

생약 조성물, DTS20의 알코올 분해 및 항염증 효과

윤택준^{1*}, 조선영², 이수정¹, 김은영¹, 신광순², 서형주³

Effect of Herbal Composition, DTS20 on Alcohol Degradation and Anti-inflammatory Activity

Taek Joon Yoon^{1*}, Sun Young Jo², Sue Jung Lee¹, Eun Young Kim¹, Kwang-Soon Shin², and Hyung Joo Suh³

접수: 2011년 8월 4일 / 게재승인: 2011년 10월 11일
© 2011 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: These studies were conducted to investigate the alcohol degradation effects of the extract of herbal composition (DTS20) containing *Viscum album* L., *Lycium chinense* L., *Inonotus obliquus* and *Acanthopanax senticosus* H., on the alcohol administered mice. To investigate anti-hangover effect, alcohol and alcohol dehydrogenase (ADH) concentration of blood were measured after oral administration of ethanol. The administration of DTS20 (200-500 mg/kg) had beneficial actions toward alcohol degradation in acute alcohol treated mice model. The oral administration of DTS20 showed decreased gastric mucous membrane damage produced in ethanol treated mice. In addition, intraperitoneal administration of DTS20 showed anti-inflammatory effects in inhibition tests of vascular permeability produced by acetic acid. DTS20 also reduced the concentration of nitric oxide (NO), tumor necrosis factor (TNF)- α in macrophages that were activated by LPS. These results demonstrate that DTS20 possesses potential to stimulate the alcohol degradation and inhibit the inflammatory effects in mice.

Keywords: Herbal extracts, alcohol, inflammation, cytokine, NO

1. 서론

현대인은 여러 가지 이유로 알코올을 섭취 하고 있으며, 특히 우리나라의 경우는 세계적으로 알코올 소비가 가장 많은 나라 중의 하나이다. 알코올 섭취의 문제는 일정량 이하의 섭취 문제가 아니고 일정량 이상의 섭취에 의하여 야기되는 여러 가지 문제를 들 수 있다. 과음에 의한 가장 일반적인 문제는 숙취이다 [1]. 음주 후 나타나는 숙취는 알코올 자체 뿐만 아니라 알코올의 분해과정 중 생성되는 acetaldehyde에 의한 뇌와 간을 포함한 소화기관의 독성으로 인해 나타나는 현상이다 [2]. 알코올 섭취 후 알코올 산화에 의하여 생성되는 acetaldehyde는 두통, 오심, 홍조, 맥박의 증가 등을 나타내고, 장기적으로는 위궤양을 포함하여 간손상에 의한 췌장염, 부정맥 및 심근경색 등의 중증병증을 유발할 수 있다 [3]. 또한, acetaldehyde는 반응성이 높은 화합물이므로 생체의 여러 가지 다른 물질들과 반응하여 간세포에 대한 독성 및 괴사, 미세혈관의 변화, 간세포의 미토콘드리아의 구조와 기능변화 및 지질의 과산화를 증가시킨다 [3-5]. 따라서 알코올의 지나친 섭취는 지방간 및 간경화 등의 간경변을 유발하게 되며 이러한 간경변은 free-radical-mediated oxidative stress에 의하여 더욱 심해진다 [3]. 알코올에 의한 산화적 스트레스 (oxidative stress)는 간세포가 생산하는 ROS에 의하여 야기되며 이러한 반응성물질 (free radicals)은 세포막을 구성하는 단백질, 지질 및 DNA 등의 세포 성분에 손상을 주게된다 [6]. 반응성 산소 종 (reactive oxygen species; ROS)에 의

¹유한대학 식품영양과

¹Department of Food & Nutrition, Yuhan University, Bucheon 422-749, Korea

Tel: +82-2-2610-0804, Fax: +82-2-2610-0809

e-mail: yoon_tj@yuhan.ac.kr

²경기대학교 식품생물공학과

²Department of Food Science and Biotechnology, Kyonggi University, Suwon 443-760, Korea

