

## Treatment Effect of Mulberry Root-Bark (*Mori radidis Cortex*) Extract on Hypercholesterolemia in Rabbits

Dong Kyu Kim<sup>1</sup>, Hee-Youl Chai<sup>1</sup>, Tae Myung Kim<sup>1</sup>, Nam-Jin Lee<sup>1</sup>, Jung-Hee Cho<sup>1</sup>,  
Jung-Hui Park<sup>2</sup>, Jong-Koo Kang<sup>1</sup>, Yun-Bae Kim and Seock-Yeon Hwang<sup>3†</sup>

<sup>1</sup>College of Veterinary Medicine and Research institute of Veterinary Medicine,  
Chungbuk National University, Gaeshin-dong, Cheongju 361-763, Korea.

<sup>2</sup>Park, Jung-Hui Oriental Medical Clinic, Doosan-Dong, Daejeon 302-122, Korea.

<sup>3</sup>Department of Clinical Laboratory Medicine, Chungbuk National University Hospital,  
Gaeshin-dong, Cheongju 360-240, Korea

This study reports that the effect of *Mori radidis cortex*, Mulberry root-bark, on the lipid peroxidation products formation in the liver, blood serum and atherosclerosis of hypercholesterolemia rabbits fed Mulberry root-bark for eight weeks. The rabbits were permitted a fixed quantity to extract of Mulberry root-bark mixed hypercholesterol fodder. The lipid peroxidation products, malondialdehyde (MDA) was significantly diminished. Total cholesterol in serum worthily decreased. Also, triglyceride and high density lipoproteins (HDLs) increased after feeding *Mori radidis cortex*. Besides, thick atheromatous plaque on the wall of aorta of rabbits fed on hypercholesterol diet were markedly attenuated by Mulberry root-bark extract. These results support and substantiate the extract of Mulberry root-bark as protection against lipid peroxidation in the liver, blood serum and atherosclerosis.

**Key Words:** Hypercholesterolemic rabbits, Atherosclerosis index, *Mori radidis cortex*, Lipid peroxidation

### 서 론

현재 전 세계적으로 비만, 고혈압, 동맥경화증, 당뇨 등과 그에 따른 합병증으로 인한 대사성 질환 (Metabolic syndrome)은 고도의 발전을 이루고 있는 의학의 범주에서 여러 문제를 야기하고 있다. 그 중 동맥경화증은 식생활의 변화에 따라 미국, 유럽과 더불어 우리나라에서도 뇌경색, 협심증, 심근경색증 등의 허혈성심질환과 말초혈관 폐쇄를 유발하는 원인 질환으로서, 국내 주요 사망원인으로 대두되고 있다. 이는 2002 통계청 사망원인 통계에 의하면 인구 십만 명 당 순환기계 질환에 의한 사망자수는 127.8명으로 호흡기계 질환의 34.5명, 소화기계 질환의 29.4명에 비해 월등히 높은 것이다 (National Statistics office, 2002). 이러한 동맥경화증의 가장 유력한 발병기전인 손상 반응설 (Response-to-injury hypothesis)<sup>1</sup>에 의하면 동맥 내피세포의 손상 및 증식, 혈중 단핵

구의 혈관벽내 이동과 대식세포로의 변형, 지질과 죽은 세포 조각의 침착, 평활근 세포의 증식 및 섬유화 과정, 혈소판의 흡착 및 응집 반응으로 인한 혈관 수축과 협착을 거쳐 일어나며 (Ramos et al., 2001), 이에 따라 혈관이 비후되어 좁아지고 동맥벽이 경화되는 것으로 생각되어 지고 있다. 즉 고 콜레스테롤 혈증과 혈중 저밀도 지단백질 (low-density lipoprotein, LDL)의 농도 증가 등의 원인으로 과도한 콜레스테롤은 곧 저밀도 지단백질로 바뀌어 혈관 내막에 흡착되어 거품 세포 (foam cell), 지방반 (fatty streak), atheroma를 형성하는 주원인으로 알려져 있다 (Ross, 1993; Natio, 1995).

