

## 섬쑥부쟁이와 쑥부쟁이의 항산화 및 지방세포 분화 억제 효과\*

이지연<sup>1,2</sup>, 박정용<sup>1,2</sup>, 김형돈<sup>1</sup>, 이승은<sup>1</sup>, 이정훈<sup>1</sup>, 이윤지<sup>1</sup>, 서경혜<sup>1†</sup>

<sup>1</sup>농촌진흥청 인삼특작부, <sup>2</sup>충북대학교 식품공학과

## Anti-oxidant and anti-adipocyte differentiation of *Aster glehni* and *Aster yomena*\*

Ji Yeon Lee<sup>1,2</sup>, Jeong-Yong Park<sup>1,2</sup>, Hyung Don Kim<sup>1</sup>, Seung Eun Lee<sup>1</sup>, Jeong Hoon Lee<sup>1</sup>, Yunji Lee<sup>1</sup> and Kyung Hye Seo<sup>1†</sup>

<sup>1</sup>Department of Herbal Crop Research, National Institute of Horticultural and Herbal Science, Eumsung, Chungbuk 27709, Korea

<sup>2</sup>Department of Food Science and Biotechnology, Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk 28644, Korea

### ABSTRACT

**Purpose:** *Aster glehnii* (AG) and *Aster yomena* (AY) are medicinal plants that belong to the family Compositae and grow widely in Korea. Plants in the genus *Aster* have been used to treat snakebite wounds or bruises in oriental medicine. This study compared the effects of anti-oxidants and anti-adipocyte differentiation according to the species (the aerial parts of AG and AY). **Methods:** AG and AY were extracted using 70% ethanol (-E) and water (-W) at room temperature. The anti-oxidant activities were measured by total phenol contents (TPC), total flavonoid contents (TFC), DPPH and ABTS<sup>+</sup> assay. In addition, correlation analysis was performed for the anti-oxidant compounds and effect. The level of anti-adipocyte differentiation was assessed using an oil red O assay on pre-adipocytes. **Results:** AG-W showed higher TPC (6.92 µg/mL) and AG-E presented higher TFC (8.22 µg/mL) than the other extracts. Furthermore, AG-E exhibited higher radical scavenging activity in the DPPH and ABTS<sup>+</sup> assay (IC<sub>50</sub>: 104.88 and 30.06 µg/mL). In the cytotoxicity assay, AG and AY extracts at concentrations less than 100µg/mL were non toxic. AG-W reduced the lipid accumulation of 3T3-L1 cells significantly after differentiation (70.49%) compared to the other extracts. **Conclusion:** These results show that the water extract of AG has anti-oxidant effects and reduces the differentiation of 3T3-L1 cells. Therefore, AG has utility as a functional food material for its anti-oxidant activities and ability to prevent lipid accumulation.

**KEY WORDS:** anti-obesity, radical scavenging activity, *Aster glehni*, adipocyte

## 서 론

세계적으로 비만은 당뇨병, 심혈관계 질환, 골다공증 등 각종 대사성 질환을 일으키는 주요 원인으로 대두되고 있다 [1]. 국민건강영양조사에 의하면 우리나라 만19세 이상 성인의 비만인구가 최근 10년 동안 30% 이상 유지되며, 1998년도의 26.0%에 비해 2018년도의 34.8%가 비만인 것으로 나타나 10년 동안 꾸준히 증가되었다 [2]. 이러한 증가 추세에 따라 사회경제적 비용도 4배 이상 급증하고 있으며, 정부의 국민건강증진 종합계획에서는 2020년까지 비만인구수의 증가를 억제하는 것을 목표로 설정하고 있

다 [3]. 최근에는 성인뿐만 아니라 유아 및 청소년의 비만율도 높아지고 있어 교육부에서는 비만 학생을 대상으로 대시증후군 선별 검사를 시행, 각 학교가 비만 예방프로그램도 지원한다고 알려져 있다. 비만은 고혈압, 심혈관계질환, 뇌졸중, 고지혈증, 당뇨 등의 각종 질병을 유발하거나 증폭하여 발생할 확률이 높은 것으로 밝혀졌다 [4]. 비만으로 인한 여러 질병에 대한 부담을 감소하기 위하여 항비만연구가 활발하게 진행되고 있다. 임상연구를 통한 항비만 약물 중 FDA의 승인을 받아 사용되고 있는 약물은 펜터민 (phentermine), 시부트라민 (sibutramine) 등이 있지만, 항정신성 비만치료제는 복용기간을 제한하며, 판매가 중

Received: March 20, 2019 / Revised: April 2, 2019 / Accepted: May 8, 2019

\* This study was performed with the support of the Cooperative Research Program for Agriculture Science and Technology Development (project no. PJ01361603), the Rural Development Administration, Republic of Korea.

† To whom correspondence should be addressed.

tel: +82 438715785, e-mail: seokh@korea.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.

지가 된 제품도 있다 [5]. 또한, 우리나라에서는 비만을 개선하기 위한 항정신성의약품인 식욕억제효과를 나타내는 약물의 시장이 크게 확대되고 있으며, 이러한 약물의 의존성 및 오남용에 따른 안전성 문제가 제기되고 있다 [5]. 따라서 최근에는 천연물을 이용한 다양한 항비만 효능을 가진 소재들이 개발되고 있는 추세이며, 천연물질에서 추출한 카테킨과 같은 페놀산, 플라보노이드 리놀레산 등이 항비만 효능을 가진다고 보고되었다 [6,7].

