

## 헴프(*Cannabis sativa* L.)씨드오일 복합물의 항염증 효과에 관한 연구

김채현<sup>1,&</sup> · 김세기<sup>2,&</sup> · 장영아<sup>3</sup> · 권용진<sup>1,4,†</sup>

<sup>1</sup>경성대학교 화장품약리학과

<sup>2</sup>대구가톨릭대학교 제약공학과

<sup>3</sup>대구한의대학교 화장품학과

<sup>4</sup>경성대학교 화장품학과

(2024년 3월 24일 접수: 2024년 4월 15일 수정: 2024년 4월 16일 채택)

### Study on the anti-inflammatory effects of *Cannabis sativa* L. seed oil complex

Chae-Hyun Kim<sup>1,&</sup> · Se Gie Kim<sup>2,&</sup> · Young-Ah Jang<sup>3</sup> · Yong-Jin Kwon<sup>1,4,†</sup>

<sup>1</sup>Department of Cosmeceutical Science, Kyungsoong University, Busan 48434, Republic of Korea

<sup>2</sup>Department of Pharmaceutical Engineering, Daegu Catholic University,  
Gyeongsan 38430, Republic of Korea

<sup>3</sup>Department of Cosmetic Science, Daegu Haany University, Gyeongsan 38610, Republic of Korea

<sup>4</sup>Department of Cosmetic Science, Kyungsoong University, Busan 48434, Republic of Korea

(Received March 24, 2024; Revised April 15, 2024; Accepted April 16, 2024)

**요약** : 본 연구는 헴프씨드오일 (*Cannabis sativa* L. seed oil, CSO)와 헴프씨드오일 복합물 (*Cannabis sativa* L. seed oil complex, CSOC)의 비교분석을 통해 항염증 소재로서의 가능성을 평가하였다. CSO와 CSOC의 항염증 효과는 lipopolysaccharide (LPS)-induced RAW264.7 모델을 통해 확인하였다. Lipoxygenase inhibition activity를 통해 지질산화억제를 확인한 결과, CSO는 억제되지 않았지만 CSOC는 70% 이상 억제되었다. MTT assay를 통해 세포독성을 확인해본 결과, CSO는 세포독성을 보이지 않았지만 CSOC는 200  $\mu$ g/ml 이상 농도에서 세포독성을 보였다. LPS로 유도된 RAW264.7에서 inducible nitric oxide synthase (iNOS)의 발현과 nitric oxide (NO)의 생산은 CSOC가 CSO보다 현저하게 억제하였다. 또한, cyclooxygenase (COX)-2의 발현과 prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>)의 생성을 확인해본 결과에서도 CSOC가 CSO보다 현저하게 억제하였다. 본 연구를 통해, CSOC가 CSO보다 우수한 항염증 효과를 가지며, 항염증 소재로 활용 가능성이 있음을 확인했다.

& These authors contributed equally to this work.

†Corresponding author

(E-mail: yongjin@ks.ac.kr)

주제어 : *Cannabis sativa* L., 헴프씨드오일, 복합물, 항염증, 대식세포

**Abstract** : This study evaluated the potential of hemp seed oil (*Cannabis sativa* L. seed oil, CSO) and hemp seed oil complex (*Cannabis sativa* L. seed oil complex, CSOC) as an anti-inflammatory material through comparative analysis. Anti-inflammatory effects of CSO and CSOC were confirmed through lipopolysaccharide (LPS)-induced RAW264.7 model. As a result of confirming the inhibition of lipid oxidation through lipoxygenase inhibitory activity, CSO was not inhibited, but COSC was inhibited by more than 70%. As a result of confirming cytotoxicity through MTT analysis, CSO did not show cytotoxicity, but CSOC showed cytotoxicity at over 200  $\mu$ g/ml. In LPS-induced RAW264.7, the expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and the production of nitric oxide (NO) were significantly inhibited by CSOC compared to CSO. Additionally, CSOC significantly inhibited the expression of cyclooxygenase (COX)-2 and the production of prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>). Through this study, we confirmed that CSOC has superior anti-inflammatory effects than CSO and has the potential to be used as an anti-inflammatory material.

**Keywords** : *Cannabis sativa* L., seed oil, complex, anti-inflammation, macrophage

## 1. 서론

염증 (inflammation)은 외부 자극으로부터 신체를 보호하는 방어메커니즘이다 [1]. 적절한 염증 반응은 신체를 보호하는데 도움이 되지만 과도하고 지속적인 염증 반응은 아토피 피부염, 자가면역 질환 등 만성 염증으로 이어질 수 있다 [2, 3]. 그러므로 과도한 염증 반응을 억제하는 치료 전략을 찾는 것이 중요하다.