고지혈증은 동맥경화의 주요 병인으로 생각되어져 혈중에서의 지질수준을 저하시키기 위한 의약품이나 기능성 식품에 대한 연구가 많이 수행되고 있다. 대표적인 의약품으로는 여러 형태의 고지혈증에서 혈중지질강하효과를 보이는 statin 계열의 약물들을 손꼽을 수 있다. 이 statin 계열의 약물은 콜레스테롤의 전구물질인 mevalonate를 합성하는 데 결정적 효소인 HMG-CoA reductase를 억제함으로써 콜레스테롤 저작용을 나타내는 것으로 알려져 있으며 주로 지단백질의 생성억제보다는 간세포로의 흡수 증가에 기인한다. 이 statin 계열의 약물은 혈중 low-density lipoproteins (LDLs)의 감소와 혈중 중성지방 (triglyceride, TG)을 감소시키는 데 탁월하다고

\*논문 접수: 2005년 8월 24일

수정재접수: 2005년 9월 15일

†교신저자: 황석연, (우) 361-713 충북 청주시 개신동,

충북대학교병원 진단검사의학과

Tel: +82-43-269-6257, Fax: +82-43-271-5243

e-mail: syhwang@cbnuh.or.kr

알려져 있다 (Gotto, 2002).

한편, Atherosclerosis (아테롬성 동맥경화증) 연구를 위해 여러 가지 실험동물을 이용한 동물실험이 이루어지고 있는데, 그 중 토끼는 사람의 가족성 고 콜레스테롤 혈증 (familial hypercholesterolemia)의 연구에 사용되는 Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit (WHHL rabbit) 뿐만 아니라, New Zealand white rabbit (NZW)에 고 콜레스테롤 식이를 섭취시켜 고지혈증을 유발한 동맥경화 모델도 많이 사용되어지고 있다. 이는 토끼에서 단기간에 고지혈증 유발이 용이함과 동시에 사람에서의 동맥경화 인자로 알려진 cholesteryl ester transfer protein (CETP)의 효소 활성도가 사람에 비해 약 3배 가량 높아 고지혈증이 쉽게 유도되고 거품세포 (foam cell), 지방반 (fatty streak) 같은 동맥경화성 병변이 잘 나타나기 때문이다 (Vesselinovitch, 1988; Narayanaswamy et al., 2000).

상백피 (*Mori radices cortex*, Mulberry root-bark)는 뽕나무 (*Morus alba* L.) 또는 동속식물 (Maraceae)의 뿌리껍질로 한 방에서는 소염, 이뇨작용 등이 탁월하여 해열진해거담제로 널리 사용되는 한방재료로 알려져 있다. 이에 상백피의 유효 성분인 morusin, cyclomoursin 등의 여러 생리활성 성분의 1형 당뇨와 2형 당뇨 모델에서의 항 당뇨효과가 보고되었다. 이는 상백피가 장에서의 maltase와 sucrose를 억제하여 혈중으로의 포도당 유입을 차단하는 기전에 의한 것으로 밝혀졌으며, 또한 alloxan으로 유발한 당뇨 모델에서 간 및 신장에서의 과산화지질 억제효과, carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>)로 간 독성을 유발한 모델에서의 간 보호효과에 대해서도 보고된 바 있다 (Kim et al., 1995).

이에 본 연구에서도 고 콜레스테롤 사료를 식이 시켜 유발한 고지혈증 토끼에서 혈중에서의 triglyceride (TG)와 cholesterol, high density lipoproteins (HDLs), low density lipoproteins (LDLs)치와 간 조직 중의 과산화지질 측정, 대동맥에서의 내피내의 plaque 증식을 plaque score로 계산한 동맥경화 지수, 주요 장기 (간)의 조직병리학적 검사 등을 통하여 상백피 추출물인 SB의 동맥경화 개선효과를 확인하고자 본 연구를 시행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시험물질

뽕나무 추출물 (*Mori radices cortex extract*)은 건조된 시험물질 1.0 kg에 증류수 50 l를 가하고 8시간 끓인 다음 냉각시켰다. 추출액을 여과한 후 여과액을 1 l 부피로 evaporator를 이용하여 감압 농축한 다음, 동결 건조하여 얻은 분말을 시료로 사용하였다. 비교물질은 lovastatin (중외제약, 수원, 경기도)을 사용하였으며, 모든 시험물질은 분말사료 (퓨리나코리아, 성남, 경기도)에 혼합하여 공급하였으며, 고지혈증

유발물질로 cholesterol 1 (Junsei Chemical Co., Ltd. Japan), corn-oil (Junsei Chemical Co., Ltd. Japan)을 사료에 혼합하여 유발시켰다. 그 외 실험에 사용한 시약은 특급의 시약을 사용하였다.

### 2. 실험동물

New Zealand White (NZW)계 수컷 토끼 (체중 2.0~2.5 kg)를 (주)샘타코바이오코리아 (오산, 경기도)로부터 구입하여 10일간 순화기간을 가진 후 표준적인 사육조건인 온도 23±2°C, 상대습도 50±10%, 환기횟수 10~15회/hr 조명주기 12 hr 점등/12 hr 소등, 조도 150~300 Lux의 환경조건에서 스테인리스케이지 380W×490L×350H (mm)에 1마리씩 수용하였다. 사료는 순화기간 동안 육성용 토끼 펠렛사료를 분쇄한 분말사료를 공급하며 시험기간 동안 공급할 고 콜레스테롤 식이는 분말사료에 cholesterol과 corn oil을 첨가하여 300 g씩 제한 공급하였으며, 음수는 필터를 이용하여 여과된 정제수를 자유섭취 시켰다.

