Korean J Food Cook Sci
Vol. 32, No. 6, pp. 818~827 (2016)

pISSN 2287-1780
eISSN 2287-1772
https://doi.org/10.9724/kfcs.2016.32.6.818

천마 추출물이 알코올을 투여한 흰쥐의 간 기능 및 알코올 대사에 미치는 영향

박순자 · 강주현 · 공현주[1] · 황수정[1] · 장정현[2] · 양경미[1†]
대구한의대학교 대학원 한방식품학과, [1]대구한의대학교 한방식품조리영양학부, [2]부산동의과학대학교 피부미용계열

Effects of *Gastrodiae rhizoma* on the Liver Function and Alcohol Metabolism in Alcohol Treated Rats

Soon-Ja Park · Ju-Hyeon Kang · Hyun-Joo, Kong[1] · Su-Jung Hwang[1] · Jung-Hyeon Jang[2] · Kyung-Mi Yang[1†]
Department of Herbal Food Science, Graduate School of Daegu Haany University, Gyeongsan 38610, Korea
[1]Faculty of Herbal Food Cuisine and Nutrition, Daegu Haany University, Gyeongsan 38610, Korea
[2]Division of Cosmetology, Dong-Eui Institute of Technology, Busan 47230, Korea

Abstract

Purpose: This study was conducted to investigate the effect of freeze-dried *Gastrodiae rhizoma* powder (GR) on the liver function and alcohol metabolism in alcohol treated rats. **Methods:** The rats were administered various concentrations of GR (100 mg, 200 mg, 300 mg/kg B.W.) for 3 days 1 hour before 50% (v/v) ethanol (3 g/kg B.W.) administration. Two tests focusing on liver function and alcohol metabolism in acute alcohol treatment were carried out. **Results:** Glutamic oxaloacetic transaminase activity was significantly increased by alcohol treatment, and was decreased by 100 mg GR administration. Acute ethanol treatment led to significant increase in alcohol and acetaldehyde levels of serum and liver. However, 100 mg GR administration led to a significant reduction in increased alcohol level in the serum with decreased alcohol dehydrogenase (ADH) activity and increased acetaldehyde level in liver was significantly reduced by three levels. **Conclusion:** These results suggest that GR can be effective in enhancing liver function and alcohol metabolism in the alcohol-treated rats. Studies on the appropriate dosage of GR should further be developed to treat alcohol detoxification and stimulate liver function.

Key words: *Gastrodiae rhizoma*, ethanol, liver function, acetaldehyde, ADH

Ⅰ. 서 론

현대 사회와 산업의 급격한 환경변화로 인한 스트레스로 음주량이 증가되면서 음주로 인한 경제적 손실은 심각한 것으로 나타났다. 급만성의 알코올 섭취는 숙취와 두통으로 인한 사회활동 장애를 일으킬 뿐만 아니라 신체적으로 간, 위, 식도, 심장 이외에 사고력 이상, 기억장애 및 말초신경변증과 같은 신경계 손상을 유발한다. 특히, 섭취된 알코올이 주로 해독되는 간 조직에서 심각한 손상을 일으키므로 급만성 알코올 섭취로 인한 질환 중에서 알코올성 간질환(alcoholic liver disease)의 발생 빈도가 가장 높은 것으로 보고되고 있다(Lieber CS 1993).

섭취된 알코올의 20%는 위장관에서 흡수된 후 alcohol dehydrogenase(ADH)에 의해 대사되며, 나머지 약 80%는 소장 상부에서 확산작용으로 흡수된 후 간 조직으로 이동되어 대사된다. 그리고 일부의 대사되지 않은 알코올은 폐나 소변 및 땀으로 배설된다(Morris R 1984, Lieber CS & Decarli LM 1991). 알코올이 acetaldehyde로 산화되는 대사 체계는 ADH, microsomal ethanol oxidizing system (MEOS)의 cytochrome P450 2E1(CYP2E1) 및 catalase 효소에 의해 주로 간 조직에서 이루어지므로 간은 알코올 대사에 중요한 작용 기관으로 작용한다(Lands WE 1998, Das SK & Vasudevan DM 2007). ADH는 알코올에 대한 Km의 농도가 0.2-2.0 mM으로 체내 알코올의 농도가 낮을때 작용하며, MEOS는 ethanol에 대한 Km의 농도가 약 10.0 mM으로 알코올의 농도가 높을 때 작용하는 것으로

†Corresponding author: Kyung-Mi Yang, Department of Herbal Food Science, Graduate School of Daegu Haany University, 1, Hanuidae-ro, Gyeongsan-si, Gyeongbuk 38610, Korea
ORICID: http://orcid.org/0000-0002-9802-4371
Tel: +82-53-810-1490, Fax: +82-53-810-1494, E-mail: jiboosin@dhu.ac.kr

http://www.ekfcs.org
© 2016 Korean Society of Food and Cookery Science
This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creative-commons.org/licenses/by-nc/3.0/) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

알려져 있다(Jung BS 1991). 간 조직에서 알코올 대사에 중요한 경로는 ADH와 MEOS 체계이며, catalase의 역할에 대해서는 아직까지 명확하게 밝혀지지 않고 있다(Gill K 등 1996). 알코올의 산화로 생성된 acetaldehyde는 acetaldehyde dehydrogenase(ALDH)에 의해 산화되며, 산화물의 일부는 혈액으로 이동된다(Jung BS 1991).

급만성적으로 과잉의 알코올을 섭취할 경우 간 조직에서 알코올 대사 효소 체계의 활성 변화로 알코올 대사가 저해되어 알코올, acetaldehyde, 대사과정 중 생성되는 유해 대사산물, 활성 산소(reactive oxygen radicals, ROS) 및 nicotinamide adenine dinucleotide(NADH)의 과잉 생성 등으로부터 야기되는 다양하고 복잡한 기전을 통하여 알코올성 지방간, 간염, 간경화증 및 간암을 유발해 사망을 초래하게 된다(Tsukamoto H 등 1986, Lieber CS & Decarli LM 1991, Keshavarzian A 등 1994, Kim IH 2008). 따라서 알코올성 간 손상 정도는 알코올 및 acetaldehyde의 대사 효소의 활성 조절을 통한 이들의 분해 정도에 따라 영향을 받는다. 현재까지 체내에서 알코올과 acetaldehyde 농도를 빠르고 안전하게 낮추어 숙취 해소와 간 기능 회복에 도움을 준다고 밝혀진 천연물로는 헛개나무와 천마 혼합 추출물(Jeon TW 등 2002), 오미자 농축액(Han CK 등 2014), 민들레즙(Noh KH 등 2009), 보이차(Park SH 등 2004) 등이 보고되었다.

난초과(Orchidaceae, 蘭草科)에 속하는 다년생초본(多年生草本)인 천마(天麻, *Gastrodiae rhizoma*)는 약성이 평무독(平無毒)하며 미(味)는 감(甘)한 것으로 알려져 있다(Kwon HJ 등 2014). 천마의 효능에 관한 국내 연구로는 뇌혈류 순환 개선과 항고혈압(Park SH 등 2005, Hong HD 등 2007), 혈당과 혈청 지질성분 조절(Kim KI 등 2003, Yang KM 2008), 항산화와 항염증 반응을 통한 간 보호(Kim HJ 등 2016), 간과 뇌 조직의 불포화지방산 농도 조절(Park PS & Park MY 2001) 및 알코올 대사 활성(Shim EJ 2006) 등이 활발히 진행되고 있다. 위에서 살펴본 바와 같이 천마는 항산화력을 기반으로 혈류량과 혈압을 조절하고 지질대사를 개선하여 간 조직을 보호하는 것으로 보고되고 있지만 알코올성 간질환에 대한 천마를 연구한 보고는 거의 없는 실정이다. 이에 본 연구에서는 동결 건조시킨 천마 분말이 흰쥐의 간 기능과 알코올 대사에 미치는 영향을 구명하여 알코올성 간 손상에 대한 건강기능성 식품의 소재로서 천마의 활용 방안을 탐색하고자 한다.