대식세포는 면역반응을 조절하는 백혈구로 체내에 염증반응에 중요한 역할을 하는 세포이다 [4]. 그람 음성균의 외막 구성 요소인 lipopolysaccharide (LPS)는 대식세포를 자극하는데 흔히 사용된다 [5]. 대식세포가 LPS의 자극을 받게 되면 cyclooxygenase (COX)-2와 inducible nitric oxide synthase (iNOS)의 발현을 유도하여 prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>)와 nitric oxide (NO)와 같은 염증매개 분자들이 생성된다 [6]. COX-2는 arachidonic acid를 prostaglandin으로 전환시키는 효소로 COX-2에 의해 생성된 대사산물인 PGE<sub>2</sub>는 통증과 발염을 포함한 염증 과정에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다 [7, 8]. iNOS에 의해 L-arginine으로부터 생성되는 NO는 반응성이 높은 물질로 혈관 확장, 체내 방어기능 등 다양한 생리기능에 중요한 역할을 하지만 과도한 NO의 생성은 혈관 투과성 증가 및 부종을 일으킨다고 보고되었다 [9, 10]. 즉, COX-2와 iNOS의 발현과

PGE<sub>2</sub>와 NO의 생성은 면역세포에서 대표적인 주요 염증유발 인자이다 [11]. 따라서, 만성 염증으로 이어지지 않기 위해서 이 주요 인자들을 억제하는 것이 중요하다.

대마 (*Cannabis sativa* L.)는 삼과 (Moraceae) 속하며 한해살이 식물로 원산지는 중앙아시아이다 [12]. 고대부터 섬유의 원료, 민간요법, 항정신성 약물로 사용되어 왔다 [13]. 이 중 헴프씨드는 대마 (*Cannabis sativa* L.)의 종자로 의약품과 식품으로 널리 사용되고 있다. 헴프씨드에는 linoleic acid와  $\alpha$ -linolenic acid 등과 같은 필수 불포화지방산이 풍부하고 체내의 콜레스테롤 수치를 낮추는데 도움이 되는 것으로 알려져 있다 [14]. 현재 헴프씨드오일 (*Cannabis sativa* L. seed oil, CSO)는 지질대사 및 항산화와 관련하여 많은 연구가 진행되었지만, 기존 헴프씨드오일의 효능을 증대시키기 위해 다양한 물질을 복합하여 제조한 추출물에 대한 연구는 알려진 바가 없다 [15]. 본 연구를 통해, 대표적인 유효물질로 잘 알려진 curcumin, quercetin, resveratrol, pterostilbene, lycopene과 CSO의 복합물을 제조하여 연구를 수행하였다.

따라서, 본 연구의 목적은 기존의 CSO과 헴프씨드오일 복합물(*Cannabis sativa* L. seed oil complex, CSOC)을 LPS-induced RAW264.7 모델을 이용하여 항염증 효과를 비교 분석해 보고자 하였다.

## 2. 실험

### 2.1. 실험재료

Epigallocatechin Gallate (EGCG), Lipopolysaccharides (LPS), Griess reagent, Quercetin는 Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입했다. Curcumin, Resveratrol, Pterostilbene, Lycopene은 Tokyo Chemical Industry Co., Ltd. (Tokyo, Japan)에서 구입했다. 2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reagent는 Duchefa Biochemie (Haarlem, Netherlands)에서 구입했다. Anti-COX-2 항체는 Cell Signaling Technology (Danvers, MA, USA)에서 구입했으며, anti-iNOS 항체는 Invitrogen (Waltham, MA, USA)에서 구입했다. Anti- $\beta$ -actin 항체는 Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA, USA)에서 구입했으며, HRP 태그가 붙은 2차 항체는 Enzo Life Science (Farmingdale, NY, USA)에서 구입했다.

