

당귀추출물 전처치가 Rat의 혈중 알코올 및 알데히드 농도에 미치는 영향

정우상, 송재철, 박정미, 김상우
포천중문의대 분당차병원 임상의학위원회

The Effect of the Extract of *Angelica gigas* on the Serum Alcohol and Acetaldehyde Concentration in Rats

Woo Sang Jung, Jae Chul Song, Jung Mi Park, Sang Woo Kim, Hee Sul Lee

Institutional Research Board, Pochon CHA University

Objectives : Our study was designed to assess whether the extract of *Angelica gigas* can lower serum alcohol and acetaldehyde concentration in drunken rats.

Methods : We divided Sprague-Dawley male rats into 3 groups of a Vehicle control, Positive control and *Angelica gigas* group. Serum alcohol and acetaldehyde levels were checked at baseline, 0.5, 1, 2 and 4 hours after drinking ethanol. Independent t-test was performed to assess the difference of the serum concentrations between the *Angelica gigas* induced group and the control group.

Results : *Angelica gigas* lowered the serum acetaldehyde concentration. However, it did not lower alcohol concentration effect.

Conclusions : We assume that *Angelica gigas* could be effective for alcohol-induced hangover.

Key Words: *Angelica gigas*, Alcohol, Acetaldehyde, Hangover.

서론

체내에 투여된 에틸알코올은 alcohol dehydrogenase,^{1,4} proxisomal catalase⁵ 및 microsomal ethanol oxidizing system⁶ 등의 효소계에 의해 아세트알데히드로 대사되며, 이 아세트알데히드는 다시 aldehyde

dehydrogenase에 의해 아세트산으로 대사된다. 일반적으로 오심, 구토, 두통 등 숙취증상은 아세트알데히드에 기인한다고 알려져 있어⁷ 상기 효소계를 활성화하여 혈중 알데히드의 농도를 낮추는 것이 음주 후 숙취해소에 도움이 되리라 사료된다.

當歸는 補血和血의 효능이 우수하다고 알려져 있는데 和血은 현대의학적 개념으로 혈액성분 조성, 순환혈구수 증가 및 혈중 이상성분을 제거한다는 의미가 있으며, 당귀추출물을 주성분으로 하는 치매치료제가 기억력과 집중력이 높아지는 효과가 있고 간독성 물질로부터의 간세포 손상을 보호하는 작용이 있음을 고려할 때,⁸ 當歸가 음주 후 혈중에 남아있는 알

· 접수 : 2002년 6월 4일 · 채택 : 2002년 7월 31일
· 교신저자 : 정우상, 경기도 성남시 야탑동 351 포천중문의대
분당차병원 한방내과
(Tel. 031-780-6101, Fax: 031-780-6120, E-mail:
WSJung@cha.ac.kr)

Acknowledgement: This study was sponsored by Scigenic co. Ltd.

코올 및 알데히드를 효과적으로 제거하는 효과가 있으리라 보여진다.

이에 저자 등은 당귀추출물이 경구적으로 적용된 알코올 및 알데히드의 혈중농도에 미치는 영향을 조사하기 위하여 본 시험을 수행하였다.

연구방법

당귀추출물의 전처치가 알코올의 혈중농도에 미치는 영향을 평가하기 위하여 각각 167, 25, 20 및 41.7mg/kg의 용량으로 경구투여하고 1시간 후에 알코올 2500mg/kg을 경구투여하였다. 매체대조군으로는 주사용 생리식염수 10 ml/kg을, 양성대조군으로는 pyrithoxin 66.7 mg/kg을 투여하는 시험군을 설정하였다. 알코올 처치 후 30분, 1시간, 2시간 및 4시간째에 후대정맥에서 채혈하여 혈청을 분리한 후 혈청내의 알코올 농도를 측정하였다. 시험의 자세한 과정은 다음과 같다.

