지질분해효소 저해물질 함유 도둑놈의 갈고리 추출물의 영양특성 및 생리기능성

이종국 · 강민구* · †이종수*

충남 농업기술원. "배재대학교 생명유전공학과

Nutritional Characteristics and Physiological Functionality of Lipase Inhibitor-Containing *Desmodium oxyphyllum DC. Extracts*

Jong-Kug Lee, Min-Gu Kang* and *Jong-Soo Lee*

Chungnam Agricultural Research and Extension Services, Yesan 340-861, Korea *Dept. of Life Science and Genetic Engineering, Paichai University, Daejeon 302-735, Korea

Abstract

This study was performed to develop new anti-obesity agents from medicinal plants for functional food industry. We prepared lipase inhibitor-containing ethanol extracts from *Desmodium oxyphyllu* DC. and its nutritional characteristics, stability of temperature and pH and physiological functionalities were investigated. Crude lipid content and curde protein content of ethanol extract from *Desmodium oxyphyllum* DC. were 26.5% and 5.7%, respectively and its asparagine content was 4,860 mg/100 g, dry basis. The ethanol extracts were also stable from pH 3.0 to pH 9.0 and below 80°C. The ethanol extract were showed high lipase inhibitory activity of 74.2% and acetylcholinesterase inhibitory activity of 68.4%.

Key words: nutrition, physiological functionality, lipase inhibitor, Desmodium oxyphyllum DC

서 론

고혈압과 당뇨 등과 함께 비만은 심혈관 질환, 당뇨, 암, 간 질환 등 여러 가지 만성질환을 유발시키고, 관절염, 담석증과 근육-골격계통 질환 등의 발병 요인이 된다고 보고되었다(Caman 등 1994; Tornberg 등 1994; Huang 등 1997; Davis 등 1998; Rexrode 등 1998; Shoff 등 1998).

대사 조절을 통한 비만 예방법으로는 탄수화물 분해효소나 췌장 lipase를 저해하는 방법들이 알려져 있는데, 지금까지 췌장 lipase 저해제로서는 Orlistat, 탄수화물 분해효소 저해제로는 Acarbose가 개발되었다(Vedula 등 1991). 국내에서 비만억제 효능을 갖는 소재 또는 물질의 탐색 및 제품 개발이 최근 들어 더욱 활발하게 진행되고 있는데(Kim 등 2006), 고추의 매운 맛 성분인 capsaicin의 대사 조절 효능을 응용한 제품,

난소화성 다당체(식이섬유)를 이용한 제품, 동아, α -glucosidase 저해제를 함유한 음료 등이 출시되거나 개발되어 있다 (Kim 등 1999). 또한, 버섯추출물, 한약재 추출물, 산채류, flavonoids 등에 대한 α -glucosidase의 저해 활성을 탐색하여 활성성분으로 luteolin 등을 확인하였다(Kim 등 2000). 또한, lipase 저해제는 phosphatidyl choline, 콩의 단백질과 여러 곡물, tannin 같은 천연 물질에서 알려져 있다(Levinson ML 1977). 또한 미생물 기원의 lipase 저해제로는 *Streptomyses toxytricini*로 부터생산된 Xenical(Olistat)이 다양한 임상실험을 통하여 lipase 저해 활성이 인정되어 비만 치료제로써 응용되고 있다(Bray 등 1999). 그러나, 위와 같이 다양한 lipase 저해제가 식물이나 미생물들로부터 생산되었지만, 현재 FDA에 승인되어 시판되고 있는 항비만제는 Sibutramine(serotonin-norepine phrine reuptake inhibitor)과 Orlistat(Xenical) 2종뿐 다양한 항비만 소제들의

Corresponding author: Jong-Soo Lee, Dept. of Life Science and Genetic Engineering, Paichai University, Daejeon 302-735, Korea. Tel: +82-42-520-5388, Fax: +82-42-520-5388, E-mail: biotech8@pcu.ac.kr

산업화는 미미한 실정에 있다.

