



Research Article

# Physiological activities of *Pyrus pyrifolia* Nakai, malt, *Ziziphus jujuba* Mill., *Leonurus japonicus* Houtt., *Scutellaria baicalensis*, and their mixtures

## 배, 맥아, 대추, 익모초, 황금 및 이들 혼합물의 생리활성

SooJung Lee<sup>1</sup>, HyunJun Kim<sup>2</sup>, Mi Ja Chung<sup>1\*</sup>

이수정<sup>1</sup> · 김현준<sup>2</sup> · 정미자<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Science and Nutrition, Gwangju University, Gwangju 61743, Korea

<sup>2</sup>Division of Administration, Herbbori Co., Gwangju 61765, Korea

<sup>1</sup>광주대학교 식품영양학과, <sup>2</sup>허브브리 경영본부

**Abstract** This study investigated the anti-inflammatory, trypsin activity, and antioxidant effects of 11 kinds of plant extracts to discover materials for developing optimal mixtures that improve inflammation and help digestion. *Ziziphus jujuba* Mill. (ZJ), *Leonurus japonicus* Houtt. (LJ), *Scutellaria baicalensis* (SB), *Platycodon grandiflorum*, and *Aster scaber* extracts had excellent anti-inflammatory effects by reducing excessive nitric oxide (NO) and tumor necrosis factor- $\alpha$  content in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RAW264.7 macrophages. The malt (MA), *Pyrus pyrifolia* Nakai (PP), *Raphanus sativus* L., *Platycodon grandiflorum* extracts among the 11 kinds of plant extracts had high trypsin activity. The antioxidant activity of the plant extracts was examined by the DPPH radical scavenging activity, and the SB, PE, JU, and MA extracts had high antioxidant activity. Therefore, PP, MA, ZJ, LJ, and SB were selected to develop optimal mixtures that improve inflammation and help digestion. The extract of plant mixture containing PP, MA, ZJ, LJ, and SB in the ratio 1:1:2:1:2 (w/w) significantly inhibited NO production than the extract of PP, MA, ZJ, LJ, and SB, respectively, in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages. The DPPH radical scavenging activity of the mixture extract was significantly higher than the extract of PP, MA, ZJ, and LJ, respectively.

**Keywords** anti-inflammatory, antioxidant effect, plant mixture, RAW 264.7 macrophages, trypsin activity



OPEN ACCESS

**Citation:** Lee SJ, Kim HJ, Chung MJ. Physiological activities of *Pyrus pyrifolia* Nakai, malt, *Ziziphus jujuba* Mill., *Leonurus japonicus* Houtt., *Scutellaria baicalensis*, and their mixtures. Korean J Food Preserv, 30(6), 999-1011 (2023)

**Received:** November 12, 2023

**Revised:** November 26, 2023

**Accepted:** November 27, 2023

**\*Corresponding author**

Mi Ja Chung

Tel: +82-62-670-2049

E-mail: mijachung@gwangju.ac.kr

Copyright © 2023 The Korean Society of Food Preservation. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

## 1. 서론

위에서만 염증이 발생하는 위염(gastritis), 소장과 위에서 염증이 생기는 위장염(gastroenteritis) 등 소화기계통의 질환에 의해 위점막과 장점막의 손상이 일어나는데 이와 같은 위장 질환은 전 세계 인구 중 한 번 이상 경험한 경우가 4-5%로 소화기 질환 중에서도 가장 흔한 질환이다(Bae와 Seo, 2019). 이런 질환들은 만성화되어 바쁜 현대인들에게 고통을 주는 경우가 많다. 만성

염증반응은 소화계 질환뿐만 아니라 동맥경화, 천식, 암 등 다양한 질병을 유발할 수 있어 이들 질환을 개선할 수 있는 항염증 효능을 갖는 식품소재 및 성분 발굴에 관한 연구들이 활발하게 진행되고 있다(Chung 등, 2015; Kaplanski 등, 2003).

Lipopolysaccharide(LPS)는 그람 음성세균의 세포 표면을 구성하는 물질로 국소 염증 등의 반응을 일으키는 것으로 알려져 있어 세포 및 동물 모델에서 염증 유도를 위해 많이 사용한다. LPS는 대식세포에서 세포 내 신호전달경로의 활성을 통해 nitric oxide(NO) 및 tumor necrosis factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ), interleukin(IL)-1 $\beta$ , IL-6 등 염증성 매개 물질을 과량 분비하도록 유도하여 염증을 악화시킨다(Lee와 Chung, 2021).

염증을 완화시키기 위해 다양한 항염증제가 사용되고 있으나 일부 항염증제의 장기 복용은 소장에 염증이 생기고 상부 위장관의 점막에 손상이 생기는 등 부작용이 보고되어 있다(Choi 등, 2020). 따라서 소화기계통에 부작용이 없으면서 염증 개선 및 소화에 도움을 줄 수 있는 천연물 유래 기능성 소재 탐색 연구가 요구되고 있다.

무(*Raphanus sativus* L.)는 겨자과 또는 십자화과(Brassicaceae)에 속하고 우리나라에서 김치의 주재료로 사용되고 있어 다량 소비된다. 무에는 여러 소화효소를 함유하고 있어 소화를 돕는 작용이 있는 것으로 알려져 있고(Cho 등, 2009), 항염, 항산화, 지혈 작용 등 다양한 생리활성이 있는 것으로 알려져 있다(Jung 등, 2004). 배(*Pyrus pyrifolia* Nakai)와 사과(*Malus pumila* var. *dulcissima*)는 우리나라에서 즐겨 먹는 과일 중 하나로, 배와 사과의 과육과 과피 등에는 폴리페놀 화합물이 다량 존재하는데 과육보다는 과피에 많은 양이 존재하는 것으로 알려져 있으며, 이들 물질들은 배와 사과의 강한 항산화 효과와 관련된 것으로 알려져 있다(Kim 등, 2015; Zhang 등, 2003). 맥아(malt)는 보리를 발아시켜 말린 것으로 이것을 제조하는 첫 번째는 침맥(steeeping)으로 종실의 수분을 12-40%로 적절하게 흡수하기 위한 단계이고, 두 번째는 발아(germination)이다. 그리고 세 번째는 발아 중 배의 성장, 효소 합성, 제한적인 배유 분해 등 생산물을 안전화시키는 건조(kilning)이다(Ogushi 등, 2002). 맥아는 맥주의 주원료로 사용되고 있고, 맥아는 항산화 효과 등을 가지고 있는 것으로 알려져

있다(Park 등, 2022). 대추(*Ziziphus jujuba* Mill.)는 차, 음료, 떡 등 식재료로 널리 사용되고 있고, alkaloid, saponin, triterpenoid, polyphenol 등이 함유되어 있으며(Lee 등, 2004), 항산화, 항염증 등 다양한 생리활성 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Hong 등, 2019). 익모초(*Leonurus japonicus* Houtt.)는 leonurine, leonuridine, rutin 등 다양한 생리활성 물질들이 있고, 항산화, 항염증 등 활성이 알려져 있다(Choi 등, 2020). 황금(*Scutellaria baicalensis*)은 꿀풀과에 속하며 우리나라 각처에서 자라는 다년생 초본이다. 한약으로 사용하고, 항천식 작용, 항암작용, 항산화 활성, 면역조절 기능, 항염증 효과 등이 보고되어 있다(Lee 등, 2021; Shin 등, 2015; Um 등, 2017). 도라지(*Platycodon grandiflorum*) 뿌리, 더덕(*Codonopsis lanceolata*) 뿌리 그리고 잔대(*Adenophora triphylla*) 뿌리는 식용 및 약용으로 이용되어 오고 있고, 면역력 증진, 항염증, 항산화 등 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 있다(Kim 등, 2023; Lee 등, 2019). 참취(*Aster scaber*)의 어린순은 취나물이라 하고 생식하거나 가열 처리한 나물로 섭취 또는 약용으로 사용하고 있으며, 참취 추출물 및 그것의 주요 물질은 항산화, 항염증, 항뇌염증 등 다양한 효과가 있다(Chung 등, 2016; Kim 등, 2022).

