

## RAW264.7 대식세포에서 왕쥐똥나무잎 추출물의 항염증 효과

김연숙<sup>1</sup> · 이승재<sup>1</sup> · 황진우<sup>1</sup> · 김이화<sup>2</sup> · 박표잠<sup>1</sup> · 정재현<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>건국대학교 생명공학과

<sup>2</sup>세명대학교 한의학대학 경락경혈학교실

<sup>3</sup>한국교통대학교 식품공학과

## Anti-Inflammatory Effects of Extracts from *Ligustrum ovalifolium* H. Leaves on RAW264.7 Macrophages

Yon-Suk Kim<sup>1</sup>, Seung-Jae Lee<sup>1</sup>, Jin-Woo Hwang<sup>1</sup>, Ee-Hwa Kim<sup>2</sup>,  
Pyo-Jam Park<sup>1</sup>, and Jae-Hyun Jeong<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Biotechnology, Konkuk University, Chungbuk 380-701, Korea

<sup>2</sup>Dept. of Acupoint and Meridian, College of Oriental Medicine, Semyung University, Chungbuk 290-711, Korea

<sup>3</sup>Dept. of Food and Biotechnology, Korea National University of Transportation, Chungbuk 380-702, Korea

### Abstract

This study investigated the anti-inflammatory effects of *Ligustrum ovalifolium* H. (LOH) leaf extracts on RAW264.7 macrophages. Cell toxicity was determined by MTT assay. We evaluated the anti-inflammatory effects of LOH extracts by measuring nitric oxide (NO), reactive oxygen species (ROS), inducible NOS (iNOS) production, and cyclooxygenase-2 (COX-2) expression by Western blotting. LOH ethanolic extracts (0.05, 0.1, and 0.2 mg/mL) significantly suppressed LPS-stimulated production of NO. The intracellular ROS level also significantly decreased. LOH ethanolic extracts reduced the expression of iNOS and COX-2 proteins. The present results show that LOH ethanol extract has potent anti-inflammatory effects on RAW264.7 macrophages. These results also suggest that the anti-inflammatory effects of LOH extracts may be related to the inhibition of LPS-stimulated ROS and NO production. Therefore, ethanolic extracts of LOH leaves may be utilized as a good source of functional foods for protection against inflammatory diseases.

**Key words:** anti-inflammation, *Ligustrum ovalifolium* H., nitric oxide, nitric oxide synthase, reactive oxygen species (ROS)

### 서 론

염증반응이란 체내에 박테리아나 바이러스 같은 외부물질이 유입되는 경우, 면역세포가 이를 인지하여 다양한 염증매개 물질을 분비함으로써 몸을 보호해주는 기전이다(1). 염증반응이 만성적으로 일어날 때는 염증매개 물질이 과도하게 분비되어 암세포의 성장을 촉진시키고, 인슐린 저항성을 증가시키며 동맥경화를 악화시키는 등 다양한 병리학적 기전에 관여한다고 보고되고 있다(2,3). 염증반응에 관여하는 주요 세포는 macrophage로 알려져 있으며, 여러 자극이나 면역세포들이 분비하는 사이토카인 등에 의해 활성화되어, proinflammatory cytokine, nitric oxide(NO)와 prostaglandin E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>)를 생성함으로써 통증, 부종, 열 등의 염증반응을 유발하고, 염증부위로 면역세포의 이동을 촉진시킨다(4). 이 중 NO는 반응성이 높은 물질로 NO synthase(NOS)에 의해 L-arginine으로부터 생성되며 NOS는 con-

stitutive NOS와 inducible NOS(iNOS)로 나누어진다. 특히 iNOS는 외부자극이나 proinflammatory cytokine 등에 의해 자극 받게 되면 hepatocytes, smooth muscle cells, bone marrow cells, monocytes, macrophages 등 다양한 세포에서 발현되어 다량의 NO를 생산한다고 보고되고 있다(5). 즉, iNOS와 COX-2의 발현과 NO, PGE<sub>2</sub>의 생성은 면역세포의 대표적인 염증인자이다.

