

血府逐瘀湯 抽出物이 高脂肪食餌로 誘發시킨 高脂血症 흰쥐의 血液 및 肝 機能에 미치는 影響

필감매¹⁾ · 정명수^{2,3)} · 김혜자¹⁾ · 조화은¹⁾ · 최윤희¹⁾ · 이기남^{1),3)*}

¹⁾원광대학교 한의학전문대학원

²⁾원광대학교 한의과대학,

³⁾원광대학교 한국전통의학연구소

Effects of *Hyolbuchukeo-tang* Extracts on Blood and Liver of Hyperlipidemia Rats Induced by High Fat Diet

Chien-Mei Pi,¹⁾ Myong-Soo Chong,^{2,3)} Hae-Ja Kim,¹⁾

Hwa-Eun Cho,¹⁾ Yun-Hee Choi¹⁾ & Ki-Nam Lee^{1,3)*}

¹⁾Professional Graduate School of Oriental Medicine, ²⁾College of Oriental Medicine,

³⁾Research Center of Traditional Korean Medicine, Wonkwang University

Abstract

Objectives : The purpose of this study was to investigate the effects of *Hyolbuchukeo-tang* extracts on the hyperlipidemia rats induced by high fat diet.

Methods and Materials : *In vitro* ; The extracts prepared for *Hyolbuchukeo-tang* by hot water extraction (HH), fermentation(HF) and UMPM extraction(HU) method. The extracts were examined for levels of polyphenol compounds, antioxidant activities, and inhibitory potencies for HMG-CoA reductase. *In vivo* ; Sprague-Dawley male rats of weighing 150 ± 5g were randomly divided into six groups ; normal control diet(NC), and high fat diet(HC), high fat diet with treated lovastatin of 10mg/kg(PC), high fat diet with *Hyolbuchukeo-tang* extracts ; HH, HF and HU treated extracts of 300mg/kg, respectively. Also, we compared the effects of the extracts of HH, HF and HU on rats fed high fat diet for four weeks.

Results : 1. The content of polyphenol compounds and electron donating abilities(EDAs) was the HF higher than HH and HU. The superoxide dismutase(SOD)-like activities were proportionate in consistency and they appeared highly from all extracts. The HMG-CoA reductase inhibition activities was highest

· 접수 : 2009년 2월 23일 · 수정접수 : 2009년 3월 24일 · 채택 : 2009년 3월 30일

* 교신저자 : 이기남, 전북 익산시 신용동 344-2 원광대학교 한의학전문대학원 제3의학과

Tel : +82-63-850-6836, Fax : +82-63-852-5594, E-mail : kinaml@wku.ac.kr

activities in the HU.

2. The activities of serum GOT and GPT were significantly lower in the HH and HF groups. The level of serum triglyceride was significantly decreased in the HF group. HH and HU groups were significantly decreased in the atherogenic index(AI). The total cholesterol concentration in liver was significantly decreased in the HF group, and HU showed more significantly decreased in the triglyceride than of the lovastatin. Also, photomicrographs of liver tissue showed higher fat accumulation in the HC group than in the HH, HF and HU groups.

Conclusions : These result suggest that the hyper-lipidemia caused by a high fat diet was effectively inhibited the administration of HF and HU.

Key words : *Hyolbuchukeo-tang*, high-fat diet, hyper-lipidemia, HMG-CoA reductase, antioxidant activity

I. 서론

최근 우리나라에서는 식생활이 서구화됨에 따라 지방의 섭취가 증가하고 있으며, 그에 비례하여 동맥경화, 관상동맥질환과 같은 심혈관계 질환 및 당뇨병, 비만 등의 만성퇴행성질환의 발병율이 높아지고 있다.¹⁾ 심혈관계 질환의 3대 위험인자 중 하나인 고지혈증은 혈중 콜레스테롤 또는 중성지방이 비정상적으로 상승되어 있는 상태로서 유전적인 요인과 환경적인 요인인 서구화된 식사, 스트레스, 운동부족 등의 영향을 받는 다인자 질환이다.²⁾ 또한 고지혈증은 동맥경화증 진행에 중요한 요소로서 혈청 내 수치가 높을수록, 젊은 나이에 발생할수록 이로 인한 사망률이 증가하는 경향이 있다. 관상동맥질환 발병의 위험인자로는 고지혈증 외에도 고혈압, 당뇨병, 비만증, 흡연 등이 지적되고 있는데, 관상동맥질환의 예방과 치료를 위해서는 지질대사에 대한 이해를 토대로 고지혈증에 대한 예방이 극히 중요하다고 할 것이다. 한의학에서 高脂血症은 痰濁, 血瘀 등의 범주에 속하고,^{3,4)} 頭暈, 頭痛, 氣短, 胸悶, 腰膝酸軟 등의 증상이 나타나며,^{5,6)} 관상동맥질

환 및 뇌혈관질환 등의 주요 원인이 되고 있다.^{6,7)} 血府逐瘀湯은 清代 王⁸⁾의 『醫林改錯』에 처음으로 수록된 이래로, 氣滯血瘀·瘀血內阻를 원인으로 하는 胸脇疼痛, 頑固性頭痛, 內熱煩悶, 失眠多夢, 心悸怔忡 등에 사용할 목적으로 입방되었으며, 근래에는 心·腦血管 疾患, 婦人科 疾患, 消化器 疾患, 腫瘍, 各種 出血性 疾患 등에 行氣·活血祛瘀를 목적으로 광범위하게 응용되고 있다.⁹⁻¹²⁾ 또한 活血祛瘀 效能이 있는 處方이나 單味에 대한 연구에서 血栓症¹³⁾이나 高粘度血症,¹⁴⁾ 高脂血症¹⁵⁾에 관한 실험 연구가 매우 활발하게 보고되고 있다. 한편, 한약은 대부분 煎湯 추출물인 탕액의 형태로 사용하는데, 그 과정에서 한약재의 추출은 배합하는 다른 한약재의 종류에 따라 추출효율이 다르게 나타날 수 있다. 또한 한약재의 광범위하고 다각적인 활용방안에 대한 연구의 필요성으로 인해 발효한약에 대한 관심이 날로 증가하고 있는 추세이다. 이는 한약재 약효성분의 체내흡수율과 생체 이용률을 모두 극대화시킨 일종의 가공방법으로 약리적 기능성뿐만 아니라 한약의 제형개량과 포제방법을 향상시킬 수 있고 이를 통해 한약의 새로운 수요를 창출하고 고부가치의 새로운 한약제품을 개발할 수 있다는데 그 의의를 두고 있다. 그러나 이들에 대한 생리활성 및 효능평

가에 대한 연구는 아직 미비한 실정이다.

이에 저자는 항고지혈증에 효과가 있다고 알려진 血府逐瘀湯을 열수추출법, 발효추출법 및 UMPM(ultra sonic, micro wave, plasma, micro bubble)추출법으로 추출하여 추출물의 생리활성을 측정하고, 고지방식이로 고지혈증을 유발한 흰쥐를 이용하여 각각의 血府逐瘀湯 추출물의 투여가 체내 지질대사에 미치는 영향을 실험 분석하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

효모(*Saccharomyces cerevisiae* 7268)는 한국 생명공학연구원에서 분양받아 사용하였다.