염증에 의해 다양한 질병들이 유발되고 있어 본 연구의 목적은 항염증 효과를 가진 천연소재를 발굴하여 이들 소재를 이용하여 항염증 효과를 가진 최적 혼합물을 개발하는 것이다. 더하여 이들 소재들이 염증 유발 시 발생하는 reactive oxygen species(ROS)를 감소시킬 수 있는 항산화력을 가지고 있는지도 알아보았고, 단백질 소화에 도움을 줄 수 있는 소재인지도 알아보았다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 재료 및 추출물 제조

본 연구에 사용한 시료인 무(*Raphanus sativus* L.), 배(*Pyrus pyrifolia* Nakai), 사과(*Malus pumila* var. *dulcissima*), 대추(*Ziziphus jujuba* Mill.), 도라지(*Platycodon grandiflorum*) 뿌리 및 더덕(*Codonopsis lanceolata*) 뿌리는 광주광역시(Gwangju-si, Korea) 대형마트에서 구입하였고, 잔대(*Adenophora triphylla*) 뿌

리와 참취(*Aster scaber*)는 강원도 횡성(Hoengseong, Korea) 시장에서 구입하였으며, 맥아(malt), 익모초(*Leonurus japonicus* Houtt.) 및 황금(*Scutellaria baicalensis*)은 경상북도 군위(Gunwi, Korean)에서 재배된 건조 제품을 구입하여 사용하였다. 익모초는 지상부를 사용하였고, 황금은 뿌리를 사용하였다. 무, 배, 사과, 대추, 도라지, 더덕 그리고 잔대는 씻은 후 대추는 씨를 제거하였고, 모두 과피 제거 없이 50°C에서 건조하였다. 건조된 시료는 분쇄한 후 분말 시료는 중량의 20배인 증류수 또는 10배의 에탄올을 가한 후 40°C shaking incubator(JSS1-100C, JSR, Seoul, Korea)에서 24시간 추출하였다. 추출물은 Whatman filter paper No. 2(Whatman International Ltd., Springfield Mill, Kent, UK)를 사용하여 여과한 후 감압농축기(Buchi Rotovapor R-205, Buchi Labortechnik AG, Swiss, Switzerland)를 사용하여 추출 용매를 제거하였다. 농축액은 동결건조기(Clean vac8, Hanil, Incheon, Korea)로 동결건조 한 분말은 -20°C에 보관하면서 사용하였다. 무, 배, 맥아, 사과, 대추, 익모초, 황금, 도라지 뿌리, 더덕 뿌리, 잔대 뿌리 및 참취 물 추출물의 동결건조 분말은 각각 RSW, PPW, MAW, MPW, ZJW, LJW, SBW, PGW, CLW, ATW 그리고 ASW라고 하였고, 에탄올 추출물의 동결건조 분말은 각각 RSE, PPE, MAE, MPE, ZJE, LJE, SBE, PGE, CLE, ATE 그리고 ASE라고 하였다.

## 2.2. 최적배합비 개발을 위한 혼합물 제조

배, 맥아, 대추, 익모초 및 황금 건조 분말(PPP, MAP, ZJP, LJP 그리고 SBP)을 Table 1과 같은 비율(w/w)로 혼합한 후(Mixture 1-4) 상기 방법과 동일하게 추출, 여과, 농축 및 동결건조한 동결건조 분말을 각각 Mix1, Mix2, Mix3, Mix4라고 하였다.

## 2.3. 세포주 배양

마우스 대식세포주인 RAW 264.7 세포는 한국세포주은행(Seoul, Korea)에서 분양받아 사용하였다. RAW 264.7 세포는 10% 비활성화 우태아혈청(fetal bovine serum, FBS; WelGene Co., Daegu, Korea) 용액 및 1% penicillin과 streptomycin (PEST; WelGene Co.) 용액을 함유한

**Table 1.** The ratio of mixtures containing pear, malt, jujube, *Leonurus japonicus* Houtt. and *Scutellaria baicalensis*

Mixtures	Mixture ratio (w/w)
Mixture 1	PPP <sup>1)</sup> :MAP <sup>2)</sup> :ZJP <sup>3)</sup> :LJP <sup>4)</sup> :SBP <sup>5)</sup> =1:1:1:1:1
Mixture 2	PPP:MAP:ZJP:LJP:SBP=2:1:2:1:1
Mixture 3	PPP:MAP:ZJP:LJP:SBP=1:1:2:1:2
Mixture 4	PPP:MAP:ZJP:LJP:SBP=1:1:2:0.5:0.5

<sup>1)</sup>PPP, *Pyrus pyrifolia* Nakai powder.

<sup>2)</sup>MAP, malt powder.

<sup>3)</sup>ZJP, *Ziziphus jujuba* Mill. powder.

<sup>4)</sup>LJP, *Leonurus japonicus* Houtt. powder.

<sup>5)</sup>SBP, *Scutellaria baicalensis* powder.

Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM; WelGene Co.) 배지를 이용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub>가 공급되는 배양기(BB 15, ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA)에서 배양하였다.

## 2.4. 세포독성 측정

세포 독성을 알아보기 위해 96-well plate에 RAW 264.7 세포를  $1 \times 10^4$  cells/well로 분주하여 24시간 동안 세포를 부착시킨 후, FBS가 함유되지 않은 serum-free medium(SFM)으로 교체하여 2시간 더 배양하였다. RSW, PPW, MAW, MPW, ZJW, LJW, SBW, PGW, CLW, ATW 및 ASW을 100, 250 그리고 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 24시간 동안 처리하였다. 같은 시료를 3시간 처리한 후, 시료를 처리한 배지는 제거한 후 LPS(0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Mo, USA)를 더한 후 18시간 더 배양하였다. 5 mg/mL 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenylterazolium bromide(MTT; Sigma-Aldrich Co.) 용액과 SFM 배지를 1:10의 비율로 섞은 배지를 well당 100  $\mu\text{L}$ 를 첨가하여 4시간 동안 반응시켰다. MTT를 환원시켜 생성된 formazan을 남기고 배지는 완전히 제거한 다음 dimethyl sulfoxide(DMSO; Sigma-Aldrich Co.)를 100  $\mu\text{L}$ 씩 첨가하고, 30분 후 용해한 시료를 DMSO를 blank로 하여 microplate reader(AMR-100, Allsheng Co., Ltd., Hangzhou, China)기를 사용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포 생존율(%)은 시료 처리군의 흡광도를 대조군의 흡광도로 나누어 100을 곱한 값이다.

### 2.5. RAW 264.7 대식세포의 NO 생성량 및 TNF- $\alpha$ 생성량 측정

NO 및 TNF- $\alpha$  생성량 측정을 위해 RAW 264.7 세포를  $5 \times 10^5$  cells/well로 24-well plate에 분주하여 48시간 배양한 후 FBS가 함유되지 않은 SFM 배지로 교체한 후 2시간 동안 더 배양하였다. RSW, PPW, MAW, MPW, ZJW, LJW, SBW, PGW, CLW, ATW 및 ASW을 100, 250 그리고 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  3시간 처리한 후 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LPS를 18시간 처리하였다. 배, 맥아, 대추, 익모초 및 황금 건조 분말 혼합물의 물 추출물들의 동결 건조물인 Mix1, Mix2, Mix3 그리고 Mix4 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$  3시간 처리한 후 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LPS를 18시간 처리하였다.

배양 상등액을 분리하여 0.5 mL에 동량의 Griess시약 (1% sulfanilamide in 5% phosphoric acid와 1%  $\alpha$ -naphthylamide in  $\text{H}_2\text{O}$ ) 0.5 mL를 넣고 혼합하여 빛을 차단한 후 10분간 실온에서 방치 후 UV-vis spectrophotometer (Ultrospec 3000, Pharmacia Biotech, Cambridge, UK)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. NO의 농도는 sodium nitrite( $\text{NaNO}_2$ , Sigma-Aldrich Co.)로 표준 곡선을 작성하여 NO 함량을 산출하였다.

세포배양액 중 TNF- $\alpha$  농도는 enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) kit(eBioscience, Inc., San Diego, CA, USA)를 사용하여 제조회사가 제시한 방법으로 측정하였다.

