

헛개나무(*Hovenia dulcis* THUNBER var. *koreana* Nakai) 추출물의 간 기능 개선 작용 및 간암세포 증식억제 효능 검증

황현익, 이인순*, 문혜연

대구대학교 생물공학과, 파이토케미칼(주)*

전화 (053) 850 - 6552, FAX (053) 850 - 6559

Abstracts

The ADH-like and ALDH-like activities in the *Hovenia* extracts were studied. The *Hovenia* extracts have an high effects on the alcohol and acetatealdehyde degradation. The ADH-like and ALDH-like activities in the *Hovenia* extract were 1.14 unit/ μ l, 0.33 unit/ μ l respectively. The *Hovenia* extracts were decreased concentration of fusel oil by biochemical function of alcohol hydrolysis.

In this study, antihepatotoxic and anticancer activity of *Hovenia* extracts were investigated. The ethanol extracts have a highest GST activity. Furthermore the growth of SNU-398 cancer cells were inhibited by the addition of *Hovenia* extracts. The culture media mixture to *Hovenia* extract of 1 mg/ml was not observed connective cell and adhere to flat of liver cancer cell.

서 론

최근에 간암 발생의 원인 및 발암물질을 검색하는 연구와 천연물에 존재하는 항암 성분을 찾아내어 치료제로 개발하고자 하는 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 기존에 사용되는 인공 합성 항암제의 경우 부작용으로 인하여 많은 문제가 야기되고 있어, 이를 대체할 물질로서 천연의 생리활성 물질을 이용하는 연구가 활발하게 진행되고 있다. 따라서, 천연물 중 숙취해소와 간 기능 개선, 간의 독성물질 제거효능이 있는 것으로 알려진 헛개나무(*Hovenia dulcis* THUNBER var. *koreana* Nakai)를 이용하여 간 기능개선 및 간암 세포증식 억제효과를 검증하여 생약으로써의 개발 가능성을 타진하였다. 헛개나무는 중국과 일본, 우리나라에 주로 분포하고 있는 갈매나무과의 낙엽교목으로서 우리나라는 주로 강원도 및 황해도 이남, 중부지방에 분포하고 있는 수종으로 매우 드물게 군락을 형성하고 있다. 약리적인 기능에 대한 기록들을 살펴보면 간장의 기능을 좋게 하고 간에 쌓인 독을 풀어 주는 효과가 있어 음주 후에 나타

나는 두통, 어지러움, 속 불편함, 구취, 소갈 등의 다양한 숙취증상을 해소하는 기능과 위장병, 대장염 등 음주로 인하여 생긴 병을 고치는데 효능이 있는 것으로 알려지고 있다. 이러한 헛개나무의 효능을 검정하기 위해 각 부위별로 추출물을 얻은 다음 alcohol과 acetaldehyde, fusel oil류의 분해에 미치는 생화학적 효과에 대하여 알아보았으며 또한, 간암 예방 및 치료에 대한 효능을 알아보기 위해 암의 발병 원인이 될 수 있는 발암 물질의 체내 제거능력을 GST 활성과 간암세포 성장억제 효과도 확인하였다.

재료 및 방법

1. 재료

헛개나무는 재배 농장으로부터 5년 이상 성장한 국산 수종을 구입하여 잎과 가지, 수피, 목부 부분으로 나누어 각각을 잘게 썰어 건조하여 사용하였으며, 실험에 사용한 간암세포는 SNU-398로서 서울대 의대 암연구센터로부터 분양 받았으며, 기타 시약은 특급 제품을 사용하였다.

2. Alcohol 분해 효과 검정

23%와 15%의 주정을 기준으로 alcohol dehydrogenase의 생리활성에 준하여 NAD가 NADH로 변화되는 농도를 측정하여 산출하였다.

3. 숙취해소 효과 검정

숙취는 alcohol 분해 중 생성되는 aldehyde와 주정의 발효공정에서 생성되는 fusel oil류에 의해 나타나는 생리적인 현상이다. fusel oil류는 n-amyl alcohol, iso-amyl alcohol, iso-butyl alcohol, n-propyl alcohol을 주정인 소주와 청주를 기준으로 하여 23%, 15%의 농도로 설정한 다음 헛개나무 추출물이 fusel oil류의 분해효과를 실험하였다.

