

녹차, 메밀, 포도잎 추출물이 고콜레스테롤 급여 흰쥐의 지질대사, TBARS 및 혈액응고에 미치는 영향

김영언* · 오세욱 · 권은경 · 한대석 · 김인호 · 이창호
한국식품연구원

Effects of Green Tea, Buckwheat and Grape Leaves Extracts on Lipid Metabolism, Antioxidative Capacity, and Antithrombotic Activity in Rats Fed High Cholesterol Diets

Young-Eon Kim*, Se-Wook Oh, Eun-Kyung Kwon, Daeseok Han, In-Ho Kim, and Chang-Ho Lee
Korea Food Research Institute

Effects of green tea, buckwheat, and grape leaf extracts on factors related to blood circulation were studied using rats fed high-cholesterol diet for 4 weeks. Rats were randomly divided into five groups, and plant extracts were orally administered. Green tea extract increased bleeding time in rat tails, suggesting it could prevent platelet aggregation. Administration of green tea, buckwheat, and grape leaf extracts decreased total cholesterol level in liver. Grape leaf extracts decreased thiobarbituric acid-reactive substances in plasma, whereas buckwheat and grape leaf extracts decreased the substances in liver. These results showed extracts of green tea, buckwheat, and grape leaf were effective for improving lipid composition in blood and liver and inhibiting lipid peroxidation in animal tissue, suggesting they may have potential to prevent cardiovascular diseases.

Key words: green tea, buckwheat, grape leaf, cardiovascular disease

서 론

최근 우리나라는 급속한 경제성장과 외국과의 빈번한 교류로 식생활과 생활양식의 많은 변화가 있었으며, 질병의 양상 또한 소위 선진국형으로 급격히 변화하고 있다. 과거의 영양부족으로 인한 질환은 감소하였으나 비만, 관상동맥질환, 당뇨, 암과 같은 영양과잉이나 영양불균형에서 오는 만성 퇴행성 질환은 지속적으로 증가하였다. 보건복지부가 발간한 '2003 보건복지통계연보'에 따르면 2002년에 인구 10만명 당 암으로 인한 사망자가 131.9명에 달했고 이어 뇌혈관질환(77.2명), 심장질환(36.2명) 등과 같은 혈액순환기계 질환으로 인한 사망자가 주요 사망원인의 2, 3위를 차지하고 있으며(1) 혈액순환 관련 환자는 80년대 초와 비교할 때 7배 정도로 급증하고 있다.

이와 더불어 65세 이상의 노인성 인구가 급격하게 증가하고 있고 식생활에서 기인하는 소위 성인병이 단지 노인에만 국한되는 것이 아니고 어린이에게까지 확대되고 있어 의료비와 연금 등 사회복지비의 부담이 날로 가중되고 있다(2).

허혈성 뇌손상은 혈액순환에 의존적인데 뇌로 혈액을 공급하는 혈관에 여러 가지 병리학적 이상이 발생되어 정상적 뇌혈류(50 mL/g/min)의 장애가 초래되면 일과성 뇌허혈증(transient cerebral ischemia)으로부터 완전 뇌졸중(complete stroke)으로 급속히 발전하게 되며, 2003년 우리 나라 인구 10만명 당 77.2명이 뇌졸중으로 사망한 것으로 보고되고 있다(1,3). 허혈성 뇌졸중은 갑자기 발생하고, 신경학적 이상을 동반하며 단시간 내 급격하게 질병의 경과가 진행되어 응급 치료법인 색전 용해술에 의해서도 완전 치유가 불가능하고 사망에 이르지 않더라도 부작용 및 후유증이 초래되어 직접, 간접적으로 심각한 사회, 경제적인 손실까지 야기되고 있으므로 예방이 매우 중요하게 인식되고 있다(4,5). 허혈성 뇌손상은 주로 혈청 콜레스테롤의 증가, 고혈압, 심장질환 등 혈류량의 변화를 야기시키는 위험인자들의 제거에 주력하는 일차적 예방과 질환의 발생 후 악화를 예방하는 이차적 예방으로 나누어 볼 수 있는데, 특히 혈류의 개선은 허혈성 뇌졸중을 포함한 혈액순환기계 관련 질환의 예방을 위해서는 필수적으로 연구되어야 한다(6).

이러한 상황에서 혈액순환기계 질환을 예방하기 위하여 혈중의 콜레스테롤치를 감소시키는 것이 가장 우선이다. 혈청 콜레스테롤은 허혈성 뇌혈관질환 및 관상동맥질환의 위험인자로 밝혀졌고 콜레스테롤 1%를 저하시키면 심장사나 심근경색을 2% 감소, 허혈성 뇌졸중의 발병률을 5배 감소시킬 수 있다고 한다. 또한 최근에 free radical이 노화 및 뇌혈관질환, 심혈관

*Corresponding author: Young-Eon Kim, Korea Food Research Institute, San 46-1, Baekhyun-dong, Bundang-gu, Seongnam-si, Kyonggi-do 463-746, Korea
Tel: 82-31-780-9072
Fax: 82-31-780-9073
E-mail: radog@kfri.re.kr

계 질환, 암과 같은 만성질환의 원인이 된다고 밝혀짐에 따라 항산화 효과를 가지는 식품의 섭취를 통해 이러한 질병을 예방하고 치료하며, 노화를 지연시키고자 하는 노력이 증가하고 있다(7-10).

