

미숙과 복분자 열매 추출물이 고콜레스테롤 식이를 섭취시킨 C57BL/6 Mice의 지질대사 개선 효과

정명아 · 조숙현 · 이선영 · 김지혜 · 오교녀 · 김영숙 · 유구상 · 이동욱 · 김선오[†]

전남생물산업진흥원 천연자원연구원

Effects of Unripe *Rubus coreanus* Miquel Extract on Improvement of Lipid Metabolism in C57BL/6 Mice Fed a High-Cholesterol Diet

Myung-A Jung, Sook-Hyun Cho, Sun young Lee, Ji Hye Kim, Kyonyeo Oh,
Young-Suk Kim, GooSang Yoo, Dong-Wook Lee, and Sunoh Kim[†]

Jeonnam Bioindustry Foundation, Institute of Natural Resources Research (JINR), Jeonnam 529-851, Korea

ABSTRACT Hypercholesterolemia is the presence of high levels of cholesterol in the blood, and it is regarded as a risk factor for cardiovascular disease due to the effects of cholesterol. The objective of this study was to investigate the effects of unripe *Rubus coreanus* Miquel (uRC) extract on lipid metabolism in hypercholesterolemic mice fed a high cholesterol diet (HC). uRC 50 (unripe *R. coreanus* 5% ethanol extract 50 mg/kg/day), uRC 100 (unripe *R. coreanus* 5% ethanol extract 100 mg/kg/day), uRC 300 (unripe *R. coreanus* 5% ethanol extract 300 mg/kg/day), and BO (borage seed oil containing minimum of 20% γ -linolenic acid 30 mg/kg/day) were orally administered for 60 days after HC. Oral administration of uRC 50, uRC 100, uRC 300, and BO significantly reduced serum total-cholesterol, triglyceride, LDL-cholesterol, glutamic oxaloacetic transaminase, glutamic pyruvic transaminase, atherogenic index, and cardiac risk factor levels. Similarly, uRC treatment elevated serum HDL-cholesterol levels. These results suggest that unripe *R. coreanus* extract could be established as a functional food for the improvement of lipid metabolism.

Key words: unripe *Rubus coreanus*, hypercholesterolemia, high cholesterol, lipid metabolism

서 론

현대인의 생활양식의 변화와 더불어 지방이 많고 식이섬유가 적은 서양식 식습관으로 인해 고콜레스테롤혈증, 이상지질혈증, 비만, 당뇨병, 암과 같은 영양 불균형에서 오는 만성질환이 지속적으로 증가 추세에 있다.

콜레스테롤은 세포의 원형질막 및 혈중 지질단백의 필수 구성성분으로 간에서 합성 및 조절된다. 그러나 간의 대사량을 넘어선 과도한 섭취는 지방과 콜레스테롤의 축적을 야기하고 산화적 스트레스(oxidative stress)를 촉진시키는데, 이때 항산화 효소의 양과 활성이 충분하지 않아 생체 내 자유라디칼을 소거할 수 있는 항산화 방어계(antioxidative defense system)에 불균형을 가져오게 되어 심혈관계 질환을 유발하는 중요한 병인으로 작용한다고 보고되고 있다(1,2).

이러한 질환의 예방과 치료를 위한 콜레스테롤의 합성을 직접적으로 억제하는 약물 및 혈액 내 중성지방의 농도를 낮추는 피부린산 유도체 계통의 많은 약물들이 사용되고 있

으나 장기간 복용 시 지용성 비타민 결핍증, 간기능 저하 등이 동반되는 부작용이 나타나고 있다(3). 따라서 복용 시 독성이나 부작용을 낮출 수 있는 천연물에서 추출한 생리활성 물질에 대한 연구가 꾸준히 진행되고 있다.

장미과(rose family)에 속하는 복분자(*Rubus coreanus* Miquel, Korean black raspberry)는 나무딸기(*Rubus*)류 또는 산딸기(raspberry)류에 포함되고, 한방에서는 덜 익은 열매(미숙과)로 만든 약재를 복분자(覆盆子)라고 하며, 예로부터 신(腎)기능을 개선시키고 정력 감퇴, 빈뇨를 치료한다고 알려져 복분자 주, 복분자 차 등 한방식품의 재료로서 널리 이용되어 왔다. 복분자의 생리활성 물질로는 sanguin H-4, gallic acid, ellagic acid, quercetin, epicatechin, procyanidin B-4 등이 보고되었다(4). 그 외에 항균작용, 항암작용, 항산화작용, 면역증강작용, 피부노화억제작용 등이 있고, 식품은 물론 한방의약품, 화장품 등 약리, 화학적 특성으로 새로운 소재 개발에 많은 기대를 갖고 연구되고 있다(4-7). 복분자딸기의 생리활성에 대한 연구로는 polyphenol의 superoxide 소거작용과 xanthine oxidase 억제 작용(8)이 있고 염증반응을 일으키는 인자를 억제하는 항염증효과(4), 야생 산딸기의 다당체에서 항암작용과 면역억제작용이 나타나고 있음이 조사되었으며(6), 항바이러스효

Received 26 December 2013; Accepted 22 April 2014

[†]Corresponding author.

