

Anti-Obesity Effect of *Crataegus* Fructus Extract from Chinese Cultivation

Sang Wan Gal, Young Jae Choi and Soo Jeong Cho*

Department of Pharmaceutical Engineering, Gyeongnam National University of Science and Technology, Jinju 660-758, Korea

Received September 24, 2011 / Revised November 9, 2011 / Accepted November 10, 2011

This study was carried out to evaluate the antiobesity effects of *Crataegus fructus* in 3T3-L1 adipocytes and mice fed a high fat diet (high fat 45% cal). The inhibitory effect of methanol extract from *Crataegus fructus* on lipid accumulation in 3T3-L1 adipocytes was quantified using Oil red O staining. Compared with the control, lipid accumulation was significantly decreased by 10-25% with treatment with *Crataegus fructus* extract at a concentration of 600-2,000 ug/ml. Three-week old ICR mice (n=24) were randomly divided into four groups (T0: normal diet, T1: high fat diet, T2: high fat diet and 50 ug of *Crataegus fructus* extract, T3: high fat diet and 100 ug of *Crataegus fructus* extract) and were fed an experimental diet for 5 weeks. At the end of the experiment, body weight gain in the T1 group (3.9±0.24 g) was higher than that in the T0 group (2.56±0.14 g), while body weight gain in the T2 (3.02±0.25 g) and T3 (2.58±0.16 g) groups was significantly reduced as compared with that of the T1 group. Moreover, liver weight in the T1 (4.8±0.17 g) and T2 (4.8±0.16 g) groups was significantly higher than that of the T0 (4.05±0.16 g) and T3 (4.57±0.10 g) groups, while kidney weight was significantly lower than that of the T0 and T3 groups ($p<0.05$). The levels of total cholesterol and triglyceride in serum in the T2 and T3 groups were significantly decreased compared to the T1 group. These results suggest that *Crataegus fructus* can be used as functional materials in food and medicine.

Key words : *Crataegus fructus*, antiobesity, 3T3-L1 adipocytes, high fat diet

서 론

비만은 신체활동과 성장에 필요한 에너지보다 칼로리 섭취가 초과되어 과잉섭취된 에너지가 중성지방의 형태로 지방 조직에 축적된 열량 불균형상태를 말하며[29] 선진국으로 갈수록 증가하는 경향을 보이고 있다. 최근 우리나라에서도 식단의 서구화로 각종 동물성 가공 식품의 섭취량이 증가하여 비만 인구가 급속히 증가하였으며 비만은 심혈관계질환, 당뇨, 고혈압, 고지혈증, 담석증 등의 질병을 유발할 뿐만 아니라 정신건강에도 영향을 미칠 수 있으므로 이에 대한 대책마련이 필요하다[1,18,31].

비만은 지방세포(adipocyte) 내 중성지방 크기가 증대하거나 지방세포 수가 증가한 것이며 지방세포 내 중성지방의 크기가 증대하게 되면 운동이나 식이를 통하여 축적된 중성지방을 분해할 수 있지만 지방세포 수가 증가하여 비만이 유발된 경우에는 생성된 지방세포를 파괴해야 하므로 치료에 많은 어려움이 있다. 일반적으로 비만치료를 위해서는 식이, 운동, 행동요법을 통한 생활습관의 개선이 필요하지만 대부분이 약물치방이나 외과적 수술요법을 병행하여 비만을 예방, 치료하고 있다[2]. 비만 치료제는 여러 작용기전에 따라 개발되고 있지만 현재 시판되고 있는 비만 치료제는 중추신경계에 작용하여 식욕을 억제시키거나 지방의 소화를 억제하여 체외로 배출

하는 약물이며 위장장애, 복부팽만, 구갈, 불면증, 두통, 혈압 상승 등의 부작용을 야기한다고 보고되고 있으며[11] 일부는 항정신성 의약품으로 분류되어 있다. 이와 같은 합성 의약품 유래 비만 치료제의 문제점에도 불구하고 비만인구의 증가와 함께 비만치료제의 수요는 급격하게 증가하고 있는 실정이다. 따라서 오랫동안 식품과 약재로 사용되어 안전성이 확보된 식용 및 약용 작물로부터 체중조절에 효과적이면서 부작용이 적은 기능성물질을 찾아내어 작용기전에 따라 건강식품이나 의약품으로 개발하는 연구가 활발히 진행되고 있다. 체중조절에 효과가 있는 기능성 물질에는 *Garcinia cambogia*의 hydroxycitric acid (HCA), olibra, inulin, oligofructose, chitosan, flavonoids, capsaicin, caffeine, catechin, retinoic acid, L-carnitine, conjugated linoleic acid (CLA) 등이 보고되어 있다[3]. 또한 동의보감, 본초강목에 의하면 예로부터 마황, 생강, 결명자, 괴화, 천궁, 오수유 등은 체중조절에 효과가 있는 약재로 사용되어 왔다고 한다.

