

고지방식이 마우스 동물모델에서 갯방풍 부탄올 분획물의 심혈관 보호 효과 및 주요 성분

임현진^{1#} · 권한솔^{1#} · 조현우² · 안병관² · 조정희² · 옥민호¹ · 김현정^{1*} · 한동설^{1*}

¹목포대학교 약학대학, ²한약진흥재단 한약자원본부

Cardiovascular Protective Effects of the *n*-Butanol Fraction from *Glehnia littoralis* Fr. Schm. in a High-Fat-Diet Mouse Model and Its Composition

Hyun-Jin Lim^{1#}, Hansol Kwon^{1#}, Hyun-Woo Cho², Byeong-Kwan An², Jung-Hee Cho²,
Min-Ho Oak¹, Hyun Jung Kim^{1*}, and Dong-Sul Han^{1*}

¹College of Pharmacy and Natural Medicine Research Institute, Mokpo National University, Jeonnam 58554, Korea

²Division of Traditional Korean Medicine Resource, National Development Institute of Korean Medicine, Jeonnam 59338, Korea

Abstract – In our search for natural products affecting blood circulation, the *n*-butanol fraction from whole plant of *Glehnia littoralis* Fr. Schm. (GLB) improved blood lipid parameters, and ameliorated obesity in high-fat-diet (HFD)-fed C57BL/6 mouse model. Hyperlipidemia was induced by high-fat-diet for 4 weeks, and then GLB was orally administrated with 400 mg/kg/day for 4 weeks. GLB-treated group showed that the gain in body weight was significantly attenuated, the levels of total cholesterol and triglyceride significantly lowered on blood chemical analysis, and significantly prolonged the mice bleeding time when compared with those of HFD control group. Concomitantly, phytochemical composition of GLB was investigated by HPLC-hyphenated spectroscopy, and two major phenolic compounds, rutin and chlorogenic acid were identified in the GLB. Taken together, these results indicate that GLB has cardiovascular protective effects and could be a natural medicine candidate for the prevention of cardiovascular disease.

Key words – *Glehnia littoralis* Fr. Schm., High-fat-diet mouse model, Cardiovascular protection

2012년 WHO보고에 따르면, 심혈관계질환은 전세계적으로 주요 사망원인 질병 중 하나로서 2008년에 약 1,700만명이 심혈관계 질환으로 사망했으며, 2030년에는 2,500만명으로 증가될 것이라는 예측이 보고된 바 있다.¹⁾ 우리나라의 경우도 심장질환 및 뇌혈관질환은 3대 사망원인으로 꼽히고 있으며, 2014년 통계청 사망원인통계에 이르면 각각 26,588명(9.9%), 24,486명(9.1%)이 이들 질환으로 인해 사망했다고 보고된 바 있다.²⁾ 심혈관계 질환의 유병률과 발생률은 국가단위의 통계자료 미비로 그 변화추이를 파악하기 어려우나, 흡연률 감소는 정제되고 있는 상황에 당뇨병 및 이상지질혈증은 증가추세에 있어 심혈관계질환의 발생률도 증가될 것으로 예측되고 있다.³⁾ 최근의 Korean Heart Study(KHS)의 추적 관찰연구(1996-2004년간)보고에 의하면

심뇌혈관계질환의 주요 위험인자 중 하나로 이상지질혈증이 영향을 미치는 것으로 확인되었고, 특히 관상동맥질환과 관련되어 비교위험도(relative risk)가 높다고 발표된 바 있다.⁴⁾ 한편 에너지 과다 섭취로 인해 발생하는 비만·과체중과 이상지질혈증의 발생 사이의 연관성 또한 널리 알려진 사실 중 하나이다. 많은 연구 결과를 통해 체중감량 시 사람 혈액 내의 총콜레스테롤(total cholesterol, TCHO), 저밀도지단백(low density lipoprotein, LDL)과 중성지방(triglyceride, TG) 수치가 감소되는 것으로 보고되고 있으며,⁵⁾ 일반적으로 과다한 고지방식은 혈액 내 지질 수치에 부정적 영향을 미치는 것으로 알려져 있어 적정 수준의 지방섭취비율이 권고되고 있다.⁶⁾ 이렇게 심혈관계 질환의 발생 위험과 이상지질혈증의 연관성이 부각되면서 이를 예방, 개선하거나 치료할 수 있는 의약 및 기능성식품 소재에 대한 관심이 높아지고 있으며, 특히 생약이나 약용식물 등의 천연 자원으로부터 혈중 지질 농도에 영향을 미치는 기능

#These authors contributed equally to this work.

*교신저자(E-mail): hyunkim@mokpo.ac.kr, dshan@mokpo.ac.kr
(Tel): +82-61-450-2686, +82-61-450-2334

성 성분 또는 소재를 탐색하는 연구가 각계에서 활발히 진행되고 있다.

