

Original Article

Effect of *Acorus gramineus* root water extract on the body adipose tissues

Sunhwa Hong¹, YeonShik Choi², Da-Seul Kim³, Hye-Young Kwon³, Okjin Kim^{1*}

¹Center for Animal Resources Development, Wonkwang University, Iksan, 54538, Korea

²Dept. of Bio-Medical Analysis Campus, Bio of Korea Polytechnics

³Graduate School of Applied Animal Science, Wonkwang University, Iksan 54538, Korea

Acorus gramineus is a herb used frequently in oriental medicine. Clinically, the effects of *Acorus gramineus* are known as awakening of one's consciousness, removal of sputum, and relief of autism. Experimentally, *Acorus gramineus* root(AGR)-induced cerebral blood flow increase depending on the concentration causes diverse responses of blood pressure and regional cerebral blood flow and possesses strong inhibitory effects of apoptosis in the nervous system. We investigated the effects of AGR water extract on the adipose tissue status. Male C57BL/6 mice were fed high fat diet and a total of 35 mice were divided into 5 groups: normal group, control group, and groups treated with AGR water extract at concentrations of 20, 100, and 500 mg/kg. The mice were treated by oral administration once a day for consecutive 6 weeks, and their weight changes were monitored. As the results, the groups treated with AGR water extract showed weight loss. Also, the weights of liver, epididymal fat, retroperitoneal fat and peri-renal fat were decreased in the groups treated with AGR water extract. In histopathological examination, the sizes of adipose tissues decreased in liver, epididymal fat, retroperitoneal fat, and peri-renal fat. These results indicate that AGR water extract have an anti-obesity activity, which could be used as an useful material to decrease body adipose tissues.

Key words: *Acorus gramineus* water extract, adipose tissue, body lipids, fat

Introduction

석창포(*Acorus gramineus* Rhizoma)는 천남성(Araceae)과 창포속(*Acorus*)에 속한 다년생 초본인 석창포(*Acorus gramineus* SOLANDER)의 뿌리 줄기를 건조한 것으로 뇌기

능 및 인지기능 장애를 개선하는데 활용되어 왔다 [1]. 석창포는 항산화와 항염증 효능 및 면역조절 작용이 있으며 [2-4], 뇌허혈 등 다양한 *in vivo*와 *in vitro* 연구에서 뇌신경 세포 손상 보호 효능이 있는 것으로 보고되었다 [5-7]. Morris 수중미로 실험에서는 학습능력을 증진시켰다고 보고되었다 [10,11]. 최근에는 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)로 유도된 파킨슨병 모형에서 신경세포 사망과 중추신경계 염증을 억제하는 작용을 나타내는 것으로 연구되었다 [12]. 또한 석창포는 뇌연막동맥을 확장시키고 뇌조직의 국소혈류량을 증가시키는 효능이 있다고 하였다 [13,14].

본 연구에서는 6주간 C57BL/6 mice에 고지방식이료를 급여하여 유도되는 비만 모델에서 석창포 뿌리 열수 추출물의 투여가 체내 지방 조직에 미치는 영향에 대하여 알아보고자 하였다.

Materials and Methods

재료 및 추출

시험에 사용된 석창포(*Acorus gramineus*)는 경상북도 안동시 안동석창포영농조합법인으로부터 한국산으로 판매되고 있는 건조된 석창포를 구입하여 분쇄기(DA700, Dae-sung Atron Co., Paju, Korea)로 입자 크기가 30메시 이하가 되도록 분쇄하여 천연물 분말을 수득한 후, 상기에서 수득한 건조된 천연물 분말(1 kg) 질량의 30배(v/w)에 해당하는 증류수를 100 °C에서 3시간 동안 2회 환류 냉각 추출한 후 추출물을 Qualitative Filter Paper(ADVANTECH, Tokyo, Japan)로 감압 여과하여 여액을 감압 농축기(Rotary Evaporator, HAHN SHIN, Bucheon, KOREA)를 사용하여 농축하고, 농축액을 ultra-low temperature freezer(SANYO, Osaka, Japan)에서 24시간 동결시킨 후 동결건조(FDU-8606, Operon, Gimpo Korea)하여 추출물 55.99 g을 수득하여 사용하였다.

