생 약 학 회 지
Kor. J. Pharmacogn.
25(3):272~277(1994)

천련자 추출물이 肝機能에 미치는 영향(II)

—천련자 種子油가 흰쥐의 脂質代謝에 미치는 영향—

柳 萬 榮·金 富 生·崔 鐘 元·李 晶 揆
慶星大學校 藥學大學

Effects of Melia toosendan Fructus on Liver Function (II)

—Effects of Seed Oil on Lipid Metabolism in Rats—

Man Young Ryu, Bu Saeng Kim, Jong Won Choi and Chung Kyu Lee
College of Pharmacy, Kyungsung University, Pusan 608-736, Korea

Abstract—Meliae toosendan Fructus, the seed of Pagoda tree, *Melia toosendan* Sieb. et Zucc. (Meliaceae), has been used as a liver protective herbal drug in the Orient. Administration of seed oil to hyperlipedemic rats revealed the lipid lowering effects in serum and liver tissue without any toxicity in body weight increase and liver function.

Keywords—Meliae toosendan Fructus · *Melia toosendan* · Meliaceae · seed oil · hypolipedemic effect

천련자(川楝子, Meliae toosendan Fructus)는 천련 *Melia toosendan* Sieb. et Zucc. (*M. azedarach* var. *toosendan*, 멀구슬나무과 Meliaceae)의 果實로서 길이 1.5~2 cm, 직경 1.7~2.3 cm의 長圓形 혹은 近球形의 核果이며 종자는 길이 약 1 cm로 까만 종피로 둘러 싸여있고 지방을 많이 함유한다.[1,2]

천련자의 생리활성과 그 유효성분을 밝히기 위한 일련의 연구로 천련자의 추출물로 부터 얻은 분획의 肝機能 및 膽機能에 미치는 영향을 검색, 보고한 바 있다.[3]

우리나라에서도 식생활이 서구화 해감에 따라 성인의 死因 1위는 심혈관계 질환이며, 특히 고혈압과 동맥경화증의 원인이 되는 고지질혈증이 심각한 수준에 와 있는데[4] 그 食餌性 인자로는 콜레스테롤,[5] 포화지방산,[6] 과잉의 당질,[7] 및 부족한 식이섬유소[8] 등을 들 수 있는데 이러한 요인들은 혈중 콜레스테롤치를 상승시키며 지단백질 조성의 변화를 초래하는 것으로 알려져 있다. 고콜레스테롤혈증(고지질혈증)의 예방 및 치료를 위해 양질의 식용유를 이용하는 식이요법이 있으므로 그 원리를 응용하여 식물유의 지질저하작용을 검토하기 위하여 간의 대사기능에 영향을 미치는 천련자성분중 종자유를 대상으로 고지방식이와 고콜레스테롤혈증을 유발시킨 실험동물을 모델로 하여 지질대사에 미치는 영향을 검토하였다.

실 험

재료—본 실험에 사용된 천련자는 시중 건재상에서 구입, 확인한 한국산이다.

실험동물—본대학 동물사육장에서 사육, 계대한 180~200 g의 건강한 Sprague-Dawley계의 웅성 흰쥐를 사용하였다.

종자유의 추출—재료를 둘로 쪼갠 후 종자를

Table I. Time schedule for the induction of hyperlipedemia by lard and chloesterol feeding in rats

Treatments*	Weeks 1~2	Weeks 3~4
Normal	Vehicle	Vehicle
Control 1	Lard	Lard
Melia oil 1	Lard	Lard+Melia oil
Cholestyramine 1	Lard	Lard+cholestyramine
Control 2	Cholesterol	Cholesterol
Melia oil 2	Cholesterol	Cholesterol+Melia oil
Cholestyramine 2	Cholesterol	Cholesterol+cholestyramine

*All treatments were carried out orally. Melia oil(150 mg/kg in 0.5% CMC-Na saline soln.) and cholestyramine(100 mg/kg) were administered five mins later the lard(300 mg/kg in 1% Tween 80 soln.) or cholesterol(50 mg/kg) dosing(weeks 3~4).

