

취추출물이 알코올을 급여한 흰쥐의 뇌조직에 미치는 영향

김명주* · 조수열*

대구산업정보대학 식품영양과

*영남대학교 식품영양학과

The Effect of *Puerariae thubergiana* Benthams Extract on Brain Tissue in Alcohol-Treated Rats

Myung-Joo Kim[†] and Soo-Yeul Cho*

Dept. of Food Science and Nutrition, Taegu Polytechnic College, Taegu 706-711, Korea

*Dept. of Food and Nutrition, Yeungnam University, Kyongsan 712-749, Korea

Abstract

This study investigated the effect of *Puerariae* Flos (PF: flower of *Puerariae* plant) and *Puerariae* Radix (PR: root of *Puerariae* plant) water extracts on the activities of ethanol-metabolizing enzymes and free radical generating/scavenging enzymes of brain in ethanol-treated rats. Five groups of male Sprague-Dawley rats were orally administered ethanol (25%, v/v) 5 g/kg body weight/day, and sacrificed 5 weeks post treatment. PF and PR water extracts were supplemented in a diet based on 1.2 g (I) or 2.4 g (II) raw PF or PR/kg body weight/day. Alcohol dehydrogenase activity of brain was significantly lowered in PF or PR groups, whereas aldehyde dehydrogenase activity was significantly higher in PR groups than those of control and PF groups. Cytochrome P-450 content, aminopyrine D-methylase and aniline hydroxylase activities were decreased in both PF and PR groups compared to control group. Aldehyde oxidase and xanthine oxidase activities tended to decrease by *Puerariae* plant extract supplemented groups and degree of decrease predominated in PRI. Superoxide dismutase and glutathione S-transferase activities were increased in PF or PR groups, whereas glutathione peroxidase and catalase activities were significantly decreased by *Puerariae* plant extracts supplement. These results indicated that supplementation of PF or PR lowers free radical generating enzymes activities. It was suggested that the activities of ethanol metabolizing enzymes and antioxidant enzymes in brain can be enhanced by PF or PR supplement in ethanol-treated rats.

Key words: *Puerariae* Flos, *Puerariae* Radix, ethanol metabolism, brain

서 론

뇌가 에탄올의 표적기관은 아니나 지속적으로 신경조직이 에탄올에 노출되면 구조와 기능에 변화가 일어나며, 뇌손상이 다른 기관의 손상보다 좀더 심각한 것은 뇌는 재생능력이 제한되어 있는 조직이기 때문이다(1). 특히, 뇌는 에탄올과 그 대사산물인 아세트알데히드를 포함한 약물에 민감한 영향을 받는 조직으로서 에탄올 대사에 관여하는 alcohol dehydrogenase와 catalase 활성을 증명하려는 시도가 행해지고 있다(2). 뇌에서의 에탄올 대사는 먼저 속도제한 효소인 alcohol dehydrogenase 활성(3)과 두 번째 경로인 cytochrome P450의 존재와 분포(4) 및 뇌조직의 catalase가 *in vivo*에서 과산화수소와 결합하여 에탄올을 산화할 수 있음이 제시되었다(5). 또한 에탄올을 투여한 흰쥐의 뇌조직 중 아세트알데히드 함량이 혈중보다 낮음은 뇌조직이 아세트알데히드를 산화할 수 있을

을 의미한다(6). 그러나 논란 중에 있는 뇌에서의 에탄올 대사와 생리적 중요성에 관한 비교·연구는 미비한 실정이다.

이런 시점에서 최근 우리나라 음주문화의 특성으로 나타나는 과음과 이로 인한 숙취를 제거코자 천연물을 이용한 약물 또는 음료수 개발에 관심이 모아지고 있다. 음주 후에 나타나는 숙취는 에탄올 자체의 독성으로 나타날 수 있을 뿐만 아니라 체내에서 대사과정 중 유해한 물질의 생성에 의할 수 있어 이를 감소시킬 수 있는 천연물 연구가 요구되고 있다(7).

천연물 중 취(*Puerariae thubergiana* Benthams)은 향산화물질을 함유한 다년생 덩굴성 목본으로서 콩과식물에 속하며 우리나라를 비롯한 동남아 각지에서 자생하는데 건조한 뿌리인 갈근은 약용 및 식용으로 이용된다. 갈화는 취의 꽃으로 늦은 여름부터 초가을에 꽃이 피기 시작할 때 채취하여 음건해서 사용하는데, 유기용매에는 잘

[†]To whom all correspondence should be addressed

녹지 않는 alkaloid 및 미량의 flavone을 함유하고 있다(8). 한방에서 쑤는 고혈압, 관상동맥경화증, 협심증, 당뇨병, 숙취 제거 및 해독 등에 이용되고 있으며, 최근에는 혈압 강하작용, 지방산화 억제작용, 항염작용, 항산화작용, 항응혈작용 등에 효과적인 것으로 확인되었다(9, 10). 또한 쑤의 효능실험으로는 복합제제로써 스트레스 저항(11), 장기조직 대사율에 미치는 영향(12), 해열효과, 항근작용 및 진경작용 등이 보고(13)되어 있으나 전통적으로 숙취해소에 응용되어 온 쑤와 에탄올 대사효소계 및 항산화효소계에 대한 연구는 미진한 편이다.