2) 동물

실험에 사용한 Sprague-Dawley계 흰쥐(♂, 체중 150±15g)는 (주)오리엔트 바이오에서 분양받아 실온 22±2℃, 습도 50±5%가 유지되는 사육실에서 한 마리씩 stainless cage에 넣어 6주간 사육하며 진행하였다. 일반 고형사료로 일주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 약재

실험에 사용한 血府逐瘀湯의 처방내용은 『醫林改錯』⁸⁾에 의거하였으며 약재는 금강제약(경남 마산)에서 구입하여 사용하였고, 1貼의 내용과 분량은 Table 1과 같다. 또한 발효에 사용한 유산균(*Lactobacillus plantarum* 3108)과

2. 방법

1) 시료의 제조

실험에 사용된 추출물의 추출방법은 Fig. 1과 같다. 즉, 血府逐瘀湯 구성 한약재는 거칠게 갈아 추출에 사용하였다. 血府逐瘀湯 열수추출물(*Hyolbuchukeo-tang* of hot water extract; HH)은 15배의 물을 가하여 환류냉각기를 이용하여 100℃에서 3시간 가열 추출하였으며, 血府逐瘀湯 발효추출물(*Hyolbuchukeo-tang* of fermented extract; HF)은 15배의 물을 가하여 환

Table 1. Composition of Hyolbuchukeo-tang Used in the Experiment

韓藥名	生藥名	用量 (g)
當歸	<i>Angelicae Gigantis Radix</i>	11.25
生地黃	<i>Rehmanniae Radix</i>	11.25
桃仁	<i>Persicae Semen</i>	15.00
紅花	<i>Carhami Flos</i>	11.25
枳殼	<i>Ponciri Fructus</i>	7.50
赤芍藥	<i>Paeoniae Radix Rubra</i>	7.50
元柴胡	<i>Bupleuri Radix</i>	3.75
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	3.75
川芎	<i>Cnidii Rhizoma</i>	3.75
桔梗	<i>Platycodi Radix</i>	5.62
牛膝	<i>Achyranthis Radix</i>	11.25
Total amount		91.87

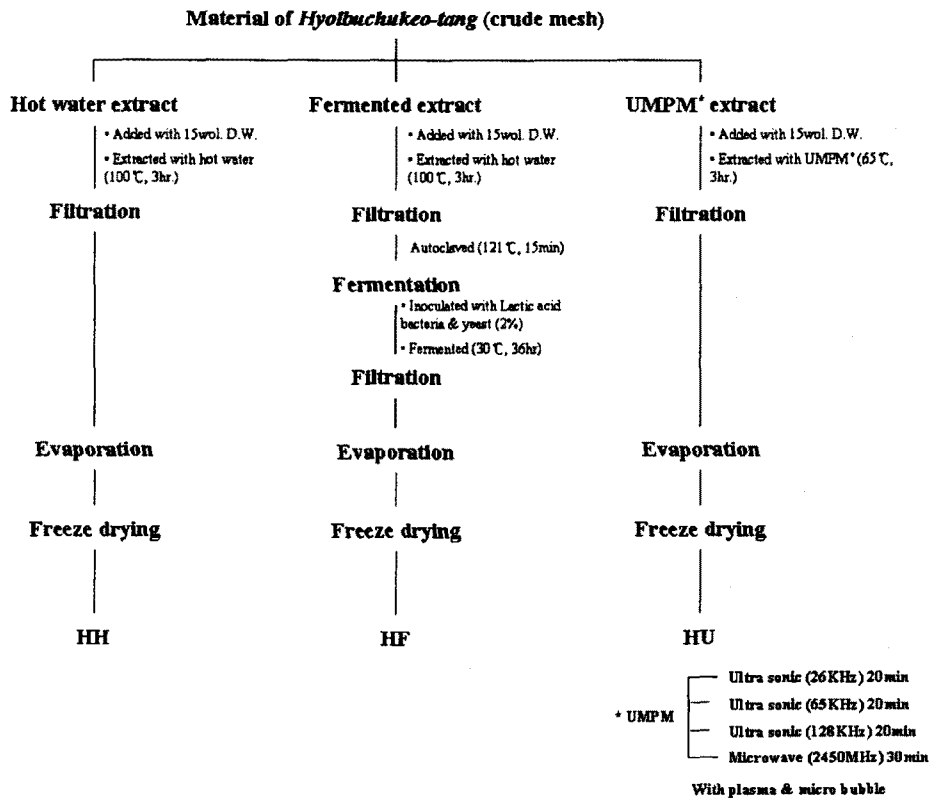


Fig. 1. Extraction method of HH, HF and HU

류냉각기를 이용하여 100°C에서 3시간 가열 추출, 여과 후 121°C에서 15분간 멸균, 냉각시킨 후 유산균과 효모 전 배양을 각각 2%씩 접종하여 30°C에서 36시간 발효(final pH 4.0±0.2)시켜 시료로 사용하였다. 또한, 血府逐瘀湯 UMPM추출물(Hyolbuchukeo-tang of UMPM extract; HU)은 UMPM추출기(MEDIPS, UMEX, Korea)를 이용하여 15배의 물을 가하여 65°C에서 3시간 동안 ultra sonicwaves, micro waves, micro bubble 등으로 저온 추출한 후 여과하였다. 실험에 사용된 추출물은 추출 한 다음 감압 농축하여 동결건조 후 사용하였다.

2) 고지혈증 유발 및 추출물 투여

실험동물을 정상군(normal control group: NC,

n=5)과 고지방식이군으로 분류하여 2주간 고지방식이로 인한 고지혈증을 유도하였으며 2주 후 고지방식이군은 다시 고지방식이대조군(high fat control group: HC, n=5), 고지방식이에 lovastatin투여군(high fat diet + lovastatin group; PC, n=5), 고지방식이에 血府逐瘀湯 열수추출물 투여군(high fat diet + *Hyolbuchukeo-tang* of hot water extract group: HH, n=5), 고지방식이에 血府逐瘀湯 발효추출물 투여군(high fat diet + *Hyolbuchukeo-tang* of fermented extract group: HF, n=5) 및 고지방식이에 血府逐瘀湯 UMPM추출물 투여군(high fat diet + *Hyolbuchukeo-tang* of UMPM extract group: HU, n=5)으로 나누어 4주간 실험하였다. 정상군과 대조군은 생리식염수를, 양성대조군은 lova-

statin 10mg/kg, 각 시료 추출물투여군은 추출물 300mg/kg의 농도로 투여하였으며, 각 시료 추출물은 300mg/kg의 농도로 생리식염수에 녹여 4주간 매일 경구 투여하였다. 실험 식이는 Table 2와 같이 정상식이군은 AIN-93 diet¹⁶⁾에 준하여 제조하여 공급하였고, 고지방 식이군은 지방급원으로 lard를 사용하여 AIN-93 high fat diet의 조성으로 제조하였으며, 총 열량의 40%를 지방으로 공급하여 사육하였다.

3) In vitro assay

(1) 총 폴리페놀 화합물 함량 측정

총 폴리페놀 화합물 함량은 Folin-Denis법¹⁷⁾을 응용하여 측정하였다. 즉, 각 추출물 시료를 증류수를 이용해 1 μ g/ml 농도로 희석하여 2 N Folin 시약 200 μ l를 첨가하고 잘 혼합하여 3분간 방치하였다. 여기에 10% Na₂CO₃ 2ml를 첨가하여 실온에서 1시간 동안 방치한 후 ELISA (Bio-Tek Instruments Inc, USA)를 이용하여

725nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 폴리페놀 화합물은 tannic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다.

(2) 항산화 활성 측정

① DPPH 자유 라디칼 소거능: Blois 법¹⁸⁾에 준하여 각 추출물의 DPPH(α - α -Diphenyl- β -picrylhydrazyl radicals)에 대한 수소공여 효과로 측정하였다. 일정 농도의 시료에 4.0 \times 10⁻⁴M DPPH 용액 150 μ l를 가하고, 혼합하여 실온에서 반응시켰다. 이 반응액을 525nm에서 흡광도를 측정하였으며, 전자공여 효과는 시료 첨가 전·후의 흡광도 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

② SOD 유사 활성능: SOD assay kit(Dojindo Molecular Technologies, Inc., USA)를 이용하여 superoxide anion radical(O₂⁻)의 소거 활성을 측정하였다. 동결건조한 각 시료를 증류수에 희석한 후 450nm에서 흡광도를 측정하여 kit의 계산법에 따라 활성률을 측정하였다.

