

<https://doi.org/10.15433/ksmb.2023.15.2.059>

ISSN 2383-5400 (Online)

미끈뻘대그물말(*Dictyopteris divaricata*) 추출물의 항비만 효과Effect of *Dictyopteris divaricata* Extracts on Adipogenesis in 3T3-L1 Preadipocytes김철환<sup>1,2</sup>, 고석천<sup>1</sup>, 김현수<sup>1</sup>, 오건우<sup>1</sup>, 김지율<sup>1</sup>, 김경우<sup>1</sup>, 이정민<sup>1</sup>, 이명석<sup>1</sup>, 박윤경<sup>1</sup>, 이경<sup>1</sup>, 체재영<sup>3</sup>, 원정혜<sup>1</sup>, 김영준<sup>2</sup>, 이대성<sup>1\*</sup>Chul Hwan Kim<sup>1,2</sup>, Seok-Chun Ko<sup>1</sup>, Hyun-Soo Kim<sup>1</sup>, Gun-Woo Oh<sup>1</sup>, Ji-Yul Kim<sup>1</sup>, Kyung Woo Kim<sup>1</sup>, Jeong Min Lee<sup>1</sup>, Myeong-Seok Lee<sup>1</sup>, Yun Gyeong Park<sup>1</sup>, Gyeong Lee<sup>1</sup>, Jae-Young Je<sup>3</sup>, Jung Hye Won<sup>1</sup>, Young Jun Kim<sup>3</sup>, Dae-Sung Lee<sup>1\*</sup><sup>1</sup>연구원, 국립해양생물자원관, 서천군, 33662, 대한민국<sup>2</sup>교수, 대학원생, 고려대학교 식품규제과학과, 세종특별자치, 30019, 대한민국<sup>2</sup>교수, 부경대학교 스마트헬스케어학부, 부산광역시, 48547, 대한민국<sup>1</sup>National Marine Biodiversity Institute of Korea, Seocheon-gun 33662, Korea<sup>2</sup>Department of Food Regulatory Science, Korea University, Sejong 30019, Korea<sup>3</sup>School of Smart Healthcare, Pukyong National University, Busan 48547, Korea

(Received 7 Aug 2023, Revised 21 Sep 2023, Accepted 21 Sep 2023)

**Abstract** *Dictyopteris divaricata*, a type of marine brown algae, has been studied for its various biological properties, including anti-inflammatory, antidiabetic, and whitening effects. However, its potential antiobesity effects have not been extensively explored. This study aimed to examine the impact of *D. divaricata* ethanol extract (DDE) on adipocyte differentiation and adipogenesis using 3T3-L1 preadipocytes. Our results showed that when 3T3-L1 preadipocytes were treated with noncytotoxic concentrations of DDE there was a concentration-dependent decrease in fat accumulation rate and triglycerid production compared with the control. Furthermore, DDE significantly reduced the expression of transcription factors (PPAR $\gamma$ , C/EBP $\alpha$ , and SREBP-1) and fatty acid transport protein (FABP4), which are crucial for 3T3-L1 preadipocyte differentiation. These findings suggest that DDE may exhibit antiobesity effects by suppressing the expression of lipogenic transcription factors and fatty acid transport proteins. Therefore, DDE holds potential as a therapeutic agent for obesity.

**Keywords** : Adipocyte differentiation, Adipogenesis, *Dictyopteris divaricata*, 3T3-L1 preadipocytes

## 서 론

미끈뻘대그물말(*Dictyopteris divaricata*)은 그물바탕말(Dictyotaceae)과 뻘대그물말속(*Dictyopteris* J.V. Lamouroux)에 속하는 갈조류로 한국, 일본, 중국 및 일부 대서양 섬에서 발견되며 식품 및 의약품으로

사용된다고 알려져 있다[1]. 일반적으로 연안 및 연안 암석 지대에 부착하여 서식한다[2]. 폭 10-25 mm, 길이 5-15 cm까지 자라나며, 11월부터 다음 해 8월까지 무성하게 자란다. 미끈뻘대그물말에는 chromazanol, fucosterol 및 loliolide과 같은 다양한 생리활성 물질들을 포함하고 있다고 보고되어 있으며[3], 항

\* Corresponding author

Phone: 041-950-0620 Fax: 041-950-0621

E-mail: daesung@mabik.re.kr

This is an open-access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)

염증, 항균, 항당뇨 및 미백 등과 같은 여러 생리학적 특성에 대한 연구는 존재하나[1,4-6], 항비만에 대한 연구가 미비하기에 미끈뽀대그물말의 항비만 효과에 대한 연구를 수행하였다.