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 실험재료 및 시약

천마는 전라북도 무주에서 무주생천마를 구입하여 이용하였다. 실험동물의 사료는 일반배합 고형사료(Jeil Feed Co., Daejeon Korea)을 사용하였다. 간 기능은 glutamic oxaloacetate transaminase(GOT)와 glutamic pyruvate transaminase(GPT) 활성으로 측정하였으며, 측정용 kit는 Asan Pharma Co.(AM101, Seoul, Korea) 제품으로 구입하였다. 알코올 대사를 측정하기 위한 알코올(N7160, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)과 acetaldehyde(ab112113, Abcam, Cambridge, UK) 농도 및 ADH(K787-100, Biovision, Milpitas, CA, USA)와 ALDH(K731-100, Biovision)의 효소 활성은 상업용으로 제조된 측정용 kit를 구입하여 분석하였다.

2. 천마 동결건조 분말 제조

생천마는 일반 음용수로 세척하여 흙과 먼지 등의 이물질을 제거한 다음 수세미로 껍질을 벗겨 내고 깨끗이 씻었다. 그런 다음 5-10 mm 두께로 절편한 천마를 100°C에서 40분간 증자한 것을 80°C에서 8시간 건조한 다음, 분쇄한 시료의 10배량의 증류수를 넣고 3시간 동안 85°C에서 추출하였다. 그런 다음 회전식 증발농축기(Rotavapor R-210, Buchi, Flawil, Switzerland)를 이용하여 감압농축하였다. 그리고 동결건조기(FD 5510 SPT, Ilshin, Seoul, Korea)에서 동결건조 시킨 후 -70°C의 초저온냉동고(MDF-U52V, SANYO Electric Co., Ltd., Osaka, Japan)에 보관한 다음 시료로 사용하였다. 만들어진 천마 추출물 동결건조 분말은 생리적 식염수를 이용하여 1%, 2%, 3%로 만든 다음 실험동물에게 경구 투여하였다.

3. 실험동물 및 알코올 투여

실험동물은 300-350 g 정도의 생후 10주령이 된 Sprague Dawley(SD)종 수컷 흰쥐로 (주)효창 사이언스(Daegu, Korea)에서 분양받았다. 먼저 2주 동안 일반배합 고형사료로 환경에 적응시킨 다음 체중에 따라 각 실험군당 7마리씩 5군으로 각각의 cage에 분리하고 완전임의 배치하여 사육하였다. 사육 환경 조건으로 온도는 22±1°C, 상대습도는 65±5%, 명암은 12시간 주기(09:00-21:00)로 조절하였다. 물은 임의로 섭취하도록 하였다. 실험군은 Table 1과 같이 정상군(NC), 알코올 단독 투여군(EC) 및 체중 kg당 각각 100 mg(EG100), 200 mg(EG200), 300 mg(EG300) 천마 분말과 알코올 투여군으로 나누었다. 천마 분말과 알코올은 생리적 식염수에 희석시켜 이용하였다. 천마 분말 시료와 알코올 투여는 매일 일정한 시간에 3일 동안 위관 경구 투여(oral administration)로 이루어졌으며, 천마 분말(100 mg/kg B.W., 200 mg/kg B.W., 300 mg/kg B.W.)을 투여한 지 1시간이 지난 다음 생리식염수로 희석된 에탄올(50%, v/v)을 체중 kg당 3 g을 투여 하였다. 이때 정상군은 알코올 대신에 생리적 식염수만을 경구 투여하였다. 마지막 3일째 되는 날은 알코올을 투여한지 1시

Table 1. Classification of experimental groups

Gruop[1)]	Ethanol (g/kg B.W.)	*Gastrodiae rhizoma* (mg/kg B.W.)
NC	-	-
EC	3	-
EG100	3	100
EG200	3	200
EG300	3	300

[1)] NC: 0.9% saline + 0.9% saline; EC: ethanol 3 g/kg B.W. + 0.9% saline; EG100: ethanol 3 g/kg B.W. + *G. rhizoma* 100 mg/kg B.W.; EG200: ethanol 3 g/kg B.W. + *G. rhizoma* 200 mg/kg B.W.; EG300: ethanol 3 g/kg B.W. + *G. rhizoma* 300 mg/kg B.W.

간이 지난 다음 희생시켜 시료를 채취하였다.

4. 시료 채취

천마 분말과 알코올을 급성 투여한 흰쥐는 CO_2(Shinsung, Gimhae, Korea)로 가볍게 마취시켜 개복한 즉시 복부 대동맥에서 혈액을 채취하였다. 혈액은 실온에서 약 30분간 방치한 후 3,000 rpm에서 15분간 냉장상태에서 원심분리(VS-550, Vision Scientific Co., Daejeon, Korea)하여 얻은 혈청을 일정량씩 나눈 다음 액체 질소 탱크(XC Millennium 20, Chart/Mve, Buffalo, MN, USA)에서 급속동결한 후 분석 전까지 -70°C에서 초저온냉동고(SANYO Electric Co., Ltd.)에서 냉동 보관하였다. 간 조직의 일부를 취해서 조직균질기(HS-30E, Daihan Scientific, Wonju, Korea)를 사용하여 냉장 상태에서 1.15% KCl 완충용액을 제조하여 10%(w/v) 마쇄 균질액을 만든 다음 실험에 사용하였다.

5. 실험방법

급성 알코올 투여에 의한 간 손상 지표로 혈청 중 GOT와 GPT 활성은 각 기질과 효소 반응을 이용한 비색법에 의해 제조된 GOT와 GPT 활성 측정용 kit를 이용하여 측정하였으며, 활성은 Karmen unit/mL로 나타내었다. 혈청과 원심분리로 얻은 간 조직 균질액의 알코올 농도는 96-well plate를 이용한 알코올 측정용 kit로 반응시킨 다음 microplate reader(N10583, Thermo Scientic, Waltham, MA, USA)에서 측정하였다. Acetaldehyde 농도는 acetaldehyde가 ALDH에 의해 산화되어 acetic acid가 만들어지는 과정에서 생성된 NADH의 농도를 측정하는 원리로 제조된 acetaldehyde quantification assay kit를 사용하여 측정하였다. ADH와 ALDH 활성은 NAD와 반응하여 생성된 NADH의 농도를 측정하는 원리로 제조된 분석용 kit를 이용하여 450 nm에서 측정하였다. ADH와 ALDH 활성은 분당 mL에서 생성된 NADH 양을 nmol로 나타내었다.

6. 동물실험 윤리승인

본 연구는 동물보호법(제정 1991년 5월 31일 법률 제4397호, 일부 개정 2008년 2월 29일 법률 제8852호)을 근거하여 대구한의대학교 동물실험윤리위원회에 의해 승인받아 수행되었다(Approval Number: DHU 2016-031).

