

LPS유도 대식세포에서 Kaempferol-7-O-β-D-glucoside의 NO, PGE₂ 및 염증성 사이토카인 생성 저해 효과

박종철¹ · 한희수^{2,3} · 이승빈^{2,3} · 이경태^{2,3*}

¹국립순천대학교 생명산업과학대학 한약자원개발학과, ²경희대학교 약학대학 약품생화학실,
³경희대학교 약학대학 나노의약생명과학과

Inhibitory Effects of Kaempferol-7-O-β-D-glucoside on LPS-induced NO, PGE₂ and Inflammatory Cytokines Production in RAW264.7 Macrophages

Jong Cheol Park¹, Hee-Soo Han^{2,3}, Seung-Bin Lee^{2,3} and Kyung-Tae Lee^{2,3*}

¹Department of Oriental Medicine Resources, College of Life Science and Natural Resources,
Suncheon National University, Suncheon 57922, Korea

²Department of Pharmaceutical Biochemistry, College of Pharmacy, Kyung-Hee University, Seoul 130-701, Korea

³Department of Life and Nanopharmaceutical Science, College of Pharmacy, Kyung-Hee University, Seoul 130-701, Korea

Abstract – Flavonoids are widely reported to be beneficial to human health. Among flavonoids, in general, flavonoid aglycons have better biological activities than flavonoid glycosides, in that aglycons can easily penetrate through cell membrane because of their low polarity. Therefore, kaempferol, quercetin and various their glycosides were evaluated for their abilities to inhibit NO and PGE₂ productions in LPS-induced RAW 264.7 cells. Of these flavonoids and flavonoid glycosides, kaempferol-7-O-β-D-glucoside(kp-7-glu) which possesses a glycoside at C-7 position of the A ring in kaempferol, potently inhibited NO, PGE₂ and TNF-α, IL-1β, IL-6 productions in LPS-induced RAW 264.7 macrophages.

Key words – Flavonoids, Kaempferol-7-O-β-D-glucoside, NO, PGE₂, RAW 264.7 macrophage

염증이란 외부 자극에 대한 생체 조직의 방어 반응의 하나로, 발열, 통증, 홍반 및 조직 손상, 장기의 기능 장애를 수반하는 선천적 면역반응의 일종이다. 일반적으로 조직 내에 병원체가 침입하거나 자극이 가해지면, 국소적으로 histamine, prostaglandins, leukotriene 및 kinin 등의 물질이 유리된다. 이러한 물질들에 의한 혈관 확장 및 혈관 투과성 증대로 발열, 충혈, 부종 등의 염증 반응이 일어난다. 보통 염증 반응은 조직 손상, 반응, 회복의 3단계를 거쳐 생체 조직을 방어하는데, 염증 반응이 지속되면 오히려 점막의 손상을 촉진하고, 심한 경우 암이나 동맥경화증, 관절염과 같은 염증 질환을 유발 한다.¹⁾ 염증의 병변은 여러 NO, PGE₂, 염증성 cytokine이나 이들의 생성에 관여하는 iNOS, COX-2와 같은 염증성 유전 인자들이 관여하는 매우 복잡한 과정이다. 따라서, 염증성 매개 인자의 생성이나 유전 인자를 조절하는 물질은 염증 치료제로서 잠재적인 가능성이 있다.²⁾

