강제수영실험을 통한 산수유 추출물의 항피로 효과

이진아¹ · 신미래¹ · 노정숙² · 박해진³ · 노성수¹

¹대구한의대학교 한의과대학 본초약리학교실

²동명대학교 식품영양학과

³대구한의대학교 바이오융복합시험센터

Anti-Fatigue Effect of *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. Extract in Forced Swimming Test

Jin A Lee¹, Mi-Rae Shin¹, Jeong Sook Noh², Hae-Jin Park³, and Seong-Soo Roh¹

¹Department of Herbology, College of Korean Medicine, Daegu Haany University

²Department of Food Science and Nutrition, Tongmyong University

³DHU Bio Convergence Testing Center

ABSTRACT This study examined the effects of Corni Fructus administration on the exercise performance and fatigue accumulation in the forced swimming test (FST). The ICR mice were divided randomly into four groups: water-treated FST (control), 500 mg/kg of red ginseng-treated FST (RG), 500 mg/kg of water extract of Corni Fructus-treated FST (CFW), and 500 mg/kg of 30% EtOH extract of Corni Fructus-treated FST (CFE). After FST, an autopsy was performed, and the soleus muscle and serum were collected. The experimental result show that the running time increased in the CFW. In addition, the soleus muscle showed that glycogen was increased by CFW and CFE. Furthermore, CFW significantly regulated GOT (glutamic oxaloacetic transaminase), GPT (glutamic pyruvic transaminase), BUN (blood urea nitrogen), ammonia, LDH (lactate dehydrogenase), D-lactate, TG (triglyceride), and FFA (free fatty acid) in serum. On the other hand, CFE regulated the above factors but not significantly. Overall, CFW and CFE in FST are considered effective in preventing fatigue by controlling the liver enzyme, kidney enzyme, and fatigue-related factors, and the CFW is considered to be more effective than CFE.

Key words: *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc., Corni Fructus, forced swimming test, anti-fatigue, liver function

서 론

피로는 생체 방어 기전과 생체 기능의 감소 및 신경 호르몬 조절에 의한 평행의 실조라고 할 수 있으며, 과도한 자극에 의해 기관의 기능이 감퇴하고 병적 감각이 동반되는 현상을 말한다. 그 원인으로는 물질대사에 의한 노폐물의 축적, 근육 내에서 에너지원의 대사 능력 감소, 체내의 물리·화학적 변화로 인한 항상성 파괴 등을 들 수 있다(Cho 등, 2017; Kim과 Lim, 2002). 현대인들은 바쁜 생활 속에서 정신적 스트레스, 활동량 부족 및 게으른 습관 등으로 인해 심신 기능이 떨어진 상태로 빈번하게 피로를 느끼면서 생활하고 있으며, 피로 개선, 생활습관과 관련된 질병 예방 및 체력을

단련하기 위하여 운동에 참여하거나 건강을 증진시킬 수 있는 자양강장제(tonics)를 복용하는 경향이 높다. 하지만 과도한 운동은 장기에 다양한 형태의 손상을 야기할 수 있으며, 현대인들이 복용하는 많은 종류의 자양강장제는 그 효과가 구전으로 전파되거나 고문서에 의존해 효능이 입증되지 않아 과학적인 검증을 거친 제품이 희박한 실정이다(Na 등, 2013; Piper 등, 1987; Song 등, 2005). 이에 최근에는 피로 개선에 있어서 다양한 천연소재를 이용한 건강기능식품의 개발을 위하여 많은 연구가 활발하게 이루어지고 있다.

산수유(*Cornus officinalis* Sieb. et Zucc., Corni Fructus)는 층층나무과에 속하는 낙엽활목인 산수유나무의 붉은 열매로 씨를 뽑아내고 햇볕에 말린 것을 말하며(Gu와 Hong, 2018), 성질이 따뜻하고 신맛이 난다. 자양, 강장, 이조, 음위 등에 효과가 있으며, 혈압강하 작용, 항암, 항균 등의 약리 효능이 알려져 있고 특히 간 기능 강화에 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Kwon 등, 2009; Park 등, 2017). 산수유의 주요 성분으로는 모로니사이드(morrisonide), 로가닌(loganin), 사포닌(saponin), 타닌(tannin), 비타민 A 등이 있으며(Lee 등, 2011), 성분 연구와 함께 산화적 스트레스 억제,

Received 14 Jan 2021; Revised 8 Feb 2021; Accepted 9 Feb 2021
Corresponding author: Seong-Soo Roh, Department of Herbology, College of Korean Medicine, Daegu Haany University, 136, Sincheondong-ro, Suseong-gu, Daegu 42158, Korea,
E-mail: ddede@dhua.ac.kr

Author information: Jin A Lee (Graduate student), Mi-Rae Shin (Professor), Jeong Sook Noh (Professor), Hae-Jin Park (Professor), Seong-Soo Roh (Professor)

항산화, 항암, 항균 및 항염 등의 다양한 약리적 효능에 관한 연구가 이루어지고 있다(Choi 등, 2015; Kwon 등, 2010; Lee 등, 2011; Seo, 2018).