따라서 저자 등은 새로운 항비만 치료(예방) 효과를 갖는 건강식품이나 의약품 소재를 개발하고자 전보(Lee 등 2011)에서 560종 약용 식물의 다양한 추출물들을 제조한 후 이들의 lipase 저해 활성을 측정하여 lipase 저해 활성이 높은 도둑 놈의 갈고리(Desmodium oxyphyllum DC.)를 최종 선발하여,이들의 대량 추출 조건 등을 조사하여 보고하였다. 본 연구에서는 lipase 저해물질을 함유한 도둑놈의 갈고리(Desmodium oxyphyllum DC.) 추출물의 영양성분과 온도, pH 안정성 및 생리기능성 등을 조사하였다.

실험 재료 및 방법

1. 실험 재료

본 연구에서 사용한 도둑놈의 갈고리(Desmodium oxyphyllum DC.)는 2009년도에 재배된 것을 충남농업기술원에서 수집하 여 40℃ 열풍건조기에서 건조한 후 잘게 잘라서 분쇄기에 넣고 분쇄하여 20 mesh 표준체로 쳐서 그 시료를 사용하였다.

2. 시약 및 기기

Lipase 저해 활성 측정에는 효소로 porcine pancreatic lipase (Type II, Sigma-Aldrich Co.)를 사용하였고, 기질로는 triolein (Sigma-Aldrich Co.)을 사용하였으며, buffer 제조에는 TES(N-Tris (hydroxymethyl)methyl-2-aminoethanesulfonic acid), taurocholic acid, gum arabia(Sigma-Aldrich Co.)를 사용하였고, 발색시약으로는 bathocuproine(2-9-dimethyl-4-7-diphenyl-1,10-phenanthroline, Sigma-Aldrich Co.)을 사용하였다.

사용된 실험기기로 효소 활성 측정에는 UV spectrophotometer (Thermo Labsystems Multiscan, Finland)와 원심분리기(Supra-22K, Hanil Co., Korea)를 사용하였고, 단백질 분석에는 C/N 자동분석기(Vario Max CN., Germanny), 무기물 분석에는 ICP(Varian Co. U.S.A)를 사용하였다.

3. 추출물의 제조

건조 분말 10 g을 80% 에탄올 200 元를 넣고 40℃에서 48 시간 추출한 후 8,000 rpm으로 20분간 원심 분리하고 rotary evaporator를 이용하여 감압 농축한 다음 동결 건조하여 추출 물을 제조하였다.

4. Lipase 저해 활성 측정

Lipase의 저해 활성은 Bitou 등(1999)의 방법을 일부 변형 시켜 triolein으로부터 생성되는 oleic acid를 측정하여 저해 활 성을 산출하였다. 기질은 0.1M NaCl이 첨가된 0.1N TES(*N*-Tris (hydroxymethyl) methyl-2-aminoethanesulfonic acid) buffer(pH 7.0) 9 ml에 trioein(120 mg), gum arabic(90 mg), taurocholic acid(10.16 mg)을 넣고 5분간 sonication하여 제조하였다. Lipase 활 성측정을 위한 반응용액은 효소용액(pancreatic lipase, 500 U/ ml) 50 μ l, 시료추출물 50 μ l(4 mg/ml), 기질용액 300 μ l를 첨가하여 최종부피가 400 μ l가 되도록 제조한 후, 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응하였다.

효소반응 후 생성된 oleic acid의 정량은 Zapf 등(1981)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 효소반응 후 반응용액(incubation mixture) 0.4 ㎡에 2%(v/v) 에탄올이 포함된 chloroform/n-hexane (1:1)용액 3 ㎡를 첨가하여 10분 동안 교반한 후 원심분리 (2,000×g)하여 수층을 제거하였다. 여기에 copper 반응액 1.0 ㎡을 첨가하여 다시 10분 동안 진탕한 후, 10분간 원심분리 (2,000×g)하고, 추출된 유리 지방산의 copper salts가 함유되어 있는 organic phase 1.0 ㎡를 취하여 0.05%(w/v) 3-tert-buyl-4-hydroxyanisol이 포함된 0.1%(w/v) bathocuproine-chloroform용액 0.5 ㎡를 혼합하여 10분간 반응 후 480 ㎡에서 흡광도를 측정하였다.

