

## 뇌조직의 산화적 스트레스 및 세포막 유동성에 미치는 뽕(*Morus alba* L.) 잎 추출물의 영향

최진호\* · 김대익 · 박수현 · 김정민 · 백영호<sup>1</sup> · 이희삼<sup>2</sup> · 류강선<sup>2</sup>

부경대학교 식품생명공학부 생화학교실, <sup>1</sup>부산대학교 체육교육과  
<sup>2</sup>농촌진흥청 농업과학기술원 잠사곤충부

## Effects of Mulberry (*Morus alba* L.) Leaf Extract on Oxidative Stress and Membrane Fluidity in Brain of SD Rats

Jin-Ho Choi\*, Dae-Ik Kim, Soo-Hyun Park, Jung-Min Kim, Young-Ho Baek<sup>1</sup>,  
Heui-Sam Lee<sup>2</sup> and Kang Sun Ryu<sup>2</sup>

Lab. Biochemistry, Faculty of Food Science and Biotechnology, Pukyong National University  
<sup>1</sup>Dept of Physical Education, Pusan National University  
<sup>2</sup>Dept. of Sericulture & Entomology, National Institute of Agricultural Science & Technology,  
RDA, Suwon 441-100, Korea

### Abstract

The effects of mulberry (*Morus alba* L.) leaf extract (MLE) on oxidative stress and membrane fluidity in brain membranes of SD rats fed with 100 and 300 mg/kg BW/day were carried out for 6 weeks. Cholesterol accumulations resulted in a consistent decreases (4.6% and 5.6%, respectively) in brain mitochondria and microsomes of MLE-300 group compared with control group. Membrane fluidities were dose-dependently increased (2.2% and 5.1%, 5.0% and 15.2%) in brain mitochondria and microsomes of MLE-100 and MLE-300 groups compared with control group. Basal oxygen radicals (BORs) in brain mitochondria and microsomes were significantly inhibited (15.7% and 25.1%, 9.0% and 12.4%, respectively) by MLE-100 and MLE-300 groups compared with control group. Induced oxygen radicals (IORs) in brain mitochondria and microsomes were significantly inhibited (8.9% and 13.1%, 16.5% and 23.2%, respectively) by MLE-100 and MLE-300 groups compared with control group. Lipid peroxide (LPO) levels were significantly decreased (8.5% and 18.1%, 7.6% and 12.3%) in brain mitochondria and microsomes of MLE-100 and MLE-300 groups compared with control group. Oxidized protein (OP) levels were dose-dependently decreased (4.3% and 14.2%, 10.0% and 10.9%, respectively) in brain microsomes of MLE-100 and MLE-300 groups compared with control group. These results suggest that MLE may play an effective role in an attenuating an oxidative stress and increasing a membrane fluidity in brain membranes.

**Key words** – Mulberry (*Morus alba* L.), Lipid peroxide (LPO), Oxidized protein (OP), Basal and induced oxygen radical (BOR, IOR), Membrane fluidity, Oxidative stress

\*To whom all correspondence should be addressed  
Tel. 051-620-6332, Fax : 051-628-6343  
E-mail . jhchoi@pknu.ac.kr

## 서 론

옛날부터 명주(silk)는 중국을 비롯한 동남아의 중요한 특산물로서, 동서교역의 통로로서 실크로드(Silk Road)가 등장해 왔다. 뽕나무(桑: mulberry; *Morus alba* L.)는 뽕나무과에 속하는 활엽 낙엽교목의 하나로서 우리나라를 비롯하여 중국, 일본 등지에서 자생하고 있다. 《신농본초경(神農本草經)》의 중품에 상근백피(桑根白皮) 등과 함께 상엽(桑葉)의 이름으로 기재되어 있다. 중국 후한의 허신(許慎)이 편찬한 《설문해자(說文解字)》에 “상(桑)은 쫄다(𣎵)는 뜻으로서, 신목(神木)이라는 별명을 갖고 있다”고 했다. 결국 상(桑)이란 쫄음을 유지할 수 있는 나무라는 의미로서 뽕나무(桑)는 노화를 방지할 수 있다는 사실을 묵시적으로 암시하고 있다. “뽕잎은 발산작용(發散作用)이 있고, 능히 풍열(風熱)을 없애고 성미(性味)는 달고 차며(甘寒), 간장(肝臟)을 맑게 하고 눈을 밝게하는 작용이 있다”고 했다[4].