³고려대학교 식품영양학과

³Department of Food and Nutrition, Korea University, Seoul 136-703, Korea

한 지질 과산화는 에탄올에 의한 급성 점막손상에 가장 중요한 요인 중의 하나이다 [7]. 산화적 손상을 방어하기 위하여 생체는 여러 가지 항산화기전을 유발하게 되며 이러한 항산화 기전은 세포의 손상을 억제하게 된다. 혈관에 들어간 산소는 세포에 직접 작용하여 ROS로부터 세포를 방어하거나 항산화 효소의 생산을 촉진시키는 역할을 하게 된다 [6,7]. 또한, acetaldehyde는 acetaldehyde-protein adducts를 생성하여 면역반응을 유도함으로 간손상을 유발하게 한다 [8]. 또한 만성적인 알코올의 섭취는 메치오닌 (methionine)의 대사 이상을 초래함으로써 항산화 작용을 나타내는 글루타치온 (glutathione)의 생산을 억제할 뿐 아니라, 혈중 중성지방 (triglyceride; TG)의 농도를 높임으로 지방간으로 유발하게 된다 [9-10]. 지방의 과산화는 염증부위로 이동한 백혈구가 생산하는 prostaglandin이 영향을 받으며 이들은 유리 산소간기 매개의 지방과산화 (oxygen radical-mediated lipid peroxidation)를 유도함으로써 간기능의 손상을 유도하게 된다 [11]. 또한, 알코올성 간질환에서의 염증은 쿠퍼세포 (Kuffer cell)로부터 TNF- α , TGF- β , IL-1 및 IL-6 등의 염증성 cytokine들을 생성시키고 이들은 간세포의 콜라겐의 침착을 유도하여 간세포의 섬유화를 촉진하게 된다 [10,12-13]. 따라서 숙취를 감소시킬 수 있는 약물을 찾는 연구가 활성화되고 있으며 혼합 생약 추출물이 시판되기도 한다. 이러한 시판되는 숙취해소제들은 혈중 알코올 분해능을 갖는 것이 일반적이며, 제품에 따라서는 위출혈 억제 및 위벽 보호능, 혈중 알코올의 분해능, 알코올 섭취로 인한 두통, 속쓰림, 메스꺼움, 현기증, 피로감, 소화불량 또는 설사의 예방 및 개선능 등을 선택적으로 갖는 경우도 있다. 이러한 측면에서 본 연구는 한의서 및 민간에서 전통적으로 숙취와 관련이 있는 것으로 알려진 약용식물들의 추출물에 의한 위염 억제 및 알코올분해능과 관련된 실험을 진행하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험동물

생후 6-8주령의 자성 BALB/c를 (주)나라바이오텍에서 분양받아 유한대학 실험동물장에서 사육하였다. 마우스는 사육조에 5-10마리씩 넣어 정수된 물과 실험동물용 펠렛사료 (Samyang Co. Ltd., Incheon, Korea)를 자유 공급하였고, 온도 22°C, 습도 50%, 12시간 간격으로 자동 조명되는 상태에서 스트레스를 받지 않도록 주의하여 사육하였다.

2.2. 생약의 종류 및 시료의 추출

본 실험에 사용한 생약 원료인 겨우살이 (*Viscum album*. L.), 구기자 (*Lycium chinense* L.), 가시오가피 (*Acanthopanax senticosus* H.)는 서울 경동 한약재 시장인 대웅당 (Seoul, Korea)에서 구입하였고, 차가버섯 (*Inonotus obliquus*)은 (주)비즈모어 (Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 이물질 없이 세척하여 건조된 겨우살이, 구기자, 차가버섯 및 가시오가피를 중량비로 각각 40, 30, 20 및 10의 비율로 혼합한 후, 원료대비 10배의 증류수를 가하여 100°C에

서 5시간 추출하였다. 추출물은 감압증류장치 (Lab extreme, Inc., Kent city, MI, USA)로 농축한 후, 동결건조기 (IIShin Lab Co. Ltd., Nanyangju, Korea)를 이용하여 건조된 생약 조성물을 제조하였고 DTS20으로 칭한 후, PBS를 이용하여 100 mg/mL로 조정 후, 4°C에서 보관하며 사용하였다.

2.3. 알코올 분해능 측정

식이에 의한 알코올 흡수와 분해의 차이를 없애기 위해서 마우스 (ICR, 웅성, 25 g)를 5시간 절식시키고, 각 군당 5마리의 마우스에 80, 200, 500, 1250 mg/kg의 시료 및 대조군으로 증류수를 경구투여하였다. 투여 1시간 후 각 마우스에 40%의 알코올을 체중 kg당 7 g 수준으로 1회 경구투여 하고 4시간 후에 에테르로 마취시킨 후 혈액을 심장채혈 하였다. 혈청 알코올 농도측정은 Quantichrom Ethanol Assay Kit (Roche, Hayward, CA, USA) 이용하여 540 nm의 흡광도를 측정후, kit 내의 표준 알코올 시료를 분석하여 얻은 표준 곡선에 실험 결과를 대입하여 알코올의 함량을 측정하였다.

2.4. 알코올 섭취에 의한 위출혈 효과

각 군당 5마리의 마우스에 12, 60, 300 mg/kg의 시료 및 대조군으로 증류수를 경구투여 하였다. 투여 1시간 후 각 마우스에 99.9%의 알코올을 체중 kg당 6 g 수준으로 1회 경구투여 하고 1시간 후에 마우스를 경추탈골법으로 희생시킨 후, 복부를 절개하여 위 조직을 적출하였다 [14]. 상기 적출한 위 조직은 3% 포르말린을 이용하여 조직을 고정 후, 위 손상 정도를 관찰하고 육안관찰 소견을 정리하였다.

2.5. 혈중 알코올분해 효소의 함량

알코올 섭취에 의한 알코올 대사효소 및 acetaldehyde의 혈중 함량을 조사하기 위하여 마우스에 DTS20을 경구투여 (500 및 50 mg/kg) 하고 1시간 뒤에 알코올을 투여하였다. 알코올 투여 2시간 후에 마우스로부터 혈액을 취하고 혈청을 분리 후, 혈청내에 함유된 알코올탈수소효소 (alcohol dehydrogenase, ADH)의 양을 측정하였다. 알코올탈수소효소의 측정은 Alcohol Dehydrogenase Activity Assay Kit (Biovision Inc., Mountain View, CA, USA)를 이용하였으며 제조사의 지침에 따라 측정하였다.