### 2.2. 오일 추출 및 복합물 제조

본 연구에서 사용된 헵프씨드는 (주)헵프앤알바 이오 (Andong-si, Gyeongsangbuk-do)에서 구입하였다. 헵프씨드오일 (CSO)의 제조과정은 다음과 같다. 헵프씨드를 세척 후 물기를 말리기 위해 자연건조한 다음 49°C 이하 건조기에서 건조하였다. 건조된 헵프씨드는 탈피기에서 탈피 및 씨드를 분리작업한 다음 49°C 이하 건조기에서 건조하였다. 그다음 49°C 이하에서 헵프씨드를 냉압착 착유 후 5°C 이하 온도에서 2주간 침전시킨 후 실험에 사용하였다. 헵프씨드오일 복합물 (CSOC)는 CSO : Curcumin : Quercetin : Resveratrol : Pterostilbene : Lycopene = 100 : 1 : 1 : 1 : 0.4 : 1의 비율로 제조 후 50°C 이하로 가온하고 초음파를 이용해 10분간 분산시켰다. 그 후 상등액을 취하여 투명도를 확인하고 냉장 보관하여 실험에 사용하였다.

### 2.3. Lipoxygenase inhibition activity 측정

Lipoxygenase inhibition activity 측정은 Lipoxygenase inhibitor screening assay kit (Abnova, CA, USA)의 매뉴얼에 따라 실험을 수행하였다. sample 10  $\mu$ l, 15-LO 90  $\mu$ l, 1mM Arachidonic acid 10  $\mu$ l를 첨가하여 실온에서 5분 동안 반응시킨 후, chromogen 100  $\mu$ l를 가하여 5분 간 실온에서 반응시키고 plate reader

(BioTek, Winooski, USA)를 사용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조군으로는 non-selective lipoxygenase inhibitor nordihydroguaiaretic acid (NDGA)를 사용하였다.

### 2.4. 세포주 및 배양 조건

RAW264.7 세포는 American Type Culture Collection (ATCC)에서 구매하여 10% fetal bovine serum (FBS, Capricorn Scientific GmbH, Ebsdorfergrund, Germany) 및 1% penicillin/streptomycin(Capricorn Scientific GmbH)이 보충된 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM, Capricorn Scientific GmbH)에서 유지했다. 세포는 37°C에서 5% CO<sub>2</sub>를 포함하는 가습된 환경에서 유지시켰다.

### 2.5. Cell viability assay

RAW264.7 세포를 96-well plate에 1×10<sup>5</sup>으로 분주하고 16-24시간 동안 37°C에서 5% CO<sub>2</sub>를 포함하는 가습된 환경에서 배양시켰다. 다양한 농도의 시료를 24시간 동안 처리하였다. 처리 후 MTT 시약과 함께 2시간 동안 배양 후, 형성된 formazan crystal을 DMSO에 녹여 plate reader (BioTek)을 사용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 2.6. Nitric oxide (NO) assay

RAW264.7 세포를 6-well plate에 2×10<sup>6</sup>으로 분주하고 16-24시간 동안 37°C에서 5% CO<sub>2</sub>를 포함하는 가습된 환경에서 배양시켰다. 시료를 2시간 동안 전처리한 후, 200 ng/ml LPS를 16시간 동안 처리하였다. NO 생성을 측정하기 위해 상등액을 Griess reagent (Sigma Aldrich)로 처리하였다. 암실에서 10분 동안 반응시킨 후 plate reader (BioTek)를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 2.7. 단백질 정량 및 immunoblotting

RAW264.7 세포를 6-well plate에 2×10<sup>6</sup>으로 분주하고 16-24시간 동안 37°C에서 5% CO<sub>2</sub>를 포함하는 가습된 환경에서 배양시켰다. 시료를 2시간 동안 전처리한 후, 200 ng/ml LPS를 16시간 동안 처리하였다. 배양한 세포에서 media를 제거하고 Triton-X가 포함된 lysis buffer를 이용하여 단백질을 추출한 후 Protein Assay Dye Reagent (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA,

USA)를 이용하여 단백질을 정량하였다. 10% SDS-polyacrylamide gel을 이용하여 전기영동을 통해 단백질을 크기별로 분리하고 nitrocellulose membrane (GE Healthcare Life Sciences, Chicago, Illinois)로 옮겼다. Blotted membrane을 5% skim milk로 실온에서 2시간 동안 blocking한 다음, 1차 항체 (1:1,000)와 함께 4°C에서 16-24시간 배양했다. 다음날 HRP가 태그된 2차 항체 (1:10,000-20,000)와 함께 membrane을 1시간 동안 실온에서 배양한 후 ECL solution (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 사용하여 현상하였고 Davinch-Chemi Imager™ CAS-400SM (Davinch-K, Seoul, Republic of Korea)을 이용하여 시각화하였다.  $\beta$ -actin은 정규화 및 정량 분석을 위한 하우스키핑 단백질로 사용되었다.

