

Biological Effects of *C. tricuspidata* Extract in Normal Rodents

Mi Sun Hwang¹, Ji Yeon Choi², Kang Min Kim^{1*} and Il Dae Song^{1*}

¹Department of Pharmaceutical Science and Technology, Kyungsoong University, Busan 48434 Korea

²SouthEast Medichem Institute Ltd. 11th Floor, Jeongam Building, 410 Suyeong-ro, Suyeong-gu, Busan 48308, Korea

Received February 22, 2023 / Revised March 30, 2023 / Accepted April 12, 2023

In order to use *Cudrania tricuspidata* extract for the development of health-functional food, biological changes in normal rodents, such as changes in blood constituent cells, blood lipids, and anti-inflammatory activity, were measured after the rodents had been drinking the substance for 2 weeks. A 30 mg daily dose of the extract taken for 2 weeks produced no change in body weight or renal function, and no toxicity was observed. Increased red blood cell levels and white blood cell levels were confirmed, and platelet counts tended to increase; thus, the extract seems to cause an overall increase in blood cells. In the case of blood lipids, it was confirmed that the extract-treated group exhibited an effect of improved blood-lipid levels, demonstrated through an increase in HDL-C of 21%, with a decrease in triglyceride of 27% compared to the control group. In addition, the decreases in both GOT and GPT led to improved liver function through use of the extract. Therefore, this study suggests that drinking *Cudrania tricuspidata* extract can have various effects, such as promoting blood cell production, improving blood lipids profile, improving liver function, and improving inflammatory action. The extract would be useful in the future in developing high-value industrial products such as functional foods and pharmaceuticals.

Key words : Biological activity, *Cudrania tricuspidata*, extract, functional food, normal rodent

서 론

꾸지뽕(*Cudrania tricuspidata*)은 뽕나무과에 속하는 낙엽교목으로 한국을 비롯한 일본, 중국 등지에 주로 분포하고 있다[8]. 잎은 주로 뽕잎 대용으로 사용하고 열매는 먹을 수 있으며 나무 껍질과 뿌리는 약용으로 이용된다. 꾸지뽕의 약리학적 활동에 대한 많은 연구들이 진행되어 왔는데 꾸지뽕에 함유된 생리활성성분은 주로 폴리페놀계통의 flavonoid로서 플라보넌, 플라콘올, 플라본올 글리코사이드, 플라보논 글리코사이드, 잔톤 등이다[10, 19, 27]. 잎과 뿌리 껍질의 주성분인 prenylated xanthenes과 flavonoid는 항염증을 비롯하여 중앙, 간보호, 신경보호 및 항응고 등에 효능을 보이는 것으로 보고되었다[1, 7, 13, 14, 25]. 줄기 껍질의 hydroxybenzyl flavonoid 성분은 항산화제 및 항종양 효능이 있다고 알려져 있고[5] 꾸지뽕 열매 추출물의 항산화활성, 항염증 효과 및 항균 활성에 관

한 연구가 보고되었다[8, 10, 15].

그러나 이 식물의 생리활성에 대한 연구는 미비한 실정으로 건강에 대한 관심이 높아지고 있는 현대사회에서 기능성식품 등 건강 증진을 위한 다양한 소재와 제품 개발을 위한 꾸지뽕의 생리활성 실험을 통해 기능성을 입증하고 기능성 제품 개발의 기초자료로 활용하고자 한다. 이에 본 연구에서는 꾸지뽕의 다양한 효과들과 연계하여 건강개체에서 건강 증진 효과를 확인할 수 있는 일반적인 지표들의 변화를 조사하였다. 혈액학적 지표로 백혈구를 구성하고 있는 림프구, 단핵구, 호중구, 호산구, 호염기구 등의 수준 변화를 측정하여 염증과 면역 상태 확인을 위한 주요 지표로 조사하였다[6]. 또한 혈중지질 수준 변화는 소화 흡수된 지질이 간에서 VLDL (Very low-density lipoproteins) 형태로 합성되어 혈액을 통해 LDL (Low-density lipoproteins)로 분해된 후 각 조직에 보내지고 조직에서 사용 후 운송 원료로서의 HDL (High-density lipoproteins) 형태로 전환하여 간으로 다시 보내는 과정을 반복적으로 거치면서 체내 지질의 공급과 소모가 유지가 되므로, 혈중 지질 수준 변화는 대사 및 혈관의 건강 상태에 중요한 지표로 활용된다[3, 4]. 따라서 단일 경구투여 대신 지속적인 음용 방법으로 건강한 개체에서 꾸지뽕 음용이 나타낼 수 있는 건강 증진 효과를 혈액학적 지표와 혈중지질 지표들을 이용하여 확인하고 탐색하였다. 천연물 소재가 미칠 수 있는 간 손상이나 신장기능 이상은 GOT

*Corresponding authors

Tel : +82-51-663-4891, Fax : +82-51-663-4809

E-mail : kimkms@ks.ac.kr (Kang Min Kim)

cianni77@ks.ac.kr (Il Dae Song)

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

(Glutamic oxaloacetic transaminase)와 GPT (Glutamic pyruvic transaminase) 그리고 신장 기능 이상 여부를 확인할 수 있는 BUN (Blood urea nitrogen) 등을 지표로 하여 조사하였다. 또한 혈액 내 염증성 cytokine 수준 변화를 측정함으로써 꾸지뽕 음용으로 인한 면역 반응 개선에 대한 효과를 확인하였다. 이상의 연구를 통해 꾸지뽕 추출물 음용을 통한 정상 개체에서의 생리활성효과를 확인하고 이를 활용해 건강기능식품 개발의 기초자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 시약