E-mail: sunoh@korea.ac.kr, Phone: +82-61-860-2610

과 및 항암효과(7) 등이 보고되었다.

이와 같이 복분자의 생리활성에 관한 연구 결과에서 그 기능성 성분의 우수성이 입증되었음에도 불구하고 지질대사와 관련된 고콜레스테롤 및 고지혈증에 대한 연구는 아직까지 미비하다. 본 연구에 앞서 보고한 본 연구진들의 연구 결과에 따르면, 복분자 추출물이 피로에 의한 산화적 스트레스에 대해 높은 항산화 활성을 갖고 있으며 이로 인해 피로 개선 효과가 우수함을 증명하였다(9). 따라서 본 연구에서는 지질대사 이상과 밀접한 관계가 있는 산화적 스트레스에 대한 항산화 활성이 우수한 미숙과 복분자 추출물(unripe *Rubus coreanus* Miquel; uRC)의 지질대사 개선 효과를 입증하고자 고콜레스테롤 식이로 고콜레스테롤혈증을 유발한 쥐 모델에게 미숙과 복분자 5% 주정 추출물을 경구 투여한 후 혈액 및 간 조직을 이용하여 지질대사 개선 효과를 검토하고자 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 시료추출

실험에 사용한 국내산 복분자(*Rubus coreanus* Miquel)는 전라북도 고창군에서 2013년 5~6월경 열매가 익기 직전 채취하여 건조시킨 것을 구입하여 사용하였다(분류학적 복분자 증명은 한국인스팜(주)의 백흥영 약학박사에 의해 증명하였다). 복분자 주산지를 이루고 있는 고창지역은 겨울철 일교차가 크지 않고, 복분자는 공기가 잘 통하는 사양토에서 잘 자란다. 양성대조군인 보라지 종자유(Borage seed oil)는 고시형 건강기능식품(콜레스테롤 개선기능) 원료로(주)에이아이코리아에프에스(Seoul, Korea)에서 구입하였다. 시료추출은 미숙과 복분자 100 g에 20배수인 2 L의 5% 발효주정(대한주정판매(주), Seoul, Korea)을 가하여 전자동무압력추출기(KS220-25L, Kyungseo Machine, Seoul, Korea)로 100°C에서 4시간 동안 1회 추출하여 여과하였다. 대형회전진공농축기(Büchi rotavapor R-220, Gschwader strasse, Flawil, Switzerland)로 55°C, 50 mbar 조건에서 감압농축 하고, 각 농축물은 동결건조 하여 분말화하였다. 제조된 분말은 4°C에서 냉장보관 하여 실험 시 사용하였다.

실험동물 사육 및 식이

실험동물은 C57BL/6 mice 4주령을 새론바이오(주)(경기도, 한국)에서 구입하여 사용하였다. 물과 식이는 자유롭게 섭취시키면서 공급하였고 동물실험실의 사육조건은 온도 23±1°C, 습도 45±5%, 명암은 12시간 주기로 자동 조명 조절되었다. 본 동물실험은 실험동물윤리위원회(천연자원연구원)의 승인(승인번호: 12~16)을 받아 수행하였다. 1주일간 적응시킨 뒤 실험동물은 정상군(normal, N군)을 제외한 나머지 군은 고콜레스테롤 식이군(high cholesterol diet, HC군)으로 고콜레스테롤 식이를 8주간 급여하여 고콜

Table 1. Composition of experimental diet (unit: g)

Ingredients	AIN-93G	Match Paigen's Atherogenic Rodent Diet
Casein, 30 mesh	200	75
L-Cystine	3	
Soy protein	0	130
DL-Methionine	0	2
Corn starch	397	275
Maltodextrin 10	132	150
Sucrose	100	30
Cellulose, BW200	50	90
Soy bean oil	70	50
t-Butylhydroquinone	0.014	
Cocoa butter	0	75
Coconut oil, 76	0	35
Mineral mix S10001	35	35
Calcium carbonate	0	5.5
Sodium chloride	0	8
Potassium citrate	0	10
Vitamin mix V10001	10	10
Choline bitartrate	2.5	2
Cholesterol, USP	0	12.5
Sodium cholic acid	0	5
FD&C red dye #40	0	0.1
Total	1,000	1,000.1

