

모시풀 추출물이 지방세포분화와 혈관신생에 미치는 영향

정민유¹, 김성희¹, 최효경¹, 박재호^{1,2}, 황진택^{1,2*}

Effect of *Boehmeria nivea* on Adipocyte Differentiation and Angiogenesis

Min-Yu Chung¹, Sung Hee Kim¹, Hyo-Kyoung Choi¹, JaeHo Park^{1,2}, and Jin-Taek Hwang^{1,2*}

Received: 5 July 2016 / Revised: 27 July 2016 / Accepted: 8 August 2016

© 2016 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: *Boehmeria nivea* (L.) Gaud., a flowering plant, has been widely cultivated in Asian countries including Korea. It has been reported that *B. nivea* exhibits health beneficial effects for the prevention of inflammation, oxidative stress, and virus-related diseases. In this study, we evaluated the inhibitory effect of *B. nivea* on adipocyte differentiation and angiogenesis. DPPH radical scavenging activities of 70% ethanol extract of *B. nivea* (EBN) and water extract of *B. nivea* (WBN) were $90.8 \pm 1.1\%$ and $20 \pm 6.9\%$, respectively. EBN was also effective in the reduction of adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. We next examined the transcriptional activity of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR- γ), a pivotal target for anti-obesity. We found that treatment with rosiglitazone induced the transactivation of PPAR- γ . Under the same condition, 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ EBN reduced the transactivation of PPAR- γ in rosiglitazone-induced cells. These results demonstrate that EBN-inhibited adipocyte differentiation was accompanied by PPAR- γ inhibition. The study also tested whether EBN exhibits an anti-angiogenic effect by inhibiting tube formation in HUVECs. We found that EBN effectively inhibits tube formation, suggesting that EBN exhibited an anti-angiogenic effect. Taken together, *B. nivea* can be used as a func-

tional food for the prevention of obesity and angiogenesis-related diseases including cancer.

Keywords: *Boehmeria nivea*, 3T3-L1 adipocyte, Human umbilical vein endothelial cells, Peroxisome proliferator-activated receptor γ , Angiogenesis

1. INTRODUCTION

비만 (obesity)은 전 세계적으로 발병률이 급속히 증가하고 있으며 다양한 질병을 유발하기 때문에 이를 치료하기 위한 비용 증가는 국가 의료비 재정의 부담으로 작용하고 있다. 세포 측면에서 비만의 발병은 불규칙한 식습관과 과다한 영양소 섭취에 비해 현저히 낮은 에너지 소비량으로 인해 지방조직의 과도한 축적으로 야기된다. 지방세포는 인체 내에서 에너지 공급이 많을 경우 중성지방으로 저장하고, 운동 등의 에너지가 필요할 경우에 유리 지방산과 포도당으로 분해하여 이용한다 [1]. 잘 알려진 바와 같이 비만은 대사성증후군의 원인이 되며 특히 비만할수록 당뇨, 동맥경화, 염증관련 질환, 고혈압, 및 뇌졸중의 발병률이 증가된다고 알려져 있다 [1,2]. 이에 따라 비만을 예방하는 것이 다양한 대사성증후군을 예방할 수 있는 필수 요건이며 단순히 적게 먹는 것 뿐만 아니라 인체 내 식욕조절 호르몬, 지방합성 및 산화 그리고 열 생성 반응 등 다양한 메카니즘을 이해하고 이를 제어하는 것이 중요하다. 다양한 연구자들에 의해 비만을 예방할 수 있는 소재개발 연구가 활발히 진행되고 있는데 식욕억제 물질인 렙틴 (leptin), 식욕 촉진물질인 뉴로펩타이드 Y (neuropeptide Y) 길항제, 베타3 아드레날린 수용체 작용제 (β 3-adre-

¹한국식품연구원

¹Korea Food Research Institute, Seongnam 463-746, Korea
Tel: +82-31-780-9315, Fax: +82-31-709-9876
e-mail: jthwang@kfri.re.kr

