pISSN 1225-4339 eISSN 2287-4992
Korean J. Food Nutr. Vol. 33. No. 4, 363~371 (2020)
https://doi.org/10.9799/ksfan.2020.33.4.363

THE KOREAN JOURNAL OF
한국식품영양학회지
FOOD AND NUTRITION

헛개나무열매 열수추출물 투여에 의한 흰쥐의 지구력 향상 효과

권태형 · 한준희 · 이선엽* · †유근형**
(재)춘천바이오산업진흥원 기술개발실 선임연구원,
*(재)춘천바이오산업진흥원 기술개발실 주임연구원, **(재)춘천바이오산업진흥원 기술개발실 책임연구원

Improvement in Exercise Endurance by *Hovenia dulcis* Fruit Hot Water Extract in Mice

Tae-Hyung Kwon, Joon-Hee Han, Sun-Yeop Lee* and †Keun-Hyung Yu**
Researcher, Dept. of Research and Development, Chuncheon Bio-Industry Foundation, Chuncheon 24232, Korea
**Assistant Researcher, Dept. of Research and Development, Chuncheon Bio-Industry Foundation, Chuncheon 24232, Korea*
***Senior Researcher, Dept. of Research and Development, Chuncheon Bio-Industry Foundation, Chuncheon 24232, Korea*

Abstract

This study was designed to evaluate the improvement in exercise endurance by *Hovenia dulcis* fruit hot water extract (HDWE) for the potential application as a functional food material. The effect was based on the evaluation of the forced-swimming capacity and changes in biochemical parameters in mice. Six-week-old mice were classified into four groups based on a randomized block design: the negative control group, the HDWE 50 mg/kg body weight group, the HDWE 200 mg/kg body weight group, and the 1-octacosanol 50 mg/kg body weight group (n=8 mice per group). The swimming exercise time in the HDWE-50 group was increased at 545±43 sec compared to the control group at 263±28 sec. The HDWE-200 fatigue indicators, lactate acid and ammonia content, decreased to 4.99±0.33 mg/mL and 0.63±0.05 mg/mL, respectively. In addition, the content of glycogen in the liver and muscle tended to increase in the group administered HDWE but was not significant. Likewise, the LDH and glucose contents were increased compared to the control group. The muscle damage indicators ALT (52.7±2.6 U/L) and AST (42.5±5.2 U/L) tended to decrease compared to the control group (76.4±10.2 U/L).

Key words: *Hovenia dulcis*, hot water extract, *in vivo*, endurance, antifatigue

서 론

피로(疲勞)란 반복적인 정신적 · 육체적 작업을 수반한 심신기능의 저하상태를 의미하며, 현대인들은 각종 스트레스에 노출되고, 운동 및 수면 부족, 음주와 나쁜 식생활 습관 등에 의한 피로가 일상생활에 지장을 줄만큼 고질병으로 자리 잡은 지 오래다(Seo & Kim 2019). 일반적으로 충분한 수면과 휴식을 통해서 회복되지 않는 피로는 증상이 아닌 하나의 질환으로 인식되고 있다(Kim 등 2018). 이를 극복하기 위하여 운동을 통해 기초체력을 길러 지구력(持久力)을 향상시키기도 한다. 지구력은 일상적으로는 사람이 일정한 일을 장기적으로 할 수 있는 체력을 의미하지만, 스포츠 과학에서의 지구력은 피로에 저항하는 유기체의 능력으로 지구력 향상은 피로 저항과 비례한다고 볼 수 있다(Kim TY 2006).

근육이 운동을 하는 동안 피로 유발 요인은 근육에 에너지를 공급하기 위한 기질을 사용하는 것으로 근육과 간에 저장된 글리코겐의 고갈과 함께 시작된다(Kim 등 1990). 고강도 운동이 일어날 경우 근육 내 글리코겐(glycogen)이 에너지원으로 사용되며, 부산물로 젖산(lactic acid)이 발생하는데, 젖산이 근육에 남아 있으면 근육통과 손상이 발생한다(Nam 등 1997). 그리고 운동 후반부에 근육의 글리코겐

† Corresponding author: Keun-Hyung Yu, Senior Researcher, Dept. of Research and Development, Chuncheon Bio-Industry Foundation, Chuncheon 24232, Korea. Tel: +82-33-258-6991, Fax: +82-33-258-6173, E-mail: manbal95@cbf.or.kr

함량이 감소하면 혈중 글루코스(glucose)가 근육으로 유입되는 양이 증가하는데, 이로 인해 혈중 글루코스가 고갈되는 현상이 생긴다(Jensen & Richter 2012). 또한 근육세포 내에 축적된 암모니아(ammonia)는 근육의 통증 감지와 관련이 있는 구심성 신경을 자극하고, TCA(tricarboxylic acid cycle) 회로 및 당신생작용을 저해하며, 젖산 생성을 초래하여 근육의 피로를 유발시킨다(Seo 등 2016; Ko & Hyeon 2018). 또한 피로 시 젖산의 형성을 촉매하는 효소인 lactate dehydrogenase(LDH)의 활성이 증가하며, 이외에 alanine aminotransferase(ALT), aspartate aminotransaminase(AST), creatine kinase(CK), 크레아티닌(creatinine) 등 혈청 내 피로 및 손상을 측정할 수 있는 여러 효소 지표들이 있다(Kim 등 2012; Na 등 2013).

