

## FIB 햄스터에서 양파즙과 나린진 추출 혼합물의 항고지혈증 효과 - 투과전자현미경적 관찰 -

김 인 숙\*, 채 수 철<sup>1</sup>, 김 동 옥<sup>2</sup>

초당대학교 안경광학과, <sup>1</sup>전남대학교 생물학과, <sup>2</sup>목포대학교 생약자원학과

## Effects of Onion and Naringin Extract Mixed Products on Antihyperlipidemic Levels of Bio FIB Hamster

In Suk Kim\*, Soo Chul Chae<sup>1</sup> and Dong-Wook Kim<sup>2</sup>

Department of Optometry of Chodang University, Chonnam, 534-701 Korea

<sup>1</sup>Department of Biology, Chonnam National University, Gwangju, 500-757 Korea

<sup>2</sup>Department of Bio-Pharmacology of Mokpo-National University, Chonnam, 534-729 Korea

(Received May 27, 2009; Accepted June 24, 2009)

### ABSTRACT

This study investigated the effects to lowering hyperlipidemic levels in hamsters by feeding them naringin and onion extracts. The hyperlipidemic levels on all of the hamsters were raised by feeding them with high fat atherogenic diet (HFAD) containing 10% coconut oil and 0.05% cholesterol. The experimental groups were randomly assigned to 5 groups (normal, control, OEN, OES, and OESN) each 6 hamsters over a 40 days period. The control group (HFAD) received a 10% coconut oil and 0.05% cholesterol with basal diet, the OEN group which received an onion extract mixture containing 50% water and 50% onion extract, the OES group which received 100% onion extract, the OESN group which received 100% onion extract combined with 1% naringin. Serum cholesterol and triglyceride levels significantly decreased in the naringin treated group while the HDL cholesterol level increased. On the other hand, the morphology of the mitochondria and nuclei found in the livers of the treated group given naringin were significantly different when compared to those group given high fat diets. In conclusion, onion extract with naringin decreased cholesterol levels in hamster's livers.

**Keywords** : Antihyperlipidemic, Cholesterol, High fat diet, Naringin, Onion

### 서 론

고지혈증은 우리 몸의 혈액 중에 지질성분의 함량이 정상 이상으로 증가되어 있는 상태를 말하는데, 지질성분은 여러 종류가 있으나 체내에서는 두가지 형태 즉 유리형과 에스테르형 콜레스테롤로 존재한다. 유리형 콜레스테롤은 주로 몸

의 구성요소로서 몸 전체를 순환하고 있으며 세포의 표면 특히 신경조직에 많이 존재한다. 우리 몸에 축적되는 에스테르형은 혈액과 간장 등에 쌓이는데, 동맥경화가 일어나는 주요 원인은 에스테르형으로 혈관 벽에 쌓이기 때문이다(Rhyu, 1998). 이러한 콜레스테롤이 정상 이상으로 증가하는 경우가 많은 상태를 고콜레스테롤혈증이라 한다(William & Castelli, 1983). 고콜레스테롤혈증은 동맥경화증이나 허혈성

본 연구는 2008년도 제16차 산학공동기술개발사업비에 의하여 수행된 연구결과입니다.

\* Correspondence should be addressed to Ass. Prof. In Suk Kim, Department of Ophthalmic Optics, Chodang University, 419 Sung-Namri, Muan-Up, Muan-Gun, Chonnam, Korea. Ph.: (061) 450-1232, Fax: (061) 450-1232, E-mail: iskim@chodang.ac.kr

심장질환의 중요한 원인인자일 뿐만 아니라 다른 질환의 원인이 되기도 한다(D'Agostino et al., 2000).

