

제조방법을 달리한 경옥고의 고콜레스테롤혈증 흰쥐에 미치는 효능 비교 연구

최웅식^{1#}, 구가람^{1#}, 이아름², 권오준³, 서영배^{1*}

1 : 대전대학교 한의과대학 본초학교실, 2 : 대구한의대학교 한의과대학 본초약리학교실, 3 : 경북지역사업평가단

Lipid Improvement Effect of New manufacturing method produced Kyeongok-go on hyperlipidemia rats

UngSik Choe^{1#}, Garam Ku^{1#}, AhReum Lee², OJun Kwon³, Young-Bae Seo^{1*}

1 : College of Korean Medicine, Daejeon University, Republic of Korea

2 : College of Korean Medicine, Daegu Haany University, Republic of Korea

3 : Gyeongbuk Institute for Regional Program Evaluation, Republic of Korea

ABSTRACT

Objectives : Kyeongok-go has the effect of antioxidant, anti-cancer, improving fatigue, and hyperlipidemia, but it is not easy to use in clinical practice because of the complicated manufacturing process of heat control and moisture control. The aim of this study was to explore the lipid improvement effect of new manufacturing methods produced Kyeongok-go in hyperlipidemia rats.

Methods : The SD rats were divided randomly into 8 groups of six animals each : Normal rats (Nor), hyperlipidemia rats (Con), hyperlipidemia rats treated with Spirulina 60 mg/kg(SP60), hyperlipidemia rats treated with Commercial Kyeongok-go 1 g/kg (K0), hyperlipidemia rats treated with Kyeongok-go manufactured by heating mantle 1 g/kg (K1), hyperlipidemia rats treated with ginseng fermentation Kyeongok-go 1 g/kg (KF), hyperlipidemia rats treated with Kyeongok-go with black ginseng 1 g/kg (BK), hyperlipidemia rats treated with black ginseng fermentation Kyeongok-go 1 g/kg (BKF). The experimental group induced hyperlipidemia by eating high cholesterol diet for 8 weeks. Also, we compared Kyeongok-go manufacturing method using the new method compared with traditional method.

Results : As a result, the improvement effect of hyperlipidemia using the new method showed the similar or better improvement effect compared with the conventional method, and it is considered that the Kyeongok-go manufacturing method using the new method can be substituted for the traditional Kyeongok-go manufacturing method.

Conclusion : In conclusion, these results suggest that new manufacturing methods produced Kyeongok-go has the potential as a anti-hyperlipidemia material which possess lipid improvement activities.

Key words : Kyeongok-go, new manufacturing method, heating Mantle, black ginseng, hyperlipidemia

*Corresponding author : Young-Bae Seo, College of Korean Medicine, Daejeon University, 62 Daehak-ro, Dong-gu, Daejeon 34520, Republic of Korea,

· Tel : +82-42-280-2625 · Fax : +82-42-280-2644 · E-mail : genin@dju.ac.kr

#First author : UngSik Choe, College of Korean Medicine, Daejeon University, 62 Daehak-ro, Dong-gu, Daejeon 34520, Republic of Korea,

· Tel : +82-42-280-2625 · Fax : +82-42-280-2644

Garam Ku, College of Korean Medicine, Daejeon University, 62 Daehak-ro, Dong-gu, Daejeon 34520, Republic of Korea,

· Tel : +82-42-280-2625 · Fax : +82-42-280-2644 · E-mail : tin4ever@nate.com

- These authors are contributed equally a this manuscript.

· Received : 11 April 2017 · Revised : 4 May 2017 · Accepted : 20 May 2017

I. 서론

瓊玉膏는 《洪氏集驗方·卷一》에 최초로 수재된 처방으로¹⁾ 生地黃, 人蔘, 茯苓, 蜂蜜의 4가지 약물로 구성되어 延年益壽와 不死強精의 효능이 있는 玉膏라는 의미를 가지고 있는 처방이다²⁾.

瓊玉膏의 효능에 대하여 《東醫寶鑑·身形編》에서는 “填精補髓하고 調眞養性 하여 返老還童하고 補百損하며 除百病하고, 萬神具足하고, 五臟盈溢하며, 髮白復黑하고, 齒落更生하며, 行如奔馬한다. 또한 日進數服하면, 終日不飢渴하게 되고, 功效不可盡術이다.”라고 하였다³⁾.

瓊玉膏의 약리 효능 보고로는 운동수행능력 향상 및 피로 회복⁴⁾, 폐암에 대한 항암효과⁵⁾, 노화유발 흰쥐의 항산화능에 미치는 영향⁶⁾, 성장 장애 흰쥐에서 성장효과에 대한 비교 연구⁷⁾, 경옥고 가미방 추출물의 양모 및 발모 효과⁸⁾ 등 다방면의 연구 보고가 있다.

瓊玉膏의 제조는 일반적으로 《東醫寶鑑》에 기술된 중탕 방식을 사용하여 제조하고 있는데 《東醫寶鑑》에는 “生地黃十六斤搗絞取汁, 人蔘細末二十四兩, 白茯苓細末四十八兩, 白蜜煉去滓十斤, 右和勻入磁缸內, 以油紙五重厚布, 一重緊封缸口置銅鍋內, 水中懸胎令缸口出水上, 以桑柴火煮三晝夜, 如鍋內水減則用暖水添之日滿, 取出再用蠟紙緊封缸口納井中浸一晝夜, 取出再入舊湯內煮一晝夜以出水氣乃取出.”라고 되어 있어 대략 5일 정도의 시간이 필요한 것을 알 수 있다. 瓊玉膏는 다양한 분야에서 뛰어난 효능이 있다는 보고에도 불구하고, 《東醫寶鑑》에 의한 瓊玉膏의 제조방법은 한방의료기관에서 손쉽게 적용하기 어려운 점이 있는 실정이다⁹⁾.

이에 저자는 히팅 맨틀 (Heating-mentle)을 사용한 손쉬운 瓊玉膏 제조방법 고안하였고 이에 의해 제조된 瓊玉膏의 효능을 검증하기 위하여, 고지혈증 흰쥐에 대한 지질대사 개선 효과를 살펴보고자 흰쥐에 고지방식이를 수행한 후 간, 신장, 비장 등의 무게 분석, 혈청 내 총콜레스테롤, 중성 지방, 고밀도지단백콜레스테롤, 저밀도지단백콜레스테롤 등의 지질농도 분석, aspartate aminotransferase (AST), alanine amino

transferase (ALT) 등의 간 기능 효소 측정을 통한 신기능 평가, 콜레스테롤 관련 유전자 발현 분석 등의 실험을 수행한 결과 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

1) 약재

실험에 사용된 人蔘, 白茯苓, 生地黃, 蜂蜜은 한약규격품을 대전대학교 본초학교실에서 감정한 후 분쇄하여 시료 제조에 사용하였다. 人蔘 및 黑蔘은 금산 지역에서 재배된 4년생 수삼을 생산자증명이 확인된 금산인삼농협에서 구입하였고, 黑蔘은 김 등¹⁰⁾의 제조 방법을 참고하여 90 °C에서 2시간 증숙하는 과정을 9회 반복하여 제조한 뒤 이를 분쇄하여 시료로 사용하였다. 地黃은 금산지역에서 생산된 生地黃을 구입하였고 녹즙기 (Angelia 7700, Angel co., Busan, Korea)를 이용하여汁을 취하여 시료 제조에 사용하였다.

