

인삼사포닌 성분이 에탄올을 투여한 쥐의 뇌 Aldehyde Dehydrogenase 활성에 미치는 영향

이영돈 · 주충노
연세대학교 이과대학 생화학과
(1994년 3월 19일 접수)

The Effect of Saponins of *Panax ginseng* C.A. Meyer on Brain Aldehyde Dehydrogenase Activity of Ethanol Administered Rat

Young Don Lee and Chung No Joo

Department of Biochemistry, College of Science, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea
(Received March 19, 1994)

Abstract □ Sprague-Dawley rats were given freely with 15% ethanol (control) and 15% ethanol containing (1) 0.1% ginseng saponin, (2) 0.02% ginsenoside Rb₁, and (3) Rg₁ (tests) instead of water for 7 days and aldehyde dehydrogenase (ALDH) and monoamine oxidase (MAO) activity in different regions of brain were examined. In control group, total ALDH activity with indoleacetaldehyde and acetaldehyde as substrate in all different regions was lower than that of normal group except in the hippocampus. The inhibitory effect on the activity was prominent in the corpus striatum and was not in the hippocampus. However, low-K_m ALDH activity in all different regions was much lower than that of normal group. A considerable decrease in mitochondrial ALDH activity in cerebellum and striatum was also observed in control group. In test groups total, low-K_m, and mitochondrial ALDH activities in all different regions were higher than those in control group. Although ALDH activity in the striatum of test group was higher than control group, it was relatively depressed as compared with normal. There was not found a remarkable difference in extent of stimulating effect on the ALDH activity according to the ginseng saponin components. When biogenic aldehydes were used as substrate, ALDH activity with 3,4-dihydroxyphenylacetaldehyde (DOPAL) in all brain regions of control group was lower than that using 5-hydroxyindoleacetaldehyde (HIAL) and 3,4-dihydroxyphenylglycolaldehyde (NORAL) as substrate. In control group, ALDH activity with biogenic aldehydes above mentioned was markedly inhibited in the striatum contrary to other regions. The higher ALDH activity with biogenic aldehydes in test group than in control was found in the striatum, cerebrum, and cerebellum. MAO activity in the cerebellum was inhibited in control group and slightly increased in test group. The results of present study suggest that the corpus striatum is significantly affected by ethanol exposure while the hippocampus is not and that ginseng saponin fraction and ginsenosides might have a preventive effect against depression of brain ALDH activity by chronic administration of ethanol.

Key words □ Brain aldehyde dehydrogenase, ginseng saponins, ethanol, biogenic aldehydes.

서 론

인삼의 유효성분인 saponin은 적당량($10^{-6} \sim 10^{-4}$

%)이 존재할 경우 여러 효소반응을 촉진한다고 알려져 있다. 이러한 인삼 saponin의 비특이적인 효소 활성 촉진효과를 saponin의 계면활성 기능에 의해

효소의 conformation 변화가 일어나게 되고 이는 기질에 대한 K_m 값을 저하시키기 때문으로 해석되고 있다.¹⁾

Ethanol 대사에 관여하는 효소계에 미치는 인삼성분의 영향에 관한 연구결과에 따르면 적당량의 인삼 saponin은 간의 alcohol dehydrogenase(ADH), aldehyde dehydrogenase(ALDH) 및 microsomal ethanol oxidizing system(MEOS)을 모두 활성화시키며^{2,3)} 뇌 조직에 있어서도 catecholamine이나 indoleamine에서 유래한 aldehyde를 분해하는데 관여하는 ALDH와 aldehyde reductase의 활성을 촉진하는 것으로 보고되어 있다.³⁾

Ethanol 산화과정에서 생성되는 유해한 acetaldehyde는 주로 간의 미토콘드리아 ALDH에 의해 acetate로 산화되지만 과량의 acetaldehyde가 생성될 경우에는 일부가 혈액을 통하여 뇌조직으로 운반된다고 알려져 있다.^{4,5)} 뇌조직내로 들어온 acetaldehyde는 신경전달물질로부터 monoamine oxidase 반응에 의해 생성되는 생체 aldehyde의 산화과정을 경쟁적으로 억제함으로써 생체 aldehyde의 축적이 일어나게 되고⁶⁾ 이로 인한 대사장애는 여러 생리적 및 정신적 문제를 일으킨다. 따라서 조직으로부터 aldehyde를 신속하게 제거한다는 것은 매우 중요한 과정이며 이러한 점에서 뇌조직의 ALDH는 많은 주목을 받고 있다.

Ethanol을 투여할 경우 뇌 ALDH의 활성은 일반적으로 저하되며 특히 생체 amine의 분해대사가 주로 일어나는 미토콘드리아에 분포하는 ALDH 활성은 acetaldehyde에 의해 억제된다고 보고되어 있다.^{3,7)} 이러한 점을 고려한다면 비특이적으로 효소활성의 촉진효과를 갖고 있는 인삼 saponin은 신경계에 미치는 ethanol의 독성에 대하여 보호 효과를 가질 것으로 기대된다. 또한 뇌에서의 ALDH 활성은 부위에 따라 차이가 있기 때문에^{8,9)} ethanol 투여로 인한 ALDH 활성 변화와 이에 미치는 인삼성분의 생화학적 영향은 뇌의 부위에 따라 다를 것으로 추측된다.