동맥경화증의 주요 위험인자인 고지혈증은 혈중 콜레스테롤과 중성지방 농도가 비정상적으로 높은 상태로서, 고혈압 및 흡연과 더불어 관상동맥질환의 3대 위험인자로 알려져 있다(Connor, 1994). 특히 고당질 식사가 주인 한국인의 경우, 고콜레스테롤혈증뿐만 아니라 고중성지방혈증도 중요한 원인임을 많은 학자들이 지적하고 있다(Soen, 1974; Yang et al., 1980; Lee et al., 1992). 혈액검사에서 총 콜레스테롤이 240 mg/dL 이상이거나, 중성지방이 200 mg/dL 이상이면 고지혈증으로 진단한다. 고지혈증은 돌연사가 젊은층에 빈발하면서 관심이 증폭되고 있는데 특히 고혈압, 고지혈증과 같은 심혈관 질환이 주된 원인으로 지목된다. 최근 5년간 고지혈증 환자는 2배 이상 급증하고 있는데, 2008년 국민 건강보험공단에 따르면 고지혈증으로 진료를 받은 환자는 2003년 33만 1,091명에서 2004년 37만 7,915명, 2005년 46만 1,849명, 2006년 54만 31명, 2007년 68만 1,357명 등으로 급증했다. 또 남성보다 여성 환자가 많고, 나이가 많을수록 환자가 많은 것으로 나타났다. 한편 간은 기름진 음식 또는 알콜의 과다 섭취 및 B형 또는 C형 간염 바이러스의 감염에 의해 그 기능이 저하되고, 이 상태가 방치될 경우 간염, 간경변증, 간암 등으로 진행된다. 특히 음식을 통한 과다한 지방성분이 함유된 음식물의 섭취 및 과도한 알콜 섭취는 간 조직에 지질이 쌓이는 지방간을 유발하며 이때 혈청속의 GOT (glutamate-oxaloacetate transaminase), GPT (glutamate-pyruvate transaminase)가 증가하게 된다(Banciu et al., 1982). 많은 환자들은 고지혈 예방으로 여러 가지 약품과 식품이 사용되고 있는데, 김 등(2005)은 연잎이 고지혈증을 억제하는 활성이 있는 유용한 생약자원으로 보고하였다. 또한 최근 강력한 항산화 작용으로 혈관벽의 손상을 막아 동맥경화와 심근경색 및 고혈압 예방물질인 퀘세틴(Quercetin)을 양파로부터 추출하는 기술이 개발되는 등 양파에 관한 활발한 연구가(Islam et al., 2008; Vidyashankar et al., 2008) 이루어지고 있다.

양파는 당질, 인, 칼슘, 염 등 혈관강화, 항알레르기 그리고 고기의 독을 해독시키는 효과로 널리 알려져 있으며(Lee et al., 1998) 건강식품으로써 음료와 환으로 식용되고 있다. 한편 플라보노이드계의 나린진은 혈중 콜레스테롤을 현저하게 감소시키고 ACAT 활성을 저해하며 동맥 내피표면에 거대세포지질 복합체가 형성되거나 침착하는 것을 강력하게 억제하며 간 질환에 대해 치료 및 예방효과가 있다고 발표하였다(한국특허출원 제98-10888, 2004).

양파의 추출물인 퀘세틴(Quercetin) 성분과 더불어 천연 식물성 플라보노이드계의 자몽씨 추출물을 양파즙에 첨가하여 퀘세틴과 나린진의 효과를 동반 상승시켜, 항산화 스테레스를 감소, 면역계 조절작용, 중성지방 및 콜레스테롤을

저감시켜 동맥경화, 심혈관, 뇌혈관질환 예방을 할 뿐만 아니라 단맛과 향긋한 향기를 가지는 자몽씨 추출물을 양파즙에 첨가함으로써 양파 특유의 쓴맛을 감소시켜 고지혈증의 예방 기능성식품으로 사용하고자 Bio FIB Hamster를 이용하여 간조직과 혈청에서 고지혈을 감소시키는 효과를 보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. Hamster

