

# 옻나무 (*Rhus verniciflua* Stokes) 추출물의 알코올대사 효소활성에 미치는 영향

유귀재<sup>1</sup> · 김소영<sup>1</sup> · 최아름<sup>1</sup> · 손민희<sup>1</sup> · 김동청<sup>2</sup> · 채희정<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>호서대학교 식품생물공학과 및 식품기능안전연구센터, <sup>2</sup>성균관대학교 기초과학연구소

## Effect of *Rhus verniciflua* Stokes Extract on the Alcohol-Metabolizing Enzyme Activities

Guijiae Yoo<sup>1</sup>, Soyoung Kim<sup>1</sup>, A Reum Choi<sup>1</sup>, Min Hee Son<sup>1</sup>, Dong Chung Kim<sup>2</sup>, and Hee Jeong Chae<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Food and Biotechnology, and Center for Food Function and Safety, Hoseo University, Asan 336-795, Korea.

<sup>2</sup>Institute of Basic Science, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, Korea.

**Abstract** Alcohol oxidation activities and optimization of extraction conditions of *Rhus verniciflua* Stokes (RVS) extract were evaluated for the development of a functional biomaterial for improving liver function. When alcohol oxidation activities of RVS was analyzed, the *Rhus verniciflua* Stokes bark (RVSB) were higher than the *Rhus verniciflua* Stokes heartwood (RVSH). Alcohol oxidation activity value of RVSB increased in a concentration-dependent manner. In the comparative analysis between *Hovenia dulcis* Thunb (HDT) and *Alnus japonica* Steud (AJS) which was reported as a alcohol oxidation material, alcohol oxidation activity is much higher than the others. The experimental conditions were optimized for alcohol oxidation-active components production from RVSB. The extraction conditions such as temperature, time, pH and particle size were performed. It was recommended to extract the alcohol oxidation-active components from RVSB by hot water (pH 7.0) at 85°C for 8 hours.

**Keywords:** ADH, ALDH, Alcohol oxidation, *Rhus verniciflua* Stokes

### 서 론

우리나라 음주 문화의 특성으로 나타나는 과음과 빈번한 음주로 인해 많은 사람들이 숙취를 제거할 수 있는 약물 또는 음료에 관심을 갖고 있다(1). 알코올은 그 자체로도 독성을 나타낼 수 있을 뿐만 아니라 체내에서 대사과정 중 인체에 해로운 물질로 전환된다(2). 이는 뇌와 간을 포함한 소화기관에 가장 유해한 물질로 전환되어 신체적, 정신적으로 인체에 미치는 영향이 매우 다양하고 광범위하여 그 대사과정과 독성발현에 대한 연구가 오래 전부터 진행되어 왔다(3). 알코올은 섭취량에 따라 간 대사에 여러 영향을 미치는 것으로 알려져 있는데 알코올 그

자체보다는 산화과정에서 생성된 acetaldehyde와 NADH가 간세포에 손상을 가져오게 된다. 체내에 과량의 알코올이 섭취된 경우 알코올의 분해산물로 생성된 acetaldehyde는 뇌로 전해져 많은 유해화합물로 바뀌어 맥박의 증가나 발한, 홍조, 오심, 구토 등의 증상을 초래할 수 있다(4-5). 숙취는 알코올 섭취 후 두통이나 속쓰림 등으로 나타나고, 이를 감소시킬 수 있는 약물을 찾는 연구(6-10)가 많이 이루어지고 있으나 현저한 효과를 나타내는 약제는 발견되지 않고 있다. 이에 편승해 민간요법이나 구전에 의해 전래되어온 옻나무의 알코올 분해 효과에 대한 여러 주장들이 나오고 있으나 이들에 대한 학술적인 결과들이 전무한 실정이다.

