

## 감잎, 메밀잎 및 구기자잎 추출물의 식이보충이 흰쥐의 체지방 감량과 지질대사 조절에 미치는 효과

정운주<sup>1</sup> · 이정순<sup>1</sup> · 복성해<sup>2</sup> · 최명숙<sup>1\*</sup>  
<sup>1</sup>경북대학교 생활과학대학 식품영양학과  
<sup>2</sup>(주)바이오뉴트리젠

### Effects of Extracts of Persimmon Leaf, Buckwheat Leaf, and Chinese Matrimony Vine Leaf on Body Fat and Lipid Metabolism in Rats

Un Ju Jung<sup>1</sup>, Jeong-Sun Lee<sup>1</sup>, Song-Hae Bok<sup>2</sup>, and Myung-Sook Choi<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Food Science and Nutrition, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

<sup>2</sup>Bionutrigen Inc., Daejeon 305-333, Korea

#### Abstract

The objective of this study was to investigate the anti-obesity and lipid-lowering effects of extracts of persimmon leaf (PWE), buckwheat leaf (BWE), and chinese matrimony vine leaf (LWE) in rats fed a high-fat diet (HFD). Male Sprague-Dawley rats (n=40) were divided into four groups: HFD (35% fat, w/w), HFD (38.5% fat, w/w) supplemented with PWE (10%, w/w), BWE (10%, w/w), and LWE (10%, w/w) groups. The epididymal, perirenal, and interscapular white adipose tissue (WAT) weights as well as plasma leptin level were lowest in the LWE group. Supplementation with PWE and BWE also tended to lower the perirenal and retroperitoneal WAT weights compared to the HFD control group, and there was a significant decrease in plasma leptin concentration. Furthermore, plasma triglyceride concentration, hepatic cholesterol content, and hepatic lipid droplet accumulation were significantly lower in the PWE, BWE, and LWE groups than in the HFD group. BWE supplementation markedly lowered plasma total cholesterol concentration, although there were no significant differences in plasma HDL-cholesterol concentration and ratio of HDL-cholesterol/total cholesterol among the groups. Hepatic HMG-CoA reductase activity was significantly higher in the PWE and LWE groups than in the HFD group, and hepatic ACAT was not changed by extract supplementation. However, supplementation with PWE, BWE, and LWE significantly increased fecal acidic sterol content in rats fed a HFD. These results suggest that supplementation with PWE, BWE, and LWE may be an effective anti-obesity strategy by lowering body fat weight and improving plasma and hepatic lipid profiles in HFD-fed rats.

**Key words:** persimmon leaf, buckwheat leaf, chinese matrimony vine leaf, body fat, lipid metabolism

#### 서 론

식생활의 다양화 및 서구화로 인해 고칼로리 및 동물성 식품의 섭취가 증가됨에 따라 비만, 뇌졸중, 동맥경화, 고혈압 및 당뇨병 등의 각종 성인병 발병이 늘어나고 있으며, 특히 심혈관계 질환의 발병율은 지난 수십년간 계속 증가하여 주요 사망 원인 중 하나가 되었다(1-3). 심혈관계 질환에서는 혈중 콜레스테롤, 중성지질의 증가 및 지단백질 함량의 변화와 같은 비정상적인 지질대사가 문제시되고 있으며(4-6), 지질대사의 변화는 식습관을 비롯한 생활습관과 밀접한 관계가 있음이 역학조사를 통해 지적되고 있다(7). 1970년대에는 총열량의 7.3%에 불과하던 지방 섭취량이 1985년에는 13.7%, 1995년에는 18.8%로 급증하였고, 2005년에는

25%에 이르렀으며, 지방섭취 종류별로 볼 때 식물성 지방의 섭취 비율은 감소된 반면, 동물성 지방의 섭취 비율은 현저하게 증가하고 있다. 우리나라의 경우에도 2001년도 식품수급표에 따르면 1970년대 이후 육류 공급량 및 동물성 식품으로부터의 열량 공급량, 그리고 동물성 지방 공급량이 계속해서 증가하고 있으며, 2008년도 국민건강영양조사에 따르면 지방공급원 에너지 섭취율이 1969년(7.2%)에 비해 1998년(40.1%)에 크게 증가한 후 최근 10년간 유지되는 추세이다.

이에 포만감을 주는 동시에 칼로리가 낮은 식품을 섭취하려는 욕구가 높아져서 섬유소를 함유한 저칼로리 식품이나 고지혈증 및 비만을 예방할 수 있는 건강기능식품 개발에 많은 관심을 갖게 되었다(8,9). 특히 식이섬유소, 페놀성 화합물 또는 플라보노이드의 보충이 심혈관계 질환을 비롯한

\*Corresponding author. E-mail: mschoi@knu.ac.kr  
Phone: 82-53-950-6232, Fax: 82-53-950-6229

만성 성인병의 예방과 치료에 효과적인 것으로 나타났다(10-12). 과일이나 채소를 충분히 섭취하는 것이 암, 심장병 및 심혈관계 질환을 예방한다는 것은 이들에 풍부하게 함유되어 있는 무기질과 비타민을 염두에 둔 말이기도 하지만 동시에 식물성 식품 속에 미량으로 존재하면서 건강에 유익한 생리활성을 가지고 있는 물질을 가리키는 용어인 phytochemicals의 체내 역할을 간접적으로 설명한 표현이기도 하다(13). 최근 식품에 포함된 다양한 생리활성 성분을 고루 섭취하기 위해서, 정제된 식품 성분이 아닌, 식품 자체를 실험재료로 사용한 연구가 이루어지고 있다.

천연물 중 시엽과에 속하는 감(*Diospyros kaki Thunb.*, Ebenaceae) 나무의 잎은 예로부터 민간에서 차의 원료로 이용되어 왔으며, 동의보감과 본초강목 등의 고문에 약리작용과 효능이 보고되어 있다. 감잎에는 생리활성 물질인 gallate를 포함한 tannin 화합물뿐만 아니라 astragalol, myricitrin, isoquercitrin과 같은 flavonoid 배당체가 포함되어 있다(14). 감잎의 생리활성 물질인 탄닌은 여러 가지 축합형 탄닌의 혼합물로 (-)-epicatechin, (+)-catechin, phloroglucinol, (+)-catechin, (+)-catechin-3-gallate, (+)-galloocatechin, (+)-galloocatechin-3-gallate 등과 같은 flavan-3-ol 화합물과 proanthocyanidin에 속하는 축합형 tannin이 많은 것으로 알려지고 있다(15,16). Funayama와 Hikino(17)는 감잎에서 gallate를 함유한 탄닌 화합물들이 고혈압 환자에 있어서 혈압 상승 억제 효과가 있음을 입증한 바 있으며, Uchida 등(18)은 축합형 탄닌이 활성산소의 free radical 억제 효과를 나타낸다고 하였다. 이 밖에 감잎 플라보노이드의 항산화(19-21), 항암(22,23) 및 생리활성물질의 효소저해 효과(24, 25) 등 많은 보고가 있다(26).

메밀은 쌍자엽식물의 마디풀과에 속하는 일년생 초본으로서 낱알의 조성이 곡류와 비슷하여 잡곡으로 분류된다. 메밀의 줄기는 붉고 잎은 초록색에 뿌리는 노란색이며, 꽃은 흰색에 열매는 검정색을 띄고 있기 때문에 오행식물이라 한다. 메밀은 탄수화물 식품이지만 lysine, arginine, leucine 등 필수아미노산을 많이 함유하고 있으며, 다른 곡류에 비하여 영양학적으로 우수한 아미노산 조성을 가지고 있다(27). 메밀의 주요 지방산은 palmitic acid, oleic acid, linoleic acid 등이며(28), 칼슘(Ca), 철분(Fe), 마그네슘(Mg), 셀레늄(Se) 및 망간(Mn) 등의 무기질 및 각종 수용성 비타민들도 풍부하게 함유하고 있다(29). 또한 메밀의 잎, 종실, 꽃, 뿌리, 줄기 등에는 모세혈관의 투과성을 향상시키는 flavonol로 rutin이 다량 함유되어 있고(30,31), 당뇨병의 안구압에 관여하는 quercetin과 같은 flavonoid계 성분도 함유되어 있어(32), 혈관계 질환의 예방 및 치료제로 개발될 가능성이 있다. 뿐만 아니라 메밀은 trypsin inhibitor를 함유하고 있는데, trypsin inhibitor는 췌장의 크기 및 소화효소와 호르몬 분비(33,34), 그리고 여러 생화학적 요인들(11,35)에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.

구기자는 가지과의 구기자속의 목본식물로 우리나라를 비롯한 중국, 대만, 일본, 유럽 등지에 자생하거나 재배되고 있는 생약재이다. 구기자의 열매, 잎, 뿌리 등에는 betaine, rutin, kukoamine A,  $\beta$ -sitosterol 등의 다량의 기능성 성분이 함유되어 있고, 그 외에도 비타민 A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, C, 칼슘, 인, 철, 아연, nicotinic acid 등 영양분을 풍부하게 함유하고 있다(36-38). 구기자는 항균, 항암, 항산화, 면역 증진 및 혈압강화 효과뿐만 아니라(36-38) 혈청과 간조직의 중성지질과 콜레스테롤의 축적을 억제하고(39) 혈당 강하 및 혈중 콜레스테롤 저하 효능이 있는 것으로 알려져 있으나(40) 기성 한약서에 명시된 정도이므로 동물실험을 통한 약리작용 기전의 규명이 필요한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 식이섬유 및 phytochemical 성분을 다량 함유하고 있는 감잎, 메밀잎 및 구기자잎 추출물의 항지방 및 지질대사 조절과 관련된 생리기능을 검증하고자 고지방 식이를 급여한 흰쥐의 체지방 감량 및 혈장과 간조직의 지질대사 개선에 미치는 영향을 살펴보았다. 본 연구에서 사용된 감잎, 메밀잎, 구기자잎은 식품으로서 상용되는 열매 이외의 부위로서, 이를 이용할 경우 위 식물의 부가 가치를 향상시킬 것으로 예측된다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

국내를 비롯한 전 세계적으로 식물류에 함유되어 있는 생리활성 성분에 대한 관심이 높아지고 있고, 이들 생리활성 성분을 함유한 신소재 식물들을 차나 음료로 개발하려는 시도가 계속적으로 이루어지고 있다(41,42). 페놀성 화합물은 여러 가지 식물류에 널리 분포되어 있으며 다양한 구조와 극성을 가지고 있고 flavonoid류가 주를 이룬다. Flavonoid류는 지용성이 강한 quercetin, kaempferol 등이 있는 반면, 극성 용매에 더 잘 용해되는 catechin류와 rutin 등도 있다(43). 감잎, 메밀잎 및 구기자잎에는 지용성과 수용성 성질을 지닌 다양한 flavonoid류를 포함한 페놀성 화합물들이 혼재해 있다. 특히 감잎속에는 수용성 flavonoid인 탄닌 화합물이 다량 함유되어 있으며(14), 메밀잎과 구기자잎에는 rutin과 비타민 C 등의 수용성 생리활성 물질이 존재한다(30,36-38, 44). 따라서 본 연구에서는 감잎, 메밀잎 및 구기자잎을 시중에서 흔하게 구할 수 있고 즐겨 마시는 차나 음료로 개발하고자 열수 추출로 획득한 후 이들의 생리활성 효능을 평가하였다.