1. 실험물질 및 매체대조물질

실험물질인 당귀추출물은 세절한 당귀를 증류수로 2회 2시간씩 가열추출하고 흡인여과한 여액을 감압 진공농축기로 농축, 동결건조기로 건조하여 얻은 분말(수율 10.0%)로써 본 실험에 필요로 하는 농도로 희석하여 사용하였으며 매체대조물질은 주사용 생리식염수(대한약품공업 주식회사, Lot No. 060BB08)로, 양성대조물질은 Pyriothoxin (Sigma, Co. Ltd., Lot No. 14H0924)로 하였다.

2. 재료 및 방법

1) 시험계

본 시험에 사용된 랫드는 실험동물로 적당하여 채혈 등의 실험에서 많이 사용되고 있으며 기초자료가 많아 시험결과를 평가할 때에 이를 이용할 수 있어 본 실험에서는 특정병원체부재 (SPF) Sprague-Dawley(SD) 수컷 랫드를 사용했으며 5주령, 150 마리를 입수하여 6주령, 144 마리로 실험을 시작하였다. 투여개시시 체중범위는 167.6 ~ 200.4g이었다. 동

물 입수시에 외관을 육안적으로 검사한 후 10일간 시험을 실시하는 동물실에서 순화시키면서 일반증상을 관찰하여 건강한 동물만을 시험에 사용하였다.

2) 사육환경

본 시험은 온도 $23 \pm 3^\circ\text{C}$, 상대습도 $50 \pm 10\%$, 조명 시간 12시간(오전 8시~오후 8시), 환기횟수 10~20 회/hr 및 조도 150~300 Lux로 설정된 사육실에서 사육하였다. 시험자들은 모두 고압증기멸균(121°C , 20 분)된 작업복, 두건, 마스크 및 장갑 등을 착용하고 작업을 실시하였다. 시험기간 중 동물실의 온도와 상대습도는 자동온습도기록장치에 의하여 기록되었으며, 정기적으로 온도, 습도, 조도 및 소음 등의 환경 조건들을 측정하였다. 이러한 환경측정의 결과, 시험에 영향을 미칠 것으로 사료되는 변동은 없었다. 순화, 검역기간 동안 및 군분리 후 투여시까지 모두 스테인레스제 망 사육상자 (220W x 360L x 200H mm)에 5마리씩 수용하였다. 시험기간 중 사육상자는 시험번호 및 동물번호를 기입한 라벨지를 붙여 식별하였다. 사료는 방사선 멸균된 (25 kGy, 그린피아 주식회사) 실험동물용 고형사료(삼양유지사료)를 자유급여 하였다. 물은 지하수를 미세여과장치 및 자외선 살균기로 소독한 후 물병을 이용하여 자유급여 하였다.

3) 투여량 및 시험군의 구성

투여량의 설정은 각 시험물질 별로 사람에서의 적용용량의 10배정도 설정한 용량을 사용하였다. 양성대조물질의 경우에는 참고문헌⁹⁾을 참조하여 설정하였다. 시험군의 구성은 Table 1.과 같았다.

동물의 군분리는 다음과 같이 실시하였다. 우선, 순화기간 중 이상이 관찰되지 않은 동물들의 체중을 측정 후 5g 간격으로 구분하여 각각의 평균체중에 가까운 동물 144마리를 선택하였다. 이렇게 선택된 동물을 무작위로 선별하여 각군에 배치하였다. 동물의 개체식별은 사육상자앞에 부착한 개체식별라벨과 유성매직펜을 이용하여 꼬리에 표시하였다.

4) 시험물질 및 알코올의 투여

시험물질의 정량을 측정하여 매체인 주사용 증류수에 현탁하거나 용해하여 투여할 시험물질을 조제하였다. 투여 당일 1회 실시하며 투여전 허룻밤을 절

Table 1. Dosage of solution and materials

Group	Sex	Number	Dosage of solution(ml/kg)	Dosage of materials(mg/kg)
Vehicle Control	male	24	10	0
Positive Control	male	24	10	66.7
Angelica gigas	male	24	10	25

식시켜 위장을 비우게 한 상태에서 경구투여용 존데를 이용하여 경구투여를 실시하였다. 투여직전에 측정된 체중을 기준으로하여 각각의 군별 투여량에 맞게 투여될 액체량을 계산하였다. 투여액량은 10 ml/kg으로 하였다. 시험물질을 투여한 후 1 시간 후에 25%(w/v)로 조제한 알코올용액을 10 ml/kg의 투여액량으로 경구투여 하였다.

