

## 급성 알콜 투여 흰쥐에서 녹두 함유 복합생약제제의 간 중성지방 축적억제 및 알콜대사 촉진 효과

김문희<sup>\*</sup> · 권오협 · 박찬구

두산기술원

(Received October 17, 1996)

### Inhibition of Hepatic Triglyceride Accumulation and Stimulation of Alcohol Metabolism by the Herbal Extract Containing *Phaseoli radiati semen* in Rats Fed Ethanol

Moon-Hee Kim<sup>\*</sup>, Oh-Hyep Kwon and Chan-Koo Park  
Doosan Technical Center, Yongin-kun, Kyunggi 449-840, Korea

**Abstracts**—An ethanol administration causes hepatic triglyceride accumulation in rats. To assess whether the herbal extract containing *Phaseoli radiati semen* (herbal extract) inhibits the triglyceride accumulation in the liver, we determined the hepatic triglyceride levels in rats fed ethanol and the herbal extract. In addition, the blood ethanol concentrations and the activities of hepatic alcohol dehydrogenase (ADH) and aldehyde dehydrogenase (ALDH) were measured to determine the effects of the herbal extract on alcohol metabolism in rats. The administration of the herbal extract markedly reduced the triglyceride levels elevated by ethanol in the liver as well as in the serum. The herbal extract remarkably lowered blood ethanol concentrations in a dose-dependent manner. The ADH activities decreased by ethanol were recovered to the normal level by the herbal extract treatment. Moreover, the ALDH activities slightly decreased by ethanol increased beyond the normal level by the herbal extract treatment. We conclude that the herbal extract inhibits the hepatic triglyceride accumulation and stimulates alcohol metabolism by preventing ADH and ALDH from inhibition by the ethanol administration in the rat liver.

**Keywords** □ Ethanol, triglyceride, ADH, ALDH, alcohol metabolism, herbal extract.

알콜대사는 주로 간에서 이루어지며 주된 경로는 알콜 탈수소효소(ADH), 알데하이드 탈수소효소(ALDH)를 거치는 경로이다.<sup>1)</sup> ADH는 세포질에서 알콜을 알데하이드로 산화시키며 이때 조효소인 NAD를 NADH로 환원시킨다. 생성된 알데하이드는 주로 미토콘드리아에 존재하는 ALDH에 의해 아세테이트로 산화되며 이때에도 역시 NADH가 생성된다. ADH 경로에 의해 생성된 아세테이트는 다음 두 경로에 관여할 수 있다. 첫째, 지방산 합성에 사용될 수 있다. 이 지방산은 다시 중성지방 합성에 사용될 수 있으며, 더 나아가서 간에서 콜레스테

롤 및 인지질과 간에서 합성된 apolipoproteins B, E, C들과 결합되어 VLDL(very low density lipoprotein)의 형태로 혈액으로 분비된다. 둘째, 아세테이트는 직접 간에서 혈액으로 확산된 후 말초 조직에 도달되어 CO<sub>2</sub>와 H<sub>2</sub>O로 산화될 수 있다.

급성 알콜 투여는 일시적으로 간에서 중성지방 축적을 일으킨다.<sup>1)</sup> 많은 연구에도 불구하고 어떤 기전으로 알콜이 간 중성지방을 축적시키는지 아직 명확히 밝혀지지 않았다. 지금까지 알콜의 간 중성지방 축적 효과를 설명하는데 4가지 가설이 알려져 있다. 알콜에 의한 간 중성지방 축적은 첫째, 지방산 산화 감소에 기인할 수 있고<sup>2-5)</sup> 둘째로 간에서 지방산 합성 증가로 인할 수도 있으며<sup>6-9)</sup> 셋째, 간 중성지방이 VLDL로 결합되어

<sup>\*</sup> 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
(전화) 0331-280-1440 (팩스) 0331-280-1383

