약학회지 제43권 제 1 호 117~123(1999)
Yakhak Hoeji Vol. 43, No. 1

금은화 플라보노이드성분의 항염증작용

문태철 · 박정옥 · 정광원 · 손건호[※] · 김현표[*] · 강삼식[**] · 장현욱[#] · 정규찬[#]
영남대학교 약학대학, [*]안동대학 식품영양학과, [*]강원대학 약학대학, [**]서울대학교 천연물과학연구소
(Received May 24, 1998)

Anti-inflammatory Activity of the Flavonoid Components of Lonicera japonica

Tae Chul Moon, Jeong Ok Park, Kwang Won Chung, Keun Ho Son[※], Hyun Pyo Kim[*], Sam Sik Kang[**], Hyeun Wook Chang[#] and Kyu Charn Chung[#]
College of Pharmacy, Yeungnam University, Korea
[*]Department Food & Nutrition, Andong National University, Korea.,
[*]College of Pharmacy, Kangwan National University, Korea
[**]Natural Products Res. Institute. Seoul National University, Korea

Abstract—Because of the potent effects of lipid mediators such as prostaglandins (PGs), leukotriens (LTs) and platelet activating factor (PAF) on a variety of cells and tissues, they are considered as major contributors to the process leading to inflammation and allergy. To pursue the mechanism of anti-inflammatory activity of *Lonicera japonica*, we tested inhibitory effects of 7 flavonoids from *Lonicera japonica* on arachidonic acid cascade related enzymes, such as inflammmatory phospholipase A_2, cyclooxygenase-1 and 2, 5-lipoxygenase, in bone marrow derived mast cells (BMMC), and lyso PAF- acetyltransferase in rat spleen microsomes. Anti-inflammatory activities of *Lonicera japonica* are thought to be attributed at least in part to the inhibition of arachidonic acid cascade releated enzymes by flavonoids such as apigenin, luteolin and quercetin.

Keywords *Lonicera Japonica*, Flavonoid, Anti-inflammatory drug, Bone marrow derived mast cell, Phospholipase A_2, Cyclooxygenase-1 and 2, Lyso PAF-acetyltranasferase.

금은화(Lonicerae Flos)는 인동과(Caprifoliaceae)에 속하는 인동 덩굴(*Lonicerae japonica* Thunb.)의 꽃으로, 한방이나 민간에서는 이뇨, 건위, 관절염, 화농성 피부염, 기관지염에 사용되고 있다.[1] 금은화의 성분으로는 tannin, inositol, sterol, chlorogenic acid, isochlogenic acid등이 보고되어 있으며 flavonoid 성분으로서는 luteolin, apigenin, luteolin-7-O-rhamnoglucoside, apigenin, quercetin등이 알려져 있다.[3,4] 금은화의 flavnoid 성분은 항염증작용[5,6] 및 항돌연변이작용[7]등이 보고되었으나 아직 그 작용기전에 관한 연구는 미진한 상태에 있다. Flavonoid의 생리활성에 관한 연구는 1936년 Szent-Gyorgyi에 의해 hesperidin, rutin, eriodictin 등이 모세혈관투과율을 저하시킨다고 보고한 것이 그 처음이며 그는 이들에 대해 "vitamin P"라 명명하였다. 그 후 flavonoid의 생리 및 약리활성에 관한 많은 연구가 진행되어 지금까지 알려진 그 대표적인 약리작용으로서는 항염증, 항알러지, 항산화, 간보호, 항균, 항암, 항바이러스 및 혈전형성 억제작용등이 보고되었다. 이렇게 flavonoid가 광범위한 약리작용을 갖는 것은 flavonoid가 효소, 호르몬, DNA 등과 반응하거나 중금속과 착체형성작용이 강해 전자전달이나 free radical의 제거작용이 있고 나아가 각종 효소의 작용을 억제하여 모세혈관투과율을 저하시키기 때문이라

[#] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 053-810-2813 (팩스) 053-811-3871

고 생각되고 있다.[8-10]

