

식물에 존재하는 페놀산류를 급여한 흰쥐 혈청 콜레스테롤 농도

조영수 · 김정기

동아대학교 농과대학 농화학과

Effect of Fed of Phenolic Acids in Plant on Serum Cholesterol Concentration in Rats

Young-Su Cho and Chung-Kie Kim

Department of Agriculture Chemistry, College of Agriculture, Dong-A University, Pusan

Abstract

Phenolic acids are widely distributed in all plant material. Most of these acids were combined with plant or grain cell wall. On the other hand, it had been reported that p-coumaric acid exhibited hypocholesterolemic activity in rats. We have undertaken a study of these compounds with regard to their effect on the rat. In this study, the effects of phenolic acid on the serum cholesterol level in rats fed with cholesterol free and cholesterol enriched diets were examined. The commercially available phenolic acid were purchased in the experiment. These compounds were incorporated in the diet at a level of 0.2%. These diets were fed for 21 days to male wistar strain rats with a body weight of 80 to 90g. It was found no significant change in serum cholesterol level in the phenolic acid fed rats in both cholesterol-free and cholesterol-enriched diet.

Key words : phenolic acid, serum cholesterol level

서 론

식물계의 잎·줄기에는 p-coumaric acid, ferulic acid 등의 페놀산이 널리 분포되어 있으며, 특히 綠葉이나 곡류의 세포벽 성분에 결합되어 있는 것으로 알려져 있다. 다수의 연구자들이 이탈리아라이그라스^(1,2)와 알팔파^(3,4), 벼배유 세포벽⁽⁵⁾ 대맥곡피⁽⁶⁾ 등에 페놀산類가 존재하는 것으로 보고한 바 있다. 또한, 이탈리아라이그라스에서 추출한 조섬유에서 알칼리 처리에 의해 ferulic acid와 p-coumaric acid가 검출된 것으로부터, 페놀산의 일부분은 세포벽성분과 결합하고 있는게 확실시되며, Cherney 등⁽⁷⁾은 몇 종류의 작물에서 알칼리에 불안정한 페놀 monomer를 neutral detergent용액, 메탄올, 이온수, rumen buffer에 용해시켜 HPLC로 측정 비교하였다. Huang 등⁽⁸⁾은 식용식물의 페놀산 함량을 gas chromatography에 의해 측정한 바 있다. 한편, Sharma⁽⁷⁾는 p-coumaric acid가 흰쥐 혈청 콜레스테롤 농도를 저하시킨다는 보고를 하였으며, 또 Shama Bhat⁽¹⁰⁾는 흰쥐肝臟 homogenate의 상층액을 가지고 콜레스테롤 생합성 초기단계에 작용하는 효소 mevalonate pyrophosphate decarboxylase를 p-coumaric acid, ferulic acid가 저해한다는 것을

보고한 바 있다. 이 효소는 3-hydroxyl 3-methyl glutaryl-coenzyme A reductase(3HMG-Co A reductase)와 같은 콜레스테롤 생합성 조절효소(regulatory enzyme)는 아니지만, 만약 이러한 페놀산류가 *in vivo*에 있어서도 같은 효과를 갖는다면 콜레스테롤 농도에 영향을 미칠런지도 모른다. 여기서 저자들은 녹엽단백질(Leaf Protein 이하 LP)의 흰쥐 혈청 콜레스테롤 저하작용에 관한 연구 중 이탈리아라이그라스와 알팔파로부터 LP를 제조하는 과정에서 적은 양이지만 원료草의 페놀산이 LP에 移行되어, 함유되어 있는 것에 착안하여 p-coumaric acid, ferulic acid 및 이런 화합물과 구조가 가까운 caffeic acid를 페놀산의 독성을 감안⁽¹¹⁾ 0.2% 수준을 식이에 첨가 흰쥐에 급여 혈청콜레스테롤 농도에 미치는 페놀산류의 영향에 대하여 검토하였다.

