

加熱溫度에 따른 艾葉의 成分變化 및 生理活性에 關한 研究

朴永在, 朴英培, 金容奭, 高炯均, 金昌煥, 姜成吉*

ABSTRACT

The Study For Changes In Components And Activities
Of Artemisiae Herba. At Various Processing Temperature

Park, Young-Jae · Park, Young-Bae · Kim, Yong-Suk
· Koh, Hyung-Kyun · Kim, Chang-Hwan · Kang, Sung-Keel *

*Dept. of Acupuncture & Moxibustion,
College of Oriental Medicine, Kyung Hee University, Seoul, Korea

Purpose : The study for changes in components and activities of Artemisiae Herba. at various processing temperature is generally regarded as a foundation in setting the optimum heat-processing temperature and for getting the maximum activities for medical usage of this herb.

Methods: Therefore some experiments were performed either in vitro or in vivo and various changes were observed - the changes in the weight of Artemisiae Herba, the changes in the relative amount of three kinds of extracts from Artemisiae Herba (diluted ethanol extract, water extract, ether extract), the TLC pattern of essential oil at various processing temperature, the existence of inhibitory effects both on β -Glucuronidase activities, and on heat-induced hemolysis, the effects on increased vascular permeability. The valid results derived from the experiments are as follows.

Results: 1. The weight of Artemisiae Herba prominently decreased at 240°C. 2. The contents of diluted ether extract were maximum in the unprocessing condition. Those of water extract were maximum at 180°C and at 210°C, and the changes of diluted ethanol extract at 150°C. 3. The TLC pattern of essential oil in Artemisiae Herba at various processing temperature showed that a component began to increase at Rf 0.56 and another component began to decrease at Rf 0.86. 4. The contents of Eupatilin in Artemisiae Herba at various processing temperature continued to decreased in proportion to the temperature rise, the extent of which was prominent at 210°C, and was unnoticeable at 270°C. 5. Inhibitory effects on β -Glucuronidase activities, trypsin activities and heat-induced hemolysis increased in proportion to the density of Artemisiae Herba. Inhibitory effects on β -Glucuronidase activities and trypsin activities were relatively high at 180°C while

Key Words: artemisiae, moxibustion, optimum temperature, eupatilin, analgesic effect

*慶熙大學校 韓醫科大學 鍼灸學教室

on the writhing syndrome and inhibitory effects on increased vascular permeability induced by acetic acid were maximum at 240°C.

those on heat-induced hemolysis were relatively high at 240°C. 6. In vivo, both analgesic effects

Conclusions: To maximize of the effectiveness of Artemisiae Herba, the ideal heating temperature is in the range of 180°C~240°C.

I. 緒論

艾葉은 菊花科에 속한 다년생 초목인 황해쑥 (*Artemisia argyi*, Lev et Vant)과 野艾(*A. vulgaris* L.)의 잎을 건조한 것으로서, 調理氣血, 逐寒濕, 溫經止血, 安胎하여 心腹冷痛, 泄瀉, 久痢, 下血, 月經不調, 帶下, 胎動不安, 癰瘍, 疥癬 등에 사용된다.¹⁾³⁴⁾ 이러한 艾葉을 분쇄하여 일정 크기와 모양으로 만들어 신체의 부위에 직접, 혹은 간접으로 올려놓고 燃燒시킴으로써 病을 치유하는 방법을 艾灸法이라 한다. 艾灸療法은 營血 및 衛氣의 장애로 기인된 諸般疾患 및 疼痛을 生體反應으로써 榮衛를 소통시키고 經絡循環의 病變을 조화하는 치료방법이다.²⁾

최근 艾灸의 연구는 艾柱를 燃燒시킴으로써 얻어지는 熱刺戟의 側面과 艾葉을 加熱하여 발생되는 物質이 人體에 미치는 化學的 刺戟의 側面에서 진행되었다.³⁾ 차에 의하면, 燃燒過程의 特性을 보다 세밀하게 이해하기 위하여 내열판에서 燃燒特性을 분석한 결과, 艾柱의 燃燒過程은 時間帶別로 入熱期와 出熱期로 구분되고, 密度가 증가할수록 最高溫度가 증가하지만 일정한 密度 이상에서는 不完全 燃燒로 인하여 最高溫度는 차이가 없음이 밝혀졌다. 또한 艾柱의 重量과 壯數는 熱刺戟의 내용에 중요한 영향을 주며, 刺戟量은 被施術者에 침투되는 燃燒熱量에 비례함이 밝혀졌다.⁴⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾

艾葉의 化學的 側面에 대한 연구도 多角度로 진행되었는데, 이는 艾葉 자체의 化學成分의 定性, 定量과 艾葉의 成分이 生體에 미치는 영향에 대한 側面으로 진행되고 있다. 艾葉을 燃燒시킴으로써 생성되는 二次物質, 즉 燃燒生成物에 대한 연구는 加熱에 따른 艾葉의 成分 및 活性變化, 燃燒生成物에 대한 臨床的 效能 糾明을 가능케 했다.

지금까지 밝혀진, 艾葉의 成分으로는 phellandrene, coprol, cadinene 등의 精油成分 등⁸⁾이 있고, 김⁹⁾은 茵陳과 艾葉에서 精油를 분리하여 이를 gas

chromatography法에 의해 camphor를 同定했다. 또한 김¹⁰⁾은 약쑥을 acetone으로 抽出하여 얻은 acetone extract을 column chromatography法으로 成分을 분리하고 分光學的 方法을 통해 그 구조를 밝혔다. 그 결과 2종의 flavonoid 인 eupatilin, jaceosidin과 2종의 coumarin인 umbelliferone, scopoletin, β -sitosterol, campersterol, stigmasterol이 53.3%, 41/7%, 5%로 혼합된 sterol mixture와 β -sitosterol-3-O-glucoside의 成分을 同定했다. 한약규격집주해¹¹⁾에 記載된 쑥의 成分은 phellandrene, couprol, cadinene, cineol, terpinen-4-ol, β -caryophyllene, linalool, artemisia acohol, camphor, borneol 등이다. 또한 艾葉의 燃燒生成物로서 밝혀진 成分에는 tricosanol, hentriacontane, arachinalkohol, thujone, n-nonacosane, n-hentriacontane, C37H76, tannin 및 그 異性體, catechol, 포화지방족탄화수소 등이 있다.²²⁾

艾葉으로부터 抽出한 成分이 生體에 미치는 영향에 대해 박¹²⁾ 등은 artemisia屬 식물들이 突然變異 抑制現象을 일으킨다고 했으며, Marrif Hi²³⁾ 등은 artemisia herba-alba로부터 분리된 抽出物이 血糖의 상승, 저하 및 antimicrobial activity에 관여한다고 보고했다. 특히 이²⁴⁾는 artemisia herba로부터 eupatilin을 분리하고, 일단 aspirin을 흰쥐에게 투여하여 胃潰瘍을 일으킨후 eupatilin을 주입한 결과 기존의 cimetidine 보다 우수한 효과가 있음을 발표했다. Zhong Y²⁵⁾ 등은 artemisia argyi에서 β -sitosterol 과 eupatilin을 同定하여 두 成分이 血小板 凝集에 대한 抑制作用을 하는 것을 밝혔다. Janbaz KH²⁶⁾ 등은 artemisia maritina에서 抽出한 成分이 肝保護作用을 하며, acetaminophen, carbon tetrachloride로 유발된 흰쥐의 肝毒性을 輕減시킨다고 했다. 燃燒生成物에 관한 研究에 있어서 大西基代³⁶⁾는 艾

葉의 燃燒生成物이 過酸化脂質의 生成을 抑制하는 抗酸化作用이 있음을 발표했다. 이는 艾葉이 生體細胞膜 기능유지 및 蛋白質 變性抑制에 관여함을 示唆하는 것이다.

이에 著者は 加熱에 따른 艾葉의 成分 및 活性 變化가 艾葉의 最適加熱溫度 및 活性度에 客觀的 指標가 되므로, 加熱에 따른 艾葉의 重量變動, 엑스含量的 變動, 精油成分 pattern 變化, 艾葉成分의 하나인 eupatilin 含量變化 등 物理化學的 變化를 檢討하였다. 또한 生理活性의 變化를 檢討하고자 加熱하지 않은 艾葉과 特定 溫度에서 加熱한 艾葉의 凍結乾燥物을 이용, in vitro에서 β -glucuronidase 酵素 阻害活性, trypsin 酵素 阻害活性 및 赤血球溶血 抑制效果를 檢討하였으며, in vivo에서 醋酸法에 의한 鎮痛效果와 醋酸으로 유발된 血管透過性 亢進에 대한 抑制 效果를 檢討하여 그 結果를 보고하는 바이다.