본 연구에서 사용된 꾸지뽕 추출물은 (주)해인F&F(부산, 한국)에서 제조한 것을 공급받아 사용하였다. 꾸지뽕 추출물은 60 kg 성인의 일일 섭취량을 1.1 g/d 기준으로 하여 인간동등섭취량(HED)에 해당하는 양인 30 mg/d를 제공하였다. 혈구분석에 사용된 시약은 SIEMENS ADVIA2120i 전용 시약을 (주)한국지멘스(서울, 한국)로부터 공급받았고, 혈액 화학 분석에 사용된 시약은 (주)아산제약(화성, 한국)에서 혈액 내 중성지방(AM157S-K), 총콜레스테롤(AM202-K), 고밀도지단백콜레스테롤(AM203-K), 포도당(AM201-K), BUN (AM165-K), GOT (AM103-K), GPT (AM102-K) 상용키트를 구입하였다. 그 외 단백질 분석 등에 사용된 시약 및 표준품은 시그마-알드리치(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

실험동물 및 시료 처리

실험동물은 (주)오리엔트바이오(성남, 한국)에서 8주령의 웅성 Sprague-Dawley rat (200±50 g Body weight)을 분양받아 실험동물 사육실 내에서 2주간의 적응기간을 거친 후 10주령 시점에서 2주간 실험을 진행하였다. 실험동물 사육실은 실내온도 22±1°C, 습도 55±5%를 자동 유지하고 12시간 단위로 점등 점멸이 되는 환경으로 조성되었다. 실험군은 꾸지뽕 추출물 30 mg을 음용수 30 ml에 혼합하여 매일 약 14시간 음용 제공한 꾸지뽕 처리군(C.tricuspidata)과 꾸지뽕 비제공 처리군(Control)으로 하여 처리군당 각 5 마리씩 배치하였다. 사료는 렛트 전용 표준 펠렛 사료를 제공하였고 음용수는 일반 생수를 제공하였다. 사료와 음수는 자유 섭취를 기본으로 하되 시험시료는 경구 투여를 하지 않고 환경 적응기간 동안 사전 측정된 평균 음수량에 맞추어 18시부터 익일 10시까지 35 ml를 별도로 제한 공급하고 08시 이후 전량 소모되는 시점에서 다시 일반 음용수로 교환 처리하였다. 시험기간 동안 2일 간격으로 체중, 사료섭취량, 음수량 등의 변화를 측정하면서 건강상태를 관찰하였다. 실험 종료 15시간 전에는 사료의 공급을 중단하여 이 후 혈당(glucose) 측정에 영향을 미치지

않도록 하였다. 실험종료시점에서는 Isoflurane/O2 vaporizer를 사용하여 흡입 마취한 후 복 대정맥에서 혈액시료를 채취하였다. 채취된 혈액의 일부는 상용 항응고 채혈튜브에 보관하였다가 혈구분석에 사용하였고 그 외 혈액은 혈청 분리용 gel 튜브를 사용하여 1,650 g, 10 min 간 원심분리 후 혈청을 eppendorf 튜브에 분주하고 이후 분석을 위해 -80°C에 보관하였다. 실험에 사용된 모든 동물들은 PNU-IACUC (Pusan National University, Institutional Animal Care and Use Committee)의 승인(PNU-2018-1967)을 받아 사용지침에 따라 관리하였다.

혈액학적 변화 지표 측정

혈액 내 혈구세포 측정을 위해 복 대정맥에서 채혈 즉시 0.24% EDTA가 처리된 상용 채혈 튜브(BD Vacutainer®, Franklin Lakes, NJ, USA)에 전혈을 옮겨 항응고 처리한 후 혈액분석 장비(ADVIA 2120i, Hematology Analyzer, SIEMENS, Munich, Germany)에서 complete blood count (CBC)를 측정하였다. 각각의 혈액 시료를 3회 반복 측정하여 단위 혈액 내 적혈구, 백혈구, 혈소판 수를 측정하였고, 백혈구를 구성하는 림프구, 단구, 호중구, 호산구, 호염기구 등의 구성비 변화를 분석하였다.

혈중 지질 측정

혈중 중성지방(Triglyceride, TG), 총 콜레스테롤(Total cholesterol, TC), 고밀도지단백 콜레스테롤(High Density Lipoprotein - Cholesterol, HDL-C) 등 혈중 지질 수준 측정을 위해 복 대정맥에서 채혈 직후 상용 혈청분리튜브(Vacurette® Tube, Greiner Bio-One GmbH, Kremsmunster, Austria)를 이용하여 1,650 g, 10 min 간 원심분리 후 -80°C에 보관한 혈청을 사용하여 분석을 진행하였다. 분석은 (주)아산제약에서 구입한 상용 분석키트를 사용하여 화학 반응 시킨 후 분광광도계에서 표준곡선 작성 후 외삽법을 통해 정량 분석하였다.

혈당 및 혈중 단백질 측정

혈중 포도당과 혈중 단백질의 측정에는 상기 언급된 복 대정맥에서 채혈 및 분리한 혈청을 사용하였다. 포도당은 (주)아산제약에서 구입한 상용 분석 시약으로 화학 반응 시킨 후 분광광도계에서 표준곡선 및 측정치 외삽을 통해 정량 분석하였다. 혈중 단백질분석은 BSA (Bovine serum albumin)를 표준물질로 하여 상용 bicinchoninic acid (BCA) 분석 시약(Pierce™ BCA Protein Assay Kit, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)을 사용하여 분광분석기에서 측정하여 정량 분석하였다.

혈중 장기 기능 지표 측정

복 대정맥으로부터 얻은 혈청을 사용하여 혈중 장기

기능 지표 수준 변화를 측정하였다. 간 손상 지표로는 glutamic oxalacetic transaminase (GOT)와 glutamic pyruvic transaminase (GPT)를 측정하였고, 신장 기능에 대한 지표로는 blood urea nitrogen (BUN)을 측정하였다. 측정을 위해 (주)아산제약에서 구입한 상용 분석시약을 사용하여 반응시키고 분광분석법을 이용하여 측정치의 외삽 후 정량 분석하였다.