2) 시료제조

실험에 사용될 瓊玉膏는 人蔘 50 g, 白茯苓 100 g, 地黃 600 g, 꿀 300 g의 비율로 혼합하여 제조하였고, 실험시료에 따라 黑蔘으로 제조하는 경우, 발효과정을 거친 경우 등으로 구분하였으며, 실험 대조를 위하여 시중에서 중탕방식으로 생산되어 유통중인 瓊玉膏 (Barunhanyak, Seoul, Korea)를 구입하여 사용하였다 (Table. 1). 발효과정은 올리고당 30 g과 *Saccharomyces cerevisiae* 3 g을 투입한 후 2시간 40분 발효시킨 후 瓊玉膏 제조 과정에 사용되었다.

혼합된 시료는 히팅 맨틀에 스테인레스 용기하부와 반응조 상부뚜껑을 부착하고 중앙에 냉각기 및 에에캡을 설치하여 전탕과 농축이 편리하도록 하였다. 瓊玉膏 제조는 히팅 맨틀의 외부온도를 90 °C로 설정하여 끓어 넘치지 않는 정도로 약 18-22시간 가열하였고, 농축은 동일한 온도에서 반응조 상부 캡을 모두 제거하여 약 1시간 40분 내외로 농축하였다.

Table 1. Main composition of experiment materials

Item	Main composition
Kyeongok-go (K0)	Kyeongok-go by Barunhanyak
Kyeongok-go with ginseng (K1)	Ginseng Radix 50 g, Poria Sclerotium 100 g, Rehmanniae Radix 600g, Mel 300 g
Ginseng fermentation Kyeongok-go (KF)	Ginseng Radix 50 g, Poria Sclerotium 100 g, Rehmanniae Radix 600 g, Mel 300 g*
Kyeongok-go with black ginseng (BK)	Black Ginseng 50 g, Poria Sclerotium 100 g, Rehmanniae Radix 600 g, Mel 300 g
Black ginseng fermentation Kyeongok-go (BKF)	Black Ginseng 50 g, Poria Sclerotium 100 g, Rehmanniae Radix 600 g, Mel 300 g*

* Fermentation with *Saccharomyces cerevisiae*

2. 실험 동물

본 실험을 위하여 사용된 7주령 수컷 Sprague-Dawley (SD) 흰쥐는 대한바이오링크 (주)에서 분양받아 실험당일까지 고형사료 (Samyang corporation, Seoul, Korea)(조단백질 22.1% 이상, 조지방 8.0% 이하, 조섬유 5.0% 이하, 조회분

8.0% 이하, 칼슘 0.6% 이상, 인 0.4% 이상, 항생제 무첨가)와 물을 충분히 공급하고 실온 24±2 °C를 계속 유지하였으며 1주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 고지혈증 유발 실험군은 2주간 고 콜레스테롤 함유 사료를 섭취하게 하여 고지혈증을 유발하였다. 실험군은 각 군별로 난괴법에 의해 5마리씩 6군으로 나누었다.

- ① Normal (Nor) : 일반 식이를 섭취한 군.
- ② Control (Con) : 고콜레스테롤이 함유된 사료를 섭취한 대조군.
- ③ Spirulina 60 mg/kg 투여군 (SP60) : 고콜레스테롤이 함유된 사료를 섭취하고 양성대조약물인 Spirulina를 60 mg/kg으로 투여한 군.
- ④ K1 1 g/kg 투여군 (K1) : 고콜레스테롤이 함유된 사료를 섭취하고 신공법으로 만든 瓊玉膏를 1 g/kg으로 투여한 군.
- ⑤ KF 1 g/kg 투여군 (KF) : 고콜레스테롤이 함유된 사료를 섭취하고 신공법으로 만든 발효 瓊玉膏를 1 g/kg으로 투여한 군.
- ⑥ BK 1 g/kg 투여군 (BK) : 고콜레스테롤이 함유된 사료를 섭취하고 人蔘대신 黑蔘으로 대체한 瓊玉膏를 신공법으로 만들어 1 g/kg으로 투여한 군.
- ⑦ BKF 1 g/kg 투여군 (BKF) : 고콜레스테롤이 함유된 사료를 섭취하고 人蔘대신 발효黑蔘으로 대체한 瓊玉膏를 신공법으로 만들어 1 g/kg으로 투여한 군.
- ⑧ KO 1 g/kg 투여군 (KO) : 고콜레스테롤이 함유된 사료를 섭취하고 시중에 유통되는 전통방식 제조방법의 瓊玉膏 (Barunhanyak, Seoul, Korea)를 1 g/kg으로 투여한 군.

정상군은 일반사료를 공급하였고, 대조군과 약물처리군은 1.25% 콜레스테롤이 함유된 고 콜레스테롤식이 (D12336, Research Diets, Inc., NJ, USA)를 2주간 공급하여 고지혈증을 유발하였다. 그 후 실험 약물을 6주간 경구 투여하였으며 약물 투여 기간 중에도 고 콜레스테롤 식이를 유지하였다.

3. 체중, 식이섭취량, 식이효율 측정

실험동물의 체중은 매주 1회 동일 시간 동일 조건에서 측정하였고, 실험종료일 체중에서 실험 개시 전 체중을 빼서 체중증가량 (body weight gain (g))을 산출하였다. 식이섭취량은 제공된 사료에서 1주일간 섭취하고 남은 사료량을 제하고 각 실험군의 하루 사료섭취량을 산출하였다. 한편, 각 쥐의 체중증가량을 동일 사육기간의 사료섭취량으로 나누어 사료효율 (food efficiency ratio, FER)을 구하였다.

4. 혈청 분석 및 장기 적출

실험동물은 희생 전 3시간 동안 절식시킨 후 심장 천자법으로 채혈한 후 30분 이내에 3,000 rpm, 4 °C에서 15분간 원심분리하고 혈청을 분리하여 -70 °C에 보관한 후 분석에 사용하였다. 실험동물을 희생시킨 후 간 조직과 지방조직은 적출하여 생리 식염수로 헹구고 여과지를 이용하여 표면의 물기를 제거한 후 각각 무게를 측정하였으며, RNA 실험용은 RNA 안정액 (RNAsolB)에 보관하여 일주일 안에 RNA를 추출하고, 나머지 부분은 액체질소로 급랭시켜 -70 °C 냉동고에 보관하였다. 실험동물로부터 분리한 혈청에서 간 기능의 지표인 ALT 및 AST를, 혈장 및 간의 지질함량의 지표인 TC, HDL cholesterol, TG, 혈당, 아포지 단백질 (apo B-48, apo B-100, apo E), LCAT, 그리고 Lipoprotein Lipase의 함량을 생화학자동 분석기를 이용하여 측정된 다음 식 (a)에 의하여

LDL cholesterol을 산출하였다.

