

헛개나무 (*Hovenia dulcis* var. *koreana*) 과병 열수추출분획물의 간보호 및 혈중 알콜 저하 작용

나천수·정남철·양규환*·김세현**·정하숙***·동미숙****#

(주)생명의 나무, *한국생명공학연구원, **한국임업연구원, ***덕성여자대학교 자연과학대학,
****고려대학교 생명공학원

(Received December 22, 2003; Revised February 11, 2004)

Hepatoprotective and Blood Alcohol Lowering Effects of Fruit Peduncle Extract of *Hovenia dulcis* var. *Koreana* in the *In Vitro* and *In Vivo* Animal Models

Chun-Soo Na, Nam-Chul Chung, Kyu-Hwan Yang*, Sae-Hyun Kim**, Ha-Sook Chung*** and Mi-Sook Dong****#

Lifetree Biotech Co., Ltd, Kyonggido 441-350, Korea

*Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Taejeon 305-333, Korea

**Korea Forest Research Institute, Kyonggido 441-350, Korea

***College of Natural Sciences, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea

****School of Life Sciences and Biotechnology, Korea University, Seoul 136-701, Korea

Abstract — *Hovenia dulcis* which is distributed in Korea, China and Japan is known to show hepatoprotective effect and reduce the acute alcohol toxicity. In this study, the hepatoprotective effect against the chemically induced experimental liver injury models and lowering effect of blood alcohol level in animal models acutely administered alcohol by the peduncle extracts of *Hovenia dulcis* var. *koreana* were investigated. FdfHW-1, HdfM-1 and HdfB-1 which are the extracts of fruit peduncles and young branches with hot water or 70% methanol and followed with 100% methanol, were significantly reduced the CCl₄ or D-galactosamine/LPS induced damage in sliced liver. The hot water or methanol extracts of fruit peduncle protected dose-dependently against CCl₄ induced toxicity in primary hepatocyte culture and particularly, the amount of LDH release was reduced to the control level at 500 µg/ml of hot water extracts. HdfHW-1 also decreased the hepatotoxicity induced by CCl₄ in rats. The active components of HdfHW-1 seemed to be high molecular weights because 0.2 M NaCl HdfHW-1 fraction was the most effective among NaCl fractions of HdfHW-1 eluted with various concentrations of NaCl on DEAE 650C column chromatography. HdfM and HdfB were significantly reduced the levels of blood alcohol in rats and mice administered 40% alcohol. These results indicated that the hot water or methanol extracts of fruit peduncle of *Hovenia dulcis* var. *koreana* have hepatoprotective effect and may be reduce alcohol toxicity.

Keywords □ fruit peduncle of *Hovenia dulcis* var. *koreana*, hepatoprotective effect, blood alcohol lowering effect

헛개나무(*Hovenia dulcis* var. *koreana*)는 갈매나무과의 낙엽활엽교목으로 경기, 강원 이남의 표고 50~800 m에 분포하고 있으며 호개나무, 허리개나무, 지구(枳俱), 백석목(白石木), 목밀(木蜜), 현포리(玄圃梨) 등으로도 불린다.¹⁾ *Hovenia*속 식물은 일본, 중국에서도 동속의 *Hovenia dulcis*, *Hovenia tomentosa*가 자생하고 있으나 과병의 크기, 종자, 꽃의 색 등이 우리나라에 분포하는 것과 다르게 나타나 *Hovenia dulcis* var. *koreana*는 우리나라의 특산종으로 기록되고 있다.²⁾

*Hovenia*속 나무 열매는 본초학이나 식물도설에서 주독해독, 정혈, 이뇨, 갈증해소, 해독작용을 한다는 보고가 있다. 그리고 헛개나무의 잎, 줄기 및 열매로 만든 차가 주독(酒毒) 제거 및 간 기능 보호에 효능이 뛰어난 것으로 전해지고 있다.³⁾ Okuma 등⁴⁾은 중국산 헛개나무(*Hovenia dulcis* Thunb)의 물 추출물이 알콜을 투여한 쥐의 혈중 알콜농도를 저하시키는 효과가 있는 것을 보고하였으며, 정 등⁵⁾은 헛개나무(*Hovenia dulcis* Thunb) 잎과 과병의 화학성분 분석과 헛개나무 잎의 이화학적 특성에 대하여 보고하였다. 그러나 우리나라 특산종 헛개나무에 대한 생리활성이나 주성분에 대하여는 아직 연구 보고 되어 있지 않다.

본 연구에서는 우리나라 특산종 헛개나무(*Hovenia dulcis* var.

