

약용식물 추출물이 첨가된 미네랄이 알코올에 의한 산화적 스트레스 및 숙취해소에 미치는 효과

이석준¹ · 김안드레¹ · 이재화¹ · 김미희² · 이봉상² · 지영택² · 빈재훈³ · 하중명^{1*}

¹신라대학교 의생명과학대학 제약공학과

²(주)대한심층수

³부산광역시 상수도사업본부

Effects of Minerals Added to Medicinal Plant Extracts on Alcohol-Induced Oxidative Stress and Alcohol Metabolism in Rats

Seok Jun Lee¹, Andre Kim¹, Jae Hwa Lee¹, Mee Hee Kim², Bong Sang Lee²,
Young Taek Jee², Jae Hun Bin³, and Jong-Myung Ha^{1*}

¹Dept. of Pharmaceutical Engineering, College of Medical & Life Science,
Silla University, Busan 617-736, Korea

²Daehan Deepseawater Co., LTD, Busan 604-050, Korea

³Water Quality Institute, Gyeongnam 621-813, Korea

Abstract

This study investigates the effects of a hangover beverage (MIX) that contains minerals (highly-salty mineral water, HSMW) and several medicinal plant extracts, on antioxidant and alcohol-metabolizing enzymes in alcohol administered Sprague-Dawley rats. HSMW is pumped from below the sedimentary rock layer of Dadaepo, Busan, South Korea, which is 1,050 m below the land surface; it tastes salty, like sea water. In terms of medicinal plant extracts, the total phenolic and flavonoid contents of *Rubus coreanus* and *Cornus officinalis* were measured as being significantly higher than those in *Curcuma longa*. The results suggest that treatment with MIX significantly increases superoxide dismutase (SOD) activity and DPPH radical scavenging activity. In the 10% HSMW-, for MIX- and company product (CP)-treated groups, the concentration of blood alcohol was significantly reduced 1~5 hr after alcohol loading, compared to that in the control group. In hepatic alcohol-metabolizing enzyme activities, alcohol dehydrogenase (ADH) activity was found to be higher in the MIX- and CP-treated groups than in controls, whereas acetaldehyde dehydrogenase (ALDH) activity was significantly higher in the CP-treated groups than other groups. This study concludes, therefore, that MIX (HSMW) minerals, like as Zn, Ca, Mg, Mn, and others stimulate alcohol-metabolizing enzymes, while the antioxidants of plant extracts prevent the damage otherwise incurred by alcohol toxicity. These results suggest that the hangover beverage (MIX) alleviates alcohol hangover symptoms by stimulating activities related to hepatic alcohol-metabolizing enzymes and antioxidant effects.

Key words: hangover beverage, antioxidant, alcohol dehydrogenase, acetaldehyde dehydrogenase

서 론

알코올은 뇌의 중추신경에 작용하여 기분을 좋게 하고 피로움을 잊을 수 있으며, 사교의 수단 및 스트레스 해소를 위한 식품으로 활용되고 있어 고대에는 알코올이 모든 약물의 기본 부형제로 이용되었다(1). 하지만 최근 사회의 다양화 및 경제성장과 더불어 현대인의 알코올 섭취량이 증가하고 있어 과음과 관련된 숙취나 알코올 중독과 같은 사회문제가 발생하고 있다(2).

음주 후 나타나는 숙취는 신체적, 정신적 현상으로 그 대

표적인 증상으로는 메스꺼움, 구토, 현기증, 갈증, 무기력함, 두통, 근육통 등이 있다(3). 체내의 알코올 대사는 alcohol dehydrogenase(ADH)에 의해 acetaldehyde가 되고 다시 acetaldehyde dehydrogenase(ALDH)에 의해 산화되어 acetic acid로 되고 최종적으로는 요와 CO₂ 등으로 배설된다(4). 알코올이 산화되어 만들어진 일차 대사산물인 acetaldehyde는 숙취의 주요한 인자이며, 알코올 섭취 시 체내의 독성작용을 통해 알코올 그 자체보다 acetaldehyde에 의한 숙취의 영향이 더 크다(5). 체내에서 생성된 acetaldehyde는 뇌로 전해져 많은 유해화합물로 바뀌어 맥박 증가나 발한,

*Corresponding author. E-mail: jmha@silla.ac.kr
Phone: 82-51-999-5467, Fax: 82-51-999-5636

홍조, 오심, 구토 등의 증상을 초래할 수 있다(6,7).

만성적인 알코올 섭취는 소장점막의 손상을 유도하여 vitamin B12, folic acid, thiamin, amino acids(leucine, phenylalanine, glycine, methionine 등), 칼슘(Ca)과 마그네슘(Mg)의 영양소의 소화흡수 및 대사에 부정적인 영향을 미치는 이외에도 일부 영양소의 소변 내 배설을 증가시켜 영양장애를 초래한다(8,9). 알코올은 체내 대사과정에서 알코올 그 자체 및 알코올 대사물질이 간조직의 손상을 일으키므로 만성적 알코올 섭취는 간에 중성지방을 축적시켜 지방간을 일으키고 과량의 NADH가 생성되어 NADH oxidase의 활성이 높아져 ·OH와 ·O₂와 같은 oxygen radical을 생성함으로써 항산화 시스템에도 영향을 미치게 된다. 그러므로 만성적인 알코올 섭취로 인한 간세포에서 지방의 증가는 곧 지방의 산화억제에 관여하는 셀레늄(Se), 아연(Zn), 망간(Mn), 구리(Cu)의 대사에 영향을 미치기도 하고 요 중 아연, 칼슘, 마그네슘, 망간, 인(P), 철분(Fe) 등의 배설을 증가시킨다(10). 자동산화(autoxidation) 반응은 항산화물질에 의해 어느 정도 억제될 수 있는데 셀레늄, 구리, 아연, 망간 등의 무기질은 대표적인 항산화 영양소로 알려져 있다(11). 최근 많이 사용되고 있는 페놀계 합성 항산화제인 BHA(butylated hydroxy anisole), BHT(butylated hydroxy toluene) 등은 탁월한 항산화력과 경제성 때문에 널리 이용되고 있으나 생체효소의 활성을 억제하고 암을 유발시키는 등 독성을 가진다고 보고되고 있어, 대부분 사용 규제를 받고 있다(12,13). 따라서 부작용이 없고 천연에 존재하는 생물자원으로부터 항산화력이 우수한 물질의 개발이 매우 활발히 진행되고 있다.

