

개소시랑개비 추출물의 RAW264.7대식세포에서 *in vitro* 항염효과

남정환 · 김현삼 · 김병진 · 유홍섭 · 장동철 · 진용익 · 유동림 · 최종근 · 박희준 · 이승빈 · 이경태 · 박수진

In vitro anti-inflammatory activity of extracts from *Potentilla supina* in murine macrophage RAW 264.7 cells

Jung-Hwan Nam · Hyun-Sam Kim · Byoung-Jin Kim · Hong-Seob Yu · Dong-Chil Chang · Yong-Ik Jin · Dong-Lim Yoo · Jong-Keun Choi · Hee-Jhun Park · Seung-Bin Lee · Kyung-Tea Lee · Soo-Jin Park

Received: 25 November 2016 / Revised: 23 January 2017 / Accepted: 27 January 2017
© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract *Potentilla supina* (Rosaceae) has traditionally been used to treat disorders of hemostasis, dysentery, malaria, bloody discharge and arthritis, and it has 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 *P. supina* using the ethanolic extract of *P. supina* and its sub-fractions. To evaluate the

anti-inflammatory effects of *P. supina*, we examined the inflammatory mediators such as nitric oxide (NO), inducible nitric oxide synthase (iNOS) and prostaglandin E₂ (PGE₂) in RAW 264.7 cells. Our results indicated that ethyl acetate fraction significantly inhibited LPS-induced NO, iNOS and PGE₂ production in RAW 264.7 cells. This result showed that ethyl acetate fraction of *P. supina* is expected to be a good candidate for development into a source of anti-inflammatory agents.

J.-H. Nam (✉) · H.-S. Yu · D.-C. Chang · Y.-I. Jin · D.-L. Yoo · J.-K. Choi
농촌진흥청, 국립식량과학원, 고령지농업연구소1
(Highland Agriculture Research Institute, National Institute of Crop Science, RDA, Pyeongchang 25342, South Korea)
e-mail: conplab@korea.kr

H.-S. Kim
양구군청, 농업지원과
(Agricultural support, Yanggu County Office, Yanggu 24522, South Korea)
e-mail: x-factor10@nate.com

B.-J. Kim
양구군청, 농업기술센터
(Agricultural Technology Center, Yanggu County Office, Yanggu 24522, South Korea)

H.-J. Park
상지대학교, 보건대학, 제약공학과
(Dept. of Pharmaceutical Engineering, College of Health Sciences, Sang-ji University, Wonju 26342, South Korea)

S.-B. Lee · K.-T. Lee
경희대학교, 약학대학, 약학과
(Dept. of pharmaceutical, College of Pharmacy, Kyung-Hee University, Seoul 02447, South Korea)

S.-J. Park
세명대학교, 식품영양학과
(Dept. of Food and Nutrition, Semyung University, Jecheon 27136, South Korea)

Keywords *Potentilla supina*, Anti-inflammatory effect, Nitric oxide (NO), Inducible nitric oxide synthase (iNOS), Prostaglandin E₂ (PGE₂), RAW 264.7 cells

서론

산업화 이후로 증가하는 환경오염물질, 흡연, 알코올 및 방사선 등은 활성산소종을 발생시켜 인류에게 산화적 스트레스를 증가시키고 있다(Kim et al. 2012). 활성산소종의 종류로 산소 중심의 라디칼인 O₂⁻, ·OH와 비라디칼종인 ¹O₂, H₂O₂를 비롯하여 활성산소종의 반응으로 발생할 수 있는 ROO·, RO·, ROOH, HOCl 등과 생체 성분들을 포함한다. 생체 내에서 활성산소종은 DNA 분절과 단백질의 불활성화 및 과산화 반응을 일으켜 생체기능을 저하시킴으로써 여러 질환들을 유발하는 원인이 된다. 이와 같은 활성산소종을 억제하는 생리작용으로는 산화성 활성산소종에 전자를 공여하여 산화를 억제하는 전자 공여 작용, superoxide dismutase (SOD)와 유사한 작용을 하여 superoxide anion radical을 정상 상태의 산소로 전환시켜주는 SOD 유사 활성이 있다. 이에 현대인들이 쉽게 접할 수 있는 식료에서 항산화 활성 등과

