

달맞이순 (*Oenothera laciniata*) 에탄올 추출물 섭취가 고지방식으로 유도한 비만 마우스에서 항산화 및 비만억제효과*

곽충실^{1†}, 김미주¹, 김선기², 박순영³, 김인규⁴, 강훈수²

¹서울대학교 의과대학 노화고령사회연구소, ²(주)셀투인, ³(주)다인내추럴, ⁴서울대학교 의과대학 생화학교실

Antioxidant and antiobesity activities of oral treatment with ethanol extract from sprout of evening primrose (*Oenothera laciniata*) in high fat diet-induced obese mice*

Chung Shil Kwak^{1†}, Mi-Ju Kim¹, Sun Gi, Kim², Sunyeong Park³, In Gyu Kim⁴ and Heun Soo Kang²

¹Institute on Aging, Seoul National University, Seoul 03080, Korea

²Cell2in, Inc., Seoul 03080, Korea

³Dain Natural Co., Ltd. Seoul 04788, Korea

⁴Department of Biochemistry and Molecular Biology, Seoul National University College of Medicine, Seoul 03080, Korea

ABSTRACT

Purpose: Sprouts of evening primrose (*Oenothera laciniata*, OL) were reported to have high contents of flavonoids and potent antioxidant activity. This study examined the antioxidant and antiobesity activities of OL sprouts to determine if they could be a natural health-beneficial resource preventing obesity and oxidative stress. **Methods:** OL sprouts were extracted with 50% ethanol, evaporated, and lyophilized (OLE). The *in vitro* antioxidant activity of OLE was examined using four different tests. The antiobesity activity and *in vivo* antioxidant activity from OLE consumption were examined using high fat diet-induced obese (DIO) C57BL/6 mice. **Results:** The IC₅₀ for the 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) radical scavenging and superoxide dismutase (SOD)-like activities of OLE were 26.2 µg/mL and 327.6 µg/mL, respectively. OLE exhibited the ferric reducing antioxidant power (FRAP) activity of 56.7 µg ascorbic acid eq./mL at 100 µg/mL, and an increased glutathione level by 65.1% at 200 µg/mL compared to the control in the hUC-MSC stem cells. In an animal study, oral treatment with 50 mg or 100 mg of OLE/kg body weight for 14 weeks reduced the body weight gain, visceral fat content, fat cell size, blood leptin, and triglyceride levels, as well as the atherogenic index compared to the high fat diet control group (HFC) ($p < 0.05$). The blood malondialdehyde (MDA) level and the catalase and SOD-1 activities in adipose tissue were reduced significantly by the OLE treatment compared to HFC as well ($p < 0.05$). In epididymal adipose tissue, the OLE treatment reduced the mRNA expression of leptin, PPAR- γ and FAS significantly ($p < 0.05$) compared to HFC while it increased adiponectin expression ($p < 0.05$). **Conclusion:** OLE consumption has potent antioxidant and antiobesity activities via the suppression of oxidative stress and lipogenesis in DIO mice. Therefore, OLE could be a good candidate as a natural resource to develop functional food products that prevent obesity and oxidative stress.

KEY WORDS: *Oenothera laciniata*, antioxidant, antiobesity, diet-induced obese model, adipokines

서론

비만과 대사증후군의 발병률은 국내 뿐 아니라 많은 국가에서 빠르게 증가하고 있어 심각한 보건사회적 문제로 대두되고 있다. 비만은 지방조직, 특히 내장지방세포에 중

성지방이 과도하게 축적된 상태를 말하나 점차적으로 간이나 근육, 췌장 등 다른 여러 기관에도 축적되어 정상적인 기능을 방해함으로써 다양한 질병을 야기한다. 지방조직은 잉여에너지를 저장하는 장소일 뿐 아니라 생리학적으로 매우 중요한 역할을 하는 다양한 아디포카인

Received: October 2, 2019 / Revised: November 7, 2019 / Accepted: November 11, 2019

* This study was supported by grants (P0002206) from Ministry of Trade, Industry and Energy, Republic of Korea.

† To whom correspondence should be addressed.

tel: +82-2-740-8506, e-mail: kwakcs@snu.ac.kr

© 2019 The Korean Nutrition Society

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.

(adipokines)을 합성 분비함으로써 전신의 대사과정에 폭넓게 영향을 미치기 때문에 내분비 기관으로도 인식되고 있다 [1]. 특히, 내장지방조직에 지방이 과도하게 축적되면 렙틴 (leptin), 아디포넥틴 (adiponectin), 레지스틴 (resistin), TNF- α , plasminogen activator inhibitor-1 등 아디포카인의 분비 이상이 초래되고, NADPH oxidase 발현 증가, 대식세포의 침투 증가, 활성 산소 (ROS)의 생성 증가 등으로 인하여 만성적인 염증 및 산화적 스트레스를 증가 시킴으로써 인슐린 저항성, 당뇨병, 대사증후군, 심혈관질환, 알츠하이머와 같은 퇴행성 신경질환, 암 등의 발생을 촉진한다고 알려져 있다 [1-5].

한편, 역으로 세포 내 산화적 스트레스가 증가하면 산화환원 상태에 민감한 (redox-sensitive) 전사인자들의 작용에 의하여 지방세포의 증식과 분화가 촉진되기 때문에 비만을 촉진한다는 보고도 증가하고 있다 [6]. 최근 연구보고에 따르면 퀘세틴 (quercetin), 에피갈로카테킨 (epigallocatechin), 갈릭산 (gallate), 커큐민 (curcumin), 레스베라트롤 (resveratrol) 등의 플라보노이드와 폴리페놀 함량이 높은 식물의 추출물을 지방세포에 처리하였을 때 산화적 스트레스가 감소하였고 이로 인하여 지방세포의 분화 및 성숙이 억제되었다 [7-10]. 또한, 고지방식이의 섭취로 비만을 유도한 동물에게 항산화효과가 우수한 식물의 추출물을 함께 섭취시킨 결과 지방합성 관련 인자들의 발현은 억제시킨 반면 지방의 분해 및 산화에 관여하는 인자들의 발현은 촉진되어 체중증가 및 지방축적을 억제시키는 항비만 효과를 나타내었다 [11-13]. 더 나아가 사람을 대상으로 한 역학연구나 중재연구에서도 폴리페놀이 많이 함유된 식사를 장기간 섭취하였을 때 비만과 인슐린 저항성, 고지혈증 등을 완화함으로써 심혈관질환 등의 위험성이 유의하게 낮아졌다는 보고 [11,14-16]가 이어졌고, 그 결과 항산화효과가 우수한 물질들의 일부는 항비만 물질로도 인정받게 되었다 [17]. 이에 비만 및 대사증후군 예방과 치료과정에 항산화물질이 풍부한 식물을 활용하는 전략에 더욱 관심을 갖게 되었고 천연의 식물로부터 항산화효능과 항비만효능을 동시에 갖는 소재를 발굴하고자 하는 노력이 증대되고 있다.

우리나라에서는 전통적으로 봄철에 달맞이꽃 (*Oenothera lacinata*)에서 새로 돌아 나온 어린잎과 어린줄기를 채취해서 삶아 나물로 먹어 왔다. 달맞이꽃의 종자유는 감마리노렌산을 다량 함유하고 있어 염증반응을 억제시키는 효과가 있다고 알려져 있고 [18], 뿌리는 한방에서 월견초라 불리는데 피부염증에 효과가 있다고 알려져 있다 [19]. 또한, 뿌리를 제외한 부분의 50% 메탄올 추출물은 *in vitro* 시스템에서 자극을 받은 인간 중성구에 처리했을 때 ROS

생성을 억제하는 항산화효과가 우수하였고 hyaluronidase와 lipoxygenase 활성을 억제함으로써 항염증활성을 보였다고 보고 된 바 있다 [20]. 그러나, 한국인들이 채소로 흔히 섭취해 온 국내산 달맞이순에 대한 생리활성 연구는 거의 없는 실정이다. 최근, 본 연구팀은 국내산 달맞이순이 높은 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 갖고 있고, 에탄올 추출물의 항산화효과가 매우 우수함을 보고하였다 [21]. 따라서, 본 연구에서는 항산화효과가 우수한 달맞이순 추출물을 섭취 시 항비만효과를 나타낼 수 있는지 동물모델을 이용하여 확인하고자 하였다.

