



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

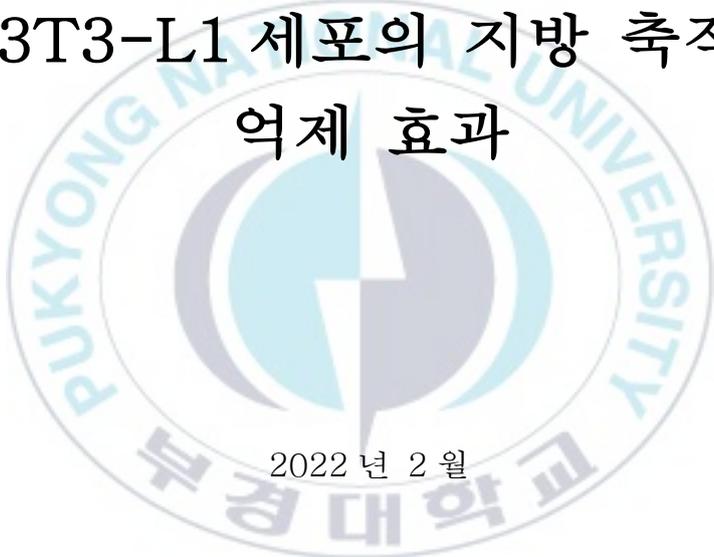
저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

이학석사 학위논문

레몬밤 추출물의 항산화 효과 및
3T3-L1 세포의 지방 축적
억제 효과

The logo of Pukyong National University is a circular emblem. It features a central stylized design with a blue and grey color scheme, possibly representing a compass or a similar symbol. The text 'PUKYONG NATIONAL UNIVERSITY' is written in a circular path around the center, and '부경대학교' is written in Korean below the circle.

2022년 2월

부경대학교 산업대학원

미생물 학과

설혜민

의학석사 학위논문

레몬밤 추출물의 항산화 효과
및 3T3-L1 세포의 지방 축적
억제 효과

지도교수 김 군 도

이 論文을 석사 碩士學位論文으로 提出함

2022년 2월

부경대학교 산업대학원

미생물 학과

설 혜 민

이 논문을 설 해 민의 인학석사 학위논문으로 인준함

2022 년 2 월 25 일



주 심 이학박사 최 태 진 (인)

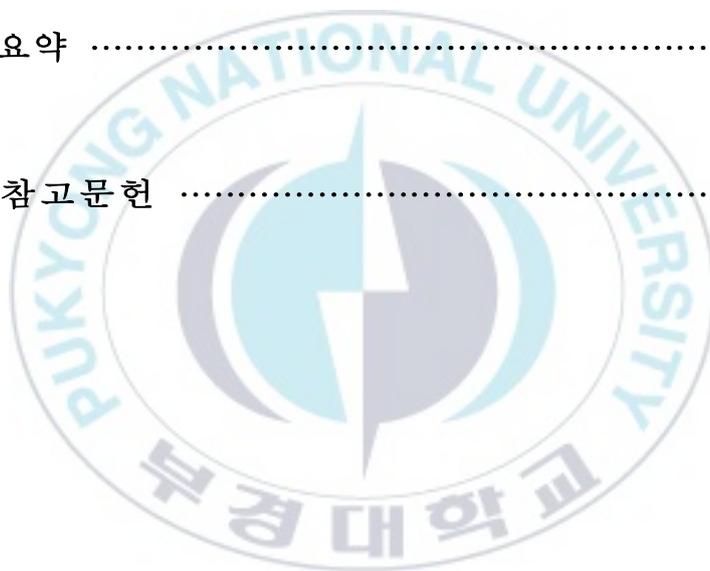
위 원 이학박사 김 종 오 (인)

위 원 이학박사 김 군 도 (인)

목 차

영문초록	iii
I. 서론	1
II. 재료 및 방법.	
2.1 샘플준비	5
2.2 DPPH 라디칼 소거 활성	6
2.3 세포 생존율 분석	7
2.4 세포 배양과 지방세포분화 (differentiation) 유도	8
2.5 Oil Red O staining	9
2.6 단백질 정량 및 발현 분석 (Western blot analysis)	10
2.7 통계적인 분석	11
III. 결과	
3.1 LE 의 DPPH 라디칼 소거효과	12
3.2 LE 의 3T3-L1 지방전구세포에서 세포독성 평가	14
3.3 LE 의 지방축적 억제효과	16

3.4 LE 가 지방 분화 및 항산화 효소의 단백질 발현에 미치는 효과	18
IV. 고찰	20
V. 요약	22
VI. 참고문헌	23



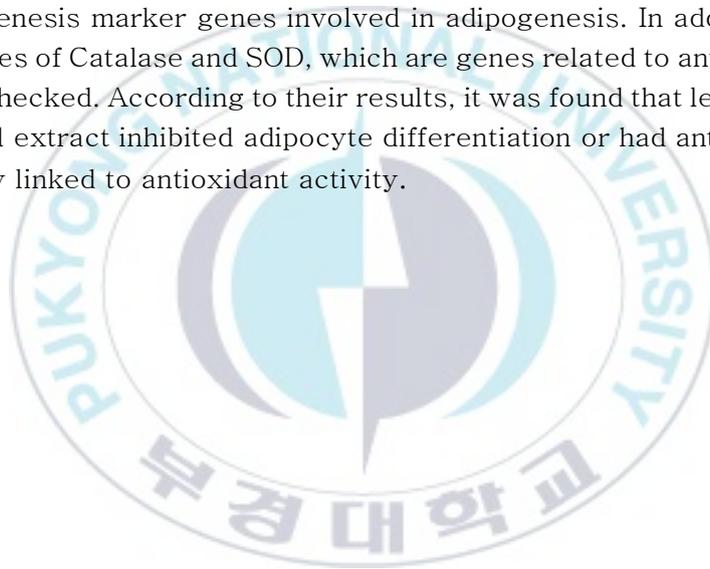
The antioxidant effect of *Melisa officinalis* (Lemon balm) extract and its suppression lipid accumulation in 3T3-L1 cells