본 연구에 사용된 햄스터 30마리는 웅성 FIB hamster를 중앙 동물원으로부터 제공받아(origin: 미국 Biobreeder사) 1주일간 목포대학교 실험동물센터의 polyethylene cage에서 순화 시켰다. 동물의 사육은 실험동물센터 100% fresh hapa-filtered air 조건에서 12/12시간 밤낮 조절환경에서 23°C, 45% humidity 조건에서 사육하였다. 고지혈증 동물을 제작하기 위하여 hamster의 식이로서 basal diet (AIN-76A Rodent Purified Diet, Biobreeder Inc., USA)에 10% coconut oil, 0.05% cholesterol를 첨가한 high fat atherogenic diet (HFAD)를 40일간 투여하였다. 각 군의 분할은 Group 1 (Normal: Basal diet treated group), Group 2 (Control: HFAD treated group), Group 3 (OEN: 50% onion extract and 50% water), Group 4 (OES: 100% onion extract only), Group 5 (OESN: 100% onion extract combined 1% naringin)로, 각 군은 각각 6마리(n=6)로 구성하였으며, naringin은 매일 아침 한번 1 mL씩 gastric sonde를 이용하여 경구 투여하였다. 실험은 시료 투여 및 HFAD 식이 개시에서 40일 후 종료시점에서 ketamine (50 mg/kg)을 대퇴부에 근육주사를 하여 마취한 다음 각 실험군의 hamster를 희생시켜 심장으로부터 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 2시간 정도 정치한 다음 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상층부의 혈액은 deep freezer에 보관하였다가 혈액분석에 사용하였다. 혈청의 total cholesterol (TC), triglyceride (TG), HDL-cholesterol 측정법은 효소법에 의해 측정하였다. 또한 각 군의 간 조직에서의 콜레스테롤을 관찰하고자 투과전자현미경(Hithachi)을 사용하였다.

### 2. 실험약 및 방법

#### 1) 양파즙 100% 추출물

스팀가열법을 사용하여 5시간 동안 양파만 100%를 농축시킨 추출액을 사용하였다.

#### 2) 나린진

나린진 원액 (Sigma Co, USA)을 양파즙 원액 100 mg에 대하여 10 mL을 즉 1% 비율로 혼합하여 매일 아침 1 mL씩

경구 투여하였다.

### 3) 양파즙 50% 추출물

양파 추출물 50%에 물 50%를 혼합하여 3시간 동안 중탕하여 사용하였다.

### 4) 전자현미경적 관찰

간(liver)을 적출 후 2.5% glutaraldehyde (pH 7.2)에 30분간 고정하였다. 고정된 시료를 세절하여 동일한 고정액으로 4°C에서 1.5시간 전 고정 후, 1% osmium tetroxide로 실온에서 2시간 후 고정하였다. 고정된 시료는 50% ethanol에서 농도상승 순으로 탈수하였고 propylene oxide로 치환한 후, epoxy resin 혼합액에 포매하여 37°C에 24시간, 60°C에 48시간 동안 열중합시켰다. 제작된 시료는 ultramicrotome (LKB-V)형으로 60~80 nm의 초박 절편을 제작하여 uranyl acetate로 이중 전자염색을 하고 투과전자현미경(Hithachi)으로 관찰하였다.

### 5) 혈중 Total cholesterol의 측정

심장으로 채취한 혈액을 원심분리 후 상등액의 혈청 20 µL와 3 mL의 콜레스테롤 측정용 효소시약(Asan AM202-k) 10 mL을 tube 내에서 교반 시키고 37°C에서 5분간 반응시킨 후 반응물 중 0.2 mL을 취하여 분광광도계를 사용하여 500 nm의 파장에서 흡광도를 측정하여 표준 콜레스테롤 용액과 비교하여 농도를 산출하였다.

### 6) 혈중 High-density lipoprotein (HDL)의 측정

실험동물의 고밀도 지방단백의 콜레스테롤 농도를 정량하기 위하여 Warnick et al. (1982)이 제시한 dextran sulfate-MgCl<sub>2</sub>을 변형한 방법으로 측정하였다. 혈청 200 µL에 분리시약을 200 µL를 첨가하여 인팅스텐산과 마그네슘 양이온의 작용으로 lipoprotein 중 apo-lipoprotein B를 가지고 있는 LDL을 침전시킨 후 상층의 100 µL를 효소시약 (Asan AM203-K) 3 mL를 첨가하여 5분간 37°C에서 방치 후 500 nm의 흡광도에서 측정하여 산출하였다.

