

자귀나무와 결명자 추출 혼합물의 항고지혈 효과

남종현 · 성기승¹ · 이종석² · 이옥환² · 한찬규^{1*}
(주)그래미, ¹한국식품연구원, ²강원대학교 식품생명공학과

Anti-hyperlipidemic Activity of *Albizia julibrissin* and *Cassia tora* L. Extract Mixtures in Rats Fed with High-fat Diets

Jong-Hyun Nam, Kee-Seung Sung¹, Jong Seok Lee², Ok-Hwan Lee², and Chan-Kyu Han^{1*}

Glami Co., Ltd., ¹Korea Food Research Institute

²Department of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University

Abstract The present study was undertaken to evaluate the anti-hyperlipidemic activity of *Albizia julibrissin* and *Cassia tora* L. extract mixtures in high fat diet-induced hyperlipidemic rats. In high-fat diet fed hyperlipidemic rats, oral treatment with *Albizia julibrissin* and *Cassia tora* L. extracts resulted in decreased levels of total serum cholesterol and triglycerides, epididymal fat pad (EFP) weights, and activities of hepatic glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) and malic enzyme, while the levels of feces production and high-density lipoprotein (HDL)-cholesterol were increased, compared with untreated control. Therefore, these results suggest that *Albizia julibrissin* and *Cassia tora* L. extract mixtures can ameliorate hyperlipidemia.

Keywords: *Albizia julibrissin*, *Cassia tora* L., high-fat diet, lipid profiles

서 론

현대사회의 서구화된 식생활로 인해 과거에 비해 지방 섭취 빈도수가 증가하였다. 빈번한 동물성 식품의 섭취로 지질섭취가 증가하였고 이로 인해 유발되는 고지혈증(hyperlipidemia)으로 인한 동맥경화, 심근경색증, 협심증, 뇌졸중 등 심혈관계 질환 또한 증가하고 있는 추세이다(1-4). 현재까지 개발된 고콜레스테롤혈증(hypercholesterolemia) 치료제는 3-hydroxy-3methylglutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) reductase를 저해함으로써 혈장 콜레스테롤 수준을 감소시킬 수 있다는 기대 하에 1971년 미생물의 대사산물 중에서 저해제 탐색연구가 시도되었다(5). 1976년 최초로 Mevastatin이 개발되었고, 1980년대에 진행된 Mevastatin의 사람과 동물에 대한 임상실험에서 low-density lipoprotein (LDL)-콜레스테롤 농도의 유의적인 감소가 보고되었다(6,7). 그러나 이러한 화합물들은 미생물의 대사산물이거나 화학적인 합성물질인 관계로 간 손상 및 근육병 등 인체에 많은 부작용을 초래하였다(8,9). 따라서 이들 물질들의 체내 작용기전에 수반하는 부작용 해소를 위하여 새로운 기능성 식품소재로부터 지질저하용 기능성물질 개발이 시도되고 있다(10).

결명자(*Cassia tora* L.)는 콩과에 속하는 일년초로서 한방에서는 눈을 밝게 하고 간장과 신장의 강장효과 및 고혈압, 변비개

선, 콜레스테롤 개선등의 작용이 있기 때문에 심혈관계 질환, 항동맥 경화작용이 있는 것으로 알려졌다(11). 결명자 성분은 chrysofenol, rubrofusarin, obstusin, gentiobioside, emodin, rhein, anthraquinone glycosides 등으로 그 중에서 특히, emodin과 rhein는 콜레스테롤 저하 및 혈압강하 효과가 있다(12,13).

자귀나무(*Albizia julibrissin*)는 중남부의 해발 1,000미터 이하 계곡이나 산야에 흔히 자라는 콩과(Leguminosae)의 낙엽소교목으로 전국 각지에 자생하며, 성분으로는 잎과 뿌리껍질로부터 potassium β -D-glucopyranosyl 12-hydroxyjasmonate, flavonol glycosides가 있고(14,15), 줄기껍질로부터 julibrosides J1, J2, J3, julibrogenin A, julibrosides A1-A4, B1, C1, julibrin II 등의 triterpenoid saponin 및 monoterpene conjugated triterpene (16-18)가, 꼬투리로부터 acylated sterylglucoside가 보고되었다(19). 자귀 관련 연구는 angiotensin converting enzyme (ACE) 저해활성(20), 자유라디칼 소거능(21), 항암(22), 급성림프성 백혈병 세포주의 세포사멸 유도효과(23) 및 세포주기 억제(24) 등이 있다.

따라서, 본 연구에서는 고지방식이를 5주간 섭취시켜 고지혈증 병태모델의 흰쥐를 만든 후 자귀결명자추출혼합물 첨가식이를 고지혈증 유발 흰쥐에게 5주간 섭취시켜 자귀결명자추출혼합물이 심혈관계 질환의 주요 위험 인자들에 미치는 효과를 경시적으로 검토하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 자귀결명자추출혼합물 분말은 (주)그래미로부터 제공받아 실험에 사용하였다. 자귀나무와 결명자의 수분함량, 고유의 설탕과 향미, 이미, 이취, 이물여부를 확인한 후, 각각

*Corresponding author: Chan-Kyu Han, Korea Food Research Institute, Seongnam, Gyeonggi 463-746, Korea

Tel: 82-31-780-9236

Fax: 82-31-780-9237

E-mail: ckhan@kfri.re.kr

Received October 24, 2013; revised December 27, 2013;

accepted January 13, 2014

50%씩 비율로 평량한 후 원료의 10배의 가수를 하고 98°C에서 2시간 동안 1차 추출 후 동일조건으로 1시간 동안 2차 추출하였다. 추출물을 서비스 탱크에서 2시간 침전시킨 후 300 mesh로 여과하고 감압 농축한 후 150-220°C의 온도에서 스프레이 건조를 실시하였다. 건조 분말은 진공포장하여 실험시까지 보관하였다.

