

## Anti-inflammatory Effect of Broccoli Leaf Hexane Fraction in LPS-stimulated RAW264.7 Cells

Mee-Kyung Kim\*

\*Professor, Dept. of Bio-Cosmetic Science, Seowon University, Cheongju, Korea

### [Abstract]

In this study, we tested the anti-inflammatory effects of broccoli leaf hexane fraction to confirm the applicability as a functional material in food and cosmetics. This sample was extracted using 70% ethanol from Broccoli leaf and then fractionated with hexane. The production of pro-inflammatory cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-6, IL-1 $\beta$ ), protein expression of iNOS and COX-2, phosphorylation of MAPKs (ERK, JNK, p38) and NF- $\kappa$ B with broccoli leaf hexane fraction were assayed on LPS-stimulated RAW264.7 cells. The broccoli leaf hexane fraction inhibited the secretion of pro-inflammatory cytokines and protein expression of iNOS and COX-2. Also, the broccoli leaf hexane fraction reduced the phosphorylation of MAPKs and NF- $\kappa$ B. Therefore, it is considered that the broccoli leaf hexane fraction has the potential to be used as a natural anti-inflammatory material in food and cosmetics. In the future, it is considered necessary to study the anti-inflammatory mechanism and identification of major bioactive substances.

▶ **Key words:** Anti-inflammatory effect, Broccoli leaf, iNOS & COX-2, MAPKs, NF- $\kappa$ B

### [요 약]

본 연구에서는 브로콜리 잎 헥산 분획물의 항염 효과를 평가하여 기능성 식품 및 화장품 소재로의 적용 가능성을 확인하였다. LPS-자극된 RAW264.7 세포에서 전염증성 사이토카인의 생성, iNOS와 COX-2의 발현, MAPK (ERK, JNK, p38) 및 브로콜리 잎 헥산 분획을 사용한 NF- $\kappa$ B의 인산화를 분석하였다. 브로콜리 잎 헥산 분획은 TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-6, IL-1 $\beta$  등의 전염증성 사이토카인의 분비와 iNOS와 COX-2의 발현을 억제했습니다. 또한, 브로콜리 잎 헥산 분획물은 MAPK와 NF- $\kappa$ B의 인산화를 감소시켰다. 따라서 브로콜리 잎 헥산 분획물은 식품 및 화장품에서 천연 항염증 소재로 적용 가능성이 있는 것으로 판단된다. 향후 항염증 기전 및 주요 생리활성 물질의 규명에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

▶ **주제어:** 항염증 효과, 브로콜리 잎, iNOS & COX-2, MAPKs, NF- $\kappa$ B

• First Author: Mee-Kyung Kim, Corresponding Author: Mee-Kyung Kim  
\*Mee-Kyung Kim (kim5179@hanmail.net), Dept. of Bio-Cosmetic Science, Seowon University  
• Received: 2021. 12. 03, Revised: 2022. 01. 07, Accepted: 2022. 01. 07.

## I. Introduction

인체에 일어나는 염증 반응은 외부의 자극이나 세균에 의한 감염, 스트레스에 대한 몸의 방어 기작으로서 외부 이물질 제거 및 손상된 조직의 회복에 관여하는 면역작용이다[1]. 그러나 장기간 염증 반응이 지속화되면 체내의 정상 세포와 조직에 손상을 주어 동맥경화, 천식, 암, 피부염 등의 만성 염증 질환을 유발하게 된다[2],[3],[4]. 이러한 염증 반응은 전 염증성 사이토카인과 염증 매개체를 생성하는 염증성 세포를 활성화시키게 된다[5],[6].

대식세포는 염증반응에 관여하는 세포로서 염증 유도 물질인 lipopolysaccharide (LPS)에 의해 세포 표면의 인식수용체(toll-like receptor 4)가 자극되어 미토겐 활성화 단백질 키나제(mitogen- activated protein kinase, MAPKs)와 nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)를 활성화시켜 염증을 유발한다[7],[8]. MAPKs의 ERK, p38 및 JNK는 iNOS, COX-2, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 등의 전 염증성 사이토카인의 발현을 유도하고[9],[10], 활성화된 NF- $\kappa$ B는 전 염증성 사이토카인, iNOS 및 COX-2 등의 염증 관련 유전자의 발현을 유도한다[11],[12].