II. 本論

1. 實驗方法

1) 試藥 및 材料

본 실험에 사용한 艾葉은 서울 동대문구소재 신성약업(주)에서 구입하여 嚴選한 것을 사용하였으며, 大韓藥典의 韓藥(生藥)規格集에 적합한 것을 사용하였다. Eupatilin은 艾葉에서 분리, 淨濟하여 사용하였으며, methanol, Na_2HPO_4 , CH_3CN 등은 Sigma Co. (USA)의 HPLC용을, Pre-coated TLC Plates는 Silica gel 60F₂₅₄ (E. Merck Co.)을 사용하였다. 기타 분리용 시약은 1급시약을 사용하였다.

2) 實驗器機

High pressure liquid chromatography (HPLC)는 Waters 600A model, Gas chromatograph (GC)는 United Technologies Packard의 Model 439, 精油 분석용 GC/MS는 HEWLETT PACKARD 5890 II와 5988, 흡광광도계는 Shimadzu사 (일본)의 UV-160A, Ultra-Sonicator는 Heat System사, 감압농축기는 Eyela의 Model NE-1을 사용하였다.

3) 實驗動物

本 實驗에서 사용한 實驗動物은 중앙동물로부터 구입한 ICR계 체중 18~22 g의 雄性 생쥐와 Spragu-Dawley계 體重 180~220 g의 雄性 흰쥐를 사용하고, 사료는 삼양유지(주)의 소동물용 固形飼料로 飼育하며 물은 충분히 공급하면서 實驗室 環境에 2주간 順應시킨 후에 사용하였다. 특별히 명시하지 않는 한 實驗은 24±2℃에서 실시하였다.

4) 實驗方法

本 實驗은 加熱에 따른 艾葉의 物理化學的 變化와 in vitro와 in vivo에서 生理活性 變化를 관찰하였다. 加熱에 따른 艾葉의 重量變動, 엑스含量的 變動, 精油成分 pattern 變化, 艾葉成分의 하나인 eupatilin 含量變化 등 物理化學的 變化를 檢討하였다. 또한 生理活性의 變化를 檢討하고자 加熱하지 않은 艾葉과 特定 溫度에서 加熱한 艾葉의 凍結乾燥物을 이용, in vitro에서 β -glucuronidase 酵素 阻害活性, trypsin 酵素 阻害活性 및 赤血球溶血 抑制效果를 檢討하였고, in vivo에서 醋酸法에 의한 鎮痛效果와 醋酸으로 유발된 血管透過性 亢進에 대한 抑制 效果를 檢討하였다.

(1) 試料의 調劑

艾葉을 細折하여 petri dish에 넓게 펴서 GC oven에 넣고 각각 150℃, 180℃, 210℃, 240℃, 270℃로 60분간 加熱하여 각각 檢體로 하였다. 加熱하지 않은 艾葉(Sample-I), 加熱에 의하여 物理化學的 變化가 甚한 180℃(Sample-II)와 240℃로 加熱하여 얻은 檢體(Sample-III)를 각각 물로 상법에 따라 加熱抽出하여 얻은 抽出液을 減壓濃縮하고 濃縮液을 凍結乾燥機로 乾燥하여 乾燥粉末을 각각 生理活性試驗用 檢體로 하였다. 각각의 凍結乾燥粉末을 本 實驗에서 필요로 하는 농도로 희석하여 사용하였다.

(2) 加熱處理에 의한 艾葉 試料의 重量 變化

艾葉 0.5 g을 petri dish에 넓게 펴서 GC oven에 넣고 각각 150℃, 180℃, 210℃, 240℃ 및 270℃로 60분간 加熱하여 그 전후의 무게를 稱量하여 重量 差異를 重量變化로 하였다. 3회 측정하여 그 평균값으로 나타내었다.

(3) 加熱處理에 의한 艾葉 試料의 엑스含量

測定

大韓藥典 일반시험법 중 生藥試驗法의 엑스솜량 試驗方法에 따라 實驗하였다.¹⁴⁾ 즉 묽은 에탄올엑스 솜량試驗은 각 檢體 2.3 g을 정밀히 달아 플라스크에 넣고 묽은 에탄올 70 ml를 넣어 가끔 흔들어서 섞어 24시간 방치한 후 여과하였다. 濾液이 100 ml이 될 때까지 씻어 주고 여액 50 ml를 蒸發乾固하고 105℃에서 4시간 乾燥하여 데시케이터에서 식힌 다음 그 무게를 정밀히 달고 2배 하여 묽은 에탄올엑스 솜량(%)을 산출하였다. 또한 水性엑스 솜량試驗은 묽은 에탄올엑스 솜량試驗에서 묽은 에탄올 대신 물을 써서 묽은 에탄올엑스 솜량試驗法과 같은 방법으로 조작하여 그 무게를 정밀히 달아 水性 엑스 솜량(%)으로 하였다. 에틸엑스 솜량은 檢體 2.0 g을 정밀히 달아 적당한 플라스크에 넣어 에틸 70 ml를 넣어 還流冷却器를 달아 水浴上에서 4시간 조용히 끓여 放冷한 다음 여과하였다. 플라스크 및 잔류수성은 濾液이 100 ml가 될 때까지 에틸로 씻고 濾液 50 ml를 水浴上에서 蒸發乾固하고 데시케이터에서 24시간 건조한 다음 그 무게를 정밀히 달고 2를 곱하여 에틸엑스솜량으로 하고 엑스솜량(%)을 산출하였다. 각각 엑스솜량은 3회 측정하여 그 평균값으로 나타내었다.

(4) 加熱處理에 의한 艾葉 中 精油成分의 變化

각각의 檢體 50 g을 정밀히 取하여 상법에 따라 1회 4시간씩 수증기 증류를 하여 얻어진 精油와 水性의 혼합액을 에틸로 3회 抽出하고 抽出液을 합하여 무수망초로 脫水하고 減壓濃縮하여 粗精油를 얻었다. 이 粗精油를 MeOH 10 ml를 가하여 용해시키고 여과한 다음 아래의 전개용매 benzene : EtOAc (19:1)로 pre-coated plate에 10 μl씩 spotting하여 상법에 따라 TLC法을 行하고 건조시킨 다음 10% anisaldehyde-sulfuric acid 용액을 spray한 후 105℃에서 15분간 乾燥하여 TLC pattern을 비교분석하였다.

(5) 加熱 處理에 의한 艾葉中의 Eupatilin의 定量

① Eupatilin 표준품의 分離

艾葉로부터 표준품 eupatilin의 分離는 李의

방법에 준하였다.²⁴⁾ 즉, 艾葉 1 kg을 MeOH 5 L로 2시간씩 2회 加熱抽出하여 여과한 濾液을 減壓농축하여 이 농축액에 10% MeOH 수용액을 進탕혼합하여 용해시킨 후 여과하고, 濾液을 hexane으로 抽出하여 hexane 층을 제거했다. 그 후 수층을 다시 CHCl₃로 抽出하여 CHCl₃ 층을 합하여 減壓농축하여 粘稠性의 抽出物을 얻었다. CHCl₃ 抽出物을 혼합용매 CHCl₃:MeOH (30:1 → 10:1)의 농도구배로 상법에 따라 silica gel column chromatography를 行하여 flavonoid 분획을 얻었다. 이 flavonoid 분획을 다시 혼합용매 hexane : EtOAc (3:1)로 silica gel column chromatography法을 行하여 粗結晶을 얻었으며, 이 粗結晶을 MeOH로 再結晶하여 黃色 針狀結晶을 얻었다.

② 試料의 調劑

상기 (1)에 따라 얻은 熱處置 艾葉 各 2.0 g을 정밀히 취하여 MeOH 50 ml를 加하고 2시간 간격으로 2회 還流抽出, 여과하여 抽出液을 減壓乾固하였다. 이 乾固物에 MeOH 10 ml를 용해, 여과하여 濾液을 HPLC용 시료용액으로 하였다. 따로 표준품 eupatilin 10 mg을 정확히 취하여 MeOH 20 ml에 용해시켜 표준액으로 하였다.

③ 實驗條件

HPLC : Waters 6000A , 칼럼: μ-Bondapak C₁₈ (3.9x150mm), 검출기 : 자외선 흡광광도계 (측정파장 230 nm), 이동상 : NaH₂PO₄ (0.05 M)/CH₃CN/MeOH (15:8:2), 유속 : 1.0 ml/min, 검액의 주입량 : 10μl로 하는 분석조건에서 eupatilin의 함량을 측정하였고 표준품의 검량선으로부터 시료중의 eupatilin 含量을 산출하였다. Data 처리는 Interface Engineering사의 CHROMATE의 전산 시스템을 사용하였다.

