Research Article

고지방식을 급여한 C57BL/6J 마우스에서 상지추출물과 스틸벤 화합물의 항비만 효능 연구

박정은 , 이건희 , 김주희 , 최상원 , 김은정

대구가톨릭대학교 식품영양학과

OPEN ACCESS

Received: Oct 14, 2020

Revised: Nov 11, 2020

Accepted: Nov 12, 2020

Correspondence to

Eunjung Kim

Department of Food Science and Nutrition,
Daegu Catholic University, 13-13 Hayang-ro,
Hayang-eup, Gyeongsan 38430, Korea.

Tel: +82-53-850-3523

E-mail: kimeunj@cu.ac.kr

*These two authors were equally contributed.

© 2020 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.

ORCID iDs

Jeong-Eun Park

<https://orcid.org/0000-0003-3073-4075>

Geon-Hee Lee

<https://orcid.org/0000-0002-3435-1509>

Juhee Kim

<https://orcid.org/0000-0001-6570-1519>

Sang-Won Choi

<https://orcid.org/0000-0002-1603-0576>

Eunjung Kim

<https://orcid.org/0000-0003-4548-2632>

Funding

This work was supported by research
grants from Dongil Culture and Scholarship
Foundation in 2019

Anti-obesity effect of *Ramulus mori* extracts and stilbenes in high fat diet- fed C57BL/6J mouse

Jeong-Eun Park , Geon-Hee Lee , Juhee Kim , Sang-Won Choi , and
Eunjung Kim

Department of Food Science and Nutrition, Daegu Catholic University, Gyeongsan 38430, Korea

ABSTRACT

Purpose: Obesity is a risk factor for various adult diseases such as type 2 diabetes, cardio-cerebrovascular disease, and cancer. With an increasing obesity population worldwide, the prevention of obesity with natural components has emerged as an alternative health care strategy. *Ramulus mori* (Sangzhi, RM) is widely used as a traditional herbal medicine in East Asia. It contains various phytochemicals, including stilbenes and 2-arylbenzofurans. In this study, we compared the anti-obesity effects of RM extracts and its major stilbene components (mulberroside A [MSA] and oxyresveratrol [ORT]) in high fat diet (HFD)-fed obese mice.

Methods: Five week-old, male C57BL/6J mice were grouped into 7 experimental groups: normal diet (ND), HFD, HFD + 1% RM water extracts (MW), HFD + 0.1% MSA, HFD + 1% RM ethanol extracts (ME), HFD + 0.1% ORT, and HFD + 1% *Garcinia cambogia* extracts (GC) as a positive control. All mice were fed experimental diet for 13 weeks.

Results: Compared to the HFD group, total body weight and weekly body weight gain were significantly decreased in the ME, ORT, and GC groups. Glucose tolerance level was significantly decreased in all experimental groups, whereas plasma insulin level was decreased in MSA, ME, ORT and GC groups. Plasma glucose, triglyceride (TG), and total cholesterol levels were significantly decreased, whereas high-density lipoprotein cholesterol levels were increased in the MSA, ORT, and GC groups. Hepatic TG accumulation was also significantly decreased in the MSA, ME, ORT, and GC groups. Adipose tissue weight and size of adipocytes were significantly decreased in the MSA, ME and ORT groups, and were comparable to values obtained in the GC group. The levels of adiponectin and SREBP1c mRNA expressions were increased in the ORT and GC groups.

Conflict of Interest

There are no financial or other issues that might lead to conflict of interest.

Conclusion: These results indicate that ME, ORT and MSA exert significant anti-obesity effect, and have the potential to be developed as a weight control ingredient of functional foods.

Keywords: obesity, high fat diet, *Ramulus mori*, mulberroside A, oxyresveratrol

서론

2018년 보건복지부와 질병관리본부의 국민건강통계에 따르면 19세 이상 성인 가운데 비만 척도인 체질량지수 (body mass index, BMI)가 25 이상인 비만 유병률은 2008년 30.7%에서 2018년 34.6%로 증가하였다 [1]. 체질량지수가 30이 넘는 고도비만율도 2011년 4.3%에서 2016년 5.5%로 높아졌는데 2030년에는 현재의 2배 수준 (9%)에 이를 것으로 예측된다. 또한 비만으로 인한 사회경제적 손실은 2015년 기준 9.2조원으로 최근 10년간 2배 증가되었고 고령화 등으로 인해 더욱 가속화될 전망이다 [2].

한편, 비만은 정상인에 비해 당뇨병, 고혈압 등의 성인병 발생 위험을 증가시키고 유방암, 대장암, 전립선암과 같은 암 발생율과 사망위험을 증가시킨다. 비만으로 인해 발생하는 제 2형 당뇨병의 경우 정상인에 비해 비만인은 2배, 고도비만인은 4배 발병위험이 더 높고 고혈압 비만인에게서 2배, 고도비만인에게서 2.7배 더 발병위험이 높은 것으로 나타났다. 실제로 당뇨병, 고지혈증, 심혈관질환 등 비만관련 질환의 유병률이 계속 증가하고 있는데 2008년 대비 2018년 30세 이상 당뇨병 환자는 9.7%에서 10.4%, 고콜레스테롤혈증 환자는 10.8%에서 21.4%, 고혈압 환자는 26.2%에서 28.3%로 증가하였다 [1]. 세계보건기구 (World Health Organization, WHO)는 1996년에 비만을 이미 질병으로 분류하고 총 8종의 암 (대장암, 자궁 내막암, 난소암, 전립선암, 신장암, 유방암, 간암, 담낭암)을 유발하는 주요 요인으로 제시하고 있다.

그러나 지금까지 비만 치료를 위해 개발된 약물들은 효과에 비해 심부전, 신부전, 간 독성, 불면증 등의 부작용이 심각하여 항비만 효과는 높으면서 부작용이 적은 천연물 생리활성물질의 개발이 요구되고 있는 실정이다. 특히 안전하면서도 항비만 효과가 높은 식품 유래의 기능성소재 개발은 식품성분이 인체에 미치는 효능의 과학적 규명과 함께 종래의 약물에 의한 치료중심에서 식품에 의한 예방중심으로 건강에 대한 패러다임을 전환하는데 중요한 역할을 할 것으로 기대되고 있다 [3].

