

Flavonoids의 약리작용(V) - 전기자극 및 과민반응으로 유발된 흰쥐 회장의 평활근수축에서 Flavones 및 Flavonols의 진경효과 -

안홍직 · 이지윤 · 김수정 · 김정민 · 박주현 · 박성훈 · 심상수 · 김창중[#]

중앙대학교 약학대학 병태생리학

(Received March 26, 2007; Revised April 9, 2007)

Pharmacological Activities of Flavonoids (V): Spasmolytic Activities of Flavones and Flavonols on Rat Ileal Smooth Muscle Contraction Induced by Electrical Stimulation and Anaphylactic Reaction

Hong Zick Ahn, Ji Yun Lee, Soo Jeong Kim, Jung Min Kim, Ju Hyun Park, Sung Hun Park,
Sang Soo Sim and Chang Jong Kim[#]

Division of Pathophysiology and Pharmacology, College of Pharmacy, Chung-Ang University,
221 Huksuk-dong, Dongjak-gu, Seoul 156-756, Korea

Abstract — Some flavonoids have spasmolytic activities in various smooth muscles, but structure-activity relationships on their spasmolytic activity and its mechanism are unclear. In this study, effects of flavones (flavone and apigenin) and flavonols (quercetin and rutin) on the rat ileal smooth muscle contraction were studied *in vivo* and *in vitro*. In the electric stimulation-induced contraction, all of four flavonoids inhibited concentration-dependently the rat ileal smooth muscle contraction induced by electric stimulation (10 mV, 0.1 cps, 0.1 msec duration), IC₅₀ of quercetin, apigenin, flavone and rutin were 0.98×10^{-5} , 1.20×10^{-5} , 1.55×10^{-5} and 1.85×10^{-5} M, respectively. Flavonoids at a concentration of 2×10^{-5} M also significantly inhibited the anaphylactic contraction and decreased concentration-dependently the mast cell degranulation by anaphylactic reaction, IC₅₀ of quercetin, apigenin, flavone and rutin were 4.0×10^{-5} , 7.5×10^{-5} , 8.0×10^{-5} and 9.5×10^{-5} M, respectively. These results indicated that flavones and flavonols inhibited the rat ileal smooth muscle contraction induced by electric stimulation because of their antagonism against acetylcholine and have spasmolytic activities on anaphylactic contraction which may be due to their mast cell-stabilizing activities. Furthermore, double bond of C_{2,3} in benzene ring of flavonoids may be important in the their antispasmodic activities on the rat ileal smooth muscle contraction induced by electric stimulation and anaphylactic reaction.

Keywords □ flavone, apigenin, quercetin, rutin, flavonoids, rat ileal smooth muscle contraction, anaphylactic contraction

Flavonoids는 고등식물에서 광합성되어 꽃, 잎 및 뿌리 등에 널리 분포하고 있는 phenol성 물질로서 항산화,¹⁻⁵ 항염,⁶⁻¹³ 항알러지,¹⁴⁻¹⁸ 진경,¹⁹⁻²² 항바이러스²³ 및 항암작용^{24,25}이 있다고 알려져 있다. 최근 연구에서 Bertelli and Mezzaxalma²⁶는 flavonoids 유도체인 amykhellin, 2-phenylchrome, 3-methylchrome이 pitressin에 의해서 유발된 관상동맥의 경련을 이완시

킨다고 보고하였고, David Kidd²⁷는 flavonoids가 기관지확장작용이 있으며 특히 평활근 이완작용이 있어 항경련효능이 있다고 보고하였다. Khadzhai and Obelentseva²⁸는 flamine과 liquiritin이 carbachol이나 barium chloride에 의한 장 연동운동의 항진을 억제시킨다고 보고하였고, Formanek *et al.*²⁹은 khelline 및 chalcone 등이 대장의 경련을 억제한다고 보고하였다. Homoeriodictyl, quercetin, morin, rhammetin, 4-methyleculetin 및 catechin은 angiotensin, bradykinin 또는 eledoisin에 의한 guinea pig 회장의 경련에 대한 억제작용이 있으며,³⁰ amentoflavone은 acetylcholine, nicotine 또는 barium chlo-

[#]본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-820-5600 (팩스) 02-821-7680
(E-mail) kimcj@cau.ac.kr

ride에 의한 guinea pig 회장의 경련을 억제한다는 연구보고가 있다.¹⁹⁾

또한 flavonoids는 항과민작용 및 항알러지작용이 있다고 알려져 있는데,³¹⁾ 특히 신이(辛夷) 추출물,³²⁾ 영지에서 추출한 oleic acid,³³⁾ *Ehretia microphylla*에서 추출한 rosmarinic acid, astragallic acid, nicotiflorin, α 및 β-amyrin bauerenol,³⁴⁾ 감초에서 추출한 glycyrrhetic acid³⁵⁾가 항알러지작용이 있다고 보고되어 있다. 특히 임상에서 소화성질환환자의 대다수가 항원에 의한 과민성경련에 의한 것인데, Fanning 등은 egg albumin으로 감작시킨 guinea pig 회장에서 유발된 과민성 평활근수축을 quercetin이 억제하였다고 보고하였다.³⁶⁾