6) 生理活性試驗

(1) In vitro에서 生理活性에 관한 實驗

① β-Glucuronidase 酵素 阻害活性에 관한 實驗

β-Glucuronidase 酵素 阻害活性은 김 등의 방법에 준하였다.¹⁴⁾ 즉 장내세균 *Eubacterium* A44 균주를 GAM배지를 이용하여 혐기적 조건에서 24시간 배양한 후 3,000 rpm에서 30분간 원심분리하고 그 침전에 phosphate buffer (pH 6.5) 20 ml로 현탁하고 10분간 초음파처리하였다. 이 액

을 다시 10,000x로 원심분리하여 상등액을 취하여 β -glucuronidase 조효소액으로 하였다. β -Glucuronidase沮害活性的 측정은 10 mM p-nitrophenol- β -glucuronide 0.02 ml, 0.1 M phosphate buffer (pH 6.5) 0.1 ml, 효소액 0.05 ml, 저해제 0.05 ml을 넣고 37°C에서 50분간 반응시킨 후 4°C의 0.1 M phosphate buffer (pH 8.5) 0.5 ml를 넣어 반응을 종료시키고 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 檢液은 加熱하지 않은 艾葉 (Sample-I), 180°C로 加熱한 艾葉 (Sample-II) 및 240°C로 加熱한 艾葉 (Sample-III)의 각각 水性抽出物の 凍結乾燥한 것을 0.01 mg/ml, 0.05 mg/ml, 0.1 mg/ml 및 0.5 mg/ml의 농도로 증류수로 용해하여 사용하였다.

② Trypsin酵素沮害活性的에 관한 實驗

Trypsin 酵素沮害活性的에 대한 작용은 Anson²⁷⁾과 Tsutomu 등²⁸⁾의 방법에 준하였다. 즉 trypsin (Difco Co.) 20 μ g/ml 및 시료를 각각 1/15 M phosphate buffer (pH 7.6)에 용해시킨 용액을 각각 40 μ 씩 취하여 37°C에서 10분간 加溫하였다. 여기에 1.0% casein용액 0.4 ml씩 加한 후 37°C에서 20분간 incubation하고, 0.8 M trichloroacetic acid 1 ml씩 加하여 반응을 종료시키고 0.05 M HCl 40 μ 를 加한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 얻었다. 각 상등액 0.5 ml씩을 취하고 0.5 M NaOH 1 μ 씩 加한 후 phenol시약 0.3 ml씩을 加한 다음 37°C 水浴中에서 15분간 incubation하고 다시 원심분리하여 얻은 상등액을 660nm에서 흡광도를 측정하여 아래식으로부터 抑制率을 산출하였다. 檢液은 加熱하지 않은 艾葉 (Sample-I), 180°C로 加熱한 艾葉 (Sample-II) 및 240°C로 加熱한 艾葉 (Sample-III)의 각각 水性抽出物の 凍結乾燥한 것을 1.25 mg/ml, 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml 및 10.0 mg/ml의 농도로 증류수로 녹여 사용하였다.

$$\text{억제율(\%)} = \frac{\text{대조군의 흡광도} - \text{검액의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100$$

③ 赤血球溶血 抑制作用

T. Fujiyoshi 등²⁹⁾의 방법에 준하여 측정하였다. 즉 흰쥐를 이용하여 heparin 處理된 注射器로 心臟穿刺에 의해 採血하여 얻은 赤血球를 원심분리하고, 0.15 M phosphate buffer (pH 7.4)로 4회

세척하였으며 이 赤血球를 2% 적혈구부유액으로 조정하였다. 檢體를 각각 0.5% DMSO를 포함하는 上記의 phosphate buffer 용액으로 용해하고 각각 3.0 ml를 取하고 여기에 赤血球 부유액 3.0 ml를 첨가한 후 혼합액을 55°C에서 15분간 加熱處理한 직후에 냉각하였다. 원심분리한 후 540nm에서 흡광도를 측정하고 대조군과 비교하여 각 檢體 용량에서 熱에 의한 溶血抑制活性的을 비교 관찰하였다. 檢液은 加熱하지 않은 艾葉 (Sample-I), 180°C로 加熱한 艾葉 (Sample-II) 및 240°C로 加熱한 艾葉 (Sample-III)의 각각 水性抽出物の 凍結乾燥한 것을 0.625 mg/ml, 1.25 mg/ml, 2.5 mg/ml 및 5.0 mg/ml의 농도로 증류수로 녹여 사용하였다.

(2) *In vivo*에서 生理活性的에 관한 實驗

① 醋酸法에 의한 鎮痛作用

Whittle의 방법³⁰⁾에 준하였다. 즉 생쥐 1군을 5마리로 하여 檢液은 加熱하지 않은 艾葉 (Sample-I), 180°C로 加熱한 艾葉 (Sample-II) 및 240°C로 加熱한 艾葉 (Sample-III)의 각각 水性抽出物の 凍結乾燥한 것을 각각 2000 mg/kg씩을 각각 經口 投與한 다음 30분 후에 0.7% 醋酸 생리식염수액 0.1 ml/10g을 腹腔內 投與한 다음 10분 후 10분간의 생쥐가 나타내는 writhing syndrome의 빈도를 측정하였다. 비교약물로는 aminopyrine 100 mg/kg投與群으로 하였고 檢液 投與群과 비교관찰하였다.

② 毛細血管 透過性 亢進抑制作用

Whittle의 방법³⁰⁾에 준하여 생쥐 1군을 6마리로 하여 檢液은 加熱하지 않은 艾葉 (Sample-I), 180°C로 加熱한 艾葉 (Sample-II) 및 240°C로 加熱한 艾葉 (Sample-III)의 각각 水性抽出物の 凍結乾燥한 것을 각각 2000 mg/kg 씩을 각각 經口投與하고 30분 후에 4% pontamine sky blue 용액 0.1 ml/10g을 꼬리 정맥으로 투여하였다. 그 직후 0.6% 醋酸生理食鹽水액 0.1 ml/10g을 복강내 투여하였다. 이어서 30분 후 동물을 截頭하여 致死시키고 주의하면서 開腹하여 8 ml의 증류수로 腹腔內를 洗淨하여 그 液을 聚集, 綿으로 여과한 후 증류수를 加하여 10 ml로 하였다. 이 液을 檢光 광도계로 590 nm에서 흡광도를 측정하여 檢量線으로부터 腹腔內로 누출된 色素量을 구하였다.

비교약물로 indomethacin 30 mg/kg을 사용하여 비교관찰하였다.

2. 實驗 結果

1) 加熱 處理에 따른 試料의 重量變化

艾葉을 GC oven에서 加熱 처리한 후 加熱 前後의 重量을 측정하여 그 차이를 重量變化로하여 그 結果를 Table I에 제시하였다. 즉 加熱 前을 100으로하여 150℃, 180℃, 210℃, 240℃ 및 270℃로 加熱할 때 4.5%, 10.0%, 15.0%, 23.8% 및 31.3%의 重量감소를 보였으며, 특히 240℃ 이상으로 加熱함으로써 重量이 현저히 감소되었다.(Table. I)

2) 加熱 處理에 따른 試料의 엑스含量變化

艾葉을 GC oven에서 加熱 처리한 후 加熱 前後 各各의 試料를 이용하여 묽은 에탄올엑스, 水性엑스 및 에틸엑스 含量을 산출하여 그 結果를 Table II와 Fig. 1에 제시하였다. 묽은 에탄올엑스 含量은 加熱하지 않은 艾葉에서 14.2%이었으며, 150℃, 180℃ 및 210℃로 加熱한 시료에서는 약간 증가하거나 거의 유사한 묽은 에탄올엑스 含量을 보이나 270℃로 加熱한 試料에서는 12.8%로 감소되었다. 水性엑스 含量에서도 溫度 증가에 따라 다소 증가되며, 270℃에서 加熱한 試料에서는 감소되었고, 에틸엑스 含量은 溫度 增加에 따라 감소되었다. 특히 에틸엑스 含量은 270℃에서 加熱한 試料에서는 加熱하지 않은 試料에 비하여 약 50% 정도 감소되었다.(Table. II)

3) 加熱 處理에 따른 試料의 精油成分 pattern 分析

艾葉을 GC oven에서 加熱 처리한 후, 加熱 前後의 各各 試料를 상법에 따라 수증기 증류하여 精油分劃物을 抽出하였다. TLC法으로 그 pattern을 분석한 結果는 Fig.2에 제시되었다. Fig. 2에 나타난 바와 같이 發色劑 anisaldehyde-sulfuric acid로 분무하여 加熱 發色시킨 結果 chromatogram은 각 檢體 共히 유사한 pattern을 보여 주었으며 특히 Rf 0.56 부근의 핑크색으로 呈色된 化合物의 量은 加熱溫度가 증가함에 따라 현저히 감소되고, Rf 0.76 부근의 노랑색으로 呈色된 化合物의 量은 증가했다.(Table. III)

4) 加熱 處理에 따른 艾葉 中 Eupatilin 의 含量變化

(1) 艾葉으로부터 Eupatilin의 분리

실험부에 기재한 방법에 따라 분리하여 얻은 黃色結晶은 Mg-HCl반응, FeCl₃반응에 陽性이고, m.p.가 236-238℃이며 Mass m/z : 344 (M-H) (Fig. 3). 따라서, 기기분석 데이터와 표준품 eupatilin과 비교실험에서 동일하므로 艾葉으로부터 분리한 flavonoid를 eupatilin (5,7-dihydroxy-6,3',4'-trimethoxy flavone)으로 同定하였고 그 구조식을 Fig. 4에 제시하였다.

