

배암차즈기(*Salvia plebeia* R. Br.)의 항산화 활성 및 항염증효과

이 영 애^{*,**} · †강 순 아^{***,****}

^{*}호서대학교 벤처대학원 융합과학기술학과 박사과정 학생, ^{**}호서대학교 보건산업연구소 연구원,

^{***}호서대학교 벤처대학원 융합과학기술학과 교수, ^{****}호서대학교 보건산업연구소 소장

Antioxidative and Anti-Inflammatory Activities of *Salvia plebeia* R. Br Extracts

Yeong-Ye Lee^{*,**} and †Soon Ah Kang^{***,****}

^{*}Ph.D. Student, Dept. of Convergence Science and Technology, Graduate School of Venture, Hoseo University, Seoul 06724, Korea

^{**}Researcher, Institute of Health Industry, Hoseo University, Seoul 06724, Korea

^{***}Professor, Dept. of Convergence Science and Technology, Graduate School of Venture, Hoseo University, Seoul 06724, Korea

^{****}Director, Institute of Health Industry, Hoseo University, Seoul 06724, Korea

Abstract

This study provides data to explore functional medicinal food materials that can prevent adult diseases, and verified antioxidant and anti-inflammatory of each solvent fraction of the methanol extract of *Salvia plebeia* R. Br. in Korea. In the analysis of total phenol content, DPPH radical scavenging ability, and FRAP reduction ability as indicators of antioxidant activity, the methanol fraction and ethyl acetate fraction of the *Salvia plebeia* R. Br. group showed high antioxidant activity. Ethyl acetate fraction of *Salvia plebeia* R. Br. methanol extract also showed excellent antioxidative activity as compared with BHT. In the mouse macrophage line Raw 264.7 cells, the NO production ability by LPS treatment was significantly increased in the LPS treatment group compared to the untreated group. In inflammatory reactions induced by LPS treatment in Raw 264.7 cells, inflammatory cytokines (TNF- α , PGE2, IL-1 β) and NO production were decreased in the EtOAc fraction and MeOH fraction of the methanol extract of *Salvia plebeia* R. Br. compared to the case of LPS treatment alone. The anti-inflammatory effect was proved by significantly inhibiting the production of inflammatory cytokines. The present results suggest that *Salvia plebeia* R. Br. supplementation is beneficial for the suppression of antioxidant and anti-inflammation.

Key words: *Salvia Plebeia* R. Br., physiological activity, antioxidant effect, anti-inflammation

서 론

산업의 발달로 식생활의 변화 및 환경오염원들에 의하여 생성되는 활성산소는 세포구성성분에 영향을 미치면서 다양한 질병 즉, 뇌졸중, 파킨슨병, 동맥경화, 심장질환, 소화기질환, 염증, 노화, 자가면역질환 등을 일으킨다. 또한, 체내 염증반응은 세포나 조직의 손상 혹은 박테리아와 곰팡이에 의한 감염 시 재생하기 위한 생체 방어 반응과정으로 다양한 면역세포 혹은 염증 매개인자가 관여되어 염증매개물질 분비, 체액 침윤, 조직파괴, 세포이동 등 복합적인 생리적 반응

을 일으키며, 부종, 발열, 홍반, 통증 등을 유발한다. 이러한 다양한 질환을 예방 및 치료하기 위해서 다양한 종류의 천연 물질에 함유된 항산화 물질 분리에 관심을 가지며 기능성실험이 진행되고 있고, 약용식물자원에서 유용 천연물을 탐색하여 고부가가치 천연 기능성 식품 및 천연약물 등의 원료로 사용하고자 연구가 지속적으로 이루어지고 있다. 특히, 천연 물질 혹은 약용작물의 기능성 성분으로부터 만들어진 식품이나 약제는 부작용이 적어서 장기간 복용의 장점이 있다.

배암차즈기(*Salvia plebeia* R. Br.)는 우리나라 전역에 특히, 개울가, 황무지 혹은 길가에 자생하는 꿀풀과(Labiatae)에 속

† Corresponding author: Soon Ah Kang, Professor, Dept. of Convergence Science and Technology, Graduate School of Venture, Hoseo University, Seoul 06724, Korea. Tel: +82-2-2059-2353, Fax: +82-2-2059-1405, E-mail: sakang@hoseo.edu

하는 식물이다. 한방에서는 전초를 한약으로 사용하기도 하는데 향이 강하여 여지초, 나인초, 설건초로 명명하며 잎의 모양과 흡사하게 곰보배추 혹은 뱀배추로 불리기도한다(Bae 등 2007; Lim 등 2007). 배암차즈기는 뽕은 맛, 쓴 맛, 매운 맛이 강하여 대중화되어있지는 않지만 주로 기침, 염증, 간염, 천식 등에 효능이 있다고 알려져 있다(Jo 등 2010). 한의 학적으로 양혈산어, 청혈해옥, 이수소종 등의 효능이 있어, 인후종통, 폐열해수, 토혈, 노혈, 감모발열, 신염누종, 치질, 용종창독, 습진소양 등을 치료한다고 하였다(Shin 등 2001). 배암차즈기의 활성성분으로는 flavonoids, homo-plantagin, nepetin-7-glucoside, rosmarinic acid, hispidulin, eupafolin, luteolin, 플라보노이드, 페놀성 물질, 사포닌, 불포화스테롤, 정유성분 등이 보고되었다(Shin 등 2001; Lim 등 2007; Qu 등 2009; Choi 등 2015; Jeon 등 2016).

배암차즈기에 대한 생리활성 연구로는 일부 진행되어 항균, 항산화, 간세포 보호효과, 항알레르기, 항염증효과가 있다고 보고되어있다(Kamatou 등 2005; Lim 등 2007; Qu 등 2009; Kim 등 2014; Bae HS 2016). 호흡기와 관련된 항염증 생리활성 연구로는 호흡기성 백혈병 세포(RBL-2H3 cell)에서 호흡기염증질환의 치료효과 및 주요 활성물질(rosmarinic acid, hispidulin, luteolin) 규명(Song 등 2017), 배암차즈기 잎의 RAW264.7 대식세포에서 염증 주요인자인 NO와 PGE2 생성을 억제하였고 iNOS와 COX의 발현을 억제하면서 항염증효과를 보였고(Qu 등 2009), 미세먼지 유도 기도염증 모델에서 배암차즈기의 염증성 사이토카인과 케모카인의 회복효과 관찰로 호흡기 보호효과 규명(Song 등 2017), 마우스 호흡기 손상 모델에서 기관지 수축억제 활성 및 거담활성으로 호흡기 질환 치료 개선효과(Shin 등 2019) 등을 보였다. 또한 배암차즈기의 핵산 추출물의 그람양성균과 음성균에 대한 항균 및 항진균 효과(Shin 등 2001), 메탄올추출물의 아질산염 소거능을 측정하여 우수한 항산화 활성 규명(Lim 등 2007), 핵산추출물의 항암활성(Shin 등 2001), 배암차즈기 95% 에탄올 추출물의 항염증, 항혈관신생, 진통효과(Jung 등 2009), 지방세포분화 억제효과 및 지방 축적 저해 효과(Choi 등 2015; Won HR 2016; Kim 등 2017)가 보고되어 있다. 부위별 활성에서는 배암차즈기의 잎에서 플라본계의 약성에 의하여 항산화활성이 높게 보고되었다. 항산화 활성지표인 SOD 유사 활성은 배암차즈기 잎추출물이 뿌리추출물보다 3배 높은 활성을 보임으로써 기능성 소재로 활용시에 약용작물의 부위별에 따른 차이도 고려해야한다(Choi 등 2014).