Flavonoid는 carrageenin 유발 급성염증모델, mouse ear edema 모델에서 항염증작용이 있다고 김등이 보고하였으며,[5,6] 또한 flavonoid는 비만세포와 호염기구에서의 히스타민유리를 억제작용에 의한 항알러지효과[11,12]뿐만아니라 면역계에 대한 연구도 활발히 진행되고 있다.[13] 이와 같이 flavonoid의 항염증 및 항알러지 작용은 각종 염증관련세포인 비만세포나 혈소판 및 호염기구 등에서 히스타민을 비롯한 각종 염증매개물의 유리억제작용과 아라키돈산 대사산물의 생성을 억제하기 때문이라 사료된다. *Ammi visnaga* 종자로부터 얻은 chromone 구조를 갖는 khellin(dimethoxy methyl furanochrome)의 부작용으로 나타나는 평활근 이완작용을 경감시키기 위하여 개발된 disodium chromoglycate[14]가 항알러지제로 개발된 후, 각종 천연물에서 항알러지제를 분리하려는 노력이 많았다.

최근 장 등은 금은화에서 분리한 ochnaflavone이 염증반응에 직·간접적으로 관여함이 밝혀진 분비성 phospholipase A_2(group II PLA_2)[15,16]에 대한 저해활성을 검토하여 금은화의 항염증활성의 일부가 ochnaflavone에 의한 것이라 보고하였다.[17] 저자등은 금은화의 항염증작용기전을 보다 구체적으로 구명할 목적으로 금은화로부터 분리한 7종의 flavonoid를 아라키돈산 대사계에 관여하는 효소에 대한 영향을 검토하였다

실험방법

실험재료 및 시약

실험재료 – 본 연구에 사용한 생약은 한약 도매시장에서 구입하여 실험재료로 사용하였다.

시약 – Recombinant mouse *c-Kit* ligand(KL), IL-10, IL-1β, aspirin은 Sigma Chemical사(St. Louis, MO), WEHI-3 세포는 일본 Showa 대학 Kudo Ichiro 교수로부터, Lipopolysaccaride(LPS)는 Difco Laboratories사(Detroit, MI), RPMI-1640 배지는 GIBCO BRL사, Fetal bovine serum(FBS)는 Hyclone사, PGD_2, LTC_4 radioimmunoassay(RIA) system은 Amersham사, BCA Protein Assay Reagent는 Pierce사, dimethylsulfoxide(DMSO)는 Merck사에서 구입하여 사용했으며, 그 이외의 모든 시약은 특급품을 사용하였다.

시료의 조제 – 인동으로부터 flavonoid의 추출 및 분리는 음건한 인동의 지상부 2.4 kg을 손등이 보고한 방법[3]으로 분리하였다. MeOH로 6시간씩 3회 연속 추출하여 농축해서 MeOH extract(이하 ext.)를 얻고, 이 MeOH ext.를 증류수에 현탁하고, *n*-hexane, $CHCl_3$, EtOAc 및 *n*-BuOH의 순서로 단계적으로 분획하였다. EtOAc ext.를 silica gel column에 걸어 5종의 flavonoid를, *n*-BuOH ext.를 silica gel column에 걸어 apigenin 및 luteolin 2종의 flavonoid를 분리하여 실험에 사용하였다.

기질의 조제 – 1-acyl-2-[1-^{14}C]linoleoyl-sn-glycero-3-phosphatidylethanolamine는 1-acyl-2-[1-^{14}C] linoleoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholine로부터 PLase D에 의한 base exchane방법[18]에 의해 제조하였으며, [1-^{14}C]linoleic acid 및 1-acyl-2-[1-^{14}C]arachidonyl phosphatidylethanolamine는 Amersham사에서 구입하여 사용하였다.

Phospholipase A_2(PLA_2)활성의 측정

PLA_2는 쥐 심장으로부터 채혈한 후 혈소판을 분리하여 1 M KCl로 가용화하여 분리, 정제하여 효소원으로 사용하였다. PLA_2 활성 측정은 ethanol/toluene(1/1, V/V)중에 녹아있는 1-acyl-2-[1-^{14}C]linoleoyl-*sn*-glycero-3-phosphoethanolamine(1,000 cpm/nmol)을 시험관에 분취한 후, 질소가스로 용매를 휘발시키고 lipid film을 만든 뒤, 일정량의 증류수를 가하여 초음파(Branson 2200, USA) 처리하여 기질로 사용하였다. PLA_2 활성은 100 mM Tris-HCl(pH 9.0), 6 mM $CaCl_2$, 기질 20 nmol 및 효소 (10 ng) 및 천연물 추출액 25 μg/m*l*를 함유한 반응액을 37℃로, 지정된 시간동안 반응시킨 후, 생성된 [^{14}C]유리지방산을 Dole등의 방법[19]에 따라 추출하여 liquid scintillation counter로 측정하여 PLA_2 활성으로 환산하였다.

