



## 저작자표시-동일조건변경허락 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.
- 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



동일조건변경허락. 귀하가 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공했을 경우에는, 이 저작물과 동일한 이용허락조건하에서만 배포할 수 있습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

2013年 2月

博士學位論文

# 비과 부위별 추출물의 생리활성 연구

朝鮮大學校 大學院

食品營養學科

李 煥

# 비파 부위별 추출물의 생리활성 연구

A Study on the Physiological Activities in Different  
Parts of the Loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl) Ethanol  
Extracts

2013年 2月 25日

朝鮮大學校 大學院

食品營養學科

李 煥

# 비과 부위별 추출물의 생리활성 연구

指導教授 李 明 烈

이 論文을 理學 博士學位申請 論文으로 提出함

2012年 10月

朝鮮大學校 大學院

食品營養學科

李 煥

# 李 煥 의 博士學位 論文을 認准함

委員長 朝鮮大學校 教授 장혜춘 (印)

委員 木浦大學校 教授 김인철 (印)

委員 朝鮮大學校 教授 이재준 (印)

委員 光州保健環境研究院 博士 하동룡 (印)

委員 朝鮮大學校 教授 이명렬 (印)

2012年 12月

朝鮮大學校 大學院

# 목 차

ABSTRACT .....	viii
제1장 서 론 .....	1
제2장 재료 및 방법 .....	6
제1절 실험재료 .....	6
제2절 성분분석 .....	6
1. 일반성분 분석 .....	6
2. 유리 아미노산 분석 .....	7
3. 지방산 분석 .....	8
4. 비타민 분석 .....	9
5. 무기질 분석 .....	11
6. 유기산 분석 .....	12
7. 구성당 분석 .....	13
제3절 실험기기 및 시료 추출 .....	14
1. 실험기기 .....	14
2. 재료 및 시료추출 .....	14
가. 비과 부위별 에탄올 추출 .....	14
나. 비과 부위별 추출 수율 .....	15
제4절 <i>In vitro</i> 에서 비과 부위별 에탄올 추출물의 항산화 및 항암효과 .....	16
1. 총 polyphenol 함량 측정 .....	16
2. 총 flavonoid 함량 측정 .....	16
3. DPPH radical 소거능 측정 .....	17
4. 항산화지수 측정 .....	17
5. 세포의 배양 .....	18
6. 간암, 폐암 및 위암의 암세포 생존율 측정 .....	18

7. 통계처리 .....	19
제5절 <i>In vitro</i> 에서 비파 부위별 에탄올 추출물의 3T3-L1 지방전구세포와 돼지 지방전구세포의 증식과 분화 억제효과 .....	20
1. 3T3-L1 지방전구세포 배양 .....	20
2. 3T3-L1 지방전구세포 수 측정 .....	20
3. 3T3-L1 지방전구세포 분화 측정 .....	21
4. 3T3-L1 지방전구세포 중성지방 함량 측정 .....	22
5. 돼지 지방전구세포 배양 .....	23
6. 돼지 지방전구세포 수 측정 .....	23
7. 돼지 지방전구세포 분화 측정 .....	24
8. 돼지 지방전구세포 중성지방 함량 측정 .....	24
9. Oil Red O staining .....	25
제6절 비파 부위별 에탄올 추출물이 알코올을 급여한 흰쥐에서 간 기능 개선효과 및 항산화효과 .....	26
1. 실험동물의 사육 및 식이 .....	26
2. 실험동물의 처리 .....	29
3. 혈청 효소 활성 측정 .....	29
4. 혈청 지질 함량 측정 .....	29
5. 간 조직의 지질 함량 측정 .....	30
6. 간 조직 중 GSH 함량 측정 .....	30
7. 간 조직 중 과산화지질 함량 측정 .....	31
8. 통계처리 .....	31
제7절 비파 부위별 에탄올 추출물의 고지방-고콜레스테롤 식이를 급여한 흰쥐에서 콜레스테롤 저하 및 비만억제 효과 .....	32
1. 실험동물의 사육 및 식이 .....	32
2. 실험동물의 처리 .....	35
3. 혈청 효소 활성 및 포도당 함량 측정 .....	35
4. 혈청 지질 함량 측정 .....	35
5. 간조직의 지질 함량 측정 .....	36

6. 지방조직의 지질 함량 측정 .....	36
7. 지방조직의 LPL 활성 측정 .....	36
8. 통계처리 .....	37
제3장 실험결과 및 고찰 .....	38
제1절 성분분석 .....	38
1. 일반성분 .....	38
2. 유리 아미노산 .....	40
3. 지방산 .....	42
4. 비타민 .....	44
5. 무기질 .....	46
6. 유기산 .....	48
7. 구성당 .....	50
제2절 <i>In vitro</i> 에서 비파 부위별 에탄올 추출물의 항산화 및 항암효과 .....	52
1. 총 polyphenol 함량 .....	52
2. 총 flavonoid 함량 .....	54
3. DPPH radical 소거능 .....	56
4. 항산화지수 .....	58
5. 간암의 암세포 생존율 측정 .....	61
6. 위암의 암세포 생존율 측정 .....	63
7. 폐암의 암세포 생존율 측정 .....	65
제3절 <i>In vitro</i> 에서 비파 부위별 에탄올 추출물의 3T3-L1 지방전구세포와 돼지 지방전구세포의 증식과 분화 억제 효과 .....	67
1. 3T3-L1 지방전구세포의 증식에 미치는 효과 .....	67
2. 3T3-L1 지방전구세포의 분화에 미치는 효과 .....	69
3. 3T3-L1 지방전구세포의 중성지방 함량에 미치는 효과 .....	71
4. 돼지 지방전구세포의 증식에 미치는 효과 .....	73
5. 돼지 지방전구세포의 분화에 미치는 효과 .....	75
6. 돼지 지방전구세포의 중성지방 함량에 미치는 효과 .....	79



제4절 비과 부위별 에탄올 추출물이 알코올을 급여한 흰쥐에서 간 기능 개선 및 항산화 효과 .....	82
1. 체중증가량,식이섭취량 및 식이효율 .....	82
2. 간장/체중 비율 및 지방조직 무게 .....	86
3. 혈청 중 ALT, AST, ALP 및 LDH 활성 .....	88
4. 혈청 중 중성지방 및 총콜레스테롤 함량 .....	94
5. 혈청 중 HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 함량, 동맥경화지수 및 심혈관위험지수 .....	97
6. 간 조직 중 중성지방 및 총콜레스테롤 함량 .....	103
7. 간 조직 중 GSH 함량 .....	106
8. 간 조직 중 과산화지질 함량 .....	108
제5절 비과 부위별 에탄올 추출물이 고지방-고콜레스테롤식을 급여한 흰쥐에서 콜레스테롤 저하 및 비만억제 효과 .....	110
1. 체중증가량,식이섭취량 및 식이효율 .....	110
2. 간장/체중 비율 및 지방조직 무게 .....	115
3. 혈청 중 ALT, AST, ALP 및 LDH 활성 .....	120
4. 혈청 중 포도당 함량 .....	126
5. 혈청 중 중성지방 및 총콜레스테롤 함량 .....	128
6. 혈청 중 HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 함량, 동맥경화지수 및 심혈관위험지수 .....	131
7. 간 조직 중 중성지방 및 총콜레스테롤 함량 .....	137
8. 지방조직 중 중성지방 및 총콜레스테롤 함량 .....	140
9. 지방조직 중 LPL 활성 .....	146
제4장 요약 .....	150
참고문헌 .....	156

# LIST OF TABLES

Table 1. Operating conditions of Amino Acid Auto-analyzer .....	7
Table 2. Operating conditions of Gas Chromatography for fatty acids .....	8
Table 3. Operating conditions of HPLC for vitamin A and E .....	10
Table 4. Operation conditions of HPLC for vitamin C .....	10
Table 5. Operating conditions of Atomic Absorption Spectrophotometer for minerals .....	11
Table 6. Operating conditions of Ion Chromatography for organic acids .....	12
Table 7. Operating conditions of Ion Chromatography for free sugars .....	13
Table 8. Yield of 80% ethanol extracts from loquat .....	15
Table 9. Experimental design of antioxidant .....	27
Table 10. Composition of experimental diet .....	28
Table 11. Experimental design of hyperlipidemia and obesity .....	33
Table 12. Composition of experimental diet .....	34
Table 13. Proximate compositions of loquat .....	39
Table 14. Contents of free amino acids in loquat .....	41
Table 15. Compositions of fatty acids of loquat .....	43
Table 16. Contents of vitamin A, E and C in loquat .....	45
Table 17. Contents of minerals in loquat .....	47
Table 18. Contents of organic acids in loquat .....	49
Table 19. Contents of free sugars in loquat .....	51
Table 20. Contents of total polyphenol in loquat .....	53
Table 21. Contents of total flavonoid in loquat .....	55
Table 22. Antioxidative activities of loquat ethanol extracts on soybean oil .. .....	59
Table 23. Changes of the body weight of rats administered alcohol and/or	

loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	83
Table 24. Changes of the body weight of rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .. .....	112
Table 25. Effect of loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts on HR-LPL activity in adipose tissues of rats fed high fat-high cholesterol diet .. .....	148
Table 26. Effect of loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts on TE-LPL activity in adipose tissues of rats fed high fat-high cholesterol diet ....	149

# LIST OF FIGURES

Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of loquat flesh, leaf and seed ethanol extracts .....	57
Fig. 2. Antioxidative activities of loquat flesh, leaf and seed ethanol extracts on soybean oil .....	60
Fig. 3. H460 cell viabilities of loquat flesh, leaf and seed ethanol extracts	62
Fig. 4. AGS cell viabilities of loquat flesh, leaf and seed ethanol extracts	64
Fig. 5. A549 cell viabilities of loquat flesh, leaf and seed ethanol extracts	66
Fig. 6. Cell viability in pre-confluent 3T3-L1 preadipocytes treated with ethanol extracts of loquat .....	68
Fig. 7. GPDH activity in 3T3-L1 preadipocytes treated with ethanol extracts of loquat .....	70
Fig. 8. Triglyceride contents in 3T3-L1 preadipocytes treated with ethanol extracts of loquat from whole stage .....	72
Fig. 9. Cell viability in pre-confluent pig preadipocytes treated with ethanol extracts of loquat .....	74
Fig. 10. GPDH activity in pig preadipocytes treated with ethanol extracts of loquat .....	76
Fig. 11. Micrographs showing differentiation of pig preadipocytes treated with ethanol extracts of loquat leaf .....	77
Fig. 12. Micrographs showing differentiation of male pig preadipocytes treated with ethanol extracts of loquat seed .....	78
Fig. 13. Micrographs showing differentiation of male pig preadipocytes treated with ethanol extracts of loquat flesh .....	79
Fig. 14. Triglyceride contents in pig preadipocytes treated with ethanol extracts of loquat from whole stage .....	81

Fig. 15. Food intake of rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	84
Fig. 16. FER of rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	85
Fig. 17. Liver index of rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	87
Fig. 18. Serum activity of ALT in the rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	90
Fig. 19. Serum activity of AST in the rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	91
Fig. 20. Serum activity of ALP in the rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	92
Fig. 21. Serum activity of LDH in the rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	93
Fig. 22. Contents of triglyceride in the rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	95
Fig. 23. Contents of total cholesterol in the rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	96
Fig. 24. Contents of HDL-cholesterol in the rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	99
Fig. 25. Contents of LDL-cholesterol in the rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	100
Fig. 26. Atherogenic index of rats fed administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	101
Fig. 27. Cardiac risk factor of rats fed administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	102
Fig. 28. Contents of triglyceride in the liver of rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	104
Fig. 29. Contents of total cholesterol in the liver of rats administered	

alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	105
Fig. 30. Contents of GSH in the liver of rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	107
Fig. 31. Contents of TBARS in the liver of rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	109
Fig. 32. Food intake of rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	113
Fig. 33. FER of rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	114
Fig. 34. Liver index of rats high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	117
Fig. 35. Mesenteric adipose tissue weights of rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	118
Fig. 36. Epididymal adipose tissue weights of rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	119
Fig. 37. Serum activity of ALT in the rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	122
Fig. 38. Serum activity of AST in the rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	123
Fig. 39. Serum activity of ALP in the rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	124
Fig. 40. Serum activity of LDH in the rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	125
Fig. 41. Contents of glucose in the serum of the rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	127
Fig. 42. Contents of triglyceride in the serum of the rats fed high fat-high	

cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts ...	129
Fig. 43. Contents of total cholesterol in the serum of the rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	130
Fig. 44. Contents of HDL-cholesterol in the serum of the rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	133
Fig. 45. Contents of LDL-cholesterol in the serum of the rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	134
Fig. 46. Atherogenic index of rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	135
Fig. 47. Cardiac risk factor of rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	136
Fig. 48. Contents of triglyceride in the liver of rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts ...	138
Fig. 49. Contents of total cholesterol in the liver of rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts ...	139
Fig. 50. Contents of total cholesterol in the mesenteric adipose tissue of rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	142
Fig. 51. Contents of triglyceride in the epididymal adipose tissue of rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	143
Fig. 52. Contents of triglyceride in the mesenteric adipose tissue of rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf	

ethanol extracts .....	144
Fig.53. Contents of total cholesterol in the epididymal adipose tissue of rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts .....	145



# ABSTRACT

## A study on the Physiological Activities in Different Parts of the Loquat(*Eriobotrya japonica* Lindl) Ethanol Extract

by. Lee, Hwan

Advisor : Prof. Lee, Myung-Yul, Ph.D.

Department of Food and Nutrition,

Graduate School of Chosun University

In Korea, the leaves of *E. japonica* have been widely used as a traditional medicine with beneficial effects for pain and chronic inflammatory diseases including headache, low back pain, dysmenorrhoea, asthma, phlegm and chronic bronchitis. In addition, the loquat seed has the inhibitory effect of oxidative-stress and hypoglycemic property. However, a little has been performed on the investigations of their physiological importance. Therefore, this study was carried out to discriminate the effects of the leaf, flesh, and seed of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) on antioxidative and anticancer capacity *in vitro*, proliferation and differentiation of pig preadipocytes and 3T<sub>3</sub>-L<sub>1</sub> cells, liver function in hepatotoxicity-induced rat by alcohol administration, and serum, liver and adipose tissue lipid metabolism and body weight reduction in rats fed a high-fat/high-cholesterol diet.

The results obtained were as follows:

1. This study was investigated to compare the major chemical components of the leaf, flesh, and seed of the loquat as dry matter basis. Among the proximate compositions, the crude fat, crude ash and crude fiber of leaf contained higher than those of seed and flesh, while the content of carbohydrate was lower in seed and flesh. The main components of free sugars in the leaf, flesh, and seed were fructose, respectively. Total amino acids of leaf, flesh, and seed were 552.43 mg%, 63.00 mg% and 260.29 mg%, respectively. Although the amino acid composition of the leaf, flesh, and seed were different, glutamic acid and  $\gamma$ -aminobutyric acid were the major amino acids in the leaf, flesh, and seed. The major fatty acids of total lipids were oleic acid and stearic acid in leaf and seed, and linoleic acid in flesh. The major organic acids was in oxalic acid in leaf, maleic acid in flesh and citric acid in seed. The content of vitamin C was higher in seed than in leaf and flesh.

2. Total polyphenol contents of loquat flesh, leaf, and seed ethanol extract were found to be 17.77 mg/mL, 32.32 mg/mL, and 28.08 mg/mL in 500 ppm. Also, total flavonoid contents of loquat leaf, flesh and seed ethanol extracts were found to be 18.77 mg/mL, 28.73 mg/mL, and 21.35 mg/mL in 500 ppm, respectively. The DPPH radical scavenging activity and antioxidative activities of loquat leaf and seed ethanol extracts was highly and it was similar to the BHA and BHT. However, The antioxidative effects in leaf and seed was higher in flesh. The anticancer effect of seed and leaf ethanol

extracts at 4 days on stomach cancer cell line (AGS), liver cancer cell line (H460) and lung cancer cell line (A549) showed higher values compared with the flesh ethanol extracts.

3. The current study was carried out to determine the effects of leaf, flesh, and seed of the loquat on proliferation and differentiation of pig preadipocytes and  $3T_3-L_1$  preadipocytes, aiming to seek the possibility of plant product being used as antilipogenic agent for the humans. To measure the cell proliferation the cells were treated with 25 ng/ml and 100 ng/ml ethanol extracts of leaf, flesh, and seed of the loquat, and Dimethyl sulphoxide (DMSO) was used as the control group. When pig preadipocytes and  $3T_3-L_1$  preadipocytes were exposed to the various concentrations of loquat flesh, no effect on proliferation and differentiation was found in preadipocytes. However, loquat leaf and seed ethanol extracts treated on cell proliferation stage and differentiation had a strong inhibitory effects. Twenty-five and 100  $\mu\text{g/mL}$  of loquat seed and leaf ethanol extracts showed inhibitory action on proliferation and differentiation in dose-dependent manner. The degree of stimulation of cell differentiation by loquat leaf and seed ethanol extracts was greater than of cell proliferation. The most potent anti-lipogenic extract was obtained in ethanol extract of loquat seed. These actions indicate that the ethanol extracts of loquat leaf and seed may have potential to reduce the fat accumulation and obesity.

4. The hepatoprotective effects of an ethanol extracts of loquat flesh, seed, and leaf on alcohol-induced liver damage in rat were investigated.

Sprague–Dawley rats weighing 100~150 g, were divided into 8 groups: normal diet group(N), alcohol (35%, 10 mL/kg/day) treated group(control, C), loquat flesh 400 mg/kg/day treated group (LF), loquat flesh 400 mg/kg/day and alcohol treated group (LFE), loquat seed 400 mg/kg/day treated group (LS), loquat seed 400 mg/kg/day and alcohol treated group (LSE), loquat leaf 400 mg/kg/day treated group (LL), loquat lesf 400 mg/kg/day and alcohol treated group (LLE). After the administration, rats were sacrificed to get serum and liver to analyze antioxidant enzyme activity, glutathione and lipid peroxide contents. The body weight gain and feed efficiency ratio were decreased by alcohol administration, however, was gradually increased to a little lower level than the normal diet group by the combined administration of alcohol and loquat extracts. The serum alanine aminotransferase (ALT), asparate aminotransferase (AST) and alkaline phosphatase (ALP) activities that were elevated by alcohol were significantly decreased by loquat extracts administration. It was also observed that thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) content in liver that were increased by alcohol were markedly decreased in the combined alcohol and loquat extracts administered groups as compared with the alcohol only administrated group. The glutathione (GSH) content in liver was decreased by alcohol administration, however, increased after administering loquat extracts. Taken together, these results suggest that ethanol extracts of loquat leaf, seed and flesh may have a possible protective effect on liver function in hepatotoxicity–induced rat by alcohol administration.

5. This study was conducted to investigate the cholesterol lowering and

anti-obesity effects of ethanol extracts of loquat leaf, seed and flesh in rats fed a high-fat/high-cholesterol diet. Male Sprague-Dawley rats weighing 150~155 g, were divided into 8 groups; a normal diet group (ND), a high-fat/high-cholesterol diet group (HCD), a high-fat/high-cholesterol diet and loquat flesh with 200 mg/kg treated group (HCD-FL), a high-fat/high-cholesterol diet and loquat flesh with 400 mg/kg treated group (HCD-LH), a high-fat/high-cholesterol diet and loquat seed with 200 mg/kg treated group (HCD-SL), a high-fat/high-cholesterol diet, loquat seed with 400 mg/kg treated group (HCD-SH), a high-fat/high-cholesterol diet and loquat leaf with 200 mg/kg treated group (HCD-LL), and a high-fat/high-cholesterol diet, loquat leaf with 400 mg/kg treated group (HCD-LH). The body weight gain and mesenteric adipose tissue weight were increased by high-fat/high-cholesterol diet, but gradually decreased to the corresponding level of ND group after administered loquat extracts. The liver and epididymal adipose tissue weights of HCD group were the highest among eight groups although the difference was not significant. Food intake was lower in high-fat/high-cholesterol diet groups compared with normal diet group. The serum ALT and AST activities that were elevated by the high-fat/high-cholesterol diet were significantly decreased after loquat extracts administration. Levels of serum total cholesterol, LDL-cholesterol, triglyceride and the atherogenic index were tended to be decreased in loquat extracts administered groups compared with HCD group. However, HDL-cholesterol level in serum decreased in HCD group and markedly increased by loquat extracts administered groups. Levels of total cholesterol and triglyceride in liver and adipose tissue were also lower in loquat

extracts administrated groups than in HCD group. The activities of heparin-releasable lipoprotein lipase (HR-LPL) and total-extractable LPL (TE-LPL) in adipose tissue were increased in HCD group compared with loquat extracts administered groups, but those of the HCD-L groups, HCD-S groups and HCD-F groups were similar to ND group.

These results suggest that ethanol extracts of loquat leaf, seed and flesh may exert cholesterol-lowering effect and potentially reduce lipid storage.

# 제1장 서론

현대화가 급속도로 진행됨에 따라 식생활의 서구화로 최근 우리나라는 가공식품과 동물성식품의 섭취 증가와 식물성식품 섭취 감소로 인한 식생활의 변화로 고혈압, 심장병, 동맥경화증 및 당뇨병 등의 만성퇴행성 질환의 이환율이 높아지고 있다(1). 또한 산업화와 더불어 증가되는 각종 환경오염 물질, 흡연, 알코올, 방사선 등은 반응성이 높은 활성 산소종을 발생시키는 원인이 되며, superoxide dismutase, catalase, peroxidase, glutathion reductase 등과 같은 인체 내에 존재하는 항산화계의 역할만으로는 방어체계가 초과되어 산화적 스트레스에 의한 세포막과 단백질의 분해, DNA 합성 억제 등의 손상이 유발된다고 알려져 있다(2-4). 이러한 자유라디칼에 의한 세포 및 조직의 산화적 손상은 노화의 생태학적 변화 과정과 많은 노인성 질환들의 병태학적 변화과정에 깊은 관련을 갖고 있는 것으로 알려져 있다. 과도한 산화적 스트레스 상태가 지속될 경우 심혈관질환, 당뇨, 암, 신경질환과 같은 만성퇴행성질환 및 노화를 촉진한다고 알려져 있다(5,6). 2010년 사망원인 통계자료에 의하면 순환기계 질환 사망률은 인구 10만명 당 112.3명으로 총 사망의 22%를 차지하였으며, 이 중 뇌혈관 질환(56.5명)이 가장 높았으며, 심장질환(43.4명), 고혈압성 질환(9.6명) 순으로 높았다(11).

우리나라의 경우 간질환은 간염 바이러스의 보균이나 음주습관 때문에 발생하는 예가 많은 것으로 알려져 있는데 매일 알코올을 섭취하는 것은 잦은 음주 형태(매일 혹은 폭주)나 음주 종류보다도 더 중요한 요인이라고 조사되었으며 영양 상태가 좋지 않다면 손상이 더 쉽게 일어나며 더 심각하다고 한다. 알코올로 인한 간질환에는 알코올성 지방간, 알코올성 간염, 알코올성 간경변증 등이 있다(3). 지방간은 알코올로 인해 지방이 간에 침착 되는 것으로 간세포에 지방질이 굳어 간세포가 부풀게 되는 경우를 말한다. 알코올성 간염은 중증인 간질환으로 부종, 황달 등의 증상을 일으킨다고 한다(5). 알코올성 간경변은 간질환 말기의 상태로 지속적인 다량의 알코올섭취와 밀접한 관계가 있는 것으로 조사되었다. 특히 과음이나 폭음 등 잦은 알코올 섭취로 음주 후에 숙취 제거를 위해 숙취해소 음료나 약물을 섭취하는 것으로 이어지는 경향이 있다(8). 따라서 숙취제거를 위한 음료나 약물에 대한 관심이 늘어나고 이와 관련된 연구들이 늘어가는 추세이다. 최근 들어 숙취제거 음

료나 건강기능성 음료들에 대한 관심이 늘고 있고 주목받고 있는데, 혈중 알코올 농도와 숙취 해소에 관한 한방 기능성 음료나(7) 헛개나무 추출물(8) 등에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 전통적으로 한약재를 이용한 숙취해소 처방을 보면, 갈화 해성탕, 대금음자, 상맥산 등이 있으며(9), 청간탕(10)은 간질환 치료에 효능이 있는 것으로 보고되어 있다.

순환기계 질환과 가장 관련 있는 것으로 알려진 것은 고콜레스테롤혈증을 비롯한 고 LDL-콜레스테롤혈증, 고중성지질혈증, 저 HDL-콜레스테롤혈증과 같은 고지혈증 증상이다(12). 고지혈증은 동맥경화성 질환인 허혈성 심장질환이나 뇌혈관장애에 대한 중요한 위험인자로 free cholesterol, cholesterol ester, phospholipid, triglyceride 등 혈청 지질 중 한 가지 이상이 이상적으로 높게 된 상태를 의미한다(13). 또한 고지혈증 중 고콜레스테롤혈증(hypercholesterolemia)은 죽상동맥경화증을 유발시키는 것으로 이는 혈관벽을 따라 지질이 두껍게 쌓여 허혈성 심장 질환인 협심증 및 심근경색의 원인이 되므로 임상적으로 중요한 문제가 되고 있다(14).

최근 한국인의 콜레스테롤 수치와 건강과의 상관관계를 조사한 결과에 의하면 혈액 중 콜레스테롤의 농도가 1 mmol/L 증가할 때마다 허혈성 뇌졸중으로 인한 사망률은 20%, 심근경색증으로 인한 사망률은 48% 증가하는 것으로 나타났다(15). 또한 혈중 콜레스테롤 수치와 심혈관에 의한 사망률 사이에는 정비례 관계가 있으며 혈중 콜레스테롤 수치를 낮추면 동맥경화를 예방하거나 동맥경화의 진행을 지연시킬 수 있다는 사실이 입증되어 최근에는 관상동맥 질환의 1차 또는 2차 예방으로서의 고지혈증 치료가 중요시되고 있다(16,17). 현재 고지혈증을 치료하기 위하여 많은 연구가 행해지고 있으며, 다양한 약물들이 개발되어져 있다. 그중 cholestyramine과 같이 장내에서 담즙산의 재흡수를 억제하는 담즙산 결합수지(bile acid sequestrants)와 콜레스테롤의 합성을 직접적으로 억제하는 lovastatin, HMG-CoA reductase 저해제 및 혈액 내 중성지방의 농도를 낮추는 gemfibrozil과 같은 피브린산 과유도체 등이 널리 이용되고 있다. 그러나 이러한 약물들은 복용시 지용성 비타민 결핍증, 간 기능 저하 등의 부작용을 동반하는 것으로 알려져 있으며, 일시적인 복용이 아닌 일생동안 복용되어야 하므로 부작용의 심화 및 환자의 복용 거부 등의 또 다른 문제점이 발생할 수 있다(18,19). 따라서 고지혈증을 개선하고, 장기간 복용하더라도 독성이나 부작용 가능성을 낮추며, 동맥경화증의 예방이나 치료를 가능하게 할 수 있는 생리활성 물질을 생약이나 식용 식물과 같은 한방재료나 천연물에서 찾으려는 연구가 활발히 진행되고 있다(20,21).



그리고 최근에는 소비자가 동물성 지방의 섭취 증가로 인한 성인병 발생의 우려 때문에 지방질이 적은 육류의 생산(22)이 중요시 되고 있는데 지방 축적의 증가는 세포 수의 증가(hyperplasia) 또는 세포의 크기 증가(hypertrophy)에 의해서 이루어진다고 알려져 있으며 지방의 축적을 감소시키기 위해선 세포의 크기보다는 세포의 수를 줄이는 것이 더욱 효율적인 방법이다. 현재 지방전구세포로부터 성숙지방세포로 분화가 지방축적에 매우 중요한 것으로 알려져 있으나(23), 지방세포 생성에 관한 생리학적인 이해는 매우 부족한 편이다(24). 이것과 관련된 cell line이나 primary fat cell을 이용한 세포 분화 연구(25-27)가 활발하게 진행되고 있는데 비만은 에너지의 계속된 과잉 공급으로 인해서 일어나는 현상이며 과잉된 에너지는 지방산을 거쳐 중성지방 형태로 지방세포에 축적되게 되며, 이때 지방세포의 숫자나 크기가 증가하면서 지방축적이 일어난다. 지금까지는 유전적 연구와 비유전적 연구를 통해서 지방세포 축적을 효율적으로 감소시키기 쉽지 않았는데 지방축적에는 여러 가지 이유가 있는데 여러 종류의 유전자가 관여하기 때문이라는 연구(28)가 발표되어있다.

또한 2010년 통계청에서 조사한 통계자료에 따르면 우리나라의 사망률로 가장 높게 나타난 것은 악성 신생물(암)인 것으로 조사되었다(29). 보건복지부의 국가 암정보센터의 암 발생률 통계자료에 의하면 갑상선암, 위암, 대장암, 폐암, 간암 순으로 높은 것으로 나타났고 백혈병 발생건수는 10만명당 조발생률 4.7명으로, 림프종, 골수종 등의 혈액암 발생건수를 포함한다면 6,152명으로 높은 발생건수를 보이고 있다(30). 그리고 암이 발생하였을 경우 치료방법으로 여러 가지 방법들이 있는데 그중 항암화학요법의 대표적인 부작용으로는 식욕부진, 구내염, 소화기관의 기능장애 등을 들 수 있기 때문에 식사섭취량에 직접적인 영향을 받게 되는 소화기계통 암에서 영양섭취량은 더 적고 영양 불량률은 더 높다고 알려져 있다(31,32). 항암 화학요법을 받는 외래 암환자 1,962명을 대상으로 영양불량 관련 위험 요인들을 조사한 연구 결과에서도 위암, 간·담도·췌장암, 식도암 순으로 체중 감소율이 높았으며 체중 감소가 클수록 열량과 단백질 섭취량이 유의적으로 적었고 섭취량이 적고 체중 감소가 큰 환자일수록 영양과 관련한 생화학적 검사수치가 낮은 것으로 나타났다(33). 식물로부터 유래한 대표적인 항암물질은 taxol, binblasin 등이 유명하는데 이러한 식물로부터 획득한 항암제가 각광을 받는 이유는 합성 항암제보다 치료에 유리하기 때문이라고 한다(34). 지금까지 개발되어 임상에 사용된 암 화학요법제로는 alkyl화제 항생물질 또는 백금착제, 동위원소화합물 등의 방법들이 있다

(35). 그러나 이러한 합성 화학제품들의 임상에서 사용할 때 부작용이 심한 것으로 나타나 암세포의 작용보다 정상세포나 조직에 더 크게 작용하여 골수세포, 임파세포, 파괴에 의한 저항력 약화 등의 2차 감염을 유발한다(36). 따라서 최선의 항암제는 암세포를 얼마나 잘 공격하느냐가 아닌 정상세포에 얼마나 부작용을 주지 않고 암세포를 선택적으로 공격할 수 있는지에 관심이 모이고 있다.

비파(*Eriobotrya japonica* Lindl.)는 당질, 비타민 및 무기질과 같은 영양소들을 골고루 함유하고 있어 식품으로서 가치가 높을 뿐만 아니라 우수한 약리효능이 계속해서 밝혀짐에 따라 건강 기능성식품 신소재로서 비파의 소비 역시 꾸준히 증가하고 있다(38). 비파나무는 장미과(*Resaceae*)의 상록교목으로 높이가 5 m 내외로 잎은 어긋나고 타원상의 긴 난형이며, 길이는 15~25 cm로 표면에는 털이 없으며 광택이 나고 뒷면에 털이 난다. 우리나라에서는 제주도, 경남 및 전남지방 등 온화한 기후 조건에서 주로 자생하고 있으며, 비파 잎은 예로부터 민간요법으로 청폐, 진해, 거담, 건위 및 이뇨의 효능이 있다고 하며, 폐열해소, 기관지염, 구역질, 딸꾹질 및 부종 등에 효능이 있다고 알려져 있고(39,40) Whang 등(37)의 연구를 보면 비파는 항암제로서 민간약으로 오래전부터 사용되어 왔고 이에 대한 연구들이 수행되어왔다. 특히 비파 잎에 있는 ursolic acid는 항암효과가 있는 것으로 나타났다(41).

비파 잎에는 sesquiterpene 배당체로서 ferulic acid, nerolidol 배당체 등이 함유되어 있으며(46), triterpene 계열의 화합물로서 ursolic acid, oleanolic acid, maslinic acid, tormentic acid, hyptadienic acid 등이 함유되어 있고 terpenoid와 flavonoid 등의 화합물을 다량 함유하고 있어, 항당뇨, 항산화, 항염증, 항돌연변이 및 항암활성 등이 보고되고 있으며, 비파 씨는 polyphenol 화합물 군과 amygdalin 등이 함유되어 있어 산화적 스트레스를 감소시키는 항산화 효과도 보고되고 있고(47-50) kaempherol 배당체, amygdalin을 가지고 있으며 항산화 작용을 가지고 있는 chlorogenic acid 등이 함유되어 있다고 알려져 있다(51,52). 또한 중국 및 일본에서는 만성천식에 대해 민간약으로 사용되어져 왔다(42). 비파는 사과, 배, 감귤, 감 등과 같이 과육의 발달된 형태에 따라 인과류에 속하며, 과육에는 carotenoid 색소를 많이 함유되어 있으며, 특히 숙성 후 당분이 많고 유기산이 적게 함유하고 있어 다른 과실류에 비하여 당산비가 비교적 높고 단맛이 강한 것이 특징이며(43,44) 주로 통조림, 잼, 젤리 등을 만드는 데 일부 이용되고 있다(45). 비파 과육은 여러 가지 이로운 약효성분을 함유하며 기호성이 뛰어난 과실로서 비파의 소비촉진 및 부가

가치 향상을 위해 기호성과 상품성을 높일 수 있는 각종 제품개발 및 저장성 향상에 관하여 연구를 적극적으로 해야 할 필요가 있는데 비해 비파에 관한 그 성분 함량, 조성보고에 대하여 일부 보고되어 있을 뿐, 비파의 영양성분, 생리활성 및 가공식품개발에 관한 연구는 아직 부족한 실정이다.

이 밖에도 비파에 다량 함유되어 있는 유용한 화합물들이 연구 보고되었는데 항산화 효과(53), 항당뇨 효과(54), 항염증 및 항암 효과(55-58), 항바이러스 효과(59,60)에 대한 연구가 보고되고 있다. 국내에서는 비파의 과육, 잎, 씨의 성분 분석 및 용매추출물의 생리활성(61-64), 항산화 및 항균활성(65,66), 방사선 조사 효과(67), 혈당 저하 효과(68) 등에 관한 연구가 진행되었다. 또한 비파에 함유된 수용성의 함황 아미노산들도 항암 또는 간 손상 방지 등에 효과가 있는 것으로 보고된 바 있다(69).

위에서 알아본 것과 같이 비파는 생리활성 성분이 다량 함유되어 있어서 새로운 기능성 소재로의 개발 잠재성이 높으나 국내외적으로 비파의 기능성에 대한 연구는 아직 미흡한 실정이다.

최근 들어서 우리나라 남해안 지역의 지리적, 기후적 특성이 비파재배에 적합한 것으로 판단되어 비파를 지역특화작목으로 육성하고 있어 그 재배면적이 증가하고 있는 추세이므로 제품화에 응용할 수 있는 다양한 기초 연구 자료가 필요한 실정이며 각종 건강식품 및 의약품 개발의 기초자료로서 국민건강 증진에 기여할 것으로 기대된다.

이에 본 연구에서도 약리효과와 생리활성 물질을 다량으로 함유하고 있는 것으로 알려진 비파의 과육, 씨, 잎을 가지고 생리활성 기능과 이용 가능성에 관한 연구의 일환으로 일반성분 및 영양성분 분석을 통해 비파의 영양 가치를 평가하고, *in vitro* 에서 항산화 효능 및 인체유래 3종의 암세포(위암, 폐암, 간암) 증식에 미치는 효과, 3T3-L1 지방전구세포와 돼지 지방전구세포의 증식과 분화 억제효과를 통한 항비만효과, *in vivo* 연구에서 알코올을 급여한 흰쥐의 간기능 개선 및 항산화 효과, 고지방-고콜레스테롤 식이를 급여한 흰쥐에서 콜레스테롤 저하 및 비만억제 효과를 살펴보고자 실시하였다.

## 제2장 재료 및 방법

### 제1절 실험재료

본 실험에 사용된 비과 (*Eriobotrya japonica* Lindl.) 열매와 잎은 2009년 6월 전라남도 목포시 전복마을 (Natural food- <http://www.0808.or.kr>)에서 구입하여 과육과 씨로 분리한 후 과육, 씨, 잎을 수세, 정선 및 탈수과정을 거쳐  $-70^{\circ}\text{C}$  동결건조기에 건조하여 분쇄기로 마쇄 후  $-70^{\circ}\text{C}$ 에서 냉동보관하면서 시료로 사용하였으며, 각 시험 항목에 대한 시료의 분석은 3회 반복 실시하였다.

### 제2절 성분분석

#### 1. 일반성분 분석

비과의 부위별 시료의 일반성분 분석은 Association of Official Analytical Chemists(A.O.A.C.)방법(78)에 준하여 실시하였으며, 수분은  $105^{\circ}\text{C}$  상압가열건조법, 조단백질은 micro-kjeldahl법, 조지방은 soxhlet 추출법 및 조회분은 회화법으로 분석하였고, 식이섬유소는 효소중량법(enzymatic-gravimetric method)에 의하여 분석하였다. 탄수화물은 100에서 수분, 조단백질, 조지방, 조회분 및 조섬유소 함량을 제외한 값으로 나타내었다.

## 2. 유리 아미노산 분석

유리 아미노산의 분석은 동결 건조한 분말 시료 2 g에 ethanol 20 mL을 가한 후 homogenizer로 10분 동안 교반하여 1,900 ×g에서 20분간 원심분리 하였고, 잔사에 다시 75% ethanol 10 mL를 첨가하여 homogenizer로 10분 동안 교반한 후 1,900 ×g에서 20분간 원심분리 하였다. 상층액을 합하여 감압농축한 후 증류수로 용해시켜 sulfosalicylic acid 20 mg을 첨가하여 4°C로 1시간동안 방치시킨 다음 다시 1,900 ×g에서 20분간 원심분리한 후, membrane filter (0.2 μm)로 여과시켜 Table 1 과 같이 아미노산 자동분석기(S433-H, Sykam GmbH, Germany)로 정량 분석하였다.

**Table 1. Operating conditions of amino acid auto-analyzer**

Instrument	S433-H (SYKAM)
Column	Cation separation column (LCA K07/Li)
Column size	4.6 × 150 mm
Column temperature	37 ~ 74°C
Flow rate	Buffer 0.45 mL/min, reagent 0.25 mL/min
Buffer pH range	2.90 ~ 7.95
Wavelength	440 m and 570 m

### 3. 지방산 분석

지방산 분석은 A.O.A.C.방법(78)에 준하여 비파의 각 부위별 시료들 5 g을 warming blender에 넣고 chloroform 10 mL와 methanol 20 mL을 가하고 2분간 균질화한 다음, chloroform 10 mL을 더 가한 후 30초간 균질화 하였다. 여과 후 30분간 방치한 후 상층을 제거하고 무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 를 가하여 탈수한 다음 rotary vacuum evaporator로 감압.농축하였다. 지방 100 mg을 toluene 5 mL에 용해하고 Wungaarden의 방법(79)에 따라  $\text{BF}_3$ -Methanol로 메틸화하여 Gas Chromatography (GC-17A, Shimadzu, Japan)로 분석하였으며 분석조건은 Table 2와 같다.

**Table 2. Operating conditions of gas chromatography for fatty acids**

Item	Condition
Instrument	GC-17A (Shimadzu, Japan)
Column	SP <sup>TM</sup> -2560 capillary column (100 mm length × 0.25 mm i.d. × 0.25 μm film thickness)
Oven temp.	120°C
Detector	FID detector
Analytic time	80 min/1 sample

## 4. 비타민 분석

비타민 A와 비타민 E 분석은 식품공전법(80)의 시험방법을 기준으로 수행하였다. 시료 0.5 g, ascorbic acid 0.1 g 및 ethanol 5 mL를 취하여 80°C에서 10분간 가열한 후 50% KOH용액 0.25 mL을 첨가하고 20분간 가열한 다음 증류수 24 mL와 hexane 5 mL를 가하여 1,900 ×g에서 20분간 Centrifugi 하였다. 상정액을 분리 후 hexane 40 mL를 가하고 Centrifugi하여 상정액을 분리한 다음 증류수를 가하여 10분간 방치 후 하층을 제거하였다. 이 과정을 3회 반복한 후, 전 용액을 합하여 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 탈수하고 rotary vacuum evaporator로 hexane을 감압농축한 후, HPLC (LC-10AVP, Shimadzu, Japan)로 분석하였으며 분석조건은 Table 3과 같다.

비타민 C 함량은 각 추출물을 0.2 μm membrane filter로 여과하여 HPLC로 분석하였으며, 분석조건은 Table 4와 같다. 표준곡선은 L(+)-ascorbic acid(Shinyo Pure Chemicals Co., LTD., Japan)를 표준시약으로 사용하여 최종농도가 25, 50, 75, 100 ppm이 되도록 표준곡선을 작성하여 계산하였다.

**Table 3. Operating conditions of HPLC for vitamin A and E**

Item	Condition
Instrument	LC-10AVP (Shimadzu, Japan)
Column	Shim-pack GLC-ODS (M) 25 cm
Eluent	acetonitrile : isopropanol = 95 : 5
Flow rate	1 mL/min.
Inj. volume	10 $\mu$ L
Detection	Retinol : SPD-10A (UV-VIS Detector 254 nm) Tocopherol : RF-10A (Spectrofluorometric Detector)

**Table 4. Operation conditions of HPLC for vitamin C**

Item	Condition
Instrument	Young-Rin Associates
Column	$\mu$ Bondapak C <sub>18</sub> (3.9 $\times$ 300 mm)
Mobile phase	0.1% phosphoric acid on water
Detector	UV 210 nm
Flow rate	0.6 mL/min



## 5. 무기질 분석

무기질 분석은 A.O.A.C.방법(78)에 따라 정량하였다. 시료 0.5 g, 20% HNO<sub>3</sub> 10 mL 및 60% HClO<sub>4</sub> 3 mL를 취하여 투명해질 때까지 가열한 후, 0.5 M HNO<sub>3</sub>으로 50 mL를 정용하였다. 분석항목별 표준용액을 혼합 후, 다른 vial에 8 mL씩 취하여 표준용액으로 하였고, 0.5 M HNO<sub>3</sub>을 대조구로 하여 원자흡수분광광도계 (AA-6501GS, Shimadzu, Japan)로 분석하였으며 분석조건은 Table 5와 같다.

**Table 5. Operating conditions of atomic absorption spectrophotometer for minerals**

Item	Condition							
Instrument	AA-6501GS (Shimadzu, Japan)							
Lamp Item	Ca	Fe	K	Mg	Mn	Cu	Na	Zn
Wave length (nm)	422.7	248.3	766.5	285.2	279.5	324.8	330.2	213.9
Current (mA)	10	12	10	8	10	6	10	8
Slit Width (nm)	0.5	0.2	0.5	0.5	0.2	0.5	0.2	0.5
Lighting Mode	BGC-D <sub>2</sub>	BGC-D <sub>2</sub>	Non-BGC	BGC-D <sub>2</sub>	BGC-D <sub>2</sub>	BGC-D <sub>2</sub>	Non-BGC	BGC-D <sub>2</sub>
Burner height (mm)	7	7	7	7	7	7	7	7
Fuel gas Flow (mL/min.)	2.0	2.2	2.0	1.8	2.0	1.8	1.8	2.0

## 6. 유기산 분석

유기산 분석은 A.O.A.C.방법(78)에 따라 시료 1 g에 증류수 50 mL를 가하여 80°C 수조에서 4시간 가열한 다음 Whatman filter paper (No. 2)로 여과하고, 여액을 rotary vacuum evaporator로 감압농축한 후 증류수로 10 mL로 정용하여 Ion Chromatography (DX-600, Dionex, USA)로 분석하였으며 분석조건은 Table 6과 같다.

