

# *Paeonia anomala* L.의 물 추출물이 3T3-L1 지방 전구세포의 분화 및 지방 축적에 미치는 영향

최문열<sup>#</sup>, 김미형, 김미려<sup>\*</sup>

대구한의대 한의과대학 본초약리학교실

## *Paeonia anomala* L. water extract attenuates differentiation and fat accumulation in 3T3-L1 preadipocytes

Moon-Yeol Choi<sup>#</sup>, Mi Hyung Kim, Mi Ryeo Kim<sup>\*</sup>

Department of Herbal Pharmacology, College of Korean Medicine, Daegu Haany University, Daegu, Korea

### ABSTRACT

**Objective** : Obesity is a disease caused by energy imbalance and increases the risk of complications such as cardiovascular disease and cancer. Additionally, a recent study reported that excessive production of ROS stimulates the expression of transcription factors related to adipogenesis, such as PPAR- $\gamma$ , C/EBP- $\alpha$  and  $\beta$ , in 3T3-L1 cells. In this study, *Paeonia anomala* L. (PAL) was selected as a candidate for improving and preventing obesity from Mongolian medical literature, and its effect on fat metabolism was observed *in vitro*.

**Methods** : The activity of PAL extract against lipid accumulation was measured in 3T3-L1 cells through Oil red O staining. Additionally, the expression of lipid metabolism-related proteins was measured by western blot.

**Results** : Intracellular lipid accumulation was significantly lower in the treatment group than in the control group. In addition, pAMPK/AMPK protein expression in the treatment group tended to increase in a concentration-dependent manner, and PPAR- $\gamma$  protein expression in the treatment group showed a significant decrease in a concentration-dependent manner compared to the control group.

**Conclusion** : These results suggest that PAL extract may have an anti-obesity effect, and it is believed that it can be used to develop functional materials for the treatment of obesity.

**Key words** : Anti-obesity, *Paeonia anomala* L., 3T3-L1 cells, adipogenesis, differentiation

## I. 서 론

최근, 코로나로 인한 실내 생활시간의 증가로 인해 발생한 운동 부족, 스트레스 증가 및 불규칙한 식생활은 비만, 고혈압, 동맥경화 등의 질병에 대한 노출을 증가시켜 건강에 관한 관심

도가 매우 높아지고 있다<sup>1)</sup>. 비만은 신체활동 감소, 서구화된 식생활 및 유전적 원인 등으로 인해 발생하는 만성질환으로 에너지 섭취와 소비간의 불균형으로 체내에 지방이 과잉 축적된 상태를 의미하며 세계보건기구(World Health Organization, WHO)의 보고에 따르면 매년 약 400만 명이 비만 또는 합병

\*Corresponding author : Mi Ryeo Kim, Department of Pharmacology, College of Korean Medicine Daegu Haany University, 165 Sang-dong, Suseong-gu Daegu 706-827, Korea

· Tel : +82-53-770-2300

· Fax : +82-53-770-2312

· E-mail : mrkim@dhu.ac.kr

#First author : Moon-Yeol Choi, department of Pharmacology, College of Korean Medicine Daegu Haany University, 165 Sang-dong, Suseong-gu Daegu 706-827, Korea

· Tel : +82-53-770-2300

· Fax : +82-53-770-2312

· E-mail : yeol6234@hanmail.net

· Received : 27 January 2024

· Revised : 14 March 2024

· Accepted : 25 March 2024

증으로 사망하였으며, 2030년까지 고콜레스테롤혈증과 연관된 심혈관계 질환으로 약 2,360만 명이 사망할 것으로 예측하였다<sup>2-4</sup>. 비만은 백색지방 조직(white adipose tissue, WAT)이 과도하게 축적되어 발생하며, WAT의 성장은 비대와 과형성 두 가지 메커니즘에 의해 매개된다. 따라서, 지방 비대 또는 과형성을 억제하기 위해서는 지방세포의 크기 또는 수를 조절하는 것이다<sup>5</sup>. 비만을 개선하기 위해서는 운동요법, 식이요법 및 약물요법이 사용되고 있지만, 생활 습관의 개선에는 노력이 많이 필요하므로 손쉬운 약물 치료 방법이 대안으로 제시되고 있다<sup>6-7</sup>. 치료 약물로는 오를리스테트 (Xenical), 펜터민/토피라메이트(Qsymia®), 날트렉손/부프로피온(Contrave®), 리라글루타이드(Saxenda®) 등이 있으나 이상감각, 현기증, 구강 건조, 메스꺼움, 구토, 오심, 설사 등 부작용을 일으킨다고 보고되었다<sup>8</sup>. 이러한 여러 부작용을 동반하고 있어 천연물로부터 항비만 기능성 소재를 찾아내는 연구가 활발하게 진행되고 있다<sup>9</sup>. 또한, 활성산소(Reactive oxygen species, ROS)가 지방세포에 과도하게 생성되면 3T3-L1 지방전구세포의 분화를 촉진한다고 보고하고 있어 효과적인 항비만 소재 탐색을 위해서는 항산화 활성과 함께 지방세포 분화 및 지질 축적 억제 효과를 평가하는 것이 중요하다<sup>10</sup>. 따라서 본 연구는 안전성을 가진 항비만 소재를 탐색하고자 16세기부터 20세기 초까지의 몽골 서적 및 자료를 바탕으로 천연 항비만 소재에 대한 데이터베이스를 구축하였으며, 이를 바탕으로 *Paeonia anomala* L. (PAL)를 선별하였다. *Paeonia anomala* L.은 작약과 작약속 식물로서, ‘아노말라 작약’이라고 불린다. 고대 몽골인의 처방에 따르면 항이노제와 고혈압을 완화시키는 용도 등으로 사용된다고 알려져 있으며, 중국 중부에서 카자흐스탄 북동부와 몽골 북부를 포함하여 러시아의 콜라반도까지 널리 분포되어 있다<sup>11</sup>. 몽골은 천연물 자원이 매우 풍부하나 재배생산 인프라가 부족한 상황으로 70~80% 정도의 의약품 수입에 의존하고 있다. 몽골 의학은 티벳, 인도 및 중국 등의 의학이 융합 발전된 분야로, 수백 종의 약용식물자원을 바탕으로 신규 기능성 소재를 도출하고 자, 국책사업으로 형질변화 또는 우수 품종의 생산 보급 등에 관해 다양한 연구가 진행되고 있다<sup>12</sup>. 따라서 몽골과의 공동연구의 일환으로 Oil red O 염색을 통해 *Paeonia anomala* L. 추출물이 3T3-L1 지방 전구세포의 분화 및 지방 축적에 미치는 영향뿐만 아니라 western blot을 통해 지질대사 관련 단백질 발현에 대해 평가하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 시료의 제조

