

와송이 고지방 식이로 유도된 비만 쥐의 간내 지질 및 항산화 대사에 미치는 영향

이형선¹, 김수환^{2*}

¹충원대학교 임상병리학과

²김천대학교 임상병리학과

Received: August 20, 2019 / Revised: October 15, 2019 / Accepted: October 16, 2019

Effects of Water Extract from *Orostachys japonicus* on Lipid and Antioxidant Metabolism in the Liver of Obese Mice

Hyeong-Seon Lee¹ and Soo-Hwan Kim^{2*}

¹Department of Biomedical Laboratory Science, Jungwon University, Goesan 28024, Republic of Korea

²Department of Biomedical Laboratory Science, Gimcheon University, Gimcheon 39528, Republic of Korea

The purpose of this study was to investigate the changes in the liver lipid and antioxidant metabolism in obese rats following ingestion of *Orostachys japonicus* (OJ) hot water extract. The rats were fed a high fat diet for 8 weeks to induce obesity. In the experimental group, 2.5% or 5% OJ hot water extract was added to the diets for 6 weeks. To determine the changes in the liver lipid and antioxidant metabolism in obese rats, the livers were collected and weighed, lipid content was measured, and antioxidant enzyme activity was determined. A significant decrease in liver weight was observed in the group fed with OJ hot water extracts and decreased lipid accumulation was observed in the morphological observation of liver tissue. Total cholesterol and triglyceride contents were also decreased. Both OJ extracts significantly decreased 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical and intracellular reactive oxygen species levels. Further, the levels of the antioxidant enzymes superoxide dismutase and catalase were significantly increased in rats treated with OJ extracts. These results suggest that the intake of OJ hot water extracts may improve liver lipid metabolism by activating antioxidant enzymes.

Keywords: *Orostachys japonicus*, lipid metabolism, antioxidant metabolism, obesity induced rats, liver

서론

현대인은 건강한 삶을 살기 위해 고혈압, 당뇨, 비만, 암 등의 만성 성인 질병에 대한 관심이 점점 증가하고 있다[1]. 규칙적인 운동과 올바른 식생활의 중요성과 더불어 여러 가지 식물로부터 유용성 있는 식물 화학물질(phytochemicals)을 건강 보조 식품으로 활용하고자 한다[2]. 와송(*Orostachys japonicus*)은 기와솔, 바위솔 등으로 불리는 다년생 초본식물로 높은 바위나 기와지붕에서 잘 자라는 것으로 알려져 있다[3]. Fatty acid ester류, flavonoid류, triterpenoid류, sterol류

및 aromatic acid류 등의 다양한 식물 화학물질을 가지고 있는 것으로 밝혀져 있다. triterpenoid류인 friedelin, epifriedianol, glutanone, glutinol과 sterol 계열물질인 β -sitosterol, campesterol 등과 aromatic acid인 4-hydroxy benzoic acid, 3,4-dihydroxybenzoic acid와 tannin 계열 물질인 gallic acid와 flavonoid인 kaemferol, quercetin 등이 보고되었다[4, 5], 면역증강, 항산화, 항균, 항고지혈증, 항당뇨, 항암, 항염증 등의 다양한 생리활성 효과가 입증되었다[6–12]. 다양한 생리활성 평가를 근거로 와송이 비만유발 쥐의 간내 지질 및 항산화 대사에 관련한 연구에 유용성이 있을 것으로 기대하였다.

간은 인체내에서 다양한 유해물질을 처리하는 기관으로 해독 작용을 담당한다. 간은 다양한 스트레스 요인에 의해 형성된 Reactive Oxygen Species (ROS)에 의해 손상된다. ROS에 의한 스트레스는 지질, 단백질 및 DNA의 변화를 일