### 2.6. 트립신 활성 측정

트립신 활성 측정은 식품의약품안전처 식품의약품안전평가원에서 발간한 건강기능식품 기능성 평가 가이드(위 건강 관련)의 실험 방법을 사용하여 측정하였다(Ministry of Food and Drug Safety, 2019). 10 mM sodium acetate buffer(pH 7.5; Sigma-Aldrich Co.)로 0.01% 트립신이 될 수 있도록 트립신(Sigma-Aldrich Co.)을 녹였다. 2 mg/mL의 RSW, PPW, MAW, MPW, ZJW, LJW, SBW, PGW, CLW, ATW, ASW 또는 RSE, PPE, MAE, MPE, ZJE, LJE, SBE, PGE, CLE, ATE, ASE 0.185 mL와 0.01% 트립신 0.015 mL를 혼합하여 37°C에서 10분간 전 처리하였다. Azocasein(기질; Sigma-Aldrich Co.)은 phosphate buffer(pH 7.5; Sigma-Aldrich Co.)에 녹여 3% azocasein을 만들었고, 이것의 0.8 mL를 전처리 용액에 첨가하여 37°C

에서 30분간 방치하였다. 110 mM trichloroacetic acid reagent(TCA; Sigma-Aldrich Co.) 1.0 mL을 첨가하여 반응을 정지한 후 상온에서 15분간 반응액을 정지하여 단백질을 침전시킨 후 원심분리(10,000  $\times g$ , 20 min, 20°C) 하였다. 상층액을 1.2 mL와 1 N NaOH 1.4 mL를 혼합하여 440 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 2.7. DPPH 라디칼 소거활성 측정

무, 배, 맥아, 사과, 대추, 익모초, 황금, 도라지, 더덕, 잔대 그리고 참취의 물 추출물 그리고 에탄올 추출물, 배, 맥아, 대추, 익모초 및 황금 혼합물의 물 추출물의 항산화능을 알아보기 위해 2,2-diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl (DPPH; Sigma-Aldrich Co.) 라디칼 소거 활성을 측정하였다. 100, 250, 500 그리고 1,000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도의 180  $\mu\text{L}$  시료와 120  $\mu\text{L}$  DPPH( $1.5 \times 10^{-4}$  M) 용액을 잘 혼합한 다음 상온에서 30분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼소거활성은 대조구에 대한 시료 첨가구의 흡광도를 비교하여  $[1 - (\text{시료의 흡광도} / \text{대조구의 흡광도})] \times 100$ 에 의하여 %로 나타내었다.

### 2.8. 통계처리

본 실험 결과들은 평균(mean)  $\pm$  표준편차(standard deviation, SD)로 표시하였고, 실험군간 평균의 차이는 one-way ANOVA로 유의성을 확인한 후 Duncan's multiple range test를 이용하여 사후 검정하였으며  $p < 0.05$  수준에서 유의성의 여부를 검증하였다. 모든 통계 분석은 SPSS(statistical package for the social science) version 18.0 프로그램(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 분석하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 11종의 식용 식물 추출물이 대식세포 생존율이 미치는 영향

무, 배, 맥아, 사과, 대추, 익모초, 황금, 도라지, 더덕, 잔대 그리고 참취 물 추출물의 세포독성 여부를 평가하기 위하여 RAW 264.7 대식세포에 RSW, PPW, MAW, MPW, ZJW, LJW, SBW, PGW, CLW, ATW 그리고 ASW를 각각 100, 250 그리고 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  처리하여 24시간 배양한 후

MTT assay를 수행하였다(Fig. 1). 시료를 처리하지 않고 배양한 대조군(Con)의 세포 생존율은 100%이고, 이것과 비교하였을 때 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ZJW 처리군을 제외하고 생존율에 유의적 변화가 없었다. 따라서 ZJW를 제외하고 시료들은 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 까지 세포독성이 없는 것으로 나타났다.

500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ZJW 처리군의 세포 생존율은 87.8%로 대조군과 비교하여 유의적으로 감소하였다(Fig. 1). 항염증 효과를 알아보기 위한 100, 250 그리고 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  시료를 3시간 처리한 후 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LPS를 18시간 처리하였는데, 이때는 대조군과 비교하여 모든 처리군의 세포 생존율에 유의적 변화가 없었다(data not shown).

따라서 LPS로 염증이 유도된 RAW 264.7 대식세포에서 항염증 효과를 알아보기 위한 시료 전처리 시간은 3시간이므로 계속되는 실험에서 시료의 농도는 100, 250 그리고 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 하였다.

### 3.2. 11종의 식용 식물 추출물이 NO 생성에 미치는 영향

LPS로 염증이 유도된 RAW 264.7 대식세포에 무, 배, 맥아, 사과, 대추, 익모초, 황금, 도라지, 더덕, 잔대 그리고

참취 물 추출물들이 NO 생성에 미치는 영향은 Fig. 2와 같다. LPS로 염증을 유도된 RAW 264.7 대식세포는 NO의 생성이 현저히 증가되었으나, RSW, PPW, MAW, MPW, ZJW, LJW, SBW, PGW, CLW, ATW 그리고 ASW을 농도별 처리한 후 LPS를 처리한 RAW 264.7 대식세포에서는 LPS 처리군과 비교하여 NO 함량이 현저하게 감소하였다. 특히, ZJW, LJW, SBW 그리고 ASW는 농도 의존적으로 NO 생성량을 감소시켰고, 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  PPW, ZJW, LJW, SBW, PGW 그리고 ASW 처리군에서 NO 생성량은 1.9, 0.6, 0.7, 0.7, 1.4 그리고 0.3  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 LPS 처리군(2.3  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )과 비교하여 1.2배, 3.8배, 3.3배, 3.3배, 1.6배 그리고 7.7배 유의적으로 감소하였다.

체내에서 염증이 일어나면 과량의 NO와 염증성 사이토카인이 생성된다. NO는 NO 합성효소에 의해 L-arginine으로부터 생성되고 면역반응, 세포독성, 신경전달계, 혈관이완 등 다양한 생물학적인 과정에 관여하는 것으로 알려져 있으나, 적당량의 NO는 세포 기능 유지에 유익한 작용을 하지만 과량 분비는 세포독성을 일으킬 수 있다(Lowenstein과 Snyder, 1992; Nathan과 Xie, 1994). LPS 자극에 의해

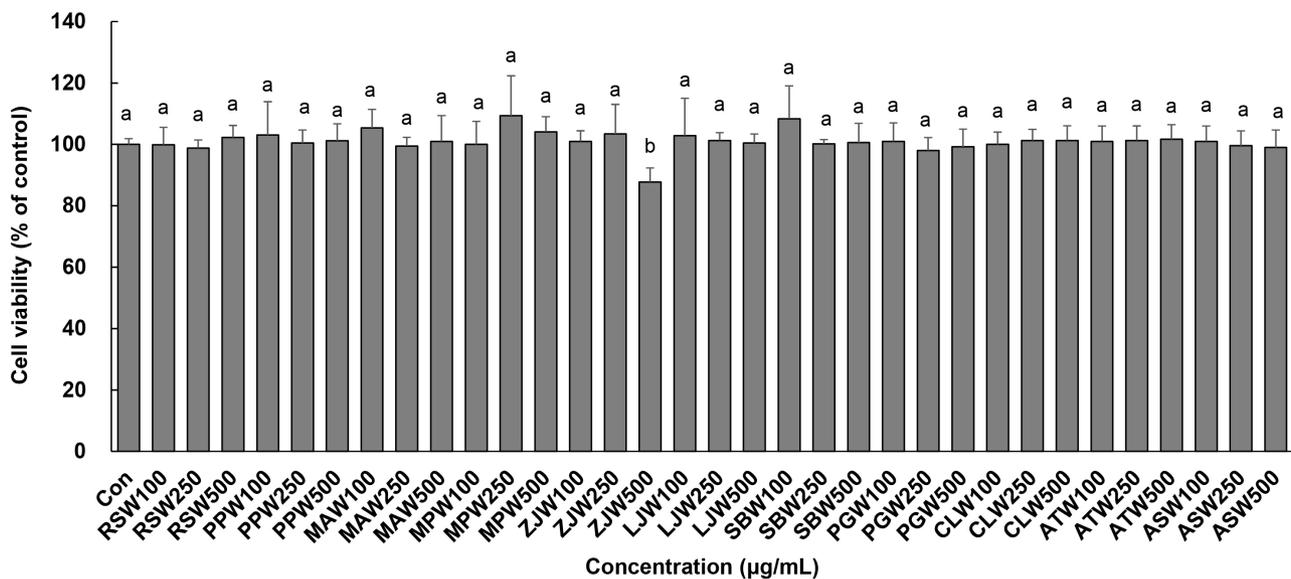
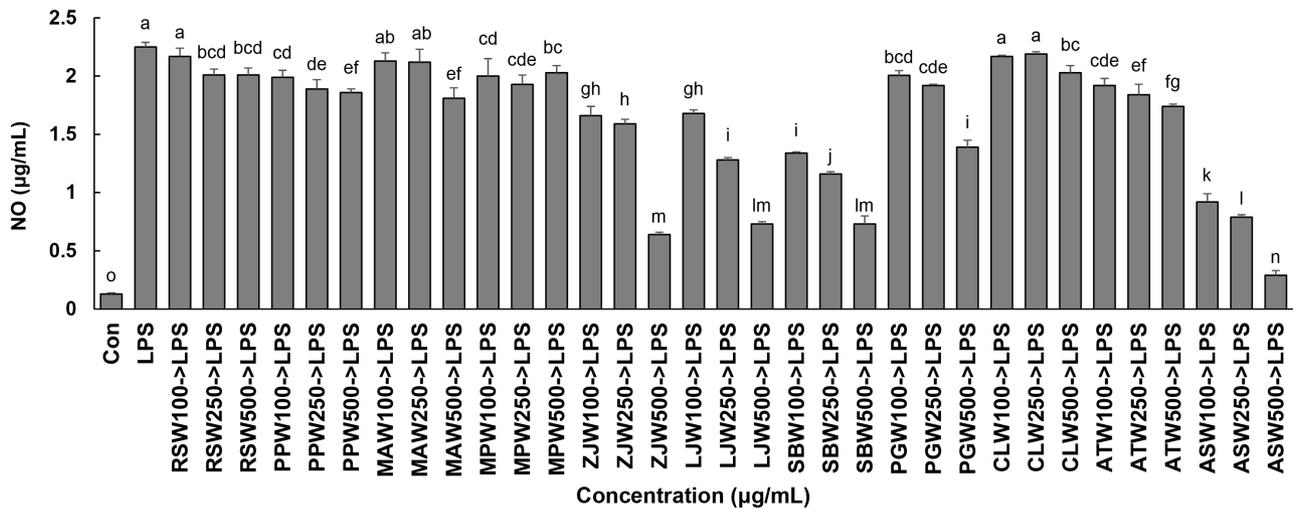