(2) 標準液의 調劑 및 檢量線의 作成

표준품 Eupatilin 10 mg을 정확히 달아 MeOH 20 ml에 녹이고 이를 0.1 mg/ml, 0.5 mg/ml 및 1.0 mg/ml의 3 point로 檢量線을 작성하여 원점을 통과하는 양호한 直線을 얻었으며 回歸方程式은 $y=4.994479^{-7}(r=0.9817)$ 이었다.(Fig. 5)

(3) 試料中의 eupatilin의 含量變化

艾葉에 함유된 flavonoid계 化合物인 eupatilin의 含量을 HPLC를 이용하여 定量한 바 再現性이 있는 實驗結果를 얻었으며 표준품 및 艾葉의 HPLC chromatogram을 Fig. 6에 제시하였다. 이 동상 Na₂HPO₄ : CH₃CN : MeOH (15:8:2)을 이용하여 HPLC를 행한 바 eupatilin이 retention time 16.1분에서 검출되었으며 시료 艾葉에서도 동일한 retention time에서 eupatilin의 peak가 檢出되어 定量이 가능했다.

加熱處理한 艾葉의 各各 試料中에 함유된 eupatilin의 含量을 Table. III과 Fig. 6에 제시하였다. 加熱하지 않은 艾葉중에는 eupatilin이 151.4 mg/100g 함유되어 있으나 加熱溫度가 높을수록 含量이 감소되었으며 150℃에서 138.8 mg/100g, 180℃에서 119.3 mg/100g, 210℃에서 51.4 mg/100g, 240℃에서 6.1 mg/100g이 검출되었으며 270℃에서는 검출되지 않았는데 이는 eupatilin이 加熱에 의하여 분해됨을 示唆하는 것이다.

5) 加熱 處理에 따른 艾葉의 生理活性變化

(1) In vitro에서 加熱 處理에 따른 艾葉의 生理活性變化

① β-Glucuronidase 酵素 阻害活性에 미치는 效果

艾葉을 GC oven에서 加熱處理한 후 加熱前 (Sample-I)과 180℃로 加熱한 艾葉 (Sample-II), 240℃로 加熱한 艾葉 (Sample-III) 각각 試料를 이용하여 β -glucuronidase 酵素 沮害活性結果를 Table IV에 나타내었다.

각 檢液 Sample-I, Sample-II 및 Sample-III 0.5 mg/ml의 농도에서 β -glucuronidase 酵素 沮害活性은 81.6%, 92.1% 및 82.1%로 180℃로 加熱한 艾葉 Sample-II에서 가장 높은 沮害率을 보였으며, 각 檢液 共히 농도 의존적인 沮害活性을 나타내었다. 특히 저농도 0.01 mg/ml, 0.05 mg/ml의 농도에서는 세 檢體 共히 유사한 沮害活性을 보이나 0.1 mg/ml의 농도에서는 Sample-II가 가장 높은 沮害活性을 보이고, Sample-I, Sample-III의 順으로 沮害活性이 관찰되었다.

② Trypsin 酵素 沮害活性에 미치는 效果

艾葉을 GC oven에서 加熱處理한 후 加熱前 (Sample-I)과 180℃로 加熱한 艾葉 (Sample-II), 240℃로 加熱한 艾葉 (Sample-III) 각각 試料를 이용하여 trypsin 沮害效果를 Table V에 나타내었다.

각 檢液 Sample-I, Sample-II 및 Sample-III 10.0 mg/ml의 농도에서 trypsin 沮害活性은 10.1%, 20.9% 및 9.8%로 180℃로 加熱한 艾葉 Sample-II에서 가장 높은 沮害率을 보였으며, 각 농도에서도 檢液 Sample-II에서 가장 우수한 沮害效果를 보여 주었다. 반면에 檢液 Sample-I과 Sample-III는 유사한 沮害活性을 보여 주었다.

③ 赤血球溶血 抑制效果

艾葉을 GC oven에서 加熱處理한 후 加熱前 (Sample-I)과 180℃로 加熱한 艾葉 (Sample-II), 240℃로 加熱한 艾葉 (Sample-III) 각각 試料를 이용하여 赤血球 加熱에 의한 溶血抑制效果를 Table VI에 나타내었다.

각 檢液 Sample-I, Sample-II 및 Sample-III 5.0 mg/ml의 농도에서 赤血球 加熱에 의한 溶血抑制效果는 각각 78.1%, 75.2% 및 85.9%로 180℃로 加熱한 艾葉 Sample-III에서 가장 높은 抑制效果를 보여 주었으며, 각 檢液은 농도의존적인 抑制效果를 관찰할 수 있었다.

(2) *In vivo*에서 加熱處理에 따른 艾葉의 生理活性變化

① 醋酸法에 의한 鎮痛效果

흰쥐에 생리식염수와 0.7% 醋酸 생리식염수액을 투여한 대조군의 writhing syndrome의 빈도 31.0 ± 1.41 회/10분에 비하여 檢液 Sample-II 및 Sample-III 2000 mg/kg 투여군에서는 각각 23.8 ± 1.59 회/10분과 22.8 ± 1.28 회/10분으로 $p < 0.001$ 의 유의한 抑制效果를 보이며 Sample-I 2000 mg/kg 투여군에서는 23.2 ± 2.91 회/10분으로 다소 抑制하는 경향을 보이나 통계적으로 유의차는 인정되지 않았다. 비교약물 aminopyrine 100 mg/kg 투여군에서는 10.2 ± 0.86 회/10분으로 $p < 0.001$ 의 유의한 抑制效果를 나타내었다.(Table VII)

② 血管透過性 亢進抑制效果

艾葉을 GC oven에서 加熱 처리한 후 加熱前 (Sample-I)과 180℃로 加熱한 艾葉 (Sample-II), 240℃로 加熱한 艾葉 (Sample-III) 각각 試料의 抑制效果를 Table VIII에 나타내었다.

醋酸을 處置하고 생리식염수만을 투여한 대조군의 腹腔內 色素漏出量은 $162.0 \pm 11.4 \mu\text{g}/10\text{ml}$ 로 醋酸 非處置 정상군의 色素漏出量 $64.5 \pm 5.43 \mu\text{g}/10\text{ml}$ 에 비하여 $p < 0.001$ 의 유의한 증가를 나타내었다. 檢液 Sample-II 및 Sample-III 2000 mg/kg 투여군에서는 각각 $116.0 \pm 10.2 \mu\text{g}/10\text{ml}$ 과 $100.7 \pm 9.02 \mu\text{g}/10\text{ml}$ 로 대조군에 비하여 $p < 0.05$ 와 $p < 0.01$ 의 유의한 色素漏出量 抑制效果를 관찰할 수 있었으나, Sample-I 2000 mg/kg 투여군에서는 $139.3 \pm 11.8 \mu\text{g}/10\text{ml}$ 로 抑制하는 경향을 보이나 통계적으로 유의성은 인정되지 않았다. 비교약물 indomethacin 30 mg/kg 투여군에서는 $p < 0.001$ 의 유의한 色素漏出量 抑制效果가 인정되었다.

Table I. Weight Loss of Artemisiae Herba by Processing at Various Temperature

Groups	Weight loss (%)
Unprocessing	-
150℃	4.5
180℃	10.0
210℃	15.0
240℃	23.8
270℃	31.3

Data represents the mean value of triplicate experiments.

Samples were heated for 1 hour in GC oven.

Table II. Contents of Dilute Ethanol, Water and Ether Extracts of Artemisiae Herba by Processing at Various Temperature

Groups	Contents of extract (%)		
	Dilute ethanol	Water	Ether
Unprocessing	14.2	13.2	5.0
150°C	16.4	14.0	4.0
180°C	15.6	17.0	3.6
210°C	14.2	17.0	2.6
240°C	14.0	14.6	2.4
270°C	12.8	10.8	2.4

Data represents the mean value of triplicate experiments.

Samples were heated for 1 hour in GC oven.

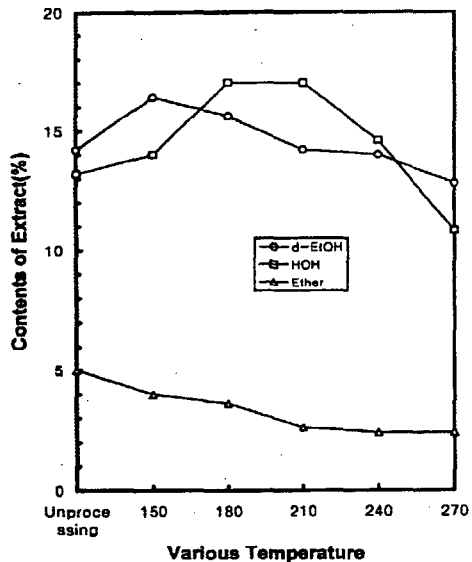


Fig. 1. Contents of Dilute Ethanol, Water and Ether Extracts of Artemisiae Herba by Processing at Various Temperature

Data represents the mean value of triplicate experiments.