본 실험에서 사용된 감잎(persimmon leaf), 메밀잎(buck-wheat leaf) 및 구기자잎(chinese matrimony vine leaf) 추출물은 (주)바이오뉴트리젠(BNG)사(Daejeon, Korea)에서 제공받았다. 감잎은 대전 소재 유기농산물 판매점에서, 구기자잎은 청양에서 구입하여 추출하였고, 메밀잎은 대전 생명공학연구소에서 직접 재배한 메밀을 수확하여 잎을 추출하였

Table 1. Composition of test materials as functional substance

	PWE <sup>1)</sup>	BWE <sup>2)</sup>	LWE <sup>3)</sup>
	%, dry basis		
Crude fiber	17.16	12.77	9.23
Crude protein	5.06	6.17	25.13
Crude carbohydrate	58.89	55.01	36.45
Crude fat	0.24	0.24	0.02
Crude ash	12.72	21.19	23.68
Water	5.93	4.62	5.31
Total	100	100	100

<sup>1)</sup>PWE: persimmon leaf water extract.

<sup>2)</sup>BWE: buckwheat leaf water extract.

<sup>3)</sup>LWE: *Lycii fructus* leaf water extract.

다. 건조한 감잎, 메밀잎 및 구기자잎에 건조소재의 4~10배의 증류수를 가하여 96~100°C의 온도에서 4시간 추출한 후 filter를 투과한 후 농축기로 이동시켜, 40°C에서 3~4시간 25~35 brix로 농축하였다. Brix는 ATAGO사(Tokyo, Japan)의 HAND REFRACTO METER로 측정하여 확인하였다. 감잎은 열수추출 농축한 후 분무건조 하였고 메밀잎과 구기자잎은 동결건조하여 사용하였다(감잎 추출물 건조수를 22.8 kg, 메밀잎 추출물 건조수 24.75 kg, 구기자잎 추출물 건조수 28.5 kg). 본 실험에 사용된 시료의 성분 분석은 (주)과학기술분석센터에서 행해졌으며, 그 성분은 Table 1과 같다.

실험동물의 사육 및 식이

실험동물은 3주령(40~50 g)의 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐 40마리를 (주)오리엔트바이오(Seongnam, Korea)로부터 구입하였다. 사육실 온도는 24°C, 상대습도는 55%를 유지시키고 8:00~20:00시까지 12시간 간격으로 light cycle을 유지하여 개개의 stainless cage 안에서 사육하였다. 처음 1주일간 pellet형의 lab-chow 식이를 제공하면서 적응시킨 후, 난괴법(randomized block design)에 의해 4개의 군으로 나누었다. 실험식은 Table 2에 제시된 바와 같이, 고지방식이군(high fat diet, HFD)들은 지방 급원으로 corn oil 및 lard를 사용하여 총 열량의 35~38.5%를 지방으로 공급하여 사육하였다. 감잎 추출물 보충군(PWE), 메밀잎 추출물 보충군(BWE) 및 구기자잎 추출물 보충군(LWE)은 고지방식이에 10%(w/w)의 감잎, 메밀잎 및 구기자잎을 첨가하였으며, 실험식은 2주에 한 번씩 제조하여 4°C에 냉장보관하면서 6주 동안 자유식(ad libitum)으로 먹게 하였고, 식수도 자유로이 섭취하도록 하였다.

시료수집

식이섭취량은 이틀에 한 번 식이잔량을 측정하여 식이 제공량으로부터 뺀 값을 기록하였으며, 체중은 매주 일정한 시간에 측정하였다. 사육기간 중 마지막 3일 동안은 분변을 수집하여 건조시킨 후 냉동 보관하였으며 분변중 산성 및 중성 스테롤 함량 측정에 사용하였다. 6주간의 사육 후 12시

Table 2. Composition of the experimental diets (%)

Group <sup>1)</sup>	HFD	PWE	BWE	LWE
Casein	20	20	20	20
DL-Methionine	0.3	0.3	0.3	0.3
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2	0.2
Corn starch	15	15	15	15
Sucrose	37.6	27.6	27.6	27.6
Cellulose	5	5	5	5
Mineral mix <sup>2)</sup>	3.5	3.5	3.5	3.5
Vitamin mix <sup>3)</sup>	1	1	1	1
Corn oil	10	10	10	10
Lard	7.4	7.4	7.4	7.4
PWE		10		
BWE			10	
LWE				10
Total (%)	100	100	100	100
kcal/100 g diet	447	407	407	407
Calories from fat (%)	35	38.5	38.5	38.5

<sup>1)</sup>HFD: high fat diet control, PWE: persimmon leaf water extract, BWE: buckwheat leaf water extract, LWE: *Lycii fructus* leaf water extract.

<sup>2)</sup>Mineral mixture according to AIN-76.

<sup>3)</sup>Vitamin mixture according to AIN-76.

간 절식시킨 동물들을 에테르 흡입을 통해 1차 마취하고, ketamine-HCl(유한양행, Seoul, Korea) 마취제를 근육주사(75 mg/kg B.W.)하여 2차 마취시켰다. 그 다음 복부하대정맥으로부터 해파린 처리된 주사기로 혈액을 채취하여 시험관에 수집한 후, 3,000 rpm에서 15분간 원심분리 하여 혈장을 분리하였다. 분리된 혈장은 시료 분석 시까지 -70°C에 보관하였다. 그리고 간과 부고환 백색지방(epididymal white adipose tissue), 신주위 백색지방(perirenal white adipose tissue), 견갑골간 백색지방(interscapular white adipose tissue) 및 갈색지방(interscapular brown adipose tissue)도 적출하여 0.9% 생리식염수로 헹군 후 물기를 제거하여 각각 칭량한 후 액체질소로 급냉하여 분석 시까지 -70°C에 보관하였다. 혈장은 지질 농도, leptin 및 GOT/GPT 활성도 측정용으로 사용하였고, 간조직은 형태학적 분석, 조직지질 및 콜레스테롤 조절효소 활성도 측정에 사용하였다.

혈장 leptin 수준 및 지질 농도 측정

혈장 leptin 수준은 방사면역측정법을 이용한 Murine leptin RIA kit(Linco Research, St. Charles, MO, USA)로 측정하였다.

혈장 중성지질은 McGowan 등(45)의 효소법을 이용한 발색법 원리에 따라 중성지질 측정용 시액(아산제약, Seoul, Korea)을 사용하여 측정하였다. 먼저 혈장 중성지질을 lipoprotein lipase를 이용하여 글리세롤과 지방산으로 분해시킨 후 ATP와 glycerol kinase를 첨가하여 L- $\alpha$ -glycerophosphate로 변형시켰다. 여기에 glycerophosphoxidase를 첨가하여 반응시키면 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 발생하는데, 이에 peroxidase와 4-aminoantipyrin을 처리하여 적색으로 발색시킨 후 550 nm에서 흡광도를 측정하여 글리세롤 표준곡선과 비교하여

정량하였다.

혈장 총 콜레스테롤은 Allain 등(46)의 효소법을 응용한 총 콜레스테롤 측정용 시액(아산제약)을 사용하여 정량하였다. 혈장 콜레스테롤은 유리 콜레스테롤(FC) 및 에스테르형 콜레스테롤(CE) 등의 두 형태로 존재하므로 이들 모두를 정량하기 위해 CE를 cholesterol esterase에 의해 FC와 지방산으로 전환시켰다. 이렇게 전환된 FC와 혈장 중의 FC를 cholesterol oxidase에 의해  $\Delta^4$ -cholestenon로 바꾸고 이 생성물과 기질인  $H_2O_2$ 를 peroxidase, phenol 및 4-aminoantipyrine과 반응시켜 적색으로 발색시킨 후 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 흡광도 측정치는 콜레스테롤 표준곡선과 비교하여 정량하였다.

혈장 HDL-콜레스테롤은 HDL-콜레스테롤 측정용 시액(아산제약)을 사용하여 측정하였다. 혈장 100  $\mu$ L를 취하여 분리시액 100  $\mu$ L로 처리하여 분리시액 중 인텔스텐산과 마그네슘 양이온의 작용으로 지단백질 중 특히 apo B를 포함하는 LDL(low density lipoprotein) 및 VLDL(very low density lipoprotein)을 침전시켰다(47). 이것을 원심분리하여 상층액에 남은 HDL(high density lipoprotein) 중의 콜레스테롤을 총 콜레스테롤 측정과 같은 방법으로 발색시켜 500 nm에서 흡광도를 측정하고 콜레스테롤 표준곡선과 비교하여 정량하였다.

#### 간조직 지질 분석

간조직 지질은 Folch 등(48)의 방법으로 추출하였으며 중성지질 및 콜레스테롤 농도는 Sale 등(49)에 의해 수정·보완된 방법을 이용하였다. 간조직 1 g을 잘게 자른 후 10 mL의 chloroform : methanol(2:1) 용액으로 균질화시켜 조직 지질을 추출하였다. 추출액은 Whatman 여과지(No. 2)로 걸러내고 질소 가스로 건조시킨 후 동일 추출용매 1 mL에 다시 녹여, 이 중 중성지질과 총 콜레스테롤 측정용으로 각각 100  $\mu$ L를 취하여 다시 질소 가스로 건조시키고 5 mL의 ethanol에 용해시켰다. 중성지질의 경우 이 중 40  $\mu$ L를 취하여 효소시액 0.8 mL, 유화액 0.66 mL를 첨가하여 혈장 중성지질 정량법과 동일한 효소 반응법으로 정량하였고, 콜레스테롤의 경우 ethanol 용해액 200  $\mu$ L에 효소시액 0.8 mL, 유화액 0.5 mL를 첨가하여 혈장 총 콜레스테롤 정량법과 동일하게 정량하였다. 이때 유화액은 3 mM sodium cholate와 0.5% Triton X-100를 혼합하여 사용하는데 이 중 sodium cholate는 유화 성분이며, Triton X-100은 에탄올에 용해된 조직지질의 발색 시 발생하는 혼탁성을 제거하는 역할을 한다.