5) 채혈 및 혈청의 분리

동물을 ether 마취하에서 회복하여 후대정맥에서 3 ml의 혈액을 채취한 후 혈청분리관에 옮겨 넣은 후 뚜껑을 닫아 밀폐시킨 상태에서 15~20분간 실온에서 정치하였다. 실온에서 정치된 혈액을 3000 rpm (1700g)에서 10분간 원심분리 하여 혈청을 분리하였다. 분리된 혈청은 알코올농도를 측정하기 전까지 -70℃로 냉동보관 하였다.

6) 알코올농도의 측정

알코올측정은 냉동보관된 혈청을 ice위에서 해동될 때까지 정치하였다. 혈청이 해동되는 동안에 알코올측정 kit인 NAD-ADH assay vial (Sigma catalogue No. 330-1)에 glycine buffer reagent (Sigma catalogue No. 332-9) 3.0 ml을 첨가하고 가볍게 흔들면서 잘 혼합시켰다. Blank액 (deionized water), standard alcohol solution (0.08%, Sigma catalogue No. 330-20), 혈청시료를 각각 10 µl를 취하여 각각의 vial에 넣고 뚜껑을 즉시 닫은 후 부드럽게 잘 섞어준 후 37℃ 항온수조에서 10분 동안 반응시킨다. 반응이 종료되면 즉시 spectrophotometer (Versamax plus 384, Molcular devices) 340 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 얻어진 흡광도를 이용한 알코올농도의 산출은 Sigma사의 manual에 의하여 다음과 같이 실시하였다.

$$\text{Alcohol, mg/dl} = \frac{\text{A 340 Sample}}{\text{A 340 Standard}} \times 80$$

혈중 알코올 농도를 백분율(% w/v)로 나타내는 것은 mg/dl를 1,000으로 나누어서 산출하였다. 본 방법으로 측정하였을 때의 검출한계는 0.01%였다.

7) 알데히드 농도의 측정¹⁰⁾

냉동보관된 혈청을 ice위에서 해동될 때까지 정치하였다. 혈청이 해동되는 동안에 DNP hydrazine (2,4-dinitrophenyl hydrazine) 0.28g을 3.6M 염산용액 100ml에 녹여 0.01M DNP hydrazine 용액을 제조한다. 혈청 시료 0.5ml에 DNP hydrazine 용액 0.5ml을 가하여 실온에서 15분간 흔들면서 (vortex mixer) 반응시킨다. 반응혼합물에 헥산(n-hexane) 20ml을 넣고 30분간 실온에서 vortex mixer로 shaking하여 추출하고 헥산층을 물(deionized water) 10ml로 3번 씻어 준다. 무수망초(anhydrous sodium sulfate)로 헥산층에 남아있는 물을 제거한 후 헥산을 감압농축 (vacuum rotary evaporator) 시킨 다음 1ml의 아세토니트릴(acetonitrile)에 녹여 주사기용 필터(syringe filter)로 여과 후 auto sampler용 vial에 넣어 HPLC로 분석한다. HPLC 분석에서 컬럼은 Inertsil ODS (150 mm x 4.6 mm), 용매는 아세토니트릴-물 혼합액 (50:50, v/v), 유속은 1ml/min로 하였으며 검출기는 356 nm (UV detector)로 20µl를 주입하여 25분간 분석하였다. Acetaldehyde DNP hydrazone RT는 10.43 min으로 하였다. 회수율 (recovery)은 Blank 혈청시료 0.5ml에 저온에서 (4℃) acetaldehyde를 (10, 30, 50 and 100M) 넣고, DNP hydrazine 용액을 0.5 ml씩 가하여 앞의 방법으로 유도체화하고 HPLC로 분석하여 계산하였다. Authentic standard 2,4- Dinitrophenylhydrazine(DNP) acetaldehyde(TCI TO KYO KASEI, Lot No. FIC01)를

아세트니트릴에 녹여 (5, 10, 20, 30, 50, 100M) HPLC로 분석하여 calibration curve와 상관계수 (linear relationship $r=0.99976$, $s=2.69531$)를 이용, 회수율과 알데히드의 농도를 계산하였다.

linear regression equation $y = 3.131x + 3.386$ (y = relative peak area, x = concentration of aldehyde)으로 혈중 알데히드 농도(M)를 산출하였다. 본 방법으로 측정 하였을 때의 검출한계는 0.1ppm 이었다.

