

Effect of Alcohol Detoxification Beverage that Contained *Bulnesia sarmienti* on Alcohol-metabolizing Enzymes and Antioxidant Enzyme Activities

Ae-Kyung Lim¹, Mee-Jung Jung², Jae-Wook Lee¹, Joo-Heon Hong³,
Kil-Soo Kim⁴, Seok-Bang Jung⁵ and Dae-Ik Kim^{1*}

¹Daegu Bio Industry Center, Daegu 704-801, Korea

²Department of Food Science & nutrition, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

³Department of Food Science and Technology, Catholic University of Daegu, Gyeongsan 712-702, Korea

⁴College of Veterinare Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

⁵Lucky medicine company of limited, Daegu 702-701, Korea

Bulnesia sarmienti 를 함유한 숙취해소 음료가 알코올대사 및 항산화 효소활성에 미치는 영향

임애경¹ · 정미정² · 이재욱¹ · 홍주현³ · 김길수⁴ · 정석방⁵ · 김대익^{1*}

¹대구테크노파크 바이오산업지원센터, ²부경대학교 식품영양학과, ³대구가톨릭대학교 외식식품산업학부,
⁴경북대학교 수의과대학, ⁵(주)럭키약품

Abstract

This study was carried out to investigate the effect of a beverage that contained *Bulnesia sarmienti*(BSP, 2.5%) on rats to which alcohol was administered. The treatment of the BSP group reduced the serum alcohol concentration to 52%, compared to 47% in the positive control(PC) group. Similar patterns were observed in the enhancement of alcohol dehydrogenase(ADH), acetaldehyde dehydrogenase(ALDH), alkaline phosphate(ALP), alanine aminotransferase(ALT), asparate aminotransferase(AST), total cholesterol(CHOL), γ -glutamyltrasferase(GGT), glucose(GLU), total bilirubin, and total protein(TP) in the serum. Also, in the BSP group, the lipoxidase(LPO), glutathion-S-transferase(GST), XO, catalase(CAT), and superoxide dismutase(SOD) were significantly reduced, compared to the CO and PC groups in the liver. The glutathione(GSH) activity increased in the BSP group, though. These results indicate that *Bulnesia sarmienti* extract can enhance alcohol metabolism activity.

Key words : *Bulnesia sarmienti*, alcohol dehydrogenase, acetaldehyde dehydrogenase, alkaline phosphate, alanine aminotransferase, asparate aminotransferase

서 론

Bulnesia sarmienti (Guaiacwood)는 Zygophyllaceae과에 속하는 허브의 일종으로 예부터 남아메리카 대륙의 원주민들은 대사성질환 치료제로 사용하였으며, 항산화, 항염증 그리고 항균활성에 뛰어나다고 알려져 있다(1). 또한 최근에 연구된 자료에 따르면, 이 식물의 추출물은 항암 활성이 뛰어난 뿐만 아니라 물 추출물의 경우 항혈소판 그리고 항혈전제에도 효과가 있음을 확인할 수 있었다(2). *B.*

*sarmienti*의 활성 성분으로는 (+)-catechin, (-)-epigallocatechin, (-)-epicatechin, 그리고 (-)-epicatechin gallate가 있으며(3), 이들 화합물들은 항산화 활성 및 항염증 그리고 뛰어난 항암 활성이 있는 성분으로도 알려져 있다(1,3,4). 그러나 상대적으로 이 식물에 대한 연구가 부족한 것은 현실이다.

체내에서 알코올은 알코올 가수분해효소(alcohol dehydrogenase, ADH)에 의하여 간에서 산화적으로 대사가 이루어져 아세트알데히드를 생산하며, 대사산물인 아세트알데히드는 비특이적인 알데히드 가수분해 효소(aldehyde dehydrogenase, ALDH)에 의해 산화되어 acetic acid로 되고 일부는 노나 CO₂로 배설된다(5,6). 알코올은 섭취량에 따라 간 대사에

*Corresponding author. E-mail : crs3814@hanmail.net
Phone : 82-53-602-1885, Fax : 82-53-602-1898

여러 가지 영향을 미치는 것으로 알려져 있는데 특히 알코올 그 자체보다는 산화과정에서 생성되는 중간 생성물인 아세트알데히드와 NADH가 간세포에 손상을 가져오게 되어 다양한 질병을 유발한다(7). 또한 알코올의 과량 섭취는 superoxide dismutase (SOD)의 활성과 지질과산화의 원인이 되어 간 손상을 유발하며, alanine aminotransferase (ALT)와 aspartate aminotransferase (AST)의 활성을 높이게 된다. 그로 인해 알코올 분해산물로 생성된 아세트알데히드는 뇌로 전해져 많은 유해화합물로 바뀌어 맥박의 증가나 발한, 홍조, 오심, 구토 등의 증상을 초래할 수 있다. 간에서의 알코올 대사효소는 ADH, ALDH의 활성에 영향을 주는 요인들에 의해 조절된다(8-10).