#### 분변 중 스테롤 배설량 측정

분변의 주요 중성스테롤(neutral sterol), 즉 coprostanol, coprostanone, cholesterol 정량은 Czubayco 등(50)에 의한 방법에 따라 건조된 분변을 막자사발에 갈아 1 g 취한 후 internal standard로서 1 mg 5 $\alpha$ -cholestane을 첨가하였다. 여기에 1 N NaOH(in 90% ethanol) 10 mL를 가하여 67°C

항온수조에서 1시간 동안 mild alkaline hydrolysis 시킨 후, 실온에서 식혀 증류수 5 mL와 cyclohexane 7 mL를 가하였다. 이 용액을 25°C, 3,120 rpm에서 5분간 원심분리 시켜 상층액은 시험관에 수집하고 침전물을 포함한 수용성 하층에 다시 7 mL의 cyclohexane을 가하여 동일한 추출 과정을 2회 더 반복하였다. 시험관에 수집된 추출 용액은 질소가스로 건조시킨 후 cyclohexane 1 mL로 용해시켜 GC(SHIMADZU, Kyoto, Japan)로 정량하였다.

분변 총 산성스테롤(bile acid) 함량은 Michael과 Ian(51)의 방법을 보완한 효소법으로 측정하였다. 중성 스테롤 추출 과정에서 분리된 하층인 수용성 층에 10 N NaOH 2 mL를 첨가하여 120°C에서 고압을 가하여 ester를 알칼리성으로 가수분해 시켰다. HCl 용액을 사용하여 시료용액의 액성을 pH 2로 맞추고 chloroform : methanol(2:1) 용액 40 mL를 혼합하여 32,500 rpm에서 5분간 원심분리 하였다. 수용성 층을 취하여 chloroform 20 mL로 재추출한 후 vacumm evaporator(vv2000, Heidolph, Schwabach, Germany)로 용매를 휘발시켰다. 다시 chloroform : methanol(2:1) 용액 25 mL를 첨가하여 3,120 rpm에서 5분간 원심분리 하여 침전시킨 다음 그중 상층액 5 mL를 취해 질소 가스로 chloroform을 휘발시켰다. 추출된 시료는 methanol :  $H_2O$ (5:1) 용액 1 mL로 녹인 후 동일 용액으로 다시 10배 희석하여 bile acid 정량에 사용하였다. 희석한 시료에 0.2 mmol glycine/NaOH buffer(pH 9.4), 0.15 mmol hydrazine hydrate, 0.1  $\mu$ mol EDTA, 2.6  $\mu$ mol NAD를 포함한 반응시액 1 mL에 cholic acid(in methanol)를 표준용액으로 하여 추출한 시료와 함께 각각 50  $\mu$ L를 취해 섞었다. 각 시료 및 표준용액을 포함한 시험관에 3 $\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase 20  $\mu$ L를 첨가하여 상온(27.5°C)에서 1시간 동안 반응시켰다. 이어 Triton X-100 20  $\mu$ L를 첨가하여 현탁물을 제거한 후 340 nm에서 흡광도를 구하였으며, 표준시료와 비교하여 일일 분변량 당 배설되는 bile acid 농도를 계산하였다.

#### 효소원 분리 및 간조직 단백질 함량 측정

간조직의 효소원은 Hulcher와 Oleson(52)이 실시한 분리 방법을 일부 수정하여 분리하였다. 적출한 간조직 2 g을 잘게 자르고 조직 1 g당 4배의 완충용액(0.1 M triethanolamine, 0.02 M ethylenediaminetetraacetic acid, 2 mM dithiothreitol; pH 7.4)을 가한 후 빙냉 상태에서 glass teflon homogenizer (099C K44, Glascol, New Orleans, LA, USA)로 균질화하였다. 균질물은 3,000 rpm, 4°C에서 5분간 원심분리하여 상층액을 취한 후 다시 13,000 rpm(4°C)에서 15분간 원심분리 하였다. 상층액은 32,500 rpm, 4°C에서 1시간 동안 초원심분리 하였으며 침전물은 다시 32,500 rpm에서 1시간 동안 초원심분리 하여 마이크로소姆 분획을 얻었다. 완충용액 1 mL로 용해시켜 간조직의 콜레스테롤 대사 조절 효소 활성도 측정에 이용하였다.

단백질 정량은 Bradford 방법(53)을 이용하여 측정하였

다. 2 mL의 단백질 시약에 간조직에서 효소원을 분리하여 희석한 시료를 교반한 후, ELISA reader를 이용하여 595 nm에서 측정하였다. 이때 표준물질로는 bovine serum albumin(BSA, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 사용하였다.

#### 간조직의 콜레스테롤 대사 조절 효소 활성화 측정

Shapiro 등(54)의 방법을 수정 보완하여 간조직의 콜레스테롤 생합성을 조절하는 효소 활성도를 측정하였다. 분리된 마이크로소염 100~150 µg과 NADPH 500 nmol 및 [<sup>14</sup>C] HMG-CoA 50 nmol(specific activity, 2.1083 GBq/mmol; NEN<sup>TM</sup> Life Science Products, Boston, MA, USA)을 혼합하여 전체 반응량을 60 µL로 하여 37°C 항온수조에서 15분간 반응시켰다. 이 과정에서 HMG-CoA는 마이크로소염 내에 존재하는 HMG-CoA reductase에 의해 mevalonate로 전환되며, 15분간 반응 후 반응부피의 1/4에 해당하는 10 N HCl을 가하여 37°C에서 15분간 다시 반응시킴으로써 효소 반응을 종결시키는 동시에 mevalonate를 lactone form으로 전환시켰다. 반응종료 후 10,000 rpm, 4°C에서 5분간 원심분리 하여 상층액 일부(20 µL)를 Silica Gel on Polyester TLC plate(Sigma-Aldrich)에 점적한 후 benzene : acetone (1:1, v/v) 용매에서 전개시켰다. 전개시킨 TLC plate의 mevalonate spot(R<sub>f</sub> 0.3~0.6)은 Image Analyzer(MacBas 1000, Fuji, Matsudo, Japan)를 사용하여 위치를 확인하였고, mevalonate band를 잘라 Scintillation counter(Packard Tricarb 1600TR, Packard, Sydney, Australia)로 [<sup>14</sup>C]mevalonate 활성을 측정하였다. 효소 활성도는 1 mg의 마이크로소염 단백질이 생성하는 mevalonate의 양을 pmol로 나타내었다.

Erickson 등(55)과 Gillies 등(56)의 방법을 수정 보완하여 간조직의 유리 콜레스테롤을 에스테르화하는 효소 활성도를 측정하였다. ACAT assay에 사용된 콜레스테롤 용액은 Triton WR-1339에 녹여 준비하였다. 콜레스테롤 6 mg을 6 mL acetone에 녹인 후 6 mL의 acetone에 Triton WR-1339 600 mg을 녹인 용액과 잘 섞어 질소 가스로 acetone을 모두 휘발시킨 다음, 20 mL의 물에 녹여 콜레스테롤(300 µg/mL) 용액을 준비하였다. 기질로 이용되는 oleoyl-CoA는 200 µg/mL의 농도가 되도록 증류수에 녹였다. Triton WR-1339에 녹인 콜레스테롤 6 µg(20 µL), 1 M KPB(potassium phosphate buffer, pH 7.4) 20 µL, 0.6 mM BSA 10 µL와 마이크로소염 50~100 µg을 잘 섞고 180 µL가 되도록 증류수로 채운 후 37°C에서 30분간 전반응 시켰다. [<sup>14</sup>C]oleoyl-CoA(specific activity: 1.9795 GBq/mmol; NEN<sup>TM</sup> Life Science Products) 5.62 nmol을 섞어 전체 volume이 200 µL가 되게 하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후, 500 µL의 iso-propanol : heptane(4:1) 용액, 300 µL의 heptane 및 200 µL의 0.1 M KPB(pH 7.4)를 넣고 잘 섞은 후 실온에서 2분간 방치하였다. 상층액 중 200 µL를 취하여 scintillation counting하

여 나온 값에 2배의 보정 인자를 곱하여 활성도를 측정하였다. 효소 활성도는 1 mg의 마이크로소염 단백질이 1분간 생성하는 cholesteryl oleoate의 pmol 수로 나타내었다.

#### 조직세포 형태학적 분석

동물희생 시 적출한 간조직 일부를 10% formaldehyde 용액에 24시간 고정된 다음, 같은 용액으로 2회 교환하였다. 그 다음 2배수 ethanol로 탈수하여 paraffin에 포매하고, 이것을 4 µm 두께로 박절하여 hematoxylin-eosin(H-E) 염색한 다음 광학현미경에서 200배 배율로 관찰하였다.

#### 간독성 지표 분석

간세포 손상과 밀접한 관련이 있는 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT), glutamic pyruvic transaminase(GPT) 등을 Reitman-Frankel(57)의 비색분석법에 준한 효소법을 응용하여 분광광도계로 측정하여 분석하였다. 혈장 GOT의 경우 L-aspartate와 α-ketoglutarate, GPT의 경우 D-, L-alanine과 α-ketoglutarate를 넣으면 혈장의 효소에 의해 기질이 pyruvate로 바뀌며, 이 pyruvate를 2,4-dinitrophenylhydrazine과 반응시켜 0.4 N NaOH를 처리하면 비색으로 발색반응이 나타나고 이를 490~530 nm에서 흡광도를 측정하여 피루빈산 리튬의 표준곡선과 비교하는 원리를 이용하였으며 방법은 다음과 같다. GOT, GPT용 기질액을 1 mL씩 취하고 37°C에서 5분간 방치한 다음 혈청 0.2 mL를 가하여 37°C에서 GOT는 60분, GPT는 30분 방치하였다. Dinitrophenyl hydrazine 발색 용액을 1 mL씩 가하여 실온에 20분 방치하고 0.4 N NaOH 용액 10 mL와 혼합하여 10분간 방치한 다음 흡광도를 측정하였다. 이때 표준곡선은 혈청 transaminase 측정용 시약(아산제약) 중 검량선용 시약을 이용하였다.