레스테롤혈증 모델을 제작하였다(10). 정상 식이는 Research Diets사(AIN-93G, D10012G Research diets, New Brunswick, NJ, USA), 고콜레스테롤 식이는 Research Diets사(Purified Diet to Match Paigen's Atherogenic Rodent Diet, D12336 Research Diets)에서 구입하였고, 그 조성은 Table 1과 같다. 실험군은 정상군(N군), 고콜레스테롤 식이 급여군(HC군), 고콜레스테롤 식이와 미숙과 복분자 5% 주정 추출물 50 mg/kg/day 경구 투여군(uRC50), 고콜레스테롤 식이와 미숙과 복분자 5% 주정 추출물 100 mg/kg/day 경구 투여군(uRC100), 고콜레스테롤 식이와 미숙과 복분자 5% 주정 추출물출출물 300 mg/kg/day 경구 투여군(uRC300), 양성대조군인 고콜레스테롤 식이+보라지 종자유 경구 투여군(BO)으로 총 6군으로 나누어 실시하였다(Table 2). 이와 같이 고콜레스테롤혈증 모델에게 고콜레스테롤 식이와 함께 미숙과 복분자 추출물을 8주간 매일 같은 시간에 경구 투여하였다.

체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

식이섭취량과 체중은 매주 1회 측정하였다. 최종 체중에서 실험개시 전 체중을 감하여 체중증가량을 측정하였고, 사육기간 중의 체중증가량을 같은 기간의 식이섭취량으로 나누어 각 실험군들의 식이효율(food efficiency ratio, FER)을 계산하였다.

혈액의 채취 및 장기 적출

실험동물은 12시간 절식시킨 후 안와정맥총을 통해 채혈

Table 2. Experimental group design

Groups	Diet composition
N	Normal diet ¹⁾ +d.w
HC	High cholesterol diet ²⁾ +d.w
uRC 50	High cholesterol diet+uRC 50 ³⁾
uRC 100	High cholesterol diet+uRC 100 ⁴⁾
uRC 300	High cholesterol diet+uRC 300 ⁵⁾
BO	High cholesterol diet+Borage oil ⁶⁾

¹⁾AIN-93G diet.

²⁾HC: Match Paigen's Atherogenic Rodent Diet (cholesterol 1.25%).

³⁾uRC 50: unripe *Rubus coreanus* 5% ethanol extract 50 mg/kg/day.

⁴⁾uRC 100: unripe *Rubus coreanus* 5% ethanol extract 100 mg/kg/day.

⁵⁾uRC 300: unripe *Rubus coreanus* 5% ethanol extract 300 mg/kg/day.

⁶⁾BO: Borage seed oil containing minimum of 20% γ -linolenic acid 30 mg/kg/day.

하여 실온에서 1시간 방치하였다. 4,000 rpm에서 20분간 원심분리 하여 혈청을 얻은 후 분석 전까지 -80°C 에서 보관하였으며 채혈 직후 개복하여 간, 신장, 비장을 적출하여 0.9% NaCl 용액으로 혈액 및 기타 물질을 제거하고 수분을 제거한 후 각 장기의 중량을 측정하였다.

혈중 바이오마커의 분석

혈청의 중성지방(triglyceride, TG), 총 콜레스테롤(total-cholesterol, TC), HDL-콜레스테롤농도(high-density lipoprotein cholesterol)와 LDL-콜레스테롤농도(low-density lipoprotein cholesterol)는 Cholestech LDX 시스템(Alere Cholestech LDX[®] system, CHOLESTECH, Hayward, CA, USA)으로 측정하였다. GOT(glutamic oxaloacetic transaminase), GPT(glutamic pyruvic transaminase)는 자동혈액분석기(FUGI DRI-CHEM 4000i, FUGIFILM, Tokyo, Japan)로 측정하였다. 임상진단에서 순환계와 관련한 진단 지수인 동맥경화지수(atherogenic index, AI)는 (total cholesterol-HDL cholesterol)/HDL cholesterol 식(11)으로 계산하고, 심장위험지수(cardiac risk factor, CRF)는 total cholesterol/HDL cholesterol 공식(11)에 의하여 산출하였다.

통계처리

본 실험에서 얻어진 결과는 평균±표준오차로 표기하였고, 통계적 유의성 검정은 Student's t-test 분석법을 한 후 P 값이 0.05 미만($P<0.05$)인 경우를 통계학적으로 유의하다고 보았다.

결과 및 고찰

체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

In vivo test를 실시하기 전에 다양한 조건의 미숙과 복분

Table 3. Body weight gain, food intake and feed efficiency ratio (FER) in hypercholesterolemic mice fed high cholesterol diets for 60 days

Groups	Body weight gain (g/day)	Food intake (g/day)	FER ¹⁾
N	0.11±0.08	3.08±0.02	0.04±0.02
HC	0.13±0.03	2.92±0.06	0.05±0.01
uRC 50	0.13±0.01	3.18±0.03	0.04±0.00
uRC 100	0.10±0.20	2.70±0.03*	0.04±0.07
uRC 300	0.08±0.04	2.85±0.05	0.03±0.02
BO	0.11±0.09	2.58±0.02***	0.04±0.04

¹⁾FER: feed efficiency ratio (body weight gain/ food intake). Values represent the mean±SE (n=5).