Department of Microbiology Heymin Seol
Directed by Professor Gundo Kim

Obesity is increasing due to various factors such as westernized eating habits and stress. Obesity refers to the accumulation of excessive amounts of fat in the subcutaneous layer and body tissues due to an increase in the number or size of fat cells. Therefore, In this study, the anti-obesity activity and antioxidant activity were confirmed through a study on the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes into adipocytes using lemon balm extract, which has an effect on the reduction of adipocytes. Lemon balm powder was shown to have antioxidant activity by scavenging DPPH radicals. In order to check the effect of lemon balm extract on adipocyte differentiation inhibitory activity and adipogenesis, 3T3-L1 preadipocytes were treated by concentration while inducing differentiation.

In this study, we found that lemon balm extract reduced the concentration-dependently differentiating 3T3-L1 preadipocytes into adipocytes. To investigate the mechanism of action for this activity, peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ), CCAAT-enhancer-binding protein α (C/EBP α), and Sterol regulatory

element-binding proteins that play an important role in adipocyte differentiation (SREBP-1) The activity of genes involved in adipocyte differentiation was confirmed. As a result of the experiment, lemon balm extract decreased the expression of genes and proteins of PPAR γ , C/EBP α , and SREBP-1, and suppressed the expression of adipogenesis marker genes involved in adipogenesis. In addition, the activities of Catalase and SOD, which are genes related to antioxidants, were checked. According to their results, it was found that lemon balm ethanol extract inhibited adipocyte differentiation or had anti-obesity activity linked to antioxidant activity.



I. 서론

1. 비만

비만은 음식물 섭취와 에너지 소비의 불균형에서 생기는 대사성 질환이다. 전 세계적으로 심각한 사회적 문제가 대두되고 있으며 신체 내 남은 에너지가 지방으로 과다하게 축적되는 것이 주된 이유이며, 환경적 또는 유전적 요인 등이 영향을 미친다. 비만으로 인해 심혈관계 질병, 제 2형 당뇨병, 고지혈증과 같이 여러 가지 질병의 위험을 증가시키게 된다[1-2].

비만은 adipogenesis 과정의 지방전구세포의 분화의 결과로 새롭게 생성되는 지방세포의 크기가 커지거나 또는 과형성이 나타나는 지방조직의 축적에 의하여 유발된다[3].

지방전구세포가 지방세포로 분화하는 과정에서 세포의 형태적 변화 그리고 유전자 발현조절의 변화 등이 함께 일어난다[4].

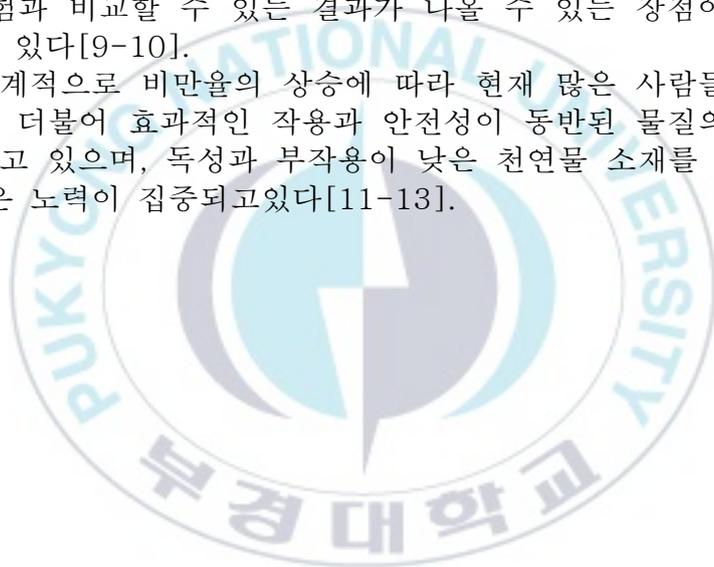
지방세포 분화의 주요한 전사인자들은 CCAAT/enhancer binding protein α (C/EBP α)와 peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ)이다. C/EBP α 은 많은 지방세포 분화 유전자들의 발현을 직접적으로 유도한다. C/EBP/ α 에 유도되는 인자로 peroxisome proliferator activated receptor (PPAR γ)가 대표적이다. 이들은 전지방세포가 성숙한 지방세포로 분화하는데 있어서 가장 중요한 인자이며 중추적인 기능을 담당한다고 볼 수 있다.

PPAR γ 는 지방의 주요 분화조절 역할을 하며 지방전구세포의 성장과 분화에 영향을 주는 주된 인자이다[5-6].

Sterol regulatory element binding transcription factor 1 (SREBP1) 지방세포 분화과정을 담당하는 주요 인자로 알려져 있다. SREBP1은 PPAR γ 의 전사 활성 조절과 지질의 축적에 연관성 있는 유전자 발현을 유도한다[7-8].