8) 통계학적 방법

각 개체별로 얻어진 결과는 평균과 표준편차를 구하여 나타내었다. 통계처리는 t-test를 사용하여 대조군과 각 처치군과 비교하였고 유의성은 $P<0.05$ 에서 검사하였다.

연구결과

1. 일반증상

시험물질투여 후의 일반증상관찰에서 특이한 소견은 관찰되지 않았다. 알코올 투여한 후에도 경미한 자발운동의 감소만 인정되었고 어떠한 이상도 관찰되지 않았다.

2. 혈중 알코올농도의 변화

1) 매체대조군

매체대조군에의 혈중농도는 알코올 투여 후 30분, 1시간, 2시간 및 4시간 순으로 각각 148, 205, 176 및 108 mg/dl였다. 따라서 실측된 C max는 205 mg/dl, Tmax는 1시간이었고 알코올 투여개시부터 4시간까지의 AUC는 599.8 mg/dl · hr였다.

2) 양성대조군

양성대조군(pyrithyoxin 투여군)에서의 혈중 알코올농도는 알코올 투여 후 각 시간대 순으로 각각 161, 196, 166 및 125 mg/dl였다. 따라서 실측된 Cmax

는 196mg/dl, Tmax는 1시간이었고 알코올 투여 후 0시간부터 4시간까지의 AUC는 601.6 mg/dl · hr로 대조군의 100%였다. 양성대조물질 투여군에서는 대조군에 비하여 알코올 투여 후 1시간제와 2시간제에는 혈중농도가 낮게, 0.5시간제와 4시간제에는 높게 관찰되었으나 대조군에 비해 커다란 차이는 관찰되지 않았다.

3) 당귀추출물 투여군

당귀추출물 투여군에서의 혈중 알코올 농도는 알코올 투여 후 각 시간대 순으로 각각 144, 206, 189 및 142mg/dl였다. 따라서 실측된 Cmax는 206mg/dl, Tmax는 1시간이었고 알코올 투여 후 0시간부터 4시간까지의 AUC는 652.0 mg/dl · hr로 대조군의 109%였다. 당귀추출물투여군에서는 알코올 투여 후 0.5시간 및 1시간에는 대조군과 특이한 차이가 없었으나 투여 후 2시간과 4시간제에는 다소 높게 관찰되었다.

3. 혈중 알데히드의 변화

1) Calibration curve와 회수율

본 실험에서 사용하는 농도범위로 authentic standard를 이용, calibration curve, $r=0.99976$, $s=2.69531$, linear regression equation을 얻고, blank혈액에 적당한 농도범위로 알데히드를 가하여 시험한 후 회수율을 계산하였는데 91~100%로 나타났다.

2) 매체대조군

매체대조군에서의 혈중농도는 알코올 투여 후 30분, 1시간, 2시간 및 4시간 순으로 각각 70.80, 72.81, 74.35 및 77.45M였다. 따라서 실측된 C max는 77.45 M, Tmax는 4시간 이후로 예측할 수 있었다.

