

인진추출물이 lipopolysaccharide 주입에 의한 흰쥐 간의 염증반응에 미치는 혈청학적 및 면역조직화학적 영향

길영기¹ · 이준혁 · 최병태*

동의대학교 한의과대학 해부학교실 및 한의학연구소, ¹고신대학교 의과대학 해부학교실

Received August 26, 2003 / Accepted January 18, 2004

The Serum and Immunohistochemical Analysis on the Anti-inflammatory Effect of Aqueous Extract from *Artemisia capillaris* in the Liver of Lipopolysaccharide-injected Rat. Young Gi Gil, Jun Hyuk Lee¹ and Byung Tae Choi^{1*}. Department of Anatomy, Medical School, Kosin University, Busan 602-703, Korea, ¹Department of Anatomy, College of Oriental Medicine, Research Institute of Oriental Medicine, Dong-Eui University, Busan 614-052, Korea – We investigated the anti-inflammatory effects of aqueous extract of *Artemisia capillaris* Thunb. (AEAC), a traditional Korean herb for remedying liver disease, for suppression in the process of lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation in the liver of rat. Level of glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), glutamate pyruvate transaminase (GPT) and lactate dehydrogenase (LDH) was increased in the serum of LPS-treated rats compared to normal, however, in the rats pretreated with AEAC, the increase of GOT, GPT and LDH value was arrested. More severe histological changes of liver such as cloudy swelling, hydropic degeneration, Kupffer cell reaction and inflammatory cells infiltration were demonstrated in the rats challenged with LPS compared with normal. Fewer scores of these changes were observed in rats pretreated with AEAC. Immunohistochemical analysis showed that while the expression of the nuclear factor (NF)- κ Bp65, inducible nitric oxide synthase (iNOS), tumor necrosis factor (TNF)- α and COX (cyclooxygenase)-2 tended to increase, that of inhibitory I- κ B α was decreased in the hepatocytes of rats challenged with LPS. A slight decline of NF- κ Bp65, TNF- α and COX-2, but increase of I- κ B α were observed in the hepatocytes of the rats pretreated with AEAC. These results suggest that AEAC may act as a therapeutic agent for liver disease through a regulation of inflammation-related proteins.

Key words – *Artemisia capillaris*, lipopolysaccharide, GOT, GPT, LDH, NF- κ B, I- κ B, iNOS, TNF- α , COX-2

인진은 국화과의 여러해살이 풀인 사철속의 어린싹을 말하며 한의학적으로 급성간염, 만성간염, 간경변증, 간암, 담낭염, 담낭결석 등 간질환의 치료에 널리 사용되고 있다. 인진으로부터 flavonoids, cromones, phenylalkynes 및 coumarins 등 다양한 복합물이 추출되었으며, 이들은 간호보 작용, 이담작용 및 지질강화작용 등에 초점을 맞추어 연구되고 있고, 또한 그들의 약효능은 여러 분획의 개별적 또는 복합적 작용에 의해 여러 단계에 걸쳐 이루어지는 것으로 알려져 있다[7,18].

염증반응은 생체의 필수적인 숙주방어체계로 lipopolysaccharide (LPS), tumor necrosis factor (TNF)- α , interleukin (IL)-1을 비롯한 광범위한 외부 및 내부 자극에 의해 유도된다[3]. 염증유발물질에 의해 세포막연접에 관여하는 단백질, cyclooxygenases (COX), lipoxygenases 등과 같은 arachidonic acid 대사관련 효소, 염증성 사이토카인과 그 수용체 등의 유전자들의 발현이 활성화된다[10,16]. 이들 유전자의 대부분은 프로모터 영역에 nuclear factor (NF)- κ B가 결합할 수 있는

부위가 존재하므로 NF- κ B활성의 저해는 항염증제 개발에 주요한 표지인자로 여겨지고 있다[4,11].