뽕잎에 대한 연구로서는 뽕잎의 혈당저하작용의 메카니즘 연구[10], 뽕잎의 기능성 소재, 혈압강하물질로서  $\gamma$ -GABA, flavonoid 성분 및 alkaloid 성분으로서  $\alpha$ -glucosidase 저해능을 갖는 DNJ (1-deoxynojirimycin)의 구명[20, 26]. 그밖에도 자연발증당뇨병모델(WBN/Kob) 및 사람을 대상으로 하여 각각 뽕잎 투여군의 혈당 강하효과[7], 혈청 콜레스테롤 억제효과 및 지질대사 등[12, 13]이 보고되어 있다. Yen 등[25]의 과산화지질 생성억제효과, Park 등[21]의 뽕잎의 항종양효과를 보고되어 있다. 본 연구는 뽕잎 추출물의 생리활성연구의 일환으로서 전보[4-6]에 이어 SD계 랫트를 사용, 뇌의 산화적 스트레스 및 세포막 유동성에 미치는 뽕잎 추출물의 영향을 분석하여 유의적인 결과를 얻었기에 보고한다.

## 재료 및 방법

### 동물실험 및 사료조성

한국화학연구소에서 구입한 Sprague Dawley계 랫트(male,  $160 \pm 10$  g)를 구입하여 본 대학 동물사육실에서 2주 동안 예비사육한 다음, 7마리씩 3군으로 나누어 실험용 기본사료(Control group)로써 사육하면서 뽕나무(*Morus alba* L.)의 뽕잎 메탄을 추출물(mulberry leaf extract: MLE)을 하루에 100 및 300 mg/kg BW가 되도록 사료에 첨가한 실험그룹(MLE-100 및 MLE-300 group)으로 하여 6

주간 사육실험을 행하여 뇌의 산화적 스트레스 및 세포막 유동성에 미치는 영향을 평가했다. 동물사육실은 항온항습( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $65 \pm 2\%$  RH)하에서 12시간 사이클(06:00~18:00)로 명암이 자동 조절된다.

### 조제사료의 조성

본 실험에 사용한 사료조성은 전보[4]와 같은 방법으로 탄수화물 57.8% ( $\alpha$ -corn starch 44.5% + sucrose 13.3%), 단백질 16.0%(sodium-free casein), 지질 18.0%(lard 18.0%), 비타민과 무기질(AIN-76 mixture) 각각 1.0%, 3.5%, 그리고 섬유질 3.0%, DL-methionine 0.3%, choline chloride 0.2%를 첨가하였으며, 여기에 cholesterol 0.5% 및 sodium chloride 0.2%를 첨가하여 고콜레스테롤혈증을 유도하였다. 실험그룹의 사료조성은 뽕잎 메탄을 추출물(MLE)을 하루에 각각 100 및 300 mg/kg BW가 섭취되도록 0.1% 및 0.3%의 MLE를 첨가하는 대신 탄수화물을 각각 0.1% 및 0.3%씩 제외하고 조제하였다.

### 뇌세포 핵분의 분획

뇌세포의 분획은 저자 등[3]의 방법에 따라 균질 완충용액(1.15% KCl/10 mM phosphate buffer/5 mM EDTA, pH 7.4)을 사용하여 미토콘드리아 및 마이크로솜핵분을 분획하여 사용하였다. 이들 핵분의 단백질의 함량은 Lowry 등[19]의 방법에 따라 정량하였다.

### 콜레스테롤의 함량 측정

뇌조직에서 분획한 mitochondria 및 microsome 핵분종의 콜레스테롤의 함량은 Rudel 등[22]의 방법에 따라 o-phthalaldehyde법으로 측정하여 표준 검량선을 이용하여 이들 핵분종의 콜레스테롤의 함량을 정량하였다.

### 세포막 유동성의 측정

뇌조직의 mitochondria 및 microsome 핵분종의 세포막 유동성(membrane fluidity)은 형광 probe로서의 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene(DPH)을 사용한 Heron 등[11]에 의한 형광분광법에 따라 측정하였다. 50mM 인산완충용액(pH 7.2, 2,750  $\mu\text{l}$ ), 증류수(250  $\mu\text{l}$ ), 시료(100  $\mu\text{l}$ )를 첨가·혼합하여 37°C 항온 수조에서 5분간 방치한 다음, probe인 0.167 mM TMA-DPH[1-(4-trimethylammoniumphenyl)-6-phenyl-1,3,5-hexa-

triene, *p*-toluene-sulfonate] 용액을 6.67  $\mu$ l를 첨가·혼합하여 37°C 항온 수조에서 shaking하면서 30분간 반응시킨 후 37°C을 유지하면서 형광광도계를 이용하여 360 nm (excitation)와 430 nm (emission)에서 측정하였다.

