

단풍취 분획물이 알콜대사효소에 미치는 영향

문형인* · 지옥표 · 문세훈¹ · 신말식¹

성균관대학교 약학대학 생약학연구실, ¹전남대학교 식품영양학과

초 록 : Sprague-Dawley계 수컷랫트에 계통분획한 단풍취의 각 분획물을 경구투여하고 혈청 ethanol농도와 간의 ADH활성에 미치는 효과를 검색 추적한 결과 알코올대사를 촉진시키는 성분은 주로 에탄올가용부에, 억제시키는 성분은 에탄올불용부에 주로 존재함을 추정할 수 있었고 현재 활성성분을 분리중에 있다.(1998년 9월 25일 접수, 1998년 10월 14일 수리)

서 론

단풍취(*Ainsliaea acerifolia*)는 산야에서 흔히 자라는 국화과의 다년초로서 취나물류에 해당되고 있으며 어린순을 식용으로 한다.¹⁾ 정상적인 상태에서 소량의 알코올을 섭취할 경우 간장세포내로 들어온 에탄올은 cytosol내의 알콜탈수소효소(alcohol dehydrogenase, ADH)와 알데히드탈수소효소(aldehyde dehydrogenase, ALDH)의 작용에 의하여 acetic acid, 이산화탄소 또는 물로 되어 순환계를 통해 간세포밖으로 배설된다.²⁾ 건강한 성인의 경우에 하루의 알콜대사량은 최대 160~180 g 인데 장기적으로 알콜을 섭취할 경우와 과량 음주시에는 알콜성 간장애를 일으킨다.^{3,4)} 우리나라의 경우는 음주시 과음을 유발하는 음주문화로 인하여 알콜섭취로 유발되는 간기능장애는 날로 증가하는 추세에 있으며, 이로 말미암아 나타나는 여러 가지 간질환의 예방 및 치료는 중요한 연구과제중의 하나로 주목받고 있다. 그러나 현재까지 알콜대사에 영향을 미치는 성분으로 몇몇 합성의약품의 효과가 보고되어 있으나,^{5,6)} 합성화학물질자체가 독성 및 부작용을 나타내므로 건강식품으로서 이용이 불가능하여 부작용이 적은 유효성분을 추적코자 하는 추세에 있으며, 이와 같은 목적에 부합하여 연구결과가 보고된 예로는 신⁷⁾ 등이 Aloe vera추출물의 수용성분획이 알콜대사효소에 강한 활성이 나타남을 보고한 것외에는 연구의 예를 거의 찾아볼 수 없었다. 그러므로 저자들은 식품의 기능성소재로 이용가능한 유효성분을 추적하고자 음용가능하고 국내에서 쉽게 얻을 수 있는 산야초 52종의 에탄올 추출물의 알콜대사작용을 검색하였으며 그중에서 알콜대사작용에 강한 영향을 미치는 단풍취의 연구결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에서 사용한 단풍취는 오대산에서 1996년도 6~

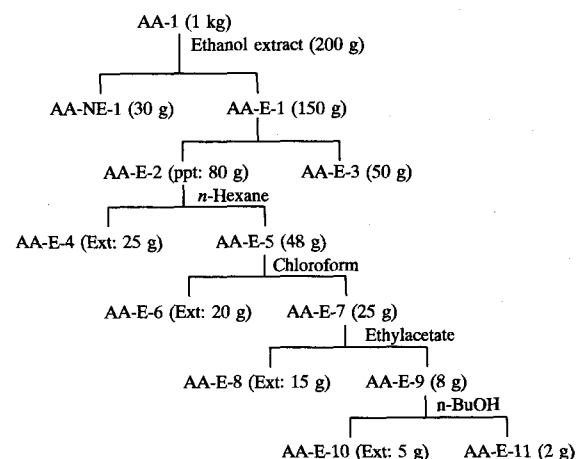
8월 사이에 채집하였으며 동결건조하여 분말로 만들어 실험재료로 하였다.

추출 및 분획

시료의 계통분획을 Scheme I의 방법에 의하여 실시하였으며 그 방법은 단풍취의 건조분말(AA-1) 1 kg을 ethanol로 수욕상에서 5시간씩 3회 환류추출하여 ethanol가용부(AA-E-1)와 ethanol불용부(AA-NE-1)로 분획하였다. ethanol가용부는 감압농축하여 석출하는 침전물(AA-E-2)을 여과하고, 여액(AA-E-3)을 감압농축하였다. 침전물(AA-E-2)은 다시 n-hexane(AA-E-4), chloroform(AA-E-6), ethylacetate(AA-E-8), n-buOH(AA-E10)로 각각 계통분획하여 분획물을 얻었다.

