



ISSN 1229-8565 (print)

한국지역사회생활과학회지

Korean J Community Living Sci

<http://dx.doi.org/10.7856/kjcls.2016.27.2.233>

ISSN 2287-5190 (on-line)

27(2) : 233~243, 2016

27(2) : 233~243, 2016

## 배암차즈기 열수 추출물 첨가가 고지방-고콜레스테롤 식이를 급여한 흰쥐의 항산화 활성과 지질조성에 미치는 영향

원 향 레<sup>†</sup>

상지대학교 식품영양학과

### Effect of *Salvia plebeia* Water Extract on Antioxidant Activity and Lipid Composition of Rats Fed a High Fat-High Cholesterol Diet

Hyang Rye Won<sup>†</sup>

Dept. of Food and Nutrition, Sangji University, Wonju, Korea

#### ABSTRACT

This study examined the antioxidant activity and lipid composition of rats fed a high fat-high cholesterol diet containing *Salvia plebeia* water extract. Three levels (50 mg/kg, 200 mg/kg, 500 mg/kg) of *Salvia plebeia* water extract were administered to seven weeks old male Sprague Dawley rats for four weeks. The activity of glutathione peroxidase in serum was high in all groups that received the *Salvia plebeia* water extract ( $p < 0.05$ ). The glutathione reductase activity was high ( $p < 0.05$ ) in groups that received 50 mg/kg and 500 mg/kg of *Salvia plebeia* water extract. When rats received *Salvia plebeia* water extract, the content of MDA (malondialdehyde) in the serum and liver was low in all groups. In addition, the serum total lipid, triglyceride, total cholesterol and LDL-cholesterol contents decreased significantly ( $p < 0.05$ ). Total cholesterol and triglyceride levels in the liver were significantly lower in the group that received the *Salvia plebeia* water extract than in the control group ( $p < 0.05$ ). *Salvia plebeia* water extract improves lipid metabolism and it almost meets with the increase of antioxidant activity and peroxide formation reduction. Based on these results, supplemented of a high fat-hypercholesterol diet with *Salvia plebeia* can increase antioxidant activity and depress peroxide formation in serum, as well as liver cholesterol and triglycerides.

**Key words:** *Salvia plebeia*, high fat-high cholesterol diet, antioxidant activity, lipid composition

This research was supported by grants from Sangji University.

Received: 26 March, 2016 Revised: 10 May, 2016 Accepted: 23 May, 2016

<sup>†</sup>Corresponding Author: Hyang Rye Won Tel: +82-33-730-0496 E-mail: hrwon@sangji.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

## I. 서론

고지혈증은 한국인의 주요사망원인으로 보고된 (Korea National Statistical Office 2014) 뇌혈관과 심순환기 질환의 주요한 위험인자로 지목되고 있다 (Ministry of Health and Welfare 2014). 혈액의 콜레스테롤과 중성지방이 비정상적으로 증가되어 발생하는 고지혈증의 치료제로 많이 시판되고 있는 스타틴 계열의 약제는 혈중 콜레스테롤과 중성지방을 낮추는 효과가 있으나 간기능의 저하 및 근육의 손실 등으로 인해 장기간 복용에는 위험이 있다고 알려져 있다(Hirakawa & Shimokawa 2001). 따라서 고지혈증의 예방과 치료를 위한 식물성 생리활성물질에 대한 연구가 꾸준히 진행되어 왔다.

배암차즈기(*Salvia plebeia*)은 꿀풀과에 속하는 2년생 초본이며, 우리나라 전 지역에서 자생하는 약제이다(Cho 2012). 최근까지 다양한 생리활성에 대한 연구 결과들이 보고되어 왔다. 지금까지의 연구 내용들을 보면 항염증에 대한 효과(Bae et al. 2007; Jo et al. 2010; Jeong et al. 2012), 면역기능의 향상(Um et al. 1996; Bae et al. 2007), 항암효과(Um 1995, 1996; Shin et al. 2001; Bae et al. 2007), 항산화효과의 증대(Kim et al. 2002; Kang et al. 2003; Lim et al. 2007; Boo et al. 2012; Jeong et al. 2014), 알레르기의 완화 효과(Shin 2000; Choi et al. 2001), 항 당뇨효과(Kim et al. 2002; Boo et al. 2013)등이 있는 것으로 알려져 있다. 염증은 지질과 단백질의 산화 등을 증가시켜 순환기 질환 등 만성질환의 발현을 야기시키는 것으로 알려져 있으므로(Kim et al. 2004; Boo et al. 2012) 기존의 연구에서 확인된 항염증과 항산화에 효과가 있는 것으로 알려진 배암차즈기가 순환기 질환과 밀접한 관련성이 있는 것으로 보여진다.

따라서 본 연구는 고지방-고콜레스테롤식을 급여한 흰쥐에게 배암차즈기 열수 추출물을 급여하여 지질조성에 대한 효과와 항산화 활성을 알아보고자 하였다.

## II. 연구방법

### 1. 시료의 추출

본 연구에 사용한 배암차즈기(*Salvia plebeia*)는 원주시내 한약재상에서 구입하여 분쇄한 시료 100 g에 증류수 1 L를 넣고 80℃에서 8시간 씩 3회 열수 추출후 여과한 다음 진공 농축기를 사용하여 90℃에서 농축한 후 동결 건조하여 분쇄한 것을 -70℃ 냉동고에 보관하면서 사용하였다. 추출 수율은 15.3%였다.

### 2. 실험동물 및 식이

#### 1) 실험동물

본 실험에서는 Sprague Dawley(SD)종의 7 주령 수컷(170 ± 10 g) 흰쥐를 (주)바이오링크(충북 음성, 대한민국)에서 구입하 후 1주일 동안 펠릿사료로 적응시킨 후, 실험군 당 8 마리씩 5 군으로 나눈 후 1 마리씩 케이지에 넣어 실험식을 4주간 급여하였다.