LPS는 그람음성균의 외막을 구성하는 리포다당질로 다양한 pro-inflammatory cytokines을 유도하고 전신적인 열과 septic shock에서 주된 역할을 하는 것으로 알려져 있다[1, 13]. LPS 자극하에서 염증성 cytokines은 주로 대식세포에서 분비되며, NF- κ B는 이들의 유전자 발현에 필요한 primary transcription factor로 알려져 있다[6]. 본 실험에서는 인진추출물이 LPS에 의해 유도된 흰쥐 간의 염증반응에 미치는 영향을 알아보기 위해 혈청분석과 더불어 조직병리학적 관찰을 하였으며 NF- κ B를 비롯한 염증관련인자의 면역조직화학적 검사를 실시하였다.

재료 및 방법

실험 동물 및 LPS 주입

8주된 건강한 수컷 Sprague-Dawley계 흰쥐를 Taconic & SamYuk 사로부터 구입하여 2주간 자유식이법으로 실험실 환경에 순화시킨 후 실험에 사용하였다. 인진처리군과 LPS 처리군은 LPS 주사 24시간, 8시간, 3시간전에 경구로 인진추

*Corresponding author

Tel : +82-51-850-8653, Fax : +82-51-853-4036

E-mail : choibt@dongeui.ac.kr

출물 (50, 150, 300 mg/kg) 또는 phosphate buffered saline (PBS)를 각각 3회 투여하였다. LPS (8 mg/kg)를 정맥내 주사하였으며 주사 8시간 후에 실험에 사용하였다.

인진의 추출물

인진(*Artemisia capillaris* Thunb.)은 동의대학교 한의과대학 부속한방병원에서 공급받았으며 100 g의 약재를 증류수 1000 ml에 넣어 90°C에서 5시간 동안 추출하였다. 추출액을 식힌 후 3000 rpm에서 20분간 원심분리하여 침전물을 제거한 다음, 0.45 µm 여과지로 부유성분을 걸러낸 후 수용성분을 동결 건조하였다.

혈청 분리 및 분석

흰쥐를 10% chloral hydrate (350 mg/kg i.p.)로 마취한 후 심장천자를 통해 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액을 실온에 30분 이상 방치한 후 3000 rpm에서 25분간 원심분리하여 혈청을 얻은 후 분석에 사용하였다. Glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), glutamate pyruvate transaminase (GPT), lactate dehydrogenase (LDH)활성은 자동생화학분석기(Cobas Mira Plus, Roche, Swiss)를 이용하여 측정하였다. 통계처리는 평균과 표준편차로 표시하였으며 SigmaPlot version 6.0 (SPSS, Chicago, IL)로 Student's t-test로 유의차를 검사하였다.

조직병리학적 및 면역조직화학적 검색

간을 절취하여 4% paraformaldehyde에 4°C 12시간 고정하여 순차적인 탈수와 투명화를 거쳐 paraffin에 포매한 후 6 µm 연속절편을 얻었다. 간의 조직병리학적 관찰을 위하여 연속절편을 탈 파라핀한 후 hematoxylin-eosin 및 periodic acid Schiff염색을 실시하였다. 면역조직화학적 관찰을 위해 탈파라핀한 후 10 mM sodium citrate buffer (pH 6.0)에서 95°C 5분간 처리하였고, 이를 3% methanolic hydrogen peroxide에 30분간 실온에서 처리하였다.

PBS로 세척한 후 goat normal serum (Vector Lab.)으로 실온에서 30분간 처리하였으며 NF-κBp65, inhibitory (I)-κB α, iNOS, TNF-α, COX-2 항체(Santa Cruz Biotechnology Inc.)를 200:1로 희석하여 4°C 습실에 16시간 동안 반응시켰다. PBS로 세척하고 biotinylated anti-rabbit IgG (Vector Lab.)를 실온에서 30분 동안 반응 시켰으며 PBS로 세척 후 ABC kit (Vector Lab.)에 실온에서 60분간 반응시켰다. DAB substrate kit (Vector Lab.)로 실온에서 5분간 발색시켰으며 상기 실험 방법 중 일차항체대신 10% BSA/PBS를 처리하고 동일한 과정으로 염색한 것을 대조군으로 삼았다.

