

눈꽃동충하초 물추출물이 흰쥐의 알코올대사에 미치는 영향
- 연구노트 -

김지명¹ · 박재환² · 김미경³ · 전향숙^{2*}

¹한북대학교 식품영양학과

²한국식품연구원

³이화여자대학교 식품영양학과

Effects of *Paecilomyces tenuipes* Water Extract on
the Alcohol Metabolism of Rats

Ji-Myung Kim¹, Jae Hwan Park², Mi-Kyung Kim³, and Hyang Sook Chun^{2*}

¹Dept. of Food and Nutritional Sciences, Hanbuk University, Gyeonggi 120-750, Korea

²Food Convergence Technology Division, Korea Food Research Institute, Sunghnam 463-740, Korea

³Dept. of Food and Nutritional Science, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

Abstract

The effect of *Paecilomyces tenuipes* water extract (PTWE) on the alcohol metabolism was examined on rats. PTWE of 0, 30, 100 mg/kg body weight was administered orally to the rats 30 min before oral treatment of 3 g/kg body weight of alcohol. Blood alcohol and acetaldehyde concentrations were measured 0.5, 1, 3, 6, 9 hr after alcohol treatment. Hepatic alcohol dehydrogenase (ADH), aldehyde dehydrogenase (ALDH), microsomal ethanol oxidizing system (MEOS) activities were measured 9 hr after alcohol treatment. There were no differences in blood alcohol concentrations and area under the curve (AUC) of alcohol. PTWE decreased acetaldehyde concentration and there were significant differences after 6 hr in 30 mg/kg PTWE and after 3 and 9 hr in 100 mg/kg PTWE, respectively. In particular, 100 mg/kg PTWE decreased AUC of acetaldehyde by 44%. However, there were no changes in the hepatic ADH, ALDH, and MEOS activities.

Key words: *Paecilomyces tenuipes* water extract (PTWE), alcohol, acetaldehyde, area under the curve (AUC)

서 론

눈꽃동충하초(*Paecilomyces tenuipes*)는 국내 연구진에 의해 누에를 기주로 하여 자실체의 인공배양에 성공하여 널리 보급되고 있는 버섯이다(1). 눈꽃동충하초는 항암작용, 항산화능, 항피로, 항스트레스, 항노화 및 면역 능력 등의 다양한 효능이 보고되고 있으나(2,3) 눈꽃동충하초의 알코올 분해 및 대사 효소계에 미치는 영향에 대한 연구는 아직 보고된 바가 없다.

오늘날 알코올의 소비량이 날로 증가되고 있으며, 과량 또는 만성적 알코올섭취는 숙취 및 알코올성 간질환을 유발한다. 섭취된 알코올(alcohol)은 알코올 탈수소효소(alcohol dehydrogenase)에 의해 아세트알데히드(acetaldehyde)가 되고 다시 알데히드 탈수소효소(aldehyde dehydrogenase)에 의해 산화되어 아세트산(acetic acid)으로 되어 일부는 요나 CO₂로 배설된다(4). 또한, 알코올을 과량 혹은 만성으로 섭취할 경우에는 1/2~2/3 이상이 microsomal ethanol oxidiz-

ing system(MEOS)에 의하여 대사된다(5). 알코올은 섭취량에 따라 간 대사에 여러 가지 영향을 미치는 것으로 알려져 있는데 알코올 그 자체보다도 산화과정에서 생성된 아세트알데히드가 간세포에 손상을 가져오게 된다. 체내에 과량의 알코올이 섭취된 경우 알코올 분해산물로 생성된 아세트알데히드는 뇌로 전해져 많은 유해화합물로 바뀌어 맥박의 증가나 발한, 홍조, 오심, 구토 등의 증상을 초래할 수 있다(6,7). 간에서 알코올의 대사율은 알코올 탈수소효소, 알데히드 탈수소효소, MEOS의 활성에 영향을 주는 여러 가지 요인들에 의해서 조절되어질 수 있다(8).

