

## Sprague-Dawley계 흰쥐에서 현지초 부탄올 분획물의 항비만 및 항고지혈증 효과

김세건<sup>1</sup> · 라미차네 라마칸타<sup>1</sup> · 서르마 디박 쿠마르<sup>1</sup> · 이경희<sup>1</sup> · 최종원<sup>2</sup> · 정현주<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>원광대학교 한약학과 및 BK21plus 프로그램 ICT기반 라이프케어산업융복합인재양성사업단

<sup>2</sup>경성대학교 약학대학, <sup>3</sup>원광한약연구소

## Anti-obesity and Anti-hyperlipidemic Effects of Butanol Soluble Fraction from Methanol Extract of *Geranium thunbergii* in Sprague-Dawley Rats

Se-Gun Kim<sup>1</sup>, Ramakanta Lamichhane<sup>1</sup>, Dipak Kumar Sharma<sup>1</sup>,  
Kyung-Hee Lee<sup>1</sup>, Jongwon Choi<sup>2</sup> and Hyun-Ju Jung<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Oriental Pharmacy Wonkwang University and BK21plus Program & Department of Smart Life-Care  
Convergence, Wonkwang University, Graduate School, Iksan 570-749, Korea

<sup>2</sup>College of Pharmacy, Kyungsoo University, Busan 608-736, Korea

<sup>3</sup>Wonkwang-Oriental Medicines Research Institute, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

**Abstract** – The purpose of this study was to investigate anti-obesity and anti-hyperlipidemic effects of extracts from *Geranium thunbergii* (GT) in high-fat-diet-induced obese rats. Animals were randomly divided into four groups [normal diet, high fat diet, MeOH extract of GT (GTM), and BuOH fraction of GT (GTB)] and GT samples were treated with dose of 100 mg/kg for 8 weeks. It was observed that GTB-treated group significantly reduced body weight gain, food intake, epididymal fat weight, and triglyceride level in serum and liver compared to control group. The rats fed GTB also decreased contents of thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS), hydroxyl radical, and xanthin oxidase (XO) increased by high fat diet. Furthermore, the anti-oxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), and catalase were increased by GTB treatment. The experimental results indicate that GTB has anti-obesity and anti-hyperlipidemic effects, as well as radical scavenging activity.

**Key words** – *Geranium thunbergii*, Antiobesity, Antihyperlipidemic

비만은 에너지 섭취와 소비의 불균형으로 유발되는 대사성질환으로서 고칼로리 위주의 식습관, 음주, 흡연과 드물게는 선천적으로 지질대사의 이상으로 발병하고 우리나라 성인인구의 약 30%정도가 체질량지수(body mass index, BMI) 25이상인 것으로 알려져 있다.<sup>1,2)</sup> 현대인의 비만은 주로 고칼로리 및 고지방 섭취로 인한 서구화된 식습관 때문에 나타나게 되고, 지속적으로 체내에 지질함량이 증가되어 혈중에 중성지방, LDL콜레스테롤, 총콜레스테롤이 증가되는 이상지질혈증이 나타나게 되며 동맥경화, 당뇨병, 고혈압 및 심혈관계 질환 등을 야기 시킨다.<sup>3-5)</sup> 그러나 비만 치료를 위하여 개발된 sibutramine, orlistat와 같은 합성의약품

들은 두통, 변비, 현기증, 불면증, 간손상과 같은 부작용 사례가 보고 되어 있으며, sibutramine의 경우 심혈관계 이상으로 인한 사망한 사례가 있어 판매가 금지되었다.<sup>6,7)</sup> 또한 비만과 함께 수반되는 고지혈증은 statin계(simvastatin, rosuvastatin, atorvastatin 등), fibrate계(clofibrate, bezafibrate 등) 약물등이 사용 되어 LDL-콜레스테롤 및 중성지방 수치를 감소시키는 반면 근육손상, 담석, 소화장애 등의 부작용을 가지는 것으로 알려져 있다.<sup>8,9)</sup> 따라서 합성의약품들의 부작용을 최소화 하고 안전성이 확보되면서 치료 효과가 뛰어난 소재의 개발이 절실히 필요하다. 최근 천연물을 이용한 연구들이 활발히 진행되면서 건강기능성식품 및 의약품 개발이 많이 이루어지고 있으며, 특히 폐놀성 화합물들을 가지는 생약들이 *in vitro*, *in vivo* 실험을 통하여 항비만<sup>10,11)</sup> 및 항고지혈증<sup>12)</sup> 효과를 나타내는 것으로 보고되었기에 폐

\*교신저자(E-mail): hyun104@wku.ac.kr  
(Tel): +82-63-850-6814

놀성 화합물을 함유한 천연소재로부터 비만치료제 개발을 시도하였다.

현초(*Geranium thunbergii* Sieb. et Zucc.)는 이질풀이라고도 하며, 한국, 대만, 일본등지에서 분포하는 식물로서 전통적으로 지상부를 사용하여 설사 및 염증 치료에 사용하여 왔으며, 구성성분으로는 (-)-epicatechin, kaempferitrin, kaempferol-7-rhamnoside, brevifolin, corilagin, pyrogallol, ellagitannin, geraniin, gallic acid, quercetin, protocatechuic acid 등의 페놀성 화합물들이 주로 함유되어 있고, 항산화, 항염, 간보호효과 등의 약리작용을 나타낸다.<sup>13-16)</sup>

본 연구에서는 예비실험을 통하여 현초 메탄올 추출물, 클로로포름, 부탄올 및 물 분획물 내에 각각 191.1, 147.3, 291.4, 73.1 µg/(mg of extract)로 페놀성 화합물들이 존재한다는 것을 Folin-Ciocalteu's assay<sup>17)</sup>로 확인하였고, 이 중 메탄올 추출물과 페놀성 화합물들이 다량 함유된 부탄올 분획물을 고지방식이로 유도한 동물 모델에 투여하여 체내 지방 축적 억제효과, 혈액 내 지질 축적 억제효과 및 관련 효소 활성을 평가하였다.

