

ORIGINAL ARTICLE

## 어성초(*Houttuynia cordata* Thunb) 유산균 발효물의 항알러지 활성

이영근 · 김용민 · 정해진 · 이보경<sup>1)</sup> · 이승은<sup>2)</sup> · 임동순<sup>1)</sup> · 김한수\*

부산대학교 식품공학과, <sup>1)</sup>부산대학교 약학대학 MIRCA, <sup>2)</sup>CJ제일제당 소재연구소

### Anti-allergic Activity of the Extracts from *Houttuynia cordata* Thunb Fermented by Lactic Acid Bacteria

Young-Guen Lee, Yong-Min Kim, Hae-Jin Jeong, Lee Bo kyung<sup>1)</sup>, Sung-Eun Lee<sup>2)</sup>,  
Dong-Soon Im<sup>1)</sup>, Han-Soo Kim\*

Department of Food Science and Technology, Department of Food Science and Technology, Pusan National University, Miryang 50463, Korea

<sup>1)</sup>Molecular Inflammation Research Center for Aging Intervention (MIRCA) and College of Pharmacy, Pusan National University, Busan 46241, Korea

<sup>2)</sup>Life Ingredient & Material Research Institute, CJ Cheil Jedang, Seoul 04560, Korea

#### Abstract

This study was performed to evaluate the possibility of application of lactic acid bacteria fermentation to increase the anti-allergic activity of the extracts from *Houttuynia cordata* Thunb. *H. cordata* Thunb was fermented on 25, 30, 35 and 40°C for 5 days by two species of lactic acid bacteria, *Leuconostoc mesenteroides* 4395 and *Lactobacillus sakei* 383. The anti-allergic activity of water extracts of *H. cordata* Thunb was then analyzed both before and after fermentation. Anti-allergic activity was determined *in vitro* assays by using 5-lipoxygenase (5-LO), cyclooxygenase-2 (COX-2) and  $\beta$ -hexoseaminidase release of RBL-2H3 cells (degranulation marker). The extracts fermented at 35°C by both bacteria had the highest inhibitory activities against 5-LO, and also higher than the control, and the one fermented at 30°C by both bacteria had the highest inhibitory activity against COX-2. The degranulation of RBL-2H3 cells induced by IgE-antigen complex was estimated as  $\beta$ -hexoseaminidase release rate as reference of 100%, the release rates were inhibited in 25  $\mu$ g/ml of the extracts fermented at 30, 35 and 40°C only by *L. mesenteroides* 4395. These results indicate that anti-allergic activity of *H. cordata* Thunb is increased by lactic acid bacteria fermentation.

**Key words** : Anti-allergic activity, Fermentation, *Houttuynia cordata* Thunb, *Lactobacillus sakei*, *Leuconostoc mesenteroides*

Received 11 September 2017; Revised 31 October, 2017;  
Accepted 12 December, 2017

\*Corresponding author: Han-Soo Kim, Department of Food Science and Technology, Pusan National University, Miryang 50463, Korea  
Phone: +82-55-350-5351  
E-mail: kimhs777@pusan.ac.kr

The Korean Environmental Sciences Society. All rights reserved.  
© This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

## 1. 서론

알레르기 반응은 시간과 초기 양상에 따라 분류가 되며, 제1형 알레르기 반응인 비염과 아토피는 생체 내에서 호흡기와 결합조직 등에 포함되어 있는 비만 세포가 Immunoglobulin E (IgE)에 의하여 탈과립이 유도되는 것에 의해 나타나는 질환으로서, 생체에 침입한 항원이 비만세포에 결합 되어 있는 IgE 항체와 가교를 형성하여 세포막이 활성화되고, 효소반응을 거쳐 탈과립되어 화학적 전달물질의 유리가 일어나게 되며, 이 전달물질들에 의하여 평활근의 수축 등으로 인한 조직 장애로 유발된다는 연구 보고가 있다 (Samuelsson, 1983; Choi, 2002).