한편, 염증반응을 유발하는 원인 중 또 다른 하나는 체내에 생성되는 산화적 스트레스인데 특히 흡연이나 음주, 비만, 독성물질 등은 체내 산화적 스트레스를 증가시켜 염증반응을 유발함으로써 만성질환을 일으킨다고 알려져 있다(6). 따라서 항산화 효과가 뛰어난 성분의 섭취에 의해 산화적 스트레스가 감소되어 만성적인 염증반응이 감소된다고 보고되고 있다(7,8). 본 연구에 사용된 왕쥐똥나무(*Ligustrum ovalifolium* H.)는 목서과(Oleaceae)에 속하며 왕쥐똥나무와 같은 *Ligustrum*속 식물에는 쥐똥나무, 제주광나무, 광나무,

\*Corresponding author. E-mail: jhjeong@cjnu.ac.kr  
Phone: 82-43-820-5248, Fax: 82-43-820-5230

상동잎쥐똥나무, 둥근잎광나무, 털쥐똥나무, 섬쥐똥나무, 버들쥐똥나무 등 13종 이상이 있다. 쥐똥나무라 불리는 것은 열매가 마치 쥐똥처럼 생겼다가하여 붙여진 이름이며, 왕쥐똥나무는 나무의 높이나 잎의 크기, 화서의 크기가 쥐똥나무와 구별된다. 민간에서는 쥐똥나무 및 왕쥐똥나무의 열매를 수랍과라고 부르며 강장이나 지혈, 신체쇠약 등에 사용해 왔다. 그러나 왕쥐똥나무에 관한 최근까지의 연구현황은 왕쥐똥나무 꽃에서 acrylated triterpenoids 분리와 종자에서 ursolic acid와 oleanolic acid 분리와 왕쥐똥나무잎 추출물을 이용한 항산화 활성 측정이 있을 뿐, 왕쥐똥나무잎 추출물을 이용한 연구는 아직 미흡한 실정이다(9,10).

따라서 본 연구는 선행연구를 통해 프리라디칼 소거능이 뛰어나고 항산화 활성이 있음이 밝혀진 왕쥐똥나무잎 추출물을 이용하여 lipopolysaccharide(LPS)로 염증을 유도하여 활성화된 RAW264.7 대식세포에서 NO의 생성 억제 및 활성산소(ROS) 소거에 미치는 영향과 염증관련 단백질인 iNOS 및 COX-2의 발현에 미치는 영향을 연구하여 항염증 효과를 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료 및 시약

본 실험에 사용한 왕쥐똥나무잎은 자양농장(충주, 한국)에서 기증받아 음지에서 건조하여 마쇄 후 사용하였다. DMEM 배지(Dulbecco's modified Eagle's medium)와 FBS(fetal bovine serum)는 Lonza사(Walkersville, MD, USA)에서 구입하여 사용하였으며, 그 외에 사용된 시약은 특급 및 일급을 구입하여 사용하였다.

### 왕쥐똥나무잎 추출물의 제조

실험에 사용된 시료 추출을 위한 용매는 물과 에탄올을 사용하였다. 물 추출은 왕쥐똥나무잎 건조 분말 시료 10 g을 3차 증류수 500 mL에 첨가하여 95°C에서 150분 동안 추출하였다. 추출물은 여과지(No. 41, Whatman, Maidstone, England)로 잔재물을 제거한 후 rotary vacuum evaporator(EYELA, Tokyo, Japan)로 농축하고 동결건조 하였다. 에탄올 추출은 왕쥐똥나무잎 건조 분말 시료 20 g에 70% 에탄올 200 mL를 첨가하여 상온에서 120 rpm의 진탕기로 24시간씩 3회 추출한 후 농축하여 동결건조 하였다.

### 세포 배양

RAW264.7 대식세포는 한국세포주은행(KCLB, Korea Cell Line Bank, Seoul, Korea)에서 분양 받아 사용하였다. RAW264.7 대식세포는 10% FBS, 100 unit/mL를 포함하는 DMEM 배지를 사용하였다. 세포는 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 배양하였다.