갯방풍(*Glehnia littoralis* Fr. Schm.)은 산형과(Umbelliferae)에 속하는 여러해살이 풀로 우리나라 해안가 모래땅에 자생하며 일본, 만주, 중국 등지에 분포하는 약용식물이다. 그 뿌리를 북사삼(北沙蔘), 빈방풍(濱防風) 또는 해방풍(海防風)이라 부르며 양음(養陰), 청폐(淸肺), 거담(祛痰), 지해(止咳)의 효능이 있어 전통적으로 항염증, 진해거담약 및 소화기계약으로 사용되어 오고 있다.⁷⁾ 갯방풍의 학술연구로서 이전에 발표된 상당수 연구들의 경우, 갯방풍의 주된 약용부위인 뿌리로부터 주로 coumarin, polyacetylene, lignan, monoterpene류에 속하는 성분들이 보고되었으며,⁸⁻¹¹⁾ 주요 약리활성으로 항산화, 항염증, 항미생물 활성이 보고된 바 있다.¹²⁻¹⁵⁾ 반면 그 외의 부위의 경우, 갯방풍 열매와 전초를 대상으로 한 최근 연구를 통해 monoterpeneoid, alkyl glycoside, aromatic glycoside 및 pyranocoumarin류 등의 존재가 보고된 바 있다.^{16,17)}

갯방풍 전초의 활성 및 성분 연구결과가 일부 보고되어 있으나, 심혈관계 질환과 관련하여 이상지질혈증에 미치는 효능에 대한 보고는 아직까지 알려진 바 없으며, 일부 세포주를 이용한 항염증 활성만이 보고된 바 있다.¹⁷⁾ 본 연구진이 최근 천연물 유래의 심혈관 보호 효능물질을 탐색하는 연구의 일환으로 돼지심장에서 적출한 관상동맥의 혈관이완 효능을 평가한 결과, 갯방풍 전초 MeOH 추출물로부터 획득한 *n*-BuOH 분획물은 30 µg/ml 및 100 µg/ml에서 각각 35±12.4% 및 67±10.2%의 강력한 혈관이완 효능을 나타내었다. 이에 본 연구에서는 그 연장선상으로서 고지방식이 유도된 마우스 동물모델에서 갯방풍 전초의 *n*-BuOH 분획물의 지질이상혈증 및 혈행장애 개선 효과를 평가하고, 주요 함유 성분을 분석하고자 하였다.

재료 및 방법

추출물 및 분획물 제조 - 본 실험에 이용된 갯방풍(*Glehnia littoralis* Fr. Schm.)은 목포대학교 자연과학대학 김희 교수가 동정하였으며, 일부 표준품(TKM2006)은 한약진흥재단 한약자원본부[(구)전남한방산업진흥원]에 보관되어 있다. 갯방풍의 *n*-BuOH 분획물(GLB)은 다음과 같은 방법으로 제조되었다. 한약진흥재단으로부터 제공 받은 갯방풍 전초(2 kg)의 MeOH 추출물(295 g)을 2L의 증류수에 현탁시키고 용매의 극성을 순차적으로 증가시키면서 동량의 유기용매 *n*-hexane, EtOAc 및 *n*-BuOH를 가하여 각 3회씩 분획하였으며, 최종적으로 *n*-BuOH층 분획의 용매를 제거하여 GLB 분획물(33.55 g)을 획득하였다.

실험동물 - 본 시험에 사용한 실험동물은 특정병원균 부재(SPF) 수컷 C57BL/6 마우스(4주령)로 드림바이오(서울특

별시 광진구 소재)로부터 동물을 공급받아, 1주일간의 순화 사육을 거쳐 사용하였다. 사육환경은 온도 23±3°C, 상대습도 55±15%, 환기횟수 10-20회/hr, 조명시간 12 hr(08:00 점등, 20:00 소등), 및 조도 150-300 Lux의 사육환경에서 사육 및 시험을 수행하였다. 정상식이군의 사료는 (주)카길애그리퓨리나에서 생산하는 실험동물용 사료를 드림바이오로부터 공급받아 급이기에 넣고 자유 섭취시켰다. 고지방식이군의 경우 사료는 (주)새론바이오(경기도 안양 소재)로부터 Dyets사에서 생산하는 실험동물용 고지방 사료(45% HFD)를 공급받아 급이기에 넣고 자유 섭취시켰으며, 사육기간 중 실험동물의 체중은 주 1회 측정하였다. 실험동물은 각 군당 12마리로서 정상식이군(정상 사료 급여, Normal), 고지방식이군(고지방 사료 급여, HFD), 및 갯방풍 투여군(고지방 사료 급여 및 갯방풍 전초 부탄올 분획물 경구투여, HDF+GLB)의 3군으로 나누었으며 총 8주 동안 사육하였다. 고지혈증 유발을 위해 시료 투여개시 전 4주간 정상 사료 및 고지방 사료를 급여한 뒤, 이후 갯방풍 투여군에 GLB를 투여농도 400 mg/kg으로 하여 4주간 반복 경구투여 하였다. 투여농도는 이전 예비실험으로서 돼지심장에서 적출한 관상동맥을 대상으로 GLB가 나타낸 혈관이완 효능 및 천연물 자체의 흡수 등을 고려하여 4배 높은 400 mg/kg으로 선정하였다.