혈액 내 염증성 사이토카인 측정

혈중 염증성 사이토카인 지표는 IL-1 α (interleukin-1 α), IL-1 β (interleukin-1 β), IL-6 (interleukin-6)를 Luminex200 system (Invitrogen™)을 이용하여 분석하였다. 혈청과 buffer를 1:1로 희석하여 단백질 함량을 50 mg/ml로 희석하여 Luminex multiplex assay 표준곡선 및 측정치 외삽을 통해 정량 분석하였다.

통계 처리

측정된 실험 결과에 대한 통계처리는 SAS Software (Ver. 9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하여 평균과 표준편차로 나타내었고, 그룹 간의 유의성 검증을 위하여 일원변량분석(One-way ANOVA)을 실시하였으며 통계적 유의한 차이는 $p < 0.05$ 로 설정하였다.

결과 및 고찰

꾸지뽕 추출물 음용에 따른 혈구 세포 수준 변화

꾸지뽕 추출물에 대한 생리활성을 검토하기 위하여 10 주령의 웅성 Sprague-Dawley rat에 2주간 음용시켰다. 1일 30 mg의 꾸지뽕 추출물 음용은 대조군과 비교하였을 때 체중, 사료섭취량, 음수량의 변화에 영향을 미치지 않는 것으로 확인되었다. 특히, 체중의 경우 대조군과 꾸지뽕 추출물 음용군이 각각 285 \pm 13.1 g에서 348 \pm 14.4 g과 285 \pm 11.8 g에서 342 \pm 13.9 g로 증가하였으며 이때의 변화폭은 대조군 62 \pm 7.2 g, 꾸지뽕 추출물 음용군 58 \pm 15.9 g으로 체중변화에 대한 유의성은 없는 것으로 확인되었다(Fig. 1). 2주간의 사료섭취량과 음수량 비교에서 통계적으로 유의

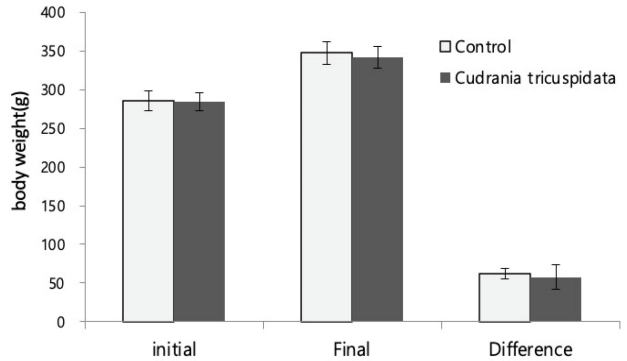


Fig. 1. Effect of drinking *Cudrania tricuspidata* extract on changes in Rodent weight. Basic biologic changes were measured by measuring daily feed intake, drinking volume, and weight change of rodents after drinking *Cudrania tricuspidata* extract for 2 weeks.

한 차이가 나타나지 않는 것으로 보아 꾸지뽕 추출물 음용이 섭식 변화에 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

혈액학적 분석을 통해 두 집단 간 혈액세포 변화를 확인하였다(Table 1). 적혈구(RBC)는 체내 대사 및 호흡에 대한 이상 여부를 확인할 수 있는 지표로, 대조군과 꾸지뽕 추출물 음용군에서 각각 6.81 \pm 1.25 \times 10⁶ cells/ μ l, 7.64 \pm 0.31 \times 10⁶ cells/ μ l로 대조군 대비 약 12% 증가($p < 0.05$)한 것으로 확인되었다. 적혈구가 증가되는 원인으로는 조혈모세포로부터 분화 촉진 등에 의한 생성량의 증가, 적혈구 사멸 저해나 수명 지연에 의해 증가될 수 있는 것으로 알려져 있는데[6] 본 연구에서 이를 밝히기 위해서는 추가적인 연구 수행이 필요할 것으로 보인다. 헤모글로빈(HGB)은 적혈구 내 존재하며 호흡 작용에 가장 중요한 역할을 하며 대조군과 꾸지뽕 추출물 음용군에서 각각 14.76 \pm 2.64 g/dl, 16.21 \pm 0.54 g/dl로 증가하였고($p < 0.05$), 혈액 중 적혈구 용적비율(HCT)의 경우 대조군과 꾸지뽕 추출물 음용군에서 각각 41.44 \pm 7.51%, 46.75 \pm 1.64%로 약 13%($p < 0.05$) 증가되어 적혈구의 분화생성 촉진에 의해 적혈구용적률이 증가된 것으로 예측할 수 있다. 혈소판(PLT)은 외상 등 체내 보호 능력에 대한 상태를 확인할 수 있는데[2, 11] 혈액 내 혈소판 수에서도 대조군과 꾸지뽕 추출물 음

Table 1. Changes of blood cell levels

Item	RBC* ($\times 10^6/\mu$ l)	HGB (g/dl)	HCT* (%)	PLT ($\times 10^3/\mu$ l)	WBC* ($\times 10^3/\mu$ l)	Lymp (%)	Neut (%)	Mono (%)	Baso (%)	Eos* (%)
Control	6.81 \pm 1.25	14.76 \pm 2.64	41.44 \pm 7.51	983 \pm 420	10.75 \pm 3.06	82.74 \pm 4.44	12.87 \pm 4.00	2.27 \pm 0.88	0.18 \pm 0.09	0.24 \pm 0.18
Cudrania tricuspidata	7.64 \pm 0.31	16.21 \pm 0.54	46.75 \pm 1.64	1152 \pm 110	13.45 \pm 1.39	85.33 \pm 3.10	10.97 \pm 2.90	1.88 \pm 0.70	0.18 \pm 0.07	0.53 \pm 0.27

Changes of blood cells counts after the administration of *Cudrania tricuspidata* extract are represented. Shown values are mean value with their standard deviation. Abbreviations represented RBC, red blood cell; HGB, hemoglobin; HCT, hematocrit; PLT, platelet; WBC, white blood cell; Lymp, lymphocytes; Neut, neutrophils; Mono, monocytes; Baso, basophils; Eos, eosinophils. * $p < 0.05$ compared to the control.