실험동물

*Corresponding author: Okjin Kim,

Center for Animal Resources Development, Wonkwang University, Iksan 54538, Korea

Tel: +82-63-850-6668, Fax: +82-63-850-7308, E-mail: kimoj@wku.ac.kr

본 실험에서는 평균 체중이 15.05 ± 0.02 g인 4주령의 수컷 C57BL/6 mice (Samtako, Osan, Korea)를 1주간 순화를 시켰다. 동물실험은 원광대학교 동물실험 윤리위원회의 지침에 준하여 수행하였다(WKU15-113). 사료는 NC 군에게는 일반 마우스 배합사료 (Dyets, Korea)를 급여하고, HFD 군에는 High Fat Diet 45% (Saeronbio Inc., Uiwang, Korea)와 필터 및 자외선 살균기로 여과 살균된 정제수를 자유롭게 섭취하도록 하였다.

군 구성

실험동물은 5개군으로 분류되었으며 6주간 일반 사료 식이군을 정상군 (Normal Control, NC, n=10)으로 하고, 고지방 사료만을 식이한 대조군 (HFD, n=10), 고지방 사료를 식이하고 석창포 뿌리 열수추출물 20 mg/kg 투여군인 WKAG-L (n=10), 석창포 뿌리 열수추출물 100 mg/kg 투여군 WKAG-M (n=10), 석창포 뿌리 열수추출물 500 mg/kg 투여군 WKAG-H (n=10)로 분류하였다. 군 구성 마리의 수는 산정은 3R의 원칙에 준하여 통계적 의미를 가리는 최소수를 사용하였다. Normal군과 HFD군은 D.W를 투여하였고, 석창포 뿌리 열수추출물은 각각 20 mg/kg, 100 mg/kg, 500 mg/kg의 농도의 투여 용량으로 선정하여 1일 1회씩 6주동안 경구 투여하였다.

간 및 체내 지방 상대 장기 중량 측정

실험 종료일에 각 군의 마우스를 부검하여 간 (liver) 및 부고환지방 (epididymal fat), 후복막지방 (retroperitoneal fat), 신장주위지방 (peri-renal fat)을 적출하고 무게 측정 후, 각각의 상대 장기 중량 (%)을 (장기/체중) × 100의 식으로 계산하여 구하였다.

병리조직학적 검사

실험 종료일에 채취한 간 (liver) 조직 및 지방 조직 내 지방질의 축적을 확인하기 위해 간 (liver), 부고환지방 (epididymal fat), 후복막지방 (retroperitoneal fat), 신장주위지방 (peri-renal fat)을 적출하여 생리식염수로 세척한 다음 여과지로 수분을 제거한 후 병리조직학적 검사를 위하여 적출된 간 조직의 일부를 10% 중성 포르말린에 고정하고,

Table 1. Effect of *A. gramineus* extract on relative liver body weight in C57BL/6 mice

Group	Liver Weight (g)
NC	0.92 ± 0.08^a
HFD	0.96 ± 0.08^a
WKAG-L	0.95 ± 0.12^a
WKAG-M	0.93 ± 0.11^a
WKAG-H	0.91 ± 0.13^a

NC; normal control group, HFD; high fat diet control group, WKAG-20; HFD + 20 mg/kg *Acorus gramineus* extract supplemented group, WKAG-100; HFD + 100 mg/kg *Acorus gramineus* extract supplemented group, WKAG-500; HFD + 500 mg/kg *Acorus gramineus* extract supplemented group, Values are Mean ± SD ($p < 0.05$).

병리조직학적 검사를 위한 통상적인 방법을 사용하여 파라핀 포매한 후, 4 μm의 두께로 절편하고 슬라이드 제작한 후 Hematoxyline & Eosin (H&E) 염색을 수행하고 Nikon Eclipse E200 (Nikon, Japan) 광학 현미경 100배의 배율에서 nonalcoholic steatohepatitis (NASH) score를 측정하였다. NASH란 비알코올성 지방간염으로 거대세포성 지방증, 간세포 손상과 혼합 염증반응이라는 3가지 병변이 주로 3구역, 중심 소엽에 분포하는 것을 특징으로 한다. NASH score 측정은 H&E 염색을 한 슬라이드를 광학현미경으로 조사하여 지방증, 풍선변성, 소엽 염증 정도의 점수를 합산하여 5점 이상이면 NASH로, 2점 이하이면 NASH가 아닌 것으로 판정하였다 [15].