Fig. 1. The effect of water extracts of *Raphanus sativus* L. (RSW), *Pyrus pyrifolia* Nakai (PPW), malt (MAW), *Malus pumila* var. *dulcissima* (MPW), *Ziziphus jujuba* Mill. (ZJW), *Leonurus japonicus* Houtt. (LJW), *Scutellaria baicalensis* (SBW), *Platycodon grandiflorum* (PGW), *Codonopsis lanceolata* (CLW), *Adenophora triphylla* (ATW), and *Aster scaber* (ASW) on the cell viability of RAW 264.7 macrophages. The viability was measured by MTT assay. The RAW 264.7 cells were treated with the sample for 24 h. The values are expressed as mean $\pm$ SD (n=3); means with different letters (a, b) on the bar are significantly different ( $p < 0.05$ ), as determined by Duncan's multiple range test. Con, control.



**Fig. 2.** The effect of water extracts of *Raphanus sativus* L. (RSW), *Pyrus pyrifolia* Nakai (PPW), malt (MAW), *Malus pumila* var. *dulcissima* (MPW), *Ziziphus jujuba* Mill. (ZJW), *Leonurus japonicus* Houtt. (LJW), *Scutellaria baicalensis* (SBW), *Platycodon grandiflorum* (PGW), *Codonopsis lanceolata* (CLW), *Adenophora triphylla* (ATW), and *Aster scaber* (ASW) on the production of NO in RAW 264.7 macrophages. The values are mean±SD (n=3); different letters (a–o) on the bar indicate significant differences (p<0.05), as determined by Duncan’s multiple range test. Con, control.

발현된 iNOS에 의해 많은 양의 NO가 생성되어 유발된 세포 독성은 염증반응, 세포의 돌연변이, 종양 발생 등에도 관여하고, 염증반응과 관련된 조직 손상에서 NO가 증가되었다는 보고도 있다(MaCartney-Francis 등, 1993; Moncada 등, 1991).

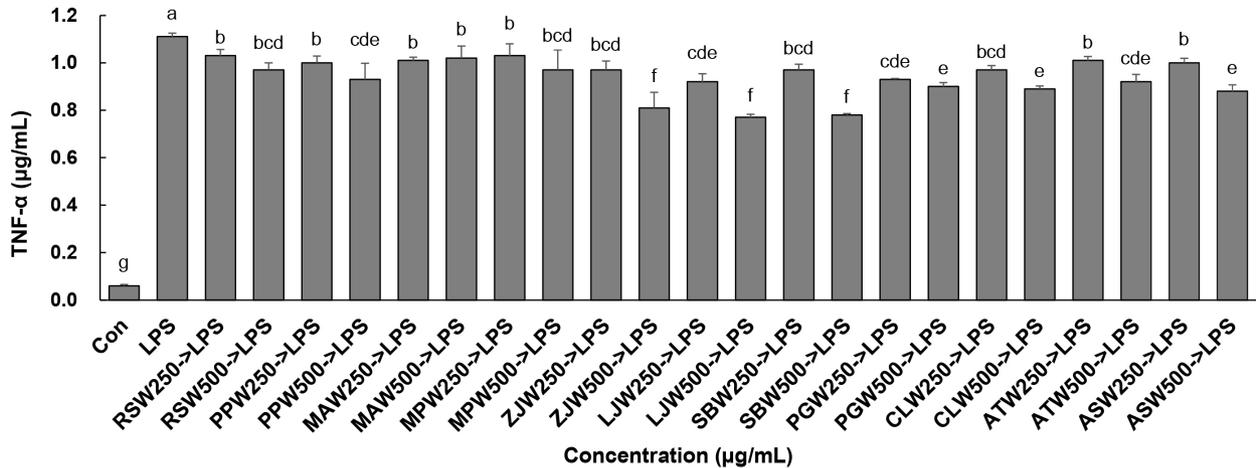
본 연구의 결과를 통해 배, 대추, 익모초, 황금, 도라지 그리고 참취의 물 추출물은 LPS로 염증이 유도된 RAW 264.7 대식세포에서 과분비 되는 NO의 생성을 유의적으로 감소시키는 효과를 나타내는 것이 확인되었으며, 특히 대추, 익모초, 황금 및 참취 물 추출물은 과량 분비되는 NO를 강하게 억제하는 항염증 효과를 가진 후보 추출물로 확인되었다.

### 3.3. 11종의 식용 식물 추출물이 TNF-α 생성에 미치는 영향

LPS에 의한 대식세포의 자극은 TNF-α 같은 염증성 사이토카인의 발현을 유도한다(Guha와 Mackman, 2001; Yun 등, 2009). 따라서 본 연구에서는 LPS로 자극된 RAW 264.7 대식세포에 무, 배, 맥아, 사과, 대추, 익모초, 황금, 도라지, 더덕, 잔대 그리고 참취 물 추출물 처리가 TNF-α 생성에 미치는 영향을 알아보았다. 그 결과 Fig. 3에서 보여주는 바와 같이, LPS 처리에 의해 증가한 TNF-α가 모든

시료 처리군에서 유의적으로 감소하였다. PPW, ZJW, LJW, SBW, PGW, CLW, ATW 그리고 ASW이 다른 추출물보다 더 효과적으로 TNF-α 함량을 감소시켰다. 특히 ZJW, LJW 그리고 SBW이 TNF-α 함량 감소 효과가 뛰어났는데, 이것은 NO 함량 감소 결과와 유사하였다. 500 µg/mL ZJW, LJW 그리고 SBW 처리군의 TNF-α 함량은 모두 0.8 µg/mL로 LPS 단독 처리군(1.1 µg/mL)과 비교하여 27% 감소하였다(Fig. 3).

보리순 추출물의 항염증 연구에 의하면 LPS로 염증이 유도된 RAW 264.7 대식세포에 100 µg/mL 보리순 추출물 처리에 의해 TNF-α 함량이 LPS 단독 처리군과 비교하여 84.9% 감소하였다고 하였는데, 본 연구에서 사용된 시료들은 보리순보다 TNF-α 함량 감소율이 낮았다(Kim과 Kim, 2015). LPS로 자극된 RAW 264.7 대식세포에서 산양삼 추출물은 TNF-α 함량 감소시켜 항염증 효과가 있다고 하였다(Lee 등, 2017). Kim 등(2018)은 도라지 및 더덕 물 추출물은 mitogen-activated protein kinase(MAPKs) 신호 경로를 활성화시켜 면역 방어 기작을 나타내는 TNF-α 및 NO의 분비를 증가시키므로 면역증진 효과가 있고, LPS에 의해 TNF-α 및 NO의 과잉 분비를 억제함으로써 항염증 효과도 있다고 하였다(Kim 등, 2018). 그러나 도라지



**Fig. 3.** The effect of water extracts of *Raphanus sativus* L. (RSW), *Pyrus pyrifolia* Nakai (PPW), malt (MAW), *Malus pumila* var. *dulcissima* (MPW), *Ziziphus jujuba* Mill. (ZJW), *Leonurus japonicus* Houtt. (LJW), *Scutellaria baicalensis* (SBW), *Platycodon grandiflorum* (PGW), *Codonopsis lanceolata* (CLW), *Adenophora triphylla* (ATW), and *Aster scaber* (ASW) on the production of TNF- $\alpha$  in RAW 264.7 macrophages. The values are mean $\pm$ SD (n=3); different letters (a-g) on the bar indicate significant differences ( $p < 0.05$ ), as determined by Duncan's multiple range test. Con, control.

