

부처손(*Selaginella tamariscina*) 추출물의 리파아제 저해 활성 및 지질 축적 억제 효과

†김건희 · 이신영* · 이애랑**

덕성여자대학교 식물자원연구소 교수, * 덕성여자대학교 식물자원연구소 석사, ** 숭의여자대학교 식품영양과 교수

The Effect of *Selaginella tamariscina* on Inhibition of Pancreatic Lipase and Lipid Accumulation

†Gun-Hee Kim, Shin-Young Lee* and Ae-Rang Lee**

Professor, Plant Resources Research Institute, Duksung Women's University, Seoul 01369, Korea

*Master's Course, Plant Resources Research Institute, Duksung Women's University, Seoul 01369, Korea

**Professor, Dept. of Food and Nutrition, SoongEui Women's College, Seoul 04628, Korea

Abstract

The objective of this study was to evaluate novel usability as natural anti-obesity supplement of *Selaginella tamariscina* extract. The total phenol contents and total flavonoid contents were 60.29±3.11 GAE mg/g and 14.90±0.34 QE mg/g, respectively. To evaluate anti-obesity activity of *Selaginella tamariscina* extract, pancreatic lipase inhibition activity as well as its inhibition effect of lipid accumulation in adipocytes were conducted by Oil Red O staining and lipolysis assay. The result of pancreatic lipase inhibition activity of *S. tamariscina* extract showed a wide range between 40 and 73% dose dependently. While the incubation of 3T3-L1 cells with *S. tamariscina* extract inhibited differentiation of preadipocytes and reduced lipid accumulation, the level of released free glycerol into culturing medium was increased in multiple concentrations. These results showed that *S. tamariscina* extract inhibit adipogenesis and pancreatic lipase activity. Thus, *S. tamariscina* extract can be a candidate for regulating lipid accumulation in obesity.

Key words: *Selaginella tamariscina*, pancreatic lipase, lipid accumulation, lipolysis

서 론

세계보건기구에 의하면 비만은 전 세계에 사회적인 경향성을 갖는 질병으로 '21세기 신종 전염병'으로 명시되었다. 비만은 지나친 칼로리 섭취와 부족한 칼로리 소모가 유도하는 에너지 불균형 상태로 지방세포의 크기 증가와 숫자 증가로 체지방이 피하조직 또는 장간막에 축적되어 결과적으로 체중이 증가하는 것이 특징이다(Lee 등 2013). 비만은 체중 증가로 인한 외적 변화의 문제뿐만 아니라, 당뇨 또는 고지혈증, 동맥경화 및 고혈압 등의 심혈관질환과 같은 성인병을 동반할 확률이 높아지는 것으로 보고되고 있다(Rosen 등 2000).

지방세포(adipocytes)는 전지방세포(preadipocytes)의 분화

를 통하여 세포 내 지질이 축적되며, 지방세포 내의 지방구는 중성지방의 합성과정(lipogenesis) 및 분해과정(lipolysis)의 작용으로 그 양이 조절된다(Lee 등 2008, Ahn 등 2012, Lim 등 2014). 이 때, 다양한 병리학적 문제를 야기하는 것으로 알려져 있다. 따라서 비만의 예방 및 치료를 위한 연구로는 크게 둘로 나뉘는데, 첫째로, 지방생성기전을 조절하거나, 둘째로, 지질을 분해하는 리파아제 활성을 조절하여 지질의 소화 및 흡수를 저해하고, 지질이 체외로 배설되도록 지방 축적을 예방하는 기작에 대한 연구가 활발하다(Lee 등 2011; Kim YH 2017).

시중에 유통되어 주로 사용되는 비만 치료제로는 판크레아틱 리파아제 저해제로서 orlistat(tetrahydrolipstatin)가 대표

† Corresponding author: Gun-Hee Kim, Professor, Plant Resources Research Institute, Duksung Women's University, Seoul 01369, Korea. Tel: +82-2-901-8496, Fax: +82-2-901-8661, E-mail: ghkim@duksung.ac.kr

적이며, 그 구조가 중성지방과 비슷하여 리파아제의 활성부위와 결합을 형성하여 지질의 가수분해를 방해하는 것이 특징이다. Orlist는 그 효과가 강력하지만, 지용성 비타민 흡수억제, 위장 과민증, 담즙분비장애 등의 부작용을 나타낸다고 보고되어(Bray GA 2009), 최근에는 부작용을 줄이면서 효과적인 신규 천연물 비만 치료제를 개발하고자하는 연구가 활발히 진행되고 있다.

