



Original Article / 원저

번행초 추출물의 항산화 및 항염증 효과

공지현, 이기연, 노대현, 이장천, 안원근, 이부균*

부산대학교 한의학전문대학원

Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of *Tetragonia tetragonoides* Water Extract

Ji Hyun Kong, Ki Yeon Lee, Dae Hyun Rho, Jang-Cheon Lee, Won Gun An,
Boo-Kyun Lee*

School of Korean Medicine, Pusan National University

ABSTRACT

Objectives : *Tetragonia tetragonoides* is one of the traditional herbal medicines that can be used to protect the stomach and treat cancer. However, its mechanism of overcoming gastrointestinal disorders is unclear. In this study, we investigated antioxidant and anti-inflammatory effects of *Tetragonia tetragonoides* Water Extract (TTWE) on RAW264.7 cells.

Methods : The cell viability by TTWE was measured by using MTT assay. The free radical scavenging ability and cytokine production were analyzed by using ELISA Kit. SPSS version 25 was used for statistical analysis.

Results : According to the results of this study, the cell viability measurement of TTWE significantly affected the cell viability. The radical scavenging ability of TTWE showed the highest effect compared to the positive control group when the concentration was 3.1-12.5 $\mu\text{g/ml}$, and significantly inhibited NO production induced by LPS. In addition, the inhibitory effect of TTWE on the production of IL-6 and TNF- α induced by LPS was significant at both TTWE concentrations of 12.5 $\mu\text{g/ml}$ [p <0.01 (IL-6), p <0.05 (TNF- α)].

Conclusion : In conclusion, it is suggested that the antioxidant function of *Tetragonia tetragonoides* Water Extract could be used to prevent and treat inflammatory diseases.

Key words : *Tetragonia tetragonoides*, antioxidant, anti-inflammatory, RAW264.7.

I. 서론

염증은 세포나 조직이 유해한 자극으로 인해 손상을 입었을 때 면역세포 및 염증 매개체들이 반응하는 중요한 생체방어 시스템이다¹⁾. 염증반응 자체는 신체 보호에 필수적인 방어체계이지만 염증이 지속되거나 그 정도가 심할 때는 오히려 알려지, 류마티스 관절염, 만성염증 등의 조직 손상이나 질병을 야기시킨다²⁾.

염증반응에는 일반적으로 급성염증과 만성염증이 있다. 급성염증은 세동맥이 일시적으로 수축하고, 히스타민과 세로토닌에 의해 혈관이 확장되어 혈류가 증가되면서 미세혈관의 투과성이 증가한다. 이어 백혈구의 변연화 및 유주에 의해 백혈구가 염증부위에서 식작용을 하게 된다³⁾. 만성염증은 급성염증보다 오랫동안 지속되며, 다양한 인자들이 관여하는데 특히 각종 매개인자에 의해 활성화된 대식세포가 염증성 물질들을 생성하여 염증을 일으킨다. 그 외에도 호중구, 비만세포, T세포 등의 세포성 요소와 혈관내피세포 성장인자와 같은 삼출성 요소 등이 만성염증에 관여한다⁴⁾.

염증반응의 징후에는 발적, 발열, 종창, 통증, 그리고 기능저하 등이 있다⁵⁾. 과도한 염증반응은 패혈증, 과중성혈관내응고(Disseminated intravascular coagulation, DIC)를 일으키며, 만성염증은 자가면역질환, 퇴행성관절염, 동맥경화를 일으키는 원인이 된다⁶⁾. 특히 최근에는 만성염증이 심뇌혈관질환, 알츠하이머, 암 등의 주요 중증 질환 뿐 아니라 비만, 당뇨, 대사증후군 등의 성인병의 원인으로 지목되어 염증 치료를 위한 다양한 시도들이 수행되고 있다⁷⁾. 이러한 염증 완화를 위해서 첫 번째로 사용되는 스테로이드계 약물은 글루코코르티코이드 수용체(glucocorticoid receptor)에 결합하여 면역반응과 염증을 억제하고 면역에 관련된 사이토카인 등의 생성을 억제한다⁸⁾. 이는 급성 염증에 탁월한 효과를 보이지만 골다공증 발생 가능성, 대사이상 등의 부작용이 있다. 다음으로는 비스테로이드성 항염증제(NSAIDs)로 사이클로 옥시게나제(cyclooxygenase, COX) 효소를 저해하고 이로 인해 합성되는 프로스타글란딘을 저해한다. 이는 실생활에 널리 이용되고 있지만 장기복용 할 경우 위장장애 및

신장질환을 야기시킬 수 있는 것으로 알려져 있다⁹⁾.