* $P<0.05$ and *** $P<0.001$ compared with the HC group.

자 추출물들(열수, 5% 주정, 30% 주정, 50% 주정, 70% 주정)을 이용하여 3T3-L1 세포주에서 지방세포 분화억제효능을 스크리닝 한 결과 5% 주정 추출조건의 미숙과 복분자 추출물이 가장 우수한 활성을 보였다(data not shown). 따라서 본 연구에서는 고콜레스테롤혈증을 유발시킨 C57BL/6 mice에 미숙과 복분자 5% 주정 추출물을 8주간 경구 투여 후 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율을 측정하였고 그 결과는 Table 3과 같다. 각 투여군 간의 체중증가량을 비교하였을 때 N군과 HC군 간의 체중증가량은 유의적 차이가 없었으며, 농도를 달리한 uRC 투여군에서도 체중증가량은 유의적 차이가 없었다. 이는 고콜레스테롤 식이와 정상 식이 급여가 체중증가량에 유의차가 없었던 기존의 비슷한 여러 연구 결과와 동일하였다(12,13). 식이섭취량은 HC군(2.92±0.06 g)에 비하여 uRC 100군(2.70±0.03 g), BO군(2.58±0.02 g)에서 유의적으로 감소되었다($P<0.05$, $P<0.001$). 식이효율은 각 군 간에 유의차는 없었다. 따라서 본 연구에서는 고콜레스테롤 식이를 통해 체중증가가 유의하게 증가되지 못한 상태에서 미숙과 복분자 추출물을 처리하였기에 미숙과 복분자 추출물의 정확한 체중 감소효과를 검증할 수 없었고, 미숙과 복분자 추출물의 급여로 체중이 다소 감소되었으나 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

간, 신장, 비장의 무게 변화

고콜레스테롤혈증을 유발시킨 C57BL/6 mice에 미숙과

Table 4. Effect of *Rubus coreanus* extract on organ weight in hypercholesterolemic mice fed high cholesterol diets

Groups	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)
N	1.08±0.03	0.32±0.01	0.13±0.01
HC	1.93±0.07###	0.33±0.01	0.21±0.02#
uRC 50	1.96±0.06	0.32±0.01	0.14±0.01
uRC 100	1.53±0.14*	0.30±0.02	0.15±0.02
uRC 300	1.79±0.05	0.33±0.02	0.16±0.01
BO	1.67±0.08	0.30±0.01	0.12±0.01*

Values represent the mean±SE (n=5).

$P<0.05$ and ### $P<0.001$ compared with the N group.

* $P<0.05$ compared with the HC group.

복분자 5% 주정 추출물을 투여 후 간, 신장, 비장의 무게를 측정된 결과를 Table 4에 나타내었다. 간 조직의 무게는 HC군(1.93±0.07 g)이 N군(1.08±0.03 g)에 비하여 유의하게 증가하였다($P<0.001$). 이는 콜레스테롤 식이를 섭취한 경우 콜레스테롤 등이 간장 내에 축적되어 간의 무게가 증가된 것(14-18)으로 사료되며, 고콜레스테롤 식이를 장기간 섭취하게 된 경우 간 비대증을 유발한다는 연구 보고(14,19)와 유사하였다. 그러나 uRC 100군(1.53±0.14 g), uRC 300군(1.79±0.05 g), BO군(1.67±0.08 g)에서는 HC군에 비하여 간의 무게가 감소하는 경향을 보였으며 uRC 100군에서 $P<0.05$ 수준에서의 유의적인 감소를 나타내었다. 신장의 무게는 HC군과 N군 간의 차이가 없었으며 uRC 투여에 의해서도 변화는 관찰할 수 없었다. 이 결과는 장기간 uRC를 투여해도 신장에 독성이 없음을 증명하고 있다. 비장의 무게는 HC군(0.21±0.02 g)이 N군(0.13±0.01 g)에 비하여 유의적으로 증가하였으며($P<0.05$), 이는 고콜레스테롤 식이를 섭취하여 비장이 비대한 연구 보고(20)와 유사하였다. uRC 50군(0.14±0.01 g), uRC 100군(0.15±0.02 g), uRC 300군(0.16±0.01 g)에서는 비장의 무게가 다소 감소한 경향을 보였으나 유의적 차이는 관찰할 수 없었으며, BO 투여군(0.12±0.01 g)에서는 HC군에 비하여 유의적으로 감소되었다($P<0.05$). 그러나 본 연구에서와 같이 단순한 장기의 무게만으로는 그 기능의 이상 유무를 판단하기 어려움이 있으므로 좀 더 다양한 바이오마커를 이용하여 체계적인 기전 규명이 필요할 것으로 사료된다.