5-Lipoxygenase (5-LO)와 inducible cyclooxygenase (COX-2)는 비만세포 내에 함유되어있으며, arachidonic acid를 변형시켜 leucotrienes와 prostaglandins를 생성하게 되고, 이 물질들이 호흡기 내에 유입되면서 염증세포를 활성화시켜 점막에서의 점액분비를 촉진시켜 알레르기가 유발된다고 보고되었다(Fujiki et al., 1996; Jew et al., 2003). Lipoxygenase (LO)는 현재까지 많은 종류가 알려졌고, 특히 포유류에서는 5-LO에 의하여 생성되어지는 leucotrienes 경우 제 I 형 알레르기의 발병에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되었으며 (Sekiya et al., 1982; Kemal et al., 1987), cyclooxygenase 는 두 종류가 존재하며, 그 중 constitutive cyclooxygenase (COX-1)은 신체 내에서 위벽을 보호하고, 신장의 기능을 유지하는 등의 여러 조직에서 작용하는 물질이며, COX-2는 염증으로 인하여 유도되는 발현 현상을 나타내는 물질이다. 신체는 염증을 유도하는 물질에 노출되게 되면 inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS)와 COX-2가 유도되어 각각 nitric oxide와 prostaglandine이 증가하면서 염증 반응이 촉진되는 것으로 알려져 있다(Higuchi et al., 1990; Tinker and Wallace, 2006). 따라서 알레르기를 일으키는 leucotrienes와 prostaglandins를 생성하는 물질인 5-LO와 COX-2를 억제하는 것은 제 I 형 알레르기의 예방 및 치료에 사용 할 수 있을 것으로 보인다. 이러한 알레르기의 억제 효능을 가지는 천연물로서 과일이나 채소, 약재 등을 열거하고 있으며, 그 중 하나인 어성초(*Houttuynia cordata* Thunb)는 삼백

초과(Saururaceae)에 속하는 다년생 초본의 약초로 한국, 중국 및 일본이 원산지이며, 잎과 줄기에서 특유의 비린내가 나서 어성초라는 이름을 가지며, 또한 약모밀이라고도 불려진다. 어성초는 전통적으로 약용 식물로 이용되었으며, 특히 수종, 진통, 해열, 이뇨, 매독, 방광염, 자궁염, 폐염 등의 치료효과가 있는 것으로 알려져 있다(Song et al., 2003; Cha et al., 2004).

근래 어성초의 주요 생리활성 물질로서 lectin, quercetin, quercetin의 배당체인 quercitrin 및 isoquercitrin 등이 밝혀졌으며, 이 물질들은 혈관 수축 작용, 항균, 이뇨작용 등 다양한 생리활성이 있다고 보고되었다(Cha et al., 2004; Chun, 1997). 또한, 어성초 추출물이 마우스에서 대식세포의 항체 생성 능력을 증가시키고 인체의 면역세포의 증식을 향상시키며, 어성초 추출물에서 분리된 lectin이 인체의 B 림프구와 T 림프구의 활성을 높인다는 보고가 있다(Chun, 1997). 한편, 최근에는 기존의 한약재 등 천연물의 생리활성을 극대화 시키는 방법의 하나로 천연물의 발효에 대한 관심이 증가하고 있다. 천연물의 발효시 인체의 장내에서 쉽게 흡수 될 수 없는 생리활성물질의 배당체들이 당과 분리되어 생리활성물질의 체내흡수율이 높아지게 되어 그 활성을 더욱 증대시킬 수 있는 것으로 알려져 있다(Bae et al., 2004; Lee et al., 2006).

본 연구는 몇 가지 생리활성을 지니고 있는 것으로 알려져 있는 어성초의 항알레르기 활성을 향상시켜 고부가가치를 가지는 기능성 식품의 원료로 활용하고자, 유산균인 *Lactobacillus casei* 383 및 *Leuconostoc mesenteroides* 4395를 이용하여 어성초를 발효하고, 5-Lipoxygenase (5-LO), COX-2 및 hexosaminidase의 방출 감소량으로서 탈과립 억제효능을 측정하여 어성초의 항알레르기 효능과 그 발효물의 효능 증대 여부를 조사하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 재료

어성초는 경상남도 진주시에서 2014년 수확하여 건조한 것을 구입하여 4°C에서 보관하며 사용하였다. 어성초의 항알레르기 활성 측정에 사용된 시약은

DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, Aldrich, USA), Folin-Ciocalteu Reagent (Junsei, Japan), sodium carbonate (Junsei, Japan), gallic acid (Aldrich, USA), quercetin (Aldrich, USA), 0.1N-hydrogen chloride (Junsei, Japan), pyrogallol (Aldrich, USA)를 사용하였다.