옻나무 (*Rhus verniciflua* Stokes)는 옻나무과 (anacardiaceae)에 속하는 자웅이성의 낙엽교목이다. 옻나무과는 세계적으로 분포하고 있으며, 5 아과에 77개의 속으로 나누어진다.<sup>11)</sup> 옻나무속에는 약 200여종이 존재하고 있으며 이들 대부분이 온대지방에 분포하고 일부는 아열대와 열대

### \*Corresponding author

Tel: +82-41-540-5642, Fax: +82-41-540-5640

e-mail: hjchac@hoseo.edu

지방에서도 서식한다. 국내에 서식하는 옷나무속 식물로는 옷나무 (*Rhus verniciflua*), 개옷나무 (*Rhus trichocarpa*), 붉나무 (*Rhus chinensis*), 검양옷나무 (*Rhus succedanea*), 산검양옷나무 (*Rhus sylvestris*) 등이 있다(12). 이 옷나무 수액을 옷 또는 건칠이라 하여 한방에서는 구충, 복통, 통경, 변비 등의 약재로 사용되며, 그 외에도 도료 및 공업용으로 사용된다(13).

현재까지 옷나무의 효능을 과학적으로 검증한 연구는 Cho 등(14)과 Kim 등(15)이 항암활성을 보고하였으며 항균활성(10), 항산화활성(16-21) 및 비만억제(22) 등에 대해 보고된 바 있으나 옷나무의 알코올대사 효소계에 미치는 영향에 대한 연구는 거의 보고된 바가 없다.

따라서 본 연구에서는 옷나무를 숙취해소 및 간 기능 개선용 기능성 소재로 개발하기 위해 수피부와 심재부 각각의 알코올 분해활성과 추출용매별 알코올 분해활성을 확인하였으며, 기존의 숙취해소성이 뛰어난 것으로 보고된 헛개나무 열매와 오리나무 추출물을 비교 하였다. 또한 옷나무에서 숙취해소물질의 추출조건을 최적화하기 위해 온도, 시간, pH 및 원료 입도에 따른 알코올 분해활성을 확인하였다.

## 재료 및 방법

### 원료 및 시약

본 실험에서 사용한 옷나무 (*Rhus verniciflua* Stokes)는 2007년 8월에 광주 인근 야산에서 채집하였으며, 비교실험에 사용한 헛개나무 (*Hovenia dulcis* Thunb, HDT)와 오리나무 (*Alnus japonica* Steud, AJS)는 충청남도 공주시에서 2007년 9월에 채집하였다. 알코올 분해활성 측정을 위해 yeast alcohol dehydrogenase (ADH), yeast aldehyde dehydrogenase (ALDH)와 bovine serum albumin은 Sigma사 (MO, USA)로부터 구입하여 사용하였고,  $\beta$ -nicotinamide adenine dinucleotide ( $\beta$ -NAD)는 Janssen Chemical사 (Tokyo, Japan)에서 구입하였다. 그 외 분석시약은 1급 이상의 시약을 사용하였다.

### 옷나무 추출물 조제

옷나무의 수피부와 목질부를 분리하여 건조 시킨 뒤 각각을 분쇄 (1 mm)하여 시료 중량에 대해 10배의 증류수로 10 hr 동안 100°C에서 수욕조 (Jeio Tech, Korea)를 사용하여 열수 추출하였다. 추출물은 0.22  $\mu$ m membrane filter (Whatman, England)로 이물질과 균을 제거하여 사용하였다.

### 효소액의 조제

알코올 분해 효소 (alcohol dehydrogenase, ADH)의 활성

측정을 위한 효소액은 0.1% bovine serum albumin을 포함한 0.01 M sodium phosphate buffer (pH 7.5)에 yeast alcohol dehydrogenase을 5 unit/mL의 농도로 조제하여 사용하였으며, 알데히드 분해 효소 (aldehyde dehydrogenase, ALDH)의 활성측정을 위한 효소액은 0.2% bovine serum albumin을 포함한 0.1 M Tris/HCl buffer (pH 8.0)에 yeast aldehyde dehydrogenase을 14 unit/mL의 농도로 조제하여 사용하였다.