Flavonoid는 식물에 널리 함유되어 있는 황색 계통의 식물 색소로, 환상 구조의 페닐기(C₆) 2개가 C₃ 사슬을 매개하여 결합한 C₆-C₃-C₆형 탄소 골격 구조를 갖는 물질이다. 일반적으로 C₃ 단위의 형태에 따라 flavonol, flavone, flavanone, flavanonol, flavan, anthocyanin, anthocyanidin, chalcone 등으로 나뉜다. 또한 3개의 고리 중에서 B 환이 결합된 위치에 따라 isoflavonoid 및 neoflavonoid 등으로 분류한다. Flavonoids가 다양한 구조를 갖는 것과 더불어, 구조적인 차이에 따라 활성이 달라진다는 것이 보고 되었다.³⁾ 일반적으로 flavonoids계 화합물들은 모두 항산화 작용을 갖는데, flavonoids 구조 중 B 환의 히드록실기의 배열 형태가 항산화 활성을 조절하는 중요한 인자이다.^{3,4)} Flavonol glycosides, isoflavones, flavanones, chalcones 등은 항박테리아 활성을 갖는 것으로 알려져 있는데, flavanone 구조에서 A 환의 5번, 7번 위치의 산화나 B 환의 2번, 4번 또는 2번, 6번 위치의 산화는 항 MRSA(methicilline resistant *Staphylococcus aureus*) 활성을 나타내는 데 중요하다고 알

*교신저자(E-mail): ktleee@khu.ac.kr
(Tel): +82-2-961-0860

려져 있다.⁵⁾ Hesperidin, apigenin, luteolin 그리고 quercetin 과 같은 flavonoids는 특이적으로 염증 반응에서 중요한 역할을 하는 효소와 유사한 작용을 함으로써 항염증 활성을 갖는다고 보고 되었다.⁶⁻⁸⁾ 그 외에 flavonoids 성분들은 항암,⁹⁾ 항바이러스,¹⁰⁾ 항알레르기¹¹⁾와 같은 활성을 지닌 유용한 물질이라고 보고되었다. 본 연구에서는 앞서 언급한 flavonoid 성분들 중 kaempferol 및 quercetin과 이들 배당체들의 항염증 활성을 비교 하고자 한다.

재료 및 방법

Sample – 본 실험에 사용된 flavonoid 화합물은 공동저자 (박중철)에 의해 분리된 것을 사용하였다. 이 중 kaempferol 은 갖,¹²⁾ kaempferol-3-glucoside, quercetin-3-xylosyl-glucoside 는 두충나무,¹³⁾ kaempferol-3-rhamnoside(afzelin), quercetin, quercetin-3-galactoside(hyperoside), quercetin-3-rhamnoside (quercitrin)는 초피나무,¹⁴⁾ kaempferol-3-xyloside, kaempferol-3-xylosyl(1→2)-galactoside, kaempferol-3-galactoside는 서양 고추냉이,¹⁵⁾ kaempferol-7-O-β-D-glucoside는 꾸지뽕나무,¹⁶⁾ kaempferol-3,7-di-rhamnoside는 털조장나무,¹⁷⁾ quercetin-3-glucoside(isoquercitrin), quercetin-3-rutinoside(rutin)은 참죽 나무,¹⁸⁾ quercetin-3-α-L-arabinoside는 신선초¹⁹⁾에서 분리된 것을 사용하였다.

시약 및 기기 – 세포배양에서 필요한 Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM) 배지와 Fetal bovine serum(FBS)와 Penicillin-Streptomycin(PS)는 Life Technologies Inc.(Grand Island, NY, U.S.A.)에서 구입해 사용하였다. Thiazolyl blue tetrazolium bromide(MTT) 시약은 Alfa Aesar(MA, USA)에서, PGE₂ ELISA kit는 Enzo Life Sciences, Inc.(Enzo, New York, USA)에서, mouse TNF-α, IL-1β, IL-6 EIA kits는 BD biosciences(San Diego, USA)에서 구입하였다.

세포배양 – 실험에 사용한 RAW 264.7 대식세포는 murine macrophage cell line으로, 한국세포주은행(Korean Cell Line Bank)에서 구입하였으며, 10% FBS와 100 unit/ml penicillin-streptomycin이 포함된 DMEM 배지에서 37°C, 5% CO₂ incubator에 적응시켜 배양하였다. 계대 배양은 이틀에 한번 씩 하였다.

