

蘇葉의 추출물이 혈장알콜농도와 간의 알콜대사효소에 미치는 영향

文炯仁* · 池玉杓* · 申國鉉**

Effect of Perilla(*Perilla frutescens* Britton) Extract on Serum Ethanol Level and Hepatic Alcohol Dehydrogenase Activity

Hyung In Moon*, Ok Pyo Zee* and Kuk Hyun Shin**

ABSTRACT : Effects of organic solvent fractions from perilla ethanol extract on alcohol metabolism in rats were examined and the results were as follows : Ethanol soluble 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 insoluble in ethanol was found to increase ethanol concentration in the blood and inhibit ADH activity.

Key words : Perilla, Liver cytosolic ADH activity, Alcohol metabolism, Blood ethanol concentration.

緒 言

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 배설된다¹. 건강한 성인의 최대 알콜대사량은 하루에 최대 160-180g 인데 장기적으로 알콜을 섭취할 경우와 다량 음주시에는 알콜성 간장애를 일으킨다^{2,3}. 우리나라의 경우는 과음을 유발하는 음주문화로 인하여 알콜섭취로 유발되는 간기능장애는 날로 증가하는 추세에 있으며, 이로 말미암아 나타나는

여러 가지 간질환의 예방 및 치유는 중요한 연구과제 중의 하나로 주목받고 있다. 그러나 현재까지 알콜대사에 영향을 미치는 성분으로 몇몇 합성의약품의 효과가 보고되어 있으나^{4,5,6,7}, 합성화학물질 자체가 독성 및 부작용을 나타내므로 건강식품으로서 이용이 불가능하여 부작용이 적은 유효성분을 추적코자 하는 추세에 있으며, 이와 같은 목적에 부합하여 보고된 예로는 신 등⁸이 Aloe vera의 수용성분획이 알콜대사효소에 강한 활성이 나타남을 보고한 것외에는 예를 거의 찾아볼 수 없다. 본 연구에서는 식품의 기능성소재로 이용가능한 유효성분을 추적하고자 음용가능하고 국내에서 쉽게 얻을 수 있는 곡물 및 채소류 10종을 검색하여 그 중 해독작용 및 담즙분비촉진작용이 있는 것으로 중약대사전에 기록되어 민간에서는 많이 섭취되고

* 성균관대학 약학대학 (Pharmacognocny Lab, Department of pharamacy, Sungkyunkwan University, 300, Chunggun-dong, Jangan-gum suwon, 440-746)

** 서울대학교 천연과학연구소 (Natriral Product Research Institute, Seoul National University, 110-460)

〈 '98. 1. 7接受 〉

있으나 정확한 실험의 예가 없는 소엽추출물의 분획이 알코올대사작용에 강한 영향을 미치는 새로운 지건을 얻었으므로 보고하는 바이다.

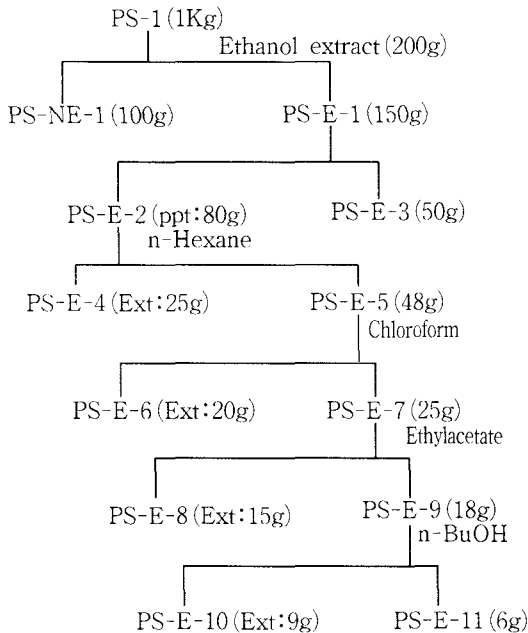
材料 및 方法

실험재료

본 실험에서 사용한 적자소는 농촌진흥청 작물시험장 특용작물과에서 분양받아 한국식물자원연구소(경기도 일산 소재)의 유전자원 포장에서 1996년 6~8월 사이에 재배하여 수확한 것을 동결건조하여 분말화하여 실험재료로 하였다.

