

## 천연식물 추출물에 대한 니코틴의 분해효과

<sup>1</sup>박준상 · <sup>1</sup>김재수 · <sup>1</sup>박준홍 · <sup>1</sup>박세정 · <sup>1</sup>조한성 · †홍억기  
강원대학교 바이오산업공학부, <sup>1</sup>(주)내츄럴엔도텍  
(접수 : 2003. 5. 30., 게재승인 : 2003. 6. 27.)

## Effect of Herbal Extract on Nicotine Degradation

Joon-Sang Park<sup>1</sup>, Jae-Soo Kim<sup>1</sup>, Joon-Hong Park<sup>1</sup>, Sei-Jeong Park<sup>1</sup>, Han-Sung Cho<sup>1</sup>, and Eock-Kee Hong†  
School of Biotechnology and Bioengineering, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea  
<sup>1</sup>Naturalendo Tech Co., Ltd., Seoul, Korea  
(Received : 2003. 5. 30., Accepted : 2003. 6. 27.)

To develop a nicotine-degrading material (NDM), the natural herbal extract was studied. For the *in vitro* verification, the herbal extract was mixed into the dilute nicotine solution and the ability of NDM to degrade nicotine into cotinine was measured spectrophotometrically. In the *in vivo* study, the rats in experimental and control groups were orally fed with the herbal extract and water, respectively, for 2 weeks. And then, 3 mg/kg nicotine was administered to both groups by intraperitoneal injection. In results, the ability of NDM to degrade nicotine into cotinine was shown 2.5 fold higher after 90 min reaction in comparison with the control group. In addition, a decrease of 33% in nicotine concentration and a increase of 57% in cotinine concentration were shown in rat blood. Therefore, NDM was shown to be effective in the conversion of nicotine into cotinine.

**Key Words** : Nicotine-degrading material, herbal extract, nicotine, cotinine

### 서론

사회가 발전할수록 보건위생 부문에 대한 관심과 더불어 의료비용은 급속히 증가하고 있다. 특히 한국사회의 경우 전 문화, 고도화에 따른 독특한 역동성으로 인해 흡연의 증가는 날로 심해지고 있으며 간접흡연 또한 그 피해가 증가되고 있는 실정이다. 흡연의 증가는 난치성, 노인성 질환 등을 초래하며 공중위생차원에서 대처해야 하는 질환으로 뚜렷한 치료제의 개발이 불투명하므로 백신에 의해 예방하는 방법이 발병 후 치료하는 것보다 훨씬 효과도 크고 비용도 적게 든다. 흡연으로 인한 인체의 니코틴 흡수는 즉각적으로 치사에 도달하지는 않지만 직접 간접적으로 고통을 수반하는 많은 질환을 일으키므로 일상생활에 지장을 주며 일생동안 위험을 초래하고 있다. 특히 산모에 의한 흡연은 태아에게 여러 피해와 심각한 기형마저 초래한다.

담배에 존재하는 수천 개의 화학 물질 중, 니코틴(nicotine)은 가장 중요한 유해물질이다. 니코틴이 담배 중독

의 원인으로, 사람들로 하여금 장시간 다량의 흡연을 하게 하며, 이러한 동안 담배의 다른 물질들이 심장질환이나, 암과 그 외의 다른 질병들을 일으킨다. 흡연의 위험성은 잘 알려져 있는 바와 같이 폐암을 비롯한 각종 위장질환, 동맥경화증을 비롯한 각종 순환계 질환, 노화 촉진 등에 중요한 요소로 작용하고 있다. 흡연인구로 인하여 호흡기 질환 환자가 크게 늘고 있는 실정이며 사망자의 원인으로 볼 때, 호흡기 일반질환의 경우 3.9%, 폐암의 경우 2.9%의 증가율을 보이고 있다(1-5).