Table 2. Composition of Experimental Diets

Ingredients	Normal diets (g%)	High fat diets (g%)
Casein	20.3	24.3
Corn Starch	39.7	10.6
Wheat powder	13.2	14.5
Sucrose	10.0	19.4
Cellulose	5.0	5.6
Soybean Oil	7.0	2.8
Lard	-	17.3
AIN-Mineral Mixture	3.5	5.0
AIN-Vitamin Mixture	1.0	1.1
Choline Bitatrate	0.3	0.2
Total	100.0	100.0
Protein(kcal%)	81.2 (21)	97.4 (21)
Carbohydrate(kcal%)	251.6 (64)	178.4 (39)
Fat(kcal%)	63.0 (15)	181.4 (40)
Total calories	395.8 (100)	457.2 (100)

(3) HMG-CoA reductase 저해활성 측정

HMG-CoA reductase 저해활성은 Kleinsek 등의 방법¹⁹⁾에 따라 측정하였다. 즉, 1ml cuvette에 각 시료 20 μ l, 0.5uM potassium phosphate buffer(pH 7.0) 100 μ l, 20mM DTT 100 μ l, 3mM NADPH 100 μ l, 효소원 100 μ l를 가하고 반응액의 온도를 37 $^{\circ}$ C로 일정하게 한 후 3mM HMG-CoA 100 μ l를 가하여 효소반응을 시작하면서 340nm에서 5분간의 흡광도 변화를 기록하였다. 또한 HMC-CoA 대신 증류수를 가한 blank로 반응시킨 흡광도의 변화도 동시에 기록하여 다음 식에 의거하여 억제활성을 산출하였다.

$$\text{억제활성(\%)} = [1 - (\text{control의 흡광도변화} - \text{control blank의 흡광도}) / (\text{sample의 흡광도변화} - \text{sample blank의 흡광도변화})] \times 100$$

5) In vivo assay

(1) 혈액 및 조직의 채취

실험동물의 혈액을 채취하기 위해 실험종료 24시간 절식시킨 후 ether로 마취하여 개복한 후 심장에서 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 1시간 방치한 후 3,000rpm에서 20분간 원심 분리하여 혈청을 분리하고 분석 전까지 -80 $^{\circ}$ C에서 냉동 보관하였다. 채혈 후 즉시 간, 부고환 지방을 분리 적출하여 생리식염수로 세척한 후 거즈로 수분을 제거하였다.

(2) 혈청의 GOT, GPT 활성 측정

혈청 중의 GOT(glutamate oxaloacetate transaminase), GPT(glutamate pyruvate transaminase)의 활성은 각각의 측정용 kit(Bayer, USA)를 이용하여 자동분석기(Advia 1650, Japan)로 측정하였다.

(3) 혈청의 지질 농도 측정

혈청 중의 총 콜레스테롤, 중성지질, HDL-

콜레스테롤 농도는 측정용 kit(Bayer, USA)를 이용하여 자동분석기(Advia 1650, Japan)로 측정하였다. 동맥경화지수(atherogenic index: AI)는 Haglund 등²⁰⁾의 방법((총 콜레스테롤 - HDL-콜레스테롤) / HDL-콜레스테롤)을 이용하여 계산하였다.

(4) 간 조직의 지질 농도 측정

간 조직의 지질은 Floch 방법²¹⁾으로 추출하여 측정하였다. 즉, 간 조직 2g에 chloroform : methanol = 2 : 1(v/v) 혼합용액을 Potter-Elvehjem type glass homogenizer(ClassCol, LLC., Terre Haute, USA)를 이용하여 균질화한 후 3,200 rpm에서 10분간 원심분리하고, chloroform층을 취하여 건조 시킨 후 에탄올 8ml로 정용한 후 시료로 사용하였다. 간 조직의 총 콜레스테롤과 중성지질 농도는 각각의 측정용 kit(아산제약, 한국)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

(5) 조직의 현미경적 관찰

간 조직과 부고환 지방은 조직학적 관찰은 위하여 NBF buffer(pH 7.2~7.4)에 고정한 다음 수세, 탈수 과정을 거친 후 paraffin 포매한 후 hematoxylin-eosin으로 염색하여 간의 지방 변화(fatty change)와 부고환지방에서의 세포 크기를 광학현미경으로 관찰하였다.

3. 통계처리

모든 자료의 통계분석은 SPSS program을 이용하여 일원 배치 분산 분석(one-way ANOVA)으로 검정하여 평균 \pm 표준오차로 나타내었으며, 유의성 검정은 Duncan's multiple range test에 따라 p<0.05 수준에서 검정하였다.

32.31 $\mu\text{g}/\text{ml}$, HU 31.41 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 나타나, 모든 추출물에서 비슷하게 폴리페놀 함량을 보였다.

III. 연구결과

1. 총 폴리페놀 화합물 함량

추출방법에 따른 각각의 血府逐瘀湯 추출물의 총 폴리페놀 화합물의 함량을 천연항산화제로 알려진 ascorbic acid(0.1mg/ml)를 대조군으로 하여 측정하였다(Fig. 2). 그 결과, ascorbic acid가 72.50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에 비해 HF 36.52 $\mu\text{g}/\text{ml}$, HH

2. 항산화활성

각각의 血府逐瘀湯 추출물을 ascorbic acid를 대조군으로 하여 5mg/ml의 농도에서 항산화 활성을 측정하였다(Table 3). 즉, DPPH 자유라디칼 소거능은 ascorbic acid(0.1mg/ml)에서 94.52%의 항산화능을 보인 반면 HF는 38.63%, HH 28.86% 및 HU 25.02%의 순으로 항산화능

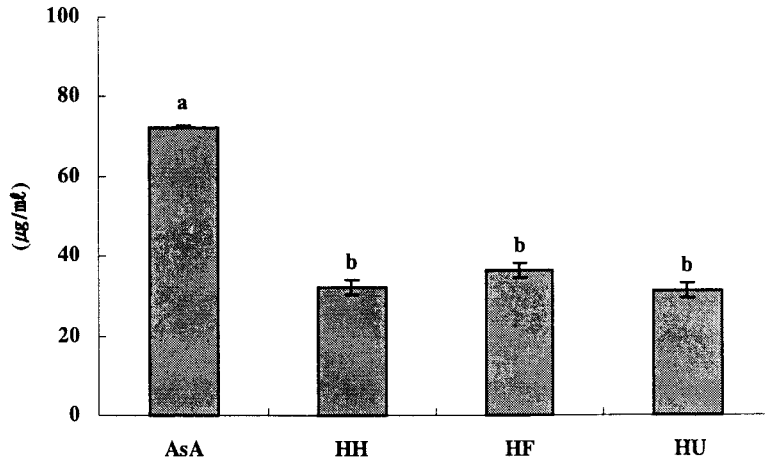


Fig. 2. Contents of total polyphenol compounds in various extracts from *Hyolbuchukeo-tang*. Data are mean \pm SE values. ^{ab}Significantly different among six groups by Duncan's multiple range test($p < 0.05$). HH: *Hyolbuchukeo-tang* hot water extract, HF: *Hyolbuchukeo-tang* fermented extract, HU: *Hyolbuchukeo-tang* UMPM extract.

Table 3. DPPH Scavenging Ability and Superoxide Dismutase(SOD)-like Activity in Various Extracts from *Hyolbuchukeo-tang*

	DPPH scavenging ability (%)	SOD-like activity (%)
Ascorbic acid	94.52 \pm 0.13 ^c	99.17 \pm 0.01 ^b
HH	28.86 \pm 1.89 ^a	57.12 \pm 0.07 ^a
HF	38.63 \pm 0.50 ^b	59.92 \pm 9.64 ^a
HU	25.02 \pm 1.95 ^a	47.93 \pm 0.44 ^a

Data are mean \pm SE values.

^{ab}Significantly different among six groups by Duncan's multiple range test($p < 0.05$).

HH: *Hyolbuchukeo-tang* hot water extract, HF: *Hyolbuchukeo-tang* fermented extract, HU: *Hyolbuchukeo-tang* UMPM extract.