본 연구는 강제수영실험을 통해 조직 및 혈중 피로 관련 인자의 변화를 확인하여 산수유의 항피로 효능을 평가하기 위해 실시하였다.

재료 및 방법

시료 추출

본 실험에 사용한 산수유(Corni Fructus)는 옹기한약국(Daegu, Korea)에서 구입한 것을 생약규격집에 맞추어 관능검사한 후 약전규격에 적합한 것만을 정선하여 사용하였으며, 양성대조군으로는 항피로, 면역력 증대 등의 효능이 있어 건강기능식품으로 잘 알려진 홍삼을 사용하였다(Kim 등, 2016; Park, 2020). 산수유 물 추출물과 산수유 30% 에탄올 추출물은 산수유 200 g을 분쇄한 후 증류수 및 30% 에탄올 2,000 mL를 가하여 열탕추출기(DW-790, Dae-woongbio, Chungbuk, Korea)를 이용해 100°C에서 2시간 추출하였으며, 홍삼 추출물은 홍삼 300 g에 증류수 3,000 mL를 가하여 100°C에서 2시간 추출하였다. 얻어진 추출물은 회전감압 추출장치(N-1100, EYELA, Tokyo, Japan)로 농축 후 동결건조기(FD5508, IIShin, Seoul, Korea)로 완전히 건조시켜 파우더를 얻었으며, 실험 직전에 증류수에 희석하여 사용하였다(Table 1).

실험동물

6주령 웅성 ICR mouse(Daehan Biolink Co., Ltd., Chungbuk, Korea)를 구입하여 1주일 동안 실험실 환경에 적응시킨 후 실험을 진행하였다. 동물 사육실 조건은 conventional system으로 온도 22±2°C, 습도 50±5%, 명암주기(light-dark cycle)는 12시간 주기로 조절하였고, 사료(조단백질 18% 이상, 조지방 5.0% 이상, 조섬유 5.0% 이하, 조회분 8.0% 이하, 칼슘 1.0% 이상, 인 0.85% 이상, 칼륨 0.55% 이상, 나트륨 0.25% 이상, 마그네슘 0.15% 이상; NIH-41, Zeigler Bros, Inc., Gardners, PA, USA)와 물을 충분히 공급하였다. 본 실험은 동물실험의 윤리적, 과학적 타당성 검토 및 효율적인 관리를 위하여 대구한의대학교 동물실험 윤리위원회(Institutional Animal Care and Use Committee: IACUC)의 승인(승인번호: DHU2019-127)을 받았다.

Table 1. The yield of Corni Fructus and Ginseng Radix extract (%)

	Latin name	Yield
CFWE	Corni Fructus	25.7
CFEE		8.3
RGE	Ginseng Radix Rubra	27.5

CFWE, water extract of Corni Fructus; CFEE, 30% EtOH extract of Corni Fructus; RGE, water extract of red ginseng.

운동수행 능력 증진 및 항피로 효능 평가

군 분리 및 시료 투여: 실험군은 증류수를 투여한 대조군(Control), 산수유 물 추출물 500 mg/kg을 투여한 군(CFW), 산수유 30% 에탄올 500 mg/kg을 투여한 군(CFE), 홍삼 물 추출물 500 mg/kg을 투여한 군(RG)으로 각 군당 10마리씩 총 4군으로 분류하여 실험을 진행하였다. 시료 투여 시작 전 일주일간 매일 15분씩 수영훈련을 진행한 후 군 분리를 했으며, 시료는 증류수에 녹여 일정한 시간에 7일간 1일 1회씩 존대(zonde)를 이용하여 경구 투여하였다.

