

간장조직의 활성산소 및 그 제거효소에 미치는 뽕잎 추출물의 영향

최진호* · 김대익 · 박수현 · 김정민 · 백영호¹ · 이희삼² · 류강선²

부경대학교 식품생명공학부 생화학교실, ¹부산대학교 체육교육과
²농촌진흥청 농업과학기술원 잠사곤충부

Effects of Mulberry (*Morus alba* L.) Leaf Extract on Oxygen Radicals and Their Scavenger Enzymes in Liver of SD Rats

Jin-Ho Choi*, Dae-Ik Kim, Soo-Hyun Park, Jung-Min Kim, Young-Ho Baek¹,
Heui-Sam Lee² and Kang Sun Ryu²

Lab. Biochemistry, Faculty of Food Science and Biotechnology, Pukyong National University

¹Dept of Physical Education, Pusan National University

²Dept. of Sericulture & Entomology, National Institute of Agricultural Science & Technology,
RDA, Suwon 441-100, Korea

Abstract

This study was designed to investigate the effects of mulberry (*Morus alba* L.) leaf extract (MLE) on oxygen radicals and their scavenger enzymes in liver membranes of rats. Sprague-Dawley (SD) male rats (160±10 g) were fed basic diet (control group), and experimental diets (MLE-100 and MLE-300 groups) added 100 and 300 mg/kg BW/day for 6 weeks. Hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) levels resulted in a significant decreases (15.2% and 18.1%, 5.6% and 8.0%, respectively) in liver mitochondria and microsome of MLE-100 and MLE-300 groups compared with control group, but significant difference between liver microsomes could be not obtained. These are no significant differences in superoxide radical (O_2^-) levels of liver cytosol in MLE-100 and MLE-300 groups compared with control group. Lipid peroxide (LPO) levels were slightly decreased about 13.6% and 6.1% in liver mitochondria and microsomes of MLE-300 group compared with control group. Oxidized protein (OP) levels were remarkably decreased about 16.9% and 27.2% in liver microsomes only of MLE-100 and MLE-300 groups compared with control group.

Mn-SOD activities in liver mitochondria were remarkably increased (18.2% and 28.7%, respectively) in MLE-100 and MLE-300 groups, and Cu,Zn-SOD activities in liver cytosol were also significantly increased (11.3% and 20.2%, respectively) in MLE-100 and MLE-300 groups compared with control group, but significant difference between GSHPx activities in liver cytosol could be not obtained. These results suggest that anti-aging effect of mulberry leaf extract (MLE) may play a pivotal role in attenuating a various age-related changes.

Key Words — Mulberry (*Morus alba* L.), Superoxide dismutase (SOD), Glutathione peroxidase, (GSHPx), Oxygen radical, Lipid peroxide (LPO), Oxidized protein (OP), Hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$), Superoxide radical (O_2^-)

*To whom all correspondence should be addressed

Tel : 051-620-6332, Fax : 051-628-6343

E-mail : jhchoi@pknu.ac.kr

서론

뽕나무(桑 : mulberry; *Morus alba* L.)는 뽕나무과에 속하는 활엽 낙엽교목의 하나로서 우리나라를 비롯하여 중국, 일본 등지에서 자생하고 있다. 중국 후한의 허신(許慎)이 편찬한 《설문해자(說文解字)》에 “상(桑)은 젊다(若)는 뜻으로서 신목(神木)이라는 별명을 갖고 있다”고 했다. 결국 상(桑)이란 젊음을 유지할 수 있는 나무라는 의미로서 뽕나무(桑)는 노화를 방지할 수 있다는 사실을 암시하고 있다. 뽕잎의 약리작용은 《신농본초경(神農本草經)》의 중품에 상근백피(桑根白皮) 등과 함께 상엽(桑葉)의 이름으로 수재되어 있을 뿐만 아니라 허준의 《東醫寶鑑》을 비롯하여 최근에는 難波恒雄의 《原色和漢藥圖鑑》에도 현대과학적 의미까지 부여하여 상술되고 있다[5].

