

발효한약추출물 HP-1이 알코올을 투여한 쥐의 알코올 대사에 미치는 영향

정용준¹ · 한동오² · 최보희^{4,5} · 박 철² · 이혜정^{2,6} · 김성훈⁷ · 함대현^{2,3*}

1: 서울대학교 자연과학대학 생명과학부, 2: 경희대학교 침구경락과학연구소, 3: 경희대학교 한의학연구소,
4: (주)파스카바이오, 5: (주)디와이, 6: 경희대학교 한의과대학 경혈학교실, 7: 경희대학교 한의과대학 병리학교실

Effect of Fermented Herbal Extracts, HP-1 on Enzyme Activities and Gene Expressions Related to Alcohol Metabolism in Ethanol-loaded Rats

Yong-Joon Jung¹, Dong-Oh Han², Bo-Hee Choi^{4,5}, Chul Park², Hyejung Lee^{2,6},
Sung Hoon Kim⁷, Dae-Hyun Hahm^{2,3*}

1: School of Biological Sciences, Seoul National University, 2: Acupuncture & Meridian Science Research Center,
3: Institute of Oriental Medicine, Kyung Hee University, 4: PaschaBio Co., 5: DY Co.,
6: Department of Acupuncture & Meridianology, 7: Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Kyung Hee University

Recently, much attention has been paid to developing various kinds of fermented herbal extracts, a new type of traditional herbal medicine, in the field of Korean traditional medicine. The fermentation of medicinal herbs is intended to exert a favorable influence on digestibility, bioavailability and pharmacological activity of herbal extract in the gastrointestinal tract. It also produces a number of fermentation products that intensify the nutritional and pharmacological aspects of the medicinal herbs. In order to develop a functional beverage of alleviating the aftereffects of the previous drinks, the extracts (HP-1) of fermented herbal mixture, including *Artemisia capillaris* Thunb., *Lonicera japonica* Thunberg, and *Hovenia dulcis* Thunb., were prepared and the medicinal effect as a hangover cure was evaluated in ethanol-loaded rats. The enzyme activities of alcohol dehydrogenase (ADH) and acetaldehyde dehydrogenase-2 (ALDH2) were analyzed by measuring the concentration of blood ethanol and acetaldehyde. The mRNA expression of ADH and ALDH2 was also investigated through RT-PCR analysis. In the HP-1-treated group, the concentration of blood ethanol was significantly reduced at one hour after loading of ethanol, as compared to that in the saline-treated group. The reduced ethanol was converted to acetaldehyde, which resulted in rapid increase in acetaldehyde concentration in an hour. Acetaldehyde was started to decrease at 5 hours after ethanol loading. It implies that HP-1 is highly effective to stimulate the activities of ADH and ALDH2. The HP-1 treatment also activated the mRNA expression of ADH and ALDH. This study suggests that fermented herbal extract, HP-1 can be used as a functional beverage of alleviating the alcohol-induced hangover symptoms by stimulating the activities and gene expression of hepatic alcohol metabolizing enzymes.

Key words : Fermented herbal extract, alcohol, dehydrogenase, acetaldehyde dehydrogenase-2, alcohol-induced hangover

서 론

음주 후 나타나는 숙취는 취할 때까지 술을 마신 사람들이

* 교신저자 : 함대현, 서울시 동대문구 회기동 1, 경희대학교 한의과대학

· E-mail : dhahm@khu.ac.kr, · Tel : 031-201-2176

· 접수 : 2007/01/03 · 채택 : 2007/03/30

주로 경험하는 유쾌하지 못한 신체적, 정신적 현상으로서 숙취의 대표적인 증상으로는 메스꺼움, 구토, 현기증, 갈증, 무기력함, 두통, 근육통 등이 있다¹⁾. 술의 주성분인 에탄올은 위장관계에서 빠르게 흡수된 후에 주로 간에서 대사되는데, 간에는 alcohol dehydrogenase (ADH) pathway, MEOS (microsomal ethanol-oxidizing system), catalase pathway 등, 에탄올 대사에

관여하는 세가지 효소계 가 존재한다²⁾.

