



Original Article / 원저

Caco-2 세포에서 Interleukin-6로 유도한 밀착연접 기능 장애에 대한 황금, 택사, 백출 혼합 추출물의 예방 효과

김광연, 김태인, 김연지, 강윤미, 김경호*

한국한의학연구원 한의기술응용센터

Preventive effects of *Scutellaria baicalensis*, *Alisma orientale* and *Atractylodes japonica* mixtures extract on Interleukin-6-induced intestinal tight junction dysfunction in Caco-2 cells

Kwang-Youn Kim, Tae-In Kim, Yeon-Ji Kim, Yun-Mi Kang, Kyungho Kim*

Korean Medicine Application Center, Korea Institute of Oriental Medicine

ABSTRACT

Objectives : This study aimed to investigate the protective effects of mixed extracts from *Scutellaria baicalensis* Georgi, *Alisma orientale* Juzepzuk, and *Atractylodes japonica* Koidzumi on interleukin (IL)-6-induced damage to tight junction (TJ) integrity in a Caco-2 cell model.

Methods : We assessed the TJ integrity of Caco-2 monolayers by measuring the flux of FITC-labeled dextran and transepithelial electrical resistance (TEER). Additionally, we evaluated the expression of TJ proteins, such as ZO-1 and Occludin.

Results : Treatment with IL-6 (50 ng/ml) increased TJ permeability and decreased TEER values of Caco-2 monolayers. Pretreatment with HTB (50-200 µg/ml) for 1 h significantly alleviated IL-6-induced TJ disruption, as evidenced by reduced TJ permeability and increased TEER values. Furthermore, HTB reversed the IL-6-induced inhibition of TJ protein expression, including ZO-1 and Occludin.

Conclusions : These findings indicate that HTB protects barrier function by reversing the IL-6-induced decrease in TJ integrity and the suppression of TJ protein expression.

Key words : *Scutellaria baicalensis* Georgi, *Alisma orientale* Juzepzuk, *Atractylodes japonica* Koidzumi, interleukin-6, tight junction, intestinal permeability

I. 서론

위장관의 만성 염증으로 인해 발생하는 염증성 장질환(Inflammatory bowel disease, IBD)은 궤양성 대장염과 크론병으로 구분되며, 이는 복통, 발열, 설사, 출혈 등의 증상을 포함한다^{1,2)}. 특히 궤양성 대장염은 주로 점막에 영향을 미치며 확산성 비특이적 염증과 궤양 또는 마찰을 유발하지만, 정확한 원인은 아직까지 파악되지 않았다³⁾. 선천성 면역 및 사이토카인 생성, 특히 종양 괴사 인자(TNF- α), 인터루킨(IL)-10 및 IL-6은 대장염과 관련된 궤양 염증과 관련이 있다. 염증성 장질환 치료에는 스테로이드성 면역억제제, 5-아미노살리실산(5-ASA) 약물(예: 설파살라진, 메살라진)이 있지만, 그 효능은 제한적이며 심각한 부작용을 유발할 수 있다⁴⁾. 이에 많은 연구가 부작용이 적은 다양한 생리활성 및 면역조절을 통한 다양한 효능이 입증된 소재 발굴의 연구로 이어지고 있다.

장 점막, 미생물, 그리고 외부 물질(식품, 병원체 등) 간의 상호 작용은 장 운동성을 유지하고 외부 자극으로부터 보호하는 데 중추적인 역할을 한다⁵⁾. 밀착 연결(Tight Junction, TJ)은 장 상피 세포의 투과성을 조절하여 세포 간 공간을 통한 물질의 통과에 영향을 주며, 장의 자극이나 손상으로 인한 TJ의 붕괴는 장 상피에 유해한 분자의 축적으로 이어져 염증 반응과 전신 질환을 유발할 수 있다^{6,7)}. TJ 무결성을 보존하고 염증 반응을 완화하는 것을 목표로 하는 전략은 IBD에 대한 치료 잠재력을 나타낸다. 막항단 접착 단백질인 claudin과 occludin, 그리고 세포 내 어댑터 단백질인 ZO(zonula occludens)-1, ZO-2 및 ZO-3으로 구성된 TJ 복합체는 내장 미생물군을 보호하는 물리적 장벽을 형성한다⁸⁾.