**Table 6. Operating conditions of Ion chromatography for organic acids**

Item	Condition
Instrument	DX-600 (Dionex, USA)
Column	IonPac AS11-HS Analytical, 4-mm
Guard	Ionpac AG11-HS Guard, 4-mm
ELUENT	EGC-KOH Cartridge-38mM KOH
Flow rate	1.0 mL/min.
Inj. volume	10 $\mu$ L
Detection	ED50 Conductivity

## 7. 구성당 분석

구성당 분석은 Gancedo 방법(81)에 준하여 실시하였다. 시료 1 g에 80% ethanol 50 mL를 가하여 heating mantle에서 75°C로 5시간 가열한 다음 Whatman filter paper(No. 2)로 여과하고 여액을 rotary vacuum evaporator에서 감압농축 후 10 mL로 정용하여 Ion Chromatography (DX-600, Dionex, USA)로 총 7종의 당 (fructose, glucose, sucrose, rhamnose, fucose, maltose, fibose)을 분석하였으며, 분석조건은 Table 7과 같다.

**Table 7. Operating conditions of Ion chromatography for free sugars**

Item	Condition
Instrument	DX-600 (Dionex, USA)
Column	CarboPac TM-PA10 Analytical
Guard	CarboPac TM-PA10
Eluent	18 mM NaOH
Flow rate	1.0 mL/min.
Inj. volume	20 $\mu$ L
Detection	ED50 Intergrated Amperometry

## 제 3절 실험기기 및 시료 추출

### 1. 실험기기

1. Centrifuge : Combi-514R, Hanil, Inchun, Korea
2. Evaporator : Rotary vacuum evaporator, Eyela, Tokyo, Japan
3. Spectrophotometer : Shimadzu UV-1601PC, Kyoto, Japan
4. Deep freezer : MDF-U52V, Sanyo, Osaka, Japan
5. Shaking water bath : JEIO-TEK SWBO3, Inchun, Korea
6. Freeze dryer : ED 8512, Ilshin, yangju, Korea
7. Clinical chemistry analyzer : Fuji Dry-Chem 3500, Fujifilm, Tokyo, Japan
8. Ultra Turax : IKA MT-25 JEIO-TEK SWBO3, Korea
9. Liquid scintillation counter : Packard Tri-Carb 3170TR/SL, USA
10. Ultrasonic processor : VCX-750, USA
11. CO<sub>2</sub> incubator : MCO-18AIC, Japen
12. Rancimat : Metrohm Herisau, 679-Rancimat Switzerland

### 2. 재료 및 시료추출

#### 가. 비파 부위별 에탄올 추출

완숙한 비파 과육, 씨, 잎을 -70℃에서 동결건조 시킨 후 100 g당 80% ethanol 1500 mL을 첨가한 후 환류냉각관을 부착한 65℃의 Heating mantle(Mtops ms-265 Korea)에서 3시간씩 3회 추출한 다음 Whatman filter paper(No.2 China)로 여과하였으며, 여액을 40℃ 수욕 상에서 rotary vacuum evaporator(EYELA VACUUM NVC-1100 Tokyo, Japan)로 용매를 제거하고 감압농축한 후 비파 과육, 씨, 잎의 추출 수율을 구한다음 시료의 산화를 방지하기 위해 -70℃에 냉동 보관하였다. Lee와 Kim(82)의 연

구에서 80% 에탄올 추출물이 열수 추출물보다 더 높은 radical 소거활성을 보였으며, 높은 항산화 활성을 보였다고 하여 본 실험에서 에탄올 추출을 실시하였다.

## 나. 비파 부위별 추출 수율

비파 과육, 잎, 씨의 항산화효과를 검토하기 위하여 냉동 건조하여 마쇄한 시료를 80% 에탄올로 추출한 후 추출 수율은 Table 19와 같다. 비파 과육, 잎, 씨의 에탄올 수율은 각각 17.1%, 13.4%, 14.1%의 범위로 나왔으며, 과육에서 수율이 가장 높게 나타났다. Bae와 Chung등(66)의 연구에서는 비파 과육, 잎, 씨, 종자를 가지고 hexane, methanol, chloroform, water를 용매로 수율을 구하였는데 수율은 methanol에서 가장 높은 것으로 나타났다.

Table 8. Yield of 80% ethanol extracts from loquat

	Flesh	Leaf	Seed	Flesh	Leaf	Seed
	Extraction yields (%)			Yields (g/100 g)		
<b>Ethanol</b>	17.10	13.40	14.10	5.03	3.96	4.17

## 제4절 *In vitro*에서 비과 부위별 에탄올 추출물의 항산화 및 항암효과

### 1. 총 Polyphenol 함량 측정

비과의 부위별 에탄올 추출물의 총 polyphenol 함량은 Folin-Denis법(83)에 따라 측정하였다. Test tube에 비과 과육, 씨, 잎 에탄올 추출물을 각각 1 mL과 Folin reagent 2 mL을 넣은 후 실온에서 3분간 정치한 다음 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2 mL을 첨가하였고, 이를 혼합한 후 30°C에서 40분간 정치하였으며, UV-spectrophotometer (Shimadzu UV-1601PC, Kyoto, Japan)를 사용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 tannic acid를 이용하여 최종농도가 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mg/mL가 되도록 작성하였으며, 이 검량곡선으로부터 시료 중의 총 polyphenol 함량을 구했다.

### 2. 총 flavonoid 함량 측정

총 flavonoid 함량은 Davis법을 변형한 방법(84)에 따라 측정하였다. 비과 과육, 씨, 잎 에탄올 추출물을 각각 1 mL에 diethylene glycol 2 mL을 첨가한 다음 1N NaOH 20 µL을 넣고 37°C water bath에서 1시간 동안 반응시킨 후 UV-spectrophotometer(Shimadzu UV-1601PC, Kyoto, Japan)로 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 rutin을 이용하여 최종 농도가 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 및 1.0 mg/mL가 되도록 조제하였으며, 이 검량곡선으로부터 시료중의 flavonoid 함량을 구했다.

### 3. DHHP radical 소거능 측정

비파의 부위별 추출물의 DPPH(2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl) radical 소거능은 Blois의 방법(85)을 이용하여 측정하였다. 비파 과육, 씨, 잎 에탄올 추출물을 각각 1 mL과 0.2 mM DPPH 1 mL을 test tube에 취한 후 혼합하여 37°C에서 30분간 반응시켜 UV-spectrophotometer(Shimadzu UV-1601PC, Kyoto, Japan)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때, 활성의 비교를 위하여 합성 항산화제인 BHA, BHT를 이용하여 동일한 방법으로 측정하였다. 비파의 부위별 추출물의 라디칼 소거능은  $(1 - \text{시료첨가구의 흡광도} / \text{무첨가구의 흡광도}) \times 100$ 에 의하여 계산하여 나타냈다.

### 4. 항산화지수 측정

비파의 부위별 추출물에 포함된 용매를 완전히 제거한 함량이 600 ppm이 되도록 soybean oil(Sigma Co., USA)에 첨가하고, 초음파(Ultrasonic processor, UCX-750, USA)를 이용하여 시료 추출물과 유지가 잘 혼합되도록 하였다. Rancimat(Metrohm Herisau, 679-Rancimat Switzerland)의 측정 조건은 비파 과육, 씨, 잎 에탄올 추출물을 각각 3.0 g을 반응용기(reaction vessel)에 취하고 증류수 70 mL을 측정용기(measuring vessel)에 넣은 후 110°C에서 air flow rate 20 L/h로 하여 산화안정성을 비교하였다(86). 모든 측정치는 3회 반복 실험하여 얻은 값의 평균치로 표시하였다. 기존의 상업용 항산화제인 BHT를 유지에 대해 첨가하여 양성 대조군으로 비교 실험하였다.

## 5. 세포의 배양

본 실험에 사용한 암세포주는 인체 간암 세포인 HepG2, 인체 위암 세포인 AGS, 인체 폐암 세포인 A549로 충북대학교 수의학과에서 *in vitro* 배양해 오던 것을 사용하였다. HepG2, AGS 및 A549는 10% fetal bovine serum, 100 units/mL penicillin, 10 µg/mL streptomycin이 함유된 DMEM 배지가 들어있는 T-75 플라스크에 이식한 후 5% 이산화탄소가 유지되는 37°C 항온기에서 단일막으로 배양하였다. 배양된 각각의 세포는 일주일에 2~3회 신선한 새 배지로 갈아주고 6~7일 만에 phosphate buffered saline(PBS)로 세척한 후 0.05% trypsin-0.02% EDTA로 부착된 세포를 분리하여 원심분리한 후 집적된 세포에 배지를 넣고 피펫으로 세포가 골고루 분산되도록 잘 혼합한 다음 6~7일마다 계대배양하면서 실험에 사용하였다.

## 6. 간암, 폐암 및 위암의 암세포 생존율 측정

암세포 성장억제 효과를 측정하기 위해 Ishiyama 등(87)의 방법에 따라 MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay로 실험하였다. 즉,  $1 \times 10^5$  cell/well 농도로 96 well plate에 100 µL씩 분주한 후 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 24시간 배양 후, 전 배양에 사용된 배지를 제거하고 배지에 일정 농도로 희석된 추출물을 100 µL를 첨가하여 다시 24시간 배양하였다. 배양 완료 후 2 mg/mL 농도의 MTT 시약을 well 당 10 µL씩 분주한 다음 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 4시간 후 MTT 시약이 포함된 배지를 제거하고 DMSO(dimethyl sulfoxide Sigma Lot #84596) 100 µL를 가한 후 상온에서 발색시키고, ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) microplate reader (ELx808, Bio-tek® Inc., HighlandPark, USA)를 이용, 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\% \text{ of control} = \frac{\text{시료처리구의 흡광도}}{\text{control 흡광도}} \times 100$$



## 7. 통계처리

모든 실험은 3회씩 수행하였으며, 본 실험에서 얻어진 통계분석 결과는 SPSS(Statistical Package for Social Science)를 이용해서 통계 분석하였다. 실험군 당 평균±표준오차로 표시하였고, 그룹 간 평균 차에 대한 통계적 유의성을 검정하기 위해 일원배치 분산분석(one-way analysis of variance)을 실시 한 후  $p < 0.05$  수준에서 Tukey's test를 이용한 사후 검정(Post-Hoc test)을 실시하였다.

## 제5절 *In vitro*에서 비파 부위별 에탄올 추출물의 3T3-L1 지방전구세포와 돼지 지방전구세포의 증식과 분화억제 효과

### 1. 3T3-L1 지방전구세포 배양

3T3-L1 지방전구세포의 배양은 Chen 등(88)의 방법을 약간 변형하여 실시하였다. 분화유도 첫날에 3T3-L1 지방전구세포를 6-well tissue culture plates에  $3 \times 10^4$  cells/well로 seeding하고, 10% FBS를 포함한 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium)으로 세척한 날로부터 분화 측정일까지 14일 동안 2일 간격으로 배양액을 갈아주면서 37°C의 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양시켰다. 1일 후에 분화를 유도시키기 위해서 DMEM에 10 µg/mL insulin(INS), 1 µM dexamethasone(Dex), 0.5 nmol/L IBMX를 함유시켰고, 2일 후에는 같은 양인 10 µg/mL INS 만을 함유시켰다. 대조군으로는 DMSO를 사용하여 처리하였다.

### 2. 3T3-L1 지방전구세포 수 측정

3T3-L1 지방전구세포를 배양 첫날에  $1.8 \times 10^4$  cells/mL로 96 well plate에 seeding과 동시에 각각의 비파 부위별 에탄올 추출물 50 µL를 처리하고, 3T3-L1 지방전구세포 분화 이틀 전에 tetrazolium salt WST-1{4-[3-iodophenyl]-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3 -benzene disulfonate}을 이용하여 세포수를 측정하였다. DMEM으로 100 µL 넣은 뒤 37°C의 5% CO<sub>2</sub> incubator에 넣고 3시간 배양시킨 다음, microplate reader(Molecular Devices, CA, USA) 450 nm에서 흡광도를 측정하여 세포 수를 산출하였다.

### 3. 3T3-L1 지방전구세포 분화 측정

3T3-L1 지방전구세포의 성숙세포로의 분화 정도는 배양중인 세포의 glycerol-3-phosphate dehydrogenase(GPDH)의 활성도를 측정함으로써 규명하였는데 기본적으로 Wise와 Green(89)의 방법을 사용하였다.

GPDH는 dehydroxyaceton phosphate를 glycerol-3-phosphate로 전환시키는 효소로 glycerol-3-phosphate는 중성지방합성에 필요한 물질이기에 지방전구세포가 성숙한 지방세포로 분화됐는지를 구명할 수 있는 효소로 이용되고 있다. 세포배양이 끝난 후 6-well plate의 배양액을 완전히 제거하고 phosphate buffer saline (PBS)로 남아있는 배양액을 씻어낸 후 260  $\mu$ L homogenizing buffer (pH 7.4; 0.25 M sucrose, 5 mM Tris base, 1 mM EDTA, 1 mM dithiothreitol)를 이용하여 6-well plate의 세포를 scrapping하여 1.5 mL eppendorf tube에 수집해 가루 얼음 위에 꽂아두었다. 다음으로 6 watt로 10초 동안 세포를 sonication (Sonics & Materials, Ins.) 시켜 2,580  $\times$ g으로 4°C에서 10분 동안 원심분리 시켰다. 상층액(supernant) 200  $\mu$ L를 취해서 새로운 eppendorf tube에 옮긴 후 assay buffer (100 mM triethanolamine, 2.5 mM EDTA, 0.1 mM  $\beta$ -mercaptoethanol, 0.176 NADH) 800  $\mu$ L와 기질인 0.16  $\mu$ M dihydroxyacetone phosphate lithium solution 100  $\mu$ L 그리고 상층액 150  $\mu$ L를 cuvette에 넣고 shaking 한 뒤 spectrophotometer(Shimadzu UV-Visible Spectrophotometer, UV-1601, Japan)를 이용하여 340 nm에서 흡광도를 측정하여 GPDH 활성을 측정 하였다.

#### 4. 3T3-L1 지방전구세포의 중성지방 함량 측정

3T3-L1 지방전구세포의 분화 유도 중에 생성된 중성지방을 효소적인 방법으로 확인하였다. 분화 유도 및 유지된 세포를 PBS를 이용하여 3회 수세한 후, 200  $\mu$ L의 M-PER mammalian cell extraction solution (Pierce, USA)를 넣어 세포를 삼투압 파쇄 방법으로 분쇄하였다. 분쇄한 세포용액은 1.5 mL microtube에 옮긴 후, 30분간 얼음에서 방치하여 세포가 완전하게 용해되도록 하였다. 시간 경과 후, 4°C에서 1,792  $\times$ g로 원심 분리하여 상층액을 실험에 사용하였다. Glycerol standard (Sigma, USA)을 이용하여 농도별로 희석한 후 (39.0625~2500  $\mu$ g/mL), 대조군으로 사용하였다. 96 well ELISA plate에 160  $\mu$ L의 free glycerol reagent를 넣고 5  $\mu$ L의 water(blank), glycerol standard, sample을 각각의 well에 넣었다. Tapping하여 plate를 흔들어 각 well의 용액이 섞이도록 한다. 37°C에서 5분간 배양하였다. 540 nm에서 initial absorbance (IA)를 측정하였다. 각 well에 40  $\mu$ L의 triglyceride reagent를 넣고 tapping 하여 섞어준 후, 37°C에서 5분간 추가적으로 반응시켰다. 540 nm에서 final absorbance (FA)를 측정한다. IA와 FA를 이용하여 sample내의 glycerol, true triglyceride, total triglyceride의 농도를 산출하였다.

## 5. 돼지 지방전구세포 배양

돼지 지방전구세포(preadipocytes)는 신생자돈의 등지방 조직에서 분리해서 배양을 하였는데, 세포분리 및 배양은 Suryawan 등(90)의 실험 방법에 따라서 실시하였다. 본 연구에서 사용한 돼지 전구세포의 분리 및 배양 방법은 생후 1~2일령 된 체중 1.6~1.7 kg 신생 자돈을 CO<sub>2</sub> gas를 이용하여 질식사 시킨 후 등지방 조직을 떼어내었다. 이 조직을 잘게 세절한 후에 collagenase와 함께 shaking water bath에서 40분 동안 배양한 후 250  $\mu$ L nylon screen으로 여과해서 소화 안 된 지방조직을 제거하였다. 여과 후 1,500  $\times$ g으로 10분 동안 원심분리 해서 지방전구세포가 들어있는 침전물을 KRB (Kreb's ringer bicarbonate) buffer에 녹여서 1,796  $\times$ g으로 10분간 원심분리 후에 75  $\mu$ L nylon screen으로 여과 후 지방전구세포를 얻게 되었다. 10% FBS를 함유한 DMEM/F-12를 이용해서 6 well plate에 세포를 접종하였으며 세포분화에 미치는 영향을 측정하기 위해 well 당  $0.5 \times 10^6$ 의 세포에 접종하여서 배양하였다.

## 6. 돼지 지방전구세포 수 측정

돼지 지방전구세포의 수 측정은 세포배양이 끝난 후에 trypsin 처리에 의해 측정했는데 그 방법을 설명하면 다음과 같다. 세포의 증식기가 끝난 후 6 well plate에서 배지를 모두 제거하고 plate에 versene 2 mL와 trypsin 400  $\mu$ L를 넣고 섞은 뒤에 5분 동안 incubation시켜 세포가 바닥에서 떨어지게 하였으며 1.5 mL eppendorf tube에 cell을 수집하였다. cell suspension 10  $\mu$ L를 사용하여 Hematocytometer (Wenk Labtec)에 의해서 세포수를 측정하는 방법을 사용하였다. cell suspension 10  $\mu$ L를 사용하여 Hematocytometer에 의해 세포수를 측정했다.

## 7. 돼지 지방전구세포 분화 측정

돼지 지방전구세포의 성숙세포로의 분화 정도는 Wise와 Green(89)의 방법으로 배양중인 세포의 glycerol-3-phosphate dehydrogenase (GPDH)의 활성도를 측정함으로써 규명하였는데 GPDH는 dehydroxyaceton phosphate를 glycerol-3-phosphate로 바꾸는데 관여하는 효소이다. 이 glycerol-3-phosphate는 triglyceride 합성의 원료가 되고 중성지방은 성숙한 지방세포에서 만들어지기 때문에 GPDH 활성도를 지방전구세포의 성숙 지방전구세포로의 분화 정도를 측정하는 효소로 사용되었다.

## 8. 돼지 지방전구세포의 중성지방 함량 측정

돼지 지방전구세포의 분화 유도 중에 생성된 중성지방을 효소적인 방법으로 확인하였다. 분화 유도 및 유지된 세포를 PBS를 이용하여 3회 수세한 후, 200  $\mu$ L의 M-PER mammalian cell extraction solution (Pierce, USA)를 넣어 세포를 삼투압 파쇄 방법으로 분쇄하였다. 분쇄한 세포용액은 1.5 ml microtube에 옮긴 후, 30분간 얼음에서 방치하여 세포가 완전하게 용해되도록 하였다. 시간 경과 후, 4°C에서 10,000 x g로 원심 분리하여 상청 액을 실험에 사용하였다. Glycerol standard (Sigma, USA)을 이용하여 농도별로 희석한 후(39.0625 ~ 2500  $\mu$ g/mL), 대조군으로 사용하였다. 96 well ELISA plate에 160  $\mu$ L의 Free glycerol reagent를 넣고 5  $\mu$ L의 water (blank), glycerol standard, sample을 각각의 well에 넣었다. Tapping하여 plate를 흔들어 각 well의 용액이 섞이도록 한다. 37°C에서 5분간 배양하였다. 540 nm에서 initial absorbance (IA)를 측정하였다. 각 well에 40  $\mu$ L의 triglyceride reagent를 넣고 tapping 하여 섞어준 후, 37°C에서 5분간 추가적으로 반응시켰다. 540 nm에서 final absorbance (FA)를 측정한다. IA와 FA를 이용하여 sample내의 glycerol, true triglyceride, total triglyceride의 농도를 산출하였다.

## 9. Oil Red O staining

Preadipocyte의 분화 및 성숙 6일 후에 배지를 제거한 후 PBS를 이용하여 수차례 세척하고 10% formalin 용액을 이용하여 세포를 고정하고 세포내 생성된 lipid droplet과 특이적으로 반응하는 0.3% Oil Red O (Sigma O0625) 용액을 이용하여 염색하였다. 염색된 세포는 현미경 관찰 후 isopropanol을 이용하여 용해한 뒤 450 nm에서 흡광도를 측정 한 후 대조군의 흡광도 값에 대한 백분율로 나타내었다.

## 제6절 비파 부위별 에탄올 추출물이 알코올을 투여한 흰쥐 에서 간 기능 개선 및 항산화효과

### 1. 실험동물의 사육 및 식이

실험동물은 Sprague Dawley계 5주령 수컷 흰쥐 64 마리를 중앙실험동물(주)에서 구입하여 조선대학교 실험동물센터에서 1주일 간 고형배합사료로 적응시킨 후, 평균 체중 207.1~207.5 g인 것을 난괴법(randomized block design)에 따라 각 처리 군 당 8마리씩 8군으로 나누어 스테인레스 케이지에 1마리씩 분리하여 4주간 사육하였다. 실험군(Table 8)은 정상군(N), 알코올 단독투여군(대조군, C), 비파 과육 추출물 체중 kg당 400 mg 단독투여군(LF), 알코올과 비파 과육 추출물 체중 kg당 400 mg 병합투여군(LFE), 비파 씨 추출물 체중 kg당 400 mg 단독투여군(LS), 알코올과 비파 씨 추출물 체중 kg당 400 mg 병합투여군(LSE), 비파 잎 추출물 체중 kg당 400 mg 단독투여군(LL), 알코올과 비파 잎 추출물 체중 kg당 400 mg 병합투여군(LLE)으로 나누어 실험하였으며 알코올과 비파 부위별 추출물은 존대를 이용하여 경구 투여하였다. 실험에 사용된 식이는 AIN-93 정제식이를 기준(91)으로 변형하여 조제하였으며 Table 9와 같다. 정상군은 식이무게의 10%의 Corn oil을 지방 급원으로 사용하였고, 물과 식이는 제한 없이 공급하였으며, 사육실 온도는  $18\pm 2^{\circ}\text{C}$ 로 유지하였으며 조명은 12시간 주기(08:00~20:00)로 조절하였다. 최종 체중에서 실험개시 전의 체중을 감하여 실험개시 전의 체중으로 나누어 체중 증가율로 표시하였고, 사육기간의 체중증가량을 동일 기간의 식이섭취량으로 나누어 각 실험군의 식이효율(feed efficiency ratio, FER)을 구하였다.



**Table 9. Experimental design of antioxidant**

<b>Groups</b>	<b>Diet composition</b>
<b>N<sup>1)</sup></b>	Normal diet
<b>C<sup>2)</sup></b>	Normal diet + Alcohol
<b>LF<sup>3)</sup></b>	Normal diet + Loquat Flesh
<b>LFE</b>	Normal diet + Loquat Flesh + Alcohol
<b>LS<sup>4)</sup></b>	Normal diet + Loquat Seed
<b>LSE</b>	Normal diet + Loquat Seed + Alcohol
<b>LL<sup>5)</sup></b>	Normal diet + Loquat Leaf
<b>LLE</b>	Normal diet + Loquat Leaf + Alcohol

<sup>1),2)</sup>Modified AIN-93 diet(91).

<sup>3)</sup>LF: Modified AIN-93 diet + Loquat Flesh extract 400 mg/kg of b.w./day

<sup>4)</sup>LS: Modified AIN-93 diet + Loquat Seed extract 400 mg/kg of b.w./day

<sup>5)</sup>LL: Modified AIN-93 diet + Loquat Leaf extract 400 mg/kg of b.w./day

Table 10. Composition of experimental diet

(g/kg)	
Diet composition	Normal diet
Casein	200
L-methionine	3
Corn starch	500
Sucrose	100
Cellulose	50
Corn oil	100
Mineral mix <sup>1)</sup>	35
Vitamin mix <sup>2)</sup>	10
Choline chloride	2

<sup>1,2)</sup> AIN-93-MX mineral mixture and AIN-93-VX vitamin mixture(91).

## 2. 실험동물의 처리

실험동물은 사양시험 종료 후 12시간 절식시킨 후 CO<sub>2</sub>로 가볍게 마취한 다음 단두 절단하여 혈액을 채취하고 1,150 ×g에서 20분간 원심분리 시킨 후 혈청을 분리하여 혈청 지질 함량 및 효소 활성 측정용 시료로 사용하였다. 그리고 간과 지방조직을 적출하여 0.9% 생리식염수로 남아 있는 혈액 및 기타 부착물질을 제거하고 여지로 수분을 제거한 후 중량을 측정한 다음 효소 활성 저하를 예방하기 위해 급속 동결하여 -70°C의 deep freezer에 보관하였다.

## 3. 혈청 효소 활성 측정

혈청 중 alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP) 및 lactate dehydrogenase (LDH) 함량은 혈액생화학적 검사 자동분석기(Fuji Dri-Chem 3500, Fujifilm, Japan)를 사용하여 측정하였다.

## 4. 혈청 지질 함량 측정

혈청 중 중성지방(TG), 총콜레스테롤(TC), HDL-콜레스테롤 함량은 혈액생화학적 검사 자동분석기(Fuji Dri-Chem 3500, Fujifilm, Japan)를 사용하여 측정하였다. LDL-콜레스테롤 함량은 Friedwald식 {총콜레스테롤 - (HDL-콜레스테롤 - 중성지방/5)}(92)에 의하여 계산하였다. 심혈관계질환의 위험도 판정에 이용되는 동맥경화지수(atherogenic index, AI)는 {(총콜레스테롤 - HDL-콜레스테롤)/HDL-콜레스테롤}(93)에 의하여 구하였으며, 심혈관위험지수 (cardiac risk factor, CRF)(93)는 총콜레스테롤을 HDL-콜레스테롤로 나누어 구하였다.

## 5. 간조직의 지질 함량 측정

간조직의 중성지방과 총콜레스테롤 함량 분석을 위하여 먼저 Folch 방법(94)에 의하여 간조직에서 총지질을 추출하였다. 적출한 간조직 중 0.1 g을 칭량하여 6 mL  $\text{CHCl}_3$ -MeOH (2 : 1, v/v)을 첨가하여 냉장상태에서 3일간 방치한 후  $\text{H}_2\text{O}$ 를 첨가하고 1,900 ×g에서 20분간 원심분리 시킨 후 지질층인 하층부를 취한 다음 총콜레스테롤과 중성지방 함량 분석을 위하여 사용하였다. 총콜레스테롤 함량은 Zlatkis와 Zak의 방법(95)에 의하여 측정하였으며, 중성지방함량은 Biggs 등(96)의 방법으로 측정하였다.

## 6. 간 조직 중 GSH 함량 측정

간 조직 중 glutathione (GSH) 함량은 Tietze의 방법(97)을 변형하여 측정하였는데 간 조직 0.1 g과 10배 (w/v)의 5%(w/v) sulfosalicylic acid 2 mL을 첨가하여 마쇄한 다음 10,000 ×g 에서 10분간 원심분리한 후 상정액을 GSH 함량 측정을 위하여 사용하였다. 시험관에 working buffer 700  $\mu\text{L}$ , 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid 100  $\mu\text{L}$ , 20  $\mu\text{L}$  시료액 및 180  $\mu\text{L}$  증류수를 가하여 30°C에서 3분간 방치한 후 GSSG reductase 용액 5  $\mu\text{L}$ 를 첨가하고 412 nm에서 1분 동안 변화되는 흡광도를 측정하였다. 0.04 mM GSH를 제조하여 표준곡선을 그린 후 흡광도에 대한 농도를 환산하였다.

## 7. 간 조직 중 과산화지질 함량 측정

과산화지질(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) 함량 측정은 Buege와 Aust의 방법(98)에 따라 균질화한 간 조직의 단백질 함량을 일정하게 맞춘 다음 TBA 시약(0.375% TBA in 0.25 N HCl)에 butylated hydroxytoluene의 최종 함량이 0.01%가 되도록 첨가하고, 균질액을 가하여 잘 혼합한 후 98°C로 15분간 가열한 다음 즉시 냉각시켜 1,500 ×g로 15분간 원심분리하였다. 상정액의 흡광도는 535 nm에서 측정하였는데, 과산화지질 함량은 TBA법을 사용하여 malondialdehyde (MDA) 함량으로 정량하였다.

## 8. 통계처리

본 실험에서 얻어진 통계분석 결과는 SPSS (Statistical Package for Social Science)를 이용해서 통계 분석하였다. 실험군당 평균±표준오차로 표시하였고, 그룹간 평균차에 대한 통계적 유의성을 검정하기 위해 일원배치 분산분석(one-way analysis of variance)을 실시 한 후  $p < 0.05$  수준에서 Tukey's test를 이용한 사후검정(Post-Hoc test)을 실시하였다.

## 제7절 비파 부위별 에탄올 추출물의 고지방-고콜레스테롤 식이를 급여한 흰쥐에서 콜레스테롤 저하 및 비만억제 효과

### 1. 실험동물의 사육 및 식이

실험동물은 Sprague Dawley계 5주령 수컷 흰쥐 64 마리를 중앙실험동물(주)에서 구입하여 조선대학교 실험동물센터에서 1주일 간 고형배합사료로 적응시킨 후, 평균 체중 205~210 g인 것을 난괴법(randomized block design)에 따라 각 처리 군당 8마리씩 8군으로 나누어 스테인레스 케이지에 1마리씩 분리하여 4주간 사육하였다. Table 10에서와 같이 실험군은 정상식이군(ND), 고지방-고콜레스테롤 식이군(HCD, 대조군), 고지방-고콜레스테롤 식이와 비파 과육 저농도(200 mg/kg)투여군(HCD-FL), 고지방-고콜레스테롤 식이와 비파 과육 고농도(400 mg/kg)투여군(HCD-FH), 고지방-고콜레스테롤 식이와 비파 씨 저농도(200 mg/kg)투여군(HCD-SL), 고지방-고콜레스테롤 식이와 비파 씨 고농도(400 mg/kg)투여군(HCD-SH), 고지방-고콜레스테롤 식이와 비파 잎 저농도(200 mg/kg)투여군(HCD-LL), 고지방-고콜레스테롤 식이와 비파 잎 고농도(400 mg/kg)투여군(HCD-LH)으로 나누어 실험하였다. 실험에 사용된 식이는 AIN-93 정제식이를 기준(91)으로 변형하여 조제하였으며 Table 11과 같다. 정상식이군은 식이무게의 10%의 lard를 지방 급원으로 사용하였고, 고지방-고콜레스테롤 식이군은 식이무게의 20%의 lard와 1%의 cholesterol을 지방 급원으로 사용하였다. 물과 식이는 제한 없이 공급하였고 사육실 온도는 18±2℃로 유지하였으며, 조명은 12시간 주기(08:00~20:00)로 조절하였다. 최종 체중에서 실험개시 전의 체중을 감하여 실험개시 전의 체중으로 나누어 체중증가율로 표시하였고, 사육기간의 체중증가량을 동일 기간의 식이섭취량으로 나누어 각 실험군의 식이효율(feed efficiency ratio, FER)을 구하였다.

**Table 11. Experimental design of hyperlipidemia and obesity**

<b>Groups</b>	<b>Diet composition</b>
<b>ND<sup>1)</sup></b>	Normal diet
<b>HCD<sup>2)</sup></b>	High fat diet + High Cholesterol
<b>HCD-FL</b>	High fat diet + High Cholesterol + Loquat Flesh Low <sup>3)</sup>
<b>HCD-FH</b>	High fat diet + High Cholesterol + Loquat Flesh High <sup>4)</sup>
<b>HCD-SL</b>	High fat diet + High Cholesterol + Loquat Seed Low <sup>5)</sup>
<b>HCD-SH</b>	High fat diet + High Cholesterol + Loquat Seed High <sup>6)</sup>
<b>HCD-LL</b>	High fat diet + High Cholesterol + Loquat Leaf Low <sup>7)</sup>
<b>HCD-LH</b>	High fat diet + High Cholesterol + Loquat Leaf High <sup>8)</sup>

<sup>1),2)</sup>Modified AIN-93 diet composition(91).

<sup>3)</sup>HCD-FL: High fat-High cholesterol diet + Loquat flesh ethanol extract 200 mg/kg of b.w./day.

<sup>4)</sup>HCD-FH: High fat-High cholesterol diet + Loquat flesh ethanol extract 400 mg/kg of b.w./day.

<sup>5)</sup>HCD-SL: High fat-High cholesterol diet + Loquat seed ethanol extract 200 mg/kg of b.w./day.

<sup>6)</sup>HCD-SH: High fat-High cholesterol diet + Loquat seed ethanol extract 400 mg/kg of b.w./day.

<sup>7)</sup>HCD-LL: High fat-High cholesterol diet + Loquat leaf ethanol extract 200 mg/kg of b.w./day.

<sup>8)</sup>HCD-LH: High fat-High cholesterol diet + Loquat leaf ethanol extract 400 mg/kg of b.w./day.

Table 12. Composition of experimental diet

Diet composition	(g/kg)	
	Normal diet	High fat-High cholesterol diet
Casein	200	200
L-methionine	3	3
Corn starch	500	390
Sucrose	100	100
Cellulose	50	50
Lard	100	200
Mineral mix <sup>1)</sup>	35	35
Vitamin mix <sup>2)</sup>	10	10
Choline chloride	2	2
Cholesterol	-	10

<sup>1,2)</sup> AIN-93-MX mineral mixture and AIN-93-VX vitamin mixture(91).



## 2. 실험동물의 처리

실험동물은 사양시험 종료 후 12시간 절식시킨 뒤에 CO<sub>2</sub>로 가볍게 마취한 다음 단두 절단하여 혈액을 채취하고 1,150 ×g에서 20분간 원심분리 시킨 후 혈청을 분리하여 혈청 지질 함량 및 효소 활성 측정용 시료로 사용하였다. 그리고 간과 지방 조직을 적출하여 0.9% 생리식염수로 남아 있는 혈액 및 기타 부착물질을 제거하고 여지로 수분을 제거한 후 중량을 측정한 다음 효소 활성 저하를 예방하기 위해 급속 동결하여 -70°C의 deep freezer에 보관하였다.

## 3. 혈청 효소 활성 및 포도당 함량 측정

혈청 중 ALT, AST, ALP 및 LDH 활성과 포도당의 함량은 혈액생화학적 검사 자동분석기(Fuji Dri-Chem 3500, Fujifilm, Japan)를 사용하여 측정하였다.

## 4. 혈청 지질 함량 측정

혈청 중 중성지방(TG), 총콜레스테롤(TC), HDL-콜레스테롤 함량은 혈액생화학적 검사 자동분석기(Fuji Dri-Chem 3500, Fujifilm, Japan)를 사용하여 측정하였다. LDL-콜레스테롤 함량은 Friedwald식 {총콜레스테롤 - (HDL-콜레스테롤 - 중성지방/5)}(92)에 의하여 계산하였다. 심혈관계질환의 위험도 판정에 이용되는 동맥경화지수 (atherogenic index, AI)는 {(총콜레스테롤 - HDL-콜레스테롤)/HDL-콜레스테롤}(93)에 의하여 구하였으며, 심혈관위험지수(cardiac risk factor, CRF)(93)는 총콜레스테롤을 HDL-콜레스테롤로 나누어 구하였다.

## 5. 간조직의 지질 함량 측정

간조직의 중성지방과 총콜레스테롤 함량 분석을 위하여 먼저 Folch 방법(94)에 의하여 간조직에서 총지질을 추출하였다. 적출한 간조직 중 0.1 g을 칭량하여 6 mL  $\text{CHCl}_3$ -MeOH (2 : 1, v/v)을 첨가하여 냉장상태에서 3일간 방치한 후  $\text{H}_2\text{O}$ 를 첨가하고 1,900 ×g에서 20분간 원심분리 시킨 후 지질층인 하층부를 취한 다음 총콜레스테롤과 중성지방 함량 분석을 위하여 사용하였다. 총콜레스테롤 함량은 Zlatkis와 Zak의 방법(95)에 의하여 측정하였으며, 중성지방함량은 Biggs 등(96)의 방법으로 측정하였다.

## 6. 지방조직의 지질 함량 측정

적출한 장간막지방조직과 부고환지방조직은 Folch 등(94)의 방법으로 지방을 추출한 후 간조직의 지질 함량 측정과 동일한 방법으로 총콜레스테롤과 중성지방 함량을 측정하였다.

## 7. 지방조직의 LPL 활성 측정

부고환지방조직과 장간막지방조직의 heparin-releasable LPL (HR-LPL) 활성은 heparin을 함유한 배양액 중으로 방출된 지방조직의 세포외액에 함유된 LPL만의 활성을 측정하는 것으로, Nilsson-Ehle과 Schotz의 방법(99)을 변형시킨 Fried와 Zechner의 방법(100)에 의하여 측정하였다. 지방조직의 LPL은 세포외액 뿐만 아니라 세포내액에도 함유되어 있는데, microsome 안에 있는 잠재적인 LPL을 포함한 총체적인 LPL 활성을 측정하는 것이 total extractable LPL (TE-LPL) 활성 측정으로 Iverius와 Brunzell의 방법(99)에 의해 실시하였다.

## 8. 통계처리

본 실험에서 얻어진 통계분석 결과는 SPSS (Statistical Package for Social Science)를 이용해서 통계 분석하였다. 실험군당 평균±표준오차로 표시하였고, 그룹 간 평균차에 대한 통계적 유의성을 검정하기 위해 일원배치 분산분석(one-way analysis of variance)을 실시 한 후  $p < 0.05$  수준에서 Tukey's test를 이용한 사후 검정(Post-Hoc test)을 실시하였다.

## 제3장 실험결과 및 고찰

### 제1절 성분분석

#### 1. 일반성분

본 실험에서 사용한 비파의 부위별 일반성분 함량은 Table 13과 같고 건량 기준 (dry basis)으로 비파의 과육, 잎, 씨의 수분 함량은 각각  $4.85\pm 0.21\%$ ,  $2.78\pm 0.13\%$ ,  $3.35\pm 0.35\%$ , 조단백질  $0.15\pm 0.02\%$ ,  $6.74\pm 0.31\%$ ,  $5.51\pm 1.03\%$ , 조지방  $1.03\pm 0.01\%$ ,  $7.87\pm 0.38\%$ ,  $1.25\pm 0.19\%$ , 조회분  $3.55\pm 0.11\%$ ,  $6.99\pm 0.15\%$ ,  $2.89\pm 0.34\%$ , 조섬유소  $4.07\pm 0.27\%$ ,  $43.61\pm 1.31\%$ ,  $4.25\pm 0.08\%$ , 탄수화물  $92.72\pm 2.87\%$ ,  $32.01\pm 1.83\%$ ,  $85.63\pm 3.13\%$ 였다. Bae와 Shim(102)이 한국산 비파의 과육, 잎, 씨 일반성분을 습량 기준으로 분석한 결과 비파의 조단백질 1.44%, 5.23%, 4.31% 조지방 0.44%, 3.25%, 0.76% 조회분 1.22%, 5.71%, 7.50%로 나타났다. 또한 Lee와 Kim(103)등이 비파의 잎의 일반성분을 분석한 결과 조단백 3.37%, 조지방 0.26%, 조회분 3.43%로 나타났다.

본 실험의 비파가 선행연구 결과에 비하여 조단백질, 조지방, 조회분의 함량이 더 높게 나타났다. 이러한 성분의 차이는 비파의 품종 및 재배환경, 비파의 채취 시기, 건조 상태의 차이로 기인 된 것으로 사료된다.

**Table 13. Proximate compositions of loquat**

(% dry basis)

Items	Flesh	Leaf	Seed
Moisture	4.85 ± 0.21 <sup>2)a</sup>	2.78 ± 0.13 <sup>c</sup>	3.35 ± 0.35 <sup>b</sup>
Crude protein	0.15 ± 0.02 <sup>b</sup>	6.74 ± 0.31 <sup>a</sup>	5.51 ± 1.03 <sup>a</sup>
Crude fat	1.03 ± 0.01 <sup>b</sup>	7.87 ± 0.38 <sup>a</sup>	1.25 ± 0.19 <sup>b</sup>
Crude ash	3.55 ± 0.11 <sup>b</sup>	6.99 ± 0.15 <sup>a</sup>	2.89 ± 0.34 <sup>bc</sup>
Crude fiber	4.07 ± 0.27 <sup>b</sup>	43.61 ± 1.31 <sup>a</sup>	4.25 ± 0.08 <sup>b</sup>
Carbohydrate <sup>1)</sup>	86.35 ± 2.87 <sup>a</sup>	32.01 ± 1.83 <sup>b</sup>	82.75 ± 3.13 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Carbohydrate = 100 - (Moisture + Crude protein + Crude fat + Crude ash + Crude fiber)

<sup>2)</sup>Values with different superscript in the same row significantly different (p<0.05) among groups by Tukey's test.

## 2. 유리아미노산

비과의 부위별(과육, 잎, 씨) 유리아미노산의 함량은 Table 14와 같다. 총 10종의 유리아미노산이 검출되었으며, 총 아미노산 함량은 비과 과육, 잎, 씨에 각각  $63.0 \pm 3.67$  mg%,  $552.43 \pm 26.87$  mg%,  $260.29 \pm 11.34$  mg%였다. 그 중 phosphoserine은 비과 씨가  $107.50 \pm 7.61$  mg%로 가장 높았고 proline은 비과 잎이  $125.35 \pm 9.33$  mg%로 높았으며, glutamic acid도  $232.42 \pm 12.75$  mg%로 가장 높게 나타났다. Bae와 Shim(102)이 한국산 비과의 부위별 유리아미노산을 분석한 결과 glutamic acid가 과육, 잎, 씨에서 각각 56.96 mg%, 280.22 mg%, 74.79로 가장 높게 나타났고  $\gamma$ -amino-n-butyric acid가 잎과 씨에서 116.60 mg%, 50.72 mg%로 나타났으며, proline은 잎에서 131.82 mg% 순으로 높게 나타났다고 보고되어 있고, Lee와 Park(104)등의 실험도 glutamic acid가 높게 나타나 본 실험과 비슷한 결과를 보였다. Jung 등(105)의 보고에 의하면 감 잎에서는 alanine, cystine, proline, valine, threonine의 순으로 함량이 높았으며, 녹차 잎에서는 alanine, serine, valine, glutamic acid, proline의 순으로 함량이 높았다고 보고하였는데 본 실험에서는 glutamic acid, proline,  $\gamma$ -amino-n-butyric acid, phosphoserine의 순으로 조사되었는데 이는 잎의 종류에 따라 유리아미노산의 조성이 다르기 때문이라 생각된다.

**Table 14. Contents of free amino acids in loquat**

(mg%)

Amino acid	Flesh	Leaf	Seed
Phosphoserine	1.85 ± 0.11 <sup>2)c</sup>	58.30 ± 3.15 <sup>b</sup>	107.50 ± 7.61 <sup>a</sup>
Proline	1.24 ± 0.09 <sup>c</sup>	125.35 ± 9.33 <sup>a</sup>	23.04 ± 0.18 <sup>b</sup>
Glutamic acid	50.33 ± 3.13 <sup>b</sup>	232.42 ± 12.75 <sup>a</sup>	66.34 ± 1.09 <sup>b</sup>
Glycine	0.69 ± 0.02 <sup>b</sup>	2.55 ± 0.26 <sup>a</sup>	0.28 ± 0.11 <sup>c</sup>
Alanine	1.50 ± 0.05 <sup>b</sup>	5.37 ± 0.19 <sup>a</sup>	0.09 ± 0.01 <sup>bc</sup>
Valine	0.89 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.60 ± 0.03 <sup>b</sup>	12.07 ± 0.15 <sup>a</sup>
Isoleucine	0.21 ± 0.01 <sup>c</sup>	7.05 ± 0.17 <sup>a</sup>	0.91 ± 0.02 <sup>b</sup>
Phenylalanine	0.02 ± 0.01 <sup>c</sup>	20.15 ± 0.38 <sup>a</sup>	0.82 ± 0.04 <sup>b</sup>
γ-amino-n-butyrac acid	5.92 ± 0.21 <sup>c</sup>	98.39 ± 0.51 <sup>a</sup>	48.32 ± 1.97 <sup>b</sup>
Arginine	0.35 ± 0.02 <sup>c</sup>	2.25 ± 0.10 <sup>a</sup>	0.92 ± 0.16 <sup>b</sup>
Total AA <sup>1)</sup>	63.00 ± 3.67 <sup>c</sup>	552.43 ± 26.87 <sup>a</sup>	260.29 ± 11.34 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Total AA: Total amino acid.

