

茵陳蒿와 韓茵陳의 추출용매별 항염증 효능 비교

노동진^{1#}, 최진규², 홍순선³, 오명숙^{1,4*}

1 : 경희대학교 일반대학원 나노의약생명과학과

2 : 경희대학교 BK21 플러스 고령사회 대비 천연물-바이오 융합 신약개발 창의인재양성 사업단

3 : 인하대학교 의과대학 의생명학과, 4 : 경희대학교 약학대학 한약학과

Comparison of Anti-inflammatory effects between *Artemisia capillaris* and *Artemisia iwayomogi* by extraction solvents

Dongjin Noh^{1#}, Jin Gyu Choi², Soon-Sun Hong³, Myung Sook Oh^{1,4*}

1 : Department of Life and Nanopharmaceutical Science, Graduate School, Kyung Hee University

2 : BK21 PLUS Integrated Education and Research Center for Nature-inspired Drug Development Targeting Healthy Aging, Kyung Hee University

3: Department of Biomedical Sciences, College of Medicine, Inha University

4: Department of Oriental pharmaceutical Science, College of Pharmacy, Kyung Hee University

ABSTRACT

Objectives : *Artemisia capillaris* Thunberg (AC) and *Artemisia iwayomogi* Kitamura (AI) have been used without distinguishment since ancient times due to similar appearance. In this study, we compared the inhibitory effects of AC and AI on the expression of inflammatory cytokines induced by lipopolysaccharide (LPS) in murine macrophages.

Methods : AC and AI were extracted by reflux with distilled water (DW) and 70% ethanol (EtOH). We investigated the inhibitory effects of AC and AI on the expression of nitric oxide (NO), inducible NO synthase (iNOS) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) induced by LPS in macrophages.

Results : Firstly, yield of the samples was higher in order of *Artemisia iwayomogi* DW Extract (AID), *Artemisia iwayomogi* 70% EtOH Extract (AIE), *Artemisia capillaris* DW Extract (ACD) and *Artemisia capillaris* 70% EtOH Extract (ACE). All of the samples were not toxic in macrophages. The inhibitory effect of the samples on LPS-induced NO expression was stronger in the order of AIE, ACE, AID and ACD. The inhibitory effect of the samples on LPS-induced inducible iNOS expression was stronger in the order of AIE, ACE and AID. Effect of ACD was same with that of AID. In addition, inhibitory effect of the samples on LPS induced TNF- α expression was stronger in the order of AIE, ACE, AID and ACD.

Conclusion: These results showed that AI would be more effective than AC and 70% EtOH would be more effective than DW as an extraction solvent in inflammatory diseases.

Key words : *Artemisia capillaris*, *Artemisia iwayomogi*, inflammation, nitric oxide, inducible nitric oxide synthase, tumor necrosis factor- α

I. 서 론

인진호(茵陳蒿)는 국화과(Compositae) 다년초 식물인 사철쭉(*Artemisia capillaris* Thunberg)의 지상부를 건조한 것

*Corresponding author : Myung Sook Oh, Department of Life and Nanopharmaceutical Science, Graduate School, Kyung Hee University, 26, Kyungheedaero, Dongdaemun-gu, Seoul, 02447, Republic of Korea.

· Tel : +82-02-961-9436 · E-mail : msohok@khu.ac.kr

#First author : Dongjin Noh, Department of Life and Nanopharmaceutical Science, Graduate School, Kyung Hee University, 26, Kyungheedaero, Dongdaemun-gu, Seoul, 02447, Republic of Korea.

· Tel : +82-02-961-2252 · E-mail : djnoh92@khu.ac.kr

· Received : 11 April 2018 · Revised : 14 May 2018 · Accepted : 25 May 2018

으로, 가을에 花穗가 달려 있을 때 채취한 것을 사용한다. 본 초학적으로는 淸利濕熱, 利濕退黃하는 효능을 가지고 있어 주로 黃疸, 小便不利, 風疹 등의 질환에 많이 응용한다. 한편, 한인진(韓茵陳)은 국화과(Compositae) 다년초 식물인 더위지기(*Artemisia iwayomogi* Kitamura)의 지상부를 건조한 것으로, 利膽효과가 있는 것으로 알려져 있다. 하지만 우리나라에서 韓茵陳은 茵陳蒿와 비슷한 이름과 외부 형태 때문에 습관적으로 代用으로 사용되고 있다¹⁾. 그러나 茵陳蒿와는 달리 韓茵陳은 함유 성분과 약리 효능에 명확한 차이가 있다고 보고되어 있기 때문에 사용 시 반드시 구별이 필요하다.