정상적인 상태에서는 그 중에서 ADH pathway가 주로 작용하는 것으로 알려져 있다³⁾. 흡수된 에탄올의 80~90 %는 간에서 cytosolic ADH에 의해 acetaldehyde로 대사되며 이것은 다시 mitochondrial aldehyde dehydrogenase (ALDH)에 의해 acetate로 산화된다^{4,5)}. 그 후, acetate는 acetyl-CoA로 전환되어 TCA회로를 거쳐 에너지를 발생하거나 콜레스테롤과 지방산 합성에 이용된다⁶⁾.

흡수된 에탄올의 10~20 % 정도는 MEOS에 의해 대사되는 것으로 알려져 있으며, 만성적인 알코올 섭취자의 경우에서와 같이 체내 알코올 농도가 높을 때 활성을 가진다⁷⁾.

에탄올이 ADH에 의해서 산화되어 만들어진 일차 대사산물인 acetaldehyde는 숙취의 주요한 원인이고, 알코올 섭취시 체내의 독성작용의 원인으로서는 알코올 그 자체보다 acetaldehyde에 의한 영향이 크다⁸⁾. 고반응성을 지닌 화합물인 acetaldehyde는 체내 주요 구성 성분인 단백질 등과 결합하여 물질 자체의 고유한 특성을 약화 또는 소거시키는 독성을 지닌 것으로 알려져 있다⁹⁾. Acetaldehyde는 간의 microsome에 있는 cysteine이나 glutathione과 같은 황화합물과 강하게 결합하여 간손상을 일으킨다¹⁰⁾.

Acetaldehyde에 의한 독성으로는 미토콘드리아의 기능저해로 인한 간염 및 간경변증, ALDH의 활성도 감소, 비타민의 활성 억제, 심장 및 근육단백질 합성 억제 등이 보고되어 있으며¹¹⁾, 혈액 내의 acetaldehyde가 과량인 경우에는 일부가 뇌를 비롯한 다른 장기로 이동하여 유해한 영향을 미치는 것으로 알려져 있다¹²⁾. Acetaldehyde는 에탄올에 비해 반응성이 높고 독성이 강하여 알코올 섭취 시 생성된 oxygen free radical과 더불어 알코올성 간 상해의 원인물질로 작용한다^{13,14)}.

최근 한의학계에서는 발효한약에 대한 관심이 증폭되고 있다. 발효한약은 전통발효공법을 통해 전통 한약재를 미생물이 잘 이용할 수 있게 찌거나 삶은 다음, 공기 중의 미생물 또는 혹은 유산균과 같은 순수 분리 미생물을 이용하여 발효한 한약재를 말한다. 이는 한약재 약효성분의 체내흡수율과 생체 이용률을 모두 극대화시킨 일종의 가공방법으로 약리적 기능성뿐만 아니라 한약의 제형개량과 포제방법을 향상시킬 수 있고 이를 통해 한약의 새로운 수요를 창출하고 고부가치의 새로운 한약제품을 개발할 수 있다는데 그 의의를 두고 있다. 현재 다양한 제법과 형태의 발효 한약이 개발되고 있으며 특히 발효 홍삼제품과 발효 한방 화장품 등을 그 대표적 제품으로 꼽을 수 있다.

본 연구에서는 인진호, 금은화, 지구자 등의 한방소재를 주원료로 제조된 발효한약 추출물 HP-1의 숙취해소 효능을 실험적으로 검증하고자 하였으며 이를 위해 에탄올을 투여한 실험용 쥐에서 알코올 대사와 관련된 주요효소인 alcohol dehydrogenase (ADH)와 acetaldehyde dehydrogenase-2 (ALDH2)의 효소활성 (enzyme activity)과 유전자 발현량 (gene expression)을 분석하였다.