²과학기술연합대학원

²Department of Food Biotechnology, Korea University of Science & Technology, Daejeon 305-333, Korea

nergic receptor agonist), 에너지 소비 촉진마커인 비커플링 단백질 (uncoupling protein, UCP), 지방세포 분화억제 마커인 피파감마 (peroxisome proliferator-activated receptor γ) 등을 타겟으로 많은 연구가 이뤄지고 있다 [3-5]. 이중 피파감마는 피파의 한 타입이며, 지방산 분화 시 발현이 증가하는 전사인자로 잘 알려져 있으며 다양한 지방산 분화에 관계되는 유전자의 발현을 증가시킨다 [5]. 따라서 오랜 기간 동안 피파감마를 억제하기 위한 항비만 약물들이 보고되어지고 있다. 그럼에도 불구하고 최근 개발된 약물들은 효과에 비해 두통, 오심 등의 부작용이 심각해 최근 오랫동안 섭취이력이 있어 비교적 안전성이 증명된 식품천연물로부터 항비만 천연소재를 발굴하고자 하고 있다 [6]. 실제로 최근 천연물 유래 항산화 물질들이 항비만 소재로서 개발되어지고 있으며 레스베라트롤 등은 강력한 항산화력과 더불어 항비만 효능을 나타낸다고 알려져 있다 [5].

한편 신생혈관생성 (angiogenesis)은 세포가 생존을 위하여 각 조직이나 장기로 신구의 혈관을 생성하는 과정으로, 상처 치유 등의 과정에서 관찰된다 [7]. 신규 혈관생성은 보통 상처 치료 등을 제외하면 억제되어 있고, 이는 신생혈관생성 조절인자단백질에 의해 조절된다 [7]. 그러나 이러한 균형이 깨지면 당뇨병 망막병증, 류마티스성 관절염, 염증, 종양의 발생을 유도하게 된다 [8]. 이에 신생혈관 형성을 예방할 수 있는 천연물 소재는 암 예방, 당뇨병 망막병증, 류마티스성 관절염, 염증 등의 다양한 질병 치료에 광범위하게 활용될 수 있다.

모시풀 [*Boehmeria nivea* (Linn.) Gaudich (Urticaceae)]은 주로 모시옷을 만들기 위해 재배되어 왔지만, 민간에서는 오랜 기간 동안 모시잎을 떡을 만들거나 나물로서 섭취해왔다 [9]. 또한 전통적으로 저장 식품의 곰팡이 억제에 사용되어져 왔으며, 상처치료에 사용되어져 왔다 [9,10]. 최근 본 연구진을 통해 모시풀은 세포모델에서 lipopolysaccharide (LPS)에 의해 유도되는 proinflammatory 사이토카인인 TNF- α 와 IL-6의 발현 억제가 p38과 c-Jun N-terminal kinase (JNK) 단백질 억제를 통해서 이루어짐이 밝혀졌다 [11]. 하지만, 아직까지 모시풀의 신생혈관생성의 억제활성과 관련하여서는 알려진 바가 없는 실정이다. 또한 급성 대장염 동물모델에서 염증을 억제하는 효능도 발견하였다 [12]. 그러나 모시풀의 지방세포 분화 억제 효능 및 혈관신생억제 효능에 대한 연구는 아직 없어, 본 연구를 통하여 이들 효능을 증명하고자 하였고, 이를 위하여 3T3-L1 지방세포 분화모델과 human umbilical vein endothelial cells (HUVECs)을 사용하였다.

2. MATERIALS AND METHOD

2.1. 재료 및 세포배양

3T3-L1세포, HEK293세포 및 HUVECs는 American Type Culture Collection (Manassas, VA, USA)에서 구입하였다. Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)과 fetal bovine serum

은 WelGene (Daegu, South Korea)으로부터 구입하였고, insulin, 3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX), 그리고 dexamethasone은 Sigma (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였다. Angiogenesis assay kit는 Millipore (Darmstadt, Germany)로부터 구입하였다. 3T3-L1세포 및 HUVECs는DMEM에 10% fetal bovine serum을 첨가하여 37°C, 5% CO₂인큐베이터에서 배양하였다.