7. 통계처리

실험을 통하여 얻어진 자료는 SPSS Statistics(ver. 15.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 분석하였으며 그 결과는 평균±표준편차로 표시하였다. 실험결과는 일원배치 분산분석(one way analysis of variance)을 한 후 Duncan's multiple range test에 의해 $p<0.05$ 수준에서 각 실험군의 평균치의 통계적 유의성을 검정하였다. 천마 분말과 알코올 투여로 인한 간 손상 지표, 알코올과 acetaldehyde 농도 및 ADH와 ALDH 활성과의 상관성은 Pearson's correlation coefficient(r)를 구한 뒤 $p<0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 혈청 중의 GOT와 GPT 활성

천마 분말과 알코올을 투여한 흰쥐의 간 손상의 지표인자로 알려진 혈청 중의 GOT와 GPT 활성에 미치는 영향은 Fig. 1과 같다. GOT 활성은 NC군의 251.2±31.3 unit에 비해 EC군은 313.8±13.0 unit로 알코올 급여로 약 24.9%의 증가를 보였다. 천마 분말을 급여한 EG100군은 288.0±36.6 unit, EG200군은 311.3±40.8 unit, EG300군은 309.1±34.3 unit의 GOT 활성을 보여 EC군에 비해 각각 8.2%, 0.80%, 1.50%의 감소를 보였으나 유의적인 차이는 없었다. 또한 GPT 활성은 NC군은 186.9±28.7 unit, EC군은 187.3±30.4 unit, EG100군은 195.9±14.1 unit, EG200군은 207.9±29.7 unit, EG300군은 188.8±14.3 unit로 모든 군간에 유의적인 차이는 없었다. 따라서 알코올 투여로 증가된 GOT 활성으로 볼 때 알코올성 간 손상을 받은 것으로 판단되며, 이때 유의적이지는 않지만 낮은 활성을 보인 EG100군에서 알코올성 간 손상에 대해 보호 받은 것으로 추측된다.

급만성의 과다 음주는 간 조직의 섬유화나 불포화지방산 조성비의 불균형에 의한 세포막의 구조 및 기능의 변화를 유발하게 된다. 그 결과, 간 손상이 진행되면서 혈중 알코올, acetaldehyde, GOT 및 GPT의 수치가 상승되는 것으로 여러 연구자들에 의해 보고되었다(Kwon YO 2003, Lee SY 등 2008, Choi GH 등 2011, Kim HJ 등 2016). 이 상태가 지속이 될 경우에는 광범위한 간 조직의 괴사와 염증으로 유발되는 알코올성 간염 상태에서 재생 반응인 섬유화 과정을 거치면서 알코올성 간경변증

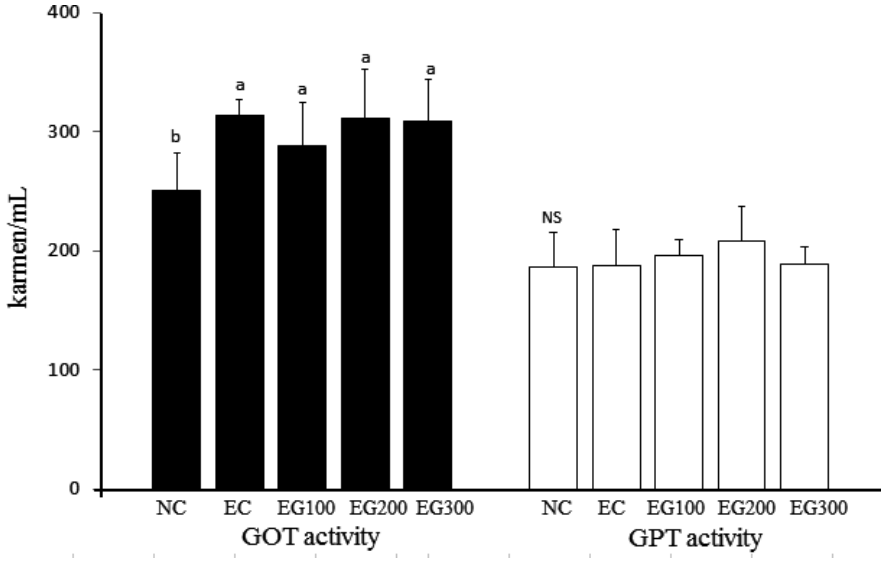

Fig. 1. Effects of *Gastrodiae rhizoma* on GOT and GPT activities in serum of alcohol treated rats. NC: 0.9% saline + 0.9% saline; EC: ethanol 3 g/kg B.W. + 0.9% saline; EG100: ethanol 3 g/kg B.W. + *G. rhizoma* 100 mg/kg B.W.; EG200: ethanol 3 g/kg B.W. + *G. rhizoma* 200 mg/kg B.W.; EG300: ethanol 3 g/kg B.W. + *G. rhizoma* 300 mg/kg B.W.. The results indicate the mean±SD of 7 rats per each group. Means with different letters (a,b) among group are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$). NS: not significant.

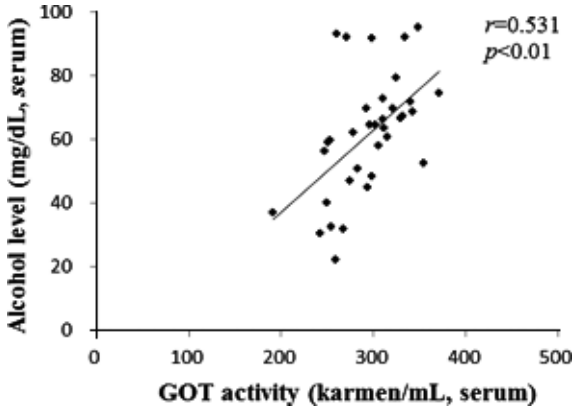

Fig. 2. Correlation between serum alcohol level and GOT activity.

으로 발전하게 된다(Kim IH 2008). 본 연구에서도 Fig. 2와 같이 혈청 중의 알코올 농도가 높을수록 GOT 활성이 높은 양의 상관관계(r=0.531, p<0.01)를 보임에 따라서 체내 알코올 농도가 높을수록 간 조직의 손상이 심한 것으로 보여진다.

Choi GH 등(2011)은 체중 kg 당 3 g의 알코올(50%, v/v)을 투여한지 8시간이 지난 후에 GOT와 GPT 활성을 측정한 결과, 정상군에 비해 각각 약 81%와 69%의 증가를 보여 알코올 투여로 간 손상이 일어났다고 보고하였다. 그러나 헛개나무 열매 추출물이나 헛개나무를 포함한 7개의 식품혼합물을 투여했을 때 GOT와 GPT 활성은 각각 약 26.0%와 29.0%의 억제를 보여 알코올성 간 독성의 예방에 생약제가 유용하다는 결과를 밝혔다. 또한 Kim HJ 등(2016)은 lipopolysaccharide의 복강 투여로 유발된 생쥐의 간 손상에 대해 천마 및 6번 증숙 발효 천마를 체중 kg 당 200 mg 투여하였을 때 GOT와 GPT의 활성이 유의적으로(p<0.001) 감소되었고, 그 결과 천마 및 증숙 발효 천마 분말의 간 보호 효과를 밝혔다. 그러나 본 연구에서는 알코올의 투여로 증가된 GOT의 활성에 대해 유의적이지는 않지만 100 mg의 천마 분말의 투여로 경미한 GOT 활성 억제 효과가 있다는 결론을 얻을 수 있었다.

2. 혈청 중의 알코올 수준

천마 분말과 알코올을 투여한 흰쥐의 혈청 중의 알코올 농도는 Fig. 3과 같다. 혈청 dL 당 알코올 농도는 NC군의 34.05±7.30 mg에 비해 EC군은 66.16±7.54 mg으로 알코올의 투여로 94.1% 증가된 농도를 보였다(p<0.05). 그러나 천마 분말을 급여한 EG100군은 53.18±4.86 mg, EG200군은 65.88±5.52 mg, EG300군은 86.90±10.08 mg으로 천마 분말의 급여량과 비례해서 혈중 알코올 농도가 증가되었다(p<0.05). 또한 EC군에 비해 EG100군에서는 유의적으로 19.6%의 낮은 알코올 농도를 보였으나, EG300군에서는 오히려 31.4%의 증가를 보였다(p<0.05).