식 (a)

$$LDL\text{-cholesterol} = TC - (HDL\text{-cholesterol}) - (TG)/5$$

5. 고콜레스테롤혈증 효과에 의한 동물조직 유전자 발현 분석

실험 종료 후 실험동물로부터 분리한 간 조직에서 HMG-CoA Reductase를 Assay Kit (CS1090, Sigma)를 이용하여 확인하였고, 혈중 ACAT (Acetyl-CoA Acetyltransferase 1 ELISA Kit, ABIN826870), CYP7A1 (Cholesterol 7-Alpha-Hydroxylase, ABIN1114126)를 분석하였다. 적출한 간과 지방조직들의 유전자 발현 양상을 real time PCR 증폭법을 사용하여 알아보았다. 복부지방조직, 간 조직 등은 RNAsolB (Tel-Test) 용액을 사용하여 각 조직으로부터 RNA를 추출한 뒤 One-step SYBR Green PCR kit (ABI science)를 사용하여 cDNA 및 real-time PCR 분석을 하였다. 간 조직과 지방 조직에 RNAsolB 500 mL를 넣고 homogenizer로 조직을 분쇄하여 여기에 chloroform (CHCl₃) 50 mL를 첨가한 후 15초간 다시 혼합하였다. 이를 얼음에 15분간 방치한 후 13,000 rpm에서 원심 분리한 후 약 200 mL의 상층액을 회수하여 2-propanol 200 mL와 동량 혼합 후 천천히 흔들고 얼음에서 15분간 방치하였다. 이를 다시 13,000 rpm에서 원심 분리한 후 80% EtOH로 수세하고 3분간 vacuum pump에서 건조하여 RNA를 추출하였다. 추출한 RNA는 diethyl pyrocarbonate (DEPC)를 처리한 20 mL의 증류수에 녹여 heating block 75 °C에서 불활성화 시킨 후 first strand cDNA합성에 사용하였다. 역전사 (reverse transcription) 반응은 준비된 total RNA 3 mg을 DNase I (10U/mL) 2U/tube를 37 °C heating block에서 30분간 반응한 후 75 °C에서 10분 동안 변성시키고, 이에 2.5 ml 10 mM dNTPs mix, 1 ml random sequence hexanucleotides (25 pmole/ 25 ml), RNA inhibitor로서 1 ml RNase inhibitor (20 U/ml), 1 ml 100 mM DTT, 4.5 ml 5×RT buffer (250 mM Tris-HCl, pH 8.3, 375 mM KCl, 15 mM MgCl₂)를 가한 후, 1 ml의 M-MLV RT (200 U/ml)를 다시 가하고 DEPC 처리된 증류수로서 최종 부피가 20 ml가 되도록 하였다. 이 20 ml의 반응 혼합액을 잘 섞은 뒤 2,000 rpm에서 5초간 원심침강하여 37 °C heating block에서 45분 동안 반응시켜 first-strand cDNA를 합성한 다음, 95 °C에서 5분 동안 방치하여 M-MLV RT를 불활성화 시킨 후 합성이 완료된 cDNA를 polymerase chain reaction (PCR)에 주형으로 사용하였다. Real time quantitative PCR은 Applied Biosystems 7,500 Real-Time PCR system (Applied Biosystems)를 이용하여 수행하였다. Rat Probe & Oligonucleotide의 염기배열은 Table 2과 같다.

유전자 발현은 TaqMan probe (FAM dye-labeled, ABI)를, internal standard를 Rat GAPDH probe set; Endogenous Control (VIC / MGB Probe, Probe limited) from Applied Biosystems (4352339E)를 사용하였고, primer의 최종 농도가 200 nM이 되게 반응시켰다. Real time quantitative PCR의 조건은 : pre-denaturation은 50 °C에서 2분, 94 °C에서

10분, 그리고 40 cycles을 95 °C에서 0.15 분, 45 °C에서 1분 간 수행하였다. 실험군과 대조군은 internal standard로 GAPDH를 사용하여 target group의 Quantitative PCR로 계산하여 RQ (relative quantitative)를 측정하였다.

Table 2. Sequence of rat probe and oligonucleotide

Gene	Primer sequence
Rat SREBP2	forward 5' -GCAAAGCCTCGTGACATCCT-3'
	reverse 5' -GCCATTGGCTGTCTGAGTCAA-3'
ACAT2	forward 5-CTATACTGCCAGGAGTGGTACGC-3
	reverse 5' -AGCTCCCAAAATGTCGGCT-3'
HMG-CoA reductase	forward 5' -ACATCCGCTCTCCAGTCCAAA-3'
	reverse 5' -CAGGTTTCTTGTGCGTGCAA-3'
GAPDH	forward 5' -CCAAGGTCATCCATGACAAC-3'
	reverse 5' -TGACAAAGTGGTCGTTGAGG-3'

6. 병리 조직 분석

주요 장기들에 대한 조직병리학적 관찰을 수행하기 위해 간 조직을 10% neutral buffered formalin에 24시간 동안 고정시킨 다음 graded alcohol로 탈수시키고 파라핀으로 포매하여 block을 제작한 다음 microtome으로 4 mm 두께의 조직절편을 제작하여 hematoxylin & eosin (H&E) 염색 및 Oil red O 염색을 시행한 뒤 xylene clearing을 거쳐 permount로 처리한 후 광학현미경위에서 조직 또는 장기별 특이 병변의 유무를 관찰하였다.

Table 3. Food intake, body weight gain and food efficiency ratio.

	Nor	Con	SP60	K1	KF	BK	BKF	KO
Body weight gain (g/day)	5.74±0.30	5.86±0.47	5.23±0.32	6.19±0.42	6.40±0.42	5.90±0.52	6.14±0.22	5.96±0.48
Food intake (g/day)	26.68	21.48	19.22	22.29	21.26	22.29	23.19	21.23
Food efficacy ratio (FER,%)	21.52±1.12	27.29±2.17*	27.19±1.67	27.75±1.89	30.12±1.96	26.45±2.34	26.47±0.94	28.09±2.27

Nor : Normal rats.

SP60 : hyperlipidemia rats treated with Spirulina 60 mg/kg.

KF : hyperlipidemia rats treated with KF 1 g/kg.

BKF : hyperlipidemia rats treated with BKF 1 g/kg.

Values are expressed as mean±SEM (n =6).

Con : hyperlipidemia rats.

K1 : hyperlipidemia rats treated with K1 1 g/kg.

BK : hyperlipidemia rats treated with BK 1 g/kg.

KO : hyperlipidemia rats treated with KO 1 g/kg.

Significance : * p <0.05 compared with hyperlipidemia rats.

2. 간, 신장, 비장 조직의 무게 분석

고 콜레스테롤혈증 병태모델에서 Spirulina, K1, KF, BK, BKF, KO 투여에 따른 간 무게를 측정된 결과, 대조군의 간 무게는 정상군에 비하여 90.5% 이상 증가 하였고, SP60 투여군은 2% 감소하였지만 K1, KF, BK, BKF, KO 투여군 등은 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다. 정상군에 비하여 대조군의 신장무게는 13.5% 이상 증가를 하였고, SP60 투여군은 17.2% 감소하였지만 간 무게와 일치하게 K1, KF, BK, BKF, KO 투여군 등은 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다. 정상군의 비장 무게는 평균 0.98±0.11 g이었고, 대조군은 1.37±0.11 g으로 증가하였지만, 대조군을 포함한 모든 실험군에서 유의한 변화는 나타나지 않았다 (Table 4).