기초 및 유도산소라디칼의 정량

뇌획분증에 있어서 산화적 스트레스(oxidative stress)의 유무를 확인하기 위해서 DCF-DA (2',7'-dichlorofluorescein diacetate)을 probe로 이용한 뇌세포의 mitochondria와 microsome획분의 기초활성산소(basal oxygen radical: BOR)의 생성량의 측정은 Lebel 등[16]의 방법에 따라 측정하였다. BOR의 측정은 기저상태와 라디칼 생성을 유도하기 위해 ascorbic acid와 FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O로 자극한 유도상태의 두 가지 조건에서 비교 측정하였다. 기저상태와 라디칼 유도의 경우 모두 시료 500  $\mu$ l를 완충용액(40 mM Tris-HCl buffer pH 7.4)으로 10배 희석하고, probe인 5  $\mu$ M DCF-DA (Molecular probe, USA) 12  $\mu$ l를 첨가, 10,000 rpm 8분간 원심분리한다. 잔사를 40 mM Tris-HCl 3.0 ml에 녹인 후 라디칼 유도상태의 경우에는 1.0 mM ascorbic acid (300  $\mu$ l)와 100  $\mu$ M FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O(150  $\mu$ l)를 혼합하였고 기저상태의 경우는 아무것도 첨가하지 않았다.

이후 37°C에서 30분간 반응시킨 후 37°C 유지하면서 형광강도의 변화를 형광광도계를 이용하여 488 nm (excitation)와 525 nm (emission)에서 측정하였다. 이 때 형광강도의 변화를 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCF-DA)을 표준품으로 해서 표준검량선에 의하여 생성된 DCF의 양(nmol/mg protein/min)으로 환산하고, 이 양으로써 기초산소라디칼(basal oxygen radical: BOR) 및 유도산소라디칼(induced oxygen radical: IOR)의 산소라디칼 생성량으로 정량하였다.

산화적 스트레스의 분석

뇌획분증의 과산화지질의 함량은 저자 등[1]이 사용한

방법에 따라 분광광도계를 사용하여 TBA법으로 말론디알데히드(malondialdehyde: MDA)의 함량을 측정하여 과산화지질(lipid peroxide: LPO)의 함량으로 정량하였다. 또한 뇌조직획분으로서 mitochondria와 microsome의 산화단백질(oxidized protein: OP)의 생성량은 Levine 등[17]의 방법에 따라 carbonyl group의 생성량을 측정하여 OP의 함량을 정량하였다. carbonyl group의 양은 360 nm와 370 nm사이에 있는 흡광도의 파장에서 분자흡광계수( $E=22,000$ )를 이용하여 계산하였다.

분석결과의 처리

본 연구의 모든 실험결과는 통계 처리하여 평균치와 표준편차를 계산하였으며, 각 실험군간의 유의성 검정은 Student's t-test[23]로 실시하였다.

결과 및 고찰

뇌조직의 콜레스테롤 함량의 변화

SD계 랫트에 뿔잎 추출물(MLE)을 각각 100 및 300 mg/kg BW를 6주간 투여하여 본 결과, 뇌조직중의 콜레스테롤의 함량변화는 Table 1에서 보는 바와 같이 mitochondria 획분에서는 MLE-100 및 MLE-300 투여그룹의 콜레스테롤의 함량은 101.85 $\pm$ 5.26 및 105.80 $\pm$ 8.97 mg/g protein으로서 대조그룹(101.17 $\pm$ 8.61 mg/g protein: 100%) 대비 각각 0.7% 및 4.6%의 콜레스테롤 함량이 증가하였다. 그러나 microsome획분에서는 MLE-100 및 MLE-300투여그룹이 93.21 $\pm$ 6.07 및 90.01 $\pm$ 5.56 mg/g protein으로서 대조그룹(95.36 $\pm$ 5.49 mg/g protein: 100%) 대비 2.3% 및 5.6%나 감소하였지만, 유의적인 콜레스테롤의 억제효과는 인정할 수 없었다. 그렇지만, 뿔잎 추출물 투여그룹(MLE-100 및 MLE-300)의 혈청중의 콜레스테롤이나 LDL 및 HDL-콜레스테롤의 함량이 대조그룹 대비 유의적인 억제효과를 기대할 수 없었다는 사실을

Table 1. Effects of MLE on cholesterol levels in brain membranes of SD rats for 6 weeks

	Control (7)	MLE-100 (7)	MLE-300 (7)
Mitochondria	101.17 $\pm$ 8.61 <sup>a</sup>	101.85 $\pm$ 5.26 (100.7%) <sup>b</sup>	105.80 $\pm$ 8.97 (104.6%)
Microsome	95.36 $\pm$ 5.49	93.21 $\pm$ 6.07 ( 97.7%)	90.01 $\pm$ 5.56 ( 94.4%)

MLE-100 and MLE-300 : Mulberry leaf methanol extract of 100 and 300 mg/kg BW/day added to basic control diet; <sup>a</sup>Mean $\pm$ SD (mg/g protein) with 7 rats per group; <sup>b</sup>Percent of control values.

감안한다면 뇌조직은 매우 민감한 장기로서, 지나친 변화가 오히려 더욱 문제를 야기할 수 있을 것이기 때문에 뇌조직에서의 유의성이 없는 변화가 오히려 장점으로 작용할 것으로 기대된다. 이러한 사실은 간장 조직의 mitochondria 및 microsome 획분에서는 뽕잎 추출물 투여에 의하여 어느 정도의 콜레스테롤의 억제효과가 인정되었다는 사실과는 상당히 차이가 있음을 알 수 있다.

