J Korean Soc Food Sci Nutr
44(2), 281~286(2015)

한국식품영양과학회지
http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2015.44.2.281

발효울금 50% 에탄올 추출물의 라디칼 소거능 및 지방형성 억제 효과

– 연구노트 –

김지혜[1] · 전우진[1,2]

[1]전남대학교 식품영양과학부
[2]전남대학교 생활과학연구소

Radical Scavenging and Anti-Obesity Effects of 50% Ethanol Extract from Fermented *Curcuma longa* L.

Jihye Kim[1] and Woojin Jun[1,2]

[1]Division of Food and Nutrition and [2]Research Institute for Human Ecology, Chonnam National University

ABSTRACT In this study, free radical scavenging activities (ABTS, DPPH, NBT, TBARS, and ORAC) and anti-obesity potential were evaluated using 50% ethanol extract from fermented *Curcuma longa* L. (FCE50). FCE50 showed free radical scavenging activities and anti-oxidant potential. Lipid accumulation and intracellular TG content were significantly reduced by 25.8% and 28.6%, respectively, by 250 μg/mL of FCE50 compared to adipocytes. Glucose uptake was significantly reduced by 12.0%. FCE50 significantly reduced mRNA expression of acetyl-CoA carboxylase in 3T3-L1 cells. These results indicate that the anti-adipogenic effect of FCE50 might be due to its radical scavenging activity and anti-oxidant potential.

Key words: turmeric, fermented *Curcuma longa* L., radical scavenging activity, anti-obesity

서 론

비만은 에너지 섭취와 소비의 불균형으로 인해 체내에 지방이 과잉 축적되어 있는 상태를 말하며, 과도한 지방축적은 당뇨병, 이상지질혈증, 고혈압, 관상동맥질환 등의 다양한 생명을 위협하는 질병의 위험을 유발하는 원인으로 알려져 있다(1,2).

비만과 고지혈증은 항산화제, 활성산소종(ROS, reactive oxygens species)과 자유라디칼 사이의 불균형을 상승적으로 증진시키며, ROS는 불포화지방산의 지질과산화를 일으킨다. 최근의 연구에 의하면 지방세포 내 NADH 산화효소, 미토콘드리아 및 산화질소 합성효소(NOS, nitric oxide synthase)로부터 생성된 ROS가 지방세포 분화를 조절하는데 주요한 역할을 한다고 보고되었다(3,4). 또한 비만 시 지방세포에서 기초 지방분해율이 매우 증가되어 많은 양의 유리지방산이 만들어지고, 이러한 유리지방산의 증가는 ROS 및 $O_2\cdot^-$(superoxide anion 라디칼)의 생산을 증가시켜 인슐린 신호전달 및 세포의 신호전달을 억제한다. 이는 동맥경화와 관련된 유전자 발현을 증가시키고, 세포와 조직층에 독성을 일으켜 질병을 유발한다(5,6). 최근 합성 항산화제가 널리 알려져 있지만 인체에 대한 유해성 문제로 법적으로 규제되고 있으며 그 사용이 점점 감소되고 있다. 따라서 안전성이 확보된 천연물을 이용한 새로운 천연 항산화제 개발 연구가 요구된다(7).

최근 천연물 및 식품소재를 대상으로 체지방감소 기능성 평가 및 기작규명에 관한 다양한 연구들이 진행되고 있다. 지방축적을 위한 세포내 구획은 지방구라 불리며 이는 지방대사에서 중요한 역할을 한다. 지방구에 축적되는 지질은 중성지방의 합성과 분해의 평형으로 조절된다. 따라서 비만 예방 및 관리에 있어 전지방세포로부터 지방세포로 분화되는 지방형성 과정을 억제 또는 지연시키는 과정과 지방구 내에 존재하고 있는 중성지방이 분해되고 이로 인한 글리세롤의 유출과정은 중요한 기전으로 알려져 있다. 따라서 효과적인 비만억제 및 비만과 관련된 대사성 질환의 치료를 위해 지방세포 분화과정 조절이 연구되고 있다.