재료 및 방법

1. 한방발효약재추출물의 조제

본 한방추출물 HP-1은 (주)파스카바이오에서 쟁조 공급되었으며 그 제조방법은 다음과 같다. 인진호, 금은화, 지구자로 구성된 숙취해소용 한방제제에 뽕잎, 호박, 도라지, 은행잎, 당근, 메주, 찹쌀, 맥아, 포도당, 토마토, 감자 등으로 이루어진 일반 식품류를 일정 비율로 혼합하여 제조하였다. 제조 순서는 먼저 일반 식품 원료 혼합물을 35일간 발효하고 여기에 숙취해소용 한방제제를 첨가하여 다시 15일을 발효시킴으로써 총 60일간의 숙성과정을 거쳐 제조하였다.

2. 실험동물 및 처치

실험동물은 (주) 샘타코 (경기 오산, 한국)로부터 구입한 음성 Sprague-Dawley 계 흰 쥐 230 g을 사용하였다. 동물은 일정한 온도 (23±1 °C)와 규칙적인 조명(12시간 명/암)이 자동적으로 조절되는 동물실에서 사육되었고 사료와 음수가 자유롭게 공급되었으며, 일주일간의 적응기간을 거친 후 본 실험에 사용하였으며, 실험군은 대조군, 식염수군, HP-1군의 세 군으로 나누었다. 먼저 사료 섭취로 인해 나타날 수 있는 위장관을 통한 에탄올의 흡수 방해 현상을 배제하기 위해 에탄올을 경구투여하기 전에 18시간 동안 절식시켰다. 에탄올 투여 30분전에 식염수군에는 식염수 1 ml을, HP-1투여군에는 HP-1 1 ml을 경구 투여하였고, 모든 군에 에탄올을 체중 kg 당 4 g 수준으로 1회 경구 투여하였다. 시간 경과에 따른 혈중 에탄올 농도와 아세트알데히드 농도 변화를 측정하기 위해 에탄올 경구투여 후 1, 2, 3, 5시간 후에 채혈을 실시하였다. 혈액은 4 °C, 3000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 혈청을 얻고, 즉시 -80 °C의 초저온냉동고에 넣어 급속 동결시켜 보관하였다.

3. 혈중 에탄올과 아세트알데히드 농도 측정

혈청에 함유되어 있는 에탄올과 아세트알데히드는 에탄올 측정용 kit (#10-176-290-035, R-Biopharm, Germany)와 아세트알데히드 측정용 kit (#10-668-613-035, R-Biopharm, Germany)를 이용하여 측정하였다. 에탄올은 ADH에 의해 산화되어 아세트알데히드를 생성하고, 아세트알데히드는 ALDH에 의해 산화되어 acetate를 생성한다. 이 과정에서 NAD⁺가 NADH로 환원되므로 NADH 양의 변화를 340nm에서의 흡광도 변화로 측정하게 된다.

4. RT-PCR 분석

에탄올 경구 투여 후 1 시간 후에 간 전체를 적출하여 호모게나이저를 사용하여 균질화 시킨 후 total RNA를 분리하였다. total RNA는 TRIzol™ (Life Technologies Ltd., MD, USA)을 사용하여 protocol에 따라 분리 정제하였으며 추출 후에는 분광분석기로 260nm에서 정량한 후 -80 °C에서 보관하였다.

1 µg의 total RNA를 65 °C에서 15분 동안 denaturation시킨 후, 200 U moloney murine leukemia virus reverse transcriptase (GIBCO BRL, MD, USA)를 이용하여 최종 부피가 20 µl인 반응 혼합액에서 역전사 반응을 수행하여 cDNA mixture를 얻었다. cDNA는 10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP, 0.4 mM의 각 primer와 0.5 U Taq

polymerase (TaKaRa, Shiga, Japan)을 포함한 20 μ l의 반응 혼합액에서 PTC-100 Programmable Thermal Controller™ (MJ Research, Waltham, MA, USA)를 사용하여 증폭되었다. 각각의 primer는 Genbank에 기록된 염기서열을 토대로 적당한 부위를 선택하여 제작하였으며 각각의 염기서열 및 증폭 조건은 Table 1과 같다. 증폭된 DNA는 1 % agarose gel에서 전기영동 (electrophoresis)하여 확인하였다. gel 상의 band intensity는 ImageMaster TotalLab™ (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ)을 이용하여 분석하였고 내부 표준물질로 glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)를 사용하여 유전자의 정량적 발현 수준을 보정하였다

5. 통계처리

실험 결과의 통계분석은 SPSS를 이용하였고, 각 실험군마다 평균±표준오차로 나타내었으며, 각 실험군 간의 유의성은 ANOVA에 의해 검증하였다.