비만은 제2형 당뇨병, 고혈압, 심혈관 질환 등 여러 만성질환과 관련된 가장 흔한 대사 질환으로[7], 에너지 섭취와 소비의 불균형으로 인해 과도한 지방의 축적이 일어나 발생한다[8]. 과도한 지방의 축적은 지방세포의 과증식이며, 지방세포의 분열 및 분화로 인해 지방세포 수가 증가하는 것으로 나타난다[9]. 지방세포는 에너지를 저장하고 방출하는 중요한 역할을 하는데, Triglycerides (TGs) 형태로 에너지를 저장하고 글리세롤과 지방산 형태로 에너지를 방출한다[10,11]. 특히 지방전구세포는 높은 열량 섭취, 인슐린, 당질코르티코이드 등과 같은 자극인에 의해 지방세포로 분화된다[12,13]. 지방전구세포가 지방세포로 분화하는 초기에는 Peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ), CCAAT/enhancer-binding protein (C/EBPs), Sterol regulatory element-binding protein 1c (SREBP-1c) 등과 같은 지방생성 전사인자가 활성화되어 관여한다[13-15]. 이후 이들은 분화 후기단계에서 aP2 또는 adipocyte FABP (A-FABP)라고 알려져 있는 Fatty acid-binding protein 4 (FABP4)를 포함한 다양한 지방생성 유전자들의 발현에 작용한다고 알려져 있다[15-20].

따라서 지방전구세포가 지방세포로 분화되는 것을 억제하는 것은 지방세포의 축적과 비만 발생률을 감소시키기 때문에 항비만 연구에 있어서 주요한 타겟이다[15,21-23]. 이에 본 연구에서는 미끈뽀대그물말 추출물을 이용하여 3T3-L1 지방전구세포의 지방 축적 억제 및 지방 분화와 관련된 전사인자의 발현 억제 효능에 대해 확인하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시료 확보 및 추출물 제조

본 연구에서 사용된 미끈뽀대그물말은 강원도 강릉에서 채집하여 물을 이용하여 세척 후, -80°C에서 1일 동안 동결 보관하였다. 동결 보관한 시료는 동결

건조기를 이용하여 4일간 건조하였다. 건조 시료는 분쇄기를 이용하여 분쇄하여 분말 형태로 제조하였다. 분말 형태의 건조 시료에 70% 에탄올을 넣고 상온에서 1시간 동안 초음파 추출기로 8회 반복 추출하였다. 각 추출마다 여과지 (Whatman No. 2, Advantec Co., Tokyo, Japan)를 이용해 여과하였으며, 여과된 추출물은 Rotary evaporator (Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 농축하였다. 농축된 시료는 완전한 건조를 위해 -80°C에서 동결 후 4~5일 동안 동결건조기를 이용하여 건조하였다. 건조된 추출물은 dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma Co., St. Louis, MO, USA)에 녹여 100 mg/mL의 stock solution으로 제조하여 실험에 사용하기 전까지 -80°C에서 동결 보관하였다.

### 2. HPLC 성분 분석

*Dictyopteris divaricata* ethanol extract (DDE)를 High-performance liquid chromatography (HPLC) 분석하기 위하여 메탄올로 용해시켜 5 mg/mL로 sample을 제조하였다. HPLC 분석은 ACQUITY Arc System (Waters, Milford, MA) 분석 장비와 sunfire C18 5  $\mu$ m 4.6  $\times$  250 mm 컬럼을 사용하여 수행하였다. 0.1% 포름산을 첨가한 아세트니트릴(A)과 물(B)의 두 용매에 기울기를 주어 (B용액:5-100%, 70분) 1 mL/min의 유속으로 설정하였고, 10  $\mu$ L의 시료를 주입하여 실험하였다. 크로마토그램의 각 피크(peak)는 UV/visible spectrum (200-400 nm)에서 확인하였다.

### 3. 세포 배양 및 세포 독성

3T3-L1 지방전구세포는 10% Bovine calf serum (BCS, Gibco, Waltham, MA, USA) 및 1% antibiotics (penicillin/streptomycin, Gibco, Waltham, MA, USA)이 함유된 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) 배지 (Gibco, Waltham, MA, USA)를 이용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 배양하였다. DDE 처리에 따른 세포독성을 측정하기 위하여 24-well plate에 3T3-L1 지방전구세포를 well당 2 $\times$ 10<sup>4</sup>개를 분주하고 12시간 배양하였다. DDE를 농도별 (10, 50 및 100  $\mu$ g/mL)로 처리하고 48시간 배양하였다. 이후

3-(4,5-dimethylthiazo 1-2-yl)-2,5diphenyltetrazolium bromide (MTT) working solution을 첨가하여 4시간 동안 추가 배양한 후, MTT working solution을 제거하였다. DMSO로 세포를 용해하여 microplate reader (Multiskan™ GO, Thermo Scientific™, Waltham, MA, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하여 세포독성을 확인하였다.