부처손(*Selaginella tamariscina*)은 *Selaginella*에 속하며, 한약명은 권백이다. 예로부터 한국 및 중국 등 아시아 전역에서 전통적으로 탈장, 혈뇨, 부정출혈, 월경불순, 자궁출혈 및 만성 간염을 치료하는 목적으로 사용되어왔다(Lee 등 2008; Zheng 등 2013). 이전의 연구에서는 부처손의 혈당감소, 항산화, 항염증 및 항암 효과가 검증되었다(Miao 등 1996; Lee 등 2008; Li 등 2014). 한편, 천연 식물에 함유된 이차대사산물인 폴리페놀, 플라보노이드 등의 페놀성 화합물은 제2형 당뇨병을 예방하며(Zhang 등 2010; Balasubramaniam 등 2013), 리파아제 저해 활성 및 지질 축적 억제를 통한 비만 억제 효과를 나타내는 것으로 확인되었다(Kurihara 등 2006; McDougall 등 2009; Sosnowska 등 2015).

따라서 본 연구에서는 건조된 부처손을 알콜 추출하여 플라보노이드 등의 페놀성 화합물을 추출하였으며, 이들이 판크레아틱 리파아제 저해, 지방축적 억제 및 지방분해에 효과에 미치는 영향을 확인하였다.

재료 및 방법

1. 추출물 제조

본 실험에서 사용한 부처손은 서울 약령시장에서 구입하여 사용하였다. 추출물은 건조된 시료 20 g에 20배의 70% 에틸알코올을 넣고 70°C의 수조에서 3시간 동안 환류 추출하였다. 추출물은 감압 농축하고, 동결건조를 거쳐 모든 용매를 제거한 후 분말로 제조하였으며, 추출물은 DMSO로 용해하여 각 실험에 적절한 농도로 희석하여 사용하였다.

2. 총 페놀 화합물 함량 측정

본 연구에서는 Folin-Ciocalteu 방법(You 등 2018)을 활용하여 총 페놀 화합물 함량을 측정하였다. 서로 다른 농도의 시료 70 μ L와 2 N Folin-Ciocalteu 시약 70 μ L를 섞어 반응시켰다. 반응 3분 후 2% 탄산나트륨 70 μ L를 넣어주고, 1시간 추가로 반응시켰다. 반응액은 760 nm에서 흡광도를 측정된 후 총 페놀 화합물의 양을 확인하였다. 결과 값은 갈산을 표준물질로 사용하여 갈산 당량(Gallic Acid Equivalent: GAE mg/mL)으로 계산하여 나타내었다.

3. 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드의 함량 측정은 You 등(2018)의 방법을 수정한 후 사용하였다. 농도가 다른 시료 50 μ L와 2% 염화암모늄 150 μ L를 섞어준 후 15분 방치시켰다. 이후 흡광도를 430 nm에서 측정하였고, 결과 값은 퀘르세틴을 표준물질로 사용하여 퀘르세틴 당량(Quercetin Equivalent: QE mg/mL)으로 계산하여 나타내었다.

4. 리파아제 저해 활성 측정

판크레아틱 리파아제 효소 활성 저해능 분석은 Eom 등(2013)의 방법을 약간 수정하여 수행하였다. 먼저 enzyme buffer(10 mM MOPS, 1 mM EDTA, pH 6.8)에 porcine pancreatic lipase를 용해한 효소용액 30 μ L에 Tris buffer(100 mM *tris*-HCl, 5 mM CaCl₂, pH 7) 850 μ L와 후보시료를 100 μ L씩 첨가하여 혼합한 후 37°C에서 15분 동안 반응시켰다. 이후 substrate solution(10 mM of *p*-nitrophenylbutyrate in dimethyl formamide)을 20 μ L 첨가하여 37°C에서 30분 동안 반응시킨 후 405 nm에서 ELISA reader(Spectramax M2, USA)를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 양성대조군으로 orlistat을 사용했다.

