

Inhibition of Adipogenesis in 3T3-L1 Adipocytes with Water and Ethanol Extracts of *Cudrania tricuspidata* Leaves

Gun-Pyo Do, Hye-Jin Lee, Jeong-Ryong Do and Hyun-Ku Kim[†]

Korea Food Research Institute, Songnam 463-746, Korea

꾸지뽕잎(*Cudrania tricuspidata*) 추출물의 3T3-L1 세포 분화 억제

도건표 · 이혜진 · 도정룡 · 김현구[†]

한국식품연구원

Abstract

The inhibitory effects of adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes with water and ethanol extracts of *Cudrania tricuspidata* leaves were investigated. The lipid accumulation of ethanol extract from *Cudrania tricuspidata* leaves at a concentration of 5 mg/mL was reduced by 50% compared with control cells, whereas water extracts reduced by 86%. The survival rate of cell viability test showed 80% in the growth of cells at concentrations of 0.5-5 mg/mL. The contents of DNJ(1-deoxyojirimycin) and rutin were higher in leaves than those of stem. Moreover, DNJ contents were detected in large amounts in ethanol extract (3921.3 µg/g) compared with water extract (2906.3 µg/g). On the contrary, the rutin contents were detected in large amounts in water extracts compared with ethanol extract. These results indicate that *Cudrania tricuspidata* leaves extract is potential sources of natural antiobesity agent.

Key words : 3T3-L1, 1-deoxyojirimycin, adipocyte, cell viability, *Cudrania tricuspidata*

서 론

오늘날 우리나라의 생활방식이 서구화됨에 따라 지방질의 섭취는 늘고 활동량은 감소하면서 비만 인구는 급격하게 증가하고 있는 추세에 있다. 비만은 과다한 체지방을 가진 상태를 의미하며 남자는 체지방이 체중의 25%, 여자는 체중의 30% 이상일 때, 임상적으로는 BMI (body mass index: 체질량지수)가 30 이상인 경우, 현재체중이 이상체중을 20% 초과하는 경우로 정의된다. 한국인의 경우 서구인에 비해 비만도가 훨씬 낮음에도 불구하고 당뇨를 비롯한 대사 질환 유병율이 상대적으로 더 높게 나타나는 특성을 나타내며 따라서 서구인의 BMI 30 kg/m²와는 달리 BMI 25 kg/m²를 비만의 진단기준으로 정하고 있다. 이러한 비만은 당뇨, 이상 지혈증, 고혈압 등과 묶어 대사증후군(metabolic syndrome)으로 부르게 되었다(1).

비만 연구에 가장 많이 사용되는 지방세포는 약 30 여년 전 Green 박사가 소개한 3T3-L1 세포(2)이며 단순한 에너지

의 저장기관이 아니라 여러 가지 호르몬을 분비하는 내분비 기관이기도 하며, 인체 대사에서 능동적으로 작용 한다. 섭취한 영양소는 중성지방의 형태로 지방 조직에 축적되며, 비만은 지방세포의 비대(hypertrophy)와 과형성(hyperplasia)으로 초래된다(3). 따라서 최근에는 천연물 유래 추출물을 이용하여 지방세포에 대한 중성지방의 축적을 억제하고 지방세포의 수를 줄이는 방법에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 본 연구팀도 지방축적을 저해하는 천연물 유래 추출물을 탐색하고자 비만개선에 효과가 있다고 알려진 꾸지뽕을 이용하여 실험을 수행하였다. 꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata*)는 뽕나무과에 속하는 낙엽성 소교목으로 잎 부분을 한방에서는 습진, 유행성이하선염, 폐결핵, 만성 요통, 타박상, 급성관절염 등을 치료하는데 사용하고 있으며 최근 꾸지뽕나무의 생리활성 작용으로서는 뽕잎의 항염증 작용 및 항균작용(4-5), 마우스에서의 지질 상승 및 산화 억제 작용(6), 간독성억제작용(7), trypsin 효소 활성 저해능, 항염증활성 성분, *Srphylococcus aureus*에 대한 항균효과도 보고되었다(8).