본 실험에서 사용하는 3T3-L1 세포는 생쥐의 배아에서 유래된 지방전구 세포이며 비만에 대한 연구에서 주로 이용되는 세포주 중 하나이다. 지방세포(preadipocyte)의 단계를 거쳐 성숙한 지방세포 (maturefatcell)로 분화한다. 3T3-L1을 이용한 연구에서 사용되는 성숙한 지방세포(maturefat cell)에서는 생체 내 실험과 비교할 수 있는 결과가 나올 수 있는 장점이 있다고 알려져 있다[9-10].

전세계적으로 비만율의 상승에 따라 현재 많은 사람들이 비만 치료와 더불어 효과적인 작용과 안전성이 동반된 물질의 개발이 요구되고 있으며, 독성과 부작용이 낮은 천연물 소재를 기반으로 한 많은 노력이 집중되고있다[11-13].



2. 항산화

성인병의 주된 원인이 되는 활성산소는 superoxide anion radical($O_2^{\cdot-}$), 과산화수소(H_2O_2), lipid peroxide(ROOH) hydroxyl radical($\cdot OH$) 등의 형태로 대사과정 내 불완전하게 환원되어 체내에서 생성되는 기본 물질이다. ROS와 free radical은 불안정하고 반응성이 크며, 세포막을 구성하는 인지질의 불포화 지방산과 반응하며 세포막 손상 및 기능 저하 등을 유발한다.

산화적 스트레스는 노화, 동맥경화, 염증 등 다양한 질병을 유발시키고, 직접적으로 조직의 손상을 유발하며 혈관의 기능을 저하시킨다[14].

지질의 산화로 분해된 지질 알코올, 알데히드 등의 물질이 생성되고 세포의 독성이 나타난다.

지질의 hydroperoxyl radical은 불포화 지질의 이중결합으로부터 수소 원자 하나를 빼앗고 hydroperoxide와 alkyl radical이 된다. 또한 alkyl radical은 산소와 결합하게 되면 새로운 hydroperoxyl radical이 된다. 이는 연쇄적 산화 반응이 일어날 수 있고, 이때 불포화된 알데히드를 비롯한 여러 가지 부산물들이 만들어지게 된다. 이들은 효소들의 활성을 억제하고 또는 돌연변이원으로 작용할 수 있다. 더 나아가 지질과산화에 의하여 세포막의 유동성이 줄어들고 막단백질의 손상이 발생되기도 한다[15-17].

일반적으로 항산화제는 산소에 의해 형성된 자유라디칼의 산화반응을 억제하는 물질로 규정하며 “산화적 성질의 띄는 물질과 비견할 만한 낮은 농도에서 충분히 산화를 지연시키며 방어할 수 있는 어떤 물질”로 정의 내리고 있다[18].

이러한 활성산소들을 조절할 수 있는 것은 catalase, superoxide, glutathionereductase 등의 예방적 항산화제와 flavone 유도체, ascorbicacid 등 천연 항산화제가 있다. 항산화제들은 안정성에 관한 논란이 지속되고 있어 과복용이나 사용 할 수 없도록 법적 규제가 되고 있다[19-20].

이로 인해 천연소재물을 이용한 항산화제에 대한 연구가 지속적으로 연구되고 있는 실정이다.

본 연구에서 사용된 레몬밤은 멜리사(Melissa) 라고도 불리며 레몬 과 비슷한 향과 맛을 지닌 식물이다[21].

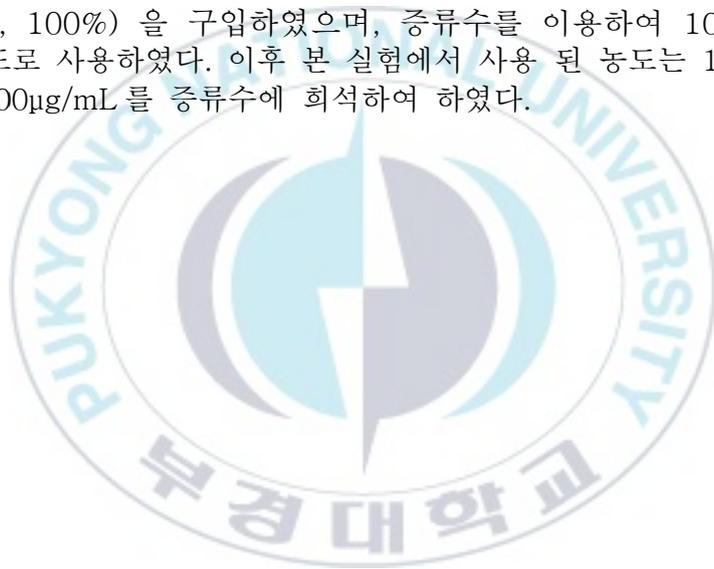
레몬밤에는 많은 flavonoid 와 terpenoic acid, volatile oil, 알코올 , phenol 화합물 배당체 및 rosmarinicacid 가 함유되어 있다. 그 중에서도 flavonoid 인 rosmarinicacid 의 함량이 풍부한 것으로 나타났다[22].

한편, 국내에서는 레몬밤의 생리활성에 대한 연구가 부족한 실정으로 본 연구에서는, 지방세포 분화와 항산화 효능에 있어 레몬밤 추출물(LE)의 억제 효능을 단백질 발현의 측면으로 연구 하였다.