니코틴은 pKa 8.0인 약염기이고, 수용성이면서 지용성이다. 니코틴은 폐, 구강 및 비점막, 피부, 장 등 신체의 어느 곳을 통해서나 즉시 흡수된다. 담배 연기 속에는 micron보다 작은 크기의 타르 입자가 미세하게 존재한다. 니코틴은 pH에 따라 운반되는 정도가 달라지는데, 호흡기에서는 담배 흡연시 구강 내의 pH가 산성이므로 (pH 5.5), 대부분의 니코틴이 이온화되기 때문에 구강점막에서의 흡수는 거의 일어나지 않는다. 그러나, 폐에서는 폐포(alveolar)의 표면적이 크고, 혈류 공급이 많기 때문에 니코틴이 즉시 흡수된다. 씹는 담배, 코담배, 씹는 니코틴 껌은 염기성이므로, 점막을 통한 니코틴의 흡수가 활발히 일어난다(6).

담배 한 개비에는 10 mg 정도의 니코틴이 들어있는데, 이 중 흡수되는 니코틴 양은 1 mg 정도이나, 흡연 양상에 따라 3 mg을 넘을 수도 있다. 담배 흡연시 니코틴은 빠르게 동맥

† Corresponding Author : School of Biotechnology and Bioengineering, Kangwon National University, 192-1 Hyoja-2 dong, Chuncheon 200-701, Korea  
Tel : +82-33-250-6275, Fax : +82-33-243-6350  
E-mail : ekhong@kangwon.ac.kr

내 혈류를 통해 들어가서 뇌로 이동한다. 담배를 피우고 니코틴이 뇌에 도달하는데 걸리는 시간은 7초 정도이고 뇌 내의 니코틴 농도는 다른 체조직에 재분포하면서 빠르게 감소한다. 따라서 동맥 중 니코틴 농도는 정맥 내 농도보다 10배나 높을 수 있다.

니코틴의 90% 정도는 C-oxidation에 의해 코티닌 (cotinine)으로 대사되는데, cotinine은 19-24시간 정도의 긴 반감기를 가지고 있다. 따라서 cotinine은 담배 사용과 치료의 연구에 있어 니코틴 섭취의 표지인자로 사용할 수 있다. 니코틴은 일차적으로 간 대사에 의해 제거된다. 또 폐에서 소량이 대사되거나, 변하지 않은 채 신장에서 제거되기도 한다. 니코틴의 평균 반감기는 두 시간이지만, 경우에 따라서 1-4시간까지 변할 수 있다. 니코틴을 구강으로 섭취하면 간을 통해 1차 대사과정이 일어나기 때문에 체내 농도가 낮아진다. 니코틴의 작용 중에는 교감신경의 활성화, 지질 대사의 변화, 혈소판 응집, 과응고 등이 있으며, 이것들이 심혈관계 질환의 발병에 기여할 수 있다. 또 니코틴은 elastase를 많이 나오게 하고 폐포구조 (alveolar structure)를 파괴하여 폐기종의 발달에 기여한다(7, 8).

본 연구는 체내 니코틴 대사에 있어서 코티닌으로의 전이를 측정하기 위해, 국내 자생하는 식물의 추출물을 사용하였다. 지금까지 부분적으로 보고되고 있는 길경, 녹차, 황기, 오미자, 양파 등의 추출물이 발암물질인 니코틴을 인체에 무해한 코티닌으로의 전이를 가능케 하는지를 동물실험을 통해 증명해 보고자 한다.

## 재료 및 방법

### 천연식물 추출물의 제조

식품으로 가능한 식물 중 니코틴 분해효과를 가진 것으로 추정되는 녹차, 오미자, 길경, 황기, 양파 등으로부터 물을 이용하여 추출물을 얻었다. 즉, 대상 식물에 대하여 각각 건조중량 100 g을 증류수 700 mL에 침지하고, 녹차추출물은 80°C에서 48시간 가열하고, 나머지 추출물은 100°C에서 5시간 가열한 후 10  $\mu$ m 필터페이퍼로 여과하여 수용성 추출물을 수득하였다. 이후 7000 rpm에서 20분 동안 원심 분리하여 상등액을 분리한 후 10  $\mu$ m 필터페이퍼를 사용하여 여과하였다. 이렇게 제조된 추출물을 NDM (니코틴 분해물질, 제품명: 다끄너)라고 명명하였다.