실험동물 및 사육환경

본 실험에서는 한림실험동물연구소로부터 구입한 생후 3주령 된 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 사용하였다. 1주일간의 검역 및 순화를 거친 뒤 건강하다고 판정된 것 중 체중이 115±5 g의 것을 시험에 사용하였다. 실험동물은 온도 18±2°C, 상대습도 50±10%, 환기회수 10-20회/h, 조명 시간 12시간(08:00 점등-20:00 소등), 조도 150-300 Lux로 설정된 환경에서 stainless steel wire cage (225 W×200 L×180 H mm)에서 한 마리씩 분리 사육하였다. 사료와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다.

실험그룹과 투여물질

자귀결명자추출혼합물의 혈청 콜레스테롤 저하효과를 확인하기 위하여 실험 1기(5주) 동안 고지방식을 급여한 다음 실험 2기(5주) 동안 자귀결명자추출혼합물 분말 첨가사료를 급여하였다. 흰쥐용 사료는 조지방함량 7%의 AIN-93G diet (Harlan Teklad, Madison, WI, USA)를 기본 식이로 하였으며, 돈지(lard)와 콜레스테롤(Wako Pure Chemical Industries Ltd., Osaka, Japan)을 각각 중량비로 7% 및 1%로 첨가하여 총 지방함량이 15%가 되도록 고지방식이(high-fat diet)를 제조하였다. 시험처리는 고지방식을 대조군(A)으로 하였고, 고지방식에 자귀결명자추출혼합물 분말을 각각 1.0% 첨가군(B), 2.5% 첨가군(C), 5.0% 첨가군(D) 및 10% 첨가군(E)으로 하였다. 실험동물은 흰쥐를 실험군당 12 마리씩 배치하여 10주 동안 사육하였다. 체중, 식이섭취량 및 식이효율은 실험기간 중 1주일에 한번씩 일정한 시간에 실험동물용 저울(GF-2000, AND, Anyang, Korea)을 이용하여 측정하여 주간 별 평균 1일 성장률을 구하고, 식이효율(feed efficiency ratio, FER)은 증체량을 식이섭취량으로 나누어서 산출하였다. 배변량은 실험 1, 2기에 각각 2회, 4일 동안 측정하였다.

체혈 및 장기적출

실험종료 전 16시간 동안 흰쥐를 절식시킨 후 ether로 마취한 다음 심장에서 채혈하였다. 채취한 혈액은 1시간 방치 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 채혈 후 즉시 간장, 신장, 고환을 분리 적출하여 생리식염수로 세척한 후 거즈로 수분을 제거, 무게를 측정하였다. 내장지방 중 신장주변지방패드(perirenal fat pad, RFP)와 정소상체지방패드(epididymal fat pad, EFP)의 무게를 측정하였다.

혈청 지질분석

혈청 중성지방의 함량은 혈청 중성지방 측정용 kit (Sigma Co, St. Louis, MO, USA)를 사용하여 triglyceride reagent를 이용한 enzymatic method으로 분석 후 자동화학분석기 ADVIA 1650 (Bayer, Tarrytown, NY, USA)로 측정하였다. 혈청 총 콜레스테롤 함량은 Rudel과 Morris(25)의 방법에 의거하여 cholesterol reagents를 이용한 enzymatic method로 분석하였고, high-density lipoprotein (HDL)-콜레스테롤 함량과 LDL-콜레스테롤 함량은 Noma 등(26)의 연구에 준하여 HDL-콜레스테롤 reagent를 이용한 enzymatic method로 분석하여 자동화학분석기 ADVIA 1650 (Bayer)으로 측정하였다.

혈청 간기능지표 효소활성

간의 손상정도를 측정하기 위하여 alkaline phosphatase (ALP)와 아미노산 전이효소인 glutamate-oxaloacetate transaminase (SGOT)와 serum glutamic pyruvic transaminase (SGPT) 활성을 aspartate aminotransferase (AST)와 alanine transaminase (ALT) 효소법에 의한 정량용 kit (Asan Co, Seoul, Korea)를 이용하여 enzymatic method by International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) 방법으로 분석 후 자동화학분석기 ADVIA 1650 (Bayer)으로 측정하였다.

간조직의 효소활성

일정량의 간 조직에 10배에 해당하는 0.25 M sucrose/0.5 mM EDTA buffer (pH 7.4)을 넣어 균질화한 다음 10,000×g로 4°C에서 30분간 원심 분리하여 상층액을 얻었고, 상층액은 glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH)와 malic enzyme 측정에 사용하였다. G6PDH 활성은 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP)가 glucose-6-phosphate를 산화시켜 생성된 NADPH의 양을 측정하는 Bergmeyer의 방법(27)에 준하였고, malic enzyme 활성은 효소에 의해 환원된 NADPH의 생성율을 측정하는 Ochoa의 방법(28)의 방법으로 평가하였다. 단백질농도는 Lowry 등(29)의 방법에 따라 자동화학분석기 ADVIA 1650 (Bayer)으로 측정하였다. G6PDH 측정은 H₂O 0.6 mL, 0.1 M Tris buffer (pH 7.4) 0.75 mL, 0.1 M glucose-6-phosphate 0.15 mL, 0.1 M MgCl₂·6H₂O 0.15 mL, 3 mM NADP 0.1 mL, 상층액 0.25 mL을 혼합하여 340 nm에서 분광광도계(Optizen 2120UV, Mecasys Co. Ltd., Daejeon, Korea)를 이용하여 2 min간 흡광도의 변화를 측정하였다. Malic enzyme의 측정은 0.4 M triethanolamine (pH 7.4) 0.5 mL, 30 mM L-malate 0.05 mL, 0.12 M MnCl₂·4H₂O 0.1 mL, 3 mM NADP 0.13 mL, H₂O 2 mL, 상층액 0.1 mL을 혼합하여 340 nm에서 2분간 흡광도의 변화를 측정하였다.

