

HPLC-UV에 의한 진득찰과 털진득찰의 Kirenol 정량분석

누그로호 아궁^{1,2} · 이경태³ · 박희준^{4*}

¹상지대학교 대학원 응용식물과학과, ²람봉 망쿠라트대학교 농산업공학과,
³경희대학교 약학대학, ⁴상지대학교 제약공학과

Quantitative Analysis of Kirenol in *Siegesbeckia glabrescens* and *S. pubescens* by HPLC-UV

Agung Nugroho^{1,2}, Kyung-Tae Lee³ and Hee-Juhn Park^{4*}

¹Department of Applied Plant Sciences, Graduate School, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

²Department of Agro-industrial Technology, Faculty of Agriculture, Lambung Mangkurat University, Indonesia 70712, Indonesia

³College of Pharmacy, Kyung-Hee University, Seoul 130-701, Korea

⁴Department of Pharmaceutical Engineering, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

Abstract – Many diterpenoids from *Siegesbeckia species* (Compositae) and their anti-inflammatory actions have been examined. In this research, high-performance liquid chromatography-ultraviolet spectrophotometer (HPLC-UV) method was used to compare the quantitative level of kirenol (*ent*-pimarane-type diterpenoid) in the aerial parts of Korean *S. glabrescens* and *S. pubescens* and the Chinese *Siegesbeckiae Herba*. Fingerprints of the two HPLC chromatograms of Korean *S. glabrescens* and *S. pubescens* were similar, but considerably different from Chinese *Siegesbeckiae Herba*. The content of kirenol in *S. pubescens* (16.51±0.10 mg/ml dry weight as mean±RSD) was higher than *S. glabrescens* (13.48±0.12 mg/g dry weight). These values were considerably higher than the Chinese *Siegesbeckiae Herba* (1.55±0.74 mg/g dry weight). Thin layer chromatography (TLC) analysis demonstrated the containing of kirenol in the three plant materials, but the presence of siegeskaurolic acid (*ent*-kaurane-type diterpenoid) only in the Chinese *Siegesbeckiae Herba*.

Key words: *Siegesbeckia glabrescens*, *Siegesbeckia pubescens*, *Siegesbeckiae Herba*, HPLC-UV, Kirenol, macrophage

국화과(Compositae) 식물인 진득찰(*Siegesbeckia glabrescens*)과 털진득찰(*S. pubescens*)은 어릴 때 식용하며 한방에서 전초를 관절염, 신경통, 부종, 중풍, 충독 등에 약용으로 사용해 왔다. 진득찰은 1년생 초본식물이며 높이 1 m 안팎이고 원줄기와 잎에 복모가 있으나 얼핏 보기에 털이 없는 것처럼 보이는 것이 털진득찰과 다르다. 털진득찰은 150 cm 안팎이고 원줄기와 잎에 털이 많은 것이 진득찰과 다른 점이라고 할 수 있다.¹⁾

한편, 한국에서 회침(*Siegesbeckiae Herba*)은 진득찰 혹은 털진득찰을 찌고 말리는 과정을 반복하는 과정을 통하는 수처리에 의해 제조되고 있다. 이러한 수처리과정으로 9번 찌고 9번 말리는 과정을 반복하는 것을 구중구포라고 하지만 실제로는 꼭 9번 반복하는 것이라기보다 이러한 과정을 많이 반

복하는 것을 의미하는 것이다. 그러나, 현재 한국내 유통되고 있는 회침은 중국에서 수입되어서 사용되고 있기 때문에 기원과 품질에 대한 검토가 필요한 실정이나, 중국인들 연구자의 보고로 보아 한국과 유사하게 털진득찰(*S. pubescens*) 식물을 주로 사용하고 있는 것으로 보여진다.²⁻⁵⁾

성분에 관하여는 털진득찰로부터 주로 *ent*-pimarane-type과 *ent*-kaurane-type에 속하는 diterpenoid 화합물이 수십종 알려져 있다.^{2,6)} 그 외 sesquiterpenoid,⁴⁾ flavonoid⁵⁾ 등 성분이 밝혀져 있다. 특히, flavonoid로서 주로 flavonoid 배당체 대신에 methylated flavonoid가 함유된 것이 이색적이다.