어성초 추출물 발효에 사용된 균주는 부산대학교 식품 미생물 실험실에서 분리 되어 보관중인 *Lactobacillus casei* 383, *Leuconostoc mesenteroides* 4395 를 MRS broth (Difco, USA) 에서 30℃, 6시간 종 배양 후에 30℃, 6시간 주 배양하여 종균으로 사용하였다.

**2.2. 시료의 추출 및 발효**

건조 된 어성초를 분쇄기(HMF-3100S, Hanil Electric Co., Seoul, Korea)를 이용하여 마쇄하였고, 마쇄물 10 g을 취해 증류수 200 ml와 혼합하여 고온 멸균기로 121℃에서 15분간 멸균하여 4℃에서 24시간 추출하였다.

멸균한 추출물에 배양된 *Lactobacillus casei* 383, *Leuconostoc mesenteroides* 4395를 각각 접종하여, 발효온도 25, 30, 35 및 40℃에서 5일간 발효한 발효액을 각각 취하여 여과지(Whatman No.2)로 감압 여과한 후 rotary evaporator (EYELA, N-N series, Tokyo, Japan)로 감압 농축하여 -25℃에서 냉동 보관하면서 시료액으로 사용하였으며, 이 시료액을 농축한 건조물로서 각 균종, 발효온도 및 처리농도별 항알레르기활성의 측정에 사용하였다.

**2.3. 5-LO 억제 효능 측정**

각 추출물을 0.1 및 0.25 mg/ml의 수용액으로 조제하여 시료액으로 하였으며, 0.1 M Tris-HCl buffer (pH 8.5) 1 ml에 시료액 0.1 ml와 5-LO 0.1 ml를 최종 농도가 200 unit/ml이 되도록 맞추고 25℃에서 5분간 반응시킨 후, 최종용량이 0.1 ml가 되도록 linoleic acid를 넣고 25℃에서 3분간 20초 간격으로 235 nm에서 흡광도를 측정하여 초기 반응 속도를 구하였다. 대조군으로는 EGCG를 사용하였다.

$$5-LO\text{억제율}(\%) =$$

$$\left( \frac{\text{대조군의 초기반응속도} - \text{시료의 초기반응속도}}{\text{대조군의 초기반응속도}} \right) \times 100$$

**2.4. Cyclooxygenase-2 (COX-2) 억제 효능 측정**

시료의 항알러지효과를 알아보기 위해 Yoo and Jeong(2009)의 방법에 준하여 COX-2 억제 효능을 측정하였다. 즉, 각 추출물의 0.1 및 0.25 mg/ml의 시료액 0.1 ml, 30 unit/ml의 COX-2 0.2 ml, 0.1 M Tris-HCl buffer (pH 8.0) 0.5 ml, 30 μM EDTA 0.1 ml, 0.15 mM hematin 0.1 ml를 혼합하여 25℃에서 5분간 반응시킨 후, 5 mM TMPD 30 μL, 20 mM arachidonic acid 30 μl를 첨가하여 25℃에서 5분간 반응시킨 후, 590 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군으로는 EGCG를 사용하였다.

$$COX-2\text{억제율}(\%) =$$

$$\left( \frac{\text{대조군의 초기반응속도} - \text{시료의 초기반응속도}}{\text{대조군의 초기반응속도}} \right) \times 100$$

**2.5. 탈과립 억제효능 측정**

Rat RBL-2H3 cell을 American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA)에서 분양 받았으며 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 37℃에 배양하였다. 그리고 RBL-2H3 세포를 열에 불활성화된 10% (v/v) Fetal Bovine Serum (FBS), 100 units/ml penicillin, 50 μg/ml streptomycin, 2 mM glutamine 그리고 1 mM sodium pyruvate 를 포함한 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) 에 현탁 시켜 사용하였다.