## 재료 및 방법

**추출 및 검액의 제조** - 본 실험에 사용된 현초(*Geranium thunbergii*)는 광주에 소재한 세화당에서 구입하여 사용하였다. 식물재료(9.5 kg)는 메탄올로 3회 환류 추출한 후 감압 농축하여 메탄올 추출물 973 g을 얻었고, 이 추출물을 증류수에 현탁하여 클로로포름(242 g), 부탄올(305 g) 순으로 분획하였으며 메탄올 추출물과 부탄올 분획물을 시료로 사용하였다. 시료의 농도는 이전의 연구<sup>18)</sup>에서 고지방 식이로 유발한 고지혈증 흰쥐에게 페놀성 화합물들이 함유된 분획물의 투여농도를 참고로 하여 100 mg/kg로 설정하였고, 4% Tween 80에 용해한 후 8주 동안 oral sonde를 사용하여 실험동물에 경구로 투여하였다.

**실험동물 및 처치** - Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐(4주령, 120-140 g)는 다물사이언스(Dajeon, Korea)로부터 분양받아 실험동물로 사용하였고, 원광대학교 동물자원개발연구센터의 동물사육실에서 일정한 조건(온도: 22±3°C, 상대습도: 50±10%, 명암주기: 12시간 light/dark cycle)으로 1주 동안 충분히 적응시켰다. 동물처치 24시간 전에 물만 주고 절식하였고, 이때 효소활성의 변동을 고려하여 실험동물을 일정시간(오전 10:00-12:00)에 희생시켰다. 본 연구는 원광대학교 동물실험윤리 위원회의 승인 하에 윤리규정을 준수하여 실시하였다.

**비만 및 고지혈증 유발** - 실험동물에 사용된 고지방식은 Research diets사(New Brunswick, NJ)의 정상식이(AIN-76A)에 beef tallow 45%가 함유된 조제사료(D12451)를 사용하였고, 8주간 사육하여 유발시켰다.

**체중, 식이섭취량 및 지방조직의 측정** - 실험동물의 체중 변화는 실험 시작일로부터 주 1회, 식이 섭취량은 주 3회씩 일정한 시간에 측정하였고, 지방 조직의 무게는 실험 종료일에 복부를 절개하여 복강 및 부고환 주위의 지방을 생리 식염수로 세척한 후 여지로 수분을 제거하여 각 지방조직의 무게를 측정하였다.

**혈청 및 효소원의 제조** - 시료의 투여가 끝난 후 실험동물을 CO<sub>2</sub>로 가볍게 마취시켜 복부 대동맥으로부터 혈액을 채취하였고 30분간 상온에 방치한 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 간 조직은 적출하여 생리식염수로 관류시켜 여지로 수분을 제거하고, 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 7.4)를 가하여 teflon homogenizer로 마쇄한 후 원심분리하여 mitochondrial, cytosol 및 microsomal 분획을 얻어 효소액으로 사용하였다. 혈청 및 간 효소액은 -80°C 초저온냉동고에 보관하였고, 지질함량 및 효소활성을 측정하는데 사용하였다.

**간 조직 및 혈청 중 지질 함량 측정** - 간 균질액에 10배량의 혼합용매(CHCl<sub>3</sub>:MeOH = 2:1)를 첨가하여 지질을 추출한 후 여과액을 등근플라스크에 넣고 감압농축기를 이용하여 지질을 얻었다. 이에 메탄올로 잘 용해시킨 후 정량하여 시료로 사용하였고, 혈액에서 분리된 혈청과 함께 (주)아산제약(Whasung, Korea)에서 판매하는 총콜레스테롤(AM 202-K), 중성지방(AM 157S-K) 및 고밀도 콜레스테롤(AM 203-K) 정량용 kit 시약을 사용하여 제조사에서 제공한 프로토콜에 따라 UV-vis spectrophotometer(UV-2401PC, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

**간 기능 검사** - 혈청 중 glutamic oxalacetic transaminase (GOT, AM-101K), glutamic pyruvate transaminase(GPT, AM-101K) 및 gamma-glutamyl transpeptidase(γ-GTP, AM 158-K)의 함량은 (주)아산제약으로부터 구입한 진단용 kit 시약을 사용하여 제조사에서 제공된 측정 방법에 따라 정량하였다.