본 연구에서는 이러한 점을 토대로 하여 쥐에게 ethanol만 그리고 인삼 saponin을 함유한 ethanol을 지속적으로 투여했을 경우 뇌 ALDH 활성 변화를 생체 aldehyde를 비롯한 여러 기질을 사용하여 부위별로 조사함으로써 ethanol에 의해 일어나는 신경전달물질의 분해대사 장애에 대한 인삼 saponin의 생화학적 효과를 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 시 약

Indole-3-acetaldehyde, benzaldehyde, dopamine, 5-hydroxytryptamine, norepinephrine, benzylamine, NAD^+ , NADPH, nitroblue tetrazolium, cytochrome c, sodium bisulfite, pyrazole 등은 Sigma사(St. Louis, U.S.A.) 제품을, acetaldehyde는 Fluka사(Buchs, Swiss) 제품을, ethanol은 Merck사(Darmstadt, Germany) 제품을 사용하였다. 인삼 saponin과 ginsenoside Rb₁과 Rg₁은 본 실험실에서 금산산 인삼(4년근, 백삼, 300 g 당 50편급)으로부터 추출, 정제한 것을 사용하였다.¹⁰⁾

2. Ethanol 및 인삼성분의 투여

Sprague-Dawley계 흰쥐(수컷, 체중 150~200 g 내외)를 군당 6~8마리씩 5군으로 나누고 정상군에는 정상적인 사료와 물을, 대조군에는 15% ethanol을, 그리고 세 실험군에 대해서는 각각 0.1%의 인삼 saponin, 0.02% ginsenoside Rb₁ 및 Rg₁을 함유한 15% ethanol을 7일간 공급하였다.

3. 뇌 부위 및 세포내 성분의 분리

쥐의 머리를 절단하여 빠른 시간내 뇌를 꺼낸 후 얼음으로 냉각된 유리판 위에서 (1) 소뇌, (2) 연수, (3) 중뇌와 시상하부, (4) 선조체, (5) 해마체 및 (6) 대뇌를 분리하였다.¹¹⁾ 분리한 각 부위의 조직을 Pötter-Elvehjem 조직파쇄기를 사용하여 0.32 M sucrose와 0.5 mM EDTA를 함유한 10 mM Tris-HCl buffer(pH 7.4)로 10%(w/v) 균질액을 만든 후 1,000 x g에서 10분간 원심분리하여 핵분획을 제거하였으며 상층액을 다시 13,000 x g로 15분간 3회 원심분리 하여 침전물인 미토콘드리아분획을 얻었다. 여기에서 모여진 상층액을 105,000 x g에서 60분간 초원심분리하여 얻어진 침전물을 미크로솜분획, 그리고 상층액을 시토플솜분획으로 사용하였다. 분리된 각 세포분획의 순도는 미토콘드리아분획에 대해서는 glutamate dehydrogenase,¹²⁾ 미크로솜분획에 대해서는 cytochrome c-NADPH reductase¹³⁾ 그리고 시토플솜분획에 대해서는 lactate dehydrogenase¹⁴⁾의 활성도를 측정하여 산출하였다. 단백질은 Lowry 등의 방법에 따라 정량하였다.¹⁵⁾

4. 간 미토콘드리아 막의 분리

생체 aldehyde의 합성을 위한 monoamine oxidase

(MAO) 효소원으로 쥐의 간 미토콘드리아 막을 사용하였다.¹⁶⁾ 쥐의 간을 0.32 M sucrose와 0.5 mM EDTA를 함유한 10 mM Tris-HCl buffer(pH 7.4)로 10%(w/v) 균질액을 만든 후 1,000 x g에서 10분간 원심분리하여 핵분획을 제거하고 상층액을 다시 8,000 x g로 10분간 3회 원심분리하여 미토콘드리아분획을 얻었다. 이 미토콘드리아분획을 10 mM phosphate buffer(pH 7.5)에 분산시킨 후 0°C에서 20초간 3회 초음파 파쇄기(Sonicator, Heat system, U.S.A.)로 분쇄하였다. 이 파쇄액을 100,000 x g에서 30분간 초원심분리하여 침전물을 얻고 이를 동일한 buffer에 분산시켜 초음파 파쇄과정과 원심분리과정을 3회 반복하여 미토콘드리아 막분획을 얻었다. 이 막분획을 단백질 농도가 20 mg/ml이 되도록 phosphate buffer에 분산시켜 MAO 효소원으로 사용하였다.

5. 생체 aldehyde의 합성

Dopamine, 5-hydroxytryptamine 및 norepinephrine으로부터 aldehyde의 합성은 MAO 반응을 이용하여 시행하였다.¹⁶⁾ 반응액의 조성(최종 농도)은 10 mM phosphate buffer(pH 7.5), 4 mM sodium bisulfite, 1 mM amine 및 MAO 효소원으로서 미토콘드리아 막 (2 mg 단백질/ml)이었으며 30°C의 진탕기에서 8시간 동안 반응시킨 후 140,000 x g에서 30분간 초원심분리하여 미토콘드리아 막분획을 제거하고 상층액을 생체 aldehyde 기질로 사용하였다. 생체 aldehyde가 완전히 합성되었는지를 확인하기 위하여 반응액에 대하여 thin layer chromatography(silica gel 60 F₂₅₄, Merck, Germany)를 시행하였다.¹⁷⁾ 전개용매로는 sec-butanol : formic acid : 물(15 : 3 : 2 v/v/v)을 사용하였으며 전개 후 methanol에 녹인 H₂SO₄(1 : 1 v/v)를 뿌린 후 150°C에서 20분간 가열하여 각 분획을 확인하였으며 이와 함께 2 N HCl에 녹인 0.5% 2,4-dinitro-phenylhydrazine 용액을 사용하여 aldehyde 임을 확인하였다. Dopamine, serotonin 및 norepinephrine의 Rf값은 각각 0.44, 0.46 및 0.33이었고 3,4-dihydroxyphenylacetaldehyde(DOPAL), 5-hydroxyindoleacetaldehyde(HIAL) 및 3,4-dihydroxyphenylglycolaldehyde(NORAL)의 Rf값은 각각 0.71, 0.75 및 0.66이었으며 반응액에 남아 있는 amine의 분획은 chromatogram에서 관찰되지 않았다(Fig. 1).