난대성 작물 중 하나인 울금(*Curcuma longa* L.)은 생강과에 속하는 다년생 초본식물로 인도, 중국, 미얀마 등의 열대지방에서 널리 재배되며, 최근 우리나라 남부지역인 진도군에서 지속적으로 재배되고 있다. 울금은 예로부터 한약재, 향신료, 염료로 사용되어 왔다. 울금은 울금(乙今), 걸금(乞金), 옥금(玉金), 심황(深黃), 황제족(黃帝足) 등으로 불리며, 주요한 생리활성 성분은 curcumin, demethoxycurcumin 및 bisdemethoxycurcumin으로 알려져 있다(8). 이들은 항염, 간 기능 개선, 항산화, 항암, 콜레스테롤 및 지질저하

Received 16 December 2014; Accepted 7 January 2015
Corresponding author: Woojin Jun, Division of Food and Nutrition, Chonnam National University, Gwangju 550-757, Korea
E-mail: wjjun@chonnam.ac.kr, Phone: +82-62-530-1337

효과 등의 약리활성을 나타내는 것으로 보고되어 있다(9-11).

울금의 우수한 생리활성에도 불구하고 특유의 향미, 쓴맛, 이취로 인해 기능성 소재로 이용하는 데 어려움이 있어 쓴맛과 이취를 줄이기 위해 *Aspergillus oryzae*를 이용한 발효과정을 거쳐 발효울금을 제조하였다(12). 본 연구에서는 발효울금 50% 주정 추출물을 대상으로 항산화 활성을 측정하였으며, 3T3-L1 지방세포를 이용하여 분화단계에서 지방축적 억제 효과를 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에서 사용된 발효울금은 전라남도 진도군에서 재배 수확된 울금을 세척·멸균한 후, 2% *Aspergillyus oryzae*를 접종·발효하여 실험에 이용하였다. 발효울금은 추출기(Kyungseo machine, Incheon, Korea)에 50% 주정을 투입하고 85°C에서 4시간 동안 0.7~0.75 kg/cm^{2}의 압력 조건에서 추출하여 동결분말 후 분쇄(Hanil, Incheon, Korea)한 것으로 한국인스팜(주)(Jeonnam, Korea)로부터 제공받았다(FCE50, 수율 19%). 이 추출물은 -20°C에서 보관하면서 실험에 사용되었다.

시약

3T3-L1 전지방세포는 ATCC(American Type Culture Collection, Manassans, VA, USA)에서 구입하였으며, 분화에 사용되는 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) 배지와 newborn calf serum(NCS), fetal bovine serum(FBS), penicillin-streptomycine(PS), phosphate buffered saline(PBS)은 Hyclone사(Logan, UT, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 라디칼 소거능 측정에 사용되는 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH), thiobarbituric acid, 지방세포 분화에 사용되는 insulin, 3-isobutyl-1-methylxanthine(IBMX), dexamethasone(DEX) 및 Oil Red O, XTT는 Sigma사(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. AdipoRed™는 Lonza사(Walkersvile, MD, USA)에서 구입하여 사용하였다.

항산화 활성 평가

ABTS 라디칼 소거능은 Re 등(13)의 방법을 변형하였고, microplate reader(BioTek, Winooski, VT, USA)를 이용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능은 Blosis(14)의 방법을 변형하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. Superoxide anion 라디칼 소거능은 xanthine/xanthine oxidase system의 방법으로 spectrophotometer를 이용하여 560 nm에서 흡광도를 측정하였다(15). 라디칼 소거능은 백분율로 나타냈으며, $[(Abs_{control} - Abs_{sample})/Abs_{control}]\times100$을 이용하여 계산하였다. 지질과산화 억제능은 리놀렌산의 과산화를 억제하는 정도를 측정하는 TBA 방법을 이용하여 측정하였으며(16), 대조군으로 quercetin을 사용하였다. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC)는 Cao와 Prior(17)의 방법을 변형하여 측정하였다. ORAC는 g당 mmole Trolox equivalents(mmole TE/g)를 이용하여 표현하였으며, microplate reader를 이용하여 excitation 485 nm와 emission 528 nm에서 형광도를 측정하였다.

3T3-L1 세포배양 및 분화

3T3-L1 전지방세포의 배양과 유지는 10% NCS와 1% PS가 함유된 DMEM 배지를 이용하여 37°C, 5% CO_2의 조건에서 세포성장이 이루어졌을 때 계대배양을 하도록 하였다. 세포의 분화는 6-well plate에 well당 1×10^6 세포를 분주하여 세포가 100% 밀집되게 배양하였다. 2일 후 10% FBS, 1% PS와 분화유도물질(0.5 mM IBMX, 0.5 μM DEX, 10 μg/mL insulin)이 들어있는 DMEM 배지를 이틀 동안 처리하고, 다시 10% FBS와 10 μg/mL 인슐린을 포함한 DMEM 배지를 처리하였다. 그 이후에는 10% FBS를 포함한 DMEM 배지로 교체하여 지방세포 분화를 유도하였다(9). 지방세포 분화유도 동안 시료를 처리하지 않은 군을 지방세포군으로 명명하였으며, 시료 FCE50은 150, 200 그리고 250 μg/mL의 농도로 전지방세포의 분화 동안 처리하였다.