본 연구에서는 3T3-L1 지방전구세포에 꾸지뽕잎의 물 및 70% 에탄올 추출물을 처리하여 세포의 분화 및 지방생

[†]Corresponding author. E-mail : hyunku@kfri.re.kr
Phone : 82-31-780-9134, Fax : 82-31-709-9876

성 억제에 미치는 영향을 관찰하여 저해 활성을 확인 하였기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에 시료로 사용된 꾸지뽕잎은 영농법인 고성 꾸지뽕에서 구입한 것을 분쇄기(M20, IKA®, Germany)로 분쇄하였고, 0.2 mm PE film에 밀봉 포장하여 냉동고에 보관하면서 사용하였다.

추출방법

유용성분의 추출을 위해 2,450 MHz 주파수에 환류냉각관이 장치된 상압형 마이크로파 추출장치(MAP, Soxwave-100, Prolabo, France)를 사용하였다. 시료의 마이크로웨이브 추출조건은 추출 용매로 water, 50% ethanol, 100% ethanol을 사용하였고, 마이크로 파워는 90 W, 추출시간은 5분으로 하였다. 이렇게 하여 얻어진 추출물을 whatman filter paper No 2에 거른 후 회전 감압증발기(Ratavapor R-123, Buchi, Switzerland)로 감압 농축하였고 50 mL 증류수로 정용하여 꾸지뽕잎 추출물을 얻었다.

일반성분 및 무기질 측정

각 시료는 일반성분, 무기질 성분, 추출 수율을 측정하였다. 수분은 상압가열건조법, 조단백질은 micro Kjeldahl 법, 조지방은 Soxhlet 추출법, 조회분은 건식회화법에 따라 각각 정량하였다.

DNJ 함량의 HPLC 분석

DNJ (1-deoxynojirimycin) 표준품은 Sigma Co (St Louis, MO, USA)에서 구입하였고 증류수에 녹여 최종 10 mg/mL의 용액을 제조하여 분석용 표준용액 0.1, 1.0, 5.0, 10 µL 농도로 희석하여 표준용액으로 사용하였다.

각 시료 100 mg을 0.05 M HCl 10 mL을 첨가하여 30초 동안 교반하고 21,690 g에서 15분 동안 원심분리하여 상층액을 얻고 증류수를 첨가하여 100 mL이 되도록 한다. 각 표준용액 및 전 처리한 샘플 10 µL를 1.5 mL 마이크로튜브에 넣고 0.4 M potassium borate buffer pH 8.5를 10 µL 첨가하였다. 여기에 10 mM FOMC (CH₃CN)를 10 µL를 첨가후 혼합하여 20°C에서 20분 동안 반응시켰다. 반응 종결을 위하여 0.1 M glycine 용액을 10 µL 첨가하여 반응을 종결하고 최종부피가 1000 µL가 되도록 0.1% (v/v) acetic acid를 960 µL를 첨가하여 0.2 µm nylon syringe filter를 이용하여 여과한 후 HPLC 분석을 하였다.

Rutin 함량 분석

Rutin 표준품은 1, 10, 20 µg/mL 농도로 제조하였다. 꾸지

뽕잎 추출물의 rutin 함량 분석은 시료 1g을 메탄올 100 mL로 용해시켰다. 이를 0.2 µg membrane filter로 여과한 후 HPLC (Agilent 1100 series, Agilent, USA)로 분석하였다. 분석조건 중 column은 Hypersil-ODS (200 × 4.6 mm, 30°C), 이동상은 2.5% acetic acid : MeOH : acetonitrile (40 : 5 : 10, v/v/v), 검출기는 photodiode array detector, UV detector 350 nm, 유속은 1.0 mL/min, 주입량은 20 µL로 하였다.

세포 생존율 측정 (MTT assay)

시료에 대한 세포 생존율은 MTT {3-(4,5-methylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide} colorimetric assay 방법으로 실험하였다. 세포는 1.25×10⁵ cell/200 µL의 농도로 96 well plate에 분주하고 24시간배양 후 배지를 제거하였다. 여기에 새로운 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM, Gibco Co, USA) 200 µL에 농도별로 희석한 시료를 각각 첨가하여 24시간 배양한 다음 5 mg/mL로 제조한 MTT (Sigma Co, USA)용액 20 µL를 각 well에 첨가하고 4시간동안 배양하였다. 배양종료 후 상등액을 제거하고 각 well에 100 µL의 dimethyl sulfoxide (DMSO)를 첨가하여 생성된 formazan 결정을 용해시켜 microplate reader로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{Cell viability (\%)} = 100 - (A - B) / A \times 100$$