$$\text{Lipase 저해활성 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Samples} - \text{Blank}}{\text{Blank}}\right) \times 100$$

5. 3T3-L1 세포 배양 및 분화

3T3-L1 세포주는 American Type Culture Collection(ATCC, Manassas, VA, USA)에서 분양받았다. 3T3-L1 지방전구세포를 10% Fetal bovine serum(FBS, WellGENE Daegu, Korea)와 1% penicillin-streptomycin이 함유된 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM, WellGENE Daegu, Korea)을 이용하여 37°C, 5% CO₂에서 배양하였다. 지방전구세포를 분화 유도하기 위해서 48시간 배양 후, DMEM에 분화유도 호르몬(0.5 mM 3-isobutyl-1-methylxanthine(IBMx), 0.5 μ M Dexamethasone (DEX), 10 μ g/mL Insulin: MDI(Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA))를 혼합하여 분화하였다. 총 8일 동안 분화를 위하여 배양하였으며, insulin(10 μ g/mL)을 포함한 DMEM 배지를 2일마다 교환하였다.

6. 세포생존률 측정(MTT assay)

3T3-L1 지방전구세포를 1×10^4 cells/well로 48 well plate에 분주 후 24시간 배양하였고, 새로운 배지와 함께 10~200 μ g/mL 농도별 추출물을 처리하여 72시간 동안 배양하였다. 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 용액(5 mg/mL)을 각 well에 첨가하고, 2시간 동안 배양한 후 상층액을 제거하고, 각 well에 DMSO를 첨가하여 생성된 보라색 결정을 용해시켜 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

7. Oil red O 염색

Oil red O 염색은 Jang 등(2018)의 연구에서 활용한 방법에 따라 수행되었다. 지방세포로 분화된 3T3-L1 세포를 10% formalin 용액으로 상온에서 10분간 고정하였다. 고정된 세포에 Oil Red O 용액(0.2% Oil red O Isopropanol solution:Water=3:2)을 첨가하여 지방세포 내 지방구를 1시간 동안 염색하고, Oil red O로 염색된 지방구를 100% isopropanol을 이용하여 모두 용해한 뒤 510 nm에서 흡광도를 측정하였다.

8. Lipolysis assay

지방세포 내 지방분해 작용에 미치는 부처손의 효과를 측정하기 위하여 Cha 등(2010)의 방법을 수정하여 활용하였다. 지방세포로 분화된 3T3-L1 세포에 다양한 실험 농도의 추출물을 첨가한 후 72시간동안 배양한 후, 배양한 배지를 취하여 10분간 70°C에서 열을 가하여 효소들을 불활성화 시켰다. 효소가 불활성화 된 배지에 글리세롤 시약을 첨가하고, 1분간 반응시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정하여 글리세롤의 양을 측정하였다.

9. 통계분석

결과분석은 SPSS(Statistical Package for Social Science, ver. 19, Chicago, IL, USA)를 이용하여 수행하였다. 모든 실험값 3회 반복한 결과의 평균±표준편차로 표시하였고, 실험군간 통계적인 유의차는 one-way ANOVA로 확인한 후 $p < 0.05$ 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 부처손의 총 페놀 및 플라보노이드 함량

식물에 함유된 다양한 이차대사산물 중 플라보노이드를 포함한 페놀성 화합물을 건강에 유익한 작용을 하는 것으로 알려져 있다(Hanasaki 등 1994). 페놀성 화합물은 항암, 항염증, 항산화 및 항균작용이 뛰어난 것으로 보고되었고(Jang 등 2014), 특히, 페놀성 화합물이 다양한 지질 축적을 억제 기작에 영향을 미치는 것으로 그 효과가 입증되었다.