같은 생리 활성을 가지는 화합물을 얻고자 하는 관심이 증가하고 있다(Lee et al. 2012; Ryu et al. 2012; Kang et al. 2011). 활성산소로 인하여 유발되는 염증반응은 외부로부터 물리·화학적 자극, 세균, 박테리아 또는 바이러스 같은 유해물질이 체내로 유입되는 경우, 체내 면역세포가 이를 감지하여 다양한 염증 매개 물질들을 분비함으로써 손상된 조직을 수복 및 재생하려는 신체보호 기전 중 하나이다. 그러나 이와 같은 염증반응이 멈추지 않고 지속적으로 일어날 때는 염증 매개 물질이 과도하게 분비되어 암세포의 성장을 촉진시키고, 인슐린 저항성을 증가시키며 동맥경화를 악화시키는 등 다양한 질병의 매개체로써 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, 홍반 및 발열 등의 염증반응을 유발하고, 염증 유발 부위로 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 외부 자극이나 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 염증 유발 인자이다. 한편, 서두에서 밝혔듯이 염증반응을 유발하는 또 다른 원인 중 하나는 체내에서 발생하는 산화적 스트레스인데 특히 흡연이나 음주, 고지방식이로 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 개소시랑개비(*Potentilla supina*)는 쌍떡잎식물 장미목 장미과의 여러해살이풀로서 잎의 가장자리에 톱니가 있어, 그 모양이 쇠스랑을 닮아 그렇게 불리게 되었다. 어린 줄기와 잎은 식용하며, 한국(충북, 경기, 강원, 평남, 함남, 함북)을 비롯한 북반구의 온대지방(중국, 일본 및 한국)에 분포한다. 본 연구에서는 식용이 가능하고 자생력이 강한 개소시랑개비가 5월 중에 논이나 밭에서 제조되는 것으로 확인되어, 이를 이용한 항염증 등의 기능성식품 소재 기초자료로서 활용 가능성을 제시하고자 실험하였다.

최근 한국인들은 서구화된 식생활 변화로 각종 성인병 및 만성퇴행성 질환에 쉽게 노출되어있기에 건강 기능성식품에 대한 요구가 증대되고 있는 것이 현실이다(Cho et al. 2014). 다양한 식물자원에 함유되어 있는 천연성분들을 기

능성 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 개소시랑개비에 관한 보고는 분류학적인 연구(Yoo et al. 1999)가 대표적인 연구결과로서 생리 활성에 관한 연구는 아직까지 미진한 편이며, 따라서 본 연구자들은 개소시랑개비 추출 분획물을 lipopolysaccharide (LPS)로 염증반응이 유도된 RAW 264.7대식세포에 처리하여, 항염증 활성(NO, PGE₂) 효과를 평가 후 기능성 소재로서의 가능성을 제시하고자 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에서 사용한 개소시랑개비는 2013년 5월 강원도 양구군 동면 일대에서 자생하는 전초를 채집하여 상지대학교 보건대학 제약공학과 박희준 교수에 의뢰하여 감정을 받고 건조한 후 세절하여 사용하였고, 표본은 고령지농업연구소 천연물 분리 실험실(표본 번호 NIHA-자 05)에 보관되어 있다.

