

뽕나무와 꾸지뽕나무의 수피 수용성 추출물이 콜레스테롤 함유식이 투여 흰쥐의 지질농도 및 과산화지질 농도에 미치는 영향

차재영 · 조영수
동아대학교 생명자원과학부

Effect of Stem Bark Extract from *Morus alba* and *Cudrania tricuspidata* on the Concentrations of Lipid and Tissue Lipid Peroxidation in the Cholesterol-Fed Rats

Jae-Young Cha and Young-Su Cho

Faculty of Natural Resources and Life Science, Dong-A University

Male Sprague-Dawley rats received either a cholesterol diet(Control group) or cholesterol diets supplemented with the water-soluble extract of stem bark from *Morus alba*(M group) or *Cudrania tricuspidata*(C group) at the level of 1% for 2 weeks. Concentrations of total cholesterol and phospholipid in serum of C group and triglyceride in serum of M group were lower than those of control group. Concentration of cholesterol in liver of M and C groups has a tendency to be lower than that of control group. Antioxidative activities of water-soluble extracts from stem bark of *Morus alba* and *Cudrania tricuspidata* on the peroxidation of lipid in tissues of rats were also studied *in vivo* by measuring the formation of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). Concentration of TBARS in kidney of M and C groups was significantly lower than control group. However, concentration of TBARS in liver and brain of C and M groups was significantly higher than in control group. The result that concentration of nonheme iron was significantly increased in liver of the mulberry supplemented groups comparison to control group, suggested that enhanced concentration of nonheme iron was associated with enhanced peroxidation of lipid in this group. Concentration of TBARS in microsomes of liver and brain in control group induced with Fe²⁺/ascorbate increased by reaction time at 37°C, whereas this observation in liver did not occurred in C and M groups. This study suggested that water-extract from stem bark of *Morus alba* and *Cudrania tricuspidata* exert hypotriglycerolemic effect as well as antioxidative effect in kidney and liver microsomes in rats fed a cholesterol diet.

Key words : *Morus alba*, *Cudrania tricuspidata*, antioxidation, hypotriglycerolemic effect

서 론

경제성장의 발달로 풍족한 식생활을 영위하며 식생활 패턴의 변화로 인해 뇌혈관계질환, 심장병, 고혈압, 고지혈증, 동맥경화증 등의 순환기계 질환과 악성종양으로 인한 사망률이 크게 증가하여 큰 사회적 문제로 제기되고 있다⁽¹⁾. 이러한 만성 퇴행성 질환들은 생체내 지질대사와 깊은 관련을 가지고 있으며, 또한 생체내의 산화 스트레스에 의해서 생성된 생체 막 지질과산화물 증가에 의한 대사장애에 기인하여 발병되는 것과는 무관하지 않다^(2,3). 최근, 건강 증진을 위한

생리활성 물질 탐색에 관한 연구가 여러 방향에서 활발하게 진행되고 있으며, 우리가 일상적으로 섭취하고 있는 식품 재료 중에서도 지질 개선효과가 있는 천연성분이 다수 보고됨으로써 뽕을 비롯한 한방식물자원 추출물에도 고지혈증을 개선할 수 있는 성분이 존재 할 것으로 기대된다^(4,5). 또한, 생체 내에서 free radical 형성에 의한 체내의 산화적 손상을 억제시킬 수 있는 항산화 물질이 있다면 이는 순환기계 질환 등 만성질환의 발병률을 낮추는 데에도 크게 기여할 것으로 생각된다.

꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata*) 및 뽕나무(*Morus alba*)는 뽕나무과에 속하는 낙엽교목으로 동아시아에 주로 분포하고 있는데 우리나라에서도 전국 각지에서 자생하고 있다⁽⁶⁾. 꾸지뽕나무 잎, 줄기, 뿌리는 습진, 폐결핵, 만성 요통, 타박상, 급성관절염 등의 한방치료에 사용되고 있으며, 또한 민간에서 열매와 수피는 악창, 강장, 중풍, 이뇨, 진해 등의 치료약으로도 이용되고 있다⁽⁷⁾. 지금까지 이 식물의 약리 작용

Corresponding author : Young-Su Cho, Faculty of Natural Resources and Life Science, Dong-A University, Hadan-2-dong Sahagu, Pusan, 604-714, Korea
Tel : 051-200-7586
Fax : 051-200-7505
E-mail: choys@mail.donga.ac.kr

으로서 항염증작용 및 항균작용⁽⁸⁾, 항산화작용^(9,10), 항당뇨병 작용⁽¹¹⁾, 고지혈증 억제작용^(12,13) 등이 보고되어 있다. 특히 뽕잎에는 플라보노이드 계열의 화합물이 다량으로 함유되어 있어 생체 내 지질과산화 억제 및 고지혈증 등의 성인병에 대한 예방 효과가 있을 것으로 기대 된다^(14,15). 한편, 뽕잎 및 꾸지뽕잎 수용성 추출물이 콜레스테롤을 투여하여 실험적으로 고지혈증을 유발시킨 상태에서 혈청 중성지질 농도 저하작용 및 신장과 간장 microsomes 막에서 과산화지질 농도 저하작용이 보고된 바 있다^(10,13).

