

The Effect of *Opuntia humifusa* Seed Extracts on Platelet Aggregation and Serum Lipid Level in Ovariectomized Rats

Hyun Jung Hwang¹, Min Sook Kang¹, Bo Kyung Kim¹, Bok-Mi Jung² and Mihyang Kim^{1*}

¹Department Food and Nutrition, Silla University, Busan 617-738, Korea

²Major in Food Science and Nutrition, Chonnam National University, Chonnam 550-749, Korea

Received November 4, 2012 / Revised December 14, 2012 / Accepted December 16, 2012

Postmenopausal women are at an increased risk of developing coronary artery disease, primarily due to dyslipidemia that accompanies the loss of estrogen secretion. This study was performed to investigate the effects of *Opuntia humifusa* seed extracts on blood flow and serum lipid level in ovariectomized rats. Twenty-eight 9-week old female Sprague-Dawley rats were randomly assigned to four groups as sham-operated rats (SHAM), ovariectomized rats (OVX-CON), and ovariectomized rats that were treated with *Opuntia humifusa* seed extracts (OVX-OHS 2% and OVX-OHS 6%). The diets were fed to the rats for 7 weeks after operation. Serum total cholesterol and triglyceride contents decreased in the SHAM group compared to the OVX-CON group. Seven weeks of feeding of *Opuntia humifusa* seed extracts resulted in significant ($p<0.05$) lowering of serum triglyceride and a decreasing tendency in total cholesterol levels. The level of HDL-cholesterol in serum increased significantly by feeding diets containing the 2% and 6% *Opuntia humifusa* seed hot-water extract ($p<0.05$). Blood passage times were shorter in the *Opuntia humifusa* seed extract-supplemented groups than in the untreated group (OVX-CON). The platelet aggregation ability was lower in groups treated with *Opuntia humifusa* seed extracts than in the OVX-CON group. These results suggest that *Opuntia humifusa* seed extracts may have benefits in improving metabolic syndrome in menopausal women.

Key words : *Opuntia humifusa*, platelet aggregation, blood flow, serum lipids, ovariectomized rats

서 론

사회경제적 수준의 향상과 과학 및 의료기술 발달로 인해 인간의 평균 수명이 연장되면서 여성의 갱년기 이후의 삶이 일생의 1/3 이상을 차지하게 되었다. 갱년기란 폐경 전후 5~10년의 기간을 말하며[9], 난소의 기능이 저하되면서 estrogen의 분비가 체내 요구량에 미치지 못하게 되어 갖가지 신체변화가 일어나는 시기이다[5]. 갱년기에 나타나는 신체적 증상은 홍조와 발한, 심계항진으로 인한 수면 장애, 골다공증, 성욕 감퇴, 배뇨장애 등을 들 수 있으며, 심리적으로는 신경과민, 우울, 불안, 기억력 감퇴, 의욕상실 등의 증상을 들 수 있다[13]. 특히 폐경 약 2년 전부터 estrogen 감소로 인하여 모세혈관이 불규칙적으로 확장되면서 안면홍조가 나타나고 혈중에 저밀도 지질단백 콜레스테롤(LDL-cholesterol)이 증가하면서 허혈성 심장질환의 발생빈도가 증가하게 된다[18]. 이처럼 갱년기에 일

어나는 다양한 신체적, 정신적 증상은 만성 질환으로 이어질 확률이 높아 그 문제를 해결하기 위해 합성 estrogen을 포함한 호르몬 보충요법(hormone replacement therapy, HRT)을 이용하고 있으며, 이 호르몬 보충요법은 안면홍조, 발한, 심혈관계 질환, 골다공증의 예방에 효과가 있다고 보고된 바 있다[3]. 하지만 호르몬 보충 요법의 부작용으로 유방암의 위험도가 증가될 수 있다는 연구보고[29]가 있으며, 또한 치료 이전과 비교하여 혈중 중성지방의 상승으로 심혈관계 질환의 발병을 오히려 증가시킨다는 연구[22] 등으로 호르몬 요법의 위험성을 경고하였다. 이를 해결하기 위해 장기간의 섭취에도 부작용 없이 그 효과를 얻을 수 있는 기능성을 지닌 천연물에 관한 연구는 박[26], 김[17], 전[12] 등에 의해 대황, 곰피, 톳의 효과가 연구된 바 있으며 앞으로도 지속적인 연구가 필요하다. 동의보감에 의하면, '한국 토종 선인장의 열매와 줄기의 즙은 기(氣)의 흐름과 혈액 순환을 좋게 하고 열을 식혀 독을 풀어주며, 심장과 위의 통증 치료에 좋다고 된 바 있다[6]. 한국 토종의 내한성 선인장인 천년초는 일반적으로 손바닥 선인장으로 널리 알려진 제주산 백년초 선인장과는 달리 영하 20℃의 혹한에서도 생존이 가능해 수년에서 수십 년 생의 경작이 가능한 다년생 식물이다. 천년초에 대한 선행연구로는 천년초 줄기 추출물의 항산화 활성 및 사염화탄소로부터 간 손상 예방 효과[25], 김 등[16]에 의해 천년초 줄기와 열매 추출물의

*Corresponding author

Tel : +82-51-999-5620, Fax : +82-51-999-5457

E-mail : mihkim@silla.ac.kr

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.