생체 내 존재하는 활성산소(reactive oxygen species, ROS)의 불균형은 세포와 조직의 손상에 의하여 류마티스 관절염이나 종양, 헌팅턴 무도병, 파킨슨병, 근위축성측삭경화증(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)과 같은 난치성 질환의 병리적 원인으로 밝혀지고 있다¹⁰⁾. 특히, 미토콘드리아 내에서 산화적 인산화반응이 일어나면 고에너지 전자이탈로 O_2^- , OH^- , H_2O_2 와 같은 자유라디칼(free radical)들이 생성되어 사립체 내의 지질과산화나 DNA, RNA 등의 산화적 손상을 유발한다¹¹⁾. 세포내 활성산소가 과다하게 축적되면 세포소기관인 사립체가 손상되어 세포 돌연변이와 퇴화를 유발하고 점진적 세포내 자유라디칼 축적에 의한 산화적 손상이 세포괴사와 이에 의한 각종 질환들의 발병률을 가속화시킨다¹²⁾. 또한, 과다한 활성산소에 의한 세포의 산화적 손상은 세포막 지질의 과산화를 유발시켜 막이 파괴되고 세포에 glutamate 등의 흥분성 아미노산 분비를 촉진하여 N-methyl-D-aspartate (NMDA) 수용체나 kainate 수용체의 과흥분을 유발시킨다. 이에 의한 결과로 세포내 과량의 Ca^{2+} 가 유입되고 새로운 활성산소가 생성되어 항상성이 파괴되는 결과를 초래하게 된다¹³⁾. 정상적인 세포는 활성산소의 균형을 위해 자체적 조절시스템을 가지고 있는데, catalase와 superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase 등의 항산화효소가 방어시스템으로써 작용한다. 이와 같은 항산화효소는 자유라디칼을 물로 변환시켜 세포에 산화적 손상이 발생하지 않도록 방어하는 작용을 한다¹⁴⁾. 그러므로, 산화적 손상에 의해 유발되는 각종 질환의 치료적 접근방법 중 하나로써 SOD나 catalase 등의 항산화제와 더불어 vitamin E, ascorbic acid 등의 활성산소 제거제를 투여한다¹⁵⁾.

번행초(*Tetragonia tetragonioides*)는 한국에서는 갯상추, 서양에서는 뉴질랜드 시금치(New Zealand spinach)로 불리는 석류풀과(Aizoaceae)에 속하는 다년생풀이다. 밑에서부터 가지가 많이 갈라지고 다육질의 돌기가 있으며, 50cm 정도의 높이까지 자라고 한 뿌리에서 둥그렇게 땅에 붙어 사방으로 퍼져 나간다. 뉴질랜드뿐 아니라 일본, 중국, 남아시아, 호주,

*Corresponding author : Boo-Kyun Lee, School of Korean Medicine, Pusan National University, 49, Busandaehak-ro, Mulgeum-eup, Yangsan-si, Gyeongsangnam-do, 50612, Republic of Korea.

Tel : +82-51-510-8460, Fax : +82-51-510-8420, E-mail : samzon58@pusan.ac.kr

•Received : April 27, 2020 / Revised : May 24, 2020 / Accepted : May 25, 2020



남아메리카 등지에서 분포하는 변행초는 생명력이 강해 자갈밭이나 바위틈처럼 척박하고 건조한 곳에서도 잘 자라고, 우리나라에서는 남부지방 및 제주도의 바닷가에서 군락지를 형성하며 자란다. 예로부터 우리나라에서 변행초는 ‘바다의 상추’라 할 정도로 귀하게 여겨진 약초로 산에서 자라는 약초인 ‘삼주뿌리’와 나무인 ‘에덕나무’와 함께 위장관계 질환에 좋은 ‘3대 약초’로 잘 알려져 있다. 또한 중약에서는 변행초를 변행이라 하여 한의학적으로 전초는 청열, 해독, 거풍, 소종의 효능으로 장염, 패혈증, 용종창독, 풍열목적의 치료에 사용되어지며, 위장염과 위궤양, 위암, 자궁암, 피부의 뾰루멍이나 기름구멍으로 화농균이 침입하여 생기는 부스럼 등을 치료하는 데 쓰인다. 또한 차로 끓여 장기 복용하면 만성위장병과 장 질환, 그리고 심장병에도 효과가 있다¹⁶⁾. 변행초에서 분리된 성분으로는 β-carotene, diterpene¹⁷⁾, flavone, cerebrosides, oxalic acid, sterylglucoside와 polysaccharide¹⁸⁾ 등이 있으며, 항산화와 항균효과¹⁹⁾ 및 항궤양²⁰⁾의 활성이 보고되고 있다.