#### 2) 실험내용 및 실험식이

배암차즈기 열수 추출물의 지질대사의 개선효과를 살펴보기 위하여 진행된 실험설계와 실험식은 Table 1, 2와 같다. 실험군은 정상식이군(normal diet ND), 대조군인 고지방-고콜레스테롤 식이군(high fat-high cholesterol diet group, HFCD), 고지방-고콜레스테롤 식이와 배암차즈기 열수 추출물 50 mg/kg 급여군(high fat-high cholesterol diet supplemented with *Salvia plebeia* water extract 50 mg/kg, HFCD + SP50), 고지방-고콜레스테롤 식이와 배암차즈기 열수 추출물 200 mg/kg 급여군(high fat-high cholesterol diet supplemented with *Salvia plebeia* water extract 200 mg/kg, HFCD + SP200), 고지방-고콜레스테롤 식이와 배암차즈기 열수 추출물 500 mg/kg 급여군(high fat-high cholesterol diet supplemented with *Salvia plebeia* water extract 500 mg/kg, HFCD + SP500)으로 나누어 실시하였으며(Table 1), 정상식이군의 지방은 식이 중량의 4.4%, 나머지 실험군의 지

방은 식이 중량의 23%, 콜레스테롤 1.0% 첨가한 콜레스테롤혈증 유발식이를 4주간 급여하였다(Table 2). 동물사육실 온도는 20 ± 2°C, 상대습도 55 ± 5%, 조명은 12시간 간격으로 조절하였다. 식이섭취량은 1주일에 3회, 체중은 일주일에 한 번 측정하였다. 실험은 상지대학의 Institutional Animal Care and Use Committee(IACUC, 20131)의 승인을 받아 하에 진행되었다.

### 3. 시료수집 및 분석

#### 1) 혈액과 조직처리

실험식이를 4주간 공급한 후 심장 채혈법으로 혈액을 채혈하였고, 3000 rpm에서 15분간 원심분리하여 분리된 혈청은 분석 전까지 -70°C에서 냉동 보관

하였다. 또한 간, 신장, 비장, 신장 등 조직을 적출하여 0.9% NaCl 용액으로 씻은 후 표면의 수분을 제거하여 액체 질소통에 담아 급속 냉동시켜 -70°C에 냉동 보관하였다.

#### 2) 지질과 콜레스테롤 측정

혈액 중 중성지질, 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 농도는 시판되는 Kit(Asan Pharmaceutical Co., Seoul, Korea)를 사용하여 측정하였다. 간조직과 분변의 총지질 함량은 Folch et al.(1957)의 방법에 따라 간조직과 분변의 10 배량의 용매(chloroform:methanol=2:1, v/v)를 첨가하여 반복 추출하고 용매를 휘발시킨 후 얻어진 총지질 함량은 중량법으로 측정하였다. 혈청의 총지질 함량은 Frings & Dunn (1970)의 방법에 따라 분석하였으며 간조직과 분변

**Table 1.** Experimental design

Groups	Diet composition
ND	Normal diet
HFCD	High fat-high cholesterol diet
HFCD + SP50	High fat-high cholesterol diet + <i>Salvia plebeia</i> water extract 50 mg/kg
HFCD + SP200	High fat-high cholesterol diet + <i>Salvia plebeia</i> water extract 200 mg/kg
HFCD + SP500	High fat-high cholesterol diet + <i>Salvia plebeia</i> water extract 500 mg/kg

**Table 2.** Composition of experimental diet (g/kg diet)

Diet composition	ND	HFCD	HFCD+SP50	HFCD+SP200	HFCD+SP500
Corn starch	555.5	359.5	359.5	359.3	359.0
Casein	200.0	200.0	200.0	200.0	200.0
Sucrose	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Soybean oil	24.0	30.0	30.0	30.0	30.0
Beef tallow	20.0	200.0	200.0	200.0	200.0
Cellulose	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0
Mineral mix	35.0	35.0	35.0	35.0	35.0
Vitamin mix	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
DL-methionine	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Cholesterol	-	10.0	10.0	10.0	10.0
Choline-bitartrate	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
<i>Salvia plebeia</i> Water extract	-	-	0.05	0.20	0.50

ND: normal diet, HFCD: high fat-high cholesterol diet, HFCD + SP50: high fat-high cholesterol diet + *Salvia plebeia* water extract 50 mg/kg, HFCD + SP200: high fat-high cholesterol diet + *Salvia plebeia* water extract 200 mg/kg, HFCD + SP500: high fat-high cholesterol diet + *Salvia plebeia* water extract 500 mg/kg, AIN-93 vitamin mixture and AIN-93 mineral mixture.

의 총콜레스테롤과 중성지질은 혈액에서와 같은 방법으로 분석하였다.

3) Alanine transaminase(ALT) 및 aspartate transaminase(AST)의 측정

간 손상정도를 측정하기 위하여 혈액 중 아미노산 전이효소인 alanine transaminase(ALT)와 aspartate transaminase(AST) 활성을 효소법에 의한 정량용 Kit(Asan Pharmaceutical Co., Seoul, Korea)를 사용하였다.

4) 항산화 효소의 활성과 과산화물 측정

혈액의 항산화 효소 활성과 과산화물 측정을 위해 냉동 보관된 혈청을 사용하였으며, 간의 항산화 효소와 과산화물 농도를 측정하기 위해 간은 얼음 위에서 잘게 잘라 homogenize용 튜브에 넣어 Buffer용액(154 mM KCL, 50 mM Tris-HCl, 1mM EDTA buffer, pH7.4)으로 homogenize한 후 4℃ 3,000 rpm에서 20분 원심분리하여 상층액을 취해 MDA (malondialdehyde)를 측정하였고, 4℃ 15,000 rpm에서 30분 2차 원심 분리 후 상층액으로 glutathione peroxidase와 glutathione reductase 활성을 측정하였다. 혈액 및 간조직의 단백질 함량은 Bradford 방법(1976)을 이용한 protein quantification kit(PQO1-12, Dojindo Co., Japan)를 사용하여 BSA(bovine serum albumin)을 표준으로

600 nm에서 microplate reader (Bio-Rad, USA)로 측정하였고, 혈액 및 간조직의 glutathione peroxidase 활성은 spectrophotometric assay용 kit(Oxford Biomedical Research, Inc.; FR17, Oxford Michigan USA) glutathione reductase 활성은 spectrophotometric assay kit(Oxford Biomedical Research, Inc.; FR19, Oxford Michigan USA), MDA의 생성량은 lipid peroxidation assay용 kit(Oxford Biomedical Research, Inc.; FR12, Oxford Michigan, USA)를 사용하였다.

