

< Original Article >

## 복분자(*Rubus coreanus*) 추출물의 라디칼 소거활성 및 고지방 식이에 대한 흰쥐의 간 지질 개선 효과

이수정<sup>2</sup> · 송윤오<sup>1</sup> · 정민섭<sup>1</sup> · 장선희<sup>1</sup> · 원청길<sup>1</sup> · 송영민<sup>3</sup> · 조재현<sup>1\*</sup>

경상대학교 수의학과, 동물의학연구원<sup>1</sup>, 경상대학교 식품영양학과, 농업생명과학연구원<sup>2</sup>,  
경남과학기술대학교 동물소재공학과<sup>3</sup>

### Antioxidant activity and hepatic lipids improvement effects of *Rubus coreanus* in high-fat diet-fed rats

Soo-Jung Lee<sup>2</sup>, Yuno Song<sup>1</sup>, Min-Sup Chung<sup>1</sup>, Sun-Hee Jang<sup>1</sup>, Chung-kil Won<sup>1</sup>,  
Young-Min Song<sup>3</sup>, Jae-Hyeon Cho<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Institute of Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea,  
<sup>2</sup>Department of Food Science and Nutrition, Institute of Agriculture and Life Sciences, Gyeongsang National University,  
Jinju 660-701, Korea, <sup>3</sup>Department of Animal Science & Biotechnology, Gyeongnam National University of Science  
and Technology, Jinju 660-758, Korea

(Received 19 May 2014; revised 30 May 2014; accepted 10 June 2014)

#### Abstract

This study was investigated the effects on the radical scavenging activities and hepatic lipid levels in rats fed a high-fat diet (HFD) by the 70% ethanolic extract from *Rubus coreanus*. The *Rubus coreanus* extract (RCE) was administered through the gastrointestinal tract at 150 mg/kg BW/day for 5 weeks (HFD+RCE). Total phenol content was 157.93 mg gallic acid/g in the RCE. Scavenging activities to DPPH, ABTS, an d hydroxyl radicals by RCE significantly increased in a dose-dependent manner of 50~500 µg/mL concentration. DPPH and ABTS radical scavenging activities were over the 70% in the 500 µg/mL concentration. During the five weeks study, the food efficiency ratio was no significant differences between the HFD and HFD+RCE. Liver weight of HFD+RCE (3.75 g/100 g BW) was significantly decreased compared to those of the HFD. Hepatic triglyceride and total cholesterol levels of HFD+RCE were significantly lower compared to those of the HFD. The hepatic TBARS contents in the HFD+RCE was significantly decreased to the HFD, radical scavenging activity was markedly increased in HFD+RCE as normal group. In histological observation of liver tissues, the hepatocytes of HFD+RCE appeared the reduced aspects on the size and numbers of lipid droplets in cytoplasm compared to the HFD. Our results suggest that RCE could have antioxidant activities and hepatic hypolipidemic effects by its phenolic compounds.

**Key words :** *Rubus coreanus*, Antioxidant activity, Hepatic lipid profiles

#### 서 론

최근 식생활의 경향이 편의 지향, 운동 감소, 인스턴트 식품의 소비 및 스트레스 증가 등으로 변화됨에

따라 질병의 양상도 이와 관련된 대사성 질환이 증가되는 추세에 있다. 대사증후군의 일종인 고지혈증은 식이 지방의 과다섭취로 인한 혈중 콜레스테롤이나 중성지방 수준의 상승이 동반되며, 관상동맥 질환, 고혈압, 당뇨 등으로 진행될 수 있는 비만을 유발할 가능성이 높다.

\*Corresponding author: Jae-Hyeon Cho, Tel. +82-55-772-2358,  
Fax. +82-55-772-2349, E-mail. [jaecho@gnu.ac.kr](mailto:jaecho@gnu.ac.kr)

또한 이러한 대사성 질환의 발병은 식사 뿐아니라 생체 내에서 발생하는 hydroxyl 라디칼( $\cdot\text{OH}$ ), superoxide 라디칼( $\text{O}_2^-$ ) 및 과산화수소( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 등과 같은 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)에 의한 산화적 대사산물도 관여하는 것으로 알려져 있는데(Wiseman, 1996), 생체 내에서 발생하는 유리 라디칼이 과다할 경우 자연 방어능력으로 활성산소종의 효율적인 제거가 불가능하므로 이를 위한 항산화성 물질의 외부 유입은 필수적이라고 볼 수 있다. 따라서 고지혈증, 염증, 동맥경화, 및 퇴행성 만성질환 등의 예방에 효과적인 항산화성 물질로 페놀성 화합물인 플라보노이드, 탄닌, 안토시아닌, 비타민 C 등이 제안되고 있다(Ali 등, 2005).

복분자(*Rubus coreanus*)는 *Rubus*속 식물인 나무딸기류의 일종으로 라즈베리의 한국 특산종으로 명석딸기, 수리딸기 등이 있으나 복분자만이 약용으로 분류되어 있으며, 특히 털익은 열매를 건조시킨 것을 '복분자'라 하여 한방에서 약재로 사용되고 있다. 최근에는 미숙과 뿐만 아니라 완숙과를 식용으로 하거나, 분말이나 즙으로 가공하여 기능성 식품으로 이용되고 있으나, 대부분이 단순 가공 수준의 제품만이 제시되고 있어 과다 생산되는 복분자의 효율적인 활용방안은 여전히 부족한 실정이다(Hong 등, 2012).

