

귀뚜라미의 물 및 메탄올 추출물이 알코올 대사에 미치는 효과

안미영 · 이용우 · 류강선 · 이희삼 · 김익수 · 김진원 · 임순성¹

농업과학기술원 농업생물부, ¹한림대학교 실버생물산업기술연구센터

Effects of Water and Methanol Extracts of Cricket (*Gryllus bimaculatus*) on Alcohol Metabolism

Mi Young Ahn, Yong Woo Lee, Kang Sun Ryu, Heui Sam Lee, Iksoo Kim,
Jin Won Kim, and Soon Sung Lim¹

Department of Agricultural biology, National Institute of Agricultural Science & Technology, RDA, Suwon 441-100, Korea

¹Silver Biotechnology Research Center, Hallym University, Chuncheon 200-702, Korea

Abstract – The cricket has been used in East Asia as crude drugs for treating fever and hypertension, and is presently reared as a pharmaceutical insect in China and a food for animals. For the purpose of evaluating protective extracts against alcohol-induced toxicity, the extracts of the cricket (*Gryllus bimaculatus*) were examined in animal models acutely administered alcohol by the cricket in ICR-mice. Water and methanol extracts from the cricket, were found to cause a significant decrease (37%) in the blood ethanol concentration as well as enhancement of liver mitochondrial alcohol dehydrogenase (ADH) and acetaldehyde dehydrogenase (ALDH) activities on a single intraperitoneal administration in mice. Furthermore methanol extract was demonstrated to exhibit more potent enhancing activity on ethanol metabolism than water extract. These results suggest that water/alcohol extract of *G. bimaculatus* may be used as a food for reducing the toxicity of alcohol.

Key words – enhancement of ethanol metabolism, ADH, c-ALDH, m-ALDH, water extracts

서 론

귀뚜라미(귀뚜라미과; SCAPSIPEDUS ASPERSUS; 슬술, 本草綱目)는 여름철 밤에 날개를 마찰하여 울음소리를 내는 정서곤충으로 알려져 있다. 왕귀뚜라미는 과수나 각종 묘목을 갇아먹는 해충으로 구워서 어린아이의 경기에 사용하면 효과가 있으며 해열제로 사용하기도 하였다. 일본 애히매겐과 오이따 등지에서는 성충을 설사와 이질병에 사용하였고 또 장티프스에는 눌러서 짠 즙액을 술에 타 마셨으며, 또꾸지마에서는 액기스를 해열제로 사용하는 습속이 있다. 17세기경 유럽에서는 귀뚜라미의 침출액을 결석을 치료하는 약 또는 이뇨제로 사용한 기록이 있고 자마이카에서는 삶은 다리를 이뇨제로 사용하였다고 한다. 이 외에도 방광의 신경마비 또는 수요관의 경련, 심장성 수종, 노인인 소변불통 및 부인의 난산 등에 사용하였다.¹⁾

최근 곤충산업의 태동으로 소수 농가에서 귀뚜라미를 대

량 사육하고 있다. 안 등²⁾은 귀뚜라미를 사료에 첨가 급여 시 계육에서 필수지방산을 비롯한 다가불포화 지방산이 증가되었고(12~23%) 소량의 EPA 증가, 육질의 향미와 육색의 명도 및 황색도 증가로 육질이 향상되었다고 보고하였다. 또한 계란의 고소한 맛의 증가와 생 계란의 비린 맛 감소를 발표한 바 있다. 또한, 시염화탄소로 유발된 생쥐의 급성간염에 있어서 귀뚜라미의 물 및 알코올 추출물의 간 보호 효과를 확인한 바 있다.³⁾ 이와 같은 일련의 연구로 귀뚜라미의 생리활성을 재고해 보고 새로운 용도를 모색하고자 귀뚜라미 물 및 메탄올 추출물의 알코올분해능에 관한 실험을 착수하였다.

알코올의 섭취로 말미암아 유발되는 간 기능의 이상은 증가 일로에 있으며 이로 말미암아 나타나는 여러 가지의 간 질환의 예방 또는 치유는 중요한 연구과제의 하나임은 주지의 사실이다.⁴⁾ 우리가 섭취한 알코올은 위장 점막의 알코올 탈수소효소(ADH: alcohol dehydrogenase) 및 미크로솜 에탄올산화계(MEOS: microsomal ethanol oxidizing system)에 의해 약 30%가 대사 된다. 간에서의 에탄올대사는 주로