4. 결과분석

실험결과는 평균 및 표준편차로 나타내었고, SPSS 프로그램(Version 17.0, SPSS, Chicago, IL, USA)을 이용하여 분석하였다. 실험군 간의 차이는 one-way ANOVA로 분석한 후 Duncan's multiple range test로 유의성 검증을 하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 체중증가량, 식이섭취량, 식이효율

배암차즈기 열수 추출물을 급여한 쥐의 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율은 Table 3과 같다.

4주 동안 고지방-고콜레스테롤 식이에 3 수준(50 mg/kg, 200 mg/kg, 500 mg/kg)의 배암차즈기 열수 추출물을 급여했을 때 배암차즈기 열수 추출물 급

**Table 3.** Body weights, feed intakes and feed efficiency ratios in rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Salvia plebeia* water extract

Group	Body weight (g)			Total feed intake (g)	FER <sup>1)</sup>
	Initial	Final	Weight gain		
ND	168.38 ± 8.21 <sup>2NS</sup>	314.71 ± 16.24 <sup>NS3)</sup>	146.40 ± 14.70 <sup>a4)</sup>	787.09 ± 28.48 <sup>b</sup>	0.263 ± 0.011 <sup>b</sup>
HFGD	168.12 ± 9.13	329.34 ± 18.17	168.24 ± 16.24 <sup>b</sup>	666.28 ± 30.36 <sup>a</sup>	0.241 ± 0.026 <sup>a</sup>
HFGD + SP50	168.61 ± 8.32	321.93 ± 21.45	153.30 ± 14.91 <sup>ab</sup>	649.58 ± 32.14 <sup>a</sup>	0.255 ± 0.015 <sup>a</sup>
HFGD + SP200	169.09 ± 7.96	326.87 ± 19.21	154.60 ± 19.46 <sup>ab</sup>	651.42 ± 37.41 <sup>a</sup>	0.261 ± 0.025 <sup>b</sup>
HFGD + SP500	169.12 ± 8.76	322.53 ± 12.91	153.46 ± 16.48 <sup>ab</sup>	655.81 ± 40.67 <sup>a</sup>	0.260 ± 0.041 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>FER (Feed efficiency ratio): total weight gain/total feed intake

<sup>2)</sup>Values are the mean ± SD

<sup>3)</sup>NS: not significant

<sup>4)</sup>Values with different superscripts in the same column are significantly different(p<0.05) based on Duncan's multiple range test.

여한 모든 군이 고지방만 급여한 대조군에 비해 식이섭취량이 낮은 경향을 보였다. 식이섭취량과 식이효율은 배암차즈기 열수 추출물 저농도 급여군(50 mg/kg)에서는 대조군과 차이를 보이지 않았으나 200 mg/kg과 500 mg/kg 급여군에서는 유의하게 낮게 나타났다( $p < 0.05$ ). 다른 천연 생리활성 물질의 추출물을 급여한 선행연구들의 결과를 보면 본 실험에서 추출물을 비교적 낮은 농도로 실험동물에게 급여하였을 때 체중이나 식이섭취량에 차이가 없었으나(Won & Kim 2011; Won 2013, 2015), 고농도로 급여하였을 때는 유의하게 식이섭취량과 체중이 감소한 것으로 나타났다(Park et al. 1995). 본 실험에서는 매일 식이를 통해 섭취하는 배암차즈기 열수 추출물의 양은 3.5~11.5 mg/day으로 Sung et al. (1994)과 Park et al.(1995)의 연구에서 사용한 농도보다 높은 수준이었다. 기존의 다른 연구들을 보면 생리활성 물질의 추출물보다 분말 자체를 급여하였을 때는 체중이 감소하는 효과가 보고되었다(Jin et al. 2002; Byun & Seo 2003). 선행 연구들의 결과 차이는 사용한 실험동물, 실험식이, 실험기간, 급여하는 천연생리활성물질의 공급 형태, 추출용매, 농도 등에 따라 차이가 있는 것으로 보여진다.

## 2. 간, 신장, 비장, 심장의 무게

실험군의 간, 심장, 신장, 비장의 무게는 Table 4와 같다. 모든 장기의 무게는 배암차즈기 열수 추출물 급여에 따라 차이를 보이지 않았다. 생리활성 물질의 추출 용매가 에틸 아세테이트나 메탄올인 경우 간과 신장의 무게 감소를 보고하였다(Kim & Lee 2001; Won 2013; Jeon 2015). 이는 천연의 생리활성 추출물이라 해도 생체에 급여할 경우 독성이 약한 용매 추출물을 사용하는 것이 안전하다는 것을 시사하고 있고, 본 연구에서 사용한 배암차즈기 열수 추출물의 농도와 추출 용매가 유기용매가 아닌 물 추출물로 비교적 안전하기 때문인 것으로 사료된다.

## 3. 혈액의 ALT 및 AST 활성

고지방-고콜레스테롤 식이를 급여한 쥐에게 배암차즈기 열수 추출물을 4주간 공급한 실험동물의 혈청 중 ALT 및 AST 활성을 측정한 결과는 Table 5에 나타내었다.

ALT 및 AST는 간세포에 다량 존재하면서 간의 손상이 발생하면 세포 외로 다량 유출되어 혈액의 농도가 증가되어 간 손상의 지표로 이용되는 효소이다(Koh et al. 1999). 배암차즈기 열수 추출물의 급여에 따른 ALT와 AST 활성은 모든 실험군에서 차이가 없는 것으로 나타나(Table 5). 본 실험에서 사용한 모든 농도의 배암차즈기 열수 추출물의 급여가 간의 손상을 초래하지는 않는 것으로 나타났다.