섬썩부쟁이 (*Aster glehni*)와 썩부쟁이 (*Aster yomena*)는 참취속 (Asteraceae) 국화과 (Compositae)에 속하는 식물로 나물 혹은 화단용 화훼로 이용되고 있다 [8]. 참취속 식물들은 주로 타박상 치료제 등으로 전통적으로 이용되어 왔다 [9]. 또한, 섬썩부쟁이와 썩부쟁이의 잎은 식품공전에 식용이 가능한 작물로 등록되어 있으며, 오래전부터 섭취되어지고 있어 섭취근거나 안전성이 보고되어 있다 [10]. 동의보감에서는 섬썩부쟁이는 풍을 제거하고, 해열, 해독을 하며 담을 제거하고 기침을 멎게 하는 효능, 썩부쟁이는 해열, 이뇨의 효능이 있다고 알려져 있다. 최근 연구를 통해서 섬썩부쟁이는 주로 6'-O-Caffeoyldihydroxyriginin, coumarin 및 향미성분인 탄화수소류,  $\alpha$ -pinene, limonene,  $\delta$ -elemene,  $\beta$ -pinene 등의 성분을 함유하고 있으며, 항산화 및 항염증 및 살초활성, 고지방 식이 흰쥐에서 동맥경화와 산화 스트레스 억제 효과 등을 가지고 있다고 보고되었다 [9,11-15]. 또, 썩부쟁이는 항응고 활성, 항천식 및 항염증 등의 활성이 보고되었지만 아직 지방세포에서의 항비만 효과에 대한 연구가 밝혀진 바가 없다 [15-17]. AG와 AY는 예전부터 섭취를 통하여 안전성이 검증되어 있어 부작용이 적은 비만 치료 또는 예방에 효과 있는 소재로 활용이 높을 것으로 생각된다.

본 연구는 AG와 AY 추출물의 총 페놀 및 플라보노이드의 함량, 항산화 활성을 분석을 하였다. 또한, 항비만 연구를 위하여 지방전구세포인 3T3-L1에 추출물을 처리하고 isobutylmethylxanthine (IBMX), dexamethasone (DEX), insulin을 처리하여 지방세포 분화가 억제되는지 확인하여, 천연물 소재 활용성을 제시할 것이다.

## 연구방법

### 재료 및 추출물 제조

본 연구에서 사용된 섬썩부쟁이 (경상북도 울릉도산)와 썩부쟁이 (전라남도 고흥산)는 2018년 구입하여 사용하였다. 섬썩부쟁이 (AG)와 썩부쟁이 (AY)는 지상부를 사용하였으며, 각 시료 500 g을 70% 주정 (-E) 및 물 (-W)로 실온에서 3일 동안 추출하였다 (시료/용매 비율, 1:10). 추출

물을 여과하고 환류 냉각 농축시킨 후, 동결 건조하였다. 추출물은 Dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)로 용해하여 각 실험에 사용하였다.

### 총 페놀 함량 측정

총 페놀 함량은 Folin-Dennis법 [18]에 의해 분석하였다. 각 추출물 (3 mg/mL) 500  $\mu$ L와 Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)시약 50  $\mu$ L를 첨가하고 3분 후에 sodium carbonate anhydrous 포화 용액 100  $\mu$ L를 넣는다. 1시간 후, 725 nm에서 multi plate reader (Synergy H1, Biotek, VT, USA)로 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량은 표준 용액과 비교하여 총 페놀 함량을 구하였다. 기준 물질로는 gallic acid (Sigma-Aldrich, USA)을 사용하였고, 기준물질로 작성한 표준 곡선으로부터 함량을 구하였다.

### 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 Pourmorad 등 [19]의 방법을 수정하여 측정하였다. 각 150  $\mu$ L 추출물 (3 mg/mL)에 dH<sub>2</sub>O 280  $\mu$ L와 10% aluminum chloride, 1 M potassium acetate (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 각각 10  $\mu$ L를 첨가하고 30분 후에 415 nm에서 multi plate reader (Synergy H1, Biotek, VT, USA)로 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 표준 용액과 비교하여 총 플라보노이드 함량을 구하였다. 기준물질로는 (+)-catechin (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 사용하였고, 기준물질로 작성한 표준 곡선으로 함량을 구하였다.

### DPPH free radical 소거능 측정

DPPH free radical 소거능 측정하기 위하여 Ko 등 [20]의 방법을 수정하여 측정하였다. 각각 다른 농도별로 준비된 추출물 40  $\mu$ L와 0.25 mM DPPH solution 160  $\mu$ L vortex로 혼합한 다음 실온에서 30분간 반응 후 multi plate reader (Synergy H1, Biotek, VT, USA)로 515 nm 흡광도에서 측정하였다. 대조군으로는 에탄올만을 첨가하였으며, 비교를 위해 대표적인 항산화제인 ascorbic acid (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 양성대조군으로 사용하였다. DPPH 소거활성 비율은 다음과 같이 계산한 후 (% inhibition =  $[A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}] / A_{\text{control}}$ ), 50% 저해하는 농도 값인 IC<sub>50</sub>값을 사용하여 나타내었다.