<sup>2)</sup>Values with different superscript in the same row significantly different (p<0.05) among groups by Tukey's test.

### 3. 지방산

비과의 부위별(과육, 잎, 씨) 지방산 조성은 Table 15와 같다. 구성 지방산 중 포화지방산은 비과 과육에서 stearic acid  $35.04 \pm 2.18\%$ , lauric acid  $10.25 \pm 0.32\%$ , myristic acid  $12.44 \pm 0.55\%$ , pentadecanoic acid  $10.37 \pm 0.29\%$ 이고 비과 잎에서 stearic acid  $38.54 \pm 1.18\%$ , lauric acid  $9.02 \pm 0.21\%$ , myristic acid  $12.13 \pm 0.34\%$ , pentadecanoic acid  $6.43 \pm 0.19\%$ 이며 비과 씨에서 stearic acid  $21.72 \pm 1.07\%$ , lauric acid  $13.91 \pm 0.41\%$ , myristic acid  $10.11 \pm 0.25\%$ , pentadecanoic acid  $5.23 \pm 0.19\%$ 가 검출되었다. 불포화지방산은 비과 과육에서 oleic acid  $24.88 \pm 0.87\%$ , linoleic acid  $7.02 \pm 0.52\%$ , 비과 잎에서 oleic acid  $28.05 \pm 1.04\%$ , linoleic acid  $5.83 \pm 0.61\%$ , 비과 씨에서 oleic acid  $32.60 \pm 1.60\%$ , linoleic acid  $16.43 \pm 0.81\%$ 가 검출되었고, 비과 씨에서 oleic acid가 다른 부위보다 높게 검출되었으며, linoleic acid는 전체적으로 소량 검출되었다. Lee와 Park 등(104)의 국내산 비과의 화학적 성분 분석을 한 실험에서 비과 씨의 지질 함량을 조사한 결과에는 palmitic acid가 23.72%로 다량 함유된 것으로 나왔는데 본 실험의 결과에서는 비과 씨에서 oleic acid가 32.60%로 가장 많이 함유된 것으로 나타나 차이를 보였고 포화지방산은 stearic acid가 21.72%로 가장 높게 나타났다. 따라서 비과의 부위에 따라 지방산의 조성이 각기 다른 것으로 나타났다. 한편 oleic acid는 혈중 중성지방 및 콜레스테롤을 저하시켜 동맥경화와 같은 성인병 예방에 유효한 것으로 알려져 있어(106) 비과가 성인병 예방에 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다.



**Table 15. Compositions of fatty acids of loquat**

(%)

Fatty acid	Flesh	Leaf	Seed
<b>Saturates</b>			
Lauric acid (C12:0)	10.25 ± 0.32 <sup>3b</sup>	9.02 ± 0.21 <sup>b</sup>	13.91 ± 0.41 <sup>a</sup>
Myristic acid (C14:0)	12.44 ± 0.55 <sup>a</sup>	12.13 ± 0.34 <sup>a</sup>	10.11 ± 0.25 <sup>ab</sup>
Pentadecanoic acid (C15:0)	10.37 ± 0.29 <sup>a</sup>	6.43 ± 0.19 <sup>b</sup>	5.23 ± 0.19 <sup>b</sup>
Stearic acid (C18:0)	35.04 ± 2.18 <sup>a</sup>	38.54 ± 1.18 <sup>a</sup>	21.72 ± 1.07 <sup>b</sup>
<b>Polyenes</b>			
Oleic acid (C18:1n9c)	24.88 ± 0.87 <sup>b</sup>	28.05 ± 1.04 <sup>b</sup>	32.60 ± 1.60 <sup>a</sup>
Linoleic acid (C18:2n9,12c)	7.02 ± 0.52 <sup>b</sup>	5.83 ± 0.61 <sup>b</sup>	16.43 ± 0.81 <sup>a</sup>
Total	100.00	100.00	100.00
SFA <sup>1)</sup>	82.10 ± 3.67 <sup>a</sup>	66.12 ± 1.99 <sup>b</sup>	50.97 ± 2.91
PUFA <sup>2)</sup>	17.90 ± 0.81 <sup>c</sup>	33.80 ± 1.08 <sup>b</sup>	49.03 ± 1.71 <sup>a</sup>
PUFA/SFA	0.22 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.51 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.96 ± 0.04 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>SFA: Saturated fatty acids.

<sup>2)</sup>PUFA: Polyunsaturated fatty acids.

<sup>3)</sup>Values with different superscript in the same row significantly different (p<0.05) among groups by Tukey's test.

## 4. 비타민

비파의 부위별(과육, 잎, 씨) 비타민 A, E 및 C의 함량을 분석한 결과는 Table 16과 같다. 비파 과육에서 비타민 A  $0.103 \pm 0.012$  mg%, 비타민 E  $0.054 \pm 0.008$  mg%, 비타민 C  $1.050 \pm 0.045$  mg%가 검출되었고 비파 잎에서 비타민 A  $0.039 \pm 0.007$  mg%, 비타민 E  $0.096 \pm 0.009$  mg%, 비타민 C  $0.570 \pm 0.031$  mg%가 검출되었으며 비파 씨에서는 비타민 A  $0.093 \pm 0.005$  mg%, 비타민 E  $0.035 \pm 0.006$  mg%, 비타민 C  $3.52 \pm 0.033$  mg%가 검출되었다. 본 실험에서는 비파 과육, 잎, 씨에서 모두 비타민 C의 함량이 높은 것으로 나타났다.

비타민 A, E 및 C는 항산화 비타민으로 알려져 있으며, 이들은 주로 활성 산소를 제거하여 세포의 산화적 스트레스(oxidative stress)를 완화시키는 기능을 담당한다. 특히 비타민 E는 혈액, 세포벽 및 세포내에서 지방질의 산화를 막는 강력한 항산화 영양소로 알려져 있다. Bae와 Shim(102)의 연구에서 비파의 과육, 잎, 씨에서 비타민 C 함량이 1.26 mg%, 0.68 mg%, 4.90 mg%가 검출되었다고 보고하였는데 본 실험에 사용된 비파도 분석 결과 이와 유사한 결과를 보였다. 비파 잎은 헛개나무 잎 133 mg%(107)과 밤 잎 12.5 mg%(108)에 비하여 비타민 C의 함량은 적으나, 항산화 비타민으로 알려진 비타민 A와 E도 함유하고 있어 생체 내에서 산화적 스트레스를 완화시켜줄 수 있을 것이라 사료(103)된다.

Table 16. Contents of vitamin A, E and C in loquat

(mg%)

Vitamin	Flesh	Leaf	Seed
A	0.103 ± 0.012 <sup>1)a</sup>	0.039 ± 0.007 <sup>b</sup>	0.093 ± 0.005 <sup>a</sup>
E	0.054 ± 0.008 <sup>b</sup>	0.096 ± 0.009 <sup>a</sup>	0.035 ± 0.006 <sup>b</sup>
C	1.050 ± 0.045 <sup>b</sup>	0.570 ± 0.031 <sup>c</sup>	3.520 ± 0.033 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Values with different superscript in the same row significantly different (p<0.05) among groups by Tukey's test.

## 5. 무기질

비파의 부위별(과육, 잎, 씨) 무기질 함량은 Table 17과 같다. 총 9종의 무기질 성분이 검출되었으며, 이 중 Ca 함량은 비파 잎에서  $1892.60 \pm 21.33$  mg%로 가장 높게 검출되었고 K 함량은 비파 씨에서  $1519.20 \pm 10.55$  mg%, Mg 함량도 비파 씨에서  $1038.22 \pm 10.10$  mg%로 가장 높게 검출되었다. 다음으로 Na, Fe, Mn, Zn 순이었으며 Cu의 함량은 비파 잎과 비파 씨에서 미량 함유하는 것으로 나타났다.

Bae와 Shim(102)의 연구에서 비파의 과육, 잎, 씨의 무기질 함량 중 Ca은 541 ppm, 2458 ppm, 588 ppm K은 661 ppm, 1480 ppm, 1528 ppm 및 Na은 86.6 ppm, 95.7 ppm, 107.3 ppm 순으로 높게 검출된 것으로 조사되었다. 또한 비파의 주요 구성 무기질이 Ca과 K으로 본 실험과 유사하게 나타났다. 항산화 무기질로 알려진 Fe, Mn, Zn 및 Cu 등은 종류에 따라 항산화계에 미치는 작용기전은 차이가 있는 것으로 알려져 있다(109). 또한 Fe는 경우  $H_2O_2$ 를 제거하여 catalase의 구성성분으로 작용하여 체내에서 항산화 작용을 나타내지만 과량 섭취할 경우 철이나 구리 등의 천이금속 이온이 과산화수소와 반응하여 hydroxy radical을 생성하는 반응 (fenton 반응)을 촉진하는 pro-oxidant로 작용하는 양면성을 가지고 있다(110). Mn은 Mn-SOD의 구성성분으로서 free radical을 제거하는데 관여하며 결핍 시 미토콘드리아내의 지질과산화물이 증가한다고 보고되었다(111). Cu는 SOD 효소의 보조인자이며 헤모글로빈 생성에 필수영양소이지만 과량섭취 시 Fe와 마찬가지로 pro-oxidant로 작용하게 된다(112). Cu와 Zn은 체내에서 metallothionein에 대해서로 경쟁적인 관계에 있으며, 상호 길항작용으로 체내에서 항상성을 유지하는 것으로 알려져 있다(113). 비파의 성분 중에 이러한 항산화 무기질이 함유되어 있어 인체의 생리기능에 긍정적인 영향을 미칠 것으로 사료된다.

**Table 17. Contents of minerals in loquat**

(mg%)			
<b>Mineral</b>	<b>Flesh</b>	<b>Leaf</b>	<b>Seed</b>
Ca	490.25 ± 11.04 <sup>1)b</sup>	1892.60 ± 21.33 <sup>a</sup>	551.71 ± 9.54 <sup>c</sup>
Fe	7.13 ± 0.18 <sup>c</sup>	27.67 ± 1.89 <sup>a</sup>	19.67 ± 1.30 <sup>b</sup>
K	658.45 ± 13.47 <sup>c</sup>	1244.90 ± 11.34 <sup>b</sup>	1519.20 ± 10.55 <sup>a</sup>
Mg	281.30 ± 8.02 <sup>b</sup>	150.10 ± 3.78 <sup>c</sup>	1038.22 ± 10.10 <sup>a</sup>
Mn	5.42 ± 0.41 <sup>b</sup>	20.32 ± 1.37 <sup>a</sup>	8.37 ± 0.93 <sup>b</sup>
Cu	-	-	5.35 ± 0.75
Na	49.52 ± 2.87 <sup>b</sup>	56.59 ± 3.41 <sup>a</sup>	58.40 ± 1.12 <sup>a</sup>
Zn	2.30 ± 0.33 <sup>b</sup>	4.08 ± 0.19 <sup>a</sup>	1.95 ± 0.19 <sup>b</sup>
P	2035.00 ± 28.09 <sup>b</sup>	1015.00 ± 19.31 <sup>c</sup>	4026.00 ± 38.21 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Values with different superscript in the same row significantly different (p<0.05) among groups by Tukey's test.

## 6. 유기산

비파의 부위별(과육, 잎, 씨) 유기산 함량은 Table 18과 같다. 총 6종을 분석하여 5종의 유기산이 검출되었으며, 비파 과육, 잎, 씨에서 각각 oxalic acid 함량이  $32.54 \pm 1.15$  mg%,  $982.40 \pm 12.58$  mg%,  $13.25 \pm 0.20$  mg%, succinic acid 함량이  $0.96 \pm 0.02$  mg%,  $0.93 \pm 0.15$  mg%,  $0.14 \pm 0.03$  mg%, citric acid 함량은  $5.01 \pm 0.17$  mg%,  $11.08 \pm 0.77$  mg%,  $24.30 \pm 0.49$  mg%, maleic acid  $195.40 \pm 6.13$  mg%,  $45.56 \pm 1.21$  mg%,  $1.22 \pm 0.14$  mg%가 검출되었다. 그리고 fumaric acid는 비파 과육에서는 검출되지 않았고 비파 잎과 비파 씨에서 각각  $0.95 \pm 0.16$  mg%,  $0.13 \pm 0.01$  mg%이 검출되었다. Bae와 Shim의 연구(102)에 의하면 비파의 과육, 잎, 씨에서 각각 oxalic acid  $29.62$  mg%,  $1693.70$  mg%,  $11.30$  mg%, malic acid  $201.70$  mg%,  $47.81$  mg%,  $0.54$  mg%, citric acid  $4.52$ mg%,  $10.63$  mg%,  $25.70$  mg%가 검출되었다. 또한 Park 등(114)의 비파 잎의 유기산 조성에 대한 연구에서는 fumaric acid, citric acid, malic acid, maleic acid, oalic acid, succinic acid 순으로 총 6종 검출되었는데, 이는 잎의 종류에 따라 유기산의 조성에 차이를 보이는 것으로 사료된다.

Table 18. Contents of organic acids in loquat

(mg%)

Organic acid	Flesh	Leaf	Seed
Succinic acid	0.96 ± 0.02 <sup>1)a</sup>	0.93 ± 0.15 <sup>a</sup>	0.14 ± 0.03 <sup>b</sup>
Maleic acid	195.40 ± 6.13 <sup>a</sup>	46.56 ± 1.21 <sup>b</sup>	1.22 ± 0.14 <sup>c</sup>
Citric acid	5.01 ± 0.17 <sup>c</sup>	11.08 ± 0.77 <sup>b</sup>	24.30 ± 0.49 <sup>a</sup>
Oxalic acid	32.54 ± 1.15 <sup>b</sup>	982.40 ± 12.58 <sup>a</sup>	13.25 ± 0.20 <sup>c</sup>
Fumaric acid	-	0.95 ± 0.16 <sup>a</sup>	0.13 ± 0.01 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Values with different superscript in the same row significantly different (p<0.05) among groups by Tukey's test.

## 7. 구성당

비파의 부위별 구성당 함량은 Table 19와 같다. 총 7종을 분석 하였으며 4종의 당이 검출되었고 이중 fructose가 과육에서  $3064.21 \pm 23.01$  mg%로 가장 많이 검출되었으며, 비파 잎에서는 rhamnose가  $3391.84 \pm 19.84$  mg%로 가장 많이 검출되었고 비파 씨에서 sucrose가  $3122.05 \pm 13.08$  mg%로 가장 많이 검출되었다. maltose는 비파 과육에서는 미량 검출되었고, 비파 잎에서  $663.27 \pm 8.90$  mg%, glucose는 비파 과육, 잎, 씨에서 각각  $78.83 \pm 2.71$  mg%,  $651.65 \pm 7.66$  mg%,  $137.45 \pm 3.47$  mg%가 검출되었다.

Cho 등(43)의 연구에서 비파의 완숙과와 미숙과의 구성당을 분석한 결과 완숙과에서 fructose와 glucose, sucrose 함량이 미숙과에 비하여 2배 이상 증가한 것으로 나타났다. Bae와 Shim (102)의 연구에 의하면 비파의 과육, 잎, 씨의 유리당은 총 6종의 당이 검출되었고, xylose와 fructose가 미량 검출된 것으로 나타났으며, Bae 등(115)의 보고에서 비파 잎의 유리당 함량은 fructose, glucose 및 xylose 등의 순으로 높게 나타났다고 하여 본 실험에 사용 된 비파의 당 성분과 유사한 것으로 나타났다.



Table 19. Contents of free sugars in loquat

(mg%)

Free sugar	Flesh	Leaf	Seed
Rhamnose	-	3391.84 ± 19.84 <sup>Ns</sup>	3122.05 ± 22.08
Maltose	Tr	663.27 ± 8.90 <sup>Ns</sup>	-
Glucose	78.83 ± 2.71 <sup>1)c</sup>	651.65 ± 7.66 <sup>a</sup>	137.45 ± 3.47 <sup>b</sup>
Sucrose	1021.40 ± 13.08 <sup>a</sup>	785.40 ± 9.31 <sup>b</sup>	151.39 ± 2.90 <sup>c</sup>
Fructose	3064.21 ± 23.01 <sup>a</sup>	1638.41 ± 12.93 <sup>b</sup>	1325.64 ± 10.92 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Values with different superscript in the same row significantly different (p<0.05) among groups by Tukey's test.

## 제2절 *In vitro* 에서 비과 부위별 에탄올 추출물의 항산화 효능 및 항암 효과

### 1. 총 polyphenol 함량

본 실험에 사용한 비과의 부위별 추출물의 종류별 총 polyphenol의 함량은 Table 20과 같다. 과육에서  $17.77 \pm 1.05$  mg/mL, 잎에서  $32.32 \pm 1.41$  mg/mL, 씨에서  $28.06 \pm 0.88$  mg/mL를 함유하고 있는 것으로 나타나 잎에서 가장 높게 나타났고 비과 씨, 과육 순으로 나타났다.

Park(116) 등에 의하며 비과 부위별 에탄올 추출물의 총 페놀 함량을 조사한 결과 잎, 씨, 과육 순으로 나타났다고 하였으며, 부위별 비과 메탄올 추출물 중 방사선 조사 비과 잎에서 85.0 mg/g, 방사선 비조사 비과 잎에서 94.2 mg/g 함유하고 있다고 보고하였다(117). 잎을 이용한 다류에서 생리활성을 나타낼 수 있는 성분으로는 항산화 비타민 및 flavonoids를 비롯한 polyphenol류를 들 수 있다. 페놀성 화합물은 여러 가지 식물류에 널리 분포되어 있는 것으로 알려져 있으며 일반적으로 수용성이고 flavonoid류가 주를 이루며 단순한 phenol류, phenolic acid류, phenyl propanoid류, phenol성 quinone류 등을 포함한다(70). 녹차 및 보이차 메탄올 추출물에서는 10.15 mg/g, 6.00 mg/g 함유하는 것으로 보고하였으며(118), 녹차 및 발효차 열수 추출물에서 각각 35.7~46.8 mg/g, 23.5~23.9 mg/g 함유한다고 보고하였다(119). 또한 Kim 등(120)은 동백 잎의 총 polyphenol의 함량은 0.47~0.67%로 채취시기가 늦어질수록 증가하는 것으로 나타났다고 보고하였다. Phenolic compound는 식물의 대표적인 2차 대사산물로 hydroxyl기를 가지는 방향족 화합물로 다양한 생리활성에 관여하는 것으로 알려져 있으며, 항산화 활성은 페놀성 화합물의 종류나 함량이 미치는 영향이 큰 것으로 알려져 있다(121-123). 본 연구결과 비과의 부위별 에탄올 추출물의 총 polyphenol 함량이 다량 검출된 것으로 보아 체내에서 항산화 작용을 할 것으로 사료된다.

Table 20. Contents of total polyphenol in loquat

	Total polyphenol contents (mg/mL)
Flesh <sup>1)</sup>	17.77 ± 1.05 <sup>4)c</sup>
Leaf <sup>2)</sup>	32.32 ± 1.41 <sup>a</sup>
Seed <sup>3)</sup>	28.06 ± 0.88 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Flesh : *E. japonica* Lindl. flesh ethanol extract 500 ppm (0.5 mg/mL)

<sup>2)</sup>Leaf : *E. japonica* Lindl. leaf ethanol extract 500 ppm (0.5 mg/mL)

<sup>3)</sup>Seed: *E. japonica* Lindl. seed ethanol extract 500 ppm (0.5 mg/mL)

<sup>4)</sup>Abbreviations: different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

## 2. 총 flavonoid 함량

비과의 부위별 추출물의 농도별 총 flavonoid 함량은 Table 21과 같다. 총 flavonoid 함량 분석 결과 500 ppm에서 과육  $18.77 \pm 1.03$  mg/mL, 잎  $28.73 \pm 0.92$  mg/mL, 씨  $21.35 \pm 1.01$  mg/mL으로 나타나 잎에서 가장 높게 나타나 총 함량이 잎, 씨, 과육 순으로 조사되었다.

Jeong 등(124)의 연구에서 비과 열수 추출물 중 총 flavonoid 함량은 10.54 mg/g 이었으며, Lee와 Kim(82)의 비과 생잎, 동결건조 및 가열 건조한 잎의 에탄올 추출물에서 flavonoid 함량은 각각 110.3 mg/g, 90.9 mg/g 및 76.4 mg/g으로 함유하였다. 녹차 잎 열수 추출물에서는 413.3  $\mu$ g/g, 1년 저장한 녹차의 열수 추출물은 345.1  $\mu$ g/g으로 저장기간이 길어짐에 따라 flavonoid 함량이 적어지는 것으로 나타났다(125). Flavonoids는 직접 항산화 효소활성을 증가시키거나 free radical damage를 촉진하는 Fe, Cu ion과 안정적 금속이온 복합체를 형성하고 free radical 을 직접 scavenging하여 세포막과 세포내 물질을 보호한다(126-128). 따라서 비과의 부위별 에탄올 추출물에 함유되어 있는 polyphenol 및 flavonoid는 직접 항산화 효소활성을 증가시켜 항산화계에 영향을 미칠 것으로 사료된다.

Table 21. Contents of total flavonoid in loquat

	Total flavonoid contents (mg/mL)
Flesh <sup>1)</sup>	18.77 ± 1.03 <sup>4)c</sup>
Leaf <sup>2)</sup>	28.73 ± 0.92 <sup>a</sup>
Seed <sup>3)</sup>	21.35 ± 1.01 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Flesh : Loquat flesh ethanol extract 500 ppm (0.5 mg/mL)

<sup>2)</sup>Leaf : Loquat leaf ethanol extract 500 ppm (0.5 mg/mL)

<sup>3)</sup>Seed : Loquat seed ethanol extract 500 ppm (0.5 mg/mL)

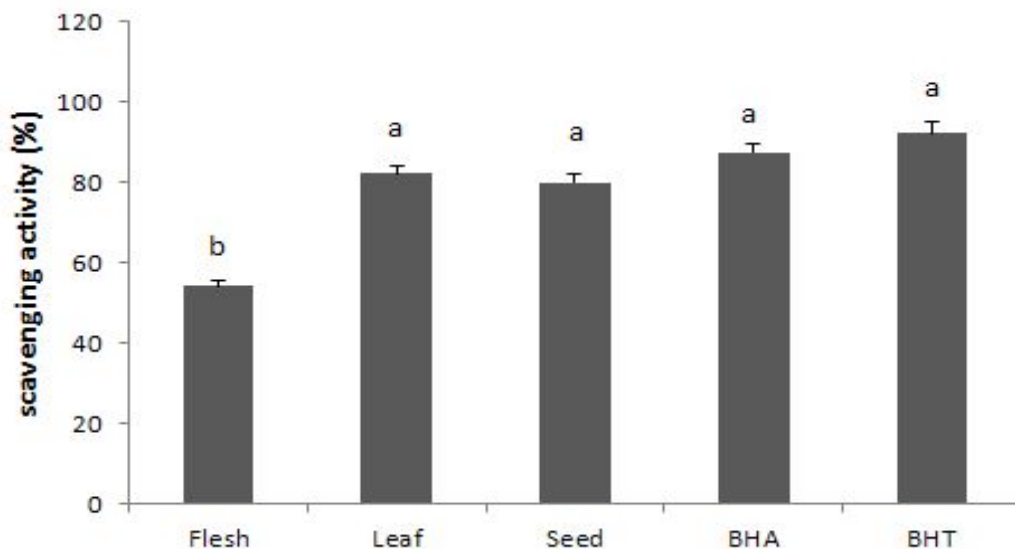
<sup>4)</sup>Abbreviations: different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

### 3. DPPH radical 소거능

DPPH는 비교적 안정한 free radical로 ascorbic acid, tocopherol, polyhydroxy 방향족 화합물, 방향족 아민류에 의해 환원되어 짙은 자색으로 탁색되는 원리를 이용하여 항산화 활성을 측정하며, 식물 추출물의 항산화 활성을 간단히 측정할 수 있는 동시에 실제 항산화 활성과도 연관성이 매우 높아 많이 이용되는 방법이다(132). 또한 천연물의 항산화 활성은 자유라디칼에 전자를 공여하여 산화를 억제하는 능력, 즉 DPPH의 전자공여능을 측정하는 방법이 가장 많이 이용되고 있는데 최근 양파, 소태나무, 배암차즈기, 오디 등과 같은 약용식물에서도 매우 높은 전자공여능이 확인되었다(133-136).

비파의 부위별 추출물의 DPPH radical 소거능은 Fig. 1과 같다. 500 ppm에서 비파 과육이 54.32%, 비파 잎이 82.12%, 비파 씨가 79.92%의 소거능을 보였으며, 이는 비파의 부위에 따라서 항산화 활성도 변화되는 것을 볼 수 있었다. 특히 비파 잎과 비파 씨에서 대조구인 500 ppm BHT 및 BHA와 비슷한 수준으로 높은 항산화 활성이 나타났다.

Lee와 Kim 등(82)의 비파 잎 추출물의 항산화 활성 연구에서 비파 잎 80% ethanol 추출물이 비파 잎 열수 추출물보다 더 높은 radical 소거활성을 보였으며, 이러한 결과는 Koba 등(129)도 비파 종자, 과피, 과실 등을 대상으로 실시한 추출용매별 DPPH 소거활성 평가에서 ethanol 추출물이 열수 추출물보다 효과적이었다고 보고하였다. 특히 생잎에서  $SC_{50}$ 이 1.71 mg/mL로 가장 높은 활성을 보였다고 하였다. 또한 녹차잎 및 보이차잎 메탄올 추출물에서 전자공여능은 각각 80.81%와 42.43%로 나타났다고 하였으며(130), polyphenol 함량이 높을수록 전자공여능이 높고 추출시간이 증가할수록 그 효능이 크게 나타나는 경향이 있다고 보고되었다(131).



**Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of loquat flesh, leaf and seed ethanol extracts**

BHA : butylated hydroxyanisole 500 ppm (0.5 mg/mL)

BHT : butylated hydroxytoulene 500 ppm (0.5 mg/mL)

Flesh : Loquat flesh ethanol extract 500 ppm (0.5mg/mL)

Leaf : Loquat leaf ethanol extract 500 ppm (0.5mg/mL)

Seed : Loquat seed ethanol extract 500 ppm (0.5mg/mL)

Abbreviations: different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

#### 4. 항산화지수

Rancimat (Metrohm model 679, Herisan, Switzerland)에 의한 항산화능 측정은 공기에 의한 지질 산패도를 반영하는 것으로 각 시료를 첨가한 실험군에서 유지의 복잡한 산화과정 중 유도기간 마지막에 상당량의 저분자량 휘발성 카보닐산이 유리되는 양을 측정한다(137).

Rancimat에 의한 항산화능 측정결과는 Table 22, Fig. 2와 같이 비파의 부위별 에탄올 추출물의 종류에 따라 항산화능을 측정할 수 있었다. 500 ppm에서 비파 부위별 에탄올 추출물의 유도기간이 과육이  $7.58 \pm 0.03$  시간이었으며, 잎이  $10.99 \pm 0.04$  시간, 씨가  $10.04 \pm 0.05$  시간으로 합성 항산화제인 500 ppm BHT의  $11.21 \pm 0.06$  시간과 비슷한 수준으로 나타났다.

Dural(138)과 Park(139)에 따르면 페놀성 물질은 다양한 구조와 분자량을 가지며, 이것들의 phenolic hydroxyl이 단백질처럼 거대분자와 결합하여 항산화, 항균, 그리고 항암 등의 생리기능을 가지는 것으로 알려져 있다. 페놀 물질 함량이 높을수록 기능성물질로 유용하게 활용할 수 있다는 점에서 항산화물질인 polyphenol 및 flavonoid를 다량 함유하고 있는 비파 잎과 씨 추출물이 유용할 것으로 판단된다.



**Table 22. Antioxidative activities of loquat ethanol extracts on soybean oil**

	IP <sup>1)</sup>
Control	5.54 ± 0.02 <sup>c6)</sup>
Flesh <sup>2)</sup>	7.58 ± 0.03 <sup>b</sup>
Leaf <sup>3)</sup>	10.99 ± 0.04 <sup>a</sup>
Seed <sup>4)</sup>	10.04 ± 0.05 <sup>a</sup>
BHT <sup>5)</sup>	11.21 ± 0.06 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Induction period (IP) of oil was determined by Rancimat's test at 110°C.

<sup>2)</sup>Flesh : Loquat flesh ethanol extract 500 ppm (0.5 mg/mL)

<sup>3)</sup>Leaf : Loquat leaves ethanol extract 500 ppm (0.5 mg/mL)

<sup>3)</sup>Seed : Loquat seed ethanol extract 500 ppm (0.5 mg/mL)

<sup>5)</sup>BHT : butylated hydroxytoulene 500 ppm (0.5 mg/mL)

<sup>6)</sup>Abbreviations: different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test

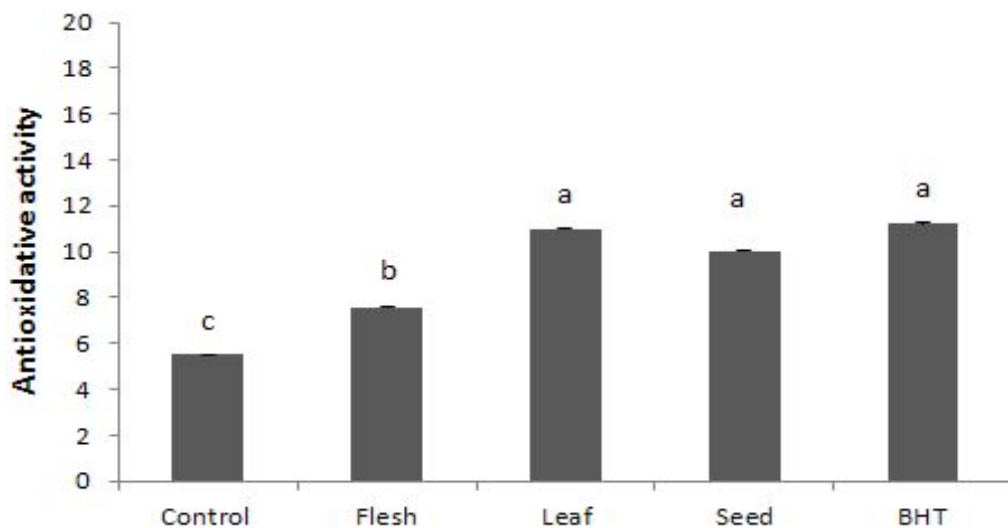


Fig. 2. Antioxidative activities of loquat flesh, leaf and seed ethanol extracts on soybean oil

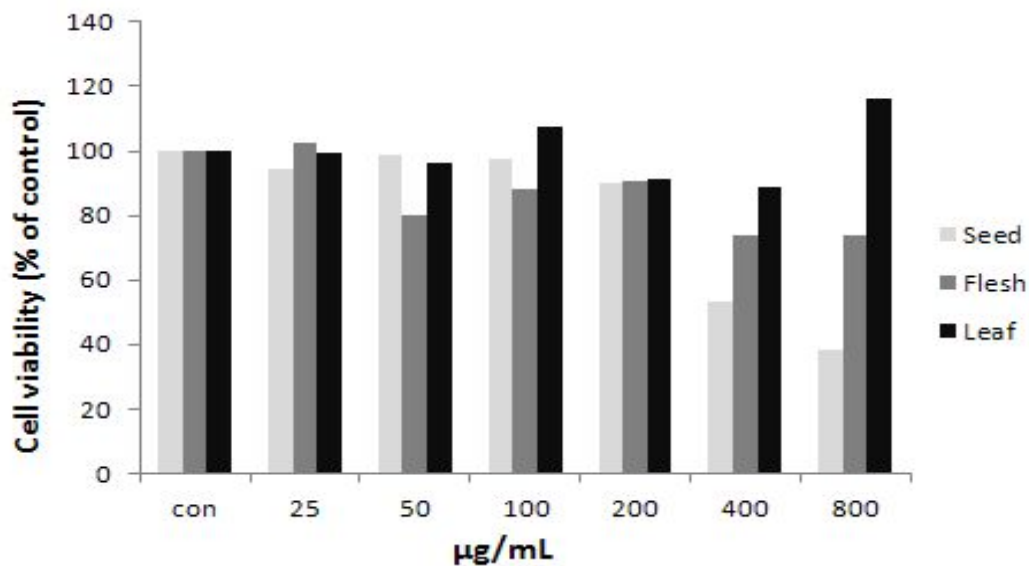
Abbreviations: different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

## 5. 간암의 암세포 생존율 측정

비파 부위별(씨, 과육, 잎) 추출물의 간암세포 성장억제 효과를 측정하기 위해 간암(H460) 세포주를 대상으로 MTT assay를 이용한 세포생존율을 측정하였다. 씨, 과육, 잎 추출물별로 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL, 800 µg/mL의 단계별 농도에 대한 측정 결과를 Fig. 3에 나타내었다.

간암 세포에 대한 항산화 효과를 살펴보면 비파 씨 에탄올 추출물의 경우 농도가 증가할수록 간암 세포의 생존율이 농도 의존적으로 저하되었으며 400 µg/mL부터 유의하게 항암효과가 나타났고, 800 µg/mL의 농도일 때 간암 세포 생존율이 가장 많이 저하된 것으로 나타났다. 비파 과육 에탄올 추출물의 경우에도 400 µg/mL부터 항암 효과가 나타났으나 비파 씨 에탄올 추출물에 비해서 효과가 덜 나타나는 경향을 보였다. 그리고 비파 잎 에탄올 추출물의 경우 간암세포의 생존율에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

Whang 등(37)등의 비파 추출물의 항암성 검증 연구에서 유방암 세포주(H7822), 간암 세포주(HepG2), 위암 세포주(KATOIII)에 비파 분획물들이 특이적으로 강하게 항암 반응을 보였고 다른 정상세포들에는 별다른 영향을 주지 않았다는 결과도 연구되어있다. 본 실험에서의 결과도 이와 마찬가지로 비파 추출물의 암세포 생존율 연구에서 확인되었고 그 중에서도 비파 씨 추출물이 간암세포의 경우 항암효과가 뛰어난 것으로 확인되었다.



**Fig. 3. H460 cell viabilities of loquat flesh, leaf and seed ethanol extracts**

Reported values are means. Different superscript letters in the same line show significant differences at  $p < 0.05$  by one-way ANOVA.

## 6. 위암의 암세포 생존율 측정

비파 부위별(씨, 과육, 잎) 추출물의 위암세포 성장억제 효과를 측정하기 위해 위암(AGS) 세포주를 대상으로 MTT assay를 이용한 세포생존율을 측정하였다. 씨, 과육, 잎 추출물별로 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL, 800 µg/mL의 단계별 농도에 대한 측정 결과를 Fig. 4에 나타내었다.

위암 세포의 경우 비파 씨 에탄올 추출물로 처리하였을 경우 25 µg/mL부터 유의하게 저하시켰으며, 농도 의존적으로 유의하게 위암세포 생존율이 저하되어 항암 효과가 높은 것으로 나타났다. 그러나 비파 과육 에탄올 추출물은 위암 세포의 생존율에 영향을 크게 미치지 않았다. 비파 잎 에탄올 추출물은 400 µg/mL 농도부터 유의하게 영향을 미쳐 고농도로 처리 했을 경우에만 항암효과가 있는 것으로 나타났다. Park 등(140)은 암세포인 HepG2, HeLa, MCF-7, HT-29 cell과 정상 간세포에 대한 불등가사리 추출물 및 각 분획물의 세포 증식억제 효과를 발표하였는데 본 실험에서와 같이 처리 물질의 농도가 높았을 때 암세포의 생존율이 낮아진 것을 볼 수 있었다.

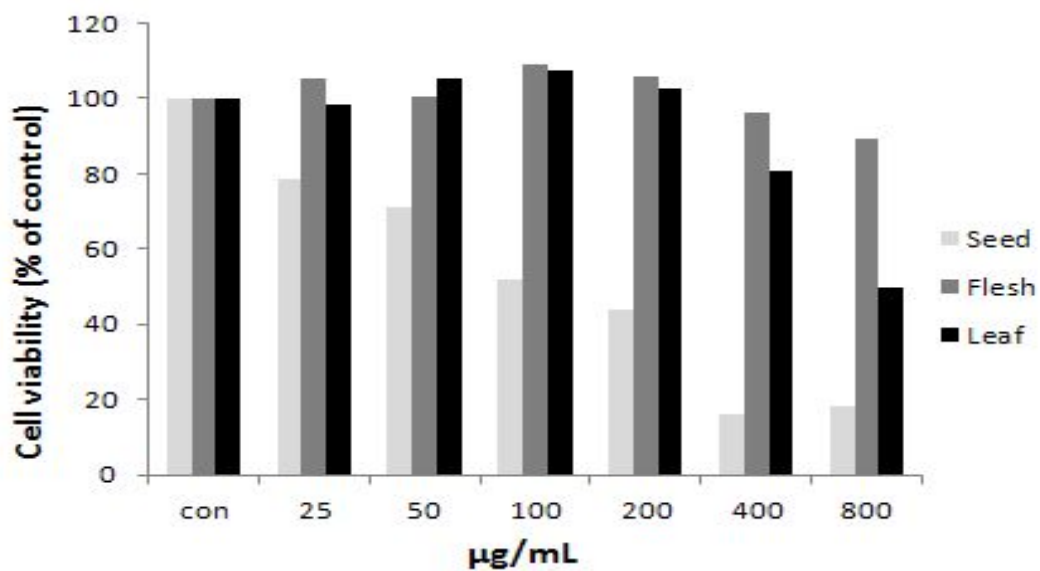


Fig. 4. AGS cell viabilities of loquat flesh, leaf and seed ethanol extracts

Reported values are means. Different superscript letters in the same line show significant differences at  $p < 0.05$  by one-way ANOVA.

## 7. 폐암의 암세포 생존율 측정

비파 부위별(씨, 과육, 잎) 추출물의 폐암세포 성장억제 효과를 측정하기 위해 폐암(A549) 세포주를 대상으로 MTT assay를 이용한 세포생존율을 측정하였다. 씨, 과육, 잎 추출물별로 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 800  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 단계별 농도에 대한 측정 결과를 Fig. 5에 나타내었다.

폐암세포의 경우 비파 씨 에탄올 추출물은 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 부터 유의하게 저하시켰으며, 농도 의존적으로 유의하게 세포 생존율을 저하시켜 항암효과가 있는 것으로 나타났다. 비파 과육 에탄올 추출물의 경우는 800  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 고농도로 처리하였을 경우에만 세포 생존율에 영향을 미치는 것으로 나타났다. 비파 잎 에탄올 추출물의 경우도 800  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 고농도에서만 효과가 있는 것으로 나타나 비파 씨 추출물이 간암, 위암, 폐암에서 항암효과가 가장 뛰어난 것으로 확인되었다.

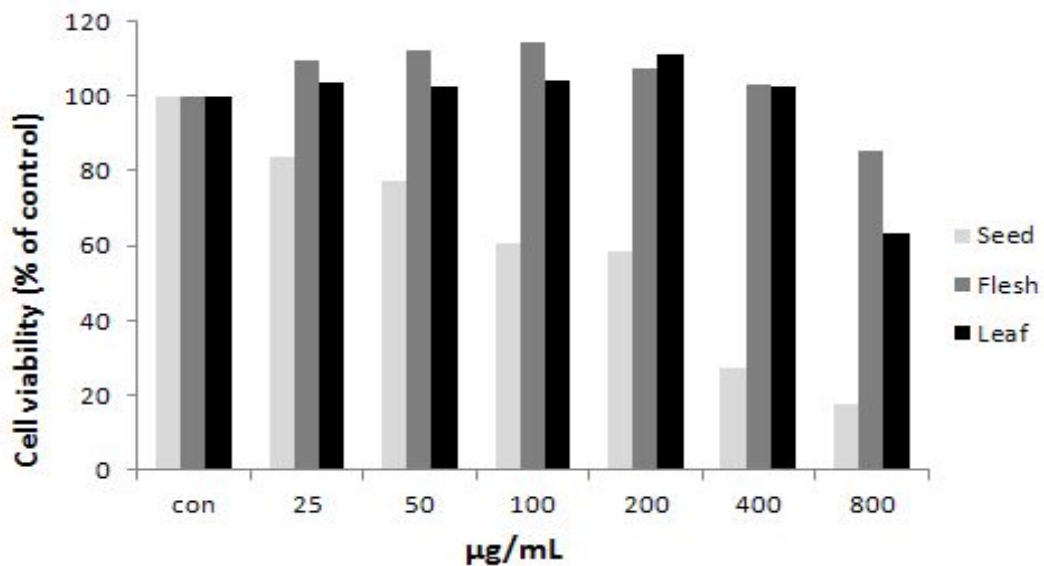


Fig. 5. A549 cell viabilities of loquat flesh, leaf and seed ethanol extracts

Reported values are means. Different superscript letters in the same line show significant differences at  $p < 0.05$  by one-way ANOVA.



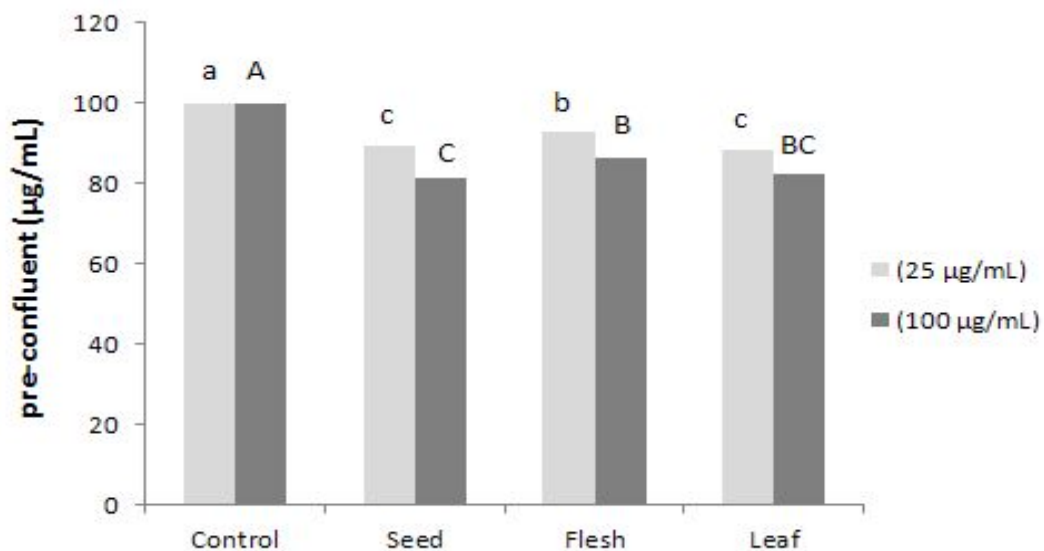
### 제3절 *In vitro*에서 비파 부위별 에탄올 추출물의 3T3-L1 지방전구세포와 돼지 지방전구세포의 증식과 분화 억제 효과

#### 1. 3T3-L1 지방전구세포의 증식에 미치는 효과

3T3-L1 뿐만 아니라 생쥐에서 유래한 다른 cell line에서 지방세포 생성과 관련된 전사 인자 CCAAT/EBP 그리고 PPAR 등이 확인되었고(141,142) 지방세포로 부터의 성숙지방세포로의 분화가 지방축적에 매우 중요한 것으로 알려져 있으나(23) 지방세포 생성에 대한 연구는 부족한 실정이다.