**혈청 중 Lipid Peroxide(LPO) 함량 측정** - Yagi의 방법<sup>19)</sup>에 준하여 혈청에 1/12 N sulfuric acid와 10% phosphotungstic acid를 첨가하고 원심분리(3,000 rpm, 10 min)하여 침전물인 단백질만 분리하였다. 이에 증류수와 0.67% thiobarbituric acid : 50% acetic acid(1:1)를 넣은 후 항온수조(95°C)에서 60분간 반응시켜 실온에서 냉각 후 부탄올을 넣고 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 분리된 상청액을 취해 fluorospectrophotometer(Ex/Em 515/553)를 사용하여 흡광도를 측정하고 다음의 식에 의하여 LPO 함량을 산출하였다.

$$\text{LPO(nmole/mL)} = 0.5 \times (\text{sample의 흡광도} / \text{표준용액의 흡광도}) \times 1.0 / 0.02$$

**혈청 중 Superoxide Dismutase(SOD) 함량 측정** - SOD 활성은 Oyanagui의 변형된 방법<sup>20)</sup>에 의하여 혈청과

간 균질액에 증류수를 넣고 시약 A(3 mM hydroxylamine/3 mM hypoxanthine) 및 시약 B(0.1 mM EDTA-2Na에 용해한 7.5 mU/mL xanthine oxidase with )를 혼합하여 37°C 항온수조에서 30분간 방치한 후 시약 C(16.7% acetic acid 에 sulfanilic acid 300 mg/N-1-naphthyl-ethylenediamine)를 추가하여 상온에서 20분간 방치하였다. 효소활성은 550 nm 에서 흡광도를 측정하여 SOD의 U/mg protein으로 표시하였고, 1 unit는 50% 억제되는 adrenochrome의 생성율로써 산출하였다.

**간장조직의 SOD 함량 측정** - Marklund와 Marklund의 방법<sup>21)</sup>에 준하여 효소액에 0.2 M potassium phosphate buffer(200 µM cytochrome C, 100 µM EDTA 함유 pH 8.6) 를 넣은 후 4°C 20분간 방치하고 test에는 alkaline DMSO 용액, blank에는 non-alkaline DMSO 용액을 각각 가한 뒤 37°C에서 30분간 반응시켜 파장 550 nm에서 감소되는 cytochrome C의 흡광도를 측정한 다음 alkaline DMSO-mediated cytochrome C reduction을 50% 억제하는 효소량을 1 unit로 산정하여 활성도를 표시하였다.

**Hydroxyl Radical 함량 측정** - Kobatake등의 방법<sup>22)</sup>에 따라 혈청에 시약(0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.4)/0.54 M NaCl/10 mM NaN<sub>3</sub>/7 mM deoxyribose/5mM ferrous ammonium sulfate)을 넣고 혼합하여 37°C 항온수조에서 15분간 방치한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상청액을 분리하고, 이에 8.1% sodium dodecyl sulfate (SDS), 20% acetic acid, 증류수 및 1.2% thiobarbituric acid 를 첨가하여 100°C에서 30분간 반응시키고 냉각하여 다시 3,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 얻은 상청액을 파장 532 nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량선에 의하여 hydroxyl radical(nmole/mg protein)의 함량을 산출하였다.

**Xanthine Oxidase(XO) 함량 측정** - Stripe과 Della의 방법<sup>23)</sup>에 준하여 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5) 에 효소액을 가하고 total activity 측정을 위해서 3 mM NAD 0.1 mL을 첨가하였고, xanthine oxidase(XO)활성을 위해서는 증류수 0.1 mL을 첨가하였다. 여기에 기질로 150 µmol xanthine 1 mL을 넣어 잘 섞은 후 295 nm에서 흡광도 변화를 관찰하였다. 효소 활성도는 1분 동안 1 mg의

단백질이 1 µmol의 uric acid를 생산하는 것을 1 unit로 하였다. 또한 total 활성도에서 XO활성을 뺀 것을 xanthine dehydrogenase 활성도로 결정하였다.

**Glutathione Peroxidase(GSH-Px) 함량 측정** - Paglia와 Balentine의 방법<sup>24)</sup>에 준해 hydrogen peroxide 및 glutathione 이 함유된 0.1 mM tris buffer(pH 7.2)에 효소액을 가하여 파장 340 nm에서 흡광도를 측정하고, 표준 검량선에 준하여 활성도를 산정하였다. 효소활성의 단위는 1분당 1 mg protein이 생성하는 NADP의 양을 nmole로 표시하였다.

**Catalase 활성도의 측정** - Abe의 방법<sup>25)</sup>에 의하여 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.0)에 기질인 10 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 의 환원되는 정도를 파장 240 nm에서 흡광도의 변화를 측정하고, 분자흡광계수 0.041 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>을 이용하여 활성도를 산정하였다. 효소활성의 단위는 1분당 1 mg protein이 분해하는 hydrogen peroxide의 양을 µmole로 표시하였다.

**단백질 정량 및 통계처리** - Lowry등의 방법<sup>26)</sup>에 의하여 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 단백질의 함량분석을 실시하였고, 모든 데이터는 3회 반복실험을 실시하여 평균±표준편차로 표시하였다. 통계적 유의성 검사는 SPSS statistics 19(IBM Co., Armonk, NY)를 사용하여 Duncan's multiple range test로 그 유의성을 나타내었다.