황금(*Scutellaria baicalensis*)은 다년생 초본 식물로 고혈압, 급성 호흡기 감염, 급성 위장염, 영아 설사, 임신 중 구토 및 기타 질병을 치료하는 데 사용되며, 주요 성분으로 플라보노이드계 성분 중 baicalein이 가장 많이 존재한다⁹⁾. 택사(*Alisma canaliculatum*)는 전체적으로 단자엽 잎이며, 간, 신장 및 위 염증성 질환, 설사, 급성 장관리를 위해 사용되며, 주요 성분으로 protostane과 triterpene이 포함되어 있다¹⁰⁻¹²⁾. 백출(*Atractylodes macrocephala* Koidz)은 삼주라고도 불리며, 한방에서는 뿌리줄기를 약재로 쓰는데, 그 주요 성분인 아트락틸론은 후각을 자극하여 소화관 및 피하조직 등 몸속에 있는

여분의 수분을 없애주는 효과가 뛰어나며, 식욕부진, 소화불량, 위장염 및 감기 등에 사용 되어 왔다¹³⁾. 더불어, 황금, 택사 및 백출은 모두 기관지염, 대장염, 신장염, 간염, 천식 및 아토피성 피부염을 비롯한 다양한 염증성 질환의 치료에 항염증제 및 항산화제로 보고되고 있다¹⁴⁻¹⁹⁾. 따라서, 세 가지 다른 약초의 광범위한 생물학 및 약리학적 능력을 결합하는 것이 염증 질환 치료에 도움이 될 수 있음을 시사한다. 이에 본 연구에서는 장 상피 Caco-2 세포에서 IL-6로 밀착연접 기능 장애를 유발한 뒤, 황금, 택사, 백출 복합추출물(HTB)의 예방 효과를 확인하였으며, HTB가 장벽 흡수 및 TJ 단백질 발현에 미치는 영향을 연구하여 IBD 예방 소재로서 가능성을 제시하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 황금, 택사, 백출 단독 및 복합 추출물 (HTB) 제조

황금(*Scutellaria baicalensis*), 택사(*Alisma canaliculatum*), 백출(*Atractylodes macrocephala* Koidz)은 (주)유니허브(영천, 한국)에서 구입하였으며, 단독 및 복합 추출물(중량비 2:1:1)의 총 원료 분량의 10배 정제수를 넣고, 95~105°C에서 24시간 동안 추출하였다. 추출물을 80 mesh로 여과한 후 여액을 60°C 이하에서 감압-농축하여 추출물을 얻었고, 동결건조하고, 0.01% DMSO에 용해하여 100 mg/mL 최종 농도로 제조하여 실험에 사용하였다²⁰⁾. 추출물의 이름은 황금 추출물(WESB), 택사 추출물(WEAC), 백출 추출물(WEAM) 및 복합추출물(HTB)로 명명하였다.

2. 세포 배양

인간 장 상피 Caco-2 세포주는 American Type Culture Collection에서 구입하였고, 10% Fetal Bovine Serum (Gibco, Grand Island, NY, USA) 및 1% penicillin/streptomycin (Gibco)이 포함된 Dulbecco's modified Eagle's medium (Gibco)을 사용하여 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다. Caco-2 세포를 대략 5×10⁴ cells/well의 농도로 24-well collagen-coated polycarbonate membrane trans-well inserts (0.4 μm pore size, Millipore, Bedford, MA, USA)에 분주하여, 2~3일 간격으로 배지를 교환하면서 21일 동안 배양하여 분화가 완료된 세포를 실험에 사용하였다.

*Corresponding author : Kyungho Kim, Korean Medicine-Application Center, Korea Institute of Oriental Medicine (KIOM), 70, Cheomdan-ro, Dong-gu, Daegu, 41062 Republic of Korea.

Tel : +82-53-940-3832, Fax : +82-53-940-3899, E-mail : jk6012@kiom.re.kr

•Received : March 19, 2024 / Revised : May 19, 2024 / Accepted : May 23, 2024

3. 세포 생존율 측정

21일 동안 분화가 완료된 Caco-2 세포에 50, 100 및 200 µg/mL 농도의 WESB, WEAC, WEAM 및 HTB를 1시간 동안 전처리한 후, 50 ng/mL 농도의 IL-6를 24시간 추가 처리하였다. 이후에는 Cell Counting Kit-8 (Dojindo Molecular Technologies Inc., Rockville, MD, USA)를 4시간 동안 처리하고, VersaMax microplate reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 사용하여 450 nm에서 세포 생존율을 측정하였다^{21,22}.

