

RAW264.7 대식세포에서 풀송대 추출물의 nitric oxide 및 prostaglandin E₂ 생성 저해효과

남정환 · 서종택 · 김울호 · 김기덕 · 유동림 · 이종남 · 홍수영 · 김수정 · 손황배 · 김현삼 · 김보성 · 이경태 · 박희준

Inhibitory effects of extracts from *Smilacina japonica* on lipopolysaccharide induced nitric oxide and prostaglandin E₂ production in RAW264.7 macrophages

Jung-Hwan Nam · Jong-Taek Seo · Yul-Ho Kim · Ki-Deog Kim · Dong-Lim Yoo · Jong-Nam Lee · Su-Young Hong · Su-Jeong Kim · Hwang-Bae Sohn · Hyun-Sam Kim · Bo-Sung Kim · Kyung-Tea Lee · Hee-Jhun Park

Received: 22 September 2014 / Revised: 25 September 2014 / Accepted: 20 October 2014
© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract *Smilacina japonica* is a localized common rhizomatous flowering plant, This plant is often used in Korean traditional systems of medicine as a remedy for migrain, diplegia, physical impurity, blood circulation, abscess and contusion. Generally drugs that are used for arthritis have antinociceptive and anti-inflammatory properties. However, validity of the anti-inflammatory activity has not been scientifically investigated so far. Therefore, the aim of this study was to investigate the anti-inflammatory potential of *S. japonica* using the ethanolic extract and its sub-fractions. To evaluate the anti-inflammatory effects, we examined the inflammatory mediators such as nitric oxide (NO) and prostaglandin E₂ (PGE₂) on RAW 264.7 macrophages. Our results indicated that hexane fraction significantly inhibited the LPS induced NO and PGE₂

production in the cells. The hexane fractions inhibitory activity for NO tests with IC₅₀ values showed in 53.3 μg/ml and PGE₂ tests with IC₅₀ values showed at 32.5 μg/ml. Theseis result suggest a potential role of hexane fraction from *S. japonica* as source of anti-inflammatory agent.

Keywords *Smilacina japonica*, Anti-inflammatory effect, Nitric oxide(NO), Prostaglandin E₂(PGE₂), RAW 264.7 cells

서론

염증반응은 외부로부터 물리·화학적 자극, 세균, 박테리아 또는 바이러스 같은 유해물질이 체내로 유입되는 경우, 체내 면역세포가 이를 감지하여 다양한 염증매개 물질들을 분비함으로써 손상된 조직을 수복 및 재생하려는 신체보호 기전 중 하나이다. 그러나 이와 같은 염증반응이 멈추지 않고 지속적으로 일어날 때는 염증매개 물질이 과도하게 분비되어 암세포의 성장을 촉진시키고, 인슐린 저항성을 증가시키며 동맥경화를 악화시키는 등 다양한 질병의 매개체로서 중요한 역할을 한다고 보고되고 있다(Nishida et al. 2007; Cheon et al. 2009). 염증반응에 관여하는 주요 세포는 macrophage (대식세포)로 알려져 있으며, 여러 자극이나 면역세포들이 분비하는 사이토카인 등에 의해 활성화되어, 염증성 사이토카인, nitric oxide (NO)와 prostaglandinE₂ (PGE₂)를 생성함으로써 통증, 부종, 기능장애, 흥반 및 발열 등의 염증반응을 유발하고, 염증

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
농촌진흥청, 국립식량과학원, 고령지농업연구센터
(Highland Agriculture Research Center, National Institute of Crop Science, RDA, Pyeongchang 232-955, South Korea)
e-mail: conplab@korea.kr

K.-T. Lee
경희대학교, 약학대학, 약학과
(Dept. of pharmaceutical, College of Pharmacy, Kyung-Hee University, Seoul 130-701, South Korea)

H.-J. Park
상지대학교, 보건대학, 제약공학과
(Dept. of Pharmaceutical Engineering, College of Health Sciences, Sang-ji University, Wonju 220-702, South Korea)