혈액생화학적 분석 - 혈액은 경정맥에서 주사기를 이용하여 채혈한 후 즉시 분리하여 혈청을 얻었으며, 이로부터 중성지방(triglyceride, TG), 총콜레스테롤(total cholesterol, TCHO), 고밀도지단백(high density lipoprotein, HDL), 저밀도지단백(low density lipoprotein, LDL)을 혈청자동분석기(Hitachi 7170, Instrument Hitachi Ltd., Tokyo, Japan)로 분석하였다.

항응혈 활성 측정 - 항응혈 활성은 시험물질 투여 30분 후 마취를 유도하고, 마우스의 꼬리에서 원위부로부터 3 mm 되는 지점을 절단, 마우스의 꼬리를 37°C로 유지되는 생리 식염수에 넣은 뒤, 출혈이 멈추기까지 시간을 타이머를 이용하여 초 단위로 측정하였다.

통계처리 - 본 실험의 모든 결과에 대하여 자료의 정규성을 가정하고 모수적인 일원분산분석(One-way ANOVA)을 적용하였으며, 유의성이 인정되었을 경우, Dunnett's multiple comparison test를 이용하여 사후검정을 실시하여 대조군과 투여군과의 유의한 차이를 나타내는 군을 확인하였다. *p*값이 0.05 미만일 경우, 통계학적인 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

분획물 성분분석 - GLB 분획물의 성분분석을 위해 사용된 HPLC는 Waters사의 1525 binary HPLC pump, 2998 photodiode array detector(200-400 nm) 및 2707 autosampler로 구성된 장비를 이용하였다. Column은 Waters사의 SunFire™ C18(4.6×150 mm, 5 µm)를 이용하였고, MeCN-

0.1% formic acid 함유 H₂O 조건(10:90→40:60)을 적용하여 50분 동안 1.0 ml/min으로 용출하였다. LC-ESI-MS 분석은 Agilent사의 1260 Infinity series 및 6120 single quadruple LC-MS로 구성된 기기를 이용하였으며, 이 때 column은 Agilent사의 Zorbax Eclipse Plus™ C18(2.1×50 mm, 1.8 μm)을 이용하였고, MeCN-0.1% formic acid 함유 H₂O 조건(10:90→40:60)을 적용하여 15분 동안 0.2 ml/min으로 분석하였다.

결 과

체중 및 혈청 지질 농도 변화 - 갯방풍 전초의 *n*-BuOH 분획물(GLB)의 투여가 고지방식이를 섭취한 마우스의 체중 증가에 미치는 영향을 측정하였다. GLB 투여 전 4주간의 정상식이군(Normal) 및 고지방식이군(HFD)의 평균 체중은 각각 40.1±2.0 g 및 43.3±3.9 g으로서, 고지방식이에 의한 체중증가 경향을 나타냈으나 그 차이는 통계적으로 유의하지 않았다. 이후 4주간의 GLB투여 후 측정된 각 군별 평균체중은 정상식이군이 43.7±2.4 g, 고지방식이군은 47.8±5.0 g, 그리고 갯방풍 투여군(HFD+GLB)은 43.9±4.2 g이었다. 4주 동안의 3군의 각 개체별 체중변화를 측정된 결과, 정상식이군이 3.6±1.6 g, 고지방식이군은 4.8±2.1 g, 그리고 갯방풍 투여군은 0.2±0.9 g이었다(Fig. 1). 고지방식이군의 개체 별 체중증가는 정상식이군에 비하여 약간 증가하는 경향을 보였으나 통계적으로 유의하지 않았다. 그러나 갯방풍 투여군의 경우 강력한 체중증가 억제 효과를 나타내었으며, 투여기간 동안 고지방식이에 의한 체중증가가 거의 발생하지 않았다. 고지혈증 유발 4 주째, 즉, 시험물질 투여개시 전에 혈액 생화학적 검사를 실시한 결과, 정상식이 대조군(Normal)에

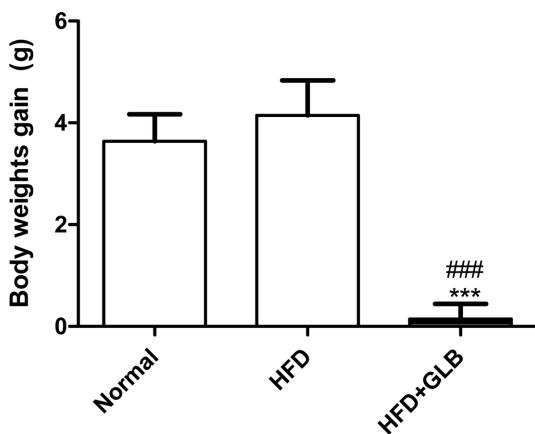


Fig. 1. Effect of GLB on change of body weight in mice fed with high fat diets. ****p*<0.001 indicates a significant difference between the Normal group and HFD+GLB group. ###*p*<0.001 indicates a significant difference between the HFD and HFD+GLB group. Values are means±SE (n=12).

