

네트워크약리학을 이용한 생강 활성성분 유래 잠재 타겟 효능 예측

이아영 책임연구원, 이준 책임연구원, 천진미 선임연구원*

한국한의학연구원 한약자원연구센터

Prediction of potential targets efficacy derived from ginger active ingredients using network pharmacology

A Yeong Lee, Jun Lee, Jin Mi Chun*

Herbal Medicine Resources Research Center, Korea Institute of Oriental Medicine

Abstract

Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) has widely used for the digestive in Korea and is the most popular food spices with a uniquely pungent flavor. Many compounds have been isolated in ginger, such as gingerols, steroids, monoterpenoids, etc. Many studies have reported the bioactivity of ginger extracts and active compounds in ginger such as antioxidant, anti-inflammatory, anti-cancer, and effect on the cardiovascular systems. However, the pharmacological effects of ginger between multiple-compounds and multiple-target were not reported yet. So, we confirmed the holistic pharmacological effect of ginger using a network pharmacology approach. We screened through six compounds (6-gingerol, 6-shogaol, dihydrocapsaicin, poriferastan-3 β -ol, β -sitosterol, and stigmaterol) with ADME screening in the TCMSP database and searched 55 genes linked to six active compounds using the STITCH database. The core potential target genes were TP53, BCL2, MAPK8, HSP90AA1, and CYP7AA1. And Functional analysis of target genes was performed through Annotation, Visualization, and Integrated Discovery (DAVID) and the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway databases; 64 pathways were searched. Among them, pathways related to infectious disease were found the most. Therefore, this study was demonstrated the multi-component, multi-target, and multi-pathway characteristics of ginger, which were able to predict various efficacy properties for ginger compounds.

Correspondence: 천진미(Jin Mi Chun)

111 Geonjae-ro, Naju-si, Jeollanam-do, 58245, Rep. of Korea

Tel: +82-61-338-7130, E-mail: jmchun@kiom.re.kr

Received 2020-12-01, revised 2020-12-13, accepted 2020-12-14, available online 2020-12-14

doi:10.22674/KHMI-8-2-11



Keywords: ginger, *Zingiber officinale* Rosc., active ingredients, network pharmacology

서론

생강(*Zingiber officinale* Roscoe)은 생강과에 속하는 덩이줄기 식물로, 독특한 매운맛과 향기로 인하여 예로부터 향신료, 식품재료, 약재 등 다방면에서 많이 사용되어 온 재료이다^{1,2)}. 한방에서는 감기, 두통 등에 발한제와 해독제로 주로 이용되고 있으며, 항균·항염·항산화 작용 및 항비만 효과 등 다양한 효능이 보고되고 있다^{3,4)}. 생강은 이러한 효능 외에도 반하와 천남성의 독을 해독하는 효능도 지니고 있어서 한약재의 법제에도 사용되고 있다⁵⁾. 한국한의학연구원 「전통의학포털」의 K-herb network 에서 건강(생강)이 포함되어 있는 처방은 이진탕, 계지탕, 소청룡탕 등 다양하며 한방에서는 감초만큼이나 자주 쓰이는 약재 중 하나이다⁶⁾. 생강은 맵고 따뜻한 성질이 있어 혈액순환을 강화하며 위장을 따뜻하게 하여 소화기능을 상승시키는 역할을 하는 것은 물론, 생강을 단독으로 사용하여 초기 감기의 치료나 예방에 도움이 될 수 있다⁷⁻⁹⁾. 이외에, 세계 각국에서는 생선의 비린내 제거, 음식의 보존력 강화, 살균작용 등의 식품 및 식품보존 등 다방면에서 활용되고 있다¹⁰⁾. 특히, 항비만, 항염증, 혈행개선 등 대사성 질환의 예방 등의 약리 활성들이 많이 보고되어 있다¹¹⁾.

말린 생강인 건강(乾薑)은 《대한민국약전》에 수재되어 있는 약재이며, 정량기준은 6-징계롤 0.4% 이상으로 규정되어 있다¹²⁾. 생강의 독특한 쏘는 냄새로 알려진 징계롤은 강력한 항산화, 해독작용을 하고 구역감을 억제해주는 작용을 하며 위장관 점막을 보호해주기도 한다⁹⁾. 징계롤과 더불어 주성분으로 알려진 쇼가올은 장내 유익균의 생존과 증식을 유도해 장의 기능을 높이고 염증인자를 줄여준다고 알려져 있다¹³⁾.

이와 같이, 생강의 추출물 및 구성성분의 효능연구는 활발하게 이루어지고 있는 반면, 생강을 구성하고 있는 성분들의 복합적인 상호작용에 따른 활성연구는 미흡한 실정이다.

근래 한약의 효과를 이해하기 위해 적용되는 네트워크 약리학은 약물의 활성성분-활성성분이 작용하는 인체 타겟-타겟이 되는 유전자, 단백질 혹은 인체 내 각종 회로들과 상관성이 있는 병증을 연결하여 한약자원의 효과에 대한 예측을 할 수 있다¹⁴⁾. 천연물은 다성분으로 이루어져 있어서 one compound-one target 에 작용하는 것이 아닌, 복합성분이 복합적으로 타겟 단백질에 작용하여 활성을 나타내고 있어, 이러한 연구에 적합한 방법이 네트워크약리학이다. 네트워크약리학은 기존에 구축되어 있는 데이터베이스를 활용하여 방대하고 복합적인 정보들의 종합적인 분석을 할 수 있어, 천연물 특유의 복합적인 multiple compounds-multiple target 의 탐색이 가능하다.

