

## Antioxidant and Anti-Adipogenic Effects of Ethanolic Extracts from Tartary and Common Buckwheats

Bo-Ra Yoon<sup>1</sup>, Bong-Jae Cho<sup>2</sup>, Hyo-ku Lee<sup>2</sup>, Dae-Jung Kim<sup>3</sup>, Seong-Kap Rhee<sup>4</sup>,  
Hee-do Hong<sup>5</sup>, Kyung-Tack Kim<sup>5</sup>, Chang-Won Cho<sup>5</sup>, Hyeon-Son Choi<sup>6</sup>,  
Boo-Yong Lee<sup>6</sup> and Ok-Hwan Lee<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

<sup>2</sup>Department of Food Science, Kongju National University, Yesan 340-800, Korea

<sup>3</sup>Department of Food Science, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

<sup>4</sup>Department of Food and Biotechnology, Hoseo University, Asan 336-795, Korea

<sup>5</sup>Korea Food Research Institute, Seongnam 463-746, Korea

<sup>6</sup>Department of Food Science and Biotechnology, CHA University, Seongnam 463-836, Korea

### 쓴메밀 및 단메밀 에탄올 추출물의 항산화 및 지방세포 분화억제 효과

윤보라<sup>1</sup> · 조봉제<sup>2</sup> · 이효구<sup>2</sup> · 김대중<sup>3</sup> · 이성갑<sup>4</sup> · 홍희도<sup>5</sup> · 김경탁<sup>5</sup> · 조장원<sup>5</sup> · 최현선<sup>6</sup> ·  
이부용<sup>6</sup> · 이옥환<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>강원대학교 식품생명공학과, <sup>2</sup>공주대학교 식품공학과, <sup>3</sup>충북대학교 식품공학과,

<sup>4</sup>호서대학교 식품생물공학과, <sup>5</sup>한국식품연구원, <sup>6</sup>차의과학대학교 식품생명공학과

#### Abstract

In this study, 80% ethanolic extracts of tartary and common buckwheats were assessed for their total phenol content, total flavonoids content, antioxidant activity (DPPH, ABTS radical scavenging activity and reducing power), and anti-adipogenic effects. Our results show that total phenol contents of 80% ethanolic extract from tartary and common buckwheats were 17.35±0.41 and 8.20±0.28 µg GAE/g, respectively. Antioxidant activities of 80% ethanolic extract from tartary buckwheat were significantly higher than that of common buckwheat extract (p<0.05). During adipocyte differentiation, 80% ethanolic extracts of tartary and common buckwheat significantly inhibited lipid accumulation compared to control cells. We further evaluated the effect of buckwheat extracts on the changes of key gene expression associated with 3T3-L1 adipogenesis and ROS production. Tartary buckwheat extract was more suppressed the mRNA expressions (PPAR $\gamma$  and aP2) than that of common buckwheat extract. Moreover, tartary buckwheat inhibited the mRNA expression of both NOX4 (NADPH oxidase 4) and G6PDH (glucose-6-phosphate dehydrogenase). These results indicate that anti-adipogenesis effect of tartary buckwheat can be attributed to phenolic compound that may potentially inhibit ROS production.

Key words : tartary buckwheats, common buckwheats, 3T3-L1, anti-adipogenesis, antioxidant

#### 서 론

대사증후군의 발병은 유전적 요인과 체구성, 식사요인 및 운동 정도 등과 같은 환경적인 인자들에 의해 영향을 받으며(1) 식생활의 서구화와 식습관의 대사증후군의 발병

은 유전적 요인과 체구성, 식사요인 및 운동 정도 등과 같은 환경적인 인자들에 의해 영향을 받으며(1) 식생활의 서구화와 식습관의 변화로 현대인의 식생활 불균형이 초래됨에 따라 비만을 비롯한 대사증후군을 유발하는 질병이 증가하고 있다(2,3). 때문에 이들 대사증후군을 예방하고자하는 노력들이 지속되고 있으며 건강 기능성 식품에 대한 관심도 증가하고 있다. 체내에서 생성되는 활성산소종(ROS, reactive

\*Corresponding author. E-mail : loh99@kangwon.ac.kr  
Phone : 82-33-250-6454, Fax : 82-33-241-0508

oxygen species)은 대부분의 전자 운반 과정 중 불완전하게 환원되거나 cytokine 등 다양한 작용의 자극에 의해 생성된다. 정상적인 경우에는 체내에 존재하는 항산화 시스템에 의해 활성 산소종이 제거되지만 이 시스템의 작동이 원활하지 못하면 세포는 산화적 손상을 입게 된다. 따라서 이러한 활성 산소종에 의한 산화작용으로부터 생체를 보호할 수 있는 항산화제에 대한 연구들이 활발히 진행되고 있다(4). ROS는 체내 각종 세포 등의 여러 대사과정에서 끊임없이 생성되고, 체내에서 생성되는 ROS와 항산화효소와의 항상성이 깨어지게 되면 산화적 스트레스로 인한 노화, 당뇨, 비만과 같은 각종 질병들을 야기하게 된다(5).