김 등³⁷⁻⁴⁰⁾은 이전의 연구에서 quercetin, kaempferol, hesperetin 등 수종의 flavonoids가 과민반응³⁷⁾ 및 면역반응³⁹⁾을 억제하며, 항염작용과 백혈구의 탐식작용을 촉진함으로써 상처치유를 억제하는 작용이 있다³⁸⁾고 보고하였다. 또 catechin, rutin 등의 flavonoids가 백혈구유주, 지질과산화 및 유리기생성을 억제한다고 보고한 바 있다.⁴⁰⁾

본 연구에서는 flavonoids 구조와 진경효능과의 상관성을 규명하고자 flavone과 flavonols이 전기적 자극 및 과민반응에 의한 장관수축에 미치는 영향에 관하여 실험하여 flavonoids가 농도의존적인 진경효능을 가지며 비만세포 안정화작용이 있어 과민성 장관경련을 억제하였기에 이에 보고한다.

실험 재료 및 방법

재료 및 시약

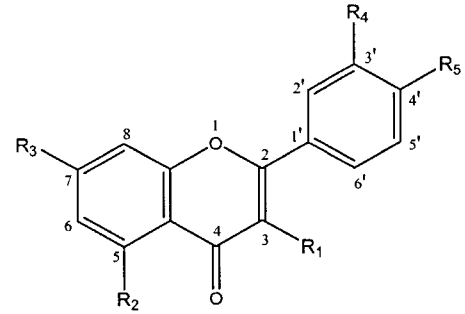
Flavonoids로서 flavone 및 quercetin은 Sigma chemical Co. (미국), apigenin은 Aldrich chemical Co. Inc.(미국), rutin은 Tokyo Kasei Inc. Co.에서 구입하여 메탄올에서 재결정하여 사용하였다. 실험시 dimethylsulfoxide(DMSO)에 용해하여 사용하였으며 전액에서 DMSO가 0.25% 이하가 되도록 하였다. Egg albumin은 Shimaku's pure chemical Co.(일본), pertussis vaccine은 (주)녹십자(한국), o-toluidine blue는 Sigma chemical Co.(미국)에서 구입하여 사용하였으며 기타 시약은 1급 시약을 사용하였다.

실험기기

Polygraph은 Grass Co.(미국), Centrifuge는 Jouan Inc.(미국) 제품을 사용하였다.

실험동물

일정한 조건하에서 1주일간 사육한 체중 140~180 g의 Sprague-Dawley계 흰쥐(수컷)를 실험전 24시간 동안 절식시킨 후 사용하였다.



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
Flavone	H	H	H	H	H
Apigenin	H	OH	OH	H	OH
Quercetin	OH	OH	OH	OH	OH
Rutin	O-rutinose	OH	OH	OH	OH

Scheme 1 - Structures of flavones and flavonols.

