

## 뽕나무(*Morus alba*) 및 꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata*) 잎의 수용성 추출물이 흰쥐 각 조직중의 지질 과산화물 함량에 미치는 영향

차재영 · 김현정 · 조영수<sup>†</sup>  
동아대학교 생명자원과학부

### Effects of Water-Soluble Extract from Leaves of *Morus alba* and *Cudrania tricuspidata* on the Lipid Peroxidation in Tissues of Rats

Jae-Young Cha, Hyun-Jeong Kim and Young-Su Cho<sup>†</sup>

Faculty of Natural Resources and Life Science, Dong-A University, Pusan 604-714, Korea

#### Abstract

The antioxidative activities of water-soluble extracts from leaves of *Morus alba* (MA) and *Cudrania tricuspidata* (CT) on the lipid peroxidation of rat tissues were studied *in vivo* system by measuring the formation of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). Male Sprague-Dawley rats received either a control diet (cholesterol diet) or cholesterol diets supplemented with 1% (w/w) MA or CT for 2 weeks. Body weight gain, food intakes, and relative weights of heart and spleen in rats were not significantly different among dietary groups. Relative weights of brain and liver in rats were higher in the MA diet than that in the CT and the control diets. The concentration of TBARS in kidney homogenates was significantly lower in the MA diet than that in the control diet, while this effect was not observed between the CT diet and the control diet. The concentrations of TBARS in brain and heart homogenates were significantly higher in the CT diet than those in the control and the MA diets. The concentrations of TBARS in liver microsomes induced with  $Fe^{2+}$ /ascorbate for 1 hr at 37°C was effectively suppressed in the MA and CT diets compared with the control diet. These results suggest that the water-soluble extract from leaves of *Morus alba* inhibited lipid peroxidative formation in kidney and hepatic microsomes of cholesterol-fed rat.

**Key words:** *Morus alba*, *Cudrania tricuspidata*, antioxidation, TBARS

#### 서 론

경제성장의 발달로 풍족한 식생활을 영위하며 평균수명도 날로 증가하고 있으나, 식생활 패턴의 변화로 인해 뇌 혈관계 질환, 심장병, 고혈압 및 당뇨병 등의 순환기계 질환과 암으로 인한 사망률이 크게 높아져 건강에 대한 관심이 고조되고 있다(1). 이러한 만성 퇴행성 질환들은 생체 내에서 산화 스트레스에 의해서 free radical을 생성하여 생체막 지질을 과산화시킬 수 있으며, 지질 과산화물의 증가는 여러 조직을 손상시켜 대사 장애를 초래하여 질병을 유발한다(2,3) 따라서 생체 내에서 free radical 형성에 의한 체내의 산화적 손상을 억제시킬 수 있는 항산화 물질이 있다면 이는 순환기계 질환과 암 등 만성질환의 발병률을 낮추는 데에도 크게 기여할 것으로 생각된다. 최근, 건강 증진을 위한 생리활성 물질 탐색에 관한

연구가 여러 방향에서 활발하게 진행되고 있는데, 이 중에서도 뽕나무 추출이 항산화 물질로서 큰 관심을 끌고 있다(4,5).

꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata*)는 뽕나무과에 속하는 낙엽교목으로 동아시아에 주로 분포하며, 10여종이 알려져 있는데 우리나라에서는 1종만이 전국 각지에서 자생하고 있다(6). 꾸지뽕나무 잎은 습진 유행성 이하선염, 폐결핵, 만성 요통, 타박상, 급성관절염 등의 한방치료에 사용되고 있으며, 또한 민간에서 열매와 수피는 약창, 강장, 중풍, 이뇨, 진해 등의 치료약으로 이용되고 있다(7). 지금까지 이 식물에 대한 연구로서는 6,8-hydroxybenzyltaxifolin, 8-hydroxybenzyltaxifolin, 6-hydroxybenzyltaxifolin(8) 및 7- $\alpha$ -D-glucopyranoside(9) 등의 성분 연구가 보고되어져 있다. 최근 꾸지뽕나무의 생리활성 작용으로서는 뽕잎의 항염증 작용 및 항균작용