산사자(*Crataegus fructus*)는 우리나라 산야와 계곡에 자생하는 낙엽교목인 산사나무(*Crataegus pinnatifida* Bunge)의 건조된 과실로써[13] 아가위 또는 적과자 등으로 불리며 예로부터 한방에서 건위, 소화, 수렴, 진통 등의 효과가 있는 것으로 알려져 왔다[4,26]. 또한 산사자는 항산화[12,14,15,27,28], 항균[6,7], 순환계 질환[22,26], 동맥경화[19], 고지혈증[12,26], chitin synthase II 저해[13], HIV-I protease 저해[20,21] 등의 생리활성이 있는 것으로 보고되었으며 약리성분으로는 caffeic acid, citric acid, corosolic acid, cratagolic acid, euscaptic acid,

*Corresponding author

Tel : +82-55-751-3397, Fax : +82-55-751-3399

E-mail : sjcho@gntech.ac.kr

hyperin, hyperoside, procatechuic acid, pyrogallol, β -sitosterol-3-O- β -D-glucopyranoside, oleanolic acid, quercetin, rhamnoside, urolic acid, vitexin 등이 보고되어 있다 [2,12,15,18,23,30]. 최근에는 산사자뿐만 아니라 산사나무 잎에서도 유사한 약리성분이 보고되었으며 quercetin 배당체, myricetin 배당체, apigenin 배당체와 epicatechin 등의 항산화 작용에 관한 연구가 보고되었다[8,32,33].

본 연구에서는 건강기능식품 및 의약품 원료로 사용될 수 있는 식물자원 중 산사자를 메탄올에 추출하여 3T3-L1 지방세포에 대한 산사자 추출물의 세포독성과 산사자 추출물이 지방세포 분화에 미치는 영향을 관찰하고 고지방식이로 비만이 유도된 흰쥐에 산사자 추출물을 급여하여 체중변화와 혈청내 중성지방과 총 콜레스테롤 함량을 확인하였으며 이러한 결과를 바탕으로 산사자 추출물의 항비만 효과를 검증하고자 하였다.

재료 및 방법

중국산 산사자 메탄올 추출물의 제조

중국산 산사자(*Crataegus fructus*)는 서울 경동시장 약재도매상가에서 구입한 다음 분쇄하여 사용하였으며 식물표본은 식물학적 검정을 마친 후 경남과학기술대학교 생물신소재공학실험실 표본실(GNTC-001)에 보관하였다. 산사자 메탄올 추출물(639 g)은 분쇄한 산사자 2 kg을 메탄올 16 l에 넣고 상온에서 3회 반복 추출하여 얻은 추출액을 Watman filter paper (No. 2)로 여과한 다음 회전감압농축기(Eyela, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 감압농축하여 얻었으며 수득율은 약 32% 정도였다.

3T3-L1 세포 배양과 분화

미분화된 3T3-L1 지방세포는 한국세포주은행(Korean Cell Line Bank, KCLB 10092)으로부터 분양받아 사용하였고 10% fetal bovine serum (FBS, GIBCO, Rockville, MD, USA)과 1%의 penicillin-streptomycin (Lonza Walkersville, Inc., Walkersville, MD, USA)이 첨가된 Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM, GIBCO) 배지에서 37°C, 5% CO₂ 조건으로 배양하였으며 2일마다 배양액을 교환하였다. 배양된 3T3-L1 지방세포의 60%가 confluent 되었을 때 0.05% trypsin과 0.53 mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA, Sigma Co., St. Louis, MO, USA)를 처리하였고 1,000 rpm에서 5분 동안 원심분리한 다음 1×10⁶ cell 씩 12-well plate에 분주하여 배양하였다. 3T3-L1 지방세포의 분화는 10% FBS와 0.5 mM 3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX), 0.5 μ M dexamethasone, 10 μ g/ml insulin (Sigma Co., St. Louis, MO, USA)이 첨가된 DMEM 배지에서 유도하였으며 2일 후에 10% FBS와 10 μ g/ml insulin이 포함된 DMEM 배지로 교환하고 다시 10%

FBS를 포함한 DMEM 배지에서 3일 동안 배양하여 80% 이상의 세포가 분화되었음을 확인하였다.