지금까지 뽕잎 성분의 생리작용에 대한 연구가 많이 진행되고 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[5]. 뽕잎에 대한 연구로서는 뽕잎의 혈당저하작용의 메카니즘 연구[8], 뽕잎의 기능성 소재, 혈압강하물질로서 γ -GABA, flavonoid 성분 및 alkaloid 성분으로서 α -glucosidase 저해능을 갖는 DNJ(1-deoxynojirimycin)의 구명[23,16]. 그밖에도 자연발증당뇨병모델(WBN/Kob) 및 사람을 대상으로 하여 각각 뽕잎 투여군의 혈당 강하효과[6], 혈청 콜레스테롤 억제효과 및 지질대사 등[9-10]이 보고되어 있으며, Yen 등[22]의 과산화지질 생성억제효과, Park 등[18]의 뽕잎의 항종양효과도 보고되어 있다. 본 연구는 농촌진흥청의 '99년도 농업특정연구개발사업의 일환으로서 전보[5]에 이어 SD 계 랫트를 사용하여 간장 조직의 활성산소 및 그 제거효소 활성에 미치는 뽕잎 추출물의 영향을 분석하여 유의적인 결과를 얻었기에 보고한다.

재료 및 방법

동물실험 및 사료조성

한국화학연구소에서 Sprague Dawley계 랫트(male, 160 ±10 g)를 구입하여 본 대학 동물사육실에서 2주동안 예비사육한 다음, 7마리씩 3군으로 나누어 실험용 기본사료(Control group)로써 사육하면서 뽕나무(mulberry : *Morus*

alba L.)의 뽕잎 메탄올 추출물(mulberry leaf extract : MLE)을 각각 100 및 300 mg/kg BW가 되도록 사료에 첨가한 실험그룹(MLE-100 및 MLE-300 group)으로 하여 6주간 사육실험을 행하여 간장중의 활성산소의 생성 및 그 제거효소의 활성에 미치는 영향을 평가하였다. 동물사육실은 항온항습(22±2°C, 65±2% RH)하에서 12시간 싸이클(06:00~18:00)로 명암이 자동 조절된다.

조제사료의 조성

본 실험에 사용한 사료조성은 전보[5]와 같이 탄수화물 57.8% (α -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 메탄올 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.

간장조직의 분획

간장의 분획은 저자 등[4]에 따라 HEPES완충용액(10 mM HEPES, 10 mM KCl, 280 mM sucrose, pH 7.4)을 사용하여 mitochondria, murosome 및 cytosol획분으로 분획하여 사용하였다. 이들 획분의 단백질의 함량은 Lowry 등[14]의 방법에 따라 측정하였다.

활성산소의 생성량 측정

히드록시 라디칼(\cdot OH)의 함량

Deoxyribose의 파괴 정도로 hydroxyl radical 생성 정도를 측정하는 방법으로서, 간장획분의 반응성 산소대사물에 의해 deoxyribose가 파괴되어 aldehyde가 생성되며, 이 aldehyde는 산성용액에서 thiobarbituric acid와 반응하여 발색되는 것을 이용한 Halliwell 등[7]의 방법에 따라 측정하였다.

수퍼옥시드 라디칼의 측정

간장획분중의 수퍼옥시드 라디칼(superoxide radical : O_2^-)의 생성량은 McCord 등[15]과 Chan 등[1]의 방법에 따라

superoxide dismutase를 억제할 수 있는 ferricytochrome C의 환원속도를 측정하였다. 0.1 mM EDTA를 함유한 인산완충용액(pH 7.8) 420 ul에 cyanide의 농도가 50 uM이 되도록 20 mM cyanide 용액을 가한 후 37°C에서 10분간 가온하였다. 이 용액에 cytosol 300 ul와 0.1 mM cytochrome C 50 ul를 넣어 분광광도계를 사용 550 nm에서 흡광도를 시간에 따라 측정하였다. 이때 cytochrome C의 양은 분자흡광계수 $19,500 M^{-1}cm^{-1}$ 로 계산하였다.

산화적 스트레스의 분석

과산화지질의 정량

간장획분중의 과산화지질의 함량은 Choi 등[2] 및 Yagi [21]가 사용한 방법에 따라 분광광도계를 사용하여 TBA법으로 말론디알데하이드(malondialdehyde : MDA)의 함량을 측정하여 과산화지질(lipid peroxide : LPO)의 함량을 측정하였다.