연구방법

시료의 구입, 전처리 및 추출

달맞이순 건나물을 농업회사법인 하늘농가(주)로부터 구입하여 분쇄기 (PIN MILL HKP-140, Korea Pulverizing Machinery, Korea)를 이용하여 잘게 부수었다. 시료 무게의 7배 부피의 50% 주정 (Samchun Chemicals, Seoul, Korea)을 넣고 상온에서 24시간 동안 교반 추출한 다음 다시 80°C에서 24시간 동안 교반 환류 추출하였다. 추출액의 이물질 제거를 위하여 10 μ m 여과포를 이용하여 2회 여과한 후 rotary vacuum evaporator (EYELA, Tokyo, Japan)로 70°C, 감압 하에 최대한 에탄올을 증발시켜 농축액을 얻었고 이를 오븐 건조기 (Daesan Machinery, Gyeongju, Korea)를 이용하여 70°C에서 48시간 동안 건조시킨 다음 분쇄기로 분말화하여 최종 추출시료 (OLE)를 얻었다. 건 달맞이순으로부터 얻은 최종 OLE의 수율은 18.7%였다.

in vitro 항산화 효과 측정

달맞이순 추출물의 DPPH 라디칼 소거능과 ferric reducing antioxidant power (FRAP)는 이전의 연구 [21]와 같은 방법으로 측정하였다. Superoxide dismutase (SOD) 유사활성은 Marklund와 Marklund의 방법 [22]에 따라 pyrogallol의 자동산화를 억제하는 효과를 측정하였다. 1 mM EDTA를 포함하는 50 mM Tris-cacodylic acid buffer (pH 9.0)에 추출시료를 여러 농도로 용해시킨 다음 pyrogallol을 최종농도가 2 mM이 되도록 넣고 15분 후에 1 N 염산을 넣어 반응을 중지시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군에 비하여 감소된 흡광도의 비율로부터 산화억제율을 계산하였다. 세 가지 방법 모두 ascorbic acid (AA)를 양성대조시약으로 사용하였고, 각 시료의 항산화효과는 ascorbic acid equivalent를 계산하여 μ g AA eq./mL 단위로 제시하였다.

세포 내 glutathione (GSH) 수준 측정

세포 GSH 수준은 최근에 개발된 FreSHtracer (Cell2in, Seoul, Korea)를 이용하여 측정하였는데, FreSHtracer는 GSH와 가역적으로 반응하는 프로브로 살아있는 세포에서도 GSH 수준을 측정할 수 있다 [23]. FreSHtracer는 580 nm에서 형광을 방출하지만 (F580), GSH의 티올과 반응하면 510 nm에서 형광을 방출 (F510)하기 때문에 F510/F580의 비율을 구하여 비교함으로써 GSH 수준을 평가하였다. 인간 탯줄 유래 중간엽줄기세포 (Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cell, hUC-MSC)를 계대배양하여 세포를 96 well plate (PerkinElmer, Waltham, MA, USA)에 3×10^4 cells/mL의 밀도로 분주하고 10% Fetal Bovine Serum과 1% penicillin-streptomycin을 포함하는 Minimum Essential Medium α (Gibco, Rockville, MD, USA) 배양액을 넣어 37°C, 5% CO₂ 조건에서 24시간 배양하였다. 배양액을 교환하면서 추출시료를 농도별로 처리하고 24시간 동안 더 배양하였다가 배지를 제거하고 HBSS (LB 003-02, Welgene, Gyeongsan, Korea)로 2회 수세한 후 5 μ M FreSHtracer를 처리하고 1시간 동안 37°C에서 배양하였다. FreSHtracer를 제거하고, HBSS 100 μ L를 넣은 후 Operetta high-content imaging system (PerkinElmer, USA)을 이용하여 510 nm와 580 nm에서 형광의 강도를 측정하였다. 양성대조시약으로는 α -tocopherol (Sigma-aldrich, St. Louis, MO, USA)을 사용하였다.

실험동물 및 비만유도

동물실험을 위하여 5주된 C57BL/6 마우스 수컷을 (주) 대한 바이오링크에서 구입하여 온도 ($22 \pm 2^\circ\text{C}$)와 습도 ($50 \pm 15\%$), 12시간 명암주기 (07:00 ~ 19:00) 조건의 무균 사육실에서 사육하였다. 1주일간의 적응기간 후 체중을 측정하고, 각 군당 8마리씩 평균체중이 동일하도록 4개 군으로 나누었다; (1) 저지방식이군 (low fat control, LFC), (2) 고지방식이군 (high fat control, HFC), (3) OLE 저농도군 (OL50), (4) OLE 고농도군 (OL100). 식이는 LFC군은 rodent 10% fat diet (D12450B, Research Diet, New Brunswick, NJ, USA)를, 나머지 3개 군은 rodent 45% fat diet (D12451, Research Diet)이 공급되었다. 이 때 식이와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다. 동시에 OL50군과 OL100군에는 달맞이순 추출시료 (OLE)를 생리적 식염수에 용해시켜 각각 50 mg/kg body weight (BW)와 100 mg/kg BW 수준으로 14주 동안 주 5일 경구 투여하였고, LFC와 HFC군에게는 생리적 식염수를 투여하였다. 식이는 주 2회 신선한 것으로 공급하면서 식이섭취량을 측정하였고, 체중은 주 1회 측정하였다. 본 동물실험은 우정유

전체연구센터의 실험동물윤리운영위원회의 승인을 받아 수행하였다 (WJIACUC- 20181118-4-18).

혈액과 간, 내장지방조직의 채취 및 전처리

실험동물은 투여기간이 종료된 후 절식시키고 안와정맥총 (venous orbital plexus)으로부터 혈액을 채취하여 EDTA-모세관 채혈관 (BD, Canaan, CT, USA)에 넣고 잘 흔들어 준 후 10,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈장을 모아 냉동 보관하였다. 이어서, 경추탈출에 의하여 희생시킨 후 개복하여 간과 복강 내 부고환지방, 장간막지방, 신장지방을 떼어 무게를 측정한다 다음 잘라서 Hematoxylin & Eosin (H&E) 염색용은 4% 파라포름알데히드 용액 (pH 7.0 ~ 7.6, Biosolution, Korea)에 넣고, RNA추출용은 Trizol 용액 (RNAiso plus, Takara, Tokyo, Japan)에 넣고, 나머지는 생화학 분석을 위하여 튜브에 담아 액체질소로 급속 냉동시킨 후 -80°C 냉동고에서 보관하였다.

혈액분석

혈장의 중성지방, 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 농도는 AceChem kit (Youngdong Pharm., Korea)를 이용하여 측정하였고, 랩틴 농도와 malondialdehyde (MDA) 농도는 각각 KOMA ELISA kit (KO331250, KomaBiotech, Seoul, Korea)와 Elabscience ELISA kit (E-EL-0060, Elabscience, Houston, TX, USA)를 이용하여 측정하였다.

면역화학적 염색 및 지방세포 크기 측정

파라포름알데히드 용액에 고정시켜 두었던 부고환 지방조직을 파라핀 포매한 후 4 μ m 두께로 잘라 H&E 염색을 시행하였다. 지방세포의 조직학적 관찰을 위하여 BX51 광학현미경과 연결된 D70 디지털 카메라 (Olympus, Tokyo, Japan)를 이용하여 각 표본마다 3군데의 이미지를 촬영 저장하였고 Image J 프로그램 (NIH, Bethesda, MD, USA)을 이용하여 표본 당 60개의 지방세포들의 면적을 측정하였다.

부고환지방에서 항산화효소 활성 측정

부고환 지방조직의 일정 무게를 취한 후 9배 부피의 차가운 1 mM EDTA를 함유하는 150 mM KCl, 50 mM Tris/HCl 완충액 (pH 7.4)을 넣고 균질기 (Ultra-Turrax, T8, IKA Works, Wilmington, NC, USA)를 이용하여 균질화한 다음 800 g, 4°C에서 10분간 원심분리하여 상층액을 얻었다. 이를 다시 10,000 g, 4°C에서 15분간 원심분리한 후 상층액을 얻어 -80°C 에서 냉동 보관하였다가 항산화 효소활성을 측정하였다. Catalase 활성은 Abei의 방법 [24]

으로 측정하였고, Cu, Zn-superoxide dismutase (SOD-1)의 활성은 Marklund와 Marklund의 방법 [22]에 따라 측정하였으며, glutathione peroxidase (GPx) 활성은 Tappel 등의 방법 [25]으로 측정하였다. 단백질 농도는 상업용 시약 (Pierce, Rockford, IL, USA)을 이용하여 bicinchronic acid 방법으로 측정하였다.