### 알코올 분해 효소 (alcohol dehydrogenase, ADH)의 활성 측정

ADH의 활성 측정은 Racker의 방법(23)을 변형하여 측정하였으며, NADH의 생성속도를 지표로 사용하였다. 반응액의 조성은 증류수 1.4 mL, 1.0 M tris-HCl buffer (pH 8.8) 0.75 mL, 20 mM NAD<sup>+</sup> 0.3 mL, ethanol 0.3 mL, 추출물 0.1 mL의 혼합액과 효소원 0.15 mL를 cuvette에 넣어 총 3 mL이 되도록 조절하여 30°C에서 5분간 preincubation한 후, 340 nm에서의 흡광도의 변화를 측정하였다. 이때 시료를 첨가하지 않은 것을 대조군으로 하였으며, 시료의 ADH 활성은 대조군에 대한 상대활성 (%)으로 측정하였다.

### 알데히드 분해 효소 (aldehyde dehydrogenase, ALDH)의 활성 측정

ALDH의 활성 측정은 Tottmar의 방법(24)을 변형하여 측정하였으며, NADH의 생성속도를 지표로 사용하였다. 반응액의 조성은 증류수 2.1 mL, 1.0 M tris-HCl buffer (pH 8.8) 0.3 mL, 20 mM NAD<sup>+</sup> 0.1 mL, 1.0 M acetaldehyde 0.1 mL, 3.0 M, KCl 0.1 mL, 0.33 M 2-mercaptoethanol 0.1 mL, 추출물 0.1 mL의 혼합액과 효소원 0.1 mL를 cuvette에 넣어 총 3 mL이 되도록 조절하여 30°C에서 5분간 preincubation한 후, 340 nm에서의 흡광도의 변화를 측정하였다. 이때, 시료를 첨가하지 않은 것을 대조군으로 하였으며, 시료의 ADH 활성은 대조군에 대한 상대활성 (%)으로 측정하였다.

### 통계 처리

실험결과와 통계처리는 SPSS 12.0 (SPSS Inc, IL, USA)을 사용하여 ANOVA법에 의해 유의성을 검증하였으며, Duncan's multiple range test ( $p = 0.05$ )를 실시하여 통계적 유의성을 검증하였다.

## 결과 및 고찰

### 옷나무 수피부와 심재부 추출물의 알코올 분해효과 비교

옷나무 수피부 (*Rhus verniciflua* Stokes bark, RVSB)

와 심재부 (*Rhus verniciflua* Stokes heartwood, RVSH)의 알코올분해 효과를 비교한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. RVSB와 RVSH를 각각 10 hr 동안 추출한 추출물을 이용하여 알코올 분해 효소 (alcohol dehydrogenase, ADH)의 활성을 측정된 결과, 대조군의 흡광도 값을 100%로 하였을 때 100 µg/mL 농도의 RVSB 추출물은 ADH 활성이 203.3%로 가장 높게 나타났으며, 100 µg/mL 농도의 RVSH와 50 µg/mL 농도의 RVSB 추출물을 첨가한 경우는 각각 171.7, 152.0%로 그 다음으로 높은 ADH 활성을 나타내었다. 50 µg/mL 농도의 RVSH를 첨가한 경우에는 111.7%로 비교적 낮은 ADH 활성을 보였다. 이상의 결과로 볼 때 옷나무 수피부 (RVSB)가 심재부 (RVSH)에 비해 알코올 분해활성이 높음을 알 수 있었다. 이는 Na 등(25)의 연구에서 옷나무 수피부가 심재부에 비해 높은 항암 활성 결과를 보인 것과 상응되는 결과로서, 옷나무 수피부가 심재부에 비해 생리활성 유효성분이 많이 함유되어 있음을 시사한다.

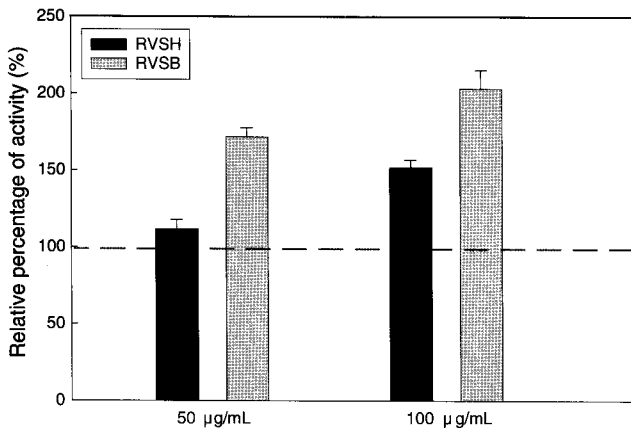


Fig. 1. Alcohol oxidation activities of RVSH and RVSB.