#### 통계처리

본 실험의 모든 결과는 컴퓨터 통계 프로그램 중의 하나인 SPSS package program(Statistical Package for the Social Sciences III, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 분석하였고, 각 군간의 평균차이에 대한 유의성 검정을 위해 one-way ANOVA(analysis of variance)를 실시하였다. 다군간의 차이는 Duncan's multiple range test에 의해 p<0.05 이상의 수준에서 검정하였다.

### 결과 및 고찰

#### 식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율

모든 실험군의 식이섭취량은 고지방식이 대조군과 비슷한 수준이었으며, 체중증가량은 감염 추출물 보충군을 제외한 두 가지 시험군(BWE, LWE)에서 다소 낮았으나 통계적 유의성은 없었다(Table 3). 따라서 메틸염 추출물 보충군의 식이효율(FER)이 고지방식이 대조군에 비해 유의적으로 감소하였으며, 구기자잎 추출물 보충으로 식이효율이 감소하

Table 3. Effects of PWE, BWE and LWE supplementation on food intake, body weight gain and food efficiency ratio in rat fed a high-fat diet<sup>1)</sup>

Group <sup>2)</sup>	Food intake (g/day)	Body weight gain (g/day)	FER <sup>3)</sup>
HFD	22.44±1.19	5.09±0.47	0.22±0.01 <sup>a</sup>
PWE	23.45±0.83	5.50±0.44	0.23±0.01 <sup>a</sup>
BWE	23.13±1.27	4.64±0.70	0.19±0.02 <sup>b</sup>
LWE	22.24±2.86	4.33±0.32	0.20±0.01 <sup>ab</sup>

<sup>1)</sup>Mean±SE.

<sup>2)</sup>HFD: high fat diet control, PWE: persimmon leaf water extract, BWE: buckwheat leaf water extract, LWE: *Lycii fructus* leaf water extract.

<sup>3)</sup>Food efficiency ratio=body weight gain/ food intake.

<sup>ab</sup>Means in the same column not sharing a common superscript are significantly different between groups (p<0.05).

는 경향을 보였다(Table 3). 채소와 과일에 함유되어 있는 다량의 식이섬유소 섭취는 칼로리가 거의 없고 오래 씹어 반복감을 주며 체중과 식이효율의 감소를 가져와 비만억제에 효과가 있다고 하였다(58). 또한 수용성 식이섬유소는 장의 점성을 증가시켜 연동운동 중 장 내용물과 영양성분의 이동을 둔화시킴으로써 포도당뿐만 아니라 단백질, 지질의 흡수율을 감소시키고, 그 결과 체중 증가와 식이효율 또한 감소된다고 보고된 바 있다(59,60). 본 연구에서 고지방식이 대조군과 비교 시 메밀잎 및 구기자잎 추출물 보충에 의해 체중 및 식이효율이 감소된 것은 고식이섬유소를 함유하고 있는 메밀잎 및 구기자잎의 섭취로 인해 생긴 포만감과 관련된 것으로 사료된다. 하지만 고식이섬유소를 함유하고 있는 감잎추출물의 체중 및 식이효율이 고지방식이 대조군과 비교 시 유의적인 차이가 없는 이유에 대해서는 향후 추가 연구가 더 필요할 것으로 사료된다.

#### 체지방량 및 간조직 무게

고지방식이와 실험물질을 6주간 급여한 흰쥐의 체지방량 및 간조직 무게를 비교한 결과는 Table 4와 같다. 일반적으로 비만인에서 체지방 증가는 체중 증가보다 비만 관련 합병증을 유도하는 주요 위험인자로 알려져 있다. 체지방은 형태나 작용에 따라 백색지방(white adipose tissue)과 갈색지방(brown adipose tissue)으로 구분된다. 백색지방은 주로 체내 잉여에너지를 지방으로 저장하며 피하와 장기주변에 분

포하는 반면, 갈색지방은 열을 생산하는 기능을 하고 목주위에 발달되어 있다(61). 구기자잎 추출물 보충은 체중 감량 시 특히 민감하게 반응한다고 알려진 부고환 백색지방조직을 비롯한 신주위 백색지방조직 및 견갑골간 백색지방조직의 무게를 고지방 대조군인 HFD군에 비해 유의적으로 낮추었다. 신주위 백색지방조직과 견갑골간 백색지방조직의 무게는 감잎 및 메밀잎 추출물의 보충에 의해서도 낮아지는 경향을 보였다. 열 발생 능력이 있는 견갑골간 갈색 지방조직의 무게는 구기자잎 추출물 보충에 의해 12% 정도 낮아졌으나 통계적 유의성은 없었다. 이들 각 지방조직의 무게를 합한 총 지방조직의 무게는 고지방식이 대조군에 비해 구기자잎 추출물 보충군에서 유의적으로 감소되었으며, 감잎 추출물 보충군 및 구기자잎 추출물 보충군에서 감소하는 경향을 보였다. 따라서 세 가지 실험물질 보충군 중 구기자잎 추출물의 보충은 비만을 유도한 동물의 체지방 무게 감량에 가장 효과적인 것으로 증명되었다. Lee 등(62)은 감잎을 고지방식이에 분말 형태로 혼합하여 6주간 급여하였을 때 체중, 체지방량 및 지방구 크기가 대조군보다 유의적으로 감소하였다고 보고하였는데 본 연구에서는 군별 유의적 차이가 없는 것으로 보아 감잎 분말이 감잎 추출물에 비해 체중 및 체지방 감량 효능이 더 큰 것으로 사료된다. 간조직의 무게는 식이군 간 유의적인 차이가 없었으나, 세 가지 식물 추출물군 중 구기자잎 추출물군의 간조직 무게가 가장 낮은 것으로 관찰되었다.

#### 혈장 leptin 수준

지방세포에서 생산되는 leptin은 지방조직에 저장되어 있는 에너지 저장량에 대한 정보를 뇌에 전달하여 주는 대표적인 인자로서(63), 지방조직과 시상하부 반복 중추 사이의 피드백 루프(feedback loop)의 연결고리 역할을 하는 것으로 알려져 있다(64,65). 혈중 leptin 수준은 체지방량에 비례하여 증가하며, 에너지 대사의 조절중추인 시상하부에 작용하여 식욕을 저하시켜 식이섭취량을 감소시키고, 에너지 대사를 증가시킴으로써 체중을 줄이는 작용을 한다. 본 연구에서 혈장 leptin 수준은 고지방식이 대조군과 비교하여 모든 실험군(PWE, BWE, LWE)에서 각각 23%, 29%, 39% 감소하였으며, 특히 세 가지 실험물질 보충군 중 탁월한 체중 및 체지

Table 4. Effects of PWE, BWE and LWE supplementation on adipose tissue and liver weights in rats fed a high-fat diet<sup>1)</sup>

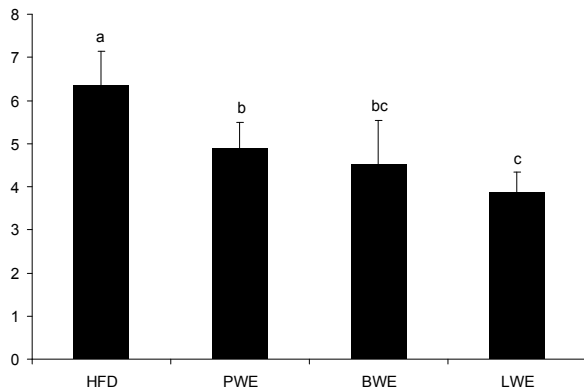
Group <sup>2)</sup>	Epididymal WAT <sup>3)</sup> (g)	Perirenal WAT (g)	Interscapular WAT (g)	Interscapular BAT <sup>4)</sup> (g)	Total fat (g)	Liver (g)
HFD	10.67±1.15 <sup>a</sup>	15.00±0.86 <sup>a</sup>	3.51±0.61 <sup>a</sup>	0.76±0.06	31.04±2.78 <sup>a</sup>	13.92±0.82
PWE	10.79±0.68 <sup>a</sup>	13.30±1.06 <sup>ab</sup>	2.70±0.27 <sup>ab</sup>	0.78±0.08	26.17±1.66 <sup>ab</sup>	14.67±0.88
BWE	9.20±1.10 <sup>a</sup>	12.88±1.93 <sup>ab</sup>	3.30±0.51 <sup>ab</sup>	0.73±0.06	24.70±3.25 <sup>ab</sup>	12.75±1.27
LWE	6.92±0.37 <sup>b</sup>	10.44±0.99 <sup>b</sup>	2.16±0.16 <sup>b</sup>	0.67±0.05	19.97±0.89 <sup>b</sup>	12.61±0.55

<sup>1)</sup>Mean±SE.

<sup>2)</sup>HFD: high fat diet control, PWE: persimmon leaf water extract, BWE: buckwheat leaf water extract, LWE: *Lycii fructus* leaf water extract.

<sup>3)</sup>WAT: white adipose tissue. <sup>4)</sup>BAT: brown adipose tissue.

<sup>ab</sup>Means in the same column not sharing a common superscript are significantly different between groups (p<0.05).



**Fig. 1.** Effects of PWE, BWE and LWE supplementation on plasma leptin concentration in rats fed a high-fat diet. Mean ± SE. <sup>a-c</sup>Means not sharing a common superscript are significantly different between groups (p<0.05). HFD: high fat diet control, PWE: persimmon leaf water extract, BWE: buckwheat leaf water extract, LWE: *Lycii fructus* leaf water extract.

방 저하 효능을 보였던 구기자잎 추출물 보충군이 가장 현저히 혈장 leptin 수준을 낮추어 이는 체중 및 체지방 저하 경향과도 일치하였다(Fig. 1). 본 실험결과에서는 leptin의 기능이 식이섭취량에는 반영되지 않았으나 체지방량이 저하된 실험물질 보충군에서 혈장 leptin 수준이 낮은 것으로 나타났다. 이는 leptin의 생성 및 분비를 담당하는 지방조직의 양적수준과 혈장 leptin 수준 간에 양의 상관관계가 있음을 시사한다.

