

고콜레스테롤혈증 ApoE Knockout Mice에서 기능성 수정과의 간지질 축적 억제 효과

백아란 · 김미정 · 정고운 · 김슬기 · 이지현 · 송영옥

부산대학교 식품영양학과 및 김치연구소

Inhibitory Effects of Functional *Sujeonggwa* Drinks on Hepatic Lipid Accumulation in Hypercholesterolemic ApoE Knockout Mice

Aran Baek, Mijeong Kim, Koeun Jung, Seulki Kim, Jeehyun Lee, and Yeong Ok Song

Department of Food Science and Nutrition & Kimchi Research Institute, Pusan National University

ABSTRACT In this study, the hepatic lipid-lowering effects and related mechanism of action of *sujeonggwa* were examined in hypercholesterolemia-induced apoprotein E knockout (apo E ko) mice. *Sujeonggwa* drink was prepared with cinnamon, ginger, and sugar by modifying the traditional recipe of *sujeonggwa*. Sugar was partially substituted with either stevia or short chain fructooligosaccharide (scFOS) in order to reduce the calorie content of *sujeonggwa*, which was measured by descriptive analysis. Apo E ko mice (n=42) were induced to have hypercholesterolemia (plasma total cholesterol concentration >1,000 mg/dL) by administration of a high cholesterol diet for 4 weeks, followed by division into six groups. Experimental groups were orally administered water as a vehicle (normal group), sugar solution (control group), commercially available 'V' *sujeonggwa* drink (positive control group), or three different types of *sujeonggwa* drinks (S-sugar, S-stevia, and S-scFOS group) for 6 weeks while high cholesterol diet was provided to all animals. Compared to the control group, concentrations of hepatic triglycerides, total cholesterol, thiobarbituric acid reactive substances, and reactive oxygen species in S-sugar, S-stevia, S-scFOS were significantly reduced ($P<0.05$), indicating that *sujeonggwa* had inhibitory effects on hepatic lipid accumulation. Protein expression levels of fatty acid synthase (FAS) and its transcription factor, sterol regulatory element-binding protein (SREBP)-1 responsible for triglyceride synthesis, as well as 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase (HMGCR) and its transcription factor, SREBP-2 responsible for cholesterol synthesis, were also reduced in S-sugar, S-stevia, and S-scFOS groups ($P<0.05$). These benefits of *sujeonggwa* were even greater in S-stevia and S-scFOS compared to S-sugar. The beneficial effects of S-stevia on regulation of hepatic lipid metabolism were slightly greater than those of S-scFOS although the differences were not significant. In conclusion, *sujeonggwa* drinks, especially functional *sujeonggwa* drinks in which sugar was partially substituted with stevia or scFOS, inhibited hepatic lipid accumulation via suppressing FAS and HMGCR protein expression through down-regulation of SREBP-1 and 2.

Key words: *sujeonggwa*, stevia, short chain fructooligosaccharide, hepatic lipids, transcription factors

서 론

비만은 만성질환의 중요한 원인으로 알려져 있으며 비만을 유발하는 원인 중 하나로 당 함량이 높은 음료 섭취가 지적되고 있다. 이에 세계 음료 업계는 설탕의 함량이 낮고 기능성이 알려진 차 음료가 주도하는 시장의 형태로 확대되었으나 청량음료의 단맛과 탄산 맛에 익숙해져 있는 소비자층의 관심은 끌지 못하여 시장이 더 이상 확대되지 못하고 정체하는 경향을 보였다. 이러한 문제점을 보완하기 위하여

최근에는 단맛은 느껴지나 저칼로리이며, 청량감은 느낄 수 있으나 카페인이 함유되어 있지 않은 기능성 음료 형태로 시장이 확대되고 있다.

한국 전통 음청류의 한 종류인 수정과는 계피와 생강, 후추를 넣고 끓인 물에 꽃감과 잣을 첨가하고 여기에 설탕 또는 꿀을 넣어 차갑게 해서 마치는 기호성 음료로서 수정과 재료로 사용되는 계피, 생강, 후추의 약리성분 때문에 한방에서는 방향, 건위, 혈액순환 촉진, 식욕증진, 소화촉진 등의 효과가 있다고 알려져 있다. 계피(*Cinnamomum cassia*)는 녹나무과에 속하는 계수나무의 껍질로 향균, 항산화, 혈중 지질 저하 효과 및 항당뇨 효과가 알려져 있다. 계피 추출물은 과당 섭취로 비만을 유도한 쥐에서 간의 지방산 합성 효소인 fatty acid synthase(FAS)와 이의 전사인자인 sterol regulatory element-binding protein(SREBP)-1의 mRNA

Received 1 July 2014; Accepted 17 July 2014

Corresponding author: Yeong Ok Song, Department of Food Science and Nutrition & Kimchi Research Institute, Pusan National University, Busan 609-735, Korea
E-mail: yosong@pusan.ac.kr, Phone: +82-51-510-2847

발현을 억제함으로써 혈중 유리지방산, 중성지방, 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 농도를 낮추는 효과를 보고하였고(1,2), 비만 쥐에 있어서는 지질대사 관련 인자인 peroxisome proliferator-activated receptor(PPAR)인 PPAR α 및 PPAR γ 의 발현을 억제함으로써 인슐린 민감성과 관련 지질대사 이상을 개선하는 효과를 보고하였다(3). 뿐만 아니라 고콜레스테롤혈증 쥐에서 체내 항산화능을 증가시킴으로써 지질대사를 개선하는 효과도 보고되고 있다(4). 이러한 계피의 건강기능성은 cinnamaldehyde나 cinnamic acid의 유효성분 때문으로 보고되고 있다(5,6). 수정과의 주요 재료인 생강은 항동맥경화 효과가 탁월한 것으로 알려져 있다. 생강 추출물은 지방산 합성 효소 및 이의 전사인자의 발현 억제(7), 콜레스테롤 합성 억제(8), 혈전용해능 개선(9,10) 그리고 유리기 소거, 항산화능 개선 등의 효과(11,12)로 동맥 내 지질 침착을 억제하여 동맥경화를 예방하는 효과가 있음이 보고되고 있고(9,10), 심혈관계 치료제의 약동력학에 미치는 영향이 미미하여(13) 심혈관질환 개선제로 환자에게 섭취가 권장되고 있다(14). 이러한 생강의 효과는 생강의 유효성분인 gingerol, zingerone 그리고 shogal이 지니는 항산화 효과, 항염증 및 항암, 항당뇨, 간독성 보호 효과 및 콜레스테롤 저하 효과 등에 기인한 것으로 알려져 있다(15-17).

설탕 대체제인 stevia는 설탕의 50~300배 감미를 지니고 있으나 칼로리는 없어(18) 설탕 함량이 문제가 되는 제품에 사용되고 있으며 주로 음료의 칼로리를 낮추기 위해 사용되나 쓴맛이 남아 있어 제품의 기호를 떨어뜨린다고 지적되고 있다. Stevia는 동일한 단맛을 내는 설탕물 섭취군에 비해 혈중 중성지방 및 콜레스테롤 농도를 감소시키는 효과가 있었는데 이는 간에서 지방산의 β -oxidation에 관여하는 효소인 acyl-CoA oxidase(ACO), acyl-CoA synthetase(ACS), carnitine palmitoyltransferase(CPT)-I의 발현을 증가시켰기 때문이라고 보고하였다(18). 이러한 stevia의 지질 저하 효과는 leptin과 LDL-receptor를 유전적으로 변형시킨 마우스에서 동맥경화를 억제시켰고(19) stevia의 유효물질인 6-O-acetyl-austroinulin은 대식세포에서 TNF- α , IL-6, IL-1 β 의 농도를 감소시키는 항염증 효과가 있음이 보고되었다(20). Neosugar로 불리는 short chain fructooligosaccharide(scFOS)는 비소화성 탄수화물로 fructose가 3개 정도 결합된 올리고당으로 단맛은 약한 편이나 prebiotics 기능성이 있는 것으로 보고되고 있다(21). 60대 노인에게 하루 8 g의 scFOS를 4주간 섭취시켰을 때 분변의 콜레스테롤 농도가 증가하였으며 bifidobacteria의 수도 유의적으로 증가하였다고 보고하였다(22). 동물실험에서 scFOS는 간에서 지방산 합성을 억제하거나(23) 분변으로의 지방 배설을 촉진하여(24) 혈중 지질 농도를 저하하는 효과가 보고되고 있다. 이러한 효과는 scFOS의 prebiotics로서의 기능 때문으로 prebiotics는 장내 유용한 세균 증식을 통해 단쇄지방산의 생성을 촉진하고 이들이 흡수되어 지방산 합