본 연구는 앞서의 *in vitro* 연구들(11,12) 통해서 ACE 저해활성과 HMG-CoA reductase 저해활성 및 항혈소판 응집 작용을 갖는 것으로 밝혀진 녹차추출물, 메밀추출물, 포도잎추출물 등 3가지 추출물을 시료로 하여 생체 내에서의(*in vivo*) 지질대사의 개선과 항혈액응고 작용에 대한 효과를 알아보고자 실시되었다. 6주령의 SD-rat에 고콜레스테롤 사료를 급여하여 고지혈증을 유발시키면서 위의 3가지 시료를 4주간 경구투여하여 혈중 지질성분과 간장 내의 지질성분을 분석하여 비교하고 항혈액응고에 대한 효과를 알아보고자 미정맥에서의 출혈시간을 측정하고 혈장과 간장내의 TBARS의 함량을 측정하여 항산화능에 대한 효과를 알아보고자 한다. 또한 3종의 추출물들이 어떤 항목에서 효과가 뛰어난지를 비교하여 앞으로 이어질 후속 연구에서 이들을 일정비율로 섞은 혼합물에 대한 연구의 바탕 자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 녹차추출물(green tea extract powder: 103.533)과 포도잎추출물(grape vine leaf powder extract: 85.945)은 삼정향료(주)에서 구입하여 사용하였다. 메밀은 봉평농협마트에서 구입하였으며 메밀추출물은 통메밀을 24시간 동안 shaking incubator에서 물로 냉침추출하여 와트만 여과지 No. 2로 여과하고 여과액을 감압농축한 후, 동결건조하여 사용하였다.

실험동물, 식이 및 실험군

생후 5주된 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐 30마리를 구입하여 실험시작 전 1주일간 고형배합사료로 적응시켰다. 적응기간 후 체중이 172 g 내외인 쥐들을 체중에 따라 난괴법(randomized complete block design)에 의해 6마리씩 5군으로 분류하여 4주간 사육하였다. 실험에 사용된 식이의 구성성분은 Table 1과 같았다. NC군은 정상대조군으로 실험기간 동안 정상사료를 급여하여 고지혈증을 유발시키지 않은 군이며, 시료대신 증류수를 매일 투여하였다. C군은 고지혈증 유발 대조군으로 고콜레스테롤 사료를 급여하여 고지혈증을 유발하면서 시료대신 증류수를 매일 투여하였다. 모든 실험군은 고콜레스테롤 사료를 급여하여 고지혈증을 유발시키면서 S-1군은 녹차추출물(GT-Ex-1) 500 mg/kg B.W.을 같은 시각에 경구투여하였고 S-2군은 메밀추출물(BW-WEx), S-3군은 포도잎추출물(GL-Ex)를 각각 500 mg/kg B.W.씩 매일 경구투여하였다. 실험 동물은 두 마리를 한 cage에서 사육하였으며 식이와 물은 자유롭게 먹도록 하였다.

체중측정, 식이섭취량 및 식이효율

식이섭취량과 체중은 매주 1회 일정한 시각에 측정하였다. 사육기간 동안의 일일 평균 식이섭취량과 체중증가량을 측정하였고 사육기간 중의 체중증가량을 같은 기간의 식이섭취량으로 나누어 각 실험군들의 식이효율(food efficiency ratio, F.E.R)을 계산하였다.

혈액과 간장의 채취

실험기간이 종료된 실험동물은 12시간 절식시킨 후, ether로

Table 1. Composition of experimental diets (g/kg diet)

| Ingredients | Groups ¹⁾ | C, S-1,2,3 | |
|-------------------------------|----------------------|---------------------|--|
| | NC Normal diet | 1% cholesterol diet | |
| Casein | 200 | 200 | |
| DL-Methionine | 3 | 3 | |
| Corn starch | 150 | 150.9 | |
| Sucrose | 500 | 487.5 | |
| Cellulose | 50 | 50 | |
| Corn oil | 50 | 50 | |
| Salt mixture ²⁾ | 35 | 35 | |
| Vitamin mixture ³⁾ | 10 | 10 | |
| Choline bitartrate | 2 | - | |
| Cholesterol | - | 10 | |
| Sodium cholate | - | 2.5 | |
| Choline chloride | - | 1.1 | |

¹⁾NC: Normal control group fed AIN-76 diet

C: Control group fed 1% cholesterol diet

All of S group were fed 1% cholesterol diet

S-1: oral administration of green tea extract 500 mg/kg B.W

S-2: oral administration of buckwheat extract 500 mg/kg B.W

S-3: oral administration of grape leaf extract 500 mg/kg B.W

²⁾AIN-76 Mineral Mix (g/kg mixture): Calcium phosphate dibasic 500, sodium chloride 74, potassium sulfate 52, magnesium oxide 24, manganous carbonate 3.5, ferric citrate U.S.P. 6, zinc carbonate 1.6, cupric carbonate 0.3, potassium iodate 0.01, sodium selenite 0.01, chromium potassium 0.55, sulfate 12H₂O 0.55, sucrose 118.03

³⁾AIN-76A Vitamin Mixture (g/kg mixture): Thiamine HCl 0.6, riboflavin 0.6, pyridoxine HCl 0.7, niacin 3, calcium pantothenate 1.6, folic acid 0.2, biotin 0.02, vitamin B₁₂ (0.1%) 1, vitamin A palmitate (500,000 IU/g) 0.8, vitamin D₃ (400,000 IU/g) 0.25, vitamin E acetate (500 IU/g) 10, menadione sodium bisulfate 0.08, sucrose 981.15

마취시켜 개복하고 10 mL 주사기를 이용하여 복부대동맥에서 혈액을 채취하였다. 이때 주사기는 3.8% sodium citrate 용액 0.1 mL로 내부를 코팅하여 사용하였다. 채취된 혈액은 응고되는 것을 방지하기 위하여 heparin 처리된 tube에 담아 ice bath에 20분간 방치한 후 원심분리기로 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈장을 분리하고, 혈장은 혈장 내 지질과산화물함량과 지질수준을 측정하기 위해 -70°C deep freezer에 보관하였다.

혈액을 채취한 후, ice bath 위에서 즉시 간을 떼어 ice cold saline에 넣어 세척한 다음 여지로 물기를 제거한 후 무게를 측정하고 세척하여 -70°C deep freezer에 보관하여 지질과산화물 함량과 지질수준 측정에 사용하였다.