따라서 민간과 한방에서 널리 사용되는 쑤를 갈화(*Puerariae Flos*)와 갈근(*Puerariae Radix*)으로 나누어 추출물을 얻은 다음 에탄올을 투여한 흰쥐에게 각각 수준별로 급여함으로써 뇌조직에서 쑤추출물이 에탄올의 생화학적 대사에 미치는 영향을 관찰하였다.

재료 및 방법

실험동물의 사육 및 계획

실험동물은 4주령 Sprague Dawley계의 수컷 흰쥐 35마리를 1주일간 기본식으로 적응시킨 후 평균 체중 110 ± 10 g인 것을 난괴법에 의해 5군으로 나누어 한마리씩 분리하여 5주간 사육하였다. 사육실 온도는 $18 \pm 2^\circ\text{C}$ 로 유지하였으며, 조명은 12시간 주기(08:00~20:00)로 조절하였다.

기본식이와 실험식이

본 실험에 사용한 기본식이는 AIN-93(14)에 준하여(Table 1) 조제하였으며, 단백질 공급원은 카제인(Teklad Co.)을 공급하였고, 탄수화물 공급원으로는 옥수수 전분(두산), 지방 공급원으로는 대두유(제일제당)를 사용하였다.

시료는 건조한 갈화와 갈근 100 g씩을 세절하여 둥근 플라스크에 넣고 10배량의 증류수를 가하여 4시간동안 가열추출하고 그 여액을 회전진공증발기로 감압농축하여 동결건조한 후 사용하였다. 본 실험에 사용한 실험식이는 갈화와 갈근을 실험동물 체중 kg당 1.2 g(I)과 2.4 g(II) 수준이 되도록 조제하여 5주간 급여하였다. 에탄올 투여량은 Fujii 등(15)의 방법에 의해 25% 에탄올을 체중 kg당 5 g 수준으로 1일 1회 일정시각에 경구투여하였으며 물은 제한없이 공급하였다.

효소시료의 조제

5주간 사육한 흰쥐를 12시간 절식시킨 후 에테르로 마취시켜 적출한 뇌조직을 5 mM EDTA를 함유한 10 mM 인산 완충액(pH 7.4)을 가하여 빙냉하에서 마쇄한 균질액(10%, w/v)을 얻어, $600 \times \text{g}$ 에서 20분간 원심분리(Hitachi 20 PR-52)하여 핵 및 미마쇄 부분을 제거한 상정액을 얻었다. 이를 $10,000 \times \text{g}$ 에서 20분간 원심분리하여 미

Table 1. Composition of basal diet

Ingredients	Contents (%)
Casein	20.00
Corn starch	39.75
Dextrinized corn starch	13.20
Sucrose	10.00
Soybean oil	7.00
Cellulose	5.00
Mineral mixture ¹⁾	3.50
Vitamin mixture ²⁾	1.00
L-Cystine	0.30
Choline bitartrate	0.25

¹⁾ AIN-93 mineral mixture contained (in g/kg mixture.): calcium carbonate, 357.00; potassium phosphate monobasic, 196.00; potassium citrate, tri-phosphate 70.78; sodium chloride, 74.00; potassium sulfate, 46.60; magnesium oxide, 24.00; ferric citrate, 6.06; zinc carbonate, 1.65; sodium meta-silicate, 1.45; manganese carbonate, 0.63; cupric carbonate, 0.30; chromium potassium sulfate, 0.275; lithium chloride, 0.0174; sodium fluoride, 0.0635; boric acid, 0.0185; nickel carbonate, 0.0318; potassium iodate, 0.01; sodium selenate anhydrous, 0.01025; ammonium paramolybdate, 0.00795; ammonium vanadate, 0.0066; sucrose, 221.02.

²⁾ AIN-93 vitamin mixture contained (in g/kg mixture.): nicotinic acid, 3.00; cyanocobalamin, 2.50; Ca-pantothenate, 1.60; tocopheryl acetate, 15.00; retinyl palmitate, 0.80; pyridoxine-HCl, 0.70; thiamin-HCl, 0.60; riboflavin, 0.60; cholecalciferol, 0.25; folic acid, 0.20; biotin, 0.02; phyloquinone, 0.075; sucrose, 974.66.