을 보였다. 또한, SOD 유사활성능은 5mg/ml의 농도에서 ascorbic acid가 99.17%의 높은 활성을 나타낸 반면, HF 59.92%, HH 57.12% 및 HU 47.93%로 나타났다.

3. HMG-CoA reductase 저해활성

콜레스테롤의 생합성 과정에 미치는 영향을 알아보기 위하여 10mg/ml 농도에서 lovastatin을 대조군으로 하여 저해활성을 측정하였다(Fig. 3). 그 결과, lovastatin은 55.63%의 저해활성을 보인 반면, HH는 59.71%, HF 45.75%이었으며, HU는 68.62%로 가장 높은 저해활성을 보였다.

4. 혈청 중의 GOT, GPT 활성에 미치는 영향

혈청 중의 GOT, GPT 활성을 측정한 결과 Fig. 4와 같다. 즉, GOT 활성은 대조군과 비교했을 때 양성대조군(lovastatin)이 226.50 IU/L로 가장 높게 나타났다. 이에 반해 HH군은 116.50, HF군 152.25 및 HU군 136.75 IU/L로 실험군

모두 대조군과 양성대조군(lovastatin)에 비해 유의하게 낮은 수치를 보였다. 또한 GPT 활성은 대조군에서 35.00 IU/L로 가장 높은 활성을 보였으며, HF군의 30.00와 HU군의 28.25 IU/L는 양성대조군(lovastatin)의 32.50 IU/L보다 유의하게 낮은 활성을 보였다.

5. 혈청의 중성지질, 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤의 농도 및 동맥경화지수(atherogenic index)

혈청 중의 중성지질, 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 농도는 Table 4와 같다. 혈청 중성지질 농도는 정상군이 64.75mg/dl, 대조군이 103.25 mg/dl, 양성대조군(lovastatin)이 74.50mg/dl로 나타났다. HH군 84.25mg/dl, HF군 43.75mg/dl, HU군 53.25mg/dl로 나타나 실험군 모두에서 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였으며 특히, 양성대조군(lovastatin)과 비교하면 발효추출물과 UMPM추출물에서 유의하게 감소됨을 보였다.

총 콜레스테롤 농도는 대조군이 63.25mg/dl,

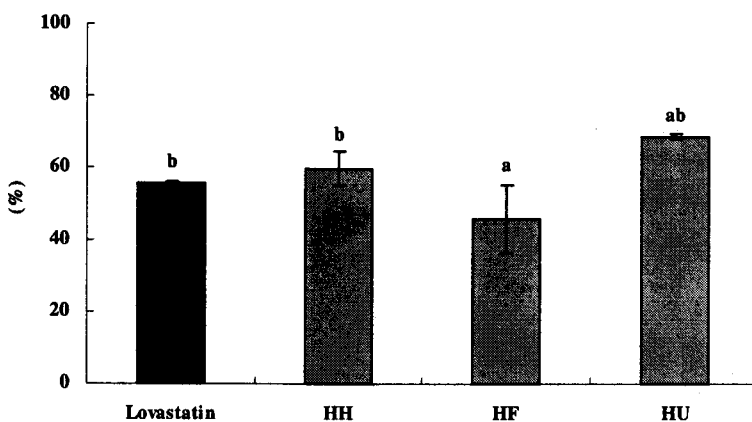


Fig. 3. HMG-CoA reductase inhibit activities of *Hyolbuchukeo-tang* extracts. Data are mean±SE values. ^{ab}Significantly different among six groups by Duncan's multiple range test (p<0.05). HH: *Hyolbuchukeo-tang* hot water extract, HF: *Hyolbuchukeo-tang* fermented extract, HU: *Hyolbuchukeo-tang* UMPM extract.

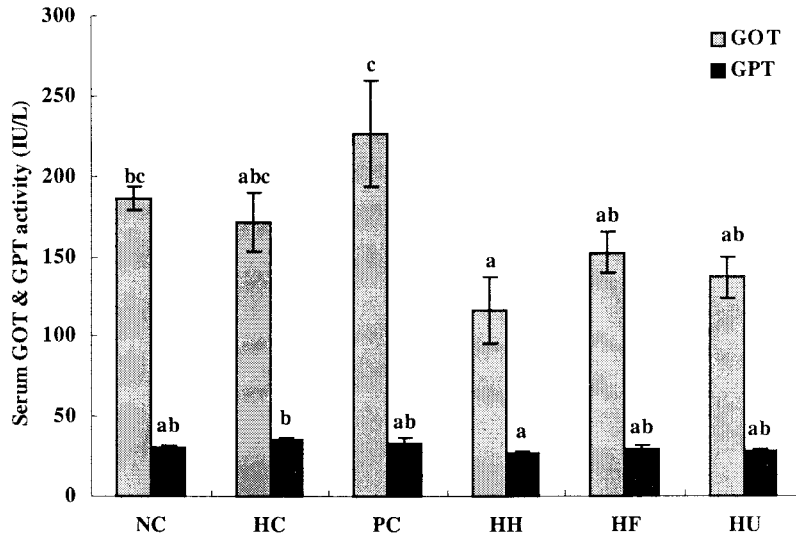


Fig. 4. Effects of *Hyolbuchukeo-tang* extracts on serum GOT and GPT activities in rats fed high fat diet for 4 weeks. Data are mean±SE values. ^{ab}Significantly different among six groups by Duncan's multiple range test(p<0.05). NC: normal diet control group, HC: high fat diet control group, PC: high fat diet + lovastatin group, HH: high fat diet + *Hyolbuchukeo-tang* of hot water extract group, HF: high fat diet + *Hyolbuchukeo-tang* of fermented extract group, HU: high fat diet + *Hyolbuchukeo-tang* of UMPM extract group.

Table 4. Effects of *Hyolbuchukeo-tang* Extracts on Serum Lipid Profiles in Rats Fed High Fat Diet for 4 Weeks

Group	Serum of lipid profiles			
	Triglyceride (mg/dl)	Total-C (mg/dl)	HDL-C (mg/dl)	AI
NC	64.75 ± 15.85 ^{ab}	65.75 ± 7.98	15.25 ± 1.43	3.29 ± 0.24 ^{ab}
HC	103.25 ± 7.33 ^c	63.25 ± 6.11	13.50 ± 1.32	3.72 ± 0.35 ^b
PC	74.50 ± 2.36 ^{abc}	57.75 ± 4.51	14.00 ± 1.08	3.12 ± 0.08 ^{ab}
HH	84.25 ± 17.86 ^{bc}	56.75 ± 5.07	14.75 ± 0.75	2.83 ± 0.21 ^a
HF	43.75 ± 5.54 ^a	50.50 ± 6.02	12.25 ± 1.43	3.12 ± 0.04 ^{ab}
HU	53.25 ± 6.62 ^{ab}	46.50 ± 11.23	12.25 ± 2.25	2.67 ± 0.25 ^a

Data are mean±SE values.

^{ab}Significantly different among six groups by Duncan's multiple range test(p<0.05).

NC: normal diet control group, HC: high fat diet control group, PC: high fat diet + lovastatin group, HH: high fat diet + *Hyolbuchukeo-tang* of hot water extract group, HF: high fat diet + *Hyolbuchukeo-tang* of fermented extract group, HU: high fat diet + *Hyolbuchukeo-tang* of UMPM extract group.

양성대조군(lovastatin) 57.75mg/dl로 나타났다. HH군 56.75mg/dl, HF군 50.50mg/dl 및 HU군 46.50mg/dl의 순으로 대조군과 양성대조군에 비해 낮은 수준을 보였으나, 유의한 차이는 없었다.

또한, HDL-콜레스테롤은 대조군의 경우 13.50 mg/dl, 양성대조군(lovastatin)은 14.00mg/dl로 나타났다으며, HH군 14.75mg/dl 및 HF군, HU군 각각 12.25mg/dl이었다.

동맥경화지수(atherogenic index: A.I.)는 대조군 3.72, 양성대조군(lovastatin) 3.12로 나타났다. 반면 HH군은 2.83, HF군 3.12, HU군 2.67로 나타나 실험군 모두에서 대조군에 비해 유의하게 감소되었으며, 특히 HH군과 HU군에서 양성대조군(lovastatin)과 비슷한 수준을 보였다.