복분자의 기능적 측면에서 열수 및 에탄올 추출물의 항산화 활성은 유사하나, 페놀 화합물의 함량은 에탄올 추출물에서 다소 높았다는 보고가 있다(Cho 등, 2005). 또한 복분자의 라디칼 소거활성에 의존하여 적혈구의 항응혈 활성이 있다는 보고도 있다(Jang 등, 2014). 복분자 미숙과는 고콜레스테롤 식이성 흰쥐에 대한 지질개선 효과가 보고된 바 있으며(Choi 등, 2014; Jung 등, 2014; Lee 등, 2013), lipopolysaccharide로 야기된 산화적 스트레스에 대해 복분자의 물 추출물(100 mg/kg BW)을 20일간 급이한 후 흰쥐의 체내 지질수준은 대조군에 비해 56~60% 정도 감소되었으며, 체내 지질과산화 억제능은 복분자 추출물 급이군이 대조군에 비해 약 57.4%정도 감소되었다고 보고된 바 있다(Kim 등, 2007). 이와 같이 국내산 복분자를 이용한 항산화 활성 관련 연구(Cho 등, 2008; Jeong 등, 2008; Lee 등, 2009) 및 생체 내 지질개선에 관한 연구는 다수 수행된 바 있으나, 간 조직 내 항산화 및 지질 축적 관련 연구는 미미한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 복분자를 이용하여 *in vitro* 및 *in vivo* 측면에서 생리활성을 동시에 평가함으로써 복분자의 체내 지질개선에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 시료 및 추출물의 제조

복분자(*Rubus coreanus*)는 진주시내 한약 재료상에서 완숙과 건조품을 구입하였으며, 시료 100 g에 1 l의 70% 에탄올을 가하여 실온에서 6시간씩 2회 반복하여 추출하였다. 이를 모두 모아 회전식 진공증발 농축기로 35°C이하에서 농축하여 완전 건조시킨 다음 -20°C에 보관해 두고 실험에 사용하였다. 이때 추출 수율은 19.2%였다.

### 복분자 추출물의 총 페놀, 플라보노이드 및 안토시아닌 정량

총 페놀 함량은 Folin-Denis법(Gutfinger, 1981)에 따라 복분자 추출물을 70% 에탄올에 일정농도로 재용해한 시료액 1 mL에 Folin-Ciocalteu 시약 0.5 mL, 10%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  시약 0.5 mL를 혼합하여 실온에서 60분간 반응시켜 760 nm에서 분광광도계(Evolution 300 UV-VIS spectrophotometer, Thermoscientific, Worcester, MA, USA)로 흡광도를 측정하였다. 시료의 총 페놀 함량은 gallic acid (Sigma Co., St. Louis, MO, USA)를 표준물질로 한 검량선에 따라 계산하였다. 플라보노이드 함량은 상기의 시료액 1 mL과 10% aluminum nitrate 0.1 mL, 1 M potassium acetate 0.1 mL, 80% ethanol 4.3 mL를 혼합하여 실온에서 40분간 반응시켜 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 quercetin (Sigma Co.)에 의한 검량선에 따라 계산하였다(Moreno 등, 2000). 안토시아닌 함량은 pH differential method (Hosseinian 등, 2008)에 따라 상기의 시료액 1 mL에 0.025 M potassium chloride 완충액(pH 1.0)과 0.4 M sodium acetate 완충액(pH 4.5)을 각각 가하여 최종부피를 5 mL로 조정하여 510 nm 및 700 nm에서 흡광도를 각각 측정하여 cyanidin-3-glucoside (Sigma Co.)를 표준물질로 하여 총 안토시아닌 함량을 계산하였다.

### 복분자 추출물의 라디칼 소거활성

복분자 추출물을 50, 100, 250 및 500 mg/mL의 농도로 70% 에탄올로 재용해한 후 라디칼 소거활성을 측정하였다. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 라디칼 소거활성은 농도를 달리한 시료액에 0.005%

DPPH 용액을 동량으로 혼합한 다음 실온에서 10분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다 (Blois, 1958). ABTS [2,2-azinobis-(3-ethylbenz-thiazoline-6-sulphonate)] 라디칼 소거활성은 Re 등(1999)의 방법에 따라 ABTS 용액을 제조한 후 415 nm에서 1.5의 흡광도가 되도록 증류수로 조절한 ABTS 기질용액 1 mL에 시료액 0.5 mL를 혼합하여 실온에서 5분간 반응시켜 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. Hydroxyl 라디칼 소거활성은 0.2 mL의 1 mM FeSO<sub>4</sub>/EDTA 용액, 10 mM 2-deoxyribose 및 시료액을 혼합한 다음 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4) 1.2 mL 및 10 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.2 mL를 차례로 첨가하여 37°C에서 1시간 반응시킨 후 2.8% TCA용액 1 mL를 가하고 95°C 수욕상에서 10분간 반응시킨 다음 532 nm에서 흡광도를 측정하였다(Gutteridge, 1984). 복분자 추출물의 라디칼 소거활성(%)은  $[1 - (\text{시료 첨가구의 흡광도} / \text{무 첨가구의 흡광도})] \times 100$ 으로 계산하였으며, 각 라디칼을 50% 소거하는데 소요되는 시료의 농도로 나타내었다.

### 실험동물의 사양 및 실험군 구성

실험동물은 생후 5주령으로 150~160 g의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 (주)중앙실험동물(Seoul, Korea)로부터 분양받아, 온도 22±2°C, 습도 50±5%, 명암주기 12시간(07:00~19:00)으로 자동 설정된 동물사육실에서 실험 사육하였다. 첫 1주간은 시판 고형사료로 적응시켰으며, 2주째 체중에 따른 난피법에 의해 8마리씩 3그룹으로 구분하여 사육 상자에 2마리씩 넣어 5주간 사육하였다.

실험군은 정상군(Normal, Rodent diet, Samyang Co., Korea), 고지방식이 급이군(HFD, 60% kcal fat, #55VXT0038, Samyang Co., Korea) 및 복분자 추출물 급이군(HFD+RCE, 150 mg/kg BW)으로 구분하였다. 사육기간 동안 물과 식이는 자유 급이 시켰으며, 복분자 추출물은 물에 용해하여 1일 1회 일정시간에 경구 투여하였다. 식이섭취량은 매일 오전에 잔량을 측정하였으며, 체중은 주 1회 측정하였다. 식이효율(%)은 실험 사육 5주간의 체중증가량을 총 식이 섭취량으로 나누어 계산하였다.

