Soon-Im Byun, Sung-Gon Kim*, Jong-Woo Kim, Wei-Wan Whang
Dept. of Neuropsychiatry, College of Oriental Medicine, Kyung Hee University
Dept. of Neuropsychiatry, College of Medicine, Pusan National University*

Abstract

Objective : This study was designed to test the anti-craving effect of Gigaltang(extracts of Oriental medicinal herbs ; Hovenia dulcis and Puerariae flos) in C57BL/6 mice. Anti-craving effect was substituted by alcohol intake amount of C57BL/6 mice.

Method : 60 C57BL/6 mice was randomized into vehicle(water) group and Gigaltang group. Only 39(vehicle group(21) and Gigaltang group(18)) was eligible for this study, and 21 C57BL/6 mice was dropped out. The procedure was composed of 5 days of adjustment period and 32 days of alcohol exposure and withdrawal period with limited access paradigm and 10 days of treatment period. Alcohol was offered only for 2 hours a day from 2 to 4PM and water was offered for 22 hours left. Food was offered for 24 hours a day. 1140mg/Kg/day of Gigaltang was administrated to 18 mice of Gigaltang group for 10 days whereas water to 21 mice of vehicle group. The amount of alcohol intake, water intake, food intake, body weight were measured every other day.

Result : There weren't significant differences in 2 hours of alcohol intake, 22 hours of water intake, 24 hours of food intake and body weight for ten days between Gigaltang and vehicle group.

Conclusion : Anti-craving effect of Gigaltang on C57BL/6 mice wasn't verified. To verify the anti-craving effect, further study with advanced animal model, various dose of Gigaltang and diverse period of drug administration should be taken.

Key Words : Gigaltang, Hovenia dulcis and Puerariae flos, C57BL/6 mice, alcohol, anti-craving

---

투고일 : 6/8 수정일 : 7/6 채택일 : 7/11
교신저자 : 황의완, 서울특별시 동대문구 회기동 경희의료원 한방병원 신경정신과학교실
Tel : 02-958-9188, Fax : 02-958-9187, E-mail : aromaqi@khu.ac.kr

Ⅰ. 緖 論

알코올 관련 장애에서 흔히 사용되는 용어인 알코올중독 또는 알코올리즘이란 일반 사회에서 허용되는 영양적 또는 사회적 용도 이상의 주류를 과량으로 계속해서 마심으로써, 신체적·정신적 기능 및 사회적 기능을 해치는 만성적 행동장애이다[1]. DSM-Ⅲ에서부터 알코올리즘이라는 용어 대신 알코올 남용과 알코올 의존을 사용하고 있지만 여전히 알코올중독이라는 용어가 알코올의존이나 남용의 의미를 포함하여 사용되고 있다[2]. 본 논문에서는 알코올중독이라는 보편적 용어를 사용하기로 한다. 보건사회연구원(2001)에 따르면 우리나라 20세 이상 성인의 음주율은 69.8%였으며, 20세 이상 음주자 중 20.9%는 알코올 의존에 해당하였다[3].

한의학에서는 음주로 인하여 발생되는 모든 질환을 酒傷證이라고 하여,『素問』[4],『靈樞』[5],『金櫃要略』[6],『諸病源候論』[7],『太平惠民和劑局方』[8],『東醫寶鑑』[9],『張氏景岳全書』[10] 등 고전문헌에서부터 술로 인한 다양한 병리, 증후와 처방을 제시하고 있으며 이를 근거로 酒毒을 풀고 알코올로 인한 증상들을 개선하기 위한 치료적 접근에 관련한 다양한 한약물 연구들이 진행되어 왔다. 동물실험 연구로는 알코올리즘을 유발시킨 생쥐에 葛根解酒湯 合 斷酒丸 및 解酒枳葛湯을 투여하여 의미있는 변화를 관찰하였고[11], 葛花解醒湯은 알코올을 섭취한 흰쥐의 혈청지질, BUN, Creatinine 함량을 유의하게 변화시켰다[12]. 천연 葛根 추출물 및 주요 추출 성분이 Syrian Golden hamsters의 에탄올 섭취를 감소시키고[13], Kudzu root(갈근)와 Citrus(감귤류)추출물의 혼합물은 P Rats(alcohol-preferring rats)의 자발적 알코올 섭취량을 감소시키고, 금단증상을 감소시켰으며[14,15] 丹蔘(Salvia miltiorrhiza) 추출물을 투여한 sP rats(Sardinian alcohol-preferring rats)은 에탄올 섭취량이 감소하였다[16]. 임상연구로는 갈근이 급성주정중독 상태 및 금단상태에서 회복된 남자환자들의 음주욕구를 감소시키며[17] 葛根을 섭취한 정상인의 혈중 알코올 농도는 상승한 반면, 알코올 의존 환자의 혈중 알코올 농도는 상승하지 않았다[18,19]. 또 葛根이 알코올 의존 환자의 기초 음주 욕구를 감소시키고 음주 후에 유발되는 알코올 갈망의 증가를 차단한다고 하였다[20].

단주 후 나타나는 알코올에 대한 갈망의 조절은 재발가능성 및 예후에 있어 매우 중요한 인자로[21], 알코올리즘 치료에 주로 쓰이는 Acamprosate와 Naltrexone[22]의 항갈망 효과에 대한 연구가 국내외적으로 매우 다양하다[23,24]. 한약의 경우 단주유지를 위한 항갈망효과에 대해 단미제 위주의 연구가 진행되어왔는데, 본 연구에서는 解渴醒酒, 淸酒毒, 解酒醉, 淸熱解酒, 消散頭部鬱火, 淸寧腦海, 治肝火頭痛의 효능이 있는 葛花와 解酒之毒性, 解酒醉的藥物, 有效而無害한 枳椇子[25]로 구성된 枳葛湯의 항갈망효과를 검증하고자 하였다. 동물실험에서는 알코올 섭취량으로 갈망을 평가하게 되는데[26] 본 연구 역시 약물투여가 알코올 섭취량에 미치는 효능을 평가하는 기존 연구설계와 유사한 방법으로 실험을 진행하였다.

Ⅱ. 硏究對象 및 方法

1. 연구설계

枳葛湯이 알코올 중독형 동물 모델의 알코올에 대한 갈망에 미치는 영향을 확인하기 위하여 변형된 유한접근법 (limited access

procedure)을 이용하여 약물 투여 후 자발적 알코올 섭취량의 변화를 측정한 동물실험이다. 동물실험으로서 갈망의 변화를 측정하기 위해 우선 갈망에 대한 조작적 정의가 필요할 것이다.

