

곤달비 추출물의 항산화 활성 및 지방세포 분화 억제 효과

서동연 · 천원영 · *김영화
경성대학교 식품응용공학부

Antioxidant Activity and Anti-Adipogenic Effect of *Ligularia stenocephala* Extract

Dongyeon Seo, Wonyoung Cheon and *Younghwa Kim

School of Food Biotechnology & Nutrition, Kyungsoong University, Busan 48434, Korea

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the antioxidant and anti-adipogenic activities of *Ligularia stenocephala* (*L. stenocephala*) extract. The contents of the total polyphenol of the extract was 55.950 mg GAE/g residue. Antioxidant activities of *L. stenocephala* were evaluated by free radical scavenging ability and a reducing power test. 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) and α - α -diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging activities of the extract were approximately 90% and 70%, respectively. Reducing power of the extract was 258.833 mg TE/g residue. The anti-adipogenic activity of *L. stenocephala* extract was examined in 3T3-L1 cells. During adipocyte differentiation, the 3T3-L1 cells were treated both with and without the extract. *L. stenocephala* extract suppressed the lipid accumulation in a concentration-dependent manner in the 3T3-L1 cells. The *L. stenocephala* extract inhibited the expression of peroxisome proliferator activated receptor γ (PPAR γ) and adipocyte protein 2 (aP2) proteins, compared with control adipocytes. These results indicate that *L. stenocephala* could be regarded as a potential source natural antioxidant and an anti-obesity agent.

Key words: *L. stenocephala*, antioxidant, anti-obesity, adipogenesis

서 론

현대인들의 비만은 운동 부족, 영양 과다 섭취, 좌식 생활 등 다양한 원인으로 인해 발생한다고 보고되었으며, 만성 질환으로 연결되어 사망률 증가에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 현재 세계적으로 성별과 나이에 구분 없이 비만 인구는 지속적으로 증가하는 추세를 보이고 있다(Ogden 등 2014). 또한, 비만은 의료비용의 증가로 이어지며(Joo 등 2008), 건강한 삶의 질적 수준을 하락하게 하며, 주관적 건강상태 인식의 저하에도 영향을 미치게 된다(Ha & Park 2012).

에너지 생산과정에서 산소를 이용하는 생명체들은 여러 가지 요인들에 의해 높은 반응성을 가지는 활성산소종(Reactive Oxygen Species: ROS)을 만들게 된다. 체내에 과축적된 활성산소는 세포의 손상을 야기하여 암, 제2형 당뇨병 및 염증

성 질환을 유발한다고 알려져 있다(Wiseman & Halliwell 1996). 식물체들은 외부 환경적 요인에 대한 반응 및 생장 활동의 부산물에 대한 방어기작으로 quercetin, (-)-epigallocatechin gallate (EGCG) 등과 같은 페놀성 화합물을 포함한 다양한 생리활성 물질을 생산하는 것으로 알려져 있으며, 이러한 식물체 유래의 생리활성물질을 통한 항산화 활성에 관한 연구가 보고되어 있다(Hollman 등 1997; Kondo 등 1999; Mian & Mohamed 2001).

지방세포 분화의 전사인자인 peroxisome proliferator activated receptor γ (PPAR γ), CCAT-enhancer-binding protein α (C/EBP α)는 지방형성의 주요 조절인자로 알려져 있다(James & Kim 2000). CCAT-enhancer-binding proteins(C/EBPs) 6종류 중 C/EBP β 와 δ 는 지방형성 초기에 발현량이 증가되어 지방형성을 조절하며, 분화진행 과정 중 C/EBP δ 발현량이 감소하고,

* Corresponding author: Younghwa Kim, School of Food Biotechnology and Nutrition, Kyungsoong University, Busan 48434, Republic of Korea. Tel: +82-51-663-4652, Fax: +82-51-622-4986, E-mail: younghwakim@ks.ac.kr

C/EBP β 의 영향으로 C/EBP α 와 PPAR γ 의 발현량의 증가로 인해 지방형성이 진행된다고 알려져 있다(Farmer SR 2006). 또한, 이러한 전사인자로 인한 adipose-specific 유전자인 adipocyte protein 2(ap2)의 발현이 유도된다. 이에 따라 식물체 속의 생리활성 물질을 통해 지방세포 형성에 관여하는 단백질의 발현 억제 효과에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 더불어 대표적인 생리활성 물질 중 quercetin, (-)-epicatechin 등은 암, 비만과 같은 대사와 관련된 질병의 유발에 기여한다고 알려진 산화적 스트레스의 감소 및 예방에 도움이 된다고 알려져 있다(Coskun 등 2005; Chang 등 2013).