성 효소(23) 또는 콜레스테롤 합성 효소인 HMG-CoA reductase(HMGCR)의 발현을 억제하거나(25) 당 신생을 저해하는 등의 기전이 알려져 있고(26) 장내 균총의 변화를 초래함으로써 배설을 촉진시키기 때문이다.

본 연구에서는 단맛을 유지하면서 칼로리를 적게 내는 기능성 수정과를 개발하여 상품화하기 위하여 한국 전통 수정과 제조법으로부터 계피, 생강 및 설탕을 사용하는 레시피를 개발하고 대체 당원으로 stevia와 scFOS를 사용하는 기능성 수정과 레시피를 개발하여 고콜레스테롤혈증이 유발된 동물에서 간지질 축적 억제 효과와 관련 기전을 살펴보았다.

재료 및 방법

수정과 시료 제조

기능성 수정과 음료(sujeonggwa drink) 레시피 개발은 고문헌에 의거 전통 수정과 제조법을 재현한 다음 현대인의 기호를 고려한 수정과 레시피를 개발하였고, 이를 바탕으로 저칼로리 기능성 수정과 음료 레시피를 개발하였다. 본 연구에서는 수정과의 기호는 꾀감 첨가 유무에 영향을 받지 않는다는 선호도 조사 결과를 바탕으로(27) 대량생산을 위해 꾀감을 제외하였고, 전통 수정과의 관능 평가에서 후추를 첨가한 수정과의 기호도 점수가 낮아 이를 제외한 레시피를 개발하였다. 수정과 제조는 계피와 생강을 각각 열수 추출한 다음 이를 혼합하여 사용하였다. 즉 통계피(3 cm 길이)는 17배(w/v)의 물로, 그리고 생강(3 mm 두께)은 10배(w/v)의 물을 사용하여 각각 열수 추출하였다. 계피와 생강 열수 추출은 전기레인지(Swiss Military Electric Range, Gyeonggi, Korea)를 사용하여 실시하였다. 전기레인지의 화력 2,000(550°C)에서 10분간 끓인 후 화력 1,600(400°C)에서 50분간 끓여 열수 추출하였다. 추출물은 여과지로 걸러 잔사를 제거한 후 1:1(v/v)로 혼합하여 수정과 음료의 기본 베이스로 사용하였고 설탕을 첨가하여 감미를 맞추었다. 본 연구에서 개발하고자 하는 기능성 수정과 제조를 위하여 수정과의 단맛은 유지하면서 칼로리를 낮추기 위하여 설탕 대체원으로 stevia(그린비아스위트, 전원식품, Gyeonggi, Korea)와 short-chain fructooligosaccharide(#71920, Allergy Research Group, Alameda, CA, USA)를 사용하였다. 대체당의 첨가량은 stevia와 scFOS의 감미를 설탕의 감미와 비교하여 산술적으로 산출한 다음 이를 첨가하여 기능성 수정과를 제조하고, 관능검사로 평가한 후 Table 1에 나타난 바와 같이 최종으로 첨가량을 확정하였다.

실험식이 및 동물사육

실험식은 분말 chow diet(2018S Teklad global 18% protein rodent diet, Harlan Teklad, Madison, WI, USA)에 cholesterol 1.25%, cholic acid 0.5% 그리고 coconut oil 10%(w/w)를 중량비로 첨가한 후 pellet으로 제조하였다. 식이는 매주 제조하여 -20°C에 보관하면서 공급하였다.

Table 1. Recipe for the various *sujeonggwa* drink

Ingredient	<i>Sujeonggwa</i> containing		
	Sugar	Sugar+stevia	Sugar+stevia+scFOS
Cinnamon extracts ¹⁾ (mL)	500	500	500
Ginger extracts ²⁾ (mL)	500	500	500
Sugar ³⁾ (g)	123.75	39.38	100.16
ScFOS ⁴⁾ (g)	—	—	14.28
Stevia ⁵⁾ (g)	—	3.38	0.84
kcal/100 mL	49.3	16.1	40.7

¹⁾Cinnamon sticks and water (1:17, w/v) were boiled for 10 min at 2,000 (equivalent to 550°C) of electric range (Swiss Military Electric Range, Gyeonggi, Korea) followed by boiling for 50 min at 1,400 (equivalent to 400°C).

²⁾Sliced ginger and water (1:10, w/v) were boiled for 10 min at 2,000 (equivalent to 550°C) of electric range (Swiss Military Electric Range) followed by boiling for 50 min at 1,400 (equivalent to 400°C).

³⁾Black, brown, and white sugar (1:2:2/w:w:w) were mixed.

⁴⁾scFOS: short-chain fructooligosaccharide.

⁵⁾Stevia product used in this study is composed of 25% stevia and 75% glucose which is commercially available on the market.

사료와 물은 자유롭게 섭취할 수 있도록 충분히 공급하였으며, 식이섭취량은 매일 기록하였고 체중은 7일 단위로 측정하였다.

고콜레스테롤혈증 유발을 통한 산화스트레스 증가를 위해 apolipoprotein E knockout(ApoE ko) 마우스를 사용하였다. ApoE ko 마우스 46마리를 구입하여(SLC Inc., Hamamatsu, Japan) 1주일간 적응시킨 후 1마리씩 개별 케이지에 넣어 사육하였다. 사육실의 온도는 22±1°C, 습도는 55±5%로 유지하였고, 조명은 12시간 주기로 조절하였다. 수정과 기능성을 확인하기 위하여 고콜레스테롤혈증을 유발한 후 기능성 수정과를 구강으로 투여하였다. 모든 동물에서 4주간의 실험식에 의해 혈장 콜레스테롤 농도가 1,000 mg/dL 이상인 고콜레스테롤혈증이 유발되었음을 꼬리 채혈을 통해 확인하였다(28). 이후 각 군의 콜레스테롤 농도가 동일하도록 분배하여 6군의 실험군으로 나눈 후 고콜레스테롤 식이와 수정과를 경구로 투여하면서 6주간 실험을 진행하였다. 총 실험기간은 10주였다. 실험에 사용된 동물군은 6군(n=7)으로 정상대조군인 물 섭취군(normal group), 실험대조군인 설탕물 섭취군(sugar solution fed group; control group), 수정과 음료군(*sujeonggwa* drinks with sugar; S-sugar group), stevia 첨가 기능성 수정과 음료군(*sujeonggwa* drinks with stevia; S-stevia group), short-chain fructooligosaccharide(scFOS) 첨가 기능성 수정과 음료군(*sujeonggwa* drinks with scFOS; S-scFOS group) 그리고 긍정대조군으로 시판 수정과를 섭취시킨 군(Vilac *sujeonggwa* drinks; positive control group)이다.