갈망(craving)은 다양한 의미를 지니고 있겠지만 "이전 경험을 통해 얻은 정신활성 물질의 효과에 대한 욕망;the desire for the previously experienced effects of a psychoactive substance"이라고 정의되어질 수 있으며 이 욕망은 어쩔 수 없는 것이 될 수 있고, 내적·외적 단서가 있을 때 더욱 증강된다. "부정적 감정에 더해진 알코올을 마시려고 하는 욕망이거나 혹은 부정적 감정위에 에탄올의 긍정적(쾌감) 보상효과에 대한 기억으로 술을 마시려는 욕망"[27]이라고도 할 수 있으며 갈망을 측정하는 방법에는 자가보고식 측정도구(구두평가)와 비구두형 평가가 있다. 약물(알코올) 자가 복용량의 측정, 강화된 대체 행동의 측정, 심박이나 피부온도, 혈압, 피부저항, 타액분비 등의 정신신체 반응의 측정, PET를 통한 당대사의 측정 같은 신경생물학적 반응, 인지적 흐름의 측정, 감정반응 등의 측정이 알코올 갈망의 비구두형 평가라고 할 수 있다[28].

알코올 갈망에 대한 동물모델은 물질을 섭취하려는 3가지 영역의 동기를 포함하는데 과다음주, 부정적 감정 상태, 조작적 강화의 세 가지이다[27]. 이 세 가지는 모두 실험 동물 모델로 하여금 자발적 에탄올 섭취량을 증가시키는 효과를 가지고 있어 동물모델의 알코올에 대한 갈망을 1일 2시간동안의 자발적 알코올 섭취량으로써 측정하였다.

2. 약재정보 및 약물추출 방법

본 실험에 사용된 처방은 『中國秘方全書』의 '醒酒解膩的方法'에 근거하여 선택한 처방으로 枳椇子 40g과 葛花 12g 으로 구성되어 있으며[25] 枳葛湯으로 명명하였다. 경희의료원 한방병원 약제과를 통하여 구입한 葛花 40g과 경동시장에서 구입한 枳椇子 12g을 정선하여 1첩(52g)을 구성하여 10첩단위(520g)로 전탕 후 냉동건조하여 분말상태로 만들어 사용하였다.

약재 1첩당 물 300cc의 비율로 혼합하여 환류냉각장치에서 3시간동안 가열 후 1차 전탕액을 얻는다. 이 전탕액을 다시 회전식 진공플라스크에 넣고 감압농축시켜 2차원액을 얻는다. 2차 원액은 다시 동결건조과정을 거쳐 고체 형태의 추출물로 만들어진다. 이 과정을 통해 최종회수량으로 68.6g을 얻었으며 추출물은 분쇄기를 이용해 분말상태로 만들어 이용하였다.

이를 kg당 1일 섭취량으로 환산하면 228mg/kg이며, 이를 생쥐 한 마리당 섭취량으로 계산하면 5.7mg/mouse(body weight 25g)이다. 枳葛湯의 섭취용량은 사람의 1일 섭취량보다 5배 높은 농도로 투여하여 1마리당 28.5mg/mouse을 투여하였고 이를 body weight(kg)당 기준으로 환산하면 1140mg/kg이다.

3. 실험 재료 및 행동학적 알코올 중독화 과정

실험재료로 3주령의 C57BL/6형 수컷 생쥐(효창 science, 대구)를 사용하였다. C57BL/6형 생쥐는 알코올(에탄올)에 만성적으로 노출되거나[29] 투여중지 경험을 가지면 이후의 자발적 에탄올 섭취량이 유의하게 증가[30,31]하는 특성 때문에 알코올 중독 관련 연구에 자주 이용되는 동물모델이다.

60마리의 C57BL/6형 생쥐는 도착일로부터 5일 동안(실험 5일째 까지) 한 우리 당 5마리씩 사육하면서 실험환경에 적응시켰다. 이때 물과 생쥐용 배합사료(삼양유지 사료주식 회사, 서울)는 24시간동안 자유로이 섭취하도록 하였

다.

이후 대상 생쥐의 행동학적 알코올 중독화를 위하여 변형된 유한 접근법(limited access procedure)[32]을 이용하였다. 즉, 대상 생쥐를 한 우리 당 한 마리씩 사육하면서 일주일 동안(실험 12일째 까지)은 물 대신에 10%(v/v) 알코올(Sigma St, Louis, MO, USA)만을 사료와 함께 24시간 동안 제공함으로써 알코올 섭취를 강요하였다. 이후 3주 동안(실험 33일째 까지)에는 매일 오후 2시부터 4시 사이의 2시간 동안은 물 제공 없이 10%(v/v) 알코올만을 제공함으로써 이때에만 알코올 섭취를 할 수 있다는 것을 학습시켰다. 알코올이 제공되지 않는 나머지 22시간에는 물을 제공하였다. 사료는 모두 24시간 제공하였다. 명암은 06시부터 18시까지 12시간 간격으로 조절하였다.

4. 약물 투여

약물 투여는 실험38일째부터 47일째까지 10일간 시행하며, 이를 위해 약물 투여 첫날인 실험 38일째 오전에 알코올, 물, 사료 섭취량이나 체중에서 이상치를 갖는 생쥐를 제외한 vehicle(매개체)군 21마리, 枳葛湯투여군 18마리를 대상으로 실험을 진행하였다. 알코올 섭취량의 일간 변화가 연구 결과에 미치는 영향을 최소화하기 위하여 약물 투여 전 4일간(실험 34일~37일째)은 물 0.1ml을 경구 투여하여 경구투여를 학습시켰다.

vehicle 군은 0.1ml의 물을 투여하였으며, 枳葛湯은 228mg/kg 처리군으로 하여 투여하였다. 일회투여량은 처리군에 관계없이 모두 0.1ml로 경구로 투여하였다. 약물 투여는 알코올 제공 시작 시간 2시간 전인 오전 12시에 시작한다. 오후 2시 부터 4시 사이의 2시간 동안 물 제공 없이 10%(v/v) 알코올을 제공하였다. 알코올이 제공되지 않는 22시간은 물을 제공하였으며, 사료는 24시간 모두 제공하였다.