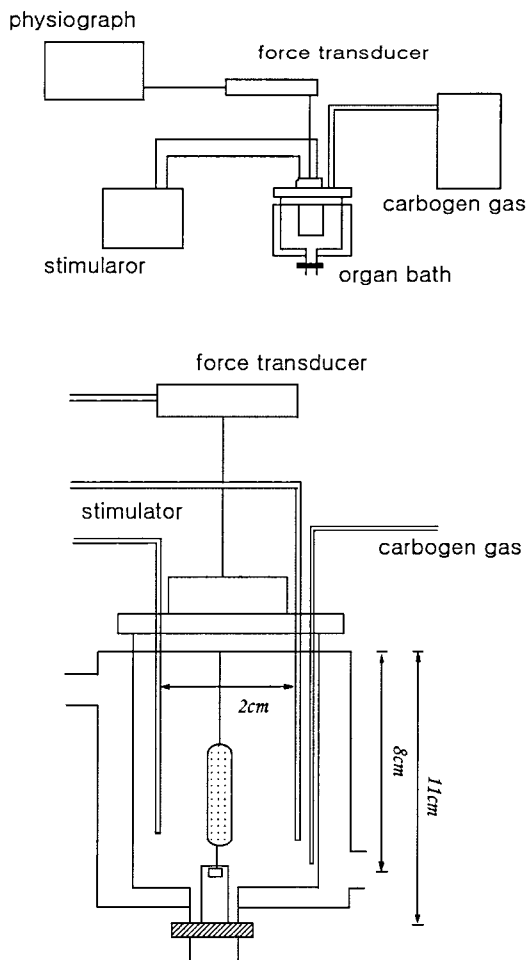
실험 방법

전기적 자극에 의한 평활근 경련

24시간 절식한 흰쥐를 급사시켜 회복한 후 회맹부에서 약 5 cm 전의 회장을 4 cm 길이로 절단하여, carbogen gas(95% O₂/5% CO₂)로 포화시킨 37°C Tyrode 용액(NaCl 8.0, KCl 0.2, CaCl₂ · 6H₂O 0.396, MgCl₂ · 6H₂O 0.214, NaH₂PO₄ 0.05, Glucose 1.0, 및 NaHCO₃ 1.0 g/l)에서 60분간 안정시킨 후 적출장관을 Scheme 1과 같이 organ bath에 상하로 등장성 근수축변환기(Grass FT.03)에 연결된 근육고정기에 고정시킨 다음 백금선(두께 0.5 mm, 폭 5 mm, 길이 5 cm) 2개를 서로 2 cm 떨어진 곳에 장관과 평행되게 장치하고, 등장성근수축변환기에 1 g 장력을 준 후 전기자극기로 60분간 전기자극(10 mV, 0.1 cps, 0.1 msec duration)을 주어 장운동을 측정하였다. Polygraph상에 근육의 등장성장력이 일정한 수축을 유지하는 지점을 대조군의 기준으로 삼고, 각각의 flavonoids를 여러 농도별로 조제하여 bath내에 15 분 간격으로 누적적으로 가한 후 등장성 장력을 측정하여 근육의 이완을 대조군을 기준으로 하여 백분율로 환산하였으며,^{41,42)} 근육의 이완작용은 약물을 처리하지 않은 대조군의 근수축을 50%로 감소시키는데 필요한 약물의 농도(IC₅₀, inhibitory concentration of 50%)로 나타내었다.

과민성 평활근 경련

Reaginic antibody 제조 - Mota법⁴³⁾에 의하여 다음과 같이 제조하였다. 수컷 흰쥐(체중 120±20 g)에 2% egg albumin 생리식염액 0.5 ml/kg을 근육주사하고 동시에 백일해 백신(*Bordetella Pertusis* 2×10¹⁰/ml) 1 ml를 복강주사하고 난 제 14일 후에 심장 천자하여 채혈하고 냉동원심분리(3,500 rpm)하여 혈청을 분리해



Scheme 2 - Recording system for the isometric tension of a rat ileum muscle.

서 비만세포를 감각할 수 있는 항혈청(mast cell sensitizing antibody, MCSAb)를 얻어 -20°C에 보관하여 역가를 측정하여 사용하였다.

과민성평활근경련 - 24시간 절식한 흰쥐를 금사시켜 개복하고 회맹부에서 약 5 cm 전의 회장을 4 cm 길이로 적출하여 전기적 자극에 의한 평활근 경련에서의 방법과 같이 organ bath에 수직으로 등장성근수축변환기에 연결된 근육고정기에 고정시킨 다음 polygraph에 연결하여 1시간 동안 carbogen gas를 포화시킨 Tyrode 용액에 안정시킨 후 변환기에 1g의 추를 달고 근육의 등장성장력이 polygraph상에서 일정한 크기로 유지되는 수축지점을 대조군의 기준으로 삼고 flavonoids를 넣고 30분간 배양한 후 reaginic antibody를 60배 희석되게 첨가하여 다시 30분간 배양한 다음 egg albumin 1 mg/ml을 함유한 Tyrode 용액을 넣어 37°C에서 배양하면서 30분간 근수축장력을 측정하여 대조군을 기준으로 하여 백분율(%)로 환산하였다.^{41,42)} 이때 flavonoids의 농도는 전기적 자극에 의한 평활근경련 시험에서 실험한 flavonoids 모두가 유의성있는 근수축 억제작용을 보인 2×10^{-5}

M에서 시험하였다.

비만세포탈과립을 측정 - 24시간 절식한 흰쥐를 금사시켜 개복하고 장간막을 적출하여 37°C Tyrode 용액에 넣고 5분간 방치한 후 flavonoids를 넣고 30분간 배양한 후 reaginic antibody를 넣고 30분간 배양하였다. 또 egg albumin 1 mg/ml이 함유된 Tyrode 용액을 넣어 30분간 배양한 다음 0.1% o-toluidine blue 용액으로 비만세포를 염색한 후 현미경 상에서 탈과립된 비만세포 수를 세어 백분율로 환산하였으며,⁴⁵⁾ 비만세포탈과립율은 약물을 처리하지 않은 대조군의 비만세포탈과립율을 50%로 감소시키는데 필요한 약물의 농도(IC₅₀, inhibitory concentration of 50%)로 나타내었다.