따라서 본 연구에서는 눈꽃동충하초 물추출물의 알코올 분해 및 대사에 미치는 영향을 알아보기 위하여 알코올을 투여한 흰쥐에서 눈꽃동충하초 물추출물이 혈중 알코올 및 아세트알데히드 농도에 미치는 효과를 kinetic study로 살펴보고, 알코올 대사 효소인 알코올 탈수소효소, 알데히드 탈수소효소 및 MEOS를 분석하였다.

*Corresponding author. E-mail: hschun@kfri.re.kr
Phone: 82-31-780-9273, Fax: 82-31-709-9876

재료 및 방법

눈꽃동충하초 물추출물의 제조

충남, 전북, 경북에서 생산된 눈꽃동충하초를 농촌진흥청으로부터 제공받아 혼합한 다음 본 연구에 사용하였다. 눈꽃동충하초는 자실체 및 균사체를 분쇄기로 균질하게 분쇄한 후 시료 10배수의 증류수를 가하여 95°C에서 5시간 동안 추출하였다. 추출액을 압착여과한 다음 1,800 g에서 20분간 원심분리하였으며, 상등액을 감압농축한 후 동결건조시켜 실험재료로 사용하였다.

실험동물

5~6주령의 Sprague-Dawley 종의 수컷 흰쥐 30마리를 구입하여 체중이 200 g이 되었을 때 10마리씩 3그룹으로 나누어 본 실험에 사용하였다. 시료의 투여량은 눈꽃동충하초의 생리활성을 연구한 Shim 등의 연구(9)에서 사용한 눈꽃동충하초 메탄을 추출물 50~300 mg/kg body weight을 참고하여 예비실험을 통해 30과 100 mg/kg body weight로 결정하였다. 16시간 동안 공복을 유지시킨 흰쥐에게 0, 30, 100 mg/kg body weight의 눈꽃동충하초 물추출물을 각각 경구투여하고 30분 뒤 3 g/kg body weight의 알코올을 경구 투여한 다음 0.5, 1, 3, 6, 9시간 간격으로 안와정맥총에서 채혈하였다. 안와정맥총 채혈은 방법의 용이성과 반복채혈이 가능하다는 점 때문에 마우스나 흰쥐에서 일반적으로 사용되는 채혈방법 중 하나이기 때문에 사용하였다. 시료는 0.5% carboxymethyl cellulose solution에 현탁시켜 사용하였다.

혈액 및 장기 채취

채취한 혈액은 4°C, 1,000 g에서 15분간 원심분리한 후 혈장을 분리하였다. 분리한 혈장은 즉시 혈장의 알코올 및 아세트알데히드 분석에 이용하였다. 9시간째에 혈액을 마지막으로 채취한 후 실험동물을 즉시 해부하여 간을 적출한 다음 -70°C에 냉동 보관하여 알코올대사효소 분석에 이용하였다.

혈장 알코올 및 아세트알데히드 분석

혈장의 알코올 및 아세트알데히드는 kit를 이용하여 분석하였다(F. Hoffmann-La Roche Ltd, Switzerland). 즉, 혈중 알코올 농도는 3 mL의 NAD 용액과 혈장 100 µL를 혼합하고 실온에서 3분간 방치한 후 340 nm에서 흡광도를 측정하고, 이 혼합액에 알코올 탈수소효소 용액 50 µL를 혼합하여 20°C에서 5분간 반응시킨 후 다시 흡광도를 측정하여 그 차이를 산출하였다. 혈중 아세트알데히드 농도는 3 mL의 NAD 용액과 혈장 200 µL를 혼합하고 실온에서 3분간 방치한 후 340 nm에서 흡광도를 측정하고, 이 혼합액에 알데히드 탈수소효소 용액 50 µL를 혼합하여 20°C에서 3분간 반응시킨 후 다시 흡광도를 측정하여 그 차이를 산출하였다.