산화단백질의 정량

간장획분으로서 mitochondria와 microsome의 산화된 단백질의 함량은 Levine 등[13]의 방법에 따라 carbonyl group의 생성량을 측정하였다. 0.1 ml의 시료에 30% TCA (trichloro-acetic acid)를 0.5 ml 혼합, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 제거한 뒤 잔사에 10 mM DNPH (dinitrophenyl hydrazine) 0.5 ml 첨가, 15분마다 혼합하며 1시간 동안 실온에 방치 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 상층액을 제거한 후 잔사에 ethanol/ethyl acetate (v/v 1:1) 3.0 ml를 첨가하여 실온에서 10분 방치한다. 다시 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 후 잔사를 얻은 뒤, 6 M guanidine(20 mM potassium phosphate buffer, pH 2.3) 1.0 ml 첨가·혼합하여 37°C의 항온 수조에서 15분간 가온한 후, 3,500 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 얻었다. 이때 carbonyl group의 양은 360 nm와 370 nm 사이에 있는 흡광도의 파장에서 분자흡광계수($E=22,000$)를 이용하여 계산하였다.

활성산소종 제거효소의 활성 측정

수퍼옥시드 디스무타아제(SOD)의 활성

Oyanagui 등[17]의 방법에 따라 수퍼옥시드 디스무타아제(superoxide dismutase : SOD)의 활성은 간장의 mitochondria 및 cytosol획분을 인산완충용액(pH 8.2)으로 30배로

희석한 용액 0.1 ml에 증류수 0.5 ml, A시약(52.125 mg of hydroxylamine+102.1 mg of hypoxanthine/250 ml D.W) 0.2 ml, B시약(20 ul of xanthine oxidase+0.9939 mg ethylene diaminetetraacetic acid/26.7 ml phosphate buffer, pH 8.2) 0.2 ml를 첨가·혼합하여 37°C 항온수조에서 40분간 가온한 후 C시약(300 mg of sulfanilic acid+N-1-naphthylethyene diamine acid/500 ml of 16.7% acetic acid) 2.0 ml를 첨가·혼합하여 실온에서 20분간 방치한 후 분광광도계를 사용, 550 nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량선에 의해 Mn-SOD 및 Cu,Zn-SOD 활성(unit/mg protein)을 측정하였다.

글루타치온 퍼옥시다아제의 활성

Lawrence 등[11]의 방법에 따라 340 nm에서 NADPH의 감소를 측정하기 위한 방법으로 간장의 cytosol획분에서 글루타치온 퍼옥시다아제(glutathione peroxidase : GSHPx)의 활성의 측정은 인산완충용액(0.3 M/4.0 mM EDTA)으로 10배 희석하여 사용한다. 시험관에 인산완충용액(0.3 M phosphate buffer with 4.0 mM EDTA, pH 7.2) 0.1 ml, 증류수 1.295 ml, 26.56 mM sodium azide용액(86.33 mg of NaN_3 /50 ml of D.W) 0.5 ml, 294.37 mM GSH용액(452.34 mg of glutathione/5.0 ml of 0.3 M phosphate buffer with 4.0 mM EDTA) 60 ul, 8.4 mM NADPH (35.0 mg NADPH/5.0 ml of 0.3 M phosphate buffer with 4.0 mM EDTA) 110 ul, glutathione reductase (5 mg of GSH-Re/1.0 ml of 0.3 M phosphate buffer with 4.0 mM EDTA) 5 ml, 1 mM hydroperoxide 320 ul와 희석된 cytosol 30 ul를 첨가하여 5초간 잘 혼합한 후, 분광광도계를 사용하여 340 nm에서 흡광도를 15초 간격으로 2분간 측정하여 표준검량선에 의해 GSHPx (IU/g protein)의 활성을 계산하였다.

분석결과의 통계처리

본 연구의 모든 실험결과는 통계 처리하여 평균치와 표준편차를 계산하였으며, 각 실험군간의 유의성 검정은 Student's t-test[20]로 실시하였다.