### 3. 군 분리 및 시험물질의 투여

시험물질 투여 전 2주간 고 콜레스테롤 사료를 급여하여 혈중 cholesterol 수치가 약 1000 mg/dL에 이르는 개체들을 선별하여 투여 군을 설정하였다. 고 콜레스테롤 사료는 Narayanaswamy 등 (2000)의 고지혈증 유발방법을 변형하여 제조하여, 1% cholesterol과 2% corn oil을 첨가한 가루사료를 급여하였다. 시험물질 (SB로 약함)은 고 콜레스테롤 사료에 추가로 혼합하여 8주간 1%와 3%로 공급하였으며 대조물질인 lovastatin은 0.002%를 사료에 혼합하여 공급하였다. 그 외에 정상대조군과 고지혈증 유발대조군을 두었으며 각 군 당 개체 수는 4마리씩으로 두었다.

### 4. 혈중지질 측정

시험 종료 12시간 전에 모든 군의 동물을 절식 시키고 케타민 (ketamine hydrochloride)과 xylazine으로 마취 후, 복대정맥에서 채혈하여 triglyceride (TG)와 cholesterol, high density lipoprotein (HDL), low density lipoprotein (LDL)을 각각 측정하였다.

### 5. 조직병리학적 소견 및 동맥경화지수 판정 (Atherosclerosis index)

시험 종료 후 적출한 장기를 (대동맥) -70°C에서 동결한 후 동결 절편기를 사용하여 16 μm의 두께로 박절한 후 gelatin으로 표면 처리된 슬라이드에 부착시켰다. 이 슬라이드에 PBS 용액을 가한 다음 무수 propylene glycol 용액에 2분간 행군 후 0.5% oil red O 용액에 1시간 동안 염색하였다. 이후 85% propylene glycol 용액에 1분간 감별시키고 증류수로

**Table 1.** Serum lipid levels in hyperlipidemic rabbits at 0 week, hypercholesterol diet was fed for 2 weeks, and 8week, lovastatin and SB were prescribed for rabbit during 8 weeks

	Group	TG (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	T. Chol (mg/dL)
0 week	Normal control	58.0±4.6	24.1±4.3	15.7±6.5	37.2±4.5
	HC only	50.2±8.2	89.4±7.7**	541.1±46.0**	992.0±150.7**
	HC + Lovastatin 0.002%	88.7±9.2*	86.1±5.9**	503.7±28.6**	941.0±49.4**
	HC + SB 1%	50.5±8.7	101.5±2.1**	591.3±60.2**	1087.0±151.9**
	HC + SB 3%	77.7±11.4*	103.2±8.6**	590.6±58.8**	1186.5±250.6**
8 weeks	Normal control	40.2±4.1	15.0±4.0	5.9±1.6	25.0±4.5
	HC only	43.0±7.9	16.6±3.8	705.1±144.9	1246.5±123.9
	HC + Lovastatin 0.002%	46.2±9.7	75.1±9.9 <sup>‡</sup>	382.3±80.4 <sup>‡</sup>	796.0±77.5 <sup>‡</sup>
	HC + SB 1%	75.0±17.3 <sup>‡</sup>	106.0±12.0 <sup>‡</sup>	836.2±134.4	862.5±77.1 <sup>‡</sup>
	HC + SB 3%	88.0±9.8 <sup>‡</sup>	57.7±13.6 <sup>‡</sup>	551.7±185.8	732.0±106.7 <sup>‡</sup>

All data were mean ± SEM (n=4) \*, \*\* signified  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$  when compared to Normal control and <sup>‡</sup>, <sup>‡</sup> signified  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$  when compared to positive control, only hypercholesterol diet, as compared by Tukey's t-test. TG: Triglyceride, HDL: high density lipoprotein, LDL: low density lipoprotein, Chol: cholesterol, HC: hypercholesterol diet

두 번 세척한 후 polymount로 봉입하여 광학현미경상에서 지질 plaque의 침착상태를 관찰하여 4단계 (negative, +, ++, +++)로 나누어 plaque score를 계산하였다 (Kobayashi et al., 2004; Kim et al., 2000). 적출한 장기 중 포르말린에 고정한 간을 파라핀 고정방법으로 고정 후 4 µm의 두께로 박절하여 H&E 염색을 시행한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