곤달비(*Ligularia stenocephala*)는 국화과의 여러 해살이 식물로서 동양에서 잇은 식용작물로, 전초와 뿌리는 부인병 치료 등의 목적으로 사용되어져 왔다. 또한, 최근 연구에서 곤달비는 항산화 및 항염증 인자를 조절하여 염증성 장 질환을 치료하는 효과가 있다고 보고되어 있다(Debnath 등 2017). 곤달비와 같은 국화과 작물인 곰취(*Ligularia fischeri*)와 참취(*Aster scaber* thunb.) 등의 잇도 식용자원으로 이용하고 있으며, 곰취의 경우, 항염증 및 항암 효과(Bae 등 2009), 참취는 항산화 및 항비만 효과(Choi 등 2013) 등이 보고된 바 있다. 그러나 현재까지 곤달비에 의한 항비만 및 항산화 효과에 관한 연구는 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 국내 자생 식물인 곤달비의 과학적인 기초자료 확보 및 생리활성을 알아보기 위해 항산화 및 지방세포 분화 억제에 대한 실험을 진행하였다.

재료 및 방법

1. 재료 및 시약

Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM), phosphate buffered saline(PBS), fetal bovine serum(FBS), bovine serum(BS), trypsin-EDTA 및 penicillin-streptomycin은 GIBCO사(Gaithersburg, MD, USA)에서 구입하였다. 항산화력 측정에 사용한 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-di-phenyltetrazolium bromide(MTT), catechin, α - α -diphenyl- β -picrylhydrazyl(DPPH), 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS), Folin-Ciocalteu's reagents는 Sigma사(Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA)에서 구입하였고, gallic acid는 Santa Cruz사(Santa Cruz Biotechnology Inc., Dallas, TX, USA)에서 구입하여 실험에 사용하였다.

2. 곤달비 추출물의 제조

실험에 사용된 곤달비는 2015년 7월 부산광역시 대형마트에서 구입하였으며, 동결 건조시킨 후 분쇄하였다. 곤달비 분말은 20배 부피에 해당하는 100% 메탄올을 이용해 실온에서

18시간 동안 추출하였다. 추출액은 여과지(Advantec NO. 2, Tokyo, Japan)를 사용하여 여과한 후, rotary vacuum evaporator(EYELA N-1000, Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 40 $^{\circ}$ C에서 감압 농축하였다. 얻어진 잔사는 200 mg/mL의 농도로 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 용해시켜 -20 $^{\circ}$ C에 보관하며 실험에 사용하였다.

3. 총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법(Folin & Denis 1912)을 응용하여 측정하였다. 농도별로 희석한 곤달비 추출물 50 μ L에 2% Na₂CO₃ 1 mL를 넣고 50% Folin-Ciocalteu's reagents를 첨가하여 상온인 암소에서 5분간 방치 후 ELISA reader기(Thermo Scientific Ltd, Lafayette, CO, USA)를 통해 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀의 함량은 농도별 곤달비 추출물의 흡광도를 표준물질로 사용한 gallic acid의 검량선과 비교하여 mg gallic acid equivalents(GAE)/g residue로 나타내었다.

4. 라디칼 소거능 측정

DPPH radical에 대한 곤달비 추출물의 환원력을 측정하기 위해 DMSO에 녹여 농도별로 희석한 희석액과 에탄올에 녹인 0.2 mM DPPH를 가하여 암소에서 30분 방치한 후 ELISA reader기를 통해 520 nm에서 흡광도를 측정하였다(Blois MS 1958). 또한, 7 mM ABTS와 2.6 mM potassium persulphate를 최종 농도로 혼합하여 실온인 암소에서 24시간 동안 방치하여 ABTS+ \cdot 을 형성시킨 후 실험에 사용하였다. 희석된 용액에 추출물을 가하여 30분 동안 암소에 방치한 후, ELISA reader기를 통해 735 nm에서 흡광도를 측정하였다(Re 등 1999).

5. Reducing power 측정

농도별로 희석한 곤달비 추출물에 pH 6.6의 sodium phosphate buffer, 1% potassium ferricyanide를 첨가하여 50 $^{\circ}$ C에서 20분간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 10% TCA를 첨가하여 상온에서 10,000 rpm으로 원심분리한 후, 상층액에 증류수 및 0.1% ferric chloride와 혼합하여 ELISA reader기를 통해 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 곤달비 추출물의 환원력은 mg TE/g residue로 나타내었다.