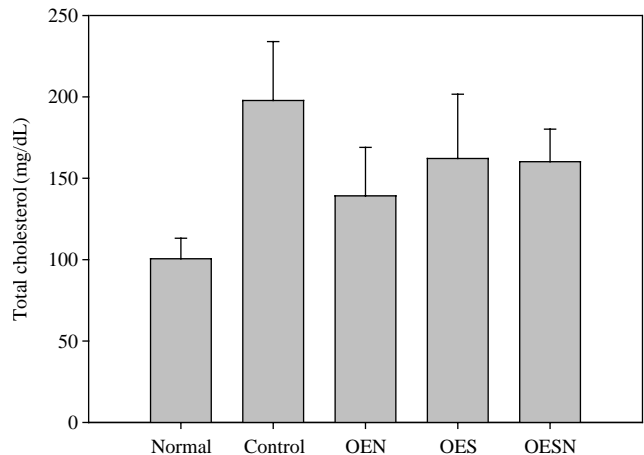
### 7) 혈중 Triglyceride의 측정

혈중 중성지질의 농도를 정량하기 위하여 Allian et al. (1974)이 제시한 방법을 사용하였다. 혈청중의 중성지질을 lipoprotein lipase (LPL)을 이용하여 glycerin과 fatty acid로 분해시킨 후, ATP와 glycerol kinase (GK)를 첨가하여 L-α-phosphoglycerol로 변형시킨다. 여기에 glycerol-3-phosphate oxidase (GPO)를 첨가하면 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 발생시킨다. 다시 여기에 peroxidase를 처리하여 적색으로 발색시킨 후 흡광도를 측정하였다. 혈청 20 µL와 중성지질 측정용 효소시약(Asan 157S-K)를 3 mL를 첨가하여 교반시킨 후, 37°C에서 10분간 반응시킨 후 반응물을 550 nm에서 흡광도를 측정하여 산출하였다.

**Table 1.** Effect of onion extract on body weight

Groups	Food intake (g)	Initial weight (g)	Final weight (g)	Gain in weight (g)
Normal	5.66±0.58	93±4	139.4±10.9	47±9
Control	5.45±0.35	94±3.8	132.7±8.2	40±8
OEN	4.87±0.34 <sup>b</sup>	94±4	121.1±8.4	27±11 <sup>a</sup>
OES	5.75±0.37 <sup>a</sup>	94±4	141±9.1	48±9
OESN	5.57±0.27	93±6	134±10.4	41±13

<sup>a</sup>p<0.05 and <sup>b</sup>p<0.001 Vs control value.



**Fig. 1.** Effect of onion extract on serum total cholesterol level.

### 8) 통계처리

실험 후 각 처리군별 실험 결과는 mean±S.E.로 나타내었으며 각 군 간의 차이는 Student's t-test를 사용하여 p<0.05일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 체중의 변화

본 실험에 사용한 고콜레스테롤증 모델은 현재까지 일반적인 동물에서 사용하였던 mouse, rat과는 달리, 유전적으로 콜레스테롤 감응이 높은 hamster의 계통을 사용하여 실질적으로 사람 고지혈증과 유사한 모델을 작성하여 실험에 적용하였다. 고지방식이로 유발시킨 hamster에서의 시료의 처리가 고지혈증에 미치는 효과를 측정할 결과 실험기간 중 체중의 변화는 다음과 같다. 고지방 식이의 투여로 인한 나타난 것과 대조군간의 차이는 나타나지 않았으나 OEN 군과 OES 군과의 차이는 유의성있게 나타났다. 이는 양파즙에 존재하는 당질이 양파 함량에 따라 달라진 것으로 사료된다.

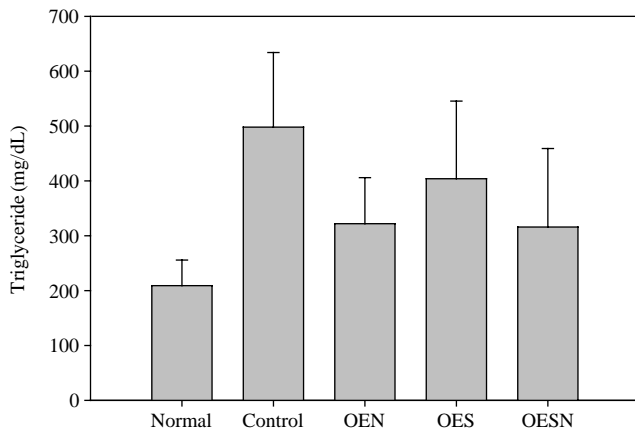


Fig. 2. Effect of onion extract on serum triglyceride level.