7. 통계분석

모든 실험결과는 SPSS 통계 프로그램을 이용하여 분석하였으며 그 결과는 평균±표준오차 (mean±SE) 로 표시하였다. 정상군과 대조군간의 유의성은 정상군과 비교하였고, 그리고 각 실험군 간의 유의성은 대조군과 비교하여 통계적 유의성을 Student t-test를 이용하여 p < 0.05 수준으로 검증하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 체중, 식이섭취량 및 식이효율

적응기간을 제외한 실험식이 급여기간 8주 동안 측정된 체중 변화, 식이섭취량, 체중 증가량 및 식이효율 측정 결과, 고콜레스테롤 식이군 대비 체중 감소율은 다음과 같다.

정상군이 평균 5.74±0.30 g/day의 체중증가를 보이는 것에 비하여 대조군은 평균적으로 5.86±0.47 g/day의 증가를 나타내었으며, 양성대조군인 SP60 투여군은 평균 5.23±0.32 g/day의 증가 경향을 나타냈다. K1 투여군에서는 6.19±0.42 g/day의 수치를 나타내었고, KF 투여군에서는 6.40±0.42 g/day, BK 투여군에서는 5.90±0.52 g/day, BKF 투여군에서는 6.14±0.22 g/day, KO 투여군에서는 5.96±0.48 g/day의 추이를 보였으나 유의성은 없었다. 식이효율은 대조군에서 27.29±2.17%의 수치를 나타내었으며, 양성대조군인 SP60 투여군은 27.19±1.67%, K1 투여군은 27.75±1.89%, KF 투여군에서는 30.12±1.96%, BK 투여군에서는 26.45±2.34%, BKF 투여군에서는 26.47±0.94%를 나타내었고, KO 투여군에서는 28.09±2.27%의 효율을 보였으므로, 효율 측면에서는 대조군이 유의성 있는 증가를 보였다 (Table 3).

3. 혈청 내 지질농도 분석

대조군의 혈청 내 총콜레스테롤 (Total cholesterol) 수준은 정상군에 비하여 약 5배의 증가를 나타내었고, SP60 투여군은 198.40±8.91 mg/dl로 유의성 있게 감소되었다. K1 투여군 (219.83±22.16 mg/dl), KF 투여군 (207.00±15.20 mg/dl), BK 투여군 (207.00±15.20 mg/dl) BKF 투여군 (226.35±21.84 mg/dl), KO 투여군 (246.5±18.33 mg/dl) 모두 양성대조군 수준으로 유의성 있게 감소하였다.

혈청 내 중성지방 수준 (Triacylglycerol)은 정상군에 비하여 대조군이 약 2배 증가하였음을 확인하였다. SP60 투여군과 K1, KF 투여군은 정상군 수준으로 감소하였으며, BK, BKF, KO 투여군은 각각 70.67±8.10 mg/dl, 63.75±8.58

mg/dL, 74.83 ± 2.66 mg/dL로 정상군보다는 높은 수치이지만, 대조군보다 유의성 있게 감소하였다.

혈청 내 고밀도 콜레스테롤 (HDL cholesterol)의 수준은 대조군이 정상대조군에 비하여 약 72.5% 감소를 나타내었고, 대조군에 비하여 SP60, K1, KF, BK, BKF, K0 투여군 모두

유의한 변화가 없었다. 대조군의 혈청내 저밀도 콜레스테롤 (LDL cholesterol) 수준은 정상대조군에 비하여 3배 이상의 유의하게 증가하였고 SP60 투여군은 12.80 ± 2.37 mg/dL로 나타났다. K1, KF, BK, BKF 투여군은 대조군과 비교하여 50 % 이상의 유의성 있는 감소를 보여주었다 (Table 5).

Table 4. Organ weight

	Nor	Con	SP60	K1	KF	BK	BKF	K0
Liver weight (g)	$13.53 \pm 0.72^{***}$	25.77 ± 1.55	$25.40 \pm 1.71^{**}$	28.93 ± 1.86	30.00 ± 1.16	26.55 ± 2.27	27.00 ± 1.65	27.17 ± 2.24
Kidney weight (g)	$3.08 \pm 0.17^*$	3.50 ± 0.17	$2.90 \pm 0.13^*$	3.23 ± 0.10	3.13 ± 0.18	3.08 ± 0.21	3.18 ± 0.19	3.02 ± 0.20
Spleen weight (g)	0.98 ± 0.11	1.37 ± 0.11	1.42 ± 0.18	1.47 ± 0.16	1.45 ± 0.09	1.68 ± 0.41	1.43 ± 0.18	1.48 ± 0.15

Nor : Normal rats, Con : hyperlipidemia rats,
 SP60 : hyperlipidemia rats treated with Spirulina 60 mg/kg, K1 : hyperlipidemia rats treated with K1 1 g/kg,
 KF : hyperlipidemia rats treated with KF 1 g/kg, BK : hyperlipidemia rats treated with BK 1 g/kg,
 BKF : hyperlipidemia rats treated with BKF 1 g/kg, K0 : hyperlipidemia rats treated with K0 1 g/kg.
 Values are expressed as mean \pm SEM (n=6). Significance : * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001 compared with hyperlipidemia rats.

Table 5. Blood biochemistry parameters

	Nor	Con	SP60	K1	KF	BK	BKF	K0
Total cholesterol (mg/dL)	$76.33 \pm 7.13^{***}$	359.50 ± 29.32	$198.40 \pm 8.91^{***}$	$219.83 \pm 22.16^{**}$	$207.00 \pm 15.20^{***}$	$207.00 \pm 15.20^{***}$	$226.35 \pm 21.84^{**}$	$246.50 \pm 18.33^{**}$
Triacylglycerol (mg/dL)	$51.33 \pm 2.66^{**}$	110.00 ± 13.08	$55.60 \pm 5.53^{**}$	$55.67 \pm 4.70^{**}$	$57.33 \pm 4.72^{**}$	$70.67 \pm 8.10^*$	$63.75 \pm 8.58^{**}$	$74.83 \pm 2.66^{**}$
HDL cholesterol (mg/dL)	19.33 ± 1.63	5.33 ± 0.84	6.20 ± 1.20	7.17 ± 1.30	7.17 ± 1.14	7.17 ± 1.14	7.25 ± 0.95	6.83 ± 1.08
LDL cholesterol (mg/dL)	$7.67 \pm 0.54^{**}$	25.88 ± 4.38	$12.80 \pm 2.37^{**}$	$11.92 \pm 2.17^{**}$	$10.30 \pm 0.83^{**}$	$10.30 \pm 0.83^{**}$	$11.53 \pm 3.17^{**}$	$15.18 \pm 1.31^*$

Nor : Normal rats, Con : hyperlipidemia rats,
 SP60 : hyperlipidemia rats treated with Spirulina 60 mg/kg, K1 : hyperlipidemia rats treated with K1 1 g/kg,
 KF : hyperlipidemia rats treated with KF 1 g/kg, BK : hyperlipidemia rats treated with BK 1 g/kg,
 BKF : hyperlipidemia rats treated with BKF 1 g/kg, K0 : hyperlipidemia rats treated with K0 1 g/kg.
 Values are expressed as mean \pm SEM (n=6). Significance : * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001 compared with hyperlipidemia rats.