본 연구에서는 변행초의 유효성분을 열수 추출하여 세포생존율, NO(Nitric oxide)생성 억제능, DPPH 라디칼 소거능, 그리고 염증과 관련된 cytokine의 수준을 통계학적으로 분석하여 염증치료제로서 변행초의 가능성을 확인하였다.

II. 재료 및 방법

재료 및 시료 추출

변행초는 규격품을 (주)광명당(울산시)에서 구입하였다. 변행초 건조체 100g을 2L의 물에 30분간 침지하여 충분히 적신 후 용액을 버리지 않고 약탕기에 120분 동안 전탕하였다. 용액을 실온으로 식힌 후 여과 용지에 걸러진 맑은 용액을 취하였다. 걸러진 변행초를 1L의 물에 다시 120분 동안 전탕하여 여과 과정을 반복하였다. 이러한 방식으로 전탕, 여과 과정을 총 3번 수행하여 변행초 추출용액을 얻었고 용액을 가열, 교반하여 용매를 증발시켜 변행초 추출용액을 농축시켰다. 농축한 후 동결건조하여 변행초 추출액 분말(*Tetragonia tetragonoides* Water Extract, TTWE)을 얻었다²¹⁾. 추출결과 수율은 4.98%였다.

시약

Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)은 Hyclone (Thermo Scientific Inc., Bremen, Germany)에서 구입하였고, fetal bovine serum (FBS)은 Sigma Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)로부터, penicillin 및 streptomycin은 Gibco/BRL (Grand Island, NY)에서 구입하였다. 또한, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT), sulfanilamide, lipopolysaccharide (LPS), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 및 다른 모든 시약들은 Sigma Aldrich Co.에서 구입하였다.

세포 배양

대식세포주인 RAW264.7 세포는 한국세포주은행 (Seoul, Korea)에서 분양받아 10% (v/v) FBS와 1% (v/v) penicillin/streptomycin이 포함된 DMEM 배지를 이용하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 계대 배양하였다.

세포생존율 측정

MTT assay를 이용하여 TTWE에 의한 세포 생존율을 측정하였다. RAW264.7 cell을 96 well plate에 5×10⁴ cells/well로 분주하여 16시간 배양한 후, TTWE를 농도별(3.1-50 μg/ml)로 처리하여 1시간 동안 배양하였다. 그 후, LPS (10 μg/ml)를 처리하여 37°C, 5% CO₂ 조건의 배양기에서 20시간 배양하였다. 세포배양액을 제거한 후, 세포에 MTT를 0.5 mg/ml의 농도로 처리하여 4시간 배양한 후, 배지를 제거하고 생성된 formazan crystals을 dimethyl sulfoxide에 녹여 ELISA microplate reader (Tecan, USA)로 570 nm에서 흡광도를 측정하여 세포의 생존율을 구하였다. 무처리 대조군 대비 처리군의 흡광도의 백분율을 상대적 세포생존율로 나타내었다.

$$\text{세포 생존율 (\%)} = \frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{무처리 대조군의 흡광도}} \times 100$$

DPPH 라디칼 소거능

96well plate에 증류수로 희석한 농도별(0.25-25 μg/ml) TTWE 100 μl와 0.2mM DPPH 100 μl을 혼합한 후 빛을 차단하여 실온에서 30분간 반응시켰다. ELISA microplate reader를 이용하여 517 nm에서

흡광도를 측정하였다. 시료를 처리하지 않은 대조군에 대한 흡광도의 차이를 비교하여 라디칼 소거능을 백분율로 나타내었다. 양성 대조군으로는 Ascorbic acid를 사용하였다.

DPPH radical scavenging activity (%)=

$$\left(1 - \frac{\text{시료 첨가군 흡광도}}{\text{대조군 흡광도}}\right) \times 100$$

Nitric oxide (NO) 생성 억제능 측정

RAW264.7 cell을 96 well plate에 1×10^5 cells/well 로 분주하여 16시간 배양한 후, TTWE를 농도별(3.1-50 $\mu\text{g/ml}$)로 처리하여 1시간 동안 배양하였다. 그 후, LPS (10 $\mu\text{g/ml}$)로 처리하여 37°C, 5% CO₂ 조건의 배양기에서 20시간 배양하고, NO의 양을 Griess 시약으로 측정하였다. 즉, 세포배양액 100 μl 와 Griess 시약(1% sulfanilamide in 5% phosphoric acid + 1% α -naphthylamide in H₂O) 100 μl 를 혼합하여 96 well plate에서 15분 동안 반응시킨 후, 540 nm에서 ELISA microplate reader (Tecan, USA)로 흡광도를 측정하였다. Sodium nitrite (NaNO₂)로 흡광도를 측정하여 표준곡선을 얻은 후, NO의 농도를 산출하였다.