생화학적 분석

혈장, 간의 지질함량: 혈장의 중성지방농도는 GPO, Trinder w/o serum blank(비색법)으로 검사하였으며 triglyceride reagents kit(Bayer, USA)를 사용하여 Chemistry Autoanalyzer(ADVIA 1650)으로 측정하였다. 혈장 내 총 콜레스테롤의 함량은 효소법으로 검사하였으며 cholesterol reagent kit(Bayer, USA)를 사용하여 Chemistry Autoanalyzer(ADVIA 1650)으로 측정하였다. 혈장 내 HDL-콜레스테롤의 함량은 효소법으로 검사하였으며 Direct HDL-cholesterol II reagent kit(Bayer, USA)를 사용하여 Chemistry Autoanalyzer(ADVIA 1650)으로 측정하였다. 혈장 내 LDL-콜레스테롤 함량은 Friedewald식(13)을 이용하여 계산하였다.

간장 내 지질함량을 측정하기 위해 간조직 2 g에 인산완충액(pH 7.4)을 넣어 10배로 희석한 후, glass homogenizer로 균질

화하고 원심분리하여 상층액을 분리하여 분석에 사용하였다. 간장 내 중성지방 농도는 GPO-PAP법을 이용한 kit(영동제약)로 측정하였고 콜레스테롤 농도는 효소법을 이용한 kit(영동제약)을 이용하여 측정하였다.

동맥경화지수와 심장위험지수: 임상진단에서 순환계와 관련한 진단 지수인 동맥경화지수(atherogenic index, A.I.)(14)와 심장위험지수(cardiac risk factor, C.R.F)(14)는 아래와 같은 공식에 의하여 산출하였다.

$$A.I. = \frac{\text{Total cholesterol} - \text{HDL cholesterol}}{\text{HDL cholesterol}}$$

$$C.R.F = \frac{\text{Total cholesterol}}{\text{HDL cholesterol}}$$

혈장과 간조직의 지질과산화물 측정: 혈장과 간조직의 thiobarbituric acid reactive substance(TBARS) 함량은 강산 환경하에서 thiobarbituric acid와 지질과산화물의 2차산물인 malondialdehyde의 함량을 532 nm에서 정량하는 Ohkawa 등의 방법(15)을 사용하여 측정하였다. 이때 측정값은 표준물질인 tetramethoxypropane으로 표준곡선을 작성한 뒤 비교 정량하였다.

출혈시간의 측정: 출혈시간(bleeding time)은 Hornstra법(16)으로 측정하였다. SD rat에게 4주간 실험 시료를 경구투여하고 실험 마지막 날에 실험동물을 구속틀 안에 고정시킨 후 꼬리의 끝부분에서 5 mm되는 곳을 잘라 꼬리의 5 cm가 되는 곳까지 부분을 37.5°C의 saline 용액에 담귀 지혈될 때까지의 시간을 측정하였다(loose and temporary platelet plug가 형성될 때까지의 시간).

통계처리

본 연구의 실험결과는 실험군 당 평균과 표준편차를 계산하였고, one-way ANOVA를 실시한 후 α=0.05 수준에서 Duncan's multiple range test에 의하여 각 실험군 평균치 간의 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

본 연구는 앞서의 *in vitro* 연구를 통해서 ACE 저해활성과 HMG-CoA reductase 저해활성 및 항혈소판 응집 작용을 갖는 것으로 밝혀진 녹차추출물, 메밀추출물, 포도잎추출물 등 3가지 추출물을 시료로 하여 생체 내에서의(*in vivo*) 지질대사 개선과 항혈액응고 작용에 대한 효과를 알아보고자 실시되었다. 흰쥐에 콜레스테롤함량이 1%인 사료를 급여하여 고지혈증을 유발시키면서 녹차, 메밀, 포도잎 추출물을 4주간 경구투여하여 혈중 지질성분과 간장 내의 지질성분을 분석하여 비교하고 항혈액응고에 대한 효과를 알아보고자 흰쥐의 미정맥에서의 출혈시간을 측정하였으며 혈장과 간장내의 TBARS의 함량을 측정하여 항산화능에 대한 효과를 알아보았다.

식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율

녹차, 메밀, 포도잎 추출물을 4주간 경구투여한 흰쥐의 전 실험기간 동안의 일일 식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율을 Table 2에 나타내었다. 전 처리군에서 일일 식이섭취량은 17.3 g에서 19.0 g의 범위를 나타내었으며 군간에 유의한 차이를 나

Table 2. Food intake, body weight gain and food efficiency ratio

| Groups | Food intake (g/day) | Body weight gain (g/4 weeks) | Food efficiency ratio |
|--------|---|-------------------------------|-----------------------------|
| NC | ¹⁾ 17.3 ± 3.40 ^{N.S.2)} | 152.2 ± 42.82 ^{N.S.} | 0.30 ± 0.06 ^{N.S.} |
| C | 17.8 ± 2.24 | 155.0 ± 21.74 | 0.29 ± 0.02 |
| S-1 | 18.7 ± 2.25 | 166.6 ± 18.44 | 0.30 ± 0.02 |
| S-2 | 18.9 ± 0.64 | 163.9 ± 31.02 | 0.29 ± 0.05 |
| S-3 | 19.0 ± 1.46 | 164.9 ± 37.25 | 0.29 ± 0.04 |

¹⁾Mean standard deviation (n = 5-6).

²⁾Not significant at α = 0.05 by Duncan's multiple range test.

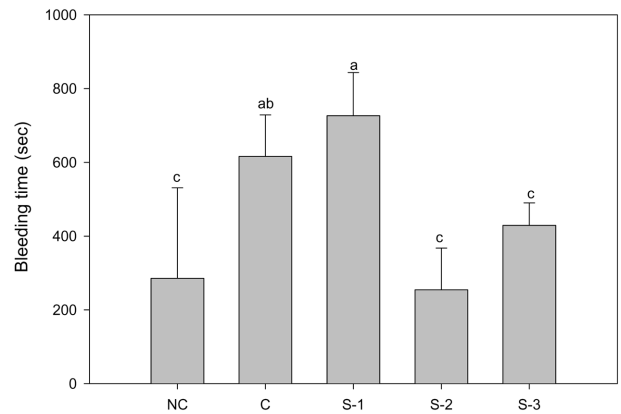


Fig. 1. Bleeding time in rats (p < 0.05).