실험 수행 기간 동안 실내 온도 $24 \pm 4^\circ\text{C}$ 의 온도와 동일한 환경이 적용될 수 있도록 하였고 원광대학교 동물실험윤리위원회의 실험계획 평가 후 승인 과정을 거쳤으며 실험과정 및 종료까지 원광대학교 동물실험윤리 지침을 준수하며 수행되었다.

통계학적 방법

본 실험에 얻어진 결과는 평균 ± 표준편차 (mean ± SD)로 나타내었다. 각 시험군의 유의성에 대한 통계는 대조군과 실험군 간의 통계학적 비교를 위해 One-way Anova SPSS v.12를 사용하여 분석하였으며, Duncan's 사후검정을 실시하여 ($P < 0.05$) 이하일 때 통계적으로 유의한 것으로 판단하였다.

Results

간의 상대 장기 중량 및 NASH 변화

고지방 사료를 급여한 C57BL/6 mice에 석창포 뿌리 열수추출물로 6주간 경구 투여한 후 간의 상대장기 중량을 측정 한 결과, 고지방 사료 투여군인 HFD군과 비교하여 석창포 뿌리 열수추출물인 WKAG-L, WKAG-M, WKAG-H군에서는 유의성은 없으나 농도의존적으로 간의 중량이 감소되는 경향을 확인할 수 있었다 (Table 1).

병리조직학적으로 비알코올성 지방간염 정도를 평가하는 NASH 측정 결과, Table 2와 같이 정상군 NC군은 0.86

Table 2. Effect of *A. gramineus* extract on non-alcoholic steatohepatitis (NASH) scores in a C57BL/6 mice fed high fat diet for 6 weeks

Group	Liver Weight (g)
NC	0.86 ± 0.69^c
HFD	3.57 ± 1.51^a
WKAG-L	3.00 ± 0.82^{ab}
WKAG-M	2.43 ± 0.79^b
WKAG-H	2.14 ± 0.90^b

NC; normal control group, HFD; high fat diet control group, WKAG-20; HFD + 20 mg/kg *Acorus gramineus* extract supplemented group, WKAG-100; HFD + 100 mg/kg *Acorus gramineus* extract supplemented group, WKAG-500; HFD + 500 mg/kg *Acorus gramineus* extract supplemented group, Values are Mean ± SD ($p < 0.05$).

± 0.69 이었으나 고지방 사료만 급여한 HFD군은 3.57 ± 1.51 로 유의하게 증가된 것을 확인하였다 ($P < 0.05$). 반면 석창포 뿌리 열수 추출물 투여군에서는 100 mg/kg 및 500 mg/kg을 투여한 군에서 HFD군과 비교하여 유의한 NASH 점수 감소를 확인할 수 있었다 ($P < 0.05$).

체내 지방 중량의 변화

후복막 지방의 상대장기중량을 측정된 결과, 석창포 뿌리 열수 추출물 투여군에서는 100 mg/kg 및 500 mg/kg을 투여한 군에서 고지방 사료만 급여한 HFD군과 비교하여 유의하게 감소된 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 1-A, $P < 0.05$). 부고환 지방에서도 석창포 뿌리 열수 추출물 투여군에서는 100 mg/kg 및 500 mg/kg을 투여한 군에서 고지방 사료만 급여한 HFD군과 비교하여 유의하게 감소된 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 1-B, $P < 0.05$). 신장 주위 지방은 석창포 뿌리 열수 추출물 100 mg/kg 및 500 mg/kg을 투여한 군에서 고지방 사료만 급여한 HFD군과 비교하여 유의하게 감소된 것을 확인할 수 있었으며 특히 100 mg/kg 석창포 뿌리 열수 추출물 투여군에서 가장 감소된 수치를 확인할 수 있었다 (Fig. 1-C, $P < 0.05$).

간의 병리학적 검사

H&E 염색을 통한 간 조직을 광학 현미경으로 관찰한 결과 정상군은 간세포들이 뚜렷한 둥근 핵과 대체적으로 일정한 간격을 유지 하였다 (Fig. 2-A). 반면 HFD군은 지방 축적과 염증이 관찰되었다 (Fig. 2-B). 석창포 뿌리 열수 추출물 20 mg/kg을 투여한 군에서는 HFD군에 비교하여 간세포의 지방 축적이 감소된 것을 볼 수 있었다 (Fig. 2-C). 석창포

뿌리 열수 추출물 100 mg/kg을 투여한 군에서는 간소엽을 구성하고 있는 간세포들이 전반적으로 균일하게 배열되어 있고 지방 축적 정도는 현저히 감소된 모습이 관찰되었다 (Fig. 2-D). 석창포 뿌리 열수 추출물 500 mg/kg을 투여한 군에서는 간 세포질에 지방구는 관찰되지 않으며 정상군의 간세포와 유사한 소견을 관찰할 수 있었다 (Fig. 2-E).