#### 4. 3T3-L1 지방세포 분화 유도 및 Oil Red O 염색

DDE의 3T3-L1 지방세포 분화 억제 대한 효능을 확인하기 위해, Oil Red O 염색을 수행하였다. 3T3-L1 지방전구세포를 10% BCS 및 1% antibiotics가 포함된 DMEM 배지에 배양하였다. 배양 2일 후, 동일한 배지로 교환하고 2일간 추가 배양하였다. 이어서, 배지를 분화 배지 (DMEM in 10% FBS, 0.5 mM isobutylmethylxanthine (IBMX), 0.25 μM dexamethasone 및 10 μg/mL insulin)로 교환하고 추출물을 농도별 (10, 50 및 100 μg/mL)로 처리하였다. 2일 후, 분화 배지를 지방세포 성장 배지 (DMEM in 10% FBS 및 5 μg/mL insulin)로 교환하고, 2일 간격으로 교환하였다. 지방세포 분화 완료 후, 1X Phosphate Buffer Saline (PBS, Gibco, Waltham, MA, USA)로 2회 세척하여 상온에서 10% 포르말린으로 고정시켰다. 고정된 세포를 60% isopropanol로 세척 후, 세포를 완전히 건조시킨 후 실온에서 1시간 동안 Oil Red O 용액으로 염색하였다. 증류수로 3회 세척한 후, 염색된 세포를 전자현미경 (DMI6000, Leica, Wetzlar, Germany)으로 관찰 및 촬영하였다. 이 후, Oil Red O 용액을 100% isopropanol에 녹여 microplate reader (Multiskan™ GO, Thermo Scientific™, Waltham, MA, USA)를 이용하여 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 5. 중성지방(Triglyceride) 함량 측정

3T3-L1 지방전구세포에서 DDE 처리에 따른 중성지방 함량 변화를 측정하기 위해 ELISA kit (PicoSens™ Triglyceride Assay Kit, Biomax, Korea)를 이용하였다. 지방세포 분화 완료 후, 1X PBS로 2회 세척하였다. 세포 용해 버퍼를 사용하여 용해시킨

후 kit 제조사가 제공한 방법 (ELISA kit manual)으로 지방세포 내 중성지방 함량을 측정하였다.

#### 6. 단백질 추출 및 Western blot 분석

DDE의 3T3-L1 지방전구세포 분화 및 지방 축적과 관련된 전사인자 (PPAR $\gamma$ , C/EBP $\alpha$ , SREBP-1) 및 지방산 운반 단백질 (FABP4) 발현 억제 효능을 확인하기 위해 Western blot 분석을 수행하였다. 지방세포 분화 완료 후, 1X PBS로 2회 세척하여 세포 용해 버퍼 (20 mM Tris, 5 mM EDTA, 10 mM Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, 100 mM NaF, 2 mM Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>, 1% NP-40, 10 mg/mL aprotinin, 10 mg/mL leupeptin 및 1 mM PMSF)로 60 분 동안 용해시킨 후, 12,000 rpm으로 4°C에서 10분 동안 원심분리하였다. 단백질 농도는 BCA™ protein assay kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)를 이용하여 확인하였다. 세포 용해물을 SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis)로 전기영동하고 니트로셀룰로즈 막 (nitrocellulose membrane)으로 단백질을 이동시켰다. 그 다음, 상기 막을 5% non-fat dry milk-TBST (25 mM Tris-HCl, 137 mM NaCl, 2.65 mM KCl, 0.05% Tween20, pH 7.4)로 2시간 동안 blocking 하였다. 이 후, 상기 막을 대상 1차 항체들 (1:1000 dilution)과 4°C에서 하룻밤 동안 혼성화하였다. 혼성화시킨 막을 TBST로 세척한 막을 2시간 동안 실온에서 2차 항체 (1:3000 dilution)들과 혼성화하였다. 항체 반응이 끝난 막에 Enhanced chemiluminescence (ECL)을 처리하여 발광시키고, Davinch-Chemi Imager™ (CAS400SM, Core Bio, Seoul, Korea)를 이용하여 가시화하였다.