추출물 제조 및 용매분획

건조중량 약 2.1 kg의 세절한 개소시랑개비를 6개월간 ethanol (EtOH) 용매로 상온 냉침 하였다. 추출액을 수욕상에서 추출 후 회전식 진공농축기(Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)를 이용 감압 농축하여 에탄올 추출물 11.9 g을 얻었으며 이를 증류수 0.5 리터에 현탁 한 후 n-Hexane (1 L×3), chloroform (1 L×3), ethylacetate (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% CO₂ 조건을 유지하여 배양하였다. RAW 264.7세포에 시료 용액의 여러 농도(10, 20, 40 µM)를 1시간 전 처리한 후 LPS를 처리하고 24시간 배양하였다.

Table 1 The yield of *Potentilla supina* fractions (g)

Sample	<i>Potentilla supina</i>
n-Hexane fraction	1.65
Chloroform fraction	1.07
Ethyl acetate fraction	2.8

MTT assay에 의한 세포독성 시험

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 H_2O_2 (BBC Biochemical, USA) 100 μ l 및 여러 농도의 시료 100 μ l를 첨가하여 45분간 배양한 후 상등액을 제거하고 PBS 완충용액으로 2번 세척한 후 배지 200 μ l를 주입하여 다시 24시간 배양하였다. 배양액 속에 5 mg/ml MTT 시약 50 μ l를 가하여 4시간 배양 후 상등액을 제거하고 DMSO (Sigma Chemical Co., USA) 100 μ l를 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 배양액중에 존재하는 NO_2^- 의 형태로 측정하였다. Griess reagent를 100 μ l씩 혼합하여 96 well plate에서 10분 동안 반응시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Inducible nitric oxide synthase (iNOS) 단백질량의 측정

RAW 264.7 세포들을 PBS로 2회 세척하여 잔여 배지를 제거한 후, lysis buffer (PRO-PREP™ protein extraction solution), sodium fluoride (NaF), sodium orthovanadate, phenylmethyl sulfonyl fluoride (PMSF), 및 protease inhibitor cocktail (PIC)를 넣어 4°C에서 30분간 반응시키고 15,000 g에서 30분간 원심분리하여 상층액을 모았다. 이후, 전기영동을 이용하여 동일한 양의 단백질을 8-12% SDS-PAGE로 분리시킨 후, 단백질을 polyvinylidene difluoride (PVDF) 막으로 transfer 하였다. 이 막을 항체의 비 특이적 결합을 차단하기 위하여 blocking buffer (5% skim milk)로 1시간 동안 반응시킨 후, 각각의 단백질에 대한 1차 항체를 1:1000의 비율로 넣고 4°C에서 overnight 하였다. 이어서 0.1% Tween 20을 함유한 TBS 용액으로 7분씩 3번 세척한 후, 2차 항체와 1:2000의 비율로 2시간 동안 상온에서 반응시켰다. 이후, 전술한 TBS 용액으로 10분씩 3번 세척한 후에 enhanced chemiluminescence (GE healthcare, WI) 용액으로 반응시켜서 단백질 발현을 확인하였다. 각 시료의 단백질 정량은 Bradford protein assay 방법을 사용하여 595 nm에서 흡광도를 측정하여 실시하였다.

PGE₂양의 측정

Sample을 처리한 세포 및 대조군의 세포 배양액을 취해 assay

design kit (Amersham pharmacia Biotech Co., USA)의 지시에 따라 PGE₂양을 정량 하였다. 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 μ l 첨가하여 60~90분 동안 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계처리

실험치의 값은 3번의 독립된 실험을 시행하여 mean \pm S.D.로 나타냈으며 분석은 Student's t-test로 유의성을 나타내었다. Student's t-test란 정규 모집단 (normal population)에 대하여, 평균치가 특정의 값 μ_0 와 같다고 하는 가설 H₀를 검정하는 방법이다(표준 편차 δ 가 미지일 경우).