토콘드리아 분획을 취하였으며, 분리된 상정액을 $105,000 \times \text{g}$ 에서 1시간 동안 초원심분리하여 시토플 분획과 마이크로솜 분획을 취하였다. 시토플 분획은 alcohol dehydrogenase(ADH), aldehyde oxidase(AO), xanthine oxidase(XO), superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSH-Px) 및 glutathione S-transferase(GST) 활성도 측정의 효소원으로 사용하였으며, 미토콘드리아 분획은 aldehyde dehydrogenase(ALDH)와 catalase(CAT) 활성측정에, 마이크로솜 분획은 cytochrome P450(P450) 합량 및 aminopyrine demethylase(AD)와 aniline hydroxylase(AH) 활성측정에 사용하였다.

효소의 활성도는 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 Lowry 등(16)의 법에 준해 측정된 단백질 mg당 고유 활성도로 나타내었다.

효소활성도 측정

ADH 활성은 Bergmeyer(17)의 방법으로 ALDH활성은 Koivula와 Koivusalo(18)의 방법에 준하여 측정하였다. AD와 AH 활성은 Imai 등(19)의 방법으로 측정하여 활성도를 각각 1분당 1 mg 단백질이 생성하는 포름알데히드의 양과 ρ -아미노페놀의 양을 nmole로 나타내었다. AO 활성도는 Rajagopalan 등(20)의 방법으로, XO는 Stirpe와 Della(21)의 방법에 준하여 측정하였다. SOD 활성 측

정은 피로갈롤 자동산화의 억제정도를 관찰하는 Marklund와 Marklund(22)의 방법에 의해 측정하여 피로갈롤의 자동산화를 50% 억제하는 정도를 1unit로 나타내었으며, CAT 활성도는 Aebi(23)의 방법으로 기질인 10 mM 과산화수소 용액 및 효소액을 가하여 25°C에서 반응시켜 240 nm에서 소실되는 과산화수소의 양을 측정하였다. 또한 Paglia와 Valentine(24)의 방법에 준하여 GSH-Px 활성은 산화형 글루타티온이 NADPH에 의해 환원될 때 흡광도 340 nm에서 NADPH 감소량을 측정하였으며, GST 활성은 Habig 등(25)의 방법에 준하여 2,4-디니트로클로로벤젠(DNCB)과 환원형 글루타티온을 기질로 하여 생성된 GSH-DNCB 공액의 분자흡광도 계수 $9.6 \text{ nM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 를 이용하여 효소활성도를 산출하였다.

Cytochrome P-450(P450) 함량 측정

간조직 중의 P450의 함량 측정은 Omura와 Sato(26,27)의 방법에 준하여 시험관에 마이크로솜 분획을 넣고 19 K 바늘을 통해 1분간 CO 가스를 발생시킨 후 환원제로 디티오니트 나트륨 30 mg을 넣어 잘 혼합한 다음, 1분간 CO 가스를 발생시켰다. 이상의 조작은 4°C 이하에서 행하였다. 기포생성이 끝난 후 파장 400~500 nm에서 흡광도의 차이를 P450 CO complex의 분자흡광계수 $91 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 를 이용하여 P450의 함량을 계산하였다. 마이크로솜의 P450 함량은 단백질 1 mg당 nmole로 나타내었다.

통계 처리

실험 결과는 SAS package를 이용하여 실험군당 평균 \pm 표준편차로 표시하였고 각 군간 평균치의 통계적 유의성은 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple test(28)에 의해 검정하였다.

결과 및 고찰

알코올 대사효소계 활성도

실험식이와 에탄올을 투여하여 5주간 사육한 흰쥐의

뇌조직 중 ADH와 ALDH 활성을 Table 2에 나타내었다.

ADH는 에탄올을 아세트알데히드로 산화시키는 효소로서 에탄올의 90% 이상을 대사하는 간에서의 ADH 활성은 잘 알려진 반면, 뇌에서의 ADH 활성 유무 확인은 논란이 되고 있는데 Raskin과 Sokoloff(29)는 에탄올을 투여한 흰쥐의 뇌에서 ADH 활성을 확인하였고 Buhler 등(30)은 사람의 대뇌와 소뇌에서 ADH의 존재를 증명하였다.

본 실험 결과 뇌조직 중 ADH 활성은 대조군에 비하여 갈화 및 갈근추출물 급여시 유의적인 감소를 나타내었는데 갈근추출물이 갈화추출물에 비하여 에탄올 투여에 따른 활성 억제효과가 큰 것으로 나타났다. 급여수준에 따른 차이는 I 수준이 II수준에 비하여 효과적이었으나 유의성은 관찰되지 않았다. 15% 에탄올은 흰쥐 뇌의 ADH 활성을 유의적으로 증가시켰다는 보고(31)와 같이 본 실험에서 에탄올 중독된 흰쥐 뇌조직의 증가된 ADH 활성이 침추출물 급여시 정상화되었으며, 특히 갈근의 효과가 큰 것으로 관찰되었다.

뇌에서 에탄올 대사시 에탄올 산화에 관여하는 효소인 ADH나 ALDH에 의해 NAD^+ 의 소모가 증대되고 이에 수반하여 NADH의 과잉생성이 초래된다(2). 또한 에탄올의 중간대사산물인 아세트알데히드는 강력한 독성물질로서 세포독성을 일으키며 생체내 아민류와의 축합반응을 거쳐 테트라히드로이소퀴논을 생성케 되는데 이 물질이 에탄올 만성독성을 초래한다.