통계처리

실험결과의 통계처리는 PCS(Pharmacological Calculation System)과 Sigma Plot를 이용하여 Duncan의 다중비교법(Duncan multiple range test)을 시행하여 통계적 유의성을 검정하였으며, 결과는 평균±표준오차(mean±S.E.)로 나타내었다.

결과 및 고찰

전기적 자극에 의한 평활근 경련에 대한 진경작용

전기자극(10 mV, 0.1 cps, 0.1 msec duration)에 의해 흰쥐적출 회장에 수축을 일으킨 후 flavonoids를 투여했을 때 모든 flavonoids를 투여군에서 전기자극으로 수축된 평활근을 농도의 존적으로 이완시켰다(Table D). Flavonol류인 quercetin은 10^{-5} , 2×10^{-5} 및 5×10^{-5} M에서 근수축 억제율이 대조군에 비하여 각각 51.2, 87.3 및 98.5%로서 농도의존적으로 억제되어 강한 진경작용을 나타냈으며, IC₅₀이 0.98×10^{-5} M로서 대조약물인 atropine과 동등한 효력을 나타내었다. 그러나 quercetin의 3번 탄소의 -OH기에 rutinose가 결합된 배당체인 rutin은 10^{-5} M에서부터 근수축억제작용을 나타내기 시작하여 10^{-5} , 2×10^{-5} 및 5×10^{-5} M에서 근수축억제율이 각각 8.0, 55.9 및 85.1%로서 농도의존적으로 억제되었으며, IC₅₀이 1.85×10^{-5} M로서 quercetin에 비해 약 1/2로서 진경효능이 약화되었다. 이러한 결과로 보아 3번 탄소의 -OH기에 당이 결합된 배당체는 그의 비배당체에 비해 진경작용이 감소됨을 알 수 있었다. 이러한 결과는 flavonoids가 혈소판응집 억제작용,⁴⁶⁾ 호중구로부터의 histamine유리 억제작용,¹⁵⁾ aldose reductase활성 억제작용⁴⁴⁾ 및 과민반응 억제작용³¹⁾이 있다는 다른 연구보고와 일치하였다.

또한 flavone류인 apigenin 및 flavone도 농도의존적인 진경작용을 나타내었다. 즉 apigenin은 5×10^{-6} , 10^{-5} , 2×10^{-5} 및 5×10^{-5} M에서 근수축억제율이 각각 4.0, 43.3, 74.5 및 90.1%로서 농도의존적인 억제작용이 있었으며, IC₅₀이 1.20×10^{-5} M이었다. 또 flavone은 5×10^{-6} , 10^{-5} , 2×10^{-5} 및 5×10^{-5} M에서 근수축억

Table I – Inhibitory activity of flavones and flavonols on the isometric tension of the rat ileum by electric stimulation¹⁾

Drug	Inhibition percent of the isometric tension ²⁾				IC ₅₀ (M) ³⁾
	Concentrations (M)				
	5×10 ⁻⁶	1×10 ⁻⁵	2×10 ⁻⁵	5×10 ⁻⁵	
Flavone	1.8±0.5	25.0±4.5 ^a	69.8±9.8 ^{*,a}	87.4±13.2 ^{*,a}	1.55×10 ⁻⁵
Apigenin	4.0±1.1	43.3±8.7 ^a	74.5±10.4 ^{*,a}	90.1±15.7 [*]	1.20×10 ⁻⁵
Quercetin	1.9±0.3	51.2±9.2 ^{*,a}	87.3±11.7 ^{*,a}	98.5±14.5 [*]	0.98×10 ⁻⁵
Rutin	-	8.0±2.4	55.9±10.6 ^{*,a}	85.1±15.3 ^{*,a}	1.85×10 ⁻⁵
Atropine sulfate	19.8±1.5	50.7±10.3 ^{*,a}	85.4±12.6 ^{*,a}	98.0±13.7 [*]	0.99×10 ⁻⁵

¹⁾Stimulation condition is 10 mV, 0.1 cps, 0.1 msec duration.

²⁾Inhibition (%) is the value as compared to control in the isometric tension by electric stimulation.

³⁾IC₅₀ (inhibitory concentration of 50%) was defined as a concentration required for 50% isometric tension inhibition as compared with control.

Each value represents the mean±S.E. (n=6).

Significant differences were determined by Duncan's multiple range test; *P<0.05 as compared to control group, and ^aP<0.05 as compared between concentrations in each flavonoid-treated group.

제율이 각각 1.8, 25.0, 69.8 및 87.4%를 나타내어 농도의존적 억제작용이 있었으며 IC₅₀이 1.55×10⁻⁵ M이었다. 이와 같이 apigenin이 flavone에 비해 보다 강한 진경작용을 나타내는 것으로 보아 -OH기의 수가 증가함에 따라 항경련작용도 강해짐을 알 수 있었고 이와 같은 결과는 정³¹⁾의 연구보고와 일치하였다.