알코올 대사는 70 kg인 성인 남성의 간 조직에서 보통 한 시간에 체중 kg 당 100 mg 정도 이루어지지만(Choi GH 등 2011), 혈중 알코올 농도는 알코올 도수, 음주 속

도 및 위 내 음식물의 양과 종류 등에 의해 영향을 받게 된다. 그러나 알코올의 가수분해 활성을 가진 천연물의 공급으로 혈중 알코올 농도를 낮출 수 있다는 사실이 국내 연구자들에 의해 밝혀졌다. Han CK 등(2014)과 Hwang SJ 등(2010)은 알코올(4 g/kg B.W.)을 투여한 흰쥐에게 오미자 추출물 및 한약재 추출물이 함유된 음료를 급여한 결과 정상군에 비해 시간이 경과할수록 혈액에서의 알코올 농도 감소 속도가 빠른 것으로 확인되었다고 보고하였다. 또한 본 실험에서 시료로 이용한 천마가 함유된 생약제 혼합물을 알코올(3 g/kg B.W.)을 투여한 흰쥐에게 급여하였을 때, 혈청 중 알코올 농도가 빠르게 감소하고 혈청 중 최고 농도에 도달하는 시간 및 사다리꼴 곡선하 면적이 $p<0.05$ 수준에서 각각 33% 및 21%의 유의적인 감소를 보였다(Jeon TW 등 2002). 그리고 천마에서 추출한 저분자 및 다당체 분획물도 혈중 알코올 농도의 수치를 유의적으로 낮추는 것으로 보고되었다(Shim EJ 2006).

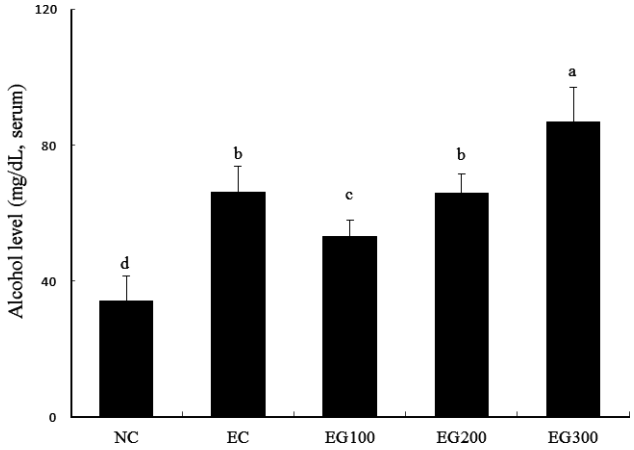

Fig. 3. Effects of *Gastrodiae rhizoma* on alcohol level in serum of alcohol treated rats. NC: 0.9% saline + 0.9% saline; EC: ethanol 3 g/kg B.W. + 0.9% saline; EG100: ethanol 3 g/kg B.W. + *G. rhizoma* 100 mg/kg B.W.; EG200: ethanol 3 g/kg B.W. + *G. rhizoma* 200 mg/kg B.W.; EG300: ethanol 3 g/kg B.W. + *G. rhizoma* 300 mg/kg B.W.. The results indicate the mean±SD of 7 rats per each group. Means with different letters (a - d) among group are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

본 연구에서도 알코올을 투여한 흰쥐에게 천마를 급여하였을 때, 혈청 중의 알코올 농도는 100 mg의 천마 분말 투여군에서 19.6%의 감소 효과가 나타났다. 그러나 300 mg 투여군의 혈중 알코올 농도는 오히려 증가 현상을 보였다. 그러나 하루 복용량은 20 g을 넘지 않도록 하고 독성이나 부작용과 중독이 있다는 연구 보고(Kim YH & Seo BI 2012)로 볼 때 알코올과 천마의 상호작용에 대한 구명을 통한 음주시 적절한 천마 복용량에 대한 연구가 좀 더 필요할 것으로 보여진다.

3. 혈청과 간 조직 중의 ADH 활성도

천마 분말과 알코올을 투여한 흰쥐의 혈청과 간 조직 중의 분당 ADH 활성은 Fig. 4와 같다. 혈청 중의 NC군과 EC군의 ADH 활성은 각각 0.96±0.16 nmol/mL과 1.04

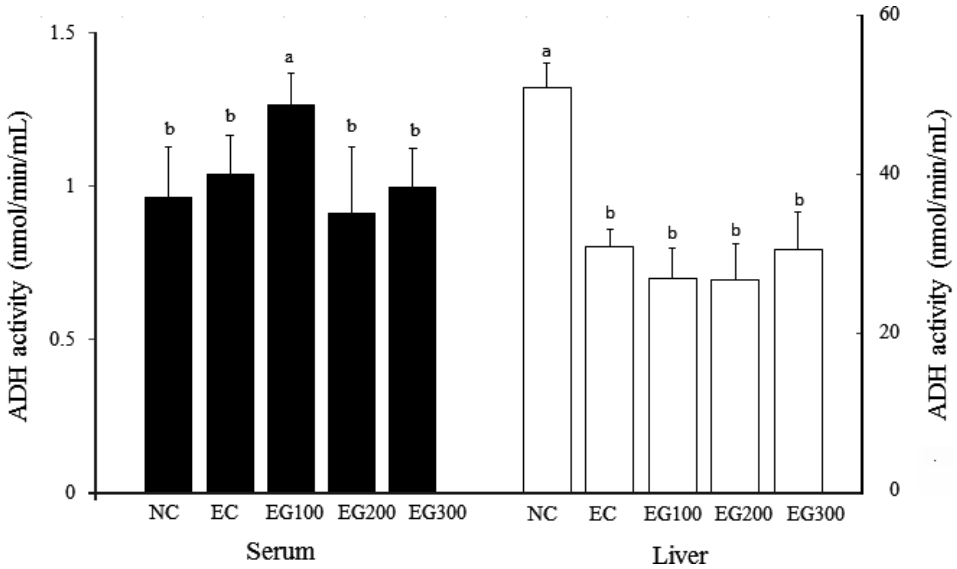

Fig. 4. Effects of *Gastrodiae rhizoma* on ADH activities in serum and liver of alcohol treated rats. NC: 0.9% saline + 0.9% saline; EC: ethanol 3 g/kg B.W. + 0.9% saline; EG100: ethanol 3 g/kg B.W. + *G. rhizoma* 100 mg/kg B.W.; EG200: ethanol 3 g/kg B.W. + *G. rhizoma* 200 mg/kg B.W.; EG300: ethanol 3 g/kg B.W. + *G. rhizoma* 300 mg/kg B.W.. The results indicate the mean±SD of 7 rats per each group. Means with different letters (a,b) among group are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

±0.13 nmol/mL로 두 군 간에 유의한 차이는 없었다. EC군에 비해 EG100군은 1.26±0.104 nmol/mL, EG200군은 0.91±0.21 nmol/mL, EG300군은 1.00±0.12 nmol/mL으로 EG100군에서 21.2%의 ADH 활성 증가를 보였다(p<0.05). 간 조직 중의 ADH 활성은 NC군의 50.84±3.15 nmol/mL에 비해 알코올을 투여한 모든 군에서 p<0.05 수준에서 유의적으로 낮은 활성을 보였으며, 알코올 투여군들 간에 유의적인 차이는 없었다. 알코올 투여군의 활성치는 EC군은 30.83±2.26 nmol/mL, EG100군은 26.80±3.89 nmol/mL, EG200군은 26.65±4.52 nmol/mL, EG300군은 30.51±4.67 nmol/mL이었다.