2.2. 모시풀 추출물 제조

본 연구에 사용된 모시풀은 서천군청에서 공급받았고, 다음과 같이 추출하였다. 모시잎을 분쇄하여 분말 화하고 이에 물 또는 70% ethanol을 첨가하여 24시간 동안 25°C에서 shaking 하였고 원심분리기를 이용하여 8,000×g에서 30분간 침전물을 분리하였고, 상등액은 동결 건조하였다. 모시풀 추출물의 수율은 약 10.0% (w/w)였으며 멸균 증류수에 녹인 후 0.45- μ m Millipore filter에 필터 후 세포 실험에 사용하였다.

2.3. DPPH 라디칼 소거능 측정

모시풀추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 다음과 같이 측정하였다. 준비된 각각의 추출물은 850×g에서 20분간 원심분리한 후 상등액을 취하여 사용하였다. 100 μ L 물에 최종농도 0.025%의 모시풀 추출물 또는 표준품 L-ascorbic acid를 녹인 후 0.3 mM DPPH 용액 100 μ L를 첨가하여 실온에서 방치시켰다. 30분이 지난 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.4. 지방세포분화 및 Oil-Red O 염색

3T3-L1세포가 100% confluent해졌을 때 지방세포분화를 위하여 정상 배지를 제거 후 호르몬카테일 (10 mg/mL insulin, 0.5 mM dexamethasone and 0.5 mM 3-isobutyl-1-methylxanthine)이 포함된 배지로 24시간 동안 배양하였다. 그 후 정상 배지에 10 mg/mL insulin이 포함된 배지로 갈아주고 동시에 모시풀추출물을 농도별로 6일 동안 처리하였다. Oil red O 염색을 위해서는 세포를 phosphate-buffered saline (PBS)에 3.7% formaldehyde가 포함된 용액으로 고정시킨 후 Oil Red O dye로 1시간 동안 인큐베이션 하였다. 그 후 지방구 (lipid droplets)는 이소프로필 알코올로 용해한 후 510 nm 파장에서 흡광도를 측정하여 정량화 하였다.

2.5. 혈관신생억제효능 평가

Extracellular matrix (ECM) gel을 96-well 배양접시 (50 μ L/well)에 첨가하여 1시간 동안 중합 (polymerization)시켰다. 그 후 HUVECs (3×10⁴ cells, 200 μ L/well)을 모시풀 추출물과 함께 또는 단독으로 ECM gel이 포함된 96-well plate에 seed하였다. 20시간이 지난 후 형태학적 변화는 위상차 현미경 (phase-contrast microscope; OLYMPUS, Tokyo, Japan)을 이용하여 관찰하였다. 혈관 형성 (tube formation)의 진행 정도는 Image-ProPlus v 6.0 (Media Cybernetics, Inc., Bethesda, MD, USA)로 랜덤하게 선택된 혈관 (tube)의 길이를 측정하여 정량화 하였다.

2.6. 피파감마 전사활성 평가

HEK293세포에 발현 플라스미드 (expression plasmids; 피파감마, RXR α , β -galactosidase)와 루시페라제 리포터 플라스미드 (luciferase reporter plasmid: 피파 response element)를 형질주입 (transfection) 하였다. 24시간이 지난 후, 세포에 모시풀 추출물을 rosiglitazone 20 μ M과 함께 처리하였다. 그 후 세포를 lysis buffer로 용해하고 luciferase assay reagent (Promega, Madison, WI, USA)와 함께 섞은 후 luciferase activity를 ELISA를 통해서 측정하였다.

2.7. 통계처리

모든 값은 적어도 세 차례의 독립적인 실험으로 진행하였고, 평균 \pm 표준편차로 나타내었다. 통계처리는 SPSS program (Ver. 20)을 이용하고, non-paired t-test를 시행하였다. 확률적 유의성은 0.05 이하로 간주하였다.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. 모시풀 추출물의 DPPH 라디칼 소거능

모시풀의 추출조건에 따른 라디칼 소거능을 평가하기 위하여 DPPH법을 사용하였고, 그 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 소거능 측정결과 표준품으로 사용한 ascorbic acid는 90.1 \pm 1.1%로 나타났고, 모시풀 주정 추출물 (ethanol extract of *B. nivea*; EBN)은 90.8 \pm 1.1%, 모시풀 물 추출물 (water extract of *B. nivea*; WBN)은 20 \pm 6.9%로 나타났다. 따라서 EBN이 WBN보다 항산화 소거능이 탁월한 것으로 밝혀졌고, 항산화효능은 항비만 효능을 포함한 세포의 다양한 생리활성과 관련되어 있을 가능성이 높으므로 [5], 추후 실험에서는 EBN을 사용하였다.

