

식이유도 비만 동물모델에서 마르멜로추출물의 항비만 효능 비교 연구

황정순 · 황명오 · 권기성¹ · 김은지²

주식회사 비엔지 연구개발연구소, ¹차의과학대학교 식품생명공학과, ²한림대학교 바이오헬스케어소재기업협업센터

A Comparative Study on Anti-Obesity Efficacy of *Cydonia oblonga* Miller Fruit Extract in Diet-Induced Obesity Animal Models

Jung Soon Hwang, Myeong Oh Hwang, Kisung Kwon¹, Eun Ji Kim²

Research Institute, BnG Inc., ¹Department of Food Science and Biotechnology, Cha University, ²Industry Coupled Cooperation Center for Bio Healthcare Materials, Hallym University

Received: March 27, 2024

Revised: May 11, 2024

Accepted: May 23, 2024

Correspondence to: Eun Ji Kim
Industry Coupled Cooperation Center
for Bio Healthcare Materials, Hallym
University, 1 Hallymdaehak-gil,
Chuncheon 24252, Korea
Tel: +82-33-248-3106
Fax: +82-33-244-3107
E-mail: myej4@hallym.ac.kr

Copyright © 2024 by The Society of Korean
Medicine for Obesity Research

Objectives: The objective of this study was to explore the anti-obesity effect of *Cydonia oblonga* Miller fruit extract (COME) and to compare its anti-obesity efficacy with *Garcinia cambogia* extract (GCE) in diet-induced obese mice.

Methods: Five-week-old male C57BL/6 were allocated into four groups: control diet (CD), high-fat diet (HFD), HFD + 400 mg/kg body weight (BW)/day COME (H+C), or HFD + 400 mg/kg BW/day GCE (H+G) groups. COME or GCE was administered once a day by oral gavage for eight weeks. Body weight, body fat percentage, fat weight, and biochemical parameters in serum were measured. The expressions of transcription factors and their target genes in epididymal adipose tissues were analyzed by reverse transcription polymerase chain reaction.

Results: COME reduced body weight, weight gain, body fat percentage, total white adipose tissue weight, adipocyte size, and serum levels of insulin and leptin in high-fat diet-induced obese C57BL/6 mice. COME suppressed the mRNA expressions of CCAAT/enhancer binding protein α , peroxisome proliferator-activated receptor γ , sterol-regulatory element-binding protein-1c, fatty acid synthase, and adipocyte protein 2 and increased carnitine palmitoyl transferase 1 mRNA expression in epididymal adipose tissues. The anti-obesity efficacy of COME was found to be similar to that of GCE at the same dose. However, COME more effectively decreased adipose tissue weights, epididymal adipocyte size, serum insulin and leptin compared to GCE.

Conclusions: These results demonstrated that COME is not toxic and exhibits anti-obesity efficacy at a level similar to that of GCE, suggesting that COME may be applicable as an anti-obesity agent.

Key Words: *Cydonia oblonga* Miller fruit, *Garcinia cambogia*, Obesity, Transcription factors, Adipogenesis

서론

비만은 지방조직의 수와 크기가 증가하여 체내에 과잉의 지방이 축적된 상태를 의미하며, 부적절한 식습관, 운동 부족, 유전적 요인 등 다양한 원인에 의한 에너지 섭취와 소비의 불균형으로 발생한다¹⁾. 비만은 제2형 당뇨병,

고혈압, 심혈관계 질환 등의 다양한 대사성 질환의 주요한 위험인자로 작용하며, 암과 같은 만성 질환의 발병을 증가와 깊은 관련이 있는 것으로 알려져 있다²⁾. 전세계적으로 비만의 유병율이 높고, 계속적으로 증가할 것으로 예상되며, 이에 따라 사회적 부담이 가중되고 있어³⁾, 비만은 세계인의 심각한 건강 문제로 간주되고 있다.

비만을 치료하기 위해 식이요법과 운동 등의 생활방식 개선이 우선적으로 권장되고 있지 않으나 비만 치료에 실패한 경우 다양한 비만 치료 약물이 사용되고 있다. 최근 glucagon-like peptide-1 receptor agonist로 작용하는 노보노디스크사의 삭센다(Saxenda, liraglutide)와 일라이 릴리사의 마운자로(Mounjaro, tirzepatide) 등이 비만 치료제로 사용되고 있으나 요요현상, 위장장애, 췌장염, 근육량 감소 등의 부작용이 보고되고 있어 장기간 사용에 대한 문제가 제기되고 있다^{4,5}. 이에 따라 독성이 없어 안전하게 장기간 사용할 수 있는 천연물을 활용하여 비만 예방 및 치료제를 개발을 위한 연구가 활발히 진행되고 있다⁶. 가르시아 캄보지아(*Garcinia cambogia*) 추출물은 비록 비만 치료제만큼의 탁월한 효과를 나타내지는 못하지만, 다양한 연구를 통해 항비만 효과와 작용 기전이 밝혀져⁷⁻¹¹, 현재 체지방 감소 효능을 나타내는 건강기능성 개별 인정 원료로 널리 사용되고 있다.

마르멜로(*Cydonia oblonga* Miller)는 쌍떡잎식물강(Dicotyledoneae), 장미목(Rosales), 장미과(Rosaceae)에 속하는 과실나무이며, 높이 6 m 정도로 자라는 낙엽소관목으로 동유럽과 지중해 부근에 분포한다. 마르멜로 열매는 타원형으로 겉에 회백색 솜털이 밀생하고 딱딱하며 익으면 황색 띠며, 생김새가 모과(*Pseudocydonia sinensis*)로 흡사하여 유럽모과라고 불리며, 모과와 같이 시고 짧은 맛을 내어 생으로 먹는 경우는 거의 없고, 잼 및 젤리와 같은 형태의 식품으로 섭취되고 있다. 또한 예로부터 마르멜로 열매는 건조하여 당뇨, 고혈압, 심장질환 및 호흡기 질환 등의 다양한 질병 치료를 위한 전통 약제로 사용되었다^{12,13}. 마르멜로 열매는 chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, neochlorogenic acid, isochlorogenic acid, quercetin 3-rutinosides, quercetin 3-galactoside, quercetin 3-glucoside, kaempferol 3-glucoside 및 kaempferol 3-rutinoside 등의 다양한 생리활성 성분을 함유하고 있다^{14,15}. 모과와 마르멜로 열매의 페놀화합물을 비교 분석한 Hamazu 등¹⁶의 연구에 따르면, 마르멜로 열매는 모과에 비해 적은 양의 총 페놀화합물을 함유하고 있으나 대신 많은 양의 hydroxycinnamic derivatives를 함유하고 있다. 다양한 연구에서 마르멜로 열매 추출물은 항산화¹⁵ 및 항염¹⁷ 효과를 나타내고, 당뇨¹⁸, 고혈압¹⁹ 및 고지혈증²⁰ 개선 효과를 나타내었다.

마르멜로 열매 추출물은 전지방세포인 3T3-L1 세포에서 adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK)

를 활성화하고, 지방생성 관련 전사인자 및 유전자의 발현을 억제하여 지방세포의 분화 및 지방 생성을 억제하였다²¹. 또한 고지방식으로 비만을 유도한 C57BL/6 생쥐에서 마르멜로 열매 추출물은 백색지방 조직에서 AMPK를 활성화하고, 지방 생성 관련 유전자의 발현을 감소하고 지방 분해 관련 유전자의 발현을 증가하여 고지방식이 유도 비만을 억제하는 효과를 나타냄을 제시하였다²². 이 선행연구들은 마르멜로 열매 추출물이 체지방 감소 효능을 가지는 기능성 소재로의 개발 가능성을 제시하나, 현재 널리 사용되고 있는 체지방 감소 기능성 소재와의 효능 비교 등 다각적인 연구가 필요하다.