#### 세포막 유동성의 평가

성인병(chronic degenerative disease)이란 연령의 증가에 따라 어떤 원인에 의하여 세포막의 유동성이 지장을 받아서 성인병을 유발할 뿐만 아니라 노화까지 촉진하게 된다. 이러한 사실은 1932년 Cannon이 제창했던 《Homeostasis Theory》와 마찬가지로 생체의 항상성(homeostasis)만큼 중요한 것은 없다[4]. 그 이유는 세포막 유동성(membrane fluidity: MF)이 좋아야 항상성을 유지할 수 있고 체내 대사가 원활하게 진행될 수 있기 때문이다[9].

따라서 뽕잎 추출물을 SD계 랫트에 6주동안 투여한 다음, 뇌조직의 세포막 유동성(membrane fluidity: MF)을 측정하여 본 결과는 Table 2에서 보는 바와 같이 뽕잎 추출물(MLE) 투여그룹의 세포막 유동성(MF)에 미치는 영향을 비교하여 보면 MLE-100 및 MLE-300 투여그룹에 의한 뇌조직중의 mitochondria획분은 세포막 유동성이 대조그룹 대비 각각 2.2% 및 5.1%의 증가현상을 나타내고 있었다. 그렇지만, MLE-100 및 MLE-300 투여그룹에 의한 뇌조직중의 microsome획분의 MF는  $3.17 \pm 0.21$  및  $3.48 \pm 0.28\%$  polarization으로서 대조그룹( $3.02 \pm 0.23\%$  polarization: 100%) 대비 각각 5.0% 및 15.2%의 매우 효과적인 MF의 증가현상을 나타내고 있었다.

이러한 사실은 Table 1에서 보는 바와 같이 뽕잎 추출물의 투여에 의하여 뇌조직중의 콜레스테롤의 침착이 상대적으로 낮은 사실과 잘 일치한다고 평가할 수 있다. 어떻게

뽕잎 추출물의 투여가 가장 민감한 장기인 뇌조직의 세포막의 유동성을 효과적으로 증가시킬수 있다는 사실은 매우 바람직한 효과로 평가할 수 있다.

저자 등[2]은 이미 뇌의 synaptosome획분의 세포막 유동성(MF)을 측정하여 본 결과, 칼로리 제한에 의한 평균수명 연장효과도 세포막 유동성의 유의적인 증가효과와 매우 깊은 관계에 있다는 사실을 구명하여 학회에 보고한 적이 있다. 이처럼 세포막 유동성은 성인병의 억제 및 노화 방지와 깊은 상관관계가 있다는 사실이 과학적으로 입증된 결과라고 평가할 수 있다.

#### 기초 및 유도산소라디칼의 평가

활성산소(oxygen radicals)는 생체에 대한 유해한 독성 산소로서, 이것이 세포막의 지질성분이나 단백질 및 핵산을 공격하여 여러 가지 질병을 유발하고 노화를 촉진하는 것으로 알려져 있다[3]. 따라서 SD계 랫트에 대한 뽕잎 추출물(MLE)의 투여에 의한 활성산소의 생성량을 평가하기 위하여 기본적인 조건 및  $Fe^{2+}$ -ascorbate로 유도한 활성산소를 각각 기초활성산소(basal oxygen radical: BOR) 및 유도활성산소(induced oxygen radical: IOR)로 구분하여 뇌조직의 활성산소 생성에 미치는 뽕잎 추출물의 영향을 분석·평가하여 본 결과는 Table 3과 같다. 뇌조직에서 BOR의 생성량에 미치는 뽕잎 추출물(MLE)의 영향을 비교하여 보면 MLE-100 및 MLE-300 투여그룹의 mitochondria획분에서 BOR의 생성은  $3.66 \pm 0.29$  및  $3.25 \pm 0.17$  nmol/mg protein/min로서 대조그룹( $4.34 \pm 0.53$  nmol/mg protein: 100%) 대비 각각 15.7% 및 25.1%의 매우 유의적인 BOR의 생성 억제효과가 인정되었을 뿐만 아니라 microsome획분에서도 BOR의 생성은  $6.46 \pm 0.52$  및  $6.22 \pm 0.41$  nmol/mg protein/min으로서 대조그룹( $7.10 \pm 0.51$  nmol/mg protein/min: 100%) 대비 각각 9.0% 및 12.4%의 매우 효과적인 BOR의 생성 억제효과가 인정되었다.