Table 1. Primers used in PCR reactions

Name	Primer sequence	Product size (bp)	Annealing temperature (°C)	Cycle numbers
ADH	5'-ACCATCGAGGACATAGAA-3' 5'-GTGGAGCCTGGGGTAC-3'	520	58	23
ALDH2	5'-GCTGTCAGCAAGAAAACATTCCCC-3' 5'-CTTGTGAGCCAGCCAGCATAATA-3'	323	58	30
GAPDH	5'-ATCCCATCACCATTCTCCAG-3' 5'-CCTGCTTACCACCTTCTTG-3'	579	58	30

결 과

1. 혈중 에탄올 농도와 아세트알데히드 농도

에탄올을 경구 투여한 후 시간 경과에 따른 혈중 에탄올 농도 변화를 Fig. 1에서 나타내었다. 대조군과 식염수군은 에탄올 투여 1시간 후에 높은 혈중 에탄올 농도를 나타내고 그 후에 크게 감소하는 양상을 보였다. HP-1군은 식염수군과 비교할 때 1시간째 에탄올 농도가 유의하게 감소하였다.

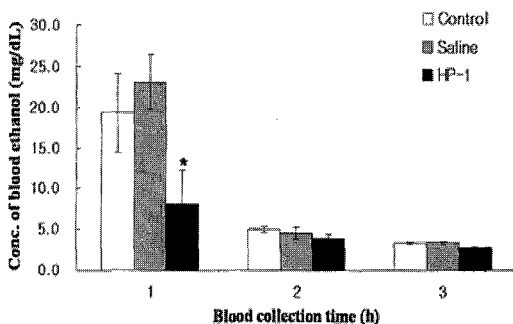


Fig. 1. Changes of blood ethanol concentration in rats. Each bar represents mean±S.E. of 5 rats. * : Significantly different from saline group at p<0.05.

Fig. 2에는 혈중 아세트알데히드 농도 변화를 나타내었다. 에탄올군과 식염수군의 혈중 아세트알데히드 농도는 에탄올 투여 후 1시간 후부터 5시간 후까지 점차 높아지는 양상을 보였다.

그에 비해 HP-1군의 혈중 아세트알데히드 농도는 식염수군과 비교할 때 1시간째에 유의하게 높은 수준에 이른 후, 5시간째에 유의하게 감소하였다.

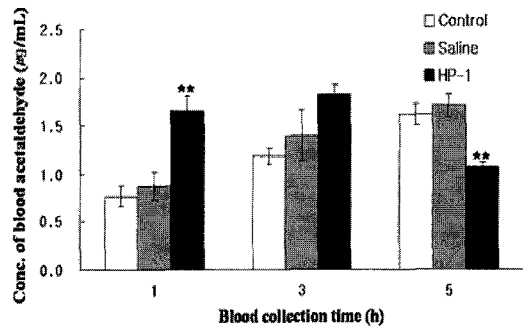


Fig. 2. Changes of blood acetaldehyde concentration in rats. Each bar represents mean±S.E. of 5 rats. ** : Significantly different from saline group at p<0.01.

3. RT-PCR 분석

에탄올대사에서 중요한 역할을 하는 ADH와 ALDH2 유전자의 발현 정도를 비교해 보기 위해 에탄올을 경구 투여한 후 1시간 후에 간을 적출하여 RT-PCR을 실시하였다(Fig. 3).

HP-1군에서 ADH의 mRNA 발현은 식염수군에 비해 68 % 증가하였고 통계적으로 유의하였다. ALDH2의 mRNA 발현은 HP-1군에서 식염수군에 비해 32 % 증가하였으나 유의성은 없었다.