**혈장 지질 농도**

고지방식이에 감잎 추출물, 메밀잎 추출물 및 구기자잎 추출물을 첨가한 식이 흰쥐의 혈장 지질 개선에 미치는 영향을 Table 5에 나타내었다. 혈장 중성지질 농도는 감잎, 메밀잎 및 구기자잎 추출물을 급여한 실험군들에서 고지방식이 대조군과 비교하였을 때 각각 32%, 50% 및 50% 감소되었다. Kang과 Kim(65)은 흰쥐를 대상으로 뽕잎, 감잎 및 깻잎을 분말화하여 식이섬유소 함량이 5%가 되도록 조제한 식이를 급여한 군에서 고콜레스테롤 대조군에 비해 혈청 중성지질이 감소되었다고 보고한 바 있다. 또한 이는 구기자잎의 혈장 중성지질 저하 효과를 보고한 Kim 등(66,67)의 결과와

도 일치한다.

한편 당뇨쥐를 대상으로 한 연구에서 당뇨대조군과 비교 시 메밀식이의 급여는 혈중 중성지질뿐만 아니라 콜레스테롤 농도를 저하시키는 것으로 나타났으며(68), 메밀이 고콜레스테롤혈증의 예방 및 치료제로서의 개발가능 식품자원이 보고된 바 있다(69). 본 연구에서도 메밀잎 추출물 보충은 혈장 총 콜레스테롤 농도를 고지방식이 대조군에 비해 유의적으로 낮추었다(Table 5). 감잎과 구기자잎 추출물도 혈중 콜레스테롤 농도를 다소 낮추었으나 통계적 유의성은 없었다. 본 실험에서 나타난 감잎, 메밀잎 및 구기자잎 추출물의 혈중 지질 저하효능은 이들에 함유되어 있는 다량의 식이섬유소와 페놀성 화합물을 비롯한 폴리페놀류 등의 기능성 물질 때문인 것으로 사료된다. 한편 Kim 등(70)의 연구에서 감잎 에탄올 추출물이 녹차 에탄올 추출물에 비해 플라보노이드와 식이섬유 함량이 낮음에도 불구하고 혈장 지질 수준을 더욱 감소시켰는데, 이 결과는 플라보노이드 및 식이섬유의 함량뿐만 아니라 그 종류와 질에 의한 효과 차이인 것으로 해석된다.

항동맥경화의 지표인 혈장 HDL-콜레스테롤의 농도는 고지방식이 대조군인 HFD군과 비교했을 때 감잎 및 메밀잎 추출물 보충군이 증가하는 경향을 보였다(Table 5). 이와 같은 실험 결과를 바탕으로 동맥경화증 예방 요인 성향을 알아보고자 혈장 총 콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤의 비율인 HTR을 고지방식이 대조군과 비교하였을 때, 감잎 추출물군 및 메밀잎 추출물군에서 증가하는 경향을 보여 감잎 및 메밀잎 추출물 보충이 혈장 지질 저하 및 동맥경화의 위험을 감소시키는 것으로 평가되었다(Table 5). 반면, 구기자잎 추출물 보충은 혈장 HDL 콜레스테롤 농도를 20% 정도 감소시켰으나 HTR의 군간 유의적인 차이는 없었다(Table 5). 이는 구기자가 동맥경화증을 예방할 수 있는 HDL-콜레스테롤을 증가시켜 고지혈증을 예방하는 효과가 있다고 보고한 Kim 등(40)의 결과와 상반된 결과이다. 반면, Yumiki 등(71)은 구기자의 주요 flavonoid인 rutin이 흰쥐의 혈장 HDL 콜레스테롤 농도를 유의적으로 낮추었다고 보고하였다. 또한 폐경 후 고콜레스테롤혈증 여성에서 식이섬유소는

**Table 5.** Effects of PWE, BWE and LWE supplementation on plasma lipid concentration and plasma GOT and GPT levels in rats fed a high-fat diet<sup>1)</sup>

Group <sup>2)</sup>	TG <sup>3)</sup> (mg/dL)	TC <sup>4)</sup> (mg/dL)	HDL-C <sup>5)</sup> (mg/dL)	HTR <sup>6)</sup> (%)	GOT <sup>7)</sup> (karmen/mL)	GPT <sup>8)</sup> (karmen/mL)
HFD	105.33 ± 6.78 <sup>a</sup>	97.26 ± 5.23 <sup>a</sup>	47.54 ± 2.50 <sup>ab</sup>	50.02 ± 1.32 <sup>ab</sup>	60.24 ± 4.22	28.55 ± 2.60 <sup>a</sup>
PWE	71.58 ± 1.56 <sup>b</sup>	94.77 ± 6.38 <sup>a</sup>	58.60 ± 3.32 <sup>a</sup>	60.44 ± 2.25 <sup>a</sup>	51.13 ± 3.06	19.94 ± 1.78 <sup>b</sup>
BWE	53.25 ± 7.12 <sup>b</sup>	65.74 ± 4.42 <sup>b</sup>	50.62 ± 3.42 <sup>ab</sup>	64.76 ± 3.16 <sup>a</sup>	54.85 ± 2.47	19.94 ± 1.23 <sup>b</sup>
LWE	52.29 ± 2.44 <sup>b</sup>	89.90 ± 4.85 <sup>a</sup>	38.10 ± 1.66 <sup>b</sup>	44.66 ± 1.25 <sup>b</sup>	56.64 ± 1.26	23.62 ± 2.02 <sup>ab</sup>

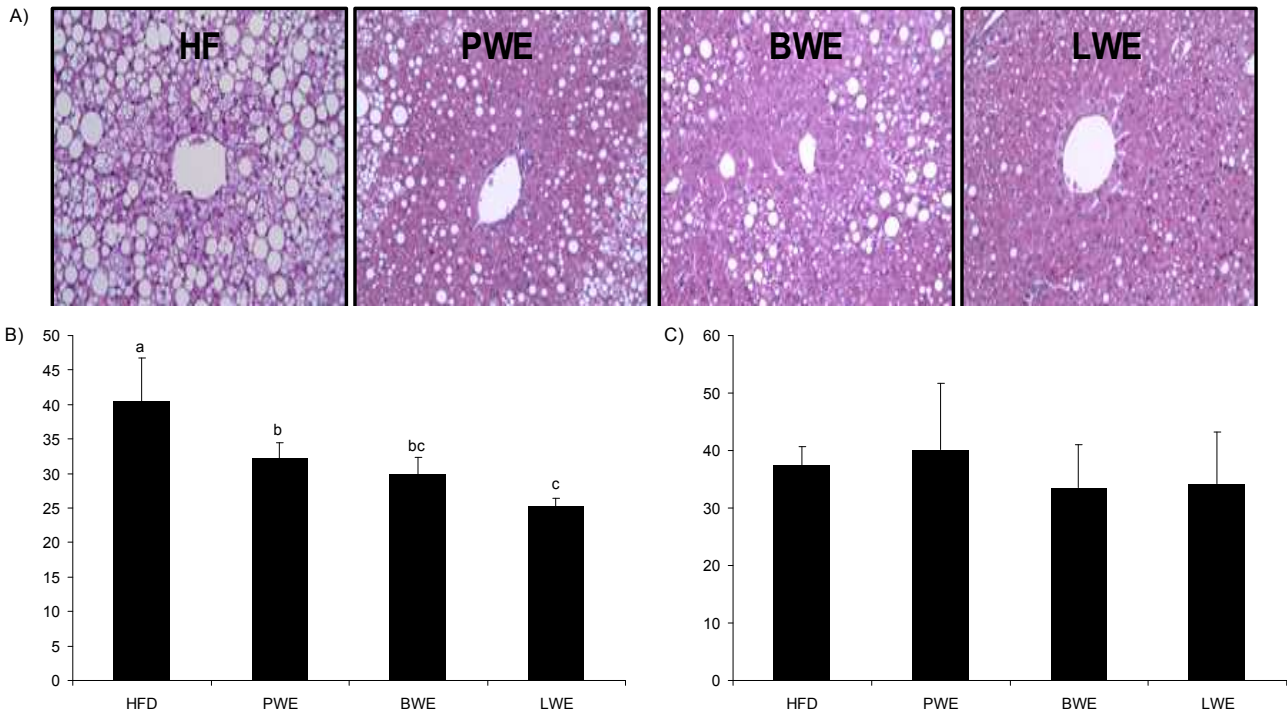
<sup>1)</sup>Mean ± SE.

<sup>2)</sup>HFD: high fat diet control, PWE: persimmon leaf water extract, BWE: buckwheat leaf water extract, LWE: *Lycii fructus* leaf water extract.

<sup>3)</sup>TG: triglyceride. <sup>4)</sup>TC: total cholesterol. <sup>5)</sup>HDL-C: HDL-cholesterol. <sup>6)</sup>HTR: HDL-cholesterol/total cholesterol.

<sup>7)</sup>GOT: glutamic oxaloacetic transaminase. <sup>8)</sup>GPT: glutamic pyruvic transaminase.

<sup>ab</sup>Means in the same column not sharing a common superscript are significantly different between groups (p<0.05).



**Fig. 2.** Effects of PWE, BWE and LWE supplementation on hepatic lipid content and morphology in rats fed a high-fat diet. Mean  $\pm$  SE. <sup>a-c</sup>Means not sharing a common superscript are significantly different between groups ( $p < 0.05$ ). HFD: high fat diet control, PWE: persimmon leaf water extract, BWE: buckwheat leaf water extract, LWE: *Lycii fructus* leaf water extract.