옥타코사놀(1-octacosanol)은 생리활성물질로 밀의 씨눈, 사탕수수, 사과껍질, 포도껍질 및 굴에 함유되어 있으며, 긴 탄소사슬에 알코올기를 가진 왁스류($CH_3[CH_2]_{26}CH_2OH$)의 물질이다. 지구력에 결정적인 역할을 하는 글리코겐은 절약하고 지방 대사를 촉진시켜 글리코겐 축적량을 증가시키는 효과(Yang YK 2005a)가 알려져 있으며, 기존 연구에 따르면 항스트레스(Kaushik 등 2017) 및 피로회복 작용(Yang 등 2005; So & Choi 2007) 그리고 콜레스테롤 조절(Yang YK 2005b) 등 사람을 대상으로 한 여러 임상시험에서 지구력에 효과가 좋은 것이 밝혀지면서 식품의약품안전처에서 그 기능성이 인정되고 있다. 이후 다른 기능성 천연물을 찾는 연구가 활발히 진행되었는데, 여주(*Momordica charantia*) 추출물을 마우스 근육세포에 투여하였을 때 전신대사 활성요소인 AMPK(AMP-activated protein kinase)의 활성을 확인하였고, 지방산 산화 유전자들의 증가와 운동능력 향상을 보고하였다(Kim 등 2016). 또한 항산화 효과를 보이는 가시오가피 농축액을 섭취한 생쥐에서 대조군에 비해 운동수행거리와 시간이 증가하는 것을 확인하였다(Sung 등 2014).

헛개나무(*Hovenia dulcis*)는 갈매나무과 낙엽교목에 속하는 나무로서 한국, 중국, 일본 등지에 분포하고 있으며, 지구자 나무라고도 한다. 헛개나무에는 암페롭신(ampelopsin), 호베니틴(hovenitin), 프랑굴라닌(frangulanine) 등의 숙취 해소에 탁월한 성분이 다량 함유되어 있어 알코올 대사물질 체내 분해를 촉진하고, 숙취의 원인인 아세트알데히드 물질의 잔류를 억제시켜 숙취해소에 효과적이다(Hase 등 1997; Yoshikawa 등 1997; Fang 등 2007; Kim 등 2013). 또한 간이 손상되는 것을 막고, 간기능 개선을 통한 피로회복에 도움이 되는 것으로 알려져 있다(Lim 등 2007; Kim 등 2011). 그리고 잎과 줄기에 있는 페룰산(ferulic acid)과 바닐산(vanillic acid)은 체내 유해한 활성산소나 염증유발 물질들을 제거하여 간세포를 활성화시켜 간 건강에 효과적이라고 연구되었다(Cho 등 2000; Kim & Lee 2012). 최근에는 헛개나무열매에 methyl vanillate 성분이 골밀도를 강화시켜 골다공증이나 관절염 증상 개선에 도움이 된다고 보고되었으며, 헛개나무 열수추출물이 항스트레스 및 항산화 활성으로 피로방지효과를 갖는다는 것이 연구되었다(Na 등 2013; Cha 등 2014).

따라서 본 연구는 간기능 개선, 관절염, 혈행흐름 개선 및 피로방지효과 등 다양한 효능이 알려져 있는 헛개나무열매와 지구력 기능성 원료로 알려진 옥타코사놀을 양성대조군으로 5주 동안 흰쥐에 경구 투여한 후 피로회복 및 운동지구력 향상 개선 효능을 평가하였다. 탈진할 때까지 수영운동을 시켜 지구력과 혈액 내 피로물질들의 변화를 측정하고, 혈액과 근육조직의 효소활성을 측정하였다. 본 연구를 통해 헛개나무열매의 지구력 향상을 위한 기능성 식품소재를 위한 기초자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

1. 헛개나무열매 열수추출물 제조 및 양성 대조군

본 실험에 사용된 헛개나무열매는 중국이 원산지로 중국 길림성녹색식품공정연구원에서 제공받았다(Jlin, China). 분쇄한 시료 50 g에 증류수 1 L를 가하여 heating mentle (MTOPs, MS-EAM, Yangju, Korea)에서 100℃, 6시간 추출하였다. 추출액을 4,500 rpm에서 15분간 원심 분리한 후 (HANIL, SUPRA 22K, Incheon, Korea) Whatman No.2 filter paper (Whatman, Maidstone, Kent, UK)로 감압농축기로 농축하고 동결 건조하여 23.5g (수율 47%)을 얻어 −80℃에서 보관하며 본 연구에 사용하였다.

2. 실험동물 및 시험물질 투여

특정병원체(specific pathogen free)가 없는 5주령, 수컷 ICR 흰쥐를 (주)두열바이오텍에서 구입하여 사용하였다. 1주일간의 검역 및 적응과정을 거친 뒤 체중 감소 없는 건강한 동물을 선별하여 실험에 사용하였다. 실험동물은 온도 23±3℃, 상대습도 50±10%, 환기회수 10~15회/시간, 조명시간 12시간, 조도 150~300 Lux로 설정된 환경에서 사육하였다. 시험 전 기간 동안 실험동물은 실험동물용 고형사료와 음수를 자유 섭취하도록 하였다. 1주간의 적응 기간을 거친 후 난괴법에 의거하여 4개의 군으로 분류하였다. 즉, 대조군(Control), 50 mg/kg body weight BW 헛개나무열매 열수추출물 투여군(HDWE-50), 200 mg/kg BW 헛개나무열매 열수추출물 투여군(HDWE-200), 50 mg/kg BW 1-Octacosanol 투여군(OCT)으로 분류하였고, 각 시험군은 8마리의 실험동물을 사용하였다. 시험물질은 음수에 녹여 5주 동안 매일 일

정한 시간에 경구 투여하였으며, 양성 대조군으로 운동 수행능력 증진 기능성 건강기능식품 고시형 원료인 옥타코사놀 함유 유지(10% 1-Octacosanol, Shaanxi Xinheng Biotech Co., Ltd, Shaanxi, China)를 사용하였다. 본 연구를 위한 동물실험은 한림대학교 실험 동물운영위원회와 동물실험윤리위원회의 승인 아래 동물실험 규정에 따라 수행하였다(승인번호: Hallym 2019-20).