*Corresponding author

Tel: +82-54-420-4159, Fax: +82-54-420-4461

E-mail: phyksh@gimcheon.ac.kr

© 2019, The Korean Society for Microbiology and Biotechnology

으며 간세포의 손상을 야기한다 [13]. 특히, 비만으로 인해 유발되는 산화적 스트레스는 항산화 대사에 영향을 미치는 요인 중 하나로 알려져 있다. 몇몇 연구에서 비만은 항산화제의 섭취로 조절될 수 있다는 내용이 보고되고 있다[14, 15]. 와송의 열수 및 에탄올 추출물을 이용한 항산화 활성에 대해 평가한 논문이 있다. 대부분의 논문은 *in vitro* 상에서 와송이 가진 물질 자체의 라디칼 소거능을 확인하였고, 항산화능을 가지는 총 폴리페놀 성분의 분석에 주력하였다[16, 17]. 또한 Lee 등[7]에 의한 연구에서는 대식세포주의 염증환경에서 와송의 항산화 활성 효과를 확인하는 연구 결과가 있으나, 동물모델에서의 비만과 항산화에 대한 연관성을 연구하고 고찰한 논문은 전무하다. 다양한 생리활성이 알려진 와송을 열수 추출하여 장기간 식이에 섞어도 섭취에 무리가 없도록 제조하였다. 따라서 본 연구에서는 고지방식이로 비만이 유도된 흰쥐를 활용하여 와송 추출물을 고지방 식이와 섭취시 간내 지질 대사와 항산화 효소 활성에 어떠한 영향을 미치는지 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

실험재료

와송 농장에서 재배하여 건조한 와송을 경남 밀양에서 직접 구입하였다. 건와송을 갈아서 가루로 만들고 증류수에 침지하여 95°C에서 3회 반복 추출을 실시하여 상층액만을 여과(Whatman NO. 1)하였다. 여과한 열수 추출물은 회전식 감압농축기(Laborata 4000, Germany)로 최대한 농축하고 동결건조기를 이용하여 완전히 건조시켰다. 추출한 와송 분말을 2.5%, 5%로 고지방 식이에 혼합하여 사용하였다.

실험동물 사육

생후 4주령의 수컷 ICR종 마우스를 구입하여 1주일 동안 실험환경에 적응시킨 후 5마리씩 무작위로 4개의 군으로 분류하였다. 음용수와 실험식은 자유롭게 섭취하도록 공급하였고, AIN-95 기본 식이를 변형하여 정상식이(10% fat kcal)와 고지방식이(60% fat kcal)를 구입하여 사용하였다. 정상군을 제외하고 나머지 군은 8주 동안 고지방식을 공급하여 비만 상태로 유도하였으며, 9주에서 14주까지 고지방 식이에 와송 열수 추출물이 2.5%, 5% 첨가된 식이를 급식하였다. 실험은 오송 첨단의료산업진흥재단 실험동물센터에서 동물실험윤리위원회의 승인을 받아 실시되었다(KBIO-IACUC-2016-061).

장기 채취 및 무게 측정

실험 종료 12시간 전부터 절식을 시행하여 공복을 유도한 흰쥐를 희생한 후 복부를 개복하고 장기와 지방 조직을 적

출하여 차가운 생리식염수로 3회 이상 세척하였다. 여과지로 물기를 닦아 장기의 무게를 측정하였다. 장기 중 간조직은 일부 -80°C의 냉동고에 보관하고 일부는 H&E 염색을 위해 중성 포르말린에 고정하였다.

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거능 측정

와송 추출물의 DPPH 라디칼 소거능을 확인하기 위하여 Lee 등의 방법을 이용하였다[15]. 메탄올로 제조한 160 mM의 DPPH 용액 100 µl와 농도별(0, 25, 50, 100 µg/ml) 시료 40 µl를 96 well에 넣어 실온의 암실에서 30분간 반응시킨다. 반응이 끝난 용액을 517 nm에서 흡광도를 측정하였고, 대조군으로 비타민 C를 이용하여 아래의 식으로 계산하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} \\ = (1 - \text{Abs}_{\text{sample}} / \text{Abs}_{\text{control}}) \times 100$$

Intracellular ROS 측정

세포 손상을 유발하는 ROS를 측정하기 위해 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCF-DA) 형광시약을 이용하였다. HepG2 세포를 2.5×10^5 cell/ml로 96 black well plate에 배양하고 starvation 후 DCF-DA (20 µM) 시약으로 1시간동안 전처리 하였다. 형광시약을 제거하고 PBS로 2번 씻어내고 와송 추출물을 2시간동안 농도별로 전처리하고 과산화수소(1 mM)를 1시간 처리 후 485/20 nm와 528/20 nm에서 형광값을 측정하였다.