본 연구에서는 체지방 감소 효능이 입증되어⁷⁻¹¹ 체지방 감소 건강기능성 개별 인정 원료로 사용되고 있는 *Garcinia cambogia* 추출물과 마르멜로 열매 추출물의 체지방 감소 효능을 비교하기 위해 고지방식으로 비만을 유도한 동물 모델에 동일한 용량의 가르시아 캄보지아 추출물과 마르멜로 열매 추출물을 각각 8주 경구투여하고 체지방 감소 효능을 비교 평가하였다. 또한 마르멜로 열매 추출물의 독성 및 부작용을 조사하기 위해 독성 관련 바이오마커를 분석하였다.

재료 및 방법

1. 시험물질

마르멜로 열매 추출물(*Cydonia oblonga* Miller fruit extract, COME)은 ㈜비엔지(Chuncheon, Korea)에서 제공받아 사용하였다. Lee 등²²이 제시한 방법에 따라 마르멜로 열매를 절단 후 씨앗을 제거하고 압착하여 즙을 제거하고 얻은 펄프에 3배 이상의 30% (v/v) 주정을 첨가한 후 75±5 °C의 조건에서 5시간 동안 2회 추출하였다. 이후 추출액을 여과하고 감압농축 후 분무 건조하여 COME을 제조하였다. High performance liquid chromatography로 분석 시 COME의 클로로젠산 함량은 0.750 mg/g 이었다. 양성 대조물질인 가르시아 캄보지아 추출물(*Garcinia cambogia* extract, GCE; hydroxycitric acid 65% 이상)은 ㈜다은에프에스(Ansan, Korea)에서 구입하여 사용하였다.

2. 실험동물 및 동물실험 승인

특정병원체가 없는 5주령, 수컷 C57BL/6 생쥐를 ㈜두얼바이오텍(Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 실험

동물은 온도 23±3 °C, 상대습도 50±10%, 조명시간 12시간(08:00~20:00)로 설정된 사육환경에서 사육하였다. 1주간의 적응 기간 실험동물은 실험동물용 고형사료와 음수를 자유 섭취하였다.

본 연구에서 수행한 모든 동물실험은 한림대학교 동물실험윤리위원회의 승인 하에 동물실험 규정에 따라 수행하였다(Hallym 2019-67).

3. 실험 디자인 및 투여

실험동물은 1주간의 적응 기간을 거친 후 난괴법에 의거하여 4개의 시험군으로 분류하였다. 즉, 대조식이군(control diet group, CD), 고지방식이군(high-fat diet group, HFD), 고지방식이+400 mg/kg body weight (BW) COME 투여군(H+C), 및 고지방식이+400 mg/kg BW GCE 투여군(H+G)으로 분류하였고 각 시험군 당 8마리의 실험동물을 사용하였다. 시험 전 기간 동안 CD군에는 대조식이(에너지 비율 [kcal %], 탄수화물:단백질:지방=70:20:10; Cat. no. D124505B; Research Diets Inc., New Brunswick, NJ, USA)를 공급하였고, HFD군, H+C군과 H+G군에는 고지방식이(에너지 비율 [kcal %], 탄수화물:단백질:지방=20:20:60; Cat. no. D12452; Research Diets Inc.)를 공급하였으며, 각각의 식이와 음수는 자유로이 섭취하도록 하였다. H+C군과 H+G군에는 각각 COME와 GCE를 음수에 녹여 8주 동안 일정한 시간에 경구 투여하였고, CD군과 HFD군에는 동량의 음수를 경구 투여하였다.

시험 기간 동안 1주에 1회 일정한 시간에 실험동물의 체중을 측정하였고, 각 실험동물의 식이섭취량은 2일 간격으로 측정하였다. 식이효율(food efficiency ratio)은 시험기간 내에 체중 증가량을 동일기간 섭취한 식이의 양으로 나누어 산출하였다.

시험 종료일에 16시간 동안 금식한 실험동물을 마취한 후 안와 채혈을 하였다. 혈액은 혈청분리관에 받아 30분간 실온에 방치한 후 1500 xg에서 20분간 원심분리하여 혈청을 분리하였고, 분석 전까지 -70 °C에 보관하였다. 채혈 후 실험동물을 희생하여 간, 백색지방조직(부고환지방, 내장지방, 후복강지방, 서혜부지방)을 적출한 후 차가운 생리식염수로 헹구어 여과지로 여분의 물기를 제거한 후 무게를 측정하였다.

4. 체지방을 측정

시험 종료 1일 전에 실험동물을 마취한 후 dual-energy x-ray absorptiometry (PIXImus™, GE Lunar, Madison, WI, USA)를 사용하여 체지방량을 측정하였다.

5. 혈청 분석

혈청 내 포도당(glucose), 중성지방(triglyceride), 총콜레스테롤(total cholesterol), 저밀도지단백-콜레스테롤(low-density lipoprotein-cholesterol), 고밀도지단백-콜레스테롤(high-density lipoprotein-cholesterol), bilirubin, 및 creatinine의 함량과 alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) 및 gamma-glutamyl transferase (γ -GT) 활성은 혈액 생화학분석기(KoneLab 20 XT, Thermo Fisher Scientific, Vantaa, Finland)를 이용하여 측정하였다.

혈청 내 insulin (Millipore Corporation, Billerica, MA, USA), leptin (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) 및 adiponectin (R&D Systems) 함량은 각각의 enzyme-linked immunosorbent assay 키트를 사용하여 제조사에서 제시한 방법에 따라 측정하였다. 공복혈당과 혈중 인슐린 함량을 활용하여 인슐린저항성(homeostatic model assessment for insulin resistance, HOMA-IR)은 다음의 공식($[\text{fasting glucose (mg/dL)} \times \text{fasting insulin (mU/L)}]/405$)으로 산출하였고²³⁾, 인슐린민감성(quantitative insulin sensitivity check index, QUICKI)은 다음의 공식($1/[\log \text{fasting glucose (mg/dL)} + \log \text{fasting insulin (mU/L)}]$)으로 산출하였다²⁴⁾.

6. 지방 조직의 조직형태학적 관찰

적출한 부고환지방 조직을 4% paraformaldehyde 고정하였다. 이후 일반적인 조직 처리과정으로 조직을 처리하여 파라핀에 포매하였고, 포매된 조직들로부터 5 μ m의 조직 절편을 제작하였다. 파라핀 제거 후 조직을 수화하고, Accustain® hematoxylin and eosin (H&E) stains (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 사용하여 제조사가 제시한 방법에 따라 조직을 염색하였다. 이후 광학현미경(Axio Imager, Carl Zeiss, Jena, Germany)을 사용하여 각 조직의 조직학적 변화를 관찰하였다. 부고환지방 조직의 지방구 크기는 AxioVision imaging analysis system (Carl Zeiss)을 사용하여 측정하였다.

7. Real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)에 의한 mRNA 발현 분석

부고환 지방조직에 TRIzol reagent (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA, USA)를 사용하여 제조사에서 제시한 방법에 따라 total RNA를 분리하였고, micro-volume spectrophotometer (BioSpec-nano, Shimadzu, Kyoto, Japan)을 사용하여 total RNA의 함량 및 순도를 측정하였다. Total RNA (2 µg)로부터 HyperScript™ RT master mix kit (GeneAll Biotechnology, Seoul, Korea)를 사용하여 complementary DNA를 제조하였고, 타겟 유전자의 primer (Table 1)와 QuantiNova SYBR Green PCR kit (Qiagen, Valencia, CA, USA)를 사용하여 Rotor-Gene 3000 PCR (Corbett Research, Mortlake, Australia)에서 Lim 등²⁵⁾이 제시한 조건으로 RT-PCR을 수행하였다. 각 타겟 유전자의 mRNA 발현은 Rotor-Gene 6000 series system software program version 6 (Corbett Research)을 이용하여 분석하였고, 각 유전자의 mRNA 발현 수준은 glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase mRNA 발현량으로 보정하여 나타내었다.

