

## 급성 알코올 독성을 유발한 ICR Mouse에서 *Allium hookeri* 뿌리 에탄올 추출물의 간 기능 보호 효과

강혜영 · 이초은 · 이선영  
충남대학교 식품영양학과

### Protective Effects of Ethanol Extract of *Allium hookeri* Root on Acute Alcohol-Induced Intoxication in ICR Mice

Hae-Young Kang, Cho-Eun Lee, and Sun-Yung Ly

Department of Food and Nutrition, Chungnam National University

**ABSTRACT** *Allium hookeri* is known as a healthy food since it contains larger amounts of sulfur compounds than commonly known alliaceous plants. The antioxidant and anti-inflammatory effects of *A. hookeri* were compared between two types of extracts, 80°C water and 95% ethanol extracts of *A. hookeri* roots. *A. hookeri* root 95% ethanol extracts displayed superior total polyphenol content, antioxidant activity [1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) radical scavenging activity], and anti-inflammation activity than those of water extracts ( $P<0.05$ ). We studied the effects of *A. hookeri* root 95% ethanol extracts (95% ethanol extracts group: AHE) on acute alcohol-induced intoxication in mice. AHE [250, 500, and 1,000 mg/kg body weight (BW)/d] was orally administered to the study group once a day for 1 week. On the last day of AHE treatment, 40% ethanol (10 mL/kg BW) was orally administered to induce acute liver injury. The blood alcohol concentration of mice treated with AHE was significantly lower compared to the control group ( $P<0.05$ ). The levels of hepatic aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase were lower in the AHE-treated group than the control group ( $P<0.05$ ). The RT-PCR results for alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase measured based on mRNA in liver tissues showed that enzyme activities were higher in the AHE-treated group than in the control group at a low blood alcohol concentration.

**Key words:** *Allium hookeri*, antioxidant and anti-inflammatory effect, acute alcohol-induced liver injury

## 서 론

근래 사회문화의 다양화 및 경제성장과 더불어 현대인의 알코올 섭취가 증가하고 있으며, 언론을 통해 알코올에 의한 여러 가지 건강 및 사회적 문제가 야기되고 있다(1). 국민건강영양조사에서 분석한 결과를 보면 만 19세 이상 성인의 한 달 1회 이상 남성의 음주율은 2005년 72.6%에서 2013년 75.3%로 증가하였으며, 여성의 음주율은 2005년 36.9%에서 2013년 45.7%까지 꾸준히 증가하고 있다(2).

알코올 대사과정 시 생성되는 중간대사산물인 acetaldehyde와 섭취된 알코올의 대사과정 촉진과 조직 손상에 관여하는 ROS는 숙취(hangover)의 원인 물질(3)로, 체내 농도가 높을 때는 간세포에 잔류하게 되어 간 기능 이상(4), 미토콘드리아의 기능 저해(5), 여러 가지 생리작용의 변화(6) 등을 일으키며, 특히 중추신경계의 유해한 영향으로 맥박의 증가나 발한, 홍조, 오심, 구토 등의 증상을 초래할 수 있다

(7-9). 더 나아가 만성적인 알코올 섭취는 지방산의 산화를 저해함으로써 혈중 중성지방의 농도를 높여 지방간을 초래하며(10), methionine의 대사 이상을 초래하여 강력한 항산화 작용을 가진 glutathione(GSH)의 생성을 억제한다. 이러한 산화적 스트레스 및 손상에 대비하여 glutathione peroxidase(GPX), superoxide dismutase(SOD), catalase 등의 항산화 효소가 분비되지만(7,11), 인체의 항산화 역량을 넘어서게 되면 염증반응이 일어나며 간세포의 자멸사 혹은 괴사를 유발하게 된다(12).

백합과에 속하는 *Allium*속 식물 중 대표적인 것으로는 마늘(*Allium sativum*), 파(*Allium ascalonicum*), 글파(*Allium schoenoprasum*), 부추(*Allium tuberosum*), 양파(*Allium cepa*) 등이 포함되어 있다(13). *Allium*속 식물에는 유황화합물(ACSOs, S-alk(en)yl cysteine sulfoxide), flavonoid, glutathione(GSH), selenium과 같은 항산화 및 항암 관련 기능성 물질이 포함되어 있으며(14), *Allium*속 식물의 알려진 유용성분 및 그의 생리적 유용성에 대한 자료를 종합한 결과로는 각 종(species)마다 존재하는 화합물의 종류와 양은 다르지만 몇 가지 ACSOs가 공통으로 존재한다고 보고되었다(15). 또한 *Allium*속 식물의 ACSOs는 외인성 물질에

Received 17 December 2015; Accepted 20 February 2016

Corresponding author: Sun-Yung Ly, Department of Food and Nutrition, Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea  
E-mail: sunly@cnu.ac.kr, Phone: +82-42-821-6838

의한 해독작용에 관련된 대표적인 효소로 알려진 glutathione S-transferase(GST)의 활성을 증가시키며(16-21), 특히 ACSOs에 속하는 S-allylcysteine은 세포 내 GSH의 고갈 방지 및 hydrogen peroxide와 TNF- $\alpha$ 에 의해 활성화된 NF- $\kappa$ B를 억제하는 것으로 보고되었다(22). 이 밖에도 acetaminophen, bromobenzene, 사염화탄소 등과 같은 간독성 물질에 대해 방어 효과가 있는 것으로 알려졌으며, 이는 독성중간물질 대사 효소인 cytochrome P450 또는 GST 효소의 활성 변화에 의한 것으로 보고되고 있다(23-27).

*Allium hookeri*(*A. hookeri*)는 뿌리, 뇌두, 잎, 꽃대, 꽃으로 구성되어 있으며 높이는 0.5~1 m 정도 자라는 백합과(Liliaceae)에 속하는 다년생초로 히말라야 산맥 해발 1,400~4,200 m 초원지대 및 숲이나 습지에서 자생하며, 동아시아의 중국 남부, 인도, 미얀마 등에서 분포하고 있다(28). 최근 우리나라에서는 흔히 알려진 파속 식물보다 다량의 유효화합물이 함유된 건강식품으로 알려져 *A. hookeri*의 효능에 대해 국민의 관심이 높아져 있으며, 미얀마산 *A. hookeri*는 국내 유통시장에서도 흔히 볼 수 있을 뿐만 아니라 국내에서 노지 재배 및 하우스 재배를 하는 농가가 늘어나면서 소비량도 증가하고 있는 추세이다(29). 이에 따라 *A. hookeri*에 대한 연구 또한 활발히 진행되고 있으며, 현재까지 *A. hookeri* 뿌리 추출물의 기존 연구를 종합해 볼 때 항산화, 항염증, 항암 효과(30-32) 등을 나타내는 것으로 확인되고 있으나 그 효과들에 대한 분자생물학적 메커니즘 및 임상 분야 응용에 대한 연구는 미흡하다. 특히 음주문화의 발달로 인해 현대인들에게 관심이 있는 숙취해소 기능과 관련하여 알코올로 유발된 급성 및 만성 간 독성에 대한 간 기능 보호 활성에 관한 연구는 미미한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 *A. hookeri*의 뿌리를 이용하여 열수 및 에탄올 추출물을 각각 제조하여 추출별 항산화 활성, 항염증 효과를 비교한 후 효능이 더 뛰어난 추출물을 이용하여 급성 알코올 간 독성을 유발했을 때 간 기능 보호 효과 소재로서 식품학적 가치를 탐색하여 기능성 식품의 개발에 기초자료를 제공하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 시료 및 추출물