추출물의 항알러지효과는 Dearman(2005)의 연구를 바탕으로 RBL-2H3 세포로부터 β-hexosaminidase의 방출량 감소율로서 탈과립 억제효능을 측정하였다. 즉, RBL-2H3 cell (2×10<sup>5</sup> cells/well)을 24 well plate에 접종하고, cell에 dinitrophenyl-immunoglobulin E (DNP-IgE, 0.5 μg/ml)를 처리하여 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 37℃로 12시간 배양 하였다. 각 well의 세포들을 PIPES buffer (25 mM PIPES, 110 mM NaCl, 5 mM KCl, 5.6 mM glucose, 0.4 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.1% BSA 그리고 1 mM CaCl<sub>2</sub>)의 각 농도로 용해하여 pH 7.2로 조정)로 DNP-IgE를 제거하기 위해 2회 수세하였다. 그런 후 각 well에 PIPES buffer 500 μl와

**Table 1.** 5-Lipoxygenase inhibitory activity of *Houttuynia cordata* fermented on various temperatures by *Leuconostoc mesenteroides* 4395

Concentration	Inhibition rate (%)	
	0.1 mg/ml	0.25 mg/ml
Control	30.52 ± 3.10 <sup>d</sup>	80.16 ± 1.92 <sup>b</sup>
25 °C	33.17 ± 2.74 <sup>cd</sup>	85.31 ± 4.86 <sup>b</sup>
30 °C	39.55 ± 1.96 <sup>b</sup>	80.39 ± 4.26 <sup>b</sup>
35 °C	37.01 ± 2.08 <sup>bc</sup>	87.93 ± 3.90 <sup>b</sup>
40 °C	30.85 ± 5.55 <sup>d</sup>	84.83 ± 1.05 <sup>b</sup>
EGCG	54.81 ± 2.76 <sup>a</sup>	96.45 ± 1.52 <sup>a</sup>

\*The values are mean±SD (n=3). Means with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

각 추출물 10 µl 씩 로딩 후 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 37°C로 60분간 반응시켰다. 이 때 각 추출물은 PIPES buffer로 10 및 25 µg/ml로 희석한 것을 사용하였다. 또 각 well에 탈과립을 시키기 위해 10 mg/ml 의 human dinitrophenyl serum albumin (DNP-HSA, A6661 Sigma, St. Louis, USA) 300 µl를 반응 시킨 후 1시간 20분 동안 37°C에서 배양하였다. 각 well의 상층액 50 µl를 96-well plate에 옮겼고, 0.1 M sodium citrate buffer에 1 mM p-nitrophenyl-N-acetyl-β-D-glucosaminide (N9376, Sigma, St. Louis, USA)와 0.5% Triton X-100를 반응시킨 50 µl를 37°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 마지막으로 0.05 M sodium carbonate buffer (0.05 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>와 0.05 M NaHCO<sub>3</sub>의 각 농도로 용해하여 pH 10.0로 조정) 250 µl를 반응시킨 후 microplate reader를 이용하여 410 nm에서 흡광도를 측정하여 β-hexosaminidase 방출량으로서 탈과립량을 측정하였다. 탈과립(%)는 총 β-hexosaminidase activity에 대한 방출된 β-hexosaminidase 의 비율로 계산하였다.

## 2.6. 통계처리

모든 실험은 3회 반복하였으며, 분석결과의 통계처리는 mean±SD로 표시하였고, SPSS (IBM SPSS statistics ver. 21, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 one-way analysis of variance (ANOVA)로 분석하였고, Duncan's multiple range test ( $p < 0.05$ ) 수준에서 유의차를 검정하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 5-LO 억제 효능