재료 및 방법

실험식이의 조제

본 실험에 제공된 페놀산類는 p-coumaric acid, ferulic acid, 그리고 caffeic acid의 3종류(東京化成工業株, 東京日本)로서 특급 시판품을 구입 사용하였다. 실험에 사용한 식이조성은 Table 1에 나타낸 것과 같이, 단백질 원으로 Casein(vitamin free, Sigma 社製, U.S.A) 20.0% 첨가한 저지방 식이를 기본식으로 하는 콜레스테롤 무

Corresponding author : Young-Su Cho, Dept. of Agriculture Chemistry, College of Agriculture, Dong-A University, 840, Hadan-Dong, Saha-Gu, Pusan 604-714, Korea

Table 1. Composition of experimental diets

(%)

	Dietary group							
	Control		p-Coumaric acid		Ferulic acid		Caffeic acid	
	CF	CE ^{a)}	CF ^{b)}	CE	CF	CE	CF	CE
Casein	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
p-Coumaric acid	-	-	0.2	0.2	-	-	-	-
Ferulic acid	-	-	-	-	0.2	0.2	-	-
Caffeic acid	-	-	-	-	-	-	0.2	0.2
Corn oil	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Mineral mixture ^{c)}	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Vitamin mixture ^{d)}	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Wheat starch	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Cellulose powder	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Cholesterol	-	1.0	-	1.0	-	1.0	-	1.0
Sodium cholate	-	0.4	-	0.4	-	0.4	-	0.4
Lard	-	5.0	-	5.0	-	5.0	-	5.0
Sucrose	70.0	63.6	69.8	63.4	69.8	63.4	69.8	63.4

a) CF : Cholesterol-free diet, b) CE : Cholesterol-enriched diet

c) Phillip-Hart's mixture

d) Oriental vitamin mixture(Oriental Yease Co., Tokyo) The mixture contains(per g) : A acetate 500IU, D₃ 100IU, B₁·HCl 1.2 mg, B₂ 4 mg, B₆·HCl 0.8 mg, B₁₂ 0.5 ug, C 300 mg, E acetate 5 mg, K₃ 5.2 mg, D-Biotin 0.02 mg, Folic acid 0.2 mg, Ca pantothenate 5 mg, p-Amino benzoic acid 5 mg, Nicotinic acid 6 mg, Inositol 6 mg, Choline chloride 200 mg

첨가 식이와 콜레스테롤과 sodium cholate를 첨가한 高 콜레스테롤血症 유발식이에 페놀산을 각각 0.2% 첨가 균을 설정하였다.

였으며 개개의 군간의 유의차 검정은 Tukey의 multiple range test를 이용하여 행하였다.

실험동물 및 사육조건

실험동물은 7주령의 체중 80~90g의 Wistar系(Jcl : wistar ; Japan clea) 흰쥐 수컷을 구입, 시판식이(日本 clea, CE-2)로서 7일간 예비사육 후, 체중이 균등하게 각군 5마리씩 개별 케이지에 분리 21일간 실험식이로서 사육조건은 온도 22±2℃로 설정된 사육실에서(07 : 00 점 등, 19 : 00소 등) 자유섭취 시켰다.

혈청지질 분석

실험 마지막날에 12시간 절식시킨 후, 에틸에테르 마취 시켜 경동맥으로부터 채혈, 3000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 혈청을 분리, 지질분석에 사용하였다. 혈청 총 콜레스테롤 농도는 효소법을 이용한 Kit(sterozyme 545, 富士 Lebio株, 東京 日本)로서 측정하였다. 트리글리세라이드는 triglyceride G-test Kit(和光純藥工業株, 大阪 日本)으로 측정 하였으며, HDL-콜레스테롤 농도는 HDL-콜레스테롤 test kit(和光純藥工業株, 大阪 日本)를 사용하여 측정하였다. LDL-콜레스테롤은 혈청 총콜레스테롤에서 HDL-콜레스테롤을 뺀 수치로 하였다.

유의차 검정

평균값간의 유의차 검정은 분산분석(F-검정)을 행하

결과 및 고찰

p-coumaric acid, ferulic acid 및 caffeic acid를 콜레스테롤 무첨가 식이에 첨가, 흰쥐 수컷에 급여한 결과 얻어진 체중증가량, 식이섭취량 등을 Table 2에 나타내었다. 3종류의 페놀산을 식이에 0.2% 첨가한 경우 대조군에 비하여 식이섭취량은 어떤 종류의 페놀산 급여군에도 차이가 없었고 체중증가량은 ferulic acid군을 제외하고는 차이가 없었다. 그러나, ferulic acid군만 대조군에 대하여 유의적으로 체중증가량이 적었다. Jung과 Fahey⁽¹¹⁾는 p-coumaric acid, 또는 ferulic acid를 흰쥐에 급여한 경우, 식이에 0.5% 첨가에 의하여 거의가 체중증가량이 감소하고, 1.5% 첨가에 의하여 식이섭취량이 저하하지만, 2.0% 첨가에 있어서도 dry matter digestibility, protein, digestibility은 저하하지 않는다는 것을 보고하였다. 본 실험에서는 소화율은 측정하지 않았으나 Jung과 Fahey의 보고에서 고려하여, ferulic acid 0.2% 첨가에 의해 체중증가량의 저하는 어떤 대사장애에 의한 것으로 추찰되어진다. 肝臟습중량에는 전군에 있어서 유의차는 인정되지 않았다.