염증반응은 면역반응으로, 면역세포가 세균 혹은 바이러스 등에 노출되면 활성화 면역세포에서 염증인자가 발현되면서 염증반응을 보이며(Wang 등 2002), 장기에 영향을 주면서 당뇨, 비만, 암, 심혈관질환, 치매 등에 영향을 준다(Hotamisligil

GS 2017). 대식세포가 lipopolysaccharide(LPS) 자극에 의하여 inducible nitric oxide synthase(iNOS)가 발현되면 NO를 생성하면서 염증반응을 보인다(Guzik 등 2003). Nitric oxide는 iNOS의 생성을 증가시키면서, 염증반응이 활성화되어 reactive oxygen species(ROS)를 생성하게된다(Guzik 등 2003). 염증매개물질이 과량 생성되면 면역반응이 민감하게 일어나면서 질환을 악화시키게 되므로 염증 관련 유전자의 활성도를 억제할 수 있는 소재를 탐구하며 이는 다양한 형태의 질병 양상을 완화시킬 수 있을 것이다. Kim 등(2009)의 연구에서는 길경의 용매분획별 항염증활성을 ethyl acetate층과 butanol층이 항염증 효과가 있음을 보이면서 약성이 강한 분획층을 활용한다면 더욱 향상된 기능성을 보일 것으로 보인다.

따라서 항산화 및 항염증 기능을 가지면서 성인병 예방에 도움을 주는 건강기능성 식품 개발에 자료를 제공하고 배암차즈기의 최적 분리 조건을 확립하여 순수한 물질을 분리하는 것이 필요하므로 본 연구에서는 국내산 배암차즈기로부터 메탄올 추출물의 각각의 용매 분획에 대한 항산화 및 항염증을 검증함으로써 기능성 식품 소재로서의 활용에 도움을 주고자한다.

재료 및 방법

1. 재료 및 추출물

본 연구에 사용된 배암차즈기는 경남 함양군 일원에서 자생하여 함양 약초시험장에서 재배된 것으로 지상부 부위를 채취 후 식물체는 음건하여 보관하면서 사용하였다. 농촌진흥청 조강진박사로부터 받은 배암차즈기(*Salvia plebeia* R. Br.)의 음건 시료는 50°C dry oven에서 완전 건조 후, 곱게 분쇄하여 실온에서 80% methanol로 3회 반복하여 추출하며, 여과지 Whatman No. 2로 여과하여 45°C 수온을 유지하는 rotary vacuum evaporator를 사용하여 감압농축 하였다. 농축한 80% methanol 추출물을 동결건조한 후 계통 분획하였다. Methanol 추출물을 Hexane:H₂O(1:1) 용매로 3~4회 분획한 후 얻어진 hexane 분획분을 감압 농축하였다. Methylene Chloride:H₂O(1:1) 용매와 ethyl acetate:H₂O(1:1) 용매의 순으로 계통분획한 후 시료를 rotary vacuum evaporator로 감압 농축 후 용매별 fraction을 실험시료로 얻었다. Methanolic extract와 각각의 용매 fraction에 대한 수율은 메탄올 추출물은 25.0%, hexane 층은 2.5%, methylene chloride fraction은 2.4%, EtOAc fraction은 1.5%, water fraction은 69.5%이었다.

2. 총 페놀 함량

분획별 시료의 총 페놀 함량은 Folins-Denis(Kim 등 2003)의 방법으로 측정하였다. 분획별 시료 0.25 mL에 증류수 4

mL를 넣고 혼합하여 증류수와 1:1의 비율로 희석한 Folin-Ciocalteu's(Fluka, Buchs, Switzerland) 시약 0.25 mL를 30초 동안 혼합한 후 5분간 반응시킨다. 반응용액에 포화상태인 sodium carbonate 0.5 mL를 첨가하여 30분 상온에서 반응하였다. UV-VIS spectrophotometer(Shimadzu, Kyoto, Japan) 725 nm에서 흡광도를 측정하여, 총 페놀 함량은 tannic acid를 표준 물질로 이용하여 작성한 표준곡선에서 tannic acid 당량으로 계산하였다.

3. DPPH 라디칼 소거활성

분획별 시료의 DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 라디칼 소거활성 분석에 100% 메탄올을 이용하여 용해시킨 0.1 mM DPPH 용액 3.75mL에 분획별 시료용액 0.25 mL를 혼합하여 10초간 mixing 후 30분간 암소에서 반응시켰다. 30분 후에 UV-VIS spectrophotometer로 517 nm에서 측정하였다(Kim 등 2013). 대조군은 분획별 시료용액과 동량의 메탄올 용액을 혼합하여 실험 시료와 같은 과정으로 실험하였다. DPPH 라디칼 소거활성능 판정은 대조군이 50% 라디칼을 소거할 수 있는 활성능력에 해당하는 시료의 양 (EC_{50} , effective concentration)으로 산출하였다.

4. FRAP(Ferric reducing antioxidant power) 환원능

낮은 pH에서 시료의 환원력 (ferric reducing ability)를 보는 방법으로 0.3M sodium acetate buffer(pH 3.6)와 40 mM HCl 혼합액인 10 mM 2,4,6-tripyridyl-S-triazine(TPTZ) solution, 20 mM $FeCl_3$ solution을 사용하였다. 실험직전에 신선하게 10:1:1의 비율로 시약을 혼합하여 10~15분 동안 37°C에서 반응 후 FRAP 시약을 준비하였다(Jeong 등 2010). FRAP 시약 1.5 mL를 분획별 시료 0.05 mL에 혼합하여 30분간 상온에서 반응 후, UV-VIS spectrophotometer를 이용하여 593 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 FRAP 환원능은 ascorbic acid를 표준 물질로 사용하여 ascorbic acid 당량으로 결과를 산출하였다.

5. 마우스 대식세포 RAW 264.7 세포주 배양

마우스 대식세포 RAW 264.7 세포주를 American Type Culture Collection(ATCC, Rockville, MD, USA)에서 구입하여, 배양은 Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)에 100 U/mL penicillin-streptomycin(PS, Welgene Inc., Gyeongbuk, Korea)와 10% Fetal Bovine Serum(FBS, Sigma-Aldrich Co.)을 혼합하여 배지로 사용하였다. 배양조건은 37°C에서 5% CO_2 조건으로 조절된 배양기에서 실험을 하였다. Amrouche 등(2006)의 방법을 수정하여 진행하였다(Lee 등 2014).