분리해 내고 잘게 부순 후 *n*-hexane으로 수회 냉침하여 hexane추출물을 얻은 후 농축하였으며 필요시까지 냉장고에 보관하였다.

투여액의 조제—종자유는 0.5% CMC-Na용액에, 라아드는 1% Tween 80 용액에, 그리고 콜레스테롤은 3% Tween 80용액에 각각 현탁하고 비교약물인 cholestyramine은 생리식염수에 현탁하였다. 이상의 모든 약물의 투여용적은 200 g당 0.4 ml가 되도록 하였다.

고지혈증 유발—Table I과 같이 각군 5마리의 흰쥐에 라아드 300 mg/kg, 2% cholesterol (Kokusan Chem. Co.) 50 mg/kg씩 4주간 투여하여 고 triglyceride혈증 및 고 cholestrol혈증을 유발시켰다.

혈청 및 간조직 마쇄액의 조제—시료의 투여가 끝난 실험동물을 CO_2 gas로 마취시킨 후 복부대동맥에서 혈액을 채취하여 혈청을 분리한 후 transaminase 및 기타 효소활성 측정용 효소원으로 사용하고 간조직은 따로 생리식염수를 관류한 후 채취하여 1 g에 5 ml의 0.1 M 인산완충액(pH 7.4)으로 마쇄하여 homogenate를 만든다. 이 homogenate를 조직중의 지질량 측정원으로 사용하였다.

종자유 및 비교약물의 일반독성—각군 5마리의 흰쥐에 종자유 150 및 300 mg/kg씩을 1,2주간 투여한 후 외형상의 건강상태 및 체중의 변화를 관찰하였다.

혈중 transaminase 활성 측정—얻어진 혈청을 Bucolo와 David[9]의 방법에 따라 조작하여 GOT 및 GPT-Kit(AM 101-K, Asan)로 505 nm에서 비색정량하였다.

Sorbitol dehydrogenase(SDH)활성 측정—Wiesner 등[10]의 방법에 따라 kit시약(Sigma)으로 340 nm에서 비색정량하였다.

혈중 및 간조직중 지질조성분석—각 군 5마리의 흰쥐에 종자유등의 시료를 1,2주간 투여하고 혈액 및 조직마쇄액을 조제한 후 총콜레스테롤은 kit시약인 Cholestezyme-V(Eiken Chem. Co.) 시약으로 500 nm에서, 그리고 high density lipoprotein-cholesterol(HDL-C)의 양을 HDL-C 555 kit시약(Eiken)으로 500 nm에서 정량한 후[11,12], low density lipoprotein-cholesterol(LDL-C)의 양과 very low density lipoprotein-cholesterol(VLDL-C)의 양을 다음 식에 의하여 산출하였다.

LDL-C=[총콜레스테롤양—
(HDL-C+triglyceride양/5)]

VLDL-C=[총콜레스테롤양—
(HDL-C+LDL-C)]

또한 중성지질(triglyceride)은 glycerol-3-phosphate oxidase의 발색반응을 이용한 kit시약(Eiken)으로 550 nm에서, 인지질의 양은 choline oxidase phenol법에 따라 조제된 kit시약(Iatron Chem. Co.)으로 500 nm에서 각각 비색정량하였다.[13,14]

결과 및 고찰

급성독성(체중변화에 미치는 영향)—천련자의 종자유와 고지질혈증유발을 위해 라아드와

Table II. Effects of Melia oil on the increase of body weight in rats

Treatments[1]	Body weights[2] in grams		
	Day 1	Day 28	Differences
Normal	134.0± 4.3	199.0± 7.4	+65.0
Control 1 (lard fed)	126.0±25.4	197.5±37.5	+68.0
Melia oil 1 (+ lard)	183.8± 9.5	252.3±16.6	+69.8
Cholestyramine 1 (+ lard)	182.9± 7.3	237.1±12.7	+60.0
Control 2 (cholesterol fed)	127.0± 6.6	187.4± 4.5	+60.0
Melia oil 2 (+ cholesterol)	153.3± 8.8	206.0± 5.1	+56.0
Cholestyramine 2 (+ cholesterol)	154.0±11.7	214.0± 7.3	+60.0

[1] Melia oil(150 mg/kg) and lard(300 mg/kg) were suspended in 0.5% CMC-Na-saline soln. and 1% Tween 80 soln., respectively and were given orally once a day. Cholestyramine(100 mg/kg) was suspended in distilled water.
[2] The values are represented as mean±S.E. of five rats.