4. FITC-dextran을 이용한 paracellular permeability 활성 측정

21일 동안 분화가 완료된 Caco-2 세포에 50, 100 및 200 µg/mL 농도의 WESB, WEAC, WEAM 및 HTB를 1시간 동안 전처리한 후, 50 ng/mL 농도의 IL-6를 24시간 추가 처리하고, 비흡수성 FITC-dextran (FD-4)를 사용하여 세포 주위 투과성을 측정하였다. 1 mg/mL FD-4를 apical side에 첨가하고 PBS를 basolateral side에 첨가한 후 37° C에서 1시간 동안 배양하여, basolateral side의 PBS의 흡광도를 VersaMax microplate reader를 사용하여 각각 490 및 520 nm의 여과 및 방출 파장에서 측정하여 세포 투과성을 계산

하였다^{21,22}.

5. Transepithelial electrical resistance (TEER) 측정을 통한 밀착연접 integrity 확인

21일 동안 분화가 완료된 Caco-2 세포에 50, 100 및 200 µg/mL 농도의 HTB를 1시간 동안 전처리한 후, 50 ng/mL 농도의 IL-6를 24시간 추가 처리하였고, Millicell ERS-2 전압저항계(Millipore)를 사용하여 세 번 독립적으로 전기 저항을 측정하여, Ohm·cm²로 표시하였다^{21,22}.

6. Quantitative RT-PCR (qRT-PCR) analysis

21일 동안 분화가 완료된 Caco-2 세포에 50, 100 및 200 µg/mL 농도의 HTB를 1시간 동안 전처리한 후, IL-6 (50 ng/mL)를 24시간 동안 추가 처리하였다. 세포를 Trizol (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA)로 균질화하여 total RNA를 분리하여, RevertAid RT Reverse Transcription Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)를 사용하여 cDNA를 합성하고, 특정 프라이머(Table 1)와 함께 FastSYBR 혼합물을 사용하여 qRT-PCR을 수행하였다. PCR을 수행한 후, 계산된 $\Delta\Delta C_t$ 값은 2의 지수로 변환하여 데이터를 분석하였다²².

Table 1. qPCR primer

Gene	Forward	Reverse	Product size
ZO-1	GAAATACCTGACGGTGCTGC	CAGAGGATGGCGTTACCCAC	101 bp
Occludin	CCAGGCCTCTTCAAAGTCCA	CTGGCTGAGAGAGCATTGGT	120 bp
GAPDH	TCAAGGCTGAGAACGGGAAG	TGGACTCCACGACGTACTCA	117 bp

7. Western blot 분석

21일 동안 분화가 완료된 Caco-2 세포에 50, 100 및 200 µg/mL 농도의 HTB를 1시간 동안 전처리한 후, IL-6 (50 ng/mL)를 24시간 동안 추가 처리하였다. 세포를 RIPA 용해 완충액을 사용하여 단백질을 추출하고, Western blot 분석을 통해 TJ 단백질을 발현을 확인하였다^{21,22}.

8. 통계처리

GraphPad Prism 9 software (San Diego, CA, USA)를 사용하여 통계 분석을 수행하였다. 모든 실험값은 3회 이상 반복되어 mean±SD로 표시하였다. 통계적 유의성은 ANOVA와 Dunnett's post hoc test를 사용하여 결정되었으며, P-value<0.05일 때 통계적으로 유의하다고 간주하였다.

III. 결과

1. 황금 추출물(WESB), 택사 추출물(WEAC), 백출 추출물(WEAM) 및 복합추출물(HTB)의 Caco-2 세포 단층의 세포 생존율에 미치는 영향

먼저 Caco-2 세포의 생존 가능성에 대한 WESB, WEAC, WEAM 및 HTB의 효과를 조사했습니다. 실험 결과, WESB, WEAC, WEAM 및 HTB를 단독으로 처리했을 때 Caco-2 세포의 생존력에는 영향을 미치지 않았음을 확인하였다(그림 1A-1D). 또한, 이들 물질을 IL-6과 병용 처리했을 때도 유사한 결과가 나타났습니다(그림 1E-1H).