추출 및 분획

시료의 계통분획을 Scheme I의 방법에 의하여 실시하였으며 그 방법은 적자소의 건조분말(PS-1)을 Ethanol로 수욕상에서 5시간씩 3회 환류추출하여 Ethanol가용부(PS-E-1)와 Ethanol불용부(PS-NE-1)로 분획하였다. Ethanol가용부는 감압농축하여 석출하는 침전물(PS-E-2)을 여과하고,



Scheme 1. Fractions of perilla ethanol extract.

여액(PS-E-3)을 그대로 감압농축하였다. 침전물(PS-E-2)은 다시 n-Hexane(PS-E-4), Chloroform(PS-E-6), Ethylacetate(PS-E-8), n-BuOH(PS-E10)로 각각 계통분획하여 분획물을 얻었다.

동물실험

대한실험동물센터로부터 구입한 체중 250-300g의 Sprague-Dawley(CD strain)계 웅성흰쥐를 8마리를 한 군으로 실험 24시간전에 절식시키고 신선한 물만 공급하였다. 실험을 실시하기 전에는 uretane(Aldrich Co.) 300mg/Kg씩 복강내에 투여하여 마취시키고, 시료는 0.1% CMC(Sigma Co.)에 현탁시켜서 경구투여 하였으며, 30분후에 Ethanol(Sigma Co.)을 10mg/ml의 농도로 희석하여 3g/Kg의 농도로 경구투여하였다. Ethanol투여 후 1시간 또는 4시간에 안와정맥으로부터 채혈하고 4℃에서 3000rpm으로 10분간 원심분리하여 혈청을 분리한 다음 혈청내 Ethanol 함량을 Ethanol assay kit(Sigma Co.)로 측정하였다. 마지막 채혈이 끝나면 즉시 간을 적출하고 4℃에서 7배액의 0.25M Sucrose액으로 homogenization하였다. Homogenate는 600xg에서 10분간, 10,000xg에서 10분간 및 105,000xg에서 1시간 원심분리하여 liver cytosol fraction을 얻고 이를 효소원으로하여 Alcohol dehydrogenase(ADH)활성을 측정하였다.

알콜 및 간의 ADH 활성의 측정

혈청 Ethanol함량은 Ethanol assay kit(Sigma Co.)를 사용하여 측정하였다⁹⁾. 즉 혈청 0.2ml를 1.8ml의 Trichloroacetic acid로 침전시키고 600xg에서 10분간 원심분리한 후 상등액의 일정량을 assay kit에 가하여 측정하였다. Ethanol함량은 Ethanol 표준품에 대한 분석치를 대조로하여 산출하였다. ADH활성의 측정은 Lebsack 등의 방법³⁾에 준하여 0.2M Ethanol 0.1ml, 0.5M Semicarbazide 0.02ml, 0.1M NAD의 0.01M HCl용액 0.02ml 및 0.1M Tris buffer(pH 8.5) 2.0ml를 혼합 30℃에서 10분간 Preincubator한 후 Cytosolic enzyme source 0.1ml를 반응액에 가하여 8분간 340nm에서의 흡광도 변화를 기록하여 대조군의

측정치와의 비로부터 ADH활성을 산출하였다. 이때 기질인 Ethanol을 제외한 공시험군의 값을 제외하여 주었으며 Lowry법에¹⁰⁾ 의하여 단백질함량을 측정하였다.

통계처리

실험결과는 각 실험군에서 최고치와 최저치를 제외한 데이터를 mean±S. E. M로 표시하였으며, 각 평균치의 차이는 Student t-test에 의하여 유의성검정을 하였다.