현재 염증 반응 억제를 위해 비스테로이드성 항염제제를 주로 사용하고 있다[13]. 그러나 이를 장기간 사용 시 부작용이 동반되므로 천연자원을 활용한 항염증 소재를 개발하기 위한 연구를 활발히 있다[14],[15].

브로콜리(*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck)는 무기질, 비타민 C,  $\beta$ -carotene, tocopherol, rutin, selenium, glutathione, quercetin, glucosinolates 등의 성분에 의해 활성산소로부터 우리 몸을 보호하는 작용과 각종 질병을 예방하는데 탁월한 효과가 있는 것으로 보고되어 있다[16],[17],[18]. 연구는 주로 꽃 부위를 이용한 생리활성물질 분리 및 동정, 항산화, 항균, 항암 작용 및 가공식품 개발 등으로 주를 이루고 있을 뿐[19],[20],[21],[22], [23] 비가식 부위인 잎을 활용한 연구는 전무하다.

본 연구에서는 비가식 부위인 브로콜리 잎 활용을 목적으로 브로콜리 잎 핵산 분획물의 항염증 소재로서의 활용 가능성을 알아보기 위하여 LPS를 처리한 RAW264.7 세포에서 전 염증성 사이토카인, 염증매개체, MAPKs의 인산화에 어떠한 영향을 미치는지 조사하였다.

## II. Methods

### 1. Material & fraction preparation

본 실험에 사용한 시료인 브로콜리 잎은 충청북도 청주시 미원면의 농가에서 공급받아 세척한 후 동결건조하여 냉동고(-20°C)에 보관하면서 추출 분획물의 재료로 사용하였다. 건조된 브로콜리 잎에 시료 중량대비 70% 에탄올을 10배 정도 가하여 실온에서 24시간 교반, 추출한 다음 상층액과 침전물을 여과-분리하였으며, 이와 같은 방법으로 3회 반복 추출하였다. 이 에탄올 추출물은 감압 여과 및 감압농축을 한 후 핵산과 동량으로 혼합하여 분획 깔때기에서 핵산층과 물층으로 분획하였고, 핵산층을 감압농축하여 핵산 분획물(HX)을 얻었다. 추출 분획한 핵산 분획물의 수율은 0.8%이었다.

### 2. Cell culture

마우스 대식세포 RAW264.7 세포는 10% 열-비활성화된 FBS, 100 U/mL penicillin/streptomycin 을 함유한 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium)으로 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양하였으며 세포의 밀도가 80~90% 정도일 때 계대배양을 하였다.

### 3. Cell viability assay

브로콜리 잎의 핵산 분획물(HX)이 세포 성장에 미치는 영향을 확인하기 위하여 CellTiter 96® AQueous One Solution Cell Proliferation Assay를 사용하여 실험하였다. RAW264.7 세포( $5 \times 10^5$  cells/well)를 96-well plate에 분주하고 37°C에서 각 24시간 동안 배양한 후 핵산 분획물을 5, 10, 50, 100, 500, 1000  $\mu$ g/mL로 처리하고 24시간 동안 배양하였다. 그런 다음 Assay kit의 지시에 따라 실험을 하였다.

### 4. Measurement of pro-inflammatory cytokine levels

RAW264.7 세포( $4 \times 10^5$  cells/well)를 96-well plate에 분주하고, 브로콜리 잎의 핵산 분획물을 농도별(300, 500, 1000  $\mu$ g/mL)로 2시간 처리한 후 LPS (1  $\mu$ g/mL)로 자극하여 24시간 배양하였다. 24시간 이후 세포를 원심분리 (1,200 rpm, 3분)하여 상층액을 모아 TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-6, IL-1 $\beta$ 를 ELISA kit를 이용하여 측정하였다.

### 5. Measurement of Inflammation-related protein expression

RAW264.7 세포( $1 \times 10^6$  cells/well)를 6-well plate에 분주하여 24시간 배양하였다. 새로운 DMEM 배지로 교환한 후 브로콜리 잎의 핵산 분획물을 농도별(300, 500,

1000  $\mu\text{g/mL}$ 로 2시간 처리한 후 1  $\mu\text{g/mL}$  LPS를 처리하여 24시간 배양하였다. 그 후 배지를 제거하고 PBS로 세척한 다음 세포 용해 버퍼(10 mM pH 7.4 Tris-HCl, 5 mM NaF, 1 mM  $\text{Na}_3\text{VO}_4$ , 1 mM EDTA, 1 mM EGTA)를 첨가하여 단백질을 추출·정량하였다. 정량한 단백질을 10% SDS-PAGE에 전기영동 한 후, transfer 및 blocking 하였다. iNOS, COX-2, ERK, JNK, p38, NF- $\kappa$ B의 발현과 인산화는 ECL 을 이용하여 확인하였다.