2.6. 모세혈관투과 억제 실험

본 생약 추출물에 의한 혈액의 모세혈관 투과 억제도 실험은 기 발표된 방법 [15]을 변형하여 측정하였다. 즉, ICR계 마우스에 시료를 복강내 주사 (2, 10, 50 mg/kg)하고 30분 후에 생리 식염수에 희석된 0.7% 아세트산을 제조하여 체중 kg당 10 mL을 복강내 주사하였다. 30분 후 생리식염수에 녹여 제조한 4% pontamine sky blue를 0.1 mL 용량으로 꼬리정맥에 정맥주사하고, 30분 후 경추탈골법으로 실험동물을 희생시켰다. 그 후 복강내로 5 mL의 생리식염수를 복강에 가하고 복부를 가볍게 흔들어준 후, 복강 세척액을 수집하였다. 복강세척액의 pontamine sky blue의 양은 590 nm에서 흡광도를 측정하였으며 정상 마우스인 대조군과 비교하였다.

2.7. 염증성 성분의 생산 억제에 미치는 효과

RAW264.7 세포를 24 well plate의 각 well에 1.5×10^6 cells/well이 되도록 분주하고 24시간 후에 lipopolysaccharide (LPS; 500 ng/mL, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 및 DTS20의 최종농도가 15.6-1000 $\mu\text{g/mL}$ 가 되도록 조정하여 첨가한 다음 24시간 배양하였다. Nitric oxide (NO)의 함량은 안정된 NO 산화물인 NO_2 (nitrite)를 Griess 반응을 이용하여 측정하였다 [16]. 약술하면, 대식세포 배양 상등액 0.1 mL을 96 well plate에 넣고 여기에 Griess 시약 (Sigma-Aldrich)을 동량 첨가하여 10분간 반응시킨 후, 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. Nitrite의 농도는 sodium nitrite를 이용하여 얻은 표준곡선과 비교하여 표현하였다. 동시에 시험 물질과 LPS가 혼합된 대식세포 배양액을 회수 후, 각 배양 상등액에 생산된 TNF- α 의 함량을 sandwich ELISA 방법을 이용하는 각 Cytokine Kit (BD pharmingen, SanDiego, CA, USA)로 정량하였다.

2.8. 통계처리

대조군에 대한 실험군 간의 통계적 유의성은 Student's two-tailed *t*-test로 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 혼합 약용식물 추출물의 혈중 알코올 농도에 미치는 효과

혼합 약용식물 추출물인 DTS20 및 DTS20을 구성하는 각 생약 추출물의 알코올 분해 효과를 검토하기 위하여 각 추출물 500 mg/kg (10 mg/mouse)의 투여하고 3시간 후에 혈중 알코올 농도를 측정하였다. 실험결과 알코올 대조군 마우스의 혈중 알코올 함량은 $0.242 \pm 0.032\%$ 인 결과를 보였으며 DTS20을 구성하는 생약인 겨우살이, 구기자, 차가버섯 및 가시오가피를 투여한 마우스는 각각 0.215 ± 0.031 , 0.190 ± 0.033 , 0.182 ± 0.035 및 $0.191 \pm 0.028\%$ 의 혈중 알코올 함량을 보였다 (Fig. 1). 따라서 DTS20을 구성하는 모든 단일 생약의 경우 알코올 분해능을 촉진하는 기능이 있었으며 그 활성은 차가버섯 (*p* value = 0.033), 가시오가피 (*p* value = 0.039), 구기자 (*p* value = 0.049) 및 겨우살이 (*p* value = 0.242) 순이었다. 한편, 혼합약용식물 추출물인 DTS20이 투여된 마우스의 알코올 함량은 $0.164 \pm 0.036\%$ 를 보임으로서 단일 생약 성분중 높은 활성을 보인 차가버섯에 비하여 유의하게 높은 알코올 분해 활성 (*p* value = 0.499)을 보임으로 여러 생약을 혼합하여 제조한 DTS20은 각 생약에 비하여 높은 알코올 분해활성이 있는 결과를 보였다. 이전 보고에서 DTS20을 구성하는 생약인 겨우살이는 항산화 효과 [17]를, 구기자는 유해산소 제거 및 알코올대사 효소활성 [18]을, 차가버섯은 항염증 활성 [19-20]를 가시오가피는 간기능 증진활성 [9,21]이 보고된 바 있다. 특히, 이들 DTS20을 구성하는 생약 소재들은 한의서에서는 모두 간경 및 위경에 작용하는 기능이 있어 지방간, 알코올 성 간염, 간경화 등에 효과가 있다고 알려져 있다. 본 결과에서 복합물이 단일 생약 추출물에 비하여 동일한 농도에서 우수한 알코올 제거능

을 보인 이유를 설명할 수 없지만, 시판되는 숙취개선음료 및 유사한 연구결과 들이 보여주는 것은 복합물의 추출시 알코올 대사를 촉진하는 기능을 가지는 새로운 지표물질의 생산 가능성을 암시하였다 [1,22].