간 조직의 지질함량 측정

간 조직의 총 콜레스테롤 함량은 Total cholesterol and cholesteryl ester colorimetric/fluorometric assay kit (BioVision Inc., Korea)를 구입하여 측정하였다. 간조직 10 mg을 homogenizer로 분쇄하여 15,000 ×g로 10분간 원심분리하여 상층액을 얻어 시료로 사용하였다. 96-well에 시료 50 µl와 cholesterol reaction mix 50 µl를 반응시켜 570 nm에서 흡광도를 측정하여 결과를 얻었다. 중성지방 측정은 Triglyceride colorimetric assay kit (Cayman, USA)를 이용하여 측정하였다. 간조직 200 mg을 분쇄하여 10,000 ×g로 10분간 원심분리하여 시료로 사용하였다. 96-well에 시료 10 µl와 Enzyme mixture 150 µl를 반응시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

간 조직의 항산화 효소 활성 측정

SOD 활성은 SOD assay kit-WST (Japan)을 구입하여 확인하였다. 간조직 1 g을 0.1 M Tris-HCl (pH 7.4) buffer에

넣어 homogenizer로 분쇄하여 균질화하고 14,000 ×g로 30분 간 원심분리하여 얻은 상층액을 시료로 사용하였다. 96-well에 시료 20 µl, WST working solution 200 µl, dilution buffer 20 µl, enzyme working solution 20 µl를 넣고 반응시켜 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. CAT 활성은 catalase activity colorimetric assay kit (BioVision Inc.)를 이용하여 확인하였다. 간조직 0.1 g에 assay buffer를 넣어 homogenizer로 분쇄하여 균질화하고 10,000 ×g로 15분 동안 원심분리하여 상층액을 이용하여 측정하였다. 96-well에 상층액에 60 µl, assay buffer 18 µl, 1 mM H₂O₂ 12 µl를 넣고 섞어 25°C에서 30분간 반응시킨다. stop solution 10 µl를 넣고 마지막으로 developer mix 50 µl를 넣은 후 25°C에서 10분간 반응시킨 후 570 nm에서 흡광도를 측정하여 결과를 분석하였다.

통계처리

실험 결과는 평균 ± 표준오차를 구하여 정리하였고, 그룹 간 유의성 ($p < 0.05$) Student's t-test로 확인하였다.

결과 및 고찰

장기 무게

실험 동물로부터 적출한 간, 위, 신장, 폐, 심장 및 비장의 무게는 Table 1에서 제시하였다. 심장과 위를 제외한 실험 장기의 무게는 고지방 식이 투여군에 비해 와송 열수 추출물을 섭취한 그룹에서 농도 의존적으로 감소하는 효과를 확인할 수 있었다. 특히, 간과 폐는 고농도의 와송 추출물 섭취군(HFD-OJH)에서 고지방 식이군 대비 통계적으로 유의성 있는 감소 결과를 나타내었다. 지방 식이로 다량의 지질 성분이 축적되면 간의 중량비가 증가되는 것으로 알려져 있

다. 이러한 결과는 Lee 등[14]이 실험한 비파잎 추출물의 Lee 등[15]이 실험한 쑥부쟁이 추출물의 항비만 효과를 확인한 실험에서도 동일하게 확인할 수 있었다. 와송 추출물 투여로 간의 무게 감소는 지질성분의 축적 감소로 이어질 것으로 생각된다.

비만 모델의 간조직의 형태학적 관찰

와송 추출물의 섭취가 비만쥐의 지질대사에 어떠한 영향을 미치는지 확인하기 위하여 간 조직을 적출하여 H&E 염색을 진행하여 관찰하였다(Fig. 1). 실험 결과 정상식이군 대비 고지방식이군의 간 조직에서 다수의 lipid droplet이 광범위하게 깔려 있는 양상을 확인할 수 있다. 저농도의 와송 추출물 섭취군(HFD-OJL)에서는 lipid droplet이 전반적으로 감소한 양상을 보이며, 특히 고농도 와송 추출물 섭취군(HFD-OJH)에서는 지질이 거의 관찰되지 않아 정상군과 비슷하게 회복된 것으로 생각된다. 이러한 결과는 고지방 식이로 유도된 지방간에서 와송 추출물의 섭취로 간조직 내 지방축적이 억제되는 것으로 판단된다.