**옷나무 수피부 (RVSB)의 농도에 따른 알코올분해 활성**

RVSB 추출물의 농도에 따른 알코올 분해효소 (ADH) 및 알데히드 분해효소 (ALDH) 활성에 미치는 영향을 확인하였다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 ADH 활성의 경우 RVSB 추출물의 농도가 25, 50 및 100 µg/mL에서 각각 118.9, 141.4 및 197.2%로 추출물의 농도가 증가함에 따라 ADH 효소의 활성이 증가함을 확인 하였으며, RVSB 추출물의 농도 100 µg/mL에서 매우 뛰어난 활성을 보였다. 또한, ALDH 효소 활성에서도 역시 RVSB 추출물의 농도가 증가함에 따라 ALDH 활성이 증가함을 확인하였으며, 100 µg/mL 농도에서 136.1%로 비교적 높은 ALDH 활성을 보였다. 이러한 결과는 RVSB 추출물 속의 알코올 분해활성 물질이 ADH 활성을 현격히 증가시켜 알코올 분해를 촉진시킬 뿐만 아니라 ALDH의 활성을 증가시킴으로써 알코올 분해 결과 생성되는 acetaldehyde의 분해 또한 촉진시키는 것으로 사료된다.

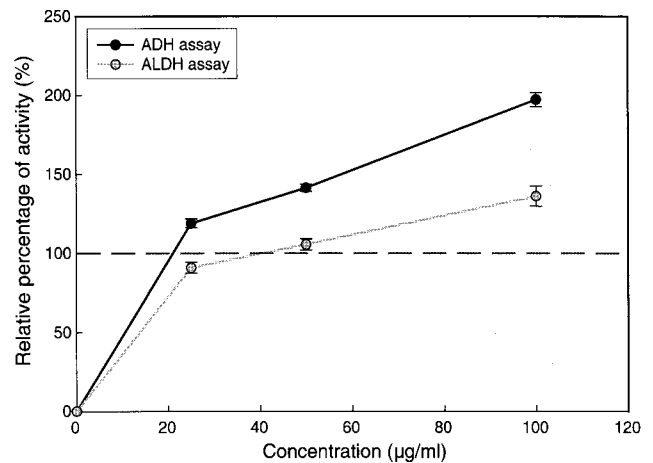


Fig. 2. Alcohol oxidation activities of RVSB.

**기존 숙취활성 원료와의 알코올 분해활성 비교**

이상과 같은 알코올 분해활성이 뛰어난 RVSB 추출물을 기존 숙취활성 원료로 보고된 헛개나무 열매 (*Hovenia dulcis* Thunb, HDT), 오리나무 (*Alnus japonica* Steud, AJS)와 함께 비교 분석하였다(Fig. 3). ADH 활성의 경우 RVSB 추출물이 197.2%로 월등히 높은 활성을 보였으며 HDT 추출물은 150.5%로 그 다음으로 높은 활성을 보였다. AJS 추출물은 112.3%로 비교적 낮은 ADH 활성을 보였는데, 이는 An 등(26)의 연구와 유사한 결과이며, AJS가 알코올 분해 촉진 기능이 있으나 효소활성 증진에 따른 것이 아닌 다른 기작에 의해 나타나는 현상일 것으로 추측되는 부분이다. ALDH 활성 역시 RVSB 추출물이 132.5%로 가장 높은 활성을 보였으며 헛개나무 열매추출물, 오리나무 추출물이 각각 120.4, 111.9%의 활성을 보였다. 이는 RVSB 추출물이 숙취의 원인 물질인 acetaldehyde의 농도를 낮추는데 효과가 있으며, 특히 초기 alcohol metabolism에 뛰어난 활성이 있음을 시사한다.