여러 연구자들은 flavonoid,⁷⁾ sesquiterpenoid,⁸⁾ diterpenoid⁹⁾ 성분 중 일부가 대식세포에서 inducible nitric oxide synthase(iNOS)와 cyclooxygenase-2(COX-2)에 대한 억제작용에 기인하여 항염증작용을 나타낸다고 보고한 바 있다. 한편, 동물 레벨에서 털진득찰에서 얻은 kirenol이 collagen으로 유도한 관절염 흰쥐의 활액과 혈액 중에서 cytokine

*교신저자(E-mail): hjpark@sangji.ac.kr
(Tel): +82-33-730-0564

level을 감소시키기 때문에 자동면역반응(autoimmune reaction)을 감소시키는 면역억제제(immunosuppressant)로 작용한다고 하였다. 이러한 작용은 또한 lymphocyte의 증식을 억제한 결과에 기인한다고 보고된 바 있다.^{10,11)}

성분분석으로는 이미 털진득찰 추출물의 HPLC-ELSD의 분석에 의하여 diterpenoid 조성을 규명된 바 있고,³⁾ 이 연구에서 주성분인 kirenol과 ent-kauranoid가 함유된 사실이 보고된 바 있다. 특히, solid phase extraction(SPE) 방법을 이용하면 더욱 효율적인 HPLC chromatogram을 얻는 방법도 개발된 바 있다.⁴⁾ 그 외에도 LC-ESI-MS 법에 의한 회침(Siegesbeckiae Herba)에 대한 분석이 시도된 적 있다.⁵⁾ 그러나, HPLC-ELSD나 HPLC-ESI-MS 방법은 한정된 실험실에서만 이용할 수 있고, solid phase extraction method를 이용하는 방법도 컬럼 통과를 포함해야 하기 때문에, 직접 추출물을 HPLC-UV에 이용하는 방법이 손쉽고 감도 높은 방법이기 때문에 더 권장된다.

본 연구에서는 털진득찰에서 다량으로 얻은 kirenol(ent-3 α ,7 β ,15,16-tetrahydroxypimar-8(14)-ene)과 이미 본 실험실에 보유중인 siegeskauroic acid(ent-16 α H,17-hydroxy-kauran-19-oic acid)를 표준품으로 하여 진득찰, 털진득찰 및 중국산 회침의 함량분석을 위해 HPLC-UV 법으로 수행하였다.

재료 및 방법

기기 및 재료 - HPLC 기기는 Prostar 210 solvent delivery module, Prostar 325 UV-Vis detector와 20 μ L sample loop(Rheodyne, Ronert Park, CA, USA)로 구성된 Varian사의 HPLC 시스템(Walnut Creek, CA, USA)를 사용하였다. 컬럼은 Shiseido(Chuoku, Tokyo, Japan) Capcell Pak C18 column(5 μ m, 250 mm \times 4.6 mm, i.d.)를 사용하였으며, injection syringe는 Hamilton(Reno Nevada, USA)에서 구입한 것을 사용하였다. 분석에 사용된 용매는 HPLC 급 용매이었다. 화합물 분리에 사용된 역상 컬럼 고정상으로 ODS (octadecylsilane)는 YMC사(Kyoto, Japan)의 YMC* GEL ODS-A(150 μ m)이었으며, TLC plate는 Merck사의 Kieselgel 60 RP-18 F254s glass plate를 사용하였다.

식물재료 - 원주시 신림면 일대에서 자생하는 국화과(Compositae)에 속하는 진득찰(*S. glabrescens*)과 털진득찰(*G. pubescens*)을 채집하여 상지대학교 원예조경학과 임상철 교수님에 의뢰하여 감정을 받은 후 사용하였다. 중국산 회침은 천일약업사에서 중국산이라고 명기된 회침을 사용하였다. 채집한 식물은 그늘에서 건조하고 이를 파쇄하여 실험에 사용하였다. 그 표본은 현재 상지대학교 제약공학과 천연물화학실에 보관 중이다.