5-LO는 arachidonic acid를 기질로 leukotriene류를 생성시키며 과도하게 생성된 leukotriene류가 다양한 염증 및 알레르기질환을 유발시키는 것으로 알려져 있다(Kim, 1966). 어성초의 항알레르기 효능을 알아보기 위한 실험 중 하나로 5-LO 억제 효능을 측정된 결과를 Table 1과 Table 2에 나타내었다. 먼저 *L. mesenteroides* 4395로 발효한 어성초 추출물의 5-LO 억제효능을 Table 1에서 보면, 추출물의 농도를 0.1 mg/ml 처리한 결과보다 0.25 mg/ml 농도로 처리한 경우 억제효과가 2배 이상 더 높게 나타나서 억제 효능이 농도에 거의 비례하는 것으로 추정되었다. 그리고 발효하지 않은 대조구의 80.16%에 비해 발효물의 효능이 전반적으로 조금 높았으며 특히 35°C에서 발효한 경우 87.93%으로 억제효능이 가장 좋은 것으로 나타났으나 양성대조구인 EGCG의 96.45%에는 미치지 못하였다. 그러나, 감잎, 자근, 대추 추출물의 억제 효능이 단일물질인 EGCG 효능의 50%에도 미치지 못하는 것(Kim et al., 2007; Yoo and Jeong, 2009)에 비하면 어성초의 효능이 훨씬 우수한 것으로 판단되었다. 그리고 어성초를 *L. sakei* 383으로 발효한 추출물의 5-LO 억제 효능을 측정된 결과를 Table 2에서 보면, *L. mesenteroides* 4395로 발효한 결과와 거의 대동소이하여 두 균주간의 차이는 유의성이 없는 것으로 판단되었다.

**Table 2.** 5-Lipoxygenase inhibitory activity of *Houttuynia cordata* fermented on various temperatures by *Lactobacillus sakei* 383

Concentration	Inhibition rate (%)	
	0.1 mg/ml	0.25 mg/ml
Control	30.52 ± 3.10 <sup>c</sup>	80.16 ± 1.92 <sup>b</sup>
25 °C	30.98 ± 2.84 <sup>c</sup>	81.15 ± 1.12 <sup>b</sup>
30 °C	33.31 ± 3.98 <sup>bc</sup>	83.41 ± 7.41 <sup>b</sup>
35 °C	36.87 ± 4.07 <sup>b</sup>	87.91 ± 5.17 <sup>b</sup>
40 °C	31.57 ± 2.33 <sup>c</sup>	83.81 ± 2.59 <sup>b</sup>
EGCG	54.81 ± 2.76 <sup>a</sup>	96.45 ± 1.52 <sup>a</sup>

\*The values are mean±SD (n=3). Means with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

**Table 3.** Cyclooxygenase-2 inhibitory activity of *Houttuynia cordata* fermented by *Leuconostoc mesenteroides* 4395

Concentration	Inhibition rate (%)	
	0.1 mg/ml	0.25 mg/ml
Control	27.54 ± 2.95 <sup>b</sup>	50.36 ± 5.11 <sup>b</sup>
25 °C	30.11 ± 3.48 <sup>ab</sup>	53.14 ± 5.40 <sup>b</sup>
30 °C	36.30 ± 1.96 <sup>a</sup>	57.10 ± 3.51 <sup>b</sup>
35 °C	35.89 ± 4.05 <sup>a</sup>	56.93 ± 2.08 <sup>b</sup>
40 °C	32.85 ± 2.65 <sup>ab</sup>	52.13 ± 6.39 <sup>b</sup>
EGCG	0.001 mg/ml	0.01 mg/ml
	25.40 ± 6.84 <sup>b</sup>	88.46 ± 5.06 <sup>a</sup>

\*The values are mean±SD (n=3). Means with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

### 3.2. COX-2 억제 효능

신체조직에서 정상적 생리기능을 유지시키는 COX-1에 비해 COX-2는 염증 자극원에 의해 염증성 세포에서 유도되어 arachidonic acid로부터 염증 및 알레르기반응을 유발하는 prostaglandine류를 생성시킨다 (Jew et al., 2003). 어성초 발효 추출물의 COX-2 억제 효능을 측정한 결과를 Table 3과 4에 나타내었다. *L. mesenteroides* 4395와 *L. sakei* 383로 발효한 추출물의 COX-2 억제효능을 비교한 결과, 두 균주간의 차이는 거의 없었으며, 5-LO의 결과와 동일하게 발효하지 않은 대조구보다 두 균주로 발효한 추출물의 저해효과가 다소 증가하여 발효가 기능성 증대에 조금 기여한 것으로 판단되었다. 또한, 0.1보다 농도를 높게 처리한 0.25 mg/ml에서 저해효과가 높았으나 그 차이가 5-LO에서 나타난 차이만큼 크지 않았으며, 두 균주