6. 간 조직의 총콜레스테롤, 중성지질 농도

간 조직의 지질농도는 Table 5와 같다. 간 조직의 총 콜레스테롤 농도는 대조군에서 39.79 mg/g of liver, 양성대조군(lovastatin) 31.16mg/g of liver로 정상군의 24.30mg/g of liver에 비해 증가되었다. 이에 반해 HH군, HF군 및 HU군은 각각 35.41, 32.92 및 33.00mg/g of liver로 나타나 대조군에 비해 실험군 모두 유의적으로 감소하였다.

또한, 간 조직의 중성지질 농도는 대조군이 345.67mg/g of liver로 정상군의 135.46mg/g of liver에 비해 유의하게 증가하였고, 양성대조군(lovastatin)은 292.05mg/g of liver로 감소되었다.

HF군은 307.08mg/g of liver, HU군은 206.89mg/g of liver로 나타나 대조군과 양성대조군(lovastatin)에 비해 유의적으로 감소하였다.

7. 간 조직의 지방변성 관찰

간 조직의 지방 침착정도를 관찰한 결과 Fig. 5에서 보는 바와 같이 정상군의 간세포는 중심 정맥을 향하여 잘 배열되어 있으나, 대조군은 간조직의 지방 입자가 전체적으로 지방구를 형성하여 매우 심한 지방 침착을 보였다. 그러나 HH군은 크고 작은 지방구들이 형성되었으며 HC군에 비해 약하게 나타났다. 또한 HF군은 작은 지방구가 일부 관찰되었으며 HU군은 큰 지방구로 인한 세포질 변형이 관찰되었으나 지방의 침착 정도가 약하게 나타났다.

8. 지방조직의 세포크기 측정

부고환 주변의 지방 조직 세포를 분리하여 크기를 관찰하고 측정된 결과 Fig. 6과 같이 정상군의 adipocytes에 비하여 대조군에서 크기가 증가하였고, HH, HF 및 HU군 모두에서

Table 5. Effects of *Hyolbuchukeo-tang* Extracts on Liver Total Cholesterol and Triglyceride in Rats Fed High Fat Diet for 4 Weeks

Group	Liver of lipid profiles(mg/ g of liver)	
	Triglyceride	Total cholesterol
NC	135.46 ± 17.9 ^a	24.30 ± 2.64 ^a
HC	345.67 ± 80.76 ^b	44.84 ± 0.74 ^c
PC	292.05 ± 25.24 ^{ab}	31.17 ± 1.98 ^b
HH	344.75 ± 22.34 ^b	35.41 ± 1.53 ^b
HF	307.08 ± 13.21 ^{ab}	32.92 ± 2.58 ^b
HU	206.89 ± 23.8 ^{ab}	33.00 ± 1.67 ^b

Data are mean±SE values.

^{ab}Significantly different among six groups by Duncan's multiple range test(p<0.05).

NC: normal diet control group, HC: high fat diet control group, PC: high fat diet + lovastatin group, HH: high fat diet + *Hyolbuchukeo-tang* of hot water extract group, HF: high fat diet + *Hyolbuchukeo-tang* of fermented extract group, HU: high fat diet + *Hyolbuchukeo-tang* of UMPM extract group.

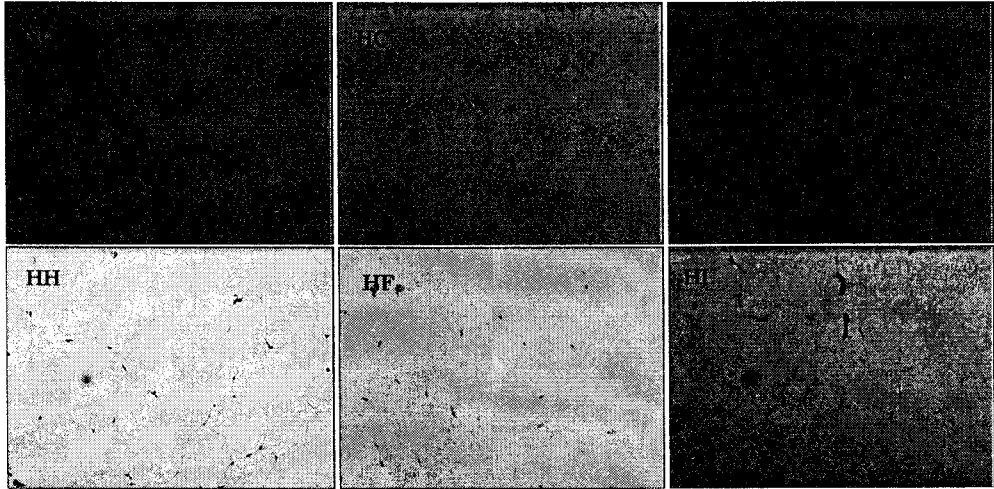


Fig. 5. Light micrographs of epididymal adipocytes in rats fed high-fat diets with *Hyolbuchukeo-tang* extracts. Magnification of histological sections $\times 200$. Representative pictures of hematoxylin and eosin-stained paraffin sections of epididymal adipocytes from rats fed a normal diet control group (NC), high fat diet control group (HC), high fat diet + lovastatin group (PC), high fat diet + *Hyolbuchukeo-tang* of hot water extract group (HH), high fat diet + *Hyolbuchukeo-tang* of fermented extract group (HF), high fat diet + *Hyolbuchukeo-tang* of UMPM extract group (HU).

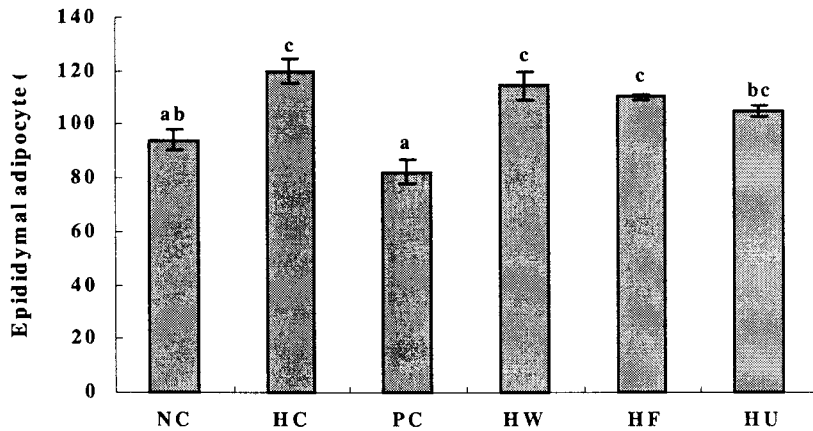


Fig. 6. Effects of *Hyolbuchukeo-tang* extracts on sized of epididymal adipocytes in rats fed high-fat diet. Data are mean \pm SE values. ^{ab}Significantly different among six groups by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). NC: normal diet control group, HC: high fat diet control group, PC: high fat diet + lovastatin group, HH: high fat diet + *Hyolbuchukeo-tang* of hot water extract group, HF: high fat diet + *Hyolbuchukeo-tang* of fermented extract group, HU: high fat diet + *Hyolbuchukeo-tang* of UMPM extract group.