세포독성

3T3-L1 세포에 대한 FCE50의 세포독성은 XTT 시약을 이용하여 측정하였다. 3T3-L1 전지방세포를 24-well plate에 well당 5×10^4 세포를 분주하여 세포가 100% 밀집되게 배양하였다. 3T3-L1 전지방세포에서 지방세포로 분화하는 동안 각 농도의 FCE50을 처리하여 총 8일간 분화를 유도하였다. 8일째에 PBS에 100 μM phenazine methosulfate(PMS)와 1 mg/mL XTT(PMS : XTT=1:800) 시약을 혼합한 반응액을 각 well당 1 mL씩 분주하고 2시간 동안 37°C, 5% CO_2 배양기에서 배양한 후 microplate reader로 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Oil Red O 염색법 및 AdipoRed™를 이용한 지방축적 억제 효과

FCE50 처리에 의한 3T3-L1 지방세포의 지방축적량을 측정하고자 8일 동안 분화된 3T3-L1 세포의 배양액을 제거한 후, 미리 제조해 놓은 Oil Red O 실험용액으로 지방구를 염색하였다. 세포내 축적된 지방성분과 결합된 Oil Red O는 100% 이소프로판올로 용출시킨 후 microplate reader를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포내 중성지방 함량은 AdipoRed™ 시약에 지시되어 있는 정량법에 따라 수행하였다. 이 방법은 Nile Red 염색법으로 중성지방에 특이성이 높은 것으로 알려져 있다(18). 지방세포 분화

동안 각 농도별로 FCE50을 처리하여 분화된 지방세포에 AdipoRed™ 시약을 첨가하여 배양기에서 배양하고 microplate reader를 이용하여 excitation 485 nm와 emission 572 nm에서 형광도를 측정하였다.

포도당 유입량 측정

포도당 유입량을 측정하기 위하여 8일간 분화된 3T3-L1 지방세포의 배양액을 제거한 후 PBS로 2번 세척하고 2-(N-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl)amino)-2-deoxyglucose(2-NBDG) 실험용액을 처리하였다. 이후 37°C, 5% CO_2 배양기에서 1시간 동안 반응시키고 PBS로 3번 세척한 후, well당 1 mL의 PBS를 넣고 excitation 485 nm, emission 535 nm에서 형광도를 측정하였다.

실시간 중합효소 연쇄반응

8일간 분화된 3T3-L1 세포를 PBS로 2회 세척한 후 세포를 수득하여 Trizol 시약(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)과 클로로포름을 넣고 13,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상층액을 얻었다. 상층액과 이소프로판올을 섞은 후 상온에서 10분간 반응시켜 RNA를 침전시킨 다음 에탄올로 1회 세척하여 RNA를 분리하였다. 추출된 RNA 1 mg을 QuantiFast™SYBR®Green RT-PCR kit(Qiagen, catalogue number 204174, Venlo, Netherlands)을 이용하여 GAPDH(5'-TGGCCTCCAAGGAGTAAGAAAC-3', 3'-GGCCTCTCTCTT-GCTCTCAGTATC-5'), acetyl-CoA carboxylase(ACC)(5'-TCCCCAAGTTCTTCACGTTCA-3', 3'-CAGGCTCCAAGTGGCGATAA-5') 프라이머와 함께 reverse transcription 반응을 55°C에서 10분 수행한 후, PCR initial activation 반응을 95°C에서 5분 수행하고 denaturation 반응을 95°C에서 5초, annealing과 extension 반응을 60°C에서 10초간 40 cycle을 반응시키고 Rotor-gene 6,000 software version 1.7(Corbett, Sydney, Australia)을 이용하여 분석하였다.

통계분석

실험결과는 평균(mean)±표준편차(SD) 및 평균(mean)±표준오차(SE)로 나타내었다. 각 군 간의 결과 비교 및 유의성 검정은 Student t-test를 이용하여 통계처리한 후 $P<0.05$ 수준에서 유의수준을 검정하였다.