따라서 본 연구에서는 부처손의 총 페놀 함량 및 플라보노이드 함량을 측정하였다. 본 연구에서는 부처손의 수율이 10.3%로 확인되었고, 총 페놀 함량은 60.29±3.11 mg GAE/g, 총 플라보노이드 함량은 14.90±0.34 mg QE/g으로 확인되었다(Table 1). Lee 등(2006)의 연구에서는 본 연구의 추출방법과 동일하게 70% 알코올로 70°C에서 3시간 환류추출을 하였다. 이 때 총 페놀의 함량은 99.3 mg GAE/g이고, 총 플라보노이드는 37.2 mg QE/g으로 나타났다. Lee 등(2006)의 추출방법이 본 연구와 유사한 점을 감안할 때 시료의 재배환경에 따

Table 1. The yield, total phenol contents and total flavonoid contents of *Selaginella tamariscina* extract

Sample name	Extract yield (%)	TPC (GAE mg/g)	TFC (QE mg/g)
<i>Selaginella tamariscina</i>	10.3±0.17	60.29±3.11	14.90±0.34

Each value represented mean±S.D. of triplicate experiments. GAE: gallic acid equivalent, QE: quercetin equivalent.

른 차이가 있거나, 총 플라보노이드 및 플라보노이드 함량을 측정하는 방법이 달라 결정되는 값이 달라졌을 것으로 생각된다.

Zheng 등(2011)의 연구에서 부처손의 플라보노이드 분획물을 고지방식이 모델 쥐에게 처리하였을 때 당노가 저해되는 효과가 나타났으며, 또한, Zheng 등(2013)의 연구에서 부처손의 플라보노이드 분획물이 당노모델 쥐에서 고지방혈증 및 산화 억제 효능을 나타내는 것이 확인되었다. 따라서 부처손의 플라보노이드 성분은 지질 대사에 효과적으로 작용하는 것으로 판단된다. 따라서 본 연구에서는 페놀성 화합물인 플라보노이드가 다량 함유된 부처손 추출물의 비만 억제 효과에 대하여 알아보고자 지방 합성 억제 및 지방 분해 작용에 대한 연구를 수행하였다.

2. 부처손의 판크레아틱 리파아제 저해 활성

비만치료제로서 사용되는 판크레아틱 활성 저해제는 지방을 모노글리세라이드와 지방산으로 분해한 후 다시 지방으로 흡수되지 않고 배설시켜 최적의 비만치료제로 여겨지고 있다. 하지만 대표적인 판크레아틱 활성 저해제인 orlist는 그 효과에 반하여 부작용이 심각하여 최근에는 이를 대체할 수 있는 천연 소재 개발이 매우 중요하게 여겨지고 있다(Nakai 등 2005; Conforti 등 2012; Lim 등 2014). 따라서 본 연구에서는 부처손을 천연 판크레아틱 리파아제 저해제로서의 활용 가치를 알아보고자 하였다.

부처손 추출물의 판크레아틱 리파아제 저해 활성은 40~73%로 확인되었으며, 그 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 부처손 추출물은 농도 의존적으로 판크레아틱 리파아제 저해 활성이 증가하였다. 또한, 실험 농도 중 500 µg/mL에서는 양성대조군인 orlistat(10 ng/mL)와 그 효과가 통계적으로 동등하게 나타났으며, 1,000 µg/mL에서는 orlistat보다 높게 나타났다. 이전의 연구에 의하면 부처손에 함유된 플라보노이드는 혈중 포도당, 콜레스테롤, 중성지질의 농도를 낮춰주는 것으로 확인되었으며(Zheng 등 2013), 다음 결과는 본 연구의 결과를 뒷받침해 주는 것으로 사료된다. 따라서 본 연구에서는 또 다른 기전의 지질축적 억제에 부처손이 미치는 영향을 알아보기