혈청의 지질 함량

고콜레스테롤혈증을 유발시킨 C57BL/6 mice에 미숙과 복분자 5% 주정 추출물의 투여에 따른 혈청 중 총 콜레스테롤, 중성지방, HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤의 함량은 Table 5와 같다. Lipoprotein의 구성성분에 따라 chylomicron, VLDL, LDL, HDL로 구분되며 농도는 각각 다르게 존재한다. LDL-콜레스테롤 함량이 높으면 관상동맥벽에 콜레스테롤이 축적되어 동맥경화를 일으킬 수 있고 반면 HDL-콜레스테롤은 말초조직 및 혈관벽에 축적된 콜레스테롤을 재분산함으로써 혈중 콜레스테롤의 양을 저하시켜 동맥경화 개선 및 예방 효과를 가진다(21). 총 콜레스테롤 함

량은 N군(119.27±4.07 mg/dL)에 비해 HC군(281.63±9.09 mg/dL)에서 유의하게 증가하여($P<0.001$) 고콜레스테롤 식이를 8주간 투여한 C57BL/6 mice에 고콜레스테롤혈증이 성공적으로 유도된 것을 확인하였다. 이러한 고콜레스테롤혈증을 유발시킨 C57BL/6 mice에 농도를 달리한 미숙과 복분자 5% 주정 추출물을 처리한 결과 농도 의존적으로 총 콜레스테롤 함량이 감소하는 경향을 보였고, 특히 uRC 300군(219.57±17.72 mg/dL), BO군(226.71±21.65 mg/dL)에서 총 콜레스테롤 함량이 감소($P<0.05$)하는 결과를 관찰하였다. 이는 Lee 등(22)이 HepG2 cell을 이용하여 세포수준에서 수행한 연구 결과, 성숙 복분자 추출물보다 미성숙 복분자 추출물에서 더 유의하게 콜레스테롤 합성 억제 효과가 있음을 확인하였다. 하지만 고콜레스테롤혈증을 유발시킨 동물모델에서 콜레스테롤 저하효과 실험은 실시하지 못하였다. 따라서 본 연구팀에서는 미성숙 복분자 추출물에서 가장 좋은 활성을 갖는 추출조건인 5% 주정 추출물이 세포수준에서 지방세포 분화억제효능이 가장 우수하다는 결과와 함께 미성숙 복분자 5% 주정 추출물(50, 100, 300 mg/kg/day)이 콜레스테롤 식이 유발 고콜레스테롤혈증 동물실험을 통해서 농도 의존적으로 콜레스테롤 합성 억제 효과가 있음을 확인하였다. 특히 uRC 300군에서 양성대조군인 BO보다 더 높은 콜레스테롤 억제효과를 확인하였다. 또한 혈청의 중성지방 농도는 미숙과 복분자 5% 주정 추출물을 처리한 군이 HC군에 비해 유의적으로 낮게 나타났다. 또한 혈청 중성지방 함량은 N군(100.22±6.27 mg/dL)과 HC군(91.19±4.27 mg/dL)에서 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 고콜레스테롤 식이와 정상 식이 급여가 중성지방 함량에 유의한 차이를 보이지 않은 연구 보고(23)와 유사하였다. uRC 50군(67.20±2.65 mg/dL), uRC 100군(68.27±4.80 mg/dL), uRC 300군(65.57±6.46 mg/dL), BO군(59.47±4.66 mg/dL)에서는 HC군에 비하여 유의하게 감소하였다($P<0.05$, $P<0.01$). HDL-cholesterol은 HC군이 53.90±5.48 mg/dL로 N군의 108.07±0.79 mg/dL에 비해 유의한 감소를 나타냈다($P<0.001$). HC군에 비해 uRC 50군(64.86±10.38 mg/dL), uRC 100군(76.00±10.09 mg/dL), uRC 300군(78.64±11.10 mg/dL), BO군(71.03±4.8 mg/dL)은 HDL-cholesterol이 증가한 경향을 보였으며, BO군

Table 5. Effects of *Rubus coreanus* on serum lipid parameters in hypercholesterolemic mice fed high cholesterol diets (unit: mg/dL)

Groups	Total-cholesterol	Triglyceride	HDL-cholesterol	LDL-cholesterol
N	119.27±4.07	100.22±6.27	108.07±0.79	14.12±5.85
HC	281.63±9.09 ^{###}	91.19±4.27	53.90±5.48 ^{###}	176.15±9.20 ^{###}
uRC 50	266.22±26.94	67.20±2.65 ^{**}	64.86±10.38	164.26±19.06
uRC 100	233.04±23.96	68.27±4.80 [*]	76.00±10.09	154.77±14.85
uRC 300	219.57±17.72 [*]	65.57±6.46 [*]	78.64±11.10	152.84±10.93
BO	226.71±21.65 [*]	59.47±4.66 ^{**}	71.03±4.8 [*]	159.21±22.57

Values represent the mean±SE (n=5).
^{###} $P<0.001$ compared with the N group.
^{*} $P<0.05$ and ^{**} $P<0.01$ compared with the HC group.