8. 통계분석

모든 결과는 평균값±표준오차(mean±standard error of the mean)으로 나타내었다. 시험군 간의 유의성 검증은 분산 분석(analysis of variance)으로 분석하였고, 유의한 차이가 있는 경우 유의 수준 P<0.05에서 Duncan's multiple range test로 사후검증을 실시하였다.

결과

1. COME이 체중과 식이섭취량에 미치는 영향

실험기간 동안 1주일 간격으로 측정된 실험동물의 체중 변화를 Fig. 1A에 나타내었다. 실험기간 동안 모든 시험군의 실험동물은 지속적으로 체중이 증가하여 정상적인 체중 변화를 나타내었다. CD군에 비해 HFD군의 체중은 1주차부터 유의적인 증가를 나타내었다. HFD군에 비해 H+C군과 H+G군의 체중은 7주차부터 유의적으로 감소하였으며, H+C군과 H+G군 간에는 유의적인 차이를 나타내지 않았다(Fig. 1A). 일일체중증가량은 CD군에 비해 HFD군에서 유의적으로 증가하였다. H+C군과 H+G군의 일일체중증가량은 각각 0.25±0.02 g/day와 0.28±0.023 g/day 로 HFD군에 비해 유의적으로 감소하였다(Fig. 1B).

일일식이섭취량은 CD군에 비해 HFD군에서 유의적으로 감소하였으며, H+C군과 H+G군의 일일식이섭취량은 HFD군에 비해 유의적으로 감소하였다(Fig. 1C). HFD군의 식이효율은 0.148±0.008로 CD군(0.055±0.006)에 비해 현저히 증가하였다. H+C군과 H+G군의 식이효율은 각각 0.119±0.009, 0.129±0.119로 HFD군에 비해 유의적으로 감소하였으나, H+C군과 H+G군 간에는 유의적인 차이를 나타내지 않았다(Fig. 1D).

2. COME이 혈청 간기능 및 신장기능 지표에 미치는 영향

8주 동안 COME와 GCE를 400 mg/kg BW 용량으로 투여 시 독성 유발 여부를 조사하기 위해 혈청에서 간기능 지표인 ALT, AST 및 γ-GT 활성과 bilirubin 함량을 측정하였고, 신장기능 지표인 creatinine 함량을 측정하여

Table 1. Primer Sequences Used in This Study

Target gene	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')
aP2	GGATTTGGTCACCATCCGGT	TTCACCTTCCTGTCTCTGC
C/EBPα	TGGACAAGAACAGCAACGAGTAC	GCAGTTGCCATGGCCTTGAC
CPT-1	CCTGGAAGAAACGCCTGATT	CAGGGTTTGGCGAAAGAAGA
FAS	AGGGGTCGACCTGGTCTCA	GCCATGCCAGAGGGTGGTT
HSL	CCGTTCTCTGCACTCTCTC	CCACGCAACTCTGGGTCTAT
PPARγ	CAAAACACCAAGTGTGAATTA	ACCATGGTAATTTCTTGTGA
SREBP-1c	CACTTCTGGAGACATCGCAAAC	ATGGTAGACAACAGCCGCATC
GAPDH	TGGGTGTGAACCATGAGAAG	GCTAAGCAGTTGGTGGTGC

aP2: adipocyte protein 2, C/EBPα: CCAAT/enhancer binding protein α, CPT-1: carnitine palmitoyl transferase-1, FAS: fatty acid synthase, HSL: hormone-sensitive lipase, PPARγ: peroxisome proliferator-activated receptor γ, SREBP-1c: sterol-regulatory element-binding protein-1c, GAPDH: glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase.

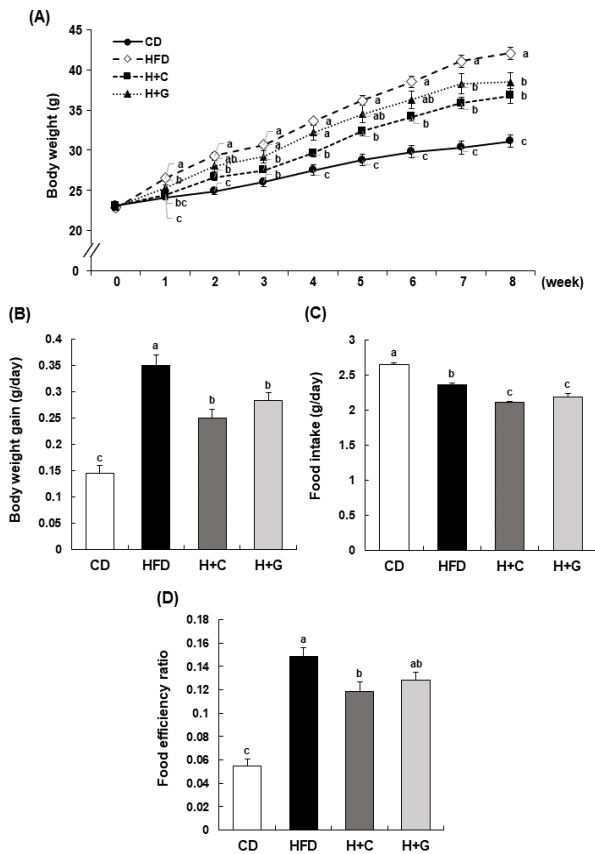


Fig. 1. Effect of COME treatment on body weight change, body weight gain, food intake, and food efficiency ratio in high-fat diet-fed C57BL/6 mice. Mice fed with high-fat diet were treated with COME or GCE by oral gavage for 8 weeks. (A) Body weight were measured every week. (B) Body weight gain. (C) Food intake. (D) Food efficiency ratio. Values are expressed as the mean±SEM (n=8). COME: *Cydonia oblonga* Miller fruit extract, GCE: *Garcinia cambogia* extract, CD: control diet, HFD: high-fat diet, H+C: HFD+400 mg/kg body weight/day *Cydonia oblonga* Miller fruit extract, H+G: HFD+400 mg/kg body weight/day *Garcinia cambogia* extract, SEM: standard error of the mean. Means without a common letter differ at P<0.05.

Table 2에 나타내었다. 혈청 ALT 활성은 CD군에 비해 HFD군에서 유의적으로 증가하였다. 혈청 ALT 활성은 HFD군, H+C군과 H+G군 간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 혈청 γ -GT 활성과 bilirubin 함량은 고지방식이 섭취에 의해 다소 증가하였다. H+G군의 혈청 γ -GT 활성은 HFD군에 비해 유의적으로 감소하였고, H+C군의 bilirubin 함량은 비해 유의적으로 감소하였다. 고지방식이 섭취, COME 투여 및 GCE 투여는 혈청 AST 활성과 creatinine 함량에 유의한 영향을 미치지 않았다(Table 2).

3. COME이 혈청 포도당과 지질 함량 및 인슐린 저항성에 미치는 영향

COME와 GCE의 대사 증후군 개선 효능을 조사하기 위해 혈청 포도당 및 지질 함량을 측정하였고 또한 혈청 인슐린 함량을 측정하였다. 혈청 포도당 함량은 CD군에 비해 HFD군에서 유의적으로 증가하였으며, H+G군의 혈청 포도당 함량은 HFD군에 비해 유의적으로 감소하였다. HFD군의 혈청 중성지방 함량은 88.8±4.0 mg/dL로 CD군에 비해 다소 증가하였다. H+C군의 혈청 중성지방 함량은 HFD군과 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 H+G군의 혈청 중성지방 함량은 HFD군에 비해 유의적으로 감소하였다. 혈청 총콜레스테롤 함량은 CD군에 비해 HFD군에서 유의적으로 증가하였다. H+C군의 혈청 총콜레스테롤 함량은 HFD군에 비해 유의적으로 감소하였다. 반면, H+G군의 혈청 총콜레스테롤 함량은 HFD군에 비해 증가하는 경향을 나타내었으나 유의적인 차이를 나타내지 않았다(Table 3).