세포독성 측정(MTT Assay) – samples의 세포 독성은 MTT assay를 통해 확인하였다. RAW 264.7 세포를 24 well plate에 2×10⁵ cells/well로 분주한 후, 24 시간 뒤 samples을 농도별로 처리하였다. 1 시간 후 LPS를 1 μg/ml로 처리하고 24 시간 동안 배양한 후, MTT solution을 첨가하였다. 37°C, 5% CO₂ incubator에서 2 시간 배양한 후, 상층액을 suction하고, 석출된 결정(formazan)에 DMSO를 1 ml씩 넣고 실온에서 30분 동안 shaking하여 녹였다. 96 well plate에 분주하여 ELISA를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정

하였다.

Nitric Oxide(NO) 측정 – NO 생성은 Griess reaction assay를 통해 확인하였다. RAW 264.7 세포를 24 well plate에 2×10⁵ cells/well로 분주한 후, 24 시간 뒤 samples을 농도별로 처리하였다. 1 시간 후 LPS를 1 μg/ml로 처리하고 24 시간 동안 배양한 후, 배양 상층액을 수거하였다. 상층액과 standard(NaNO₂)를 100 μl씩 96 well에 분주하고, Griess reagent를 100 μl씩 첨가한 후, ELISA를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. NO의 positive control로는 L-NIL(40 μM)을 사용하였다.

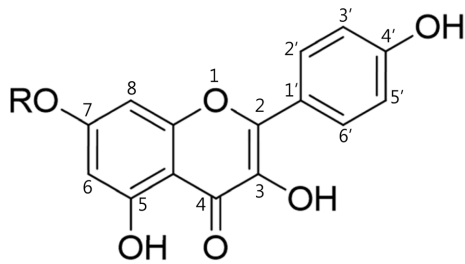
PGE₂ 측정 – RAW 264.7 세포를 24 well plate에 2×10⁵ cells/well로 분주한 후, 24 시간 뒤 samples을 농도별로 처리하였다. 1 시간 후 LPS를 1 μg/ml로 처리하고 24 시간 동안 배양한 후, 배양 상층액을 수거하였다. 수거한 상층액으로 enzyme immunoassay(EIA) kits(R&D Systems, Minneapolis, MN, USA)를 이용하여 PGE₂를 측정하였다. PGE₂의 positive control로는 NS-398(10 nM)을 사용하였다.

Cytokines 측정 – RAW 264.7 세포를 24 well plate에 2×10⁵ cells/well로 분주한 후, 24 시간 뒤 samples을 농도별로 처리하였다. 1 시간 후 LPS를 1 μg/ml로 처리하고 24 시간 동안 배양한 후, 배양 상층액을 수거하였다. 수거한 상층액으로 enzyme immunoassay(EIA) kits(R&D Systems, Minneapolis, MN, USA)를 이용하여 pro-inflammatory cytokines인 TNF-α, IL-1β, IL-6를 측정하였다.

통계분석 – 본 실험에서 얻은 결과에 대해서는 평균치±표준오차(mean±S.E)로 나타내었으며, 그 유의성은 Student's t-test로 분석하여 얻은 p-value 값으로 통계적 유의차를 평가하였다.

결과 및 고찰

염증 반응이란 외부로부터의 자극이나 감염 또는 다양한 유해인자에 대항하는 일련의 생체 방어 기전으로²⁰⁾ 생체 내에서 대식세포는 다양한 염증 반응에서 중요한 역할을 한다.²¹⁾ 그러나 과도한 염증 반응은 세포 손상을 일으키며, 동맥경화증, 암, 관절염, 염증성 장 질환 등 많은 질병을 유발한다.²²⁻²⁵⁾ LPS는 염증 반응을 활성화시키는 잠재적 인자로, LPS에 의해 유도된 대식세포는 염증성 매개 인자들이나 사이토카인을 생성한다. 이러한 염증 매개체들이나 사이토카인을 조절하는 것이 염증성 질환을 치료하는 하나의 방법으로 제시되고 있다. 따라서 본 연구에서는 다양한 flavonoid 성분들이 염증 매개 인자들과 사이토카인을 억제하는 데 효과가 있는지 확인하였다. LPS로 유도한 murine macrophage cell line인 RAW 264.7 세포는 염증반응 매개 인자를 연구하고, 화합물의 항염증 활성을 연구하는데 널리 사용된다. 본 연구에서는 다양한 식물에서 추출, 분리해 낸 flavonoid



Kaempferol R = H
 Kaempferol 7-O-β-D-glucoside R = Glc

Fig. 1. Chemical structures of kaempferol and kaempferol-7-O-β-D-glucoside.