비파 부위별 에탄올 추출물이 3T3-L1 지방전구세포의 증식에 영향을 줌으로써 세포분화에 영향을 미칠 것이라는 가정 하에, 비파의 부위별 에탄올 추출물의 작용 기전 규명에 대한 일환으로 세포증식이 일어나는 pre-confluent 시기에 25 µg/mL, 100 µg/mL 두 농도에서 3종류의 비파 부위별 에탄올 추출물을 처리하여 세포수를 측정하였는데 그 결과는 Fig. 6와 같다.

그 결과 3종류의 비파 부위별 에탄올 추출물 고농도에서는 모두 지방세포 수가 대조군에 비하여 유의적으로 감소하였고, 특히 비파 씨 에탄올 추출물이 비파 잎, 과육 추출물에 비하여 3T3-L1 지방전구세포의 증식을 억제시킨 것을 볼 수 있었다.



**Fig. 6. Cell viability in pre-confluent 3T3-L1 preadipocytes treated with ethanol extracts of loquat<sup>1)</sup>**

<sup>1)</sup>Cells were plated on 96-well plate at a density  $1.8 \times 10^4$  cells/well in DMEM plus 10% FBS for 4days. The cells were treated for 24 h with 25 µg/mL, 100 µg/mL of individual Loquat(*E. japonica* Lindl.) ethanol extract, and DMSO for control. Cell number was determined based on the formation of formazan after 3 h incubation with the tetrazolium salt WST-1(see the Materials and Methods).

## 2. 3T3-L1 지방전구세포의 분화에 미치는 효과

Adipogenesis는 지방세포가 만들어지는 분화과정으로서 세포형태, 유전자 발현 및 호르몬 민감성 등의 변화를 동반하는데(143,144) adipogenesis 연구를 위한 *in vitro* model system에는 일반적으로 mouse embryo로부터 유래된 지방전구세포인 3T3-L1 세포가 많이 사용되며(145), insulin, dexamethasone 및 3-isobutyl-1-methyl-xanthine (IBMX) 등과 같은 분화유도인자가 필요하다고 알려져 있다(146,147).

비파의 부위별 에탄올 추출물 3종류의 시료 25 µg/mL와 100 µg/mL를 가지고 3T3-L1 지방전구세포의 분화에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 23과 같다.

Fig. 7에서 보는 바와 같이 비파의 씨 에탄올 추출물이 25 µg/mL와 100 µg/mL 농도에서 각각  $77.40 \pm 4.27$ ,  $68.04 \pm 7.22$ 로 가장 많은 지방세포분화를 억제시켰으며 비파 잎 에탄올 추출물도 비슷한 경향으로 지방세포 분화를 억제시켰다. 비파 과육 에탄올 추출물은 5 µg/mL와 100 µg/mL 농도에서 각각  $88.71 \pm 2.01$ ,  $86.31 \pm 4.64$ 로 가장 적게 3T3-L1 지방전구세포의 세포분화를 억제시켰다. 결과에서 보듯이 모든 부위들은 약간의 차이가 있지만 지방세포의 분화를 억제시킴으로써 비만예방효과를 가져오는 것으로 사료된다. 또한 에너지 대사 항상성에 관여하는 AMP-activated protein kinase (AMPK) 경로 역시 다양한 phytochemical에 의해 억제 혹은 활성화됨에 따라 3T3-L1 지방세포의 lipolysis에 영향을 미침으로서 항비만 활성을 나타내는 것이 보고된 바 있다(148-150).

이와 같이 비파 부위별 에탄올 추출물의 3T3-L1 지방전구세포의 분화를 억제한 작용 기전은 Fig. 6에서와 같이 지방세포의 증식을 억제 한 것과 연관이 있는 것으로 사료된다.

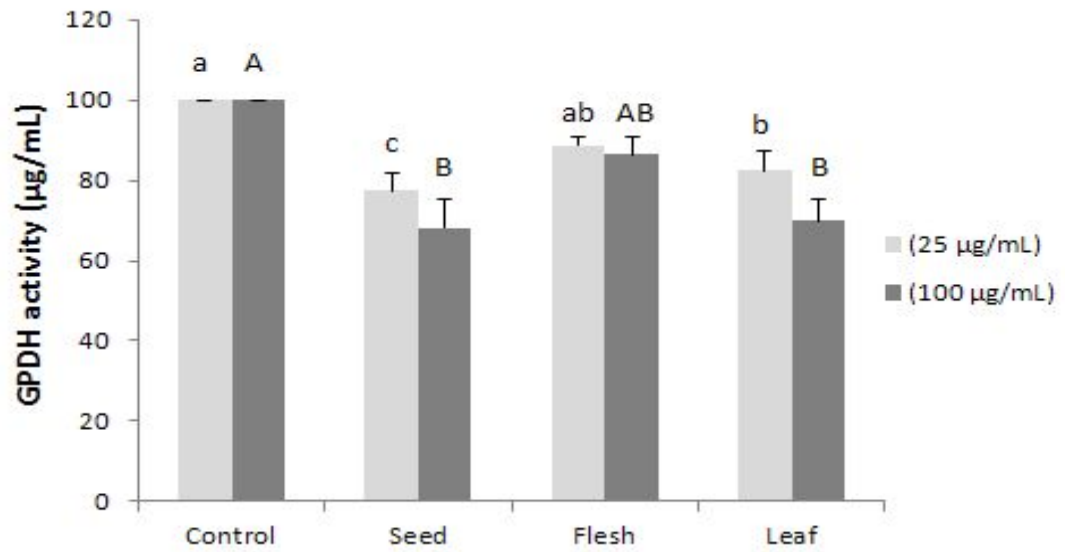


Fig. 7. GPDH activity in 3T3-L1 preadipocytes treated with ethanol extracts of loquat

### 3. 3T3-L1 지방전구세포의 중성지방 함량에 미치는 효과

비과 과육, 잎, 씨의 비과 에탄올 추출물이 3T3-L1 지방세포의 중성지방 함량에 미치는 영향은 Fig. 8과 같다. 중성지방 1분자의 glycerol에 3 분자의 fatty acid가 ester 결합한 것으로서 음식물로 섭취하는 지방의 95% 이상이 중성지방이며, 동물의 저장지방의 경우에도 중성지방 형태로 저장 된다(151,152). Park 등(140)은 흑마늘의 항비만 효과 및 지방전구세포인 3T3-L1 세포에서 insulin, dexamethasone 및 IBMX 등이 혼합된 비만유도인자에 어떠한 영향을 미치는지를 조사하였는데 MTT assay를 실시한 결과 일반 생마늘 보다 열수 마늘추출물이 중성지방 생성 억제효과가 큰 것으로 나타났다. Fig. 8에서 보는 바와 같이 25 µg/mL 농도에서 3T3-L1 지방전구세포의 중성지방 함량은 비과 씨 에탄올 추출물로 20.90±0.94가 감소하였고 100 µg/mL 농도에서도 가장 적게 나타났다. 그리고 비과 잎 에탄올 추출물은 100 µg/mL 농도에서 비과 씨 에탄올 추출물만큼 감소하는 것을 볼 수 있었다. 지방전구세포가 지방세포로 분화할 때 세포 내 지방구가 침착하게 되는데, 중성지방 함량이 적었다는 것은 분화가 덜 되었다는 것을 의미하고 이것은 비과 씨 에탄올 추출물이 3T3-L1 지방전구세포의 분화를 억제시킨 결과와 일치하였다.

이상의 결과 3종류의 비과 에탄올 추출물 중 비과 씨 에탄올 추출물이 3T3-L1 지방전구세포의 증식과 분화를 가장 많이 억제하였으며, 중성지방 함량이 가장 적었다. 따라서 비과 씨 에탄올 추출물이 3T3-L1 지방세포에서 가장 강력한 항비만 효과를 보였으므로 비과 씨 에탄올 추출물을 이용한 항비만효과의 활발한 연구가 필요하다.

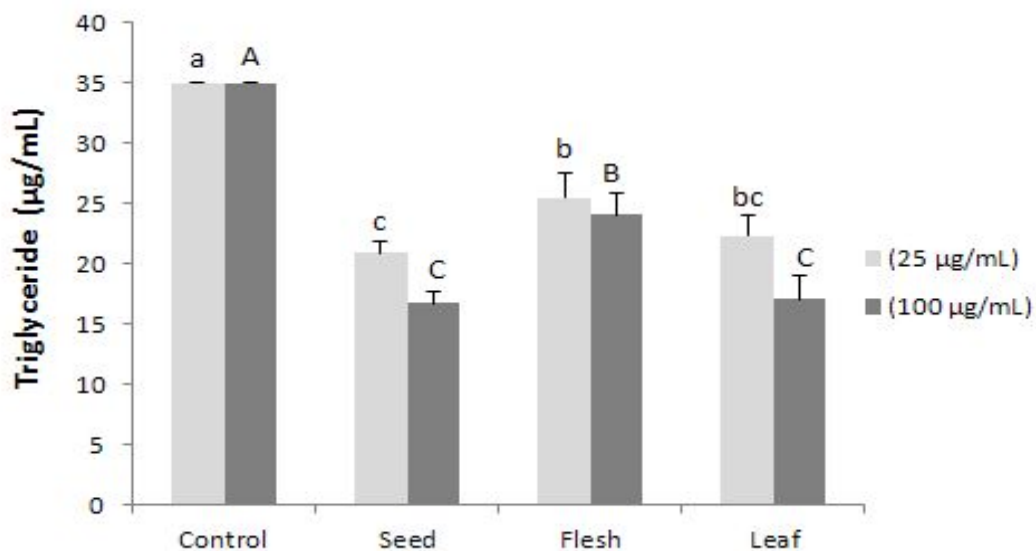


Fig. 8. Triglyceride contents in 3T3-L1 preadipocytes treated with ethanol extracts of loquat from whole stage<sup>1)</sup>

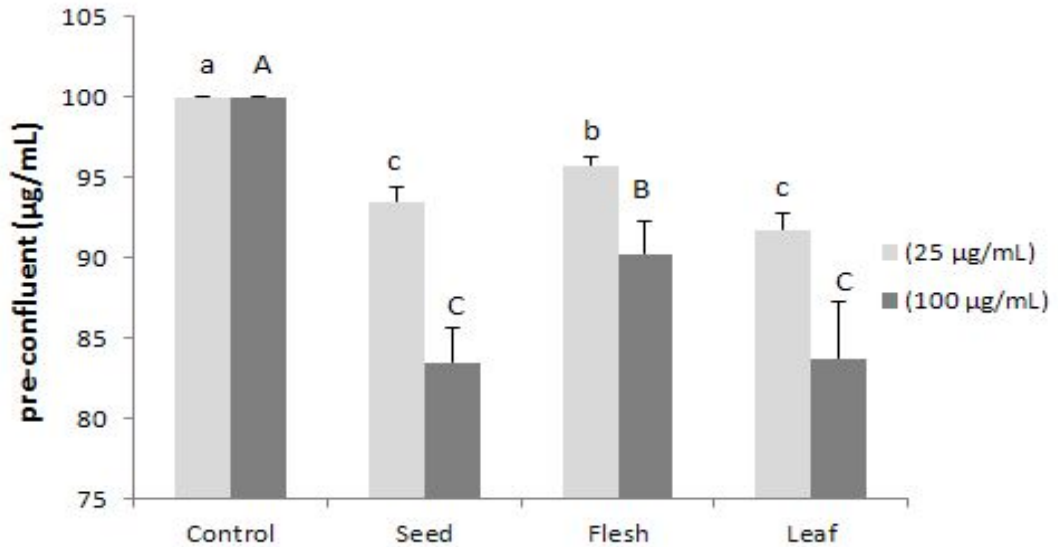
<sup>1)</sup>The cells were treated with 25 µg/mL and 100 µg/mL of individual Loquat(*E. japonica* Lindl.) ethanol extract, and DMSO was included in all cases. At day 8 was measured triglyceride(see the Materials and Methods).

#### 4. 돼지 지방전구세포의 증식에 미치는 효과

지방조직은 지방세포로 이루어져 있기에 지방세포를 배양하는 중에 시험 물질들을 처리하여 세포의 증식(proliferation)과 분화(differentiation)에 미치는 영향을 보는 연구들이 많이 수행되어 있는데(153) 주로 쥐나 세포주(cell line) 지방세포를 이용했지만, 돼지 지방세포를 이용한 연구들은 극히 적은 편 이어서(154) 활발한 연구가 필요하다.

비과 부위별 에탄올 추출물이 돼지지방전구세포의 증식에 영향을 줌으로써 세포 분화에 영향을 미칠 것이라는 가정 하에, 비과의 부위별 에탄올 추출물의 작용기전 규명에 대한 일환으로 세포증식이 일어나는 pre-confluent 시기에 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서 3종류의 비과 부위별 에탄올 추출물을 처리하여 세포수를 측정하였는데 그 결과는 Fig. 9와 같다.

그 결과 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서 91.75 $\pm$ 1.03로 비과 앞 에탄올 추출물이 가장 낮은 돼지 지방세포 증식현상을 나타내었고 비과 씨 에탄올 추출물이 93.50 $\pm$ 0.96, 비과 과육 에탄올 추출물이 95.75 $\pm$ 0.48 순으로 돼지 지방세포의 증식을 억제 시킨 것으로 나타났다. 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서는 비과 씨 에탄올 추출물이 83.50 $\pm$ 3.50, 비과 앞 에탄올 추출물이 83.75 $\pm$ 3.50로 대조군과 비과 과육 에탄올 추출물에 비하여 유의하게 돼지 지방전구세포를 감소시킨 것을 볼 수 있었다. 이는 돼지 지방전구세포의 분화를 억제한 작용 기전이 지방세포의 증식을 억제하였기 때문인 것으로 사료되어 진다.



**Fig. 9. Cell viability in pre-confluent pig preadipocytes treated with ethanol extracts of loquat<sup>1)</sup>**

<sup>1)</sup>Cells were plated on 96-well plate at a density  $1.8 \times 10^4$  cells/well in DMEM plus 10% FBS for 4 days. The cells were treated for 24 h with 25 µg/mL, 100 µg/mL of individual Loquat (*E. japonica* Lindl.) ethanol extract, and DMSO for control. Cell number was determined based on the formation of formazan after 3 h incubation with the tetrazolium salt WST-1 (see the Materials and Methods).



## 5. 돼지 지방전구세포의 분화에 미치는 효과

비파의 부위별 에탄올 추출물 3종류의 시료 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 와 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 를 가지고 돼지지방전구세포의 분화에 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 10-13과 같다.

Fig. 10에서 보는 바와 같이 비파의 씨와 잎 에탄올 추출물이 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 가장 많은 지방세포분화를 억제시킨 것으로 나타났으며 과육 에탄올 추출물이 가장 적게 돼지 지방전구세포의 세포분화를 억제시켰다. 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서는 비파 씨 에탄올 추출물이 다른 군들에 비하여 가장 활발하게 돼지 지방전구세포의 분화를 억제시켰다. 이 결과에서 보듯이 모든 부위들은 약간은 차이가 있지만 지방세포의 분화를 억제시킴으로써 비만예방효과를 가져오는 것으로 사료되고 비파 씨 에탄올 추출물이 가장 강한 돼지 지방전구세포 분화를 억제 시키는 것을 볼 수 있었다.

Choi 등(155)의 연구에서 보면 한국 약용 추출물을 가지고 돼지 지방조직의 지방합성과 지방전구세포의 분화에 미치는 영향을 발표하였는데 에탄올 추출물중 가장 강한 지방합성 억제 작용을 나타낸 것은 붓꽃과와 고삼, 좁쌀풀인 것으로 나타났다고 하였다.

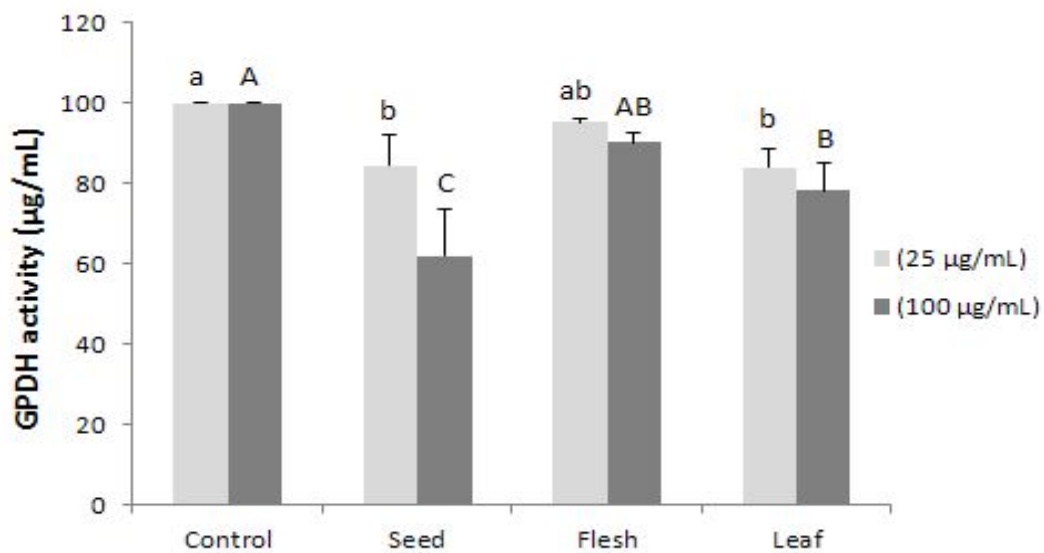


Fig. 10. GPDH activity in pig preadipocytes treated with ethanol extracts of loquat

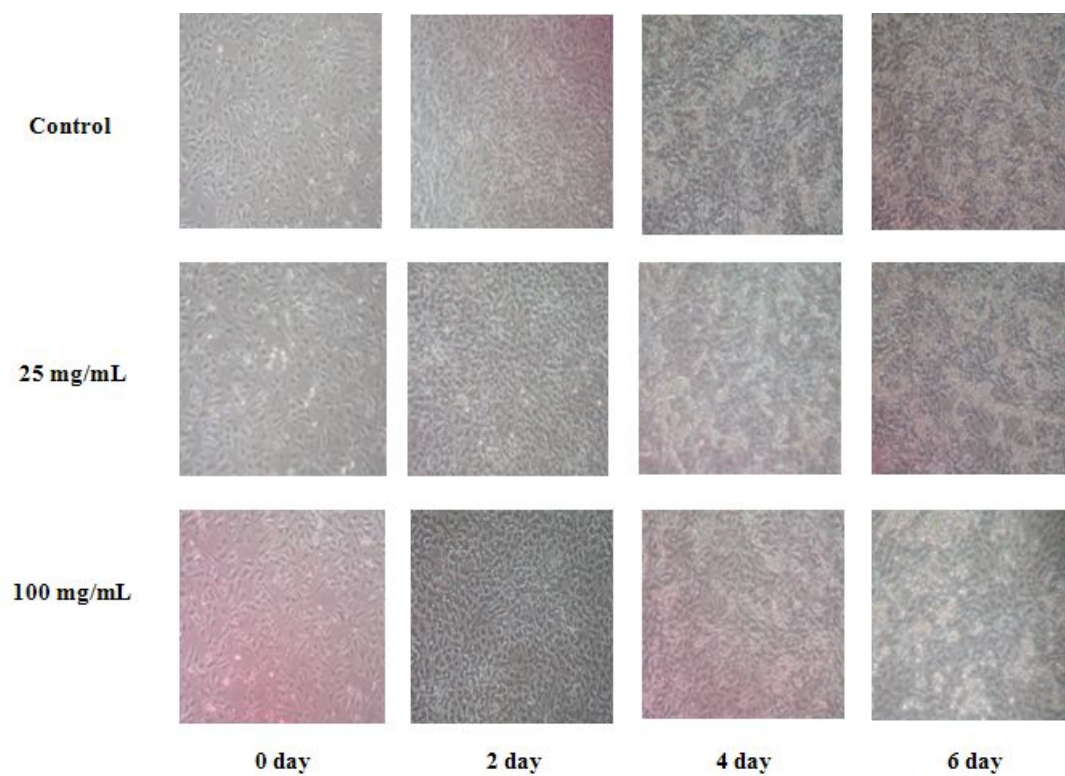


Fig. 11. Micrographs showing differentiation of pig preadipocytes treated with ethanol extracts of loquat leaf

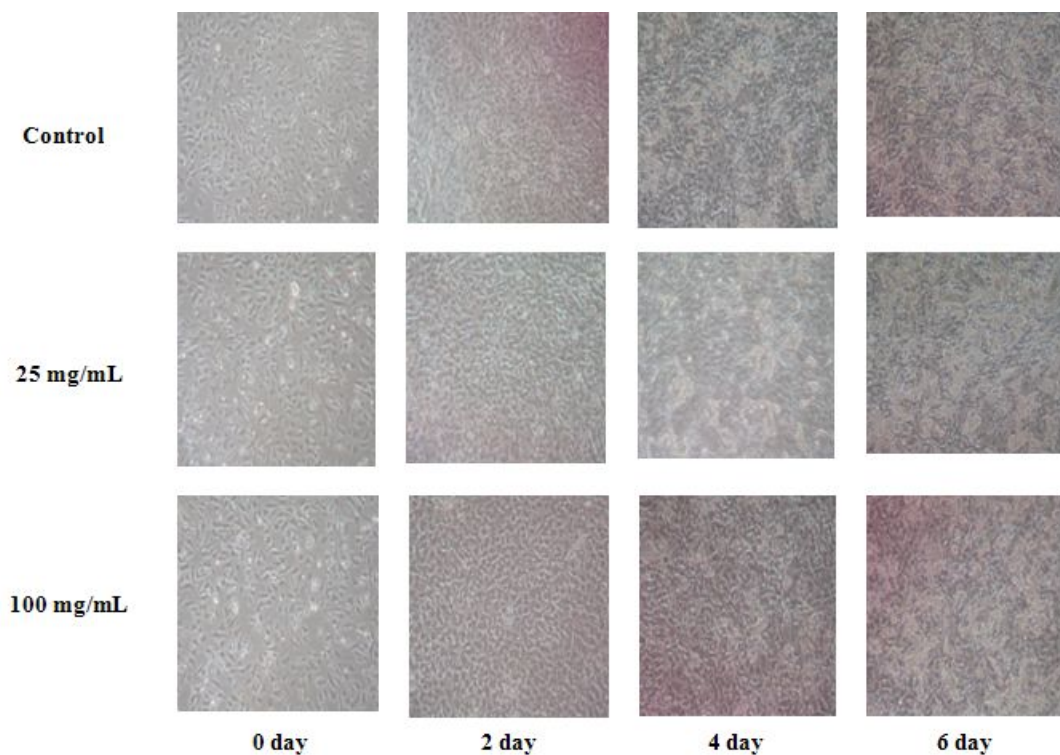


Fig. 12. Micrographs showing differentiation of male pig preadipocytes treated with ethanol extracts of loquat seed

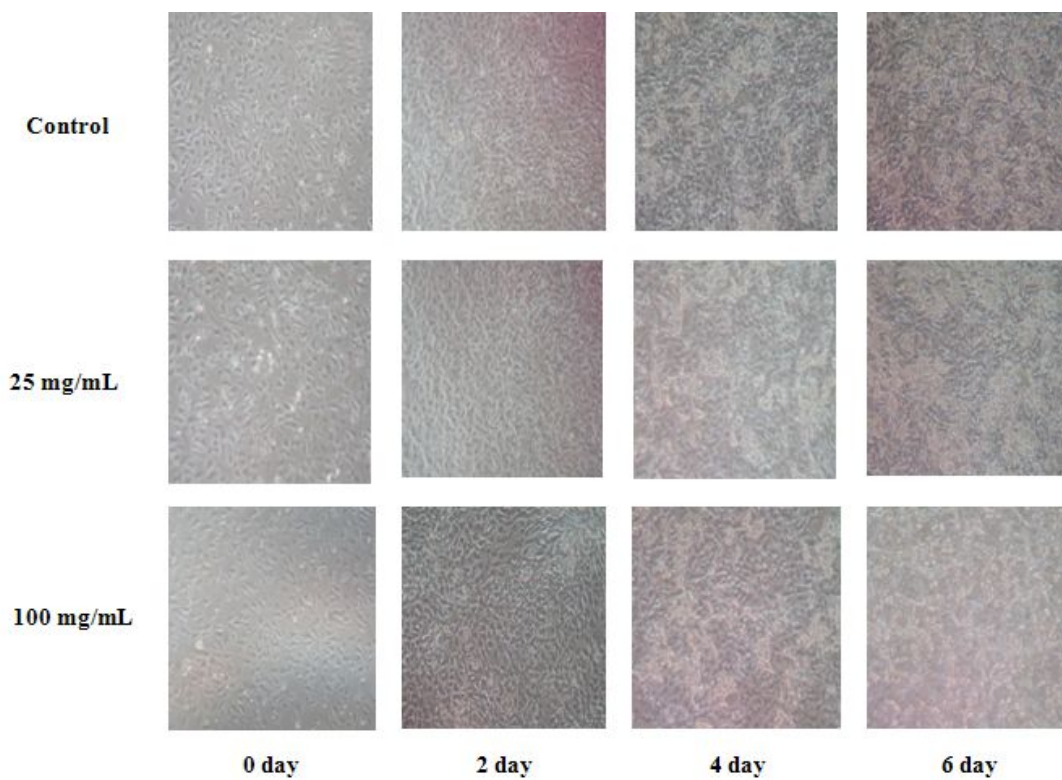
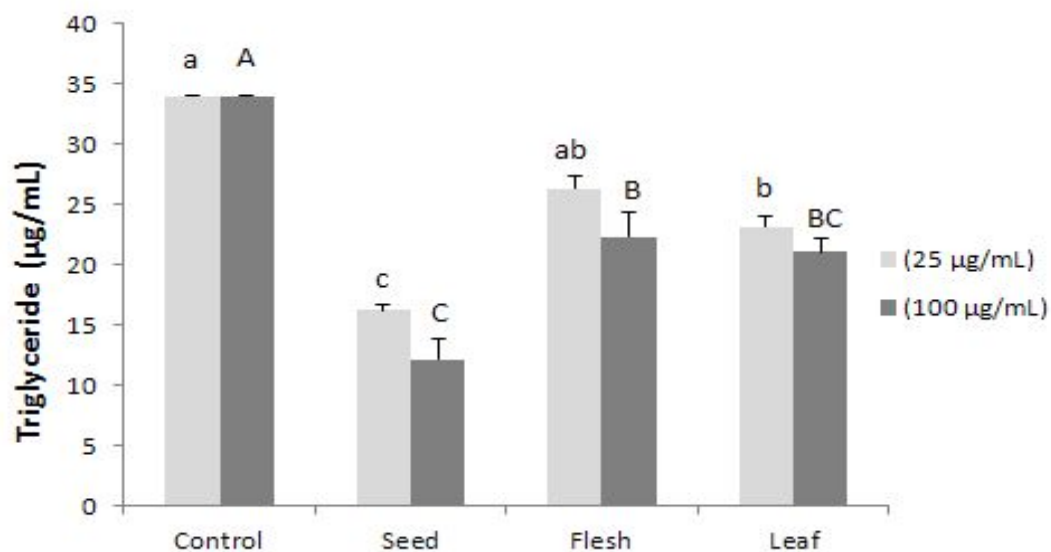


Fig. 13. Micrographs showing differentiation of male pig preadipocytes treated with ethanol extracts of loquat flesh

## 6. 돼지 지방전구세포의 중성지방 함량에 미치는 효과

비파 과육, 잎, 씨의 비파 에탄올 추출물이 돼지지방전구세포 중성지방 함량에 미치는 영향을 살펴보았다. Fig. 14에서 보듯이 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도와 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서 돼지지방전구세포의 분화를 가장 많이 억제시킨 비파 씨 에탄올 추출물의 중성지방 함량은 각각  $16.25 \pm 0.49$ 와  $12.16 \pm 1.71$ 로 다른 군들에 비해서 유의적으로 적게 나타나 비파 씨 에탄올 추출물이 다른 군들에 비하여 가장 높은 활성을 보여 돼지의 중성지방 생성을 억제시킨 것을 볼 수 있었다. 지방전구세포가 지방세포로 분화할 때 세포 내 지방구가 침착하게 되는데, 중성지방 함량이 적었다는 것은 분화가 덜 되었다는 것은 의미한다. 이것은 비파 씨 에탄올 추출물이 세포분화를 억제시킨 결과와 일치하였다.

이상의 결과 3종류의 비파 에탄올 추출물 중 비파 씨 에탄올 추출물이 돼지지방전구세포의 증식과 분화를 가장 많이 억제하였으며, 중성지방 함량이 가장 적었다. 따라서 비파 씨 에탄올 추출물이 돼지지방전구세포에서 가장 중성지방 함량 저하를 보였고 비교적 낮은 농도에서도 우수한 지방 분화 억제 활성을 나타내어 효과적인 항비만 기능성식품으로서의 활용가치가 기대된다.



**Fig. 14. Triglyceride contents in pig preadipocytes treated with ethanol extracts of loquat from whole stage<sup>1)</sup>**

<sup>1)</sup>The cells were treated with 25 µg/mL and 100 µg/mL of individual Loquat (*E. japonica* Lindl.) ethanol extract, and DMSO was included in all cases. At day 8 was measured triglyceride (see the Materials and Methods)

## 제4절 비파 부위별 에탄올 추출물이 알코올을 급여한 흰쥐 에서 간 기능 개선 및 항산화효과

### 1. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

비파의 부위별(과육, 잎, 씨) 추출물과 알코올을 4주간 경구 투여 한 후 흰쥐의 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율을 비교한 결과는 Table 23 및 Fig. 15, 16과 같다.

흰쥐의 체중증가량은 Table 23에서와 같이 알코올 단독투여군인 대조군(C)에 비해서 비파의 부위별 추출물과 알코올 병합 투여군(LFE, LSE, LLE)이 유의적으로 체중이 증가하였고 비파 부위별 추출물 단독투여군(LF, LS, LF)은 정상군(N)과 비슷한 수치를 보였다. 비파 씨 추출물과 알코올 병합 투여군(JSE)은 비파 과육, 잎 추출물과 알코올 병합 투여군(LFE, LLE)에 비하여 체중 감소량이 다소 적었지만 유의차는 보이지 않았다.

식이섭취량은 Fig. 15에서와 같이 각 군들 간에는 유의성을 보이지 않았다. 식이효율은 Fig. 16에서와 같이 각 군들 간에는 유의성이 없었고 비파의 부위별 추출물과 알코올 병합 투여군(LFE, LSE, LLE)에 비하여 비파 부위별 추출물 단독투여군(LF, LS, LL)이 증가하는 경향을 보였지만 차이는 없었다. Lee와 Sung 등(156)의 연구에서는 마늘, 한약제 혼합급여가 알코올을 투여한 쥐의 식이섭취량은 대조군과 정상식이군 및 대조군들 간에 유의차가 적었으며, 체중증가량 및 식이효율(FER)은 모든 실험군 간에 유의차가 없었다는 결과와 유사한 결과를 보였다.



**Table 23. Changes of the body weight of rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

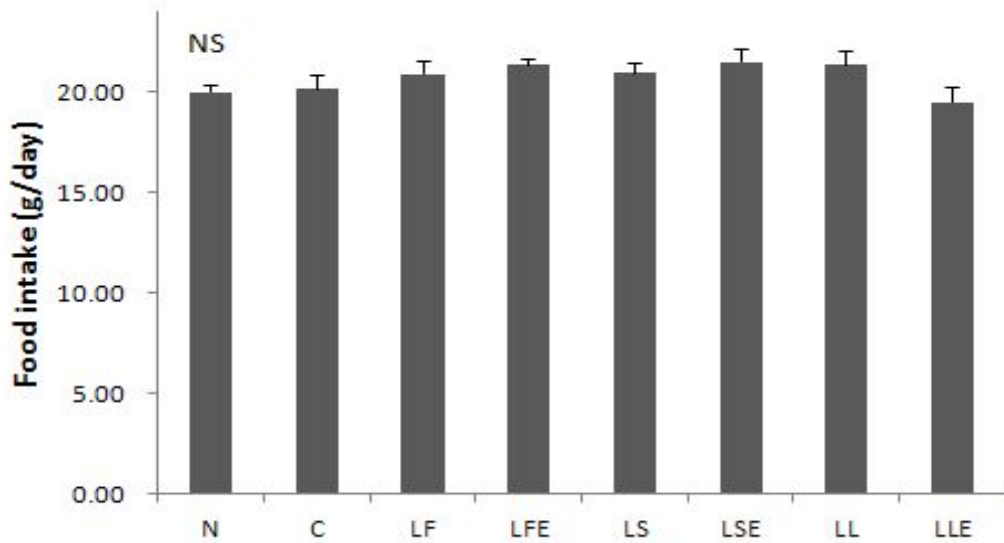
Groups <sup>1)</sup>	Initial body wt. (g)	Final body wt. (g)	Gained body wt. (g)
N	149.50 ± 1.95 <sup>NS2)</sup>	310.08 ± 5.41 <sup>ab</sup>	160.58 ± 3.46 <sup>ab</sup>
C	148.67 ± 2.45	280.50 ± 9.97 <sup>c</sup>	131.83 ± 7.52 <sup>c</sup>
LF	147.58 ± 2.54	317.50 ± 7.57 <sup>a</sup>	169.96 ± 5.03 <sup>a</sup>
LFE	148.33 ± 2.54	302.67 ± 9.82 <sup>bc</sup>	154.33 ± 7.28 <sup>bc</sup>
LS	148.67 ± 1.14	310.17 ± 6.75 <sup>ab</sup>	161.50 ± 5.61 <sup>ab</sup>
LSE	147.83 ± 3.22	305.25 ± 7.23 <sup>b</sup>	157.42 ± 4.01 <sup>b</sup>
LL	148.58 ± 2.01	309.83 ± 6.19 <sup>ab</sup>	161.25 ± 4.18 <sup>ab</sup>
LLE	149.08 ± 2.83	305.25 ± 8.47 <sup>b</sup>	156.17 ± 5.91 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>See the legend of Table 9.

<sup>2)</sup>Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group.

<sup>3)</sup>NS : not significantly different among groups.

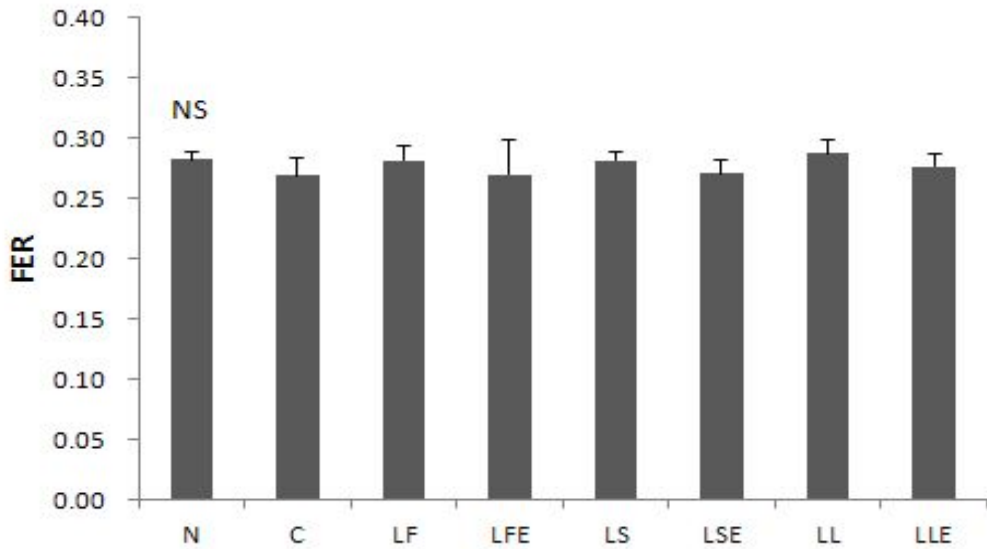
<sup>4)</sup>Values with different superscript in the same row significantly different (p<0.05) among groups by Tukey's test.



**Fig. 15. Food intake of rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 9.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.



**Fig. 16. FER of rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 9.

FER(food efficiency ratio) : total weight gain/total feed intake.

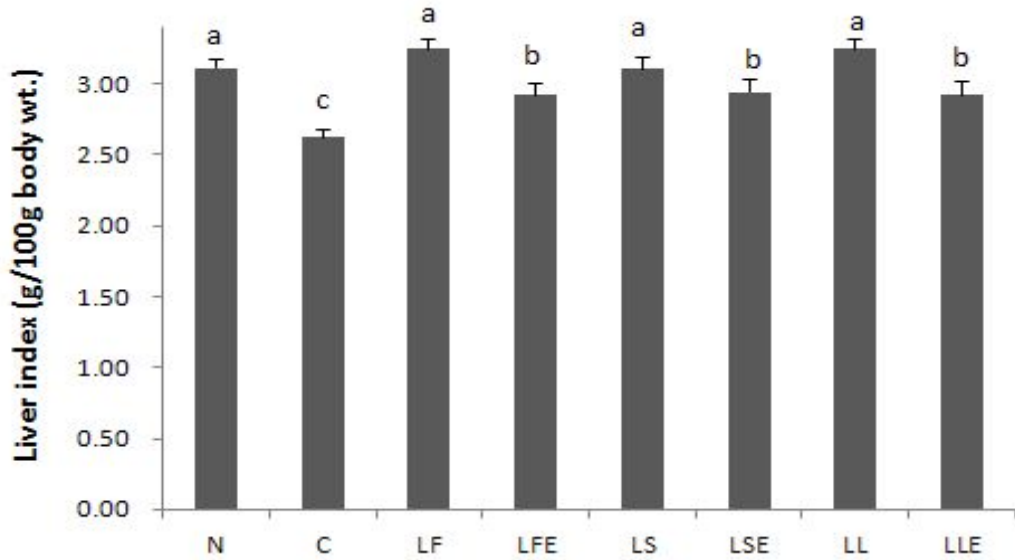
Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

## 2. 간장/체중 비율 및 지방조직 무게

비파의 부위별 추출물과 알코올을 4주간 경구 투여 후 흰쥐의 체중 당 간 비율 및 지방조직 무게를 비교한 결과는 Fig. 17과 같다.

체중 당 간조직의 무게는 Fig. 17에서와 같이 알코올만을 급여한 대조군(C)이 다른 군들에 비하여 유의적으로 감소하였으나, 알코올과 비파 잎과 씨 추출물을 병합 투여로 감소되어진 체중 당 간 조직 무게가 유의차는 없었으나 증가되었다. 정상군(N)과 비파 씨 추출물 단독투여군(LS)은 알코올과 비파 부위별 추출물 병합 투여군(LFE, LSE, LLE)에 비하여 유의적으로 무게가 증가하였다. 이는 장기간 알코올 투여로 인해 간이 손상되어 지방간이 유발되거나, 장기간에 걸친 알코올의 독성물질이 산화되어 간장이 손상되어 간장의 중량이 더 나갈 것이라는 Lee와 Kim 등(157)의 결과와 다르게 나왔으며, 비파의 부위별 에탄올 추출물이 간 내 알코올 독성을 억제 할 수 있을 것으로 생각된다. Kang 등(158)은 대조군에 비해 술잎 추출물을 급여한 실험군에서 간의 중량이 감소하였으며, 특히 6% 아세톤 추출물 급여군의 경우 다른 술잎 추출물 급여군에 비해 감소하였으나 유의차는 없었다고 보고하여 본 연구 결과와 유사한 경향이었다.

따라서 본 연구 결과 비파의 부위별 추출물은 에탄올의 반복적인 섭취로 인하여 감소되어진 간 조직의 손상을 막아 대사성질환 예방에 효과적일 것으로 사료된다.



**Fig. 17. Liver index of rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 9.

Liver index: liver weight/100g body weight.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

### 3. 혈청 중 ALT, AST, ALP 및 LDH 활성

비파의 부위별 에탄올 추출물을 4주간 경구 투여 후 흰쥐의 혈청 중 ALT, AST, ALP 및 LDH 활성을 측정된 결과는 Fig. 18~21과 같다.

혈청 중 ALT 활성은 Fig. 18과 같이 대조군(C)이  $29.17 \pm 2.51$  U/L로 정상군(N)  $22.0 \pm 1.65$  U/L에 비하여 유의하게 증가하였다. 비파 부위별 추출과 알코올 병합 투여군(LFE, LSE, LLE)은 비파 부위별 추출물 단독투여군(LF, LS, LL)에 비하여 유의하게 증가하였다. 비파 부위별 추출물과 알코올 병합 투여군(LFE, LSE, LLE)은 대조군(C)에 비하여 수치가 유의적으로 감소한 것으로 나타났다.

혈청 중 AST 활성은 Fig. 19과 같이 대조군(C)이 정상군(N)  $53.17 \pm 4.69$  U/L에 비하여 유의하게 증가하였다. 비파 부위별 추출물과 알코올 병합 투여군(LFE, LSE, LLE)은 앞에서와 마찬가지로 비파 부위별 추출물 단독투여군(LF, LS, LL)에 비하여 유의하게 증가하였다. 비파 부위별 추출물과 알코올 병합 투여군(LFE, LSE, LLE)은 대조군(C)에 비하여 비파 씨 추출물과 알코올 병합 투여군(LSE)이 다른 군에 비하여 수치가 더 저하된 것으로 조사되었다.

혈청 중 ALT와 AST 활성은 간세포의 변성이나 괴사를 반영하는 효소로 고지방식이 및 알코올 등으로 지방간이 유발되거나 간 유해 물질이 존재할 때 간 실질세포가 손상되어 혈중으로 이들 효소의 방출이 항진되어 활성이 증가한다고 알려져 있다(159).

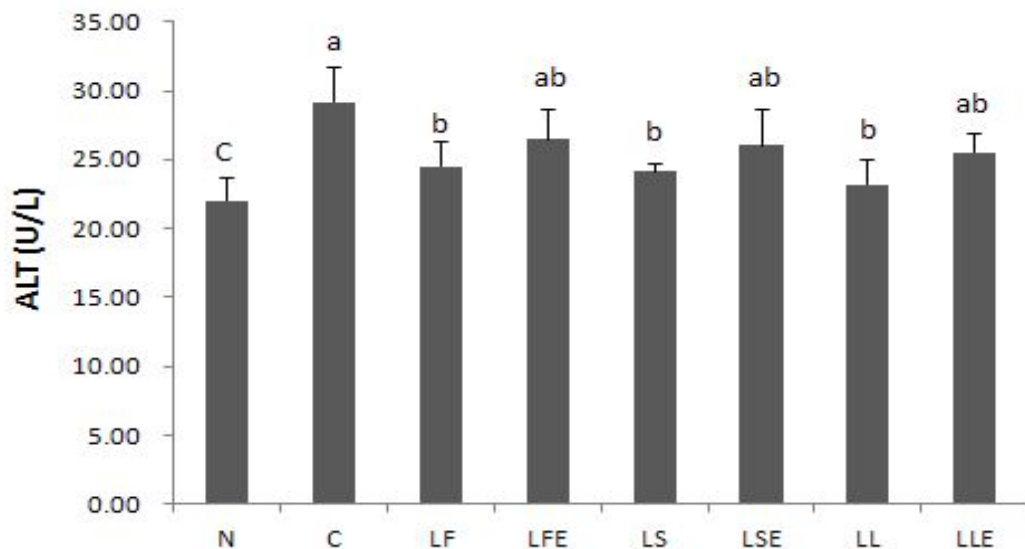
혈청 중 ALP 활성은 Fig. 20에서와 같이 대조군(C)에 비하여 정상군(N)이  $45.50 \pm 5.02$  U/L로 유의하게 감소하였고 비파 과육 추출물 단독투여군(LF)과 비파 잎 추출물 단독투여군(LL)이 다른 군들에 비하여 가장 큰 감소를 보였고 정상군과 비슷한 수치를 나타내었다.