A : 대조군의 흡광도

B : 시료처리군의 흡광도

3T3-L1 세포배양과 분화

3T3-L1지방전구세포의 배양은 1% penicillin-streptomycin (P/S, Gibco Co, USA)과 10% bovine calf serum (BCS, Gibco Co, USA)이 첨가된 DMEM을 사용하여 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다. 배양은 3일 간격으로 하고, 세포는 100 Ø plate 바닥에 70% 정도에서 phosphate buffered saline (PBS, Gibco Co, USA)로 세척한 후, 0.25% trypsin-EDTA (Gibco Co, USA) 용액을 넣어 37°C, 5% CO₂ 조건에서 3분간 정치 후 세포를 탈착시켜 계대배양하여 유지하였다. 3T3-L1 지방전구세포를 분화 유도하기 위하여 세포를 10% fetal bovine serum (FBS, Gibco Co, USA)와 1% P/S가 첨가된 DMEM을 이용하여 6 well plate의 각 well에 1.25×10⁵ cells/well로 분주하고 2일후 배지를 교환하여 3-4일째에 세포가 완전히 융합상태가 되게 하였다. 융합상태에서 10% FBS와 MDI solution (0.5mM 3-iso-Butyl-1-methylxanthine, 1µM dexamethsone, 5 µg/mL insulin) (Sigma Co, USA)를 처리하여 분화를 유도 하였다. 이때, 시료가 지방세포분화에 미치는 영향을 관찰하기 위해 시료를 농도별로 함께 처리하였다. 분화 유도 2일 후, 배지를 시료, 10% FBS, 1% P/S, 5 µg/mL insulin이 포함된 DMEM으로 교환 하였고

분화 유도 4일째부터는 2일에 한번씩 10% FBS와 1% P/S가 포함된 DMEM으로 교환하여 세포를 분화시켰다.

Oil Red O 염색

Oil Red O staining은 분화 유도 7-9일째 된 세포를 사용하여 실시하였다. 10% FBS DMEM을 제거한 뒤, 세포를 PBS로 2번 세척하고, 10% formalin으로 4℃에서 1시간 동안 고정한 다음 증류수로 3번 세척하였다. 세척된 세포는 세포내 생성된 지방구와 특이적으로 반응하는 Oil Red O (Sigma Co, USA)로 1시간 동안 염색하였다. 염색 후, 염색액을 제거하고 증류수를 이용해 3번 세척한 다음 증류수를 well에 채우고 현미경으로 관찰하였다. 중성지방의 정량은 증류수를 제거하고 완전히 마른 well에 100% iso-propyl alcohol을 2 mL 첨가하여 Oil-Red O를 다시 용출시킨 후 ELISA reader (Molecular devices Co, USA)로 490nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{Lipid accumulation (\%)} = 100 - (A - B) / A \times 100$$

A : 대조군의 흡광도

B : 시료처리군의 흡광도

통계처리

본 실험은 3반복 측정하여 얻어진 결과에 대해 Statistical Analysis System (SAS version 8.0, 2004)을 이용하여 평균, 표준편차의 값을 산출하였고 Duncan's multiple range test를 통해 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

일반성분 및 무기질 측정

꾸지뽕잎 분말과 물 및 70% 에탄올 추출물의 일반성분 함량을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 수분 함량은 원료 분말 시료에서 2.92%로 가장 낮게 나타났고 에탄올 추출물에서 단백질함량이 11.15%로 가장 높았다. 물 추출물과 에탄올 추출물의 경우 수분 함량을 비교하면 유의적인 차이가 없었으나 꾸지뽕 원료분말과는 유의적인 차이가 인정되

었다. 꾸지뽕 분말과 물 및 에탄올 추출물의 미네랄 함량을 분석한 결과는 Table 2와 같다. 각 시료의 처리구에서 K 함량이 가장 높고 P, Ca, Na 순으로 높게 나타났으며 특히 물 및 에탄올 추출물에서 Na, K 함량이 높았다. 무기질 중 함량이 가장 높은 K의 경우 각 처리구간에 유의적인 차이가 인정되었다.