5. 알코올, 물 및 사료의 섭취량과 체중의 측정

생쥐의 알코올, 물 및 사료 섭취량 측정은 각각을 제공하기 직전의 무게와 제공한 뒤의 무게를 측정하여 그 차이를 섭취량 (0.001g까지 측정)으로 한다. 실험 36일째와 37일째 1일 2시간 알코올 섭취량의 일일평균을 약물투여 전(base)의 알코올 섭취량으로 하였다. 10일간의 약물 투여기간(실험 38일~47일째)에 대해서는 약물투여 1일과 2일의 1일 2시간 알코올 섭취량의 평균을 약물 투여 후 2일째(D2)의 1일 2시간 알코올 섭취량으로 한다. 같은 방법으로 3일과 4일, 5일과 6일, 7일과 8일 그리고 9일과 10일의 1일 2시간 알코올 섭취량의 평균을 각각 약물 투여 후 4일째(D4), 6일째(D6), 8일째(D8) 및 10일째(D10)의 1일 2시간 알코올 섭취량으로 하였다.

물 및 사료의 섭취량의 변화도 알코올 섭취량의 변화와 마찬가지로 약물 투여 전 2일간(실험 36일째와 37일째)의 물 및 사료 섭취량의 일일 평균을 약물 투여전의 1일 22시간 물 및 24시간 사료 섭취량으로 한다. 10일간의 약물 투여기간 (실험 38일~47일째)에 대해서도 알코올 섭취량과 마찬가지 방법으로 약물 투여 후 1일과 2일의 22시간 물 및 24시간 사료 섭취량으로 하였다. 이후에도 같은 방법으로 3일과 4일 5일과 6일, 7일과 8일 그리고 9일과 10일의 22시간 물 및 24시간 사료 섭취량의 평균을 약물 투여 후 4일째(D4), 6일째(D6), 8일째(D8) 및 10일째(D10)의 22시간 물 및 24시간 사료 섭취량으로 하였다. 단, 물의 섭취량은 오후 2시를 기준으로 하여 22시간 섭취량으로 측정하였다. 사료의 섭취량은 오후 2시를 기준으로 하여 24시간 섭취량으로 측정하였다. 이렇게 측정된 섭취량은 다시 생쥐의 체중 1kg당으로 환산하였다.

생쥐의 체중은 실험37일째(전처리 4일째), 39일째(처리 2일째), 41일째(처리 4일째), 43일째(처리 6일째), 45일째(처리 8일째) 및 47일째(처리 10일째)에 측정하였다. (Table 1. 참고)

Table 1. Summary of Experimental Phase from day 1 to day 47

Experimental Phases									
	Pretreatment period(37days)				Treatment period(10days)				
	adaptation period		chronic alcohol exposure		D2	D4	D6	D8	D10
date	1~5	6~12	13~33	34~37	38~39	40~41	42~43	44~45	46~47
period	5days	1wk	3wks	4days	2days	2days	2days	2days	2days
access to water, alcohol, food	free access to water and food, no alcohol	free access to alcohol and food for 24hrs a day, no water		oral intake education of 0.1ml water	oral feeding of Gigaltang(0.1ml)				
			limited access procedure, 2hrs alcohol, 22hrs water, 24hrs food		limited access procedure, 2hrs alcohol, 22hrs water, 24hrs food				
environment	5/cage	1/cage							

6. 통계 처리

枳葛湯 추출물과 vehicle 처리군과의 처리군간 1일 알코올 섭취량의 변화에 대해서는 repeated measure ANOVA를 이용하였으며, 사후 검정으로 처리군간의 평균의 비교 분석은 independent t-test를 이용하여 검정하였다. 물 섭취량, 사료 섭취량 및 체중의 변화는 알코올 섭취량과 같은

방법으로 통계 처리하였다. 통계처리는 윈도우용 사회과학 통계 프로그램인 SPSS (ver. 12)를 이용하였으며, 유의수준은 0.05 미만으로 양측 검정하였다.

Ⅲ. 結 果

1. 약물 투여 전 각 군의 변수의 차이

약물투여 전(36, 37일째) 측정한 알코올 섭취량, 물 섭취량, 사료 섭취량, 체중의 vehicle군과 枳葛湯 투여 군 간의 유의한 차이는 없었다.(Fig. 1)

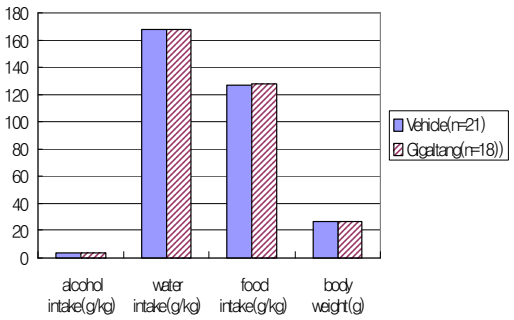


Fig. 1 Baseline state of alcohol intake, water intake, food intake and body weight in C57BL/6 mice.
There is no significant differences between two groups(Vehicle & Gigaltang).

2. 알코올 섭취량 결과

약물 투여 후 2시간동안의 10% 알코올 섭취량에는 vehicle 군과 지갈탕 투여 군간의 유의한 차이가 없었다.($p<0.05$)(Table 2)

Table 2. 10% (v/v) alcohol intake for 2 hours in C57BL/6 mice after drug administration (g/kg)

	Base	D2	D4	D6	D8	D10
Vehicle (n=21)	3.27± 0.78	3.85± 1.44	2.44± 0.85	2.80± 0.95	3.28± 1.68	3.05± 1.46
Gigaltang (n=18))	3.13± 0.64	3.43± 1.22	2.90± 1.27	2.90± 1.06	3.17± 1.27	3.32± 1.66

Values are mean± SD
Base : mean of two days just before starting drug administration
D2 : mean of first and second day when drug was administered
D4 : mean of third and fourth day when drug was administered
D6 : mean of fifth and sixth day when drug was administered
D8 : mean of seventh and eighth day when drug was administered
D10 : mean of ninth and tenth day when drug was administered

3. 물 섭취량 결과

약물 투여 후 22시간동안의 물 섭취량에는 vehicle 군과 지갈탕 투여 군간의 유의한 차이가 없었다.($p<0.05$)(Table 3)

Table 3. Water intake for 22 hours in C57BL/6 mice after drug administration (g/kg)

	Base	D2	D4	D6	D8	D10
Vehicle (n=21)	167.4 ±20.9	166.6 ±20.3	166.8 ±22.1	164.2 ±28.0	164.9 ±27.5	161.6 ±29.1
Gigaltang (n=18)	167.7 ±21.3	172.9 ±29.0	177.9 ±24.8	177.5 ±27.6	181.7 ±37.7	174.5 ±29.6