본 실험에서는 꾸지뽕나무 및 뽕나무로부터 생리활성 물질을 비교하는 연구의 일환으로 줄기껍질로부터 추출한 수용성물질을 식이중에 1.0% 수준으로 첨가하여 콜레스테롤 투여에 의하여 유도된 흰쥐의 고지혈증 상태에서의 혈청과 간장 지질농도 및 각 조직중의 생체내 지질 과산화물 농도에 미치는 영향에 대하여 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료

실험재료의 일반 뽕나무 줄기껍질은 부산시 사하구 하단동 동아대학교 생명자원과학부 포장에서 재배한 것으로서 1999년 5월에 채취하여 사용하였으며, 꾸지뽕나무 줄기껍질은 1999년 5월에 경남 김해시 생림면에서 야생으로 서식하는 나무로부터 직접 채취하였다. 채취한 시료는 음지에서 잘 건조시켜 잘게 자른 후 10 배량(v/w)의 증류수를 넣어 약 98°C의 수조상에서 3시간 추출을 2회 반복 실시하여 혼합한 용액을 농축한 후 동결건조공정기에서 동결건조 시킨 것을 수용성 추출물로 하였다.

실험동물, 사육조건 및 식이 조성

실험동물로서는 4 주령의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 스테인레스 개별 케이지에 한 마리씩 넣어 사육실 온도 22 ± 2°C, 습도 50 ± 5%, 명암주기 12시간(명주기: 07:00~19:00)이 자동 설정된 동물 사육실에서 사육하였다. 본 실험의 식이 조성은 Table 1과 같으며, 뽕나무 및 꾸지뽕나무 줄기껍질 추출물은 각각 1.0% 수준으로 첨가하였다. 실험동물의 평

Table 1. Composition of experimental diets (%)

Ingredients	Control	<i>Morus alba</i>	<i>Cudrania tricuspidata</i>
Casein	20.0	20.0	20.0
α-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>M. alba</i> stem-bark	0.0	1.0	0.0
<i>C. tricuspidata</i> stem-bark	0.0	0.0	1.0
Sucrose		to make 100	

균 체중이 같도록 실험군당 6마리씩 나누어 콜레스테롤만을 첨가 한 대조군, 대조군 식이에 뽕나무 줄기껍질 추출물 첨가군(M군) 및 꾸지뽕나무 줄기껍질 추출물 첨가군(C군)으로 나누고, 식이와 음료수를 14일간 자유급여 시켰다. 사육 기간중 식이 섭취량은 매일 일정한 시간에 측정하고, 체중은 이틀에 한번씩 측정하였다.

분석시료의 조제

실험 최종일 실험동물들 8시간 절식시킨 후 에테르로 가볍게 마취시켜 복부 대동맥으로부터 채혈하였다. 얻어진 혈액은 약 30분간 실온에서 방치시킨 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 얻어 지질농도 분석에 사용하였다. 각 장기는 적출 한 후 냉각된 생리식염수로 충분히 세척하고 물기를 제거한 다음 장기 무게를 측정하고, -80°C에서 보존하면서 실험분석에 제공하였다.

혈청지질 및 간장 지질 분석

혈청 총 콜레스테롤은 Cholesterol C-test wako kit(Wako Junyaku, Osaka, Japan), 혈청 HDL-cholesterol은 HDL-cholesterol E-test wako kit(Wako Junyaku, Osaka, Japan), 혈청 triglyceride는 Triglyceride E-test wako kit(Wako Junyaku, Osaka, Japan), 혈청 인지질은 Phospholipid C-test wako kit(Wako Junyaku, Osaka, Japan), 혈청 glucose 농도는 glucose oxidase 법에 따라 조제된 시판 kit(Wako Junyaku, Osaka, Japan)를 이용하여 측정하였다. 간장 총 지질은 Folch 등의 방법⁽¹⁶⁾에 준하여 추출하였다. 간장 중성지질 농도는 Triglyceride E-test wako kit(Wako Junyaku, Osaka, Japan)를 이용하여 GPO-DAOS법에 의하여 측정하였다. 간장 총 콜레스테롤은 Cholesterol C-test wako kit(Wako Junyaku, Osaka, Japan)를 이용하여 cholesterol oxidase-DAOS법으로 측정하였다. 간장 인지질 농도는 Bartlett의 방법⁽¹⁷⁾으로 정량 하였다.

각 조직의 homogenate 및 microsome 분획의 조제

실험 최종일 8시간 절식시킨 동물에서 적출 한 조직을 일 정량 취하여 1.15% KCl-10 mM phosphate buffer(pH 7.4)를 가하여 균질화 시켰다. 이 용액의 일부를 homogenate 분획으로 하고, 나머지 용액을 4°C로 설정된 냉각원심분리기(Kubota, KR-20000 T, Tokyo, Japan)로 12,000 rpm에서 20분간 원심분리 한 후 상등액을 4겹의 거즈로 여과하고, 여액을 4°C로 설정된 초원심분리기(Hitachi 55p-72, Tokyo, Japan)에서 45,000 rpm으로 45분간 원심분리하여 침전된 분획물에 1.15% KCl-10 mM phosphate buffer(pH 7.4)을 가하여 microsome 분획으로 하였다. 이렇게 얻어진 분획의 단백질량은 BCA protein assay kit(Pierce, Illinois, U.S.A.)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⁽⁹⁾에 준하여 정량 하였다. 즉, 단백질 량으로 1 mg을 함유한 각 조직 microsome 용액 1 mL에 각각 thiobarbituric acid(TBA) 시약 2 mL을 가하여 잘 혼합하고, 수조상에서 30분간 가열한 후 실온에서 식

했다. 이를 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 후 상등액을 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 조직의 지질 과산화물 함량은 malondialdehyde를 nmol/g으로 나타내었다.