따라서 본 연구에서는 생강의 다양한 활성을 예측하는 기초자료로 활용하기 위해 다양한 활성성분과 효능이 알려진 생강을 네트워크약리학을 이용하여 이들의 구성성분 유래 타겟 유전자들의 효능 특성을 예측하고자 수행하였다.

본론

1. 실험방법

생강의 네트워크 약리학 연구를 위해서 5 단계의 과정을 거쳤다. 1) 생강의 구성성분 검색, 2) 활성성



분과 연관된 단백질 검색, 3) 질병과 연관된 단백질 검색, 4) 단백질-단백질 상호작용 검색, 5) pathway 탐색의 단계를 거쳤다.

1) 생강의 구성성분

생강의 구성성분은 여러 연구논문에서 사용하고 있는 중의학 관련 연구용 데이터베이스인 Traditional Chinese Medicine System Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP; <https://tcmspw.com/tcmsp.php>, accessed in 2020-10-30)에서 확인 하였다. 생강의 활성성분 선정은 TCMSP 에서 제공하는 약물의 흡수, 분포, 대사 배설과 관련된 값 중에서 경구생체이용율(OB; oral bioavailability) 30% 이상, 약물 유사도(DL; drug-likeness) 0.18 이상의 값을 만족시키는 성분만 선별하였다.

2) 활성성분과 연관된 단백질

활성성분과 연관이 되는 단백질은 STITCH (<http://stitch.embl.de/>, accessed in 2020-10-31) 데이터베이스에서 추출해내었다. 이 데이터베이스에서 “*Homo sapiens*” 종에 대해서만 선별하였고, 활성성분과 단백질과의 상호작용 값인 combination score 는 0.400(medium confidence) 이상만 선택하였다. 이렇게 선별된 단백질들을 타겟 단백질로 정의하였다.

3) 단백질-단백질 상호작용

위에서 선별된 핵심 단백질로 단백질-단백질 상호작용을 분석하였다. 단백질들 간의 상호작용은 STITCH 데이터베이스에서 1 차로 연결된 단백질 중에서 1 개의 단백질 당 50 개 이내로 제한하였고 combination score 는 0.700(high confidence) 이상의 값들만 취하였다. 단백질들 간의 위상분석은 Cytoscape 3.7.1 버전에서 계산하였다.

4) KEGG pathway

생강 유래 구성성분과 연계된 핵심 단백질들의 기능 확인 및 작용기전을 규명하기 위해 분자 데이터로부터 biological system 의 유틸리티를 예측할 때 사용되는 Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG, <https://www.genome.jp/kegg/Release95.2>) 데이터베이스를 이용하였다. 앞의 단계인 단백질-단백질 상호작용 분석에서 얻은 단백질들을 기본으로 하여 Database for Annotation Visualization and Integrated Discovery (DAVID, <https://david.ncicrf.gov/summary.jsp>, version 6.8)에서 “*Homo sapiens*”에 대한 pathway 를 검색하였다. KEGG pathway 분석을 통해서 각 유전자들이 관여하는 생물학적 pathway 확인이 가능하며, pathway 분석 결과 유의미한 값인 p -value 가 0.05 이하인 값들만 유효 pathway 로 선정하였다.

5) 네트워크 분석

성분과 단백질, 단백질-단백질 상호작용, pathway-단백질과의 네트워크분석 및 단백질들 간의 위상 분석은 Cytoscape 3.7.1 프로그램을 이용하였다.

2. 실험결과 및 고찰

1) 생강의 활성성분

TCMSP 데이터베이스에서 검색된 생강의 구성성분은 총 265 개였으며, OB 30% 이상과 DL 0.18의 기준을 만족시키는 성분은 5 개였다. OB는 경구투여 약물이 순환계에 전달되는 능력을 반영하며, DL은 잠재적 화합물이 기존에 알려진 약물들과 일치하는 정도를 추정하는 변수로, 특정 성질을 가진 화합물을 스크린하기 위하여 사용되고 있으며, TCMSP 데이터베이스에서는 OB는 30% 이상, DL은 0.18 이상을 권장하고 있다¹⁵⁾. 《대한민국약전》과 《중화인민공화국약전》에서는 6-gingerol 이, 《일본약국방》에서는 6-shogaol 이 공정서에서 정량기준으로 규정되어 있어서¹⁶⁾ 두 성분은 활성성분으로 포함시켰다. 활성성분으로 선정된 총 7 개의 성분은 표 1 과 같다.

Table 1. List of active compounds in *Zingiber officinale*

No.	Compound명	Mol ID	OB	DL
1	Stigmasterol	MOL000449	43.83	0.76
2	β -sitosterol	MOL000358	36.91	0.75
3	Poriferast-5-en-3 β -ol	MOL001771	36.91	0.75
4	6-Methylgingediacetate2	MOL006129	48.73	0.32
5	Dihydrocapsaicin	MOL008698	47.07	0.19
6	6-Gingerol	MOL002467	35.64	0.16
7	6-Shogaol	MOL002495	31.0	0.14