Values are mean± SD
Base : mean of two days just before starting drug administration
D2 : mean of first and second day when drug was administered
D4 : mean of third and fourth day when drug was administered
D6 : mean of fifth and sixth day when drug was administered
D8 : mean of seventh and eighth day when drug was administered
D10 : mean of ninth and tenth day when drug was administered

4. 사료 섭취량 결과

약물 투여 후 24시간동안의 사료 섭취량에는 vehicle 군과 지갈탕 투여 군간의 유의한 차이가 없었다.($p<0.05$)(Table 4)

Values are mean± SD

Table 4. Food intake in C57BL/6 mice after drug administration (g/kg)

	Base	D2	D4	D6	D8	D10
Vehicle (n=21)	127.1 ±21.3	131.6 ±18.1	121.0 ±13.2	122.9 ±14.2	120.3 ±16.4	126.9 ±26.6
Gigaltang (n=18)	127.8 ±38.0	121.0 ±34.1	125.3 ±20.7	128.9 ±21.8	123.8 ±16.0	115.7 ±18.3

Base : mean of two days just before starting drug administration
D2 : mean of first and second day when drug was administered
D4 : mean of third and fourth day when drug was administered
D6 : mean of fifth and sixth day when drug was administered
D8 : mean of seventh and eighth day when drug was administered
D10 : mean of ninth and tenth day when drug was administered

5. 체중의 변화

약물 투여 후 체중에는 vehicle 군과 지갈탕 투여 군간의 유의한 차이가 없었다.($p<0.05$)(Table 5)

Table 5. Body weight in C57BL/6 mice after drug administration (g)

	Base	D2	D4	D6	D8	D10
Vehicle (n=21)	26.3± 1.2	26.2± 1.3	26.2± 1.4	26.3± 1.4	26.4± 1.4	26.6± 1.4
Gigaltang (n=18))	26.2± 1.3	26.1± 1.1	26.1± 1.1	26.4± 1.1	26.8± 1.3	26.7± 1.2

Values are mean± SD
Base : mean of two days just before starting drug administration
D2 : mean of first and second day when drug was administered
D4 : mean of third and fourth day when drug was administered
D6 : mean of fifth and sixth day when drug was administered
D8 : mean of seventh and eighth day when drug was administered
D10 : mean of ninth and tenth day when drug was administered

Ⅳ. 考 察

알코올리즘에 대한 American Medical Association의 정의(1977)는 "지속적이고 과다한 음주와 직접적으로 관련된 상당한 기능장애가 특징적으로 나타나는 질병"이며 National Council on Alcoholism(NCA)에서는 "만성적,

진행성 그리고 잠재적으로 치명적인 질환이며, 특징적으로 내성, 신체적 의존 및 신체기관의 병적인 변화가 발현되는 상태"라고 정의하였다[1]. 알코올중독이 일원론적인 단일질환이 아니기 때문에 정의를 한마디로 규정짓기는 어려운 일이지만, 일반적으로 '알코올의 섭취에 의하여 신체적, 정신적, 혹은 사회적으로 장애가 야기된 상태'를 알코올 중독중(alcoholism)이라 하며[33] WHO(1969)는 '그 사회가 허용하는 범위 이상의 음주로 개인의 건강과 사회적응기능에 손상을 초래할 정도의 지나친 또는 그릇된 음주행위의 결과로 인한 병적상태'라 요약하였다[34]. 한의학에서는 飮酒로 인하여 발생되는 모든 질환을 의미하는 용어를 酒傷證이라고 하는데, 『內經』에 '酒傷'이라는 직접적인 표현은 없지만 『素問·上古天眞論』에 술로 인하여 天壽를 누리지 못한다고 기술되어 있고, 『靈樞·論勇』, 『素問·厥論』 에 술의 성질과 과음으로 인한 병리현상이 기술되어 있다. 이후 酒傷證은 각종 고전문헌에 酒疸, 酒癖, 酒積, 酒悖, 酒厥, 酒痰, 酒嗽, 酒泄, 酒癥, 酒黶, 酒毒, 酒濕, 酒瘕, 酒風, 酒龜 등의 명칭으로 기술되며, 술로 인한 각종 병증에 대한 한의학적 생리, 병리, 치료방법 등을 설명하고 있다[35]. 飮酒가 신경과적·정신과적 문제를 유발하는 경우로는 過飮으로 인한 酒厥症, 酒後頭痛과 飮酒久者의 怔忡不寐, 恍惚失常, 癲癎 등이 있다. 酒癥이나 酒瘕 등 癥瘕積聚와 연관된 증후는 飮酒嗜癖을 포함하는 만성알코올성질환에 대하여 기술한 것으로 飮酒嗜癖은 개인적으로나 사회적으로 매우 심각한 문제이다.

酒傷의 치료는 濕熱을 제거하기 위하여 發汗利小便하여 分消其濕하는 방법을 위주로 하는데[36], 酒傷에 활용되고 있는 葛根, 葛花, 茵蔯, 人蔘, 赤楊, 枳椇子, 蒼耳子의 알코올 대사에 미치는 영향을 관찰하여 葛根과 茵蔯이 ADH, ALDH의 활성억제 효과와 혈중 glucose, TG(Triglyceride) 및 BUN level의 정상치 회복 및 AST, ALT level을 감소시킨다는 보고가 있다[37].

본 연구에서 사용한 枳椇子는 갈매나무과(Rhamnaceae) 식물인 헛개나무 (枳椇) Hovenia dulcis THUNB.의 육질이 있는 과실꼭지가 달린 열매나 종자로 唐本草에서 처음 기재된 이래로 鷄距子, 木蜜 등의 이름으로 각종 본초서에 기재되어 왔는데, 止渴除煩, 淸熱, 解酒毒, 通利二便시키는 효능을 가지고 있어 酒毒을 푸는데 주로 이용되었다[38,39]. 헛개나무의 추출물로부터 숙취해소를 시키는 C17H16O8의 hovenodulinol을 분리하여 알코올과 함께 쥐에 급여한 결과 ADH와 ALDH의 효소활성이 증가하였고[40], 헛개나무 추출물과 오리나무 추출물이 쥐와 사람의 체내 알코올 분해능을 증가시키며[41], 쥐에 간염을 유발한 후에 헛개나무 추출물을 첨가하였을 경우 간염치료효과가 있고, 헛개나무의 추출물이 알코올을 투여한 쥐의 혈중 알코올 농도를 저하시키는 효과가 있음이 보고되었다[42]. 枳椇子를 포함한 숙취해소용 음료로 개발된 건강음료를 각각 알코올 투여 30분 전과 후에 경구섭취 시키고 섭취 후 1시간, 5시간 째 혈액 중 알코올 농도와 아세트알데히드 농도를 측정한 결과, 대조군에 비해 枳椇子를 포함한 건강음료가 알코올 농도를 48%, 아세트알데히드 농도를 36% 낮추었다[43].