3) 양성대조군

양성대조군(pyrithyoxin 투여군)에서의 혈중 알데

Table 2. Average serum alcohol concentration in rats pretreated with pyrithyoxin and Angelica gigas

Group	0.5 hr	1 hr	2 hr	4 hr
Vehicle Control	148 ± 20	205 ± 7	176 ± 8	108 ± 8
Positive Control	161 ± 13	196 ± 36	166 ± 11	125 ± 26
Angelica gigas	144 ± 21	207 ± 8	189 ± 18	142 ± 17**

** : Significantly different from Vehicle Control with $P<0.01$

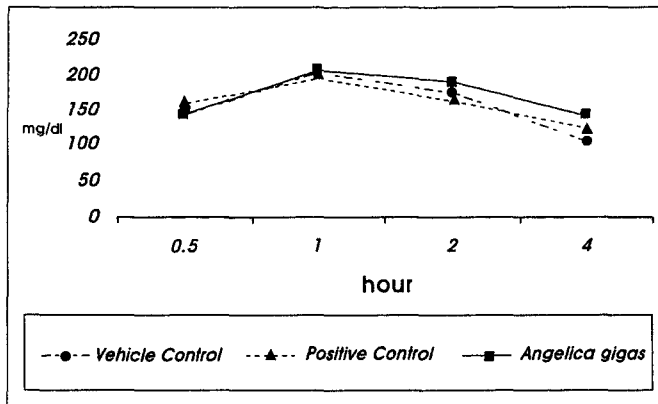


Fig. 1 Changes of average serum alcohol concentration in rats pretreated with pyriithoxin and *Angelica gigas*

Table 3. Average serum acetaldehyde concentration in rats pretreated with pyriithoxin and *Angelica gigas*

Group	0.5 hr	1 hr	2 hr	4 hr
Vehicle Control	70.80±20	72.81±7	74.35±8	77.45±8
Positive Control	64.67±13	67.78±36	85.65±11	97.75±26
<i>Angelica gigas</i>	60.11±21	70.50±8	58.75±18	58.12±17**

** : Significantly different from Vehicle Control with $P < 0.01$

히드 농도는 알코올 투여 후 각 시간대 순으로 각각 64.56, 67.78, 85.65 및 97.75M이었다. 따라서 실측된 C_{max} 는 97.75 M, T_{max} 는 4시간이후로 예측할 수 있다. 양성대조물질 투여군에서는 대조군에 비하여 알코올 투여 후 0.5시간째와 1시간째에는 혈중 농도가 낮게, 2시간째와 4시간째에는 점차로 높게 증가하였으며, 대조군에 비해 4시간째에는 20M의 커다란 증가를 관찰할 수 있었다.

4) 당귀추출물 투여군

당귀추출물 투여군에서의 혈중 알데히드 농도는 알코올 투여 후 각 시간대 순으로 각각 60.11, 70.50, 58.75 및 58.12M였다. 따라서 실측된 C_{max} 는 70.50M, T_{max} 는 1시간이었고 대조군에 비해 전체적으로 낮았는데 1시간에는 비슷하게 증가하였다가 현재 하게 낮아지는 것으로 나타났다.

고 찰

시험물질은 알코올을 투여하기 1시간 전에 경구적

으로 적용하였고 알코올 투여 후 동물을 부검하여 후대정맥에서 채혈하고 얻어진 혈청을 이용하여 혈중의 알코올 및 알데히드 농도를 측정하였다. 알코올은 경구적으로 적용되면 위에서 쉽게 흡수되는 물질로 잘 알려져 있다. 또한 알코올은 직선형의 약물을 배설하는 전형적인 물질로서 사람의 경우 대사되어 변화되거나 배설되는 속도가 혈중농도와 상관없이 일정하여 그 소실율은 100 mg/kg/hr으로 알려져 있다. 쥐에서의 알코올 분해속도 역시 사람과 같은 경향을 보이는 것으로 판단되는데, 본 실험에서도 관찰 빈도수가 적어 정확한 판단은 어려웠지만 직선형 소실을 하는 것으로 나타났다.