RNA 추출 및 real-time PCR

부고환 지방조직에서 RNeasy® Lipid Tissue Mini kit (Qiagen, Hilden, Germany)을 이용하여 제조사의 protocol에 따라 총 RNA를 추출 분리하였으며, SuperScript™ II Reverse Transcriptase kit (Thermo Fisher, Waltham, MA, USA)을 사용하여 cDNA를 합성하였다. 유전자들의 mRNA 발현정도를 측정하기 위하여 SYBR FAST qPCR Master Mix (2X) Universal (Kapa Biosystems, Wilmington, MA, USA)을 이용하였고, 기기는 real-time PCR detection systems (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)을 사용하였다. Reference gene으로 glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)를 사용하였고, mRNA의 상대적인 발현량은 2- $\Delta\Delta C_t$ 방법으로 계산하였다. PCR의 증폭은 hot start (95°C, 10분), denaturation (95°C, 10초), annealing (56~65°C, 30초), extension (72°C, 20초)의 과정을 40 cycle 시행하였다. 본 연구에서 사용한 primer는 Table 1과 같다.

통계분석

실험의 모든 결과는 평균 ± 표준오차로 나타내었다. 실험군 간 평균값의 유의성 차이는 Statistics Analysis Systems 통계프로그램 (ver 9.4, SAS Institute, Cary, NC, USA)을 이용하여 ANOVA-test 실시하여 실험군 간에 유의한 차이가 있는 경우 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan multiple range test로 사후 검정을 하였다.

결 과

달맞이순 50% 에탄올 추출물 (OLE)의 *in vitro* 항산화 효과

OLE의 DPPH 라디칼 소거능 측정 결과는 Table 2와 같다. DPPH 라디칼을 50% 제거하는 시료농도 (IC_{50})는 26.2 $\mu\text{g/mL}$ 이었다. 20 $\mu\text{g/mL}$ 와 50 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 DPPH 라디칼은 각각 45.2%, 78.0% 감소되었고, 이는 각각 1.74 $\mu\text{g AA eq./mL}$ 와 3.57 $\mu\text{g AA eq./mL}$ 에 해당되는 효과였다. OLE의 SOD 유사활성을 측정한 결과 pyrogallol 자동산화를 50% 억제하는 농도인 IC_{50} 은 327.6 $\mu\text{g/mL}$ 이었다. 200

Table 1. Primer sequences

PPAR γ	F	5'-GCC CAC CAA CTT CGG AAT C-3'
	R	5'-TGC GAG TGG TCT TCC ATC AC-3'
SREBP-1c	F	5'-GGA GCC ATG GAT TGC ACA TT-3'
	R	5'-GGC CCG GGA AGT CAC TGT-3'
FAS	F	5'-AGC CCA CGT CGT AGC AAA CCA-3'
	R	5'-GCA GGG GCT CTT GAC GGC AG-3'
CPT-1	F	5'- TGT TGG GTA TGC TGT TCA TGA CA-3'
	R	5'- GCG GCC TGG GTA GGA AGA-3'
Leptin	F	5'-TGT GCT GCA GAT AGC CAA TGA-3'
	R	5'-TGG AGA AGG CCA GCA GAT G-3'
Adiponectin	F	5'-AAC CCC TGG CAG GAA AGG-3'
	R	5'-TGA ACG CTG AGC GAT ACA CAT-3'
GAPDH	F	5'-GGG AAG CCC ATC ACC ATC T-3'
	R	5'-CGG CCT CAC CCC ATT TG-3'

Table 2. *in vitro* antioxidant activities of OLE

	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Inhibition rate (%)	$IC_{50}^{5)}$ ($\mu\text{g/mL}$)	AAEA ⁶⁾ (AA $\mu\text{g/mL}$)
DPPH ¹⁾	10	29.5 ± 2.5	26.2 ± 4.2	0.87 ± 0.14
	20	45.2 ± 6.1		1.74 ± 0.34
	50	78.0 ± 8.2		3.57 ± 0.46
	100	95.0 ± 0.6		4.52 ± 0.03
SOD ²⁾	100	5.9 ± 0.6	327.6 ± 12.9	11.2 ± 0.9
	200	25.4 ± 0.4		42.1 ± 0.6
	400	64.2 ± 3.8		103.5 ± 6.1
	600	98.3 ± 0.9		157.6 ± 1.4
		O.D. ⁴⁾		AAEA (AA $\mu\text{g/mL}$)
FRAP ³⁾	0	0.007 ± 0.001		-
	100	0.364 ± 0.002		56.7 ± 1.7
	250	0.934 ± 0.008		130.5 ± 2.3
	500	1.665 ± 0.025		260.9 ± 1.6

Values are means ± SD.

1) DPPH radical scavenging activity

2) Superoxide dismutase-like activity

3) Ferric reducing antioxidant power

4) Optical density at 953 nm

5) Sample concentration showing 50% inhibition

6) Ascorbic acid equivalent antioxidant activity

$\mu\text{g/mL}$ 과 400 $\mu\text{g/mL}$ 로 처리 시 산화 억제율은 각각 25.4%와 64.2%이었고, 이는 각각 42.1 $\mu\text{g AA eq./mL}$ 과 103.5 $\mu\text{g AA eq./mL}$ 에 해당하는 항산화효과였다 (Table 2). OLE의 환원력 (FRAP)을 측정한 결과 100, 250, 500 $\mu\text{g/mL}$ 의 시료는 각각 56.7, 130.5, 260.9 $\mu\text{g AA eq./mL}$ 에 해당하는 항산화효과를 나타내었다 (Table 2).

세포에서 GSH 수준 상승을 통한 OLE의 항산화효과

서로 다른 passage (4-12)의 hUC-MSC 세포를 이용하여 FreSHtracer 프로브로 GSH 수준을 측정 비교한 결과

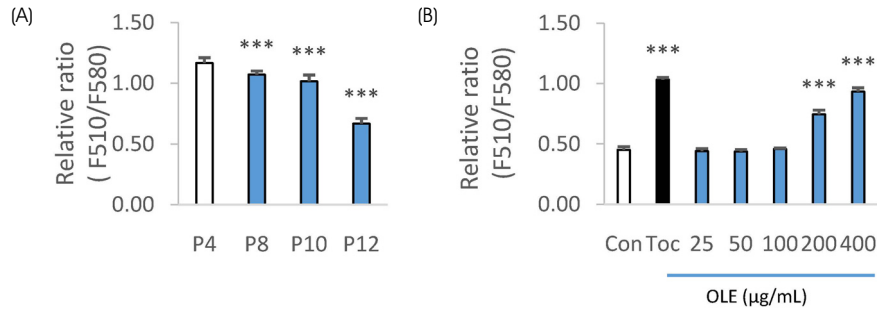


Fig. 1. Effect of OLE treatment on the GSH level in hUC-MSC cells. (A) GSH level according to the different passages of the cells, (B) Effect of OLE treatment on the GSH level in passage 15 cells. Each bar represents the mean \pm SD. *** $p < 0.001$ compared with passage 4 (p4) or control.

passage가 높아질수록 점차 낮아져서 passage 12의 GSH 수준은 passage 4에 비하여 42.8%나 감소하였다 (Fig. 1A). 이 결과를 바탕으로 GSH 수준이 낮아진 passage 12의 세포를 이용하여 OLE를 여러 농도로 처리한 결과 200 µg/mL와 400 µg/mL 농도에서 GSH 수준이 대조군에 비하여 각각 65.1%와 106.6% 상승하였고 ($p < 0.05$), 양성대조시약인 α -tocopherol은 100 µM에서 128.6% 증가시켰다 (Fig. 1B).