표준 화합물의 분리 - 표준 화합물로 사용된 kirenol은 진득찰 지상부를 이용하여 다음과 같이 컬럼 크로마토그래피

를 이용하여 분리하였다. 건조된 진득찰 지상부 302 g을 환류 하에 메탄올로 3회 반복추출하였다. 이를 여과한 후 진공농축기를 이용하여 감압 하에 농축한 결과 MeOH 추출물 38.2 g이 얻어졌다. 이를 분획깔때기를 이용하여 CHCl_3 와 H_2O 사이에서 3회 반복하여 분획하였다. H_2O 층에 BuOH을 가하여 역시 3회 반복하여 분획하였고, BuOH 층을 농축하여 BuOH 분획물 8.5 g을 수득하였다. BuOH 분획물을 ODS column chromatography에서 전개용매 MeOH- H_2O (7:3)로 전개하여 20 ml씩 용출물을 수집하였다. 18-40 번의 소분획을 모아 농축하였고 MeOH 중 석출하는 무정형 분말 화합물 1 630 mg을 수득하였다.

그리고, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum을 측정하여 문헌치와²⁾ 비교하여 kirenol임을 확인한 후 이를 분석실험에 사용하였다. $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ spectral data의 assignment의 결과를 Table I에 나타내었다. 이와 같은 과정을 거쳐 kirenol로 확인된 화합물 1을 분석을 위한 지표물질로 이용하였다.

표준액과 검액의 제조 - Kirenol을 MeOH에 녹여서 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 의 standard stock solution 제조하였으며 이를 4°C 이하의 어두운 곳에 보관하였다. 필요시 이를 MeOH로 희석하여 working standard solution을 제조하여 실험에 사용하였다. Siegeskauroic acid도 kirenol의 경우와 동일한 방법으로 표준액을 제조하여 사용하였다.

건조된 진득찰과 털진득찰 분말 10 g을 정확히 평량하여 MeOH 500 ml과 함께 삼각플라스크에 넣었다. 초음파 세척기를 사용하여 이들을 45°C에서 6시간 초음파 추출한 후 여과하고 진공농축기에서 감압 하에 농축하였다. 이 추출액을 여과지를 사용하여 여과한 후 MeOH을 가하여 400 ml가 되도록 맞추었다. 그런 후 이를 syringe filter(0.50 μm , discmic-25JP Advantec, Japan)로 여과한 후 HPLC에 주입하였다.

HPLC 조건 - 표준 화합물을 MeOH에 녹이고 vortex mixer로 가볍게 혼합한 다음 초음파 세척기로 완전히 용해한 후 표준용액을 제조하였다. 이를 5 μm syringe filter를 이용하여 여과한 후 HPLC에 주사하였다. HPLC 이동상은 A 용액과 B 용액 두 용액계를 사용하였다. A용액은 0.05% trifluoroacetic acid(TFA) 수용액이었으며 B 용액은 0.05% TFA-MeOH- CH_3CN (60:40) 용액을 사용하여 gradient elution 하였다. 이동상은 다음과 같은 프로그램에 따라 용리하였다. 이동상의 용리 조건은 다음과 같이 프로그램된 방법에 따라 수행하였다[(A)/(B) = 85/15 (0 min) \rightarrow 35/65 (35 min, hold for 5 min) \rightarrow 0/100 (42 min; hold for 4) \rightarrow 85/15 (49 min; hold for 6 min)]. 컬럼 온도는 40°C였으며, 흐름속도는 1.00 ml/min이었고, 검출파장은 205 nm를 사용하여 40 분간 모니터링하였다.

박층크로마토그래피(TLC) - 뒤 식물재료에 kirenol와 siegeskauroic acid 화합물이 존재하는지를 TLC로 간단히 알아보기 위하여 역상의 TLC plate에서 전개용매로 MeOH-

H₂O (70:30)을 사용하였다. TLC 전개한 후 이를 자외선 (254 nm)에 의한 관찰 및 50%-H₂SO₄ 분무 후 가열에 의한 발색으로 관찰하였다. 관찰된 반점 색상과 R_f치를 기록하였다.

표준 화합물의 직선성 확립 및 LOD 및 LOQ의 결정 – 표준 화합물을 MeOH에 녹여서 제조한 표준액을 이용하여 직선성에 관한 연구를 수행하였다. 회석법에 따라 제조한 5개 표준액 농도로서 7.81-250.00 µg/ml 범위에서 제조하였다. HPLC실험에서 얻은 피크 면적(y 축)과 각 농도(x 축) 사이에서 plotting하여 직선성을 평가하였다. 5개 농도의 kirenol 표준액 20 µl를 injection하여 현 HPLC법에서 LOD (limit of detection)와 LOQ(limit of quantification)를 각각 구하였다. LOD와 LOQ의 결정은 signal-to-noise를 각각 3 반복 및 10반복에 의해 구하였다.