4. 혈청의 AST, ALT 평가

간 조직의 손상은 세포 내부에 존재하는 효소가 혈액으로 유출되어 혈청 중 AST와 ALT를 측정함으로써 확인할 수 있는데 이는 간세포가 파괴되면서 아미노기 전이효소가 혈중으로 나타나 높게 나타나는 것으로 AST, ALT의 손상은 간세포의 손상을 의미한다. 대조군의 혈청 내 AST, ALT 수준은 정상군과 비교하여 증가하였고, 약물 투여군에서는 감소하였으나 유의성은 없었다 (Fig. 1).

5. 콜레스테롤 관련 유전자 발현 분석

간 조직에서 ACAT2 mRNA 유전자 발현은 정상군 (0.27 ± 0.06)에 비하여 대조군(1.10 ± 0.27)에서 4배 이상 증가를 나타내었고, 모든 약물 투여군이 대조군에 비하여 감소하였으며, 특히 BK와 BKF 투여군은 통계학적으로 유의성 있는 감소를 나타내었다 (Fig. 2(A)).

HMG-CoA mRNA 유전자 발현은 대조군에서 1.12 ± 0.14 로 정상군 (0.63 ± 0.12)에 비하여 약 2배의 증가를 나타내었고, 약물 투여군은 K0 투여군을 제외한 모든 투여군에서 유의한 감소를 나타내었다. 특히 BKF 투여군은 0.48 ± 0.15 의 수치를 나타내 가장 큰 감소를 확인하였다 (Fig. 2(B)).

대조군의 SREBP-2 mRNA 유전자 발현 수치는 1.05 ± 0.18 로 정상군 (0.46 ± 0.06)에 비하여 약 2.28배 이상 증가를 나타내었고, 약물 투여군 중에서는 KF, BKF 투여군이 유의한 감소를 나타내었다 (Fig. 2(C)).

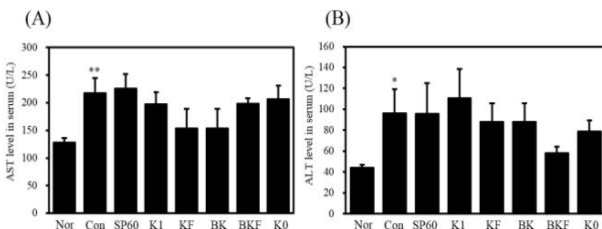


Fig. 1. AST and ALT level in serum
 Nor : Normal rats, Con : hyperlipidemia rats,
 SP60 : hyperlipidemia rats treated with Spirulina 60 mg/kg, K1 : hyperlipidemia rats treated with K1 1 g/kg,
 KF : hyperlipidemia rats treated with KF 1 g/kg, BK : hyperlipidemia rats treated with BK 1 g/kg,
 BKF : hyperlipidemia rats treated with BKF 1 g/kg, K0 : hyperlipidemia rats treated with K0 1 g/kg.
 Significance : * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001 compared with normal rats

6. 간 조직 검사 분석

대조군에서 보듯이 지방간이 유발된 간 조직에서는 마이크로 지방구가 간세포질에 축적되어 마이크로 지방구들이 거대세포성 지방층으로 진행되어 조직상에 큰 지방구들이 나타나며, 또한 hematoxylin & eosin (H&E)과 Oil red O (ORO) 염색

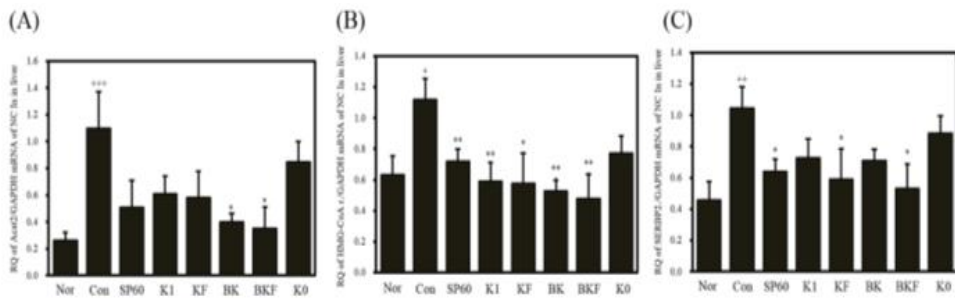


Fig. 2. mRNA expression in liver tissue by real-time PCR
 (A) : ACAT2 (acyl-coenzyme A:cholesterol acyltransferase 2) mRNA expression in liver tissue by real-time PCR,
 (B) : HMG-CoAR (3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase) mRNA expression in liver tissue by real-time PCR,
 (C) : SREBP2 (sterol regulatory element binding protein number 2) mRNA expression in liver tissue by real-time PCR,
 Nor : Normal rats, Con : hyperlipidemia rats,
 SP60 : hyperlipidemia rats treated with Spirulina 60 mg/kg, K1 : hyperlipidemia rats treated with K1 1 g/kg,
 KF : hyperlipidemia rats treated with KF 1 g/kg, BK : hyperlipidemia rats treated with BK 1 g/kg,
 BKF : hyperlipidemia rats treated with BKF 1 g/kg, K0 : hyperlipidemia rats treated with K0 1 g/kg.
 Significance : ** $p < 0.01$ compared with normal rats, * $p < 0.05$ compared with hyperlipidemia rats.

으로 염색 시 지방의 축적으로 회색지방축적세포들이 넓게 분포하는 지방간이 나타난다. 즉, 정상군과 비교하여, 고 콜레스테롤식이 섭취에 의해 고지혈증이 유발된 대조군에서 강하게 회색지방축적세포들이 전체에 존재하고, 거대세포성 지방증도 많이 존재함을 관찰하였다. 양성대조군인 Spirulina 투여군과 유사한 수준 또는 그 이상이며, K1, KF, BK, BKF, K0 투여군은 대조군에 비하여 회색지방축적세포들과 거대세포성 지방증의 감소가 현저하게 개선되었다 (Fig. 3, 4).

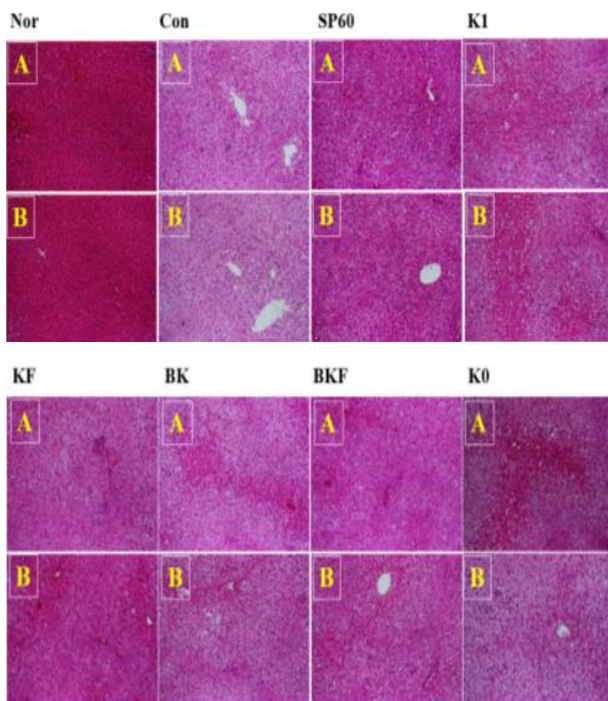


Fig. 3. Liver (H&E staining) histology
 Nor : Normal rats, Con : hyperlipidemia rats,
 SP60 : hyperlipidemia rats treated with Spirulina 60 mg/kg,
 K1 : hyperlipidemia rats treated with K1 1 g/kg,
 KF : hyperlipidemia rats treated with KF 1 g/kg,
 BK : hyperlipidemia rats treated with BK 1 g/kg,
 BKF : hyperlipidemia rats treated with BKF 1 g/kg,
 K0 : hyperlipidemia rats treated with K0 1 g/kg.

