

뇌조직의 활성산소 및 그 제거효소에 미치는 뽕잎 추출물의 영향

최진호* · 김대익 · 박수현 · 김정민 · 김창목¹ · 이희삼² · 류강선²

부경대학교 식품생명공학부 생화학교실 ¹한국산업정보기술연구원 생화학실
²농촌진흥청 농업과학기술원 잠사곤충부

Effects of Mulberry (*Morus alba* L.) Leaf Extract on Oxygen Radicals and Their Scavenger Enzymes in Brain of SD Rats

Jin-Ho Choi*, Dae-Ik Kim, Soo-Hyun Park, Jung-Min Kim, Chang-Mok Kim¹,
Heui-Sam Lee² and Kang Sun Ryu²

Lab. Biochemistry, Faculty of Food Science and Biotechnology, Pukyong National University
¹Dept of Biochemistry, Korean Institute of Industry and Technology Information
²Dept. of Sericulture & Entomology, National Institute of Agricultural Science & Technology,
RDA, Suwon 441-100, Korea

Abstract

This study was designed to investigate the effects of mulberry (*Morus alba* L.) leaf extract (MLE) on oxygen radicals and their scavenger enzymes in brain membranes of rats. Sprague-Dawley (SD) male rats (160±10 g) were fed basic diet (control group), and experimental diets (MLE-100 and MLE-300 groups) added 100 and 300 mg/kg BW/day for 6 weeks. Hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) levels resulted in a significant decreases (13.4% and 21.1%, 12.0% and 13.4%, respectively) in brain mitochondria and microsome of MLE-100 and MLE-300 groups compared with control group. Superoxide radical ($\text{O}_2^{\cdot-}$) levels were significantly decreased about 12% in brain cytosol of MLE-300 group compared with control group. Lipid peroxide (LPO) levels were effectively inhibited (18.1% and 12.3%, respectively) in brain mitochondria and microsomes of MLE-300 groups compared with control group. Oxidized protein (OP) levels were significantly decreased (14.2%, and 10.9%, respectively) in brain mitochondria and microsomes of MLE-300 groups compared with control group.

Mn-SOD activities in brain mitochondria were significantly increased (13.5% and 18.6%, respectively) in MLE-100 and MLE-300 groups, and Cu/Zn-SOD activities in brain cytosol were also effectively increased (about 17.7%) in MLE-300 groups compared with control group. GSHPx activities in brain cytosol were remarkably increased (17.2% and 23.9%, respectively) in MLE-100 and MLE-300 groups compared with control group. These results suggest that anti-aging effect of mulberry leaf extract (MLE) may play a pivotal role in attenuating a various age-related changes in brain.

Key Words – Mulberry (*Morus alba* L.), Superoxide dismutase (SOD), Glutathione peroxidase, (GSHPx), Oxygen radical, Lipid peroxide (LPO), Oxidized protein (OP), Hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$), Superoxide radical ($\text{O}_2^{\cdot-}$)

*To whom all correspondence should be addressed
Tel: 051-620-6332, Fax: 051-628-6343
E-mail: jhchoi@pknu.ac.kr

서 론

옛날부터 명주(silk)는 중국을 비롯한 동남아의 중요한 특산물로서, 동서교역의 통로로서 실크로드(Silk Road)가 등장했다는 사실 자체가 이를 대변하고 있다. 그러나 지금은 석유화학공업이 발달함에 따라 값싼 화학섬유가 등장하면서 값비싼 명주가 사양화되고 양잠산업은 몰락의 위기를 맞고 있다. 뽕나무(桑 : mulberry)는 뽕나무과에 속하는 활엽 낙엽교목의 하나로서 우리나라를 비롯하여 중국, 일본 등지에서 자라고 있으며, *Morus alba* L.의 학명을 갖고 있다. 《신농본초경(神農本草經)》의 증품에 상근백피(桑根白皮) 등과 함께 상엽(桑葉)의 이름으로 수재되어 있다. 중국 후한의 허신(許慎)이 편찬한 《설문해자(說文解字)》에 “상(桑)은 젊다(若)는 뜻으로서 신목(神木)이라는 별명을 갖고 있다”고 했다. 결국 상(桑)이란 젊음을 유지할 수 있는 나무라는 의미로서 뽕나무(桑)는 노화를 방지할 수 있다는 사실을 묵시적으로 암시하고 있다. 또한 “뽕잎은 발산작용(發散作用)이 있고, 능히 풍열(風熱)을 없애고 성미(性味)는 달고 차며(甘寒), 간장(肝臟)을 맑게 하고 눈을 밝게하는 작용이 있다”고 했다[17].