분비되는 과정이 억제되어 일어날 수도 있고<sup>10)</sup> 지방조직에서 간으로의 지방 이동 증가<sup>11-12)</sup>로 설명될 수도 있다. 그러나 최근의 연구 결과들에 의하면 간에서 지방산 합성 증가보다는 지방산 산화 억제가 중성지방 축적의 중요 인자라고 여겨진다.<sup>11, 13)</sup> 인체에 알콜을 경구 또는 정맥 주사로 투여하면 혈청에서 중성지방을 함유한 VLDL이 급속히 증가된다.<sup>14)</sup> 또한 인체에 만성적으로 알콜을 투여해도 알콜 투여량과 투여기간에 따라 혈청 중성지방 수준은 증가된다.<sup>15-16)</sup> 동물 실험에 따르면 알콜 투여로 인한 혈청 중성지방의 증가는 간에서 VLDL 생성 증가가 원인인 것으로 여겨진다.<sup>17-18)</sup> 간에서의 중성지방 축적은 간의 대사장애를 반영해 주며, 계속적인 중성지방 축적은 결국 섬유조직의 증식 및 간세포의 비가역적인 손상을 초래할 수 있다.

본 논문에서는 알콜로 인한 간 중성지방 축적을 개선시키기 위하여, 일시에 다량의 알콜을 투여한 흰쥐에서 녹두 함유 복합생약제제(이하 생약제제라 칭함)가 간 및 혈청 중성지방 수준에 미치는 영향을 측정하였다. 아울러 생약제제가 혈중 알콜농도 및 간 알콜대사효소 활성에 미치는 영향도 측정하였다.

**실험방법**

**실험재료 및 시약**

에탄올, 과염소산(HClO<sub>4</sub>), 메탄올은 Merck제품을, silicic acid, KOH, NaCl, sucrose, CuSO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Tris, pyrazole, bincinchoninic acid, pyrophosphate 등은 Sigma 제품을 사용하였다. Ethanol assay kit와 NAD는 Boehringer Mannheim, triglyceride assay kit는 Wako pure chemical industries 제품이다. Acetaldehyde는 Fluka로 부터 구입하였다. 기타 일반 시약은 일급품을 사용하였다.

**생약제제의 준비**

생약제제 (R.G.O<sup>R</sup>)는 녹두 17.6%, 갈근 17.6%, 적소두 17.6%, 산사 8.8%, 맥아 8.8%, 천궁 8.8%, 창출 8.8%, 결명자 8.8%, 공사인 2.2%, 박하 1.0%의 생약들을 80°C에서 50% 주정으로 2차례 추출한 후 cheese cloth로 여과, 농축하고 다시 freeze-dryer로 분말화한 것을 사용하였다.<sup>19)</sup> 일반적으로, 건조 생약 10g으로부터 2g의 건조 분말을 얻었다. 이 분말을 적당량의 물에 용해시켜 흰쥐에 투여하였다.

**실험 동물**

어린 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 한국화학연구소(대전)로 부터 구입하여 실험에 사용할 때까지 개개의 cage에서 일반 사료로 사육하였으며 물은 자유로이 마시게 하였다. 약 180~200g의 흰쥐를 24시간 절식시킨 후 실험에 사용하였다.

**알콜 투여와 시료 채취**

생약제제를 적당량의 증류수에 용해시켜 흰쥐 체중 kg당 8g을 경구 투여하고 1시간 후에 흰쥐 체중 kg당 3g의 에탄올을 경구 투여하였다. 대조군은 생약제제 대신 같은 용량의 증류수를 경구 투여 한 후 에탄올을 투여하였다. 간 중성지방과 간 알콜대사효소들의 활성을 측정하기 위하여, 에탄올 투여 후 0,1,2,4,6,8,10시간에 쥐를 희생시켜 즉시 간을 적출한 후 생리식염수로 세척하여 액체 질소로 급냉동시켰고, 중성지방 측정 및 알콜대사효소 활성 측정에 사용할 때까지 -70°C에서 저장하였다.