동물실험

대한실험동물센터로부터 구입한 체중 250~300 g의 Sprague-Dawley(CD strain)계 수컷흰쥐를 8마리를 한 군(3반복)으로 실험 24시간전에 절식시키고 신선한 물만 공급하였다. 실험을 실시하기 전에는 uretane(Aldrich Co. USA) 300 mg/



Scheme I. Fraction of *Ainsliaea acerifolia* Etanol extract.

찾는말 : 단풍취, 알코올대사, Ethanol농도, ADH활성
 *연락처

kg씩 복강내에 투여하여 마취시키고, 시료는 0.1% carboxyl methyl cellulose(Sigma Co. USA)에 현탁시켜서 경구투여 하였으며, 30분후에 ethanol을 3 g/kg의 농도로 경구투여 하였다.

알코올 및 간의 ADH 활성의 측정

Ethanol투여 후 1시간대 채혈은 경정맥채혈을 하였으며 1시간 또는 4시간대 채혈은 안와정맥과 경정맥으로부터 채혈하고 4°C에서 3000 rpm으로 10분간 원심분리하여 혈청을 분리한 다음 혈청내 ethanol 함량을 ethanol assay kit (Sigma Co. USA)로 측정하였다. 마지막 채혈이 끝나면 즉시 간을 적출하고 4°C에서 7배액의 0.25 M Sucrose액으로 homogenization하였다. Homogenate는 600×g에서 10분간 원심분리후 상등액을 10,000×g에서 10분간 및 105,000×g에서 1시간 원심분리하여 liver cytosol fraction을 얻고 이를 효소원으로하여 Alcohol dehydrogenase(ADH)활성을 측정하였다. 혈청 ethanol함량⁹⁾은 혈청 0.2 ml를 1.8 ml의 Trichloroacetic acid로 침전시키고 600×g에서 10분간 원심분리한 후 상등액의 일정량을 assay kit에 가하여 측정하였다. ethanol함량은 ethanol 표준품에 대한 분석치를 대조로 하여 산출하였다. ADH활성의 측정은 Lebsack 등의 방법⁹⁾에 준하여 0.2 M ethanol 0.1 ml, 0.5 M semicarbazide 0.02 ml, 0.1 M NAD의 0.01 M HCl용액 0.02 ml 및 0.1 M Tris buffer(pH 8.5) 2.0 ml를 혼합 30°C에서 10분간 Preincubation 한 후 Cytosolic enzyme source 0.1 ml를 반응액에 가하여 8분간 340 nm에서의 흡광도 변화를 기록하여 대조군의 측정치와의 비로부터 ADH활성을 산출하였다. 이때 기질인 ethanol을 제외한 공시험군의 값을 제하여 주었으며 Lowry 법¹⁰⁾에 의하여 단백질함량을 측정하였다.

통계처리

실험결과는 각 실험군에서 최고치와 최저치를 제외한 데

이타를 mean±S.E.M로 표시하였으며, 각 평균치의 차이는 Student t-test에 의하여 유의성검정을 하였다.

결과 및 고찰

에탄올 처리분획 투여 랫트의 혈청 ethanol농도와 간의 ADH활성 미치는 효과

약 270 g전후의 Sprague-Dawley계 수컷랫트에 계통분획한 각 분획물을 경구투여하고 혈청 ethanol농도와 간의 ADH활성에 미치는 효과를 검색 추적하여 Table 1에 표시하였다. 즉 랫트에 단풍취의 에탄올 조추출물(AA-1), 및 에탄올 가용부(AA-E-2, AA-E-3), 에탄올불용부(AA-NE-1)를 경구투여하고 30분후에 ethanol을 투여한 다음 1시간만 경정맥에서 채혈하여 ethanol함량과 간의 cytosol의 ADH활성을 측정한 결과 단풍취의 에탄올 조추출물(AA-1), 및 에탄올 가용부(AA-E-3)는 대조군에 비해 각각 43.2, 45.4%의 혈청 ethanol함량의 감소를 보였으며, 이와 부합되게 ethanol투여로 감소된 간의 ADH활성이 각각 163.7, 174.2%로 회복됨을 관찰하였다. 이와 반대로 에탄올불용부(AA-NE-1)는 ethanol함량 증가와 간의 ADH활성이 억제되는 현상을 관찰할 수 있어 ethanol대사 억제성분의 존재를 추측할 수 있었다. 또 다른 에탄올가용부인 AA-E-2는 혈청 ethanol함량 감소와 간의 ADH활성이 회복되는 현상을 관찰하는데 있어 뚜렷한 차이가 없어 ethanol대사억제 또는 ethanol다사촉진의 경향성을 추측하기에는 모호하였다. 이러한 실험의 결과로 미루어 볼 때 단풍취의 에탄올 조추출물(AA-1) 및 에탄올 가용부(AA-E-3)에서 alcohol대사 촉진작용을 나타내는 성분이 있음을 추정할 수 있었다.