비만 모델의 간조직내 지질함량 변화

비만 환자는 이상지혈증과 같은 대표적인 질환이 나타난다. 혈중 비정상적으로 증가된 지질은 간에 축적되어 지방간의 원인이 될 수 있다[18]. 고지방 식이의 유도로 지질이 축적된 간조직의 총 콜레스테롤과 중성지방의 함량은 정상군 대비 매우 증가하였다(Fig. 2). 반면 와송 추출물 섭취군은 농도 의존적으로 수치가 감소하여 유의적인 차이를 보였다. 와송 추출물이 증가된 총 콜레스테롤과 중성지방의 함량을 감소시킨 것으로 보아, 고지방 식이로 인해 증가된 간의 지질 축적을 억제시켜 지질대사를 촉진시킨 것으로 짐작할 수 있었다.

Table 1. Effect of *O. japonicus* extract on organs weight change in high fat diet-fed mice.

Organs	N ¹⁾	HFD ²⁾	HFD-OJL ³⁾	HFD-OJH ⁴⁾
Liver	1.56 ± 0.12**	2.41 ± 0.38	2.36 ± 0.46	1.92 ± 0.17*
Stomach	0.57 ± 0.07*	0.78 ± 0.21	0.84 ± 0.15	0.78 ± 0.24
Kidney	0.66 ± 0.04	0.71 ± 0.08	0.68 ± 0.11	0.63 ± 0.07
Lung	0.30 ± 0.06	0.31 ± 0.05	0.26 ± 0.04*	0.26 ± 0.02*
Heart	0.22 ± 0.02	0.23 ± 0.02	0.22 ± 0.02	0.23 ± 0.02
Spleen	0.14 ± 0.03*	0.22 ± 0.08	0.17 ± 0.06	0.16 ± 0.04

¹⁾ AIN-93 modified diet with 4% fat (10% fat calories).

²⁾ AIN-93 modified diet with 35% fat (60% fat calories).

³⁾ HFD (High Fat Diet) + 2.5% of *O. japonicus* extract powder.

⁴⁾ HFD (High Fat Diet) + 5% of *O. japonicus* extract powder.

Values are mean ± SD of six mice per group.

* $p < 0.05$ compared with the HDF group.

** $p < 0.01$ compared with the HDF group.

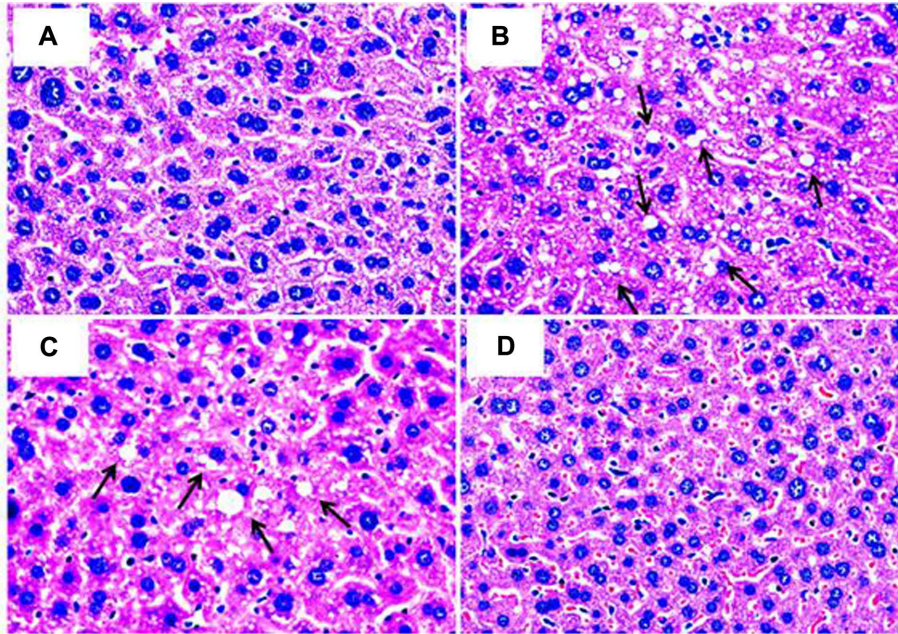


Fig. 1. Histological change of liver fat in mice. Hematoxylin and eosin stained section of liver tissue (x200). (A) Normal, (B) HFD (High Fat Diet), (C) HFD (High Fat Diet) + 2.5% of *O. japonicus* extract powder, (D) HFD (High Fat Diet) + 5% of *O. japonicus* extract powder.