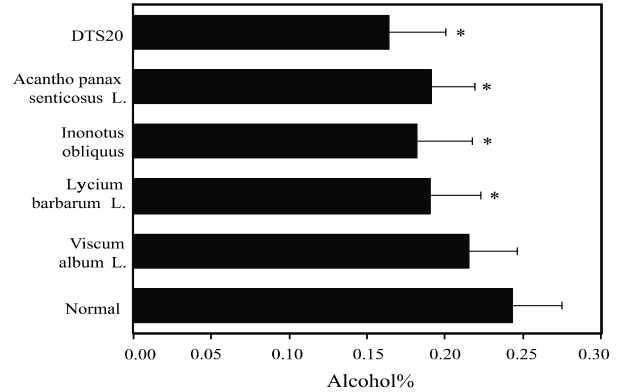


Fig. 1. Effect of DTS20 and its gradients on blood ethanol concentration in ethanol-treated mice. Data are means \pm S.D. of 5 mice. **p* < 0.05, compared with normal mice.

알코올 분해 활성을 가지는 DTS20의 최적 농도 결정 및 알코올 투여 후 시간의 흐름에 따른 혈중 알코올의 변화를 측정하였다. Fig. 2에 제시한 바와 같이 각 군의 마우스에 DTS20을 각각 80, 200, 500, 1,250 mg/kg으로 경구 투여하고 1시간 후에 알코올이 투여된 마우스의 혈중 시간 경과에 따른 혈중 알코올 함량을 조사한 결과, 알코올 대사를 촉진하는 DTS20의 최적 농도는 200-500 mg/kg인 결과를 보였다.

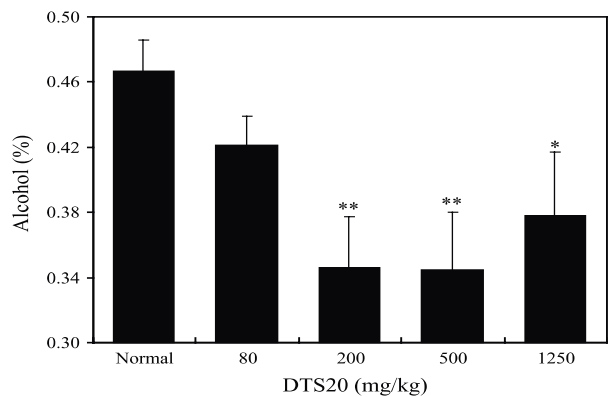


Fig. 2. Effect of DTS20 on blood ethanol concentration in mice. Data are means \pm S.D. of 5 mice. **p* < 0.01, ***p* < 0.001 compared with normal mice.

3.2. 혈중 알코올분해 효소의 함량

간에서 알코올의 대사는 ADH 및 Aldehyde dchydngenase (ALDH)에 의하여 대사되며, DTS20의 구성물질인 구기자, 가시오가피 등은 ADH 및 ALDH의 활성을 높임으로 알코올 해독 작용이 있다고 보고되고 있다 [22]. DTS20을 경구투여 후 알코올 분해효소의 활성을 측정된 결과, 500 mg/kg의 DTS20 투여는 알코올 대조군에 비하여 ADH 활성도가 증진

된 결과를 보였다. (Fig. 3) 즉, 알코올 투여군은 ADH 활성도는 약 0.169 mU/mL를 보였으나 500 mg/kg의 DTS20을 투여한 마우스는 약 0.0182 mU/mL의 활성을 보임으로 DTS20은 알코올 분해 효소의 작용을 촉진시킴으로서 혈중 알코올을 acetaldehyde로 전환시키는 능력이 있음을 확인하였다. 알코올 섭취에 의한 숙취의 원인은 주로 acetaldehyde의 축적에 의한다 [1]. Acetaldehyde는 뇌로 전해져 많은 유해화합물로 전환되어 맥박증가, 오심, 구토등의 숙취현상을 초래하고, 만성적 축적은 체내에 유리라디칼을 생성함으로써 산화적 스트레스를 유발하여 간조직을 손상시키게 된다 [1,4,9]. 이상의 실험으로 DTS20이 acetaldehyde의 대사를 촉진한다는 증거는 없었으나, 일반적으로 ADH의 활성을 촉진시키는 물질은 대개 ALDH의 활성도 증진시키는 결과를 보이는데, DTS20도 알코올의 대사를 촉진시키는 기능이 있다고 사료되었다 [9,22]. 앞으로 DTS20을 숙취제거 혹은 나아가 간기능 개선활성을 가진 기능성식품으로 개발하기 위하여 급성 및 만성 알코올 투여에 의한 알코올 대사에 직접 관여하는 효소 및 항산화 활성에 미치는 효과를 보다 자세히 검토해야 할 것이다 [1,9].

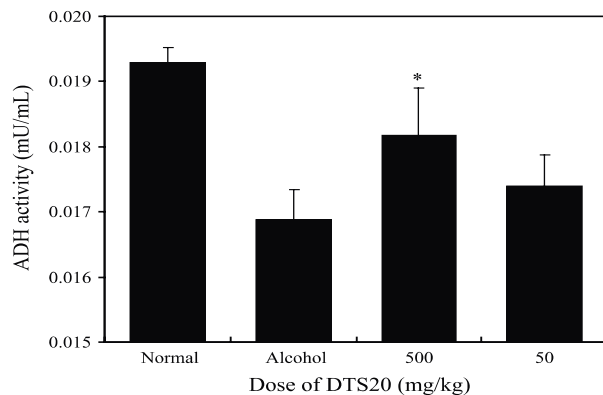


Fig. 3. Effect of DTS20 on blood alcohol dehydrogenase concentration in mice. Data are means \pm S.D. of 5 mice.