유발부위로 면역세포의 이동을 활성화시킨다(Kim et al. 2012). 이 중 NO는 반응성이 높은 물질로 NO synthase (NOS)에 의해 L-arginine으로부터 생성되며 NOS는 항시적인 NOS와 유도성의 NOS (iNOS)로 나누어진다. 특히 iNOS는 외부자극이나 염증성 사이토카인 등에 의해 자극을 받게 되면 hepatocytes, smooth muscle cells, bone marrow cells, monocytes, macrophages 등 다양한 세포에서 발현되어 다량의 NO를 생산한다고 보고되고 있다. 즉, iNOS와 COX-2의 발현과 NO, PGE₂의 생성은 면역세포의 대표적인 염증유발인자이다. 한편, 염증반응을 유발하는 또 다른 원인 중 하나는 신체내에서 발생하는 산화적 스트레스인데 특히 흡연이나 음주, 고지방식으로 인한 비만 등은 체내 산화적 스트레스를 증가시켜 염증반응을 유발함으로써 급·만성 염증질환을 일으킨다고 알려져 있다. 따라서 항산화 효과가 뛰어난 성분의 섭취에 의해 산화적 스트레스가 감소되어 염증반응이 저해된다고 보고되고 있다(Uttara et al. 2000; Bak et al. 2009).

본 연구에서 사용된 풀솜대(*Smilacina japonica*)는 백합목 백합과 식물로서 우리나라 전국 각지 산사 복사면에 자라는 다년생 초본이다. 생육환경은 반그늘지고 부엽질 성분이 많은 토양에서 잘 자란다. 키는 20~50 cm이고, 잎은 길이 6~15 cm, 폭 2~5 cm로서 줄기를 따라 두 줄로 나 호생하며, 장타원형으로 짧은 엽병이 있으며 뒷면 맥위에 털이 많다. 꽃은 백색으로 원줄기 끝에 작은 꽃들이 뭉쳐 하나의 꽃을 이루며 5~7월에 핀다. 열매는 장과로 둥글고 9월경에 적색으로 익는다. 잎이 지상부로 올라오면 얼핏 보기에는 둥글레와 많이 닮아 보이지만 잎의 크기와 줄기를 보면 확연히 다른 것을 볼 수 있다. 풀솜대는 지장보살, 솜죽대, 솜때, 왕솜대 그리고 큰솜죽대 등의 이명으로 불리우며 주로 관상용으로 쓰인다(Yoo et al. 2000). 민간에서는 이른 봄에 어린순을 식용으로 하며 한방에서는 뿌리를 녹약(鹿藥)이라 하여 진통, 사지마비, 생리불순, 활혈, 종기 및 타박상 치료제로도 사용한다(Park et al. 2004; Kim et al. 2014).

최근 한국인들은 서구화된 식생활 변화로 각종 성인병 및 만성퇴행성 질환에 쉽게 노출되어있기에 건강 기능성 식품에 대한 요구가 증대되고 있는 것이 현실이다(Cho et al. 2014). 다양한 식물자원에 함유되어 있는 천연성분들을 기능성 소재로 활용하기 위한 연구가 시도되고 있어 관상용만으로 사용하던 다양한 원예식물의 생리 활성 성분을 분석하여 다방면으로 활용할 필요가 있다(Hwang et al. 2010; Lee et al. 2014). 기존에 보고된 풀솜대에 관한 보고는 분류학적인 연구(Yoo et al. 2000)가 대표적인 연구결과로서 생리 활성에 관한 연구가 절실히 요구되고 있다.

현재 국내 및 외적으로 천연물로부터 기능성 성분의 소재를 발굴하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있으나, 풀솜대의 생리활성에 관한 연구는 아직까지 미진한 편이

며, 따라서 본 연구자들은 lipopolysaccharide (LPS)로 염증반응이 유도된 RAW 264.7 대식세포에 풀솜대 추출·분획물을 처리하여, 항염증 활성(NO, PGE₂) 효과를 평가 후 기능성 소재로서의 가능성을 제시하고자 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에서 사용한 풀솜대는 2013년 7월 강원도 양구군 동면 일대에서 자생하는 전초를 채집하여 상지대학교 제약공학과 박희준 교수에 의뢰하여 감정을 받고 건조한 후 세절하여 사용하였고, 표본은 고령지농업연구센터 유기분석실험실(표본 번호 NIHA-자 02)에 보관되어 있다.

추출물 제조 및 용매 분획

건조중량 약 1.8 kg의 세절한 풀솜대를 6개월간 ethanol (EtOH) 용매로 상온 냉침 하였다. 추출액을 수욕상에서 추출 후 회전식 진공농축기(Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)를 이용 감압 농축하여 에탄올 추출물 10.2g을 얻었으며 이를 증류수 0.5리터에 현탁한 후 Hexane (1 L×3), chloroform (1 L×3) ethylacetate (1 L×3), n-buthanol (1 L×3)로 용출하여 각각의 분획물을 진공농축 후 수득·평량 한 결과는 Table 1과 같다.