용군에서 각각 $983 \pm 420 \times 10^3$ cells/ μ l, $1152 \pm 110 \times 10^3$ cells/ μ l 로 통계적 유의성은 나타나지 않았지만 수치상 약 25% 증가되는 경향이 있음을 확인하였다. 정상 범위 내에서의 혈소판의 증가는 큰 의미를 갖지 않지만 적혈구와 같이 조혈 모세포에서 분화되어 생성되는 세포인 혈소판은 꾸지뽕 음용과 관련하여 세포 분화를 촉진시키는 것으로 사료된다[6].

다음으로 꾸지뽕 음용에 따른 백혈구(WBC) 변화를 살펴보면 대조군과 꾸지뽕 추출물 음용군에서 각각 $10.75 \pm 3.06 \times 10^3$ cells/ μ l, $13.45 \pm 1.39 \times 10^3$ cells/ μ l로 나타나 대조군에 비해 약 25% 증가($p < 0.05$)하였다. 백혈구 수가 증가하는 것은 일반적으로 면역반응 또는 체내에 염증이 진행 중 일때 나타나는데 특이적으로 이상 징후가 확인되지 않는 상황에서의 백혈구 증가는 방어능력의 상승과 관련이 있거나 꾸지뽕 추출물 음용의 잠재 효과로서 세포 분화/증식과 관련이 있을 것으로 사료된다[22]. T세포와 B세포 구별에 있어 세포성 및 유혈 항체를 생산하는 역할을 하는 림프구(Lymp)는 대조군과 꾸지뽕 추출물 음용군에서 각각 $82.74 \pm 0.116\%$, $85.33 \pm 0.075\%$ 로 통계적으로 유의한 변화가 나타나지 않았고, 탐식 살균작용을 하는 호중구(Neut) 역시 대조군과 꾸지뽕 추출물 음용군 각각 $12.87 \pm 4.00\%$, $10.97 \pm 2.32\%$ 로 대조군 대비 감소하였으나 통계적 유의성은 나타나지 않았다. 조직 내에서 대식세포

가 되어 면역에 관여하는 단구(Mono)와 히스타민, 헤파린을 포함하는 과립으로 주로 과민반응에 작용하는 것으로 알려진 호염기구(Baso)는 대조군에서 각각 $2.27 \pm 0.88\%$ 와 $0.18 \pm 0.09\%$ 수준일 때 꾸지뽕 추출물 음용군에서 $1.88 \pm 0.7\%$ 와 $0.18 \pm 0.07\%$ 로 차이가 거의 없었다. 알러지, 기생충 등 과민증에서 증가한다고 알려진 호산구(Eos)의 경우 대조군과 꾸지뽕 추출물 음용군에서 $0.24 \pm 0.18\%$, $0.53 \pm 0.27\%$ 로 대조군에 비해 약 120% 정도의 증가하였다. 일반적으로 호산구는 알러지 반응이나 기생충 감염에 의해 증가되는데 본 연구에서 확인된 호산구 수 변화는 1.5×10^3 cells/ μ l 이상의 수치일 때 나타나는 중증호산구증과 같은 이상 증세와 관련지어 언급하기에는 무리가 있는 것으로 사료된다[22]. 본 연구에서는 호산구 비율은 유의하게 증가하였으나 다른 백혈구 내 구성 세포들 간의 비율 변화는 꾸지뽕 추출물 음용에 따라 미치는 영향이 없는 것으로 보여지며 이는 국소적 염증반응 활성화에 의한 것으로 사료된다.

꾸지뽕 추출물 음용에 따른 혈중 지질 수준 변화

꾸지뽕 추출물 음용에 따른 혈중 지질 수준 변화 확인을 위해 중성지질(TG), 총콜레스테롤(TC), 고밀도지단백결합콜레스테롤(HDL-C) 등을 측정하였다. 중성지질의 경우 대조군과 꾸지뽕 추출물 음용군에서 각각 $66.23 \pm$