* $p < 0.01$, compared with alcohol treated control mice.

3.3. 위 출혈 억제 효과

체내에 투여된 알코올은 위출혈 등 강한 염증반응을 유도 [13-14]하므로 급성 알코올에 의한 염증 억제의 측면에서 시료의 경구투여에 의한 알코올 유도 위출혈 억제실험을 실시하였다. DTS20 (500 mg/kg) 및 알코올을 경구투여 하고 1시간 후에 마우스를 희생시킨 후, 복부를 절개하여 위 조직을 적출 후, 위 손상 정도를 관찰하였다 (Fig. 4). 각 군의 위장 조직을 관찰한 결과, 알코올 투여 대조군은 정상마우스와 비교하여 알코올에 의한 위출혈 현상이 현저하게 나타났으며, 500 mg/kg의 DTS20을 투여한 경우, 알코올 대조군에 비하여 위출혈 현상이 매우 억제되어 있는 결과를 보였다. 따라서 Fig. 4의 DTS20의 알코올 투여에 의한 위장관 출혈을 억제시킨 결과는 DTS20이 알코올에 의한 위 손상을 억제하는 효과가 있는 것으로 사료 되었다 [14,23]. 위점막은 지속적으로 여러가지 유해물질, 염산 및 proteolytic 효소에 노출되지만, 위산을 중화시키는 중탄사염 및 점막을 구성하는

mucin의 구조적 특징으로 안전한 상태를 유지하고 있다 [11]. 알코올에 의한 위염증의 유도에 대한 정확한 기전은 아직 완벽하게 알려지지는 않았지만 알코올은 지질 용해성 (lipid solubility)에 의하여 위점막에 침투하고 위점막에 존재하는 혈관을 손상시키고 염증을 유발함으로써 위염, 위궤양 및 위출혈을 유도한다고 보고되고 있다 [11,14,23]. 따라서 과량의 알코올은 섭취는 위점막의 급성 출혈, 점막부종 등을 유발하고, 알코올에 의하여 자극받은 위장관의 모세혈관의 확장을 유발하게 된다 [11,14,24]. 이러한 염증은 결국 혈관으로부터 염증성 세포의 침투를 유도한다 [23,25]. 특히, ROS, 지방 과산화 등을 포함한 독성을 함유한 식사는 위점막의 염증을 유발하고 특히 산화적 스트레스는 위염증에 직접적 관련이 있다고 보고되고 있다 [10-13]. 이러한 위점막의 손상은 염증반응에 있어 중요한 역할을 하는 염증매개물질 즉, 염증성 cytokine들, ROS, NO 등에 의한 생화학적 반응의 결과물이다 [14,16,23]. 따라서 DTS20의 알코올 투여에 의한 위점막 보호능의 기작 중의 하나는 DTS20의 항염 활성과 관련이 있을 것으로 사료되었다.

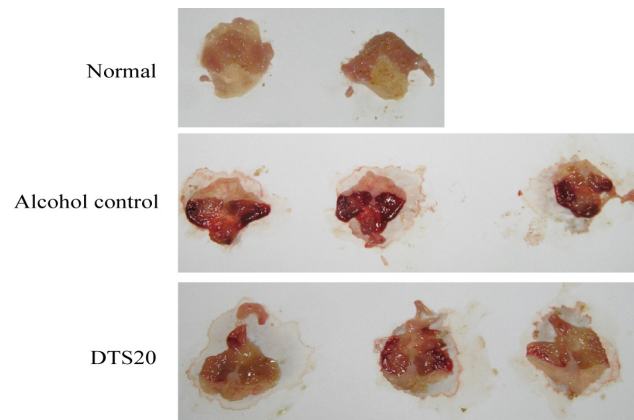


Fig. 4. Effect of DTS20 on gastric mucosal membrane damage in ethanol-induced gastric injury in mice.

3.4. 모세혈관투과도 억제실험

DTS20의 염증 억제에 대한 활성을 조사하기 위하여 아세트산에 의하여 유발되는 모세혈관의 투과성을 실시하였다. 시료의 항염증 활성에 대한 실험으로 시료인 DTS20을 마우스에 각각 20, 100, 500 mg/kg을 복강 주사하고, 아세트산을 혈관주사 하였다. 그 결과, DTS20의 투여는 아세트산 단독 투여 대조군에 비하여 모세혈관 투과도를 DTS20 농도 의존적으로 억제함으로써 염증을 억제하는 기능이 있음이 확인되었다 (Fig. 5). 아세트산에 의하여 유도되는 모세혈관투과성의 증진은 혈액내 백혈구가 생산하는 염증매개물질에 의한 급성 염증반응으로서 혈관의 팽창에 의하여 유도된다 [25-26]. 아세트산에 의한 염증반응은 대표적인 염증성 cytokine인 TNF- α , IL-1 β 등과 및 염증물질인 prostaglandins의 생산과 관련이 있다 [27]. 알코올에 의한 위염증의 경우도 장관점막세포 (gastric mucosal cell)의 prostaglandin의 분비 및 지방의 과산화 등과 직접 관련이 있는 것으로 보고되고 있다 [23]. 이러한 염증반응은 국소부위로 이동하는 단핵구 등의 염증세포가

생산하는 여러 가지 염증성 cytokine 및 nitric oxide (NO)의 영양을 받으므로 [11,24,26], DTS20의 투여에 의한 항염증 효과 즉, 혈관투과성 억제기능을 해석하기 위하여 DTS20의 염증성 cytokine 및 염증유발 물질의 생산에 미치는 효과의 검토가 요구되었다.