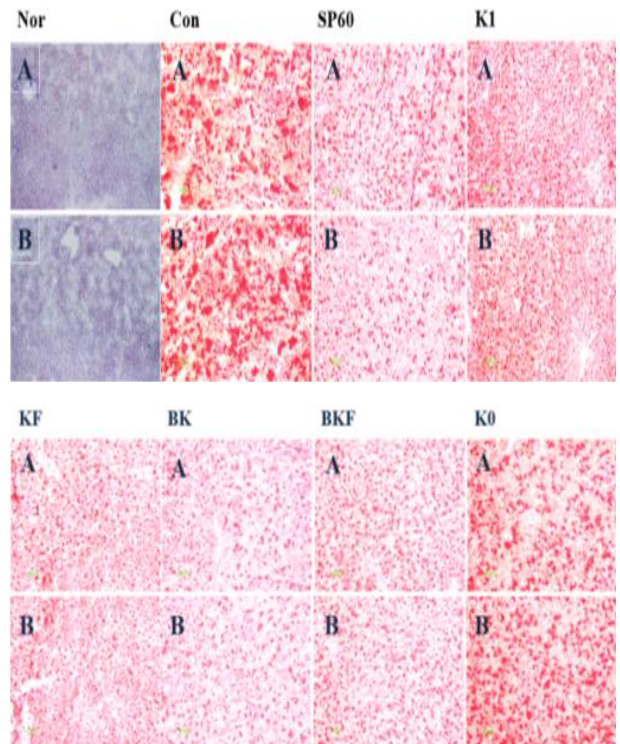


Fig. 4. Liver (oil red O staining) histology
 Nor : Normal rats, Con : hyperlipidemia rats,
 SP60 : hyperlipidemia rats treated with Spirulina 60 mg/kg,
 K1 : hyperlipidemia rats treated with K1 1 g/kg,
 KF : hyperlipidemia rats treated with KF 1 g/kg,
 BK : hyperlipidemia rats treated with BK 1 g/kg,
 BKF : hyperlipidemia rats treated with BKF 1 g/kg,
 K0 : hyperlipidemia rats treated with K0 1 g/kg.

8. 복부지방 조직분석

고콜레스테롤혈증 병태모델에서 시험물질에 따른 복부 지방 조직검사를 나타낸 를 나타낸 조직사진이다. 대조군은 정상군에 비하여 지방세포 크기가 증가한 반면, 양성대조군인 Spirulina 투여군과 K1, KF, BK, BKF, K0 투여군 등에서 감소를 나타내었다 (Fig. 5).

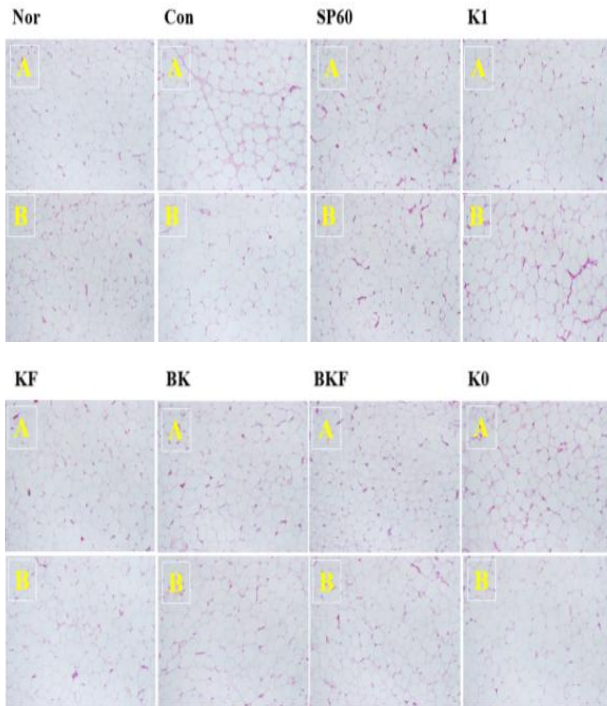


Fig. 5. Adipose tissue histology
 Nor : Normal rats, Con : hyperlipidemia rats,
 SP60 : hyperlipidemia rats treated with Spirulina 60 mg/kg,
 K1 : hyperlipidemia rats treated with K1 1 g/kg,
 KF : hyperlipidemia rats treated with KF 1 g/kg,
 BK : hyperlipidemia rats treated with BK 1 g/kg,
 BKF : hyperlipidemia rats treated with BKF 1 g/kg,
 K0 : hyperlipidemia rats treated with K0 1 g/kg.

IV. 고 찰

瓊玉膏의 명칭인 ‘瓊玉’은 아름다운 구슬을 가리키며, 중국 서역의 불사와 신선의 전설이 담긴 곤륜산의 석청을 고대중국 인들은 옥고 (玉膏)라고 불렀다. 황제가 이 옥고를 항상 복용하여 延年益壽, 不死強精의 효능을 보게 되었다고 하는데, 여기에서 瓊玉膏의 이름이 유래된 것으로 알려져 있다²⁾.

고지혈증이란 콜레스테롤, 인지질, 중성지방, 유리지방산 등 혈청 지질의 혈중 농도 상승을 말하며¹¹⁾, 중상이 지속될 경우 심혈관계 질환 및 뇌혈관질환 등 여러 가지 질환을 유발할 수 있다¹²⁾. 한의학에서는 지질이 과다한 경우 痰濁의 병이 된다고 보았으며, 고지혈증은 正虛邪實에 속한다고 하였는데 이때 正虛의 증점은 肝脾腎에 있고 邪實은 痰濁, 濕濁과 瘀血이 추가된다¹³⁾.

본 논문에서는 고콜레스테롤 식이를 통하여 고지혈증을 유발한 흰쥐 모델에 제조방법을 달리한 경옥고 5종을 경구 투여하여 체중변화, 식이효율 및 혈청내 지질농도를 분석하였다. 실험결과 고콜레스테롤식이를 섭취하여 고지혈증이 유발된 대조군에서 체중증가와 더불어 고지혈증 병태를 보였으며, 체중변화와 식이효율은 대조군과 실험군 사이에 큰 차이가 나타나지 않았다. 혈청 분석 결과, 총 콜레스테롤 함량은 정상군 (76.33±7.13)에 비하여 대조군 (359.50±29.32)에서 크게 증가하였고 양성대조군인 SP60 투여군에서 198.40±8.91만큼 감소하였고, BK (207.00±15.20) 및 KF (207.00±15.20)

투여군에서 양성대조군과 유사한 효과를 나타내었다. 중성지방의 경우에는 정상군보다 대조군에서 46.66% 증가하였고, K1 (55.67±4.70) 및 KF (57.33±4.72) 투여군에서 정상군과 유사하게 감소한 모습을 나타내었다.