#### 7. 통계 분석

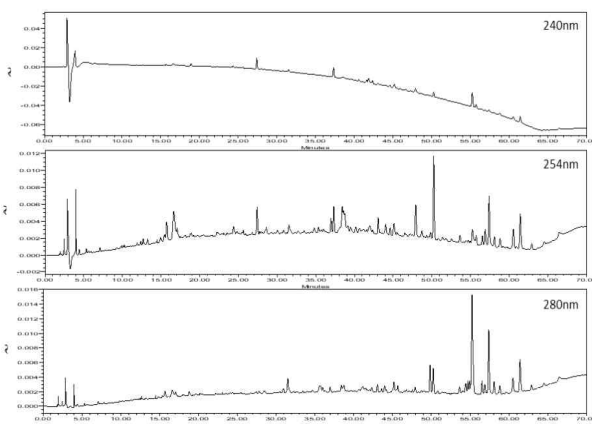
본 연구의 모든 실험 결과는 3회 실시한 독립적인 실험을 통해 얻은 값을 평균±표준편차로 나타내었으며, Graph Pad Prism 6 (Graph Pad Software Inc., San Diego, CA, USA)를 이용하여 one-way analysis of variance (ANOVA) test 실시한 후 Tukey test로 사후 검증하여 유의적 차이를 판단하였다.

**결과 및 고찰**

**1. 추출물 제조 및 성분분석**

DDE를 얻기 위하여 동결건조 후 과쇄하여 분말화한 미끈뽀대그물말에 70% 에탄올을 넣고 상온에서 1시간 동안 초음파 추출기로 8회 반복 추출하였다. 각 추출마다 여과지로 여과한 추출물을 Rotary evaporator를 이용하여 농축하고, 완전한 건조를 위해 -80°C에서 동결 후 4-5일 동안 동결건조기를 이용하여 건조하였다. 초음파 추출 및 동결 건조 결과 1.47%의 추출 수율로 DDE를 얻을 수 있었다. HPLC 분석을 통해서 DDE의 성분을 확인하였다(Figure 1). 미끈뽀대그물말에 함유되어 있다고 보고된 생리활성 물질로는 dictyvaric acid, 3-farnesyl-p-hydroxybenzoic acid, fucosterol, (2)-torreyol, 4b,5a-dihydroxycubenol, loliolide, chromazonarol, dehydrovomifoliol, 3b-hydroxy-5a,6a-epoxy-7-megastigmen-9-one 및 isololiolide 등이 있고[3], 특이한 구조를 가진 세스퀴테르펜(1,4-epoxymurolan-5β-ol)을 함유하고 있다고 한다[24,25].

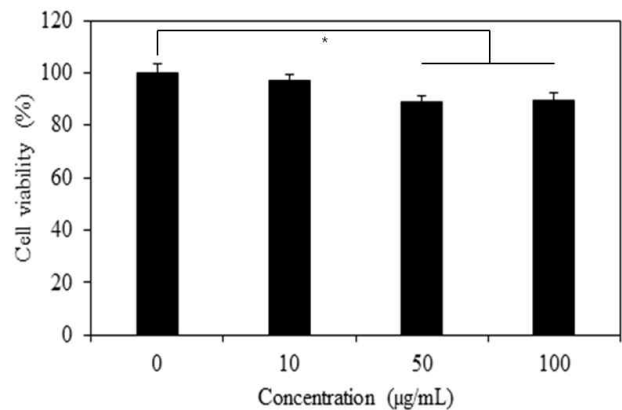
또한 항산화, 항염증, 항균, 항당뇨, 항말라리아 및 미백 등과 같은 여러 생리활성 연구가 보고되어져 있다[1,4-6,26,27]. 그러나 미끈뽀대그물말의 비만 개선 효능에 대한 연구는 아직 보고된 바가 없어 본 연구에서는 DDE가 3T3-L1 지방세포에서 지방 축적 억제 및 지방 분화와 관련된 전사인자의 발현에 어떠한 작용을 하는지에 대한 연구를 수행하였다.



**Figure 1.** High-performance liquid chromatography (HPLC) analysis of *Dictyopteris divaricata* extract (DDE).

**2. 세포 생존율**

지방세포 분화 억제 실험 진행을 위하여 사용된 DDE 처리 조건이 3T3-L1 지방전구세포에서 독성을 나타내지 않았는지를 MTT assay를 통해 먼저 확인하였다. 3T3-L1 지방전구세포에 농도별 (10, 50 및 100 µg/mL)로 처리했을 때 DDE 처리군 모두 무처리군 대비 80% 이상의 세포생존율을 나타내어 독성이 나타나지 않는 것을 확인하였다(Figure 2). 이 결과를 바탕으로 무독성 조건으로 확인된 10, 50 및 100 µg/mL 농도로 실험을 진행하였다.