6. 효소활성의 측정

ALDH의 활성 측정을 위한 반응액의 조성(최종농

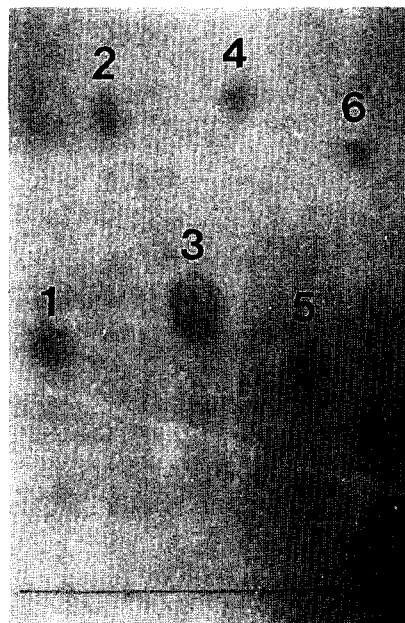


Fig. 1. Thin layer chromatogram of biogenic aldehydes synthesized from parent amines using the MAO-catalyzed oxidation.

- 1: dopamine
- 2: 2,4-dihydroxyphenylacetaldehyde (DOPAL)
- 3: 5-hydroxytryptamine
- 4: 5-hydroxyindole-3-acetaldehyde (HIAL)
- 5: norepinephrine
- 6: 3,4-dihydroxyphenylglycolaldehyde (NORAL)

도)은 70 mM sodium pyrophosphate buffer(pH 8.8), 1 mM NAD⁺, 0.5 mM pyrazole, 0.5% sodium deoxycholate 및 효소원이었다. 효소반응은 최종적으로 기질을 가함으로써 시작시켰으며 효소활성은 NADH 생성에 따른 340 nm에서 흡광도의 변화를 25°C에서 spectrophotometer(Milton Roy Spectronic 601, U.S.A.)로 측정하여 계산하였다.¹⁸⁾ MAO 활성 측정을 위한 반응액의 조성(최종농도)은 50 mM sodium phosphate buffer(pH 7.6), 2.5 mM benzylamine, 0.5% sodium deoxycholate 및 효소원이었으며 흡광도의 변화를 250 nm에서 측정하였다.¹⁹⁾

7. ALDH에 대한 효소조직화학적 염색

분리한 뇌를 -20°C에서 얼린 후 동결박절기(Reichert-Jung 1800, U.S.A.)를 사용하여 20 μm 두께의 연속 절편을 만들었다. ALDH 활성 염색을 위한 반응액의 조성(최종농도)는 33 mM phosphate buffer

(pH 7.4), 10% polyvinyl-alcohol, 5 mM MgCl₂, 10 mM sodium azide, 0.13 mM pyrazole, 4.7 mM NAD⁺, 3 mM nitroblue tetrazolium 및 20 mM의 기질이였다. 반응액내에서 조직절편을 90분간 반응시킨 후 물로 세척하고 glycerine jelly로 봉입하여 현미경으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

Ethanol을 투여한 후 혈액으로부터 acetaldehyde가 뇌조직내로 들어오는 지에 대해서는 아직 분명한 결론을 얻지 못하고 있다. 혈액내 acetaldehyde는 혈액-뇌장벽(blood-brain barrier)을 이루는 모세혈관에서 모두 대사되어 뇌조직 내에서는 acetaldehyde가 발견되지 않는다고 보고된 바 있으나²⁰⁾ 일단 뇌조직내로 들어간 acetaldehyde가 ALDH에 의해 빠른 속도로 산화되는 경우에도 acetaldehyde의 축적을 일어나지 않을 가능성이 높다.^{4,5)} 이러한 경우 외부에서 들어온 acetaldehyde는 세포내 정상적인 aldehyde 분해대사에 영향을 미칠 것으로 예상되며 따라서 ethanol 투여 후 뇌조직의 ALDH 활성이 어떠한 변화를 나타내는가에 대해서 많은 연구가 이루어져 왔다. Ethanol을 투여할 경우 뇌 ALDH의 활성은 억제되는 것으로 일반적으로 보고되어 있으나^{3,7,21)} 일부에서는 뚜렷한 활성의 변화가 나타나지 않는다²²⁾는 등 연구자들간에

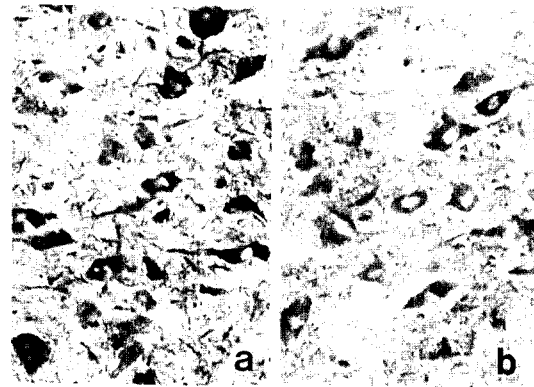


Fig. 2. Inhibition of ALDH activity with benzaldehyde as substrate in motor nucleus of trigeminal nerve. (a) normal and (b) 15% ethanol administered rat. $\times 250$.