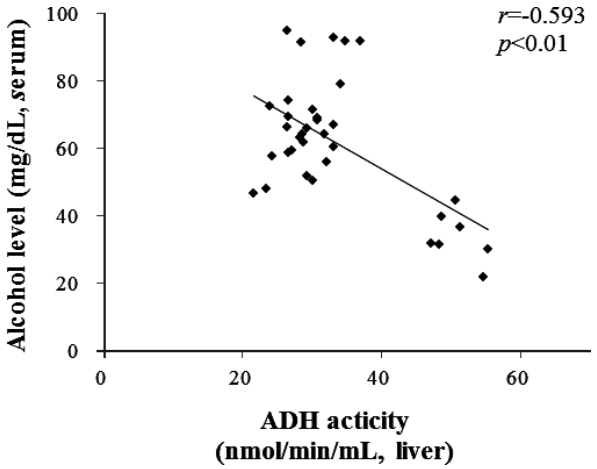

Fig. 5. Correlation between serum alcohol level and serum ADH activity.

알코올을 섭취한 후에는 1차적으로 ADH, microsome의 CYP2E1 및 catalase의 활성이 시간이 경과하면서 유도되어 acetaldehyde로 산화된다. 소화관에서는 주로 ADH에 의해 알코올 분해가 활발하게 나타나고, 분해되지 않은 일부의 알코올은 호흡기를 통해 배설되면서 혈중 알코올 농도가 낮아지게 된다(Lieber CS 등 1994, Lieber CS 2004, Das SK & Vasudevan DM 2007, Chung YI 등 2009). Son JC 등(2012)과 Park SH 등(2004)은 흰쥐(5 g/kg B.W.)와 생쥐(5.5 g/kg B.W.)에게 알코올을 경구투여 하였을 때 비투여군에 비해 혈중 알코올 농도는 높았으나, ADH 활성은 감소되었다고 보고하였다. 본 연구에서도 Fig. 5에서처럼 혈청 중의 알코올의 농도가 높았고, 간 조직 중의 ADH 활성은 낮은 음의 상관관계(r=-0.593, p<0.01)로 나타났다.

알코올 대사의 활성화로 혈중 알코올 농도와 알코올 대사 과정 중 생성되는 유해 대사산물및 활성 산소 등의 이차 대사산물을 감소시키는 기전을 통하여 알코올성 간 손상을 억제시키는 활성물질에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. *In vivo* 실험에서는 Park SH 등(2004)은 보이차 추출물의 급여로 간 조직에서 22.7%의 ADH 활성이 유도되어 87.3%의 혈중 알코올 농도 감소 효과를 얻었다고 하였다. 그리고 *In vitro* 실험에서는 천마에서 추출한 다당체 분획물과 천마 열수추출물이 ADH 활성을 촉진하고, 천마 저분자 및 다당체 분획물이 투여 농도에 비례해서 ADH의 활성을 증가시키는 경향을 보였다(Shim

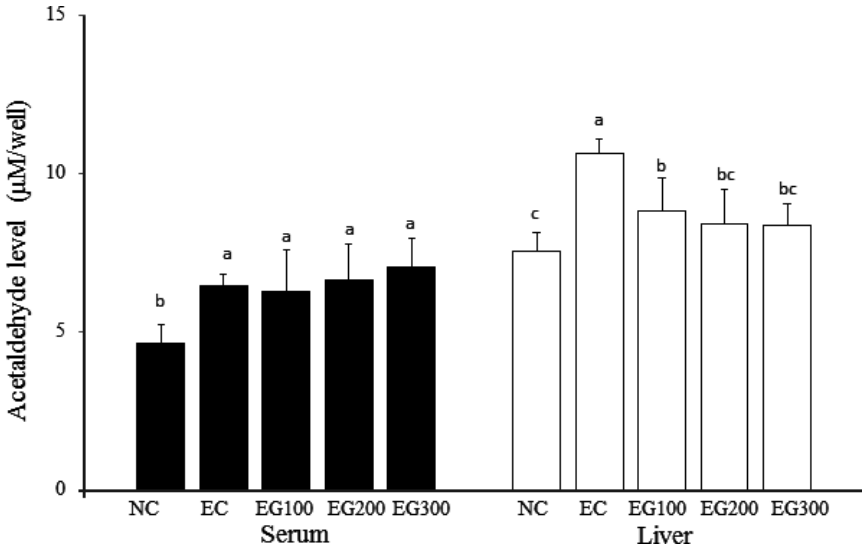

Fig. 6. Effects of *Gastrodiae rhizoma* on acetaldehyde levels in serum and liver of alcohol treated rats. NC: 0.9% saline + 0.9% saline; EC: ethanol 3 g/kg B.W. + 0.9% saline; EG100: ethanol 3 g/kg B.W. + *G. rhizoma* 100 mg/kg B.W.; EG200: ethanol 3 g/kg B.W. + *G. rhizoma* 200 mg/kg B.W.; EG300: ethanol 3 g/kg B.W. + *G. rhizoma* 300 mg/kg B.W.. The results indicate the mean±SD of 7 rats per each group. Means with different letters (a-c) among group are significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).

EJ 2006). 따라서 천마는 알코올과 acetaldehyde의 대사에 관여하는 효소계를 활성화시켜 알코올로부터 생체를 보호할 수 있는 기능성 식품으로서 가치가 있을 것으로 판단된다. 본 연구에서도 알코올 단독 투여군에 비해 100 mg의 천마 분말을 급여하였을 때 혈청 중의 ADH 활성의 유도로 알코올 농도를 낮춘 것으로 보여진다.

4. 혈청과 간 조직 중의 acetaldehyde 수준

천마 분말과 알코올을 투여한 흰쥐의 혈청과 간 조직 중의 acetaldehyde 농도는 Fig. 6과 같다. 혈청 중의 acetaldehyde 농도는 NC군의 4.61±0.60 μM에 비해 EC군은 6.45±0.34 μM로 알코올 투여로 39.9%의 유의미한 증가를 보였다(p<0.05). 그리고 EG100군, EG200군, EG300군은 각각 6.25±1.32 μM, 6.61±1.13 μM, 7.01±0.93 μM로 천마 분말의 급여에 의한 혈청 중의 acetaldehyde 농도의 감소 효과는 없었다. 간 조직 중의 acetaldehyde 농도는 NC군의 7.52± 0.59 μM에 비해 EC군에서는 10.61±0.49 μM로 p<0.05 수준에서 알코올 투여로 41.0% 유의미한 증가를 보였다(p<0.05). 그러나 EG100군, EG200군, EG300군의 acetaldehyde 농도는 각각 8.80±1.03 μM, 8.40±1.09 μM, 8.37±0.67 μM로 EC군에 비해 각각 17.1%, 20.9%, 21.2%가 감소되었으며(p<0.05), 천마 분말의 급여량에 의존하여 acetaldehyde 농도의 감소 효과를 보였다.

알코올성 간 손상은 알코올 자체, acetaldehyde, 알코올과 acetaldehyde의 대사과정 중에 생성된 ROS 및 NDAH/NAD의 비 증가에 따른 대사장애에 의해 일어난다(Lieber CS & Decarli LM 1991). 이 중 알코올보다 독성이 더 강한 물질로 알려진 acetaldehyde의 농도가 혈액에서 높아지게 되면 두통과 숙취를 유발하고 심한 경우에는 심혈관계 및 알코올성 간 손상 질환으로 사망하게 된다. 본 연구에서도 Fig. 7과 같이 혈청(r=0.629, p<0.01)과 간 조직 중(r=0.364, p<0.05)의 acetaldehyde 농도는 GOT 활성과 양의 상관관계를 보이고 있어 acetaldehyde 농도가 가장 높은 EC군에서 가장 간 손상이 심할 것으로 판단된다.