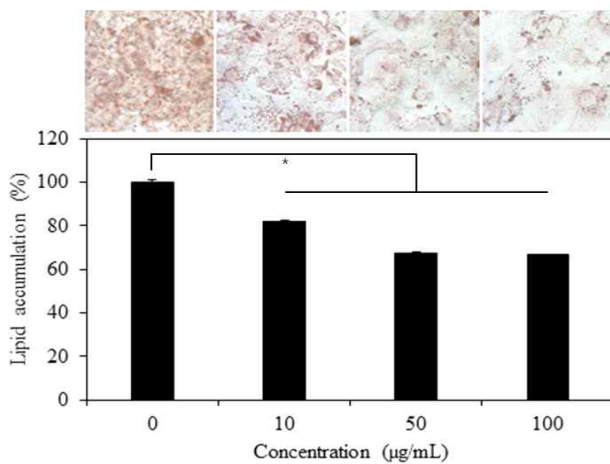


**Figure 2.** Effect of DDE on the viability of 3T3-L1 preadipocytes. The cells were treated with the indicated concentrations of DDE alone for 28 h. Cell viability was assessed using the MTT assay, and the results are expressed as the percentage of surviving cells over control cells (no addition of DDE). Each value is presented as the mean ± SD and is representative of the result obtained from three independent experiments. The significance was determined by the Student's t-test (\**p* < 0.05, compared with control group).

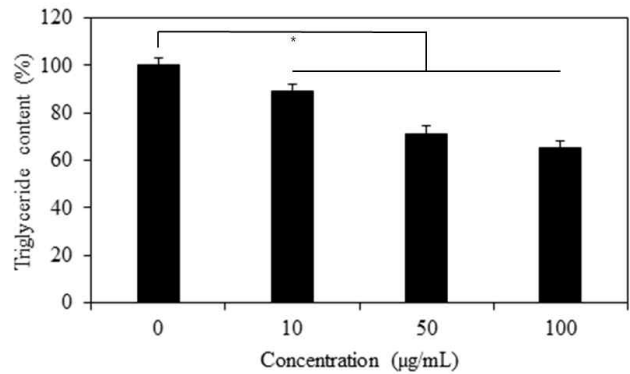
**3. 3T3-L1 지방세포의 지방 및 중성지방 축적에 미치는 영향**

3T3-L1 세포는 지방세포로 분화 (differentiation)가 가능하며[28], 특히 특정 시약 (0.5 mM isobutylmethylxanthine (IBMX), 0.25 µM dexamethasone 및 10 µg/mL insulin)이 첨가된 배지에서 배양 시 신속하고 균일한 지방세포 분화를 유발시킨다[29]. 정상 지방세포처럼 분화된 3T3-L1 세포는 지방 생성

및 지방 분해 호르몬에 높은 반응성을 나타내고 높은 수준의 지방 생성 효소를 축적하며, 지방 및 Triglyceride 방울을 축적한다고 알려져 있다[30]. 이렇게 축적된 세포 내 지질 방울은 전 지방세포가 지방세포로 분화되었다는 증거이고[31], 지질 방울 형식의 억제제는 비만 억제제의 유의적인 지표로 알려져 있다[7]. 3T3-L1 지방전구세포를 분화시켜 지방세포로 활성화한 후 DDE를 농도별 (10, 50 및 100 µg/mL)로 처리하여 지방 및 중성지방 축적에 미치는 영향을 확인하였다. Figure 3에서 볼 수 있듯이 DDE의 농도가 높아질수록 무처리군 대비 지방 축적 비율이 낮아짐을 확인할 수 있었고, 세포 내 지방의 양을 육안으로 식별이 가능한 정도로 확인할 수 있었다. 지방의 축적에서도 지방에 미친 영향과 유사하게 DDE의 처리 농도의존적으로 중성지방의 함량이 낮아짐을 확인할 수 있었다(Figure 4).



**Figure 3.** Effect of DDE on adipogenesis in differentiating 3T3-L1 cells. The cells were induced to differentiate with induction medium in the presence or absence of DDE for 8 days. (A) The morphology of cells after staining with Oil Red O (ORO) was photographed with an optical microscope and representative images were presented. (B) The content of intracellular ORO was quantified in 3T3-L1 cells. Each value is presented as the mean ± SD and is representative of the result obtained from three independent experiments. The significance was determined by the Student's t-test (\* $p < 0.05$ , compared with control group).