혈청중의 중성지방을 측정하기 위하여, 각 시간마다 혈액을 채취하여 상온에서 2시간 방치 후 1,000×g에서 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하였으며, 중성지방 측정에 사용할 때까지 -70°C에서 저장하였다.

생약제제 투여에 따른 혈액중의 알콜농도 변화를 측정하기 위하여, 24시간 절식한 흰쥐에 체중 kg당 0, 2, 4, 8g의 생약제제를 적당량의 증류수에 용해시켜 각각 경구투여하고 1시간 후에 흰쥐 체중 kg당 3g의 에탄올을 경구 투여하였다. 에탄올 투여 후 1,2,4,6,8시간에 꼬리정맥으로 부터 혈액을 채취한 후 즉시 동량의 과염소산을 섞어 원심분리기로 상층액을 분리하여 제단백 혈액을 얻었다. 이 제단백 혈액은 사용전까지 밀폐된 용기에 냉장 보관하였으며 보통 2일 이내로 사용하였다.

**중성지방 측정**

간 중성지방은 Folch 등<sup>20)</sup>의 방법을 수정<sup>21)</sup>하여 측정하였다.<sup>13)</sup> 간 조각에 적당량의 생리식염수를 넣고 Potter-Elvehjem형 균질기를 사용하여 ice bath상에서 균질화한 후 생리식염수로 10%(w/v) 균질액이 되도록 희석하였다. 총지방을 추출하기 위하여 1 ml의 균질액에 20 ml의 Folch reagent(chloroform : methanol = 2 : 1,v/v)를 가하고 12시간 vortexing하였다. 침전물을 제거하고 같은 양의 증류수를 가하여 1시간 이상 방치한 후 두개의 층으로 분리하였다. 총지방을 함유하

는 chloroform층(하층)을 분리한 후 충분한 양의 규산을 가하여 극성지방을 흡착시키고 chloroform으로 세척하여 중성지방을 얻었다. 중성지방은 Eggstein과 Kuhlmann<sup>22)</sup>법에 의하여 가수분해하였다. 1 ml의 알콜성 KOH를 가하고 70°C에서 30분간 방치한 후 ice bath상에서 냉각시켰다. 이 용액을 2.5 N 과염소산으로 중화시킨 후 과염소산 침전물을 원심분리하여 제거하고 그 상등액을 얻었다. 중성지방은 정량 kit(Wako pure chemical industries)를 사용하여 정량하였다. 중성지방의 가수분해물을 함유한 상등액에 발색시약을 가하고 그 혼합물을 30°C에서 20분간 방치한 후 505 nm 파장에서 흡광도를 측정하여 정량하였다. 혈청중의 중성지방은 전처리 없이 중성지방 Kit(Wako pure chemical industries)를 사용하여 정량하였다.

### 혈중 알콜농도 측정

알콜 투여 후 각 시간마다 채취한 제단백 혈청을 알콜 정량 kit(Boehringer Mannheim)를 사용하여 알콜을 정량하였다. 생약제제로 인한 혈중 알콜농도 감소는 각 용량 반응 곡선으로 부터 구한 AUC(area under the curve)를 비교하여 %로 나타내었다.

### 간 ADH와 ALDH의 활성 측정

간 조각을 Potter-Elvehjem형 균질기를 사용하여 ice-bath상에서 적당량의 Tris Buffer(250 mM sucrose, 10 mM Tris, pH 7.4)를 가하여 균질화한 후 10%(w/v)균질액이 되도록 Tris Buffer량을 조정하였다. 이 균질액을 700 ×g에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 다시 10,000×g에서 15분간 원심분리하여 상층액과 침전물을 분리하였다. 이 상층액을 105,000×g로 1시간 동안 초원심분리하여 세포질(cytosolic fraction)을 분리하고, ADH 활성을 측정할 때까지 -70°C에서 보관하였다. 10,000×g 원심분리에서 얻었던 침전물은 Tris Buffer로 한번 더 씻어내고 다시 원심분리하여 생긴 침전을 적당량의 Tris Buffer에 녹여 (mitochondrial fraction) ALDH의 활성을 측정할 때까지 -70°C에서 보관하였다. 이 모든 과정은 4°C에서 수행하였다.