*교신저자(E-mail) : amy@rda.go.kr
(FAX) : 031-290-8408

NAD-linked enzymes, 즉 ADH와 알데히드 탈수소효소 (ALDH: aldehyde dehydrogenase)에 의해 이루어진다. 이들 효소는 각각 아세트알데히드와 아세테이트를 생성하며 아세테이트는 acetyl-Co A로 전환되어 TCA회로를 거쳐 에너지를 발생하거나 또는 콜레스테롤과 지방산 합성하는데 이용된다.⁵⁾ 위장과 간의 ADH와 MEOS 모두 알코올을 제1단계 대사 하여 아세트알데히드로 산화시키므로, 알코올이 이들 효소에 의해 대사됨에 따라 생성된 아세트알데히드 양이 증가하게 된다. 아세트알데히드는 생체 내에서 단백질을 비롯한 중요활성물질과 결합하여 맥박의 증가, 발한, 오심, 구토 등의 증상을 유발한다. 알코올대사의 제2단계는 알데히드탈수소효소(ALDH: aldehyde dehydrogenase)가 아세트알데히드를 아세테이트로 산화시켜 알데히드의 축적과 그에 따른 부작용을 막을 수 있으나 한국인의 15% 이상이 ALDH의 불활성형을 가지고 있어 음주 시 알데히드의 축적으로 인한 상기 증상들이 나타날 수 있다. 혈중 알코올농도 (blood ethanol concentration: BAC)가 0에 이른 다음에도 알데히드는 존재하지 않지만 이에 대한 독성현상으로 숙취증상이 계속될 수 있다.⁶⁾

연구자 등은 민간에서 귀뚜라미의 조추출물이 현저한 혈중 알코올 농도의 감소 효과를 나타낸다는 구술에 착안하여 우리나라에서 가장 많이 사육 이용되고 있는 아열대산 귀뚜라미(*Gryllus bimaculatus*)의 추출물에 대한 알코올 대사 촉진 작용을 과학적으로 검증하고자 본 연구에 착수하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 시료의 추출

충주 엄정면에서 얻은 아열대산 귀뚜라미(*Gryllus bimaculatus*) 200 g을 동결 건조하여 62.5 g을 얻고 이를 양분하여 증류수와 메탄올에 각각 침출시킨다. 30분간 2번 초음파 투과 후 Whatman paper로 여과 후 동결 건조하여 건조물을 얻어 수득률을 계산하였다. 수득률은 수용성 추출물이 14.8%, 메탄올 침전물이 13.1%이었다.

시료의 처치 및 혈청 중의 알코올 함량 정량

체중 32 ± 2 g의 6령의 ICR 웅성 마우스를 실험동물로 하고 고형사료와 식수를 공급하면서 2주 이상 사육한 다음 실험을 실시하였으며 실험 전 24시간 절식시키고 물만을 공급하였다. 시료를 수용성 추출물의 경우 saline에 methanol 추출물의 경우는 olive oil에 현탁하여 복강 내 투여하였다. 1시간 후 ethanol을 3 g/kg 씩 경구투여하고 ethanol 투여 후 1시간 만에 안와정맥으로부터 채혈하고 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 분리한 다음 Alcohol (Ethanol) kit

(Sigma Co., USA)를 이용하여 혈청 내 ethanol 함량을 분석하였다.⁷⁾

간조직에 존재하는 알코올 분해 효소원(ADH, ALDH) 준비

채혈이 끝난 후 즉시 간을 적출하고 0.25 M sucrose 액(2 mM mercaptoethanol 및 10 mM sodium phosphate, pH 7.4)으로 세척하고 sucrose용액 7배액을 가하여 homogenization하였다. 이 homogenate를 600×g에서 10분간 10,000×g에서 10분간 원심분리하여 그 상층액을 cytosolic-ALDH (세포질 아세트알데히드 탈수소효소) 측정 효소원으로 하였고 10,000×g 상층액을 105,000×g에서 다시 1시간 원심분리하여 그 상층액을 알코올탈수소효소(ADH) 효소원으로 하였다.

10,000×g의 pellet을 용액 15 ml로 2회 세척하고 1 mM sodium phosphate (pH 7.4 2 mM mercaptoethanol, 0.2% sodium deoxycholate)를 간의 습중량 g당 1 ml의 부피로 첨가하여 homogenization하고 이 homogenate를 40,000×g에서 1시간 원심분리 한 후 상층액을 mitochondrial ALDH (미토콘드리아 아세트알데히드 탈수소효소) 효소원으로 하였다.^{8,9)}

알코올탈수소효소 및 아세트알데히드탈수소효소 측정

모든 효소활성의 측정은 Lebsack 등의 방법에 준하여 340 nm에서 NADH 생성속도를 지표로 실시하였다. ADH 활성은 37°C, ALDH 활성은 25°C에서 기질을 가하여 반응을 개시하였으며 1분당 1 μM의 coenzyme 형성량을 1 unit로 하여 U/mg protein의 비활성으로 나타내었다.