結果 및 考察

1. 에탄올 처리분획 투여 흰쥐의 혈청 Ethanol농도와 간의 ADH활성 미치는 효과

약 270g전후의 Sprague-Dawley계 웅성흰쥐에 계통분획한 각 분획물을 경구투여하고 혈청 Ethanol농도와 간의 ADH활성에 미치는 효과를 검색 추적하여 Table 1에 표시하였다. 즉 흰쥐에 소엽의 에탄올 조추출물(PS-1), 및 에탄올 가용부(PS-E-2, PS-E-3), 에탄올불용부(PS-NE-1)를 경구투여하고 30분후에 Ethanol을 투여한 다음 1시간만에 경정맥에서 채혈하여 Ethanol함량과 간의 cytosol의 ADH활성을 측정할 결과 소엽의 에탄올 조추출물(PS-1), 및 에탄올 가용부(PS-E-3)는 대조군에 비해 각각 44.3%, 42.4%의 혈청 Ethanol함량의 감소를 보였으며, 이와 부합되게 Ethanol 투여로 감소된 간의 ADH활성이 각각 151.7%, 171.2%로 회복됨을 관찰하였다. 이와 반대로 에탄올불용부(PS-NE-1)는 Ethanol함량 증가와 간의 ADH활성이 억제되는 현상을 관찰할 수 있어 Ethanol대사 억제성분의 존재를 추측할 수 있었다. 또 다른 에탄올가용부인 PS-E-2는 혈청 Ethanol함량 감소와 간의 ADH활성이 회복되는 현상을 관찰하는데 있어 뚜렷한 차이가 없어 Ethanol대사억제 또는 Ethanol대사촉진의 경향성을 추측하기에는 모호하였다. 이러한 실험의 결과로 미루어 볼 때 소엽의 에탄올 조추출물(PS-1), 및 에탄올 가용부(PS-E-3)에서 alcohol대사 촉진 작용을 나타내는 성분이 있음을 추정할 수 있었다.

Table 1. Effects of various fractions from perilla on rat¹⁾ serum ethanol concentration and on hepatic alcohol dehydrogenase (ADH) activity after oral administration of ethanol.

Treatment	Dose ²⁾ (mg/Kg, P. O)	Ethanol (mM)	ADH activity (n moles/min/mg protein)
EXP. 1			
Control	0.1% CMC	16.9±2.4	8.7±0.8
Fr. PS-1	300	9.4±1.2** (44.3%)	13.2±1.2** (151.7%) ³⁾
EXP. 2			
Control	0.1% CMC	20.3±3.2	13.2±1.2
Fr. PS-NE-1	300	34.2±1.8*** (168.4%)	4.3±1.7*** (32.5%)
EXP. 3			
Control	0.1% CMC	12.1±1.5	9.8±2.3
Fr. PS-E-2	300	10.8±2.1 (95.5%)	10.3±2.1 (105.1%)
EXP. 4			
Control	0.1% CMC	20.5±2.3	12.5±1.7
Fr. PS-E-3	300	8.7±1.0*** (42.41%)	21.4±2.1** (171.2%)

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

²⁾ The dose of the test extracts : mg/Kg of plant dry wt. equivalent.

³⁾ Percent of the control, significantly different from the control : *P < 0.1, **P < 0.05, ***P < 0.001.

2. 에탄올 처리분획 투여가 흰쥐의 경시적인 혈청 Ethanol농도와 간의 ADH활성에 미치는 효과

동일한 흰쥐의 혈청 Ethanol농도의 시간적인 변화를 관찰하기 위하여 Ethanol투여 후 1시간과 4시간에 안와정맥으로부터 채혈하여 Ethanol함량을 대조군의 Ethanol함량과 비교하고 4시간에 흰쥐를 희생하여 간의 cytosol ADH를 측정할 결과 Table 2에서 보는바와 같이 PS-1분획의 경우 1시간후에 60.3%, 4시간후에 75.7%의 혈중 Ethanol함량의 현저한 감소를 보이며, 간의 cytosol의 ADH 활성 또한 140.5%의 효소활성증가를 나타내어 혈중 Ethanol함량의 감소효과와 부합하였다. 에탄올가

Table 2. Effects of perilla extracts on rat¹⁾ serum ethanol concentration and on hepatic alcohol dehydrogenase (ADH) activity after oral administration of ethanol.

Treatment	Dose ²⁾ (mg/Kg, P. O.)	Ethanol		ADH activity (n moles/min/mg protein)
		1hr	4hr	
EXP. 1.				
Control	0.1% CMC	100	100	11.6±2.1
Fr. PS-1	300	39.7**	24.3**	16.3±1.9*(140.5%) ³⁾
EXP. 2.				
Control	0.1% CMC	100	100	9.4±0.8
Fr. PS-E-2	300	54.2**	49.3**	11.1±1.2*(118.1%)
EXP. 3.				
Control	0.1% CMC	100	100	10.3±2.8
Fr. PS-E-3	300	45.3**	19.2**	19.8±1.1(192.2%)

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

²⁾ The dose of the test extracts : mg/Kg of plant dry wt. equivalent.