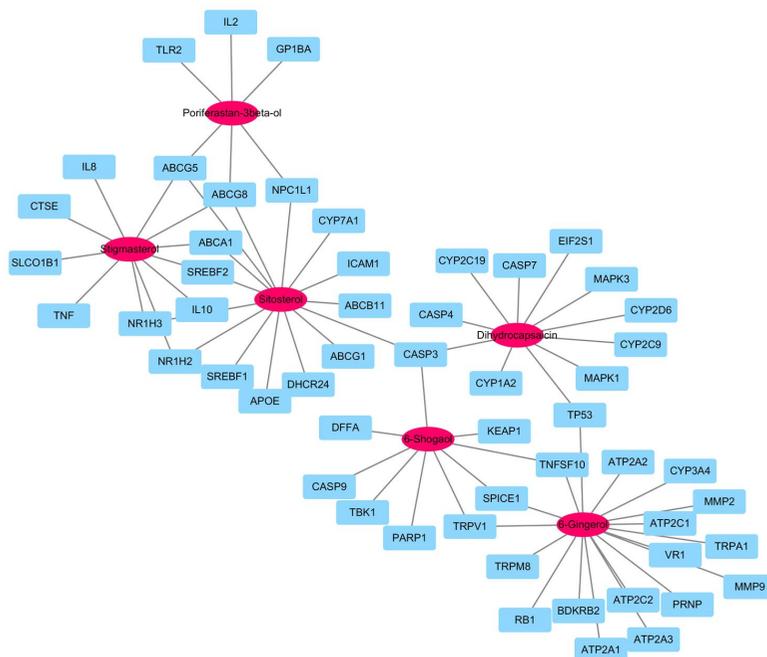


Figure 1. Network between active compounds and target genes in ginger; Red oval is active compound, sky-blue square is gene



2) 활성성분과 연관된 단백질

STITCH DB 에서 6-methylgingediacetate2 와 연결된 단백질은 검색되지 않아서 총 6 개의 성분과 55 종의 target gene 이 검색되었다(figure 1).

3) 단백질-단백질 상호작용

단백질-단백질 상호작용은 STITCH 데이터베이스에서 1 차 연관 단백질 50 개 이하만 선정하였고, 신뢰성 점수(confidence score)는 중간값인 0.400 이상만 선별하였다. 이 값은 0.0~1.0 까지로 표현되고 있으며, 높은 값일수록 신뢰도가 높다¹⁷⁾. 이 데이터베이스에서 얻은 단백질-단백질 상호작용을 Cytoscape 3.7.1 의 프로그램에서 이들 간의 topology 를 계산하여 betweenness centrality 가 높은 순으로 정렬하였다(figure 2). 96 개 중에서 betweenness centrality 수가 상위 5 에 해당하는 단백질은 TP53, BCL2, MAPK8, HSP90AA1, CYP7A1 이었다. 이들은 높은 매개 중심성(betweenness centrality) 를 갖는 노드들이며, 이들은 대부분 높은 edge 수와 근접 중심성(closeness centrality)를 가지고 있었다. 높은 edge 수는 네트워크에서 많은 수의 node 와 연결되어 있으며, 근접 중심성은 네트워크 내의 다른 노드들과 얼마나 근접하게 연결되어 있는지를 정량화한 값으로, 이 네트워크에서 가장 일반적인 영향력을 가지는 노드를 알 수 있는 값이고, 매개 중심성은 하나의 노드가 네트워크를 구축함에 있어서 중개자 역할을 하는 정도를 정량화한 값이다¹⁸⁾. 이 값이 높으면, 네트워크에서 중요한 역할을 하는 노드임을 알 수 있다.

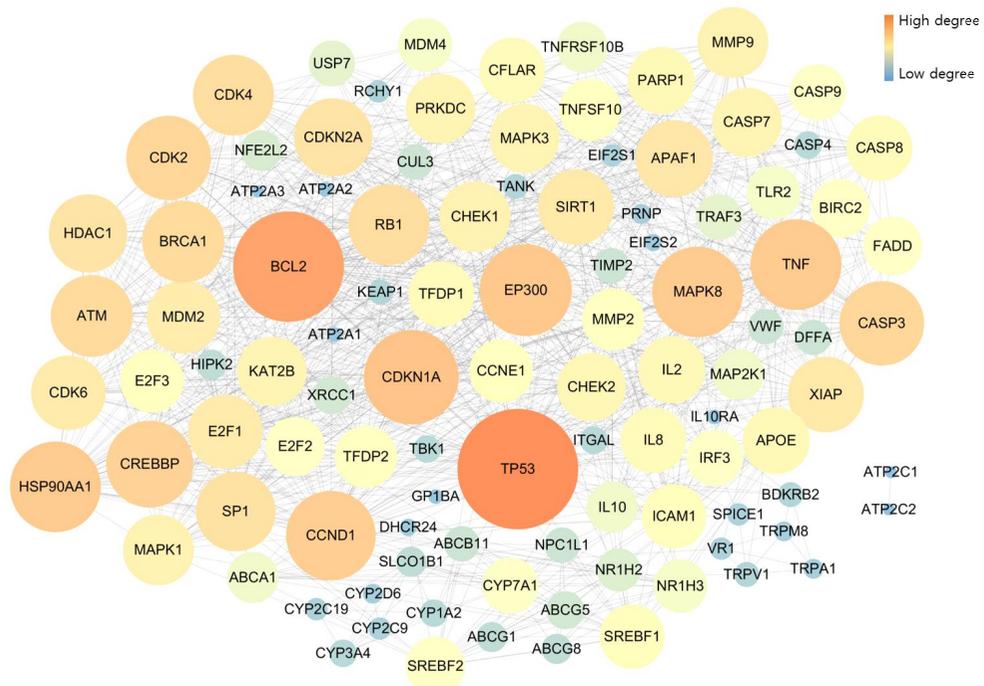


Figure 2. Protein-protein interaction network of ginger. The size and color of nodes represented with betweenness centrality

4) KEGG pathway 분석

생강 유래 구성성분과 연계된 핵심 단백질들의 기능 확인 및 작용기전을 규명하기 위해 단백질-단백질 상호작용에서 얻은 총 96 개의 단백질들로 KEGG pathway 를 분석한 결과, p -value 0.05 이하인 pathway 는 총 64 개였다. 검색된 pathway 들 중에서 p -value 와 연관된 gene 의 개수에 따른 상위 10 개의 pathway 들을 살펴보면 그림 3 과 같다. Signaling pathway 중에서 통계적으로 가장 유의한 pathway 는 hepatitis B 였고, 생강에서 유래한 단백질들이 가장 많이 포함된 상위 pathway 는 ‘pathways in cancer’였다.

