

(주)보고신약 귀중

헤파골드, alcohol 분해효과의 생화학적 평가

헤파골드의 alcohol 분해 효과성 평가에 대한
혈액생화학적 평가결과를 다음과 같이 보고합니다.

2020-08-31

대건헬스케어

헤파골드, alcohol 분해효과의 생화학적 평가

*** 목차**

I. 시험개요

II. 재료 및 방법

III. 헤파골드, alcohol 분해효과의 생화학적 평가

IV. 결과

V. 고찰

I. 시험개요

시험 제목 헤파골드, alcohol 분해효과의 생화학적 평가

시험 의뢰 기관 명 칭: (주)보고신약

 소 재 지: 서울 송파구 송파대로 167 B 동 B1204 호

 연 락 처: 02-786-3992 (TEL), 02-786-3990 (FAX)

시 험 기 관 명 칭: 대건헬스케어

 소 재 지: 서울특별시 노원구 덕릉로 773, 6 층(상계이씨빌딩)

 연 락 처: 02-6401-4561 (TEL), 02-6403-4561 (FAX)

II. 재료 및 방법

1. 실험 동물의 준비

1) 동물의 개체 분리 및 순화

- 2020.08.13 오리엔트 바이오에서 6 주령 Wistar 수컷 18 마리를 구매하여 3 마리당 1cage 로 분리 후, 한양대학교 제 1 의학과 2 층 실험동물실에서 8 일동안 순화하였다.

	한양대학교 FTC실험동물센터 기준표
온도	23±2℃
습도	55±5%
환기 회수	13회/시간
취기	암모니아 농도가 20 ppm을 넘지 않을 것
조명	150~300 Lux(지상에서 40 ~ 80 cm 기준)
소음	60 dB을 넘지 않을 것

감염동물실 환경 기준표

2. Rats 에서 숙취음료 효능 확인

1) 순화 7 일 째, 실험 전날 (2020.08.20) 16:30 각 군별로 평균 무게를 균등하게 하기 위해 무게 측정을 하고 정상군(D): 6 마리, 실험군(E): 헤파골드 섭취후 Alcohol 투여군 6 마리, 대조군(F): Alcohol 만 섭취하는군 6 마리, 총 3 개의 그룹으로 나누었다.

헤파골드	Group	Average BW
DW+DW	정상군(D)	230.7
Tx.+Alc.	실험군(E)	232.1
DW+Alc.	대조군(F)	231.6
Total average	231.5	

2) 2020.08.20 17:00 부터 2020.08.21 09::00 까지 16 시간 금식하고 물은 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였다.

3) 그룹 E 실험군에 보고신약에서 제공한 투여물질(헤파골드)을 10ml/kg 의 용량으로 경구투여 하였다.

4) 물질 투여 후 30 분 뒤에 그룹 E, 그룹 F 의 Rat 에 40% 주정을 10ml/kg 의 용량으로 경구투여 하였다.

5) 알코올 투여 5 시간 뒤 그룹 D, E, F 를 마취 후 심장채혈하여 검사를 진행하였다.

Construct	No.	비고	Construct	No.	비고	Construct	No.	비고
DW + DW	D1		헤파골드 + Alcohol	E1		DW + Alcohol	F1	
	D2			E2			F2	
	D3			E3			F3	
	D4			E4			F4	
	D5			E5			F5	
	D6			E6			F6	

III. 헤파골드 alcohol 분해 효과의 생화학적 평가

1. 정상군과 헤파골드+40% alcohol 병용 투여 실험군의 비교평가

1) 간세포성 누출효소 AST, ALT 의 평가

정상군과 실험군 사이에서 AST 와 ALT 모두 유의한 차이는 없었다.

2) 담즙정체 유발 효소 ALP, GGT 의 평가

정상군과 실험군 사이에서 ALP 와 GGT 모두 유의한 차이를 보이지 않았다.