DNJ와 Rutin 함량의 HPLC 분석

DNJ (1-deoxynojirimycin)와 rutin ($C_{27}H_{30}O_{16}$)의 성분은 뽕나무에 다량 존재하는 것으로 알려져 왔으며 정확한 함량을 측정하기 위하여 HPLC 분석을 실시한 결과는 Table 3과 같다. DNJ와 rutin의 성분 모두 줄기보다 잎에서 다량으로 함유되었고 DNJ의 함량은 에탄올 추출물에서 rutin의 함량은 물 추출물에서 상대적으로 많이 함유되어 있는 것이 특징이었다. DNJ 함량의 경우 잎과 줄기에서 처리구간에 유의적인 차이가 인정되었다. Rutin 함량의 경우 역시 잎과 줄기에서 처리구간에 유의적인 차이가 인정되었다. DNJ 성분은 뽕잎의 혈당강하 성분의 하나이며 동식물이나 미생물에 널리 분포하고 있는 monocyclic piperidine 계열의 polyhydroxylated alkaloid 물질로서 소장내 α -glucosidase를 저해하는 기능을 가지고 있어 식후에 섭취할 경우 혈당을 억제(9)하기 때문에 당뇨병 환자의 치료제로서 많은 연구가 진행되고 있다(10). 이와 같은 결과는 뽕잎에서 DNJ 함량을 측정한 Yoo 등(11)의 결과와 유사한 경향을 보였으며 뽕잎을 이용한 동물실험에서 혈당상승 억제효과를 관찰하여 DNJ의 항당뇨성을 입증하였다. Rutin 성분은 플라보놀 배당체의 하나로 모세혈관 강화작용과 수축작용을 나타내어 순환계 질환 치료제, 고혈압 치료제, 보조인자 등의 주성분으로 사용되며(12) 항당뇨 효과가 있다고 보고되었다(13). 꾸지뽕잎 물 추출물의 rutin 함량도 4592.85 $\mu\text{g/g}$ 로 측정되어 함량이 매우 높다고 알려진 메밀종실의 rutin 함량 315 $\mu\text{g/g}$ (14) 보다 높은 것으로 나타나 기능성 식품 소재로서의 유용성과 가능성을 나타냈다.

세포 생존율 측정 (MTT assay)

MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide, thiazolyl blue tetrazolium bromide) assay는 cell

Table 1. Proximate composition of *Curdrania tricuspidata* leaves with extraction condition

	Proximate composition					Dry basis(%)
	Moisture	Protein	Lipid	Ash	Carbohydrate	
Raw powder	2.92±0.02 ^a	1.46±0.01 ^b	5.01±0.02 ^b	3.09±0.01 ^b	87.52±0.04 ^a	
Water extracts	7.64±0.57 ^a	1.73±0.01 ^b	8.15±0.03 ^a	7.7±0.04 ^a	74.78±0.03 ^b	
Ethanol extracts	6.75±0.20 ^a	11.15±0.16 ^a	7.45±0.01 ^a	6.61±0.17 ^a	68.04±0.01 ^c	

*All values are expressed as mean ± SD of triplicate determinations. Means with the same lettered superscripts in a column are not significantly different at the 0.05 level by Duncan's multiple range test.

Table 2. Mineral composition of *Cudrania tricuspidata* leaves with extraction condition

(mg/100 g)

	Mineral element					
	Ca	Fe	Na	Mg	P	K
Raw powder	469.29±1.09 ^b	5.17±0.13 ^b	49.88±4.77 ^b	86.95±0.45 ^c	123.71±20.1 ^c	834.14±6.73 ^c
Water extracts	576.98±1.90 ^d	6.95±0.54 ^a	168.85±9.99 ^a	194.38±0.59 ^a	447.87±0.88 ^a	2675.69±29.73 ^a
Ethanol extracts	74.23±6.84 ^c	1.08±0.13 ^c	169.75±6.10 ^a	169.11±0.55 ^b	245.62±0.54 ^b	2411.39±7.25 ^b

Expressions are the same as in Table 1.