ADH와 ALDH의 활성측정은 Bonnicksen과 Brink<sup>23)</sup>, Koivula와 Koivusalo<sup>24)</sup> 방법을 수정하여 사용하였다.<sup>25)</sup> ADH의 활성은 총 1 ml의 반응 혼합액 중에 50 mM glycine buffer(pH 9.6), 0.8 mM NAD, 3

mM Ethanol, 50 ul의 cytosolic fraction을 가하여 측정하였고 ALDH의 활성은 총 1 ml의 반응 혼합액중에 100 mM pyrophosphate buffer(pH 8.0), 1 mM NAD, 2 mM pyrazole, 15 mM acetaldehyde, 50 ul mitochondrial fraction을 가하여 측정하였다. 단백질 정량은 Smith 등<sup>26)</sup>의 방법에 따라 bicinchoninic acid를 이용하였다. ADH와 ALDH의 specific activity는 units of enzyme activity/mg protein으로 나타냈다.

### 통계분석 실험

모든 data는 Student' t test를 이용하여 분석하였다.

## 결 과

급성 알콜 투여는 간에서 중성지방 축적을 일으킨다. 흰쥐에 과량(3 g/kg bw)의 알콜을 투여한 후 10시간 동안 간 중성지방 변화를 측정한 결과, 간 중성지방은 초기에 시간이 경과함에 따라 증가되어 4시간에 최고 수준(2배 증가)에 달했으며 이후 점차 감소되었다. 알콜로 인해 증가된 간 중성지방 수준은 본 생약제제의 투여로 알콜 투여 1시간 이후 부터 감소되어 6시간만에 정상(fast)으로 회복되었다(Fig. 1). 또한 혈청 중성지방을 측정한 결과, 간 중성지방의 변화와 비슷하게 알콜

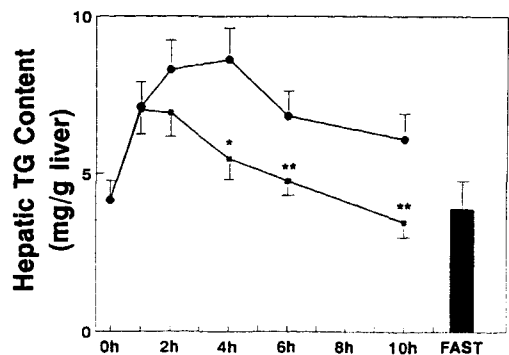
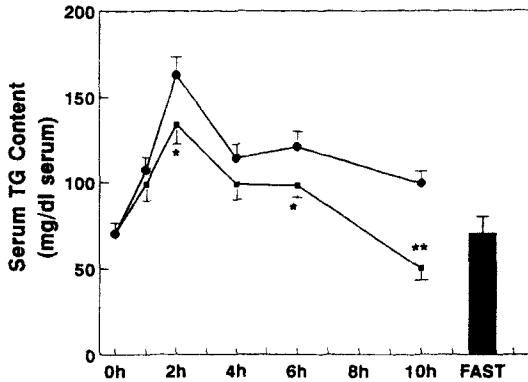
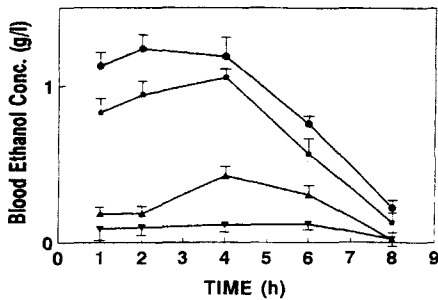


Fig. 1—Effects of the herbal extract on hepatic tri-glyceride levels in rats fed ethanol at a dose of 3 g/kg body weight(bw) by gavage. ●, ethanol; ■, ethanol+herbal extract; fast, 10 h after the only ethanol treatment. Data are means±standard error(SE) from 6 rats. \*\* Significantly different from the control,  $p < 0.01$ . \* Significantly different from the control,  $p < 0.05$ .