## 6. Data Analysis

본 실험 결과는 평균 $\pm$ 표준편차로 나타내었으며, 실험 값에 대한 통계 처리는 IBM SPSS Statistics 23 프로그램으로 분석하였다. 유의성 검증은 분산분석을 한 후  $\alpha = 0.05$  수준에서 Duncan의 다중검증법으로 분석하였다.

## III. Research Results

### 1. Effect of HX on the viability of RAW264.7 cells

면역관련 세포인 대식세포는 여러 가지 자극원에 의해 활성화되면 cytokines, prostaglandins, nitric oxide (NO) 등의 염증매개물질을 생성하게 되고, 생성된 이 물질에 의해 만성염증성 질환이 유발되는 것으로 알려져 있다 [24],[25]. 본 실험에서는 대식세포인 RAW264.7 세포의 생존에 미치는 브로콜리 잎의 헥산 분획물(HX)을 영향을 보기 위하여 5, 10, 50, 100, 500, 1,000  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 처리한 결과 농도 1,000  $\mu\text{g/mL}$ 까지 세포 독성이 나타나지 않았다(Fig. 1). 따라서 이 결과를 토대로 RAW 264.7 세포로 진행하는 항염증 관련 실험을 독성이 없는 1000  $\mu\text{g/mL}$  이내의 범위에서 진행하였다.

### 2. Effect of HX on pro-inflammatory production

염증을 나타내는 주된 전사인자인 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 등의 전 염증성 사이토카인은 급성 염증을 자극하며 내인성 발열원으로 작용함으로써 염증성 질환에서 중요한 작용을 하는 것으로 알려져 있다[26],[27]. TNF- $\alpha$ 는 대식세포 활성화제 및 면역 반응의 개시인자이고 염증성 피부질환과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다[28]. 그리고 IL-6와 IL-1 $\beta$ 는 대식세포를 활성화시키고 급성 및 만성 염증의 유발 매개체 역할을 하는 것으로 알려져 있다[29].

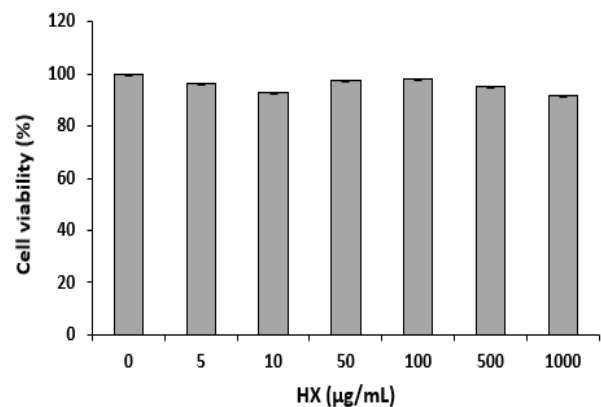


Fig. 1. Effect of hexane fraction (HX) from broccoli leaf on the viability of RAW264.7 cells. Values are mean $\pm$ SD of triplicate experiments.

본 연구에서 RAW264.7 세포에서 브로콜리 잎의 헥산 분획물이 전염증성 사이토카인의 생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 헥산 분획물을 300, 500, 1,000  $\mu\text{g/mL}$ 으로 처리하여 ELISA kit 를 이용하여 측정하였다. 그 결과 헥산 분획물이 전염증성 사이토카인 TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-6 및 IL-1 $\beta$  모두의 생성을 억제함을 확인하였다(Fig. 2). 특히, LPS 자극에 의해 유도되는 TNF- $\alpha$  발현은 농도 1,000  $\mu\text{g/mL}$ 에서 유의적으로 억제하여 감소됨을 알 수 있다.