Bone marrow derived mast cell(BMMC)의 조제

Murakami등의 방법[20]으로 웅성 BALB/cJ mice로부터 채취한 골수세포는 50% enriched medium (RPMI 1640 100 units/m*l* penicillin, 100 mg/m*l* streptomycin, 10 mg/m*l* gentamycin, 2 mM L-glutamine, 0.1 mM nonessential amino acids, 10% fetal bovine serum)과 IL-3의 공급원으로 50% WEHI-3 세포 배양액을 사용하여 배양하면 약 4주후

98% 이상의 BMMC를 얻을 수 있었다.

COX-1 및 COX-2 활성의 측정[21]

BMMC를 1×10^6 cells/m*l* 농도로 하여 자극제로는 100 ng/m*l* *c-kit* ligand(KL), 100 U/m*l* IL-10, 5 ng/m*l* IL-1β, 100 ng/m*l* LPS를 처리하였으며, 천연물 추출액은 2.5 μg/m*l*농도로 하여 37°C 5% CO_2 조건내에서 2시간 또는 8시간 동안 각각 배양후 PGD_2의 생성량을 측정하여 COX-1 및 COX-2활성으로 판정하였다. 이때 COX-2의 효소활성은 미리 10 μg/m*l* aspirin을 2시간 처리하여 COX-1을 불활성화 시킨후 실험을 행하였다. 반응이 끝난후 120×g, 4°C에서 5분간 원심분리한 후 상층액을 PGD_2 생성량의 측정에 이용하였다. PGD_2는 PGD_2 assay kit(Amersham, Buckinghamshire, UK)를 사용하여 측정하였다.

LTC_4생성의 측정[22]

상기의 방법으로 조제한 BMMC를 1×10^6 cells/m*l* 농도로 하여 100 ng/m*l* KL 및 flavonoid 2.5 μg/m*l*의 혼합조건에서 37°C 5% CO_2 조건에서 30분 동안 배양하였다. 반응은 120×g, 4°C에서 5분간 원심분리하여 종결시킨후, 그 상층액으로 LTC_4 생성량을 측정하였다. LTC_4는 LTC_4 assay kit(Amersham, Buckinghamshire, UK)를 사용하여 측정한 후 5-LO 활성으로 판정하였다.

Rat spleen microsome 분리

Rat 비장 1~2 g에 4배 부피 완충액(20 mM Tris, 0.25 M sucrose, 5 mM 2-ME, 1 mM DTT : pH 7.8)를 넣어 4°C에서 homogenization한 후 4°C, 10,000 rpm에서 10분간 원심분리해서 얻은 상층을 다시 4°C, 100,000 g에서 1시간 다시 원심분리하였다. 이때얻어진 침전에 상기의 완충액 500 μ*l*넣어서 부드럽게 혼합한 다음 초음파로 처리한(10초씩 5회) 후 단백질정량을 하였다.

Lyso PAF-acetyltransferase 활성의 측정

Lyso PAF-acetyltransferase 활성측정은[23] sodium acetate 용매에 녹인 [^{3}H] acetyl-CoA(34,400 dpm, 0.588 μM)를 시험관내에 분취하고 증류수를 가하여 혼합한 후 기질로 사용하였다. 반응액은 10 mM DTT, 0.25 M NaF, 1 M Tris-HCl(pH 6.9), 효소(rat spleen microsome, 최종농도 0.34 mg/m*l*), 저해제 2.5 μg로 총량 250 μ*l*으로 37°C 5분간 preincubation한 후 [^{3}H] acetyl-CoA 50 μ*l*와 0.4 mM Lyso PAF/0.25% BSA 10 μ*l*를 넣고 37°C, 15분간 반응시킨 다음 0.05% BSA 20 μ*l*, 30% TCA 80 μ*l* 넣고 혼합하고 13,000 rpm에서 원심분리하여 상층을 제거하고 생성된 [^{3}H] PAF을 liquid scintillation counter로 측정하였다.