Table III. Effects of Melia oil on enzyme activities in the serum of normal rats

Treatments[2]	Enzyme activities(IU/dl)		
	GOT	GPT	SDH
Control (normal)	30.0±8.3	10.0±0.3	4.2±2.1
Melia oil 150 mg/kg, 1 week	37.7±1.1	12.0±0.8	4.9±1.0
Melia oil 300 mg/kg, 1 week	41.5±1.7	13.0±0.3	4.4±1.0
Melia oil 150 mg/kg, 2 weeks	42.2±4.1	11.6±1.4	3.1±0.4
Melia oil 300 mg/kg, 2 weeks	35.6±2.0	12.8±1.2	3.1±0.4

[1] The values are represented as mean±S.E. of five rats.
[2] Melia oil was suspended in 0.5% CMC-Na solution and was given orally once a day. Control group was treated with vehicle only.
[3] All of the data were insignificant by the method of Student t-test.

cholesterol 등을 상당기간 투여했을 경우, 실험동물의 성장 및 건강상태에 미치는 영향을 우선 검토하기 위하여 4주간 정상식이 공급과 더불어 투여하고 체중의 증가에 미치는 영향을 관찰하였다. Table II에 나타난 바와 같이 라아드와 콜레스테롤을 투여하며 천련자 종자유를 병용하여도 사용용량과 기간내에서의 체중증가는 56~69.8 g으로 정상군의 평균체중 증가분 65 g과 큰 차이가 나지 않았다. 따라서 이 실험에서 사용된 용량과 기간을 이후 실험에 적용하기로 하였다.

혈중 효소활성에 미치는 영향—천련자 종자유의 투여로 체중의 증가에는 별다른 영향을 미치지 않았으므로 지질대사의 기능을 맡고 있는 간기능에 는 어떠한 영향을 주는가를 알아보기 위해 간세포에 다량으로 존재하면서 간손상시 세포외로 유출되어 혈중농도가 증가됨으로써 간손상의 지표가 되는 transaminase 및 sorbitol dehydrogenase[15,16]의 혈중농도에 미치는 영향을 검토하였다. Table III에 나타난 바와 같이 천련자 종자유를 최고 300 mg/kg씩 2주간 투여한 실험군에서도 혈중 간효소의 활성은 정상대조군에 비해 약간의 차이는 있었으나 통계학적으로 유의적인 차이는 없었다. 따라서 앞서의 체중증가에 미치는 영향과 함께 고려할 때 동일한 안정성을 인정할 수 있었다.

혈중 총콜레스테롤 및 지단백 농도에 미치는 영향—라아드 및 콜레스테롤로 고지질혈증이 유발된 쥐에 있어서 천련자 종자유의 투여가 총콜레스테롤양과 고밀도지단백-(HDL-), 저밀도지

Table IV. Effects of Melia oil on the contents of cholesterol related lipids in the serum of hyperlipedemic rats

Treatments[1]	Lipids contents (mg/dl serum)			
	TC[2]	HDL-C[2]	LDL-C[2,3]	VLDL-C[2,4]
Normal	69.1±2.1	35.1±2.7	30.6±5.4	15.8±1.7
Control 1	62.7±3.2	29.0±0.3	23.5±7.7	20.1±2.5
Melia oil 1	62.8±3.0	31.9±0.9	16.6±6.7	12.3±0.5*
Cholestyramine 1	50.5±3.0*	33.2±1.8	13.2±5.5*	11.6±1.2*
Control 2	107.5±6.5	32.0±2.1	58.9±5.9	10.6±1.2
Melia oil 2	87.4±6.1*	51.3±6.7*	25.2±3.6*	12.6±1.0*
Cholestyramine 2	81.0±3.4*	50.3±1.2*	24.7±4.3*	12.5±1.5*

[1] Hyperlipedemia was induced with lard(300 mg/kg in 1% Tween 80 soln.) for group of 1 and cholesterol(50 mg/kg) for group of 2. Samples(Melia oil, 150 mg/kg in 0.5% CMC-Na saline soln. and cholestyramine, 100 mg/kg) were given orally once a day. Control group was treated with vehicle only.

