

*Aloe*속 식물이 알콜대사에 미치는 작용에 관한 연구(1)
—*Aloe vera*가 알콜 및 알콜대사효소에 미치는 효과—

신국현 · 우원식 · 송영진 · 정하숙 · 이정미* · 심창섭*
서울대학교 천연물과학연구소 · (주)김정문알로에 기술연구소*

Studies on the Effect of *Aloe* spp. on Ethanol Methabolism (I).
—Effect of *Aloe vera* on Serum Ethanol Level and Hepatic ADH Activity—

Kuk Hyun Shin, Won Sick Woo, Young Jin Song, Ha Sook Chung,
Jung Mi Lee* and Chang Sub Shim*
Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460
and R & D Center, Kim Jeong Moon Aloe Co., LTD.

Abstract—As an initial step for evaluating hepatoprotective components against alcohol-induced toxicity, the effect of various fractions from *Aloe vera* on alcohol metabolism in rats were examined and the results were as follows: Water 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 ADH activity. On the other hand, the fractions soluble in organic solvent was found to cause an increase in the blood ethanol concentration and inhibit ADH activity. Further fractionation of the water soluble fraction by ultrafiltration system gave four subfractions corresponding to molecular weight and treatment of them in rats demonstrated that subfraction of M.W. > 30,000 exhibited the most potent enhancing activity of ethanol methabolism.

Keywords—*Aloe vera* · inhibition and enhancement of ethanol methabolism · ADH

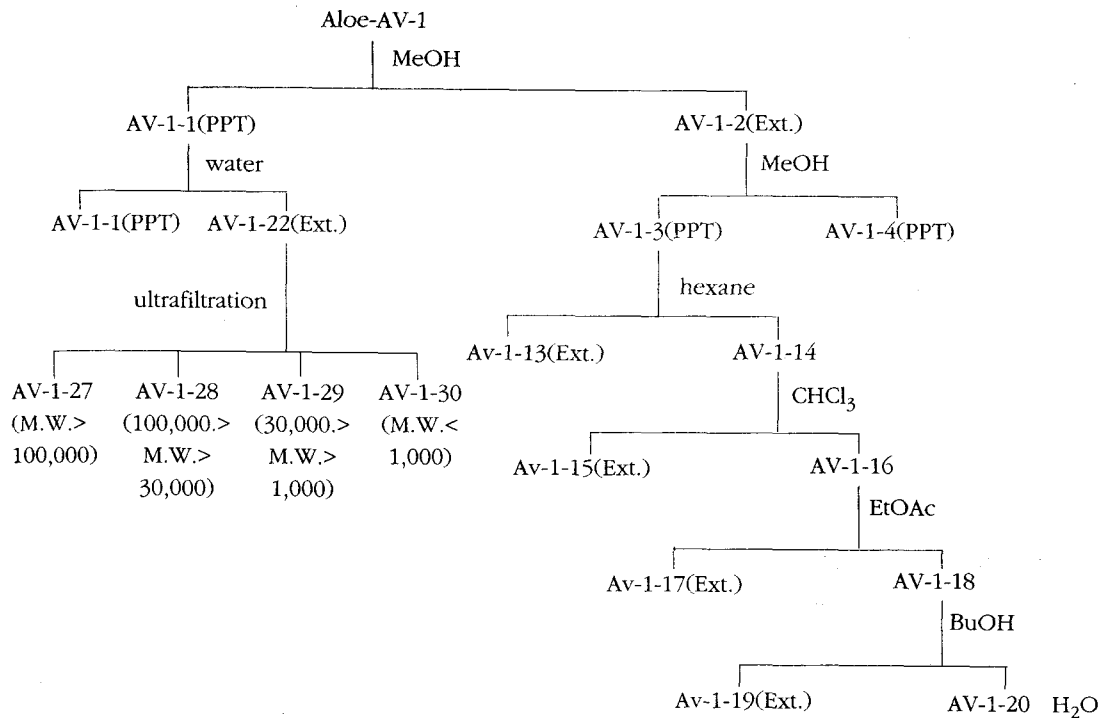
알콜 섭취로 유발되는 간 기능 장애는 증가하고 있으며^{1,2)} 이로 말미암아 나타나는 여러 가지의 간 질환의 예방 또는 치유는 중요한 연구과제의 하나이다. 현재까지 알콜대사에 미치는 몇몇 합성 의약품들의 효과에 대하여 연구보고 된 바 있으나^{3,5)} 합성의약품 자체가 독성 또는 부작용을 나타냄으로 부작용이 적은 천연약물로부터 유효성분을 추적코자 하는 추세에 있다.