본 실험에 사용한 *A. hookeri*는 2014년 11월 경기도 이천시에서 재배된 것으로 유향과 조사포닌 함량이 각각 161.58 mg/kg, 1.18%인 채소의 뿌리를 받아 흙을 제거하고 수돗물로 2~3회 세척하여 거즈로 물기를 제거한 후 껍질째 -70°C deep freezer(DF-8510, Ilshin Lab Co., Ltd., Seoul, Korea)에서 냉동한 다음 동결 건조(SFDMS12-60Hz, Samwon Freezing Engineering Co., Seoul, Korea)하였다. 동결 건조한 *A. hookeri* 뿌리는 세절한 후 추출 시료로 사용하였다. 시료의 에탄올 추출은 건조 분말 시료량의 9배량(w/v)의 95% 에탄올을 가하여 상온에서 자동교반기를 이용하

여 일주일간 교반한 후 여과지(Advantec No.2, Toyo Roshiki Kaisha, Ltd., Tokyo, Japan)를 사용하여 여과한 다음 rotary vacuum evaporator(EYELA A-1000S, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 40°C에서 감압 농축한 후 냉동 보관하면서 실험에 사용하였다. 열수 추출은 건조 분말 시료량의 9배량(w/v)의 증류수를 가하여 80°C에서 1시간 추출한 후 여과하였으며, 잔여물을 수거하여 같은 방법으로 3회 반복 추출하여 여과한 후 rotary vacuum evaporator(EYELA A-1000S, Tokyo Rikakikai Co.)로 40°C에서 감압 농축한 다음 동결 건조하여 냉동 보관하면서 실험에 사용하였다.

### A. hookeri 뿌리 추출물의 총폴리페놀 함량 측정

*A. hookeri* 뿌리 추출물의 페놀 함량은 페놀성 물질인 phosphomolybdic acid와 반응하여 청색을 나타내는 원리를 이용한 Folin-Denis 방법(33)을 이용하여 측정하였다. 2 N Folin-Ciocalteu's phenol reagent(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)와 증류수를 1:2로 섞은 혼합액을 0.2 mL 취한 후 농도별 시료 0.2 mL를 혼합하여 3분간 암소에서 방치하고 20% sodium carbonate( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 3 mL를 가한 뒤 1시간 동안 암소에서 반응시킨 다음 UV-spectrophotometer(UV-1800, Shimadzu Co., Kyoto, Japan) 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 gallic acid(Sigma-Aldrich Co.)를 이용하여 작성한 표준 검량곡선으로부터 값을 구하였다.

### A. hookeri 뿌리 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성 및 ABTS 라디칼 소거 활성 측정

*A. hookeri* 뿌리 추출물의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 라디칼 소거능은 Blois법(34)을 활용하여 안정한 유리 라디칼인 DPPH에 대한 시료와의 전자공여 효과로써 이 반응으로 DPPH 라디칼이 감소하는 정도를 측정하였다. 0.15 mM DPPH(Sigma-Aldrich Co.) 용액 1 mL를 취하여 농도별 시료 1 mL와 vortex mixer를 이용하여 30초간 교반한 후 암소에서 30분간 반응시킨 다음 UV-spectrophotometer 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)] 라디칼 소거능 측정은 Pellegrini 등(35)의 방법으로 측정하였다. 7 mM ABTS(Sigma-Aldrich Co.) 용액 10 mL와 140 mM  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (Sigma-Aldrich Co.) 176  $\mu\text{L}$ 를 혼합하여 암소에서 약 16시간 이상 반응시킨 후 absolute ethanol과 1:88 비율로 섞어 734 nm에서 값이  $0.7 \pm 0.002$ 가 되도록 조절한 ABTS 용액을 만들어서 사용하였다. ABTS 용액 1 mL를 취하여 농도별 시료 50  $\mu\text{L}$ 를 혼합한 후 암소에서 2분 30초간 방치한 다음 734 nm에서 흡광도를 측정하였고, 양성대조군으로 ascorbic acid를 사용하여 free radical scavenging activity 곡선을 작성한 후  $\text{IC}_{50}$ 을 산출하였으며, 이때  $\text{IC}_{50}$  값은 추출물을 첨가하지 않은 무 처리구의 값을

50% 감소시키는 추출물의 농도를 의미한다.

#### RAW 264.7 세포주 및 세포 배양

실험에 사용된 세포주는 RAW 264.7 대식세포로 대전 한국생명공학연구원 미생물자원센터에서 동결상태로 구입하였다. RAW 264.7 대식세포는 불활성화한 10% fetal bovine serum(FBS; Gibco, Grand Island, NY, USA)과 1% penicillin-streptomycin(PS; Sigma-Aldrich Co.)이 첨가된 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM; Gibco) 배지를 사용하였다. 세포는 100×20 mm의 세포배양접시(SPL Life Sciences Co., Pocheon, Korea)에서 증식시켜 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기(BB 15, Thermo Scientific Inc., Waltham, MA, USA)에서 배양하였으며, 배지는 2~3일마다 교환하였다.

#### A. hookeri 뿌리 추출물의 세포 생존율 측정(WST assay)

A. hookeri 뿌리 추출물의 농도에 따른 RAW 264.7 세포 생존율에 미치는 영향을 알아보기 위하여 WST(water soluble tetrazolium) assay를 실시하였다. WST는 수용성의 tetrazolium salt로서 살아있는 세포 내의 dehydrogenase와 반응하여 주황색의 formazan을 생성한다. 96 well plate에 well당 1×10<sup>4</sup> cells/mL의 세포용액을 100 µL씩 분주한 후 31.25, 62.5, 125, 250, 500, 1,000 µg/mL 농도의 A. hookeri 뿌리 추출물을 well당 1 µL씩, 동시에 100 µg/mL의 LPS(from *Escherichia coli* 0111:b4; Sigma-Aldrich Co.)를 1 µL(0.1 µg/well)씩 처리하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 24시간 배양하였다. 배양 후 EZ-Cytox WST assay reagent(Daeil Lab Service Co., Ltd., Seoul, Korea) 10 µL를 첨가하고 1시간 후에 ELISA reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### A. hookeri 뿌리 추출물의 nitric oxide(NO) 및 tumor necrosis factor alpha(TNF-α) 생성량 측정

RAW 264.7 cell을 48 well plate에 well당 4×10<sup>5</sup> cells/mL의 세포용액을 500 µL씩 분주하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건으로 24시간 배양한 후 A. hookeri 뿌리 추출물을 31.25, 62.5, 125, 250, 500, 1,000 µg/mL의 농도로 well당 5 µL씩 처리하고 동시에 100 µg/mL 농도의 LPS(from *Escherichia coli* 0111:b4; Sigma-Aldrich Co.)를 5 µL(0.5 µg/well)씩 처리하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 24시간 배양하였다. 배양 후 NO 생성량 측정은 세포 배양액 50 µL와 Griess reagent 50 µL를 첨가한 혼합물을 상온에서 10분간 암반응 시키고 ELISA reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였으며, TNF-α 생성량 측정은 추출물과의 배양 후 상층액을 회수하여 ELISA set(Cat No. 558534, BD Biosciences, San Jose, CA, USA)를 사용하였고, 제시된 방법에 따라 처리한 후 ELISA reader를 이용하여 450 nm에서 측정하였다.