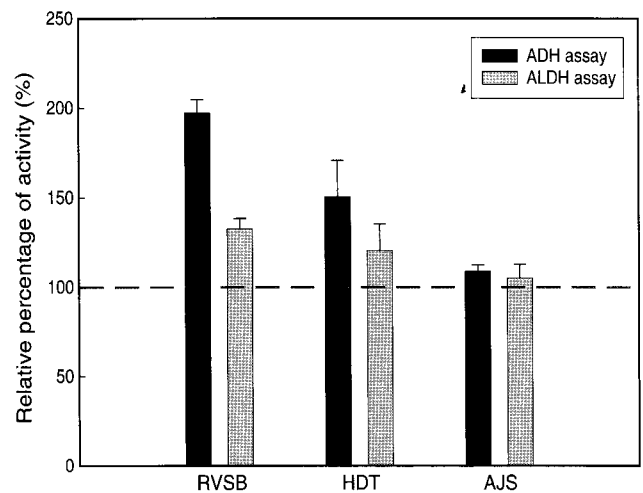


Fig. 3. Alcohol oxidation activities of RVSB, HDT and AJS.

**웃나무 수피부에서 숙취활성물질의 추출조건 최적화**

웃나무 수피부에서 숙취활성물질의 추출조건을 확립할 목적으로, 추출온도 (60-90°C), 추출시간 (0-16시간), pH 조건 (pH 3-11) 및 원료 입도 (0.15-9.5 mm) 등의 변화를 주어 추출하고 알코올 분해효소 (ADH) 및 알데히드 분해효소 (ALDH) 활성에 미치는 영향을 확인하였다(Fig. 4). 온도변화에 따른 알코올 분해활성을 조사한 결과 활성이 가장 높게 나타난 80-90°C가 최적의 추출온도임을 확인하였고, 추출시간 변화에 따른 알코올 분해활성을 조사한 결과(Fig. 5) 85°C에서 8 hr 동안 추출하는 것이 경제적 측면에서 가장 바람직하다고 판단되었다. 추출시 pH를 변화하여 추출한 후 알코올 분해활성을 조사한 결과 (Fig. 6) pH에 따른 알코올 분해활성은 실험군 (pH 3-11) 간에 큰 차이가 없는 것으로 확인되었으며, 원료입도에 따른 알코올 분해활성을 조사해본 결과(Fig. 7) 원료의 입도 크기가 1.0 mm 이하일 때 높은 알코올 분해활성이 보임을 확인하였다.

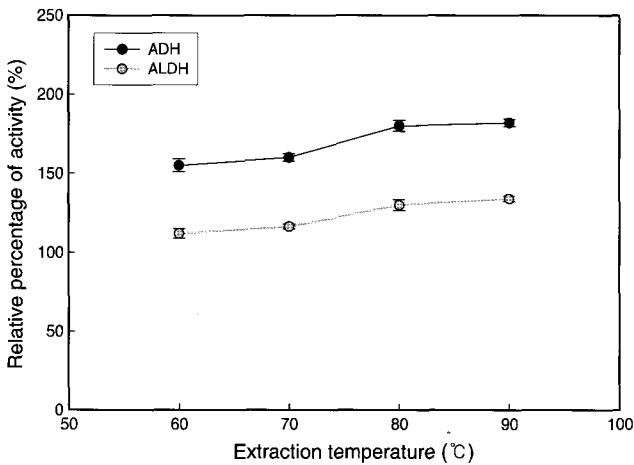


Fig. 4. The effect of temperature on alcohol oxidation activities.

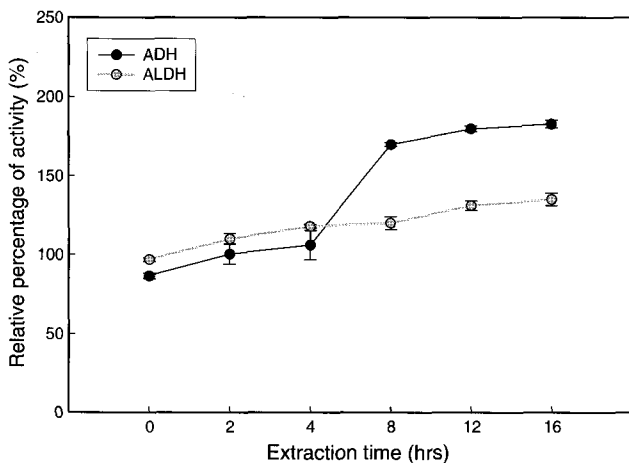


Fig. 5. The effect of extraction time on alcohol oxidation activities.