## 2.8. RNA 분리 및 quantitative real-time PCR (qPCR)

RAW264.7 세포를 6-well plate에  $2 \times 10^6$ 으로 분주하고 16-24시간 동안 37°C에서 5% CO<sub>2</sub>를 포함하는 가습된 환경에서 배양시켰다. 시료를 2시간 동안 전처리한 후, 200 ng/ml LPS를 16시간 동안 처리하였다. 배양한 세포에서 media를 제거하고 Trizol reagent (Takara, Shiga, Japan)를 사용하여 RNA를 추출하였고, ReverTra Ace qPCR RT Master Mix kit (TOYOBO, Osaka, Japan)를 사용하여 역전사 및 cDNA 합성을 수행하였다. qPCR은 SYBR Green qPCR Master Mix (Applied Biological Materials, Richmond, Canada)을 사용하여 수행하였다. 결과는  $\beta$ -actin 발현 수준을 사용하여 계산되었다. Primer

sequences는 Table 1에 나열되었다.

## 2.8. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

RAW264.7 세포를 6-well plate에  $2 \times 10^6$ 으로 분주하고 16-24시간 동안 37°C에서 5% CO<sub>2</sub>를 포함하는 가습된 환경에서 배양시켰다. 시료를 2시간 동안 전처리한 후, 200 ng/ml LPS를 16시간 동안 처리하였다. culture media를 수거하고 PGE<sub>2</sub> ELISA kit (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA)를 사용하여 PGE<sub>2</sub> 수준을 측정하였다.

## 2.9. 통계분석

모든 데이터의 통계분석은 Microsoft Excel software (Microsoft office 365, Version 2420)를 사용하여 수행하였다. 모든 실험의 결과는 독립적으로 최소 3회 반복하였다. 모든 유의성은 데이터의 유의성 검증은 unpaired Student's *t*-test를 사용하였으며 *p*-value < 0.05에서 통계적 유의성을 고려하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. CSOC와 CSO의 cell viability

항염증 효과를 확인하기에 앞서 RAW264.7 세포에서 CSOC와 CSO의 세포독성을 확인하였다 (Fig. 1). 실험 결과 CSOC는 200  $\mu$ g/ml에서 80% 미만의 세포 생존율을 보여주는 반면 CSO는 800  $\mu$ g/ml 농도에서도 세포독성을 보이지 않았다. Positive control인 EGCG는 400  $\mu$ M에

Table 1. Priemr sequences used in this study

Gene name	Direction	Sequence (5'-3')
<i>iNOS</i> (mouse)	Forward	CAGCACAGGAAATGTTTCAGC
	Reverse	TAGCCAGCGTACCGGATGA
<i>COX-2</i> (mouse)	Forward	TTTGGTCTGGTGCCTGGTC
	Reverse	CTGCTGGTTTGGAATAGTTGCTC
<i>TNF-<math>\alpha</math></i> (mouse)	Forward	TATGGCTCAGGGTCCAACCTC
	Reverse	CTCCCTTTGCAGAACTCAGG
$\beta$ -actin (mouse)	Forward	TGTCCACCTTCCAGCAGATGT
	Reverse	AGCTCAGTAACAGTCCGCCTAGA

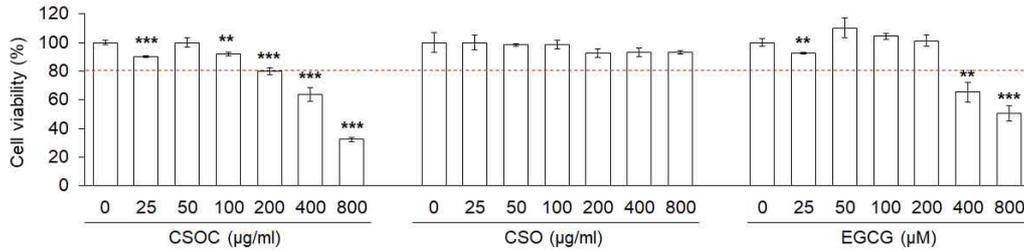


Fig. 1. Cell viability of CSOC and CSO.

RAW264.7 cells treated with CSOC, CSO and EGCG for 24 h. Cell viability was determined using the MTT assay. Each data point represents the mean ± SD ( $n=3$ ). Statistical significance was determined using an unpaired Student's  $t$ -test. \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  vs. non-treatment group by Student's  $t$ -test.