### 3. Effect of HX on pro-inflammatory production

대식세포는 LPS의 자극에 의해 염증 반응에 관계된 전사인자가 활성화되고 그로 인해 iNOS 및 COX-2가 발현되어 염증을 일으킨다[30]. NO 생성 효소인 iNOS와 다양한 prostaglandins 생합성 매개 효소인 COX-2가 염증반응을 조절하는 주된 매개체로 알려져 있다[31]. 본 연구에서 LPS로 유도된 RAW264.7 세포에 브로콜리 잎의 헥산 분획물을 처리한 후 LPS를 처리하여 배양한 다음 세포의 단백질을 분리하여 염증 유도에 관련된 iNOS와 COX-2 단백질 발현을 관찰하였다(Fig. 3). 그 결과 농도 1,000  $\mu\text{g/mL}$ 에 iNOS와 COX-2 단백질의 발현이 헥산 분획물에 의해 현저하게 감소함을 확인할 수 있었다.

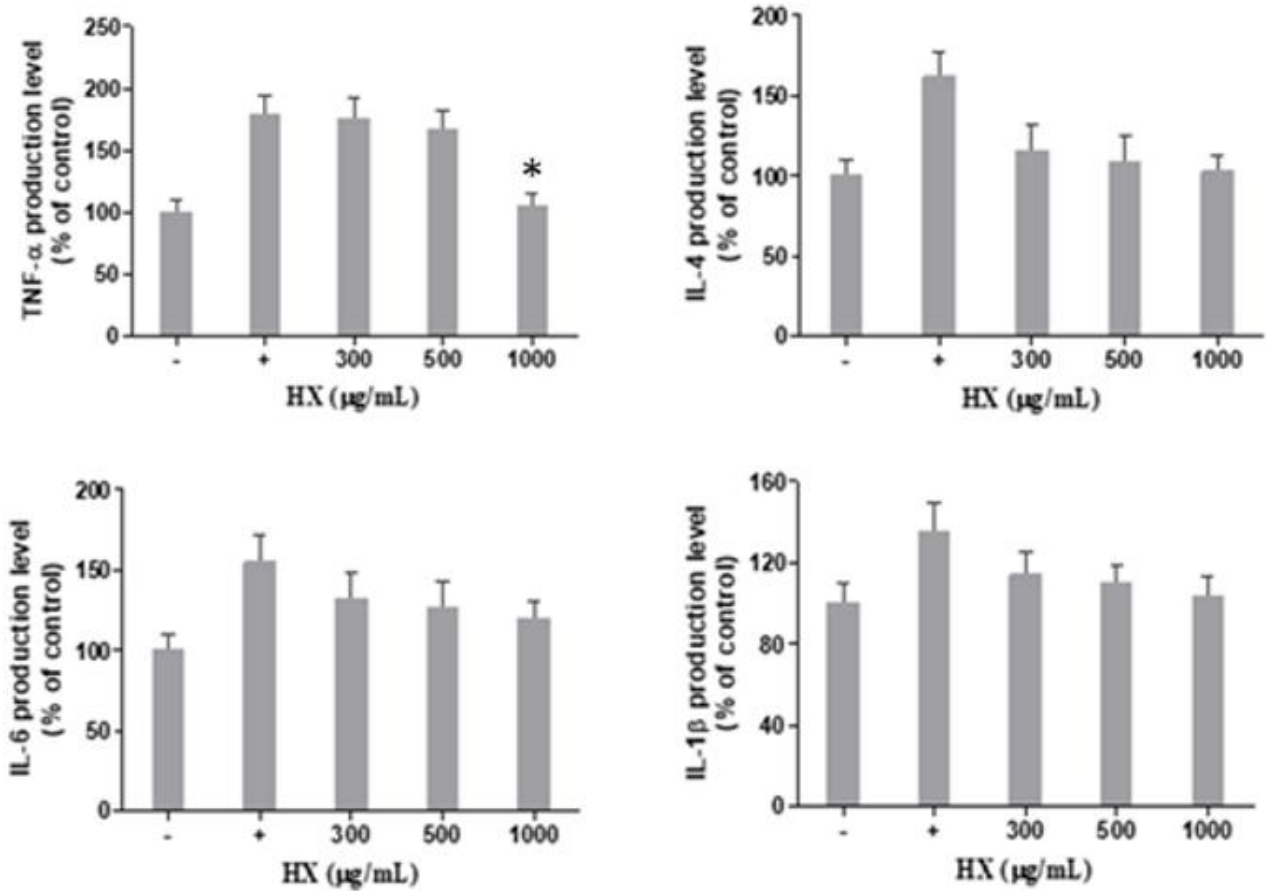


Fig. 2. Effect of hexane fraction (HX) from broccoli leaf on pro-inflammatory cytokine production in LPS-induced RAW264.7 cells. Values are mean±SD of triplicate experiments. \*p<0.05 vs only LPS-treated group.