#### 6. 간 조직 중 지질과산화물의 측정

지질과산화 (lipid peroxidation) 측정은 malondialdehyde (MDA) 유사물질인 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP)을 standard로 하는 thiobarbituric acid (TBA)법으로 측정하였다. 약물 투여가 끝난 토끼를 케타민 (ketamine hydrochloride)과 xylazine으로 마취 후 부검하여 ice-cold 0.9% NaCl로 liver perfusion을 한 후에 간을 적출하고 생리식염수로 간의 혈액을 제거하였다. 간 무게를 측정하고 세절한 후 얼음으로 냉각시킨 9배의 PBS를 가하고 동시에 얼음으로 냉각시키면서 homogenizer로 균질화 하였다. Homogenate 1 ml에 1 ml의 8.1% sodium dodecyl sulfate solution, 2 ml의 20% acetic acid solution을 넣고 혼합한 다음 1 ml의 0.8% TBA solution을 넣고 95°C에서 60분간 반응시킨 후 냉각시켜 상층액을 취하여 spectrophotometer를 이용하여 532 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 7. 통계처리

대조군과 시험물질 투여군 간의 상대 장기중량, 혈중지질의 변화, 동맥경화지수 측정, 지질과산화물 정량에 대한 결과는 평균치 ± 표준편차로 나타내었으며, Levene's test를 통해 분산이 동질성을 갖는 경우 one-way analysis of variance (ANOVA)를 실시하여 유의성이 관찰되면 대조군과의 유의

차가 있는 시험군을 알아내기 위하여 Tukey's t-test를 실시하여 유의차가 5% 미만 ( $P < 0.05$ )일 때 통계적 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

## 결 과

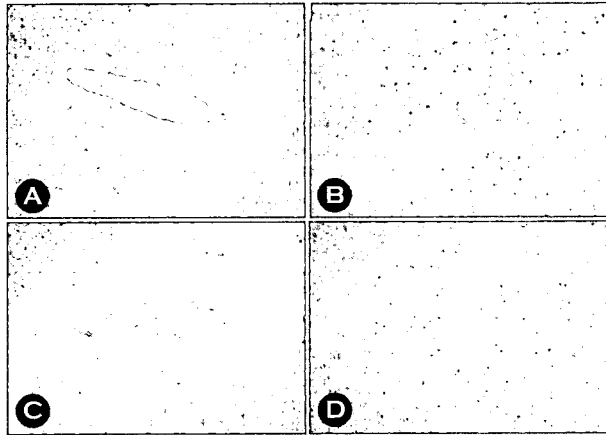
### 1. 혈중에서의 지질 측정

시험물질 투여 전 2주간의 고 콜레스테롤 (1%) 식이후의 고 콜레스테롤 식이 단독투여군의 혈중 콜레스테롤은 992.00 ± 150.7 mg/dl로서 정상대조군의 37.2 ± 4.5 mg/dl에 비해 약 26.8배 증가하였다 (Table 1). 이러한 고 콜레스테롤 혈증 토끼에 계속해서 고 콜레스테롤 사료를 급여한 결과 8주 후에는 1246.5 ± 123.9 mg/dl로 증가하였다. 반면에 상백피 추출물 3% 투여군에서는 732.0 ± 106.7 mg/dl로 감소하였으며, lovastatin 0.002% 투여군에서는 796.0 ± 77.5 mg/dl로 감소하였다. 혈중 LDLs의 함량은 2주간 고 콜레스테롤 식이 후 정상대조군 (15.7 ± 6.5 mg/dl)에 비해 모든 고 콜레스테롤 사료 식이군에서는 500 mg/dl 이상의 높은 수치를 기록하였다. 8주간의 시험물질 및 고 콜레스테롤 단독 식이에 의해 정상대조군 (5.9 ± 1.6 mg/dl)에 비해 고 콜레스테롤 사료 단독투여군은 705.1 ± 144.9 mg/dl까지 증가하였다. 반면에 lovastatin 0.002% 투여군에서는 382.3 ± 80.4 mg/dl로서 고 콜레스테롤 식이 단독투여군과 비교하여 유의적인 감소를 보였으며 상백피 추출물 3% 투여군에서는 551.7 ± 185.8 mg/dl까지 감소하였다. 한편, 혈중 HDLs의 함량은 2주간 고 콜레스테롤 사료를 급여한 모든 군에서 80 mg/dl 이상으로 정상대조군 (24.1 ± 4.35 mg/dl)에 비하여 유의적으로 높았으나 8주간의 고 콜레스테롤 식이 단독투여군에서는 16.6 ± 3.8 mg/dl로서 정상대조군 (15.0 ± 4.0 mg/dl)과 거의 유사하게 감소하였다.