Table 6. Effect of *Rubus coreanus* on glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) and glutamic pyruvic transaminase (GPT) in hypercholesterolemic mice fed high cholesterol diets

Groups	(unit: U/L)	
	GOT	GPT
N	116.20±3.83	21.80±1.16
HC	201.00±8.22 ^{###}	184.20±14.07 ^{###}
uRC 50	169.00±19.04	156.00±33.03
uRC 100	128.20±13.57 ^{**}	104.40±22.29 [*]
uRC 300	120.40±8.29 ^{***}	98.20±10.57 ^{**}
BO	200.20±11.13	166.40±25.15

Values represent the mean±SE (n=5).

^{###}P<0.001 compared with the N group.

^{*}P<0.05, ^{**}P<0.01, and ^{***}P<0.001 compared with the HC group.

에서 $P<0.05$ 수준에서 유의적인 증가를 나타내었다. LDL-cholesterol은 NC군(14.12±5.85 mg/dL)에 비해 HC군(176.15±9.20 mg/dL)에서 유의하게 증가하였다($P<0.001$). 이에 비교하여 uRC 50군(164.26±19.06 mg/dL), uRC 100군(154.77±14.85 mg/dL), uRC 300군(152.84±10.93 mg/dL), BO군(159.21±22.57 mg/dL)에서 감소하는 경향을 보였으나 유의차는 나타나지 않았다. 이상의 결과로 보아 미숙과 복분자 5% 주정 추출물이 비록 고농도 투여군에서 혈중 총 콜레스테롤을 유의적으로 개선시키는 경향을 보였으나, 혈청 중성지방이 미숙과 복분자 5% 주정 추출물을 투여한 군에서 전반적으로 개선되는 효과가 나타나 미숙과 복분자에 의한 지질 개선 효과를 예측할 수 있었다.

혈청의 GOT 및 GPT 활성

혈청의 GOT 및 GPT는 간세포에 존재하는 효소로 간세포의 변성과 괴사를 반영하는 지표로 이용되며 간 조직의 장애가 생길 경우 혈중으로 다량 유출되며 수치가 높을수록 간세포의 손상 정도가 크다고 알려져 있으며(24), 본 연구 결과에서도 Table 6에서와 같이 GOT 활성은 HC군(201.00±8.22 U/L)이 N군(116.20±3.83 U/L)에 비해 유의하게 증가하였음을 관찰할 수 있었다($P<0.001$). uRC 100군(128.20±13.57 U/L), uRC 300군(120.40±8.29 U/L)에서 HC군에 비하여 유의한 감소를 나타냈다($P<0.05$, $P<0.01$). GPT 활성 또한 HC군(184.20±14.07 U/L)이 N군(21.80±1.16 U/L)에 비해서 유의하게 증가하였으며($P<0.001$), HC군에 비하여 uRC 100군 104.40±22.29 U/L, uRC 300군 98.20±10.57 U/L로 유의하게 감소하였다($P<0.05$, $P<0.01$). 이는 미숙과 복분자 5% 주정 추출물이 혈청 및 간의 지질대사를 개선시키고, 고지혈증과 같은 질환에 의한 간의 손상을 방지하며 간 기능을 유지하는데 효과가 있을 것으로 사료된다.

혈청의 동맥경화지수 및 심혈관위험지수

혈청의 동맥경화지수 및 심혈관위험지수는 심혈관계 질환의 위험을 나타내는 지수로서 고콜레스테롤혈증을 유발시킨 C57BL/6 mice에 미숙과 복분자 5% 주정 추출물을

Table 7. Effects of *Rubus coreanus* on atherogenic index (AI) and cardiac risk factor (CRF) in hypercholesterolemic mice fed high cholesterol diets

Groups	AI	CRF
N	0.30±0.02	1.30±0.02
HC	3.32±0.12 ^{###}	4.32±0.12 ^{###}
uRC 50	3.16±0.25	4.16±0.25
uRC 100	2.26±0.15 ^{**}	3.26±0.15 ^{**}
uRC 300	2.43±0.15 ^{**}	3.43±0.08 ^{**}
BO	2.91±0.22	3.84±0.22

Values represent the mean±SE (n=5).

^{###}P<0.001 compared with the N group.