계 성분들 중 kaempferol 및 quercetin과 이들의 다양한 glycosides 등이 RAW 264.7 대식세포에서 항염증 활성을 나타내는 지를 확인하였다.

먼저, kaempferol, quercetin 및 이들 배당체 성분들이 RAW 264.7 대식세포의 생존에 미치는 영향을 측정하기 위해 MTT assay를 진행하였다. 실험 결과, 대부분의 화합물들은 모두 2, 10, 50, 100 µg/ml의 농도로 처리하였을 때, 80~100%의 세포 생존율을 보여 세포 독성이 거의 없음을 확인하였다. 실험을 진행하는 과정에서, 화합물의 세포 독

성이 염증 발생을 억제하는 비특이적인 억제 작용을 배제하기 위해, 각 화합물이 독성을 나타내지 않는 농도에서 LPS에 유도되어 생성되는 NO 양의 생성 억제를 측정된 결과, 모든 화합물이 농도의존적으로 NO 생성을 억제하였으나, kaempferol, kaempferol-7-O-β-D-glucoside, quercetin 및 quercetin-3-α-L-arabinoside의 4가지 화합물이 NO 생성을 50% 이상 억제하는 뛰어난 효과를 보였다(Table I).

앞의 결과를 분석해보면, flavonoid 화합물 중에서 당이 결합하지 않은 비배당체 형태의 화합물인 kaempferol 및 quercetin이 비교적 높은 활성을 나타내고 있다. 비배당체의 경우, 당이 결합한 배당체보다 극성이 낮기 때문에 세포막을 쉽게 통과하므로 활성이 높게 나타난다. 그러나 실험 결과를 살펴보면, kaempferol의 7번 위치에 1개의 glucose가 결합한 배당체는 비배당체보다 우수한 활성이 관찰되는 반면, 비배당체의 3번 위치에 glucose, rhamnose, xylose등의 당이 결합하거나 xyloxyl-galactose와 rhamnose-rhamnose등의 2개의 당이 결합한 배당체의 경우에는 NO의 생성 저해 활성이 비배당체보다 낮았다. 이러한 구조적 특징 및 앞서 실험한 화합물의 세포 독성 및 NO 생성 억제 효과를 고려했을 때, kaempferol-7-O-β-D-glucoside의 NO 생성 저해 효과가 가장 우수하여 추가적인 LPS유도 PGE₂ 및 항염증 사이토카인 생성 억제 실험을 진행하였다.

Kaempferol-7-O-β-D-glucoside의 PGE₂ 생성 억제 효과를

Table I. Effects of flavonoids on productions of NO and PGE₂ in LPS-induced RAW264.7 macrophages

	IC ₅₀ ^a (µg/ml)	
	NO production	PGE ₂ production
Kaempferol (kp)	21.53±0.75	7.85±0.33
Kp-3-glucoside	>100	-
Kp-3-rhamnoside	>100	-
Kp-3-xyloside	>100	-
Kp-7-glucoside	17.68±1.51	5.82±0.22
Kp-3-xylosyl(1→2)-galactoside	>100	-
Kp-3,7-di-rhamnoside	>100	-
Kp-3-galactoside	>100	-
Kp-3-sophoroside	>100	-
Quercetin (qc)	31.28±0.71	6.79±0.62
Qc-3-glucoside	>100	-
Qc-3-galactoside	>100	-
Qc-3-rhamnoside	>100	-
Qc-3-arabinoside	53.61±0.91	39.07±2.79
Qc-3-rutinoside	>100	-
Qc-3-xylosyl(1→2)-glucoside	>100	-
L-NIL (µM)	28.29	-
NS-398 (nM)	-	7.23