부산 다대포의 약 1,050 m 지하 암반층에서 취수한 미네랄수(high-salted mineral water, HSMW)는 다른 지표수와 달리 해양심층수와 유사하게 마그네슘, 칼슘, 나트륨, 칼륨 및 다른 미네랄이 풍부한 물이 개발되었다. Park 등(14)은 HSMW를 이용하여 고혈압에 관한 연구를 수행하여 음료개발의 가능성을 제시하였다. 이러한 성질의 물은 미국 유타주에서도 나오는 것으로 알려져 있다. 해양심층수의 생리활성은 동맥경화증(15), 고지혈증(16) 면역기능(17), 항산화(17) 등에 효과가 있는 것으로 밝혀져 있다.

한편, 약용식물인 복분자(*Rubus coreanus*), 울금(*Curcuma longa*), 산수유(*Cornus officinalis*)는 한방 자료에 의하면 이뇨작용, 간 보호 효과, 항균 효과, 항산화 및 지질과산화(lipid peroxidation) 억제 등 다양한 생리활성의 효과가 알려져 있다(18-22). 경제 성장과 평균 수명의 연장과 함께 현대인들의 질병과 고령화 사회에 따른 삶의 질에 대한 인식이 변하고 있으며 그에 따른 생리활성을 갖는 천연식물에 대한 관심도가 증가하고 있는 추세이며(23-25), 많은 사람들이 천연물을 이용한 건강기능식품으로서 숙취해소 음료에 대해서도 많은 관심을 보이고 있다.

최근 미네랄의 숙취해소에 관련한 연구는 많이 수행되어지고 있으나 명확한 메카니즘은 알려져 있지 않으므로, 여기

에 대한 과학적인 검증이 필요한 것으로 사료된다. 본 연구에서는 ADH와 ALDH의 활성화를 통해 숙취제거 효과를 나타낼 수 있는 천연 미네랄수(HSMW)와 항산화 효과 및 ADH, ALDH의 활성에 도움을 주는 약용식물 추출물(복분자, 울금, 산수유)을 첨가하여 개선된 숙취효과를 *in vivo*에서 확인하고자 하며, 숙취 음료 개발을 위한 기초 자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

재료

본 연구에 사용된 약용식물은 동의보감, 본초강목 등의 문헌고찰을 통하여 약리학적으로 간 보호, 숙취 제거 및 항산화 활성에 효능이 있는 복분자(*Rubus coreanus*), 울금(*Curcuma longa*), 산수유(*Cornus officinalis*)를 서울의 삼흥 건재약업사에서 구입하였다. 건조 약용식물은 각각 50 g에 증류수 1 L를 가하여 100°C의 온도에서 3시간 동안 추출하였으며 추출액을 rotary vacuum evaporator(N-1000, Eyela, Tokyo, Japan)를 사용하여 농축한 후 동결건조기(FD5525-01, Ilsin, Gyeonggi, Korea)로 건조하여 분말상태로 만들어 사용하였다. 0.2 µm의 필터로 걸러낸 미네랄수(HSMW)는 (주)대한심층수로부터 얻어 3차 증류수를 이용하여 농도를 조절해서 각 측정에 사용하였다. 미네랄수와 약용식물 추출물이 함유된 복합물(MIX)에는 Fig. 1과 Table 3의 결과에 의해 가장 활성이 뛰어난 10% HSMW와 복분자, 울금, 산수유 추출 분말 각각 1 mg/mL의 농도로 선정하여 제조하였다. 상업적인 숙취음료(Company Product, CP)에는 글루메이트, 타우린, 효모 추출 혼합 분말, 자리 추출 분말, 기타 첨가물이 함유되어 있다.

약용식물 추출물의 항산화 물질 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Dewanto 등(26)의 방법에 따라 Folin-Ciocalteu reagent가 추출물의 페놀성 화합물에 의해 환원된 결과 몰리브덴 청색으로 발색하는 것을 원리로 분석하였다. 각 분석용 시료 100 µL에 2% Na₂CO₃ 용액 2 mL를 가한 후 3분간 방치하여 50% Folin-Ciocalteu reagent 100 µL를 가하였다. Na₂CO₃ 용액을 가한 30분 후 반응액의 흡광도 값을 750 nm에서 측정하였다. 표준물질로 tannic acid를 사용하였다. 검량선을 작성한 후 총 폴리페놀 함량은 시료 g 중의 mg tannic acid로 나타내었다.

총 플라보노이드 함량은 NFRI(27)의 방법으로 측정하였다. 각 분석용 시료 0.2 mL, diethylene glycol 2 mL, 1 N NaOH 0.2 mL를 첨가하여 37°C의 항온수조에서 1시간 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 naringin을 사용하여 검량선을 작성한 후 총 플라보노이드 함량은 시료 g 중의 mg naringin으로 나타내었다.