6. 3T3-L1의 preadipocyte 분화 유도 및 세포독성

실험에 사용된 3T3-L1 cell은 ATCC(CL-193, Manassas, VA, USA)에서 분양 받았으며, 10% BS가 함유된 DMEM을 이용하여 5% CO₂, 37 $^{\circ}$ C incubator에서 배양하였다. 3T3-L1 cell을 6 well plate에 1 \times 10⁵ cell/well의 농도로 seeding하고, 100%

confluency 상태에 도달하면 2일 후에 1 µg/mL insulin, 0.5 mM IBMX, 1 µM dexamethasone을 포함한 10% FBS-DMEM을 사용하여 이틀간 분화유도를 시켰다. 이틀 후 1 µg/mL insulin이 포함된 10% FBS가 첨가된 DMEM을 사용하여 48시간 동안 분화유도를 시켰다. 이틀이 지난 후 10% FBS 배지로 교체하여 48시간 동안 지방구를 성숙시켰다.

7. 세포독성

곤달비 추출물에 의한 세포독성을 알아보기 위하여 3T3-L1 세포는 96-well plate에서 분화를 유도하였고, 동시에 시료를 처리하여 24시간 동안 배양하였다. Well당 20 µL의 MTT 용액을 첨가하여 5% CO₂, 37°C incubator에서 4시간 동안 반응시킨 후 배지를 제거하고, 생성된 formazan crystal을 DMSO에 녹여 ELISA reader를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였다.

8. Oil red-O

Preadipocyte에서 곤달비 추출물의 지방세포 분화억제 활성을 시험하기 위해 세포 내 지방구의 함량을 측정하였다. 3T3-L1 preadipocyte는 48 well cell culture plate에 6일간 분화시켜 배지를 제거한 후, PBS를 이용하여 2회 세척하였다. 10% formalin이 포함된 PBS로 고정시킨 후 용액을 버린 후 1차 증류수를 이용해 3회 세척한 다음 완전히 건조시켰다. 각 well에 희석한 oil red-O 시약을 넣고, 상온에서 15분간 염색시켰다. 염색이 끝난 후 1차 증류수를 이용해 2회 세척한 후 완전히 건조시켰다. 현미경을 이용해 염색된 세포를 관찰한 후, isopropanol을 이용해 녹인 다음 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.

9. Western blot

곤달비 메탄올 추출물을 통한 지방 분화와 관련된 PPAR γ 및 aP2 단백질의 발현 정도를 알아보기 위해 western blot을 실시하였다. 분화가 이뤄진 3T3-L1 세포에 cell lysis buffer (iNtRON Biotechnology Inc., Seoul, Korea)를 가하여 4°C에서 30분간 방치하였다. 이 후 4°C, 10,000 rpm으로 15분간 원심분리하여 상층액을 얻은 후 단백질 농도를 정량하였다. 정량한 단백질을 sample buffer(BioRad, Hercules, CA, USA)와 혼합하여 끓는 물에서 7분간 끓인 후 -70°C에서 보관하였다. 정량한 단백질은 protein marker(Bioprince-Korea, Seoul, Korea)와 함께 12% running gel과 5% stacking gel에 80 µg를 SDS-polyacrylamide gel 전기영동을 실시하였다. SDS-polyacrylamide gel에서 단백질 분리를 시킨 후 nitrocellulose membrane으로 transfer시켰다. Membrane은 5% non-fat dry milk-TBST(Tris- Buffered Saline and Tween 20)로 1시간 동안

blocking 하였다. PPAR γ 및 aP2 1차 항체를 각각 1,000:1의 비율로 상온에서 1시간 동안 부착시켰고, TBST를 이용하여 5분간 3회 세척하였다. 2차 항체를 2,000:1로 희석하여 상온에서 1시간동안 부착시킨 membrane을 TBST를 이용하여 3회 세척한 후, ECL(BioRad, Hercules, CA, USA)를 처리하여 X-ray film에 현상하였다.