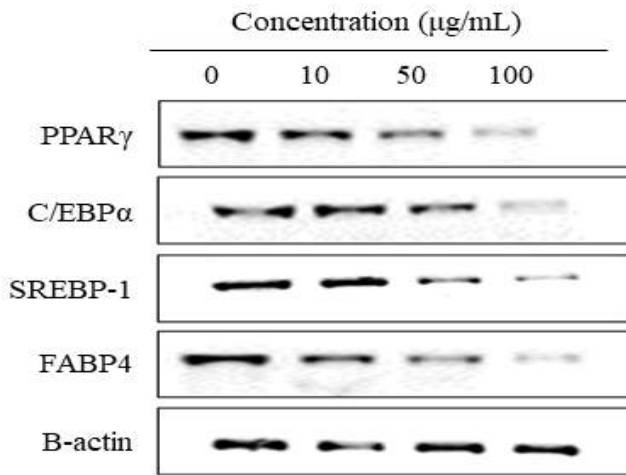


**Figure 4.** Effect of DDE on adipogenesis in differentiating 3T3-L1 cells. The cells were induced to differentiate with induction medium in the presence or absence of DDE for 8 days. The content of intracellular triglyceride (TG) was quantified in 3T3-L1 cells. Each value is presented as the mean ± SD and is representative of the result obtained from three independent experiments. The significance was determined by the Student's t-test (\* $p < 0.05$ , compared with control group).

#### 4. 3T3-L1 지방전구세포의 지방 생성 전사인자 및 지방산 운반 단백질에 미치는 영향

지방전구세포가 분화를 시작시키고, 지방 생성에 영향을 미치는 주요 전사인자들에 PPAR $\gamma$ , C/EBP $\alpha$ , SREBP-1가 존재한다고 알려져 있다[32]. 지방세포의 분화에 발현되는 다양한 전사인자들은 인슐린과 같은 호르몬에 의해 자극되어 활성화된다[33]. 이렇게 활성화된 전사인자 중 PPAR $\gamma$ 와 C/EBP $\alpha$ 는 FABP4를 포함한 많은 유전자를 조절한다[34,35]. FABP4는 지방산의 세포 내 수송 및 대사에 중요한 역할을 하며, 세포 분화의 마지막 단계의 마커로 알려져 있다[36,37]. 따라서 DDE의 지방세포 분화 억제제가 이들의 유전자 발현 감소와 연관성이 있는지 조사하기 위해 western blot으로 PPAR $\gamma$ , C/EBP $\alpha$ , SREBP-1 및 FABP4의 발현을 분석하였다. 그 결과 지방 생성 전사인자인 PPAR $\gamma$ , C/EBP $\alpha$ , SREBP-1 및 지방산 운반 단백질인 FABP4의 발현이 무처리군 대비 농도의존적으로 감소하는 것을 확인할 수 있었다 (Figure 5). 이러한 결과는 DDE의 지방 축적 억제 효

과가 지방 생성 전사인자와 지방산 운반 단백질의 발현을 억제함으로써 나타난다고 판단된다.



**Figure 5.** The cells were treated with the indicated concentrations of DDE (10, 50 and 100  $\mu\text{g/mL}$ ) along with differentiation induction medium and allowed to differentiate for 8 days. Whole cell lysate was isolated and analyzed by Western blot analysis with respective antibodies. The experiment was repeated three times and similar results were obtained.  $\beta$ -actin was used as the internal controls for the western blot analysis, respectively.

## 결론

본 연구에서는 갈조류 중 하나인 미끈뽀대그물말 에탄올 추출물(*Dictyopteris divaricata* ethanol extract; DDE)이 지방 축적에 미치는 영향을 평가하였다. 본 연구의 결과에 의하면 DDE는 3T3-L1 지방세포에서 지방 및 중성지방의 축적을 농도의존적으로 억제하였다. 또한, DDE의 지방 축적 억제 효과가 지방세포에서 지방 생성에 작용하는 전사인자 (PPAR $\gamma$ , C/EBP $\alpha$ , SREBP-1)와 지방산 운반 단백질 (FABP4)의 발현을 억제하여 나타난다는 것을 확인할 수 있었다. 이상의 결과를 통해 미끈뽀대그물말 추출물이 비만의 예방 및 치료를 위한 기능성 소재로 활용할 수 있는 기초 근거 자료가 될 수 있을 것으로 판단된다.

## 감사의 글

본 논문은 해수부의 재원으로 국립해양생물자원관(2023M00500)의 지원을 받아 수행된 연구이며, 이에 감사드립니다.