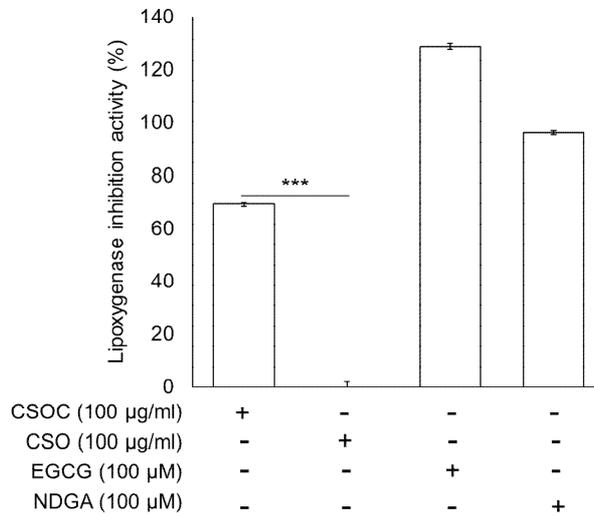


Fig. 2. The inhibitory effect of lipoxigenase of CSOC and CSO.

LOX inhibition activity of CSOC and CSO was determined using Lipoxigenase Inhibitor Screening Assay Kit. EGCG: Epigallocatechin gallate, NDGA: non-selective lipoxigenase inhibitor nordihydroguaiaretic acid (Positive control). Each data point represents the mean ± SD ( $n=3$ ). Statistical significance was determined using an unpaired Student's  $t$ -test. \*\*\* $p < 0.001$ .

서 세포독성을 보였다. 이후 실험에서는 CSOC와 CSO의 농도는 100 μg/ml, EGCG는 100 μM로 진행하였다.

**3.2. CSOC와 CSO의 Lipoxigenase (LOX) inhibition activity**

LOX는 linoleic acid와 arachidonic acid와 같은 다중불포화지방산의 산화를 촉매하여 과산화수소

를 생성하는 산화-환원 효소이다 [16]. LOX는 염증 유발 물질과 알레르기를 생성하는 leukotriene류와 prostaglandin류의 생성을 촉매한다 [17]. CSOC와 CSO의 LOX inhibition activity를 확인해본 결과, CSOC는 약 70%의 억제력을 보였지만 CSO는 LOX를 억제시키지 못했다 (Fig. 2). 본 연구를 통해, CSO보다 CSOC의 항염증 효과가 더 높을 것으로 제안하였다.

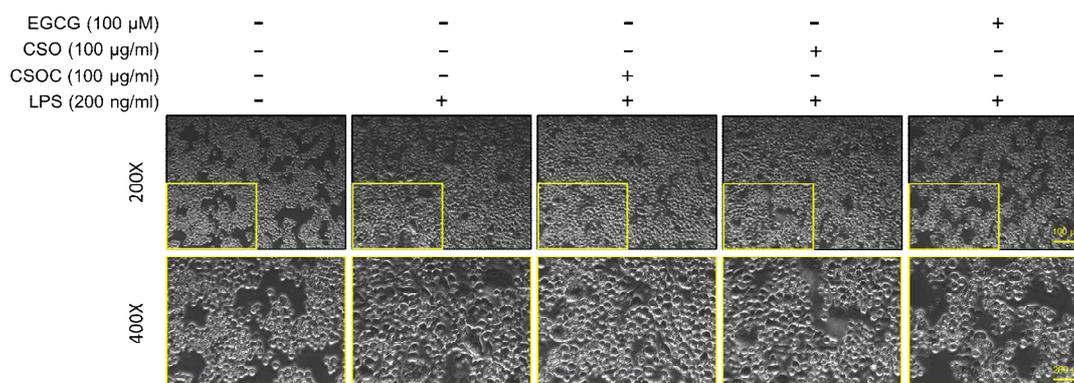


Fig. 3. Morphological change of CSOC and CSO in LPS-induced RAW264.7.

RAW264.7 cells were pre-treated with CSOC, CSO and EGCG for 2 h and LPS was added for 16 h. Scale bar: 100, 200  $\mu$ m.

### 3.3. CSOC와 CSO의 morphology analysis

LPS는 macrophage인 RAW264.7 세포에 염증을 일으키는 물질이다 [18]. RAW264.7 세포에 LPS 자극을 받게 되면 morphology가 원래의 둥그란 형태에서 다리를 뺀 형태로 변하게 된다 [19]. RAW264.7 cells에 CSOC, CSO, EGCG를 2시간 동안 전처리 후 16시간 동안 LPS 자극을 주었다. 그 결과 LPS 단독 처리군의 morphology와 비교하였을 때, CSOC, CSO, EGCG 순으로 normal군과 비슷한 morphology를 보여준다 (Fig. 3). 본 연구 결과를 통해 CSOC가 CSO보다 LPS에 의한 염증반응을 잘 억제할 것이라고 추측하였다.