실험에 사용된 *Paeonia anomala* L.의 물 추출물은 몽골 전통 의학 학술 연구소 및 몽골 국립 의과대학 소속인 연구팀에서 공급받아 사용하였다. 시료는 채집 후, 전초를 건조 작업을 거쳐 건조된 원료를 적당한 크기로 분쇄하였다. 건조 원료 200 g에 10배수의 DW (distilled water)를 첨가한 뒤, heating mantle (NP33.1, Pilz, Ostfildern, Germany)을 사용하여

180°C에서 2시간 가열하였다. 추출액은 여과하여 잔류물을 버리고 진공원심농축기 (RE-301, Equipment Co., Zhengzhou, China)로 농축하였다. 이후 freeze-dryer (7753027, Labconco, Missouri, USA)를 사용하여 동결건조한 분말을 얻었다. 분말 형태로 건조된 추출물은 사용 전까지 -80°C에서 냉동보관 후 사용하였다. 수득율은 0.5%로 나타났다.

## 2. 방법

### 1) DPPH 전자 공여능 측정

전자공여능 측정은 Blois<sup>13</sup>의 방법을 수정 보완하여, DPPH free radical 소거법으로 측정하였다. 5, 1, 0.5 및 0.1 mg/ml로 희석한 추출물과 0.1 mg/ml 양성대조군 Butylated hydroxyl anisole (BHA, Sigma, Missouri, USA) 각각 100  $\mu$ l에 0.2 mM DPPH 시약 (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, Sigma, Missouri, USA)을 50  $\mu$ l씩 첨가한 후 vortex mixer (G-560, Scientific industries)를 사용하여 혼합하였으며, 혼합 후 차광시켜 30분간 상온에서 반응시켰다. 그 후, 반응액을 517 nm에서의 흡광도로 ELISA plate reader를 이용하여 측정하였다.

### 2) 세포 배양

3T3-L1 지방 전구세포는 American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, USA)에서 구입하여 사용하였으며, high-glucose Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM, Thermo Fisher, Massachusetts, USA)에 10% bovine calf serum (BCS, Thermo Fisher, Massachusetts, USA) 및 1% penicillin-streptomycin (P/S, Thermo Fisher, Massachusetts, USA)를 혼합한 배지를 사용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건으로 배양하였다. 이후, 분화유도 배지 (10% fetal bovine serum (FBS, Thermo Fisher, Massachusetts, USA), 1% P/S, 111  $\mu$ g/ml 3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX, Thermo Fisher, Massachusetts, USA), 5  $\mu$ g/ml insulin (Thermo Fisher, Massachusetts, USA) 및 2  $\mu$ M dexamethasone (Thermo Fisher, Massachusetts, USA)을 포함하는 DMEM 배지)를 사용하여 분화를 유도하였다. 48시간 후, 10% FBS, 1% P/S 및 5  $\mu$ g/ml insulin을 포함하는 배지로 교환하여 성숙한 지방세포로 배양하였다. 추출물은 0.2, 0.1 및 0.05 mg/ml 농도로 배지 교체기간 동안 함께 처리하였다.

### 3) Cell viability 측정

추출물이 3T3-L1 세포 생존력에 미치는 영향을 알아보기 위해, MTT assay를 이용하여 측정하였다. 3T3-L1 세포를  $0.2 \times 10^6$  cells/well이 되게 96 well plate에 분주하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건으로 48시간 적응시켰다. 적응시킨 뒤 추출물을 농도별로 24시간 처리하였다. 24시간 동안 추출물과 반응시킨 후, 1 mg/ml 농도의 MTT 시약(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetra-zolium Bromide, Sigma, Missouri, USA)을 첨가하여 4시간 동안 반응시켰다. 4시간 반응 후, 상층액을 제거하고 dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma, Missouri, USA)를 분주하여 침전물과 혼합시켜 570 nm에서의 흡광도로 ELISA plate reader를 이용하여 측정하였다.