### ABTS<sup>+</sup> 소거능 측정

ABTS<sup>+</sup> 소거능 측정하기 위하여 Ilavenil 등 [21]의 방법을 수정하여 측정하였다. ABTS<sup>+</sup> solution은 ABTS tablet (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 7 mM 농도로

dH<sub>2</sub>O에 용해시킨 후 2.45 mM potassium peroxodisulfate (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 와 1:1 비율로 혼합시켜 16시간 상온에 둔 후 사용하였다. 각각 다른 농도별로 준비된 추출물 20 µL와 180 µL ABTS<sup>+</sup> solution를 vortex로 혼합한 다음 실온에서 30분간 반응 후 multi plate reader (Synergy H1, Biotek, VT, USA)로 732 nm 흡광도에서 측정하였다. 대조군으로는 에탄올을 첨가하였으며, 비교를 위해 대표적인 항산화제인 ascorbic acid를 양성대조군으로 사용하였다. ABTS<sup>+</sup>소거능의 정도는 다음과 같이 계산한 후 (% inhibition =  $[A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}] / A_{\text{control}}$ ), 50% 저해하는 농도 값인 IC<sub>50</sub>값을 사용하여 나타내었다.

### 3T3-L1 세포주 배양

전지방세포 (3T3-L1)는 American Type Culture Collection (CL-173, ATCC, VA, USA)에서 구입하였다. 3T3-L1 세포의 생육배지로 1X penicillin/streptomycin/glutamine (P/S/G, Gibco, Canada)과 10% bovine calf serum (BCS, Gibco, Canada)가 포함된 Dulbecco's modified Eagles medium (DMEM, Gibco, Canada)을 사용하였고 37°C, 5% CO<sub>2</sub>조건하에 배양하였다.

### 세포 독성 측정

세포 독성은 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium (MTS, Promega, WI, USA) assay를 사용하여 측정하였다. 3T3-L1 세포를 96 well plate에 1×10<sup>5</sup> cell/mL로 분주하여 24시간 배양한 후 추출물을 25, 50, 100 및 200 µg/mL 농도로 처리하였다. 24시간 후 multi plate reader (Synergy H1, Biotek, VT, USA)를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

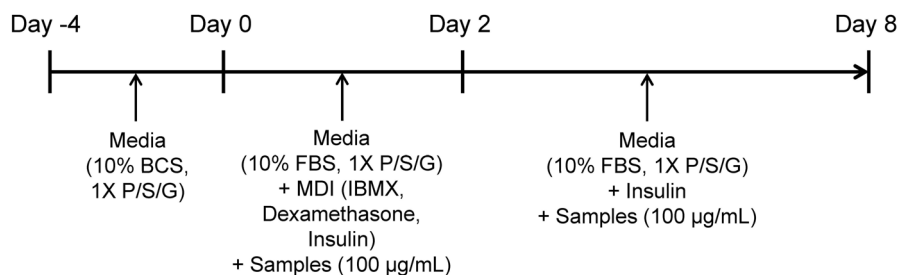
### 3T3-L1세포 분화 유도

지방세포 분화는 Kim 등 [22]의 방법을 사용하였다. 1×10<sup>5</sup> cells/mL을 12 well-plate에 세포 밀도가 100%가 될

때까지 37°C, 5% CO<sub>2</sub>의 환경에서 배양하였다. 지방세포로 분화를 유도하기 위한 분화유도배지는 0.5 mM 3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), 1 µM dexamethasone (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), 10 µg/mL insulin (Gibco, Canada), 1X P/S/G, 10% fetal bovine serum (FBS, Gibco, Canada)이 포함된 DMEM 배지를 사용하였다. 지방세포로 분화를 유도하기 위해 분화유도배지에서 48시간 배양한 후 insulin (10 µg/ml)이 포함된 분화유지배지로 교체하였다. 이후 48시간 간격으로 배지를 교체한 후 분화유도 상태를 확인 하였다 (Fig. 1). 분화유도과정 중에 AG와 AY의 분화 억제 효능을 확인하기 위해 분화유도배지 및 분화유지배지에 추출물 100 µg/mL을 함께 처리하였다. 추출물을 처리하지 않고 분화 유도한 것을 대조군으로 하였으며, 비교를 위해 지방분화를 억제하는 conjugated linoleic acid (CLA, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 처리하고 분화 유도 한 것을 양성대조군으로 하였다.

### Oil Red O 염색을 통한 지방세포 분화능 측정

지방세포 분화능 측정은 Kim 등 [23]의 방법을 수정하여 사용하였다. 세포배양배지를 제거하고 DPBS (Gibco, Canada)로 2회 세척한 후 10% formaldehyde (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 처리하여 10분 동안 상온에서 세포를 고정하였다. 이후 dH<sub>2</sub>O로 2회 세척하고 60% isopropanol을 넣어 5분간 상온에 두었다. 60% isopropanol을 제거하고 Oil Red O solution (Sigma, St. Louis, MO, USA)으로 염색한 후 위상차 현미경 (Observer A1, Zeiss, Oberkochen, Germany)을 이용하여 지방세포 분화를 확인 하였다. 또한 정량을 위해 isopropanol (Sigma, St. Louis, MO, USA)을 가하여 염색된 시약을 용출시켜, multi plate reader (Synergy H1, Biotek, VT, USA)를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다.