3.2. 지방세포 분화모델에서 EBN의 억제효능

모시풀 주정추출물의 지방억제 효능을 평가하기 위하여 3T3-L1지방세포 분화모델을 사용하였고, EBN을 6일 처리 후에 지질축적정도를 Oil-red O 염색법을 통해 평가하였다. Fig. 2A, 2B에서 보는 바와 같이 대조군에 비해 분화를 유도한 그룹 (differentiation induction 0)에서는 약 5배 정도 지질의 축적이 증가하는 것을 관찰할 수 있었다. 이때 EBN을 각각 200, 400, 800 μ g/mL로 처리한 결과 분화를 유도한 그룹 (differentiation induction 0)에 비해 지질의 축적을 800 μ g/mL EBN 처리 시 유의하게 억제하는 것을 관찰할 수 있었다. 이들의 결과로 모시풀 추출물은 세포 배양 계에서 지방세포의 분화를 효과적으로 억제할 수 있음을 알 수 있었고, 이로서 모시풀 추출물은 항비만 효능을 나타낼 수 있음을 알게 되었다. 지금까지 밝혀진 모시풀의 효능은 항염증, 항암, 항당뇨 등의 효능이 있고, 강력한 항산화력 또한 나타내는 것으로 알려져 있다 [9-13]. 이로서 모시풀의 다양한 생리활성에 대한 기대를 갖게 되었는데 이는 모시풀 자체의 효능에 더하여 모시풀 성분 속에 다양한 항산화 물질이 함유되어 있는 것이 보고되었

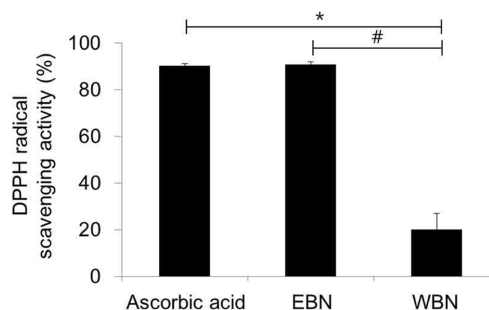


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of ascorbic acid, ethanol extract of *B. nivea* (EBN) and water extract of *B. nivea* (WBN). Values are presented as mean \pm SD. * p <0.05 vs. ascorbic acid; # p <0.05 vs. EBN.

기 때문이다 [10-13]. 특히 최근 모시풀 속에는 페놀성분이 다량 함유되어 있는 것으로 밝혀졌으며 이 가운데 대표적인 성분으로는 chlorogenic acid, rutin, luteolin-7-glucoside, naringin, hesperidin, tangeretin 등이 보고되었다 [10-13]. 이들 중 chlorogenic acid은 고지방 식이 (high fat diet)에 의해 유도된 체중의 증가를 효과적으로 감소시키는 것이 보고되었고, rutin 또한 지방세포의 분화억제와 마우스의 체중증가를 억제하는 것으로 보고되었다 [14,15]. 흥미롭게도 rutin은 이러한 항비만 효능에 있어서 피파감마와 CCAAT/enhancer binding protein-alpha (C/EBP α)의 발현을 억제하는 것으로 보고되었다 [15]. 또 다른 연구에서는 naringin이 쥐 (rat)에서 체중증가, 인슐린저항성 및 혈압 등을 낮추는 효능이 있는 것을 보고하였다 [16]. 그러므로 모시풀의 항비만 효능은 이러한 성분들의 작용이 중요할 것으로 사료된다. 추후 연구에서 이러한 성분들이 세포 내 비만 관련 유전자와 어떻게 결합하거나, 영향을 주는지, 그리고 중요한 관련 바이오파크는 어떤 것이 있는지에 대한 연구가 뒤따라야 할 것이다. 다만 본 연구는 모시풀 추출물이 3T3-L1세포 배양 계에서 항비만 효능이 있음을 처음으로 밝힌 점이 중요한 시사점이 된다.