모두 30 °C에서 발효 한 시료의 저해효과가 가장 높게 나타났으나, 발효물의 처리농도 보다 훨씬 낮은 0.01 mg/ml 처리한 양성대조구인 EGCG의 88.46%에 비하면 COX-2의 억제 효과는 유의성이 없는 것으로 평가되었다.

### 3.3. 탈과립 억제효능

RBL-2H3 cell에서 IgE로 유도된  $\beta$ -hexosaminidase 방출량을 100%로 기준하여 각 시험구의 방출율을 측정한 결과로서 탈과립 억제효능을 측정한 결과를 Fig. 1과 2에 나타내었다. 발효하지 않은 대조구(control)의 방출율은 10  $\mu$ g/ml 처리시 110%, 25  $\mu$ g/ml에서는 96.7% 수준으로 억제 효능에 대한 유의성은 없는 것으로 나타났으며, Fig. 1에 나타낸 *Lactobacillus sakei* 383로 발효한 추출물의 경우, 10  $\mu$ g/ml로 처리했을 때 30 °C에서 97.67%로 가장 낮은 방출율을 나타냈으나

**Table 4.** Cyclooxygenase-2 inhibitory activity of *Houttuynia cordata* fermented by *Lactobacillus sakei* 383

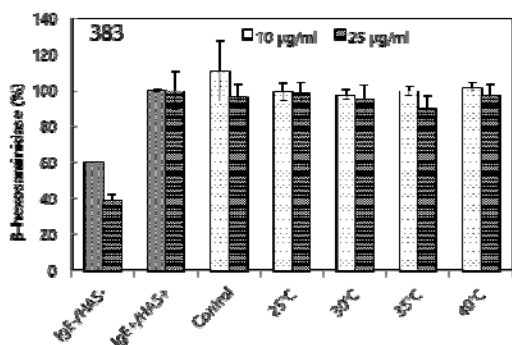
Concentration	Inhibition rate (%)	
	0.1 mg/ml	0.25 mg/ml
Control	27.54 ± 2.95 <sup>bc</sup>	50.36 ± 5.11 <sup>b</sup>
25 °C	32.81 ± 5.71 <sup>abc</sup>	55.98 ± 1.36 <sup>b</sup>
30 °C	36.03 ± 0.69 <sup>ab</sup>	57.69 ± 2.74 <sup>b</sup>
35 °C	37.10 ± 4.08 <sup>a</sup>	55.71 ± 7.04 <sup>b</sup>
40 °C	31.92 ± 4.45 <sup>abc</sup>	52.07 ± 3.75 <sup>b</sup>
EGCG	0.001 mg/ml	0.01 mg/ml
	25.40 ± 6.84 <sup>c</sup>	88.46 ± 5.06 <sup>a</sup>

\*The values are mean±SD (n=3). Means with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

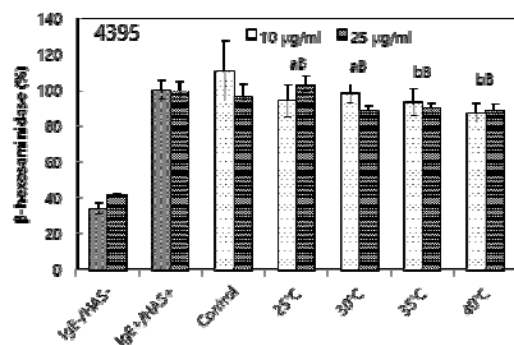
발효하지 않은 대조군과 비교했을 때 역시 유의성은 나타나지 않았다. 그리고 *Lactobacillus sakei* 383 발효 추출물을 25 µg/ml 농도로 처리했을 때에는 35 °C에서 89.86%로 방출율이 가장 낮은 것으로 나타났으나 이 역시 대조군과 비교시 유의성이 없는 것으로 나타났다.