사료는 존대를 사용하여 매일 동일 시간에 경구 투여하였다. 마우스에 투여하는 수정과 양은 2012년 통계청 자료를 기준으로 성인 1일 기호성 음료 섭취량을 기준으로 산출하

였을 때(마우스 보정계수 10) 체중 1 kg당 22 mL이었고 이를 본 실험에 사용한 마우스의 평균 체중 25 g으로 계산하였을 때 하루 섭취량은 약 500 µL이었다. 마우스에게 경구로 투여할 수 있는 1회 최대 용량이 100 µL이므로 수정과를 진공 농축기(Rotavator R-200, Büchi, Flawil, Switzerland)에서 1/5로 농축하였다. 농축 전후의 당도를 측정하여(당도계, AR 200, Reichert, Inc., Depew, NY, USA) 당의 함량에 변화가 없음을 확인 후 -20°C에 보관하면서 동물에게 경구 투여하였다. 본 동물실험의 전 과정은 부산대학교 동물실험윤리위원회(Pusan National University-Institutional Animal Care and Use Committee, PNU-IACUC, Approval Number PNU-2014-0502)의 승인 후 수행되었다.

해부 및 시료 채취

동물은 총 10주간 사육 후 12시간 동안 절식시킨 다음 zoletile 50(zolazepan과 tiletamine 혼합물, 30 mg/kg bw, Virbac Laboratories, Carros, France)과 xylazine(10 mg/kg bw, Bayer Korea, Seoul, Korea) 혼합액을 복강 주사하여 마취하였다. 혈액은 하대정맥에서 채취하고, heparin tube에 담아 3,000 rpm, 4°C에서 20분간 원심분리하여 혈장을 얻었으며 -80°C에 보관하면서 실험에 사용하였다. 채혈 후 냉각시킨 phosphate buffered saline(cold PBS)을 하대정맥을 통해 관류하여 남은 혈액을 제거한 뒤 장기를 적출하여 여러 차례 씻은 후 여과지로 수분을 완전히 제거하고 무게를 측정하였다. 무게를 측정한 장기는 액체 질소로 급속 냉동하였으며 -80°C에서 보관하면서 생화학적 분석에 사용하였다.

간의 지질 농도 측정

간의 중성지방(AM157S-K, Asan Pharmaceutical Co., Seoul, Korea)과 총 콜레스테롤(AM202-K, Asan Pharmaceutical Co.) 농도는 kit를 사용하여 측정하였다. 간은 homogenizer(PT-MR3100, Polytron, Flawil, Switzerland)로 마쇄한 후 10배의 지질 추출 용매(chloroform: methanol, 2:1, v/v)를 첨가하여 vortex에서 격렬하게 혼합함으로써 지방을 추출한 뒤 실온에 2시간 동안 방치한 후 여과하여 실험에 사용하였다(29).

Reactive oxygen species(ROS) 농도 측정

간 균질액을 3,000 rpm에서 15분간 원심분리 한 후 1차 상층액을 얻었으며 이를 다시 12,000 rpm에서 15분간 원심분리 하여 2차 상층액을 얻었다. 10 µL의 2차 상층액에 50 mM의 phosphate buffer(pH 7.4) 190 µL와 DCFD-HA 50 µL를 첨가하여 excitation 485 nm/ emission 530 nm에서 배양액의 형광강도를 측정하였다. 1차 상층액을 이용하여 단백질 정량을 하고, 간 균질액의 ROS 농도는 mg protein당 fluoresce per min으로 계산하였다.

Thiobarbituric acid related substances(TBARS) 농도 측정

간의 지질과산화물 농도는 TBARS 함량으로 나타내었다. 간 조직 균질액 0.1 mL에 1% phosphoric acid 0.6 mL와 0.67% TBA 용액 0.2 mL를 각각 넣고 충분히 혼합한 뒤 95°C의 water bath에서 45분간 반응시킨 후 얼음물에서 냉각시켰다. 반응 종결을 위해 0.8 mL의 n-butanol을 첨가한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 시켜 얻은 상층액의 흡광도를 540 nm에서 측정하였다. 지질과산화물 농도는 malondialdehyde(MDA) 표준곡선을 이용하여 nmol MDA로 나타내었다.

Western blot 분석

지방산 합성 효소(FAS) 및 콜레스테롤 합성 효소(3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase, HMGCR)의 발현은 세포질에서 분석하였다. 간 조직에 protease inhibitor cocktail(10 µL/mL protease inhibitor cocktail, Sigma-Aldrich Co., Saint-Quentin-Fallavier, France)과 cytosol extraction buffer[10 mM HEPES(pH 7.8), 10 mM KCl, 2 mM MgCl₂, 1 mM dithiothreitol(DTT), 0.1 mM ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA), 0.1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride(PMSF)]를 1:100으로 혼합한 용액을 간 중량의 3배(w:v)가 되도록 첨가하여 균질화하였다. 균질액을 20분간 얼음에 방치한 후 10% NP-40을 첨가해 vortex로 격렬히 섞어준 뒤 12,000 rpm, 4°C에서 5분간 원심분리 하여 얻은 상층액을 세포질 추출액으로 사용하였다. 전기영동을 위해 단백질 농도를 측정 후(Bio-Rad, Hercules, CA, USA) 일정량의 단백질이 함유된 세포질 추출물에 Laemmli sample buffer(Bio-Rad)와 β-mercaptoethanol을 첨가하여 혼합하고 이를 8% sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel(SDS-PAGE)에서 전기영동 하였다(90 V, 2시간). 분리된 단백질은 nitrocellulose membrane(0.45 µm pore size, Whatman, Dassel, Germany)으로 이동시킨 후 5% skim milk에서 1시간 동안 blocking 하였다. 1차 항체인 anti-fatty acid synthase(ab22759, Abcam Inc., Cambridge, UK)와 HMGCR(sc-33827, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)은 1:500 비율로, anti-alpha tubulin(ab52866, Abcam Inc.)은 1:50,000 비율로 희석하여 membrane이 충분히 잠기게 한 상태에서 4°C에서 밤새 반응시켰다. 이후 세척하여 1차 항체를 제거하고 2차 항체와 상온에서 1시간 동안 반응시켰다. 2차 항체는 donkey polyclonal secondary antibody to rabbit IgG(ab6802, Santa Cruz Biotechnology)와 goat polyclonal secondary antibody to mouse IgG(ab6789, Santa Cruz Biotechnology)를 사용하였다. Rabbit IgG는 1:3,000으로, mouse IgG는 1:5,000으로 희석하여 사용하였다. 반응 후 membrane을 세척하여 부착되지 않은 항체를 제거하고, enhanced chemilumi-

nescence(ECL) 용액(HyGLO, Denbille Scientific, Metuchen, NJ, USA)으로 발색시켜 CAS-400SM(Davinch-K, Seoul, Korea)으로 촬영하였다. 단백질의 발현은 Image J Software(<http://rsbweb.nih.gov/ij/>)를 사용하여 측정하고, 발현 정도는 α-tubulin에 대한 비율로 표시하였다.

지질 합성 효소의 발현에 관여하는 전사인자인 SREBP-1, 2의 발현은 핵에서 측정하였다. 세포질 단백질 추출 후 얻어진 pellet에 cytosol extraction buffer와 10% NP-40 혼합액을 첨가하여 vortex 한 다음 12,000 rpm, 4°C에서 30초간 원심분리 하여 상층액을 제거하였다. 이 과정을 2회 반복 실시하여 pellet을 얻었다. 여기에 high salt nuclear extraction buffer[50 mM HEPES(pH 7.8), 50 mM KCl, 300 mM MgCl₂, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 0.1 mM PMSF, 10% glycerol]와 protease inhibitor를 1:100으로 혼합하여 100 µL 첨가한 후 얼음에서 30분간 방치하면서 교반하였다. 이를 12,000 rpm, 4°C에서 10분간 원심분리 한 후 상층액을 얻어 핵단백질 추출물로 사용하였다. 단백질 정량, 전기영동 및 현상은 세포질 추출물을 이용한 실험과 동일하게 진행하였다. 1차 항체는 SREBP-1(sc-8984, Santa Cruz Biotechnology)과 SREBP-2(sc-5603, Santa Cruz Biotechnology), Lamin B1(sc-56145, Santa Cruz Biotechnology)으로 모든 항체를 1:500으로 각각 희석하여 사용하였다. 2차 항체인 rabbit과 mouse의 IgG는 상기에 설명한 방법과 동일하게 1:3,000 및 1:5,000으로 희석하여 사용하였다.