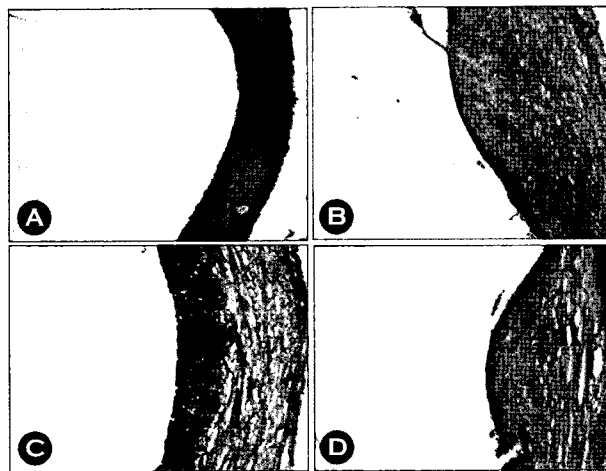
반면에 lovastatin, 상백피 추출물 1% 및 3% 투여군에서는 각각  $75.1 \pm 9.9$  mg/dl,  $106.0 \pm 12.0$  mg/dl,  $57.7 \pm 13.6$  mg/dl로서 모두 고 콜레스테롤 식이 단독투여군에 비하여 유의하게 증가하였다.

## 2. 간 조직의 형태학적 소견 및 동맥경화지수

간 조직의 형태학적 소견에서는 간, 신장에서 H&E 염색을 시행해본 결과 정상대조군 간 조직 내 지질성분의 공포나 세포질 내에 많은 지질을 함유하는 포말세포 (foam cell)는



**Fig. 1.** Histological findings of the liver of rabbits fed on normal diet (A), hypercholesterol diet alone (B), lovastatin (0.002%, C) and Mulberry root-bark extract (3%, D) in hypercholesterol diet. Note severe vacuolations around portal triad are shown in B, in comparison with certainly mild lesions in C and D, and normal features in A, H&E stain ( $\times 100$ ).



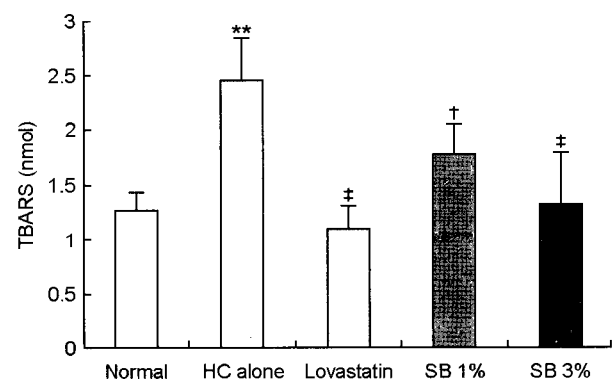
**Fig. 2.** Representative microscopic findings of the aorta of rabbits fed on normal diet (A), hypercholesterol diet alone (B), lovastatin (0.002%, C) and Mulberry root-bark extract (3%, D) in hypercholesterol diet. Note a thick atheroma plaque formed in intima in B, in comparison with mild lesions in C and D, and normal features in A, Oil red O stain ( $\times 100$ ).

보이지 않았으며 양성대조군에서는 대부분의 조직에 지질성분의 공포와 포말세포들이 다수 관찰되었다. 대조물질인 lovastatin (0.002%) 투여군과 3% 시험물질 투여군 (SB-3%)에서는 고 지혈증유발군에 비해 지질의 공포 부위와 포말세포들이 감소되어있음을 확인할 수 있었다 (Fig. 1).

또한 적출한 대동맥에 지질 염색 (Oil red O)을 시행하여 atheromatous plaque의 형성 정도를 4단계 (negative, +, ++, +++)로 나누어 현미경 시야 ( $\times 100$ )에서 plaque score를 계산한 결과 정상대조군의 대동맥내벽에는 지질 plaque의 침착이 전혀 관찰되지 않았으나 양성대조군에서는 동맥내벽에 지질 plaque의 침착이 혈관벽 두께 이상으로 침착되어 plaque score가 2.75로 가장 높았다. 반면 대조물질인 lovastatin (20 mg/kg) 투여 군에서는 2.0으로 거의 동맥 내 지질침착이 거의 나타나지 않았다. SB-1% 투여군에서는 양성대조군에 비해 유의하게 감소하는 결과를 보인 반면, SB-3% 투여군에서는 지질침착 정도가 2.0으로 양성약물대조군인 lovastatin과 같은 plaque score를 확인할 수 있었다 (Fig. 2, Table 2).