결과 및 고찰

활성산소의 생성 억제효과

강력한 독성산소로 알려진 활성산소(oxygen radicals)는

오염(농약 등 환경호르몬), 합성의약품의 남용, 흡연, UV나 X-선 조사 등이나 체내에서 대사중의 효소반응이나 염증반응에 의해서도 생성된다. 이들 활성산소는 조직세포를 공격하여 심장혈관관련 질병(성인병)을 유발하고 노화를 촉진하며 치매 등의 신경정신질환을 유발할 뿐만 아니라 암(cancer)까지도 유발한다는 사실이 밝혀져 있다[19]. 간장중의 활성산소중에서 가장 강력한 히드록시 라디칼($\cdot\text{OH}$) 및 수퍼옥시드 라디칼(O_2^-)의 생성에 미치는 뽕잎 추출물(MLE)의 영향을 비교하여 보면 Table 1과 같다.

Table 1에서 간장 조직중의 mitochondria획분은 매우 효과적으로 $\cdot\text{OH}$ 라디칼의 생성을 억제하고 있었지만, microsome획분은 $\cdot\text{OH}$ 라디칼을 뽕잎 추출물 투여에 따른 용량의존적으로 억제하였지만, 뚜렷한 유의성은 인정할 수 없었다. 즉, mitochondria 획분에서는 MLE-100 및 MLE-300 투여그룹의 $\cdot\text{OH}$ 생성은 7.29 ± 0.43 및 7.04 ± 0.65 nmol/mg protein/min으로서 대조그룹(8.60 ± 0.74 nmol/mg protein/min : 100%) 대비 각각 15.2% 및 18.1%의 매우 효과적인 $\cdot\text{OH}$ 라디칼의 생성 억제효과가 인정되었다. 그렇지만, microsome획분에서는 MLE-100 및 MLE-300투여그룹의 $\cdot\text{OH}$ 생성이 각각 3.56 ± 0.25 및 3.47 ± 0.37 nmol /mg protein/min으로서 대조그룹(3.77 ± 0.54 nmol/mg protein/min : 100%) 대비 각각 5.6% 및 8.0%의 $\cdot\text{OH}$ 라디칼의 생성 억제효과가 나타났지만, 유의성은 인정할 수 없었다. 또한 간장의 cytosol 획분의 superoxide radical (O_2^-)의 생성 억제효과는 MLE-100투여그룹에서는 전혀 유의적인 효과를 기대할 수 없었지만, MLE-300투여그룹에서는 5% 정도의 억제효과가 나타났지만, 유의성은 인정할 수 없었다. 이러한 사실은 간장조직중에서도 뽕잎 추출물 투여에 의하여 O_2^- 라디칼의 생성은 효과적으로 억제할 수 없지만, 가장 강력한 활성산소인 $\cdot\text{OH}$ 라디칼의 생성을 매우 효과적으로 억

제할 수 있다는 사실이 입증되었다고 평가할 수 있다.

산화적 스트레스의 평가

활성산소의 공격목표는 조직세포중의 지질 성분의 공격에 의한 과산화지질(lipid peroxide : LPO)의 생성, 단백질 성분의 공격에 의한 산화단백질(oxidized protein)의 생성 및 핵산의 공격에 돌연변이의 생성 등을 들 수 있다. 따라서 이들 산화적 스트레스의 평가는 LPO는 말론디알데히드(malondialdehyde : MDA), 산화단백질은 카르보닐그룹(>C=O group)의 측정 및 핵산의 산화는 8-OHdG의 생성량을 측정하여 평가한다.

과산화지질의 생성 억제효과

세포막의 지질이 활성산소의 공격을 받아 산화될 때 생성되는 LPO는 강력한 세포독성 때문에 성인병과 노화의 지표물질로 알려져 있다[21,3,24]. 뽕잎 추출물의 투여에 의한 간장 조직중의 LPO의 생성에 미치는 영향을 비교하여 보면 Table 2와 같다. 간장조직 획분중의 LPO의 생성에 미치는 뽕잎 추출물(MLE) 투여의 영향을 비교하여 보면 하루에 MLE-100 및 MLE-300 mg/kg BW로써 6주동안 투여한 결과, 간장조직의 mitochondria획분에서는 MLE-100 및 MLE-300투여그룹은 각각 14.55 ± 1.34 및 13.11 ± 1.09 nmol/mg protein으로서 대조그룹(15.17 ± 1.24 nmol/mg protein : 100%) 대비 각각 95.9% 및 86.4%로서 용량의존적으로 4.1% 및 13.6%의 LPO의 생성이 억제되었지만, 유의성은 MLE-300 투여그룹에서만 인정되었다. 간장조직의 microsome획분에서는 MLE-300투여그룹에서는 약 6%의 억제효과가 인정되었지만, 유의적인 LPO의 생성 억제효과는 인정할 수 없었다.