Inhibition activity(%) = $(A-B)/A \times 100$

A: Enzyme activity without inhibitor

B: Enzyme activity with inhibitor

5. Lipase 저해물질함유 도둑놈의 갈고리 추출물의 영양 성분과 생리기능성

일반성분은 A.O.A.C법에 따라 분석하였다. 즉, 수분은 105℃ 상압 가열법으로, 단백질 함량은 질소 분석기(Elementar, Germany)로 분석하였으며, 조지방은 Soxhlet extraction method로, 회분함량은 550℃ 회화법으로 분석하였으며, 탄수화물 함량은 계산법으로 환산하였다. 무기성분 함량은 습식 분해하여 ICP(Varian. Nederland)로 분석하였다.

Table 1. Analysis conditions of HPLC for determination of organic acids and free amino acids

Organic acids	Free amino acids			
Waters 2695	Waters 2965			
YMC C ₁₈ column	AccQ-Tag Column			
(3.9×150 mm, 5 μm)	$(3.9 \times 150 \text{ mm}, 4 \mu\text{m})$			
35℃	37℃			
UV	FLD			
(214 nm)	(Ex. 250 nm, Em. 395 nm)			
0.02M KH ₂ PO ₄	0.14M sodium acetate			
(pH 2.8)	60% acetonitrile gadient			
0.7 mℓ/min	1 mℓ/min			
10 μℓ	10 μℓ			
	Waters 2695 YMC C ₁₈ column (3.9×150 mm, 5 μm) 35 °C UV (214 nm) 0.02M KH ₂ PO ₄ (pH 2.8) 0.7 mℓ/min			

유리당과 유기산 함량은 HPLC(Waters, 2695)로, 아미노산 함량은 Accq-tag method(Waters, USA)를 사용하여 전처리한 후 HPLC(Waters 2965, FLD)로 분석하였다(Table 1).

열 안정성은 추출물을 60, 80 및 100℃에서 60분 반응시킨 후 잔존 활성을 측정하였다. pH 안정성은 일정량의 정제 시료용액에 산성, 중성, 알칼리성 완충용액을 가하여 pH 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 및 9.0이 되도록 조정한 다음, 60분 반응시키고, 다시 pH 7.0으로 보정한 후 잔존활성을 측정하였다.

추출물의 생리기능성으로 항산화활성(전자공여능)은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)의 환원력을 이용하는 Blois(1958)의 방법으로 측정하였다. 시료 200 μ 에 DPPH 용액(DPPH 12.5 mg을 EtOH 100 ml에 용해) 800 μ l를 가한 후 10분간 반응시키고 525 mm에서 흡광도를 측정하여 시료 무첨가 대조구와 활성을 비교하였다.

항산화 활성(%)=[1-{A(시료구)-B(Blank)}/C(대조구)]×100

SOD 유사활성은 Markland 등(1974)의 방법에 따라 시료액 20 ㎡를 가한 후 균질화하고 원심분리하여 얻은 상등액을 pH 8.2로 조정한 후 TCB를 사용하여 50 ㎡로 정용한 후 시료액으로 사용하였다. 시료액 950 ㎡에 50 ㎡의 24 mM pyrogallol을 첨가하여 420 ㎜에서 초기 2분간의 흡광도 증가율을 측정하여 시료액을 무 첨가구와 비교하였다.

SOD 유사활성(%)=[{A(시료구)-B(대조구)}/A(시료구)]×100

Xanthine oxidase 저해 활성(Kim 등 2008)은 다음과 같이 측정하였다. 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5) 600 μ l에 1 mg/ml로 녹인 시료 100 μ l를 가하고 1 mM xanthine을 녹인 기질 용액 200 μ l를 첨가하였다. 여기에 xanthine oxidase(0.2 U/ml) 100 μ l를 가하여 37℃에서 5분간 반응시킨후 1 N HCI 200 μ l를 가하여 반응을 정지시켰다. 이때 12,000 rpm으로 10분간 원심 분리하여 단백질 제거 후 생성된 uric acid를 292 nm에서 측정하였다.