결과 및 고찰

RAW 264.7 대식세포에서의 세포독성 효과

개소시랑개비 추출물 및 분획물들의 항염증 효과를 규명하기 위해 RAW264.7세포에 독성을 통한 염증 매개물질의 저해효과 가능성을 배제하는, 즉 독성이 없는 최적 용량을 설정하기 위하여 MTT assay를 수행하였음 Viability가 80%가 넘는 농도가 최적 용량이라고 판단하였고 Table 2에서 볼 수 있듯이 개소시랑개비의 추출물 및 분획물들이 100 μ g/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 RAW264.7 세포의 배양액 중에 생성된 NO의 양을 Griess reagent를 이용하여 측정하였다. Table 3과 Figure 1에서 볼 수 있듯이 LPS와 동시 처리하였을 때

Table 2 Cytotoxicity of extract and various fractions from of *Potentilla supina*

Sample	IC ₈₀ (μ g/ml)
	<i>Potentilla supina</i>
Hexane fraction	>100
Chloroform fraction	>100
Ethylacetate fraction	>100

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

Table 3 The effects of various fractions from *Potentilla supina* on LPS-induced NO production

Sample	IC ₅₀ (μg/ml)
	<i>Potentilla supina</i>
Hexane fraction	60.30
Chloroform fraction	>10
Ethylacetate fraction	29.34

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

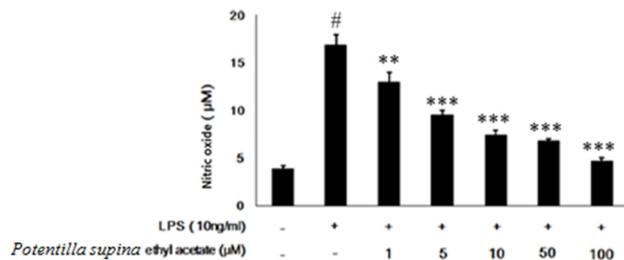


Fig. 1 Comparative study on inhibition of LPS-induced NO production by ethyl acetate fractions from *Potentilla supina* and NS398 (positive control). The values are the mean ± S.D. of three independent experiments. [#]*P* < 0.05 versus the control group; ^{**}*p* < 0.01 ^{***}*p* < 0.001 vs. the LPS-treated group; the significance of the difference between the treated groups was evaluated using the Student's t-test

개소시랑개비 ethyl acetate 분획물이 IC₅₀가 29.34 μg/ml으로 NO 생성을 농도 의존적으로 가장 잘 저해하였고, 다른 분획물들과 비교 시 유의성 있게 높은 것으로 판단되었기에 다른 염증성 대사산물의 저해 효과를 추가적으로 확인하였다.

RAW 264.7 대식세포에서 iNOS 단백질 발현 저해효과

LPS로 유도된 nitric acid (NO)의 생성량이 개소시랑개비 ethyl acetate 분획물의 처리에 의하여 농도 의존적으로 감소함을 확인하였으므로, NO 생성에 관여한다고 알려진 iNOS의 단백질 발현을 western blot으로 확인하였다. Figure 2를 보면 LPS 처리 후 24 h에서 발현된 iNOS의 양이 LPS 처리군에서 유의성 있게 발현되었고, 개소시랑개비 ethyl acetate 분획물을 처리한 군에서는 농도 의존적으로 발현 감소를 확인하였다.

RAW 264.7 대식세포에서 PGE₂ 생성 저해효과

Nitric oxide screening 실험에서 억제 효과를 나타내는 분획물들을 LPS에 의해 유도되는 또 다른 염증성 대사산물인 PGE₂의 생성 저해효과를 NS398 [N-[2-(Cyclohe-xyl-oxy)-4-nitrophenyl]

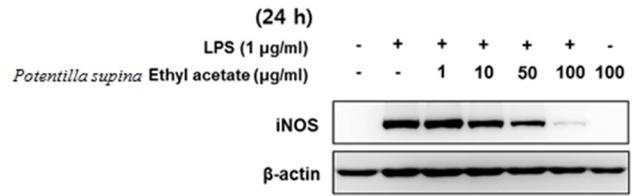


Fig. 2 Effect of ethyl acetate fractions from *Potentilla supina* on iNOS protein expression in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages. Expression of iNOS and β-actin was detected by immunoblot analysis with specific antibodies. Cells were preincubated with or without indicated concentrations of the protein extract for 1 h, and treated with LPS (1 μg/ml) for 24 h