에탄올 처리분획 투여 랫트의 시간적인 혈청 Ethanol농도와 간의 ADH활성 미치는 효과

동일한 랫트의 혈청 ethanol농도의 시간적인 변화를 관찰

Table 1. Effect of various fraction from *Ainsliaea acerifolia* on rat serum ethanol concentration and on hepatic alcohol dehydrogenase(ADH) activity after oral administration of ethanol

Treatment	Dose ¹⁾ (mg/Kg, P.O)	Ethanol (mM)	ADH activity (n Moles/min/mg prot)
EXP. 1.			
Control	0.1% CMC	16.9±2.4	8.7±0.8
Fr. AA-1	300	9.5±1.4**(43.2%)	14.2±1.0**(163.7%) ²⁾
EXP. 2.			
Control	0.1% CMC	120.3±3.2	13.2±1.2
Fr. AA-NE-1	300	29.2±1.6**(-43.8%)	5.3±1.2***(-40.1%)
EXP. 3.			
Control	0.1% CMC	12.1±1.5	9.8±2.3
Fr. AA-E-2	300	10.3±1.9 (14.8%)	11.2±1.3(114.1%)
EXP. 4.			
Control	0.1% CMC	20.5±2.3	12.5±1.7
Fr. AA-E-3	300	11.1±1.3***(-45.4%)	21.7±1.3**(174.2%)

Rats were orally administered with extracts (suspended in 0.1% CMC) at 30 min before ethanol treatment (3 g/kg, P.O). Ethanol concentrations in serum and ADH activity in liver cytosol fraction at 1hr after ethanol administration were estimated.

¹⁾The dose of the test extracts: mg/kg of plant dry wt. equivalent.

²⁾Percent of the control, significantly different from the control: *P<0.1, **P<0.05, ***P<0.001.

Table 2. Effect of *Ainsliaea acerifolia* extracts on rat serum ethanol concentration and on hepatic alcohol dehydrogenase (ADH) activity after oral administration of ethanol

Treatment	Dose ¹⁾ (mg/Kg, P.O)	Ethanol		ADH activity (nMoles/min/mg prot)
		1 hr	4 hr	
EXP. 1.		100	100	11.6±2.1
Control	0.1% CMC	37.7**	26.8**	17.6±1.4*(152.5%) ²⁾
Fr. AA-1	300			
EXP. 2.		100	100	9.4±0.8
Control	0.1% CMC	53.4**	50.4**	10.3±1.7*(110.4%)
Fr. AA-E-2	300			
EXP. 3.		100	100	10.3±2.8
Control	0.1% CMC	43.6**	17.9**	19.9±1.8(193.2%)
Fr. AA-E-3	300			

Rats were orally administered with extracts (suspended in 0.1% CMC) at 30 min before ethanol treatment (3 g/kg, P.O). Ethanol concentrations in serum and ADH activity in liver cytosol fraction at 1 hr and/or 4 hr after ethanol administration were estimated.

¹⁾The dose of the test extracts: mg/Kg of plant dry wt. equivalent.

²⁾Percent of the control, significantly different from the control: *P<0.1, **P<0.05, ***P<0.001.