강제수영부하실험(forced swimming test, FST): 육체적 피로 유발은 강제수영부하실험을 통해 실시하였다. 강제수영부하실험은 운동으로 인한 피로 및 지구력을 평가하는 대표적인 방법이다(Han, 2020). 투명 아크릴 수조(가로 120 cm, 세로 70 cm, 높이 50 cm)에 증류수(20~22°C)를 25 cm 높이까지 채워 마우스 꼬리가 바닥에 닿지 않게 하였다. 투여 시작 전(0 day)과 투여 마지막 날(7 days)에 마우스 체중의 5% 무게의 납을 꼬리에 달아 수영을 실시하여 수영시간을 측정했으며, 마우스의 코가 수면 아래로 잠길 정도의 수영 상태가 5초간 진행되어 가라앉을 때를 탈진(exhaustion)으로 판정하여 그 시간을 최대 수영시간으로 보고 강제수영부하실험을 종료하였다.

조직 채취 및 분석

산수유 및 홍삼 추출물 투여 7일째 동물을 희생시켜 가자미근(soleus muscle)과 간 조직을 적출하여 즉시 생리식염수에 행구고 각각의 무게를 측정했으며, 이후 가자미근을 균질화하였다. 균질화한 가자미근을 10분간 끓인 후 10분간 원심분리(18,000×g, 4°C)하여 나누어진 상층액 얻었으며, 근육조직의 글리코젠 함량은 시약 세트(Bio Vision, Inc., Milpitas, CA, USA)로 측정하였다.

글리코젠 측정을 위하여 조직샘플과 hydrolysis enzyme를 혼합하여 실온에서 30분간 방치한 후 reaction mix를 첨가하여 상온에서 30분간 방치했으며, 570 nm에서 흡광도(M200 Pro, Tecan, Männedorf, Switzerland)를 측정하여 값을 산출하였다.

혈액 채취 및 분석

7일 동안 약물 투여 후 실험동물의 심장에서 채혈한 혈액을 10분간 원심분리(4,000 rpm, 4°C)하여 혈청을 얻었으며, 혈중 항피로 관련 인자 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT), glutamic pyruvic transaminase(GPT), blood urea nitrogen(BUN), ammonia, lactate dehydrogenase(LDH), D-lactate, triglyceride(TG), free fatty acid(FFA) level을 측정하였다. GOT, GPT, ammonia, TG(Asan, Seoul, Korea)와 FFA, D-lactate(Bio Vision, Inc.) 및 LDH(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)는 시약 세트를 구입하여 측정하였다.

GOT 분석은 기질액과 혈청을 혼합하여 37°C에서 30분

간 반응시킨 후 정색시액을 첨가하여 실온에서 20분 반응시켰다. 그 후 0.4 N 수산화나트륨을 첨가 후 실온에서 10분간 반응시키고 505 nm에서 흡광도를 측정하여 값을 산출하였다. GPT 분석은 기질액을 37°C에서 5분간 방치한 후 혈청을 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시켰다. 그 후 정색시액을 첨가하여 실온에서 20분간 반응시킨 후 4 N 수산화나트륨을 첨가하여 실온에서 10분간 반응시키고 505 nm에서 흡광도를 측정하여 값을 산출하였다. BUN 분석은 혈청과 증류수, 효소시액을 혼합하여 37°C에서 5분간 반응시킨 후 정색시액을 첨가하여 실온에서 10분간 반응시켰으며, 580 nm에서 흡광도를 측정하여 값을 산출하였다. 암모니아 분석은 혈청과 제단백시액을 혼합하여 원심분리(2,500 rpm, 5분)한 후 상층액과 발색시액A, 발색시액B, 발색시액C를 혼합하였으며, 37°C에서 20분간 방치한 후 실온에서 냉각하여 630 nm에서 흡광도를 측정하여 값을 산출하였다. TG 분석은 혈청과 효소시액을 혼합하여 37°C에서 10분간 반응시킨 후 550 nm에서 흡광도를 측정하여 값을 산출하였다. FFA 분석은 혈청과 ACS reagent를 혼합하여 37°C에서 10분간 반응시킨 후 reagent mix preparation을 혼합하여 37°C에서 10분간 반응시켰으며, 570 nm에서 흡광도를 측정하여 값을 산출하였다. D-Lactate 분석은 혈액과 reaction mix를 혼합하여 실온에서 30분간 반응시켰으며, 450 nm에서 흡광도를 측정하여 값을 산출하였다. LDH 분석은 혈청과 LDH substrate mix를 혼합하여 450 nm에서 흡광도를 측정했으며, 37°C에서 30분간 반응시킨 후 450 nm에서 흡광도(M200 Pro, Tecan)를 측정하여 값을 산출하였다.