茵陳蒿는 줄기가 목질화되어있지 않고, 가늘고 긴 잎 모양을 가지고 있다²⁾. 반면 韓茵陳은 목질화된 줄기와 깃꼴의 잎 모양을 통해 구분이 가능하다³⁾. 茵陳蒿와 韓茵陳은 scopoletin, hyperoside, chlorogenic acid 등의 성분을 공통으로 함유하지만, 茵陳蒿는 韓茵陳에 없는 scoparone, capillarisin 등의 성분을 함유한 반면, 韓茵陳은 茵陳蒿에 없는 jaceosidin 등의 성분을 함유한다^{4,5,6)}. 茵陳蒿는 황달 치료⁷⁾, dimethylnitrosamine 으로 유도한 간섬유화 억제 효능⁸⁾, 간암세포의 세포사멸 유도 효능⁹⁾, 에탄올로 유도한 간세포의 염증반응 억제 효능¹⁰⁾ 등이 보고되어 있다. 한편, 韓茵陳은 비만 동물 모델에서 고지혈증 완화 효능¹¹⁾, 사염화탄소로 유도한 간섬유화 억제 효능¹²⁾ 등에 관한 보고가 되어 있다. 또한 茵陳蒿와 韓茵陳은 항미생물 효능¹³⁾, 항산화 효능¹⁴⁾, 사염화탄소로 유도한 간섬유화 억제 효과¹⁵⁾, triton WR-1339로 유도한 고지혈증 치료 효과¹⁶⁾, 에탄올로 유도한 간독성 억제 효과¹⁷⁾ 비교에 대한 보고가 있다.

茵陳蒿의 ethanol (EtOH) 추출물은 RAW264.7 cells에서 lipopolysaccharide (LPS)로 유도한 염증반응에 대해 p38과 extracellular-signal-regulated kinase의 활성화를 조절하여 nitric oxide (NO), inducible nitric oxide synthase (iNOS), prostaglandin E2, interleukin-6 등의 cytokine 발현을 억제한다고 보고되어 있으며¹⁸⁾, 특히 茵陳蒿에서 분리한 scoparone이 이러한 작용을 나타내는 것으로 보고되어 있다¹⁹⁾. 또한, 韓茵陳 methanol 추출물에서 분리한 두 가지 sesquiterpene이 RAW264.7 cell에서 LPS로 유도한 NO, iNOS 발현 억제 효능을 나타내는 것으로 보고되어 있다²⁰⁾. 그러나 茵陳蒿와 韓茵陳의 물과 70% EtOH 추출물에서 항염증 효능을 비교한 연구는 보고된 바 없다.

본 연구에서는 茵陳蒿와 韓茵陳의 물 및 에탄올로 추출한 시료들의 항염증 효능을 비교하여 염증성 질환에 적용하기에 더 좋은 약재와 추출 용매의 근거를 제시하고자 하였다. 이에, 茵陳蒿와 韓茵陳 용매별 추출물들을 마우스 대식세포주에 처리하여 염증 관련 인자들의 측정을 통해 의미있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 시료 준비

본 실험에 사용된 茵陳蒿와 韓茵陳은 모두 경북 영천에서

채취한 것을 사용하였고, 광명당제약(Ulsan, Korea)에서 구입하였다. 각각의 약재 5 g을 70% EtOH 50 ml에 넣어주고 환류 추출기에서 2 시간 동안 가열 추출하였다. 추출물을 덜고 70% EtOH 50 ml를 다시 넣은 후 1 시간 더 가열 추출하여 총 3 시간 추출하였다. 각 추출물을 여과지를 이용해 감압 여과 후 감압 상태에서 농축하였다. 이후 동결건조하여 powder 형태의 시료를 얻었다. 시료는 -20℃에서 보관 후 매 실험마다 용매에 녹여 사용하였다.

2) 시약

세포실험에 필요한 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM), fetal bovine serum (FBS), penicillin/streptomycin (P/S)은 Hyclone Laboratories, Inc. (Auckland, New Zealand)에서 구입하였다. Lipopolysaccharides, sulfanilamide, phosphoric acid, N-(1-Naphthyl)ethylene-diamine dihydrochloride, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT), sodium nitrite, ammonium persulfate, trizma base, dimethyl sulfoxide (DMSO)는 Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 30% acryl amide, tetramethylethylenediamine, tween 20, ECL reagent는 Bio-RAD (Hercules, CA, USA)에서 구입하였고 rabbit anti-iNOS Antibody는 Novus (CO, USA), HRP anti-β-actin Antibody는 Santa Cruz Biotechnology, Inc. (Santa Cruz, CA, USA)에서 구입하였다. Protein extraction buffer는 Intron biotechnology (Seongnam, Korea), phosphate buffered saline (PBS)은 Abcam (Cambridge, MA, USA)에서 구입하였다. TNF-α kit는 Invitrogen (CA, USA)에서 구입하였다. 실험에 사용된 모든 시약은 분석용 등급 이상으로 사용하였다.

2. 방법

1) 세포 배양

실험에는 mouse macrophage RAW264.7 cells를 사용하였다. 배지는 10% FBS, 1% P/S가 포함된 DMEM을 사용하였다. Incubator는 37℃, 5% CO₂의 환경으로 유지하였다. 세포는 1일 1회 계대 배양하였다.