**Table 4.** Weight of organs of rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Salvia plebeia* water extract

Group	Weight (g)			
	Liver	Kidney	Spleen	Heart
ND	9.28 ± 1.04 <sup>1)a2)</sup>	2.34 ± 0.19 <sup>NS</sup>	0.93 ± 0.06 <sup>b</sup>	1.06 ± 0.10 <sup>NS</sup>
HFCD	12.84 ± 1.16 <sup>b</sup>	2.27 ± 0.26	0.80 ± 0.08 <sup>a</sup>	1.06 ± 0.10
HFCD + SP50	13.07 ± 1.36 <sup>b</sup>	2.38 ± 0.19	0.85 ± 0.09 <sup>ab</sup>	1.06 ± 0.08
HFCD + SP200	13.49 ± 1.48 <sup>b</sup>	2.42 ± 0.10	0.89 ± 0.12 <sup>ab</sup>	1.08 ± 0.10
HFCD + SP500	12.74 ± 1.39 <sup>b</sup>	2.36 ± 0.18	0.85 ± 0.10 <sup>ab</sup>	1.16 ± 0.10

<sup>1)</sup>Values are the mean ± SD

NS: not significant

<sup>2)</sup>Values with different superscripts in the same column are significantly different( $p < 0.05$ ) based on Duncan's multiple range test.

**Table 5.** Activities of AST and ALT in the serum of rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Salvia plebeia* water extract

Group	(IU/L)	
	AST	ALT
ND	40.71 ± 2.12 <sup>1)NS2)</sup>	24.78 ± 1.10 <sup>NS</sup>
HFCD	39.45 ± 2.23	25.17 ± 1.08
HFCD + SP50	44.25 ± 3.59	26.39 ± 2.55
HFCD + SP200	43.44 ± 5.07	28.10 ± 3.98
HFCD + SP500	41.44 ± 3.99	28.66 ± 2.94

<sup>1)</sup>Results are the mean ± SD

<sup>2)</sup>NS: not significant

**4. 혈액과 간의 항산화효소와 과산화물 생성**

혈액과 간의 glutathione peroxidase와 glutathione reductase의 활성은 Table 6과 같다. 혈액에서 glutathione peroxidase 활성은 배암차즈기 열수 추출물 급여군이 유의하게 높게 나타났다. 배암차즈기 열수 추출물 급여 수준에 따른 차이는 볼 수 없었다.

혈액 glutathione reductase 활성은 500 mg/kg 급여군에서는 대조군과 차이가 없었으나 50 mg/kg 급여군과 500 mg/kg 급여군은 대조군보다 유의하게 높게 나타났다(p<0.05). 고농도보다 낮은 농도의 배암차즈기 열수 추출물 급여군의 glutathione reductase의 활성이 높게 나타났다.

간의 glutathione peroxidase 활성은 배암차즈기 열수 추출물 급여군이 대조군보다 500 mg/kg 급여군에서는 대조군과 차이가 없었으나 50 mg/kg 급여군과 200 mg/kg 급여군은 대조군보다 유의하게 높게 나타났다(p<0.05). 간의 glutathione reductase는 통계적으로 유의하지는 않았지만 50 mg/kg 급여군과 200 mg/kg 급여군이 대조군에 비해 높은 경향을 보였다. Glutathione peroxidase는 셀레늄을 함유한 효소로서 지질과산화물의 생성을 억제하며 철분과 비타민 E, 필수지방산의 부족하면 활성이 감소되고 산화적 스트레스 시 활성이 증가하는 것으로 보고되었다(Brenot et al. 2004; Park 2005).

혈액과 간의 과산화산물인 MDA의 생성량은 배암차즈기 열수 추출물을 급여한 모든 실험군에서 감소하였고(p<0.05), 이 효과는 급여 농도와는 관련성을 나타내지 않았다(Table 7). 이처럼 농도 의존적인 감소효과가 나타나지 않은 것은 이 연구에서 사용한 배암차즈기 열수 추출물의 농도 범위보다 더 높은 농도의 실험군으로 확대한 연구의 필요가 있다고 여겨지며, 항산화효소들의 상호 관련성을 고려하여 이 연구에서 지표로 사용한 항산화 효소 외에 다른 항산화 효소들의 측정도 필요하다고 여겨진다.

**Table 6.** Antioxidant enzyme activity in blood and liver of rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Salvia plebeia* water extract

Group	Serum		Liver	
	GPx (mU/mg protein) <sup>1)</sup>	GR (mU/mg protein) <sup>2)</sup>	GPx (mU/mg protein)	GR (mU/mg protein)
ND	95.72 ± 6.34 <sup>3)4)</sup>	3.94 ± 0.06 <sup>b</sup>	21.71 ± 0.35 <sup>b</sup>	27.86 ± 0.98 <sup>b</sup>
HFCD	78.21 ± 3.21 <sup>a</sup>	2.60 ± 0.17 <sup>a</sup>	14.65 ± 0.46 <sup>a</sup>	21.38 ± 1.60 <sup>a</sup>
HFCD + SP50	92.45 ± 4.30 <sup>b</sup>	3.86 ± 0.56 <sup>b</sup>	19.46 ± 0.61 <sup>b</sup>	24.80 ± 2.05 <sup>ab</sup>
HFCD + SP200	94.57 ± 6.91 <sup>b</sup>	3.86 ± 0.25 <sup>b</sup>	20.44 ± 5.07 <sup>b</sup>	25.47 ± 1.28 <sup>ab</sup>
HFCD + SP500	91.36 ± 4.98 <sup>b</sup>	2.95 ± 0.74 <sup>ab</sup>	17.44 ± 3.99 <sup>ab</sup>	22.15 ± 2.37 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>GPx: glutathione peroxidase, <sup>2)</sup>GR: glutathione reductase

<sup>3)</sup>Results are the mean ± SD

<sup>4)</sup>Values with different superscripts in the same column are significantly different(p<0.05) based on Duncan's multiple range test.