통계처리

모든 실험 결과는 평균±표준편차로 나타내었고 one-way analysis of variance(ANOVA)로 군간 유의성을 검증하고(SPSS version 21, SPSS Inc., Chicago, IL, USA), Duncan's multiple range test로 사후 검증하여 유의 수준 0.05에서 유의성을 검증하였다. 각 실험군 간의 효과 비교는 Student's t-test로 검증하였다.

결과 및 고찰

기능성 수정과 레시피 개발

고문헌을 통해 확인된 전통 수정과 재료는 계피, 생강, 통후추, 꽃감, 꿀이었다. 전통 제조법으로 수정과를 제조하여 내, 외국인을 대상으로 관능 평가를 실시하였을 때 전통 수정과는 감미가 너무 높고 맵다고 표현하여 후추의 매운 맛에 대한 거부감이 높았고 꽃감의 첨가 유무에 대한 차이는 나타나지 않았다. Seo 등(27) 역시 수정과의 맛 및 향미에 대한 기호도 조사에서 꽃감의 첨가 유무는 소비자의 기호도에 영향을 미치지 않았다고 보고하여 본 관능 평가 결과와 일치하였다. 이러한 선행연구를 바탕으로 꽃감과 후추를 제외하고 설탕만으로 감미를 내는 수정과 음료(이하 일반 수정과로 명명함) 레시피를 전문 관능 평가자들의 묘사분석 결과

Table 2. Effects of functional *sujeonggwa* drinks on the body weight gains, food intakes, and food efficacy of hypercholesterolemic ApoE ko mice¹⁾

Group	Body weight gain (g/10 weeks)	Food intake (g/day)	Food efficacy
Normal	7.89±1.02 ^{NS3)4)}	3.80±0.49 ^{NS}	0.07±0.01 ^{NS}
Control	8.87±1.15	3.67±0.23	0.09±0.01
S-Sugar	8.56±1.02	3.73±0.33	0.08±0.01
S-Stevia	8.14±1.90	3.56±0.24	0.08±0.02
S-scFOS	8.19±2.50	3.63±0.25	0.08±0.02
Positive control ²⁾	8.84±2.87	3.74±0.24	0.08±0.02

¹⁾Mean value of plasma cholesterol concentration of ApoE ko mice (n=42) at 4th week was 1,077.28±164.00 mg/dL by consuming 1.25% cholesterol diet. And mean value of plasma triglyceride concentration of ApoE ko mice (n=42) at 4th weeks was 162.98±39.87 mg/dL.

²⁾Commercially available *sujeonggwa* (Vilac *sujeonggwa*, Vilac, Korea) was used as the positive control for the study.

³⁾Data are means±SD (n=7 for each group).

⁴⁾NS: data in the column are not significantly different.

를 바탕으로 개발하였다(Table 1). 본 연구에 참여한 관능 평가자는 P 대학에서 관능 평가 전문가에 의해 약 50회의 전문 훈련을 받은 자들로 기능성 수정과 레시피를 개발하는데 참여하였다. 본 연구에서는 기존의 수정과와 같은 맛을 가지고 있으며 기능성이 있는 음료를 개발하여 대량생산을 하고자 하는 목적을 달성하기 위하여 수정과의 감미는 유지하면서 칼로리를 낮출 수 있는 레시피를 개발하였다. 이를 위하여 시중에서 구입이 가능한 stevia 제품 및 scFOS를 사용하여 설탕과 혼용해 기능성 수정과 음료 레시피를 개발하였다(Table 1). 개발한 기능성 수정과의 단맛은 일반 수정과와 비슷하나 설탕만 사용한 일반 수정과의 칼로리에 비해 stevia 첨가 수정과는 약 67.3% 그리고 scFOS 첨가 수정과는 17.4% 낮아졌다. 순수한 stevia는 설탕의 50~300배의 단맛을 지니고 있으나 칼로리는 거의 없는 장점이 있는 반면 뒷맛이 쓰게 느껴지는 단점이 있어 stevia와 glucose를 혼합하여 제품으로 판매하고 있다. 반면 scFOS는 fructose를 3분자 정도 결합하고 있는 물질로 설탕의 30~50% 정도의 단맛을 지니고 있고, 칼로리는 1.5~2 kcal/g을 내는 장점이 있어 저 감미, 저칼로리 제품 생산에 사용하고 있다. scFOS는 장내에서 prebiotics로 작용하여 장 건강을 증진시키는 효과가 보고되고 있다(22).

체중증가량, 식이섭취량, 식이효율 및 장기 무게

고콜레스테롤혈증을 유발한 후 경구로 수정과를 6주간 섭취시킨 총 10주간의 실험 후 체중 변화를 살펴보았을 때 control군, positive control군 그리고 S-sugar군에서 다소 높았으나 전 실험군 간 유의적인 차이가 없었고 식이섭취량 및 식이효율 역시 군간 유의적인 차이가 없었다(Table 2). 해부 후 간, 신장, 비장의 장기를 비교해 보았을 때 군간 유의적인 차이는 없었으나 간 중량은 control군 및 positive control군에서 다소 높은 것으로 나타났다(Table 3). 본 결과에 의하면 설탕에 의한 체중 및 간 중량 증가가 확인되었고, 설탕의 함량을 줄였을 때 체중이 감소하였다. S-stevia와 S-scFOS군의 칼로리는 S-sugar군에 비해 각각 67.3%와 17.4% 낮았으나 S-stevia군과 S-scFOS군의 체중 저하 정도는 control군에 비해 약 8% 정도로 비슷하였다.

수정과의 간지질 축적 저하 효과

설탕물을 경구로 섭취한 대조군의 간 triglyceride(TG) 농도는 정상대조군에 비해 31.4% 유의적으로 증가하여 (Table 4, $P<0.05$) 과량의 설탕 섭취는 간의 중성지방 농도를 높인다는 보고와 일치하였다(30). 이러한 간 TG 축적 현상은 수정과 섭취에 의해 저하되었는데 한국 전통 수정과 레시피를 기반으로 대량생산을 위해 본 연구에서 계피와 생강 추출물만으로 개발한 수정과인 S-sugar군의 TG 농도는 동일 농도의 설탕물을 섭취시킨 control군에 비해 17.9% 유의하게 감소하였으나($P=0.044$), 공장 생산하여 시판되고 있는 V 수정과를 섭취시킨 긍정대조군의 TG 농도는 control군과 유의적인 차이가 없었다. 시판 수정과의 정확한 조성을 제공받지 않아 확실한 이유를 확인하기는 어렵지만, 일반 수정과와 시판 수정과의 칼로리와 당도가 비슷함에도 불구하고 일반 수정과에서만 지질 저하 기능성이 나타난 이유는 시판 수정과에 비해 일반 수정과의 계피 및 생강 추출물 함량이 높기 때문일 것이라 추측된다. 기능성 수정과인 S-stevia와 S-scFOS군의 간 TG 농도는 대조군에 비해 19.7%($P=0.005$)와 21.7%($P=0.035$) 감소하였으나 S-sugar군에 비해서는 2.2%와 4.6% 정도 미미하게 감소하였다. 간 total cholesterol(TC) 농도 역시 control군에 비해 S-sugar, S-stevia, S-scFOS군에서 각각 12.6%($P=0.027$), 20.6%($P=0.000$) 그리고 19.8%($P=0.010$) 유의적으로 감

Table 3. Organ weights of hypercholesterolemic ApoE ko mice¹⁾

(unit: g)

Group	Liver	Kidney	Spleen	Testis	Lung
Normal	1.64±0.42 ^{NS3)4)}	0.37±0.04 ^{NS}	0.09±0.02 ^{NS}	0.19±0.02 ^{NS}	0.27±0.09 ^{NS}
Control	1.72±0.38	0.38±0.05	0.08±0.02	0.18±0.02	0.29±0.09
S-Sugar	1.64±0.24	0.37±0.05	0.09±0.02	0.20±0.02	0.29±0.10
S-Stevia	1.72±0.31	0.35±0.06	0.09±0.02	0.19±0.05	0.28±0.06
S-scFOS	1.61±0.43	0.35±0.04	0.07±0.02	0.19±0.02	0.26±0.07
Positive control ²⁾	1.82±0.62	0.38±0.04	0.09±0.02	0.20±0.02	0.27±0.07

^{1),2)}See the legend of Table 2.