지금까지 뽕잎 성분에 관한 연구로서는 뽕잎의 혈당저하작용의 메카니즘 연구[9], 뽕잎의 기능성 소재, 혈압강하물질로서 γ -GABA, flavonoid 성분 및 alkaloid 성분으로서 α -glucosidase 저해능을 갖는 DNJ(1-deoxynojirimycin)의 구명[18,26], 그밖에도 자연발증당뇨병모델(WBN/Kob) 및 사람을 대상으로 하여 각각 뽕잎 투여군의 혈당 강하효과[7], 혈청 콜레스테롤 억제효과 및 지질대사 등[10,11]이 보고되어 있다. Yen 등[25]의 항산화제로서 과산화지질의 생성억제효과, Park 등[20]의 뽕잎의 항종양효과 등이 보고되어 있다. 본 연구는 뽕잎의 생리활성연구의 일환으로서 전보[6]에 이어 SD계 랫트를 사용하여 뇌조직의 활성산소의 생성 및 그 제거효소 활성에 미치는 뽕잎 추출물의 영향을 분석하여 유의성있는 결과를 얻었기에 보고한다.

재료 및 방법

동물실험 및 사료조성

한국화학연구소에서 구입한 Sprague Dawley계 랫트(male, 160±10 g)를 구입하여 본 대학 동물사육실에서 2주

동안 예비사육한 다음, 7마리씩 3군으로 나누어 실험용 기본사료(Control group)로써 사육하면서 뽕나무(mulberry : *Morus alba* L.)의 뽕잎 메탄올 추출물(mulberry leaf extract : MLE)을 각각 100 및 300 mg/kg BW가 되도록 사료에 첨가한 실험그룹(MLE-100 및 MLE-300 group)으로 하여 6주간 사육실험을 행하여 뇌조직의 활성산소의 생성 및 제거효소의 활성에 미치는 영향을 평가했다. 동물사육실은 항온항습(22±2℃, 65±2% RH)하에서 12시간 사이클(06:00~18:00)로 명암이 자동 조절된다.

조제사료의 조성

본 실험에 사용한 사료조성은 전보[6]에 따라 탄수화물 57.8% (α -corn starch: 44.5% + sucrose 13.3%), 단백질 16.0% (sodium-free casein), 지질 18.0% (lard), 비타민과 무기질 (AIN-76 mixture) 각각 1.0% 및 3.5%, 그리고 섬유질 3.0%, DL-methionine 0.3%, choline chloride 0.2%를 첨가하였으며, 여기에 cholesterol 0.5% 및 sodium chloride 0.2%를 첨가하여 고콜레스테롤혈증을 유도하였다. 실험그룹의 사료 조성은 뽕잎 메탄올 추출물(MLE)을 하루에 각각 100 및 300 mg/kg BW가 섭취되도록 0.1% 및 0.3%의 MLE를 첨가하는 대신 탄수화물을 각각 0.1% 및 0.3%씩 제외하고 조제하였다.

뇌세포 핵분의 분획

뇌세포의 분획은 저자 등[4]의 방법에 따라 균질 완충용액(1.15% KCl/10 mM phosphate buffer/5 mM EDTA, pH 7.4)을 사용하여 mitochondria, microsome 및 cytosol 핵분을 분획하여 사용하였다. 이들 핵분의 단백질의 함량은 Lowry 등[15]의 방법에 따라 정량하였다.

활성산소의 생성량 측정

• 히드록시 라디칼(\cdot -OH)의 함량

Deoxyribose의 파괴 정도로 hydroxyl radical 생성 정도를 측정하는 방법으로서, 뇌핵분의 반응성 산소대사물에 의해 deoxyribose가 파괴되어 aldehyde가 생성되며, 이 aldehyde는 산성용액에서 thiobarbituric acid와 반응하여 발색되는 것을 이용한 Halliwell 등[8]의 방법에 따라 측정하였다.