Staphylococcus aureus, *Streptococcus mutans* 등에 대한 항균활성, 천연초에서 분리한 점질 다당의 면역활성과 구조적 특성에 관한 연구[6]가 진행되었다. 또한 당뇨유발 흰쥐에 있어서의 혈당 및 지질대사에 미치는 영향[14,35], 유방암 성장 억제 효능[37] 및 알레르기성 접촉피부염에 대한 면역증강 효과[15]에 대한 연구도 보고되었다. 심혈관계 질환과 마찬가지로 대표적인 갱년기 증상으로서 골 질환을 들 수 있는데, 폐경기 이후 피질골의 35%, 소주골의 50%가 소실된다고 보고되고 있으며 그 속도는 정상인의 약 3배에 달한다고 한다[28]. 천연초 추출물의 조골세포 활성 촉진에 미치는 영향에 대한 연구[11]에 의하면 천연초 열매 껍질, 씨, 선인장 줄기 추출물 중 천연초 열매의 씨에 의해 가장 높은 조골세포 활성 촉진을 나타내었다. 하지만 천연초 추출물이 estrogen 감소로 인한 심혈관계 질환 발병에 어떠한 영향을 미치는지에 관한 연구는 아직 진행된 바가 없다. 따라서 본 연구에서는 인위적으로 갱년기를 유도한 흰쥐를 이용하여, 골다공증 예방에 가장 효과가 있었던 천연초 씨 추출물이 혈중의 지질 농도, 혈소판 응집력 및 혈액 유동성에 어떠한 영향을 미치는지 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

추출물의 제조

본 실험에서 사용한 천연초(*Opuntia humifusa*) 열매는 2010년 10월 전남 여수시 돌산읍 라과엘 농장에서 구입하여 물로 4~5회 씻어 가시와 불순물을 제거하였다. 세척된 천연초 열매는 동결 건조하여 다시 씨와 껍질로 분리 하였다. 분리된 천연초 씨(*Opuntia humifusa* seed, OHS)를 분쇄하고 물 2 l를 가해 80°C에서 4시간 추출하여 분말화한 후 농도별로 식이에 첨가하였다.

실험동물

본 연구에서는 체중이 250-350 g인 9주령의 Sprague-Dawley계 암컷 흰쥐를 (주)오리엔트 바이오에서 분양 받아 1주일간 환경에 적응시킨 뒤 실험에 사용되었다. 적응 후 난소절제 수술(ovariectomy)을 하였고 비 난소절제 대조군에게는 sham-operation을 실시하였다. 수술 후 1주일간 고형 사료를 주어 상처가 회복된 후 각 군으로 나누었다. 즉, 실험동물은 비 난소절제 대조군(SHAM), 난소절제 대조군(OVX-CON), 난소절제 후 천연초 씨 열수 추출물 2% 함유 식이군(OVX-OHS 2%), 난소절제 후 천연초 씨 열수 추출물 6% 함유 식이군(OVX-OHS 6%)으로 각 7마리씩, 4군으로 나누어 매일 식이를 투여하며 7주간 사육하였다(Table 1). 실험기간 동안 식이 섭취량과 체중은 매일 일정한 시간에 측정하였으며 동물실험실의 사육조건으로 온도 24±2°C, 습도 50~55%를 유지시켰고, 광주기, 암주기를 12시간으로 조절하였다. 실험기간 동안 식

이와 물은 모든 군에서 제한 없이 섭취하게 하였다.

난소절제시술

실험동물을 ether로 마취하여 심마취기에 이르면 늑골하부를 절개하여 난소를 제거하고 절개부는 봉합하였다. 수술 후 3일간 모든 군에게 일반 식이를 공급하며 상처를 회복시켰다. 또한 대조군 설정을 위하여 비 난소절제군은 복막 절개 단계까지 난소절제 수술과 같은 방법으로 시행하고, 양측의 난소를 노출 하였다가 절제하지 않고 복막 속으로 다시 넣어 난소절제와 같은 스트레스를 주었으며, 다시 봉합하는 모의수술(sham operation)을 시행하여 이들을 대조군으로 사용하였다.

실험 식이

실험 식이는 기본적으로 조단백질 18% 이상, 조지방 6.7% 이상, 칼슘 0.8% 이상, 인 0.6% 이상을 포함하고 있는 실험동물 전용 고형사료(Lab Diet사의 5L79 rat용 사료)에 기준하였으며, 천연초 씨 추출물 첨가군은 분쇄된 사료에 천연초 씨 분말 2% (20 g/1 kg basics diet)와 6% (60 g/1 kg basics diet)을 각각 첨가하여 제조한 후 고형사료 형태로 공급하였다.

혈액 및 장기 채취

흰쥐의 혈액은 해부 전 24시간 절식시킨 후 ether 마취 하에 개복한 후 복대정맥에서 채취하였으며, 심장, 신장, 부신, 비장, 자궁, 폐, 간을 적출하여 주위의 지방과 물기를 제거하여 무게를 측정하였다.

혈청 중의 지질농도 분석

채취한 혈액은 실온에서 30분 방치 후 4°C, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 혈청 중의 중성지방, 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 분석은 자동 측정용 slide (FUJI FILM, Japan)를 이용하여 Dry chemistry analyzer 3500i (FUJI, Japan)로 측정하였다.