많은 이견을 보이고 있다.

본 연구에서는 ethanol만 투여한 후 10 mM indoleacetaldehyde를 기질로 사용하여 총 ALDH 활성을 부위별로 조사한 결과 정상군에서 가장 높은 활성을 나타낸 선조체가 36%로 가장 큰 감소를 나타내었고 해마체를 제외한 다른 부위는 13~17%의 감소를 보였으며 해마체에서는 거의 변화가 없었다(Table 1). Ethanol 투여로 인한 ALDH의 활성 감소는 benzaldehyde를 기질로 사용한 조직화학적 방법을 통해서도 확인할 수 있었다(Fig. 2).

Table 1. The effect of ginseng saponins on ALDH activity with indoleacetaldehyde as substrate in different brain regions of ethanol administered rat brain

	Total ALDH activity ^a in					
	Cerebrum	Cerebellum	Midbrain & hypothalamus	Striatum	Hippocampus	Medulla
Normal	7.69 ± 0.76 (100)	7.38 ± 0.51 (100)	10.01 ± 1.31 (100)	12.91 ± 0.91 (100)	9.37 ± 0.66 (100)	9.32 ± 1.10 (100)
Ethanol	6.72 ± 1.11 (87) ^b	6.30 ± 0.48 (85)	8.31 ± 0.63 (83)	8.26 ± 1.60 (64)	9.72 ± 1.13 (104)	8.13 ± 1.29 (87)
Ethanol + saponin	7.47 ± 1.65 (97)	8.13 ± 1.24 (110)	9.11 ± 0.53 (91)	10.26 ± 0.86 (79)	9.31 ± 0.49 (99)	7.60 ± 1.50 (94)
Ethanol + Rb ₁	7.19 ± 1.54 (93)	7.55 ± 0.50 (102)	9.04 ± 1.13 (90)	9.57 ± 0.87 (74)	9.38 ± 1.43 (100)	8.21 ± 0.81 (88)
Ethanol + Rg ₁	7.27 ± 1.09 (95)	8.30 ± 0.62 (112)	8.54 ± 0.53 (85)	10.18 ± 1.05 (79)	9.85 ± 0.88 (105)	8.32 ± 0.87 (89)

^a10 mM of indole-3-acetaldehyde was used in measurement of total (high and low-K_m) ALDH activity. Specific activity was expressed as nmol NADH/min/mg protein.

^bRelative ratio that was expressed assuming that of normal being 100.

Table 2. The effect of ginseng saponins on ALDH activity with acetaldehyde as substrate in different brain regions of ethanol administered rat brain

	Total ALDH activity ^a in					
	Cerebrum	Cerebellum	Midbrain & hypothalamus	Striatum	Hippocampus	Medulla
Normal	3.74 ± 0.65 (100)	6.56 ± 1.34 (100)	6.57 ± 0.86 (100)	4.34 ± 0.42 (100)	4.63 ± 0.52 (100)	6.49 ± 0.29 (100)
Ethanol	3.06 ± 0.41 (82) ^b	5.94 ± 0.79 (91)	5.78 ± 0.84 (88)	3.81 ± 0.28 (88)	4.50 ± 0.86 (97)	5.73 ± 1.02 (88)
Ethanol + saponin	3.65 ± 0.48 (98)	6.41 ± 1.10 (98)	6.08 ± 0.66 (93)	4.14 ± 0.75 (95)	5.09 ± 0.24 (110)	5.98 ± 0.56 (92)
Ethanol + Rb ₁	4.07 ± 0.10 (109)	6.56 ± 0.30 (100)	6.27 ± 1.01 (95)	4.27 ± 0.62 (98)	4.45 ± 0.24 (96)	5.59 ± 0.56 (86)
Ethanol + Rg ₁	3.57 ± 0.64 (95)	6.15 ± 0.29 (94)	5.46 ± 0.88 (83)	4.04 ± 0.33 (93)	5.02 ± 0.83 (108)	6.02 ± 0.83 (93)

^a10 mM of acetaldehyde was used in the measurement of total (high and low-K_m) ALDH activity. Specific activity was expressed as nmol NADH/min/mg protein.

^bRelative ratio that was expressed assuming that of normal being 100.

기질로서 acetaldehyde를 사용하였을 경우 역시 대조군의 대부분 부위의 ALDH 활성은 낮아졌으나 선조체에서는 indoleacetaldehyde를 기질로 사용하였을 경우보다 그 정도는 작았다(Table 2). 이러한 결과로 미루어 볼 때 뇌 ALDH는 주로 신경전달물질인 catecholamine이나 indoleamine에서 유래하는 방향족 aldehyde의 산화에 주로 관여하며 이 산화과정은 ethanol에서 생성되는 acetaldehyde에 의해 억제되는 것으로 해석된다. Ethanol을 장기적으로 투여하면 구조적으로 선조체를 포함하는 기저핵(basal ganglia)의 dopamine성 경로가 크게 장애받는 것으로 보고되어 있으며²³⁾ 특히 신경전달물질 중 dopamine은 주로 ALDH에 의해 분해된다는 점²⁴⁾에서 선조체는 ethanol에 대해 가장 쉽게 영향받는 부위로 생각된다.