<sup>†</sup>To whom all correspondence should be addressed

(9,10), 마우스에서의 지질상승 및 산화 억제작용(11) 등이 보고되어 있을 뿐 생리활성에 대한 체계적인 연구는 미비한 실정이다. 한편, 일반 빵일에도 혈당강화 효과가 입증되어 당뇨병의 예방과 치료에 효과적인 것으로 보고 되어 있으며(12), 실험적 고지혈증 흰쥐에서의 혈중 총 콜레스테롤과 중성지질의 감소 및 인체 실험에서의 혈중 중성지질 감소도 보고된 바 있다(13). 특히 빵일에는 플라보노이드 계열의 화합물이 함유되어 있어 생체내 지질의 과산화억제를 비롯한 성인병에 대한 예방효과가 있을 것으로 기대된다. 저자 등도 꾸지뽕나무 및 뽕나무로부터 추출한 수용성 성분이 *in vitro* 실험계에서 항산화 효과를 나타내는 결과를 얻어 보고한 바 있다(4). 그러나 이러한 *in vitro* 실험계에서의 생리활성이 실제적으로 생체내에서도 동일한 효과를 가지고 있는지는 알 수 없다. 본 실험에서는 꾸지뽕나무 및 뽕나무의 잎으로부터 추출한 수용성 물질을 1%(w/w) 수준으로 콜레스테롤 식이에 첨가하여 2주일 동안 투여한 흰쥐에서 각 조직중의 생체내 지질 과산화물 생성에 어떠한 영향을 미치는지를 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

실험재료의 일반 뽕나무 잎은 부산시 사하구 하단동 동아대학교 생명자원과학부 포장에서 재배한 것으로서 1999년 5월에 채취하여 사용하였으며, 꾸지뽕나무 잎은 1999년 5월에 경남 김해시 생림면에서 야생으로 서식하는 나무로부터 직접 채취하였다. 채취한 잎은 음지에서 건조시켜 잘게 자른 후 중량 비로 10배량의 증류수로 수조상에서 3시간 추출을 2회 반복 실시하여 혼합한 용액을 농축하여 -80°C에서 동결건조시킨 것을 수용성 추출물로 하였다.

### 실험동물, 사육조건 및 식이 조성

실험동물은 4주령의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐(Kyudo Experimental Animal Co., Tosu, Japan)를 구입하여 사용하였다. 사육실 온도 22±2°C, 습도 50±5%, 명암주기 12시간(명주기: 07:00~19:00)이 자동 설정된 동물 사육실에서 스테인레스 개별 케이지에 한 마리씩 넣어 사육하였다. 본 실험의 식이 조성은 Table 1과 같다. 각 실험군의 식이에는 0.5% 콜레스테롤을 첨가하였으며, 각 빵일 추출물은 1% 수준으로 첨가하였다. 실험동물은 각 군마다 6마리씩 나누고, 식이와 물을 2주간 자유섭취시켰다. 사육 기간중 식이 섭취량은 매일 일정한 시간에 측정하고, 체중은 이틀에 한번씩 측정하였다.

각 조직의 homogenate 및 microsome 분획의 조제 실험 최종일 8시간 절식시킨 동물을 디에틸에테르로

Table 1. Composition of experimental diets (%)

Ingredients	Control	<i>Morus alba</i>	<i>Cudrania tricuspidata</i>
Casein	20.0	20.0	20.0
$\alpha$ -Corn starch	15.0	15.0	15.0
Corn oil	10.0	10.0	10.0
Cellulose	5.0	5.0	5.0
AIN-93 mineral mixture	4.0	4.0	4.0
AIN-93 vitamin mixture	1.0	1.0	1.0
L-Methionine	0.3	0.3	0.3
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2
Cholesterol	0.5	0.5	0.5
Sodium cholate	0.125	0.125	0.125
<i>Morus alba</i>	0.0	1.0	0.0
<i>Cudrania tricuspidata</i>	0.0	0.0	1.0
Sucrose	to make 100		

가볍게 마취시킨 후 개방하여 적절한 조직을 냉각된 생리식염수로 즉시 씻고 여과지로 물기를 흡수시킨 다음 1.15% KCl-10 mM phosphate buffer(pH 7.4)를 가하여 homogenizer로 균질화시켰다. 이 용액의 일부를 homogenate 분획으로 하고, 나머지 용액을 4°C로 설정된 냉각 원심분리기(Kubota, KR-20000 T, Tokyo, Japan)로 12,000 rpm에서 20분간 원심분리 한 후 상정액을 4점의 거즈로 여과하고, 여액을 4°C로 설정된 초원심분리기(Hitachi 55p-72, Tokyo, Japan)에서 45,000 rpm으로 45분간 원심분리 하여 침전된 분획에 1.15% KCl-10 mM phosphate buffer (pH 7.4)를 일정량 가하여 microsome 분획으로 하였다. 이렇게 얻어진 분획의 단백질량은 BCA protein assay kit(Pierce, Illinois, USA)를 이용하여 microplate reader (Model 1550, Bio-Rad Co., Tokyo, Japan)로 570 nm 흡광도에서 측정하였다.

### 각 조직 microsome 분획의 지질 과산화물 정량

지질 과산화물 함량은 전보의 방법(4)에 준하여 정량하였다. 즉, 단백질 양으로 1 mg을 함유한 각 조직 microsome 용액 1 mL에 각각 thiobarbituric acid(TBA) 시약 2 mL을 가하여 잘 혼합하고, 수조상에서 30분간 가열한 후 실온에서 식혔다. 이를 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 후 상정액을 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 조직의 지질 과산화물 함량은 malondialdehyde를 nmol/g으로 나타내었다.