결과 및 고찰

발효울금 50% 주정 추출물의 항산화 활성

시료의 항산화 활성을 평가하는 방법으로는 기전에 따라 수소공여기전, 금속이온 킬레이팅, 산소 소거기전 및 항산화성 효소기전 등으로 나눌 수 있다(19). FCE50의 항산화 활성은 Table 1에 나타내었다. 라디칼 소거능은 ABTS와 DPPH를 이용하여 확인하였다. ABTS assay는 potassium persulfate와의 반응으로 생성된 peroxide 라디칼이 항산화성 물질에 의해 제거되면서 청록색이 탈색되는 것을 이용하여 라디칼 소거능을 측정하는 방법이다. ABTS 라디칼 소거능은 양이온을 소거한다는 점에서 유리 라디칼을 소거하는 DPPH 법에 비해 다소 활성이 높은 것으로 알려져 있다. FCE50의 ABTS 라디칼 소거능은 약 42%의 효과를 나타내었다. DPPH는 수요 공여체를 측정하는 방법으로 페놀성 화합물, 방향족 아민류 등에 의해 수소나 전자를 받아 환원되어 보라색이 탈색되는 원리를 이용한 방법이다. FCE50의 DPPH 라디칼 소거능은 약 29%의 활성을 나타냈다. NBT assay는 xanthine에 xanthine oxidase가 작용하여 superoxide anion 라디칼이 생성되고 생성된 superoxide anion 라디칼은 NBT를 환원시켜 발색하며, superoxide anion 라디칼의 제거능을 가진 물질로 인해 발색이 저해되는 원리를 이용하여 측정된다. FCE50의 superoxide anion 라디칼 소거능은 약 50%의 활성을 나타냈다. 지질 과산화억제능은 불포화지방산의 자동산화 중 2차 산물인 malondialdehyde의 생성 억제를 측정하는 방법으로 FCE50은 약 39%의 지질과산화 억제 활성을 보였다. ORAC assay는 수소 전자전달과 관련하여 APPH에 의해 생성된 peroxyl 라디칼이 항산화 물질로 인하여 감소되는 정도를 형광도로 측정하는 방법으로 식품 내에 존재하는 소수성 및 친수성 성분 모두에 반응하는 특징을 가지고 있다(20). FCE50의 ORAC value는 약 61%를 나타냈다. 이상의 연구 결과를 통해 FCE50은 항산화 능력을 보유하고 있음을 확인하였다.

발효울금 50% 주정 추출물의 세포독성

3T3-L1 지방세포에 대한 FCE50의 세포독성을 평가하기 위하여 XTT assay를 실시하였다. 다양한 농도로 FCE50을 처리하였을 때의 세포 생존율은 Fig. 1에 나타나있다. 추출물을 250, 300, 400, 500 및 600 μg/mL의 농도로 처리한

Table 1. Anti-oxidative potentials of 50% ethanol extract from fermented *Curcuma longa* L.[1)]

Sample	ABTS[3)] (%)	DPPH[3)] (%)	NBT[3)] (%)	TBARS[3)] (%)	ORAC[3)] (mM Trolox Eq/g)
FCE50[2)]	42.2±3.4	29.0±2.3	49.9±0.5	38.8±1.1	61.2±10.3

[1)]Data express the mean±SD.
[2)]FCE50: 50% ethanol extract from fermented *Curcuma longa* L.
[3)]ABTS: 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) cation, DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, NBT: superoxide anion, TBARS: tiobarbituric acid reactive substances, ORAC: oxygen radical absorbance capacity.
Final concentration: ABTS-FCE50, 50 μg/mL; DPPH-FCE50, 100 μg/mL; NBT-FCE50, 28 μg/mL; TBARS-FCE50, 483.87 μg/mL.

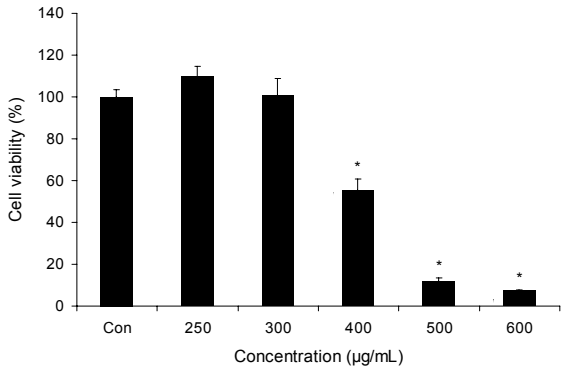

Fig. 1. Cell viability of 50% ethanol extract from fermented *Curcuma longa* L. in 3T3-L1 cells. Cell viability was determined by XTT assay. Each value is expressed as the mean±SD of three independent experiments. An asterisk above the bars is significantly different from adipocytes at $P<0.05$. Con: adipocytes.