비하여 고지방식이를 급여한 실험군(HFD)에서 총콜레스테롤(TCHO, 147.78±25.13 mg/dl 대 213.10±37.62 mg/dl), 중성지방(TG, 158.53±30.85 mg/dl 대 261.98±89.32 mg/dl), 고밀도지단백(HDL, 97.95±13.10 mg/dl 대 141.16±19.17 mg/dl) 및 저밀도지단백(LDL, 3.85±1.31 대 10.55±1.91 mg/dl)의 혈청 내 수준이 유의하게 높았다. 그리고 시험물질 투여 4주째에 혈액생화학적 검사를 실시한 결과, 고지방식이 대조군(HFD)에 비하여 시험물질인 갯방풍 전초의 *n*-BuOH 분획물 투여군(HFD+GLB)의 혈청 내 총콜레스테롤(TCHO, 233.01±40.06 mg/dl 대 197.72±21.66 mg/dl) 및 중성지방(TG, 266.69±17.04 mg/dl 대 184.56±57.60 mg/dl) 수준은 유의하게 낮았다(Fig. 2A 및 2B). 따라서 갯방풍 분획물 GLB는 고지방식이에 의해 증가된 혈청 내 총콜레스테롤 및 중성지방의 감소를 유도하는 것으로 판단된다.

갯방풍 분획물 GLB의 항응혈 활성 - 시험물질 갯방풍 분획물 GLB 투여개시 전 출혈시간(bleeding time)을 측정 한 결과, 고지방식이 대조군(HFD)의 출혈시간이 정상식이

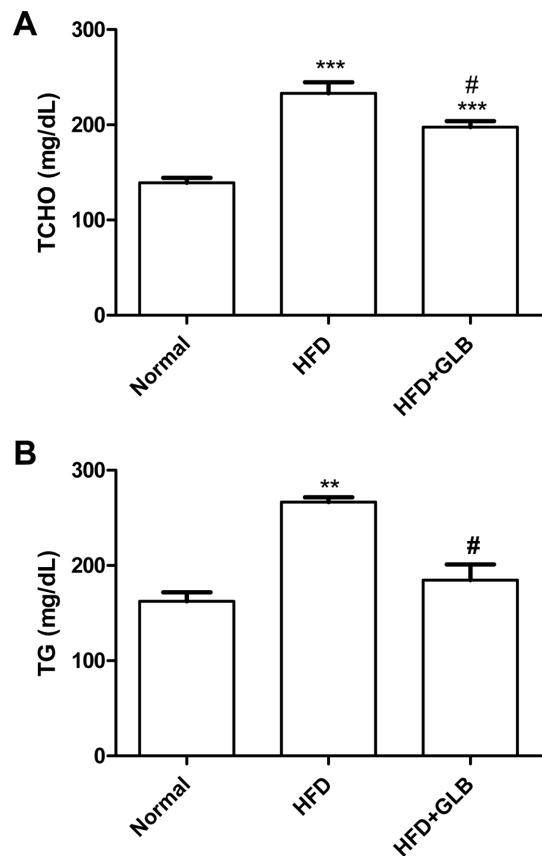


Fig. 2. Effect of GLB on plasma lipid profiles, total cholesterol (Fig. 2A) and triglyceride (Fig. 2B), in mice fed with high fat diets. ***p*<0.01 and ****p*<0.001 indicates a significant difference between the Normal group and HFD group. #*p*<0.05 indicates a significant difference between the HFD and HFD+GLB group. Values are means±SE (n=12).

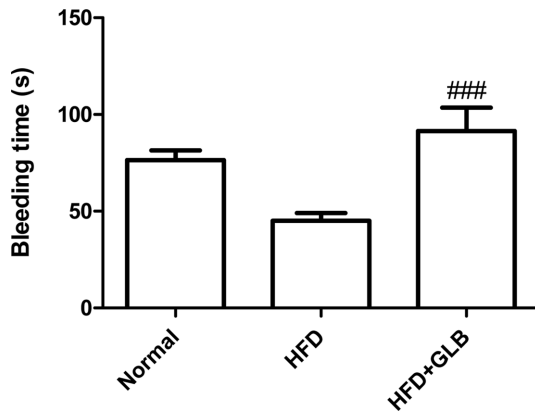


Fig. 3. Effects of GLB on mouse tail bleeding times in mice fed with high fat diets. ### $p < 0.001$ indicates a significant difference between the HFD and HFD+GLB group. Values are means \pm SE (n=12).