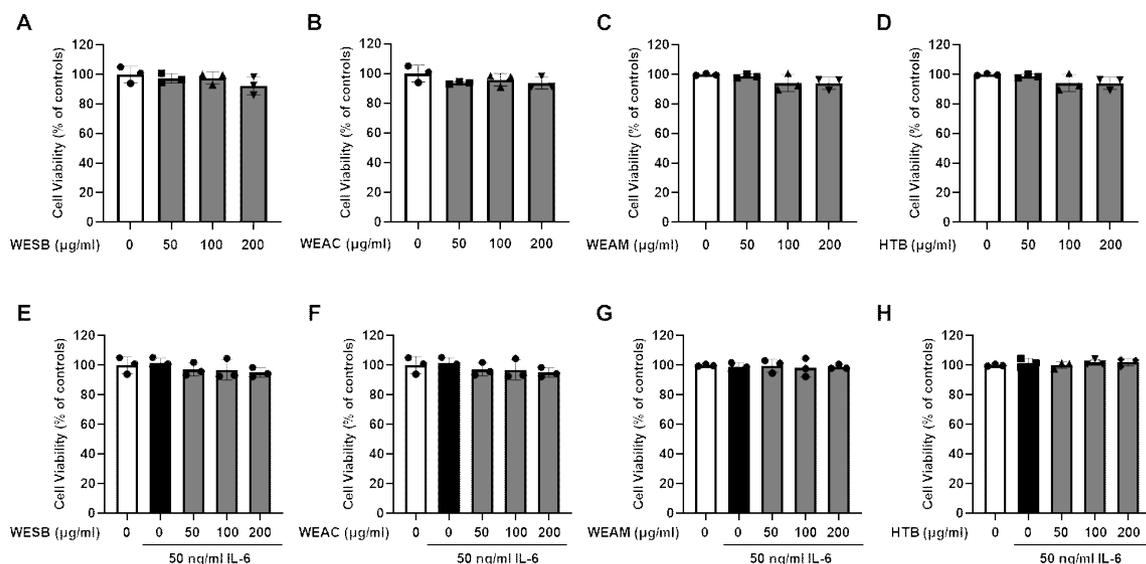


Figure 1. Effects of *Scutellaria baicalensis* extract (WESB), *Alisma canaliculatum* extract (WEAC), *Atractylodes macrocephala* Koidz extract (WEAM), and mixer extracts (HTB) on cell viability in Caco-2 cells. Cells were pretreated with various concentrations of WESB, WEAC, WEAM, and HTB for 1 h and then treated with 50 ng/ml IL-6 for 24 h. Cell viability was determined using Cell Counting Kit-8. Cell viability is represented as a percentage relative to the control.

2. 황금 추출물(WESB), 택사 추출물(WEAC), 백출 추출물(WEAM) 및 복합추출물(HTB)의 Caco-2 세포 단층의 paracellular permeability 및 TEER에 미치는 영향

WESB, WEAC, WEAM 및 HTB가 밀착연접을 통한 물질 이동에 미치는 영향, 즉 밀착연접의 투과성에 대한 영향을 확인하기 위해 FITC-dextran (FD-4)이 세포 단층의 상부에서 하부로 이동하는 paracellular transport 경로를 통한 투과성을 측정하였다. 50 ng/mL IL-6 처리에 따라 FD-4의 값이 증가하는 것을 확인했으며, WESB, WEAC, WEAM 및 HTB에서 IL-6에 의해

증가한 permeability가 농도 의존적으로 감소하는 것을 확인하였다 (Fig. 2A-D). 그 중 복합 추출물인 HTB가 더 높은 permeability를 억제하는 효과를 보였다 (Fig. 2D). 또한, IL-6를 처리한 Caco-2 세포에서 밀착연접의 integrity를 확인하기 위해 TEER을 측정한 결과, IL-6에 의해 감소한 전기저항성이 permeability 측정 결과와 일치하게 HTB에 의해 유의적으로 회복되는 것을 확인하였다 (Fig. 2E). 이를 토대로 HTB의 전처리가 WESB, WEAC, WEAM에 비해 IL-6 처리로 인한 밀착연접의 integrity 감소를 예방하는 능력이 더 뛰어나다는 것을 확인하였다.