Cytokine 생성량 측정

96 well plate에 세포(5×10^5 cells/ml)를 분주하여 16시간 동안 배양한 후, TTWE를 농도별(3.1-12.5 $\mu\text{g/ml}$)로 1시간 처리한 후, LPS로 처리하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 20시간 배양하였다. 세포배양액 안에 존재하는 IL-6와 TNF- α 생성량을 ELISA Kit (ThermoFisher scientific, Bender MedSystems GmbH, Vienna, Austria)를 사용하여 측정하였다.

통계학적 분석

모든 실험결과는 3회 이상 실험을 반복하여 얻은 자료를 이용하여 평균 \pm 표준편차로 나타내었으며, 통계학적 분석에는 SPSS version 25 (IBM, Armonk, NY, USA)를 이용하였다. 실험군 간 비교에는 one-way analysis of variance (ANOVA) 및 independent t-test를 이용하였고, $p < 0.05$ 를 통계학적으로 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

III. 결과

TTWE의 세포 생존율

TTWE의 세포독성효과를 MTT 방법을 이용하여 측정한 결과, 세포생존율은 25-50 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 유의성을 나타냈으며 (25 $\mu\text{g/ml}$, # $p < 0.05$; 50 $\mu\text{g/ml}$, ## $p < 0.01$), 3.1-12.5 $\mu\text{g/ml}$ 의 TTWE 농도에서는 세포생존율에 영향을 미치지 못하였다 (Fig. 1).

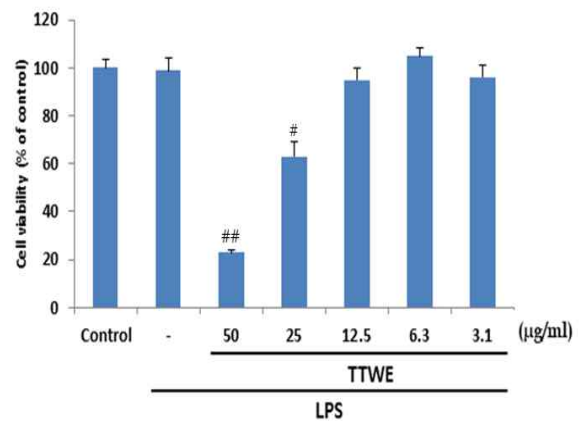


Figure 1. Cytotoxic effects of TTWE in RAW264.7 cells. The cytotoxic effects of TTWE in cells were determined by MTT assay. Cells (2.5×10^5 cells/ml) were treated with various concentrations of TTWE for 1 h prior to the addition of LPS (10 $\mu\text{g/ml}$), and then the cells were further incubated for 20 h. Control cells were incubated with the vehicle alone. Three independent experiments were performed, and data shown represent the mean \pm SD. ## $p < 0.01$, # $p < 0.05$, significant compared with LPS alone.

TTWE의 DPPH 라디칼 소거능

TTWE의 DPPH 라디칼 소거능은 TTWE 추출액의 농도가 0.25-2.5 ($\mu\text{g/ml}$) 일 때 농도 의존적으로 증가하였다. TTWE 추출액의 농도가 2.5 $\mu\text{g/ml}$ 일 때 라디칼 소거능 93.65 \pm 1.79%로서 양성 대조군인 Ascorbic acid에 근접한(94%) 가장 높은 라디칼 소거능을 보여 주었다(Fig. 2).

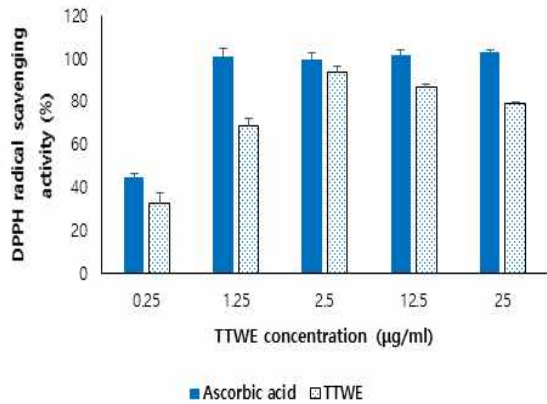


Figure 2. DPPH free radical scavenging activity of TTWE. The results are represented as mean ± S.D. of triplicates data. Ascorbic acid was used as positive control ($p < 0.05$).