*Leuconostoc mesenteroides* 4395로 발효한 추출물의 결과를 Fig. 2에서 보면, 10 µg/ml을 처리하였을 때 40 °C에서 87.38%로 가장 낮은 방출율을 나타낸 결과를 보였으나 대조군과 비교시 유의성에 차이가 없다는 결과로 나타났다. 반면에 *Leuconostoc mesenteroides* 4395로 30 °C, 35 °C 그리고 40 °C에서 발효한 추출물을

25 µg/ml을 처리하였을 경우에는 유의성이 있는 것으로 나타났으며, 각각에 대한 방출율은 88.69%, 90.23% 그리고 89.06%이었다. 이 중에 알레르기 억제에 가장 좋은 효과를 나타내는 것은 30 °C에서 발효한 추출물로 나타났다. 본 실험에서 어성초 추출물의 β-hexosaminidase 방출 감소율에 의한 탈과립 억제효능의 측정결과가 강화 싸주아리썩(Lee et al., 2006), 머위(Choi, 2002) 및 김치유산균(Kim, 1966)에서 나타난 결과에 비할 때 다소 낮거나 유의성이 없는 것으로 나타났는데, 이러한 결과는, 본 실험의 경우와 비할 때 추출용매(Lee et al., 2006), 추출물의 농도(Choi, 2002), 또는 상용 표준품인 luteolin 및 chlorogenic



**Fig. 1.** Inhibitory activity of *Houttuynia cordata* Thunb extracts with and without *Lactobacillus sakei* 383 fermentation on degranulation in RBL-2H3 cells by using measurement of β-hexosaminidase activity.



**Fig. 2.** Inhibitory activity of *Houttuynia cordata* Thunb extracts with and without *Leuconostoc mesenteroides* 4395 fermentation on degranulation in RBL-2H3 cells by using measurement of β-hexosaminidase activity.

acid를 처리(Kim, 1966)한 차이에서 기인한 것으로 판단되었다.

#### 4. 결론

어성초(*Houttuynia cordata* Thunb)의 항알러지 효능을 더욱 증대시켜 고부가가치를 가지는 기능성 식품의 원료로 활용하고자, 유산균인 *Leuconostoc mesenteroides* 4395 및 *Lactobacillus casei* 383를 이용하여 어성초를 발효시키고, 5-LO, COX-2 및 RBL-2H3 cell의 탈과립 억제효능을 측정하여 발효에 의한 항알러지 효능 증대 여부를 조사하였다. 5-LO 억제 효능 측정 결과에서는 35℃에서 *Leuconostoc mesenteroides* 4395에 의한 어성초 발효물의 억제율이 87.93%, *Lactobacillus sakei* 383에서 87.91%로 발효하지 않은 대조군의 80.16%에 비해 더 높게 나타났고, COX-2 억제 효능에서도 대조군의 50.36%보다 *Leuconostoc mesenteroides* 4395, 57.10%, *Lactobacillus sakei* 383 발효물에서 57.69%로 더 높게 나타났다. RBL-2H3 cell에서 IgE로 유도된  $\beta$ -hexosaminidase 방출량을 100% 기준으로 한 방출율로 탈과립 억제효능을 측정한 결과에서는 *Leuconostoc mesenteroides* 4395로 30℃, 35℃ 그리고 40℃에서 발효한 추출물을 25  $\mu$ g/ml을 접종 했을 경우, 각각에 대한 방출율은 88.69%, 90.23% 그리고 89.06%이었으며, 이 중에 알러지 억제에 가장 좋은 효과를 나타내는 것은 30℃에서 발효한 추출물로 나타났다. 이러한 결과들을 종합하여 볼 때, 유산균 발효에 의하여 어성초의 항알러지 활성을 증대시켜 기능성 식품으로의 개발 가능성을 보여 주었다.

#### 감사의 글

이 논문은 부산대학교 기본연구지원사업(2년)에 의하여 연구되었음.