6. 생존율 분석

마우스 대식세포 RAW 264.7 cell line을 96 well plate 위에 well 당 3×10^5 cell/mL의 농도로 각각 배양하고 각 well 당 배암차즈기 분획별 시료를 20 μ L씩 첨가하고 37°C이며 5% CO_2 incubator에서 24시간 배양시켰다. 배양한 후 MTT(3-[4,5-dimethylthiazol 2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) 용액을 50 μ L씩 넣고 incubation을 4시간 지속한 후 MTT 용액을 제거한 후 150 μ L씩 DimethylSulfoxide(DMSO)를 넣고 ELISA reader로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

7. Nitric oxide(NO) 농도 측정

RAW 264.7 cell line의 배지에서 NO 농도는 Griess reagent (Sigma-Aldrich Co.)를 활용하여 측정하였다. 96-well plate에 well당 3×10^5 cell/mL 농도로 24시간 동안 배양한 후 2 μ g/mL lipopolysaccharide(LPS, Sigma-Aldrich Co.)를 처리하고 필터(0.2 μ m, GVS Filtration Inc., Bloomer, WI, USA)를 통과한 배암차즈기 분획별 시료의 농도를 0.1 mg/mL로 48시간 동안 처리하였다. 세포 배양 상층액에 Griess reagent를 처리한 후, Wallac Victor3 1420 Multilabel Counter(Perkin-Elmer, Wellesley, MA, USA)로 흡광도를 550 nm에서 측정하였다(Livak & Schmittgen 2001).

8. Prostaglandin E2 (PGE2) 생성 저해 활성능 측정

RAW 264.7 대식세포를 96 well plate에 1.5×10^5 cells/well 농도로 분주하여 6시간 지난 후 배암차즈기 분획별 시료를 농도별(37.5, 75, 150 ng/mL)로 처리하고 LPS(75 ng/mL)로 염증을 유도한 후 18시간 배양하였다. 상층액을 취해 PGE2를 측정하고자 PGE2 kit(R&D, Minneapolis, MN, USA)를 사용하였다(Jeong 등 2012).

9. Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

RAW 264.7 cell line을 96-well plate에 각 well당 3×10^5 cell/mL 농도로 맞추어 37°C에서 24시간 동안, CO_2 incubator에서 배양 후 배지는 제거하고 2 μ g/mL LPS를 처리하고, 필터(0.2 μ m, GVS Filtration Inc.)를 통과한 배암차즈기 분획별 시료 0.1 mg/mL 농도로 48시간 동안 처리하였다. 세포 배양 상층액을 ELISA kit(BioLegend, San Diego, CA, USA)로 IL-1 β , TNF- α 의 농도를 측정하였다. 실험은 제조사에서 제공된 실험방법을 준수하여 실험을 진행하였다(Livak & Schmittgen 2001).

10. 통계처리

모든 실험 결과는 평균 \pm standard deviation(S.D.)로 표현하였고 RT-qPCR은 평균 \pm standard error(S.E.)로 나타내었다. Student *t*-test 분석과 one-way analysis of variance(ANOVA) 분석으로

검증하여 Duncan's multiple range tests로 군간의 통계적 유의성을 판정하였으며, 유의성의 판단은 p value가 $p < 0.05$ 로 하였다. 상관관계 분석은 $p < 0.05$ 와 $p < 0.01$ 확률 수준에서 피어슨의 상관계수(pearson' correlation coefficient)를 구하여 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 총 페놀 함량 및 DPPH radical 소거능 분석

배암차즈기(*Salvia plebeia* R. Br.)의 총 페놀함량을 정량한 결과 303.6 ± 13.4 $\mu\text{g/g}$ DW의 함량을 보였다(Table 1). 배암차즈기(*Salvia plebeia* R. Br.)의 메탄올 추출물과 용매 분획별 free radical 소거능력을 측정된 결과는 Table 2에서 보는 바와 같이 배암차즈기의 에틸아세테이트 분획에서 항산화활성이 가장 크다는 것을 알 수 있었다. DPPH 라디칼 소거능은 에틸아세테이트 분획이 SC_{50} 이 67 $\mu\text{g/mL}$ 로 나타났고, 메탄올 분획이 SC_{50} 은 233 $\mu\text{g/mL}$ 로 나타나 에틸아세테이트 분획이 낮은 농도에서 라디칼 소거능을 보였다. 또한 항산화표준물질로 사용하는 BHT보다 높은 free radical 소거능을 보여 줌으로써, BHA와 비교시 거의 동등한 활성이 있음을 보여주었다.

약용식물로서 배암차즈기는 피토케미칼을 함유하고 있고 페놀성화합물 혹은 플라보노이드 성분을 다량 함유하고 있고, 유지산화 억제 효과 및 DPPH 라디칼 소거능 등 항산화 활성이 높은 것으로 보고되어 있다(Kang 등 2003; Kamatou 등 2005; Lim 등 2007; Boo 등 2012; Jeong 등 2014; Han GY 2016). 특히 Jeong 등(2014)의 보고에 의하면 열풍 건조한 배암차즈기의 총 플라보노이드와 총 폴리페놀 함량이 데친 후에는 감소하였고, DPPH radical 소거능도 농도에 비례하게 데친 후 열풍 건조한 배암차즈기에서 유의하게 감소하는 결과를 보임으로써 가공방법에 따라 항산화능의 차이가 있음을 보여주었다. 한입버섯의 70% 에탄올추출물의 총 폴리페놀 함량과 항산화지표인 DPPH 라디칼 소거능 및 아질산염 소거능과는 통계적으로 유의한 상관관계를 나타냈다(An 등 2019). 고지방-고콜레스테롤 식이를 공급한 흰쥐에게 배암차즈기 열수추출물 급여가 glutathione peroxidase, glutathione reductase 활성이 증가하면서 간과 혈액의 과산화물 생성을 감소시켰다(Won HR 2016). Cho 등(2007)은 배암차즈기의 경

Table 1. Total phenol contents ($\mu\text{g/g}$) using Folin-Dennis methods from *Salvia plebeia* R. Br.

Plants	Total phenol contents ($\mu\text{g/g}$)
<i>Salvia plebeia</i> R. Br.	303.6 ± 13.4

Each value represents mean \pm S.D., n=3.

Table 2. DPPH radical scavenging effects of five different solvent fractions from *Salvia plebeia* R. Br.

Solvent fraction	<i>Salvia plebeia</i> R. Br. SC_{50}^1 ($\mu\text{g/mL}$)
Methanolic extract	233.2 ± 17.5
Hexane	$3,229.8 \pm 22.6$
Methylene chloride	589.4 ± 11.4
EtOAc	67.1 ± 5.8
Water	391.8 ± 9.7
BHA (control)	55.3 ± 2.5
BHT (control)	278.5 ± 3.4

¹⁾ Concentration of antioxidant required scavenging 50% of free radical (DPPH) in a reaction solution.

DPPH: 2,2'-diphenyl-1-picryl-hydrazil.

Each value represents mean \pm S.D., n=3.

엽을 시료로 메탄올 추출액의 에틸아세테이트 분획에서 rosmarinic acid, hispidulin 7-O-glucopyranoside, luteolin 7-O- β -glucopyranoside 등을 동정하였고, rosmarinic acid의 항산화활성능력이 가장 높은 것으로 보고하였다.

2. FRAP 환원능력

배암차즈기 추출물에 대한 ferric reducing ability(FRAP)를 측정된 결과 Table 3에서 보는 바와 같이 배암차즈기 에탄올 추출물의 환원력은 3.11 ± 0.93 μg ascorbic acid/mg extract, 메탄올 추출물의 환원력은 3.01 ± 0.39 μg ascorbic acid/mg extract으로 메탄올과 에탄올 추출물은 강력한 FRAP 환원력을 보였다. 또한 배암차즈기 유기용매 분획층 모두에서 활성이 높게 나타났다. 이와 같이 항산화능력으로서 라디칼 소거능을 측정할 수 있는 FRAP 환원능 분석에서 배암차즈기 분획별 항산화력이 높은 것으로 나타났다.