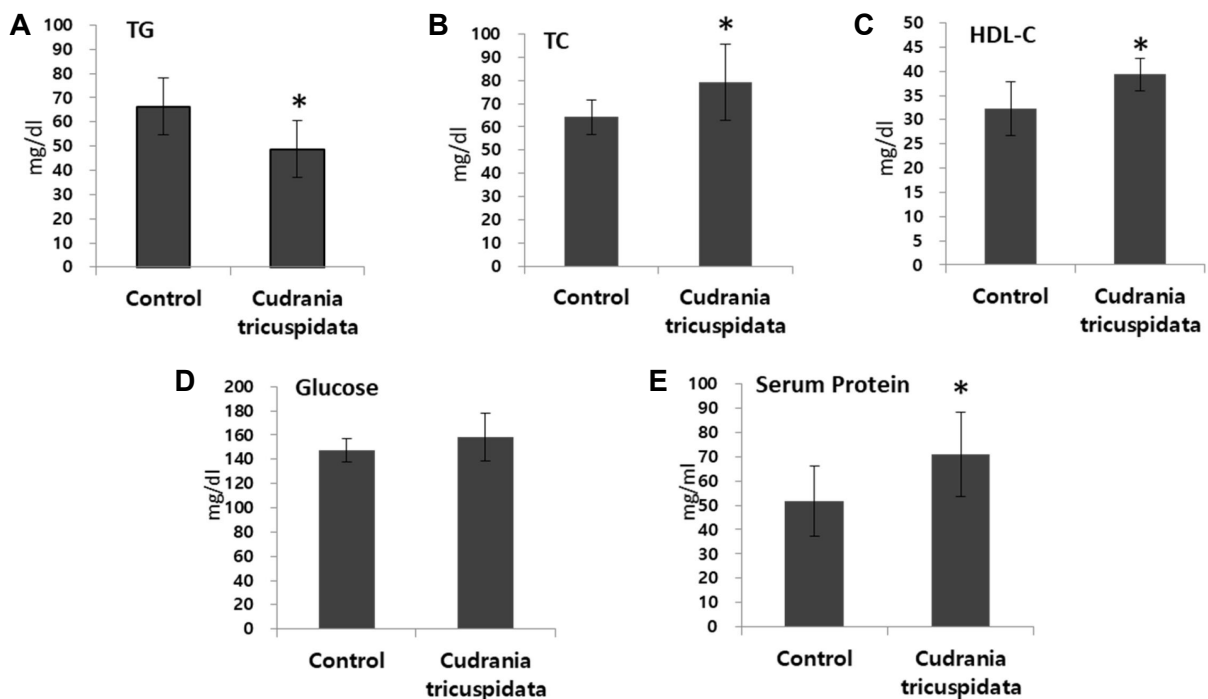


Fig. 2. Effect of *Cudrania tricuspidata* extract on metabolism. Changes in basal nutrient metabolites levels were measured after drinking two weeks of *Cudrania tricuspidata* extract. Blood triglycerides (TG), total cholesterol (TC), HDL cholesterol (HDL-C), glucose and Serum protein were measured in normal subjects and *Cudrania tricuspidata* drink subjects, respectively. * $p < 0.05$ compared to the control.

11.73 mg/dl, 48.74±11.72 mg/dl로 나타나 대조군에 비해 약 27% 감소되었음을 확인하였다(Fig. 2A). 혈중 중성지방 감소는 지질 산화의 증가나 지질 생합성이 감소하였음을 의미하며 현대인의 혈관 건강에 있어서 중요한 지표로 알려져 있다[16, 17]. 또한, 꾸지뽕 추출물 음용에 따라 HDL-C의 수준이 증가했는데 대조군과 꾸지뽕 추출물 음용군에서 각각 32.30±5.54 mg/dl, 39.35±3.3 mg/dl로 나타나 대조군에 비해 약 21% 증가($p<0.05$)된 것으로 확인되었다(Fig. 2C). 이는 총콜레스테롤 수준 증가에 기인한 것으로 보이며 말초조직에서 생체 합성을 위한 에너지 사용 등에 지질 소모 기전으로 대사가 진행되고 있는 것으로 사료된다. 이와 연계하여, 꾸지뽕 추출물 음용에 따른 혈중 총 콜레스테롤 수준 변화를 비교하였을 때 대조군과 꾸지뽕 추출물 음용군에서 각각 64.18±7.45 mg/dl, 79.16±16.3 mg/dl로 대조군에 비해 약 23% 증가($p<0.05$)된 양상을 확인하였다. 이것은 꾸지뽕 추출물 음용에 의한 혈중 중성지방 감소와 연계하여 고콜레스테롤 함유 초저밀도 지단백질 분비 또는 말초조직으로부터 HDL-C 배출 증가의 의한 것으로 사료된다(Fig. 2B). 혈중 HDL-C의 경우 꾸지뽕 추출물 음용군에서 39.35 mg/dl로 나타났으며 이는 대조군보다 약 20% 이상 높게 나타난 것으로 확인되었다(Fig. 2C). 이는 총콜레스테롤 수준 증가에 기인한 것으로 보여지며 말초조직에서 생체 합성을 위한 에너지 사용 등에 지질 소모 기전으로 대사가 진행되고 있는 것으로 사료된다.

꾸지뽕 추출물 음용에 따른 혈당과 혈중 총단백질 수준 변화

꾸지뽕 추출물의 음용에 따른 혈당 즉 혈중 글루코스 농도를 확인한 결과 혈당 수준 변화에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 대조군과 꾸지뽕 추출물 음용군에서 각각 147.21±9.60 mg/dl, 158.26±19.91 mg/dl로 통계적인 유의성은 확인되지 않았다(Fig. 2D). 이전 보고에 따르면 뽕나무과에 속하는 뽕잎 및 꾸지뽕잎 분말사료를 먹인

당뇨 유발 쥐 모델에서 혈당강화 효과가 나타났지만 본 실험에서 꾸지뽕을 단독으로 처리한 군에서는 혈당강화 효과가 나타나지 않았다[19]. 혈당 상승 유도 모델에서 혈당 감소 효능 및 공복 시 혈당 감소 효능이 없는 것으로 보고되었고 본 연구 조건하에서도 혈당 감소의 효능이 나타나지 않은 것으로 보아 꾸지뽕은 혈당 저하 관련 생리활성 기전에는 큰 영향이 없는 것으로 사료된다. 반면 꾸지뽕 추출물 음용으로 인해 혈액을 통해 영양소 등을 운반하는 역할을 하는 알부민 등의 혈청 단백질 양이 증가한 것으로 확인되었다. 혈청 총 단백질 양이 대조군과 꾸지뽕 추출물 음용군에서 각각 51.7±14.54 mg/ml, 70.9±17.38 mg/ml로 나타나 대조군에 비해 약 35%의 증가($p<0.05$)하였음이 확인되었다(Fig. 2E). 이를 통해 꾸지뽕 추출물 음용에 따른 혈청 총 단백질 양의 증가가 섭취된 사료로부터의 단백질 흡수 효율이 좋아진 것인지 간에서 단백질 합성 증가에 의한 것인지에 대해서는 본 연구에서 확인할 수는 없지만 증가된 수준만큼 에너지 또는 단백질 생합성 등을 위한 체내 단백질 이용 효율이 더 좋아질 것으로 기대된다.