결 과

혈청학적 분석

혈청 중 GOT, GPT 및 LDH 활성에 대한 분석을 보면 정

상군에 비해 LPS를 주사한 대조군에서 모두 증가하였다. 이에 비해 50, 150, 300 mg/kg 인진추출물을 전처리한 후 LPS를 주사한 실험군의 GOT, GPT, LDH활성 모두 대조군에 비해 낮은 값을 나타내었다. 특히 인진추출물 150 mg/kg 투여군의 GOT, 50 mg/kg 투여군의 LDH는 대조군에 대해 각각 P<0.05와 P<0.01의 유의성을 보였다(Fig. 1-3).

병리조직학적 분석

정상군의 간은 정연한 간소엽 형태를 갖추고 있으며 약한 혼탁증상과 함께 소수 Kupffer세포 분포를 가짐에 비해 LPS를 주사한 대조군은 약한 국소적 괴사와 더불어 현저한 혼탁증상, 수포성변성, Kupper세포반응, 염증세포침윤을 보였는

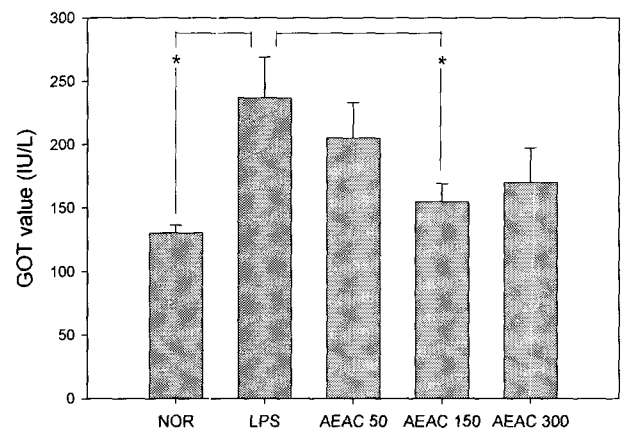


Fig. 1. Hepatoprotective effect of AEAC on LPS-induced GOT change in serum. Each value represents mean ± SEM (n=6). NOR, normal group; LPS, LPS-injected group; AEAC 50, 150, 300, pretreated with aqueous extract from *Artemisia capillaris* of 50, 150 and 300 mg/kg; *, P<0.05 significantly different from LPS-injected group.

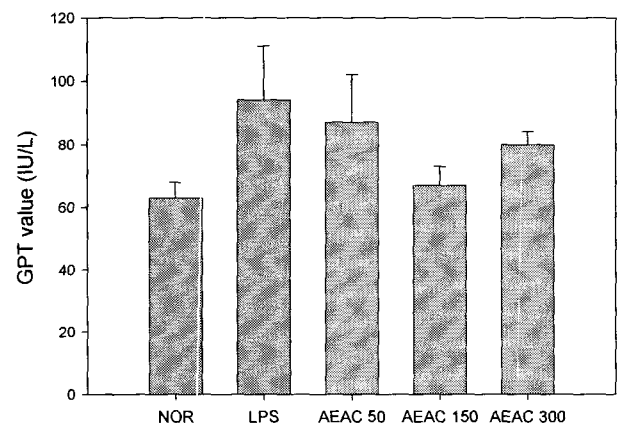


Fig. 2. Hepatoprotective effect of AEAC on LPS-induced GPT change in serum. Each value represents mean ± SEM (n=6). NOR, normal group; LPS, LPS-injected group; AEAC 50, 150, 300, pretreated with aqueous extract from *Artemisia capillaris* of 50, 150 and 300 mg/kg.