혈청 인슐린 함량은 고지방식이 섭취에 의해 현저히 증가하였으며, 이는 COME 및 GCE 투여군인 H+C군과 H+G

Table 2. Effect of COME on Serum ALT, AST and γ -GT Activities and Serum Bilirubin and Creatinine Levels in HFD-Fed C57BL/6 Mice

	CD	HFD	H+C	H+G
ALT (U/L)	58.2±5.7 ^b	95.6±13.6 ^a	94.7±10.7 ^a	102.3±16.5 ^a
AST (U/L)	109.4±6.0	130.4±8.0	112.0±8.2	128.6±11.2
γ -GT (U/L)	4.93±0.53 ^{ab}	5.33±0.58 ^a	5.25±0.14 ^a	3.90±0.29 ^b
Bilirubin (mg/dL)	0.277±0.039 ^{ab}	0.309±0.022 ^a	0.200±0.010 ^b	0.286±0.052 ^{ab}
Creatinine (mg/dL)	0.337±0.009	0.345±0.005	0.335±0.004	0.371±0.025

Values are expressed as the mean±SEM (n=8).

COME: *Cydonia oblonga* Miller fruit extract, ALT: alanine aminotransferase, AST: aspartate aminotransferase, γ -GT: gamma-glutamyl transferase, HFD: high-fat diet, CD: control diet, H+C: HFD+400 mg/kg body weight/day *Cydonia oblonga* Miller fruit extract, H+G: HFD+400 mg/kg body weight/day *Garcinia cambogia* extract, SEM: standard error of the mean.

Means without a common letter differ at P<0.05.

군에서 유의적으로 감소하였다. 인슐린 저항성 지표인 HOMA-IR은 CD군에 비해 HFD군에서 현저히 증가하였고, H+C군과 H+G군의 HOMA-IR은 HFD군에 비해 유의적으로 감소하였다. 인슐린 민감성 지표인 QUICKI는 CD군에 비해 HFD군에서 현저히 감소하였고, H+C군과 H+G군의 QUICKI는 HFD군에 비해 유의적으로 증가하였다(Table 3).

4. COME이 혈청 leptin과 adiponectin 함량에 미치는 영향

에너지 대사를 조절하는 주요한 호르몬인 leptin과 adiponectin의 혈청 함량을 측정하여 Table 3에 나타내었다. 혈청 leptin 함량은 CD군에 비해 HFD군에서 현저히 증가하였고, HFD군에 비해 H+C군에서 유의적으로 감소하였다. 혈청 adiponectin 함량은 CD군에 비해 HFD군에서 유의적으로 감소하였으며, 혈청 adiponectin 함량은 HFD군, H+C군 및 H+G군 간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다(Table 3).

5. COME이 체지방률과 지방조직 무게에 미치는 영향

CD군과 HFD군의 체지방률은 각각 29.1±0.9%, 43.9±1.9%로 고지방식이 섭취에 의해 체지방률이 1.51배 증가하였다. H+C군과 H+G군의 체지방률은 각각 35.9±2.7%, 38.5±1.0%로 HFD군에 비해 유의적으로 감소하였으나, H+C군과 H+G군 간의 체지방률은 유의적인 차이를 나타내지는 않았다(Fig. 2A). HFD군의 체지방률은 CD군에 비해 유의적으로 감소하였다. H+C군과 H+G군의 체지방률은 각각 64.1±2.7%, 61.5±1.0%로 HFD군에 비해 유의적으로 증가하였으나, H+C군과 H+G군 간의 체지방률은 유의적인 차

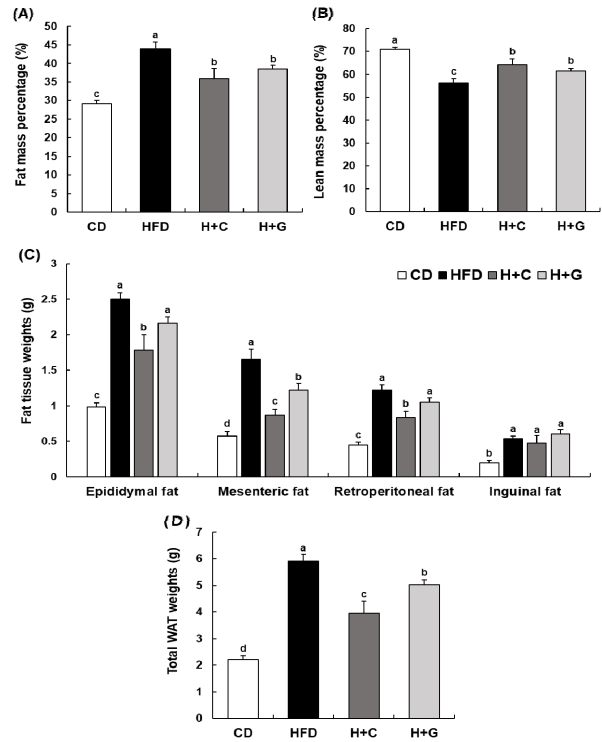


Fig. 2. Effect of COME treatment on adipose tissue weight in high-fat diet-fed C57BL/6 mice. Mice fed with high-fat diet were treated with COME or GCE by oral gavage for 8 weeks. (A) Body fat mass percentage and (B) lean mass percentage were measured using dual-energy x-ray absorptiometry. (C) Adipose tissue weight in epididymal, retroperitoneal, mesenteric, and inguinal fat. (D) Total white adipose tissue weights were calculated as the sum of epididymal, retroperitoneal, mesenteric, and inguinal fat. Values are expressed as the mean±SEM (n=8). COME: *Cydonia oblonga* Miller fruit extract, GCE: *Garcinia cambogia* extract, CD: control diet, HFD: high-fat diet, H+C: HFD+400 mg/kg body weight/day *Cydonia oblonga* Miller fruit extract, H+G: HFD+400 mg/kg body weight/day *Garcinia cambogia* extract, WAT: white adipose tissue, SEM: standard error of the mean. Means without a common letter differ at P<0.05.

Table 3. Effect of COME on Serum Glucose, Lipids, Insulin, Leptin, and Adiponectin Levels in HFD-Fed C57BL/6 Mice

	CD	HFD	H+C	H+G
Glucose (mg/dL)	141.1±10.4 ^c	197.1±9.9 ^a	186.7±8.1 ^{ab}	162.4±12.6 ^{bc}
Triglyceride (mg/dL)	77.5±3.7 ^{ab}	88.8±4.0 ^a	76.5±3.5 ^{ab}	64.2±7.7 ^b
Total cholesterol (mg/dL)	159.4±9.0 ^c	186.5±5.3 ^{ab}	167.9±8.5 ^{bc}	196.5±11.5 ^a
Insulin (ng/mL)	2.53±0.26 ^d	8.61±1.15 ^a	4.54±0.20 ^c	6.56±0.58 ^b
HOMA-IR	20.5±1.4 ^c	101.4±14.9 ^a	50.0±2.5 ^b	60.4±2.4 ^b
QUICKI	0.256±0.002 ^a	0.220±0.004 ^c	0.233±0.001 ^b	0.228±0.001 ^b
Leptin (ng/mL)	18.0±2.0 ^c	122.0±10.9 ^a	62.6±9.5 ^b	107.3±6.6 ^a
Adiponectin (ng/mL)	10.7±0.3 ^a	9.8±0.2 ^b	9.7±0.4 ^b	9.7±0.2 ^b

Values are expressed as the mean±SEM (n=8).