및 더덕은 면역증진 효과는 뛰어났으나, 항염증 효과는 약하였고, 잔대의 물 추출물은 도라지 및 더덕의 물 추출물과 비교하여 면역증진 효과는 현저히 낮았으나 항염증 효과는 유사하였다(Kim 등, 2018).

본 연구에 사용한 모든 추출물들은 LPS로 염증이 유도된 RAW 264.7 대식세포에서 TNF- $\alpha$  및 NO의 과잉 분비를 억제하였고, 특히 ZJW, LJW, SBW, PGW 그리고 ASW는 과분비된 NO와 TNF- $\alpha$  함량을 감소시키는 효과가 뛰어나서 대추, 익모초, 황금, 도라지 그리고 참취는 항염증 효과를 나타내는 소재로 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

#### 3.4. 11종의 식용 식물 추출물이 트립신 활성에 미치는 영향

화학적 소화는 소화효소 작용에 의해 탄수화물, 단백질, 지질이 흡수될 수 있는 형태로 분해되는 과정이다. 단백질 분해효소는 중 트립신(trypsin)은 췌장에서 생성되어 십이지장으로 분비되는 소화효소로, 펩신(pepsin)과 함께 단백질을 아미노산으로 소화하는 데 관여한다(Kim 등, 2020; Ministry of Food and Drug Safety, 2019).

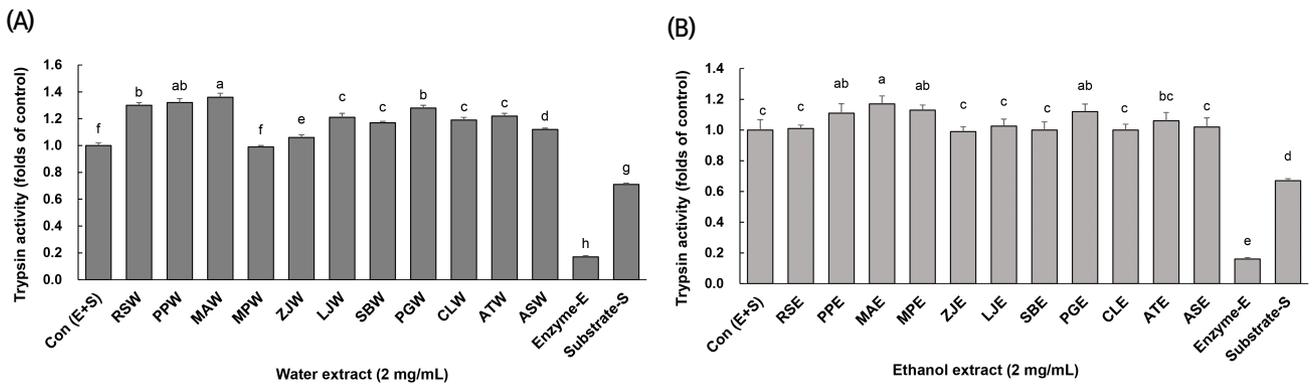
본 연구에서는 무, 배, 맥아, 사과, 대추, 익모초, 황금, 도라지, 더덕, 잔대 그리고 참취의 물 추출물 및 에탄올 추출물의 트립신 활성에 미치는 영향을 알아보았다. 시료를 더하지 않은 효소와 기질만 처리한 대조군(1배)과 비교하여

11종류의 물 추출물들 중 MPW를 제외하고 유의적으로 트립신 활성을 증가시켰다. 11종류의 물 추출물들 중 MAW(1.4배), PPW(1.3배), RSW(1.3배) 그리고 PGW(1.3배)가 트립신 활성이 다른 시료보다 높았다(Fig. 4(A)). 에탄올 추출물들 중에서는 PPE, MAE, MPE 그리고 PGE 처리에 의해 트립신 활성인 대조군보다 유의적으로 증가하였으나, 그 외 처리군은 대조군과 비교하여 트립신 활성에 유의적 변화가 없었다(Fig. 4(B)).

단백질은 근력과 근육 발달에 중요한 영양소이고, 이들 단백질 섭취량 증가와 함께 소화 흡수에 대한 관심도 증가하고 있다(Lee, 2014). 트립신(trypsin)은 섭취한 단백질을 분해하여 소화를 돕고(Kim 등, 2020), 단백질 분해효소들의 활성화는 단백질을 펩타이드나 아미노산으로 쉽게 분해하므로 단백질 분해효소 활성을 증가시키는 천연소재는 위와 장과 같은 소화기관에 염증이 발생하여 단백질 소화가 힘든 사람들에게 도움을 줄 수 있을 것이라 생각된다.

#### 3.5. 11종의 식용 식물 추출물이 DPPH 라디칼 소거작용에 미치는 영향

무, 배, 맥아, 사과, 대추, 익모초, 황금, 도라지, 더덕, 잔대 그리고 참취 물 추출물과 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거작용은 Fig. 5와 같다. DPPH 라디칼 소거작용은



**Fig. 4.** The effect of water or ethanol extract of *Raphanus sativus* L. (RSW, RSE), *Pyrus pyrifolia* Nakai (PPW, PPE), malt (MAW, MAE), *Malus pumila* var. *dulcissima* (MPW, MPE), *Ziziphus jujuba* Mill. (ZJW, ZJE), *Leonurus japonicus* Houtt. (LJW, LJE), *Scutellaria baicalensis* (SBW, SBE), *Platycodon grandiflorum* (PGW, PGE), *Codonopsis lanceolata* (CLW, CLE), *Adenophora triphylla* (ATW, ATE), and *Aster scaber* (ASW, ASE) on the trypsin activity. The values are mean±SD (n=3); different letters (a-h) on the bar indicate significant differences (p<0.05), as determined by Duncan's multiple range test. Con, control.

100-1,000 µg/mL 농도에서 측정하였다. 물 추출물은 SBW만 모든 농도에서 90% 이상 DPPH 라디칼 소거작용을 나타냈으나(Fig. 5(A)), 에탄올 추출물은 LJE, PGE 그리고 CLE를 제외하고는 1,000 µg/mL RSE, PPE, MAE, MPE, ZJE, SBE, ATE 그리고 ASE에서 95% 이상 DPPH 라디칼 소거작용이 나타났(Fig. 5(B)). 100-1,000 µg/mL 농도에서 SBW 및 SBE 모든 처리군에서 90% 이상 높은 DPPH 라디칼 소거작용을 나타내었고, 100-250 µg/mL 농도에서 SBW 및 SBE는 11종류의 추출물 들 중 DPPH 라디칼 소거작용이 가장 뛰어났다. 그 외에는 PPW, PGW, CLW 및 ASW의 DPPH 라디칼 소거작용이 높았다(Fig. 5(A)). 에탄올 추출물에서는 모든 시료들이 DPPH 라디칼 소거작용이 높았으나, 그 중 SBE 및 PPE는 100 µg/mL에서도 95% 이상 DPPH 라디칼 소거작용을 보여주었다(Fig. 5(B)).