Samples were heated for 1 hour in GC oven.

○ - ○ : Dilute ethanol extract,

□ - □ : Water extract,

△ - △ : Ether extract.

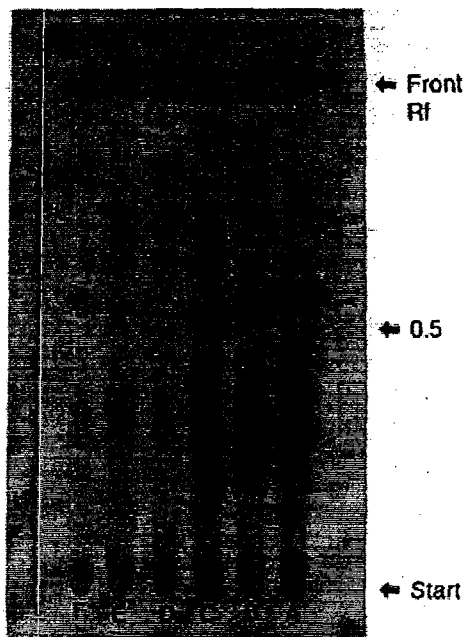


Fig. 2. TLC Pattern of Essential Oil in Artemisiae Herba by Processing at Various Temperature.

A : Unprocessed Artemisiae Herba

B : processed Artemisiae Herba at 150°C

C : processed Artemisiae Herba at 180°C

D : processed Artemisiae Herba at 210°C

E : processed Artemisiae Herba at 240°C

F : processed Artemisiae Herba at 270°C

Solvent : Benzene/EtOAc (19:1),

Detector : 10% Anisaldehyde-H₂SO₄ (105°C, 15min.)

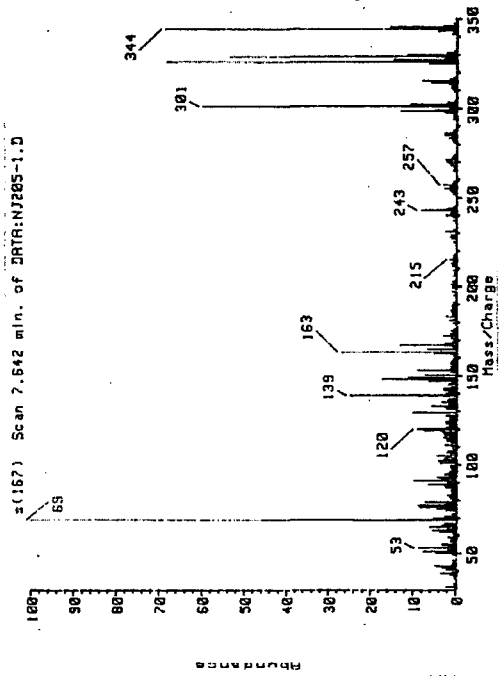


Fig. 3. Mass Spectrum of Eupatilin(5,7-dihydroxy-6,3',4'-trimethoxy flavone).

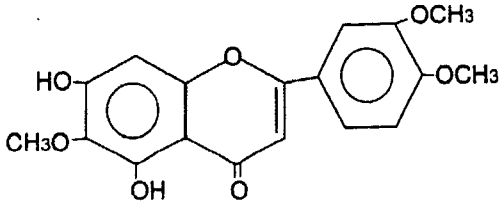


Fig. 4. Structure of Eupatilin((5,7-dihydroxy-6,3',4'-trimethoxy flavone)

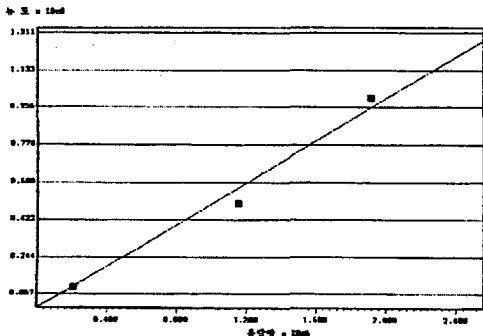


Fig. 5. Calibration Curve of Eupatilin Standard by HPLC

HPLC condition was as follows.

Column : μ -Bondapak C₁₈

Flow rate : 1.0 ml/min.

Eluent : Na₂HPO₄:CH₃CN:MeOH (15:8:2)

Detector : 230 nm, Sample size : 10 μ l

Instrument : Waters Co.(USA)

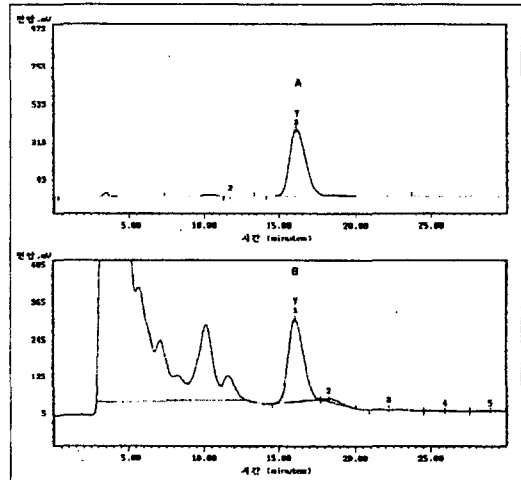


Fig. 6. HPLC Chromatogram of Eupatilin and Artemisiae Herba by

Processing at Various Temperature

HPLC condition was as follows

Column : μ -Bondapak C₁₈

Flow rate : 1.0 ml/min.

Eluent : Na₂HPO₄:CH₃CN:MeOH (15:8:2)

Detector : 230 nm

Sample size : 10 μ l

Instrument : Waters Co. (USA)

A : Eupatilin standard, B : Artemisiae Herba

Table III. Contents of Eupatilin in Artemisiae Herba by Processing at Various Temperature

Groups	Contents of eupatilin (mg/100g)	Decrease (%)
Unprocessing	151.4	-
150°C	138.8	8.3
180°C	119.3	21.2
210°C	51.4	66.1
240°C	6.1	95.9
270°C	N.D	100.0

Data represents the mean value of triplicate experiments.

Samples were heated for 1 hour in GC oven.

N.D : Not detected

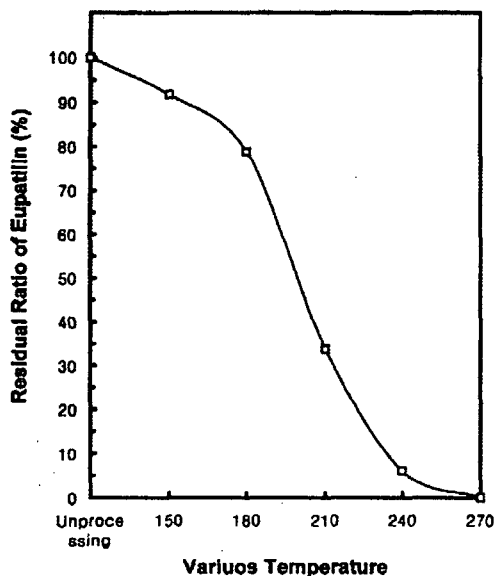


Fig. 6. Residual Ratio of Eupatilin in Artemisiae Herba by Processing at Various Temperature.

Samples were heated for 1 hour in GC oven.

Table IV. Inhibitory Effects of Artemisiae Herba by Processing at Various Temperature on β -Glucuronidase Activities of Mice Intestinal Bacteria.

Groups	Inhibition of β -Glucuronidase Activities (%)			
	0.01	0.05	0.1	0.5(mg/ml)
Sample-I	16.2	54.3	63.4	81.6
Sample-II	20.0	54.5	70.6	92.1
Sample-III	20.1	55.3	56.0	82.1

Data represents the mean value of triplicate experiments.

Samples were heated for 1 hour in GC oven.

Sample-I ; unprocessed Artemisiae Herba

Sample-II ; processed Artemisiae Herba at 180°C

Sample-III ; processed Artemisiae Herba at 240°C

Table V. Inhibitory Effects of Artemisiae Herba by Processing at Various Temperature on Trypsin Activities

Groups	Inhibition of Trypsin Activities (%)			
	1.25	2.5	5.0	10.0(mg/ml)
Sample-I	3.6	6.0	6.8	10.1
Sample-II	5.2	11.5	17.4	20.9
Sample-III	4.7	6.5	9.5	9.8

Data represents the mean value of triplicate experiments.

Samples were heated for 1 hour in GC oven.

Sample-I ; unprocessed Artemisiae Herba

Sample-II ; processed Artemisiae Herba at 180°C

Sample-III ; processed Artemisiae Herba at 240°C

Table VI. Inhibitory Effects of Artemisiae Herba by Processing at Various Temperature on Heat-induced Hemolysis

Groups	Inhibition of heat-induced hemolysis (%)			
	0.625	1.25	2.5	5.0(mg/ml)
Sample-I	45.4	64.7	72.6	78.1
Sample-II	51.3	68.0	74.6	75.2
Sample-III	62.1	70.2	79.6	85.9

Data represents the mean value of triplicate experiments.