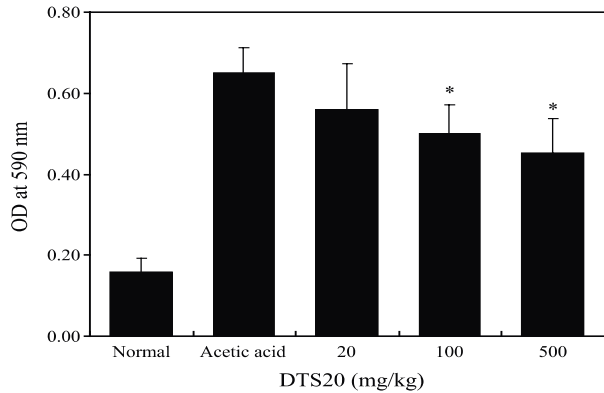


Fig. 5. Effect of DTS20 on vascular permeability induced by acetic acid in mice. Data are means ± S.D. of 5 mice. **p* < 0.05, compared with acetic acid treated mice.

3.5. 세포독성 및 염증성 물질의 생산 억제 효과

DTS20의 대식세포에 대한 세포독성 효과를 검토함으로써 세포실험에 사용될 농도범위를 결정하였다. 염증성 물질의 생산 억제에 미치는 효과는 DTS20의 대식세포에 대하여 직접 독성 효과를 가지지 않는 농도에서 실시하였다. DTS20은 대식세포에 대하여 약 1,000 µg/mL 이하의 농도는 *in vitro*에서 대식세포에 생존에 영향을 미치지 않는 결과를 보였다 (결과 미제시). DTS20의 항염증 반응은 대식세포에 LPS에 의하여 생산되는 염증성 cytokine인 TNF-α 생산 및 산화질소 (nitric oxide; NO)의 생산에 미치는 효과를 조사하였다. 실험 결과, DTS20은 대표적인 염증성 cytokine 중의 하나인 TNF-α (Fig. 6) 및 NO (Fig. 7)를 농도 의존적으로 억제한 결과를 보였다. 본 연구에서 염증매개물질로 사용한 LPS는 그람 음성균의 외막 구성성분으로 대식세포와 같은 염증세포와 반응하여 nitric oxide (NO), hydrogen peroxide (H₂O₂)와 같은 프리라디칼 및 IL-1β, TNF-α 및 IL-6와 같은 염증매개물질을 분비하는 작용이 있는 대표적인 염증유발 물질이다 [16,25]. 염증에 의하여 생산되는 여러가지 성분중 하나인 NO는 면역학적 측면에서는 감염원을 일차적으로 제거하는 기능을 가지나, LPS등의 강한 자극에 의하여 NO의 생산이 조절되지 못하고 비정상적으로 생산될 경우 정상세포를 손상시킴으로써 전신적 혹은 국소적인 염증반응을 일으키는 중요한 요인 중의 하나이다 [16,21]. 감염 등의 자극에 의하여 대식세포 등의 염증세포 등에서 분비되는 NO의 생산은 inducible nitric oxide synthase (iNO)의 발현에 의하여 생산되는데, 염증성 cytokine인 TNF-α 및 IL-6는 iNO의 발현을 자극하는 것으로 보고되고 있다 [28]. 염증성 cytokine인 TNF-α 및 IL-6는 NO 뿐 아니라 prostaglandin, leukotrien 등의 염증매개물질의 생산에도 관여하며 [25], 내피세포의 intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1)과 같은 접착분자의 발현을 촉진시킴으로써 국소

부위의 대식세포, 호중구와 같은 염증세포의 수를 증가시켜 염증반응을 유도하는 인자로 알려져 있다 [28]. 따라서 DTS20의 항염증 작용은 주로 염증성 cytokine 및 염증매개물질인 NO의 생산을 억제하는 기능에 의한 것으로 사료되었고 이것은 DTS20이 알코올에 의하여 유도되는 여러 가지 염증과 관련된 질환을 억제하는 기능이 있을 것으로 사료되었다. 이러한 항염증 효과는 결국 생체의 여러가지 항산화 효소의 활성화에도 영향을 미칠 것으로 사료되는 바, 앞으로 본 성분의 알코올 해독 작용에 대한 자세한 검토를 위하여 항산화 활성화에 대한 자세한 연구가 요구되었다.