따라서 본 연구에서는 *B. sarmienti*의 추출물을 대상으로 항산화 및 알코올 대사에 미치는 영향을 알아보기 위해 알코올을 투여하지 않은 정상군(NO), 알코올을 투여한 대조군(CO), 알코올과 함께 기존 시판되는 숙취 음료 투여군(PC), 그리고 *B. sarmienti* 추출물이 함유된 음료군(BSP) 및 음료에서 *B. sarmienti* 만 뿐 시료군(NBS)을 대상으로 알코올 농도, ALT, AST의 변화, ADH, ALDH 그리고 항산화 효소 활성을 측정하여 숙취 해소로서의 기능성 식품 가능성을 확인하였다.

재료 및 방법

시료 및 조제

실험에 사용된 *Bulnesia sarmienti* (*B. sarmienti*)는 줄기 껍질(목피)로서 (주)럭키약품으로부터 건조된 가루형태로 공급받아 9 mg/mL(0.9%, w/v) 비율로 증류수를 가하여 압력식 추출기로 100°C에서 3시간동안 추출 후 filter paper (Whatman, No.2)로 여과하였다. 여과한 추출액은 40 °Brix로 농축한 다음 예비실험을 통해 6, 12, 18%의 농도 중 최종적으로 6%로 농도를 결정하여, 실험동물에 투여할 투여농도(6%; 100 mg/kg)에 맞추어 음료베이스를 혼합하여 제품을 제조한 후 이것을 실험에 사용하였다.

음료의 성분 및 배합 비율

배합음료에는 *B. sarmienti* 농축액(37BX, 2.5%), 헛개나 무농축액(65BX, 1.0%), 오리나무농축액(60BX, 0.8%), 미배아대두발효추출물(GMT-KDS, 0.3%), 벌꿀(허니스티 잡화 꿀, 2.0%), 사과농축액(삼진 사과농축액, 72BX, 1.0%), 액상과당(영진 액상과당, 8.9%), 비타민C(이루마TF 비타민 C, 0.05%), 구연산(이루마TF 구연산, 0.14%)이 함유되어 있다.

실험동물

실험동물은 생후 7주령 수컷 흰쥐(Sprague Dawley)를

구입하여 고형사료와 물을 공급하면서 일주일간 적응시킨 후 평균체중 281±10.3 g인 것을 사용하였다. 음수는 자외선으로 멸균된 물과 사료를 자유롭게 섭취시키며, 실험기간 동안 사육환경은 온도 20-22°C, 상대습도 50±1%, 환기횟수 10~15회/hr, 명암주기 12시간 간격, 조도 150~300 lux로 유지하였다.

실험동물의 설계

급성 알코올중독을 유발하기 위하여 ethanol을 체중 kg당 4 g수준으로 1회 경구투여 하였다. 실험군은 Table 1에서와 같이 정상군(NO군), 에탄올 대조군(CO군), 기존의 타사제품을 투여한 양성대조군(PC군), *B. sarmienti* 추출물 함유한 제품투여군(BSP군), *B. sarmienti* 추출물을 제외한 제품 base 투여군(NBS군)으로 총 5그룹이며, 각 군당 7마리씩 총 35마리를 실험에 사용하였다. 에탄올 대조군은 *B. sarmienti* 추출물 함유 제품 대신 동일한 용량의 증류수를 10 mL/kg씩 경구 투여하였다. 최종 투여가 완료된 후 흰쥐의 안외정맥총(Orbital plexus)으로부터 항응고제가 첨가된 모세관 튜브(Heparinized microcapillary tube)를 이용하여 1회에 약 1 mL씩에서 채혈하여, 채혈한 혈액은 응고시킨 후 600×g에서 15분간 원심분리로 혈청을 분리하여 알코올 농도측정에 사용하였다.

Table 1. Experimental design of animals

		(n=7)
Groups	Experimental group	
NO	Normal Control	
CO	Ethanol(4g/kg) treated group	
PC	Ethanol(4g/kg)+ yeomyong 808 treated group	
BSP	Ethanol(4g/kg)+ <i>Bulnesia Sarmienti</i> product treated group	
NBS	Ethanol(4g/kg)+ product base treated group	

혈액 중 알코올농도, 알코올탈수소효소(ADH) 및 알데히드탈수소효소(ALDH) 농도 측정

혈액 중 알코올 농도는 에탄올 분석 alcohol kit (Roche-BM., Switzerland)를 이용하여 측정하였다. 혈액 중 알코올 탈수소효소(ADH)농도는 Vasopressin Direct (Buhlmann, Switzerland)를 이용하여 측정하였다. 혈액 중 아세트알데히드(ALDH) 농도 측정은 acetaldehyde Cat.no.668613 (BOEHRINGER MANNHEIM, Germany)를 사용하여 측정하였다.