지방세포 분화 억제를 통한 항비만 연구에 이용되는 세포주들 중 3T3-L1 섬유아세포(fibroblast)는 전구지방세포(preadipocyte)의 단계를 거쳐 지방세포(adipocyte)로 분화(adipogenesis)하며 지방세포로 분화 되는 과정중의 세포내 지방 축적(fat accumulation) 및 활성산소종(ROS)의 생성량을 비교하여 식품의 항비만 및 항산화 기능성을 평가한 연구들이 진행되고 있다. 이들 식품의 기능성들을 보다 명확히 이해하고자 지방세포 대사의 주요 작용기작을 규명하는 노력들이 지속되고 있으며 지방세포 분화와 연관된 주요 전사인자(PPAR $\gamma$ , CEBP $\alpha$  및 aP2) 및 ROS의 생성과 연관된 주요 유전자(NOX4 및 G6PDH)의 발현양상을 비교하는 분자생물학적인 기법들이 이용되고 있다(6,7).

메밀은 전 세계적으로 재배되고 있는 작물로서, 미네랄, 비타민, 폴리페놀(루틴 등) 등이 풍부하여 많은 효능들이 보고 되고 있다(8). 특히 메밀의 폴리페놀 성분인 루틴은 강력한 항산화력과 삼투압 조절능력을 통해 항염, 항암, 항혈전 효과 외에 산화 스트레스에 대한 세포보호 효과, 혈관손상 예방효과 등이 보고되고 있다(9). 메밀은 단메밀(common buckwheat)과 쓴메밀(tartary buckwheat)로 나뉘며 두 종류 모두 전 세계적으로 널리 재배되고 곡실용, 건조, 의약품 등의 다양한 형태로 이용되는 작물로서, 단메밀은 아시아의 전 지역을 포함해 유럽지역, 미국, 캐나다, 브라질, 남아프리카와 오스트리아 등지에서 널리 이용되고 있다(10). 타타리 메밀이라 불리는 쓴메밀은 티벳이나 중국의 산악지대, 인도, 부탄과 네팔 등지의 척박한 토양 및 냉량한 기후조건인 산간지역에서 재배되고 있다(10). 현재 국내에서 쓴메밀의 재배는 거의 이루어지지 않고 있지만 쓴메밀은 중국, 인도 등지에서 한방 및 건강식으로 이용되어 왔고 루틴함량이 단메밀(27 mg%)에 비해 높기(1,600 mg%) 때문에 다양한 연구가 시도되고 있으나 국내에서는 아직 체계적인 연구가 미비한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 쓴메밀의 건강기능식품 소재화시 기초자료를 제공하고 쓴메밀과 단메밀 추출물의 항산화 및 항비만 활성을 비교, 분석하고자 하였다. 쓴메밀과 단메밀에 대한 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량을 분석한 후, 항산화 활성을 DPPH 라디칼 소거능, ABTS 소거능 및 환원

력으로 평가하였다. 또한, 3T3-L1 지방세포를 이용하여 지방세포 분화단계에서의 지방축적 및 이와 연관된 전사인자(PPAR $\gamma$  및 aP2)들의 발현 정도를 측정하여 쓴메밀 추출물의 항비만 활성을 평가하였다.

## 재료 및 방법

### 실험 재료 및 시약

본 연구에서 사용된 쓴메밀은 중국 위난성 지역에서 수확한 것이며, 단메밀은 동아제분(주)에서 제공받아 사용하였다. 항산화성분 분석 및 항비만 활성 측정에 사용된 시약은 Folin-Ciocalteu reagent, gallic acid, (+)-catechin hydrate, L-ascorbic acid, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), insulin, Oil Red O, dexamethasone (DEX), 3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX)은 Sigma (Sigma-Aldrich Co, St Louis, MO, USA)로부터 구입하였고, Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM), bovine serum (BS), fetal bovine serum (FBS), penicillin-streptomycin (P/S), phosphate-buffered saline (PBS) 및 trypsin-EDTA는 Gibco (Gaithersburg, MD, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

### 쓴메밀 및 단메밀 추출물의 제조

본 연구에서는 식품에 사용할 수 있는 용매인 에탄올을 이용하여 추출물을 제조하였고 이들 추출물의 항산화 및 항비만 활성을 비교, 분석하였다. 분쇄된 쓴메밀 및 단메밀 분말에 10배가량의 80% 에탄올을 가한 뒤 상온에서 24시간 교반하면서(150×g, HY-HS11, Hanyang Science, Seoul, Korea) 유용 성분들을 추출하였고 Whatman No. 2 (Whatman Ltd., Maidstone, Kent, UK) 여과지를 이용하여 여과한 후, 회전진공농축기(EYELA N-1000, Tokyo, Japan)를 사용하여 40°C에서 감압 농축하였다. 농축된 추출물들은 동결건조기(Modulyod-115, Thermo Electron Co, Waltham, MA, USA)를 이용하여 건조된 분말로 제조하였다. 건조된 쓴메밀 및 단메밀 추출물들은 무게를 측정하여 추출수율을 측정 후, -20°C 냉동고에 보관하면서 실험에 사용하였다.