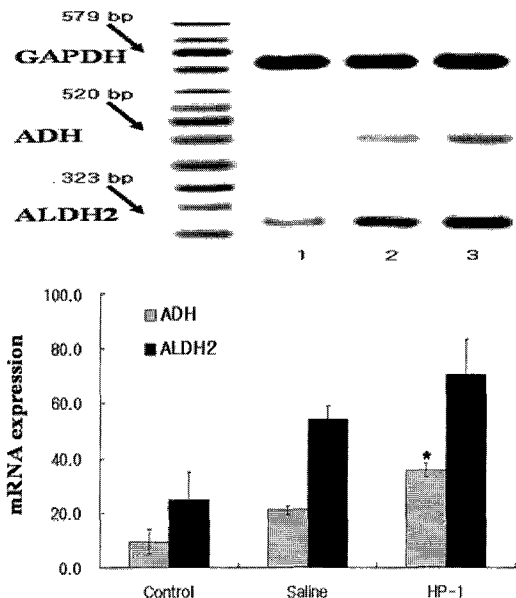


Fig. 3. The mRNA expression of GAPDH, ADH and ALDH2 in rat liver. Appearance of non treated group (Control, n=3) lane 1; Saline treated group (Saline, n=3), lane 2; and HP-1 treated group (HP-1, n=3), lane 4; in rat liver. Each PCR product was normalized to GAPDH. Each bar represents mean±S.E. of 3 rats. * : Significantly different from saline group at p<0.05.

고 찰

본 연구에 사용된 한방 발효약재 추출물 HP-1의 주요 한방 성분은 인진호, 금은화, 지구자로서 각 성분의 한의학적 특성 및

약리 작용을 알아보면 다음과 같다¹⁵⁾. 인진호는 국화과의 사철속 (*Artemisia capillaris* Thunb.)의 지상부를 말린 약재를 말하며 한의학적으로는 열을 내리고 습을 제거하는 기능이 있어 주로 이담, 해열, 항균, 항염, 이뇨, 및 혈압강하 등의 약리 작용을 한다. 금은화는 인동과의 인동덩굴(*Lonicera japonica* Thunberg) 또는 그 변종의 꽃봉오리를 가리키며 냉풀이 살아서 추운 겨울에도 시들지 않기 때문에 인동(忍冬)이란 이름이 붙여졌고 금은화란 이름은 처음 피는 꽃이 흰색이지만 차차 노랗게 변해간다 해서 붙여진 이름이다. 한의학적으로 이 약재는 특이한 냄새를 띠며 맛은 달고 성질은 찬 특성을 갖는다. 따라서 체열을 내리고 해독의 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 티푸스균, 파라티푸스균, 대장균, 녹농균, 백일해균, 변형균, 포도상구균, 연쇄상구균, 폐렴쌍구균, 뇌막염구균 등과 같은 체외의 여러 세균들이 대해 항균작용을 갖는 것으로 알려져 있으며, 또한 콜레스테롤억제 효과 등이 보고되기도 하였다. 지구자는 갈매나무과의 헛개나무 (*Hovenia dulcis* Thunb.)의 과병을 가진 열매 또는 씨를 가리키며 지구자란 이름은 과병을 가진 열매의 생김새가 산호와 닮 발톱을 닮았다고 하여 붙여졌다. 이 약재는 특유의 냄새가 있고 맛은 쓰면서 떼운데 한의학적으로는 열병으로 인한 번열, 구갈, 딸꾹질, 구토 등에 쓰며 이뇨를 돕고, 알코올 중독으로 상한 간장을 치료한다고 알려져 있다. 약리작용으로 혈액순환과 간보호 작용이 보고된 바 있다¹⁵⁾.