DPPH radical-scavenging 활성 측정

Brand-Williams 등(28)의 방법에 의해 0.1 mM DPPH용액 1.0 mL을 취하여 0.5 mL의 시료와 혼합하고 20분 후 UV spectrophotometer(Optizen 2120UV, Mecasys, Daejeon, Korea)로 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 음성 대조군으로는 1 mL DPPH에 시료 대신 0.5 mL 증류수를 가한 용액을 사용하였고 양성 대조군으로는 ascorbic acid, BHA를 사용하였고 DPPH에 의한 라디칼 소거활성을 다음 공식으로 계산하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{A_0 - A_1}{A_0}\right) \times 100$$

A₀=시료 대신 증류수를 첨가한 반응액의 흡광도
A₁=시료를 첨가한 반응액의 흡광도

SOD 활성

SOD활성은 SOD assay kit-WST(Dojindo, Tokyo, Japan)를 사용하였다. 96 well plate를 이용하여 각각의 시료 20 µL를 WST-1 용액 200 µL, enzyme 용액 20 µL와 반응시키고, blank는 시료 대신 증류수를 첨가하여 37°C에서 20분간 반응시키고 난 후, ELISA reader(Spectra MAX 250, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)로 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

실험동물 및 처치

동물은 생후 6주령된 체중 200 g 내외의 웅성 Sprague-Dawley rat를 (주)효창사이언스로(Daegu, Korea)부터 구입하여 동물사육실에서 일정한 조건(온도: 22±2°C, 습도: 50±5%, 명암: 12시간 light/dark cycle)으로 일주일간 적응시킨 후 사용하였으며, 실험군은 6마리씩 정상군(normal), 대조군(control), 시료 투여군(MIX) 및 상업적인 숙취음료 제품군(CP)으로 나누었다. 실험에 앞서 사료 섭취로 인해 나타날 수 있는 위장관을 통한 알코올의 흡수 방해 현상을 배제하기 위해 18시간 동안 절식시켰으며 이때 물은 제한 없이 공급하였다. 각 시료는 알코올 투여 30분전에 경구적으로 10 mL/kg씩 투여하였으며, 알코올 투여는 25% 주정을 체중 kg당 3 g 수준으로 1회 경구 투여하였다. 대조군은 시료 대신 증류수를 경구 투여하였고 정상군은 아무런 조건도 주지 않았다. 혈청 중 알코올 농도 측정을 위한 채혈은 알코올 투여 후 diethyl ether 마취상태에서 1시간, 3시간 후에는 안와 채혈을 하였으며, 5시간에는 복부정중선을 따라 개복하고 복부 대동맥으로부터 채혈하여 실험사 시킨 후 간조직을 적출하였다.

혈액 및 간 균질액의 조제

채취한 혈액은 4°C, 2,500×g에서 15분간 원심분리 하여 혈청을 얻고, 즉시 -80°C의 초저온냉동고에서 넣어 급속 동결시켜 보관하였다. 간조직은 문맥을 통하여 250 mM sucrose, 10 mM 2-mercaptoethanol, 2 mM dithiothreitol이 포함된 Tris-HCl buffer(25 mM, pH 7.4)로 충분히 관류한

후 간을 적출하였다. 간 적출 후 간 무게의 10배 양의 관류용액을 가하여 즉시 polytron homogenizer를 이용하여 분쇄한 후 30,000×g에서 30분간 원심분리 하여 침전물을 제거하였고 다시 80,000×g에서 1시간 동안 초원심분리 하여 상등액을 취하였다. 모든 조건은 4°C에서 수행하였으며 소량으로 나누어 -80°C의 초저온냉동고에 보관하여 알코올 분해 효소 활성 측정에 이용하였다.

혈청 알코올 농도 측정

혈청에 함유되어 있는 알코올 측정은 혈청의 2배 양의 10% trichloroacetic acid로 처리하여 단백질을 변성시켜 4°C, 20,000×g에서 5분간 원심분리 하여 상등액을 취하여 gas chromatography를 이용하여 분석하였다. GC는 HP 5890 series II(Hewlett Packard, Palo Alto, CA, USA)를 사용하였고, 칼럼은 HP-FFAP(Cross-Linked PEGTPA 30 m/0.25 mm/0.25 µL)을 사용하였다. 이동상은 N₂를 0.6 mL/min로 사용하였으며, injection temperature 100°C, detector temperature 200°C, 승온 조건은 50°C(1.4 min)/(10°C/min)/60°C(1 min)/(25°C/min)/100°C(1 min)/(50°C/min)/150°C(1 min)이었다. 분리비는 70:1로 했으며 내부 표준물질로 1%의 isopropanol을 이용하였다.

간 균질액의 ADH와 ALDH의 활성 측정

ADH의 활성 측정은 Bergmeyer의 방법(29)을 변형하여 측정하였으며, 흡광도 340 nm에서 NADH의 생성속도를 지표로 사용하였다. 반응액의 조성은 증류수 1.4 mL, 1.0 M Tris-HCl buffer(pH 8.8) 0.8 mL, 20 mM NAD⁺ 0.3 mL, ethanol 0.3 mL의 혼합액과 간 균질액 0.1 mL를 cuvette에 넣어 30°C에서 5분간 preincubation 한 후, 5분간 340 nm에서의 흡광도의 변화를 측정하였다. ALDH의 활성 측정은 Bostian과 Betts의 방법(30)을 변형하여 측정하였으며, 흡광도 340 nm에서 NADH의 생성속도를 지표로 사용하였다. 반응액의 조성은 증류수 1.4 mL, 1.0 M Tris-HCl buffer(pH 8.0) 0.8 mL, 20 mM NAD⁺ 0.3 mL, 1.0 M acetaldehyde 0.1 mL, 3.0 M KCl 0.1 mL, 0.33 M 2-mercaptoethanol 0.1 mL의 혼합액과 간 균질액 0.1 mL를 cuvette에 넣어 30°C에서 5분간 preincubation 한 후, 5분간 340 nm에서의 흡광도의 변화를 측정하였다. ADH, ALDH 활성은 정상군에 대한 상대활성(%)으로서 측정하였다.

혈청 중 간 기능 지표 효소 활성 측정

Glutamic oxaloacetic transaminase(GOT), glutamic pyruvic transaminase(GPT)의 활성도는 각 기질과 효소반응을 이용한 비색법에 의해 제조된 assay kit(Asan Pharmaceutical, Seoul, Korea)로 측정하였다.