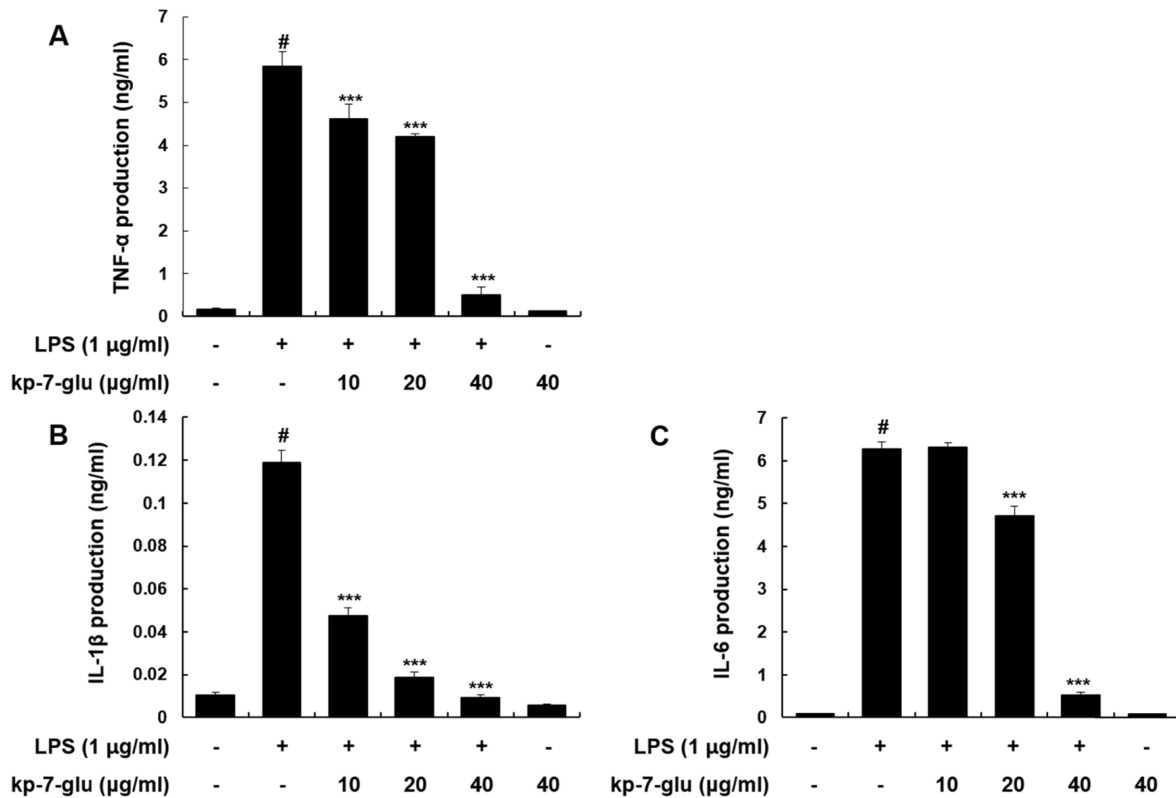


Fig. 2. Effects of kaempferol-7-*O*- β -D-glucoside (kp-7-glu) on productions of TNF- α , IL-1 β , and IL-6 in LPS-induced RAW264.7 macrophages. (a) Effect of the kp-7-glu on TNF- α production (A), IL-1 β (B), and IL-6 (C) by LPS-induced RAW 264.7 macrophages for 24 h. Results are shown by relative ratio graphs. The values are the mean \pm S.D. of three independent experiments. The values are the mean \pm S.D. of three independent experiments. # p <0.05 vs. the control group; * p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001 vs. the LPS-treated group; the significances of the difference between the treated groups was evaluated using the Student's *t*-test.