MTT assay

중국산 산사자 메탄올 추출물의 세포독성은 황색의 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT, Sigma Co., St. Louis, MO, USA)가 mitochondria 효소에 의해 불용성인 보라색의 formazan으로 변하는 반응을 이용하여 세포수의 변화를 추정하는 방법으로 확인하였다[10]. 중국산 산사자 메탄올 추출물은 DMSO에 녹인 후 200-2,000 μ g/ml 농도로 희석한 다음 0.2 μ m membrane filter (Sartorius, USA)로 여과하여 사용하였다. 12-well plate에서 24시간 동안 배양된 3T3-L1 세포에 산사자 추출물을 0, 200, 400, 600, 800, 1,000, 2,000 μ g/ml의 농도로 첨가한 후 24시간 동안 37°C, 5% CO₂ 조건으로 배양한 다음 Hank's balanced salt solution에 용해시킨 50 μ g/ml MTT 용액을 첨가하고 37°C에서 4시간 동안 배양하였다. 배양된 3T3-L1 세포는 PBS로 세척한 다음 1 ml DMSO를 첨가한 후 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Oil-red O 염색

중국산 산사자 메탄올 추출물이 중성지방에 미치는 영향은 분화된 3T3-L1 세포에 0, 200, 400, 600, 800, 1,000, 2,000 μ g/ml의 중국산 산사자 메탄올 추출물을 처리하여 48시간 동안 배양한 후 PBS로 세척한 다음 Cacodylate buffer (2% formaldehyde, 2.5% glutaraldehyde, 0.025% calcium chloride, 5% sucrose)로 4°C에서 30분간 고정하여 조사하였다. 고정된 세포는 PBS로 세척한 후 4°C에서 Oil-red O 염색시약 (Sigma Co., St. Louis, MO, USA)으로 염색하였다. 염색된 지방은 DMSO에 용해한 후 560 nm에서 흡광도를 측정하였으며[9] 지방함량은 대조군의 흡광도 평균값에 대한 백분율로 나타내었다.

실험동물의 식이 및 사육

실험동물은 3주령의 수컷 ICR mouse를 효창사이언스 (Daegu, Korea)로부터 분양받아 2주일간 정상식이(AIN-93G)로 적응시킨 후 실험구별로 각각 6마리씩 4군으로 나누어 시험하였으며 실험식이의 조성은 Table 1과 같다. 산사자 메탄올 추출물은 500 μ g/ml과 1,000 μ g/ml의 농도로 물에 희석한 다음 100 μ l씩 실험구에 경구투여하였으며 대조구인 high fat 45% cal 고지방식이군은 산사자 메탄올 추출물 대신 물을 100 μ l 경구투여하였다. 각 처리구는 T0 (대조구, AIN-93G 정상식이), T1 (대조구, high fat 45% cal 고지방식이와 물 100 μ l), T2 (실험구, high fat 45% cal 고지방식이와 500 μ g/ml 산사자 메탄올 추출물 100 μ l), T3 (실험구, high fat 45% cal 고지방식이와 1,000 μ g/ml 산사자 메탄올 추출물 100 μ l)로 나누어 5주

Table 1. Composition of the normal and high fat diet (g/kg)

Ingredients	Group	
	Normal diet	High fat diet
Casein	200	200
Corn Starch	397.486	155.036
Sucrose	100	50
Dextrose	132	132
Cellulose	50	50
Soybean Oil	70	25
Lard	0	175
Mineral Mixture	35	35
Vitamin Mixture	10	10
TBHQ	0.014	0.014
L-Cystine	3	3
Choline Bitartrate	2.5	2.5

동안 사육하였다. 식이사료와 물은 자유급식하였으며 사육실의 온도는 23±2°C, 습도는 55±5%로 유지하였고 명암은 12시간 간격으로 조절하였다. 실험동물의 체중은 일주일에 한 번씩 일정한 시간에 측정하였고 식이 섭취량은 매일 일정한 시간에 식이 급여량과 식이 잔여량의 차이를 계산하여 구하였으며 음수량도 매일 일정한 시간에 식이섭취량과 동일한 방법으로 측정하였다.