## 결과 및 고찰

**식이섭취량, 체중 및 지방조직 무게에 대한 추출물의 효과** - 8주 동안 고지방 식이로 비만을 유도한 흰쥐에서 현초 메탄올 추출물과 부탄올 분획물을 100 mg/kg의 농도로 일정시간에 경구 투여하고, 식이섭취량을 1주일에 3회, 체중을 1주일에 한번 측정하였다(Table I). 고지방식이를 투여한 대조군에서 1일 식이섭취량은 15.5±1.2 g/day로 현초 메탄올 추출물을 투여한 군에서는 유의성 있는 차이를 보이지 않았지만 부탄올 분획물을 투여한 실험군에서는 13.8±1.5 g/day로 12%정도의 1일 식이섭취량이 감소하였다. 8주간 체중증가량이 195.7±13.3 g으로 대조군의 248.3±12.7 g보다 27%정도 체중감소 효과를 나타냈다. 또한 부탄올 분획물 투여군의 부고환지방조직 무게는 14.61±1.19 mg/g으로 대조

**Table I.** Effect of samples from *G. thunbergii* on food intake and body weight gain in obese rats

Group	Dose (mg/kg)	Food intake (g/day)	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Bodyweight gain <sup>1</sup> (g)
Normal		22.2±3.6 <sup>b</sup>	129.7±3.2 <sup>a</sup>	342.3±8.5 <sup>bc</sup>	212.7±6.4 <sup>bc</sup>
Control		15.5±1.2 <sup>a</sup>	131.3±4.1 <sup>a</sup>	378.7±10.0 <sup>a</sup>	248.3±12.7 <sup>a</sup>
MeOH ex.	100	15.0±1.1 <sup>a</sup>	133.6±4.8 <sup>a</sup>	358.4±14.8 <sup>ab</sup>	224.8±15.0 <sup>b</sup>
BuOH fr.	100	13.8±1.5 <sup>a</sup>	130.8±4.3 <sup>a</sup>	326.5±13.2 <sup>c</sup>	195.7±13.3 <sup>c</sup>

<sup>1</sup>body weight gain = final body weight - initial body weight. Values were express as the mean±S.D. (n=8) The effects of samples were compared by one-way analysis of variance (ANOVA) using Duncan's multiple range test.

**Table II.** Effect of samples from *G. thunbergii* on weight of adipose tissues in obese rats

Group	Dose (mg/kg)	mg/g of body weight	
		Retroperitoneal	Epididymal
Normal		7.98±0.44 <sup>b</sup>	10.96±0.38 <sup>c</sup>
Control		12.73±0.58 <sup>a</sup>	17.43±1.21 <sup>a</sup>
MeOH ex.	100	13.17±1.12 <sup>a</sup>	17.30±0.78 <sup>a</sup>
BuOH fr.	100	12.25±0.77 <sup>a</sup>	14.61±1.19 <sup>b</sup>

Values were express as the mean±S.D. (n=8) The effect of samples was compared by one-way analysis of variance (ANOVA) using Duncan's multiple range test.

군 17.43±1.21 mg/g보다 19%정도 감소한 것으로 확인되었다. 하지만 복강지방조직 무게에는 유의적인 차이를 보이지 않았다(Table II). 이상의 결과로 현초 부탄올 분획물의 항비만 효과는 췌장  $\alpha$ -amylase나 lipase의 활성 저해를 통하여 나타나는 식이섭취량 억제<sup>27)</sup>와 지방세포(adipocyte) 비대(hypertrophy)의 key regulator인 peroxisome proliferator activated receptor gamma(PPAR $\gamma$ ), sterol regulatory element binding protein-1c(SREBP-1c), CCAAT/enhancer binding protein  $\alpha$ (C/EBP $\alpha$ )와 같은 유전자의 발현을 억제하여 지방조직의 무게를 감소시키는 효과에 의한 것으로 사료된다.<sup>28)</sup>

**혈청 중 지질 감소에 대한 효과** - 고지방식이로 유도한 비만 흰쥐에 현초 메탄올 추출물과 부탄올 분획물을 8주간 경구 투여한 후 혈청 중 총콜레스테롤, HDL-cholesterol, 중성지방의 함량은 Table III과 같다. 혈청 중 총콜레스테롤의 함량은 고지방식이군 91.63±2.21 mg/dl, 정상식이군 95.83±4.56 mg/dl, 현초 메탄올 추출물 투여군 89.42±6.57 mg/dl로 유의성 있는 감소 효과를 나타내지 않았으나 현초 부탄올 분획물 투여군에서 76.28±4.57 mg/dl로 대조군보다 20%정도 감소되는 것을 확인할 수 있었다. 혈청 중 HDL-cholesterol의 농도는 대조군이 정상식이군보다 22%정도 유의적으로 감소되었고 현초 메탄올 투여군(56.83±4.05 mg/dl)과 부탄올 분획물 투여군(59.85±3.70 mg/dl)에서 각각 5%와 10% 증가 되었지만 통계적으로 유의성을 보이지 않았다.

HDL-cholesterol은 고비중리포단백질로써 콜레스테롤을 조직에서 간으로 이송하여 재활용 또는 배설 시켜 혈중 콜레스테롤 함량을 저하시키는 효과와 동맥경화 억제효과를 가지고 있다.<sup>29)</sup> 일반적으로 고지혈증 치료에 사용되는 statin 제제는 HDL-cholesterol을 5-10%정도 증가시키는 것으로 알려져 있으며,<sup>30)</sup> 현초 추출물 투여가 고지방식이로 유도한 비만 흰쥐에서 혈청 중 HDL-cholesterol 함량에 영향을 미치는 것으로 확인 되었다. 혈청 중 중성지방의 함량은 정상식이군에서 55.61±3.69 mg/dl, 대조군에서 166.71±10.99 mg/dl로 고지방식이에 의하여 혈청 중성지방의 함량이 3배정도 증가하였다. 현초 메탄올 추출물 투여군에서는 153.82±12.01 mg/dl로 대조군에 비하여 8% 중성지방의 함량이 감소하였고, 특히 부탄올 분획물 투여군에서는 129.93±8.85 mg/dl로 대조군에 비하여 22% 유의적으로 감소하였다. 또한 고지혈증으로 인한 합병증으로 심혈관계질환의 발생이 높아 지는데 현초 메탄올 추출물(1.57±0.01) 및 부탄올 분획물(1.28±0.01) 투여군에서 심혈관위험지수(cardiac risk factor)를 대조군(1.79±0.03)과 비교하여 각각 11%, 40% 낮추는 것으로 보아 현초가 고지혈증 합병증으로 야기되는 관상동맥질환 예방에 효과가 있을 것으로 사료된다.