#### 실험동물 및 시료 채취

본 연구에 사용된 동물은 ICR계의 8주령 수컷 mouse를 샴타코(주)(Osan, Korea)에서 공급받아 실험동물로 사용하였으며, 고품사료와 물을 충분히 공급하면서 1주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험을 시작하였다. 실험실 온도는 24±2°C였으며, 습도는 40~50%, 환기횟수 10~15회/h, 명암은 12시간 간격, 조도 150~300 lux로 유지하였으며, 본 연구는 충남대학교 동물실험윤리위원회의 연구계획서 승인(CNU-00579)하에 수행하였다.

실험동물은 50마리를 10마리씩 나누어 5군으로 무작위 배치하였다. 정상군(Normal)을 제외하고 대조군(Control)은 증류수 0.1 mL/d를 투여하였으며, A. hookeri 뿌리 95% 에탄올 추출물을 250, 500, 1,000 mg/kg body weight (BW) 용량으로 매일 일정한 시간에 1주일간 경구투여 하였고 각각 AHE1, AHE2, AHE3로 명명하였다. 실험 전 12시간 절식시킨 후 각 시료를 경구투여 하였으며, 30분 후에 40% 알코올 10 mL/kg BW를 경구투여 하였다. 알코올 투여 2시간 후에 ether로 마취시켜 심장에서 전혈을 채취한 후 간을 적출하였으며, 혈액은 4°C, 2,500×g에서 20분간 원심분리 하여 혈청을 분리한 후 실험에 사용하기 전까지 Eppendorf tube에 나누어 -70°C에 냉동 보관하였다. 간은 떼어낸 즉시 액체질소에 넣어 snap-freeze 시킨 후 -70°C deep freezer에 보관하였다가 실험에 사용하였다.

#### 혈중알코올 농도 측정

혈액을 분리하여 얻은 혈청을 사용하여 혈청 내의 에탄올 함량을 효소비색법에 의해 제조된 alcohol assay kit(STA-620, Cell Biolabs Co., San Diego, CA, USA)을 사용하여 UV-spectrophotometer(UV-1800, Shimadzu Co.) 570 nm에서 흡광도를 측정한 후 혈중알코올 농도를 계산하였다.

#### Serum AST, ALT 활성 측정

AST, ALT 활성도 측정은 assay kit(Asanpharm Co., Seoul, Korea)을 사용하여 측정하였다. Serum 20 µL에 37°C에서 preincubation 된 AST, ALT 기질액을 100 µL 혼합하여 37°C water bath에서 AST는 60분, ALT는 30분 방치한 후 2,4-dinitrophenylhydrazine 100 µL를 첨가하여 실온에서 20분 반응시켰으며, 반응 후 0.4 N NaOH 1 mL를 가하고 효소 작용을 정지시켜 생성된 hydra-zone을 UV-spectrophotometer(UV-1800, Shimadzu Co.) 505 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### Hepatic ADH, ADLH 활성 측정(RT-PCR)

간 조직으로부터 total RNA 추출은 total RNA prep kit (Bio Fact Co., Ltd., Daejeon, Korea)을 사용하여 mRNA 양을 측정하였으며 Table 1과 같다. cDNA 합성은 2X RT Pre-mix(Bio Fact Co., Ltd.)를 이용하여 역전사에 의한 cDNA synthesis가 50°C에서 60분간, RTase inactivation

**Table 1.** Primer sequences and PCR conditions

Primer <sup>1)</sup>	Number of cycles	Annealing temperature (°C)	Length (bp)	Sequence
β-Actin	40	58	541	Sense: 5'-CCTGACCCTGAAGTACCCCA-3' Antisense: 5'-CGTCATGCAGTCATAGCTC-3'
ADH	40	53	562	Sense: 5'-GAAAGCAACTTTTGTAGCCGA-3' Antisense: 5'-ACTCCTACGACGACGCTTACA-3'
ALDH	40	54	454	Sense: 5'-AAAGGAGTGTGAGCGAGCTA-3' Antisense: 5'-AGACATCTTGAATCCACCGAA-3'

<sup>1)</sup>ADH: alcohol dehydrogenase, ALDH: aldehyde dehydrogenase.

이 95°C에서 5분간 반응하였다. PT-PCR은 2X Taq PCR Pre-mix(SolGent Co., Ltd., Daejeon, Korea)를 이용하여 My Gnie96 Thermal Block(Bioneer Co., Daejeon, Korea)에서 진행한 denaturation이 94°C에서 30초간, 1분간 annealing, 68°C에서 2분간 extension 하여 총증폭주기 40 cycle을 실행하였으며, final extension은 68°C에서 7분간 반응시켰다. PCR 결과는 Rad safe(Intron Biotechnology, Inc., Seongnam, Korea)를 첨가한 1.5% agarose gel을 이용한 전기영동으로 확인하였다. PCR에 사용된 primer는 Neoprobe에서 sequence를 합성하여 사용하였으며, 그 염기서열은 ADH(562 bp) sense 5'-GAA AGC AAC TTT TGT AGC CGA-3', antisense 5'-ACT CCT ACG ACG ACG CTT ACA-3'; ALDH(454 bp) sense 5'-AAA GGA GTG TTG AGC GAG CTA-3', antisense 5'-AGA CAT CTT GAA TCC ACC GAA-3'; β-actin(541 bp)은 sense 5'-CCT GAC CCT GAA GTA CCC CA-3', antisense 5'-CGT CAT GCA GCT CAT AGC TC-3'이었다.

### 통계처리

자료 분석은 SPSS/Windows 21.0(Statistical Package for the Social Science, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 통계처리 하였고, 결과를 평균±표준편차로 나타내었다. 생리활성 측정 결과는 시료 간의 유의성을 Student's *t*-test로 검증하였고, 이 외의 실험에서는 각 군 간의 평균값의 차이를 검증하기 위하여 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)을 한 후, Duncan's multiple range test로 변인 간의 차이를 검증하였다. 모든 통계적인 유의성은  $\alpha = 0.05$  수준에서 검증하였다.