### 3.4. CSOC와 CSO의 anti-inflammatory effects

LPS에 의해 유도된 대식세포는 염증성 효소인 COX-2와 iNOS에 의해 PGE<sub>2</sub>와 NO를 과다하게 생산하여 염증 반응을 유발하여 다양한 염증성 질환의 원인이 될 수 있다. 따라서, COX-2와 iNOS의 발현과 PGE<sub>2</sub>와 NO의 생성을 억제하는 것은 염증성 질환을 예방 및 치료하기 위해 중요하다. ELISA assay를 통해 PGE<sub>2</sub> 생산량을 확인해본 결과, CSOC와 EGCG가 LPS에 의해 생산되는 PGE<sub>2</sub>의 양을 상당히 억제시켰다 (Fig.4A). 또한, NO 생산량을 확인해본 결과, CSOC가 NO 생산량을 상당히 억제시켰다 (Fig.4B). Immunoblotting 실험을 통해 iNOS와 COX-2의 단백질 수준을 알아본 결과, LPS에 의해 유도된 RAW264.7 세포에

서 CSOC는 iNOS의 발현 억제가 우수하였다 (Fig.4C). COX-2에서는 EGCG의 발현 억제가 가장 우수하였으며 CSOC와 CSO를 비교 평가하였을 때, CSO보다 CSOC가 COX-2의 발현을 더 억제하였다. qPCR을 통해 iNOS와 COX-2의 mRNA 수준을 알아본 결과, LPS-induced RAW264.7 세포에서 CSOC가 positive control인 EGCG와 유사한 mRNA 발현 억제 수준을 보였다 (Fig. 4. D, E). 따라서, CSOC가 CSO보다 우수한 항염증 효과가 있음을 확인하였다.

## 4. 결론

천연물의 항염증 효능에 대한 연구는 오랫동안 진행되어져 왔으며, 최근에는 건강식품 및 화장품에 적용되고 있다. 그러나 염증 및 염증성 질환을 예방하고 치료하는 보다 효과적이고 효율적인 물질을 개발하는 것은 여전히 중요하다. 본 연구의 목적은 헵프씨드인 *Cannabis sativa L. seed oil* (CSO)와 curcumin, quercetin, resveratrol, pterostilbene, lycopene과 CSO를 이용하여 제조한 대마오일 복합물 (*Cannabis sativa L. seed oil compound*, CSOC)의 항염증 효과를 비교 평가하기 위함이다.

Lipoxygenase inhibition activity를 확인하였을 때, CSOC는 약 70%의 억제활성을 나타냈지만 CSO는 lipoxygenase의 억제 활성을 보이지 않았다. 따라서, CSOC의 지질산화 억제 활성이 우수