4) Oil red O 염색

3T3-L1 지방 전구세포에 대한 세포 분화 및 지방 축적 억제에 대한 추출물의 영향을 조사하기 위해, 세포를 Oil red O 염색하여 확인하였다. 세포 분화가 진행되는 동안, 2일 주기로 배지를 교환하였으며 배지 교체기간 동안 각 추출물을 0.2, 0.1 및 0.05 mg/ml 농도로 함께 처리하였다. 분화 8일 후, 세포 배양액을 제거하고 증류수로 3회 세척 하였으며 pH 7.2 cacodylate buffer (100 mM cacodylate, 2.5% glutaraldehyde (Sigma, Missouri, USA), 2% formaldehyde (Junsei, Tokyo, Japan), 5% sucrose 및 0.025% CaCl<sub>2</sub> (Duksan, Ansan, Korea)로 4℃에서 2시간 동안 세포를 고정하였다. 고정이 완료된 세포는 증류수로 세척 하였으며, Oil-red O 시약 (Sigma, Missouri, USA)으로 염색한 뒤 건조하였다. 염색된 3T3-L1 세포의 지방함량을 측정하기 위해 100% isopropyl alcohol (Junsei, Tokyo, Japan)로 지방을 추출하여 520 nm에서의 흡광도로 ELISA plate reader를 이용하여 측정하였다.

5) 지질대사 관련 단백질 발현 측정

3T3-L1 지방 전구세포에서 지질대사 관련 단백질 발현에 대한 각 추출물의 효과를 조사하기 위해, western blot을 진행하였다. 세포 분화가 진행되는 동안, 2일 주기로 배지를 교환하였으며 각 추출물을 농도별로 0.2, 0.1 및 0.05 mg/ml 함께 처리하였다. 분화 8일 후, 세포 배양액을 제거하고 DPBS로 3회 세척 한 후 Halt™ Protease 및 Phosphatase inhibitor cocktail (Thermo fisher, Massachusetts, USA)가 포함된 Ratio immuno precipitation assay buffer (RIPA buffer, Thermo fisher, Massachusetts, USA)으로 처리된 세포를 얼음 위에서 긁어내었다. 이후, 13,000rpm 및 4℃ 조건에서 30분간 원심분리 후 상등액을 채취하였다. 단백질 정량은 Bradford 단백질 분석을 이용하여 수행하였고, 30 µg의 단백질을 β-actin (1:3000; dilution, Cell Signaling, USA), AMPK (Adenosine monophosphate (AMP)-activated protein kinase), phospho-AMPK, ACC (Acetyl-CoA), phospho-ACC, PPAR-γ (Peroxisome proliferator-activated receptor-γ, 1:1000; dilution, Cell Signaling, USA)를 및 CPT-1 (Carnitine palmitoyl transferase I, 1:1000; dilution, abcam, USA)를 이용한 Western blot으로 분석하였다. 이후, ECL reagent (Amersham Biosciences, USA)을 멤브레인과의 반응시켜 웨스턴 밴드를 검출한 후, image analyzer (Uvitec Cambridge, Alliance, England, United Kingdom)를 이용하여 각 인자의 발현 정도를 분석하였다.

6) 통계 분석

모든 데이터의 통계처리는 SPSS statistics (v. 27.0, USA)을 이용하여 평균차이에 대한 유의성 검정은 one-way analysis of variance (ANOVA)을 이용하여 분석하였다. Duncan's multiple range test를 사용하여 각 군의 통계적 유의성을 p<0.05 이상의 수준에서 검증하였다. 결과는 평균 ± 표준편차로 표시하였다.

III. 결 과

1. DPPH 전자공여능 측정

PAL 추출물을 0.1, 0.5, 1, 5 mg/ml 농도로 처리하여 DPPH 소거활성을 측정된 결과, PAL 추출물은 각 64.59±0.2%, 68.69±0.73%, 70.13±1.63% 및 76.47±1.51%로 농도의 존적으로 증가하는 경향을 나타냈다 (Fig. 1).

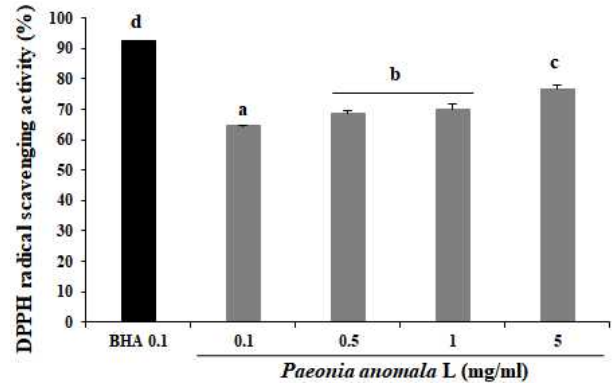


Fig. 1. Effects of *Paeonia anomala* L. water extract on DPPH radical scavenging activities. Data represent mean±S.E. Non-overlapping or different letters above bars indicate significant differences between bars according to Duncan's multiple range test (p<0.05, n=3). BHA ; Butylated hydroxyl anisole (mg/ml).