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-3290-4146 (팩스) 02-3290-3951
(E-mail) msdong@korea.ac.kr

koreana)의 간보호와 혈중 알콜농도 저하에 대한 생리활성 작용을 구명하여 새로운 천연 약용자원으로 개발하고자 하였다. 이를 위하여 헛개나무의 과병, 목부 및 어린가지를 열수나 메탄올로 추출하여 고분자 물질과 저분자 물질로 나누었으며, 간절편이나 일차배양 간세포에서 대표적인 간독성 유발물질로 알려진 CCl₄, LPS/D-galactosamine 및 bromobezene 등으로 유도한 간독성을 이들 헛개나무 분획물이 저해하는가를 관찰하였다. 아울러 흰쥐와 생쥐에서 헛개나무 추출 분획물들이 혈중 알콜농도를 저하에 미치는 영향을 관찰하였다.

재료 및 방법

실험 재료 및 시약

헛개나무 과병은 전남 장성 소재 입암산에 자생하는 30년산 헛개나무로부터 채취하여 음건하여 사용하였다. 각 분획의 추출용매는 특급시약을 사용하였으며, column chromatography에는 HPLC용 용매를 사용하였다. 흰쥐나 생쥐의 혈중 알콜농도는 alcohol 측정 kit(Sigma 사)를 사용하여 측정하였으며, 배양액 내의 lactate dehydrogenase(LDH) 활성도 측정은 Sigma kit 340-UV를 사용하였다.

헛개나무 각 부위별 추출

헛개나무 부위에 약리작용을 관찰하기 위하여 헛개나무 목부 메탄올 추출물(HdxM), 과병 열수추출물(HdffHW), 과병 메탄올 추출물(HdfM), 어린가지 메탄올 추출물(HdbrM), 어린가지 열수추출물(HdbrHW)은 각 부위별로 80% 메탄올을 추출이나 120°C에서 3시간 동안 고압열수추출을 실시하여 얻었다. 과병 열수추출물 및 각 추출물은 HPLC grade MeOH로 환류추출하여

MeOH 비가용분획(HdffHW-1, 추출분획물-1)과 가용분획(HdffHW-2, 추출분획물-2)을 얻었다(Scheme 1). 그 후 과병열수추출물의 고분자 분획인 HdffHW-1은 다당체 분자량에 따라 분리하기 위하여 증류수로 평형시킨 DEAE-Sepharose FF column(Cl⁻ form, 4.0×30 cm)에 흡착시킨 후 0, 0.1, 0.2, 0.3, 3 M NaCl 용액으로 단계적 용출시켜 투석, 농축 및 동결 건조하여 각 분획을 얻어 실험에 사용하였다.

실험동물

샘타코에서 분양받은 6주령 SPF Sprague Dawley계 수컷 흰쥐는 사료(Purina, Korea)와 물을 자유롭게 먹게 하여, 온도 21~24°C, 상대습도 50~70% 및 12시간마다 낮과 밤이 반복되도록 빛을 조절한 동물 사육실에서 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

Liver slice culture를 이용한 간독성 및 단백질 합성능 측정

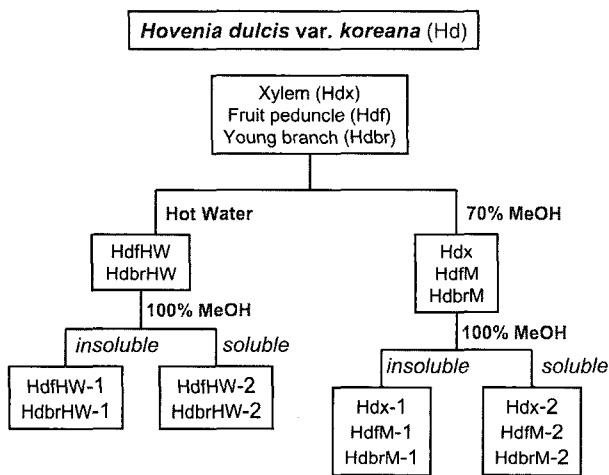
흰쥐로부터 간을 적출한 후 Brendel/Vitron tissue slicer를 사용하여 직경 0.8 mm, 두께 200 μm(18~22 mg wet weight)를 가진 disk 형태의 절편을 만들었다. 공기조건을 O₂/CO₂(95%/5%)를 유지시키면서 dynamic organ culture incubator를 사용하여 표면배양(surface culture)하였다. 여기에 각 부위별 헛개나무 추출물을 실험군으로, 증류수를 대조군으로 간 절편에 처리한 후 1시간 후에 4 mM CCl₄, 1 mM bromobenzene이나 D-galactosamine(500 μM)과 LPS(1 μg/ml) 등의 대표적인 간독성 물질을 처리하여 간손상을 유도하였다. 5시간 배양 후 Bonney와 Maley의 방법¹⁰⁾에 의해 단백질 합성능과 배양액 내의 LDH 활성도를 측정하여 헛개나무 과병 추출물에 대한 간독성 저해능력을 평가하였다.