시료채취 및 분석

실험동물은 12시간 동안 절식시킨 다음 ethyl ether로 마취하였고 채혈은 심장에서 하였으며 혈청은 채혈한 혈액을 실온에서 30분간 방치한 후 3,000 rpm에서 15분 동안 원심분리하여 분리하였다. 분리한 혈청의 총 콜레스테롤과 중성지방 농도는 네오던의연구소(Seoul, Korea)에 의뢰하여 분석하였다. 실험동물의 간과 신장은 채혈 후 즉시 적출하여 생리식염수로 세척한 다음 여과지로 수분을 제거하고 무게를 측정하였다.

통계처리

실험동물의 증체량은 처리구별 개체 체중으로 비교하였으며 사료섭취량은 처리구별 개체 섭취량의 평균값으로 비교하였다. 실험결과의 평균값과 표준오차는 SAS (Statistical analysis system, USA) program을 사용하여 구하였고 Duncan's 다중검정법으로 5% 수준에서 유의성 검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

중국산 산사자 메탄올 추출물의 세포독성

중국산 산사자 메탄올 추출물의 세포독성은 3T3-L1 지방세포에 0-2,000 ug/ml 농도 범위의 중국산 산사자 추출물을 처리한 후 MTT assay를 수행하여 확인하였으며 중국산 산사자 추출물 대신 DMSO를 사용한 대조구의 cell viability에 대한

백분율로 나타내었다(Fig. 1). 3T3-L1 지방세포에 200, 400, 600, 800, 1,000 ug/ml의 중국산 산사자 추출물을 처리한 후 대조구와 비교하였을 때 3T3-L1 지방세포의 cell viability는 각각 99%, 98%, 96%, 95%, 90%였으며 2,000 ug/ml의 중국산 산사자 추출물을 처리하였을 때는 80%의 cell viability를 나타내었다(p<0.05). 따라서 고농도의 중국산 산사자 추출물(1,000 ug/ml, 2,000 ug/ml)을 처리하였을 때도 3T3-L1 지방세포는 80% 이상의 cell viability를 나타내므로 본 실험에 사용한 중국산 산사자 추출물의 세포독성은 매우 낮은 것으로 생각된다. 또한 산사자 메탄올 추출물은 이미 보고된 천연물 메탄올 추출물[5,16]에 비해 세포독성의 유효범위가 넓은 뿐만아니라 세포독성도 낮게 나타났다.

중국산 산사자 메탄올 추출물이 지방세포에 미치는 영향

중국산 산사자 메탄올 추출물이 지방세포의 중성지방에 미치는 영향은 중성지방만을 붉은색으로 염색하는 Oil-red O 염색법으로 중성지방 함량을 측정하여 확인하였으며 대조구의 중성지방 함량에 대한 백분율로 나타내었다(Fig. 2). 3T3-L1 지방세포에 중국산 산사자 메탄올 추출물을 0-2,000 ug/ml의 농도로 처리하였을 때 3T3-L1 지방세포의 중성지방 함량은 200 ug/ml과 400 ug/ml의 농도에서는 대조구와 큰 차이를 나타내지 않았으나 600-2,000 ug/ml의 농도범위에서는 대조구에 비해 유의적으로 감소하였다(p<0.05). 따라서 중국산 산사자 메탄올 추출물은 3T3-L1 지방세포에 대한 세포독성이 낮은 뿐만 아니라 지방세포의 중성지방 생성을 억제할 수 있기 때문에 중국산 산사자는 항비만 효과를 나타내는 기능성 식품 및 의약품 개발을 위한 천연 식물 자원으로 이용될 수 있을 것이다.

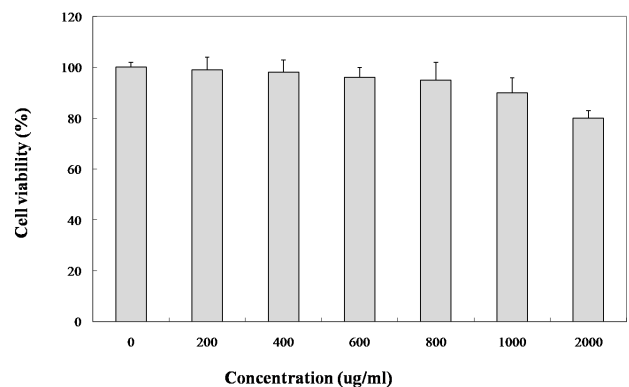


Fig. 1. Effects of methanol extract form *Crataegus fructus* on cell viability in 3T3-L1 adipocytes. The 3T3-L1 adipocytes were incubated for 24 hr in DMEM media with different concentration of methanol extract form *Crataegus fructus*. The cell viability was determined using MTT assay. Values are expressed as mean±SD (n=3), Values with different superscript letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