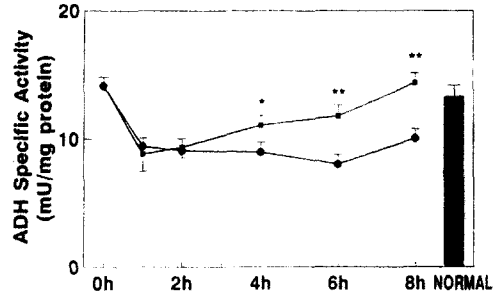
**Fig. 2**— Effects of the herbal extract on serum tri-glyceride levels in rats fed ethanol at a dose of 3 g/kg bw by gavage.  
 ●, ethanol; ■, ethanol+herbal extract; fast, 10 h after the only ethanol treatment. Data are means±SE from 6 rats. \*\*Significantly different from the control,  $p<0.01$ . \*Significantly different from the control,  $p<0.05$ .



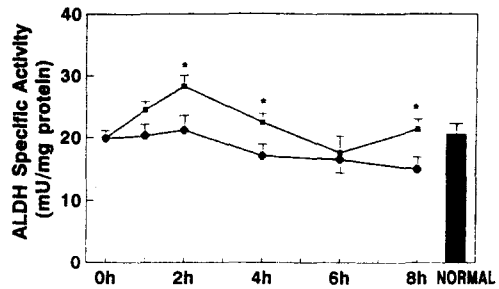
**Fig. 3**— Effects of the herbal extract on blood ethanol concentrations in rats fed ethanol at a dose of 3 g/kg bw by gavage.  
 ●, ethanol; ■, ethanol+2 g/kg bw of herbal extract; ▲, ethanol+4 g/kg bw of herbal extract; ▼, ethanol+8 g/kg bw of herbal extract. Data are means±SE from 8 rats. The AUC's of the herbal extract 4, 8 g/kg bw are significantly different from the control with  $p<0.01$  as determined by Student's *t* test. The  $ED_{50}$  of the herbal extract is 3.20 g/kg bw.

투여 초기에는 혈청 중성지방이 급격히 증가되었고 2시간 이후부터 서서히 감소되었으나, 본 생약제제 투여시 6시간 이후부터 혈청 중성지방이 뚜렷하게 저하되었다 (Fig. 2).

혈액중의 알콜농도는 본 생약제제를 투여한 군이 대조군에 비해 현저하게 감소되었다. 이 생약제제의 혈중 알콜농도 감소효과는 용량 의존적이며 쥐 체중 kg당 8 g의 생약제제 투여시 최고 90% 혈중 알콜농도 감소효



**Fig. 4**— Effects of the herbal extract on hepatic ADH activities in rats fed ethanol at a dose of 3 g/kg bw by gavage. ●, ethanol; ■, ethanol+herbal extract; fast, 10 h after the only ethanol treatment. Data are means±SE from 6 rats. \*\*Significantly different from the control,  $p<0.01$ . \*Significantly different from the control,  $p<0.05$ .



**Fig. 5**— Effects of the herbal extract on hepatic ALDH activities in rats fed ethanol at a dose of 3 g/kg bw by gavage.  
 ●, ethanol; ■, ethanol+herbal extract; fast, 10 h after the only ethanol treatment. Data are means±SE from 6 rats. \*Significantly different from the control,  $p<0.05$ .