통계분석

모든 실험결과는 SAS프로그램(Version 8.01, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차를 계산하였다. 실험 1기와 실험 2기 배변량 차이는 *t*-test로 비교하였고, 각 실험군간의 차이는 one way ANOVA를 사용하여 비교하였고, Duncan's multiple range test로 5% 수준에서 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

체중, 증체량, 식이효율 및 배변량

자귀결명자추출혼합물 첨가사료가 고지방식을 급여한 흰쥐의 증체량, 식이섭취량, 식이효율 및 배변량에 미치는 영향은 Table 1과 같다. 실험식을 10주 동안 급여후의 종료체중은 실험군간 차이는 없었고, 시료 2.5% 첨가군(C)과 5.0% 첨가군(D)이 고지방식이 대조군(A) 보다 다소 높았다. 일당증체량은 7.31-7.89 g으로 유의적인 차이는 없었지만, 시료 10% 첨가군(E)이 가장 낮았다. Han 등(30)은 고지방식과 함께 뽕잎오디쌀식을 4주간 급여하였을 때 대조군에 비해 증체량이 다소 감소하였다고 보고 하였다. 실험기간동안 식이섭취량은 23.97-25.15 g으로 유의적인 차이가 없었으나, 시료 10% 첨가군(E)이 가장 낮았다. 식이효율(FER) 역시 실험군간 차이가 없었다. 자귀결명자추출혼합물 첨가사료가 고지방식을 급여한 흰쥐의 배변량에 미치는 영향은 고지방식을 급여한 실험 1기 동안 배변량은 11.77-15.97 g

Table 1. Effects of *Albizia julibrissin* and *Cassia tora* L. (AC) extracts on body weight gain, diet intake, feed efficiency ratio (FER) and fecal amount in rats fed with high-fat diet

Group ¹⁾	Initial BW ²⁾ (g)	Final BW (g)	BW gain (g/day)	Diet intake (g/day)	FER ³⁾	Feces (g)	
						First phase	Second phase
A	114.5±6.6	322.0±18.0 ^{ns}	7.41±1.02 ^{ns}	24.34±2.72 ^{ns}	0.304±0.040 ^{ns}	14.20±8.45 ^{ns}	15.71±0.31 ^{ab}
B	117.1±5.8	328.0±18.5	7.53±1.32	25.15±2.64	0.299±0.028	11.77±4.27 ^A	15.60±2.26 ^{Bab}
C	114.2±5.6	333.9±10.7	7.85±1.03	24.88±2.65	0.316±0.032	13.39±6.72 ^A	18.38±1.50 ^{Ba}
D	114.6±9.0	335.3±28.8	7.89±0.69	24.76±2.65	0.319±0.026	13.18±6.89 ^A	14.69±0.36 ^{Bb}
E	112.7±6.7	317.3±20.1	7.31±0.51	23.97±1.92	0.305±0.027	15.97±9.26 ^A	13.77±2.39 ^{Bb}

Values are mean±SD (n=12).

Numbers with different capital letters indicate statistically significant differences between groups at p<0.05 by t-test.

Numbers with different small letters indicate statistically significant differences between groups at p<0.05 by Duncan's multiple range tests.

¹⁾A, high-fat diet; B, 1.0% AC extracts-supplemented high-fat diet; C, 2.5% AC extracts-supplemented high-fat diet; D, 5.0% AC extracts-supplemented high-fat diet; E, 10% AC extracts-supplemented high-fat diet

²⁾BW, body weight; ³⁾FER, feed efficiency ratio; ^{ns}Not significant

Table 2. Effects of *Albizia julibrissin* and *Cassia tora* L. (AC) extracts on the weight of organ and body fat in rats fed high-fat diet

Group ¹⁾	Organ (g)			Body fat (g)	
	Liver	Kidney	Testis	RFP ²⁾	EFP ³⁾
A	14.45±1.60 ^{ab}	1.43±0.16 ^{ns}	1.49±0.09 ^{ns}	1.89±0.64 ^{ns}	1.59±0.31 ^{ab}
B	14.86±1.90 ^a	1.39±0.11	1.48±0.09	2.02±0.58	1.51±0.31 ^{ab}
C	14.00±1.24 ^{ab}	1.35±0.11	1.48±0.12	2.45±0.64	1.66±0.39 ^{ab}
D	14.77±1.90 ^a	1.43±0.14	1.52±0.09	2.45±0.89	1.79±0.35 ^a
E	13.23±1.72 ^b	1.35±0.14	1.49±0.10	1.93±0.82	1.46±0.43 ^b

Values are mean±SD (n=12). ^{a-b}Means ± SD deviation were significantly different within the same column (p<0.05).

¹⁾A, high-fat diet; B, 1.0% AC extracts-supplemented high-fat diet; C, 2.5% AC extracts-supplemented high-fat diet; D, 5.0% AC extracts-supplemented high-fat diet; E, 10% AC extracts-supplemented high-fat diet

²⁾RFP, perirenal fat pad; ³⁾EFP, epididymal fat pad; ^{ns}Not significant

으로 실험군간 차이는 없었다. 자귀결명자추출혼합물 첨가사료를 급여한 실험 2기의 배변량은 13.77-18.38 g으로 시료 2.5% 첨가군(C)이 18.38 g으로 실험군중에서 배변량이 가장 많았고, 시료 5.0% 첨가군(D) 및 10% 첨가군(E)이 각각 14.69, 13.77 g으로 실험군중에서 배변량이 가장 적었다. 한편, 실험 1기와 실험 2기의 배변량 차이를 보면 고지방식이 대조군(A)은 14.20 g에서 15.71 g으로 차이가 없었고, 자귀결명자추출혼합물 분말 첨가군(B, C, D)은 고지방식이 대조군에 비해 증가하였다. 시료 10% 첨가군(E)에서 실험 2기 배변량이 실험 1기 배변량에 비하여 감소하였는데 이는 일일 평균 식이섭취량이 감소하여 배변량에도 영향을 미친 것으로 사료된다. 자귀결명자추출혼합물의 항고지혈 효과를 검증하기 위해서 분변량뿐만 아니라 분변 중 지질함량, 혈청지질함량 및 지방산 합성효소에 미치는 영향을 살펴볼 필요가 있다. 자귀나무와 결명자에는 식이섬유소의 함량이 매우 높은 것으로 보고되었고(31,32), Kim 등(2)은 빵잎분말의 다량의 식이섬유소가 고콜레스테롤 식이 흰쥐의 지질의 흡수를 방해하여 분변으로의 배설을 증가시키며, 배설된 분변으로 콜레스테롤과 중성지방을 모두 배설시킨다고 보고 하였다. Park 등(33)은 천연식물의 다양한 phytochemical의 작용으로 지방산 합성 효소에 작용하여 체내 총지질 배설의 증가와 관련이 있는 것으로 보고 하였다.