4. 독성 물질 제거 효과 검정

헛개나무 추출물이 간 독성물질을 제거하는 Glutathion S-transferase 효과를 검정하기 위해 독성물질인 CDNB(1-chloro-2,4-dinitrobenzene)를 이용하여 Glutathion과의 결합 효과를 알아보았다. 대조구는 100 unit의 GST(Glutathion S-transferase)가 반응하여 생성하는 CDNB와GSH의 결합량을 측정하여 비교하였다.

5. 간암 세포 성장 억제 효과

헛개나무 추출물이 간암 세포인 SNU-398의 세포증식 억제 미치는 영향을 알아보기 위하여 5일간 배양하는 동안 간암 세포의 증식억제효과를 현미경을 통하여 세포수 측정하였다.

결과 및 고찰

1. Alcohol 분해 효과 검증

Alcohol 분해효소인 ADH 300 unit의 활성과 비교한 결과 목부 추출물의 alcohol 분해효과가 가장 높은 것으로 나타났으며(fig. 1.) 잎 추출물은 197 unit로 다른 조직에 비해 현저하게 효소적 활성이 떨어지는 것으로 보아 헛개나무 추출물 중 alcohol 분해효능이 있는 물질이 헛개나무 수령이 늘어남에 따라 잎보다는 가지나 목부쪽으로 약리성 성분이 축적되는 것으로 판단된다.

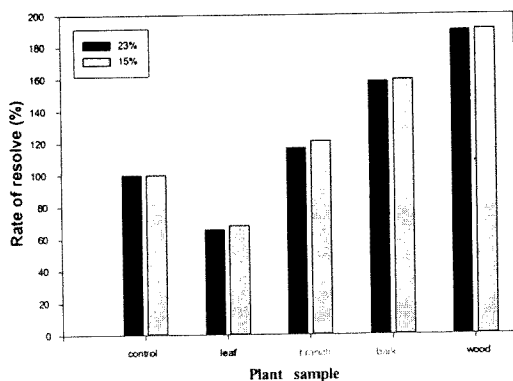


Fig. 1. The effect of the Hovenia extracts to alcohol analysis. The control was calculated to effect of alcohol analyzed by 300 unit/ml ADH.

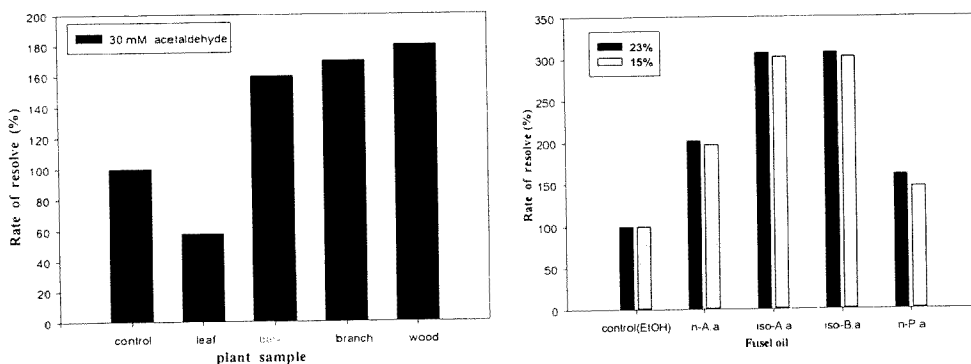


Fig. 2. The effect of the Hovenia extracts to acetaldehyde and fusel oil analysis.

3. 숙취해소 효과 검증

3.1 Acetaldehyde 분해 효과

헛개나무 추출물이 가지고 있는 숙취 해소효능을 알아보기 위하여 alcohol 분해 후 생성되는 숙취의 원인물질인 acetaldehyde에 대한 분해효과를 검정하였다. Acetaldehyde 분해효소인 ALDH 10 unit와 헛개나무 조직별 추출물을 비교한 결과, 목부 추출물의 경우 ALDH 활성보다 약 2배 정도의 높은 분해효과를 확인할 수 있었으며(Fig. 2), 잎 추출물의 경우 ADH의 결과와 동일하게 낮은 활성값으로 나타났다. alcohol 섭취로 인해 발생하는 생리적 현상인 숙취를 해소하는 약리적 성분을 포함하고 있음을 시사하는 것이다.