반응액의 조성은 ALDH의 경우는 propionaldehyde를 기질로 하여 0.2 M-tris-HCl buffer (pH 8.3) 1.25 ml, 1 M KCl 0.1 ml, pyrazole 0.02 ml, 1 M 2-mercaptoethanol 0.02 ml, 0.1 M propionaldehyde 0.06 ml, 0.1 M NAD (in 0.01 M HCl) 0.1 ml 및 enzyme source 0.1 ml를 가하고 inhibitor를 첨가하여 총 2.5 ml가 되도록 조절한 후 반응시켰다.

ADH의 경우는 ethanol을 기질로 하여 0.1 M Tris-HCl buffer (pH 8.5) 2.6 ml, 0.2 M ethanol 0.1 ml, 0.05 M semicarbazide HCl 0.1 ml, 0.1 M NAD (in 0.01 M HCl) 0.02 ml의 혼합액과 효소원 0.1 ml을 넣고 inhibitor를 첨가하여 총 3 ml가 되도록 조절한 후 반응을 실시하였다. 기질만을 제거한 공시험군의 측정치를 제한 값을 효소활성으로 하였다. 효소 단백질의 정량은 Lowry법에 의하여 실시하였다.¹⁰⁾ 누에고치단백질을 저온추출한 후 효소로 분해하여 저분자 펩타이드로 만들어 현재 일본 농업공동조합연합회(JA)에서 숙취해소용 건강보조식품으로 판매되고 있다. 이에 국내 실크렙타드(실크파우더 100, 신도바이오실크)를 양성대조물질로 알콜대사활성을 비교하였다.

통계처리

분석결과의 통계는 실험군 당 평균치와 표준오차로 계산하였고 군간의 차이는 Student's *t*-test를 이용하였다.

결과 및 고찰

알코올 함량에 미치는 영향

귀뚜라미 엑기스를 1시간 전에 투여한 다음 에탄올 투여 후 1시간 뒤에 쥐의 혈청 중의 잔류 알코올 함량을 비교한 결과 귀뚜라미 메탄올추출물의 경우가 가장 적었다. 즉, 무처리 대조군의 알코올 함량을 189.1 mM로 알코올 저해효과를 0%로 볼 때, 물추출물의 경우는 100 mg/kg 투여시 혈청 중의 에탄올 함량이 165.2 mM로 15% 정도로 감소되며, 물추출물 200 mg/kg에서는 120.3 mM로 57%로 용량의존적으로 유의성 있게 감소되었음을 알 수 있었다. 메탄올추출물에 있어서는 100 mg/kg과 200 mg/kg 투여군에 있어서 112.3~123.2 mM로 54~68% 감소되나 용량의존성을 보이지는 않았다(Fig. 1).

귀뚜라미추출물이 알코올탈수소효소(ADH)에 미치는 영향

귀뚜라미 추출물의 알코올탈수소효소(ADH)에 미치는 영향을 비교하기 위하여 간세포질에 존재하는 알코올탈수소효소의 함량 1 mg 대비 1분간 반응 속도를 측정해 본 결과, 무처리 대조군의 알코올탈수소효소 량 대비 반응속도인 66.4 nmole을 100%로 보았을 때, 물추출물의 경우는 100 mg/kg 투여시 혈청 중의 에탄올 함량이 143.9 nmole로 217% 정도로 증가되며, 물추출물 200 mg/kg에서는 216.7 nmole로 326% 증가됨으로서 물추출물 200 mg/kg 투여군이 가장 높은 활성을 나타내었다. 반면, 메탄올추출물 투여군의 경우는 100 mg/kg 투여군은 24.2 nmoles로 36% 감소되