뇌의 아세트알데히드는 뇌조직에서 대사되어 생성된 것인지 또는 말초기관에서 순환되어 뇌에 나타나는 것인지 분명치 않으나 아세트알데히드를 아세테이트로 전환하는 효소는 ALDH로서 그 특징은 NAD^+ 의존성이 높은 것이다. 뇌조직의 ALDH는 마이크로몰 단위의 낮은 농도의 아세트알데히드와 포함하여 뇌의 정상적 기능을 저해할 수 있음이 보고(32)되어 있다. 본 실험에서 ALDH 활성은 갈근추출물군 I군에서 가장 높게 나타났으며, 갈화추출물군의 활성도 유의적이지는 않았으나 대조군에 비하여 증가하는 경향이였다. 이는 에탄올 투여시 뇌조직의

Table 2. Effect of *Puerariae* Flos and Radix water extracts on brain alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase activities in ethanol-treated rats

Group	Alcohol dehydrogenase nmole/mg protein/min	Aldehyde dehydrogenase nmole/mg protein/min
Control	$10.27 \pm 1.08^{2(a)}$	7.56 ± 1.26^b
<i>Puerariae</i> Flos I ¹⁾	8.98 ± 0.76^{bc}	9.24 ± 1.64^b
<i>Puerariae</i> Flos II	9.58 ± 0.81^{ab}	9.57 ± 1.53^b
<i>Puerariae</i> Radix I	8.49 ± 0.47^c	13.42 ± 3.16^a
<i>Puerariae</i> Radix II	8.61 ± 1.15^{bc}	11.92 ± 2.07^a

Ethanol (25% v/v, 5 g/kg body weight) was orally administered once a day for 5 weeks.

¹⁾*Puerariae* plant water extracts were supplemented in a diet based on 1.2 g (I) or 2.4 g (II) raw *Puerariae* Flos or Radix/kg body weight/day.

²⁾Values are mean \pm S.D. (n=7).

³⁾Means in the same column not sharing a common letter are significantly different ($p < 0.05$).

ALDH 활성이 유의적으로 감소되었다는 Spivak 등(33)의 보고로 보아 에탄올에 의해 감소된 ALDH 활성이 칩추출물 급여시 증가됨으로써 아세트알데히드의 전환에 효과적일 것으로 사료된다.

이와같이 에탄올 중독된 흰쥐에게 갈화 및 갈근의 열수추출물 급여시 뇌조직의 에탄올 대사효소계는 활성화되었으며, 특히 갈근추출물이 갈화추출물보다 활성화 효과가 큰 것으로 나타났다.

유해산소 생성효소계 활성

Cytochrome P450, aminopyrine demethylase 및 aniline hydroxylase 활성

Table 3에는 P450 함량, AD 및 AH 활성도를 나타내었다.

뇌조직 중의 P450 함량은 대조군에 비하여 갈화 및 갈근추출물 급여군 모두에서 감소되는 경향을 보였는데, 갈근추출물 I군의 감소 정도는 유의적이었다. 뇌조직의 P450은 에탄올 및 약물과 같은 이물질뿐만 아니라 내적 물질 대사에도 중요한 역할을 하며 NADPH-P450 환원제와 mixed function oxidase계를 이룬다(34). 에탄올 투여에 의하여 간의 P450계의 많은 기질들은 중추신경계에 영향을 미치며, 뇌의 P450은 비록 소량이지만 생리적 중요성을 지니는 것은 기질 특이성과 시토크롬의 특징 때문(35)

인 것으로 알려져 있다. 본 실험결과 에탄올은 P450을 통하여 유리기 생성을 유도하여 신경독성을 유발할 것이며 갈화 및 갈근 열수추출물 급여시 그 함량이 다소 감소됨으로써 독성이 완화될 것으로 사료된다.

또 다른 유리기 생성효소계인 AD의 활성 역시 대조군에 비하여 갈화와 갈근추출물 I급여군에서 유의적인 감소를 보였으며 갈근추출물 I군의 감소효과가 현저하게 나타났다. AH 활성은 대조군에 비하여 갈화추출물 및 갈근추출물 급여시 각각 약 50%와 63%정도 감소되었다. 반면 추출물 급여수준이나 부위별에 따른 유의적인 영향은 관찰되지 않았다. 이는 Anandatheerthavarada 등(36)이 에탄올 처리시 뇌조직 중의 AD와 AH 활성이 증가된다는 보고에서와 같이 에탄올에 의해 증가된 AD와 AH 활성이 칩추출물 급여로 그 활성이 억제되는 것으로 관찰되었다.

Aldehyde oxidase와 xanthine oxidase 활성도

5주간 사육한 흰쥐의 뇌조직 중 AO와 XO 활성도를 Table 4에 나타내었다.