확인한 결과, IC₅₀ 값이 5.82 μ g/ml로 우수한 억제 효과를 보였으며 상대적으로 kaempferol, quercetin 및 quercetin-3- α -L-arabinoside의 IC₅₀ 값은 각각 7.85, 6.79 및 39.07 μ g/ml을 보였다(Table I). Kaempferol-7-*O*- β -D-glucoside가 세포 독성을 나타내지 않으며 NO 및 PGE₂ 생성 억제 효과를 나타내는 농도를 고려하여, 10, 20 및 40 μ g/ml에서 염증 반응의 지표인 TNF- α , IL-1 β , IL-6 등의 염증성 사이토카인 생성 양을 측정해 본 결과, kaempferol-7-*O*- β -D-glucoside가 LPS로 유도된 TNF- α , IL-1 β 및 IL-6의 생성을 농도의존적으로 저해하였다(Fig. 2). 비록 Kaempferol-3-glucoside, kaempferol-3-rhamnoside 및 quercetin-3-galactoside는 기존 연구에서 NO를 포함하는 염증성 매개 물질의 생성 저해에 대한 연구는 보고 되었으나,^{26,31)} 본 연구와 차이를 보이는 이유는 실험에 사용한 대식세포의 종류,^{26,31)} LPS 처리 농도,^{26,31)} LPS와 IFN- γ 동시 처리 여부²⁸⁾ 및 시료 처리 농도²⁷⁾ 등 실험 설정이나 환경에 따라 활성이 다르게 나타난 것이라고 추정된다.

본 연구 결과를 종합해보면, flavonoid계 성분들은 LPS로 활성화된 RAW 264.7 대식세포에서 염증성 매개 인자들을

억제하는 효과가 있었으며, 그 중 kaempferol-7-*O*- β -D-glucoside가 가장 뛰어난 염증 유발 물질의 억제효과를 나타내었다.

결론

본 연구에서는 다양한 식물에서 분리한 flavonoid 성분들 중 kaempferol, quercetin 및 이들의 다양한 배당체 성분들의 대식세포에서 LPS로 유도된 항염증 매개 물질들의 생성 억제를 확인하였다. 실험을 통해 얻은 결론은 다음과 같다.

RAW 264.7 대식세포를 LPS로 자극하여 kaempferol, quercetin 및 이들 배당체 성분들을 처리하였을 때, 세포독성을 나타내지 않은 농도에서 농도의존적으로 NO 생성 양을 억제하였다.

LPS로 자극한 RAW 264.7 대식세포에서 NO 생성 억제 효과가 뛰어난 kaempferol, kaempferol-7-*O*- β -D-glucoside, quercetin 및 quercetin-3- α -L-arabinoside 중, kaempferol-7-*O*- β -D-glucoside의 PGE₂ 생성 저해 효과가 제일 우수 하였다.

LPS로 자극한 RAW 264.7 대식세포에서 kaempferol-7-O- β -D-glucoside는 염증성 사이토카인인 TNF- α , IL-1 β , IL-6의 생성을 농도의존적으로 유의성 있게 저해하였다.

본 실험의 결과를 종합해 보면, kaempferol, quercetin 및 이들의 배당체 화합물들은 모두 농도의존적인 NO 생성 억제 효과를 보이고 있다. 총 16 가지의 화합물을 가지고 실험을 진행하였으며, 그 중 4 가지 화합물(kaempferol-7-O- β -D-glucoside, kaempferol, quercetin, quercetin-3- α -L-arabinoside)이 실험 농도에서 LPS로 유도된 NO의 생성을 50% 이상 저해함으로써 우수한 활성을 보였다.

효과를 나타낸 4 가지 화합물 중, kaempferol-7-O- β -D-glucoside는 그 활성이 다른 성분들에 비해 뛰어난 것으로 판단된다. 따라서, kaempferol-7-O- β -D-glucoside가 항염증 활성을 나타내는 메커니즘에 대해 추가적인 연구를 진행한다면, 각 화합물이 영향을 미치는 메커니즘을 표적으로 하는 염증 치료제로서의 가능성을 확인할 수 있을 것이다. 더불어, 이들이 배당체임에도 불구하고 뛰어난 활성을 나타내는 이유를 구조적인 특징과 연관시킬 수 있다면 더욱 의미 있는 연구가 될 것으로 보인다.