혈중 농도-시간 곡선하면적 계산

경구 투여한 알코올의 혈중 약물동태학적 거동을 평가하

기 위해, 혈중 농도-시간 곡선하면적(area under the curve; AUC)을 약물동태학적 지표로 산출하였다. 0시간부터 0.5, 1, 3, 6, 9시간에 검출된 혈중 알코올 농도를 이용하여 시간대 농도곡선을 먼저 작성하고, AUC는 사다리꼴 면적계산 공식을 이용하여 최종채혈시점까지의 값을 구하였다(10,11).

간의 효소원 분리

간 조직 1 g을 취한 다음 0.25 M sucrose, 5 mM Tris, 0.5 mM EDTA(pH 7.2)를 함유하는 용액 4 mL을 넣고 균질화시킨 다음 700 g에서 4°C에서 15분간 원심분리시켰다. 상층액을 취한 다음 12,000 g로 4°C에서 15분간 원심분리시킨 후 다시 그 상층액을 100,000 g, 4°C에서 1시간 동안 초고속 원심분리하였다. 그런 다음, cytosol과 microsome 부분을 각각 취하여 분석에 이용할 때까지 -70°C에 냉동 보관하였다. Microsome은 50 mM Tris acetate buffer(50 mM Tris acetate, 20% glycerol, 1 mM EDTA, pH 7.4)에 현탁시켜서 보관하였다.

알코올 탈수소효소(alcohol dehydrogenase)

알코올 탈수소효소 활성은 Bergmeyer 등의 방법을 변형하여 NADH 생성에 따른 흡광도의 변화를 340 nm에서 측정하였다(12). 1 mg protein의 cytosol에 2.5 mM beta-NAD를 함유하는 glycine buffer 0.1 M glycine, pH 9.6)로 최종 3 mL에 맞추었다. 37°C에서 5분간 안정시킨 후, 최종 25 mM 농도로 알코올을 첨가하면서 340 nm에서 5분 동안의 흡광도를 측정하여 그 변화량으로 활성을 구하였다.

알데히드 탈수소효소 활성(aldehyde dehydrogenase)

알데히드 탈수소효소 활성은 Tottmar 등의 방법(13)을 변형하여 NADH 생성에 따른 흡광도의 변화를 340 nm에서 측정하였다. 1 mg protein의 cytosol에 1 mM beta-NAD, 0.1 mM pyrazole를 함유하는 sodium pyrophosphate buffer(60 mM sodium pyrophosphate, pH 8.8)로 최종 3 mL이 되도록 하였다. 25°C에서 3분간 안정시킨 후, 최종 10 mM 농도로 아세트알데히드를 첨가하면서 340 nm에서 3분 동안의 흡광도를 측정하여 그 변화량으로 활성을 구하였다.

Microsomal ethanol oxidizing system (MEOS) 활성

MEOS 활성은 Castro 등의 방법을 변형하여 gas chromatography로 분석하였다(14). NADPH 300 µL, 0.14 M 알코올 300 µL, microsomes 0.23~0.32 mg protein/mL 혼합액에 50 mM KH₂PO₄를 가하여 최종 3 mL이 되도록 하였다. 곧바로 뚜껑을 닫고 37°C에서 1시간 방치한 후, 얼음에 넣어 반응을 멈춘 후 포화식염수 1 mL을 주사기로 넣고 잘 혼합하여 solid phase microextraction(SPME) fiber를 사용하여 37°C에서 10분간 방치하였다. SPME는 carbowax/divinylbenzene를 이용하였고, gas chromatography로 분석하였다.