산화단백질의 생성 억제효과

한편 조직 세포의 단백질 성분이 활성산소의 공격을 받

Table 1. Effects of MLE on hydroxyl and superoxide radicals in liver membranes of SD rats for 6 weeks

Membranes	Control (7)	MLE-100 (7)	MLE-300 (7)
Hydroxyl radical(nmol/mg protein/min)			
Mitochondria	8.60 ± 0.74^a	$7.29 \pm 0.43^{**}$ (84.8%) ^b	$7.04 \pm 0.65^{***}$ (81.9%)
Microsome	3.77 ± 0.54	3.56 ± 0.25 (94.4%)	3.47 ± 0.37 (92.0%)
Superoxide radical(nmol/mg protein)			
Cytosol	38.82 ± 2.33	38.91 ± 2.40 (100.2%)	37.30 ± 2.90 (96.1%)

MLE-100 and MLE-300 : Mulberry leaf methanol extract of 100 and 300 mg/kg BW/day added to basic control diet; ^aMean±SD with 7 rats per group; ^bPercent of control values; ^{**}p<0.01; ^{***}p<0.001 compared with control group.

Table 2. Effects of MLE on lipid peroxide(LPO) levels in liver membranes of SD rats for 6 weeks

Membranes	Control (7)	MLE-100 (7)	MLE-300 (7)
Mitochondria	15.17±1.24 ^a	14.55±1.34	(95.9%) ^b 13.11±1.09** (86.4%)
Microsome	13.28±1.15	13.77±0.75	(103.7%) 12.47±0.71 (93.9%)

MLE-100 and MLE-300 : Mulberry leaf methanol extract of 100 and 300 mg/kg BW/day added to basic control diet; ^aMean±SD (nmol/mg protein) with 7 rats per group; ^bPercent of control values; **p<0.01 compared with control group

아 생성되는 카르보닐 그룹의 생성에 미치는 뽕잎 추출물의 투여효과를 평가하기 위하여 산화단백질(oxidized protein : OP)의 생성량을 평가하여 본 결과는 Table 3과 같다. Table 3에서 보는 바와 같이 간장 조직의 mitochondria획분에서 MLE-100 및 MLE-300그룹의 OP의 생성량은 9.16±0.75 및 8.93±0.64 ng/mg protein으로서 대조그룹의 OP의 생성량(9.48±1.12 ng/mg protein : 100%) 대비 96.6% 및 94.2%로서, 각각 3.4% 및 5.8%의 OP의 생성 억제효과가 인정되었지만, 유의적인 OP의 생성 억제효과는 인정할 수 없었다.

그렇지만, microsome획분은 mitochondria획분과는 달리 MLE-100 및 MLE-300그룹의 OP의 생성량은 6.53±0.45 및 5.72±0.33 ng/mg protein으로서 대조그룹의 OP의 생성량(7.86±0.55 ng/mg protein : 100%) 대비 83.1% 및 72.8%로서, 각각 16.9% 및 27.2%의 유의적이고 강력한 OP의 생성 억제효과가 인정되었다. 따라서 뽕잎 추출물은 mitochondria보다 microsome획분에서 가장 효과적으로 단백질의 산화를 억제할 수 있을 것으로 기대된다.