Table 4 The effects of various fractions from *Potentilla supina* on LPS-induced PGE₂ production

Sample	IC ₅₀ (μg/ml)
	<i>Potentilla supina</i>
Hexane fraction	54.96
Chloroform fraction	>10
Ethyl acetate fraction	50.75

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

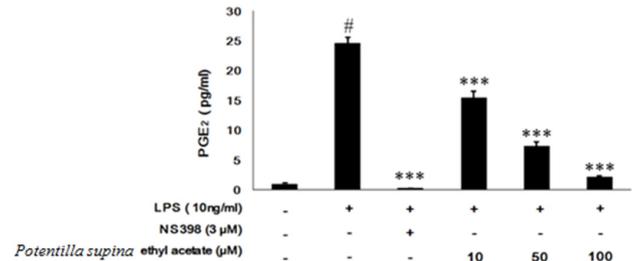


Fig. 3 Comparative study on inhibition of LPS-induced PGE₂ production by ethyl acetate fractions from *Potentilla supina* and NS398 (positive control). The values are the mean ± S.D. of three independent experiments. [#]*P* < 0.05 versus the control group; *p* < 0.001 vs. the LPS-treated group; the significance of the difference between the treated groups was evaluated using the Student's t-test

metha-nesulfonamide : COX-2 선택적 생성 억제제}이라는 positive control로 사용하여 확인하였다. NO assay 실험에서 NO 생성 저해 효과가 뛰어난 개소시랑개비 ethyl acetate 분획물을 이용하여 PGE₂생성 저해 효과를 측정하였다. ethyl acetate 분획물의 IC₅₀가 50.75 μg/ml으로 LPS에 의해 유의성 있게 증가한 PGE₂생성을 농도 의존적으로 저해하는 것을 확인하였다 (Table 4, Fig. 3).

앞선 NO, iNOS assay에서도 ethyl acetate 분획물이 가장 높은 저해효과를 나타내었고 PGE₂ assay 역시 ethyl acetate 분획물이 PGE₂생성을 효과적으로 저해하였다. 개소시랑개비

분획물들을 이용하여 murine macrophage cell인 RAW 264.7 cell에서 LPS에 의해 유도된 염증성 대사산물인 Nitric oxide, Inducible nitric oxide synthase의 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 개소시랑개비 ethyl acetate 분획물이 NO, iNOS와 PGE₂의 생성 저해 실험 시 지용성이 높은 ethyl acetate 분획물이 효과가 크므로, 약효성분에 대한 추후 연구를 진행하는 것이 필요하다고 사료된다. 대식세포는 NO, PGE, 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 세균성폐렴, 류마티스성 관절염, 만성 염증, 자가면역질환 등을 유발하기도(Nava and Moncada 1992; Hilliquin et al., 1997) 한다.

본 연구는 개소시랑개비의 추출·분획물을 이용하여 LPS 유도를 통한 대식세포주인 RAW 264.7 macrophage 세포를 이용한 염증 모델을 사용하여 항염증 효과를 구명하고자 하였다. 개소시랑개비에서 ethanol 추출 후 분획한 총 3개의 농축물을 MTT assay를 실시하여 세포독성을 IC₈₀으로 나타내고 독성이 없는 유효농도 범위를 설정하여 각각의 분획물의 유효농도 범위 내에서 저, 중, 고 상태로 3가지 농도를 설정하였다. Endotoxin인 lipopolysaccharide (LPS)를 처리하여 염증 지표인 Nitric oxide (NO), Inducible nitric oxide synthase (iNOS)의 생성을 유도하고 각 분획물을 처리하여 NO 및 iNOS 생성 저해효과를 확인함으로써 가장 효과가 좋은 분획물인 개소시랑개비 ethyl acetate 분획물을 선택하였다. 상기의 분획물을 이용하여 Prostaglandin E₂ (PGE₂) 생성 저해 효과를 확인하였다. 개소시랑개비 ethyl acetate 분획물이 PGE₂의 생성을 저해함으로써 유의성 있는 항염증 효과를 보이는 것으로 확인할 수 있었다.