LPS로 유도된 NO 생성에 미치는 TTWE의 효과

RAW 264.7 cell을 이용하여 LPS로 유도된 NO 생성에 대한 TTWE의 억제효과를 측정하였다. 대조군과 비교할 때, LPS군 (10 µg/ml, 20 h)은 약 6.2배의 NO 생성이 증가하였으며, TTWE 처리군(3.1–50 µg/ml)은 농도 의존적으로 LPS로 유도된 NO의 생성을 유의성 있게 억제하였다 (3.1–12.5µg/ml, # $p < 0.05$; 25 및 50 µg/ml, ## $p < 0.01$, Fig. 3).

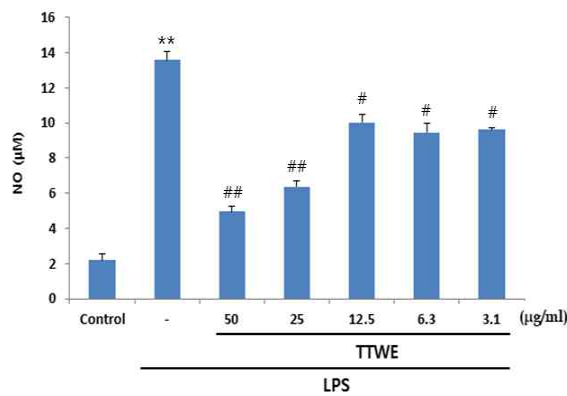


Figure 3. Inhibitory effects of TTWE on NO production by LPS. The RAW264.7 cells (5×10^5 cells/ml) were treated with various concentrations of TTWE for 1 h prior to the addition of LPS (10 µg/ml), and then the cells were further incubated for 20 h. Control

cells were incubated with the vehicle alone. The concentrations of NO in culture medium were monitored. Data represent the mean±SD from three separate experiments. ** $p < 0.01$, significant compared with vehicle-treated control; ## $p < 0.01$, # $p < 0.05$, significant compared with LPS alone.

TTWE가 LPS로 유도된 IL-6 및 TNF-α의 생성에 미치는 효과

LPS로 유도된 IL-6 및 TNF-α의 생성에 대한 TTWE의 억제효과는 enzyme immunoassay 방법을 이용하여 확인하였으며, LPS 처리군(1 µg/ml, 20 hr)은 대조군과 비교해 볼 때 유의성을 나타내었다 ($p < 0.01$). 또한 LPS로 유도된 IL-6 및 TNF-α 생성에 대한 TTWE의 억제효과가 12.5 µg/ml의 TTWE 농도에서 모두 유의성 있게 [$p < 0.01$ (IL-6), $p < 0.05$ (TNF-α)] 나타났다(Fig. 4).

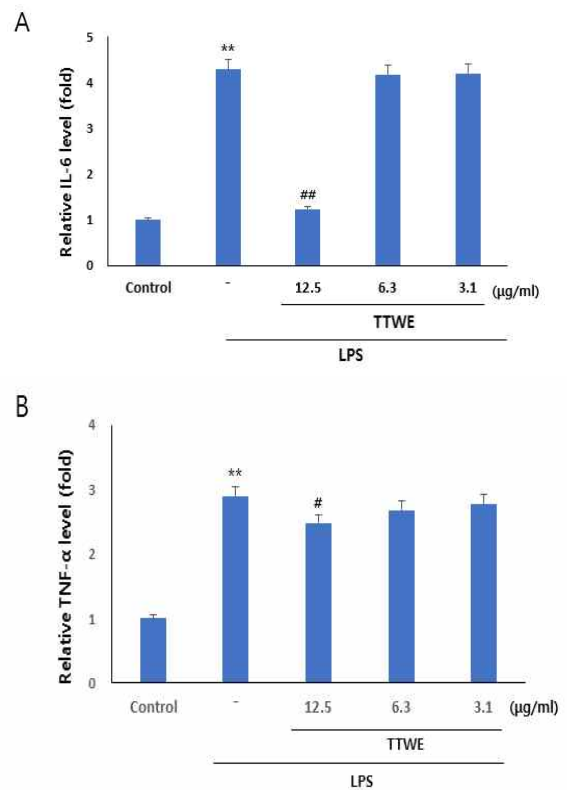


Figure 4. The inhibitory effects of TTWE on LPS-induced production of inflammatory cytokines (IL-6 and TNF-α) in RAW 264.7 cells. The cells

(5×10^5 cells/ml) were treated with various concentrations of TTWE for 1 h prior to the addition of LPS (1 $\mu\text{g/ml}$), and then the cells were further incubated for 20 h. Control cells were incubated with the vehicle alone. The levels of inflammatory cytokines were measured by ELISA (A and B). Data represent the mean \pm SD from three separate experiments. $**p < 0.01$, significant compared with vehicle-treated control; $\#p < 0.05$, $\#\#p < 0.01$, significant compared with LPS alone.