본 실험에서는 한의학적으로 해독, 간보호 등에 효과가 있는 것으로 알려진 한방성분을 혼합, 발효하여 제조한 한방 발효약재 추출물 HP-1이 숙취해소에 효과가 있는지 동물모델을 대상으로 확인하고자 하였다. 알코올 섭취 후 나타나는 숙취증상에는 메스꺼움, 구토, 현기증, 갈증, 무기력함, 두통, 근육통 등이 있지만, 대부분 주관적이고 주위 환경에 많은 영향을 받으며 동물실험으로 측정하기에 적합하지 않기 때문에 숙취해소에 대한 객관적인 평가 방법으로 사용되는 혈중 에탄올 및 아세트알데히드 농도 측정을 우선적으로 실시하였다.

혈중 에탄올 및 아세트알데히드 농도 변화를 측정하기 위해 쥐에 에탄올을 경구투여 하기 30분 전에 HP-1을 경구 투여하였다. 그리고 에탄올을 경구 투여한 후 채혈을 하여 HP-1대신에 같은 양의 식염수를 투여한 군과 비교하였다. 그 결과, 혈중 에탄올 농도는 에탄올 투여 후 1시간 후에 유의하게 감소하였다. 그리고 혈중 아세트알데히드 농도는 5시간 후에 유의하게 감소하였다. 이와 같은 결과를 통해서 HP-1이 체내로 흡수된 에탄올과 에탄올의 대사과정에서 생긴 아세트알데히드를 제거하는데 효과적임을 알 수 있고, 그로 인해 알코올 섭취 후 나타나는 숙취증상을 완화시킬 수 있을 것이라고 생각할 수 있다.

음주 후 에탄올은 위장관계에서 흡수된 후에 주로 간에서 대사되고, 정상적인 상태에서는 주로 alcohol dehydrogenase (ADH) pathway에 의해 대사된다. 따라서 HP-1이 ADH pathway에 영향을 주어 혈중 에탄올 및 아세트알데히드 농도가 감소되었을 것으로 예상하고 ADH pathway에 관여하는 유전자의 발현 정도를 비교하였다.

HP-1을 투여했을 때 에탄올 투여 후 1시간 후에 혈중 에탄올 농도가 유의하게 감소하였기 때문에 에탄올 투여 후 1시간 후

에 간을 적출하여 ADH pathway에 관여하는 ADH와 ALDH2 유전자의 발현량을 RT-PCR을 통해 비교하였다. 그 결과, 식염수를 투여한 군과 비교하여 ADH mRNA 발현은 68 % 증가하였고, ALDH2 mRNA 발현은 32 % 증가하였다. 특히 ADH mRNA의 경우 통계적으로 유의성 있게 증가하는 결과를 보였다.

그러므로 HP-1을 투여한 후 혈중 에탄올의 농도가 유의적으로 감소한 것은 ADH mRNA 발현 증가가 하나의 원인이 될 수 있다. ADH는 에탄올을 산화시켜 아세트알데히드를 만들어 혈중 에탄올 농도를 감소시키는 역할을 한다. 그러나 ADH만 증가하고 ALDH는 증가하지 않으면 아세트알데히드의 농도는 더욱 높아지게 된다. 아세트알데히드는 알코올보다 반응성이 높고 독성이 강하며 숙취의 더 큰 원인이 되므로 숙취증상을 효과적으로 없애기 위해서는 ADH와 ALDH가 모두 증가되어야 한다.

HP-1을 투여했을 때 ADH mRNA 발현과 함께 ALDH2 mRNA 발현도 증가하였고, 에탄올 투여 후 5시간 후에 혈중 아세트알데히드의 농도가 유의적으로 감소하였다. 그러므로 에탄올이 산화되어 생성된 아세트알데히드를 제거하는 ALDH2가 증가하여 빠르게 아세트알데히드가 제거되었다고 할 수 있다. 이 같은 실험 결과로서 한방 발효약재 추출물 HP-1은 숙취증상을 완화하는데 도움이 될 것으로 사료된다.