• 수퍼옥시드 라디칼의 측정

뇌핵분중의 수퍼옥시드 라디칼(superoxide radical : $O_2^{\cdot-}$)

의 생성량은 McCord와 Fridovch [16]과 Chan과 Bielski[1]의 방법에 따라 superoxide dismutase를 억제할 수 있는 ferricytochrome C의 환원속도를 측정하였다. 0.1 mM EDTA를 함유한 인산완충용액(pH 7.8) 420 μ l에 cyanide의 농도가 50 μ M이 되도록 20 mM cyanide 용액을 가한 후 37°C에서 10분간 가온하였다. 이 용액에 cytosol 300 μ l와 0.1 mM cytochrome C 50 μ l를 넣어 분광광도계를 사용 550 nm에서 흡광도를 시간에 따라 측정하였다. 이때 cytochrome C의 양은 분자흡광계수 19,500 M⁻¹cm⁻¹로 계산하였다.

산화적 스트레스의 분석

· 과산화지질의 정량

뇌조직중의 과산화지질의 함량은 저자 등[2]이 사용한 방법에 따라 분광광도계를 사용하여 TBA법으로 말론디알데히드(malondialdehyde : MDA)의 함량을 측정하여 과산화지질(lipid peroxide : LPO)의 함량으로 표시하였다.

· 산화단백질의 정량

뇌획분으로서 mitochondria와 microsome의 산화단백질(oxidized protein : OP)의 생성량은 Levine 등[14]의 방법에 따라 carbonyl group(>C=O)의 생성량을 측정하였다. 0.1 ml의 시료에 30% TCA (trichloroacetic acid)를 0.5 ml 혼합, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 제거한 뒤 잔사에 10 mM DNPH (dinitrophenyl hydrazine) 0.5 ml 첨가, 15분마다 혼합하며 1시간 동안 실온에 방치 후 3000 rpm에서 10분간 원심분리하였다.

상층액을 제거한 후 잔사에 ethanol/ethyl acetate (1:1, v/v) 3.0 ml를 첨가하여 실온에서 10분 방치한다. 다시 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 후 잔사를 얻은 뒤, 6 M guanidine (20 mM potassium phosphate buffer, pH 2.3) 1.0 ml 첨가·혼합하여 37°C의 항온 수조에서 15분간 가온한 후, 3,500 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 얻었다. 이때 carbonyl group의 양은 360 nm와 370 nm사이에 있는 흡광도의 과장에서 분자흡광계수($E=22,000$)를 이용하여 계산하였다.

활성산소종 제거효소의 활성 측정

· 수퍼옥시드 디스무타아제(SOD)의 활성

Oyanagui[19]의 방법에 따라 수퍼옥시드 디스무타아제(superoxide dismutase : SOD)의 활성은 뇌획분을 인산완

충용액(pH 8.2)으로 30배로 희석한 용액 0.1 ml에 증류수 0.5 ml, A시약 (52.125 mg of hydroxylamine + 102.1 mg of hypoxanthine/250 ml D.W) 0.2 ml, B시약 (20 μ l of xanthine oxidase + 0.9939 mg ethylene diaminetetraacetic acid /26.7 ml phosphate buffer, pH 8.2) 0.2 ml를 첨가·혼합하여 37°C 항온수조에서 40분간 가온한 후 C시약 (300 mg of sulfanilic acid + N-1-naphthylethyene diamine acid/500 ml of 16.7% acetic acid) 2.0 ml를 첨가·혼합하여 실온에서 20분간 방치한 후 분광광도계를 사용, 550 nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량선에 의해 SOD 활성 (unit/mg protein)을 측정하였다.

· 글루타치온 퍼옥시다아제의 활성

Lawrence와 Burk[12]의 방법에 따라 340 nm에서 NADDPH의 감소를 측정하기 위한 방법으로 뇌획분의 cytosol에서 글루타치온 퍼옥시다아제(GSHPx)의 활성 측정은 인산완충용액(0.3 M/4.0 mM EDTA)으로 10배 희석하여 사용한다. 시험관에 인산완충용액(0.3 M phosphate buffer with 4.0 mM EDTA, pH 7.2) 0.1 ml, 증류수 1.295 ml, 26.56 mM sodium azide용액(86.33 mg of NaN₃/50 ml of D.W) 0.5 ml, 294.37 mM GSH용액(452.34 mg of glutathione /5.0 ml of 0.3 M phosphate buffer with 4.0 mM EDTA) 60 μ l, 8.4 mM NADPH(35.0 mg NADPH/5.0 ml of 0.3 M phosphate buffer with 4.0 mM EDTA) 110 μ l, glutathione reductase(5 mg of GSH-Re/1.0 ml of 0.3 M phosphate buffer with 4.0 mM EDTA) 5 ml, 1 mM hydroperoxide 320 μ l와 희석된 cytosol 30 μ l를 첨가하여 혼합한 후, 분광광도계를 사용하여 340 nm에서 흡광도를 15초 간격으로 2분간 측정하여 표준검량선에 의해 GSHPx (IU/g protein)활성을 계산하였다.