Samples were heated for 1 hour in GC oven.

Sample-I ; unprocessed Artemisiae Herba

Sample-II ; processed Artemisiae Herba at 180°C

Sample-III ; processed Artemisiae Herba at 240°C

Table VII. Analgesic Effects of Artemisiae Herba by Processing at Various Temperature on the Writhing Syndrome induced by Acetic acid in Mice

Groups	Dose (mg/kg)	No. of Animals	Whithing syndrome (counts/10min.)	Inhibition (%)
Control	-	5	31.0±1.41a)	-
Sample-I	2000	5	28.2±2.91	9.0
Sample-II	2000	5	23.8±1.59**	23.2
Sample-III	2000	5	22.8±1.28**	26.5
Aminopyrine	100	5	10.2±0.86***	67.1

a) ; Mean±Standard error

Samples were heated for 1 hour in GC oven

Sample-I ; unprocessed Artemisiae Herba

Sample-II ; processed Artemisiae Herba at 180°C

Sample-III ; processed Artemisiae Herba at 240°C

* ; Statistically significant compared with control data(** : p<0.01 and *** : p<0.001)

Table VIII. Effects of Artemisiae Herba by Processing at Various Temperature on Increased Vascular Permeability induced by Acetic acid in Mice

Groups	Dose (mg/kg)	No. of Animals	Leakage of dye (μg/10ml)	Inhibition (%)
Normal	-	6	64.5±5.43a)	-
Control	-	6	162.0±11.4###	-
Sample-I	2000	6	139.3±11.8	14.0
Sample-II	2000	6	116.0±10.2*	28.4
Sample-III	2000	6	100.7±9.02**	37.8
Indomethacin	30	6	92.0±5.47***	43.2

a) ; Mean±Standard error

Samples were heated for 1 hour in GC oven

Sample-I ; unprocessed Artemisiae Herba

Sample-II ; processed Artemisiae Herba at 180°C

Sample-III ; processed Artemisiae Herba at 240°C

; Statistically significant compared with control data(### : p<0.001)

* ; Statistically significant compared with control data(* : p<0.05, ** : p<0.01 and *** : p<0.001)

III. 考 察

艾葉은 전통적으로 調理氣血, 逐寒濕, 溫經止血, 安胎하여 心腹冷痛, 泄瀉, 久痢, 下血, 月經不調, 帶下, 胎動不安, 癰瘍, 疥癬 등에 사용되어왔다.¹³⁴⁾ 이러한 艾葉을 분쇄하여 일정 크기와 모양으로 만들어 신체의 부위에 직접, 혹은 간접으로 올려 놓고 燃燒시킴으로써 病을 치유하는 방법을 艾灸法이라 칭한다. 艾灸療法은 營血 및 衛氣의 장애로 기인된 氣血失和의 發病疾患 및 疼痛을 生體反應으로써 榮衛를 소통시키고 經絡循環의 變을 조화하는 치료방법이다.²⁾

기존의 艾灸法은 시행함에 있어서 몇 가지 원칙이 있었다. 첫째 人體의 部位, 疾病의 淺深, 輕重에 따라 灸의 壯數를 달리했으나, 적게는 數十壯에서 많게는 數百壯이었다¹⁷⁾. 혹은 身體部位나 疾病의 輕重에 따라 艾炷의 크기를 달리하여 시술하였다. 즉, 頭部, 四肢, 胸部는 小炷로 했으며 腹部, 背部는 大炷로 시술했다²⁵⁾. 또한 환자의 年齡, 季節, 體質, 氣候에 따른 艾灸法 基準도 제시되었다.¹⁸⁾¹⁹⁾

그런데 이와같은 壯數, 大小, 기타 조건에 따른 艾灸療法의 기준이 엄밀한 것은 아니었다. 一例로 역대 醫家들이 제시한 艾灸의 壯數多少의 기준은 기본적인 원칙만이 제시되었고 임상에서 시술할 경우에 관한 자세한 구분이 없다²⁰⁾. 기존의 艾灸療法은 일정 크기의 艾炷를 일정 시간 身體部位 위에서 自然燃燒시킴을 전제로 한 것이었다. 물론 自然燃燒時 送風을 助長하여 더 신속하게 燃燒시키는 방법도 있었다²¹⁾. 이러한 自然燃燒에 있어서, 어느 정도 燃燒으로써 艾灸의 효능 및 活性을 최대화할 수 있는가 하는 문제점이 제시되었다. 治療의 客觀化란, 刺戟이나 狀態를 數量化하고 이를 再現해낼 수 있는 것이라 정의할 때, 이는 결국 艾灸法에 관한 客觀化의 필요성이 대두되었음을 의미한다.

최근 艾灸의 효능에 대한 客觀化 作業은 艾葉을 燃燒시킴으로써 얻어지는 熱刺戟의 側面과 艾葉을 加熱하여 발생되는 物質이 人體에 미치는 化學的 刺戟의 側面으로 진행되었다. 박⁴⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾ 등은 艾葉을 加熱할때 발생되는 熱刺戟을 客觀化하려고 시도했다. 즉, 艾葉을 人體에 加해지는 하나의 熱刺戟으로 규정하고 加熱되는 艾葉이 시간에

따라 일정한 형태의 熱刺戟의 特徵을 나타냄과 아울러, 艾灸의 形態, 大小에 따라서 각기 다른 特徵을 나타냄을 보고했다. 艾柱의 燃燒過程은 重量에 관계없이 豫熱期, 加熱期, 保溫期, 冷却期로 구성되며 동일한 熱量의 艾柱라 해도 燃燒溫度의 高低, 昇溫速度, 燃燒時間에 따라 刺戟의 樣相 및 刺戟의 質은 相異하게 나타난다고 했다. 또한 艾柱의 密度가 작을수록 加熱期 初期始點, 最大昇溫速度始點, 加熱期終了始點이 빨라지며 最高溫度 平均溫度는 높아진다고 했다. 아울러 艾柱의 乾燥도가 높을수록 昇溫速度 始點이 빨라지며 艾柱의 크기가 클수록 加熱期, 保溫期가 연장되고 最高溫度가 증가한다고 했다. 결국 艾柱의 燃燒特性을 파악하기 위해서는 艾柱의 燃燒時에 나타나는 共通의 特性과 더불어 艾柱의 密度, 乾燥度, 大小 등의 個別的인 特性이 複合的으로 고려되어야 한다.

艾葉의 化學的 側面에 대한 연구도 多角度로 진행되었으며 이는 艾葉自體의 化學成分의 定性, 定量과 아울러 艾葉의 成分이 生體에 미치는 영향에 대한 側面, 즉 生理活性의 變化에 대한 側面으로 진행되었다.

本 實驗은 艾灸의 加熱 및 燃燒에 따른 여러 特性을 고찰하는 작업의 일환으로 행해진 것이다. 특히 化學的 側面에 있어서 加熱溫度에 따른 艾葉의 成分 및 活性 變化를 연구하여 艾葉 및 艾灸의 最適加熱溫度를 客觀的 數值로 나타내려는 초보적 시도라 할 수 있다.

따라서, 著者는 현재 市中에 유통되고 있는 上品 艾葉을 선정하여 加熱에 의한 重量의 變動, 엑스 含量의 變動, 精油成分의 pattern 變化 및 艾葉중에 함유되어 있는 eupatilin 含量變化 등 物理化學적 變化를 檢討하였다. 또한 生理活性의 變化與否를 檢討하고자 加熱하지 않은 艾葉 (Sample-I), 180℃에서 加熱한 艾葉 (Sample-II) 및 240℃에서 加熱한 艾葉 (Sample-III)의 凍結乾燥物을 이용하여 *in vitro*에서 β -glucuronidase 酵素 阻害活性, trypsin 酵素 阻害活性 및 赤血球溶血 抑制效果를 檢討하였다. 또한 *in vivo*에서 艾葉이 抗炎症의 목적으로 널리 이용되고 있으므로 醋酸法에 의한 鎮痛效果 및 醋酸으로 유발된 血管透過性 充進에 대한 抑制效果를 檢討하였다. 以上の 實驗結果를 비교고찰하면 다음과 같다.

우선 加熱에 의한 重量變化를 관찰한 바, 加熱에 의하여 重量이 감소됨을 알 수 있었으며, 특히 240℃이상으로 加熱할 경우에는 20% 이상의 重量損失이 인정되었다. 이는 熱에 의하여 艾葉에 함유되어 있는 精油와 같은 휘발성 成分의 일부가 손실되거나 低沸點 化合物이 炭火 혹은 輝散되는 것에 기인하는 것으로 생각된다.