고지방식으로 유도한 비만 마우스 모델에서 OLE의 체중증가 억제 효과

실험기간 동안 실험동물의 체중 변화는 Fig. 2와 같으며, 체중증가량과 식이효율은 Table 3과 같다. 실험식이 투여 시작 4주 이후부터 고지방식이식이군이 저지방식이군에 비하여 체중이 유의하게 높아지기 시작하였고 ($p < 0.05$), 8주 이후부터 OLE의 투여에 따른 체중증가 억제효과가 나타나기 시작하였다 ($p < 0.05$) (Fig. 2).

14주 동안의 체중증가량은 HFC군이 LPC군에 비하여 유의하게 높았으나 ($p < 0.05$), 고지방식이와 함께 OLE를 경구투여한 OL50군과 OL100군의 체중증가량 및 간 무게가 HFC군에 비하여 유의하게 낮았다 ($p < 0.05$). 식이효율 또한 HFC군은 LFC군에 비하여 유의하게 높았으며 ($p < 0.05$), OL50군과 OL100군은 HFC군보다 유의하게 낮았으나 LFC보다는 높은 수준이었다 ($p < 0.05$). 체중증가량, 간

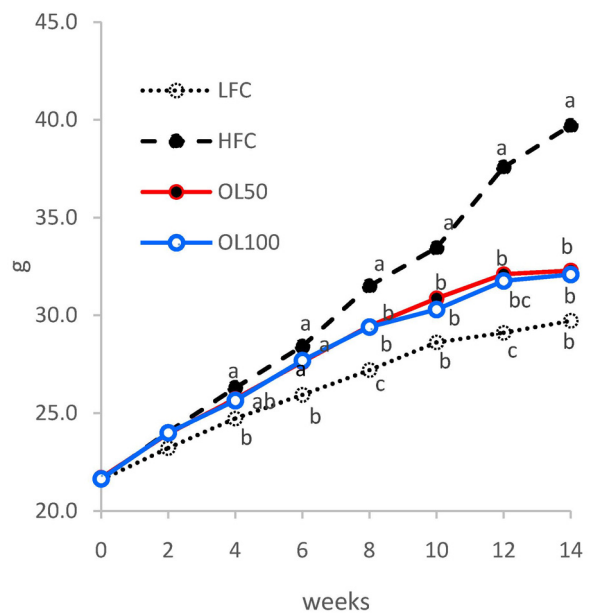


Fig. 2. Effect of OLE oral treatment on the body weight gain of mice fed high-fat diet. Data are represented as the mean \pm SD ($n = 8$). Means that do not share the same superscript are significantly different by ANOVA/Duncan's multiple test at $p < 0.05$.

무게, 식이효율 모두 OL50군과 OL100군 사이에 유의한 차이는 없었다 (Table 3).

Table 3. Body weight gain, liver weight and food efficient ratio (FER) in mice

Group (n = 8)	Initial BW (g)	Final BW (g)	BW gain (g)	Liver (g)	FER (%)
LFC	21.6 \pm 0.91 ^{NS1)}	29.7 \pm 3.11 ^{b2)}	8.12 \pm 2.58 ^b	1.26 \pm 0.11 ^{ab}	3.00 \pm 0.93 ^c
HFC	21.6 \pm 0.59	39.7 \pm 2.87 ^a	18.07 \pm 2.74 ^a	1.33 \pm 0.22 ^a	7.61 \pm 1.14 ^a
OL50	21.7 \pm 0.46	32.2 \pm 2.79 ^b	10.58 \pm 2.43 ^b	1.10 \pm 0.14 ^b	4.35 \pm 0.63 ^b
OL100	21.6 \pm 0.73	32.1 \pm 3.59 ^b	10.44 \pm 3.09 ^b	1.11 \pm 0.13 ^b	4.43 \pm 1.28 ^b

Values are means \pm SD.

1) No significance

2) Means that do not share the same superscript are significantly different by ANOVA/Duncan's multiple test at $p < 0.05$.

OLE의 내장지방량 및 지방세포 크기 감소효과

부고환지방, 장간막지방, 신장지방 무게 및 이들 3가지를 합친 총 내장지방량은 HFC군이 LFC군에 비하여 유의하게 높았고 ($p < 0.05$), OL50군과 OL100군은 HFC군보다 유의하게 낮았다 ($p < 0.05$). HFC군의 총 내장지방량은 LFC군의 약 2.9 배로 크게 증가하였으나, OL50군과 OL100군은 HFC에 비하여 각각 40.5%와 45.9% 낮았다 (Fig. 3A).

한편, 부고환지방을 H&E 염색하여 촬영한 이미지는 Fig. 4B와 같고, 지방세포들의 크기를 측정된 결과는 Fig. 4C와 같다. HFC군의 지방세포 평균면적은 LFC군의 약 2.2 배로 유의하게 증가하였고 ($p < 0.05$), OL50과 OL100군은 HFC군에 비하면 각각 33.1%와 35.4% 낮았지만 ($p < 0.05$) LFC군보다는 여전히 더 컸다 ($p < 0.05$). 복부지방량과 지방세포 크기에 있어서도 OL50과 OL100군 사이에 유의한 차이는 없었다.

OLE의 혈중 렙틴, 중성지방 농도 및 동맥경화지수 감소효과

HFC군의 혈중 렙틴 농도는 LFC군의 약 2.5배로 크게 상승하였고, OL50군과 OL100군의 렙틴농도는 LFC군에 비하여는 높았지만, HFC와 비교하면 각각 26.7%와 36.1% 감소하였다 ($p < 0.05$) (Table 4).

혈중지질농도를 살펴보면 HFC군의 중성지방 농도는 LFC군에 비하여 약간 상승하였으나 통계적 유의성은 없었고, 총 콜레스테롤 농도 및 HDL-콜레스테롤 농도는 모두 유의하게 상승하였다 ($p < 0.05$). OL50군은 중성지방, 총콜레스테롤 농도가 통계적으로 유의하지는 않았으나 HFC군에 비하여 감소하는 경향을 보였고 동맥경화지수는 변화가 없었다. 반면, OL100군은 HFC군에 비하여 중성지방 농도가 유의하게 감소하였고 ($p < 0.05$) 총콜레스테롤 농도는 감소하는 경향을 보임으로써 HDL-콜레스테롤 농도의 증가가 없었음에도 동맥경화지수가 유의하게 감소하

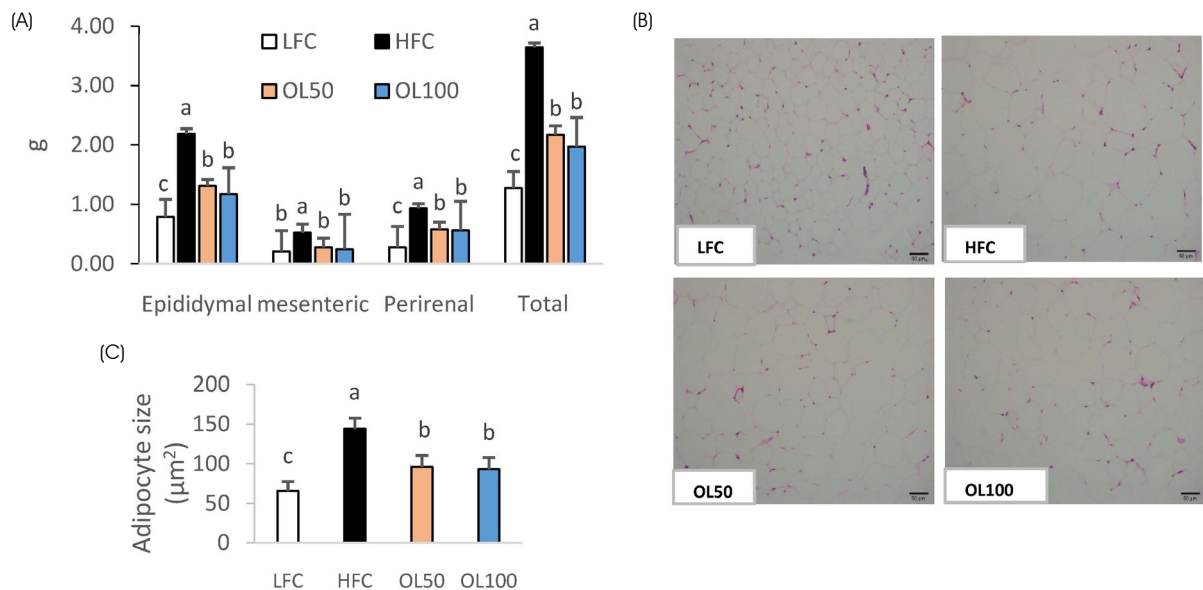


Fig. 3. Effect of OLE oral treatment on the visceral adipose tissue accumulation and morphology in mice. (A) Visceral adipose tissue weight. (B) Representative H&E staining of epididymal adipose tissue and (C) size of adipocytes. Each bar represents the mean \pm SD. Bars that do not share the same superscript are significantly different by ANOVA/Duncan's multiple test at $p < 0.05$.