결과 및 고찰

현재 항염증제의 연구는 국내에서는 아직 활성화되지 못한 반면, 국외에서는 활발한 연구에 이어 신약으로 개발하고 있다. 국내에서 수행됐거나 현재 수행중인 이 분야의 연구는 주로 비스테로이드성 항염제증제(Nonsteroidal anti-inflammatory drug, NSAID)의 개발이 유기 합성을 통하여 진행중이거나, 천연물을 대상으로 연구가 진행되고 있다. 현재 개발되고 있는 항염증제의 예를 보면, 영국의 Blake group이 발견한 nitric oxide(NO)기전에 의한 NO 생합성저해제, 또는 cyclooxygenase-1 및 2 저해제(COX-1, 2) 또는 leukotriene (LT) 생합성저해제 뿐만 아니라, LT 수용체 저해제를 비롯하여, 최근에는 5-lipoxygenase activating protein(FLAP) 저해제 및 5-LO저해제, PLA_2 저해제, PAF 길항제, 염증성 cytokine인 interleukin-1, 6, 8등의 수용체 저해제 등을 들수 있다.

한편 PG생산에 있어서 arachidonic acid(AA)에 처음으로 작용하여 PGG_2로 변환시키는 효소를 cyclooxygenase(COX)라 하며 PGG_2는 동일 단백질상에 있는 PG hydroperoxidase에 의해 PGH_2로 변환된다. 최근 종래의 막구성형 COX-1에 대하여 cytokine등의 자극에 의해 유도되는 새로운 효소인 COX-2가 발견되어, COX는 적어도 두종류의 isozyme이 존재함이 밝혀졌다. COX-1이 위 나 신장을 비롯한 여러조직에 발현되어 있는 반면 COX-2는 염증성 자극에 의해 단시간에 유도되는 발현현상을 나타내어 두효소가 다른이 효소임이 알려졌다.[24] 따라서 COX-1에 영향이 없으면서 COX-2에 특이적으로 저해하는 약의 개발은 부작용이 없는 새로운 NSAID로 될수 있다는 기대감으로 최근 활발이 연구되어 일본에서 NS-398이 개발되었으며,[25] 지금도 세계적으로 COX-2에 선택적으로 작용하는 약제의 개발은 주로 NS-398, L-745,337와 같은 methansulfonamide계

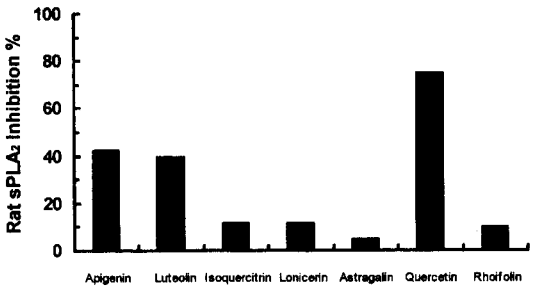

Fig. 1 — Effects of flavonoids on rat group II phospholipase A_2 activity. Rat platelet phospholipase A_2 was incubated in the presence of 25 μg/*ml* various flavonoids. The procedure is described in Material and Methods in datail. Each value is the mean of duplicate determinations.

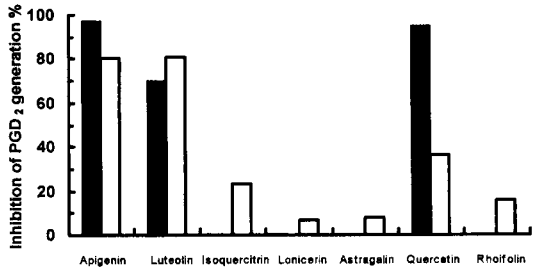

Fig. 2 — Effects of various flavonoids on cyclooxygenase-1 (■) and cyclooxygenase-2 (□) in BMMC. BMMC were cultured for 8 h with combination of 100 ng/*ml* KL, 100 U/*ml* IL-10 and 100 ng/*ml* LPS in the presence or absence of 2.5 μg/*ml* flavonoids. To assess only delayed phase of the PGD_2 generation by COX-2, the cells were pretreated for 2h with 10 μg/*ml* aspirin, which abrogates the immediate phase of PGD_2 generation by COX-1. To assess immediate phase of the PGD_2 generation by COX-1, BMMC were cultured for 2 h with the same stimulants in the presence or absence of 2.5 μg/*ml* flavonoids. Then the supernatants were taken for PGD_2 radioimmunoassay. Each value is the mean of duplicate determinations.