Ⅱ. 재료 및 방법

2.1 샘플 준비

레몬밤 추출분말(LE)는 시중에서 판매되는 제품(레몬밤 잎, 중국산, 100%)을 구입하였으며, 증류수를 이용하여 100mg/mL의 농도로 사용하였다. 이후 본 실험에서 사용된 농도는 100, 200, 400, 800 μ g/mL를 증류수에 희석하여 하였다.



2.2 DPPH 라디칼 소거 활성

항산화 활성은 DPPH 라디칼 소거활성능으로 평가하였다. 120 μ L 의 DPPH 용액 (0.2mM in methanol, Santa cruz Biotechnology, USA)과 메탄올에 희석된 추출물을 80 μ L (100 μ g/mL)를 혼합 후, 실온에서 30min 간 반응시킨 뒤 515 nm 에서 흡광도를 측정하였다. 시료가 첨가되지 않은 음성 대조군을 기준으로 free radical 소거 정도를 백분율로 나타내었으며, 흡광도가 낮을수록 DPPH 자유 라디칼 소거능이 높은 것으로 항산화 능력이 우수하다고 판단 할 수 있다[23].

$$\text{DPPH 라디칼 소거 활성(\%)} = 100 - (A / B) \times 100$$

A: 각 시료액의 반응 흡광도

B: 공시료액의 반응 흡광도

2.3 세포 생존율 분석

96-well cell culture plate 에 mouse 3T3-L1 세포를 각각 1×10^4 /well (100 μ L)로 넣어준 후 CO₂ incubator 에서 24 시간 배양하였다. 배양한 세포의 성장을 확인 후 각 well 의 배지를 제거한 다음 시험물질을 농도별로 (100, 200, 400, 8000, 1,000 μ g/mL)로 100 μ L 씩 분주하여 24 시간, CO₂ incubator 에서 배양하였다.

각 well 의 배지 제거 후 농도 1mg/mL 의 MTT 시약을 50 μ L/well 씩 각각 넣고 1 시간 동안 배양하였다. 세포 내의 보라색 침전물 확인하고 시약을 제거 뒤, isopropanol 100 μ L/well 넣고 흡광도 570 및 650nm 에서 측정하였다.

세포 독성은 다음의 식을 이용하여 산출하였다.

1 차 계산 : 각 well 의 OD₅₇₀-OD₆₅₀ 값

2 차 계산 :
$$Viability (\%) = \frac{OD_{(570-650)e}}{OD_{(570-650)b}} \times 100$$

OD_{(570-650)e} 시험물질 처리된 well 의 흡광도

OD_{(570-650)b} 공 시험액이 처리된 well 의 흡광도

생존율이 대조군의 70% 미만 (<70%) 감소되는 경우, 세포독성이 있음을 나타낸다.

2.4 세포 배양과 지방세포 분화 (differentiation) 유도

본 실험에서 사용된 3T3-L1 지방전구세포는 한국세포주은행에서 구입하였다. 3T3-L1 세포는 10% bovine calf serum (BCS, WELGENE, KOREA)와 1% penicillin-streptomycin (WELGENE, KOREA)이 함유된 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM, WELGENE, KOREA)으로 상태에 따라 2~3 일 주기로 교체하였다. 37°C, 5% CO₂ 환경에서 배양하였으며, 지방세포 분화를 유도하기 위해 3T3-L1 지방전구세포가 confluent 한 상태가 될 때까지 배양을 하였다. 이후 지방분화를 유도하기 위한 MDI (10 unit/mL P/S, DMEM, 500µM IBMX, 0.25µM dexamethasone 및 10µg/mL insulin) 와 10% FBS 배지로 교체 후 배양하였으며, 2 일간 10% FBS, 10µg/mL insulin 이 포함된 DMEM 을 사용해 배양하고 분화를 유도하였으며, 완전한 분화를 위해 10% FBS 가 포함된 DMEM 배지를 사용하여 2 일간 배양하였다[24]. 분화과정 중 레몬밤 추출분말을 농도별로 처리하였다.

2.5 Oil Red O staining

레몬밤 추출분말의 adipogenesis 억제 효능을 평가하기 위해 분화 유도과 함께 시험물질을 농도별로 (100, 200, 400, 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 처리하였다. 분화 종료 후 well 당 2mL 의 PBS 로 세척 후 4% PFA solution 으로 30분간 실온에서 고정하였다. 이후 증류수로 2 회 세척하고, 세포 외 background 의 염색 방지를 위해 60 % isopropanol 을 넣고 5 분 간 상온에서 반응 후 제거하였다. Oil Red O working solution (Oil Red : DW = 3 : 2) 으로 실온에서 15 분간 염색 시킨다. 염색 후 증류수를 이용하여 5 회 세척하고, 100% isopropanol 를 첨가하여 세포 내 ORO 를 녹여 96-well plate 에 100 μL /well 씩 옮겨 510nm 에서 흡광도를 측정하였다. 시료를 처리하지 않은 분화된 지방세포를 대조군으로 하여 lipid accumulation (% of control)을 계산하였다.