과를 나타냈다(Fig. 3). 이 감소는 모든 용량에서 알콜을 투여한 후 1시간 부터 뚜렷하게 나타났다. 특히 주목할 점은 8 g의 생약제제 투여시 알콜 투여 후 1시간에 혈중 알콜농도가 대조군에 비해 77%나 감소되었으며, 이 감소는 8시간까지 지속되었다. 50%의 혈중 알콜농도 감소효과를 나타내는 생약제제의 투여량은( $ED_{50}$ )은 3.2 g/kg bw 이었다.

이 생약제제의 혈중 알콜농도 감소효과가 알콜대사의 촉진에 기인하는지를 규명하기 위하여 알콜대사의 주기관인 간에 존재하는 알콜대사효소 ADH와 ALDH의 활성을 측정하였다. 급성 알콜 투여는 1시간 이후 부터 ADH 활성을 감소시켰고 이 감소는 8시간까지 지속되었으나, 본 생약제제의 투여는 놀랍게도 감소된 간 ADH의 활성을 신속히 정상으로 회복시켰다(Fig. 4). 간 AL-

DH의 활성은 알콜 투여후 4시간에 약간 억제되어 8시간까지 지속되었으나 본 생약제제의 투여로 다시 정상으로 회복됨은 물론 알콜 투여후 2시간에는 정상보다 오히려 증가되었다(Fig. 5). 알콜 투여없이 생약제제만을 단독 투여했을 때 간 ADH 및 ALDH의 활성은 정상과 차이가 없었다.

## 고 찰

일시에 다량의 알콜을 쥐에 투여하면 간 중성지방의 농도가 증가되며 간 알콜대사효소 활성이 저해된다. 본 연구에서는 생약제제가 알콜로 인한 간 중성지방 축적을 억제하며 간 알콜대사효소 활성을 증가시켜 알콜대사를 촉진시킴으로써 혈중 알콜농도가 저하함을 보여 주고 있다. 이 생약제제는 과량의 알콜섭취로 인해 상승된 간 및 혈청 중성지방을 감소(Fig. 1 & 2)시켰고, 알콜로 인해 감소된 간 알콜대사효소들(ADH, ALDH)의 활성을 정상으로 회복 또는 증가시켰으며(Fig. 4 & 5), 혈중 알콜농도를 현저하게 저하시켰다(Fig. 3). 특히, 본 생약제제는 간 ALDH의 활성을 증가시킴으로써(Fig. 5) 알데하이드의 대사를 더욱 촉진시켜 알데하이드로 인한 숙취증상을 완화하는데 효과적인 것으로 여겨진다.

혈중 알콜농도는 알콜대사를 촉진함으로써 감소될 수도 있고 또한 위장관에서 알콜흡수를 억제함으로써 저하될 수 있다. 생약의 알콜 흡수방해에 의한 혈중 알콜농도 감소효과를 배제하기 위하여 생약 2g/kg bw을 경구투여한 후 1시간에 알콜을 경구로 투여하는 대신 2g/kg bw을 복강내 주사했을 때 혈중 알콜농도가 대조군보다 33% 감소하였다(data not shown). 반면에 본 실험에서 생약 2g/kg bw을 경구투여한 후 1시간 후에 알콜 3g/kg bw을 경구투여했을 때 혈중 알콜농도가 20% 감소하였다(Fig. 3). 이 두 실험결과는 투여한 알콜의 양이 다르기 때문에(2g vs. 3g) 직접 비교하기는 어렵지만, 생약의 혈중 알콜농도 감소효과가 알콜 흡수방해에 기인하지 않음을 시사해 주고 있다. 한편, 본 연구에서 과량의 생약제제, 특히 8g/kg bw의 생약을 경구투여한 후 1시간 후에 알콜을 경구투여할 때의 현저한 혈중 알콜농도 감소는 부분적으로 위장관에서의 알콜 흡수억제에 의한 효과일 가능성을 배제할 수 없다.