급성 위염 등 염증성 질환이 유발되면 ROS 생성되고, 이들 ROS는 세포를 손상시켜 다양한 질병을 유발할 수 있으므로 (Bae와 Seo, 2019) 항염증 효과와 항산화 효과를 가진 소재는 염증성 질환에 더 효과적일 것이다. 더덕은 LPS로 자극한 RAW 264.7 대식세포에서 NO와 염증성 사이토카인을 억제시켜 항염증 효과가 있었고, 염증 과정 중 발생한 세포 내 ROS를 효과적으로 감소시키므로 항산화 효과가 있다고 하였는데(Kim 등, 2023), 도라지와 잔대 물 추출물도 항염증 효과 및 DPPH 라디칼 소거작용에 의한 항산화 효과가 있었다 (Lee 등 2019). 본 연구에서도 더덕, 도라지 및 잔대의 항염

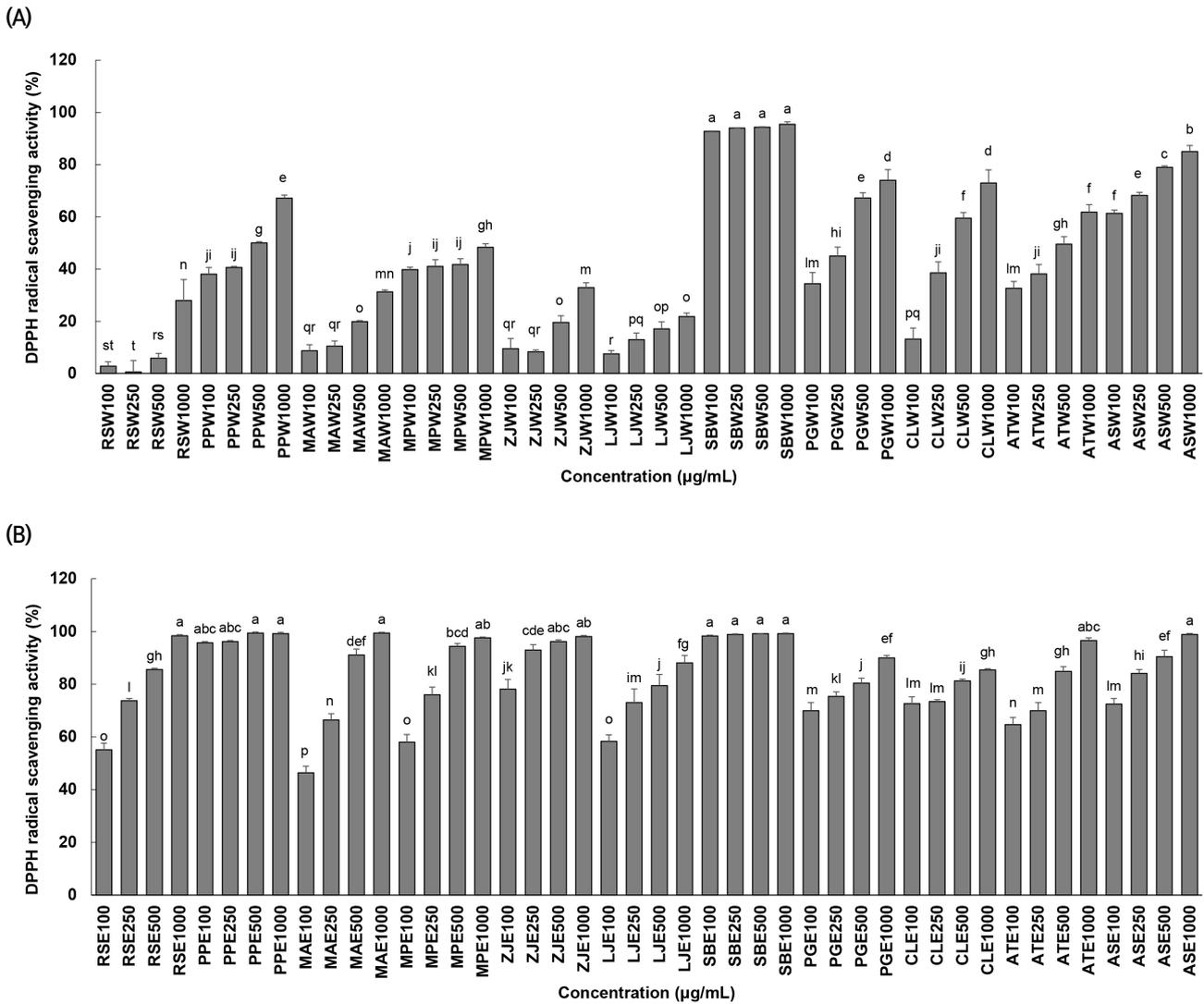
증 및 항산화 효과는 황금 추출물보다 현저하게 낮았다.

Lim 등(2019)의 보고에 의하면 100-1,000 µg/mL 황금의 열수추출물은 12.8-75.3% DPPH 라디칼 소거작용이 있었고, 80% 에탄올 추출물은 15.9-84.8% DPPH 라디칼 소거작용이 있다고 하였는데 본 연구 결과보다 낮은 DPPH 라디칼 소거작용이었으나, 열수추출물보다 80% 에탄올 추출물이 더 효과적으로 DPPH 라디칼을 소거한다는 것은 유사하였다.

NO와 TNF-α 결과에서 강한 항염증 효과를 가진 소재는 참취, 대추, 황금 그리고 익모초이고, 트립신 활성은 맥아, 배 그리고 무가 활성이 높았다. 배, 대추, 황금 그리고 참취는 다른 시료들보다 저농도에서 항산화 효과가 높았다. 이들 결과를 종합하면 황금, 익모초, 대추, 맥아, 배 그리고 참취가 혼합물 개발을 위한 후보 식용 식물이었다. 대추와 참취물 추출물은 배, 맥아, 익모초 및 황금 물 추출물보다 트립신 활성이 유의적으로 낮았으나, 대추의 단맛은 제품개발에 유용하게 활용할 수 있어 참취는 제외하고 대추는 혼합물 개발에 포함하였다. 참취는 항염증 및 항산화 효과가 뛰어난 소재로 확인되었으므로 항염증 효과를 가진 최적 배합비 개발을 위해 참취를 추가한 연구가 진행되어야 할 것이다.

### 3.6. 배, 맥아, 대추, 익모초, 황금 그리고 이들 혼합물의 DPPH 라디칼 소거 작용과 NO 생성에 미치는 영향

염증을 개선하면서 단백질 소화에도움을 주는 최적 혼합

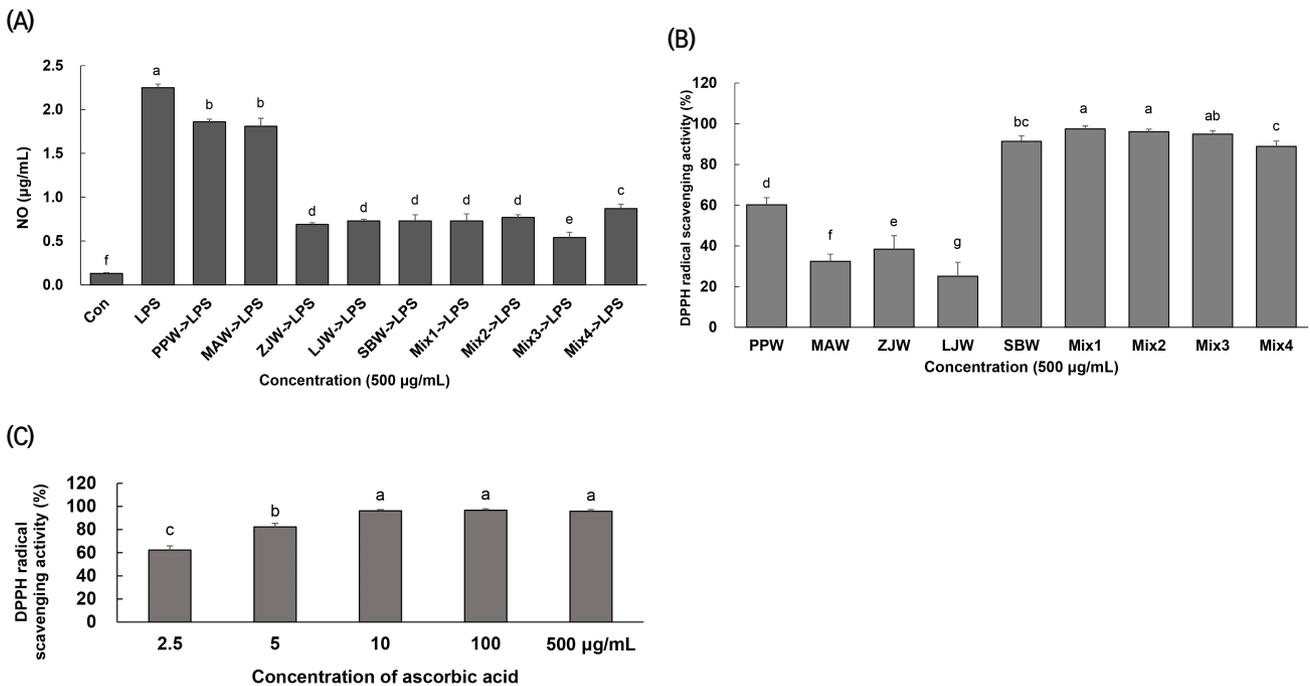


**Fig. 5.** The effect of water or ethanol extract of *Raphanus sativus* L. (RSW, RSE), *Pyrus pyrifolia* Nakai (PPW, PPE), malt (MAW, MAE), *Malus pumila* var. *dulcissima* (MPW, MPE), *Ziziphus jujuba* Mill. (ZJW, ZJE), *Leonurus japonicus* Houtt. (LJW, LJE), *Scutellaria baicalensis* (SBW, SBE), *Platycodon grandiflorum* (PGW, PGE), *Codonopsis lanceolata* (CLW, CLE), *Adenophora triphylla* (ATW, ATE), and *Aster scaber* (ASW, ASE) on the DPPH radical scavenging activity. The values are mean±SD (n=3); different letters (a-t) on the bar indicate significant differences (p<0.05), as determined by Duncan's multiple range test.