3. 체중 및 식이 섭취량 측정

5주 시험 기간 동안 매주 일정한 시간에 실험동물의 체중을 측정하였다. 실험동물의 식이 섭취량은 5주 시험 기간동안 섭취한 양을 측정하여 총 식이 섭취량과 일일 식이 섭취량을 산출하였다.

4. 강제 수영 시험

실험동물의 수영시험(weight-loaded forced swimming test)은 다음과 같이 실시하였다. 즉, 플라스틱 수조(90×45×45 cm^3)에 물의 깊이를 35 cm가 되도록 채우고, 물의 온도를 25±1℃로 유지하였다. 실험동물의 체중의 5%에 해당하는 추를 실험동물의 미근부(꼬리)에 매달은 후 수조에서 수영을 실시하였고, 탈진의 판단은 실험동물이 물속에서 7초간 표면상으로 떠오르지 않는 상태로 판정하였다. 시험 종료 일주일 전에 2일 간격으로 15분씩 총 3회 수영 적응 운동을 시행하였다. 마지막 적응 훈련 3일 후 강제수영시험을 시행하여 탈진까지의 수영시간을 측정하였다.

5. 채혈 및 조직 적출

채혈은 희생 전 실험동물을 체중의 5%에 해당하는 추를 미근부(꼬리)에 매달은 후 강제수영시험을 5분간 수행하고, 10분간 회복한 후에 2,2,2-tribromoethanol(St. Louis, MO, USA)을 tertiary amyl alcohol로 희석하여 만든 마취제를 사용하여 마취한 후 안와에서 채혈하였다. 혈액은 serum separate tube(Becton Dickinson, Franklin Lakes, New Jersey, USA)에 담아 30분간 실온에서 방치하고 8,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 혈액 채취 후 실험동물을 희생하여 간과 골격근[gastrocnemius muscle(GA, 장딴지근), soleus muscle (SOL, 가자미근)]을 적출하였고, 분석 전까지 −80℃에 보관하였다.

6. 혈청 분석

혈청 내 glucose, ALT/AST, LDH, CK, creatinine 함량은 혈액생화학분석기(KoneLab 20 XT, Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA, USA)를 이용하여 측정하였다. 혈청 내의 암모니아 및 젖산 함량은 각각 Ammonia Assay kit(Abcam, Cambridge, UK) 및 L-Lactate Assay Kit(Abcam)을 사용하여 제시된 방법에 따라 측정하였다.

7. 간 및 골격근 내 글리코겐(glycogen) 함량 측정

간과 근육 조직 내 glycogen 함량을 측정하기 위해 간과 근육 조직액을 제조하였다. 즉, 100 mg 간 조직에 1 mL PBS를 넣어 homogenizer로 균질화하였다. 균질화한 용액을 12,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 취해 간 조직액으로 사용하였다. 근육 조직액은 적출한 골격근(SOL)에 500 μL PBS를 넣어 homogenizer로 균질화하였다. 균질화한 용액을 12,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 취해 근육 조직액으로 사용하였다. 간 및 골격근(SOL) 내 glycogen 함량은 Glycogen Assay Kit(Abcam)를 사용하여 제시된 방법에 따라 측정하였다.

8. 통계처리

실험 결과는 SPSS 18.0(SPSS Corp., Chicago, IL, USA) 프로그램을 이용하여 평균(mean)±표준오차(standard error)로 나타내었다. 시험물질 투여군과 대조군의 차이는 analysis of variance(ANOVA) 분석을 실시하여 Duncan의 다중범위검정법(Duncan's multiple range test)으로 분석하였다($p<0.05$).

결과 및 고찰

1. 실험동물의 체중과 식이 섭취량에 미치는 영향

5주 시험 기간 동안 매주 1회 실험동물의 체중을 측정하여 Table 1에 나타내었다. 모든 시험군의 실험동물은 시험기간에 지속적으로 체중이 증가하여 정상적인 체중 변화를 나타내었다. 시험물질을 투여한 5주 동안 대조군과 시험물질 투여군(HDWE-50, HDWE-200, OCT) 간의 체중은 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 5주 간 체중 증가량 및 식이효율에서도 대조군과 시험물질 투여군 간의 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

2. 간과 골격근 무게에 미치는 영향

간 무게를 측정한 결과, 대조군과 시험물질 투여군(HDWE-50, HDWE-200, OCT) 간의 유의적인 차이는 보이지 않았으며, 이는 시험물질이 체내에서 독성을 나타내지 않음을 간접적으로 나타낸다(Table 2). 골격근 두 종 장딴지근과 가자미근 무게에서도 시험물질을 투여하여도 대조군과 비교하여 유의적인 차이를 보이지 않았다.

3. 강제 수영 시험

시험물질의 지구력 향상 효능을 평가하기 위하여 실험동

Table 1. Effects of *Hovenia dulcis* fruit hotwater extract on body weight in mice

	Body weight (g)						Feed intake (g)	Feed efficiency
	0 week	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	5 weeks		
Control	30.8±0.4$^{NS3)}$	34.4±0.6^{NS}	36.7±0.7^{NS}	38.0±0.8^{NS}	38.2±0.8^{NS}	40.4±1.0^{NS}	129.23±4.28^{a}	0.070±0.008^{NS}
HDWE$^{1)}$-50	30.4±0.6^{NS}	33.3±0.8^{NS}	35.4±1.0^{NS}	36.9±1.0^{NS}	36.3±1.0^{NS}	38.3±1.1^{NS}	123.09±2.89^{b}	0.065±0.011^{NS}
HDWE-200	30.4±0.5^{NS}	33.4±0.6^{NS}	35.9±1.2^{NS}	36.9±1.0^{NS}	36.7±1.0^{NS}	39.0±0.8^{NS}	118.79±1.74^{b}	0.073±0.008^{NS}
OCT$^{2)}$	30.6±0.6^{NS}	34.3±0.7^{NS}	36.1±0.7^{NS}	38.0±0.9^{NS}	37.0±0.8^{NS}	39.4±1.0^{NS}	131.13±1.71^{a}	0.067±0.011^{NS}

1) HDWE: *Hovenia dulcis* hot water extracts.
2) OCT: 1-Octacosanol.
3) Values are expressed as mean±SEM (n=8) within same column followed by different letters are significantly different and NS are not statistically significant at $p<0.05$.