꾸지뽕 추출물 음용에 따른 혈액 내 간과 신장 기능 지표 수준 변화

천연물에서부터 유래된 식품의 섭취 시 일반적으로 체내에서 가장 먼저 영향을 받는 장기는 간과 신장으로 알려져 있으며 일반적인 천연물 내 함유된 물질들은 간과 신장에서 손상을 일으키거나 기관의 기능에 악영향을 미칠 수 있어 본 연구에서는 꾸지뽕 추출물 음용에 따른 간과 신장의 손상 여부를 확인하였다. 먼저, 간 세포 내에 존재하며 간 손상 또는 기능 저하의 지표로 알려진 혈중 GOT와 GPT 변화를 확인하였다[23]. GOT는 대조군과 꾸지뽕 추출물 음용군에서 각각 58.49±9.60 IU/L, 46.15±6.80 IU/L로 나타나 약 20% 감소되었고(Fig. 3A), GPT는 대조군과 꾸지뽕 추출물 음용군에서 각각 15.28±2.34 IU/L,

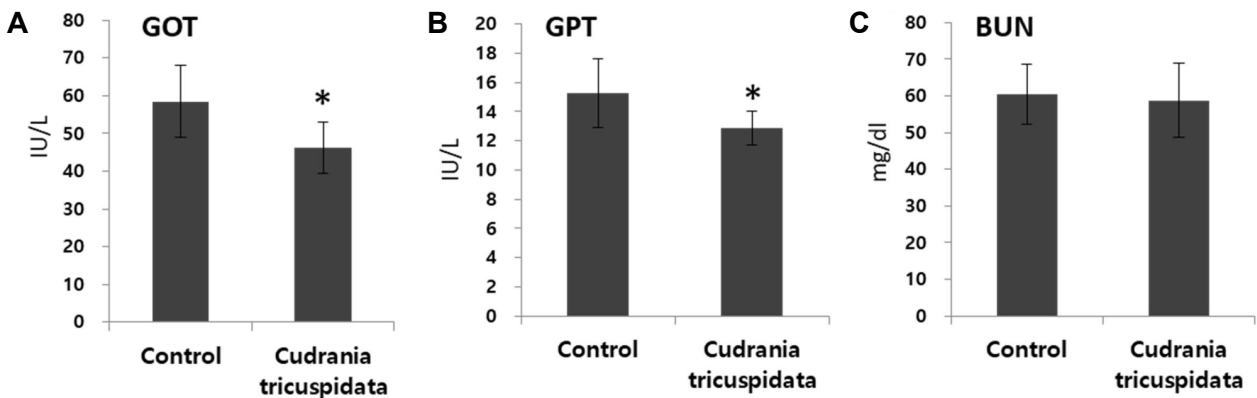


Fig. 3. Effect of *Cudrania tricuspidata* extract on levels of glutamic pyruvic transaminase (GOT), glutamic oxalacetic transaminase (GPT) and blood urea nitrogen (BUN) changes in blood were measured. * $p<0.05$ compared to the control.

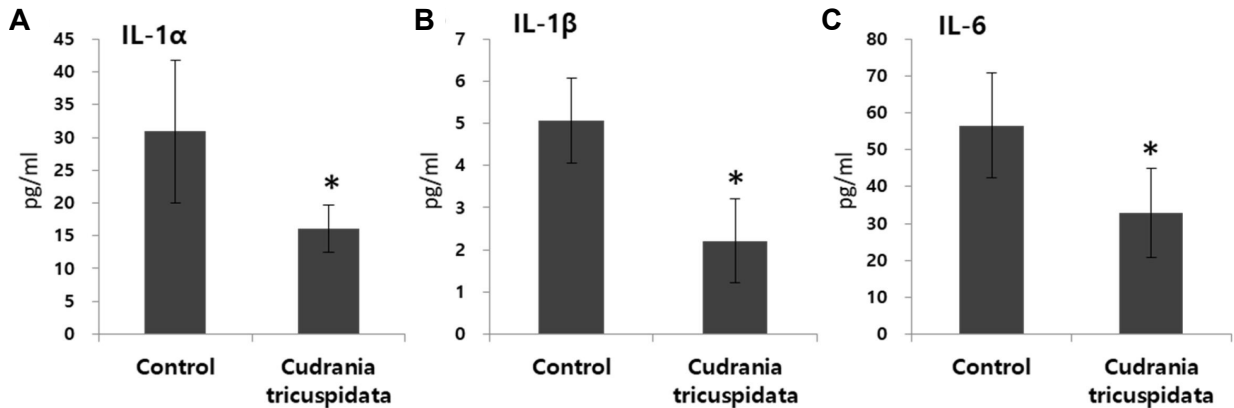


Fig. 4. Effect of *Cudrania tricuspidata* extract on levels of pro-inflammatory cytokines. IL-1a (A), IL-1b (B) and IL-6 (C) were evaluated by immunoassay as described in material and methods. * $p < 0.05$ compared to the control

12.86±1.16 IU/L로 나타나 약 16% 감소된 것으로 확인되었다(Fig. 3B). 간세포의 사멸 및 손상에 따라 혈중으로 배출되는 GOT와 GPT의 혈중 농도 감소는 곧 간세포 손상의 저하를 의미하고, 이는 간 기능의 개선 가능성과 연계해 볼 수 있다[14]. 이러한 이유로, 본 연구에서 진행한 꾸지뽕 추출물 음용에 따른 간 기능 지표 변화는 간 기능 개선에 긍정적인 영향을 미칠 수 있을 것으로 사료된다. 이와 마찬가지로, 신장 기능 이상에 대한 생체지표인 혈중요소질소의 수준 변화를 조사한 결과 대조군과 꾸지뽕 추출물 음용군에서 각각 60.45±8.29 mg/dl, 58.79±10.18 mg/dl로 나타나 본 연구 조건에서의 꾸지뽕 추출물 음용은 신장 기능 변화에 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다(Fig. 3C).