Jeong 등(2015)의 연구에서 배암차즈기 물 추출물이 강력한 전자공여능을 보여주면서 천연항산화 소재 가능성을 시

Table 3. Ferric reducing antioxidant power of the solvent fractions and methanol extracts derived from *Salvia plebeia* R. Br.

Solvent fraction	<i>Salvia plebeia</i> R. Br. FRAP power
No treatment	0.09 ± 0.01
Methanolic extract	3.01 ± 0.39
Hexane	2.49 ± 1.87
Methylene chloride	2.76 ± 0.47
EtOAc	3.11 ± 0.93
Water	2.50 ± 1.54

Each value represents mean \pm S.D., n=3.

사하였다. Lim 등(2007)의 연구에서는 배암차즈기 메탄올 추출물에서 RC_{50} 51.1 $\mu\text{g/mL}$ 값으로 대조구인 BHT의 RC_{50} 값인 18.5 $\mu\text{g/mL}$ 와 비교할 때 합성항산화물에 비하여 배암차즈기 추출물의 전자공여능력이 높은 것으로 보고하였다. 배암차즈기의 DPPH 수소공여능을 측정된 결과는 양성대조구인 아스코르브산은 6.1 $\mu\text{g/mL}$ 의 RC_{50} 을, 배암차즈기는 16.9 $\mu\text{g/mL}$ 의 RC_{50} 을 나타내었다. 또한, 배암차즈기 메탄올 추출물은 linoleic acid에 대해 우수한 항산화력을 보이면서 기능성 식품소재 및 식품첨가물로서 활용가치가 있음을 시사하였다. Choi 등(2014) 연구에서는 배암차즈기 잎과 뿌리의 에탄올 추출물의 항산화능 지표인 DPPH radical과 ABTS radical 소거능이 시료 추출물 농도에 비례하여 유의적으로 증가함에 따라 활성화 효과가 높은 결과를 보였고, SOD 유사 활성은 잎이 뿌리보다 약 3배 높은 활성을 나타내었다. 본 연구의 결과에서도 항산화 활성능 지표로 총페놀함량, DPPH 라디칼 소거능 및 FRAP 환원능 분석에서 배암차즈기 메탄올 분획과 에틸아세테이트 분획에서 항산화력이 높은 것으로 나타났다. 배암차즈기의 항산화능을 활용하여 기능성 식품소재의 활용가치를 시사하였으며 활성도를 높이기 위해서는 추출물의 분획층을 활용할 수 있는 점을 시사하였다.

3. Raw 264.7 세포에서 분획별 배암차즈기 추출물에 의한 NO 생성능

Raw 264.7 세포에서 NO 생성은 LPS 처리군이 LPS 미처리군에 비해 통계학적으로 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$) (Fig. 1). LPS 미처리군은 0.27 \pm 0.06 $\mu\text{g/mL}$ 이었고 LPS 처리군은 10.52 \pm 0.55 $\mu\text{g/mL}$ 로 통계적으로 유의하게 증가하였다($p <$

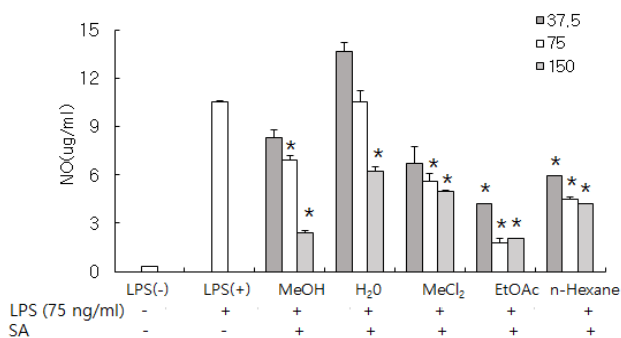


Fig. 1. Effects of fraction of *Salvia plebeia* R. Br. on LPS-activated nitric oxide released into the medium by RAW 264.7 cell. Each value is expressed as a mean S.D. (n=3). Cell were co-treated with LPS (75 ng/mL) and various fraction of *Salvia plebeia* R. Br. (37.5, 70 and 150 ng/mL) for 24hr. LPS, lipopolysaccharides; SA, *Salvia plebeia* R. Br. * $p < 0.05$ compared to LPS(+) by *t*-test.

0.05). 배암차즈기 분획별 시료 농도(37.5 ng/mL)로 처리 한 경우 LPS 처리군(10.52 \pm 0.55 $\mu\text{g/mL}$)에 비해 LPS 처리군 +EtOAc 분획(4.20 \pm 0.51 $\mu\text{g/mL}$)은 통계학적으로 유의적인 감소가 있었고($p < 0.05$), 다른 분획별 배암차즈기 처리에 의해서는 유의적인 차이가 없었다. 배암차즈기 분획별 시료 농도 (75 ng/mL)로 처리 한 경우 LPS 처리군(10.52 \pm 0.55 $\mu\text{g/mL}$)에 비해 LPS 처리군+MeOH 분획(6.88 \pm 0.29 $\mu\text{g/mL}$), LPS 처리군+MeCl₂ 분획(5.58 \pm 0.50 $\mu\text{g/mL}$), LPS 처리군+EtOAc 분획(1.77 \pm 0.29 $\mu\text{g/mL}$)은 통계학적으로 유의적인 감소가 있었고($p < 0.05$), 배암차즈기 분획별 시료 농도(150 ng/mL)로 처리 한 경우 LPS 처리군(10.52 \pm 0.55 $\mu\text{g/mL}$)에 비해 LPS 처리군+ MeOH 분획(2.38 \pm 0.04 $\mu\text{g/mL}$), LPS 처리군+MeCl₂ 분획(4.99 \pm 0.13 $\mu\text{g/mL}$), LPS 처리군+H₂O 분획(6.19 \pm 0.27 $\mu\text{g/mL}$), LPS 처리군 +EtOAc 분획(2.03 \pm 0.31 $\mu\text{g/mL}$)은 통계학적으로 유의적인 감소가 있었고($p < 0.05$), 특히 핵산층을 제외한 모든 분획별 배암차즈기 처리에 의해서는 LPS에 의한 세포독성을 감소시켜 주는 분획으로 실험시료의 농도를 150 ng/mL로 실험을 하였다.

NO의 발생기전은 다양하지만 대식세포 등에서 생산하는 TNF- α , IL-1 β 등의 염증성 cytokine들이 요인이 된다고 하였다(Lee 등 2006; Jeon 등 2008; Chang 등 2009; Jo 등 2010; Jeong 등 2012). NO는 세포손상을 유도하여 염증을 유발하는 원인이 된다(Bae 등 2007; Jeon 등 2008; Jung 등 2009; Jeong 등 2012). Jo 등(2010)의 연구에 의하면 배암차즈기 추출물의 항염증 및 항알레르기 활성을 조사한 결과 대식세포에 LPS 자극 후 배암차즈기 처리 시 NO 및 염증성 cytokine(IFN- γ , IL-4, IL-2)의 생성이 억제되었다. 염증상태에서 과도한 NO의 생성은 염증반응을 촉진시켜 만성염증, 퇴행성 질환, 조직의 손상 및 유전자 변이 등의 원인으로 보고되어 있다(McCartney-Francis 등 1993; Hippeli & Elstner 1999; Bak 등 2011). Jeong 등(2015)의 연구에 의하면 NO 생성 저해 효과는 농도에 비의존적으로 25~100 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 대조군에 비하여 NO 생성량이 30% 정도 감소하는 결과를 얻었으며, 물 추출물의 IC_{50} 은 100 $\mu\text{g/mL}$ 이상이였다. Jeong 등(2012)은 LPS로 자극을 준 RAW 264.7 대식세포에서 NO와 PGE2 활성, HO-1, iNOS, COX-2의 발현에 영향을 미치면서 염증반응을 유도하였다. 따라서 LPS 자극에 의한 RAW 264.7 대식세포로부터 염증관련 물질인 NO, IL-6 및 TNF- α 등의 생성을 배암차즈기가 억제함으로써 염증성 질환의 예방 혹은 치료에 유효한 효능을 기대해본다.