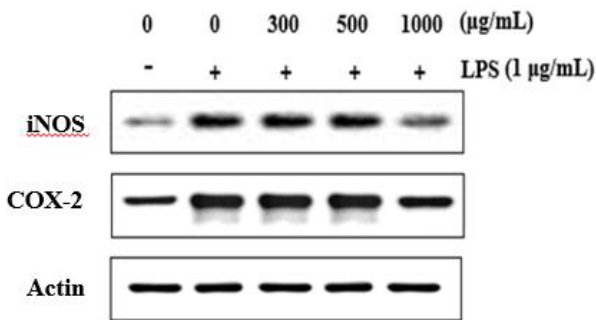


Fig. 3. Effect of hexane fraction from broccoli leaf on iNOS and COX-2 expression in LPS-stimulated RAW264.7 cells.

#### 4. Effect of HX on LPS-induced Phosphorylations MAPKs

대식세포는 LPS의 자극에 의해 세포 표면의 toll-like receptor 4를 자극하여 MAPKs 또는 NF-κB의 활성화를 유도하고 전염증성 사이토카인의 발현을 개시하게 된다 [32]. MAPKs 중의 ERK, p38 및 JNK는 iNOS와 COX-2, 전염증성 사이토카인의 발현에 중심적인 역할을 하고 있으므로 염증, 세포자멸사 및 증식과 같은 생물학적 과정에서 중요한 신호경로로 잘 알려져 있다[9],[10].

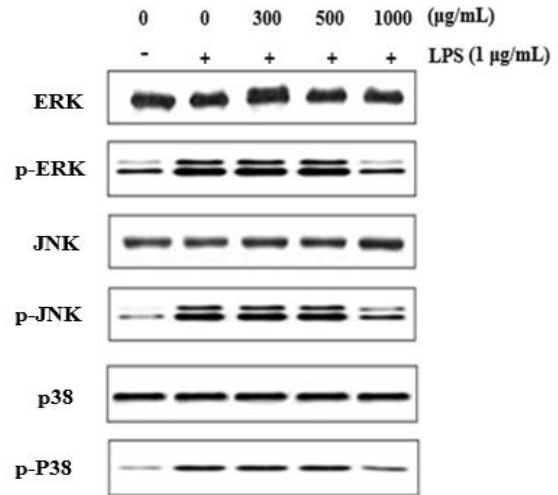


Fig. 4. Effect of hexane fraction from broccoli leaf on phosphorylation of MAPKs in LPS-stimulated RAW264.7 cells.

RAW264.7 세포에서 ERK, JNK 및 p38의 LPS 유도 인산화에 대한 브로콜리 잎의 헥산 분획물의 효과를 측정하였다. 그 결과 LPS의 자극에 의해 증가된 ERK, JNK 및 p38의 인산화가 농도 1,000 μg/mL에서 현저하게 감소되

는 것으로 나타났다(Fig. 4). 이러한 결과는 핵산 분획물이 대식세포에서 MAPKs 신호 전달의 LPS 유도 인산화를 조절함을 확인할 수 있었다.

### 5. Effect of HX on phosphorylation of NF- $\kappa$ B

NF- $\kappa$ B는 정상 세포에서 inhibitor of kappa B (I $\kappa$ B)와 결합한 불활성 형태로 존재하고, LPS, cytokines 등의 자극이 주어지면 I $\kappa$ B는 I $\kappa$ B kinase (Ikk)에 의해 인산화되고 유비퀴틴화(ubiquitination)를 거쳐 프로테아좀(proteasome)에 의해 분해, 유리되어 핵으로 이동하여 염증관련유전자의 발현을 유도한다[11],[12]. 또한 단백질 인산화 효소인 MAPKs에 의해 활성화된 NF- $\kappa$ B는 염증 반응을 촉진한다고 보고되어 있다[33]. 본 연구에서는 브로콜리 잎의 핵산 분획물에 의해 LPS에 의해 증가된 NF- $\kappa$ B의 인산화 조절 기능을 확인하기 위하여 NF- $\kappa$ B 단백질 발현량을 측정하였다. 그 결과 인산화된 NF- $\kappa$ B 발현은 핵산 분획물을 1,000  $\mu$ g/mL 처리하였을 때 현저하게 감소됨을 확인하였다(Fig. 5). 이를 통해 브로콜리 잎의 핵산 분획물이 NF- $\kappa$ B의 인산화를 저해함으로써 인해 NF- $\kappa$ B에 의한 염증 반응이 억제됨을 알 수 있었다.