**혈중 GOT, GPT 및  $\gamma$ -GTP 함량 변화** - 현초 메탄올 추출물과 부탄올 분획물의 투여가 비만 흰쥐의 간에 미치는 영향을 알아보기 위하여 혈중 간 손상 지표인 GOT, GPT 및  $\gamma$ -GTP 활성을 측정하여 Table IV에 나타내었다. GOT, GPT 및  $\gamma$ -GTP는 간질환 진단에 널리 사용되는 효소로서 약물에 의한 간 손상이 진행됨에 따라 효소가 혈중으로 유리 되어 현저히 증가되므로 간 기능 검사의 지표로 널리 사용된다. 혈액 내의 GOT, GPT 및  $\gamma$ -GTP의 함량은 대조군에서 각각 61.87±4.60, 29.01±1.36, 58.67±3.54 U/L로 관찰되었고, 현초 메탄올 추출물과 부탄올 분획물을 100 mg/kg의 농도로 8주 동안 투여한 실험군에서는 대조군과 큰 차이를 보이지 않았다. 이는 현초 추출물 투여가 간 독성 및 간 손상에 직접적인 영향을 주지 않는 것으로 판단된다.

**간 조직내 중성지방 및 콜레스테롤 함량 변화** - 고지방 식이로 유도한 비만 흰쥐에 현초 추출물이 간 조직내 지질

**Table III.** Effect of samples from *G. thunbergii* on lipid profiles of obese rats

Group	Dose (mg/kg)	Lipid content in serum (mg/dl)			CRF <sup>1</sup>
		Total cholesterol	HDL-cholesterol	Triglyceride	
Normal		91.63±2.21 <sup>a</sup>	68.71±3.77 <sup>b</sup>	55.61±3.69 <sup>c</sup>	1.34±0.04 <sup>c</sup>
Control		95.83±4.56 <sup>a</sup>	53.74±3.42 <sup>a</sup>	166.71±10.99 <sup>a</sup>	1.79±0.03 <sup>a</sup>
MeOH ex.	100	89.42±6.57 <sup>a</sup>	56.83±4.05 <sup>a</sup>	153.82±12.01 <sup>a</sup>	1.57±0.01 <sup>b</sup>
BuOH fr.	100	76.28±4.57 <sup>b</sup>	59.85±3.70 <sup>a</sup>	129.93±8.85 <sup>b</sup>	1.28±0.01 <sup>d</sup>

<sup>1</sup>CRF (cardiac risk factor) = total cholesterol/HDL-cholesterol

Values were express as the mean±S.D. (n=8) The effect of samples was compared by one-way analysis of variance (ANOVA) using Duncan's multiple range test.

**Table IV.** Effect of samples from *G. thunbergii* on liver function of obese rats

Group	Dose (mg/kg)	GOT <sup>1</sup>	GPT <sup>2</sup>	$\gamma$ -GTP <sup>3</sup>
		(U/L)	(U/L)	(U/L)
Normal		32.80±2.71 <sup>c</sup>	46.84±5.06 <sup>a</sup>	30.63±2.61 <sup>d</sup>
Control		61.87±4.60 <sup>a</sup>	29.01±1.36 <sup>b</sup>	58.67±3.54 <sup>a</sup>
MeOH ex.	100	47.45±4.26 <sup>b</sup>	20.40±1.77 <sup>c</sup>	52.90±4.22 <sup>b</sup>
BuOH fr.	100	66.16±5.29 <sup>a</sup>	28.70±2.63 <sup>b</sup>	48.10±3.21 <sup>c</sup>

Values were express as the mean±S.D. (n=8) The effect of samples was compared by one-way analysis of variance (ANOVA) using Duncan's multiple range test.

<sup>1</sup>GOT: glutamic oxalacetic transaminase, <sup>2</sup>GPT: glutamic pyruvate transaminase, <sup>3</sup> $\gamma$ -GTP: gamma-glutamyl transferase

**Table V.** Effect of samples from *G. thunbergii* on lipids content in liver homogenate

Group	Dose (mg/kg)	Triglyceride	Cholesterol
		mg/g of tissue	
Normal		10.11±1.39 <sup>c</sup>	4.80±1.61 <sup>a</sup>
Control		18.48±2.29 <sup>a</sup>	6.54±1.55 <sup>a</sup>
MeOH ex	100	16.79±1.90 <sup>ab</sup>	5.07±1.87 <sup>a</sup>
BuOH fr.	100	14.43±2.21 <sup>b</sup>	4.72±1.13 <sup>a</sup>

Values were express as the mean±S.D. (n=8) The effect of samples was compared by one-way analysis of variance (ANOVA) using Duncan's multiple range test.

