

Biological Activities of Various Solvent Extracts of *Seomaeyakssuk* (*Artemisia argyi* H.)

Dong-Gyu Kim, Jae Ran Kang, Jung-Hye Shin and Min-Jung Kang*

Namhae Garlic Research Institute, Namhae 52430, Korea

Received August 29, 2019 / Revised October 14, 2019 / Accepted October 29, 2019

Artemisia argyi H. has been used for centuries as a traditional medicine and food supplement in Asian countries. The objective of this study was to investigate the physiological activities of *Artemisia argyi* H. extracts prepared by butanol, chloroform, ethyl acetate, ethyl ether, hexane, and methanol extraction. We evaluated total phenol and flavonoid content, antioxidant activity, nitric oxide (NO) and reactive oxygen species (ROS) release, and osteoclastogenesis inhibition. The total phenolic and flavonoid contents were highest in the methanol extract (49.46 mg GAE/g and 24.32 mg QE/g, respectively). The methanol extracts also had the highest antioxidant activity (DPPH and ABTS radical scavenging ability and ferric reducing antioxidant power), while the hexane extract had the lowest. The release of NO and ROS was dose-dependently decreased by pre-treatment with all solvent extracts. At the same concentrations, the ethyl acetate and butanol extracts showed higher inhibition of NO and ROS production when compared with the other extracts. The butanol extract, at a concentration of 20 μ g/ml, inhibited about 89% of the activity of the osteoclast marker, tartrate resistant acid phosphatase (TRAP). These results suggest that butanol extracts of *Artemisia argyi* H. may be effective natural medications for the prevention and treatment of osteoporosis.

Key words : Antioxidant effect, *Artemisia argyi* H., osteoclast, TRAP

서 론

쑥은 국화과에 속하는 다년생 초본으로 높은 번식력을 가지며 한국, 일본, 중국 등 아시아 지역 외에도 유럽 등지에 널리 재배 되어있고 예로부터 약용과 식용으로 사용되어 왔다[30]. 쑥은 플라보노이드와 페놀화합물 등 항산화성분을 다량 함유하고 있어 DNA 손상억제[34], 항암효과[30], 항당뇨[1], 항균활성[33], 면역증강[45]에 높은 효과를 나타낸다. 또한 쑥 추출물은 사염화탄소(CCl₄)로부터 손상된 간 조직을 보호하는 효과[38]를 가지고 있으며, 플라보노이드 화합물인 luteolin, apigenin, kaempferol, quercetin 등은 산화적 손상과 간 보호 효과에 대표적인 유효성분으로 보고되어 있다[37]. 그 밖에도 쑥은 필수지방산, 비타민, 섬유소, 무기질, 회분 함량이 높아서 다이어트 식품으로 효과적이며[36], 유효 성분인 플라보노이드 화합물들은 신체 조직의 산화적 스트레스 손상을 감소시키는 등[23] 다방면의 연구가 진행되고 있어 다양한 질환의 치료를 위한 기능성 식품 소재로 연구되고 있다.

섬에약쑥(*Artemisia argyi* H.)은 경남 남해군에서 자생 되고 있는 황해쑥의 한 종류로 산림청 품종보호등록(산림청 품종보호 제42호, 2013.9.27.)이 되어 있다[18]. 섬에약쑥은 기능성 성분으로 알려진 jaceosidin과 eupatillin이 국내 다른 약쑥에 비해 풍부하여 항염증, 항산화, 항암 효과 등을 가지는 것으로 알려져 있으며[17, 40, 46], 섬에약쑥에 함유되어 있는 페놀 화합물은 높은 라디칼 소거 활성을 가지는 것으로 보고되어 있다[30]. 현재까지 보고된 섬에약쑥에 대한 연구로는 부위별 영양화합물[18], 이화학적 특성 및 생리활성[20], 침출 및 건조 조건에 따른 시료의 항산화활성[21], 섬에약쑥 추출물의 항장소재 특성[16], 추출물의 신경세포 보호효과에 의한 기억 및 학습능력 개선 효과[17] 등이 있다. 섬에약쑥은 국내 고유 자원임에도 불구하고 생리활성이나 질병 개선 효과 및 산업적 활용 가능성을 위한 연구가 미진한 상황이다.

골다공증은 다양한 이유로 인하여 뼈의 강도가 감소함에 따라 골절 가능성이 증가하는 상태를 의미하며 전 세계적으로 골다공증이 증가하는 추세에 있기 때문에 건강에서 중요한 문제 중 하나이며[15], 여성에게 폐경으로 인해 발생하는 골다공증 현상은 심각한 문제로 제기되어 왔다[12, 43]. 남성에 비해 폐경기의 여성이 골다공증 유발이 높은 수준으로 발생하는 데 이는 폐경으로 인하여 에스트로젠 호르몬 분비량이 감소하기 때문으로[13] 에스트로젠의 결핍은 골세포의 흡수와 관련된 파골의 비율이 조골의 비율을 넘어서서 이들 간의 균형이 깨어짐으로 인해 골다공증을 유발하는 것으로 보고되어 있다

*Corresponding author

Tel : +82-55-860-8952, Fax : +82-55-860-8960

E-mail : jung-75@daum.net

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

[3,39]. 이러한 골다공증의 병리학적 현상은 에스트로겐의 결핍뿐만 아니라 노화에 따른 비만, 당뇨, 심혈관계 질환과도 밀접한 연관이 있는 것으로 알려져 있다[8, 55].

뼈 속의 광물질이 줄어드는 현상은 산화적 스트레스와 활성산소종(ROS)의 생성과 관계가 있는데[9, 53] 폐경기 여성에게 인위적으로 에스트로겐을 처리하는 치료법(ERT, estrogen replacement therapy)은 강제로 체내 항산화 활성을 증가시킴으로 인해 골다공증을 예방하는 것으로 알려져 있으나 이러한 치료법의 장기적인 사용은 혈압상승, 졸음, 체중증가, 유방민감성과 두통 등의 부작용을 유발한다[51]. 따라서 부작용이 적고 효과적인 천연물에서 새로운 골다공증 예방 및 치료 물질에 대해 다양한 연구를 진행하고 있다[24].

뼈는 골 형성과 골 흡수의 상호작용을 통해 재형성 과정을 거쳐 체내에 항상성을 유지하는데, 조골세포에 의한 골 형성보다는 골을 흡수하는 파골세포의 활성증가가 골 질환의 주요 원인이 된다[54]. 조혈모세포에서 유래하여 단핵 대식세포로부터 분화되는 파골세포는 receptor activator of NK-kB ligand (RANKL)과 같은 TNF-related activation-induced cytokine (TRANCE)과 macrophage stimulating factor (M-CSF)에 의해서 조절되는데[57] 파골세포는 tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP)와 calcitonin 수용체를 가지므로 TRAP는 파골세포의 표지인자로 널리 사용된다[10].

쑥은 기존에 인대와 뼈의 재생에 관여한다는 보고[2]가 있지만 파골세포 분화에 미치는 영향에 대해서는 그 연구가 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 섬약약쑥의 기능성 규명을 위한 연구의 일환으로 다양한 용매로 추출하여 항산화 활성과 파골세포의 분화 억제 효과를 관찰함으로써 생리활성을 검증하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 추출물의 제조

실험에 사용된 섬약약쑥(*Artemisia Argyi* H.)은 경남 남해군에서 수확한 것을 남해섬약약쑥영농조합법인으로부터 제공받아 세척한 후 바람이 잘 통하는 실내에서 음건하여 사용하였다. 섬약약쑥 용매별 추출물은 섬약약쑥 200 g에 각각의 용매(butanol, chloroform, ethyl acetate, ethyl ether, hexane, methanol) 4 l를 가하여 추출하였다. 용매별 추출물들은 상온에서 24시간 추출한 후 여과한 여액을 모아 회전식진공농축기(N-1200AVW, EYELA, Tokyo, Japan)로 완전 건조한 것을 DMSO로 희석하여 실험에 사용하였다.