열, Dup-697와 같은 methansulfone계열, 기타로서 etodolac, oxaprozin, BF-389등과 같은 화합물들이 개발되었다.[26] 이러한 배경으로 저자등은 금은화의 항염증작용을 염증반응의 화학매개체(chemical mediator)로 작용하는 PGs, LTs, PAF등의 생합성에 관여하는 아라키돈산대사계에 관여하는 효소인 PLA_2, COX-1, 2, 5-lipoxygenase(5-LO) 및 lyso PAF-acetyltransferase에 미치는 영향을 검토하게 되었다.

염증반응에 직·간접적으로 관여함이 밝혀진 랫트 $sPLA_2$(Group IIA)[15,16]를 사용해서 인동으로부터 분리한 flavonoid[3]를 사용하여 저해활성을 검토한 결과, 가장 강한 저해활성을 나타낸 성분은 quercetin이었으며, 용량을 증가시키면서 반응시켰을 때 최종농도 1.6 μg/*ml*에서부터 41%까지 저해했으며 최종농도 25 μg/*ml*에서는 80%까지 저해활성을 나타내었다(Fig. 1). 그러나 quercetin의 저해활성은 저자등이 이미 보고한 ochnaflavone에 비하여서는 약함을 알 수 있었다.[17]

최근 IL-3 존재하에서 배양한 생쥐골수유래비만세포(BMMC)는 IL-10, IL-1β의 혼합조건에서 *c-kit* ligand(KL), lipopolysaccharide(LPS) 또는 FcεRI 교차에 의하여 활성화되면 COX-2의 발현과 함께 PGD_2의 생성 및 5-LO의 유도로 인한 LTC_4생성, 내재성 사이토카인의 발현 등이 유도된다고 보고되었다.[20-22] 특히, 아라키돈산대사계의 대사산물이나 사이토카인의 장시간의 점진적인 생산, 유리는 기관지천식이나, 아토피성 피부염과 같은 만성적인 알러지환자의 상태를 반영하는 것이기 때문에, 최근에는 비만세포 활성화시의 변화와 분자기전에 대한 관심이 높아지고 있다. BMMC는 *in vitro*에서 쉽게 배양될 수 있다는 사실과 동시에 여러 사이토카인에 대해 반응성을 가지며, 결합조직형, 점막형 비만세포로의 분화 이전 미성숙 단계 세포라는점 등에서 비만세포의 병태생리학적 측면을 연구하는데 좋은 재료가 될 수 있으며 저자등은 이미 이러한 방법으로 천연물로부터 COX-2저해제를 검색하여 보고한 바 있다.[27] 따라서 본 연구에서도 이와같은 실험을 바탕으로 BMMC에 자극제와 함께 인동의 flavonoid성분을 처리한후 생성되는 PGD_2량으로 COX-1 및 COX-2의 활성으로 판정하였다. 그 결과 COX-1은 2.5 μg/*ml*의 농도에서 apigenin, quercetin은 90%, luteolin은 72%정도 억제되었지만 isoquercitrin, lonicerin, astragalin, rhoifolin은 COX-1의 활성을 전혀 저해하지 않았다. 동일한 방법으로 COX-2에 대한 저해능을 검토하였다. Luteolin은 80.9%, apigenin은 79.7%, quercetin은 33.7% isoquercitrin은 23%, rhoifolin은 12.7%, astragalin은 5.3%, lonicerin은 5.1% 저해시켰다(Fig. 2). 이들중 강한 저해활성을 나타낸 apigenin과 luteolin의 용량의존성을 검토한결과 COX-1과 COX-2의 IC_{50}값은 각각 0.5 μg/*ml*, 0.9 μg/*ml*임을 알 수 있었다. 이상의 결과에서 apigenin과 luteolin는 COX-1 및 2에 모두 강한 저해능을 보였으나, 두 효소에 대한 특이성을 나타내지 않음을 알수있었다(Fig. 3). 한편, apigenin과 lu-