Table 4. Plasma concentration of leptin, lipid and MDA and atherogenic index in mice

	LFC	HFC	OL50	OL100
Leptin (pg/mL)	439.2 \pm 241.9 ^{c1)}	1108.8 \pm 292.1 ^a	812.7 \pm 206.1 ^b	708.9 \pm 149.3 ^{bc}
TG (mg/dL)	67.3 \pm 10.9 ^{ab}	77.3 \pm 8.8 ^a	67.4 \pm 19.6 ^{ab}	52.3 \pm 12.9 ^b
TC (mg/dL)	141.5 \pm 23.7 ^b	173.0 \pm 29.0 ^a	155.4 \pm 19.4 ^{ab}	153.6 \pm 17.5 ^{ab}
HDL-c (mg/dL)	77.5 \pm 10.5 ^b	95.4 \pm 15.8 ^a	80.2 \pm 9.8 ^a	95.8 \pm 3.3 ^a
%AI ²⁾	82.2 \pm 12.6 ^a	81.5 \pm 8.6 ^a	72.1 \pm 8.3 ^a	59.9 \pm 13.5 ^b
MDA (ng/mL)	130.5 \pm 12.2 ^b	200.0 \pm 26.4 ^a	155.4 \pm 57.7 ^{ab}	141.6 \pm 47.8 ^b

Values are means \pm SD.

1) Means that do not share the same superscript are significantly different by ANOVA/Duncan's multiple test at $p < 0.05$.

2) Atherogenic index = (TC - HDL) / HDL \times 100

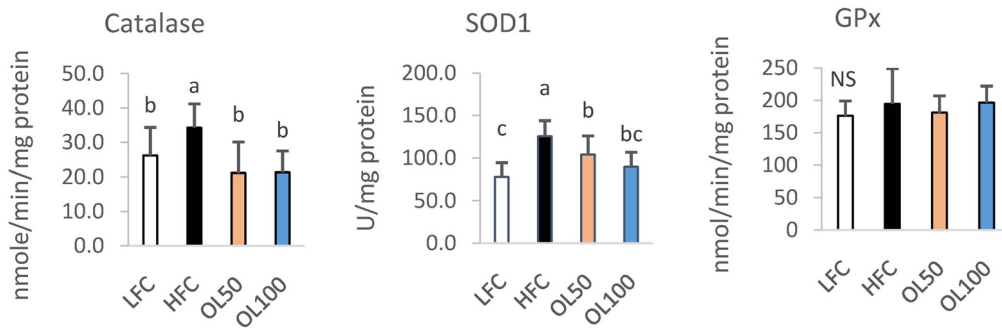


Fig. 4. Effect of OLE oral treatment on the antioxidant enzyme activities in epididymal adipose tissue of mice. Each bar represents the mean \pm SD. Bars that do not share the same superscript are significantly different by ANOVA/Duncan's multiple test at $p < 0.05$.

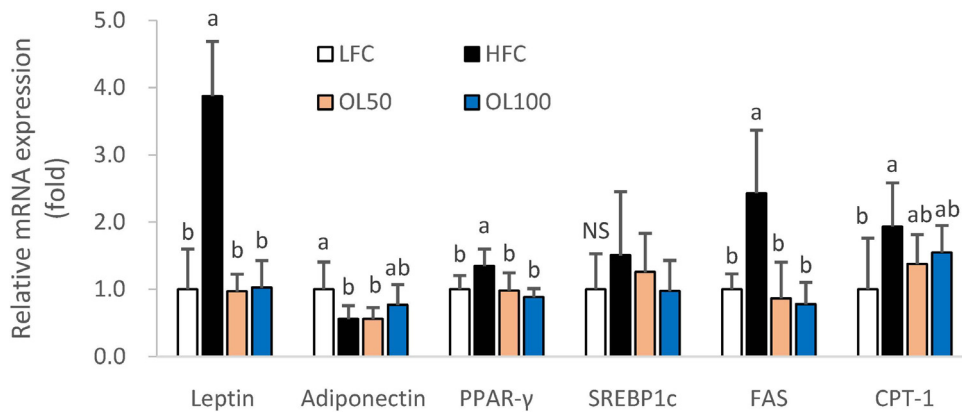


Fig. 5. Effect of OLE oral treatment on the mRNA of adipokines and lipid-metabolism related genes in epididymal fat tissue of mice. Each bar represents the mean \pm SD. Bars that do not share the same superscript are significantly different by ANOVA/Duncan's multiple test at $p < 0.05$.

였다 (Table 4).

OLE의 *in vivo* 항산화효과

체내 산화적 스트레스의 지표로 널리 이용되는 혈중 MDA 농도를 측정된 결과 HFC군은 LFC군의 약 1.5배 정도로 크게 상승하였다 ($p < 0.05$). OL50군의 혈중 MDA 농도는 HFC군에 비하여 통계적 유의성은 없으나 낮은 경향을 보인 반면, OL100군은 HFC군에 비하여 유의하게 낮았다 (Table 4).

한편, 부고환지방에서 측정된 항산화효소의 활성은 Fig. 4와 같다. Catalase 활성은 HFC군에서 LFC군에 비하여 30.9% 상승하였으나 ($p < 0.05$), OL50과 OL100군은 HFC군에 비하여 유의하게 감소하였고 ($p < 0.05$) LFC군과 비슷한 수준이었다. SOD-1 활성 또한 HFC군이 LFC군에 비하여 60.7% 상승하였으나 ($p < 0.05$) OL50군과 OL100은 HFC군에 비하여 각각 16.8%와 28.7% 낮은 상태였다 ($p < 0.05$). GPx 활성은 실험군 간에 유의한 차이가 없었다.

OLE 투여가 마우스 지방조직에서 아디포카인 및 지방 대사 관련 유전자 발현에 미치는 영향

OLE의 경구투여가 비만모델 마우스에서 체중 및 복부 지방축적량을 감소시키는 기전을 알아보기 위하여 부고환지방 조직에서 아디포카인과 지방대사에 관여하는 주요 유전자들의 mRNA 발현 수준을 real-time PCR로 측정된 결과는 Fig. 5와 같다.

HFC군의 렙틴 mRNA 발현량은 LFC군의 약 3.8배로 크게 상승하였지만 ($p < 0.05$), OL50군과 OL100군에서의 발현량은 LFC군과 비슷한 수준이었다. 반면, HFC군에서의 아디포넥틴 mRNA 발현량은 LFC군의 0.56배 정도로 유의하게 낮았는데 ($p < 0.05$), OL100군에서의 아디포넥틴 발현량은 HFC군에 비하여 다소 증가하는 경향을 보였고, OL50군에서는 차이가 없었다.

지방합성을 비롯한 지방대사 과정을 조절하는 주요 전사인자인 PPAR γ 와 SREBP-1c의 mRNA 발현량은 HFC군에서 LFC군에 비하여 각각 약 1.35배와 1.51배로 증가하였다. 그러나, PPAR γ 의 발현량은 OL50군과 OL100군 모

두 HFC군에 비하여 유의하게 낮아진 반면 ($p < 0.05$), SREBP-1c의 발현량에 있어서는 유의한 차이가 없었다. 지방산 합성효소인 FAS의 mRNA 발현량 역시 HFC군은 LFC군에 비하여 약 2.43배로 증가하였으나 OL50과 OL100군에서의 발현량은 각각 LFC의 0.86배, 0.78배로 고지방 식이에 의한 FAS의 발현 증가가 유의하게 억제되었다 ($p < 0.05$). 한편, 지방산 β -oxidation을 위하여 지방산을 세포질에서 미토콘드리아로 이동시키는데 필요한 효소인 CPT-1의 mRNA 발현량 역시 HFC군은 LFC군에 비하여 약 1.93배 수준으로 상승하였지만 ($p < 0.05$), OL50군과 OL100군에서의 발현량은 LFC군과 HFC군의 중간 정도로 감소하는 경향을 보였으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 본 실험에서 지방대사와 관련된 주요 조절인자들의 mRNA 발현량에 있어서 OLE 투여용량에 따른 차이는 보이지 않았다.