10. 통계 처리

모든 실험 결과는 SASTM(ver 9.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 프로그램을 사용하여 평균과 표준편차(SD) 또는 표준오차(SE)를 산출하였고, Duncan's multiple range test를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 통계적 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 곤달비 추출물의 총 폴리페놀 함량

실험에 사용된 곤달비 메탄올 추출물의 수율은 10.97%이었다. 식물체에 널리 분포되어 있는 phenolic acid, flavonoids, tannin 등을 포함하는 폴리페놀은 다수의 히드록실기(-OH)를 보유하고 있는 구조적 특징을 가지고 있다. 이러한 구조적 특징에 의해 다양한 화합물과의 결합이 용이하며, 항산화, 항염증 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Scalbert & Williamson 2000; Dai & Muper 2010). 곤달비 추출물의 총 폴리페놀 함량은 gallic acid를 표준물질로 사용하여 나타내었을 때 55.950 mg GAE/g residue로 나타났다(Table 1). 이는 Ahn 등(2015)의 연구에서 보고한 삼나무, 미역취, 다래순, 방풍나무, 참나무과 같은 산채들의 총 폴리페놀 함량과 유사한 수준의 함량을 보였다. Cho 등(2015)의 연구에서는 국내 산림식물들의 폴리페놀 함량과 항산화 활성은 높은 연관성을 보이고 있음을 보고하였다. 따라서 다음 실험으로 곤달비 추출물의 라디칼 소거능과 환원력을 측정하였다.

2. 곤달비 추출물의 라디칼 소거능 및 환원력

곤달비 추출물의 항산화력은 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능 실험을 통해 측정하였다. 곤달비 추출물의 ABTS 라디칼 소거능은 Fig. 1A에 나타내었다. 곤달비 추출물의 농도가 높

Table 1. Contents of total polyphenols of methanol extracts from *Ligularia stenocephala*

Sample	Total polyphenols (mg GAE ¹⁾ /g residue)
<i>Ligularia stenocephala</i>	55.950±1.675 ²⁾

¹⁾ GAE: Gallic acid equivalent.

²⁾ Mean values±S.D. (n=3).

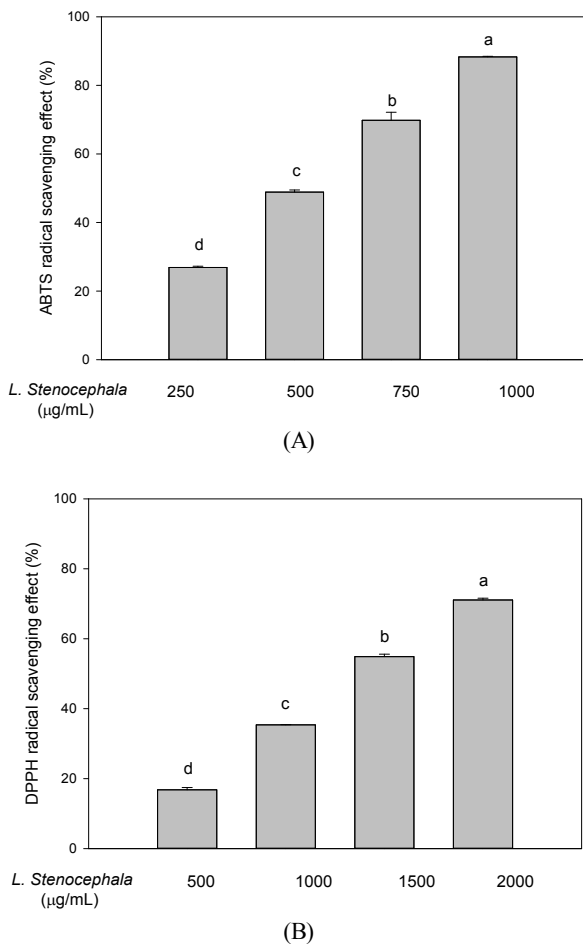


Fig. 1. Scavenging effects of the methanol extracts of *Ligularia stenocephala* on ABTS (A) and DPPH (B) radicals. Each value is expressed as a mean value±SE (n=3). Different letters indicate a significantly difference at $p < 0.05$.

아짐에 따라 라디칼의 소거 활성이 증가하였고, 실험에 사용된 가장 높은 농도(1,000 µg/mL)에서는 88.29%의 라디칼 소거능을 보였다. 또한, 농도별 곤달비 추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 Fig. 1B와 같이 나타났다. 곤달비 추출물의 농도가 증가함에 따라 DPPH 라디칼 소거활성은 농도의존적인 증가를 보였다. 곤달비 추출물 처리 농도가 가장 낮은 500 µg/mL에서 16.81%의 소거 활성을 보였으며, 가장 높은 농도인 2,000 µg/mL에서는 71.08%의 소거능을 보였다. 곤달비 메탄올 추출물의 자유라디칼 소거활성은 ABTS 라디칼의 소거활성이 DPPH 라디칼 소거활성보다 높게 나타났음을 알 수 있었다. 이러한 결과는 자유 라디칼인 DPPH와 양이온 라디칼인 ABTS 라디칼의 차이로 인해 이들과 결합하는 페놀물질의 종류가 다름에 따라 라디칼의 제거능력의 차이가 발생한 것으로 사료되어진다(Wang 등 1998).