사 사

이 논문은 2014년 순천대학교 학술 연구비 공모 과제로 연구되었습니다.

인용문헌

- Willoughby, D. A. (1975) Heberden Oration, 1974. Human arthritis applied to animal models. Towards a better therapy. *Ann. Rheum. Dis.* **34**: 471-478.
- Guzik, T. J., Korbut, R. and Adamek-Guzik, T. (2003) Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation. *J. Physiol. Pharmacol.* **54**: 469-487.
- Kumar, S. and Pandey, A. K. (2013) Chemistry and biological activities of flavonoids : an overview. *Scientific World Journal* **2013**: 162750.
- Chen, M., Gu, H., Ye, Y., Lin, B., Sun, L., Deng, W., Zhang, J. and Liu, J. (2010) Protective effects of hesperidin against oxidative stress of tert-butyl hydroperoxide in human hepatocytes. *Food Chem. Toxicol.* **48**: 2980-2987.
- Haraguchi, H., Tanimoto, K., Tamura, Y., Mizutani, K. and Kinoshita, T. (1998) Mode of antibacterial action of retrochalcones from *Glycyrrhiza inflata*. *Phytochemistry* **48**: 125-129.
- Nishizuka, Y. (1988) The molecular heterogeneity of protein kinase C and its implications for cellular regulation. *Nature* **334**: 661-665.
- Hunter, T. (1995) Protein kinases and phosphatases: the yin and yang of protein phosphorylation and signaling. *Cell* **80**: 225-236.
- Funakoshi-Tago, M., Nakamura, K., Tago, K., Mashino, T. and Kasahara, T. (2011) Anti-inflammatory activity of structurally related flavonoids, apigenin, luteolin and fisetin. *Int. Immunopharmacol.* **11**: 1150-1159.
- Jagtap, S., Meganathan, K., Wagh, V., Winkler, J., Hescheler, J. and Sachinidis, A. (2009) Chemoprotective mechanism of the natural compounds, epigallocatechin-3-O-gallate, quercetin and curcumin against cancer and cardiovascular diseases. *Curr. Med. Chem.* **16**: 1451-1462.
- Grienke, U., Richter, M., Walther, E., Hoffmann, A., Kirchmair, J., Makarov, V., Nietzsche, S., Schmidtke, M. and Rollinger, J. M. (2016) Discovery of prenylated flavonoids with dual activity against influenza virus and *Streptococcus pneumoniae*. *Sci. Rep.* **6**: 27156.
- Kawai, M., Hirano, T., Higa, S., Arimitsu, J., Maruta, M., Kuwahara, Y., Ohkawara, T., Hagihara, K., Yamadori, T., Shima, Y., Ogata, A., Kawase, I. and Tanaka, T. (2007) Flavonoids and related compounds as anti-allergic substances. *Allergol. Int.* **56**: 113-123.
- Ahn, B. G., Hur, J. M. and Park, J. C. (2007) Isolations of flavonoids and a higher alcohol from the aerial parts of *Brassica juncea*. *Kor. J. Pharmacogn.* **38**: 254-257.
- Park, J. C. and Kim, S. H. (1995) Flavonoid analysis from the leaves of *Eucommia ulmoides*. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **24**: 901-905.
- Hur, J. M., Park, J. C. and Hwang, Y. H. (2001) Aromatic acid and flavonoids from the leaves of *Zanthoxylum piperitum*. *Nat. Prod. Sci.* **7**: 23-26.
- Hur, J. M., Lee, J. H., Choi, J. W., Hwang, G. W., Chung, S. K., Kim, M. S. and Park, J. C. (1998) Effect of methanol extract and kaempferol glycosides from *Azadirachta indica* on the formation of lipid peroxide in bromobenzene-treated rats *in vitro*. *Kor. J. Pharmacogn.* **29**: 231-236.
- Park, J. C., Young, H. S. and Choi, J. S. (1992) Constituents of *Cudrania tricuspidata* in Korea. *Yakhak Hoeji* **36**: 40-45.
- Park, J. C., Park, J. G., Kim, J. H., Kim, S. H. and Kim, N. J. (1996) Isolation of kaempferol glycoside from *Lindera sericea* and anti-inflammatory effect. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **25**: 519-522.
- Park, J. C., Young, H. S., Yu, Y. B. and Lee, J. H. (1993) Phenolic compounds from the leaves of *Cedrela sinensis* A. Juss. *Yakhak Hoeji* **37**: 306-310.
- Jo, H. W. and Park, J. C. (2008) Phenolic compounds isolated from the leaves of *Angelica keiskei* showing DPPH radical scavenging effect. *Kor. J. Pharmacogn.* **39**: 146-149.
- Conese, M. and Assael, B. M. (2001) Bacterial infections and inflammation in the lungs of cystic fibrosis patients. *Biol. Pharm. Bull.* **34**: 959-966.
- Mayeux, P. R. (1997) Pathobiology of lipopolysaccharide. *J. Toxicol. Environ. Health* **51**: 415-435.