### 세포 독성 측정

세포의 생존율은 3-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-2,5-di-

phenyl-tetrazolium bromide(MTT) 환원 방법을 이용하여 측정하였다(11). RAW264.7 대식세포를 24-well plates에  $2 \times 10^5$  cells/mL 농도로 분주한 뒤 12시간 동안 배양한 후, 각 시료를 최종 농도(0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 mg/mL)가 되도록 세포에 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 이후 MTT 용액(0.2 mg/mL)을 가하고 37°C에서 4시간 더 배양하여 MTT를 환원시켜 생성된 formazan이 배지에 떨어져나가지 않도록 배지를 조심스럽게 제거하였다. DMSO를 200  $\mu$ L 분주하여 20분 동안 혼합한 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### Nitric oxide(NO) 함량 측정

RAW264.7 대식세포를  $2 \times 10^5$  cells/mL의 농도로 24-well plate에 분주하여 12시간 배양한 후에 LOH 추출물을 농도별(0.05, 0.1, 0.2 mg/mL)로 처리한 다음, LPS(100 ng/mL)를 처리하여 20시간 배양하였다. 세포 배양액 100  $\mu$ L와 Griess 시약 100  $\mu$ L를 혼합하여 상온에서 10분 동안 반응시킨 후, ELISA reader(SECOMAN, Ales, France)를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였고 sodium nitrate로 표준곡선을 작성하여 NO 함량을 산출하였다(12).

### 세포내 활성산소종 소거능

활성산소와 반응하여 형광을 발산하는 2',7'-dichloro-fluorescein diacetate(DCF-DA)를 이용하여 세포내에서 발생하는 활성산소의 정도를 flow cytometry(Becton & Dickinson Co., San Diego, CA, USA)를 이용하여 측정하였다(13). 6-well plate에  $2 \times 10^5$ 개의 RAW264.7 세포를 분주한 후 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 12시간 동안 배양한 다음, 시료를 1시간 전 처리하였다. LPS(100 ng/mL)를 24시간 처리한 다음 DCF-DA를 최종농도 10  $\mu$ M이 되도록 넣고 37°C에서 30분간 더 배양하였다. 회수한 세포는 유세포 분석기로 측정하고 CellQuest software(Becton & Dickinson Co., Franklin Lakes, NJ, USA)를 이용하여 분석하였다.

### Western blot

RAW264.7 대식세포를  $2 \times 10^5$  cells/mL의 농도로 6-well plate에 분주하여 12시간 배양한 후에 LOH 추출물을 농도별(0.05, 0.1, 0.2 mg/mL)로 처리한 다음, LPS(100 ng/mL)를 처리하여 24시간 배양하였다. 24시간 배양 후 phosphate buffered saline(PBS)으로 세척한 후 세포를 얻어 원심분리하여 pellet에 lysis buffer를 가하여 얼음에 incubation 후 13,000 rpm으로 15분 동안 원심분리 하여 상등액을 모았다. 모든 상등액은 bovine serum albumin(BSA)을 사용하여 단백질을 정량하였다. 단백질 20  $\mu$ L을 5×sample buffer에 넣고 100°C에서 5분간 불활성화 시킨 후 12% SDS polyacrylamide gel에 전기영동 하였다. 분리된 단백질은 PVDF membrane으로 transblotting 한 후 5% non-fat dry milk에서 90분 동안 blocking 하였다. iNOS, COX-2와 actin 항체는 각각 1:1,000, 1:2,000의 비율로 4°C에서 overnight 시킨 후

tris-buffered saline Tween-20(TBST) buffer로 10분간 3회 washing하였고 2차 항체는 1:1,000의 비율로 희석하여 2시간 상온에서 부착시켰다. TBST buffer로 10분간 3회 washing한 membrane에 ECL(Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ, USA)을 처리하여 LAS-3000(Fujifilm, Tokyo, Japan)으로 측정하였다.

### 통계분석

각 군 간의 유의성의 검증은 Window용 SPSS 12.0 version(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 Student *t*-test 및 ANOVA 법으로 검증하여 *p*값이 0.05 미만을 유의한 것으로 간주하였다.