5주간의 실험사육 기간 최종일에 실험동물을 16시간 절식시킨 후 에테르로 가볍게 마취시킨 다음 복부 절개하여 간 조직을 적출하였으며, 생리식염수로 혈액을 씻은 후 표면의 물기를 제거하고 중량을 측정하였으며, 액체 질소로 3분간 급속 동결한 후 -70°C에

보관하면서 실험에 사용하였다.

### 간 조직의 지질 성분 분석

간 조직 1 g에 chloroform : methanol 혼합액(C:M=2:1, v/v)을 가하여 Potter-Elvehjem tissue grinder (WOS01010, Daihan, Korea)로 마쇄하여 30 mL로 정용한 다음 4°C에서 24시간 추출하였다. 이를 여과(Whatman No. 6)하여 용매를 모두 제거한 다음, 간 조직의 중성지방 함량은 중성지방 측정용 kit (AM 157S-k, Asan pharm. Co., Seoul, Korea), 총 콜레스테롤 함량은 총 콜레스테롤 측정용 kit (AM 202-k, Asan pharm. Co.) 시약으로 각각 분석하였다.

### 간 조직의 지질과산화물 함량 및 DPPH 라디칼 소거활성 측정

간 조직 1 g에 1.5% KCl 용액을 가하여 10% 균질액을 제조하였다. 지질과산화물 함량은 상기의 균질액 0.5 mL에 1% phosphoric acid 3 mL와 0.6% thiobarbituric acid 용액 1 mL를 잘 혼합하여 95°C 수욕상에서 45분간 반응시켰다. 이때 생성된 malondialdehyde (MDA)를 butanol로 추출하여 531 nm에서 흡광도를 측정하였다. MDA 함량은 표준물질인 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP, Sigma Co.)으로 산출하여 TBARS 값(mmol MDA/g)으로 나타내었다(Uchiyama와 Mihara, 1978).

간 조직의 DPPH 라디칼 소거활성은 균질액 100 µl에 pH 7.4의 100 mM tris-HCl 완충액 및 0.5 mM DPPH 용액 각 4 mL를 혼합하여 37°C에서 15분간 반응시켰다. 여기에 chloroform 4 mL를 가하여 혼합한 다음 원심분리시켜(4000 rpm, 10 min) chloroform층을 회수하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료 무 첨가군에 대한 시료 첨가군의 흡광도 비율(%)로 나타내었다(Lim 등, 2000).

### 간 조직의 형태 분석

적출된 간 조직은 즉시 4% neutral buffered paraformaldehyde로 고정된 후, 이를 수세하여 고정액을 제거하고 70, 80, 90, 95 및 100% 에탄올과 xylene을 단계별로 사용하여 탈수와 투명화 과정을 거쳐 paraffin embedding center (Leica, Wetzlar, Germany)에서 포매하였다. 회전식 박절기(Leica, Wetzlar, Germany)를 이

용하여 파라핀블록을 5  $\mu\text{m}$ 로 박절하였다. 절편된 조직은 다시 xylene, 100, 95, 90, 80, 70% 에탄올의 단계로 탈파라핀 및 함수과정을 거친 후 hematoxylin과 eosin으로 염색하였으며, permount를 이용하여 봉입한 후, 현미경(Leica, Wetzlar, Germany)으로 간 조직 중 지질 분포 정도를 관찰하였다.

## 통계 분석

실험결과는 4회 반복 측정하여 평균 $\pm$ 표준편차로 나타내었다. 각 실험군에 대한 유의차 검정은 SPSS 12.0을 사용하여 분산분석을 한 후  $P < 0.05$  수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 분석하였다.

## 결 과

### 복분자 추출물의 총 페놀, 플라보노이드 및 안토시아닌 함량

복분자의 70% 에탄올 추출물 중 총 페놀, 플라보노이드 및 안토시아닌 함량은 Table 1에 나타난 바와 같다. 총 페놀 함량은 157.93 mg gallic acid/g, 플라보노이드 함량은 40.83 mg quercetin/g이었으며, 안토시아닌 함량은 60.23 mg cyanidin/g이었다.

### 복분자 추출물의 라디칼 소거활성

복분자의 70% 에탄올 추출물의 농도를 달리하여 라디칼 소거활성을 측정한 결과는 Table 2와 같다. 50~500  $\mu\text{g/mL}$ 의 시료 농도에서 시료의 첨가량이 많아짐에 따라 라디칼 소거활성은 유의적으로 증가하는 경

향이였다. DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성은 500  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 70% 이상이였으며, 특히 ABTS 라디칼 소거활성은 경우 100  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 50%이상의 활성을 보였다. 반면에 hydroxyl 라디칼 소거활성은 500  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 52.44%에 불과하였다. 라디칼의 50%를 소거하는데 소요되는 시료의 농도는 ABTS 라디칼 소거에서 78.04  $\mu\text{g/mL}$ 로 가장 적은 함량으로 복분자 추출물이 ABTS 라디칼 소거에 가장 민감하게 반응하는 것으로 나타났다.