한편 c-ring의 3번 탄소에 -OH기가 존재하는 quercetin이 -OH기가 존재하지 않는 flavone 및 apigenin에 비해 보다 강한 억제작용을 나타내는 것으로 보아 3번 탄소에 -OH기가 존재할 때 항경련 효능이 증강된다고 사료되며 이는 Middleton 등¹⁵⁾의 주장과 일치한다.

이상과 같이 flavonoids가 진경작용을 갖는 것은 전기적 자극에 의해 유리되는 acetylcholine에 길항하기 때문이므로 flavonoids는 acetylcholine 길항작용이 있는 것으로 사료된다.

과민성평활근경련에 대한 진경작용

흰쥐의 적출회장에 reaginic antibody를 넣어 장관의 비만세포를 감작시킨 후 다시 항원으로 egg albumin을 가하여 유발되는 과민성근경련에 대해 flavonoids는 모두 과민성근수축을 억제하

였다(Table II). Quercetin은 2×10⁻⁵ M에서 과민성근수축이 95.7% 억제되었으며(Table II), 또한 5×10⁻⁶, 10⁻⁵, 2×10⁻⁵ 및 5×10⁻⁵ M에서 비만세포 탈과립율이 각각 78.4, 72.4, 60.3 및 48.2%를 나타내어 대조군(91.3%)에 비해 농도의존적으로 억제되었다(Table III). 이러한 실험결과는 quercetin이 비만세포 안정화작용을 나타내었고, 이로 인해 비만세포로부터 histamine 등의 염증매개물질방출을 억제한다는 Fewtrell,¹⁴⁾ Bennett⁴⁷⁾ 등 및 정³¹⁾의 보고와 일치하였다. 또한 rutin은 2×10⁻⁵ M에서 과민성근수축 억제율이 78.3%이었고, 5×10⁻⁶, 1×10⁻⁵, 2×10⁻⁵ 및 5×10⁻⁵ M에서 비만세포 탈과립율이 각각 90.3, 87.4, 80.5 및 77.2%로서 비배당체인 quercetin에 비해 비만세포 탈과립율이 저하되었다. 이는 rutin이 3번 탄소의 -OH기에 당이 연결되어 있는 배당체이기 때문에 세포막투과율이 비배당체보다 저하되기 때문이라 사료된다.

한편 apigenin은 2×10⁻⁵ M에서 과민성근수축 억제율이 84.8%이었고, 비만세포 탈과립율은 5×10⁻⁶, 10⁻⁵, 2×10⁻⁵ 및 5×10⁻⁵ M에서 각각 84.3, 75.3, 70.7 및 63.6%를 나타내어 대조군에 비해 농도의존적인 비만세포안정화작용이 있었다. 또 flavone은 2×10⁻⁵ M에서 과민성근수축 억제율이 82.5%이었고, 비만세포 탈과립율이 동일한 농도에서 각각 85.7, 79.2, 71.5 및 65.7%로서 역시 농도의존적인 비만세포안정화작용이 있었다. 그러나 flavone은 quercetin 및 apigenin에 비해 과민성근경련 및 비만세포안정화작용이 감소되어 있는 것으로 보아 3번 탄소에 -OH기가 존재하거나 -OH기의 수가 증가함에 따라 과민반응 억제작용이 강해진다고 사료된다.

이상과 같이 c-ring의 2, 3 위치에 2중결합이 존재하는 flavones과 flavonols이 항경련효능이 있는 것으로 보아 c-ring의 C_{2,3} 2중결합은 진경효능을 갖는데 중요한 역할을 한다고 사료되며 이는 Landolf⁴⁶⁾ 등, Middleton¹⁵⁾ 등 및 Varma⁴⁴⁾의 주장과 일치한다.

Table II – Inhibitory activity of flavones and flavonols on the anaphylactic smooth muscle contraction

Drugs	Concentration (M)	Inhibition of isometric tension (%) ¹⁾
Flavone	2×10 ⁻⁵	82.5±11.5*
Apigenin	2×10 ⁻⁵	84.8±10.7*
Quercetin	2×10 ⁻⁵	95.7±13.2**
Rutin	2×10 ⁻⁵	78.3±10.4*
Disodium cromoglycate	2×10 ⁻⁵	98.7±12.6**
Chlorpheniramine maleate	2×10 ⁻⁵	96.4±12.4**

¹⁾Inhibition (%) is the value as compared to control in the isometric tension of anaphylactic contraction.

Each value represents the mean±S.E. (n=6).

Significant differences as compared to control group were determined by Duncan's multiple range test; *P<0.05 and **P<0.01.