본 연구에서 사용한 다른 약재인 葛花(puerariae Flos)는 豆科(Leguminosae)에 속한 다년생 落葉藤木인 칡(Pueraria thunbergiana Benth.)의 꽃을 건조한 것으로 『名醫別錄』에 "主消酒"라고 처음 수록한 이래, 현대 諸本草書에서는 性味가 甘 凉 無毒하며, 胃經에 歸經하여 解酒毒의 효능이 현저하며 醒胃止渴의 작용을 한다하여, 임상에서 飮酒過度 口渴胃氣損傷 등의 증을 치료하여 간기능 회복에 널리 활용되고 있다[44]. 葛花의 추출물이 Rat의 혈중 알코

올 농도를 대조군에 비해 유의하게 감소시키고, 열수 추출물이 80% ethanol 추출물에 비해 알코올 농도를 더 크게 감소시키며, 葛花추출물을 ethanol 투여 10 분전에 투여한 경우가 타 시간에 투여한 경우에 비해 알코올 농도의 저하에서 더 효과적이었다[45]. 25% 알코올을 6주간 투여하여 아급성 알코올 중독상태를 유발한 흰쥐에게, 葛花추출물인 tectorigenin 및 kaikasaponin Ⅲ를 투여하여 대조군 및 알코올 단독 급여군과 비교한 결과, 葛花추출물이 아급성 알코올 중독 상태의 흰쥐 간의 free radical 생성계 효소를 억제시켜 알코올로 인한 간손상을 회복시키고, 알코올 대사 효소계에 관여하여 해독작용에 영향을 미침으로써, 알코올 해독에 도움을 줄 수 있을 것이다[46]. 5주간 수컷 Sprague-Dawley 백서에 25% 알코올을 투여한 후 葛花와 葛根 추출물을 투여한 연구에서는 葛花와 葛根 추출물이 간의 Cu/Zn SOD와 catalase의 활성을 높이고 GSH-Px 활성을 유의하게 감소시켰다[47]. 또 methanolic extracts, isoflavonoid fraction, triterpenoid saponin fraction 등의 葛花추출물이 혈중알코올 및 아세트알데히드의 농도에 미치는 영향, 알코올로 유발된 대사과정 및 간기능에 미치는 영향에 대하여 연구하여 葛花의 알코올해독효과가 보고되었다[48,49,50].

급성주정중독 상태 및 금단상태에서 회복된 28세부터 59세의 남자환자들 중 Short Michigan Alcoholism Screening Test의 13문항 중 4문항 이상, CAGE의 4문항 중 2문항 이상 해당자 64명을 대상으로 4주간 위약군, 葛根 2g투여군, 葛根 4g투여군을 비교한 결과 葛根 투여군에서 음주욕구의 유의한 감소가 보였다[17]. 다른 연구에서는 건조 葛根과립 복용이 알코올 중독환자에서 기초음주 욕구를 감소시키고, 음주 후에 유발되는 알코올 갈망의 증가를 차단하며, 이러한 음주욕구의 변화가 변연계 선조체 특히 미상핵의 국소 혈류량의 변화와 의미있는 연관성이 있을 것으로 시사된다고 하였다[20].

동물실험의 경우 항갈망효과를 평가하기 위해 주관적 평가를 실시할 수 없다는 한계로 자발적 알코올의 섭취량으로 갈망의 정도를 대신하게 된다[26]. C57BL/6형 생쥐에게 10일간 Naltrexone과 Acamprosate를 투여하면서 알코올 섭취량을 측정한 결과, Naltrexone 1.0mg/kg을 단독투여하는 경우가 0.25mg/kg 단독투여하는 경우보다 알코올 섭취량이 유의하게 감소하고, 단독투여하는 경우에 비해 Acamprosate 50mg/kg 혹은 200mg/kg를 병합투여하는 경우, 병합투여 8일째부터 섭취량의 유의한 감소가 나타났다고 하였다[51]. Naltrexone 5mg/kg, Olanzapine 0.1mg/kg, Olanzapine 1.0mg/kg, 증류수를 35일간 C57BL/6형 백서에게 복강 내 투여하며 알코올섭취량을 측정한 결과, 대조군과 비교하여 Naltrexone 5mg/kg을 투여한 군에서 4주째부터 알코올섭취량이 유의하게 감소하였고, Olanzapine 0.1mg/kg을 투여한 군은 2주째부터 5주째까지 섭취량이 감소하였고, Olanzapine 1mg/kg 투여한 군에서는 2,3주째 알코올 섭취량이 감소하다가 이후로는 유의하게 감소하지 않았다[52].

본 연구는 C57BL/6형 생쥐에 대한 Naltrexone과 Acamprosate가 알코올섭취량에 미치는 영향을 살펴본 기존의 실험절차[51]와 유사한 방법을 이용하여 연구를 진행하였는데, 실험 결과는 枳葛湯이 C57BL/6형 생쥐의 알코올 섭취량을 감소시킬 것이라는 처음의 가설을 지지하지 못하였다.

실제 枳葛湯의 항갈망효과를 증명하지 못한 것 외에 본 실험연구과정의 몇 몇 한계점을 살펴보면 첫째, C57BL/6형 생쥐의 알코올 중독 동물 모델이 과연 잘 형성되었는가 하는 점이다. C57BL/6형 생쥐는 만성적 알코올 투여 및 중단이라는 일련의 과정을 통해 알코올에 잘