체내 지방조직의 병리학적 검사

C57BL/6 mice에 석창포 뿌리 열수 추출물로 6주간 경구 투여하고 부검하여 채취한 체내 지방조직의 병리학적 검사를 실시하였다. 후복막 지방조직을 H&E 염색 후 광학 현미경으로 관찰한 결과 정상군의 지방세포들은 세포질의 지방이 조직처리 과정에서 유기용매에 녹아 속이 빈 상태로 투명한 원형의 세포들로 대체적으로 일정한 크기로 균일하게 분포하였다 (Fig. 3-A-A). 반면 고지방 사료만 급여한 HFD군은 지방세포의 크기가 유의하게 증가된 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 3-A-B). 석창포 뿌리 열수 추출물 20 mg/kg을 투여한 군에서는 HFD군에 비교하여 지방세포의 크기가 감소된 것을 볼 수 있었다 (Fig. 3-A-C). 석창포 뿌리 열수 추출물 100 mg/kg (Fig. 3-A-D)과 500 mg/kg을 투여한 군 (Fig. 3-A-E)에서는 지방세포의 크기가 보다 감소된 것을 볼 수 있었다. 고지방 사료 급여에 의해 체내 후복막 지방의 지방세포 크기는 정상군에 비교하여 유의하게 증가하며 석창포 뿌리 열수 추출물 투여에 의해 용량의존적으로 지방세포의 크기가 감소함을 확인하였다 (Table 3, $P < 0.05$).

부고환 지방조직에서도 정상군 (Fig. 3-B-A)에 비교하여 HFD군은 지방세포의 크기가 유의하게 증가된 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 3-B-B). 석창포 뿌리 열수 추출물 20 mg/