· 분석결과의 통계처리

본 연구의 모든 실험결과는 통계 처리하여 평균치와 표준편차를 계산하였으며, 각 실험군간의 유의성 검정은 Student's t-test[23]로 실시하였다.

결과 및 고찰

활성산소의 생성 억제효과

강력한 독성산소로 알려진 활성산소(oxygen radicals)는

Table 1. Effect of MLE on hydroxyl and superoxide radicals in brain membranes of SD rats for 6 weeks

Membranes	Control	MLE-100	MLE-300
Hydroxyl radical(nmol/mg protein/min)			
Mitochondria	12.01±0.84 ^a	10.40±0.84** (86.6%) ^b	9.47±0.86*** (78.9%)
Microsome	9.08±0.94	7.99±0.66* (88.0%)	7.86±0.61** (86.6%)
Superoxide radical(nmol/mg protein)			
Cytosol	38.69±2.62	37.78±3.29 (97.6%)	33.89±3.06* (87.6%)

MLE-100 and MLE-300 : Mulberry leaf methanol extract of 100 and 300 mg/kg BW/day added to basic control diet; ^aMean±SD with 7 rats per group, ^bPercent of control values; *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001 compared with control group.

능약 등 환경호르몬, 합성의약품의 남용, 흡연, UV나 X-선 조사 등이나 체내에서 대사중의 효소반응이나 염증반응에 의해서도 생성되는 것으로 밝혀지고 있다[3]. 이들 활성산소는 조직세포를 공격하여 성인병(chronic degenerative disease)을 유발하고 노화(aging)를 촉진하며 치매(senile dementia) 등의 신경정신질환을 유발할 뿐만 아니라 암(cancer)까지도 유발한다는 사실이 밝혀져 있다[21].

뇌조직의 활성산소중에서 가장 강력한 히드록시 라디칼($\cdot\text{OH}$) 및 수퍼옥사이드 라디칼(O_2^-)의 생성에 미치는 뽕잎 추출물(MLE)의 영향을 비교하여 보면 Table 1과 같다. Table 1에서 뇌조직중의 mitochondria 및 microsome획분은 다같이 $\cdot\text{OH}$ 라디칼의 생성을 매우 효과적으로 억제하고 있었다. Mitochondria 획분에서는 MLE-100 및 MLE-300투여그룹의 $\cdot\text{OH}$ 생성이 10.40±0.84 및 9.47±0.86 nmol/mg protein/min으로서 대조그룹(12.01±0.84 nmol/mg protein/min : 100%) 대비 각각 13.4% 및 21.1%의 유의적인 $\cdot\text{OH}$ 라디칼의 생성 억제효과가 인정되었다.

그렇지만, microsome획분에서는 MLE-100 및 MLE-300투여그룹의 $\cdot\text{OH}$ 생성이 7.99±0.66 및 7.86±0.61 nmol/mg protein/min으로서 대조그룹(9.08±0.94 nmol/mg protein/min : 100%) 대비 각각 12.0% 및 13.4%의 $\cdot\text{OH}$ 라디칼의 생성 억제효과가 인정되었다. 또한 뇌조직의 cytosol 획분의 superoxide radical(O_2^-)의 생성 억제효과는 MLE-100투

여그룹에서는 거의 유의적인 효과를 기대할 수 없었지만, MLE-300투여그룹에서는 12.4%의 매우 효과적인 O_2^- 생성 억제효과가 인정되었다.

이러한 사실은 뇌조직중에서도 뽕잎 추출물 투여에 의하여 O_2^- 라디칼의 생성 뿐만 아니라 $\cdot\text{OH}$ 라디칼의 생성도 매우 효과적으로 억제할 수 있을 것으로 사료된다.