3.2 Fusel oil 류에 대한 분해 효과 검정

Fusel oil에 대한 헛개나무 조직별 추출물의 분해효과를 검정하기 위해 ADH 300 unit와 비교한 결과 가지 추출물이 가장 분해효과가 우수한 것으로 나타났으며, iso-butanol에 대한 분해효율이 가장 높은 것으로 판명되었다(Fig. 2).

4. 독성 물질 제거 효과 검정

헛개나무 추출물이 가지는 발암물질 제거효능은 GST (glutathion S-transferase)활성을 측정하여 독성물질인 CDNB의 제거효과로 검정하였다. 그 결과 ethanol을 용매로 한 추출물이 가장 우수한 것으로 확인되었다. GST 효소 100 unit의 활성과 비교하였을 때 ethanol 추출물이 약 2배 정도 높은 활성으로 나타났으며 이는 헛개나무의 추출물에 포함된 독성제거물질이 지용성 물질일 가능성이 높음을 시사하는 것이다.

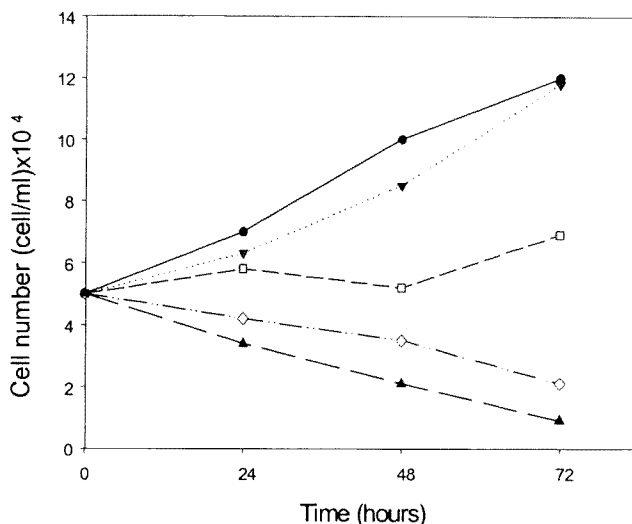


Fig. 3. The growth curve SNU-398 cancer cells in the culture medium containing various concentration of Hovenia wood ethanol extracts.

5. 간암세포 성장억제효과 검정

헛개나무 ethanol 추출물에 대한 항암효과를 검정하였다. 그 결과 간암세포가 성장하는 배양액에 ml당 헛개나무 추출물 0.5 mg을 첨가하였을때는 24시간 후부터 성장이 둔화되면서 SNU-398의 특징인 바닥 부착성 또한 많이 상실되는 것을 관찰되었다. 1 mg 이상을 첨가하였을 경우 암세포의 특징인 바닥 부착성은 상실되고 부유상태의 성장을 일부 관찰하였으며, 시간이 경과함에 따라 지속적인 항암효과도 관찰할 수 있었다(Fig. 3).

요 약

헛개나무의 추출물을 이용하여 alcohol과 acetaldehyde, fusel oil류 대한 분해효과를 검정한 결과 alcohol 분해 및 숙취해소에 효과가 높은 것으로 확인하였으며, 체내 독성물질 제거를 위한 GST activity를 측정한 결과 헛개나무 추출물이 GST 효소와 비교 시 약 2배 정도의 활성을 나타내었다. 또한 헛개나무 추출물의 간암세포의 성장에 미치는 효과를 알아본 결과 1 mg/ml에서 간암세포의 성장을 억제하는 것을 확인하였다.

참고문헌

1. Lumeng, L., Minter, R., & Li, T. K. (1982). Distribution of stable acetaldehyde adducts in blood under physiological conditions. *Fedu. Proc.*, 41, 765-781.
2. 정승은외 1명 (2002). 간암 및 자궁암 세포주 증식에 미치는 오메 추출물의 영향. *J. Korean Soc. Food Sci Nutr.*, 35(4), 439-445.
3. 김미정의 1명 (2001). 실험적 간암모델에서 한국산 겨우살이 추출물 및 렉틴의 발암 억제효과 탐색. *J. Korean Soc. Food Sci Nutr.*, 30(4), 697-702.
4. Liber, S. C., Decarli, L. M., & Schmid, R. (1959). Effect of ethanol on fatty acid metabolism in liver slices. *Biochem. biophys. Res. Comm.*, 82, 141-149.
5. Jones, D. P., Losowsky, M. S., & Davidson, C. S. (1963). Effects of ethanol on plasma lipids in man. *J. Lab. Clin. Med.*, 62, 675-682.