**Table 7.** MDA in serum and liver of rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Salvia plebeia* water extract

Group	Serum MDA ( $\mu$ mol/mg)	Liver MDA ( $\mu$ mol/mg)
ND	4.30 $\pm$ 1.02 <sup>1)a2)</sup>	10.46 $\pm$ 2.86 <sup>a</sup>
HFCD	7.18 $\pm$ 0.75 <sup>b</sup>	18.35 $\pm$ 2.98 <sup>b</sup>
HFCD + SP50	4.96 $\pm$ 0.57 <sup>a</sup>	9.48 $\pm$ 1.24 <sup>a</sup>
HFCD + SP200	4.54 $\pm$ 0.64 <sup>a</sup>	8.37 $\pm$ 0.65 <sup>a</sup>
HFCD + SP500	5.07 $\pm$ 0.82 <sup>a</sup>	8.37 $\pm$ 0.65 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Values are the mean  $\pm$  SD

<sup>2)</sup>Values with different superscript letters in the same column are significantly different at P<0.05

본 연구에서 혈액과 간의 glutathione peroxidase 와 glutathione reductase의 활성이 증가하고 혈액과 간의 과산화물의 생성이 감소한 것은 배암차즈기 열수 추출물의 항산화 작용으로 보인다. 배암차즈기의 생체 내에서의 항산화 활성을 보고한 연구는 아직까지 없으나 사염화탄소를 투여하여 간의 손상시킨 흰쥐에 더덕 열수 추출물을 투여했을 때 실험동물로 사용한 쥐 간에서 glutathione peroxidase의 활성이 유의적으로 증가한 것은 간의 독성작용에 의해 생성된 과산화 지질 생성물과 과산화수소를 더덕 열수 추출물이 처리하기 위한 것으로 설명하고 있다(Han & Cho 1997). 또한 Won & Oh(2007)는 더덕 분말을 고지혈증 유발 식이에 섞어 주어 흰쥐에서의 항산화

효과를 본 연구에서 혈액과 간의 glutathione peroxidase의 활성이 증가하고 혈액과 간의 과산화물이 생성감소를 보고하였다. Boo et al.(2012)은 자원 식물의 항산화기능 식품으로서의 사용 가능성을 알아보기 위한 *in vitro* 실험에서 superoxide dismutase, catalase, peroxidase와 ascorbate peroxidase를 평가한 연구에서 배암차즈기 메탄올 추출물을 항산화활성이 우수한 11가지 식물 중 하나로 지목하였고, Lim et al.(2007)도 *in vitro* 실험에서 배암차즈기 메탄올 추출물의 우수한 항산화 효과와 기능성 식품 소재의 사용가능성을 보고하였다. 더덕 물 추출물을 경구 투여한 연구(Han et al. 1998)에서 간의 glutathione peroxidase의 활성이 대조군과 차이가 없었으며 glutathione-S-transferase의 활성은 에탄올 추출물을 투여한 군에서만 높게 나타났다고 보고하였다.

**5. 혈액 총지방, 총콜레스테롤, 중성지질, LDL-콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤 농도**

고지방-고콜레스테롤 식이와 배암차즈기 열수 추출물을 4주간 급여한 실험군의 혈청 지질 농도는 Table 8과 같다.

고지방-고콜레스테롤 식이에 배암차즈기 열수 추출물을 급여했을 때 혈액 지질 조성에 개선효과가 있는 것으로 나타났다. 혈청 중 총지방은 배암차즈기 열수 추출물 급여에 따라 저농도(50 mg/kg)와 중등농도(200 mg/kg)군에서는 대조군과 유의한 차

**Table 8.** Total lipid, triglyceride, cholesterol, HDL-cholesterol and LDL-cholesterol in serum of rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Salvia plebeia* water extract for 4 weeks

Group	Total lipid	Triglyceride	Total-cholesterol	HDL-cholesterol	LDL-cholesterol <sup>1)</sup>
ND	341.28 $\pm$ 20.15 <sup>2)a3)</sup>	84.03 $\pm$ 13.71 <sup>a</sup>	121.09 $\pm$ 17.95 <sup>a</sup>	36.21 $\pm$ 3.85 <sup>NS4)</sup>	101.67 $\pm$ 14.76 <sup>a</sup>
HFCD	436.72 $\pm$ 28.53 <sup>b</sup>	133.75 $\pm$ 23.68 <sup>b</sup>	141.84 $\pm$ 19.78 <sup>b</sup>	34.71 $\pm$ 5.73	135.88 $\pm$ 21.08 <sup>b</sup>
HFCD + SP50	392.18 $\pm$ 20.70 <sup>ab</sup>	92.17 $\pm$ 18.83 <sup>a</sup>	137.85 $\pm$ 22.95 <sup>ab</sup>	39.08 $\pm$ 3.05	119.20 $\pm$ 20.14 <sup>a</sup>
HFCD + SP200	389.87 $\pm$ 24.88 <sup>ab</sup>	90.79 $\pm$ 21.91 <sup>a</sup>	137.35 $\pm$ 14.07 <sup>ab</sup>	30.80 $\pm$ 3.86	126.71 $\pm$ 14.54 <sup>ab</sup>
HFCD + SP500	361.45 $\pm$ 16.34 <sup>a</sup>	93.40 $\pm$ 19.95 <sup>a</sup>	128.84 $\pm$ 19.32 <sup>a</sup>	31.52 $\pm$ 5.90	116.01 $\pm$ 19.47 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>LDL-cholesterol={Total cholesterol-(HDL cholesterol-triglyceride/5)}.

<sup>2)</sup>Values are the mean  $\pm$  SD

<sup>3)</sup>Values with different superscripts in the same column are significantly different(p<0.05) based on Duncan's multiple range test.

<sup>4)</sup>NS: not significant.

이를 보이지 않았으나, 고농도군(500 mg/kg)에서는 유의하게 낮게 나타났다( $p < 0.05$ ). 혈청 중 중성지방은 배암차즈기 열수 추출물을 급여한 모든 군에서 급여수준에 관계없이 대조군에 비하여 낮게 나타났다( $p < 0.05$ ). 혈청 중 총콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤 함량은 배암차즈기 열수 추출물의 농도 증가에 따라 일관성 있는 감소를 보이지는 않았으나, 총콜레스테롤은 고농도의 배암차즈기 열수 추출물 급여군(500 mg/kg)에서 유의적으로 감소하였고( $p < 0.05$ ), LDL-콜레스테롤 함량은 저농도와 고농도의 배암차즈기 열수 추출물 급여군(50 mg/kg과 200 mg/kg)에서 유의적으로 감소하였다( $p < 0.05$ ).