본 연구실에서는 과거 연구를 통하여 인삼 saponin은 *in vitro*에서 ALDH를 활성화시킨다는 사실을 확인한 바 있다.³⁾ 0.1%의 saponin 및 0.02%의 정제된 ginsenoside를 함유한 15%의 ethanol을 자유로이 섭취하도록 하였을 때 실험군의 ALDH 활성은 대조군보다 전반적으로 높았다(Table 1, 2, Fig. 3). 이러한 양상은 indoleacetaldehyde를 기질로 사용한 경우 특히 소뇌에서 뚜렷하였으며 ethanol에 의해 활성이 크게 억제되는 선조체에서의 활성 증가 정도는 다른 부위에 비해 낮았다. ALDH 억제제에 의해 뇌조직내

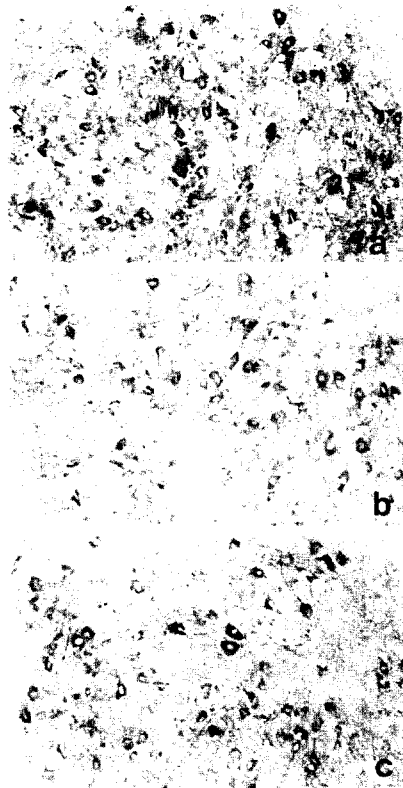


Fig. 3. ALDH activity with benzaldehyde as substrate in facial nucleus of (a) normal, (b) 15% ethanol only, and (c) 15% ethanol containing 0.1% ginseng saponin administered rat. ×125.

Table 3. The effect of ginseng saponins on low- K_m ALDH activity with indolacetaldehyde as substrate in different brain regions of ethanol administered rat brain

	Low- K_m ALDH activity ^a in					
	Cerebrum	Cerebellum	Midbrain & hypothalamus	Striatum	Hippocampus	Medulla
Normal	2.52 ± 0.46 (100)	2.67 ± 0.45 (100)	4.72 ± 0.83 (100)	4.85 ± 0.55 (100)	2.14 ± 0.42 (100)	2.57 ± 0.36 (100)
Ethanol	2.16 ± 0.26 (86) ^b	2.31 ± 0.64 (88)	3.32 ± 0.38 (70)	3.31 ± 0.52 (68)	1.89 ± 0.51 (88)	1.92 ± 0.39 (75)
Ethanol + saponin	2.24 ± 0.74 (89)	2.90 ± 0.90 (109)	3.41 ± 0.96 (72)	4.18 ± 0.36 (86)	1.85 ± 0.10 (86)	2.39 ± 0.90 (93)
Ethanol + Rb ₁	2.77 ± 0.91 (110)	2.60 ± 0.55 (98)	3.15 ± 0.33 (67)	4.54 ± 0.36 (94)	2.24 ± 0.15 (105)	1.64 ± 0.40 (64)
Ethanol + Rg ₁	2.46 ± 0.13 (95)	2.02 ± 0.30 (76)	4.08 ± 0.88 (86)	3.90 ± 1.34 (80)	2.10 ± 0.32 (98)	1.93 ± 0.25 (75)

^a100 μ M of indole-3-acetaldehyde was used in the measurement of low- K_m ALDH activity. Specific activity was expressed as nmol NADH/min/mg protein.

^bRelative ratio that was expressed assuming that of normal being 100.

Table 4. The effect of ginseng saponins on the subcellular distribution of ALDH activity in different brain regions of ethanol administered rat

	Cerebellum			Striatum			Hippocampus		
	MT	MC	CT	MT	MC	CT	MT	MC	CT
Normal	125.7 ^a	11.8	89.6	183.0	9.1	58.7	97.5	11.8	96.7
Ethanol	90.0	12.7	72.8	143.5	8.7	49.6	94.8	13.9	97.2
Ethanol + saponin	107.3	9.7	96.4	159.8	8.9	50.1	90.4	10.9	85.4
Ethanol + Rb ₁	110.4	13.1	65.9	130.5	8.6	64.6	101.7	8.1	108.4
Ethanol + Rg ₁	93.9	12.3	83.3	147.3	10.3	68.3	90.2	16.2	82.6

MT : mitochondria, MC : microsome, CT : cytosol

^aTotal activity was expressed as nmol NADH/mg/g tissue.

acetaldehyde의 농도가 높아질 경우 운동기능이 크게 저하된다는 보고²⁴⁾와 관련하여 볼 때 실험군에서 소뇌의 ALDH 활성이 ethanol에 의해 억제되지 않는다는 결과는 주목할만 하다.