상지 (*Ramulus Mori*, RM)는 뽕나무의 가지로 예로부터 한방에서 당뇨병, 고혈압, 관절염, 이 상지질혈증 치료제로 널리 사용되어 왔다 [4]. 상지에는 mulberroside A (MSA), oxyresveratrol (ORT), resveratrol, moracin 등의 stilbene 및 2-arylbenzofuran 유도체가 많이 함유되어 있으며 [5], 이 중 MSA와 ORT같은 stilbene 화합물들이 상지의 주된 기능성 물질로 작용하여 항염증 [6], 항멜라닌합성 [7], 그리고 항산화효능 [8]을 나타냄이 보고된 바 있다. 한편 ORT는 3T3-L1 지방전구세포에서 지방세포분화를 저해하고 [9] 고지방식을 급여한 마우스에서 비만 관련 증상을 개선시킨다는 결과들 [10-12]이 최근에 보고되고 있어 ORT의 항비만 효능에 대한 가능성이 제시되고 있다. 그러나 아직까지 상지추출물과 stilbene 화합물의 항비만 효능에 관한 연구는 제한적이므로 본 연구에서는 상지 열수추출물과 주정추출물, 그리고 MSA와 ORT의 항비만 효능을 상대적으로 비교 연구하고 그 작용기전을 분석하여 향후 체중 감량 기능성 식품 개발 소재로서 상지의 가능성을 검증하고자 수행되었다.

연구방법

상지추출물과 MSA 및 ORT 분말 제조

본 실험에 사용된 상지 열수 및 주정 추출물의 제조는 다음과 같이 실시하였다. 경상북도 영천시에서 채집한 상지 100 g에 증류수 및 60% 에탄올수용액 2 L를 각각 가하여 70°C에서 2시간 동안 2회 환류 추출한 후 여과 및 감압 농축하여 상지 열수추출물 (수율: 7.4%) 및 주정추출물 (수율: 5.3%)을 각각 제조하였다. 같은 방법으로 대량 추출하여 얻어진 상지 주정추출물 (1.2 kg)을 20% 에탄올수용액으로 현탁하여 부직포로 여과한 후 여액을 Diaion HP-20 exchange resin(Mitsubishi Chemical Co., Tokyo, Japan)에 통과하여 흡착시킨 후 20% 에탄올수용액 (200 L), 30% 에탄올수용액 (200 L), 50% 에탄올수용액 (150 L) 및 70% 에탄올수용액 (150 L)을 순차적으로 가한 후 용출하여 얻은 각 분획을 thin layer chromatograph (TLC) 분석을 통해 MSA 및 ORT 함유 30% 분획물 (65 g)과 ORT함유 50% 분획물 (77 g)로 각각 농축하여 얻었다. 그리고 MSA 및 ORT 함유 30% 분획물과 ORT 함유 50% 분획물은 silica gel (70-230 mesh; Merck, Darmstadt, Germany)과 용출 용매 (30% 분획물; CHCl_3 -MeOH- H_2O =65:35:5, 50% 분획물; CHCl_3 -MeOH=3:1, v/v)를 사용하여 column chromatograph 분석을 실시하였다. 이후 100개 분획과 150개 분획 (20 ml/분획)을 각각 취한 뒤 TLC 분석을 통해 MSA 및 ORT 함유 분획을 따로 모아 농축하였다. 제조된 농축물을 메탄올로 용해시킨 후 냉장고에서 이틀간 보관한 뒤 침전물을 여과하여 제거한 다음 감압 농축하여 최종 MSA 함유 분말 (15.2 g, 순도 90% 이상)과 ORT 함유 분말 (10.3 g, 순도 93%)로 각각 제조하였다.

실험동물 및 식이

수컷 5주령 C57BL/6J 마우스 (Central Lab Animal Inc., Seoul, Korea)를 구입하여 1주 동안 고형 사료를 급여하며 실험 환경에 적응시켰다. 이 후 난괴법 (randomized complete block design)에 의해 8마리씩 총 7개의 군으로 나누었다: 정상식이 (normal diet, ND)군, 고지방식이 (high fat diet, HFD)군, HFD + 1% 상지 열수추출물 (*Ramulus mori* water extracts, MW)군, HFD + 0.1% mulberroside A (MSA)군, HFD + 1% 상지 주정추출물 (*Ramulus mori* ethanol extracts, ME)군, HFD + 0.1% oxyresveratrol (ORT)군, 그리고 양성대조군으로 HFD + 1% 가르시니아 캄보지아 추출물 (*garcinia cambogia* extracts, GC)군. 실험식은 AIN-93G diet 구성을 바탕으로 제조하였으며 (Table 1) 총 13주간 급여하였다. 1일 1회 일정시간에 식이 섭취량을 기록하고 주 1회 체중을 측정하였다. 식이 섭취량은 식이 공급량에서 잔량을 감하여 계산하였고, 식이 효율은 체중 증가량 (g/day)을 식이 섭취량 (g/day)으로 나눈 값으로 구하였다. 실험동물은 12시간 명암주기를 유지하였으며 항온 ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), 항습 ($50 \pm 5\%$) 환경에서 사육하였다. 본 동물실험은 대구가톨릭대학교 동물실험윤리위원회에서 승인 (제IACUC-2019-005호)한 절차에 따라 수행하였다.