혈류 측정

혈류 측정에는 전혈을 사용하였으며 헤파린이 처리된 튜브를 이용해 응고를 방지한 후, Micro Channel Array Flow Analyzer KH-6 (MC Lab, Japan)에 채취한 혈액 100 µl를 주입하여 측정하였다.

혈소판 응집력 분석

Ether로 마취한 흰쥐를 개복하여 대동맥으로부터 채혈하고 3.2% sodium citrate 용액과 1:9의 비율로 혼합한 뒤 1,100 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층의 PRP (platelet rich plasma)를 취하고, 3,000 rpm에서 10분간 더 원심분리하여 상층 혈장을 제거한 후 EDTA를 포함하는 washing buffer (138 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 12 mM NaHCO₃, 0.36 mM NaH₂PO₄, 5.5

Table 1. Experimental design of animals

Groups (No) ¹⁾	Treatment
SHAM (7)	Operated rats
OVX-CON (7)	Ovariectomized rats
OVX-OHS 2% (7)	Ovariectomized rats supplemented diets containing the 2% <i>Opuntia humifusa</i> seed hot-water extract
OVX-OHS 6% (7)	Ovariectomized rats supplemented diets containing the 6% <i>Opuntia humifusa</i> seed hot-water extract

¹⁾No: Number of rats.

mM glucose, 1 nM EDTA, pH 6.5) 5 ml를 가하고 섞어주어 혈소판을 재 현탁시켰다. 이 혈소판을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 다시 suspending buffer로 현탁시켜 washed platelet을 조제하였다. Washed platelet는 suspending buffer로 희석하여 혈소판 수가 5×10^8 /ml이 되도록 하였고, 응집유도제로 collagen을 2.5 µg 가하여 5분간 반응시켜, Whole blood lumi-aggregometer (Chrono-log, U.S.A)를 사용해 37°C에서 혈소판 응집을 측정하였다.

통계처리

본 실험에 대한 모든 실험의 결과는 mean±SD 치로 나타내었고, 통계적 유의성은 SPSS version 17.0 통계 프로그램을 이용하여 상호비교하였다.

결과 및 고찰

실험동물의 체중 증가량, 식이효율 및 장기중량

난소절제 및 천년초 열수 씨 추출 분말 첨가식이 투여에 따른 체중변화와 식이 섭취량은 Table 2와 같다. 체중은 난소를 절제한 군(OVX)이 난소를 절제하지 않은 군(SHAM)에 비하여 높은 경향을 보였다. 이는 흰 쥐에서 난소를 제거하면 성장속도가 증가하여 체중이 증가하는 것이고, 체중 증가의 대부분은 체내 지방의 축적에 기인하는 것으로 보인다[34]. 한편 난소절제군에서의 체중 증가는 여러 연구 결과[23,24,30,31]가 보고되었고, Sclafani [8]는 난소절제는 식이 섭취량과 식이 효율을 증가시켜 거식증(hyperphagia)과 비만을 야기한다고 보고하고 있으며, 이 등[19]은 난소절제한 쥐들의 체중과 체지방 무게의 증가를 보고하였다. 본 연구에서도 난소를 절제 후

천년초 씨 추출물 첨가 식이를 투여한 군 또한 SHAM군에 비해 통계적 유의성은 나타나지 않았으나 최종 체중량이 증가하였으며, 난소절제 대조군과 비교하여 비슷한 수준을 나타내었다. 따라서 난소절제 시에는 여성호르몬의 부족으로 체내 지방조직이 증가하게 되나, 천년초 씨 추출물이 체중 감소에는 크게 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

식이효율은 비만을 나타내는 하나의 척도로 이용되고 있으며, 그 수치가 적을수록 비만조절 효과가 있다고 할 수 있다. OVX-OHS 2%군의 식이효율은 SHAM군에 비해 높았지만 OVX-CON군에 비교하였을 때는 낮게 나타났으며, OVX-OHS 6%군은 사료 섭취량이 높음에도 불구하고 식이효율이 낮게 나타났다.

Table 3은 각 실험동물의 장기 중량을 나타낸 것이다. 간, 신장, 폐, 비장, 부신, 심장의 무게는 각 군 간의 큰 차이를 보이지 않았다. 그러나 각 군의 자궁 무게를 비교 해 보면, 난소를 절제한 OVX-CON군과 천년초 씨 추출물 첨가 식이를 섭취한 군에서 SHAM군에 비해 감소하는 경향을 볼 수 있다. 이는 난소절제 시 estrogen의 감소로 자궁의 성장이 억제된 것으로 보이며, 식물 추출물의 자궁 보호 효과에 대해서는 연구는 계속되고 있으나 아직 명확한 결과는 밝혀지지 않은 실정이다[33].

혈청 중 중성지방 및 총 콜레스테롤 함량

관상동맥 위험요인과 심질환과의 관계에 대해서는 잘 알려져 있으며 고콜레스테롤혈증과 고혈압과 같은 관상동맥은 내피세포 기능장애(endothelial dysfunction), 콜레스테롤의 침착 및 변화를 통해 관상동맥경화증을 촉진시킨다[20]. Bonithon-Kopp 등[4]의 연구에서 폐경 전에 비해 폐경 후 저

Table 2. Body weight gain, food intake and food efficiency ratio of rats supplemented with *Opuntia humifusa* seed hot-water extracts for 7 weeks

Groups ¹⁾	Final body weight (g)	Body weight gain (g/day)	Food intake (g/day)	Food efficiency ratio (FER) ³⁾
SHAM	294.01±24.11 ²⁾	4.95±3.24	24.24±4.46	0.20±0.02
OVX-CON	328.40±19.88	5.09±5.98	22.98±5.63	0.22±0.03
OVX-OHS 2%	334.24±17.40	7.58±4.45	35.27±2.89	0.21±0.02
OVX-OHS 6%	338.18±21.12	6.79±4.88	36.26±3.56	0.18±0.02

¹⁾See the legend of Table 1.