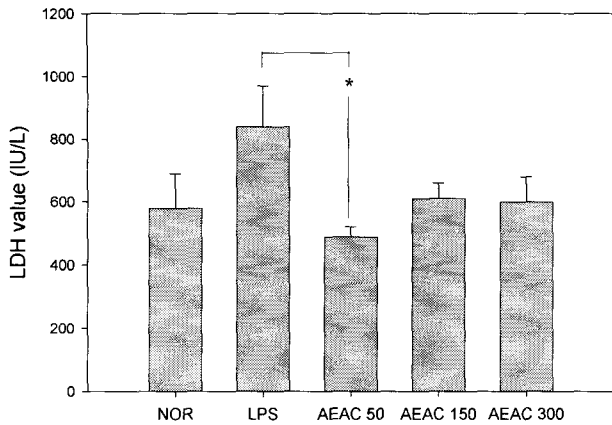


Fig. 3. Hepatoprotective effect of AEAC on LPS-induced LDH change in serum. Each value represents mean \pm SEM (n=8). NOR, normal group; LPS, LPS-injected group; AEAC 50, 150, 300, pretreated with aqueous extract from *Artemisia capillaries* of 50, 150 and 300 mg/kg; *, P<0.01 significantly different from LPS-injected group.

Table 1. Histological findings for the anti-inflammatory effect of AEAC in the liver of LPS-injected rat

Group \ HC	CS	HD	ICI	KC	FN
Normal	+	0+	0	+	0
LPS	+++	++	++	+++	+
AEAC 50 mg/kg	++	+	+	++	+
AEAC 150 mg/kg	++	+	+	++	+
AEAC 300 mg/kg	++	+	+	++	+

HC, histological changes; CS, cloudy swelling; HD, hydropic degeneration; ICI, inflammatory cells infiltration; KC, Kupffer cell reaction; FN, focal necrosis; AEAC, aqueous extract from *Artemisia capillaries* Thunb.

0-+++ indicate the relative changes of the histological finding; 0, faint and negligible; +, weak; ++, moderate; +++, severe.

Table 2. Immunoreactive reaction of inflammation-related proteins for the anti-inflammatory effect of AEAC in the liver of LPS-injected rat

Group	Region	NF- κ Bp65	I- κ B α	iNOS	TNF- α	COX-2
Normal	Zone 1	0	++/+	0	0	0
	Zone 2, 3	0+	+++/>++	0+	0+	0+
LPS	Zone 1	0	++/0	0	0	0
	Zone 2, 3	+--+	+++/>0+	+	++	++
AEAC 50 mg/kg	Zone 1	0	++/>0+	0	0	0
	Zone 2, 3	0+	+++/>+	+	+--+	+--+
AEAC 150 mg/kg	Zone 1	0	++/>0+	0	0	0
	Zone 2, 3	0+	+++/>+	+	+--+	+--+
AEAC 300 mg/kg	Zone 1	0	++/>0+	0	0	0
	Zone 2, 3	0+	+++/>+	+	+--+	+--+

Zone 1, peripheral region; Zone 2, midlobular region; Zone 3, centrolobular region. /, nucleus/cytoplasm immunoreaction. Other abbreviation listed in Table 1.

0-+++ indicate the relative intensity of immunoreaction: 0, faint and negligible; +, weak; ++, moderate; +++, intense.

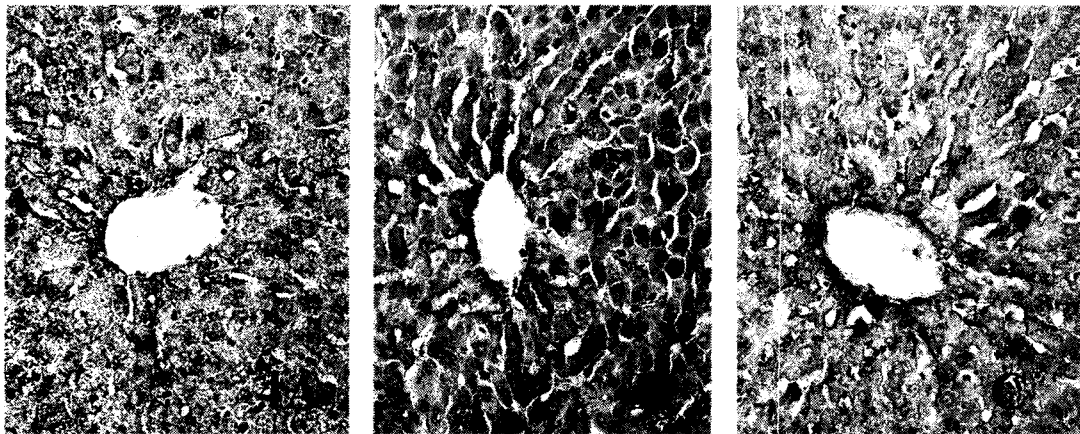
데 이중 혼탁종창과 Kupper세포반응이 가장 현저하며 간소염중심구역이 가장 심하였다. 인진추출물을 전처리하였을 때 농도에 관계없이 대조군에 비해 완화된 변화를 보였다 (Table 1).