철 이온의 용해도가 유지되는 산성 조건에서 철 이온에 수

소이온을 치환하거나, 전자를 전달하여 환원시키는 정도를 측정하는 reducing power 실험의 경우, 매우 신속하고, 간단한 실험이다(Prior 등 2005). 곤달비 메탄올 추출물에 함유된 폴리페놀 화합물들의 전체 환원력을 측정된 실험 결과는 Table 2와 같이 나타났다. 곤달비의 환원력은 trolox를 표준물질로 사용하여 나타내었을 때 258.833 mg TE/g residue로 나타났다. Suh 등(2015)의 곤달비와 같은 속에 속하는 곰취 싹종 3종에 대한 연구 결과에 의하면, (+)catechin, (-)epicatechin, rutin, quercetin 등의 페놀성 화합물 함량이 많음을 보였으며, 환원력 또한 일부 품종에서는 시판 항산화제인 butylated hydroxyanisole보다 높은 환원력을 나타낸다고 보고하였다. 이전 연구에 따르면 곤달비는 benzofuran derivatives(Yan 등 2003), triterpenes(Yan 등 2005) 외 폴리페놀(Yan 등 2004)을 함유하고 있는 것으로 보고되어 있으며, 이로 인해 높은 항산화 활성을 나타내는 것으로 생각된다.

3. 지방구 형성 측정

곤달비 추출물의 3T3-L1세포에서의 독성은 MTT를 실시하여 알아보았다. 실험결과는 Fig. 2A에 나타내었으며, 실험에 사용된 농도의 곤달비 추출물은 3T3-L1 세포에서 독성을 나타내지 않았다. 곤달비 추출물이 지방 전구세포의 지방세포로의 분화 억제는 Fig. 2B와 같이 나타났다. 곤달비 추출물을 처리하지 않을 경우, 3T3-L1 세포에 지방구 형성이 증가한 것을 알 수 있으며, 곤달비 추출물의 농도가 증가함에 따라 지방구 형성이 억제되는 경향을 보였다. 곤달비 추출물의 농도가 가장 높은 200 µg/mL의 처리구에서 곤달비 추출물을 처리하지 않고 분화를 유도한 대조군에 비해 약 26%까지 지방구의 형성을 억제하는 것으로 나타났다. Jung 등(2016)과 Choi 등(2013)의 연구에서는 식방풍잎 물 추출물과 참취 추출물의 지방전구세포의 분화 억제 효과를 보고하였으며, 이는 추출물에 함유된 다양한 플라보노이드 및 폴리페놀로 인한 효과인 것으로 알려져 있다. 녹차의 catechin과 naringenin과 같은 폴리페놀 성분 또한 지방구 형성을 억제한다고 보고되어져 있다(Wee 등 2015). 그 외 Guo 등(2016)도 apigenin, naringin, quercetin 및 emodin과 같은 폴리페놀 물질은 3T3-L1 세포의 지방구 형성을 억제한다고 보고하였다. 따라서 곤달

Table 2. Reducing power of methanol extracts from *Ligularia stenocephala*

Sample	Reducing power (mg TE ¹⁾ /g residue)
<i>Ligularia stenocephala</i>	258.833±6.744 ²⁾

¹⁾ TE: Trolox equivalent.
²⁾ Mean values±S.D. (n=3).