혈중 지질대사 및 혈장 생화학적 검사

분리한 혈장은 자동생화학분석기(KONELAB 20XT, Finland)를 이용하여 ALT (alanine amino transferase-GPT), AST (aspartate amino transferase-GOT), ALP (Alkaline Phosphatase), GLU (Glucose), BUN (Blood Urea Nitrogen),

CHOL (total cholesterol), TP (Total Protein), ALB (Albumin), BT (Bilirubin Total), r-GT (Gamma-Glutamyl Transpeptidase) 를 측정하였다.

간조직 중 GSH 및 TBA reactive substances (TBARS) 함량 평가

간 조직은 혈액을 제거하고 일정량을 칭량한 후 4배량의 0.25 M sucrose 용액을 넣고 glass teflon homogenizer를 이용하여 20% (w/v) 마쇄 균질액을 만들었다. 이 균질액을 600 ×g에서 10분간 원심 분리하여 핵 및 미마쇄 부분을 제거한 상층액을 10,000 ×g에서 20분간 원심분리한 후 가라앉은 mitochondria 분획과 상층액인 post-mitochondria (PMF) 분획을 얻어 효소활성 측정 시료로 사용하였다. TBARS 함량은 Ohkawa 등의(11) 방법에 따라 측정하였다. 효소 시료 속의 과산화지질을 산성조건 하에서 2-thiobarbituric acid 용액과 가열 반응시켜 생긴 TBARS의 흡광도를 532 nm에서 측정하였다. TBARS 함량은 단백질 mg 당 nmole로 표시하였다. 환원형 GSH 함량은 Ellman (12)의 방법에 따라 측정하였다. 조직 마쇄균질액 일정량에 4% sulfosalicylic acid 0.5 mL를 넣고 원심분리한 후, 상층액 일정량을 0.1 mM 5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoic acid) 함유 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 8.0)에 넣고 반응시켜 생성된 p-nitrophenol을 측정하였다. 환원형 GSH 함량은 단백질 mg당 μmole로 표시하였다.

항산화 효소 활성 측정

간 1 g을 생리식염수로 씻어서 여과지로 물기를 제거하고, 0.25 M sucrose 용액을 가하여 빙냉하에서 homogenizer로 분쇄하였다. 이것을 600 ×g에서 15분간 원심분리하였고, 세포질 분획(cytosolic fraction)을 glutathione sulfuer transferase (GST), xanthion oxidase (XO), catalase (CAT), 그리고 superoxide dismutase (SOD)의 효소 시료로 사용하였다.

간 조직 중 GST의 활성도는 Habig 등(13)의 방법에 따라 측정하였다. 0.12 M 2,4-CDNB (1-Chloro-2,4- dinitrobenzene, Sigma) 25 μL과 0.1 M glutathione 30 μL을 기질로 하여 0.1 M phosphate buffer 2,935 μL, 효소원 10 μL와 섞은 후 25°C에서 10분간 반응시켜 생성된 2,4-dinitrobenzene-glutathione conjugate 양을 340 nm에서 측정하였다. 활성도 단위는 효소 반응액 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분간 반응하여 생성시킨 conjugate의 양을 nM로 나타내었다.

XO의 활성도는 xanthine을 기질로 사용하여 30°C에서 20분간 반응시켜 생성된 요산을 292 nm에서 흡광도를 측정하는 Della corte와 Stürpe (14)의 방법에 준하여 측정하였다. 활성도 단위는 효소액 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분 동안 반응하여 기질인 xanthine으로부터 생성된 uric acid의 양을 nM로 표시하였다.

SOD의 활성도는 hematoxylin 자동산화의 억제정도를 관

찰하는 Martin 등(15)의 방법에 따라 0.1 mM EDTA가 함유된 50 mM 인산 완충액(pH 7.5)에 10 μM hematoxylin 및 효소액을 가해 25°C에서 반응시켜 생성된 hematein을 560 nm에서 측정하여 효소의 활성도를 산정하였다. 활성도 단위는 효소액을 넣지 않은 반응액 중의 hematoxylin 자동산화율 50% 억제하는 정도를 1 unit로 하여 단백질 1 mg이 1분 동안 반응한 unit로 표시하였다.