뇌조직의 생체 aldehyde와 acetaldehyde는 모두 미토콘드리아의 low- K_m ALDH에 의해 산화된다고 알려져 있어^{25, 26)} 본 연구에서는 100 μ M의 indoleacetaldehyde를 기질로 하여 부위별 low- K_m ALDH 활성을 측정하고 이와 함께 미토콘드리아 분획의 총활성을 조사하였다(Table 3, 4). 대조군의 부위별 low- K_m ALDH 활성은 총활성의 경우와 마찬가지로 선조체에서 32%로 가장 큰 감소를 보였으며 중뇌-시상하부 및 연수 부위에서는 총 ALDH 활성 조사(Table 1)에서 감소된 정도보다 크게 억제되었다. 특히

해마체에서는 총 ALDH 활성이 거의 변화가 없었던 반면 low- K_m ALDH 활성은 다소 감소하는 것으로 나타났다(Table 3). 소뇌, 선조체 및 해마체에서 각 세포내 분획의 ALDH 활성을 비교하여 본 결과 소뇌와 선조체의 미토콘드리아 분획의 활성은 크게 감소한 반면 미크로솜과 시토플 분획의 활성은 뚜렷한 변화가 없었다(Table 4). 해마체에서 미토콘드리아 분획의 활성 감소가 다른 부위에 비해 크지 않은 것은 10 mM농도의 기질을 사용하여 분획의 활성을 측정하였기 때문에 활성의 일부가 미토콘드리아내 high- K_m ALDH에 기인하였을 가능성이 있다. 그러나 이에 대한 정확한 해석은 뇌의 부위에 따라, 그리고 세포내 성분에서의 low- K_m 및 high- K_m ALDH의 분포에 대한 정확한 결과가 얻어져야 할 것으로 생각된다. 인삼

Table 5. The effect of ginseng saponins on ALDH activity with biogenic aldehydes as substrate in different brain regions of ethanol administered rat

	Substrate ^a		
	DOPAL	HIAL	NORAL
Cerebrum			
Normal	1.95 ± 0.27 ^b (100)	2.35 ± 0.25 (100)	1.50 ± 0.34 (100)
Ethanol	1.66 ± 0.05 (85) ^c	2.30 ± 0.18 (98)	1.26 ± 0.12 (84)
Ethanol + saponin	1.78 ± 0.27 (91)	2.26 ± 0.32 (96)	1.45 ± 0.15 (97)
Ethanol + Rb ₁	1.94 ± 0.28 (99)	2.09 ± 0.33 (106)	1.66 ± 0.23 (111)
Ethanol + Rg ₁	1.63 ± 0.22 (83)	2.22 ± 0.34 (95)	1.60 ± 0.55 (107)
Cerebellum			
Normal	2.52 ± 0.07 (100)	3.34 ± 0.13 (100)	1.61 ± 0.18 (100)
Ethanol	2.09 ± 0.12 (83)	2.91 ± 0.10 (87)	1.62 ± 0.04 (100)
Ethanol + saponin	2.34 ± 0.37 (93)	3.17 ± 0.26 (95)	1.68 ± 0.06 (104)
Ethanol + Rb ₁	2.33 ± 0.35 (92)	3.24 ± 0.22 (97)	1.85 ± 0.16 (115)
Ethanol + Rg ₁	2.35 ± 0.17 (93)	3.23 ± 0.44 (97)	1.88 ± 0.35 (117)
Striatum			
Normal	4.03 ± 0.06 (100)	4.49 ± 0.52 (100)	2.80 ± 0.16 (100)
Ethanol	2.79 ± 0.12 (69)	3.05 ± 0.38 (68)	2.05 ± 0.18 (73)
Ethanol + saponin	3.03 ± 0.12 (75)	3.55 ± 0.24 (79)	2.37 ± 0.33 (85)
Ethanol + Rb ₁	3.61 ± 0.21 (90)	4.28 ± 0.34 (95)	2.60 ± 0.08 (93)
Ethanol + Rg ₁	3.04 ± 0.06 (75)	3.73 ± 0.39 (83)	2.57 ± 0.04 (92)
Hippocampus			
Normal	3.29 (100)	3.88 ± 0.74 (100)	2.54 ± 0.22 (100)
Ethanol	3.41 (104)	3.79 ± 0.26 (98)	2.50 ± 0.05 (98)
Ethanol + saponin	3.27 (99)	3.86 ± 0.61 (100)	2.67 ± 0.27 (105)
Ethanol + Rb ₁	3.10 (94)	3.49 ± 0.50 (90)	2.37 ± 0.30 (93)
Ethanol + Rg ₁	3.24 (99)	3.59 ± 0.47 (93)	2.34 ± 0.28 (92)

^a300 μM of biogenic aldehyde was used in enzyme assay. DOPAL : 3,4-dihydroxyphenylacetaldehyde, HIAL : 5-hydroxyindoleacetaldehyde, NORAL : 3,4-dihydroxyphenylglycolaldehyde

^bSpecific activity was expressed as nmol NADH/min/mg protein.

^cRelative ratio that was expressed assuming that of normal being 100.