## 결과 및 고찰

### A. hookeri 뿌리 추출물의 총폴리페놀 함량 측정

A. hookeri 뿌리 열수 추출물과 95% 에탄올 추출물의 수율과 총폴리페놀 함량은 Table 2와 같다. 열수 추출물의 수율은 61.76%였고, 95% 에탄올 추출물은 10.10%로 열수 추출물의 수율이 약 6배나 더 높았다. Jun 등(36)의 연구 결과에 따르면 A. hookeri 뿌리 95°C에서 열수 추출물의 수율은 12.1%로 보고된 것보다도 본 연구의 열수 추출물

**Table 2.** Extraction yield and total polyphenol contents of *Allium hookeri* root extracts

Samples	Yield (%)	Polyphenol contents (mg/g GAE <sup>2)</sup> )	<i>t</i> -value
<i>Allium hookeri</i> root water extracts	61.76	5.22±0.24 <sup>1)</sup>	
<i>Allium hookeri</i> root 95% ethanol extracts	10.10	43.13±1.24	-52.019*

<sup>1)</sup>Mean±SD, n=3.

<sup>2)</sup>GAE: gallic acid equivalents.

\**P*<0.05.

수율이 월등히 높았다. 그러나 A. hookeri 뿌리 70% 에탄올에 추출한 수율이 56%라고 보고한 Bae와 Bae(31)의 연구보다는 본 연구의 에탄올 추출물 수율이 낮았다. 이는 농도가 다른 에탄올을 사용하였으며, 추출 시간 및 횟수가 다름에서 기인한 것으로 생각된다. A. hookeri 뿌리 열수 추출물과 95% 에탄올 추출물의 총폴리페놀 함량은 각각 5.22±0.24 mg/g, 43.13±1.24 mg/g으로 95% 에탄올 추출물에서 유의적으로 약 8배나 더 높은 결과를 나타내었다(*P*<0.05). 이는 Lee 등(37)이 A. hookeri 뿌리 95°C에서의 열수 추출물이 6.00±0.2 mg/g이었으며, 80% 에탄올 주정 추출물이 21.00±0.1 mg/g으로 열수 추출물보다 에탄올 추출물의 총폴리페놀 함량이 높게 나왔다는 연구 결과와 유사하였다.

### A. hookeri 뿌리 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성 및 ABTS 라디칼 소거 활성 측정

A. hookeri 뿌리 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성 및 ABTS 라디칼 소거 활성을 측정한 결과는 Table 3과 같다. A. hookeri 뿌리 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정한 결과는 열수 추출물과 95% 에탄올 추출물이 각각 10 mg/mL의 농도에서 65.83±1.47%, 80.63±0.89% 소거 활성을 보였으며, 95% 에탄올 추출물은 ascorbic acid의 0.01 mg/mL 농도와 유사한 소거 활성을 보였다. A. hookeri 뿌리 추출물의 IC<sub>50</sub> 값을 비교해보면 열수 추출물은 7.03±0.18 mg/mL이며, 95% 에탄올 추출물은 0.28±0.00 mg/mL로 열수 추출물보다 25배 높은 항산화 활성을 나타내었다(*P*<0.05). 이는 Kim 등(38)의 보고에 의하면 폴리페놀 화합물의 함량이 높으면 산화를 50% 억제하는 농도인 IC<sub>50</sub> 값이

**Table 3.** DPPH and ABTS radical scavenging activity of *Allium hookeri* root extracts

	Samples	Concentration (mg/mL)	Scavenging activity (%)	IC <sub>50</sub> (mg/mL) <sup>2)</sup>	t-value	
DPPH radical scavenging activity	<i>Allium hookeri</i> root water extracts	2.5	24.82±1.49 <sup>1)</sup>	7.03±0.18	65.673*	
		5	40.04±0.08			
		10	65.83±1.47			
	<i>Allium hookeri</i> root 95% ethanol extracts	2.5	30.33±1.27	0.28±0.00		
		5	48.65±0.37			
		10	80.63±0.89			
	Ascorbic acid		0.0025	18.74±2.05		0.01±0.00
			0.005	36.69±3.68		
			0.01	76.64±2.99		
ABTS radical scavenging activity	<i>Allium hookeri</i> root water extracts	2.5	15.95±0.45	12.10±1.39	14.045*	
		5	23.92±2.32			
		10	39.82±0.39			
	<i>Allium hookeri</i> root 95% ethanol extracts	2.5	29.95±0.46	0.81±0.16		
		5	39.59±0.55			
		10	56.43±0.76			
	Ascorbic acid		0.0025	4.87±0.20		0.03±0.00
			0.005	8.61±0.91		
			0.01	19.38±0.46		

<sup>1)</sup>Mean±SD, n=3.

<sup>2)</sup>The concentration in mg/mL required for 50% reduction of DPPH/ABTS radical.

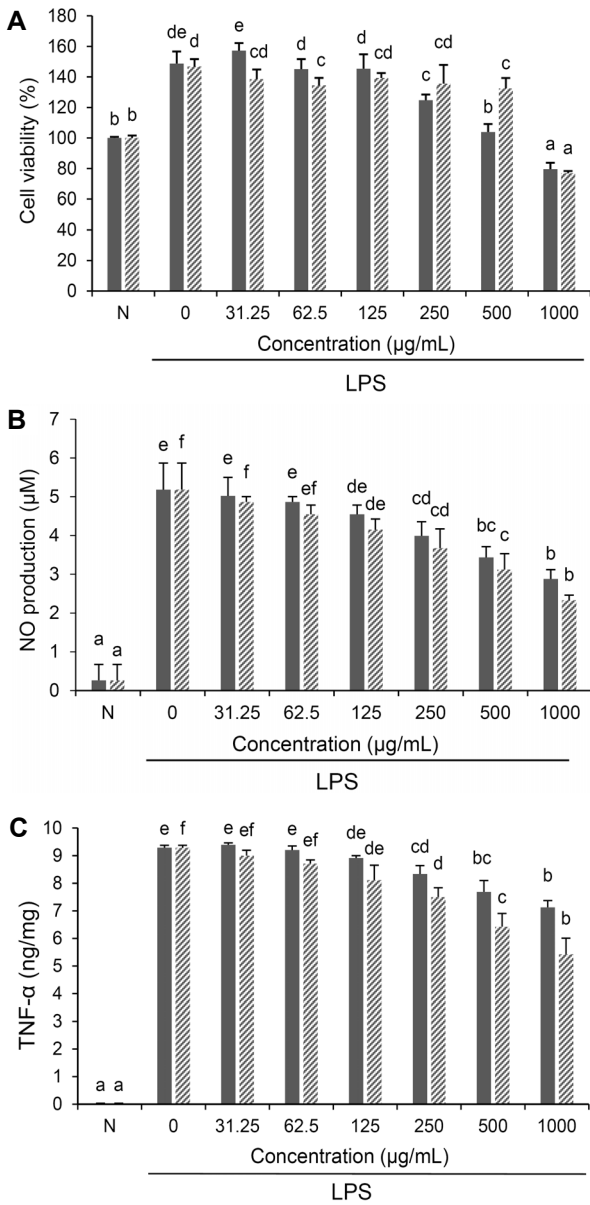
\*P<0.05.