꾸지뽕 추출물 음용에 따른 혈액 내 염증성 사이토카인 수준 변화

면역, 조혈기능, 감염병, 세포의 성장 및 발전, 조직회복에 중요한 기능을 하는 사이토카인은 항체 생성 유도, 외부 침입에 대한 인체 방어체계 제어, 면역 인자를 생성하는 역할 및 항원 분자에 대한 중성화 작용을 하는 것으로 알려져 있다[25]. 기능적으로 염증성 사이토카인에는 IL-1, IL-6, TNF-α가 있고 항염증성 사이토카인에는 IL-10, TGF-β등이 관여한다고 알려져 있다[25]. 본 연구에 활용한 연구모델 자체가 질환 유도 등과 같은 염증을 활성화시킨 모델이 아닌 까닭에 사이토카인 수준이 높아지는 것을 기대하기는 어려우나 사이토카인 변화는 면역 증진에 대한 가능성을 확인할 수 있는 지표가 되므로 꾸지뽕 추출물 음용에 따른 혈액 내 사이토카인 변화를 확인하였다.

먼저 염증성 사이토카인인 IL-1α, IL-1β, IL-6의 변화를 확인한 결과 IL-1α의 수준은 대조군과 꾸지뽕 추출물 음용군에서 각각 30.94±10.89 pg/ml, 16.13±3.58 pg/ml로 혈액 내 사이토카인의 분비가 유의적으로 감소함을 확인하였다. 또한 IL-1β는 대조군과 꾸지뽕 추출물 음용군에서

각각 5.07±1.97 pg/ml, 2.21±1.22 pg/ml로 약 43% 수준으로 유의적인 감소를 나타내었고 IL-6는 대조군과 꾸지뽕 추출물 음용군에서 각각 56.6±14.3 pg/ml, 32.9±12.2 pg/ml로 약 58% 수준으로 유의적인 감소를 나타냄을 확인하였다. 꾸지뽕의 항염증 메커니즘은 이전의 연구들에 의해 일부 보고된 바 있다. LPS를 처리한 마우스 대식세포에 꾸지뽕 추출물을 처리하였더니 NO 생성 및 iNOS 발현이 억제되었고[20] 지방세포에서 꾸지뽕 열매 발효식초가 염증성 사이토카인 생성을 저해함으로써 인한 항염증 효과를 보고하였다[21]. 따라서 본 연구에서 확인된 염증성 사이토카인의 수준 감소는 기저 염증 수준이 낮아지는 것으로 예상되며 체내 세포사멸이나 염증 작용의 개선에 의한 것으로 사료된다.

이상과 같이 본 연구 결과들을 종합하였을 때, 꾸지뽕 추출물 음용은 적혈구와 백혈구를 포함한 혈구 세포들의 전반적인 증가와 중성지방 감소와 연계한 혈중 지질 수준 개선, 혈청 단백질 수준 증가를 통한 가용 단백질 증가 등과 함께 간 기능 및 면역개선 효과에 대한 가능성을 확인할 수 있었다. 따라서 향후 꾸지뽕을 활용한 기능성 식품소재 뿐 아니라 유효 지표성분 효과 검증 등을 통해 특화된 기능성 제품 개발이 가능할 것으로 사료되며 본 연구 결과가 해당 소재 관련 제품 개발을 위한 기초자료가 될 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 2021년도 경성대학교 신입교원특별연구비 지원을 받아 수행된 연구결과입니다.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