중독된다고 하여(high alcoholic addiction) 많은 알코올 관련 연구에 사용되어지는 모델이다. 만성적 에탄올 노출의 패턴과 횟수에 따라 C57BL/6형 생쥐의 자발적 알코올 섭취량이 영향을 받는다고 하였는데, 지속적 노출보다는 다발적 노출과 투여 중지를 자주 할수록 알코올 섭취량이 늘어난다고 한 연구[53]에서는 성인 생쥐를 대상으로 4주 이상, 하루 2시간동안 알코올을 제공하는 Limited access procedure를 진행하여 알코올 섭취량이 안정된 후 연구를 진행하였다. 16시간동안 알코올을 제공하고 8시간동안 물만을 제공하여 알코올 섭취량의 변화를 보았을 때, 생쥐가 섭취한 알코올의 양은 섭취한 물의 양에 비해 최고 10배 이상 많다. 본 연구에서는 3주령의 C57BL/6형 생쥐를 3주간 limited access procedure를 이용하여 안정화시킨 후, 약물 투여를 10일간 하면서 2시간동안 알코올을 제공하여 2시간 알코올 섭취량을 측정하고, 나머지 22시간동안의 물 섭취량을 측정하였는데, 알코올 섭취량이 물 섭취량의 1/50 정도에도 미치지 못하고 있다. 생쥐의 연령이 다르고 16시간에 비해 매우 짧은 낮 시간대 2시간동안 알코올을 제공했다는 점을 고려해야겠지만, 본 연구의 C57BL/6형 생쥐의 알코올 섭취량이 물 섭취량에 비하여 상대적으로 적다고 볼 수 있다. 2시간 동안의 limited access procedure를 이용하여 2시간 동안의 15% 알코올섭취량과 5% 자당용액(sucrose)의 섭취량을 측정한 또 다른 연구에서는 두 용액의 섭취량에서 비슷한 수준을 유지하였고[54], limited access procedure를 이용하되 알코올을 제공하는 시간이 1시간인 다른 연구에서의 알코올섭취량과 물 섭취량 역시 비슷한 수준이었고[55], 4시간의 limited access procedure를 이용하여 丹蔘이 sP rat의 알코올섭취량에 미치는 영향을 살핀 연구에서도 vehicle 군은 물과 알코올 섭취량이 비슷하며, 丹蔘군은 알코올섭취량이 감소하고 물 섭취량 증가하는 결과를 보고하고 있다[16]. 본 연구와 유사한 실험 형태를 수행한 이전의 연구에서는 알코올 섭취량과 물 섭취량 대신 섭취량의 변화량을 명기하고 있다[51].

둘째, 한약물을 생쥐에 투여할 때 발생하는 문제들로, 즉 적정용량 및 기간에 대한 문제이다. 0.025mg/kg, 1.0mg/kg의 Naltrexone과 50mg/kg, 200mg/kg의 Acamprosate를 단독, 혹은 병합하여 10일 동안 투여한 후 알코올 섭취량의 유의한 감소를 보고한 이전의 연구[51]가 있는 반면 Naltrexone과 Olanzapine이 알코올 섭취량에 미치는 영향을 살핀 연구[52]에서는 학습기간이 30일, 약물투여기간이 35일로 실험이 진행되었으며 5mg/kg의 농도로 Naltrexone을 투여하는 경우 4, 5주째에 유의한 변화가 나타났고, 0.1mg/kg, 1.0mg/kg의 농도로 투여한 Olanzapine의 경우 2주에서 5주째에서 유의한 감소를 보였으나, 처음 일주일간은 거의 알코올 섭취의 변화가 없었다고 보고하고 있다. 상기 논문[51,52]과 본 연구는 투여 약물의 농도 및 약물투여 후 효과가 나타나는 시기에서도 서로 다른 결과를 보고하고 있다. 본 연구의 경우 단일 농도의 한약으로 10일 동안 약물을 투여하고 있어 枳葛湯이 C57BL/6형 생쥐의 항갈망효과에 미치는 영향을 살펴보기에 부족함이 있다. 향후 약물 농도를 다양하게 하고 약물 투여기간 역시 다양하게 하여 알코올 섭취량의 변화를 보는 연구가 진행되어야 할 것이다.

셋째, vehicle군의 경우 D4에서 D2에 비해 상당한 알코올 섭취량의 감소를 보이고 있는데, 이것이 경구투여로 인한 생리적 반응인지, vehicle군의 특성에서 나타나는 것인지 분명하지 않다. Naltrexone과 Olanzapine의 항갈망효과를 살핀 논문[52]에서 증류수를 섭취한 군을 대조군으로 설정하고 있으나 대조군의 알코올 섭취량이 유의하게 감소하지 않고 있다. 丹蔘

(Salvia miltiorrhiza) 추출물을 다양한 vehicle에 용해시킨 용액과 동일용량의 vehicle을 Sardinian alcohol-preferring (sP) rats에게 복강 투여하여 자발적 알코올섭취량의 변화를 보았는데, 이때 pure Polysorbate 80 (polyoxyethylene sorbitanmonoleate), arachis oil, PEG 400 (polyethylene glycol 400), Polyoxyl 35 castor oil (polyether of castor oil and ethylene oxide), 0.5% CMC(carboxymethylcellulose sodium) in water의 5종의 vehicle 중 Polysorbate 80에서만 유의한 알코올 섭취의 감소가 나타났다[56]. 이는 vehicle로 물을 사용하지 않은 실험이지만, vehicle의 종류에 따라 알코올 섭취량의 변화에 영향을 미칠 수 있다는 연구결과로서 본 연구에서 물을 vehicle로 하는 군의 알코올 섭취량 변화가 유의하게 감소한 것은 신중한 해석을 필요로 한다.

한의학에서의 酒傷이 급성알코올중독증 및 만성적인 음주로 인한 臟器障碍 위주의 신체적 장애를 주로 다루고 있다면, 서양의학의 알코올 중독증은 알코올 의존증이나 알코올 정신병 등 정신적인 황폐화를 위주로 하고 있다[35]. 현재 국내에서 다양한 한약물이 알코올중독환자의 치료에 응용이 되고 있는 실정이지만, 그동안의 한약물 연구는 알코올 섭취 후 혈중 알코올 농도의 변화나 알코올성 간질환에 미치는 영향 등에 집중되어왔으며, 한약물의 항갈망효과에 대한 연구는 거의 전무하다고 할 수 있다. 본 연구는 한약물의 항갈망효과를 알아보기 위한 동물실험으로서 의의가 있다. 항갈망효과를 확인하기 위한 연구절차는 기존의 알코올 중독증의 치료에 쓰이고 있는 다양한 서양의학약물의 항갈망효과를 관찰하는 연구설계에 맞추었다.

향후 알코올 중독형 동물모델의 발전과 더불어 한약물의 항갈망효과에 대해 연구를 진행하는 데는, 알코올섭취의 학습으로 알코올 과다섭취경향이 있는 알코올중독형 동물모델을 확인하여 그 동물의 생리적 특성과 알코올 제공시간을 고려하고, 한약물을 동물에 적용할 때의 투여 농도·기간 및 방법을 다양화 하여 향후 연구에 적용해야 할 것으로 사료된다. 또 vehicle을 어떤 것으로 이용하느냐에 따라 결과가 다르게 나올 수 있다는 점에서 vehicle 선택에도 주의를 기울여야 할 것이다.