### 식이섭취량, 체중 증가량, 식이효율 및 간 조직 중량

지방의 함유율이 60%로 조절된 고지방 식이와 복분자 에탄올 추출물을 5주간 혼합급이하여 사육한 실험동물에서 식이섭취량, 체중 증가량, 식이효율 및 간 조직의 중량을 측정한 결과는 Table 3과 같다. 1일 식이섭취량은 정상군(Normal)에 비해 고지방 식이를 급이한 대조군(HFD)과 복분자 추출물을 급이한 HFD+RCE군간에 유의차가 없었으나, 5주간의 사육기간 동안 체중 증가량은 대조군이 정상군에 비해 유의적으로 높았으며, 복분자 추출물의 급이군은 대조군에 비해 유의적인 감소를 보였다. 식이효율은 정상군에 비해 대조군에서 유의적으로 높았으나, HFD+RCE

**Table 1.** Total phenol, flavonoids and anthocyanin contents in 70% ethanol extract from *Rubus coreanus*

Contents	70% ethanol extract from <i>Rubus coreanus</i>
Total phenol (mg gallic acid/g)	157.93 $\pm$ 2.21 <sup>1)</sup>
Flavonoids (mg quercetin/g)	40.83 $\pm$ 1.46
Anthocyanin (mg cyanidine/g)	60.23 $\pm$ 2.56

<sup>1)</sup>Values are mean $\pm$ SD (n=4).

**Table 2.** Radical scavenging activities of 70% ethanol extract from *Rubus coreanus*

Concentration of extracts ( $\mu\text{g/mL}$ )	Scavenging activities (%)		
	DPPH radical	ABTS radical	Hydroxyl radical
50	31.93 $\pm$ 1.57 <sup>a1)</sup>	41.51 $\pm$ 0.92 <sup>a</sup>	23.17 $\pm$ 0.88 <sup>a</sup>
100	46.42 $\pm$ 3.10 <sup>b</sup>	56.70 $\pm$ 1.40 <sup>b</sup>	36.85 $\pm$ 1.15 <sup>b</sup>
250	56.40 $\pm$ 0.53 <sup>c</sup>	79.55 $\pm$ 0.61 <sup>c</sup>	42.14 $\pm$ 0.83 <sup>c</sup>
500	74.02 $\pm$ 1.19 <sup>d</sup>	84.18 $\pm$ 1.56 <sup>d</sup>	52.44 $\pm$ 1.54 <sup>d</sup>
EC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ ) <sup>2)</sup>	130.60 $\pm$ 20.86	78.04 $\pm$ 3.03	432.32 $\pm$ 32.90

<sup>a-d)</sup>Values are mean $\pm$ SD (n=4). Values in a row sharing the same superscript letter are not significantly different at  $P < 0.05$ .

<sup>2)</sup>Effective concentration values (EC<sub>50</sub>,  $\mu\text{g/mL}$ ) were calculated from the regression lines using four different concentrations (50, 100, 250 and 500  $\mu\text{g/mL}$ ) and their data were presented as 50% scavenging activity to the their radical.

군과 HFD군간에 유의차는 없었다. 5주간의 고지방식이 급이에 따른 간 조직의 중량은 정상군이 3.28 g/100 g BW로 가장 작았으며, 대조군이 유의적으로 높았으며, 복분자 추출물 급이군(3.75 g/100 g BW)은 대조군에 비해 유의적으로 감소되었다.

**간 조직의 중성지방 및 총 콜레스테롤 함량**

고지방식이에 복분자 추출물을 5주간 혼합급이하 여 사육한 후 간 조직의 중성지방 및 총 콜레스테롤 함량은 Fig. 1과 같다. 대조군의 중성지방 함량은 정상군(5.79 mg/g)에 비해 약 136%의 수준으로 유의적인 증가를 보였으며, HFD+RCE군은 5.75 mg/g으로 대조군과 유의차를 보이지 않았다. 총 콜레스테롤 함량도 중성지방과 유사한 경향으로 대조군(6.68 mg/g)에서 가장 높았으며, 정상군과 복분자 추출물 급이군은 각각 5.12 및 5.49 mg/g으로 두 실험군간에 유의차는 없었다.

**간 조직의 지질과산화물 함량 및 라디칼 소거활성**

고지방식이에 복분자 에탄올 추출물을 급이한 흰쥐의 간 조직 중 지질과산화물 함량 및 DPPH 라디칼 소거에 의한 항산화 활성은 Table 4와 같다. 지질과산화물 함량을 TBARS값으로 나타낸 결과, 정상군에 비해 대조군에서 유의적인 증가를 보였으며, 복분자 추출물 급이군은 대조군에 비해 17.7%정도의 유의적인 감소를 보였다. 간 조직의 라디칼 소거활성은 대조군이 가장 낮았으며, HFD+RCE군에서 46.34%의 소거활성으로 정상군과 유사한 수준으로 회복되었다.

**간 조직의 형태**

고지방 식이와 복분자 추출물을 혼합급이한 흰쥐의 간 조직에서 지방과립의 분포 및 크기를 관찰한 결과는 Fig. 2와 같다. 고지방 식이를 급이한 HFD군에서 간 조직은 흰색의 지방이 축적되어 전형적인 식이성 지방간의 형태를 보였다. 이에 반해 복분자 에탄올 추출물 급이군에서는 간 조직의 지질 축적이 대

**Table 3.** Effect of *Rubus coreanus* extract for food efficiency ratio and liver weight in rats fed a high-fat diet

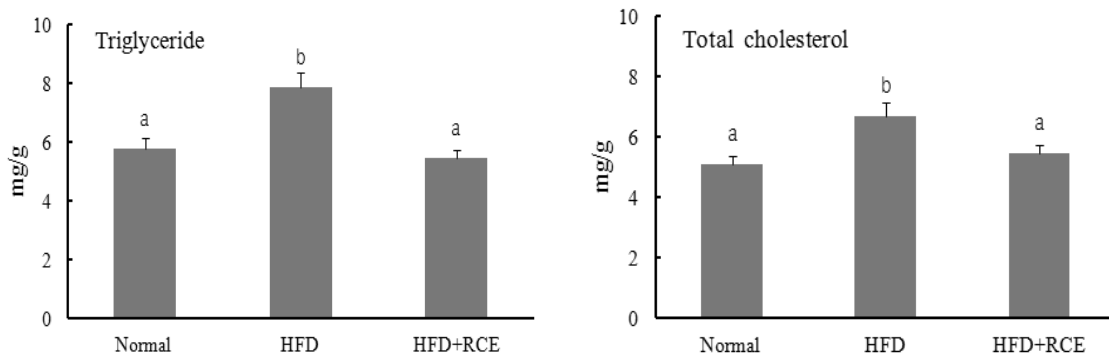
	Normal	HFD	HFD+RCE
Food intake (g/day)	22.07±0.44 <sup>1)NS</sup>	21.77±0.86	21.44±0.74
Total body weight gain (g/5 weeks)	233.75±20.56 <sup>a</sup>	310.00±24.83 <sup>c</sup>	275.00±22.73 <sup>b</sup>
FER	30.26±2.36 <sup>a</sup>	40.66±2.01 <sup>b</sup>	36.68±3.33 <sup>b</sup>
Liver weight (g/100 g BW)	3.28±0.15 <sup>a</sup>	4.21±0.20 <sup>c</sup>	3.75±0.13 <sup>b</sup>