이와 같은 목적의 일환으로 Sakai 등^{6,7)}은 수종의 천연약물의 수용액 추출물이 혈중 알콜 농도에 미치는 효과를 추적 한 결과 몇몇 식물에서 알콜대사를 촉진하는 작용이 있음을 보고한 바

있다. 이중 *Aloe*속 식물의 일종인 *Aloe ferox* 가 현저한 혈중 알콜농도의 감소 효과를 나타낸다는 보고⁶⁾에 착안하여 *Aloe*속 식물로부터 알콜대사 촉진 내지는 간 보호작용성분을 추적하기 위한 일차적인 시도로서 우리나라에서 가장 많이 재배 이용되고 있는 *Aloe vera*의 추출물들이 알콜대사에 미치는 작용을 검색 한 결과 새로운 지견을 얻었으므로 보고한다.

실 험

실험재료 - (주) 김정문 알로에 에서 *Aloe*



Scheme I. Fractionation of *Aloe vera*

vera 잎으로부터 피질을 제거 한 육질부를 건조 분말화 한것을 실험재료로 하였다.

추출 및 분획 - Scheme 1에 따라 시료의 계통분획을 실시 하였다. 즉 Aloe 건조분말(AV-1)을 methanol로 수용상에서 3시간씩 5회 환류 추출하여 methanol 가용부(AV-1-2)와 불용부(AV-1-1)로 분획 하였다. Methanol 가용부(AV-1-2)는 감압농축하여 석출하는 침전물(AV-1-3)을 여과하고 여액을 그대로 감압농축하고(AV-1-4) 침전물(AV-1-3)은 다시 n-hexane, chloroform, ethylacetate 및 n-butanol 등으로 계통분획하여 각각의 분획물을 얻었다.

고분자물질 군으로 추정되는 methanol불용부(AV-1-1)는 다시 물로 추출하고 수용성분획(AV-1-22)과 수불용성분획(AV-1-21)으로 분획하였다. 수용성분획은 냉동건조 후 membrane filter에 의하여 ultrafiltration을 실시 하여 분자량 크기에 따라(M.W.1000-100,000)다시 4개의 sub-fraction으로 분획하였다.

동물실험 - 본 연구소에서 사육한 체중 250-300 g의 Sprague Dawley(CD strain)계 웅성 rat

를 실험동물로 하고 실험전 24시간 절식시키고 물만을 공급하였다. 실험을 실시하기전에 rat를 urethane 500 mg/kg씩 복강내 투여하여 마취시켰다. 시료를 0.5% CMC 또는 5 g/L의 arabia gum에 현탁시켜서 경구투여하고 30분 후 ethanol을 3 g/kg씩 경구투여 하였다. Ethanol 투여 후 1시간 또는 4시간에 안와정맥으로부터 채혈하고 4°C에서 3000 rpm으로 10분간 원심분리하여 혈청을 분리한다음 혈청내 ethanol 함량을 ethanol assay kit(332-UV)로 측정하였다. 마지막 채혈이 끝난 후 즉시 간을 적출하고 4 에서 7배액의 0.25 M sucrose 액으로 homogenization (teflon pestle glass homogenizer, Dupont, 17105)하였다. Homogenate는 600 xg에서 10분간, 10,000 xg에서 10분간 및 105,000 xg에서 1시간 원심분리 하여 cytosolic fraction을 얻고 이를 효소원으로하여 alcohol dehydrogenase (ADH) 활성을 측정하였다.

알콜 및 간의 ADH 활성의 측정 - 혈청 ethanol 함량은 Sigma Chem. Co.(St. Louis, MO, USA)의 ethanol assay kit(332-UV)를 사용하여

Table I. Effect of various fractions from *Aloe vera* on rat serum ethanol concentration and on hepatic alcohol dehydrogenase (ADH) activity after oral administration of ethanol

Treatments	dose ^{a)} (mg/kg, p.o.)	ethanol (mM)	ADH activity (μ moles/min/mg prot.)
Exp.1.			
Control	0.5% CMC	13.7 \pm 1.3	9.3 \pm 0.9
Fr.AV-1-1	275	9.9 \pm 1.3*(72.3) ^{b)}	11.2 \pm 0.2 (120.7) ^{b)}
Exp.2.			
Control	0.5% CMC	22.7 \pm 5.8	15.5 \pm 0.6
Fr.AV-1-3	92	52.0 \pm 3.5*** (229)	0 \pm 0*** (0)
Exp.3.			
Control	0.5% CMC	18.4 \pm 3.5	24.6 \pm 2.2
Fr.AV-1-4	125	18.8 \pm 4.4(102.2)	16.5 \pm 3.2**(67.1)