축적 억제효과를 확인하고자 중성지방 및 콜레스테롤 함량 변화를 분석하였다. Table V에서 보인 바와 같이 고지방 섭취로 인한 대조군의 중성지방 함량은 정상식이군보다 36% 증가하였고, 현초 메탄올 추출물 투여군은 대조군에 비하여 30% 감소하였으며, 부탄올 분획물 투여군에서는 28% 감소하였다. 콜레스테롤 함량 변화에서도 현초 추출물 투여군이 중성지방 함량 변화와 유사하게 나타났으며, 특히 부탄올 분획물 투여군에서는 39%로 상당히 감소하였다. 이는 현초 추출물 투여가 간 조직중의 지질대사에 관여하여 지질축적 억제 효과를 나타내는 것으로 사료되며, 비만에 의하여 유발되는 지방간 등의 질환 개선 및 치료에 간접적인 효과를 나타낸다고 사료된다.

**혈중 Lipid Peroxide의 함량, Hydroxyl Radical의 생성 및 SOD 활성** - 고지방식이섭취로 인한 비만 흰쥐의 혈중 내 lipid peroxide, hydroxyl radical 및 SOD의 함량 변화에 대한 실험 결과는 Table VI와 같다. 고지방 식이의 지속적인 섭취는 생체 산화 균형을 무너뜨리면서 체내 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)을 증가시키고, 이는 불포화 지방산과 결합하여 산화와 환원의 대사물인 malondialdehyde와 같은 지질과산화물(thiobarbituric acid relative substance, TBARS)을 생성하여 조직손상을 유발시키며 tumor necrosis-alpha(TNF- $\alpha$ ), interleukin-6(IL-6)과 같은 염증성 사이토카인을 발현시키는 것으로 알려져 있다.<sup>31,32</sup> 현초 메탄올 추출물과 부탄올 분획물의 투여는 지질과산화물을 대조군에 비하여 각각 33%, 29% 감소시켰고, free radical의 일종인 hydroxyl radical의 경우, 정상식이군에 비하여 2배정도 증가한 대조군의 함량이 현초 추출물 투여군에서 5%정도 감소되었다. 또한 항산화계 효소의 일종인 SOD는 산화적 스트레스로 인하여 대조군에서 감소하였지만, 현초 부탄올 분획물 투여군에서는 대조군에 비하여 17% 증가한 것으로 확인되었다.

**간 조직내 활성산소 생성계 및 해독계 효소의 함량 변화** - 현초 추출물의 투여가 고지방식이로 유도한 비만 흰쥐에서 혈중 지질과산화물의 억제효과의 기전을 좀 더 구체적으로 조사할 목적으로 지질과산화에 직접적으로 관여하는 활성산소 생성계와 해독계 효소들의 함량 분석 결과를

**Table VI.** Effect of samples from *G. thunbergii* on LPO, SOD and HR activities in obese rats

Group	Dose (mg/kg)	LPO <sup>1</sup>	SOD <sup>2</sup>	HR <sup>3</sup>
		(MDA nmole/mL)	(U/mg protein)	(nmole/mg protein)
Normal		2.84±0.24 <sup>c</sup>	3.16±0.18 <sup>d</sup>	2.56±0.23 <sup>c</sup>
Control		4.27±0.29 <sup>a</sup>	1.97±0.06 <sup>a</sup>	6.11±0.26 <sup>a</sup>
MeOH ex	100	3.21±0.21 <sup>b</sup>	2.12±0.08 <sup>b</sup>	5.86±0.18 <sup>b</sup>
BuOH fr.	100	3.31±0.27 <sup>b</sup>	2.38±0.14 <sup>c</sup>	5.63±0.25 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>LPO: lipid peroxide; <sup>2</sup>SOD: superoxide dismutase; <sup>3</sup>HR: hydroxyl radical

Values were express as the mean±S.D. (n=8) The effect of samples was compared by one-way analysis of variance (ANOVA) using Duncan's multiple range test.

**Table VII.** Effect of samples from *G. thunbergii* on XO, SOD, GSH-Px, and catalase activities in obese rats

Group	Dose (mg/kg)	XO <sup>1</sup> (nmole/mg protein)	SOD <sup>2</sup> (U/mg protein)	GSH-Px <sup>3</sup> (nmole/mg protein)	Catalase (nmole/ mg protein)
Normal		2.71±0.14 <sup>c</sup>	9.73±0.21 <sup>d</sup>	27.12±2.66 <sup>c</sup>	2.42±0.06 <sup>d</sup>
Control		5.46±0.27 <sup>a</sup>	4.30±0.16 <sup>a</sup>	11.89±1.05 <sup>a</sup>	0.75±0.02 <sup>a</sup>
MeOH ex	100	5.24±0.19 <sup>ab</sup>	4.77±0.08 <sup>b</sup>	18.51±1.21 <sup>b</sup>	0.88±0.03 <sup>b</sup>
BuOH fr.	100	5.02±0.15 <sup>b</sup>	5.35±0.15 <sup>c</sup>	19.15±2.79 <sup>b</sup>	1.00±0.09 <sup>c</sup>

<sup>1</sup>XO: xanthine oxidase; <sup>2</sup>SOD: superoxide distimutase; <sup>3</sup>GSH-Px: glutathione peroxidase. Values were express as the mean ± S.D. (n=8) The effect of samples was compared by one-way analysis of variance (ANOVA) using Duncan's multiple range test.