2. Cell viability에 미치는 영향

3T3-L1 지방 전구 세포에 PAL 추출물을 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 및 1 mg/ml 농도로 처리하여 세포 생존율을 측정된 결과, 91.86±1.32%, 89.72±3.53%, 84.47±1.31%, 73.03±0.86%, 63.31±2.23% 및 54.73±1.95%로 나타났다. 이 결과를 토대로 대조군과 비교하여 생존율이 80% 이상을 나타내는 범위에서 PAL 추출물이 지질축적에 미치는 영향을 조사 하였다 (Fig. 2).

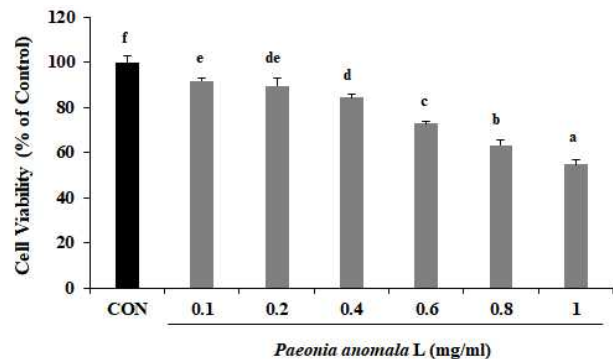


Fig 2. Effect of *Paeonia anomala* L. water extract on cell viability (% of control) in 3T3-L1 cells. Data represent mean±S.E. Non-overlapping or different letters above bars indicate significant differences between bars according to Duncan's multiple range test (p<0.05, n=3).

### 3. 지방축적에 미치는 영향

3T3-L1 지방 전구세포에서 PAL 추출물이 지질 축적에 미치는 영향을 알아보기 위해 0.05, 0.1 및 0.2 mg/ml 농도로 처리한 후 세포 내 지방축적에 대한 효과를 Oil red O 염색을 통해 비교 분석하였다. 그 결과,  $31.00 \pm 3.48\%$ ,  $23.85 \pm 1.29\%$  및  $15.01 \pm 1.00\%$ 로 모든 농도에서 대조군에 비해 80% 이하로 대조군에 비해 유의하게 지방세포 분화 및 축적 억제능을 나타내었다 (Fig. 3).

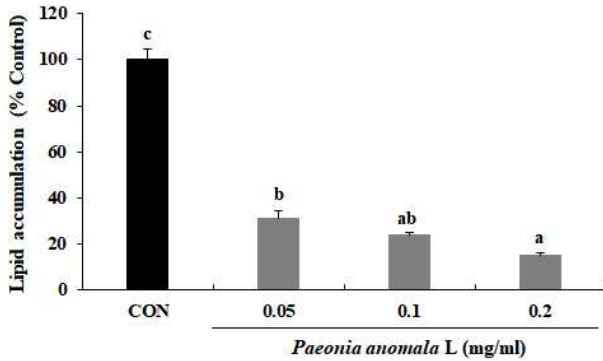


Fig 3. Effect of *Paeonia anomala* L. water extract on lipid accumulation (% of control) in 3T3-L1 cells. Data represent mean ± S.E. Non-overlapping or different letters above bars indicate significant differences between bars according to Duncan's multiple range test ( $p < 0.05$ ,  $n=3$ ).

### 4. 지질대사 관련 단백질 발현에 미치는 영향

PAL 추출물을 농도별로 처리하여 지질대사 관련 단백질 발현을 비교분석하였다. 그 결과, 세포 내의 에너지 상태와 관련이 있는 AMPK 인산화의 경우  $1.29 \pm 0.31$ ,  $1.38 \pm 0.34$  및  $1.78 \pm 0.16$ 으로서 농도의존적으로 증가하였으며, 특히 0.2 mg/ml 농도에서 유의적 증가를 나타냈다 (Fig. 4a). 지방 생성 및 지방 산화와 관련 있는 ACC 인산화는  $1.39 \pm 0.32$ ,  $1.65 \pm 0.01$  및  $1.98 \pm 0.06$ 으로 농도의존적으로 증가하는 경향을 나타냈다 (Fig. 4b). 지방세포 분화에 결정적인 역할을 한다고 알려진 PPAR- $\gamma$ 는  $1.37 \pm 0.06$ ,  $1.25 \pm 0.16$  및  $1.15 \pm 0.03$ 으로 농도의존적으로 감소하는 경향을 나타냈으며, 대조군에 비해 유의하게 감소하였다 (Fig. 4c). 지방산 산화에 관여하는 CPT-1 단백질의 발현은  $2.05 \pm 0.23$ ,  $2.24 \pm 0.09$  및  $3.46 \pm 0.5$ 로 농도의존적으로 증가하는 경향을 나타냈으며, 특히 고농도인 0.2 mg/ml 농도에서 유의적 증가를 나타냈다 (Fig. 4d).