2) 세포 생존률 측정

RAW264.7 cells에 대한 독성을 확인하기 위해 MTT assay를 수행하였다. RAW264.7 cells을 96-well plate에 4.0x10⁴ cells/well로 seeding 후 incubator에서 24 시간 동안 배양하였다. 다음으로 배지를 시료가 포함된 DMEM으로 교체하고 24 시간 동안 배양하였다. LPS로 유도한 독성에 대한 세포 생존율은 시료가 포함된 DMEM으로 교체하고 1 시간 후 LPS를 1 μg/ml로 처리한 후 23 시간 동안 배양하였다. 상층액을 제거한 후 MTT가 1 μg/ml로 희석된 DMEM을 넣어주고 4 시간 동안 배양 후 용액을 제거하고 DMSO 100 μl를 넣어주고 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

3) NO 발현 측정

LPS로 유도한 NO 발현 억제 효능을 확인하기 위해 griess reagent를 이용한 발색시험을 수행하였다. RAW264.7 cells를 96-well plate 에 4.0×10^4 cells/well로 seeding 후 24 시간 동안 배양하였다. 다음으로 배지를 시료가 포함된 DMEM으로 교체하고 1 시간 동안 배양하였다. 다음으로 LPS를 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 로 처리하고 23 시간 동안 배양하였다. 상층액 $80 \mu\text{l}$ 와 동량의 griess reagent와 반응시켜 10 분 뒤 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. Nitrite 농도는 sodium nitrite를 표준물질로 하여 정량곡선 대비 수치로 계산하였다.

4) iNOS 발현 측정

LPS로 유도한 iNOS 발현 억제 효능을 확인하기 위해 western blotting을 수행하였다. RAW264.7 cells를 6-well plate에 2.0×10^6 cells/well로 seeding 후 24 시간 동안 배양하였다. 다음으로 배지를 시료가 포함된 DMEM으로 교체하고 1 시간 동안 배양하였다. 다음으로 LPS를 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 로 처리하고 23 시간 동안 배양하였다. 상층액을 제거한 뒤 세포를 모아 원심분리하여 펠렛을 만든 뒤 PBS로 1 회 세척하였다. 이후 펠렛에 buffer를 넣은 채로 lysis 후 원심분리한 상층액을 얻어 실험에 이용하였다. 단백질 정량 후 10% SDS-acrylamide gel에 running하였다. 이후 gel을 membrane에 transfer하고 5% skim milk에 1 시간 동안 blocking한 뒤, 1차 항체로 iNOS(1: 1,500), β -actin(1: 3,000)을 overnight으로 반응시켰다. 2차 항체로는 anti-rabbit HRP-conjugated(1: 2,000)을 1 시간 반응시켰다. Membrane을 ECL detection kit를 이용하여 반응시킨 후 LAS-4000 mini system (Fujifilm, Tokyo, Japan)을 이용하여 band image를 얻었다. 또한 band intensity는 Image J (Bethesda, MD, USA)을 이용하여 정량하였으며 β -actin의 band intensity에 대비하여 측정하였다.

5) TNF- α 발현 측정

RAW264.7 cells를 24-well plate에 2.0×10^5 cells/well로 seeding 후 24 시간 동안 배양하였다. 다음으로 배지를 시료가 포함된 DMEM으로 교체하고 1 시간 동안 배양하였다. 다음으로 LPS를 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 로 처리하고 23 시간 동안 배양하였다. 상층액을 TNF- α kit를 이용하여 TNF- α 발현량을 측정하였다.

6) 통계 처리

모든 측정값은 mean \pm SEM으로 표시하였다. 통계처리는 Graphpad Prism 5.0(San Diego, CA) 프로그램을 이용하였다. 시료 간 비교는 Student's *t*-test를, 대조군과 비교한 시료의 효능은 One-way ANOVA, 사후검정은 Tukey's test를 이용하였다. 분석 시 p값이 0.05 미만일 때 유의하다고 판단하였다.

III. 결 과

1. 시료 추출

4종 시료를 추출한 결과는 다음과 같다(Table 1). 茵陳蒿는

DW 추출물이 23.5%, 70% EtOH 추출물이 20.6%, 韓茵陳은 DW 추출물이 34.3%, 70% EtOH 추출물이 32.8%의 수득률을 보였다. 韓茵陳의 수득률이 茵陳蒿보다 높았으며, 용매 차이에 따른 수득률의 차이는 거의 없었다.

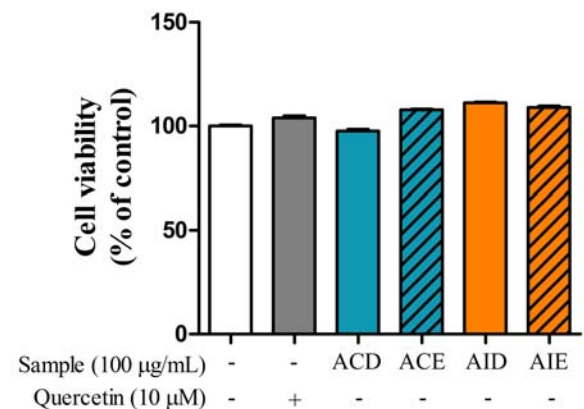
Table 1. Extraction Solvent, Method and Yield of Each Sample.