HFD: group fed high-fat diet, HFD+RCE: group fed high-fat diet with 70% ethanol extract from *Rubus coreanus* by 150 mg/kg BW, FER: food efficiency ratio

<sup>1)</sup>Values are mean±SD (n=8).

Values in a different group sharing the same superscript letter are not significantly different at  $P < 0.05$ .

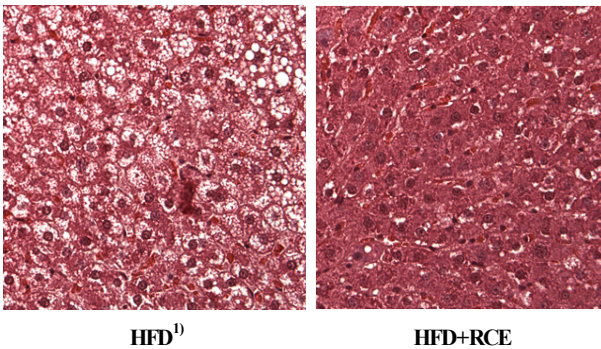
NS: not significant.



**Fig. 1.** Effect of *Rubus coreanus* extract for the triglyceride and total cholesterol contents in liver tissues of rats fed a high-fat diet. Values in a different group sharing the same superscript letter are not significantly different at  $P < 0.05$ .

**Table 4.** Effect of *Rubus coreanus* extract for hepatic lipid peroxide contents and DPPH radical scavenging activity in rats fed a high-fat diet

	Normal <sup>1)</sup>	HFD	HFD+RCE
Lipid peroxide contents (mmol MDA/g)	186.34±15.75 <sup>2)</sup>	253.24±21.45 <sup>c</sup>	208.46±17.87 <sup>b</sup>
DPPH radical scavenging activity (%)	41.67±2.07 <sup>b</sup>	33.25±3.28 <sup>a</sup>	46.34±3.86 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Refer to the Table 3<sup>2)</sup>Values are mean±SD (n=8).Values in a different group sharing the same superscript letter are not significantly different at  $P < 0.05$ .**Fig. 2.** Representative photographs showing liver tissue histology in rats fed a high-fat diet. <sup>1)</sup>Refer to the Table 3.

조균에 비해 크게 감소하고 소포성의 지방세포 수가 확연하게 저하되는 것으로 관찰되었다. 이로써 간 조직의 형태학적 관찰에 의해 고지방 식이에 의해 유도된 식이성 지방간에 대한 복분자 추출물은 간세포의 소포성 지방세포를 감소시킴으로써 지방간 형성을 강하게 억제할 수 있을 것으로 판단되었다.

## 고 찰

폴리페놀 화합물은 1개 이상의 벤젠고리와 1개 이상의 수산기로 구성되며, 크게 페놀산류와 플라보노이드류로 대별되는데, 복분자를 비롯한 베리류는 폴리페놀 화합물의 좋은 급원으로 플라보노이드류로써 quercetin, kaempferol, myricetin 등의 flavonol 함량이 높은 것으로 알려져 있다(Häkkinen 등, 1999). 본 연구에서 복분자의 70% 에탄올 추출물로부터 생리활성과 관련된 유효성분으로 페놀 화합물을 분석한 결과, 총 페놀 함량에 대한 플라보노이드 함량의 비율은 25.9%, 안토시아닌 함량의 비율은 38.1%로 시료 중 페놀산류의 함량이 더 많은 것으로 추정되었다. 품종이 다른 완숙 복분자의 에탄올 추출물에서 총 페놀 함량은 20.89~28.84 mg/g이었으며(Park 등, 2008), Cho 등(2008)은 복분자 완숙과의 에탄올 추출물 중 총 페놀

함량이 82.5 tannic acid mg/g, 플라보노이드 함량은 38.7 quercetin mg/g으로, 플라보노이드 함량이 총 페놀에 대해 약 47%정도였다고 보고한 바 있다. 한편 국내산 복분자의 안토시아닌 함량은 131.48~160.06 mg/100 g이라는 보고가 있으며(Lee 등, 2009), 복분자 미숙과에서는 7.89 mg/100 g, 중숙과는 12.43 mg/100 g, 완숙과는 394.5 mg/100 g으로 과실이 성숙됨에 따라 안토시아닌 함량이 유의적으로 증가되었다고 보고되어 있다(Markakis, 1974). 또한 동결건조된 복분자의 에탄올 추출물 중 안토시아닌 함량은 3766.1 mg/100 g 이었다는 보고(Kang, 2009)는 본 연구 결과와 비교해 볼 때 원료의 품종이나 상태, 추출 조건 등에 따라 유효성분의 함량에 상당한 차이를 보이는 것으로 판단되었다.