산화적 스트레스의 평가

활성산소의 공격목표는 조직세포중의 지질 성분의 공격에 의한 과산화지질(lipid peroxide : LPO)의 생성, 단백질 성분의 공격에 의한 산화단백질(oxidized protein : OP)의 생성 및 핵산의 공격에 돌연변이의 생성 등을 들 수 있다. 따라서 이들 산화적 스트레스의 평가는 LPO는 말론디알데히드(malondialdehyde : MDA), 산화단백질은 카르보닐그룹(>C=O group)의 측정 및 핵산의 산화는 8-OHdG의 생성량을 측정하여 평가할 수 있다.

• 과산화지질의 생성 억제효과

세포막의 지질이 활성산소의 공격을 받아 산화될 때 생성되는 LPO는 강력한 세포독성 때문에 성인병(chronic degenerative disease)과 노화(aging)의 지표물질로 알려져 있다[3,24,27]. 뽕잎 추출물의 투여에 의한 뇌조직중의 LPO의 생성에 미치는 영향을 비교하여 보면 Table 2와 같다.

뇌조직 획분중의 LPO의 생성에 미치는 뽕잎 추출물

Table 2. Effect of MLE on lipid peroxide (LPO) levels in liver membranes of SD rats for 6 weeks

Membranes	Control	MLE-100	MLE-300
Mitochondria	11.91±1.38 ^a	10.90±0.77 ^a (91.5%) ^b	9.75±0.69*** (81.9%)
Microsome	12.24±1.01	11.31±0.95 ^a (92.4%)	10.73±0.66** (87.7%)

MLE-100 and MLE-300 : Mulberry leaf methanol extract of 100 and 300 mg/kg BW/day added to basic control diet; ^aMean±SD(nmol/mg protein) with 7 rats per group; ^bPercent of control values; *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001 compared with control group.

Table 3. Effects of MLE on oxidized protein(OP) levels in brain membranes of SD rats for 6 weeks

Membranes	Control	MLE-100	MLE-300
Mitochondria	13.42±1.28 ^a	12.84±0.82 (95.7%) ^b	11.51±1.01** (85.8%)
Microsome	14.26±1.13	12.83±1.03 (90.0%)	12.70±1.07* (89.1%)

MLE-100 and MLE-300 : Mulberry leaf methanol extract of 100 and 300 mg/kg BW/day added to basic control diet; ^aMean±SD (ng/mg protein) with 7 rats per group, ^bPercent of control values; *p<0.01; **p<0.001 compared with control group.

Table 4. Effects of MLE on SOD and GSHPx activities in brain membranes of SD rats for 6 weeks

Membranes	Control	MLE-100	MLE-300
Superoxide dismutase(unit/mg protein)			
Mn-SOD	18.75±1.47 ^a	21.28±1.77* (113.5%) ^b	22.23±2.02** (118.6%)
Cu/Zn-SOD	23.25±2.45	24.22±1.99 (104.2%)	27.36±2.02** (117.7%)
Glutathione peroxidase(IU/g protein)			
GSHPx	19.31±2.05	22.63±2.27** (117.2%)	23.93±2.17*** (123.9%)

MLE-100 and MLE-300 : Mulberry leaf methanol extract of 100 and 300 mg/kg BW/day added to basic control diet; ^aMean±SD with 7 rats per group; ^bPercent of control values; *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001 compared with control group.

(MLE) 투여의 영향을 비교하여 보면 하루에 MLE-100 및 MLE-300 mg/kg BW로써 6주동안 투여한 결과, 뇌조직의 mitochondria획분에서는 MLE-100 및 MLE-300투여그룹은 10.90±0.77 및 9.75±0.69 nmol mg protein로서 대조그룹(11.91±1.38 nmol/mg protein : 100%) 대비 각각 91.5% 및 81.9%로서 용량의존적으로 각각 8.5% 및 18.1%의 LPO의 생성 억제효과가 인정되었다.