타내지 않았다. 4주 동안의 체중증가량 또한 152.2 g에서 166.6 g까지 나타났으나 군간에 유의한 차이를 보이지 않았다. 식이효율은 식이섭취량과 체중증가량으로 계산되는 값으로 마찬가지로 전체적으로 유의한 차이를 나타내지 않았다. 이는 일반사료를 섭취하는 군(NC)과 고콜레스테롤 사료를 섭취하는 군(C, S-1-3)간에 고콜레스테롤 사료로 인한 식이량 저하 등을 보이지 않았음을 의미하며 실험시료를 경구투여하는 것도 실험동물의 식이형태와 성장에 영향을 주지 않았음을 의미한다.

출혈시간

녹차, 메밀, 포도잎 추출물이 흰쥐의 체내에서 항혈액응고 작용에 미치는 영향을 알아보기 위해 흰쥐의 꼬리에서 출혈시간을 측정하였으며 그 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 정상대조군은 285.2초로 메밀추출물을 경구투여한 S-2군을 제외한 나머지 고콜레스테롤 급여군에 비해서 출혈시간이 짧았다. 고콜레스테롤 급여군 중에서는 대조군이 616.0초였으며 녹차추출물을 경구투여한 S-1군이 726.4초로 가장 출혈시간이 길었다. 이는 녹차추출물이 혈액응고시간을 지연시키는데 있어서 메밀추출물과 포도잎추출물에 비해 그 효과가 월등히 뛰어나다고 할 수 있다. 이러한 결과는 보고된 많은 연구(17,18)에서 녹차내에 있는 catechin류 등에 의한 생리활성 중의 하나로 항혈전효과나 혈소판 응집저해활성 등이 확인된 결과와 일치하였다. 그러나 정상대조군이 고콜레스테롤 투여군에 비해 출혈시간이 짧은 것에 대해서는 그 원인을 더 밝혀보아야 할 것으로 생각되어졌다.

생체 내에서 혈액응고기전과 혈전용해작용은 항상 평형을 이루고 있어 정상적인 혈류순환이 이루어지게 된다. 그러나 체내에 여러 가지 원인에 의해 균형이 깨어지면 혈전이 생기게 되고 이들이 혈관벽에 침착되어 혈액순환을 방해한다(19). 이러

Table 3. Plasma triglyceride (TG), total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol concentration

| Groups | Triglyceride (mg/dL) | Total cholesterol (mg/dL) | HDL-cholesterol (mg/dL) | LDL-cholesterol (mg/dL) |
|--------|--|-----------------------------|---------------------------|--------------------------|
| NC | ¹⁾ 96.0 ± 34.88 ^{N.S.2)} | 54.8 ± 11.30 ^{b3)} | 15.6 ± 2.70 ^a | 20.0 ± 6.2 ^b |
| C | 77.6 ± 15.60 | 72.4 ± 16.07 ^{ab} | 11.4 ± 1.52 ^{bc} | 45.6 ± 14.8 ^a |
| S-1 | 100.8 ± 29.63 | 94.4 ± 22.41 ^a | 12.4 ± 0.55 ^b | 62.0 ± 18.1 ^a |
| S-2 | 79.6 ± 15.92 | 94.6 ± 21.28 ^a | 12.2 ± 0.84 ^b | 66.4 ± 20.5 ^a |
| S-3 | 67.2 ± 21.92 | 78.6 ± 16.13 ^{ab} | 9.8 ± 1.64 ^c | 55.4 ± 18.1 ^a |

¹⁾Mean standard deviation (n = 5-6).

²⁾Not significant at $\alpha = 0.05$ by Duncan's multiple range test.

³⁾Values with different alphabet within the column are significantly different at $\alpha = 0.05$ by Duncan's multiple range test.

한 혈전형성을 방지하기 위하여 혈소판 기능을 약간 억제하거나 혈액응고를 지연시킬 필요성이 생기게 된다. 그 역할을 하는 것으로 항혈소판제제, 즉 혈소판 활성화 억제제 등의 항혈전제가 요구되는 것이며(20) 이러한 약제를 대신할 천연물로서 녹차추출물이 유용할 것으로 사료되었다.

혈장 내 지질구성

녹차, 메밀, 포도잎 추출물이 흰쥐의 혈장 내 지질대사에 미치는 영향을 알아보기 위해 중성지방, 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤치를 측정하였으며 그 결과는 Table 3에 나타내었다.