제거효소의 활성 평가

간장획분중에서 활성산소의 제거효소로서 가장 중요하 수퍼옥시드 디스무타아제(SOD) 및 글루타치온 퍼옥시다아제(GSHPx)의 활성에 미치는 뽕잎 추출물(MLE) 투여의 영향을 분석하여 보면 Table 4와 같다. 간장 조직의 mitochondria획분중에서 뽕잎 추출물 MLE-100 및 MLE-300 mg/kg BW 투여에 의한 Mn-SOD의 활성은 각각 23.72±2.15 및 25.84±2.45 unit/mg protein으로서 대조그룹(20.07±3.66 unit/mg protein : 100%) 대비 각각 18.2% 및 28.7%의 유의적인 Mn-SOD활성의 증가효과가 인정되었다. 또한 간장조직의 cytosol획분중에서 뽕잎 추출물 MLE-100 및 MLE-300 mg/kg BW 투여에 의한 Cu,Zn-SOD의 활성은 56.48±3.75 및 60.97±6.33 unit/mg protein으로서 대조그룹(50.74±4.51 unit/mg protein : 100%) 대비 각각 11.3% 및 20.2%의 유의적인 Cu,Zn-SOD 활성의 증가효과가 인정되었다.

한편 간장의 cytosol획분에서 MLE-100 및 MLE-300투여 그룹의 GSHPx의 활성은 각각 5.12±0.25 및 5.23±0.33

Table 3. Effects of MLE on oxidized protein (OP) levels in liver membranes of SD rats for 6 weeks

Membranes	Control (7)	MLE-100 (7)	MLE-300 (7)
Mitochondria	9.48±1.12 ^a	9.16±0.75	(96.6%) ^b 8.93±0.64 (94.2%)
Microsome	7.86±0.55	6.53±0.45**	(83.1%) 5.72±0.33*** (72.8%)

MLE-100 and MLE-300 . Mulberry leaf methanol extract of 100 and 300 mg/kg BW/day added to basic control diet; ^aMean±SD (ng/mg protein) with 7 rats per group; ^bPercent of control values; **p<0.01; ***p<0.001 compared with control group.

Table 4. Effects of MLE on SOD and GSHPx activities in liver membranes of SD rats for 6 weeks

Membranes	Control (7)	MLE-100 (7)	MLE-300 (7)
Superoxide dismutase (unit/mg protein)			
Mn-SOD	20.07±3.66 ^a	23.72±2.15**	(118.2%) ^b 25.84±2.45*** (128.7%)
Cu,Zn-SOD	50.74±4.51	56.48±3.75*	(111.3%) 60.97±6.33*** (120.2%)
Glutathione peroxidase (IU/g protein)			
GSHPx	5.06±0.61	5.12±0.25	(101.2%) 5.23±0.33 (103.4%)

MLE-100 and MLE-300 : Mulberry leaf methanol extract of 100 and 300 mg/kg BW/day added to basic control diet; ^aMean±SD with 7 rats per group; ^bPercent of control values; *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001 compared with control group.

IU/g protein으로서 대조그룹의 GSHPx 활성(5.06 ± 0.61 IU/g protein : 100%) 대비 각각 101.2% 및 103.4%로서 뽕잎 추출물의 투여에 의하여 거의 유의적인 GSHPx활성의 증가효과를 인정할 수 없었다. 생체의 방어효소로서 간장중의 SOD 및 GSHPx의 제거효소의 활성은 Mn-SOD 및 Cu,Zn-SOD활성은 매우 효과적으로 증가하였지만, GSHPx활성의 증가효과는 거의 인정할 수 없었다. 따라서 뽕잎 추출물도 방어효소의 활성에 선택적으로 작용하고 있음을 알 수 있었다.

요 약

뽕잎 추출물(MLE)을 SD계 랫트에 하루 100 및 300 mg/kg BW로써 6주간 투여하여 간장조직의 활성산소 및 그 제거효소의 활성에 미치는 영향을 분석·평가하였다. mitochondria획분에서는 MLE-100 및 MLE-300투여그룹은 대조그룹 대비 각각 15.2% 및 18.1%의 매우 효과적인 hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$)의 생성 억제효과가 인정되었지만, microsomal획분에서는 대조그룹 대비 각각 5.6% 및 8.0%의 $\cdot\text{OH}$ 라디칼의 생성 억제효과로서 유의성은 인정할 수 없었다. cytosol획분의 superoxide radical(O_2^-)의 생성 억제효과는 MLE-300투여그룹에서만 5%정도의 억제효과가 나타났을 뿐이다.