## 결과 및 고찰

### 수율

왕쥐똥나무잎의 용매별 수율을 분석한 결과, 물 추출물은 39.73%(w/w), 에탄올 추출물은 14.99%(w/w)로 물로 추출했을 때의 수율이 훨씬 높게 나타났다.

### 세포독성 평가

MTT assay를 이용하여 RAW264.7 대식세포에서 왕쥐똥나무잎 물 추출물과 에탄올 추출물의 세포독성을 확인하였다(Fig. 1). 왕쥐똥나무잎 물추출물과 에탄올 추출물을 농도별(0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 mg/mL)로 처리한 결과, 0.2 mg/mL 이하의 농도에서 모두 99% 이상 생존율을 보여 RAW 264.7 대식세포에서 독성을 나타내지 않는 것을 확인하였다. 그러므로 전혀 독성을 나타내지 않는 0.05, 0.1, 0.2 mg/mL의 농도로 추출물을 처리하여 다음 실험을 수행하였다.

### Nitric oxide 생성 저해 효과

NO는 NO 합성효소에 의해 L-arginine으로부터 생성되는 무기 유리체로 면역반응, 세포독성, 신경전달계 및 혈관 이완 등 여러 생물학적인 과정에 관여하며 농도에 따라 세포

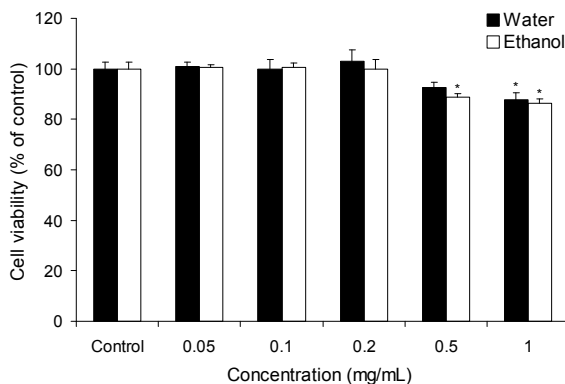


Fig. 1. Effect of LOH extracts on cytotoxicity in RAW264.7 cells. LOH extracts were treated with various concentrations in RAW264.7 cells for 24 hr. Values are expressed as the mean±SD of determinations made in triplicate experiments. \**p*<0.05, versus a media alone-treated group.

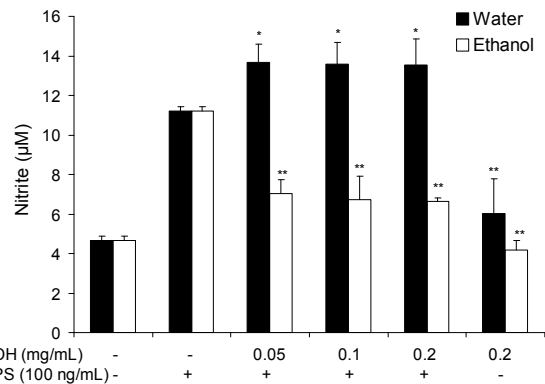


Fig. 2. Effect of LOH extracts on nitrite production in macrophages. RAW264.7 ( $2 \times 10^5$  cells/mL) were incubated with medium alone or with LPS (100 ng/mL) in the presence. After cells were incubated for 20 hr, to quantify the level of nitrite in the medium, cultured medium was analyzed. Values are expressed as the mean±SD of determinations made in triplicate experiments. \**p*<0.05, \*\**p*<0.01, versus LPS alone-treated group.

기능유지에 중요한 작용을 하기도 하고 세포독성을 일으키기도 한다(14). RAW264.7 세포에 LPS(100 ng/mL)를 처리하였을 때, 생성된 NO의 함량이 11 μM로 무처리군에 비해 세배 가까이 증가하였다. 또한 왕쥐똥나무잎 물 추출물을 농도별로(0.05, 0.1, 0.2 mg/mL) 처리하였을 때 13.67, 13.6, 13.54 μM로 LPS 처리 대조군보다 오히려 NO 함량이 증가하는 것으로 나타났다(Fig. 2). 그러나 왕쥐똥나무잎 에탄올 추출물을 농도별(0.05, 0.1, 0.2 mg/mL)로 처리하였을 때 7.03, 6.74, 6.64 μM로 농도 의존적으로 NO의 양이 감소되는 것으로 나타났다. 따라서 왕쥐똥나무잎 에탄올 추출물로 세포내 활성산소종(ROS) 소거능, NO 생성과 관련 있는 iNOS와 염증관련 단백질인 COX-2의 웨스턴 실험을 진행하였다.