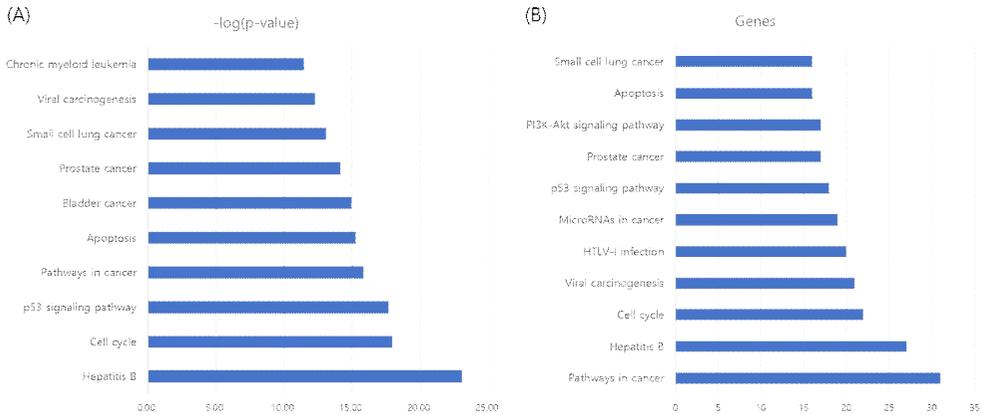


Figure 3. Top 10 KEGG pathways according to $-\log(p\text{-value})$ and number of genes

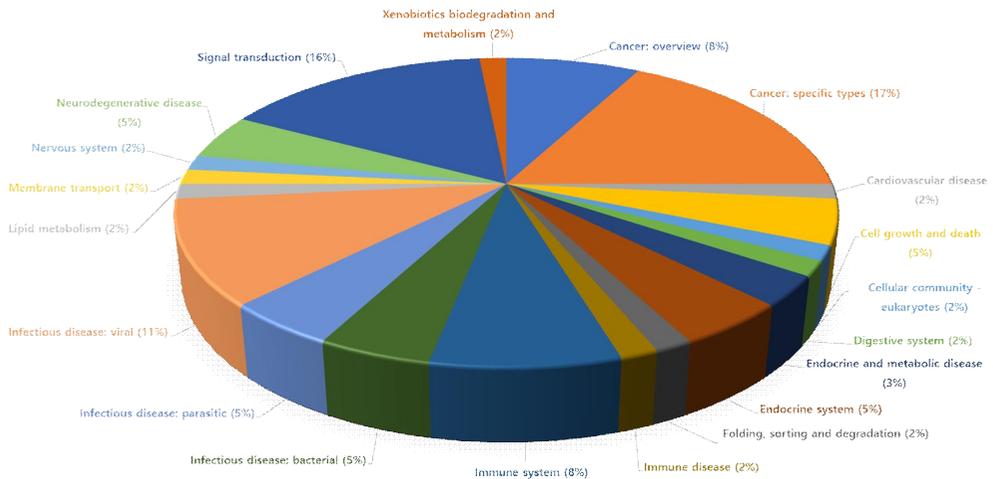


Figure 4. Total KEGG signaling pathway maps within ginger

KEGG pathway 들을 총 7 가지의 map 으로 나눌 수 있는데, 생강은 metabolism, genetic information processing, environmental information processing, cellular process, organismal systems, human diseases 에 해당하는 pathway 들이 검색되었다. 생강의 활성성분에서 유래한 단백질들이 구성하는 pathway 는 어느 특정 pathway 에 치우치지보다는 KEGG map 에서 다양하게 관여하고



있었다. 이렇게 다양하게 검색된 pathway 들을 다시 세부 pathway 로 분류해보면 총 20 개로 구분할 수 있었고, 그 중에서 상위 3 개의 세부 map 은 specific types cancer (11 개), signal transduction (10 개), viral infectious disease (7 개)였다(figure 4). 그러나 pathway 전체를 질병별로 분류해보면 cancer 에 관련된 pathway 보다 감염과 관련된 pathway 가 더 많이 검색됨을 알 수 있었다.

KEGG map 에서 human disease 에 해당하는 pathway 들이 56%로 가장 높았으며, human disease 중에서는 infection 관련 pathway 가 41%로 가장 높은 비중을 차지하고 그 다음이 cancer 관련 pathway 였다(figure 5).