COME: *Cydonia oblonga* Miller fruit extract, HFD: high-fat diet, CD: control diet, H+C: HFD+400 mg/kg body weight/day *Cydonia oblonga* Miller fruit extract, H+G: HFD+400 mg/kg body weight/day *Garcinia cambogia* extract, HOMA-IR: homeostatic model assessment for insulin resistance, QUICKI: quantitative insulin sensitivity check index, SEM: standard error of the mean. Means without a common letter differ at P<0.05.

이를 나타내지는 않았다(Fig. 2B).

부고환지방, 내장지방, 후복강지방 및 서혜부지방 조직의 무게는 CD군에 비해 HFD군에 현저히 증가하였다. H+C군에서는 HFD군에 비해 부고환지방, 내장지방, 후복강지방 조직의 무게가 유의적으로 감소하였다. H+G군에서는 내장지방 조직 무게만 HFD군에 비해 유의적으로 감소하였다(Fig. 2C). 부고환지방, 내장지방, 후복강지방 및 서혜부지방의 합으로 산출한 총 백색지방 조직 무게는 CD군에 비해 HFD군에 현저히 증가하였고, HFD군에 비해 H+C군과 H+G군에서 유의적으로 감소하였다. H+C군과 H+G군의 총 백색지방 조직 무게는 각각 3.95 ± 0.46 g, 5.03 ± 0.17 g이었고, H+G군에 비해 H+C군의 총 백색지방 조직 무게가 유의적으로 적었다(Fig. 2D).

6. COME이 지방조직의 조직학적 변화에 미치는 영향

부고환지방 조직의 조직형태학적 변화를 조사하기 위

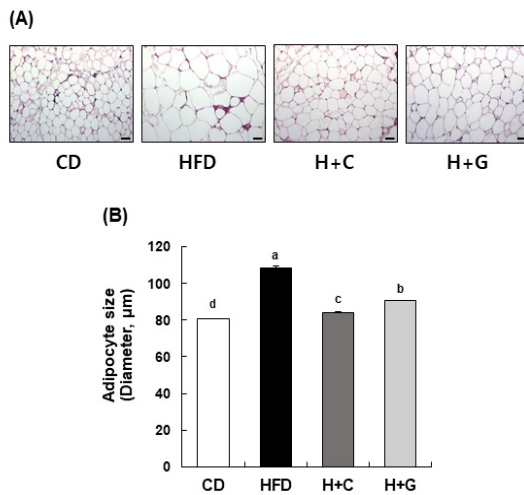


Fig. 3. Effect of COME treatment on morphological changes in epididymal adipose tissues in high-fat diet-fed C57BL/6 mice. Mice fed with high-fat diet were treated with COME or GCE by oral gavage for 8 weeks. The epididymal adipose tissue was excised, fixed in 4% paraformaldehyde, embedded in paraffin, and sectioned at 5 μm. Tissue sections were stained with H&E. (A) Representative H&E stained images of epididymal adipose tissues (n=5), 200× magnification, scale bar 50 μm. (B) Adipocyte size. The longest diameter of the adipocytes was measured. Values are expressed as the mean±SEM (n=8). COME: *Cydonia oblonga* Miller fruit extract, GCE: *Garcinia cambogia* extract, CD: control diet, HFD: high-fat diet, H+C: HFD+400 mg/kg body weight/day *Cydonia oblonga* Miller fruit extract, H+G: HFD+400 mg/kg body weight/day *Garcinia cambogia* extract, H&E: hematoxylin and eosin, SEM: standard error of the mean. Means without a common letter differ at P<0.05.

해 H&E 염색 후 현미경으로 관찰하였다. Fig. 3A에 나타난 바와 같이 고지방식이 섭취에 의해 지방구의 크기가 현저히 증가하였고, COME와 GCE 투여에 의해 지방구의 크기는 현저히 감소하였다. CD군, HFD군, H+C군 및 H+G군의 지방구 크기는 각각 80.9 ± 0.1 μm, 108.5 ± 1.0 μm, 84.3 ± 0.3 μm, 90.7 ± 0.2 μm으로 CD군에 비해 HFD군에서 유의적으로 증가하였고 HFD군에 비해 H+C군과 H+G군에서 유의적으로 감소하였으며, H+G군에 비해 H+C군에서 지방구의 크기가 유의적으로 작았다(Fig. 3B).

7. COME이 지방조직 내 지방 생성 조절 전사인자 및 유전자 발현에 미치는 영향

COME의 항비만 작용 기전을 조사하기 위해 부고환지방 조직의 지방 합성 및 축적에 관여하는 전사인자의

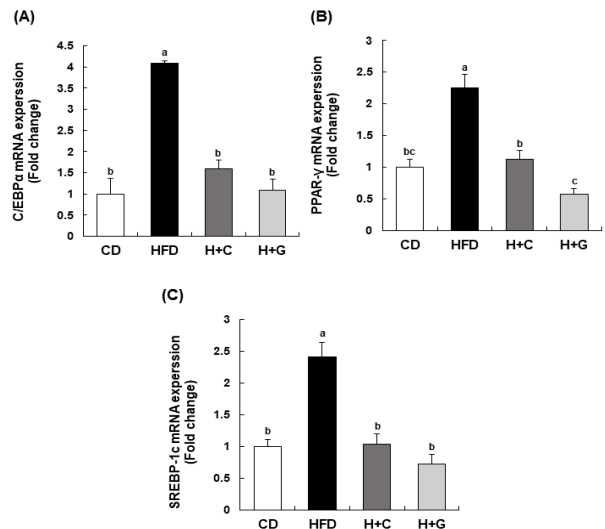


Fig. 4. Effect of COME treatment on the expression of adipogenic transcription factors in the epididymal adipose tissues of high-fat diet-fed C57BL/6 mice. Mice fed with high-fat diet were treated with COME or GCE by oral gavage for 8 weeks. The total RNA in epididymal adipose tissue was isolated and reverse transcribed, and a real-time PCR was conducted. The expression of (A) C/EBPα, (B) PPARγ, and (C) SREBP-1c mRNA was normalized to the expression of GAPDH mRNA and presented relative to the CD group. Values are expressed as the mean±SEM (n=8). COME: *Cydonia oblonga* Miller fruit extract, GCE: *Garcinia cambogia* extract, CD: control diet, HFD: high-fat diet, H+C: HFD+400 mg/kg body weight/day *Cydonia oblonga* Miller fruit extract, H+G: HFD+400 mg/kg body weight/day *Garcinia cambogia* extract, C/EBPα: CCAAT/enhancer binding protein α, PPARγ: peroxisome proliferator-activated receptor γ, SREBP-1c: sterol-regulatory element-binding protein-1c, GAPDH: glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, SEM: standard error of the mean. Means without a common letter differ at P<0.05.

mRNA 발현을 측정하여 Fig. 4에 나타내었다. CCAAT/enhancer binding protein α (C/EBP α), peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) 및 sterol-regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c) mRNA 발현은 CD군에 비해 HFD군에서 각각 4.1배, 2.3배, 2.4배 증가하였다. C/EBP α mRNA 발현은 HFD군에 비해 H+C군과 H+G군에서 각각 61.1%, 73.6% 감소하였다. PPAR γ 와 SREBP-1c mRNA 발현도 HFD군에 비해 H+C군과 H+G군에서 유의적으로 감소하였다(Fig. 4).