Ⅴ. 結 論

본 연구는 한약재의 항갈망 효과를 알아보기 위하여 알코올 중독형 생쥐의 알코올 섭취량을 대조군과 비교한 연구로 실험 결과는 다음과 같으며, 枳葛湯이 C57BL/6형 생쥐의 알코올 섭취량을 감소시킬 것이라는 처음의 가설을 지지하지 못하였다.

1. 枳葛湯을 투여하는 10일 동안 C57BL/6형 생쥐의 알코올 섭취량은 vehicle 군과 비교하여 유의한 차이가 없었다.
2. 枳葛湯을 투여하는 10일 동안 C57BL/6형 생쥐의 물 섭취량, 사료 섭취량, 체중에는 vehicle 군과 비교하여 유의한 차이가 없었다.

枳葛湯은 알코올 중독형 생쥐의 알코올 섭취량을 유의하게 변화시키지 못했다.

향후 한약물의 항갈망효과에 대한 동물실험 연구를 진행하는 데는 알코올 중독이 잘 형성되어 알코올을 과잉 섭취하는 동물모델을 선별하고, 동물의 생리적 특성을 고려하여 알코올 제공시간을 결정하고, 한약물의 용량 및 투여기간과 방법을 다양화하여 실험 결과에 영향을 미치지 않는 vehicle과의 대조연구를 통해 한약물의 항갈망효과를 확인하는 연구가 진행되

어야 할 것으로 사료된다.

參考文獻

1. 민성길 : 제 5판 최신정신의학, 서울:일조각 2006:444, 447
2. 대한신경정신의학회 편 : 신경정신의학, 서울:중앙문화사 2005:451-460
3. 보건복지부 한국보건사회연구원, 2001년도 국민건강 영양조사-총괄편, 2002:8
4. 王氷註 : 黃帝內經素問, 서울:고문사, 1972:141, 349
5. 王氷註 : 黃帝內經靈樞, 서울:고문사, 1972:106-107, 193-194
6. 張仲景 : 金櫃要略, 서울:성보사 1985:74-76
7. 巢元方 : 諸病源候論校釋, 北京:人民衛生出版社, 1983:397, 619, 620, 750-753, 769
8. 陳師文 : 太平惠民和劑局方, 旋風出版社, 臺北, 1975:98-99
9. 許浚 : 동의보감, 서울:남산당, 1989:131, 239-240, 431-432, 473, 492, 512
10. 張介賓 : 張氏景岳全書, 서울:翰成社, 1978:322
11. 방혜연, 황의완 : 葛根解酒湯 合 斷酒丸과 解酒枳葛湯이 실험적 알코올리즘 생쥐의 행동에 미치는 영향, 동의신경정신과학회지, 1994;5(1) : 93-101
12. 한을주, 이명종 : 葛花解醒湯 투여 및 운동부하가 알콜 섭취 후 흰쥐의 혈청 지질, BUN, Creatinine 함량에 미치는 영향, 동국한의학연구소논문집, 2000;9:111-125
13. Wing-Ming Keung and Bert L. Vallee : Daidzin and daidzein suppress free-choice ethanol intake by Syrian Golden hamsters, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1993;90 : 10008-100012
14. Elhabib Benlhabib, John I. Baker, Daniel E. Keyler, and Ashok K. Singh : Kudzu Root Extract Suppresses Voluntary Alcohol Intake and Alcohol Withdrawal Symptoms in P Rats Receiving Free Access to Water and Alcohol, J Med Food, 2004;7(2):168-179
15. Overstreet DH, Lee YW, Rezvani AH, Pei YH, Criswell HE, Janowsky DS : Suppression of alcohol intake after administration of the Chinese herbal medicine, NPI-028, and its derivatives, Alcohol Clin Exp Res., 1996;20(2):221-227
16. Giancarlo Colombo, Roberta Agabio, Carla Lobina, Roberta Reali, Paolo Morazzoni, Ezio Bombardelli and Gian Luigi Gessa : Salvia miltiorrhiza Extract Inhibits Alcohol Absorption, Preference, and Discrimination in sP Rats, Alcohol, 1999;18(1):65-70
17. 윤종태, 김명정, 김성곤 : 葛根의 장기투여가 주정중독 환자의 음주욕구에 미치는 영향, 신경정신의학 1995;34(6):1937-1948
18. 김지훈, 김명정, 김성곤, 박제민, 정영인 : 정상 성인에서 葛根(Radix puerariae)의 장기투여가 혈중 알콜 농도에 미치는 영향, 신경정신의학 1996;35(6):1230-1235
19. 김명정, 정영인, 박제민, 김성곤, 최영길 : 알코올 의존 환자에서 葛根이 혈중 알코올 농도와 음주 효과에 미치는 영향, 신경정신의학 1996;35(6):1236-1246
20. 강철중, 김명정, 김성곤, 김인주 : 알코올 의존환자에서 葛根이 알코올 갈망과 대뇌 국소혈류량의 변화에 미치는 영향, 신경정신의학 1997;36(5):861-869
21. Bottlender M, Soyka M. : Impact of

craving on alcohol relapse during, and 12 months following, outpatient treatment, Alcohol Alcohol, 2004;39(4):357-361