후 세포독성을 측정한 결과 300 μg/mL의 농도까지 세포독성이 나타나지 않았으며 현미경 상에서의 morphology 변화도 관찰되지 않았다(데이터 미게재). 그러나 400 μg/mL 이상의 농도에서는 세포독성이 나타났다. 따라서 이후의 세포실험에서는 안전역인 250 μg/mL의 농도로 FCE50을 처리하였다.

발효울금 50% 주정 추출물의 지방축적 억제 효과

최근 연구에서 산화적 스트레스가 비만 및 비만관련 질병의 발병에 주요한 역할을 하고 있다고 보고되었는데, Hwang 등(21)과 Lee 등(19)에 의하면 항산화 능력을 보유하고 있는 시료가 비만을 억제하는 효능을 나타낸다고 하였다. 따라서 항산화 능력을 보유하고 있는 FCE50에 대하여 비만세포 분화에의 영향을 조사하였다. FCE50 처리에 의한 3T3-L1 세포의 분화과정 중 지방구의 생성 억제 유무를 Oil Red O 염색법을 이용하여 측정하는데, Oil Red O 염색시약은 중성지질, 콜레스테롤 등과 결합하며 지방분화로 인해 축적된 대부분의 지질은 중성지방으로 염색된 세포의 붉은색 정도를 통해 분화 정도를 확인할 수 있다(22). 완전히 분화된 지방세포(100%)와 비교하였을 때, FCE50을 250 μg/mL의 농도로 처리한 군에서는 지방축적이 약 26% 유의적으로 감소함으로써 지방구 생성 억제 효과가 있음을 확인하였다(Fig. 2A). 또한 염색된 지방구를 현미경으로 관찰한 결과, 전지방세포와 비교하여 지방세포가 분화된 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2C). 이와 같은 결과는 Choi 등(5)이 보고한 항산화 활성을 가진 시료가 3T3-L1 전지방세포의 분화를 억제시킴으로써 지방축적이 억제된다는 결과와 일치하였으며, Park 등(11)의 연구 결과와도 일치했다. 세포내 중성지방 양을 측정한 결과(Fig. 2B), Oil Red O 염색 결과와 동일하게 250 μg/mL의 FCE50을 처리하였을 때 지방구 내의 중성지방 함량이 약 29% 유의적으로 감소하였다. 따라서 FCE50은 3T3-L1 지방세포의 분화 유도과정에서 지방구의 생성을 억제하여 지방축적을 억제시키는 효과가 있는 것을 확인할 수 있었다. Park 등(11)은 항산화 활성을 지닌 울금 메탄올 추출물을 지방세포로의 분화과정 동안 처리하여 중성지방 축적량에 대한 영향을 측정한 결과, 완전 분화된 지방세포와 비교하여 그 축적량이 감소하는 결과를 보고