### 니코틴 분해능 측정

제조한 니코틴 분해용 천연식물 추출물에 니코틴을 분해하는 물질이 있는지 분석하기 위하여 물과 니코틴 분해용 천연식물 추출물에 각각 니코틴을 직접 혼합하여 니코틴 분해기능을 측정하였다. 실험방법은 1.5 mL 마이크로튜브에 1 mM의 니코틴 (Sigma Chemical Co., USA) 200  $\mu$ L와 천연식물추출물 200  $\mu$ L를 잘 혼합한 후 0, 10, 20, 30, 60, 90분 경과 후 생성된 코티닌의 양을 측정하였으며, 반응온도는 25°C이었다. 코티닌 (Sigma Chemical Co., USA)의 변화량 측정은 Barlow 등(9)에 의해 개발된 방법을 변형하여 사용하였다.

1.5 mL 마이크로튜브에 1 mM 니코틴 200  $\mu$ L와 동량의 NDM을 혼합한 것을 실험군으로 하고, 1 mM 니코틴 200

$\mu$ L와 동량의 완충용액 또는 증류수를 혼합한 것을 대조군으로 하여 실험을 수행하였다. 이때 실험결과와 신뢰성을 얻기 위하여 한 샘플 당 3회 반복실험을 수행하였다. 측정 대상 시료에 4 M sodium acetate trihydrate 완충액 (pH 4.7) 100  $\mu$ L, 1.5 M KCN 40  $\mu$ L, 0.4 M chloramine-T 40  $\mu$ L, 50 부피%의 아세톤에 용해한 78 mM barbituric acid 200  $\mu$ L를 순서대로 넣고 10초 동안 잘 혼합하였고, 혼합물을 상온 (25°C)에서 15분간 반응시킨 다음 1 M sodium metabisulphite 40  $\mu$ L를 넣어 반응을 중지시켰다.

흡광도 측정은 UV/VIS spectrophotometer (Genova MK3, Jenway)를 이용하였으며, 490 nm에서 측정하여 변화량 분석을 수행하였다.

### 동물실험에 의한 니코틴과 코티닌 측정

일반적으로 약효/약리 평가시험에서 흔히 사용되는 sprague dawley계 특정병원균 부재 (SPF) 수컷 랫트를 (7)중앙실험동물에서 구입하였다. 6주령인 쥐 10마리를 입수하였으며, 입수시 체중은 278.20~315.40 g이었다. 5마리씩 두 그룹으로 나누어서 한 그룹에는 물을 투여하고, 다른 그룹에는 4.24 g/kg 양의 NDM을 구강 투여하였다. 2주 후 니코틴 3 mg/kg을 복강 투여한 다음 30, 60, 90분 간격으로 안와정맥을 통해 혈액을 채취하였다. GC 분석을 위해 샘플은 혈청 0.5 mL에 아세톤을 1 mL 첨가하여 10분간 혼합하고 혼합된 시료를 0.2  $\mu$ m filtering을 한 후 사용하였다. 분석은 표준시료를 주입한 후 peak에 대한 검량선의 기울기가 1이 되게 하고 검사시료를 주입하여 표준시료와 검사시료의 면적을 비교하여 농도를 비교 분석하였다. 이 때 캐리어 가스로는 질소가스를 사용했으며 nitrogen phosphorous detector (NPD, Hewlett Packard, USA)를 사용하였고 capillary column (HP5, Hewlett Packard, USA) 이용하여 혈중의 니코틴 및 코티닌의 농도를 측정하였다.