복분자에서 항산화 활성은 플라보노이드류의 일종인 quercetin 함량에 의존적이며, 이는 시료 중의 kaempferol이나 ascorbic acid보다 높은 활성을 띄는 것으로 보고되어 있다(Yoon 등, 2003). DPPH 라디칼은 유리 라디칼이나, ABTS 라디칼은 양이온 라디칼이며, 이들에 결합되는 페놀 화합물의 종류가 다르므로 각 기질에 결합하는 정도에 따라 라디칼을 제거하는 활성에는 차이를 보인다(Lee 등, 2005). Cho 등(2008)은 복분자의 에탄올 추출물에서 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성간의 상관관계가 0.91로 상당히 높은 것으로 보고한 바 있다. 더욱이 DPPH 라디칼 소거활성은 생체막 구성성분의 파괴, 여러 산화작용을 초래하는 활성산소의 소거능 평가, ABTS 라디칼 소거활성은 친수성 및 lipophilic 물질에 대한 항산화 활성을 평가하는데 이용되며(Cho 등, 2005), hydroxyl 라디칼은 활성산소 중에서 화학적인 반응성이 크며 생체 내 산화 작용의 원인으로 DNA 손상이나 돌연변이 유발 물질로 알려져 있다(Qi 등, 2013). 본 연구에서 복분자 에탄올 추출물의 ABTS 라디칼 소거활성이 DPPH 라디칼 소거활성에 비해서 다소 높은 경향이었으며, hydroxyl 라디칼 소거활성은 이보다는 낮은 활성이었으나, 복분자 에탄올 추출물에 대한 이들 라

디칼의 소거활성은 생체 내 항산화 시스템에서도 유사하게 적용될 수 있을 것으로 생각된다. 또한 폐놀 화합물은 superoxide anion 라디칼, 과산화수소 및 hydroxyl 라디칼 등의 활성산소종의 제거에도 효과적으로, 인체 건강을 위한 효율적인 항산화제로 이용되고 있다(Lee 등, 2011). 특히 ROS는 생체 내 세포막과 같은 여러 조직에서 산화적 손상을 초래할 수 있으므로 (Apel과 Hirt, 2004) 식물류의 *in vitro* 항산화 활성은 *in vivo*에서 조직 세포의 산화적 손상의 예방에도 긍정적인 영향을 줄 수 있을 것으로 평가된다.

간(liver)은 혈액 내 콜레스테롤 함량의 조절, 체내 항상성의 유지에 중요한 기관이나 지방산의 합성과 산화에 불균형이 초래될 경우 간 조직 내 지방 축적은 불가피하다(Park 등, 2006). 간 실질세포 내에 지방 축적의 과다로 발생하는 지방간은 간세포 파괴로 인한 간 기능 부전으로 진행되거나 장기간의 고지방 식이에 의해 대사 이상, 당내성 손상 등의 2차적인 질환의 원인이 된다(Kim 등, 1999). 식물체의 폴리페놀 화합물은 간 조직에서 콜레스테롤 수준 저하에 효과적이며, 이는 중성지방의 감소와도 상관성이 높는데 (Yoon과 Park, 2010), 폐놀 화합물이 담즙산의 재흡수 억제와 생체 내 콜레스테롤의 생성 저해에 관여하기 때문이라고 보고되어 있다(Kang 등, 2003). 특히 quercetin은 총 콜레스테롤이나 LDL (low density lipoprotein)-콜레스테롤 함량을 낮추며 HDL (high density lipoprotein)-콜레스테롤 수준을 증가시킴으로써 혈중 지질 개선에 도움을 주는 것으로 알려져 있다(Hwang, 2009).

복분자는 LDL의 산화 억제(Kwon 등, 2011), 인체 간암세포주(HepG2)에 대한 콜레스테롤 수준 및 그와 관련된 HMG-CoA reductase 활성 억제 효과가 있다는 보고가 있는데(Choi 등, 2013), 고지방 식이에 대한 복분자 추출물의 혼합급이에 따른 간 조직에서 지질 수준 저하는 시료 중의 유효물질 함량과 관련성이 클 것으로 생각된다.

본 연구에서 고지방 식이와 복분자 추출물의 혼합급이 시 간 조직의 중량이 대조군(HFD)에 비해 유의적으로 감소되었는데, 이는 고지방 식이에 오미자 추출물을 혼합급이한 흰쥐의 간 조직 중량이 대조군에 비해 유의적으로 감소되어 시료 중의 안토시아닌 및 리그난의 함량과 관련성이 있다는 보고(Song 등, 2014)로 볼 때 본 연구에서 복분자에 함유된 안토시아닌을 비롯한 폐놀 화합물이 체내 지질 축적 저해와 관련이 높은 것으로 판단된다. C57BL/6 mice에서 복

분자 미숙과 주정 추출물의 100 mg/kg BW 급이군은 고콜레스테롤 급이군에 비해 유의적으로 간 중량의 감소를 보였다는 보고(Jung 등, 2014)도 본 연구와 유사한 결과였다. 이와 같이 식이성 콜레스테롤이나 고지방 식이는 간 조직 내에 지질을 비정상적으로 축적시켜 간 조직의 중량을 증가시키는데 관여하거나, 체내 지질 성분의 증가와도 관련성이 높다(Rhee와 Park, 1984). C57BL/6 마우스에서 복분자 미숙과의 물 추출물을 250 mg/kg 급이한 실험군은 고지방식이 급이군에 비해 간 조직 내 총 지질, 총콜레스테롤 수준을 현저하게 감소시켜 미숙과 중의 폴리페놀성 성분에 기인된 결과라 추정된 보고가 있다(Choi 등, 2014). 따라서 고지방 식이에 복분자 70% 에탄올 추출물을 150 mg/kg BW로 5주간 급이하므로써 간 조직의 중성지방 및 총 콜레스테롤 수준이 대조군에 비해 유의적으로 감소된 것도 시료 중의 플라보노이드, 안토시아닌을 비롯한 폐놀 화합물에 의존적으로 체내 지질의 유입이 저해된 결과라 생각된다.