Table III – Effect of flavones and flavonols on the mast cell degranulation induced by reagin antibody¹⁾

Drugs	Mast cell degranulation ²⁾ (%)				IC ₅₀ ³⁾ (M)
	Concentrations (M)				
	5×10 ⁻⁶	1×10 ⁻⁵	2×10 ⁻⁵	5×10 ⁻⁵	
Flavone	85.7±9.8	79.2±10.3 ^a	71.5±8.5	65.7±6.2	8.0×10 ⁻⁵
Apigenin	84.3±11.4	75.3±9.7 ^a	70.7±9.4	63.6±5.4	7.5×10 ⁻⁵
Quercetin	78.4±8.5	72.3±9.3	60.3±7.5 ^{*a}	48.2±6.6 ^{**a}	4.0×10 ⁻⁵
Rutin	90.3±13.6	87.4±12.1	80.5±10.3	77.2±9.5	9.5×10 ⁻⁵
Disodium cromoglycate	77.3±9.4	70.2±8.9	59.4±6.3 ^{*a}	40.5±5.5 ^{**a}	3.5×10 ⁻⁵
Chlorpheniramine maleate	80.5±14.5	78.6±8.5	73.2±9.4	71.2±4.9	14.7×10 ⁻⁴

¹⁾Mesenteric tissue was preincubated with drugs for 30 mins at 37°C and further incubated for 30 mins with reagin antibody. And then mesenteric tissue was transferred to 1 ml of Tyrode's solution containing egg albumin (1 mg/ml) and incubated for 30 mins at 37°C.

²⁾Disrupted mast cells were counted microscopically with o-toluidine blue staining as compared as control (91.3%).

³⁾IC₅₀ (inhibitory concentration of 50%) was defined as a concentration required for 50% mast cell degranulation inhibition as compared as control.

Each value represents the mean±S.E. (n=6).

Significant differences were determined by Duncan's multiple range test; *P<0.05 and **P<0.01 as compared to control group, and ^aP<0.05 as compared between concentrations in each flavonoid-treated group.

결 론

Flavones(flavone과 apigenin)와 flavonols(quercetin과 rutin)가 전기자극과 과민반응에 의한 평활근수축에 미치는 영향에 관하여 실험한 결과, flavonoids는 다음과 같은 항경련작용이 있었다.

Flavonoids는 전기자극 및 과민반응에 의한 평활근수축을 농도의존적으로 억제하였는데, 그 효능은 quercetin이 가장 강하였고, apigenin, flavone, rutin 순이었다. Flavonoids의 이러한 진경작용은 전기적 자극에 의해 유리되는 acetylcholine에 길항하고, 과민반응에 의한 비만세포 탈과립을 유의성있게 억제하는 작용에 기인한 것으로 사료된다.

이상의 결과로 종합해 보면, flavonoid 중 c-ring의 2, 3 위치에 2중결합이 존재하는 flavones과 flavonols이 항경련효능이 있는 것으로 보아 c-ring의 C_{2,3} 2중결합은 진경효능을 갖는데 중요한 역할을 한다고 사료된다.

참고문헌

- 1) Ajay, M., Achike, F. I., Mustafa, A. M. and Mustafa, M. R. : Direct effects of quercetin on impaired reactivity of spontaneously hypertensive rat aortae: comparative study with ascorbic acid. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **33**, 345 (2006).
- 2) Mercer, L. D., Kelly, B. L., Horne, M. K. and Beart, P. M. : Dietary polyphenols protect dopamine neurons from oxidative insults and apoptosis: investigations in primary rat mesencephalic cultures. *Biochem. Pharmacol.* **69**, 339 (2005).
- 3) Naderi, G. A., Asgary, S., Sarraf-Zadegan, N. and Shirvany, H. : Anti-oxidant effect of flavonoids on the susceptibility of LDL oxidation. *Mol. Cell. Biochem.* **246**, 193 (2003).
- 4) Martin, M. J., La-Casa, C., Alarcon-de-la-Lastra, C., Cabeza, J., Villegas, I. and Motilva, V. : Anti-oxidant mechanisms involved in gastroprotective effects of quercetin. *Z. Naturforsch. [C]* **53**, 82 (1998).
- 5) Plass, G. L. and Witschi, H. : Chemicals, drugs and lipid peroxidation. *Am. Rev. Toxicol. Pharmacol.* **16**, 125 (1986).
- 6) Ahn, K. S., Noh, E. J., Cha, K. H., Kim, Y. S., Lim, S. S., Shin, K. H. and Jung, S. H. : Inhibitory effects of Iridogenin from the rhizomes of *Belamcanda chinensis* on nitric oxide and prostaglandin E(2) production in murine macrophage RAW 264.7 cells. *Life Sci.* **78**, 2336 (2006).
- 7) Chen, Y., Yang, L. and Lee, T. J. : Oroxylin A inhibition of lipopolysaccharide-induced iNOS and COX-2 gene expression via suppression of nuclear factor-kappaB activation. *Biochem. Pharmacol.* **59**, 1445 (2000).
- 8) Liu, Y. C., Hsieh, C. W., Wu, C. C. and Wung, B. S. : Chalcone inhibits the activation of NF-kappaB and STAT3 in endothelial cells via endogenous electrophile. *Life Sci.* **80**, 1420 (2007).
- 9) Garcia-Mediavilla, V., Crespo, I., Collado, P. S., Esteller, A., Sanchez-Campos, S., Tunon, M. J. and Gonzalez-Gallego, J. : The anti-inflammatory flavones quercetin and kaempferol cause inhibition of inducible nitric oxide synthase, cyclooxygenase-2 and reactive C-protein, and down-regulation of the nuclear factor kappaB pathway in Chang Liver cells. *Eur. J. Pharmacol.* **557**, 221 (2007).
- 10) Guerra, J. A., Molina, M. F., Abad, M. J., Villar, A. M. and Paulina, B. : Inhibition of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression by flavonoids isolated from *Tanacetum microphyllum*. *Int. Immunopharmacol.* **6**, 1723 (2006).
- 11) Gutierrez-Venegas, G., Kawasaki-Cardenas, P., Arroyo-Cruz,