면역조직화학적 분석

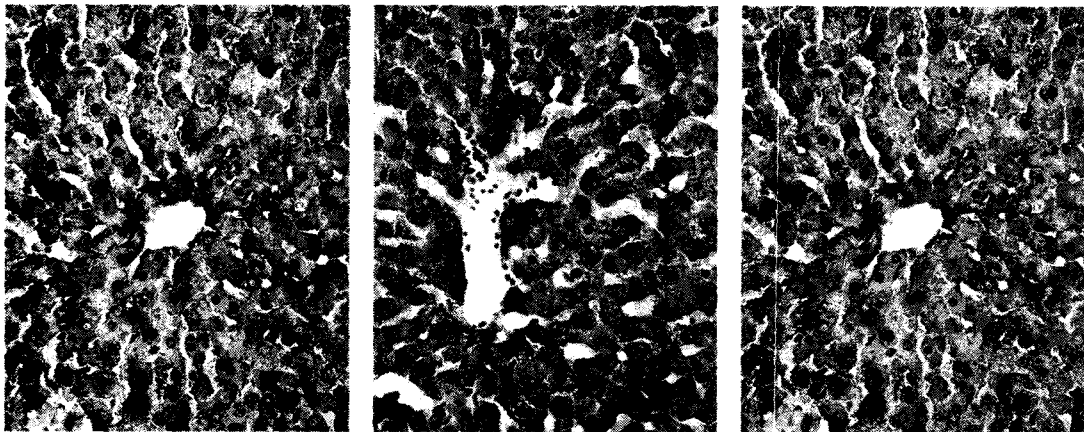
염증관련 단백질에 대한 면역조직화학적 결과를 살펴보면 NF- κ Bp65, iNOS, TNF- α 및 COX-2 모두 간소염중심구역과 중간구역에서 주된 면역반응을 보이며 문맥주변구역에서 흔적이거나 반응을 보이지 않았다. I- κ B α 는 핵내에서 강한 면역반응을 보였으며 세포질은 약한 내지 중등도 반응을 보였으며 간소염중심구역과 중간구역 반응이 더 강하였다. LPS를 처리한 대조군에서 I- κ B α 를 제외한 모든 면역반응이 증가하며 특히 TNF- α 와 COX-2 반응이 현저히 증가하였으며 I- κ B α 는 세포질에서 면역반응이 감소하였다. 인진추출물을 전처리한 군은 모든 농도군에서 대조군에 비해 감소한 NF- κ Bp65, TNF- α , COX-2 반응을 보였는데 특히 NF- κ Bp65 반응이 현저하였으며 I- κ B α 반응은 세포질에서 대조군에 비해 강한 반응을 보였다 (Table 2 및 Fig. 4, 5).