**Fig. 1.** Schematic presentation of adipocyte differentiation process. The media changed every two days until cell differentiation. The number of days was indicated based on the induction of differentiation. BCS, bovine calf serum; P/S/G, penicillin-streptomycin-glutamine; FBS, fetal bovine serum; IBMX, 3-isobutyl-1-methylxanthine; samples, 100 µg/mL of AY (-E,-W) and AG (-E,-W) extracts

## 통계처리

모든 실험은 3회 반복 실시하였으며, 평균 (mean) ± 표준편차 (standard deviation, SD)로 표기하였다. One-way analysis of variance (ANOVA)를 실시하였고, Tukey Multiple Comparison test (GraphLad Prism ver. 5.02)로 사후검증을 실시하였다. 상관관계 분석은 Statistical Package for the Social Sciences (SPSS, ver. 22.0 for Window)의 Pierson's correlation coefficient로 검증을 실시하였다.

## 결 과

### AG와 AY의 총 페놀과 총 플라보노이드 함량 및 수율

AG와 AY의 총 페놀과 총 플라보노이드의 함량과 수율은 Table 1과 같다. 총 페놀 함량은 galic acid를 기준물질로, 총 플라보노이드 함량은 (+)-catechin을 기준물질로 측정하였다. Folin-Denis법으로 분석한 총 페놀 함량은 AG-E이 45.42 GAE mg/g 로 가장 높았으며 AY-E (34.12 GAE mg/g) > AG-W (33.98 GAE mg/g) > AY-W (32.66 GAE mg/g) 순으로 나타났다. 총 플라보노이드 함량 또한 AG-E가 40.31 CAT mg/g으로 가장 높았으며 AG-W (33.95 CAT mg/g) > AY-E (26.14 CAT mg/g) > AY-W

**Table 1.** Total phenol and flavonoid compound contents and yields of AG and AY with different solvents

Samples <sup>1)</sup>	TPC <sup>2)</sup> (GAEmg/g) <sup>3)</sup>	TFC <sup>4)</sup> (CATmg/g) <sup>5)</sup>	Yields (%)
AG -E	45.42 ± 0.78	40.31 ± 0.91	15.1
AG -W	33.98 ± 1.14	33.95 ± 0.61	20.4
AY -E	34.12 ± 1.99	26.14 ± 0.35	21.1
AY -W	32.66 ± 0.53	21.14 ± 0.13	14.4

1) AG, *Aster glehnii*; AY, *Aster yomena*; -E, 70% ethanol extract; -W, water extract

2) Total phenolic contents

3) Gallic acid equivalent

4) Total flavonoid contents

5) Catechin equivalent

All values are expressed as mean ± standard deviation (SD), n = 3.

**Table 2.** Antioxidant activities (ABTS<sup>+</sup> and DPPH) of AG and AY with different solvents

Samples <sup>1)</sup>	DPPH (IC <sub>50</sub> , µg/mL)	ABTS <sup>+</sup> (IC <sub>50</sub> , µg/mL)
AG -E	104.9 ± 10.5	30.1 ± 0.3
AG -W	179.3 ± 6.4	35.6 ± 0.7
AY -E	135.1 ± 7.5	39.8 ± 1.0
AY -W	178.8 ± 6.0	49.0 ± 1.6
Ascorbic acid <sup>2)</sup>	4.36 ± 0.32	5.91 ± 0.11

1) AG, *Aster glehnii*; AY, *Aster yomena*; -E, 70% ethanol extract; -W, water extract

2) Ascorbic acid was used for positive control. All values are expressed as means ± standard deviation (SD), n = 3.

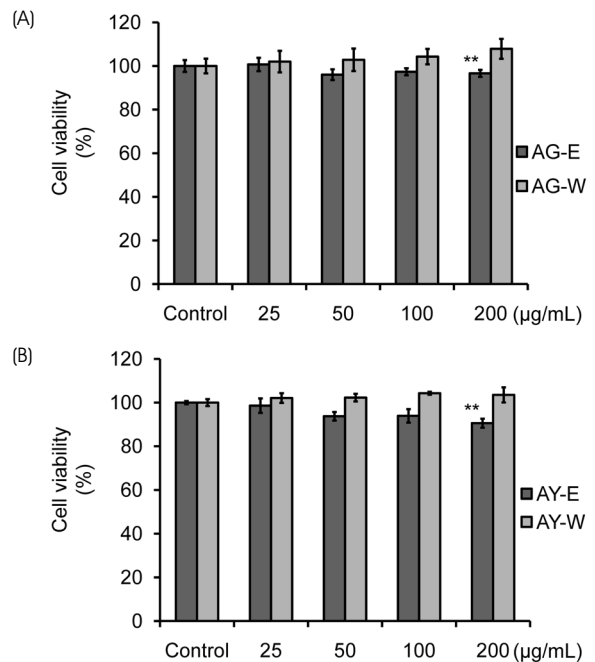
(21.14 CAT mg/g) 순으로 나타났다. AG와 AY의 수율은 AY-E (21.1%) > AG-W (20.4%) > AG-E (15.1%) > AY-W (14.4%) 순으로 나타났다. 추출물에 따라 총 페놀과 플라보노이드 함량의 차이는 있지만 AG가 AY에 비하여 높게 나타났다.

### AG와 AY의 항산화 활성

항산화 활성은 DPPH free radical 소거능과 ABTS<sup>+</sup> 소거능을 통해 측정하였다. DPPH free radical 소거능에서 IC<sub>50</sub> 값은 AG-E, AY-E (135.1 µg/mL) > AY-W (178.8 µg/mL) > AG-W (179.3 µg/mL) 순으로 나타났으며, ABTS<sup>+</sup> 소거능에서 IC<sub>50</sub> 값은 AG-E, AG-W (35.6 µg/mL) > AY-E (39.8 µg/mL) > AY-W (49.03 µg/mL) 순으로 나타났다 (Table 2). DPPH free radical 소거능과 ABTS<sup>+</sup> 소거능에서 AG-E의 IC<sub>50</sub> 값이 104.9 µg/mL 와 30.1 µg/mL로 가장 낮은 농도로 나타났다.