### Fe<sup>2+</sup>/ascorbate에 유도된 각 조직 microsome의 지질 과산화물 정량

항산화 활성은 Wong 등(14)의 방법에 따라 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7.5) 1.5 mL에 각 농도별 시료 용액 0.2 mL(0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mg/mL), 간 microsome 분획(1 mL중 1 mg의 단백질 함유) 0.1 mL, 0.1 mM ascorbate 0.1 mL 및 5 mM FeSO<sub>4</sub> 0.1 mL를 차례로 가하여

반응액을 잘 혼합한 후 37°C의 shaking water bath에서 반응을 시키지 않은 것(0 hr)과 1시간 반응시킨 것(1 hr) 으로부터 생체막 지질 과산화를 유도시켰다. 반응 후 3 M trichloroacetic acid와 2.5 N HCl의 혼합용액 0.5 mL를 가하고 3,000 rpm으로 10분간 원심분리한 후 상정액 1 mL를 취하여 0.67% TBA 시약 1 mL를 가하여 혼합하고 끓는 물 속에서 30분간 가열하여 발색시켰고, 냉각 후 533 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 조직 microsome 분획의 지질 과산화물의 함량은 malondialdehyde를 nmol/g으로 나타내었다.

통계처리

실험으로부터 얻어진 결과치는 one-way ANOVA에 의한 평균치와 표준오차(mean±S.E.)로 표시하였으며, 각 실험 군간의 유의성 검정은 Duncan's multiple range test로 하였다(15).

결과 및 고찰

체중 및 각 장기 중량에 미치는 영향

뽕잎 및 꾸지뽕잎으로부터 추출한 수용성 물질을 콜레스테롤 식이 중에 1%(w/w) 수준으로 첨가하여 2주일간 섭취시킨 흰쥐의 체중 및 식이 섭취량은 실험군 간에 유의적인 차이는 없었다(Table 2). 이는 흰쥐에 콜레스테롤 식이를 4주일 동안 투여하면서 뽕잎으로부터 추출한 메탄올 추출물을 0.1 g/kg body weight 및 10 g/kg body weight로 최종 2주간 병행 투여하였을 때 각각 11% 및 16%씩 체중이 감소하였다고 보고한 Kim 등(13) 결과와 다른 양상이었다. 뇌 및 간장의 상대적 중량비(g/kg body weight)는 대조군에 비교해서 뽕잎 추출물군에서는 증가 경향을 꾸지뽕잎 추출물군에서는 감소 경향을 나타내었다. 신장의 상대적 중량비는 뽕잎 추출물군에서는 감소 경향을 꾸지뽕잎 추출물군에서는 증가 경향을 나타내었으나 심장 및 비장은 각 실험군 간의 유의적인 차이는 없었다.

각 조직의 지질 과산화물 함량에 미치는 영향

지질 과산화 반응은 여러 가지 독성 화합물이나 약물 또는 당뇨병 등에 의한 병태 생리학적 현상이나 조직의 손상 정도를 나타내는 가장 중요한 기전으로 인정되고 있다(2) 이러한 기전은 조직내 세포의 산화적 스트레스의 증가, 즉 free radical 생성의 증가 및 항산화적 방어력의 감소로 인해 야기된다. 동물 체내에서 생체막 지질의 과산화물 생성 정도의 지표로 알려져 있는 TBARS를 측정 한 결과는 Table 3과 같다. 각 조직에 있어서 지질 과산화물의 상대적 함량은 뇌, 신장, 심장, 간장, 비장의 순으로 나타났으며, 뽕잎 및 꾸지뽕잎 추출물군 간에도 상당한 차이를 보여주었다. 단기적으로 완전 절식시킨 흰쥐의 간장과 신장에서 측정된 TBARS 함량은 간장보다 신장에서 상대적 함량이 높았으며, 또한 신장에서 절식의 진행과 함께 감소 경향이 더욱 뚜렷한 차이를 보여 조직간의 지질 과산화물 생성 정도가 다르다는 것을 시사하였다(16). 본 실험에 있어서 신장의 지질 과산화물 함량은 대조군에 비교해서 뽕잎 추출물군에서는 유의적으로 감소하였고, 꾸지뽕잎 추출물 군에서는 감소 경향을 나타내었으나 통계상의 유의적인 차이는 없었다 Streptozotocin 유발 당뇨병 쥐 및 정상 흰쥐에서 신장과 뇌 조직의 지질 과산화물을 측정 한 결과, 정상 흰쥐에서의 신장 조직에서보다 뇌 조직에서 상대적 TBARS가 높은 값을 나타내어 본 실험의 결과와 일치하였다(17). 또한, 정상 흰쥐에 비해서 당뇨병 쥐에서 신장 TBARS는 2배정도 증가를 보였으나 0.5% 및 1.0% 녹차 catechin 첨가에 의해서 유의적으로 감소하였다고 보고하였다(17).