대조군(Normal)에 비하여 유의하게 낮은 것으로 나타났고 (83.25 \pm 19.15 sec 대 53.00 \pm 15.78 sec), 시험물질 투여 4주째의 측정 결과, 고지방식이 대조군(HFD)에 비하여 갯방풍 분획물 투여군(HFD+GLB)의 출혈시간(45.08 \pm 14.00 sec 대

89.83 \pm 46.07 sec)은 유의하게 연장되었다(Fig. 3). 따라서 갯방풍 분획물 GLB는 고지방식이에 의해 악화된 혈행을 정상 수준으로 개선하는 것으로 판단된다.

갯방풍 분획물 GLB의 주요성분 - GLB 분획물 내에 존재하는 주요성분을 분석하기 위하여 HPLC 크로마토그램을 340 nm에서 획득하였으며, 동시에 각 주요 성분의 UV 스펙트럼이 DAD(diode array detector)를 이용하여 200-400 nm에서 수집되었다. 주요 성분으로 검출된 2종의 화합물 1과 2의 UV 스펙트럼을 확인한 결과, 1은 caffeic acid 유도체의 전형적인 UV 스펙트럼을 나타내었으며, 2는 flavonoid 화합물임을 시사하였다. 각 화합물에 대한 LC-ESI-MS 분석을 수행한 결과, 화합물 1과 2는 각각 m/z 353.1과 m/z 609.2에서 $[M-H]^-$ peak를 나타내었으며, 표준품과의 HPLC profile비교를 통해 각각 chlorogenic acid (1, C₁₆H₁₈O₉, MW 354.31)와 rutin (2, C₂₇H₃₀O₁₆, MW 610.52)으로 규명되었다(Fig. 4).