CAT 활성도는 hydrogen peroxide (H₂O₂)를 기질로 하여 환원되는 정도를 240 nm에서 흡광도를 읽고 분자흡광계수 (E=0.04 mM⁻¹ cm⁻¹)를 이용하여 활성을 산출하는 Aebi (16)의 방법에 준하여 측정하였다. 1 M Tris-HCl, 5 mM EDTA (pH 8.0) 50 μL, 30% H₂O₂ 1,430 μL, 효소원 20 μL를 섞은 후, 240 nm에서 20초 간격으로 3분간 측정하였다. 활성도 단위는 간조직 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분 동안 반응하여 감소되는 H₂O₂의 양을 nmole로 표시하였다.

조직 중 단백질 함량은 Lowry 등(17)의 방법에 따라 bovine serum albumin을 표준물질로 사용하여 측정하였다.

통계처리

모든 실험결과는 평균±표준오차로 나타내었으며, 각 그룹 및 평균간 통계적 유의성은 SPSS 10.0 (SPSS Inc, IL, USA)를 이용하여 one-way ANOVA 분석 후 p<0.05 수준에서 Duncan's multiple test에 의해 검정하였다.

결과 및 고찰

B. sarmienti 추출물 음료의 혈중 알코올 분해능 및 ADH, ALDH 활성에 미치는 영향

B. sarmienti 추출물 함유 음료의 숙취해소 효과를 살펴보기 위하여 흰쥐를 대상으로 급성 알코올 중독량은 체중 kg당 4 g으로 계산하여 알코올을 경구 투여하여 3시간이 지난 후 그 결과를 Table 2에 나타내었다. 우선 혈중 알코올 농도를 살펴보면, 알코올을 투여하지 않은 NO군에 비해 알코올을 투여한 모든 군(CO, PC, BSP and NBS)에서 시간이 지남에 따라 혈중 알코올 농도가 증가함을 확인할 수 있었다. 그러나 타사 제품을 투여한 PC군과 *B. sarmienti* 추출물 함유 제품군인 BSP군 그리고 *B. sarmienti* 추출물을 제외한 제품군인 NBS군은 알코올만을 투여한 CO군에 비해 44.27~52.32%의 낮은 체내 알코올 함량 수치를 보였다. 특히, BSP군의 혈중 알코올 함량은 70.33±2.35 mg/dl plasma로 타사 제품군 PC군과 NSB군에 비해 4.41~8.05% 낮은 수치를 보여 숙취 개선에 가장 좋은 것으로 확인 되었다. 갈근을 대상으로 한 숙취해소 실험에 있어서(10) 갈근 투여시 알코올만 섭취시킨 대조군에 비해 17%의 혈중 알코올 함량이 낮게 나왔다. 하지만 우리가 실험한 *B. sarmienti* 추출물 함유 제품 BSP군의 경우에 있어서는 알코올만 함유

시킨 대조군 CO에 비해 혈중 알코올 함량이 무려 50% 이상의 알코올 함량이 감소됨을 확인할 수 있었다. 이상과 같은 결과를 토대로 BSP 군이 뛰어난 알코올 분해 효력을 가지고 있음을 확인할 수 있었다.

Table 2. The changes of alcohol contents, ADH and ALDH concentrations after administration of ethanol in SD rat

Group	Alcohol content (mg/dl plasma)	ADH (pg/dl plasma)	ALDH (mg/dl plasma)
NO	1.50±0.32 ^a	102.28±4.25 ^{ab}	0.13±0.02
CO	147.50±13.03 ^c	87.90±5.40 ^a	0.52±0.03
PC	76.83±3.39 ^b	106.36±5.01 ^b	0.46±0.04
BSP	70.33±2.35 ^b	112.75±5.23 ^b	0.32±0.01
NBS	82.20±5.73 ^b	98.73±3.33 ^{ab}	0.38±0.02

The values are mean±SD of 7 rats.

^{a,b,c}Values within a column with different superscripts letters are significantly different each other groups at p<0.05.

섭취된 알코올의 분해를 일차적으로 담당하는 체내 알코올 분해 효소인 알코올 탈수소효소(ADH)의 농도를 Table 2에 나타내었다. NO군에 비해 CO군 효소의 농도는 알코올 투여 후 급격히 떨어짐을 확인할 수 있었다. 그러나 PC군과 BSP군 그리고 NBS 군은 알코올 투여 후에도 효소 농도에 큰 변화가 없는 것으로 나타났다. 특히 BSP군의 효소 농도는 112.75±5.23 pg/dl plasma로 가장 높게 나타나 앞에서 말한 혈중 알코올 함량이 낮아지며, 그 결과 알코올 분해 능에서 뛰어난 것을 확인할 수 있었다. Cho (18)등이 제시한 논문에서도 알코올 분해효소인 ADH 함량이 촉진되면 알코올 대사를 촉진시켜 혈중 알코올 농도를 감소시킨다고 하였다. 이와 같은 결과를 바탕으로 *B. sarmienti* 추출물은 뛰어난 숙취해소제로서 개발 가능하리라 생각된다.