시료 수집

12시간 절식 후 실험동물은 CO_2 로 마취하여 개복을 하고 복부 대정맥으로부터 헤파린 (1,000 IU/mL) 처리된 주사기를 사용하여 채혈하였다. 채취한 혈액은 13,200 rpm, 4°C 에서 10분간 원심 분리하여 혈장을 분리한 후 -80°C 급속 냉동고에서 분석 전까지 보관하였다. 채혈 후 즉시 간과 지방 조직을 적출하여 생리식염수에 행군 후 표면의 수분을 거즈로 제거하고 무게를 측정하였다. 일부 간과 부고환 지방 조직은 조직학적 분석을 위해 10% formalin 용액에 고정한 후 보관하였다. 또 다른 일부는 RNA 분리를 위해 RNAiso Plus (TaKaRa, Otsu, Japan)용액에 포

Table 1. Composition of the experimental diets

Ingredient	Groups						
	ND	HFD	MW	MSA	ME	ORT	GC
Casein	200	200	200	200	200	200	200
Corn starch	397.49	47.54	47.54	47.54	47.54	47.54	47.54
Sucrose	100	0	0	0	0	0	0
Dextrose	132	132	132	132	132	132	132
Cellulose	50	50	50	50	50	50	50
Soybean oil	70	25	25	25	25	25	25
Lard	0	245	245	245	245	245	245
Mineral mixture ¹⁾	35	35	35	35	35	35	35
Vitamin mixture ²⁾	10	10	10	10	10	10	10
TBHQ	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014
L-cystine	3	3	3	3	3	3	3
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
MW			7.5				
MSA				0.75			
ME					7.5		
ORT						0.75	
GC							7.5
Total (g)	1,000	750.05	757.55	750.8	757.55	750.8	757.55
Protein	20	20	20	20	20	20	20
Carbohydrate	64	19	19	19	19	19	19
Fat	16	61	61	61	61	61	61
Total energy (kcal%)	100	100	100	100	100	100	100

ND, normal diet; HFD, high fat diet; MW, HFD + 1% *Ramulus mori* water extract; MSA, HFD + 0.1% mulberroside A; ME, HFD + 1% *Ramulus mori* ethanol extract; ORT, HFD + 0.1% oxyresveratrol; GC, HFD + 1% *Garcinia cambogia* extract; TBHQ, tertiary butylhydroquinone.

¹⁾AIN-93G mineral mix. ²⁾AIN-93G vitamin mix.

화시켰고 나머지는 foil에 감싼 후 액체 질소로 급속 동결하여 -80°C 초저온 냉동고에서 시료 분석 전까지 보관하였다.

경구 당 부하 검사

실험 12주차에 실험동물을 12시간 절식시킨 후 미정맥에서 소량의 혈액을 채취하여 blood glucose monitoring kit (ARKRAY Inc., Kyoto, Japan)로 공복혈당을 측정한다. 다음 2% glucose 용액을 경구 투여하고 2시간 뒤 다시 미정맥에서 혈액을 채취하여 측정하였다.

혈장 생화학적 지표 분석

혈장 포도당과 인슐린 농도는 각각 글루코즈 측정용 시액 (Asan Pharmaceutical, Seoul, Korea)과 Mouse Ultrasensitive Insulin ELISA KIT (ALPCO Diagnostics, Salem, NH, USA)를 사용하여 측정하였다. 혈장 중성지방 (triglyceride, TG), 총 콜레스테롤 (total cholesterol, Total-C) 및 고밀도 지단백질 콜레스테롤 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C) 농도 측정은 각각 TG, Total-C, HDL-C 측정용 시액 (Asan Pharmaceutical)을 사용하였다.

간 조직 지질함량 측정

간 조직의 TG 및 Total-C 농도 측정을 위한 전처리법은 Folch 등 [13]의 방법에 준하여 다음과 같이 처리하였다. 간 조직 0.5 g에 20배의 CHCl₃:CH₃OH (2:1, v/v) 용액을 가한 후 균질화하여 여과한 다음 질소가스로 건조시켰다. 다시 1 mL의 동일 추출 용매에 녹인 후 100 µL를 취하여 질소가스로 건조시킨 다음 1 mL의 ethanol에 녹여 그 중 0.2 mL를 시료로 사용하였다. 0.2 mL의 시료에 0.5% TritonX-100과 3 mM sodium cholate가 포함된 TG 및 Total-C 측정용 시액 (Asan Pharmaceutical) 0.5 mL을 넣고 37°C에서 30분간 반응시킨 후 흡광도를 측정하여 지질을 정량하였다.

조직화학적 분석

조직화학적 분석을 위해 10% formalin 용액에 고정시켜 둔 간과 부고환지방 조직은 24시간 후 같은 용액으로 2회 교환하고, ethanol로 탈수 후 paraffin으로 포매하였다. Poly-L-lysine으로 처리된 5 µm두께의 조직 절편을 제작한 다음 hematoxylin & eosin (H&E)으로 염색하였고 DM IL LED Microscope (Leica, Wetzlar, Germany)를 사용해 200배율로 사진을 촬영하였다. 부고환지방 조직은 지방세포 크기 분석을 위해 임의로 선택한 세 부위의 지방조직에서 각 10개 세포의 최장축과 최소축을 Leica LAS EZ software를 사용하여 측정하였다 (10 cells/area × 3 areas). 측정된 최장축과 최소축의 반지름 (a, b)과 원주율 (π)을 타원형의 면적 공식 (타원 영역 = $\pi \times a \times b$)에 대입하여 부고환지방세포의 표면적을 산출하였다 [14].

유전자 발현 분석

RNAiso Plus를 사용하여 부고환지방 조직에서 total RNA를 추출하였다. Primescript 1st strand cDNA Synthesis Kit (TaKaRa)를 사용해 추출된 RNA로부터 complementary DNA (cDNA)를 합성하였다. Template cDNA에 TB green premix Ex Taq (TaKaRa)를 첨가하고 95°C에서 5초, 60°C에서 30초를 1 cycle로 하여 40회 반응시켰다. 각 cycle 마다의 형광신호를 감지하여 나타내는 threshold cycle, C(t) 값을 측정하여 각 실험 군 간의 target 유전자 발현을 CFX96 Real time system (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)으로 측정하였으며 β-actin 값에 대한 상대적인 양으로 계산하여 나타내었다. 증폭 시 사용한 gene primer 염기서열은 다음과 같다. Adiponectin; (F) 5'-GCC CAG TCA TGC CGA AGA-3', (R) 5'-TCT CCA GCC CCA CAC ACT GAA C-3', SREBP1c; (F) 5'-GGA GCC ATG GAT TGC ACA TT-3', (R) 5'-GCT TCC AGA GAG GAG GCC AG-3', β-actin; (F) 5'-TGG AAT CCT GTG GCA TCC ATG AAC-3', (R) 5'-TAA AAC GCA GCT CAG TAC AGT CCG-3'.