고찰

국내에서 서구적인 식생활 패턴 변화와 고령화로 인하여

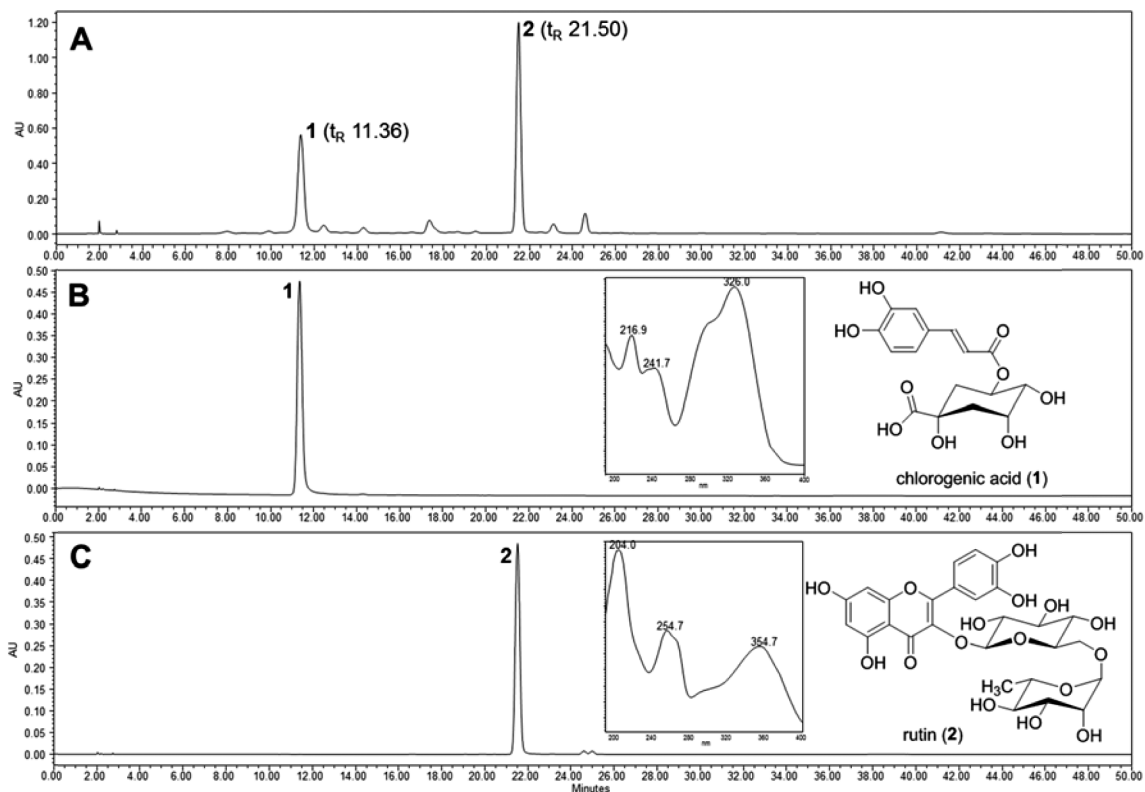


Fig. 4. HPLC profiles of GLB fraction (Fig. 4A) and its major compounds, chlorogenic acid (1) (Fig. 4B) and rutin (2) (Fig. 4C). HPLC was carried out by a gradient solvent system of MeCN-H₂O (0.1% HCOOH) (10:90→40:60) with a Waters SunFire™ (4.6×150 mm, 5 μm) for 50 min, and HPLC chromatograms were recorded at 340 nm. UV spectra of 1 and 2 were obtained by diode array detector (200-400 nm).

비만인구가 급격히 증가하고 그에 따른 동맥경화, 혈전색전증, 당뇨병 및 비만 등의 대사성 질환의 발생률이 높아지고 있다. 이러한 문제점을 개선하기 위하여 천연물로부터 의약 후보물질 혹은 기능성식품 소재를 개발하고자 다양한 동물 모델을 이용한 연구가 활발히 진행되고 있다. 그 일환으로 본 연구진은 마우스에서 고지방식으로 비만을 유도하고, 이 동물모델에서 갯방풍에 의한 고지혈 및 혈액응혈시간 개선 효능을 확인하였다. 그 결과, 갯방풍 전초 *n*-BuOH 분획물의 체중증가 억제, 혈중 총콜레스테롤 및 중성지방 감소효능을 처음으로 규명하였으며, 또한 갯방풍 분획물이 고지방식으로부터 증가될 수 있는 혈전 생성의 위험성을 낮출 수 있는 가능성을 확인하였다. 해당 갯방풍 분획물의 주요 성분으로는 HPLC 및 MS 분석을 통해 rutin과 chlorogenic acid가 함유되어 있음이 규명되었다. 이 두 가지 성분이 갯방풍 분획물 GLB의 효과를 주로 매개하는 활성성분이라고 정의할 수는 없으나, rutin과 chlorogenic acid의 광범위한 생리활성이 다방면에서 보고되어 있다.

최근 연구결과에 따르면 rutin을 단독으로 투여하였을 때 고지방식으로부터 유도된 비만과 지방간이 억제됨이 동물 모델을 통하여 입증되었으며,¹⁸⁾ 그 메커니즘으로는 활성산소 생성 및 소포체(endoplasmic reticulum) 스트레스 유전자의 발현억제가 제시되었다. 또한 rutin은 고지방식이 동물모델에서 골격근의 AMPK(adenosine monophosphate-activated protein kinase) 활성 및 미토콘드리아 신생을 활성화 시켜 비만을 개선시킬 수 있음이 입증되었으며,¹⁹⁾ 직접적인 심혈관 보호효능으로서 NaF로 야기된 이상지질혈증이 포함된 심혈관 독성을 효과적으로 억제함이 보고되었다.²⁰⁾ 이에 더하여, chlorogenic acid는 혈당과 혈중지질의 대사에 강력한 영향을 미치고 있음이 학계에 널리 알려져 있다.²¹⁾ 특히 최근 비만당뇨 복합모델에서 chlorogenic acid를 고지방식이 이미 시작한 질병동물에 4주 이후 함께 투여하였을 때, 정상식을 한 동물모델에 가깝게 체중이 감소하였고, 내당능 수치가 매우 개선됨이 확인되었다.²²⁾ 최근 발표된 연구결과에 따르면 chlorogenic acid의 혈중지질개선 효과는 대사증후군의 약물표적으로 제안된 PPAR- α 의 발현증가와 밀접한 관련이 있음이 보고되었다.²³⁾ 따라서 갯방풍 전초의 체중감소, 혈중콜레스테롤 및 지질개선 등의 효능은 최소한 부분적으로라도 갯방풍 *n*-BuOH 분획물 GLB가 함유하고 있는 rutin과 chlorogenic acid로부터 일부 매개되는 것으로 추정할 수 있다. 항응혈 효능과 관련되어서도 rutin과 chlorogenic acid가 직접적으로 혈소판의 응집과 혈전 생성에 미치는 효능 및 기전이 최근에 보고되었다.^{24,25)} Rutin은 thrombin 등의 응혈원 단백질의 활성을 강하게 저해하는 것으로 나타났으며, chlorogenic acid는 혈소판의 분비 및 응집과 관련된 ADP(adenosine 5'-diphosphate), collagen, arachidonic acid, TRAP-6(thrombin receptor activator peptide-6)를 저해할 뿐