더 낮게 나온다는 결과와 유사하였다. *A. hookeri* 뿌리 추출물의 ABTS 라디칼 소거능을 측정한 결과는 열수 추출물과 95% 에탄올 추출물 모두 농도 의존적으로 증가하는 경향을 나타냈으며, 10 mg/mL의 농도에서 열수 추출물은 39.82±0.39%, 95% 에탄올 추출물은 56.43±0.76%의 ABTS 라디칼 소거 활성을 보였다. ABTS 라디칼 소거 활성에 대한 IC<sub>50</sub> 값은 각각 12.10±1.39 mg/mL, 0.81±0.16 mg/mL로 아스코르브산 함량과 DPPH 라디칼 소거 활성에서 나온 결과와 마찬가지로 95% 에탄올 추출물이 열수 추출물보다 높은 항산화능을 나타내었다(P<0.05). Park과 Ly(39)는 *A. hookeri* 뿌리 추출을 100°C에서 진행한 열수 추출물과 70% 에탄올 추출물의 IC<sub>50</sub> 값을 측정한 결과가 각각 18.00±0.27 mg/mL, 22.49±0.39 mg/mL의 소거능을 보인다는 결과보다 열수 추출물은 약 1.5배 더 높았으며, 95% 에탄올 추출물은 28배나 더 높은 소거 활성을 보였다. 또한 *A. hookeri* 뿌리 열수 추출물, 80% 메탄올 추출물, 100% 메탄올 추출물의 ABTS 라디칼 소거 활성에 대한 각각의 IC<sub>50</sub> 값은 7.40±0.82 mg/mL, 20.55±3.60 mg/mL, 11.65±0.62 mg/mL로 보고(32)하여 비교하였을 때 본 연구의 모든 추출 조건에서 ABTS 라디칼 소거 활성이 더 높았다.

**A. hookeri 뿌리 추출물의 항염증 효과**

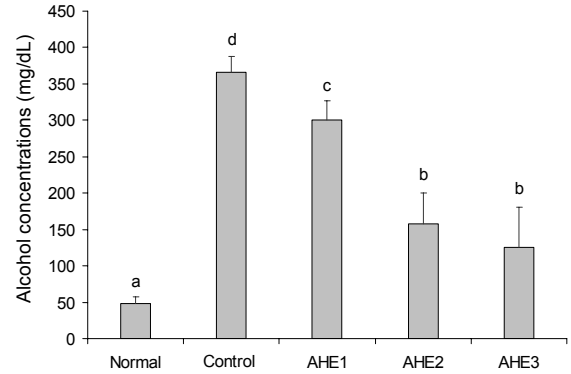
*A. hookeri* 뿌리 추출물이 마우스 대식세포 RAW 264.7에 미치는 영향을 측정하기 위하여 WST assay를 이용하였고, 항염증 작용을 알아보기 위해 RAW 264.7 세포에서 LPS로 유도처리 한 후 NO 생성에 미치는 영향 및 TNF-α의 생성

에 미치는 영향의 측정 결과는 Fig. 1에 나타내었다. *A. hookeri* 뿌리 열수 추출물을 LPS와 동시에 24시간 처리한 결과 고농도인 250 µg/mL에서는 세포 생존율이 LPS 단독 처리군에 비하여 생존율이 유의하게 감소하였으며 31.25~125 µg/mL의 농도에서는 97.6~107.7%의 세포 생존율을 나타내었다. 95% 에탄올 추출물은 31.25~500 µg/mL의 농도에서 LPS 단독 처리군에 비하여 세포 생존율이 90.2~94.9%로 관찰되었다. 추출물의 농도 31.25~1,000 µg/mL의 범위에서 NO 생성을 측정한 결과 LPS 자극은 NO 생성을 증가시켰으며, *A. hookeri* 뿌리 열수 추출물은 250 µg/mL 이상의 농도에서 NO 생성이 유의하게 억제되었고, 95% 에탄올 추출물은 125 µg/mL 이상의 농도에서 유의하게 억제되었다. 황마늘 추출물의 RAW 264.7 세포에 대한 NO 생성량을 측정한 결과는 열수 추출물보다 에탄올 추출물이 NO 생성을 억제하는 데 더 효과적이었으며(40), *Allium*속 식물 중 마늘은 주성분인 allicin과 ajoene이 iNOS의 발현을 저해하여 NO 생성을 억제한다고 하였다(41). TNF-α의 생성량을 측정한 결과 LPS만 처리한 군에서 9.29±0.08 ng/mg으로 높은 TNF-α 분비량을 보였으며, 세포독성이 일어나지 않는 범위에서 *A. hookeri* 뿌리 열수 추출물은 250~500 µg/mL 농도에서 유의하게 감소하였고 95% 에탄올 추출물은 125 µg/mL 이상에서 유의한 감소 효과를 나타내어 열수 추출물보다 TNF-α 생성의 억제력이 높게 나타났으며, 이는 NO 생성량 측정 결과와 유사한 결과를 나타내었다. Bae와 Bae(31)는 국내산 *A. hookeri* 뿌리 70% 에탄올 추출물을 다양한 농도로 전처리한 후 LPS로 자극하여 TNF-α



**Fig. 1.** Effect of the water (closed bar) and 95% ethanol (hatched bar) extracts of *Allium hookeri* root on (A) RAW 264.7 macrophages viability, (B) NO production by LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages, (C) TNF- $\alpha$  production by LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages. RAW 264.7 macrophages were treated with water extracts of *Allium hookeri* root (0, 31.25, 62.5, 125, 500, 1,000  $\mu\text{g/mL}$ ) or LPS (0.1  $\mu\text{g/well}$ ) for 24 hours. Treated cells were estimated by the WST assay. RAW 264.7 macrophages were treated with water extracts of *Allium hookeri* root (0, 31.25, 62.5, 125, 500, 1,000  $\mu\text{g/mL}$ ) and LPS (0.5  $\mu\text{g/well}$ ) for 24 hours. The production of NO and TNF- $\alpha$  were determined by Griess assay. Each bar represents the mean $\pm$ SD. Means with different letters are significantly different by Duncan's multiple range test at  $\alpha=0.05$ . N: normal.