³⁾ Percent of the control, significantly different from the control : *P < 0.1, **P < 0.05, ***P < 0.001.

용부인 PS-E-3분획의 경우도 1시간후에 54.7%, 4시간후에 80.8%의 혈중 Ethanol함량의 현저한 감소를 보이며, 간의 cytosol의 ADH활성 또한 192.2%의 효소활성증가를 나타내어 혈중 Ethanol함량의 감소효과가 부합하였다. 그러나 다른 에탄올가용부인 PS-E-2의 분획은 1시간과 4시간 사이에 별다른 차이를 보이지 않아 시간적인 차이에 별다른 영향을 받지않는 것으로 추측할수 있었다. PS-E-2의 분획에서도 미약하나마 활성이 나타나는 것으로 보아 alcohol 대사에 관여하는 성분이 존재 할 것으로 추정되어, 용매계통분획하여 계통분획물의 혈청 Ethanol함량과 간의 cytosol ADH활성을 측정 한 결과, 용매계통분획물에 대하여서는 Ethylacetate분획인 PS-E-8에 alcohol대사를 촉진하는 성분이 존재함을 인지 할 수 있었으므로 (Table 3), 에탄올가용부인 PS-E-3분획의 집중적인 성분분리와 아울러 Ethylacetate분획인 PS-

Table 3. Effects of subfractions of ethanol soluble fraction (PS-E-2) from perilla on rat¹⁾ serum ethanol concentration and on hepatic alcohol dehydrogenase (ADH) activity after oral administration of ethanol.

Treatment	Dose ²⁾ (mg/Kg, P. O.)	Ethanol (mM)	ADH activity (n moles/min/mg protein)
Control	0.5% CMC	36.5±5.3	22.7±1.7
Subfr.			
PS-E-4	100	34.8±4.3(95.3%)	22.4±2.0**(98.7%) ³⁾
PS-E-6	100	29.1±2.2*(79.7%)	23.6±1.2**(103.9%)
PS-E-8	100	17.6±0.9**(48.2%)	31.5±1.4*** (138.8%)
PS-E-10	100	34.3±1.9*(93.9%)	22.8±2.1**(100.4%)
PS-E-11	100	35.2±3.8(96.4%)	23.2±2.4**(102.2%)

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

²⁾ The dose of the test extracts : mg/Kg of plant dry wt. equivalent.

³⁾ Percent of the control, significantly different from the control : *P < 0.1, **P < 0.05, ***P < 0.001.

E-8분획에 대해서도 미약한 활성이지만 다른성분의 방해에 의한 것일수도 있다는 추측아래 성분분리를 시도하고 있다.

이상의 결과를 종합하여 보면 소엽에는 alcohol 대사를 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 알코올 대사억제 기능성 성분으로서 상용적으로 이용할수 있는 모델에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

摘 要

Sprague-Dawley계 웅성흰쥐에 계통분획한 소엽의 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.

引用文獻

1. Deitrich, R. A. 1972 *J. Biol. Chem.*, 247, 7232
2. Gabuzda, G. J. 1958 Fatty liver in man and the role of lipotropic factors. *Am. J. Clin. Nutr.* 6 : 280 - 297
3. 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
4. Lieber, C. S. 1984 Alcohol and the liver. *Hepatology*, 4, 1243
5. 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
6. 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
7. Rubin, E. and Lieben. C. S. 1968 Hepatic microsomal enzymes in man and rats : Induction and inhibition by ethanol. *Science* 162 : 690 - 691
8. 신국현, 우원식, 송영진, 정하숙, 이정미, 심창섭. (1995) Aloe속 식물이 알콜대사작용에 미치는 작용에 관한 연구 (I). *한국생약학회지*, 26 (2) : 148
9. Sigma. 1997. Diagnostic kits and reagents. , USA. , p 2405. 10. Von Burg, R. and Stoul, T. 1991 Toxicology update; Acetaldehyde. *J. Appl. Toxicol.*, 11, 373