1. An, R. B., Sohn, D. H. and Kim, Y. C. 2006. Hepatoprotective compounds of the roots of *Cudrania tricuspidata* on tacrine-induced cytotoxicity in HepG2 cells. *Biol. Pharm. Bull.* **29**, 838-840.
2. Barbieri, M., Ragno, E., Benvenuti, E., Zito, G. A., Corsi, A., Ferrucci, L. and Paolisso, G. 2001. New aspects of the insulin resistance syndrome: impact on haematological parameters. *Diabetologia* **44**, 1232-1237.
3. Ginsberg, H. N., Le, N. A. and Gibson, J. C. 1985. Regulation of the production and catabolism of plasma low density lipoproteins in hypertriglyceridemic subjects. Effect of weight loss. *J. Clin. Invest.* **75**, 614-623.
4. Grundy, S. M., Mok, H. Y. I., Zech, L., Steinberg, D. and Berman, M. 1979. Transport of very low density lipoprotein triglycerides in varying degrees of obesity and hypertriglyceridemia. *J. Clin. Invest.* **63**, 1274-1283.
5. Han, X. H., Hong, S. S., Jin, Q., Li, D., Kim, H. K., Lee, J., Kwon, S. H., Lee, D., Lee, C. K., Lee, M. K. and Hwang, B. Y. 2009. Prenylated and benzylated flavonoids from the fruits of *Cudrania tricuspidata*. *J. Nat. Prod.* **72**, 164-167.
6. Hoffman, R., Benz, E. L. Jr., Shattil, S. J., Furie, B., Silberstein, L. E., McGlave, P. and Heslop, H. 2018. Hematology basic principles and practice. 7th ed., Elsevier, PA, USA.
7. Jeong, G. S., Lee, D. S. and Kim, Y. C. 2009. Cudraticus-xanthone A from *Cudrania tricuspidata* suppresses pro-inflammatory mediators through expression of anti-inflammatory heme oxygenase-1 in RAW264.7 macrophage. *Int. Immunopharmacol.* **9**, 241-246.
8. Jung, G. T., Ju, I. O., Choi, S. R., Yoo, D. H. and Noh, J. J. 2013. Food nutritional characteristics of fruit of *Cudrania tricuspidata* in its various maturarion stages. *Kor. J. Food Preserv.* **20**, 330-335.
9. Kim, S. H., Kim, N. J., Choi, J. S. and Park, J. C. 1993. Determination of flavonoid by HPLC and biological activities from the leaves of *Cudrania tricuspidata* Bureau. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **22**, 68-72.
10. Kim, Y. E., Cho, E. J. and Byun, E. H. 2018. Antioxidant and neuroprotective effects of crude polysaccharide fractions from *Cudrania tricuspidata* fruits. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **50**, 543-548.
11. Krishnegowda, M. and Rajashekaraiyah, V. 2015. Platelet disorders: an overview. *Blood Coagul. Fibrinolysis* **26**, 479-491
12. Kuang, L., Wnag, L., Wnag, Q., Zhao, Q., Du, B., Li, D., Luo, J., Liu, M., Hop, A. and Qian, M. 2011. Cudraticus-zanthone G inhibits human colorectal carcinoma cell invasion by MMP-2 down-regulation through suppressing activator protein-1 activity. *Biochem. Pharmacol.* **81**, 1192-1200.
13. Kwon, J., Hiep, N. T., Kim, D. W., Hwang, B. Y., Lee, H. J., Mar, W. and Lee, D. 2014. Neuroprotective xanthones from the root bark of *Cudrania tricuspidata*. *J. Nat. Prod.* **77**, 1893-1901.
14. Liber, C. S. 1994. Alcohol and the liver: 1994 update. *Gastroenterology* **106**, 1085-1105.
15. Lyu, J. H., Noh, J. Y., Kim, S. R., Lee, G. S., Lee, D. H., Kim, K. H. and Kim, H. W. 2019. Anti-oxidative and whitening effects of 4'-O-methylalpinumisoflavone isolated from fruit of *Maclura tricuspidata* carriere. *J. Physiol. Pathol. Kor. Med.* **33**, 349-355.
16. Malmendier, C., Lontie, J., Delcroix, C., Dubois, D., Magot, T. and De Roy, L. 1989. Apolipoproteins C-II and C-III metabolism in hypertryglyceridemic patients: effect of a drastic triglyceride reduction by combined diet restriction and fenofibrate administration. *Atherosclerosis* **77**, 139-149.
17. McGarry, J. D. and Foster, D. 1980. Regulation of hepatic fatty acids oxidation and ketone body production. *Annu. Rev. Biochem.* **49**, 395-420.
18. Park, J. C., Young, H. S. and Choi, J. S. 1992. Constituents of *Cudrania tricuspidata* in Korea. *Yakhak Hoeji* **36**, 40-45.
19. Park, J. H., Lee, K. W., Sung, K. S., Kim, S. S., Cho, K. D., Lee, B. H. and Han, C. K. 2012. Effect of diets with Mulberry leaf and *Cudrania tricuspidata* leaf powder supplements on blood glucose-related biomarkers in Streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **41**, 766-773.
20. Park, S. E., Kim, M. K. and Kim, S. 2021. Anti-inflammatory effects of *Cudrania tricuspidata* twig sawdust fermented with *Ganoderma Lucidum* mycelium. *J. Mushroom* **19**, 225-233.
21. Park, S. E., Yeo, S. H. and Kim, S. 2020. The effect of *Cudrania tricuspidata* fruit vinegar on LPS-induced inflammation in 3T3-L1 adipocytes. *Kor. J. Food Preserv.* **27**, 809-816.
22. Park, S. K. 2010. An interpretation on abnormal finding of CBC. *Kor. J. Med.* **78**, 531-539.
23. Reichling, J. J. and Kaplan, M. M. 1988. Clinical use of serum enzymes in liver disease. *Dig. Dis. Sci.* **33**, 1601-1614.
24. Yoo, H., Ku, S. K., Lee, W., Kwak, S., Baek, Y. D., Min, B. W., Jeong, G. S. and Bae, J. S. 2014. Antiplatelet, anticoagulant, and profibrinolytic activities of cudraticus-xanthone A. *Arch. Pharm. Res.* **37**, 1069-1078.
25. Zhang, J. M. and An, J. 2007. Cytokines, inflammation and PAin. *Int. Anesthesiol. Clin.* **45**, 27-37.
26. Zheng, Z. P., Tan, H. Y., Chen, J. and Wang, M. F. 2013. Characterization of tyrosinase inhibitors in the twings of *Cudrania tricuspidata* and their structure activity relationship study. *Fitoterapia* **84**, 242-247.

초록 : 꾸지뽕 추출물의 생리활성 연구

황미선¹ · 최지연² · 김강민¹ · 송일대^{1*}

(¹경성대학교 제약공학과, ²동남의화학연구원)

꾸지뽕 추출물을 이용하여 건강기능식품 개발을 위한 기초자료로 활용하고자 성장기 정상 설치류에서 2주간 음용 후 혈액 구성 세포, 혈중 지질, 항염 활성 등 생체변화를 측정하였고 천연식물 소재의 위해성 여부 확인을 위해 혈액을 통해 확인 가능한 간, 신장 기능에 대한 생체 지표 변화를 측정하였다. 10주령 SD rat에 꾸지뽕 추출물 30 mg을 매일 2주간 음용시킨 결과 체중 변화, 신장 기능 등의 변화는 없어 비임상 독성은 나타나지 않았다. 적혈구와 백혈구 수준은 유의하게 증가하였고 혈소판 수치는 증가 경향을 보여 꾸지뽕 추출물 음용이 혈액 세포의 전반적인 증가를 일으키는 것으로 보인다. 혈중 지질의 경우 꾸지뽕 추출물 음용군이 대조군에 비해 약 27% 중성지질 감소와 함께 약 21% 고밀도지단백-콜레스테롤 증가를 보임으로 혈중 지질 수준 개선 효과를 나타내는 것을 확인하였다. 또한, 간 손상에 대한 생체지표를 확인한 결과 GOT와 GPT 모두 감소하는 경향을 보여 간 기능 개선에 대한 가능성을 확인하였고 혈액 내 사이토카인 변화를 측정하여 꾸지뽕 추출물 음용에 따른 염증성 사이토카인 수준 감소를 확인하였다. 이상의 결과를 종합하여 본 연구 조건에서 꾸지뽕 추출물 음용은 혈구 세포의 생성 촉진과 함께 혈중 지질 개선, 간 기능 개선, 염증 개선 등 다양한 효과를 가지고 있는 것으로 보여지며 향후 관련 기능성 식품 또는 의약품 소재 제품 개발을 통한 활용가치가 클 것으로 기대된다.