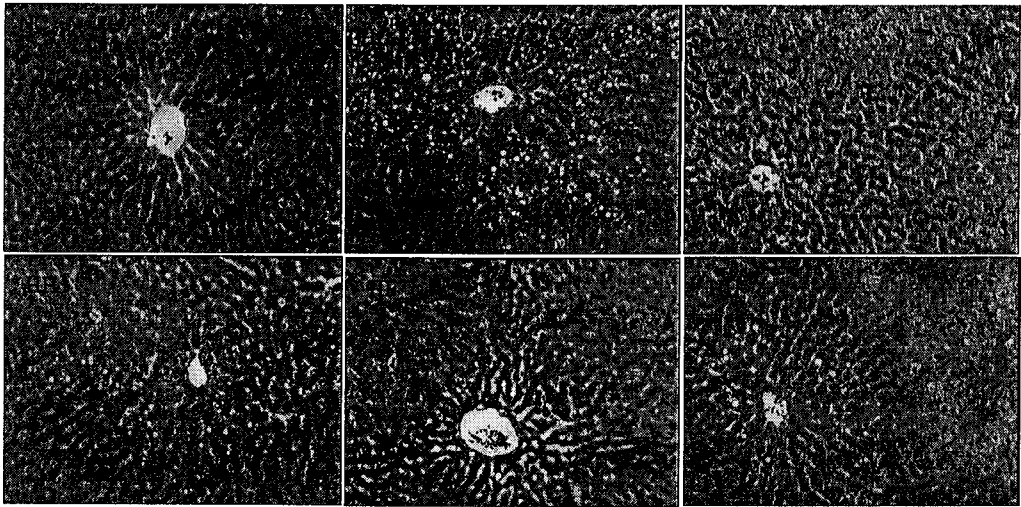


Fig. 7. Effects of *Hyolbuchukeo-tang* extracts on hepatocytes in rats fed high fat diet for 4 weeks. Magnification of histological sections $\times 200$. Hematoxylin and eosin-stained paraffin sections of liver from NC: normal diet control group, HC: high fat diet control group, PC: high fat diet + lovastatin group, HH: high fat diet + *Hyolbuchukeo-tang* of hot water extract group, HF: high fat diet + *Hyolbuchukeo-tang* of fermented extract group, HU: high fat diet + *Hyolbuchukeo-tang* of UMPM extract group.

대조군에 비하여 상대적으로 adipocytes의 크기가 감소한 것을 관찰할 수 있었다. 또한 Fig. 7은 이들의 평균 adipocytes 크기를 측정한 결과, 대조군의 평균 adipocytes 크기는 $119.90\mu\text{m}/\text{cell}$ 로 정상군 $94.27\mu\text{m}/\text{cell}$ 의 1.2배였고, 양성대조군(lovastatin) $82.52\mu\text{m}/\text{cell}$ 의 1.5배로 나타났다. 추출물의 섭취에 따른 adipocytes 크기는 대조군과 비교했을 때 유의한 차이는 보이지 않았으나, HU군에서 $105.21\mu\text{m}/\text{cell}$ 로 정상군의 수준과 유사한 값을 보였다.

IV. 고찰

高脂血症은 혈중 지질의 함량이 정상보다 증가되어 있는 상태로서 고콜레스테롤증, 중성지질의 상승, HDL의 저하, LDL의 상승 등을 말한다.²²⁾ 고지혈증 발병 시 실질 조직 내에서는 지방의 비정상적 축적으로 인한 지방변성

(fatty change)을 유도하며, 혈중 내 콜레스테롤, 콜레스테롤에스테르 및 중성지질 등의 농도가 상승한다.²³⁾ 고지혈증을 일으키는 원발성 병인으로는 중성지질의 가수분해 저해,^{24, 25)} LDL-receptor 결핍의 결과인 LDL의 대사이상,^{26, 27)} 그리고 Apo- β 의 transport율의 증가²⁸⁾와 같은 지질과 지질단백의 대사 이상이 있고, 속발성 원인으로는 당뇨병, 갑상선 기능감퇴, 알콜성 간질환 등이 있다.²³⁾ 이러한 고지혈증은 한의학적으로 痰濁, 血瘀 등의 범주에 속하고, 頭暈, 頭痛, 氣短, 胸悶, 腰膝酸軟 등의 증상이 나타난다. 발병의 외적 요인으로는 肥甘厚味の 과다 섭취로 발생하고, 내적 요인으로는 肝脾腎의 기능저하로 인한 지질대사의 失調에 의한 痰濕, 瘀血 등으로 인하여 발생하게 된다. 그 병리기초는 本虛標實인데, 肝脾腎虛는 本虛에 속하고, 痰濕, 血瘀는 標實에 속하므로 治法에 있어서 滋補肝腎, 調理脾胃로 扶正하고, 活血化痰, 理濕化痰로 祛邪하여 標本同治, 補瀉兼

施하는데 標本緩急을 고려하여 辨證施治하여야 한다.²⁹⁾ 活血祛瘀, 理氣止痛의 효능이 있는 血府逐瘀湯이 고지혈증에 일정한 효과가 있을 것으로 사료되며, 餘 등³⁾은 실험을 통해 血府逐瘀湯이 氣滯血瘀證 환자의 고지혈증에 대해 일정한 降血脂작용이 있고 처방 중의 理氣藥은 高脂血症 유발 생쥐 혈청의 총 콜레스테롤, 중성지질, LDL-콜레스테롤을 감소시키며, 活血藥은 간조직 내의 총 콜레스테롤, 중성지질, 肝指數를 감소시킨다고 하여 理氣藥과 活血藥이 지질대사조절에 협동작용을 한다고 하였다.

본 실험에서는 추출방법에 따른 각각의 血府逐瘀湯추출물의 총 폴리페놀 화합물 함량과 항산화 활성을 측정하였다. 血府逐瘀湯 추출물 모두 총 폴리페놀 화합물이 함유되어있었으며 특히, 발효추출물(HF)과 UMPM추출물(HU)의 경우 열수추출물(HH)에 비해 DPPH 자유라디칼 소거능과 SOD 유사활성능은 높은 것으로 나타나는 것으로 보아 polyphenol 성분이 많이 함유되어 있을 것으로 판단되며 유의한 항산화 작용이 있을 것으로 사료된다. 페놀성 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 다양한 구조와 분자량을 가지며, 항산화 효과 등의 생리활성 기능을 가지고 있다고 알려져 있으며,³⁰⁾ SOD-like activity를 갖는 물질은 SOD와 결합된 phenol류인 것으로 Nice 등³¹⁾이 보고하고 있다. 따라서 일반적으로 SOD-like activity 물질은 SOD와 유사한 기능을 하는 phytochemical에 속하는 물질로 OH기를 2개 이상 갖고 있으며, 녹차의 카테킨, 검은콩의 안토시아닌 등의 폴리페놀 성분으로 항산화, 산화방지 등의 효과가 있는 것으로 보고되고 있다.³²⁾

HMG-CoA reductase는 콜레스테롤 생합성 단계에서 작용하는 rate-limiting enzyme으로서 스테롤이나 이소프레노이드계 화합물의 생합성 경로의 중간단계인 mevalonic acid의 합성을 매개하는 역할을 한다.³³⁾ 콜레스테롤 대사

에 관한 동물실험과 임상실험을 거치면서 혈중 콜레스테롤 강하 수단으로 콜레스테롤의 생합성 경로를 조절하는 것이 효과적임이 밝혀졌다.³⁴⁾ 그 중 하나가 HMG-CoA reductase를 저해하는 것으로 1973년 Brown 등³⁵⁾은 이 효소의 활성이 저하되면 LDL-receptor의 활성이 증가하여 혈청 콜레스테롤 농도가 감소한다는 기작을 발표하였다. 이러한 작용을 하는 저해제로는 lovastatin, simvastatin, pravastatin 등이 큰 시장을 형성하고 있으나 값이 너무 고가이며 장기 복용 시 일부 부작용이 있다고 알려져 있다. 본 실험에서 HMG-CoA reductase 저해활성을 측정한 결과, 대조군인 lovastatin보다 血府逐瘀湯 추출물 모두에서 높은 저해활성을 보였으며 특히 UMPM추출물(HU)에서 유의적으로 높게 나타나 향후 구체적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

본 실험에서는 고지방식이섭취로 인한 고지혈증 유발 흰쥐에게 추출방법에 따른 각각의 血府逐瘀湯 추출물을 4주간 경구투여한 후 혈액 및 간의 지질대사에 미치는 영향을 조사하였다. 혈청 aminotransferase는 혈중으로 유출되기 쉬운 혈행 구조를 가지고 있는 심근, 간, 근육, 혈구 등에 다량 존재하며, 이런 조직이 손상되면 혈중으로 유출되어 활성이 증가하므로, 간세포의 변성이나 피사를 반영하는 효소이다.³⁶⁾ 또한, 고지방식이나 알코올 등으로 지방간이 유발되거나 간 유해물질이 존재할 때 간 실질세포가 손상되어 혈액 속으로 유리가 항진되어 활성도가 높아진다.³⁷⁾ 본 실험에서 血府逐瘀湯 추출물의 투여 시 효소의 활성이 낮아지는 것으로 보아 血府逐瘀湯 추출물이 지방간에 의한 간 손상을 예방하는 효과를 나타내는 것으로 사료된다.