2.6 단백질 정량 및 발현 분석(Western blot analysis)

3T3-L1 세포에 RIPA buffer [150mM Sodium chloride, 1% Triton X-100, 1% Sodium deoxycholate, 0.1% SDS, 50mM Tris-HCl (pH 7.5) 그리고 2mM EDTA] (Biosesang, Seongnam, Korea)를 첨가하여 4°C에서 30 분간 반응시킨 후, 12,000rpm, 30 분간 원심분리 하였다. 분리한 단백질의 정량을 Bradford assay 를 통해 분석하였다. 동량의 샘플을 이용하여 8~15% SDS - poly acrylamide gel 을 전기영동으로 분리 후, NC membrane 로 전이하였다. 5% skim-milk 를 처리하여 비 특이적 단백질을 blocking 하고, 1 차 항체인 PPAR- γ , SREBP-1, SOD, Catalase, GAPDH (Santa cruz, USA), C/EBP α , (Cell signaling Technology Inc, Beverly, MA, USA) 처리하여 4°C, overnight 반응하였다. TBST 로 10 분간 3 회 세척하고 이후 2 차 항체 (Cell signaling Technology Inc.)를 사용하여 상온에서 1 시간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 TBST buffer 로 10 분간 3 회 세척 후, Chemi-doc XRS system 을 이용하여 특정 단백질의 발현양을 분석하였다.

2.7 통계적인 분석

실험결과는 평균값 \pm 표준편차로 나타내었다. 각각의 독립적인 실험에 대한 분석은 Statview 통계 프로그램을 이용하여 진행하였다. 대조군 대비 * $p < 0.05$ # $p < 0.005$ † $p < 0.0001$ 일 경우 통계적으로 유의한 것으로 검정하여 나타내었다. 각 항목에 대한 유의한 차이에 대한 비교분석은 t-test one-way ANOVA 를 이용하여 통계적 유의성을 검증하였다.



Ⅲ. 결과

3.1 LE의 DPPH 라디칼 소거 효과

Table 1. 은 LE 에 대한 DPPH 라디칼 소거의 결과이다. 농도의존적으로 DPPH 라디칼 소거능이 유의성 있게 증가되는 것을 확인할 수 있었다. 특히 본 실험에서의 LE 는 공시료액 대비 DPPH 라디칼 소거능이 1,000 μ g/ml 농도에서 29.86 % 로 증가한 것으로 나타났다.



Table 1. Effect of LE on DPPH scavenging activity

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	DPPH radical scavenging activity (%)
0	100.00 \pm 0.000 †
100	12.45 \pm 0.235 #
200	15.36 \pm 0.032 †
400	17.48 \pm 0.022 †
800	17.73 \pm 0.139 †
1000	29.86 \pm 0.016 †

1) Values are expressed mean \pm SD (n=5).

2) *p < 0.05 #p<0.005 vs. †p<0.0001 vs. (+)

3.2 LE의 3T3-L1 지방전구세포에 대한 세포독성 확인

3T3-L1 지방전구세포에서 LE의 세포독성 효과를 확인하기 위해 세포 생존율 분석을 시행하였다.

3T3-L1 지방전구세포에 시험물질을 농도별 (100, 200, 400, 800, 1,000 μ g/mL)로 24시간 동안 처리한 결과를 Fig.1에 나타내었다.



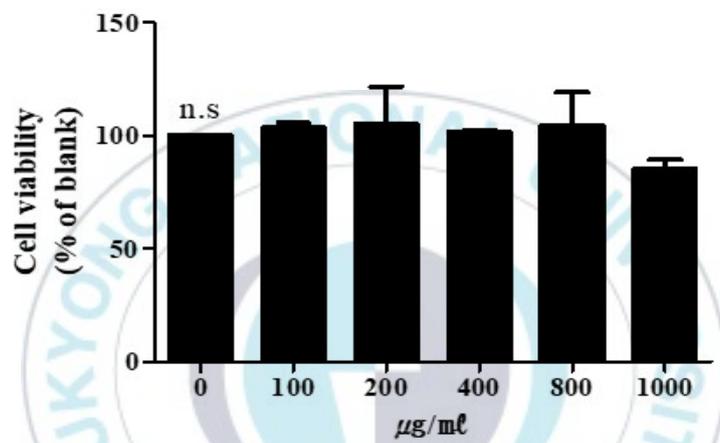


Figure 1. Effect of LE cell viability in 3T3-L1 cells.

3.3 LE의 지방축적 억제 효과

LE를 이용하여 3T3-L1 지방전구세포의 지방세포 분화에 미치는 영향을 확인하였다. LE의 지방 축적억제 효과는 Oil Red O 염색을 통해 LE의 세포독성에 대한 실험 결과를 바탕으로 하여 100, 200, 400, 800 μ g/mL의 농도를 설정하여 세포 내 지방축적의 정도를 확인하였다. 지질의 축적이 LE의 400, 800 μ g/mL 농도에서 12.85%, 22.36% 만큼 감소율을 확인하였다(Fig. 2).