통계분석

실험의 모든 결과는 평균값 ± 표준오차로 나타내었고 통계분석은 SPSS 통계 처리 프로그램 version 19 (IBM Corp., Chicago, IL, USA)를 사용하였다. 각 군 사이의 분석 항목 별 차이는 일원배치분산분석 (one-way analysis of variance)으로 분석하였고, 유의한 차이가 있는 경우 유의 수준 $p < 0.05$ 에서 Duncan's multiple range test로 사후검정을 실시하였다.

결과

체중 및 식이 섭취량

상지추출물과 stilbene 화합물이 고지방식이 급여에 따른 체중변화에 미치는 영향을 보기 위하여 총 13주의 실험기간 동안 체중 증가량, 1일 평균 식이 섭취량, 그리고 식이 효율을 측정하였다. 실험 시작 시 군별 동물들의 체중에는 차이가 없었으나 실험식이 급여 1주일 후부터 ND군에 비해 HFD를 급여한 군의 체중이 유의적으로 증가하였다 (Fig. 1). HFD에 상지추출물과 주된 생리활성물질인 MSA와 ORT를 첨가하였을 때 모두 HFD군에 비해 체중이 유의적으로 감소하였으나 특히 ME군과 ORT군은 HFD군에 비하여 유의적인 체중 감소를 나타내었으며, 실험 종료시점에는 양성대조군인 GC군 수준으로 체중이 감소하였다 (Table 2). 주별 체중 증가량도 ME군과 ORT군은 GC군과 비슷한 수준이었으며 MW와 MSA군 또한 HFD군에 비해 감소한 결과를 보였다. 실험동물들의 식이 섭취량과 체중 변화와의 상관관계를 확인하기 위해 1일 식이 섭취량을 분석한 결과, ND군에 비해 HFD군에서 식이 섭취량이 감소하였으나

Table 2. Effects of MW, MSA, ME, and ORT supplementation on body weight gain, food intake, and food efficiency of mice fed with HFD for 13 weeks

Groups	ND	HFD	MW	MSA	ME	ORT	GC
Initial body weight (g)	20.94 ± 0.39	21.22 ± 0.50	20.94 ± 0.50	21.06 ± 0.36	20.92 ± 0.32	20.93 ± 0.47	20.91 ± 0.38
Final body weight (g)	33.30 ± 0.54 ^e	45.61 ± 0.63 ^a	41.33 ± 1.14 ^b	40.07 ± 0.87 ^{bc}	37.08 ± 0.71 ^{cd}	37.63 ± 1.52 ^{cd}	35.50 ± 1.64 ^{de}
Total body weight gain (g/weeks)	0.14 ± 0.01 ^e	0.27 ± 0.01 ^a	0.22 ± 0.01 ^b	0.21 ± 0.01 ^{bc}	0.18 ± 0.01 ^{cd}	0.18 ± 0.01 ^{cd}	0.16 ± 0.02 ^{de}
Food intake (g/day)	3.27 ± 0.04 ^a	2.92 ± 0.05 ^b	2.80 ± 0.08 ^b	2.89 ± 0.06 ^b	2.93 ± 0.12 ^b	2.74 ± 0.06 ^b	2.78 ± 0.06 ^b
FER	0.04 ± 0.001 ^a	0.09 ± 0.002 ^a	0.08 ± 0.003 ^b	0.07 ± 0.004 ^{bc}	0.06 ± 0.004 ^d	0.07 ± 0.004 ^{cd}	0.06 ± 0.005 ^d

Values are mean ± SEM.

ND, normal diet; HFD, high fat diet; MW, HFD + 1% *Ramulus mori* water extract; MSA, HFD + 0.1% mulberroside A; ME, HFD + 1% *Ramulus mori* ethanol extract; ORT, HFD + 0.1% oxyresveratrol; GC, HFD + 1% *Garcinia cambogia* extract; FER, food efficiency ratio, body weight gain (g/day)/food intake (g/day).

^{a-e}Means in each row with superscripts without a common letter are significantly different at $p < 0.05$.

HFD를 급여한 군들 사이에서는 식이 섭취량에 차이가 없었다. 식이 섭취량 대비 체중 증가량을 나타내는 식이 효율은 HFD군에서 가장 높게 나타났으며 ND군이 가장 낮은 식이 효율을 보였다. HFD를 급여한 군들 중에서는 ME와 ORT군의 식이 효율이 GC군과 비슷한 수준을 보였으며 MW와 MSA군도 HFD군에 비해 낮은 식이 효율을 나타내었다.

혈당 및 혈장 인슐린 농도

실험종료 1주일 전 공복혈당과 경구 당 투여 2시간 후 혈당을 측정된 결과, ND군에 비해 HFD군에서 공복혈당과 2시간 당 부하 혈당 모두 유의적으로 높은 수준을 나타내었다 (Fig. 2A). HFD 급여군들 간에 비교했을 때 공복혈당에서는 차이가 없었으나 HFD에 상지추출물과 stilbene 화합물을 급여한 군들에서는 GC군과 같은 수준으로 2시간 당 부하 혈당이 감소하였다.

동물 희생 후 혈장 인슐린 농도를 측정된 결과, ND군에 비해 HFD군에서 유의적으로 증가한 반면 MSA, ME, ORT군의 혈장 인슐린 농도는 GC군 수준으로 감소하였다 (Fig. 2B).

Fig. 1. Change of body weight. C57BL/6J mice were fed each experimental diet for 13 weeks. Body weight of the mice was measured once a week. Each data are presented as mean ± SEM.

ND, normal diet; HFD, high fat diet; MW, HFD + 1% *Ramulus mori* water extract; MSA, HFD + 0.1% mulberroside A; ME, HFD + 1% *Ramulus mori* ethanol extract; ORT, HFD + 0.1% oxyresveratrol; GC, HFD + 1% *Garcinia cambogia* extract.

^{a-e}Means with different letters indicate significant differences between the groups at $p < 0.05$ assessed by analysis of variance with Duncan's multiple range test.

Fig. 2. Effects of MW, MSA, ME, and ORT supplementation on blood glucose and plasma insulin in mice fed with HFD for 13 weeks. At 12 week of the experiment. (A) fasting blood glucose was measured after 12 hours of fasting. Post-prandial blood glucose was measured after 2 hours of oral feeding of 2% glucose to the fasted mouse (B) The levels of plasma insulin were measured. Each data are presented as mean $\pm$ SEM. ND, normal diet; HFD, high fat diet; MW, HFD + 1% *Ramulus mori* water extract; MSA, HFD + 0.1% mulberroside A; ME, HFD + 1% *Ramulus mori* ethanol extract; ORT, HFD + 0.1% oxyresveratrol; GC, HFD + 1% *Garcinia cambogia* extract.