Herb	Solvent	Extraction method	Yield(%)
<i>Artemisia capillaris</i> Thunberg	DW	Boiling(2+1 h)	23.5
<i>Artemisia iwayomogi</i> Kitamura	DW	Boiling(2+1 h)	34.3
	70% EtOH	Boiling(2+1 h)	20.6
	70% EtOH	Boiling(2+1 h)	32.8

2. 세포독성 측정

세포독성을 확인하기 위하여 MTT assay를 수행하였다. 그 결과, RAW264.7 cells에 대한 시료들의 독성은 관찰되지 않았다(Fig. 1A). 또한 LPS로 독성을 유도한 RAW264.7 cells에 대한 시료들의 독성도 관찰되지 않았다(Fig. 1B).

(A)



(B)

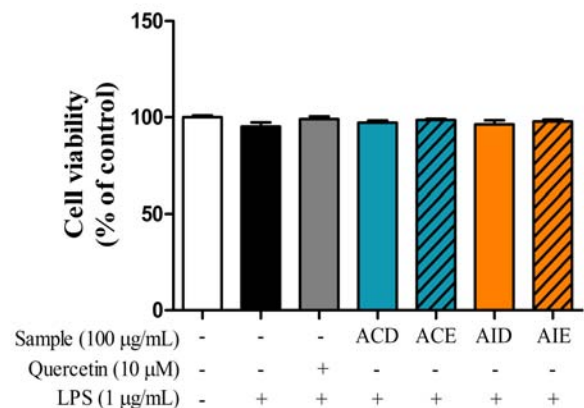


Fig. 1. Cytotoxicity of samples on RAW264.7 cells. The cells were treated with ACD, ACE, AID and AIE at $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ and quercetin at $10 \mu\text{M}$ for 24 h (A). The cells were treated with ACD, ACE, AID and AIE at $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ and quercetin at $10 \mu\text{M}$ for 1 h and exposed to $1 \mu\text{g}/\text{mL}$ LPS for an additional 23 h (B). Cell viability was measured by MTT assay. Values are given as the mean \pm SEM.

3. NO 발현 측정

LPS로 유도한 RAW264.7 cells의 NO 발현 억제 효능을 확인하기 위하여 Griess reagent를 이용한 발색반응을 수행하였다. 대조군 대비 LPS 단독 투여군에서는 NO 생성량이 $839.16 \pm 32.97\%$ 까지 유의적으로 증가하였다. 시료의 효능을 측정할 결과, 대조군에 비해 NO 생성량이 *Artemisia capillaris* DW 추출물(ACD) 투여군에서는 $716.83 \pm 24.43\%$, *Artemisia capillaris* 70% EtOH 추출물(ACE) 투여군에서는 $257.69 \pm 13.46\%$, *Artemisia iwayomogi* DW 추출물(AID) 투여군에서는 $298.71 \pm 19.80\%$ 그리고 *Artemisia iwayomogi* 70% EtOH 추출물(AIE) 투여군에서는 $162.15 \pm 17.70\%$ 로 측정되었다. 효능을 원물별로 비교한 결과, 韓茵陳은 모든 용매에서 茵陳蒿보다 유의적으로 강한 NO 발현 억제 효능을 보였다. 또한, 용매별로 비교한 결과, 70% EtOH 추출물이 DW 추출물보다 유의적으로 강한 NO 발현 억제 효능을 보였다(Fig. 2).

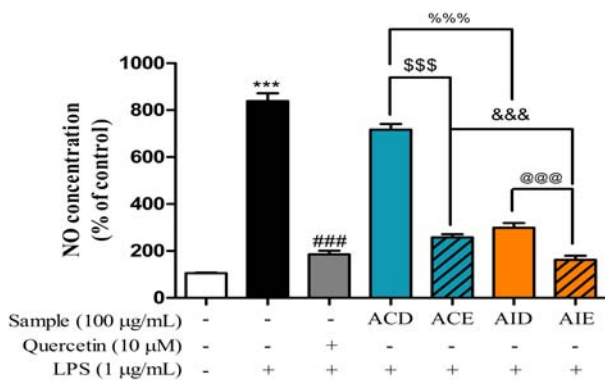


Fig 2. Inhibitory effects of samples on LPS-induced NO expression in RAW264.7 cells. The cells were treated with ACD, ACE, AID and AIE at 100 µg/mL and quercetin at 10 µM for 1 h and exposed to 1 µg/mL LPS for an additional 23 h. After collecting supernatants, NO was measured by colorimetric assay using Griess reagent. Values are given as the mean ± SEM. *** $p < 0.001$ vs. control group, ### $p < 0.001$ vs. LPS only treated group, \$\$\$ $p < 0.001$ vs. ACD treated group, %%% $p < 0.001$ vs. ACE treated group, &&& $p < 0.001$ vs. AID treated group.