총 페놀화합물 및 플라보노이드 정량

총 페놀화합물의 함량은 폴리페놀성 물질인 phosphomolybdic acid와 반응하여 청색을 나타내는 원리로 Folin-Denis method (Gutfinger T 1981)을 응용하여 시료액 2 ml에 2 M

Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 1 ml를 넣고 3분 후 10% Na₂CO₃ (Daejung, Siheung, Korea) 용액 1 ml씩을 혼합하여 실온의 암실에서 1시간 정치한 다음 분광광도계(Libra S 35, Biochrom, Cambridge, Cambridge-shire, England)를 이용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 gallic acid (Sigma-Aldrich Co.)를 사용하여 시료와 동일한 방법으로 분석하여 얻은 검량선으로부터 총 폴리페놀 함량을 계산하였다.

총 플라보노이드 화합물의 함량은 시료액 1 ml에 10% aluminum nitrate 100 µl, 1 M potassium acetate 100 µl 및 80% 에탄올 3.8 ml를 차례로 가한 후 혼합하여 실온의 암실에서 40분간 정치한 다음 분광광도계를 이용하여 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. Quercetin (Sigma-Aldrich Co.)을 표준물질로 하여 얻은 검량선으로부터 총 플라보노이드 함량을 계산하였다.

용매별 추출물의 항산화 활성

2,2-Azinobis-(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulphonate) (ABTS) 라디칼 소거활성은 7 mM의 ABTS 용액에 potassium persulfate를 2.4 mM이 되도록 용해시켜 암실에서 12-16시간 동안 반응시킨 후 415 nm에서 흡광도가 1.5가 되도록 증류수로 조정된 ABTS 용액 100 µl에 시료액 100 µl를 혼합하고 실온에서 5분간 반응시킨 다음 분광광도계를 이용하여 415 nm에서 흡광도를 측정하였다[50].

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거활성은 DPPH 용액(5 mg/100 ml ethanol) 100 µl와 시료 100 µl를 혼합한 다음 실온에서 20분간 반응시킨 후 분광광도계를 이용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다[6]. ABTS 및 DPPH 라디칼 소거활성(%)은 시료 무첨가구에 대한 시료첨가구의 흡광도비로 산출하였다.

FRAP는 pH 3.6의 300 mM acetate buffer, 40 mM HCl에 용해한 10 mM TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) 용액 및 20 mM FeCl₃ · 6H₂O를 각각 10:1:1(v/v/v)의 비율로 미리 혼합한 다음 37°C의 수욕상에서 5분 동안 열을 가한 후 FRAP 측정용 기질로 사용하였다. 96 well plate에 시료액 40 µl, FRAP 기질액 100 µl 및 증류수 40 µl를 차례로 혼합하여 37°C에서 4분간 반응시킨 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였으며, FeSO₄로 작성한 검량식에 대입하여 환산하였다[36].

세포 독성 측정

실험에 사용된 RAW 264.7 세포는 한국세포주은행(KCLB)에서 분양 받았으며, 세포 배양을 위해 10% fetal bovine serum (FBS)와 1% penicillin-streptomycin을 포함하는 DMEM 배지를 사용하였다. 세포는 CO₂ incubator (37°C, 5% CO₂)에서 배양하였다. 세포에 대한 독성 측정은 3-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT, Sigma-

Aldrich Co.) 환원방법을 이용하여 측정하였다. 세포를 96 well-plate에 well당 5×10^4 개가 되도록 분주하고 24시간 부착시킨 후, 섬에약속 추출물 6종(butanol, chloroform, ethyl acetate, ethyl ether, hexane 및 methanol)을 일정한 농도로 희석하여 세포에 처리한 다음 30분 후 $1 \mu\text{g/ml}$ lipopolysaccharide (LPS, Sigma-Aldrich Co.)를 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 이후 시료를 포함하는 배지를 제거한 후 serum-free 배지와 5 mg/ml MTT 용액을 첨가하였다. 37°C 에서 2시간 더 배양한 다음 DMSO 용액을 분주하여 sonication하고 10분간 교반하여 용출시킨 뒤 570 nm 에서 흡광도를 측정해 세포 생존율을 구하였다. 세포 생존율은 LPS 처리군에 대한 백분율로 나타내었다.

Nitric oxide (NO) 생성 억제능 측정

LPS 처리 염증세포로부터 생성된 NO의 양을 세포 배양액 중에 존재하는 NO_2^- 의 형태로 Griess 시약을 이용하여 측정하였다. 마우스 대식세포 RAW 264.7을 well당 5×10^5 씩 24-well plate에 분주하여 24시간 배양한 후 각각의 추출물을 농도별로 처리한 다음, 30분 배양하고 LPS ($1 \mu\text{g/ml}$)를 처리하여 20시간 또는 24시간 배양하였다. 원심분리(3,000 rpm, 5 min, 4°C)하여 얻은 세포 상등액 $50 \mu\text{l}$ 와 sulfanilamide solution $50 \mu\text{l}$ 를 혼합하여 5분간 빛을 차단하고 반응시킨 다음 NED solution $50 \mu\text{l}$ 와 혼합하여 상온에서 5분간 반응시켰다. 이것을 ELISA reader (Epoch, BIOTECK, Wiesbaden, Germany)를 이용하여 540 nm 에서 흡광도를 측정한 다음 sodium nitrate로 표준곡선을 작성하여 LPS 처리 세포군에 대한 상대적인 생성율로 나타내었다.

Reactive oxygen species (ROS) 생성 억제율 측정

섬에약속 추출물들의 intracellular ROS 생성억제 활성은 intracellular ROS assay kit (Cell Biolabs, San Diego, CA, USA)을 이용하여 측정하였다. 96 well black plate에 5×10^4 cell/well의 RAW 264.7 cell을 분주한 후 배양하여 세포를 well에 부착시켜 serum free DMEM 배지로 교환하였다. 세포를 24시간 배양한 후 각 시료를 농도별로 처리하여 37°C , 5% CO_2 에서 24시간 더 배양하였다. PBS (pH 7.4)로 3회 세척한 다음 1X DCFH-DA를 배지에 $100 \mu\text{l}$ 첨가하여 1시간, 37°C , 5% CO_2 에서 배양한 후 또 다시 PBS로 3회 세척하였다. Lysis buffer $100 \mu\text{l}$ 를 첨가하고 혼합한 후 microplate reader (Perkin-Elmer Inc., Waltham, MA, USA)로 excitation 485 nm , emission 535 nm 에서 형광을 측정하여, LPS 단독 처리군에 대한 상대적인 ROS 생성 억제율로 표기하였다.

Tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) 염색 및 효소활성 측정

RAW 264.7 세포를 96-well plate에 well당 1×10^3 개가 되도록

분주하고, 10% FBS가 포함된 DMEM을 배양액으로 하여 4~6시간 배양한 후, 0~20 $\mu\text{g/ml}$ 농도로 추출시료를 첨가한 10% FBS가 첨가된 α -MEM 배지로 교환하였다. 시료 첨가 후 파골세포 분화인자인 RANKL 100 ng/ml 을 첨가하여 2일 간격으로 시료와 RANKL을 포함하는 새 배지로 교환하면서 7일간 배양하였다. 배양이 끝난 세포에서 배양액을 제거하고 PBS로 세척한 다음 fixation solution (citrate solution 25 ml +acetone 65 ml +formaldehyde 8 ml)으로 10분간 고정시켰다. 고정액을 제거하고 증류수로 3번 세척하고 난후 TRAP 염색용 kit(Sigma-Aldrich Co.)로 TRAP염색을 시행하였다. 기질로 naphthol AS-BI phosphate를 사용하였고, 염색제로는 fast garnet GBC 용액을 사용하였다. 염색이 끝난 후 광학 현미경을 이용하여 보라색으로 염색된 세포를 촬영하였다.

TRAP 효소의 활성 증가는 전구세포에서 파골세포로 분화하는 초기의 지표로 볼 수 있으므로 또 다른 plate에 RANKL과 추출시료를 처리하여 위의 방법과 동일하게 배양한 세포를 PBS로 신중히 세척한 다음 증류수를 $70 \mu\text{l}$ 씩 분주하고, sonication하여 세포 추출액을 만들어 TRAP 효소의 활성을 측정하였다. 효소 활성의 측정은 세포추출액을 기질인 100 mM *p*-nitrophenyl phosphate (pNPP)와 10 mM sodium tartrate가 포함된 50 mM citrate 완충액(pH 7.4)에서 30분간 반응시킨 후 pNPP에서 분해된 *p*-nitrophenol의 양을 흡광 광도계를 이용하여 540 nm 에서 측정하여 RANKL 단독 처리군에 대한 백분율로 표기하였다.

통계처리

모든 실험은 3회 이상 반복하여 실시하였으며 실험으로부터 얻은 결과는 SPSS statistics 18 (IBM, Armonk, NY, USA) 통계 package를 이용하여 분석하였다. 결과는 평균 \pm 표준편차로 표시하였고, 실험군에 따른 데이터간의 통계적 유의성 검정을 위해 Duncan's multiple range test, ANOVA 및 t-test를 수행하였다($p < 0.05$).

결과 및 고찰

총 페놀화합물 및 플라보노이드 함량

섬에약속 용매별(butanol, chloroform, ethyl acetate, ethyl ether, hexane 및 methanol) 추출물의 총 페놀화합물 및 플라보노이드 함량은 Fig. 1과 같다. 총 페놀화합물 함량은 18.15~49.46 mg/g의 범위로 그 함량이 가장 높은 methanol 추출물과 가장 낮은 ethyl ether 추출물 간의 함량 차이는 약 2.7배였다. 총 플라보노이드 함량은 6.29~24.32 mg/g의 범위였으며 methanol > butanol > ethyl acetate > chloroform, hexane > ethyl ether 추출물의 순으로 총 페놀화합물 함량과 유사한 경향이 있었다.

머루 과피를 용매별(hexane, chloroform, ethyl acetate, bu-

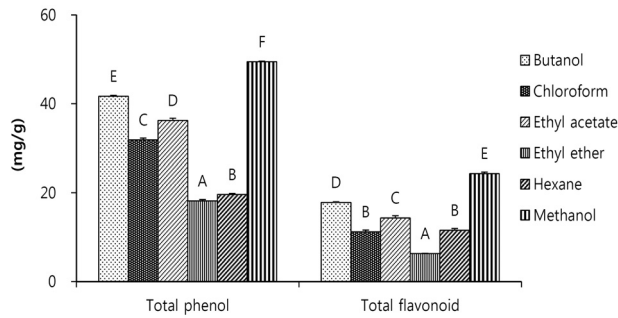


Fig. 1. Total phenol and flavonoid contents of *Seomaeyakssuk* (*Artemisia Argyi* H.) extracts with various solvent. All values are mean ± SD (n=4). ^{1)A-F}Means with different superscript within the same item are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

anol, water)로 추출하여 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 측정된 결과 ethyl acetate 추출물에서 가장 높은 함량이었고, 다음으로 butanol 추출물의 함량이 높았으며, hexane 추출물에서 가장 함량이 낮다고 보고되어 있다[47]. 복숭아꽃 에탄올 추출물과 분획물의 총 폴리페놀 함량은 butanol, ethanol, water, hexane 분획물의 순이었다고 보고되어 있다[32]. 구절초의 methanol 추출물과 그 분획물의 총 폴리페놀 함량은 ethyl acetate 분획물에서 가장 높았고 그 다음으로 methanol 추출물이 높았으며, hexane 분획물에서 가장 낮았다는 Hyun MR 등[22]의 보고도 있다. 이러한 보고들은 methanol, butanol 및 ethyl acetate 추출·분획물의 총 페놀 함량이 여타 용매 추출·분획물보다 상대적으로 높고 공통적으로 hexane 추출물에서 그 함량이 가장 낮아 본 연구의 결과와 유사한 경향이었다.

Kang YH 등[27]은 쑥 물추출물의 chlorogenic acid 함량이 총 페놀물질의 약 40%를 차지한다고 하였으며, 개똥쑥에서는 protocatechuic acid, chlorogenic acid 및 salicylic acid 등 총 12종의 페놀화합물과 rutin, quercetin 및 kaempferol과 같은 플라보노이드 물질이 검출되었다고 보고된 바 있다[52].

항산화 활성

삼애약쑥 용매별 추출물 6종의 항산화활성을 알아보려고 ABTS 라디칼 소거활성을 측정하고 그 결과를 Table 1에 나타내었다. 250, 500 및 1,000 µg/ml의 농도에서 ABTS 라디칼 소거활성은 250 µg/ml의 농도에서 5.48~81.77%이던 것이 1,000 µg/ml의 농도에서는 18.28~96.23%로 농도 의존적으로 활성이 증가하였다. Methanol 추출물의 ABTS 라디칼 소거활성은 81.77~96.23%로 여타 추출물보다 월등히 높았으며 다음으로 butanol 추출물(43.27~75.11%)에서 활성이 높았다. 시료 중에서 hexane 추출물의 활성이 5.48~18.28%로 가장 낮았다.

기존의 연구에 따르면 기생초 꽃 조추출물 및 순차 분획물의 ABTS 라디칼 소거활성은 ethyl acetate > butanol > water > hexane > chloroform 분획물 순으로 높았다는 보고[58]가 있는

Table 1. ABTS radical scavenging activity of *Seomaeyakssuk* (*Artemisia Argyi* H.) extracts with various solvent (%)

Extract solvent	Sample concentration (µg/mL)		
	250	500	1000
Butanol	43.27 ± 0.40 ^{a1)E2)}	57.45 ± 0.36 ^{bE)}	75.11 ± 0.08 ^{cE)}
Chloroform	29.11 ± 0.30 ^{aC)}	37.33 ± 0.29 ^{bC)}	45.66 ± 0.16 ^{cC)}
Ethyl acetate	37.30 ± 0.36 ^{aD)}	50.09 ± 0.17 ^{bD)}	64.70 ± 0.45 ^{cD)}
Ethyl ether	22.80 ± 0.36 ^{aB)}	33.13 ± 0.72 ^{bB)}	44.06 ± 0.55 ^{cB)}
Hexane	5.48 ± 0.51 ^{aA)}	9.93 ± 0.63 ^{bA)}	18.28 ± 0.51 ^{cA)}
Methanol	81.77 ± 0.27 ^{aF)}	95.08 ± 0.20 ^{bF)}	96.23 ± 0.59 ^{cF)}

All values are mean ± SD (n=4).