4. Raw 264.7 세포에서 pro-inflammatory cytokine의 함량 분석

마우스 대식세포주 Raw 264.7 세포에 LPS를 처리하면 염증이 유도되는데 배암차즈기 용매별 분획물 농도를 150 ng/

mL로 처리한 경우 pro-inflammatory cytokine(PGE₂, IL-1 β , TNF- α)의 함량 변화를 본 결과는 Fig. 2~Fig. 4에 보여준다. LPS 미처리군에 비하여 LPS를 처리한 군에서 PGE₂, IL-1 β 와 TNF- α 가 통계학적으로 유의하게 증가하였다($p < 0.05$)(Fig. 2). LPS 처리군(PGE₂: 299.9 \pm 12.1 pg/mL, IL-1 β : 1,799.5 \pm 44.2 pg/mL, TNF- α : 1,768.5 \pm 101.3 pg/mL)은 LPS 미처리군(PGE₂: 48.6 \pm 2.9 pg/mL, IL-1 β : 126.9 \pm 60.7 pg/mL, TNF- α : 106.3 \pm 3.0 pg/mL)보다 통계학적으로 유의하게 증가하였다($P < 0.05$). 이는 LPS로 자극된 RAW 264.7 세포주 염증 모델에서 LPS를 처리함에 따라 pro-inflammatory cytokine(PGE₂, IL-1 β , TNF- α) 함량이 증가됨을 보여주었다.

LPS로 자극된 RAW 264.7 세포주 염증 모델에서 LPS를 처리 시 증가된 pro-inflammatory cytokine(PGE₂: 299.9 \pm 12.1 pg/mL, IL-1 β : 1,799.5 \pm 44.2 pg/mL, TNF- α : 1,768.5 \pm 101.3 pg/mL)에 배암차즈기 용매별 분획물을 처리한 결과는 Fig. 2와 같다. TNF- α 함량은 MeCl₂ 분획층을 제외한 다른 용매 분획에서 모두 유의하게 감소하는 것을 볼 수 있었다. 특히 LPS 처리군+EtOAc 분획물(814.3 \pm 179.4 μ g/mL)과 LPS 처리군+MeOH 분획물(1,032.7 \pm 128.1 μ g/mL)에서는 통계학적으로 매우 유의하게 감소하였다($p < 0.05$)(Fig. 2). PGE₂ 함량은 배암차즈기 전 분획층에서 유의하게 감소하는 것을 볼 수 있었으며, 특히 LPS 처리군+EtOAc 분획물(103.8 \pm 11.7 μ g/mL)과 LPS 처리군+MeOH 분획물(143.7 \pm 33.2 μ g/mL)에서는 통계학적으로 매우 유의하게 감소하였다($p < 0.05$)(Fig. 3). Prostaglandin E₂는 염증반응을 유도하는 중요한 물질로 arachidonic acid가 cyclooxygenase(COX)에 의해 합성되며 염증반응과 함께 부종, 홍반, 통증을 유발한다(Harris 등 2002). Jeong 등

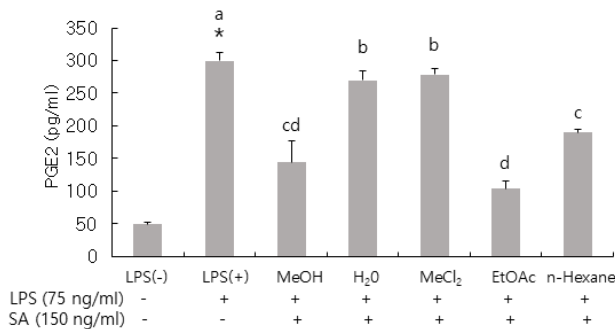


Fig. 2. Effects of fraction of *Salvia plebeia* R. Br. on LPS-activated PGE₂ released into the medium by RAW 264.7 cell. Each value is expressed as a mean S.D. (n=3). LPS, lipopolysaccharides; SA, *Salvia plebeia* R. Br. * $p < 0.05$ compared to LPS(-) by t -test. Values with different letters above bar graphs are significantly different at the 5% level by one-way ANOVA and Duncan's multiple range test.

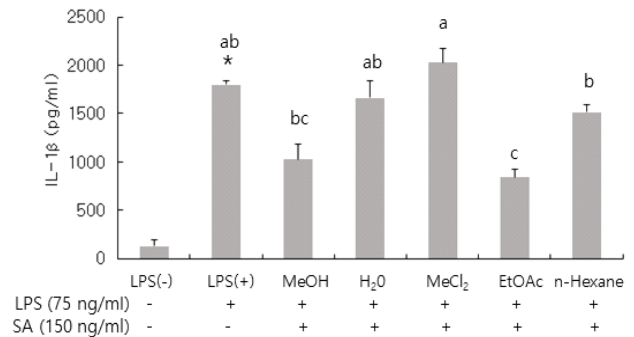


Fig. 3. Effects of fraction of *Salvia plebeia* R. Br. on LPS-activated IL-1 β released into the medium by RAW 264.7 cell. Each value is expressed as a mean S.D. (n=3). LPS, lipopolysaccharides; SA, *Salvia plebeia* R. Br. * $p < 0.05$ compared to LPS(-) by t -test. Values with different letters above bar graphs are significantly different at the 5% level by one-way ANOVA and Duncan's multiple range test.

(2012)의 연구에서 배암차즈기 잎 추출물의 PGE₂ 억제 활성을 측정된 결과 LPS로 활성화된 PGE₂는 20 ng/mL 수준으로 증가하였으나 배암차즈기 잎 추출물 농도에 의존하여 감소하는 경향을 보였다. 배암차즈기의 생리활성 성분인 Salicylate metabolites인 sialic acid가 LPS로 자극한 대식세포의 NO생성을 감소시키면서 PGE₂ 저해효과를 준 것으로 보고하였다(Pang & Hoult 1997; Hinz 등 2000; Jo 등 2010).