## References

1. Park, S. Y., Kim, Y. J., Park, G. and Kim, H. H. 2019. Neuroprotective effect of *Dictyopteris divaricata* extract-capped gold nanoparticles against oxygen and glucose deprivation/reoxygenation. *Colloids Surf. B Biointerfaces*. 179, 421-428.
2. Guiry, M. D. and Guiry, G. M. 2017. AlgaeBase. World-wide electronic publication. National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>.
3. Song, F. H., Fan, X., Xu, X. L., Zhao, J. L., Han, L. J. and Shi, J. G. 2005. Chemical constituents of the brown alga *Dictyopteris divaricata*. *J. Asian Nat. Prod. Res.* 7, 777 - 781.
4. Cui, Y., Liu, X., Li, S., Hao, L., Du, J., Gao, D., Kang, Q. and Lu, J. 2018. Extraction, characterization and biological activity of sulfated polysaccharides from seaweed *Dictyopteris divaricata*. *Int. J. Biol. Macromol.* 117, 256-263.
5. Siddiqui, N. Z., Rehman, A. U., Yousuf, W., Khan, A. I., Farooqui, N. A., Zang, S., Xin, Y. and Wang, L. 2022. Effect of crude polysaccharide from seaweed, *Dictyopteris divaricata* (CDDP) on gut microbiota restoration and anti-diabetic activity in streptozotocin (STZ)-induced T1DM mice. *Gut Pathog.* 14, 39.
6. Kim, J. K. and Kang, S. M. 2021. Antioxidant and Whitening effect of *Dictyopteris* spp. Extract. *J. Kor. Soc. Cosmetol.* 27, 614-623.
7. Choi, E. O., Choi, Y. H. and Hwang, H. J. 2021. Inhibition of adipogenesis and melanogenesis by methanol extract of *Codium fragile* (Suringar) Hariot in 3T3-L1 adipocytes and B16F10 melanocytes. *J. Mar. Biosci. Biotechnol.* 13, 1-9.
8. Park, E., Lee, C. G., Kim, J., Yeo, S., Kim, J. A., Choi, C. W. and Jeong, S. Y. 2020. Antiobesity effects of *Gentiana lutea* extract on 3T3-L1 preadipocytes and a high-fat diet-induced mouse model. *Molecules.* 25, 2453.

9. Han, M. H., Jeong, J. S., Jeong, J. W., Choi, S. H., Kim, S. O., Hong, S. H., Park, C., Kim, B. W. and Choi, Y. H. 2017. Ethanol extracts of *Aster yomena* (Kitam.) Honda inhibit adipogenesis through the activation of the AMPK signaling pathway in 3T3-L1 preadipocytes. *Drug discoveries & therapeutics*. 11, 281-287.
10. Berk, P. D. and Verna, E. C. 2016. Nonalcoholic fatty liver disease: Lipids and insulin resistance. *Clin. Liver Dis.* 20, 245-262.
11. Frühbeck, G., Méndez-Giménez, L., Fernández-Formoso, J. A., Fernández, S. and Rodríguez, A. 2014. Regulation of adipocyte lipolysis. *Nutr. Res. Rev.* 27, 63-93.
12. Ali, A. T., Hochfeld, W. E., Myburgh, R. and Pepper, M. S. 2013. Adipocyte and adipogenesis. *Eur. J. Cell Biol.* 92, 229-236.
13. Mota de Sá, P., Richard, A. J., Hang, H. and Stephens, J. M. 2017. Transcriptional regulation of adipogenesis. *Compr. Physiol.* 7, 635-674.
14. Guo, L., Li, X. and Tang, Q. Q. 2015. Transcriptional regulation of adipocyte differentiation: A central role for CCAAT/enhancer-binding protein (C/EBP)  $\beta$ . *J. Biol. Chem.* 290, 755-761.
15. Choi, I. S., Lee, J. S., Lee, S., Lee, H. J., Yeo, J., Cho, B. Y., Lee, J. H., Kim J. M., Jung, T. D., Choi, S. H., Kim, J. Y., Kang, S. N. and Lee, O. H. 2017. Effects of extracts of five species of Korean native forest plants on lipid accumulation and reactive oxygen species production during differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 46, 523-528.
16. Furuhashi, M., Saitoh, S., Shimamoto, K. and Miura, T. 2014. Fatty acid-binding protein 4 (FABP4): pathophysiological insights and potent clinical biomarker of metabolic and cardiovascular diseases. *Clin. Med. Insights: Cardiol.* 8, CMC-S17067.
17. Kralisch, S. and Fasshauer, M. 2013. Adipocyte fatty acid binding protein: A novel adipokine involved in the pathogenesis of metabolic and vascular disease? *Diabetologia.* 56, 10-21.
18. Pandit, R., Beerens, S. and Adan, R. A. H. 2017. Role of leptin in energy expenditure: The hypothalamic perspective. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 312, R938-R947.
19. Stern, J. H., Rutkowski, J. M. and Scherer, P. E. 2016. Adiponectin, leptin, and fatty acids in the maintenance of metabolic homeostasis through adipose tissue crosstalk. *Cell Metab.* 23, 770-784.
20. Wang, S., Moustaid-Moussa, N., Chen, L., Mo, H., Shastri, A., Su, R., Bapat, P., Kwun, I. and Shen, C. L. 2014. Novel insights of dietary polyphenols and obesity. *J. Nutr. Biochem.* 25, 1-18.
21. Liu, F., Kim, J. K., Li, Y., Liu, X. Q., Li, J. and Chen, X. 2001. An extract of *Lagerstroemia speciosa* L. has insulin-like glucose uptake-stimulatory and adipocyte differentiation-inhibitory activities in 3T3-L1 cells. *J. Nutr.* 131, 2242-2247.
22. Rosen, E. D., Hsu, C. H., Wang, X., Sakai, S., Freeman, M. W., Gonzalez, F. J. and Spiegelman, B. M. 2002. C/EBP $\alpha$  induces adipogenesis through PPAR $\gamma$ : a unified pathway. *Genes. Dev.* 16, 22-26.
23. Kim, K. H. 2009. Perspective in regulation of adipogenesis by bioactive food components. *Food Science and Industry.* 42, 51-57.
24. Ji, N. Y., Wen, W., Li, X. M., Xue, Q. Z., Xiao, H. L. and Wang, B. G. 2009. Brominated selinane sesquiterpenes from the marine brown alga *Dictyopteris divaricata*. *Mar. Drugs.* 7, 355-360.
25. Wen, W., Li, F., Ji, N. Y., Li, X. M., Cui, C. M., Li, X. D., Zhang, L. N., Xue, Q. Z. and Wang, B. G. 2009. A new cadinane sesquiterpene from the marine brown alga *Dictyopteris divaricata*. *Molecules.* 14, 2273-2277.
26. Kim, J. K. and Kang, S. M. 2021. Antioxidant and Whitening effect of *Dictyopteris* spp. Extract. *J. Kor. Soc. Cosmetol.* 27, 614-623.
27. Kim H. S., Wataya, Y., Takaya, Y., Ahnn, J. H., Jeon, B. H., Shin, H. J., Shin, C. H., Kim, Y. M. and Park, H. 2003. Antimalarial activity of marine alga against *P. falciparum* in vitro. *Korean J. Oriental Physiology & Pathology.* 17, 1321-1324.
28. Green, H. and Kehinde, O. 1975. An established pre-adipose cell line and its differentiation in culture II. Factors affecting the adipose conversion. *Cell.* 5, 19-27.
29. Rubin, C. S., Hirsch, A., Fung, C. and Rosen, O. M. 1978. Development of hormone receptors and hormonal responsiveness in vitro. Insulin receptors and insulin sensitivity in the preadipocyte and adipocyte forms of 3T3-L1 cells. *J. Biol. Chem.* 253(20), 7570-7578.
30. Smith, P. J., Wise, L. S., Berkowitz, R., Wan, C. and Rubin, C. S. 1988. Insulin-like growth factor-I is an es-