Xanthine oxidase 저해 활성(%)= [1-{A(시료구)-B(Blank)/C(대조구)}]×100

Angiotensin I-converting Enzyme(ACE) 저해 활성은 Cushman & Cheung(1971)의 방법에 따라 다음과 같이 측정하였다. 즉, 시료액에 동일 용량의 ethyl acetate를 처리하여 얻은 추출액 50 μ l를 rabbit-lung powder에서 추출한 ACE 용액 150 μ l와 기질 용액(pH 8.3의 100 mM sodium borate 완충용액 2.5 ml에 300 mM NaCI과 25 mg Hip-His-Leu을 용해) 50 μ l와 섞은 후

37℃에서 30분간 반응시킨 다음 1 N HCI로 반응을 정지시켰다. 이 반응액에 유리되어 나오는 hippuric acid의 양을 228 mm에서 흡광도를 측정하여 산출하였고 시료 무 첨가구를 대조구로 하여 저해율을 구하였다.

ACE 저해 활성(%)=

[{C(대조구)-T(시료처리구)}/{C(대조구)-B(기질처리구)}]×100

Acetylcholinesterase(AChE) 저해 활성은 Ellman법(Lee 등 2008) 을 사용하여 측정하였다. $0.1~\mathrm{M}$ sodium phosphate buffer(pH 7.3) $110~\mu$ l를 넣고, 효소인 acetylthiocholinesterase($0.8~\mathrm{U/ml}$) $30~\mu$ l를 넣은 후 발색 시약인 5, 5-dithiobis-2-nitrobenzoic acid(DTNB) 를 $20~\mu$ l를 가하여 섞어준 후 기질인 acetylthiocholine chloride 를 $30~\mu$ l 가하여 $37~\mathrm{C}$ 에서 $60~\mathrm{l}$ 는 동안 반응생성물인 5-thio-2-nitrobenzoate의 생성 값을 $415~\mathrm{nm}$ 에서 측정하였다.

AChE 저해 활성(%)={1-(시료구/대조구)}×100

혈전 용해 활성은 μ 당 0.1 unit의 thrombin을 함유한 평판배지에 pH 7.0의 인산완충용액에 용해시킨 0.6%의 fibrinogen을 주입하여 고형화 시켰다. 여기에 시료 25 μ 를 함유한 paper disk를 놓고 37 $^{\circ}$ C에서 6시간 반응시킨 후 투명환의 크기를 측정하여 혈전 용해 활성을 mm로 표시하였다(Fayek & El-Sayed 1980).

결과 및 고찰

1. 도둑놈의 갈고리 에탄올 추출물의 특성

1) 영양성분

도둑놈의 갈고리의 물 추출물과 에탄올 추출물의 식품가공 응용성을 검토하고자 이들의 영양성분 및 무기성분을 분석 한 결과는 Table 2, 3과 같다. 일반성분 함량은 에탄올 추출물

Table 2. General component contents of lipase inhibitorcontaining extracts from *Desmodium oxyphyllum DC*.

Extracts	Energy ¹⁾	General components(%)				
	(kcal)	Carbo- hydrates	Crude protein	Crude fat	Crude ash	
EtOH Ex.	458.0	63.5	5.7	26.5	4.2	
Plant ²⁾	331.0	80.1	13.5	2.0	4.3	
Water Ex.	323.0	80.7	13.0	0.9	5.2	

¹⁾ FAO/WHO energy conversion coefficient application.

²⁾ Dry basis.

Table 3. Mineral contents of lipase inhibitor-containing extracts from Desmodium oxyphyllum DC.