총 콜레스테롤과 함께 HDL 콜레스테롤의 유의적인 감소를 유도하였다(72). 구기자잎 추출물의 혈장 HDL 농도 저하와 관련된 작용기작에 대한 추후 더 체계적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

#### 간조직 지질 농도 및 간조직의 형태학적 특징

일반적으로 고지방식은 정상식과 비교 시 혈장과 간조직의 콜레스테롤 수준을 유의적으로 증가시킨다(73). 본 실험 결과, 감잎, 메밀잎 및 구기자잎 추출물을 보충한 모든 실험군의 간조직 콜레스테롤 함량은 고지방식이 대조군에 비해 유의적으로 감소되어 이들 식물추출물들이 고지방식이로 인한 간조직의 콜레스테롤 함량 증가를 유의적으로 억제시키는 것으로 평가되었다(Fig. 2). 광학현미경으로 간조직의 형태를 관찰한 결과에서도 고지방 식이만을 급여한 HFD군의 간조직에서는 지방구의 크기가 크고 지방구가 조밀하게 분포된 반면, 고지방 식이에 실험물질을 보충 급여한 나머지 군들에서는 지방구의 크기 및 수가 감소하는 것으로 나타나 감잎, 메밀잎 및 구기자잎의 간조직 지방축적 억제현상을 뒷받침해주었다(Fig. 2). 이러한 감잎, 메밀 및 구기자의 간조직 콜레스테롤 농도 저하 효능은 타 연구들(62,70, 74,75)에서 이미 보고된 바 있다. 간조직의 중성지질 함량은 혈장에서 나타난 결과와는 대조적으로 식이군간 유의적 차이가 나타나지 않았다. 혈장의 중성지질 농도는 지방 섭취량, 장관의 흡수, 간조직의 합성과 분비 및 지방조직의 흡수와 저장 등 다양한 조건에 따라 달라진다(76). 본 연구결과에

서 혈중 중성지질 농도는 감잎, 메밀잎 및 구기자잎 추출물에 의해 유의적으로 낮아졌음에도 불구하고 간조직의 중성지질 농도에는 변화가 없었으므로 이들 세 가지 추출물에 의한 혈장 중성지질 농도의 변화는 간조직의 중성지질 합성과 분비보다는 장관의 흡수나 이용도의 차이에 기인할 것으로 사료된다. 메밀잎과 구기자잎에 다량 함유되어 있는 flavonoid인 lutein이 혈장에서 중성지질 가수분해 효소인 lipoprotein lipase 활성도를 증가시키고 혈장 중성지질 농도를 낮추었으며(77), 식이섬유소는 소장에서의 중성지질 흡수를 저해할 뿐만 아니라 분변 중의 중성지방 배설을 증가시켜 혈장 중성지질 농도를 낮추었다(78). 또한 Lee 등(62,74)의 연구결과에 의하면 고지방식이로 비만을 유도한 흰쥐에서 감잎과 메밀잎 분말의 보충이 변중 중성지질 배설량을 유의적으로 증가시킴으로써 혈장 중성지질 농도를 현저히 감소시켰다.

#### 간조직의 HMG-CoA reductase 및 ACAT 활성도

간은 콜레스테롤 대사의 항상성 유지에 중심적인 역할을 한다. 간조직에서 콜레스테롤 대사를 조절하는 효소에는 콜레스테롤 생합성 경로를 조절하는 HMG-CoA reductase와 유리 콜레스테롤을 에스테르화하는 ACAT 등이 있다. HMG-CoA reductase 저해로 인한 간에서의 콜레스테롤 합성 억제는 세포내 콜레스테롤 공급을 줄이고 조직의 LDL 수용체 합성을 증가시켜 순환하는 LDL 입자가 조직 내로 유입되도록 유도한다(79). 그러나 본 실험에서는, 감잎, 메밀잎 및 구



Table 6. Effects of PWE, BWE and LWE supplementation on hepatic cholesterol-regulating enzymes activities and fecal sterol excretion in rats fed a high-fat diet<sup>1)</sup>

Group <sup>2)</sup>	Liver		Feces		
	HMGR <sup>3)</sup> (pmol/min/mg)	ACAT <sup>4)</sup> (pmol/min/mg)	Acidic sterol (mg/day)	Neutral sterol (mg/day)	Fecal weight (g/day)
HFD	58.23±0.26 <sup>a</sup>	239.71±10.83	5.92±2.94 <sup>a</sup>	80.23±10.24	1.98±0.12 <sup>a</sup>
PWE	65.45±2.61 <sup>b</sup>	216.59±10.65	25.90±14.50 <sup>d</sup>	91.25±10.80	2.63±0.10 <sup>c</sup>
BWE	62.17±2.65 <sup>ab</sup>	231.97±6.74	20.79±13.22 <sup>c</sup>	90.27±17.52	2.26±0.18 <sup>b</sup>
LWE	65.65±2.07 <sup>b</sup>	213.07±5.02	15.56±28.77 <sup>b</sup>	89.56±19.67	2.41±0.10 <sup>bc</sup>

<sup>1)</sup>Mean±SE.

<sup>2)</sup>HFD: high fat diet control, PWE: persimmon leaf water extract, BWE: buckwheat leaf water extract, LWE: *Lycii fructus* leaf water extract.

<sup>3)</sup>HMGR: 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase.

<sup>4)</sup>ACAT: acyl-coenzyme A:cholesterol acyltransferase.

<sup>a-c</sup>Means in the same column not sharing a common superscript are significantly different between groups (p<0.05).

기자잎 추출물의 식이 첨가가 이 효소의 활성을 증가시켰다 (Table 6). Fig. 2에서 나타난 것처럼 이들 식이군의 간조직 콜레스테롤 함량이 고지방식이 대조군에 비해 감소된 것으로 보아, 이러한 식물 추출물 보충에 의한 HMG-CoA reductase 활성 증가는 이미 저하된 체내 콜레스테롤에 대한 항상성 기전에 의해 유도된 것으로 평가된다. 콜레스테롤 저장 효소인 ACAT 활성도는 군간 유의성이 나타나지 않았다 (Table 6).

**분변 중 산성 스테롤 및 중성 스테롤 함량**

일일 총 분변 배설량 및 분변으로 배설된 스테롤의 함량은 Table 6과 같다. 우선 일일 총 분변 배설량을 살펴보면, 고지방식이 대조군에 비해 감잎, 메밀잎 및 구기자잎 추출물 보충군에서 유의적으로 증가하였다. 이는 감잎, 메밀잎, 그리고 구기자잎의 첨가로 인한 고식이섬유소 섭취에 의한 것으로 보인다. Chau 등(80)은 불용성 식이섬유가 햄스터의 건조 분변량을 55~56% 증가시켰다고 보고한 바 있다. 한편, 분변량은 섭취하는 식이섬유의 종류 및 질에 따라 증가 정도가 다르다(81).

또한 분변 중의 산성 스테롤 배설량이 고지방식이 대조군인 HFD군에 비하여 모든 실험물질 보충군에서 유의적으로 증가하였다. 또한 체내 중성 스테롤이 이들 식물 추출물 보충에 의해 분변으로 더 많이 배설되는 것으로 나타났으나 통계적 유의성은 없었다. 소장에서 흡수되지 않은 콜레스테롤은 그대로 혹은 장내세균에 의해 변화되어, 최종적으로 분변으로 배설된다. 이것을 담즙산(산성스테로이드)과 구별하여 중성 스테로이드라고 부른다. 분변 중 중요한 중성스테로이드는 콜레스테롤과 세균에 의한 변화물인 coprostanol이다. 이 밖에 coprostanone도 흔히 검출된다. 따라서 cholesterol, coprostanol 및 coprostanone 등이 분변 중 중성스테로이드의 95% 이상을 차지한다. 한편, 담즙산의 합성은 체내로부터 콜레스테롤의 제거와 관련되어 있다. 흰쥐에서는 체내 대사에 관련된 콜레스테롤의 80~90%가 간에서 담즙산으로 전환된다. 사람에서도 50% 이상에 이르면, 담즙산 합성이 항진되어 있는 조건하에서 담즙산 형태로의 배설은

몸에서 제거되는 대사와 관련된 콜레스테롤 중 80%에 이른다. 따라서 담즙산 합성 능력은 체내 콜레스테롤의 과잉축적 방지와 밀접한 관련을 가지고 있다(82). Satoshi 등(83)은 정상식에 동결건조 시킨 감잎(73.8 mg/dL)과 고구마잎(76.6 mg/dL)의 분말을 흰쥐에 급여한 결과 혈장 총 콜레스테롤 함량이 정상식이군보다 저하되었고, 분변 총 스테롤 배설량도 증가되었다고 보고하였다. Park 등(84)도 흰쥐를 대상으로 1% 고콜레스테롤 식이에 0.1% rutin과 0.1% tannic acid를 급여한 결과 본 실험과 유사한 결과를 보였다. 많은 연구 결과들이 폴리페놀의 콜레스테롤 저하 효과가 분변 콜레스테롤 및 담즙산 배설 증가에 기인된다고 언급하였다(85-87). 일반적으로 장 통과시간 단축, 담즙산 흡착 증가, 콜레스테롤 생합성 증가, 그리고 콜레스테롤 흡수 감소 등 식이섬유의 여러 작용들이 분변 스테롤 배설량을 증가시키게 되고, 이로 인하여 혈중 콜레스테롤 농도가 감소하게 된다(88-91). 본 연구에서 간조직 총콜레스테롤 농도와 분변 스테롤 배설 수준의 결과를 미루어 볼 때, 식이 보충기간이 6주 이상으로 연장될 경우에는 메밀잎 추출물뿐만 아니라 감잎과 구기자잎 추출물의 혈장 콜레스테롤 농도 저하 효과도 유의적일 것으로 사료된다.

**혈장 GOT 및 GPT**

GOT와 GPT는 간세포에 존재하는 효소로서 간조직이 손상되면 혈중으로 방출되는 특징을 가지고 있으므로 간기능 검사의 대표적인 지표로 많이 사용된다(57). 따라서 혈장에서 GOT 및 GPT의 효소 역가가 높으면 간 손상이 크다는 것을 알 수 있다. Chang 등(92)의 연구보고에 의하면 혈장 GOT 및 GPT의 수준이 고지방식이 섭취로 인해 정상식이군에 비해 유의적으로 증가하였다. 본 실험에서 혈장 GPT 수준은 감잎 및 메밀잎 추출물 보충으로 고지방식이 대조군에 비해 유의적으로 낮아졌으며 GOT 수준은 실험군간 유의적인 차이가 없었다(Table 5). 따라서 지질저하 효능을 지닌 시험물질의 식이 보충이 고지방식으로 인한 흰쥐의 간기능 저하를 정상적으로 유지시키는 것으로 사료된다. 이는 난소 적출로 비만을 유도한 흰쥐에서 구기자잎 보충이 비만으로

인해 증가한 혈청 GPT 수준을 감소시켰다는 Yoon 등(93)의 연구결과와도 일치한다.