통계처리

실험한 결과의 통계처리는 SPSS 12.0 program(SPSS, Chicago, IL, USA)을 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편

Table 1. Comparison of mineral contents of high-salted mineral water and sea water

Elements	HSMW (mg/L)	Sea water (mg/L)
Na	6,000	10,500
Ca	3,300	401
Mg	1,300	1,300
St	25	8
K	16	380
Mn	1.9	0.002
Zn	0.68	0.001
Fe	0.18	0.01
Cu	<0.01	0.0006
Ni	<0.01	0.0005
Co	<0.01	0.0005

The mineral ingredient content of each HSMW and seawater was analyzed by an Adur Outdoor Activities Centre (AOAC) methods.

차로 나타냈으며, 각 군의 비교는 유의수준 $p < 0.05$ 에서 one-way ANOVA test로 나타내었으며, 유의성 검증은 t -test 또는 Duncan's multiple range test를 이용하였다.

결과 및 고찰

미네랄수의 수질분석

HSMW의 수질분석은 Table 1과 같이 나트륨의 함량은 낮은 반면 칼슘, 마그네슘, 아연의 함량은 높게 나타나 해수와는 다른 물성을 가지고 있는 것을 알 수 있었다. 해양성 심층수는 건강 및 의료용 소재, 화장품, 식품, 양식업 등에 널리 이용될 수 있는 것으로 알려져 있으며, 이러한 다양한 미네랄들이 중요한 생리활성(15-17)을 나타내는 것으로 추정되고 있다.

항산화 활성

페놀계 화합물은 연쇄반응에서 alkylperoxy radical이나 alkylradical에 수소를 공여함으로써 그 radical을 제거하여 산화를 억제하는 것으로 알려져 있으며(31), 여러 한방 생약제의 주요 성분 중 하나로 인체의 건강에 대한 잠재적인 유효 생리효과가 널리 인정되고 있다(32). 본 연구에서는 약용 식물들을 검토하여 그중 우수한 효과를 보이는 복분자, 울금, 산수유의 총 페놀 및 플라보노이드 함량을 Table 2에 나타내었다. 복분자, 산수유는 울금에 비해 총 페놀 및 플라보노이드 함량이 유의적으로 높았다. 특히 복분자, 산수유의 총 페놀 함량은 Park(32)이 보고한 여러 한약재들보다 많은

Table 2. Total phenolic and flavonoids contents of from medicinal plants extracts

Sample	Total phenolic (mg/g dw)	Total flavonoids (mg/g dw)
<i>Rubus coreanus</i>	43.40 ± 1.30 ^{a1)}	16.30 ± 0.45 ^b
<i>Curcuma longa</i>	2.69 ± 0.14 ^c	0.94 ± 0.11 ^c
<i>Cornus officinalis</i>	22.92 ± 1.27 ^b	21.10 ± 0.78 ^a

¹⁾Mean ± SD in the same column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$.

것을 알 수 있었다.

DPPH 분자 내 질소는 쉽게 전자를 받아들여 본래의 짙은 자색이 탈색된다. 따라서 이러한 항산화 물질의 전자공여능을 측정할 수 있는 DPPH법이 항산화 활성을 측정하는 유용한 방법으로 잘 알려져 있다(33). Free radical은 인체 내에서 각종 질병과 노화를 일으키는 원인물질이기 때문에 이들과 반응하여 그 활성을 소거시키는 능력을 지닌 항산화제로 작용할 수 있는 물질을 탐색할 필요성이 있다(34). SOD는 항산화 효소로서 세포에 해로운 환원 산소를 과산화수소로 전환시키는 반응($2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$)을 촉매 하는 효소이며, SOD에 생성된 H_2O_2 는 peroxidase나 catalase에 의하여 무해한 물분자와 산소분자로 전환되어 산소 상해로부터 생체를 보호하는 역할을 하는 효소이다(35). 생체 내에서는 superoxide dismutase(SOD), catalase, glutathione reductase 등의 항산화 효소와 tocopherol과 같은 천연 항산화제가 존재하여 산소 상해에 대한 방어기능을 하고 있다(36). 특히 무기질 중에서 구리, 아연 및 망간은 SOD의 활성 조절에 관여할 뿐 아니라 지질과산화물들의 형성을 촉진하거나 억제할 수 있는 것으로 알려져 있다(11,37-39).

미네랄수와 약용식물 추출물 함유된 복합물(MIX)과 상업적인 숙취음료 제품(CP)에 대한 DPPH radical scavenging 및 SOD 활성 측정 결과는 Table 3과 같다. DPPH radical scavenging 활성 결과에서는 MIX가 CP보다 유의적으로 활성이 높았으며, MIX의 SOD 활성은 대조물질인 ascorbic acid와 합성 항산화제인 BHA보다 높은 항산화 활성의 효과를 나타내었다.

활성산소와 쉽게 반응하는 물질로는 tocopherol, ascorbic acid, riboflavin, uric acid 등의 항산화성 화합물과 flavone 및 flavonol 같은 페놀성 화합물을 들 수 있고, catechin이 대표적인 물질(40)이라 할 수 있는데, 각 약용식물에 함유되어 있는 페놀성 화합물 및 flavonoids류가 항산화 활성을 나타내는 물질로 추정된다. 이와 같은 효과는 이미 보고된 바와 같이 지질의 산화, 활성산소의 소거 및 산화적 스트레스를 막는 역할을 함으로써 노화방지, 암 및 심장질환 등을 예방하거나 지연하는 효과로 오늘날 식품, 의약품, 화장품

Table 3. Effects of MIX on DPPH¹⁾ radical scavenging and SOD²⁾ activity

Sample ³⁾	DPPH radical scavenging activity (%)	SOD activity (%)
Ascorbic acid ⁴⁾	92.53 ± 0.14 ^{a6)}	97.44 ± 1.99 ^b
BHA ⁵⁾	93.63 ± 0.07 ^a	86.38 ± 0.84 ^c
CP	55.28 ± 0.88 ^c	83.66 ± 1.52 ^d
MIX	66.54 ± 0.32 ^b	120.13 ± 0.79 ^a

¹⁾1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazil.