### 세포내 활성산소종 소거능

왕쥐똥나무잎 에탄올 추출물이 RAW264.7 대식세포에서 LPS를 처리하여 생성되는 활성산소종(ROS) 생성에 미치는 영향을 확인하였다. 추출물을 1시간 전처리하고 LPS로 자극하여 유도되는 활성산소종을 측정된 결과, 아무것도 처리하지 않은 무처리군의 ROS의 양은 0.64%인데 비해 LPS를 처리한 대조군은 36.55%로 현저히 증가한 반면, 왕쥐똥나무잎 에탄올 추출물을 농도별(0.05, 0.1, 0.2 mg/mL)로 처리한 군은 각각 23.86, 8.55, 5.48%로 ROS의 양이 농도 의존적으로 감소됨을 보여주었다(Fig. 3). 선행연구에서 왕쥐똥나무잎에 함유된 다량의 총 폴리페놀 함량과 플라보노이드 함량은 DPPH, alkyl 라디칼을 효과적으로 소거하였으며, ABTS를 이용한 라디칼 소거활성, ferric reducing antioxidant power(FRAP)를 이용한 총항산화능 측정, 환원력을 통한 항산화 활성 및 지질과산화 억제 효능평가 결과에서도 왕쥐똥나무잎 추출물이 뛰어난 항산화효과를 가지고 있음이 확인되었다(10). 따라서 왕쥐똥나무잎 추출물의 높은 라디칼 소거능이 RAW264.7 대식세포 내 ROS를 효과적으로 억제시켰다고 판단된다. 또한 Jeong 등(15)은 *Caesalpinia sappan*

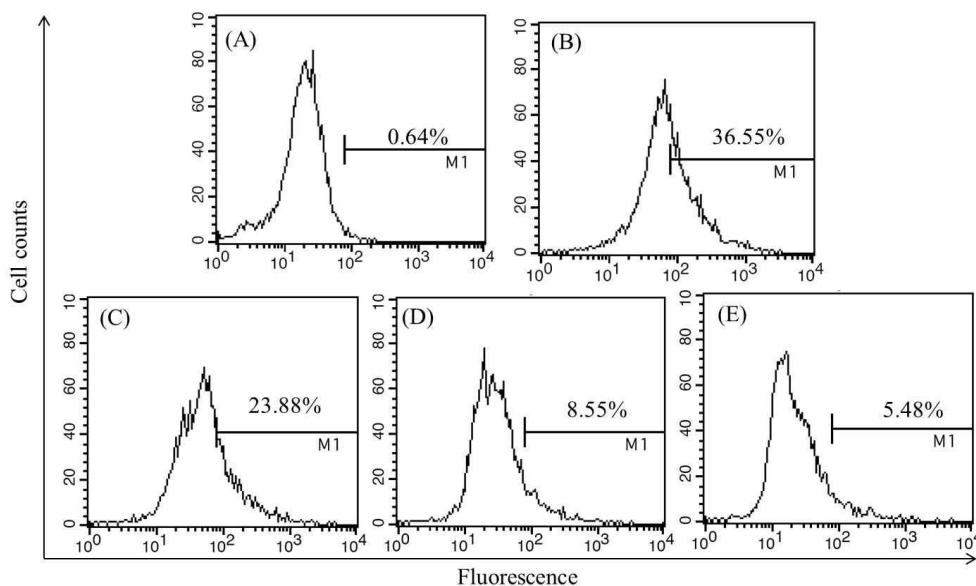


Fig. 3. Detection of the intracellular ROS generation in the RAW264.7 cells by a flow cytometer. The ethanol extracts from LOH were treated with various concentrations in RAW 264.7 cells for 1 hr prior to LPS (100 ng/mL) treatment for 24 hr. (A) Control, (B) LPS, (C) LPS+0.05 mg/mL, (D) LPS+0.1 mg/mL, (E) LPS+0.2 mg/mL.