혈청 콜레스테롤 농도에 대한 영향을 보면, ferulic acid 첨가식이 급여군에 혈청 총콜레스테롤 농도가 다른 페놀산 급여군에 비하여 상승하는 경향이었으나, 대조군에

Table 2. Food intake, body weight gain, liver weight, and serum lipids of rats given diets containing some phenolic acids^{a)}

	Dietary group			
	Control	p-Coumaric acid (0.2%)	Ferulic acid (0.2%)	Caffeic acid (0.2%)
Food intake(g/21 days)	247.1± 1.7	249.9± 1.3	247.4± 1.8	248.8± 0.9
Body weight gain(g/21 days)	77.6± 1.7	76.5± 3.1	72.8± 2.0 ^{c)}	77.5± 2.1
Liver weight(g/100g B.W.) ^{b)}	4.8± 0.3	4.6± 0.1	4.8± 0.2	4.5± 0.3
Serum lipids(mg/100 ml)				
Total cholesterol	119.7± 18.8	119.4± 12.5	134.5± 15.2	115.6± 4.7
HDL-cholesterol	36.1± 5.4	28.2± 6.3	34.0± 8.4	24.6± 2.4 ^{c)}
LDL-cholesterol	83.6± 14.3	91.2± 16.2	100.5± 6.7	91.5± 5.6

a) (Mean values with their S.D. for five rats/group)

b) B.W. : Body weight

c) Significantly different from the value of control group(p<0.05)

Table 3. Food intake, body weight gain, liver weight, and serum lipids of rats given hypercholesterolemia inducing diets containing some phenolic acids^{a)}

	Dietary group			
	Control	p-Coumaric acid (0.2%)	Ferulic acid (0.2%)	Caffeic acid (0.2%)
Food intake(g/21 days)	242.6± 2.6	242.5± 2.6	242.7± 2.2	243.3± 2.2
Body weight gain(g/21 days)	86.7± 2.6	83.3± 3.4	81.2± 1.9 ^{c)}	85.8± 2.8
Liver weight(g/100g B.W.) ^{b)}	6.5± 0.3	6.6± 0.4	6.8± 0.4	6.7± 0.5
Serum lipids(mg/100 ml)				
Total cholesterol	658.6± 74.4	665.1± 65.1	798.6± 95.6	617.9± 90.3
HDL-cholesterol	34.0± 7.4	31.6± 6.2	39.6± 8.2	30.0± 4.0
LDL-cholesterol	652.6± 49.0	633.5± 30.0	758.9± 90.5	587.8± 98.5
Triglyceride	116.0± 31.1	113.6± 13.8	119.8± 15.6	117.7± 17.0

a) (Mean values with their S.D. for five rats/group)

b) B.W. : Body weight

c) Significantly different from the value of control group(p<0.05)

대하여 유의차가 인정되지 않았다. 또, caffeic acid 첨가식이 급여군의 HDL-콜레스테롤이 대조군에 비하여 유의적으로 낮았으나 다른 군에서는 유의적인 차이가 없었다.

Table 3에는 콜레스테롤 및 Sodium cholate를 첨가로 고콜레스테롤血症을 유발시키는 식이에 페놀산류를 0.2% 첨가한 식이를 흰쥐에 급여하여 얻은 결과를 나타내었다. 이 경우에서도 콜레스테롤 무첨가 급여결과와 같이 ferulic acid 첨가식이 급여군의 체중증가량은 대조군에 대하여 유의적으로 낮은 결과를 얻었다. Jung과 Fahey의 보고에서는 p-coumaric acid과 ferulic acid의 독성에서는 차이가 없는 것 같으나 공시동물은 Sprague-Dawley系 흰쥐 수컷이었으며 또, 사육일수는 14일간으로 본 실험 조건(Wistar系, 21일간)과의 차이에 의한 것으로 여겨진다.

혈청 총콜레스테롤 농도는 ferulic acid 첨가식이 급

여군이 약간 높은 경향이었지만, 대조군에 대하여 유의차는 없었다. HDL-콜레스테롤 농도, LDL-콜레스테롤 농도, 트리글리세라이드 농도도 대조군에 비하여 각군에서 유의차는 인정되지 않았다.