## 요 약

본 연구는 한국 고유의 농산물 유래 천연식물인 감잎, 메밀잎 및 구기자잎 추출물의 체내 지질대사 개선 및 항비만 효과를 살펴보기 위하여 고지방식이군(HFD), 고지방 식이에 10%(w/w)의 감잎(PWL), 메밀잎(BWE) 및 구기자잎(LWE) 추출물을 보충한 실험물질 보충군으로 나누어 6주간 실시하였다. 감잎, 메밀잎 및 구기자잎 추출물은 식이섭취량에는 영향을 미치지 않았으나 고지방식으로 인한 체지방 및 혈장 leptin 수준 증가 현상을 억제하는 것으로 나타났다. 특히 구기자잎의 체지방 저하 효과가 세 가지 천연식물 추출물 중 가장 탁월한 것으로 나타났으며 혈장 leptin 수준도 유사한 경향을 보였다. 혈장 중성지방 농도는 고지방식이 대조군과 비교하였을 때 모든 천연식물 추출물 보충에 의해 유의적으로 감소되었다. 혈장 총 콜레스테롤 농도는 메밀잎 추출물 보충으로 고지방식이 대조군에 비해 유의적으로 감소하였으며 혈장 HDL-콜레스테롤 농도 및 HTR은 감잎과 메밀잎 추출물 보충으로 증가하는 경향을 보여 이들 식물추출물 보충이 동맥경화를 예방하는 것으로 평가되었다. 간조직의 콜레스테롤 농도는 세 가지 천연식물 추출물 보충군 모두에서 고지방식이 대조군에 비해 유의적으로 감소되었다. 이러한 세 가지 식물추출물의 지질 저하 효능은 총 분변 배설량 및 분변으로의 담즙산 배설량 증가에 의한 것임을 확인할 수 있었다. 이상의 실험 결과 고지방 식이와 함께 급여한 감잎, 메밀잎, 구기자잎 추출물은 체지방량 감소나 혈장 및 간조직의 지질대사 개선에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 이들 식물추출물에 다량 함유된 식이섬유소와 flavonoid 등의 생리활성 물질이 지질대사를 개선시키고 지방축적을 억제하여 비만 및 비만과 관련된 고지혈증 등의 심혈관계질환의 발생률을 감소시키는데 효과가 있을 것으로 사료된다. 그 외에 어떠한 생리활성 성분이 어떻게 작용을 하는지에 대해서는 추후 더 체계적인 연구가 필요할 것으로 사료된다. 특히, 이들 식물에 대한 기존 연구는 주로 열매의 생리활성에 대한 보고이며, 감잎의 경우 분말이나 에탄올 추출물의 항산화 효능에 대한 연구가 대부분이다. 식물의 잎은 일상에서도 쉽게 구할 수 있어 일반인들이 식용으로 이용하기 용이하므로 차와 음료 등의 건강 음료 및 고기능성이 부여된 효율적인 건강기능식품 개발을 통해 소비를 활성화할 수 있을 것으로 기대된다.

## 감사의 글

본 연구는 (주)바이오뉴트리젠, 한국산업기술진흥원(2010, 70004935) 및 한국학술진흥재단(531-2006-1-C00064)의 연

구비 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 문 헌

- Huh KB. 1990. The present status of nutrition-related disease and its countermeasures. *Korean J Nutr* 23: 197-207.
- Moon SJ. 1996. Nutritional problems of Korean. *Korean J Nutr* 29: 371-380.
- Lee HK. 1996. Korean disease pattern and nutrition. *Korean J Nutr* 29: 381-383.
- Manninen V, Tenkanen L, Kostinen P, Huttunen T, Manttari M, Heinonen O, Frick H. 1992. Joint effects of serum triglyceride LDL-cholesterol and HDL-cholesterol concentration on coronary heart disease risk in the helsinki heart study. *Circulation* 85: 37-45.
- Al Muhtaseb N, Hayat N, Al M. 1989. Lipoproteins and apoproteins in young male survivors of myocardial infarction. *Atherosclerosis* 77: 131-138.
- Rifkind BM. 1986. Diet, plasma cholesterol and coronary heart disease. *J Nutr* 116: 1578-1580.
- Kim SH, Lee JM, Kim HY, Kim MK. 1993. The composition of health status with age by fat intake pattern. KSF report.
- Oku T. 1994. Special physiology functions of newly developed mono and oligosaccharides. In *Functional Foods*. Goldberg I, ed. Chapman & Hall, New York and London. p 202.
- Van Itallie TB. 1978. Dietary fiber and obesity. *Am J Clin Nutr* 31: S43-S51.
- Hladovec J. 1977. Antithrombotic effects of some flavonoids alone and combined with acetylsalicylic acid. *Arzneim Forsch* 27: 1989-1992.
- Kim CJ, Su SK, Joo JH, Cho SK. 1990. Pharmacological activities of flavonoids (II)-relationships of anti-inflammatory and antigranulomatous actions. *Yakhak Hoeji* 34: 407-414.
- Burkitt DP. 1988. Dietary fiber and cancer. *J Nutr* 118: 531-533.
- Robards K. 2003. Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables. *J Chromatogr A* 1000: 657-691.
- Chung BS, Shin MK. 1990. *The great dictionary of traditional and crude medicine*. YoungLim Press, Seoul, Korea. p 3-152.
- Matsuo T, Ito S. 1978. The chemical structure of kaki-tannin from immature fruit of the persimmon (*Diospyros kaki* L.). *Agric Biol Chem* 142: 1637-1640.
- Choi JS, Park SH, Choi JH. 1989. Nitrite scavenging effect by flavonoids and its structure effect relationship. *Arch Pharm Res* 12: 26-31.
- Funayama S, Hikino H. 1979. Hypotensive principles of *Diospyros kaki* leaves. *Chem Pharm Bull* 27: 2865-2867.
- Uchida S, Edamatsu R, Hiramatsu M, Mori A, Nonaka GY, Nishioka I, Niwa M, Ozaki M. 1987. Condensed tannins scavenge active oxygen free radicals. *Med Sci Res* 15: 831-834.
- Choi SW, Kang WW, Chung SK, Cheon SH. 1996. Antioxidative activity of flavonoids in persimmon leaves. *Foods and Biotechnol* 5: 119-123.
- Hisayuki T, Shizuo T, Yasuyuki S, Toshio T, Teruaki H, Shigeru A, Yoshio T. 1984. Natural antioxidants. I. Antioxidative components of tea leaf (*Thea sinensis* L.). *Chem Pharm Bull* 32: 2011-2014.
- Kim JH, Kim KY, Roh YK, Choi SW. 1997. Antioxidative

- substances and their changes in the leaves of persimmon (*Diospyros kaki*) during growth. *Korean J PostHarvest Sci Technol Agric Products* 4: 323-330.
22. Moon SH, Kim KH, Park KY. 1996. Antitumor effect of persimmon leaves in vivo using Sarcoma 180 cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25: 865-870.
  23. Park MH. 1998. Effect of polyphenol compounds from persimmon leaves (*Diospyros kaki* folium) on immunofunctional and biological activity. *PhD Dissertation*. Yeungnam University, Gyeongbuk, Korea.
  24. An BJ. 1991. Structural studying of glucosyltransferase and tyrosinase inhibitors isolated from *Diospyros kaki* folium, *Artocarpus heterophyllus* folium. *PhD Dissertation*. Yeungnam University, Gyeongbuk, Korea.
  25. Sung CK, Cho SH. 1992. Studies on the purification and characteristics of tyrosinase from *Diospyros kaki* Thumb (persimmon). *Korean Biochem J* 25: 79-87.
  26. Bae DK, Choi HJ, Son CJ, Park MH, Bae JH, An BJ, Bae MJ, Choi C. The study of developing and stability of functional beverage from Korean persimmon (*Diospyros kaki* L. folium) leaf. *Korean J Food Sci Technol* 32: 860-866.
  27. Yeshajahu P, George SR. 1972. Amino acid composition of buckwheat. *J Agric Food Chem* 20: 270-274.
  28. Mazza G. 1987. Lipid content and fatty acid composition of buckwheat seed. *Cereal Chem* 65: 122-126.
  29. Marshall HG, Pomeranz Y. 1982. Buckwheat: description, breeding, production and utilization. In *Advances in Cereal Science and Technology*. Pomeranz Y, ed. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, USA. p 127-150.
  30. Kim JS, Park YJ, Yang MH, Shim JW. 1994. Variation of rutin content in seed and plant of buckwheat germplasm (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Korean J Breed* 26: 384-388.
  31. Kim YS, Chung SH, Suh HJ, Chung ST, Cho JS. 1994. Rutin and mineral contents on improved kinds of Korean buckwheat at growing stage. *Korean J Food Sci Technol* 26: 759-763.
  32. Havsteen B. 1983. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem Pharm* 32: 1141-1148.
  33. Struthers BJ, Macdonald JR, Dahlgren RR, Hopkins DT. 1983. Effects on the monkey, pig and rat pancreas of soy products with varying levels of trypsin inhibitor and comparison with the administration of cholecystokinin. *J Nutr* 113: 86-97.
  34. Ypshiko Y, Tsuneo F. 1976. Hypertrophy and hyperplasia in the endocrine and exocrine pancreas of rats fed soybean trypsin inhibitor or repeatedly injected with pancreozymin. *Arch Histo Jap* 39: 67-78.
  35. Sturthers BJ, Macdonald JR, Prescher EE, Hopkins DT. 1983. Influence of several plant and animal proteins on rat pancreas. *J Nutr* 113: 1503-1512.
  36. Sheo HJ, Jun SJ, Lee MY. 1986. Effect of *Lycii fructus* extract on experimentally induced liver damage and alloxan diabetes in rabbits. *J Korean Soc Food Nutr* 15: 136-143.
  37. Cho YJ, Kim SH. 1997. Protective effect of EA fraction of *Lycii cortex* radix on the hepatic damage in mice induced by CCl<sub>4</sub>. *Korean J Oriental Medical Pathology* 11: 63-71.
  38. Yoon CG, Kim HH, Chae SN, Oh MJ, Lee GH. 2001. Hepatic oxygen free radical and alcohol metabolizing enzyme activities in rats fed diets supplemented with *Lycium chinense* ethanol extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 668-672.
  39. Han BH, Park JH, Park MW, Han YM. 1985. Studies on the alkaloid components of the fruit of *Lycium chinese*. *Arch Pharm Res* 4: 249-253.
  40. Kim HS, Park YS, Kim C. 1998. Changes of serum lipid profiles after eating *Lycii Fructus* in rats fed high fat diet. *Korea J Nutr* 31: 263-270.
  41. Ohmori Y, Ito M, Kishi M, Mizutani H, Katada T, Konishi H. 1995. Antiallergic constituents from oolong tea stem. *Biol Pharm Bull* 18: 683-686.
  42. Gomes A, Vedasiromoni JR, Das M, Sharma RM, Ganguly DK. 1995. Anti-hyperglycemic effect of black tea (*Camellia sinensis*) in rat. *J Ethnopharmacol* 45: 223-226.
  43. Bravo L. 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev* 56: 317-333.
  44. Qian JA, Liu D, Huang AG. 2004. The efficiency of flavonoids in polar extracts of *Lycium chinense* Mill fruits as free radical scavenger. *Food Chem* 87: 283-288.
  45. McGowan MW, Artiss JD, Strandbergh DR, Zak B. 1983. A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. *Clin Chem* 29: 538-542.
  46. Allain CC, Poon LS, Chan CSG. 1974. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem* 20: 470-475.
  47. Warnick JB, Benderson J, Albers JJ. 1982. HDL precipitation by dextran sulfate-MgCl<sub>2</sub> method. *Clin Chem* 28: 1379-1385.
  48. Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH. 1957. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226: 497-509.
  49. Sale FO, Marchesine SP, Fishman H, Berra B. 1984. A sensitive enzymatic assay for determination of cholesterol in lipid extract. *Anal Biochem* 142: 347-350.
  50. Czubayco F, Beumers B, Lammasfuss S, Litjohann D, Bergmann K. 1992. A simplified micro-method for quantification of fecal excretion of neutral and acidic sterols for outpatient studies in humans. *J Lipid Res* 32: 1861-1867.
  51. Michael JC, Ian AM. 1980. Enzymatic determination of 3 $\alpha$ -, 7 $\alpha$ -, and 12 $\alpha$ -hydroxyl groups of fecal bile salts. *Clin Chem* 26: 1298-1300.
  52. Hulcher FH, Oleson WH. 1973. Simplified spectrophotometric assay for microsomal 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase by measurement of coenzyme A. *J Lipid Res* 14: 625-631.
  53. Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72: 248-254.
  54. Shapiro DJ, Nordstrom JL, Mitschelen JJ, Rodwell VW, Schimke RT. 1974. Micro assay for 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase in rat liver and in L-cell fibroblasts. *Biochim Biophys Acta* 370: 369-377.
  55. Erickson SK, Schrewsberg MA, Brook C, Meyer DJ. 1980. Rat liver acylcoenzyme A:cholesterol acyltransferase: its regulation *in vivo* and some of properties *in vitro*. *J Lipid Res* 21: 930-941.
  56. Gillies PJ, Rathgeb KA, Robinson CS. 1986. Regulation of acyl-CoA:cholesterol acyltransferase activity in normal and atherosclerotic rabbit aortas: role of a cholesterol substrate pool. *Exp Mol Pathol* 44: 320-339.
  57. Reitman S, Frankel S. 1957. A colorimetric method to determine serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am J Clin Pathol* 29: 56-62.
  58. Rolls BJ, Ello-Martin JA, Tohill BC. 2004. What can intervention studies tell us about the relationship between fruit and vegetable consumption and weight management? *Nutr Rev* 62: 1-17.
  59. Gordon DT. 1989. Functional properties vs physiological action of total dietary fiber. *Cereal Food World* 34: 517-