XO와 더불어 시토크롬 분해에 존재하는 몰리브덴 함유 산화효소(37)인 AO는 생화학적 반응을 촉매하는 과정에서 반응액 중의 산소분자를 전자수용체로 활용함으로써 O_2 , H_2O_2 및 OH를 생성한다(38). 에탄올 대조군에 비하여 AO 활성은 갈근추출물 I군만 유의적으로 감소되었고 갈화 I수준 급여군은 활성 감소 정도가 유의적이지는 않

Table 3. Effect of *Puerariae* Flos and Radix water extract on brain cytochrome P450 content, aminopyrine demethylase and aniline hydroxylase activities in ethanol-treated rats

Group	Cytochrome P-450 nmole/mg protein	Aminopyrine demethylase form aldehyde nmole/ mg protein/min	Aniline hydroxylase ρ -aminophenol nmole/ mg protein/min
Control	$0.05 \pm 0.01^{2/a3)}$	0.54 ± 0.07^a	0.08 ± 0.02^a
<i>Puerariae</i> Flos I ¹⁾	0.04 ± 0.00^{ab}	0.44 ± 0.10^{bc}	0.04 ± 0.00^b
<i>Puerariae</i> Flos II	0.04 ± 0.01^{ab}	0.53 ± 0.07^a	0.05 ± 0.00^b
<i>Puerariae</i> Radix I	0.03 ± 0.00^b	0.38 ± 0.05^c	0.03 ± 0.00^b
<i>Puerariae</i> Radix II	0.04 ± 0.00^{ab}	0.52 ± 0.05^{ab}	0.03 ± 0.00^b

Ethanol (25% v/v, 5 g/kg body weight) was orally administered once a day for 5 weeks.

¹⁾Refer to the legend in Table 2.

²⁾Values are mean \pm S.D. (n=7).

³⁾Means in the same column not sharing a common letter are significantly different (p<0.05).

Table 4. Effect of *Puerariae* Flos and Radix water extract on brain aldehyde oxidase and xanthine oxidase activities in ethanol-treated rats

Group	Aldehyde oxidase pyridine nmole/mg protein	Xanthine oxidase uric acid nmole/mg protein
Control	$0.32 \pm 0.05^{2/a3)}$	3.82 ± 1.00^a
<i>Puerariae</i> Flos I ¹⁾	0.26 ± 0.06^{ab}	2.04 ± 0.58^b
<i>Puerariae</i> Flos II	0.31 ± 0.05^a	2.36 ± 0.52^b
<i>Puerariae</i> Radix I	0.22 ± 0.05^b	1.82 ± 0.66^b
<i>Puerariae</i> Radix II	0.29 ± 0.08^a	1.87 ± 0.37^b

Ethanol (25% v/v, 5 g/kg body weight) was orally administered once a day for 5 weeks.

¹⁾Refer to the legend in Table 2.

²⁾Values are mean \pm S.D. (n=7).

³⁾Means in the same column not sharing a common letter are significantly different (p<0.05).

Table 5. Effect of *Puerariae* Flos and *Radix* water extract on brain superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and glutathione S-transferase activities in ethanol-treated rats

Group	Superoxide dismutase	Catalase	Glutathione peroxidase	Glutathione S-transferase
	Unit/mg protein	Decreased H ₂ O ₂ nmole/mg protein	Decreased NADPH nmole/mg protein/min	nmole DNCB/mg protein/min
Control	4.69±0.30 ²⁾³⁾	5.40±0.79 ^a	25.03±2.50 ^a	7.79±0.90 ^c
<i>Puerariae</i> Flos I ¹⁾	4.90±0.49 ^{ab}	3.24±0.51 ^b	22.79±2.31 ^{ab}	9.31±1.71 ^b
<i>Puerariae</i> Flos II	5.22±0.60 ^{ab}	3.00±0.54 ^b	23.11±2.04 ^{ab}	9.97±0.90 ^b
<i>Puerariae</i> Radix I	5.40±0.40 ^a	2.79±0.65 ^b	22.21±0.79 ^b	13.46±0.88 ^a
<i>Puerariae</i> Radix II	5.15±0.38 ^{ab}	3.03±0.65 ^b	23.26±2.36 ^{ab}	9.87±1.53 ^b

Ethanol (25% v/v, 5 g/kg body weight) was orally administered once a day for 5 weeks.

¹⁾Refer to the legend in Table 2.

²⁾Values are mean±S.D. (n=7).

³⁾Means in the same column not sharing a common letter are significantly different (p<0.05).

었다.