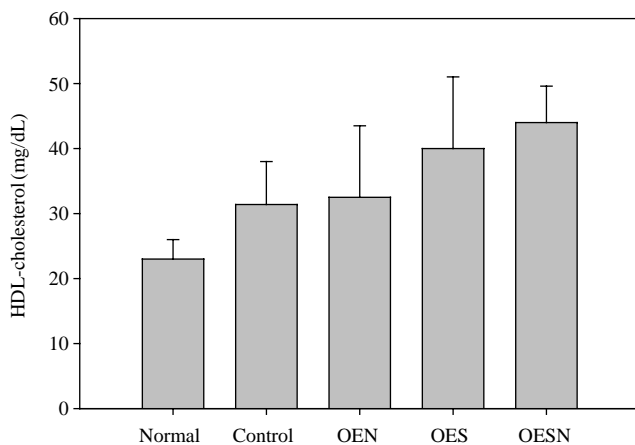


Fig. 3. Effect of onion extract on serum HDL-cholesterol level.

## 2. 혈중 Cholesterol, Triglyceride, HDL-cholesterol 성분의 변화

식이성 고지혈증 hamster에 대한 혈중의 total cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol 수치에 미치는 결과는 Figs. 3 ~ 5와 같다.

### 1) Total cholesterol의 변화

basal diet 투여 hamster 군에 있어서는 혈중 총 cholesterol의 수치가  $100.5 \pm 12.6$  mg/dL인데 비하여 HFAD 투여 대조군에 있어서는  $207 \pm 30$  mg/dL로 2배나 차이가 난 수치를 나타냈다. 양파즙과 나린진을 투여한 군에 있어서는  $160.5 \pm 20$  mg/dL로 대조군보다 콜레스테롤 수치가 저하되었다.

### 2) Triglyceride의 변화

HFAD 투여에 따른 혈청의 triglyceride의 수치는 basal diet 투여군은  $209.4 \pm 46.6$  mg/dL이었으며 대조군은  $536 \pm$

$111$  mg/dL로서 250%의 증가 수치를 나타내었다. 나린진을 투여한 군에서는  $317.5 \pm 143$  mg/dL로서 나린진을 투여함으로써 triglyceride를 감소시키는 경향을 보였다

### 3) HDL-Cholesterol의 변화

HFAD 투여에 따른 HDL-cholesterol의 수치변화를 측정 한 결과 basal diet 군에서는  $24 \pm 3$  mg/dL, 대조군  $32 \pm 7$  mg/dL로서 유의적인 차이는 없었으나 나린진을 투여한 군에서는  $44 \pm 6$  mg/dL로서 두배로 증가된 수치를 나타내었다.

## 3. 투과전자현미경적 관찰

### 1) HFAD group (control group)

basal diet에 10% coconut oil, 0.05% cholesterol를 첨가한 high fat atherogenic diet (HFAD) 군에서의 사립체는 세로로 길게 늘어난 형태이며 수많은 지방방울(lipid droplet)을 관찰할 수 있었다. 핵은 약간 함입되어 불규칙한 모양을 띠고 있었다(Figs. 6, 7).

### 2) OEN group mixture containing 50% water and 50% onion extract

HFAD 처리군 보다는 지방이 감소된 것을 관찰할 수 있으며 사립체는 HFAD 군에 비하여 다소 줄어든 원형과 세로로 늘어난 형태를 보이며 당원과립(glycogen particle)들이 많이 나타났다. rough endoplasmic reticulum도 비교적 잘 관찰되었다(Figs. 8, 9).