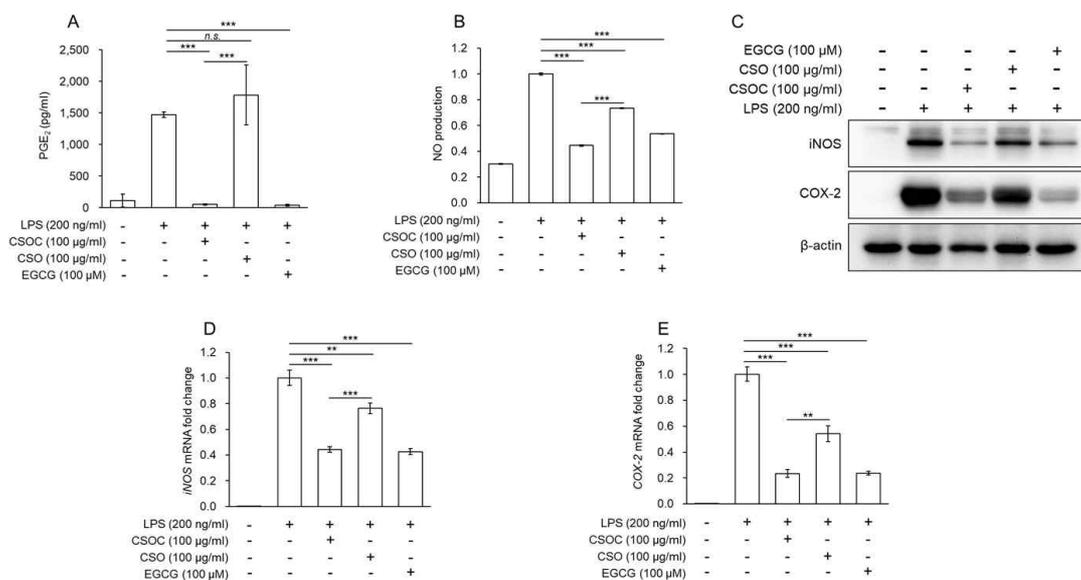


Fig. 4. Anti-inflammatory effects of CSOC and CSO in LPS-induced RAW264.7. (A-E) RAW264.7 cells were pre-treated with CSOC, CSO and EGCG for 2 h and LPS was added for 16 h. Produced PGE<sub>2</sub> are measured by ELISA (A), NO levels in the supernatant were measured using Griess reagent (B). The relative protein levels was analyzed by western blot analysis (C). The relative mRNA expression was analyzed by RT-qPCR (D, E). Each data point represents the mean ± SD (n=3). Statistical significance was determined using an unpaired Student's *t*-test. \**p* < 0.05, \*\**p* < 0.01 and \*\*\**p* < 0.001.

함을 확인하였다. CSO와 CSOC의 항염증 효과를 확인하기 위해 사용된 실험 모델은 lipopolysaccharide (LPS)-induced RAW264.7를 사용하였다. CSOC는 200 µg/ml에서 80% 미만의 세포 생존율을 나타냈지만 CSO는 800 µg/ml에서도 세포 독성을 보이지 않았다. 100 µg/ml의 농도에서 CSOC는 nitric oxide (NO)의 생산을 유의미하게 억제하는 것을 확인하였으며 염증성 유도효소인 inducible nitric oxide synthase (iNOS)와 cyclooxygenase-2 (COX-2)의 단백질과 mRNA 수준에서도 발현을 억제하는 것을 확인하였다. 또한, PGE<sub>2</sub> 생성을 확인해본 결과 CSOC가 CSO보다 우수한 생성 억제 수준을 보였다.

외부 병원균에 의해 유도된 대식세포는 IL-1β, IL-6, TNF-α와 같은 다양한 염증성 사이토카인을 유도하여 염증 반응을 유발한다. 따라서, 과도하게 발현된 염증성 사이토카인이 CSOC와 CSO에 의해 억제되는지 확인하는 것은 흥미로운 연구가 될 것이다.

결론적으로, 본 연구를 통해 CSOC는 CSO보다 항염증 효능이 뛰어나 염증성 질환을 치료 혹은 완화하기 위한 다양한 소재로써 높은 가능성을 확인하였다.

사 사

본 연구는 중소벤처기업부(RS-2023-00227061)의 지원을 받아 수행하였다.

References

1. L. Chen, H. Deng, H. Cui, J. Fang, Z. Zuo, J. Deng, Y. Li, X. Wang, L. Zhao, "Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs", *Oncotarget*, Vol.9, No.6, pp. 7204, (2018).