^{2)A-C}Means with different superscript within the same extraction solvent are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

^{3)A-F}Means with different superscript within the same concentration are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

반면 다릅나무 용매 분획별 ABTS 라디칼 소거활성은 chloroform > ethyl acetate > hexane > butanol > water 순이었다는 보고도 있다[28]. 본 연구 결과와 비교하여 용매별 추출물들의 ABTS 라디칼 소거활성에 차이가 발생하는 것은 추출시 사용되는 용매의 극성에 의해 항산화 물질이 용해되는 정도가 다르기 때문일 것으로 판단된다.

DPPH 라디칼 소거활성과 ABTS 라디칼 소거활성은 시료의 항산화활성을 측정할 때 보편적으로 사용되는 방법들이지만 각기 분석에 사용되는 라디칼의 종류가 다르고, 항산화 물질의 종류에 따라 두 기질에 결합하는 정도와 라디칼을 제거하는 능력이 다른 것으로 보고되어 있다[28].

삼애약쑥 용매별 추출물 6종에 대한 DPPH 라디칼 소거활성 측정 결과에서는(Table 2), 6종의 시료 추출물 모두 ABTS 라디칼 소거활성과 마찬가지로 농도에 의존하여 그 활성이

Table 2. DPPH radical scavenging activity of *Seomaeyakssuk* (*Artemisia Argyi* H.) extracts with various solvent (%)

Extract solvent	Sample concentration (µg/ml)		
	250	500	1,000
Butanol	29.53 ± 0.62 ^{a1)E2)}	45.71 ± 0.62 ^{bE)}	69.02 ± 0.29 ^{cE)}
Chloroform	17.78 ± 0.43 ^{aC)}	27.42 ± 0.31 ^{bC)}	40.28 ± 0.09 ^{cC)}
Ethyl acetate	24.52 ± 0.39 ^{aD)}	39.44 ± 0.60 ^{bD)}	58.78 ± 0.09 ^{cD)}
Ethyl ether	14.54 ± 0.27 ^{aB)}	19.94 ± 0.27 ^{bB)}	28.80 ± 0.30 ^{cB)}
Hexane	10.09 ± 0.28 ^{aA)}	13.40 ± 0.41 ^{bA)}	20.59 ± 0.15 ^{cA)}
Methanol	64.07 ± 0.70 ^{aF)}	82.64 ± 0.19 ^{bF)}	85.65 ± 0.15 ^{cF)}

All values are mean ± SD (n=4).

^{1)A-C}Means with different superscript within the same extraction solvent are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

^{2)A-F}Means with different superscript within the same sample concentration are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

증가하였다. 시료군 중 methanol 추출물이 250, 500 및 1,000 µg/ml 농도에서 64.07~85.65%로 가장 DPPH 라디칼 소거활성이 높은 반면 hexane 추출물은 10.09~20.59%로 활성이 가장 낮았다. 또한 DPPH 라디칼 소거활성도 ABTS 라디칼 소거활성과 같이 methanol 추출물 다음으로 butanol 추출물(29.53~69.02%)의 활성이 높았다.

Kang JR 등[25]이 초석잠 용매별(water, ethanol, butanol, chloroform, hexane) 추출물의 항산화활성을 측정된 결과에서 시료의 ABTS 및 DPPH 라디칼 소거활성은 butanol > ethanol > water > chloroform > hexane 추출물의 순으로 활성이 높았는데 이는 본 연구의 결과와 유사한 경향이다.

Choi YM 등[11]은 쑥의 항산화 활성을 측정된 결과 추출물의 성분 중 총 페놀화합물 함량에 비례하여 라디칼 소거능이 증가한다고 하였는데, 본 연구에서 섬애약쑥 용매별 추출물도 여타 시료군보다 총 페놀화합물 함량이 상대적으로 높았던 methanol과 butanol 추출물의 ABTS 및 DPPH 라디칼 소거활성이 높았다. 반면 본 연구에서 섬애약쑥 hexane 추출물의 총 페놀화합물 함량이 ethyl ether 추출물보다 유의적으로 높았으나 라디칼 소거활성은 더 낮아 총 페놀화합물과 라디칼 소거활성 경향이 완전히 일치하지는 않았다. 일반적으로 식물체들의 항산화 활성은 폴리페놀 함량에 기인하는 것으로 알려져 있지만[35] 식물체의 영양성분 중 하나인 vitamin C와 E도 활성산소를 제거하여 산화적 스트레스를 완화시키는 것으로 보고되어 있다[19]. 따라서 실험을 통해 확인된 섬애약쑥 용매별 추출물의 항산화 활성은 플라보노이드와 폴리페놀 화합물 이외에도 여러 성분들의 상호작용으로 나타난 결과로 추정된다.

Table 3은 섬애약쑥 용매별 추출물 6종의 항산화력을 FRAP 방법으로 측정된 결과이다. 대표적인 환원력 실험인 FRAP는 낮은 pH에서 환원제에 의해 ferric tripyridyltriazine 복합체가

ferrous tripyridyltriazine으로 환원되는 원리를 이용한 것으로 항산화제의 환원력을 평가하는 방법이다[45].

FRAP에 의한 항산화활성 또한 라디칼 소거활성과 같이 250 µg/ml의 농도에서 3.48~115.89 µM이던 것이 1,000 µg/mL에서는 15.14~364.94 µM로 고농도에서 더 높은 값을 나타내었다. 라디칼 소거활성과 마찬가지로 methanol 추출물이 115.89~364.94 µM로 FRAP에 의한 항산화활성이 가장 높고 다음으로는 butanol 추출물(50.85~159.77 µM)이 높으며, 시료군 중 hexane 추출물(3.48~15.14µM)이 가장 낮았다. Methanol과 hexane 추출물의 FRAP에 의한 항산화활성 차는 24.1~33.3배에 달하였다.

섬애약쑥 용매별 추출물의 세포독성

골다공증은 다양한 원인에 의해서 유발되는데 파골세포의 분화 촉진은 골 흡수를 증가시켜 골 손실을 유도하여 염증 반응을 유발하고 골다공증을 유발시키는 주요 원인으로 알려져 있다[53]. 파골세포가 분화되는 원인의 하나로 염증 반응 들 수 있으며 그람 음성균의 세포벽 주요 성분인 lipopolysaccharide (LPS)는 치주염, 골수염 및 관절염 등의 염증성 질환에 수반하는 뼈 손실의 주요 원인으로 알려져 있다[44].

따라서 섬애약쑥의 골다공증에 대한 억제 활성평가에 앞서 염증성 질환의 예방용 소재로 사용가능한지 확인하고자 LPS로 염증 반응을 유발시킨 RAW 264.7 세포를 대상으로 섬애약쑥 용매별 추출물의 염증 억제 가능성을 검토하였다. LPS를 처리한 RAW 264.7 세포에서 섬애약쑥 butanol, chloroform, diethyl ether, ethyl acetate, hexane 및 methanol 추출물 처리에 의한 세포생존율을 확인하기 위하여 MTT assay를 수행하였다. Butanol, chloroform, diethyl ether, ethylacetate, hexane 및 methanol 추출물을 비교적 저농도인 2.5, 5, 10, 20 µg/ml 농도로 24시간 동안 처리한 결과(Fig. 2) 최대 20 µg/ml 농도까지 모든 용매별 추출물에서 세포독성이 유발되지 않았다. 이후 실험은 20 µg/ml 이하의 농도를 유효범위로 설정하여 진행하였다.