### 3) OES group 100% onion only extract

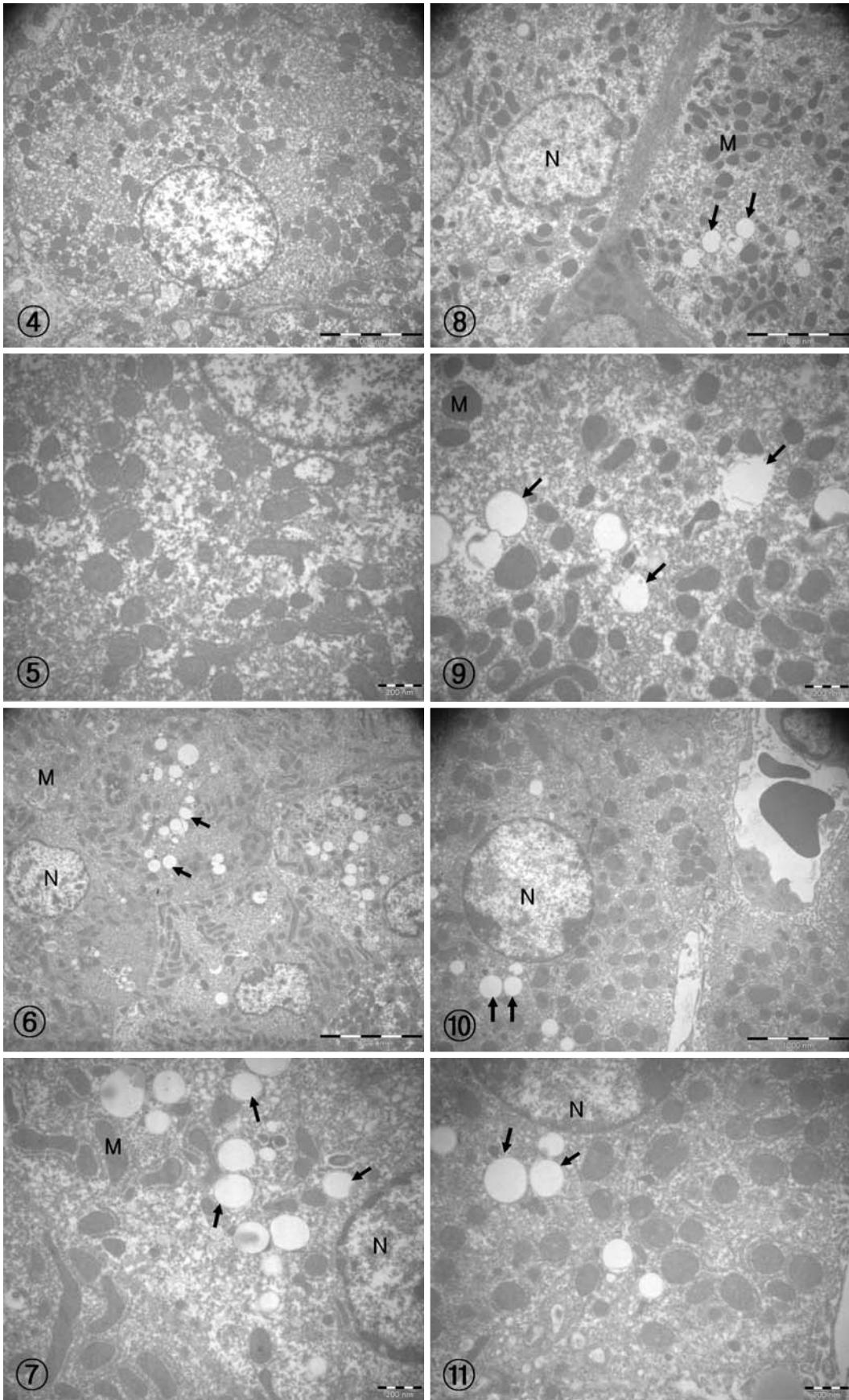
OEN 군과 비슷한 콜레스테롤을 관찰할 수 있으나 다소 감소되었으며, 사립체는 원형의 모양을 회복하였고 핵 또한 부정형에서 정형의 형태를 관찰할 수 있었다. 동굴모세혈관(sinusoidal capillary)과 내피세포도 관찰되었다(Figs. 10, 11).