장기무게와 체지방

자귀결명자추출혼합물 분말 첨가사료가 고지방식이를 급여한 흰쥐의 장기무게와 체지방에 미치는 영향은 Table 2와 같다. 일반적으로 고지방식이를 섭취한 흰쥐에서는 간장 중에 중성지질 및 콜레스테롤 등이 축적되어 간 중량의 증가를 초래하며, 또한 과량의 콜레스테롤이 간장으로 유입되었으나 지질수용체와 결합

하여 lipoprotein의 형태로 배출되지 못하면 간에 축적되어 지방간을 유발시킬 수 있다(1-3). 간장무게는 정상식이의 경우 9.22±0.93-10.89±1.06 g으로 알려져 있으며(34), 본 연구에서 시료 1.0% 첨가군(B)과 5.0% 첨가군(D)이 각각 14.86, 14.77 g으로 시료 10% 첨가군(E, 13.23 g)과 통계적인 차이가 있었고(p<0.05), 시료 2.5% 첨가군(C, 14.00 g)과 시료 10% 첨가군(E)군에서 고지방식이 대조군(A, 14.45 g)에 비해 감소하였으며, 특히 시료 10% 첨가군(E)군은 고지방식이 대조군(A)에 비해 9% 가량 간장무게가 감소하였다. 신장과 정소무게는 실험군간 차이가 없었다. 체지방중 신장주변지방패드(RFP) 무게는 고지방식이 대조군(A)에 비해 자귀결명자추출혼합물 첨가군(B, C, D, E)이 다소 높았지만 유의성은 없었다. 반면, 체지방의 축적 정도를 나타내는 정소상체지방패드(EFP) 무게는 시료 1.0% 첨가군(B)과 시료 2.5% 첨가군(C)은 고지방식이 대조군(A)과 유의적인 차이가 없었으나, 시료 10% 첨가군(E)은 고지방식이 대조군(A)에 비해 9% 가량 EFP가 감소하였다. 일반적으로 비만이 건강상 위험한 이유는 체중의 증가보다 내장지방의 증가에 기인한다는 것은 잘 알려져 있다(30). 내장지방 중 백색지방은 주로 체내 잉여 에너지를 지방으로 저장하여 피하와 장기주변에 분포한다(35). 본 연구에서 백색지방 EFP 무게는 고지방식이 대조군에 비해 자귀결명자추출혼합물 10% 첨가군에서 유의하게 감소한 것으로 나타났다. 결명자 추출물이 체내 지질함량을 조절한다는 보고(36)로 볼 때 본 연구의 자귀결명자추출혼합물 식이가 체지방억제효과가 있는 것으로 사료된다.

혈청지질수준

동맥경화증의 주요 위험인자인 고지혈증은 혈중 중성지방, 콜레스테롤, 인지질, 유리지방산 등이 단백질과 결합하여 물에 용

Table 3. Effects of *Albizia julibrissin* and *Cassia tora* L. (AC) extracts on serum total cholesterol, triglyceride, LDL-C, HDL-C, free cholesterol, and phospholipid in rats fed high-fat diet (Unit: mg/dL)

Group ¹⁾	Total cholesterol	Triglyceride	LDL-C ²⁾	HDL-C ³⁾	Cholesterol, free	Phospholipid
A	67.66±8.56 ^{ab}	149.8±16.66 ^{ns}	5.25±0.75 ^{ns}	20.66±4.49 ^{ab}	11.91±1.92 ^a	124.7±18.8 ^a
B	72.08±13.68 ^a	143.8±60.10	5.66±1.61	21.00±5.11 ^a	12.09±3.20 ^a	119.3±14.6 ^{ab}
C	66.91±7.84 ^{ab}	129.4±31.39	5.41±1.08	19.08±3.08 ^{ab}	10.75±1.86 ^{ab}	115.3±10.8 ^{ab}
D	62.90±7.41 ^b	137.4±34.83	5.50±1.43	17.20±3.42 ^b	10.10±1.59 ^{ab}	109.5±12.2 ^b
E	62.75±9.59 ^b	131.2±44.49	5.25±1.35	18.50±3.80 ^{ab}	9.66±2.38 ^b	114.2±11.4 ^{ab}

Values are mean±SD (n=12). ^{a-b}Means±SD deviation were significantly different within the same column ($p<0.05$). ^{ns}Not significant.

¹⁾A, high-fat diet; B, 1.0% AC extracts-supplemented high-fat diet; C, 2.5% AC extracts-supplemented high-fat diet; D, 5.0% AC extracts-supplemented high-fat diet; E, 10% AC extracts-supplemented high-fat diet

²⁾LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol; ³⁾HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol

Table 4. Effects of *Albizia julibrissin* and *Cassia tora* L. (AC) extracts on the levels of serum total protein, ALP, SGOT, and SGPT in rats fed high-fat diet

Group ¹⁾	Total protein (g/dL)	ALP ²⁾ (U/L)	SGOT ³⁾ (U/L)	SGPT ⁴⁾ (U/L)
A	6.20±0.25 ^a	405.6±93.34 ^{ab}	131.0±25.21 ^a	69.41±14.49 ^a
B	6.05±0.31 ^{ab}	458.5±78.36 ^a	108.5±11.94 ^b	67.50±10.22 ^{ab}
C	6.08±0.39 ^{ab}	350.4±71.60 ^b	102.8±18.64 ^b	62.83±5.04 ^{ab}
D	5.69±0.17 ^c	365.5±68.41 ^b	95.0±20.25 ^b	58.90±11.14 ^{bc}
E	5.83±0.40 ^{bc}	374.8±66.69 ^b	98.7±20.13 ^b	50.91±6.99 ^c

Values are mean±SD (n=12). ^{a-c}Means±SD deviation were significantly different within the same column ($p<0.05$).