3.3. 피파감마 전사활성에 있어서 EBN의 억제효능

지방세포의 분화 시 발현되는 전사인자 중에 피파감마 signaling은 매우 중요하며 이 전사인자가 활성화되면 비만에 관련되는 유전자의 발현 또한 증가되는 것으로 보고되어 있다 [5]. 따라서 본 연구에서는 다음으로 EBN의 지방세포 분화능이 피파감마 전사활성의 억제를 수반하는 지 관찰하였다. 이를 위하여 HEK293세포에 루시페라제 표지된 피파감마 관련 DNA 플라스미드 (plasmid)를 형질주입 (transfection)하였고, 피파감마 전사활성을 luciferase activity로 측정하였다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 피파감마 전사활성은 대조군에 비해 로지글리타존 (Rosi)을 20 μ M 처리 시 3배 증가하는 것을 관찰할 수 있었다. 이때 EBN을 800 μ g/mL 처리 시 로지글리타존 (Rosi)에 의해 증가한 피파감마 전사활성을 유의하게 감소시키는 것을 관찰할 수 있었다. 이들의 결과로 EBN의 지방 억

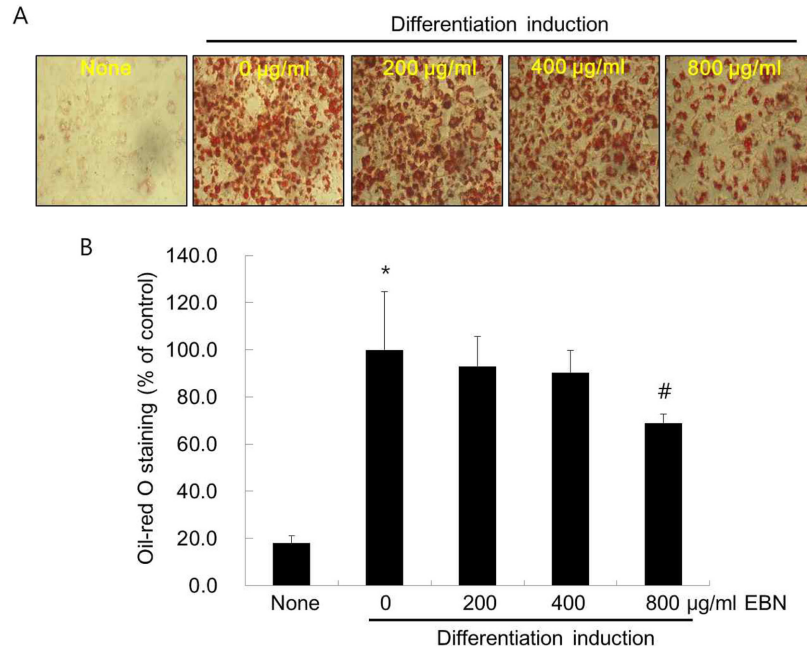


Fig. 2. Effects of ethanol extract of *Boehmeria nivea* (EBN) on adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. Cells were treated with differentiation medium (10 µg/mL insulin, 0.5 µM dexamethasone and 0.5 µM IBMX) for 24 h, and then the medium was changed to 10 µM/mL insulin containing normal medium (day 0), and then the cells were exposed to EBN in different concentrations for 6 days. Lipid accumulation was measured by Oil Red O staining and morphological changes were observed (A). Quantification data support the morphological changes indicating that treatment of EBN at 800 µg/mL significantly inhibited lipid accumulation in 3T3-L1 preadipocytes (B). Data are expressed as mean±SD. * $p < 0.05$ vs. None; # $p < 0.05$ vs. induction (0 µg/mL).