결 론

알코올 해독과 간보호에 효과가 있다고 알려진 인진호, 금은화, 지구자를 혼합, 발효하여 제조한 한방 발효약재 추출물 HP-1이 에탄올을 투여한 쥐의 혈중 에탄올 및 아세트알데히드 농도와, 에탄올을 대사에 관여하는 유전자의 발현 정도에 어떤 영향을 미치는지 실험하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

HP-1을 투여했을 때 혈중 에탄올 농도는 타 실험군에 비해 에탄올 투여 후 1시간 후에, 혈중 아세트알데히드 농도는 5시간 후에 유의하게 감소하였다. 그리고 HP-1투여 후 ADH mRNA 발현은 식염수군에 비해 68 % 증가하였으며, ALDH2 mRNA 발현은 32 % 증가하였다. 따라서 HP-1이 알코올 대사에 관여하는 ADH와 ALDH2의 발현을 증가시킴으로써 알코올 대사를 촉진시켜 숙취의 원인이 되는 아세트알데히드의 축적을 감소시키는 것을 확인할 수 있었다.

이상의 실험결과를 종합해 볼 때 HP-1을 응용하여 음주로 인해 발생하는 숙취 증상을 효과적으로 완화시킬 수 있으며, 숙취해소음료(숙취해소제)로 개발될 수 있다고 사료된다.

감사의 글

본 연구는 (주)디와이와 과학기술부/한국과학재단 우수연구센터육성사업(R11-2005-014)의 지원으로 수행되었음

참고문헌

1. Swift, R. and Davidson, D. Alcohol hangover, mechanisms

- and mediators. Alcohol Health Res. World. 22: 54-60, 1998.
- Lieber, C.S. Alcohol and the liver: Metabolism of ethanol, metabolic effects and pathogenesis of injury. Acta. Med. Scand. (Suppl). 703: 11-55, 1985.
 - Theorell, H.S. and Ronnichen, R. Studies on liver alcohol dehydrogenase. I. Equilibria and initial reaction velocities. Acta. Chem. Scand. 5: 1105-1126, 1951.
 - Marjanen, L. Intracellular localization of aldehyde dehydrogenase in rat liver. Biochem. J. 127: 663-639, 1972.
 - Gill, K., Amit, Z. and Smith, B.R. The regulation of alcohol consumption in rats: the role of alcohol, metabolizing enzymes, catalase and aldehyde dehydrogenase. Alcohol 13(4):347-355, 1996.
 - Sur, J.S. Alcohol metabolism and nutritional effects. Food Indus. Nutr. 4: 13-19, 1999.
 - Lieber, C.S. and Decarli, L.M. Hepatic microsomal ethanol oxidizing system: In vitro characteristics and adaptive properties in vivo. J. Biol. Chem. 245: 2505-2512, 1970.
 - Lieber, C.S. Liver adaptation and injury in alcoholism. New Eng. J. Med. 288: 356-362, 1973.
 - Kim, C.I. Cause and effect of hangover. Food Indus. Nutr. 4: 26-30, 1999.
 - Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A. and Rodwell, V.W. Lipids. In: Harper's Biochemistry. Appleton & Lange, Connecticut, p 260, 1993.
 - Kim, K.W., Yang, J.S., Lee, J.S., Cho, Y. S., Kang, S. K. and Chung, H.K. Activity of alcohol dehydrogenase and ethanol, acetaldehyde levels in normal adults blood. Korean Indus. Hyg. Assoc. J. 4: 240-247, 1994.
 - Helander, A. and Tottmar, O. Effect of acute ethanol administration on human blood aldehyde dehydrogenase activity. Alcohol Clin. Exp. Res. 12: 643-646, 1988.
 - Nordmann, R., Ribiere, C. and Rouach, H. Implication of free radical mechanisms in ethanol-induced cellular injury. Free Radic. Biol. Med. 12: 219-240, 1992.
 - Lieber, C.S. Ethanol metabolism, cirrhosis and alcoholism. Clin. Chem. Acta. 257(1):59-84, 1997.
 - 김창민, 신민규, 안덕균, 이경순 외. 完譯中藥大辭典. (尙鼎談, 2: 582-587, 7: 3500-3506, 8: 3938-3939, 1999.