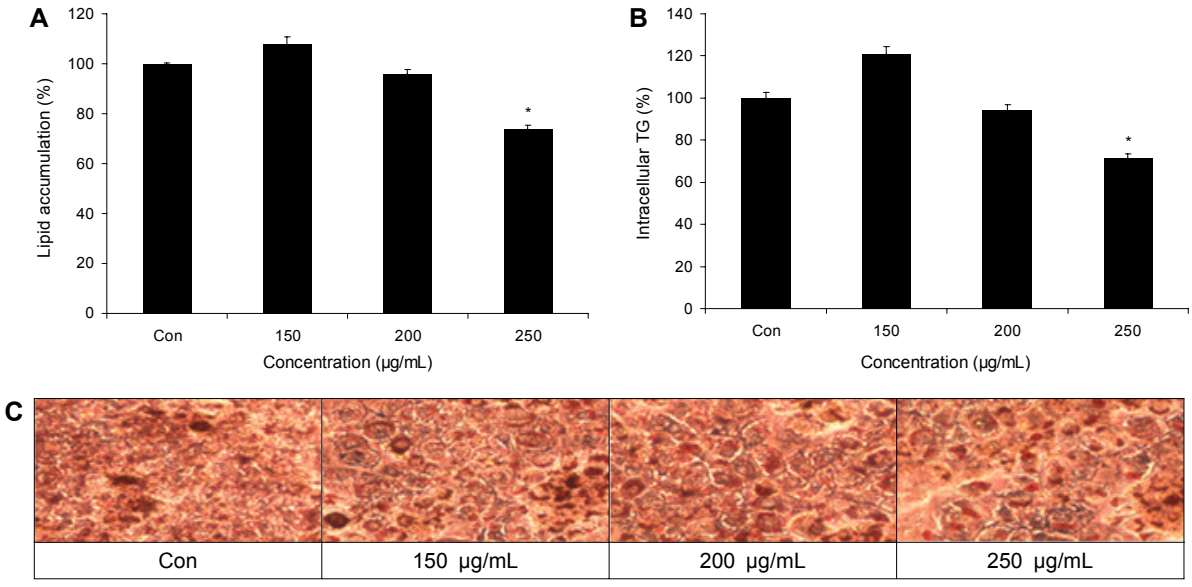

Fig. 2. Inhibitory effects of 50% ethanol extract from fermented *Curcuma longa* L. on the lipid accumulation and the intracellular TG content in 3T3-L1 cells. The lipid accumulation and intracellular TG content were quantified by Oil Red O staining and AdipoRed™ calculated as relative values *versus* untreated adipocytes. Data express the mean±SD of three independent experiments. An asterisk above the bars is significantly different from adipocytes at $P<0.05$. Con: adipocytes. (A) Lipid levels were measured colorimetrically using a spectrophotometer. (B) The intracellular triglyceride content was quantified by AdipoRed™. (C) Cells were observed using microscope (magnification×100).

하였는데, 이는 본 연구의 결과와 일치한다. 이상의 결과를 토대로 FCE50은 항산화 활성을 지녔으며, 3T3-L1 전지방세포의 지방세포로의 분화를 억제시킬 수 있는 것으로 사료된다.

발효울금 50% 주정 추출물의 포도당 유입 억제 효과

지방세포의 분화 시 유입되는 포도당이 중성지방으로 합성·축적되므로 FCE50이 지방세포 분화 억제에 미치는 영향을 확인하기 위하여 세포내 포도당 유입량과 세포배양액으로 방출되는 유리 글리세롤 양을 측정하였다. 지방세포로 유입된 포도당은 해당과정을 통해 glyceraldehyde-3-phosphate와 dihydroxyacetone-phosphate를 거쳐 글리세롤로 전환된 후, 지방산과 결합하여 중성지방을 생성한다. 그러므로 지방세포 내로 포도당의 유입은 지방세포 내 지방의 축적에 중요한 역할을 한다고 볼 수 있다(23). FCE50을 250 μg/mL의 농도로 처리하였을 때 포도당 유입량이 지방세포와 비교하여 유의적으로 감소하는 것을 확인하였다(Fig. 3). 본 연구는 Hsieh 등(24)의 연구에서 세포내 포도당 유입량이 시료에 의하여 유의적으로 감소하는 결과와 일치한다. 이러한 결과로부터 FCE50의 지방합성 억제 효과는 일정부분 포도당이 지방세포 내로 유입되는 것을 억제하는데 기인하는 것으로 볼 수 있다.

발효울금 50% 주정 추출물이 지방합성 유전자에 미치는 영향

FCE50에 의한 지방축적 감소가 지방형성과 주요하게 관련된 전사인자의 발현억제로부터 유도되는지를 조사하기 위하여 지방형성 억제 활성을 나타낸 발효울금 50% 주정 추출물을 3T3-L1 전지방세포의 분화 동안 처리한 후 ACC mRNA 발현량을 확인하였다. ACC는 acetyl-CoA를 malonyl CoA로 전환시키는 효소이며, ACC의 활성이 감소되면 malonyl CoA의 농도가 줄어든다. 이로 인해 carnitine palmitoyltransferase-1(CPT-1)이 활성화되어 지방산 베타산화를 촉진시킨다(25). Fig. 4에 나타난 바와 같이, FCE50을 처리하였을 때 ACC mRNA 발현량이 감소하였다. Ahn 등(26)은 전지방세포에서 지방세포로의 분화 동안 시료에 의하여 ACC의 활성이 감소되면 지방형성 억제 효과가 있다고 보고하였다. 또한 Kang 등(27)의 연구에 따르면 ACC의 발현저하에 의하여 지방세포의 분화가 억제된다고 하였다. 이외에도 본 연구 결과는 지방형성 유전자의 발현억제를 통한 지방세포 분화억제를 제시한 Kong 등(28)의 연구 결과와 일치한다. FCE50은 ACC의 활성을 감소시킴으로써 지방합성이 억제되며, 이는 3T3-L1 전지방세포에서 지방세포로의 분화억제를 이끌어 세포내 중성지방의 축적이 감소되는 것으로 추정된다.