세포의 배양

RAW264.7세포를 10% FBS 및 penicillin (100 µg/ml), streptomycin (100 U/ml)이 포함된 Dulbecco's modified Eagle's medium (Gibco, Co.,USA) 배지에서 37°C, 5% CO₂조건을 유지하여 배양하였다. RAW 264.7세포에 시료 용액의 여러 농도(10, 20, 40µM)를 1시간 전 처리한 후 LPS를 처리하고 24시간 배양하였다.

Table 1 The yield of *Smilacina japonica* extractions (g)

Sample	Yield
Ethanol extract	10.2
Hexane fraction	1.2
Chloroform fraction	0.7
Ethylacetate fraction	1.4
n-buthanol fraction	0.8

MTT assay에 의한 세포독성시험

세포의 독성 정도를 확인하기 위하여 MTT (Sigma Chemical Co., USA) 시험법으로 측정하였다. 96 well plate (Falcon T.M., USA)에 1×10^5 cells/ml로 세포를 동일하게 분주하여 24시간 배양 후 배지를 제거하였다. PBS (Bioneer Co., Korea) 완충용액으로 세척한 후 각각의 well에 H₂O₂ (BBC Biochemical, USA) 100 µl 및 여러 농도의 시료 100 µl를 첨가하여 45분간 배양한 후 상등액을 제거하고 PBS 완충용액으로 2번 세척한 후 배지 200 µl를 주입하여 다시 24시간 배양하였다. 배양액 속에 5 mg/ml MTT 시약 50µl을 가하여 4시간 배양 후 상등액을 제거하고 DMSO (Sigma Chemical Co., USA) 100 µl를 첨가한 후 540 nm에서 ELISA microplate reader (Bio-Tek Instruments Co., USA)로 흡광도를 측정하여 생존율을 계산하였다.

Nitric oxide (NO) 양의 측정

Griess reagent [1% (w/v) sulfanilamide in 5%(v/v) phosphoric acid 와 0.1% (w/v) naphthylethylenediamine-HCl]를 이용하여 RAW 264.7 세포로부터 생성된 NO의 양을 세포 배양액 중에 존재하는 NO₂의 형태로 측정하였다. Griess reagent 를 100 µl씩 혼합하여 96 well plate에서 10분 동안 반응시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

PGE₂ 양의 측정

Sample을 처리한 세포 및 대조군의 세포 배양액을 취해 assay design kit (Amersham pharmacia Biotech Co., USA)의 지시에 따라 PGE₂ 양을 정량하였다. RAW 264.7세포를 1×10^5 cells/ml 농도로 24 well plate에 분주하고 시료를 농도별로 처리하여 24시간 배양한 후, LPS (100 ng/ml)를 첨가하여 다시 24시간 배양시켜 세포배양 상등액을 이용하여 실험하였다. Ellman's reagent를 200 µl 첨가하여 60 ~ 90분 동안 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계처리

실험치의 값은 3번의 독립된 실험을 시행하여 mean ± S.D.로 나타냈으며 분석은 Student's t-test로 유의성을 나타내었다. Student's t-test란 정규 모집단(normal population)에 대하여, 평균치가 특정의 값 µ0와 같다고 하는 가설 H0를 검정하는 방법이다(표준 편차 δ가 미지일 경우).

결과 및 고찰

RAW 264.7 대식세포에서의 세포독성 효과

풀솜대 추출·분획물의 항염증 효과를 규명하기에 앞서 RAW264.7세포에 독성을 통한 염증 매개 물질의 저해효과 가능성을 배제하는, 즉 독성이 없는 최적 용량을 설정하기 위하여 MTT assay를 실시하였다. Viability가 80%가 넘는 농도가 최적 용량이라고 판단하였고 Table 2에서 볼 수 있듯이 풀솜대의 hexane 분획물이 50 µg/ml이상 에서 IC₈₀ 값을 가졌으며, 다른 추출물 및 분획물들은 100 µg/ml의 농도에서도 독성을 나타내지 않는 것으로 확인되었다.