Fe²⁺/ascorbate에 유도된 각 조직 microsome의 지질 과산화물 함량 정량

지질 과산화물 함량 정량은 Wong 등의 방법⁽¹⁸⁾에 따라 간 microsome 분획(mg/ml 단백질) 0.1 mL, 0.1 mM ascorbate 0.1 mL 및 5 mM FeSO₄ 0.1 mL를 차례로 가하여 반응액을 잘 혼합한 후 37°C의 shaking water bath에서 반응을 시키지 않은 것(0 h)과 1시간 반응시킨 것(1 h)으로부터 생체막 지질과산화물을 유도시켰다. 반응 후 3 M trichloroacetic acid와 2.5 N HCl의 혼합용액 0.5 mL를 가하고 3,000 rpm으로 10분간 원심분리한 후 상등액 1 mL를 취하여 0.67% TBA 시약 1 mL를 가하여 혼합하고 끓는 물 속에서 30분간 가열하여 발색시켰다. 냉각 후 533 nm에서 흡광도를 측정하여 각 조직 microsome 분획의 지질 과산화물 함량을 malondialdehyde nmol/g로 나타내었다.

비헴철 및 아연 함량 측정

간장의 비헴철 및 아연 함량 측정은 우 등의 방법⁽¹⁹⁾에 따라 전처리 한 후 원자흡수 분광분석기(Perkin Elmer AAnalyst 300, USA)로 측정하였다.

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⁽²⁰⁾.

결과 및 고찰

체중, 식이 섭취량 및 식이 효율에 미치는 영향

뽕나무 및 꾸지뽕나무의 줄기껍질 수용성 추출물을 콜레스테롤 첨가 식이에 각각 1.0% 수준으로 첨가하여 2주일간 섭취시킨 결과, 체중 증가량, 식이 섭취량 및 식이 효율은 실험 군간에 차이는 없었다(Table 2). 전보⁽¹⁰⁾에서 뽕잎 및 꾸지뽕잎 수용성 추출물 투여에 의해서도 체중의 변화는 관찰되지 않았다. 한편 흰쥐에 콜레스테롤 식이를 2주간 투여한 후 뽕잎 매탄을 추출물을 2주간 병합 투여에 의해서는 체중 증가량이 감소하였다고 보고하였는데⁽¹²⁾, 이러한 차이는 추출용매의 차이에 의한 생리활성 작용의 결과 때문인 것으로 사료된다.

각 장기 중량에 미치는 영향

간조직의 상대적 중량비(g/kg body weight)는 콜레스테롤만을 투여한 대조군에 비교해서 C군 및 M군에서 감소경향을 나타내었다(Table 3). 이전의 실험에서도 콜레스테롤만을 투여한 대조군에 비교해서 꾸지뽕잎 수용성 추출물 첨가군에서 간조직 무게가 감소경향을 보여 꾸지뽕나무의 잎 및 줄기껍질 수용성 추출물은 동일한 결과를 얻었다⁽¹⁰⁾. 뇌 조직의 상대적 중량비는 대조군에 비교해서 M군에서 유의적으로 증가하였으나, C군과는 차이가 없었다. 그러나, 신장 및 심장

조직 무게는 각 실험 군간의 유의적인 차이는 없었다.

혈청 지질 농도에 미치는 영향

혈청 지질 농도의 변화는 Table 3과 같이, 중성지질 농도는 대조군에 비교해서 M군에서는 유의적으로 감소하였고, C군에서는 감소경향을 보였다. 이전의 실험에서 혈청 중성지질이 콜레스테롤만을 투여한 대조군에 비해 뽕잎 수용성 추출물 병합투여군에서는 감소경향을 보였고, 꾸지뽕잎 수용성 추출물 병합투여군에서는 유의적인 감소를 보여 껍질 수용성 추출물과는 다른 경향을 보였다⁽¹³⁾. 혈중의 지질량은 심혈관계 질환의 동맥경화, 고혈압, 심장병, 고지혈증 등의 진단 지표로 사용되고 있는데, 특히 고콜레스테롤혈증이 이들 혈관계 질환에서 주된 위험 인자로 지적되고 있다⁽²¹⁾. 또한, 고중성지질혈증과 저HDL-콜레스테롤혈증도 이들 질환의 위험 인자로 최근에 주목 받게되어 유럽과 미국 등에서 새로운 임상 지침이 설정되어^(22,23), 혈중 중성지질 농도를 감소시키는 시도가 다방면에서 활발하게 전개되고 있다^(4,13,24). 최근 천연 식물자원을 대상으로 이러한 지질 저하작용을 가진 생리활성 물질을 탐색하는 연구가 활발히 진행되어, 감자 추출물⁽⁴⁾, 뽕잎⁽²⁵⁾, 감귤류 과피⁽²⁴⁾, 옷나무⁽²⁶⁾, 한방약재⁽²⁷⁾ 등에서 이들 효과가 보고된 바 있다. 한편, 건강한 성인을 대상으로 한 실험 및 동물실험에서도 뽕잎 분말 및 용매 추출물의 투여로 혈중 중성지질 농도가 감소하였다고 보고된 바 있다⁽¹²⁾. 뽕나무로부터 생리활성을 나타내는 성분으로는 quercetin, kaempferol, chlorogenic acid, arthocarpesin, caffeic acid 등의 플라보노이드류가 함유되어 있는 것으로 동정되었다^(14,15). 뽕나무 추출물을 비롯한 대부분의 한방성분 추출물의 생리활성 성분이 polyphenol계 화합물인 것으로 미루어 볼 때 생체내 지질 대사에 영향을 미치는 주성분도 이들 화합물에 기인하는 것으로 생각되며, 그 대표적인 성분으로는 baicalin, baicalein, wogonin, quercetin, kaempferol, catechin, hesperetin 등이 알려져 있다^(15,24,27). 본 실험에서 뽕나무 추출물에 의한 혈장 중성지질 농도의 감소도 이러한 polyphenol계 화합물에 의한 것으로 추측된다.