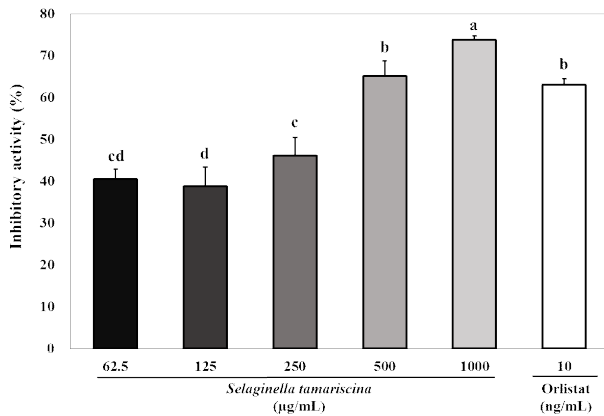


Fig. 1. Inhibitory effect on pancreatic lipase of *Selaginella tamariscina*. 3T3-L1 adipocytes treated with *Selaginella tamariscina* extracts in multiple concentrations (31.25, 62.5, 125, 250, 1,000 µg/mL) and orlistat (10 ng/mL). Each value indicated as mean±S.D. from triplicate experiments. The values with different letters mean statistically significant differences among groups at $p<0.05$.

위하여 3T3-L1세포를 활용하여 지질생성 억제 및 지질분해 효과를 확인하였다.

3. 부처손을 처리한 3T3-L1 전지방세포의 생존률

세포 생존률 확인을 위해서 3T3-L1 전지방세포에 부처손 추출물을 48시간 및 72시간 동안 처리하였으며, MTT법을 통하여 세포생존율을 확인하였다(Fig. 2). 48시간과 72시간의 결과를 비교하였을 때 처리 시간이 증가하여도 독성이 증가하지 않았고, 오히려 장시간 처리하였을 때 세포 생존율이 증가하는 경향을 나타내어 시간 의존적인 독성이 없음을 확인하였다. 세포독성은 ISO(ISO 10993-10995)에 의하여 세포생존율이 70% 이상일 때의 실험 농도를 안전한 것으로 결정하는데, 본 연구에서 사용된 시험 농도 범위에서는 세포 생존율이 모두 80% 이상으로 확인되었으며, 추후 실험에서는 세포 생존률이 90% 이상으로 확인된 0~250 µg/mL를 시험농도로 사용하였다.

4. 부처손의 지질생성 억제 및 지질분해 효과

부처손의 지질생성 억제 효과를 확인하기 위해 Oil red O staining법을 이용하여 3T3-L1 세포 내 지질의 양을 정량하였다(Fig. 3). 부처손을 3T3-L1 세포에 처리한 결과, 125와 250 µg/mL에서 무처리군에 비하여 유의적으로 지질의 양이 감소되었고, 부처손 추출물 250 µg/mL를 처리하였을 때 양성대조군인 10 mM N-acetyl-L-cysteine(NAC)과 통계적으로 같은 효과를 나타내는 것으로 확인되었다($p<0.05$).

지질의 축적은 지질생성과 지질분해 기작이 균형적으로

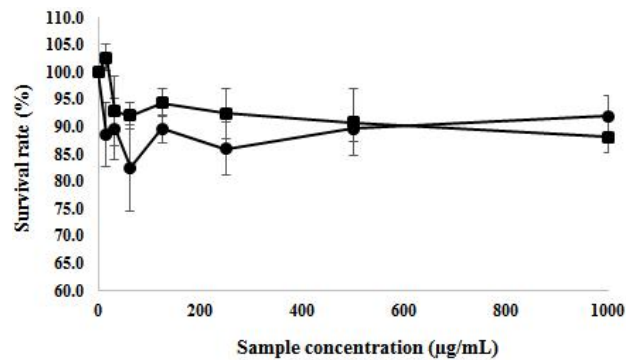


Fig. 2. Cell viability of *Selaginella tamariscina*. 3T3-L1 preadipocytes were cultured with *Selaginella tamariscina* extracts for 48 and 72 hr. Cell viability was determined by MTT assay. The results were presented as percent growth rate of cells in present of extracts, compared with control group. Each value indicated as mean±S.D. from triplicate experiments. The values with different letters mean statistically significant differences among groups at $p<0.05$.