고 찰

본 연구에서 달맞이순 50% 에탄올 추출물을 시료로 사용하였는데 이는 향후 달맞이순 추출물을 활용한 기능성 식품개발을 최종목표로 하고 있었기 때문에 생리활성 효과와 함께 제품화 과정에서의 경제성과 용이성 등을 고려한 선택이었다.

DPPH 라디칼은 비교적 안정된 자유라디칼로서 cysteine, GSH 등과 같은 함황아미노산과 ascorbate, butylated hydroxyanisole 등에 의하여 환원되므로 DPPH 라디칼 소거능은 다양한 추출물의 *in vitro* 항산화활성을 일차적으로 검색하는데 널리 사용되고 있다. SOD는 $2O_2^{\cdot-} + 2H \rightarrow O_2 + H_2O_2$ 로 전환시키는 효소로 ROS를 보다 안전한 형태인 산소와 과산화수소로 전환한다. 따라서, 동식물에서 SOD는 산소라디칼의 해로운 영향으로부터 생체를 방어하는 매우 중요한 역할을 하는 효소이다 [21]. 또한, 항산화 작용의 여러 가지 기작 중에서 ROS 및 유리기에 전자를 공여함으로써 안정화시키는 방법이 있는데 이는 넓은 범위에서 환원에 해당한다. 환원력을 발휘하는 물질은 전자공여체로 작용하기 때문에 지질과산화 과정에서 중간생성물의 생성을 억제시켜 2차적인 항산화제의 역할을 하는 것으로 알려져 있다 [26].

세포 내 비단백질 티올 중 농도가 가장 높은 물질로 알려진 GSH는 산화환원 완충제로 작용하여 ROS에 의한 산화적 손상을 방지하고 산화환원 신호를 조절한다 [23]. GSH는 GPx의 작용으로 ROS에 전자를 전달해 주어 안정화시키고 자신은 산화형태인 glutathione disulfide (GSSG)가 된다. GSSG는 glutathione reductase에 의해 NADPH로

부터 전자를 받아 다시 GSH로 환원되는 사이클을 반복하면서 세포 내 ROS를 효율적으로 제거한다 [27]. 따라서, 세포 내 GSH 농도는 산화적 스트레스를 극복할 수 있는 능력을 평가하는 중요한 지표가 될 수 있다. 만일 GSH가 고갈되면 세포의 DNA가 쉽게 손상되거나 세포자살이 일어나 많은 질병의 원인이 될 수 있기 때문에 세포 내 GSH 농도의 유지는 매우 중요하다 [23].

본 연구에서 FreSHtracer를 이용하여 산화적 스트레스에 매우 민감한 세포로 줄기세포 중의 하나인 hUC-MSC를 선택하여 OLE를 처리하고 세포 내 GSH 수준을 측정하고 결과 농도 의존적으로 상승되었으며, 400 μ g/mL 농도에서 대조군에 비하여 106.6%나 GSH 수준을 높였는데 이는 100 μ M의 α -tocopherol 투여가 GSH를 128.6% 상승시킨 것과 비교해 보았을 때 OLE의 우수한 항산화효과를 뒷받침하고 있다. 그럼에도 불구하고 동물실험에서 OLE를 경구 투여한 마우스의 지방조직에서 catalase와 SOD-1의 활성에는 유의한 영향을 미친 반면 GPx 활성에는 영향을 주지 못하였다. Catalase는 H_2O_2 의 농도가 생리적 수준 이상으로 상승하였을 때 작동하는 반면 GPx는 생리적 수준 농도의 H_2O_2 뿐만 아니라 지질과산화물과 같은 유기과산화물을 분해시키는 역할을 한다는 것이 다른 점으로 알려져 있지만 GPx가 지방세포에서 산화환원의 평형성을 유지하는 과정에서 실제로 어떤 역할을 하는지 확실치 밝혀지지 않았다 [28]. 그러나, *ob/ob* 마우스의 지방조직의 GPx의 활성과 발현량이 정상 마우스의 지방조직에 비하여 낮은 반면 GSH 농도는 높다고 보고된 것을 보면 [29], GSH가 GPx의 기능을 위한 필수적인 요소이기는 하나 GPx 활성은 여러 요인에 의하여 영향을 받기 때문에 GSH 농도가 증가한다고 해서 GPx 활성이 꼭 증가하지는 않는다는 것을 알 수 있다. 또한, 지방조직에서는 GPx-1, -4 그리고 -7의 발현만이 확인되었으므로 [29] 향후 후속 연구에서는 이들의 발현량은 측정해 보는 것이 좋겠다.

본 동물실험에서 산화적 스트레스의 주요 지표로 널리 사용되는 혈중 MDA 농도를 측정한 결과 고지방식이와 함께 OLE를 저농도 (50 mg/kg BW)와 고농도 (100 mg/kg BW)로 경구 투여 하였을 때 고지방식이 섭취로 유도된 비만 쥐에서 증가하였던 MDA 농도가 농도 의존적으로 유의하게 감소되어 OLE가 *in vivo* 시스템에서도 우수한 항산화효과를 나타냄을 확인할 수 있었다. 아울러 많은 연구들은 [13,15,30] 주로 간에서 catalase, SOD, GPx 등의 항산화효소 활성을 측정하여 시료의 항산화효과를 평가한 반면 지방조직에서 이들 활성에 대한 보고는 거의 없다. 지방조직에서의 이들 항산화효소들의 활성은 간에 비하면 더 낮지만 [6], 지방조직에서 분비되는 아디포카인 분비량

과 항산화 스트레스와는 밀접한 상관성이 있기 때문에 본 연구에서는 지방조직에서 항산화효소 활성을 측정하였다. 부고환 지방조직에서 측정된 catalase 및 SOD-1의 활성은 고지방식이에 의하여 유의하게 상승하였는데 이는 비만 쥐에서 내장 지방량의 증가로 인하여 활성산소의 생성량이 증가하였기 때문에 이들을 제거하기 위하여 항산화효소들의 활성이 증가한 것으로 생각된다. 하지만 고지방식이와 함께 OLE를 경구 투여 한 경우 이들 항산화효소의 활성이 상승하지 않고 LFC군과 비슷한 수준을 그대로 유지하고 있었다는 것은 고지방식이로 인한 산화적 스트레스가 억제되었음을 의미한다. OLE가 체내에서 직접적으로 ROS를 제거하는 효능과 함께 지방산합성을 억제함으로써 내장 지방량의 증가를 억제하는 경로를 통하여 간접적으로 ROS의 생성을 줄였기 때문으로 생각된다. Galinier 등 [6]도 비만 쥐의 백색지방조직에서 catalase와 Mn-SOD 활성은 마른 쥐에 비하여 증가한 반면, GPx 활성은 차이가 없었다고 보고하여 본 연구결과와 일치하고 있다.