4. iNOS 발현 측정

LPS로 유도한 RAW264.7 cells의 iNOS 발현 억제 효능을 확인하기 위하여 western blotting을 수행하였다. 시료의 효능을 측정할 결과, LPS 단독 투여군에 비해 iNOS 발현량이 ACD 투여군에서는 $57.18 \pm 6.48\%$, ACE 투여군에서는 $45.55 \pm 8.42\%$, AID 투여군에서는 $56.41 \pm 8.40\%$ 그리고 AIE 투여군에서는 $9.77 \pm 2.63\%$ 로 측정되었다. 효능을 원물별로 비교한 결과, 70% EtOH 추출물에서 韓茵陳은 茵陳蒿보다 유의적으로 강한 iNOS 발현 억제 효능을 보였으나, DW 추출물에서는 유의적인 차이가 없었다. 또한 용매 별로 비교한 결과, 韓茵陳의 70% EtOH 추출물은 DW보다 유의적으로 강한 iNOS 발현 억제 효능을 보였으나, 茵陳蒿에서는 유의적인 차이가 없었다(Fig. 3).

5. TNF-α 발현 측정

LPS로 유도한 RAW264.7 cell의 TNF-α 발현 억제 효능을 확인하기 위하여 TNF-α kit를 이용한 ELISA를 수행하였다.

대조군에 비해 LPS 단독 투여군에서는 TNF-α 발현이 $1026.46 \pm 47.91\%$ 까지 유의적으로 증가하였다. 시료의 효능을 측정할 결과, 대조군에 비해 TNF-α 발현량이 ACD 투여군에서는 $57.18 \pm 6.48\%$, ACE 투여군에서는 $45.55 \pm 8.42\%$, AID 투여군에서는 $56.41 \pm 8.40\%$ 그리고 AIE 투여군에서는 $9.77 \pm 2.63\%$ 로 측정되었다. 효능을 원물 별로 비교한 결과, 70% EtOH 추출물에서 韓茵陳은 茵陳蒿보다 유의적으로 강한 TNF-α 발현 억제 효능을 보였으나, DW 추출물에서는 유의적인 차이가 없었다. 또한 용매 별로 비교한 결과, 韓茵陳에서 70% EtOH 추출물은 DW보다 유의적으로 강한 TNF-α 발현 억제 효능을 보였으나, 茵陳蒿에서는 유의적인 차이가 없었다(Fig. 4).

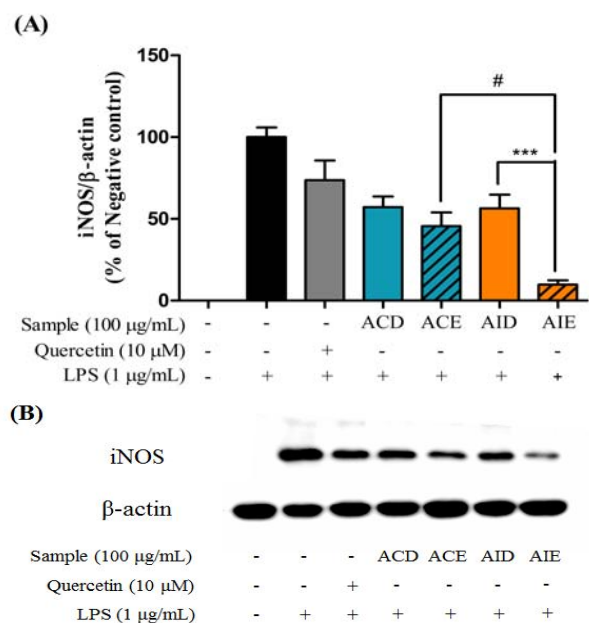


Fig 3. Inhibitory effects of samples on LPS-induced iNOS expression in RAW264.7 cells. The cells were treated with ACD, ACE, AID and AIE at 100 µg/mL and quercetin at 10 µM for 1 h and exposed to 1 µg/mL LPS for an additional 23 h, iNOS levels are assessed by western blotting. Values are given as the mean ± SEM. # $p < 0.05$ vs. ACE treated group, *** $p < 0.001$ vs. AID treated group.