적 요

본 연구에서는 개소시랑개비 (*Potentilla supina*)의 전초를 이용하여 세포독성 및 항염증 활성 효과를 평가하였다. 대식세포인 RAW264.7 cell에서 염증 매개 물질인 lipopolysaccharide (LPS)로 염증을 유발해 nitric oxide (NO), Inducible nitric oxide synthase (iNOS)와 prostaglandin E₂ (PGE₂) 같은 염증 유발 인자들의 억제효과를 확인하였다. 개소시랑개비 ethyl acetate 분획물의 염증 유발 인자 억제 시 IC₈₀ value를 측정하였을 때 nitric oxide 및 prostaglandin E₂ 생성을 농도의존적으로 현저하게 저해하는 농도는 각각 29.34와 50.75 µg/ml이었고 Inducible nitric oxide synthase 의 양도 50 µg/ml 처리하였을 때 농도의존적으로 발현 감소 하였다. 따라서 본 연구결과는 개소시

랑개비의 ethyl acetate 분획물과 같은 비극성용매 분획물들이 유의성 있는 항염증 효과를 나타내었으며, 이러한 효과는 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.

사 사

본 논문은 2015~17년도 농촌진흥청 기관 고유과제인 고령지 적응작물 품종 육성 및 생산성 향상 기술 개발 과제 (과제 번호 : PJ011358022016, PJ011358012016 & PJ011354032016)의 연구비 지원에 의하여 연구되었음

References

- Cho YJ, Ju IS, Kim BC, Lee WS, Kim MJ, Lee BG, An BJ, Kim JH, Kwon OJ (2007) Biological activity of Omija (*Schizandra chinensis* Baillon) extracts. Korea J Soc Appl Biol Chem 50:198-203
- Kang YH, Park YK, Lee G (1996) The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. Korea J Food Sci Technol 28:232-239
- Kim HH, Kwon JH, Park KH, Kim MH, Oh MH, Choe KI, Park SH, Jin HY, Kim SS, Lee MW (2012) Screening of Antioxidative Activities and Antiinflammatory Activities in Local Native Plants. Korea J Pharmacogn 43(1):85-93
- Kim NR, Kwon HJ, Cho JS, Lee CH (2012) Antioxidant Activities of Fractions Obtained from *Dryopteris crassirhizoma*, *D. nipponensis* and *Polystichum lepidocaulon*. Korea J Plant Res 25(2):176-183
- Lee DS, Lim MS, Kwan SS, Kim SY, Park SN (2012) Antioxidative Activity and Componential Analysis of *Chamaecyparis obtuse* Leaf Extract. Appl Chem Eng 23:93-99
- Ryu IH, Kwon TO (2012) The Antioxidative Effect and Ingredients of Oil Extracted from *Schizandra chinensis* Seed. Korea J Medicinal Crop Sci 20(1):63-71
- Shin DB, Lee DW, Yang R, Kim JA (2006) Antioxidative properties and flavonoids contents of matured Citrus peel extracts. Food Sci Biotechnol 15:357-362
- Slinkard K, Singleton VL (1977) Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. American J Enol Vitic 28:49-55
- Xiong Q, Kadota S, Tani T, Namba T (1996) Antioxidative effect of phenylethanoids from *Cistanche deserticola*. Biol Pharm Bull 19:1580-1585
- 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 RAW264.7 cells. *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* 41:1205-1210
- 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 fupenjjic acid in macrophage Cells. *Kor J Pharmacogn* 41:14-20