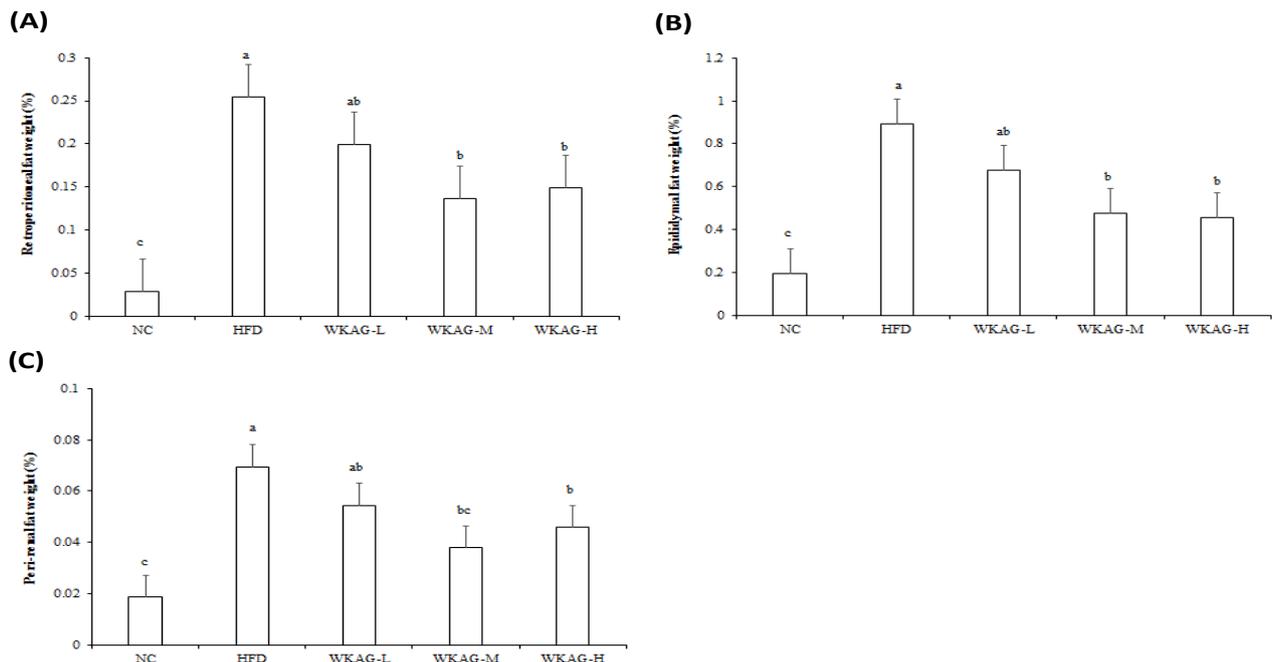


Fig. 1. Relative body weight changes of retroperitoneal fat (A), epididymal fat (B), and peri-renal fat (C) in C57BL/6 mice treated by a high fat diet and *A. gramineus* extracts. NC; normal control group, HFD; high fat diet control group, WKAG-20; HFD + 20 mg/kg *Acorus gramineus* extract supplemented group, WKAG-100; HFD + 100 mg/kg *Acorus gramineus* extract supplemented group, WKAG-500; HFD + 500 mg/kg *Acorus gramineus* extract supplemented group, Values are Mean \pm SD ($p < 0.05$).

kg 투여군 (Fig. 3-B-C)은 HFD군과 차이가 없었으나 석창포 뿌리 열수추출물 100 mg/kg (Fig. 3-B-D)과 500 mg/kg을 투여한 군 (Fig. 3-B-E)에서는 지방세포의 크기가 HFD군과 비교하여 유의하게 감소된 것을 볼 수 있었다 (Table 3, $P<0.05$).

신장주위지방세포에서도 정상군 (Fig. 3-C-A)에 비교하여 HFD군은 지방세포의 크기가 유의하게 증가된 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 3-C-B). 석창포 뿌리 열수추출물 20 mg/kg 투여군 (Fig. 3-C-C)과 100 mg/kg (Fig. 3-C-D) 및 500 mg/kg 투여군 (Fig. 3-C-E)에서는 지방세포의 크기가 HFD군과 비교하여 유의하게 농도의존적으로 감소된 것을 볼 수 있었다 (Table 3, $P<0.05$).

Discussion

본 연구 결과 고지방식이 비만 쥐에서 석창포 뿌리 열수추출물을 투여한 군에서 유의적으로 체중이 감소함을 볼 수 있었다. Kim 등 [16]의 연구에서는 고지방식으로 유도된 비만 쥐에 청국장을 섭취시킨 결과 대조군에 비해 유의적으로 체중을 감소시켰다. Park 등 [17]의 연구에서는 비만 쥐에게 키토산과 히비스커스 추출물에 함유되어 있는 hydroxycitric acid (HCA)와 L-카르니틴이 함유된 식이를 섭취시켰을 때 정상군에 비하여 세군이 모두 유의적으로 감소함을 관찰할 수 있었다고 보고하였다. 식이섭취량과 관련한 선행연구를 살펴보면 Kim [18]의 연구에서는 인진쑥과 동충하초를 독립적으로 투여한 군에서의 식이섭취량은 유의적인 감소를 보이지 않은 반면 인진쑥과 동충하초를 동시에 투여한 그룹에서 식이섭취량의 유의적인 감소를 보였다. Kim [19]의 연구에서는 2형 당뇨 쥐에게 술잎추출물을 경구 투여한 결과 식이섭취량이 감소하는 경향을 관찰할 수 있었다. Kang 등 [20]의 연구에서는 고지방식이 유도 비만 쥐에서 커피 추출