Table 2. Effects of *Hovenia dulcis* fruit hotwater extract on liver and skeletal muscles weight in mice

	Liver (g/BW)	Skeletal muscles (g/BW)	
		Gastrocnemius muscle	Soleus muscle
Control	5.37±0.38$^{NS3)}$	0.063±0.002^{NS}	0.998±0.026^{NS}
HDWE$^{1)}$-50	5.36±0.53^{NS}	0.053±0.009^{NS}	1.003±0.022^{NS}
HDWE-200	5.15±0.19^{NS}	0.062±0.008^{NS}	1.065±0.031^{NS}
OCT$^{2)}$	5.38±0.38^{NS}	0.067±0.004^{NS}	1.066±0.025^{NS}

1) HDWE: *Hovenia dulcis* hot water extracts.
2) OCT: 1-Octacosanol.
3) Values are expressed as mean±SEM (n=8) within same column followed by NS are not statistically significant at $p<0.05$.

물의 체중의 5%에 해당하는 추를 꼬리에 매달아 탈진시까지의 수영시간을 측정하였다(Fig. 1). 대조군이 탈진시까지 걸린 시간은 263±28초이었다. 대조군에 비해 헛개나무열매 열수추출물을 먹인 처리구와 옥타코사놀 처리구의 탈진시까지 걸린 시간이 유의적으로 증가하였다. HDWE-50의 탈진시까지 걸린 시간은 545±43초, HDWE-200은 537±53초 그리고 OCT는 399±29초로 양성대조군 옥타코사놀보다 헛개나무열매 열수추출물을 섭취한 그룹에서 통계적으로 상당히 향상되는 효과를 나타내었다. Song 등(2005)의 연구에서도 흰쥐에 자양강장용 기능성 식품을 섭취시킨 후 강제수영능력시간이 유의적으로 증가하였다. 지표분석 결과, 혈청 유리지방산과 중성지방의 농도 및 혈청 암모니아가 유의적으로 낮아졌으며, 글리코겐 농도는 증가하는 경향을 나타내었다. 따라서 체내 중성지방에서 유리지방산으로 전환을 촉진하여 단백질과 포도당 절약을 통한 에너지 생성 및 공급 효율의 증가와 운동에 의한 체조직 손상 억제 및 피로물질 축적 지연 등의 효과로 강제수영능력을 증가시킨 것으로

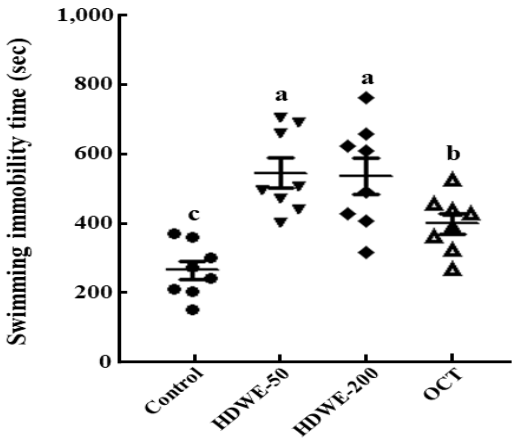

Fig. 1. Effects of *Hovenia dulcis* fruit hot water extract on swimming immobility time in mice. A weight of 5% bodyweight was suspended from the tail of the mice and then swimming in a water tank. HDWE-50, HDWE-200 and OCT means administration mice with *Hovenia dulcis* hot water extracts 50 mg/kg, 200 mg/kg and 1-Octacosanol 50 mg/kg, respectively.

보고하였다.

4. 혈청 젖산 (lactate) 및 암모니아 (ammonia) 함량에 미치는 영향

젖산의 과다 축적은 조직과 혈액에 산성화로 지속적인 운동의 저해와 근육 뭉침을 유발하는 것으로 알려져 있으며, 이러한 이유로 젖산의 함량을 통해 운동 후 피로의 정도를 알 수 있는 하나의 지표로 사용하고 있다(Kim 등 2019). 또한 장시간 운동에 의해 신체가 피로를 느끼고, 근육에 피로증상이 나타나면 글리코겐(glycogen)이 분해되면서 젖산(lactic acid)의 양이 증가되어 축적된다.

본 연구 결과, 대조군의 젖산 함량은 8.67±0.13 mg/mL이었고, 모든 시험군의 혈청 젖산 함량은 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다. HDWE-200의 혈청 젖산 함량은 4.99±0.33 mg/mL로 양성대조군 OCT 5.75±0.35 mg/mL보다 낮게 나타나 우수한 효능을 보이는 것으로 나타났다. 이는 헛개나무열매 열수추출물을 투여한 HDWE-50과 HDWE-200이 효과적으로 혈청 젖산 생성을 저해하고, 이로 인해 근 피로를 감소하여 운동 지구력을 향상시킴을 나타냈다(Table 3). 이러한 결과는 1-Octacosanol과 박과식물 추출물을 주성분으로 하는 혼합물의 지구력 향상(Lim 등 2005) 및 미강의 섭취가 한계유영 운동에 미치는 영향 연구(Kim 등 2019)와 유사한 경향을 보였다. 또한 운동에 의한 lactate의 증가로 피로한 상태에서 헛개나무열매 열수추출물물 투여에 의한 랫드의 피로회복과 운동수행 능력에 미치는 연구와 유사한 경향을 보였다(Na 등 2013).