를 측정된 결과 100, 250, 500  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 농도별로 유의하게 억제되지 않았다고 보고하였는데, 본 연구의 *A. hookeri* 뿌리 95% 에탄올 추출물의 경우 125, 250, 500  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 농도 의존적인 감소 효과를 보였으므로 *A.*



**Fig. 2.** Effect of the 95% ethanol extracts of *Allium hookeri* root on serum alcohol concentration in acute alcohol-treated mice. Sample were administrated before 30 min from ethanol injection. Control: 0% *Allium hookeri* root 95% ethanol extracts, AHE1: 0.25% *Allium hookeri* root 95% ethanol extracts, AHE2: 0.5% *Allium hookeri* root 95% ethanol extracts, AHE3: 1% *Allium hookeri* root 95% ethanol extract. Each bar represents the mean $\pm$ SD. Means with different letters are significantly different by Duncan's multiple range test at  $\alpha=0.05$ .

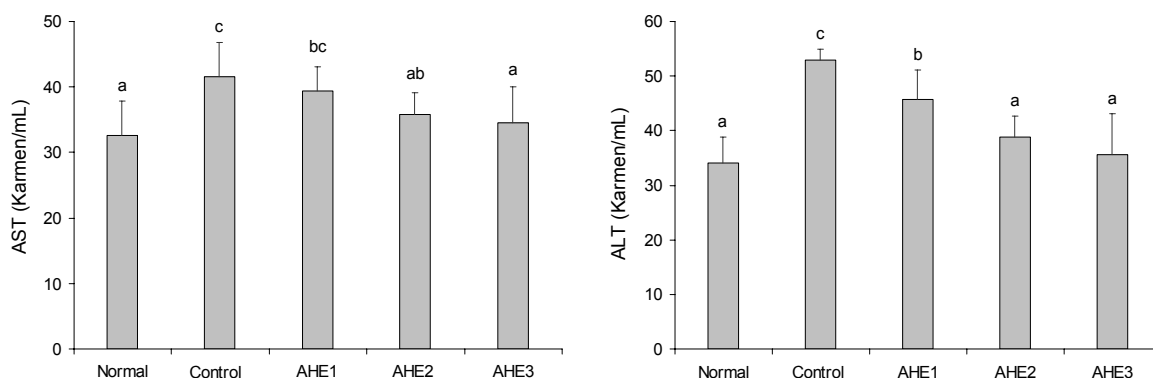
*hookeri* 뿌리 에탄올 추출물은 70% 에탄올보다 95% 에탄올을 사용하여 추출한 추출물이 염증 질환 예방에 더욱 효과적일 것으로 판단된다.

**혈중알코올 농도 측정**

*A. hookeri* 뿌리 95% 에탄올 추출물의 농도별 섭취에 따른 혈중알코올 농도의 변화는 Fig. 2와 같다. 정상군보다 알코올을 투여한 모든 군에서 시간이 지남에 따라 혈중알코올 농도가 증가함을 확인할 수 있었다. 또한 대조군에 비해 AHE 처리군에서 급격히 떨어졌는데, 시료를 농도별로 처리하였을 때 혈중알코올 농도는 각각  $300.82 \pm 27.72$ ,  $157.39 \pm 45.43$ ,  $125.72 \pm 57.89$  mg/dL로 대조군의  $366.42 \pm 22.95$  mg/dL보다 낮게 나타났으며 ( $P < 0.05$ ), AHE3군의 경우 대조군에 비해 65.7%로 혈중알코올 농도를 감소시키는 효과가 가장 크게 나타났다. 이는 오수유 추출물 고농도 투여군이 대조군에 비해 67.5% 혈중알코올 농도를 감소시킨 결과(42)와 유사한 감소 효과를 나타내었으며, *Aloe vera* 메탄올 추출물의 불용성 분획 투여군이 대조군에 비해 약 27% 감소시킨 결과(43) 및 소엽 추출물 중 에탄올 가용성 분획 투여군에서 대조군에 비해 60.3% 혈중알코올 농도를 감소시켰다는 결과(44)와 비교하였을 때 *A. hookeri* 뿌리 에탄올 추출물은 혈중알코올 농도 감소에서 월등한 효과를 나타내었다.

**Serum AST, ALT 활성 측정**

급성 알코올 투여로 인한 간 기능 장애에 미치는 영향을 알아보기 위해 측정된 AST, ALT 결과는 Fig. 3과 같다. 대조군의 AST 활성은  $41.59 \pm 5.43$  Karmen/mL로 알코올 투여에 의한 간 독성이 유발되었음을 나타냈으며, AHE 처리군은 각각  $39.38 \pm 3.86$ ,  $35.80 \pm 3.53$ ,  $34.48 \pm 5.82$  Kar-

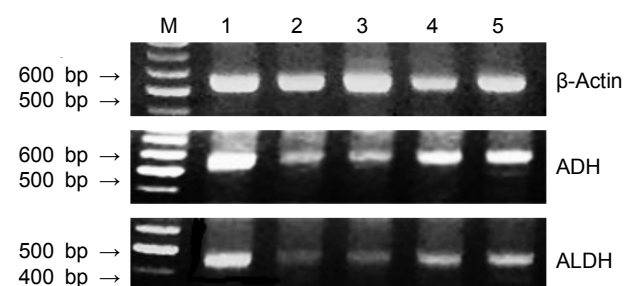


**Fig. 3.** Effect of the 95% ethanol extracts of *Allium hookeri* root on serum aspartate aminotransferase (AST) and serum alanine aminotransferase (ALT) activities 2 h after ethanol injection in acute alcohol-treated mice. Sample were administrated before 30 min from 40% ethanol injection. Control: 0% *Allium hookeri* root 95% ethanol extracts, AHE1: 0.25% *Allium hookeri* root 95% ethanol extracts, AHE2: 0.5% *Allium hookeri* root 95% ethanol extracts, AHE3: 1% *Allium hookeri* root 95% ethanol extract. Each bar represents the mean±SD. Means with different letters are significantly different by Duncan's multiple range test at  $\alpha=0.05$ .

men/L로 대조군에 비해 AHE1군을 제외한 AHE2군, AHE3군에서 유의하게 감소하였으며( $P<0.05$ ), AHE3군에서는 대조군보다 AST 활성을 정상 수준으로 낮추어 주는 효과를 나타내었다. 한편, ALT 활성의 경우 대조군은  $52.90 \pm 2.12$  Karmen/mL, AHE 처리군은 각각  $45.80 \pm 5.60$ ,  $38.77 \pm 4.11$ ,  $35.63 \pm 7.85$  Karmen/mL로 대조군보다 AHE 처리군에서 농도 의존적으로 감소하였으며( $P<0.05$ ), AHE2군, AHE3군에서는 ALT 활성을 정상 수준까지 낮추는 효과를 나타내었다. 이는 보이차 추출물과 알코올을 투여한 후 측정된 AST 활성이 대조군과 유의적인 차이가 있었으나 ALT 활성의 경우 대조군과 치료 투여군 간의 유의적인 차이가 없었다는 결과(45)와 비교해보았을 때, 본 연구에서는 ALT 활성에서도 농도 의존적으로 감소하였으므로 알코올로 인해 급성 간 독성을 유발했을 때 간 보호 효과에서 더 효과적임을 확인할 수 있었다.