그러나 인동초, 약쑥 및 들국화로 만든 하향주(Jung HK 등 2008), 작약, 당귀 및 천궁 혼합추출물(Hwang SJ 등 2010), 민들레즙(Noh KH 등 2009), 헛개열매추출(Ko BS 등 2006), 눈꽃동충하초 추출물(Kim JM 등 2008), 천마 분획물(Shim EJ 2006) 등은 ALDH 효소의 활성을 유도하여 acetaldehyde를 분해시킴으로써 알코올성 간 손상이나 숙취에 의한 불쾌감을 해소하고 항산화력을 높이는 것으로 보고되고 있다. 특히, 천마 추출물과 분리한 천마 다당체는 *in vitro*와 *in vivo* 실험에서 ALDH의 활성을 증진시켜 acetaldehyde의 분해를 촉진시키는 효능이 있는 것으로 나타났다(Shim EJ 2006). 본 연구에서도 알코올 투여로 증가된 acetaldehyde 농도는 혈청에서는 천마의 공급에 따른 유의적인 차이는 없었으나, 간 조직에서는 천마 분말의 급여량에 의존적으로 유의적인 개선 효과를 보였다.

5. 혈청과 간 조직 중의 ALDH 활성

알코올과 천마 분말을 투여한 흰쥐의 혈청과 간 조직에서의 1분당 ALDH 활성은 Fig. 8과 같다. 혈청 중의 ALDH 활성은 NC군의 13.58±3.37 nmol/mL에 비해 EC군은 115.9% 증가된 29.33±2.39 nmol/mL의 활성을 보였다(p<0.05). 그리고 천마를 급여한 EG100군은 22.86±1.42 nmol/mL, EG200군은 19.01±0.03 nmol/mL, EG300군은 24.53±1.87 nmol/mL의 ALDH 활성으로 NC군에 비해 높았다. 그러나 EC군에 비해 각각 22.1%, 35.2%, 16.4%의 낮은 활성을 보였다(p<0.05). 간 조직 중의 ALDH 활성은 NC군은 12.06±0.30 nmol/mL에 비해 EC군은 20.69± 0.29 nmol/mL로 알코올 투여로 인해 71.5%의 높은 활성을 보였다(p<0.05). 그러나 EG100군과 EG300군의 ALDH 활성은 각각 16.56±1.40 nmol/mL와 13.81±1.21 nmol/mL로 EC군에 비해 p<0.05 수준에서 유의적으로 낮은 반면에, EG200군은 22.16±1.84 nmol/mL로 유의적으로 높은 활성을 보였다(p<0.05).

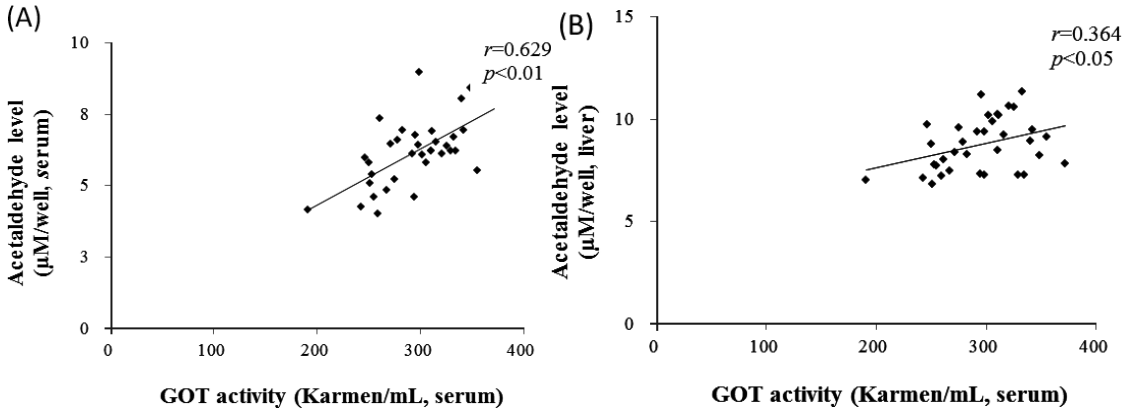

Fig. 7. Correlation between serum GOT activity and serum acetaldehyde (A) and hepatic (B) acetaldehyde level.

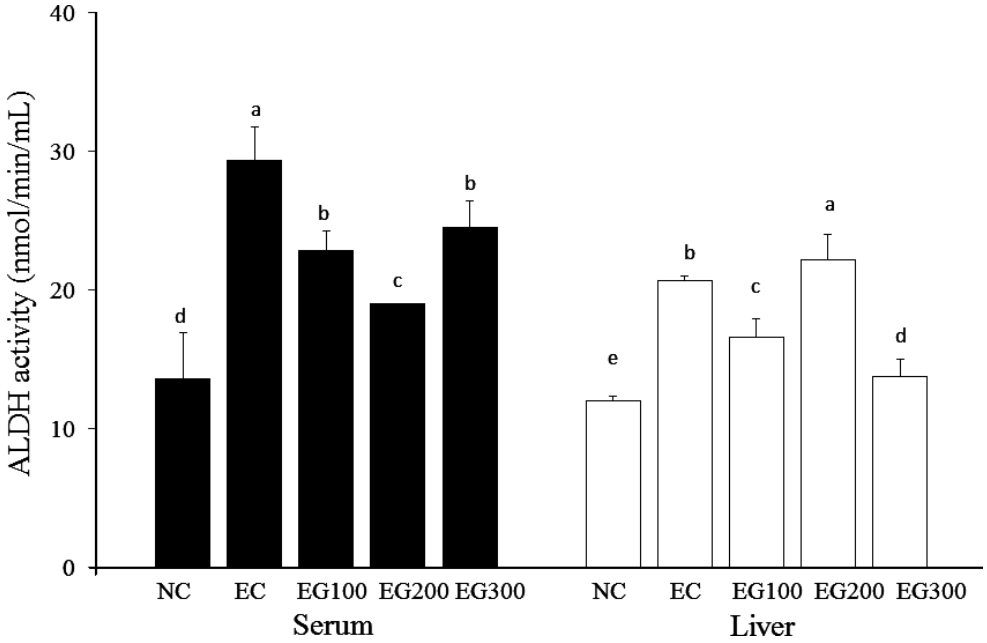

Fig. 8. Effects of *Gastrodiae rhizoma* on ALDH activities in serum and liver of alcohol treated rats. NC: 0.9% saline + 0.9% saline; EC: ethanol 3 g/kg B.W. + 0.9% saline; EG100: ethanol 3 g/kg B.W. + *G. rhizoma* 100 mg/kg B.W.; EG200: ethanol 3 g/kg B.W. + *G. rhizoma* 200 mg/kg B.W.; EG300: ethanol 3 g/kg B.W. + *G. rhizoma* 300 mg/kg B.W.. The results indicate the mean±SD of 7 rats per each group. Means with different letters (a-e) among group are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