생리활성물질 급여가 지질대사에 농도 의존적으로 효과가 있는 연구(Kim & Lee 2001; Lee et al. 2013)도 있으나, 농도에 따른 뚜렷한 효과의 차이를 보이지 않는 연구들도 있었다(Won & Kim 2011; Won 2013, 2015). 농도 의존적으로 뚜렷한 효과를 보이는 연구들은 실험에 사용된 생리활성 추출물의 수준이 식이 중량의 3~5%로 비교적 높은 농도로 급여하였으며 대부분이 메탄올 등 유기용매 추출물이었다. 농도에 따른 뚜렷한 차이를 보이지 않은 연구에서는 사용된 생리활성 추출물의 농도가 낮은(식이 중량의 0.15~2.5%) 것으로 나타났다. 배암차즈기 열수 추출물 급여 유무에 따라 지질대사에 영향은 나타났으나 농도에 따른 뚜렷한 차이가 나타나지 않은 것은 본 실험에 사용한 배암차즈기 열수 추출물의

급여 농도가 비교적 높은 농도였으나 농도에 따라 뚜렷한 차이를 보인 다른 천연 생리활성 물질들과 비교해 볼 때 추출 용매가 메탄올이 대부분인데 반해 본 연구에서 사용한 열수 추출 용매의 활성 차이로 사료된다.

혈청 중 HDL-콜레스테롤 함량은 배암차즈기 열수 추출물 급여 농도에 따라 차이를 보이지 않았다. 배암차즈기 열수 추출물 급여군에서 고지혈증의 원인이 되는 지질 성분인 중성지방과 총콜레스테롤, 나쁜 콜레스테롤이라고 불리는 LDL-콜레스테롤 저하 효과가 나타난 것은 배암차즈기 열수 추출물이 지방 대사 개선에 활성을 가진 것을 알 수 있다. 특히 중성지방에 더 확실한 효과를 나타냈는데 이는 한국인들에게 증가하고 있는 고 중성지방혈증을 개선하는 식품소재로서의 사용 가능성을 시사해 주고 있다.

천연 생리활성 물질의 지질대사 개선효과에 관한 다른 선행연구들(Han et al. 2000, 2002, 2011; Jin et al. 2002; Zhao et al. 2005; Lee et al. 2013; Won 2015)에서는 천연 생리활성 물질을 정상식이와 고지방식이에 급여했을 때 고지방식이군에서 혈액의 총콜레스테롤과 중성지방이 감소하는 효과가 정상군에서 보다 더 크다고 보고하였다. 이 결과는 혈청의 지질대사를 개선시키기 위해 급여하는 생리활성물질이 고지혈증군에서는 지질대사 개선의 효과가 있으나 정상군에서는 고용량은 오히려 역효과를 나타낼 수 있다는 결과를 보여 주고 있다.

**Table 9.** Effect of water extract on liver and feces lipid content in rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Salvia plebeia* water extract

Group	Liver		Feces	
	Total cholesterol	Triglyceride	Total cholesterol	Triglyceride
ND	5.84 ± 0.47 <sup>1)a2)</sup>	8.70 ± 0.81 <sup>a</sup>	5.28 ± 0.32 <sup>a</sup>	5.91 ± 0.50 <sup>a</sup>
HFCD	9.32 ± 0.61 <sup>b</sup>	12.74 ± 0.62 <sup>b</sup>	6.32 ± 0.54 <sup>b</sup>	7.83 ± 0.44 <sup>b</sup>
HFCD + SP50	5.34 ± 0.60 <sup>a</sup>	7.86 ± 0.78 <sup>a</sup>	5.46 ± 0.44 <sup>a</sup>	5.86 ± 0.56 <sup>a</sup>
HFCD + SP200	4.90 ± 0.44 <sup>a</sup>	7.41 ± 0.40 <sup>a</sup>	5.84 ± 0.43 <sup>ab</sup>	6.83 ± 0.72 <sup>ab</sup>
HFCD + SP500	5.61 ± 0.74 <sup>a</sup>	7.86 ± 0.63 <sup>a</sup>	5.90 ± 0.61 <sup>ab</sup>	6.82 ± 0.73 <sup>ab</sup>

<sup>1)</sup>Results are the mean ± SD

<sup>2)</sup>Values with different superscripts in the same column are significantly different( $p < 0.05$ ) based on Duncan's multiple range test.



## 6. 간조직과 분변의 지질 농도

고지방-고콜레스테롤 식이와 배암차즈기 열수 추출물을 급여한 쥐의 간조직과 분변의 총콜레스테롤 함량과 중성지질 함량은 Table 9와 같다.

간조직의 총콜레스테롤과 중성지방 함량은 대체적으로 배암차즈기 열수 추출물 급여군이 유의하게 감소한 것으로 나타났다( $p < 0.05$ ). 그러나 배암차즈기 열수 추출물 농도 의존적으로 낮아지는 효과는 볼 수 없었다. 이 결과는 지질대사 개선을 위해 다른 천연 생리활성 물질의 열수 추출물이나 에탄올 추출물을 이용한 다른 선행연구들(Won & Kim 2011; Won 2012, 2015)의 결과와 동일하였다.

본 연구의 결과는 고지혈증을 유발하는 고지방-고콜레스테롤 식이에 배암차즈기 열수 추출물을 급여했을 때 혈액과 간에서는 중성지방과 콜레스테롤을 감소시키는 효과는 있었으나( $p < 0.05$ ), 분변으로의 배설 증가효과는 보이지 않았다. 이 결과는 고지방 식이에 천연 생리활성 물질의 추출물을 공급한 실험 동물의 분변에서 총콜레스테롤과 중성지방 배설이 증가하였다는 연구(Zhao et al. 2005)와는 다른 결과를 나타냈다. Zhao et al.(2005)의 연구에서 주입한 사포닌 추출물의 농도는 70 mg/kg bw 인데 반해 본 연구에서 사용한 배암차즈기 열수 추출물의 농도는 3.9~38.7 mg/kg bw로 본 연구에서 사용한 추출물의 농도가 분변으로의 지질배설 증가효과를 나타내기에는 낮은 농도로 사료된다. 배암차즈기 열수 추출물은 간조직의 지질성분 합성 감소를 통해 혈액의 중성지방과 총콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 농도를 낮춤으로 고지혈증치료와 예방에 효과적일 것으로 사료된다. 본 연구에서 혈액과 간에서의 배암차즈기 열수 추출물의 지질대사 개선효과는 볼 수 있었으나 농도에 따른 효과를 거의 볼 수 없었다. 따라서 후속연구를 통해 배암차즈기 열수 추출물의 농도범위와 실험기간의 확대 및 간 조직에서의 콜레스테롤 대사와 관련성이 있는 생화학 지표들의 활성을 측정하여 체내에서의 지질 저하효과의 기전을 밝히는 연구가 필요하다고 사료된다.