엑스含量을 지표로 하여 加熱溫度에 따른 含量의 變化를 살펴보면 우선 淸은 에탄올엑스 含量과 水性엑스 含量은 150~210℃에서는 증가함을 알 수 있었으며, 특히 180℃에서는 加熱하지 않은 檢體에 비하여 각각 9.8%와 28.8%의 증가를 나타내었으며, 반면에 270℃로 加熱한 檢體에서는 각각 9.9%와 18.2%의 감소를 보여 주었다. 그러나 에틸엑스 含量은 溫度가 증가함에 따라 엑스 含量이 감소됨을 알 수 있었고, 270℃에서는 52.0%의 감소가 인정되었다.

艾葉에는 多量의 cineol, α -thujone 등 精油와 휘발성 成分을 함유하고 있는 것으로 알려져 있어³⁷⁾ 加熱에 의하여 精油成分의 pattern 變化를 檢討하고자 상법에 따라 수증기 증류하여 얻은 精油分劃物을 전개용매 benzene : EtOAc (19:1)을 이용하여 TLC法을 行하여 비교한 바 각 檢體 共히 유사한 pattern을 나타냄을 알 수 있었고, Rf 0.56 부근의 핑크색으로 呈色된 化合物의 含量이 加熱溫度가 증가함에 따라 현저히 감소되고 Rf 0.86 부근의 노랑색으로 呈色된 化合物의 含量은 증가됨을 알 수 있었다. 따라서, 加熱에 의하여 艾葉 중에 함유된 成分의 일부가 transformation됨이 인정되며 이들 化合物에 대하여 量的 變動과 構造的 特性에 관하여 계속적인 연구가 요망된다.

艾葉에 多量으로 함유되어 있으며 抗潰瘍成分으로 밝혀진 eupatilin을 지표물질로 하여 加熱에 의하여 成分含量의 變化를 檢討하였다. 艾葉으로부터 eupatilin은 이 등의 방법²⁴⁾에 준하여 分離, 同定하였으며, HPLC를 이용하여 檢體 중의 eupatilin의 含量을 定量하였다. 표준품 eupatilin을 이동상 Na₂HPO₄ : CH₃CN : MeOH (15:8:2)을 사용하여 HPLC를 行한 바 retention time 16.1분에서 단일 peak를 얻을 수 있었으며 艾葉 試料에서도 동일 retention time에서 eupatilin의 peak가 인정되어 定量이 가능함을 알 수 있었다. 따라

서, 이와 같은 方法을 이용하여 표준품 eupatilin의 檢量線을 작성한 바 回歸方程式이 $y=4.994479^{-7}$ ($r=0.9817$)으로 원점을 통과하는 직선을 나타내었다.

加熱하지 않은 艾葉 中の eupatilin의 含量은 약 0.15%이었으며, 加熱溫度에 따른 각각 試料中에 함유된 eupatilin의 含量은 加熱溫度가 높아감에 따라 含量이 감소되었으며, 특히 210℃ 이상으로 加熱한 試料에서는 현저히 감소했으며 270℃로 加熱한 檢體에서는 거의 분해되어 검출되지 않았다. 따라서 艾葉을 200℃ 이상 加熱하면 艾葉의 抗潰瘍 活性物質로서 알려져 있으며,²⁴⁾¹⁵⁾ 비교적 多量으로 함유되어 있는 것으로 보고된 eupatilin을 비롯한 많은 有效成分 혹은 生理活性物質이 파괴 또는 輝散될 가능성이 매우 높은 것으로 사료되며 앞으로 加熱, 燃燒時 適定溫度設定 등에 관한 지속적인 연구가 요망된다.

加熱에 의한 艾葉의 生理活性變化를 檢討하고자 *in vitro*와 *in vivo*에서 檢討하였다. 우선 *in vitro*에서 β -glucuronidase 酵素 阻害活性, trypsin 酵素 阻害活性 및 赤血球溶血 抑制效果를 관찰하였다. 生體內에 있어서 β -Glucuronidase는 detoxification에 關與하는 UDP-glucuronyl transferase에 의하여 생성된 X- β -D-glucuronide를 加水分解하는 酵素이며 일종의 detoxification에 關여하는 것으로 알려져 있어 大腸癌 등에 關여하고 肝機能에도 밀접히 關聯된 酵素로 알려져 있다.¹⁴⁾¹⁶⁾³¹⁾ 따라서, 艾葉의 加熱에 따른 生理活性의 變化를 檢討하고자 β -glucuronidase 酵素 阻害活性를 測定한 바, 檢液 Sample-I, Sample-II 및 Sample-III 共히 濃度 의존적인 阻害活性를 나타남이 인정되었고, 세 檢體 中에서 비교적 180℃에서 加熱處理한 Sample-II가 다른 檢體에 비하여 活性이 높음을 알 수 있었다.

艾葉의 加熱에 따른 抗炎症 活性를 檢討하기 위하여 trypsin 酵素 阻害活性와 赤血球溶血 抑制效果를 檢討하였다. Serine protease는 血管擴張이나 毛細血管의 透過性 亢進 등을 촉진하며 백혈구의 流走를 간접적으로 촉진하여 炎症에 關여하는 chemical mediator인 kinin의 遊離에 關여하는 酵素로 알려져 있다.³³⁾³⁴⁾ 艾葉의 加熱에 따른 抗炎症 活性를 檢査하고자 serine protease의 하나인 trypsin을 이용하여 trypsin 酵素 阻害活性를

測定하였다. 각 檢液 共히 낮은 trypsin 酵素 阻害活性를 보였으며 세 檢體 中에서 Sample-II 10.0 mg/ml의 濃度에서 다른 檢體에 비하여 약 2배의 높은 阻害活性를 보여 주었다. 또한 抗炎症作用 機轉의 하나로서 細胞膜 安定化作用이 제창되고 있으며,³⁸⁾³⁹⁾ 각 檢液 共히 강한 赤血球溶血 抑制效果를 나타내었으며 세 檢體 사이의 效果는 유사한 것으로 생각된다.

*In vivo*에서 醋酸法에 의한 鎮痛效果와 醋酸으로 유발된 毛細血管 透過性 亢進에 대한 艾葉의 抑制效果를 檢討하였다. 醋酸法에 의한 鎮痛效果에서는 檢液 Sample-II 및 Sample-III 2000 mg/kg 投與群에서는 對照群에 비하여 有意한 writhing syndrome 抑制效果가 인정되었으나 檢液 Sample-I 投與群에서는 抑制하는 경향을 보여 주었다.

또한 抗炎症 效果를 檢討하고자 毛細血管 透過性 亢進 抑制效果를 檢討하였다. 抗炎症作用을 매개하는 生體物質을 chemical mediator라 부르고 그 종류는 많이 발견되고 있으며,²⁸⁾ 急性炎症에 대한 效果를 檢討하기 위하여 急性炎症 경과인 한 단계인 血管透過性 亢進에 대한 작용을 檢討하였다. 즉, 생쥐의 腹腔內로 기염제로 醋酸을 투여하여 유발된 血管透過性 亢進에 대하여 艾葉 檢液 Sample-II 및 Sample-III 2000 mg/kg 투여군에서는 대조군에 비하여 각각 28.4%와 37.8%의 有意한 色素漏出 抑制效果가 인정되었고 檢液 Sample-I 투여군에서는 抑制하는 경향만을 나타내었다.

이상의 結果로 보아 艾葉 및 艾灸를 加熱時 180℃에서 240℃사이를 유지해야 重量 및 精油成分의 遺失을 막을 수 있으며, TLC法에 의해 핑크색과 노랑색으로 呈色된 化合物의 反비례적인 重量變化는 加熱이 진행됨에 따라 transformation되는 成分이 있음을 示唆하는 것이다. 抗潰瘍成分의 일종인 eupatilin은 加熱에 따라 含量이 감소했다. 이러한 結果는 eupatilin의 보존을 위해서는 최소한의 熱을 加해야 하며, 특히 210℃ 이상으로 加熱해선 안됨을 나타내고 있다. *In vitro*에서 행해진 세 종류의 실험에서 β -glucuronidase 酵素 阻害活性, trypsin 酵素 阻害活性는 180℃에서, 赤血球溶血 抑制效果는 240℃에서 상대적으로 높은 活性를 보였다. *In vivo*에서 행해진 鎮痛效果와

毛細血管 透過性亢進 抑制效果는 240℃에서 상대적으로 높은 活性을 보였다. 그 밖의 作用物質, 作用機轉 및 有效成分의 transformation 등에 관해서는 앞으로 지속적인 연구가 요망된다.

IV. 結論

加熱에 따른 艾葉의 成分 및 活性變化는 艾葉의 最適加熱溫度 및 活性度에 客觀的 指標가 되므로, 加熱過程을 거친 艾葉의 重量變動, 엑스含量的 變動, 精油成分 pattern 變化 및 eupatilin 含量變化를 檢討하였다. 生理活性의 變化를 관찰하고자 加熱하지 않은 艾葉과 特定 溫度에서 加熱한 艾葉의 凍結乾燥物을 이용하여, in vitro에서 β -glucuronidase 酵素 阻害活性, trypsin 酵素 阻害活性 및 赤血球溶血 抑制效果를 檢討하였으며, in vivo에서는 醋酸法에 의한 鎮痛效果와 醋酸으로 유발된 毛細血管 透過性亢進 抑制 效果를 檢討하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 艾葉은 240℃ 이상으로 加熱할 경우 현저한 重量減少를 나타냈다.