혈청 중 LDH 활성은 Fig. 21에서와 같이 대조군(C)  $328.50 \pm 42.35$  U/L에 비하여 각 군들은 감소하는 경향을 보였으며, 비파 과육 추출물 단독투여군(LF)이  $149.17 \pm 15.02$  U/L로 가장 큰 감소를 보였고 비파 씨 추출물과 알코올 병합 투여군(LSE)이 큰 감소를 보였다.

ALP는 체내에서 여러 가지 인산 에스테르를 분리시키고 골격 내에서 석회화를 촉진시키며 장내에서는 인 흡수 등에 관여하는 효소로 특히 골질환, 간이나 담도질환, 임신 및 악성종양 등에서 활성치가 상승하게 된다. 혈청 중 LDH는 체내 혐기

적 해당계의 최종단계에서 산화, 환원 반응에 관여하는 효소로 급성간염, 초기간염, 심근경색, 악성빈혈, 백혈병 등에서 현저하게 상승하는 효소이다(160,161).

본 연구 결과 에탄올의 반복적인 투여로 혈청 중 ALT, AST, ALP 및 LDH 활성이 증가되었으나 비과 부위별 추출물과 알코올 병합투여로 감소하는 것으로 보아 비과 부위별 추출물이 간의 지질대사를 개선시키고 지방간으로 인한 간세포의 장해를 지연시켜 간 기능 회복 및 유지에 긍정적인 효과를 가지는 것으로 사료된다.

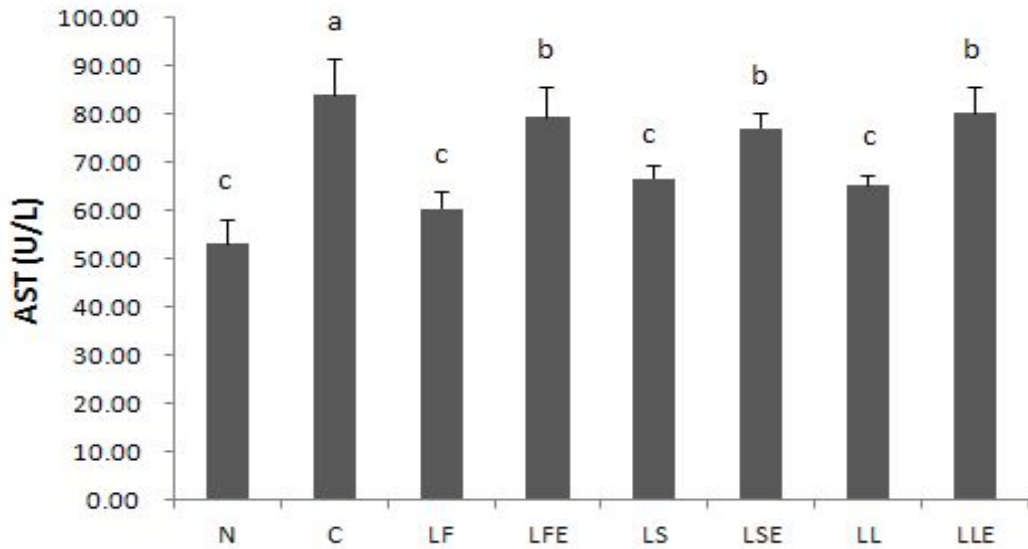


**Fig. 18. Serum activity of ALT in the rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 9.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

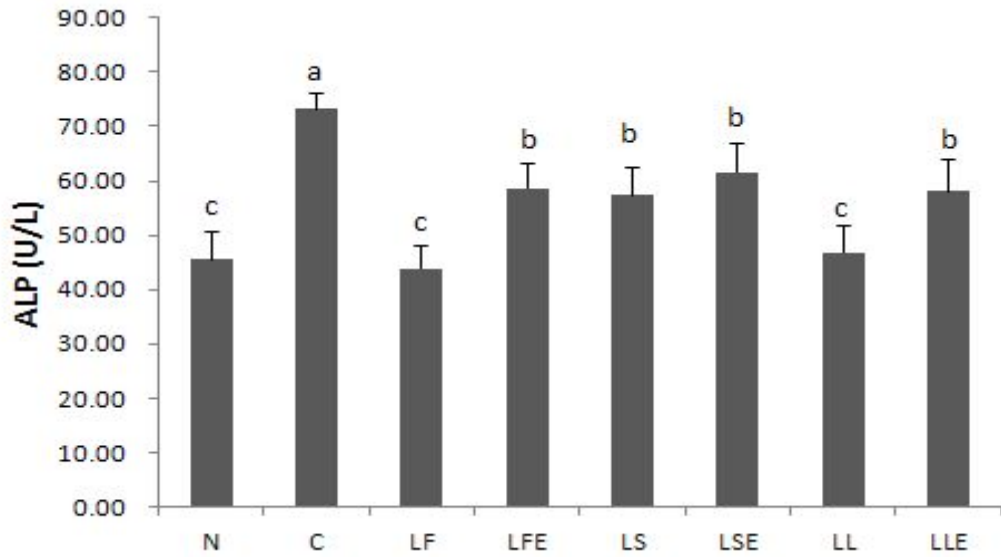




**Fig. 19. Serum activity of AST in the rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 9.

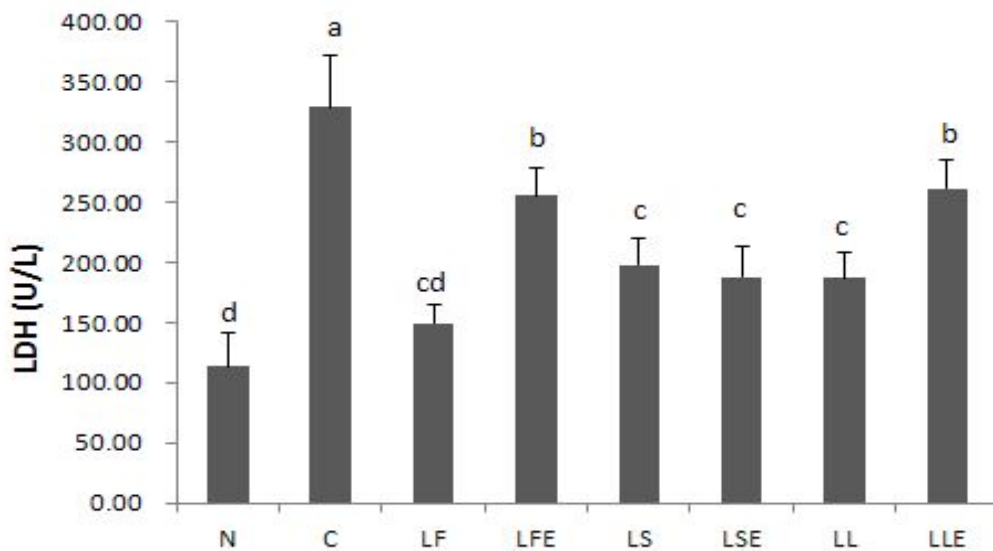
Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.



**Fig. 20. Serum activity of ALP in the rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 9.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.



**Fig. 21. Serum activity of LDH in the rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 9.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

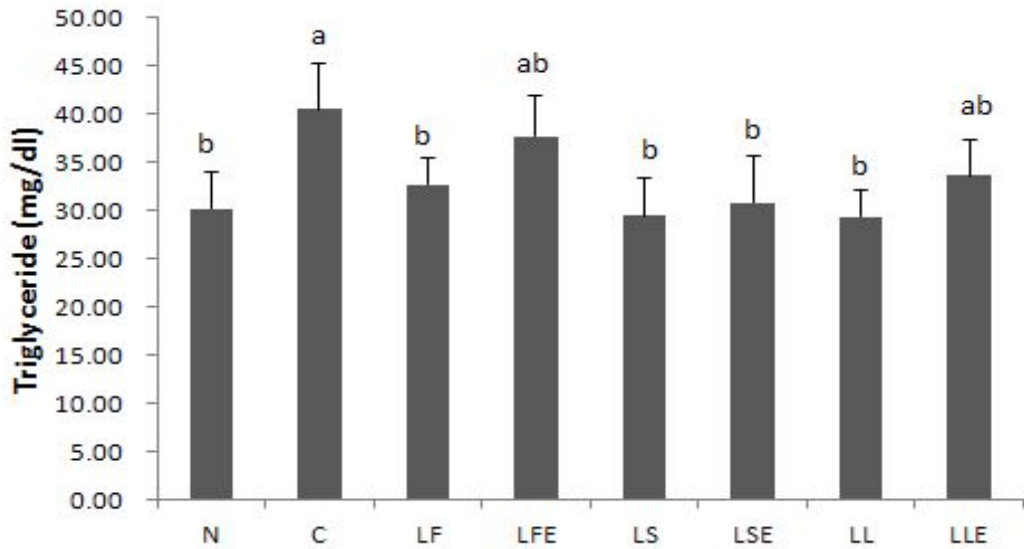
#### 4. 혈청 중 중성지방 및 총콜레스테롤 함량

비과 부위별 추출물과 알코올을 4주간 경구 투여한 흰쥐의 혈청 중 중성지방 및 총콜레스테롤 함량 변화는 Fig. 22, 23과 같다.

혈청 중 중성지방 함량은 Fig. 22와 같이 대조군(C)은  $40.50 \pm 4.81$  mg/dl로 정상군(N)  $30.17 \pm 3.83$  mg/dl에 비하여 유의하게 증가하였고, 비과 과육과 잎 추출물과 알코올 병합 투여군(LFE, LLE)은 대조군에 비하여 유의차가 없었으나 다소 감소하는 경향을 보였고, 비과 씨 추출물과 알코올 병합 투여군(LSE)만이 유의하게 감소하는 경향을 보였다.

혈액 중 중성지방의 상승은 칼로리 섭취량이 높거나 지방을 많이 섭취할 때 발생하며, 혈액 중의 중성지방 농도가 높은(200 mg/dL 이상) 고중성지방혈증은 성인병 질환 중 당뇨, 고혈압, 심혈관계 질환을 발생하는 원인 중 하나로 알려져 있다(162). 따라서 본 연구결과에서도 에탄올을 반복 투여한 대조군(C)의 중성지방 함량이 가장 높게 나타났고 비과 부위별 추출물을 투여한 군들에게서는 중성지방 함량이 감소하는 경향을 보여 비과 부위별 추출물이 중성지방의 함량을 감소시키는 것으로 보여진다.

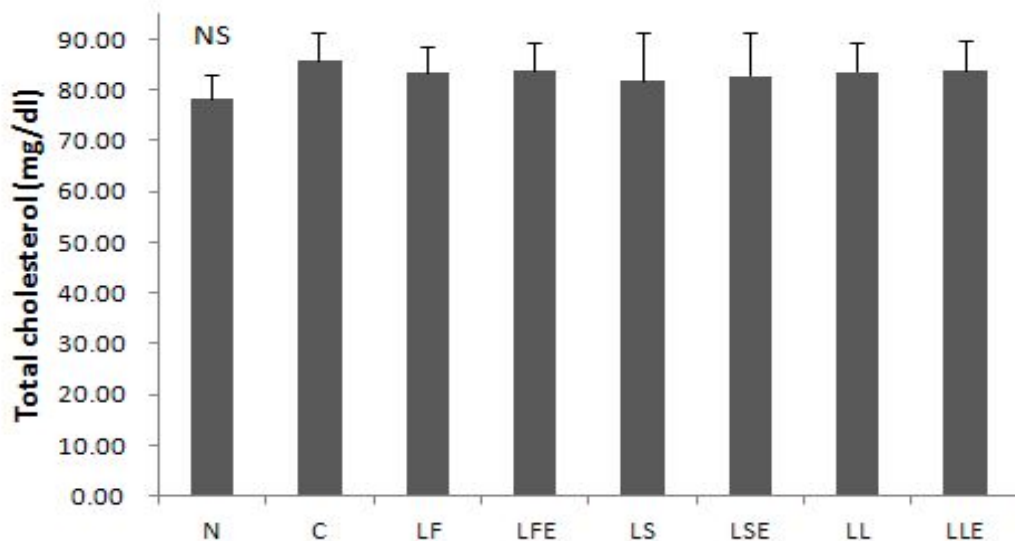
혈청 중 총콜레스테롤 함량은 Fig. 23과 같이 실험군 간에 유의차를 보이지 않았다.



**Fig. 22. Contents of triglyceride in the rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 9.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.



**Fig. 23. Contents of total cholesterol in the rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 9.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

## 5. 혈청 중 HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 함량, 동맥경화 지수 및 심혈관위험지수

비과 부위별 추출물과 알코올을 4주간 경구 투여한 후 흰쥐의 혈청 중 HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤의 함량, 동맥경화지수(atherogenic index, AI) 및 심혈관 위험지수(cardiac risk factor, CRF)의 변화는 Fig. 24~25과 같다.

혈청 중 HDL-콜레스테롤의 농도는 Fig. 24에서와 같이 비과 씨 추출물 단독투여군(LS)이  $73.00 \pm 2.73$  mg/dL로 가장 높았으며, 대조군(C)이  $49.17 \pm 8.56$  mg/dL로 가장 낮은 경향이였다. 비과 부위별 추출물과 알코올 병합 투여군(LFE, LSE, LLE)은 대조군(C)군에 비해서 유의하게 증가하는 경향을 보였고 비과 부위별 추출물 단독투여군(LF, LS, LL)은 정상군(N)과 유사한 수치를 보였다.

혈청 중 LDL-콜레스테롤 농도는 Fig. 25에서와 같이 대조군(C)이  $83.93 \pm 2.51$  mg/dL로 정상군(N)  $69.63 \pm 1.65$  mg/dL에 비하여 유의하게 증가하였다. 또한 비과 부위별 추출물 단독투여군(LF, LS, LL)은 대조군(C)에 비하여 유의하게 감소하였고, 비과 부위별 추출물과 알코올 병합 투여군(LFE, LSE, LLE) 중에서는 비과 씨 추출물과 알코올 병합 투여군(LSE)이 대조군(C)에 비해 가장 많이 감소하였다. Park 등(163)에 의하면 흰쥐에게 감잎 추출물을 투여한 결과 LDL-콜레스테롤 농도가 대조군에 비하여 유의하게 억제되었으며, HDL-콜레스테롤 농도는 대조군에 비하여 유의하게 증가 되었다고 보고하여 본 실험과 유사한 경향이였다. HDL-콜레스테롤은 말초조직 및 혈액 중에 축적된 콜레스테롤을 콜레스테롤 에스테르 형태로 만들어 간으로 역수송을 촉진시켜 담즙산으로 배설시킴으로써 혈중 콜레스테롤 농도를 저하시켜 동맥경화증의 개선 및 예방에 유효한 것으로 알려져 있으며(164), LDL-콜레스테롤은 혈청 중 콜레스테롤의 주된 운반형태로 동맥 내 혈관 벽에 콜레스테롤을 축적한다고 알려져 있어 동맥경화증과 심혈관계질환의 발병에 중요한 위험인자이다(165).

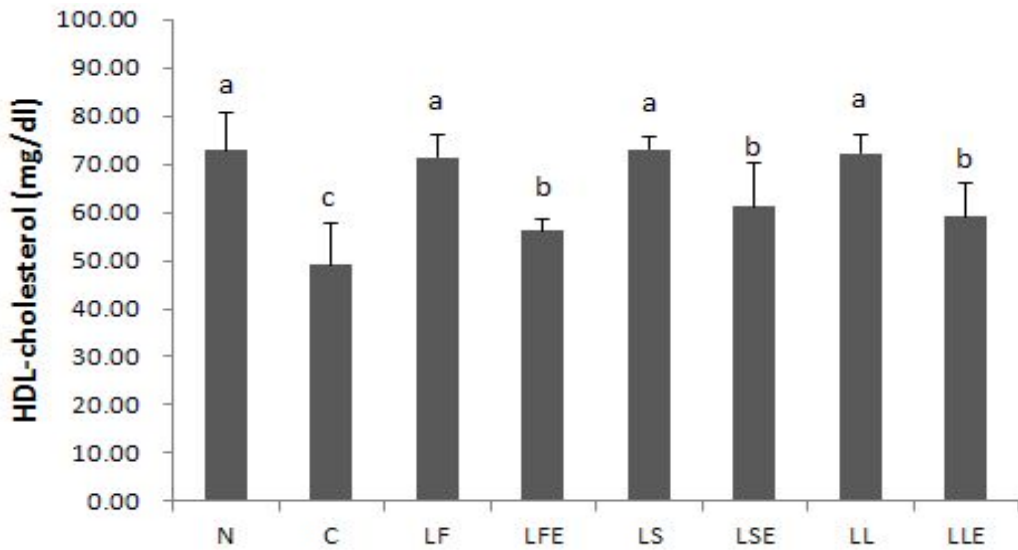
동맥경화 지수는 Fig 26에서와 같이 대조군(C)이  $0.74 \pm 0.20$ 으로 정상군(N)  $0.07 \pm 0.12$ 에 비하여 유의하게 증가하였으며, 비과 부위별 추출물과 알코올 병합투여군들(LFE, LSE, LLE)의 동맥경화 수치는 각각  $0.49 \pm 0.09$ ,  $0.35 \pm 0.06$ ,  $0.41 \pm 0.04$  으로 대조군(C)에 비하여 유의하게 감소하였다. 동맥경화지수는 혈액 중 HDL-콜레스테롤에 대한 중성지방의 함량 비를 대표하는 값으로 미국의 National Institute of

Health Consensus Development Conference(NIH)의 기준에 의하면 임상에서 3.0 이상 일 때 동맥경화에 대한 위험 신호로서 사용하고 있다(166).

심혈관위험 지수는 Fig 27에서와 같이 정상군(N)이  $1.07 \pm 0.02$ 로 가장 낮은 수치를 보였으며, 대조군(C)은  $1.74 \pm 0.11$ 로 가장 높은 수치를 보였다. 비과 부위별 추출물과 알코올 병합투여군(LFE, LSE, LLE)은 대조군(C)에 비하여 유의하게 저하되는 것을 볼 수 있었다. 동맥경화지수와 더불어 심혈관계 질환에 대한 위험 신호로 사용되고 있는 심혈관위험지수는 HDL-콜레스테롤에 대한 총콜레스테롤의 함량비로 나타내며 임상에서는 7.0 이상을 나타낼 때 위험 신호로 인지된다(167).

본 실험의 결과 비과의 과육, 씨, 잎은 혈청 중 LDL-콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤 농도에 관여하며, 특히 LDL-콜레스테롤 농도를 저하시켜 동맥경화지수 및 심혈관위험지수를 낮추어 고지혈증 및 고콜레스테롤혈증, 간 기능의 이상 유발을 억제시켜 심혈관계 질환 예방에 긍정적인 영향을 줄 수 있을 것으로 사료된다.

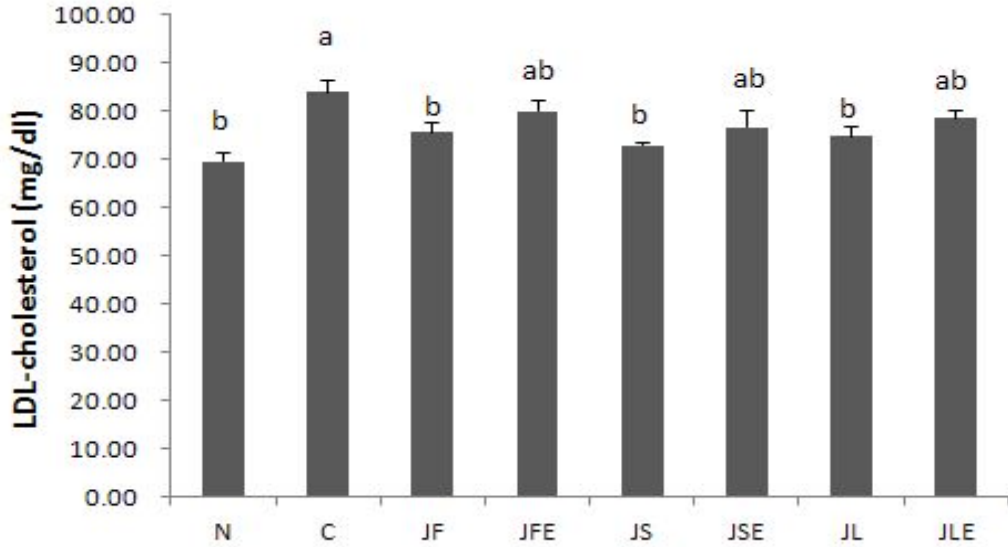




**Fig. 24. Contents of HDL-cholesterol in the rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 9.

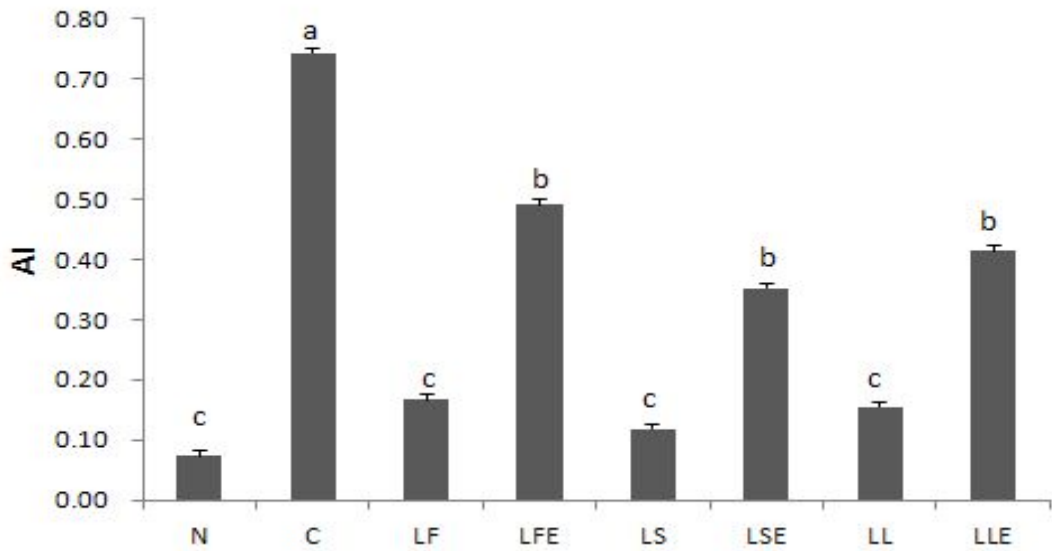
Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.



**Fig. 25. Contents of LDL-cholesterol in the rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 9.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

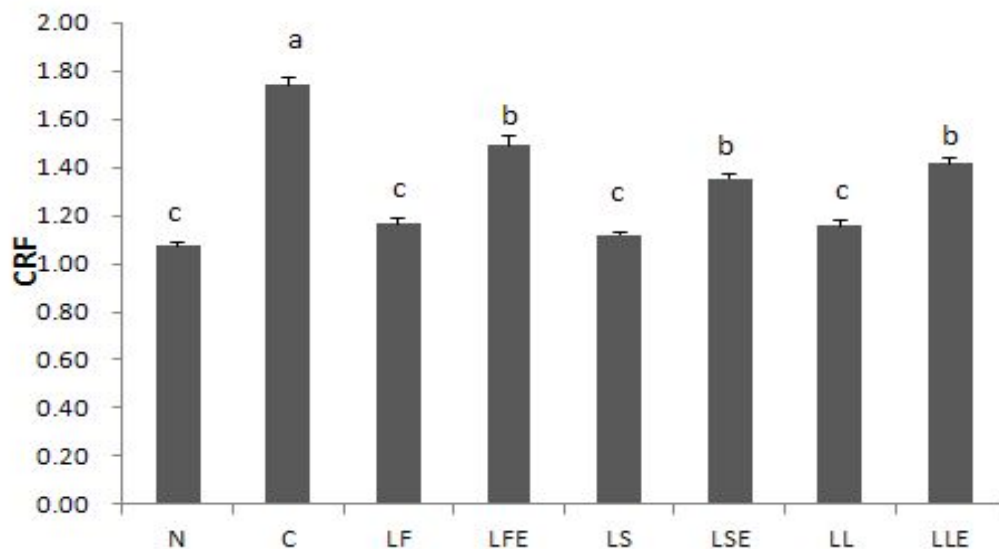


**Fig. 26. Atherogenic index of rats fed administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 9.

AI: atherogenic index.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.



**Fig. 27. Cardiac risk factor of rats fed administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 9.

CRF: cardiac risk factor.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

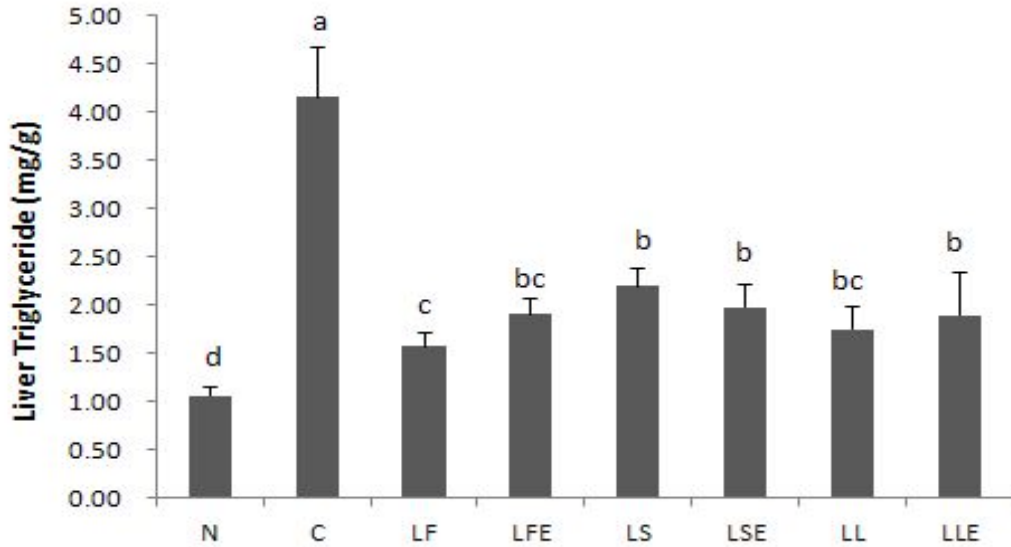
## 6. 간 조직 중 중성지방 및 총콜레스테롤 함량

비과 부위별 에탄올 추출물을 4주간 경구 투여한 흰쥐의 간 조직 중 중성지방 및 총콜레스테롤의 함량은 Fig. 28, 29와 같다.

간 조직 중 중성지방 함량은 Fig. 28에서와 같이 정상군(N)  $1.06 \pm 0.08$  mg/g에 비하여 대조군(C)이  $4.15 \pm 0.52$  mg/g으로 증가하는 것을 볼 수 있었다. 알코올 투여로 증가되어진 중성지방 함량을 비과 부위별 추출물과 알코올 병합투여로 유의하게 감소하는 경향을 보였다.

간 조직 중 총콜레스테롤 농도는 Fig. 29와 같이 대조군(C)이  $18.21 \pm 3.50$  mg/g으로 정상군(N)의  $7.15 \pm 2.39$  mg/g에 비하여 유의하게 증가하였다. 비과 부위별 추출물 단독투여군(LF, LS, LL)은 비과 부위별 추출물과 알코올 병합투여군(LFE, LSE, LLE)에 비해 유의적으로 감소하는 경향을 보였고, 비과 및 추출물 단독투여군(LL)은  $6.31 \pm 1.01$  mg/g으로 다른 군들에 비해 유의하게 감소하였다.

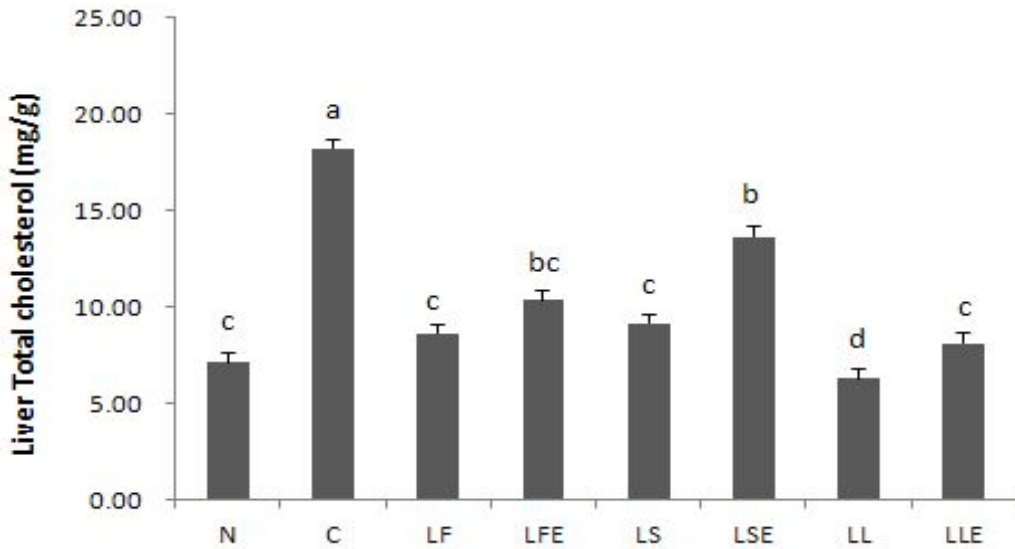
알코올의 4주간 반복급여로 인하여 간 조직의 무게가 다른 군에 비하여 다소 감소하였으며 중성지방 및 콜레스테롤의 함량이 증가하였는데, 일반적으로 알코올 섭취에 의해 간 조직에 이상이 초래되어 간의 무게가 감소하고 주로 만성적으로 알코올을 급여한 군들에서 가장 보편적으로 나타날 수 있는 증상으로 보여지며 매일 알코올을 섭취하는 음주 형태나 음주 종류보다도 더 중요한 요인이라고 조사(4)되었으며 영양 상태가 좋지 않다면 손상이 더 쉽게 일어나며 더 심각하다고 한다. 알코올로 인한 간질환에는 알코올성 지방간, 알코올성 간염, 알코올성 간경변증 등이 있다(5). 지방간은 알코올로 인해 지방이 간에 침착 되는 것으로 간세포에 지방질이 굳어 간세포가 부풀게 되는 경우를 말한다. 알코올성 간염은 중증인 간질환으로 부종, 황달 등의 증상을 일으킨다고 한다. 알코올성 간 경변은 간질환 말기의 상태로 지속적인 다량의 알코올섭취와 밀접한 관계가 있는 것으로 조사(3)되었다. 알코올은 위에서 20% 정도가 흡수되고 소장으로 가서 흡수가 된다. 흡수된 알코올은 간으로 가게 되는데 간에서 알코올을 산화 시키는데 우리 몸에는 알코올 저장소가 따로 없어서 혈중 알코올이 0이 될 때까지 간은 쉬지 않고 계속 알코올을 산화시키며 분해하는 역할을 한다(6). phenolic compounds 등은 간장의 콜레스테롤을 저하시킨다고 보고되어 있으며(168), 탄닌 성분이 풍부한 섬유소가 간 조직 중의 총콜레스테롤 농도를 감소시킨다는 Wursch(169)의 결과도 발표되어있다.



**Fig. 28. Contents of triglyceride in the liver of rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 9.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.



**Fig. 29. Contents of total cholesterol in the liver of rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 9.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test

## 7. 간 조직 중 GSH 함량

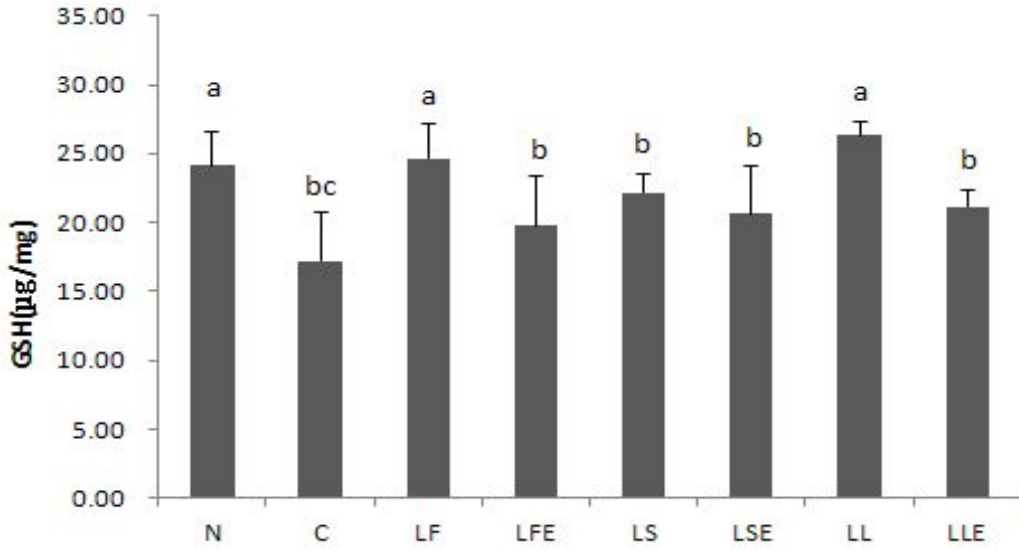
비파 부위별 추출물과 알코올을 4주간 경구 투여 후 흰쥐의 간 조직 중 GSH 함량이 미치는 영향은 Fig. 30과 같다.

간 조직 중의 GSH 함량은 Fig. 30에서와 같이 에탄올을 4주간 급여한 대조군(C)이 다른 군들에 비하여 가장 낮았고, 비파 부위별 추출물과 알코올 병합투여군(LF, LL, LS)에서 유의하게 증가되었다.

Cho 등(170)은 흰쥐에게 민들레잎 추출물을 투여한 결과 간 조직 중의 GSH 함량이 콜레스테롤만 급여한 대조군에 비하여 유의차는 없었으나 감소하는 경향이었다고 보고하였다. GSH는 glutathione-S-transferase와 GSH-Px와 같은 외부의 산화적 세포 손상에 대한 방어 작용을 나타내는 효소의 기질로 사용되며 세포내 지질과산화물과 이물질 제거, 아미노산 수송 및 저장 등 다양한 세포기능을 수행하는 중요한 물질로 알려져 있다(171). 여러 역학적 조사연구나 임상연구 결과 항산화 영양소가 많은 채소 및 과일류의 섭취가 많을수록 노화로 인한 기능저하 및 만성 질환의 발병을 낮추는 것으로 보고되었다(73-76). 또한 Cutler(77)는 포유동물에서 수명과 체내 항산화 수준과 정의 상관관계가 있으며, 특히 superoxide dismutase(SOD)와 carotenoids,  $\alpha$ -tocopherol, uric acid가 체내 항산화 시스템에 매우 중요한 역할을 한다고 하였다.

본 연구결과도 위 연구들과 마찬가지로 비파의 부위별 추출물의 급여로 인해 증가되어진 항산화 물질들로 인해 에탄올 투여로 감소된 간 조직 중의 GSH를 증가시켜 간 조직의 항산화계에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 사료된다.





**Fig. 30. Contents of GSH in the liver of rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 9.

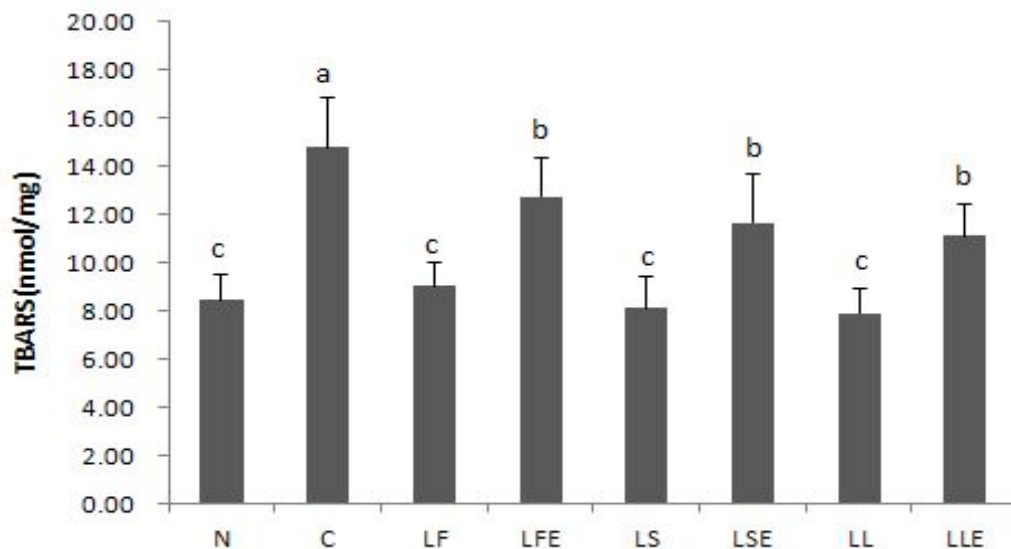
Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

## 8. 간 조직 중 과산화지질 함량

간 조직 중 과산화지질 함량은 Fig. 31에서와 같이 에탄올을 4주간 경구 투여한 대조군(C)이 정상군(N)에 비하여 유의하게 증가되었다. 비파 부위별 추출물 단독투여군(LF, LS, LL)은 정상군(N)에 비하여 과산화지질 함량이 비슷한 수치를 보였고, 비파 부위별 추출물과 알코올 병합투여군(LFE, LSE, LLE)은 대조군(C)에 비해서 유의하게 감소하는 경향을 보였다.

Kim과 Kim(172)의 연구에서 간의 지질과산화물 함량은 대조군에 비해 감잎 및 녹차 추출물 투여군에서 유의적으로 낮았다고 보고하였으며, Won 등(173)은 고콜레스테롤을 급여한 흰쥐에게 녹차 열수추출물을 투여한 결과 간의 과산화지질 함량은 대조군에 비해 감소시킨다고 보고하여 본 실험과 유사한 결과를 나타냈다.

세포내 산화적 스트레스로 인해 생성되는 free radical에 의한 지질과산화 반응은 생체내 대사이상을 초래하고 DNA를 손상시켜 발암, 돌연변이, 유전자의 소실 및 노화의 기전으로 알려져 있다(174). 간 조직 중 과산화지질 함량이 감소된 것은 비파의 부위별 추출물에 함유된 polyphenol 및 flavonoid 등의 생리활성 물질은 항산화 비타민 및 항산화 무기질과 함께 free radical의 생성을 억제시킬 수 있을 것으로 사료된다.



**Fig. 31. Contents of TBARS in the liver of rats administered alcohol and/or loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 9.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

## 제5절 비파 부위별 에탄올 추출물이 고지방-고콜레스테롤 식이를 급여한 흰쥐에서 콜레스테롤 저하 및 비만억제 효과

### 1. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

비파의 부위별 추출물을 4주간 경구 투여하면서 고지방-고콜레스테롤 식이를 급여한 흰쥐의 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율을 비교한 결과는 Table 24 및 Fig. 32, 33과 같다.

흰쥐의 체중증가량은 Table 24에서와 같이 대조군(HCD)  $224.83 \pm 8.72$  g에 비해 정상식이군(ND)이  $189.58 \pm 4.26$  g으로 유의적으로 낮아지는 것을 볼 수 있었고 비파 부위별 추출물 고농도 투여군(HCD-FH, HCD-SH, HCD-LH)은 비파 부위별 추출물 저농도 투여군(HCD-FL, HCD-SL, HCD-LL)에 비해 유의적으로 체중 증가량이 감소하였다. 비파 잎 추출물 고농도 투여군(HD-LH)은 비파 과육, 씨 추출물 고농도 투여군(HCD-FH, HCD-SH)에 비하여 체중증가량이 더 감소하는 경향을 보였다.

식이섭취량은 Fig. 26에서와 같이 비파 잎 추출물 저농도 투여군(HCD-LL)이  $21.23 \pm 0.47$  g으로 다른 군들에 비해 유의적으로 증가한 것으로 나왔고 대조군(HCD) 비파 잎 추출물 저농도 투여군(HCD-LL)을 제외한 각 군들 간에는 유의성을 보이지 않았다.

식이효율은 Fig. 27에서와 같이 대조군(HCD)이  $0.31 \pm 0.02$ 로 가장 높은 수치를 보였고 비파 잎 추출물 저농도 투여군(HCD-LL)이  $0.31 \pm 0.01$ 로 다른 군에 비해 유의성 있게 증가하였다. Dodge(175)는 고지방-고콜레스테롤 식이에서 식이섭취량이 감소되는 이유는 식이지방이 위내의 체류시간을 지연시키기 때문이라고 하였으며, Pellizzon 등(176)의 연구에서도 흰쥐에서 에너지 밀도가 높은 고지방식이군이 에너지 밀도가 낮은 저지방식이군에 비하여 식이섭취량이 낮았다고 보고하여 본 실험

결과와도 유사하였다. Kim 등(177)의 연구에 의하면 *db/db* 마우스에서 비파 추출물 투여한 결과 대조군에 비하여 체중이 저하되었으나, 유의적 차이가 없다가 44일째 유의적으로 감소하였다고 보고하였다.

**Table 24. Changes of the body weight of rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

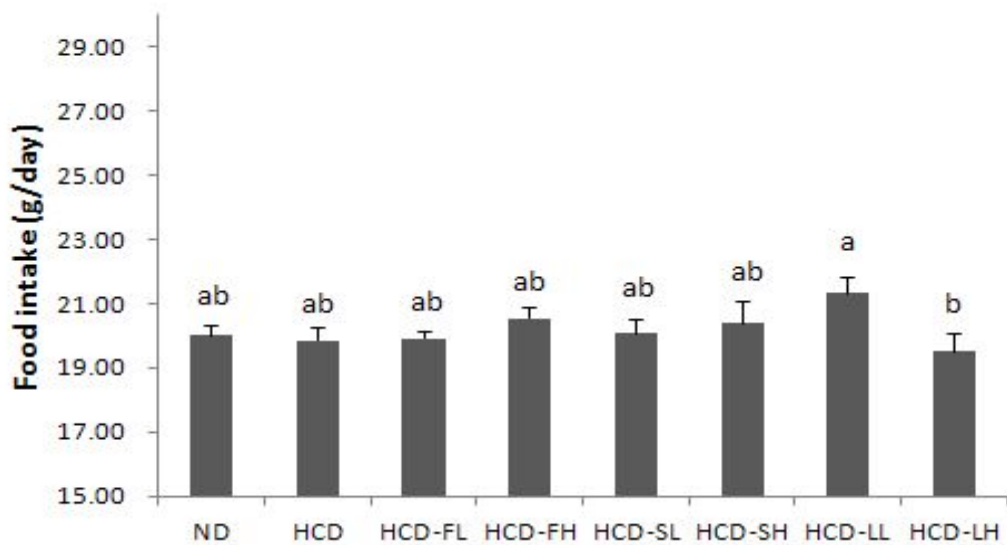
Groups <sup>1)</sup>	Initial body wt. (g)	Final body wt. (g)	Gained body wt. (g)
ND	151.50 ± 1.15 <sup>NS2)</sup>	341.08 ± 5.41 <sup>c</sup>	189.58 ± 4.26 <sup>c</sup>
HCD	150.67 ± 1.25	375.50 ± 9.97 <sup>a</sup>	224.83 ± 8.72 <sup>a</sup>
HCD-FL	151.58 ± 1.04	364.50 ± 8.57 <sup>ab</sup>	212.92 ± 7.53 <sup>ab</sup>
HCD-FH	150.33 ± 2.04	354.67 ± 9.82 <sup>b</sup>	204.33 ± 7.78 <sup>b</sup>
HCD-SL	150.67 ± 1.24	361.17 ± 7.75 <sup>ab</sup>	210.50 ± 6.51 <sup>ab</sup>
HCD-SH	150.83 ± 2.01	350.25 ± 6.35 <sup>b</sup>	199.42 ± 4.34 <sup>b</sup>
HCD-LL	151.58 ± 1.09	351.83 ± 3.19 <sup>b</sup>	200.25 ± 2.10 <sup>b</sup>
HCD-LH	151.08 ± 2.02	346.25 ± 7.47 <sup>bc</sup>	195.17 ± 5.45 <sup>bc</sup>

<sup>1)</sup>See the legend of Table 11.