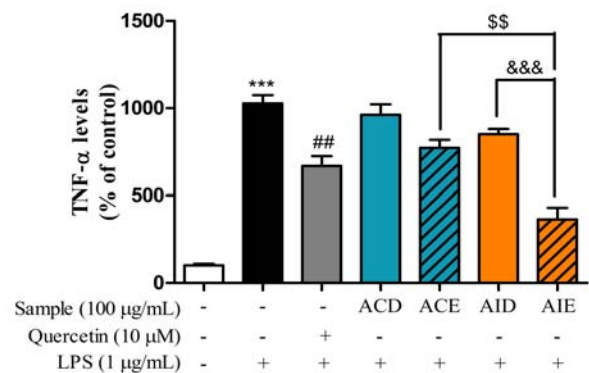


Fig 4. Inhibitory effects of samples on LPS-induced TNF-α expression in RAW264.7 cells. The cells were treated with ACD, ACE, AID and AIE at 100 µg/mL and quercetin at 10 µM for 1 h and exposed to 1 µg/mL LPS for an additional 23h. After collecting supernatants, TNF-α levels are measured by Rat TNF-α kit. Values are given as the mean ± SEM. *** $p < 0.001$ vs. control group, ## $p < 0.01$ vs. LPS only treated group, \$\$ $p < 0.01$ vs. ACE treated group. &&& $p < 0.001$ vs. AID treated group.

IV. 고 찰

본 연구에서는 茵陳蒿와 韓茵陳 DW 및 70% EtOH 추출물의 RAW264.7 cell에서의 LPS 유도 염증반응에 대한 억제 효능을 비교하였다.

LPS는 그람음성균의 세포외막에서 유래한 물질로, 인체 내에서 면역반응을 유도한다. 인체로 들어온 LPS는 toll like receptor에 의해 인식되어 CD-14가 결합되면 방어작용이 작동한다. 활성화된 대식세포는 LPS와 반응하는 과정에서 NO, TNF- α , cyclooxygenase 등 여러 가지 염증성 cytokine들을 발현하게 된다. 과발현된 염증성 cytokine들에 의해 발적, 동통, 부종, 종창 등의 증상이 일어나며, 부위와 정도에 따라 심각한 증상을 동반하기도 한다²¹⁾.

본 연구에서는 NO, iNOS, 그리고 TNF- α 발현 억제 효능을 평가하였다. 염증 반응에서 L-arginine이 L-citrulline으로 산화되는 과정의 부산물로 NO가 형성되며, iNOS는 이 반응의 촉매로 작용한다²²⁾. NO는 ONOO- 형태의 자유라디칼로 분비되어 인체 내에서 세포사멸을 유도하며, 관절이나 각종 장기에서 염증성 질환을 일으키는 원인이 된다²³⁾. 또한 TNF- α 는 염증 반응 중 대식세포나 비만세포에서 발현되며 발열, 세포사멸 등의 반응을 유도한다²⁴⁾.

茵陳蒿의 90% EtOH 추출물은 RAW264.7 cells에서 LPS로 유도한 염증반응에 대해 NO, iNOS, IL-6, IL-1 β 발현을 억제한다고 보고되어 있다. NO, iNOS 발현 억제 효능은 이번 연구와 비슷한 경향을 보였으나, TNF- α 의 발현은 감소하지 않았다는 점에서 다른 결과를 보였다. 또한 추출물의 수득률이 7.62%로 이번 연구에 비해 매우 낮게 측정되었는데¹⁸⁾, 이는 인진호를 끊어서 추출한 이번 연구와는 달리 상온에서 추출하여 생기는 차이라고 사료된다.

본 연구에서 韓茵陳이 茵陳蒿보다 항염증 효능이 더 강한 것을 확인하였다. 추출물의 효능 차이는 대개 구성 성분의 분포에 큰 영향을 받는데, 대표적으로 韓茵陳에만 함유되어 있는 jaceosidin은 LPS로 유도한 RAW264.7 cells의 염증성 cytokine 발현을 억제한다고 보고되어 있다²⁵⁾. 다만, 항염증 효능이 있다고 보고된 성분들은 jaceosidin 이외에도 많기 때문에 이번 연구의 실험만으로는 어떤 성분의 차이가 항염증 효능에 영향을 주었는지 예상하기에 한계가 있다. 따라서 향후 HPLC 등을 이용한 茵陳蒿와 韓茵陳의 주요 성분 함량 변화를 비교하는 연구가 필요하다.

또한 70% EtOH 추출물이 DW 추출물보다 대체로 우수한 항염증 효능을 보이며, 용매 차이에 따른 수득률의 차이는 거의 없는 것을 확인하였다(Table 1). 추출 용매로써 70% EtOH은 DW에 비해 극성과 비극성 성분들이 골고루 용해되는 것으로 알려져 있으며, 특히 페놀 및 플라보노이드 계열 화합물들의 수득률이 더 높다고 보고되었다^{26,27)}. 茵陳蒿와 韓茵陳 모두 페놀과 플라보노이드 계열의 성분을 많이 함유하고 있는 것으로 보이며^{4,5,6)}, DW보다는 70% EtOH을 추출 용매로 사용하는 것이 더 효율적인 것으로 사료된다.