²⁾The results are mean±SD for 7 rats in each group.

³⁾FER: Weight gain/food intake (g/day).

Table 3. Organ weight of rats on supplemented with *Opuntia humifusa* seed hot-water extracts for 7 weeks

Groups ¹⁾	Liver	Heart	Lung	Spleen	Adrenal	Kidney	Uterus
SHAM	8.87±1.02 ²⁾	1.06±0.02	1.28±0.19	0.59±0.14	0.06±0.00	2.08±0.18	0.70±0.02 ³⁾
OVX-CON	8.29±0.56	0.97±0.10	1.49±1.08	0.62±0.10	0.06±0.05	1.96±0.09	0.24±0.04
OVX-OHS 2%	8.47±1.39	1.17±0.02	1.48±0.69	0.64±0.10	0.07±0.01	1.87±0.10	0.21±0.01
OVX-OHS 6%	8.23±0.78	1.13±0.02	1.43±0.42	0.69±0.18	0.07±0.03	1.87±0.04	0.22±0.03

¹⁾See the legend of Table 1.

²⁾The results are mean±SD for 7 rats in each group.

³⁾* $p < 0.05$, significantly different from OVX-CON group.

밀도 지단백, 콜레스테롤과 아포지단백 B 농도는 약 25% 증가하는 것으로 나타났다. 본 연구에서 천년초 씨 추출물 섭취로 인한 혈청 중 중성지방과 총 콜레스테롤에 미치는 영향을 연구한 결과는 Table 4와 같다. 총 콜레스테롤 함량의 경우, 난소를 절제하여 인위적인 갱년기를 유도한 OVX-CON군은 SHAM군에 비해 증가하였으며, OVX-OHS 6%군은 OVX-CON군과 비교하여 다소 감소하는 경향은 나타났으나, 통계적인 유의성은 나타나지 않았다. 혈청 중 중성지방 함량의 경우 SHAM군에 비해 난소 절제로 인해 OVX-CON군의 중성지방 함량은 유의적으로 증가하였다. 천년초 씨 추출물이 2%와 6% 함유된 사료를 섭취시킨 OVX-OHS 2%군 및 OVX-OHS 6%군의 경우, OVX-CON군과 비교하여 중성지방 함량이 유의적으로 감소하는 결과가 나타났다. 이러한 결과는 Anderson 등[1]이 연구한 대두 단백질 섭취가 고콜레스테롤혈증 환자(>6.47 mmol/dl)의 혈중 총 콜레스테롤 및 중성지방 농도를 감소시켰다는 효과와 유사한 것으로 천년초 추출물의 심혈관 질환의 예방 소재로서 활용 가능할 것으로 판단된다.

혈청 중 HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, 동맥경화지수 및 심혈관위험지수

심혈관계 질환의 방어인자인 고밀도 지단백 콜레스테롤(high density lipoprotein cholesterol, HDL-cholesterol)은 혈관내피세포에 저밀도 지단백 콜레스테롤(low density lipoprotein cholesterol, LDL-cholesterol)과는 반대의 영향을 미친다. HDL-콜레스테롤의 증가는 내피세포의 혈관조절기능 장애를 방지한다고 알려져 있으며[7], NF- κ B의존성 경로에

Table 4. Contents of total cholesterol and triglyceride in the serum of ovariectomized rats with *Opuntia humifusa* seed hot-water extracts (mg/dl)

Groups ¹⁾	Total cholesterol	Triglyceride
SHAM	134.87±10.24 ²⁾	51.95±6.41 ³⁾
OVX-CON	136.17±9.26	69.55±6.60
OVX-OHS 2%	136.95±7.53	55.08±7.26*
OVX-OHS 6%	132.65±11.29	54.01±8.84*

¹⁾See the legend of Table 1.

²⁾The results are mean±SD for 7 rats in each group.

³⁾* $p < 0.05$, significantly different from OVX-CON group.