결과 및 고찰

털진득찰에서 분리한 화합물 **1**은 ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR spectrum의 데이터와 문헌치와³⁾ 비교하여 kirenol로 동정되었다. Kirenol과 실험에 사용된 siegeskaurolic acid의 화학 구조를 Fig. 1에 나타내었다. 화합물 **1**의 ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR spectral data의 assignment 결과를 Table I에 나타내었다. 이를 지표 화합물로 이용하여 정량분석 조건을 검토하였다. 재료 및 방법 항에 나타낸 바와 같은 이동상 용매의 조건과 UV 검출기의 고정된 파장 205 nm에서 HPLC 분석을 수행하였을 때 Fig. 2의 HPLC chromatogram이 얻어졌다. Table II에 나타난 것처럼, Kirenol 피크는 29.36 min에서 나타났으며 7.81 µg/ml부터 255.51 µg/ml까지의 5가지 농도범위에서 측정하여 얻어진 피크 면적을 농도에 대해 플롯하여 검량선은 $y = 207.364x + 255.51$ 인 것으로 계산되었다. 회귀율(R²)은 0.9999로 계산되었으므로 검량선의 직선성은 매우 우수한 것으로 확인되었다. Signal-to-noise로 계산하여 얻은 검출한계(LOD)는 0.218 µg/ml이었고 정량한계

Table I. ¹H- and ¹³C-NMR data of compound **1** isolated from *S. glabrescens*

Number	¹ H	¹³ C
1	1.37 (1H, m), 2.10 (1H, d, $J = 11.4$ Hz)	49.3
2	4.21 (1H, m)	63.7
3	1.34 (1H, m), 2.89 (1H, d, $J = 12.0$)	45.6
4	-	40.8
5	1.32 (1H, t-like)	55.4
6	1.34 (1H, m), 1.75 (1H, m)	22.5
7	2.01 (1H, t-like), 2.31 (1H, d, $J = 13.8$ Hz)	36.6
8	-	137.9
9	1.85 (1H, t, $J = 8.4$ Hz)	51.2
10	-	39.6
11	1.61 (1H, m), 1.69 (1H, m)	18.9
12	1.09 (1H, m), 2.42 (1H, d, $J = 12.0$ Hz)	32.7
13	-	37.8
14	5.43 (1H, s)	129.7
15	4.03 (1H, d, $J = 9.0$ Hz)	76.5
16	4.01 (1H, m), 4.17 (1H, d, $J = 9.0$ Hz)	63.8
17	1.14 (3H, s)	23.1
18	1.27 (3H, s)	28.1
19	3.65 (1H, d, $J = 10.8$ Hz), 4.03 (1H, d, $J = 10.8$ Hz)	64.7
20	0.81 (3H, s)	16.8

(LOQ)는 0.727 µg/ml이었으므로 검출과 정량을 위한 감도는 우수한 편이었다.

이상과 같은 조건을 마련하여 진득찰과 털진득찰의 메탄올 추출물로부터 kirenol의 성분함량을 결정하고자 HPLC chromatogram에서 피크면적으로부터 산출하였다. 그 결과 Table III에 나타내었듯이 메탄올 추출물 중 kirenol 함량은 진득찰이 141.85±0.12 mg/g이었고 털진득찰이 191.88±