Table 2. Effects of MLE on membrane fluidity in brain membranes of SD rats for 6 weeks

	Control (7)	MLE-100 (7)	MLE-300 (7)
Mitochondria	$7.25 \pm 0.68^a$	$7.41 \pm 0.64$ (102.2%) <sup>b</sup>	$7.62 \pm 0.74$ (105.1%)
Microsome	$3.02 \pm 0.23$	$3.17 \pm 0.21$ (105.0%)	$3.48 \pm 0.28^{**}$ (115.2%)

MLE-100 and MLE-300: Mulberry leaf methanol extract of 100 and 300 mg/kg BW/day added to basic control diet; <sup>a</sup>Mean±SD(% polarization) with 7 rats per group; <sup>b</sup>Percent of control values; <sup>\*\*</sup>p<0.01 compared with control group.

Table 3. Effects of MLE on basal and induced oxygen radical formations in brain membranes of SD rats for 6 weeks

Groups	Oxygen radical formation (nmol/mg protein/min)	
	Mitochondria	Microsome
Basal oxygen radical(BOR)		
Control (7)	4.34±0.53 <sup>a</sup> -	7.10±0.51 -
MLE-100 (7)	3.66±0.29 <sup>**</sup> (84.3%) <sup>b</sup>	6.46±0.52* (91.0%)
MLE-300 (7)	3.25±0.17 <sup>***</sup> (74.9%)	6.22±0.41 <sup>**</sup> (87.6%)
Induced oxygen radical(IOR)		
Control (7)	20.44±2.02 -	10.33±1.25 -
MLE-100 (7)	18.62±1.97* (91.1%)	8.63±0.57 <sup>**</sup> (83.5%)
MLE-300 (7)	17.77±1.36 <sup>**</sup> (86.9%)	7.93±0.75 <sup>***</sup> (76.8%)

MLE-100 and MLE-300 : Mulberry leaf methanol extract of 100 and 300 mg/kg BW/day added to basic control diet; <sup>a</sup>Mean±SD(nmol/mg protein/min) with 7 rats per group; <sup>b</sup>Percent of control values; \*p<0.05; \*\*p<0.01; \*\*\*p<0.001 compared with control group.

마찬가지 방법으로 뇌조직획분중의 IOR의 생성량에 미치는 영향을 평가하여 보면 MLE-100 및 MLE-300 투여그룹의 mitochondria 및 microsome획분에서 IOR의 생성 억제효과는 각각 8.9% 및 13.1%, 16.5% 및 23.2%의 유의적인 IOR의 생성 억제효과가 인정되었다. 따라서 뽕잎 추출물의 투여는 활성산소의 생성을 매우 효과적으로 억제할 수 있을 것으로 기대된다. 이상의 실험결과에서 평가하여 볼 때 뇌조직에서도 간장조직에서의 거의 같은 패턴으로 뽕잎 추출물이 활성산소를 매우 효과적으로 억제한다는 사실은 매우 의미가 있다고 판단된다.

#### 산화적 스트레스의 평가

활성산소의 공격목표는 조직세포중의 지질, 단백질 및 핵산 성분을 공격하여 각각 과산화지질(lipid peroxide: LPO), 산화단백질(oxidized protein: OP), 핵산의 돌연변이 등이 생성될 수 있다. 이들 산화적 스트레스의 평가에는 LPO는 말론디알데히드(malondialdehyde: MDA), OP는 카르보닐 그룹(>C=O group)의 측정 및 핵산의 산화는 8-OHdG의 생성량을 측정하여 평가한다[2, 9].

#### 과산화지질의 생성 억제효과

세포막의 지질이 활성산소의 공격을 받아 산화될 때 생성되는 LPO는 강력한 세포독성 때문에 성인병과 노화의 지표물질로 알려져 있다[2, 21]. 노화의 가장 중요한 학설로서 Harman(1956)의 <Free Radical Theory> [10], Yu[26],

Yu 및 Yang[27]의 <Oxidative Stress Theory> 에 따라 뇌조직중의 지질성분의 산화적 스트레스로서 과산화지질(lipid peroxide: LPO) 생성에 미치는 뽕잎 추출물의 영향을 분석·비교하여 보면 Fig. 1과 같다.

뇌조직 획분중의 LPO의 생성에 미치는 뽕잎 추출물(MLE) 투여의 영향은 하루에 MLE-100 및 MLE-300mg/kg BW로써 6주동안 투여한 결과, 뇌조직의 mitochondria획분에서는 대조그룹 대비 각각 8.5% 및 18.1%로서 용량의존적으로 LPO의 생성을 억제하였고, 뇌조직의 microsome획분도 MLE-100 및 MLE-300 투여그룹은 대조그룹 대비 각각 7.6% 및 12.3%로서 역시 용량의존적으로 LPO의 생성 억제효과가 인정되었다. 이러한 사실은 전보[7]의 간장의 LPO 생성 억제효과와는 달리 뇌조직은 활성산소에 매우 취약하기 때문에 철저히 LPO 생성을 억제하고 있음을 알 수 있었다.