**Hepatic ADH, ADLH 활성 측정(RT-PCR)**

알코올을 투여 2시간 후 간 조직의 mRNA를 이용하여 ADH 및 ALDH 활성을 RT-PCR로 측정된 결과는 Fig. 4와 같다.



**Fig. 4.** ADH and ALDH mRNA levels determined with RT-PCR in 40% alcohol-treated mice after 2 h. Expression of  $\beta$ -actin mRNA was used to check efficiency of amplification. M: DNA ladder (1 Kb plus), 1: Normal, 2: Control, 3: AHE1 (0.25% *Allium hookeri* root 95% ethanol extracts), 4: AHE2 (0.5% *Allium hookeri* root 95% ethanol extracts), 5: AHE3 (1% *Allium hookeri* root 95% ethanol extract).

ADH, ALDH 활성 모두 혈중알코올 농도와 반비례하는 경향을 나타냈다. 먼저 정상군과 대조군을 비교하였을 때, 대조군의 경우 ADH, ALDH 모두 발현이 낮게 나타났으므로 알코올 투여로 인해 ADH, ALDH의 활성이 저하된 것으로 판단된다. AHE 처리군의 경우에는 먼저 ADH 발현 정도가 AHE1군과 대조군이 차이를 보이지 않았지만, AHE2군과 AHE3군에서는 대조군보다 발현이 더 높게 나타났다. ALDH 발현 정도는 ADH와 마찬가지로 AHE1 투여군과 대조군이 차이를 보이지 않았으며, AHE2, AHE3 투여군은 대조군보다 더 높은 발현을 나타내었지만 ADH의 발현보다는 약하게 나타났다. 오수유 추출물과 40% 알코올을 투여한 후 ADH, ALDH 활성을 RT-PCR로 측정된 결과, 투여 2시간 후의 ADH 및 ALDH 발현 모두 대조군보다 오수유 처리군에서 더 높게 나타났다는 Lee(42)의 보고는 본 연구와 유사하였으나, ADH, ALDH 발현은 본 연구 결과보다 더 높게 나타났다. 이는 Park 등(46)의 연구와 마찬가지로 개인에 따라서 에탄올을 분해하는 능력이 다르기 때문이며, 혈중에탄올 농도가 최고점에 달하는 시간 또한 개인 간 차이가 있기 때문으로 판단된다.

이상과 같이 *A. hookeri* 뿌리의 에탄올 추출물은 일주일 정도의 비교적 짧은 기간 투여로도 급성 알코올 독성을 유발한 mouse의 간 보호 효과가 부분적으로 검증되었고 항산화 및 항염증 지표도 우수한 것으로 나타나 숙취 해소 제품의 기능성 소재로 활용 가능할 것으로 판단된다.

**요 약**

*Allium hookeri* 뿌리의 80°C 열수 추출물 및 95% 에탄올 추출물을 각각 제조하여 추출물 항산화 활성, 항염증 효과를 비교한 후 효능이 더 뛰어난 에탄올 추출물을 이용하여 급성 알코올 간 독성에 대한 보호 효과가 있는지를 살펴보았다. ICR mouse에 1주일간 *A. hookeri* 뿌리 추출물을 경구투여한 후 급성 알코올 간 독성을 유발하기 위하여 40% 알코올

을 단회 투여한 후 혈청의 알코올 농도, AST, ALT의 변화, ADH, ALDH 활성을 측정하였다. 그 결과 *A. hookeri* 뿌리 추출물은 열수 추출물보다 95% 에탄올 추출물이 항산화 활성 및 항염증 효과가 더 뛰어났으며, *A. hookeri* 뿌리 95% 에탄올 추출물은 알코올 섭취 시 혈액 및 체내 에탄올 제거 속도를 촉진하고 혈청 AST와 ALT의 활성을 억제하며 간의 ADH, ALDH 활성을 증가시켰다. 따라서 본 연구에서는 음주로 인한 간 손상에 대해 보호 효과를 나타내는 기능성 식품 소재로서 *A. hookeri* 뿌리 95% 에탄올 추출물의 효능을 확인하였다.