통계분석

*In vivo*의 수치는 평균과 표준오차로 표시하였으며, SPSS program for windows version 25(SPSS Inc., Chicago, USA)를 사용하여 one-way analysis of variance(ANOVA)

test를 실시한 후, least-significant differences(LSD) test로 사후검증을 실시하여 각 군의 평균 차이에 대한 통계적 유의성을 $P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.001$ 에서 검증하였다.

결과 및 고찰

강제수영부하실험에서 산수유 추출물이 수영시간에 미치는 영향

강제수영부하실험은 운동으로 인한 피로 및 지구력을 평가하는 대표적인 방법이다(Han, 2020). 산수유 및 홍삼 추출물 급여 시작일(0 day)과 종료일(7 days) 후의 강제수영부하실험에서 수영시간을 측정한 결과, 대조군보다 RG군과 CFW군에서 수영시간이 증가하였다. 시료 투여 시작 전 수영시간 측정 결과 대조군 89.71 ± 9.51 s, CFW군 105.39 ± 13.80 s, CFE군 96.57 ± 23.79 s 및 RG군 109.51 ± 25.00 s로 나타났으며, 시료 투여 후 수영시간 측정 결과 대조군 79.28 ± 10.55 s, CFW군 129.88 ± 15.24 s, CFE군 82.48 ± 12.51 s 및 RG군 118.34 ± 26.79 s로 나타났다. 시료 투여 전후의 수영시간 차이의 변화를 비교한 결과 대조군은 12% 감소한 반면, CFW군에서는 23%($P<0.05$) 유의하게 증가하였고 CFE군은 15% 감소하였다(Fig. 1). 본 실험의 결과로 단기간의 산수유 물 추출물 급여는 강제수영시간을 증가시켰으며, 그로 인한 급성 피로에 대한 긍정적인 효과를 나타낼 것으로 사료된다.

강제수영부하실험에서 산수유 추출물이 간 및 근육조직 무게 변화에 미치는 영향

가자미근의 무게는 대조군 0.36 ± 0.003 g, CFW군 0.35 ± 0.009 g, CFE군 0.36 ± 0.008 g 및 RG군 0.35 ± 0.006 g으로 각 그룹 간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않았으며, 간 무게 또한 대조군 1.52 ± 0.02 g, CFW군 1.47 ± 0.02

Fig. 1. Comparative analysis of the swimming possible time associated with treatment on the forced swimming test in mice. The swimming possible time was measured at 0 and 7 days of administration. (A) Comparison of swimming time at 0 and 7 days of extract administration, (B) Swimming time gap between 0 and 7 days of administration. Control, distilled water treated group; CFW, water extract of Corni Fructus 500 mg/kg body weight-treated group; CFE, 30% EtOH extract of Corni Fructus 500 mg/kg body weight-treated group; RG, water extract of red ginseng 500 mg/kg body weight-treated group. All data are expressed mean $\pm$ SEM (n=10). Significance: * $P<0.05$ vs. Control mice.

Table 2. Soleus muscle and liver weight on the forced swimming test in mice (g)

Groups	Soleus muscle	Liver
Control	0.36±0.003 ¹⁾	1.52±0.02
CFW	0.35±0.009	1.47±0.02
CFE	0.36±0.008	1.47±0.01
RG	0.35±0.006	1.48±0.03

Groups are the same as Fig. 1.

¹⁾All data are expressed mean±SEM.

g, CFE군 1.47±0.01 g 및 RG군 1.48±0.03 g으로 그룹 간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않았다(Table 2).

강제수영부하실험에서 산수유 추출물이 근육의 글리코겐 함량에 미치는 영향

신체 피로 발생의 주요 원인은 에너지 부족과 관련이 있으며, 해당 작용의 주원료인 글리코겐은 간과 근육에 저장되어 에너지 생산을 위한 자원으로 이용된다. 글리코겐 고갈 및 저혈당으로 인한 생화학적·생리적 변화는 피로의 원인이 되며, 부산물로 젖산을 발생시켜 근육통 및 근육 손상을 발생시킨다(Cho 등, 2017; Park 등, 2020). 가자미근조직 내 글리코겐은 대조군 0.64±0.06 mg/g, CFW군 0.88±0.11 mg/g, CFE군 0.72±0.06 mg/g 및 RG군 0.92±0.09 mg/g으로 대조군 대비 CFW군은 36%, CFE군은 13% 증가해 CFE군보다 CFW군에서 글리코겐 손실이 적게 나타난 것을 확인하였다(Fig. 2). 본 실험의 결과 홍삼 추출물에서 유의적인 글리코겐 증가가 나타났는데, 이는 산수유 추출물에 비해 홍삼의 높은 당 함량에 의한 것으로 사료된다(Jeung 등, 2019; Kang 등, 2013).