### AG와 AY의 세포 독성

3T3-L1세포에서 AG와 AY의 세포 독성을 측정하기 위해, 미토콘드리아 탈수소 효소의 활성을 측정하여 세포의 세포 독성 분석에 일반적으로 사용되는 MTS assay를 실시하였다 [24]. 추출물을 25, 50, 100 그리고 200 µg/mL 농



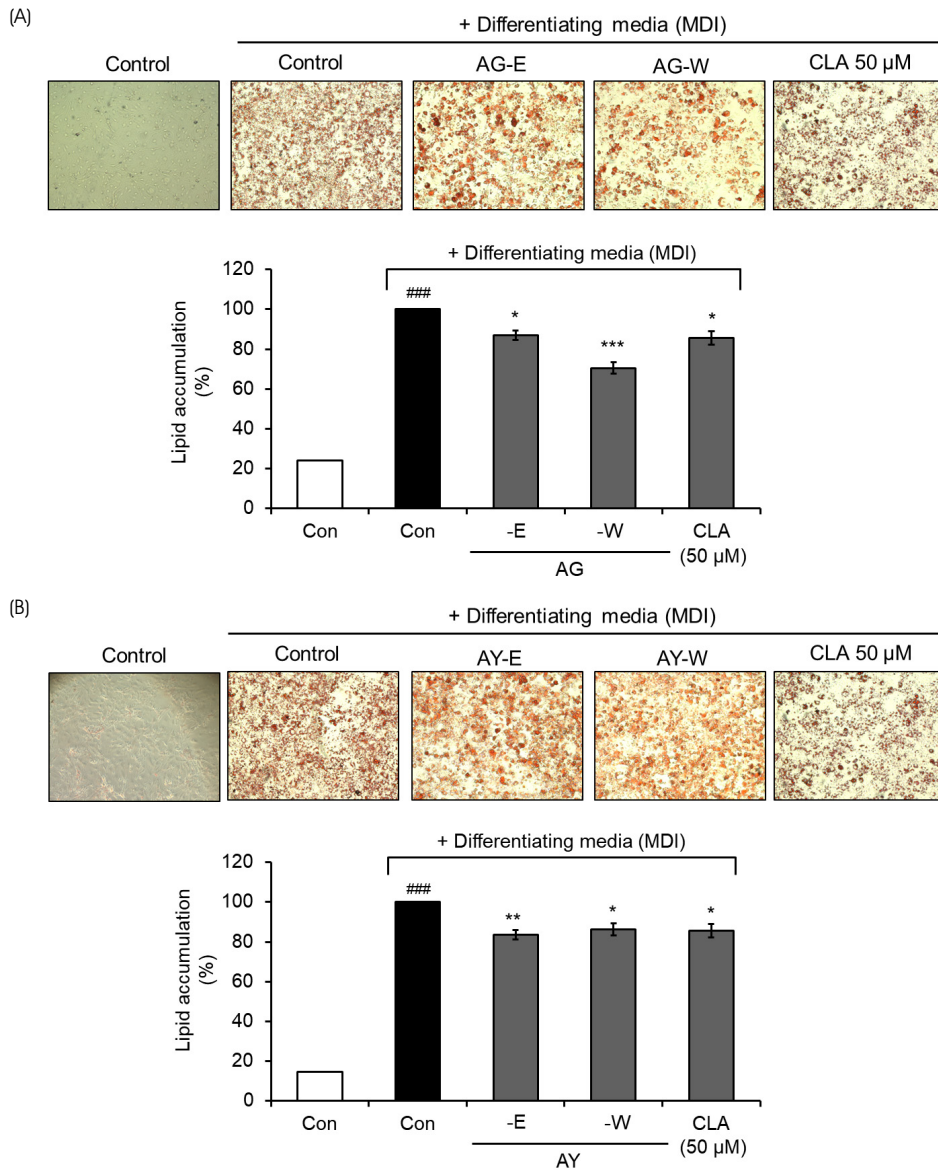
**Fig. 2.** Cell viability of 3T3-L1 preadipocytes. 3T3-L1 cells were treated with AG and AY (-E, -W) at various concentrations (25 ~ 200 µg/mL) for 24 hr. Cell viability was measured by the MTS assay. Results are means ± SD of three independent experiments. Significance was determined using ANOVA; \*\* p < 0.01 vs. control

도를 지방세포에 처리하였다. AY-E (100 µg/mL) 처리군에서 세포독성이 전혀 나타나지 않았지만, 200 µg/mL의 농도에서는 90.57%로 유의성이 나타났다 (Fig. 2). 따라서 지방 분화 억제 실험에는 세포생존율에 영향을 주지 않는 100 µg/mL를 사용하였다.