신장은 생체의 대사과정에서 생성된 노폐물을 체외로 배설시키며, 체액의 항상성 유지와 항이노 호르몬 생성에도 중요한 역할을 담당하는 내분비 기능도 가지고 있다. 또한, 신장은 혈류량이 많고 노폐물을 여과시키는 과정에서 혈액 속에 들어있는 독성물질에 노출될 기회가 많기 때문에 체내에서 이들의 주된 축적 부위로 알려져 있으며, 이 때문에 항산화계가 저하되어 지질 과산화물을 생

Table 2. Effect of water-extract from leaves of *Morus alba* and *Cudrania tricuspidata* on body weights, food intakes and tissue weights in rats

Ingredients	Control	<i>Morus alba</i>	<i>Cudrania tricuspidata</i>
Initial body weight (g)	133.54±3.10 <sup>1)</sup>	132.34±2.54	133.30± 3.51
Final body weight (g)	259.84±9.11	262.84±3.69	261.38±10.28
Food intake (g/day)	22.10±1.05	22.42±0.15	23.88± 0.74
Tissue weight (g/100 g body weight)			
Brain	0.57±0.03 <sup>a2)</sup>	0.65±0.04 <sup>ab</sup>	0.59± 0.06 <sup>a</sup>
Liver	5.65±0.19 <sup>a</sup>	6.13±0.14 <sup>ab</sup>	5.25± 0.14 <sup>a</sup>
Kidney	0.87±0.02 <sup>a</sup>	0.85±0.01 <sup>ab</sup>	0.89± 0.02 <sup>ab</sup>
Heart	0.42±0.01	0.43±0.02	0.45± 0.01
Spleen	0.32±0.03	0.34±0.05	0.32± 0.01

<sup>1)</sup>Values are means±SE of six rats per group

<sup>2)</sup>Among the groups, values with different letters are significantly different at p<0.05 by Dancans's multiple range test.

Table 3. Effect of water-extract from leaves of *Morus alba* and *Cudrania tricuspidata* on the TBARS contents of tissue homogenates in rats

Ingredients	Control	<i>Morus alba</i>	<i>Cudrania tricuspidata</i>
Brain	143.4±11.1 <sup>1)a2)</sup>	144.9±22.2 <sup>a</sup>	272.1±17.5 <sup>b</sup>
Liver	100.2± 9.2	141.6±26.9	112.4±16.6
Kidney	125.4± 7.1 <sup>a</sup>	78.2± 6.7 <sup>b</sup>	109.9± 9.7 <sup>a</sup>
Heart	110.6± 9.9 <sup>a</sup>	102.9± 8.0 <sup>a</sup>	176.4±11.9 <sup>b</sup>
Spleen	86.5±12.1	68.9± 9.2	92.3± 6.6

TBARS (nmol/g tissue)

<sup>1)</sup>Values are means±SE of six rats per group.

<sup>2)</sup>Among the groups, values with different letters are significantly different at  $p<0.05$  by Dancans's multiple range test. Thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) in the tissue homogenates was measured as described in the Materials and Methods section.

성하는데 좋은 환경을 제공함으로써 조직의 손상을 초래할 수가 있다(18). 당뇨 및 만성신부전 실험 모델에서 세포내 산화 스트레스 증가에 의한 심장, 간장 및 혈액에서 지질 과산화물의 증가, 특히 뇌 중의 8-hydroxydeoxyguanosine(8-OHdG) 생성의 증가는 심장에서 기능 장애가 일어난 것을 암시해준다(19). 본 실험의 결과에서 뽕잎 추출물이 심장의 과산화물 생성을 억제시키는 것은 산화적 손상을 일으키는 원인 물질인 free radical 생성을 억제시킬 수 있는 가능성이 있기 때문에 free radical 생성과 밀접하게 관련되어있는 질환의 발병을 예방 또는 치료할 수 있는 생리활성 물질로서 작용할 가능성이 있다