### 4) OESN group mixture containing 100% onion extract combined 1% naringin

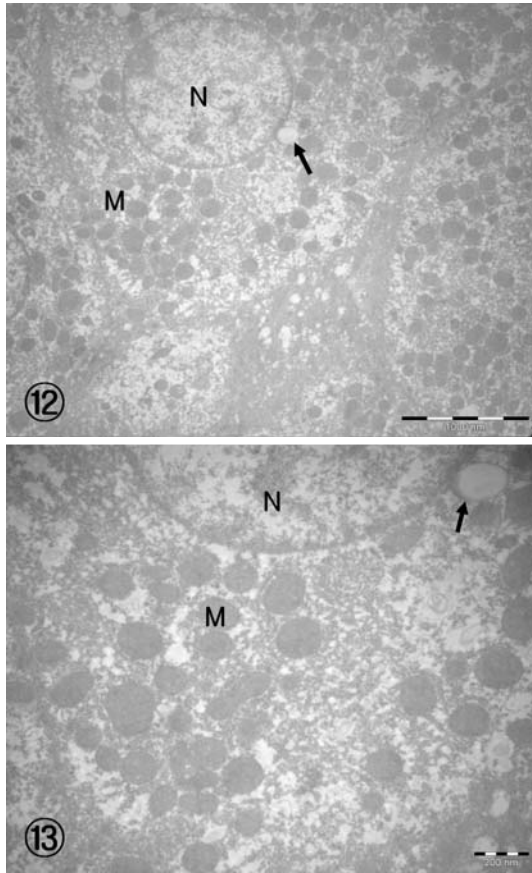
Naringin을 추가시 대조군보다 지방이 현저히 감소된 것을 볼 수 있으며, 핵과 사립체가 정상군과 같은 모양으로 회복된 형태를 볼 수 있었다(Figs. 12, 13)

본 연구는 양파즙과 바이오 플라노이드인 나린진을 혼합하여 고지혈 감응성이 높은 Bio FIB hamster를 이용하여 그 효과를 in vivo에서 실험하였다. 또한 100% 양파즙만 이용하였을 때 보다 나린진과 혼합시 시너지 효과를 나타낸다는 중요한 사실을 확인 하였다. 고지방식으로 유발시킨 hamster에서의 체중의 변화를 측정 한 결과, 나린진과 대조군간의 차이는 나타나지 않았으나 OEN 군과 OES 군과의 차이는 유의성 있게 나타났다. 이는 양파즙에 존재하는 당질의 함량에 따라 체중의 변화가 달라진 것으로 보여진다.

나린진의 투여에 의한 혈중의 총 cholesterol의 저하작용







**Fig. 4.** Normal group of hamster.  $\times 7,000$ .  
**Fig. 5.** Normal group of hamster.  $\times 15,000$ .  
**Fig. 6.** Control group of hamster.  $\times 7,000$ .  
**Fig. 7.** Control group of hamster.  $\times 15,000$ .  
**Fig. 8.** OEN group of hamster.  $\times 7,000$ .  
**Fig. 9.** OEN group of hamster.  $\times 15,000$ .  
**Fig. 10.** OES group of hamster.  $\times 7,000$ .  
**Fig. 11.** OES group of hamster.  $\times 15,000$ .  
**Fig. 12.** OESN group of hamster.  $\times 7,000$ .  
**Fig. 13.** OESN group of hamster.  $\times 15,000$ .

\*N means nuclear

\*M means mitochondria

\*Arrow indicated lipid droplet

은 HFAD 투여 대조군에 비해 두배 차이로 뚜렷한 감소 수치를 나타냈다. 또한 HFAD 투여에 따른 혈청의 triglyceride의 수치는 basal diet 투여군에 비해서 약 250%의 증가 수치를 나타내었으나 나린진을 투여함으로써 약 60% 감소되는 경향을 보였다. HDL-cholesterol에 있어서는 대조군과 비교시 나린진을 투여한 군에서는 유의성 있게 증가된 수치를 나타내었다. 위와 같은 결과들로 살펴볼 때 양파즙에 나린진을 첨가시 시너지효과를 나타내어 혈청 콜레스테롤치를 낮추는 데 중요한 역할을 한 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