성분을 ethanol과 함께 투여한 실험군에서의 low-K_m 및 미토콘드리아 분획의 ALDH 활성은 조사된 모든 부위에서 대조군에 비해 전반적으로 증가되었고 특히 low-K_m ALDH 활성의 증가는 다른 부위에 비해 대뇌와 소뇌에서 뚜렷한 경향을 나타내었다. 그러나 투여한 saponin 성분의 종류에 따른 차이는 확인하기 어려웠다(Table 3, 4). 쥐의 뇌 미토콘드리아에는 기질내 가용성 ALDH(ALDH-I)와 막결합 ALDH가 존재하며 이 중 ALDH-I이 acetaldehyde에 의해 억제된다고 보고²⁷⁾된 바 있어 ethanol 및 인삼 saponin의 투여로 인해 ALDH 활성의 변화가 일어나는 부위는 기질내에 존재하는 ALDH-I일 것으로 생각되어지나 saponin성분의 계면활성 효과를 고려하여 볼 때 sa-

ponin 성분에 의한 활성의 증가의 적어도 일부는 막결합 ALDH의 활성화에 기인할 수도 있다는 가능성을 배제할 수 없다. ALDH 활성 억제로 인하여 생체 aldehyde의 산화대사가 저해받게 되면 aldehyde는 환원 경로를 거쳐 해당 alcohol로 전환된다고 알려져 있다.²⁸⁾ 이 환원과정은 세포질에서 일어나며 ethanol에 의해 증가되는 alcohol dehydrogenase(ADH)의 반응에서 생성된 NADH를 주로 이용하므로²⁹⁾ alcohol dehydrogenase 활성이 거의 없다고 알려진 뇌조직에서 실제로 이러한 환원과정이 일어나는지에 대해서는 좀 더 추후해 보아야 할 것이다.

본 연구자들은 생체 aldehyde를 사용하여 쥐 뇌의 여러 부위에 대하여 ALDH 활성을 조사한 결과, 3,4-

Table 6. The effect of ginseng saponin on monoamine oxidase activity in different brain regions of ethanol administered rat

	MAO activity ^a in			
	Cerebrum	Cerebellum	Striatum	Hippocampus
Normal	0.31±0.04 (100)	0.52±0.06 (100)	0.40±0.16 (100)	0.64±0.14 (100)
Ethanol	0.32±0.09 (103) ^b	0.40±0.09 (77)	0.40±0.09 (91)	0.68±0.12 (106)
Ethanol + saponin	0.34±0.12 (110)	0.46±0.13 (88)	0.51±0.09 (116)	0.67±0.17 (105)

^aEnzyme activity was expressed as unit/mg protein. One unit was defined as a density change of 0.01 per min.

^bRelative ratio that was expressed assuming that of normal being 100.

dihydroxyphenylacetaldehyde(DOPAL) 과 5-hydroxyindoleacetaldehyde(HIAL)에 대한 활성은 선조체에서, 3,4-dihydroxyphenylglycolaldehyde(NORAL)에 대한 활성은 시상하부에서 높게 분포함을 확인하였다.³⁰⁾ 본 실험에서는 ethanol과 인삼성분의 투여가 뇌의 여러 부위에서 생체 aldehyde 기질에 대한 ALDH 활성에 어떠한 영향을 미치는지를 조사하였다(Table 5). Ethanol 투여시 선조체의 ALDH 활성은 사용된 모든 기질에 대하여 27~32%의 활성이 저하된 반면 해마체에서는 거의 변화가 없었다. 대뇌의 경우는 DOPAL과 NORAL에 대해서 14~15%의 활성 감소가 나타났으며 소뇌의 경우는 DOPAL과 HIAL에 대해서 13~17%의 활성이 감소되었다. 대조군에 있어서 DOPAL에 대한 ALDH 활성이 조사된 모든 부위에서 공통적으로 감소된 결과로 미루어 볼 때 여러 신경 전달물질 가운데 특히 dopamine의 분해대사에 ALDH가 밀접하게 연관되어 있을 것으로 생각된다. 또한 앞의 결과(Table 1)와 마찬가지로 해마체의 ALDH 활성이 다른 부위와 달리 거의 변화하지 않는다는 사실은 ethanol 또는 acetaldehyde에 의해 뇌조직에서 일어나는 대사적 장애가 부위에 따라 차이가 있다는 점을 시사하며 이러한 가능성은 뇌의 관류 실험방법을 통하여 조사하였을 때 ethanol이 뇌조직내 고르게 분포하지는 않는다는 보고³⁰⁾에 의해서도 예상될 수 있다. 인삼 saponin 성분과 함께 ethanol을 투여한 실험군의 ALDH 활성은 대뇌와 소뇌의 경우 정상군에 가까운 값을 유지하였으나 선조체에서는 정상군의 활성치에는 못미치나 ethanol 투여군보다 높은 활성도를 나타내어 다른 기질에 대한 활성 변화의 결과와 유사한 경향을 보였다.

세포내 생체 aldehyde의 양적 변화는 ALDH 활성

변화만으로 설명하기는 곤란하며 생체 aldehyde의 생성 효소인 monoamine oxidase(MAO) 활성 변화와 관련하여 설명되어야 할 것으로 생각된다. Ethanol 투여시 MAO의 활성은 소뇌에서 크게 감소되었으나 이밖의 부위에서는 뚜렷한 변화를 관찰할 수 없었다. 소뇌의 경우 인삼 saponin 투여군의 활성은 대조군보다 다소 높았다(Table 6). Ethanol에 의해 MAO 활성이 거의 영향을 받지 않는 상태에서 ALDH 활성이 억제되는 부위는 세포내 생체 aldehyde가 정상 수준 이상으로 증가할 것으로 생각된다. Ethanol을 지속적으로 투여하였을 경우 뇌에서의 5-hydroxytryptamine의 함성이 증가한다는 보고³¹⁾에 비추어 볼 때 ethanol 투여에 의한 생체 aldehyde의 증가 현상은 더욱 촉진될 가능성도 있다.