간세포 배양

간세포 분리는 양 등⁶⁾의 방법에 따라 collagenase perfusion 방법을 사용하였으며, perfusion 용액으로 Hank's balanced salt solution을 사용하였다. 분리한 간세포는 hormonal AB medium에 현탁시켜 tryphan blue 염색으로 생존율을 검사하여 90% 이상인 경우만 사용하였다. 세포수를 1×10⁶/ml로 희석하여 배양한 후 세포가 완전히 단층로 형성된 24시간 후에 다양한 농도의 헛개나무 추출물(열수 추출물)을 실험군으로, 증류수를 대조군으로 처리한 후 2시간 후에 CCl₄, bromobenzene이나 D-galactosamine/LPS 등의 간손상 독성물질을 처리하여 간손상을 유도하였다. 24시간 배양 후 배양액 내의 LDH 활성도를 측정하여 간세포 손상 정도를 관찰하였다.

In vivo 간독성 보호효과

간독성을 유발시키기 위하여 LPS(30 μg/kg)와 D-galactosamine



Scheme 1 – Fractionation and nomenclature of *Hovenia dulcis* var. *koreana* used in this study. HD, *Hovenia dulcis*; f, fruit peduncle; x, xylem; br, young branch; HW, hot water extract; M, methanol extract.

(300 mg/kg)을 주사하기 직전에 섞어서 헛개나무 과병 열수추출액(2.5 g/10 ml/kg)을 경구투여하기 1시간 전과 후 및 동시에 총 3회 주사하였다. 헛개나무 과병 열수추출액 경구투여 4시간 경과 후 심장으로부터 혈액을 채취하였으며, 원심분리하여 혈청을 분리한 후 혈청 내의 glutamate-oxaloacetate transaminase(GOT) 및 glutamate-pyruvate transaminase(GPT) 활성도를 측정하였다. GOT 및 GPT는 기질액과 37°C에서 각각 1시간, 30분간 반응시켜서 pyruvate를 생성시킨 후 발색액을 넣고, 20분 후 0.4 N NaOH를 섞어서 발색이 되면 505 nm에서 흡광도를 측정하였다.

In vivo 혈중 알콜농도 저하효과

40%(v/v) 알콜을 흰쥐(10 ml/kg) 또는 생쥐(10ml/kg)에 경구투여하고 헛개나무 추출물(2.5 g/10 ml/kg)을 알콜 투여 1시간 후에 경구투여하였다. 알콜 투여 4시간 후 심장으로부터 혈액을 채취하여 혈중 알콜 농도를 측정하였다.

간 alcohol dehydrogenase 활성도 측정

헛개나무 추출액과 알콜을 먹인 흰쥐를 이산화탄소로 질식사시킨 후 간을 적출하였다. 적출한 간을 생리식염수로 잘 세척한 다음 무게를 재고, 약 10배의 0.154 M KCl을 함유한 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.4)에 넣고 teflon-glass homogenizer를 이용하여 균질화 시켰다. 균질화된 간을 4°C에서 9,000 × g 로 30분간 원심분리한 다음, 상층액을 취하여 다시 110,000 × g로 4°C에서 1시간 동안 초원심분리하여 상층액 cytosol 분획을 효소원으로 사용하였다. Alcohol dehydrogenase 활성도는 과량의 알콜의 존재하에서 NAD⁺가 NADH로 환원되는 속도를 일정시간 동안 340 nm에서 흡광도의 변화를 기록하여 측정하였으며, 반응 혼합액은 55 mM sodium pyrophosphate buffer(pH 7.4), 20 mM ethanol, 0.2 mM NAD⁺로 구성되어 약 2~3 mg의 cytosolic protein을 가하였다. NAD⁺의 농도는 실험에 따라서 0.025 mM~2 mM의 범위에서 사용하였다.

통계학적 처리

본 실험에서 얻은 측정치의 통계학적 분석은 unpaired student's t-test를 사용하였으며, p<0.05 또는 p<0.01 수준에서 유의성을 검정하였다.

결 과

헛개나무 추출물이 간독성 물질 CCl₄나 D-galactosamine과 LPS에 의해 유도된 간독성에 대한 보호작용

헛개나무 각 부위별 간보호작용을 관찰하기 위하여 각 부위별 추출물들이 간절편 조직에서 4 mM CCl₄나 5 mM D-galactosamine/LPS에 의해 유도된 간독성을 해소하는 가를 관찰하였다.

헛개나무 각 부위별 분획의 CCl₄나 D-galactosamine/LPS에 의하여 유도된 간세포 독성 해소작용을 관찰하였을 때 과병열수-메탄올 비가용분획(HdffHW-1), 과병 메탄올-메탄올 비가용분획(HdfM-1), 어린가지 메탄올-메탄올 비가용 분획(HdbrM-1)이 우수한 효과를 나타냈으며, 다른 분획들은 간 회복 시 나타나는 단백질 합성에 효과를 나타내지 않았다(Fig. 1). 특히 목부 70% 메탄올 추출분획 중 메탄올 불용성분획(HDx-1)이나 메탄올 용해 분획(HDx-2)은 단백질 합성 능력이 전혀 나타나지 않아 헛개나무 목부 메탄올 추출물은 간독성 보호작용이 없을 것으로 사료되었다.