RAW 264.7 대식세포에서 Nitric oxide 생성 저해효과

MTT assay 수행 결과 세포독성을 나타내지 않는 농도에서 LPS에 의해 활성화된 RAW264.7세포의 배양액 중에 생성된 NO의 양을 Griess reagent를 이용하여 측정하였다. Table 3과 Figure 1에서 볼 수 있듯이 Positive control인 NIL (N6-(1-iminoethy- 1)-L-lysine, dihydrochloride : NO 생성 억제제)에 비하여 높은 효과를 나타내는 것은 풀솜대 hexane

Table 2 Cytotoxicity of extract and various fractions from *Smilacina japonica*

Sample	IC ₈₀ (µg/ml)
	<i>Smilacina japonica</i>
Ethanol extract	>100
Hexane fraction	>50
Chloroform fraction	>100
Ethylacetate fraction	>100
<i>n</i> -buthanol fraction	>100

*IC₈₀ value represent the mean of three independent experiments and were defined as the drug concentration which resulted in a 80% decrease in cell number as compared with the control cultures in the absence of inhibitor.

Table 3 The effects of various fractions from *Smilacina japonica* on LPS-induced NO production

Sample	IC ₅₀ (µg/ml)
	<i>Smilacina japonica</i>
Hexane fraction	>50.0
Chloroform fraction	53.3
Ethylacetate fraction	>100
<i>n</i> -buthanol fraction	>100

*IC₅₀ value represent the mean of three independent experiments and were defined as the drug concentration which resulted in a 50% decrease in cell number as compared with the control cultures in the absence of inhibitor.

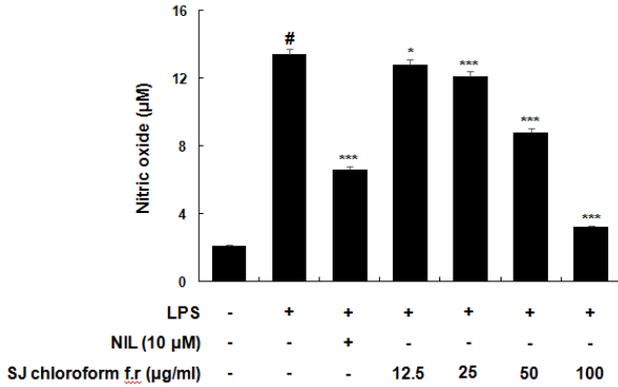


Fig. 1 Comparative study on LPS-induced NO production of chloroform fractions from *Smilacina japonica* and NIL (positive control). The values are the mean ± S.D. of three independent experiments. **p < 0.01 ***p < 0.001 vs. the LPS-treated group; the significances of the difference between the treated group were evaluated using the Student's t-test

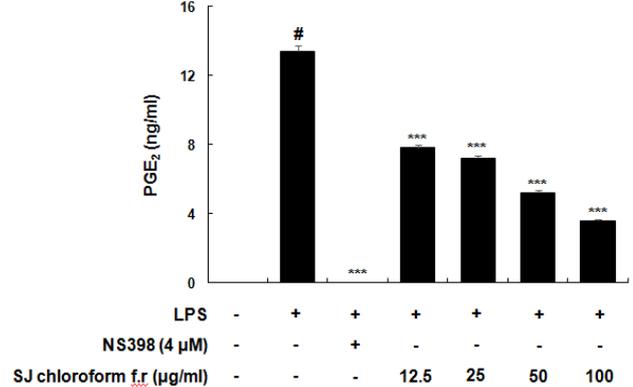


Fig. 2 Comparative study on LPS-induced PGE₂ production of chloroform fractions from *Smilacina japonica* and NS398 (positive control). The values are the mean ± S.D. of three independent experiments. **p < 0.01 ***p < 0.001 vs. the LPS-treated group; the significances of the difference between the treated group were evaluated using the Student's t-test.

분획물과 chloroform 분획물이었다. 다른 추출물 및 분획물들은 NIL에 준하는 효과를 나타내지 못하였다. Chloroform 분획물이 IC₅₀가 53.3 µg/ml로 NO 생성을 농도 의존적으로 가장 잘 저해하였으나, 다른 분획물들과 비교 시 유의성 있게 높은 것으로 판단하기 어렵기에 다른 염증성 대사산물의 저해 효과를 추가적으로 확인하였다.

RAW 264.7 대식세포에서 PGE₂ 생성 저해효과

Nitric oxide screening 실험에서 억제효과를 나타내는 분획물들을 LPS에 의해 유도되는 또 다른 염증성 대사산물인 PGE₂의 생성 저해효과를 NS398{N-[2-(Cyclohe-xyloxy)-4-nitrophenyl]methanesulfonamide : COX-2 선택적 생성억제제}이라는 positive control로 사용하여 확인하였다. NO assay 실험에서 NO 생성 저해 효과가 뛰어난 풀솜대의 chloroform 분획물을 이용하여 PGE₂생성 저해 효과를 측정하였다. chloroform 분획물의 IC₅₀가 32.5 µg/ml로 LPS에 의해 유의성 있게 증가한 PGE₂생성을 농도 의존적으로 저해하는 것을 확인하였다(Fig. 2).