Table 3. Ferric reducing antioxidant power (FRAP) of *Seo-maeyaksuk* (*Artemisia Argyi* H.) extracts with various solvent (FeSO₄·7H₂O eq µM)

Extract solvent	Sample concentration (µg/ml)		
	250	500	1,000
Butanol	50.85±0.47 ^{a1)E2)}	91.50±1.20 ^{bE}	159.77±1.71 ^{cE}
Chloroform	33.27±0.50 ^{aC}	62.47±0.89 ^{bC}	111.30±2.38 ^{cC}
Ethyl acetate	37.97±0.78 ^{aD}	71.34±0.91 ^{bD}	124.11±1.17 ^{cD}
Ethyl ether	16.62±0.16 ^{aB}	30.43±0.85 ^{bB}	53.79±0.75 ^{cB}
Hexane	3.48±0.23 ^{aA}	7.26±0.21 ^{bA}	15.14±0.66 ^{cA}
Methanol	115.89±1.31 ^{aF}	207.97±1.96 ^{bF}	364.94±1.69 ^{cF}

All values are mean ± SD (n=4).
^{1)a-c} Means with different superscript within the same extraction solvent are significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).
^{2)A-F} Means with different superscript within the same sample concentration are significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).

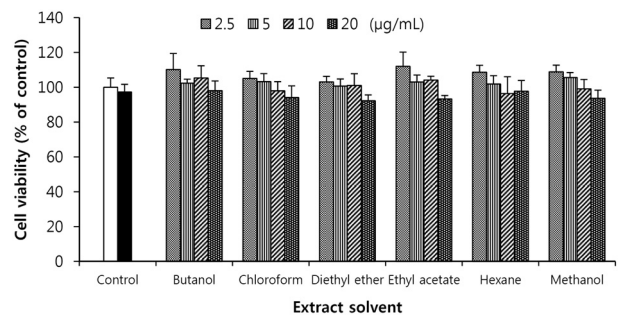


Fig. 2. Cell viability of *Seo-maeyaksuk* (*Artemisia argyi* H) extracts with various solvent on RAW 264.7 cells. Each bar represents the mean ±SD of three repeated experiments. Control group (untreated).

RAW 264.7 대식세포의 NO 생성에 대한 억제 활성

NO는 NO 합성효소에 의해 L-arginine으로부터 생성되는데 세포독성, 신경전달계, 면역반응 및 혈관이완 등 다양한 생물학적인 과정들에 관여하며, 세포기능 유지에 중요한 작용을 하기도 하고 높은 농도의 NO는 세포독성을 유발시키기도 한다[29]. LPS에 의해 염증반응이 활성화되면 NO는 염증성 cytokine들의 발현에 변화를 일으켜 순차적 반응을 거쳐 최종적으로 염증이 유발하고 이어서 뼈 흡수에 기여하는 파골세포의 분화를 촉진하는 신호전달 과정을 활성화시킨다고 보고되어 있다[56].

섬애약쑥 용매별 추출물의 NO 생성 억제 활성의 측정 결과는 Fig. 3과 같다. LPS를 단독으로 처리하였을 때, NO 생성량은 무처리군에 대비 약 3.23배 증가하였고, butanol을 포함하는 6종의 용매 추출물 모두 농도 의존적으로 NO 생성량을 감소시켰다. 용매별 추출물을 각각 20 µg/ml 농도로 처리하였을 경우 NO 생성 억제율은 methanol 추출물이 54.59%로 가장 낮았으며, ethyl acetate 추출물이 68.53%로 가장 높았다.

추출 방법을 달리한 사철쑥, 약쑥 및 개똥쑥의 NO 소거능은 최대 45% 수준이라고 보고되어 있으며[26], 오미자, 하수오, 행인, 팽이버섯 등도 20% 이하의 소거능을 나타낸다고 보고되어 있다[31]. 반면 섬애약쑥 용매별 추출물들의 NO 소거능은 50% 이상이기 때문에 상대적으로 높은 활성을 가지는 것으로 확인되었다. 또한 Duarte 등[14]은 폴리페놀과 플라보노이드 화합물이 종류에 따른 차이는 있으나 NO의 생성을 억제한다고 보고한 바 있는데 본 연구의 결과와도 일치하였다.

파골세포의 분화 촉진으로 유발되는 염증성 골다공증에는 NO가 관여하며[29], 섬애약쑥 용매별 추출물들의 높은 NO 생성 억제 활성은 파골세포 증식 억제를 통한 염증성 골다공증을 감소시킬 것으로 추정된다.

RAW 264.7 대식세포의 ROS 생성에 대한 억제 활성

활성산소는 높은 반응성으로 생체 내에서 세포막이나 DNA

등에 작용하여 산화적 손상을 유발시킨다고 보고되고 있다[52]. 산화반응 과정 중에 생성되는 활성산소들은 체내의 항산화 효소들에 의해 제거되나, 효소들의 제거능을 초과하는 과량의 활성산소종은 다양한 염증성 질환(류마티스 관절염, 아토피, 퇴행성 질환)과 밀접한 관련을 가지고 있다[48].

LPS를 처리한 RAW 264.7 대식세포에서 섬애약쑥 용매별 추출물들의 ROS 생성 억제 활성을 확인하였다. 추출물을 1시간 전처리하고 LPS로 자극하여 유도되는 ROS 생성량을 측정 한 결과(Fig. 4), LPS를 처리한 대조군은 무처리군 대비 ROS 생성이 5배 증가되었고, 섬애약쑥 6종 추출물 모두 농도 의존적으로 ROS의 생성을 억제하였으며, 가장 저농도인 2.5 µg/mL에서는 diethyl ether 추출물만이 유의성 있게 ROS의 생성을 억제하였다. 6종 추출물 중 butanol 추출물은 20 µg/ml 농도에서 가장 높은 91%의 억제 효과가 확인되었다.

산화 스트레스와 골다공증에 관한 연구로는 산화스트레스의 증가가 골밀도를 감소시킨다는 보고가 있었고[4], 항산화 비타민을 섭취한 경우 높은 골밀도를 보였다는 보고가 있다[42]. 본 연구에서 섬애약쑥 용매별 추출물들은 높은 ROS 생성 억제 활성을 통해 산화스트레스를 감소시키고, 이는 파골세포의 활성이나 증식을 억제하여 골밀도 감소를 억제할 것으로 사료된다.

파골세포의 분화지표인 TRAP 활성 감소

파골세포는 TRAP 양성 반응을 나타내는 다핵세포이며, TRAP는 파골세포의 골 흡수 시 분비가 증가되므로 다른 세포와 구별할 수 있는 파골세포의 세포화학적 표지인자이다[41].

섬애약쑥 용매별 추출물들이 파골세포 분화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 대식세포에 RANKL을 처리하여 분화를 유도한 후 추출물들을 농도별(2.5~20 µg/ml)로 처리하여 파골세포 분화 억제 활성을 확인하였다(Fig. 5). 6종 추출물 모두 20 µg/ml 농도에서 대조군 대비 유의성 있는 TRAP 활성의 감소효과가 확인되었다. Butanol 추출물은 5 µg/ml의 낮은

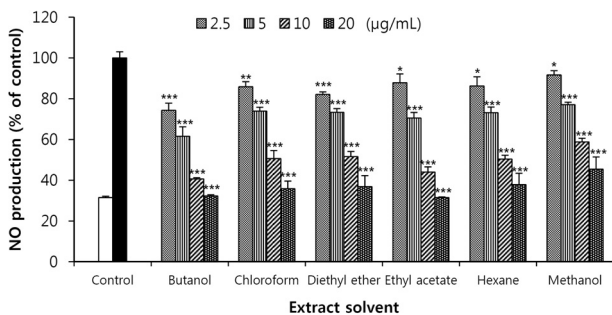


Fig. 3. Effects of *Seomaeyaksuk* (*Artemisia argyi* H) extracts with various solvent on the production of NO on RAW 264.7 cells. Each bar represents the mean ± SD of three repeated experiments. **p*<0.05, ***p*<0.01, ****p*<0.001 compared to the control group (LPS alone).