Rats were orally administered with test extracts (suspended in 0.5 % CMC) 30 min before ethanol treatment (3 g/kg, p.o.) and ethanol concentrations in serum and ADH activity in liver cytosol fraction at 1 hr after ethanol administration were estimated.

a) The dose of the test extracts : mg/kg of plant dry wt.equivalent.

b) Percent of the control. Significantly different from the control : *p < 0.1, **p < 0.05, ***p < 0.001.

측정하였다⁸⁾. 즉 혈청 0.2 ml를 1.8 ml의 trichloroacetic acid로 침전시키고 600 xg에서 10 분간 원심분리 한 후 상등액 일정량에 assay kit 를 가하여 분석하였다. 따로 ethanol 표준액에 대한 분석치를 대조로하여 ethanol 함량을 산출 하였다. 혈청중 ethanol 함량이 0.071(W/V)% 및 0.106%일 때 C.V.는 각각 4.1 및 1.08%이며 측정 한계는 0.007%이다.

ADH 활성의 측정은 Lebsack 등의 방법⁹⁾에 준하여 0.2 M ethanol 0.1ml, 0.05M semicarbazide 0.02 ml, 0.1M NAD의 0.01 M HCl용액 0.02 ml 및 0.1 M Tris buffer(pH 8.5) 2.6 ml를 혼합 30°C에서 10분간 preincubation 한 후 cytosolic enzyme source 0.1 ml를 반응액에 가하여 8분간 340 nm에서의 흡광도의 변화를 기록 하고 대조군의 측정치 와의 비로부터 ADH 활성 을 산출하였다. 이때 기질인 ethanol을 제외한 공시험군의 값을 제하여주었으며 Lowry 법¹⁰⁾에 의하여 단백질의 량을 측정하였다.

통계처리 - 실험 결과는 means \pm S.E.M.로 표시하였다. 각 평균치의 차는 Student t-test에 의하여 유의성 검정을 실시하여 검토하였다.

실험결과 및 고찰

Scheme 1에 따라 계통분획하여 각종 분획물들을 rat에 경구투여 하고 혈청 ethanol농도 및 간의 ADH활성에 미치는 효과를 지표로 활성분획을 추적하여 그결과를 Table I에 표시하였다. Rat에 methanol불용부와 용성분획들을 건조식물 당량씩 경구투여하고 30분 후에 ethanol을 투여한 다음 1시간만에 채혈하여 혈청의 ethanol 함량과 간 cytosol의 ADH활성을 측정한 결과 methanol 불용성분획 투여군의 경우 대조군에 비해 약 27%의 혈청 ethanol농도 감소를 나타내었으며 이에 부합되게 ethanol 투여로 감소된 간의 ADH활성이 약 20.7% 회복됨을 관찰하였다.

이와는 반대로 수불용성 분획 투여군에서는 ethanol 함량의 증가와 간의 ADH활성의 억제현상이 있음을 관찰하였다. 즉 Fr. AV-1-3 투여의 경우 혈청 ethanol 농도가 대조군에 비해 129% 증가와 ADH활성의 완전한 억제를 보였으며 Fr. AV-1-4 투여의 경우도 간의 ADH활성이 32.9% 억제되었다.

이상과 같은 실험결과에 의하면 수용성분획 (AV-1-1)에는 alcohol대사 촉진작용이 있음을 추

Table II. Effect of Aloe extracts on rat serum ethanol concentration and hepatic alcohol dehydrogenase (ADH) activity after oral administration of ethanol to rats

Treatment	dose ^{a)} (mg/kg, <i>p.o.</i>)	ethanol (% of control)		ADH activity (μ moles/min/mg prot.)
		1 hr	4 hr	
Control	0.5% CMC	100	100	10.5 \pm 1.6
Fr. AV-1-1	275	42.1**	25.2**	15.0 \pm 2.0* (142.8) ^{b)}

Rats were orally administered with test extracts (suspended in 0.5% CMC) 30 min before ethanol treatment (3 g/kg, *p.o.*) and ethanol concentrations in serum and ADH activity in liver cytosol fraction at 1 hr and/or 4 hr after ethanol administration were estimated.

a) The dose of the test extracts : mg/kg of plant dry wt. equivalent.

b) Percent of control. Significantly different from the control : **p* < 0.1, ***p* < 0.001.