본 시험에서 양성대조물질로 사용한 pyriithoxin은 사람에게서 숙취를 줄이는데 도움을 준다는 문헌⁹⁾을 참고하여 선택하였으나 본 시험의 결과에서는 혈중 알코올 농도가 투여 후 1시간 및 2시간째에 대조군에 비해 다소 낮은 경향은 있었지만 전반적으로 판단할 때 혈중 알코올농도를 감소시키지 않은 것으로 판단되었다. 이는 투여량, 투여방법 등의 차이로 인해 발

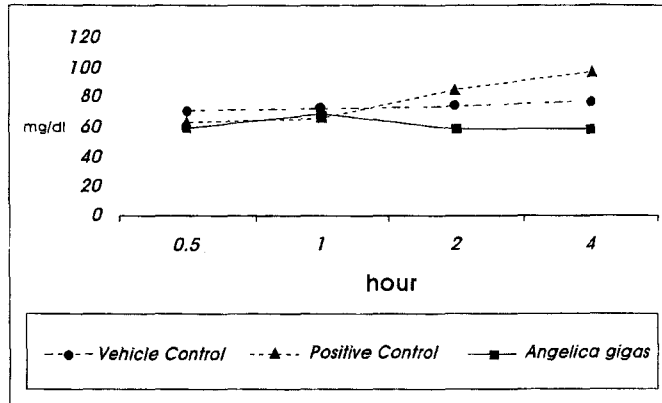


Fig. 2 Changes of average serum acetaldehyde concentration in rats pretreated with pyriethoxin and *Angelica gigas*

생한 것으로 생각된다. 또한 혈중 알데히드 농도는 투여 후 1시간까지는 대조군에 비해 다소 낮은 경향은 있었지만 이후 현저하게 증가하여 2시간 이후에는 상당히 높아지는 것으로 판단할 때 본 시험에서는 혈중 알데히드 농도를 크게 증가시킨 것처럼 관찰되어 차이가 있는 결과를 보여주었다.

한편 당귀추출물 투여군은 대조군에 비해 배설되는 기올기가 적었고 알코올 투여 후 2시간째와 4시간째에는 대조군에 비해 높은 농도로 측정되어 혈중 알코올 농도 저하효과는 거의 없는 것으로 판단된다. 그러나 혈중 알데히드 최고농도 도달시간을 1시간으로 매체대조군에 비해 단축시키는 것으로 관찰되어 알데히드 농도를 대조군에 비해 감소시키는 것으로 판단되었다.

當歸는 한의학적으로 性味가 溫 無毒, 甘辛하고 心肝脾經으로 들어가 補血和血, 調經止痛, 潤燥滑腸의 효능을 가져 月經不調, 經閉腹痛, 血虛頭痛, 腸燥便秘 등을 치료한다고 알려져 있는 대표적인 補血藥이다. 따라서 補陰補血하는 處方에는 다빈도로 사용되나, 숙취제거 또는 酒毒을 치료할 때는 葛根, 葛花, 蒼朮 등이 일반적으로 사용되며 當歸의 사용은 많지 않은 편이다. 그러나 간독성 물질에 대한 간보호 작용이 당귀에 있음이 보고된 바 있고,⁸ 본 시험에서도 혈중 알데히드 농도 저하효과가 관찰되었으며, 숙취의 주 원인이 알데히드라는 것을 고려할 때⁹ 당귀가 알코

올로 인한 급성중독 또는 숙취제거에 효과가 있으리라 사료된다. 다만, 혈중 알코올 농도저하 효과가 유의하지 않은 것으로 미뤄볼 때 알코올에서 알데히드로의 대사에 대한 영향은 별도의 연구에서 다루어져야 할 것이다.

한편, 본 시험에서는 혈중 알데히드 농도가 떨어지는 시간을 관찰할 수 없었는데 감소되는 시간을 본 시험만으로는 알 수 없었다. 특히 대조군, 양성대조군에서는 4시간째에도 다소 증가하는 것으로 관찰되었다. 이러한 결과로 보아 알코올을 과량 적용하였을 때 4시간 이후에도 알데히드 농도는 혈중에 지속적으로 분포하고있다는 것을 추론적으로 알 수 있으므로 12시간 이상의 농도변화를 관찰하여야만 정확한 혈중 알데히드의 profile을 알 수 있을 것으로 생각된다.