**Oil red O를 이용한 AG와 AY의 추출물 지방 분화 억제 효과**

Fig. 1과 같이 3T3-L1 전지방세포에 분화배지와 함께

AG와 AY (100 µg/mL)를 처리하여 8일 동안 분화하였다. AG와 AY의 지방 분화 억제 효과를 확인하기 위해 Oil red O 염색을 하여 현미경을 통해 관찰한 결과와 염색된 지방구는 Fig. 3A와 3B에 나타내었다. 분화된 대조군이 분화되지 않은 대조군에 비해 염색된 지방구의 양이 많았고, 그 양 또한 분화되지 않은 대조군 (14.51%)에 비해 분화된 대조군의 유의적으로 증가하였다. 분화된 대조군에 비해 모든 처리군에서 염색된 지방구의 양이 감소하였다는 것을 현미경 관찰을 통해 알 수 있었다. 지방구 축적을



**Fig. 3.** Microscopy of lipid droplets and quantification of lipid accumulation based on Oil Red O staining for measured as described in material and methods. (A) The effect of AG (-E, -W) on adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes. (B) The effect of AY (-E, -W) on adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes. All extracts concentration was 100 µg/mL. CLA (conjugated linoleic acid, 50 µM) was used for positive control. All values are expressed as mean ± SD of data from 3 dependent experiments with 3 replicates. Significance was determined using ANOVA; ### p < 0.001 vs. non-treated control, \* p < 0.05, \*\* p < 0.01, \*\*\* p < 0.001 vs. MDI treated control

은 양성대조군인 CLA (85.66%)보다 AG-W는 양성대조군보다 낮은 지방구 축적율 (70.49%)을 나타내었고, AY-E (83.46%), AY-W (86.24%), AG-E (86.88%)는 양성대조군과 비슷하였다 (Fig. 3A).

## 고 찰

현대 사회에서 성인의 비만인구가 최근 10년 동안 꾸준히 증가되어 사회경제적으로 그 비용도 급증하고 있다 [2,3]. 비만으로 인해 유발되는 당뇨, 고혈압, 뇌혈관계 질환 등의 질병유발도 문제가 된다. 최근에는 성장시기의 비만이 증가되고 있어 사회적으로 관심을 가지고 있다. 이로 인하여 비만을 개선하기 위해 식욕억제효과를 나타내는 약물의 시장이 크게 확대되고 있으나 약물의 안전성 문제가 제기되고 있어 천연물을 이용한 소재들이 개발되고 있는 추세이다 [5]. 본 논문에서는 식품공전에 등록되어 있는 천연물 소재인 썩부쟁이와 섬썩부쟁이를 이용하여 항비만 효과를 검증하였다.

페놀 및 플라보노이드 화합물은 생리학적으로 식물 내성에 중요한 역할을 하여 외부 환경에 노출된 부분인 잎은 다른 부분보다 페놀과 플라보노이드가 더 많다는 보고가 있다 [25,26]. 또, 페놀과 플라보노이드가 풍부한 식품은 암, 면역기능장애 등의 질환에 효능을 가지고 있으며 free radical을 소거하는 주요 인자로 작용하여 항산화 소재로 보고되어져 있다 [27]. 항산화제는 산소 유래 free radical에 의해 일어나는 여러 가지 손상 반응에서 radical을 환원시키는 능력이 크기 때문에 생체 손상에 대한 보호 효과가 크다 [28]. DPPH 라디칼 소거능의 경우 자유라디칼을 소거하는 반면, ABTS<sup>+</sup>는 양이온라디칼을 제거하는 차이를 가지고 두 기질과 반응물과의 결합 정도가 달라져 라디칼 제거 능력의 차이를 보인다. 이처럼, DPPH free radical 소거능과 ABTS<sup>+</sup> 소거능은 서로 다르게 형성된 radical 제거하므로 IC<sub>50</sub>값이 서로 다르게 나타날 수 있으며, 보통

DPPH free radical 소거능의 IC<sub>50</sub>값이 ABTS<sup>+</sup> 소거능의 값보다 높다는 보고도 있다 [29,30]. AG와 AY를 총 페놀과 총 플라보노이드 함량을 측정하고 항산화 활성을 확인해 본 결과, AG가 총 페놀과 플라보노이드 함량이 45.42와 40.31 ± 0.91 µg/mg로 가장 높게 나타났다. 총 페놀 및 플라보노이드의 함량이 높을수록 항산화활성이 높다는 보고가 되고 있다 [31], 우리 실험결과를 이용하여 AG와 AY에서 총 페놀 및 플라보노이드 함량과 항산화 활성의 상관관계를 알아보기 위해 상관분석을 실시하였다 (Table 3). DPPH와 ABTS<sup>+</sup>는 IC<sub>50</sub>값으로 상관관계를 분석하였다. DPPH는 ABTS<sup>+</sup> (0.648), TFC (-0.633), ABTS<sup>+</sup>는 TPC (-0.845), TFC (-0.733)와 유의적인 상관관계를 보였다. 따라서 본 연구결과에서도 AG와 AY의 각 추출물의 총 페놀 및 플라보노이드의 함량은 항산화 활성과 서로 상관관계가 존재하였다. 이는 총 페놀 및 플라보노이드의 함량과 항산화활성의 상관관계를 충족시키는 결과를 얻을 수 있었다.