고찰

인진은 사철쑥의 어린싹을 건조한 약재로서 전통적으로 간호보작용, 이담작용 및 지질강화작용 등에 대한 효능이 널리 알려져 있다. 인진으로 알려진 *Artemisia capillaris*에서 flavonoids, cromones, phenylalkynes, coumarins 등 다양한 복합물이 추출되어 이에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다 [18]. 주된 성분인 capillarisin은 항산화작용을 가진 것으로 알려져 있으며 배양간세포에서 tert-butylhydroperoxide (t-BHP)에 의한 세포독성과 유전독성에 저해효과를 나타낼 뿐 아니라 항산화작용과 간독성에 대한 주 표지로 쓰이는 LDH



Figs. 4. Immunohistochemical localization of NF-κBp65 in the liver of normal (A), LPS (8 mg/kg) alone treated (B) and AEAC (150 mg/kg) pretreated rats (C) at 8 hours after LPS challenge. Normal liver showed weak or faint immunoreaction of NF-κBp65 in the hepatocytes of centrilobular region, but these increased in the cytoplasm of LPS treated rats. Note a slight decrease of immunoreaction for NF-κBp65 in the hepatocytes of AEAC pretreated rats compared with LPS-injected rats. X 400.



Figs. 5. Immunohistochemical localization of I-κBα in the liver of normal (A), LPS (8 mg/kg) alone treated (B) and AEAC (150 mg/kg) pretreated rats (C) at 8 hours after LPS challenge. The immunoreaction of I-κBα was shown in both cytoplasm and nucleus of hepatocytes, but intensive reactions were detected in the nucleus of hepatocytes. Note a increase for I-κBα in cytoplasm of the AEAC pretreated rats compared with LPS-injected rats. X 400.

의 level을 감소시킨다[2].

*Artemisia capillaris*에 artemisinin이라는 flavonoid와 artemisinin A, B, C, D 같은 coumarins를 비롯한 알려지지 않은 70여가지 복합물이 분리되었고, 이들 추출물은 바이러스 유발 감염, 황달 등을 완화시키며, HIV의 증식억제 기능 등 다양한 효능을 가진 것으로 알려져 있으며, 수용추출물을 이용한 실험에서 세포주기 중 G₀/G₁기를 억제하는 효과가 있는 것으로 밝혀져 있다[7,18]. 이상과 같은 기능과 더불어 *Artemisia capillaris*추출물은 항 종양작용과 항혈전작용에도 효과가 있으며 *Artemisia asiatica*을 비롯한 유사 종의 추출물 또한 간 손상에 대한 보호효과를 가지며 강한 항염증 및 항산화기능을 가진 것으로 알려져 있다[8,14,17].

본 실험은 *Artemisia capillaris*추출물이 LPS에 의한 간손상 모델의 염증반응에 완화효과가 있는지를 혈청학적분석을 통

해 조사하고 조직병리학적으로 관찰과 더불어 염증관련 단백질 발현을 면역조직화학적 살펴보았다. 혈청에서 GOT, GPT, LDH활성은 이들의 세포내 위치로 말미암아 세포손상과 죽음 후 순환계로 분비됨으로 간손상과 밀접한 연관성을 가지고 있다[15]. LPS에 의해 GOT, GPT, LDH활성은 선행 연구[2]와 유사하게 정상군에 비해 현저히 증가하였다. 그러나 인진추출물의 전처리에 의해 이들 수치가 감소하는 것으로 보아 인진추출물이 LPS에 의한 간손상에 대한 보호 작용을 함을 알 수 있다.

혈청의 생화학적 분석에 의한 간보호작용은 조직병리학적인 관찰을 통해 확증할 수 있다. LPS를 주사한 흰쥐의 간에 대한 조직병리학적인 관찰에서 혼탁증상, 수포성변성, 염증세포 침윤, 국소적 괴사 등은 혈청의 GOT, GPT, LDH에 대한 생화학적 분석과 연관이 있어 인진추출물의 전처리가 조직병

리직 병변의 완화를 나타내는 것은 혈청내 이들 효소활성 저하에 영향을 줄 수 있다. 모든 유핵세포의 세포질에서 NF- κ B는 p50/p65의 heterodimer로 존재하며 inhibitory subunit인 I- κ B와 결합하고 있다. 염증성 자극시 I- κ B는 인산화를 일으켜 ubiquitin-mediated protein degradation을 유발하고 I- κ B로부터 자유로워진 NF- κ B는 세포핵 속으로 이동하여 여러 염증관련 인자로 알려진 iNOS, COX-2, TNF- α 등 유전자를 활성화 시킨다[13]. iNOS는 염증성 자극이 주어질 때 발현이 유도되며 L-arginine, O₂, NADPH-derived electron으로부터 L-citrulline, NADP, 그리고 nitric oxide (NO)를 생성시키며 NO는 생체내 면역체계에서 활성산소종 또는 활성산소중간대개물로 작용하여 박테리아 등에 감염된 세포가 자체 방어기전을 나타낼 때 생성된다[13].