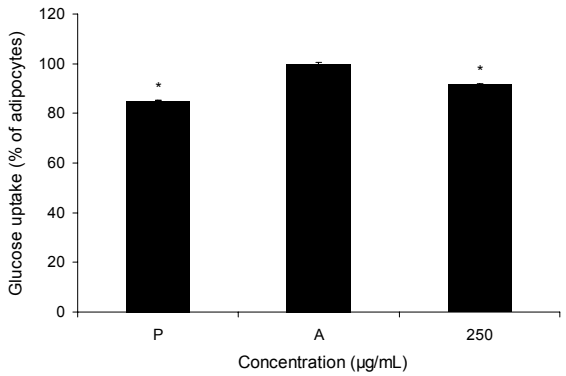

Fig. 3. Inhibitory effect of 50% ethanol extract from fermented *Curcuma longa* L. on glucose uptake in 3T3-L1 cells. The glucose uptake was fluorescently quantified by 2-NBDG assay kit. Each value is expressed as the mean±SD of three independent experiments. An asterisk above the bars is significantly different from adipocytes at $P<0.05$. P: preadipocyte, A: adipocyte.

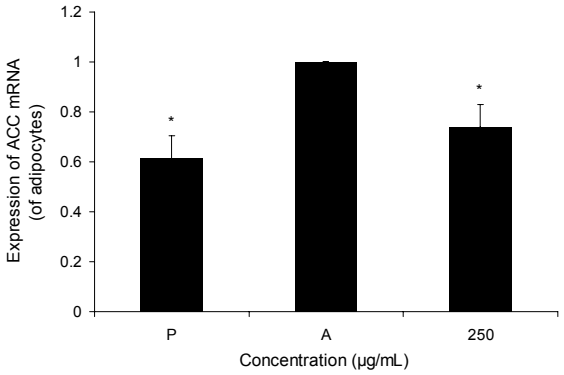

Fig. 4. Effect of 50% ethanol extract from fermented *Curcuma longa* L. on mRNA expression of acetyl-CoA carboxylase in 3T3-L1 cells. The values were calculated as the relative mRNA expression *versus* GAPDH as an internal control. Each value is expressed as the mean±SE of three independent experiments. An asterisk above the bars is significantly different from adipocytes at $P<0.05$. P: preadipocyte, A: adipocyte.