어떻든 뽕잎 추출물의 투여는 활성산소의 생성을 효과적으로 감소시켜 LPO의 생성을 억제한다는 사실은 매우 중요한 의미를 갖는다. 특히 뇌조직이기 때문에 성인병 뿐만 아니라 신경장해를 수반하는 노인성 치매나 파킨슨씨병 등을 억제하는데 뽕잎 추출물이 매우 효과적일 것으로 추정된다.

#### 산화단백질의 생성 억제효과

한편 뇌조직의 단백질 성분이 활성산소의 공격을 받아 생성되는 카르보닐 그룹(>C=O group)의 함량을 측정하

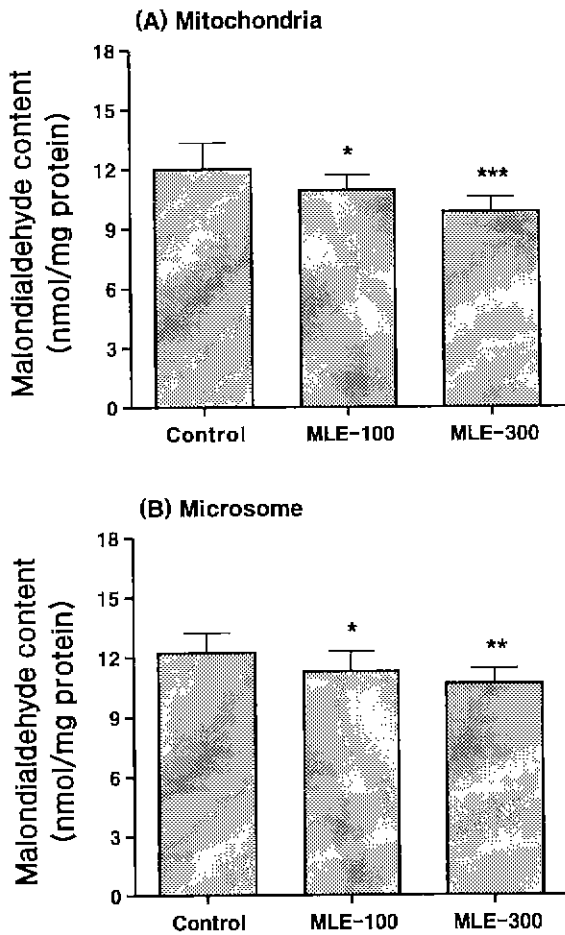


Fig. 1. Effects of MLE on lipid peroxide (LPO) levels in brain membranes of SD rats for 6 weeks  
MLE-100 and MLE-300: Mulberry leaf methanol extract of 100 and 300 mg/kg BW/day added to basic control diet; <sup>a</sup>Mean±SD(nmol/mg protein) with 7 rats per group, <sup>b</sup>Percent of control values; \*p<0.05; \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001 compared with control group

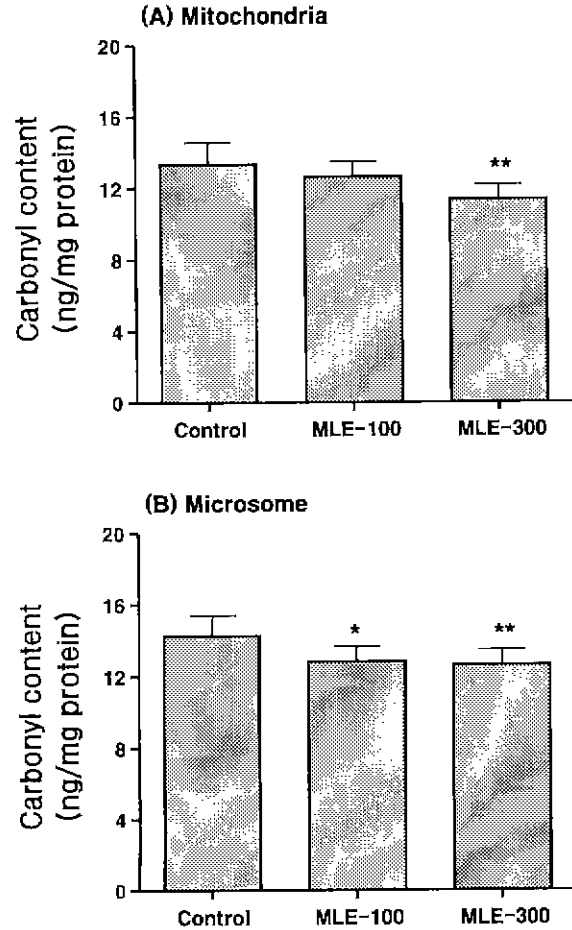


Fig. 2. Effects of MLE on carbonyl group formation in brain membranes of SD rats for 6 weeks  
MLE-100 and MLE-300: Mulberry leaf methanol extract of 100 and 300 mg/kg BW/day added to basic control diet; <sup>a</sup>Mean±SD (ng/mg protein) with 7 rats per group; <sup>b</sup>Percent of control values; \*p<0.05; \*\*p<0.01 compared with control group

여 산화단백질(oxidized protein: OP)의 생성량을 평가하여 본 결과는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 MLE-100 및 MLE-300그룹의 OP의 생성량은 mitochondria획분에서 대조그룹 대비 4.3 및 14.2%의 범위에서 OP의 생성 억제효과가 용량 의존적으로 나타났을 뿐만 아니라 microsome획분에서 대조그룹 대비 각각 10.0% 및 10.9%의 비교적 높은 OP의 생성 억제효과가 인정되었다.