²⁾Superoxide dismutase.

³⁾Sample concentration in the reaction system was 1 mg/mL.

⁴⁾Positive control.

⁵⁾Butylated hydroxy anisole, positive control.

⁶⁾Mean ± SD in the same column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$.

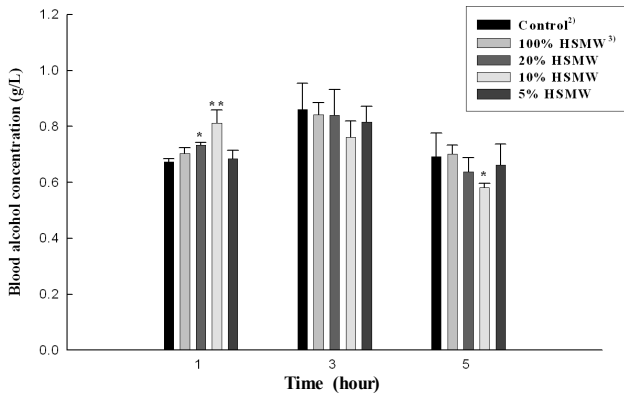


Fig. 1. Effects of HSMW on the blood alcohol concentration in rats¹⁾. ¹⁾Each point represents the mean±SD for group of six rats. ²⁾Control treated group: alcohol plus distilled water. ³⁾HSMW treated group: alcohol plus HSMW. *p<0.05, **p<0.01, significantly different from the control.

등 많은 분야에서 이들 효과를 활용하고 있다. 따라서 미네랄수와 약용식물 추출물이 함유된 MIX는 페놀성 화합물 및 다량의 무기질이 생체 내에서 일어나는 산화적인 스트레스 및 손상의 예방에 유용할 것으로 사료되어진다.

혈중 알코올 농도

Rat에 HSMW를 농도별로 투여하고 30분 후에 알코올을 경구 투여한 후 시간 경과에 따른 혈중 알코올 농도를 측정해본 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 100%, 5% HSMW 투여군은 대조군과 모든 시간에서 유의적인 차이를 나타내지 않았으며, 10% HSMW 투여군은 1시간 후에 대조군의 농도보다 유의적으로 높은 혈중 알코올 농도를 나타내고 그 후에 감소하였다. 따라서 10%의 HSMW 투여군이 혈중 알코올 농도를 저하시키는 효과가 있음을 알 수 있었다. 이는 10%의 HSMW에 함유되어있는 최적 미네랄 함량이 알코올분해 효소를 촉진시키는 것으로 생각된다.

Rat에 MIX와 CP를 농도별로 투여하고 30분 후에 알코올을 경구 투여한 후 시간 경과에 따른 혈중 알코올 농도를 측정해본 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 시간 경과에 따른 혈중 알코올 농도의 변화는 HSMW 투여군과 비슷한 양상을 나타내었으며, MIX 투여군이 HSMW 투여군보다 혈중 알코올 농도가 15~20% 더 감소하였음을 알 수 있었다. 이는 HSMW에 함유되어 있는 미네랄 성분과 약용식물 추출물의 항산화 물질이 서로 동시 효과를 나타나는 것으로 사료된다. CP와 MIX 투여군은 모든 시간 경과 후에 대조군의 농도보다 유의적인 차이를 나타내었다. 대조군의 경우 혈중 알코올 농도가 3시간 후에 최대치를 보이며 그 후 감소하였는데 CP와 MIX 투여군의 경우 혈중 알코올 농도가 1시간 후에 최대치에 도달하고 3시간부터 급속하게 감소하는 것으로 볼 수 있었다. 이는 Park 등(41)과 Jung 등(42)의 결과와 유사한 경향을 나타내었다. 농도에 따른 CP와 MIX 투여군의 알코올 농도는 모든 시간에서 비슷한 양상을 보이며 크게 감소하였으며, 두 군간의 유의적인 차이는 나타나지 않았지만 고농

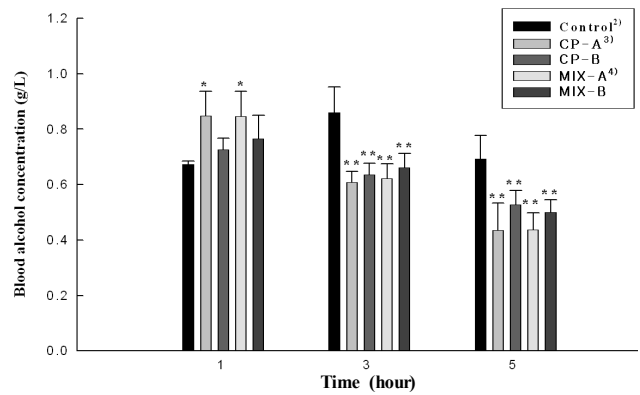


Fig. 2. Effects of MIX on the blood alcohol concentration in rats¹⁾. ¹⁾Each point represents the mean±SD for group of six rats. ²⁾Control treated group: alcohol plus distilled water. ³⁾CP treated group: alcohol plus CP. ⁴⁾MIX treated group: alcohol plus MIX. A: 10 mL/kg-bw, B: 5 mL/kg-bw. *p<0.05, **p<0.01, significantly different from the control.

도가 저농도에 비해 1시간 후를 제외한 나머지 시간에서 5~10% 더 감소하였다.