XO는 퓨린체의 대사산물인 하이포잔틴을 잔틴으로 산화시켜 요산 생성반응에 관여하는 효소로서(39) 페리틴으로부터 철을 유리하여 과산화물 전환을 촉진하며 맹독성인 ·OH기를 생성하고 국소빈혈을 일으킨 후 조직분해를 초래한다(40). 에탄올 투여시 XO 활성은 증가되는데 이는 에탄올이 잔틴탈수소효소가 XO로의 전환뿐만 아니라 퍼옥시소아실보효소 산화제의 활성 증가로 산화적 스트레스를 가한 때문(41)으로 알려져 있다. 본 실험에서 XO의 활성이 침출물을 급여한 모든 군에서 감소되었는데 갈근추출물 I군의 감소 정도가 현저한 것으로 나타났다.

유해산소 제거효소계 활성

Table 5에는 에탄올을 투여한 흰쥐의 뇌손상에 갈화와 갈근추출물이 미치는 영향을 살펴보고자 SOD, CAT, GSH-Px와 GST의 활성을 나타내었다.

에탄올 만성투여에 의해 SOD의 활성이 감소되는데 이는 에탄올에 의해 증가된 superoxide 자유기를 제거하기 위하여 SOD가 소모된 때문이라고 Roger 등(41)은 보고하고 있다. 본 실험 결과 에탄올 투여로 감소된 SOD의 활성은 갈화와 갈근추출물 급여시 회복되는 경향이었으며, 특히 갈근 I수준군의 활성 증가가 유의적인 것으로 관찰되므로써 에탄올이 SOD의 활성감소를 유도하여 뇌조직에 가하는 산화적 스트레스는 적정량의 갈근추출물 급여시 완화될 수 있을 것으로 사료된다.

SOD와 함께 활성산소종에 대응하여 뇌세포의 노화를 방어하는데 중요한 역할을 하는 CAT 활성은 갈화와 갈근추출물 급여시 에탄올군에 비하여 유의적으로 감소되었는데, CAT 활성에 침의 부위별이나 수준별에 따른 유의적인 변화는 관찰되지 않았다. Aragon 등(42)은 흰쥐의 뇌에서 과산화수소의 존재와 생성을 확인하였고 CAT에 의해 생성된 아세트알데히드가 에탄올의 신경약리학 활성에 중추적 역할을 한다고 보고하였다. 본 실험 결과는 만성 에탄올 소비시 뇌조직 중의 SOD 활성은 감소

되는 반면, CAT 활성은 증가되었다는 Omodeo-Sale 등(43)의 보고와 유사하며, Amit와 Aragon(44)의 에탄올과 뇌조직의 CAT 활성이 양의 관계라는 보고에 의하면 에탄올에 의해 증가된 CAT 활성은 갈화 및 갈근추출물 급여시 유의적으로 억제되는 것으로 나타났다.

또한 뇌조직에 다량 존재하는 다가불포화지방산으로 인한 과산화적 손상으로부터 뇌를 보호하는 주 기전인 GSH-Px 활성은 갈근추출물 I수준군이 가장 낮았으며, 다른 실험군은 유의적이지는 않으나 대조군에 비하여 감소되는 경향이였다. 이는 에탄올 투여로 인하여 감소된 SOD 활성에 대한 보상효과(45)로 GSH-Px 활성이 증가된 것으로 생각되는데, 갈근추출물 I급여군은 에탄올에 의해 증가된 GSH-Px 활성이 회복되는 것으로 보아 침출물 특히, 적정량의 갈근 열수추출물은 에탄올 독성으로부터 뇌조직을 보호할 수 있을 것으로 사료된다.

셀렌 비의존성 효소인 GST 활성은 침 열수추출물 급여시 유의적인 활성증가를 관찰할 수 있었으며, 갈근추출물 I급여군의 활성 증가가 현저하였다. 독성물질의 친전자성체에 환원형 글루타티온을 포함시키며 글루타티온 티오에스테르 형성반응을 촉매하여 무독화한다고(46) 알려진 GST가 비록 과산화수소를 분해할 수 없으나 셀렌이 결핍된 조직의 과산화물 분해에 이용되므로써 뇌조직 중의 GST 활성이 감소된 것으로 사료된다.

요 약

침출물이 알코올성 뇌손상에 미치는 영향을 구명하기 위해 알코올을 투여한 흰쥐에게 갈화와 갈근을 수준별(I: 1.2 g/kg B.W., II: 2.4 g/kg B.W.)로 5주간 급여한 후 침 열수추출물이 알코올 대사와 유리기 생성 및 제거 효소활성에 미치는 영향을 관찰하였다. ADH 활성은 갈화 및 갈근추출물 급여시 에탄올만 투여한 대조군에 비하여 유의적으로 감소한 반면, ALDH 활성은 갈근추출물 급여군에서 유의적으로 증가하였는데 I수준군의 증가

정도가 현저하였다. P450 함량과 AD, AH 활성은 대조군에 비하여 췌 열수추출물 급여시 감소되는 경향이었는데 갈근 급여군의 감소효과가 현저하게 나타났다. AO와 XO 활성은 갈화 및 갈근추출물 급여군이 대조군에 비하여 감소되었는데 특히 갈근추출물 I수준군에서 현저하게 나타났다. SOD 활성은 췌 열수추출물 급여시 증가하였으며 CAT와 GSH-Px 활성은 에탄올 투여로 증가된 활성이 갈근 열수추출물 I 수준 급여시 유의적으로 감소되었고 GST 활성은 갈화 및 갈근 열수추출물 급여시 유의적으로 증가되었다.