일차배양 간세포에서 헛개나무 과병 추출물의 CCl₄에 의해 유도된 간독성에 대한 보호작용

헛개나무 과병은 Fig. 1에서와 같이 과병열수-메탄올 비가용분획(HdffHW-1), 과병 메탄올-메탄올 비가용분획(HdfM-1)이 간독성 물질에 대한 간보호작용이 뛰어난 것으로 나타났다. 이들의 효과를 농도별로 관찰하기 위하여 HdffHW-1나 HdfM-1을 농도별로 일차배양 간세포에 투여하였을 때 투여농도가 증가할수록

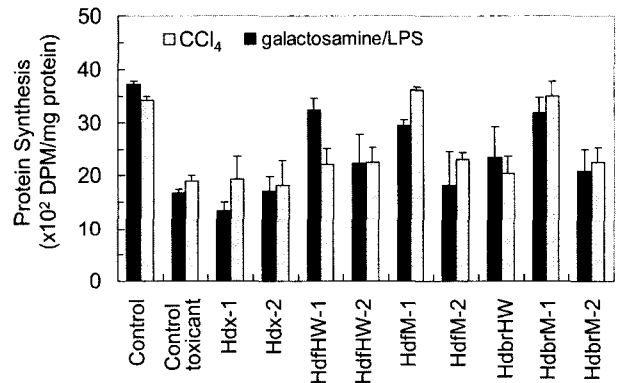


Fig. 1 – *In vitro* effect of tree part fractions of *Hovenia dulcis* var. *koreana* on the activity of protein synthesis in CCl₄ or D-galactosamine/LPS induced liver slice culture. Data represent mean ± S.D. (n=3). Hdx-1, 70% methanol soluble-100% methanol insoluble fraction of xylem of *Hovenia dulcis* var. *koreana*; Hdx-2, 70% methanol soluble-100% methanol soluble fraction of xylem of *Hovenia dulcis* var. *koreana*; HdffHW-1, Hot water soluble-100% methanol insoluble fraction of fruit peduncle of *Hovenia dulcis* var. *koreana*; HdffHW-2, Hot water soluble-100% methanol soluble fraction of fruit peduncle of *Hovenia dulcis* var. *koreana*; HdfM-1, 70% methanol soluble-100% methanol insoluble fraction of fruit peduncle of *Hovenia dulcis* var. *koreana*; HdfM-2, 70% methanol soluble-100% methanol soluble fraction of fruit peduncle of *Hovenia dulcis* var. *koreana*; HdbrHW, Hot water soluble fraction of young branch of *Hovenia dulcis* var. *koreana*; HdbrM-1, 70% methanol soluble-100% methanol insoluble fraction of young branch of *Hovenia dulcis* var. *koreana*; HdbrM-2, 70% methanol soluble-100% methanol soluble fraction of young branch of *Hovenia dulcis* var. *koreana*.

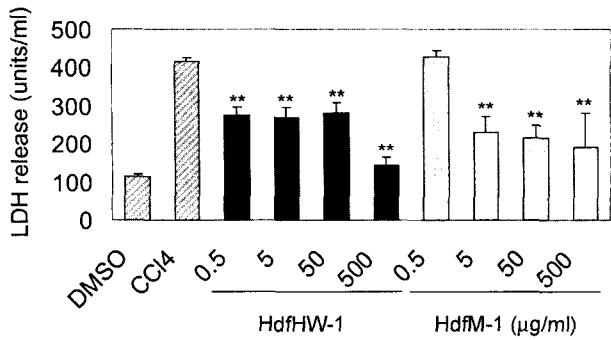


Fig. 2 - Hepatoprotective effects of fruit peduncle hot water soluble-methanol insoluble fraction (HdfHW-1) and methanol soluble-methanol insoluble fraction (HdfM-1) of *Hovenia dulcis* var. *koreana* on CCl₄-induced LDH release in primary rat hepatocyte culture. Data represent mean ± S.D. (n=3). ** significantly different from the CCl₄ group (P < 0.01).

간독성 발생시 간세포에서 방출하는 LDH가 감소되었다. 특히 과병열수-메탄올 비가용분획(HdfHW-1)은 고농도를 투여할 때는 사염화탄소를 전혀 처리하지 않은 대조군 수준까지 감소시키는 것으로 나타났다(Fig. 2).