[2] Abbreviations: TC, total cholesterol; HDL-C, high density lipoprotein-cholesterol; LDL-C, low density lipoprotein-cholesterol; VLDL-C, very low density lipoprotein-cholesterol.

[3] LDL-C=TC−(triglyceride/5+HDL-C)

[4] VLDL-C=TC−(LDL-C+LDL-C)

Significantly different from normal by Student t-test as *$p<0.05$.

단백-(LDL-) 및 초저밀도지단백-콜레스테롤(VLDL-cholesterol)의 양에 미치는 영향을 검토한 결과는 Table IV에 나타난 바와 같다. 라아드로 고지질혈증을 유발한 후 천련자 종자유를 투여한 군(Melia oil 1)의 총콜레스테롤양은 62.8 mg으로, 정상군이나 대조군(Control 1, 62.7 mg)과 비교할 때 유의적인 차이는 없었다. 그러나 콜레스테롤로 유발시킨 후 종자유를 투여한 군(Melia oil 2)에서는 87.4 mg으로 대조군의 107.5 mg에 비해 현저히 낮아졌으며 이것은 비교약물 투여군(Cholestyramine 2)과 거의 비슷한 효과로 간주할 수 있다.

한편 밀도별 지단백-콜레스테롤의 양에 미치는 효과를 검토한 실험에 있어서, HDL-cholesterol의 양은 종자유 및 비교약물인 cholestyramine의 투여로 인해 그 양이 증가되었고 반면에 LDL-및 VLDL-cholesterol의 양은 감소되었다. 이상의 결과는 식물성 스테롤의 섭취는 콜레스테롤의 흡수를 저하시켜 혈중 콜레스테롤의 농도를 저하시킨다는 사실[17]과 LDL-cholesterol 농도의 변화는 총콜레스테롤의 변화와 유사하다는 보고[18]와 어느 정도 부합되는 것으로 판단된다. 또 LDL-수용체의 합성을 촉진시킴으로써 혈중

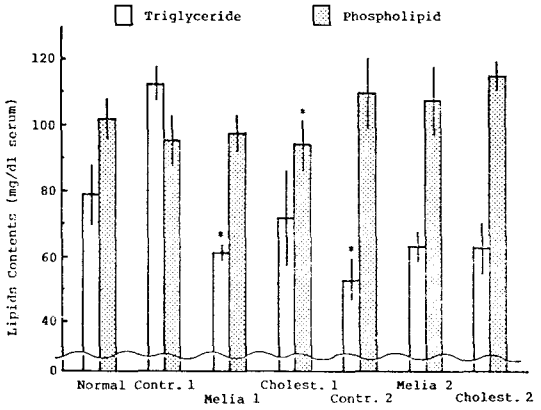

Fig. 1. Effects of Melia oil on the contents of neutral and phospholipids in the serum of hyperlipedemic rats

Hyperlipedemia was induced with lard(300 mg/kg in 1% Tween 80 soln.) for group of 1 and cholesterol(50 mg/kg) for group of 2. Samples(Melia oil, Melia, 150 mg/kg in 0.5% CMC-Na saline soln. and cholestyramine, Cholest., 100 mg/kg) were given orally once a day. Control group(Contr.) was administered vehicle only instead of sample.

Significantly different from normal by Student t-test as *$p<0.05$.

LDL-cholesterol의 농도를 감소시키는 기전을 이용하여 임상적으로 고지혈증의 치료제로 사용되는 cholestyramine의 효과[19,20]와 유사한 결과를 나타낸 점은, 이 종자유에 유사한 효능의 성분이 함유되어 있음을 암시한다고 할 수 있다.