³⁾Data are means±SD (n=7 for each group).

⁴⁾NS: not significant.

Table 4. Benefits of functional *sujeonggwa* drink consumption on the hepatic lipid accumulation, reactive oxygen species (ROS), and lipid peroxidation in hypercholesterolemic ApoE ko mice¹⁾

Group	Triglyceride (mg/g liver)	Total cholesterol (mg/g liver)	ROS (Flu/min/mg protein)	TBARS (nmol MDA/g liver)
Normal	36.54±9.53 ^{c3)4)}	7.97±0.80 ^b	2,172.88±147.71 ^c	19.26±1.71 ^b
Control	53.28±7.47 ^{ab}	10.11±1.20 ^a	3,644.08±246.15 ^a	31.02±5.74 ^a
S-Sugar	43.74±13.98 ^{abc}	8.84±1.49 ^{ab}	2,993.47±529.81 ^{bc}	22.22±5.70 ^b
S-Stevia	42.79±6.23 ^{abc}	8.02±1.14 ^b	2,412.32±357.73 ^{de}	20.50±4.85 ^b
S-ScFOS	41.74±15.89 ^{bc}	8.11±2.16 ^b	2,737.93±354.99 ^{cd}	21.19±7.87 ^{ab}
Positive control ²⁾	54.38±13.96 ^a	9.55±1.96 ^a	3,330.39±323.57 ^{ab}	25.11±6.77 ^{ab}

^{1),2)} See the legend of Table 2

³⁾ Data are means±SD (n=7 for each group).

⁴⁾ Data with different letters (a-e) in a column are significantly different with one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test at $P<0.05$.

소하였으나 대체 당의 첨가에 따른 수정과군 간의 차이는 유의적이지 않았다. S-stevia군과 S-scFOS군의 간 TC 농도는 S-sugar군에 비해 9.2% 및 8.3% 각각 감소하여 설탕만을 첨가하여 제조한 수정과보다 대체 감미료를 첨가하였을 때 간의 지질 축적 억제 효과가 상승하는 것으로 관찰되었다. 이러한 수정과의 지질 저하 효과는 수정과에 함유된 계피와 생강 때문으로 생각된다. 과당을 섭취한 쥐에 계피 추출물을 하루에 2 mL 섭취시켰을 때 혈중 TG, TC 및 유리 지방산의 농도가 낮아졌으며(2), 하루 50 mg/kg의 생강 추출물을 섭취한 쥐에서도 간의 중성지질 농도가 낮아졌는데 이는 지방산 합성에 관여하는 유전자인 FAS, acetyl-CoA carboxylase(ACC), stearoyl-CoA desaturase-1의 발현이 억제되었기 때문이라고 설명하였다(7). 본 연구에서 기능성 수정과의 간지질 축적 억제 효과가 일반 수정과에 비해 유의적이지 않은 것은 기능성 수정과의 맛을 일반 수정과와 차이가 없게 제조하여 소비자의 기호도를 높이고자 설탕 사용량 전체를 stevia 또는 scFOS로 대체하지 않았기 때문이다. Stevia는 감미가 대단히 높으나 뒷맛이 쓰기 때문에 다량 사용 시 제품의 맛을 떨어뜨리는 단점이 있지만, 쥐에 stevia 줄기와 잎을 열수 추출하여 이를 고지방 식이와 함께 15주간 섭취시켰을 때 설탕물을 섭취한 군보다 혈중 TG, TC의 농도가 유의적으로 감소하였으며 간에서 지방산의 β -oxidation에 관여하는 효소인 acyl-CoA oxidase(ACO), acyl-CoA synthetase(ACS), carnitine palmitoyltransferase- I (CPT- I)의 발현이 증가하였다고 하여 stevia의 지질 저하 효과를 보고하고 있다(18). ScFOS는 prebiotics의 효과가 있으나 감미가 설탕의 25% 수준이므로 scFOS만으로는 제품의 단맛을 유지할 수 없다. 이러한 scFOS는 저칼로리 식품 제조에 기능성 당으로 사용되고 있는데 이는 scFOS의 prebiotic 기능(22)에 기인한 지질 저하 효과 때문이다. Prbiotics는 장내에서 단쇄지방산을 생성함으로써(26) 지질 합성을 억제하는 효과(25)가 잘 알려져 있다. scFOS 섭취 시 쥐의 혈중 TG 수준이 감소하였으며 변으로의 중성 스테롤과 휘발성 지방산의 배출이 증가하였다(24). 본 연구에서는 기능성 수정과의 대량 생산을 위하여 소비자 기호와 기능성을 최대한으로 살리는 레시피를 개발하였기

에 설탕만 사용한 기존의 일반 수정과에 비해 6주간의 실험에서 유의적이지는 않았으나 간의 중성지질 및 콜레스테롤 축적을 억제하는 효과는 관찰되었다. 본 연구에서 개발한 수정과는 공장 생산하여 판매하고 있는 수정과(positive control군)에 비해 간지질 농도 저하 효과가 높았는데, 이는 계피와 생강만을 수정과 제조에 사용하였기 때문으로 생각된다. 양성대조군의 수정과 레시피는 정확히 파악할 수 없었으나 꽃감 추출물과 설탕을 사용하였다고 명기되어 있다. 본 연구에 의하면 고콜레스테롤혈증이 있는 사람의 경우 기능성 수정과의 섭취는 일반 수정과에 비해 건강 증진 기능이 있을 것으로 사료된다.

수정과의 간 지질 산화 억제 효과

고콜레스테롤혈증은 체내 지질 산화를 촉진시키고 산화 스트레스를 유발하여 노화 등 여러 질병의 원인이 된다(31). 과도한 당 섭취 역시 간에서 지질로 전환되어 축적됨으로써 지방간을 일으킬 수 있다(32). 고콜레스테롤혈증이 유발된 ApoE ko mice에 6주간 수정과를 섭취시켰을 때 간 ROS 농도가 control군에서 가장 높았고 normal군에 비해 40.4% 높았다(Table 4, $P<0.05$). 수정과 음료군인 S-sugar, S-stevia 그리고 S-scFOS군의 ROS 농도는 control군에 비해 17.9%, 33.8% 그리고 24.9% 유의적으로 감소하여($P<0.05$) 수정과의 유리기 소거 효과를 확인하였다. 기능성 수정과의 유리기 소거능은 S-stevia군에서 S-sugar군보다 19.4% 유의적으로 감소하여($P=0.044$) 설탕이 ROS 생성과 관계가 있는 것으로 관찰되었다. 이에 반해 positive control군인 시판 수정과의 ROS 농도는 설탕을 첨가한 control군과 유사하여 그 효과를 살펴볼 수 없었다.