콜레스테롤은 세포막의 필수 구성 성분임과 동시에 스테로이드 호르몬과 비타민 D의 전구물질이다¹⁴⁾. 간에서 합성된 Triglyceride는 VLDL-cholesterol 형태로 방출되어 혈액 속에서 일단 분해되었다가 일부는 에너지원으로 이용되고 나머지는 말초의 지방조직 내에서 재합성되어 저장된다. 방출된 VLDL-cholesterol은 혈류 속에서 Triglyceride를 상실하고 콜레스테롤이 풍부한 LDL-cholesterol이 되며, LDL-cholesterol은 말초에서 콜레스테롤을 공급하게 되고 간에서 회수된다. 말초의 여분의 콜레스테롤은 HDL-cholesterol에 의해 세포에서 빼내어 지고, HDL-cholesterol은 혈류 중에서 LDL-cholesterol에게 인도되어 간의 LDL-cholesterol 수용체를 통해 간으로 돌아가게 된다. 간이나 말초조직의 LDL-cholesterol 수용체가 선천적으로 결손되거나 대사의 영향으로 후천적으로 감소되면, 혈액 속의 LDL-cholesterol은 갈 곳을 잃게 되면서 고 LDL-cholesterol 혈증을 초래하게 된다. 고지혈증이란 생체의 지질대사 이상에 의해서 혈액 속의 LDL-cholesterol, Triglyceride 수치가 상승하거나 HDL-cholesterol이 저하되는 병태이다. 따라서 고지혈증은 혈청의 상승된 LDL-cholesterol의 함량을 낮추는 것이 무엇보다 중요하다¹⁵⁾.

HDL-cholesterol과 LDL-cholesterol을 측정된 결과 HDL-cholesterol은 SP60, K1, KF, BK, BKF, K0 모두 대조군과 비교하여 유의성 있는 차이는 나타나지 않았으며, LDL-cholesterol은 K1, KF, BK, BKF 투여군이 대조군과 비교하여 50%이상의 감소를 보임에 따라 고지혈증의 핵심이 되는 LDL-cholesterol 감소에 유의성 있는 결과를 보여주었다.

AST와 ALT는 간장이나 심장 등에 다량 존재하여 간세포가 손상되면 혈중으로 다량 이탈해 혈청내 농도가 현저하게 상승한다¹⁶⁾. AST는 간장에 뿐만 아니라 심근경색이나 근육질환인 경우에도 증가되는데, ALT는 간장에 시에 비교적 특이하게 상승하며, 간세포의 상해나 괴사의 정도와 ALT와 AST의 상승도 사이에는 상관성이 있는데 ALT 상관성이 더 높다¹⁷⁾.

AST와 ALT를 측정된 결과에서는 고 콜레스테롤식으로 유도된 고지혈증 흰쥐 모델에서 경옥고의 경구 투여로 인한 간독성은 없는 것으로 판단된다.

고 콜레스테롤식으로 지방을 과다섭취하게 되면 간을 비롯한 여러 장기에 지방이 축적이 되며, 피하와 장기주변에 위치한 백색지방조직은 주로 체내 잉여에너지를 지방으로 저장하며 열량을 저장하기 때문에 많을수록 체중이 늘어나게 된다¹⁸⁾.

장기 무게를 측정된 결과를 보면 간과 비장의 무게는 대조군에 비하여 약물 투여군은 별다른 차이를 보이지 않았으며, 신장무게는 대조군에 비하여 양성대조군인 SP60 투여군에서는 17.2% 감소하였고, 약물 투여군들은 정상군과 차이를 나타내지 않았다.

콜레스테롤 합성에 중요한 인자로는 ACAT (acyl-coenzyme A : cholesterol acyltransferase), HMG-CoA 환원효소, SREBP-2 가 대표적이는데, ACAT라는 효소는 동물조직과 세포 내에서 콜레스테롤의 에스테르화 반응을 촉매하는 효소이며

ACAT1과 ACAT2 두 가지의 형태로 존재한다. ACAT1은 세포막의 콜레스테롤을 일정한 농도로 유지하는데 관여한다면, ACAT2는 세포 내부의 콜레스테롤을 에스테르화하고 지단백질로 분비하는 기능을 담당하며, 소장에서 주로 발현하여 체내 콜레스테롤 조절에 중요한 역할을 한다¹⁹⁾. HMG-CoA 환원효소는 콜레스테롤 생합성 중 반응속도 조절단계에 있으며, 이 효소의 억제는 콜레스테롤 합성을 저하시킨다²⁰⁾. HMG-CoA가 메바론산으로 환원하는 단계는 콜레스테롤 합성에서 매우 중요하며, HMG-CoA 환원효소 활성 측정은 콜레스테롤 합성 활성의 상대치를 알기 위한 유용하고 간단한 방법이다²¹⁾. 콜레스테롤 항상성은 SREBP2 (sterol regulatory element binding protein)라는 전사 인자에 의하여 조절되는데 이것은 세포 내에서 콜레스테롤 축적을 촉진하는 역할을 한다. SREBP는 precursor type (pSREBP)과 mature type (mSREBP) 두 가지 형태를 띠고 있는데, 세포질 상에서는 ER (endoplasmic reticulum) 막에서 pSREBP형태로 Scap과 함께 결합하고 있다가 콜레스테롤 농도가 감소하면 mSREBP 형태로 절단되어 핵으로 이동하고, 타깃 유전자의 프로모터와 결합하여 전사를 조절한다. SREBP2의 경우 콜레스테롤 흡수와 합성에 관여하고 있는 유전자들의 프로모터에 결합하여 그들의 전사를 조절하므로, SREBP2 혹은 mSREBP2의 생성을 억제할 경우, 콜레스테롤 농도를 감소시킬 수 있다²²⁾.

Real Time PCR을 이용하여 ACAT2 유전자 발현을 측정 한 결과, BK와 BKF 투여군이 유의성 있게 감소하여 콜레스테롤 흡수 및 저장에 감소하여 지질대사 개선 효능이 있는 것으로 판단할 수 있다. HMG-CoA 유전자 발현을 분석한 결과 K1 ($p < 0.01$), KF ($p < 0.05$)군에서 유의한 감소를 나타냈고, 이는 혈중 콜레스테롤 농도 저하 효과가 있는 것으로 볼 수 있다. SREBP-2 유전자 발현을 분석하였을 때 KF ($p < 0.05$), BKF ($p < 0.05$) 투여군이 유의한 감소 효과를 나타내었다.

또한 간 조직을 H&E, ORO 염색법을 이용하여 분석한 결과 모든 경옥고 투여군에서 회식지방축적세포들과 거대세포성 지방증의 감소 효과를 나타냈으며, 복부 지방 조직 역시 경옥고 투여로 인하여 지방세포 크기가 줄어들음을 확인하였다.

이상의 실험 결과를 통하여 신공법을 이용한 瓊玉膏의 효능을 분석한 결과, 신공법을 이용한 瓊玉膏 투여군은 Total cholesterol, Triacylglycerol, LDL-cholesterol의 감소 효과를 보여주었으며, 간 독성을 나타내지 않았으며, 조직검사에서 지방 조직이 감소하였다. 또한 ACAT2, HMG-CoA, SREBP2를 분석한 결과 K0와 신공법 경옥고 모두에서 혈중 콜레스테롤 농도 저하를 통한 지질대사 개선효과가 확인되었다. 이러한 결과를 종합하면, 신공법을 이용한 瓊玉膏는 전통방식으로 만든 瓊玉膏와 유사하게 고지혈증을 개선시키는 효과를 가지는 것으로 판단된다.