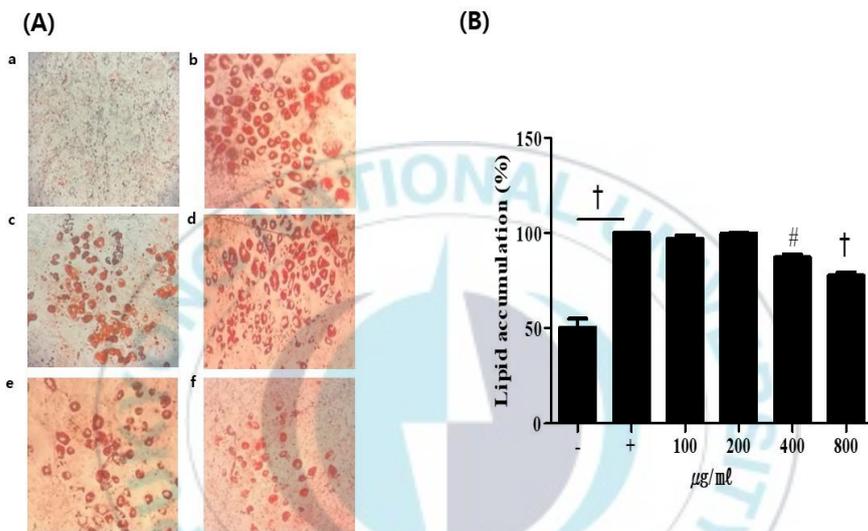


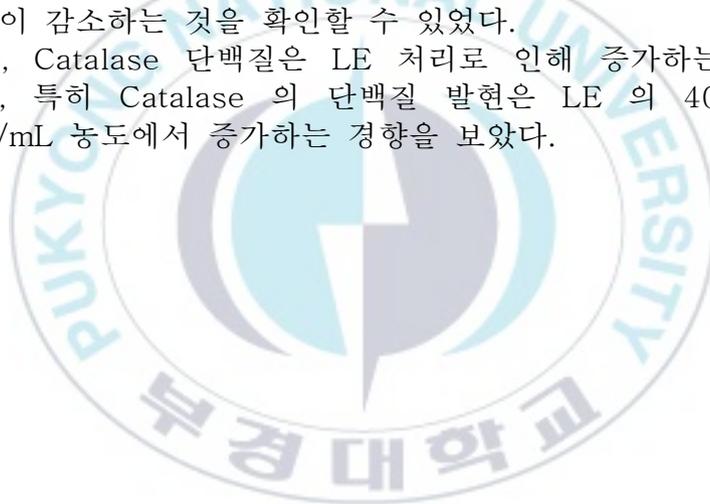
Figure 2. Effect of LE on lipid accumulation in 3T3-L1 cells.

- 1) a, Normal ; b, Control ; c, LE 100µg/mL ; d, LE 200µg/mL ; e, LE 400µg/mL ; f, LE 800µg/mL

3.4 LE 가 지방 분화 및 항산화 효소의 단백질 발현에 미치는 효과

Figure 3 과 지방분화만 유도한 군 (+)에서 지방분화 관련 인자들이 증가한 것을 확인하였고, 반면 LE 의 농도별 (400 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 처리로 인해 SREBP1, C/EBP α 와 PPAR γ 의 단백질 같이 Normal 대비 Control 군에서 모두 단백질 발현량이 감소하는 것을 확인할 수 있었다.

SOD, Catalase 단백질은 LE 처리로 인해 증가하는 경향을 보였고, 특히 Catalase 의 단백질 발현은 LE 의 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서 증가하는 경향을 보았다.



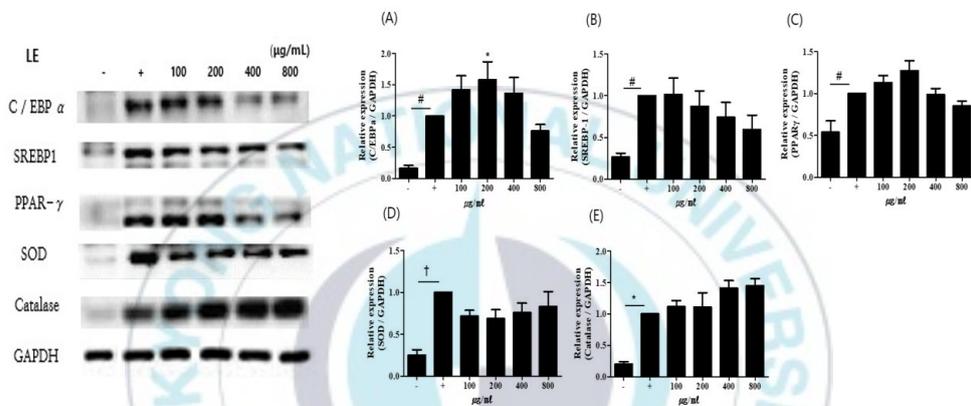


Figure 3. Effect of LE on Protein level (C/EBP α, SREBP1, PPAR γ, SOD, Catalase) in 3T3-L1

- 1) (A), Relative expression C/EBP in 3T3-L1 cells; (B), Relative expression SREBP1 in 3T3-L1 cells; (C), Relative expression PPAR γ in 3T3-L1 cells; (D), Relative expression SOD in 3T3-L1 cells; (E), Relative expression Catalase in 3T3-L1 cells

IV. 고찰

본 연구에 천연물질인 레몬밤을 기반으로 한 추출분말을 이용하여 지방전구세포에서의 항산화와 지방축적억제에 관한 연구를 진행하였다.

LE의 DPPH 라디칼 가장 높은 농도 기준에서 30% 이하의 라디칼 소거함량을 확인 할 수 있었다. DPPH 라디칼 소거능에서 폴리페놀과 플라보노이드가 활성산소와 free radical을 제거하며, 질병 예방 또는 개선이 가능하다고 보고된 연구결과와 비슷한 양상을 확인할 수 있었다[25-26].