지질과산화는 생체 내에서 자연적으로 발생될 수 있는 여러 가지 유리라디칼에 의해 세포막의 다가불포화지방산이 과산화되는 현상으로 고지방 식이의 지속적인 섭취에 의해 가속화될 수 있다. 따라서 유리라디칼의 소거활성이 큰 물질일수록 생체 내 지질과산화 억제 효과가 높는데(Park 등, 2004), 본 연구에서 고지방 식이에 대한 복분자 추출물의 급이는 간 조직 내 지질과산화물의 수준을 유의적으로 감소시켰을 뿐만 아니라 간 조직의 항산화 활성에도 유의적인 효과를 보였다. 또한 간세포 내 공포 형태의 지방구 침착수준을 감소시켜 지방간 억제 소견이 관찰되어 복분자 추출물은 체내 지질 축적 감소에 효과적인 것으로 판단되었다. 고지방 식이에 포도박을 혼합급이한 실험동물의 간 조직은 고지방 식이군에 비해 지방세포의 크기에는 변화를 보이지 않았으나, 간 조직의 괴사나 염증 유발 현상을 보이지 않아 포도박의 간 보호 효과가 확인된 바 있는데(Zhang 등, 2010) 이러한 현상은 포도에 함유된 폴리페놀성 물질에 의존적이라고 보고(Kammerer 등, 2004)되어 본 연구와 유사한 결과였다.

따라서 지방 섭취율이 증가되고 있는 현대인의 생활에서 복분자의 보충 섭취가 유효물질에 의존적으로 체내 지질 개선, 간 보호 효과에 긍정적인 영향을 줄 수 있을 것으로 기대되며, 본 연구는 복분자를 이용한 간 보호용 2차 가공품 개발을 위한 기초 자료로써 활용성이 높을 것으로 생각된다.

## 결 론

복분자의 70% 에탄올 추출물을 이용하여 라디칼 소거활성 및 고지방 식이성 흰쥐에 대한 간 조직의 지질개선에 미치는 영향을 분석하였다. 복분자의 70% 에탄올 추출물 중 총 페놀 함량은 157.93 mg gallic acid/g이었다. 라디칼 소거활성은 50~500 µg/mL에서 시료의 농도에 따라 소거활성이 증가되었으며, DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성은 500 µg/mL 농도에서 70% 이상이였다. 고지방 식이와 복분자 에탄올 추출물(150 mg/kg BW/day)을 5주간 혼합급여하여 사육한 실험동물에서 식이효율은 HFD군과 HFD+RCE군간에 유의차가 없었다. 간 조직의 중량은 복분자 추출물 급여군(3.75 g/100 g BW)이 대조군에 비해 유의적으로 감소되었다. 간 조직의 중성지방 및 총 콜레스테롤 함량은 대조군에 비해 HFD+RCE군에서 유의적으로 감소되었다. 지질과산화물 함량은 복분자 추출물 급여군이 대조군에 비해 유의적으로 감소되었으며, 간 조직의 라디칼 소거활성은 HFD+RCE군에서 정상군과 유사한 수준이었다. 복분자 에탄올 추출물 급여군에서는 간 조직의 지질 축적이 대조군에 비해 다소 낮으며 소포성의 지방세포 수가 감소된 것으로 관찰되었다. 따라서 복분자는 총 페놀 함량에 의존하여 항산화 활성과 간 조직의 지질 개선에 효과적인 것으로 판단된다.

## 감사의 글

본 연구는 2014년도 교육과학기술부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기본연구사업(No. 2014045966)의 한국연구재단의 대학중점연구소 지원사업(2009-0093813)으로 수행된 연구 결과로 이에 감사드립니다.

## REFERENCES

- Ali KA, Abdelhalk M, George B, Panagiotis K. 2005. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic propolis. *Food Chem* 89: 27-36.
- Apel K, Hirt H. 2004. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology* 55: 373-399.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
- Cho WG, Han SK, Sin JH, Lee JW. 2008. Antioxidant of heating pork and activities of *Rubus coreanus* Miq. extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 820-825.
- Cho YJ, Chun SS, Kwon HJ, Kim JH, Yoon SJ, Lee KH. 2005. Comparison of physiological activities between hot-water and ethanol extracts of Bokbunja (*Rubus coreanum* F.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 790-796.
- Choi HR, Lee JH, Lee SJ, Lee MJ, Jeong JT, Lee TB. 2014. Effects of unripe black raspberry water extract on lipid metabolism and oxidative stress in mice. *Korean J Food Sci Technol* 46: 489-497.
- Choi HR, Lee SJ, Lee JH, Kwon JW, Lee HK, Jeong JT, Lee TB. 2013. Cholesterol-lowering effects of unripe black raspberry water extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 1899-1907.
- Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oil. *J Am Oil Chem Soc* 58: 966-968.
- Gutteridge JM. 1984. Reactivity of hydroxy and hydroxylike radicals discriminated by release of thiobarbituric acid reactive material from deoxy sugars, nucleosides and benzoate. *J Biochem* 224: 716-767.
- Häkkinen SH, Kärenlampi SO, Heinonen IM, Mykkänen HM, Törrönen AR. 1999. Content of the flavonols quercetin, myricetin and kaempferol in 25 edible berries. *J Agric Food Chem* 47: 2274-2279.
- Hong SM, Kang MJ, Lee JH, Jeong JH, Kwon SH, Seo KI. 2012. Production of vinegar using *Rubus coreanus* and its antioxidant activities. *Korean J Food Preserv* 19: 594-603.
- Hosseinian FS, Li W, Beta T. 2008. Measurement of anthocyanins and other phytochemicals in purple wheat. *Food Chem* 109: 916-924.
- Hwang EK. 2009. Effect of quercetin supplement on major biochemical parameters in sera of rats fed high fat and high cholesterol diet. *J Vet Clin* 26: 413-418.
- Jang TS, Yang JC, Lim SY, Kim BA. 2014. Antioxidant and antihemolytic activity of ethanol extracts of *Rubus coreanus* Miquel. *J Korean Oil Chemists' Soc* 31: 130-135.
- Jeong CH, Choi SG, Heo HJ. 2008. Analysis of nutritional compositions and antioxidative activities of Korean commercial blueberry and raspberry. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 1375-1381.
- Jung MA, Cho SH, Lee SY, Kim JH, Oh KN, Kim YS, Yoo GS, Lee DW, Kim SO. 2014. Effects of unripe *Rubus coreanus* Miquel extract on improvement of lipid metabolism in C57BL/6 mice fed a high-cholesterol diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 650-655.
- Kammerer D, Claus A, Carle R, Schieber A. 2004. Polyphenol screening of pomace from red and white grape varieties (*Vitis vinifera* L.) by HPLC-DAD-MS/MS. *J Agric Food Chem* 52: 4360-4367.
- Kang HH. 2009. Determination of biological activities of Korean berries and their anthocyanin identification. Ph.D. Thesis, Gyeongsang National University, Jinju, Korea.
- Kang SM, Shim JY, Hwang SJ, Hong SG, Jang HE, Park MH. 2003. Effects of Saengshik supplementation on health