혈청 총 콜레스테롤 농도는 대조군에 비해서 M군에서는 증가경향을 나타내었고, C군에서는 저하경향을 나타내어 C군 및 M군 사이에서는 유의적인 차이를 보였다. 한편, HDL-콜레스테롤 농도는 각군간에 유의적인 차이는 없었다. 콜레스테롤을 투여하여 실험적 고지혈증을 유발시킨 흰쥐에 뽕잎 매탄을 추출물 병합투여에 의해서는 혈청 총 콜레스테롤 농도가 저하되었다고 한다⁽¹²⁾. 이전의 실험에서 뽕나무 및 꾸지뽕나무 잎의 수용성 추출물에서 본 실험과 비슷한 경향을 보여 뽕나무 종류에 의한 영향을 반영한 것으로 시사되었다⁽¹³⁾. 혈청 인지질 농도는 대조군에 비해 C군에서 유의적인 감소를 나타내었다. 따라서 혈청 지질농도의 변화를 보면 C군에서 중성지질, 총 콜레스테롤, 인지질 농도가 저하되어 혈중으로의 지질분비 감소에 기인하는 것으로 시사되었다.

혈청중의 포도당 농도는 각군간에 유의적인 차이는 없었다(Table 3). 그러나 전보에서와 같은 조건에서 실험한 뽕나무 잎 수용성 추출물 투여군에서 혈당치가 약 207 mg/100 mL으로 나타났는데, 본 실험에서는 뽕나무 줄기껍질 수용성 추출물 투여군에서는 165±2 mg과 꾸지뽕나무 줄기껍질 수

Table 2. Effect of stem bark extract from *Morus alba* and *Cudrania tricuspidata* on body weights, food intakes and tissues weights in cholesterol-fed rats

Ingredients	Control	<i>M. alba</i>	<i>C. tricuspidata</i>
Initial body weight (g)	133.54 ± 3.10	133.04 ± 2.61	132.48 ± 1.64
Final body weight (g)	259.84 ± 9.11	255.46 ± 4.23	261.04 ± 4.62
Food intake (g/day)	22.10 ± 1.05	21.95 ± 0.50	22.69 ± 0.78
Food efficiency	0.41 ± 0.02	0.40 ± 0.01	0.41 ± 0.01
Tissue weight (g/100 g body weight)			
Liver	5.63 ± 0.19 ^{ab}	5.47 ± 0.19 ^a	5.28 ± 0.23 ^a
Brain	0.57 ± 0.03 ^b	0.69 ± 0.03 ^a	0.58 ± 0.03 ^b
Kidney	0.87 ± 0.02	0.89 ± 0.03	0.92 ± 0.01
Heart	0.42 ± 0.01	0.45 ± 0.02	0.45 ± 0.01

Values are means ± SE of six rats per group. Between the groups, values with different letters are significantly different at p < 0.05.

Table 3. Effect of stem bark extract from *Morus alba* and *Cudrania tricuspidata* on the lipid contents of serum and liver in cholesterol-fed rats

Ingredients	Control	<i>M. alba</i>	<i>C. tricuspidata</i>
Serum lipid (mg/100 mL)			
Triglyceride	104.58 ± 7.89 ^b	79.11 ± 1.34 ^a	89.83 ± 7.22 ^{ab}
Total Cholesterol	100.00 ± 3.57 ^{ab}	112.59 ± 6.69 ^b	90.49 ± 5.30 ^a
HDL-Cholesterol	36.82 ± 3.25	35.23 ± 1.39	33.52 ± 2.94
Phospholipid	129.8 ± 8.76 ^b	123.16 ± 2.12 ^{ab}	108.83 ± 4.00 ^a
Serum Glucose (mg/100 mL)	173.93 ± 12.83	165.25 ± 12.18	180.49 ± 12.90
Liver lipid (mg/g)			
Triglyceride	59.36 ± 5.81	61.11 ± 3.97	69.32 ± 9.70
Cholesterol	32.60 ± 1.41 ^{ab}	27.55 ± 1.74 ^a	27.35 ± 2.31 ^a
Phospholipid	25.08 ± 0.97	27.64 ± 1.06	27.69 ± 1.00

Values are means ± SE of six rats per group. Between the groups, values with different letters are significantly different at p < 0.05.

용성 추출물 투여군에서는 180 ± 4 mg으로 상당히 낮았다. 따라서 혈청중의 포도당 농도에 미치는 영향은 식이중에 콜레스테롤 첨가 조건에서는 뽕나무과 잎 추출물보다 줄기껍질 추출물에서 더욱 효과가 있는 것으로 나타났다⁽¹³⁾.