3T3-L1 세포는 전지방세포로 분화가 과다할 경우 비만이 유발될 수 있어 지방 생성과 비만 관련 특성 연구에서 많이 사용되어 왔다 [32]. 전지방세포를 지방세포로 분화시키기 위해서는 insulin, dexamethasone 및 IBMX와 같은 지방 생성 제제가 필요하다 [32]. 지방 생성 제제를 전지방세포에 처리 할 경우 형태학적, 생화학적으로 완전히 성숙된 지방세포로의 분화가 일어난다 [31]. 지방세포 분화의 지표로 지방세포질에 축적된 지방구 (lipid diplot)를 Oil red O로 붉은색으로 염색하여 보여준다고 알려져 있다 [21,33]. 전지방세포가 지방세포로의 분화과정에 생성되는 지방구가 억제되는지 확인하기 위해 지방세포로 유도하는 과정에서 AG와 AY를 처리한 결과, 무처리군에 비하여 지방억제가 되는 것을 확인하였다. 특히, AG-W는 지방구 억제 효능을 가지고 있다고 보고된 CLA보다 높은 지방구 억제율을 보였다. 이는 섭취근거 및 안정성이 알려진 AG를 이용하여 천연물 소재 항비만 기능성 식품 및 의약품의 가능성을 제시할 수 있다.

**Table 3.** Correlation between factors affecting of TPC, TFC and antioxidant effects

Factors <sup>1)</sup>	DPPH (IC <sub>50</sub> value)	ABTS (IC <sub>50</sub> value)	TPC	TFC
DPPH (IC <sub>50</sub> value)	1.000	0.648*	-0.492	-0.633*
ABTS (IC <sub>50</sub> value)		1.000	-0.845**	-0.733**
TPC			1.000	0.299
TFC				1.000

1) Factors: TPC, total phenol contents; TFC, total flavonoid contents. Significance was determined using SPSS

\* p < 0.05, \*\* p < 0.01

## 요 약

본 연구에서는 섬썩부쟁이 (*Aster glehni*)와 썩부쟁이 (*Aster yomena*)의 항산화 효과 및 항비만 효과를 검증하기 위하여 물 (-W)과 에탄올 (-E)추출물을 이용하여 실험을 실시 하였다. 각 추출물을 총 페놀 및 총 플라보노이드를 함량을 분석하고 DPPH와 ABTS<sup>+</sup>를 이용하여 항산화 활성을 비교 분석하였다. 또한 총 페놀 및 총 플라보노이드를 함량과 항산화 활성의 상관관계도 분석하였다. 항산화 물

질로 알려진 총 페놀과 플라보노이드 함량은 섬썩부쟁이의 70% 주정 추출물에서 각각 45.42 mg/g와 40.32 mg/g으로 다른 추출물에 비해 높은 함량을 나타내었다. 항산화 효과의 경우 또한 ABTS<sup>+</sup>의 IC<sub>50</sub>값이 섬썩부쟁이의 70% 주정 추출물에서 30.1 µg/mL로 가장 우수하였다. 총 페놀 및 총 플라보노이드를 함량과 항산화 활성의 상관관계도 유의적으로 통계처리 되어 추출물의 함량이 항산화 활성에 영향이 있다는 것을 보여주었다. 또한, 섬썩부쟁이와 썩부쟁이의 항비만 효능 평가를 위하여 지방세포인 3T3-L1의 분화 억제력을 확인하였다. 추출물을 농도별로 처리하여 지방분화를 Oli-Red O 염색약으로 염색하여 비교하여 보았을 때, 섬썩부쟁이의 물 추출물에서 70.49%의 가장 낮은 지질 축적을 나타내었다. 이상의 결과에서, 섬썩부쟁이의 총 페놀 및 총 플라보노이드를 함량, 항산화 활성과 지방분화 억제 활성이 우수하게 나타났다. 이에 본 연구결과를 바탕으로 섬썩부쟁이가 안정성이 검증된 항비만 기능성 식품이나 의약품 소재로서 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

## ORCID

이지연: <https://orcid.org/0000-0002-3622-7392>  
 박정용: <https://orcid.org/0000-0003-4964-4272>  
 김형돈: <https://orcid.org/0000-0003-0993-4347>  
 이승은: <https://orcid.org/0000-0003-1511-3262>  
 이정훈: <https://orcid.org/0000-0001-6709-5508>  
 이윤지: <https://orcid.org/0000-0003-2702-7599>  
 서경혜: <https://orcid.org/0000-0002-8155-8051>