혈장의 중성지방 농도는 67.2 mg/dL에서 100.8 mg/dL의 범위를 보였으며 전군에서 유의적인 차이를 보이지 않았다($p > 0.05$). 이러한 결과는 이 등(21)의 연구결과와 비교하였을 때, 고콜레스테롤 급여 흰쥐의 혈장 중성지질은 정상 사료를 급여한 흰쥐와 유의한 차이를 보이지 않는 것과 일치하여 고콜레스테롤 사료의 급여는 흰쥐의 혈중 중성지질에 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다. 김 등(17)의 연구에서 녹차잎을 분말형태로 하여 사료에 5% 함유하게 하여 급여한 결과 흰쥐의 혈액중 중성지질의 농도가 대조군보다 오히려 높아졌다는 보고와도 일치하여 녹차의 경우에는 혈중 중성지질을 낮추는 효과가 없는 것으로 보였다. 혈장 내 총콜레스테롤의 농도는 정상대조군이 54.8 mg/dL인데 반해 모든 고콜레스테롤 급여군들은 72.4-94.6 mg/dL의 범위로 정상대조군보다 높아서 고콜레스테롤 급여에 의해 혈장콜레스테롤이 증가하였음을 확인할 수 있었다. 고콜레스테롤 급여군들 중에서는 대조군과 시료군 간에 혈장콜레스테롤을 저하시키는 효과는 없었다. 이는 김 등의 연구(17)에서 녹차를 급여한 군에서 유의차는 없었지만 혈장 콜레스테롤치를 약간 감소시켰다는 결과와는 상반되는 것으로 녹차추출물의 투여농도가 낮아서 효과가 나타나지 않은 것으로 판단되었다. 김의 연구에서 녹차추출물은 사료의 5%로 첨가하였으며 이를 흰쥐의 일일 식이섭취량을 20 g으로 가정하여 유추하면 약 1,000 mg/day의 양을 섭취한 것으로, 본 연구에서는 500 mg/kg B.W./day의 양으로 투여하여 실제적인 일일 투여량은 약 150 mg/day로 투여량이 적었다고 할 수 있어 추후에 후속 연구에서 농도를 순차적으로 높여서 실험할 필요성이 있었다. 혈장내 HDL-콜레스테롤 농도는 정상대조군이 15.6 mg/dL으로 다른군에 비해서 가장 높았으며, 고콜레스테롤 급여 대조군은 11.4 mg/dL으로 정상대조군에 비해 유의적으로 낮았다($p < 0.05$). S-1, S-2, S-3군은 고콜레스테롤 급여 대조군과 유의적인 차이가 없었다. 혈장 내 LDL-콜레스테롤 농도는 정상대조군의 20.0 mg/dL에 비해 고콜레스테롤 급여군은 45.6-66.4 mg/dL으로 훨씬 높게 나타났다.

Table 4. Atherogenic index and cardiac risk factor

| Groups | Atherogenic index ³⁾ | Cardiac risk factor ⁴⁾ |
|--------|---|-----------------------------------|
| NC | ¹⁾ 2.5 ± 0.42 ^{b2)} | 3.5 ± 0.42 ^b |
| C | 5.3 ± 0.72 ^a | 6.3 ± 0.72 ^a |
| S-1 | 6.6 ± 1.58 ^a | 7.6 ± 1.58 ^a |
| S-2 | 6.8 ± 1.89 ^a | 7.8 ± 1.89 ^a |
| S-3 | 7.1 ± 1.66 ^a | 8.1 ± 1.66 ^a |

¹⁾Mean standard deviation (n = 5-6).

²⁾Values with different alphabet within the column are significantly different at $\alpha = 0.05$ by Duncan's multiple range test.

³⁾Atherogenic index = (total cholesterol - HDL cholesterol)/HDL cholesterol

⁴⁾Cardiac risk factor = total cholesterol/HDL cholesterol

혈장 내 지질성분을 분석한 결과로 볼 때 고콜레스테롤 급여로 인해 총 콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤은 증가하고 HDL-콜레스테롤은 감소하여 고지혈증이 유발됨을 알 수 있었으며, 실험사료의 경구투여에 따라 혈액 내 지질성분의 구성에 대한 개선효과는 나타나지 않았다. 김 등의 연구(22)에서는 고지혈증이 유도된 흰쥐에게 빵잎추출물을 경구투여한 결과, 특히 중성지질이 유의적으로 감소했다는 결과와는 차이가 있었다. 최근의 역학조사에서는 심혈관 질환의 위험인자와 HDL-콜레스테롤 농도의 감소 사이에 상관관계가 있음이 밝혀졌으며 혈중 HDL-콜레스테롤 농도가 감소하면 체내 콜레스테롤 pool이 증가하였다고 한다(23,24). 그에 비해 LDL-콜레스테롤은 혈중의 농도가 감소하게 되면 동맥경화증과 그 합병증 감소에 결정적인 작용을 하게 되며(25) 일부 사례의 경우 atherosclerotic lesion의 크기가 감소하였다는 보고가 있었다(24). 즉 본 연구의 결과로는 녹차, 메밀, 포도잎 추출물을 투여가 동맥경화를 완화시키는데 그다지 효과가 없다고 할 수 있으나 본 연구결과와 기존의 연구결과가 차이를 나타내는 이유에는 시료를 투여한 양이 효과를 나타낼 정도로 충분한 양이 아니었을 가능성이 있기 때문에 시료의 경구투여량을 여러 단계로 하여 보충연구를 할 필요성이 있었다.

동맥경화지수와 심혈관 위험지수

동맥경화지수는 체내 고밀도 지단백질(HDL-cholesterol)에 대한 중성지질의 농도를 대표하는 값으로 임상에서 3.0 이상의 값을 나타낼 때 동맥 경화에 대한 위험 신호로서 사용하고 있다(14). 심혈관위험지수는 동맥경화지수와 더불어 심혈관계질환에 대한 위험신호로서 사용되고 있으며, 임상에서 7.0 이상의 수치를 나타낼 때 위험신호로 인지된다(18). Table 4는 동맥경화지수(Atherogenic index: A.I.)와 심혈관위험지수(Cardiac risk factor: C.R.F.)를 나타낸 것이다. 정상대조군과 비교할 때 고콜

Table 5. Liver weight, liver triglyceride (TG) and cholesterol concentration

| Groups | Liver weight (g/100 g B.W.) | Triglyceride (mg/g wet tissue) | Total cholesterol (mg/g wet tissue) |
|--------|---|--------------------------------|-------------------------------------|
| NC | ¹⁾ 2.7 ± 0.15 ^{b2)} | 21.9 ± 9.11 ^b | 2.7 ± 1.40 ^b |
| C | 3.5 ± 0.29 ^a | 43.6 ± 9.24 ^a | 19.8 ± 14.22 ^a |
| S-1 | 3.8 ± 0.34 ^a | 38.7 ± 5.37 ^a | 3.6 ± 1.48 ^b |
| S-2 | 3.9 ± 0.35 ^a | 41.2 ± 4.96 ^a | 3.0 ± 0.50 ^b |
| S-3 | 4.0 ± 0.41 ^a | 47.4 ± 7.74 ^a | 3.2 ± 0.63 ^b |

¹⁾Mean standard deviation (n = 5-6).