혈청 암모니아의 함량 또한 지구력 시험에서 근육의 피로도를 측정하기 위하여 근육의 피로 원인물질로 알려진 젖산과 함께 측정하고 있다(Bachri 등 2009). 대조군 0.81±0.04 mg/mL와 비교하여 HDWE-50과 HDWE-200에서 각각 0.68±0.03 mg/mL과 0.63±0.05 mg/mL로 유의적으로 감소하였다(Table 3). 이는 헛개나무열매 열수추출물은 효과적으로 암모니아의 생성을 저하하여 지구력을 향상시킴을 보여준다. Banister 등(1985)의 연구에 의하면 암모니아는 운동의 강도 비율 및 purine nucleotide cycle에 의해서 증가 될 수 있는 것으로 보고하고 있으며, Bachri 등(2009)은 오미자, 매실 및 당밀을 함유하는 한방 스포츠 음료가 실험동물의 지구력과 에너지 대사 성분에 미치는 영향에 대한 연구를 통하여 암모니아 함량의 감소를 통한 지구력의 증가를 나타내었다. 또한 Jung 등(2004)은 mouse를 통한 운동중 약용식물의 암모니아 감소를 측정하였고, 연구 결과에 의하면 운동 중 암모니아는 증가하고, 지나친 암모니아는 중추신경계 독성을 유발하는 것으로 보고하였다. 이는 본 연구의 헛개나무열매 추출물의 암모니아 함량 감소에 따른 지구력 결과와 유사한 경향을 보였다.

Table 3. Effects of *Hovenia dulcis* fruit hotwater extract on blood lactate and ammonia of mice after swimming test

	Lactate (mg/mL)	Ammonia (mg/mL)
Control	8.67±0.13[a3)]	0.81±0.04[a]
HDWE[1)]-50	6.11±0.50[b]	0.68±0.03[bc]
HDWE-200	4.99±0.33[c]	0.63±0.05[c]
OCT[2)]	5.75±0.35[bc]	0.79±0.0[ab]

1) HDWE: *Hovenia dulcis* hot water extracts.
2) OCT: 1-Octacosanol.
3) Values are expressed as mean±SEM (n=8) within same column followed by different letters are significantly different at $p<0.05$.

5. 간 및 골격근 내 글리코겐 함량에 미치는 영향

글리코겐은 운동 및 신체의 활발한 과정 중 중요한 에너지원으로 작용하며, 본 실험에서는 간 조직 내의 글리코겐 함량의 통계적으로 유의적인 변화는 없었으나, 모두 증가하는 경향을 나타내었다. 골격근 내 글리코겐 함량 또한 대조군과 비교 시 모두 증가하는 경향을 나타내었다(Table 4). 운동중 glycogen의 부족은 신체적 피로를 느끼게 하고, 또한 지속적인 운동 능력을 결정하는 주된 요인이다. Oh 등(2011)의 혼합곡 식이의 지구력 향상 효과 연구에 의하면 glycogen이 고갈되면 탈진 상태가 되고, 반대로 glycogen 함량이 증가되면 운동의 지속적인 능력이 향상되는 것으로 보고되고 있으며, glycogen은 무산소 운동 및 유산소 운동에서도 효율적인 지방산 산화를 위하여 필요한 oxaloacetic acid 생성에 이용되기 때문에 지구력 증진 및 운동 효율에 중요한 것으로 보고되고 있다. 또한 Cho 등(2017)은 오이식초 음료를 첨가하여 아세트산, 유기산 및 무기질 등이 체내에서 대사되어 glycogen을 증가시켜 고강도 운동에 도움이 되는 것으로 보고하고 있다. 이에 본 연구 또한 시험물질의 투여가 에너지원인 글리코겐의 증가로 인하여 지구력에 도움이 되었을 것으로 사료된다.

6. ALT/AST, CK, creatinine 혈청 지표에 미치는 영향

AST와 ALT는 거의 모든 장기에 존재하고, ALT는 장기간의 격렬한 운동시에 glutamate의 amino acid를 pyruvate로 전이시키는 반응을 촉진시켜 단백질이 에너지로 사용될 수 있도록 작용하고, AST는 과도한 운동 후에 증가하는 것으로 알려져 있다(Na 등 2013). 본 연구에서 대조군의 혈청 ALT와 AST 활성은 42.5±5.2 U/L, 76.4±10.2 U/L이었으며,

Table 4. Effects of *Hovenia dulcis* fruit hotwater extract on glycogen of mice after swimming test

	Glycogen (mg/mg tissue)	
	Liver	Soleus muscle
Control	0.20±0.02[NS3)]	0.013±0.001[NS]
HDWE[1)]-50	0.27±0.04[NS]	0.013±0.002[NS]
HDWE-200	0.22±0.02[NS]	0.016±0.001[NS]
OCT[2)]	0.24±0.03[NS]	0.018±0.003[NS]

1) HDWE: *Hovenia dulcis* hot water extracts.
2) OCT: 1-Octacosanol.
3) Values are expressed as mean±SEM (n=8) within same column followed by NS are not statistically significant at $p<0.05$.