### 항산화 성분 함량 측정

쓴메밀 및 단메밀 80% 에탄올 추출물의 총 페놀 함량은 Velioglu 등(11)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 쓴메밀 및 단메밀 추출물들을 일정한 농도로 DMSO에 녹인 후, 2% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액 2 mL를 가하고 3분간 방치시킨 후, 50% Folin-Ciocalteu reagent 100  $\mu$ L를 첨가하였다. 30분 동안 반응시킨 후, 750 nm에서 흡광도 값을 측정하여 gallic acid를 표준물질로 한 표준 검량선에 대입하여  $\mu$ g GAE (gallic acid equivalent)/g으로서 쓴메밀 추출물들의 총 페놀 함량을

나타내었다. 총 플라보노이드 함량은 Jia 등(12)의 방법을 변형하여 사용하였다. 즉, 각각의 메밀 추출물에 증류수 1.25 mL를 가하고 5% NaNO<sub>2</sub> 용액 75  $\mu$ L를 넣고 5분간 방치하였다. 10% AlCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O 용액 150  $\mu$ L를 가하고 다시 6분간 방치하였다. 위 반응액에 1 M NaOH 500  $\mu$ L와 증류수 275  $\mu$ L를 가한 후 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 catechin을 사용하여 표준 검량선을 작성 후 추출물의 총 플라보노이드 함량은  $\mu$ g CE (catechin equivalent)/g으로 나타내었다.

### 항산화 활성 측정

DPPH radical 소거법은 Kim 등(13)의 방법을 변형하여 측정하였다. 시료 200  $\mu$ L에 0.2 mM DPPH 용액 800  $\mu$ L를 가한 후, 30분 후에 분광광도계(UV-1650PC, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 520 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 이때 전자공여능(EDA, Electron Donating activity)은 시료 첨가구와 비첨가구의 흡광도 차이를 백분율(%)로 구하였다.

ABTS 라디칼 소거능은 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) cation decolorization assay 방법(14)에 의하여 측정하였다. 1.0 mM 2,2'-azobis-(2-amidinopropane) HCl (AAPH)와 2.5 mM ABTS 시약을 phosphate-buffered saline (PBS, pH 7.4) 용액 100 mL에 섞어 70°C 항온수조(VS-1901W, Vision Scientific Co, LTD, Bucheon, Korea)에서 반응시켜 ABTS 라디칼 용액을 제조하였다. PBS 용액을 이용하여 724 nm에서 0.650±0.02의 흡광도로 라디칼 용액의 농도를 조절하였다. ABTS 라디칼 용액 980  $\mu$ L와 시료 20  $\mu$ L를 37°C의 항온수조(DS-23SN, Dasol Scientific Co, LTD, Hwaseong, Korea)에서 10분간 반응시켜 734 nm에서 흡광도의 감소량을 측정하였다.

환원력은 Mau 등(15)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 250  $\mu$ L 메밀 추출물에 250  $\mu$ L의 0.2 M sodium phosphate buffer (pH 6.6), 250  $\mu$ L의 1% potassium ferricyanide를 각각 가하고 이 혼합물을 50°C에서 20분간 반응시킨 후 250  $\mu$ L의 1% trichloroacetic acid (TCA, w/v) 용액을 가하였다. 위 반응액을 1,000×g에서 10분간 원심 분리하여 상정액 500  $\mu$ L와 증류수 500  $\mu$ L, 100  $\mu$ L 0.1% ferric chloride 용액을 넣고 잘 혼합하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### XTT assay

쓴메밀 및 단메밀 추출물들의 항비만 활성 평가를 위한 3T3-L1 지방세포의 세포독성 평가는 XTT{2,3-bis (2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide inner salt} assay kit를 이용하여 측정하였다(16).

### 지방세포 분화억제 효과

메밀 추출물들의 항비만 활성 평가를 위해 사용된 마우

스 유래 3T3-L1 세포주는 American Type Culture Collection (ATCC, CL-173)으로부터 분양 받아 사용하였다. 3T3-L1 지방세포의 배양방법은 Blumberg 등(17)의 방법에 따라 고농도의 포도당을 함유한 DMEM에 10% BCS 및 1% P/S를 함유한 배지로 배양한 3T3-L1 전구지방세포(preadipocyte)가 100% confluence 하게 되면 이로부터 2일 후에, 분화유도물질 (5  $\mu$ g/mL insulin, 1  $\mu$ M DEX, 0.5 mM IBMX) 및 메밀 추출물들을 처리하여 지방세포로 분화 유도하였다. 분화유도 물질을 처리한 후, 2일마다 지속적으로 여러 농도의 쓴메밀, 단메밀 추출물 및 5  $\mu$ g/mL insulin, 1% P/S, 10% FBS가 함유된 배지로 배양시키면서 분화과정 중의 지방축적량의 변화를 모니터링 하였다.

분화과정에 따른 지방세포의 지방 축적량을 측정하기 위하여 먼저 24-well에 배양 및 분화된 3T3-L1 세포의 배양액을 제거한 후, 10% formalin 용액 500 mL를 첨가하여 5분간 실온에서 방치한 후, 동량의 formalin으로 1시간 이상 실온에서 incubation 하였다. 1시간 후, 세포에서 formalin을 제거하고 60% isopropanol 용액 500  $\mu$ L로 세척한 후, 완전히 건조시켰다. 완전히 건조된 세포들은 미리 제조해 둔 Oil red O working solution으로 세포 내 축적된 지방성분들을 충분히 염색 시킨 후, 증류수를 이용하여 3-4회 세척하였고 100% isopropanol을 이용하여 세포 내 염색된 Oil red O들을 모두 용출시켜 UV-Vis spectrophotometer (Milton Roy, Inc., Rochester, NY, USA)를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다(17).