한편, 뇌 및 심장 조직의 지질 과산화물 함량은 대조군에 비해서 꾸지뽕잎 추출물군에서는 유의적으로 증가하였으나, 뽕잎 추출물 군에서는 변화가 없었다. 간장의 지질 과산화물 함량은 대조군에 비해서 뽕잎 추출물 군에서 다소 증가하였으나, 개체 차이가 커서 유의성은 나타나지 않았다. 비장의 경우에는 각 실험군 간의 차이가 나타나지 않았다. 저자들은 뽕나무 및 꾸지뽕나무의 잎, 줄기, 뿌리 및 열매로부터 추출한 수용성 물질이 *in vitro* 항산화 실험계에서 상당한 항산화 효과를 가지고 있는 것으로 보고한 바 있다(4). 그러나 본 실험의 결과에서 꾸지뽕잎 추출물을 투여한 흰쥐의 뇌, 간장, 심장 및 비장에서 지질 과산화물 함량은 상당히 증가되었다. 한편, 꾸지뽕잎으로부터 메탄올, 클로로포름, 에탄올 및 부탄올 추출물이 간장 microsome 막의 불포화지방산 과산화 반응에 미치는 영향을 검토한 결과, 클로로포름 및 부탄올 추출물(1 mg/mL)에서는 대조군보다 오히려 증가하여 과산화 촉진 작용이 보고된 바 있다(5). 또한 한국산 개량종 뽕잎으로부터 분획한 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 수용성 추출물을 ferric thiocyanate법으로 항산화 활성을 측정할 결과, 수용성 분획물에서 가장 낮은 활성을 보였다(20). 따라서 본 실험에 사용한 시료는 수용성 추출물로서 다른 유기용매 추출물에 비해 항산화 활성이 상대적으로

약한 것으로 생각되며, 또한, 지금까지 보고된 결과에서 일정 농도의 수준 이하에서는 오히려 산화를 촉진시키는 것으로 미루어 보아 동물체내에 흡수된 꾸지뽕잎 추출물의 양이 적어서 각 조직에서 항산화 활성을 나타내는데 충분한 작용을 발휘하지 못하는 것으로 사료된다. 한편, 대두의 유리아미노산은 매우 낮은 농도에서는 뚜렷한 항산화 효과를 나타내지만 농도가 증가하면 오히려 산화 촉진 작용을 나타낸다고 하였다(21). 뽕잎 중에도 유리아미노산이 조단백질량으로 건물 중량당 약 30%를 차지하고 있어(22) 본 실험의 대부분 조직에서 산화가 증가된 것은 뽕잎 추출물중의 유리아미노산 일부가 산화촉진 작용에 기여하였을 가능성도 배제할 수 없기 때문에 앞으로 추가적인 실험이 필요하다고 생각된다.

#### Microsome막 지방산 산화계를 이용한 항산화 실험

각 군의 흰쥐 조직으로부터 분획한 microsome에  $Fe^{2+}$ /ascorbate를 첨가하여 37°C에서 반응을 시키지 않은 것(0 hr)과 한시간 반응을 시킨 것(1 hr)으로부터 지질 과산화물 함량을 측정할 결과는 Table 4와 같다. 뇌 조직의 microsome 지질 과산화물은 각 군간에 유의적인 차이는 없었다. 그러나  $Fe^{2+}$ /ascorbate를 첨가하여 1시간 반응시킨 microsome의 지질 과산화물 함량은 대조군에서 236%, 뽕잎 추출물군에서 205% 및 꾸지뽕잎 추출물군에서 220

Table 4. Effect of water-extract from leaves of *Morus alba* and *Cudrania tricuspidata* on the TBARS concentrations of tissue microsomes in rats

Ingredients	Control	<i>Morus alba</i>	<i>Cudrania tricuspidata</i>
Brain			
0 hr	25.49±1.52 <sup>1)</sup>	28.34±1.76	27.89±2.12
1 hr	60.17±4.06	58.11±2.60	61.45±5.99
Liver			
0 hr	61.62±1.30	67.82±7.46	64.24±1.99
1 hr	115.84±2.65 <sup>2)</sup>	75.91±3.46 <sup>b</sup>	78.18±5.94 <sup>b</sup>
Kidney			
0 hr	27.57±1.84	29.13±2.40	23.85±1.26
1 hr	31.13±1.33	31.12±1.07	32.48±2.36
Heart			
0 hr	37.99±3.16 <sup>c</sup>	29.72±1.74 <sup>b</sup>	39.09±3.21 <sup>a</sup>
1 hr	41.06±3.72	36.26±3.18	36.18±4.87
Spleen			
0 hr	36.63±0.81 <sup>a</sup>	33.45±1.25 <sup>ab</sup>	30.54±2.18 <sup>b</sup>
1 hr	33.17±2.09	30.85±3.02	37.29±1.87

TBARS (nmol/g tissue)

<sup>1)</sup>Values are means±SE of six rats per group.

<sup>2)</sup>Among the groups, values with different letters are significantly different at  $p<0.05$  by Dancans's multiple range test. Thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) in the tissue microsomes was measured before (0 hr) or after (1 hr) the reaction of  $Fe^{2+}$ /ascorbate-induced lipid peroxidation as described in the Materials and Methods section.