간 균질액의 ADH 및 ALDH 활성

알코올은 체내에서 ADH에 의해 아세트알데히드가 되며, 이는 ALDH에 의해 acetic acid 및 CO₂ 등으로 배설된다(4). 특히 아세트알데히드는 숙취를 유발하는 물질로(5), 체내에서 단백질 등과 같은 구성성분과 결합하여 생체기능을 약화시켜 미토콘드리아의 기능저해로 이어지며, 이로 인해 간질환, acetaldehyde dehydrogenase의 활성도 감소 등과 같은 독성을 지닌 것으로 알려져 있다(7). 간에서 알코올 대사율은 ADH, ALDH의 활성에 영향을 주는 여러 요인에 의해 조절되는 것으로 알려져 있는데(43), 지금까지 인삼, 홍삼, 헛개나무, 오리나무, 구기자, 갈근 등의 한방 생약제 추출물에 알코올 해독 작용이 있는 것으로 알려져 왔다(44-46). 또한 무기질인 Zn은 고등동물의 성장에 필수적인 영양소로서 고등동물에서는 정상적인 세포분열과 단백질합성을 위해 필요하며 수많은 metalloenzyme의 활성을 조절하는 보조인자로도 중요하다(47). 따라서 세포 내 Zn 수준은 많은 대사과정 특히 Zn-dependent enzyme의 활성화 또는 조절을 통하여 핵산의 합성이나 분해, 지질, 단백질 및 당질대사에 관여한다고 보고된 바 있다(48). Ca 섭취가 뼈 대사에 미치는 긍정적인 효과는 이미 잘 알려져 있다. 그 밖에도 Ca은 근육 수축과 이완 조절, 혈액 응고, 신경 자극 전달, 효소 반응의 활성화, 호르몬 분비 자극 등과 같은 많은 역할을 하고 있다. 최근 들어 Ca 섭취의 증가가 혈압과 혈중 콜레스테롤 수치를 낮춘다는 연구들이 발표되고 있다(49).

MIX의 경구투여에 의한 알코올 분해 효소의 활성을 측정 한 결과는 정상군의 활성을 100%로 하였을 때 각각의 시료 투여군의 상대적인 활성도(%)를 Table 4에 나타내었다. 대조군은 정상군에 비해 알코올의 분해 활성이 유의적으로 낮아진 것으로 보아 알코올 섭취 후 간에서 ADH, ALDH가

Table 4. Effects of mixture on hepatic alcohol metabolizing enzyme activities

Group ¹⁾	ADH activity (%)	ALDH activity (%)
Normal ²⁾	100.00±6.24 ^{a6)}	100.00±2.73 ^c
Control ³⁾	86.15±2.92 ^b	87.77±4.72 ^d
CP ⁴⁾	103.88±4.16 ^a	126.64±4.21 ^a
MIX ⁵⁾	108.45±4.92 ^a	117.90±4.66 ^b

¹⁾Each point represents the mean±SD for group of six rats.

²⁾Normal treated group: only distilled water.

³⁾Control treated group: alcohol plus distilled water.

⁴⁾CP treated group: alcohol plus CP.

⁵⁾MIX treated group: alcohol plus MIX.

⁶⁾Values in same column with different superscripts are significantly different at p<0.05.

작용하였음을 알 수 있었다. MIX와 CP 투여군의 ADH 활성은 정상군에 비해 유의적인 차이를 볼 수 없었으며, ALDH 활성은 CP 투여군이 유의적으로 높았는데 이는 CP의 주성분 중에 쌀눈 발효 추출물인 글루메이트가 체내 알코올 분해를 활성화시키는 것으로 생각되어진다. 숙취의 원인물질로 알려진 아세트알데히드는 ADH의 작용에 의하여 생성되는 분해산물로 ADH의 활성이 높아지면 혈액 중의 알코올 농도를 감소시킬 수 있으나 아세트알데히드가 계속 축적되어 숙취가 오래 갈 수 있다. 그러므로 아세트알데히드의 분해에 직접적으로 영향을 미치는 ALDH 활성이 증가함으로써 아세트알데히드가 빠르게 분해될 수 있다. 따라서 MIX와 CP의 경우 ADH의 활성보다는 ALDH 활성에 더 큰 영향을 미치는 것으로 나타나 혈액 중의 아세트알데히드를 분해시켜 숙취해소에 효과가 있을 것으로 사료된다.

혈청 중 간 기능 지표 효소 활성

Rat에게 MIX 투여가 간 기능에 관계가 있는 GOT와 GPT의 활성을 측정할 결과를 Table 5에 나타내었다. 간세포 손상은 수송기능 및 막 투과성에 변화를 초래하여 결국 세포로부터 효소들을 혈액으로 방출시킨다(50). 따라서 GOT 및 GPT의 순환계로의 많은 방출은 알코올에 의한 독성과 과정 동안에 간 조직막에 심각한 손상이 있었음을 의미한다. 본 연구에서 대조군은 정상군에 비해 유의적으로 다소 증가하였으며 이는 rat에 알코올을 투여하면 혈청 GOT, GPT 양의

Table 5. Effects of MIX on serum GOT¹⁾ and GPT²⁾ levels

Group ³⁾	GOT (karmen/mL)	GPT (karmen/mL)
Normal ⁴⁾	45.59±1.39 ^{b8)}	39.86±3.00 ^b
Control ⁵⁾	50.93±1.03 ^a	47.49±3.86 ^a
CP ⁶⁾	48.46±2.47 ^{ab}	43.93±3.50 ^{ab}
MIX ⁷⁾	46.55±2.15 ^b	39.29±0.42 ^b

¹⁾Glutamate oxaloacetate transaminase.

²⁾Glutamate pyruvate transferase.

³⁾Each point represents the mean±SD for group of six rats.

⁴⁾Normal treated group: only distilled water.

⁵⁾Control treated group: alcohol plus distilled water.

⁶⁾CP treated group: alcohol plus CP.

⁷⁾MIX treated group: alcohol plus MIX.

⁸⁾Values in same column with different superscripts are significantly different at p<0.05.

상승을 초래하였다는 것으로 알코올 투여에 의한 간 독성효과가 나타남을 알 수 있었다. CP 투여군은 대조군에 비해 유의적인 차이가 없었다. 하지만 MIX 투여군의 GOT, GPT 활성은 대조군과의 유의적인 차이가 있었는데, 이는 알코올의 1회 투여로는 간 손상의 생화학적으로 지표의 변화가 크게 관찰되지는 않았음을 시사하며 정상군과 비슷한 활성을 보여 간 손상이 적었다는 것을 알 수 있었다.