IV. 고찰

번행초는 민간에서 위장보호 및 위장장애, 위암 치료²²⁾를 위하여 사용되고 있다. 항암작용에 있어서는 IL-6와 TNF- α 생성감소로 인한 생명연장 효과가 입증²³⁾ 되었으나 기타 암을 치료하는 효과와 작용기전에 대한 연구자료는 미비하다. 최근 번행초의 항염²⁴⁾, 위염 및 소화불량에 대한 효능 및 항산화 기능²⁵⁾을 토대로 미용식품으로의 가능성²⁶⁾, 항염증 효과와 중앙억제 메커니즘 연구²⁷⁾, 그리고 당뇨 치료 효과²⁸⁾가 검증되는 등, 생체 내 다양한 기능이 밝혀지고 있으므로 새로운 연구분야로 기대되는 약재 중 하나이다.

본 연구에서는 그동안 연구가 활발히 이루어지지 않았던 번행초의 중앙억제 기능과 항산화, 항염증 작용과의 연관성에 대해서 알아보았다.

MTT분석법은 세포의 미토콘드리아 기능을 알아냄으로써 Succinate dehydrogenase와 같은 효소의 활성을 측정하여 세포 생존율을 계산하는 방법이다. MTT는 NADH에 의해 자주색 포르마잔으로 환원된다. 이 부산물은 특정 파장에서 흡광도로 측정될 수 있다²⁹⁾. 570nm에서 흡광도를 측정하여 세포생존율을 구한 결과, 25 및 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도를 설정하여 관련 실험을 진행하였다. TTWE의 DPPH 라디칼 소거능은 Ascorbic acid에 근접한 높은 라디칼 소거능을 보여 주었다. DPPH 라디칼 소거능은 pseudo-monomolecular mechanism과 일정한 반응을 보이며 항산화 메커니즘을 검증하는 데에 유용하며³⁰⁾, 화학

량적 방법을 이용하여 반응기질 한 분자당 환원된 DPPH의 분자수를 계산하는데, 최근 항산화반응을 계산하는 가장 일반적인 사용법이다. 반응 후에 나타나는 ascorbic acid의 Molarity 또한 항산화반응의 중요한 지표인데, 실험 후에 나타난 결과값으로 항산화반응을 측정하는데 유의미한지 알 수 있다³¹⁾.

NO는 염증 생성에 중요한 역할을 하는 분자로서 과생성이 억제되어 정상 상태일 때 항염효과를 준다³²⁾. 또한, NO는 혈관 확장, 평활근 수축, 신경신호 전달, 혈소판 응집 억제, 면역조절 등의 다양한 생물학적 기능을 조절하는 유리라디칼로서 항암이나 항균작용뿐 아니라 다양한 염증성 질환의 발병에도 관여한다. NO가 필요 이상으로 과다 생성되면 염증 반응의 항진, 과도한 혈관 확장에 의한 패혈성 쇼크 유발, 상처 치유의 억제, 전신성 홍반성 루푸스의 병인이 되며, 면역 기능의 저하 및 세포고사를 유발하고 일부에서 암과 같은 질환을 발생시킨다³³⁾. TTWE가 농도 의존적으로 LPS로 유도된 NO의 과다생성을 조절함으로써 항염작용을 기대할 수 있다.

염증성 cytokine인 IL-6와 TNF- α 는 면역학적 기능이 다양할 뿐 아니라 target cell과 상호작용을 하며³⁴⁾, 염증을 매개하고 조절한다. 또한, 다른 면역세포들을 활성화시키고 류마티스성 관절염 같은 염증성 질환을 일으킬 수 있다³⁵⁾. 특히, IL-6는 주로 단핵구나 대식세포에서 분비되며, 증식하는 B세포가 형질세포로 전환되는 마지막 분화단계를 증진시켜 항체분비를 자극하는 작용을 한다. IL-6의 수준은 염증성 병변에서 항상 증가하는 것으로 보고되고 있다³⁶⁾. 최근에, 약초들의 추출성분을 이용하여 IL-6 및 TNF- α 와 같은 염증성 사이토카인을 억제³⁷⁾시킴으로써 염증성 질환을 치료하는 새로운 연구영역이 확대되고 있다. LPS로 대식세포를 자극하면 많은 양의 IL-6 및 TNF- α 가 방출되며, 이러한 cytokine들에 대한 TTWE의 억제효과를 ELISA kit를 이용하여 측정하였다. LPS는 IL-6 및 TNF- α 의 생성을 유의성 있게 증가시켰으며, TTWE (12.5 $\mu\text{g/ml}$)는 LPS로 유도된 IL-6 및 TNF- α 의 생성을 유의성 있게 억제시켰다. 본 연구결과는 TTWE는 IL-6 및 TNF- α 를 억제함으로써 염증을 완화하는 약물로서 가능성이 있음을 시사한다.