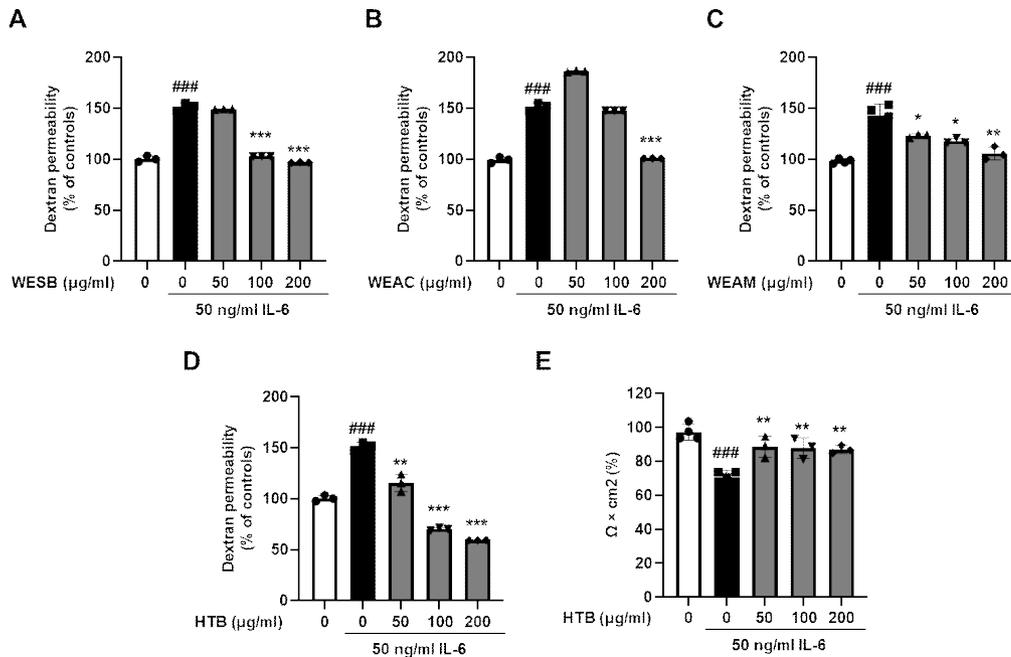


Figure 2. Effects of *Scutellaria baicalensis* extract (WESE), *Alisma canaliculatum* extract (WEAC), *Atractylodes macrocephala* Koidz extract (WEAM), and mixer extracts (HTB) on intestinal barrier function in Caco-2 cells. Epithelial paracellular permeability of (A) WESE, (B) WEAC, (C) WEAM, and (D) HTB. Transepithelial electrical resistance (TEER) of (E) HTB. Intestinal barrier integrity was analyzed using the TEER value, and paracellular permeability was determined using a nonabsorbable FITC-conjugated dextran probe (FD-4). Cells were pretreated with various concentrations of WESE, WEAC, WEAM, and HTB for 1 h and then treated with 50 ng/ml IL-6 for 24 h. The results are represented as the mean \pm standard error of the mean of three independent experiments. ###p < 0.001 versus the control group; *p < 0.05, **p < 0.01, and ***p < 0.001 versus the IL-6 treatment group.

3. 황금, 택사, 백출 복합추출물(HTB)의 처리가 밀착연접 단백질 유전자 발현에 미치는 영향

복합 추출물인 HTB가 밀착연접 유전자의 발현에 미치는 영향을 확인하기 위해 qRT-PCR 및 western blot 분석을 통해 밀착연접 단백질 중 대표적인 ZO-1과 occludin의 발현을 조사하였다. IL-6 처리 시 ZO-1과 occludin의 mRNA 발현이 현저히 감소함을

확인하였으며, HTB 처리에 의해 회복되는 것을 관찰하였다 (Fig. 3A, 3B). 또한, western blot 결과는 qRT-PCR의 결과와 일치하며, IL-6 유발 밀착연접 기능 장애에서 ZO-1 및 occludin의 발현 감소가 HTB 처리에 의해 회복되었음을 보여주었다 (Fig. 3C-3E). 종합적으로, 이러한 결과는 HTB가 밀착연접 단백질의 조절을 통해 장벽 기능 장애를 예방한다는 것을 시사한다.