(Unit: mg/100 g, dry basis)

Extracts	Minerals												
	Mg	Ca	K	Si	Al	P	Fe	В	Mn	Cu	Na	Ni	Zn
EtOH Ex.	4.3	1.3	80.4	0.6	0.02	4.5	1.0	0.1	0.07	0.05	5.8	0.15	0.1
Plant ¹⁾	21.6	70.8	89.7	0.4	0.06	19.1	3.4	0.3	1.24	0.22	4.9	0.16	0.5
Water Ex.	30.9	45.7	115.6	0.5	0.03	38.4	1.1	0.3	1.60	0.11	8.1	0.23	1.2

¹⁾ Dry basis.

Table 4. Free amino acid contents of the various extracts from *Desmodium oxyphyllum* DC. (Unit: mg/100 g, dry basis)

110111 Desmoutum	oxyphymum D	C. (CIIIC. IIIS) IC	o g, ary ousis,
Amino acids	EtOH	Plant Ex.	Water Ex.
Alanine	1,587	3,546	1,947
Arginine	555	2,795	1,763
Asparagine	4,860	3,365	2,505
Aspartic acid	2,033	4,757	5,864
Glutamic acid	1,526	4,427	2,523
Histidine	527	4,455	1,566
Proline	282	4,718	1,007
Leucine	917	980	1,312
Lysine	846	1,651	979
Methionine	504	884	666
Phenylalanine	1,557	8,751	1,774
H-Proline	1,707	1,839	2,156
Serine	817	6,043	2,495
Threonine	517	2,474	991
Tryptophan	1,209	966	906
Tyrosine	588	4,384	1,233
Valine	1,131	3,726	1,593

Table 5. Organic acid contents of the various extracts from *Desmodium oxyphyllum* DC. (Unit: mg/100 g, dry basis)

Amino acids	EtOH	Plant Ex.	Water Ex.
Malic acid	11,244	2,004	9,248
Succinic acid	1,108	258	n.d
Citric acid	204	$n.d^{1)}$	n.d
Oxalic acid	708	n.d	738
Tartaric acid	3,532	6,920	4,066

n.d: not detected.

에서 지질이 26.5%로 식물체와 물 추출물보다 높았으나, 조단 백질 함량은 5.7%로 물 추출물이나 식물체 자체에 포함된 함량보다 절반 정도 수준으로 적게 함유되어 있었다. 따라서 이

와 같이 에탄을 추출물에서 지질 함량이 높은 것과 도둑놈의 갈고리에 함유되어 있는 lipase 저해 활성 등의 생리기능성이 에탄올 추출물에서 우수하였던 것을 종합했을 때 도둑놈의 갈고리를 에탄올 추출물로 제조하여 기능성 식품산업에 응 용하는 것이 더 유용할 것으로 사료된다.

무기성분은 도둑놈의 갈고리 식물체 자체에는 철분과 칼슘 등의 함량이 높았고, 특히 물 추출물에는 인과 칼슘 함량이 38.4 mg%, 45.7 mg%로 높은 함량을 나타내었으며, 에탄올추출물은 무기성분 함량이 비교적 적게 포함되어 있었다.

한편, 유리 아미노산 함량은 물과 에탄올 추출물 모두 식물체에 비하여 대체로 적게 함유되어 있었고(Table 4), 유기산 함량을 측정한 결과, 에탄올 추출물에는 malic acid, tartaric acid와 succinic acid 등 5종이 함유되어 있었고, 특히 malic acid와 tartaric acid를 가장 많이 함유하고 있었다(Table 5).

2) 온도와 pH 안정성

도둑놈의 갈고리에 함유되어 있는 lipase 저해 활성 물질의 산업적 이용성과 소화기관 내의 안정성을 확인하기 위해서, lipase 저해물질을 함유한 에탄올 추출물의 온도 및 pH 안정성을 조사하였다(Fig. 1).

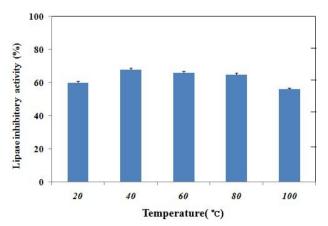


Fig. 1. Thermostability of lipase inhibitor-containing ethanol extracts from *Desmodium oxyphyllum* DC.