IL-1 β 함량은 배암차즈기 H₂O와 MeCl₂ 분획층을 제외한 다른 분획물에서 모두 유의하게 감소하는 것을 볼 수 있었다. 특히 LPS 처리군+EtOAc 분획물(839.0 \pm 88.3 μ g/mL)과 LPS 처리군+MeOH 분획물(1,026.7 \pm 154.6 μ g/mL)에서는 통계학적으로 매우 유의하게 감소하였다 ($p < 0.05$)(Fig. 4). 이 결과는 배암차즈기 EtOAc 분획물과 MeOH 분획물의 항염증 효과를 증명하였고 시료를 준비할 때 분획층의 차이를 보여줌으로써 효능의 극대화를 위해서는 EtOAc 분획물과 MeOH 분획물이 항염증 효과를 증가시키는 것으로 나타났다. 대식세포를 활성화할 수 있는 LPS로 자극된 RAW 264.7 세포주 염증 모델이 항염증 모델로 널리 이용되므로, LPS를 처리하면 iNOS가 발현되면서 NO 생성을 촉진하고 NO는 신경전달 반응 및 염증 반응을 유발하여(Miyasaka & Hirata 1997; Wang 등 2002), 염증관련 인자(IL-6, IL-1 β , TNF- α , IFN- γ , COX-2, iNOS)가 급격하게 증가하여(Livak & Schmittgen 2001) 염증반응이 활발해지면서 다양한 질환을 유발하여 악화시키는 원인이 된다(Seo 등 2000; Ahn 등 2009). 약물작용물에서 항염증 소재를 탐색할 때 지표로 삼는 인자들은 NF- κ B 활성을 억제하여 NO, IL-1 β , IL-6의 생성을 억제하면서 항염증 효과를 보였다(Lee & Rhee 2015). 따라서 본 연구에서는 배암차

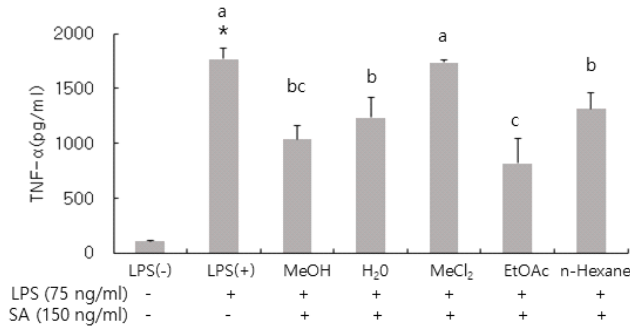


Fig. 4. Effects of fraction of *Salvia plebeia* R. Br. on LPS-activated TNF- α released into the medium by RAW 264.7 cell. Each value is expressed as a mean S.D. (n=3). LPS, lipopolysaccharides; SA, *Salvia plebeia* R. Br. * p <0.05 compared to LPS(-) by t -test. Values with different letters above bar graphs are significantly different at the 5% level by one-way ANOVA and Duncan's multiple range test.

즈기 용매별 분획물이 LPS로 자극된 RAW 264.7 식세포에서 농도 의존적으로 NO 생성량이 감소하였다.

Jeong 등(2012)의 보고에 의하면 배암차즈기 추출물은 NO와 PGE2 생성을 억제하였고, COX-2와 iNOS의 발현을 억제하여 우수한 항염증 효과를 나타내었다. 이는 HO-1의 발현을 증가시킴에 따라 산화적 손상으로부터 세포방어기작에 관여하는 항염증에 우수한 효과를 보였다. Shin 등(2016)의 연구에 의하면 배암차즈기 50% 주정 조추출물에서 용매별 분획물을 50 μ g/mL의 농도에서 leukotriene 발현을 억제하는 결과를 보였고, ethyl acetate 분획물이 가장 높은 항염증 활성이 나타남을 보였다. Qu 등(2009)은 *Salvia plebeia*의 주성분인 homoplantaginin이 간보호 효과를 보이면서 LPS 처리 후 TNF- α , IL-1, IL-6 및 proinflammatory cytokine의 생성을 억제하는 효과를 나타낸다고 보고하였다. Jo 등(2010)의 연구에

의하면 대식세포에 LPS 자극에 대하여 배암차즈기 추출물을 투여 시 NO와 염증성 사이토카인(TNF- α , NO, IL-6)의 생성이 억제되었다.

본 연구결과에서도 배암차즈기 용매 분획별 시료 중 EtOAc 분획물과 MeOH 분획물의 염증성 사이토카인(TNF- α , PGE₂, IL-1 β)의 생성이 유의하게 억제되면서 항염증 효과를 증명하였고 기능성 효능 실험에 분획층의 차이를 보여줌으로써 생리활성의 극대화를 위해서는 EtOAc 분획물과 MeOH 분획물이 항염증의 생리활성을 증가시키는 것으로 나타났다.

5. 항산화효과 인자와 항염증효과 인자와의 상관관계 분석

항산화효능 지표인 DPPH 라디칼소거능, FRAP 라디칼 소거능과 염증반응의 지표물질인 PGE₂, IL-1 β 및 TNF- α 농도의 상관성을 분석한 결과는 Table 4와 같다. DPPH 라디칼 소거능(SC₅₀)은 FRAP 활성($r = -0.6985$, $p < 0.05$)과는 유의한 상관성을 보였고, NO 농도($r = -0.7044$, $p < 0.05$), PGE₂ 농도($r = 0.6915$, $p < 0.05$) 및 TNF- α 농도($r = 0.8983$, $p < 0.01$)와는 각각 유의한 상관관계를 나타내었다. PGE₂ 농도는 NO 농도($r = 0.8493$, $p < 0.01$), TNF- α ($r = 0.8883$, $p < 0.01$)와 각각 유의한 상관성을 나타냈고, TNF- α 농도는 NO 함량($r = 0.7870$, $p < 0.01$), PGE₂($r = 0.8883$, $p < 0.01$)와 유의한 상관관계를 보였으나 IL-1 β 농도와는 유의한 상관관계를 보이지 않았다. 본 연구결과 항산화 활성이 높은 시료일수록 항염증 효능을 보이는 것으로 분석되었다.

Bak 등의 연구에 의하면 염증 반응의 촉진제 역할이 활성 산소에 의하여 발생하므로 라디칼을 제거할 수 있는 시료가 항염증 효과도 높을 것으로 사료된다. 라디칼 소거능 활성은 총 폴리페놀 함량과 밀접한 관계가 있음을 보여주는 많은 연구가 있었고(Qi 등 2013; An 등 2019) 본 연구에서는 DPPH 라디칼 소거능은 FRAP활성과는 유의한 상관성을 보였다.

Table 4. Correlation coefficient among antioxidant activity and anti-inflammatory activity of *Salvia plebeia* R. Br.

	DPPH ¹⁾	FRAP ²⁾	NO	PGE2	IL-1 β	TNF- α
DPPH	1	-0.6985*	0.7044*	0.6915*	0.3561	0.8983**
FRAP		1	-0.4978	-0.4738	-0.2567	-0.6918*
NO			1	0.8493**	0.4876	0.7870**
PGE2				1	0.5181	0.8883**
IL-1 β					1	0.2587
TNF- α						1

¹⁾ DPPH (SC₅₀): DPPH: 2,2'-diphenyl-1-picryl-hydrazil: Concentration of antioxidant required scavenging 50% of free radical (DPPH) in a reaction solution.

²⁾ FRAP : Ferric reducing antioxidant power.
FRAP activity at 150 ng/mL.

Significantly correlated each other at * p <0.05 or ** p <0.01.

Kwak & Choi (2015)의 연구에서는 복숭아꽃 에탄올추출물의 항산화지표인 총 페놀화합물 함량과 항염증인자인 TNF- α 농도만 유의한 상관관계를 보였고, PGE₂, 아질산염, IL-6 농도는 유의한 상관성을 보이지 않았다. 본 연구에서도 비슷한 경향성을 보였으나 TNF- α 농도와 PGE₂는 유의한 상관관계를 보였다.