따라서 뇌조직의 OP 생성 억제효과도 간장의 OP의 생성 억제효과와 거의 유사한 경향을 나타내고 있었지만, 그래도 뇌조직의 OP 생성 억제효과가 간장조직보다 더 크다

는 사실을 알 수 있다. 이러한 사실도 뇌조직이라는 특수한 장기일 뿐만 아니라 조직획분에 따라 산화적 스트레스를 받는 작용 메카니즘에 차이가 있을 것으로 기대된다.

## 요 약

뽕잎 추출물(MLE)을 SD계 랫트에 하루 100 및 300 mg/kg BW로써 6주간 투여한 결과, 뇌조직에서 MLE-100투여그룹에서는 유의적인 콜레스테롤의 억제효과를 거의 인정할 수 없었지만, MLE-300투여그룹에서는 mitochondria 및

microsome획분에서 대조그룹 대비 각각 4.6% 및 5.6% 정도의 콜레스테롤의 억제효과가 나타났다. MLE-100 및 MLE-300 투여그룹은 mitochondria획분에서 대조그룹 대비 2.2% 및 5.1%의 세포막 유동성(MF)의 증가효과가 인정되었지만, microsome획분에서는 MLE-100 및 MLE-300 투여그룹은 대조그룹 대비 각각 5.0% 및 15.2%의 MF의 현저한 증가효과가 인정되었지만, MLE-300투여그룹에서만 유의성이 인정되었다. MLE-100 및 MLE-300 투여그룹의 두 획분에서 대조그룹 대비 각각 15.7% 및 25.1%, 9.0% 및 12.4%의 매우 효과적인 BOR의 생성 억제효과가 인정되었고, MLE-100 및 MLE-300 투여그룹의 두 획분에서 IOR의 생성억제효과는 대조그룹 대비 각각 8.9% 및 13.1%, 16.5% 및 23.2%로서, 매우 효과적인 IOR의 생성 억제효과가 인정되었다. mitochondria획분에서 MLE-100 및 MLE-300투여그룹은 대조그룹 대비 각각 8.5% 및 18.1%의 과산화지질(LPO)의 생성 억제효과가 인정되었지만, microsome획분에서는 대조그룹 대비 각각 7.6% 및 12.3%의 LPO 생성 억제효과가 인정되었다. MLE-100 및 MLE-300투여그룹은 mitochondria획분에서 대조그룹 대비 4.3% 및 14.2%의 산화단백(OP) 생성 억제효과가 인정되었고, microsome획분에서는 MLE-100 및 MLE-300그룹은 대조그룹 대비 각각 10.0% 및 10.9%의 유의적인 OP의 생성 억제효과가 인정되었다. 이상의 결과에서 빵잎 추출물의 투여는 뇌조직의 콜레스테롤 침착 억제효과로 인하여 세포막 유동성을 효과적으로 증가시킬 뿐만 아니라 강력한 활성산소(BOR/IOR)의 생성 억제효과 때문에 뇌조직의 과산화지질(LPO) 및 산화단백질(OP)의 생성을 매우 효과적으로 억제하여 뇌기능관련 노화과정을 효과적으로 방지할 수 있을 것으로 기대된다.