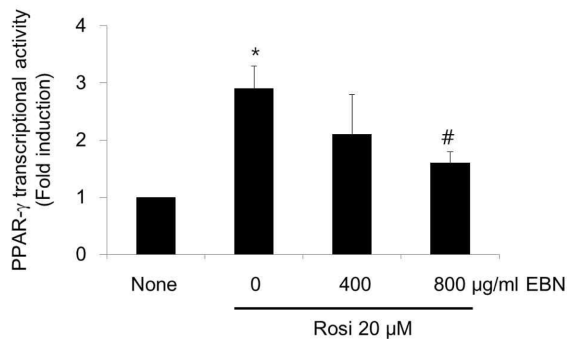


Fig. 3. Effects of EBN on PPAR-γ transcriptional activity in HEK 293 cells. Cells were co-transfected with PPAR-γ expression vector and the PPRE-luc vector for 24 h, and then the cells were treated with EBN in the presence of rosiglitazone 20 µM (Rosi 20 µM). The activity was measured with a luciferase assay kit (Promega). Data are expressed as mean±SD. * $p < 0.05$ vs. None; # $p < 0.05$ vs. Rosi 20 µM alone.

제 효능은 피파감마 전사활성의 억제를 통해서 이루어지고 있음을 예측할 수 있었다. 피파감마는 잘 알려진 전사인자로서 지방분화의 초기단계에 C/EBPα와 함께 발현이 증가되게 된다 [5]. 이들 단백질이 DNA에 결합하게 되고 이로서 다양한 지방분화 관련 단백질들의 발현을 증가시키게 된다. 이 때

문에 다양한 피파감마 길항제는 비만을 효과적으로 억제할 수 있는 약물로 개발되어지고 있다. 최근 연구에 의하면 식물 추출물에 포함되어 있는 항산화 물질인 폴리페놀들이 피파감마의 길항제로서 작용하고 있으며 이들은 항비만 효능을 나타낸다고 보고되고 있다. 예를 들어, 마테 잎에는 페놀성 화합물인 퀴세틴, 루틴, 클로로겐산, 카페인산 등이 풍부하게 들어있는데, 마테 잎 속 주요한 성분인 루틴, 클로로겐산 및 마테 잎 추출물은 모두 3T3-L1 지방전구세포에서 중성지방의 농도 감소 및 피파감마 억제 효능을 보인 연구결과가 있다 [17]. 또한, 카카오 폴리페놀 추출물의 3T3-L1 지방전구세포 분화 억제는 피파감마와 CEBPα의 단백질 억제를 통하여 이루어지며, 고지방 식이 모델에서 카카오 폴리페놀 추출물은 항비만의 효능을 나타냄이 밝혀진 바 있다 [18]. 종합적으로, 페놀성 화합물의 항비만 기능성은 여러 작용 기전 중 피파감마 유전자 및 단백질 발현 억제를 통하여 이루어짐을 알 수 있다.

3.4. EBN이 HUVECs의 tube formation에 미치는 영향

마지막으로 모시풀 추출물 (EBN)이 HUVECs에서 혈관형성의 지표인 tube formation의 형성을 억제할 수 있는지를 평가 하였다. HUVECs을 이용한 tube formation assay는 in vitro에서 혈관형성억제 효능 천연물 또는 성분을 발굴 하는데 있어 유용하게 사용되어지고 있다. Fig. 4A, 4B에서 보는 바와 같