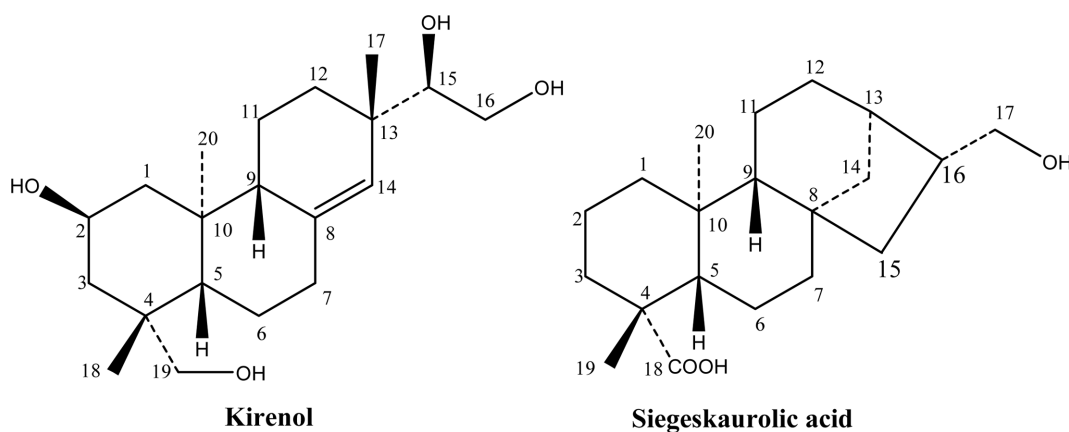


Fig. 1. Structure and numbering of kirenol isolated from *S. pubescens*.

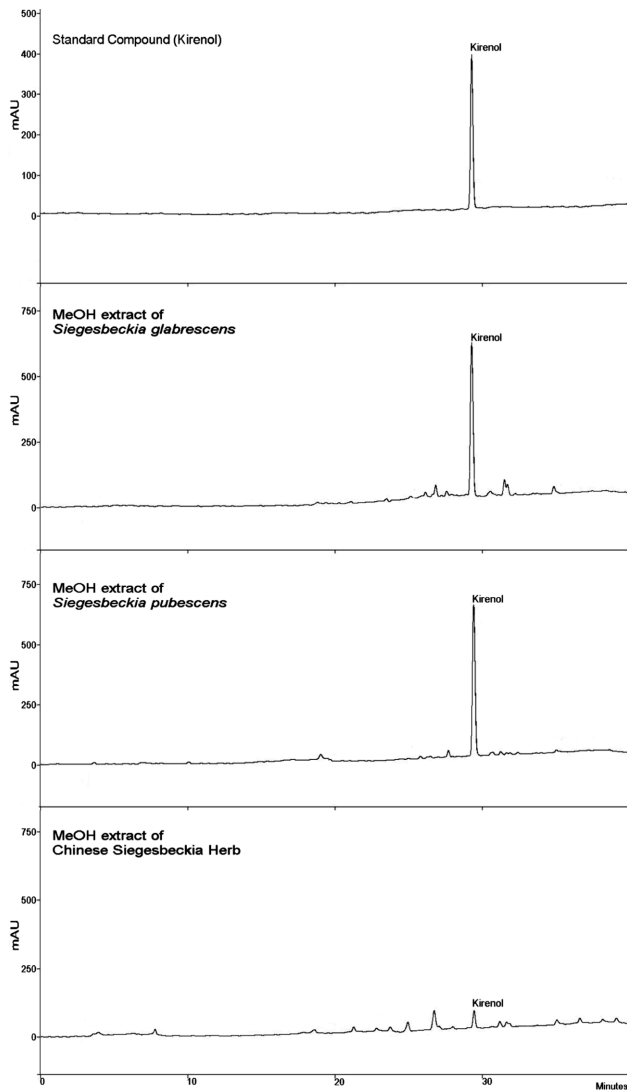


Fig. 2. HPLC chromatograms of MeOH extract of *S. glabrescens*, *S. pubescens* and Chinese *Siegesbeckia* Herba with the standard compound, kirenol, at UV 205 nm.

0.10 mg/g의 높은 함량인 반면 중국산 희침은 19.17±0.74 mg/g으로 그보다 훨씬 낮은 함량이었다. 이 결과로부터 털진득찰과 진득찰 추출물 중 kirenol은 매우 높은 함량으로 존재하고 있는 것을 알 수 있었다. 그러나 진득찰보다 털진득찰에서 이 화합물의 함량이 좀 더 높은 것을 알 수 있다. 반면에 중국산 희침은 그 함량이 훨씬 낮았다. 식물 건조중량당 kirenol 함량을 평가했을 때 털진득찰이 1.65%, 진득찰이 1.35%이며 중국산 희침은 0.16%로 계산되었다. 이는 역시 털진득찰과 진득찰 중 털진득찰이 kirenol 성분을 더 많이 함유하는 사실과 함께 이들 두 한국산 식물이 중국산 희침보다 함유량이 높다는 것을 의미한다.