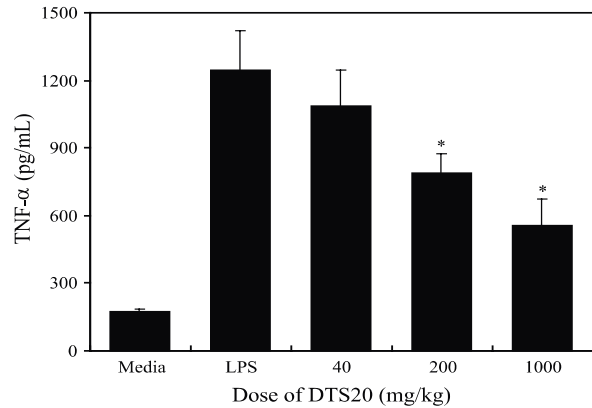


Fig. 6. Effect of DTS20 on the production of TNF-α in LPS-treated RAW 264.7 macrophages. Data are means ± S.D. (n = 4). **p* < 0.01 compared with acetic LPS treated group.

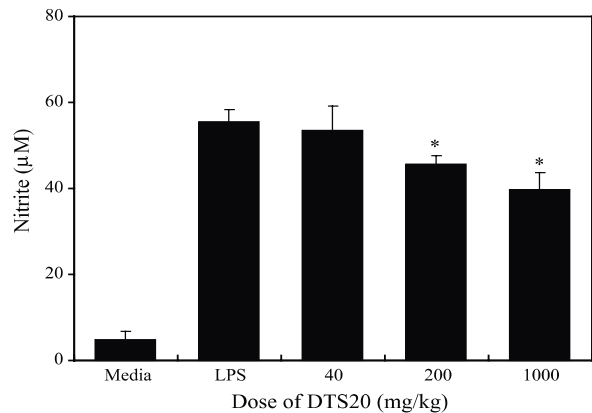


Fig. 7. Effect of DTS20 on the production of Nitrite in LPS-treated RAW 264.7 macrophages. Data are means ± S.D. (n = 4). **p* < 0.01 compared with acetic LPS treated group.

4. 결론

마우스에서 혼합 약용식물추출물인 DTS20의 투여에 의한 위점막 손상 및 알코올대사에 미치는 효과를 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 단미약제로써 겨우살이, 구기자, 차가버섯 및 가시오가피 추출물과 그들의 복합추출 생약제인 DTS20 (500 mg/kg)을 투여하고 1시간 후에 알코올을 경구 투여 한 결과, DTS20의 경우가 가장 우수한 알코올 분해

활성을 보였다. 마우스에서 혈중 알코올 함량을 낮추는 DTS20의 최적 농도는 200-500 mg/kg이었다. 또한 DTS20의 투여는 혈중 ADH의 활성을 높이며 알코올에 의한 급성 위장관의 염증반응을 억제하는 기능이 있었다. 동시에 DTS20은 마우스에서 아세트산에 의하여 유도되는 모세혈관 투과성을 낮추는 활성이 있었고, *in vitro*에서 대식세포로부터 LPS에 의하여 생산되는 염증 매개물질인 NO 및 TNF- α 의 생산을 감소시키는 항염증활성을 나타냈다. 이상의 결과로 DTS20은 알코올의 대사를 촉진하여 혈중 알코올의 농도를 감소시키며, 염증을 억제하는 항염증 활성이 있음을 확인하였다.