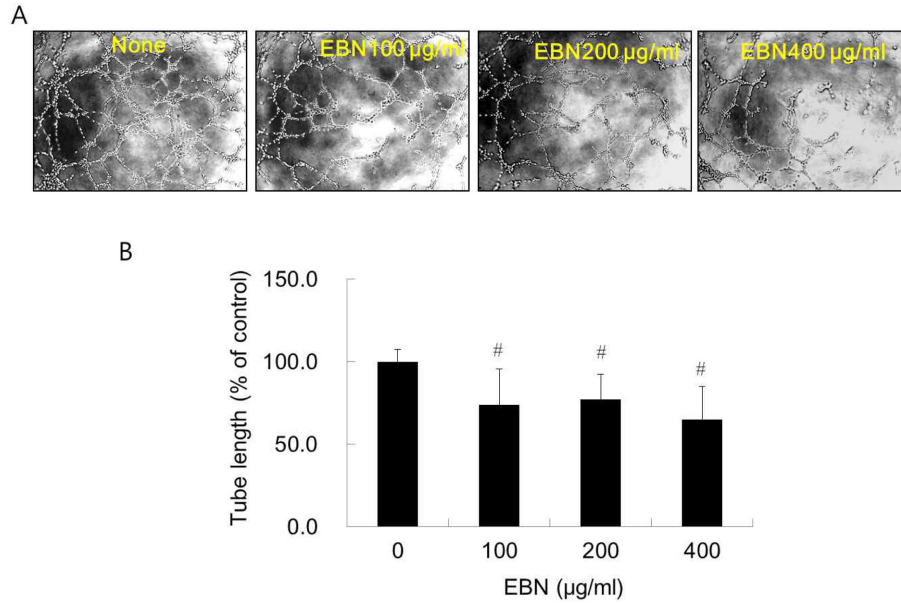


Fig. 4. Effect of ethanol extract of *Boehmeria nivea* (EBN) on tube formation in human umbilical vein endothelial cells (HUVECs). Cells were grown in Matrigel-coated 96-well plates with EBN in different concentrations for 20 h, and then tube-like networks were imaged (A) and measured relative quantification of tube length using pro-plus 6.0 programs (B). Data are representative of three independent experiments. Data are expressed as mean±SD. **p*<0.05 vs. control (0).

이 아무것도 처리하지 않은 대조군은 혈관 (tube) 모양으로 생긴 세포가 잘 연결되어 있는 것을 관찰할 수 있었다. 이때 EBN을 각각 200, 400, 800 µg/mL 농도 처리 시 대조군에 비해 tube모양으로 생긴 세포의 연결이 끊어져 있는 것을 관찰할 수 있었고, 이들은 혈관형성 억제에 역할을 하는 것으로 결론지었다. 이러한 결과로 모시풀 추출물은 혈관의 신생을 억제하는 항 혈관형성 효과 (anti-angiogenic effect)를 나타내고, 이는 혈관신생이 필수적인 종양 같은 질환을 예방할 수 있을 것으로 판단된다.

4. CONCLUSION

본 연구에서는 한국을 포함하는 아시아 지역에서 주로 섭취해 온 모시풀을 주정 (EBN) 또는 물 (WBN)로 추출하고, 우선 이들 추출물의 항산화 활성을 측정하여 EBN의 항산화 활성이 우수한 것을 찾아내었다. 이후 EBN을 사용하여 항비만 효능 및 혈관신생억제 효능을 알아본 결과 EBN은 지방세포분화 모델에서 호르몬카테일에 의해 유도된 지방세포의 분화를 효과적으로 억제하는 것을 관찰하였고, 이러한 효과는 지방세포분화 시 활성과 발현이 증가하는 피파감마의 활성억제를 통해 이루어짐을 알 수 있었다. 더하여, EBN은 혈관신생에 있어 필수적인 HUVECs의 tube형성을 효과적으로 억제할 수 있음도 알아내었다. 이러한 결과로 모시풀 추출물은 비만을 억제할 수 있고, 혈관의 신생을 억제하고, 혈관신생이 필수적인 악성종양 같은 질환을 예방할 수 있을 것으로 판단

된다.

Acknowledgements

이 연구는 한국식품연구원 사업연구비의 지원을 받아 수행한 연구결과로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Frühbeck, G, L. Méndez-Giménez, J. A. Fernández-Formoso, S. Fernández, and A. Rodríguez (2014) Regulation of adipocyte lipolysis. *Nutr. Res. Rev.* 27: 63-93.
- Lucke-Wold, B. P., A. F. Logsdon, R. C. Turner, C. L. Rosen, and J. D. Huber (2014) Aging, the metabolic syndrome, and ischemic stroke: redefining the approach for studying the blood-brain barrier in a complex neurological disease. *Adv. Pharmacol.* 71: 411-449.
- Mancini, M. C. and A. Halpern (2006) Investigational therapies in the treatment of obesity. *Expert Opin. Investig. Drugs* 15: 897-915.
- Mantzoros, C. S., D. Qu, R. C. Frederich, V. S. Susulic, B. B. Lowell, E. Maratos-Flier, and J. S. Flier (1996) Activation of beta(3) adrenergic receptors suppresses leptin expression and mediates a leptin-independent inhibition of food intake in mice. *Diabetes* 45: 909-914.
- Wang, S., N. Moustaid-Moussa, L. Chen, H. Mo, A. Shastri, R. Su, P. Bapat, I. Kwun, and C. L. Shen (2014) Novel insights of dietary polyphenols and obesity. *J. Nutr. Biochem.* 25: 1-18.