강제수영부하실험에서 산수유 추출물이 혈중 간 손상지표에 미치는 영향

GOT 및 GPT는 주로 간세포 내에서 존재하다가 외부로 인한 자극 및 스트레스를 받게 될 경우 혈중으로 유출된다고 알려져 있다. 혈중 GOT 및 GPT의 함량이 높은 경우 간세포가 손상 및 자극으로 인해 활성화된 GOT 및 GPT가 혈중으로 유출되었다고 판단할 수 있으며(Kang 등, 2014), Lee 등(2015)의 연구에서는 운동을 수행하지 않은 군보다 운동을 수행한 군에서 GOT와 GPT의 수치가 높게 나타났다. 이에 본 실험에서 간 손상지표인 GOT 및 GPT 수치를 측정하였다. GOT 측정 결과 대조군 40.59±4.62 IU/L, CFW군 30.25±3.74 IU/L, CFE군 34.95±3.89 IU/L 및 RG군 33.36±5.29 IU/L로써 대조군 대비 CFW군에서 25%($P<0.05$) 유의하게 감소했으며, CFE군에서는 13% 감소하는 경향이 나타났다. GPT 측정 결과 대조군 6.54±0.43 IU/L, CFW군 3.82±0.41 IU/L, CFE군 4.15±0.47 IU/L 및 RG군 4.62±0.42 IU/L로써 대조군보다 CFW군에서 42%($P<0.001$) 유의하게 감소하여 대조군 절반의 수치를 나타냈으며, CFE군은 37%($P<0.01$) 유의하게 감소하였다(Fig. 3).

Fig. 2. Glycogen level on the soleus muscle tissues. Groups are the same as Fig. 1. All data are expressed mean±SEM (n=10). Significance: * $P<0.05$ vs. Control mice.

실험 결과, 단기간의 산수유 물 추출물의 급여는 강제수영과 같은 외적 스트레스 자극에 의한 GOT 및 GPT의 증가를 조절하여 간세포의 기능에 영향을 미칠 것으로 사료된다.

강제수영부하실험에서 산수유 추출물이 혈중 신장 손상지표에 미치는 영향

운동내성과 밀접한 상관관계가 있다고 알려져 있는 요소질소는 단백질 대사의 최종 산물으로써 간에서 형성되어 혈액을 통해 신장으로 운반된다. BUN은 인체 내의 지방으로부터 충분한 에너지를 얻을 수 없을 경우 단백질과 아미노산의 이화작용으로 과도한 운동 후에 증가한다고 알려져 있다(Han, 2020). BUN 수치를 측정한 결과, 대조군 18.11±0.28 mg/dL, CFW군 17.01±0.34 mg/dL, CFE군 17.08±0.37 mg/dL 및 RG군 17.60±0.22 mg/dL로써 대조군보다 CFW와 CFE군에서 6%($P<0.05$) 유의하게 감소하였다(Fig. 4). 본 실험 결과로 산수유 물 추출물을 급여할 경우 강제수영과 같은 고강도 운동에 의한 단백질 및 아미노산의 분해 증가에 따른 BUN 및 요소질소의 생성을 감소시킴으로써 신장 기능 부하 완화에 영향을 미칠 것으로 판단된다.

강제수영부하실험에서 산수유 추출물이 혈중 암모니아 생성에 미치는 영향

암모니아는 지구성 운동을 수행하는 근육에서 생성되며 주로 단백질의 이화작용에 의해 발생한다. 암모니아는 생체 내에서 독성 효과를 가지며 미토콘드리아의 산화를 감소시키고, 근육세포 내에 축적된 암모니아는 구심성 신경을 자극한다. 또한, 크랩스 회로와 당신생을 저해하여 많은 젖산의 생성을 유발하고 글리코겐을 저하시켜 근 피로를 유발하는 원인이 된다고 알려져 있으며, 중추신경계의 기능과 피로에도 부정적 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Jung 등, 2009; Kim 등, 2016). 암모니아 수치를 측정한 결과 대조군 128.03±6.56 µg/dL, CFW군 88.50±4.72 µg/dL, CFE군 100.85±5.61 µg/dL 및 RG군 106.85±6.19 µg/dL로써 대조군 대

Fig. 3. Glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) and glutamic pyruvic transaminase (GPT) level in serum. (A) GOT level in serum, (B) GPT level in serum. Groups are the same as Fig. 1. All data are expressed mean±SEM (n=10). Significance: * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ vs. Control mice.