연구결론

당귀추출물의 전처치가 알코올의 혈중농도에 미치는 영향을 평가하기 위하여 에틸 알코올을 경구투여하여 알코올을 처치 후 30분, 1시간, 2시간 및 4시간째의 혈중 알코올 및 알데히드 농도를 측정된 동물실험결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. 당귀추출물 투여군에서의 혈중 알코올 농도의 Cmax는 206mg/dl, T max는 1시간이었고 알코올 투

여 후 0.5시간 및 1시간에는 대조군과 특이한 차이가 없었으나 투여 후 2시간과 4시간째에는 다소 높게 관찰되었다.

2. 당귀추출물 투여군에서의 혈중 알데히드 농도의 Cmax는 70.50M, Tmax는 1시간이었고 대조군에 비해 전체적으로 낮는데 1시간에는 비슷하게 증가하였다가 이후 현저하게 낮아지는 것으로 나타났다.

3. 알데히드로 발현되는 숙취제거에 효능이 있을 것으로 보이며, 이에 대한 임상연구 및 알코올 1차 대사에 대하여 당귀가 미치는 영향의 기전에 대해 추후 연구가 필요하리라 사료된다.

참고문헌

1. Dohmen K. Baraona E. Ishibashi H. Pozzato G. Moretti M. Matsunaga C. et al. Ethnic differences in gastric sigma-alcoholdehydrogenase activity and ethanol first-pass metabolism. *Alcoholism: Clinical & Experimental Research*. 1996;20(9):1569-76.
2. Han CL. Liao CS. Wu CW. Hwong CL. Lee AR. Yin SJ. Contribution to first-pass metabolism of ethanol and inhibition by ethanol for retinol oxidation in human alcoholdehydrogenase family-implications for etiology of fetal alcohol syndrome and alcohol-related diseases. *European Journal of Biochemistry*. 1998;254(1):25-31.
3. Person RE. Chen H. Fantel AG. Juchau MR. Enzymic catalysis of the accumulation of acetaldehyde from ethanol in human prenatal cephalic tissues: evaluation of the relative contributions of CYP2E1, alcoholdehydrogenase, and catalase/peroxidases. *Alcoholism: Clinical & Experimental Research*. 2000;24(9):1433-42.
4. Smilda T. Kamminga AH. Reinders P. Baron W. van Hylekama Vlieg JE et al. Enzymic and structural studies on *Drosophila* alcoholdehydrogenase and other short-chain dehydrogenases/reductases. *Journal of Molecular Evolution*. 2001;52(5):457-66.
5. Tolosa D. Azorin I. Sancho-Tello M. Guerri C. Renau-Piqueras J. Variations in peroxisomal catalase of neonatal rat hepatocyte subpopulations. Effect of pre- and postnatal exposure to alcohol. *Virchows Archiv*. 1995;427(3):309-15.
6. Alderman J. Kato S. Lieber CS. The microsomal ethanol oxidizing system mediates metabolic tolerance to ethanol in deermice lacking alcohol dehydrogenase. *Archives of Biochemistry & Biophysics*. 1989;271(1):33-9.
7. Tsukamoto S. Kanegae T. Saito M. Nagoya T. Shimamura M. Tainaka H et al. Concentrations of blood and urine ethanol, acetaldehyde, acetate and acetone during experimental hangover in volunteers. *Ankoku Kenkyu-To Yakubutsu Ison Japanese Journal of Alcohol Studies & Drug Dependence*. 1991;26(6):500-10.
8. Ye YN. Liu ES. Li Y. So HL. Cho CC. Sheng HP et al. Protective effect of polysaccharides-enriched fraction from *Angelica sinensis* on hepatic injury. *Life Sciences*. 2001;69(6):637-46.
9. Wiese JG, Shlipak MG, Browner WS. (2000) The alcohol hangover. *Annals of Internal Medicine*. 2000;132(11):897-902.
10. Park HM, Eo YW, Cha KS, Kim YM, Lee KB. Determination of free acetaldehyde in total blood for investigating the effect of aspartate on metabolism of alcohol in mice. *Journal of Chromatography. B, Biomedical Sciences and Applications*. 1998;719(1-2):217-21.
11. Ritchie JM. The aliphatic alcohol. In: Gilman AG et al. Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics Eds. 7th ed. Macmillan, New York: 1985, p. 372-86.