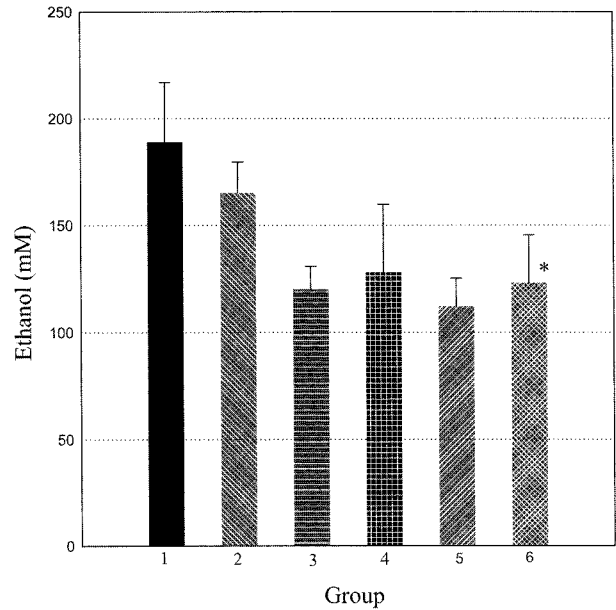


Fig. 1. Effect of extracts of *Gryllus bimaculatus* on serum ethanol concentration in mice.

1, control; 2, water extract 100 mg/kg; 3, water extract 200 mg/kg; 4, silk peptide 100 mg/kg; 5, methanol extract 100 mg/kg and 6, methanol extract 200 mg/kg. Values represent mean±S.E. of 15 mice per each group. Alcohol was injected orally, and test materials were administered intraperitoneally at 1 hr before injection of alcohol.

Significantly different from control at *p*<0.05 by Student's *t*-test.

며 200 mg/kg 투여군은 87% 감소를 나타내었다(Table I).

귀뚜라미 추출물이 아세알데히드탈수소효소(ALDH) 활성화에 미치는 영향

현재 알코올 섭취 시 알코올 분해산물인 아세트알데히드의 체내축적으로 숙취가 생긴다고 알려져 있다.⁵⁾ 귀뚜라미

Table I. Effect of extracts of *Gryllus bimaculatus* on hepatic alcohol dehydrogenase (ADH) and acetaldehyde dehydrogenase (ALDH) activities in mice

| Treatment | Dose (mg/kg) | ADH (potency %) (nmoles/min/mg prot.) | ALDH (potency %) (nmoles/min/mg prot.) | |
|--------------|--------------|---------------------------------------|--|-------------|
| | | | c-ALDH | m-ALDH |
| Control | 0 | 66.4(100) | 32.9(100) | 35.3(100) |
| Water ex. | 100 | 143.9(217)* | 43.7(133) | 47.0(133) |
| | 200 | 216.7(326)* | 40.3(123) | 47.9(136) |
| Silk peptide | 100 | 27.5(42) | 32.6(99) | 262.0(743) |
| | 100 | 24.2(36) | 28.5(33) | 173.2(491)* |
| MeOH ex. | 100 | 24.2(36) | 28.5(33) | 173.2(491)* |
| | 200 | 57.5(87) | 33.5(102) | 180.4(511)* |

Values represent mean±S.E. of 15 mice per each group. Alcohol was injected orally and test materials were administered intraperitoneally at 1 hr before injection of alcohol.

*Significantly different from control at *p*<0.05 by Student's *t*-test.

추출물의 아세트알데히드탈수소효소 대사능을 비교하기 위하여 간의 세포질과 미토콘드리아에 존재하는 아세트알데히드탈수소효소의 양을 측정하였다.

우선 세포질 유래 아세트알데히드탈수소효소(c-ALDH) 활성은 물추출물 100 mg/kg 투여군과 200 mg/kg 투여군에서 대조군에 비해 23~33%정도 증가하였으나 용량의존성은 없었다. 메탄올추출물 투여군의 경우에는 c-ALDH 효소활성에 미치는 영향이 거의 없었다. 그러나 미토콘드리아에 존재하는 아세트알데히드탈수소효소(m-ALDH) 활성의 경우 효소 단백질 1 mg 대비 1분간 m-ALDH 효소의 양을 측정하였다. 무처리 대조군 반응속도인 35.3 nmoles을 100%로 보았을 때, 물추출물 100 mg/kg 투여군이 47.0 nmoles로 133% 정도로 증가되었으며, 물추출물 200 mg/kg 투여군은 효소의 양이 47.9 nmoles로 136% 증가됨을 알 수가 있었다. 메탄올추출물 투여군에 있어서는 100 mg/kg일 때 173.2 nmoles로 대조군에 비해 491% 증가되며 200 mg/kg일 때 511% 증가되었음을 알 수 있었다. 대조 약물로는 실크 펩타이드를 100 mg/kg 투여 시 m-ALDH 효소양이 262.0 nmoles/nmoles/min/mg prot.로 743%로 증가됨을 확인하였다.