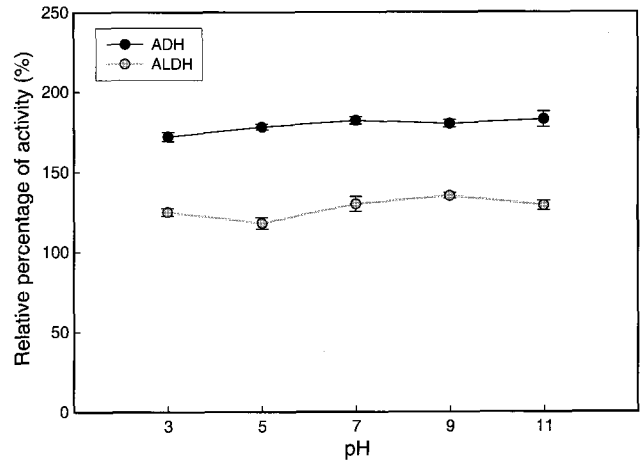


Fig. 6. The effect of pH on alcohol oxidation activities.

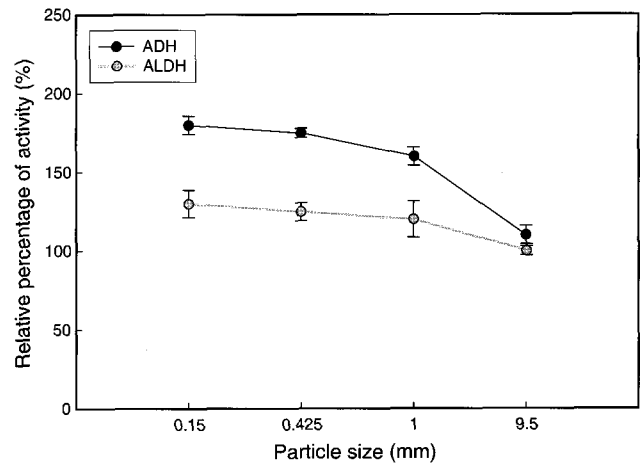


Fig. 7. The effect of particle size on alcohol oxidation activities.

접수 : 2009년 2월 3일, 게재승인 : 2009년 2월 23일

**REFERENCES**

1. Dool, R. and R. Peto (1981), Quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today, *J. Natl. Cancer Inst.* **66**, 1192.
2. Marshall, E. K. and W. F. Fritz (1953), The metabolism of ethyl alcohol, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **109**, 431.
3. Choi, J. Y. and C. N. Joo (1993), Probable reaction mechanism of rat liver cytosolic ALDH, *Korean Biochem. J.* **26**, 26-33.
4. Paek, S. C (1993), Ethanol oxidation is accelerated by augmentation of malate-aspartate shuttle with aspartate, *Korean J. Biochem.* **25**, 137-143.
5. Kim, C. I (1999), Cause and effect of hangover. *Food Ind. Nutr.* **4**, 26-30.
6. Lee, Y. S., W. G. Lee, B. G. Park, Y. K. Chang, and