¹⁾A, high-fat diet; B, 1.0% AC extracts-supplemented high-fat diet; C, 2.5% AC extracts-supplemented high-fat diet; D, 5.0% AC extracts-supplemented high-fat diet; E, 10% AC extracts-supplemented high-fat diet

²⁾ALP, alkaline phosphatase; ³⁾SGOT, serum glutamate-oxaloacetate transaminase; ⁴⁾SGPT, serum glutamic pyruvic transaminase

해된 형태의 지단백으로 되는데 이것을 혈청지질이라고 하며, 이 혈청지질 농도가 비정상적으로 높은 상태로서, 고혈압 및 흡연과 더불어 관상동맥질환의 3대 위험인자로 알려져 있다(37). 자기결명자추출혼합물 첨가사료가 고지방식이를 급여한 흰쥐의 혈중 총 콜레스테롤, 중성지방, 혈중 LDL, HDL, 유리콜레스테롤 및 인지질 농도에 미치는 영향은 Table 3과 같다. 혈청 지질 중, 총 콜레스테롤(total cholesterol) 농도는 Kim 등(2)의 보고에서 정상식이군에서 47.50±4.59 mg/dL이고 고지방식이군에서 153.50±7.50 mg/dL로 증가되었다. 본 연구에서 고지방식이 대조군(A)의 총 콜레스테롤 농도는 67.66±8.56 mg/dL이었으며, 시료 2.5% 첨가군(C)은 고지방식이 대조군(A)과 유의적인 차이가 없었으나, 시료 5.0% 첨가군(D)과 10% 첨가군(E)은 고지방식이 대조군(A)에 비하여 유의적으로 감소하였다. 세포막, 조직 등에 침착 된 유리형의 콜레스테롤을 흡착, 제거하는 HDL-콜레스테롤 농도는 Kim 등(2)의 보고에서 정상식이군에서 51.83±17.57 mg/dL이고 고지방식이군에서 23.50±4.03 mg/dL로 감소되었다. 본 연구에서 고지방식이 대조군(A)의 HDL-콜레스테롤 농도는 20.66±4.49 mg/dL이었으며, 시료 1.0% 첨가군(B)이 고지방 대조군(A)에 비해 증가하였고, 시료 2.5% 첨가군(C)과 시료 10% 첨가군(E)은 고지방식이 대조군(A)에 비해 감소하였으나 유의적인 차이는 없었다. 간에서 합성된 콜레스테롤을 말초로 운반하는 역할을 담당하는 LDL-콜레스테롤 농도는 5.25-5.66 mg/dL로 실험군간 차이가 없었다. 글리세린과 3분자의 유리 지방산이 에스터 결합을 하여 이루어지는 중성지방(triglyceride) 농도는 Chung 등(38)의 보고에서 정상식이군에서 92.00±5.20 mg/dL이고 고지방식이군에서 147.67±10.32 mg/dL로 증가되었다. 본 연구에서 중성지방 농도는 129.4-149.8 mg/dL로 고지방식이 대조군(A)에 비해 시료 첨가군(C, D, E)이 다소 낮았다. 유리콜레스테롤농도는 시료 10% 첨가군(E, 9.66 mg/dL)이 고지방식이 대조군(A, 11.91 mg/dL)에 비해 유의하게 낮았다. 인지질(phospholipid) 농도는 Chung 등(38)의 보고에서 정상식

이군에서 87.50±3.36 mg/dL이고 고지방식이군에서 112.25±6.25 mg/dL로 증가되었다. 본 연구에서 고지방식이 대조군(A, 124.7 mg/dL)에 비해 모든 시료 첨가군(B-E)에서 낮은 경향이 나타났으며, 특히, 시료 5% 첨가군(D, 109.5 mg/dL)에서 가장 낮았다. 천연물의 polyphenol 화합물은 혈중 콜레스테롤 및 중성지방의 함량을 감소시킨다는 보고가 있으며(39), 특히 식물성 sterols는 콜레스테롤 합성계의 중요한 효소인 HMG-CoA reductase 활성을 저해함으로써 생체내 지질함량을 감소시킨다고 알려져 있다(40). 이러한 점으로 미루어 볼 때 자기결명자추출혼합물에는 체내 지질함량을 조절하는 유효성분이 존재할 것으로 사료되며, 이들 성분의 작용기작에 관한 지속적인 연구가 필요하다.

혈청 ALP, SGOT 및 SGPT 활성

자기결명자추출혼합물 첨가사료가 고지방식이를 급여한 흰쥐의 혈중 총 단백질, ALP 및 간기능지표 효소에 미치는 영향은 Table 4와 같다. ALP는 신체 각 조직 중에 존재하며 간, 신장, 소장, 뼈, 태반 등에 비교적 고농도로 존재하여 담즙 정체시에 담즙으로 배설되며, 담즙으로의 배설장애와 담관 내압 항진에 의한 간에서의 생성증가에 의하여 혈중에서 증가되는 효소이다(41). AST (SGOT)와 ALT (SGPT) 활성은 간세포의 변성이나 괴사를 반영하는 효소로서 간 조직 손상 시 혈중으로 다량 유출된다(42). 총 단백질 농도는 고지방식이 대조군(A)이 6.20 g/dL로 실험군중 가장 높았고, 모든 시료 첨가군(B-E)이 고지방식이 대조군(A)에 비해 낮았으며, 특히 시료 5.0% 첨가군(D)이 5.69 g/dL 로 가장 낮았다($p<0.05$). ALP 활성은 고지방식이 대조군(A)과 비교하여 자기결명자추출혼합물 시료 첨가군(C, D, E)에서 활성이 낮게 나타났다. SGOT 활성은 Chung 등(38)의 보고에서 정상식이군에서 55.70±3.20 mg/dL이고 고지방식이군에서 117.66±10.20 mg/dL로 증가되었다. 본 연구에서는 고지방식이 대조군(A, 131.0±25.21