한편, 지방세포에서 분화에 영향을 미치는 주요 관련 유전자들의 발현 변화를 검토하기 위하여 지방세포에 존재하는 total RNA를 추출한 후, 역전사효소(reverse transcriptase)를 사용하여 complementary DNA (cDNA)를 만들고 합성된 cDNA와 primer로 PCR을 이용하여 유전자의 발현정도를 측정하였다. PCR 산물은 1.5% 한천(agarose) 겔에서 전기영동 후 EtBr(ethidiumbromide)로 염색하여 UV에서 증폭된 DNA band를 확인하였다.

### 통계분석

모든 실험결과는 SAS package (release 8.01)를 이용하여 one-way ANOVA 분석 및 student t-test를 수행하였고 평균값의 통계적 유의성은 p<0.05 수준에서 검정하였다.

## 결과 및 고찰

### 추출 수율 및 항산화 성분

쓴메밀과 단메밀의 80% 에탄올 추출물의 추출 수율은 쓴메밀 4.62%, 단메밀 4.30%로 추출 수율의 차이는 크지 않았다. 하지만, 추출물에 함유된 총 페놀 함량은 Fig. 1A와 같이 쓴메밀이 17.35  $\mu$ g GAE/g으로 단메밀의 8.20  $\mu$ g

GAE/g에 비해 두 배 이상 높은 것으로 나타났다. 또한, 총 플라보노이드 함량 역시 쓴메밀이 6.72  $\mu\text{g CE/g}$ , 단메밀이 2.33  $\mu\text{g CE/g}$ 으로 쓴메밀이 단메밀에 비해 약 세 배 가량 높은 것으로 나타났다(Fig. 1B). 천연물에 존재하는 폴리페놀계 화합물들은 분자 내 phenolic hydroxyl기가 효소 단백질과 같은 거대분자들과 결합하는 성질을 가지고 있기 때문에 항산화, 항심혈관질환, 항암, 항골다공증 및 항당뇨와 같은 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 있다(18,19).

44.1 및 73.7%보다 유의적으로 높게 나타났다(Fig 2).

ABTS 라디칼 소거능은 라디칼을 생성하는 ABTS 존재 시 hydrogen peroxide와 metmyoglobin의 활성을 토대로 보다 빠른 항산화 반응을 일으켜 myoglobin radical을 감소시키는 기전이라고 할 수 있다(21). ABTS 소거능 역시 쓴메밀 에탄올 추출물의 125, 250, 500 및 1,000  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 각각 3,017, 5,389, 9,302 및 14,310  $\mu\text{g AAEA/g}$ , 단메밀 80% 에탄올 추출물에서 1,352, 2,567, 4,840 및 8,432  $\mu\text{g AAEA/g}$ 으로 나타나 쓴메밀의 ABTS 소거능이 단메밀보다 높은

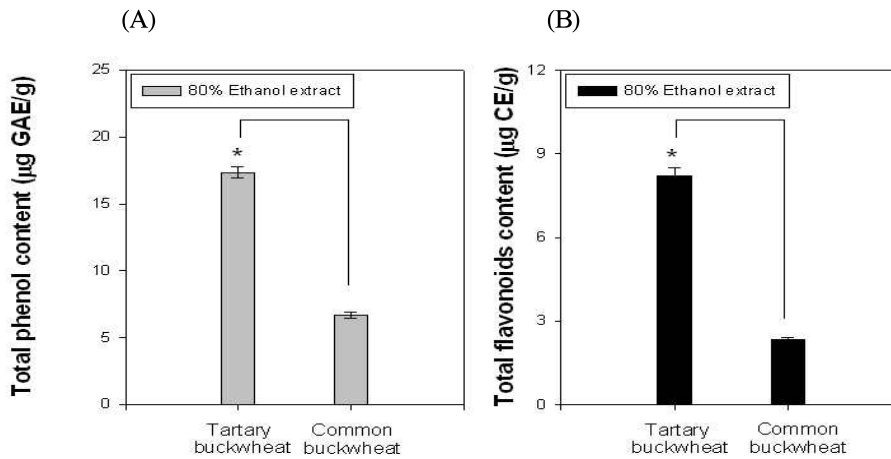


Fig. 1. Total phenol (A) and total flavonoids (B) contents of 80% ethanol extracts obtained from common and tartary buckwheats.

\*Significantly different at  $p < 0.05$  by student t-test. The values are means  $\pm$  standard deviation (SD) from three replications.

**항산화 활성**

DPPH radical 소거능은 항산화 물질의 전자공여능으로 인해 방향족 화합물 및 방향족 아민류에 의해 환원되어 자색이 탈색에 의해 나타내는 정도를 지표로 하여 항산화능을 측정하는 방법이다(20). 쓴메밀 에탄올 추출물의 DPPH 소거능은 125, 250, 500 및 1000  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 각각 31.2, 57.7, 79.4 및 81.1%로 단메밀 추출물의 13.1, 24.1,

것으로 확인되었다(Fig. 3).

환원력을 평가한 OD700의 값은 쓴메밀 125, 250, 500, 1,000  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 각각 0.18, 0.30, 0.49 및 0.75로 단메밀 추출물의 0.08, 0.13, 0.24 및 0.40보다 유의적으로 높게 나타나 쓴메밀의 환원력이 단메밀보다 높은 것으로 확인되었다(Fig. 4).