하기 위하여 ethanol투여 후 1시간과 4시간에 안와정맥으로부터 채혈하여 ethanol함량을 대조군의 ethanol함량과 비교하고 4시간에 랫트를 희생하여 간의 cytosol ADH를 측정한다. 결과 Table 2에서 보는바와 같이 AA-1분획의 경우 1시간후에 62.3%, 4시간후에 73.2%의 혈중 ethanol함량의 현저한 감소를 보이며, 간의 cytosol의 ADH 활성 또한 152.5%의 효소활성증가를 나타내어 혈중 ethanol함량의 감소효과와 부합하였다. 에탄올가용부인 AA-E-3분획의 경우도 1시간후에 56.4%, 4시간후에 82.1%의 혈중 ethanol함량의 현저한 감소를 보이며, 간의 cytosol의 ADH 활성 또한 193.2%의 효소활성증가를 나타내어 혈중 ethanol함량의 감소효과가 부합하였다. 그러나 다른 에탄올가용부인 AA-E-2의 분획은 1시간과 4시간 사이에 별다른 차이를 보이지 않아 시간적인 차이에 별다른 영향을 받지 않는 것으로 추측할 수 있었다. AA-E-2의 분획에서도 미약하나마 활성이 나타나는 것으로 보아 alcohol 대사에 관여하는 성분이 존재 할 것으로 추정되어, 용매계통분획하여 계통분획물의 혈청 ethanol 함량과 간의 cytosol ADH 활성을 측정한다. 용매계통분획물에 대하여서는 Ethylacetate분획인 AA-E-8에 alcohol 대사를 촉진하는 성분이 존재함을 인지 할 수 있었으므로, 에탄올가용부인 AA-E-3분획의 집중적인 성분분리와 아울러 Ethylacetate분획인 AA-E-8분획에 대해서도 미약한 활성이지만 다른성분의 방해에 의한 것일수도 있다는 추측아래 성분분리를 시도하고 있다.

이상의 결과를 종합하여 보면 단풍취에는 alcohol대사를 촉진시키는 성분과 억제시키는 성분이 동시에 존재하며, 촉진시키는 성분은 주로 에탄올가용부에, 억제시키는 성분은 에탄올불용부에 존재함을 추정할 수 있었으며, 이러한 작용을 나타내는 성분들의 구체적인 구명 및 숙취제거 또는 알

콜 대사억제 기능성 성분으로서 상용적으로 이용할 수 있는 모델에 대한 연구가 앞으로의 연구과제로 사료된다.

참고문헌

1. Lee, T. B (1983) Illustrated Flora of Korea. 733, Hyang Mun sa, Seoul, Korea.
2. Lieber, C. S. (1984) Alcohol and the liver. *Hepatology*, **4**, 1243.
3. Nicholls, R., Jersey, J., Worall, S. and Wilce, P. (1992) Modification of protein and other biological molecules by acetaldehyde; Adduct structure and functional signification. *Int. J. Biochem.*, **24**, 1899.
4. Von burg, R. and Stoul, T. (1991) Toxicology update; Acetaldehyde. *J. Appl. Toxicol.*, **11**, 373.
5. Gabuzda, G. J. (1958) Fatty liver in man and the role of lipotropic factors. *Am. J. Clin. Nutr.* **6**, 280-297.
6. Rubin, E. and Lieben. C. S. (1968) Hepatic microsomal enzymes in man and rats: Induction and inhibition by ethanol. *Science* **162**, 690-691.
7. Shin, K. H., Woo, W. S., Song Y. J., Jung, H. S., Lee, J. M., Shim, C. S. (1995) Effect of Aloe extract on serum ethanol level and hepatic alcohol dehydrogenase activity. *Kor. J. Pharmacogn.* **26**(2), 148.
8. Sigma. (1997). Diagnostic kits and reagents., USA., p 2405.
9. Lebsack, M. E., Peterson, D. R. and Collus, A. C. (1976) Preferential inhibition of the low km aldehyde dehydrogenase activity by pargyline. *Biochem. pharmacol.*, **26**, 1151.
10. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. L. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol Chem.*, **193**, 265.

Effect of *Ainsliaea acerifolia* Fraction Extract on Alcohol Dehydrogenase Activity.

Moon Hyung-In*, Ok-Pyo Zee, Sae-Hun Mun¹ and Mal-Shick Shin¹ (*Pharmacognocoy Lab, Department of phramacy, Sungkyunkwan University, suwon, ¹Department of Food and nutrient, Chonnam National University, Kwangju, Korea*)

Abstract : Effects of organic solvents fraction from *Ainsliaea acerifolia* ethanol extract on alcohol metabolism in rats were examined and the results were as follows: Ethanol souble fraction, after a single oral administration to rats, was found to cause a significant decrease in the serum ethanol concentration as well as enhancement of liver cytosolic alcohol dehydrogenase(ADH) activity, on the other hand, the fraction insouble in ethanol was found to cause an increase ethanol concentration in the blood and inhibit ADH activity.

Key words : *Ainsliaea acerifolia*, Liver cytosolic ADH activity, Alcohol metabolism, Blood ethanol concentration

*Corresponding author