<sup>2)</sup>Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group.

<sup>3)</sup>NS : not significantly different among groups.

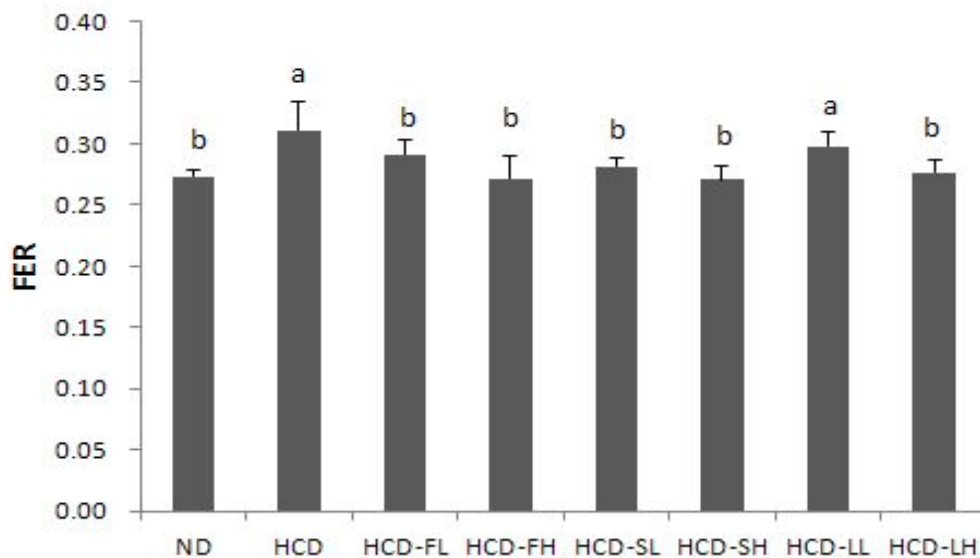
<sup>4)</sup>Values with different superscript in the same row significantly different (p<0.05) among groups by Tukey's test.



**Fig. 32. Food intake of rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 11.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.



**Fig. 33. FER of rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 11.

FER(food efficiency ratio) : total weight gain/total feed intake.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.



## 2. 간장/체중 비율 및 지방조직 무게

비파의 부위별 추출물을 4주간 경구 투여하면서 고지방-고콜레스테롤 식이를 급여한 흰쥐의 체중 당 간 비율 및 지방조직 무게를 비교한 결과는 Fig. 34~36과 같다.

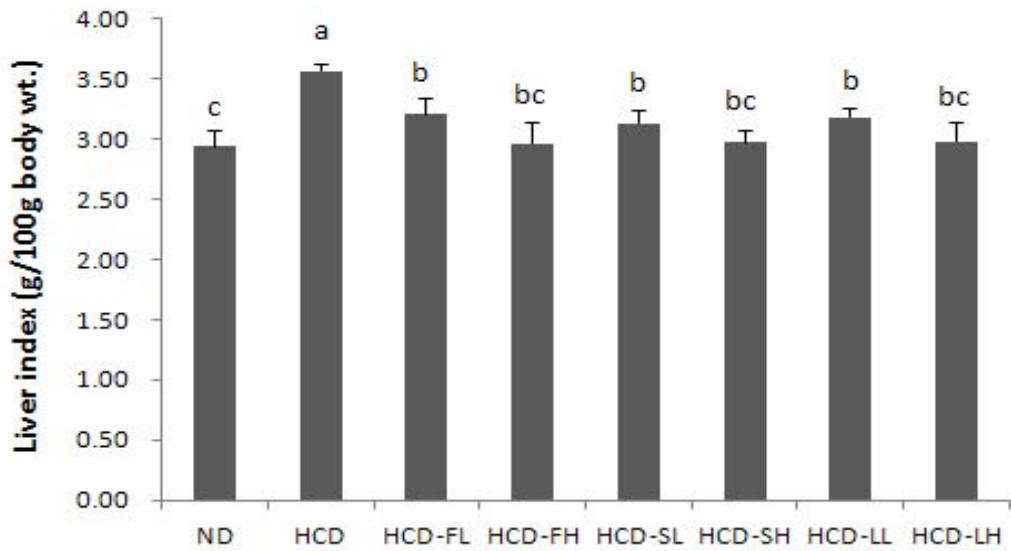
체중 당 간조직의 무게는 Fig. 34에서와 같이 대조군(HCD)이  $3.56 \pm 0.05$  g으로 가장 높은 수치를 보였고 정상식이군(ND)은  $2.94 \pm 0.12$  g으로 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다. 비파 부위별 추출물 고농도 투여군(HCD-FH, HCD-SH, HCD-LH)이 비파 부위별 추출물 저농도 투여군(HCD-FL, HCD-SL, HCD-LL)에 비하여 유의적으로 더 감소하는 수치를 보였다. 비파 과육 추출물 고농도 투여군(HCD-FH)은  $3.01 \pm 0.16$  g으로 다른 추출물 군들에 비하여 낮은 수치를 보여 비파의 부위별 추출물이 고지방-고콜레스테롤 급여로 인한 흰쥐의 간 내 지방축적을 억제 할 수 있을 것으로 생각된다. 이 결과는 고지방 식이와 식이 중 콜레스테롤 첨가로 인하여 간에서 콜레스테롤 및 중성지질 등이 축적되어 간 무게가 증가한다는 보고(178,179)와 일치하며, Turley 등(180)도 고콜레스테롤의 장기간 급여로 간 비대증이 유발되었다고 하였다.

장간막지방조직의 무게를 측정한 결과는 Fig. 35에서와 같이 대조군(HCD)이  $1.72 \pm 0.15$  g으로 다른 군들에 비하여 높은 수치를 보였고 비파 과육 추출물 고농도 투여군(HCD-FL)이  $1.39 \pm 0.13$  g으로 대조군 다음으로 높게 나타났다. 그에 비해 비파 잎 추출물 고농도 투여군(HCD-LH)은  $0.93 \pm 0.11$  g으로 정상식이군(ND)과 비슷한 수치까지 감소한 것으로 나타났다.

부고환지방조직의 무게는 Fig. 36에서와 같이 대조군(HCD)은 다른 군들에 비해 높은 수치를 보였고, 비파 잎 추출물 고농도 투여군(HCD-LH)은 다른 군들에 비하여 다소 낮은 수치를 보이며 비파 과육, 씨 추출물 군들 간에는 유의차가 없는 것으로 나타났다. 이 결과는 비파의 부위별 추출물이 장간막지방조직이나 부고환지방조직 내 지방축적을 억제 할 수 있을 것으로 사료된다.

일반적으로 비만에 있어서 체중의 증가보다는 체지방의 증가, 특히 피하지방보다는 복강 내에 위치한 지방조직의 증가가 건강상의 위해요인으로 작용한다고 보고되고 있으며(156,181), 체지방 함량이 동일하더라도 복부지방 함량이 증가할수록 대사성 질환이 증가한다고 보고되고 있다(157).

따라서 본 연구 결과 비파의 부위별 추출물은 고지방-고콜레스테롤의 섭취로 인하여 증가된 간 및 지방조직의 지방 축적을 억제하여 복부비만 억제 및 대사성질환 예방에 효과적일 것으로 사료된다.

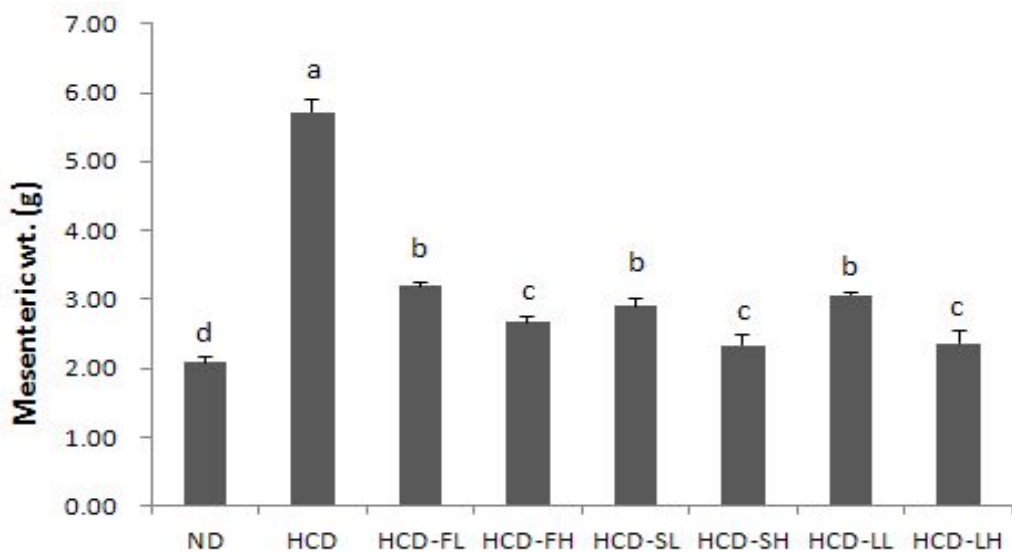


**Fig. 34. Liver index of rats high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 11.

Liver index: liver weight/100g body weight.

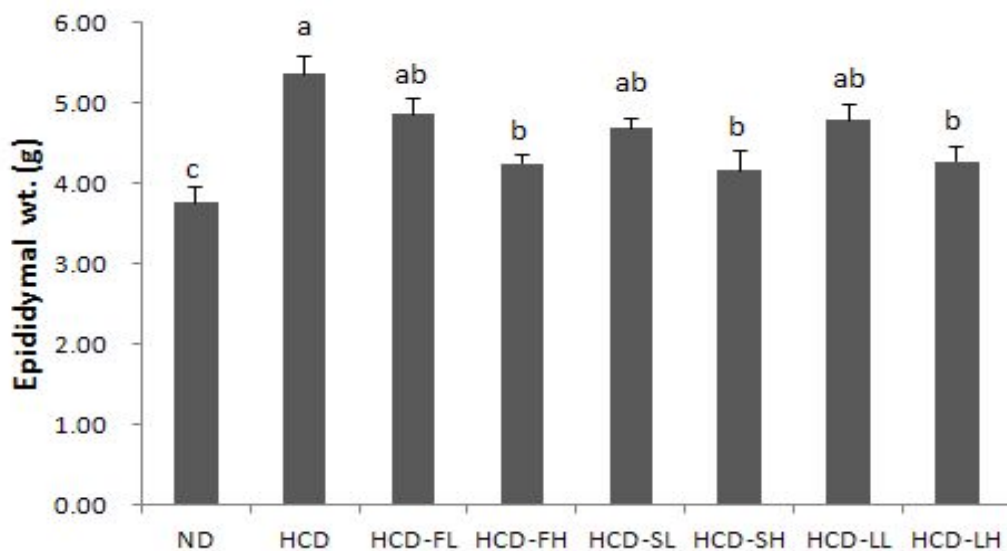
Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.



**Fig. 35. Mesenteric adipose tissue weights of rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 11.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.



**Fig. 36. Epididymal adipose tissue weights of rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 11.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

### 3. 혈청 중 ALT, AST, ALP 및 LDH 활성

비파의 부위별 추출물을 4주간 경구 투여하면서 고지방-고콜레스테롤 식이를 급여한 흰쥐의 혈청 중 ALT, AST, ALP 및 LDH 활성을 측정된 결과는 Fig. 37~40과 같다.

혈청 중 ALT 활성은 Fig. 37과 같이 대조군(HCD)이  $27.17 \pm 1.91$  U/L로 정상식이군(ND)  $21.0 \pm 1.95$  U/L에 비하여 유의하게 증가하였고, 비파 부위별 추출물 저농도 투여군(HCD-FL, HCD-SL, HCD-LL)과 비파 부위별 추출물 고농도 투여군(HCD-FH, HCD-SH, HCD-LH)은 대조군(HCD)에 비하여 유의하게 감소하였고 비파 과육 추출물 저농도 투여군(HCD-FL)을 제외한 각 군들 간에는 유의적으로 감소한 것으로 나타났다.

혈청 중 AST 활성은 Fig. 38과 같이 대조군(HCD)이 정상식이군(ND)  $52.17 \pm 3.69$  U/L에 비하여 유의하게 증가하였다. 비파 부위별 추출물 고농도 투여군(HCD-FH, HCD-SH, HCD-LH)과 비파 부위별 추출물 저농도 투여군(HCD-FL, HCD-SL, HCD-LL)들 간에는 유의차가 없었지만 비파 잎 추출물 고농도 투여군(HCD-LH)은 다른 군에 비하여 수치가 더 저하된 것으로 조사되었다.

간 기능 지표효소인 혈청 중 AST, ALT 활성은 고지방 식이, 고콜레스테롤 식이, 알코올 등으로 지방간 등이 유발되고 간 독성 물질에 의하여 간조직이 손상되어 혈중으로 이들 효소가 다량 유출되어 활성도가 높아지게 된다고 알려져 있으며 (182), 본 연구 결과에서도 고지방-고콜레스테롤 식이로 인하여 흰쥐의 혈청 중 AST와 ALT 활성이 유의하게 증가하였음을 관찰할 수 있었다.

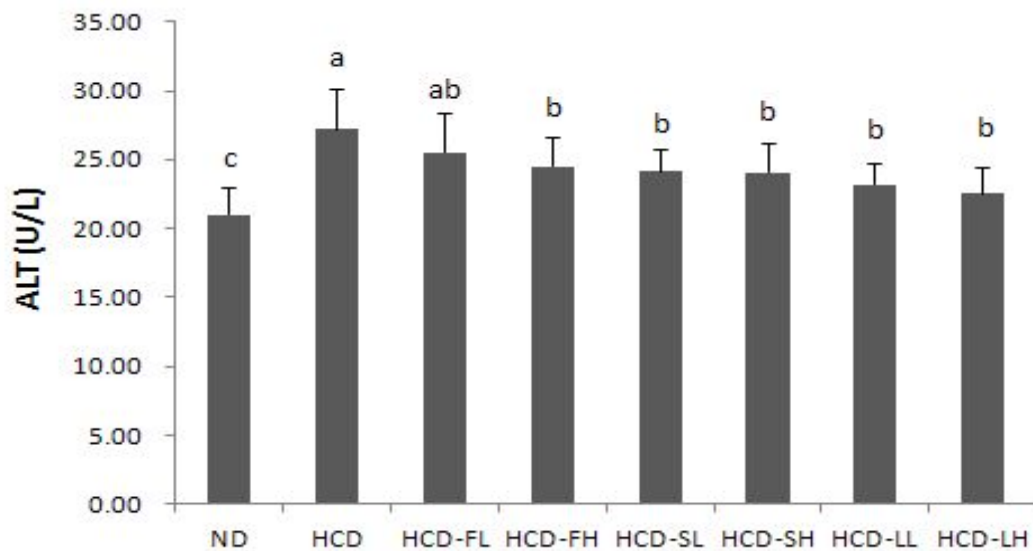
혈청 중 ALP 활성은 Fig. 39에서와 같이 정상식이군(ND)  $46.50 \pm 3.02$  U/L에 비하여 대조군(HCD)이 유의하게 증가하였으며, 비파 잎 추출물 고농도 투여군(HCD-LH)은  $49.17 \pm 5.57$  U/L로 다른 투여 군들에 비하여 가장 큰 감소를 보였다.

혈청 중 LDH 활성은 Fig. 40에서와 같이 대조군(HCD)에 비하여 각 군들은 유의성 있게 감소하였으며, 투여군 중에서는 비파 씨 추출물 고농도 투여군(HCD-SH)이  $138.17 \pm 20.30$  U/L로 가장 큰 감소를 보였고 비파 과육 추출물 고농도 투여군(HCD-FL)은 가장 적은 감소를 보였다.

혈청 ALP는 담도계 폐색 또는 간 질환 등에 의해 그 활성이 증가되는 효소로서,

급성 신부전증, 고지혈증, 폐경색증과 같이 간세포 장애가 고도로 진행되면 AST, ALT 및 ALP 활성이 동시에 높아지며 이에 따라 간장에서 담즙산 배설장애를 유발하여 혈청 콜레스테롤 농도를 상승시킨다고 알려져 있다(183). 또한, 혈청 LDH는 체내 혐기적 해당계의 최종 단계에서 산화, 환원반응에 관여하는 효소로 급성 간염, 초기 간암, 심근경색, 악성빈혈, 백혈병 등에서 현저하게 상승한다고 한다(184).

본 연구 결과 고지방-고콜레스테롤 급여로 인해 혈청 중 ALT, AST, ALP 및 LDH 활성이 증가되었으나 비파 부위별 추출물 투여로 다소 감소하는 것으로 보아 비파 부위별 추출물이 혈청 및 간의 지질대사를 개선시키고, 고지혈증으로 인한 간의 손상을 방지하며 비만을 예방하는데 효과가 있을 것으로 사료된다.

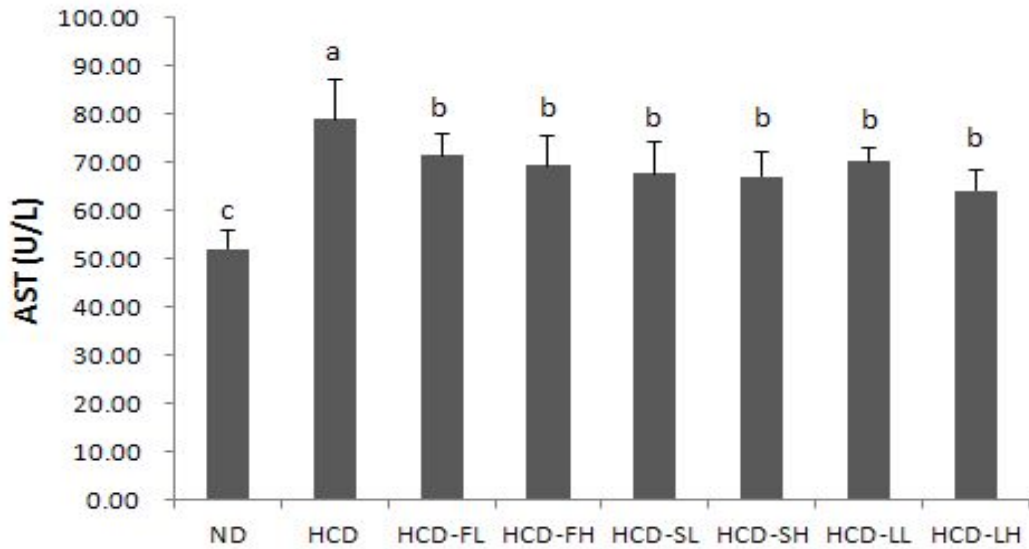


**Fig. 37. Serum activity of ALT in the rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 11.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

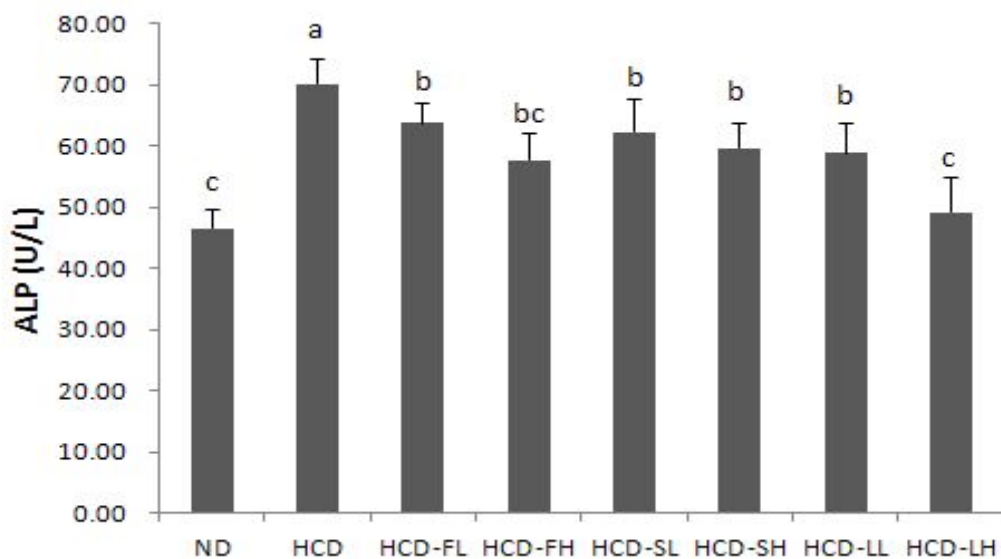




**Fig. 38. Serum activity of AST in the rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 11.

Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.



**Fig. 39. Serum activity of ALP in the rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 11.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

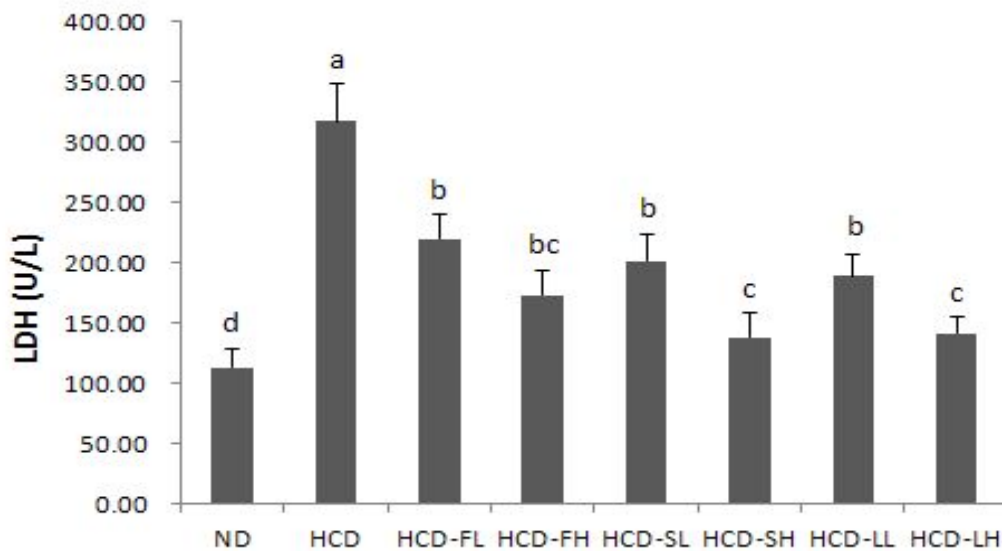


Fig. 40. Serum activity of LDH in the rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts

Abbreviations : See the legend of Table 11.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

#### 4. 혈청 중 포도당 함량

비파의 부위별 추출물을 4주간 경구 투여하고 고지방-고콜레스테롤 식이를 급여한 흰쥐의 혈청 중 포도당 함량을 측정한 결과는 Fig. 41과 같다.

고지방-고콜레스테롤 식이를 급여한 대조군(HCD)은  $114.33 \pm 19.08$  mg/dL로 정상식이군(ND)  $109.33 \pm 11.14$  mg/dL에 비하여 포도당 함량이 조금 증가하였으나 유의차를 보이지는 않았고, 비파 잎 추출물 고농도 투여군(HCD-LH)은 유의차를 보이지 않았으나 수치가 다른 군들에 비해 더 감소되었다. 이는 고지방-고콜레스테롤 식이의 급여로 인하여 고혈당 유발이 이루어지기에는 투여 기간이 짧았던 것으로 생각되어진다. 하지만 Kim 등(177)의 연구를 보면 비파 씨 추출물을 투여 할 때보다 잎 추출물 투여 할 때 인슐린이 다량 분비되어 혈당 및 당화 헤모글로빈이 낮아졌다고 보고하였다.

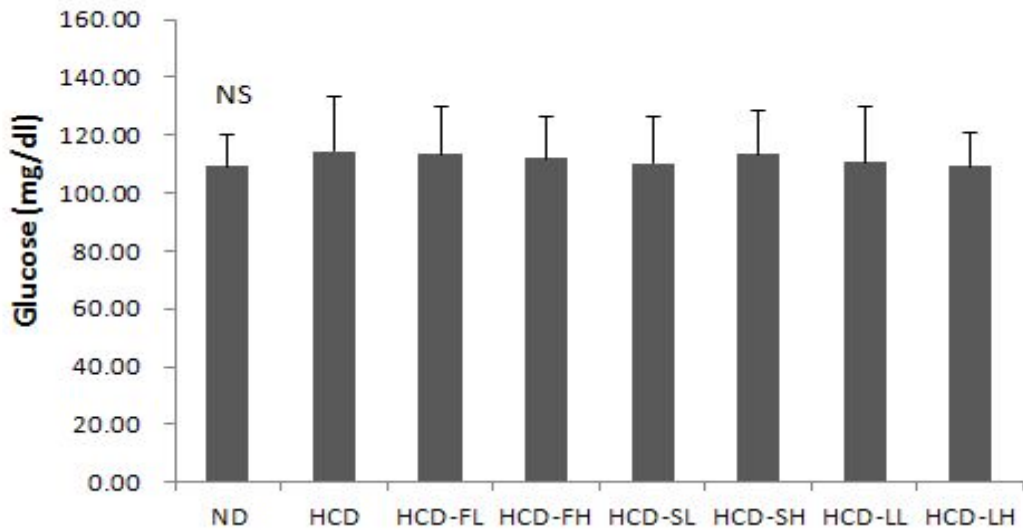


Fig. 41. Contents of glucose in the serum of the rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts

Abbreviations : See the legend of Table 11.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

## 5. 혈청 중 중성지방 및 총콜레스테롤 함량

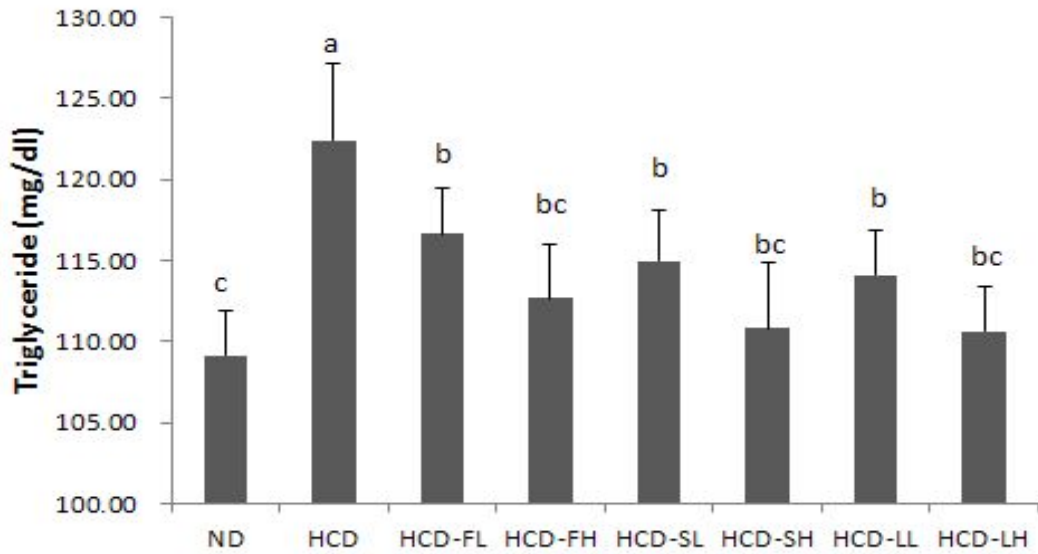
비파의 부위별 추출물을 4주간 경구 투여하고 고지방-고콜레스테롤 식이를 급여한 흰쥐의 혈청 중 중성지방 및 총콜레스테롤 함량 변화는 Fig. 42, 43과 같다.

혈청 중 중성지방 함량은 Fig. 42와 같이 대조군(HCD)은  $122.41 \pm 4.79$  mg/dl로 정상식이군(ND)  $109.17 \pm 2.74$  mg/dl에 비하여 유의하게 증가하였고, 비파 부위별 추출물 저농도 투여군(HCD-FL, HCD-SL, HCD-LL)은 비파 부위별 추출물 고농도 투여군(HCD-FH, HCD-SH, HCD-LH)에 비하여 유의적으로 증가하였으나 큰 차이를 보이지는 않았고, 비파 잎 추출물 고농도 투여군(HCD-LH)이 가장 큰 감소를 보였다.

피하지방에 대한 내장지방의 비가 혈중 중성지방 농도에 가장 영향을 미쳐 복부에 지방이 축적된 사람들에게서 중성지방 함량이 높다고 알려져 있는데(185), 본 연구 결과에서도 복부지방 부위를 차지하는 부고환지방조직의 무게가 가장 큰 대조군(HCD)의 중성지방 함량이 가장 많았고, 부고환지방조직의 무게가 가장 적은 비파 잎 추출물 고농도 투여군(HCD-LH)에서 중성지방 함량이 가장 낮게 나타났다. 따라서 비파 부위별 추출물이 중성지방의 함량을 감소시키는 것으로 보여진다.

혈청 중 총콜레스테롤 함량은 Fig. 43과 같이 대조군(HCD)은  $118.55 \pm 6.12$  mg/dL로 정상식이군(ND)  $106.18 \pm 3.68$  mg/dL에 비하여 유의하게 증가하였고 비파 부위별 추출물 투여군 중에서는 비파 과육 추출물 고농도 투여군(HCD-FL)이 가장 높은 수치를 보였고 비파 잎 추출물 고농도 투여군(HCD-LH)이 가장 낮은 수치를 보였다.

Hsu와 Yen(186)에 의하면 식물체에 존재하는 phenolic compounds는  $\mu\text{M}$  농도 수준에서 효과적으로 지방세포 내 중성지방 생성 및 GPDH 활성을 억제 할 수 있는 것으로 나타나있다. 따라서 본 연구의 비파 부위별 추출물 역시 비파 과육, 잎 및 씨 등의 추출물로부터 얻은 시료로써 상당량의 phenolic compounds들이 함유되어 있으며 세포내 중성지방 생성 억제활성을 나타내는 주요성분으로 작용했을 것으로 생각된다(187). 또한 flavonoids를 비롯한 polyphenol 등의 생리활성 물질들은 유지의 자동산화과정의 연쇄반응을 억제시키는 radical scavenger나 혹은 LDL(low density lipoprotein)산화에 의한 동맥경화, 심장병 예방, 노화 억제 등의 효과가 있는 것으로 알려져 있다(71,72).



**Fig. 42.** Contents of triglyceride in the serum of the rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts

Abbreviations : See the legend of Table 11.

Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

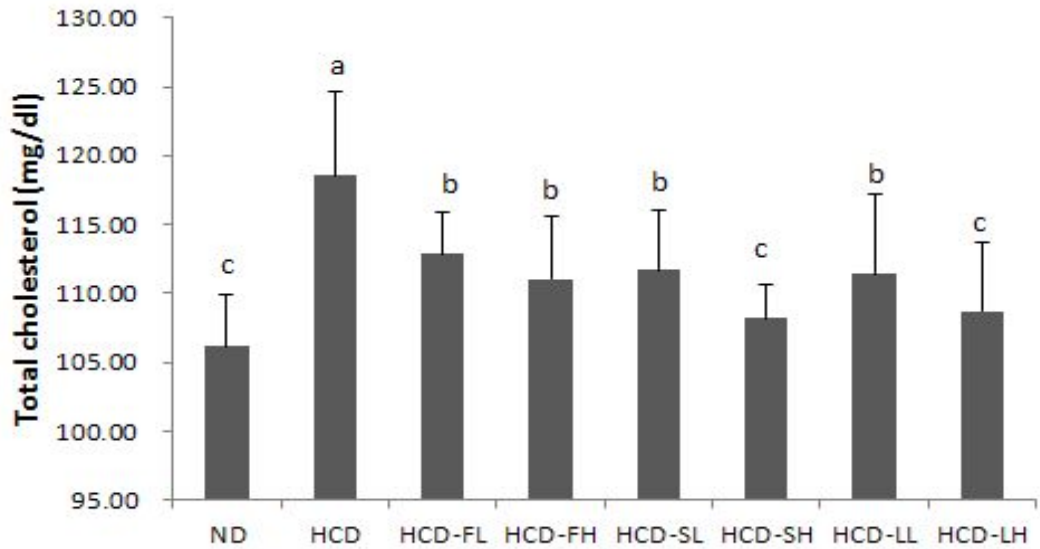


Fig. 43. Contents of total cholesterol in the serum of the rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts

Abbreviations : See the legend of Table 11.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.



## 6. 혈청 중 HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 함량, 동맥경화 지수 및 심혈관위험지수

비파의 부위별 추출물을 4주간 경구 투여하고 고지방-고콜레스테롤 식이를 급여한 흰쥐의 혈청 중 HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤의 함량 동맥경화지수(atherogenic index, AI) 및 심혈관위험지수(cardiac risk factor, CRF)의 변화는 Fig. 44~47과 같다.

혈청 중 HDL-콜레스테롤의 농도는 Fig. 44에서와 같이 비파 잎 추출물 고농도 투여군(HCD-LH)이  $81.17 \pm 4.77$  mg/dL로 가장 높게 나타났으며, 대조군(HCD)이  $65.21 \pm 6.49$  mg/dL로 가장 낮게 나타났다. 비파 부위별 추출물 군들은 대조군(HCD)에 비해서 유의하게 증가하는 경향을 보였고 비파 잎 추출물 고농도 투여군(HCD-LH)와 비파 씨 추출물 고농도 투여군(HCD-SH)은 정상식이군(ND)과 유사한 수치를 보였다.

혈청 중 LDL-콜레스테롤 농도는 Fig. 45에서와 같이 대조군(HCD)이  $129.99 \pm 2.41$  mg/dL로 정상식이군(ND)  $111.87 \pm 1.34$  mg/dL에 비하여 유의하게 증가하였다. 또한 비파 부위별 추출물 군들은 대조군(HCD)에 비하여 유의하게 감소하였고 비파 잎 추출물 고농도 투여군(HCD-LH)와 비파 씨 추출물 고농도 투여군(HCD-SH)이 가장 많이 감소하였다. 정상상태에서 식이성 중성지방과 콜레스테롤은 조직세포에서 합성된 지질과 균형을 이루며 혈관 내 순환 lipoprotein들의 농도는 항상성에 의해 적절하게 조절되나, 유전적 요인과 환경적 요인에 의해 체내 지질의 균형이 깨지게 되면 혈장 lipoprotein인 LDL-콜레스테롤 농도가 증가하고 HDL-콜레스테롤 농도가 감소하여 동맥경화증, 고혈압 및 심혈관계 질환을 유발하게 된다고 알려져 있다(188). 지단백질의 일종인 HDL-콜레스테롤은 말초 조직의 콜레스테롤을 간으로 역수송하며 담즙산으로 배설되어 혈액 중 콜레스테롤 함량을 저하시키며 세포에서 LDL-콜레스테롤의 흡수를 억제하여 혈관 벽에 콜레스테롤 축적을 방지해 동맥경화증과 혈관 장애 개선에 효과가 있는 것으로 보고 되어있다(189-191). 또한, LDL-콜레스테롤은 혈청 콜레스테롤의 주된 운반형으로 농도가 증가되면 동맥 혈관 벽에 콜레스테롤을 축적시켜 동맥경화를 촉진하므로 혈청 LDL-콜레스테롤 농도를 정상으로 유지하는 것이 중요하다고 알려져 있다(192).

동맥경화 지수(AI)는 Fig 46에서와 같이 대조군(HCD)이  $0.82 \pm 0.12$ 으로 정상식이군(ND)  $0.32 \pm 0.11$ 에 비하여 유의하게 증가하였으며, 비과 부위별 추출물 군들의 동맥경화 수치는 대조군(HCD)에 비하여 유의하게 감소하였고 비과 잎 추출물 고농도 투여군(HCD-LH)에서 높은 수치의 감소를 보였다.

심혈관위험 지수(CRF)는 Fig 47에서와 같이 정상식이군(ND)이  $1.32 \pm 0.01$ 으로 가장 낮은 수치를 보였으며, 대조군(HCD)은  $1.82 \pm 0.03$ 로 가장 높은 수치를 보였다. 비과 부위별 추출물 저농도 투여군(HCD-FL, HCD-SL, HCD-LL)은 대조군(HCD)에 비하여 유의하게 저하되는 것을 볼 수 있었고 비과 부위별 추출물 고농도 투여군(HCD-FH, HCD-SH, HCD-LH)은 비과 부위별 추출물 저농도 투여군보다 큰 감소를 보였다. Jang 등(193)은 고콜레스테롤혈증 흰쥐에게 식이섬유소 급여시 동맥경화지수가 유의하게 감소하였다고 하였으며, Kim 등(194)이 고콜레스테롤 식이 흰쥐에게 뽕잎 분말을 첨가 급여한 연구에서는 뽕잎 분말이 동맥경화지수와 심혈관위험지수의 수치가 유의하게 감소하였다고 보고하여 본 연구 결과와 유사한 결과를 나타냈다. Grundy (195)에 의하면 oleic acid는 섭취하는 총 식품지방산의 45% 정도이며 주된 단일불포화지방산으로 영양특성에서 혈청 콜레스테롤 농도를 높이지 상승시키지 않는다고 하였다. 또한 oleic acid가 혈청 지단백질 수준을 조절하여 심혈관질환을 예방하는 역할에 대해 많은 연구가 이루어져 왔다(196,197)

본 실험의 결과 비과의 부위별 추출물에 다량 함유되어 있는 불포화 지방산인 oleic acid나 linoleic acid 등이 혈청 중 LDL-콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤 농도에 관여한 것으로 보이며, 특히 LDL-콜레스테롤 농도를 저하시켜 동맥경화지수 및 심혈관위험지수를 낮추어 고지혈증 및 고콜레스테롤혈증 등을 억제시켜 혈청의 지질대사를 개선하여 심혈관계 질환의 위험을 감소시키는데 효과가 있는 것으로 사료된다.

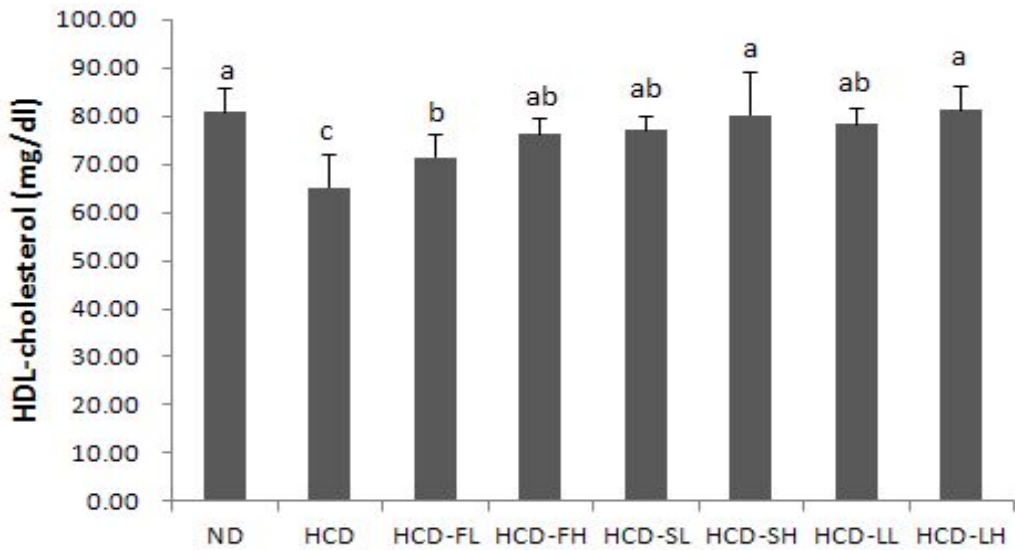


Fig. 44. Contents of HDL-cholesterol in the serum of the rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts

Abbreviations : See the legend of Table 11.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

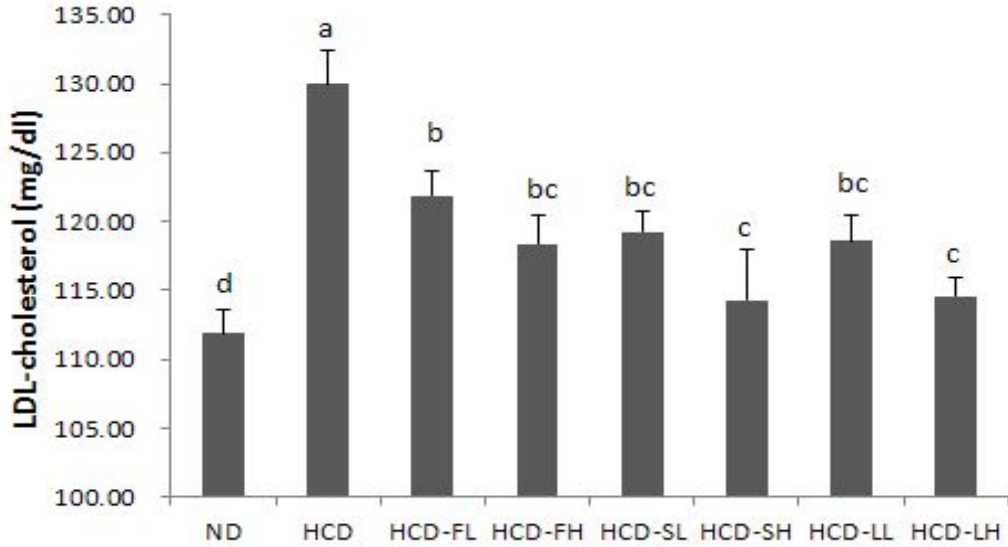
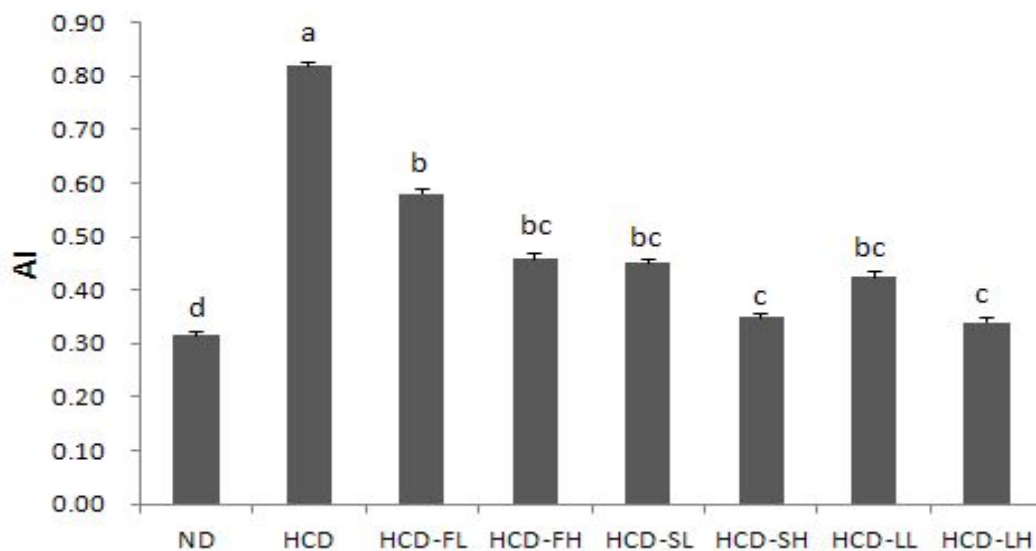


Fig. 45. Contents of LDL-cholesterol in the serum of the rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts

Abbreviations : See the legend of Table 11.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

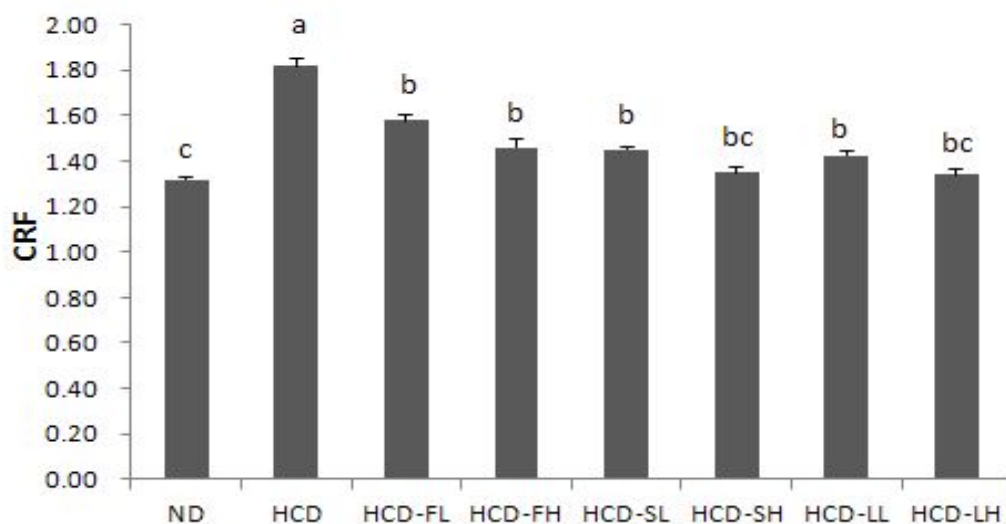


**Fig. 46. Atherogenic index of rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 11.

AI: atherogenic index.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.