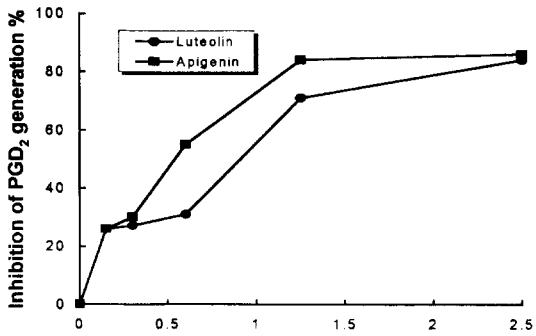

Fig. 3 — Concentration-dependent inhibition of cyclooxygense-2 by flavonoids. BMMC were incubated in the presence of indicated concentration of apigenin (■) and luteolin (●). The procedure is described in Fig. 2. Each value is the mean of duplicate determinations.

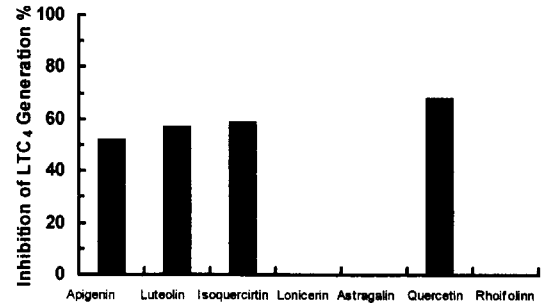

Fig. 4 — Effects of flavonoids on LTC4 generation in BMMC. BMMC were cultured for 30 min with 100 ng/m*l* KL in the presence or absence of 2.5 μg/m*l* flavonoids. Then the supernatants were taken for LTC4 radioimmunoassay. Each value is the mean of duplicate determinations.

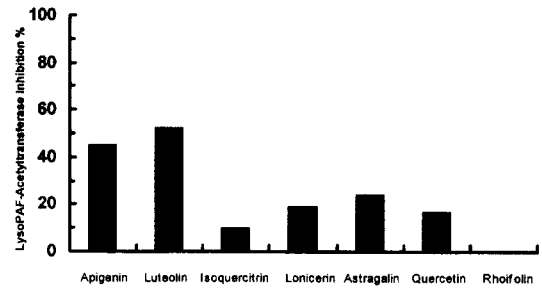

Fig. 5 — Effects of flavonoids on lysoPAF acetyltransferase in rat spleen microsomes. Rat spleen microsomes were incubated with 10 μg/m*l* flavonoids and the acetyltransferase activities were determined as described in the Material and Methods. Each value is the mean of duplicate determinations.

teolin은 단백질발현에는 전혀 영향이 없는 것으로 보아 (data not shown) 효소에 직접적으로 작용함이 시사되었다. PGD_2의 생성억제는 $cPLA_2$나 $sPLA_2$의 저해작용으로 이한 결과를 반영함을 배제할수없다. 본 실험에서 사용한 flavonoid의 최종농도 25 μg/m*l*에서도 80%정도 PLA_2저해활성을 나타내었으나, COX-1에 의한 PGD_2의 생성은 2.5 μg/m*l*의 농도에서 apigenin, quercetin은 90%, luteolin은 72%정도 억제되었지만 COX-2에 대한 저해능은 luteolin은 80.9%, apigenin은 79.7%, quercetin은 33.7%로 저해 활성을 나타내었다. 이와같은 결과는 flavonoid에 의한 PGD_2생성의 억제작용기전은 일부는 PLA_2의 저해작용에 의한 결과라고 생각된다. 다음 BMMC 세포에 *c-kit* ligand(KL)를 처리하면 비만세포중의 5-LO에 의하여 30분이내에 LTC_4가 최대로 생성되므로[22] 인동의 flavonoid성분을 처리하여 LTC_4 생성량으로 5-LO저해능으로 판정하였다. 그 결과 quercetin은 60%, 인동의 isoqercitrin 및 luteolin은 58% 정도 저해하지만, 동일한 농도에서 COX-1 및 2에 대한 저해활성 보다는 약함을 알수 있었다. 그러나 rhoifolin, astragalin, lonicerin은 아무 영향이 없었다(Fig. 4).