Table 5. Effects of *Albizia julibrissin* and *Cassia tora* L. (AC) extracts on the activities of G6PDH and malic enzyme in the liver of rats fed high-fat diet

Group ¹⁾	G6PDH ²⁾ (nmole/min/mg protein)	Malic enzyme (nmole/min/mg protein)
A	15.90±4.70 ^a	17.46±2.03 ^a
B	5.46±1.30 ^b	8.88±1.17 ^b
C	5.96±0.97 ^b	10.42±1.40 ^{ab}
D	4.14±0.74 ^b	10.02±2.15 ^{ab}
E	5.90±1.50 ^b	9.05±2.85 ^b

Values are mean±SD (n=12). ^{a-b}Means±SD deviation were significantly different within the same column ($p < 0.05$).

¹⁾A, high-fat diet; B, 1.0% AC extracts-supplemented high-fat diet; C, 2.5% AC extracts-supplemented high-fat diet; D, 5.0% AC extracts-supplemented high-fat diet; E, 10% AC extracts-supplemented high-fat diet

²⁾G6PDH, glucose-6-phosphate dehydrogenase

mg/dL)과 비교하여 모든 시료 첨가군(B-E)에서 유의하게 낮게 나타났다($p < 0.05$). SGPT 활성은 Chung 등(38)의 보고에서 정상식이군에서 48.05±2.20 mg/dL이고 고지방식이군에서 95.20±4.30 mg/dL으로 증가되었다. 본 연구에서는 고지방식이 대조군(A, 69.41 U/L)이 가장 높았고, 고지방식이 대조군(A)과 비교하여 모든 시료 첨가군(B-E)에서 유의하게 낮게 나타났으며, 시료 5.0% 첨가군(D)과 10% 첨가군(E)이 각각 58.90, 50.91 U/L로 가장 낮았다($p < 0.05$). 자귀나무와 결명자의 항산화 효과가 보고 되었으며 (12,21), 이러한 항산화 효과가 과산화지질 생성을 감소시키고 증가된 ALT, AST, ALP 등 간기능 관련 효소활성을 감소시키는 요인으로 작용한 것으로 판단된다(36,43).

간조직의 효소활성

자귀결명자추출혼합물 첨가사료가 고지방식이를 급여한 흰쥐 간의 peroxisome에서 지방산의 β-산화와 지방산의 합성에 관여하는 효소인 G6PDH, malic enzyme 효소활성에 미치는 영향은 Table 5와 같다. G6PDH는 pentose phosphate pathway (PPP)에서 NADPH를 생성하여 세포들에 환원 에너지를 공급하는 역할을 한다. 이렇게 생성된 NADPH는 세포내 glutathione 수준을 유지시킴으로써 항산화 역할을 할 뿐만 아니라, 양적으로는 더욱 중요하게 간과 같은 조직에서 지방산의 생합성에 사용된다(44). 본 실험에서 G6PDH의 활성은 고지방식이 대조군(A)에 비하여 모든 시료 첨가군(B-E)에서 유의하게 감소하였다($p < 0.05$). 따라서, 자귀결명자추출농축액 섭취가 G6PDH에 유의적인 영향을 주었으며 이러한 결과로 미루어 보아 자귀나무와 결명자의 유효성분이 간에서 G6PDH의 활성을 감소시켜 NADPH의 생성을 감소시킴으로써 지질 합성을 감소시키는 것으로 사료된다. Malic enzyme는 malate에서 pyruvate로의 oxidative decarboxylation을 촉매하는 효소로, adipocyte에서는 대개 malic enzyme에 의해서 NADPH가 생성되어 지방산 합성에 사용된다. 즉, 지방산 합성에 필요한 NADPH는 간에서는 주로 PPP에서 G6PDH의 작용에 의하여 공급되며, adipocyte에서는 malic enzyme에 의해서 공급된다(45). 본 실험에서 malic enzyme 활성은 고지방식이 대조군(A)에 비하여 모든 시료 첨가군(B-E)에서 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$). 본 실험과 유사하게 Ha 등(36)은 고지방식이 흰쥐에서 malic enzyme 과 G6PDH 활성이 증가하였으며, 결명자 추출물 투여군에서 고지방식이 대조군에 비하여 malic enzyme과 G6PDH 활성이 유의하게 감소하였다고 보고하였다. 또한, Park 등(33)은 지골피생강

정제 복합 급여군에서 고지방식이에 의해 증가된 malic enzyme 과 G6PDH 활성의 뚜렷한 감소는 지골피와 생강의 유효성분이 lipogenic 유전자 발현 조절을 통한 것이라 보고하였다. 본 실험 결과 자귀결명자추출혼합물 분말은 혈청 중성지방 저하 효과와 함께 lipogenic enzyme인 G6PDH와 malic enzyme의 활성도 감소시켜, 자귀결명자추출혼합물에 고지방식이 흰쥐의 G6PDH와 malic enzyme의 효소활성을 억제하는 유효성분이 존재하며, 이들 효소 활성의 감소가 혈액의 지질함량저하에도 관여하였을 것으로 생각된다(46).