**Table 2.** Effects of lovastatin and SB on aortic plaque formation in hypercholesterol (1%) diet-fed rabbits

Treatment	0	+(1)	++(2)	+++ (3)	Atherosclerosis index
Normal control	4				0
HC only			1	3	2.75
HC + Lovastatin 0.002%		1	2	1	2.0
HC + SB 1%		1	1	2	2.25
HC + SB 3%		1	2	1	2.0



**Fig. 3.** Lipid peroxidation level in hyperlipidemic rabbits at final week. Note TBARS level of hypercholesterol-diet rabbits were treated with lovastatin (0.006%) and *Mori Radicis* Cortex (1% or 3%) in hypercholesterol diet, only hypercholesterol diet or normal diet for 8 weeks. All data were mean  $\pm$  SEM (n=4) \*\* signified  $P < 0.01$  when compared to Normal control, as compared by Tukey's *t*-test. †, ‡ signified  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$  when compared to positive control, only hypercholesterol diet, as compared by Tukey's *t*-test.

### 3. 간 조직 중 지질과산화물 측정 결과

10주간 고 콜레스테롤 식이를 한 토끼의 간 조직 내 지질과산화물은  $2.45 \pm 0.40$  nM로서 정상대조군 ( $1.26 \pm 0.17$  nM)에 비하여 유의하게 증가하였다 ( $P < 0.01$ , cf. normal control). 반면에 상백피 1% 혼합투여군에서는  $1.78 \pm 0.14$  nM ( $P < 0.05$ , cf. HC only), 상백피 3% 혼합투여군에서는  $1.31 \pm 0.29$  nM로서 고 콜레스테롤 식이 단독투여군에 비하여 유의하게 감소하였다 ( $P < 0.01$ , cf. HC only). 이는 lovastatin 혼합투여군에서도 마찬가지로  $1.10 \pm 0.21$  nM로서 두 농도의 시험물질 모두 free radical의 세포손상에 대한 탁월한 보호효과 ( $P < 0.01$ )를 보였다 (Fig. 3).

## 고 찰

본 연구에서는 고지방 식이에 의해 유도된 고 콜레스테롤 혈증 토끼 모델에서 시험물질인 상백피 추출물의 혈중 콜레스테롤 강하효과, 항산화 효과, 동맥벽 내 지질 침착 억제효과를 규명하고자 하였다. 고 콜레스테롤 혈증에 이은 동맥경화증의 발병에 관한 기전은 아직 완전히 밝혀지지 않았지만 이 과정에서 발생하는 지질과산화반응이 매우 중요한 역할을 한다는 것이 보고되어 있다. LDLs의 과산화 과정 중 발생한 지질과산화물은 직·간접적으로 염증 매개물질의 합성을 촉진하고, macrophage의 콜레스테롤 축적을 증가시켜 동맥벽의 endothelial cell의 손상을 야기한다. 이 과정에서 free radical에 의해 동맥벽의 손상이 야기되고, 지질과 손상 부위의 이중결합이 촉진되므로 결과적으로 동맥경화증이 발생된다고 추정되고 있다. 따라서 이 상태에서 혈중 고농도의 지질은 free radical의 기질이 되므로 동맥경화증 발병을 촉진하는 요인이 된다 (Packer, 1991, Sarataho et al., 1996). 따라서 이러한 고지혈증을 개선하기 위하여 식이요법, 운동요법과 더불어 이를 치료하기 위한 여러 가지 치료법이 사용되고 있는데 이중 가장 광범위하게 사용되고 있는 statin계열의 약제는 cholesterol 생합성의 중간산물인 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA)의 구조적 유사물로 cholesterol 생합성 과정 중 속도제한 단계인 HMG-CoA에서 mevalonate로의 환원을 촉매하는 HMG-CoA reductase의 활성을 억제한다. Statin의 혈중 cholesterol 저하작용은 일차적으로는 HMG-CoA reductase 억제에 의한 간세포의 cholesterol 생합성 억제와 그에 따른 세포 내 cholesterol pool의 감소에 기인한다고 보고되었다 (Gotto, 2002). 세포 내 cholesterol pool의 감소는 세포막에 존재하는 LDL 수용체의 발현을 증가시키며, 이러한 LDL 수용체의 증가는 LDL, VLDL, IDL 등 LDL 전구 지단백질의 혈장으로부터의 제거를 촉진한다. 이들 약제들은 혈중 콜레스테롤 농도를 현저히 낮출 수 있는 장점을 가지고

있으나 간, 신장 종대 등 심각한 부작용을 가지고 있어 최근에는 새로운 작용기전을 가진 천연물로부터 고지혈증 치료제의 개발에 관심이 높아지고 있다 (Igel et al., 2001, Wierzbicki et al., 2003).