혈청 중성지방 농도는 간으로 부터 VLDL의 분비와 말초 조직에서 VLDL의 이용 및 분해 정도에 좌우된

다. 본 논문에서는 과량의 알콜 투여로 혈청중의 중성지방이 증가되었음을 보여주는데(Fig. 2), 이 결과는 Annable과 Cooper<sup>27)</sup>가 보고한 혈청 중성지방 감소결과와 상반된다. 이런 상반된 결과의 원인은 아직 밝혀지지 않았으나, 본 실험 결과 혈청 중성지방 수준의 증가 패턴이 간 중성지방 증가 패턴과 유사한 점으로 미루어, 알콜이 간 중성지방의 VLDL로의 합성을 감소시키거나 VLDL로서 분비되는 것을 억제하지는 않는것으로 보인다. 한편, 혈청 중성지방의 증가가 VLDL의 분해속도 저하에 기인할 수 있다는 가능성을 배제할 수는 없다. 본 생약제제의 중성지방 축적 억제 기전을 규명하기 위해서는 좀 더 많은 연구가 이루어져야 하겠다.

결론적으로 본 생약제제는 알콜로 인한 간 중성지방 축적을 억제하며 간 알콜대사효소 활성을 증가시켜 알콜대사를 촉진시킴을 나타내고 있다. 이 결과들은 본 생약제제가 과량의 알콜 섭취로 인한 급성 독성 증상을 예방하는데 유효할 것임을 시사해주고 있다.

## 문 헌

- 1) Lieber, C. S.: Alcohol and the Liver: Metabolism of ethanol, metabolic effects and pathogenesis of injury. *Acta Med. Scan. Suppl.* **703**, 11 (1985).
- 2) Lieber, C. S. and Schmid, R.: The effect of ethanol on fatty acid metabolism: stimulation of hepatic fatty acid synthesis in vitro. *J. Clin. Invest.* **40**, 394 (1961).
- 3) Blomstrand, R and Kager, L. and Lantto, O.: The combustion of triolein-1-<sup>14</sup>C and its inhibition by alcohol in man. *Life Sci.* **13**, 1131 (1973).
- 4) Ontko, J. A.: Effects of ethanol on the metabolism of free fatty acids in isolated liver cells. *J. Lipid Res.* **14**, 78 (1973).
- 5) Wolfe, B. M., Havel, J. R., Marliss, E. B., Kane, J. P., Seymour, J. and Ahuja, S. P.: Effects of a 3-day fast and of ethanol on splanchnic metabolism of free fatty acid, amino acids, and carbohydrates in healthy young men. *J. Clin. Invest.* **57**, 329 (1976).
- 6) Lieber, C. S., DeCarli, L. M. and Schmid, R.: Effect of ethanol on fatty acid metabolism in liver slices. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **1**, 302