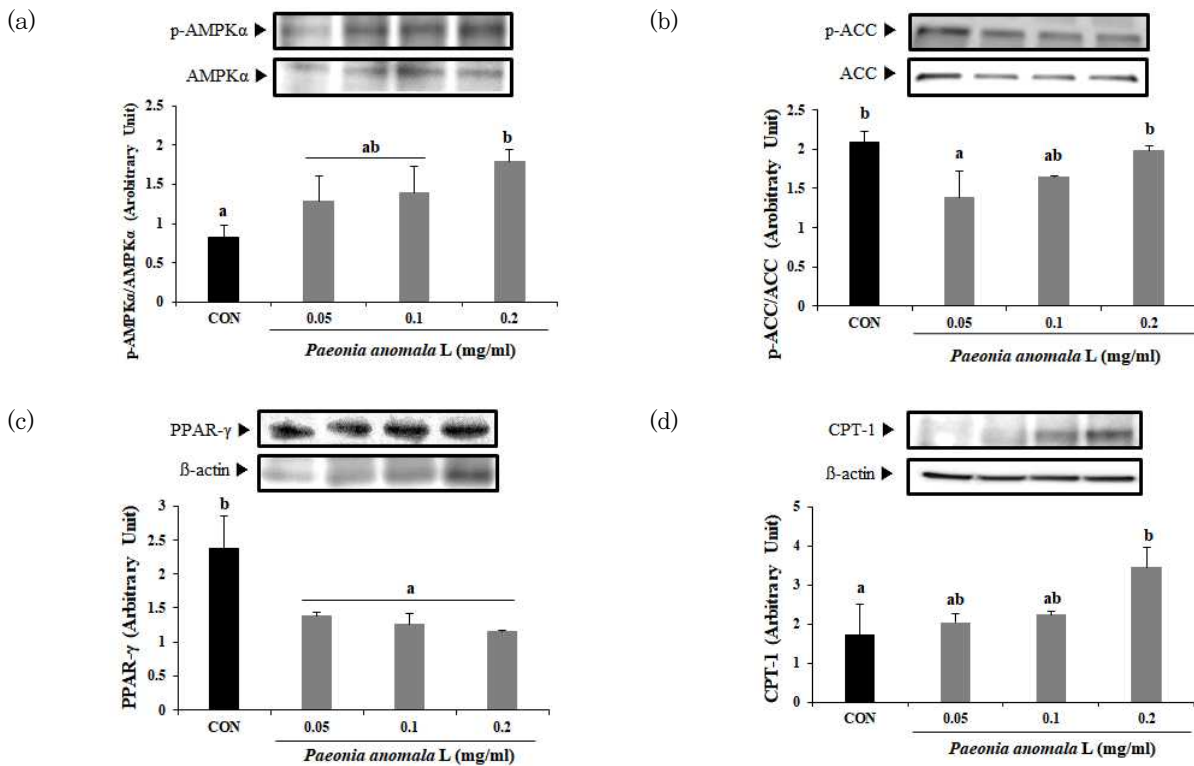


Fig.4. Effect of *Paeonia anomala* L. water extract on AMPK and ACC phosphorylation, PPAR- $\gamma$  and CPT-1 protein expressions in 3T3-L1 cells. Data represent mean ± S.E. Non-overlapping or different letters above bars indicate significant differences between bars according to Duncan's multiple range test ( $p < 0.05$ ,  $n=3$ ).

## IV. 고 찰

비만은 심혈관 질환, 제 2형 당뇨병 및 암 등을 포함하는 만성질환의 원인으로 현재 주요 공중 보건 문제 중 하나이며, 비만 및 관련 합병증은 삶의 질은 물론 정신건강에도 영향을 미친다<sup>14)</sup>. 또한, 비만 치료 관련 의료비를 포함한 사회적 경제적 손실이 2030년도에는 2015년도 9조 2천억의 두 배에 달할 것으로 전망하고 있는 추세이다<sup>15)</sup>. 적절한 체중감량을 위해 생활 습관의 개선 또는 약물 치료 등을 사용하고 있으나 효과적인 치료법을 찾지 못하고 있다<sup>16)</sup>. 약물의 장기간 복용으로 인한 심각한 부작용들이 보고 되고 있으므로 안전성과 생리학적 가능성을 가진 천연소재와 비만 및 관련 합병증 발생 감소 간의 관련성을 입증하는 많은 연구가 진행되고 있다<sup>17)</sup>. 최근에는 오미자, 산국꽃, 우영뿌리 및 새싹울무 등과 같은 천연 소재에 대한 효능에 관한 연구가 보고되고 있다<sup>18-21)</sup>. 따라서 본 연구는 항비만 효능을 가진 약용 소재 발굴을 위해 진행되었다.