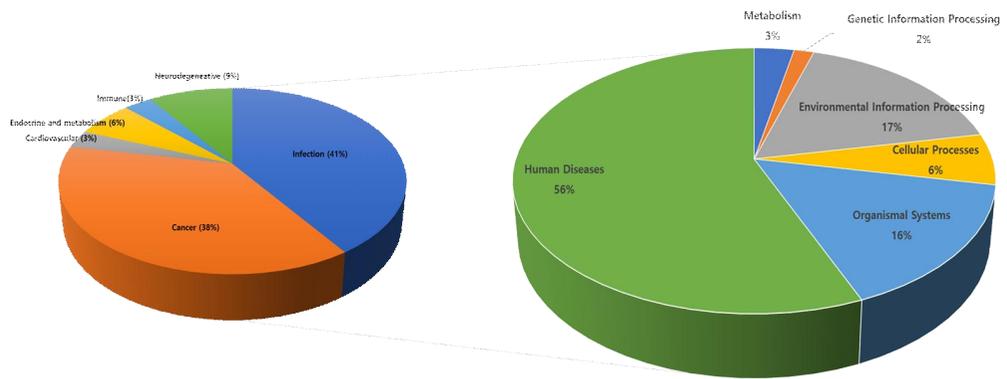


Figure 5. Classification of KEGG pathways linked to ginger

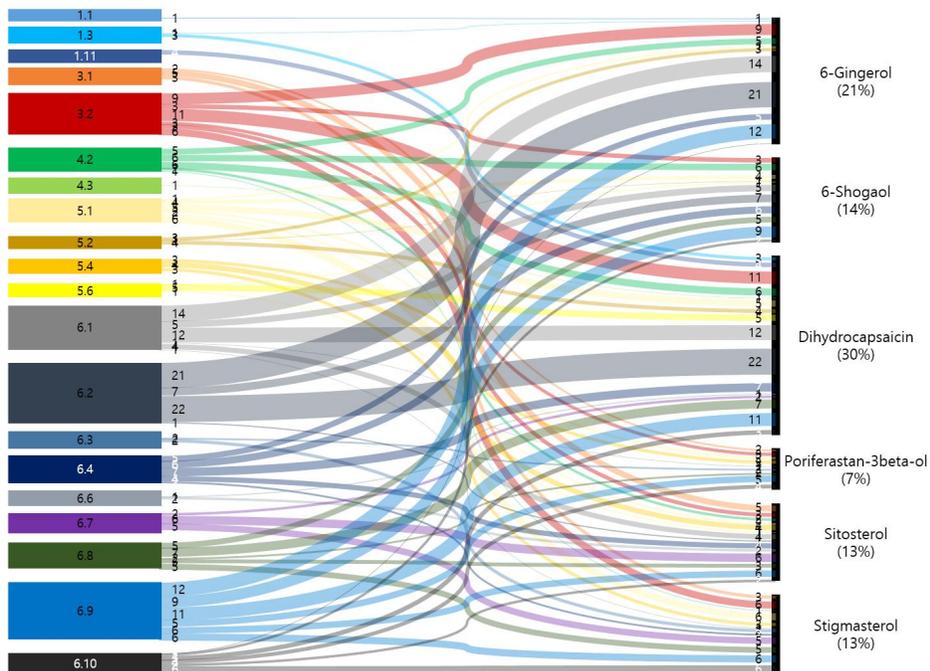


Figure 6. Active compounds of ginger contributing to the KEGG pathways



생강의 활성성분은 총 6 개로, 6-gingerol, 6-shogaol, dihydrocapsaicin, poriferastan-3 β -ol, β -sitosterol, stigmasterol 이었고, 이들이 pathway 에 기여하는 비율은 6-gingerol 21%, 6-shogaol 14%, dihydrocapsaicin 30%, poriferastan-3 β -ol 7%, β -sitosterol 13%, stigmasterol 13%였다(figure 6). 이 중에서 dihydrocapsaicin 과 연관된 단백질들이 생강의 pathway 에 관여하는 비율이 가장 높았다.

3. 고찰

생강은 한의학적으로 더운 성질을 가지고 있어 한증을 치료하고 소화기 장애를 개선시킬 수 있어 다양한 제제에 구성약재로 활용되고 있을 뿐만 아니라 전 세계적으로 식품으로 다양하게 활용되고 있다. 생강의 추출물 및 단일 구성성분들에 대해서는 많은 연구가 이루어져 있지만 다성분의 복합적인 작용에 의한 효능연구 예측을 위해 네트워크약리학을 활용한 연구는 거의 이루어진 바가 없다. 천연물의 특성상 one compound-one target 이 아닌, 복합적인 작용에 의해서 그 활성이 나타나는데, 이에 가장 적합한 방법이 네트워크약리학이다. 이러한 기본 개념으로 생강의 다양한 구성성분과 단백질 간의 상호작용에 관한 연구를 네트워크약리학으로 살펴보았다.

우선 생강의 잠재적 활성 화합물 추출을 위해 흡수, 분포, 대사 및 배설의(ADME) 스크리닝을 통해 선별하였다. OB 는 약물의 경구 투여로 인해 체내로 전달되는 능력을 나타내는 지표이고, DL 은 기존에 잘 알려진 약물들과의 유사도를 분석하여 의약품으로 활용할 수 있는 화합물을 선정하는 데 사용되는 지표이다. 본 연구에서는 OB 30% 이상, DL 0.18 이상을 모두 만족하는 성분들을 잠재적 활성을 가지는 화합물인 것으로 간주하였다. ADME 스크리닝을 거쳐 선정된 생강의 활성성분은 6-gingerol, 6-shogaol, dihydrocapsaicin, poriferastan-3 β -ol(=fucostanol), β -sitosterol, stigmasterol 이었고, 이들은 총 55 개의 단백질들과 연관이 있었다. 이 중에서 6-gingerol 과 6-shogaol 은 생강의 주성분이면서 쏠는 맛을 내는 성분이다^{9,13}). 이들 성분은 위염과 관련된 항염 및 항산화 효과¹⁹), anti-mycobacterial²⁰), anti-neuroinflammation²¹) 등의 활성이 보고되어 있다. Dihydrocapsaicin 은 매운맛의 한 종류로, 항산화 효과²²)를 지니고 있고 β -sitosterol 은 알콜로 인한 간손상을 완화시켜주고, PI3K/Akt pathway 를 통한 apoptosis 와 관련된 단백질들의 발현을 억제하는 역할을 하기도 한다²³). Stigmasterol 을 포함한 sterol 들은 염증 반응을 감소시키고²⁴) 지방간 및 복부지방을 감소시켰다²⁵).