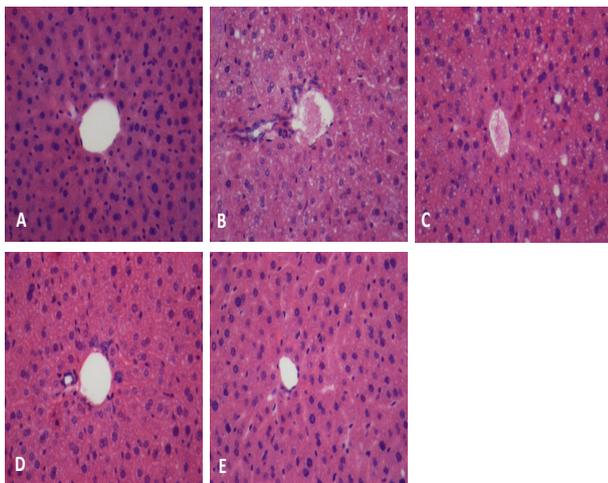


Fig. 2. Histopathological lesions of livers in C57BL/6 mice fed high fat diet and *A. gramineus* extracts for 6 weeks. H&E staining, ($\times 100$). NC; normal control group, HFD; high fat diet control group, WKAG-20; HFD + 20 mg/kg *Acorus gramineus* extract supplemented group, WKAG-100; HFD + 100 mg/kg *Acorus gramineus* extract supplemented group, WKAG-500; HFD + 500 mg/kg *Acorus gramineus* extract supplemented group, Values are Mean \pm SD ($p<0.05$).

물 섭취군의 식이효율이 높게 관찰되었으며, 같은 양을 섭취해도 식이효율이 높으면 체중이 많이 증가함을 관찰할 수 있었다는 보고가 본 실험 결과와도 유사하였다.

본 연구에서 간의 상대장기 무게를 측정된 결과 HFD과 비교하여 석창포 뿌리 열수추출물 투여군에서 유의적인 감소를 볼 수 있었다. 병리조직학적으로 석창포 뿌리 열수추출물을 투여한 군의 간 조직에서는 간세포들이 전반적으로 균일하게 배열되어 있고 지방 축적 정도는 현저히 감소된 모습을 관찰할 수 있었으며 이로부터 HFD군에 비교하여 석창포 뿌리 열수추출물 투여군에서 간의 상대장기 무게 감소가 유도되었음을 알 수 있었다. 본 연구에서 부고환 지방, 복막 후 지방, 신장 주위지방의 무게를 측정된 결과 석창포 뿌리 열수

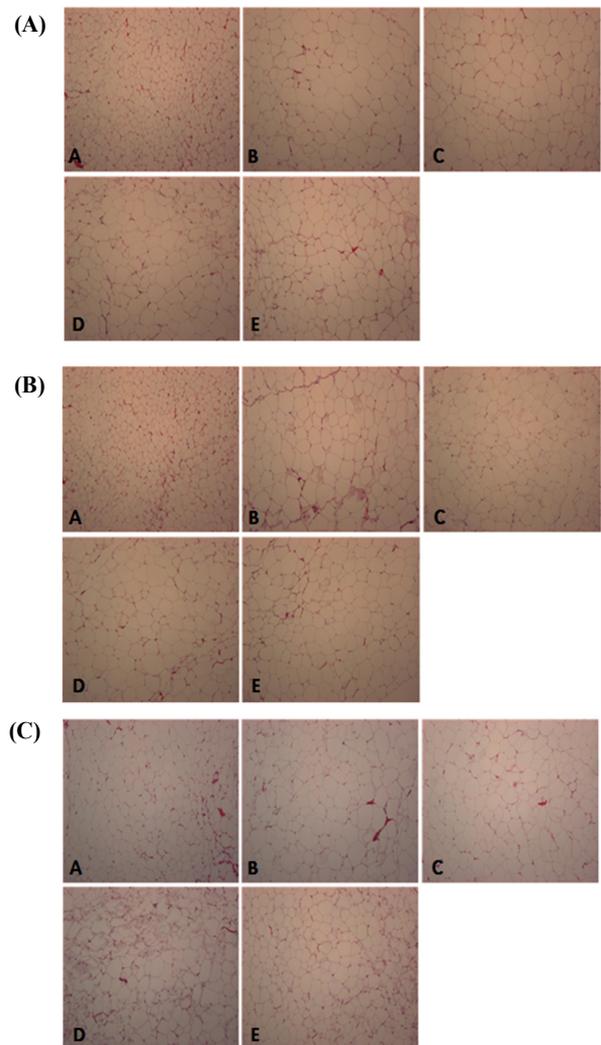


Fig. 3. Adipocyte size changes of retroperitoneal fat (A) and epididymal fat (B) and peri-renal fat (C) in C57BL/6 mice fed high fat diet and *A. gramineus* extracts for 6 weeks. H&E staining, ($\times 100$). NC; normal control group, HFD; high fat diet control group, WKAG-20; HFD + 20 mg/kg *Acorus gramineus* extract supplemented group, WKAG-100; HFD + 100 mg/kg *Acorus gramineus* extract supplemented group, WKAG-500; HFD + 500 mg/kg *Acorus gramineus* extract supplemented group, Values are Mean \pm SD ($p<0.05$).