또한 microsome획분에서 MLE-100 및 MLE-300투여그룹은 11.31±0.95 및 10.73±0.66 nmol/mg protein로서 대조그룹(12.24±1.01 nmol/mg protein : 100%) 대비 92.4% 및 87.7%로서, 용량의존적으로 각각 7.6% 및 12.3%의 LPO의 생성 억제효과가 인정되었다. 사실 뇌조직은 산화적 스트레스에 대하여 매우 민감한 조직이란 사실을 감안한다면 뽕잎 추출물의 투여는 뇌조직의 독성물질로서 LPO의 생성을 매우 효과적으로 억제한다는 사실은 항상성 유지를 위해서도 매우 중요한 의미를 갖고 있다고 평가할 수 있다.

• 산화단백질의 생성 억제효과

한편 뇌조직 세포의 단백질 성분이 활성산소의 공격을 받아 생성되는 카르보닐 그룹의 생성에 미치는 뽕잎 추출물의 투여효과를 평가하기 위하여 산화단백질(oxidized protein : OP)의 생성량을 평가하여 본 결과는 Table 3과 같다. Mitochondria획분에서 MLE-100 및 MLE-300그룹의 OP의 생성량은 12.84±0.82 및 11.51±1.01 ng/mg protein

으로서 대조그룹의 OP의 생성량(13.42±1.28 ng/mg protein : 100%) 대비 95.7% 및 85.8%로서, 각각 4.3% 및 14.2%의 OP의 생성 억제효과로서 MLE-300 그룹에서만 유의성이 인정되었다. 또한 microsome획분도 mitochondria획분과는 거의 유사한 경향으로서 MLE-100 및 MLE-300 그룹의 OP의 생성량은 12.83±1.03 및 12.70±1.07 ng/mg protein으로서 대조그룹의 OP의 생성량(14.26±1.13 ng/mg protein : 100%) 대비 90.0% 및 89.1%로서, 각각 10.0% 및 10.9%의 OP의 생성 억제효과가 나타났지만, MLE-300 그룹에서만 유의성이 인정되었다. 따라서 뽕잎 추출물은 mitochondria나 microsome획분에서 다같이 MLE-300투여그룹에서 유의적으로 단백질의 산화를 억제할 것으로 기대된다.

제거효소의 활성 평가

뇌획분중에서 활성산소의 제거효소로서 가장 중요한 수퍼옥시드 디스무타아제(SOD) 및 글루타치온 퍼옥시다아제(GSHPx)의 활성에 미치는 뽕잎 추출물(MLE) 투여의 영향을 분석하여 보면 Table 4와 같다. 뇌조직의 mitochondria획분중에서 뽕잎 추출물 MLE-100 및 MLE-300 mg/kg BW 투여에 의한 Mn-SOD의 활성은 21.28±1.77 및 22.23±2.02 unit/mg protein으로서 대조그룹(18.75±1.47 unit/mg protein : 100%) 대비 각각 13.5% 및 18.6%의 유의적인 Mn-SOD활성의 증가효과가 인정되었다. 또한 뇌조직의

cytosol획분중에서 뽕잎 추출물 MLE-100 및 MLE-300 mg/kg BW 투여에 의한 Cu/Zn-SOD의 활성은 24.22 ± 1.99 및 27.36 ± 2.02 unit/mg protein으로서 대조그룹(23.25 ± 2.45 unit/mg protein : 100%) 대비 각각 4.2% 및 17.7%로서 MLE-300투여그룹에서만 유의적인 Cu/Zn-SOD 활성의 증가효과가 인정되었다.

한편 MLE-100 및 MLE-300투여그룹의 GSHPx의 활성은 22.63 ± 2.27 및 23.93 ± 2.17 IU/g protein으로서 대조그룹의 GSHPx 활성(19.31 ± 2.05 IU/g protein : 100%) 대비 117.2% 및 123.9%로서, 뽕잎 추출물의 투여에 의하여 각각 17.2% 및 23.9%의 매우 효과적인 GSHPx활성의 증가효과가 인정되었다. 생체의 방어효소로서 뇌조직중의 SOD 및 GSHPx의 제거효소의 활성은 Mn-SOD 및 Cu/Zn-SOD활성은 매우 효과적으로 증가하였지만, GSHPx활성의 증가효과는 거의 인정할 수 없었다는 사실과는 달리 뇌조직인 경우 뽕잎 추출물에 의하여 GSHPx의 활성을 매우 효과적으로 증가하고 있음을 알 수 있었다. 따라서 간장조직에서와 마찬가지로 뇌조직도 뽕잎 추출물의 활성산소 제거효소의 활성에도 선택적으로 작용하고 있음을 알 수 있었다.