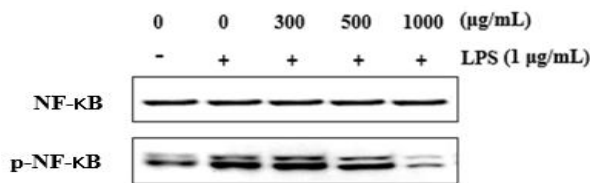


Fig. 5. Effect of hexane fraction from broccoli leaf on phosphorylation of NF- $\kappa$ B in LPS-stimulated RAW264.7 cells.

## IV. Conclusions

브로콜리 잎 핵산 분획물의 항염증 효과를 평가하여 기능성 식품 및 화장품 소재로서의 적용 가능성을 알아보기 위해, 마우스 대식세포에 LPS로 자극하여 염증 반응을 유도시키면서 브로콜리 잎 핵산 분획물을 처리하여 여러 염증 관련 매개체를 확인하였다. 그 결과 LPS 자극에 의해 대식세포에서 생성되는 전 염증성 사이토카인 TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-6 및 IL-1 $\beta$ 이 억제되었고, 염증 매개체인 iNOS, COX-2 분자의 단백질 발현, MAPKs (EKR, JNK 및 p38) 인산화 및 NF- $\kappa$ B의 인산화 모두 농도 1,000  $\mu$ g/mL을 처리한 군에 현저하게 억제 효과를 보였다. 따라서, 본 연구 결과는 브로콜리 잎 핵산 분획물이 항염증 개선에 효과가 있는 기능성 천연 소재로서의 가능성을 제시

하고 있다고 판단된다. 향후 식품 및 화장품의 기능성 천연 소재화를 위해서는 항염증 메커니즘 및 주요 생리활성 물질 규명, 안전성 등에 관한 연구가 이루어져야 할 것으로 여겨진다.

## REFERENCES

- [1] Coussens, L. M. & Werb, Z., "Inflammation and cancer", *Nature*, Vol. 420, No. 6917, pp. 860-867, Jan. 2006. DOI: 10.1038/nature01322
- [2] Landskron, G., De la Fuente, M., Thuwajit, P., Thuwajit, C., & Hermoso, M. A., "Chronic inflammation and cytokines in the tumor microenvironment", *Journal of Immunology Research*, Article ID 149185, pp.1-19, May. 2014. DOI: 10.1155/2014/149185
- [3] Libby P., "Inflammation and cardiovascular disease mechanisms", *The American Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 83, No. 2, pp.456S-460S, Fed. 2006. DOI: 10.1093/ajcn/83.2.456S
- [4] Wellen, K. E. & Hotamisligil G. S., "Inflammation, stress, and diabetes", *The Journal of Clinical Investigation*, Vol. 115, No. 5, pp. 1111-1119, May. 2005. DOI: 10.1172/JCI25102
- [5] Cho, W., Nam, J. W., Kang, H. J., Windono, T., Seo, E. K., & Lee, K. T., "Zedoarondiol isolated from the rhizoma of *Curcuma heyneana* is involved in the inhibition of iNOS, COX-2 and pro-inflammatory cytokines via the downregulation of NF- $\kappa$ B pathway in LPS-stimulated murine macrophages", *International Immunopharmacology*, Vol. 9, No. 9, pp.1049-1057, Aug. 2009. DOI: org/10.1016/j.intimp.2009.04.012
- [6] Kim, J. H., Song, H. N., Ko, H. C., Lee, J. Y., Jang, M. G., & Kim, S. J., "Anti-oxidant and anti-inflammatory properties of *Clerodendrum trichotomum* leaf extracts", *Journal of Life Science*, Vol. 27, No. 6, pp.640-645, Feb. 2017. DOI: org/10.5352/JLS.2017.27.6.640
- [7] Anderson, N. & Borlak, J., "Molecular mechanisms and therapeutic targets in steatosis and steatohepatitis", *Pharmacological Reviews*, Vol. 60, No. 3, pp.311-357, Sep. 2008. DOI: 10.1124/pr.108.00001
- [8] Cheng, B. C. Y., Ma, X. Q., Kwan, H. Y., Tse, K. W., Cao, H. H., Su, T., Shu, X., Wu, Z. Z., & Yu, Z. L., "A herbal formula consisting of *rosae multiflorae fructus* and *loniceræ japonicæ flos* inhibits inflammatory mediators in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages", *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 153, No. 3, pp.922-927, May. 2014. DOI: 10.1016/j.jep.2014.02.029
- [9] Fan, Z., Cai, L., Wang, Y., Zhu, Q., Wang, S., & Chen, B., "The acidic fraction of *isatidis radix* regulates inflammatory response in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages through MAPKs and NF- $\kappa$ B pathway", *Evidence-Based Complementary Alternative Medicine*, Article ID 8879862, pp.1-10, Mar. 2021. DOI: org/10.11