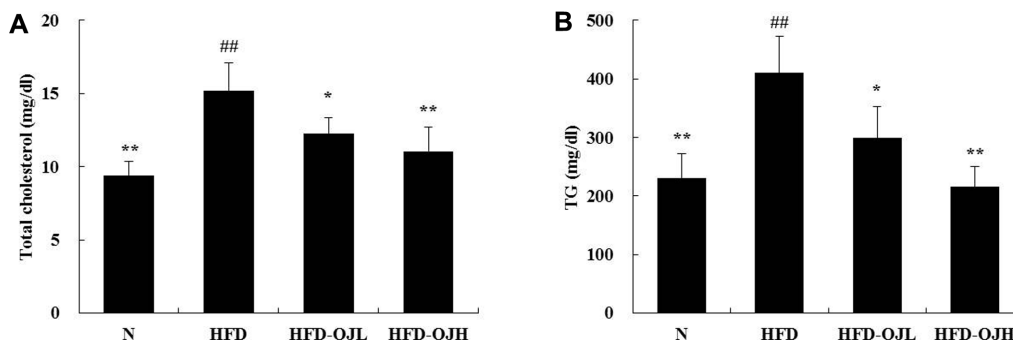


Fig. 2. Total cholesterol (A) and Triglyceride (B) contents of liver homogenate in mice. (N; Normal, HFD; High Fat Diet, HFD-OJL; High Fat Diet + 2.5% of *O. japonicus* extract powder, HFD-OJH; High Fat Diet + 5% of *O. japonicus* extract powder). Values are mean ± SD of six mice per group.

**p* < 0.05 compared with the HFD group.
 ***p* < 0.01 compared with the HFD group.
 #*p* < 0.05 compared with the N group.
 ##*p* < 0.01 compared with the N group.

와송 추출물의 항산화 활성

와송의 항산화 활성을 확인하기 위해 DPPH 라디칼 소거능과 ROS 생성 저해능을 측정하였다. 여러 가지 자극에 의해 생성된 free radical은 세포 손상 및 노화를 유도하는 능력이 있다. 이러한 free radical은 항산화제에 의해 환원되어 세포를 보호하는 효과를 가져온다[19]. 따라서 와송 추출물의 DPPH 라디칼 소거능이 있는지 확인한 결과 농도 의존적으로 라디칼 소거능의 활성이 증가하는 것을 확인할 수 있

었다(Fig. 3A). ROS의 종류는 superoxide (O₂^{•-}), hydrogen peroxide (H₂O₂), hydroxyl radical (•OH) 등이 있다. 비만과 같은 산화스트레스는 ROS의 생성과 항산화 반응의 불균형을 초래하고 증가된 ROS는 단백질, DNA, 지질 등을 산화시켜 세포괴사를 일으킨다. 세포내 ROS가 존재할 경우 DCF-DA와 반응하여 높은 형광을 띤 DCF로 산화됨으로서 ROS 생성량을 측정할 수 있다[20]. 간암세포주에 과산화수소로 산화스트레스를 유발하여 와송 추출물이 과산화수소에 의해