요 약

항산화 작용에 효과가 있다고 알려진 복분자, 울금, 산수유 추출물과 알코올분해 효소 작용을 촉진시킬 수 있는 천연 미네랄수(HSMW)를 첨가한 복합물(MIX)이 항산화 활성 및 알코올을 투여한 쥐의 혈중 알코올 농도와 체내 알코올 대사에 어떤 영향을 미치는지 검토하였다. 약용식물 추출물에서 복분자, 산수유의 총 페놀 및 플라보노이드 함량이 유의적으로 높게 정량되었으며, DPPH radical scavenging과 SOD 활성에서는 MIX가 유의적으로 높아 항산화 효과를 나타내었다. 혈중 알코올 농도를 측정할 결과에서 10% HSMW 투여군이 대조군의 농도보다 유의적인 차이를 나타내었다. MIX와 CP 투여군은 모든 시간 경과 후에 대조군의 농도보다 유의적인 차이를 나타내었으며 두 군 간의 유의적인 차이는 나타나지 않았지만 고농도가 저농도에 비해 5~10% 더 감소하였다. MIX와 CP 투여군의 간 균질액의 ADH 활성은 정상군에 비해 유의적인 차이를 볼 수 없었으며, ALDH 활성은 MIX와 CP 투여군이 유의적으로 높았다. 또한 혈청 중 간 기능 지표 효소인 GOT, GPT 활성은 MIX 투여군이 정상군과 비슷한 활성을 보여 간 손상이 적었음을 알 수 있었다. 따라서 MIX에 함유된 미네랄수(HSMW)인 Zn, Ca, Mg, Mn 등이 알코올 분해 효소 활성을 조절함과 동시에 약용식물 추출물이 항산화 작용을 하여 음주로 인해 발생하는 숙취 증상과 산화적 스트레스를 효과적으로 완화시킬 수 있으며, 체내 알코올 대사에 직·간접적으로 작용해 간 기능의 저하를 방지하는 기능성 숙취 음료로 사용될 것이라고 사료되어진다.

감사의 글

본 연구는 중소기업기술혁신개발사업(S1037468)의 연구비 지원으로 이루어진 결과이며 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Marshall EK, Fritz WF. 1953. The metabolism of ethyl alcohol. *J Pharmacol Exp Ther* 109: 431-445.
2. An SW, Kim YG, Kim MH, Lee BI, Lee SH, Lwon HI, Hwang B, Lee HY. 1999. Comparison of hepatic detoxification activity and reducing serum alcohol concentration of *Hovenia dulcis* THUNB and *Alnus japonica* Steud. *J*