Fig. 4. Blood urea nitrogen (BUN) level in serum. Groups are the same as Fig. 1. All data are expressed mean±SEM (n=10). Significance: * $P<0.05$ vs. Control mice.

Fig. 5. Ammonia level in serum. Groups are the same as Fig. 1. All data are expressed mean±SEM (n=10). Significance: * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ vs. Control mice.

비 CFW군 31%($P<0.001$), CFE군 21%($P<0.01$), RG군 17% ($P<0.05$) 유의하게 감소하였다(Fig. 5). 본 실험 결과 산수유 물 추출물 급여는 암모니아 생성을 효과적으로 감소시켰다. 이는 산수유 물 추출물이 암모니아 생성을 효과적으로 감소시킴으로써 젖산과 같은 피로 유발 증상을 완화한 것으로 판단된다.

강제수영부하실험에서 산수유 추출물이 혈중 피로요소에 미치는 영향

많은 연구를 통해서 강제수영과 같은 지속적인 운동을 수행했을 경우 운동을 수행하지 않은 동물보다 LDH, D-lactate, FFA 등의 피로 관련 지표에 영향을 끼쳐 피로를 유발하는 것으로 밝혀졌다(Han, 2020; Sung 등, 2020). LDH는 에너지 대사 측면에서 pyruvic acid가 D-lactate로 전환하는 데 관여하는 촉매 효소로 알려져 있다. 평소 혈중 LDH의 활성은 낮게 나타나지만 과도한 운동을 할 경우 LDH의 활성이 증가하고, pyruvic acid가 D-lactate로 전환되는 것을

촉매하여 신체의 피로 및 근육의 피로 증세가 나타나게 된다(Jung 등, 2008; Kim 등, 2010). 혈액에서 혈청을 분리하여 혈중 LDH 및 D-lactate 수치를 측정하였다. LDH 측정 결과 대조군 7.96 ± 0.87 mU/mL, CFW 12.99 ± 0.69 mU/mL, CFE 9.58 ± 0.70 mU/mL 및 RG군 10.38 ± 0.86 mU/mL로 대조군보다 CFW군에서 63%($P<0.001$) 유의하게 증가했으며, CFE군에서 20%, RG군에서 30% 높게 나타났다(Fig. 6A).

D-Lactate 측정 결과 대조군 1.07 ± 0.01 nmol/μL, CFW 1.01 ± 0.02 nmol/μL, CFE 1.04 ± 0.03 nmol/μL 및 RG군 1.06 ± 0.02 nmol/μL로 대조군보다 CFW군에서 6%($P<0.05$) 유의하게 감소했으며, CFE군에서는 3% 감소하였다(Fig. 6B). Jung 등(2008)의 연구에서 격심한 운동 후 단시간 내에는 혈중 D-lactate를 증가시키고 LDH의 활성은 감소한다고 하였으며, 본 실험 결과에서도 산수유 물 추출물의 급여는 대조군보다 CFW군에서 LDH의 활성이 높게 나타나고 D-lactate의 생성을 감소시켰다.

Fig. 6. Lactate dehydrogenase (LDH) and D-lactate level in serum. (A) LDH level in serum, (B) D-Lactate level in serum. Groups are the same as Fig. 1. All data are expressed mean±SEM (n=10). Significance: * $P<0.05$, *** $P<0.001$ vs. Control mice.

Fig. 7. Triglyceride (TG) and free fatty acid (FFA) level in serum. (A) TG level in serum, (B) FFA level in serum. Groups are the same as Fig. 1. All data are expressed mean±SEM (n=10). Significance: ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ vs. Control mice.

강제수영부하실험에서 산수유 추출물이 혈중 지질에 미치는 영향

지방은 주로 TG 형태로 지방세포나 골격근 섬유에 저장되어 있다가 글리세롤과 FFA로 분해된다. FFA는 운동, 기아, 스트레스 등에 의해 민감하게 증가하며 전환이 빨라 중요한 에너지원으로 이용된다(Kim 등, 2009).