²⁾Values with different superscript within the column are significantly different at $\alpha = 0.05$ by Duncan's multiple range test.

레스테롤을 급여한 모든 군은 유의적으로 높은 수치를 나타내어 심혈관계질환의 위험성이 높은 것으로 나타났으며, 고콜레스테롤 급여 대조군과 실험군들 사이에서는 유의한 차이를 보이지 않았다. 즉 녹차, 메밀, 포도잎 추출물의 투여가 동맥경화 지수나 심혈관위험지수를 낮춰주지 못하는 것으로 나타났는데 이들 지수는 HDL-콜레스테롤에 대한 중성지방의 농도로 나타내는 값이므로 앞의 혈장 내 지질성분에서 효과가 나타나지 않은 것과 통하는 것으로 추출물들의 경구투여량을 증가시켜서 후속연구를 할 필요가 있었다.

간장의 무게와 간장내 지질구성

녹차, 메밀, 포도잎 추출물이 흰쥐의 간장 내 지질대사에 미치는 영향을 알아보기 위해 간장무게, 중성지방 및 총콜레스테롤 농도를 측정하였고 그 결과는 Table 5에 나타내었다.

간장의 무게는 정상대조군은 2.7g이고 고콜레스테롤 급여군은 3.5-4.0g으로 고콜레스테롤 급여군의 간장이 정상대조군에 비해 유의적으로 비대함을 알 수 있었다($p < 0.05$). 이는 식이로 섭취한 과량의 콜레스테롤이 체외로 정상적으로 배출되지 못하고 간장 내에 축적 되어 간장이 비대해졌다고 할 수 있다. 간장내의 중성지방의 함량은 정상대조군에 비해 모든 고콜레스테롤 급여군이 유의적으로 높았다($p < 0.05$). 고콜레스테롤 급여군중에서는 S-1군이 대조군에 비해 중성지방 농도가 소량 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다. 중성지방은 체내 총콜레스테롤 함량에 영향을 받으며(26-28) 높은 체콜레스테롤은 간에서 지방산의 de novo합성과 함께 중성지방의 합성을 증가시키는 반면, 지방산의 β -oxidation은 현저히 감소시켰다는 보고가 있었다. 이는 강 등(29)의 연구에서 고콜레스테롤 식이로 사육된 쥐에서 혈장 내의 중성지방이 상당히 증가했지만 통계적 유의성은 없었고 간의 중성지방은 유의적인 차이를 보였다는 결과와 일치하는 것이다. 간장 내의 총콜레스테롤 함량은 Fig. 5에 나타내었다. 정상대조군이 2.7 mg/g이고 고콜레스테롤 급여 대조군의 19.8 mg/g이어서 고콜레스테롤 급여 대조군의 총콜레스테롤 함량이 현저히 높았다($p < 0.05$). 반면에 고콜레스테롤 급여군 중에서는 대조군에 비해 시료를 경구투여한 군들 모두 정상대조군의 총콜레스테롤 수준으로 콜레스테롤 농도가 감소하였다($p < 0.05$).

이상의 결과에서 볼 때 고콜레스테롤 식이를 급여한 경우에 간장은 비대해지고 간장 내 중성지방과 총콜레스테롤 함량도 정상식이를 급여한 경우에 비해 현저히 증가하지만 녹차추출물, 메밀추출물, 포도잎추출물 등의 경구투여로 인해 간장내 총콜레스테롤 함량을 정상수준으로 유지할 수 있음을 알 수 있었다. 이는 감잎, 녹차, 솔잎의 건분 및 에탄올 추출물이 흰쥐

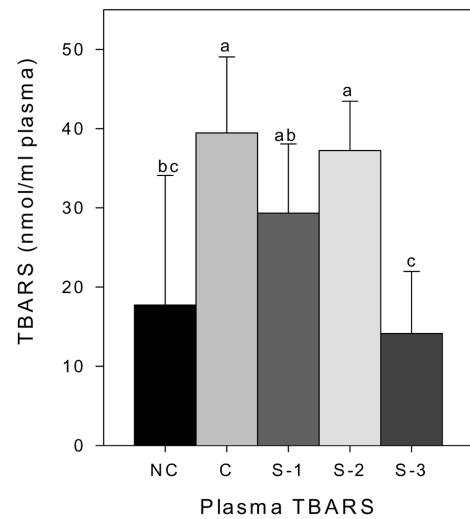


Fig. 2. Plasma thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) levels.

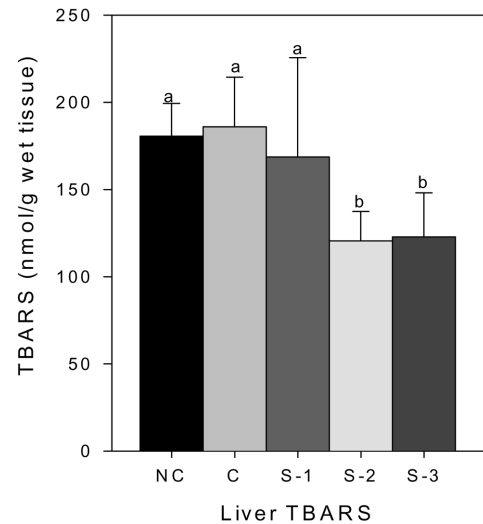


Fig. 3. Liver thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) levels.

의 지방대사에 미치는 영향을 연구한 보고(19)와 일치하는 것으로 녹차추출물의 경우 변으로의 지방배설량은 많지 않았으나, 간의 지방축적을 유의적으로 억제하였다. 이는 녹차 내에 풍부하게 함유되어 있는 catechin이나 quercetin과 같은 에탄올에 녹는 flavonoids와 phenolic acid 같은 polyphenol에 의한 효과라고 생각된다고 하였다.