- Medicinal Crop Sci* 7: 263-268.
3. Swift R, Davidson D. 1998. Alcohol hangover, mechanisms and mediators. *Alcohol Health Res World* 22: 54-60.
 4. Lieber CS. 1994. Alcohol and the liver. *Gastroenterology* 106: 1085-1090.
 5. Lieber CS. 1973. Liver adaptation and injury in alcoholism. *New Eng J Med* 288: 356-362.
 6. Paek SC. 1993. Ethanol oxidation is accelerated by augmentation of malate-aspartate shuttle with aspartate. *Korean J Biochem* 25: 137-143.
 7. Kim CI. 1999. Cause and effect of hangover. *Food Ind Nutr* 4: 26-30.
 8. Haisted CH. 1980. Alcoholism and malnutrition. Introduction to the symposium. *Am J Clin Nutr* 33: 2705-2708.
 9. Bujanda L. 2000. The effect of alcohol consumption upon the gastrointestinal tract. *Am J Gastroenterol* 95: 3374-3382.
 10. Karkainen P, Mussalo-Rauhamaa H, Poikolainen K, Lehto J. 1988. Alcohol intake correlated with serum trace elements. *Alcohol* 23: 279-282.
 11. Janero DR. 1990. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radic Biol Med* 9: 515-540.
 12. Branen AL. 1975. Toxicological and biochemistry of butylated hydroxytoluene, butylated hydroxyanisole. *J Am Oil Chem Soc* 52: 59-63.
 13. Farag RS, Badei AZMA, Hewedi FM, El-Baroty GSA. 1989. Antioxidant activity of some spice essential oils on linoleic acid oxidant in aqueous media. *J Am Oil Chem Soc* 66: 792-798.
 14. Park SK, Lee HJ, Kim DH, Deung YK, Yang EJ, Lim SJ, Ryang YS, Kim HW, Lee KJ. 2005. The effect of high-salt-ed mineral water on blood pressure and sodium excretion. *J Exp Biomed Sci* 11: 275-279.
 15. Miyamura M, Yoshioka S, Hamada A, Takuma D, Yokota J, Kusunose M, Kyotani S, Kawakita H, Odani K, Tsutsui Y, Nishioka Y. 2004. Difference between deep seawater and surface seawater in the preventive effect of atherosclerosis. *Biol Pharm Bull* 27: 1784-1787.
 16. Yoshioka S, Hamada A, Cui T, Yokota J, Yamamoto S, Kusunose M, Miyamura M, Kyotani S, Kaneda R, Tsutsui Y, Odani K, Odani I, Nishioka Y. 2003. Pharmacological activity of deep-sea water: Examination of hyperlipemia prevention and medical treatment effect. *Biol Pharm Bull* 26: 1552-1559.
 17. Jung SJ, Joo EJ, Yoo JY, Kim YK, Cho YJ, Yoon BS, Cho JK, Nam KT, Hwang SG. 2006. Effect of the supply of natural water from deep sea rock on the immune response and antioxidant activity in rats. *Korean J Anim Sci* 48: 211-218.
 18. Seo KI, Lee SW, Yang KH. 1999. Antimicrobial and antioxidative activities of *Corni fructus* extracts. *Korean J Postharvest Sci Technol* 6: 99-103.
 19. Kwon KH, Cha WS, Kim DC, Shin HJ. 2006. A research and application of active ingredients in Bokbunja (*Rubus coreanus* Miq.). *Korean J Biotechnol Bioeng* 21: 405-409.
 20. Cha HS, Park MS, Park KM. 2001. Physiological activities of *Rubus coreanus* Miquel. *Korean J Food Sci Technol* 33: 409-415.
 21. Deshpande UR, Gadre SG, Raste AS, Pillai D, Bhide SV, Samuel AM. 1998. Protective effect of tumeric (*Curcuma longa* L.) extract on carbon tetrachloride-induced liver damage in rats. *Indian J Exp Biol* 36: 573-577.
 22. Mesa MD, Aguilera CM, Ramirez TCL. 2003. Oral administration of a tumeric extract inhibits erythrocyte and liver microsome membrane oxidation in rabbits fed with an atherogenic diet. *Nutrition* 19: 800-804.
 23. Park SY, Kim JW. 1992. Screening and isolation of the anti-tumor agents from medicinal plants (I). *Korean J Pharmacogn* 23: 264-267.
 24. Das M, Sur P, Gomes A, Vedasiromoni JR, Ganguly DK. 2002. Inhibition of tumor growth and inflammation by consumption of tea. *Phytother Res* 1: 40-44.
 25. Lee JH, Lee SR. 1994. Some physiological activity of phenolic substance in plant foods. *Korean J Food Sci Technol* 26: 317-323.
 26. Dewanto V, Xiazhong W, Liu RH. 2002. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50: 4959-4964.
 27. NFRI. 1990. Manuals of quality characteristic analysis for food quality evaluation (2). National Food Research Institute, Skuba, Japan. p 61.
 28. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technol* 28: 25-30.
 29. Bergmeyer HU. 1974. Alcohol dehydrogenase. In *Methods of Enzymatic Analysis*. Academic Press, New York, USA. Vol 1, p 428-429.
 30. Bostian KA, Betts GF. 1978. Kinetics and reaction mechanism of potassium-activated aldehyde dehydrogenase from *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochem J* 173: 787-798.
 31. Lee SE, Han HS, Jang IB, Kim GS, Shin YS, Son YD, Park CB, Seong NS. 2005. *In vitro* antioxidant activity of *Mentha viridis* L. and *Mentha piperita* L. *Korean J Medicinal Crop Sci* 13: 255-260.
 32. Park YS. 2002. Antioxidative activities and contents of polyphenolic compound of medicinal herb extracts. *J East Asian Soc Dietary Life* 12: 23-31.
 33. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
 34. Jeong JH, Wee JJ, Shin JY, Cho JH, Jung DH. 2005. Antioxidative effect of crude saponin fraction prepared from culture product of *basidiomycota* cultured with fresh ginseng as substrate. *Korean J Food Sci Technol* 37: 67-72.
 35. McCord JM, Fridovich I. 1969. Superoxide dismutase: an enzymatic function for erythrocyte hemocuprein. *J Biol Chem* 244: 6049-6055.
 36. Kim YK. 2004. *Antioxidants*. Ryo Moon Gak P. Co., Seoul, Korea. p 5-95.
 37. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RA, McCord JM, Harman D. 1987. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 107: 526-545.
 38. Allen KGD, Klevay LM. 1994. Copper: an antioxidant nutrient for cardiovascular health. *Curr Opin Lipidol* 5: 22-28.
 39. Bettger WJ, O'ell BL. 1981. A critical physiological role of zinc in the structure and function of biomembranes. *Life Sci* 28: 1425-1438.
 40. Qing J, Park JR, Kim JB, Cha MH. 1999. Physiological activity of *Zizyphus jujuba* leaf extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 593-598.
 41. Park EM, Ye EJ, Kim SJ, Choi HI, Bae MJ. 2006. Eliminatory effect of health drink containing *Hovenia dulcis* Thunb extract on ethanol-induced hangover in rats. *Korean J Food Culture* 21: 71-75.
 42. Jung YJ, Han DO, Choi BH, Park C, Lee HJ, Kim SH, Hahn DH. 2007. Effect of fermented herbal extracts, HP-1 on enzyme activities and gene expressions related to alcohol metabolism in ethanol-loaded rats. *Korea J Oriental Physiology & Pathology* 21: 387-391.
 43. Lebsack ME, Gordon ER, Lieber CI. 1981. Effect of chronic ethanol consumption on aldehyde dehydrogenase activity in the baboon. *Biochem Pharm* 30: 2273-2277.

44. Park TH, Kim JW, Joo CN. 1985. The effect of ginseng saponins on the activity of alcohol dehydrogenase. *Korean Biochem J* 18: 279-284.
45. Lee IS, Lee SO, Kim HS. 2002. Preparation and quality characteristics of yogurt added with *Saururus chinensis* (Lour.) Bail. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 411-416.
46. Swain T, Hillis WE, Oritega M. 1959. Phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. Quantitative analysis of phenolic constituents. *J Sci Food Agric* 10: 83-88.
47. Reinhold JG, Pascoe E, Arslanian M, Bitar K. 1970. Relation of zinc metalloenzyme activities to zinc concentrations in tissues. *Biochem Biophys Acta* 215: 430-437.
48. Underwood EJ. 1977. *Trace elements in human and animal nutrition*. 4th ed. Academic Press, Inc, New York, USA. p 196-242.
49. Van Meijl LE, Vrolix R, Mensink RP. 2008. Dairy product consumption and the metabolic syndrome. *Nutr Res Rev* 21: 148-157.
50. Zimmerman HJ, Seeff LB. 1970. Enzymes in hepatic disease. In *Dagnostic Enzymology*. Goodley EL, ed. Lea and Febiger Publisher, Philadelphia, PA, USA. p 1-38.

(2010년 11월 29일 접수; 2011년 2월 7일 채택)