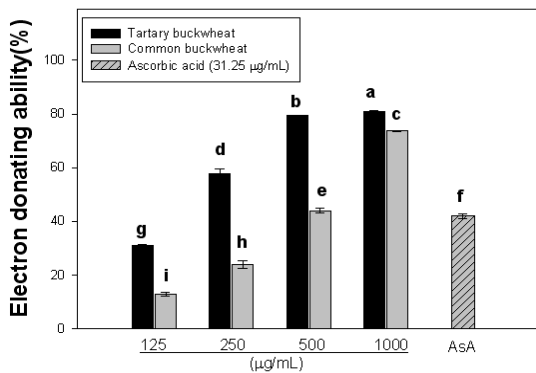


Fig. 2. DPPH radical scavenging activity of 80% ethanol extracts obtained from common and tartary buckwheats.

<sup>a-i</sup>Values are the means  $\pm$  SD of three samples. Bars with different letters indicate statistically significant difference among groups at  $p < 0.05$ .

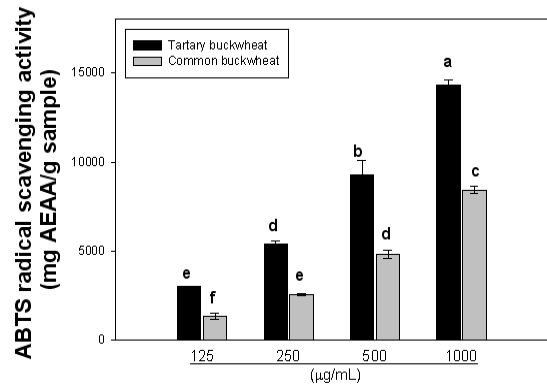
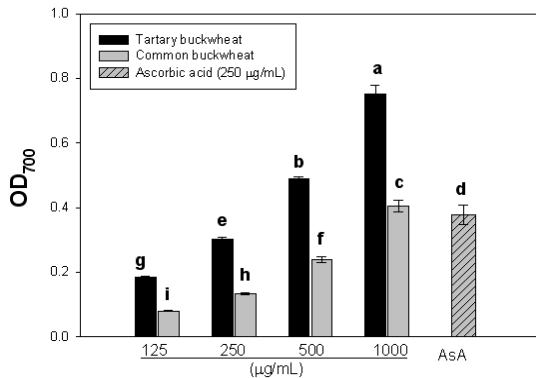


Fig. 3. ABTS radical scavenging activity of 80% ethanol extracts obtained from common and tartary buckwheats.

<sup>a-f</sup>Values are the means  $\pm$  SD of three samples. Bars with different letters indicate statistically significant difference among groups at  $p < 0.05$ .



**Fig. 4. Reducing power of 80% ethanol extracts obtained from common and tartary buckwheats AsA (Ascorbic acid) was used as a positive control for reducing power.**

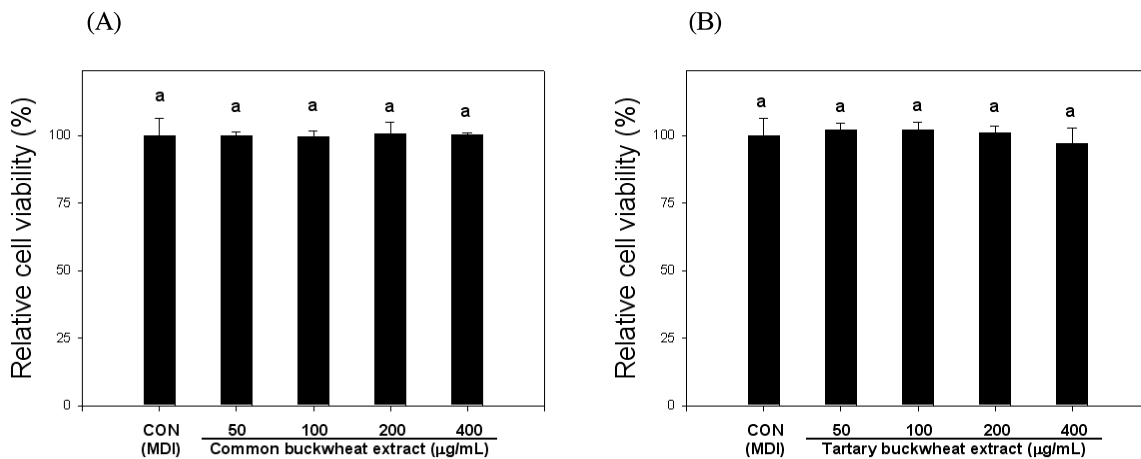
<sup>a-i</sup>Values are the means±SD of three samples. Bars with different letters indicate statistically significant difference among groups at p<0.05.

**세포독성 평가**

항비만 활성 평가에 이용된 3T3-L1 세포에 대한 메밀 추출물들의 세포독성은 XTT 시험법으로 측정하였다. 쓴메밀과 단메밀의 에탄올 추출물의 50, 100, 200 및 400 µg/mL 농도 범위에서 세포독성을 측정한 결과(Fig. 5), 대조군과 유의적인 차이가 없었으므로 쓴메밀과 단메밀 추출물의 400 µg/mL 농도까지 세포독성은 없는 것으로 나타났다. 따라서 쓴메밀과 단메밀 에탄올 추출물을 50, 100, 200 및 400 µg/mL 농도로 하여 항비만 활성을 평가하였다.