혈장과 간의 지질과산화물 함량

유리기는 지질, 단백질 및 DNA를 손상시킴으로서 세포손상을 초래하여 노화 및 뇌혈관질환, 심혈관계질환, 암과 같은 만성질환의 원인이 된다고 밝혀짐에 따라(30,31) 항산화 효과를 가지는 식품의 섭취를 통해 이러한 질병을 예방하고 치료하며, 노화를 지연시키고자 하는 노력이 증가하고 있다. 여러 유리기 중에서 TBARS는 유리기에 의한 지질손상의 지표로 가장 많이 이용되고 있다(32,33).

녹차추출물, 메밀추출물, 포도잎추출물이 흰쥐의 혈장과 간의 지질 과산화 정도에 미치는 영향을 알아보기 위해 지질과

산화물 함량(Thiobarbituric acid reactive substance: TBARS)을 측정하였다. 혈장의 지질과산화물 함량은 Fig. 2에 나타내었고 정상대조군이 17.7 nmol/mL이고 고콜레스테롤 급여 대조군은 39.5 nmol/mL이어서 고콜레스테롤 급여에 의해 2배 가량 증가하는 것을 알 수 있었다($p < 0.05$). 고콜레스테롤 급여군 중에서는 대조군에 비해서 메밀추출물군은 지질과산화물 함량에 변화가 없었지만, 포도잎추출물군은 14.1 nmol/mL로 정상군에 가깝게 지질과산화물 함량을 낮추었다($p < 0.05$). 또한 녹차군은 유의하지는 않지만 고콜레스테롤 급여군에 비해 혈중 TBARS 함량이 낮아졌다. 이 등의 연구(34)에서는 고콜레스테롤의 급여에 의해 혈장 TBARS 함량이 정상대조군에 비해 유의적으로 증가하였고 솔잎의 투여에 의해 다시 감소하는 것을 확인하여 본 연구와 일치하는 결과를 보였다. 간장 내 지질과산화물의 함량은 Fig. 3에 나타내었고 정상대조군과 고콜레스테롤 급여 대조군 사이에는 차이가 없었지만, 고콜레스테롤 급여군 사이에서는 시료를 경구투여함에 따라 차이가 나서 메밀과 포도잎 추출물에서는 현저한 TBARS 함량의 저하효과를 보였고 녹차 추출물군에서는 저하효과가 없었다. 이는 녹차를 건분과 에탄올 추출물로 흰쥐에게 급여한 김 등의 연구(17)에서 간의 TBARS 함량이 대조군에 비해 유의적으로 낮아졌다는 보고와는 상반된 것으로 이 또한 녹차추출물의 경구투여량이 작았던 것으로 추측되었다.

이상의 결과를 종합해서 볼 때 녹차추출물은 항혈전효과에서, 메밀추출물과 포도잎추출물은 체내 항산화효과에서 두드러진 효과를 나타내어 각각의 추출물의 효과가 조금씩 다른 분야에서 일어나는 것을 알 수 있었다. 3가지 추출물 모두 간장의 콜레스테롤을 낮추는 것에는 같은 경향을 보이고 녹차추출물의 경우에는 출혈시간을 현저히 증가시켜 혈액응고를 지연하는 항혈전작용이 컸으며 메밀추출물과 포도잎추출물은 혈장과 간장 내의 TBARS를 감소시키는 작용이 커 항산화능이 높게 나타났다. 따라서 이들 추출물을 단일로 사용하는 것보다는 일정비율로 혼합해서 사용한다면 각각의 기능들이 상호보완되고 더 나은 혈류개선 효과를 가져올 것으로 기대되어 앞으로 더 많은 연구가 이루어져야 할 것이다.

요 약

본 연구에서는 Sprague Dawley 중 수컷 흰쥐에게 콜레스테롤이 1% 함유된 사료를 급여하여 고지혈증을 유발시키면서 녹차추출물, 메밀추출물, 포도잎추출물 추출물을 500 mg/kg B.W.의 농도로 4주간 매일 같은 시각에 경구투여하여 흰쥐의 혈액과 간장 내의 지질조성과 혈액응고기전 및 체내 지질과산화에 미치는 영향을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 전군에서 식이섭취량과 체중증가량 및 식이효율은 유의한 차이가 없어서 실험식이 정상적인 성장에 영향을 미치지 않았다. 녹차추출물투여군은 고콜레스테롤 급여 대조군에 비해서 흰쥐의 꼬리에서의 출혈시간을 증가시켜서 항혈전효과가 있었다. 고콜레스테롤 급여로 인해 흰쥐에게 고지혈증이 유발되었으며 실험 사료를 경구투여하는데 따른 혈액중의 지질대사 개선효과는 없었다. 고콜레스테롤 급여로 흰쥐의 간장은 비대해지고 간장내 중성지방과 총콜레스테롤 함량도 현저히 증가하였으며 녹차추출물, 메밀추출물, 포도잎추출물은 간장 내 총콜레스테롤 함량을 감소시켜 간장 내 지질대사의 개선효과가 있었다. 고콜레스테롤의 급여는 혈장 내의 지질과산화물의 함량을 증가시키며 포도잎추출물은 체내 지질과산화를 억제시키는 효과가 있었으

며 간에서는 메밀과 포도잎추출물이 지질과산화를 억제하였다.