혈중 알데히드탈수소효소(ALDH) 농도에 있어서는 알코올을 투여한 모든 그룹에서 ALDH 농도가 NO 군에 비하여 각각 CO군은 0.52±0.03 mg/dl plasma, PC군은 0.46±0.04 mg/dl plasma, BSP군은 0.32±0.01 mg/dl plasma, NBS군은 0.38±0.02 mg/dl plasma로서 농도가 높았다. 하지만 알코올을 투여하였지만 숙취개선 샘플 처리에 의하여 PC군, BSP군, NBS군의 ALDH의 농도는 낮아졌으며, 그 중 알코올 대조군 CO군의 ALDH 농도(100%)에 비하여 BSP군이 61.5%로 가장 낮은 숙취개선 효과가 가장 뛰어난 것으로 나타났다.

혈중 ALP, ALT 그리고 AST 활성의 변화

간손상의 지표로 이용되고 있는 ALP, ALT 그리고 AST는 주로 간세포 내에 존재하는 효소들로 간세포가 손상을 받을 경우 혈중으로 방출되어 혈중 수치가 증가하게 된다. 또한 간세포 이외에 심장, 골격근육, 신장, 그리고 뇌 등에도

분포하고 있어 이러한 세포들이 손상을 받는 경우에도 증가할 수 있다. 특히 알코올 섭취 시 이들 효소는 증가하게 되는데, Fig. 1에서는 *B. sarmienti* 추출물이 함유된 음료의 ALP, ALT 그리고 AST에 대한 활성을 살펴보았다. 알코올을 투여한 CO군은 정상군인 NO군에 비해 ALP 및 ALT 그리고 AST가 현저하게 증가한 것을 확인할 수 있었다. 그러나 PC군과 BSP군에서는 유의적으로 CO군에 비해 36~37% 정도 감소 효과를 확인할 수 있었으며, NO군과 거의 유사함을 확인할 수 있었다. 이전의 알코올에 대한 숙취해소 실험에 있어서는 알코올을 투여한 동물에 있어서는 ALT, AST의 활성이 상승하여 갈근 추출물을 투여하였을 경우 갈근이 간을 보호하는 작용을 하기 때문에 ALT 및 AST의 활성이 감소한다고 하였다(10). 이와 같은 결과를 미루어 보았을 때, *B. sarmienti* 함유 BSP군의 경우 또한 알코올로부터 간을 보호하기 때문에 AST, ALT, 그리고 ALP 값이 감소함을 확인할 수 있었으며, BSP군은 이미 시판되고 있는 PC군보다 오히려 뛰어난 활성을 보이면서도 독성은 없는 것으로 나타나 숙취해소 음료로서 가능성을 제시할 수 있다.

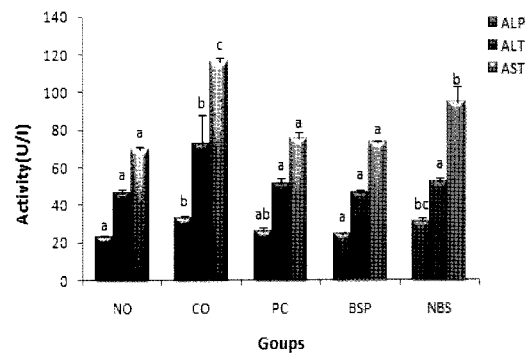


Fig. 1. ALP, ALT and AST activities after administration of ethanol in SD rat.

The values are mean±SD of 7 rats.

생화학적 측면에서의 *B. sarmienti* 추출물 음료의 활성 알코올 투여로 인한 간기능 이상으로 변화를 가져올 수 있는 생화학적 지표들의 분석을 Table 3에 나타내었다. 먼저 ALB는 혈청 albumin을 나타내는 것으로 간손상시 수치가 낮게 나오며 이는 간경변증, 간괴사, 간염등과 관련있는 것으로 알려져 있다(10). 본 실험에서도 NO군에 비하여 CO군에서 유의하게 낮게 나타났으나 *B. sarmienti* 음료 제품군인 BSP군에서는 알코올 대조군과 타사 숙취해소 음료군인 PC군에 비하여 3.29±0.02 g/dl로서 높은 결과를 나타내었다. BUN (Blood Urea Nitrogen)에서는 이 수치가 높으면 신부전, 신염, 그리고 탈수 등의 질환이 의심되며, 수치가 낮을 경우는 간질환, 신염, 그리고 당뇨병 등의 질환을 의심할 수 있으므로 중요한 지표로 사용되는데, 본 실험에서는 BSP군은 NO군에 비해 유의적인 차이는 없었다. 혈중콜레