References

- Yang, D. S., S. G. Hong, S. M. Choi, B. N. Kim, H. J. Sung, and Y. Yoon (2004) Effect of oriental herbal composition, Jang Baek Union (JBU), on alcohol-induced hangover and CCl₄-induced liver injury in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 33: 78-82.
- Wang, X., C. X. Hai, X. Liang, S. X. Yu, W. Zhang, and Y. L. Li (2010) The protective effects of *Acanthopanax senticosus* Harms aqueous extracts against oxidative stress: role of Nrf2 and antioxidant enzymes. *J. Ethnopharmacol.* 127: 424-432.
- Day, C. P (2006) Genes or environment to determine alcoholic liver disease and non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int.* 26: 1021-1028.
- Mansouri, A., C. Demeilliers, S. Amsellem, D. Pessayre, and B. Fromenty (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.
- Thurman, R. G., B. Bradford, Y. Iimuro, K. Knecht, H. Connor, Y. Adachi, C. Wall, G. Arteel, J. Releigh, D. Forman, and R. P. Mason (1997) Role of kuffer cells, endotoxin and free radicals in hepatotoxicity due to prolonged alcohol consumption: studies in female and male rats. *J. Nutr.* 127: 903-906.
- Albano, E. (2008) Oxidative mechanisms in the pathogenesis of alcoholic liver disease. *Mol. Aspects Med.* 29: 9-16.
- Zamora, Z., R. Gonzalez, D. Guanche, N. Merino, S. Menendez, F. Hernandez, Y. Alonso, and S. Schulz (2008) Ozonized sunflower oil reduces oxidative damage induced by indomethacin in rat gastric mucosa. *Inflamm. Res.* 57: 39-43.
- Lee, I. S., K. Kang, and R. W. Choue (2006) Beneficial effects of water extracts of *Scutellariae Radix* on immune function in mice fed alcohol. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 35: 536-542.
- Choi, J. S., T. J. Yoon, K. R. Kang, K. H. Lee, W. H. Kim, Y. H. Suh, J. Song, and M. H. Jung (2006) Glycoprotein isolated from *Acanthopanax senticosus* protects against hepatotoxicity induced by acute and chronic alcohol treatment. *Biol. Pharm. Bull.* 29: 306-314.
- Wheeler, M. D., M. Nakagami, B. U. Bradford, T. Uesugi, R. P. Mason, H. D. Connor, A. Dikalova, M. Kadiiska, and R. G. Thurman (2001) Overexpression of manganese superoxide dismutase prevents alcohol-induced liver injury in the rat. *J. Biol. Chem.* 276: 36664-36672.
- Zhao, W., F. Zhu, W. Shen, A. Fu, L. Zheng, Z. Yan, L. Zhao, and G. Fu (2009) Protective effects of DIDS against ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. *Acta. Biochim. Biophys. Sin.* 41: 301-308.
- McClain, C. J., Z. Song, S. S. Barve, D. B. Hill, and I. Deaciuc (2004) Recent advance in alcoholic liver disease IV. dysregulated cytokine metabolism in alcohol liver disease. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 287: 497-502.
- Chae, H. B. (2009) Alcoholic liver disease. *Korean J. Gastroenterol.* 53: 275-282.
- Mitsuyama, K., O. Tsuruta, Y. Matsui, K. Harada, N. Tomiyasu, A. Suzuki, K. Takaki, J. Masuda, K. Handa, Y. Satoh, B. L. Bennett, A. Toyonaga, and M. Sata (2006) Activation of c-Jun N-terminal kinase (JNK) signalling in experimentally induced gastric lesions in rats. *Clin. Exp. Immunol.* 143: 24-29.
- Olajide, O. A., S. O. Awe, J. M. Makinde, A. I. Ekelhar, A. Olusola, O. Morebise, and D. T. Okpako (2000) Studies on the anti-inflammatory, antipyretic and analgesic properties of *Alstonia boonei* stem bark. *J. Ethnopharmacol.* 71: 179-186.
- Lin, Q. Y., L. J. Jin, Z. H. Cao, Y. N. Lu, H. Y. Xue, and Y. P. Xu (2008) *Acanthopanax senticosus* suppresses reactive oxygen species production by mouse peritoneal macrophages *in vitro* and *in vivo*. *Phytother. Res.* 22: 740-745.
- Lee, H. J., J. R. DO, J. H. Kwon, and H. K. Kim (2010) Antioxidant effects of *Viscum album* L. extracts by extraction conditions. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39: 14-19.
- Yoon, C. G., H. H. Kim, S. N. Chae, M. J. Oh, and G. H. Lee (2001) Hepatic oxygen free radical and alcohol metabolizing enzyme activities in rats fed diets supplemented with *Lycium chinense* ethanol extract. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30: 668-672.
- Cha, W. S., J. H. Yoo, M. J. Min, H. G. Nam, Y. S. Kim, H. J. Shin, J. S. Kim, O. Y. Choi, R. Kim, and D. B. Choi (2010) Effect of complex extracts of mushroom and sharp toothed eel on the skin conditions with atopic dermatitis and acne symptoms. *KSBB* 25: 387-394.
- Cui, Y., D. S. Kim, and K. C. Park (2005) Antioxidant effect of *Inonotus obliquus*. *J. Ethnopharmacol.* 96: 79-85.
- Yoon, T. J. and S. Y. Jo (2010) Effect of *Acanthopanax senticosus* extracts on alcohol degradation and anti-inflammatory activity in mice. *Korean J. Food & Nutr.* 23: 542-548.
- Lee, S. J., A. Kim, J. H. Lee, M. H. Kim, B. S. Lee, Y. T. Jee, J. H. Bin, and J. M. Ha (2011) Effect of minerals added to medicinal plant extracts on alcohol-induced oxidative stress and alcohol metabolism in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 40: 393-400.
- Liu, E. S. and C. H. Cho (2000) Relationship between ethanol-induced gastritis and gastric ulcer formation in rats. *Digestion* 62: 232-239.
- Piotrowski, J., E. Piotrowski, D. Skrodzka, A. Slomiany, and B. L. Slomiany (1997) Gastric mucosal apoptosis induced by ethanol: effect of antiulcer agents. *Biochem. Mol. Biol. Int.* 42: 247-254.
- Jung, S. M., H. R. Schumacher, H. Kim, M. Kim, S. H. Lee, and F. Pessler (2007) Reduction of urate crystal-induced inflammation by root extracts from traditional oriental medicinal plants: elevation of prostaglandin D2 levels. *Arthritis Res. Ther.* 9: R64.
- Wang, T., F. Fu, L. Zhang, B. Han, M. Zhu, and X. Zhang (2009) Effects of escin on acute inflammation and the immune system in mice. *Pharmacol. Rep.* 61: 697-704.
- Santos, E. N., J. C. Lima, V. F. Noldin, V. Cechinel-Filho, V. S. Rao, E. F. Lima, G. Schmeda-Hirschmann, P. T. Jr. Sousa, and D. T. Martins (2011) Anti-inflammatory, antinociceptive, and antipyretic effects of methanol extract of *Cariniana rubra* stem bark in animal models. *An. Acad. Bras. Cienc.* 83: 557-566.
- Yang, H. M., S. S. Lim, Y. S. Kee, H. K. Shin, Y. S. Oh, and L. K. Kim (2007) Comparison of the anti-inflammatory effects of the extracts from *Rubus coreanus* and *Rubus occidentalis*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 39: 342-347.