이상의 결과에서 갈화 및 갈근 열수추출물 급여는 뇌 조직 중의 에탄올 대사효소계의 활성을 촉진시켰으며, 유리기제거 효소의 활성을 억제하고 항산화효소계를 활성화하여 에탄올 투여에 인한 뇌조직의 산화적 스트레스를 완화시킬 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 1998년도 한국학술진흥재단 연구비에 의하여 지원되었음(KRF-98-D00235).

문헌

- Mesnil, M. and Testa, B.: Xenobiotic metabolism by brain monooxygenases and other cerebral enzymes. *Adv. Drug Res.*, **13**, 95-107 (1984)
- Tabakoff, B and Gelpke, C.C.: Alcohol and aldehyde metabolism in brain. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **56**, 141-164 (1975)
- Lieber, C.S.: Biochemical and molecular basis of alcohol-induced injury to liver and other tissue. *N. Engl. J. Med.*, **319**, 1639-1650 (1988)
- Aragon, C.M.G., Rogan, F. and Amit, Z.: Ethanol metabolism in rat brain homogenates by a catalase-H₂O₂ system. *Biochem. Pharmacol.*, **44**, 93-98 (1992)
- Cohen, G., Slinet, P.M. and Heikkila, R.: Ethanol oxidation by rat brain *in vivo*. *Alcohol Clin. Exp. Res.*, **4**, 366-370 (1980)
- Tabakoff, B., Anderson, R.A. and Ritzmann, R.F.: Brain acetaldehyde after ethanol administration. *Biochem. Pharmacol.*, **25**, 1305-1309 (1976)
- Lieber, C.S.: Alcohol and the liver: Metabolism of ethanol, metabolic effects and pathogenesis of injury. *Acta Med. Scand. suppl.*, **703**, 11-55 (1985)
- Fan, L.L., Zeng, G.Y., Zhou, Y.P., Zhang, L.Y. and Cheng, Y.S.: Pharmacologic studies on Radix Puerariae: Effect of Puerariae on coronary circulation, cardiac hemodynamics and myocardial metabolism in dogs. *Chinese Medical J.*, **95**, 145-150 (1982)
- Huh, K.H., Lee, S.J. and Kim, H.C.: Studies on the antiinflammatory activity and its mechanism of daidzein. *Yakhak Hoeji*, **31**, 154-160 (1987)
- Oh, M.J., Lee, K.S., Son, H.Y. and Kim, S.T.: Antioxidative components of puerariae root. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **22**, 793-798 (1990)
- Kwon, C.H.: Studies on the effect of "Gal Geun Tang" upon stress resistance of rats. *Kor. J. Pharmacol.*, **5**, 217-222 (1974)
- Han, K.K. and Kwon, C.H.: Effect of species *Cinnamomi ramulus* and species *Cinnamomi ramulus* with Puerariae upon tissue metabolism of the rat. *Bull. K. H. Pharma. Sci.*, **3**, 43-47 (1975)
- Hiromasa, N., Iwasaki, Y. and Haruhisa, K.: The study of aqueous extract of *Puerariae radix* IV. The isolation of daidzin from the active extract (TTF-101) and its antifebrile and smasmolytic effect. *Yakagaku Zasshi*, **97**, 103-105 (1977)
- Reeves, P.G., Nielsen, F.H. and Fahey, G.C.: AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. *J. Nutr.*, **123**, 1939-1951 (1993)
- Fujii, M., Ohmachi, T., Sagami, I. and Watanabe, M.: Liver microsomal drug metabolism in ethanol-treated hamsters. *Biochem. Pharmacol.*, **34**, 3881-3884 (1985)
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275 (1951)
- Bergmeyer, H.U.: Methods of enzymatic analysis. Academic Press, New York, p.28-35 (1974)
- Koivula, T. and Koivusalo, M.: Different form of rat liver aldehyde dehydrogenase and their subcellular distribution. *Biochem. Biophys. Acta*, **397**, 9-23 (1975)
- Imai, T., Ito, A. and Sato, R.: Evidence of biochemically different types of vesicles in the hepatic microsomal fraction. *J. Biochem.*, **60**, 417-428 (1966)
- Rajagopalan, K.V., Fridovich, I. and Handler, P.: Hepatic aldehyde oxidase, I. Purification and properties. *J. Biol. Chem.*, **237**, 922-928 (1962)
- Stirpe, F. and Della, C.E.: The regulation of rat liver xanthine oxidase: Conversion *in vitro* of the enzyme activity from dehydrogenase (Type D) to oxidase (Type O). *J. Biol. Chem.*, **244**, 3855-3863 (1969)
- Marklund, S. and Marklund, G.: Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol & a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.*, **47**, 469-474 (1974)
- Aebi, H.: Catalase *in vitro*. *Methods Enzy.*, **10**, 121-126 (1988)
- Paglia, E.D. and Valentine, W.N.: Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.*, **70**, 158-169 (1967)
- Habig, W.H., Pabst, M.J. and Jakoby, W.B.: Glutathione S-transferase: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, **249**, 7130-7139 (1974)
- Omura, T. and Sato, R.: The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemo-protein nature. *J. Biol. Chem.*, **239**, 2370-2378 (1964)
- Omura, T. and Sato, R.: The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. II. Solubilization, purification and properties. *J. Biol. Chem.*, **239**, 2379-2385 (1964)
- Snedecor, G.W. and Cochran, W.G.: *Statistical methods*. 6th ed., Iowa State University Press, Iowa, p.1 (1967)
- Raskin, N.H. and Sokoloff, L.: Brain alcohol dehydrogenase activity. *Science*, **162**, 131-132 (1968)
- Buhler, R., Petalozzi, D., Hess, M. and Wartburg, J.P.