Table 3. Effect of *A. gramineus* extract on histological adipocyte size in a C57BL/6N mice obesity model induced by a high fat diet

Group	Retroperitoneal fat (μm^2)	Epididymal fat (μm^2)	Peri-renal fat (μm^2)
NC	89.87 \pm 6.56 ^d	92.05 \pm 6.45 ^c	92.00 \pm 7.55 ^b
HFD	128.23 \pm 8.28 ^a	127.67 \pm 5.63 ^a	114.23 \pm 8.11 ^a
WKAG-L	120.33 \pm 6.88 ^b	125.00 \pm 11.87 ^a	91.33 \pm 6.65 ^b
WKAG-M	99.00 \pm 6.67 ^c	101.33 \pm 8.90 ^b	93.00 \pm 8.55 ^b
WKAG-H	95.67 \pm 6.58 ^c	99.67 \pm 6.79 ^b	93.67 \pm 8.26 ^b

ANC ; normal control group, HFD ; high fat diet control group, WKAG-L ; HFD + 20 mg/kg *Acorus gramineus* extract supplemented group, WKAG-M ; HFD +100 mg/kg *Acorus gramineus* extract supplemented group, WKAG-H ; HFD +500 mg/kg *Acorus gramineus* extract supplemented group, Values are Mean \pm SD ($p < 0.05$).

추출물 투여 군에서 유의적인 감소를 볼 수 있었다. 병리조직학적으로 석창포 뿌리 열수 추출물을 투여한 군의 부고환 지방, 후복막 지방, 신장 주위지방 조직에서는 지방세포들의 크기가 HFD에 비교하여 현저히 감소된 모습을 관찰할 수 있었으며 이로부터 HFD 군에 비교하여 석창포 뿌리 열수 추출물 투여군에서 부고환 지방, 복막 후 지방, 신장 주위지방 무게 감소가 유도되었음을 알 수 있었다. Kang 등 [21]은 고지방식이 유도 비만 쥐에 가르시니아 캄보지아 추출물을 급여하여 지방의 양이 감소하는 것을 관찰할 수 있었다고 보고하였다. 또한, Kim 등 [22]은 고지방식이 유도 비만 쥐에 뽕잎 추출물을 급여하여 지방 무게의 감소를 확인하였다.

본 연구 결과 석창포 (*Acorus gramineus*) 뿌리 열수 추출물은 간의 NASH 점수를 감소시키고 체내 지방 세포의 크기 감소, 지방 무게 감소를 유도하는 것으로 확인 할 수 있었다. 이러한 결과는 석창포 뿌리 열수 추출물이 향후 체내 지방 감소를 위한 유용 소재로 활용될 수 있는 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