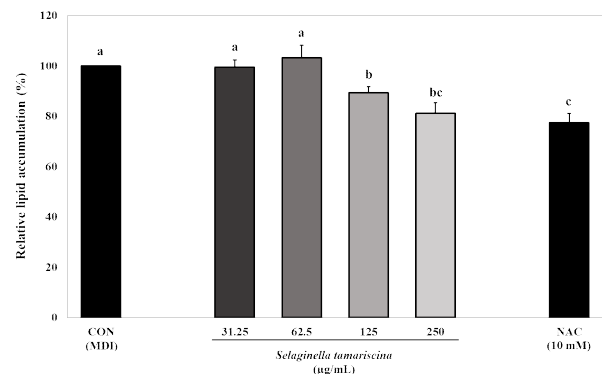


Fig. 3. Inhibitory effect on fat accumulation of *Selaginella tamariscina*. All values were calculated as a percentage of fat accumulation in lipid droplet compared with MDI group. Each value indicated as mean±S.D. from triplicate experiments. The values with different letters mean statistically significant differences among groups at $p<0.05$.

이루어지면서 그 양이 조절된다(Rayalam 2008). 체내의 중성 지질은 지질분해 기작에 의하여 지방산과 글리세롤로 분해된 후 에너지로 사용된다(Lim 등 2014). 본 연구에서는 부처손 추출물의 지방세포 내 지질분해효과를 확인하기 위하여 중성지방이 분해되어 생성되는 프리글리세롤의 양을 측정하였다. 부처손 추출물을 72시간 처리하여 농도별 부처손 추출물의 효과를 확인한 결과, 125 µg/mL까지 농도 의존적으로 지방 분해 효과가 증가하는 것을 확인하였다(Fig 4).

따라서 본 연구의 결과, 부처손 추출물은 탁월한 판크레아틱 리파아제 저해 활성을 가지고 있어 중성지질의 체내 흡수

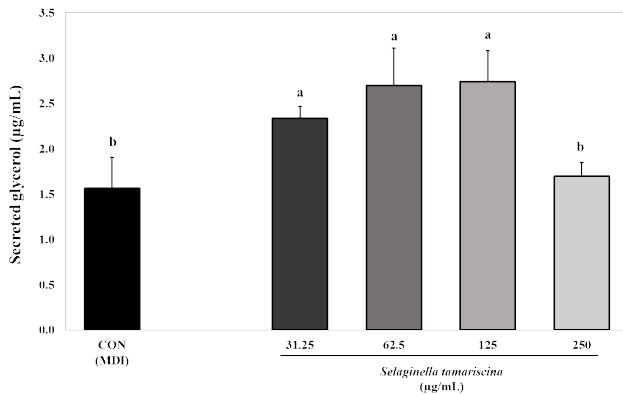


Fig. 4. Effect of *Selaginella tamariscina* on glycerol release in 3T3-L1 cell. 3T3-L1 adipocytes were treated with *Selaginella tamariscina* extracts for 72 hr. Lipolytic effect was evaluated by the release of glycerol to the culture medium. Each value indicated as mean±S.D. from triplicate experiments. The values with different letters mean statistically significant differences among groups at $p<0.05$.

를 저지할 것으로 사료된다. 또한, 3T3-L1 전지방세포의 분화를 억제하여 지질생성을 감소시키는 것으로 확인되었고, 뿐만 아니라, 및 3T3-L1 지방 세포 중성지질을 효과적으로 분해시키는 것이 확인되었다. 이는 부처손 추출물이 다양한 지질 대사에 관여하여 체내 지질의 축적을 억제하고, 생성된 지질을 효과적으로 분해 또는 흡수 방해로 하여 비만 예방 및 치료에 효과적인 후보 물질이 될 것으로 판단된다.

한편, 국내에서 부처손(권뽕)은 한약재로서 약용으로는 활발하게 활용되며, 포제 등의 가공에 따른 생리활성의 차이가 보고된바 있으나(Lee 등 2006), 식품으로서 활용을 위한 추출, 건조, 조리 등의 가공 조건에 따른 생리활성 연구는 매우 부족한 실정이다. 따라서 향후 식품으로 다양한 적용을 위하여 가공처리 조건에 따른 생리활성 물질 및 생리활성에 대한 연구가 추가로 수행되어야 할 것으로 판단된다. 또한, 후속의 연구에서는 부처손이 지질 대사 내 작용하는 효소단백질 또는 전사인자의 발현에 어떤 영향을 미치는지 분자생물학적인 결과를 확보해야 할 것으로 보인다.