통계처리

통계처리는 SAS(Statistical Analytical System) pack

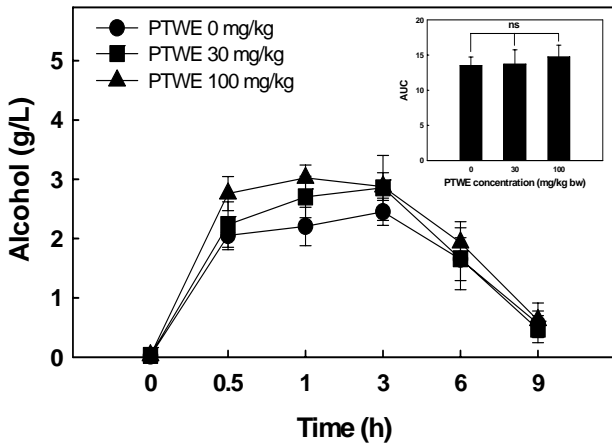


Fig. 1. Effects of PTWE on blood alcohol concentrations and on area under the curve after administration of alcohol in rats.

Data are mean and standard error mean (M±SE) values. No significant difference between groups by one-way ANOVA followed by Duncan multiple range test (p<0.05).

age를 이용하여 각 변인마다 평균과 표준오차를 구하였고, 실험군 간의 차이는 일원배치 분산분석법으로 분석한 후 Duncan의 다중비교법으로 p<0.05 수준에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

혈중 알코올 및 아세트알데히드 농도

본 연구에서 눈꽃동충하초 물추출물을 30분전에 미리 경구투여한 후 알코올을 경구투여하여 0.5, 1, 3, 6, 9시간째의 알코올 농도를 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 눈꽃동충하초 물추출물의 투여는 각 시간별 혈중 알코올 농도에 유의적인 영향을 미치지 않았다. 시간에 따른 혈중 알코올의 농도-시간 곡선하면적(area under the curve: AUC)을 살펴보면 눈꽃동충하초 물추출물의 투여는 혈중 알코올의 AUC에 유의적인 영향을 미치지 않았다. 일반적으로 AUC와 같은 동태학적 지표를 산출하기 위하여서는 최소 5~6회 이상의 채혈과 마지막 채혈시의 혈중 농도는 최고치의 20% 이하가 되어야 한다고 알려져 있다(15). 한 시점에서의 농도 차이만으로는 알코올 대사에 미치는 영향을 제대로 고찰할 수가 없기 때문에, 이러한 시간 경과에 따른 혈액중의 알코올 농도의 변화곡선을 살펴보아야 한다.

혈중 아세트알데히드 농도를 측정한 결과는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 눈꽃동충하초 물추출물 30 mg/kg 투여군에서 알코올 섭취 후 6시간째의 혈중 아세트알데히드 농도(0.31 mg/L)가 시료를 보충하지 않은 알코올대조군(1.28 mg/L)에 비해 75.8% 감소하였다(p<0.05). 눈꽃동충하초 물추출물 100 mg/kg 투여군에서는 알코올 섭취 후 3시간과 9시간째의 혈중 아세트알데히드 농도가 각각 92.5%(시료 비보충군, 1.21 mg/L; 시료 보충군, 0.09 mg/L), 96.7%(시료

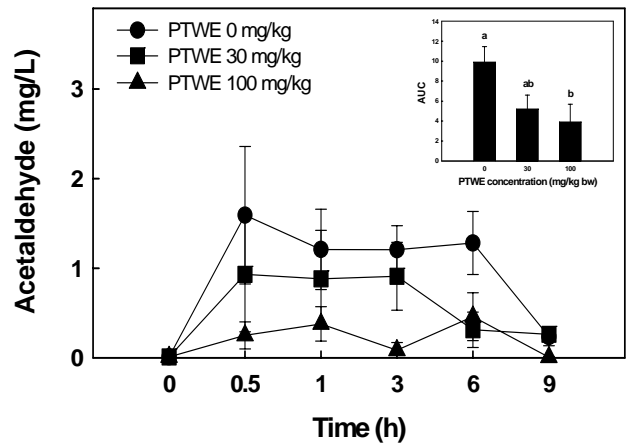


Fig. 2. Effects of PTWE on blood acetaldehyde concentrations and on area under the curve after administration of alcohol in rats.