**Fig. 47. Cardiac risk factor of rats fed high fat–high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 11.

CRF: cardiac risk factor.

Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

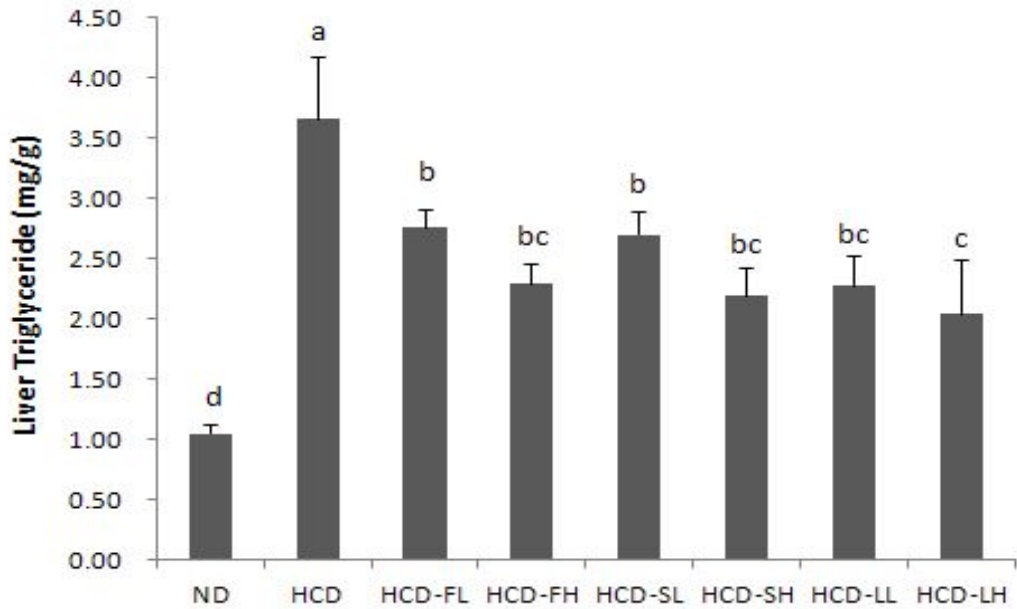
## 7. 간 조직 중 중성지방 및 총콜레스테롤 함량

비파의 부위별 추출물을 4주간 경구 투여하고 고지방-고콜레스테롤 식이를 급여한 흰쥐의 간 조직 중 중성지방 및 총콜레스테롤 함량은 Fig. 48, 49와 같다.

간 조직 중 중성지방 농도는 Fig. 48에서와 같이 정상식이군(ND)  $1.05 \pm 0.07$  mg/g에 비하여 대조군(HCD)이  $3.65 \pm 0.41$  mg/g으로 증가하는 것을 볼 수 있었고 비파 부위별 추출물 저농도 투여군(HCD-FL, HCD-SL, HCD-LL)에 비해서도 유의적으로 높은 수치를 나타냈다. 비파 부위별 추출물 고농도 투여군(HD-FH, HD-SH, HD-LH)은 비파 부위별 추출물 저농도 투여군(HCD-FL, HCD-SL, HCD-LL)에 비해서 농도 의존적으로 감소하는 경향을 나타냈다.

간 조직 중 총콜레스테롤 농도는 Fig. 49와 같이 대조군(HCD)이  $15.11 \pm 1.51$  mg/g으로 정상식이군(ND)의  $6.91 \pm 1.51$  mg/g에 비하여 유의하게 증가하였다. 비파 부위별 추출물 고농도 투여군(HCD-FH, HCD-SH, HCD-LH)은 비파 부위별 추출물 저농도 투여군(HCD-FL, HCD-SL, HCD-LL)에 비해 유의적으로 감소하는 경향을 보였고, 비파 잎 추출물 고농도 투여군(HCD-LH)은  $9.93 \pm 1.28$  mg/g으로 다른 군들에 비해 유의하게 감소하였다.

고지방-고콜레스테롤 식이의 4주간 반복급여로 인하여 간 조직의 무게가 다른 군에 비하여 다소 증가하였으며 중성지방 및 콜레스테롤의 함량이 증가하였는데, 일반적으로 고지방 식이는 간 조직의 콜레스테롤 함량을 증가시킨다고 하며(198), 동물실험에서 식이 중의 콜레스테롤을 0.2~1.0% 수준에서 첨가하게 되면 고콜레스테롤혈증을 유발하게 되고, 간장에서 총 지질량은 약 3배 정도 증가하는 동시에 간 중의 총콜레스테롤 함량은 약 10배 정도 증가하는 것으로 알려져 있다(199). Yokozawa 등(200)은 콜레스테롤의 증가로 인해 생체 내 free radical의 과잉 축적으로 항산화방어계와 자유라디칼생성계의 균형이 깨져 산화적 손상을 유발한다고 보고하였으며, 항산화 방어계의 주된 역할을 담당하는 인자에는 SOD, GSH-px 등의 효소 계열의 예방적 항산화계와 카로티노이드 및 폴리페놀화합물 등 식물 유래의 식이성 천연항산화물질이 있다고 보고하였다(201).



**Fig. 48. Contents of triglyceride in the liver of rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 11.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.



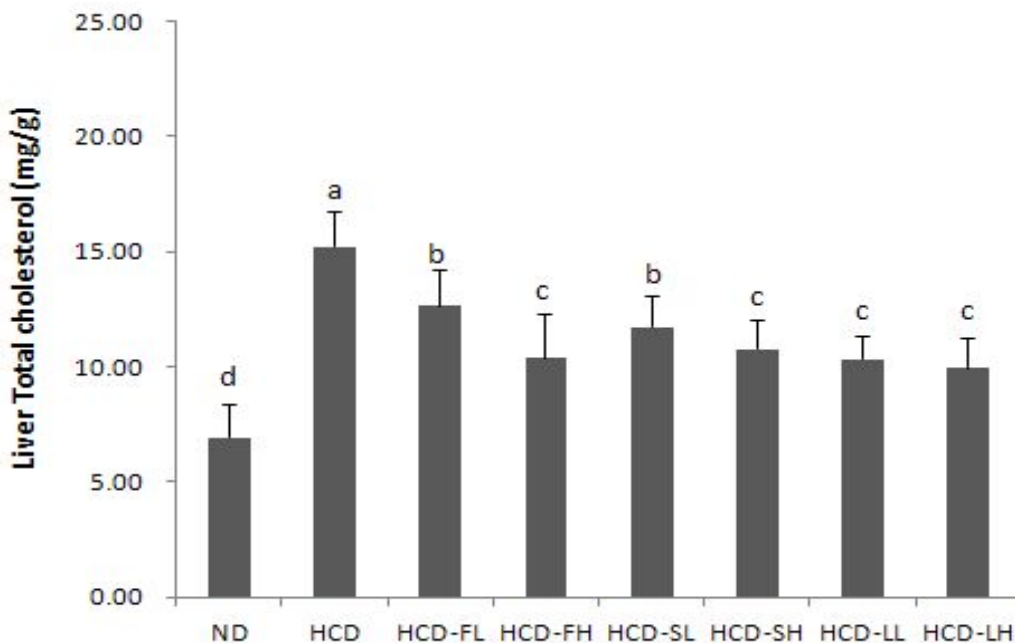


Fig. 49. Contents of total cholesterol in the liver of rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts

Abbreviations : See the legend of Table 11.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

## 8. 지방조직 중 중성지방 및 총콜레스테롤 함량

비파의 부위별 추출물을 4주간 경구 투여하고 고지방-고콜레스테롤 식이를 급여한 흰쥐의 장간막지방조직과 부고환지방조직 중 중성지방 및 총콜레스테롤 함량은 Fig. 50~53과 같다.

장간막지방조직 중 중성지방 농도는 Fig. 50에서와 같이 고지방-고콜레스테롤 식이를 급여한 대조군(HCD)이  $17.06 \pm 1.74$  mg/g으로 정상식이군(ND)  $7.22 \pm 1.12$  mg/g에 비하여 유의하게 증가하였다. 비파 부위별 추출물 저농도 투여군(HCD-FL, HCD-SL, HCD-LL)은 대조군(HCD)에 비해 유의성 있게 감소되는 수치를 보였고, 비파 부위별 추출물 고농도 투여군(HCD-FH, HCD-SH, HCD-LH)은 저농도 투여군에 비하여 더 감소하는 경향을 보였다.

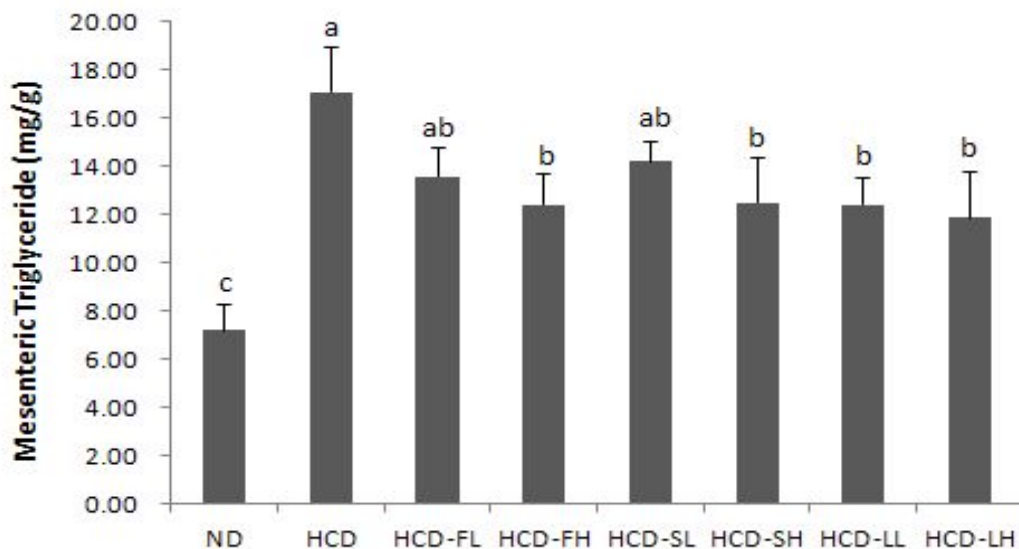
부고환지방조직 중 중성지방 농도는 Fig. 51에서와 같이 대조군(HCD)이  $25.41 \pm 1.29$  mg/g으로 정상식이군(ND)  $8.95 \pm 1.02$  mg/g에 비하여 유의하게 증가하는 것을 볼 수 있었다. 비파 부위별 추출물 군들은 대조군(HCD)에 비하여 유의하게 감소하였으며, 비파 씨 추출물 고농도 투여군(HCD-SH)은 가장 크게 감소하는 수치를 나타내었다.

장간막지방조직 중 총콜레스테롤 농도는 Fig. 52에서와 같이 대조군(HCD)이  $40.09 \pm 1.43$  mg/g으로 정상식이군(ND)  $21.23 \pm 2.50$  mg/g에 비하여 유의적으로 증가하였고 비파 씨 추출물 고농도 투여군(HCD-SH)과 비파 잎 추출물 고농도 투여군(HD-LH)은 다른 군들에 비하여 유의적으로 감소되는 수치를 보였다.

부고환지방조직 중 총콜레스테롤 농도는 Fig. 53에서와 같이 정상식이군(ND)  $44.51 \pm 3.38$  mg/g에 비하여 대조군(HCD)이  $81.79 \pm 4.69$  mg/g으로 유의하게 증가하는 것을 볼 수 있었고, 비파 부위별 추출물 고농도 투여군(HCD-FH, HCD-SH, HCD-LH)이 비파 부위별 추출물 저농도 투여군(HCD-FL, HCD-SL, HCD-LL)에 비하여 유의성 있게 감소하는 것을 볼 수 있었다. 연구 결과 고지방-고콜레스테롤 식이에 의하여 지방조직 중 중성지방 및 총콜레스테롤 함량이 증가하였는데, Sung 등(202)은 고지방식이에 의한 중성지방의 증가는 비만 동물의 지방조직에 있어서 지방 축적의 원인이 지방 분해력의 저하보다는 지방 합성의 증가에 있다고 보고하였다.

본 연구 결과 비파 부위별 추출물의 급여로 고지방-고콜레스테롤을 급여한

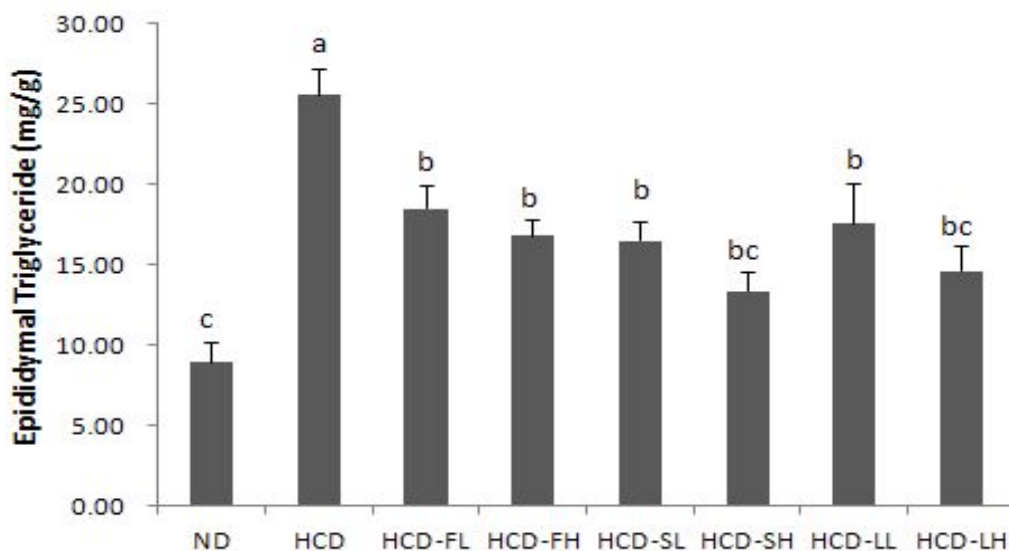
흰쥐에서 장간막지방조직과 부고환지방조직 중의 중성지방과 총콜레스테롤 함량이 감소되는 것으로 보아 비과 부위별 추출물이 지방조직의 지방 축적을 억제하여 지질대사에 긍정적인 효과가 있는 것으로 사료된다.



**Fig. 50. Contents of total cholesterol in the mesenteric adipose tissue of rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 11.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.



**Fig. 51. Contents of triglyceride in the epididymal adipose tissue of rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 11.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

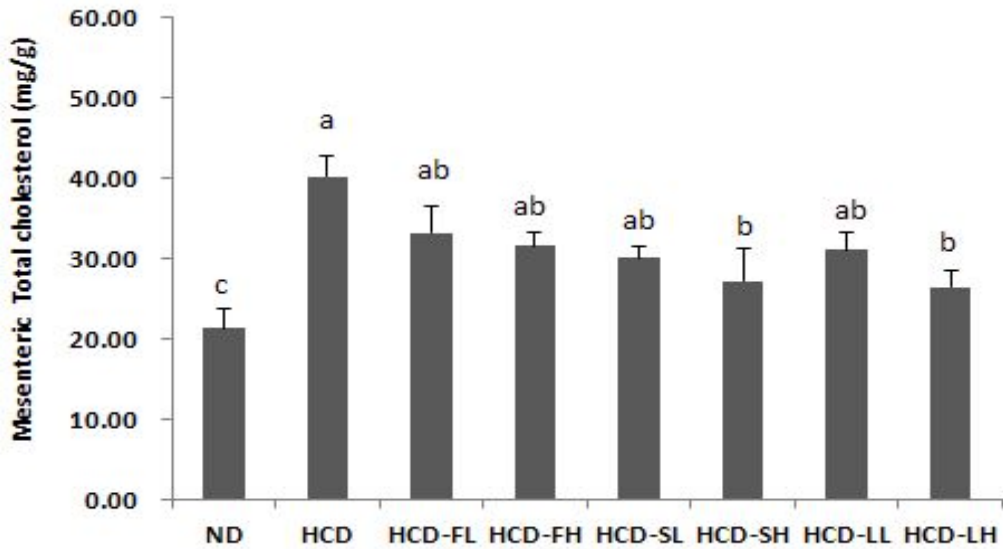
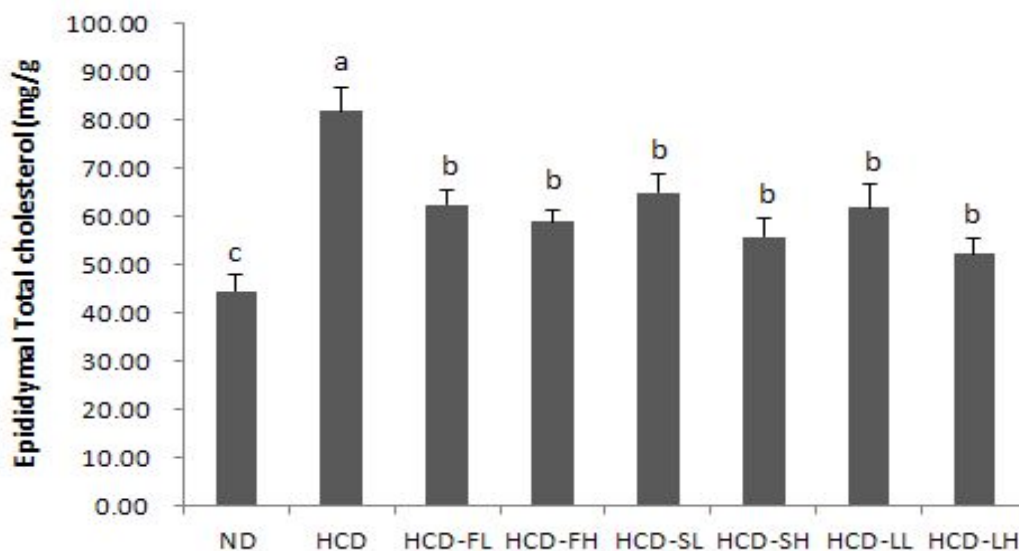


Fig. 52. Contents of triglyceride in the mesenteric adipose tissue of rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts

Abbreviations : See the legend of Table 11.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.



**Fig. 53. Contents of total cholesterol in the epididymal adipose tissue of rats fed high fat-high cholesterol diet with loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts**

Abbreviations : See the legend of Table 11.

Values are mean  $\pm$  S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

## 9. 지방조직 중 LPL 활성

비파의 부위별 추출물을 4주간 경구 투여하고 고지방-고콜레스테롤 식이를 급여한 흰쥐의 장간막지방조직과 부고환지방조직의 LPL 활성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 HR-LPL과 TE-LPL 활성을 측정된 결과는 Table 25, 26과 같다.

장간막지방조직의 HR-LPL 활성은 Table 25에서와 같이 대조군(HCD)이  $7.63 \pm 0.31$ 로 정상식이군(ND)  $4.12 \pm 0.13$ 에 비하여 47.6% 유의하게 증가하였다. 비파 부위별 추출물 저농도 투여군(HCD-FL, HCD-SL, HCD-LL)과 비파 부위별 추출물 고농도 투여군(HCD-FH, HCD-SH, HCD-LH)에서는 대조군(HCD)에 비하여 유의하게 감소하였다. 비파 부위별 추출물 저농도 투여군(HCD-FL, HCD-SL, HCD-LL)과 비파 부위별 추출물 고농도 투여군(HCD-FH, HCD-SH, HCD-LH) 간에도 유의차가 있었으며, 비파 앞 추출물 고농도 투여군(HCD-LH)과 비파 씨 추출물 고농도 투여군(HCD-SH)이 가장 많이 감소하였다.

부고환지방조직의 HR-LPL 활성은 Table 25에서와 같이 대조군(HCD)이 정상식이군(ND)에 비하여 67.12% 유의하게 증가하였다. 비파 부위별 추출물 고농도 투여군(HCD-FH, HCD-SH, HCD-LH)과 비파 부위별 추출물 저농도 투여군(HCD-FL, HCD-SL, HCD-LL)은 대조군(HCD)에 비하여 유의하게 감소하는 경향을 보였고, 비파 부위별 추출물 고농도 투여군(HCD-FH, HCD-SH, HCD-LH)의 수치가 비파 부위별 추출물 저농도 투여군(HCD-FL, HCD-SL, HCD-LL)에 비하여 유의적으로 감소하는 경향을 보였다.

장간막지방조직의 TE-LPL 활성은 Table 26에서와 같이 대조군(HCD)이 정상식이군(ND)에 비하여 51.2% 유의하게 증가하였다. 대조군(HCD)에 비하여 비파 부위별 추출물 고농도 투여군(HCD-FH, HCD-SH, HCD-LH)과 비파 부위별 추출물 저농도 투여군(HCD-FL, HCD-SL, HCD-LL)이 유의하게 감소하였고 비파 부위별 추출물 저농도 투여군(HCD-FL, HCD-SL, HCD-LL) 간에는 유의차가 없었다. 비파 부위별 추출물 고농도 투여군(HCD-FH, HCD-SH, HCD-LH)에서는 비파 앞 추출물 고농도 투여군(HCD-LH)이 가장 큰 감소를 보였다.

부고환지방조직의 TE-LPL 활성은 Table 26에서와 같이 비파 부위별 추출물 고농도 투여군(HCD-FH, HCD-SH, HCD-LH)이 비파 부위별 추출물 저농도 투여군(HCD-FL, HCD-SL, HCD-LL)에 비하여 유의하게 감소하는 수치를 보였고 대조군



(HCD)이 정상식이군(ND)에 비하여 49.41% 유의하게 증가하였다.

LPL은 중성지방이 풍부한 lipoprotein을 monoacylglycerol과 지방산으로 가수분해하는 주된 효소로, LPL 활성은 식이섭취 후 증가하여 지단백질 대사에 관여하며 과잉의 에너지를 지방세포에 중성지방 형태로 저장시키고(203), 동맥내벽 세포에서 LDL-receptor 결합력과 콜레스테롤 흡수를 촉진한다고 알려져 있다(204). Kusunoki 등(205)은 흰쥐에게 고지방 식이 급여로 장간막지방조직의 LPL 활성이 증가되었다고 하였으며, 이는 본 연구에서 대조군(HCD)의 LPL 활성이 유의하게 증가한 결과와도 일치한다.

따라서 본 연구 결과 고지방-고콜레스테롤 식이로 증가된 지방조직의 LPL 활성이 비파의 부위별 추출물 투여로 감소하여 비파의 부위별 추출물이 지방축적을 억제하여 항비만 효과를 나타내는 것으로 사료된다.

Table 25. Effect of loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts on HR-LPL activity in adipose tissues of rats fed high fat-high cholesterol diet

Group	HR- LPL activity(Units)	
	Mesenteric adipose tissue	Epididymal adipose tissue
ND	4.12 ± 0.13 <sup>c</sup>	7.24 ± 0.15 <sup>c</sup>
HCD	7.63 ± 0.31 <sup>a</sup>	17.01 ± 0.30 <sup>a</sup>
HCD-FL	6.41 ± 0.19 <sup>ab</sup>	15.02 ± 0.17 <sup>ab</sup>
HCD-FH	5.82 ± 0.21 <sup>b</sup>	14.21 ± 0.22 <sup>b</sup>
HCD-SL	6.23 ± 0.11 <sup>ab</sup>	15.19 ± 0.28 <sup>ab</sup>
HCD-SH	5.68 ± 0.23 <sup>bc</sup>	12.71 ± 0.14 <sup>bc</sup>
HCD-LL	5.91 ± 0.17 <sup>b</sup>	14.33 ± 0.25 <sup>b</sup>
HCD-LH	5.59 ± 0.23 <sup>bc</sup>	11.07 ± 0.12 <sup>bc</sup>

Abbreviations : See the legend of Table 11.

Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

Table 26. Effect of loquat flesh, seed and leaf ethanol extracts on TE-LPL activity in adipose tissues of rats fed high fat-high cholesterol diet

Group	TE- LPL activity(Units)	
	Mesenteric adipose tissue	Epididymal adipose tissue
ND	7.63 ± 0.17 <sup>c</sup>	15.99 ± 0.21 <sup>c</sup>
HCD	15.31 ± 0.33 <sup>a</sup>	30.19 ± 0.27 <sup>a</sup>
HCD-FL	10.17 ± 0.24 <sup>ab</sup>	25.51 ± 0.21 <sup>ab</sup>
HCD-FH	8.99 ± 0.21 <sup>b</sup>	20.23 ± 0.19 <sup>b</sup>
HCD-SL	9.75 ± 0.16 <sup>ab</sup>	25.00 ± 0.21 <sup>ab</sup>
HCD-SH	8.20 ± 0.11 <sup>bc</sup>	20.11 ± 0.17 <sup>b</sup>
HCD-LL	9.59 ± 0.21 <sup>ab</sup>	24.69 ± 0.15 <sup>ab</sup>
HCD-LH	8.03 ± 0.14 <sup>bc</sup>	19.33 ± 0.22 <sup>b</sup>

Abbreviations : See the legend of Table 11.

Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

## 제4장 요약

본 연구는 비파의 과육, 잎, 씨 에탄올 추출물의 생리활성 효능 연구의 일환으로 비파의 부위별 이화학적 성분 분석 및 *in vitro* 에서 항산화 효능 및 항암효과, *in vitro*에서 3T3-L1 지방전구세포와 돼지 지방전구세포의 증식과 분화 억제효과, *in vivo*에서 알코올을 급여한 흰쥐의 간 기능 개선 및 항산화효과, *in vivo*에서 고지방 식이를 급여한 흰쥐에서 콜레스테롤 저하 및 비만억제 효과를 알아보았다.

### 1. 비파의 부위별 이화학적 성분을 분석한 결과

- ① 일반성분은 건량 기준(dry basis)으로 비파의 과육에서 탄수화물 86.35%로 가장 높게 나타났고 비파 잎에서 조단백질, 조지방, 조회분, 식이섬유소가 가장 높은 것으로 나타났다. 유리아미노산은 총 10종이 검출되었으며 그 중 잎에서 glutamic acid, proline 순으로 높게 나타났고, 씨에서 phosphoserine이 가장 높게 나타났다. 지방산은 포화지방산인 stearic acid가 다른 지방산보다 가장 높게 검출되었고 불포화지방산은 씨에서 oleic acid가 가장 높게 검출되었고 linoleic acid는 소량 검출되었다. 비타민 A, E 및 C의 함량은 비타민 C가 씨에서 3.52 mg%로 가장 많이 검출되었다. 무기질 함량은 총 9종이 검출되었으며, 이 중 Ca 함량은 잎에서, K과 Mg 함량은 씨에서 가장 높게 검출되었다. 유기산은 총 3종이 검출되었으며, oxalic acid 함량은 잎에서, maleic acid는 과육에서, citric acid는 씨에서 가장 높게 나타났다. 구성당은 총 4종이 검출되었으며, 이중 과육에 fructose와 잎에 rhamnose 함량이 가장 높게 검출되었다.

### 2. *In vitro*에서 비파 부위별 에탄올 추출물의 항산화 및 항암효과 실험결과

- ① 비파의 부위별 추출물의 종류별 총 polyphenol의 함량과 총 flavonoid 함량은 잎에서 각각 32.32 mg/mL, 28.73 mg/mL로 다른 부위보다 높게 나타났다. 비파의 부위별 추출물의 DPPH radical 소거능은 잎에서 82.12%, Rancimat에 의

한 항산화능 측정 결과는  $10.99 \pm 0.04$  시간으로 BHT 및 BHA와 비슷한 수준으로 높은 항산화 활성이 나타났다.

- ② 비파 부위별 추출물의 암세포 성장억제 효과를 측정한 결과 비파 씨와 과육 에탄올 추출물은 농도가 증가할수록 간암, 위암, 폐암 세포의 생존률이 농도 의존적으로 저하되었다. 비파 잎 에탄올 추출물은 간암 세포를 제외한 위암과 폐암 세포의 생존률은 농도 의존적으로 저하시켰다.

### 3. *In vitro*에서 비파 부위별 에탄올 추출물의 3T3-L1 지방전구세포와 돼지 지방전구세포의 증식과 분화 억제 효과 실험결과

- ① 3T3-L1 지방전구세포 증식과 분화에서 모두 비파 부위별 에탄올 추출물 모두 대조군에 비하여 유의적인 감소를 나타냈고 비파 씨와 잎 에탄올 추출물  $100 \mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 가장 적은 지방세포수가 관찰되었다. 3T3-L1 지방전구세포의 중성지방 함량의 경우 비파 씨 에탄올 추출물  $25 \mu\text{g/mL}$ 와  $100 \mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 가장 적은 중성지방 함량을 나타냈다.
- ② 돼지지방전구세포의 증식의 경우 비파의 씨, 잎 에탄올 추출물  $25 \mu\text{g/mL}$ 과  $100 \mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 세포의 증식을 억제시켰고 분화의 경우 비파의 씨 에탄올 추출물  $100 \mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 다른 군들에 비하여 가장 활발하게 돼지 지방전구세포의 분화를 억제시켰다. 돼지 지방전구세포의 중성지방 함량은 비파의 씨 에탄올 추출물  $25 \mu\text{g/mL}$ 와  $100 \mu\text{g/mL}$  농도 모두 다른 군들에 비해서 유의적으로 적게 나타났다.

### 4. 비파 부위별 에탄올 추출물이 알코올을 급여한 흰쥐에서 간 기능 개선효과 및 항산화효과 실험결과

- ① 체중증가량은 비파 부위별 추출물군(LF, LS, LL)은 대조군(C)과 비파의 부위별 추출물과 에탄올 병합 투여군(LFE, LSE, LLE)에 비해 유의적으로 체중이 증가하였고 비파 과육 추출물군(LF)이 가장 많이 증가하였고 식이섭취량과 식이효율은 각 군들 간에는 유의성을 보이지 않았다.

- ② 체중 당 간조직의 무게는 알코올만을 급여한 대조군(C)이 다른 군들에 비하여 유의적으로 감소하였으나, 알코올과 비과 잎과 씨 추출물을 병합투여로 감소되어진 체중 당 간 조직 무게가 유의차는 없었으나 증가된 것으로 나타났다. 정상군(N)과 비과 씨 추출물 단독투여군(LS)은 알코올과 비과 부위별 추출물 병합투여군(LFE, LSE, LLE)에 비하여 유의적으로 무게가 증가하였다.
- ③ 혈청 중 ALT, AST, ALP, LDH 활성은 알코올과 비과 부위별 추출물 병합투여(LFE, LSE, LLE)로 수치가 감소하는 경향을 보였다.
- ④ 혈청 중 중성지방 함량은 대조군(C)은 정상군(N)에 비하여 유의하게 증가하였고, 비과 과육과 잎 추출물과 알코올 병합 투여군(LFE, LLE)은 대조군에 비하여 유의차가 없었으나 다소 감소하는 경향을 보였고, 비과 씨 추출물과 알코올 병합 투여군(LSE) 만이 유의하게 감소하는 경향을 보였고 혈청 중 총 콜레스테롤 함량은 각 실험군 간에 유의차를 보이지 않았다. 혈청 중 HDL-콜레스테롤의 농도는 비과 씨 추출물 단독투여군(LS)이 가장 높았으며, 대조군(C)이 가장 낮은 경향이였다. 비과 부위별 추출물과 알코올 병합 투여군(LFE, LSE, LLE)은 대조군(C)군에 비해서 유의하게 증가하는 경향을 보였다. 혈청 중 LDL-콜레스테롤 농도는 비과 부위별 추출물 투여군(LF, LS, LL)이 대조군에 비하여 유의하게 감소하였고 비과 부위별 추출물 에탄올 병합 투여군(LFE, LSE, LLE) 중에서는 비과 씨 추출물 에탄올 병합 투여군(LSE)이 가장 많이 감소하였다.
- ⑤ 동맥경화지수(AI)는 대조군(C)이 정상군(N)에 비하여 유의하게 증가하였으며, 알코올과 비과 부위별 추출물 병합투여군(LFE, LSE, LLE)이 비과 부위별 추출물 단독투여군(LF, LS, LL)에 비하여 유의하게 감소하였다. 심혈관위험지수(CRF)는 알코올과 비과 부위별 추출물 병합투여군(LFE, LSE, LLE)이 대조군(C)에 비하여 유의하게 저하되었다.
- ⑥ 간 조직 중 중성지방의 농도는 비과 부위별 추출물 단독투여군(LF, LS, LL)과 알코올과 비과 부위별 추출물 병합투여군(LFE, LSE, LLE)이 대조군(C)에 비하여 유의적으로 감소하는 것을 볼 수 있었다. 간 조직 중 총콜레스테롤 농

도는 대조군(C)이 정상군(N)에 비하여 유의하게 증가하였고 비파 부위별 추출물 단독투여군(LF, LS, LL)은 알코올과 비파 부위별 추출물과 병합 급여군(LFE, LSE, LLE)에 비해 유의적으로 감소하는 경향을 보였다.

⑦ 간 조직 중의 GSH 함량은 비파 과육, 잎 추출물 단독투여군(LF, LL)은 알코올 병합투여군(LFE, LLE, LSE)에 비하여 유의하게 증가되었고 정상군(N)과 유사한 수치를 보였다.

⑧ 간 조직 중 과산화지질 함량은 비파 부위별 추출물 단독투여군(LF, LS, LL)과 정상군(N)은 비슷한 수치를 보였고, 알코올과 비파 부위별 추출물과 병합투여군(LFE, LSE, LLE)은 대조군(C)에 비해서 유의하게 감소하는 경향을 보였다.

#### 5. 비파 부위별 에탄올 추출물이 고지방-고콜레스테롤식을 급여한 흰쥐에서 콜레스테롤 저하 및 비만억제 효과

① 체중증가량은 비파 부위별 추출물 고농도 투여군(HCD-FH, HCD-SH, HCD-LH)이 비파 부위별 추출물 저농도 투여군(HCD-FL, HCD-SL, HCD-LL)에 비해 유의적으로 감소하였다. 식이섭취량은 비파 잎 추출물 저농도 투여군(HCD-LL)이 다른 군들에 비해 유의적으로 증가한 것으로 나왔고 대조군(HCD)과 비파 잎 추출물 저농도 투여군(HCD-LL)을 제외한 각 군들 간에는 유의성을 보이지 않았다. 식이효율은 고지방 식이군(HD)이 가장 높은 수치를 보였고 비파 잎 추출물 저농도 투여군(HD-LL)이 다른 군들에 비해 유의성 있게 증가하였다.

② 체중 당 간조직의 무게는 대조군(HCD)이 가장 높은 수치를 보였고 비파 부위별 추출물 고농도 투여군(HCD-FH, HCD-SH, HCD-LH)이 비파 부위별 추출물 저농도 투여군(HCD-FL, HCD-SL, HCD-LL)에 비하여 유의적으로 더 감소하는 수치를 보였다. 장간막지방조직의 무게는 대조군(HCD)이 가장 높았고 비파 잎 추출물 고농도투여군(HCD-LH)은 정상식이군(ND)과 비슷한 수치까지 감소하였다. 부고환지방조직의 무게는 비파 잎 추출물 고농도투여군(HCD-LH)

- 이 다른 군들에 비하여 다소 낮은 수치를 보였으며 비파 과육, 씨 추출물 군 간에는 유의차가 없었다.
- ③ 혈청 중 ALT, AST, ALP, LDH 활성 모두 비파 부위별 추출물 투여군이 대조군(HCD)에 비하여 유의하게 감소하였다.
- ④ 혈청 중 포도당 함량은 각 군들 간에 유의차를 보이지 않았다.
- ⑤ 혈청 중 중성지방 함량은 비파 부위별 추출물 저농도 투여군(HCD-FL, HCD-SL, HCD-LL)은 비파 부위별 추출물 고농도투여군(HCD-FH, HCD-SH, HCD-LH)에 비하여 유의적으로 증가하였고 비파 잎 추출물 고농도투여군(HCD-LH)이 가장 큰 감소를 보였다. 혈청 중 총콜레스테롤 함량은 정상식이군(ND)에 비하여 유의하게 증가하였고 투여군 간에는 유의차를 보이지 않았다. 혈청 중 HDL-콜레스테롤의 농도는 비파 잎, 씨 추출물 고농도 투여군(HCD-LH, HCD-SH)이 정상식이군(ND)과 비슷한 수치를 보였다. 혈청 중 LDL-콜레스테롤 농도는 비파 부위별 투여군들 간에는 유의차가 없었으나 대조군(HCD)에 비하여 유의적으로 수치가 감소하였다.
- ⑥ 동맥경화지수(AI)와 심혈관위험지수(CRF)는 각 투여군들이 대조군(HCD)에 비하여 유의적으로 감소하였으며 비파 잎, 씨 추출물 고농도 투여군(HCD-LH, HCD-SH)에서 유의적인 감소를 보였다
- ⑦ 간 조직 중 중성지방의 농도는 비파 잎 추출물 고농도 투여군(HCD-LH)이 다른 투여군에 비해서 감소하는 수치를 나타냈다. 장간막지방조직 중 중성지방의 농도는 비파 부위별 추출물 고농도 투여군(HCD-FH, HCD-SH, HCD-LH)이 비파 과육, 씨 추출물 저농도 투여군(HCD-FL, HCD-LL)에 비해서 저하되었다. 부고환지방조직 중 중성지방의 농도는 대조군(HCD)에 비하여 비파 투여군들이 유의하게 감소하는 것을 볼 수 있었고 비파 잎, 씨 추출물 고농도 투여군(HCD-LH, HCD-SH)이 가장 많은 감소를 보였다.
- ⑧ 간 조직 중 총콜레스테롤 농도는 비파 잎 추출물 고농도 투여군(HCD-LH)과 비파 잎 추출물 저농도 투여군(HCD-LL)이 다른 투여군에 비해서 감소하는 수치를 나타냈다. 장간막지방조직 중 총콜레스테롤의 농도는 비파 씨, 잎 추출물



고농도 투여군(HCD-SH, HCD-LH)이 다른 군들에 비하여 유의적으로 감소되는 수치를 보였다. 부고환지방조직 중 총콜레스테롤의 농도는 비파 부위별 추출물 고농도 투여군(HCD-FH, HCD-SH, HCD-LH)이 비파 부위별 추출물 저농도 투여군(HCD-FL, HCD-SL, HCD-LL)에 비하여 유의성 있게 감소하였다.

⑨ 장간막지방조직과 부고환지방조직의 HR-LPL 활성은 비파 부위별 추출물 저농도 투여군(HCD-FL, HCD-SL, HCD-LL)과 비파 부위별 추출물 고농도 투여군(HCD-FH, HCD-SH, HCD-LH)이 대조군(HCD)에 비하여 유의하게 감소하였다. 비파 잎 추출물 고농도 투여군(HCD-LH)과 비파 씨 추출물 고농도 투여군(HCD-SH)이 가장 많이 감소하였다.

⑩ 장간막지방조직과 부고환지방조직의 TE-LPL 활성은 각 투여 군들은 대조군(HCD)에 비하여 농도 의존적으로 감소하였고 비파 잎 추출물 고농도 투여군(HCD-LH)이 가장 큰 감소를 보였다.

이상의 실험 결과 비파의 과육, 잎, 씨에 함유된 항산화 비타민 및 무기질, polyphenol, flavonoid 등 생리활성 물질에 의해 지방조직의 체지방 형성을 억제하고, 산화적 스트레스를 완화시킴으로써 체내 지질대사 개선과 심혈관계질환 예방 효과를 나타낼 수 있을 것으로 생각된다. 또한 *In vitro* 에서 비파의 부위별 추출물의 항산화 효능 및 암세포증식억제 실험 결과 비파의 부위별 에탄올 추출물은 항산화 물질을 함유하고 있어 혈청 및 지방조직 중 지질 대사에 긍정적인 영향을 미칠 것으로 사료된다. *In vitro*에서 항비만 효과를 본 결과 비파 씨 에탄올 추출물 고농도에서 강한 항비만 효과를 나타냈고 *in vivo* 실험에서도 간 기능 개선 효과 및 항비만 효과가 있는 것으로 나타나 비파 과육, 씨, 잎의 생리활성 물질 개발의 기초자료로서 국민건강 증진에 기여할 것으로 기대된다. 또한 식생활 패턴의 변화로 인해 간손상, 뇌혈관계 질환, 심장병, 고혈압 및 당뇨병 등의 순환기계 질환과 암으로 인한 사망률이 크게 높아져 건강에 대한 관심이 고조되고 있는 가운데 현대인들의 대사성질환 예방 및 개선에 기여하고 비만 인구 감소에 큰 도움이 될 것으로 사료되나 아직 비파의 연구가 미흡한 실정이라 추후 생화학적인 작용기전 등이 더 연구되어야 할 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

1. Lee SJ, Park JY, Nam CM, Jee SH. 2008. The prevalence estimation of metabolic syndrome and it's related factors based on data from general health medical examination: a multi-center study. *J Korean Soc Health Information Health Statistics*. 33: 119-133.
2. Sozmen EY, Tanyakin T, Onat T, Kufay F and Erlacin S. 1994. Ethanol-induced oxidative stress and membrane injury in rat erythrocytes. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*. 32: 741-744.
3. Cerutti PA. 1985. Prooxidant states and tumor promotion. *Science* 227: 375-381.
4. Frei B. 1994. Natural antioxidants in human health and disease. Academic press. New York. pp. 25-55
5. SohalRs, Sohal BH, Brunk UT. 1990. Relationship between antioxidant defenses and longevity in different mammalian species. *Mech Aging Dev*. 53: 217-227.
6. Tappel AL. 1973. Lipid peroxidation damage to cell comonents. *Fed Proc*. 32: 1870-1974.
7. Seo KH, Kim SH. 2001. A study on the analysis of oriental functional beverage and on the blood alcohol concentration of rat after drinking liquors. *J Korean Food & Nutr*. 14: 222-227.
8. Park EM, Ye EJ, Kim SJ, Choi HI, Bae MJ. 2006. Eliminatory effect of health drink containing *Hovenia Dulcis* Thunb extract on ethanol induced hangover in rats. *Korean J Food Culture*. 21: 71-75.
9. Ko BS, Jang JS, Hong SM, Kim DW, Sung SR, Park HR, Lee JE, Jeon WK, Park SM. 2006. Effect of new remedies mainly comprised of *Hovenia dulcis*

- Thunb on alcohol degradation and liver protection in Sprague Dawley male rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 35: 828-834.
10. Zheng CX, Yim DS, Lee SY. 2004. The effects of Ka-Mi-Chung-Gan-Tang on rat with alcoholic fatty liver. *Kor J Pharm acogn.* 35: 229-232.
  11. Korea National Statistical Office. 2008. Annual report of the Cause of Death Statistics, Seoul.
  12. Frohlich J, Lear SA. 2002. Old and new risk factors for atherosclerosis and development of treatment recommendations. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 29: 838-842.
  13. Funatsu T, Kakuta H, Tanaka H, Arai Y, Suzuki K and Miyata K. Atorvastatin(Lipitor). 2001. A review of its pharmacological and clinical profile. *Folia pharmacol. Jpn.* 117: 65-76.
  14. Virag R. Bouilly P. and Fryfman D. 1985. Is impotence an arterial disorder? A study of arterial risk factors in 440 impotent man. *Lancet.* 1: 181-184.
  15. Ebrahim S, Sung JH, Song YM, Ferrer RL, Debbie AL, Smith GD. 2006. Serum cholesterol, haemorrhagic stroke, ischaemic stroke, and myocardial infarction: Korean national health system prospective cohort study. *BMJ.* 333: 22-27.
  16. La Rosa, J. C., Hunninghake, D., Bush, D., Criqui, M. H., Getz, G. S. and Gotto, A. M. Jr. (1990) The cholesterol facts. A summary of the evidence relating dietary fats, serum cholesterol, and coronary heart disease. *Circulation* 81: 1721-1733.
  17. Scandinavian Simvastatin Survival Study Group (1994) Randomised atrial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease. *Lancet* 344: 1383-1389.
  18. Mckenny JM. 2001. Lipid management: tools for getting to the goal. *Am J*

manag Care 7: S299–S306.