간장에서 콜레스테롤 농도는 대조군에 비해 C군 및 M군에서 저하경향을 나타내었다(Table 3). 전보⁽¹³⁾에서는 간장에서 콜레스테롤 농도가 대조군에 비해 뽕잎 추출물군에서는 유의적으로 감소하였고, 꾸지뽕잎 추출물군과는 차이가 없는 것으로 나타나 뽕나무 부위별로 약간의 차이가 있었다. 간장에서의 콜레스테롤 합성에 관여하는 HMG-CoA reductase 활성은 뽕잎 메탄올 추출물 첨가구에서 활성 억제가 보고된 바 있다⁽¹²⁾. 따라서, 뽕잎 및 줄기껍질 추출물에 의한 콜레스테롤 농도의 감소는 콜레스테롤 생합성 억제가 한 기작으로 추측할 수 있지만 콜레스테롤 합성 관련효소의 활성 및 흡수 그리고 분변 중으로의 배설에 대해서도 보다 구체적인 실험이 요구된다. 간장에서의 중성지질 및 인지질 농도는 각군간에 유의적인 차이가 인정되지 않았다(Table 3).

지금까지의 실험 결과에서 뽕나무에 비교해서 꾸지뽕나무의 수용성 추출물이 흰쥐의 혈청 중성지질, 총 콜레스테롤 및 인지질 농도의 저하효과가 큰 것으로 인정되었다.

흰쥐 각 조직중의 지질 과산화물 함량에 미치는 영향

지질 과산화 반응은 여러 가지 독성 화합물이나 약물 또

는 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 TBARS 함량을 측정한 결과는 Table 4와 같다. 각 조직에 있어서 지질 과산화물의 상대적 함량은 뇌, 신장, 심장, 간장의 순으로 나타났다. 본 실험에 있어서 특히적으로 신장의 지질 과산화물 함량은 대조군에 비교해서 C군 및 M군에서는 유의적으로 감소하였다. 전보⁽¹⁰⁾에서도 뽕잎 및 꾸지뽕잎 추출물군에서 신장의 지질 과산화물 함량이 감소하여 뽕나무 각 부위의 추출물에서 신장의 과산화 지질 생성을 감소시키는 작용이 있는 것으로 시사되었다. 단기적인 절식 흰쥐의 간장과 신장에서의 TBARS함량은 간장 조직에서 높았으며⁽²⁸⁾, streptozotocin 유발 당뇨병 쥐의 신장과 뇌 조직의 상대적 TBARS 함량은 뇌 조직에서 높은 값⁽²⁹⁾을 나타내어 본 실험의 결과와 일치하였다. 또한, 정상 흰쥐에 비해서 당뇨병 쥐에서 신장 TBARS는 2배정도 증가하였으나 녹차 catechin 첨가에 의해서는 유의적으로 감소하였다고 보고한 바 있다⁽²⁹⁾. 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

Table 4. Effect of stem bark extract from *Morus alba* and *Cudrania tricuspidata* on the TBARS content of tissues in cholesterol-fed rats

Ingredients	Control	<i>M. alba</i>	<i>C. tricuspidata</i>
Liver	100.16 ± 9.20 ^a	184.56 ± 8.49 ^b	170.67 ± 8.45 ^b
Brain	143.36 ± 11.07 ^a	255.05 ± 25.98 ^b	286.39 ± 27.55 ^b
Kidney	125.43 ± 7.06 ^b	98.88 ± 7.50 ^a	91.12 ± 3.90 ^a
Heart	110.59 ± 9.88 ^{ab}	109.58 ± 8.21 ^{ab}	85.79 ± 7.34 ^a

TBARS (nmol/g tissue)

Values are means ± SE of six rats per group.

Between the groups, values with different letters are significantly different at p < 0.05.

Thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) in the tissues homogenates were measured as described in the Materials and Methods.

Table 5. Effect of stem bark extract from *Morus alba* and *Cudrania tricuspidata* on the nonheme iron and zinc contents of liver in cholesterol-fed rats

Ingredients	Control	<i>M. alba</i>	<i>C. tricuspidata</i>
		(ppm)	
Fe	0.63 ± 0.06 ^a	0.94 ± 0.05 ^{ab}	1.49 ± 0.25 ^b
Zn	0.25 ± 0.02 ^{ab}	0.28 ± 0.01 ^b	0.22 ± 0.01 ^a

Values are means ± SE of six rats per group.

Between the groups, values with different letters are significantly different at p < 0.05.

혈액 속에 들어있는 독성물질에 노출될 기회가 많기 때문에 체내에서 이들의 주된 축적 부위로 알려져 있으며, 이 때문에 항산화계가 저하되어 지질 과산화물을 생성하는데 좋은 환경을 제공함으로써 조직의 손상을 초래할 수가 있다⁽³⁰⁾. 당뇨 및 만성신부전 실험 모델에서 세포내 산화 스트레스 증가에 의한 신장, 간장 및 혈액에서 지질 과산화물의 증가, 특히 DNA의 산화적 손상 지표인 노 중의 8-hydroxydeoxyguanosine(8-OHdG) 생성증가는 신장에서도 기능장애가 일부 일어난 것을 암시해줄 수 있다⁽³¹⁾. 따라서 본 실험의 결과에서 뽕나무 및 꾸지뽕나무 껍질추출물이 신장의 과산화물 생성을 억제시키는 것은 산화적 손상을 일으키는 원인 물질인 free radical 생성을 억제시킬 수 있는 가능성이 있기 때문에 이들과 밀접하게 관련되어있는 질환의 발병을 예방 또는 치료할 수 있는 생리활성 물질로서 작용할 가능성이 있다.