지방 합성에 관여하는 fatty acid synthase (FAS)와 adipocyte protein 2 (aP2) mRNA 발현은 CD군에 비해 HFD군에서 각각 2.9배, 2.0배 증가하였다. FAS와 aP2 mRNA 발현은 HFD군에 비해 H+C군과 H+G군에서 유의적으로 감소

하였다. 지방산 산화에 관여하는 carnitine palmitoyl transferase-1 (CPT-1) mRNA 발현은 CD군에 비해 HFD군에서 63% 감소하였고, HFD군에 비해 H+C군과 H+G군에서 각각 6.6배, 4.9배 증가하였다. 지방 분해에 관여하는 hormone-sensitive lipase (HSL) mRNA 발현은 CD군에 비해 HFD군에서 유의적으로 감소하였고, HFD군에 비해 H+C군과 H+G군에서 증가하는 경향을 나타내었으나 유의적 차이는 나타나지 않았다(Fig. 5).

고찰

예로부터 식품 및 민간요법의 약제로 사용되어온 천연물은 합성물질에 비해 안전성이 확보되어 건강 기능성 원료 및 천연의약품 개발을 위한 소재로 연구되고 있다. 마르멜로 열매는 예로부터 식품으로 섭취되었고 또한 당뇨 등의 다양한 질병 치료를 위한 전통 약재로 사용되고 있어¹³⁾ 안전성이 확보된 천연 소재가 될 수 있다. 본 연구에서는 고지방식이로 비만을 유도한 C57BL/6 생쥐에 400 mg/kg BW 용량으로 COME을 8주 동안 투여하고 간과 신장 기능을 나타내는 지표를 측정하였다. COME 투여는 혈청 ALT, AST, γ -GT 활성 및 creatinine 함량에 유의한 영향을 미치지 않았고, 고지방식에 의해 증가한 혈청 bilirubin 함량을 유의적으로 감소하였다(Table 2). 이는 400 mg/kg BW 용량으로 COME을 8주간 투여 시 간 및 신장에 독성을 야기하지 않음을 나타내며, COME이 안전성이 확보된 건강 기능성 원료 및 천연의약품 개발을 위한 기능성 소재가 될 수 있음을 제시한다.

COME은 3T3-L1 세포에서 지방세포의 분화를 억제하고 세포 내 지방 합성을 억제하였다²¹⁾. Lee 등²²⁾은 고지방식이로 비만을 유도한 C57BL/6 생쥐에 COME를 50~200 mg/kg BW 용량으로 8주간 투여한 경우 고지방식에 의해 증가한 체중, 체중증가량, 식이효율, 체지방율 및 총 백색지방량이 감소함을 보고하였다. 본 연구에서는 COME의 항비만 효과를 체지방 감소 기능성 소재로 상용되고 있는 GCE와 그 효능을 비교하기 위해 400 mg/kg BW 용량으로 COME과 GCE를 각각 8주간 투여하였다. COME과 GCE 모두 고지방식에 의해 증가한 체중, 체중증가량 및 체지방율을 억제하였으며, COME과 GCE 간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다(Figs. 1, 2). COME 투여 시 GCE 투여에 비해 부고환지방 무게, 내장지방 무게, 후

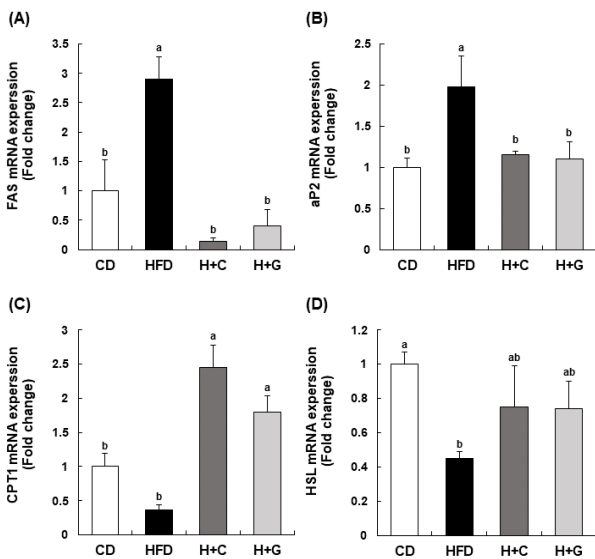


Fig. 5. Effect of COME treatment on the expression of adipogenesis- and lipolysis-related genes in the epididymal adipose tissues of high-fat diet-fed C57BL/6N mice. Mice fed with high-fat diet were treated with COME or GCE by oral gavage for 8 weeks. The total RNA in epididymal adipose tissue was isolated and reverse transcribed, and a real-time PCR was conducted. The expression of (A) FAS, (B) aP2, (C) CPT-1, and (D) HSL mRNA was normalized to the expression of GAPDH mRNA and presented relative to the CD group. Values are expressed as the mean \pm SEM (n=8). COME: *Cydonia oblonga* Miller fruit extract, GCE: *Garcinia cambogia* extract, CD: control diet, HFD: high-fat diet, H+C: HFD+400 mg/kg body weight/day *Cydonia oblonga* Miller fruit extract, H+G: HFD+400 mg/kg body weight/day *Garcinia cambogia* extract. FAS: fatty acid synthase, aP2: adipocyte protein 2, CPT-1: carnitine palmitoyl transferase-1, HSL: hormone-sensitive lipase, GAPDH: glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, SEM: standard error of the mean. Means without a common letter differ at P<0.05.

복강지방 무게 및 총 백색지방 무게가 유의적으로 감소하였다(Fig. 2B, C). 또한 부고환지방 조직의 지방구 크기는 GCE 투여에 비해 COME 투여에 의해 유의적으로 감소하였다(Fig. 3B). 이 결과들은 COME이 GCE와 비슷한 수준으로 체지방 감소 효능을 나타냄을 제시하며, 백색지방 감소 면에서는 COME이 GCE 보다 탁월한 효능을 나타냄을 제시한다.

고지방식은 C57BL/6 생쥐에서 비만뿐만 아니라 고혈당 및 고지혈을 유도한다^{22,25-27}. 본 연구에서는 고지방식에 의해 혈청 포도당 함량과 콜레스테롤 함량 증가가 관찰되었다(Table 3). Lee 등²²은 50~200 mg/kg BW 용량의 COME은 고지방식에 의해 유도된 혈청 포도당 및 콜레스테롤 함량 증가 완화 효과가 없음을 보고하였고, 본 연구에서도 400 mg/kg BW 용량의 COME 투여가 고지방식에 의해 유도된 혈청 포도당 및 콜레스테롤 함량 증가에 유의한 영향을 미치지 않았다(Table 3). 이는 streptozotocin으로 유도된 당뇨병 동물에서 마르멜로 추출물이 고혈당 및 고지혈 증상을 개선하였다는 보고^{17,28}와는 다른 결과로 당뇨와 전당뇨 차이에 의한 고혈당 및 고지혈 수준의 차이에 기인한 것으로 판단된다.