22. Kempf, T., Zarbock, A., Vestweber, D. and Wollert, K. C. (2012) Anti-inflammatory mechanisms and therapeutic opportunities in myocardial infarct healing. *J. Mol. Med.* **90**: 361-369.
23. Chai, E. Z., Siveen, K. S., Shanmugam, M. K., Arfuso, F. and Sethi, G. (2015) Analysis of the intricate relationship between chronic inflammation and cancer. *Biochem. J.* **468**: 1-15.
24. Bessueille, L. and Magne, D. (2015) Inflammation: a culprit for vascular calcification in atherosclerosis and diabetes. *Cell. Mol. Life Sci.* **72**: 2475-2489.
25. Kinne, R. W., Bräuer, R., Stuhlmüller, B., Palombo-Kinne, E. and Burmester, G. R. (2000) Macrophages in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res.* **2**: 189-202.
26. Kim, M. S. and Kim, S. H. (2011) Inhibitory effect of astragalalin on expression of lipopolysaccharide-induced inflammatory mediators through NF- κ B in macrophages. *Arch. Pharm. Res.* **34**: 2101-2107.
27. Lee, H. B., Kim, E. K., Park, S. J., Bang, S. G., Kim, T. G. and Chung, D. W. (2011) Isolation and anti-inflammatory effect of astragalalin synthesized by enzymatic hydrolysis of tea seed extract. *J. Sci. Food Agric.* **91**: 2315-2321.
28. Kim, S. K., Kim, H. J., Choi, S. E., Park, K. H., Choi, H. K. and Lee, M. W. (2008) Anti-oxidative and inhibitory activities on nitric oxide(NO) and prostaglandin E2(COX-2) production of flavonoids from seeds of *Prunus tomentosa* Thunberg *Arch. Pharm. Res.* **31**: 424-428.
29. Rho, H. S., Ghimeray, A. K., Yoo, D. S., Ahn, S. M., Kwon, S. S., Lee, K. H., Cho, D. H. and Cho, J. Y. (2011) Kaempferol and kaempferol rhamnosides with depigmenting and anti-inflammatory properties. *Molecules* **16**: 3338-3344.
30. Mao, Y. W., Tseng, H. W., Liang, W. L., Chen, I. S., Chen, S. T. and Lee, M. H. (2011) Anti-inflammatory and free radical scavenging activities of the constituents isolated from *Machilus zuihoensis*. *Molecules* **16**: 9451-9466.
31. Kim, S. J. and Um, J. Y. (2011) Anti-inflammatory activity of hyperoside through the suppression of nuclear factor- κ B activation in mouse peritoneal macrophages. *Am. J. Chin. Med.* **39**: 171-181.

(2016. 7. 19 접수; 2016. 9. 12 심사;
2016. 10. 13 게재확정)