지방조직의 증가는 크게 미성숙된 지방세포가 분화과정을 통하여 성숙된 지방세포로 생성되는 경로와 분화로 생성된 새 지방세포에 중성지방의 축적이 증가하는 2가지 경로에 의한다 [7]. 지방세포의 생성, 지방합성, 지방분해 및 산화과정을 비롯한 지방대사의 복잡한 과정은 매우 세밀하게 조절되고 있다가 균형을 잃게 되었을 때 체중이 증가하거나 감소하는 결과를 초래한다. Peroxisome proliferator activator receptor γ (PPAR γ), CCAAT/enhancer-binding protein α (C/EBP α)과 sterol regulatory element binding protein-1 (SREBP-1) 등은 지방합성 과정을 조절하는 주요 전사인자로 알려져 있다 [26]. 특히, PPAR γ 는 지방조직에서 가장 강력한 전사인자로 지방의 분화, 지방합성과 당대사 과정에 중요한 역할을 한다. Fatty acid synthase (FAS)는 지방산합성 과정에 관여하는 중요한 효소로 주요 기능은 acetyl-coA와 malonyl-coA로부터 palmitate를 합성하는 것이다. 한편, 세포 내에 저장되어 있던 지방은 지방산과 글리세롤로 분해된 다음 지방산이 미토콘드리아 내로 들어가 β -oxidation 과정을 거쳐 산화됨으로써 에너지를 발생시키는데 긴 사슬 지방산을 세포질에서 미토콘드리아 안으로 이동시키는 과정에 carnitine palmitoyl transferase 1 (CPT-1) 효소가 필요하다 [31]. 본 연구 결과 OLE를 50 mg/kg BW 또는 100 mg/BW 수준으로 투여 시 두 군 모두 고지방식으로 증가된 PPAR γ 와 FAS의 발현을 효과적으로 억제시킴으로써 체중, 내장지방무게 및 지방세포크기를 감소시킨 것으로 해석된다. 더구나, 100 mg/kg BW로 투여하였을 때에는 혈중 MDA 농도 및 중성지방 농도와 동맥경화지수도 감소되어 보다 직접적으로

심혈관질환의 예방효과도 기대된다.

건조시킨 달맞이순의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 각각 60.4 mg tannic acid/g 과 31.9 mg rutin/g 으로 매우 높은 것으로 보고되었고 [21], 달맞이꽃의 잎과 줄기의 에탄올 추출물에서 quercetin, kaempferol, myricetin, luteolin 등의 플라보노이드와 gallic acid, 3-p-feruloylquinic acid, caffeic acid, ellagic acid 등의 페놀화합물과 그 유도체들이 다량 확인된 바 있다 [18]. 따라서, 본 연구에서 나타난 OLE의 항비만효과 및 항산화효과는 이들 플라보노이드 및 페놀 화합물들의 복합적인 작용에 의하여 초래된 것이라 생각된다. 연구보고에 의하여 항산화효과가 우수한 quercetin을 3T3-L1 지방세포에 처리하였을 때 PPAR γ , C/EBP, FAS, lipoprotein lipase, adipocyte fatty acid-binding protein의 발현을 억제시킨 반면 adipose triglyceride lipase와 hormone-sensitive lipase의 발현은 촉진시킴으로써 adipogenesis와 중성지방의 축적을 감소시켰다 [7]. 또, quercetin을 비만동물에게 섭취시켰더니 체중이 감소되었고 대식세포가 내장지방조직으로 침투하는 정도를 조절함으로써 TNF- α , IL-6, MCP-1 등의 염증성 사이토카인의 분비를 감소시켰다는 보고도 있다 [32-34]. 한국인을 대상으로 한 연구에서 과체중이나 비만인 성인에게 quercetin (100 mg/일)을 12주간 섭취시켰을 때 체질량지수와 체지방무게가 감소되었다고 하였다 [35]. Luteolin 역시 동물실험에서 항산화효과 및 항염증효과를 통하여 심혈관질환과 비만을 억제하였으며 [36] 비만 마우스에서 인지기능의 저하도 예방하였다고 보고되었다 [37].

지방조직에서 분비되는 대표적인 아디포카인의 하나인 렙틴은 에너지 섭취와 저장, 인슐린 민감도, 대사속도 등을 조절하는 중요한 물질이며, 아디포넥틴은 간에서 당신생을 감소시키고 근육에서 지방산화를 증가시키는 동시에 항염증성 사이토카인의 역할을 통하여 당뇨병 및 대사증후군 등의 만성질환을 예방하는 중요 호르몬이다. 그런데, 특히 내장지방조직의 지방세포의 크기 및 수와 양의 증가는 렙틴 분비량과 양의 상관관계가 있고, 아디포넥틴 분비량과는 음의 상관관계가 있는 것으로 알려져 있다 [2]. 본 연구 결과 OLE는 아디포넥틴보다는 렙틴 발현에 더 큰 영향을 주었다. OLE의 경구 투여는 비만 마우스에서 증가한 렙틴의 발현을 강력하게 억제시켰고 그 결과 혈중 렙틴 농도도 유의하게 감소된 반면 아디포넥틴의 발현은 OLE를 고농도로 투여했을 때에만 증가되는 경향을 보였다.

요 약

본 연구에서는 달맞이순의 항산화 및 항비만효과를 확

인하기 위하여 건달맞이순 50% 에탄올 추출물 (OLE)을 이용하여 4가지 방법으로 *in vitro* 항산화효과를 측정하였고, C57BL/6 마우스에게 고지방식이 (45%Kcal fat)를 14 주 동안 섭취시켜 비만을 유도하면서 OLE를 경구 투여하여 항비만효과와 *in vivo* 항산화효과를 알아보았다. OLE의 DPPH 라디칼 소거능과 SOD 유사 활성을 측정할 결과 IC₅₀은 각각 26.2 µg/mL과 327.6 µg/mL이었으며, FRAP 측정 결과 100 µg/mL 농도에서 56.7 µg AA eq./mL의 효능을 보였다. 또한, hUC-MSC 세포에 OLE (200 µg/mL)를 처리 한 결과 노화로 인하여 감소된 GSH 수준을 65.1% 증가시켰다. 한편, 마우스에게 고지방식사와 함께 OLE를 저수준 (50 mg/kg BW; OL50)과 고수준 (100 mg/kg BW; OL100)으로 경구 투여한 결과 체중증가량은 대조군에 비하여 각각 41.5%와 42.2% 감소하였고, 내장지방량은 각각 40.5%와 45.9% 감소하였으며, 부고환지방세포의 크기는 각각 33.1%와 35.3% 감소하여 매우 우수한 비만억제효과를 보였다 ($p < 0.05$). OLE의 경구 투여는 고지방식이 대조군에 비하여 혈중 렙틴 농도와 중성지방 농도를 유의하게 감소시켰고, 특히 OL100군에서는 동맥경화지수 및 혈중 MDA 농도도 유의하게 감소하였다 ($p < 0.05$). 마우스 지방조직에서 측정된 catalase와 SOD-1의 활성은 고지방식이섭취로 인하여 증가하였으나 OLE 경구 투여 시 유의하게 감소하였다 ($p < 0.05$). 또한, 부고환 지방에서 지방대사 관련 인자들의 mRNA 발현량을 RT-PCR로 측정할 결과 OLE의 경구 투여는 고지방식이 섭취로 인하여 증가하였던 렙틴, PPAR γ 와 FAS의 발현을 유의하게 감소시킨 반면 고지방식이 섭취로 감소되었던 아디포넥틴의 발현량은 유의하게 증가시켰다 ($p < 0.05$). 고지방식으로 인하여 증가하였던 CPT-1의 발현량은 OLE 투여 시 감소되는 경향을 보였으며, SREBP-1c의 발현량은 실험군 간에 유의한 차이가 없었다. 이들 연구결과를 종합하면, *in vitro* 항산화효과가 우수한 OLE를 고지방식으로 유도된 비만 마우스에게 경구 투여하였을 때 체내 산화적 스트레스를 낮추고, 지방합성을 억제함으로써 체중과 내장 지방량의 증가를 억제시키는 항비만 효과를 나타내었다. 따라서, OLE는 항산화기능식품 또는 비만 및 비만관련 만성질환을 예방하는 기능성식품의 개발에 기능성 천연소재로 활용될 수 있으리라 기대된다.