Table III. Effect of subfractions of methanol soluble fraction from *Aloe vera* on rat serum ethanol concentration and on alcohol dehydrogenase (ADH) activity in liver cytosol fraction

Treatment	dose ^{a)} (mg/kg, <i>p.o.</i>)	ethanol (mM)	ADH activity (μ moles/min/mg prot.)
Exp.1.			
Control	0.5% CMC	35.4 \pm 7.5	20.8 \pm 2.8
Subfr. AV-1-13	8.5	60.4 \pm 7.6**(170.6) ^{b)}	15.6 \pm 0.8* (75.0)
AV-1-15	1.0	80.1 \pm 6.0*** (226.2)	14.1 \pm 1.7** (67.8)
AV-1-17	2.0	38.9 \pm 4.3 (109.8)	15.1 \pm 1.0* (72.6)
AV-1-19	14.5	57.1 \pm 4.7** (161.3)	12.5 \pm 1.5** (60.1)
AV-1-20	19.5	75.4 \pm 1.2*** (213.0)	11.9 \pm 1.1** (57.2)
Exp.2.			
Control	0.5% CMC	31.1 \pm 2.8	14.1 \pm 2.0
Subfr. AV-1-21	150	24.4 \pm 0.7* (78.5)	24.7 \pm 2.1** (175.2)
Subfr. AV-1-22	300	17.8 \pm 1.5*** (57.2)	20.6 \pm 2.1** (146.1)

Rats were orally administered with test extracts suspended in 0.5 % CMC, 30 min prior to ethanol treatment (3 g/kg, *p.o.*) and ethanol concentrations in serum and ADH activity in liver cytosol fraction at 1 hr after ethanol treatment were estimated.

a) The dose of the test extracts : Exp.1. mg/kg of dry wt. equivalent of plant.

Exp.2. twice of mg/kg of dry wt. equivalent of plant.

b) Percent of the control. Significantly different from the control : * *p* < 0.1, ** *p* < 0.05, *** *p* < 0.01.

정할 수 있으므로 이를 재확인하고 또한 동일한 rat의 혈청 ethanol농도의 경시적인 변화를 관찰하기 위하여 ethanol 투여 후 1시간 및 4시간만에 채혈하고 혈청의 ethanol함량을 측정하여 대조군의 그것들과 비교한 결과 현저한 ethanol함량의 감소를 나타내어 1시간 후 57.9%, 4시간 후 74.8% 감소를 보여 1시간 보다도 4시간 후의 함량차가 커진다는 것을 알았다. 또한 시료 투여

후 4시간만에 rat를 희생시키고 간 cytosol의 ADH활성을 측정한 결과 대조군에 비해 42.8%의 효소활성의 증가를 나타내어 혈중 ethanol감소효과와 부합됨을 알았다. (Table II)

한편 methanol 이용성 분획에서는 알콜대사를 억제하는 실험결과가 나타난것으로 보아 Aloe 중에는 alcohol대사 억제성분들도 존재할 것이 추정되므로 이와 같은 성분들을 추적할 목적의 일

Table IV. Fractionation of high molecular weight fractions (AV-1-22) by ultrafiltration system

M.W.	fraction	yield (g)
> 100,000	AV-1-27	9.38
30,000 - 100,000	AV-1-28	0.67
1,000 - 30,000	AV-1-29	0.67
< 1,000	AV-1-30	8.71

환으로 유효성분이 존재할 가능성이 높은 획분을 체계적으로 분획하여 각 분획물들이 alcohol대사에 미치는 효과를 측정하고 그 결과를 Table III에 표시하였다. Table III에서 보는 바와 같이 alcohol대사 억제작용이 강한 것으로 판명된 AV-1-3 fr.을 n-hexane, chloroform, ethylacetate 및 n-butanol 등으로 계통분획한 것들이 혈중 ethanol함량 및 간의 ADH활성에 미치는 효과를 보면 혈중 alcohol농도가 대조군에 비하여 60-120%의 증가와 25-40%의 ADH활성 억제효과를 나타내어 각 분획들 모두에서 alcohol대사 억제작용이 있음을 알 수 있었다. 특히 chloroform, n-butanol 및 H₂O 분획들에서 더 큰 억제작용이 발현되었으며(Exp.1) 건조식물 당량으로 환산하면 chloroform분획이 가장 강함을 알 수 있었다.