### 참 고 문 헌

1. Choi, J. H. and B. P. Yu. 1990. Unsuitability of TBA test as a lipid peroxidation marker due to prostaglandin synthesis in the aging kidney. *Age* **13**, 61-64.
2. Choi, J. H. 1991. Lipid peroxidation, aging and food restriction. *Kor. J. Biochem.* **23(1)**, 61-70.
3. Choi, J. H., D. I. Kim, D. W. Kim, Y. S. Moon, H. Y. Chung and B. P. Yu. 1996. Analysis of lipid composition and hydroxyl radicals in brain membranes of senescence-accelerated mice. *Age* **19**, 1-5.
4. Choi, J. H., D. I. Kim, S. H. Park, D. W. Kim, J. S. Lee, K. S. Ryu and W. C. Lee. 1999a. Effects of mulberry leaf extract on oxygen radicals and their scavenger enzymes in serum of SD rats. *Korean J. Seric. Sci.* **41(3)**, 135-140.
5. Choi, J. H., D. I. Kim, S. H. Park, D. W. Kim, J. S. Lee, H. S. Lee and K. S. Ryu. 1999b. Effects of silkworm powder on oxygen radicals and their scavenger enzymes in serum of SD rats. *Korean J. Seric. Sci.* **41(3)**, 141-146.
6. Choi, J. H., D. I. Kim, D. W., Park, S. H., D. W. Kim, J. S. Lee and Y. W. Lee. 1999c. Effects of silk fibroin powder on oxygen radicals and their scavenger enzymes in serum of SD rats. *Korean J. Seric. Sci.* **41(3)**, 216-221.
7. Choi, J. H., D. I. Kim, S. H. Park, J. S. Lee, K. S. Ryu and W. C. Lee. 2000. Effects of mulberry leaf extract on oxygen radicals and their scavenger enzymes in liver of SD rats. *Korean J. Seric. Sci.* **42**(submitted).
8. Doi, K. D., K. Takashi, H. Masaoki and H. Yoshiya. 1994. Effect of mulberry leaves in lipid metabolism in rabbits fed a cholesterol diet. *J. Japan Soc. Food and Nutrition* **47(1)**, 15-22.
9. Floyd, R. A. and J. D. Carney. 1992. Free radical damage to protein and DNA: Mechanisms involved and relevant observations on brain undergoing oxidative stress. *Ann. Neuro.* **32**, S22-27.
10. Harman D 1956. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.* **11**, 298-300.
11. Heron, D, S., M. Shinitzky, M. Hershkowitz and D. Samuel. 1980. Lipid fluidity markedly modulates the binding of serotonin to mouse brain membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **12**, 7463-7467.
12. Iizuka, Y., S. Eiichi, H. Noboru, S. Masahiko and I. Shunji. 1988. Inhibitory effect of Mori folium on disaccharidase in rats. *J. of New Remedies and Clinics* **47(2)**, 155-158.
13. Kang, J. O. and K. S. Kim. 1995. The effect of dry edible leaves feeding on serum lipids of hypercholesterolemic rats. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **24(4)**, 502-509.
14. Kim, S. Y., W. C. Lee, H. B. Kim, A. J. Kim and S. K. Kim. 1998. Antihyperlipidemic effects of methanol extracts from mulberry leaves in cholesterol-induced hyperlipidemia rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **27(6)**, 1217-1222.
15. Laganiere, S. and B. P. Yu. 1987. Anti-lipoperoxidation

- action of food restriction. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **145**, 1185-1191.
16. Lebel C. P., I. N. Odunze Jr and S. C. Bondy. 1989. Perturbations in cerebral oxygen radical formation and membrane order following vitamin E deficiency. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **163(2)**, 860-866.
  17. Lee, H. S., K. S. Chung, S. Y. Kim, K. S. Ryu and W. C. Lee. 1998. Effect of several sericultural products on blood glucose lowering for alloxan-induced hyperglycemic mice. *Korean J. Seric. Sci.* **40(1)**, 38-42.
  18. Levine, R. L., D. Garland, C. N. Oliver, A. Amici, I. Climent, A. G. Lenz, B. Ahn, S. Shaltiel and E. R. Stadtman, 1990. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.* **198**, 464-478.
  19. Lowry, O. H., N. J. Roseborough, L. A. Farr and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the Folin-Phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
  20. Noda, S. 1996. Effect of mulberry leave tea in chronic diseases. *Food Chemicals* (**12**), 68-75.
  21. Park, I. K., J. O. Lee, H. S. Lee, K. Y. Seol and Y. J. Ahn. 1988. Cytotoxic activity of *Bombyx mori* and *Morus alba* derived materials against human tumor cell lines. *Agric. Chem. Biotech.*, **41(2)**, 187~190.
  22. Rudel, L. L. and M.D. Morris. 1973. Determination of cholesterol using *o*-phthalaldehyde. *J. Lipid Res.* **14**, 364-366.
  23. Steel, R. G. D. and J. H. Torrie. 1960. Principles and procedures of statistics. McGrawhill, New York.
  24. Yagi, M., K. Tatsuhiko, A. Yoshiaki and M. Hiromu. 1976. The structure of moranoline, a piperidine alkaloid from *Morus* species. *Nippon Nogei Kagaku Kaishi* **50(11)** 571-572.
  25. Yen, G. C., S. C. Wu and P. D. Duh. 1996. Extraction and identification of antioxidant components from the leaves of mulberry (*Morus alba* L.). *J. Biol. Chem.* **261**, 12879~82.
  26. Yoshikumi, Y. 1988. Inhibition of intestinal  $\alpha$ -glucosidase activity and postprandial hyperglycemia by moranoline and its N-alkyl derivatives. *Agric Biol. Chem.* **52**, 121~126.
  27. Yu, B. P. 1996. Aging and oxidative stress: Modulation by dietary restriction. *Free Rad Biol. Med.* **21**, 651-668.
  28. Yu, B. P. and R. Yang. 1996. Critical evaluation of free radical theory of aging. A proposal of oxidative stress hypothesis. *Ann. New York Acad. Sci.* **786**, 1-11.