55/2021/8879862

- [10] Liu, G., Xie, J., Shi, Y., Chen, R., Li, L., Wang, M., Zheng, M., & Xu, J., "Sec-O-glucosylhamaudol suppressed inflammatory reaction induced by LPS in RAW264.7 cells through inhibition of NF-kappaB and MAPKs signaling", *Bioscience Reports*, Vol. 40, No. 2, BSR20194230. 2020. DOI: 10.1042/BSR20194230
- [11] Elliott, P. J., Zollner, T. M., & Boehncke, W. H., "Proteasome inhibition: a new anti-inflammatory strategy", *Journal of Molecular Medicine*, Vol. 81, No. 4, pp. 235-245, May. 2003. DOI:10.1007/s00109-003-0422-2
- [12] Rahman, I., Biswas, S. K., & Kirkham, P. A., "Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols", *Biochemical Pharmacology*, Vol. 72, No. 11, pp. 1439-1452, Aug. 2006. DOI: 10.1016/j.bcp.2006.07.004
- [13] Rashad, S., Hemingway, A., Rainsford, K., Revell, P., Low, F., & Walker, F., "Effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs on the course of osteoarthritis", *The Lancet*, Vol. 334, No. 8672, pp.1149-1152, Nov. 1989. DOI: 10.1016/s0140-6736(89) 91503 -1
- [14] Huang, J., Zhu, M., Tao, Y., Wang, S., Chen, J., & Sun, W., "Therapeutic properties of quercetin on monosodium urate crystal-induced inflammation in rat", *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, Vol. 64, No. 8, pp.1119-1127, Mar. 2012. DOI: 10.1111/j.2042-7158.2012.01504.x
- [15] Jiang, Y., You, X. Y., Fu, K. L., & Yin, W. L., "Effects of extract from *Mangifera indica* leaf on monosodium urate crystal-induced gouty arthritis in rats", *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Article ID 967573, pp.1-6, Nov. 2012. DOI: 10.1155/2012/967573
- [16] Kwon, Y.D., Ko, E. Y., Hong, S. J., & Park, S. W., "Comparison of sulforaphane and antioxidant contents according to different parts and maturity of broccoli", *Korean Journal of Horticultural Science & Technology*, Vol. 26, No. 3, pp.344-349, Sept. 2008.
- [17] Lee, H. S. & Park, Y. W., "Antioxidant activity and antibacterial activities from different parts of broccoli extracts under high temperature", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol. 34, No. 6, pp.759-764, Jun. 2005.
- [18] Stoewsand, G. S., "Bioactive organosulfur phytochemicals in *Brassica oleracea* vegetable-a review", *Food and Chemical Toxicology*, Vol. 33, No. 6, pp.537-543, Jun. 1995. DOI: 10.1016/0278-6915(95)00017-v
- [19] Kim, D. Y., Cho, S. C., Kwon, H. S., & Kim, M. K., "Cosmeceutical activities of broccoli extracts", *Journal of the Korean Society Beauty & Art*, Vol. 17, No. 1, pp.23-33, Mar. 2016.
- [20] Sok, D. E., Kim J. H., & Kim, M. R., "Isolation and identification of bioactive organosulfur phytochemicals from solvent extract of broccoli", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol. 32, No. 3, pp.315-319, Apr. 2003.
- [21] Oh, J. B. & Lee H. J., "Effect of cake improver on antioxidant activity and properties characteristics of pound cakes prepare using broccoli stem powder", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol. 24, No. 4, pp.567-576, Nov. 2011.
- [22] Cho, K. R., "Quality characteristics of Seodiddeok added with broccoli(*Brassica oleracea* var. *italica* Plen.) powder", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol. 22, No. 2, pp.229-237, May. 2009.
- [23] Brooks, J. D., Paton, V. G. & Vidanes, G., "Potent induction of phase 2 enzymes in human prostate cells by sulforaphane", *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, Vol. 10, No. 9, pp.949-954, Sep. 2001.
- [24] Adams, D. O. & Hamilton, T. A., "The cell biology of macrophage activation", *Annual Review of Immunology*, Vol. 2, pp.283-318, Aug. 1984. DOI: 10.1146/annurev.iy. 02.040184.001435
- [25] Li, Y., Wu, Q., Deng, Y., Lv, H., Qiu, J., Chi, G., & Feng, H., "D(-)-Salicin inhibits the LPS-induced inflammation in RAW 264.7 cells and mouse models", *International Immunopharmacology*, Vol. 26, No. 2, pp.286-294, Jun. 2015. DOI: 10.1016/j.intimp. 2015.04.016
- [26] Kaqamata, H., Ochiai, H., Mantani, N., & terasawa, K., "Enhanced expression of inducible nitric oxide synthase by Juzen-taiho-to in LPS activated RAW 264.7 cells, a murine macrophage cell line", *The American Journal of Chinese Medicine*, Vol. 28, No. 2, pp.217-226, Jun. 2000. DOI: 10.1142/S0192415X0000026X
- [27] Shew, R. L., Papka, R. E., McNeill, D. L., & Yee, J. A., "NADPH-diaphorase-positive nerves and the role of nitric oxide in CGRP relaxation of uterine contraction", *Peptides*, Vol. 14, No. 3, pp.637-641, May. 1993. DOI: 10.1016/0196-9781(93) 90157-c
- [28] Piguat, P. F., Grau, G. E., Houser, C., & Vassalli, P., "Tumor necrosis factor is a critical mediators in hapten induced irritant and contact hypersensitivity reaction", *Journal of Experimental Medicine*, Vol. 173, No. 3, pp.673-679, Mar. 1991. DOI: 10.1084/jem.173.3.673
- [29] Xie, C., Li, X., Zhu, J., Wu, J., Geng, S., & Zhong, C., "Magnesium isoglycyrrhizinate suppresses LPS-induced inflammation and oxidative stress through inhibiting NF-kappaB and MAPK pathways in RAW264.7 cells", *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, Vol. 27, No. 3, pp.516-524, Feb. 2019. DOI: 10.1016/j.bmc.2018.12.033
- [30] Park, J. S. & Jug S. H., "Effects of sandalwood essential oil on the iNOS expression and proinflammatory cytokine production", *The pharmaceutical Society of Korea*, Vol. 57, No. 1, pp.70-75, Feb. 2013.
- [31] Kim, Y. J. & Son, D. Y., "Inflammatory mediator regulation of the *Zizyphus jujube* leaf fractions in the LPS-stimulated