한편, 뇌 및 간장 조직의 지질 과산화물 함량은 대조군에

비해서 C군 및 M군에서 유의적으로 증가하였다. 생체의 조직 중에서 신장은 한방성분 등의 추출물에 의해서 나타날 수 있는 부작용을 쉽게 받을 수 있는 조직으로 보고된 바 있는데⁽³²⁾, 이는 추출 성분에 의한 영향이 다른 어떤 조직보다도 민감하게 반응할 수 있을 가능성이 높기 때문에 본 실험에서도 신장에서 항산화 효과가 있는 것으로 예상할 수 있다. 본 실험에 사용한 추출물은 가장 보편적인 식용방법인 열수 추출물로서 다른 유기 용매 추출물보다 예상효과가 낮을 것으로 추측할 수 있으며, 꾸지뽕나무 성분인 naringenin 7-O-β-D-glucopyranoside⁽¹⁵⁾는 항산화 실험에서 비교적 낮은 활성을 나타내고, 또한 추출물에 함유된 성분이 생체내에 흡수된 후 항산화 효과를 나타낼 수 있는 일정량 이하의 낮은 농도에서는 오히려 지질 과산화를 촉진시킬 수 있는 가능성이 있지만⁽³³⁾, 이들에 대한 정확한 기작과 영향에 대해서는 추후 실험을 통해 첨가 농도별 흰쥐 조직에서의 항산화 효과를 밝혀야 할 것으로 사료된다.

비헴철 및 아연 함량 측정

천연에 존재하는 필수 미량원소로 지방산화를 촉진시키는 물질로 알려져 있는 철은 체내 H₂O₂를 제거하는 catalase의 구성성분이며, 체내의 비타민 C의 함량과 H₂O₂의 농도차에 의해서 지질 과산화 반응에 영향을 미치는 것으로 보고된 바 있어 생체내 지질과산화 반응을 조사하는데 있어서 비헴철 함량 측정은 중요하다. 간장의 비헴철 함량은 대조군에서 0.63 ppm, 뽕나무 껍질 추출물군에서 0.94 ppm 및 꾸지뽕나무 껍질 추출물군에서 1.49 ppm으로 나타났다. 간장중의 지

Table 6. Effect of stem bark extract from *Morus alba* and *Cudrania tricuspidata* on the TBARS contents of tissue microsomes in cholesterol-fed rats

Ingredients		Control	<i>M. alba</i>	<i>C. tricuspidata</i>
Liver	0 h	61.62 ± 1.30	63.72 ± 1.72	64.85 ± 3.32
	1 h	115.84 ± 2.65 ^c	68.64 ± 3.28 ^a	85.39 ± 3.86 ^b
Brain	0 h	25.49 ± 1.52	22.35 ± 1.93	26.26 ± 2.13
	1 h	60.17 ± 4.06	55.21 ± 1.32	61.64 ± 0.77
Kidney	0 h	27.57 ± 1.84	26.00 ± 2.34	28.98 ± 1.63
	1 h	31.13 ± 1.33 ^a	29.54 ± 1.44 ^a	39.46 ± 2.76 ^b
Heart	0 h	37.99 ± 3.16 ^b	31.20 ± 2.25 ^a	32.74 ± 2.19 ^{ab}
	1 h	41.06 ± 3.72 ^b	38.30 ± 3.60 ^b	32.74 ± 2.19 ^a

TBARS (nmol/g tissue) Values are means ± SE of six rats per group.

Between the groups, values with different letters are significantly different at p < 0.05.

Thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) in the tissue microsomes were measured before(0 h) or after(1 h) the reaction of Fe²⁺/ascorbate-induced lipid peroxidation as described in the Materials and Methods.

질과산화물 함량은 철분 함량에 의해 영향을 받는다는 결과가 보고된 바 있다^(34,35). 따라서 본 실험에서도 대조군에 비해 뽕나무과 투여군에서 간장중의 비헴철 함량과 *in vivo*계의 지질 과산화물 함량이 증가하여 이전의 결과와 일치하였다^(32,33).

Microsome막 지방산 산화계를 이용한 항산화 실험

각 군의 흰쥐 조직으로부터 분획한 microsome에 Fe²⁺/ascorbate를 첨가하여 37°C에서 반응을 시키지 않은 것(0 h)과 한시간 동안 반응을 시킨 것(1 h)으로부터 지질 과산화물을 측정된 결과는 Table 6과 같다. 간장 조직의 microsome 지질 과산화물은 각 군간에 유의적인 차이는 없었다. 그러나, Fe²⁺/ascorbate를 첨가하여 1시간 반응시킨 간장 및 뇌 조직 microsome의 지질 과산화물은 대조군에서 188% 및 236%, 뽕나무 껍질 추출물군에서 108% 및 247% 및 꾸지뽕나무 껍질 추출물군에서 132% 및 235%로 각각 증가하여 다른 조직에서 보다 현저하였다. 한편 간장 microsome에 Fe²⁺/ascorbate 첨가 1시간 반응에서는 대조군에 비해 뽕나무 껍질 추출물군에서 59.3% 및 꾸지뽕나무 껍질 추출물군에서 73.6% 수준을 나타내어 유의적인 차이를 보였으나, 뇌 microsome에서는 각 군간에 차이는 없었다. 흰쥐 대뇌 피질의 homogenate 분획을 FeCl₂와 ascorbate로 지질 과산화를 유도하기 위하여 37°C에서 15분간 반응시켰을 때 반응시키지 않은 것보다 약 6배정도 증가하였다고 보고한 바 있다⁽³⁶⁾. 또한 turmeric, rosemary 및 capsicum의 추출물 1% 첨가 식이를 섭취시킨 마우스의 간장 homogenate 분획을 Fe²⁺/ascorbate로 지질 과산화물을 유도하기 위하여 37°C에서 반응을 시키지 않고 측정하였을 때는 각 군간에 유의적인 차이가 없었으나, 30분간 반응에서는 대조군에서 약 2.5배 증가하였고, turmeric 및 capsicum 추출물 첨가군에서는 약 절반 정도 감소를 나타내었다⁽³⁵⁾. 동일 실험계에서 신장 microsome에서 지질과산화물은 각 군간에 차이가 없었으나, 37°C 한시간 반응에서는 대조군에 비해 C군에서 유의적으로 증가하였고, 심장 microsome에서는 무반응 및 반응에서 각각 대조군에 비해 C군에서 유의적으로 감소하였다.