한편, 茵陳蒿와 韓茵陳의 효능을 비교한 연구 결과들을 보면, 항산화 효능 비교¹⁴⁾, 사염화탄소로 유도한 간섬유화 치료 효능 비교¹⁵⁾, triton WR-1339로 유도한 고지혈증 치료 효능 비교¹⁶⁾, 에탄올로 유도한 간독성 억제 효능 비교 연구¹⁷⁾에서 모두 韓

茵陳의 효능이 茵陳蒿보다 더 우수한 것으로 보고되었다. 또한 항미생물 효능 비교 연구에서는 韓茵陳이 茵陳蒿에 비해 6종의 균주 중 5종의 균주에 대한 항미생물 효능이 더 우수하다고 보고되었다¹³⁾. 韓茵陳은 관련된 연구 현황이 茵陳蒿에 비해 부족한데, 이번 연구 결과에서도 韓茵陳의 효능이 茵陳蒿보다 더 우수하다고 평가된 것을 고려해보면 단순히 茵陳蒿의 대용품으로 사용되어오던 韓茵陳의 약리 효능 및 작용 기전에 관한 연구가 활발히 이루어질 가능성이 매우 크다고 생각된다.

이번 연구의 결과를 통해, 염증 질환에는 茵陳蒿보다는 韓茵陳이, 물 추출물보다는 에탄올 추출물의 효능이 더욱 우수한 것을 확인하였다.

V. 결 론

본 연구에서는 茵陳蒿와 韓茵陳의 용매별 시료들의 RAW264.7 cell에 대한 항염증 효능을 비교하였고 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. RAW264.7 cell에서 LPS로 유도한 NO 발현 억제 효능을 비교한 결과, 韓茵陳이 茵陳蒿보다 강한 효능을 보였으며 70% EtOH 추출물이 DW 추출물보다 강한 효능을 보였다.
2. RAW264.7 cell에서 LPS로 유도한 iNOS 발현 억제 효능을 비교한 결과, 韓茵陳이 茵陳蒿보다 강한 효능을 보였으며 70% EtOH 추출물이 DW 추출물보다 강한 효능을 보였다.
3. RAW264.7 cell에서 LPS로 유도한 TNF- α 발현 억제 효능을 비교한 결과, 韓茵陳이 茵陳蒿보다 강한 효능을 보였으며 70% EtOH 추출물이 DW 추출물보다 강한 효능을 보였다.

이상의 결과에서 韓茵陳이 茵陳蒿보다, 70% EtOH 추출물이 DW 추출물보다 항염증 효능이 우수함을 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 미래창조과학부 및 한국연구재단의 (재)유전자 동정보감사업단(NRF-2012M3A9C4048795) 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

References

1. Seo BI, Kwon DY, Choi HY, Lee JH, Oh MS, Bu YM. Medicinal Herbology. 8th rev. ed, Seoul : Younglim-Sa, 2012 : 448-50.
2. Korea Food and Drug Administration, The Guideline on the Visual and Organoleptic Examination of Herbal Medicine, 2009 : 5 : 89-90.