% 증가하여 다른 조직에서 보다 현저하였다. 흰쥐 대뇌 피질의 homogenate 분획을  $FeCl_2$ 와 ascorbate로 지질 과산화를 유도하기 위하여  $37^\circ C$ 에서 15분간 반응시켰을 때 반응시키지 않은 것보다 약 6배정도 증가하였다고 보고한 바 있다(23). 이러한 결과는 생체내 다른 조직에 비해서 뇌 조직에서 산화스트레스에 더욱 민감하다는 것을 의미하는 것으로 추측되어진다

간장 microsome 분획의 지질 과산화물 함량은 각 군간에 유의적인 차이는 없었다. 그러나  $Fe^{2+}$ /ascorbate로 1시간 동안 반응시켜 지질 과산화물을 유도시킨 결과, 대조군의 경우 반응을 전혀 시키지 않은 것에 비해 약 2배정도 증가하였고, 뽕잎 및 꾸지뽕잎 추출물군에서는 현저하게 감소하였다. Turmeric, rosemary 및 capsicum의 추출물을 1% 수준으로 식이에 첨가하여 1주간 섭취시킨 마우스의 간장 homogenate 분획을  $Fe^{2+}$ /ascorbate로 지질 과산화물을 측정하였을 때는 각 군간에 유의적인 차이가 없었으나, 지질 과산화물 생성을 유도하기 위하여  $37^\circ C$ 에서 30분간 반응시켰을 때는 대조군에서 반응시키지 않은 것에 비해 약 2.5배 증가하였고 turmeric 및 capsicum 추출물 첨가군에서는 약 절반 정도 감소를 나타내어(24) 유도 반응 시간에 따라서 과산화물 생성 정도가 다르다는 것을 시사하였다. 신장 microsome 분획의 지질 과산화물 함량은 각 군간에 유의적인 차이는 없었으며, 반응 1시간 후의 지질 과산화물 함량은 약간 증가하는 경향을 나타내었다. 심장 microsome의 지질 과산화물 함량은 대조군에 비해서 뽕잎 추출물군에서는 유의적으로 증가하였으나, 꾸지뽕잎 추출물군에서는 각 군간에 차이가 없었다. 심장 homogenate 분획에서도 동일한 결과를 보였다. 비장의 경우 homogenate 분획에서는 각 군간에 유의적인 차이는 없었으나, microsome 분획에서는 대조군에 비해 뽕잎 추출물군에서 감소 경향을 나타내었고, 꾸지뽕잎 추출물군에서는 유의적으로 감소하였다. 따라서 간장 microsome의 지질 과산화물 생성 정도는 상대적으로 다른 조직에 비해 높게 나타났으며, 뽕잎 및 꾸지뽕잎 추출물에서 현저한 저하를 보여 항산화 활성을 가진 성분이 존재할 것으로 시사되었다.

뽕잎을 비롯한 식물성 식품 또는 한약재에서 항산화 활성을 나타내는 성분이 대부분 플라보노이드 계통의 polyphenol 화합물로서 이를 뒷받침하는 연구결과가 다수 보고되어 있다. 특히, 흰쥐에서 간장 mitochondria 및 microsome 분획에서의 플라보노이드 항산화 작용은 생체막의 지질과산화를 방지하는 oxygen-free radical scavenging 효과에 의한 것으로 알려져 있으며(25), 또한 흰쥐의 간장 mitochondria 및 microsome 분획에서  $CCl_4$  및 NADPH-의존성 지질 과산화 억제(26), 사람 적혈구의 지질 과산화 억제(27), low density lipoprotein(LDL) 산화 억제(28), cyclooxygenase 활성과 lipoxygenase 활성 억제(29) 등이 알려져 있다. 뽕잎으로부터 항산화 활성을 나

타내는 플라보노이드 성분을 분석한 결과, quercetin 함량은 49.6~229 mg%, kaempferol 함량은 47~177 mg%로 나타났으며, 그 외 chlorogenic acid, caffeic acid도 함유되어 있는 것으로 동정되었다(21). 꾸지뽕나무 잎과 목부에서는 항산화 활성을 가진 플라보노이드인 quercetin-3-O- $\beta$ -D-glucose, kaempferol, kaempferol-3-O- $\beta$ -D-glucose, arthocarpesin 등도 분리동정되었다(30). 한편, chlorogenic acid도 천연 항산화 물질로서의 이용 가능성에 대해서 많은 연구들이 진행되었다. 저자들도 흰쥐의 생체내 지질 과산화에 미치는 chlorogenic acid의 영향을 검토한 결과에서도 콜레스테롤 섭취에 의해 증가된 간장 조직중의 TBARS 함량은 chlorogenic acid의 첨가에 의해서 유의적으로 감소하는 결과를 얻었다(31). 따라서 본 연구에서 사용된 수용성 추출물 중에도 항산화 활성을 가진 플라보노이드류 및 chlorogenic acid 등의 성분이 존재할 것으로 예상되지만, 신장을 제외한 다른 조직에서는 오히려 과산화물이 증가하여 *in vivo* 계에서 영향을 미칠 수 있는 적정량이 어느 정도인지를 파악하는 일이 중요할 것으로 사료된다.