요약 및 결론

본 연구는 성인병을 예방하며 항산화 및 항염증 기능을 보이는 건강기능성 식품 소재를 탐구하는데 자료를 제공하고 저 국내산 배암차즈기 메탄올 추출물의 각각의 용매 분획에 대한 항산화 및 항염증 효과를 검증하였다. 항산화 활성능 지표로 총 페놀함량, DPPH 라디칼 소거능 및 FRAP 환원능 분석에서 배암차즈기 메탄올 분획과 에틸아세테이트 분획에서 항산화력이 높은 것으로 나타났다. 배암차즈기의 항산화능을 활용하여 기능성 식품소재의 항산화 효과 활용가치를 시사하였으며 활성도를 높이기 위해서는 추출물의 분획층을 활용할 수 있는 점을 시사하였다. 마우스 대식세포주 Raw 264.7 세포에서 LPS 처리에 의한 NO 생성능은 LPS 처리군이 LPS 미처리군에 비해 통계학적으로 유의적으로 증가하였다. 배암차즈기 분획별 활성에서 핵산층을 제외한 모든 분획에서 LPS에 의한 Raw 264.7 세포의 독성을 감소시켜주는 분획으로 실험시료의 농도를 150 ng/mL로 실험을 하였다. 마우스 대식세포주 Raw 264.7 세포에서 LPS 처리에 의해 유도된 염증반응에서 배암차즈기 용매별 분획물 농도를 150ng/mL로 처리한 경우 EtOAc 분획물과 MeOH 분획물의 염증성 사이토카인(TNF- α , PGE₂, IL-1 β)의 생성이 유의하게 억제되면서 항염증 효과를 증명하였다. 항산화효능 지표인 DPPH 라디칼 소거능(SC₅₀)은 FRAP 활성, NO 농도, PGE₂ 농도 및 TNF- α 농도와는 각각 유의한 상관관계를 나타내었다. TNF- α 농도는 NO 함량, PGE₂와 유의한 상관관계를 보였으나 IL-1 β 농도와는 유의한 상관관계를 보이지 않았다. 본 연구결과 항산화 활성이 높은 시료일수록 항염증 효능을 보이는 것으로 분석되었다. 기능성 효능 실험에 분획층의 차이를 보여줌으로써 생리활성의 극대화를 위해서는 EtOAc 분획물과 MeOH 분획물이 항염증의 생리활성을 증가시키는 것으로 나타났다.

감사의 글

본 논문은 2018년도 호서대학교의 재원으로 학술연구비 지원(2018-0303)을 받아 수행된 연구로 이에 감사드립니다. 또한, 본 논문의 소재인 배암차즈기와 분석재원을 제공해주

신 농촌진흥청 조강진박사님께 감사드립니다.

References

- Ahn JY, Im LR, Kim JH, Park JH, Kim DK, Lee YM. 2009. Effects of *Rumecis radix* water extract on development of atopic dermatitis in BALB/c mice. *Korean J Pharmacogn* 40:218-223
- Amrouche T, Boutin Y, Prioult G, Fliss I. 2006. Effects of bifidobacterial cytoplasm, cell wall and exopolysaccharide on mouse lymphocyte proliferation and cytokine production. *Int Dairy J* 16:70-80
- An GH, Han JG, Cho JH. 2019. Antioxidant and anti-inflammatory activities of different extraction solvents of *Cryptopus volvatus*. *J Mushrooms* 17:136-143
- Bae HS. 2016. Studies on the anti-oxidative and anti-inflammatory efficacy of fermented *Salvia plebeia* R. Br. extract. Ph.D. Thesis, Joongbu Univ. Geumsan. Korea
- Bae MJ, Ye EJ, Kim SJ, Kim JM, Yee ST, Park EM. 2007. The effects of plebeiae herba (*Salvia plebeia* R. Br.) on the anticancer (*in vitro*) and activation of immune cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36:377-382
- Bak JP, Son JH, Kim YM, Jung JH, Leem KH, Lee EY, Kim EH. 2011. Suppression effect of the inflammatory response in macrophages by *Paoniae radix rubra* extract. *Korean J Med Crop Sci* 19:373-379
- Boo HO, Shin JH, Shin JS, Choung ES, Bang MA, Choi KM, Song WS. 2012. Assessment on antioxidant potential and enzyme activity of some economic resource plants. *Korean J Plant Res* 25:349-356
- Chang LP, Lai YS, Wu CJ, Chou TC. 2009. Liquid perfluorochemical inhibits inducible nitric oxide synthase expression and nitric oxide formation in lipopolysaccharide treated RAW 264.7 macrophages. *J Pharmacol Sci* 111:147-154
- Cho KJ, Bae SC, Kim JB, Kim SS, Kang SA, Kim MB. 2007. Development of Functional Medicinal Food Materials and Separation of Physiological Active Substances from Native Plants (GOVP1200723280). pp.3-146. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs
- Choi BK, Lee SH, Kim NS, Cho SY, Jang HH, Kim JB, Lee YM, Yoon S, Lee SH. 2014. Anti-oxidative and anti-allergic effects of *Salvia plebeia* R. ethanol extracts. *Korean J Pharmacogn* 45:332-337
- Choi SI, Kwak H, Kim JY, Choi JG, Lee JH. 2015. Antia-