- Allian CC, Poon LS, Chan SG: Enzymetic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem* 28 : 1379-1388, 1974.
- Banciu T, Weidenfeld H, Wilham V, Berinde L, David P, Sgavirdea C: The hepatic component in alcoholic encephalopathy. *Med Interne* 20(1) : 67-71, 1982.
- 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, 1994.
- D'Agostino RB, Russell MW, Huse DM, Ellison RC, Silbershatz H, Wilson PW, Hartz SC: Primary and subsequent coronary risk appraisal: New results from the Framingham study. *Am Heart J* 139 : 272-281, 2000.
- Kim DW, Kim SB, Rho SB, Rhyu DY: Effect of Nelumbo nucifera Leaves on Hyperlipidemic and Atherosclerotic Bio FIB Hamster: *Korean J Pharmacogn* 36(3) : 229-234, 2005. (Korean)
- Lee DS, Nam TJ, Pyun JH: Effect of Low Molecular Alginates on cholesterol Levels and fatty Acid Compositions of Serum and Liver Lipids in Cholesterol fed Rats.: *Korean, J Korean Fish Soc* 31(3) : 399-408, 1998. (Korean)
- Lee YC, Shin HA, Lee KY, Park YH, Rhee JS: A study in concentration of serum lipids and food & daily habit of healthy Korean adults-Emphasis in serum triglyceride.: *Korean J Lipidology* 2 : 41-51, 1992 (Korean).
- Rhyu BH: Cholesterol, Atherosclerosis, Shin-Gi Pub, pp. 22-46 1998.
- Slam MS, Choi H, Loots du T: Effects of dietary onion (*Allium cepa* L.) in a high-fat diet streptozotocin-induced diabetes rodent model. *Ann Nutr Metab* 53(1) : 6-12, 2008.
- Soen YS: Study of hyperlipidemia in Koreans(1). *J Kor Med Assoc* 18 : 345-354, 1975. (Korean)
- Vidyashankar S, Sambaiiah K, Srinivasan K: Dietary garlic and onion reduce the incidence of atherogenic diet-induced cholesterol gallstones in experimental mice. *Br J Nutr* 5 : 1-9, 2009.
- Warnick GR, Benderson J, Albers JJ: Dextran sulfate-Mg<sup>2+</sup> precipitation procedure for quantitation of high-density-lipoprotein cholesterol. *Clin Chem* 28 : 1379-1388, 2008.
- William P, Castelli MD: Cardiovascular disease and multifactorial risk: challenge of the 1980s. *Am Heart J* 106 : 1191-1200, 1983.
- Yang JM, Lee JI, Kim SJ, Song BS, Kee DH, Park SC, Soen IS: A study of pattern by the type of hyperlipidemia on the all disease in Koreans. *J Kor Med Assoc* 7 : 151-159, 1980. (Korean)

## < 국문초록 >

본 연구는 고지혈을 일으킨 햄스터에게 나린진과 양파즙을 투여하여 고지혈을 낮추는 효과를 조사하고자 하였다. 고지혈 햄스

터는 basal diet에 10% 코코넛오일과 0.05% 콜레스테롤로 고지혈을 일으켰다. 실험군은 5군의 그룹으로 나뉘어 40일간 실험식을 각각 제공하였는데 즉 정상군, 대조군, 50%의 양파즙과 50%의 물을 혼합한군(OEN), 100% 양파즙군(OES), 100% 양파즙과 1% 나린진을 혼합한군(OESN)이다. 나린진을 처리한 그룹에서는 혈청 총 콜레스테롤, 중성지방 레벨은 현저하게 감소되었

고 HDL 콜레스테롤은 증가하였다. 한편 간조직은 대조군과 비교하여 미토콘드리아와 핵의 형태가 현저하게 달랐다. 결론적으로 나린진을 함유한 양파즙은 간에서 콜레스테롤을 감소시켰다. 양파즙과 나린진추출물의 혼합은 콜레스테롤을 감소시키는 시너지 효과를 나타내었다.