혈액에서 혈청을 분리하여 혈청 내의 TG 및 FFA 수치를 측정하였다. TG 측정 결과 대조군 107.71 ± 4.44 mg/dL, CFW 89.82 ± 2.50 mg/dL, CFE 90.51 ± 1.81 mg/dL 및 RG군 94.16 ± 4.24 mg/dL로 대조군보다 CFW 17%($P<0.01$), CFE군 16%($P<0.01$), RG군 13%($P<0.01$) 유의하게 감소하였다. FFA 측정 결과 대조군 0.63 ± 0.03 nmol/μL, CFW 0.49 ± 0.03 nmol/μL, CFE 0.52 ± 0.03 nmol/μL 및 RG군 0.47 ± 0.02 nmol/μL로 대조군보다 CFW군에서 22%($P<0.001$) 유의하게 감소하였으며, 또한 CFE군에서 19%($P<0.01$), RG군에서 26%($P<0.001$) 유의하게 감소하였다(Fig. 7). 실험 결과 산수유 급여는 TG를 글리세롤과 FFA로의 분해를 증가시켜 에너지원을 생성해 운동 향상 및 항피로 효과에 영향을 미치는 것으로 사료된다.

요 약

본 실험에서는 추출방법을 달리한 산수유 물 추출물(CFW)과 산수유 30% 에탄올 추출물(CFE)을 이용해 강제수영부하실험을 실시하여 산수유 추출물의 항피로 효과를 확인하였다. 강제수영부하실험 종료 후 수영시간 변화를 확인하였으며, 혈청을 이용하여 간 손상지표, 신장 손상지표 및 피로 관련 지표를 측정하였다. 강제수영부하실험을 실시하여 시료 투여 전과 후의 수영시간을 측정한 결과, CFW군에서 0 day 대비 7 days에서 23% 증가한 반면 CFE군에서는 15% 감소하였다. 강제수영부하실험에서 CFW군에서 혈중 GOT, GPT 및 BUN 수치가 유의하게 감소하였으며, CFE군에서는 GPT와 BUN 수치가 유의하게 감소하였다. 항피로 관련 지표를 측정한 결과 CFW와 CFE 투여는 가자미근의 글리코겐 수치를 증가시켰으며, 특히 CFW 투여는 고강도 운동으로 증가한 LDH에 의해 D-lactate의 농도가 증가하는 것을 유의하게 억제하여 근피로를 경감시켰다. 또한, CFW군과 CFE군에서 혈중의 암모니아 수치가 유의하게 감소한 것을 확인하였으며, CFW 및 CFE 투여는 고강도 운동으로 인한

지방 소모로 TG 및 FFA의 수치를 유의하게 감소시켰다. 이상의 결과를 종합해보면 산수유 추출물은 항피로 효과를 나타냈으며, 특히 산수유 30% 에탄올 추출물보다 산수유 물 추출물에서 더 뛰어난 결과를 나타냈다. 따라서 산수유 물 추출물은 피로 관련 인자를 조절하여 피로 개선 효과를 나타내는 것으로 나타났으며, 이는 피로 개선을 위한 주요 소재가 될 것이라 판단된다.

감사의 글

본 연구는 경상북도와 경산시가 지원한 2020년 약용작물을 활용한 바이오 메디푸드 기술개발 사업과 2020년도 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단(No. 2018 R1A5A2025272)의 지원을 받아 수행된 연구임.