3) 간 합성능 인자 Protein, Albumin, Glucose 의 평가

정상군과 실험군 사이에서 albumin, glucose 모두에서 유의한 차이를 보이지 않았다.

그러나 protein 은 정상군($5.23 \pm 0.25 \text{mg/dL}$)보다 실험군($4.93 \pm 0.26 \text{mg/dL}$)에서 유의하게 낮은 결과를 보여주었다($p < 0.05$).

4) Total cholesterol 의 평가

Total cholesterol 은 정상군과 실험군 사이에서 유의한 차이를 보이지 않았다.

5) 신장기능의 평가 Creatinine, BUN

Creatinine 과 BUN 은 정상군과 실험군 사이에서 유의한 차이를 보이지 않았다.

6) Alcohol 분해 효과성 평가

정상군에서는 검출되지 않았으며, 알코올과 헤파골드를 병용투여한 실험군은 $121.18 \pm 22.12 \text{mg/dL}$ 로 측정되었다.

2. 정상군과 40% alcohol 단독 투여 대조군의 비교평가

1) 간세포성 누출효소 AST, ALT 의 평가

정상군과 실험군 사이에서 AST 와 ALT 모두 유의한 차이는 없었다.

2) 담즙정체 유발 효소 ALP, GGT 의 평가

정상군과 대조군 사이에서 ALP 와 GGT 모두 유의한 차이를 보이지 않았다.

3) 간 합성능 인자 Protein, Albumin, Glucose 의 평가

정상군과 대조군 사이에서 Protein, Albumin 은 유의한 차이를 보이지 않았지만 glucose 는 정상군($102.93 \pm 9.67 \text{mg/dL}$)보다 대조군($78.22 \pm 14.32 \text{mg/dL}$)에서 낮게 측정되었다($p < 0.001$).

4) Total cholesterol 의 평가

Total cholesterol 은 정상군과 대조군 사이에서 유의한 차이를 보이지 않았다.

5) 신장기능의 평가 Creatinine, BUN

Creatinine 은 정상군과 대조군 사이에서 유의한 차이를 보이지 않았다. 그러나 BUN 은 정상군($10.35 \pm 1.12 \text{mg/dL}$)보다 대조군($14.45 \pm 4.00 \text{mg/dL}$)에서 유의하게 높은 결과를 보여주었다. ($p < 0.05$).

6) Alcohol 평가

정상군에서는 검출되지 않았으며, 알코올을 단독 투여한 대조군에서는 $165.97 \pm 26.62 \text{mg/dL}$ 의 알코올이 측정되어 알코올 투여로 인한 혈액 내 상승을 확인할 수 있었다.

3. hepatocold + 40% alcohol 병용투여군과 40% alcohol 단독투여군에서의 생화학적 변화 및 alcohol 대사량 비교평가

1) hepatocold + 40% alcohol 병용투여군한 실험군과 40% alcohol 단독투여한 대조군 사이에서 protein, albumin, AST, ALP, Creatinine, cholesterol 은 유의한 차이를 나타내지 않았다.

2) BUN 은 실험군($10.66 \pm 3.31 \text{mg/dL}$)이 대조군($14.45 \pm 4.00 \text{mg/dL}$) 보다 유의하게 낮은 결과를 보여주었다($p < 0.05$).

3) GGT 는 실험군($1.37 \pm 0.12 \text{U/L}$)이 대조군($1.45 \pm 0.12 \text{U/L}$) 보다 유의하게 낮은 결과를 보여주었다($p < 0.05$).

4) Glucose 는 실험군($118.65 \pm 17.00 \text{mg/dL}$)이 대조군($78.72 \pm 14.32 \text{mg/dL}$) 보다 유의하게 높은 결과를 보여주었다($p < 0.01$).