- : Immunohistochemical localization of alcohol dehydrogenase in human kidney, endocrine organs and brain. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **18**, 55-59 (1983)
31. Raskin, N.H. and Sokoloff, L.: Changes in brain alcohol dehydrogenase activity during chronic ethanol ingestion and withdrawal. *J. Neurochem.*, **17**, 1677-1687 (1970)
32. Pettersson, H. and Totter, O.: Aldehyde dehydrogenase in rat brain: Subcellular distribution and properties. *J. Neurochem.*, **38**, 477-487 (1982)
33. Spivak, K., Aragon, C.M.G. and Amit, Z.: Alterations in brain aldehyde dehydrogenase activity modify ethanol-induced conditioned taste aversion. *Alcohol Clin. Exp. Res.*, **11**, 513-517 (1987)
34. Bergh, A.F. and Strobel, H.W.: Reconstitution of the brain mixed function oxidase system and partial purification of cytochrome P-450 from whole rat brain. *J. Neurochem.*, **59**, 575-581 (1992)
35. Chon, J.A., Alvares, A.P. and Kappas, A.: On the occurrence of cytochrome P-450 and arylhydrocarbon hydroxylase activity in rat brain. *J. Exp. Med.*, **145**, 1607-1611 (1977)
36. Anandatheerthavarada, H.K., Shankar, S.K., Bharme, S., Boyd, M.R., Song, B.J. and Ravindranath, V.: Induction of brain cytochrome P450 IIE1 by chronic ethanol treatment. *Brain Res.*, **601**, 279-285 (1993)
37. Rajagopalan, K.V. and Handler, P.: *Metalloflavoproteins in biological oxidations*. Singer, T.P. (ed.), Wiley, New York, p.310-319 (1965)
38. Kuppusamy, P. and Zweier, J.L.: Characterization of free radical generation by xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.*, **264**, 9880-9884 (1989)
39. Watts, R.W.E., Watts, J.E.M. and Seegmiller, J.E.: Xanthine oxidase activity in human tissues and its inhibition by allopurinol. *J. Lab. Clin. Med.*, **66**, 688-697 (1965)
40. Sultatos, L.G.: Effects of acute ethanol administration on the hepatic xanthine dehydrogenase/oxidase system in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **246**, 946-949 (1988)
41. Roger, N., Catherine, R. and Helene, R.: Ethanol-induced lipid peroxidation and oxidative stress in extrahepatic tissues. *Alcohol & Alcoholism*, **25**, 231-237 (1990)
42. Aragon, C.M.G., Stotland, L.M. and Amit, Z.: Studies on ethanol-brain catalase interaction: Evidence for central ethanol oxidation. *Alcohol Clin. Exp. Res.*, **15**, 165-169 (1991)
43. Omodeo-Sale, F., Gramigna, D. and Campaniello, R.: Lipid peroxidation and antioxidant systems in rat brain: effect of chronic alcohol consumption. *Neurochem. Res.*, **22**, 577-582 (1997)
44. Amit, Z. and Aragon, C.M.G.: Catalase activity measured in rats naive to ethanol correlates with later voluntary ethanol consumption: Possible evidence for a biological marker system of ethanol intake. *Psychopharmacology*, **95**, 512-515 (1988)
45. Marker, H.S., Weiss, C., Silides, D.J. and Cohen, G.: Coupling of dopamine oxidation via the generation of hydrogen peroxide in rat brain homogenates. *J. Neurochem.*, **36**, 589-593 (1988)
46. Spiesky, H., Kera, Y., Penttila, K.E., Israel, Y. and Lindros, K.O.: Depletion of hepatic glutathione by ethanol occurs independently of ethanol metabolism. *Alcohol Clin. Exp. Res.*, **12**, 224-247 (1988)

(2000년 4월 19일 접수)