만 아니라, P-selectin, sCD40L(soluble CD40 ligand), CCL5(chemokine (C-C motif) ligand 5) 및 IL-1 β 등의 혈소판 응집 매개체를 역시 감소시키는 것으로 드러났다. 이러한 관련 보고들은 결국 flavonoid 및 polyphenol 섭취가 심혈관계 질환의 발생 위험성을 감소시키거나, 또는 예방하는데 기여한다는 연구결과를 뒷받침하는 것이라 여겨진다.^{26,27)}

결 론

본 연구에서는 고지방식으로 유도된 마우스 동물모델에서 유발된 이상지질혈증 및 혈행장애에 대하여 갯방풍 전초의 *n*-BuOH 분획물(GLB)이 나타내는 개선 효과를 분석하고, 해당 추출물에 함유된 주요 식물화학성분에 대하여 연구하였다. 고지방식이 대조군(HFD)과 비교하여 요약했을 때, 갯방풍 투여군(HFD+GLB)은 뚜렷한 체중 감소를 나타내었으며, 혈액생화학적 검사는 총콜레스테롤 및 중성지방 수치의 유의성 있는 감소를 보여주었다. 또한 갯방풍 투여군에서 출혈시간의 증가를 통해 항응혈 활성이 증명된 결과까지 감안한다면, 갯방풍 전초의 *n*-BuOH 분획물이 이상지질혈증 및 혈행장애 개선을 통하여 심혈관 보호효과를 나타낸다고 여겨진다. 동물시험과 병행하여 수행된 분획물 GLB의 성분분석 결과, 이 활성 분획에 함유된 주요성분이 rutin 및 chlorogenic acid라는 사실이 HPLC와 연계된 분광학적 분석을 통해 확인되었다. 상기 결과를 종합하여 판단컨대 갯방풍 전초의 *n*-BuOH 분획물은 심혈관 보호 효능을 나타내는 천연물 기원의 신규 기능성 소재로 이용될 수 있으리라 사료된다.

사 사

본 논문은 2014학년도 목포대학교 교내연구비 지원에 의하여 연구되었으며, 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. World Health Organization (2012) WHO health statistics 2012, 34. WHO Press, Geneva.
2. 사회통계국 인구동향과(2015) 2014년 사망원인통계, 5. 통계청, 대전.
3. 한국지질·동맥경화학회(2015) 이상지질혈증 치료지침, 1-6. 청운, 서울.
4. Jee, S. H., Jang, Y., Oh, D. J., Oh, B. H., Lee, S. H., Park, S. W., Seung, K. B., Mok, Y., Jung, K. J., Kim, H., Yun, Y. D., Baek, S. J., Lee, D. C., Choi, S. H., Kim, M. J., Sung, J., Cho, B., Kim, E. S., Yu, B. Y., Lee, T. Y., Kim, J. S., Lee, Y. J., Oh, J. K., Kim, S. H., Park, J. K., Koh, S. B., Park, S. B., Lee, S. Y., Yoo, C. I., Kim, M. C., Kim, H. K., Park, J. S., Kim, H. C., Lee, G. Y. and Woodward, M. (2014) A coronary heart