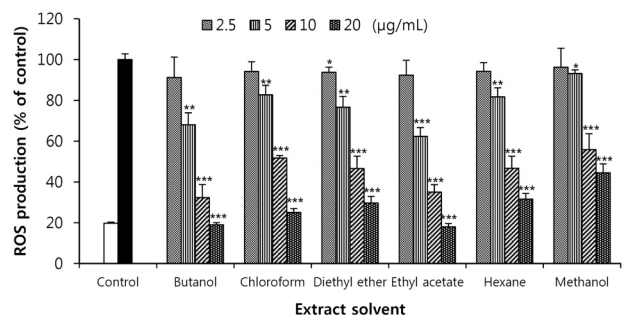


Fig. 4. Effects of *Seomaeyaksuk* (*Artemisia argyi* H) extracts with various solvent on the production of ROS on RAW 264.7 cells. Each bar represents the mean ± SD of three repeated experiments. **p*<0.05, ***p*<0.01, ****p*<0.001 compared to the control group (LPS alone).

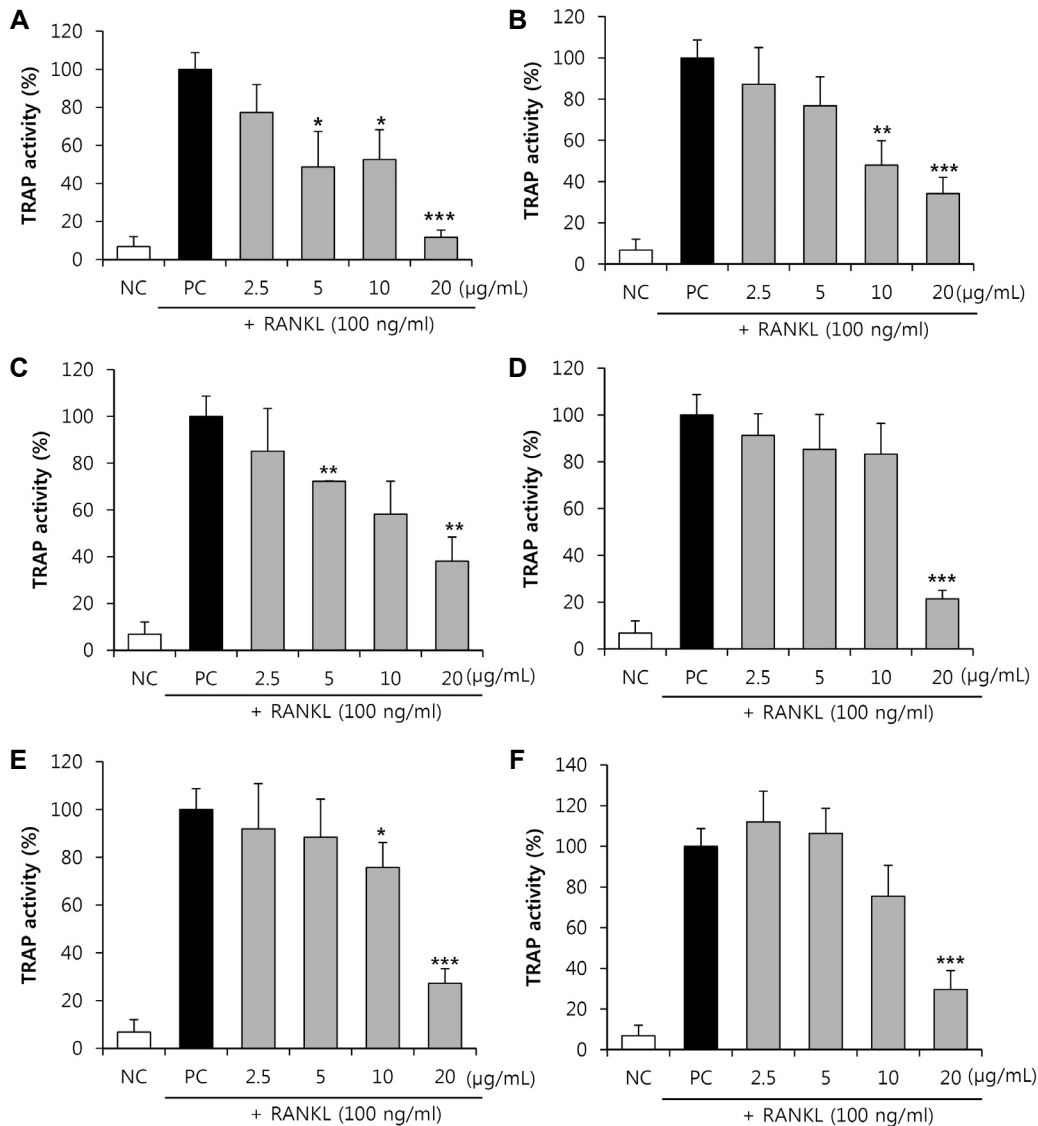


Fig. 5. Effects on osteoclast differentiation by *Seomaeyaksuk* (*Artemisia argyi* H) extracts with various solvent ((A) butanol , (B) chloroform, (C) ethyl acetate, (D) ethyl ether, (E) hexane, (F) methanol). RAW 264.7 cells were cultured for 7 days with RANKL in the presence of *Seomaeyaksuk* extracts. TRAP-positive cells were measured as osteoclasts. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ compared to the control group (LPS alone).

농도에서도 48.65%로 파골세포 분화 억제 활성이 높았다. 최고 농도인 20 µg/ml 농도에서 butanol 추출물을 제외한 용매별 추출물의 TRAP 활성 감소율은 대조군 대비 27.28~38.08%로 diethyl ether 추출물에서 가장 높고, hexane 추출물에서 가장 낮았다.

TRAP 양성 세포는 RANKL, interleukin-1, tumor necrosis factor- α 와 같은 염증인자로 자극하면 다핵형 TRAP 양성 세포로 분화되고 이는 골 분해를 유발한다[7]. 따라서 섬애약쭉 용매별 추출물은 높은 TRAP 활성 감소능을 가지기 때문에 TRAP 양성세포에 의해 발생하는 파골 효과를 억제하여 항골다공증 효과를 가질 것으로 추정된다.