ORCID

Okjin Kim, <http://orcid.org/0000-0002-2070-2865>

References

- Park BK, Min SY, Kim JH. Effects of *Acori Gramineae* Rhizoma on Scopolamine-induced Amnesia in Rats. *Journal of Korean Oriental Medicine* 2008;29:67-76.
- Gu BS, Lee DU. Antioxidative Effect of the Essential Oil from the Rhizomes of *Acorus gramineus*. *Korean Journal of Life Science* 2001;11:503-508.
- Kim NS, Lee KH, Kim TH, Bae JB, Kim SG, Jeon H, Lim JP, Shin TY, Lee CH, Jeong SI, Oh CH. Immunoregulatory and Anti-cancer Effect of *Acorus gramineus* Solander. *Journal of physiology & pathology in Korean Medicine* 2007;21:869-873.
- Kim KH, Moon E, Kim HK, Oh JY, Kim SY, Choi SU, Lee KR. Phenolic constituents from the rhizomes of *Acorus gramineus* and their biological evaluation on antitumor and anti-inflammatory activities. *Bioorg Med Chem Lett* 2012;22:6155-6159.
- Kang SJ, Keum HS, Jeon YI, Lee EJ, Park CS, Park CG, Heo JH, Yang CH, Cho JS. The neuroprotective effect of *Acori gramineae* rhizoma extract against cerebral ischemia in rats. *Korean J Orient Int Med* 2001;22:341-351.
- Choi GH, Park ST, Ryu DG, Choi MH, Heo JY, Kang SD, Go JS, Yang SC, Sung YK, Cho NS, Lee CW, Sou ES, Ryu YS. Effects of *Acori Rhizoma* water extract on the Cerebral Cortex Neuron injured by Glucose Oxidase. *Journal of Oriental Physiology* 1999;14:117-126.
- Park DJ, Jung SH, Moon IS, Lee WC, Shin GJ. Microarray Analysis of Alteration in Gene Expression by *Acori gramineae* rhizoma (AGR) Water-Extract in a Hypoxic Model of Cultured Rat Cortical Cells. *Journal of life science* 2007;17:150-161.
- Lee SR, Kang HW, Kim ST, Lyu YS. The Effects of anti-Alzheimer in pCT105-induced Neuroblastoma cell lines by *Radix Polygalae* and *Rhizoma Acori Gramineae* mixture extract. *Journal of physiology & pathology in Korean medicine* 2003;17:1037-1049.
- Choi H, Kim SH, Lee DY, Ahn DJ, Kang WH, Lyu YS. The effects of *Rhizoma Acori Gramineae* water extract in Alzheimer's Disease Model induced by pCT105. *Journal of oriental neuropsychiatry* 2002;13:173-194.
- Park EK, Shim ES, Jung HS, Sohn NW, Soh YJ. Effects of Chongmyung-tang, *Polygalae Radix* and *Acori Gramineae* Rhizoma on A β Toxicity and Memory Dysfunction in Mice. *Journal of Korean oriental internal medicine* 2008;29:608-620.
- Kim JH, Hahm DH, Lee HJ, Pyun KH, Shim I. *Acori gramineae* rhizoma ameliorated ibotenic acid-induced amnesia in rats. *Evid Based Complement Alternat Med* 2009;6:457-464.
- Jiang J, Kim JJ, Kim DY, Kim MK, Oh NH, Koppula S, Park PJ, Choi DK, Shin YK, Kim IH, Kang TB, Lee KH. *Acorus gramineus* inhibits microglia mediated neuroinflammation and prevents neurotoxicity in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced mouse model of Parkinson's disease. *J Ethnopharmacol* 2012;144:506-513.
- Lee GS, Jeong HW, Kang SY. Mechanism Study of *Acori Gramineae* Rhizoma on the Pial Arterial Diameter

- in Rats. The Korea Journal of Herbology 2000;15:1-7.
14. Jeong HW, Kang SY, Bak SW. Effect of Rhizoma Acori Graminei Extract on Blood Pressure and Regional Cerebral Blood Flow in Rats. The Korea Journal of Herbology 1999;14:81-88.
 15. Neuschwander-Tetri BA and Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD single topic conference. Hepatology 2003;37:1202-1219.
 16. Kim BN, Kim JD, Ham SS, Lee SY. Effects of spice added natto supplementation on the lipid metabolism in rats. J Korean Soc Food Nutr 1995;24:121-126.
 17. Park JY, Lee JH, Lee KP, Kim MK. Effect of Feeding Chitosan, Hibiscus Extract and L-Carnitine Mixture on Body Weight and Lipid Metabolism in Rats. Korean J Food Culture 2005;20:194-203.
 18. Kim MW. Effect of Salicornia herbacea L. supplementation on lipid peroxidation and mineral levels in streptozotocin-induced diabetic rats. Korean J Nutr 2007;40:403-412.
 19. Kim JD, Yoon TH, Choe M, Im KJ, Ju JS, Lee SY. Effect of dietary supplementation with pine leaf on lipid parameters in rats. Kor J Gerontol 1991;1:47-50.
 20. Kang MH, Lee JS, Kim JH, Chung HK. Effect of acorn supplementation on lipid profiles and antioxidant enzyme activities in high fat diet induced obese rats. Korean J Food Sci 2004;37:169-175.
 21. Kang ES, Hwang JS, Kim MH, Kim HJ, Lee CK, Seo HG. Effect of Garcinia cambogia Extract-containing Dip-sauce for Meat on Lipid Accumulation and Body Weight Reduction in Rats Fed High-fat Diet. Korean J Food Sci An 2013;33:276-280.
 22. Kim EJ, Kim GY, Kim YM, Choi KH, Jang SJ. Anti-obesity Effect of Mulberry Leaves Extraction in Obese Rats High-fat Diet. Korean J Oriental Physiology & Pathology 2009;23:831-836.