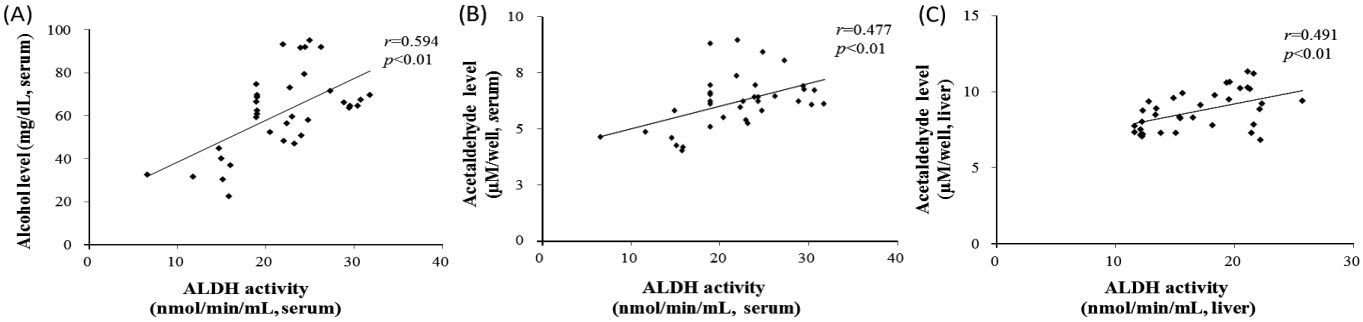

Fig. 9. Correlation between serum ALDH activity and serum alcohol (A) and acetaldehyde (B) level, and between hepatic ALDH activity and hepatic (C) acetaldehyde level.

간 조직에서 acetaldahyde는 미토콘드리아에서 ALDH의 촉매 작용에 의해 acetic acid로 대사된다. 일반적으로 동양인의 ADH 활성은 서양인에 비해 우수한 반면, ALDH 활성은 서양인에 비해 40-50% 낮은 것으로 알려져 있다(Wall TL 등 1997). ALDH 활성은 알코올 섭취 및 알코올성 간 질환이나 간 손상 환자 등 간 조직이 손상될 경우에 감소되는 것으로 나타났다(Vidal F 등 1998, Noh KH 등 2009). 동물이나 임상실험에서도 고위험 수준의 알코올이나 만성 음주에 따른 ALDH의 활성 저하로 acetaldehyde나 알코올 유해대사산물이 축적되어 알코올성 간 손상이 유발된다는 여러 보고들이 있다(Jo YO 등 2007, Jung HK 등 2008, Lee HI 등 2011, Kim MK 등 2013).

또한 이와 같은 연구들(Vidal F 등 1998, Jo YO 등 2007, Jung HK 등 2008, Noh KH 등 2009, Lee HI 등 2011, Kim MK 등 2013)에서는 하향주, 민들레즙, 헛개나무 추출물을 함유한 오이발효음료, 차나무 추출물 및 저분자 키토산 함유 해양심층수의 공급이 ALDH 활성을 증가시켜 숙취 해소에 도움을 줄 수 있었다고 밝혔다. 그러나 이들의 연구 결과와는 상반되게 Park SH 등(2004)은 체중 kg 당 5.5 g의 알코올을 경구투여한 후 2시간이 지난 다음 간 조직의 ALDH 활성을 측정하였을 때 정상군에 비해 알코올 투여군에서 76.0%의 유의적으로 활성이 증가하였고, 보이차 추출물을 급여하자 ALDH 활성 저하와 함께 87.26%의 혈중의 알코올 농도의 감소 효과를 보였다고 하였다. 그러나 본 연구에서는 Fig. 9와 같이 혈청 중의 알코올 농도(r=0.594, $p<0.01$) 및 혈청(r=0.477, $p<0.01$)

과 간 조직(r=0.491, $p<0.05$) 중의 acetaldahyde 농도는 ALDH 활성과 양의 상관관계를 보였다. 그 결과 혈청에서는 세 수준의 천마 분말이, 간 조직에서는 100 mg과 300 mg의 천마 분말의 급여로 ALDH의 활성 조절과 함께 알코올과 acetaldhyde 농도의 감소 효과가 나타났다.

Ⅳ. 요약 및 결론

본 연구는 동결 건조시킨 천마 분말이 간 기능과 알코올 대사에 미치는 영향을 동물실험을 통해 분석하여 알코올성 간 손상에 대한 건강기능성 식품의 소재로서 천마의 활용 방안을 알아보고자 실시하였다. 실험동물은 정상대조군(EC), 알코올 대조군(EC), 알코올과 체중 kg 당 천마분말 100 mg(EG100), 200 mg(EG200), 300 mg 투여군(EG300)으로 나누었으며, 알코올은 체중 kg 당 3 g을 투여하였다. 알코올과 천마 분말을 3일 동안 매일 1회씩 일정 시각에 급여한 다음 혈청과 간 조직에서 GOT와 GPT 활성, 알코올 분해 물질 및 효소에 대해 측정하였다. 그 결과, 알코올의 투여로 혈청 내의 GOT의 활성은 유의미하지는 않지만 100 mg의 천마 분말의 투여로 낮출 수 있었으며, GOT 활성은 혈청 내 알코올 농도와 양의 상관관계(r=0.531, $p<0.01$)를 보였다. 100 mg의 천마 분말을 급여하였을 때 ADH 효소의 활성 유도로 혈청 내의 알코올 농도의 저하 효과를 얻을 수 있었다($p<0.05$). 혈청 중의 알코올(r=0.633, $p<0.01$)과 acetaldahyde 농도(r=0.477, $p<0.01$) 및 간 조직(r=0.491. $p<0.05$) 중의 acetaldahyde 농도는 ALDH 활성과 모두 양의 상관관계를 보였다. 그러나 세 수준의 천마 분말의 급여로 혈청 중 ALDH의 활성 변화와 함께 알코올과 acetaldehydy 농도의 감소 효과를 얻었으며, 간 조직에서는 천마 분말의 투여량에 의존적인 acetaldehyde 농도의 감소 효과를 얻었다. 특히, 알코올 투여군에게 100 mg의 천마를 급여했을 때 ADH의 활성을 유도하여 알코올의 분해를 다소 증가시켰다는 측면에서 알코올의 대사를 촉진하고 간 기능 보호를 위한 기능성 식품으로써 천마가 효과적인 것으로 판단된다. 그러나 알코올과 천마와의 상호 관련성에 대한 세밀한 연구를 통하여 음주 시 적절한 천마 복용량에 대한 가이드라인이 필요할 것으로 보여진다.

Conflict of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

References

Choi GH, Kim JG, Kwon ST. 2011. Protective effects of food including *Hovenia dulcis* on acute alcohol intoxication. J Korean Soc Food Sci Nutr 40(8):1107-1112.

Chung YI, Bae IY, Lee JY, Chun HS, Lee HG. 2009. Protective effects of branched-chain amino acid (BCAA)-enriched corn gluten hydrolysates on ethanol-induced hepatic injury in rats. Korean J Food Sci Technol 41(6):706-711.

Das SK, Vasudevan DM. 2007. Alcohol-induced oxidative stress. Life Sci 81(3):177-187.

Gill K, Amit Z, Smith BR. 1996. The regulation of alcohol consumption in rats: The role of alcohol-metabolizing enzymes-catalase and aldehyde dehydrogenase. Alcohol 13(4):347-353.

Han CK, Seong KS, Lee KW, Park SS, Jeong JY, Kim SS. 2014. Effects of *Omija* (*Schizandra chinesis* Baillon) concentrate on blood alcohol clearance and hepatoprotective function in rats induced by acute ethanol intoxication and chronic ethanol treatment. J Korean Soc Food Sci Nutr 43(8):1139-1147.

Hong HD, Shim EJ, Kim KI, Choi SY, Han CK. 2007. Effect of *Gastrodiae elata* blume components on systolic blood pressure and serum lipid concentrations in spontaneously hypertensive rats fed high fat diet. J Korean Soc Food Sci Nutr 36(2):174-179.