요약 및 결론

본 연구에서는 아시아에서 전통약용식물로 활용되는 부처손을 에탄올 추출하여 플라보노이드를 포함한 페놀성 화합물을 추출하였으며, 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 각각 60.29 ± 3.11 GAE mg/g, 14.90 ± 0.34 QE mg/g으로 확인되었다. 우리는 부처손 추출물을 항비만 후보소재로서의 가치를 확인하기 위하여 판크레아틱 리파아제 저해 활성을 확인하였

으며, 3T3-L1 세포를 활용하여 지질 축적 억제효과 및 지질 분해 효과를 확인하였다. 판크레아틱 리파아제 저해 활성 측정 결과, 농도 의존적으로 리파아제를 저해하는 활성을 나타냈다. 또한, 3T3-L1 전지방세포를 분화시키는 동안 부처손 추출물을 처리하였을 때, 지방세포 분화 억제, 즉 지질 축적을 억제하는 효과를 확인하였으며, 부처손을 3T3-L1 지방세포에 처리 후 프리 글리세롤의 양을 측정하여 지질 분해 효과를 확인한 결과, 위의 두 실험과 마찬가지로 농도 의존적인 효과를 확인하였다. 본 연구 결과를 통하여 우리는 부처손 추출물은 다양한 지질 대사에 영향을 미치는 것을 확인하였다. 부처손은 지질이 축적되는 것을 막고, 생성된 지질은 효과적으로 분해하며, 체내 흡수를 막아줄 수 있을 것이라고 사료된다. 따라서 부처손 추출물은 향후 항비만 소재로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 울촌재단 2015년 기초연구과제 지원 사업에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

References

- Ahn JH, Liu Q, Lee C, Ahn MJ, Yoo HS, Hwang BY, Lee MK. 2012. A new pancreatic lipase inhibitor from *Broussonetia kanzinoki*. *Bioorg Med Chem Lett* 22:2760-2763
- Balasubramaniam V, Mustar S, Khalid NM, Rashed AA, Noh MFM, Wilcox MD, Chater PI, Brownlee IA, Pearson JP. 2013. Inhibitory activities of three Malaysian edible seaweeds on lipase and α -amylase. *J Appl Phycol* 25:1405-1412
- Bray GA. 2009. Medications for obesity: Mechanisms and applications. *Clin Chest Med* 30:525-538
- Cha SY, Jang JY, Lee YH, Lee GO, Lee HJ, Hwang KT, Kim YJ, Jun WJ, Lee JM. 2010. Lipolytic effect of methanol extracts from *Luffa cylindrica* in mature 3T3-L1 adipocytes. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39:813-819
- Conforti F, Perri V, Menichini F, Marrelli M, Uzunov D, Statti GA, Menichini F. 2012. Wild mediterranean dietary plants as inhibitors of pancreatic lipase. *Phytother Res* 26:600-604
- Eom SH, Lee MS, Lee EW, Kim YM, Kim TH. 2013. Pancreatic lipase inhibitory activity of phlorotannins isolated from *Eisenia bicyclis*. *Phytother Res* 27:148-151
- Hanasaki Y, Ogawa S, Fukui S. 1994. The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radicals Biol Med* 16:845-850