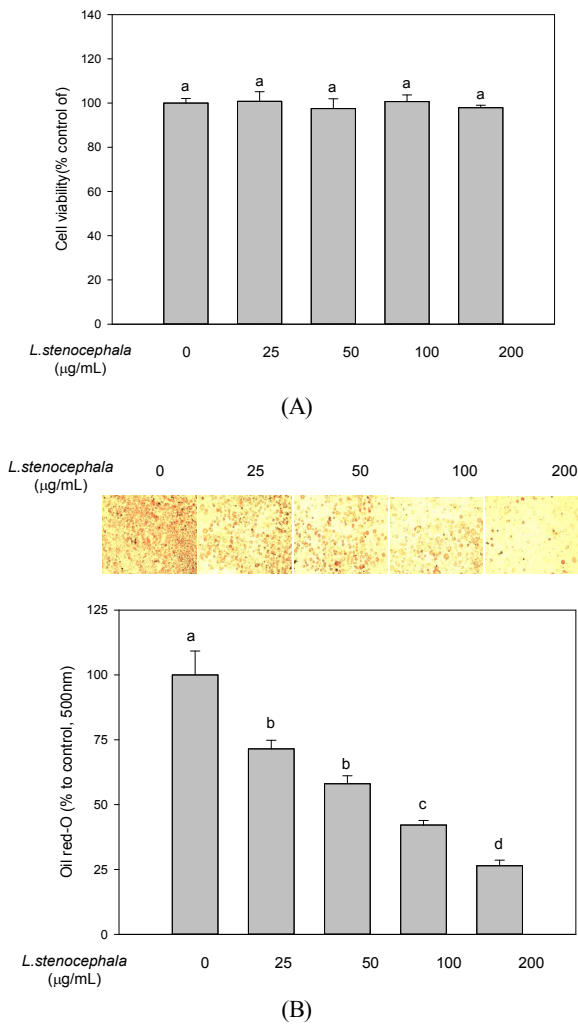


Fig. 2. Effects of methanol extracts from *Ligularia stenocephala* on cytotoxicity (A) and lipid accumulation (B) in 3T3-L1 cells. The vertical bars represent as mean values±SE (n=3) and values marked by same letter are not significant different ($p<0.05$).

비에 함유된 것으로 알려진 폴리페놀 물질(Yan 등 2005)에 의해 지방전구세포의 지방세포 분화억제 효과가 나타나는 것으로 생각된다.

4. 지방세포분화 및 전사인자 발현

지방전구세포인 3T3-L1은 adipogenesis 과정을 통해 지방세포로 분화하게 된다. Adipogenesis 과정에서 발현되는 PPARs, C/EBPs 등 다양한 전사인자들의 조절에 의해 지방구 형성이 일어나게 된다. 따라서 지방구 형성과 관련이 있는 PPAR γ , C/EBP α , aP2 등의 발현을 억제하여 비만을 조절하기 위한 천연물에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(Yun JW 2010). 이에 본 연구에서는 곤달비 추출물이 지방세포분화 전사인자

의 단백질 발현에 미치는 영향을 알아보았다. Fig. 3A와 같이 곤달비 추출물은 PPAR γ 의 발현을 농도의존적으로 감소시켰다. Han 등(2016)의 연구에서는 삼지구엽초와 icariin의 처리에 의해 preadipocyte의 분화과정에서 지방세포 분화인자인 PPAR γ 와 C/EBP α 의 발현이 억제되어 지방구의 형성이 감소한다고 보고하였다. 또한, Lee 등(2015)은 폴리페놀 성분 중 하나인 tricetin 함량이 높은 귀리껍질 추출물이 PPAR γ 등의 지방세포분화 전사인자의 발현을 억제한다고 보고하였다. 또

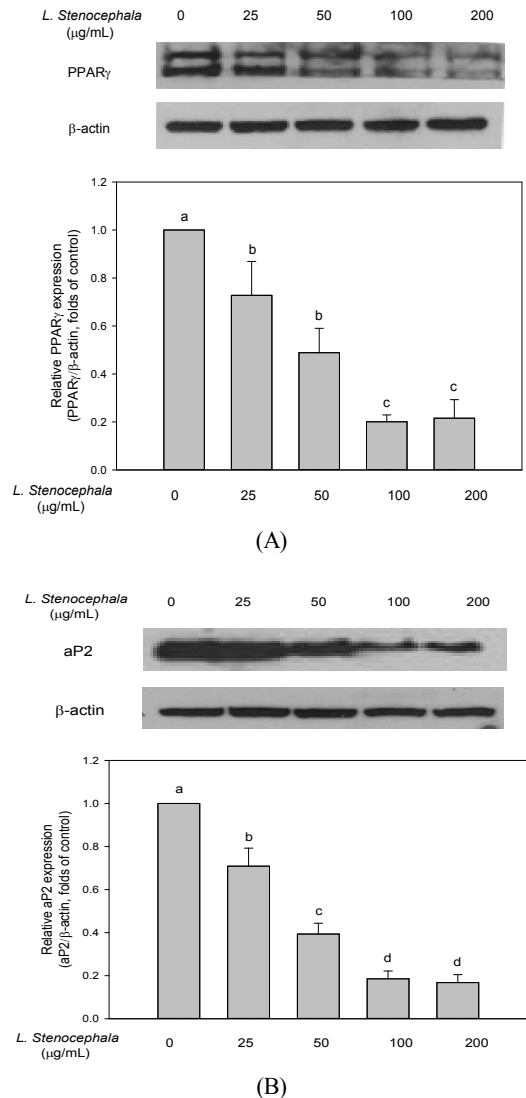


Fig. 3. Effects of methanol extracts from *Ligularia stenocephala* on PPAR γ (A) and aP2 (B) expression in 3T3-L1 cells. 3T3-L1 cells were treated with or without *Ligularia stenocephala* extracts during differentiation periods. The vertical bars represent as mean values±SE (n=3) and different letters indicate a significant difference ($p<0.05$). Blots are representative of at least three independent experiments.