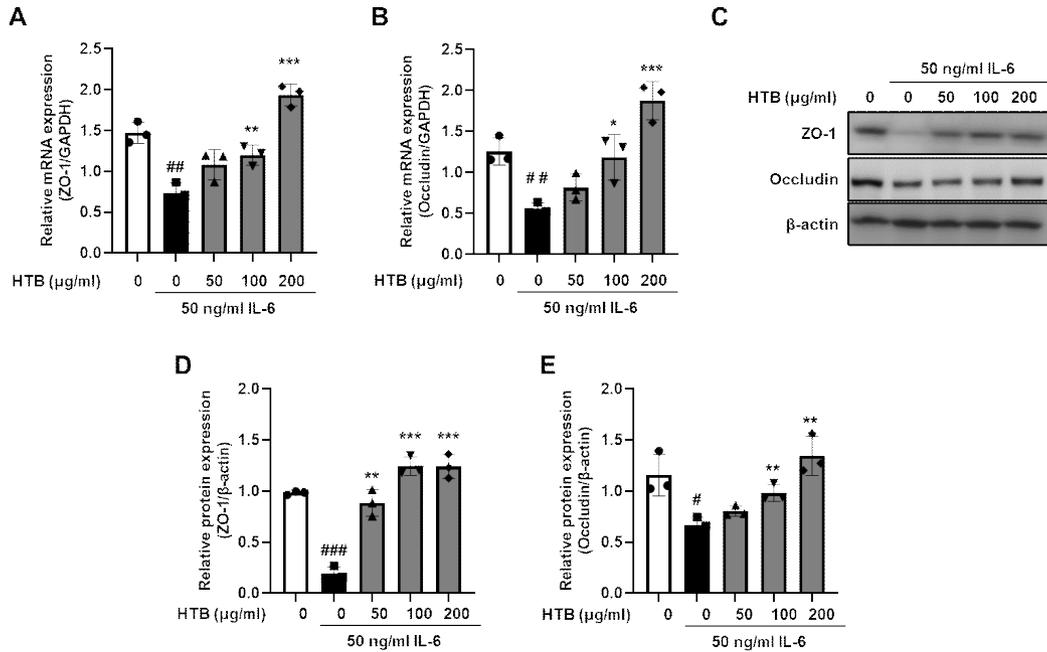


Figure 3. Effects of *Scutellaria baicalensis*, *Alisma canaliculatum*, and *Atractylodes macrocephala* Koidz mixer extracts (HTB) on tight junction protein expressions. Densitometry was performed to quantify the mRNA expression of (A) Zonula occludens (ZO)-1 and (B) occludin. mRNA expression was measured by qRT-PCR. GAPDH was used as the mRNA-loading control. (C) Representative protein expression of ZO-1 and occludin. Densitometry was performed to quantify the protein expression of (D) ZO-1 and (E) occludin. Protein expression was measured by western blotting. β -actin was used as the protein-loading control. The results are represented as the mean \pm standard error of the mean of three independent experiments. ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ versus the control group; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, and *** $p < 0.001$ versus the IL-6 treatment group.

IV. 고찰

본 연구에서는 황금 추출물(WESB), 택사 추출물(WEAC), 백출 추출물(WEAM) 및 이를 포함하는 복합추출물(HTB)이 장 상피 세포의 밀착연접(tight junction, TJ) 기능 장애에 대한 예방 효과를 조사하였다. 이를 위해 분화된 Caco-2 세포에 interleukin (IL)-6로 밀착연접 손상을 유발한 후, WESB, WEAC, WEAM 및 HTB의 전처리가 장 상피 세포 건전성에 미치는 영향을 transepithelial resistance (TEER)과 paracellular permeability를 통해 비교하고, HTB가 TJ 단백질 발현에 미치는 영향을 확인하여 장벽보호 효능을 검증하였다.