3) Alcohol 측정 결과는 헤파골드와 알코올 병용투여한 실험군($121.18 \pm 22.12 \text{ mg/dL}$)이 알코올을 단독투여군한 대조군($165.97 \pm 26.62 \text{ mg/dL}$)보다 낮게 측정되어 헤파골드로 인한 alcohol 감소 효과를 확인할 수 있었다.

IV. 고찰

Ethanol metabolism

체내로 흡수된 에탄올은 대부분 간에서 대사된다. 위에서 약 5%의 에탄올 산화대사가 진행되며, 2-10%는 호흡, 땀 또는 소변으로도 배설된다. 일반적으로 알코올은 먼저 acetaldehyde로 산화된 후 acetate로 대사된다. Acetate는 뇌, 근육, 신장에서 acetyl-CoA로 부분적으로 대사된다. 알코올은 간에서 아래와 같은 다양한 효소 시스템에 의해 대사된다.

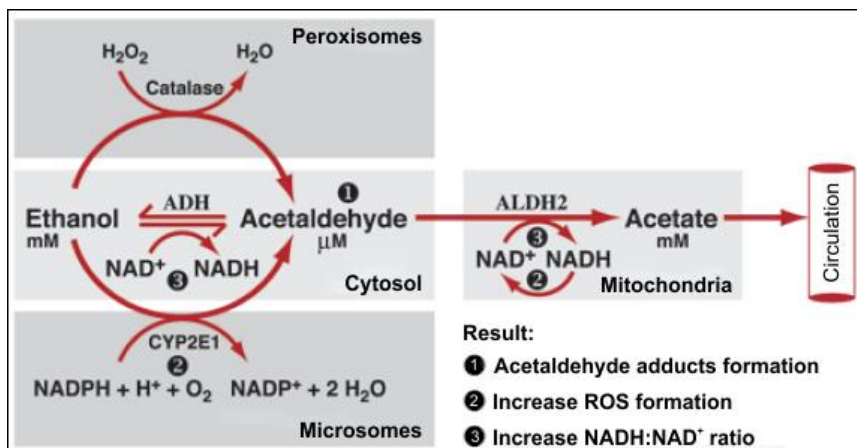


Figure 1. Alcohol metabolism pathway

- Ethanol metabolism에 관여하는 효소 및 작용

1. Alcohol dehydrogenase (ADH)

ADH 는 어디서나 볼 수 있는 세포질에 있는 효소다. ADH 는 ethanol 을 유독하고 반응성 높은 아세트알데히드 분자로 변환시킨다. 이 반응이 일어나는 동안, 수소는 에탄올에서 제거되어 nicotinamide adenine dinucleotide (NAD)로 전달되어 환원형 NAD(NADH)로 전환된다. NADH 는 다른 많은 대사 반응에 참여하여 수소를 다른 화합물로 옮긴다. 과량의 세포내 NADH 는 세포에 잠재적으로 해로운 영향을 끼치며, 순차적으로 acetaldehyde 가 aldehyde dehydrogenase 에 의해 acetate 로 전환된다. 알코올을 분해하는 isoenzyme 들은 아래와 같은 종류가 존재한다.

· ***Alcohol dehydrogenase isoenzymes 의 종류***

- liver: ADH 1-4, 6, 7
- lung: ADH 2
- stomach: ADH 3, 6, 7
- cornea: ADH 4
- oesophagus: ADH 1-7
- most other tissues: ADH 5

2. Microsomal ethanol-oxidizing system (MEOS)

MEOS 는 endoplasmic reticulum 에서 분리된 microsomes 에서 진행되는 enzymatic sequence 로 고농도의 ethanol 이 존재할 때 ethanol 을 acetaldehyde 로 전환시키는 작용을 한다.

3. peroxisome 기반의 catalase enzymes

4. Acetaldehyde dehydrogenase - (acetaldehyde 분해)

MEOS 는 특히 많은 양의 알코올 섭취 후에 알코올 대사에 중요한 역할을 한다. cytochrome P450 효소는 MEOS 의 주성분이다. MEOS 는 ADH 와 마찬가지로, 알코올을 acetaldehyde 로 전환시킨다.