8일째에 축적된 지방의 함량은 Oil red O staining 방법을 이용하여 측정하였고, 지방세포 분화에 연관된 주요 유전자(PPAR $\gamma$  및 aP2)의 발현은 semi-quantitative RT-PCR을 이용하여 조사하였다. 메밀 추출물을 처리한 지방세포는 모든 농도 범위에서 대조군과 비교하여 Oil red O 시약에 의하여 염색된 지방구는 유의적으로 적은 것으로 나타났다. 또한, 쓴메밀 80% 에탄올 추출물의 지방축적 억제 효과는 단메밀 80% 에탄올 추출물에 비해 더욱 효과적인 것으로 관찰되었다.

지방세포 분화 및 지방축적과 연관된 주요 전사인자(PPAR $\gamma$ ) 및 타겟 유전자(aP2)의 발현 정도는, Fig. 7에서 보논비와 같이 단메밀 에탄올 추출물을 처리한 지방세포와 비교하였을 때 쓴메밀 에탄올 추출물을 처리한 지방세포에서 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 지방의 축적량을 평가한 Oil red O의 결과에서와 같이, 쓴메밀 에탄올 추출물에 의한 PPAR $\gamma$  및 aP2 mRNA의 억제효과는 단메밀 에탄올 추출물에 의한 억제효과 보다 유의적으로 큰 것으로 나타났다. Adipogenesis는 adipogenic 전사인자의 발현되는 양 뿐만 아니라, 이들의 발현 시기와 전사인자간 상호조절 과정을 통해 제어된다. PPAR $\gamma$  (Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ )는 지방세포의 분화를 조절하는 전사인자로 지방분화에 관계된 transcriptional cascade를 조절한다. PPAR $\gamma$ 의 직접 타겟 유전자인 aP2 (adipocyte protein 2)는 adipocyte fatty acid binding protein을 coding하고 있는 유전자인데 fat cell에 특이적으로 발현하기 때문에 지방세포



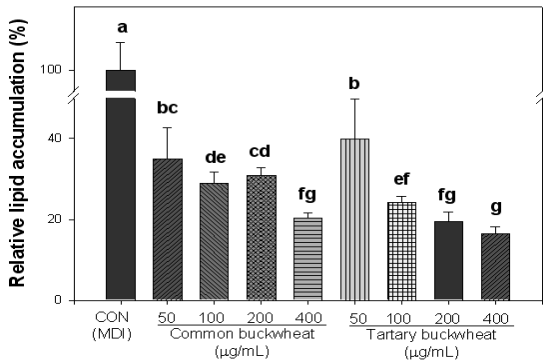
**Fig. 5. Effect of 80% ethanol extracts obtained from common and tartary buckwheats on cell viability on 3T3-L1 preadipocytes.**

<sup>a</sup>Each value is the mean±standard deviation of the results from six different plates (n=6) and is representative of results from at least three different experiments. Statistical analysis was performed using the one-way ANOVA (p<0.05).

**지방세포 분화억제 효과**

3T3-L1 지방세포의 분화과정에서의 쓴메밀과 단메밀 에탄올 추출물에 의한 세포내 지방축적량을 비교하여 지방세포 분화억제 활성을 평가한 결과는 Fig. 6과 같다. 세포분화

분화정도를 측정할 수 있는 대표적인 전사인자이다(22). 이것을 block한 null mice를 만들면 diet에 의한 비만이 생겨나지만 insulin resistance는 생기지 않는다.