L. 추출물이 intracellular ROS generation 억제를 통해 NO 생성을 저해한다고 보고하였는데, 왕귀퉁나무잎 에탄올 추출물의 활성산소종 소거를 통한 NO 생성 억제와 일치하는 결과로 사료된다.

#### Inducible nitric oxide synthase 생성 억제 효과

활성산소의 일종으로 염증유발에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 NO는 높은 반응성을 가진 생체 생성분자로서, NOS(nitric oxide synthase)에 의해 L-arginine으로 생성되는데 특히 iNOS(inducible NOS)가 염증반응에 관여한다(16). iNOS는 세포내 존재하지 않으나 일단 자극에 의해 유도가 되면 NO를 생성하며 생성된 NO는 혈관확장, 세포독성, 조직손상과 같은 작용을 하며 염증을 심화시키는 것으로 알려져 있다(17). LPS에 의해 활성화된 RAW264.7 세포로부터 왕귀퉁나무잎 에탄올 추출물의 iNOS 단백질 발현에 대한 저해 효과를 조사하기 위하여 Western blot을 수행하였다. 그 결과(Fig. 4), RAW264.7 세포만 배양한 무처리군에서는 iNOS의 발현이 나타나지 않았으나 LPS 100 ng/mL를 처리한 군에서는 iNOS의 발현이 무처리군에 비하여 현저히 증가하였다. 왕귀퉁나무잎 에탄올 추출물 200 µg/mL의 농도로 처리한 경우 iNOS의 발현이 대조군에 비하여 현저히 억제되었다. Sung 등(18)과 Han 등(19)은 NO 저해 활성이 높게 나타난 *Erigeron annuus* L. flower와 *Chrysanthemum zawadskii* var. *latilobum* 추출물은 iNOS 단백질 발현을 효과적으로 저해한다고 보고하였으며, 왕귀퉁나무잎 에탄올 추출물의 NO 생성 억제와 iNOS 단백질 발현 저해와 유사한 경향을 나타내었다.

#### Cyclooxygenase-2 발현 억제 효과

COX-2는 cytokine, 자외선, 세균성 내독소 및 TNF 등과 같은 여러 종류의 pro-inflammatory agent에 의하여 과발현되어 염증뿐만 아니라 각종 퇴행성 질환의 발병과 진행에

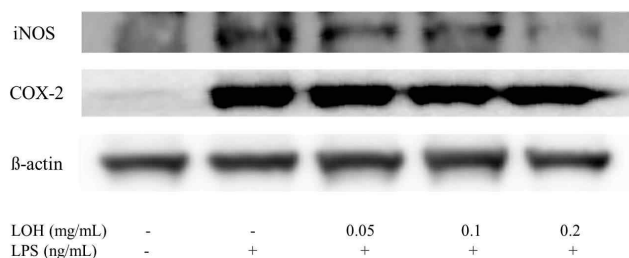


Fig. 4. Effect of LOH ethanol extracts on the LPS-induced iNOS, COX-2 expressions. RAW264.7 cell treated with various concentrations of LOH for 1 hr prior to the addition of LPS (100 ng/mL), and the cells were further incubated for 24 hr.

중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(20). 따라서 왕귀퉁나무잎 에탄올 추출물이 LPS에 의해 활성화된 RAW264.7 세포에서 COX-2 단백질 발현에 대한 저해 효과를 Western blot을 통해 확인한 결과(Fig. 4), RAW264.7 세포에 LPS를 처리하지 않은 무처리군에서는 iNOS와 마찬가지로 COX-2의 발현이 나타나지 않았으나 LPS 100 ng/mL를 처리한 군에서는 COX-2의 발현이 대조군에 비하여 현저히 증가하였다. 그러나 왕귀퉁나무잎 에탄올 추출물을 처리한 경우 COX-2의 발현이 농도 의존적으로 억제되었으며 이는 iNOS 단백질 발현과 같은 양상을 나타내었다. Yoon 등(21)은 국화과(Compositae) 쑥속(Artemisia)에 속하는 *Artemisia fukudo* 추출물이 NO 생성 억제효과 및 iNOS, COX-2 단백질 발현을 효과적으로 저해하여 항염증 효과가 있다고 보고하였으며, 이는 왕귀퉁나무잎 에탄올 추출물의 염증 억제 기전과 유사한 경향을 나타내었다.