물 개발을 위해 선정한 배, 맥아, 대추, 익모초 및 황금 혼합물은 1:1:1:1 비율을 가진 Mixture 1를 기본으로 하여 Mixture 2, 3 그리고 4는 대추와 배의 비율을 증가시키는 방법과 익모초와 황금의 비율을 조절하는 방법으로 쓴맛 감소, 단맛 상승, 생리활성 효과 상승 등을 고려하였다.

LPS 처리에 의해 RAW 264.7 대식세포에서 NO 생성량은 현저하게 증가하였고, LPS 처리 전에 혼합물의 물 추출물(Mix1-4)을 처리했을 때, NO 생성량은 현저하게 감소하

였다. Mix1과 Mix2 처리군의 NO 함량과 ZJW, LJW 그리고 SBW 처리군의 NO 함량을 비교한 결과 유의적 차이가 없었다(Fig. 6(A)). Mix4 처리군은 ZJW, LJW 그리고 SBW 단독 처리군보다 오히려 유의적으로 NO 함량이 높았다. Mix3 처리군은 모든 시료 처리군 중 NO 함량이 가장 낮았고, ZJW, LJW 그리고 SBW 처리군보다 유의적으로 NO 함량이 감소하였다. 따라서 Mix3는 NO가 과잉 분비되는 조건에서 단독 처리군보다 유의적으로 NO 함량을 감소시킬



**Fig. 6.** The effect of water extract of *Raphanus sativus* L. (RSW), malt (MAW), *Ziziphus jujuba* Mill. (ZJW), *Leonurus japonicus* Houtt. (LJW), *Scutellaria baicalensis* (SBW) and their mixtures (Mix1–4) on the production of NO (A) and the DPPH radical scavenging activity (B). The effect of ascorbic acid on the DPPH radical scavenging activity (C). The values are mean±SD (n=3); different letters (a–g) on the bar indicate significant differences (p<0.05), as determined by Duncan’s multiple range test. The explanation of mixtures (Mix1–4) are provided in Table 1.

수 있는 유일한 혼합물임을 알 수 있었다.

Mix1 그리고 Mix2 처리군은 ZJ, LJW 그리고 SBW 처리군과 비교하여 NO 농도에는 유의적 차이가 없었는데, Mix1과 Mix2의 차이는 Mix2는 대추와 배를 Mix1보다 두 배로 증가한 것이다. Mix1은 배, 맥아, 대추, 익모초 그리고 황금 물 추출물에 함유된 물질의 항염증 상승효과에 의해 배와 맥아도 대추, 익모초 그리고 황금 수준으로 과분비 NO 감소 효과를 나타내는 것으로 생각되고, Mix2는 과분비 NO 감소 효과가 약한 배와 과분비 NO 감소 효과가 강한 대추를 같은 비율 증가시켰으므로 그 효과는 그대로 유지된 것으로 생각된다. Mix3은 Mix1과 비교하여 과분비된 NO 감소 효과가 뛰어난 대추와 황금 비율을 증가시켰으므로 NO 함량이 Mix1 그리고 Mix3보다 감소하였으나, Mix4는 Mix3과 비교하여 과분비된 NO 감소 효과가 뛰어난 익모초와 황금의 비율을 감소시켰으므로 혼합물 중 과분비 NO 감소 효과가 가장 낮았다고 생각된다.

PPW, MAW, ZJW 그리고 LJW의 DPPH 라디칼 소거 작

용은 SBW보다 현저하게 낮았고, Mix3과 Mix4의 DPPH 라디칼 소거 작용은 SBW와 유의적 차이가 없었다. Mix1과 Mix2는 PPW, MAW, ZJW, LJW 그리고 SBW보다 유의적으로 높은 DPPH 라디칼 소거 작용을 보여주었다(Fig. 6(B)). Mix1과 Mix2의 DPPH 라디칼 소거 작용은 Mix3과 유의적 차이가 없었으나 Mix1, Mix2 그리고 Mix3은 Mix4보다 유의적으로 높았다(Fig. 6(B)). Mix1–3보다 황금의 비율이 낮은 Mix4는 다른 혼합물 추출물보다 DPPH 라디칼 소거작용이 낮았다. 이와 같은 결과는 황금의 비율이 DPPH 라디칼 소거작용에 중요하고 배, 맥아, 대추, 익모초 그리고 황금 물 추출물에 함유된 물질은 항산화 상승효과가 있어 일정 비율의 황금만 넣어도 배, 맥아, 대추 그리고 익모초의 항산화 효과를 황금의 효과 이상으로 올려 주는 것으로 생각된다.

Mix4는 LPS로 자극한 RAW 264.7 대식세포에서 NO 함량 감소 효과 및 DPPH 라디칼 소거 작용이 Mix3보다 낮았고, Mix1과 Mix2 처리군은 Mix3 처리군보다 유의적

으로 NO 함량이 높았다(Fig. 6). 따라서 항염증 및 항산화 효과가 우수한 Mix3을 제품개발을 위한 최적 배합비로 결정하였다.

Kim(2014)의 보고에서도 고농도의 황금 추출물을 처리하였을 경우 DPPH 라디칼 소거 작용이 95%로 높은 소거율을 보였고, 황금 추출물은 LPS로 유발된 마우스 대식세포의 NO 생성증가를 현저하게 억제시켰다(Yoon 등, 2011). 본 연구 결과 황금 물 추출물은 항염증 및 항산화 효과를 위해 단독으로 사용하여도 효과적인 천연소재로 생각되지만, 식품 관련 제품개발을 위해서는 소비자의 기호도도 중요하므로 본 연구에서 개발된 혼합물 형태로 제품개발에 이용하는 것이 더 효과적일 것으로 생각된다.

#### 4. 요약

본 연구는 염증을 개선하고 소화에 도움을 주는 최적 혼합물 개발을 위한 소재 발굴을 위해 11종류 식물 추출물을 이용하여 항염증, 트립신 활성 및 항산화 효과를 알아보았다. LPS로 염증이 유도된 RAW 264.7 대식세포에서 대추(ZJ), 익모초(LJ), 황금(SB), 도라지 그리고 참취 추출물은 과분비 되는 NO와 TNF- $\alpha$  함량을 감소시켜 뛰어난 항염증 효과가 있었다. 11개의 시료 중 맥아(MA), 배(PP), 무 그리고 도라지 추출물은 트립신 활성이 높았다. DPPH 라디칼 소거작용으로 항산화 효과를 알아본 결과 SB, PP, ZJ 그리고 MA 추출물이 높은 항산화 효과가 있었다. 따라서 염증을 개선하면서 소화에 도움을 주는 최적 혼합물 개발을 위해 배, 맥아, 대추, 익모초 그리고 황금을 선택하였다. LPS로 자극한 RAW 264.7 대식세포에서 PP, MA, ZJ, LJ 및 SB(1:1:2:1:2, w/w)을 함유하는 혼합물의 추출물은 각각의 PP, MA, ZJ, LJ 및 SB의 추출물보다 NO 생산을 현저하게 억제하였다. 혼합물 추출물의 DPPH 라디칼 소거작용은 PP, MA, ZJ 및 LJ의 각각의 추출물보다 현저하게 높았다.

#### Acknowledgements

Following are results of a study on the “Leaders in INdustry-university Cooperation 3.0” Project, supported by the Ministry of Education and National Research Foundation of Korea.

#### Conflict of interests

The authors declare no potential conflicts of interest.

#### Author contributions

Conceptualization: Kim HJ, Chung MJ. Methodology: Lee SJ, Chung MJ. Formal analysis: Lee SJ, Chung MJ. Validation: Lee SJ, Chung MJ. Writing - original draft: Lee SJ, Chung MJ. Writing - review & editing: Lee SJ, Chung MJ.

#### Ethics approval

This article does not require IRB/IACUC approval because there are no human and animal participants.