Data are M±SE values. Values with different superscripts are significantly different at p<0.05 by one-way ANOVA followed by Duncan multiple range test in the same time.

비보충군, 0.24 mg/L; 시료 보충군, 0.008 mg/L) 감소하였다 (p<0.05). 혈중 아세트알데히드의 AUC에서는 눈꽃동충하초 물추출물 30 mg/kg 투여의 경우 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 100 mg/kg 투여군에서는 알코올대조군에 비해 60% 감소하였다(p<0.05). 알코올 섭취 시 나타나는 독성은 알코올 자체에 의한 것과 그 대사산물인 아세트알데히드에 의한 것 등의 복합적인 작용으로 알려져 있다(16). 이 중 아세트알데히드는 반응성이 강한 독성물질로서 혈액내의 아세트알데히드가 과량인 경우에는 일부가 뇌를 비롯한 다른 장기로 이동하여 숙취 및 알코올 성 간질환 등 유해한 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(17). 본 연구결과, 눈꽃동충하초 물추출물은 숙취의 주요 원인으로 알려진 아세트알데히드의 농도를 감소시키는 것으로 나타났다.

혈중 알코올 대사 효소 활성

알코올 투여 후 9시간째에 실험동물을 희생하여 얻은 간에서 cytosolic 알코올 탈수소효소와 cytosolic 알데히드 탈수소효소의 활성 및 MEOS의 활성을 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. 눈꽃동충하초 물추출물은 혈중 알코올 농도에는 영향을 미치지 않았고, 혈중 아세트알데히드의 농도만을 감소시켜 알데히드 탈수소효소 효소활성이 증가할 것으로 기대하였다. 본 연구 결과, 예상과는 달리 간의 알코올 탈수소효소, 알데히드 탈수소효소, MEOS 활성은 알코올대조군, 눈꽃동충하초 물추출물 30 mg/kg와 100 mg/kg 투여군 간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 사람에게 있어서 간의 알코올 탈수소효소의 활성은 알코올 섭취후 혈중 알코올 농도가 최고치에 달하는 60~90분 사이에 최대의 활성을 나타내고, 그 후 점차 감소한다고 보고되고 있다(18). 본 연구에서는 알코올 섭취후 9시간이 지난 뒤에 알코올 대사 효소 활성을 측정하였으며, 이 때 혈중 알코올, 아세트알데히드의 농