TBARS의 농도는 control군이 normal군에 비해 37.9% 유의적으로 상승하여($P<0.05$) ROS와 유사한 경향을 보였다(Table 4). 수정과를 섭취시킨 군의 TBARS 농도는 control군에 비해 유의적으로 감소하여($P<0.05$) 수정과의 지질 산화 억제 효과를 확인할 수 있으나 기능성 수정과의 TBARS 농도는 일반 수정과와 유사하여 대체 감미료의 사용에 의한 상승적인 효과는 나타나지 않았다. 이상의 결과에 의하면 간의 ROS 및 TBARS 농도는 설탕의 사용량에 영향

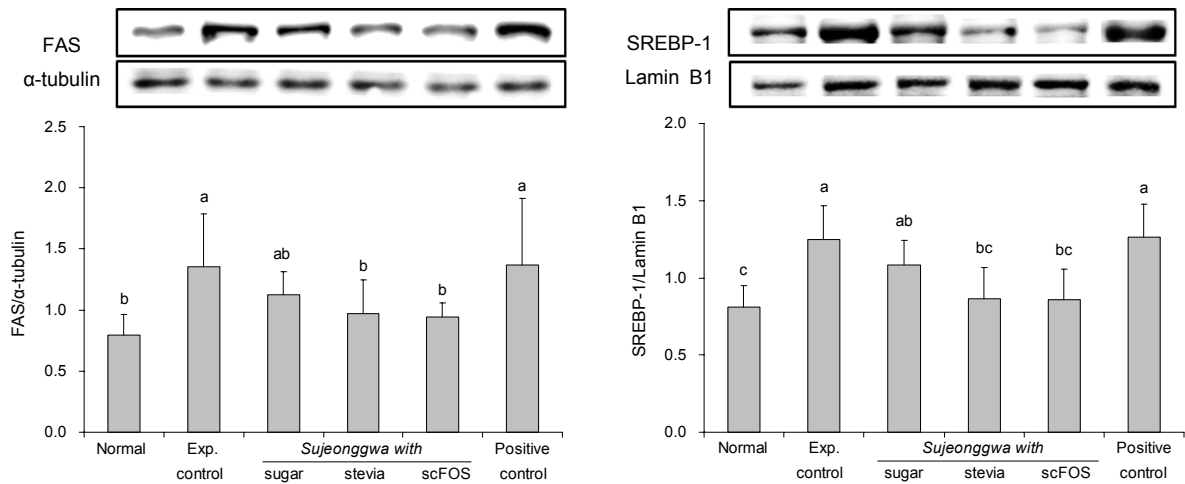


Fig. 1. Effects of functional *sujeonggwa* drink on fatty acid synthase (FAS) and sterol regulatory element binding protein (SREBP)-1 expression in the liver of hypercholesterolemic ApoE ko mice. Data are means±SD (n=7 for each group). See the legend of Table 2. Data with different letters (a-c) above the bars are significantly different with one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test at $P<0.05$.

을 받는 것으로 나타났으며, control군과 동일한 양의 설탕을 섭취함에도 불구하고 수정과에 의한 지질 산화 억제 효과는 생강과 계피의 유리기 소거 효과 및 항산화 효과에 기인한 것으로 생각된다. 계피 추출물 0.44 mg은 BHT 100 ppm보다 지질 산화 억제 효과가 높았으며 계피의 정유 성분은 α -tocopherol과 유사한 유리기 소거능을 보였다(11,33). 생강 추출물 역시 유리기 소거 효과 및 항산화능이 있고(12) 이는 생강의 유효성분인 [6]-shogaol, [10]-gingerol, [8]-gingerol 등의 항산화 효과(16)에서 기인한 것으로 알려져 있다.

지질 합성 효소 및 이의 전사인자의 발현에 미치는 수정과의 효과

수정과 섭취에 따른 간지질 축적 억제 효과에 관련된 기전을 지질 합성 효소와 관련 전사인자의 단백질 발현 정도로 살펴보았다. 지방산 합성 효소인 FAS의 단백질 발현은 실험군 중 control군과 positive control군의 발현 정도가 가장 높았고 수정과 섭취에 의해 낮아졌다(Fig. 1). *S*-Sugar, *S*-stevia 및 *S*-scFOS군에서 FAS 단백질 발현은 control군에 비해 각각 16.8%, 28.4%($P<0.05$), 30.5%($P<0.05$) 낮아졌다. FAS의 전사인자인 SREBP-1의 단백질 발현 역시 FAS 발현과 동일한 경향을 보였으며 *S*-sugar, *S*-stevia 및 *S*-scFOS군에서 13.6%, 31.1%($P<0.05$) 그리고 31.1%($P<0.05$) 감소하였다. 이상의 결과를 살펴보면 수정과 섭취군 간의 중성지방 농도 저하 효과는 핵 내에서 SREBP-1의 발현이 낮아짐으로써 FAS의 발현이 낮아져 간에서 지방산 합

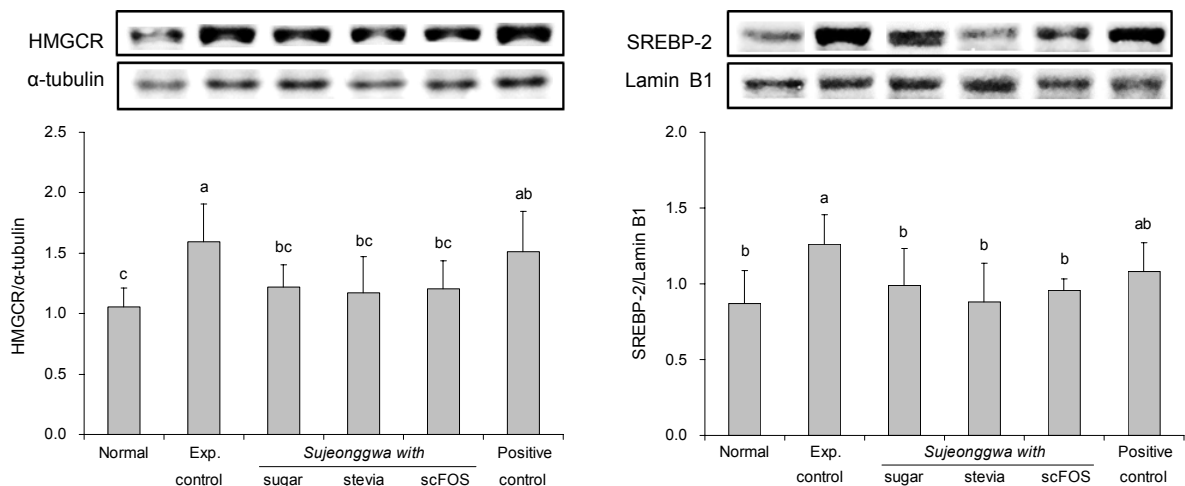


Fig. 2. Effects of functional *sujeonggwa* drinks on 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase (HMGCR) and sterol regulatory element binding protein (SREBP)-2 expression in the liver of hypercholesterolemic ApoE ko mice. Data are means±SD (n=7 for each group). See the legend of Table 2. Data with different letters (a-c) above the bars are significantly different with one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test at $P<0.05$.

성이 억제되었기 때문으로 생각된다(34). 계피 추출물은 과당 섭취로 비만을 유도한 쥐에서 SREBP-1의 mRNA 발현을 억제하여 FAS의 발현을 낮춤으로써 유리지방산, 중성지방, 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 농도를 낮추었고(1,2), 지질대사 관련 인자인 PPAR α 및 PPAR γ 에 발현을 억제함으로써 인슐린 민감성과 관련 지질대사 이상을 개선하는 효과를 보고하였다(3). 생강 추출물 역시 지방산 합성 효소 및 이의 전사인자의 발현을 억제한다고 알려져 있는데(8), 생강에서 추출한 페놀화합물인 gingerol은 고지방식이를 섭취한 마우스의 간에서 FAS, ACC의 발현을 억제하였다고 보고하였다(35).