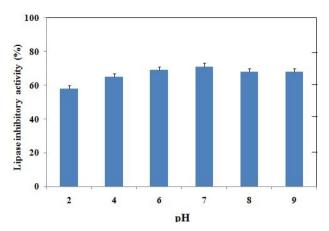


Fig. 2. pH stability of lipase inhibitor-containing ethanol extracts from *Desmodium oxyphyllum* DC.

도둑놈의 갈고리 에탄올 추출물은 100℃에서는 40℃와 비교할 때 저해 활성이 16.1% 감소하였으나, 80℃까지는 열에 안정하여 lipase 저해 활성이 크게 낮아지지 않아 열에 비교적 안정함을 알 수 있었다. 따라서 산업적으로 이용할 때 어느 정도의 고온처리 공정이 가능한 것으로 사료된다. 이는 정향 추출물의 열 안정성(Kim SK 2004)과 상이한 결과를 나타내었다.

한편, 에탄올 추출물의 pH에 대한 안정성을 pH 2.0에서부터 pH 9.0까지 조사한 결과, Fig. 2와 같이 pH 3.0에서 pH 9.0까지 비교적 넓은 pH 범위에서 안정하였다. 위와 같은 lipase 저해 활성 물질을 함유한 도둑놈의 갈고리의 pH 안정성은 이를 건강식품 제조공정이나 음식으로 섭취될 때, 소화기관 내에서의 다양한 pH에 대해 어느 정도 안정할 것으로 추정된다.

3) 생리기능성

Lipase 저해 활성이 우수한 도둑놈의 갈고리 에탄올 추출물의 주요 생리기능성을 조사한 결과, Table 6과 같이 lipase 저해 활성은 74.2%로 우수하였고, acetylcholinesterase 저해 활성도 68.4%로 매우 높은 활성을 나타내었다. 그러나, 여타의 생리기능성은 없거나 매우 낮았다. 따라서 전보(Lee 등 2011)에서 항 비만활성 우수 시료로 선발된 도둑놈의 갈고리의 에탄올 추출물은 다양한 아미노산과 무기물 및 몇 종의 유기산등을 함유하고 있고, 동시에 항 비만활성과 항 치매활성이 우

수하므로 건강 식품 소제로 매우 유용하게 활용될 수 있을 것으로 사료되다.

요 약

천연물로부터 lipase 저해물질을 개발하여 기능성 식품 산업에 응용하고자 lipase 저해 활성이 우수하여 전보에서 최종선발된 도둑놈의 갈고리(Desmodium oxyphyllum DC.) 에탄올추출물의 영양성분, 온도, pH 안정성과 생리기능성 등을 측정하였다. Lipase 저해물질을 함유한 도둑놈의 갈고리 에탄올추출물의 지질과 단백질 함량은 각각 26.5%와 5.7%이었고 유리아미노산으로 asparagine과 tryptophan 함량이 각각 4,860 mg/건조중량 100 g, 1,209 mg/건조중량 100 g으로 물 추출물보다 높았다. 또한, 도둑놈 갈고리의 에탄올 추출물은 pH 3.0∼9.0,80℃ 이하에서 비교적 안정하였고, 이에 대한 생리 기능성을 측정한 결과, lipase 저해 활성은 74.2%, 항치매성 Acetyl-cholinesterase 저해 활성은 68.4%로 비교적 높은 활성을 나타내었다.

참고문헌

Bitou N, Nimomiya M, Tsjita T, Okuda H. 1999. Screening of lipase inhibitors from marine algae. *Lipids* 34:441-445

Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of stable free radical. *Nature* 181:1199-1200

Bray GA, Greenway FL. 1999. Current and potential drugs for treatment of obesity. *Endocrine Reviews* 20:805-875

Bray GA, Blackburn GL, Ferguson JM, Greenway FL, Jain AK, Mendel CM, Mendels J, Ryan D, Schwartz SL, Scheinbaum ML, Seation TB. 1999. Sibutramine produces dose-related weight loss. *Obesity Research* 7:189-198

Caman WJ, Sowers M, Hawthome VM, Weissfeld LA. 1994. Obesity as a risk factor for osteoarthritis of the hand and wrist. *Am J Epidemiology* 139:119-129

Cushman DW, Cheung HS. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol* 20:1637-1648

Table 6. Physiological functionality of the ethanol extract from Desmodium oxyphyllum DC.