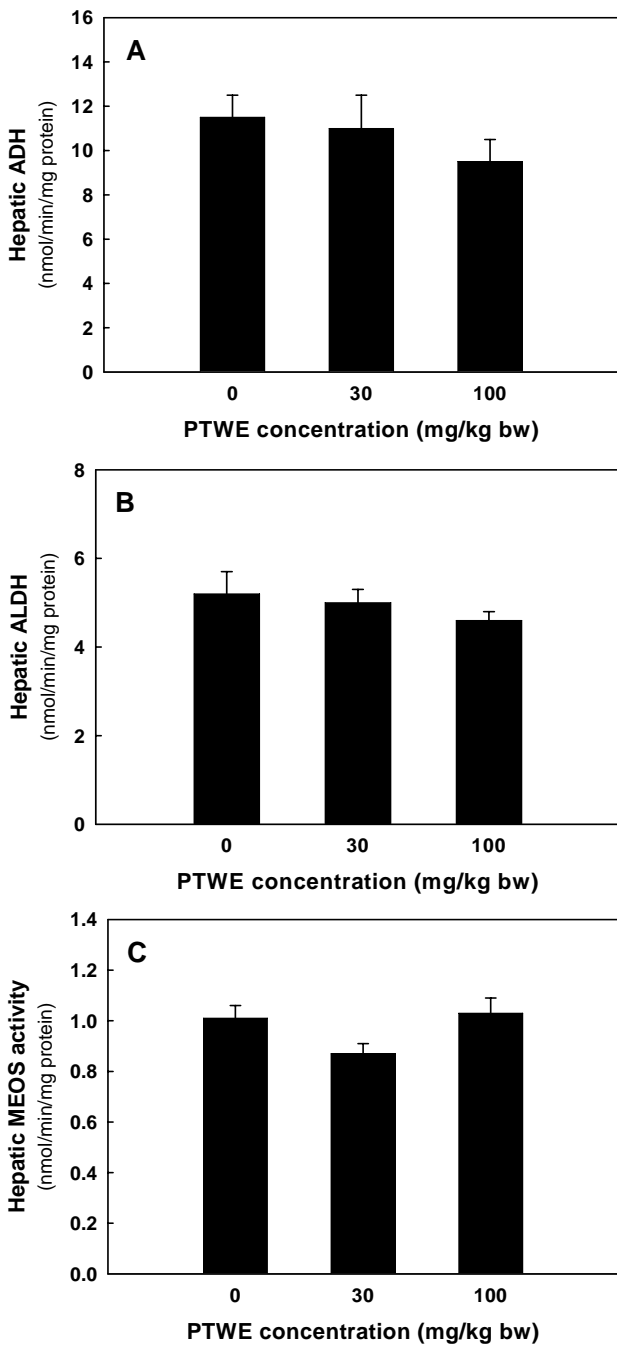


Fig. 3. Effects of PTWE on activities of hepatic alcohol dehydrogenase (A), aldehyde dehydrogenase (B) and microsomal ethanol oxidizing system (C) after administration of alcohol in rats.

Data are M ± SE values. No significant difference between groups by one-way ANOVA followed by Duncan multiple range test ($p < 0.05$).

도가 현저히 감소된 후여서, 눈꽃동충하초 물추출물의 아세트알데히드의 분해에 영향을 주는 알코올 탈수소효소, 알데히드 탈수소효소 효소활성 및 MEOS 활성의 차이를 관찰하지 못한 것으로 사료된다.

이와 같은 결과를 종합하여 볼 때, 눈꽃동충하초 물추출물

이 혈중 알코올 농도에는 영향을 미치지 않으나 혈중 아세트알데히드 농도를 감소시키는 것으로 사료된다. 혈중 아세트알데히드 수준을 낮추는 눈꽃동충하초 물추출물의 작용기전과 관련하여, 알코올 대사 효소 활성화에 미치는 영향에 대한 추가연구 및 알코올 섭취에 의한 간 손상에 미치는 영향에 대한 심층연구가 필요할 것으로 사료된다.

요 약

본 연구에서는 눈꽃동충하초 물추출물이 알코올 대사에 미치는 효과를 동물실험을 통하여 살펴보았다. 알코올과 그 대사산물인 아세트알데히드의 혈중 농도를 측정된 결과, 눈꽃동충하초 물추출물의 경구투여는 흰쥐의 혈중 알코올 농도에는 영향을 미치지 않았으나, 3, 6, 9시간째의 혈중 아세트알데히드 농도를 유의적으로 감소시켰다. 특히 100 mg/kg 농도의 눈꽃동충하초 물추출물 투여 시 혈중 아세트알데히드의 농도-시간 곡선하 면적에서 유의적인 감소를 보였다. 반면에 알코올 투여 후 9시간째 측정된 간의 알코올 탈수소효소, 알데히드 탈수소효소, MEOS의 활성화는 눈꽃동충하초 물추출물 투여에 따른 변화를 보이지 않았다. 종합적으로 눈꽃동충하초 물추출물은 혈중 알코올 농도에는 영향을 미치지 않으나 혈중 아세트알데히드 농도를 감소시키는 것으로 보인다. 눈꽃동충하초 물추출물이 혈중 아세트알데히드 수준을 낮추는 작용기전과 관련하여, 경시적인 알코올대사 효소활성의 변화와 간 손상 관련 지표 조사 등에 관한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2006년도 바이오그린 사업 연구비지원으로 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Cho SY. 1999. Cultivation and distribution of silkworm-dongchunghacho (*Paecilomyces japonica*). Paper presented at 1st International Symposium on Cordyceps. The Korean Society Sericultural Science and the Korean Society of Life Science, Seoul, Korea. p 73-82.
2. Shim JS, Min EG, Han YH. 2000. Cytotoxicity against human cancer cell lines by *Paecilomyces tenuipes* DUGM 32001. *Kor J Microbiol* 36: 312-315.
3. Kwon SH, Woo HJ, Han DS, Kim MK. 2001. Effect of dried powders and water extracts of *Paecilomyces tenuipes* and *Cordyceps militaris* on lipid metabolism, antioxidative capacity and immune status in rats. *Kor J Nutr* 34: 271-284.
4. Lieber CS. 1994. Alcohol and the liver: 1994 Update. *Gastroenterol* 106: 1085-1105.
5. Ramchandani VA, Bosron WF, Li TK. 2001. Research advances in ethanol metabolism. *Pathol Biol* 49: 676-682.
6. Park SC. 1993. Ethanol oxidation is accelerated by augmen-