- sential regulator of the differentiation of 3T3-L1 adipocytes. *J. Biol. Chem.* 263, 9402-9408.
31. Padilla-Benavides, T., Velez-delValle, C., Marsch-Moreno, M., Castro-Muñozledo, F. and Kuri-Harcuch, W. 2016. Lipogenic enzymes complexes and cytoplasmic lipid droplet formation during adipogenesis. *J. Cell. Biochem.* 117, 2315-2326.
  32. Patil, R. S., Mane, M. P., Magdum, A. B. and Nimbalkar, M. S. 2022. *Dioscorea oppositifolia* plant extract reduces adipogenesis by down-regulating PPAR $\gamma$ , C/EBP $\alpha$ , SREBP-1, and FASN in 3T3L1 pro-adipocytes. *Phytomedicine Plus.* 2, 100293.
  33. Jemai, R., Drira, R., Makni, M., Fetoui, H. and Sakamoto, K. 2020. Colocynth (*Citrullus colocynthis*) seed extracts attenuate adipogenesis by down-regulating PPAR $\gamma$ /SREBP-1c and C/EBP $\alpha$  in 3T3-L1 cells. *Food Bioscience.* 33, 100491.
  34. Naowaboot, J., Chung, C. H., Pannangpetch, P., Choi, R., Kim, B. H., Lee, M. Y. and Kukongviriyapan, U. 2012. Mulberry leaf extract increases adiponectin in murine 3T3-L1 adipocytes. *Nutr. Res.* 32, 39-44.
  35. Rosen, E. D. and Spiegelman, B. M. 2000. Molecular regulation of adipogenesis. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 16, 145-171.
  36. Reese, K. A. and Caldwell, J. H. 1999. Immunocytochemical localization of NaCh6 in cultured spinal cord astrocytes. *Glia.* 26, 92-96.
  37. Gregoire, F. M., Smas, C. M. and Sul, H. S. 1998. Understanding adipocyte differentiation. *Physiol. Rev.* 78, 783-809.