2. 艾葉의 물은 에탄올엑스 含量은 150℃에서 가장 많았고, 水性엑스 含量은 180 - 210℃에서 가장 많았으며, 에테르엑스 含量은 150℃에서 가장 많았다.

3. TLC에 의한 艾葉의 加熱에 따른 精油成分의 pattern變化는 Rf 0.56부근의 呈色된 化合物이 溫度가 증가함에 따라 含量이 감소했으며 Rf 0.86부근의 呈色된 化合物이 溫度의 증가에 따라 含量이 증가했다.

4. eupatilin은 加熱에 따라 含量이 감소했는데, 특히 210℃ 이상에서 현저히 감소했다. 또한 270℃ 이상에서는 검출되지 않았다.

5. β -glucuronidase 酵素 阻害活性, trypsin 酵素 阻害活性, 赤血球溶血 抑制效果는 共히 농도에 비례하여 증가했는데, β -glucuronidase 酵素 阻害活性 및 trypsin 酵素 阻害活性은 180℃에서 상대적으로 높았으며, 赤血球溶血 抑制效果는 240℃에서 상대적으로 높은 活性을 보였다.

6. In vivo에서 鎮痛效果 및 毛細血管 透過性亢進 抑制效果는 共히 240℃에서 가장 높은 抑制率을 보였다.

參考文獻

- 1) 全國韓醫科大學本草學教授共編著 ; 本草學, 서울, 永林社 : 405-406, 1995.
- 2) 林種國 ; 鍼灸治療誌, 서울, 集文堂 : 232-236, 1983.
- 3) 성낙기 ; 현대침구학, (서울, 행림출판 : 56-58, 1987.
- 4) 朴英培, 姜成吉, 金甲成, 安昌範, 吳煥燮, 許雄 ; 艾灸의 燃燒特性에 관한 실험적 연구(I), 서울, 대한한의학회지 14(1) : 169-177, 1993.
- 5) 朴英培, 姜成吉, 許雄, 艾灸의 燃燒特性에 관한 실험적 연구(II) - 艾柱의 密度를 중심으로 -, 서울, 경희한의대논문집 17(1) : 191-199, 1994.
- 6) 朴英培, 姜成吉, 金昌煥, 高炯均, 吳煥燮, 許雄 ; 艾柱의 形態別 燃燒特性에 대한 연구, 서울, 대한한의학회지 16(1) : 370-378, 1995.
- 7) 方桃香, 朴英培, 姜成吉 ; 艾柱의 區間別 燃燒時間에 관한 실험적 연구, 서울, 대한침구학회지 12(1) : 243-251, 1995.
- 8) 육창수, 김성만, 정진모, 정명숙, 김정화, 김승배 ; 韓藥의 藥理成分 임상응용, 서울, 계축출판사 : 601-602, 1982.
- 9) 김인혜 ; A.sp.精油成分에 관한 연구, 서울, 중앙대석사논문, 1972.
- 10) 김아원, 이명환, 강삼식 ; 약쑥의 成分분석, 서울, kor.j.pharmacogn. 26(1) : 90-91, 1995.
- 11) 지형준, 이상인 ; 한약규격집주해서, 서울, 한국메디칼인덱스사 : 242-243, 1989
- 12) 박건영, 하정옥, 유영범, 이종호, 박종철 ; artemisia속 식물들의 향독연변이효과, 서울, 생약학회지 27(2) : 96-100, 1996.
- 13) 대한공정서협회 편 ; 대한약전 제6개정, 서울, 한국메디칼인덱스사 : 1321-1323, 1992.
- 14) 김동현, 한명주 ; 베타 글루쿠로니다제나 베타 글루쿠코시다제를 생산하는 호알칼리성 장내미생물의 검색, 서울, 약학회지 37 : 187-192, 1993.

- 15) 오태영, 류병권, 박정배, 이상득, 김원배, 양중익, 이은방 : 애엽추출물 DA-9601의 실험적 위궤양 모델에 대한 항궤양 효과 및 기전 연구. 서울, 응용약물학회지 4 : 111-121, 1996.
- 16) 김남재, 김동현, 박종백, 홍남두 ; 생약복합제 제증 보기제의 혈청성분 및 장내미생물에 대한 작용, 서울, 생약학회지 24 : 235-243, 1993.
- 17) 王執中; 鍼灸資生經, 서울, 一中社 : 6, 1991.
- 18) 洪元植 ; 精校黃帝內經素問, 서울, 東洋醫學研究院出版社 : 44, 1983.
- 19) 洪元植 ; 黃帝內經靈樞經釋, 서울, 高文社 : 79, 1989.
- 20) 趙命來 ; 艾炷의 刺戟量에 關한 文獻의 考察, 서울, 대전대학교 한의학연구소 논문집, 5(2) : 333-342, 1997.
- 21) 金惠敬 ; 灸法의 特性에 關한 文獻의 考察, 서울, 大韓韓醫學會誌, 14(1) : 129-141, 1993.
- 22) 千永實, 金昌煥, 姜成吉, 高炯均, 朴英培, 金容奭 ; 艾絨의 品質評價를 위한 基礎研究, 서울, 大韓鍼灸學會誌 : 61-66, 1997.
- 23) Marrif HI 외, Some pharmacological studies on Artemisia herba-alba in rabbits and mice J. Ethnopharmacol. 49(1) : 51-55, 1995.
- 24) Eun Bang Lee ; The effect of Artemisia Herba on Gastric Lesion and Ulser in Rats with Isolation of Eupatilin, Taejon, Korea, In Unesco Regional Seminar on the Chemistry, Pharmacology and Clinical Use of Flavonoid Compound. Oct. : 11-15 1995.
- 25) Zhong Y ; Effective chemical constituents of A. argyi Lev. for inhibition of platelet aggregation, Chung kuo Chung Yao Tsa Chib. 17(6) : 353-354, 1992.
- 26) Janbaz KH ; Evaluation of the protective potential of A. martina extract on acetaminophen and CCL4-induced liver damage, J. Ethnopharmacol. 47(1) : 43-47, 1995.
- 27) Anson, M. L. ; The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. J. Gen. Physiol. 22 : 79-89, 1938.
- 28) Tsutomu, U., Hiroshi, K. and Zen-ichi, O. ; Antiinflammatory effect of extract from Phellodendri cortex. J. Med. Pharma. Society for WAKAN-YAKU. 6 : 158-164 , 1989.
- 29) Fujiyoshi T., Ikeda, K., Saito, T., Yamamura, T., Iida, H., Maeda, E., Kase, K. and Uematsu, T. ; The antiinflammatory effect of EB-382. Folia pharmacol. japon. 87 : 379-395 , 1986.
- 30) Whittle B. A. ; The use of changes in capillary permeability to distinguish between narcotic and analgesic. Brith J. Paharmacol. 22 : 246-253, 1964.
- 31) Kinoshita, N. and Gelboin, H. V. , β -Glucuronidase catalyzed hydrolysis of benzo(a)pyrene-3-glucuronide and binding to DNA. Science. 199 : 307-309, 1978.
- 32) Nakagawa, H., Watanabe, K. and Shuto, K. , Antiinflammatory effect of protein -ase inhibitors suppress on carrageenin-induced inflammation in rats, Biochem. Pharmacol. 32 : 1191-1195, 1983.
- 33) Nakagawa, H., Shuto, K., Isaji, M. and Watanabe, K. ; Proteinase inhibitors suppress the formation of granulation tissue in the carrageenin-induced inflammation. J. Pharmacocobio. Dyn. 4 : 429-435, 1981.
- 34) 新編中藥大辭典 新文豐出版公司印行 : 843-847, 1970.
- 35) 吳亦鼎 ; 神灸經緯, 中國合肥, 安徽字學技術出版社 : 61, 1992.
- 36) 大西基代, 戶田靜男, 菅田良仁, 東家一雄, 黒巖共一, 木村通郎 ; 艾葉의 燃燒生成物이 과산화지질에 미치는 작용; 전일본침구학회지 40(2) : 228-231, 1990.
- 37) 高木敬次郎, 木村正康, 原田正敏, 大塚恭男 ; 和漢藥物學, 東京, 南山堂 : 165-166, 1982.
- 38) 津田恭介, 野上壽編 ; 藥效의 評價(1), 藥理試驗法(上). 東京, (株) 地人書館 : 239, 1972.
- 39) 加藤正秀, 林眞人, 林眞知子, 前田利男 ; 柴胡劑의 藥理學的研究(第3報)-柴胡劑(柴胡)에 對ける 實驗的炎症에 對する作用, 日藥學雜誌. 103 : 466-472, 1983.