	Lipase inhibitory	ipase inhibitory Antioxidant ACE ¹⁾ inhibitory		SOD like	Fibrinolytic activity	AChE ¹⁾ inhibitory
	activity(%)	activity(%)	activity(%)	activity(%)	(clearzone: mm)	activity(%)
Ethanol	74.2±0.5	9.8±0.4	15.9±3.0	16.1±3.2	n.d ²⁾	68.4±0.2
extract	/4.2±0.5	9.8±0.4	15.9±3.0	10.1±3.2	n.a	08.4±0.∠

¹⁾ ACE: Angiotensin I-converting enzyme, AChE: Acetylcholinesterase, 2) n.d. not detected.

- Davis MA, Ettinger WH, Neuhaus JM, Hauck WW. 1998. Sex differences in osteoarthritis of the knee: The role of obesity. *Am J Epidemiology* 127:1019-1030
- Fayek K, El-Sayed ST. 1980. Purification and properties of fibrinolytic enzyme from *Bacillus subtilis*. J Allg Microbiol 20:375-382
- Huang Z, Hankinson SE, Colditz GA, Stampfer MJ, Hunter DJ, Manson JE, Hennekens CH, Rosner B, Speizer FE, Willitt WC. 1997. Dual effects of weight and weight gain on breast cancer risk. *JAMA* 278:1407-1411
- Kim HB, Choung WY, Ryu KS. 1999. Sensory characteristics and blood glucose lowering effect of ice-cream containing mulberry leaf powder. Kor J Seric Sci 41:140-146
- Kim HK, Lee EN, Geum JH, Lee JS. 2008. Nutritional characteristics and physiological functionalities of polyplant extracts from some vegetables and medicinal plants. Kor J Food & Nutr 21:410-415
- Kim JS, Kwon CS, Son KH. 2000. Inhibition of alpha-glucosidase and amylase by luteolin, a flavonoid. *Biosci Biotechnol Biochem J* 64:2458-2461
- Kim SK. 2004. Isolation and purification of liapase inhibitor from *Eugenia aromaticum* extract. MS Thesis, Kangwon National University
- Kim YJ, Kim BH, Lee SY, Kim MS, Park CS, Lee MS, Lee KH, Kim DS. 2006. Screening of medicinal plants for development of functional food ingredients with anti-obesity. J Kor Soc Appl Biol Chem 49:221-226

- Lee DH, Lee JS, Yi SH, Lee JS. 2008. Production of the acetylcholinesterase inhibitor from *Yarrowia lipolytica* S-3. *Mycobiology* 36:102-105
- Levinson ML. 1977. Obesity and health. Prev Med 6:172-180 Markland S, Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the antioxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. J Eur Biochem 47: 469-474
- Rexrode KM, Carey VJ, Hennekens CH, Walters EE, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC, Manson JE. 1998. Abdominal adiposity and coronary heart disease in women. JAMA 280:1843-1848
- Shoff SM, Newcomb PA. 1998. Diabetes, body size, and risk of endometrial cancer. *Am J Epidemiology* 148:234-240
- Tornberg SA, Carstensen JM. 1994. Relationship between Quetelet's index and cancer of breast and female genital tract in 47,000 women followed for 25 years. *British J Cancer* 69:358-361
- Vedula U, Schnitzer PR, Tulp OL. 1991. The effect of acarbose on the food intake, weight gain, and adiposity of LA/N-cp rats. Comp Biochem Physiol A 100:477-482
- Zapf J, Schoenle E, Waldvogel M, Sand M, Froesch ER. 1981.
 Effect of trypsin treatment of rat adipocyte on biological effects and binding of insulin and insulin-like growth factors.
 Eur J Biochem 133:605-609

접 수: 2011년 3월 9일 최종수정: 2011년 6월 13일 채 택: 2011년 6월 20일