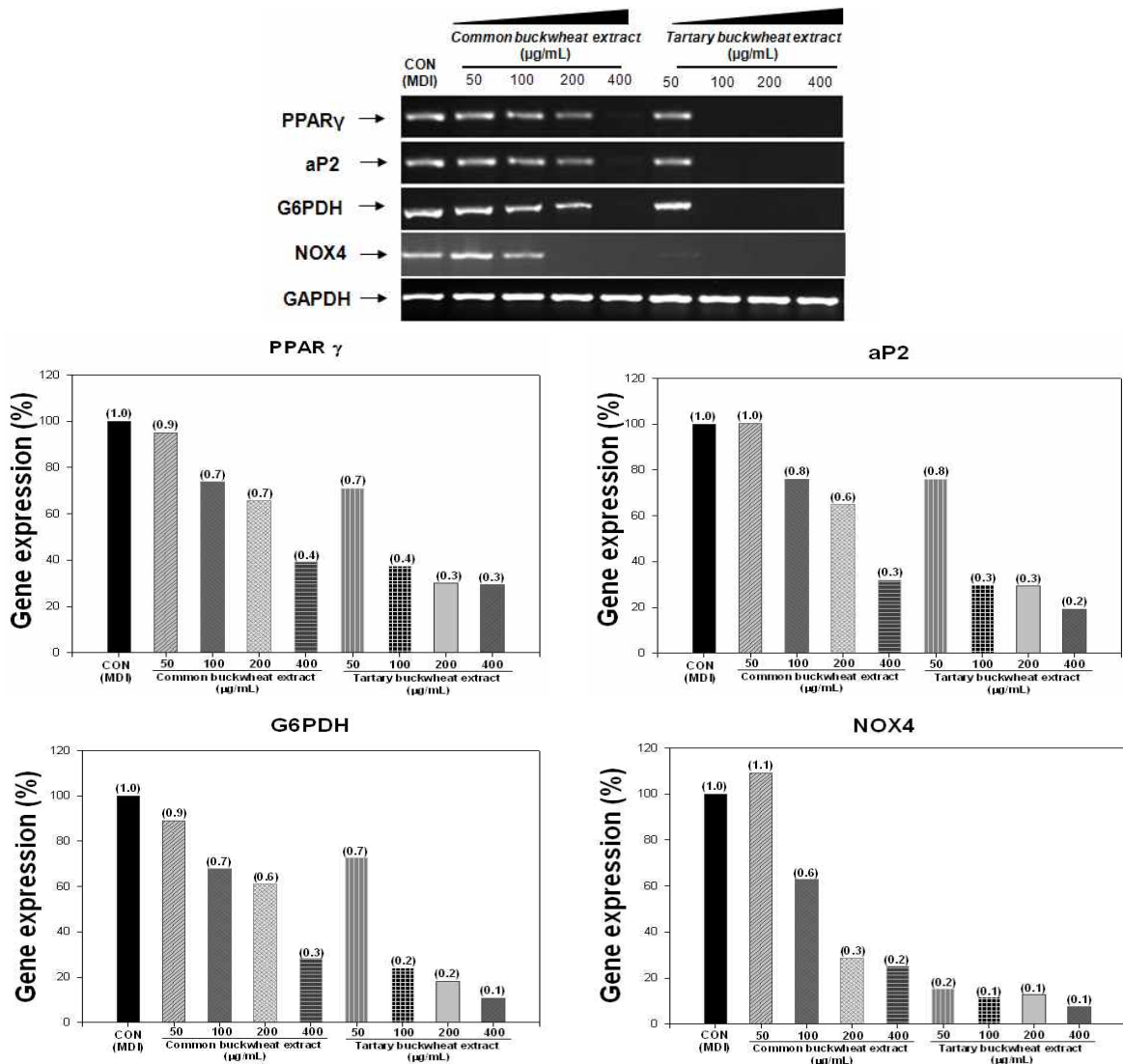


**Fig. 6. Effect of 80% ethanol extracts obtained from common and tartary buckweats on lipid accumulation during differentiation of 3T3-L1 preadipocytes**

<sup>a-f</sup>Values are the means±SD of three samples. Bars with different letters indicate statistically significant differences among groups at p<0.05 by one-way ANOVA.

이것은 aP2가 비만에서 insulin resistance에 이르는 대사경로에 아주 중요하다는 증거이다(23). 지방조직에서 주로 나타나는 PPAR $\gamma$ 는 발현이 증가할수록 세포의 인슐린에 대한 감수성 및 전구지방세포에서 지방세포로 분화를 크게 증가시키는 것으로 알려져 있어(24,25), 본 연구에서 관찰된 쓴메밀 에탄올 추출물의 3T3-L1 세포 지방생성 억제 효과는 PPAR $\gamma$ 의 발현과 크게 연관되어 있다고 판단되었다.

한편, 지방 세포 내 ROS 생성 유전자에 대한 메밀 추출물의 효과를 살펴본 결과는 Fig. 7과 같다. G6PDH 및 NOX4 mRNA의 발현은 메밀 추출물에 의하여 유의적으로 감소하였으며 쓴메밀 추출물에서 보다 큰 감소치를 나타내었다. G6PDH 효소는 모든 세포 내에서 NADPH의 생산과 PPP (Pentose phosphate pathway)를 통한 carbon flow에 반드시



**Fig. 7. Effect of 80% ethanol extracts obtained from common and tartary buckweats on PPAR $\gamma$ , aP2, G6PDH and NOX4 mRNA expression during differentiation of 3T3-L1 adipocytes.**

Each gene mRNA levels were quantified and normalized with to GAPDH. The band intensities were measured by the Image J program.

필요로 하는 효소로서 PPP의 첫 번째 반응에서 G6PDH에 의해 glucose-6-phosphate가 6-phosphogluconolactone으로 분해될 때 NADP<sup>+</sup>를 NADPH로 전환시켜 주는 역할을 한다. 이때 생성되는 NADPH는 PPP를 통한 포도당 대사는 물론, 지방산 합성 및 glutathione 반응을 조절할 뿐만 아니라 지방 세포에서 ROS를 생성하는 주요 효소인 NOX4의 반응에도 관여하여 ROS의 생성을 유도하게 된다. 이때 생성되는 ROS는 세포 생존과 사멸, redox 시스템 유지에 중요한 역할을 하고 있다(26-28).

## 요 약

쓴메밀은 전 세계적으로 널리 재배되고 있으며 곡식용, 새싹채소, 엽채 등 다양한 형태로 이용되는 작물로서 단메밀보다 루틴함량이 높다. 본 연구는 쓴메밀과 단메밀 80% 에탄올 추출물의 총 페놀 및 플라보노이드 함량, 항산화 활성 및 지방세포 분화억제 효과를 평가하였다. 총 페놀 함량과 폴리페놀 함량 모두 쓴메밀 에탄올 추출물에서 단메밀 에탄올 추출물보다 유의적으로 높게 나타났다. DPPH 라디칼 소거능, ABTS 라디칼 소거능 및 환원력과 같은 항산화 활성은 쓴메밀 에탄올 추출물이 단메밀 에탄올 추출물에 비하여 높게 나타났다. 3T3-L1의 분화과정 중의 쓴메밀 추출물들은 50, 100, 200 및 400 µg/mL에서 세포에 독성 보이지 않았으며, 세포 내 지방의 축적량을 유의적 감소시키는 것으로 나타났다. 지방 세포 분화에 관련된 유전자인 PPAR $\gamma$ 와 aP2의 mRNA 발현율도 쓴메밀 에탄올 추출물에 의해 유의적으로 감소하였고, ROS 생성과 관련된 유전자인 G6PDH 및 NOX4 mRNA 발현도 쓴메밀 에탄올 추출물에서 유의적으로 감소하였다. 이러한 결과들로 볼 때, 쓴메밀은 강력한 항산화 활성을 갖으며, 이들 항산화 활성은 지방세포 분화억제 효과와 밀접한 관계를 갖는 것으로 사료되었다.