ORCID

곽충실: <https://orcid.org/0000-0003-2560-1331>

김미주: <https://orcid.org/0000-0001-9049-0127>

김선기: <https://orcid.org/0000-0003-3071-5472>

박순영: <https://orcid.org/0000-0002-2153-6109>

김인규: <https://orcid.org/0000-0002-0751-4288>

강흔수: <https://orcid.org/0000-0003-4903-7149>

References

1. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2004; 114(12): 1752-1761.
2. Nam YR, Won SB, Chung YS, Kwak CS, Kwon YH. Inhibitory effects of Doenjang, Korean traditional fermented soybean paste, on oxidative stress and inflammation in adipose tissue of mice fed a high-fat diet. *Nutr Res Pract* 2015; 9(3): 235-241.
3. da Costa GF, Santos IB, de Bem GF, Cordeiro VS, da Costa CA, de Carvalho LC, et al. The beneficial effect of anthocyanidin-rich *Vitis vinifera* L. grape skin extract on metabolic changes induced by high-fat diet in mice involves antiinflammatory and antioxidant actions. *Phytother Res* 2017; 31(10): 1621-1632.
4. Charradi K, Elkahoui S, Limam F, Aouani E. High-fat diet induced an oxidative stress in white adipose tissue and disturbed plasma transition metals in rat: prevention by grape seed and skin extract. *J Physiol Sci* 2013; 63(6): 445-455.
5. Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol* 2011; 29: 415-445.
6. Galinier A, Carrière A, Fernandez Y, Carpené C, André M, Caspar-Bauguil S, et al. Adipose tissue proadipogenic redox changes in obesity. *J Biol Chem* 2006; 281(18): 12682-12687.
7. Carrasco-Pozo C, Cires MJ, Gotteland M. Quercetin and epigallocatechin gallate in the prevention and treatment of obesity: from molecular to clinical studies. *J Med Food* 2019; 22(8): 753-770.
8. Kowalska K, Olejnik A, Szwajgier D, Olkiewicz M. Inhibitory activity of chokeberry, bilberry, raspberry and cranberry polyphenol-rich extract towards adipogenesis and oxidative stress in differentiated 3T3-L1 adipose cells. *PLoS One* 2017; 12(11): e0188583.
9. Lee OH, Seo MJ, Choi HS, Lee BY. Pycnogenol® inhibits lipid accumulation in 3T3-L1 adipocytes with the modulation of reactive oxygen species (ROS) production associated with antioxidant enzyme responses. *Phytother Res* 2012; 26(3): 403-411.
10. Zhao Y, Chen B, Shen J, Wan L, Zhu Y, Yi T, et al. The beneficial effects of quercetin, curcumin, and resveratrol in obesity. *Oxid Med Cell Longev* 2017; 2017: 1459497.
11. Kim HJ, Kim B, Mun EG, Jeong SY, Cha YS. The antioxidant activity of steamed ginger and its protective effects on obesity induced by high-fat diet in C57BL/6J mice. *Nutr Res Pract* 2018; 12(6): 503-511.
12. Kim JH, Kim OK, Yoon HG, Park J, You Y, Kim K, et al. Anti-obesity effect of extract from fermented *Curcuma longa* L. through regulation of adipogenesis and lipolysis pathway in high-fat diet-induced obese rats. *Food Nutr Res* 2016; 60(1): 30428.
13. Tuzcu Z, Orhan C, Sahin N, Juturu V, Sahin K. Cinnamon

- polyphenol extract inhibits hyperlipidemia and inflammation by modulation of transcription factors in high-fat diet-fed rats. *Oxid Med Cell Longev* 2017; 2017: 1583098.
14. Castro-Barquero S, Lamuela-Raventós RM, Doménech M, Estruch R. Relationship between Mediterranean dietary polyphenol intake and obesity. *Nutrients* 2018; 10(10): 1523.
 15. Naowaboot J, Wannasiri S, Pannangpetch P. Morin attenuates hepatic insulin resistance in high-fat-diet-induced obese mice. *J Physiol Biochem* 2016; 72(2): 269-280.
 16. Fenni S, Hammou H, Astier J, Bonnet L, Karkeni E, Couturier C, et al. Lycopene and tomato powder supplementation similarly inhibit high-fat diet induced obesity, inflammatory response, and associated metabolic disorders. *Mol Nutr Food Res* 2017; 61(9): 1601083.
 17. González-Castejón M, Rodríguez-Casado A. Dietary phytochemicals and their potential effects on obesity: a review. *Pharmacol Res* 2011; 64(5): 438-455.
 18. Timoszuk M, Bielawska K, Skrzydlewska E. Evening primrose (*Oenothera biennis*) biological activity dependent on chemical composition. *Antioxidants* 2018; 7(8): 108.
 19. Yoon WJ, Ham YM, Yoo BS, Moon JY, Koh J, Hyun CG. *Oenothera laciniata* inhibits lipopolysaccharide induced production of nitric oxide, prostaglandin E2, and proinflammatory cytokines in RAW264.7 macrophages. *J Biosci Bioeng* 2009; 107(4): 429-438.
 20. Garnica S, Czerwinska ME, Piwowarski JP, Ziąja M, Kiss AK. Chemical composition, antioxidative and anti-inflammatory activity of extracts prepared from aerial parts of *Oenothera biennis* L. and *Oenothera paradoxa* Hudziok obtained after seeds cultivation. *J Agric Food Chem* 2013; 61(4): 801-810.
 21. Kwak CS, Lee JH. In vitro antioxidant and antiinflammatory effects of ethanol extracts from sprout of evening primrose (*Oenothera laciniata*) and gooseberry (*Actinidia arguta*). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2014; 43(2): 207-215.
 22. Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 1974; 47(3): 469-474.
 23. Jeong EM, Shin JW, Lim J, Kim JH, Kang H, Yin Y, et al. Monitoring glutathione dynamics and heterogeneity in living stem cells. *Int J Stem Cells* 2019; 12(2): 367-379.
 24. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 1984; 105: 121-126.
 25. Tappel AL. Glutathione peroxidase and hydroperoxides. *Methods Enzymol* 1978; 52: 506-513.
 26. Yen GC, Chen HY. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J Agric Food Chem* 1995; 43(1): 27-32.
 27. Yang SL, Yu PL, Chung KR. The glutathione peroxidase-mediated reactive oxygen species resistance, fungicide sensitivity and cell wall construction in the citrus fungal pathogen *Alternaria alternata*. *Environ Microbiol* 2016; 18(3): 923-935.
 28. Lee YS, Kim AY, Choi JW, Kim M, Yasue S, Son HJ, et al. Dysregulation of adipose glutathione peroxidase 3 in obesity contributes to local and systemic oxidative stress. *Mol Endocrinol* 2008; 22(9): 2176-2189.
 29. Kobayashi H, Matsuda M, Fukuhara A, Komuro R, Shimomura I. Dysregulated glutathione metabolism links to impaired insulin action in adipocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 296(6): E1326-E1334.
 30. Wu T, Yin J, Zhang G, Long H, Zheng X. Mulberry and cherry anthocyanin consumption prevents oxidative stress and inflammation in diet-induced obese mice. *Mol Nutr Food Res* 2016; 60(3): 687-694.
 31. Mounien L, Tourniaire F, Landrier JF. Anti-obesity effect of carotenoids: direct impact on adipose tissue and adipose tissue-driven indirect effects. *Nutrients* 2019; 11(7): 1562.
 32. Rivera L, Morón R, Sanchez M, Zarzuelo A, Galisteo M. Quercetin ameliorates metabolic syndrome and improves the inflammatory status in obese Zucker rats. *Obesity (Silver Spring)* 2008; 16(9): 2081-2087.
 33. Dong J, Zhang X, Zhang L, Bian HX, Xu N, Bao B, et al. Quercetin reduces obesity-associated ATM infiltration and inflammation in mice: a mechanism including AMPK α 1/SIRT1. *J Lipid Res* 2014; 55(3): 363-374.
 34. Cialdella-Kam L, Ghosh S, Meaney MP, Knab AM, Shanely RA, Nieman DC. Quercetin and green tea extract supplementation downregulates genes related to tissue inflammatory responses to a 12-week high fat-diet in mice. *Nutrients* 2017; 9(7): E773.
 35. Lee JS, Cha YJ, Lee KH, Yim JE. Onion peel extract reduces the percentage of body fat in overweight and obese subjects: a 12-week, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Nutr Res Pract* 2016; 10(2): 175-181.
 36. Gentile D, Fornai M, Pellegrini C, Colucci R, Benvenuti L, Duranti E, et al. Luteolin prevents cardiometabolic alterations and vascular dysfunction in mice with HFD-induced obesity. *Front Pharmacol* 2018; 9: 1094.
 37. Liu Y, Fu X, Lan N, Li S, Zhang J, Wang S, et al. Luteolin protects against high fat diet-induced cognitive deficits in obesity mice. *Behav Brain Res* 2014; 267: 178-188.