## IV. 요약 및 결론

배암차즈기 열수 추출물의 고지혈증 개선 효과를 알아보기 위하여 Sprague Dawley계 5 주령 웅성 흰쥐에게 4주 동안 고지방-고콜레스테롤 식이와 배암차즈기 열수 추출물을 3수준(50 mg/kg, 200 mg/kg, 500 mg/kg)의 농도로 급여하였다. 실험 결과, 식이섭취량은 200 mg/kg, 500 mg/kg의 배암차즈기 열수 추출물을 급여군에서는 유의하게 낮게 나타났다( $p < 0.05$ ). 혈액의 경우 glutathione peroxidase 활성은 배암차즈기 열수 추출물군이 유의하게 높게 나타났으며( $p < 0.05$ ), glutathione reductase 활성은 50 mg/kg 급여군과 500 mg/kg 급여군은 대조군보다 유의하게 높게 나타났다( $p < 0.05$ ). 간 조직의 glutathione peroxidase 활성도 배암차즈기 열수 추출물 50 mg/kg 급여군과 200 mg/kg 급여군이 대조군보다 유의하게 높게 나타났다( $p < 0.05$ ). 간과 혈액의 과산화물 생성은 배암차즈기 열수 추출물 급여군에서 모두 낮게 나타났다( $p < 0.05$ ). 혈청 중 총지방 함량은 배암차즈기 열수 추출물 125 mg/kg 급여군에서 유의하게 낮게 나타났다( $p < 0.05$ ). 혈청 중 중성지방, 총콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 함량은 배암차즈기 열수 추출물의 모든 급여군에서 유의적으로 감소하였다( $p < 0.05$ ). 간조직의 총콜레스테롤과 중성지방 함량은 대체적으로 배암차즈기 열수 추출물 급여군에서 유의하게 감소하였다( $p < 0.05$ ). 농도에 비례해서 낮아지는 효과는 볼 수 없었다. 분변의 총콜레스테롤과 중성지방 함량은 차이를 보이지 않았다. 이 결과는 고지혈증을 유발하는 고지방-고콜레스테롤 식이에 배암차즈기 열수 추출물을 급여했을 때 혈액의 간의 중성지방, 총콜레스테롤을 감소시키는 효과가 있었다. 이 효과는 항산화효소 활성 증가와 과산화물의 생성 감소와 거의 일치하였다. 그러나 배암차즈기 열수 추출물의 농도에 따른 차이는 확실히 나타나지 않았으므로 지질대사 개선의 효과는 저농도의 배암차즈기 열수 추출물로도 고지혈증의 예방과 치료에 효과가 있을 것으로 사료된다. 또한 열수 추출물의 효과가 나타나는 것으로 보아 보다 안전한 식품소재로 이용할 수 있는 가능성을 제시하고 있다.