콜레스테롤 생합성에 관여하는 율속효소인 HMGCR과 SREBP-2의 단백질 발현 정도는 control군이 모든 실험군에 비해 가장 높아(Fig. 2) 과량의 당 섭취는 혈당을 상승시키고 이는 HMGCR의 발현을 촉진한다는 연구 결과와 일치하였다(36). 이러한 HMGCR의 단백질 발현은 positive control군에서는 관찰되지 않았으나 본 연구팀이 개발한 수정과를 섭취한 S-sugar, S-stevia, S-scFOS군에서는 유의적으로 감소하였다(Fig. 2, all $P < 0.05$). HMGCR 발현을 조절하는 전사인자인 SREBP-2의 발현 역시 동일한 경향으로 수정과 섭취군에서 유의적으로 낮아졌다(Fig. 2, all $P < 0.05$). 특히 기능성 수정과 섭취군의 HMGCR과 SREBP-2의 발현은 control군에 비해 S-stevia군에서 26.3% ($P = 0.036$) 및 30.5% ($P = 0.009$) 낮아졌고, S-scFOS군에서는 24.5% ($P = 0.019$) 및 24.3% ($P = 0.005$) 낮아져 대체 당 사용에 의한 콜레스테롤 합성 효소 및 전사 인자의 발현이 낮아짐을 발견하였다. 생강 추출물은 콜레스테롤 합성 효소 및 전사인자의 발현을 억제한다고 알려져 있다(3,8). 그러나 계피의 경우 혈중 콜레스테롤 저하 효과에 관한 연구보고는 있으나(6) HMGCR 및 전사인자인 SREBP-2 발현에 관한 연구는 아직까지 보고되고 있지 않다.

본 연구 결과에 의하면 수정과의 지질 저하 효과는 계피와 생강의 지질 저하 효과 때문으로 확인되었다. 그러나 이러한 계피와 생강의 효과도 당의 농도가 높은 시판 수정과의 경우 설탕물을 섭취한 동물과 유사하게 나타나 수정과에 함유된 설탕의 농도가 중요한 것으로 나타났다. 이는 stevia를 첨가한 수정과의 간지질 축적 억제 효과 및 관련 효소와 전사인자의 발현이 가장 낮았던 결과로 확인되었다. Stevia 잎과 줄기를 열수 추출하여 쥐에 섭취시켰을 때 간의 지방산 β -oxidation에 관련 ACO, ACS, CPT-1의 발현을 증가시켰다는 보고는 있으나(18) 지방산 합성 및 관련 전사인자에 대한 연구보고는 이제까지 발표된 적이 없다. 뿐만 아니라 scFOS와 같은 기능성 당의 사용도 지질대사에 중요한 영향을 미치는 것으로 본 연구에서 발견되었다. 본 연구에서 기능성 수정과 제조 시 수정과의 맛을 고려하여 설탕 사용량의 일부만 stevia나 scFOS로 대체하였는데, 특히 scFOS를 첨가하여 제조한 수정과의 설탕 함량은 stevia를 사용한 수정과에 비해 약 2.5배 높았음에도 불구하고 지질 합성 효소

및 이의 전사인자의 발현 억제를 통한 지질 축적 억제 효과가 stevia와 유사하였다. 이러한 scFOS의 효과는 pre-biotics의 효과 때문으로 생각된다. scFOS 섭취에 의해 장내에서 생성된 단쇄지방산 중 propionate에 의한 효과로 propionate는 HMG-CoA synthase와 HMG-CoA reductase의 발현을 억제한다고 알려져 있다(25,37). 그리고 고설탕식이를 제공한 동물에 scFOS를 보충 섭취할 경우 간에서 FAS의 활성이 유의하게 감소한다고 보고되고 있다(23).

요 약

기능성 수정과의 대량생산을 위하여 전통 수정과로부터 계피, 생강 및 설탕을 사용하는 수정과 레시피를 개발하고, 감미료인 stevia와 scFOS를 첨가하여 기능성 수정과 레시피를 개발하였다. 수정과 레시피 개발은 수정과의 특성에 대해 전문 교육을 받은 관능 평가원 10명(총 50회)이 참여하였다. 수정과와 기능성 수정과의 간지질 축적 억제 효과 및 관련 기전 연구를 위해 유전적으로 변형된 마우스에서 4주간 콜레스테롤 식이로 고콜레스테롤혈증(총 콜레스테롤 > 1,000 mg/dL)을 유발한 후 6주간 수정과를 경구로 섭취시켰다. 수정과 섭취량은 한국인의 1일 음료 섭취량을 기준으로 산출하였다. 간의 중성지방 및 콜레스테롤 농도는 설탕물을 섭취한 대조군에서 물을 섭취한 정상대조군에 비해 31.4%, 21.2% 유의적으로 증가하였으며($P < 0.05$) 동일한 농도의 설탕을 함유한 수정과 섭취에 의해 중성지방 17.9% ($P = 0.044$) 그리고 콜레스테롤 12.6% ($P = 0.027$) 감소하여 수정과의 지질 저하 효과를 확인하였고, 이러한 수정과의 효과는 설탕 함량의 일부를 stevia와 scFOS로 대체한 기능성 수정과군에서 더욱 낮았다. 그러나 시판 수정과의 간지질 농도는 설탕물만 섭취한 대조군과 유사하여 지질 축적 억제 효과가 관찰되지 않았는데, 이는 낮은 생강, 계피 추출물의 양 때문으로 생각되었다. 수정과군들의 FAS, HMGCR 및 SREBP-1, 2의 단백질 발현은 대조군에 비해 유의적으로 낮았으며 특히 기능성 수정과의 효과가 매우 높았다. 이상의 결과를 살펴보면 수정과의 기능성은 계피, 생강 및 당 함량의 모든 요인이 함께 작용한 것으로 확인되었다. 동일 농도의 설탕을 사용하였을 때 계피 및 생강의 효과는 유의적이었으며, 계피와 생강의 농도를 동일하게 하고 설탕 함량의 일부를 stevia와 scFOS로 대체한 기능성 수정과의 효과는 설탕만 사용한 수정과에 비해 유의적인 차이는 없었으나 간지질 축적 및 관련 효소 및 전사인자의 발현을 억제하는 효과가 매우 높았다.

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부 한식세계화용역연구사업에 의해 이루어진 것으로 연구비 지원에 감사드립니다.