지방 조직은 에너지 항상성 유지와 대사를 조절하는 다양한 아디포카인(adipokines)을 생성 분비된다. 아디포카인 생성 분비 조절이 비정상적으로 이루어진 경우 비만이 유도되고 인슐린 저항성이 증가한다. 지방세포에서 생성되는 아디포넥틴(adiponectin)은 지방산의 산화를 촉진하여 포도당과 지방 대사를 조절하는 역할을 하며²⁹, 혈청 아디포넥틴이 증가한 동물에서 지방세포의 분화가 감소하고 에너지 소비가 증가됨이 보고되었다³⁰. 본 연구에서 고지방식은 혈중 아디포넥틴 함량을 유의적으로 감소하였으나 COME은 고지방식에 의해 감소한 혈중 아디포넥틴 함량에 유의한 영향을 미치지 않음이 관찰되었으며(Table 3), 이는 COME이 아디포넥틴 조절에 관여하지 않음을 나타낸다. 렙틴(leptin)은 지방세포에서 생성되는 대표적인 아디포카인으로 혈중의 렙틴 수준은 비만과 양의 상관관계를 나타낸다. 지방세포의 수와 크기가 증가할수록 렙틴 생성이 증가하고, 생성된 렙틴은 뇌의 렙틴 수용체에 결합하여 식이 섭취를 억제하고 에너지 소비를 증가시킨다. 그러나 과잉의 에너지 섭취가 지속되면 체중이 증가하고 렙틴저항성이 야기되며 이때 포만감이 감소하여 식이섭취가 증가되고 비만이 초래된다^{31,32}. 렙틴의

생성은 인슐린에 의해 조절되는데, 고인슐린혈증인 경우 혈청 렙틴이 증가한다³². 본 연구보다는 저용량(50~200 mg/kg BW 용량)으로 COME을 투여한 이전 연구에서 고지방식에 의해 증가한 인슐린과 렙틴 수준은 50, 100, 200 mg/kg BW 용량의 COME 투여에 의해 유의적으로 감소하였고, 고지방식에 의해 감소한 혈청 아디포넥틴 수준은 200 mg/kg BW 용량의 COME 투여에 의해 고지방식에 의해 유의적으로 증가하였다²¹. 본 연구에서 COME은 혈청 아디포넥틴 수준에는 영향을 미치지 않았다. 반면, COME은 고지방식에 의한 고렙틴혈증과 고인슐린혈증을 완화하였고 인슐린 저항성을 감소하고 인슐린 민감성을 증가하였다. COME은 GCE에 비해 고지방식에 의한 고렙틴혈증과 고인슐린혈증 완화 효과가 탁월하였다(Table 3). 이는 COME이 GCE보다 효과적으로 고지방식에 의한 고인슐린혈증을 개선하여 렙틴 생성을 억제하여 항비만 효능을 나타냄을 제시한다.

비만은 지방전구세포의 분화 및 지방생성과정(adipogenesis)에 의해 지방세포 내에 중성지방이 축적되어 발생한다. 지방 세포로의 분화 및 지방생성과정은 C/EBP α , PPAR γ 및 SREBP-1c 등의 전사인자에 의해 조절되는데, 이 전사인자들은 지질 생합성, 세포 내 지질의 축적 및 포도당 흡수 등을 조절하는 다양한 유전자의 발현을 조절한다³³⁻³⁵. 지방세포에서 지방산 합성을 촉매하는 FAS³⁶, 지방산의 운반 단백질 역할을 하는 aP2³⁷, 지방산의 β 산화를 촉매하는 CPT-1³⁸ 및 중성지방을 유리 지방산으로 분해에 관여하는 효소인 HSL³⁹의 유전자 발현은 C/EBP α , PPAR γ 및 SREBP-1c 등의 전사인자의 단독 혹은 상호 작용에 의해 조절된다. Lee 등²²은 200 mg/kg BW 용량의 COME을 8주간 투여한 경우 부고환 지방 조직에서 고지방식에 의해 증가한 C/EBP α , PPAR γ , SREBP-1c, FAS 및 aP2 mRNA 발현이 감소하고, CPT-1과 HSL mRNA 발현이 증가함을 보고하였다. 본 연구에서 400 mg/kg BW 용량의 COME 투여는 고지방식에 의해 증가한 C/EBP α , PPAR γ 및 SREBP-1c mRNA 발현(Fig. 4)과 FAS 및 aP2 mRNA 발현을 억제하였고, 고지방식에 의해 감소한 CPT-1 mRNA 발현을 증가하였다(Fig. 5). 이러한 지방 합성 및 분해 관련 유전자의 발현은 COME과 GCE에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이는 COME이 GCE와 비슷한 수준으로 지방세포 내의 C/EBP α , PPAR γ 및 SREBP-1c 발현을 조절하고 이를 통해 지방 합성 및 분해에 관여하

는 유전자의 발현을 조절함으로써 지방세포의 분화와 지방생성과정을 억제함을 나타낸다.

본 연구에서는 단일 용량에서 COME와 GCE의 체지방 감소 효능을 비교하였고, COME은 GCE과 유사한 수준으로 항비만 효능을 나타내며, 백색지방 면에서는 COME이 GCE 보다 탁월한 감소 효과를 나타냄을 제시하였다. 이러한 효능은 투여 용량에 따라 다른 효과를 나타낼 수 있으므로 향후 COME과 GCE의 다양한 투여 용량에 따른 비교 연구가 필요할 것으로 판단된다. 또한 COME을 항비만 기능성 소재로 사용하기 위해서는 향후에 인체적용 시험을 수행하여 인체에서 COME의 항비만 효능 입증 필요하다.

결론

COME은 고지방식이에 의해 증가한 체중, 체중증가량, 체지방율, 총백색지방 무게 및 지방구 크기를 유의적으로 감소하였다. 또한 COME은 고지방식이에 의해 증가한 혈청 인슐린과 렙틴 함량을 감소하였고, COME은 고지방식에 의해 증가한 C/EBP α , PPAR γ 및 SREBP-1c mRNA 발현과 FAS 및 aP2 mRNA 발현을 억제하였고, 고지방식에 의해 감소한 CPT-1 mRNA 발현을 증가하였다. COME의 항비만 효능은 동일한 용량 (400 mg/kg BW)의 GCE과 유사한 수준으로 나타났고, 부고환지방 무게, 내장지방 무게, 후복강지방 무게, 총 백색지방 무게 및 부고환지방의 지방구 크기는 COME이 GCE에 비해 더 효과적으로 감소하였다. COME은 혈청 ALT, AST 및 γ -GT 활성과 혈청 creatinine 함량에 영향을 미치지 않았다. 이상의 결과는 COME이 현재 사용되고 있는 체지방 감소 기능성 원료인 GCE과 유사한 수준 이상의 항비만 효능을 나타내고 안전성이 확보된 기능성 소재임을 제시한다.

Conflict of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

References

1. Visscher TL, Seidell JC. The public health impact of

obesity. *Annu Rev Public Health*. 2001 ; 22 : 355-75.

2. Bray GA, Kim KK, Wilding JPH. World Obesity Federation. Obesity: a chronic relapsing progressive disease process. A position statement of the World Obesity Federation. *Obes Rev*. 2017 ; 18(7) : 715-23.

3. Mahase E. Global cost of overweight and obesity will hit \$4.32tn a year by 2035, report warns. *BMJ*. 2023 ; 380 : 523.

4. Müller TD, Blüher M, Tschöp MH, DiMarchi RD. Anti-obesity drug discovery: advances and challenges. *Nat Rev Drug Discov*. 2022 ; 21(3) : 201-23.

5. Chakhtoura M, Haber R, Ghezzawi M, Rhayem C, Tcheroyan R, Mantzoros CS. Pharmacotherapy of obesity: an update on the available medications and drugs under investigation. *EClinicalMedicine*. 2023 ; 58 : 101882.

6. Shaik Mohamed Sayed UF, Moshawih S, Goh HP, Kifli N, Gupta G, Singh SK, et al. Natural products as novel anti-obesity agents: insights into mechanisms of action and potential for therapeutic management. *Front Pharmacol*. 2023 ; 14 : 1182937.

7. Heymsfield SB, Allison DB, Vasselli JR, Pirotbelli A, Greenfield D, Nunez C. *Garcinia cambogia* (hydroxycitric acid) as a potential antiobesity agent: a randomized controlled trial. *JAMA*. 1998 ; 280(18) : 1596-600.

8. Hasegawa N. *Garcinia* extract inhibits lipid droplet accumulation without affecting adipose conversion in 3T3-L1 cells. *Phytother Res*. 2001 ; 15(2) : 172-3.

9. Kim KY, Lee HN, Kim YJ, Park T. *Garcinia cambogia* extract ameliorates visceral adiposity in C57BL/6J mice fed on a high-fat diet. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2008 ; 72(7) : 1772-80.