앞선 NO assay에서도 chloroform 분획물이 가장 높은 저해효과를 나타내었고 PGE₂ assay역시 chloroform 분획물이 PGE₂생성을 효과적으로 저해하였다. 풀솜대 분획물들을 이용하여 murine macrophage cell인 RAW 264.7 cell에서 LPS에 의해 유도된 염증성 대사산물인 Nitric oxide의 생성과 Prostaglandin E₂ 생성의 저해 효과를 확인을 통해 추후 항염증 효과 확인 실험에 있어서 가장 유력한 후보물질을 선택하고자 하였다. MTT assay에 의해 설정된 농도에 따라 screening을 진행한 결과 풀솜대 chloroform 분획물이 NO와 PGE₂의 생성 저해 실험 시 지용성이 높은 chloroform 분획물이 효과가 크므로, 약효성분에 대한 추

후 연구를 진행하는 것이 필요하다고 사료된다.

대식세포는 NO, PG, leukotriene 및 염증성 사이토카인들의 2차 매개물을 생산하고 분비한다. 이런 물질들은 선천성 및 후천성 면역을 조절하는데 있어서 중요한 역할 (Ioncheva et al., 2004; Yun et al., 2010)을 한다. 그러나 이런 물질들이 과잉 생산되었을 때에는 세균성패혈증, 류마티스성 관절염, 만성 염증, 자가면역질환 등을 유발하기도(Nava and Moncada 1992; Hilliquin et al., 1997) 한다. 본 연구는 풀솜대 추출·분획물을 이용하여 LPS 유도를 통한 대식세포주인 RAW 264.7 macrophage 세포를 이용한 염증 모델을 사용하여 항염증 효과를 구명하고자 하였다. 풀솜대에서 추출·분획한 총 4개의 농축물을 MTT assay를 실시하여 세포독성을 IC₈₀으로 나타내고 독성이 없는 유효농도 범위를 설정하여 각각의 추출물의 유효농도 범위 내에서 저, 중, 고 상태로 3가지 농도를 설정하였다. Endotoxin인 lipopolysaccharide (LPS)를 처리하여 염증 지표인 Nitric oxide (NO)의 생성을 유도하고 각 추출·분획물을 처리하여 NO 생성 저해효과를 확인함으로써 가장 효과가 좋은 분획물인 풀솜대chloroform 분획물을 선택하였다. 상기의 분획물을 이용하여 Prostaglandin E₂ (PGE₂) 생성 저해효과를 확인하였다. 풀솜대 chloroform 분획물이 PGE₂의 생성을 저해함으로써 유의성 있는 항염증 효과를 보이는 것으로 확인할 수 있었다.

본 연구진은 앞으로 염증 매개 물질의 발현을 조절하는 전사 인자인 iNOS, COX-2, NF-κB 및 cAMP response element (CRE), SRE (serum response element), activator protein-1 (A P-1), mitogenactivated protein kinase (MAPK) 등 (Feldman et al., 1996; Karin and Ben-Neriah 2000)의 다양한 전사 조절인자들의 신호전달 양상을 연구를 함으로써 풀솜대의 비극성용매 분획물들이 어떠한 경로를 통해 항염증 효과

를 보이는지 그 기전을 밝히고 추후 *in vivo* 실험을 바탕으로 향후 염증성질환의 예방을 위한 건강 기능성식품의 개발 가능성을 제시하고자 한다.