Hwang SJ, Choi HM, Park HJ, Lee JS, Heo D, Kim MR. 2010. Effects of medicinal herbal drink on alcohol metabolic enzyme in drunken rats. Korean J Orient Physiol Pathol 24(4):610-615.

Jeon TW, Lee ES, Lee YS, Han OK, Bae JC, Kim KJ, Kim HJ. 2002. Eliminatory effect of mixed extract of *Hovenia Dulcis* Thunb and *Gastrodia Elata* on ethanol-induced hangover in rats. Korean J Orient Physiol Pathol 16(5):905-910.

Jo YO, Koo SJ, Choi IS, Kong YH, Choi SY. 2007. Effects of *Camellia sinesis* extracts on the antioxidant system and alcohol down-regulation enzymes in sub-acute ethanol treated ICR mice. J Korean Soc Food Sci Nutr 36(9):1134-1139.

Jung BS. 1991. Metabolic effects of alcohol. Korean J Food Nutr 4(2):207-211.

Jung HK, Park CD, Hwang MH, Park SC, Kim DI, Hong JH. 2008. Characteristics of alcohol metabolism of *Hahyangju* in rats. Korean J Food Preserv 15(1):155-160.

Keshavarzian A, Fields JZ, Vaeth J, Holmes EW. 1994. The differing effects of acute and chronic alcohol on gastric and intestinal permeability. Amer J Gastroenterol 89(12): 2205-2211.

Kim HJ, Kwon OJ, Lee AR, Roh SS, Seo YB. 2016. Protective effects of *Gastrodia rhizoma* and steamed & fermented *Gastrodiae rhizoma* with anti-oxidant efficacy and suppression of NFkB signaling pathway on LPS-induced liver injury. J Appl Biol Chem 59(3):179-188.

Kim IH. 2008. Pathophysiology of alcoholic liver disease. Clin

Mole Hepatol 14(4s):7-21.

Kim JM, Park JH, Kim MK, Chun HS. 2008. Effects of *Paecilomyces tenuipes* water extract on the alcohol metabolism of rats. J Korean Soc Food Sci Nutr 37(3):396-400.

Kim KI, Han CK, Seong KS, Lee OH, Park JM, Lee BY. 2003. Effect of whole powder and extracts of *Gastrodiae rhizoma* on serum lipids and body fat in rats fed high-fat diet. Korean J Food Sci Technol 35(4):720-725.

Kim MK, Nam KS, So MS, Shon YH. 2013. The effect of deep sea water containing low molecular weight chitosan on alcohol metabolism. J Chitin Chitosan 18(2):81-86.

Kim YH, Seo BI. 2012. A phiological study on poisoning and side effects of *Gastrodiae Rhizoma* (天麻). J Jeanhan Orient Med Acad 10(1):137-145.

Ko BS, Jang JS, Hong SM, Kim DW, Sung SR, Park HR, Lee JE, Jeon WK, Park SM. 2006. Effect of new remedies mainly compaired of *Hovenia dulcis* Thunb on alcohol degradation and liver protection in Sprague Dawley male rats. J Korean Soc Food Sci Nutr 35(7):828-834.

Kwon HJ, Kim HS, Choi YH, Choi JH, Choi HS, Song J, Park SY. 2014. Antioxidant activity and quality characteristics on the maturation period of the soy sauce with *Gastrodia elata* and oak mushroom (*Lentinus edodes*). Korean J Food Preserv 21(2):231-238.

Kwon YO. 2003. Therapy and perspectives of alcoholic liver disease. Clin Mole Hepatol 9(1s):36-45.

Lands WE. 1998. A review of alcohol clearance in humans. Alcohol 15(2):147-160.

Lee HI, Seo KI, Lee J, Lee JS, Hong SM, Lee JH, Kim MJ, Lee MK. 2011. Effect of fermented cucumber beverage on ethanol metabolism and antioxidant activity in ethanol-treated rats. J Korean Soc Food Nutr 40(8):1099-1106.

Lee SY, Kim SK, Kwon CI, Kim MJ, Kang MS, Ko KH, Hong SP, Hwang SG, Park PW, Rim KS. 2008. Clinical characteristics of health screen examines with nonalcoholic fatty liver and normal function test. Korean J Gastroenterol 52(3):161-170.

Lieber CS, Decarli LM. 1991. Hepatotoxicity of ethanol. J Hepatol 12(3):394-401.

Lieber CS, Gentry RT, Haraona E. 1994. First pass metabolism of ethanol. Alcohol Alcohol 2(Suppl):163-169.

Lieber CS. 1993. Aetiology and pathogenesis of alcoholic liver disease. Bailliere's Clin Gasroenterol 7(3):581-608.

Lieber CS. 2004. Alcoholic fatty liver: Its pathogenesis and metabolism of progression to inflammation and fibrosis. Alcohol 34(1):9-19.

Morris R. 1984. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. J Neurosci Method 11(1):47-60.

Noh KH, Jang JH, Kim JJ, Shin JH, Kim DK, Song YS. 2009. Effect of dandelion juice supplementation on alcohol-induced oxidative stress and hangover in health male college students. J Korean Soc Food Sci Nutr 38(6):683-693.

Park PS, Park MY. 2001. Effects of *Dioscorea batatas* and *Gastrodia rhizoma* on fatty acid compositions of serum, liver and brain in rats. Korean J Life Sci 11(1):83-92.

Park SH, Shin MK, Han JH. 2005. Study on the *Gastrodiae rhizoma* as applications in *Yacksun* (medicated diets) for preventing of cerebral cardiovascular disease. (1) Effects of *Gastrodiae rhizoma* on the regional cerebral blood flow and blood pressure. J East Asian Soc Diet Life 15(3): 283-291.

Park SH, Yoon HK, Koo SJ. 2004. Effects of water extracts of *Camelia sinensis* LINNE on blood alcohol concentration and activities of acute alcohol metabolic enzymes in ICR mouse. J East Asian Soc Diet Life 14(6):634-639.

Shim EJ. 2006. Effects of *Gastrodiae rhizoma* fractions on hepatic alcohol metabolic enzyme system in rats. Master's thesis. Seoul Women's University, Seoul, Korea. pp 34-57.

Son JC, Kim SH, Lee SI, Lee YK, Kim SD. 2012. Effect of ethanol extracts of *Youngia denticulata* and *Youngia sonchifolia* on the serum and hepatic lipids and activities of ethanol metabolizing enzymes in acute ethanol-treated rats. J Korean Soc Food Sci Nutr 41(2):197-204.

Tsukamoto H, Towner SJ, Clofalo LM, French SW. 1986. Ethanol-induced liver fibrosis in rats fed high fat diet. Hepatol 6(5):814-822.

Vidal F, Todar R, Gutiérrez C, Broach M, Fernández-Muixí F, Lorenzo A, Richart C. 1998. Influence of chronic alcohol abuse and liver disease on hepatic aldehyde dehydrogenase activity. Alcohol 15(1):3-8.

Wall TL, Peterson CM, Peterson KP, Johnson ML, Thomasson HR, Cole M, Ehlers CL. 1997. Alcohol metabolism in Asian-American men with genetic polymorphisms of aldehyde dehydrogenase. Ann Intern Med 127(5):376-379.

Yang KM. 2008. The effects of *Gastrodiae rhizoma* powder on plasma lipids profiles in the elderly with cardiovascular disease. J Korean Soc Food Sci Nutr 37(7):858-868.

Received on Nov.14, 2016/ Revised on Nov.22, 2016/ Accepted on Nov.22, 2016