한편 PAF(혈소판활성화인자)는 염증, 알러지 및 폐혈증등의 질환을 유발하는 지질성 매개체로서 잘 알려져 있다. PAF 생합성의 율속효소로 알려진 lyso PAF-acetyltransferase에 대한 저해능을 조사한 결과 luteolin은 51.4%, apigenin은 41.8%, astragalin은 28%, lonicerin은 19.2%, quercetin은 17%, isoquercitrin은 10.9% 저해시켰지만 rhoifolin은 아무런 영향을 주지 않았다. 따라서 금은화 flavonoid는 PAF의 생합성에도 영향이 있음을 알 수 있었다(Fig. 5).

지금까지의 실험결과에서 금은화의 항염증작용은 적어도 그 일부가 금은화의 flavonoid성분에 기인함이 시사되었으며, 이들 성분중 특히 apigenin, luteolin, quercetin 등에 의한다고 사료되며 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 염증성 phospholipase A_2에 대한 강한 저해활성을 나타내는 성분: quercetin

2. BMMC중의 COX활성에 대한 저해활성

COX-1 강한 저해활성을 나타내는 성분: apigenin, luteolin, quercetin

COX-2 강한 저해활성을 나타내는 성분: apigenin,

luteolin

3. BMMC중의 5-LO에 대한 강한 저해활성을 나타내는 성분: quercetin, isoquercitrin, luteolin

4. Lyso PAF-acetyltransfersase 강한 저해활성을 나타내는 성분: luteolin, apigenin

이상에서 금은화의 항염증작용중 적어도 일부는 금은화 flavonoid 성분중 apigenin, luteolin, quercetin에 의한 아라키돈산대사계의 효소계에 대한 저해활성에 기인함이 시사 되었다. 또한 apigenin의 7번위치에 당이 결합한 rhoifolin, luteolin의 7번위치에 당이 결합한 lonicerin에서 생리활성이 거의 없는 것으로 보아, 7번위치의 유리 hyroxyl기가 생리활성 발현에 중요하다고 사료된다.

감사의 말씀

본 연구는 1998년도 영남대학교 자유공모과제 와 영남대학교 후원 및 장학회의 연구비로 수행되었기에 이에 감사를 드립니다.

문 헌

1) Shougakukan : *The Dictionary of Chines Drugs*. Vol. III, Shanghai Science and Technologic Publisher and Shougakukan, Tokyo, p. 2027 (1985).
2) Wong, L. and Yee, L. : Studies on the components of the flowers of *Lonicera Japonica* Thumb. and their antibacterial activities. *Hsiang-Kang Ch' in Hui Hsueh Yuan Hsueh Pao* **8**, 115 (1981).
3) Son, K. H., Park, J. O., Chung, K. C., Chang, H. W., Kim, H. P., Kim, J. S. and Kang, S. S. : Flavonoids from aerial parts of *Lonicera Japonica*. *Arch. Pharm. Res*. **15**, 365 (1992).
4) Son, K. H., Kim, J. S. Kang, S. S., Kim, H. P. and Chang, H. W. : Isolation of flavonoids from *Lonicera Japonica*. *Korean J. Pharmacog*. **25**, 24 (1994).
5) Lee, S. J., Son, K. H., Chang, H. W., Do, J. C., Jung, K. Y., Kang, S. S. and Kim, H. P. : Antiinflammatory avtivity of naturally occurring flavone and flavonol glycosides. *Arch. Pharm. Res*. **16**, 25 (1993).
6) Kim, H. P., Son, K. H., Kim, J. S. and Kang, S. S. : Flavonoids: potential anti-inflammatory agents. *Natural Products Sci*. **2**, 1 (1996).
7) Chung, K. C., Kwon, D. Y., Baek, S. H., Kim, S. H. and Chang, H. W. : Effects of *Lonicera japonica* Flo's ethylacetate fraction on mutagenecity. *Yakhak Hoeji* **32** 328 (1998).
8) Elliott, M, Jr. and Kandaswami, C. : The impact of plant flavonoids on mammalian biology p. 618 (1993).
9) Elliott, M, Jr. : Effects of flavonoids and transitional metal cations on antigen-induced histamine release from human basophils. *Biochem. Pharmacol*. **31**. 1449 (1982).
10) Havsten, B. : Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem. Pharmacol*. **32**. 1141 (1983).
11) Elliott, M, Jr. and Drzewieki, G. : Flavonoids inhibit of human basophil histamine release stimulated by various agents. *Biochem. Pharmacol*. **33**. 3333 (1984).
12) Kubo, M., Matsuda, M., kimura, Y., Okuda, H. and Arichi, S. : Scutellariae Radix. X. Inhibitory effects of various flavonoids on histamine release from rat peritoneal mast cells *in vitro*. *Chem. Pharm. Bull*. **32**, 5051 (1984).
13) Elliott, M, Jr. and Kandaswami, C. : Effects of flavonoids on immune and inflammatory cells functions. *Biochem. Pharmacol*. **43**. 1167 (1990).
14) Theoharides, T. C., Sieghart, W., Grengard, P. and Doughlas, W. W. : Antiallergic drug cromolyn may inhibit histamine secretion by regulatory phospholylation of a mast cell protein. *Nature*, **207**, 80 (1980).
15) Chang, H. W., Kudo, I., Hara, S. and Inoue, K. : Extracellular phospholipase A_2 activity in peritoneal cavity of casein-treated rats. *J. Biochem*., **100**, 1099 (1986).
16) Hara, S., Kudo, I., Chang, H. W. and Inoue, K. : Purification and characterization of extracellular phospholipase A_2 from human synivial fluid in rheumatoid arthritis., *J. Biochem*., **105**, 395 (1989).
17) Chang, H. W., Baek, S. H., Chung, K. W., Son, K. H., Kim, H. P. and Kang, S. S. : Inactivation of phospholipase A_2 by naturally occuring biflavonoid, ochnaflavone., *Biochem. Biophys. Res.*