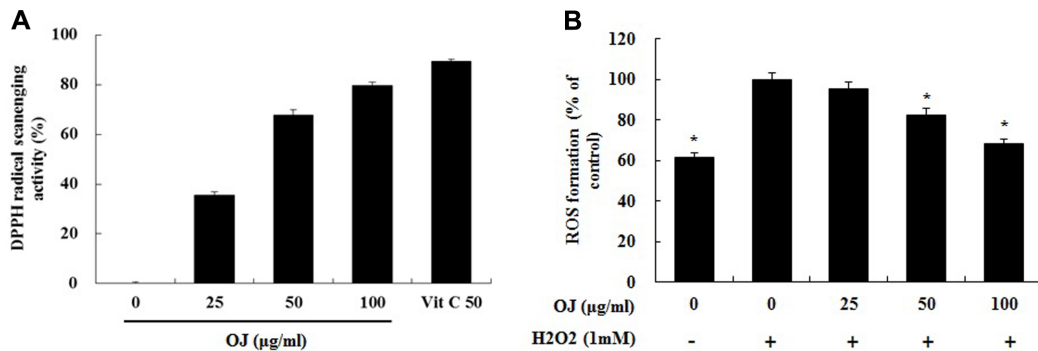


Fig. 3. Effect of OJ extraction DPPH radical scavenging activity (A) and ROS formation (B). (N; Normal, HFD; High Fat Diet, HFD-OJL; High Fat Diet + 2.5% of *O. japonicus* extract powder, HFD-OJH; High Fat Diet + 5% of *O. japonicus* extract powder). Values are mean \pm SD of three sample per group.

* $p < 0.05$ compared with the H₂O₂ treated group.

생성된 ROS에 대한 억제능이 있는지 확인한 결과 농도 의존적으로 ROS의 형성이 저하되었다(Fig. 3B). 이러한 결과는 외송 추출물이 활성산소를 제거하는 항산화 능력을 가지고 있음을 보여준다. 비만으로 유발된 산화스트레스에 대해 대항하는 능력이 있을 것으로 생각된다.

비만 모델의 간조직내 항산화 효소 활성

비만과 같은 대사 증후군은 과도한 지방 축적으로 다양한 문제의 원인이 된다. 비만으로 인해 유발되는 산화스트레스 물질의 증가는 항산화 대사에 영향을 미치는 요인이 될 수 있다[21]. 특히, 간에서 생성되는 superoxide dismutase (SOD)와 catalase (CAT)와 같은 효소는 활성산소종(ROS)의 제거에 탁월한 항산화 효소로 알려져 있다[22]. SOD는 superoxide (O₂⁻)를 물과 과산화수소로 분해하고 CAT는 과

산화수소를 물과 공기로 전환하여 활성산소종을 제거한다 [23, 24]. 본 연구에서는 SOD와 CAT의 활성이 모두 정상군에 비해 고지방 식이 섭취군에서 현저하게 낮은 결과를 보여준다. 그러나 고지방 식이에 외송 추출물을 첨가한 경우 항산화 효소 활성이 농도 의존적으로 유의성 있는 증가를 나타내었다(Fig. 4). 이러한 결과는 비만유발이 체내 항산화 시스템에 불균형을 야기하여 효소 활성을 저감시키는 것으로 예측할 수 있다. 외송 추출물의 섭취는 초래된 항산화 효소 활성 불균형을 정상으로 회복시키는데 도움을 줄 수 있을 것으로 생각된다. 비만은 혈중 지질함량의 증가뿐 아니라 간내 지질의 과도한 축적을 유발한다. 고지방 식이 그룹에서 채취한 간조직을 이용하여 무게 측정, lipid droplet 측정, 총 콜레스테롤, 중성지방을 측정할 결과 일관된 지방간의 결과를 여실히 보여주었다. 또한, 손상된 지방간에서 SOD, CAT와

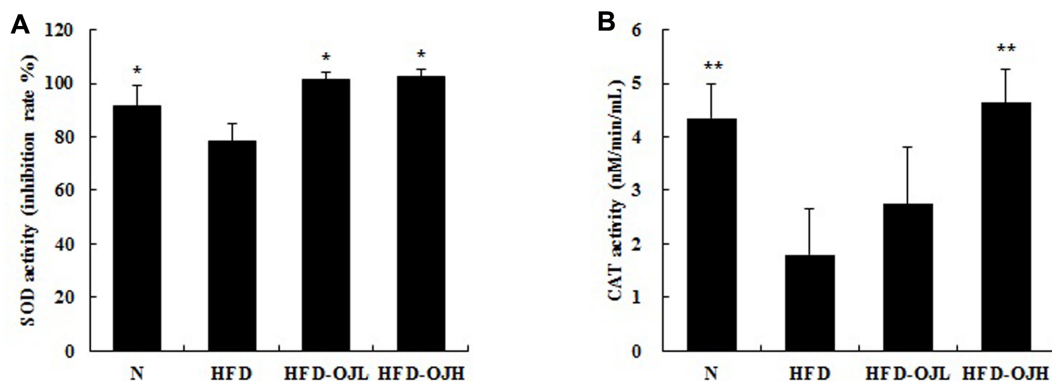


Fig. 4. Effect of *O. japonicus* extract on SOD and CAT activities in mice. (N; Normal, HFD; High Fat Diet, HFD-OJL; High Fat Diet + 2.5% of *O. japonicus* extract powder, HFD-OJH; High Fat Diet + 5% of *O. japonicus* extract powder). Values are mean \pm SD of six mice per group.