Table 3. Biochemistry index concentration after administration of ethanol in SD rat

Group	ALB (g/dl)	BUN (mg/dl)	CHOL (mg/dl)	GGT (U/l)	GLU (mg/dl)	T BIL (mg/dl)	T PROT (mg/dl)
NO	3.42±0.06 ^c	15.02±1.75 ^{NS}	112.01±2.78 ^a	7.86±0.48 ^a	225.49±16.39 ^a	0.17±0.02 ^{NS}	5.36±0.11 ^{NS}
CO	3.25±0.07 ^a	17.09±1.18	124.88±2.57 ^b	12.60±1.08 ^b	344.04±28.15 ^b	0.39±0.23	5.52±0.12
PC	3.23±0.03 ^a	15.24±1.76	110.21±1.64 ^a	8.94±0.40 ^a	266.08±16.24 ^a	0.15±0.01	5.43±0.06
BSP	3.29±0.02 ^b	14.92±0.75	107.19±2.02 ^a	9.47±0.60 ^a	254.74±13.08 ^a	0.21±0.06	5.36±0.05
NBS	3.27±0.03 ^{ab}	17.99±1.35	108.41±2.26 ^a	8.15±0.38 ^a	265.17±4.61 ^a	0.31±0.14	5.46±0.10

The values are mean±SD of 7 rats.

^{NS}Not significant.

^{ab}Values within a column with different superscripts letters are significantly different each other groups at p<0.05.

스테롤 수치에서는 CO군은 NO군에 비하여 유의적으로 높았으나 숙취제거음료를 투여한 모든군에서는 유의적인 감소 현상을 보였으며, 특히 BSP군에서는 107.19±2.02 mg/dl로서 NO군 보다 더 훨씬 혈중콜레스테롤 수치가 낮았다. 간손상 지표로 쓰이는 GGT (γ -glutamyl transferase)에서는 CO에 비하여 모든 숙취제거음료 투여군에서 유의적인 감소를 나타내었다. 또한 알코올을 투여한 군에서 혈당의 증가 현상이 나타났으나, CO군에 비하여 PC, BSP 그리고 NBS군에서는 전체적으로 혈당이 감소 되었으며, 이 중에서도 특히 *B. sarmienti* 음료 제품군(BSP)에서 뛰어난 혈당감소효과를 보였다. 혈액중에 헤모글로빈이 파괴되면 빌리루빈이 생성되고 이것은 간을 통해 담즙으로 배설되는데 간이 손상되면 빌리루빈은 혈류로 역류된다고 알려져 있다 (19). 본 실험에서도 CO군은 NO군에 비해 빌리루빈 수치가 높았으나, 숙취해소음료군의 투여시 수치는 낮아졌으나 유의성은 없었다. 총단백량은 알코올 중독시 올라간다고 알려져 있는데, 본 실험에서는 급성 알코올실험이라 알코올 투여군에서 증가하기는 하였으나 유의성이 없었다.

간조직내 GSH 및 TBARS 활성 측정

Fig. 2에서는 *B. sarmienti* 함유음료가 알코올섭취 쥐의 간조직에서 GSH와 TBARS의 수치에 미치는 영향을 살펴 보았다. GSH의 NO군에 비해 대조 CO군에서 값이 감소함을 확인할 수 있었으나, PC, PSP, 그리고 NBS군에서는 GSH 값이 증가함을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 알코올의 단독 섭취 시 간조직내의 GSH의 단백질량을 감소시키지만 시료의 처리시 상대적으로 단백질의 함량이 감소되지 않음을 확인할 수 있었으며, Cho 등이(18) 발표한 결과와도 상당히 비슷함을 확인할 수 있었다. 그러나 각 시료에 대한 뚜렷한 유의성은 확인 되지 않았다.

TBARS 함량 평가에 있어서는 PC, BSP, NBS군에서 각각 0.83±0.02, 0.85±0.02, 0.87±0.01 μ mole/g으로 대조 CO군에 비해 유의적인 TBARS 값이 감소함을 확인할 수 있었다. 활성산소에 의한 지질과산화에 있어 GSH와 TBARS 수치는 매우 의미가 있는데 이상과 같은 결과를 보았을 때 *B.*

sarmienti 는 생체 내 항산화 효소인 GSH는 증가시키고 TBARS 지질과산화량은 감소시키는 효과가 탁월한 것으로 확인되었다.