WESB, WEAC, WEAM 및 HTB의 처리에 의한 Caco-2 세포의 생존율을 평가한 결과, 모든 추출물에서 세포 독성을 나타내지 않았다. 또한, IL-6의 적정 농도인 50 ng/mL과 병용 처리했을 때에도 세포 독성은 나타나지 않았다. Caco-2 세포에 IL-6를 24시간 동안 처리한 결과, 정상군에 비해 TEER 값은 감소하였고 paracellular permeability 값은 증가함을 확인하였으며, 이는 이전 결과와 일치하였다²¹⁾. 이에 따라 실험에서는 50 ng/mL의 IL-6 농도로 진행하였다. 단독 추출물(WESB, WEAC 및 WEAM)과 복합추출물(HTB)의 paracellular permeability 수치를 비교한 결과, HTB에서 더 높은 억제 효과를 확인하였다. HTB에 의한 TEER 값은 감소되었던 전기

저항성 또한 회복함을 확인하여 IL-6 처리에 의한 밀착연접 integrity 감소를 예방한다는 것을 알 수 확인하였다. 밀착연접 단백질 유전자 발현의 경우, 복합추출물인 HTB가 IL-6 처리에 의해 감소한 ZO-1과 occludin의 mRNA 및 단백질 발현을 증가시키는 것으로 나타났다. 이에 따라 HTB는 IL-6에 의해 감소된 밀착연접 단백질을 증가시키는 효과가 있는 것을 확인하였다. 이를 통해 HTB가 IL-6를 처리한 Caco-2 세포의 TJ의 integrity를 강화 시켜, 장 상피 장벽 기능 장애 예방에 기여한 것을 확인하였다. 따라서, 황금, 택사, 백출 복합추출물(HTB)이 염증성 장질환을 예방하는 기능성 소재로서 활용될 수 있을 것으로 사료된다. 이러한 결과를 토대로, 다른 장 상피세포주에서도 동일한 결과가 나타나는지 확인하기 위해 추가 연구가 필요하다. 특히, T84와 같은 다른 장 상피세포주를 이용하여 동일한 조건에서 실험을 반복함으로써 결과의 재현성을 확인하고, HTB의 보호 효과가 MAPK(Mitogen-Activated Protein Kinase) 신호 전달 경로와의 연관성을 통해 증대되는지 확인하는 것이 필요하다고 사료된다.

V. 결론

본 연구에서는 황금, 택사 및 백출의 복합추출물(HTB)이 IL-6 유발 장벽 기능 장애를 현저하게 완화시키는 것을 확인하였다. 이 복합추출물은 장벽의 전기저항성과 장 투과성을 조절하며, 또한 TJ 단백질 발현을 증가시켜 장 장벽 기능을 개선한다. 결론적으로, 본 연구 결과는 황금, 택사, 백출의 단독 처리뿐만 아니라 복합추출물(HTB)이 장 기능 유지 및 대장염 예방을 위한 기능성 소재로 활용될 수 있음을 보여준다.

감사의 글

이 논문은 2021년 대한민국 교육부와 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(NRF-2021R1I1A2040301).

References

1. Morrison G, Headon B, Gibson P. Update in inflammatory bowel disease. *Aust Fam Physician*. 2009;38(12):956-61.
2. Strober W, Fuss I, Mannon P. The fundamental basis of inflammatory bowel disease. *J Clin Invest*.