## 감사의 글

본 연구결과의 일부는 “2010년도 강원대학교 학술연구 조성비 및 중소기업청에서 지원하는 2011년도 산학연 공동기술 개발사업의 연구수행으로 인한 결과물임을 밝힙니다”

## 참고문헌

1. Timar O, Sestier F, Levy E (2000) Metabolic syndrome X: a review. *Can J Cardiol*, 16, 779-789

2. Park HS, Shin HC, Kim BS, Lee KY, Choi WS, Shin JA, Nam YD, Bae SP, Chun KS (2003) Prevalence and associated factors of metabolic syndrome among adults primary care. *J Korean Obes*, 12, 108-123

3. Lim S, Lee, Koo BK, Cho SI, Park KS, Jang HC, Kim SY, Lee HK (2005) Increasing trends of metabolic syndrome in Korea. *Diabetes*, 29, 432-439

4. Oh SJ (2005) *Aging of Human Body*. Tamkudang, Seoul, Korea, 204-205

5. Halliwill B (1996) Antioxidant in human health and disease. *Annu Rev Nutr*, 16, 33-49

6. Spiegelman BM, Flier S (1996) Adipogenesis and obesity; rounding out the big picture. *Cell*, 87, 377-389

7. Raylana S, Della-Fera MA, Baile CA (2008) Phytochemicals and regulation of the adipocyte life cycle. *J Nutr Biochem*, 19, 717-726

8. Park BJ, Kwon SM, Park JI, Chang KJ, Park CH (2005) Phenolic compounds in common and tartary buckwheat. *J Crop Sci*, 50, 175-180

9. Jeong CH, Jeong HR, Choi SG, Shim KH, Heo HJ (2011) Neuronal Cell Protection and Antioxidant Activities of Hot Water Extract from Commercial Buckwheat Tea. *Korean J Food Preserv*, 18, 358-365

10. Park BJ, Kwon SM, Park JI, Chang KJ, Park CH (2005) Phenolic compounds in common and tartary buckwheat. *Korean J Crop Sci*, 50, 175-180

11. Velioglu YS, Mazza G, Cao L, Oomah BD (1998) Antioxidant activity and total phenolics in selected fruit, vegetables, and grain products. *J Agric Food Chem*, 46, 4113-4117

12. Jia Z, Tang M, Wu J (1999) The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem*, 64, 555-559

13. Kim DO, Lee KW, Lee HJ, Lee CY (2002) Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *J Agric Food Chem*, 50, 3713-3717

14. Dewanto V, Xianzhong W, Liu RH (2002) Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *J Agric Food Chem*, 50, 4959-4964

15. Mau JL, Lin IIC, Song SF (2002) Antioxidant properties of several specialty mushrooms. *Food Res Int*, 35, 519-526

16. Kim DJ, Jung JH, Kim SG, Lee HK, Lee SK, Hong HD, Lee BY, Lee OH (2011) Antioxidants and anti-obesity activities of hot water and ethanolic extracts from *Cheonnyuncho* (*Opuntia humifusa*). *Korean J Food Preserv*, 18, 366-373

17. Blumberg JM, Tzamelis I, Astapova I, Lam FS, Flier JS, Hollenberg A (2006) Complex role of the vitamin D receptor and its ligand in adipogenesis in 3T3-L1 cells. *J Biol Chem*, 28, 11205-11213
  18. Scalbert A, Johnson IT, Saltmarsh M (2005) Polyphenols : antioxidants and beyond. *Am J Clin Nutr*, 81, 215S-217S
  19. Sakihama Y, Cohen MF, Grace SC, Yamasaki H (2002) Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology*, 177, 67-80
  20. Kwon GH, Choi DS, Wang MH (2007) Biological activities of hot water extracts from *Enonymus alatus* leaf. *Korean J Food Sci Technol*, 39, 569-574
  21. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*, 26, 1231-1237
  22. Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM. (1996) IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-alpha and obesity-induced insulin resistance. *Science*, 271, 665-668
  23. Kim KH (2010) Perspective in regulation of adipogenesis by bioactive food components, *Food Sci Ind*, 42, 51-57
  24. Rosen ED (2005) The transcriptional basis of adipocyte development. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acid*, 73, 31-34
  25. Evans RM, Barish GD, Wang YX (2004) PPARs and the complex journey to obesity. *Nat Med*, 10, 355-361
  26. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, Nakayama O, Makishima M, Matsuda M, Shimomura I (2004) Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest*, 114, 1752-1761
  27. Park J, Rho HK, Kim KH, Choe SS, Lee YS, Kim JB (2005) Overexpression of glucose-6-phosphate dehydrogenase is associated with lipid dysregulation and insulin resistance in obesity. *Mol Cell Biol*, 25, 5146-5157
  28. Salati M. L, Amir-Ahmady B (2001) Dietary regulation of expression of glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Annu Rev Nutr*, 21, 121-140
- 

(접수 2011년 7월 27일 수정 2011년 12월 6일 채택 2011년 12월 23일)