본 실험의 결과 신장조직 및 간장 microsome막 지질 과산화물 함량은 뽕잎 및 꾸지뽕잎 수용성 추출물에 의해 감소되었으며, 뇌 및 심장조직의 지질 과산화물 함량은 꾸지뽕잎 수용성 추출물에 의해 증가됨으로써 뽕잎 추출물간의 차이를 나타내었다

## 요 약

뽕나무(*Morus alba*) 및 꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata*) 잎으로부터 추출한 수용성 물질을 0.5% 콜레스테롤 투여 식이에 1%(w/w) 수준으로 첨가하여 각 조직에서의 지질 과산화물 생성정도를 나타내는 TBARS 측정법으로 항산화 활성을 검토하였다. 흰쥐의 체중 및 식이 섭취량은 실험군 간의 유의적인 차이는 없었다. 간장 및 뇌 조직 중량은 뽕잎 추출물군에서 증가하였다. 신장의 지질 과산화물 함량은 대조군에 비해서 뽕잎 추출물군에서 유의적으로 감소하였다. 뇌 및 심장의 지질 과산화물 함량은 대조군에 비교해서 꾸지뽕잎 추출물군에서 유의적으로 증가하였다. 간장 및 비장의 경우에는 각 실험군 간에 유의적인 차이가 없었다. 각 조직의 microsome 분획의 지질 과산화물은 심장과 비장에서 뽕잎 및 꾸지뽕잎 추출물군에서 감소하였으나, 다른 조직에서는 현저한 차이가 없었다. 한편, 각 조직의 microsome 분획을 얻어서  $Fe^{2+}$ /ascorbate로 지질 과산화물을 유도하기 위하여  $37^\circ C$ 에서 한시간 반응을 시킨 결과, 뽕잎 및 꾸지뽕잎 추출물군에서 약 절반 정도 감소하였으며, 상대적 증가량은 뇌조직 microsome에서 현저하였다. 본 실험의 결과 신장조직 및 간장 microsome막 지질 과산화물 함량은 뽕잎 및 꾸지뽕잎 수용성 추출물에 의해 감소되었으며, 뇌 및

심장조직의 지질 과산화물 함량은 꾸지뽕잎 수용성 추출물에 의해 증가됨으로써 팥잎 추출물간의 차이를 나타내었다.