- Raw264.7 mouse macrophage” The Korean Society of Food Preservation, Vol. 21, No. 1, pp.114-120, Sept. 2014. DOI: 10.11002/kjfp. 2014.21.1.114
- [32] Jung, H. W., Mahesh, R., Park, J. H., Boo, Y. C., Park, K. M., & Park, Y. K., “Bisabolangelone isolated from *Ostericum koreanum* inhibits the production of inflammatory mediators by down-regulation of NF- $\kappa$ B and ERK MAP kinase activity in LPS-stimulated RAW264.7 cells”, *International Immunopharmacology*, Vol. 10, No. 2, pp. 155-162, Feb. 2010. DOI: 10.1016/j.intimp.2009.10.010
- [33] Kaminska, B., “MAPK signaling pathways as molecular targets for anti-inflammatory therapy from molecular mechanisms to therapeutic benefits”, *Biochimica et Biophysica Acta*, Vol. 1754, No. 1-2, pp.253-262, Dec. 2005. DOI: 10.1016/j.bbapap.2005.08.017

## Authors



Mee-Kyung Kim received the Ph.D. degree in Department of Food Science and Technology from Daegu Catholic University, Korea. Dr. Kim is currently an assistant professor of Dept. of Bio-Cosmetic Science at Seowon University.

She is interested in cosmetic professional training course, customized cosmetic manufacturing manager training course and development of cosmetic functional materials.