TNF- α 는 암세포를 사멸시키는 프로그램인 apoptosis를 유도하는 것으로 알려져 있으며 최근 세포 증식 및 생존에 관여하는 신호전달경로의 활성화에도 관여하는 것으로 알려져 있는데 염증성 자극에 의해 생성되는 TNF- α 가 이에 관여하는 것으로 추측된다[5,12]. COX-2는 아라키돈산대사 작용에서 중요한 역할을 수행하는 효소로서 역시 염증성 자극 등에 의해 유도된다. COX-2에 의해 생성되는 prostaglandin E₂는 염증반응에 다양한 영향을 미친다[9].

본 실험에서 LPS를 주사한 흰쥐의 간조직에서 염증반응에 있어 주요한 표지인 NF- κ B를 비롯하여 이에 의해 발현되는 관련 단백질 발현을 면역조직화학적으로 살펴보았다. NF- κ Bp65를 비롯한 iNOS, TNF- α , COX-2 면역반응은 LPS에 의해 다소 증가하였으나 이들은 인진추출물의 전처리에 의해 저해되었다. I- κ B α 의 면역반응은 핵과 세포질 모두에서 반응이 나타나나 LPS에 의해 세포질에서의 반응이 감소하며 이는 인진추출물의 전처리에 의해 저해되었다. 실험에서 NF- κ Bp65가 핵내로 이동하여 면역반응을 주도하는 것은 면역조직화학적으로 관찰할 수 없었으나 LPS에 의한 간세포 세포질내 I- κ B α 면역반응 감소가 인진추출물 전처리에 의해 저해되는 것으로 보아 NF- κ B가 염증반응에 관여함을 유추할 수 있다. 이상의 결과로 보아 인진추출물은 LPS에 의해 유도된 간의 염증 반응을 저해하여 간질환에 유효함을 알 수 있으며 이에 NF- κ B를 비롯한 염증관련 단백질이 관여함을 알 수 있다.

요 약

인진추출물의 LPS에 의한 흰쥐 간의 염증반응에 미치는 영향을 혈청학적, 조직병리학적, 면역조직화학적으로 분석하였다. 혈청 GOT, GTP, LDH는 LPS에 의해 증가하며 이는 인진추출물의 전처리에 의해 저해되며 특히 150 mg/kg 투여군의 GOT와 50 mg/kg 투여군의 LDH가 대조군에 비해 유의성을 보였다. 조직병리학적으로 보아 인진추출물의 전처리는 LPS에 의해 나타나는 혼탁중창, 수포성변성, 염증성

세포침윤, Kupper세포반응 등을 저해하였다. 염증관련 인자에 대한 면역조직화학적 분석으로 보아 인진추출물의 전처리는 LPS주사군의 NF- κ Bp65, TNF- α , COX-2 면역반응보다 약한 반응을, I- κ B α 는 LPS주사군보다 강한 세포질내 면역반응을 보였다. 이로 보아 인진추출물은 LPS에 의한 간손상에 대해 유효한 기능을 가지며 이에 NF- κ B를 비롯한 염증관련 단백질의 발현이 작용함을 알 수 있다.

감사의 글

본 연구는 고신대학교 의과대학 연구비 일부 지원에 의해 이루어 졌으며 이에 감사 드립니다.