^{**}P<0.01 compared with the HC group.

투여한 결과를 Table 7에 나타내었다. 동맥경화 지수는 임상에서 3.0 이상의 값을 나타냈을 때 동맥경화의 위험신호로 사용되고 있다(25). 동맥경화지수는 HC군(3.32±0.12)이 N군(0.30±0.02)에 비하여 유의하게 증가하였으며($P<0.001$), uRC 100군(2.26±0.15), uRC 300군(2.43±0.15)에서 $P<0.01$ 수준에서의 유의한 감소를 나타내었다. 심혈관위험지수는 HC군(4.32±0.12)이 N군(1.30±0.02)에 비하여 유의하게 증가하였으며($P<0.001$), uRC 100군(3.26±0.15), uRC 300군(3.43±0.08)에서 $P<0.01$ 수준에서의 유의적인 감소를 나타내었다. 본 결과에 따라 심혈관계 질환의 위험도 판정에 이용되는 동맥경화지수와 심혈관위험지수가 미숙과 복분자 추출물의 투여로 유의하게 감소하여 미숙과 복분자가 혈청의 지질대사를 개선하여 심혈관계 질환의 위험을 감소시키는데 효과가 있는 것으로 사료된다.

요 약

미숙과 복분자 5% 주정 추출물의 지질대사 개선 효과를 구명하고자 본 연구에서는 고콜레스테롤혈증 모델에게 미숙과 복분자 5% 주정 추출물 50, 100, 300 mg/kg/day의 농도(uRC 50군, uRC 100군, uRC 300군)로 60일간 경구 투여하였다. 체중증가량은 HC군과 N군 간의 차이가 없었으며 uRC 투여에 의해서도 유의차는 없었다. 식이섭취량은 HC군에 비하여 uRC 100군, BO군에서 유의적으로 감소되었다. 식이효율은 각 군 간에 유의차는 없었다. 간 조직의 무게는 HC군이 N군에 비하여 유의하게 증가하였다. uRC 100군, uRC 300군, BO군에서는 HC군에 비하여 감소하는 경향을 보였고 그중 uRC 100군에서 유의적으로 감소되었다. 신장의 무게는 거의 유사하여 복분자 추출물 투여에 의한 변화는 없었다. 비장의 무게는 HC군은 N군에 비하여 유의하게 증가하였으며 uRC 50군, uRC 100군, uRC 300군에서는 감소한 경향을 보였으며 BO 투여군에서는 HC군에 비하여 유의한 감소를 나타내었다. 총 콜레스테롤 함량은 N군에 비해 HC군에서 유의하게 증가하였고, 이러한 고콜레스테롤혈증을 유발시킨 C57BL/6 mice에 uRC 300군, BO군에서 총 콜레스테롤이 유의하게 감소하였다. HDL-cholesterol은