본 시험에서도 대조약물로서 statin계열 중 lovastatin을 사용하였는데 이는 Aspergillus terreus 대사물의 유도체로서 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitor이며, 고지혈증이나 심혈관계 질환에서 혈중지질 농도 강하를 위해 널리 처방되는 약물이다 (Blum et al., 2004). 이 statin계열의 약물은 cholesterol 생합성을 억제하여 혈중 cholesterol 수준을 줄이는 데에 탁월한 것으로 잘 알려져 있으며, lovastatin은 특이적으로 콜레스테롤 강하효과를 가진 것으로 보고되었다. 본 연구에서도 고 콜레스테롤 사료에 lovastatin을 0.002%로 혼합하여 급여한 결과 8주 만에 고 콜레스테롤 식이 단독투여군과 비교하여 56%가량 혈중 cholesterol을 감소시켰다. 또한 동맥경화 유발요인 중 가장 큰 역할을 하는 것으로 알려져 있는 혈중 LDL-Cholesterol 농도에 있어서도 고 콜레스테롤 식이 단독투여군과 비교하여 84%를 감소시켰다. 반면에 혈중 triglyceride에 대한 영향은 고 콜레스테롤 식이 단독투여군과 비교하여 유의성이 인정되지 않았다. 이는 lovastatin이 triglyceride의 수준에는 영향이 거의 없이 혈중 콜레스테롤 농도를 낮춤으로써 동맥경화 치료 효능을 갖는다는 이전의 보고와 일치하는 결과이다. 반면에 동맥경화에 도움이 되는 HDLs의 수준은 정상대조군보다도 78%가량 증가시켰다. 이러한 결과는 상백피 투여군에서도 유사하였는데 상백피 추출물 SB 1%와 3% 투여군에서 각각 고 콜레스테롤 식이 단독투여군과 비교하여 44%, 70%가량 감소시켰다. HDLs 수준에 있어서는 SB 1%와 3%가 모두 70% 이상 증가시켰다. 이상의 결과에서 lovastatin과 상백피는 동맥경화의 유발에 결정적인 작용을 하는 혈중 콜레스테롤 농도를 낮게 유지하고 동맥경화의 완화에 도움이 되는 HDLs를 증가시킴으로써 동맥경화증에 대한 치료효과가 있으리라고 생각된다.

본 연구에서는 또한 혈중 콜레스테롤 농도와 더불어 동맥경화증의 주요 야기원으로서 인식되고 있는 free radical에 의한 지질과산화물의 산생 정도를 알아보기 위하여 간 조직 중 지질과산화물을 측정하였는데, 간 조직 내 지질과산화반응의 산물인 malondialdehyde (MDA)를 나타내는 TBARS 함량은 고 콜레스테롤 식이 단독투여군에서  $2.45 \pm 0.40$  nM로서 정상대조군에 비교하여 무려 94%의 증가를 보였으나 SB 1%와 3% 투여군에서 고 콜레스테롤 식이 단독투여군과 비교하여 각각 37%, 87%의 감소를 보였다. 대조약물인 lovastatin 투여군에서 55%의 감소를 나타냈다. 이는 고지혈증의 유발로 증가된 lipid peroxide를 상백피 추출물인 SB의 투여가 감소시킬 수 있음을 의미하는 것이며 이는 대조물질인

lovastatin 투여군에서도 확인되었다.

동맥경화증은 혈중 콜레스테롤 농도, 혈중 LDLs, HDLs 농도, free radical에 의한 과산화반응의 정도에 따라 발병하며 그 정도도 다르다. 따라서 시험물질에 의한 동맥경화증의 치료 효능을 종합적으로 평가하기 위하여 atheromatous plaques를 산출한 결과, 10주간 고 콜레스테롤 식이를 한 토끼의 동맥벽은 심한 비후를 나타냈으며, oil red O에 염색되는 두꺼운 atheromatous plaques를 보여주었다. 이에 비해 2주간 고 콜레스테롤 식이 후 8주간 고 콜레스테롤 사료에 상백피 추출물인 SB 3%를 혼합하여 급여한 토끼의 동맥벽은 얇은 oil red O 염색 지질층을 보여주었으며, lovastatin 20 mg/kg을 투여한 동물 또한 효과적으로 지질층이 감소하여 미약한 동맥경화 소견을 나타내었다. 이러한 atheromatous plaques의 정도를 scores로 표시했을 때, 고 콜레스테롤 사료만을 급여한 동물에서는 모두 중등도 (++) 내지 강도 (+++)의 소견을 보여줌으로써 2.75의 atherosclerosis index를 나타내었다. 이에 비해 lovastatin 혼합투여군과 상백피 추출물인 SB 3% 혼합투여군은 2.0의 atherosclerosis indices를 나타냄으로써 두 시험물질 모두 탁월한 동맥경화 개선효과를 발휘하였다. 10주간의 고 콜레스테롤 식이로 유발된 이와 같은 동맥벽의 병변에 더하여, 간세포는 세포질 내 다량의 지질침착에 따른 지방공포로 인하여 포말상으로 변형되어 있었다. 반면에 상백피 추출물인 SB 3%를 혼합 급여한 동물에서는 이러한 변성 간세포의 분포가 중심정맥주위 (centrilobular regions)로 제한되어 나타났다. 이러한 소견은 lovastatin 혼합투여군에서도 유사하였다.