Ethanol만 투여하였을 경우 뇌 ALDH 활성이 크게 저하되는 반면 인삼 saponin 성분을 투여하였을 경우 활성이 정상과 거의 같은 수준으로 유지되는 것으로 나타난 본 연구결과의 기작에 대해서는 다음과 같은 가능성을 고려해 볼 수 있다. 첫째로 인삼 saponin 성분에 의해 간에서의 ethanol 대사가 촉진되어 혈액내 acetaldehyde의 농도를 낮춤으로써 뇌조직으로 들어오는 acetaldehyde 양이 감소되거나, 둘째로 혈액-뇌장벽을 구성하는 혈관내피세포나 혈관 주변의 아교세포(glial cell)의 ALDH 활성이 촉진됨으로써 acetaldehyde가 뇌실질 내부로 들어가기 직전에 제거되는 경우, 셋째로 saponin 성분이 직접 뇌 조직내 신경세포를 비롯한 아교세포에 작용하여 ALDH 활성을 촉진하는 경우가 가능할 것이다. Ethanol 대사에 미치는 인삼 saponin 성분의 약리적 효과와 관련하여 saponin 성분의 작용부위에 대해서는 앞으로 더욱 규명되어야 할 문제라고 생각된다.

인 용 문 헌

1. Joo, C.N. : *Surfactant in Solution*. ed. Mittal, K.L. and Lindman, B., Plenum Press. Vol. 3, p. 2093 (1984).
2. Joo, C.N., Tae, K.S., Joo, S.O. and Cho, K.S. : *Korean J. Ginseng Sci.*, **9**, 1 (1985).
3. Joo, C.N. : *Korean J. Ginseng Sci.*, **16**, 222 (1992).
4. Tabakoff, B., Anderson, R. and Ritzmann, R.F. : *Biochem. Pharmacol.*, **25**, 1305 (1976).
5. Westcott, J.L., Weiner, H., Schultz, J. and Myers, R.D. : *Biochem. Pharmacol.*, **29**, 411 (1980).
6. Lahti, R.A. and Majchrwicz, E. : *Biochem. Pharmacol.*, **18**, 535 (1969).
7. Joo, C.N. : *Proceedings of the 1st Life Science Symposium on the Molecular Basis of Metabolism*. p. 31, Taejon (1990).
8. Lee, Y.D. and Joo, C.N. : *Korean Biochem. J.*, **26**, 712 (1993).
9. Lee, Y.D. and Joo, C.N. : *Korean Biochem. J.*, **27**, 69 (1994).
10. Sanada, S., Kondo, N., Shoji, J., Tanaka, O. and Shibata, S. : *Chem. Pharmacol. Bull.*, **22**, 421 (1974).
11. Glowinski, J. and Iversen, L.L. : *J. Neurochem.*, **13**, 655 (1966).
12. Schmidt, E. and Schmidt, F.W. : *Methods of Enzymatic Analysis*. ed. Bergmeyer, H.U., Verlag Chemie, Vol. 3, p. 216 (1983).
13. Philips, A.H. and Langdon, R.G. : *J. Biol. Chem.*, **237**, 2652 (1962).
14. Vassault, A. : *Methods of Enzymatic Analysis*. ed. Bergmeyer, H.U., Verlag Chemie, Vol. 3, p. 118 (1983).
15. Lowry O.H., Rosenbrough, N.J., Foor, A.L. and Randall, R.J. : *J. Biol. Chem.*, **193**, 205 (1951).
16. Nilsson, G.E. and Tottmar, O. : *J. Neurochem.*, **48**, 1566 (1987).
17. Tabakoff, B., Anderson, R. and Alivisators, S.G.A. : *Mol. Pharmacol.*, **9**, 428 (1973).
18. Racker, E. : In *Methods in Enzymology*. Academic Press, Vol. 1, p. 517 (1955).
19. Deitrich, R.A. and Erwin, V.G. : *Anal. Biochem.*, **30**, 395 (1969).
20. Eriksson, C.J.P. and Sippel, H.W. : *Biochem. Pharmacol.*, **26**, 241 (1977).
21. Hasumura, Y., Teschke, R. and Lieber, C.S. : *J. Biol. Chem.*, **251**, 4908 (1976).
22. Tabakoff, B. and Buggan, W.O. : *J. Neurochem.*, **22**, 759 (1974).
23. Hunt, W.A. : *Fed. Proc.*, **40**, 2077 (1981).
24. Spivak, K., Aragon, C.M. and Amit, Z. : *Alcohol Drug Res.*, **7**, 481 (1987).
25. Pettersson, H. and Kiessling, K.H. : *Biochem. Pharmacol.*, **26**, 237 (1977).
26. Pettersson, H. and Tottmar, O. : *J. Neurochem.*, **38**, 477 (1982).
27. Song, Y.H. and Joo, C.N. : *Korean Biochem. J.*, **24**, 625 (1991).
28. Yoshimoto, K., Komura, S. and Kawamura, K. : *Alcohol Alcohol.*, **27**, 131 (1992).
29. Tank, A.W., Weiner, H. and Thurman, J.A. : *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **273**, 219 (1976).
30. Erikson, C.K. : *Life Sci.*, **19**, 1439 (1976).
31. Badawy, A.A.-B., Punjani, N.F. and Evans, M. : *Biochem. J.*, **178**, 575 (1979).