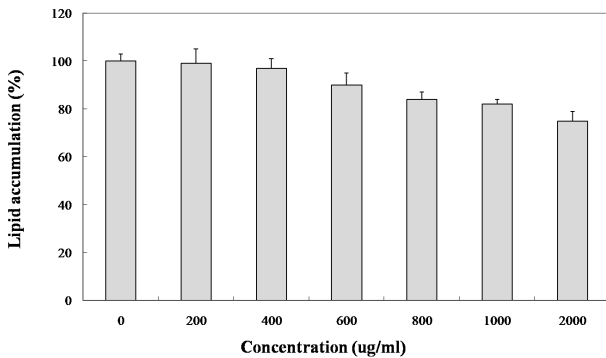


Fig. 2. Inhibitory effects of methanol extract from *Crataegus fructus* on lipid accumulation in 3T3-L1 adipocytes. The lipid accumulation was quantified by Oil red O staining. Values are expressed as mean \pm SD (n=3). Values with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

체중변화와 식이섭취량 및 장기무게

시험기간 동안 실험동물의 체중변화, 식이섭취량, 장기무게는 Table 2에 나타내었다. 실험식이 급여 전 체중은 실험구별로 큰 차이를 나타내지 않았으나 급여 2주 후부터는 T0 (AIN-93G 정상식이)군보다 T1 (high fat 45% cal 고지방식이와 물 100 ul)군의 체중이 유의적으로 증가하기 시작하였으며 T2 (high fat 45% cal 고지방식이와 500 ug/ml 중국산 산사자 메탄올 추출물 100 ul)군과 T3 (high fat 45% cal 고지방식이와 1,000 ug/ml 중국산 산사자 메탄올 추출물 100 ul)군의 체중은 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$). 특히 T3군은 T0군과 유사한 증체량을 나타내었으며 고지방식으로 비만이 유도된 실험동물을 대상으로 중국산 산사자 추출물을 급여할 경우 체중 증가가 억제되는 것을 확인할 수 있었다. 실험동물의 식이섭취량은 모든 실험구에서 유사한 경향을 나타내었다($p < 0.05$).

실험동물의 간 무게는 T0군보다 T1군과 T2군에서 높게 나타났으나 T3군에서는 유의적으로 감소하였으며($p < 0.05$) T1과 T2의 신장 무게는 T0보다 낮게 나타났으나 T3군의 신

장 무게는 T0군과 유사하게 나타났다($p < 0.05$). Rhee 등[24]은 일반적으로 과도한 지방섭취는 간에서 지질대사의 이상을 초래하여 지질의 침착이 일어나고 이로 인해 간 무게가 증가하고 간에서의 지질과 콜레스테롤 함량이 증가한다고 보고하였으며 녹차를 급여할 경우 녹차의 catechin에 의해 간에서 지방합성이 억제되어 항비만 효과를 나타낸다고 보고하였다. 본 실험에서도 정상식이군에 비해 고지방식이군의 간 무게가 증가한 경향을 나타내었으며 중국산 산사자 추출물을 급여한 처리구에서는 간 무게가 감소하는 경향을 나타내었다.

혈청 내 총 콜레스테롤과 중성지방 함량

고지방식이와 중국산 산사자 메탄올 추출물을 급여한 실험동물(T2, T3)의 혈청 내 총 콜레스테롤(A) 및 중성지방 함량(B)은 고지방식이만을 급여한 실험동물(T1)의 혈청 내 총 콜레스테롤 및 중성지방 함량과 비교하여 Fig. 3에 나타내었다. 고지방식이와 중국산 산사자 메탄올 추출물을 급여한 T3군(143 mg/dl)의 혈청 내 총 콜레스테롤 함량은 고지방식이만을 급여한 T1군(164 mg/dl)보다 24.47% 감소하였으며($p < 0.05$) 이것은 중국산 산사자 메탄올 추출물의 농도가 높을수록 혈청 내 총 콜레스테롤 함량은 감소한다는 것을 나타낸 결과이다. 고지방 식이와 중국산 산사자 추출물을 급여한 T2군(155 mg/dl)과 T3군(142 mg/dl)의 혈청 내 중성지방 함량은 고지방식이만을 급여한 T1군(188 mg/dl)보다 유의적으로 낮게 나타났다($p < 0.05$). 따라서 중국산 산사자 추출물은 고지방식으로 비만이 유도된 실험동물의 혈청 내 총 콜레스테롤과 중성지방 함량을 감소시킬 수 있음을 확인하였다. 이와 같은 결과는 일반적으로 포화지방산이 많이 함유된 동물성지방의 섭취로 혈청 콜레스테롤 농도가 증가된다는 Kim 등[25]의 연구결과와 일치하며 Rhee 등[24]은 녹차를 급여할 경우 혈중 콜레스테롤 농도가 감소하는데 이는 녹차의 catechin에 의해 micelle의 용해도가 감소하여 소장에서의 콜레스테롤 흡수가 부분적으로 억제되기 때문이라고 보고하였다.