#### ORCID

SooJung Lee (First author)

<https://orcid.org/0000-0002-0749-2875>

HyunJun Kim

<https://orcid.org/0009-0005-6510-1464>

Mi Ja Chung (Corresponding author)

<https://orcid.org/0000-0003-0816-1354>

#### References

- Bae HK, Seo BI. Inhibitory activities of *Rehmanniae radix* 30% ethanol extract on acute gastritis and peptic ulcers. *Kor J Herbol*, 34, 1-14 (2019)
- Cho EH, Choi AR, Choi SJ, Kim SY. Amylase activity of radish and stability in processing. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 38, 812-815 (2009)
- Choi YN, Choi YK, Nan L, Choo BK. Anti-oxidant and anti-inflammatory effects of ethanol extracts from *Leonurus japonicus* Houtt. on LPS-induced RAW 264.7 cells. *Korean J Org Agric*, 28, 659-677 (2020)
- Chung MJ, Lee S, Park YI, Lee J, Kwon KH. Neuroprotective effects of phytosterols and flavonoids from *Cirsium setidens* and *Aster scaber* in human brain neuroblastoma SK-N-SH cells. *Life Sci*, 148, 173-182 (2016)

- Chung MJ, Randey RP, Choi JW, Sohng JK, Choi DJ, Park YI. Inhibitory effects of kaempferol-3-O-rhamnoside on ovalbumin-induced lung inflammation in a mouse model of allergic asthma. *Int Immunopharmacol*, 25, 302-310 (2015)
- Guha M, Mackman N. LPS induction of gene expression in human monocytes. *Cell Signal*, 13, 85-94 (2001)
- Hong CE, Chun YH, Lyu SY. Anti-inflammatory and antioxidant effects of *Zizyphus jujuba* Miller var. *inermis* extracts. *Kor J Pharmacogn*, 50, 86-95 (2019)
- Jung MS, Lee GS, Chae HJ. *In vitro* biological activity assay of ethanol extract of turnip. *J Korean Soc Appl Biol Chem*, 47, 67-71 (2004)
- Kaplanski G, Marin V, Montero-Julian F, Mantovani A, Farnarier C. IL-6: A regulator of the transition from neutrophil to monocyte recruitment during inflammation. *Trends Immunol*, 24, 25-29 (2003)
- Kim EH, Gwak JY, Chung MJ. Immunomodulatory activity of *Platycodon grandiflorum*, *Codonopsis lanceolata*, and *Adenophora triphylla* extracts in macrophage cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 47, 1069-1075 (2018)
- Kim EH, Shim YY, Lee HI, Lee SH, Reaney MJT, Chung MJ. Astragaloside and isoquercitrin isolated from *Aster scaber* suppress LPS-induced neuroinflammatory responses in microglia and mice. *Foods*, 11, 1505 (2022)
- Kim JY, Yang HS, Kang H, Choe JS, Hwang IG. Chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory potential in whole, flesh, and peels of *Codonopsis lanceolata* roots. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 52, 26-39 (2023)
- Kim MJ, Kim YG, Kim HS, Cheong C, Jang KH, Kang SA. Effects of antioxidant activities in ethanol extract of apple, peel, grape peel, and sweet potato peel as natural antioxidant. *JKAIS*, 15, 3766-3773 (2014)
- Kim MK, Kim DY. Anti-inflammatory effect of barley leaf ethanol extract in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophage. *Korean J Food Preserv*, 22, 735-743 (2015)
- Kim NY. Effect of antioxidation and inhibition of melanogenesis from *Scutellaria baicalensis* extract. *Kor J Aesthet Cosmetol*, 12, 41-47 (2014)
- Kim SY, Oh JY, Kim EA, Heo SJ, Kim KN, Jeon YJ. Inhibition of lipid accumulation in 3T3-L1 adipocytes by different enzymatic hydrolysates of dried red sea cucumber *Stichopus japonicus*. *Korean J Fish Aquat Sci*, 53, 707-716 (2020)
- Lee G, Na GH, Kim WK, Baik MY, Lee HJ, Hwang JK. Anti-inflammatory effect of cultivated wild *Panax ginseng* extracts at various ages in RAW 264.7 macrophages. *Food Eng Prog*, 21, 201-207 (2017)
- Lee HI, Gwak JY, Chung MJ. Inhibitory effects of *Platycodon grandiflorum*, *Codonopsis lanceolata*, corn silk, *Acanthopanax senticosus* against nitric oxide-induced cytotoxicity in SK-N-SH cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 48, 823-832 (2019)
- Lee J. A survey on intake of protein supplement of university students majoring in physical education. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 43, 1607-1613 (2014)
- Lee JI, Chung MY. Barley sprout extract and luteolin mitigate LPS-mediated inflammation in RAW 264.7 murine macrophages via histone acetyltransferase activity inhibition. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 50, 1282-1291 (2021)
- Lee SM, Park JG, Lee YH, Lee CG, Min BS, Kim JH, Lee HK. Anti-complementary activity of triterpenoids from fruits of *Zizyphus jujuba*. *Biol Pharm Bull*, 27, 1883-1886 (2004)
- Lee YE, Park HJ, Park CB, Hwang SM. Anti-inflammatory activity of *Scutellaria baicalensis* root extract in lipopolysaccharide-induced RAW 264.7 cells. *Korean J Food Sci Technol*, 53, 115-120 (2021)
- Lim MJ, Gu YR, Hong JH. Extraction solvent-dependent antioxidant activities and cancer

- cell growth inhibitory effects of *Scutellaria baicalensis* extracts. Korean J Food Preserv, 26, 566-575 (2019)
- Lowenstein CJ, Snyder SH. Nitric oxide, a novel biologic messenger. Cell, 70, 705-707 (1992)
- MaCartney-Francis N, Allen JB, Mizel DE, Albina JE, Xie QW, Nathan CF, Wahl SM. Suppression of arthritis by an inhibitor of nitric oxide synthase. J Exp Med, 178, 749-754 (1993)
- Ministry of Food and Drug Safety. Health functional food evaluation guide (related to stomach health). Available from: [https://www.mfds.go.kr/brd/m\\_1060/view.do?seq=14659&srchFr=&srchTo=&srchWord=&srchTp=&itm\\_seq\\_1=0&itm\\_seq\\_2=0&multi\\_itm\\_seq=0&company\\_cd=&company\\_nm=&page=](https://www.mfds.go.kr/brd/m_1060/view.do?seq=14659&srchFr=&srchTo=&srchWord=&srchTp=&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&page=) Accessed Oct. 23, 2019.
- Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology. Pharmacol Rev, 43, 109-142 (1991)
- Nathan C, Xie QW. Nitric oxide synthase: Roles, tolls, and controls. Cell, 78, 915-918 (1994)
- Ogushi K, Lim P, Barr AR, Takahashi S, Asakura T, Ito K. Japanese barley meets australia: Quality performance of malting barley grown in different countries. J Inst Brew, 108, 303-309 (2002)
- Park SG, Kim YK, Park JC, Lee CH, Kang CS, Kim KH, Park TI, Yoon YM. 'Heugho': A variety of black malting barley (*Hordeum vulgare* L.) with high antioxidant capacity and good brewing quality. Korean J Breed Sci, 54, 488-496 (2022)
- Shin S, Shin Y, Lee J, Lee A, Kim M, Park C, Seo B, Roh SS. Ethanol-heated processed *Scutellariae radix* improve inflammatory response through and inhibitory effect against oxidative stress in mice with the lipopolysaccharide-induced intestine injury of mice. Kor J Herbol, 30, 81-88 (2015)
- Um JN, Min JW, Joo KS, Kang HC. Enhancement of antioxidant and whitening effect of fermented extracts of *Scutellariae baicalensis*. J Soc Cosmet Sci Korea, 43, 201-210 (2017)
- Yoon SB, Han HS, Lee YJ. Effect of *Scutellaria baicalensis* extract on the proinflammatory mediators in Raw 264.7 cells induced by LPS. Kor J Herbology, 26, 75-81 (2011)
- Yun, HJ, Lee YJ, Kang MS, Baek JH. Inhibitory effect of *Coicis semen* extract (CSE) on pro-inflammatory mediatory. J Pediatr Kor Med, 23, 159-171 (2009)
- Zhang YB, Choi HJ, Han HS, Park JH, Son JH, Bae JH, Seung TS, An BJ, Kim HG, Choi C. Chemical structure of polyphenol isolated from Korean pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). Korean J Food Sci Technol, 35, 959-967 (2003)