이들 활성성분과 관련이 있는 55 개의 단백질들과 상호작용이 있는 단백질들을 protein-protein interaction 분석을 통하여 96 개의 단백질을 찾을 수 있었고, 핵심 단백질들의 기능 확인 및 작용기전을 규명하기 위해 KEGG pathway 분석을 수행하였다. KEGG pathway 분석결과, 통계적으로 유의적인 수준에서의 pathway 중에서도(p -value 0.05 이하) 감염과 암에 관련된 pathway 가 가장 많이 나타났다. 이러한 결과를 바탕으로 생강 유래 성분들과 연계된 잠재 타겟 단백질들의 기능 및 작용기전을 기존 문헌검색을 통해 살펴보았다. 생강 추출물은 항박테리아 효과²⁶), 바이러스 감염에 대한 효과²⁷) 등이 보고되어 있으며, 최근에는 COVID-19 의 대유행으로 치료제 개발을 위하여 기존의 항균 활성이 있는 식품 및 한약의 재평가가 이루어지면서 생강에 대한 가치도 재조명되기도 하였다²⁸). 생강의 항암 효과는 많이 보고되어 있는데 특히, 생강에 포함되어 있는 gingerol 유도체들은 염증으로부터 유도된 암세포주에서 NF- κ B, VEGF, TNF- α 등의 활성을 감소시키며²⁹) 주성분인 6-gingerol 은 lukemic cell 의 apoptosis 에 관여하며 이에 관련된 단백질은 TP53, BCL2 등이 있다고 보고하였다³⁰). Xu 등은



MAPK8은 MAPK signaling의 주요 단백질 중 하나이며, TMZ 내성 glioblastoma cell을 up-regulation하여 항암 세포의 형성을 억제하고 암세포의 apoptosis를 유도한다고 보고하였다³¹⁾. HSP90AA1 단백질은 염증인자들의 발현을 감소시키는 경향을 나타내고³²⁾, Zurkinder 등은 CYP7A1 단백질은 간에서 bile acid의 생합성 제한효소이며 콜레스테롤 대사의 핵심 효소로 작용하여, 죽상동맥경화와 관련된 콜레스테롤의 흡수에도 영향을 미친다는 보고³³⁾ 등으로 미루어 보아 생강의 항염 효과와 대사질환 감소에 영향을 미쳤을 것이라 추측된다.

생강 유래 잠재타겟 유전자들의 네트워크 분석 결과, 총 64개의 pathway들이 검색되었으며 이들 중에서 'hepatitis B'는 통계적으로 가장 유의적으로 나타났고, 'pathways in cancer'는 관련 단백질을 가장 많이 포함하고 있는 pathway로 나타났다. 이들 pathway를 기능적으로 분류하면 human disease에 관련된 pathway들이 전체 pathway 중에서 56%를 차지하였고, 그 중에서 감염성 질환과 암과 관련한 pathway들이 가장 많았다. 생강은 배탈을 치료하고, 항바이러스·항염·항산화·항암 효과 등 다양한 이점이 많이 있다. 이는 생강의 pathway 분석결과 도출된, 염증과 관련 있는 TNF, FoxO, PI3K-Akt 등의 signaling transduction pathway들과, 기생충, 박테리아 및 바이러스로 인한 감염성 질환에 관련된 pathway가 다수 검색된 것과 관련이 있을 것으로 사료된다. 최근 들어 전 세계적으로 신규 감염성 질환이 유행함에 따라 이의 치료를 위하여 후보 약물을 도출하는 방법 중의 하나로 네트워크약리학 기법을 활용하기도 하였다³⁴⁾. 예로부터 식품이나 한방에 사용하였던 재료들은 이미 그 추출물에 대한 효능들이 많이 밝혀져 왔으므로, 이런 방법들을 활용하여 질병의 치료를 위한 후보 약물로 그 가치를 제고하는 것도 큰 의미가 있다.

결론

본 연구는 네트워크약리학 방법으로 생강의 다양한 활성을 확인하기 위하여 구성성분과 단백질 간의 네트워크 분석을 실시하였다. 이 결과, 주요 활성성분은 총 6개(6-gingerol, 6-shogaol, dihydrocapsaicin, poriferastan-3 β -ol, stigmasterol, β -sitosterol)로 선별되었고, 이와 관련 있는 단백질들은 55개로 선정되었다. Protein-protein interaction 결과 얻어진 단백질들로 KEGG pathway 분석을 수행한 결과, 64개의 pathway 중에서도 감염성 질환 및 암과 관련된 pathway들이 가장 많이 관여하는 것으로 나타났다. 지금까지 생강을 배탈, 초기 감기 및 음식을 상하지 않게 보존하기 위한 활용되어 왔는데 생강 유래 잠재 타겟 단백질들의 작용기전 일부와 연관성을 갖는 일부 pathway들을 확인할 수 있었다. 그 외에도 다양한 종류의 항암 관련 pathway도 검색되었으므로, 이에 관한 추가 연구도 필요할 것이다. 네트워크약리학 분석을 통하여 생강의 다양한 활성 및 기전들을 예측할 수 있었고, 본 결과를 토대로 생강의 응용 가능성을 확인할 수 있었으며, 본 연구결과가 다양한 효능 연구를 위한 기초자료로 활용될 것이라 사료된다.