10. Haber SL, Awwad O, Phillips A, Park AE, Pham TM. *Garcinia cambogia* for weight loss. *Am J Health Syst Pharm*. 2018 ; 75(2) : 17-22.

11. Mena-García A, Bellaizac-Riascos AJ, Rada-Mendoza M, Chito-Trujillo DM, Ruiz-Matute AI, Sanz ML. Quality evaluation of dietary supplements for weight loss based on *Garcinia cambogia*. *Nutrients*. 2022 ; 14(15) : 3077.

12. Abdollahi H. A review on history, domestication and germplasm collections of quince (*Cydonia oblonga* Mill.) in the world. *Genet Resour Crop Evol*. 2019 ; 66(5) : 1041-58.

13. Ashraf MU, Muhammad G, Hussain MA, Bukhari SN. *Cydonia oblonga* M., a medicinal plant rich in phytonutrients for pharmaceuticals. *Front Pharmacol.* 2016 ; 7 : 163.
14. Silva BM, Andrade PB, Ferreres F, Domingues AL, Seabra RM, Ferreira MA. Phenolic profile of quince fruit (*Cydonia oblonga* Miller) (pulp and peel). *J Agric Food Chem.* 2002 ; 50(16) : 4615-8.
15. Wojdyło A, Oszmiański J, Bielicki P. Polyphenolic composition, antioxidant activity, and polyphenol oxidase (PPO) activity of quince (*Cydonia oblonga* Miller) varieties. *J Agric Food Chem.* 2013 ; 61(11) : 2762-72.
16. Hamazu Y, Yasui H, Inno T, Kume C, Omanyuda M. Phenolic profile, antioxidant property, and anti-influenza viral activity of Chinese quince (*Pseudocydonia sinensis* Schneid.), quince (*Cydonia oblonga* Mill.), and apple (*Malus domestica* Mill.) fruits. *J Agric Food Chem.* 2005 ; 53(4) : 928-34.
17. Essafi-Benkhadir K, Refai A, Riahi I, Fattouch S, Karoui H, Essafi M. Quince (*Cydonia oblonga* Miller) peel polyphenols modulate LPS-induced inflammation in human THP-1-derived macrophages through NF- κ B, p38MAPK and Akt inhibition. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012 ; 418(1) : 180-5.
18. Mirmohammadlu M, Hosseini SH, Kamalinejad M, Esmaeili Gavvani M, Noubarani M, Eskandari MR. Hypolipidemic, hepatoprotective and renoprotective effects of *Cydonia oblonga* Mill. fruit in streptozotocin-induced diabetic rats. *Iran J Pharm Res.* 2015 ; 14(4) : 1207-14.
19. Zhou W, Abdusalam E, Abliz P, Reyim N, Tian S, Aji Q, et al. Effect of *Cydonia oblonga* Mill. fruit and leaf extracts on blood pressure and blood rheology in renal hypertensive rats. *J Ethnopharmacol.* 2014 ; 152(3) : 464-9.
20. Umar A, Iskandar G, Aikemu A, Yiming W, Zhou W, Berké B, et al. Effects of *Cydonia oblonga* Miller leaf and fruit flavonoids on blood lipids and anti-oxidant potential in hyperlipidemia rats. *J Ethnopharmacol.* 2015 ; 169 : 239-43.
21. Lee HS, Jung JI, Hwang JS, Hwang MO, Kim EJ. *Cydonia oblonga* Miller fruit extract exerts an anti-obesity effect in 3T3-L1 adipocytes by activating the AMPK signaling pathway. *Nutr Res Pract.* 2023 ; 17(6) : 1043-55.
22. Lee HS, Jeon YE, Jung JI, Kim SM, Hong SH, Lee J, et al. Anti-obesity effect of *Cydonia oblonga* Miller extract in high-fat diet-induced obese C57BL/6 mice. *J Funct Foods.* 2022 ; 89 : 104945.
23. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* 1985 ; 28(7) : 412-9.
24. Chen H, Sullivan G, Quon MJ. Assessing the predictive accuracy of QUICKI as a surrogate index for insulin sensitivity using a calibration model. *Diabetes.* 2005 ; 54(7) : 1914-25.
25. Lim SM, Lee HS, Jung JI, Kim SM, Kim NY, Seo TS, et al. Cyanidin-3-O-galactoside-enriched *Aronia melanocarpa* extract attenuates weight gain and adipogenic pathways in high-fat diet-induced obese C57BL/6 mice. *Nutrients.* 2019 ; 11(5) : 1190.
26. Li J, Wu H, Liu Y, Yang L. High fat diet induced obesity model using four strains of mice: Kunming, C57BL/6, BALB/c and ICR. *Exp Anim.* 2020 ; 69(3) : 326-35.
27. Lee HS, Lim SM, Jung JI, Kim SM, Lee JK, Kim YH, et al. *Gynostemma pentaphyllum* extract ameliorates high-fat diet-induced obesity in C57BL/6N mice by up-regulating SIRT1. *Nutrients.* 2019 ; 11(10) : 2475.
28. Aslan M, Orhan N, Orhan DD, Ergun F. Hypoglycemic activity and antioxidant potential of some medicinal plants traditionally used in Turkey for diabetes. *J Ethnopharmacol.* 2010 ; 128(2) : 384-9.
29. Díez JJ, Iglesias P. The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease. *Eur J Endocrinol.* 2003 ; 148(3) : 293-300.
30. Bauche IB, El Mkaem SA, Pottier AM, Senou M, Many MC, Rezsöházy R, et al. Overexpression of adiponectin targeted to adipose tissue in transgenic mice: impaired adipocyte differentiation. *Endocrinology.* 2007 ; 148(4) : 1539-49.
31. Brennan AM, Mantzoros CS. Drug insight: the role of leptin in human physiology and pathophysiology-emerging clinical applications. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 2006 ; 2(6) : 318-27.

32. Obradovic M, Sudar-Milovanovic E, Soskic S, Essack M, Arya S, Stewart AJ, et al. Leptin and obesity: role and clinical implication. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021 ; 12 : 585887.
33. Kim JB, Sarraf P, Wright M, Yao KM, Mueller E, Solanes G, et al. Nutritional and insulin regulation of fatty acid synthetase and leptin gene expression through ADD1/SREBP1. *J Clin Invest*. 1998 ; 101(1) : 1-9.
34. Rosen ED, Hsu CH, Wang X, Sakai S, Freeman MW, Gonzalez FJ, et al. C/EBPalpha induces adipogenesis through PPARgamma: a unified pathway. *Genes Dev*. 2002 ; 16(1) : 22-6.
35. Tontonoz P, Spiegelman BM. Fat and beyond: the diverse biology of PPARgamma. *Annu Rev Biochem*. 2008 ; 77 : 289-312.
36. Latasa MJ, Griffin MJ, Moon YS, Kang C, Sul HS. Occupancy and function of the -150 sterol regulatory element and -65 E-box in nutritional regulation of the fatty acid synthase gene in living animals. *Mol Cell Biol*. 2003 ; 23(16) : 5896-907.
37. Furuhashi M, Tuncman G, Görgün CZ, Makowski L, Atsumi G, Vaillancourt E, et al. Treatment of diabetes and atherosclerosis by inhibiting fatty-acid-binding protein aP2. *Nature*. 2007 ; 447(7147) : 959-65.
38. Lundsgaard AM, Fritzen AM, Kiens B. Molecular regulation of fatty acid oxidation in skeletal muscle during aerobic exercise. *Trends Endocrinol Metab*. 2018 ; 29(1) : 18-30.
39. Kraemer FB, Shen WJ. Hormone-sensitive lipase: control of intracellular tri-(di-)acylglycerol and cholesteryl ester hydrolysis. *J Lipid Res*. 2002 ; 43(10) : 1585-94.