Commun., **205**, 843 (1994).

18) Arai, H., Inoue, K., Nishikawa, K., Banno, Y. and Nojima, S. : Properities of acid phospholipase in lysosome and extracellular medium of Tetrahymena pyriformis. *J. Biochem.*, **99**, 125 (1986).

19) Dole, V. P. and Meinertz, H. : Microdetermination of long-chain fatty acids in plasma and tissue., *J. Biol. Chem.* **235**, 2595 (1960).

20) Murakami, M., Matsumoto, R., Urade, Y., Austen, K. F. and Arm, J. P. : c-Kit ligand mediates increased expression of cytosolic phopholipase A_2, prostaglandin endoperoxide synthase-1, and hematopoietic prostaglandin D_2 synthesis and increased IgE-dependent prostaglandin D_2 generation in immature mouse mast cells., *J. Biological Chem.*, **270**, 3239 (1995).

21) Moon, T. C, Murakam, M, Kudo, I. and Chang, H. W. : Diverse Regulation of Cyclooxygenase and Endogenous Cytokine Expression by Bacterial Lipopolysaccharide That Acts in Synergy with Several Exogenous Cytokine and Fcε Receptor Crosslinking in Cultured Mast Cell. *Cellular Immunol.*., **185** (1998).

22) Murakami, M., Austen, K. F. and Arm, J. P. : The immune phase of c-kit ligand stimulation of mouse bone marrow-derived mast cell elicits rapid leukotriene C_4 generation through post-translational activation of cytosolic phospholipase A_2 and 5-lipoxygenase., *J. Exp. Med.* **182**, 197 (1995)

23) Yanoshita, R., Chang, H. W., Son, K. H., Kudo, I. and Samejima, Y. : Inhibition of lyso-PAF acetyltransferase activity by flavonoids., *Inflam. Res.*, **45**, 546 (1996).

24) DeWitt, D. and Smith, W. L. : Yes, but do they still headaches., *Cell* **83**, 345 (1995).

25) Futaki, N., Takahashi, S., Yokoyama, M., Arai, I., Higuchi, S. and Otomo, S. : NS-398, a new antiinflammatory agent, selectively inhibits prostaglandin G/H synthase cyclooxygenase-2 (COX-2) activity *in vitro*,. *VEAOL.* **47**, 55 (1994).

26) Griswold, D. E. and Adams, J. : Constitutive cyclooxygense (COX-1) and inducible cyclooxygenase (COX-2): rationale for selective inhibition and progress to date. *Med. Res. Rev.* **2**, 181 (1996).

27) Moon, T. C., Chung, K. C., Son, K. H., Kim, H. P., Kang, S. S. and Chang, H. W. : Screening of cyclooxygenase-2 inhibitors from natural products, *Yakhak Hoeji* **42**, 214 (1998).