B. sarmienti 투여시 GST, XO, CAT, 그리고 SOD 효소 활성에 미치는 영향

알코올 섭취 쥐에 대한 *B. sarmienti* 함유음료가 간조직의 항산화 효소계에 미치는 영향을 Table 4에서 살펴 보았다. GST는 간조직내 oxygen free radical 해독계 효소로 알려져 있는데(13), 본 실험에서 살펴본 결과 알코올을 투여한 군에서 전체적으로 높은 GST 활성치가 나타났다. 이것은 알코올 섭취로 인해 늘어난 간조직내의 활성산소를 빠르게 제거 하기 위한 생체가 반응하는 것으로 생각되어진다. 하지만 다른 알코올 투여군에 비해 BSP군에서는 활성도가 낮음을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 생체내 활성산소 발생량이 타 군에 비하여 낮은것으로 판단된다. XO는 생체 조직에 존재하는 효소로 superoxide anion radical을 생성시켜 세포 손상을 야기시키는 것으로 알려져 있다(14). 알코올대조군에 비하여 숙취해소음료 투여군에서 감소 효과를 나타내었으나 유의성은 없었다. 알코올섭취는 생체내에서 산화적 스트레스를 가져오며 이는 생체내에 oxygen free radical을 생성시켜 세포막에 존재하는 다기불포화 지방산에 작용하여 지질과산화물을 생성시켜 세포의 조직을 변성시킨다. 하지만, oxygen free radical의 하나인 superoxide anion radical의 경우 SOD 효소에 의해 hydrogen peroxide (H₂O₂)로 전환되며, 이것은 다시 CAT 및 GPX 효소에 의해 해독과정을 거쳐 최종적으로 물로 전환된다. 이러한 SOD 및 CAT의 활성에 있어 숙취 제거 음료 투여군에서 CO군에 비해 유의적으로 효소 활성이 감소되었으며, 그중에서도 특히 BSP군에서 그러한 경향이 강하였다. 이는 *B. sarmienti* 자체가 뛰어난 항산화 효과를 발휘하여 생체내 항산화 효소계의 활성도는 낮추어주면서 활성산소는 제거해주는 역할을 하는것으로 사료 된다. 이상과 같은 결과를 토대로 *B. sarmienti* 숙취해소 및 활성산소 제거의 기능성 원료로서 사용 가능성을 제시하는 바이다.

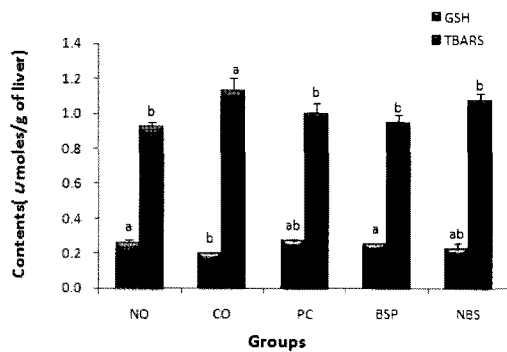


Fig. 2. GSH, TBARS concentration after administration of ethanol in SD rat.

The values are mean±SD of 7 rats.

Table 4. Liver antioxidant enzyme activities after administration of ethanol in SD rat

Groups	GST activity ¹⁾	XO activity ²⁾	SOD activity ³⁾	CAT activity ⁴⁾
NO	211.25±18.54 ^a	0.27±0.11 ^{NS}	2.06±0.15 ^{NS}	2.83±0.46 ^a
CO	260.91±27.05 ^b	0.50±0.26	3.70±0.89	5.27±0.50 ^b
PC	235.11±4.69 ^{ab}	0.32±0.11	3.10±0.98	4.55±0.34 ^b
BSP	232.89±5.24 ^b	0.31±0.07	2.87±0.14	4.34±0.42 ^b
NBS	256.93±9.48 ^b	0.47±0.14	3.37±0.39	4.90±0.56 ^b

The values are mean±SD of 7 rats.

^{a,b,c,d}Values within a column with different superscripts letters are significantly different each other groups at p<0.05.

¹⁾Unit: nmole 2,4-dinitrobenzene-glutathione conjugate/mg protein/min.

²⁾Unit : nmole uric acid formed/mg protein/min.

³⁾Unit: nmole H₂O₂ reduced/mg protein/min.