특히 식물 추출물의 항산화능 측정에 많이 사용되고 있다[27]. 그러나 양성대조군으로 사용되는 ascorbic acid의 라디칼 소거함량 평균인 64%에 미치지 못하는 실정이다. 시료 자체의 항산화 효과에 주목하기 보다는 LE를 처리한 지방세포의 SOD의 감소, Catalase의 발현이 증가함에 따라 항산화 효과가 나타난 것으로 판단된다.

항산화의 단백질 발현 측면에서 레몬밤 추출분말이 활성산소 제거에 효과적인 항산화제로서의 기능을 수행했다고 판단할 수 있다. 또한 SOD 단백질 발현량도 감소함을 볼 수 있어 활성산소억제에 효과적이라 판단 할 수 있다. 그러나 지방세포분화를 유도한 세포에서 Catalase 단백질 발현이 증가함을 보아 우리는 Catalase 뿐만 아니라 체내 활성산소에 관여하는 또 다른 항산화효소인 GPx 등의 다양한 인자를 연구할 필요성이 있는 것으로 사료된다.

ORO 염색법과 지방세포 분화형성에 관여하는 단백질인 C/EBP α , SREBP-1 그리고 PPAR γ LE 농도가 높아질수록 지방분화억제에 효능이 있다고 판단할 수 있다.

연구의 결과는 레몬밤 추출물은 항비만 건강기능식품의 소재로서 활용이 가능한 결과라고 보여지며 향후 체내 활성산소에 발현에 관련된 GPx 등 항산화효소에 효과적인 조절에 관한 연구가 추가적으로 요구된다.

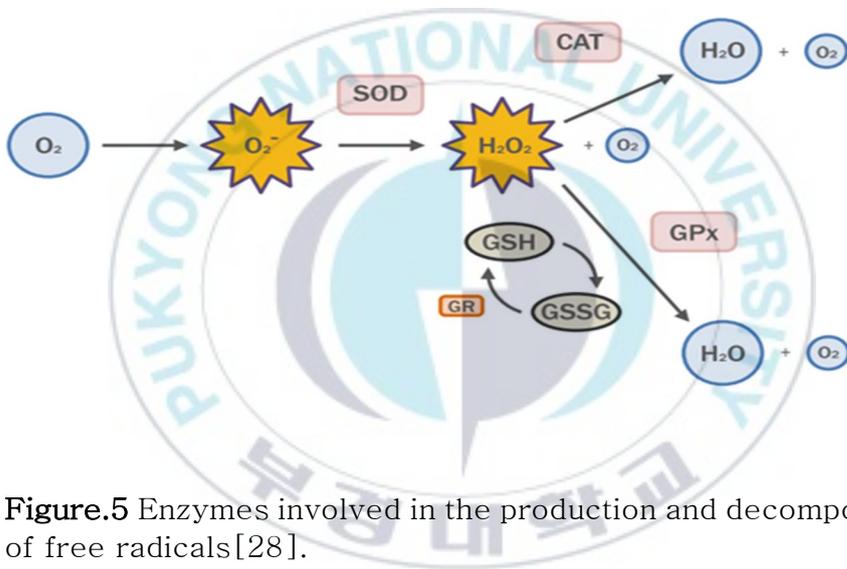


Figure.5 Enzymes involved in the production and decomposition of free radicals[28].

V. 요약

서구화 된 식습관과 스트레스 등 여러 가지 요인으로 인한 비만이 증가하고 있다. 비만으로 지방세포의 수가 증가하거나 크기가 커져 피하층과 체조직에 과도한 양의 지방이 축적 되는 것을 말한다. 그리하여 본 연구에서는 지방세포 감소에 영향을 주는 레몬밤 추출분말을 이용하여 3T3-L1 지방전구세포를 지방세포로의 분화 연구를 통해 항비만 활성과 항산화 활성을 확인하고자 하였다. 레몬밤 추출물은 DPPH 라디칼 소거에 의한 항산화 활성을 가지는 것으로 나타났다. 레몬밤 추출물에 의한 지방세포 분화 억제 활성 및 지방형성에 미치는 영향을 확인하기 위해 지방세포 분화에 중요한 역할을 담당하고 있는 peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ)와 CCAAT-enhancer-binding protein α (C/EBP α) 그리고 Sterol regulatory element-binding proteins (SREBP-1) 지방세포 분화에 관여하는 유전자들의 활성을 확인해보았다. 실험결과 레몬밤 추출물은 adipogenesis marker 유전자들의 발현을 농도 의존적으로 억제시키는 경향이 나타났다.

또한 항산화에 관련하는 유전자인 Catalase, SOD 의 단백질 발현량을 확인해보았다. SOD 단백질은 농도가 높을수록 감소하였으며, Catalase 는 레몬밤 추출물의 농도가 증가할수록 증가하였다. 이들의 결과를 보면 레몬밤 에탄올 추출물은 지방세포 분화를 억제하거나 항산화 활성이 연계 된 항비만 활성을 갖는 것으로 나타났다.