- S. R. and Maldonado-Frias, S. : Luteolin inhibits lipopolysaccharide actions on human gingival fibroblasts. *Eur. J. Pharmacol.* **541**, 95 (2006).
- 12) Takano-Ishikawa, Y., Goto, M. and Yamaki, K. : Structure-activity relations of inhibitory effects of various flavonoids on lipopolysaccharide-induced prostaglandin E2 production in rat peritoneal macrophages: comparison between subclasses of flavonoids. *Phytomedicine.* **13**, 310 (2006).
- 13) Orhan, D. D., Kupeli, E., Yesilada, E. and Ergun, F. : Anti-inflammatory and antinociceptive activity of flavonoids isolated from *Viscum album* ssp. *album*. *Z. Naturforsch. [C]* **61**, 26 (2006).
- 14) Fewtrell, C. M. S. and Gomperts, B. D. : Effect of flavone inhibitions of transport ATPase on histamine secretion from rat mast cells. *Nature* **265**, 635 (1977).
- 15) Middleton, E. Jr. : The flavonoids. *Trends. Pharmacol. Sci.* **5**, 335 (1984).
- 16) Nair, M. P., Kandaswami, C., Mahajan, S., Chadha, K. C., Chawda, R., Nair, H., Kumar, N., Nair, R. E. and Schwartz, S. A. : The flavonoid, quercetin, differentially regulates Th-1 (IFN γ) and Th-2 (IL4) cytokine gene expression by normal peripheral blood mononuclear cells. *Biochim. Biophys. Acta* **1593**, 29 (2002).
- 17) Kimata, M., Shichijo, M., Miura, T., Serizawa, I., Inagaki, N. and Nagai, H. : Effects of luteolin, quercetin and baicalein on immunoglobulin E-mediated mediator release from human cultured mast cells. *Clin. Exp. Allergy.* **30**, 501 (2000).
- 18) Kimata, M., Inagaki, N. and Nagai, H. : Effects of luteolin and other flavonoids on IgE-mediated allergic reactions. *Planta Med.* **66**, 25 (2000).
- 19) Charkravarty, B. K., Rao, Y. V., Gambhir, S. S. and Gobe, K. D. : Isolation of amentoflavone from *Selaginella rupestris* and isolated frog heart preparations. *Planta medica.* **43**, 64 (1981).
- 20) Weimann, C., Goransson, U., Pongprayoon-Claeson, U., Claeson, P., Bohlin, L., Rimpler, H. and Heinrich, M. : Spasmolytic effects of baccharis conferta and some of its constituents. *J. Pharm. Pharmacol.* **54**, 99 (2002).
- 21) Mata, R., Rojas, A., Acevedo, L., Estrada, S., Calzada, F., Rojas, I., Bye, R. and Linares, E. : Smooth muscle relaxing flavonoids and terpenoids from *Conyza filaginoides*. *Planta Med.* **63**, 31 (1997).
- 22) Van Den Broucke, C. O. and Lemli, J. A. : Spasmolytic activity of the flavonoids from *Thymus vulgaris*. *Pharm. Weekbl. Sci.* **5**, 9 (1983).
- 23) Vlietinck, A. J., Vanden Berghe, D. A. and Haemers, A. : Present status and prospects of flavonoids as anti-viral agents. *Prog. Clin. Biol. Res.* **280**, 283 (1988).
- 24) Wang, C. L., Li, H. Q., Meng, W. D. and Qing, F. L. : Trifluoromethylation of flavonoids and anti-tumor activity of the trifluoromethylated flavonoid derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **15**, 4456 (2005).
- 25) Way, T. D., Kao, M. C. and Lin, J. K. : Degradation of HER2/neu by apigenin induces apoptosis through cytochrome c release and caspase-3 activation in HER2/neu- overexpressing breast cancer cells. *FEBS Lett.* **579**, 145 (2005).
- 26) Berteli, A. and Mezzaxalma, G. : Action of some khellin preparations on the coronary spasm caused by pitressin. *Attsoc. lombarda Sa. Med. Biol.* **13**, 177 (1958).
- 27) David Kidd. : Potential bronchodilators in the flavonoids series. *J. Chem. Soc.* 1521 (1962).
- 28) Khadzhai, Y. I. and Obelentseva, G. V. : Effect of flavonoid compounds on some function of the gastrointestinal tract. *Fendyne Saedin. Ikh Biol. Funkts, Mater Siml.* **1**, 365 (1968).
- 29) Formanek, K., Höller, H. and Janisch, H. : Relations between structure and activity of some flavonoids. *Pharm. Acta. Helvi.* **33**, 437 (1958).
- 30) Chau, T. T. and Haley, T. J. : Flavonoids antagonism of the sapsmogenic effect of antigiogtensin, bradykinin and eledoisin on guinea pig ileum. *J. Pharm. Sci.* **158**, 621 (1969).
- 31) Chung, Z. M. : Flavonoids 및 그의 관련 화합물의 과민반응 억제 작용, 중앙대학교 대학원 박사학위논문 (1990).
- 32) 敦賀明子, 海老塚豊, 野口博司, 秦堯彦, 三川潮 : 日本生薬学会 發表要旨 **10**, 18 (1981).
- 33) Tasaka, K., Akagi, M., Mivoshi, K., Mio, M. and Makio, T. : Antiallergic constituents in the culture medium of *Ganoderma lucidum*. *Agents and Actions.* **23**, 153 (1988).
- 34) Rimando, A., Inoshiris, M. and Otsuka, H. : Screening of philippine medicinal plants. *Shoyakugaku Zasshi* **41**, 242 (1987).
- 35) Ioue, H., Mori, T., Shibata, S. and Saito, H. : Pharmacological activities of glycyrrhetic acid derivatives: analgesic and anti-type IV allergic effect. *Chem. Pharm. Bull.* **35**, 3888 (1987).
- 36) Fanning, M. J., Macander, P., Drzewiecki, G. and Middleton, E. Jr. : Quercetin inhibits anaphylatic contraction of guinea pig ileum smooth muscle. *Int. Archs. Allergy Apl. Immun.* **71**, 371 (1983).
- 37) Kim, C. J. and Chung, J. M. : Pharmacological activities of flavonoids (I). Relationships of chemical structure of flavonoids and their inhibitory activity of hypersensitivities. *Yakhak Hoeji* **34**, 348 (1990).
- 38) Kim, C. J., Su, S. K., Joo, J. H. and Cho, S. K. : Pharmacological activities of flavonoids (II). Relationships of anti-inflammatory and anti-granulomatous actions. *Yakhak Hoeji* **34**, 407 (1990).
- 39) Kim, C. J. and Cho, S. G. : Pharmacological activities of flavonoids (III). Structure-activity relationships of flavonoids in immunosuppressions. *Achiv. Pharm. Res.* **14**, 250 (1991).
- 40) Kim, C. J., Jung H. S. and Chung, J. M. : Pharmacological activities of flavonoids (IV). Inhibitory actions of leukocyte