⁴⁾Unit : U(50% inhibition of autoxidation of hematoxylin)/mg protein/min

요 약

허브의 일종인 *B. sarmienti*를 이용하여 숙취 해소 음료를 개발하고 그에 따른 알콜 대사 및 항산화 효소에 미치는 영향을 알아보려고 하였다. 알코올을 섭취한 쥐에 *B. sarmienti* 음료군(BSP)을 투여한 경우 타사 제품군인 PC 그리고 *B. sarmienti*만을 제외한 음료군인 NBS보다 더 뛰어난 알코올 분해능 및 ADH, ALDH에서도 뛰어난 활성을 보였다. 또한 생화학적 검사를 통해 안전성을 확인하였으며, ALP, ALT 그리고 AST에서도 PC군에 비해 유의적인 감소 효과를 보였다. 항산화 활성 및 효소계에 있어서도 BSP군에서는 GSH에서는 CO군에 비해 효소의 함량은 높으나, 다른 군에 비해 유의적인 차이는 보이지 않았으며, TBARS에는 다른 군에 비해 함량이 감소됨을 알 수 있었으나 뚜렷한 차이는 보이지 않았다. 그러나 GST, CAT 그리고 SOD 효소에 있어서는 CO군에 비해 유의적인 효소 활성이 감소되었음을 알 수 있었다. 이상과 같은 결과를 토대로 *B. sarmienti* 추출물이 첨가된 음료는 뛰어난 숙취 해소 및

간세포의 손상을 보호하는 음료로서 이용 가능하리라 기대된다.

참고문헌

- Jo DH, Min KJ, Cha CG (2007) The antioxidant and antitumor effects of the extract of *Bulnesia sarmientia*. J Food Hyg Safety, 22, 120-126
- Kamruzzaman SM, Endale M, Oh WJ, Park SC, Kim KS, Hong JH, Kwak YS, Yun BS, Rhee MH (2010) Inhibitory effects of *Bulnesia sarmienti* aqueous extract on agonist-induced platelet activation and thrombus formation involves mitogen-activated protein kinases. J Ethnopharm, 130, 614-620
- Mollah ML, Kim JO, Lee GD, Park CH, Hong JH, Kim HY, Kim KS (2009) Growth-inhibitory effects of a *Bulnesia sarmienti* aqueous extract on A549 cells in vitro and S180 cells in vivo. Immunopharm Immunot, 31, 492-498
- Ottesen AR, Duke JA, Mary JB (2008) Duke's Handbook of Medicinal Plants of Latin America, CRC press Tylor & Francis Groups, England, p 38-55
- Lin RC, Li TK (1998) Effects of isoflavones on alcohol pharmacokinetics and alcohol-drinking behavior in rats. Amer J Clin Nutr, 68, 1512s-1515s
- Hawkins RD, Kalant H (1972) The metabolism of ethanol and its metabolic effects. Pharmacol Res, 24, 67-157
- Forsander OA, Raiha Niels CR (1960) Metabolites produced in the liver during alcohol oxidation. J Biol Chem, 235, 34-36
- Wheeler MD, Nakagami M, Bradford BU, Uesugi Y, Mason RP, Connor HD, Dikalova A, Kadiiska M, Thurman RG (2001) Overexpression of manganese superoxide dismutase prevents alcohol-induced liver injury in the rat. J Biol Chem, 276, 36664-36672
- Abdellah M, Demelliers C, Amsellem S, Pessayre D, Fromenty B (2001) Acute ethanol administration oxidatively damages and depletes mitochondrial DNA in mouse liver, brain, Heart, and skeletal muscles: protective effects of antioxidants. J Pharmacol Exp Ther, 298, 737-743
- Kim JS (2004) Effect of a alcohol detoxification beverage(ADB) contained *Radix puerariae* and *Bambusae caules* in *Liquamen Phyllostachyos* on the alcohol administered mouse. J Korean Soc Food Sci Nutr, 33, 318-323

11. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K (1979) Assay for lipid peroxidase in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 95, 351-358
12. Ellman GL (1959) Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*, 82, 70-77
13. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB (1974) Glutathione S-transferases: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem*, 249, 7130-7139
14. Della corte E, Stirpe F (1979) The regulation of xanthine oxidase. *Biochem J*, 117, 97-100
15. Martin SK, Oduola AM, Milhous WK (1987) Reversal of chloroquine resistance in *Plasmodium falciparum* by verapamil. *Science*, 235, 899-901
16. Aebi H (1984) Catalase. In: L. Packer(Ed), *methods in enzymology*, Academic pres, Orlando, 105, 121-126
17. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RS (1951) Protein measurement with the Folin Phenol Reagent. *J Biol Chem*, 193, 265-275
18. Cho SH, Kim JC, Kim SW (2001) Effect of plant extracts on the activity of alcohol dehydrogenase and the antioxidation in alcohol-treated rat hepatocyte. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 30, 679-683
19. Johnson WJ, Hagge WW, Wagoner RD, Dinapoli RP, Rosevear JW (1972) Effects of urea loading in patients with far-advanced renal failure. *Mayo Clin Proc* Jan, 47, 21-29

(접수 2010년 11월 26일 수정 2011년 5월 3일 채택 2011년 5월 6일)