혈중 중성지질 농도는 血府逐瘀湯 추출물 모두 대조군에 비하여 유의성 있는 감소효과를 나타내었는데, 특히 HF군의 경우 양성대조군보다도 낮은 수준을 보였다. 총 콜레스테롤 농

도의 경우 대조군에 비하여 각각의 血府逐瘀湯 추출물 세 군 모두 낮은 수준으로 감소시켰으며, 이는 lovastatin을 투여한 양성대조군과 거의 유사한 정도의 감소를 보였다. 또한 HDL-콜레스테롤 농도는 HC군에 비해 유의한 차이는 없었으나 각각의 추출물 투여군에서 다소 증가하여 고지방식이에 따른 동맥경화지수(AI)는 크게 증가하지 않았다. 이는 순환기계 질환 발병율의 판단 지표로 실제로 임상에서 사용되는 중요 지표가 되며, HH와 HU군에서 유의하게 감소되어 고지혈증 개선에 유용한 효과를 발휘할 것으로 생각된다. 고중성지방혈증인 경우 단독으로는 관상동맥의 위험인자는 아니고 LDL의 상승, HDL의 저하와 동반된 지질 이상에 의한 이차적인 동반 현상에 의해 발증한다고 보고되고 있으며,³⁸⁾ 높은 중성지질치는 급성 심혈관 질환을 일으키는 결정적인 역할을 하는 혈액의 혈관 내 응고를 촉진한다는 결과 역시 보고되고 있다.³⁹⁾ 또한 지단백의 수용성 복합체 내부에 중성지방과 콜레스테롤을 장 또는 간으로부터 말초 조직으로, 반대로 말초 조직으로부터 간으로 운반에 관여 한다.^{40, 41)} 임상에서 HDL이 낮아진다는 것은 동맥경화증을 일으키기 쉬운 상태가 되는 것으로, 고지혈증과 비만 환자에게서 낮아지고, 유전적으로 장수자들은 HDL이 높은 것으로 보고되고 있다.⁴²⁾

간은 콜레스테롤 합성의 주요 장기이며 유리형 또는 에스테롤형의 콜레스테롤로써 지단백을 구성하여 순환계로 분비함으로써 혈액의 콜레스테롤의 농도를 조절하는 기능을 하며, 간의 콜레스테롤 농도는 순환기계 질환의 유발에 주요한 지표가 되고 있는데, 본 실험에서 간 조직의 총 콜레스테롤 농도는 대조군보다 血府逐瘀湯 추출물 투여군 모두에서 유의하게 지질의 농도가 낮아지는 결과를 나타냈으며, 중성지질 농도는 고지방식이군에서 상승하면 특히 동물성 고지방식이의 경우 이러한 효과

가 현저히 나타난다는 보고⁴³⁾와 고지방식이에서 사용한 지방인 lard가 포화지방산의 함량이 높다는 점을 고려해 볼 때, 정상군에 비해 고지방식이군에서 모두 유의하게 높은 농도를 보였다. 그러나 lovastatin투여군의 경우 유의하게 감소되었으며, 血府逐瘀湯 추출물 모두에서 역시 지질농도는 감소되었다. 특히 HU군은 양성대조군에 비해 큰 폭으로 감소하는 경향을 보였다. 따라서 HF와 HU의 투여가 고지방식이로 인한 간장 내의 지방축적을 효과적으로 억제할 수 있을 것으로 사료된다.

한편, 지방세포의 경우 일단 형성된 지방세포의 수효는 식사에 의해 감소되지 않으나 지방세포의 크기는 어느 정도 조절이 가능하다고 알려져 있다.⁴⁴⁾ 부고환 지방 조직을 염색하여 image analyzer로 측정된 결과 대조군의 평균 지방 세포 크기는 정상군의 1.2배이었고, 양성대조군의 1.5배로 나타났다. 추출물의 섭취에 따른 지방세포 크기는 유의하게 차이는 보이지 않았으나, HU군에서 정상군의 수준과 유사하게 나타났다. 일반적으로 지방의 과잉섭취는 지질대사의 이상을 초래하여 간 등 장기 조직에 지방 침착을 일으킴으로써 비만증, 고지혈증, 지방간 등을 유발하는데, 본 실험에서도 대조군의 간은 지방입자가 간 조직 전체적으로 지방구를 형성하여 매우 심한 지방 침착을 보였다. 그러나 각각의 血府逐瘀湯 추출물 투여군에서 일부 지방구를 형성하였으나 대조군에 비해 지방의 침착 정도가 약하게 나타났다.

이상의 실험결과에서 血府逐瘀湯은 고지혈증 개선효과가 있었으며 특히 발효추출물과 UMPM 추출물은 열수추출물에 비해 고지혈 흰쥐의 간과 혈액의 중성지질농도의 상승 억제효과가 있음을 알 수 있어 향후 이들에 대한 좀 더 다양하고 구체적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 결론

고지혈증에 효과가 있다고 알려진 血府逐瘀湯을 열수추출법, 발효추출법 및 UMPM 추출법으로 추출하여 각각의 추출물의 생리활성을 분석하고 고지방식이로 고지혈증을 유발한 흰쥐를 이용하여 각각의 血府逐瘀湯 추출물의 투여가 체내 지질대사에 미치는 영향을 조사한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 총 폴리페놀 화합물 함량과 전자공여능은 血府逐瘀湯 발효추출물이 열수추출물과 UMPM 추출물보다 높게 나타났으며, SOD 유사활성능은 모든 추출물에서 높게 나타났다.
2. 血府逐瘀湯 열수추출물, 발효추출물 및 UMPM추출물은 HMG-CoA reductase 저해활성을 보였으며, 특히 UMPM추출물의 경우 대조군인 lovastatin보다 높은 저해활성이 나타났다.
3. 혈청의 GOT와 GPT 활성을 측정한 결과, 양성대조군은 유의하게 증가되었으나, 血府逐瘀湯 열수추출물 투여군과 발효추출물 투여군은 유의하게 감소되었다.
4. 血府逐瘀湯 발효추출물은 혈청 중성지질 농도를 유의하게 저하시켰으며, 血府逐瘀湯 열수추출물과 UMPM추출물은 동맥경화지수가 유의성 있게 감소되었다.
5. 血府逐瘀湯 발효추출물은 간 조직의 총 콜레스테롤 농도가 감소되었으며, 중성지질 농도의 경우 UMPM추출물이 lovastatin에 비해 유의하게 감소하는 경향을 나타내었다. 또한, 血府逐瘀湯 추출물 모두 간 조직의 지방축적이 약한 것으로 나타났다.

이상의 실험결과로 보아 血府逐瘀湯은 고지혈

증에 유효한 효과가 있음이 증명되었으나 고온에서의 열수추출물보다는 발효추출물과 UMPM 추출물에서 간과 혈청 중성지질 농도를 낮추는 결과를 얻었다.

감사의 글

이 논문은 2008년도 원광대학교 교비 지원에 의해 수행되었음.