요 약

뽕잎 추출물(MLE)을 SD계 랫트에 하루 100 및 300 mg/kg BW로써 6주간 투여하여 뇌조직의 활성산소 및 그 제거효소의 활성에 미치는 영향을 분석·평가하였다. Mitochondria획분에서는 MLE-100 및 MLE-300투여그룹은 대조그룹 대비 각각 13.4% 및 21.1%의 매우 효과적인 hydroxyl radical($\cdot\text{OH}$)의 생성 억제효과가 인정되었고, mirosome획분에서도 대조그룹 대비 각각 12.0% 및 13.4%의 유의적인 $\cdot\text{OH}$ 라디칼의 생성 억제효과가 인정되었다. Cytosol획분의 superoxide radical(O_2^-)은 MLE-300투여그룹에서만 12.4%의 유의적인 O_2^- 생성 억제효과가 인정되었다. Mitochondria획분에서 MLE-100 및 MLE-300투여그룹은 대조그룹 대비 각각 8.5% 및 18.1%의 과산화지질(LPO)의 생성 억제효과가 인정되었지만, microsome획분에서는 대조그룹 대비 MLE-300투여그룹에서만 12.3%의 LPO 생성 억제효과가 인정되었다. Mitochondria획분에서도 MLE-300그룹은 대조그룹 대비 14.2%의 OP의 생성 억제효과가 인정되었다. Microsome획분에서도 MLE-300투여그룹은 대조그룹 대비

10.9%의 유의적인 OP의 생성 억제효과가 인정되었다.

뇌조직의 mitochondria획분중에서 MLE-100 및 MLE-300 투여그룹은 대조그룹 대비 각각 13.5% 및 18.6%의 유의적인 Mn-SOD활성의 증가효과가 인정되었다. 또한 뇌조직의 cytosol획분중에서 MLE-300투여그룹은 대조그룹 대비 17.7%의 유의적인 Cu/Zn-SOD 활성의 증가효과가 인정되었다. 한편 뇌조직의 cytosol획분에서 MLE-100 및 MLE-300 투여그룹은 대조그룹 대비 각각 17.2% 및 23.9%의 매우 효과적인 GSHPx활성의 증가효과를 인정되었다. 이상의 결과에서 뽕잎 추출물의 투여는 뇌조직의 $\cdot\text{OH}$ 라디칼 및 O_2^- 등 산소라디칼의 생성을 효과적으로 억제하여 LPO 및 OP의 생성을 효과적으로 억제할 뿐만 아니라 Mn-SOD 및 Cu/Zn-SOD 등 활성산소의 제거효소의 활성을 효과적으로 증가시켜 뇌조직의 기능저하를 매우 효과적으로 방지할 수 있을 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

1. Chan, P. C. and B. H. J. Bielski. 1974. Enzyme catalyzed free radical reactions with nicotinamide adenine nucleotide. *J. Biol. Chem.* **249**(4), 1317-1319.
2. Choi, J. H. and B. P. Yu 1990. Unsuitability of TBA test as a lipid peroxidation marker due to prostaglandin synthesis in the aging kidney. *Age* **13**, 61-64.
3. Choi, J. H. (1991). Lipid peroxidation, aging and food restriction. *Kor. J. Biochem.* **23**(1), 61-70.
4. Choi, J. H., D. I. Kim, D. W. Kim, Y. S. Moon, H. Y. Chung and B. P. Yu. 1996. Analysis of lipid composition and hydroxyl radicals in brain membranes of senescence-accelerated mice. *Age* **19**, 1-5.
5. Choi, J. H., D. I. Kim, S. H. Park, D. W. Kim, J. S. Lee and H. S. Kim. 1999. Effects of PNE on oxygen radicals and their scavenger enzymes in liver of SD rats. *Korea. J. Life Sci.* **9**(4), 466-472.
6. Choi, J. H., D. I. Kim, S. H. Park, D. W. Kim, J. S. Lee, K. S. Ryu and W. C. Lee. 1999a. Effects of mulberry leaf extract on oxygen radicals and their scavenger enzymes in serum of SD rats. *Korean J. Seric. Sci.* **41**(3), 135-140.
7. Doi, K. D., K. Takashi, H. Masaoki and H. Yoshiya. 1994. Effect of mulberry leaves in lipid metabolism in rabbits fed a cholesterol diet. *J. Japan Soc. Food Nutr.* **47**(1), 15-22.