CYP1A2 및 CYP3A4 와 같은 cytochrome P450 도 알코올 분해에 관여한다. cytochrome P450 2E1(CYP2E1)은 만성적으로 알코올을 남용하는 조건에서 증가한다. 그리고 이 반응은

ADH 가 알코올을 acetaldehyde 로 변환시키는 것도 돕는다. CYP2E1 isoenzyme 에 의해 생성된 superoxide ion 과 hydrogen peroxide 와 같은 ROS 는 알코올 간손상의 원인으로 알려져 있다.

천연물이 함유된 숙취해소제는 천연물의 생활성 성분들에 의해 간에서 분비되는 ADH 와 ALDH 활성을 증진시키고, 항산화 활성으로 인해 acetylaldehyde 함량을 감소시키는 것을 숙취 해소의 원리로 설명하고 있다. 즉 생활성 성분들이 ethanol 을 분해하는 ADH 및 ALDH 를 증가시킴으로써 간에서 ethanol 과 acetylaldehyde 이 분해되는 시간을 줄여 숙취를 빠르게 해소하고 또한 간이나 위 조직 보호하는 것으로 알려져 있다.

본 실험에서 사용된 헤파골드의 경우에도 알코올이 유의하게 감소된 것으로 보아 헤파골드의 ADH 작용 촉진효과를 확인할 수 있었다.

V. 결론

헤파골드의 알코올 분해 효과성을 인정할 수 있음

헤파골드의 알코올 분해 효과성을 평가하기 위하여 실시한 정상군과 alcohol 을 단독투여한 대조군, 헤파골드와 alcohol 병용투여한 실험군 사이의 생화학적 변화 (간세포성 누출효소, 담즙정체 유발효소, 간 합성능 인자, Total cholesterol, 신장기능 평가)와 알코올 분해 효과는 다음과 같다.

- 정상군과 헤파골드 + 40% alcohol 병용투여한 실험군 간에는 protein 을 제외한 나머지 측정항목에서는 유의한 차이를 보이지 않았다.
- 정상군과 40% alcohol 단독투여 대조군 사이에서는 BUN 과 glucose 에서 유의한 차이를 보여주었다.
- 헤파골드+40% alcohol 병용투여 실험군과 대조군 간에는 GGT, BUN 그리고 glucose 를 제외한 나머지 측정항목에서는 유의한 차이를 보이지 않았다.
- 헤파골드+alcohol 병용투여 실험군과 40% alcohol 단독투여 대조군 사이의 비교에서는 **헤파골드에서 알코올 분해 효과가 나타나는 것으로 관찰되었다**