## References

- Brenot A, King KY, Janowiak B, Griffith O, Caparon MG(2004) Contribution of glutathione peroxidase to the virulence of *Streptococcus pyogenes*. *Infect Immun* 72, 408-413
- Byun BH, Seo BI(2003) Effect of *Platycodi radix* powder on enzyme activities of obese rats serum fed high fat diet. *Korean J Herbol* 18(4), 135-139
- Bae MJ, Ye EJU, Kim SJ, Kim JM, Yee ST, Park EM(2007) The effects of *Plebeiae Herba*(*Salvia plebeia* R. Br.) on the anticancer(*in vitro*) and activation of immune cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36(4), 377-382
- Boo HO, Shin JH, Shin JS, Choung ES, Bang MA, Choi KM, Song WS(2012) Assessment on antioxidant potential and enzyme activity of some economic resource plants. *Korean J Plant Res* 25(3), 349-356
- Boo HO, Shin JW, Choung ES, Bang MA, Choi KM, Song WS(2013) Carbohydrate, lipid inhibitory activity and antioxidant activity of extracts from several economic resource plants *in vitro*. *Korean J Plant Res* 32(4), 297-301
- Bradford MM(1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72, 248
- Cho SJ(2012) Local herbe with patent. *Academy Book*, pp 235-237
- Choi YG, Kim SH, Lim JP, Kim DK, Eom DO, Lee KB, Kim SY, Shin TY(2001) Inhibitory effect of *Salvia plebeia* on compound 48/80-induced immediated hypersensitivity reaction. *Korean J Pharmacogn* 32(4), 297-301
- Folch J, Lees M, Sloane-Stanley G(1957) A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues. *J Biol Chem* 226, 497-509
- Frings CS, Dunn RT(1970) A colorimetric method for determination of total serum lipids based on the sulfo-phospho-vanillin reaction. *Am J Clin Pathol* 53, 89-91
- Han EG, Cho SY(1997) Effect of *Codonopsis lanceolata* water extract on the activities of antioxidative enzyme in carbon tetrachloride treated rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26(6), 1181-1186
- Han EG, Sung IS, Moon HK, Cho SY(1998) Effect of *Codonopsis lanceolata* water extract on the level of lipid in rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27(5), 940-944
- Han LK, Xu BJ, Kimura Y, Zheng Y, Okuda H(2000) *Platycodi radix* affects lipid metabolism in mice with high fat diet-induced obesity. *J Nutr* 130(11), 2760-2764
- Han LK, Zheng YN, Okuda H, Kimura Y(2002) Saponins from *platycodi radix* ameliorate high fat diet-induced obesity in mice. *J Nutr* 132(8), 2241-2245
- Han S, Oh KS, Yoon Y, Park JS, Park YS, Han JH, Jeong AL, Lee S, Park M, Choi YA, Lim JS, Yang Y(2011) Herbal extract THI improves metabolic abnormality in mice fed a high-fat diet. *Nutr Res Pract* 5(3), 198-204
- Hirakawa Y, Shimokawa H(2001) Lipid-lowering drugs. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 118(6), 389-395
- Jeon MH(2015) Antiobesity effect and antioxidant activities of *Momordica charantia* ethyl acetate extract. Master's thesis, Sangji University.
- Jeong HR, Sung MS, Kim YH, Ham HM, Choi, YM, Lee JS(2012) Anti-inflammatory activity of *Salvia plebeia* R. Br. Leaf through heme oxygenase-1 induction in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41(7), 888-894
- Jeong JS, Kim YJ, Choi BR, Go GB, Son BG, Gang SW, Moon SM(2014) Antioxidant and physicochemical changes in *Salvia plebeia* R. Br. after hot-air drying and blanching. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43(6), 893-900.
- Jin CY, Byun BH, Park JH, Lee ES, Choi HY, Lee BW, Seo BI(2002) Effects of *Platycodon grandiflorum* powder on body weight and serum biological composition of obese rats fed high fat diet. *Korean J Herbol* 17(2), 19-28
- Jo SY, Lee UY, Kim EY, Lee SJ, Her JW, Yoon TJ(2010) A study on the anti-inflammatory and anti-allergic effect of *Salvia plebeia* extracts. *Korean J Pharmacogn* 41(1), 31-37
- Kang HS, Chung HY, Son KH, Kang SS, Choi JS(2003) Scavenging effect of Korean medicinal plants on the peroxynitric and total ROS. *Nat Product Sci* 9(2), 73-79
- Kim JY, Jung KS, Jeong HG(2004) Suppressive effects of the kahweol and cafestol on cyclooxygenase-2 expression in macrophages. *FEBS Lett* 569, 321-326
- Kim SH, Kwon CS, LeeJS, Son KH, Lim JK, Kim JS(2002) Inhibition of carbohydrate-digesting enzyme and amelioration of glucose tolerance by Korean medicinal herbs. *J Food Sci Nutr* 7(1), 62-66
- Kim SO, Lee MY(2001) Effects of ethylacetate fraction of onion on lipid metabolism in high cholesterol-fed rats. *J Korean Soc Food Nutr* 30(4), 673-678
- Koh JB, Choi MA, Kim JY, Rho MH, Kim DJ(1999) Effects of tea fungus/kombucha beverage on serum protein levels and enzyme activity in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28(5), 1137-1143
- Korea National Statistical Office(2014) 20013 Summary report of the cause of death statistics
- Lee HS, Choi JH, Kim YE, Kim IH, Kim BH, Lee CH(2013) Effects of the *Cynanchum wilfordii* ethanol extract on the serum lipid profile in hypercholesterolemic rats *Pre Nutr Food Sci* 18(3), 157-162

- 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(3), 183-188
- Ministry of Health and Welfare, Korea Center and Prevention(2014) 2013 National health and nutrition examination survey: overview. Ministry of Health and Welfare, Seoul, Korea
- Park MH, Son GM, Bae MJ(1995) Effect of *Platycodi radix* saponin on liver lipid in rats on a fed high fat diet. Korean J Food Nutr 8(3), 222-229
- Park MN(2005) Effect of iron overload during pregnancy and lactation on iron metabolism and oxidative stress in maternal, fetal and neonatal rats. PhD Dissertation, Seoul National University
- Shin TY, Kim DK, Choi YK, Kim YJ, Choi DS, Kim SH, An NH(2000) Effect of *Salvia plebeia* on IgE antibody mediated allergic reaction in rats. Int J Oriental Med 1(2), 29-35
- Shin MK, Kim SK, Lee SK, Yang EY, Lee HO, Baek SH(2001) Cytotoxicity and antimicrobial effect of the extract of *Salvia plebeia*. Korean J Pharmacogn 32(1), 55-60
- Sung TS, Son GM, Bae MJ(1994) Effect of *Cnidii rhizoma* water-extracted solution on fat contents in plasma, liver, and adipose, and fecal steroids of fatted rats induced by high fat dietary. Korean J Food Nutr 7(2), 100-107
- Um SH, Kim DK, Kwak JW, Lee KR, Rhee DK, Pyo SN, Zee OP(1995) Antiviral and antitumoral activities of domestic medicinal plants in macrophages. Korean J Pharmacogn 26(3), 259-264
- Um SH, Lee KR, Zee OP, Pyo SN(1996) The effect of *Salvia plebeia* on murine macrophage-mediated cytotoxicity. Nat Product Sci 2(1), 43-47
- Won HR, Oh HS(2007) Antioxidative activity and lipid composition from different part and supplement of *Codonopsis lanceolata* in rat. J Korean Soc Food Sci Nutr 36(9), 1128-1133
- Won HR(2012) Effect of *Acanthopanax senticosus* water extract on lipid metabolism in rats fed hypercholesterol diet. Korean J Community Living Sci 23(4), 501-508
- Won HR(2013) Hypocholesterolemic effect of *Platycodi radix* saponin in rats on a fed hypercholesterol diet. Korean J Community Living Sci 24(1), 141-149
- Won HR(2015) Effect of the *Officinale Makino* water extract on the lipid metabolism of rats on fed a hypercholesterol diet. Korean J Community Living Sci 26(2), 351-360
- Won HR, Kim SH(2011) Antihyperlipidemic Effect of ethanol extract from *portulaca oleracea* L. in high fat diet-induced obese mice. J Korean Soc Food Nutr 40(4), 538-543
- Zhao HL, Sim JS, Shim SH, Ha YW, Kang SS, Kim YS(2005) Antiobese and hypolipidemic effects of platycodin saponins in diet-induced obese rats: evidences for lipase inhibition and calorie intake restriction. Int J Obes 29(8), 983-990