^{a-c}Means with different letters indicate significant differences between the groups at $p < 0.05$ assessed by analysis of variance with Duncan's multiple range test.

혈장 포도당 및 지질 농도

실험 종료 후 마우스 혈장을 분리하여 혈당 및 혈중 지질 농도를 측정된 결과, ND군에 비해 HFD군에서 혈장 glucose, TG, 그리고 Total-C은 증가한 반면에 HDL-C은 유의적으로 감소하였다 (Table 3). 그러나 혈장 glucose 농도는 MW, MSA, ME, ORT군에서, 혈장 TG 농도는 MSA, ME, ORT군에서, 그리고 Total-C농도는 MSA, ME, ORT군에서 GC군 수준으로 감소하였다. HDL-C의 경우에는 MW, MSA, ME, ORT군에서 모두 GC군 수준으로 증가하였다. 특히 시험한 상지추출물과 stilbene 화합물은 측정된 모든 혈장 지표에 대해 GC군과 동일한 수준의 효과를 보였다.

간 조직 지방 축적정도

상지추출물과 stilbene 화합물의 급여가 HFD에 의한 간 조직 지방 축적에 미치는 영향을 알아보기 위하여 간 조직 무게와 지방 함량을 측정하였다. ND군에 비해 HFD군에서 간 조직 무게가 유의적으로 증가한 것으로 나타났으며 실험물질 급여군에서는 간 조직 무게가 모두 감소하였다 (Fig. 3A). 간 조직 TG 함량은 ND군에 비해 HFD군에서 증가하였으며 실험물질 급여군 모두에서 TG 함량이 감소하는 경향을 보였다 (Fig. 3B). 특히, MSA, ME, ORT, 그리고 GC군에서는 ND군과 유사한 수준으로 감소함을 보였다. Total-C 함량은 ND군에 비해 HFD군에서 오히려 감소하였으며 MSA와 GC군에서는 ND군과 유사한 수준의 Total-C 함량이 측정되었다. 간 조직의 병리학적 분석 결과에서도 HFD군에서 가장 많은 지방구가 관찰되었으며 이에 반해 MSA, ME, ORT, GC군에서는 ND군과 유사한 수준으로 지방구의 크기와 수가 감소된 것으로 나타났다 (Fig. 3C).

Table 3. Effects of MW, MSA, ME, and ORT supplementation on plasma glucose and lipids in mice fed with HFD for 13 weeks

Groups	ND	HFD	MW	MSA	ME	ORT	GC
Glucose (mg/dL)	160.96 $\pm$ 16.09 ^c	308.24 $\pm$ 12.73 ^a	246.16 $\pm$ 9.47 ^b	208.18 $\pm$ 22.53 ^{bc}	257.43 $\pm$ 20.11 ^b	210.00 $\pm$ 25.46 ^{bc}	206.21 $\pm$ 13.08 ^{bc}
TG (mg/dL)	64.00 $\pm$ 8.01 ^c	102.93 $\pm$ 8.30 ^a	93.29 $\pm$ 5.74 ^{ab}	68.29 $\pm$ 5.23 ^c	60.43 $\pm$ 7.87 ^c	73.86 $\pm$ 4.20 ^{bc}	69.48 $\pm$ 13.15 ^c
HDL-C (mg/dL)	90.22 $\pm$ 5.02 ^a	67.35 $\pm$ 5.72 ^b	94.64 $\pm$ 1.42 ^a	87.54 $\pm$ 3.04 ^a	89.59 $\pm$ 2.16 ^a	91.80 $\pm$ 6.92 ^a	87.80 $\pm$ 6.74 ^a
Total-C (mg/dL)	157.10 $\pm$ 6.02 ^{bcd}	219.60 $\pm$ 8.20 ^a	189.60 $\pm$ 6.93 ^{ab}	151.60 $\pm$ 11.17 ^{cd}	182.27 $\pm$ 1.76 ^{bc}	161.60 $\pm$ 18.49 ^{bcd}	138.93 $\pm$ 10.41 ^d

Values are mean $\pm$ SEM.

ND, normal diet; HFD, high fat diet; MW, HFD + 1% *Ramulus mori* water extract; MSA, HFD + 0.1% mulberroside A; ME, HFD + 1% *Ramulus mori* ethanol extract; ORT, HFD + 0.1% oxyresveratrol; GC, HFD + 1% *Garcinia cambogia* extract; TG, triglyceride; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; Total-C, total cholesterol.

^{a-d}Means in each row with superscripts without a common letter are significantly different at $p < 0.05$.

Fig. 3. Effects of MW, MSA, ME, and ORT supplementation on hepatic lipid accumulation in mice fed with HFD for 13 weeks. (A) Liver weight and (B) the levels of hepatic TG and Total-C were measured. (C) Representative photomicrographs of the liver tissue in each experimental group. All sections were stained with hematoxylin and eosin (magnification ×200). Each data are presented as mean ± SEM.

ND, normal diet; HFD, high fat diet; MW, HFD + 1% *Ramulus mori* water extract; MSA, HFD + 0.1% mulberroside A; ME, HFD + 1% *Ramulus mori* ethanol extract; ORT, HFD + 0.1% oxyresveratrol; GC, HFD + 1% *Garcinia cambogia* extract; TG, triglyceride; Total-C, total cholesterol.

^{a-d}Means with different letters indicate significant differences between the groups at $p < 0.05$ assessed by analysis of variance with Duncan's multiple range test.