#### 요 약

왕귀퉁나무잎(*Ligustrum ovalifolium* H.) 추출물의 세포독성을 살펴보기 위하여 RAW264.7 대식세포를 이용하여

세포의 생존율을 살펴본 결과 물 추출물 및 에탄올 추출물 모두 0.2 mg/mL의 농도까지 전혀 독성을 나타내지 않았다. 또한 왕취뽕나무잎 추출물의 항염증 효과를 LPS에 의해 활성화된 RAW264.7 대식세포에서의 NO 생성억제 및 ROS 소거능과 염증관련 단백질 발현의 변화를 통하여 확인하였다. RAW264.7 대식세포에 LPS를 처리한 결과 NO의 함량이 11  $\mu$ M 수준으로 증가하였으나, 왕취뽕나무잎 에탄올 추출물(0.05, 0.1, 0.2 mg/mL)을 처리하였을 때 NO의 함량이 7.03, 6.74, 6.64  $\mu$ M로 농도 의존적으로 감소하였다. 왕취뽕나무잎 추출물이 LPS를 처리하여 생성되는 활성산소종에 미치는 영향을 확인한 결과, LPS를 처리한 대조군은 ROS가 36.55%로 증가하였으나, 왕취뽕나무잎 에탄올 추출물(0.05, 0.1, 0.2 mg/mL)을 처리한 군은 세포내 활성산소종을 농도 의존적(23.86, 8.55, 5.48%)으로 감소시켰다. 또한 왕취뽕나무잎 에탄올 추출물은 NO 생성과 연관 있는 iNOS 단백질의 발현을 농도 의존적으로 저해하였으며 이는 NO 생성 억제가 iNOS의 발현저해를 경유한 것으로 사료된다. 또한 다수의 항염증 약물들의 작용기전이 되는 COX-2의 생성억제를 살펴본 결과 왕취뽕나무잎 에탄올 추출물은 LPS에 의해 발현되는 COX-2 단백질의 발현을 유의성 있게 억제하였음을 확인할 수 있었다. 이상의 결과를 요약하면 왕취뽕나무잎 추출물이 LPS로 유도된 RAW264.7 대식세포내 활성산소종(ROS)과 산화질소 라디칼(NO)을 억제함으로써 염증을 억제하는 것으로 보이며, 이는 선행연구에서 나타난 왕취뽕나무잎 추출물의 높은 라디칼 소거능 및 항산화능과 관련이 있는 것으로 판단된다. 또한 염증과 관련된 iNOS, COX-2 발현을 저해함으로써 왕취뽕나무잎 추출물이 염증억제 효과를 나타내는 것으로 사료된다. 따라서 본 연구는 항염증 물질의 연구에 기초 자료로 활용이 가능할 것으로 기대된다. 또한 염증과 관련된 cytokine 및 단백질 발현 메커니즘에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

## 감사의 글

이 논문은 2012년도 한국교통대학교 교내학술연구비의 지원을 받아 수행한 연구임.