References

1. Al-Mustafa, A. H. and Al-Thunib, O. Y. 2008. Antioxidant activity of some Jordanian medicinal plants used traditionally for treatment of diabetes. *Pak. J. Biol. Sci.* **11**, 351-358.
2. Bailey, M. E., Wang, A. C., Hao, J., Janssen, W. G., Hara, Y., Dumitriu, D., Hof, P. R. and Morrison, J. H. 2011. Interactive effects of age and estrogen on cortical neurons: implications for cognitive aging. *Neuroscience* **191**, 148-158.
3. Barcelos-Ferreira, R., Izicki, R., Steffens, D. C. and Bottino, C. M. 2010. Depressive morbidity and gender in community-dwelling Brazilian elderly: systematic review and meta-analysis. *Int. Psychogeriatr.* **22**, 712-726.
4. Basu, S., Michaelsson, K., Olofsson, H., Johansson, S. and

- Melhus, H. 2001. Association between oxidative stress and bone mineral density. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **288**, 275-279.
5. Benzie, I. F. F. and Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Anal. Biochem.* **239**, 70-76.
 6. Blois, M. S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* **181**, 1199-1200.
 7. Boyle, W. J., Simonet, W. S. and Lacey, D. L. 2003. Osteoclast differentiation and activation. *Nature* **423**, 337-342.
 8. Bromberger, J. T., Matthews, K. A., Schott, L. L., Brockwell, S., Avis, N. E., Kravitz, H. M., Everson-Rose, S. A., Gold, E. B., Sowers, M. and Randolph, J. F. Jr. 2007. Depressive symptoms during the menopausal transition: the Study of Women's Health Across the Nation (SWAN). *J. Affect. Disord.* **103**, 267- 272.
 9. Bromberger, J. T., Schott, L. L., Kravitz, H. M., Sowers, M., Avis, N. E., Gold, E. B., Randolph, J. F. Jr. and Matthews, K. A. 2010. Longitudinal change in reproductive hormones and depressive symptoms across the menopausal transition: results from the Study of Women's Health Across the Nation (SWAN). *Arch. Gen. Psychiatry* **67**, 598-607.
 10. Cho, S. B., Ha, S. Y., Lee, S. R. and Koh, K. J. 2003. Effects of irradiation on the mRNA expression of the osteocalcin and osteopontin in MC3T3-E1 osteoblastic cell line. *Kor. J. Oral Maxillofac. Radiol.* **33**, 179-185.
 11. Choi, Y. M., Chung, B. H., Lee, J. S. and Cho, Y. G. 2006. The Antioxidant activities of *Artemisia* spp. collections. *Kor. J. Crop. Sci.* **51**, 209-214.
 12. Cohen, L. S., Soares, C. N., Vitonis, A. F., Otto, M. W. and Harlow, B. L. 2006. Risk for new onset of depression during the menopausal transition: the Harvard study of moods and cycles. *Arch. Gen. Psychiatry* **63**, 385-390.
 13. Cole, M. G. and Dendukuri, N. 2003. Risk factors for depression among elderly community subjects: a systematic review and meta-analysis. *Am. J. Psychiatry* **160**, 1147-1156.
 14. Duarte, J., Francisco, V. and Perez-Vizcaino, F. 2014. Modulation of nitric oxide by flavonoids. *Food Funct.* **5**, 1653-1668.
 15. Faravelli, C., Alessandra Scarpato, M., Castellini, G. and Lo Sauro, C. 2013. Gender differences in depression and anxiety: the role of age. *Psychiatry Res.* **210**, 1301-1303.
 16. Ha, G. J., Kim, N. K., Shin, H. Y., Bae, W. Y. and Heo, H. J. 2014. Characterization as cosmetic substances of *Artemisia argyi* H. extracts. *J. Agric. Life Sci.* **48**, 119-131.
 17. Ha, G. J., Lee, D. S., Seung, T. W., Park, C. H., Park, S. K., Jin, D. E., Kim, N. K., Shin, H. Y. and Heo, H. J. 2015. Anti-amnesic and neuroprotective effects of *Artemisia argyi* H. (seomae mugwort) extracts. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **47**, 380-387.
 18. Ha, G. J., Lee, Y. H., Kim, N. K., Shon, G. M., Rho, C. W., Jeong, H. R., Heo, H. J. and Jeong, C. H. 2012. Nutritional chemical composition in the different parts of *Artemisia argyi* H. *J. Agric. Life Sci.* **46**, 155-164.
 19. Hong, J. K. 2009. A Study on skin aging caused by free-radical and on efficacy of antioxidant vitamins. *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.* **7**, 51-62.
 20. Hwang, C. R., Seo, W. T., Bae, W. Y., Kang, M. J. and Shin, J. H. 2014. Physicochemical characteristics and biological activities of *Artemisia argyi* H. *J. Life Sci.* **24**, 377-385.
 21. Hwang, C. R., Seo, W. T., Kang, M. J. and Shin, J. H. 2013. Antioxidant activity of Sumaeyaksuk tea extracts prepared with different drying and extract conditions. *Kor. J. Food Preserv.* **20**, 546-553.
 22. Hyun, M. R., Lee, Y. S. and Park, Y. H. 2011. Antioxidative activity and flavonoid content of *Chrysanthemum zawadskii* flowers. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* **29**, 68-73.
 23. Jo, S. K., Oh, H., Cheon, E. H., Jeong, U. and Jo, N. J. 2004. Protective effects of a herb, *Artemisia capillaris*, against radiation induced DNA damage. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **33**, 22-27.
 24. Joffe, H., Petrillo, L. F., Koukopoulos, A., Viguera, A. C., Hirschberg, A., Nonacs, R., Somley B., Pasciullo, E., White, D. P., Hall, J. E. and Cohen, L. S. 2011. Increased estradiol and improved sleep, but not hot flashes, predict enhanced mood during the menopausal transition. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **96**, E1044-E1054.
 25. Kang, J. R., Kang, M. J., Shin, J. H., Park, J. H., Kim, D. I., Chung, S. Y. and Shin, J. H. 2017. Antioxidant and anti-diabetic activities of various solvent extracts from *Stachys sieboldii* Miq. *Kor. J. Food Preserv.* **24**, 615-622.
 26. Kang, K. M. and Lee, S. H. 2013. Effects of extraction methods on the antioxidative activity of *Artemisia* sp. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **42**, 1249-1254.
 27. Kang, Y. H., Park, Y. K., Oh, S. R. and Moon, K. D. 1995. Studies on the physiological functionality pine needle and mugwort extract. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **27**, 978-984.
 28. Kim, G. S., Chang, J. P., Doh, E. S., Kil, K. L. and Yoo, J. H. 2016. Stem bark of *Maackia amurensis* extract according to extraction solvent. *Kor. J. Herbology* **31**, 43-48.
 29. Kim, J. Y., Jung, K. S. and Jeong, H. G. 2004. Suppressive effects of the kahweol and cafestol on cyclooxygenase-2 expression in macrophages. *FEBS Lett.* **569**, 321-326.
 30. Kim, R. J., Kang, M. J., Hwang, C. R., Jung, W. J. and Shin, J. H. 2012. Antioxidant and cancer cell growth inhibition activity of five different varieties of *Artemisia cultivars* in Korea. *J. Life Sci.* **22**, 844-851.
 31. Kim, S. M., Cho, Y. S. and Sung, S. K. 2001. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **33**, 626-632.
 32. Kwak, C. S. and Choi, H. I. 2015. *In vitro* antioxidant and anti-inflammatory activities of ethanol extract and sequential fractions of flowers of *Prunus persica* in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **44**, 1439-1449.
 33. Lee, C. K. and Seo, J. J. 2003. Antimicrobial activity of the aerial part of *Artemisia capillaries* extracts on the food-borne pathogens. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **32**, 1227-1232.
 34. Lee, H. J., Hwang, Y. I., Park, E. J. and Choi, S. U. 2011. Antihepatotoxic and antigenotoxic effects of herb tea composed of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **40**, 78-83.