HC군이 N군에 비해 유의한 감소를 나타내었다. HC군에 비해 uRC 50군, uRC 100군, uRC 300군, BO군으로 증가한 경향을 보였으며 BO군에서 유의적으로 증가하였다. LDL-cholesterol은 NC군에 비해 HC군에서 유의한 증가를 나타내었다. 이에 비교하여 uRC 50군, uRC 100군, uRC 300군, BO군으로 감소하는 경향을 보였으며 유의차는 나타나지 않았다. GOT와 GPT 활성 모두 HC군이 N군에 비해서 유의하게 증가하였으며 HC군에 비하여 uRC 100군, uRC 300군에서 유의적으로 감소하였다. 혈청의 동맥경화지수와 심혈관 지수는 HC군이 N군에 비하여 유의하게 증가하였으며, uRC 100군, uRC 300군에서 유의한 감소를 나타내었다. 이상의 결과로 보아 미숙과 복분자 5% 주정 추출물은 고콜레스테롤 식이로 유발된 고콜레스테롤혈증 모델에서 지질대사 함량을 감소시킴으로써 혈중 지질대사의 개선 효과와 더불어 동맥경화의 예방과 치료에 효과적일 것으로 사료된다. 그 외에 미숙과 복분자 추출물의 어떠한 생리활성 성분이 어떻게 작용을 하는지에 대해서는 추후 더 체계적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청의 농업연구개발사업(과제번호: PJ008489)으로 수행된 연구 결과로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Lee JM, Choi SW, Cho SH, Rhee SJ. 2003. Effect of seeds extract of *Paeonia lactiflora* on antioxidative system and lipid peroxidation of liver in rats fed high-cholesterol diet. *Korean J Nutr* 36: 793-800.
2. Yokozawa T, Nakagawa T, Kitani K. 2002. Antioxidative activity of green tea polyphenol in cholesterol-fed rats. *J Agric Food Chem* 50: 3549-3552.
3. McKenney JM. 2001. Lipid management: tools for getting to the goal. *Am J Manag Care* 7: S299-306.
4. Yang HM, Lim SS, Lee YS, Shin HK, Oh YS, Kim JK. 2007. Comparison of the anti-inflammatory effects of the extracts from *Rubus coreanus* and *Rubus occidentalis*. *Korean J Food Sci Technol* 39: 342-347.
5. Lee JW, Do JH. 2000. Determination of total phenolic compounds from the fruit of *Rubus coreanus* and antioxidative activity. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 943-947.
6. Kwon KH, Cha WS, Kim DC, Shin HJ. 2006. A research and application of active ingredients in Bokbunja (*Rubus coreanus* Miquel). *Korean J Biotechnol Bioeng* 21: 405-409.
7. Kim TG, Park MS, Han HM, Kang SY, Jung KK, Pheu HM, Kim SH. 1999. Inhibitory effects of *Terminalia chebula*, *Sanguisorba officinalis*, *Rubus coreanus* and *Rheum palmatum* on hepatitis B virus replication in HepG2 2.2.15 cells. *Yakhak Hoeji* 43: 458-463.
8. Costantino L, Albasini A, Rastelli G, Benvenuti S. 1992. Activity of polyphenolic crude extracts as scavengers of superoxide radicals and inhibitors of xanthine oxidase. *Planta Med* 58: 342-344.
9. Lee S, You Y, Yoon HG, Kim K, Park J, Kim S, Ho JN, Lee J, Shim S, Jun W. 2011. Fatigue-alleviating effect on mice of an ethanolic extract from *Rubus coreanus*. *Biosci Biotechnol Biochem* 75: 349-351.
10. Son IS, Kim JH, Sohn HY, Son KH, Kim JS, Kwon CS. 2007. Antioxidative and hypolipidemic effects of diosgenin, a steroidal saponin of yam (*Dioscorea* spp.), on high-cholesterol fed rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 71: 3063-3071.
11. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18: 499-502.
12. Park SH, Jang MJ, Hong JH, Rhee SJ, Choi KH, Park MR. 2007. Effects of mulberry leaf extract feeding on lipid status of rats fed high cholesterol diets. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 43-50.
13. Kim YE, Oh SW, Kwon EK, Han DS, Kim IH, Lee CH. 2004. Effects of green tea, buckwheat and grape leaves extracts on lipid metabolism, antioxidative capacity, and antithrombotic activity in rats fed high cholesterol diets. *Korean J Food Sci Technol* 36: 979-985.
14. 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.
15. Wursch P. 1979. Influence of tannin-rich carob pod fiber on the cholesterol metabolism in the rat. *J Nutr* 109: 685-692.
16. Kim SK, Rhee SJ, Rhee IK, Joo GJ, Ha HP. 1998. Effects of dietary xylooligosaccharide on lipid levels of serum in rats fed high cholesterol diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 945-951.
17. Koh KB, Choi MA. 2001. Effect of *Cordyceps militaris* on lipid metabolism in rats fed cholesterol diet. *Korean J Nutr* 34: 265-270.
18. Herman S, Sediaoetama AD, Karyadi D, Beynen AC. 1991. Influence of background composition of the diet on the lipemic effect of fish oil vs. corn oil in rats. *J Nutr* 121: 622-630.
19. Turley E, Armstrong NC, Wallace JM, Gilmore WS, McKelvey-Martin VJ, Allen JM, Strain JJ. 1999. Effect of cholesterol feeding on DNA damage in male and female Syrian hamsters. *Ann Nutr Metab* 43: 47-51.
20. Chan J, Sharkey FE, Kushwaha RS, VandeBerg JF, VandeBerg JL. 2012. Steatohepatitis in laboratory opossums exhibiting a high lipemic response to dietary cholesterol and fat. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 303: G12-19.
21. Tall AR. 1990. Plasma high density lipoproteins: metabolism and relationship to atherogenesis. *J Clin Invest* 86: 379-384.
22. Lee SJ, Lee MJ, Ko YJ, Choi HR, Jeong JT, Choi KM, Cha JD, Hwang SM, Jung HK, Park JH, Lee TB. 2013. Effect of extracts of unripe black raspberry and red ginseng on cholesterol synthesis. *Korean J Food Sci Technol* 45: 628-635.
23. Lee E, Choi MY. 2000. Effect of pine needle on lipid composition and TBARS in rat fed high cholesterol. *Korean J Food Sci Technol* 32: 1186-1190.
24. Koh JB, Choi MA, Kim JY, Rho MH, Kim DJ. 1999. Effects of tea fungus/kombucha beverage on serum protein levels and enzyme activity in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 1137-1143.
25. Rosenfeld L. 1989. Lipoprotein analysis: early methods in the diagnosis of atherosclerosis. *Arch Pathol Lab Med* 113: 1101-1110.