HPLC-UV의 방법으로 분석했을 때 두 식물의 크로마토그램의 패턴이 유사한 것으로 미루어 두 식물 중의 근연성

Table II. Calibration curves, detection limits and quantification limits of the compound

Item	Value or equation
Retention time	29.26 min
Calibration equation(linear model) ^a	$y = 207.364x + 255.51$
Linear range	7.81-250.00 µg/ml
R ^{2b}	0.9999
LOD ^c	0.218 µg/ml
LOQ ^d	0.727 µg/ml

^ay, peak area at 254 nm; x, concentration of the standard (µg/ml); ^bR², correlation coefficient for 6 data points in the calibration curve (n=3); ^cLOD, limit of detection (S/N=3); ^dLOQ, limit of quantification (S/N=10).

Table III. Content of kirenol in the extract and dried plant material of *S. glabrescens*, *S. pubescens*, and Chinese *Siegesbeckia* Herba

Sample	<i>S. glabrescens</i>	<i>S. pubescens</i>	Chinese <i>Siegesbeckia</i> Herba
MeOH ext.	141.85 (0.12)	198.88 (0.10)	19.17 (0.74)
Dried plant*	13.48 (0.12)	16.51 (0.10)	1.55 (0.74)

Values in the parentheses are RSD (%) for n=3. *Dried aerial parts of plant materials.

이 매우 높은 것으로 생각되나 그 함량은 털진득찰 쪽에서 kirenol 함량이 훨씬 더 높았다. 그러나 중국산 희침은 이와는 그 패턴이 다르고 적은 양의 kirenol이 확인되었다. 또, 이와 같은 방법으로 결정된 털진득찰과 진득찰의 kirenol의 함량은 Huo 등에³⁾ 의한 HPLC-ELSD의 방법으로 측정된 결과의 값보다 높은 것이다.

*Siegesbeckia*속 식물에서 항염 활성물질로 알려진 siegeskaurolic acid를 이용하여 그 함량을 분석코자 하였다. 그러나 이 화합물은 본 실험법에 의한 kirenol의 검출조건에선 검출되지 않았다. 그러므로 세 식물재료에서 kirenol과 siegeskaurolic acid의 존재유무를 확인하기 위하여 역상의 정지상으로 된 TLC를 이용하여 전개하고 50%-H₂SO₄로 분무한 뒤 가열하여 발색시켰다. Kirenol은 세 식물재료에서 모두 나타났으나(갈색 반점, R_f 0.34), siegeskaurolic acid는 중국산 희침에서만 확인되며(핑크색 반점, R_f 0.08) 한국산 털진득찰과 진득찰에선 확인되지 않았다. 이상과 같은 사실은 HPLC 시험 중 *ent*-pimarane type의 kirenol은 205 nm 파장에서 매우 민감하나 *ent*-kaurane type의 siegeskaurolic acid는 파장의 UV를 흡수하지 않는다는 사실을 의미하였다. 이상과 같은 사실을 종합하면, kirenol을 분석하기 위해선 solid phase extraction의 사용이나⁴⁾ ELSD의 검출기 사용의 필요없이³⁾ 본 방법과 같이 HPLC-UV의 방법으로 205 nm

의 고정 파장을 이용하면 희침의 간편한 분석법이 될 수 있을 것으로 예상된다.

보통 천연 화합물에서 항염증이나 면역억제 효과는 macrophage cell에서 NO나 cytokine의 생성을 저해하는 기구에 의해 나타나는 경우가 많다. 저자들의 실험에 의하면 kirenol은 그러한 효과를 나타내지 않았을 뿐 아니라, 관절염 활막세포에서도 세포독성 및 cytokine(IL-6, IL-8) 생성 저해효과를 나타내지 않았다(데이터 미제시). 그러나 최근 Lu 등이¹⁰⁾ 연구한 결과에 의하면 collagen으로 유도한 흰쥐의 관절염에서 그 억제효과를 나타내며, *in vitro* 실험결과 splenocyte, PMBC, lymph node 세포의 증식을 억제하는 면역억제효과 기전에 따라 류마티스 관절염(rheumatoid arthritis)에 유효하다고 보고한 바 있다. 더욱이 kirenol은 희침 중에 매우 많이 함유된 것으로 본 연구 중 확인되었으므로 kirenol에 중점을 둔 희침의 연구와 이용이 기대된다.