## 문헌

- Willoughby DA. 1975. Human arthritis applied to animal models. Towards a better therapy. *Ann Rheum Dis* 34: 471-478.
- 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- $\kappa$ B. *Dig Dis Sci* 52: 1890-1896.
- Cheon YP, Mohammad LM, Park CH, Hong JH, Lee GD, Song JC, Kim KS. 2009. *Bulnesia sarmienti* aqueous extract inhibits inflammation in LPS-stimulated RAW 264.7 cells. *J Life Sci* 19: 479-485.
- Lee ES, Ju HK, Moon TC, Lee E, Jahng Y, Lee SH, Son JK, Baek SH, Chang HW. 2004. Inhibition of nitric oxide and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) production by propeptide compound through blockade of nuclear factor (NF)- $\kappa$ B activation in cultured murine macrophages. *Biol Pharm Bull* 27: 617-620.
- Lee, TH, Kwak HB, Kim HH, Lee ZH, Chung DK, Baek NI, Kim J. 2007. Methanol extracts of *Stewartia koreana* inhibit cyclooxygenase-2 (COX-2) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) gene expression by blocking NF- $\kappa$ B transactivation in LPS-activated RAW 264.7 cells. *Mol Cells* 23: 398-404.
- Ryu, JH, Ahn H, Kim JY, Kim YK. 2003. Inhibitory activity of plant extracts on nitric oxide synthesis in LPS-activated macrophage. *Phytother Res* 17: 485-489.
- Uttara B, Singh AV, Zamboni P, Mahajan RT. 2009. Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Curr Neuropsychopharmacol* 7: 65-74.
- 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.
- Koichi M, Toshio Y, Yoshiko K, Masao K. 1997. Acylated triterpenoids from *Ligustrum ovalifolium*. *Phytochemistry* 46: 977-979.
- Kim YS, Lee SJ, Hwang JW, Kim EH, Park PJ, Jeong JH. 2011. Antioxidant activities of extracts from *Ligustrum ovalifolium* H. leaves. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1642-1647.
- Je JY, Park PJ, Kim EK, Ahn CB. 2009. Antioxidant and angiotensin I converting enzyme inhibitory activity of *Bambusae caulis* in liquamen. *Food Chem* 113: 932-935.
- Lee SJ, Kim EK, Kim YS, Hwang JW, Lee KH, Choi DK, Kang H, Moon SH, Jeon BT, Park PJ. 2012. Purification and characterization of a nitric oxide inhibitory peptide from *Ruditapes philippinarum*. *Food Chem Toxicol* 50: 1660-1666.
- Kim EK, Lee SJ, Moon SH, Jeon BT, Kim B, Park TK, Han JS, Park PJ. 2010. Neuroprotective effects of a novel peptide purified from venison protein. *J Microbiol Biotechnol* 20: 700-707.
- Kim JY, Jung KS, Jeong HG. 2004. Suppressive effects of the kahweol and cafestol on cyclooxygenase-2 expression in macrophages. *FEBS Lett* 569: 321-326.
- Jeong IY, Jin CH, Park YD, Lee HJ, Choi DS, Byun MW, Kim YJ. 2008. Anti-inflammatory activity of an ethanol extract of *Caesalpinia sappan* L. in LPS-induced RAW 264.7 cells. *J Food Sci Nutr* 13: 253-258.
- Sarkar D, Fisher PB. 2006. Molecular mechanisms of aging-associated inflammation. *Cancer Lett* 236: 13-23.
- Vodovotz Y, Russell D, Xie QW, Bogdan C, Nathan C. 1995. Vesicle membrane association of nitric oxide synthase in primary mouse macrophage. *J Immunol* 154: 2914-2925.
- Sung MS, Kim YH, Choi, YM, Ham HM, Jeong HS, Lee JS. 2011. Anti-inflammatory effect of *Erigeron annuus* L. flower extract through heme oxygenase-1 induction in RAW 264.7 macrophages. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1507-1511.
- Han JY, Kim YH, Sung JH, Um YR, Lee Y, Lee JS. 2009. Suppressive effects of *Chrysanthemum zawadskii* var. *latilobum* flower extracts on nitric oxide production and inducible nitric oxide synthase expression. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1685-1690.

20. Chun KS, Surh YJ. 2004. Signal transduction pathways regulating cyclooxygenase-2 expression: potential molecular targets for chemoprevention. *Biochem Pharmacol* 15: 1089-1100.
21. Yoon WJ, Lee JA, Kim KN, Kim JY, Park SY. 2007. *In vitro* anti-inflammatory activity of the *Artemisia fukudo* extracts in murine macrophage RAW 264.7 cells. *Korean J Food Sci Technol* 39: 464-469.

(2012년 4월 30일 접수; 2012년 5월 22일 채택)