3. Korea Food and Drug Administration. The Guideline on the Visual and Organoleptic Examination of Herbal Medicine. 2009 ; 3 : 117.
4. Park KM, Li Y, Kim B, Zhang H, Hwangbo K, Piao DG, Chi MJ, Woo MH, Choi JS, Lee JH, Moon DC, Chang HW, Kim JR, Son JK. High-performance Liquid Chromatographic Analysis for Quantitation of Marker Compounds of *Artemisia capillaris* Thunb. Archives of Pharmacal Research. 2012 ; 35(12) : 2153-62.
5. Kwon OS, Choi JS, Islam MN, Kim YS, Kim HP. Inhibition of 5-lipoxygenase and skin inflammation by the aerial parts of *Artemisia capillaris* and its constituents. Archives of Pharmacal Research. 2011 ; 34(9) : 1561-9.
6. Kim AR, Zou YN, Park TH, Shim KH, Kim MS, Kim ND, Kim JD, Bae SJ, Choi JS, Chung HY. Active Components from *Artemisia iwayomogi* Displaying ONOO- Scavenging Activity. Phytother Res. Exp Ther Med. 2004 ; 18(1) : 1-7.
7. He CS, Yue HY, Xu J, Xue F, Liu J, Li YY, Jing HE. Protective effects of capillary artemisia polysaccharide on oxidative injury to the liver in rats with obstructive jaundice. Exp Ther Med. 2012 ; 4(4) : 645-8.
8. Kim KS, Yang HJ, Lee JY, Na YC, Kwon SY, Kim YC, Lee JH, Jang HJ. Effects of β -sitosterol derived from *Artemisia capillaris* on the activated human hepatic stellate cells and dimethylnitrosamine-induced mouse liver fibrosis. BMC Complement Altern Med. 2014 ; 14(363) : 1-10.
9. Hu YQ, Tan RX, Chu MY, Zhou J. Apoptosis in human hepatoma cell line SMMC-7721 induced by water-soluble macromolecular components of *Artemisia capillaris* Thunberg. Jpn J Cancer Res. 2000 ; 91(1) : 113-7.
10. Koo HN, Hong SH, Jeong HJ, Lee EH, Kim NG, Choi SD, Ra KW, Kim KS, Kang BK, Kim JJ, Oh JG, Kim HM. Inhibitory Effect of *Artemisia capillaris* on Ethanol-Induced Cytokines (TNF- α , IL-1 α) Secretion in HepG2 Cells. Immunopharmacol Immunotoxicol. 2002 ; 24(3) : 441-53.
11. Lee J, Narayan VP, Hong EY, Whang WK, Park T. *Artemisia iwayomogi* Extract Attenuates High-Fat Diet-Induced Hypertriglyceridemia in Mice: Potential Involvement of the Adiponectin-AMPK Pathway and Very Low Density Lipoprotein Assembly in the Liver. Int J Mol Sci. 2017 ; 18(8) : 1762.
12. Park EJ, Nan JX, Kim JY, Kang HC, Choi JH, Lee SJ, Lee BH, Kim SJ, Lee JH, Kim YC, Sohn DH. The ethanol-soluble part of a hot-water extract from *Artemisia iwayomogi* inhibits liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats. J Pharm Pharmacol. 2000 ; 52(7) : 875-81.
13. Seo KS, Jeong HJ, Yun KW. Antimicrobial activity and chemical components of two plants, *Artemisia capillaris* and *Artemisia iwayomogi*, used as Korean herbal Injin. J. Ecol. Field Biol. 2010 ; 33(2) : 141-7.
14. Seo KS, Yun KW. Antioxidant Activities of Extracts from *Artemisia capillaris* THUNB. and *Artemisia iwayomogi* KITAM. used as Injin. Korean J. Plant Res. 2008; 21(4) : 292-8.
15. Wang JH, Choi MK, Shin JW, Hwang SY, Son CG. Antifibrotic effects of *Artemisia capillaris* and *Artemisia iwayomogi* in a carbon tetrachloride-induced chronic hepatic fibrosis animal model. J Ethnopharmacol. 2012 ; 410(1) : 179-85.
16. Ham I, Jung SW, Lee KJ, Park KH, Choi HY. Effect of the aerial part of *Artemisia capillaris*, and *A. iwayomogi* on the Hyperlipidemia of Rats induced by Triton WR-1339. Kor. J. Herbology. 2005 ; 20(1) : 45-52.
17. Lee HI, Seo KO, Yun KW, Kim MJ, Lee MK. Comparative Study of the Hepatoprotective Efficacy of *Artemisia iwayomogi* and *Artemisia capillaris* on Ethanol-Administered Mice. J Food Sci. 2011 ; 76(9) : 207-11.
18. Lim HK, Cho SK, Park S, Cho M. Inhibitory effects of an ethanol extract of *Artemisia capillaris* on inflammatory mediators from LPS-stimulated RAW 264.7 cells. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 2010 ; 53(3) : 275-82.
19. Jang SI, Kim YJ, Lee WY, Kwak KC, Baek SH, Kwak GB, Yun YG, Kwon TO, Chung HT, Chai KY. Scoparone from *Artemisia capillaris* inhibits the release of inflammatory mediators in AW 64.7 cells upon stimulation cells by interferon- γ Plus LPS. Arch Pharm Res. 2005 ; 28(2) : 203-8.
20. Ahn H, Kim JY, Lee HJ, Kim YK, Ryu JH. Inhibitors of inducible nitric oxide synthase expression from *Artemisia wayomogi*. Arch Pharm Res. 2003 ; 26(4) : 301-5.
21. Juskewitch JE, Knudsen BE, Platt JL, Nath KA, Knutson KL, Brunn GJ, Grande JP. LPS-Induced Murine Systemic Inflammation Is Driven by Parenchymal Cell Activation and Exclusively Predicted by Early MCP-1 Plasma Levels. Am J Pathol. 2012 ; 180(1) : 32-40.
22. Aktan F. INOS-mediated nitric oxide production and its regulation. Life Sci. 2004 ; 75(6) : 639-53.
23. Sharma JN, Al-Omran A, Parvathy SS. Role of nitric oxide in inflammatory diseases. Inflammopharmacology. 2007 ; 15(6) : 252-9.
24. Horiuchi T, Mitoma H, Harashima S, Tsukamoto H,

- Shimoda T. Transmembrane TNF- α : structure, function and interaction with anti-TNF agents. *Rheumatology (Oxford)*. 2010 ; 49(7) : 1215-28.
25. Moscatelli V, Hnatyszyn O, Acevedo C, Megías J, Alcaraz MJ, Ferraro G. Flavonoids from *Artemisia copa* with anti-inflammatory activity. *Planta Med*. 2006 ; 72(1) : 72-4.
26. Sun C, Wu Z, Wang Z, Zhang H. Effect of Ethanol/Water Solvents on Phenolic Profiles and Antioxidant Properties of Beijing Propolis Extracts. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2015 ; 2015 : 595393.
27. Butsat S, Siriamornpun S. Effect of solvent types and extraction times on phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity in leaf extracts of *Amomum chinense* C. *International Food Research Journal*. 2016 ; 23(1) : 180-7.