- H. N. Chang (1995), Ethanol production from tapioca hydrolysate by batch and continuous cell retention cultures, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **10**, 598-603.
7. Park, S. Y., M. S. Kim, and K. Kim (1996), Direct ethanol production from starch substrate by polyploidy recombinant yeast secreting both  $\alpha$ -amylase and glucoamylase, *Kor. J. Appl. Microbial. Biotechnol.* **2**, 604-612.
  8. Kang, B. K., S. T. Jung, and S. J. Kim (2002), Effects of vegetable extracts by solvent separation on alcohol dehydrogenase activity from *saccharomyces cerevisiae*. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **34**, 244-248.
  9. Choi, J. Y. and Joo, C. N. (1993), Probable reaction mechanism of rat liver cytosolic ALDH. *Korean Biochem. J.* **26**, 26-33.
  10. Lee, J. C. and K. T. Lim (2000), Screening of antioxidant and antimicrobial effects from *Rhus verniciflua* Stokes (RVS) ethanolic extract, *Kor. J. Food Sci. Technol.* **9**, 139-145.
  11. Hong, D. H., S. B. Han, C. W. Lee, S. H. Park, Y. J. Kim, S. S. Kwak, and H. M. Kim, (2000), Cytotoxicity of urushiol isolated from sap of Korean lacquer tree (*Rhus verniciflua* Stokes). *Arch. Pharm. Res.* **22**, 638-641.
  12. Fernald, M. I. (1950), Gray's manual of botany 8th ed., p976, New York.
  13. Shin, M. K. (1986), Coloured Limsangbonchohak. Nam-San Dang. Seoul, Korea, p165.
  14. Cho, Y. S., O. C. Joung, W. Cho, K. A. Lee, J. H. Shim, K. S. Kim, H. S. Lee, K. S. Seung, and D. Y. Yoon (2000), The effects of *Rhus verniciflua* extracts on the cytotoxicity on cancer cells and E6 and E7 oncogenes of human papillomavirus type 16, *Kor. J. Food Sci. Technol.* **32**, 1389-1395.
  15. Kim, J. W., K. E. Ryu, H. S. Jang, W. S. Ahn, J. Choi, and H. J. Chun (2004) Cytotoxic effect of urushiol-ethanol micro-particles on human cervical carcinoma cells, *J. Kor. Pharm. Sci.* **34**, 23-27.
  16. Choi, W. S., D. G. Kim, Y. H. Lee, J. U. Kim, and S. E. Lee (2002), Antioxidative and cytotoxicity activities of compounds isolated from Korean *Rhus verniciflua* Stokes, *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* **45**, 168-172.
  17. Liang, C. Y., S. M. Kang, Y. S. Kim, and S. K. Lee (2005), Antioxidant activity of *Rhus verniciflua* Stokes extract in model systems and cooked beef, *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* **25**, 189-195.
  18. Lim, K. T. and J. H. Shim (1997), Antioxidative effects of ethanol extracts from *Rhus verniciflua* Stokes (RVS) on mouse whole brain cells, *Kor. J. Food Sci. Technol.* **29**, 1248-1254.
  19. Kim, I. W., D. W. Shin, and U. Choi (1999), Isolation of antioxidative components from the bark of *Rhus verniciflua* Stokes screened from some chinese medicinal plants, *Kor. J. Food Sci. Technol.* **31**, 855-863.
  20. Ahn, E. M., S. J. Park, W. C. Choi, S. H. Choi, and N. I. Baek (2007), Antioxidant activity of isolated compounds from the heartwoods of *Rhus verniciflua*, *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **50**, 358-361.
  21. Lim, K. T., C. Hu, and D. D. Kitts (2001), Antioxidant activity of a *Rhus verniciflua* Stokes ethanol extract, *Food Chem Toxicol.* **39**, 229-237.
  22. Jeon, W. K., J. H. Kim, H. W. Lee, B. S. Ko, and H. K. Kim (2003), Effects of *Rhus verniciflua* Stokes (RVS) extract on diet-induced obesity in C57BL/6 mouse, *Kor. J. Pharmacogn.* **34**, 339-343.
  23. Roker, E. (1955), Alcohol dehydrogenase from bakers yeast, *Methods Enzymol.* **1**, 500-506.
  24. Tottmar, S. O., H. Petterson, and K. H. Kiessling (1973), The subcellular distribution and properties of aldehyde dehydrogenase in rat liver, *Biochem. J.* **135**, 577-581.
  25. Na, C. S., N. C. Jung, I. O. Kwang (1998), *In vitro* Cytotoxin Activity of Urushiol in the Sap of *Rhus verniciflua* STOKES, *J. Korean For. Soc.* **87**, 260-269.
  26. An, S. W., Y. G. Kim, M. H. Kim, B. I. Lee, S. H. Lee, H. I. Kwon, B. Hwang, and H. Y. Lee, (1999), Comparison of hepatic detoxification activity and reducing serum alcohol concentration of *Hovenia dulcis* THUNB and *Alnus japonica* Steud, *J. Medicinal Crop Sci.* **7**, 263-268.