## 결과 및 고찰

생물체 내에서 니코틴의 대사를 연구하기 위하여 니코틴을 위시한 관련 대사산물의 양을 정확히 측정하는 것이 매우 중요하다. 이를 위하여 주로 니코틴, 코티닌, thiocyanate, carboxyhemoglobin 등을 측정하여 왔다. 이중 코티닌을 측정하는 것은 다음의 이유들에 의해 보다 정확한 것으로 알려져 있다. 니코틴은 반감기가 약 30분인 것에 비해 코티닌은 15시간 정도로 안정하여 니코틴의 무독화 생성물로서의 전이를 안정적으로 측정할 수 있어 오차를 대폭 줄일 수 있다. 반면에 thiocyanate는 음식물에 다양하게 존재하므로, 외부요인에 의하여 오차가 크고, carboxyhemoglobin 측정법은 일산화탄소에 의해 변동이 심한 단점이 있다. 본 실험에서는 니코틴의 코티닌으로의 전이도를 시험관 내에서 측정하기 위해 Barlow 등(9)에 의해 개발된 직접혼합법을 사용하여 실험을 수행하였다.

Fig. 1에서 보듯이 1 mM 니코틴 200  $\mu$ L와 천연식물로부터 추출해서 제조한 NDM을 동량 넣고 직접 혼합한 다음 생성되는 코티닌의 양을 측정하였다. 10, 20, 30, 60, 90분경과 후에 NDM이 들어있는 실험군과 물을 이용한 대조군의 흡광

도를 비교한 결과, 20분까지는 실험군과 대조군의 O.D.값 변화가 각각 +0.04와 +0.02 정도의 변화를 보이다가 90분경과 후에는 실험군의 O.D.값이 0.38 정도 증가를 보였다. 반면 대조군에서는 30분경과 후 O.D.값이 0.11 정도의 증가를 보이다가 그 이후에는 더 이상의 증가를 보이지 않았다. 즉 NDM이 들어있지 않은 대조군에서는 니코틴 분해가 거의 이루어지지 않은 것을 알 수 있었다. 이러한 의미는 코티닌의 흡광영역이 490 nm인 점을 감안할 때, 니코틴이 NDM에 의해 분해되어 코티닌으로 전환되는 변환율이 대조군에 비해 월등히 우수하다는 사실을 입증하는 것이고 이러한 결과는 코티닌의 생성이 NDM 존재 하에서 가속화되는 것을 보여주었다. 결국 이러한 결과는 니코틴의 코티닌으로의 전이에 천연식물추출물인 NDM이 효과적으로 작용하였다는 사실을 잠재적으로 보여주고 있는 것이다.

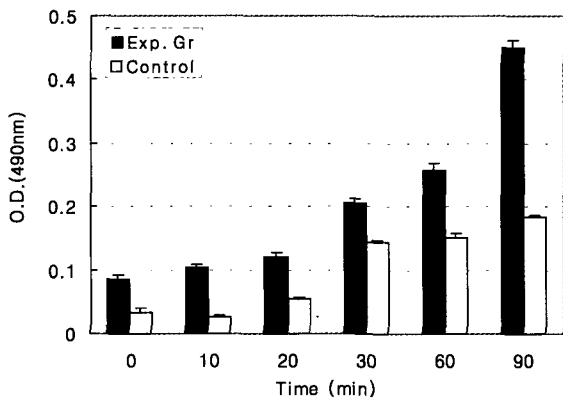


Figure 1. Effect of NDM on nicotine degradation into cotinine in experimental and control groups. Experimental and control groups indicate the mixtures of nicotine/NDM and nicotine/water, respectively.