- migration, superoxide anion production and lipid peroxidation. *Yakhak Hoeji* **35**, 165 (1991).
- 41) 津田茶介錢野上壽 : 副交感神経刺激についての實驗. 藥效の評價(I) 地人書館, 東京, 748 (1971).
- 42) Paton, W. D. M. : The action of morphine and related substances on contraction and on acetylcholine output of coaxially stimulated guinea pig ileum. *Brit. J. Pharmacol.* **11**, 119 (1957).
- 43) Motar, I. : The mechanism of anaphylaxis. *Immunology* **7**, 681 (1964).
- 44) Varma, S. D. : Inhibition of aldose reductase by flavonoids. *Prg. Clin. Biol. Res.* **213**, 343 (1986).
- 45) Goose, J., Blair, A. H. J. N. : Passive cutaneous anaphylaxis in the rat, induce with two homologous reagin-like antibodies and its specific inhibition disodium cromoglycate. *ibid.* **16**, 749 (1969).
- 46) Landolf, R., Mower, R. I. and Steiner, M. : Modification of platelet fuction and arachidonic acid and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids. *Biochem. Pharmacol.* **33**, 1529 (1984).
- 47) Bennett, J. F. : Inhibiting effects of natural flavonoids on secretion from mast cell and neutrophils. *Arzneimittel-forsch.* **26**, 2405 (1977).