- dipogenic effects of *Salvia plebeia* R. Br. extracts by extraction conditions in 3T3-L1 preadipocytes. *Korean J Med Crop Sci* 23:245-252
- Guzik TJ, Korbust R, Adamek-Guzik T. 2003. Nitric oxide and superoxide in inflammation. *J Physiol Pharmacol* 54:469-487
- Han GY. 2016. Studies on the anti-oxidative efficacy of *S. plebeia* R. Br. extract fermented by lactic-acid bacteria. Master's Thesis, Joongbu Univ. Geumsan. Korea
- Harris SG, Padilla J, Koumas L, Ray D, Phipps RP. 2002. Prostaglandins as modulators of immunity. *Trends Immunol* 23:144-150
- Hinz B, Kraus V, Pahl A, Brune K. 2000. Salicylate metabolites inhibit cyclooxygenase-2-dependent prostaglandin E2 synthesis in murine macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 274:197-202
- Hippeli S, Elstner EF. 1999. Inhibition of biochemical model reactions for inflammatory processes by plant extracts: A review on recent developments. *Free Radic Res* 31:S81-S87
- Hotamisligil GS. 2017. Inflammation, metaflammation and immunometabolic disorders. *Nature* 542:177-185
- Jeon HJ, Kang HJ, Jung HJ, Kang YS, Lim CJ, Kim YM, Park EH. 2008. Anti-inflammatory activity of *Taraxacum officinale*. *J Ethnopharmacol* 115:82-88
- Jeon YJ, Kwak H, Choi JG, Lee JH, Choi SI. 2016. Analytical method for the validation of hispidulin as a marker compound for the standardization of *Salvia plebeia* R. Br. extracts as a functional ingredient. *Korean J Med Crop Sci* 24:271-276
- Jeong CH, Choi GN, Kim JH, Kwak JH, Kim DO, Kim YJ, Heo HJ. 2010. Antioxidant activities from the aerial parts of *Platycodon grandiflorum*. *Food Chem* 118:278-282
- Jeong H, Sung M, Kim Y, Ham H, Choi Y, Lee J. 2012. Anti-Inflammatory activity of *Salvia plebeia* R. Br. leaf through heme oxygenase-1 induction in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41:888-894
- Jeong JS, Kim YJ, Ahn EK, Shin JY, Go GB, Son BG. 2015. Antioxidative activities and qualitative characteristics of substitute tea using *Salvia plebeia* R. Br. *Korean J Food Cookery Sci* 31:41-52
- Jeong JS, Kim YJ, Choi BR, Go GB, Son BG, Gang SW, Moon SM. 2014. Antioxidant and physicochemical changes in *Salvia plebeia* R. Br. after hot-air drying and blanching. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43:893-900
- Jo SY, Lee U, Kim EY, Lee JS, Her JW, Yoon TJ. 2010. A study on the anti-inflammatory and anti-allergic effect of *Salvia plebeia* R. extracts. *Korean J Pharmacogn* 41:31-37
- Jung HJ, Song YS, Lim CJ, Park EH. 2009. Anti-inflammatory, anti-angiogenic and anti-nociceptive activities of an ethanol extract of *Salvia plebeia* R. Brown. *J Ethnopharmacol* 126:355-360
- Kamatou GPP, Viljoen AM, Gono-Bwalya AB, Van Zyl RL, Van Vuuren SF, Lourens ACU, Baser KHC, Demirci B, Lindsey KL, Van Staden J, Steenkamp P. 2005. The *in vitro* pharmacological activities and a chemical investigation of three South African *Salvia* species. *J Ethnopharmacol* 102:382-390
- Kang HS, Chung HY, Son KH, Kang SS, Choi JS. 2003. Scavenging effect of Korean medicinal plants on the peroxynitrite and total ROS. *Nat Prod Sci* 9:73-79
- Kim DO, Jeong SW, Lee CY. 2003. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chem* 81:321-326
- Kim H, You J, Jo Y, Lee Y, Park I, Park J, Jung MA, Kim YS, Kim S. 2013. Inhibitory effects of *Lentinus edodes* and rice with *Lentinus edodes* mycelium on diabetes and obesity. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42:175-181
- Kim SO, Kim MR, Hwang KA, Park NJ, Jeong JS. 2017. Inhibition of differentiation and anti-adipogenic effect of the *Salvia plebeia* R. Br. ethanol extract in murine adipocytes, 3T3-L1 cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 46:401-408
- Kim SY, Lee EB, Jeong EJ. 2009. Anti-inflammatory action of the fractions of *Platycodi radix*. *Korean J Food Nutr* 22:618-624
- Kim YJ, Jeong JS, Park NJ, Go GB, Son BG. 2014. Active ingredients and antioxidant activities of *Salvia plebeia* R. Br. according to pretreatment conditions. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43:1948-1953
- Kwak CS, Choi HI. 2015. *In vitro* antioxidant and anti-inflammatory activities of ethanol extract and sequential fractions of flowers of *Prunus persica* in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44:1439-1449
- Lee HJ, Kang GJ, Yoon WJ, Kang HK, Kim YS, Kim SM, Yoo ES. 2006. Anti-inflammatory effect of unripe fruit of *Citrus grandis* Osbeck in RAW 264.7 and HaCaT cells. *Korean J Pharmacogn* 37:74-80

- Lee JY, Jun DY, Yoon YH, Ko JY, Woo KS, Woo MH, Kim YH. 2014. Anti-inflammatory effect of flavonoids Kaempferol and Biochanin A-enriched extract of barnyard millet (*Echinochloa crus-galli* var. *frumentacea*) grains in LPS-stimulated RAW264.7 cells. *J Life Sci* 24:1157-1167
- Lee KH, Rhee KH. 2015. Screening of anti-inflammatory herbs having the activation of MAPK family proteins. *Korean J Food Nutr* 28:343-350
- Lim JA, Yun BW, Baek SH. 2007. Antioxidative activity and nitrite scavenging ability of methanol extract from *Salvia plebeia* R. Br. *Korean J Med Crop Sci* 15:183-188
- Livak KJ, Schmittgen TD. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods* 25:402-408
- McCartney-Francis N, Allen JB, Mizel DE, Albina JE, Xie QW, Nathan CF, Wahl SM. 1993. Suppression of arthritis by an inhibitor of nitric oxide synthase. *J Exp Med* 178:749-754
- Miyasaka N, Hirata Y. 1997. Nitric oxide and inflammatory arthritides. *Life Sci* 61:2073-2081
- Pang L, Hoult JRS. 1997. Repression of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 by prostaglandin E2 and other cyclic AMP stimulants in J774 macrophages. *Biochem Pharmacol* 53:493-500
- Qi Y, Zhao X, Lim YL, Park KY. 2013. Antioxidant and anticancer effects of edible and medicinal mushrooms. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42:655-662
- Qu XJ, Xia X, Wang YS, Song MJ, Liu LL, Xie YY, Cheng YN, Liu XJ, Qiu LL, Xiang L, Gao JJ, Zhang XF, Cui SX. 2009. Protective effects of *Salvia plebeia* compound homoplantagin on hepatocyte injury. *Food Chem Toxicol* 47:1710-1715
- Seo WG, Pae HO, Oh GS, Chai KY, Yun YG, Kwon TO, Chung HT. 2000. Inhibitory effect of ethyl acetate fraction from *Cudrania tricuspidata* on the expression of nitric oxide synthase gene in RAW 264.7 macrophages stimulated with interferon- γ and lipopolysaccharide. *Gen Pharmacol* 35:21-28
- Shin HJ, Gwak HM, Jang M, Park SH, Min HJ, Lee JM, Lee MY, Kim JH, Kim SW, Han CK, Kim SH. 2016. Anti-inflammatory activity of three kinds of *Salvia* and its active compounds. *Korean J Med Crop Sci* 24:401-407
- Shin HJ, Gwak HM, Lee MY, Kyung JS, Jang KH, Han CK, Yang WK, Kim SH. 2019. Enhancement of respiratory protective and therapeutic effect of *Salvia plebeia* R. Br. extracts in combination with Korean red ginseng. *Korean J Med Crop Sci* 27:218-231
- Shin MK, Kim SK, Lee SK, Yang EY, Lee HO, Baek SH. 2001. Cytotoxicity and antimicrobial effect of the extract of *Salvia plebeia*. *Korean J Pharmacogn* 32:55-60
- Song H, Ji KY, Kim BK, Yang WK, Han CK, Shin HJ, Park YC, Hwang JS, Kang HS, Kim SH. 2017. Respiratory protective effect of *Salvia plebeia* R. Br. extracts against ambient particulate matter-induced airway inflammation. *Korean J Med Crop Sci* 25:269-281
- Wang Y, Vodovotz Y, Kim PK, Zamora R, Billiar TR. 2002. Mechanisms of hepatoprotection by nitric oxide. *Ann N Y Acad Sci* 962:415-422
- Won HR. 2016. Effect of *Salvia plebeia* water extract on antioxidant activity and lipid composition of rats fed a high fat-high cholesterol diet. *Korean J Community Living Sci* 27:233-243

Received 25 August, 2020

Revised 11 September, 2020

Accepted 23 September, 2020