Sharma⁹⁾는 콜레스테롤 1% 함유 식이에 p-coumaric acid를 0.15% 첨가한 식이를 흰쥐에 12주간 급여한 결과, 혈청 총콜레스테롤 농도를 저하 시켰다고 보고하였다. 콜레스테롤을 흰쥐에 급여하면 肝臟에서의 acetate부터 콜레스테롤 합성이 급격히 억제되고, 더욱이 장기간의 콜레스테롤 투여는 mevalonate에서의 합성에도 큰 영향을 미치는 것이 알려져 있어서¹²⁾ 식이조성과 사육기간 차이가 Sharma와 본 실험결과에 차이를 낸 원인의 하나로 생각되어 진다. 페놀산류 급여가 혈청 콜레스테롤 저하작용이 있다는 보고와는 달리 급번 실험조건에서 첨가한 페놀산류는 혈청 콜레스테롤 농도에 영향을 미치지 않았다. 급번 실험에서 ferulic acid 첨가에 의한

체중감소 현상, caffeic acid 첨가에 의한 HDL-콜레스테롤 감소 등의 원인은 앞으로 규명되어야 하리라 본다.

요 약

페놀산類는 식물계에 널리 분포되어 있으며, 페놀산의 대부분은 식물 또는 곡류의 세포벽과 결합하고 있다. 한편, p-coumaric acid는 흰쥐에 대한 콜레스테롤 저하 작용이 있다는 것을 보고한 바 있다. 본 연구는 p-coumaric acid, ferulic acid 및 이러한 화합물과 구조가 유사한 caffeic acid를 콜레스테롤 무첨가 식이 및 高콜레스테롤 농도에 미치는 영향에 대하여 조사하였다. 본 실험에 사용한 페놀산類는 일반 시판품으로서 실험식에 0.2% 첨가, 체중 80~90g의 Wistar系 흰쥐 수컷에 21일간 급여한 결과 이번 실험의 조건에서는 혈청 콜레스테롤에 대한 각 페놀산의 영향은 인정되지 않았다. 이러한 결과를 토대로 ferulic acid 첨가에 의한 체중감소, caffeic acid 첨가에 의한 HDL-콜레스테롤 감소의 원인 등 금후 검토하여야 할 점도 나타내 보였다.

문 헌

1. Harris, P.J. and Hartly, R.D. : Detection of bound ferulic acid in cell walls of the gramineae by ultraviolet fluorescence microscopy. *Nature*, 259, 508(1976)
2. Hartley, R.D. and Buchan, H. : High-performance liquid chromatography of phenolic acid and aldehydes derives from plants or from the decomposition of organic matter in soils. *J. Chromatography*, 180, 139 (1979)
3. Monties, B. and Rambourg, J.C. : Presence de flavonoides sensu stricto(Flavones coumestanes)dan les

- preparations de proteins extraites de luzerne(*Medicago sativa* var Europe). *Ann. Technol. Agr.*, 27, 629 (1978)
4. Kewby, V.K., Sablon, R.H., Synge, R.L.M., Castelee, K.V. and Vansumere, C.F. : Free and bound phenolic acids of lucerne(*Medicago sativa* cv Europe). *Phytochemistry*, 19, 651(1980)
5. Shibuya, N. : Phenolic acids and their carbohydrate esters in rice endosperm cell wall. *Phytochemistry*, 23, 2233(1984)
6. Nordkvist, E., Salomonsson, A.C. and Åman, P. : Distribution of insoluble bound phenolic acid barley grain. *J. Sci. Food Agric.*, 35, 657(1984)
7. Cherney, J.H., Anliker, K.S., Albrecht, K.A. and Wood, K.V. : Soluble phenolic monomers in forage crops. *J. Agric. Food Chem.*, 37, 345(1989)
8. Huang, H.M., Johanning, G.L. and O'Dell, B.L. : Phenolic acid content of food plant and possible nutritional implications. *J. Agric. Food Chem.*, 34, 48(1986)
9. Sharma, R.D. : Isoflavones and hypercholesterolemia in rats. *Lipids*, 14, 535(1979)
10. Shama Bhat, C. and Ramasarma, T. : Inhibition rat liver mevalonate pyrophosphate decarboxylase and mevalonate phosphate kinase by phenyl and phenolic compounds. *Biochem. J.*, 181, 143(1979)
11. Jung, H.G. and Fahey, G.G., Jr. : Effects of phenolic monomers on rat performance and metabolism. *J. Nutrition*, 113, 546(1983)
12. Gould, R.G. and Swyryd, E.A. : Sites of control of hepatic cholesterol biosynthesis. *J. Lipid Res.*, 7, 698 (1966)

(1990년 8월 16일 접수)