In vivo LPS/D-galactosamine 간독성 모델에서 헛개나무 열수추출물의 간독성 보호작용

헛개과병 열수추출-메탄올 비가용 분획물이 *in vivo*에서 독성 물질로 유도한 간독성을 저해하는 가를 관찰하기 위하여 LPS/D-galactosamine을 처리하여 간독성을 유발시킨 흰쥐에 헛개과병 열수추출-메탄올 비가용 분획물을 2.5 g/kg을 투여한 후 혈중 GOT와 GPT 값을 비교하였다. 헛개과병 열수추출-메탄올 비가용 분획물을 투여한 군이 LPS/D-galactosamine 만을 투여한 대

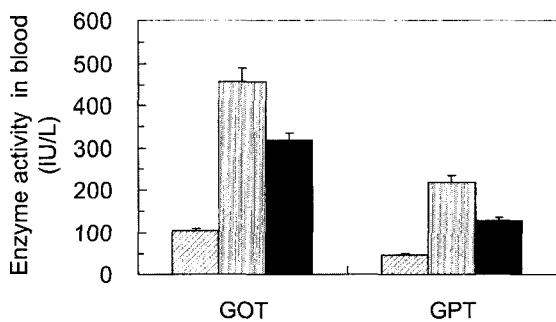


Fig. 3 - Effect of fruit peduncle hot water soluble-methanol insoluble fraction (HdfHW-1) of *Hovenia dulcis* var. *koreana* on LPS/D-galactosamine-induced hepatotoxicity in rats. After pretreatment of HdfHW-1 fractions (2.5 g/kg) for 7 days, rats were administrated D-galactosamine (300 mg/kg) and LPS (30 mg/ml) by i.p. injection. Bars, ▨, ▩ and ■, represent control, LPS/D-galactosamine, D-galactosamine/LPS+HdfHW-1 groups, respectively. Data represent mean ± S.D. (n=6).

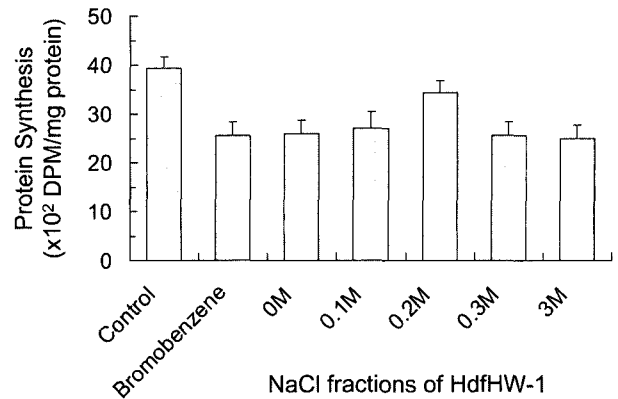


Fig. 4 - Effects of fruit peduncle hot water soluble-methanol insoluble fraction (HdfHW-1) of *Hovenia dulcis* var. *koreana* on bromobenzene-induced liver slice culture. HdfHW-1 constituted high molecular weights was fractionized in molecular weight by eluting with 0~3 M NaCl on DEAE 650C column chromatography. 1 mM of bromobenzene with or without 200 mg/ml HdfHW-1 NaCl fraction was treated liver slice described in materials and methods. Data represent mean ± S.D. (n=3).

조군보다 GOT와 GPT 값 모두가 낮아진 것으로 보아 헛개나무가 *in vivo*에서도 LPS/D-galactosamine에 의한 간독성으로부터 간을 보호하는 것을 알 수 있었다(Fig. 3).

활성분획 HdfHW-1의 물질 분리 및 간보호작용

헛개과병의 열수추출물을 다시 methanol로 환류추출한 불용성 부분인 HdfHW-1은 고분자 다당류 물질로 구성된 것으로 사료되어 DEAE-Sephrose FF column에 의해 분자량에 따라 다시 분획을 나누어 각 분획의 간독성 해소 활성을 평가하였다. 0, 0.1, 0.2, 0.3, 3 M NaCl로 용출시킨 HdfHW-1의 각 분획을 bromobenzene로 손상된 흰쥐 간세포의 단백질 합성능력을 평가한 결과 Fig. 4과 같이 0.2 M 분획의 물질이 bromobenzene에 의해 저하된 단백질 합성을 회복시키는 것으로 사료되었다.

헛개나무 추출물이 알콜 대사에 미치는 영향

헛개나무의 수피, 복부, 과병 추출물이 혈중 알콜 농도에 미치는 영향을 구명하기 위하여 흰쥐에 40% 알콜 투여하고 1시간 후에 이들 분획들을 투여하였다. 알콜 투여 4시간 후의 혈중 알콜 농도를 측정된 결과, 이들 분획들을 투여한 흰쥐에서 혈중 알콜 농도가 모두 유의적으로 떨어졌다(Fig. 5). 특히 과병의 열수추출물과 메탄올 추출물이 생쥐와 흰쥐의 혈중알콜농도 저하에 미치는 효능을 평가하였을 때 두 추출 분획물 모두 유의적으로 혈중 알콜 농도를 저하시키는 것으로 나타났다(Fig. 6).