최근 연구에 따르면 지방세포 유래 ROS는 인슐린 충동과 비만을 포함하는 대사 증후군의 핵심 조절인자 역할로 지방세포 분화지시에 중요한 역할을 하며 지질 축적과 같은 병리학적 증상의 일반적인 징후라고 제안하고 있다<sup>22)</sup>. DPPH 라디칼 소거능은 amino phenol, ascorbic acid, tocopherol, polyhydroxyl aromatic compound 등에 의하여 활성 라디칼이 환원되어 보라색에서 노란색으로 탈색이 되는 원리를 이용해서 측정한다<sup>23)</sup>. 이 방법으로 PAL 추출물 처리 후 라디칼 소거능을 측정한 결과, 5 및 1 mg/ml 농도에서 70% 이상의 라디칼 소거능을 나타냈으며, 이는 Hong 등<sup>24)</sup>의 연구에서처럼 PAL 추출물 고농도군이 유의하게 전자공여능 효과를 나타낸 것을 의미한다. 또한 Nyamsambu<sup>25)</sup>등의 연구는 PAL 잎에 탄을 추출물의 라디칼소거능, phenolic compounds 및 Flavonoid compounds를 측정하였으며 100 및 200 µg/ml 농도에서 각각 400~500 µg/ml, 200 및 400 µg/ml 및 100~110 µg/ml 정도의 갈산당량을 나타냈다. 따라서 본 연구는 라디칼소거능 이외의 항산화능 실험과 PAL에 함유하는 aromatic amine 등에 대한 추가적인 연구를 통해 더 상세한 항산화 기전에 대한 연구가 추가적으로 필요할 것으로 사료된다. 3T3-L1 지방전구세포는 생물학적 특성이 잘 밝혀져 있으며, 유도물질에 의해 지방세포로 분화하는 성질을 가지고 있어 지방세포의 대사과정은 물론 지방축적과 지방세포의 분화과정을 연구하는데 널리 사용되고 있다<sup>26)</sup>. 3T3-L1 지방전구세포에서 MTT assay를 통해 PAL 추출물의 세포 생존율을 측정하였다. Seo 등<sup>27)</sup>의 연구에 따르면 대조군과 비교해 처리군의 세포 생존율이 80% 이상일 경우 그 때의 시료 농도를 무독성 안전 농도로 간주하였다. 이를 근거로 PAL 추출물의 세포 생존율을 분석한 결과, 시료의 모든 처리 농도군에서 세포 생존율이 90% 이상으로 나타나 모든 처리 농도가 무독성으로 안전한 농도임을 확인하였다. 앞선 실험 결과를 통해, 독성이 없는 안전한 농도를 처리하여 3T3-L1 세포에서 추출물이 지방세포 분화 및 지방 축적에 대한 영향을 Oil red O 염색법으로 비교 분석하였다. PAL 추출물은 대조군에 비해 모든 농도군에서 40% 이하로 유의하게 지방세포 분화와 지방 생성을 유의하게 억제하는 효과를 나타냈다. Adenosine monophosphate (AMP)-activated protein kinase (AMPK)는 진핵생물에서

세포 연료 게이지 역할을 하는 대사 센서로서 비만, 제 2형 당뇨병, 암과 같은 대사성질환을 조절하는 핵심분자이다. ROS, 포도당 결핍 및 저산소증과 같은 ATP 고갈 조건에서 활성화되어 세포 항상성을 유지하기 위한 ATP 생성경로를 유도하는 것으로 알려져 천연 AMPK 활성화제를 발견하는 것은 대사성질환을 극복하기 위한 새로운 전략이다<sup>28)</sup>. 또한 AMPK는 acetyl-CoA (ACC)의 인산화를 통해 트리글리세라이드 합성 및 축적에 관여하는 지방 생성 유전자 발현의 억제를 매개한다<sup>29)</sup>. 이에 AMPK 인산화를 확인한 결과, 농도의존적으로 증가하는 경향을 나타냈으며, 고농도인 0.2 mg/ml에서 대조군에 비해 유의적인 증가를 나타냈다. ACC 인산화의 경우, 처리군 내에서는 농도의존적으로 증가하는 경향을 나타냈으나, 대조군에 비해 유의한 증가를 나타내지는 못하였다. Peroxisome proliferator-activated receptor-γ (PPAR-γ)는 PPAR 서브패밀리의 한 구성원이며 adipocyte fatty acid-binding protein 2 (aP2) 유전자의 지방 세포 특이적 강화제인 지방세포 조절 인자 6의 구성 요소이다. 또한, 3T3-L1 지방전구세포의 분화에 중요한 전사인자이며, 지방세포 분화 또는 지질 축적 및 지방산 합성 등 지방 생성에 관여하는 다양한 유전자 발현을 활성화한다<sup>30)</sup>. Carnitine palmitoyl transferase I (CPT-1)은 malonyl-CoA를 억제하여 지방산 생성을 감소시키고 long-chain fatty acids (LCFAs)이 미토콘드리아로 β-oxidation 되는 과정을 조절한다<sup>31)</sup>. PPAR-γ는 모든 농도군에서 대조군에 비해 유의하게 감소하였고, CPT-1은 농도의존적으로 증가하는 경향을 나타냈으며, 특히 고농도 군에서 유의하게 증가하는 추세를 나타냈다. 이러한 결과를 통해, PAL 추출물은 지방생성에 관여하는 유전자의 발현, 지방전구세포의 분화를 억제하며 지방산 산화를 증가시켜 체중 감소 및 체지방의 감소에 효과를 나타낼 수 있을 것으로 보인다. 따라서 PAL 추출물은 기존의 합성 비만치료제가 가진 부작용을 최소화할 수 있는 천연소재로 비만 치료 및 예방을 위해 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

## V. 결 론

PAL 추출물이 지방 전구세포의 분화 및 지방 축적에 대한 효과를 실험한 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. DPPH 라디칼 소거능 분석을 통해 PAL 추출물의 고농도군에서 유의한 항산화 효과를 나타냈다.
2. Oil red O staining 결과, PAL 추출물은 모든 농도군에서 유의하게 지질 축적을 억제하였다.
3. PAL 추출물은 3T3-L1 지방전구세포에서 지질대사와 관련된 p-AMPK 및 CPT-1의 단백질 발현을 유의하게 증가시켰으며, PPAR-γ의 발현은 유의하게 감소시켰다.