REFERENCES

- Qin B, Polansky MM, Anderson RA. 2010. Cinnamon extract regulates plasma levels of adipose-derived factors and expression of multiple genes related to carbohydrate metabolism and lipogenesis in adipose tissue of fructose-fed rats. *Horm Metab Res* 42: 187-193.
- Kannappan S, Jayaraman T, Rajasekar P, Ravichandran MK, Anuradha CV. 2006. Cinnamon bark extract improves glucose metabolism and lipid profile in the fructose-fed rat. *Singapore Med J* 47: 858-863.
- Sheng X, Zhang Y, Gong Z, Huang C, Zang YQ. 2008. Improved insulin resistance and lipid metabolism by cinnamon extract through activation of peroxisome proliferator-activated receptors. *PPAR Res* 2008: 581348.
- Lee JS, Jeon SM, Park EM, Huh TL, Kwon OS, Lee MK, Choi MS. 2003. Cinnamate supplementation enhances hepatic lipid metabolism and antioxidant defense systems in high cholesterol-fed rats. *J Med Food* 6: 183-191.
- Huang B, Yuan HD, Kim DY, Quan HY, Chung SH. 2011. Cinnamaldehyde prevents adipocyte differentiation and adipogenesis via regulation of peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR γ) and AMP-activated protein kinase (AMPK) pathways. *J Agric Food Chem* 59: 3666-3673.
- Subash Babu P, Prabuseenivasan S, Ignacimuthu S. 2007. Cinnamaldehyde—a potential antidiabetic agent. *Phytomedicine* 14: 15-22.
- Gao H, Guan T, Li C, Zuo G, Yamahara J, Wang J, Li Y. 2012. Treatment with ginger ameliorates fructose-induced fatty liver and hypertriglyceridemia in rats: modulating of the hepatic carbohydrate response element-binding protein-mediated pathway. *J Evidence-Based Complementary Altern Med* 2012: 1-12.
- Nammi S, Kim MS, Gavande NS, Li GQ, Roufogalis BD. 2010. Regulation of low-density lipoprotein receptor and 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase expression by *Zingiber officinale* in the liver of high-fat diet-fed rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 106: 389-395.
- Verma SK, Singh M, Jain P, Bordia A. 2004. Protective effect of ginger, *Zingiber officinale* Rosc on experimental atherosclerosis in rabbits. *Indian J Exp Biol* 42: 736-738.
- Thomson M, Al-Qattan KK, Al-Sawan SM, Alnaqeeb MA, Khan I, Ali M. 2002. The use of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) as a potential anti-inflammatory and antithrombotic agent. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 67: 475-478.
- El-Baroty GS, El-Baky HHA, Farag RS, Saleh MA. 2010. Characterization of antioxidant and antimicrobial compounds of cinnamon and ginger essential oils. *Afr J Biochem Res* 4: 167-174.
- Ahmed RS, Seth V, Banerjee BD. 2000. Influence of dietary ginger (*Zingiber officinales* Rosc) on antioxidant defense system in rat: comparison with ascorbic acid. *Indian J Exp Biol* 38: 604-606.
- Jiang X, Blair EY, McLachlan AJ. 2006. Investigation of the effects of herbal medicines on warfarin response in healthy subjects: a population pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling approach. *J Clin Pharmacol* 46: 1370-1378.
- Nicoll R, Henein MY. 2009. Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): a hot remedy for cardiovascular disease? *Int J Cardiol* 131: 408-409.
- Fuhrman B, Rosenblat M, Hayek T, Coleman R, Aviram M. 2000. Ginger extract consumption reduces plasma cholesterol, inhibits LDL oxidation and attenuates development of atherosclerosis in atherosclerotic, apolipoprotein E-deficient mice. *J Nutr* 130: 1124-1131.
- Dugasani S, Pichika MR, Nadarajah VD, Balijepalli MK, Tandra S, Korlakunta JN. 2010. Comparative antioxidant and anti-inflammatory effects of [6]-gingerol, [8]-gingerol, [10]-gingerol and [6]-shogaol. *J Ethnopharmacol* 127: 515-520.
- Choudhury D, Das A, Bhattacharya A, Chakrabarti G. 2010. Aqueous extract of ginger shows antiproliferative activity through disruption of microtubule network of cancer cells. *Food Chem Toxicol* 48: 2872-2880.
- Park JE, Cha YS. 2010. *Stevia rebaudiana* Bertoni extract supplementation improves lipid and carnitine profiles in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. *J Sci Food Agric* 90: 1099-1105.
- Geeraert B, Crombe F, Hulsmans M, Benhabiles N, Geuns JM, Holvoet P. 2010. Stevioside inhibits atherosclerosis by improving insulin signaling and antioxidant defense in obese insulin-resistant mice. *Int J Obes* 34: 569-577.
- Cho BO, Ryu HW, So Y, Cho JK, Woo HS, Jin CH, Seo KI, Park JC, Jeong IY. 2013. Anti-inflammatory effect of austroinulin and 6-O-acetyl-austroinulin from *Stevia rebaudiana* in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 macrophages. *Food Chem Toxicol* 62: 638-644.
- Bornet FRJ, Brouns F, Tashiro Y, Duvillier V. 2002. Nutritional aspects of short-chain fructooligosaccharides: natural occurrence, chemistry, physiology and health implications. *Dig Liver Dis* 34: S111-S120.
- Bouhnik Y, Achour L, Paineau D, Riottot M, Attar A, Bornet F. 2007. Four-week short chain fructo-oligosaccharides ingestion leads to increasing fecal bifidobacteria and cholesterol excretion in healthy elderly volunteers. *Nutr J* 6: 42.
- Agheli N, Kabir M, Berni-Canani S, Petitjean E, Boussairi A, Luo J, Bornet F, Slama G, Rizkalla SW. 1998. Plasma lipids and fatty acid synthase activity are regulated by short-chain fructo-oligosaccharides in sucrose-fed insulin-resistant rats. *J Nutr* 128: 1283-1288.
- Tokunaga T, Oku T, Hosoya N. 1986. Influence of chronic intake of new sweetener fructooligosaccharide (neosugar) on growth and gastrointestinal function of the rat. *J Nutr Sci Vitaminol* 32: 111-121.
- Bush RS, Milligan LP. 1971. Study of the mechanism of inhibition of ketogenesis by propionate in bovine liver. *Can J Anim Sci* 51: 121-127.
- Baird GD, Lomax MA, Symonds HW, Shaw SR. 1984. Net hepatic and splanchnic metabolism of lactate, pyruvate and propionate in dairy cow in vivo in relation to lactation and nutrient supply. *Biochem J* 186: 47-57.
- Seo JH, Sung TH, Kim MR. 2002. Quality characteristics of Sujongkwa. *J East Asian Soc Dietary Life* 12: 370-378.
- Kusunoki J, Hansoty DK, Aragane K, Fallon JT, Badimon JJ, Fisher EA. 2001. Acyl-CoA: cholesterol acyltransferase inhibition reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 103: 2604-2609.
- Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226: 497-509.
- Souza GA, Ebaid GX, Seiva FR, Rocha KH, Galhardi CM, Mani F, Novelli EL. 2011. N-acetylcysteine an allium plant compound improves high-sucrose diet-induced obesity and related effects. *Evid Based Complement Alternat Med* 2011: 643269.

31. Sudhahar V, Kumar SA, Mythili Y, Varalakshmi P. 2007. Remedial effect of lupeol and its ester derivative on hypercholesterolemia-induced oxidative and inflammatory stresses. *Nutr Res* 27: 778-787.
32. Monetti M, Levin MC, Watt MJ, Sajan MP, Marmor S, Hubbard BK, Stevens RD, Bain JR, Newgard CB, Farese RV Sr, Hevener AL, Farese RV Jr. 2007. Dissociation of hepatic steatosis and insulin resistance in mice overexpressing DGAT in the liver. *Cell Metab* 6: 69-78.
33. Mancini-Filho J, Van-Koijij A, Mancini DA, Cozzolino FF, Torres RP. 1998. Antioxidant activity of cinnamon (*Cinnamomum Zeylanicum*, Breyne) extracts. *Boll Chim Farm* 137: 443-447.
34. Shimano H, Horton JD, Hammer RE, Shimomura I, Brown MS, Goldstein JL. 1996. Overproduction of cholesterol and fatty acids causes massive liver enlargement in transgenic mice expressing truncated SREBP-1a. *J Clin Invest* 98: 1575-1584.
35. Okamoto M, Irii H, Tahara Y, Ishii H, Hirao A, Udagawa H, Hiramoto M, Yasuda K, Takanishi A, Shibata S, Shimizu I. 2011. Synthesis of a new [6]-gingerol analogue and its protective effect with respect to the development of metabolic syndrome in mice fed a high-fat diet. *J Med Chem* 54: 6295-6304.
36. Cherng S, Young J, Ma H. 2008. HMG-CoA reductase (3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase) (HMGR). *J Am Sci* 4: 62-64.
37. Rodwell VW, Nordstrom JL, Mitschelen JJ. 1976. Regulation of HMG-CoA reductase. *Adv Lipid Res* 14: 1-74.