요 약

본 연구에서는 자귀결명자추출혼합물 첨가사료의 혈청 콜레스테롤 저하효과를 확인하기 위하여 3주령된 SD계 수컷흰쥐를 실험군당 12마리씩 배치하여 10주 동안 동물실험을 수행하였다. 흰쥐용 사료(AIN-93G diet, 조지방 함량 7%)를 기본식으로 하여 돈지와 콜레스테롤을 각각 중량비로 7%, 1% 첨가하여 총지방함량이 15%가 되도록 고지방식이를 제조하였다. 흰쥐에게 실험 1기 (first phase) 5주 동안 고지방식이(high-fat diet)를 급여하여 고지혈증을 유발시켰다. 실험 2기(second phase)에는 고지방식이군을 대조군으로 하고, 자귀결명자추출혼합물 분말을 1.0, 2.5, 5.0, 10% 첨가군으로 하여 5주 동안 급여하였다. 자귀결명자추출혼합물 첨가사료(1.0, 2.5, 5.0%)는 고지방식이를 급여한 흰쥐의 배변량을 유의하게 증가시켰고, 체지방중 EFP 무게는 시료 첨가군(10%)에서 유의하게 감소하였다. 혈청 지질중 총콜레스테롤 농도는 시료 첨가군(5.0, 10%)이 유의하게 낮았고, HDL-콜레스테롤 농도는 시료 첨가군(1.0%)이 가장 높았다. 중성지방농도는 고지방식이 대조군에 비해 시료 첨가군(2.5% 5.0, 10%)에서 낮은 경향인 것으로 나타났다. 간조직의 효소활성에서 G6PDH 활성은 고지방식이 대조군보다 모든 시료 첨가군에서 유의하게 감소한($p < 0.05$), 반면 malic enzyme 활성은 고지방식이 대조군에 비하여 시료 첨가군(1.0, 10%)이 유의하게 감소하였다. 이 결과들을 종합해보면, 고지혈증 흰쥐에서의 자귀결명자추출혼합물 분말은 전반적인 지질 대사 개선에 긍정적인 효과를 나타냄으로써 앞으로 고콜레스테롤혈증 예방 등의 혈관 순환기 계통 질병을 예방하기 위한 식품으로서의 활용이 기대된다.

감사의 글

본 연구는 2008년 중소기업 산학연협력지원사업으로 수행한 결과로 이에 감사드립니다.

References

1. Chung SI, Kim SE, Kang MY. Characteristics of surimi gel (king oyster mushroom and cuttlefish meat paste) on lipid metabolism and antioxidant status in high-cholesterol-fed rats. Korean J. Food Sci. Technol. 41: 191-195 (2009)
2. Kim AJ, Kim SY, Choi MK, Kim MH, Han MR, Chung KS. Effects of mulberry leaves powder on lipid metabolism in high cholesterol-fed rats. Korean J. Food Sci. Technol. 37: 636-641 (2005)
3. Edijala JK, Asagba SO, Eriyamremu GE, Uzezi A. Comparative effects of garden egg fruit oat and apple on serum lipid profile in rats fed on a high cholesterol diet. Pak. J. Nutr. 4: 245-249 (2005)
4. Kim IS, Chae SC, Kim DW. Effects of onion and naringin extract mixed products on antihyperlipidemic levels of bio FIB