문 헌

1. NSOK. Annual Report on the Cause of Death Statistics. National Statistical Office of Korea, Seoul, Korea (2003)
2. NSOK. The Expectancy of Future Population. National Statistical Office of Korea (2000)
3. Lee HK. The nutrition problems of Koreans. Korean J. Nutr. 29: 381-383 (1996)
4. Stéphanie B, Sabrina SI, Bernard F, Guylène P, Alain P, Laurence B. Effect of ischemia on TBARS and lactate production in several cerebral regions of anaesthetised and awake rats. Life Sci. 74: 3103-3113 (2004)
5. Endres M. Ischemia and stroke. Vol. 513, pp. 455-468. In: Advances in Experimental Medicine and Biology. Dirnagl U. Plenum Press, Inc., NY, USA (2002)
6. Ikeda K, Negishi H, Yamori Y. Antioxidant nutrients and hypoxia/ischemia brain injury in rodents. Toxicology 189: 55-61 (2003)
7. Shin DH. The research and prospect of natural antioxidants. Bull. Food Technol. 8: 28-33 (1995)
8. Kim YJ. The protect the living organ from free radicals and the failure of protection: age-related disease. Bull. Food Technol. 10: 4-26 (1997)
9. Buring JE, Henekens CH. Antioxidant vitamins and cardiovascular disease. Nutr. Rev. 55: S53-S60 (1997)
10. Jacques PF, Halpner AD, Blumberg JB. Influence of combined antioxidant nutrient intake on their plasma concentrations in an elderly population. Am. J. Clin. Nutr. 62: 1228-1233 (1995)
11. Oh SW, Kwon EK, Kim KY. Screening of angiotensin converting enzyme inhibitory activity in several natural products (abstract no P7-17). In: 69th Symposium of Food Science and Technology. October 24-26, Hotel Tirol in Muju resort, Muju, Korea. The Korean Society of Food Science and Technology, Seoul, Korea (2002)
12. Kwon EK, Oh SW, Lee CH, Han D. Screening of HMG-CoA reductase inhibitory activity in several natural products (abstract no P7-32). In: 70th Nutrigenomics Symposium: Recent trends in food science and technology. June 26-28, Gyeongju TEMF Hotel, Gyeongju, Korea. The Korean Society of Food Science and Technology (2003)
13. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of ultracentrifuge. Clin. Chem. 18: 499-502 (1972)
14. Rosenfeld L. Lipoprotein analysis. Arch. Pathol. Lab. Med. 113: 1101-1110 (1989)
15. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay of lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric acid reaction. Anal. Biochem. 95: 351-358 (1979)
16. Hornstra G, Christ-Hazelhof E, Haddeman E, Hoor FT, Nugteren DH. Fish oil feeding lowers thromboxane-and prostacyclin production by rat platelets and aorta and does not result in the formation of prostaglandin I₃. Prostaglandins 21: 727-738 (1981)
17. Kim ES, Kim MK. Effect of dried leaf powers and ethanol extracts of persimmon, green tea and pine needle on lipid metabolism and antioxidative capacity in rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 32: 337-352 (1999)
18. Yun YP, Kang WS, Lee MY. The antithrombotic effects of green tea catechins. J. Food Hyg. Safety 11: 77-82 (1996)
19. Kannel, WB. Risk factors in hypertension. J. Cardiovasc. Pharmacol. 13: S4-S10 (1989)
20. Oh HS, Park YH, Kim JH. Isoflavone contents, antioxidative and fibrinolytic activities of some commercial cooking-with-rice soybeans. Korean J. Food Sci. Technol. 34: 498-504 (2002)
21. Lee E, Choi MY. Effects of pine needle on lipid composition and TBARS in rat fed high cholesterol. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 1186-1190 (2000)
22. Kim SY, Lee WC, Kim HB, Kim AJ, Kim SK. Antihyperlipidemic effects of methanol extracts from mulberry leaves in cholesterol-induced hyperlipidemia rats. J. Korean Soc. Food Sci.

- Nutr. 27: 1217-1222 (1998)
23. Han CK, Lee BH, Song KS, Lee NH, Yoon CS. Effects of anti-hypertensive diets mainly consisting of buckwheat, potato and perilla seed on spontaneously hypertensive rats. *Korean J. Nutr.* 29: 1087-1095 (1996)
 24. Wooller LA, Spady DK, Dietschy JM. Saturated and unsaturated fatty acids independently regulate low density lipoprotein receptor activity and production rate. *J. Lipid Res.* 33: 77-88 (1992)
 25. Holme I. An analysis of randomized trials evaluating the effect of cholesterol reduction on total mortality and coronary heart disease incidence. *Circulation* 82: 1916-1924 (1990)
 26. Spady DK, Dietschy JM. Interaction of dietary cholesterol and triglyceride in the regulation of hepatic low density lipoprotein transport in the hamster. *J. Clin. Invest.* 81: 300-309 (1988)
 27. Liu CH, Huang MT, Huang PC. Sources of triglycerol accumulation in liver of rats fed a cholesterol supplemented diets. *Lipids* 30: 527-531 (1995)
 28. Chi MS, Koh ET, Stewart TJ. Effects of garlic on lipid metabolism in rats fed cholesterol of lard. *J. Nutr.* 112: 241-248 (1982)
 29. Kang JA, Kang JS. Effect of garlic and onion on plasma and liver cholesterol and triacylglycerol and platelet aggregation in rats fed basal or cholesterol supplemented diets. *Korean J. Nutr.* 30: 132-138 (1997)
 30. Fridovich I. Biological effects of the superoxide radical. *Arch. Biochem. Biophys.* 247: 1-15 (1986)
 31. Miquel J, Quintailha AT. Historical introduction to free radical and antioxidant biomedical research. Vol. 1, pp. 3-16. In: *CRC Handbook of Free Radical and Antioxidants in Biomedicine*. Weber H (ed). CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, USA (1989)
 32. Babiy AV, Gebicki JM, Sullivan DR. Vitamin E content and low density oxidizability induced by free radicals. *Atherosclerosis* 81: 175-182 (1990)
 33. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. Vol. 52, pp. 302-310, In: *Methods in Enzymology*. Sidney F, Lester P (eds). Academic Press, Inc., NY, USA (1978)

(2004년 6월 1일 접수; 2004년 11월 22일 채택)