### 감사의 글

본 연구는 충남대학교 학술연구비 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

### REFERENCES

- An SW, Kim YG, Kim MH, Lee BI, Lee SH, Kwon HI, Hwang B, Lee HY. 1999. Comparison of hepatic detoxification activity and reducing serum alcohol concentration of *Hovenia dulcis* T<sub>HUNB</sub> and *Alnus Japonica* Steud. *Korean J Med Crop Sci* 7: 263-268.
- Korea National Health and Nutrition Examination Survey. 2013. <https://knhanes.cdc.go.kr/knhanes/index.do> (accessed Dec 2015).
- Lieber CS. 1997. Ethanol metabolism, cirrhosis and alcoholism. *Clin Chim Acta* 257: 59-84.
- McGill HC. 1979. The relationship of dietary cholesterol to serum cholesterol concentration and to atherosclerosis in man. *Am J Clin Nutr* 32: 2664-2702.
- Berger K, Ajani UA, Kase CS, Gaziano JM, Buring JE, Glynn RJ, Hennekens CH. 1999. Light-to-moderate alcohol consumption and the risk of stroke among U.S. male physicians. *N Engl J Med* 341: 1557-1564.
- Rimm EB, Williams P, Fosher K, Criqui M, Stampfer MJ. 1999. Moderate alcohol intake and lower risk of coronary heart disease: meta-analysis of effects on lipids and haemostatic factors. *BMJ* 319: 1523-1528.
- Wheeler MD, Nakagami M, Bradford BU, Uesugi T, Mason RP, Connor HD, Dikalova A, Kadiiska M, Thurman RG. 2001. Overexpression of manganese superoxide dismutase prevents alcohol-induced liver injury in the rat. *J Biol Chem* 276: 36664-36672.
- Mansouri A, Demeilliers C, Amsellem S, Pessayre D, Fromenty B. 2001. Acute ethanol administration oxidatively damages and depletes mitochondrial DNA in mouse liver, brain, heart, and skeletal muscles: protective effects of antioxidants. *J Pharmacol Exp Ther* 298: 737-743.
- Kim JS. 2004. Effect of a alcohol detoxification beverage (ADB) contained *Radix puerariae* and *Bambusae caules* in *Liquamen Phyllostachyos* on the alcohol administered mouse. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 318-323.
- Rouach H, Clément M, Orfanelli MT, Janvier B, Nordmann J, Nordmann R. 1983. Hepatic lipid peroxidation and mitochondrial susceptibility to peroxidative attacks during ethanol inhalation and withdrawal. *Biochem Biophys Acta* 753: 439-444.
- Moncade C, Torres V, Varghese G, Albano E, Israel Y. 1994. Ethanol-derived immunoreactive species formed by free radical mechanisms. *Mol Pharmacol* 46: 786-791.
- Simic MG. 1988. Mechanisms of inhibition of free-radical processes in mutagenesis and carcinogenesis. *Mutat Res* 202: 377-386.
- Block E. 1992. The organosulfur chemistry of the genus *Allium* - Implications for the organic chemistry of sulfur. *Angew Chem Int Ed Engl* 31: 1135-1178.
- Corzo-Martinez M, Corzo N, Villamiel M. 2007. Biological properties of onions and garlic. *Trends Food Sci Technol* 18: 609-625.
- Kim HJ, Chun HS. 1999. Biological functions of organosulfur compounds in *Allium* vegetables. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 1412-1423.
- You WC, Blot WJ, Chang YS, Ershow A, Yang ZT, An Q, Henderson BE, Fraumeni JF Jr, Wang TG. 1989. Allium vegetables and reduced risk of stomach cancer. *J Natl Cancer Inst* 81: 162-164.
- Sparnins VL, Mott AW, Barany G, Wattenberg LW. 1986. Effects of allyl methyl trisulfide on glutathione S-transferase activity and BP-induced neoplasia in the mouse. *Nutr Cancer* 8: 211-215.
- Sparnins VL, Barany G, Wattenberg LW. 1988. Effects of organosulfur compounds from garlic and onions on benzo [a]pyrene-induced neoplasia and glutathione S-transferase activity in the mouse. *Carcinogenesis* 9: 131-134.
- Gudi VA, Singh SV. 1991. Effect of diallyl sulfide, a naturally occurring anti-carcinogen, on glutathione-dependent detoxification enzymes of female CD-1 mouse tissues. *Biochem Pharmacol* 42: 1261-1265.
- Maurya AK, Singh SV. 1991. Differential induction of glutathione transferase isoenzymes of mice stomach by diallyl sulfide, a naturally occurring anticarcinogen. *Cancer Lett* 57: 121-129.
- Schaffer EM, Liu JZ, Milner JA. 1997. Garlic powder and allyl sulfur compounds enhance the ability of dietary selenite to inhibit 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary DNA adducts. *Nutr Cancer* 27: 162-168.
- Kim CH, Lee MA, Kim TW, Jang JY, Kim HJ. 2012. Anti-inflammatory effect of *Allium hookeri* root methanol extract in LPS-induced RAW264.7 cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 1645-1648.
- Hu JJ, Yoo JS, Lin M, Wang EJ, Yang CS. 1996. Protective effects of diallyl sulfide on acetaminophen-induced toxicities. *Food Chem Toxicol* 34: 963-969.
- Lin MC, Wang EJ, Patten C, Lee MJ, Xiao F, Reuhl KR, Yang CS. 1996. Protective effect of diallyl sulfone against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *J Biochem Toxicol* 11: 11-20.
- Wang BH, Zuzel KA, Rahman K, Billington D. 1998. Protective effects of aged garlic extract against bromobenzene toxicity to precision cut rat liver slices. *Toxicology* 126: 213-222.
- Wang BH, Zuzel KA, Rahman K, Billington D. 1999. Treatment with aged garlic extract protects against bromobenzene toxicity to precision cut rat liver slices. *Toxicology* 132: 215-225.
- Wang EJ, Li Y, Lin M, Chen L, Stein AP, Reuhl KR, Yang CS. 1996. Protective effects of garlic and related organosulfur compounds on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 136: 146-154.
- Ayam VS. 2011. *Allium hookeri*, Thw. Enum. A lesser known terrestrial perennial herb used as food and its ethnobotanical relevance in manipur. *Afr J Food Agric Nutr Dev* 11: 5389-



- 5412.
29. Won JY, Yoo YC, Kang EJ, Yang H, Kim GH, Seong BJ, Kim SI, Han SH, Lee SS, Lee KS. 2013. Chemical components DPPH radical scavenging activity and inhibitory effects on nitric oxide production in *Allium hookeri* cultivated under open field and greenhouse conditions. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 1351-1356.
  30. Kim CH, Lee MA, Kim TW, Jang JY, Kim HJ. 2012. Anti-inflammatory effect of *Allium hookeri* root methanol extract in LPS-induced RAW264.7 cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 1645-1648.
  31. Bae GC, Bae DY. 2012. The anti-inflammatory effects of ethanol extract of *Allium Hookeri* cultivated in South Korea. *Kor J Herbology* 27: 55-61.
  32. Park SY. 2014. A study on physicochemical and functional properties of *Allium hookeri*. *MS Thesis*. Chonbuk National University, Jeonju, Korea.
  33. Folin O, Denis W. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12: 239-243.
  34. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
  35. Pellegrini N, Re R, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis(3-ethylenbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. *Methods Enzymol* 299: 379-389.
  36. Jun HI, Park SY, Jeong DY, Song GS, Kim YS. 2014. Quality properties of yogurt added with hot water concentrates from *Allium hookeri* root. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 1415-1422.
  37. Lee KW, Kim YS, Park PJ, Jeong JH. 2014. Comparison of effect of water and ethanolic extract from roots and leaves of *Allium hookeri*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 1808-1816.
  38. Kim KH, Kim HJ, Byun MW, Yook HS. 2012. Antioxidant and antimicrobial activities of ethanol extract from six vegetables containing different sulfur compounds. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 577-583.
  39. Park MY, Ly SY. 2015. Quality characteristics of seasoned pork with water extracts of *Allium hookeri* root during storage. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44: 242-249.
  40. Kang JR, Hwang CR, Sim HJ, Kang MJ, Kang ST, Shin JH. 2015. Biological activities of yellow garlic extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44: 983-992.
  41. Dirsch VM, Kierner AK, Wagner H, Vollmar AM. 1998. Effect of allicin and ajoene, two compounds of garlic, on inducible nitric oxide synthase. *Atherosclerosis* 139: 333-339.
  42. Lee SR. 2002. A study on the alleviation effect of alcohol-induced hangover and antioxidative activity of *Evodiae fructus*. *MS Thesis*. Duksung Women's University, Seoul, Korea.
  43. Shin KH, Woo WS, Song YJ, Chung HS, Lee JM, Shin CS. 1995. Studies on the effect of *Aloe* spp. on ethanol metabolism ( I ) - effect of *Aloe vera* on serum ethanol level and hepatic ADH activity - . *Kor J Pharmacogn* 26: 148-153.
  44. Moon HI, Zee OP, Shin KH. 1998. Effect of perilla (*Perilla frutescens* Britton) extract on serum ethanol level and hepatic alcohol dehydrogenase activity. *Korean J Med Crop Sci* 6: 126-130.
  45. Park SH, Yoon HK, Koo SJ. 2004. Effects of water extracts of *Camelia sinensis* L on blood alcohol concentration and activities of acute alcohol metabolic enzymes in ICR mouse. *J East Asian Soc Diet Life* 14: 634-639.
  46. Park SM, Kang BK, Chung TH. 1998. The effect of mildronate on serum alcohol concentration and hangover syndrome. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 168-174.