V. 결 론

본 연구에서는 고 콜레스테롤 식이도 유도된 고지혈증 흰쥐 모델에 기존의 경옥고 및 신공법으로 제조된 경옥고 4종을 경구 투여하여 지질대사 개선효능을 평가하였고 그 결과는 다음과 같다.

1. 체중변화 및 식이효율은 모든 실험군에서 유의성 있는 변화가 나타나지 않았다.
2. 장기 무게를 살펴본 결과, 정상군에 비해 증가된 대조군의 간, 신장 무게를 양성대조군에서 유의적으로 감소시켰으나 경옥고 투여군에서는 유의한 결과를 얻지 못하였다.
3. 혈청 내 지질농도 분석에서 총 콜레스테롤 함량은 KF, BK 투여군에서 양성대조군과 유사한 감소효과를 나타냈으며 중성지방 함량은 대조군에 비교하여 K1 투여군에서 크게 감소하였다. HDL 콜레스테롤은 유의한 변화가 없었으며 LDL 콜레스테롤은 KF, BK 투여군에서 양성대조군보다 뛰어난 효과를 나타내었다.
4. 간 기능의 지표인 AST와 ALT를 분석한 결과, 경옥고로 인한 간 손상은 나타나지 않았다.
5. 콜레스테롤 합성에 중요한 ACAT2, HMG-CoA, SREBPs를 분석한 결과 모든 약물 투여군에서 감소 효과를 나타내었지만 BK, BKF 투여군에서 뛰어난 감소를 나타내었다.
6. 간 조직을 염색하여 분석한 결과 모든 경옥고 투여군에서 회식지방축적세포들과 거대세포성 지방증의 감소를 보였으며, 복부 지방 조직을 염색하여 분석한 결과 지방세포 크기가 줄어들음을 확인하였다.

이상의 실험 결과를 통하여 신공법을 이용하여 제조한 瓊玉膏의 효능을 기존의 瓊玉膏와 비교하여 분석한 결과 유사한 지질대사 개선 효능을 보였고, 흑삼을 가미하거나 발효하였을 때 콜레스테롤 합성 관련 인자를 감소시키는 효과를 나타내었다. 따라서 신공법으로 제조한 瓊玉膏 및 흑삼가미 瓊玉膏는 瓊玉膏 제조를 보다 편리하게 할 뿐 아니라 고지혈증에 비교적 쉽게 적용할 수 있는 지질대사 개선 소재로 활용되기를 기대한다.

References

1. Jeon CJ. Hongjijiphumbang. Beijing : Academy publishing house. 2009 : 6-7.
2. Shin JY. Bangyakhappyeonhae, Seoul : Traditional Medicine Institute. 2000 : 56.
3. Donguibogam national commission, Daeyeogdonguibo. Seoul : Bubinbooks. 1999 : 131-2.
4. Kim DG, Park WH, Cha YY. Effect of Kyungohkgo on Aerobic Capacity and Anti-fatigue in High School Soccer Players. Kor. J. Oriental Physiology & Pathology. 2011 ; 25(5) : 934-44.
5. Lee ES, Seo BI, Lee JW, Bae JS. Effects of Kyungohkgo and prescription of modified kyungohkgo on lung cancer. Kor. J. Herbol. 2002 ; 17(2) : 101-9.
6. Kwak BJ, Lee SS, Baek JW, Lee SJ, Kim KH.

- Effect of Kyungohkgo on antioxidant capacity in D-galactose induced aging rats. *Kor. J. Oriental Preventive Medical Society*. 2003 ; 7(2) : 85-96.
7. Cha YY, A Comparative Study on Effects of Kyungohkgo and Kyungohkgo Ga Nokyong on Growth in Growth Deficiency Rat with Insufficient Nutrition Diet, *Journal of Society of Korean Medicine for obisit research*, 2009 ; 9(1) : 59-69.
 8. Do EJ, Hwang MY, Kim SY, Lee JS, Yang DS, Yang CH, Kim MR. The effect of Gyungokgo-gamibang extract on hair growth and protein expression in mice. *Kor. J. Herbol*, 2011 ; 26(4) : 9-14.
 9. Heo J. *Donguibogam naegyeongpyeon*. Seoul : Gyemyeong Publishing House, 1993 : 78.
 10. Kim MY, Kwon OJ, Noh JS, Roh SS. Inhibitory activities of water extracts of black ginseng on HCl/Ethanol induced acute gastritis through anti-oxidant effect. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 2016 ; 45(9) :1249-56.
 11. Kim SK, Seo IB, Kim JB. Effects of *Salviae Miltiorrhizae Radix* on the diet-induced hyperlipidemia in rats. *Kor. J. Oriental Physiology & Pathology*. 2004 ; 18(2) : 431-5.
 12. Feng XJ, Roh SS, Oh DS, Seo YB. Lipid Improvement Effect of Fermented *Cynanchi wilfordii Radix* in Hyperlipidemia Rats. *Kor. J. Herbol*, 2015 ; 30(6) : 83-91.
 13. An YS, Ahn TW, Kang HJ, Lee YH, Yim YK. The effect of herbal-acupuncture with moutan cortex radicis extract. *Korean Journal of Acupuncture*.. 2009 ; 26(1) : 85-109.
 14. Kim HS. Effects of *Prunus persica Batsch var. davidiana Max.* extract on the lipid compositions and enzyme activities in hyperlipidemic rats. *Korean J. Food & Nutr*. 2004 ; 17(3) : 328-36.
 15. Editorial department, *The pathophysiology of human body structure and function 3*, Seoul : Koonja publishing house, 2014 : 13-9.
 16. Kim AJ, Kim MH, Han MR. Effects of mulberry leaf powder supplementation on lead status and minerals content in Pb-administered rats. *The Korean Nutrition Society*. 2005 ; 38(5) : 380-5.
 17. Ahn SY, Park SY. A Diagnostic Approach to Abnormal Liver Function Tests in Asymptomatic Patients. *Korean J Med*, 2012 ; 82(2) : 134-42.
 18. Avram AS, Avram MM, James WD. Subcutaneous fat in normal and disease status, *Anatomy and physiology of white and brown adipose tissue*, *J Am Acad Dermatol*, 2005 ; 53(4) : 671-83.
 19. Jeong JH, Ryu YS, Park KB, Go GW. Improvement of Lipid Homeostasis Through Modulation of Low-density Lipoprotein Receptor Family by Functional Ingredients. *Food Eng. Prog.* 2017 ; 21(1) : 1-11.
 20. Jeon DS, Bai DH. Improving productivity of pravastatin, HMG-CoA reductase inhibitor. *Food Eng. Prog.* 2009 ; 13(4) : 243-50.
 21. Lee JW, Lee SM, Gwak KS, Lee JY, Choi IG. Screening of Edible Mushrooms for the Production of Lovastatin and Evaluation on Their HMG CoA Reductase Inhibitory Activity. *Kor. J. Microbiol.* 2005 ; 17(2) : 145
 22. Seo WD. Development of lipid metabolism improvement for functional food with barley sprouts, Wanju : National Institute of Crop Science, 2014 : 64.