앞으로 번행초의 항산화 효과와 염증 진행의 억제에 관한 기능을 세포 내에서 명확하게 규명하여 암, 관절염, 죽상경화증 등, 염증성 질환의 예방과 치료에 관한 중요한 자료를 제공해야 할 것이다³⁸⁾.

V. 결론

번행초의 항산화활성, 염증억제 반응을 확인함으로써 염증치료제 및 항산화제로서의 가능성을 확인하였다.

1. TTWE의 세포 생존률 측정 결과 세포생존율은 25-50 µg/ml의 농도에서 유의성을 나타냈다.
2. LPS로 유도된 NO생성에 대한 TTWE의 억제효과를 측정한 결과 번행초는 농도 의존적으로 NO의 생성을 유의미하게 억제함을 확인하였다.
3. TTWE의 DPPH라디칼 소거능은 양성 대조군인 Ascorbic acid에 근접한 높은 수치로 확인되었다.
4. LPS로 유도된 IL-6 및 TNF-α 생성에 대한 TTWE의 억제효과가 12.5 µg/ml의 TTWE 농도에서 모두 유의성 있게 [$p < 0.01$ (IL-6), $p < 0.05$ (TNF-α)] 나타났다.

결론적으로 번행초의 항산화활성 및 염증억제에 대한 유효한 효과를 확인하여 항산화제, 염증성 질환의 예방과 치료제로서 가능성을 제시하였다.

이 논문은 부산대학교 기본연구지원사업(2년)에 의하여 연구되었음.

References

1. NH Kim, Pro-inflammatory inhibition effect of Ferulic acid isolated from *Tetragonia tetragonoides*. Kyungpook National University thesis dissertation, 2016.
2. L Chen, Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*. 2018;9:7204-7218.
3. C Gabay, Interleukin-6 and chronic inflammation. *Arthritis Res. Ther.* 2006;8:53.
4. P Fang, Immune cell subset differentiation and tissue inflammation. *Journal of Hematology & Oncology*. 2018;11(1):97.
5. SL Masters, A Simon, I Aksentijevich, DL Kastner, *Horror aut inflammaticus: the molecular pathophysiology of autoinflammatory disease*. *Ann. Rev. Immunol.* 2009;27:621-668.
6. RP Tracy, The Five Cardinal Signs of Inflammation. *The Journals of Gerontology: Series A*. 2006;61(10):1051-1052.
7. IH Kim, CH Choi, SW Lee, YS Song, Anti-inflammatory Effect of Mugi-hwan Water Extract in RAW 264.7 Cells. *Journal of Korean Medicine Rehabilitation*. 2013;23(3): 27-35.
8. SH Lee, YH Choi, Link between Periodontal Disease and Cancer: A Recent Research Trend, *Journal of Life Science*. 2013;23(4): 602-608.
9. Rostom A, Dube C, Wells G, Tugwell P, Welch V, Jolicoeur E, McGowan J. Prevention of NSAID-induced gastroduodenal ulcers. *Cochrane Database Syst Rev*. 2002;4:DC002296.
10. BJ Kim, Glucocorticoid and Pain Treatment, *The Journals of critical pain*. 2002;1(2):63-69.
11. DC Wallace, Science. Mitochondrial genetics: A paradigm for aging and degenerative diseases. *Science*. 1992;256:628-632.
12. S Loft, A Astrup, B Buemann, HE Poulsen, H.E. Oxidative DNA damage correlates with oxygen consumption in humans. *FASEB J*. 1994;8:534-537.
13. S Duffy, BA MacViar, In vitro ischemia promotes calcium influx and intracellular calcium release in hippocampal astrocytes. *J Neurosci*. 1996;16(1):71-81.
14. Al Harabin, JC Braisted, ET Flynn, Response of antioxidant enzymes to intermittent and continuous hyperbaric oxygen. *J Appl physiol*. 1990;69:328-335.
15. JM Jacobson, JR Michael, MH JR Jafri, GH Gurtner, Antioxidants and antioxidant enzymes protect against pulmonary oxygen toxicity in the rabbit. *J Appl Physiol* 1990;68: 1252-1259.
16. JK J, 『Healthy native grass』. Nexus Books,