결 론

한국산 진득찰과 털진득찰과 중국산 희침의 kirenol 분석은 HPLC-UV의 방법에 의해 205 nm의 고정된 파장을 이용하였을 때 매우 효율적으로 정량할 수 있었다. 그 결과 한국산 털진득찰과 진득찰의 함량으로 1.65%, 1.35%로 결정되었으며 중국산 희침은 이보다 함량이 훨씬 낮은 0.16%로 확인되었다. TLC 분석결과 kirenol은 확인되나 siegeskaruolic acid는 한국산의 진득찰과 털진득찰에서 나타나지 않고 중국산 희침에서는 잘 확인되었다. 그러므로, 중국산 기원을 명확히 하여 그 함량의 차이는 산지의 차이 혹은 채집시기 및 수치법에 따른 차이에 따른 것인지의 규명 외에도 약리 활성 차이의 규명이 필요한 것으로 생각된다.

사 사

이 논문은 2010년도 상지대학교 교내연구비 지원에 의한 것임을 밝힙니다.

인용문헌

1. Kim, T. J. (1996) Korean Resources Plants, 270-271, Publishing Department of Seoul National University, Seoul.

2. Xiong J, Jin, Q. D. and Xu, Y. L. (2001) New diterpenoid glucosides from *Siegesbeckia pubescens*. *Chin. Chem. Lett.* **12**: 51-54.
3. Huo, L., Jiang, Z., Li, H., Wang, M., Ye, X., Ji, B. and Guo, X. (2012) Simultaneous determination of seven major diterpenoids in *Siegesbeckia pubescens* Makino by high-performance liquid chromatography coupled with evaporative light scattering detection. *J. Sep. Sci.* **35**: 2585-2591.
4. Chen, F. F., Wang, R. and Shi, Y. P. (2012) Molecularly imprinted polymer for the specific solid-phase extraction of kirenol from *Siegesbeckia pubescens* herbal extract. *Talanta* **89**: 505-512.
5. Jiang, Z., Yu, Q. H., Cheng, Y. and Guo, X. J. (2011) Simultaneous quantification of eight major constituents in Herba *Siegesbeckiae* by liquid chromatography coupled with electrospray ionization time-of-flight tandem mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **55**: 452-457.
6. Wang, R., Chen, W. H. and Shi, Y. P. (2010) *ent*-Kaurane and *ent*-Pimarane Diterpenoids from *Siegesbeckia pubescens*. *J. Nat. Prod.* **73**: 17-21.
7. Kim, J. Y., Lim, H. J. and Ryu, J. H. (2008) In vitro anti-inflammatory activity of 3-*O*-methyl-flavones isolated from *Siegesbeckia glabrescens*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **18**: 1511-1514.
8. Li, H., Kim, J. Y., Hyeon, J., Lee, H. J. and Ryu, J. H. (2011) In Vitro Antiinflammatory Activity of a New Sesquiterpene Lactone Isolated from *Siegesbeckia glabrescens*. *Phytother. Res.* **25**: 1323-1327.
9. Park, H. J., Kim, I. T., Won, J. H., Jeong, S. H., Park, E. Y., Nam, J. H., Choi, J. and Lee, K. T. (2007) Anti-inflammatory activities of *ent*-16 α H,17-hydroxy-kauran-19-oic acid isolated from the roots of *Siegesbeckia pubescens* are due to the inhibition of iNOS and COX-2 expression in RAW 264.7 macrophages via NF- κ B inactivation. *Eur. J. Pharmacol.* **558**: 185-193.
10. Lu, Y., Xiao, J., Wu, Z. W., Wang, Z. M., Hu, J., Fu, H. Z., Chen, Y. Y. and Qian, R. Q. (2012) Kirenol exerts a potent anti-arthritis effect in collagen-induced arthritis by modifying the T cells balance. *Phytomedicine* **19**: 882-889.
11. Lu, Y., Xiao, J., Wang, Z., Fu, H., Chen, Y. and Qian, R. (2012) Effects of kirenol on bovine type II collagen-induced rat lymphocytes *in vivo* and *in vitro*. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* **332**: 1-6.

(2012. 10. 26 접수; 2012. 11. 19 심사; 2012. 11. 27 게재확정)