Table VII에 나타내었다. Cytosolic 효소인 xanthine oxidase (XO)는 동물조직의 간, 소장 점막에 분포하는 것으로 hypoxanthine에서 xanthine, 그리고 uric acid로 산화시키는 효소로서 스트레스 상태에서는 purine 대사물과 증가된 XO에 의하여 superoxide가 증가되어 지질과산화물을 유도하는 것으로 알려져 있다.<sup>33)</sup> 활성산소 생성계 XO의 함량은 정상식이군에 비하여 대조군은 2배정도 증가된 것을 현초 부탄을 분획물 투여시 9%정도 감소되었다. Xenobiotics에 의해 생성되는 superoxide anion을 hydrogen peroxide로 전환시켜 생체 내 활성산소를 제거하여 해독시키는 superoxide dismutase(SOD),<sup>34)</sup> 간, 신장에 분포하며 지방의 자동 산화 및 유기물의 산화로 생성되는 hydrogen peroxide를 H<sub>2</sub>O와 O<sub>2</sub>로 전환시키는 Catalase,<sup>35)</sup> glutathione을 기질로 하여 유리기를 H<sub>2</sub>O로 변환시키는 Glutathione peroxidase(GSH-Px)를 포함한 효소들은 활성산소를 체외로 배설시키는 해독계 효소로서,<sup>36)</sup> 산화적 스트레스에 노출된 비만 흰쥐에서 효소의 함량이 감소된 반면 현초 추출물 투여로 인하여 효소의 함량이 증가되는 것을 확인할 수 있었고, 특히 부탄을 분획물 투여군의 GSH-px 함량은 대조군에 비하여 62% 증가되는 것으로 나타났다. 이는 현초 메탄올 추출물의 페놀성 화합물들을 다량 함유한 부탄을 분획물이 비만으로 인한 지질과산화로 의하여 생성된 지질과산화물의 증가 또는 감소시키는 효소들의 활성에 관여하고, ROS의 생성을 억제하여 비만으로 야기되는 여러 질환을 예방할 수 있을 것이라 사료된다.

## 결 론

현초 메탄올 추출물과 페놀성 화합물들이 다량 함유되어 있는 부탄을 분획물의 투여가 8주동안 고지방 식이로 유도된 비만 흰쥐에서 체중감소효과, 혈중지질에 미치는 영향, 산화계 또는 항산화계 효소활성을 평가할 목적으로 100 mg/kg의 농도로 경구투여하여 살펴본 결과, 현초 부탄을 분획물은 비만 흰쥐의 체중 감소와 부고환 지방조직의 무게를 감소시키는 것으로 확인되었다. 혈청 중 총콜레스테롤, 중성지방의 함량은 고지방 섭취로 인하여 증가되었던 것이 부

탄을 분획물 투여로 인하여 감소되었고 HDL-cholesterol의 함량은 대조군보다 증가되었으며, 심혈관 위험지수를 낮춰 비만으로 인한 심혈관계질환의 발병을 예방할 수 있는 것으로 나타났다. 또한 현초 부탄을 분획물은 식이성 비만으로 인한 산화적스트레스로 증가된 지질과산화물의 함량과 oxygen radical 생성계 XO의 함량을 감소시키고, 항산화계 효소 SOD, GSH-px, catalase의 활성을 증가시키는 것으로 확인되었다. 이상의 결과로 현초에 함유된 tannin 및 flavonoid의 페놀성 화합물이 항비만 및 항고지혈증 효과를 나타내는 것으로 사료되고, 비만으로 야기되는 합병증을 예방할 수 있는 생약으로서 가치가 있음을 알 수 있었다.

## 사 사

이 논문은 2010년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임(NRF-2010-0024284).

## 인용문헌

- Hill, J. O. and Peters, J. C. (1998) Environmental contributions to the obesity epidemic. *Science* **280**: 1371-1374.
- Ministry of Health and Welfare, Korea centers for disease control and prevention. (2011) Korea health statistics 2011: Korea national health and nutrition examination survey (KNHANESV-2).
- Kannel, W. B., Castelli, W. P., Gordon, T. and McNamara, P. M. (1971) Serum cholesterol, lipoproteins, and the risk of coronary heart disease. The Framingham study. *Ann. Intern. Med.* **74**: 1-12.
- Kim, H. S., Cheong, H. S., Kang, J. O., Kim, H. S., Lee, S. J. and Chung, S. Y. (1993) Effects of the feeding mixed oils with various level of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acid on the fatty acid metabolism of brain, heart and spleen in dietary hyperlipidemic rats. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **22**: 692-701.
- Lavie, C. J., Milani, R. V. and Ventura, H. O. (2009) Obesity and cardiovascular disease: risk factor, paradox, and impact