지방 조직에 미치는 영향

상지추출물과 stilbene 화합물의 급여가 HFD에 의한 마우스 체중증가를 억제한 결과는 지방 조직의 양과 지방세포의 크기에서도 확인되었다. 각 부위별 지방조직의 총량은 HFD군에서 가장 많았으며 체중 결과에서와 같이 특히 ME와 ORT군의 총 백색지방 조직량이 GC군 수준으로 감소하였다 (Fig. 4A). 지방 조직의 병리학적 분석 결과, HFD군의 지방세포 크기가 ND군에 비해 확연히 커진 것으로 관찰되었으며, MSA, ME, ORT, 그리고 GC군에서는 HFD군에 비해 그 크기가 줄어든 것이 관찰되었다 (Fig. 4B). 특히 ORT와 GC군의 지방세포 크기는 ND군과 비슷한 수준으로 줄어든 것이 확인되었다. 지방조직의 adiponectin과 SREBP1c 유전자

Fig. 4. Effects of MW, MSA, ME, and ORT supplementation on adipose tissue and gene expression in mice fed with HFD for 13 weeks. (A) Weights of adipose tissue in various regions were measured. (B) Representative photomicrographs of the epididymal adipose tissue in each experimental group. All sections were stained with hematoxylin and eosin (magnification $\times 200$). Long and short axes of adipocytes were measured and cell surface area was manually calculated. (C) Relative mRNA expression levels in epididymal adipose tissue. Results were normalized to β -actin mRNA expression and are expressed as the fold change compared with the HFD mice. Each data are presented as mean $\pm$ SEM.

ND, normal diet; HFD, high fat diet; MW, HFD + 1% *Ramulus mori* water extract; MSA, HFD + 0.1% mulberroside A; ME, HFD + 1% *Ramulus mori* ethanol extract; ORT, HFD + 0.1% oxyresveratrol; GC, HFD + 1% *Garcinia cambogia* extract; WAT, white adipose tissue; BAT, brown adipose tissue.

^aMeans with different letters indicate significant differences between the groups at $p < 0.05$ assessed by analysis of variance with Duncan's multiple range test.

발현을 분석한 결과, adiponectin과 SREBP1c은 ND군에 비해 HFD군에서 유의적으로 감소하였으며 MSA, ME, ORT, 그리고 GC군에서 증가함을 보였다 (Fig. 4C).

고찰

우리나라를 비롯하여 전 세계적으로 비만인구가 증가함에 따라 복부 혹은 과다한 체지방 증가로 인한 고혈압, 이상지질혈증, 제2형 당뇨병, 심혈관계 질환, 뇌졸중, 수면 무호흡증, 무릎

관절염, 그리고 특정 암과 같은 다양한 합병증으로 고통받는 사람들이 늘어나고 있다. 따라서 효과적인 비만 조절 방법에 대한 수요의 급증으로 이 분야의 연구에 대한 산업계와 학계의 관심이 높아지고 있을 뿐만 아니라 체중조절 기능성 식품에 대한 소비자의 관심도 꾸준히 증가하고 있다. 본 연구에서는 예로부터 한방에서 당뇨병, 비만, 고혈압 치료제로 사용되어 왔으며 최근 들어 항비만 효능에 관한 연구 결과들이 보고되기 시작하고 있는 상지추출물과 stilbene 화합물의 항비만 효능을 현재 체중조절용 기능성 식품으로 사용되고 있는 가르시니아 캄보지아 추출물과 비교하고 그 과학적 근거를 마련하고자 수행되었다.

상지는 뽕나무의 가지로, MSA, ORT, resveratrol, moracin 등의 생리활성물질이 함유되어 있다 [5]. 이 중 상지 열수 추출물에는 ORT의 배당체인 MSA가, 주정 추출물에는 아글리콘 (aglycone)인 ORT가 주로 존재하며, 본 연구에서는 상지 열수 추출물과 주정 추출물, 그리고 각 추출물의 생리활성물질인 MSA와 ORT를 HFD에 혼합하여 13주 동안 급여하면서 체중변화 및 비만관련 병리.생화학적 지표들을 분석하였다. 그 결과, 실험에 사용한 2종의 추출물과 2종의 생리활성물질 모두 HFD에 의한 체중증가 억제효과를 보였으며 그 중에서 특히 ME와 ORT의 효과가 GC군과 유사한 수준으로 우수하게 나타났다. 뽕나무에 많이 함유되어 있는 ORT는 stilbene 화합물로서 phytoalexin 화합물로 잘 알려진 resveratrol의 방향족 고리에 수산기가 하나 더 결합되어 있는 4-hydroxystilbene 물질이다 [15,16]. ORT는 생물학적 활성도 resveratrol과 유사한 것으로 보이며, 지금까지 항염 [17], 항산화 [18], 항당뇨 [19,20], 항노화 [21,22], 신경보호효능 [23,24]과 같은 기능이 보고된 바 있다. 그러나 ORT의 항비만 효능에 대해서는 최근 들어 보고가 되기 시작했는데 C57BL/6 마우스에 0.25%와 0.5%의 ORT를 고지방식이에 혼합 급여하였을 때 용량 비례적으로 체중 및 체지방 증가가 억제되는 것을 보였고 [11], 3T3-L1 지방전구세포에서도 ORT의 처리는 지방세포분화, 증식 그리고 지방축적을 억제하였다 [9]. 비만으로 인한 인슐린 저항성, 고혈당 그리고 이상지질혈증 발생에 대해서는 MSA, ME, ORT의 급여가 유의적으로 혈장 인슐린 농도와 혈당, 혈장 지질농도를 개선시키는 결과를 보였다. 유전적 비만 동물모델인 db/db마우스에 HFD (60% kcal)로 2형 당뇨병을 유발한 실험에서 각각 800 mg/kg body weight (B.W.), 1,600 mg/kg B.W.의 상지 주정추출물과 800 mg/kg B.W.의 ORT를 14주간 경구 투여하였을 때, 당뇨군에 비해 1,600 mg/kg B.W.의 상지 주정추출물 투여는 유의적으로 공복혈당을 감소시킨 반면에 800 mg/kg B.W.의 상지 주정추출물과 ORT의 투여는 당뇨군과 유의적인 차이가 없었다 [19]. 본 실험에서 실험식에 혼합한 상지추출물 (1%)과 생리활성물질 (0.1%)의 양을 실험 종료 시점 마지막 체중 단위로 환산하면 각각 750과 75 mg/kg B.W.으로 이는 Park 등 [19]이 실험에 사용한 양보다 훨씬 적은 양이다. 향후 항비만 효능에 대한 ORT의 최소 용량 및 최대 무독성 용량을 확인할 필요가 있을 것으로 사료된다. 한편 db/db마우스에서는 HFD를 급여한 당뇨군의 혈장 인슐린 농도와 C-peptide 농도가 상지 주정추출물 (1,600 mg/kg B.W.)과 ORT (800 mg/kg B.W.) 투여군에서는 대조군 수준으로 회복되었고 이는 β -세포의 인슐린 분비능 증가와 인슐린 저항성 개선에 기인하는 것으로 보고된 바 있다 [19]. 또한 ORT는 지방조직과 근육조직의 glucose transporter 4 (GLUT4) 발현을 증가시킴으로써 인슐린에 의한 세포 내 포도당 유입 촉진으로 혈당을 낮추는 효과도 있는 것으로 보인다 [11]. 한편, 본 연구에서 상지추출물과 stilbene 화합물은 모두 HFD 급여에 의한 혈장 TG와 Total-C 증가 그리고 HDL-C 감소를 전반적으로 개선시켰는데 특히 MSA, ME, ORT의 이상지질혈증 개선효과가 우수하였다. Tan 등의 연구에서도 HFD에 첨가한 ORT 함량에 비례하여 혈청 및 간 조직 지질 농도 개선효과가 나타났는데 0.25% ORT에 비해 0.5% ORT를 보충한 그룹에서 그 효과가 뚜렷하였다 [11].