- 521.
60. Vahouny GV, Khakafi R, Satchithanandan S, Watkins DW, Story JA, Cassidy MM, Kritchevsky D. 1980. Dietary fiber: effect of chronic intake on cholesterol absorption and metabolism in the rat. *Am J Clin Nutr* 32: 2182-2191.
  61. Avram AS, Avram MM, James WD. 2005. Subcutaneous fat in normal and diseased states: 2. Anatomy and physiology of white and brown adipose tissue. *J Am Acad Dermatol* 53: 671-683.
  62. Lee JS, Lee MK, Ha TY, Bok SH, Park HM, Jeong KS, Woo MN, Do GM, Yeo JY, Choi MS. 2006. Supplementation of whole persimmon leaf improves lipid profiles and suppresses body weight gain in rats fed high-fat diet. *Food Chem Toxicol* 44: 1875-1883.
  63. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372: 425-432.
  64. Campfield LA, Smith F, Guisez Y, Devos R, Burn P. 1995. Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science* 269: 546-549.
  65. Kang JO, Kim KS. 1995. The effect of dry edible leaves feeding on serum lipids of hypercholesterolemic rats. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 502-509.
  66. Kim NJ, Youn WG, Hong ND. 1994. Pharmacological effects of *Lycium chinensis*. *Kor J Pharmacogn* 25: 264-271.
  67. Kim HS, Park YS, Kim CI. 1998. Changes of serum lipid profiles after eating *Lycii Fructus* in rats fed high fat diet. *Korean J Nutr* 31: 263-270.
  68. Lee JS, Son HS, Maeng YS, Chang YK, Ju JS. 1994. Effects of buckwheat on organ weight, glucose and lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Nutr* 27: 819-827.
  69. Lee YH, Shin YM, Lee JE, Choi YS, Lee SY. 1990. In vitro screening of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A reductase inhibitor from plant extracts. *Korean J Biotechnol Bioeng* 6: 55-61.
  70. Kim SK, Lee HJ, Kim MK. 2001. Effect of water and ethanol extracts of persimmon leaf and green tea different conditions on lipid metabolism and antioxidative capacity in 12-month-old rats. *Korean J Nutr* 34: 499-512.
  71. Yumiki N, Susumu I, Yasuhide T. 2000. Effects of quercetin and rutin on serum and hepatic lipid concentrations, fecal steroid excretion and serum antioxidant properties. *J Health Sci* 46: 229-240.
  72. Ganji V, Kuo J. 2008. Serum lipid responses to psyllium fiber: differences between pre- and post-menopausal, hypercholesterolemic women. *Nutr J* 26: 7-22.
  73. Ghasi S, Nwobodo E, Ofili JO. 2000. Hypocholesterolemic effects of crude extract of leaf of *Moringa oleifera* Lam in high-fat diet fed wistar rats. *J Ethnopharmacol* 69: 21-25.
  74. Lee JS, Bok SH, Jeon SM, Kim HJ, Do KM, Park YB, Choi MS. 2010. Antihyperlipidemic effects of buckwheat leaf and flower in rats fed a high-fat diet. *Food Chem* 119: 235-240.
  75. Yang JL, Suh MJ, Song YS. 1996. Effects of dietary fibers on cholesterol metabolism in cholesterol-fed rats. *J Korean Soc Food Nutr* 25: 392-398.
  76. Zechner R, Kienesberger PC, Haemmerle G, Zimmermann R, Lass A. 2009. Adipose triglyceride lipase and the lipolytic catabolism of cellular fat stores. *J Lipid Res* 50: 3-21.
  77. Stanely Mainzen Prince P, Kannan NK. 2006. Protective effect of rutin on lipids, lipoproteins, lipid metabolizing enzymes and glycoproteins in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Pharm Pharmacol* 58: 1373-1383.
  78. Miettinen TA. 1987. Dietary fiber and lipids. *Am J Clin Nutr* 45: 1237-1242.
  79. Billheimer DW, Grundy SM, Brown MS, Goldstein JL. 1983. Mevinolin and colestipol stimulate receptor-mediated clearance of low density lipoprotein from plasma in familial hypercholesterolemia heterozygotes. *Proc Natl Acad Sci USA* 80: 4142-4158.
  80. Chau CF, Huang YL, Lin CY. 2004. Investigation of the cholesterol-lowering action of insoluble fibre derived from the peel of *Citrus sinensis* L. cv. Liucheng. *Food Chem* 87: 361-366.
  81. Shankardass K, Chuchmach S, Chelwick K, Stefanovich C, Spurr S, Brooks J, Tsai M, Saibil FG, Cohen LB, Edington JD. 1990. Bowel function of long-term tube-fed patients consuming formulae with and without dietary fiber. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 14: 508-512.
  82. Toutouzias K, Drakopoulou M, Skoumas I, Stefanadis C. 2010. Advancing therapy for hypercholesterolemia. *Expert Opin Pharmacother* 11: 1659-1672.
  83. Satoshi I, Kimiko T, Kikue K, Hiroshi I, Miki M, Masahiro W, Noriko S, Mika K. 1998. Dried green leaf powders of Jews mellow (*Corchorus*), persimmon (*Diosphyros kaki*) and sweet potato (*Ipomoea batatas poir*) lower hepatic cholesterol concentration and increase fecal bile acid excretion in rats fed a cholesterol-free diet. *Plant Foods for Hum Nutr* 52: 55-65.
  84. Park SY, Bok SH, Jeon SM, Park YB, Lee SJ, Jeong TS, Choi MS. 2002. Effect of rutin and tannic acid supplements on cholesterol metabolism in rats. *Nutr Res* 22: 283-295.
  85. Chisaka T, Matsuda H, Kubomura Y, Mochizuki M, Yamahara J, Fujimura H. 1988. The effect of crude drugs on experimental hypercholesterolemia: mode of action of (-)-epigallocatechin gallate in tea leaves. *Chem Pharm Bull* 36: 227-233.
  86. Matsumoto N, Okushio K, Hara Y. 1998. Effect of black tea polyphenols on plasma lipids in cholesterol-fed rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 44: 337-342.
  87. Tebib K, Besancon P, Rouanet JM. 1994. Dietary grape seed tannin affect lipoproteins, lipoprotein lipases and tissue lipids in rats fed hypercholesterolemic diets. *J Nutr* 124: 2451-2457.
  88. Hughes JS. 1991. Potential contribution of dry bean dietary fiber to health. *Food Technology* 9: 122-126.
  89. Lairon D. 2001. Dietary fibers and dietary lipids. In *Advanced Dietary Fibre Technology*. McCleary BV, Prosky L, eds. Blackwell Science, Oxford, UK. p 177-185.
  90. Marlett JA. 2001. Dietary fibre and cardiovascular disease. In *Handbook of Dietary Fibre*. Cho SS, Dreher ML, eds. Marcel Dekker, New York, NY, USA. p 17-30.
  91. Uberoi SK, Vadhera S, Soni GL. 1992. Role of dietary fiber from pulses and cereals as hypocholesterolemic and hypolipidemic agent. *J Food Sci Technol* 29: 281-283.
  92. Chang YY, Chou CH, Chiu CH, Yang KT, Lin YL, Weng WL, Chen YC. 2011. Preventive effects of taurine on development of hepatic steatosis induced by a high-fat/cholesterol dietary habit. *J Agric Food Chem* 59: 450-457.
  93. Yoon JS, Cha YJ, Kim JS. 2008. The effects of *Lycii fructus* and *Lycii folium* on the liver in ovariectomized rat. *Korean J Microscopy* 38: 353-361.