6. Krentz, A. J., K. Fujioka, and M. Hompesch (2016) Evolution of pharmacological obesity treatments: Focus on adverse side-effect profiles. *Diabetes Obes. Metab.* 18: 558-570.
7. Li, B. and R. Xiu (2013) Angiogenesis: from molecular mechanisms to translational implications. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 54: 345-355.
8. Albini, A., S. Indraccolo, D. M. Noonan, and U. Pfeffer (2010) Functional genomics of endothelial cells treated with anti-angiogenic or angiopreventive drugs. *Clin. Exp. Metastasis* 27: 419-439.
9. Wei, J., L. Lin, X. Su, S. Qin, Q. Xu, Z. Tang, Y. Deng, Y. Zhou, and S. He (2014) Anti-hepatitis B virus activity of *Boehmeria nivea* leaf extracts in human HepG2.2.15 cells. *Biomed. Rep.* 2:147-151.
10. Kandimalla, R., S. Kalita, B. Choudhury, D. Devi, D. Kalita, K. Kalita, S. Dash, and J. Kotoky (2016) Fiber from ramie plant (*Boehmeria nivea*): A novel suture biomaterial. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 62: 816-822.
11. Sung, M. J., M. Davaatseren, S. H. Kim, M. J. Kim, and J. T. Hwang (2013) *Boehmeria nivea* attenuates LPS-induced inflammatory markers by inhibiting p38 and JNK phosphorylations in RAW264.7 macrophages. *Pharm. Biol.* 51: 1131-1136.
12. Shin, E. J., M. J. Sung, H. J. Yang, M. S. Kim, and J. T. Hwang (2014) *Boehmeria nivea* attenuates the development of dextran sulfate sodium-induced experimental colitis. *Mediators Inflamm.* 2014: 231942.
13. Sancheti, S., S. Sancheti, and S. Y. Seo (2010) Evaluation of anti-glycosidase and anticholinesterase activities of *Boehmeria nivea*. *Pak. J. Pharm. Sci.* 23: 236-240.
14. Ghadieh, H. E., Z. N. Smiley, M. W. Kopfman, M. G. Najjar, M. J. Hake, and S. M. Najjar (2015) Chlorogenic acid/chromium supplement rescues diet-induced insulin resistance and obesity in mice. *Nutr. Metab.* 12: 19.
15. Choi, I., Y. Park, H. Choi, E. H. Lee (2006) Anti-adipogenic activity of rutin in 3T3-L1 cells and mice fed with high-fat diet. *Biofactors* 26: 273-281.
16. Alam, M. A., K. Kauter, and L. Brown (2013) Naringin improves diet-induced cardiovascular dysfunction and obesity in high carbohydrate, high fat diet-fed rats. *Nutrients* 5: 637-650.
17. Gosmann, G., A. G. Barlette, T. Dhameer, D. P. Arçari, J. C. Santos, E. R. de Camargo, S. Acedo, A. Gambero, S. C. Gnoatto, and M. L. Ribeiro (2012) Phenolic compounds from maté (*Ilex paraguariensis*) inhibit adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes. *Plant Foods Hum. Nutr.* 67: 156-161.
18. Min, S. Y., H. Yang, S. G. Seo, S. H. Shin, M. Y. Chung, J. Kim, S. J. Lee, H. J. Lee, and K. W. Lee (2013) Cocoa polyphenols suppress adipogenesis *in vitro* and obesity *in vivo* by targeting insulin receptor. *Int. J. Obes.* 37: 584-592.