REFERENCES

- Cho HD, Kim JH, Lee JH, Hong SM, Yee ST, Seo KI, et al. Anti-fatigue effect of a cucumber vinegar beverage on rats after high-intensity exercise. *Korean J Food Sci Technol*. 2017. 49:209-214.
- Choi JY, Song SY, Lee HH. Antibacterial and anti-inflammatory activity of Corni Fructus ethanol extract in *Propionibacterium acnes*. *Kor J Aesthet Cosmetol*. 2015. 13:623-630.
- Gu YR, Hong JH. Antioxidant and biological activities of untreated and steam-treated *Corni fructus* extracts. *Korean J Food Preserv*. 2018. 25:366-374.
- Han BK. Antifatigue effects of soluble rice protein. *Food Industry and Nutrition*. 2020. 25:38-44.
- Jeung JS, Kim HM, Kang SW, Kim EH, Son BG, Park NJ. Quality characteristics of dried *Sansuyu* (Corni Fructus) fruit by pre-drying, blanching temperature and time. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2019. 48:335-342.
- Jung HS, Kim EY, Shim ES, Lee HS, Moon EJ, Jin ZH, et al. Effects of *Rhodiola rosea* (KH101) on anti-fatigue in forced swimming rats. *Korean J Orient Int Med*. 2008. 29:922-938.
- Jung SY, Jeon HR, Lee SC, Ryu SP, Kim HK, Kim YB. The effects of a pyroligneous liquor on ammonia, glycogen and exercise performance in endurance training rat. *The Korean Journal of Physical Education*. 2009. 48:539-544.
- Kang BH, Lee KJ, Hur SS, Lee DS, Lee SH, Shin KS, et al. Ginsenoside derivatives and quality characteristics of fermented ginseng using lactic acid bacteria. *Korean J Food Preserv*. 2013. 20:573-582.
- Kang MJ, Hwang CR, Lee SJ, Shin JH. Antifatigue effect of eel and plant mix extracts during aerobic running training in Sprague Dawley rats. *J Life Sci*. 2014. 24:728-736.
- Kim BH, Choo JH, Ju SB. The effect of a broccoli extracts intake on blood fatigue factor during muscular resistance training. *Korean J Sport*. 2016. 14:601-609.
- Kim SS, Kim HJ, Lee SC, Yun SJ, Pack SH. Effect of sport massage on the blood lactate and LDH and glucose in recovery after exercise. *Korean J Aesthetic Cosmetol*. 2010. 8:115-124.
- Kim YA, Jin SW, Kim SM, Lee GH, Kim SJ, Lee WL, et al. Anti-fatigue effect of Kyung-Ok-Ko. *Kor J Pharmacogn*. 2016. 47:258-263.
- Kim YK, Lim HH. Effects of *BojungikgitanggaOgapi* (*Buzhongyiqitangjiawujiapi*) on the recovery of fatigue in the swimming loaded rats. *J Oriental Rehab Med*. 2002. 12(2):48-60.
- Kim YS, Ryu BH, Kim JS. Effect of *Wongisaengmaek-san* extract on antioxidative and anti-fatigue activity. *Korean J Orient Int Med*. 2009. 30:94-106.
- Kwon SH, Kwon SJ, Kim JY, Kang KS, Shim KH, Lee MK, et al. Antitumor activity of Corni Fructus ethanol extract in sarcoma-180 cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2010. 39:960-965.
- Kwon SH, Yang HS, Kim JY, Park KW, Shon MY, Kang KS, et al. Biological activities of ethanol extract from *Corni fructus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2009. 38:287-291.
- Lee SJ, Kim A, Lee JH, Kim MH, Lee BS, Jee YT, et al. Effects of minerals added to medicinal plant extracts on alcohol-induced oxidative stress and alcohol metabolism in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2011. 40:393-400.
- Lee SJ, Oh SJ, Kang MJ, Shin JH, Kang SK. Antioxidant and anti-fatigue effects of abalone (*Haliotis discus hannai*) composites containing natural plants. *Korean J Food Preserv*. 2015. 22:598-606.
- Na CS, Hong CY, Na DS, Kim JB, Yoon SY, Lee SB, et al. Hotwater extract of *Hovenia dulcis* peduncle improves exercise performance and anti-fatigue effect in mice. *Kor J Pharmacogn*. 2013. 44:83-90.
- Park NR, Lee YJ, Lee EB, Yang DH, Woo CH, An HD, et al. Effects of *Dioscoreae Rhizoma* on exercise practice ability and blood fatigue variable factor. *J Korean Med Rehabi*. 2020. 30:37-46.
- Park SH, Ha SM, Ha MS, Baek YH. Effects of *Cornus officinalis* extract on blood fatigue substance, muscle damage and liver function during winter training in middle school male soccer players. *J Korean Oil Appl Soc*. 2017. 34:827-838.
- Piper BF, Lindsey AM, Dodd MJ. Fatigue mechanisms in cancer patients: developing nursing theory. *Oncol Nurs Forum*. 1987. 14:17-23.
- Seo YM. Antioxidative effects of *Cornis fructus* extract on chromium trioxide toxicity. *Korean J Clin Lab Sci*. 2018. 50:170-176.
- Song TC, Han D, Lee CH, Kim YE, Kim HY. Effect of dietary supplementation of terrapin or snake extract on exercise performance in rats. *Korean J Food Sci Technol*. 2005. 37:214-220.
- Sung YY, Yuk HJ, Kim DS. Comparison of ingredient quantities and anti-fatigue effects of Jakyakgamcho-Tang according to extraction solvent. *Kor J Herbol*. 2020. 35:31-38.