흰쥐에서 간장 mitochondria 및 microsome 분획에서의 플라보노이드 항산화 작용은 생체막의 지질과산화를 방지하는 oxygen-free radical scavenging 효과에 의한 것으로 알려져 있다⁽³⁷⁾. 본 연구에서 사용된 수용성 추출물 중에도 항산화 활성을 가진 플라보노이드류 등의 성분이 존재 할 것으로 예상되기 때문에 *in vivo*계에서 과산화지질물을 억제시키는 활성 인자를 탐색해 내는 부가적인 연구가 필요할 것으로 생각되어 진다.

이상의 실험에서 뽕나무 및 꾸지뽕나무 껍질 추출물에는 혈청 중성지질의 감소작용 및 신장 항산화 효과와 같은 유의한 작용뿐만 아니라 간장과 뇌 조직에서 과산화 지질의 촉진작용과 같이 유익하지 못한 면도 있으므로 실제적 임상에 적용할 경우에는 사용상의 많은 주의를 요구하게 된다.

요 약

콜레스테롤 함유식이(대조군)에 뽕나무(M군) 및 꾸지뽕나

무(C군) 줄기껍질 수용성 추출물을 첨가하여 흰쥐에 급여시킨 후 혈청과 간장 지질 농도 및 각 조직중의 지질과산화물 함량에 미치는 영향을 검토하였다. 혈청 중성지질 농도는 대조군에 비교해서 M군에서는 유의적으로 감소하였고, C군에서는 감소경향을 보였다. C군에서 혈청 총 콜레스테롤 및 인지질 농도 및 M군에서 혈청 중성지질 농도는 대조군에 비해서 각각 저하하였다. 간장 콜레스테롤 농도는 대조군에 비해 C군 및 M군에서 저하경향을 나타내었으나, 중성지질 및 인지질 농도는 각군간에 유의적인 차이는 없었다. 흰쥐 각 조직의 생체막 지질과산화물 생성 정도의 지표인 TBARS의 상대적 농도는 뇌, 신장, 심장, 간장의 순으로 나타났다. 신장의 지질 과산화물 함량은 대조군에 비교해서 C군 및 M군에서는 유의적으로 감소하였으나, 뇌 및 간장의 지질 과산화물 농도는 오히려 유의적으로 증가하였다. 간장의 비헴철 함량은 대조군에 비해서 C군 및 M군에서 유의적으로 증가하였으며, 이러한 증가는 간장 지질 과산화물 함량 증가와 깊이 관련되는 것으로 시사되었다. 흰쥐 조직으로부터 분획한 microsome에 Fe²⁺/ascorbate를 첨가하여 37°C에서 반응을 시키지 않은 것(0 hr)으로부터 지질 과산화물을 측정된 결과에서는 각 군간에 유의적인 차이는 없었으나, Fe²⁺/ascorbate를 첨가하여 1시간 반응시킨 간장 및 뇌 조직 microsome의 지질 과산화물은 대조군에서 현저히 증가하였다. 한편 간장 microsome에 Fe²⁺/ascorbate 첨가 1시간 반응에서는 대조군에 비해 C군 및 M군에서 유의적으로 감소하였으나, 뇌 조직에서는 이러한 효과가 없었다. 이상의 결과에서 뽕나무 및 꾸지뽕나무 줄기껍질 수용성 추출물에는 혈청 중성지질 저하 작용 뿐만아니라 신장 및 간장 microsome의 지질과산화물 농도 저하작용이 인정되었다.

문 헌

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. and Cho, Y.S. Effect of potato polyphenolics on hyperlipidemia in rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 29: 274-279 (1999)
5. Yugarani, T., Tan, B.K.H., Teh, M. and Das, N.P. Effects of polyphenolic natural products on the lipid profiles of rats fed high fat diets. Lipids 27: 181-186 (1992)
6. Lee, C.B. Dehanshikmuldogam, Hyangmoonsha, p. 285 (1985)
7. Kangjoshineuihakwon: In 'Jungyakdesajon', 2nd Ed., Sohakkyan Pubilsing Co., p. 2383 (1985)
8. Ottersen, 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 chochinensis*. Acta. Chem. Scand [B]. 31: 434-436 (1977)
9. Cha, J.Y., Kim, H.J., Chung, C.H. and Cho, Y.S. Antioxidative activities and contents of polyphenolic compound of *Cudrania tricuspidata*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 28: 1310-1315 (1999)
10. Cha, J.Y., Kim, H.J. and Cho, Y.S. Effect of water-soluble extract from leaves of *Morus alba* and *Cudrania tricuspidata* on the lipid peroxidation in tissues of rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 29:

- 531-536 (2000)
11. Chen, F., Nakashima, N., Kimura, I. and Kimura, M. Hypoglycemic activity and mechanisms of extracts from mulberry leaves (*Folium mori*) and cortex mori radiceis in streptozotocin-induced diabetic mice. *Ykugaku Zasshi*. 115: 476-82 (1995)
 12. Kim, S.Y., Lee, W.C., Kim, H.B., Kim, A.J. and Kim, S.K. Anti-hyperlipidemic effects of methanol extracts from mulberry leaves in cholesterol induced hyperlipidemia in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 27: 1217-1222 (1998)
 13. Cha, J.Y., Kim, H.J., Jun, B.S. and Cho, Y.S. Effect of water extract of leaves from *Morus alba* and *Cudrania tricuspidata* on the lipid concentration of serum and liver in rats. *Agric. Chem. Biotechnol.* 43: 303-308 (2000)
 14. 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)
 15. 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)
 16. Folch, J., Lees, M. and Sloane-Starley, G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226: 497-509 (1957)
 17. Bartlett, G.R. Colorimetric assay methods for free and phosphorylated glyceric acids. *J. Biol. Chem.* 234: 469-471 (1959)
 18. Wong, S.F., Holliwel, 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)
 19. Woo, S.J. and Ryu S.S. Preparation method for atomic absorption spectrophotometry of food samples. *Korean J. Food Sci. Technol.* 15: 225-230 (1983)
 20. Duncan, D.B. Multiple range and multiple F tests. *Biometrics*. 1: 1-42 (1959)
 21. Inkeles, S. and Eisenberg, D. Hyperlipidemia and coronary atherosclerosis. *Medicine (Baltimore)* 60: 110-123 (1981)
 22. Manninen, V., Tenkanen, L., Koskinen, P., Huttunen, J.K., Mänttari, M., Heinonen, O.P. and Frick, M.H. Triglycerides and LDL-cholesterol concentrations on coronary heart disease risk in the Helsinki Heart Study. *Circulation*. 85: 37-45 (1992)
 23. Assmann, G. and Schulth, H. Relation of HDL-cholesterol and triglycerides to incidence of atherosclerotic coronary heart disease (The PROCAM Experiment). *Am. J. Cardiol.* 70: 733-737 (1992)
 24. Cha, J.Y., Lee, J.W., Lee, Y.C. and Cho, Y.S. Effects of citrus aglycone flavonoids, hesperetin and naringenin, on triacylglycerol metabolism in hamsters fed with a cholesterol diet. *Inter. J. Oriental Med.* 1: 28-36 (2000)
 25. Oh, U.J., Kim, G.P., Cho, Y.W., Chung, S.H. and Gu, S.J. Effect of beverage containing extract from mulberry leaves on serum glucose and lipid levels in db/db mouse. *Annual Meeting of Korean Soc. Food Sci. Technol.* Seoul, p. 430 (1999)
 26. Kalergis, A.M., Lopez, C.B., Becker, M.I., Diaz, M.I., Sein, J., Garbarino, J.A. and De Ioannes, A.E. Modulation of fatty acid oxidation alters contact hypersensitivity to urushiols: role of aliphatic chain beta-oxidation in processing and activation of urushiols. *J. Invest. Dermatol.* 108: 57-61 (1996)
 27. Yotsumoto, H., Yanagita, T., Yamamoto, K., Ogawa, Y., Cha, J.Y. and Mori, Y. Inhibitory effect of Oren-Gedoku-to and its components on cholesteryl ester synthesis in cultured human hepatocyte HepG2 cells. Evidence from the cultured HepG2 cells and *in vitro* assay of ACAT. *Planta Med.* 63: 141-145. (1997)
 28. 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)
 29. Lee, S.J., Shin, 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)
 30. Shaikh, Z.A. and Lucis, O.J. Cadmium and zinc binding in marmoset liver and kidney. *Arch. Environ. Health.* 24: 419-425 (1972)
 31. Suzuki, S., Hinokio, Y., Komatu, K., Ohtomo, M., Onoda, M., Hirai, S., Hirai, M., Hirai, A., Chiba, M., Kasuga, S., Akai, H. and Toyota, T. Oxidative damage to mitochondrial DNA and its relationship to diabetic complications. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 45: 161-168 (1999)
 32. Lin, J.L. and Ho, Y.S. Flavonoid-induced acute nephropathy. *Am. J. Kidney Disease.* 23: 433-440 (1994)
 33. 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)
 34. Rouach, H., Fataccioli, V., Gentil, M., French, S.W., Morimoto, M. and Nordmann, R. Effect of chronic ethanol feeding on lipid peroxidation and protein oxidation in relation to liver pathology. *Hepatology* 25: 351-355(1997)
 35. Chiba, H., Takasaki, M., Masuyama, R., Uehara, M., Kanke, Y., Suzuki, K. and Goto, S. Time course of change in hepatic lipid peroxide level in iron-deficient rats. *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.* 51: 201-206 (1998)
 36. 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)
 37. Bindol, A., Carallin, L. and Silipandri, N. Inhibitory action of silymarin on lipid peroxidation formation in rat liver mitochondria and microsomes. *Biochem. Pharmacol.* 26: 2405-2409 (1977).

(2000년 10월 24일 접수)