따라서, PAL 추출물은 지방전구세포의 분화 및 지방 축적을 억제시켰으며, 이는 지질대사 관련 단백질을 통해 일어나는 것으로 사료된다. 그러므로 PAL은 비만 치료 및 예방을 위한 천연 기능성 소재로 활용될 수 있을 것으로 보인다.

## 감사의 글

이 논문은 농촌진흥청 (PJ015272032021)과 한국연구재단 (2021R1A2C201471711)의 지원을 받아 수행된 연구입니다.

## References

1. Lee RW, Kang SA. Ant-Obesity Effect of *Coriandrum sativum* L. Ethanol Extract in High Fat-Induced Obesity Animal Model. Korean J. Food Nutr. 2023 ; 36(4) : 296-308. <https://doi.org/10.9799/ksfan.2023.36.4.296>
2. Kim YJ, Choi JM, Kim YH. Anti-Obesity Activity of Guava Branch Extract in the Co-Culture System of Adipocytes and Macrophages. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 2022 ; 51(2) : 107-14. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2022.51.2.107>
3. World Health Organization. 2017. The statistics of obesity. [cited 2023 May 20] Available from : URL : [https://www.who.int/health-topics/obesity#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/obesity#tab=tab_1)
4. Choi SY, Park HA, Yoon YG. Anti-obesity effect of the combination of fermented extracts from *Momordica charantia* and *Withania somnifera* in mice fed a high-fat diet. J. Appl. Biol. Chem. 2022 ; 65(3) : 143-52. <https://doi.org/10.3839/jabc.2022.019>
5. Han HS, Chung KS, Shin YK, Lee SH, Lee KT. Standardized *Hydrangea serrata* (Thunb.) Ser. Extract Ameliorates Obesity in *db/db* Mice. Nutrients. 2021 ; 13, 3624. <https://doi.org/10.3390/nu13103624>
6. Song H, Seo JH. Anti-Obesity Effects of Red Onions Extract. J. Converg. Inf. Technol. 2022 ; 12(2) : 126-131. <https://doi.org/10.22156/CS4SMB.2022.12.03.126>
7. Reddy P, Chow MSS. Focus on orlistat: a nonsystemic inhibitor of gastrointestinal lipase for weight reduction in the management of obesity. Formular. 1998 ; 33(10) : 943-59.
8. Son JW. Recent Advances in Anti-Obesity Drugs. J. Korean Diabetes. 2022 ; 23 : 113-27. <https://doi.org/10.4093/jkd.2022.23.2.113>
9. Ji HH, Jeong HY, Jin SJ, Kwon HJ, Kim BW. Inhibition of Adipocyte Differentiation by Methanol Extracts of *Oenanthe javanica* Seed in 3T3-L1 Preadipocyte. J. Life Sci. 2012 ; 22(12) : 1688-96. <http://dx.doi.org/10.5352/JLS.2012.22.12.1688>
10. Im JH, Lim JS, Han XG, Men X, Oh G, Cho GH, Choi SI, Hwang WS, Lee OH. Antioxidant Activity and Anti-Obesity Effects of Mixture of *Brassica juncea* and Black Rice Bran. Korean J. Food Nutr. 2023 ; 36(4) : 244-52. <https://doi.org/10.9799/ksfan.2023.36.4.244>
11. Enkhtuya E, Shimamura T, Kashiwagi T, Ukedo H. Antioxidative Constituents in the leaves of *Paeonia anomala* grown in mongolia. Food Sci. Technol. Res. 2017 ; 23(1) : 63-70. <https://doi.org/10.3136/fstr.23.63>
12. Choi MY, Kim SY, Kim MR. Basic research for exploring anti-obesity activity of several medicinal plants from Mongolia. Kor. J. Herbol. 2023 ; 38(3) : 1-10. <http://dx.doi.org/10.6116/kjh.2023.38.3.1>
13. Blois MS. Antioxidant determination by the use of stable free radical. Nature. 1958 ; 191 : 1199-1200.
14. Mahajan N, Koul B, Kaur J, Bishnoi M, Gupta P, Kumar A, Shah BA, Mubeen I, Rai AK, Prasad R, Singh J. Antiobesity potential of bioactive constituents from dichloromethane extract of *Psoralea corylifolia* L. seeds. BioMed Res. Int. 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/9504787>
15. Jung SM, Seol YH, Chun KY, Park MH, Liu Y, Kang SY, Park YK, Jung HW. Antiobesity and antidiabetic effects of polyherbal extract with *Atractylodis Rhizoma*, *Anemarrhenae Rhizoma*, *Cinnamomi Cortex* and *Moutan Radicles Cortex* in high fat diet-induced obesity mice. J. Korean Med. Obes. Res. 2020 ; 20(2) : 69-77. <https://doi.org/10.15429/jkomor.2020.20.2.69>
16. Choi YY, Lee HS, Baik SY, Lim SM, Jung HW, Kang SY, Park YK. Anti-obesity effects and the regulation of energy metabolism in skeletal muscle tissues of *Allii Fistulosi Bulbus* extract in high fat diet-induced obesity mice. J. Korean Med. Obes. Res. 2022 ; 22(2) : 102-14. <https://doi.org/10.15429/jkomor.2022.22.2.102>
17. Park SK, Lee JH, Park SH, Lee YG. Anti-obesity effects of *Glycyrrhiza uralensis* ethanol extract on the inhibition of 3T3-L1 adipocyte differentiation in high-fat diet-induced C57 BL/6J mice. Korean J. Food Preserv. 2023 ; 30(4) : 716-28. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2023.30.4.716>
18. Lee SH, Park HJ, Shin MR, Roh SS. Anti-obesity effect of *Schizandrae fructus* water extract through

regulation of AMPK/Sirt1/PGC-1 $\alpha$  signaling pathway. Kor. J. Herbol. 2022 ; 37(2) : 1-11. <http://dx.doi.org/10.6116/kjh.2022.37.2.1>.