- 2007;117(3):514-21.
3. Rubin DC, Shaker A, Levin MS. Chronic intestinal inflammation: Inflammatory bowel disease and colitis-associated colon cancer. *Front Immunol*. 2012;3:107.
4. Head KA, Jurenka JS. Inflammatory bowel disease Part 1: Ulcerative colitis-pathophysiology and conventional and alternative treatment options. *Altern Med Rev*. 2003;8(3):247-83.
5. Luissint AC, Parkos CA, Nusrat A. Inflammation and the Intestinal Barrier: Leukocyte-Epithelial Cell Interactions, Cell Junction Remodeling, and Mucosal Repair. *Gastroenterology*. 2016;151(4):616-32.
6. Antoni L, Nuding S, Wehkamp J, Stange EF. Intestinal barrier in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2014;20(5):1165-79.
7. Kayal M, Shah S. Ulcerative Colitis: Current and Emerging Treatment Strategies. *J Clin Med*. 2019;9(1):94.
8. Peterson LW, Artis D. Intestinal epithelial cells: Regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nat Rev Immunol*. 2014;14(3):141-53.
9. Zhao T, Tang H, Xie L, Zheng Y, Ma Z, Sun Q, et al. *Scutellaria baicalensis* Georgi. (Lamiaceae): a review of its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology. *J Pharm Pharmacol*. 2019;71(9):1353-1369.
10. Blumenthal KG, Lai KH, Huang M, Wallace ZS, Wickner PG, Zhou L. Adverse and Hypersensitivity Reactions to Prescription Nonsteroidal Anti-Inflammatory Agents in a Large Health Care System. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2017;5(3):737-743.e3.
11. Hossain ME, Ko SY, Kim GM, Firman JD, Yang CJ. Evaluation of probiotic strains for development of fermented *Alisma canaliculatum* and their effects on broiler chickens. *Poult Sci*. 2012;91(12):3121-31.
12. Lee IW, Choi HY, Lee JH, Park SN, Kim SM, Ku SK, et al. Saeng-Kankunbi-Tang O protects liver against oxidative damage through activation of ERK/Nrf2 pathway. *Chin J Integr Med*. 2016;22(8):619-28.
13. Zhu B, Zhang QL, Hua JW, Cheng WL, Qin LP.

- The traditional uses, phytochemistry, and pharmacology of *Atractylodes macrocephala* Koidz.: A review. *J Ethnopharmacol.* 2018;226:143-167.
14. Kim HG, Kim MY, Cho JY. *Alisma canaliculatum* ethanol extract suppresses inflammatory responses in LPS-stimulated macrophages, HCl/EtOH-induced gastritis, and DSS-triggered colitis by targeting Src/Syk and TAK1 activities.. *J Ethnopharmacol.* 2018;219:202-212.
 15. Shin MH, Park YJ, Kim KS, Cho DH, Uh IJ, Kim KH, et al. The anti-inflammatory effects of *Alisma* herb extract on allergic asthma mouse model. *Mol. Cell. Toxicol.* 2014;10:197-206.
 16. Han KH, Park JM, Jeong M, Han YM, Go EJ, Park J, et al. Heme Oxygenase-1 Induction and Anti-inflammatory Actions of *Atractylodes macrocephala* and *Taraxacum herba* Extracts Prevented Colitis and Was More Effective than Sulfasalazine in Preventing Relapse. *Gut Liver.* 2017;11(5):655-66
 17. Kim DS, Son EJ, Kim M, Heo YM, Nam JB, Ro JY, et al. Antiallergic herbal composition from *Scutellaria baicalensis* and *Phyllostachys edulis*. *Planta Med.* 2010;76(7):678-82.
 18. Kubo M, Matsuda H, Tanaka M, Kimura Y, Okuda H, Higashino M, et al. Studies on *Scutellariae radix*. VII. Anti-arthritic and anti-inflammatory actions of methanolic extract and flavonoid components from *Scutellariae radix*. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 1984;32(7):2724-9.
 19. Sun J, Li L, Wu J, Liu B, Gong W, Lv Y, et al. Effects of baicalin on airway remodeling in asthmatic mice. *Planta Med.* 2013;79(3-4):199-206.
 20. Kim YJ, Kim TI, Kim K. An optimized herbal medicine containing *Scutellaria baicalensis* Georgi, *Alisma orientale* Juzepzuk, and *Atractylodes japonica* Koidzumi has potent antiplatelet and antithrombotic activities. *J Tradit Complement Med.* 2023;13(3):285-96.
 21. Kim KY, Oh TW, Do HJ, Yang JH, Yang IJ, Jeon YH, et al. *Acer palmatum* thumb. Ethanol Extract Alleviates Interleukin-6-Induced Barrier Dysfunction and Dextran Sodium Sulfate-Induced Colitis by Improving Intestinal Barrier Function and Reducing Inflammation. *J Immunol Res.* 2018;2018:5718396.
 22. Kim KY, Son JD, Hwang SJ, Lee JK, Park JY, Park KI, et al. Fermented Glutinous Rice Extract Mitigates DSS-Induced Ulcerative Colitis by Alleviating Intestinal Barrier Function and Improving Gut Microbiota and Inflammation. *Antioxidants (Basel).* 2023;12(2):336.