한편 비만은 비알코올성 지방간 질환 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 발생과 밀접한 상관 관계가 있으며 이는 일부 간염 (non-alcoholic steatohepatitis, NASH), 간경화 등으로 진전될 수 있으므로 이를 예방하는 것은 중요한 보건학적 의미가 있다. 본 연구에서는 MSA, ME, ORT의 급여가 HFD에 의한 간 TG 축적 정도를 억제하는 효과가 있음을 보였는데 Lee 등의 결과에서도 ORT (10, 30 mg/kg)의 경구 투여는 HFD에 의한 공복혈당, 혈장 지질농도 그리고 간 조직 지방 축적 정도 및 지방간 정도를 현저히 개선시켰다 [12]. 한편 본 연구에서 간 Total-C 함량은 ND군에 비해 HFD군에서 오히려 감소하였는데 이는 HFD 급여에 의한 콜레스테롤 합성 억제 기전으로 사료된다. HFD 급여 동물 간 조직에서 sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c), fatty acid synthase (FAS), CCAAT/Enhancer-binding proteins α (C/EBP α)와 같은 지방합성유전자의 발현이 LFD 급여군에 비해 감소하거나 변화가 없었다는 결과와 함께, ORT의 지방간 개선효과는 이러한 지방합성유전자 발현은 억제하고 carnitine palmitoyl transferase-1 (CPT-1), peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α)와 같은 지방산 산화관련 유전자와 AMP-activated protein kinase (AMPK) 발현은 촉진하기 때문인 것으로 보고된 바 있다 [11].

ME와 ORT의 체중 감량 효과는 주로 체지방 조직량과 지방세포의 크기 감소에 기인하는 것으로 보인다. 3T3-L1 지방전구세포에서 ORT는 농도 의존적으로 지방세포분화와 지방축적을 억제하였는데 이는 지방생성에 관여하는 전사인자인 PPAR γ 와 C/EBP α 의 발현을 억제하고 cyclin D1, cyclin-dependent kinase 4 (CDK4), p27/kip1 조절을 통한 cell cycle arrest를 유도하기 때문으로 보고된 바 있다 [9]. GC 추출물도 HFD를 급여한 동물에서 PPAR γ 2, SREBP1c, C/EBP α , 그리고 aP2 유전자 발현 조절을 통한 내장 지방 합성 억제 효과를 보이는 것으로 보아 [25], ME와 ORT도 GC와 유사한 기전에 의해 체중을 조절하는 것으로 사료된다. Adiponectin은 지방 조직에서 분비되는 adipokine으로 인슐린 민감성을 개선시켜 간의 신생 포도당 합성을 억제하고 골격근으로의 포도당 흡수를 향상시킨다. 비만인 경우에 인슐린 민감성이 감소하며 지방조직의 adiponectin 합성이 감소하는 것으로 알려져 있는데 [26], 본 연구에서 지방조직의 adiponectin 발현 수준을 확인한 결과 특히 ORT의 급여는 HFD에 의해 감소된 adiponectin 발현 수준을 유의미하게 증가시켰다. 이는 ORT가 지방조직에서 분비되는 adipokine조절을 통해서도 체중조절 효과를 가지는 것을 제시한다.

한편, Lee 등 [12]의 연구에서는 HFD를 4주간 먼저 급여 후 ORT를 10 mg/kg, 30 mg/kg으로 4주간 경구 투여하였을 때 체중감량의 효과가 나타나지 않은 반면 공복혈당과 혈장지질농도, 간 조직 지방축적에 있어서는 개선효과를 보였는데 이는 ORT의 투여 농도 및 기간에 따른 차이로 보여진다. 즉, ORT는 비만의 치료보다는 비만예방에 효과가 있는 것으로 사료된다. 본 연구에서는 상지추출물과 ORT, ORT를 다량 함유하고 있는 ME, 그리고 ORT의 배당체인 MSA가 항비만 효능이 우수한 것으로 나타났다. 향후, ORT와 MSA가 최적의 비율로 혼합된 추출물의 항비만 효능연구가 필요하며 이는 체중조절용 기능성 원료 개발의 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

요약

본 연구는 상지추출물과 stilbene 화합물인 MSA, ORT의 항비만 효능을 비교 분석하고자 식이성 비만 마우스 모델을 이용하여 HFD에 실험물질을 첨가한 식이를 13주 동안 급여하였다. 연

구결과, 실험물질들의 항비만 효능은 ORT, ME, MSA, MW군 순이었으며, 특히 ME와 ORT의 급여는 고지방식이에 의한 체중 및 체지방 증가, 혈당 증가, 이상지질혈증 및 지방간 개선에 있어 양성대조군인 GC군과 비슷한 효과를 보였다. 향후 관련 기작 규명 및 안전성 확보, 그리고 최대 유효성 도출을 위한 추출 조건 확립 및 용량 검증 등의 연구가 수행된다면 체중조절용 기능성 식품으로의 개발을 기대해 볼 수 있을 것으로 사료된다.