요 약

본 연구에서는 FCE50을 대상으로 다양한 항산화 실험을 실시한 결과, FCE50이 항산화능을 보유하고 있음을 확인하였다. 또한 FCE50은 3T3-L1 전지방세포의 분화과정 중 세포내 지방축적을 유의적으로 감소시키며 포도당 유입을 감소시켰다. 지방합성과 관련된 ACC 효소의 mRNA 발현량을 측정한 결과, 완전히 분화된 지방세포와 비교하여 FCE50의 처리 시 그 발현량이 현저히 감소됨을 확인하였다. 이상의 결과로부터 FCE50은 항산화 활성을 보유하고 있으며, 이는 FCE50이 지방세포로의 분화과정 중 지방형성을 유의적으로 감소시키는 결과에 영향을 미치는 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부 기술사업화지원사업(20114007)의 지원을 받아 수행된 연구 결과로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Xing Y, Yan F, Liu Y, Zhao Y. 2010. Matrine inhibits 3T3-L1 preadipocyte differentiation associated with suppression of ERK1/2 phosphorylation. *Biochem Biophys Res Commun* 396: 691-695.
2. Roberts AW, Clark AL, Witte KK. 2009. Review article: Left ventricular dysfunction and heart failure in metabolic syndrome and diabetes without overt coronary artery disease − do we need to screen out patients? *Diab Vasc Dis Res* 6: 153-163.
3. Moche S, Mkaddem SB, Wang W, Katic M, Tseng YH, Carnesecchi S, Steger K, Foti M, Meier CA, Muzzin P, Kahn CR, Ogier-Denis E, Szanto I. 2007. Reduced expression of the NADPH oxidase NOX4 is a hallmark of adipocyte differentiation. *Biochem Biophys Acta* 1773: 1015-1027.
4. Flukawa S, Fujita T, Shimabukuro M. 2004. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest* 114: 1752-1761.
5. Choi JH, Park YH, Lee IS, Lee SP, Yu MH. 2013. Antioxidant activity and inhibitory effect of *Aster scaber* Thunb. extract on adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. *Korean J Food Sci Technol* 45: 356-363.
6. Park MJ. 2005. Recent advances in regulating energy homeostasis and obesity. *Korean J Pediatr* 48: 126-137.
7. Park HJ, Kim MM, Oh Y. 2012. Effect of fruit extract of *Prunus mume* on the scavenging activity of reactive oxygen species and melanin production in B16F1 cells. *J Life Sci* 22: 936-942.
8. Lee KJ, Ma JY, Kim YS. 2012. Identification of curcuminoids from turmeric (*Curcuma longa*) using ultrasonic wave and dipping method. *Korean Soc Biotechnol Bioeng J* 27: 33-39.
9. 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.
10. Gosmann G, Barlette AG, Dhamer T, Arcari DP, Santos JC, de Camargo ER, Acedo S, Gambero A, Gnoatto SC, Ribeiro ML. 2012. Phenolic compounds from maté (*Ilex paraguariensis*) inhibit adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes. *Plant Foods Hum Nutr* 67: 156-161.
11. Park JJ, Lee JM, Jun WJ. 2013. Radical scavenging and anti-obesity effects of various extracts from turmeric (*Curcuma longa* L.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 1908-1914.
12. You Y, Jun WJ. 2012. Effects of Fractions from *Benincasa hispida* on inhibition of adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 895-900.
13. 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.
14. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
15. Nishikimi M. 1975. Oxidation of ascorbic acid with superoxide anion generated by the xanthine oxidase system. *Biochem Biophys Res Commun* 63: 463-468.
16. Draper HH, Hadley M. 1990. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 186: 421-431.
17. Cao G, Prior RL. 1999. Measurement of oxygen radical absorbance capacity in biological samples. *Methods Enzymol* 299: 50-62.
18. Gao CL, Zhu JG, Zhao YP, Chen XH, Ji CB, Zhang CM, Zhu C, Xia ZK, Peng YZ, Guo XR. 2010. Mitochondrial dysfunction is induced by the overexpression of UCP4 in 3T3-L1 adipocytes. *Int J Mol Med* 25: 71-80.
19. Lee MY, Yoo MS, Whang YJ, Jin YJ, Hong MH, Pyo YH. 2012. Vitamin C, total polyphenol, flavonoid contents and antioxidant capacity of several fruit peels. *Korean J Food Sci Technol* 44: 540-544.
20. Lee YJ, Han OT, Choi HS, Lee BY, Chung HJ, Lee OH. 2013. Antioxidant and anti-adipogenic effects of PineXol®. *Korean J Food Sci Technol* 45: 97-103.
21. Hwang CR, Shin JH, Kang MJ, Lee SJ, Sung NJ. 2012. Antioxidant and antiobesity activity of solvent fractions from red garlic. *J Life Sci* 22: 950-957.
22. McNeel RL, Mersmann HJ. 2003. Effects of isomers of conjugated linoleic acid on porcine adipocyte growth and differentiation. *J Nutr Biochem* 14: 266-274.
23. Cha SY, Jang JY, Lee YH, Lee G, Lee HJ, Hwang KT, Kim Y, Jun W, Lee J. 2010. Lipolytic effect of methanol extracts from *Luffa cylindrica* in mature 3T3-L1 adipocytes. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 813-819.
24. Hsieh CF, Tsuei YW, Liu CW, Kao CC, Shih LJ, Ho LT, Wu CP, Tsai PH, Chang HH, Ku HC, Kao YH. 2010. Green tea epigallocatechin gallate inhibits insulin stimulation of adipocyte glucose uptake via the 67-kilodalton laminin receptor and AMP-activated protein kinase pathways. *Planta Med* 76: 1694-1698.
25. Ejaz A, Wu D, Kwan P, Meydani M. 2009. Curcumin inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes and angiogenesis and obesity in C57/BL mice. *J Nutr* 139: 919-925.
26. Ahn J, Lee H, Kim S, Park J, Ha T. 2008. The anti-obesity effect of quercetin is mediated by the AMPK and MAPK signaling pathways. *Biochem Biophys Res Commun* 373: 545-549.
27. Kang SW, Kang SI, Shin HS, Yoon SA, Kim JH, Ko HC, Kim SJ. 2013. *Sasa quelpaertensis* Nakai extract and its constituent *p*-coumaric acid inhibit adipogenesis in 3T3-L1 cells through activation of the AMPK pathway. *Food Chem Toxicol* 59: 380-385.
28. Kong CS, Kim JA, Kim SK. 2009. Anti-obesity effect of sulfated glucosamine by AMPK signal pathway in 3T3-L1 adipocytes. *Food Chem Toxicol* 47: 2401-2406.