- ISO 10993-10995. 2009. Biological evaluation of medical devices. Part 5: Tests for *in vitro* cytotoxicity. International Organization for Standardization
- Jang M, Choi HY, Kim GH. 2018. Inhibitory effects of *Orostachys malacophyllus* var. *iwarenge* extracts on reactive oxygen species production and lipid accumulation during 3T3-L1 adipocyte differentiation. *Food Sci Biotechnol* 28: 227-236.
- Jang M, Park H, Hong E, Kim GH. 2014. Comparison of the antibacterial activity of domestic *Cirsium japonicum* collected from different regions. *Korean J Food Cook Sci* 30:278-283
- Kim YH. 2017. Inhibitory effects of (-)-epigallocatechin-3-gallate on adipogenesis via AMPK activation in 3T3-L1 cells. *Korean J Food Nutr* 30:1035-1041
- Kurihara H, Shibata H, Fukui Y, Kiso Y, Xu JK, Yao XS, Fukami H. 2006. Evaluation of the hypolipemic property of *Camellia sinensis* var. *ptilophylla* on postprandial hypertriglyceridemia. *J Agric Food Chem* 54:4977-4981
- Lee BC, Sim GS, Kim JH, Kim JH, Pyo HB. 2006. Effect of the processed *Selaginella tamariscina* on antioxidation and inhibition of matrix metalloproteinase. *J Soc Cosmet Sci Korea* 32:69-74
- Lee CW, Choi HJ, Kim HS, Kim DH, Chang IS, Moon HT, Lee SY, Oh WK, Woo ER. 2008. Biflavonoids isolated from *Selaginella tamariscina* regulate the expression of matrix metalloproteinase in human skin fibroblasts. *Bioorg Med Chem* 16:732-738
- Lee JK, Kang MG, Baek SY, Ahn YG, Lee JS. 2011. Purification and characterization of lipase inhibitor from *Desmodium oxyphyllum* DC. *Korean J Food Nutr* 24:291-294
- Lee SH, Liu Q, Hwang BY, Lee MK. 2013. Inhibitory effects of stilbene derivatives from *Parthenocissus tricuspidata* on adipocyte differentiation and pancreatic lipase. *Nat Prod Commun* 8:1439-1441
- Li J, Lei X, Chen KL. 2014. Comparison of cytotoxic activities of extracts from *Selaginella* species. *Pharmacogn Mag* 10: 529-535
- Lim SM, Goh YM, Kuan WB, Loh SP. 2014. Effect of germinated brown rice extracts on pancreatic lipase, adipogenesis and lipolysis in 3T3-L1 adipocytes. *Lipids Health Dis* 13: 169-177
- McDougall GJ, Kulkarni NN, Stewart D. 2009. Berry polyphenols inhibit pancreatic lipase activity *in vitro*. *Food Chem* 115:193-199
- Miao N, Tao H, Tong C, Xuan H, Zhang G. 1996. The *Selaginella tamariscina* (Beauv.) Spring complex in the treatment of experimental diabetes and its effect on blood rheology. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 21:493-495
- Nakai M, Fukui Y, Asami S, Toyoda-Ono Y, Iwashita T, Shibata H, Mitsunaga T, Hashimoto F, Kiso Y. 2005. Inhibitory effects of oolong tea polyphenols on pancreatic lipase *in vitro*. *J Agric Food Chem* 53:4593-4598
- Rayalam S, Yang JY, Ambati S, Fera MAD, Baile CA. 2008. Resveratrol induces apoptosis and inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes. *Phytother Res* 22:1367-1371
- Rosen ED, Walkey CJ, Puigserver P, Spiegelman BM. 2000. Transcriptional regulation of adipogenesis. *Genes Dev* 14: 1293-1307
- Sosnowska D, Podsedek A, Redzynia M, Zyzelewicz D. 2015. Effects of fruit extracts on pancreatic lipase activity in lipid emulsions. *Plant Foods Hum Nutr* 70:344-350
- You SH, Jang M, Kim GH. 2018. Antioxidant activity and neuroprotective effect of root bark of *Morus alba* L. extract against hydrogen peroxide-induced cytotoxicity in PC12 cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 47:519-527
- Zhang L, Li J, Hogan S, Chung H, Welbaum GE, Zhou K. 2010. Inhibitory effect of raspberries on starch digestive enzyme and their antioxidant properties and phenolic composition. *Food Chem* 119:592-599
- Zheng XK, Wang WW, Zhang L, Su CF, Wu YY, Ke YY, Hou QW, Liu ZY, Gao AS, Feng WS. 2013. Antihyperlipidaemic and antioxidant effect of the total flavonoids in *Selaginella tamariscina* (Beauv.) Spring in diabetic mice. *J Pharm Pharmacol* 65:757-766
- Zheng XK, Zhang L, Wang WW, Wu YY, Zhang QB, Feng WS. 2011. Anti-diabetic activity and potential mechanism of total flavonoids of *Selaginella tamariscina* (Beauv.) Spring in rats induced by high fat diet and low dose STZ. *J Ethnopharmacol* 137:662-668

Received 01 December, 2018

Revised 28 December, 2018

Accepted 23 January, 2019