참 고 문 헌

1. Bellezzo, J. M., R. S. Britton, B. R. Bacon and E. S. Fox. 1996. LPS-mediated NF-kappa beta activation in rat Kupffer cells can be induced independently of CD14. *Am. J. Physiol.* **270**, G956-G961.
2. Chu, C. Y., T. H. Tseng, J. M. Hwang, F. P. Chou and C. J. Wang. 1999. Protective effects of capillarasin on tert-butylhydroperoxide-induced oxidative damage in rat primary hepatocytes. *Arch. Toxicol.* **73**, 263-268.
3. Fan, J., R. D. Ye and A. B. Malik. 2001. Transcriptional mechanisms of acute lung injury. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* **281**, L1037-1050.
4. Garg A. and B. B. Aggarwal. 2002. Nuclear transcription factor-kappaB as a target for cancer drug development. *Leukemia*, **16**, 1053-1068.
5. Gupta S. 2001. A decision between life and death during TNF-alpha-induced signaling. *J. Clin. Immunol.* **22**, 185-194.
6. Hong K., A. Chu, B. R. Ludviksson, E. L. Berg and R. O. Ehrhardt. 1999. IL-12, independently of IFN-gamma, plays a crucial role in the pathogenesis of a murine psoriasis-like skin disorder. *J. Immunol.* **162**, 7480-7491.
7. Hu, Y. Q., R. X. Tan, M. Y. Chu and J. Zhou. 2000. Apoptosis in human hepatoma cell line SMMC-7721 induced by water-soluble macromolecular components of Artemisia capillaris Thunberg. *Jpn. J. Cancer Res.* **91**, 113-117.
8. Janbaz, K. H. and A. H. Gilani. 1995. Evaluation of the protective potential of Artemisia maritima extract on acetaminophen- and CCl₄-induced liver damage. *J. Ethnopharmacol.* **47**, 43-47.
9. Kang, S. S., T. Li, D. Xu, P. S. Reinach and L. Lu. 2000. Inhibitory effect of PGE₂ on EGF-induced MAP kinase activity and rabbit corneal epithelial proliferation. *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.* **41**, 2164-2169.
10. Marra, F. 2002. Chemokines in liver inflammation and fibrosis. *Front Biosci.* **7**, 1899-1914.
11. Matsumura, M., H. Kakishita, M. Suzuki, N. Banba and Y. Hattori. 2001. Dexamethasone suppresses iNOS gene expression by inhibiting NF-kappaB in vascular smooth muscle cells. *Life Sci.* **69**, 1067-1077.

12. Menon, R., S. J. Lombardi and S. J. Fortunato. 2001. TNF-alpha promotes caspase activation and apoptosis in human fetal membranes. *J. Assist. Reprod. Genet.* **19**, 201-204.
13. Nathan, C. F. and F. Xie. 1994. Regulation of biosynthesis of nitric oxide. *J. Biol. Chem.* **269**, 13725-13728.
14. Ryu, B. K., B. O. Ahn, T. Y. Oh, S. H. Kim, W. B. Kim and E. B. Lee. 1998. Studies on protective effect of DA-9601, *Artemisia asiatica* extract, on acetaminophen- and CCl₄-induced liver damage in rats. *Arch. Pharm. Res.* **21**, 508-513.
15. Sallie, R., J. M. Tredger and R. Williams. 1991. Drugs and the liver. Part 1: Testing liver function. *Biopharm. Drug Dispos.* **12**, 251-259.
16. Sano, H. 2001. A new mechanism of COX-2 in inflammation. *Ryumachu.* **42**, 560-572.
17. Seo, H. J. and Y. J. Surh. 2001. Eupatilin, a pharmacologically active flavone derived from *Artemisia* plants, induces apoptosis in human promyelocytic leukemia cells. *Mutat. Res.* **496**, 191-198.
18. Wu, T. S., Z. J. Tsang, P. L. Wu, F. W. Lin, C. Y. Li, C. M. Teng and K. H. Lee. 2001. New constituents and antiplatelet aggregation and anti-HIV principles of *Artemisia capillaris*. *Bioorg. Med. Chem.* **9**, 77-83.