Table 3. DNJ and rutin contents of *Cudrania tricuspidata* leaves with extraction condition

	DNJ ^a contents ($\mu\text{g/g}$, dry weight)		Rutin contents ($\mu\text{g/g}$, dry weight)	
	Leaves	Stalks	Leaves	Stalks
Raw powder	1135.75±39.42 ^c	17.42±3.98 ^c	982.87±28.94 ^b	127.77±0.70 ^c
Water extracts	2906.34±143.60 ^b	111.20±7.16 ^a	4592.85±158.27 ^a	820.98±43.63 ^a
Ethanol extracts	3921.27±52.76 ^a	57.96±3.16 ^b	502.95±1.23 ^c	234.79±106.61 ^b

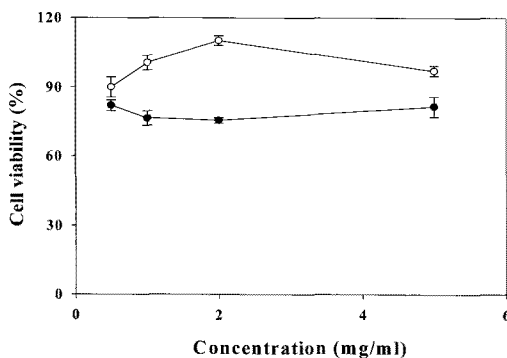
^aDNJ(1-deoxynojirimycin)^bExpressions are the same as in Table 1.

proliferation과 cell viability의 *in vitro* 분석에 매우 유용하게 사용되고 있으며 꾸지뽕의 물 및 70% 에탄올 추출물의 cell viability를 측정하기 위하여 3T3-L1 지방세포를 이용하여 측정하였다. 0-5 mg/mL 농도범위에서 측정된 결과는 Fig. 1과 같다. 꾸지뽕의 물 및 70% 에탄올 추출물 각각의 평균 cell viability는 79.1%, 99.6% 이었다. MTT assay는 살아있는 세포의 양을 측정하는 표준 비색분석법 (standard colorimetric assay)이라고 할 수 있으며, 세포의 미토콘드리아 탈수소 효소작용(dehydrogenases)에 의하여 노란색의 수용성 기질인 MTT 를 자주색을 띄는 비수용성의 MTT-formazan 결정으로 환원시키는 미토콘드리아의 능력을 이용한 측정방법으로, 결과에서 꾸지뽕 물 추출물이 다소 낮은 생존율을 보였으나 5 mg/mL의 고농도에서도 80% 이상

의 생존율을 나타낸 것으로 보아 대조군의 차이인 것으로 사료된다. 또 이것은 Chin의 결과(15)와 같이 독성이 의심되는 약용식물들이 최대 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도로 실험을 진행한 것에 비해 농도대비 높은 생존율을 보였다고 판단되며, Cha의 결과(16)와 비교해서도 세포독성이 매우 낮은 것으로 사료된다.

지방 축적 억제 능력

항비만 소재를 탐색하기 위한 *in vitro* 연구에서는 3T3-L1 세포를 사용하며 이 세포는 분화배지를 첨가하면 지방세포로 분화하는 성질을 갖는 세포로 지방세포의 분화를 억제하고 지방생성을 저해하는 소재의 효능 및 기전을 연구하는데 유용하다(17). 따라서 분화된 3T3-L1 세포에 꾸지뽕잎 물 및 70% 에탄올 추출물을 1 mg/mL의 농도로 처리한 후 세포내 형성된 지방구를 Oil-Red O 시약으로 염색하여 관찰한 결과는 Fig. 2-3과 같이 나타났다. 꾸지뽕잎의 물 및 70% 에탄올 추출물의 지방축적(lipid accumulation)은 각각 61%, 21%로 측정되어 꾸지뽕잎 에탄올 추출물의 지방 축적에 대한 억제력이 물 추출물 보다 높았다. 지방축적 정도를 정확하게 알아보기 위하여 0.5-5 mg/mL 농도 범위에서 지방세포의 분화를 관찰하였다. 꾸지뽕잎 물 추출물의 결과는 Fig. 4와 같다. 농도 의존적으로 지방축적이 감소하는 경향을 보였으며 5 mg/mL에서 86%로 지방축적이 가장 적은 것을 관찰 하였다. 꾸지뽕잎 에탄올 추출물의 결과 Fig. 5에서 나타났듯이 농도 의존적이었으며 물 추출물보다 지방축적이 급격히 감소하여 5 mg/mL에서 50%의 지방축적을 나타냈다. 이는 포도씨 탈지박 추출물 200 $\mu\text{g/mL}$ 에서

**Fig. 1. Cytotoxic effect of *Cudrania tricuspidata* extract on the 3T3-L1.**○: *Cudrania tricuspidata* ethanol extract, ●: *Cudrania tricuspidata* water extract.