Table 2. Effect of methanol extract from *Crataegus fructus* on body weight gain, food intake and organ (liver and kidney) weight in high fat diet mice for 5 weeks

	Group ¹⁾			
	T0	T1	T2	T3
Body weight gain (g/week)	2.56 \pm 0.14 ²⁾	3.90 \pm 0.24	3.02 \pm 0.25	2.58 \pm 0.16
Food intake (g/day)	3.55 \pm 0.1	3.75 \pm 0.2	3.71 \pm 0.2	3.68 \pm 0.1
Organ weight (g)				
Liver	4.05 \pm 0.16	4.80 \pm 0.17	4.80 \pm 0.16	4.57 \pm 0.10
Kidney	1.51 \pm 0.04	1.33 \pm 0.06	1.44 \pm 0.05	1.54 \pm 0.05

¹⁾T0: normal diet, T1: high fat diet, T2: high fat diet and 500 ug/ml of *Crataegus fructus* extract, T3: high fat diet and 1,000 ug/ml of *Crataegus fructus* extract.

²⁾Values are expressed as mean \pm SD (n=6). Values with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

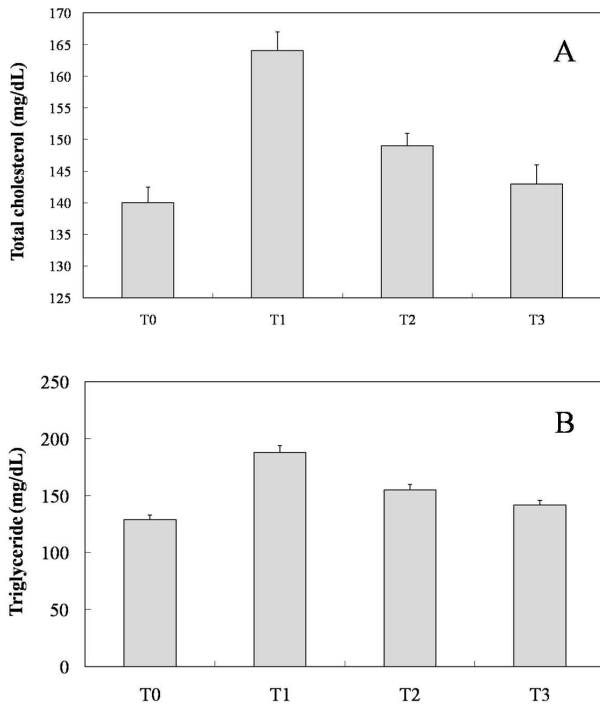


Fig. 3. Effects of methanol extract from *Crataegus fructus* on total cholesterol (A) and triglyceride (B) in serum of mouse fed with experimental diets for 5 weeks. Values are expressed as mean±SD (n=6), Values with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

감사의 글

본 연구는 2011년 경남과학기술대학교 기성회연구비 지원 사업에 의하여 수행된 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