이러한 효과를 보다 확실하게 알아보기 위해서 랫트를 이용한 동물실험을 수행하였다. 즉, 6주령의 랫트 10마리를 두 그룹으로 나누어서 각각의 그룹에 대해 2주간 천연식물추출물인 NDM과 물을 복용시킨 후, 니코틴을 복강 투여하여 혈액을 채취한 다음 각각의 그룹에 대해서 니코틴과 코티닌의 농도를 조사하였다. Fig. 2에서 보듯이, 물만 복용시킨 대조군의 경우에는 니코틴의 농도가 30, 60, 90분 각각의 시간대에서 거의 변화가 없는 반면, NDM을 복용시킨 실험군의 경우는 시간이 경과하면서 니코틴의 농도가 약 33% 정도 감소되었음을 확인 할 수 있었다. 이러한 결과는 직접혼합법에서 흡광도 비교분석 결과와 일치하는 내용으로서, NDM에 의해 니코틴이 빠르게 분해 되어 감소됨을 알 수 있었다. 동시에 동일 샘플에 대해서 니코틴이 코티닌으로 전환되었는지를 확인하기 위해 가스크로마토그래피를 이용하여 랫트 혈액 내의 코티닌을 측정하였다(Fig. 3). 이 결과 또한 물을 투여한 대조군의 경우 혈액 내에서 코티닌의 농도 변화가 없는 반면, NDM을 투여한 실험군의 경우 약 57% 이상의 코티닌 농도 증가를 보여주었다. 이러한 결과는 천연식물로부터 추출한 NDM이 생체 내에서 니코틴 분해를 촉진하면서 동시에 인체에 무해한 코티닌으로 전이를 촉진시키는 효과가 있음을 직접적으로 보여준다고 할 수 있다. 이러한 결과로 추측컨대

NDM의 구성성분 중에는 녹차 및 양파추출물이 있는데 이들은 플라바놀 (Flavanol) 및 플라보놀 (Flavonol)이라는 폴리페놀류의 성분을 함유하고 있는 것으로 알려져 있다. 이 성분들은 각각 카테킨 및 퀘르세틴 형태로 구성되어 있다. 이러한 성분들은 성분구조상 수산기 (-OH)를 여러 개 함유하고 있어 체내에서 발생하는 활성 라디칼에 수소 원자를 공여함으로써 라디칼 연쇄반응을 멈추게 하여 중금속이나 독성분, 니코틴 등의 흡착을 용이하게 하는데 이러한 일련의 작용들이 니코틴의 코티닌 전환에 관여하는 것으로 사료된다(10). 따라서 천연식물추출물인 NDM을 인체에 적용시킬 경우 NDM이 니코틴으로부터 인체에 무해한 코티닌으로의 전이를 촉진시킨다는 가능성을 제시할 수 있다. 본 연구는 흡연으로 인한 피해를 경감시키고 니코틴 제거기능에 대한 과학적인 근거를 제시함으로써 금연 보조제로서의 천연식물추출물을 이용한 기능성 식품 개발에 기여할 수 있을 것으로 사료된다.

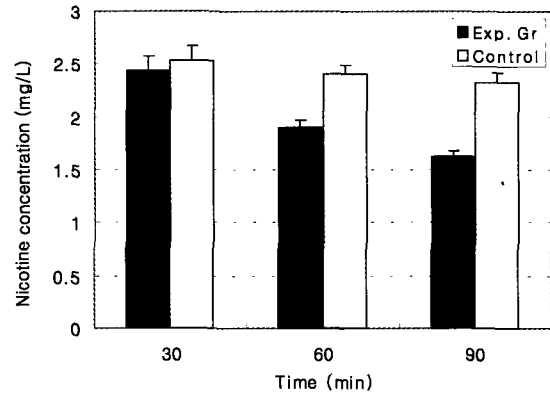


Figure 2. Comparison of nicotine concentration in rat blood. The experimental and control groups were orally fed with NDM and water, respectively, for 2 weeks, and then both groups were administered by intraperitoneal injection with 3 mg/kg nicotine.