의해 내피세포 내의 접착물질(adhesion molecule)의 발현을 감소시킨다고 보고된 바 있다[38]. 천년초 씨 추출물 첨가 식이를 7주간 섭취한 흰쥐의 혈청 중 HDL-콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤의 함량, 동맥경화지수와 심혈관 위험지수에 대한 영향을 나타낸 결과는 Table 5와 같다. 혈청 중 HDL-콜레스테롤 농도는 난소를 절제한 OVX-CON군에 비해 SHAM군이 유의적으로 증가하였으며, 천년초 씨 추출물 첨가 식이 섭취군은 OVX-CON군에 비해 통계적 유의성은 없으나 다소 증가하는 경향을 나타내었다. 한편, 혈청 중 LDL-콜레스테롤 함량은 OVX-CON군(79.09±3.87 mg/dl)의 경우 SHAM군(49.98±5.14 mg/dl)에 비해 유의적으로 증가하였으나, 천년초 추출물 투여군인 OVX-OHS 2%(72.20±8.30 mg/dl)군과 OVX-OHS 6%(76.40±4.51 mg/dl)군의 경우 OVX-CON군에 비해 유의적으로 감소하는 결과가 나타났다. 천년초 추출물이 지방세포의 분화를 억제하였다는 김 등의 연구[15]에서와 같이, 본 연구에서도 특히 천년초 씨 추출물 중의 폴리페놀 및 플라보노이드 물질에 의해 지방세포 내 지방 축적이 억제되어 혈중 LDL-콜레스테롤 함량이 감소한 것으로 판단된다. 한편, 동맥경화지수(atherogenic index, AI)는 난소 절제한 OVX-CON군에 비하여 난소 절제 후 천년초 씨 추출물 첨가식을 섭취한 OVX-OHS 6%군에서 유의적으로 감소되었다. 또한 심혈관위험지수를 나타내는 CRF역시 난소를 절제한 OVX-CON군(1.60±0.03 mg/dl)에서 정상군인 SHAM군(1.41±0.14 mg/dl)에 비하여 높은 수치를 나타내었으나, 천년초 씨 추출물 첨가식이 섭취로 인해 감소하는 결과를 나타내었으며, 특히 OVX-OHS 6%군(1.49±0.05 mg/dl)에서 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 윤 등에 의하면 당뇨 유발 흰쥐에서 손바닥 선인장이 혈중지질 증가를 억제하여 항고지혈증 예방에 효과를 발휘하는 결과가 나타났다고 하였으며[35,36], 본 연구에서도 AI 및 CRF가 증가하는 조건에서 천년초 씨 추출물 투여로 인하여 감소하는 결과가 나타나 품종의 차이는 있으나 천년초 또한 항고지혈증 예방 효과를 기대할 수 있는 것으로 사료된다.

혈류 개선 효과

폐경으로 인한 estrogen의 결핍은 혈관저항의 증가를 초래

Table 5. Contents of HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, atherogenic index (AI) and cardiac risk factor (CRF) with *Opuntia humifusa* seed hot-water extracts (mg/dl)

Groups ¹⁾	HDL-cholesterol	LDL-cholesterol ²⁾	AI ³⁾	CRF ⁴⁾
SHAM	95.25±3.96 ⁵⁾⁶⁾	49.98±5.14 [*]	0.41±0.14 [*]	1.41±0.06 [*]
OVX-CON	84.69±3.22	79.09±3.87	0.60±0.32	1.60±0.03
OVX-OHS 2%	86.44±7.09	72.20±8.30 [*]	0.58±0.27	1.58±0.13
OVX-OHS 6%	88.91±5.89	76.40±4.51 [*]	0.49±0.22 [*]	1.49±0.05 [*]

¹⁾See the legend of Table 1.

²⁾LDL-cholesterol=(total cholesterol-(HDL-cholesterol-triglyceride/5))

³⁾AI (atherogenic index)=(total cholesterol-HDL-cholesterol)/HDL-cholesterol

⁴⁾CRF (cardiac risk factor)= total cholesterol/HDL-cholesterol

⁵⁾The results are mean±SD for 7 rats in each group.

⁶⁾*p<0.05, significantly different from OVX-CON group.

하게 되는데, 내인성 당뇨병, 고혈압, 심부전증, 고지혈증 등과 같은 죽상경화증 위험인자를 지니고 있던 있는 환자는 갱년기 초기부터 혈관확장반응의 장애가 동반될 가능성이 높다[32]. 혈류의 흐름에 미치는 천연초 씨 추출물의 영향을 검토하기 위해 각 군의 혈액을 채취하여 항응고제인 헤파린을 처리하였다. 혈액의 유동성을 시각적, 정량적으로 인식해 혈액의 속도를 측정할 수 있는 Micro channel array flow analyzer (MC-FAN)를 이용해 일정한 압력으로 혈액이 모세관을 25, 50, 75, 100 µl 통과하는 시간을 측정하였다(Fig. 1). 그 결과 25, 50 µl 통과 시 각 군간에 별다른 차이가 나타나지 않았으나 75 µl 부터 OVX-CON군의 모세관 통과 시간이 지연되기 시작하였으며 100 µl 통과 시에는 난소를 절제하지 않은 SHAM군에 비해 뚜렷이 지연되는 결과가 나타났다. 한편 난소 절제 후 천연초 씨 추출물을 첨가한 식이를 섭취한 OVX-OHS 2% 군과 OVX-OHS 6%군은 100 µl 통과 시 OVX-CON군과 비교하여 빠른 속도로 통과하였고, 특히 OVX-OHS 6%군에서 현저히 그 속도가 증가하는 것을 확인 할 수 있었다. Pines는 Estrogen요법 시 혈관은 확장되고 혈관저항은 감소되어 혈류량은 증가하는 것으로 보고하였으며[27], 본 연구 결과 천연물

추출물 투여군에서 혈행 개선 효과가 나타나, 식물성 estrogen 또한 estrogen과 유사한 구조와 기능을 가짐으로써 혈관에 대한 유사한 작용을 나타낼 것으로 추측된다. 천연초에는 항산화 활성을 나타내는 폴리페놀 및 플라보노이드가 다수 포함되어 있는 것으로 알려져[10,14,37], 천연초 중의 estrogen 유사 활성 물질의 효능이 기대되며 추후 물질 분리 및 구조분석이 요구되어진다.