11%의 지방축적을 보여준 Cho의 결과(18) 보다는 낮게 나타났지만, 2 mg/mL의 농도에서 지방축적 감소를 보인 구기자(19)나 조릿대, 연근(20)과 비교해 정체되지 않은 식물초본 추출물로서는 높은 지방 축적 억제 능력을 나타냈다.

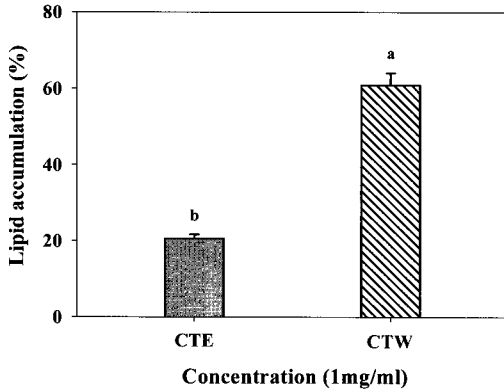


Fig. 2. Inhibitory effect of *Cudrania tricuspidata* extracts on the lipid accumulation in 3T3-L1 adipocytes.

CTE: *Cudrania tricuspidata* ethanol extract, CTW: *Cudrania tricuspidata* water extract. All values are expressed as mean \pm SD. Means with the same lettered superscripts on bars are not significantly different at the 0.05 level by Duncan's multiple range test.

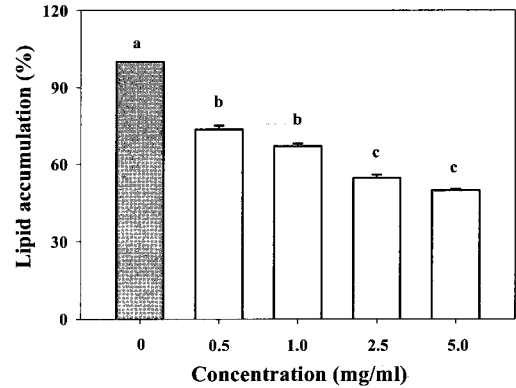


Fig. 5. Inhibitory effect of *Cudrania tricuspidata* ethanol extracts on the lipid accumulation in 3T3-L1 adipocytes.

Expressions are the same as in Fig. 2.

요 약

꾸지뽕잎의 물 및 70% 에탄올 추출물에 대한 세포의 독성 및 지방생성에 미치는 영향과 DNJ 함량과 rutin 함량을 측정하였다. Cell viability test에서 꾸지뽕잎 추출물 0.5-5



Fig. 3. The intracellular lipid accumulation was quantified by Oil Red O staining and also optically observed by an inverted microscope.

A: Control, B: *Cudrania tricuspidata* ethanol extract, C: *Cudrania tricuspidata* water extract.

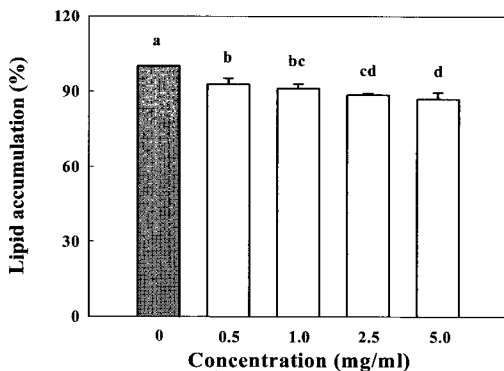


Fig. 4. Inhibitory effect of *Cudrania tricuspidata* water extracts on the lipid accumulation in 3T3-L1 adipocytes.

Expressions are the same as in Fig. 2.

mg/mL의 농도일 때 물 및 에탄올 추출물 모두 세포의 생장에 영향을 미치지 않는 것으로 나타나 세포에 대한 독성이 없다고 판단되었다. 동일한 농도로 3T3-L1 지방세포의 지방축적에 미치는 영향은 물 및 에탄올 추출물 모두 농도 의존적으로 지방축적을 저해하는 것으로 나타났으며 추출물 농도가 5 mg/mL 일 때, 물 추출물은 86%, 에탄올 추출물 50%의 지방축적을 보였다. DNJ 함량은 꾸지뽕잎의 에탄올 추출물에서 3921.3 μ g/g로 높았고 rutin의 함량은 꾸지뽕잎의 물 추출물에서 4592.9 μ g/g로 높게 나타났다. 따라서 꾸지뽕잎 추출물에는 기능성 성분인 DNJ 함량과 rutin 함량이 다량 함유되어 있고 지방의 축적을 저해하는 효과가 있어 비만과 대사관련 질환개선을 위한 기능성 소재로 활용될 수 있다고 생각한다.