2. H. Y. Kang, T. T. Bach, S. M. Eum, S. K. Jung, "Effects of *Causonis japonica* (Thunb.) Raf. extract on LPS-induced inflammation in RAW264.7 macrophages, via the NF- $\kappa$ B signaling pathway", *Korean journal of food science and technology*, Vol.54, No.6, pp. 587-593, (2022).
3. M. Boguniewicz, D. Y. Leung, "Atopic dermatitis: a disease of altered skin barrier and immune dysregulation", *Immunological reviews*, Vol.242, No.1, pp. 233-246, (2011).
4. M. Y. Wu, J. H. Lu, "Autophagy and macrophage functions: inflammatory response and phagocytosis", *Cells*, Vol.9, No.1, pp. 70, (2019).
5. L. Dong, L. Yin, R. Chen, Y. Zhang, S. Hua, H. Quan, X. Fu, "Anti-inflammatory effect of Calycosin glycoside on lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in RAW 264.7 cells", *Gene*, Vol.675, pp. 94-101, (2018).
6. J. Y. Jang, G. H. Park, "Anti-inflammatory effect of seed oil of *Schisandra chinensis* in the LPS-treated RAW 264.7 macrophages", *The Korea Journal of Herbology*, Vol.30, No.6, pp. 77-82, (2015).
7. W. J. Yoon, J. A. Lee, K. N. Kim, J. Y. Kim, S. Y. Park, "*In vitro* anti-inflammatory activity of the *Artemisia fukudo* extracts in murine macrophage RAW 264.7 cells", *Korean Journal of Food Science and Technology*, Vol.39, No.4, pp. 464-469, (2007).
8. J. D. Ji, Y. H. Lee, G. G. Song, "Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) Roles in Immune Responses and Inflammation", *Journal of Rheumatic Diseases*, Vol.11, No.4, pp. 307-316, (2004).
9. Y. J. Kim, D. Y. Son, "Inflammatory mediator regulation of the *Zizyphus jujube* leaf fractions in the LPS-stimulated Raw264.7 mouse macrophage", *Korean Journal of Food Preservation*, Vol.21, No.1, pp. 114-120, (2014).
10. B. K. Kang, K. B. W. R. Kim, M. J. Kim, S. W. Bark, W. M. Bark, N. K. Ahn, Y. W. Choi, N. Y. bae, J. H. Bark, D. H. Ahn, "Anti-inflammatory Effect of *Sargassum coreanum* Ethanolic Extract through Suppression of NF- $\kappa$ B Pathway in LPS Induced RAW264.7 Cells in Mice", *Microbiology and Biotechnology Letters*, Vol.43, No.2, pp. 112-119, (2015).
11. J. H. Nam, J. T. Seo, Y. H. Kim, K. D. Kim, D. L. Yoo, J. N. Lee, S. Y. Hong, S. J. Kim, H. B. Sohn, H. S. Kim, B. S. Kim, J. S. Shin, K. T. Lee, H. J. Park, "Inhibitory Effects of Extracts from *Arabis glabra* on Lipopolysaccharide Induced Nitric Oxide and Prostaglandin E<sub>2</sub> Production in RAW264.7 Macrophages", *Korean Journal of Plant Resources*, Vol.28, No.5, pp. 568-573, (2015).
12. Y. C. Yoon, B. H. Kim, J. K. Kim, J. H. Lee, Y. E. Park, G. S. Kwon, H. S. Hwang, J. B. Lee, "Verification of biological activities and tyrosinase inhibition of ethanol extracts from hemp seed (*Cannabis sativa* L.) fermented with lactic acid bacteria", *Journal of Life Science*, Vol.28, No.6, pp. 688-696, (2018).
13. F. Pellati, V. Borgonetti, V. Brighenti, M. Biagi, S. Benvenuti, L. Corsi, "*Cannabis sativa* L. and nonpsychoactive cannabinoids: their chemistry and role against oxidative stress, inflammation, and cancer", *BioMed research international*, Vol.2018, (2018).
14. Y. J. Kwon, K. O. Kim, H. J. Heo, J. S. Lee, J. H. Sung, "Vitamin E, Phytosterol, and Carotenoid Contents of Hemp (*Cannabis sativa* L.) Seed", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.52, No.9, pp. 975-981, (2023).
15. J. A. Lee, S. S. Roh, W. R. Lee, M. R. Shin, "Effect of hemp seed oil on lipid metabolism in rats fed a high-cholesterol diet", *Journal of Nutrition and Health*, Vol.56, No.4, pp. 361-376, (2023).
16. M. Lončarić, I. Strelec, T. Moslavac, D. Šubarić, V. Pavić, M. Molnar,

- “Lipoxygenase inhibition by plant extracts”, *Biomolecules*, Vol.11, No.2, pp. 152, (2021).
17. S. H. Moon, Y. Lim, M. K. Huh, “Lipoxygenases, Hyaluronidase, and Xanthine Oxidase Inhibitory Effects Extracted from Five Hydrocotyle Species”, *Biomedical Science Letters*, Vol.27, No.4, pp. 277–282, (2021).
18. S. H. Baek, T. Park, M. G. Kang, D. Park, “Anti-inflammatory activity and ROS regulation effect of sinapaldehyde in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages”, *Molecules*, Vol.25, No.18, pp. 4089, (2020).
19. R. K. Saxena, V. Vallyathan, D. M. Lewis “Evidence for lipopolysaccharideinduced differentiation of RAW264.7 murine macrophage cell line into dendritic like cells”, *Journal of biosciences*, Vol.28, pp. 129–134, (2003).
20. T. W. Joo, K. Sowndhararajan, S. H. Hong, J. H. Lee, S. Y. Park, S. M. Kim, J. W. Jhoo, “Inhibition of nitric oxide production in LPS-stimulated RAW 264.7 cells by stem bark of *Ulmus pumila* L.” *Saudi journal of biological sciences*, Vol.21, No.5, pp. 427–435, (2014).