혈청 ALT 및 AST 활성은 HDWE-50과 HDWE-200에서 대조군에 감소하는 경향을 보였다. ALT와 AST는 간을 비롯한 장기에 존재하는 아미노산 합성효소로서 세포가 손상되거나 특정장기가 손상되면 효소가 세포 밖으로 유출되며, 혈중으로 유출된 이들의 활성을 측정하여 간과 근육조직 손상 정도를 알 수 있다. Oh 등(2011)은 다양한 영양분이 포함된 혼합곡 식이를 이용하여 GOT 및 GPT 감소를 통한 지구력 향상을 연구하였고, 그 결과 대조군에 비해 감소하였으나 유의적인 차이는 없는 것으로 보고하였다. CK는 비 혈장 특이적 효소로 조직에서 활성도가 높고 혈중에서는 농도가 낮게 유지되며, CK 활성도는 운동 강도, 지속적인 운동시간 등에 영향을 받아 효소 활성도의 측정을 통해 근육 손상의 지표로 사용된다(Kim 등 2012). 본 연구 결과, CK 함량은 대조군과 비교하여 HDWE-50과 HDWE-200에서 각각 200.7±25.1 mg/dL와 264.5±56.0 mg/dL로 농도 유의적으로 증가하는 경향을 보였으며, 양성대조군 PCM에서 가장 높은 266.3±36.2 mg/dL였으나 유의적인 차이가 없는 것으로 나타나 헛개나무열매 열수 추출물에 의한 근육조직 보호효과는 관찰되지 않았다.

Creatinine의 함량 결과, 본 연구에서 양성대조군이 0.42±0.02 mg/dL로 대조군 0.37±0.01 mg/dL보다 유의하게 증가하였으며, HDWE-200은 0.038±0.01 mg/dL로 증가하였지만 유의한 차이가 나타나지 않았다(Table 5). Kim 등(2016)에 의하면 creatine은 단백질이 근육에서 에너지원으로 사용되고 나면 생성되는데, 이것의 분해물인 creatinine 함량은 근육의 양과 비례하는 것으로 보고하였다.

7. LDH, glucose 혈청 지표에 미치는 영향

LDH는 세포질에 존재하는 안전한 효소로서 통상적으로는 세포막을 통과하지 못하여 세포 밖으로 배출되지 않으나, 세포막이 손상될 경우 양은 증가하게 된다. 또한 LDH는 무산소 상태에서 pyruvate로부터 lactate의 형성을 촉매하는 효소로서 운동량에 의해 증가되며, pyruvate를 젖산으로 전환시키는 과정에서도 LDH 활성도는 증가하는 것으로 알려져 있다(Song 등 2005). 본 연구에서 대조군의 혈청 LDH 활성은 837.1±41.5 U/L이었으며, 시험물질 투여군(HDWE-50, HDWE-200, OCT)에서 혈청 LDH 활성은 대조군에 비해 감소하는 경향을 나타내었으나, 유의적인 차이를 나타내지는 않았다(Table 6). 이는 용봉탕 또는 사탕 보충식이 공급이 LDH 활성 및 lactate의 저해를 통하여 지구력 운동의 상승효과를 가진다는 연구와 유사한 경향을 보였다(Song 등 2005).

지구력을 향상시키기 위해 제일 중요한 요소 중 하나가 에너지원 저장과 공급이다. 글리코겐으로 저장되어 있는 포도당이 부족할 때는 신체적 피로가 가중된다. 본 연구에서는 대조군과 비교해 볼 때 시험물질 투여군(HDWE-50, HDWE-200, OCT)에서 유의성 있게 혈중 포도당 농도가 증가하였다(Table 6). 이는 운동 후 간에 저장된 글리코겐을 분해시켜 혈중 포도당을 높여준 것으로 사료된다. 간의 글리코겐 함량을 볼 때(Table 4) 유의적 차이는 없었지만 증가하는 경향을 나타내어, 시험물질 투여로 글리코겐 함량이 증가되었으며, 이는 운동 중 에너지원 저장과 공급에 있어서 유익한 기능이 있음을 제시한다. Kim 등(2012)에 따르면

Table 6. Effects of *Hovenia dulcis* fruit hotwater extract on blood lactate dehydrogenase and glucose of mice after swimming test

	LDH (U/L)	Glucose (mg/dL)
Control	837.1±41.5$^{NS3)}$	114.5±6.2^{c}
HDWE$^{1)}$-50	824.0±24.3^{NS}	139.8±7.2^{b}
HDWE-200	820.5±64.5^{NS}	146.1±5.4^{ab}
OCT$^{2)}$	759.0±48.8^{NS}	165.5±9.3^{a}

1) HDWE: *Hovenia dulcis* hot water extracts.
2) OCT: 1-Octacosanol.
3) Values are expressed as mean±SEM (n=8) within same column followed by different letters are significantly different and NS are not statistically significant at $p<0.05$.

Table 5. Effects of *Hovenia dulcis* fruit hotwater extract on blood ALT, AST, CK, and creatine of mice after swimming test

	ALT (U/L)	AST (U/L)	CK (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)
Control	42.5±5.2$^{a3)}$	76.4±10.2^{a}	178.0±15.0^{NS}	0.37±0.01^{b}
HDWE$^{1)}$-50	26.4±1.5^{b}	52.7±2.6^{b}	200.7±25.1^{NS}	0.37±0.01^{b}
HDWE-200	28.7±1.6^{b}	56.4±2.5^{b}	264.5±56.0^{NS}	0.38±0.01^{b}
OCT$^{2)}$	37.5±4.9^{ab}	76.0±7.1^{a}	266.3±36.2^{NS}	0.42±0.02^{a}

1) HDWE: *Hovenia dulcis* hot water extracts.
2) OCT: 1-Octacosanol.
3) Values are expressed as mean±SEM (n=8) within same column followed by different letters are significantly different and NS are not statistically significant at $p<0.05$.