혈중 중성지질 및 인지질의 양에 미치는 영향—앞의 콜레스테롤 및 지단백의 양에 미치는 효과를 검토한 실험과 관련하여 중성지질과 인지질의 양에 미치는 영향을 검토한 결과(Fig. 1), 중성지질의 양에 있어서 라아드로 고지혈증을 유발한 대조군(Control 1)의 증가된 양에 비해 종자유 투여군(Melia oil 1)은 감소(증가억제)되었고 비교약물인 cholestyramine보다 오히려 강하게 나타났다. 이러한 혈중 중성지질의 농도 저하 작용은 모세혈관벽에 존재하는 lipoprotein lipase가 chylomicron과 VLDL-cholesterol의 분해를 촉진하기 때문이라는 보고[21]가 있으나, 본 실험에서는 VLDL-C은 라아드를 투여하였을 때 증가된 것이 종자유의 투여로 감소되었다. VLDL은 간장으로 부터 말초로 중성지방을 운반하는 역할을 담당하므로 중성지질을 많이 함유하며 LDL은 간장에서 합성된 콜레스테롤을 간장으로 부터 말초로 운반하는 역할을 담당하므로 콜레스테롤을 대량 함유하고 있는데[22] 본 실험 결과에서는 VLDL-C의 혈중농도가 감소된 것은 지단백의 조성중 콜레스테롤과 triglyceride의 결합비율이 변화됨으로써 중성지방의 혈중농도가 감소되고 이로 인하여 초래하는 현상이 아닌가 추측된다. 이상의 현상은 cholestyramine 투여군에서도 유사하게 나타났다.

간장중 지질농도에 미치는 영향—라아드 및 콜레스테롤로 hypertriglycemia를 유발한 흰쥐에 있어서 천련자 종자유의 투여가 간장조직중 지질농도를 관찰한 결과는 Table V에 나타난 바와 같다. 즉 총콜레스테롤의 양에 있어서 혈중농도의 경우와 마찬가지로 조직중에서도 라아드의 투여로 인한 현저한 증가현상은 나타나지 않았으며 종자유의 투여로도 확실한 감소효과가 보이지 않았다. 반면 비교약물인 cholestyramine의 투여는 정상치 유지에 기여한 것으로 나타났다. 이러한 현상은 콜레스테롤로 유도된 hyperglycemia에 있어서도 마찬가지였다. 한편 중성지질농도는 라아드의 투여로 증가된 것이 종자유의 투여로 정상치 가까이 감소됨을 관찰할 수 있었다. 이러한 사실을 혈중농도와 비교하여 볼 때 라아드투여로 유발된 고지질혈증상태에서 종자유를 투여하므로써 중성지질의 농도가 감소된 것은 지질축적의 결과라기 보다는 간장의 지질이용도가 증가된 것에 기인할 것이라는 가능성을 간접적으로 시사한다. 한편 콜레스테롤로 유발된 경우에는 투여군에서는 중성지질 및 인지질의 함량에 별다른 영향을 주지 않았다.

Table V. Effects of Melia oil on lipids level in the liver of hyperlipedemic rats

Treatments[1]	Lipid contents[2] (mg/g of wet liver)		
	TC[3]	TG[3]	PL[3]
Normal	2.5±0.08	40.7±1.97	36.2±1.90
Control 1	3.1±0.34	65.9±0.20*	39.8±1.27
Melia oil 1	3.0±0.09	45.4±1.72	42.2±1.64
Cholestyramine 1	2.3±0.15*	49.5±2.70	43.5±1.97
Control 2	3.2±0.30	35.2±1.90	39.2±0.90
Melia oil 2	2.9±0.38	40.9±2.86	35.4±1.44
Cholestyramine 2	2.6±0.22	43.2±1.52	38.8±2.78

[1] Hyperlipedemia was induced with lard (300 mg/kg) for group of 1 and cholesterol (50 mg/kg) for group of 2. Samples(Melia oil, 150 mg/kg and cholestyramine, 100 mg/kg) were suspended in 0.5% CMC-Na solution and was given orally once a day. Control group was treated with vehicle only.