적 요

본 연구에서는 풀솜대(*Smilacina japonica*)의 전초를 이용하여 세포독성 및 항염증 활성 효과를 평가하였다. 대식세포인 RAW264.7 cell에서 염증 매개 물질인 lipopolysaccharide (LPS)로 염증을 유발시켜 nitric oxide (NO)와 prostaglandin E₂ (PGE₂) 같은 염증 유발인자들의 억제효과를 확인하였다. 풀솜대 chloroform 분획물의 염증 유발인자 억제 시 IC₅₀ value를 측정하였을 때 nitric oxide 및 prostaglandin E₂ 생성을 농도의존적으로 현저하게 저해하는 농도는 각각 53.3과 32.5 µg/ml이었다. 따라서 본 연구 결과는 풀솜대의 chloroform과 같은 비극성용매 분획물들이 유의성 있는 항염증 효과를 나타내었으며, 이러한 효능은 예방의학적 가능성을 충분히 가지고 있기에 염증성질환의 예방을 위한 건강 기능성식품의 개발 가능성을 제시할 수 있을 것으로 기대된다. 또한 염증과 관련된 사이토카인 및 단백질 발현 메커니즘에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

References

- Bak MJ, Jeong JH, Kang HS, Jin KS, Seon OK, Jeong WS(2009) Cedrela sinensis leaves suppress oxidative stress and expressions of iNOS and COX-2 via MAPK signaling pathways in RAW 264.7 cells J Food Sci Nutr 14:269-276
- Cho JH, Choi GH, Park IJ, Baik SO, Kim HH, Kim CS(2014) Development of Functional food materials from *Acanthopanax senticosus* fermented mushroom mycelia. J Korean Soc Food Sci Nutr 43:411-418
- Cheon YP, Mohammad LM, Park CH, Hong JH, Lee GD, Song JC, Kim KS(2009) Bulnesia sarmienti aqueous extract inhibits inflammation in LPS-stimulated RAW264.7cells. J Life Sci 19:479-485
- Feldmann M, Brennan FM, Maini RN(1996) Role of cytokines in *Rheumatoid arthritis*. Annu Rev Immunol 14:397-440
- Hilliquin P, Borderie D, Hervann A, Menkes CJ, Ekindjian OG(1997) Nitric oxide as S-nitrosoproteins in *Rheumatoid arthritis*. Arthritis Rheum 40:1512-1517
- Hwang IG, Kim HY, Shin SL, Lee CH, Lee JS, Jang KI, Jeong HS(2010) Biological activities of *Coreopsis tinctoria* Nutt. Flower extracts. Kor J Hort Sci 28:857-863
- Iontcheva I, Amar S, Zawawi KH, Kantarci A, VanDyke TE(2004) Role for moesin in lipopolysaccharide stimulated signal transduction. Infect Immun 72:2312-2320
- Karin M, Ben-Neriah Y(2000) Phosphorylation meets ubiquitination: The control of NF- κ B activity. Annu Rev Immunol 18:621-663
- Kim KA, Han JS, Cheon KS, Park YH, Kang JS, Yoo KO(2014) Floristic study of Mt. Dosol and its adjacent areas. Korean J Pl Taxon 44:59-76
- Kim YS, Lee SJ, Hwang JW, Kim EH, Park PJ, Jeong JH(2012) Anti-inflammatory effects of extracts from *Ligustrum ovalifolium* H. leaves on RAW264.7 macrophages. J Korean Soc Food Sci Nutr 4:1205-1210
- Lee BG, Kim JH, Ham SG, Lee CE(2014) Study on biological activities of extracts for cosmeceutical development from *Lagerstroemia indica* L. Branch. Korean J Plant Res 27:29-34
- Nava E, Palmer RM, Moncada S(1992) The role of nitric oxide in endotoxic shock: effects of NG-monomethyl-L-arginine. J Cardiovasc Pharmacol 12:132-134
- Nishida T, Yabe Y, Fu HY, Hayashi Y, Asahi K, Eguchi H, Tsuji S, Tsujii M, Hayashi N, Kawano S(2007) Geranylgeranylacetone induces cyclooxygenase-2 expression in cultured rat gastric epithelial cells through NF- κ B. Dig Dis Sci 52:1890-1896
- Park HW, Baek NI, Kim SH, Kwon BM, Chung IS, Park MH, Kim SH, Kim DK(2004) Phytochemical components from the whole plants of *Arabis glabra*(L.) Bernh. Kor J Pharmacogn 35:320-323
- Uttara B, Singh AV, Zamboni P, Mahajan RT(2009) Oxidative stress and neurodegenerative diseases : a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. Curr Neuropharmacol 7:65-74
- Yoo KO, Lee WT, Oh YJ(1999) External morphology and vegetation of *Megaleranthis saniculifolia* populations in four different habitats. Korean J Plant Res 12:312-323
- Yun CH, Shin JS, Park HJ, Park JH, Lee KT(2010) Inhibition of LPS-induced iNOS, COX-2 expression and cytokines production by fupenjic acid in macrophage Cells. Kor J Pharmacogn 41:14-20