- (1959).
- 7) Cascales, C., Benito, M., Cascales, M., Caldes, T. and Santos-Ruiz, A.: The effect of chronic ethanol administration on lipogenesis in liver and adipose tissue in the rat. *Br. J. Nutr.* **50**, 549 (1983).
  - 8) Scheig, R.: Effects of ethanol on lipid metabolism in adipose tissue. *Biochim. Biophys. Acta* **248**, 48 (1971).
  - 9) Brunengraber, H., Bountry, M., Lowenstein, L. and Lowenstein, J.M.: The effect of ethanol on lipogenesis by the perfused liver. In Alcohol and Aldehyde Metabolizing Systems(R. G. Thurman, T. Yonetani, J. R. Williamson and B. Chance, eds), p. 329. Academic Press, New York (1974).
  - 10) Schapiro, R. H., Drummey, G. D., Shimizu, Y. and Isselbacher, K. J.: Studies on the Pathogenesis of the ethanol-induced fatty liver. II. Effect of ethanol on Palmitate- $l$ -C<sup>14</sup> metabolism by the isolated perfused rat liver. *J. Clin. Invest.* **43**, 1338 (1964).
  - 11) Brodie, B. B., Butler, W. M., Horning, M. G., Maickel, R. P. and Maling, H. M.: Alcohol-induced triglyceride deposition in liver through derangement of fat transport. *Am. J. Clin. Nutr.* **9**, 432 (1961).
  - 12) Brodie, B. B. and Maickel, R. P.: Role of the Sympathetic Nervous system in Drug-Induced Fatty liver. *Ann. New York Acad. Sci.* **104**, 1049 (1963).
  - 13) Kim, M-H. and Kwon, O-H.: Relationship of hepatic triglyceride accumulation by ethanol to activities of lipogenic enzymes in rat liver. *Korean Biochem. J.* **25**, 499 (1992).
  - 14) Jones, D. P., Losowsky, M. S., Davidson, C. S., Lieber, C. S.: Effects of ethanol on plasma lipids in man. *J. Lab. Clin. Med.* **62**, 675 (1963).
  - 15) Lieber, C. S., Jones, D. P., Mendelson, J., DeCarli, L. M.: Fatty liver, hyperlipemia, and hyperuricemia produced by prolonged alcohol consumption, despite adequate dietary intake. *Trans Assoc. Am. Physicians* **76**, 289 (1963).
  - 16) Schapiro, R. H., Scheig, R. L., Drummey, G. D., Mendelson, J. H., and Isselbacher, K. J.: Effect of prolonged ethanol ingestion on the transport and metabolism of lipids in man. *N. Engl. J. Med.* **272**, 610 (1965).
  - 17) Baraona, E. and Lieber, C. S.: Effects of chronic ethanol feeding on serum lipoprotein metabolism in the rat. *J. Clin. Invest.* **49**, 769 (1970).
  - 18) Baraona, E., Pirola, R. C., and Lieber, C. S. The pathogenesis of postprandial hyperlipemia in rats fed ethanol containing diets. *J. Clin. Invest.* **52**, 296 (1973).
  - 19) Kim, M-H., Park, C-K., Kwon, O-H.: A galenic composition for preventing and treating the aftereffects due to an excessive alcohol intake. U. S. Patent No. 5482712 (1996) (being issued).
  - 20) Folch, J. M., Lees, G. and Staney, H. S.: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* **226**, 497 (1957).
  - 21) Sardesai, V. M. and Manning, J. A.: The determination of triglycerides in plasma and tissues. *Clin. Chem.* **14**, 156 (1968).
  - 22) Eggstein, M. and Kuhlman, E.: Triglycerides and glycerol determination after alkaline hydrolysis. In : Methods der Enzymatische Analyse (H.U. Bergmeyer, ed.), p. 1271, Weinheim, Verlag Chemie (1974).
  - 23) Bonnichsen, R. K. and Brink, N. G.: Liver alcohol dehydrogenase. In : Methods Enzymol. **1**, 495 (1955).
  - 24) Koivula, T. and Koivusalo, M.: Different forms of aldehyde dehydrogenase and their subcellular distribution. *Biochim. Biophys. Acta* **397**, 9 (1975).
  - 25) Kim, M-H., Kwon, O-H., and Park, C-K.: Effect of an acute ethanol administration on rat liver alcohol dehydrogenase. *Korean Biochem. J.* **26**, 402 (1993).
  - 26) Smith, P. K., Krohn, R. I., Hermanson, G. T., Mallia, A. K. and Gartner, M. D.: Measurement of protein using bicinchoninic acid. *J. Clin. Invest.* **67**, 361 (1985).
  - 27) Annable, W. and Cooper, C.: Inhibition of release of hepatic triglyceride by ethanol. *Biochem. Pharmacol.* **23**, 2063 (1974).