한, 곤달비 추출물은 aP2 단백질의 발현도 농도의존적으로 억제시켰다(Fig. 3B). aP2는 지방세포 내 지방산 결합 단백질로 지방세포 분화기간 중 발현되는 것으로 알려져 있다(Storch & Thumser 2000). Lipoprotein lipase 및 leptin과 더불어 aP2는 성숙한 지방세포의 특징을 나타내는 단백질이다(Tontonoz 1994). 따라서 본 연구를 통해 곤달비 추출물은 3T3-L1 세포에서 지방세포분화 전사인자인 PPAR γ 의 발현을 감소시킴으로써 지방구의 형성을 감소시켰고, 지방세포로의 분화가 억제되어 aP2의 발현 또한 감소한 것을 알 수 있었다.

요약 및 결론

본 연구에서는 곤달비 추출물의 항산화 및 항비만 효과에 대한 연구를 위해 총 폴리페놀 함량, 항산화 활성 및 지방전구세포의 지방구 형성에 미치는 영향을 알아보았다. 곤달비 추출물의 폴리페놀 함량은 55.950 mg GAE/g residue로 나타났으며, DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능이 우수하였다. 곤달비 추출물의 reducing power는 258.833 mg TE/g residue로 나타났으며, 이는 곤달비에 함유된 폴리페놀에 의한 것으로 생각되어진다. 또한, 곤달비 추출물은 3T3-L1 preadipocyte에서 지방구의 형성을 농도의존적으로 억제시켰다. 이는 PPAR γ 등의 지방세포분화 전사인자와 aP2와 같은 지방세포의 특징을 나타내는 단백질의 발현이 감소하면서 지방구의 축적이 억제된 것으로 나타났다. 그러므로 우리나라에서 나물로 섭취하는 곤달비는 항비만 효과가 뛰어날 것으로 생각되며, 비만을 비롯한 만성 질환 예방을 위한 기능성 식품의 원료로 활용될 수 있을 것으로 여겨진다.

References

- Ahn HC, Chung L, Choe EO. 2015. *In vitro* antioxidant activity and α -glucosidase and pancreatic lipase inhibitory activities of several Korean sanchae. *Korean J Food Sci Technol* 47:164-169
- Bae JH, Yu SO, Kim YH, Chon SU, Kim BW, Heo BG. 2009. Physiological activity of methanol extracts from *Ligularia fischeri* and their hyperplasia inhibition activity of cancer cell. *J Bio-Environ Control* 18:67-73
- Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199-1200
- Chang EH, Jeong SM, Park KS, Lim BS. 2013. Contents of phenolic compounds and *trans*-resveratrol in different parks of Korean new grape cultivars. *Korean J Food Sci Technol* 45:708-713
- Cho ML, Lee JS, Lee SR, Son YK, Bae CH, Yeo JH, Lee HS, Ma JG, Lee OH, Kim JY. 2015. Antioxidant activity of 11 species in Korean native forest plants. *Korean J Food Nutr* 28:1098-1106
- 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
- Coskun O, Kanter M, Korkmaz A, Oter S. 2005. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and β -cell damage in rat pancreas. *Pharmacol Res* 51:117-123
- Dai J, Muper RJ. 2010. Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules* 15: 7313-7352
- Debnath T, Kim EK, Debnath NC, Lee KG. 2017. Therapeutic effects of *Ligularia stenocephala* against inflammatory bowel disease by regulating antioxidant and inflammatory mediators. *Food Agric Immunol* 28:1142-1154
- Farmer SR. 2006. Transcriptional control of adipocyte formation. *Cell Metab* 4:263-273
- Folin O, Denis W. 1912. On phosphotungstic-phospho-molybdic compounds as colour reagents. *J Biol Chem* 12:239-249
- Guo XX, Liu J, Cai SB, Wang O, Ji BP. 2016. Synergistic interactions of apigenin, naringin, quercetin and emodin on inhibition of 3T3-L1 preadipocyte differentiation and pancreas lipase activity. *Obes Res Clin Pract* 10:327-339
- Ha YM, Park HJ. 2012. Association between obesity and self-rated health in Korean males and females. *J Korean Biol Nurs Sci* 14:203-211
- Han YK, Song MY, Hwang MS, Hwang JH, Park YK, Jung HW. 2016. *Epimedium koreanum* Nakai and its main constituent icariin suppress lipid accumulation during adipocyte differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. *Chin J Nat Med* 14:671-676
- Hollman PC, van Trijp JM, Buysman MN, vd Gaag M, Mengelers MJ, de Vries JH, Katan MB. 1997. Relative bioavailability of the antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man. *FEBS Lett* 418:152-156
- James MN, Kim YC. 2000. Adipocyte differentiation and gene expression. *J Nutr* 130:3122S-3126S
- Joo NS, Park YW, Park TS, Shin GH, Park RW, Kim BT. 2008. Medical cost and hospital visit by obesity and central obesity. *Korean J Obes* 17:91-98