지속적인 운동에 있어 체내에 저장되어 있는 당의 고갈로 피로가 증가하는 것으로 보고하고 있으며, Na 등(2013)은 운동 전 당을 섭취하면 근수축의 지속시간을 연장할 수 있고, 피로를 지연시킬 수 있으며, 운동 중 당 투여는 운동 중 혈당의 증가와 회복기에서 혈중 lactate의 급격한 감소를 유발하여 운동수행 능력과 피로회복에 효능이 있는 것으로 보고하였다. 따라서 체내의 지방에너지 이용을 증가하여 근육과 간에 저장된 당의 이용을 줄일 경우 지속적인 운동수행이 가능해질 것으로 사료된다.

요약 및 결론

본 연구는 5주간의 강제수영을 통한 운동시간과 혈청 젖산, 암모니아 등의 지표 물질과 근육의 글리코겐 등의 함량을 측정하여 헛개나무열매 열수추출물 식이 공급에 따른 지구력 향상 효능에 대하여 연구하였다. 5주령, 수컷 ICR 흰쥐를 구입하여 1주간의 적응 기간을 거친 후 난괴법에 의거하여 4개의 군으로 분류하였다. 즉, 대조군(Control), 50 mg/kg body weight BW 헛개나무열매 열수추출물 투여군(HDWE-50), 200 mg/kg BW 헛개나무열매 열수추출물 투여군(HDWE-200), 50 mg/kg BW 1-Octacosanol 투여군(OCT)으로 분류하였고, 각 시험군은 8마리의 실험동물을 사용하였다. 양성 대조군으로는 운동 수행능력 증진 기능성 건강기능식품 고시형 원료인 옥타코사놀을 사용하였다. 그 결과, 운동시간은 HDWE-50에서도 545±43초로 대조군 263±28초에 비해 2배 이상 증가하였으며, 피로 지표 물질인 젖산함량은 HDWE-200에서 4.99±0.33 mg/mL로 암모니아 함량은 0.63±0.05 mg/mL 유의적으로 감소하였다. 또한 글리코겐의 함량은 간과 근육에서 헛개나무열매 열수추출물 투여군에서 유의성을 나타내지는 않았으나, 모두 증가하는 경향을 보였다. ALT와 AST의 경우 간을 비롯한 장기에 존재하는 아미노산 합성효소로서 세포가 손상되거나 특정장기가 손상되면 효소가 세포 밖으로 유출되며 증가하는 경향을 보이는데, 헛개나무열매 열수추출물 투여군은 각각 26.4±1.5 U/L와 52.7±2.6 U/L로 대조군 42.5±5.2 U/L와 76.4±10.2 U/L에 비교하여 유의적으로 감소하였다. 이상의 결과를 종합해 보면 헛개나무열매 열수추출물의 경우, 지구력에 관련된 다양한 지표물질에 대하여 효능을 가짐으로써 지구력 개선이 향상되는 것으로 사료되며, 골격근에서 LDH복합체 구성을 조정하여 운동 중 혈중 젖산 증가를 방지하는 PGC-1α(Peroxisome proliferator activated receptor gamma coactivator 1 alpha)의 활성화와 이에 따른 LDHB(Lactate dehydrogenaseB subunit)와 MCT1(monocarboxylate transporter1)의 증가로 젖산을 산화시켜 신진대사 및 지구력향상을 촉진하는 추가적인 기전연구도 필요할 것으로 사료된다.

References

Bachri S, Woo MH, Lee HW, Choi JW, Kim HS. 2009. Effects of herbal sports drinks with omija, maesil and molasses on the endurance and energy metabolites of experimental animals. *J Life Sci* 19:219-227

Banister EW, Rajendra W, Mutch BJC. 1985. Ammonia as an indicator of exercise stress implications of recent findings to sports medicine. *Sports Med* 2:34-46

Cha PH, Shin WJ, Zahoor M, Kim HY, Min DS, Choi KY. 2014. *Hovenia dulcis* Thunb extract and its ingredient methyl vanillate activate Wnt/β-catenin pathway and increase bone mass in growing or ovariectomized mice. *PLOS ONE* 9:e85546

Cho HD, Kim JH, Lee JH, Hong SM, Yee ST, Seo KI. 2017. Anti-fatigue effect of a cucumber vinegar beverage on rats after high-intensity exercise. *Korean J Food Sci Technol* 49:209-214

Cho JY, Moon JH, Park KH. 2000. Isolation and identification of 3-methoxy-4-hydroxybenzoic acid and 3-methoxy-4-hydroxycinnamic acid from hot water extracts of *Hovenia dulcis* Thunb and confirmation of their antioxidative and antimicrobial activity. *Korean J Food Sci Technol* 32:1403-1408

Fang HL, Lin HY, Chan MC, Lin WL, Lin WC. 2007. Treatment of chronic liver injuries in mice by oral administration of ethanolic extract of the fruit of *Hovenia dulcis*. *Am J Chin Med* 35:693-703

Hase K, Ohsugi M, Xiong Q, Basnet P, Kadota S, Namba T. 1997. Hepatoprotective effect of *Hovenia dulcis* Thunb. on experimental liver injuries induced by carbon tetrachloride or D-galactosamine: Lipopolysaccharide. *Biol Pharm Bull* 20:381-385

Jensen TE, Richter EA. 2012. Regulation of glucose and glycogen metabolism during and after exercise. *J Physiol* 590:1069-1076

Jung K, Kim IH, Han D. 2004. Effect of medicinal plant extracts on forced swimming capacity in mice. *J Ethnopharmacol* 93:75-81

Kaushik MK, Aritake K, Takeuchi A, Yanagisawa M, Urade Y. 2017. Octacosanol restores stress-affected sleep in mice by alleviating stress. *Sci Rep* 7:8892

Kim EH, Lee KS. 2012. Effects of *Hovenia dulcis* Thunberg extract on enzymes related reactive oxygen intermediate. *Korean J Food Nutr* 25:1016-1022