헛개나무의 숙취해소 효과에 대한 작용기작을 규명하고자 흰쥐에 40% 알콜 투여하고, 1시간 후에 과병추출물을 투여하였으며, 알콜을 투여한 지 4시간이 경과되었을 때 혈중 알콜 농도를

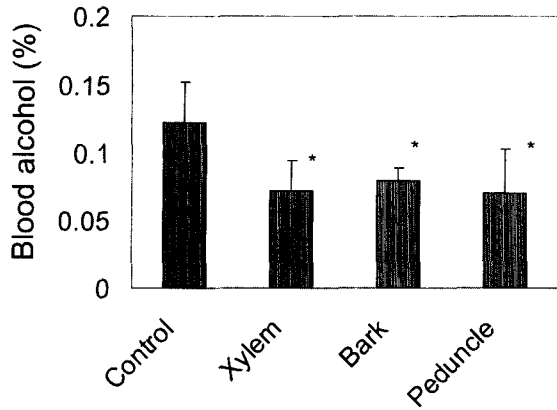


Fig. 5 – The effect of bark, xylem and fruit peduncle hot water extracts of *Hovenia dulcis* var. *koreana* on the blood ethanol concentration in rats. Data represent mean \pm S.D. (n=6). *significantly different from the control group (P<0.05).

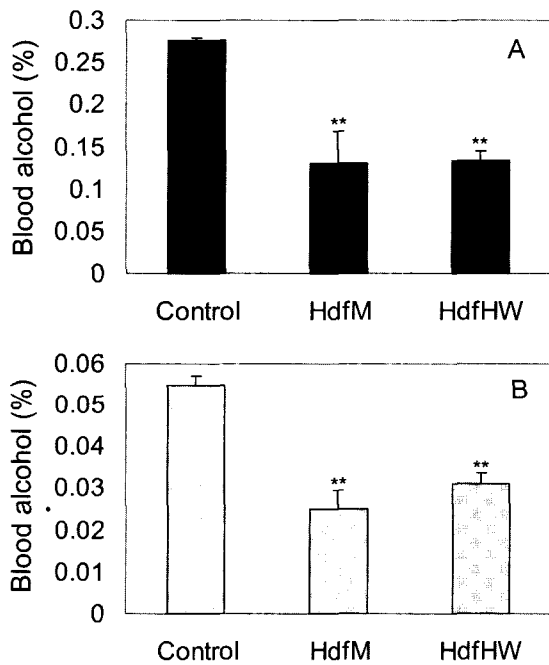


Fig. 6 – The effect of fruit peduncle methanol (HdfM) and hot water (HdfHW) extracts of *Hovenia dulcis* var. *koreana* on the blood ethanol concentration in (A) mouse and (B) rats. 40% alcohol with HdfHW (2.5 g/10 ml/kg) or HdfM (2.5 g/10 ml/kg) was administered into rat and mouse describe in materials and methods. Data represent mean \pm S.D. (n=6). **significantly different from the control group (P<0.01).

측정하였으며, 간을 적출하여 간 세포질 내의 alcohol dehydrogenase 효소활성을 측정하였다(Fig 7). 그 결과 혈중 알콜 농도는 유의적으로 감소하였으나(Fig 7A), 간의 alcohol dehydrogenase 효소 자체 활성에는 영향이 없었다(Fig. 7B). 그리고 헛개나무 자체에 알콜을 분해하는 작용이 있는가를 관찰하기 위하여 헛개나무 과병추출물을 0.3% 알콜과 함께 상온에서 4시간 두었을 때

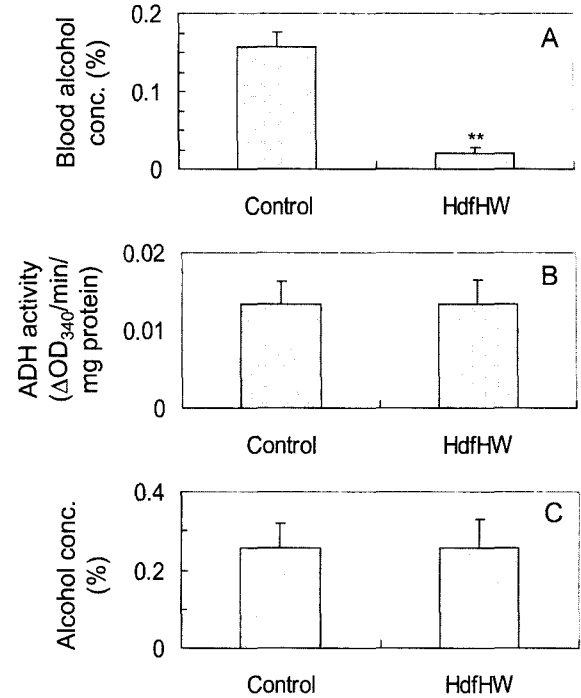


Fig. 7 – Effect of fruit peduncle hot water extracts of *Hovenia dulcis* var. *koreana* (HdfHW) on (A) the blood ethanol concentration and (B) alcohol dehydrogenase activity in rats and on (C) *in vitro* alcohol degradation. Data represent mean \pm S.D. (n=6). **significantly different from the control group (P<0.01).