- of weight loss. *J. Am. Coll. Cardiol.* **53**: 1925-1932.
6. Kim, M. K. (2013) Behavioral intervention and anti-obesity drug therapy. *Korean J. Intern. Med.* **84**: 624-628.
  7. Park, C. Y., Kim, Y. S., Ryu, M. S., Nam, S. Y., Park, H. S. and Kim, S. M. (2001) A phase 3 double-blind, parallel-group, placebo-controlled trial of the efficacy and safety of Sibutramine (Reductil) in the treatment of obese patients. *Korean J. Obes.* **10**: 336-347.
  8. Kevelaitiene, S. and Slapikas, R. (2008) A new approach to the treatment of dyslipidemia. *Medicina (Kaunas)* **44**: 407-413.
  9. Hirakawa, Y. and Shimokawa, H. (2001) Lipid-lowering drugs. *Nippon Yakurigaku Zasshi* **118**: 389-395.
  10. Yu, S. Y., Lee, Y. J., Kim, J. D., Kang, S. N., Lee, S. K., Jang, J. Y., Lee, H. K., Lim, J. H. and Lee, O. H. (2013) Phenolic composition, antioxidant activity and anti-adipogenic effect of hot water extract from safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed. *Nutrients* **28**: 4894-4907.
  11. Kim, M. H., Nugroho, A., Choi, J. and Park, H. J. (2011) 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. *Kor. J. Pharmacogn.* **42**: 54-60.
  12. Valcheva-Kuzmanova, S., Kuzmanov, K., Mihova, V., Krasnaliev, I., Borisova, P. and Belcheva, A. (2007) Antihyperlipidemic effect of Aronia melanocarpa fruit juice in rats fed a high-cholesterol diet. *Plant Foods Hum. Nutr.* **62**: 19-24.
  13. Liu, Q. H., Jeong, J. E., Choi, E. J., Moon, Y. H. and Woo, E. R. (2006) A new furofuran lignan from *Geranium thunbergii* Sieb. et Zucc. *Arch. Pharm. Res.* **29**: 1109-1113.
  14. Pokharel, Y. R., Liu, Q. H., Oh, J. W., Woo, E. R. and Kang, K. W. (2007) 4-Hydroxy-kobusin inhibits the induction of nitric oxide synthase by inhibiting NF-kappaB and AP-1 activation. *Biol. Pharm. Bull.* **30**: 1097-1101.
  15. Takuo, O., Takashi, Y. and Kazuko, M. (1975) Brevifolin, corilagin and other phenols from *Geranium thunbergii*. *Phytochemistry* **14**: 1877-1878.
  16. Takuo, O., Kazuko, M., Kaoru, S. and Tsutomu, H. (1979) Constituents of *Geranium thunbergii* Sieb. et Zucc.: VII. High-Performance reversed-phase liquid chromatography of hydrolysable tannins and related polyphenols. *J. Chromatogr. A.* **171**: 313-320.
  17. Chun, O. K., Kim, D. O. and Lee, C. Y. (2003) Superoxide radical scavenging activity of the major polyphenols in fresh plums. *J. Agric. Food Chem.* **51**: 8067-8072.
  18. Kim, S. G., Choi, J., Park, H. J., Lee, S. M. and Jung, H. J. (2009) Anti-hyperlipidemic effects of the flavonoid-rich fraction from the methanol extract of *Orostachys japonicus* in rats. *Kor. J. Pharmacogn.* **40**: 51-58.
  19. Yagi, K. (1987) Lipid peroxidase and human disease. *Chem. Phys. Lipids* **45**: 337-351.
  20. Oyanagui, Y. (1984) Reevaluation of assay methods and establishment of kit for superoxide dismutase activity. *Anal. Biochem.* **142**: 290-296.
  21. Marklund, S. and Marklund, G. (1974) Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* **47**: 469-474.
  22. Kobatake, Y., Saito, M., Kuroda, K., Kobayashi, S. and Innami, S. (1987) Influence of fish consumption on serum lipid and lipid peroxide concentrations in middle aged subjects. *J. Japan Soc. Nutr. & Food Sci.* **40**: 103-110.
  23. Stirpe, F. and Della Corte, E. (1969) The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (Type D) to oxidase (Type O). *J. Biol. Chem.* **244**: 3855-3863.
  24. Paglia, D. E. and Valentine, W. N. (1967) Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.* **70**: 158-169.
  25. Aebi, H. (1974) *Catalase*. In "Methods of enzymatic analysis" (Vergmeyer, H. U). Academic Press, New York. **2**: 673-675.
  26. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951) Protein Measurement With folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265-275.
  27. Rhee, S. J., Kim, K. R., Kim, H. T. and Hong, J. H. (2007) Effects of catechin on lipid composition and adipose tissue in obese rats fed high fat diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **36**: 540-547.
  28. Rosen, E. D., Walkey, C. J., Puigserver, P. and Spiegelman, B. M. (2000) Transcriptional regulation of adipogenesis. *Genes Dev.* **14**: 1293-1307.
  29. National Cholesterol Education Program. (2002) Third report of the national cholesterol education program (NCEP) Expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* **106**: 3143-3421.
  30. Expert Panel on Detection. (2001) Evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults. Executive summary of the third report of the national cholesterol education program (NCEP) Expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA.* **285**: 2486-2497.
  31. Cha, J. Y., Cho, Y. S. and Kim, D. J. (2001) Effect of chicory extract on the lipid metabolism and oxidative stress in rats. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **30**: 1220-1226.
  32. Hsu, H. C., Lee, Y. T. and Chen, M. F. (2000) Effect of n-3 fatty acids on the composition and binding properties of lipoproteins in hypertriglyceridemic patients. *Am. J. Clin. Nutr.* **71**: 28-35.
  33. Idström, J. P., Soussi, B., Elander, A. and Bylund-Fellenius, A.C. (1990) Purine metabolism after in vivo ischemia and reperfusion in rat skeletal muscle. *Am. J. Physiol.* **258**:

H1668-1673.

34. McCord, J. M., Keele, B. B. Jr. and Fridovich, I. (1971) An enzyme-based theory of obligate anaerobiosis: the physiological function of superoxide dismutase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **68**: 1024-1027.
35. Deisseroth, A. and Dounce, A. L. (1970) Catalase: Physical and chemical properties, mechanism of catalysis, and physiological role. *Physiol. Rev.* **50**: 319-375.
36. Marinho, H. S., Baptista, M. and Pinto, R. E. (1997) Glutathione metabolism in hepatomas liver of rats treated with diethylnitrosamine. *Biochim. Biophys. Acta.* **1360**: 157-168.

(2014. 2. 26 접수; 2014. 3. 6 심사; 2014. 3. 17 게재확정)