참고문헌

1. Kopelman PG (2000) Obesity as a medical problem. *Nature*, 404, 635-643
2. Green H and Kehinde O (1974) Sublines of mouse 3T3 cells that accumulate lipid. *Cell*, 1, 113-116
3. Otto TC and Lane MD (2005) Adipose development from stem cell to adipocyte. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 40, 229-242
4. Kim SH, Kim NJ, Chon JS and Park JC (1993) Determination of flavonoid by HPLC and biological activities from the leaves of *Cudrania tricuspidata* Bureau. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 22, 68-72
5. Otlersen T, Vance B, Doorenbos NJ, Chang BL and El-Ferally FS (1977) The crystal structure of cudranone, 2,6,3'-trihydroxy-4-methoxy-2'-(3-methoxy-2-buternyl)-I, a new antimicrobial agent from *Cudrania cochinchinensis*. *Acta Chem Scand*, 31, 434-436
6. Chang CH, Lin CC, Hattori M and Namba T (1994) Effects of anti-lipid peroxidation of *Cudrania cochinchinensis* var. *gerontogea*. *J Ethnopharmacol*, 44, 179-185.
7. Joo HY and Lim KT (2009) Protective effect of glycoprotein isolated from *Cudrania tricuspidata* on liver in CCl₄-treated A/J mice. *Korean J Food Sci Technol*, 41, 93-99
8. Kim SH, Kim NJ, Choi JS and Park JC (1993). Determination of flavonoid by HPLC and biological activities from the leaves of *Cudrania tricuspidata* bureau. *J Korean Soc Food Nutr*, 22, 68-72
9. Niwa T, Inouye T, Koaze TY and Niida T (1970) Nojirimycin as a potent inhibitor of glucosidase. *Agr Biol Chem*, 34, 966-971
10. Cho YS, Park SP, Lee JY, Kang KD and Hwang KY (2008) Hypoglycemic effect of culture broth of *Bacillus subtilis* S10 producing 1-deoxynojirimycin. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 37, 1401-1407
11. Yoo SK, Kim MJ, Kim JW and Rhee SJ (2002) Effects of YK-209 mulberry leaves on disaccharidase activities of small intestine and blood glucose-lowering in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 31, 1071-1077
12. Kim HB and Kim SL (2004) Quantification and varietal variation of rutin in mulberry fruits. *Korean J Seric Sci*, 46, 1-5
13. Lee JS, Son SS, Maeng YS and Ju IS (1994) Effects of buckwheat on organ weight glucose and lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Nutr*, 27, 819-827
14. Lee EH and Kim CJ (2008) Nutritional changes of buckwheat during germination. *Korean J Food Cultu*, 23, 121-129
15. Chin HS, Park KJ, Paek SH and Kim JK (2009) The effects of herbal extract mixture on anti-obesity. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 38, 32-38
16. Cha SY, Jang JY, Lee YH, Lee G, Lee HJ, Hwang KT, Kim Y, Jun W and Lee J (2010) Lipolytic effect of methanol extracts from *Luffa cylindrica* in mature 3T3-L1 adipocytes. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 39, 813-819
17. Green H and Meuth M (1974) An established pre-adipose cell line and its differentiation in culture. *Cell* 3, 127-133.
18. Cho Y, Lee SM, Kim Y, Jeon G, Sung J, Jeong HS and Lee J (2010) Defatted grape seed extracts suppress adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 39, 927-931
19. Hwang EY, Hong JH, Choi JH, Lee EJ and Lee IS (2009) Study on anti-obesity and hypoglycemic effects of *Lycium chinense* mill extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 38, 1528-1534
20. Ko BS, Jun DW, Jang JS, Kim JH and Park S (2006) Effect of *sasa borealis* and white lotus roots and leaves on insulin action and secretion *in vitro*. *Korean J Food Sci Technol*, 38, 114-120

(접수 2010년 11월 12일 수정 2011년 3월 17일 채택 2011년 3월 25일)