* $p < 0.05$ compared with the HDF group.

** $p < 0.01$ compared with the HDF group.

같은 항산화 효소의 활성 감소를 확인되었다. 반면, 고지방 식이와 와송추출물을 동시에 급여한 그룹에서는 유의성 있는 간내 지질함량의 감소와 항산화 효소의 활성도가 회복하는 것을 확인함으로써 와송추출물이 추후 비만과 관련된 다양한 지질 대사성 질환에 보조제로 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

요약

본 연구는 고지방 식이로 유발된 비만 모델의 지질 및 항산화 관련 효소의 대사에 대하여 와송 열수 추출물의 섭취를 통한 효과를 확인하였다. 정상군을 제외하고 나머지 군은 8주 동안 고지방식을 공급하여 비만 상태로 유도하였으며, 9주에서 14주까지 고지방식에 와송 열수 추출물이 2.5%, 5% 첨가된 식이를 자유 급식하였다. 그 결과, 고지방 식이군 대비 와송 추출물 섭취군에서 간과 폐의 무게가 감소되었으며, H&E 염색상에서도 lipid droplet이 현저하게 감소되는 것을 관찰할 수 있었다. 또한, 간조직내의 총 콜레스테롤과 중성지방과 같은 지질 함량이 유의성 있게 줄어들었다. 와송 추출물의 항산화제로서의 능력을 확인한 결과 DPPH 라디칼 소거능의 활성을 증가하였고, ROS 형성량은 탁월하게 감소되었다. 산화스트레스를 감소시키는 SOD와 CAT와 같은 항산화 효소의 활성이 와송 추출물의 고농도 섭취군에서 정상군에 근접하게 회복되었다. 결론적으로 와송 추출물의 섭취는 간내 지질대사를 조절하고 항산화 효소를 활성화시켜 비만 치료를 위한 생리활성물질로 유용하게 활용 가능할 것으로 생각된다.

Acknowledgments

This work was supported by the National Research Foundation of Korea(NRF) grant funded by the Korea government(MSIT) (No. 2017R1C1B5076022).

Conflict of Interest

The authors have no financial conflicts of interest to declare.