## 문헌

1. Annual report on the cause of death statistics. National Statistical Office, Republic of Korea (1996)
2. Plaa, G.L. and Witschi, H. : Chemicals, drugs and lipid peroxidation. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **16**, 125-131 (1976)
3. Alordmann, R., Ribierre, C. and Rouach, H. : Ethanol induced lipid peroxidation and oxidative stress in extrahepatic tissues. *Alcohol.*, **25**, 231-237 (1990)
4. Cha, J.Y., Kim, H.J., Chung, C.H. and Cho, Y.S. : Anti-oxidative activities and contents of polyphenolic compound of *Cudrania tricuspidata*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **28**, 1310-1315 (1999)
5. Park, J.C., Choi, J.S. and Choi, J.W. : Effects of the fraction from the leaves, fruits, stems and roots of *Cudrania tricuspidata* and flavonoids on lipid peroxidation. *Kor. J. Pharmacogn.*, **26**, 377-384 (1995)
6. Lee, C.B. : *Dehanshiknuldogam*. Hyangmoonsha, p.285 (1985)
7. Kangjoshneuhakwon : *Jungyakdesajon*. 2nd ed, Sohak-kyan, p.2383 (1985)
8. Fujimoto, T. and Nomura, T. : Components of root bark of *Cudrania tricuspidata* 3 Isolation and structure studies on the flavonoids. *Planta Medica.*, **51**, 190-196 (1985)
9. Kim, S.H., Kim, N.J., Choi, J.S. and Park, J.C. : Determination of flavonoid by HPLC and biological activities from the leaves of *Cudrania tricuspidata*. *Bureau J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **22**, 68-72 (1993)
10. Ottiersen, T., Vance, B., Doorenbos, N.J., Chang, B.L. and El-Feraly, F.S. : The crystal structure of cudranone, 2,6,3'-trihydroxy-4-methoxy-2'-(3-methyl-2-butenyl)-I, a new antimicrobial agent from *Cudrania cochinchinensis*. *Acta Chem. Scand[BJ]*, **31**, 434-436 (1977)
11. Chang, C.H., Lin, C.C., Hattori, M. and Namba, T. : Effects of anti-lipid peroxidation of *Cudrania cochinchinensis* var. *gerontogea*. *J. Ethnopharmacol.*, **44**, 179-185 (1994)
12. Chen, F., Nakashima, N., Kimura, I. and Kimura, M. : Hypoglycemic activity and mechanisms of extracts from mulberry leaves (folium mori) and cortex mori radices in streptozotocin-induced diabetic mice. *Akugaku Zasshi.* **115**, 476-82 (1995)
13. Kim, S.Y., Lee, W.C., Kim, H.B., Kim, A.J. and Kim, S.K. : Antihyperlipidemic effects of methanol extracts from mulberry leaves in cholesterol-induced hyperlipidemia in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **27**, 1217-1222 (1998)
14. Wong, S.F., Holliswell, B., Richmond, R. and Skowronek, W.R. : The role of superoxide and hydroxyl radical in the degradation of hyaluronic acid induced by metal ions and by ascorbic acid. *J. Inorganic Biochem.*, **14**, 127-134 (1981)
15. Duncan, D.B. : Multiple range and multiple F tests. *Biometrics*, **1**, 1-42 (1959)
16. Park, P.S., Koh, C.N. and Park, J.Y. : Effects of total dietary restriction on the contents of thiobarbituric acid-reactive substance and antioxidant enzymes in the liver and kidney of rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **28**, 471-476 (1999)
17. Lee, S.J., Shun, J.Y. and Cha, B.G. : Effect of green tea catechin on the microsomal mixed function oxidase system of kidney and brain in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **27**, 319-325 (1998)
18. Shaikh, Z.A. and Lucis, O.J. : Cadmium and zinc binding in mammalian liver and kidney. *Arch. Environ. Health.*, **24**, 419-425 (1972)
19. Suzuki, S., Hinokio, Y., Komatu, K., Ohtomo, M., Onoda, M., Hirai, S., Hirai, M., Hirai, A., Chiba, M., Kasuga, S., Akai, H. and Tovota, T. : Oxidative damage to mitochondrial DNA and its relationship to diabetic complications. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **45**, 161-168 (1999)
20. Sangor, M.R. and Pratt, D.E. : Lipid oxidation and fatty acid changes in beef combined with vegetables and textured vegetable protein. *J. Am. Diet Assoc.*, **64**, 268-270 (1974)
21. Chung, S.K., Kim, Y.C. and Park, S.W. : Antioxidative effects and isolation of antioxidative compound from various Mulberry leaves in Korean. Annual Meeting of Korean Soc. Food Sci. Technol., p.434 (1999)
22. Hirabayashi, K. : Functional food of mulberry and silk worm. *New Food Industry*, **39**, 49-54 (1997)
23. Santiago, L.A., Hiramatsu, M. and Mori, A. : Japanese soybean miso scavenges free radicals and inhibits lipid peroxidation. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **38**, 297-304 (1992)
24. Asai, A., Nakagawa, K. and Miyazawa, T. : Antioxidative effects of turmeric, rosemary and capsicum extracts on membrane phospholipid peroxidation and liver lipid metabolism in mice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **63**, 2118-2122 (1999)
25. Bindol, A., Carallin, L. and Silpandri, N. : Inhibitory action of silymarin of lipid peroxidation formation in rat liver mitochondria and microsomes. *Biochem. Pharmacol.*, **26**, 2405-2409 (1977)
26. Albano, E., Lott, K.A., Slater, T.F., Stier, A., Symons, M.C. and Tomasi, A. : Spin-trapping studies on the free-radical products formed by metabolic activation of carbon tetrachloride in rat liver microsomal fractions isolated hepatocytes and *in vivo* in the rat. *Biochem. J.*, **204**, 593-603 (1982)
27. Maridonneau-Parini, I. and Harpey, C. : Effect of trimetazidine on membrane damage induced by oxygen free radicals in human red cells. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **20**, 148-151 (1985)
28. Esterbauer, H., Puhl, H., Dieber-Rotheneder, M., Waeg, G. and Rabl, H. : Effect of antioxidants on oxidative modification of low density lipoprotein. *Ann. Med.*, **23**, 573-581 (1991)
29. Loughton, M.J., Evana, P.J., Moroney, M.A., Hoult, J.R.S. and Halliwell, B. : Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives. *Biochem. Pharm.*, **42**, 1673-1681 (1991)
30. Park, J.C., Young, H.S. and Choi, J.S. : Constituents of *Cudrania tricuspidata* in Korea. *Yakhak Hoeji*, **36**, 40-45 (1992)
31. Cha, J.Y. and Cho, Y.S. : Effect of potato polyphenolics on lipid peroxidation in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **28**, 1131-1136 (1999)