알콜농도에 변화가 없어 헛개나무 과병추출물 자체는 알콜 분해 능이나 흡수능이 없음을 확인하였다(Fig. 7C).

고 찰

*Hovenia*속 나무 열매와 가지는 주독해독, 정혈, 이뇨, 갈증해소, 해독작용을 한다고 민방에서 사용되고 있다. 본 논문에서는 한국특산 헛개나무 *Hovenia dulcis* var. *koreana*의 간독성작용과 혈중 알콜농도를 저하시키는 작용과 작용물질에 대하여 보고하였다. 일본이나 중국의 헛개나무 다른 종들 특히 *Hovenia dulcis* Thunb에서 알콜농도 저하작용이나 간보호작용에 대한 논문들은 여러 연구자들에 의하여 보고된 바 있다. Hase 등⁷⁾은 *Hovenia dulcis* Thunb의 열매가 CCl₄ 또는 D-galactosamine/LPS로 유도된 간손상 동물모델에서 간독성을 저해한다고 하였다. 그리고 간독성을 저해하는 주 물질로서 헛개나무 열매의 methanol 추출물로부터 (+)-ampelopsin을 분리하였다. Yoshikawa 등⁸⁾은 *Hovenia dulcis* Thunb의 열매와 씨로부터 hovenitins I, II와 III, (+)-ampelopsin, laricetrin, myricetrin과 (+)-gallocatechin을 분리하였다. 그리고 그 중에서 hovenitin I과 (+)-ampelopsin이 랫트에서 알콜 유도된 근육이완작용을 저해한다고 하였으며,

hovenitin I은 생쥐에서 D-galactosamine/LPS 또는 사염화탄소로 유도된 간손상에 대해 보호작용을 한다고 보고하였다. 이러한 결과는 본 연구의 결과 한국특산 헛개나무의 열매의 열수 추출물이나 메탄을 추출물이 가장 뛰어난 간독성 보호작용을 나타내는 것(Fig. 1, 2, 3)과 일치하였다. 즉 열수 추출물 중의 메탄을 용해분획(HdfHW-2)과 메탄을 추출물 중 메탄을 용해분획(HdfM-2)등에는 상기 연구자들이 보고한 물질들이 주 성분으로 이들이 간독성 보호작용을 할 것으로 사료되었다. 그러나 본 연구의 결과는 상기의 다른 연구자들에 의한 간독성 보호작용을 나타내는 분획과는 달리, 열수추출물 중에서도 메탄을 불용성 분획인 고분자층에서 좋은 간보호작용을 나타내었으며(Fig. 1), 이러한 고분자물질 분획을 좀 더 세분하였을 때 0.2 M 분획물에서 가장 좋은 간보호 효능을 나타내었다(Fig. 3). 이러한 간손상에 활성분획인 NaCl 0.2 M 용출분획을 분석하였을 때 본 연구에서는 결과를 제시하지 않았으나, 이 분획은 비교적 순수한 화합물이며 rhamnose를 주성분으로 한 mannose, glucose, galactose, arabinose로 구성된 분자량이 114,500으로 다당류일 것으로 사료되었다(현재 논문작성 중). 특히 헛개나무 과병 추출물은 CCl₄로 유도된 간독성, LPS/D-galactosamine으로 유도된 간독성으로부터 *in vitro* 및 *in vivo* 실험에서 모두 보호작용을 나타내었다. 두가지 독성 물질에 의한 간독성 유발 기전은 다른 것으로 알려져 있다. 즉, CCl₄의 간독성 유발은 주로 free radical에 의하여 유발되는 것이고 LPS/D-galactosamine은 주로 RNA와 단백질 합성의 저해 및 탄수화물 대사에 이상을 초래하여 나타나는 것으로 보고되어 있다.⁹⁾ 따라서 헛개나무 과병 추출물은 항산화작용에 의해서만 간독성 보호작용을 나타내는 것이 아니라 다른 기전에 의해서도 나타남을 알 수 있었으며, 이에 대한 연구가 더 필요하다.

Okuma 등⁴⁾은 *Hovenia dulcis Thunb*의 물 추출물이 알콜을 투여한 흰쥐의 혈중 알콜농도를 저하시키는 효과가 있는 것을 보고하였으며, Ji 등¹⁰⁾은 *Hovenia dulcis Thunb*의 열매가 급성 알콜 독성을 유발시킨 생쥐에서 혈중 알콜 농도가 감소하였고, 급성알콜독성으로 인한 수면시간을 유의적으로 단축시킴을 보고하였다. 이러한 *Hovenia dulcis Thunb*가 혈중 알콜 농도를 저하시키는 효과는 한국특산 헛개나무를 사용한 본 연구의 연구결과와 일치하였다. 한국특산 헛개나무 여러 부위의 추출물 즉, 수피, 목부, 과병의 열수 추출물을 알콜을 미리 투여한 흰쥐나 생쥐에 경구투여 하였을 때 모든 부위의 추출물에 의하여 혈중 알콜농도가 유의적으로 감소되었다. 특히 헛개나무 혈중 알콜을 저하시키는 분획은 간독성 물질로 유도된 간손상 모델에서 간보호작용을 나타내지 않았던 수피나 목부 추출물에서도 효능을 나타내었다(Fig. 5). 이러한 결과로부터 혈중 알콜 농도를 감소시키는 물질과 간손상을 보호하는 물질들 중 일부는 다를 것이라고 사료되었다. 혈중 알콜 농도를 감소시키는 작용 기전을 관찰하기 위