이상의 결과를 종합해 볼 때, 상백피 추출물인 SB는 본 시험조건에서 혈중 콜레스테롤을 강하 시키고 동맥경화의 치료에 도움이 되는 HDLs를 증가시킴으로써 콜레스테롤의 동맥벽 침착을 억제하여 주고, 지질과산화반응을 억제하여 동맥벽의 손상을 감소시킴으로써 동맥벽의 atheromatous plaques의 형성을 개선해 주는 것으로 생각된다. 따라서 상백피 추출물인 SB는 기존의 치료요법과 병행하여 동맥경화의 예방 및 완화를 위한 기능성 식품으로써의 효과를 발휘할 수 있다고 판단된다. 그러나 상백피 추출물 SB의 지질강하 효과와 관련하여 최적의 유효농도 및 성분에 관한 추가적인 연구가 필요하리라 사료된다.

#### 감사의 글

이 연구는 Wonder Bio 생명공학연구소의 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## REFERENCES

Blum A, Simsolo C, Hasin Y. 3-hydroxy-3-methylglutaryl coen-

- zyme A (HMG-CoA) reductase inhibitors (statins), atherosclerosis and coronary syndromes. *Atherosclerosis* 2004. 175: 1-4.
- Gotto AM. Management of dyslipidemia. *Am J Med.* 2002. 112: 10-18.
- Lgel M, Sudhop T, vonBergman K. Metabolism and druginteractions of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A-reductase inhibitors (statins). *Eur J Clin Pharmacol.* 2001. 57: 357-364.
- Kobayashi H, Matsushita M, Oda K, Nishikimi N, Sakuri T, Komori K. Effect of atherosclerotic plaque on the enlargement of an experimental model of abdominal aortic aneurysm in rabbits. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2004. 28: 71-78.
- Kim AK, HA H, Yoon SH. Liver protective effects of *Mori Radicis* Cortex in isolated hepatocytes. *J Korea Soc Hygienic Sciences.* 1995. 1: 16-20.
- Kim TG, Kim SH, Kang SY, Jung KK, Choi DH, Park YB, Ryu JH, Han HM. Antiatherogenic effect of the extract of *Allium victorialis* on the experimental atherosclerosis in the rabbit and transgenic mouse. *Kor J Pharmacogn.* 2000. 31: 149-156.
- Narayanawamy M, Wright KC, Kandarpa K. Animal models for atherosclerosis, restenosis, and endovascular graft research. *J Vas Interventional Radiol.* 2000. 11: 5-17.
- Natio HK. The 18th annual NACB symposium. Atherogenesis: current topics on etology and risk factors. *Clin Chem.* 1995. 41: 132-133.
- National Statistics office. Annual report on the cause of death statistics. <http://www.nso.go.kr>, 2002.
- Ramos KS, Melchert RB, Chacon E, Acosta D Jr. Toxic responses of the heart and vascular systems In Casarett & Doull's Toxicology 6th ed. 2001. pp 597-651. Brandon/Hill Medical Selection. McGraw-Hill, New York.
- Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993. 362: 801-809.
- Sarataho EP, Nyssonen K, Salonen JT. Increased oxidation resistance of atherogenic plasma lipoproteins at high vitamin E levels in non-vitamin E supplemented men. *Atherosclerosis* 1996. 124: 83-94.
- Packer L. Protective role of vitamin E in biological systems. *Am J Clin Nutr.* 1991. 53: 1050S-1055S.
- Vesselinovitch D. Animal models and the study of atherosclerosis. *Arch Pathol Lab Med.* 1988. 112: 1011-1017.
- Wierzbicki AS, Poston R, Ferro A. The lipid and non-lipid effects of statins. *Pharma. Therap.* 2003. 99: 95-112.