REFERENCES

1. Ministry of Health and Welfare, Korea Centers for Disease Control and Prevention. Korea Health Statistics 2018: Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES VII-3). Cheongju: Korea Centers for Disease Control and Prevention; 2019.
2. National Health Insurance Service. A study on the improvement of weight reduction programme for insurer to enhance life expectancy. Wonju: National Health Insurance Service; 2017.
3. Commercializations Promotion Agency for R&D Outcomes. Market trends in the metabolic syndrome therapeutics. Seoul: Commercializations Promotion Agency for R&D Outcomes; 2015.
4. Publishing Committee of Pharmacognosy. Pharmacognosy. Seoul: Dongmyongsa; 2000. p.257.
5. Choi SW, Jang YJ, Lee YJ, Leem HH, Kim EO. Analysis of functional constituents in mulberry (*Morus alba* L.) twigs by different cultivars, producing areas, and heat processings. *Prev Nutr Food Sci* 2013; 18(4): 256-262.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
6. Chen YC, Tien YJ, Chen CH, Beltran FN, Amor EC, Wang RJ, et al. *Morus alba* and active compound oxyresveratrol exert anti-inflammatory activity via inhibition of leukocyte migration involving MEK/ERK signaling. *BMC Complement Altern Med* 2013; 13(1): 45.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
7. Zheng ZP, Cheng KW, Zhu Q, Wang XC, Lin ZX, Wang M. Tyrosinase inhibitory constituents from the roots of *Morus nigra*: a structure-activity relationship study. *J Agric Food Chem* 2010; 58(9): 5368-5373.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
8. Lorenz P, Roychowdhury S, Engelmann M, Wolf G, Horn TF. Oxyresveratrol and resveratrol are potent antioxidants and free radical scavengers: effect on nitrosative and oxidative stress derived from microglial cells. *Nitric Oxide* 2003; 9(2): 64-76.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
9. Tan HY, Tse IM, Li ET, Wang M. Inhibitory effects of oxyresveratrol and cyanomaclurin on adipogenesis of 3T3-L1 cells. *J Funct Foods* 2015; 15: 207-216.
[CROSSREF](#)
10. Lee W, Ham J, Kwon HC, Yoon G, Bae GU, Kim YK, et al. Amorphastilbol exerts beneficial effects on glucose and lipid metabolism in mice consuming a high-fat-diet. *Int J Mol Med* 2015; 36(2): 527-533.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
11. Tan HY, Tse IM, Li ET, Wang M. Oxyresveratrol supplementation to C57bl/6 mice fed with a high-fat diet ameliorates obesity-associated symptoms. *Nutrients* 2017; 9(2): E147.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
12. Lee JH, Baek SY, Jang EJ, Ku SK, Kim KM, Ki SH, et al. Oxyresveratrol ameliorates nonalcoholic fatty liver disease by regulating hepatic lipogenesis and fatty acid oxidation through liver kinase B1 and AMP-activated protein kinase. *Chem Biol Interact* 2018; 289: 68-74.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
13. Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem* 1957; 226(1): 497-509.
[PUBMED](#)
14. Osman OS, Selway JL, Kępczyńska MA, Stocker CJ, O'Dowd JF, Cawthorne MA, et al. A novel automated image analysis method for accurate adipocyte quantification. *Adipocyte* 2013; 2(3): 160-164.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
15. Deng H, He X, Xu Y, Hu X. Oxyresveratrol from mulberry as a dihydrate. *Acta Crystallogr Sect E Struct Rep Online* 2012; 68(Pt 5): o1318-o1319.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)

16. Galindo I, Hernez B, Bern J, Fenoll J, Cenis JL, Escibano JM, et al. Comparative inhibitory activity of the stilbenes resveratrol and oxyresveratrol on African swine fever virus replication. *Antiviral Res* 2011; 91(1): 57-63.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
17. Chung KO, Kim BY, Lee MH, Kim YR, Chung HY, Park JH, et al. In-vitro and in-vivo anti-inflammatory effect of oxyresveratrol from *Morus alba* L. *J Pharm Pharmacol* 2003; 55(12): 1695-1700.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
18. Aftab N, Likhitwitayawuid K, Vieira A. Comparative antioxidant activities and synergism of resveratrol and oxyresveratrol. *Nat Prod Res* 2010; 24(18): 1726-1733.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
19. Park SY, Jin B, Shin JH, Adisakwattana S, Kwon O. Standardized *Mori ramulus* extract improves insulin secretion and insulin sensitivity in C57BLKS/J db/db mice and INS-1 cells. *Biomed Pharmacother* 2017; 92: 308-315.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
20. Ahn E, Lee J, Jeon YH, Choi SW, Kim E. Anti-diabetic effects of mulberry (*Morus alba* L.) branches and oxyresveratrol in streptozotocin-induced diabetic mice. *Food Sci Biotechnol* 2017; 26(6): 1693-1702.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
21. Park KT, Kim JK, Hwang D, Yoo Y, Lim YH. Inhibitory effect of mulberoside A and its derivatives on melanogenesis induced by ultraviolet B irradiation. *Food Chem Toxicol* 2011; 49(12): 3038-3045.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
22. Zheng ZP, Tan HY, Wang M. Tyrosinase inhibition constituents from the roots of *Morus australis*. *Fitoterapia* 2012; 83(6): 1008-1013.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
23. Chao J, Yu MS, Ho YS, Wang M, Chang RC. Dietary oxyresveratrol prevents parkinsonian mimetic 6-hydroxydopamine neurotoxicity. *Free Radic Biol Med* 2008; 45(7): 1019-1026.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
24. Andrabi SA, Spina MG, Lorenz P, Ebmeyer U, Wolf G, Horn TF. Oxyresveratrol (trans-2,3',4,5'-tetrahydroxystilbene) is neuroprotective and inhibits the apoptotic cell death in transient cerebral ischemia. *Brain Res* 2004; 1017(1-2): 98-107.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
25. 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): 1772-1780.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
26. Barnea M, Shamay A, Stark AH, Madar Z. A high-fat diet has a tissue-specific effect on adiponectin and related enzyme expression. *Obesity (Silver Spring)* 2006; 14(12): 2145-2153.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)