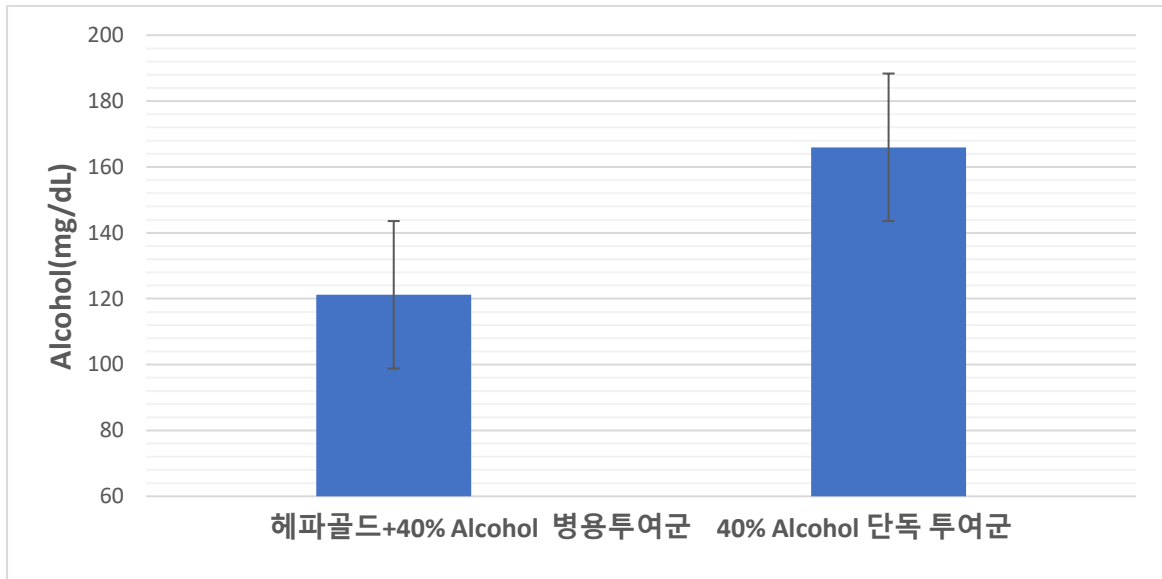


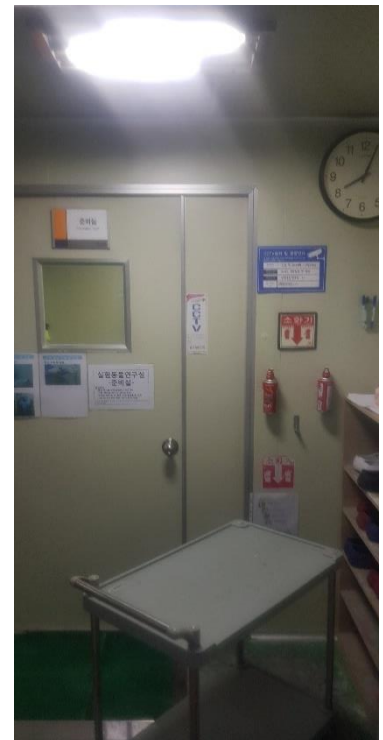
Figure 2. 헤파골드의 알코올 분해 효과. Alcohol 단독투여군과 헤파골드+ alcohol 병용투여군 사이에 통계적으로 평균값의 차이를 확연히 확인할 수 있다.

그래프 표기: mean± standard error

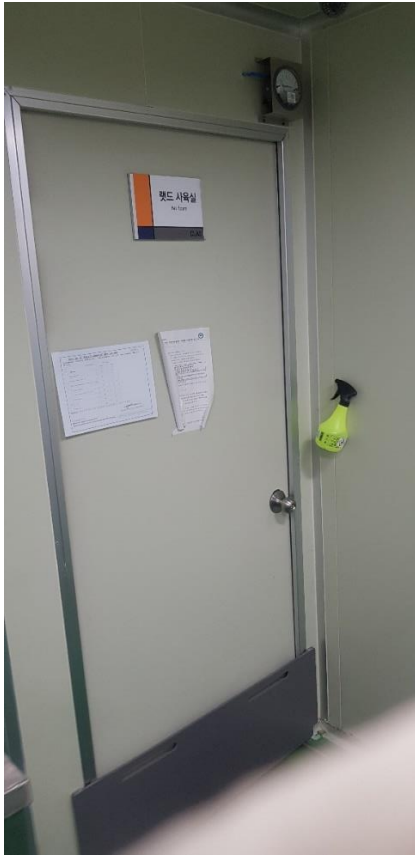
*

VI 실험실 내부 및 약물 투여 사진

동물 실험 준비



동물 사육실 입구



동물 실험실 내부



동물 사육실 모습







약물 주입 및 채혈



DW 투여



알코올 투여



헤파골드 투여



심채혈

● **헤파골드 알코올 분해효과성 실험 생화학적 분석 raw 데이터**

[illegible][illegible]

[illegible]