감사의 글

본 연구는 한국한의학연구원 주요사업 '지속가능한 한약표준자원 활용기술 개발 (KSN20122320)'과 한국한의학연구원 창의연구과제 '혈관성 질환 변증 처방별 효능비교연구(C17112)'의 지원에 의해 수행되었습니다.



참고문헌

1. 성기천. 천연 생강 추출물의 약리학적 특성 및 분석 연구. 한국유화학회지. 2010;27(3):266-72.
2. Byung Wook Yang, Hyeon Sook Park, Joung Whan Park, Moo Yeol Baik, Byung Yong Kim, Hye Kyung Kim, Young Tae Hahm. Physicochemical properties of repetitive heat-treated ginger and its quantitative conversion of gingerol to shogaol. Food. Eng. Prog. 2017;21(1):22-8.
3. 류혜숙. 생강 추출물 투여가 전구염증성 사이토카인 IFN- γ 와 항염증성 사이토카인 IL-10 분비량에 미치는 영향. 한국식품영양학회지. 2007;20(3):259-64.
4. Behrouz Ilkhanizadeh, Alireza Shirpoor, Mohamad hasan Khadem Ansari, Samira Nemati, Yusuf Rasmi. Protective effects of ginger (*Zingiber officinale*) extract against diabetes-induced heart abnormality in rats. Diabetes Metab J. 2016;40:46-53.
5. 서부일. 한약의 복약시 활용되는 생강의 의미에 관한 연구. 한약응용학회. 2002;3(1):15-28.
6. 한국한의학연구원, OASIS 전통의학 정보포탈, Available from: <https://oasis.kiom.re.kr/> (accessed 2020-10-23)
7. 최해룡. 오약순기산의 약리와 응용. 한국의약통신. Available from: <http://www.kmpnews.co.kr/news/articleView.html?idxno=31728> (accessed 2018-06-25)
8. 황완균. 유사한방제제-계지탕 및 마황제제. 약학정보원 팸리뷰, 2000;1-7.
9. 차종환. [한방칼럼] 음식으로 먹는 한약재-생강. 정보통신신문. Available fom: <https://www.koit.co.kr/news/articleView.html?idxno=74243> (aceecessed 2019-04-03)
10. Bambang Nurhadi, Suriati Tensiska, Rudy Adi Saputra, Nandi Sukri. The role of encapsulant materials on the stability of bioactive compounds of red ginger (*Zingiber officinale* Roscoe. var. Rubrum) extract powder during storage. Food Chemistry. 2020;333:127490
11. Pi-Fen Tsui, Chin-Sheng Lin, Ling-Jun Ho, Jenn-Haung Lai. Spices and atherosclerosis. Nutrients. 2018;10:1724.
12. 식품의약품안전처(대한민국). 대한민국약전. 식품의약품안전처고시 제 2019-102 호, 공포 2019-11-06.전부개정고시. 시행 2020-02-07.
13. 사랑한의원 네이버블로그. [생강의 효능과 부작용] 생강 이것만을 알고 드세요. Available from: <https://blog.naver.com/PostView.nhn?blogId=jinguy1981&logNo=221625119355&parentCategoryNo=&categoryNo=52&viewDate=&isShowPopularPosts=true&from=search> (accessed 2019-08-23)
14. 한상용, 김윤경. 방제 연구를 위한 새로운 접근: 네트워크 약리학. J Physiol & Pathol Korean Med. 2016;30(6):385-96.
15. 이병호, 조수인. 사군자탕에서 군약의 변화에 따른 네트워크 약리학적 분석결과 비교. 대한한의학 방제학회지. 2019;27(3):189-97.
16. KIOM 한약자원연구센터. 한약기원사전. Available from: <https://oasis.kiom.re.kr/herblib/hminfo/hbmcod/hbmcodList.do> updated in 2020-11-02 (accessed 2020-11-02)
17. Damian Szklarczyk, Alberto Santos, Christian Mering, Lars Juhl Jensen, Peer Bork, Michael Kuhn, STITCH5: augmenting protein-chemical interaction networks with tissue and affinity data. Nucleic Acids Research. 2016;44:D380-4.