- hamster. Korean J. Microscopy 39: 191-197 (2009)
5. Endo A, Tsujita Y, Kuroda M, Tanzawa K. Effects of ML-236B on cholesterol metabolism in mice and rats: lack of hypocholesterolemic activity in normal animals. Biochim. Biophys. Acta. 575: 266-276 (1979)
 6. Tsujita Y, Kuroda M, Tanzawa K, Kitano N, Endo A. Hypolipidemic effects in dogs of ML-236B, a competitive inhibitor of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase. Atherosclerosis 32: 307-313 (1979)
 7. Yamamoto A, Sudo H, Endo A. Therapeutic effects of ML-236B in primary hypercholesterolemia. Atherosclerosis 35: 259-266 (1980)
 8. Keys A. Alpha lipoprotein (HDL) cholesterol in the serum and the risk of coronary heart disease and death. Lancet. 2: 603-606 (1980)
 9. Brown SL. Lowered serum cholesterol and low mood. Brit. J. Med. 313: 637-638 (1996)
 10. Irudayaraj SS, Sunil C, Duraipandiyar V, Ignacimuthu S. *In vitro* antioxidant and antihyperlipidemic activities of *Toddalia asiatica* (L) Lam. Leaves in Triton WR-1339 and high fat diet induced hyperlipidemic rats. Food Chem. Toxicol. 60: 135-140 (2013)
 11. Kaneda M, Morishita E, Shibata S. Chemical studies on the oriental plant drugs. XXI. The constituents of *Cassia tora* L. 2. A glycoside of rubrofusarin. Chem. Pharm. Bull. 17: 458-461 (1969)
 12. Dhanasekaran M, Ignacimuthu S, Agastian P. Potential hepatoprotective activity of ononitol monohydrate isolated from *Cassia tora* L. on carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in Wistar rats. Phytomedicine 16: 891-895 (2009)
 13. Patil UK, Saraf S, Dixit VK. Hypolipidemic activity of seeds of *Cassia tora* Linn. J. Ethnopharmacol. 90: 249-252 (2004)
 14. Ueda M, Okazaki M, Ueda K, Yamamura S. A leaf-closing substance of *Albizia julibrissin* Durazz. Tetrahedron 56: 8101-8105 (2000)
 15. Kang TH, Jeong SJ, Kim NY, Higuchi R, Kim YC. Sedative activity of two flavonol glycosides isolated from the flowers of *Albizia julibrissin* Durazz. J. Ethnopharmacol. 71: 321-323 (2000)
 16. Chen SP, Zhang RY, Ma LB, Tu GZ. Structure determination of three saponins from the stem bark of *Albizia julibrissin* Durazz. Acta. Pharm. Sinic. 32: 110-115 (1997)
 17. Kinjo A, Araki K, Fukui K, Higuchi H, Ikeda T, Nohara T, Ida Y, Takemoto N, Miyakoshi M, Shoji J. Six new triterpenoidal glycosides including two new saponins from *Albizia Cortex*. V. Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 40: 3269-3273 (1992)
 18. Woo WS, Kang SS. Isolation of a new monoterpene conjugated triterpenoid from the stem bark of *Albizia julibrissin*. J. Nat. Prod. 47: 547-549 (1984)
 19. Kim YH. Isolation of acylated sterylglucosides from the legumes of *Albizia julibrissin*. Kor. J. Pharmacogn. 30: 290-294 (1999)
 20. Yun JS, Chung BH, Kim NY, Seong NS, Lee HY, Lee JH, Kim JD. Screening of 94 plant species showing ACE inhibitory activity. Korean J. Medicinal Crop Sci. 11: 246-251 (2003)
 21. Jang KG, Oh HC, Ko EK, Kang KH, Park SE, Oh MH, Kim YC. Free radical scavengers from the leaves of *Albizia julibrissin*. Kor. J. Pharmacogn. 33: 18-20 (2002)
 22. Choi BD, Ryeom K. Cytotoxicity of the components of *Albizia julibrissin*. J. Appl. Pharmacol. 7: 371-376 (1999)
 23. Won HJ, Han CH, Kim YH, Kwon HJ, Kim BW, Choi JS, Kim KH. Induction of apoptosis in human acute leukemia Jurkat T cells by *Albizia julibrissin* extract is mediated via mitochondria-dependent caspase-3 activation. J. Ethnopharmacol. 106: 383-389 (2006)
 24. Park YJ, Jung WC, Jeong DY, Lee YU, Lee I, Lee KS, Jeon BH, Sung KK, Moon BS. Effects of the water extract from *Albizia julibrissin* on apoptosis and cell cycle progression in the human leukemic Jurkat cells. Korean J. Orient. Physiol. Pathol. 17: 1383-1392 (2003)
 25. Rudel L, Morris MD. Determination of cholesterol using *O*-phthalaldehyde. J. Lipid Res. 14: 364-366 (1973)
 26. Noma A, Nakayama KN, Kita M, Okabe H. Simultaneous determination of serum cholesterol in high and low density lipoprotein with use of heparin, Ca²⁺ and an anion exchange resin. Clin. Chem. 24: 1504-1508 (1978)
 27. Bergmeyer HU. 1974. In methods of enzymatic analysis. 2nd English ed., Academic press. Inc., New York and London, Vol. 1, p. 458-450
 28. Ochoa S. 1969. In methods in Enzymology (Lewenstein JM, ed.) Academic press. Inc., New York, Vol. 13, p. 230-231.
 29. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-275 (1951)
 30. Han CK, Kim SS, Choi SY, Park JH, Lee BH. Effects of rice added with mulberry leaves and fruit on blood glucose, body fat and serum lipid levels in rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 38:1336-1341 (2009)
 31. Lee YS, Hong CK, Seo SJ, Kim NW. Analysis on the useful nutrition components of the *Albizia julibrissin* stems and leaves. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 39: 1143-1148 (2010)
 32. Hong KH, Choi WH, Ahn JY, Jung CH, Ha TY. Physicochemical properties of ethanol extracts and dietary fiber from *Cassia tora* L. seed. Korean J. Food Nutr. 25: 612-619 (2012)
 33. Park EJ, Choi SW, Cho SH. Effects of the purified extracts from *Lycii Cortex Radicis* and ginger on lipid status and serum cytokine levels in rats fed high fat diet. Korean J. Nutr. 45: 411-419 (2012)
 34. Han ZZ, Xu HD, Kim KH, Ahn TH, Bae JS, Lee JY, Gil KH, Lee JY, Woo SJ, Yoo HJ, Lee HK, Kim KH, Park CK, Zhang HS, Song SW. Reference data of the main physiological parameters in control Sprague-Dawley rats from pre-clinical toxicity studies. Lab. Anim. Res. 26: 153-164 (2010)
 35. Avram AS, Avram MM, James WD. Subcutaneous fat in normal and diseased states: 2. Anatomy and physiology of white and brown adipose tissue. J. Am. Acad. Dermatol. 53: 671-683 (2005)
 36. Ha TY, Cho IJ, Seong KS, Lee SH. Effect of *Cassia tora* ethanol extract on the lipid levels of serum and liver in rats fed high cholesterol diet. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30: 1171-1176 (2001)
 37. Connor WE, Stone DB, Hodges RE. The interrelated effects of dietary cholesterol and fat upon human serum lipid levels. J. Clin. Invest. 43: 1691-1696 (1964)
 38. Chung MH, Lee BJ, Kim GW. Studies on antihyperlipemic and antioxidant activity of *Allium cepa* L. Kor. J. Pharmacogn. 28: 198-208 (1997)
 39. Yugarani T, Tan BK, Teh M, Das NP. Effects of polyphenolic natural products on the lipid profiles of rats fed high fat diets. Lipids 27: 181-186 (1992)
 40. Lee HJ, Choi MS. Measurement of inhibitory activities on hydroxyl-3-methylglutaryl CoA reductase and acyl-CoA: Cholesterol acyltransferase by various plant extracts *in vitro*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 28: 958-962 (1999)
 41. Kim KS, Park JS. Effect of *Artemisia wayomogi* water extract on hepatic injury by carbon tetrachloride in rats II, Effect on serum ALP, LAP activities, total protein, bilirubin content and liver glycogen content. Kor. J. Vet. Res. 32: 357-364 (1992)
 42. Lee WC, Kim AJ, Kim SY. The study on the functional materials and effects of mulberry leaf. Food Sci. Ind. 36(3):2-14 (2003)
 43. Ha TY, Cho IJ, Lee HY. Effect of *Cassia tora* ethanol extracts on carbon tetrachloride-induced liver injury in rats. Korean J. Food Sci. Technol. 33: 789-794 (2001)
 44. Boll M, Weber LW, Stampfl A. Nutritional regulation of the activities of lipogenic enzymes of rat liver and brown adipose tissue. Z. Naturforsch. C. 51: 859-869 (1996)
 45. Nishikawa S, Doi K, Nakayama H, Uetsuka K. The effect of fasting on hepatic lipid accumulation and transcriptional regulation of lipid metabolism differs between C57BL/6J and BALB/cA mice fed a high-fat diet. Toxicol. Pathol. 36: 850-857 (2008)
 46. Um MY, Ahn JY, Ha TY. Hypolipidaemic effects of cyanidin 3-glucoside rich extract from black rice through regulating hepatic lipogenic enzyme activities. J. Sci. Food Agr. 93: 3126-3128 (2013)