[2] The values are represented as mean±S.E. of five rats.

[3] Abbreviations: TC, total cholesterol; TG, triglyceride and PL, phospholipid.
Significance by Student t-test: *$p<0.05$

결 론

이상과 같이 천련자 종자유가 지질대사에 미치는 일련의 실험을 통하여 얻은 결론은 다음과 같다.

1. 천련자의 종자유는 흰쥐의 정상적인 성장 및 간기능에 독작용을 유발하지 않는다.

2. 고지질혈증상태를 유발한 흰쥐에 있어서 천련자의 종자유를 투여하므로써 지질의 농도가 감소되는 것은 간장의 지질이용도가 증가된 것에 기인하는 것으로 추측된다.

감사의 말씀—전 실험과정을 통해 수고한 경성대학교의 정순영군에게 감사의 뜻을 전한다.

〈1994년 7월 19일 접수 : 7월 25일 수리〉

참 고 문 헌

1. 中國醫學科學院藥物研究所等編 : 中約誌, 第3册, 第2版, 人民衛生出版社, 北京, pp. 162~167 (1962).
2. 江蘇新醫學院篇 : 中約大辭典, 上册, 第1版, 科學技術出版社, 上海, pp. 232~234 (1977).
3. Kim, B.S., Choi, J.W. and Lee, C.K.: *Kor. J. Pharmacogn.* 24, 63 (1993).
4. Houston, M.C.: *Arch. Int. Med.* 146, 677 (1986).
5. Goodhart, R.H. and Shils, H.E.: *Modern Nutrition in Health and Disease*, 6th ed., Lea & Febriger, Philadelphia, p. 1045 (1980).
6. Hegsted, D.M., McGandy, K.B. and Mayers, M.L.: *Am. J. Clin. Nutr.* 27, 281 (1965).
7. Mattson, F.H. and Grundy, S.M.: *J. Lipid Res.* **26**, 194 (1985).
8. Vega, G.L., Groszek, E., Wolf, R. and Grundy, S.M.: *Ibid.* 23, 811 (1982).
9. Bucolo, G. and David, H., *Clin. Chem.* **19**, 476 (1973).
10. Wiesner, I.S., Rawnsley, H.M., Brooks, F.P. and Senier, J.R.: *Am. J. Dig. Dis.* **10**, 147 (1965).
11. Noma, A., Nakayama, K.N., Kota, M. and Okabe, H.: *Clin. Chem.* **24**, 1504 (1978).
12. Noma, A. Okabe, H., Nakayama, K.N., Ueno, Y. and Shinohara, H.: *Ibid.* **25**, 1480 (1979).
13. Takayama, M., Itoh, S., Nagasaki, T. and Tanimizu, I.: *Ibid.* 23, 93 (1977).
14. Asada, M. and Galambos, J.T.: *Gastroenterology* 44, 578 (1963).
15. Rose, C.L. and Henderson, A.R.: *Clin. Chem.* 21, 1619 (1975).
16. Grundy, S.M. and Davignon, J.: *J. Lipid Res.* 10, 304 (1969).
17. Kannel, W.B., Castelli, W.P. and Gordon, T.: *Ann. Intern. Med.* **90**, 85 (1979).
18. Shepherd, J., Packard, C.J., Bicker, S., Lawrie, T.D.V. and Morgan, H.G.: *New Engl. J. Med.* 302, 1219 (1980).
19. Kovanen, P.J., Bilheimer, D.W., Goldstein, J.L., Jaramillo, J.J. and Brown, M.S.: *Proc. Natl. Sci. USA* 78, 1194 (1981).
20. Kinunen, P.K.J., Virtanen, J.A. and Vainio P.: *Atheroscler. Res.* **11**, 65 (1983).
21. Goldstein, J.L., Kita, T. and Brown, M.S. *New Engl. J. Med.* **309**, 288 (1983).