이상의 결과로부터 귀뚜라미의 물추출물 투여군에서 쥐의 간세포 내 알코올탈수소효소(ADH)의 높은 활성 증가(326%) 현상이 나타났으며, 메탄올추출물 투여군에 있어서 미토콘드리아 내 아세트알데히드탈수소효소(m-ALDH)의 높은 활성증가(511%)를 나타내어 이 결과로부터 귀뚜라미 추출물이 간세포내의 알코올 대사에 관여하는 효소군의 활성을 증가시킴으로서 알코올 분해대사를 촉진시키는 것임을 알 수 있었다. 특히 숙취의 원인 물질로 알려져 있는 아세트알데히드를 귀뚜라미의 메탄올추출물이 간세포의 미토콘드리아에 존재하는 아세트알데히드탈수소효소의 활성을 증가시킴으로서 유의적으로 분해시킴을 알 수가 있었다.

귀뚜라미는 고지방(지방 21.8%), 고단백(단백질 52.8%) 성분을 가지며 특히 숙취에 관여하는 아미노산인 aspartic acid (4.5%), glutamic acid (5.7%), alanine (4.6%)이 다른 아미노산에 비해 풍부하다.²⁾ 따라서, 귀뚜라미는 메뚜기목 귀뚜라미과에 속하는 잡식성 곤충으로 현재 관상용 어류나 애완 소동물의 사료로 세계적으로 사용되고 있으나 고단백을 함유하여 체내에서 아미노산의 공급원으로 엑기스 제제화시 알코올분해 촉진의 가능성을 보여주는 소재로 사료된다.

결 론

귀뚜라미의 물 및 메탄올추출물이 간세포 내의 ADH, m-

ALDH의 활성증가로 알코올분해대사를 촉진하였다. 알코올 섭취 시 귀뚜라미 엑기스를 1시간 전에 복용하였을 때 혈청 중의 에탄올 함량이 114% 감소하였다. 귀뚜라미의 물추출물 투여군에서 쥐의 간세포 내 알코올탈수소효소(ADH)의 높은 활성 증가(326%) 현상이 나타났으며, 메탄올추출물 투여군에서 미토콘드리아 내 아세트알데히드탈수소효소(m-ALDH)의 높은 활성증가(511%)를 나타내었다. 이 결과로부터 귀뚜라미 추출물이 간세포내의 알코올 대사에 관여하는 효소군의 활성을 증가시킴으로서 알코올 분해대사를 촉진시키는 것임을 알 수 있었다.

인용문헌

1. Kim C. H. (1989) Insect and human. pp. 110-111. Kyungbuk University Press, Daegu.
2. Ahn M. Y., Ryu K. S., Park B. Y., Kim D. W., Kim I., and Kim S. H. (2000) Effect of cricket on the chicken and its egg. *Korean J. Poult. Sci.*, **27**: 197-202.
3. Ahn M. Y., Lee Y. W., Ryu K. S., Lee H. S., Kim I., Kim J. W., Lee Y. K., Kim E. S., and Kim Y. S.,(2002) Protective effects of water/methanol extracts of cricket on the acute hepatic damages in the ICR-mice induced by administration of CCl₄. *Korean J. Food Sci. Technol.* **34**: 684-687.
4. Shin K. H., Han Y. N., Chung H. S., Lim S. S., Lee S. H., and Shim C. S. (1998). Effects of high molecular weight fractions of *Aloe* spp. on alcohol metabolism. *Korean J. Pharmacogn.* **29**: 120-124.
5. Sur J. S. (1999) Alcohol metabolism and nutritional effects, *Food Industry and Nutrition*, **4**: 13-19.
6. Kim C. I. (1999) Cause and effect of hangover, *Food Industry and Nutrition*, **4**: 26-30.
7. Lee Y. J., Pantuck C. B., and Pantuck E. J. (1993) Effect of ginseng on plasma levels of ethanol in the rat. *Planta Med.* **59**: 17-19.
8. Sung K. C., Kang J. S., Lee C. H., Koh H. C., Shin I. C., Kang S. H., Jeon Y. C., and Om A. S. (2000) The effect of gender on the gastric alcohol dehydrogenase (GADH) activity in normal Sprague-Dawley Rats. *J. Appl. Pharm.*, **8**: 38-43.
9. Mezey E., Potter J. J., Mishra L., Sharma S., and Janicot M. (1990) Effect of insulin-like growth factor 1 on rat alcohol dehydrogenase in primary hepatocyte culture, *Arch. Biochem. Biophys.*, **280**: 390-396.
10. Lee H. J. and Lee H. M. (1999) Screening of alcohol dehydrogenase inhibitors from natural products. *Yakhak Hoeji*, **43**: 481-486.

(2004년 5월 28일 접수)