Mitochondria획분에서 MLE-100 및 MLE-300투여그룹은 대조그룹 대비 각각 4.1% 및 13.6%의 LPO 생성이 억제되었지만, 유의성은 MLE-300 투여그룹에서만 인정되었고, microsomal획분에서는 MLE-300투여그룹에서만 약 6.0%의 LPO 생성 억제효과가 나타났을 뿐이다. mitochondria획분에서 MLE-100 및 MLE-300투여그룹은 대조그룹 대비 각각 3.4% 및 5.8%의 산화단백질(OP)의 생성 억제효과로서 유의성은 인정할 수 없었지만, microsomal획분은 mitochondria획분과는 달리 대조그룹 대비 각각 16.9% 및 27.2%의 강력한 OP의 생성 억제효과가 인정되었다.

Mitochondria획분에서 MLE-100 및 MLE-300투여그룹은 대조그룹 대비 각각 18.2% 및 28.7%의 유의적인 Mn-SOD 활성의 증가효과가 인정되었다. cytosol획분에서 MLE-100 및 MLE-300투여그룹은 대조그룹 대비 각각 11.3% 및 20.2%의 유의적인 Cu,Zn-SOD 활성의 증가효과가 인정되었다. 한편 cytosol획분에서 MLE-100 및 MLE-300투여그룹은 대조그룹 대비 거의 유의적인 GSHPx활성의 증가효과를 인

정할 수 없었다. 이상의 결과에서 뽕잎 추출물의 투여는 간장조직의 산소라디칼의 생성을 억제하여 산화적 스트레스를 효과적으로 억제할 뿐만 아니라 Mn-SOD 및 Cu,Zn-SOD 등 활성산소의 제거효소의 활성을 효과적으로 증가시켜 생체의 노화과정을 매우 효과적으로 지연할 수 있을 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

1. Chan, P. C. and B. H. J. Bielski. 1974. Enzyme catalyzed free radical reactions with nicotinamide adenine nucleotide. *J. Biol. Chem.* **249(4)**, 1317-1319.
2. 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.
3. Choi, J. H. 1991. Lipid peroxidation, aging and food restriction. *Kor. J Biochem.* **23(1)**, 61-70.
4. Choi, J. H., D. I. Kim, S. H. Park, D. W. Kim, J. S. Lee and H. S. Kim. 1999. Effects of PNE on oxygen radicals and their scavenger enzymes in liver of SD rats. *Korea. J. Life Sci* **9(4)**, 466-472.
5. 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.
6. 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.
7. Halliwell, B. and G. M. C. Gutteridge. 1981. Formation of a thiobarbituric acid-reactive substance from deoxyribose in the presence of iron salts. *FEBS. Lett.* **128**, 347-350.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. Lawrence, R. A. and R. F. Burk. 1978. Species, tissue and subcellular distribution of non Se-dependent glutathione peroxidase activity. *Lipid*, **19**, 444-452.
 12. 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.
 13. 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.* **1986**, 464-478.
 14. 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.
 15. McCord, J.M. and I. Fridovch. 1969. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J. Biol. Chem.* **244(22)**, 6049-6055.
 16. Noda, S. 1996. Effect of mulberry leave tea in chronic diseases. *Food Chemicals* (**12**), 68-75.
 17. Oyanagui, Y. 1984. Reevaluation of assay methods and establishment of Kit for superoxide dismutase activity. *Anal Biochem* **42**, 290-296.
 18. 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.
 19. Singh, V. A. 1992. A current perspective on nutrition and exercise. *J. Nutr.* **122(3S)**, 760-765.
 20. Steel, R. G. D. and J. H. Torrie. 1960. Principles and procedures of statistics. McGrawhill, New York.
 21. 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.
 22. 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.
 23. Yoshikumi, Y. 1988. Inhibition of intestinal α -glucosidase activity and postprandial hyperglycemia by moranoline and its N-alkyl derivatives. *Agric Biol. Chem.* **52**, 121-126.
 24. Yu, B. P. 1996. Aging and oxidative stress : Modulation by dietary restriction. *Free Rad Biol. Med.* **21**, 651-668.
 25. Yu, B. P. and R. Yang. 1996. Critical evaluation of free radical theory of aging: A proposal of oxidative stress hypothesis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **786**, 1-11.