18. 박재우, 서중호, 이동현, 나강인, 조성용, 배만재. 네트워크 분석을 활용한 유통농산물 잔류농약 부적합 현황 분석. 한국식품위생안전성학회지. 2018;33(1):23-30.
19. Mengmeng Zhang, Rong Zhao, Dan Wang, Li Wang, Qing Zhang, Shujun Wei, Feng Lu, Wei Peng, Chumjie Wu. Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) and its bioactive components are potential resources for health beneficial agents. *Phytotherapy Research*. 2020:1-32.
20. Ashima Bhaskar, Anjna Kumari, Mona Singh, Santosh Kumar, Suresh Kumar, Ankita Dabla, Shivam Chaturvedi, Vinod Yadav, Debprasad Chattopadhyay, Ved Prakash Dwivedi. [6]-Gingerol exhibits potent anti-mycobacterial and immunomodulatory activity against tuberculosis. *International Immunopharmacology*. 2020:87:106809.
21. *Zingiber officinale* Roscoe rhizoma extract alleviates neuropathic pain by inhibiting neuroinflammation in mice. *Phytomedicine*. 2020:78:153307.
22. Jose M. Palma, Fatima Teran, Alba Contreras-Ruiz, Marta Rodriguez-Ruiz, Francisco J. Corpa s. Antioxidant profile of pepper (*Capsicum annum* L.) fruits containing diverse levels of capsaicinoids. *Antioxidants*. 2020:9:878.
23. Zhenjuan Chen, Ancheng Wu, Hongmei Jin, Fuhui Liu. β -sitosterol attenuates liver injury in a rat model of chronic alcohol intake. *Archives Pharmacal Research*. 2020, *in press*.
24. Charlotte van Gorp, Ilse H. de Lange, Owen B. Spiller, Grederic Dewez, Berta Cillero Pastor, Ron M. A. Heeren, Lilian Kessels, Nico Kloosterboer, Wim G. van Germert, Michael L. Beetom, Sarah J. Stock, Alan H. Jobe, Matthew S. Payne, Matthew W. Kemp, Luc J. Zimmermann, Boris W. Kramer, Jongchum Plat, Tim G. A. M. Wolfs. Protection of ovine fetal gut against ureaplasma-induced chorioamnionitis: A potential role for plants sterols. *Nutrients*. 2019;11:968.
25. Simin Feng, Zhuqing Dai, Anna B. Liu, Jinbao Huang, Nihal Narsipur, Grace Guo, Bo King, Kenneth Reuhl, Wenyun Lu, Zisheng Luo, Chung S. Yang. Intake of stigmaterol and β -sitosterol alters lipid metabolism and alleviates NAFLD in mice fed a high-fat western-style diet. *Biochimica et Biophysica Acta-Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2018:1863(10):1274-84.
26. Aradhana Das, Suchanda Dey, Rajesh Kumar Sahoo, Saubhagini Sahoo, Enketeswara Subudhi. Antibiofilm and antibacterial activity of essential oil bearing *Zingiber officinale* Rosc. (Ginger) Rhizome against multi-drug resistant isolates. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2019;22(4):1163-71.
27. Michele Camero, Gianvito Lanave, Cristiana Catella, Paolo Capozza, Arturo Gentile, Giuseppe Fracchiolla, Domenico Britti, Vito Martella, Canio Buonavoglia, Maria Tempesta. Virucidal activity of ginger essential oil against caprine alphaherpesvirus-1. *Veterinary Microbiology*. 2019:230:150-5.
28. Fatemeh Shirani, Farzin Khorvash, Arman Arab. Review on selected potential nutritional intervention for treatment and prevention of viral infections: possibility of recommending these for Coronavirus 2019. *International Journal of Food Properties*. 2020:23(1):1722-36.
29. Torres de Lima Rosalia Maria, Antonielly Campinoho dos Reis, Ag-Anne Pereira Melo de Menezes, Jose Victor de Oliveira Santos, Jose Williams Gomes de Oliveira Filho, Jose Roberto de Oliveira Ferreira, Marcus Vinicius Oliveira Barros de Alencar, Ana Maria Oliveira Rerreira

- da Mata, Ishaq N. Khan, Amirul Islam, Shaikh Jamal Uddin, Eunos S. Ali, Muhammad Torequul Islam, Swati Tripathi, Siddhartha Kumar Mishra, Mohammad D. Mubarak, Ana Amelia de Carvalho Melo-Cavalcnate. Protective and therapeutic potential of ginger (*Zingiber officinale*) extract and [6]-gingerol in cancer: A comprehensive review. *Phytotherapy Research*. 2018;32(10):1885-907.
30. Chawalit Chatupjeeraphat, Chanin Nantasenammat, Kamolchanok Deesrisak, Sittiruk Roytraku l, Usanarat Anurathapan, Dalina Tanyong. Bioinformatics and experimental studies of anti-leukemic activity from 6-gingerol demonstrate its role in p53 mediated apoptosis pathway. *Excli Journal* 2020;29:582-95.
31. Peng Xu, Guofeng Zhang, Shuangxing Hou, Long-gui Sha. MAPK8 mediates resistance to temozolomide and apoptosis of glioblastoma cells through MAPK signaling pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018;106:1419-27.
32. Xiu-Fang Huang, Jia-Lin Zhang, Dan-Ping Huang, Ai-Si Huang, Hui-Ting Huang, Qiong Liu, Xiao-Hong Liu, Hui-Li Liao. A network pharmacology strategy to investigate the anti-inflammatory mechanism of luteolin combined with in vitro transcriptomics and proteomics. *International Immunopharmacology*. 2020;86:106727.
33. Line Zurkinden, Dmitri Sviridov, Bruno Vogt, Genevieve Escher. Downregulation of Cyp7A1 by cholic acid and chenodeoxycholic acid in Cyp27A1/ApoE double knockout mice: differential cardiovascular outcome. *Frontiers in Endocrinology*. 2020;11:586980.
34. Wen-jiang Zheng, Qian Yan, Yong-Shi Ni, Shao-feng Zhan, Liu-liu Yang, Hong-fa Zhuang, Xiao-hong Liu, Yong Jiang. Examining the effector mechanisms of Xuebijing injection on COVID-19 based on network pharmacology. *BioData Mining*. 2020;13:17.