References

- Aderson, J. W., D. A. Deakins, T. L. Floore, B. M. Smith, and S. E. Whitis. 1990. Dietary fiber and coronary heart disease. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **29**, 95-147.
- Ahn, K. S., M. S. Hahm, E. J. Park, H. K. Lee, and I. H. Kim. 1998. Corosolic acid isolated from the fruit of *Crataegus pinnatifida* var. *psilosa* is a protein kinase C inhibitor as well as a cytotoxic agent. *Planta Med.* **64**, 468-470.
- Ahn, I. S., K. Y. Park, and M. S. Do. 2007. Weight control mechanisms and antiobesity functional agents. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **36**, 503-513.
- Bae, M. H. and H. H. Kim. 2003. Mechanism of *Crataegi fructus* extract induced endothelium-dependent vaso-relaxation in rabbit carotid artery. *Korean J. Herbology* **18**, 169-180.
- Cha, S. Y., J. Y. Jang, Y. H. Lee, G. Lee, H. J. Lee, K. T. Hwang, Y. Kim, W. Jun, and J. Lee. 2010. Lipolytic effect of methanol extracts from *Luffa cylindrical* in mature 3T3-L1 adipocytes. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **39**, 813-819.
- Choi, O. K., Y. Kim, G. S. Cho, and C. K. Sung. 2002. Screening for antimicrobial activity from Korean plants. *Korean J. Food Nutr.* **15**, 300-306.
- Choi, S. M., M. J. Kim, Y. H. Choi, H. J. Ahn, and Y. P. Yun. 1998. Screening of the antibacterial activity of natural products against *Propionibacterium acnes*. *Yakhak Hoeji* **42**, 89-94.
- Amani, M. D. El-Mousallamy. 1998. Chemical investigation of the constitutive flavonoid glycosides of the leaves of *Crataegus sinaica*. *Natural Prod. Sci.* **4**, 53-57.
- Folch, J., M. Lees, and G. H. Sloane Stanley. 1957. A simple method for isolation and purification of total lipides from animal tissue. *J. Biol. Chem.* **226**, 497-509.
- Gao, C. L., J. G. Zhu, Y. P. Zhao, X. H. Chen, C. B. Ji, C. M. Zhang, C. Zhu, Z. K. Xia, Y. Z. Peng, and X. R. Guo. 2010. Mitochondrial dysfunction is induced by the over-expression of UCP4 in 3T3-L1 adipocytes. *Int. J. Mol. Med* **25**, 71-80.
- George, A. B. and A. T. Louis. 2000. Medicinal strategies in the treatment of obesity. *Nature* **404**, 672-677.
- Hong, S. S., J. S. Hwang, S. A. Lee, X. H. Han, J. S. Ro, and K. S. Lee. 2002. Inhibitors of monoamine oxidase activity from the fruits of *Crataegus pinnatifida* Bunge. *Korean J. Pharmacogn.* **33**, 285-290.
- Jeong, T. S., E. I. Hwang, H. B. Lee, E. S. Lee, Y. K. Kim, B. S. Min, K. H. Bae, S. H. Bok, and S. U. Kim. 1999. Chitin synthase II inhibitory activity of ursolic acid, isolated from *Crataegus pinnatifida*. *Planta Med.* **65**, 261-263.
- Kang, I. H., J. H. Cha, S. W. Lee, H. J. Kim, S. H. Kwon, I. H. Han, B. S. Hwang, and W. K. Whang. 2005. Isolation of anti-oxidant from domestic *Crataegus pinnatifida* Bunge leaves. *Korean J. Pharmacogn.* **36**, 121-128.
- Kim, J. S., G. D. Lee, J. H. Kwon, and H. S. Yeon. 1993. Antioxidative effectiveness of ether extract in *Crataegus pinnatifida* Bunge and *Terminalia chebula* Rets. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* **36**, 203-207.
- Kim, J. Y., J. E. Jeong, S. H. Moon, and K. Y. Park. 2010. Antiobesity effect of the *Bacillus subtilis* KC-3 fermented soy-milk in 3T3-L1 adipocytes. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **39**, 1126-1131.
- Kim, J. S., G. D. Lee, J. H. Kwon, and H. S. Yeon. 1993. Identification of phenolic antioxidative components in *Crataegus pinnatifida* bunge. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* **36**, 154-157.
- Kopelman, P. G. 2000. Obesity as a medical problem. *Nature* **404**, 635-643.
- Lee, H. J. and M. S. Choi. 1999. Measurement of inhibitory activities on 3- hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase and acyl-CoA: cholesterol acyltransferase by various plant extracts in vitro. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 958-962.
- Min, B. S., H. J. Jung, J. S. Lee, Y. H. Kim, S. H. Bok, C. M. Ma, N. Nakamura, M. Hattori, and K. Bae. 1999. Inhibitory effect of triterpenes from *Crataegus pinatifida* on HIV- I protease. *Planta Med.* **65**, 374-375.
- Min, B. S., Y. H. Kim, S. M. Lee, and K. Bae. 2000. Cytotoxic