- 2009:267.
17. T Aoki, K Takagi, T. Hira, Two naturally occurring acyclic diterpene and norditerpene aldehydes from *Tetragonia tetragonoides*. *Phytochemistry*. 1982;21(6):1361-1363.
 18. M Kato, T Takeda, Y Ogihara, Studies on the structure of polysaccharide from *Tetragonia tetragonoides*. I. *Chem. Pharm. Bull.* 1985; 33(9):3675-3680.
 19. HY Ryu, KH Bae, EJ Kim, SJ Park, BH Lee, 2007, Evaluation for the Antimicrobial, Antioxidant and Antithrombosis Activity of Natural Spices for Fresh-cut yam. *J. Life Sci*, 17(5): 652-657.
 20. E Okuyama, M Yamazaki, The principles of *Tetragonia tetragonoides* having anti-ulcerogenic activity. II. Isolation and structure of cerebrosides. Isolation and identification of a sterol glucoside mixture (compound A). *Yakugaku zasshi* 1983;31(7): 43-48.
 21. JH Kim, CS Seo, WYJeon, HK Shin, The Compositional Differences of Sipjeondaebotang(Siquandabu-tang), Decoctions Extracted by Different Extraction Method and Extraction Time. *The Journal of Oriental Obstetrics & Gynecology*. 2012;25(2):108-119.
 22. GY Choi, 『Chinese Herb』. Vol.2:Shanghai Science and Technology Press, 1999:752-3.
 23. JC Lee, Effect of the Solvent Extracts from *Tetragonia tetragonoides* on the Activity of Tumor and Anti-inflammatory Cells in Mice. Graduate School of WonKwang Univ. 1991.
 24. SI Kodato, M Nakagawa, T Hino, Synthesis of cerebroside B1b with antiulcerogenic activity II. Total synthesis and determination of absolute configuration of cerebroside B1b and its stereoisomers. *Tetrahedron*. 1989;45(23): 7263-7280.
 25. YG Park, YH Nam, Studies on the Anti-oxidative effects of *Tetragonia tetragonoides* (Pall.) O. KUNTZE. 1983;17(2):191-191.
 26. JB Jo, EH Lee and YJ Jo, Beauty Food Activities of Isolated Phenolic Compounds from *Tetragonia tetragonoides*. *The Korean Society of Food Science and Nutrition*. 2016:333-341.
 27. EY Ko, SH Cho, KP Kang, GB Kim, JH Lee, YJ Jeon, DK Kim, GA Ahn, KN Kim, Anti-inflammatory activity of hydrosols from *Tetragonia tetragonoides* in LPS-induced RAW 264.7 cells. *EXCLI J.* 2017; 16:521-530.
 28. HJ Choi, ST Yee and WH Joo, Antidiabetic Activity of Polysaccharide Extract from *Tetragonia tetragonoides* in Streptozotocin-induced Diabetic Mice. *Journal of Life Science* 2017;27(5):579-583.
 29. OS Aslanturk, 『Genotoxicity: A Predictable Risk to Our Actual World』. BoD - Books on Demand. 2018:4.
 30. V Bondet, W Brand-Williams, C Berset. Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH Free Radical Method. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 1997; 30:609-615.
 31. P Molyneux. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Schi. Technol.*, 2004;26:211-219.
 32. JN Sharma, A Al-Omran, SS Pavathy. Role of nitric oxide in inflammatory disease. 2007;15(6):252-259.
 33. HJ Koo. Inhibition of iNOS mRNA expression and NO production by LED light irradiation. Nambu University. School of Health and Welfare. 2010.
 34. B Beutler, A Cerami. The biology of cachectin/TNF- α primary mediator of the host response. *Annu. Rev. Immunol.* 1989;7:625-655.
 35. M Guslandi. Nitric oxide and inflammatory bowel diseases. *Eur. J. Clin. Invest.* 1998; 28: 904-907.
 36. AV Delgado, AT McManus, JP Chambers.



- Production of Tumor Necrosis Factor- α , Interleukin 1- β , Interleukin 2, and Interleukin 6 by rat leukocyte sub-populations after exposure to Substance P. *Neuropeptides*. 2003;37:355-361.
37. SJ Kim, HJ Jeong, PD Moon, KM Lee, HB Lee, HJ Jung, SK Jung, HK Rhee, DC Yang, SH Hong, HM Kim. Anti-inflammatory activity of Gumiganghwaltang through the inhibition of nuclear factor- κ B activation in peritoneal macrophages. *Biol. Pharm. Bull.* 2005;28:233-237.
38. K. Sheeja, P. K. Shihab, G. Kuttan. Antioxidant and anti-inflammatory activities of the plant *Andrographis Paniculata* Nees. *Immunopharmacology and immunotoxicology*, 2006; 28:129-140.