References

- Lim EJ, Kim MJ, Kim HJ, Lee SH, Jeon BG. 2018. Comparative analysis on anti-aging, anti-adipogenesis, and anti-tumor effects of Green Tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate. *J. Life Sci.* **28**: 1201-1211.
- Holst B, Williamson G. 2008. Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond anti-oxidants. *Curr. Opin. Biotechnol.* **19**: 73-82.
- Kim JY, Junh EJ, Won YS, Lee JH, Shin DY, Seo KI. 2012. Cultivated *Orostachys japonicus* induces apoptosis in human colon cancer cells. *Korea J. Food Sci. Technol.* **44**: 317-323.
- Park HJ, Young HS, Kim JO, Rhee SH, Choi JS. 1991. A study on the chemical constituents of *Orostachys japonicus* A. Berger. *Korean J. Pharmacogn.* **22**: 78-84.
- Park JG, Park JC, Hur JM, Park SJ, Choi DR, Shin DY, et al. 2000. Phenolic compounds from *Orostachys japonicus* having anti-HIV-1 protease activity. *Nat. Prod. Sci.* **6**: 117-121.
- Kwon J, Han KS. 2004. Effects of *Orostachys japonicus* A. Berger on the immune system. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **12**: 315-320.
- Lee HS, Lee GS, Kim SH, Kim HK, Suk DH, Lee DS. 2014. Antioxidizing effect of the dichloromethane and hexane fractions from *Orostachys japonicus* in LPS-stimulated RAW 264.7 cells via upregulation of Nrf2 expression and activation of MAPK signaling pathway. *BMB Rep.* **47**: 98-103.
- Yoon SY, Lee SY, Kim KBWR, Song EJ, Kim SJ, Lee SJ, et al. 2009. Antimicrobial activity of the solvent extract from different parts of *Orostachys japonicus*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **38**: 14-18.
- Kim SG, Choi JW, Park HJ, Lee SM, Jung HJ. 2009. Anti-hyperlipidemic effects of the flavonoid-rich fraction from the methanol extract of *Orostachys japonicus* in rats. *Korean J. Pharmacogn.* **40**: 51-58.
- Zhang GF. 2008. Anti-diabetic potential of *Orostachys japonicus* in streptozotocin induced diabetes mellitus rats. MS Thesis. Gyeongsang National University, Jinju, Korea.
- Ryu DS, Lee HS, Lee GS, Lee DS. 2012. Effects of the ethylacetate extract of *Orostachys japonicus* on induction of apoptosis through the p53-mediated signaling pathway in human gastric cancer cells. *Biol. Pharm. Bull.* **35**: 660-665.
- Lee HS, Ryu DS, Lee GS, Lee DS. 2012. Anti-inflammatory effects of dichloromethane fraction from *Orostachys japonicus* in RAW 264.7 cells: suppression of NF- κ B activation and MAPK signaling. *J. Ethnopharmacol.* **140**: 271-276.
- Kim JE, Bae SM, Nam YR, Bae EY, Ly SY. 2019. Antioxidant activity of ethanol of *Lycium barbarum*'s leaf with removal of chlorophyll. *J. Nutr. Health.* **52**: 26-35.
- Lee SM, Park MY, Kim OK, Lee JM, Jun WJ. 2016. Anti-obesity effect of *Eriobotrya japonica* leaves extract on obese mice induced by high-fat diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **45**: 1202-1206.
- Lee JY, Park JY, Kim HD, Lee SE, Lee JH, Lee YJ, et al. 2019. Anti-Oxidant and anti-adipocyte differentiation of *Aster glehni* and *Aster yomena*. *J. Nutr. Health* **52**: 250-257.
- Lee SJ, Song EJ, Lee SY, Kim KBWR, Kim SJ, Yoon SY, et al. 2009. Antioxidant activity of leaf, stem and root extracts from *Orostachys japonicus* and their heat and pH stabilities. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **38**: 1571-1579.
- Lim SM, Park HJ, Cho YJ. 2017. Antioxidative and biological activity of extracts from *Orostachys japonicus*. *J. Appl. Biol. Chem.* **60**: 293-300.
- Lee HJ, Kim HS, Seo SW. 2017. Anti-obesity effect of *Aster yomena* ethanol extract in high fat diet-induced obese mice. *J. Physiol. Pathol. Korean Med.* **31**: 348-355.

19. Alara OR, Abdurahman NH, Mudalip SK, Olalere OA. 2018. Characterization and effect of extraction solvents on the yield and total phenolic content from *Vernonia amygdalina* leaves. *J. Food Meas Charact.* **12**: 311-316.
20. Lee YH, Ho JN, Dong MS, Park JH, Kim HK, Hong BS, *et al.* 2005. Transfected HepG2 cells for evaluation of catechin effects on alcohol-induced CYP2E1 cytotoxicity. *J. Microbiol. Biotechnol.* **15**: 1310-1316.
21. Asayama K, Nakane T, Dobashi K, Kodera K, Hayashibe H, Uchida N, *et al.* 2001. Effect of obesity and troglitazone on expression of two glutathione peroxidases: cellular and extracellular types in serum, kidney and adipose tissue. *Free Radic Res.* **34**: 337-347.
22. Shyamala MP, Venukumar MR, Latha MS. 2003. Antioxidant potential of the *syzygium aromaticum* (GAERTN.) Linn. (Cloves) in rats fed with high fat diet. *Indian J. Pharmacol.* **35**: 99-103.
23. Lee HS, Li L, Kim HK, Bilehal D, Li W, Lee DS, *et al.* 2010. The protective effects of *Curcuma longa* Linn. extract on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats via upregulation of nrf2. *J. Microbiol. Biotechnol.* **20**: 1331-1338.
24. Kim HK, Li L, Lee HS, Park MO, Bilehal D, Li W, *et al.* 2009. Protective effects of *Chlorella vulgaris* extract on carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice. *Food Sci. Biotechnol.* **5**: 1186-1192.