혈소판 응집에 미치는 영향

혈소판은 혈관손상에 반응하여 혈액손실을 막아주는 결정적인 역할을 하지만, 병리적인 혈전에 반응하여 급성 혈관중상동맥혈전증을 일으키며 이는 심근경색을 포함하는 급성관상동맥증후군, 허혈성 뇌졸중, 허혈성 뇌발작 등의 원인이 되기도 한다[21]. 이러한 심각한 병증을 예방·치료 할 수 있는 약물들로는 현재 혈전 용해제, 항응고제 및 항혈소판제 등이 있는데, 이 치료제들은 혈전의 구성성분인 fibrin을 분해시켜 이미 생성된 혈전을 용해시켜 줌으로서 응급 또는 단기 치료 목적으로 유용하게 쓰이고 있지만 내출혈 또는 전신성 출혈 등의 부작용이 나타나 장기 치료 목적에는 부적합하기 때문에 [2] 천연물 유래 예방·치료 소재 개발이 시급하다. 난소 절제로 인해 estrogen이 결핍되어 혈청 중 지질 함량이 증가한 상태에서 천연초 씨 추출물 첨가 식이의 섭취로 인한 혈소판 응집 억제효과를 검토하기 위해 washed platelet를 분리하고 collagen 2 µg로 혈소판 응집을 유도하였다. 그 결과 천연초 씨 추출물을 첨가한 식이를 섭취한 군에서 OVX-CON군에 비해 혈소판 응집을 억제하는 효과를 나타냈다(Table 6). Amplitude (%)는 각 실험동물의 혈액에서 정제된 혈소판만을 분리하여 응집 유도제를 첨가하였을 때 일어나는 최대 응집 정도를 나타내는 것으로써 난소절제군인 OVX-CON군이 난소를 절제하지 않은 SHAM군에 비해 응집이 촉진되었으나, 천연초 추출물 투여군인OVX-OHS 6%군에서 유의적으로 감소하는 결과가 나타났다. Slop (Ω/min)은 응집 유도제를 첨가한 직후부터 1분 동안의 응집곡선의 기울기를 말하며 응집의 진행과 함께 혈소

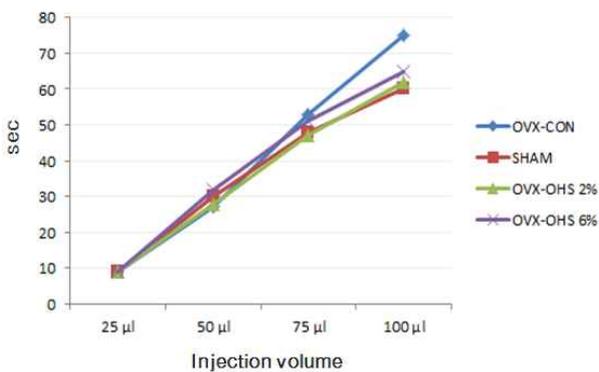


Fig. 1. Effect of *Opuntia humifusa* seed hot-water extracts on micro channel array in ovariectomized rats. The blood flow was analyzed for a period of 100 seconds using the Micro Channel Array Flow Analyzer.

Table 6. Effect of *Opuntia humifusa* seed hot-water extracts against collagen induced platelet aggregation in ovariectomized rats

Groups ¹⁾	Amplitude (%)	Slop (Ω /min) ²⁾	Lag time (sec)
SHAM	89.17 \pm 4.77 ³⁾⁴⁾	126.98 \pm 3.53*	19.23 \pm 3.56
OVX-CON	109.85 \pm 2.24	139.75 \pm 2.43	21.89 \pm 1.54
OVX-OHS 2%	109.81 \pm 1.24	134.70 \pm 5.56	21.54 \pm 3.89
OVX-OHS 6%	100.69 \pm 4.67*	129.81 \pm 2.57*	20.15 \pm 1.76

¹⁾See the legend of Table 1.

²⁾Initial slop is ohm change for the first on minute.

³⁾FER: Weight gain/food intake (g/day).

⁴⁾* p <0.05, significantly different from OVX-CON group.

판이 platinum electrodes에 부착됨으로써 발생하는 전기저항의 크기를 혈소판 응집치로 나타낸 것이다. 난소절제로 인해 OVX-CON군이 SHAM군과 비교하여 slop이 증가하여 혈소판 응집이 촉진되었으나 천년초 추출물 투여에 의해 감소하였고 특히 OVX-OHS 6%군에서 유의적으로 감소하여 혈소판 응집이 억제되었다. 이상의 결과에서 천년초 추출물이 난소절제로 인한 혈소판 응집 억제 효과를 나타내었고, 이러한 결과들은 천년초 추출물이 혈관 관련성 질환 예방에 활용될 수 있는 소재로 기대된다.