Alcohol대사 촉진작용을 나타낸(AV-1-1)분획

을 다시 물로 추출하여 침전물(AV-1-21)과 수용성분획(AV-1-22)을 건조식물 당량의 2배씩 경구투여 하고 혈청 alcohol농도와 간의 ADH활성에 미치는 효과를 측정한 결과 두 분획 모두에서 현저한 alcohol대사 촉진효과가 관찰되었다(Table III, Exp.2). Aloe의 alcohol대사 촉진작용물질들은 수용성 고분자물질균일 가능성이 크므로 이를 추적하기 위해 이 분획들을 다시 membrane filter를 이용하여 분자량 크기 순으로 ultrafiltration을 실시하여 4개의 세분획으로 나눈 것들(Table IV)을 건조식물당량의 3배씩 경구투여하고 혈청 ethanol함량과 간의 ADH활성에 미치는 효과를 측정한 결과 Table V에서 보는 바와 같이 모든 subfr. 들에서 현저한 혈중 ethanol 함량의 감소를 관찰할 수 있었다. ADH 활성도(AV-1-30)을 제외하고는 비록 통계적 유의성은 없으나 분자량 30,000 이상의 분획들에서 효소활성의 증가효과가 나타났으며 분자량 100,000 이상의 분획이 가장 강한 활성을 나타냄을 알았다.

이상의 실험결과들을 종합해보면 *Aloe vera*는 alcohol대사 촉진과 억제작용의 정반대 되는 성분들이 존재 할 것으로 추정되며 이 성분들의 구명이 앞으로의 과제로 사료된다.

(1995년 3월 17일 접수)

Table V. Effect of subfractions of water soluble fraction from *Aloe vera* on rat serum ethanol concentration and on alcohol dehydrogenase (ADH) activity in liver cytosol fraction

Treatment	dose ^{a)} (mg/kg, p.o.)	ethanol (mM)	ADH activity (μ moles/min/mg prot.)
Control	0.5% CMC	43.4 \pm 2.3	37.2 \pm 3.7
Subfr. AV-1-27	19.5	11.9 \pm 4.7* (27.4) ^{b)}	47.8 \pm 3.4 (127.2)
AV-1-28	1.5	24.3 \pm 4.6* (55.9)	43.8 \pm 1.7 (117.8)
AV-1-29	1.5	10.8 \pm 5.4* (24.9)	43.3 \pm 1.7 (116.4)
AV-1-30	21.0	7.6 \pm 2.1* (17.5)	34.6 \pm 2.0 (92.9)

Rats were orally administered with test extracts suspended in 0.5 % CMC, 30 min prior to ethanol treatment (3 g/kg, p.o.) and ethanol concentrations in serum and ADH activity in liver cytosol fraction at 1 hr after ethanol treatment were estimated.

The subfraction numbers represent approximate molecular wt. separated by ultrafiltration as listed in Table IV.

a) The dose of the test extracts : Three times of mg/kg of dry wt. equivalent of plant.

b) Percent of the control.

Significantly different from the control : *p < 0.001.

참고문헌

1. Gabuzda, G.J.: *Am. J. Clin. Nutr.* **6**, 280 (1958).
2. Rubin, E. and Lieben, C.S.: *Science* **162**, 690 (1968).
3. Hiele, J.J., Grubbs, J.H., Beer, D.G. and Petersen, D.R.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **219**, 821 (1981).
4. Li, T.K. and Theorell, H.: *Acta Chem. Scand.* **23**, 892 (1969).
5. Deitrich, R.A.: *J. Biol. Chem.* **247**, 7232 (1972).
6. Sasaki, K., Yamane, T., Saitoh, Y., Ikawa, C. and Nishihata, T.: *Chem. Pharm. Bull.* **35**, 4597 (1987).
7. Sasaki, K., Saitoh, Y., Ikawa, C. and Nishihata, T.: *Chem. Pharm. Bull.* **37**, 155 (1989).
8. Bucher, T. and Redetzki, H.: *Klin. Wochenschr.* **29**, 615 (1951).
9. Lebsack, M.E., Petersen, D.R. and Collus, A.C.: *Biochem. Pharmacol.* **26**, 1151 (1976).
10. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.L.: *J. Biol. Chem.* **193**, 265 (1951).