19. Hwang DI, Choi IH, Kim DY, Park SM, Kim HB, Li YL, Lee HM. Inhibitory effects of *Chrysanthemum boreale* Makino on 3T3-L1 preadipocyte differentiation and down-regulation of adipogenesis and lipogenesis. J. Life Sci. 2019 ; 29(3) : 332-6. <https://doi.org/10.5352/JLS.2019.29.3.332>
20. Seo SW, Kim MJ, Kim K, Chung DM, Shin MR. The comparative study on the anti-obesity effect of *Arctium lappa* L. roots with and without microwave processing. Kor. J. Herbol. 2022 ; 37(4) : 17-29. <http://dx.doi.org/10.6116/kjh.2022.37.4.17>.
21. Kim MJ, Lee JH, Choi JW, Park HJ, Shin MR, Roh SS. *Coix lacryma-jobi* var. mayuen stapf sprout extract ameliorates high-fat diet-induced obesity by upregulating LKB1/AMPK signaling. Kor. J. Herbol. 2021 ; 36(6) : 39-46. <http://dx.doi.org/10.6116/kjh.2021.36.6.39>.
22. Choi YH, Lee OH, Zheng Y, Kang IJ. *Erigeron annuus* (L.) Pers. extract inhibits reactive oxygen species (ROS) production and fat accumulation in 3T3-L1 cells by activating an AMP-dependent kinase signaling pathway. Antioxidant. 2019 ; 8(5) : 139. <https://doi.org/10.3390/antiox8050139>
23. Kim KC, Kim JS. Physiological activity of the extract from Dolwoe (*Gynostemma pentaphyllum* Makino) leaves tea by different ethanol concentrations. J. Plant Biotechnol. 2019 ; 46 : 37-44. <https://doi.org/10.5010/JPB.2019.46.1.037>
24. Hong JY, Nam HS, Lee YS, Kim NW, Shin SR. Anti-oxidant activity of ethanol extracts from fruits *Elaeagnus multiflora* THUNB. during maturation. Korean J. Food Preserv. 2006 ; 13(5) : 643-8.
25. Nyamsambuu A, Ahmed A, Khusbu FY, Oidovsambuu S, Khan MA, Zhou X, Fu JJ, Chen HC. Anti-oxidant and Antiproliferative Activities of Mongolian Medicinal Plant Extracts and Structure Isolation of Gnetin-H Compound. Med Chem. 2021;17(9):963-973. <https://doi.org/10.2174/1573406416666201106110117>
26. Kim JY, Cha YY. Effects of *Eucommia Ulmoides Folium* on antioxidation, gene expression and cytokines of 3T3-L1 cell line. J. Oriental Rehab. Med. 2007 ; 17(2) : 85-100.
27. Seo JE, Lee HU, Bae CH, Yoon DH, Kim HY, Kim ST. Comparative study of 12 herbal formulae covered by the national health insurance service in Korea. Korean J. Acupunc. 2022 ; 39(2) : 34-42. <https://doi.org/10.14406/acu.2022.006>
28. Hwang JT, Kim SH, Lee MS, Kim SH, Yang HJ, Kim MJ, Kim HS, Ha JH, Kim MS, Kwon DY. Anti-obesity effects of ginsenoside Rh2 are associated with the activation of AMPK signaling pathway in 3T3-L1 adipocyte. Biochem. Biophys. Res. Commun. 2007 ; 364 : 1002-8. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.10.125>
29. C Ho, Y Gao, D Zheng, Y Liu, S Shan, B Fang, Y Zhao, D Song, Y Zhang, Q Li, Alisol A attenuates high-fat-diet-induced obesity and metabolic disorders via the AMPK/ACC/SREBP-1c pathway. J. Cell. Mol. Med. 2019 ; 23 : 5108-18. <https://doi.org/10.1111/jcmm.14380>
30. Yang SH, Ahn EK, Lee JA, Shin TS, Tsukamoto CE, Suh JW, Mei I, Chung GH. Soyasaponins Aa and Ab exert an anti-obesity effect in 3T3-L1 adipocytes through downregulation of PPAR $\gamma$ . Phytother. Res. 2015 ; 29 : 281-7. <https://doi.org/10.1002/ptr.5252>
31. Tsai SC, Huang YW, Wu CC, Wang JJ, Chen YT, Singhanian RR, Chen CW, Dong CD, Hsieh SL. Anti-obesity effect of *Nostoc commune* ethanol extract In vitro and In vivo. Nutrients. 2022 ; 14 : 968. <https://doi.org/10.3390/nu14050968>