References

- Anderson, J. W., Johnstone, B. M. and Cook-newell, M. E. 1995. Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. *N. Engl. J. Med* **33**, 276-282.
- Badimon, L, Badimon, J. J., Penny, W., Webster, M. W., Chesebro, J. H. and Fuster, V. 1992. Endothelium and atherosclerosis. *J. Hypertens* **10**, 43-50.
- Belchetz, P. E. 1994. Hormonal treatment of postmenopausal women. *N. Engl. J. Med* **14**. 1062-1071.
- Bonithon-Kopp, C, Scarabin, P. Y., Darne, B., Malmejac, A. and Guize, L. 1990. Menopause-related changes in lipoproteins and some other cardiovascular risk factors. *Int. J. Epidemiol.* **19**, 42-48.
- Campagnoli, C., Biglia, N., Peris, C. and Sismondi, P. 1995. Potential impact on breast cancer risk of circulating insulin-like growth factor I modifications induced by oral HRT in menopause. *Gynecol. Endocrinol.* **9**, 67-74
- Choi, J. H. 2011. Structural analysis of anti-metastatic polysaccharides isolated from *Opuntia humifusa*. *M. S. Thesis*, Graduate School of Kyonggi University, Korea.
- Clarkson, T. B. 2002. Soy phytoestrogens a cardiovascular disease. *J. Nutr.* **132**, 566-569.
- Gale, S. K. and Sclakani, A. 1977. Comparison of ovarian and hypothalamic obesity syndromes in the female rat: effect of diet palatability on food intake and body weight. *J. Comp. Physiol. Psychol.* **91**, 381-392.
- Gavey, D. A. 1986. The menopause and climacteric. In Whitfield, C. R. (ed.), Dewhurst's text-book of obstetrics and gynecology for postgraduates. 4th eds., Oxford : Blackwell scientific publications, 646-676.
- Han, I. H., Lee, K. A. and Byoun, K. E. 2007. Antioxidant activity of Korean cactus (*Opuntia humifusa*) and the quality characteristics of cookies with cactus powder added. *Korean J. Food Cookery Sci.* **23**, 443-451.
- Hwang, H. J., Jung, B. M. and Kim, M. H. 2012. ROS scavenging effect and cell viability of *Opuntia humifusa* extract on osteoblastic MC3T3-E1 cells. *J. Life Sci.* **21**, 1752-1760.
- Jeon, M. H. 2011. Effect of *Hijikia fusiforme* fractions on proliferation and differentiation in osteoblastic MC3T3-E1 cells. *J. Life Sci.* **21**, 300-308.
- Ji, S. E. 1983. Analysis of the relationship between middle-aged woman's attitudes toward middle adulthood developmental changes and their self-reported climacteric symptoms. *M.S. Thesis*, Graduate School of Yonsei University, Korea.
- Kim, D. J., Jung, J. H., Kim, S. G., Lee, H. K., Lee, S. K., Hong, H. D., Lee, B. Y. and Lee, O. H. 2011. Antioxidants and anti-obesity activities of hot water and ethanolic extracts from Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*). *Korean J. Food Preserv.* **18**, 366-373.
- Kim, S. G. 2011. Effects of Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*) extracts on the inhibition of adipocyte differentiation and the reduction of reactive oxygen species. *D.S. Thesis*, Kongju University, Korea.
- Kim, S. Y. 2003. Studies on the separation of antioxidative and anti-microbial compounds of Korean perennial cactus Cheonnyuncho. *Ph D Dissertation*, Hoseo University, Korea.
- Kim, Y. K., Jeon, M. H., Park, Y. S., Hwang, H. J., Lee, S. H., Kim, S. G., Kim, Y. Y. and Kim, M. H. 2010. The Effect of *Ecklonia stolonifera* extracts on blood flow and serum lipid level in ovariectomized rats. *J. Life Sci.* **20**, 1851-1858.
- Lee, H. S. 2001. Experiences of postmenopausal women about hormone replacement therapy. *M.S. Thesis*, Graduate School of Chungang University, Korea.
- Lee, S. S. and Park, J. H. 1989. Long-term effect of ovariectomy on body composition. *Korean J. Nutr.* **22**, 102-107.
- Levine, G. N., Keaney, J. F. and Vita, J. A. 1995. Cholesterol reduction cardiovascular disease; Clinical benefits and possible mechanisms. *N. Engl. J. Med* **33**, 512-521.
- Lisa, K. 2009. Mechanisms of platelet activation: Need for