19. Miettinen TA. 2001. Cholesterol absorption inhibition: a strategy for cholesterol-lowering therapy. *Int J Clin Prat* 55: 710–716.
20. Kim TH, Son YK, Hwang KH and Kim MK. 2008. Effects of *Angelica keiskei* Koidzumi and Turmeric extract supplementation on serum lipid parameters in hypercholesterolemic diet or P-407-induced hyperlipidemic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 37: 708–713.
21. Shin MK, Han SH. 2002. Effects of methanol extracts from bamboo (*Pseudosasa uaponica* Makino) leaves extracts on lipid metabolism in rats fed high fat and high cholesterol diet. *Korean J Diet Culture.* 1: 30–36.
22. Basarrab JA, Okine EK and Moore SS. 2004. Residual feed intake: animal performance, carcasses quality and body composition. 2004 Florida Ruminant Nutrition Symposium. 40–50.
23. Permana PA, Nair S, Lee YH, Luczy Bachman, De courten BV and Tataranni PA. 2004. Subcutaneous abdominal preadipocyte differentiation in vitro inversely correlates with central obesity. *American Journal of Physiology Endocrinology & Metabolism.* 286: 958–962.
24. Hausman GJ and Hausman DB. 2006. Search for the preadipocyte progenitor cell. *J Clin Invest.* 116: 3103–3106.
25. Guo X. and Liao K. 2000. Analysis of gene expression profile during 3T3-L1 preadipocyte differentiation. *Gene.* 251: 45–53.
26. Van Harmelen V, Rohrig K and Hauner H. 2004. Comparison of proliferation and differentiation capacity of human adipocyte precursor cells from the omental and subcutaneous adipose tissue depot of obese subjects. *Metabolism.* 53: 632–637.
27. Yagi K, Kondo D, Okazaki Y and Kano K. 2004. A novel preadipocyte cell

- line established from mouse adult mature adipocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 321: 967-974.
28. Komer A, Keiss W, Stumvoll M and Kovacs P. 2008. Polygenic contribution to obesity: genome-wide strategies reveal new target. *Frontiers in Hormone Research*. 36: 12-36.
29. [http://kosis.kr/domestic/theme/do01\\_index.jsp?listid=D&listnm=보건·사회·복지](http://kosis.kr/domestic/theme/do01_index.jsp?listid=D&listnm=보건·사회·복지)
30. <http://www.cancer.go.kr/ncic/index.html>
31. Kim HM. 2005. Management of chemotherapy-related toxicity: Nutrition support during chemotherapy. *Korean Soc Clin Oncol*. 4: 23-33.
32. Chung HM, Lyckholm LJ, Smith TJ. 2009. Palliative care in BMT. *Bone Marrow Transplant*. 43: 265-273.
33. Kim WG, Park MS, Lee YH, Heo DS. 2008. Nutritional risk in oncology outpatients receiving chemotherapy. *Korean J Community Nutr*. 13(4): 573-581.
34. Shen DW, Dardarelli C, Hwang J, Cornwell M, Richert N, Ishii S, Pastan I and Gottesman MM. 1986. Multiple drug resistant human KB carcinoma cell line independently selected for high level resistance to colchicine, adriamycin or vinblastine show changes in expression of specific protein. *J Bio Chem*. 261: 7762-7770.
35. Kim WG, Park MS, Lee YH, Heo DS. 2008. Nutritional risk in oncology outpatients receiving chemotherapy. *Korean J Community Nutr*. 13(4): 573-581.
36. Yang YH, Kwon SJ, Kim CI. 2001. The nutritional status of the patients with cancer during the chemotherapies. *J Korean Acad Nurs*. 31(6): 978-987.
37. Whang TE, Lim HO and Lee JW. Anticancer effect of *Eriobotrya japonica* Lindl by specificity test with several cancer cell line. *Korean J Medicinal*

- Crop Sci. 4: 314-320.
38. 조영숙, 박석규, 이홍열. 1991. 비파의 유리당, 유기산 및 유리아미노산의 조성. 한국영양식량학회지. 20: 89-93.
  39. Yook CS. 1989. Coloured Medicinal Plants of Korea. Academic Publishing Co Seoul, Korea. pp. 261.
  40. Lee CB. 1982. Korean Pictorial Book of Plants. Hyangmoonsa. Seolu, Korea. pp. 684-687.
  41. Choi YA, Rhew TH, Park KY, Chung HY and Hah JC. 1992. Effects of Ursolic Acid Isolated from *Eriobotrya japonica* on c-myc and c-Ha-ras Oncogene Expression at Sarcoma 180 cell. J Korean Soc Food Nutr. 21: 314-318.
  42. Namba T. 1994. The encyclopedia of Wakan-Yaku(Traditional Sinojapanese Medicines)with color pictures. Hoikusa. Osaka. pp. 80-82.
  43. Cho YS, Park SK and Lee HY. 1991. Composition of free sugars, organic acids and free amino acids in Loquat flesh. J Korean Soc food Nutr. 20: 89-93.
  44. 육창수. 1989. 원색한국약용식물도감. 아카데미 서적. 261-265.
  45. 조재선. 1989. 식품재료학. 문운당. pp. 171.
  46. Lee MH, Son YK and Han YN. 2004. Tissue factor inhibitory sesquiterpene glycoside from *Eriobotrya japonica*. Arch Pharm Res. 27: 619-623.
  47. Jung HA, Park JC, Chung HY, Kim J, Choi JS. 1994. Antioxidant flavonoids and chlorogenic acid from the leaves of *Eriobotrya japonica*. Arch Pharm Res. 22: 213-218.
  48. Nazato N, Matsumoto K, Uemitsu N. 1994. Triterpenes from leaves of *Eriobotrya japonica* Nat Med. 48: 336.
  49. Shimizu M, Uemitsu N, Shirota M, Matsumoto K, Tezuka Y. 1996 A new

- triterpene ester from *Eriobotrya japonica*. *Chem Pharm Bull.* 44: 2191-2182.
50. Taniguchi S, Imayoshi Y, Kobayashi E, Takamatsu Y, Ito H, Hatano T, Sakagami H, Tokuda H, Nishino H, Sugita D, Shimura S and Yoshida T. 2002. Production of bioactive triterpenes by *Eriobotrya japonica* calli *Phytochem.* 59: 315-23.
  51. Shimizu M, Fukumura H, Tsuji H, Tanaami S, Hayashi T and Morita N. 1986. Anti-inflammatory constituents and anti-inflammatory effect of *Eriobotrya japonica* Lindl. *Chem Pharm Bull.* 34: 2614-2617.
  52. Jung HA, Park JC, Chung HY, Kim J and Choi JS. 1999. Antioxidant flavonoids and chlorogenic acid from the leaves of *Eriobotrya japonica*. *Arch Pharm Res.* 22: 213-218.
  53. Jung HA, Park JC, Chung HY, Kim J and Choi JS. 1999. Antioxidant flavonoids and chlorogenic acid from the leaves of *Eriobotrya japonica*. *Arch Pharm Res.* 22: 213-218.
  54. Chen J, Li WL, Wu JL, Ren BR and Zhang HQ. 2008. Hypoglycemic effects of a sesquiterpene glycoside isolated from leaves of loquat(*Eriobotrya japonica*(Thunb. Lindl.)). *Phytomedicine.* 15: 98-102.
  55. Ito H, Kobayashi E, Takamatsu Y, Li SH, Hatano T, Sakagami H, Kusama K, Satoh K, Sugita D, Shimura S, Itoh Y and Yoshida T. 2000. Polyphenols from *Eriobotrya japonica* and their cytotoxicity against human oral tumor cell lines. *Chem Pharm Bull.* 48: 687-693.
  56. Ito H, Kobayashi E, Li SH, Hatano T, Sugita D, Kubo N, Shimura S, Itoh Y, Tokuda H, Nishino H and Yoshida T. 2002. Antitumor activity of compounds isolated from leaves of *Eriobotrya japonica*. *J Agric food Chem.* 50: 2400-2403.
  57. Huang Y, Li J, Wang R, Wu Q, Li YH, Yu SC, Cheng WM and Wang YY.

2007. Effect of triterpene acids of *Eriobotrya japonica*(Thunb.) Lindl. leaf on inflammatory cytokine and mediator induction from alveolar macrophages of chronic bronchitic rats. *Inflamm Res.* 56: 76-82.
58. Banno N, Akihisa T, Tokuda H, Yasukawa K, Taguchi Y, Akazawa H, Ukiya M, Kimura Y, Suzuki T and Nishino H. 2005. Anti-inflammatory and antitumor promoting effect of the triterpene acid from the leaves of *Eriobotrya japonica*. *Bial. Pharm. Bull.* 28: 1995-1999.
59. De Tommasi N, De Simone F, Pizza C, mahmood N, Moore PS, Conti C, Orsi N and Stein ML. 1992. Constituents of *Eriobotrya japonica*. A Study of their antiviral properties. *J. Nat. Prod.* 55: 1067-1073.
60. Matalaka KZ, Ali D, Khawad AE and Qa'dan F. 2007. The differential effect of *Eriobotrya japonica* hydrophilic leaf extract on cytokines production and modulation. *cytokine.* 40: 235-240.
61. Eom HJ, Kim SM, Pyo BS and Lee KI. 2009. Changes of physiological activity by drying temperature in leaf of *Eriobotrya japonica*. *Kor. J. Pharmacogn.* 40: 178-183.
62. Bae YI and Shim KH. 1998. Nutrition components in different parts of korean loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.). *Korean J. Postharvest Sci Technol.* 3. 152-156.
63. Bae YI, Seo KI, Park SK and Shim KH. 1998. Loquat(*Eriobotrya japonica* Lindl.) leaf tea processing and its physicochemical properties. *Korean J. Postharvest Sci Technol.* 5. 262-269.
64. Jeong YS, Jung HK, Youn KS, Kim MO and Hong JH. 2009. Physiological Activities of the hot water extract from *Eriobotrya japonica* Lindl.. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 38: 977-982.
65. Lee KI and Kim SM. 2009. Antioxidative and antimicrobial activities of



- Eriobotrya japonica Lindl. leaf extracts. J Korean Soc Food Sci Nutr. 38: 267-273
66. Bae YI, Chung YC and Shim KH. 2002. Antimicrobial and antioxidant activities of various solvent extract from different parts of loquat (*Eriobotrya japonica*, Lindl.). Korean Journal of Food Preservation. 9: 97-101.
  67. Kim HJ, Jo CU, Kim TH, Kim DS, Park MY and Byun MY. 2006. Biological evaluation of the methanolic extract of *Eriobotrya japonica* and its irradiation effect. Korean J. Food Sci. Technol. 38: 684-690.
  68. Kim E, Kim MS, Rhyu DY, Min OJ, Back HY, Kim YJ and Kim HA. 2009. Hypoglycemic effect of *Eriobotrya japonica* (*E. japonica*) in db/db mice. Korean J. Food & Nutr. 22: 159-165.
  69. Soung DY, Kim JS, Chung HY, Jung HA, Park JC, Choi JS. 1999. Flavonoids and chlorogenic acid from *Eriobotrya japonica* scavenge peroxynitrite. Nat Prod Sci. 5: 80-84.
  70. Huang MT, Ho CT, Lee CY (1992) Phenolic compounds in food. In phenolic compounds in food and their effects on health II. Maple Press, New york, USA. pp. 2-7.
  71. Monach C, Morand C, Crespy V, Demigne C, Taxier O, Regeat F, Remesy C. 1998. Quercetin is recovered in human plasma as conjugated derivative which retain antioxidant properties. FEBS Lett. 426: 331-336.
  72. Rice ECA, Miller NJ, Paganga G. 1996. Structure antioxidant activity relationship of flavonoid and phenolic acid. Free Radic Biol Med. 20: 933-956.
  73. Block G, Patterson, Subar A. 1992. Fruit, vegetables and cancer prevention: A review of the epidemiological evidence. Nutr Cancer. 18: 1-29.
  74. Parfitt VJ, Rubba P, Bolton c, Marotta G, Hartog M, Mancini M. 1994. A

- comparison of antioxidant status and free radical peroxidation of plasma lipoproteins in healthy young persons from Naples and Bristol. *Eur Heart J.* 15: 871–876.
75. Visioli F, Bogani P, Grande S, Galli C. 2005. Mediterranean food and health: Building human evidence. *J Physiol Pharmacol.* 56: 37–49.
76. Tucker KL, Hallfrisch J, Qiao N, Muller D, Andres R, Fleg JL. 2005. The combination of high fruit and vegetable and low saturated fat intakes is more protective against mortality in aging men than is either alone: The Baltimore longitudinal study of aging. *J Nutr.* 135: 556–561.
77. Cutler RG. 1991. Antioxidants and aging. *Am J Clin Nutr.* 53: 373–379.
78. A.O.A.C. 1995. Official methods of analysis (16th Edition) Association of official analytical chemists. Washington DC.
79. Wungaarden DV. 1967. Modified rapid preparation fatty acid esters from liquid for gas chromatographic analysis. *Anal. Chem.* 39: 848–850.
80. Korea Food and Drug Association. 2005. Food standards codex. Korean Foods Industry Association. Seoul. Korea. pp. 367–368. pp. 383–385.
81. Gancedo M, Luh BS. 1986. HPLC analysis of organic acid in Waters. PICO. TAG system, Young-in Scientific Co. Ltd., Seoul. Korea. pp. 41–46.
82. Lee KI and Kim SM. 2009. Antioxidative and antimicrobial activities of *Eriobotrya japonica* Lindl. leaf extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 38: 267–273.
83. Folin O, Denis W. 1912. On phosphotungstic phosphomolybdic compounds as color reagents. *J. Biol Chem.* 12: 239–249.
84. Chae SK, Kang GS, Ma SJ, Bang KW, Oh MW, Oh SH. 2002. standard food analysis. Jigu-moonwha sa. pp. 381–382.
85. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free

- radical. *Nature*. 181: 1199–1203.
86. Esquivel MM, Ribeiro MA, BermardoGil MG. 1999. Supercritical extraction of savory oil : study of antioxidant activity and extract characterization. *J Supercritical Fluids*. 14: 129–138.
  87. Ishiyama M, Tominaga H, Shiga M, Sasamoto K, Ohkura Y, Ueno K. 1996. A combined assay of cell viability and in vitro cytotoxicity with a highly water-soluble tetrazolium salt, neutral red and crystal violet. *Bio Pharm Bull*. 19: 1518–1520.
  88. Chen C, Brodie AE, Hu CY. 1997. CCAAT/enhancer-binding protein  $\beta$  cannot overcome TCDD inhibition of 3T3-L1 preadipocyte differentiation. *Obesity Res*. 5: 146–152.
  89. Wise L.S and Green H. 1979. Participation of one isozyme of cytosolic glycerophosphate in adipose conversion of 3T3 cell. *Journal of Biological Chemistry*. 254: 273–275.
  90. Suryawan A, Swanson L.V, and Hu C.Y. 1997. Insulin and hydrocortisone, but not triiodothyronine, are required for the differentiation of pig preadipocytes in primary culture. *Journal of Animal Science*. 75: 105–111.
  91. Reeves PG, Nielson FH, Fahey Jr GC. 1993. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr*. 123: 1939–1951.
  92. Friedwald W, Levy R, Fredrickson D. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 18: 499–502.
  93. Rosenfeld L. 1989. Lipoprotein analysis. *Arch Pathol Lab Med*. 113: 1101–1110.

94. Folch J, Lees M, Sloane-Stanley G. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem.* 226: 497-509.
95. Zlatkis A, B Zak. 1969. Study of a new cholesterol reagent. *Anal Biochem.* 29: 143-148.
96. Biggs HG, Erikson TM, Moorehead WR. 1975. A manual colorimetric assay of triglyceride in serum. *Clinical Chem.* 21: 437.
97. Tietze, F. 1969. Enzymatic methods for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione. *Anal. Biochem.* 27: 502-522.
98. Buege JA, Aust SD. 1978. The thiobarbituric acid assay. *Methods in Enzymol.* 5: 306-307.
99. Nilsson-Ehle P, Schotz MC. 1976. A stable radioactive substrate emulsion for assay of lipoprotein lipase. *J Lipid Res.* 17: 536-541.
100. Fried SK, Zechner R. 1989. Cachectin/tumor necrosis factor decreases human adipose tissue lipoprotein lipase mRNA levels, synthesis and activity. *J Lipid Res.* 30: 1917-1923.
101. Iverius PH, Brunzell JD. 1985. Human adipose tissue lipoprotein lipase: change with feeding and relation to postheparin plasma enzyme. *Am J Physiol* 249: 107-114.
102. Bae YI and Shim KH. 1998. Nutrition components in different parts of korean loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl). *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 32: 167-173.
103. Lee KI and Kim SM. 2009. Antioxidative and antimicrobial activities of *Eriobotrya japonica* Lindl. leaf extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 38: 267-273.

104. Lee BY, Park EM, Kim EJ, Choi HD, Kim IH, Hwang JB. Analysis of Chemical Components of Korean Loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl) Fruit. 1996. Korean J Food Sci Technol. 28: 428-432.
105. Jung KM, Kang GH, Kwon MK, Song IK, Cho DH and Chou YD. 2004. Chemical components and antioxidant activity of persimmon. Korean J of Food Preservation. 11: 175-181.
106. Grundy SM. 1986. Comparison of monounsaturated fatty acids and carbohydrates for lowering plasma cholesterol. NEng J Med. 314: 2855-2856.
107. Jeong CH, Bae YI, Shim KH. 2000. Physicochemical properties of *Hovenia dulcis* Thunb. leaf tea. Korean J. Postharvest Sci. Technol. 7: 117-123.
108. Jeong CH, Bae YI, Shim KH. 2002. Chemical components, antioxidative and antimicrobial activities of Chestnut(*Castanea crenata*) leaves. Korean Journal of Food Preservation. 9: 234-239.
109. Rotruck JT, Pope AL, Ganther HE. 1973. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. Science. 179: 588-590.
110. Gutteridge JM. 1985. Inhibition of the fenton reaction by the protein ceruloplasmin and other copper complexes: assessment of peroxidase and radical scavenging activities. Chem Biol Int 56: 113-120.
111. Borrello S, De Leo ME, Galeotti T. 1992. Transcriptional regulation of Mn-SOD by manganese in the liver of manganese-deficient mice and during rat development. Biochem Int. 28: 595-601.
112. Van Campen DR. 1969. Copper interference with the intestinal absorption of zinc-65 by rats. J Nutr. 99: 97-104.
113. Chung YD, Hong SI, Na HB, Shim YH. 1991. The study on concentration of serum copper and zinc in stomach cancer patients. Kor J Nutr. 31: 324-332.

114. Park SK, Kim JK, Kim JH, Moon KD and Oh SL. 1994. Study on the characteristic of physicochemical quality of Oolong herbs tea by extraction conditions. Korean J. Dietary Culture. 9: 411-417.
115. Bae YI, Seo KI, Park SK and Shim KH. 1998. Loquat(*Eriobotrya japonica* Lindl.) leaf tea processing and its physicochemical properties. Korean J. Postharvest Sci Technol. 5. 262-269.
116. Park YS, Park YJ, Kim HJ, Im MH, Lee MK, Kim YM, Cho JY and Heo BG. 2008. Physiological Activity of Ethanol Extract from the Different Plant Parts of Loquat(*Eriobotrya japonica* Lindl.). Kor J Hort Sci Technol. 26: 75-80, 2008.
117. Kim HJ, Jo CU, Kim TH, Kim DS, Park MY and Byun MY. 2006. Biological evaluation of the methanolic extract of *Eriobotrya japonica* and its irradiation effect. Korean J. Food Sci. Technol. 38: 684-690.
118. Chung YD, Hong SI, Na HB, Shim YH. 1991. The study on concentration of serum copper and zinc in stomach cancer patients. Kor J Nutr. 31: 324-332.
119. Park SK, Kim JK, Kim JH, Moon KD and Oh SL. 1994. Study on the characteristic of physicochemical quality of Oolong herbs tea by extraction conditions. Korean J. Dietary Culture. 9: 411-417.
120. Kim BS, Choi OJ, Shim KH. Properties of chemical components of *camellia japonica* L. leaves according to picking time. J Korean Soc Food Sci Nutr. 34: 681-686.
121. Liu RH. 2004. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. J Nutr. 134: 3479-3285.
122. Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Remesy C. 2005. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. Am J Clin Nutr.

81: 230-242.

123. Ryu SW, Jin CW, Lee HS, Lee JY, Sapkota K, Lee BG, Yu CY, Lee MK, Kim MJ, Cho DH. 2006. Changes in total polyphenol, total flavonoid contents and antioxidant activities of *Hibiscus cannabinus* L. *Korean J Med Crop Sci.* 14: 307-310.
124. Jeong YS, Jung HK, Youn KS, Kim MO and Hong JH. 2009. Physiological Activities of the hot water extract from *Eriobotrya japonica* Lindl. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 38: 977-982.
125. Ryu SW, Jin CW, Lee HS, Lee JY, Sapkota K, Lee BG, Yu CY, Lee MK, Kim MJ, Cho DH. 2006. Changes in total polyphenol, total flavonoid contents and antioxidant activities of *Hibiscus cannabinus* L. *Korean J Med Crop Sci.* 14: 307-310.
126. Husain SR, Cillard J and Cillard P. 1987. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. *Phytochemistry* 26: 2489-2491.
127. Robak J, Gryglewski RJ. 1988. Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochem Pharmacol.* 37: 837-841.
128. Torel J, Cillard, Cillard P. 1986. Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical. *Phytochemistry.* 25: 383-385.
129. Koba K, Matsuoka A, Osada K, Huang YS. 2007. Effect of loquat (*Eriobotrya japonica*) extracts on LDL oxidation. *Food Chem.* 104: 308-316.
130. Son GM, Bae SM, Chung JY, Shin DJ, Sung TS. 2005. Antioxidative effect on the green tea and puer tea extracts. *Korean J. Food & Nutr.* 18: 219-224.
131. Kim HK, Choi YJ. and Kim KH. 2002. Functional activities of microwave-assisted extracts from *Flammulina velutipes*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34: 1013-1017.

132. Yoo JH, Cha JY, Jeong YK, Chung KT. and Cho YS. 2004. Antioxidative effect of pine (*Pinus densiflora*) needle extracts. *Journal of Life Science*. 14: 863-867.
133. Ryu SW, Jin CW, Lee HS, Lee JY, Sapkota K, Lee BG, Yu CY, Lee MK, Kim MJ, Cho DH. 2006. Changes in total polyphenol, total flavonoid contents and antioxidant activities of *Hibiscus cannabinus* L. *Korean J Med Crop Sci*. 14: 307-310.
134. Bang IS, Park HY, Yuh CS, Kim AJ, Yu CY, Ghimire B, Lee HS, Park JG, Choung MG, Lim JD. 2007. Antioxidant activities and phenolic compounds composition of extracts from mulberry (*Morus alba* L.) fruit. *Korean J Med Crop Sci*. 15: 120-127.
135. Yin Y, Wang MH. 2007. Antioxidant and anticancer activity of fractions from *Picrasma quassioides* (D. Don) Benn. methanolic extract. *Korean J Med Crop Sci*. 15: 329-334.
136. Lim JA, Yun BW, Baek SH. 2007. Antioxidative activity and nitrite scavenging ability of methanol extract from *Salvia plebeia* R. Br. *Korean J Med Crop Sci* 15: 183-188.
137. Cha GS, Choi CU. 1990. Determination of oxidation stability of perilla oil by the rancimat method. *Korean J. Food Sci Technol*. 22: 61-65.
138. Dural B and K Shetty. 2001. The stimulation of phenolics and antioxidant activity in pea elicited by genetically transformed anise root extract. *J Food Biochem*. 25: 361-377.
139. Park CS. 2005. Component and quality characteristics of powdered green tea cultivated in Hwagae area. *Kor J Food Preserv*. 12: 36-42.
140. Park SY, Jung BM, Choi YH and Bae SJ. 2005. Growth Inhibition Effects of Cancer Cell Lines by *Gloiopeltis furcata* Fractions in Vitro. *J Korean*



- Soc Food Sci Nutr. 34(6): 771-775.
141. Park JA, Park C, Han MH, Kim BW, Chung YH and Choi YH. 2011. Inhibition of adipocyte differentiation and adipogenesis by aged black garlic extracts in 3T3-L1 preadipocytes. *Journal of Life Science*. 5: 720-728.
  142. Tominaga K, Johmura Y, Nishizuka M and Imagawa M. 2004. Fad24, a mammalian homolog of Noc3p, is a positive regulator in adipocyte differentiation. *Journal of Cell Science*. 117: 6217-6226.
  143. Tong Q, Tsai J, Tan G, Dalgin G and Hotamisligil GS. 2005. Interaction between Gata and the C/EBP family of transcription factors is critical in GATA-mediated suppression of adipocyte differentiation. *Molecular & Cellular Biology*. 25: 706-715.
  144. Farmer SR. 2006. Transcriptional control of adipocyte formation. *Cell Metab*. 4: 263-273.
  145. Rosen ED and MacDougald OA. 2006. Adipocyte differentiation from the inside out. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*. 7: 885-896.
  146. Cowherd RM, Lyle RE and McGehee RE. 1999. Molecular regulation of adipocyte differentiation. *Semin. Cell Dev. Biol*. 10: 3-10.
  147. Green H and Meuth M. 1974. An established pre-adipose cell line and its differentiation in culture. *Cell* 3: 127-133.
  148. Hwang JT, Park IJ, Shin JI, Lee YK, Lee SK, Baik HW, Ha J, Park OJ. 2005. Genistein, EGCG, and capsaicin inhibit adipocyte differentiation process via activating AMP-activated protein kinase. *Biochem Biophys Res Commun* 338: 694-699.
  149. Yin W, Mu J, Birnbaum MJ. 2003. Role of AMP-activated protein kinase in cyclic AMP-dependent lipolysis in 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem* 278: 43074-43080.

150. Holm C. 2003. Molecular mechanisms regulating hormonesensitive lipase and lipolysis. *Biochem Soc Trans* 31: 1120–1124.
151. Jessen BA and Stevens GJ. 2002. Expression profiling during adipocyte differentiation of 3T3–L1 fibroblasts. *Gene*. 299: 95–100.
152. Chen, HC and Farese RV. 2000. DGAT and triglyceride synthesis: a new target for obesity treatment?. *Trends Cardiovasc. Med*. 10: 188–192.
153. Duane, W. C. 1997. Cholesterol metabolism in familial hypertriglyceridemia: effects of obesity versus triglyceride level. *J Lab Clin Med*. 130: 635–642.
154. Dieudonne MN, Pecquery R, Leneuve MC and Giudicelli Y. 2000. Opposite effects of androgens and estrogens on adipogenesis in rat preadipocytes: Evidence for sex and site–related specificities and possible involvement of insulin like growth factor 1 receptor and peroxisome proliferator–activated receptor  $\gamma$ 2. *Endocrinology*. 141: 649–656.
155. Choi YS, Choi KD, Kim SD, Phillip O and Chung CS. 2010. Extracts of Korean medicinal plant extracts alter lipogenesis of pig adipose tissue and differentiation of pig preadipocyte in vitro. *J Animal Sci Tech*. 52: 383–388.
156. Lee SJ, Kang MJ, Shin JH, Kim JG, Kang SK, and Sung NJ.(2009) The Effect of Garlic and Medicinal Plants Extracts on the Liver Function and Lipid Metabolism of Rats Administered with Alcohol. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 38: 561–568.
157. Lee CH, Jung YJ, Park DK, Kim CW, Han YB, Lee WC and Kim JB. 1993. Effect of ascorbate and  $\alpha$ -tocopherol administration on liver function in chronically ethanol–treated rats. *J Korean Soc Food Nutr*. 22: 132–137.
158. Kang YH, Park YK, Ha TY and Moon KD. 1996. Effects of pine needle extracts on enzyme activities of serum and liver, and liver morphology in rats fed high fat diet. *J. Korean Soc. Food Nutr*. 25: 367–373.

159. Bjorntorp P. 1988. The associations between obesity, adipose tissue distribution and disease. *Acta Med Scand.* 723: 121-134. (Bjorntorp P. 1990. "Portal" adipose tissue as a generator of risk factors for cardiovascular disease and diabetes. *Arteriosclerosis.* 10: 493-496.
160. Ki HY, Song SW, Ha CS, Han SS. 1993. Effects of the population density on growth and various physiological values of Sprague-Dawley rats. *Korean J Lab Ani Sci.* 9: 71-82.
161. Kanh BH, Son HY, Lee HS, Song SW. 1995. Reference values of hematology and serum chemistry in Sprague-Dawley rats. *Korean J Lab Ani Sci.* 11: 141-145.
162. Song YB. 2005. Effect of *Saururus Chinensis* Bail on obesity and lipid-lowering activity in rats fed with high fat diet. Department of Food Science and Technology, Graduated School Chungnam National University Taejon, Korea. M.S. thesis, Korea.
163. Park JY, Park EM, Lee MK, Jang JY, Kim MJ and Cho SY. 2000. Effect of persimmon leaves (*Diospyros kaki* folium) extract on serum and liver lipid concentrations in hypercholesterolemic rats. *J Korean Soc. Food sci. Nutr.* 29: 537-542.
164. Castelli WP, Garrison RJ, Wilson PWF and Abbott RD. 1986. Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels. The Framingham Study. 256: 2835-2838.
165. Gordon T, Castelli W, Dawber T. 1981. Lipoprotein, cardiovascular disease and death, the Framingham study. *Arch. Inter. Med.* 141: 1128-1135.
166. Rosenfeld L. 1989. Lipoprotein analysis. *Arch. Pathol. Lab Med.* 113: 1101-1110.
167. Yun YP, Kang WS, Lee MY. 1996. The antithrombotic effects of green tea

- catechins. *J. Food Hyg. Safety* 11: 77-82.
168. Sugano M, Goto S, Yamada Y, Yoshida K, Hashimoto Y, Matsuo T and Kimoto M. 1990. Cholesterol-lowering activity of various undigested fractions of soybean protein in rats. *J. Nutr.* 120: 974-978.
169. Wursch P. 1979. Influence of tannin-rich carob pod fiber on the cholesterol metabolism in the rat. *J. Nutr.* 109: 685-692.
170. Cho SY, Oh YJ, Park JY, Lee MK, Kim MJ. 2003. Effect of dandelion (*Taraxacum officinale*) leaf extracts on hepatic antioxidative system in rats fed high cholesterol diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32: 458-463.
171. Lieber CS. 1980. Interaction of ethanol with drug, hepatotoxic agent, carcinogen and vitamins. *Alcoholism.* 25: 157-171.
172. Kim ES, Kim MK. 1999. Effect of dried leaf powders and ethanol extracts of persimmon, green tea and pine needle on lipid metabolism and antioxidative capacity in rats. *Korean J. Nutr.* 32: 337-352.
173. Won HR, Lee SG, Park DY. 2005. Effects of hot water soluble extract from green tea on the lipid metabolism and antioxidant effect in rats fed animal or vegetable protein and a hypercholesterol diet. *Korean J. Community Living Science.* 16: 39-45.
174. Halliwell B, Gutteridge JMC. 1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.* 219: 1-14.
175. Dodge JA. 1994. Dietary fat and gastrointestinal function. *Eur J Clin Nutr* 48: S8-S16.
176. Pellizzon M, Busion A, Jen KL. 2000. Short-term weight cycling in aging female rats increases rate of weight gain but not body fat content. *Int J Obes* 24: 236-245.
177. Kim E, Kim MS, Rhyu DY, Min OJ, Back HY, Kim YJ and Kim HA.

2009. Hypoglycemic effect of *Eriobotrya japonica* (*E. japonica*) in db/db mice. *Korean J. Food & Nutr.* 22: 159–165.
178. Jayasooriya AP, Sakono M, Yukizaki C, Kawano M, Yamamoto K, Fukuda N. 2000. Effects of *Momordica charantia* powder on serum glucose levels and various lipid parameters in rats fed with cholesterol-free and cholesterol enriched diets. *J Ethnopharmacol* 72: 331–336.
179. Wursch P. 1979. Influence of tannin-rich carob pod fiber on the cholesterol metabolism in the rat. *J Nutr* 109: 685–692.
180. Turley E, Armstrong NC, Wallace JMW, Gilore WS, Mckelvey-Martin JV, Allen TM, Strain JJ. 1999. Effect of cholesterol feeding on DNA damage in male and female syrian hamsters. *Ann Nutr Metab* 43: 47–51.
181. Bjorntorp P. 1990. "Portal" adipose tissue as a generator of risk factors for cardiovascular disease and diabetes. *Arteriosclerosis*. 10: 493–496.
182. Plaa GL, Charbonneau M. 1994. Detection and evaluation of chemically induced liver injury. In *Principles and Methods of Toxicology*. Hayes AW, ed. Raven Press, New York. p 839–870.
183. Lim SS, Kim MH, Lee JH. 1997. Effect of *Artemisia princeps* var *orientalis* and *Cirsium japonicum* var *ussuriense* on liver function body lipid and bile acid of hyperlipidemic rat. *Korean J Nutr* 30: 797–802.
184. Ki HY, Song SW, Ha CS, Han SS. 1993. Effects of the population density on growth and various physiological values of sprague-dawely rats. *Korean Jab Ani Sci* 9: 71–82.
185. Rotenberg S, Jakobsen PE. 1978. The effect of dietary pectin on lipid composition of blood, skeletal muscle and internal organs of rats. *J Nutr.* 108: 1348.
186. Hsu CL, Yen GC. 2008. Phenolic compounds: evidence for inhibitory effects

- against obesity and their underlying molecular signaling mechanisms. *Mol Nutr Food Res* 52:53-61.
187. Yamakoshi J, Saito M, Kataoka S, Tokutake S. 2002. Procyanidin-rich extract from grape seeds prevents cataract formation in hereditary cataractous (ICR/f) rats. *J AgrFood Chem* 50: 4983-4988.
  188. Park SH, Jang MJ, Hong JH, Rhee SJ, Choi KH, Park MR. 2007. Effects of Mulberry leaf extract feeding on lipid status of rats fed high cholesterol diets. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 36: 43-50.
  189. Venter CS, Voster HH, Vander Nest DG. 1990. Comparison between physiological effects of konjac-glucomannan and propionate of coronary heart disease. The Framinfhm sthdy. *Ann Intern Med* p.1128-1135.
  190. Kinnuen PKJ, Virtanen JA, Vainio P. 1983. Lipoprotein lipase and hepatic endothelial lipase. *Atherosclerosis Rev* 11: 65-71.
  191. Gordon T, Castelli WP, Hortland MC, Kannel WB, Dawber TR. 1977. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease; the Framingham study. *Am J Med* 62: 702.
  192. Kannel WB, Castelli WP, Gordon T. 1979. Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease. *Am Intern Med* 90: 85-91.
  193. Jang JY, Lee MK, Kim MJ, Cho SY. 1998. Effect of fiber on serum lipid metabolism in rats with diet-induced cholesterolemia. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 1211-1216.
  194. Kim AJ, Kim SY, Choi MK, Kim MW, Han MR, Chung KS. 2005. Effects of mulberry leaves powder on lipid metabolism in high cholesterol-fed rats. *Korean J Food Sci Technol* 37: 636-641.
  195. Grundy SM and Denke MA. 1990. Dietary influences on serum lipids and lipoproteins. *J Lipid Res.* 31: 1149.

196. Khosla P, Hayes KC. 1993. Dietary palmitic acid raises plasma LDL cholesterol relative to oleic acid only at a high intake of cholesterol. *Biochim Biophys Acta* 1210: 13-22.
197. Reaven PD, Grasse BJ, Tribble DL. 1994. Effects of linoleate-enriched and oleate-enriched diets in combination with  $\alpha$ -tocopherol on the susceptibility of LDL and LDL subfractions to oxidative modification in humans. *Arterioscler Thromb* 14: 557-566.
198. Ghasi S, Nwobodo E, Ofili JO. 2000. Hypocholesterolemic effects of crude extract of leaf of *Moringa oleifera* Lam in high-fat diet fed wistar rats. *J Ethnopharmacol*. 69: 21-25.
199. Jennings CD, Boleyn K, Bridges SR, Wood PT, Anderson JW. 1988. A comparison of the lipid-lowering and intestinal morphological effects of cholestyramine, chitosan and oat gum in rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 189: 13-20.
200. Yokozawa T, Nakagawa T, Kitani K. 2002. Antioxidative activity of green tea polyphenol in cholesterol-fed rats. *J Agric Food Chem* 50: 3549-3552.
201. Ji LL. 1995. Exercise and oxidative stress: Role of the cellular antioxidant system. *Gerontology* 37: 317-325.
202. Sung TS, Son GM, Bae MJ, Choi C. 1992. Effect of *Acanthopanax* cortex boiling extract solutions on fat accumulation in the obese rats induced by high fat dietary. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 9-16.
203. Lee JJ, Chun CS, Kim JG, Choi BD. 2000. Effect of fasting refeeding on rat adipose tissue lipoprotein lipase activity and lipogenesis: Influence of food restriction during refeeding. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 471-478.
204. O'Brien KD, Gordon D, Deeb S, Ferguson M, Chait A. 1992. Lipoprotein lipase is synthesized by macrophage-derived foam cells in human coronary

atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* 89: 1544-1550.

205. Kusunoki M, Tsutsumi K, Iwata K, Yin W, Nakamura T, Ogawa H, Nomura T, Mizutani K, Futenma A, Utsumi K, Miyata T. 2005. NO-1886 (ibrolipim), a lipoprotein lipase activator, increases the expression of uncoupling protein 3 in skeletal muscle and suppresses fat accumulation in high-fat diet-induced obesity in rats. *Metabolism* 54: 1587-1592.



## 감사의 글

24살에 실험실에 들어와 어느덧 7년 이라는 시간 속에서 여러 가지 부분에 있어서 많은 것을 배우고 느낄 수 있었습니다. 몇 글자의 글로 저에게 도움을 주신 분들께 감사의 마음을 전하기엔 부족하지만 짧은 지면을 빌려 마음을 전하고자 합니다.

어린 나이에 실험실에 들어와 부족한 저의 논문을 마무리하는 날까지 집중할 수 있도록 이끌어주신 이명렬 교수님의 은혜에 깊은 감사를 드립니다. 따뜻한 애정과 관심으로 보살펴 주시고 학문에 정진할 수 있도록 채찍질 해주신 덕에 무사히 박사학위 과정을 끝마칠 수 있었다고 생각합니다. 교수님께서 우려와 격려의 마음으로 해주신 말씀들을 가슴 속 깊이 새겨 더욱 발전하도록 노력하겠습니다. 실험실 생활 시작부터 현재 논문이 끝날 때까지 언제나 따뜻한 마음으로 보살펴주시고 부족한 저에게 힘이 되어주신 이재준 교수님께 감사드립니다.

논문심사 위원장을 맡아 세심한 부분까지 꼼꼼하게 체크해주신 장해춘 교수님께도 감사의 마음을 전하며, 목포에서 광주까지 논문심사를 하러 와주신 목포대학교 김인철 교수님께도 감사의 인사를 드립니다. 논문의 세심한 부분을 신경 써 주시고 언제나 좋은 말씀을 해주신 광주보건환경연구원 하동룡 부장님께도 감사의 마음을 전합니다. 또한, 학부시절부터 대학원 과정까지 많은 가르침을 주신 노희경 교수님, 김경수 교수님, 김복희 교수님께도 감사의 마음을 전합니다.

저와 실험실에서 많은 시간을 함께 보내며 함께 울고 웃었던 실험실 식구들..언제나 따뜻한 마음으로 후배들을 잘 챙겨주던 아라, 굶은 일도 마다하지 않고 언제나 묵묵히 일하던 희경이, 긍정적인 생각으로 유쾌한 분위기를 만들어 주는 최유정 선생님, 힘들어 할 때마다 옆자리에서 파이팅 하도록 도와주신 차선숙 선생님, 태만이형, 민석이형, 먼저 졸업해서도 실험실에 자주 와서 힘을 보태준 주희, 어려운 일도 잘 따라와 주는 막내 미현이와 지승이에게도 감사의 인사를 드립니다. 타지 생활을 10년 넘게 해온 저에게는 언제나 집처럼 따뜻하고 아늑한 보금자리였습니

다. 함께한 소중한 추억들 오래 오래 기억하고 간직하겠습니다.

그리고 항상 내 옆을 지켜주는 사랑하는 가족들... 올 여름 갑작스레 건강이 좋지 않아 지셨지만 항상 밝게 웃어 주시는 할머니, 언제나 부족하기만 한 저를 믿고 싶은 소리 한번 없이 옆에서 지켜봐 주신 내 인생의 롤 모델인 존경하는 아버지, 항상 자식들의 건강을 걱정하시며 30살이 될 때까지 공부만 하고 있는 아들을 불만 없이 챙겨주신 어머니의 은혜에 언제나 감사드리고 너무나 사랑합니다. 또한, 동생들 타지 생활에 힘들다며 늘 신경 쓰고 챙겨주신 든든한 호 형님, 30년 동안 때로는 친구같이 때로는 동생같이 내 옆을 지켜준 고마운 동생 현이, 또한 광양에 있는 나의 20년 지기 친구 종진이, 재홍이, 호일이, 민재, 태영이, 휴상이, 조선대학교 식품영양학과 남학우 계모임 일원들에게도 감사의 마음을 전합니다.

주위의 모든 분들에게 깊은 감사의 마음을 전하며, 지금의 마음가짐이 바래지고 무너지지 않도록 더욱 열심히 하겠습니다. 감사합니다.

# 저작물 이용 허락서

학 과	식품영양학과	학 번	20097037	과 정	박사
성 명	한글 : 이 환    한문 : 李 煥    영문 : Lee Hwan				
주 소	광주광역시 동구 동명동 161-7번지 동명오피스텔				
연락처	e-mail : <a href="mailto:ddoggit@naver.com">ddoggit@naver.com</a>				
논문제목	한글 : 비파 부위별 추출물의 생리활성 연구				
	영문 : A study on the Physiological Activities in Different Parts of the Loquat( <i>Eriobotrya japonica</i> Lindl) Ethanol Extract				
<p>본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건 아래 조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.</p> <p style="text-align: center;">- 다            음 -</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함.</li> <li>2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집과 형식상의 변경을 허락함. 다만, 저작물의 내용변경은 금지함.</li> <li>3. 배포·전송된 저작물의 영리적 목적을 위한 복제, 저장, 전송 등은 금지함.</li> <li>4. 저작물에 대한 이용기간은 5년으로 하고, 기간종료 3개월 이내에 별도의 의사 표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함.</li> <li>5. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 출판을 허락을 하였을 경우에는 1개월 이내에 대학에 이를 통보함.</li> <li>6. 조선대학교는 저작물 이용의 허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음.</li> <li>7. 소속 대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송·출력을 허락함.</li> </ol> <p style="text-align: center;">동의여부 : 동의 ( <input type="radio"/> )    반대( <input type="radio"/> )</p> <p style="text-align: center;">2013    년    02    월</p> <p style="text-align: right;">저작자 :    이 환    (인)</p> <p style="text-align: center; font-size: 1.2em; font-weight: bold;">조선대학교 총장 귀하</p>					