- improvement in diet-induced hypercholesterolemic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 906-912.
- Kim HK, Kwon YA, Rho SK, Ham YT. 1999. The role of fatty acid binding protein in the fatty liver induced by alcohol or high cholesterol diet in rats. *Kor J Nutr* 32: 55-58.
- Kim ID, Kang SK, Kwon RH, Jeong OY, Lee JS, Ha BJ. 2007. The effect of *Rubus coreanum* Miquel against lipopolysaccharide-induced oxidative stress and lipid metabolism. *J Fd Hyg Safety* 22: 213-217.
- Kwon JW, Lee HK, Park HJ, Kwon TO, Choi HR, Song JY. 2011. Screening of biological activities to different ethanol extracts of *Rubus coreanus* Miq. *Korean J Med Sci* 19: 325-333.
- Lee BK, Shin HH, Jung JH, Hwang KT, Lee YS, Kim TY. 2009. Anthocyanins polyphenols and antioxidant activities of black raspberry exudates. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 125-130.
- Lee JH, Lee SJ, Park S, Kim HK, Jeong WY, Choi JY, Sung NJ, Lee WS, Lim CS, Kim GS, Shin SC. 2011. Characterisation of flavonoids in *Orostachys japonicus* A. Berger using HPLC-MS/MS: contribution to the overall antioxidant effect. *Food Chem* 124: 1627-1633.
- Lee SJ, Lee MJ, Ko YJ, Choi HR, Jeong JT, Choi KM, Cha JD, Hwang SM, Jung HK, Park JH, Lee TB. 2013. Effects of extracts of unripe black raspberry and red ginseng on cholesterol synthesis. *Korean J Food Sci Technol* 45: 628-635.
- Lee SO, Kim MJ, Kim DG, Choi HJ. 2005. Antioxidative activities of temperature-stepwise water extracts from *Inonotus obliquus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 139-147.
- Lim BO, Seo TW, Shin HM, Park DK, Kim SU, Cho KH, Kim HC. 2000. Effect of *Betulae platyphyllae* Cortex on free radical in diabetic rats induced by streptozotocin. *Kor J Herbology* 15: 69-77.
- Markakis P. 1974. Anthocyanins and their stability in foods. *Crit Rev Food Technol* 4: 437-456.
- Moreno MIN, Isla MI, Sanpietro AR, Vattuone MA. 2000. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several region of Argentina. *J Ethnopharmacol* 71: 109-114.
- Park JO, Lee IS, Choi JW. 2004. Effect of *Terminalia chebula* extract on liver in rat. *J Life Sci* 14: 141-147.
- Park SH, Jeon WK, Kim SH, Kim HJ, Park DI, Cho YK, Sung IK, Sohn CI, Keum DK, Kim BI. 2006. Prevalence and risk factors of non-alcoholic fatty liver disease among Korean adults. *J Gastroenterol Hepatol* 21: 138-143.
- Park YG, Choi SH, Kim SH, Jang YS, Han JG, Chung HG. 2008. Functional composition and antioxidant activity from the fruits of *Rubus coreanus* according to cultivars. *Mokche Konghak* 36: 102-109.
- Qi Y, Zhao X, Lim YI, Park KY. 2013. Antioxidant and anti-cancer effects of edible and medicinal mushrooms. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 655-662.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26: 1231-1237.
- Rhee SJ, Park HK. 1984. Change of lipid content and histochemical observation in liver of rats fed high fat diet. *Korean J Nutr* 17: 113-125.
- Song YO, Lee SJ, Park HJ, Jang SH, Chung BY, Song YM, Kim GS, Cho HJ. 2014. Hepatoprotective effect of *Schisandra chinensis* on high-fat diet-induced fatty liver in rats. *Korean J Vet Serv* 36: 45-52.
- Uchiyama M, Mihara M. 1978. Determination of malondialdehyde precursor in tissues by TBA test. *Anal Biochem* 86: 271-278.
- Wiseman H. 1996. Dietary influences on membrane function; important in protection against oxidative damage and disease. *J Nutr Biochem* 7: 2-6.
- Yoon HJ, Park YS. 2010. Effects of *Scutellaria baicalensis* water extract on lipid metabolism and antioxidant defense system in rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 219-226.
- Yoon I, Wee JH, Moon JH, Ahn TH, Park KH. 2003. Isolation and Identification of antioxidative activity from the fruits of *Rubus coreanum* Miquel. *Korean J Food Sci Technol* 35: 499-502.
- Zhang XH, Choi SK, Seo JS. 2010. Effect of dietary grape pomace on lipid metabolism and hepatic morphology in rats fed a high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 1595-1603.