VI. 참고문헌

- [1] Spiegelman BM, Flier S. 1996. Adipogenesis and obesity rounding out the big picture. *Cell* 87:377-389
- [2] Kopelman PG. Obesity as a medical problem. *Nature*. 404: 635-643 (2000)
- [3] Alessi et al., 2003; Gesta et al., 2007; Roncari et al., 1981
- [4] Cornelius P, MacDougald OA, Lane MD. Regulation of adipocyte development. *Annu Rev Nutr* 14: 99-129, 1994.
- [5] Yaacov Barak¹, Michael C Nelson^{1, 2}, Estelita S Ong^{1,2}, Ying Z Jones³, Pilar Ruiz-Lozano⁴, Kenneth R Chien⁴, Alan Koder¹, Ronald M Evans PPAR γ Is Required for Placental, Cardiac, and Adipose Tissue Development
- [6] Rosen ED, Sarrat P, Troy AE, Bradwin G, Moore K, Milstrone DS, Spiegelman B and Mortensen RM. 1999. PPAR γ is required for the differentiation of adipose tissue in vivo and in vitro. *Molecular Cell*. 4. 611-617.

- [7] Eberle D, Hegarty B, Bossard P, Ferre P, Fouchelle F. SREBP transcription factors: master regulators of lipid homeostasis. *Biochimie*. 86: 839-848 (2004)
- [8] Kim JB, Sarraf P, Wright M, Yao KM, Mueller E, Solanes G, Lowell BB, Spiegelman BM. Nutritional and insulin regulation of fatty acid synthetase and leptin gene expression through ADD1/SREBP1. *J. Clin. Invest.* 101: 1-9 (1998)
- [9] Spiegelman & Flier, 2001; Ailhaud G, Grimaldi P and Nègre R. 1992. Cellular and molecular aspects of adipose tissue development. *Annual Review of Nutrition*. 12: 207-233.
- [10] Boney CM, Moats-staats BM, Stiles AD, D'ercole AJ. 1994. Expression of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-binding proteins during adipogenesis. *Endocrinology*. 135(5): 1863-1868.
- [11] Kim SH, Kim JY, Ryu KA, Sohn CM. Evaluation of the dietary diversity and nutrient intakes in obese adults. *Korean J Community Nutr* 12: 583-591, 2007.

- [12] Liu F, Kim J, Li Y, Liu X, Li J, Chen X. An extract of Lagerstroemia speciosa L. has insulin-like uptake-stimulatory and adipocyte-3 β -differentiation-inhibitory activities in 3T3-L1 cells. J Nutr 131: 2242-2247, 2001.
- [13] Ntambi JM, Kim YC. Adipocyte differentiation and gene expression. J Nutr 130: 3122-3126, 2000.
- [14] Bae,2002;Talalayetal.,1982;Wefersetal.1984
- [15] Kenneth B. Beckman and Bruce N. Ames(1998)
The Free Radical
- [16] TheoryofAgingMatures,Physiol.Rev.78:547-581
- [17] Mandrup S, Lane MD. Regulating adipogenesis. J. Biol. Chem. 272: 5367-5370 (1997)
- [18] D.Venkat Ratnam,D.D.Ankola,V.Bhardwaj,D.K.Sahana,M.N. V.Ravi Kumar,(2006) Role of antioxidants in prophylaxis and therapy:A pharmaceutical perspective, Journal of Controlled Release 113:189-207

- [19] Kang, I. H., Cha, J. H., Han, J. H., Lee, S. W., Kim, H. J. Kwon, S. H., Ham, I. H., Hwang, B. S. and Whang, W. K. (2005) Isolation of antioxidant from domestic crataegus pinnatifida Bunge leaves. Korean J. Pharmacogn, 36, 121-128 hydroxyanisole (BHA). Korean J Hood Sd. Technol. 12, 283- 288.
- [20] Choe, S. Y. and Yang, K. H. (1982) Toxicological studies of antioxidants, butylated hydroxytoluene (BHT) and butylated
- [21] 19. P. N. Ravindran, M. Divakaran, and G. S. Pillai, Other herbs and spices: achiote to Szechuan pepper, ed. K. V. Peter, Handbook of herbs and spices, 583, Woodhead Publishing, Sawston, Cambridge (2012).
- [22] Lamaison JL, Petitjean-Freytet CandCarnata A. 1990. Rosmarinic acid, total hydroxycinnamic derivatives and antioxidant activity of Apiaceae, Borraginaceae and Lamiceae medicinals. Ann Pharm Fr 48:103-108
- [23] Kedare SB, Singh RP. 2011. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. J. Food Sci. Technol. 48: 412-422

- [24] Fruchart, J Dallongeville, and J Auwerx, Fibrates down-regulate apolipoprotein C-III expression independent of induction of peroxisomal acyl coenzyme A oxidase. A potential mechanism for the hypolipidemic action of fibrates, *J Clin Invest*, 95(2):705-12, 1995
- [25] C. C. Wei, C. W. Yu, P. L. Yen, H. Y. Lin, S. T. Chang F. L. Hsu, and V. H. Liao, Antioxidant activity, delayed aging, and reduced amyloid- β toxicity of methanol extracts of tea seed pomace from *Camellia tenuifolia*, *J. Agric. Food Chem.*, 62, 10701 (2014)
- [26] Chu, Y.H, Chang, C.L. & Hsu, H.F. (2000) Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. *Journal of the science of food and agriculture*. 80(5)561-566
- [27] Y. S. Velioglu, G. Mazza, L. Gao, and B. D. Oomah, Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products, *J. Agric. Food Chem.* 46, 4113 (1998)
- [28] Sun-Hee Jeong, Onjeong-ro, Gwonseon-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 16632, Anti-oxidant Activities of Phytol on Keratinocytes