35. Lee, J. H. and Lee, S. R. 1994. Some physiological activity of phenolic substances in plant foods. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **26**, 317-323.
36. Lee, K. D., Kim, J. S., Bae, J. O. and Yoon, H. S. 1992. Antioxidative effect of water and ether extract of *Artemisia capillaris*. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **2**, 17-22.
37. Lee, S. J., Chung, H. Y., Lee, I. K. and Yoo, I. D. 1999. Isolation and identification of flavonoid from ethanol extracts of *Artemisia vulgaris* and their antioxidant activity. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **31**, 815-822.
38. Lee, W. Y., Lee, S. D., Son, S. I., Chang, H. S., Kim, Y. H., Oh, T. H., Eom, K. D., Chang, K. H., Park, S. C., Yamato, O., Maede, Y. and Lee, K. W. 2003. The effect of *Artemisia capillaris* crude juice extract on CCl₄ induced liver damage in dogs. *J. Vit. Clin.* **20**, 389-395.
39. Luppá, M., Sikorski, C., Luck, T., Ehreke, L., Konnopka, A., Wiese, B., Weyerer, S., König, H. H. and Riedel-Heller, S. G. 2012. Age- and gender-specific prevalence of depression in latest-life-systematic review and meta-analysis. *J. Affect. Disord.* **136**, 212-221.
40. Min, S. W., Kim, N. J., Baek, N. I. and Kim, D. H. 2009. Inhibitory effect of eupatilin and jaceosidin isolated from *Artemisia princeps* on carrageenan-induced inflammation in mice. *J. Ethnopharmacol.* **125**, 497-500.
41. Minkin, C. 1982. Bone acid phosphatase: tartrate-resistant acid phosphatase as a marker of osteoclast function. *Calcif. Tissue Int.* **34**, 285-290.
42. Morton, D., Barrett-Connor, E. L. and Schneider, D. L. 2001. Vitamin C supplement use and bone mineral density in postmenopausal women. *J. Bone Miner. Res.* **16**, 135-140.
43. Munhoz, T. N., Santos, I. S. and Matijasevich, A. 2013. Major depressive episode among Brazilian adults: a cross-sectional population-based study. *J. Affect. Disord.* **150**, 401-407.
44. Nair, S., Meghji, P. S., Wilson, M., Reddi, K., White, P. and Henderson, B. 1996. Bacterially induced bone destruction: mechanisms and misconceptions. *Infect. Immun.* **64**, 2371-2380.
45. Ntutela, S., Smiyh, P., Matika, L., Mukinda, J., Arendse, H., Allie, N., Estes, D. M., Mabusela, M., Folb, P., Steyn, M., Johnson, Q., Folk, W. R., Syce, J. and Jacobs, M. 2009. Efficacy of *Artemisia afra* phytotherapy in experimental tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)* **89**, S33-S40.
46. Park, E. K., Kwon, B. M., Jung, I. K. and Kim, J. H. 2014. Hypoglycemic and antioxidant effects of jaceosidin in streptozotocin-induced diabetic mice. *J. Nutr. Health* **10**, 313-320.
47. Park, H. S. 2011. Antioxidant activity of solvent extracts from *Vitis coignetia* skins. *Kor. J. Culinary Res.* **17**, 208-217.
48. Patel, R. P., McAndrew, J., Sellak, H., White, C. R., Jo, H., Freeman, B. A. and Darley-USmar, V. M. 1999. Biological aspects of reactive nitrogen species. *Biochim. Biophys. Acta.* **1411**, 385-400.
49. Pinsonneault, J. K., Sullivan, D., Sadee, W., Soares, C. N., Hampson, E. and Steiner, M. 2013. Association study of the estrogen receptor gene ESR1 with postpartum depression. *Arch. Womens Ment. Health* **16**, 499-509.
50. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* **26**, 1231-1237.
51. Rocca, W. A., Grossardt, B. R., Shuster, L. T. and Stewart, E. A. 2012. Hysterectomy, oophorectomy, estrogen, and the risk of dementia. *Neurodegener. Dis.* **10**, 175-178.
52. Ryu, J. H., Kim, R. J., Lee, S. J., Kim, I. S., Lee, H. J. and Sung, N. J. 2011. Nutritional properties and biological activities of *Artemisia annua* L. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **40**, 163-170.
53. Schmidt, P. J., Haq, N. and Rubinow, D. R. 2004. A longitudinal evaluation of the relationship between reproductive status and mood in perimenopausal women. *Am. J. Psychiatry* **161**, 2238-2244.
54. Seibel, M. J. 2005. Biochemical markers of bone turnover part I: biochemistry and variability. *Clin. Biochem. Rev.* **26**, 97-122.
55. Seritan, A. L., Iosif, A. M., Park, J. H., Deatherage, D., Sweet, R. L. and Gold, E. B. 2010. Self-reported anxiety, depressive, and vasomotor symptoms: a study of perimenopausal women presenting to a specialized midlife assessment center. *Menopause* **17**, 410-415.
56. Suda, K., Udagawa, N., Sato, N., Takami, M., Itoh, K., Woo, J. T., Takahashi, N. and Nagai, K. 2004. Suppression of osteoprotegerin expression by prostaglandin E₂ is crucially involved in lipopolysaccharide-induced osteoclast formation. *J. Immunol.* **172**, 2504-2510.
57. Suda, T., Takahashi, N. and Martin, T. J. 1992. Modulation of osteoclast differentiation. *Endocr. Rev.* **13**, 66-80.
58. Woo, J. H., Jeong, H. S., Chang, Y. D., Shin, S. L. and Lee, C. H. 2010. Antioxidant activities of fractions obtained from flowers of *Coreopsis tinctoria* Nutt. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* **28**, 115-119.

초록 : 섬애약쑥 용매별 추출물의 생리활성

김동규 · 강재란 · 신정혜 · 강민정*

((재)남해마늘연구소)

본 연구에서는 섬애약쑥(*Artemisia argyi* H.)의 생리활성 규명을 위한 연구의 일환으로 6종의 용매(butanol, chloroform, ethyl acetate, ethyl ether, hexane, methanol)로 추출하여 총 페놀화합물과 플라보노이드 함량, 항산화 및 파골세포 분화 억제 활성을 검증하였다. 섬애약쑥 용매별 추출물의 총 페놀 및 플라보노이드 화합물은 methanol 추출물에서 함량이 가장 높고 다음으로 butanol 추출물이 높으며, ethyl ether 및 hexane 추출물은 여타 추출물보다 그 함량이 낮았다. ABTS 및 DPPH 라디칼 소거활성과 FRAP법에 의한 항산화력을 측정한 결과 methanol 추출물의 항산화활성이 유의적으로 가장 높았고 hexane 추출물의 활성이 유의적으로 가장 낮았다. NO 생성 억제능은 비교적 저농도인 2.5 µg/ml에서 6종 추출물 모두 확인되었으며, 20 µg/ml 농도에서는 ethyl acetate가 가장 활성이 높고 다음으로 butanol 추출물에서 높게 측정되었다. ROS 생성 억제능은 농도 의존적으로 활성이 증가하였으며, 20 µg/ml 농도에서 ethyl acetate 추출물과 butanol 추출물이 다른 4종의 추출물 대비 활성이 높았다. TRAP 염색을 통해 용매별 추출물들의 파골세포 분화 활성을 확인한 결과 6종 추출물 모두에서 농도 의존적으로 분화 억제 활성이 증가하였으며, butanol 추출물에서 분화 억제 활성이 가장 높았다. 이상의 결과들을 종합하여 볼 때 섬애약쑥 용매별 추출물 중 butanol 추출물이 항산화 활성과 파골세포 분화억제 활성이 모두 높기 때문에 향후 골다공증의 치료 및 예방에 있어서 유효할 것으로 추정된다.