## References

- Bessesen DH, Van Gaal LF. Progress and challenges in anti-obesity pharmacotherapy. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2018; 6(3): 237-248.
- Ministry of Health and Welfare (KR). Obesity prevalence trend [Internet]. Sejong: Ministry of Health and Welfare; 2018 [cited 2018 Nov 12]. Available from: [http://kosis.kr/statHtml/statHtml.do?orgId=117&tblId=DT\\_11702\\_N101](http://kosis.kr/statHtml/statHtml.do?orgId=117&tblId=DT_11702_N101).
- Ministry of Health and Welfare (KR); Korea Health Promotion Institution. The 4th National Health Promotion Plan (2016-2020). Sejong: Ministry of Health and Welfare; 2015.
- World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation (WHO technical report series 894). Geneva: World Health Organization; 2000.
- Yoo SJ. Pharmacological treatment of obesity. *J Korean Endocr Soc* 2008; 23(4): 223-233.
- Hsu CL, Yen GC. Effects of flavonoids and phenolic acids on the inhibition of adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes. *J Agric Food Chem* 2007; 55(21): 8404-8410.
- Yang B, Chen H, Stanton C, Ross RP, Zhang H, Chen YQ, et al. Review of the roles of conjugated linoleic acid in health and disease. *J Funct Foods* 2015; 15: 314-325.
- Hong SY, Cho KS, Yoo KO. Phylogenetic analysis of Korean native Aster plants based on internal transcribed spacer (ITS) sequences. *Korean J Hortic Sci Technol* 2012; 30(2): 178-184.
- Kim HH, Park GH, Park KS, Lee JY, An BJ. Anti-oxidant and anti-inflammation activity of fractions from Aster glehni Fr. Schm. *Korean J Microbiol Biotechnol* 2010; 38(4): 434-441.
- Ministry of Food and Drug Safety (KR). Food public code. Cheongju: Ministry of Food and Drug Safety; 2018.
- Seo S, Lee KG, Shin JS, Chung EK, Lee JY, Kim HJ, et al. 6'-O-Caffeoyldihydroxyrington isolated from Aster glehni suppresses lipopolysaccharide-induced iNOS, COX-2, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-6 expression via NF- $\kappa$ B and AP-1 inactivation in RAW 264.7 macrophages. *Bioorg Med Chem Lett* 2016; 26(19): 4592-4598.
- Kim KW, Shin JG, Lee DG. Isolation of herbicidal compound from Aster glehni Fr. Schm. *Korean J Weed Sci* 2008; 28(4): 434-441.
- Chung MS, Lee MS. Analysis of volatile flavor components of Aster glehni. *Korean J Soc Food Sci* 1998; 14(5): 547-552.
- Kim MH, Nugroho A, Choi JW, Park HJ. The extract of Aster glehni leaves rich in caffeoylquinic acids prevents atherogenic index, oxidative stress, and body weight increase in high-fat diet-induced rats. *Korean J Pharmacogn* 2011; 42(1): 54-60.
- Choi JH, Kim DW, Park SE, Choi BS, Sapkota K, Kim S, et al. Novel thrombolytic protease from edible and medicinal plant Aster yomena (Kitam.) Honda with anticoagulant activity: purification and partial characterization. *J Biosci Bioeng* 2014; 118(4): 372-377.
- Sim JH, Lee HS, Lee S, Park DE, Oh K, Hwang KA, et al. Anti-asthmatic activities of an ethanol extract of Aster yomena in an ovalbumin-induced murine asthma model. *J Med Food* 2014; 17(5): 606-611.
- Kim JS, Kim AY, Shin HM, Ahn SI, Shim HJ, Nam KW, et al. Aster yomena suppresses LPS-induced cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase expression. *Food Agric Immunol* 2017; 28(2): 202-210.
- Folin O, Denis W. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 1912; 12(2): 239-243.
- Pourmorad F, Hosseinimehr S, Shahabimajid N. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *Afr J Biotechnol* 2006; 5(11): 1142-1145.
- Ko MS, Lee HJ, Kang MJ. Antioxidant activities and whitening effects of extracts from Hippophae rhamnoides L. *J East Asian Soc Diet Life* 2012; 22(6): 812-817.
- Ilavenil S, Arasu MV, Lee JC, Kim DH, Roh SG, Park HS, et al. Trigonelline attenuates the adipocyte differentiation and lipid accumulation in 3T3-L1 cells. *Phytomedicine* 2014; 21(5): 758-765.
- Kim TW, Kim KK, Kang YH, Kim DJ, Choe M. Fatty acid analysis and regulatory effects of citron (Citrus junos Sieb. ex TANAKA) seed oil on nitric oxide production, lipid accumulation, and leptin secretion. *J Nutr Health* 2014; 47(4): 221-228.

23. Kim KB, Jang SH. Anti-obesity effect of EGCG and glucosamine-6-phosphate through decreased expression of genes related to adipogenesis and cell cycle arrest in 3T3-L1 adipocytes. *J Nutr Health* 2014; 47(1): 1-11.
24. Malich G, Markovic B, Winder C. The sensitivity and specificity of the MTS tetrazolium assay for detecting the in vitro cytotoxicity of 20 chemicals using human cell lines. *Toxicology* 1997; 124(3): 179-192.
25. Jang M, Hong E, Cheong JH, Kim GH. Antioxidative components and activity of domestic *Cirsium japonicum* extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2012; 41(6): 739-744.
26. Treutter D. Significance of flavonoids in plant resistance: a review. *Environ Chem Lett* 2006; 4(3): 147-157.
27. Choi HY. Antioxidant activity and quality characteristics of pine needle cookies. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2009; 38(10): 1414-1421.
28. Alara OR, Abdurahman NH, Mudalip SK, Olalere OA. Characterization and effect of extraction solvents on the yield and total phenolic content from *Vernonia amygdalina* leaves. *J Food Meas Charact* 2018; 12(1): 311-316.
29. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 1999; 26(9-10): 1231-1237.
30. Cho M, Lee HJ, Kang MH, Min H. Comparison of antioxidant activity and prevention of lymphocyte DNA damage by fruit and vegetable juices marketed in Korea. *J Nutr Health* 2017; 50(1): 1-9.
31. Ruiz-Ojeda FJ, Rupérez AI, Gomez-Llorente C, Gil A, Aguilera CM. Cell models and their application for studying adipogenic differentiation in relation to obesity: a review. *Int J Mol Sci* 2016; 17(7): E1040.
32. Park SY, Hwang HY, Seo EA, Kwon KB, Ryu DG. Inhibition effects of *Galla Chinenisis* extract on adipocyte differentiation in OP9 cell. *Korean J Orient Physiol Pathol* 2012; 26(4): 455-461.
33. Oh JH, Lee Y. Effects of water and ethanol extracts from four types of domestic seaweeds on cell differentiation in 3T3-L1 cell line. *J East Asian Soc Diet Life* 2015; 25(6): 990-998.