#### REFERENCES

- Bae, E. A., Han, M. J., Kim, E. J., Kim, D. H., 2004, Transformation of ginseng saponins to ginsenoside Rh2 by acids and human intestinal bacteria and biological activities of their transformations, Arch. Pharm. Res., 27, 61-67.
- Cha, J. Y., Jeon, B. S., Park, J. W., Moon, J. C., Cho, Y. S., 2004, Effect of fermented compositions containing *Inonotus obliquus* with *Houttuynia cordata* on growth of human AGS gastric and HCT-15 colon cancer cells, J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem., 47, 202-207.
- Choi, O. B., 2002, Anti-allergic effects of *Petasites japonicum*, Kor. J. Food & Nutr., 15, 382-385.
- Chun, E. Y., 1997, Partial purification of *Houttuynia cordata* Thunb extract and characterization of its immunological activities in human, MS Thesis, Seoul National University, Seoul, Korea.
- Dearman, R. J., Skinner, R. A., Deakin, N., Shaw, D., Kimber, I., 2005, Evaluation of an in vitro method for the measurement of specific IgE antibody responses; the Rat Basophilic Leukemia (RBL) cell assay, Toxicology, 206, 195-205.
- Fujiki, H., Suganuma, M., Okabe, S., Komori, A., Sueoka, E., Sueoka, N., Kozu, T., Sakai, Y., 1996, Japanese green tea as a cancer preventive in humans, Nutr. Rev., 54, 67-70.
- Higuchi, M., Higashi, N., Taki, H., Osawa, T., 1990, Cytolytic mechanism of activated macrophages, Tumor necrosis factor and L-arginine-dependent mechanism act synergistically as the major cytolytic mechanism of activated macrophages, J. Immunol., 144, 1425-1431.
- Jew, S. S., Bae, O. N., Chung, J. H., 2003, Anti-inflammatory effects of asiaticoside on inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in RAW 264.7 cell line, J. Toxicol. Pub. Health, 19, 33-37.
- Kemal, C., Louis-Flamberg, P., Krupinski-Olsen, R., Shorter, A. L., 1987, Reductive inactivation of soybean lipoxygenase 1 by catechols: a possible mechanism for regulation of lipoxygenase activity, Biochemistry, 26, 7064-7072.
- Kim, K. B., Lee, E. G., Chai, O. H., Song, C. H., Jeong, J. M., 2007, Inhibitory effects of Phyto-Extract Mixture (PEM381) on type I allergic reaction, J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr., 36, 155-162.
- Kim, K. M., 1966, Screening of anti-allergic agents using lipoxygenase assay and degranulation marker, J. Drug Research C.N.U., 5, 45-48.
- Lee, S. H., Shin, Y. W., Bae, E. A., Lee, B., Min, S. W.,

Bae, E. A., Han, M. J., Kim, E. J., Kim, D. H., 2004, Transformation of ginseng saponins to ginsenoside Rh2 by acids and human intestinal bacteria and

- Baek, N. I., Chung, H. G., Kim, N. J., Kim, D. H., 2006, Lactic acid bacteria increase antiallergic effect of *Artemisia princeps* Pampanini SS-1, *Arch. Pharm. Res.*, 29, 752-756.
- Samuelsson, B., 1983, Leukotrienes, mediators of immediate hypersensitivity reactions and inflammation, *Science*, 228, 568-575.
- Sekiya, K., Okuda, H., Arichi, S., 1982, Selective inhibition of platelet lipoxygenase by esculetin, *Biochim. Biophys. Acta.*, 713, 68-72.
- Song, J. H., Kim, M. J., Kwon, H. D., Park, I. H., 2003, Antimicrobial activity of fractional extracts from *Houttuynia cordata* root, *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, 32, 1053-1058.
- Tinker, A. C., Wallace, A. V., 2006, Selective inhibitors of inducible nitric oxide synthase: potential agents for the treatment of inflammatory diseases, *Curr. Top. Med. Chem.*, 6, 77-92.
- Yoo, K. H., Jeong, J. M., 2009, Antioxidative and antiallergic effect of persimmon leaf extracts, *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, 38, 1691-1698.