- tation of malate-aspartate shuttle with aspartate. *Kor J Biochem* 25: 137-143.
7. Kim CI. 1999. Cause and effect of hangover. *Food Ind Nutr* 4: 26-30.
 8. Jörnvall H, Höög JO, Bahr-Lindström H, Johanson J, Kaiser R, Person R. 1988. Alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase. *Biochem Soc Trans* 16: 223-227.
 9. Shim JY, Lee YS, Lim SS, Shin KH, Hyun JE, Kim SY, Lee EB. 2000. Pharmacological activities of *Paecilomyces japonica*, a new type Cordyceps sp. *Kor J Pharmacogn* 31: 163-167.
 10. Kim TW, Song OK, Han SY, Cao QR, Park MJ, Kang SH, Sin KW, Cui JH, Lee BJ. 2005. Bioavailability of cefaclor capsules using an improved analytical method of cefaclor in human plasma. *J Kor Pharm Sci* 35: 117-122.
 11. Cho JY, Kim AR, Yeon JD, Lim SW, Lee JH, Yoo ES, Yu YH, Park MH. 1997. Effects of combined preparation (DWP715) containing *Alaska pollack* extract, maltol, ascorbic acid and nicotinamide on decreasing of blood alcohol concentration, anti-fatigue and anti-oxidation. *Korean J Food Sci Technol* 29: 167-172.
 12. Bergmeyer HU. 1974. Alcohol dehydrogenase. In *Methods of Enzymatic Analysis*. Academic Press, New York. Vol 2, p 428-429.
 13. Tottmar SO, Petterson H, Kiessling KH. 1973. The sub-cellular distribution and properties of aldehyde dehydrogenase in rat liver. *Biochem J* 135: 577-586.
 14. Castro GD, de Castro CR, Maciel ME, Fanelli SL. 2006. Ethanol-induced oxidative stress and acetaldehyde formation in rat mammary tissue: Potential factors involved in alcohol drinking promotion of breast cancer. *Toxicology* 219: 208-219.
 15. Bae JW. 1999. Effects of red-ginseng extract on pharmacokinetics of ethanol. *J Ginseng Res* 23: 172-175.
 16. Umulis DM, Gurmen NM, Singh P, Fogler HS. 2005. A physiologically based model for ethanol and acetaldehyde metabolism in human beings. *Alcohol* 35: 3-12.
 17. Helander A, Tottmar O. 1988. Effect of acute ethanol administration on human blood aldehyde dehydrogenase activity. *Alcohol Clin Exp Res* 12: 643-646.
 18. Zakhari S. 2006. Overview: how is alcohol metabolized by the body? *Alcohol Res Health* 29: 245-254.

(2008년 1월 10일 접수; 2008년 3월 7일 채택)