- new strategies to protect against platelet-mediated atherothrombosis. *Thromb Haemost.* **2**, 248-257.
22. Manolio, T. A., Pearson, T. A., Wenger, N. K., Barrett-Connor, E., Opayne, G. H. and Harlan, W. R. 1992. Cholesterol and heart disease in older persons and women. Review of an NHLBI workshop. *Ann. Epidemiol.* **2**, 161-176.
 23. Mook, D. G., Kenney, N. J., Roberts, S. and Nussbaum, A. I. 1972. Ovarian-adrenal interactions in regulation of body weight by female rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.* **81**, 192-211.
 24. Mueller, K. and Hsiao, S. 1980. Estrus and ovariectomy-induced body weight changes: evidenced for two estrogenic mechanisms. *J. Comp. Physiol. Psychol.* **5**, 1126-1134.
 25. Park, M. K., Lee, Y. J. and Kang, E. S. 2005. Hepatoprotective effect of Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*) extract in rats treated carbon tetrachloride. *J. Korean Food Sci. Technol.* **37**, 822-826.
 26. Park, Y. S. and Kim, M. H. 2012. The effect of *eisenia bicyclis* extracts on antioxidant activity and serum lipid level in ovariectomized rats. *J. Life Sci.* **22**, 1407-1414.
 27. Pines, A. 1991. The effects of hormone replacement therapy in normal postmenopausal women : measurements of Doppler-derived parameters of aortic flow. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **164**, 806-812.
 28. Riggs, B. L., Wahner, H. W., Dunn, W. L., Mazess, R. B., Offord, K. P. and Melton, L. J. 1981. Differential changes in BMD of the appendicular and axial skeleton with aging : relationship to spinal osteoporosis. *J. Clin. Invest.* **67**, 328-335.
 29. Rossouw, J. E., Anderson, G. L., Prentice, R. L., LaCroix, A. Z., Kooperberg, C., Stefanick, M. L., Jackson, R. D., Beresford, S. A., Howard, B. V., Johnson, K. C., Kotchen, J. M. and Ockene, J. 2002. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* **288**, 321-333.
 30. Schemmel, R. A. and Teague, R. T. 1982. Obesity in Osborne mendel and S 4B/P1 rats : effects of sucrose solution, castration and treatment with estradiol or insulin. *Am. J. Physiol.* **243**, 347-352.
 31. Shimizu, H. and Shimomura, Y. 1992. Colonic temperature was not changed in the development of obesity after ovariectomy. *Exp. Clin. Endocrinol.* **2**, 99-101.
 32. Tesfamariam, B. 1994. Free radicals in diabetic endothelial cell dysfunction. *Free Rad. Biol. Med.* **16**, 383-391.
 33. Wolfgang, W., Huberus, J., Tamara, B., Alexander, S., Volker, C., Christoph, G. and Dana, S. W. 2003. Phytoestrogen: endocrine disrupters or replacement for hormone replacement therapy. *Maturitas* **4**, 1-12.
 34. Yamazaki, I. and Yamaguchi, H. 1989. Characteristics of an ovariectomized osteogenic rat model. *J. Bone Miner. Res.* **4**, 13-22.
 35. Yoon, J. A. and Son, Y. S. 2009. Effects of fruits and stems of *Opuntia ficus-indica* on blood glucose and lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **38**, 146-153.
 36. Yoon, J. A. and Son, Y. S. 2009. Effects of *Opuntia ficus-indica* complex B (OCB) on blood glucose and lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J. Food Nutr.* **22**, 48-56.
 37. Yoon, J. A., Hahn, S. W., Park, J. and Son, Y. S. 2009. Total polyphenol and flavonoid of fruit extract of *Opuntia humifusa* and its inhibitory effect on the growth of MCF-7 human breast cancer cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **38**, 1679-1684.
 38. Zeher, A. M., Schachlinger, V. and Hohnlosr, S. H. 1994. Coronary atherosclerotic wall thickening and vascular reactivity in humans: Elevated high-density lipoprotein levels ameliorate abnormal vasoconstriction in early atherosclerosis. *Circulation* **25**, 2525-2532.

초록 : 천년초 씨 추출물이 난소를 절제한 흰쥐의 혈소판 응집과 혈청 내 지질 구성에 미치는 영향

황현정¹ · 강민숙¹ · 김보경¹ · 정복미² · 김미향^{1*}

(¹신라대학교 식품영양학과, ²전남대학교 식품영양학과)

Estrogen의 감소는 다양한 생리적 변화를 초래하며 특히 심혈관계 질환을 빠르게 진행시킨다고 보고되고 있다. 본 연구에서는 실험동물인 흰쥐의 난소를 절제하여 인위적으로 갱년기를 유도한 후 선인장류인 천년초 씨 추출물의 혈중 지질 함량 및 혈류 개선에 대한 영향을 검토하였다. 7주 동안 천년초 씨 추출물을 섭취한 OHS 2%, OHS 6%군은 체중이 다소 증가하여 체중감소에는 효과를 나타내지 않았지만 섭취 농도가 증가 할수록 식이 효율은 낮아져 비만조절 효과의 가능성이 기대된다. 총 콜레스테롤 함량은 천년초 추출물 투여로 인한 유의성 있게 감소하는 결과가 나타나지 않았으나, 혈청 중 중성지방 함량의 경우 천년초 씨 추출물이 2%와 6% 함유된 사료를 섭취시킨 OVX-OHS 2%군 및 OVX-OHS 6%군의 경우, OVX-CON군과 비교하여 중성지방 함량이 유의적으로 감소하는 결과가 나타났다. 혈청 중 LDL-콜레스테롤 함량은 OVX-CON군의 경우 SHAM군에 비해 유의적으로 증가하였으나, 천년초 추출물 투여군인 OVX-OHS 2%군과 OVX-OHS 6%군의 경우 OVX-CON군에 비해 유의적으로 감소하는 결과가 나타났다. 동맥경화지수(atherogenic inde, AI)는 난소 절제한 OVX-CON군에 비하여 난소 절제 후 천년초 씨 추출물 첨가식을 섭취한 OVX-OHS 6%군에서 유의적으로 감소되었다. 또한 심혈관위험지수를 나타내는 CRF역시 천년초 씨 추출물 첨가식이 섭취로 인해 감소하는 결과를 나타내었으며, 특히 OVX-OHS 6%군에서 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 또한 천년초 씨 추출물을 섭취로 인해 난소절제군과 비교하여 혈류 흐름을 개선시키고 혈소판 응집을 저해하는 경향을 나타내었다. 따라서 천년초 씨 추출물이 갱년기 여성의 심혈관계 질환에 유효한 효과를 나타낼 것으로 사료된다.