22. 남궁기 : 알코올 중독의 약물요법, 대한의사협회지 2000;43(3):277-283
23. Raymond F. Anton, Darlene H. Moak, Patricia Latham, L. Randolph Waid, Hugh Myrick, Konstantin Voronin, Angelica Thevos, Wei Wang, Robert Woolson : Naltrexone Combined With Either Cognitive Behavioral or Motivational Enhancement Therapy for Alcohol Dependence, Journal of Clinical Psychopharmacology. 2005;25:349-357
24. Ismene L. Petrakis, James Poling, Carolyn Levinson, Charla Nich, Kathleen Carroll, Bruce Rounsaville, the VA New England VISN I MIRECC Study Group : Naltrexone and Disulfiram in Patients with Alcohol Dependence and Comorbid Psychiatric Disorders, Biol Psychiatry. 2005;57:1128-1137
25. 本社編輯部 : 中國秘方全書, 中和市, 龍和出版有限公司, 1977:297
26. Roger E. Meyer : Craving: what can be done to bring the insights of neuroscience, behavioral science and clinical science into synchrony, Addition, 2000;95(2):219-227
27. George F. Koob : Animal models of craving for ethanol, Addition, 2000;95(2):73-81
28. Cherry Lowman, Walter A. Hunt, Raye Z. Litten & D. Colin Drummond : Research perspectives on alcohol craving : an overview, Addiction, 2000;95(2):45-54
29. Rosana Camarini, Clyde W. Hodge : Ethanol preexposure increases ethanol self-administration in C57BL / 6J and DBA / 2J mice, Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 2004;79:623-632
30. Becker HC, Lopez MF : Increased ethanol drinking after repeated chronic ethanol exposure and withdrawal experience in C57BL/6 mice, Alcohol Clin Exp Res. 2004;28(12) :1829-1838
31. A.D. Le, J. Ko, Sl Chow and B. Quan : Alcohol Comsumption by C57BL/6, BALB /c, and DBA /2 Mice in a Limited Access Paradigm, Pharmacology Biochemistry and Behavior, 1994;47:375-378
32. Katri Wegelius, Aapo Honkanen, Esa R. Korpi : Benzodiazepine receptor ligands modulate ethanol drinking in alcohol - preferring rats, European Journal of Phamacology, 1994;263 : 141-147
33. 황의완, 김지혁 : 동의정신과학, 부산:현대의학서적사 1992:427, 438-439
34. 의학교육연구원 : 가정의학, 서울 : 서울대학교출판부 1990: 726
35. 박종현, 김연섭 : 酒傷에 관한 문헌적 고찰, 제한동의학술원논문집, 2000;5(1) : 22-30
36. 박태선, 조종관 : 酒傷치료에 대한 문헌적 고찰, 대전대학교한의학연구소 한의학 논문집, 1993 ; 2(1) : 79-89
37. 박형규 : 酒傷에 활용되는 수종의 한약물이 알코올 대사 및 간장해에 미치는 영향, 경희대학교 대학원, 2000
38. 서부일, 김봉현, 변준석 : 枳椇子 및 관련 한약재에 관한 고찰, 동서의학 1998 ; 23(3) : 21-31
39. 신동훈, 조명래 : 枳椇子에 대한 문헌고찰 및 최근 연구 동향, 대한본초학회지, 2002

; 17(1) : 81-91

40. 홍유리, 김민희, 안철, 이현용, 김종대 : 헛개나무 추출물의 생리활성에 관한 연구, 강원대학교 농업과학연구소 논문집, 2000 ; 11 : 1-11
41. 안상욱, 김영길, 김민희, 이병익, 이상호, 권혁일, 황백, 이현용 : 헛개나무와 오리나무 추출물의 간 해독작용 및 체내 알콜 분해능 비교, Korean J. Medicinal Crop Sci., 1999; 7(4) : 263-268
42. 강성희, 김성문, 김진현 : 헛개열매 추출물의 산 가수분해에 의한 알코올 분해 효능 증대, 한국생물공학회지, 2005 ; 20(2) : 129-132
43. 박은미, 예은주, 김수정, 최현임, 배만종 : 헛개나무 열매 추출물을 함유한 건강음료의 숙취제거 효과, 한국식생활문화학회지, 2006 ; 21(1) : 71-75
44. 박용기 : 葛花와 울금 및 고삼의 항산화작용에 관한 비교연구, 대한본초학회지 2001 ; 16(1) : 41-53
45. 김정한, 민선식, 김성훈, 홍희도, 김종수, 김수언 : 葛花(Puerariae flos) 추출물이 Rat 혈중 Ethanol 농도에 미치는 영향, 한국농화학회지 1995;38(6) : 549-553
46. 조수열, 장주연, 김명주 : 葛花와 葛根 열수 추출물이 에탄올 투여 흰쥐의 혈청성분에 미치는 영향, 한국식품영양과학회지, 2001 ; 30(1) : 92-96
47. Lee MK, Cho SY, Jang JY, Cho MS, Jeon SM, Jang MK, Kim MJ, Park YB : Effect of Puerariae Flos and Puerariae Radix extracts on antioxidant enzyme in ethanol-treated rats, Am J Chin Med., 2001 ; 29(2) : 343-354
48. Niiho Y, Yamazaki T, Nakajima Y, Itoh H, Takeshita T, Kinjo J, Nohara T. : Pharmacological studies on puerariae flos. Ⅰ. The effects of puerariae flos on alcoholic metabolism and spontaneous movement in mice, Yakugaku Zasshi, 1989 ; 109(6) : 424-431
49. Yamazaki T, Nakajima Y, Niho Y, Hosono T, Kurashige T, Kinjo J, Nohara T. : Pharmacological studies on Puerariae flos Ⅲ: protective effects of kakkalide on ethanol-induced lethality and acute hepatic injury in mice, J pharm Pharmacol., 1997 ; 49(8) : 831-833
50. Yamazaki T, Hosono T, Matsushita Y, Kawashima K, Someya M, Nakajima Y, Narui K, Hibi Y, Ishizaki M, Kinjo J, Nohara T. : Pharmacological studies on Puerariae Flos. Ⅳ : Effects of Pueraria thomsonii dried flower extracts on blood ethanol and acetaldehyde levels in humans, Int J Clin Pharmacol Res., 2002 ; 22(1) : 23-28
51. 김성곤, 한병득, 박제민, 김명정 : Naltrexone과 Acamprosate의 장기간 병합 투여가 C57BL/6형 생쥐의 알코올 섭취량에 미치는 영향, 신경정신의학 2001 ; 40(5) : 981-990
52. 윤기범, 권영준, 한상우 : C57BL-6형 백서의 알코올 섭취량에 대한 Naltrexone과 Olanzapine의 효과, 신경정신의학 2002 ; 41(2) : 246-253
53. Marcelo F. Lopez, Howard C. Becker : Effect of pattern and number of chronic ethanol exposures on subsequent voluntary ethanol intake in C57BL/6J mice, Psychopharmacology, 2005 ; 181 : 688-696
54. Howard C. Becker and Marcelo F. Lopez

: Increased Ethanol Drinking After Repeated Chronic Ethanol Exposure and Withdrawal Experience in C57BL/6 Mice, Alcohol Clin Exp Res. : 2004 ; 28(12) 1829-1838

55. A.D.LE, J.KO, S. CHOW AND B. QUAN : Alcohol Consumption by C57BL / 6, BALB / c, AND DBA / 2 Mice in a Limited Access Paradigm, Pharmacology Biochemistry and Behavior, 1994 ; 47: 375-378
56. Giovanni Vacca, Giancarlo Colombo, Giuliana Brunetti, Samuele Melis, Daniela Molinari, Salvatore Serra, Roberto Seghizzi, Paolo Morazzoni, Ezio Bombardelli, Gian Luigi Gessa, Mauro A. M. Carai : Reducing Effect of Salvia miltiorrhiza Extracts on Alcohol Intake: Influence of Vehicle, Phytother. Res. 2003 ; 17:537-541