8. Halliwell, B. and G. M. C. Gutteridge. 1981. Formation of a thiobarbituric acid-reactive substance from deoxyribose in the presence of iron salts. *FEBS Lett.* **128**, 347-350.
9. Iizuka, Y., S. Eiichi, H. Noboru, S. Masahiko and I. Shunji. 1988. Inhibitory effect of Mori folium on disaccharidase in rats. *J. New Remedies and Clinics* **47(2)**, 155-158.
10. Kang, J. O. and K. S. Kim. 1995. The effect of dry edible leaves feeding on serum lipids of hypercholesterolemic rats. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **24(4)**, 502-509.
11. Kim, S. Y., W. C. Lee, H. B. Kim, A. J. Kim and S. K. Kim. 1998. Antihyperlipidemic effects of methanol extracts from mulberry leaves in cholesterol-induced hyperlipidemia rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **27(6)**, 1217-1222.
12. Lawrence, R. A. and R. F. Burk. 1978. Species, tissue and subcellular distribution of non Se-dependent glutathione peroxidase activity. *Lipid* **19**, 444-452.
- Laganier, S. and B. P. Yu. 1987. Anti-lipoperoxidation action of food restriction. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **145**, 1185-1191.
13. Lee, H. S., K. S. Chung, S. Y. Kim, K. S. Ryu and W. C. Lee. 1998. Effect of several sericultural products on blood glucose lowering for alloxan-induced hyperglycemic mice. *Korean J. Seric. Sci.* **40(1)**, 38-42.
14. Levine, R. L., D. Garland, C. N. Oliver, A. Amici, I. Climent, A. G. Lenz, B. Ahn, S. Shaltiel and E. R. Stadtman. 1990. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.* **1986**, 464-478.
15. Lowry, O. H., N. J. Roseborough, L. A. Farr and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the Folin-Phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
16. McCord, J.M. and I. Fridovch. 1969. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J. Biol. Chem.* **244(22)**, 6049-6055.
17. Namba, T. 1980. Colored Illustrations of WAKAN-YAKU, Vol. II. pp. 82-83.
18. Noda, S. 1996. Effect of mulberry leave tea in chronic diseases. *Food Chemicals* **(12)**, 68-75.
19. Oyanagui, Y. 1984. Reevaluation of assay methods and establishment of Kit for superoxide dismutase activity. *Anal. Biochem.* **42**, 290-296.
20. Park, I. K., J. O. Lee, H. S. Lee, K. Y. Seol and Y. J. Ahn. 1988. Cytotoxic activity of Bombyx mori and Morus alba derived materials against human tumor cell lines. *Agric. Chem. Biotech.* **41(2)**, 187-190.
21. Rigo, A. and G. Rotilio. 1977. Simultaneous determination of superoxide dismutase and catalase in biological materials by polarography. *Anal. Biochem.* **81**, 157-166.
22. Singh, V. A. 1992. A current perspective on nutrition and exercise. *J. Nutr.* **122(3S)**, 760-765.
23. Steel, R. G. D. and J. H. Torrie. 1960. Principles and procedures of statistics. McGrawhill, New York.
24. Yagi, M., K. Tatsuhiko, A. Yoshiaki and M. Hiromu. 1976. The structure of moranoline, a piperidine alkaloid from morus species. *Nippon Nogei Kagaku Kaishi* **50(11)**, 571-572.
25. Yen, G. C., S. C. Wu and P. D. Duh. 1996. Extraction and identification of antioxidant components from the leaves of mulberry (*Morus alba* L.). *J. Biol. Chem.* **261**, 12879-82.
26. Yoshikumi, Y. 1988. Inhibition of intestinal α -glucosidase activity and postprandial hyperglycemia by moranoline and its N-alkyl derivatives. *Agric. Biol. Chem.* **52**, 121-126.
27. Yu, B. P. 1996. Aging and oxidative stress : Modulation by dietary restriction. *Free Rad Biol. Med.* **21**, 651-668.
28. Yu, B. P. and R. Yang. 1996. Critical evaluation of free radical theory of aging: A proposal of oxidative stress hypothesis. *Ann. New. York. Acad. Sci.* **786**, 1-11.