참고문헌

1. Kim JS: The current status of Korean coronary heart disease. In Diagnosis and treatment in hyperlipidemia. Association of hyperlipidemic therapy, Seoul, Haneuyhak. 2000, pp.64-74.
2. Grundy SM, Denke MA: Dietary influence on serum lipids and lipoprotein. J Lipid Res. 1990; 31: 1149-1172.
3. 餘冬嚴, 魏康伯, 沃興德: 血府逐瘀湯對氣滯血瘀型高脂血症降脂作用的臨床觀察與實驗研究, 中西醫結合雜誌. 1988; 8(10): 601-603.
4. 鄭君莉: 水蛭粉治療高脂血症25例, 新中醫. 1985; 2: 36-37.
5. 丘萬嵩 外: 消補減肥片對高脂血症影響的臨床研究, 中西醫結合雜誌. 1990; 10(9): 532-534.
6. 胡曉晨 外: 降脂膠囊治療高脂血症和對血液流變學抗血小板聚集率臨床療效觀察, 中醫雜誌. 1988; 12: 34-40.
7. 寧選 外: 山查降脂藥對中老年人高脂血症的臨床觀察, 河南中醫. 1990; 10(4): 23-24.
8. 王勳臣 編著: 醫林改錯, 서울, 醫聖堂. 1994; pp.61-65.

9. 康舜洙: 韓醫學에서의 瘀血에 대한 概念, 대한한의학회지. 1984; 5(1): 138-140.
10. 정우열, 안규석: 韓方臨床病理學. 서울, 永林社. 1988; p.353.
11. 尹吉榮: 東醫臨床方劑學. 서울, 明寶出版社. 1992; pp.265-266.
12. 원광대학교 한의과대학 제18기 졸업준비위원회: 譯釋中醫方劑問答, 익산, 원광대학교 출판국. 1995; pp.539-540, 602-603.
13. 강혜영, 강순수: 活血祛瘀劑에 관한 文獻의 考察, 대한한의학회지. 1991; 2(1): 47-58.
14. 최승훈, 안규석: Endotoxin으로 유발된 白鼠의 血栓症에 身痛逐瘀湯이 미치는 영향. 동의병리학회지. 1989; 4: 47-56.
15. 정찬길, 안규석, 문준전: 血栓症과 高粘度血症에 미치는 黃芪, 桂枝 및 紅花의 效能에 관한 實驗的 研究, 동의병리학회지. 1989; 4(1): 74-92.
16. American institute of nutrition: Report of the American institute of nutrition, Ad Hoc Committee on standards for nutritional studies., J Nutr. 1977; 107: 1340-1343.
17. AOAC: Official Methods of Analysis, 8th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., U.S.A., 1955; p.144.
18. Blois MS: Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, J Agric Food Chem. 1977; 25: 103-107.
19. Kleinsek DA, Ranganathan S, Porter JW: Purification of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase from rat liver, Methods in enzymeology. 1981; 71: 462-479.
20. Haglund O, Loustarinen F, Wallin F, Wicell I, Saldeen T: The effect of fish oil on triglycerides, cholesterol, fibrinogen and malondialdehyde in mans supplemented with vitamin, Eur J Nutr. 1991; 121: 165-172.
21. Folch J, Lees M, Stanley GSH: A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues, J Bio Chem. 1957; 226: 497-509.
22. Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Longo DL: Harrison's principles of internal medicine 14th ed. McGraw-Hill Hespgrth Professions Division, USA. 1994; p.2139.
23. Robbins SL, Cotran R, Kumar V: Robbins pathologic basis of disease. 4th edition. W. B. Saunders. 1989; pp.556-561.
24. Dalin R, Hiroyuki N, Hideomi A, Takahiro N: Study on Antihypertensive and Antihyperlipidemic effects of marine algae, Fisheries Science. 1994; 60(1): 83-8.
25. Hermier D, Hales P, Brindley DN: Effect of lipase inhibitor, Triton WR-1339 and tetrahydrolipstatin, on the synthesis and secretion of lipids by rat hepatocytes, FEBS Lett. 1991; 286(1,2): 186-8.
26. Kozarsky KF, McKinley DR, Austin LL, Raper SE, Stratford-Perricaudet LD, Wilson JM: In vivo correction of low density lipoprotein receptor deficiency in the Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit with recombinant adenoviruses, J Bio Chem. 1994; 269(18): 695-702.
27. Noriaki K, Toru K, Atsushi M, Masayuki Y, Kenji I, Yutaka N, Chuichi K: Induction of mRNA for LDL receptors in heterozygous Watanabe Heritable Hyperlipidemic Rabbit treated with CS-514(Pravastatin) and Cholestyramine, Circulation. 1989; 79(5): 1084-1090.

28. Vushkin ML, Dolgov AV: Activity of cholesterol metabolism enzymes and lipid levels in the rat liver, aorta, adrenals and serum after exposure to Triton WR-1339, *Vopr Med Khim.* 1986; 32(3): 98-101.
29. 방해정, 강윤희: 고지혈증의 처방에 관한 문헌적 고찰, *동서의학*, 1996; 21(2): 70-81.
30. Kim HJ, Jun BS, Kim SY, Cha JY, Cho YS: Polyphenolic compound content and antioxidative activities by extracts from seed, sprout and flower of Safflower(*Carthamus tinctorius L.*), *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 2000; 29(6): 1127-1132.
31. Nice DJ, Robinson DS, Holden MA: Characterization of a heat stable antioxidant co purified with the superoxide dismutase activity from dried peas, *Food Chem.* 1995; 52: 393-397.
32. Kim SJ, Han D, Moon KD, Rhee JS: Measurement of superoxide dismutase-like activity of natural antioxidant, *Biosci Biochem.* 1995; 59(5): 822-826.
33. Endo A: The discovery and development of HMG-CoA reductase inhibitors, *J Lipid Res.* 1992; 33: 1569-1582.
34. Siperstein MD, Fagna VM: Feedback control of mevalonate synthesis by dietary cholesterol, *J Biol Chem.* 1966; 241: 602-609.
35. Brown MS, Dana SE, Dietschy JM, Siperstein MD: 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase solubilization and purification of a cold-sensitive microsomal enzyme, *J Biol Chem.* 1973; 248: 4731-4738.
36. Hue FS, Krook L, Pomd WG, Duncan JR: Interactions of dietary calcium with toxic levels of lead and zinc in pigs, *J Nutr.* 1975; 105: 112.
37. Lim YK: Clinical application of biochemical test, Komoonsa, Seoul, 1980.
38. Anber V, Griffin BA, McConnel M, Packard CJ, Shepherd J: Influence of plasma lipid and LDL-subfraction profile on the interaction between low density lipoprotein with human arterial wall proteoglycan, *Atherosclerosis.* 1996; 124: 261-271.
39. Austin MA, Rodriguez BL, McKnight B, McNeely MJ, Edwards KL, Curb JD, Sharp DS: Low-density lipoprotein particle size, triglycerides, and high-density lipoprotein cholesterol as risk factors of coronary heart disease in older Japanese-American men, *Am J Cardiol.* 2000; 86: 412-416.
40. Guerin M, Bruckert E, Dolphin PJ, Turpin G, Chapman MJ: Fenofibrate reduces plasma cholesterol ester transfer from HDL to VLDL and normalizes the atherogenic, dense LDL profile in combined hyperlipidemia, *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1996; 16: 763-772.
41. Packard CJ, Demant T, Stewart JP, Bedford D, Caslake MJ et al: Apolipoprotein- β metabolism and the distribution of VLDL and LDL subfractions, *J lipid Res.* 2002; 41: 305-318.
42. 박정희: 관상동맥경화증 위험 인자의 역할 연구, 한국지질화학회 제 14차 추계학술대회, 1997; 7: ss.101-108.
43. SJ Rhee, HK Park: Changes of lipid content and histochemical observation in liver of rats fed high fat diet, *Kor J Nutr.* 1984; 17(2): 113-125.
44. Kang KJ, Lim SJ, Jeong JG, Han HK,

Choi SS, kim MH, Kwon SY: Effects of
was guard on weight, triglyceride, leptin
and fat cell size in rats fed on a high

fat diet, J Kor Nutr Soc. 2003; 36(5):
446-451.