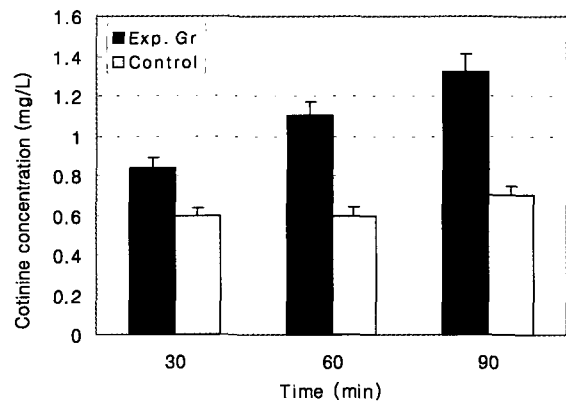


Figure 3. Comparison of cotinine concentration in rat blood. The experimental and control groups were orally fed with NDM and water, respectively, for 2 weeks, and then both groups were administered by intraperitoneal injection with 3 mg/kg nicotine.

## 요약

본 연구에서는 니코틴분해에 효과가 있는 천연식물 추출물질 (NDM)을 시험관에서 직접 혼합한 경우와 랫트를 이용한 동물 실험을 통해서 니코틴의 코티닌 전이를 조사해 보았다. 니코틴 분해제 (NDM)에 의한 니코틴의 코티닌으로의 분해를 시험관에서 확인한 결과 혼합 90분경과 후 대조군과 대비하여 약 2.5배의 분해능을 보였다. 랫트를 이용한 동물실험에서 NDM의 니코틴분해능 확인결과 혈중 니코틴 농도는 90분 경과후 대조군 대비 약 33%의 감소를 나타냈고, 코티닌의 혈중 농도는 약 57%의 증가를 나타내었다. 이러한 결과를 통해 NDM이 니코틴 분해에 우수한 효과가 있음을 확인하였다. 본 연구결과에서 알 수 있듯이 기존 알려진 여러 천연식물 추출물들은 니코틴의 대사경로 중 인체에 무해한 코티닌으로의 전이유도를 촉진하는 물질을 함유하고 있는 것으로 나타났다으며, 단일 추출물질이 아닌 복합추출물질로 구성되어 기존의 니코틴 분해제에 비해 탁월한 효과를 보여 주었다.

## REFERENCES

- Hoffmann, D., A. A. Melikian, and E. L. Wynder (1996), Scientific challenges in environmental carcinogenesis, *Prev. Med.* **25**, 14-22.
- Trushine, N. and S. S. Hecht (1998), Stereoselective metabolism of nicotine and tobacco-specific N-nitrosamines to 4-hydroxy-4-(3-pyridyl)butanoic acid in rats, *Chem. Res. Toxicol.* **12**, 164-171.
- Witschi, H., I. Espiritu, R. R. Maronpot, K. E. Pinkerton, and A. D. Jones (1997), The carcinogenic potential of the gas phase of environmental tobacco smoke, *Carcinogenesis* **18**, 2035-2042.
- Hecht, S. S. (1995), Tobacco smoke carcinogens and lung cancer, *Natl. Cancer Inst.* **91**, 1194-1210.
- Wynder, E. L. and J. E. Muscat (1995), The changing epidemiology of smoking and lung cancer histology, *Environ. Health Perspect.* **103**, Suppl. 8, 143-148.
- Haxby, D. G. (1995), Treatment of nicotine dependence, *Am. J. Health-System Pharmacy* **52**, 265-281.
- Benowitz, N. L. (1996), Pharmacology of nicotine; addiction and therapeutics, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **36**, 597-613.
- Benowitz, N. L. (1988), Drug therapy. Pharmacologic aspects of cigarette smoking and nicotine addition, *New Eng. J. Med.* **319**, 1318-1330.
- Barlow, R. D., R. B. Stone, N. J. Wald, and E. J. Puhakainen (1987), The direct barbituric acid assay for nicotine metabolites in urine: a simple colorimetric test for the routine assessment of smoking status and cigarette smoke intake, *Clin. Chim. Acta* **165**, 45-52.
- Yeo, S.-G., C.-W. Ahn, Y.-W. Lee, T.-G. Lee, Y.-H Park, and S.-B. Kim (1995), Antioxidative effect of tea extracts from green tea, oolong tea and black tea, *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **24**, 299-304.