- triterpenes from *Crataegus pinnatifida*. *Arch. Pharm. Res.* **23**, 155-158.
22. Nasa, Y., H. Hashizume, A. N. Hoque, and Y. Abiko. 1993. Protective effect of crataegus extract on the cardiac mechanical dysfunction in isolated perfused working rat heart. *Arzneimittelforschung* **43**, 945-949.
 23. Park, S. W., C. S. Yook, and H. K. Lee. 1994. Chemical components from the fruits of *Crataegus pinnatifida* var *psilosa*. *Kor. J. Pharmacogn.* **25**, 328-335.
 24. Rhee, S. J., K. R. Kim, H. T. Kim, and J. H. Hong. 2007. Effects of catechin on lipid composition and adipose tissue in obese rats fed high fat diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **36**, 540-547.
 25. Kim, J. C. and S. A. Kang. 2001. Effect of high fat and high carbohydrate diet on serum leptin and lipid concentration in rats. *Korean J. Nutr.* **34**, 123-131.
 26. Seo, B. I. 2005. Preventive effects of water extracts from *Crataegi fructus* on hyperlipiderma and liver damage induced by alcohol. *Korean J. Herbology* **20**, 35-43.
 27. Shin, H. M., D. H. Shin, and G. W. Kim. 1994. Antioxidant effects and roles of endogenous sulfhydryls in the gastric mucous protection of *Crataegus cuneata*. *J. Korean Oriental Medical Physiology* **15**, 127-135.
 28. Shon, M. Y. 2007. Antioxidant and anticancer activities of *Poria cocos* and *Machilus thunbergii* fermented with mycelia mushroom. *Food Indus. Nutr.* **12**, 51-57.
 29. Spiegelman, B. M. and S. Flier. 1996. Adipogenesis and obesity; rounding out the big picture. *Cell* **87**, 377-389.
 30. Sun, J. Y., S. B. Yang, H. X. Xie, G. H. Li, and H. X. Qiu. Studies in chemical constituents from fruit of *Crataegus pinnatifida*. *Chinese Traditional and Herbal Drugs* **33**, 483-486.
 31. Visscher, T. L. 2001. The public health impact of obesity. *Annu. Rev. Publ. Health* **22**, 355-375.
 32. Zhang, P. C. and S. X. Xu. 2001. Flavonoid ketohexosefuranosides from the leaves of *Crataegus pinnatifida* Bge var. *major* N. E. Br. *Phytochemistry* **57**, 1249-1253.
 33. Zhang, P. C. and S. X. Xu. 2002. Two new C-glucoside flavonoids from leaves of *Crataegus pinnatifida* Bge var. *major* N. E. Br. *Chinese Chem. Lett.* **57**, 1249-1253.

초록 : 중국산 산사자 추출물의 항비만 효과

갈상완 · 최영재 · 조수정*

(경남과학기술대학교 제약공학과)

본 연구에서는 중국산 산사자(*Crataegus fructus*) 추출물의 항비만 효과를 확인하기 위하여 3T3-L1 지방세포와 고지방식이(high fat 45% cal)로 비만이 유도된 ICR mouse를 이용하여 실험을 수행하였다. 3T3-L1 지방세포에 중국산 산사자 메탄올 추출물을 0-2,000 ug/ml의 농도범위로 처리하였을 때 200 ug/ml과 400 ug/ml의 농도에서는 대조구와 큰 차이를 나타내지 않았으나 600-2,000 ug/ml의 농도범위에서는 지방세포 내 중성지방이 10-25% 감소하였다($p < 0.05$). 실험동물인 3주령의 수컷 ICR mice (n=24)는 실험구별로 6마리씩 4군(T0: 정상식이, T1: 고지방식이, T2: 고지방식이와 산사자추출물 50 ug, T3: 고지방식이와 산사자추출물 100 ug)으로 나누어 5주 동안 시험하였으며 고지방식이군인 T1군의 증체량(3.9 ± 0.24 g)은 정상식이군인 T0군(2.56 ± 0.14 g)보다 높게 나타났으나 고지방식이군과 중국산 산사자 메탄올 추출물을 함께 급여한 T2군(3.02 ± 0.25 g)과 T3군(2.58 ± 0.16 g)의 증체량은 고지방식이만 급여한 T1군과 비교하였을 때 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 실험동물의 간 무게는 T0군보다 T1군과 T2군에서 높게 나타났으나 T3군에서는 유의적으로 감소하였으며($p < 0.05$) T1과 T2의 신장 무게는 T0보다 낮게 나타났으나 T3군의 신장 무게는 T0군과 유사하게 나타났다($p < 0.05$). 고지방식이와 중국산 산사자 메탄올 추출물을 급여한 T2군과 T3군의 혈청 내 총 콜레스테롤 함량과 중성지방 함량도 고지방식이만을 급여한 T1군보다 유의적으로 낮게 나타났다.