한 시험에서 흰쥐의 혈중 농도를 크게 저하시켰으나, 헛개나무 열매 열수추출물 그 자체는 알콜 분해능이나 흡수능을 나타내지 않았으며, 간의 alcohol dehydrogenase를 induction 시키지도 않았다. 그리고 헛개나무 목부의 열수추출물을 먹인 후 시간별 혈중 알콜농도를 측정하였을 때 알콜 투여 1시간 후부터 알콜 농도가 유의적으로 떨어졌으며, 그 후에도 지속적으로 대조군에 비하여 훨씬 낮은 농도를 나타내었다(data not shown). 이러한 결과는 헛개나무의 목부열수추출물이 위장관으로부터 알콜이 체내로 흡수되는 것을 차단할 수 있을 것으로 예상되었다. 따라서 헛개나무의 숙취해소 효과는 위장관에서 알콜의 흡수를 차단하거나 또는 호흡 또는 신장으로의 배출을 촉진시키거나 그 자체가 alcohol dehydrogenase를 활성화시켜 알콜 대사를 촉진시킬 수 있는 등 여러 가능성이 있어 기전을 연구하기 위하여 다양한 실험이 필요할 것으로 사료되었다.

결 론

헛개나무 과병의 열수추출물에 대한 간독성 해소작용에 관한 *in vitro*, *in vivo* 실험결과 HdfFW-1이 우수하게 나타났으며 투여 농도가 증가할수록 그 효과가 높아졌다. CCl₄와 bromobenzene에 의해 손상된 간조직의 회복과 혈중알콜농도 저하에 대한 효능에서도 HdfHW 분획물에서 효과가 가장 좋게 나타났다. HdfHW-1의 분획 중 NaCl 0.2 M 분획물에서 단백질 합성능력이 우수한 것으로 보아 간독성 보호작용의 주 활성물질은 고분자 다당류일 것으로 추측되었다.

문 헌

- 1) 이영노 : 원색한국식물도감, 교학사 p. 476 (1997).
- 2) 김태정 : 한국의 자원식물 III, 서울대학교출판부 p. 72 (1996).
- 3) 김창민, 신민교, 안덕균, 이경준 : 중약대사전, 청담 p. 5078 (1998).
- 4) Okuma, Y., Ishikawa, H., Ito, Y., Hayashi, Y., Endo, A. and Watanabe, T. : Effect of extracts from *Hovenia dulcis Thunb* on alcohol concentration in rat and men administered alcohol. 日本營養食糧學會誌 48, 167 (1995).
- 5) Jeong, C. H., Bae, Y. I. and Shim, K. H. : Physicochemical properties of *Hovenia dulcis Thunb*. Leaf tea. Korean J. Postharvest Sci. Thchnol. 7, 117 (2000).
- 6) Yang, K. H., Choi, E. J. and Choe, S. Y. : Cytotoxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in primary cultures of adult rat hepatocytes. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 12, 183 (1983).
- 7) Hase, K., Ohsugi, M., Xion, Q., Basnet, P., Kadota, S. and Namba, T. : Hepatoprotective effect of *Hovenia dulcis THUNB*. on experimental liver injuries induced by carbon tetrachloride or D-galactosamine/lipopolysaccharide. Biol. Pharm. Bull. 20,

- 381 (1997).
- 8) Yoshikawa, M., Murakami, T., Ueda, T., Yoshizumi, S., Ninomiya, K., Murakami, N., Matsuda, H., Saito, M., Fujii, W., Tanaka, T. and Yamahara, J. : Bioactive constituents of Chinese natural medicines. III. Absolute stereostructures of new dihydroflavonols, hovenitins I, II, and III, isolated from *Hoveniae semen* seu fructus, the seed and fruit of *Hovenia dulcis* THUNB. (Rhamnaceae): inhibitory effect on alcohol-induced muscular relaxation and hepatoprotective activity. *Yakugaku Zasshi*. **117**, 108 (1997).
- 9) Zimmerman, H. J. : Hepatotoxicity; The adverse effects of drugs and other chemicals on the liver, 2nd Ed. Lippincott Williams & Wilkins, philadelphia, p. 111 (1999).
- 10) Ji, Y., Li, J. and Yang, P. : Effects of fruits of *Hovenia dulcis* Thunb on acute alcohol toxicity in mice. *Zhong Yao Cai*. **24**, 126 (2001).