Kim HT, Kim DD, Ku SK, Kim JW, Lim MK, Oh TH, Lee KW. 2011. Therapeutic effects of *Hovenia dulcis* Thunb extract on CCl_4 induced liver and kidney damage in rats. *J Vet Clin* 28:20-27

Kim I, Park CH, Jung HY, Jeong J, Hong HU, Kim JB. 2016. Bitter melon (*Momordica charantia*) extract enhances exercise capacity in mouse model. *Korean J Food Nutr* 29:506-512

Kim JW, Kim HJ, Jang ES, Jung HJ, Hwang MW, Nam DH. 2018. Survey on pattern identification and treatment of chronic fatigue in Korea medicine. *J Physiol Pathol Korean Med* 32:126-133

Kim S, Park J, Kim K, Jun W. 2019. Effect of rice bran supplementation on endurance exercise capacity in mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 48:1317-1322

Kim S, Park MD, Son LW, Kim SS. 1990. Histochemical study for the effect of Saengmaeksan on muscle glycogen content and enzyme activities in exercised rats. *J Korean Med* 11:156-164

Kim SW, Jung HW, Kim CH, Kim KI, Chin HJ, Lee H. 2016. A new equation to estimate muscle mass from creatinine and cystatin C. *PLOS ONE* 11:e0148495

Kim TY. 2006. The effect of aerobic, resistance and complex training in middle aged men. *Korean J Sport Sci* 15:641-651

Kim YJ, Jung UJ, Lee GD, Choi MS. 2012. Effects of herbal sports drinks containing *Prunus mume* fruit extract on the plasma lipid profile and endurance of rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41:1409-1416

Kim YS, Park J, Kwon Y, Lim DW, Song MK, Choi HY, Kim H. 2013. Hepatoprotective effects of *Hovenia dulcis* extract on acute and chronic liver injuries induced by alcohol and carbon tetrachloride. *Korea J Herbol* 28:25-32

Ko YJ, Hyeon MS. 2018. The effect of the ice slurry ingestion on the core temperature and the blood fatigue substance in case of pitcher's repetitive pitching. *Korean J Sport Sci* 27:1059-1070

Lim HW, Kim SK, Lee MW. 2005. Effect of endurance improving of mixture of the extracts of watermelon and octacosanol. *Yakhak Hoeji* 49:465-470

Lim MK, Kim JW, Kim JE, Kim Ht, Jung SJ, Kang MY, Lee KW. 2007. The therapeutic effect of *Hovenia dulcis* Thunberg extracts and 6 types of herbal extracts on CCl_4-induced acute liver and kidney damages in rats. *J Vet Clin* 24:400-405

Na CS, Kim HK, Kim JB, Roh HJ, Um NN, Noh HJ, Na DS, Dong MS, Hong CY. 2013. The effects of *Hovenia dulcis* fruit hot water extracts on anti-fatigue and improvement of the exercise performance in SD rats. *Yakhak Hoeji* 57:348-356

Nam KS, Lee YJ, Kim JM. 1997. Effects of transcutaneous electrical nerve stimulation on delayed onset muscle soreness. *J Korean Acad Univ Trained Phys Ther* 4:70-83

Oh HG, Park JW, Kang YR, Kim JH, Seo MY, Kim MG, Doo JK, Shin DH, Jung ES, Chae SW, Kim OJ, Lee HY. 2011. Improving effects of multigrain feed on endurance. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40:1700-1707

Seo BN, Kim I. 2019. Differences of stress, sleep quality and metabolic syndrome by prolonged fatigue in early adulthood. *Korean J Adult Nurs* 31:202-210

Seo TB, Sung BJ, Ko B, Lee JB, Kim BK, Lee JS, Rho DS. 2016. Effects of the difference between ingestion of nutrition supplements for 8 weeks on physical activities and fatigue recovery. *Korean J Sport Sci* 27:245-257

So IC, Choi SK. 2007. The influence of persimmon vinegar and octacosanol mixture administration on exercise performance ability and blood fatigue factors. *Korean J Sport Sci* 16:791-802

Song TC, Han D, Lee CH, Kim YE, Jung KA, Kim HY. 2005. Effect of dietary supplementation of two tonic formula on the forced-swimming capacity of rats. *Korean J Food Sci Technol* 37:648-655

Song TC, Han D, Lee CH, Kim YE, Kim HY. 2005. Effect of dietary supplementation of terrapin or snake extract on exercise performance in rats. *Korean J Food Sci Technol* 37:214-220

Sung MS, Jung HY, Choi JH, Lee SC, Choi BH, Park SS. 2014. Preparation of functional healthy drinks by *Acanthopanax senticosus* extracts. *J Life Sci* 24:959-966

Yang YK, So IC, Lee SH. 2005. The effect of octacosanol administration on cardiorespiratory function and fatigue factor of field and track athletes. *Korean J Sport Sci* 14:511-520

Yang YK. 2005a. The effect of octacosanol administration on blood lactate and cardiorespiratory function after maximal exercise test. *Korean J Sport Sci* 14:447-454

Yang YK. 2005b. The effect of octacosanol administration on blood cholesterol. *Korean J Walk Sci* 5:117-125

Yoshikawa M, Murakami T, Ueda T, Yoshizumi S, Ninomiya K, Murakami N, Matsuda H, Saito M, Fujii W, Tanaka T, Yamahara J. 1997. Bioactive constituents of Chinese natural medicines. III. Absolute stereostructures of new dihydroflavonols, hovenitins I, II, and III, isolated from hoveniae semen seu fructus, the seed and fruit of *Hovenia dulcis* Thunb. (Rhamnaceae): Inhibitory effect on alcohol-induced muscular relaxation and hepatoprotective activity. *Yakugaku Zasshi: J Pharm Soc Jpn* 117:108-118

Received 29 March, 2020
Revised 16 June, 2020
Accepted 18 July, 2020