- Jung HK, Sim MO, Jang JH, Kim TM, An BK, Kim MS, Jung WS. 2016. Anti-obesity effects of *Puecedanum japonicum* Thunberg L. on 3T3-L1 cells and high-fat diet-induced obese mice. *Korean J Plant Res* 29:1-10
- Kondo K, Kurihara M, Miyata N, Suzuki T, Toyoda M. 1999. Scavenging mechanisms of (-)-epigallocatechin gallate and (-)-epicatechin gallate on peroxy radicals and formation of superoxide during the inhibitory action. *Free Radic Biol Med* 27:855-863
- Lee DB, Park HY, Kim SH, Park YH, Bang MH, Imm JY. 2015. Anti-adipogenic effect of oat hull extract containing tricin on 3T3-L1 adipocytes. *Process Biochem* 50:2314-2321
- Miean KH, Mohamed S. 2001. Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. *J Agric Food Chem* 49:3106-3112
- Nam YJ, Lee DU. 2013. Biological effect of the leaves and roots of *Ligularia stenocephala*. *Life Sci* 23:1381-1387
- Ogden CL, Carroll MD, Kit BK, Flegal KM. 2014. Prevalence of childhood and adult obesity in the United States, 2011-2012. *J Am Med Assoc* 311:806-814
- Prior RL, Wu X, Schaich K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem* 53:4290-4302
- 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
- Scalbert A, Williamson G. 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr* 130:2073S-2085S
- Storch J, Thumser AE. 2000. The fatty acid transport function of fatty acid-binding proteins. *Biochimica et Biophysica Acta* 1486:28-44
- Suh JT, Choi EY, Yoo DL, Kim KD, Lee JN, Hong SY, Kim SJ, Nam JH, Han HM, Kim MJ. 2015. Comparative study of biological activities at different harvesting times and new varieties for highland culture of Gom-chwi. *Korean J Plant Res* 29:391-399
- Tontonoz P, Hu E, Graves RA, Budavari AI, Spiegelman BM. 1994. mPPAR gamma 2: Tissue-specific regulator of an adipocyte enhancer. *Genes Dev* 8:1224-1234
- Toyoda K, Yaoita Y, Kikuchi M. 2006 Constituents of the leaves and roots of *Ligularia stenocephala* Matsum. et Koidz. *J Nat Med* 60:329-330
- Wang MF, Li JG, Rangarajan M, Shao Y, LaVoie EJ, Huang TC, Ho CT. 1998. Antioxidative phenolic compounds from Sage (*Salvia officinalis*). *J Agric Food Chem* 46:4869-4873
- Wee JH, Sung HM, Jung KO, Kim SJ, Shin YR, Park JH, Kim JD. 2015. Anti-adipogenic effects of the water extracts of defatted green tea seed cake. *Korean J Food Sci Technol* 47:525-533
- Wiseman H, Halliwell B. 1996. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: Role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochem J* 313:17-29
- Yan FL, Wang A, Jia ZJ. 2005. Three new polymeric isopropenyl benzofurans from *Ligularia stenocephala*. *Pharmazie* 60:155-159
- Yan FL, Wang A, Jia ZJ. 2004. New phenol derivatives from *Ligularia stenocephala*. *J Chem Res* 2004:742-743
- Yan FL, Wang A, Jia ZJ, He L. 2003. A new isopropenyl benzofuran-type tetramer from *Ligularia stenocephala*. *Chin Chem Lett* 14:1253-1254
- Yun JW. 2010. Possible anti-obesity therapeutics from nature - A review. *Phytochemistry* 71:1625-1641

Received 19 October, 2017

Revised 07 November, 2017

Accepted 12 November, 2017