- disease prediction model: the Korean Heart Study. *BMJ Open* **4**: e005025.
5. Poobalan, A., Aucott, L., Smith, W. C., Avenell, A., Jung, R., Broom, J. and Grant, A. M. (2004) Effects of weight loss in overweight/obese individuals and long-term lipid outcomes: a systematic review. *Obes. Rev.* **5**: 43-50.
 6. Reiner, Z., Catapano, A. L., De Backer, G., Graham, I., Taskinen, M. R., Wiklund, O., Agewall, S., Alegria, E., Chapman, M. J., Durrington, P., Erdine, S., Halcox, J., Hobbs, R., Kjekshus, J., Filardi, P. P., Riccardi, G., Storey, R. F. and Wood, D. (2011) ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: the task force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Eur. Heart. J.* **32**: 1769-1818.
 7. Bae, K. H. (2010) The medicinal plants of Korea, 376. Kyo-Hak Publishing Co. Ltd., Seoul.
 8. Masuda, T., Takasugi, M. and Anetai, M. (1998) Psoralen and other linear furanocoumarins as phytoalexins in *Glehnia littoralis*. **47**: 13-16.
 9. Hiraoka, N., Chang, J. L., Bohm, L. R. and Bohm, B. A. (2002) Furanocoumarin and polyacetylenic compound composition of wild *Glehnia littoralis* in North America. *Biochem. Syst. Ecol.* **30**: 321-325.
 10. Xu, Y., Gu, X. and Yuan, Z. (2010) Lignan and neolignan glycosides from the roots of *Glehnia littoralis*. *J. Med. Plant Res.* **76**: 1706-1709.
 11. Yuan, Z., Tezuka, Y., Fan, W., Kadota, S. and Li, X. (2002) Constituents of the underground parts of *Glehnia littoralis*. *Chem. Pharm. Bull.* **50**: 73-77.
 12. Ng, T. B., Liu, F. and Wang, H. X. (2004) The antioxidant effects of aqueous and organic extracts of *Panax quinquefolium*, *Panax notoginseng*, *Codonopsis pilosula*, *Pseudostellaria heterophylla* and *Glehnia littoralis*. *J. Ethnopharmacol.* **93**: 285-288.
 13. Huang, G. J., Deng, J. S., Liao, J. C., Hou, W. C., Wang, S. Y., Sung, P. J. and Kuo, Y. H. (2012) Inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 participate in anti-inflammatory activity of imperatorin from *Glehnia littoralis*. *J. Agric. Food Chem.* **60**: 1673-1681.
 14. Yoon, T. K., Lee, D. Y., Lee, A. Y., Choi, G., Choo, B. K. and Kim, H. K. (2010) Anti-inflammatory effects of *Glehnia littoralis* extract in acute and chronic cutaneous inflammation. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* **32**: 663-670.
 15. Matsuura, H., Saxena, G., Farmer, S. W., Hancock, R. E. and Towers, G. H. (1996) Antibacterial and antifungal polyine compounds from *Glehnia littoralis* ssp. *leiocarpa*. *Planta Med.* **62**: 256-259.
 16. Ishikawa, T., Sega, Y. and Kitajima, J. (2001) Water-soluble constituents of *Glehnia littoralis* fruit. *Chem. Pharm. Bull.* **49**: 584-588.
 17. Lee, J. W., Lee, C., Jin, Q., Yeon, E. T., Lee, D., Kim, S. Y., Han, S. B., Hong, J. T., Lee, M. K. and Hwang, B. Y. (2014) Pyranocoumarins from *Glehnia littoralis* inhibit the LPS-induced NO production in macrophage RAW 264.7 cells. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **24**: 2717-2719.
 18. Gao, M., Ma, Y. and Liu, D. (2013) Rutin suppresses palmitic acids-triggered inflammation in macrophages and blocks high fat diet-induced obesity and fatty liver in mice. *Pharm. Res.* **30**: 2940-2950.
 19. Seo, S., Lee, M. S., Chang, E., Shin, Y., Oh, S., Kim, I. H. and Kim, Y. (2015) Rutin increases muscle mitochondrial biogenesis with AMPK activation in high-fat diet-induced obese rats. *Nutrients* **7**: 8152-8169.
 20. Umarani, V., Muvvala, S., Ramesh, A., Lakshmi, B. V. and Sravanthi, N. (2015) Rutin potentially attenuates fluoride-induced oxidative stress-mediated cardiotoxicity, blood toxicity and dyslipidemia in rats. *Toxicol. Mech. Methods* **25**: 143-149.
 21. Meng, S., Cao, J., Feng, Q., Peng, J. and Hu, Y. (2013) Roles of chlorogenic acid on regulating glucose and lipids metabolism: a review. *Evid. Based Complement Alternat. Med.* doi: 10.1155/2013/801457.
 22. Ghadieh, H. E., Smiley, Z. N., Kopfman, M. W., Najjar, M. G., Hake, M. J. and Najjar, S. M. (2015) Chlorogenic acid/chromium supplement rescues diet-induced insulin resistance and obesity in mice. *Nutr. Metab.* **12**: doi: 10.1186/s12986-015-0014-5.
 23. Wan, C. W., Wong, C. N., Pin, W. K., Wong, M. H., Kwok, C. Y., Chan, R. Y., Yu, P. H. and Chan, S. W. (2013) Chlorogenic acid exhibits cholesterol lowering and fatty liver attenuating properties by up-regulating the gene expression of PPAR- α in hypercholesterolemic rats induced with a high-cholesterol diet. *Phytother. Res.* **27**: 545-551.
 24. Choi, J. H., Kim, D. W., Park, S. E., Lee, H. J., Kim, K. M., Kim, K. J., Kim, M. K., Kim, S. J. and Kim, S. (2015) Anti-thrombotic effect of rutin isolated from *Dendropanax moribifera* Leveille. *J. Biosci. Bioeng.* **120**: 181-186.
 25. Fuentes, E., Caballero, J., Alarcón, M., Rojas, A. and Palomo, I. (2014) Chlorogenic acid inhibits human platelet activation and thrombus formation. *PLOS One* **9**: doi:10.1371/journal.pone.0090699.
 26. Sesso, H. D., Gaziano, J. M., Liu, S. and Buring, J. E. (2003) Flavonoid intake and the risk of cardiovascular disease in women. *Am. J. Clin. Nutr.* **77**: 1400-1408.
 27. Tomé-Carneiro, J. and Visioli, F. (2015) Polyphenol-based nutraceuticals for the prevention and treatment of cardiovascular disease: review of human evidence. *Phytomedicine* doi: 10.1016/j.phymed.2015.10.018.
- (2016. 2. 1 접수; 2016. 2. 24 심사; 2016. 3. 10 게재확정)