

개똥쑥 용매추출 방법에 따른 항산화 활성 및 항염증 효과

오희경[†]

장안대학교 건강과학부 바이오동물보호과
(2022년 11월 30일 접수: 2022년 12월 26일 수정: 2022년 12월 26일 채택)

Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of *Artemisia annua* L. According to Extract Methods

Hee-Kyung Oh[†]

Department of Bio-animal care, Jangan University Samcheonbyeongma-ro 1182, Korea
(Received November 30, 2022; Revised December 26, 2022; Accepted December 26, 2022)

요 약 : 개똥쑥(*Artemisia annua* L.)은 국화과 (Compositae)에 속하는 일년생 초본으로 예로부터 진통, 안면마비 등의 신경계 질환과 위염, 호흡기 등의 질병치료 목적으로 이용되는 식물로 알려져 있다. 개똥쑥을 열수 및 70% 에탄올로 추출하여 추출용매에 따른 추출물의 농도별로 항산화 활성 및 항염증 효과에 미치는 영향을 검토하고자 실시하였다. 총 polyphenol의 함량은 개똥쑥 70% 에탄올 추출물에서 열수 추출물에 비하여 유의적으로 높게 나타났으나, 총 flavonoid 함량은 개똥쑥 열수 추출물과 70% 에탄올 추출물에서 유의적 차이는 보이지 않았다. DPPH radical 소거능력과 ABTS radical 소거능력은 62.5~500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서는 비타민 C 처리구에서 가장 높게 나타났고 그 다음으로는 70% 에탄올 추출물, 열수 추출물 순으로 높게 나타났다. 125 ~ 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 NO 생성 억제효과를 측정된 결과 열수 추출물에서는 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서 강한 NO 생성 억제를 보이며, 농도의존적으로 NO 생성 억제를 나타냈다. 70% 에탄올 추출물에서는 NO 생성 억제 뿐 아니라 염증성 사이토카인 발현을 현저히 억제하는 결과를 보이며, 농도의존적인 억제 효과를 나타냈다. 개똥쑥은 항산화효과 및 염증성 사이토카인의 발현을 현저히 감소시키는 효과를 보이므로 염증성 질환 치료 및 개선에 널리 사용될 수 있으리라 사료된다.

주제어 : 개똥쑥, 추출용매, 항산화효과, 항염증효과, 염증성 사이토카인

Abstract : This study was to investigate the antioxidant and anti-inflammatory activity of leaf and stem of *Artemisia annua* L. extract by hot water and 70% ethanol. The total polyphenol content was significantly higher in the 70% ethanol extract of *Artemisia annua* L. than in the hot water extract, but there was no significant difference in the total flavonoid content between the hot water extract and the 70% ethanol extract. The DPPH radical and ABTS radical scavenging ability

[†]Corresponding author
(E-mail: hkoh@jangan.ac.kr)

was the highest in the vitamin C treatment group at the concentration of 62.5~500 $\mu\text{g/mL}$, followed by the 70% ethanol extract and the hot water extract. As a result of measuring the NO production inhibitory effect at 125 ~ 500 $\mu\text{g/mL}$, the hot water extract showed strong NO production inhibition at the concentration of 500 $\mu\text{g/mL}$, and showed the inhibition of NO production with concentration-dependent pattern. In addition to inhibitory activity of NP production, the 70% ethanol extract also showed an inhibitory effect on inflammatory cytokines production. It is thought that it can be widely used in the treatment and improvement of inflammatory diseases because it shows antioxidant effects and significantly reduces the expression of inflammatory cytokines.

Keywords : *Artemisia annua* L., *Extract solvents*, *antioxidant effect*, *anti-inflammatory effect*, *Inflammatory Cytikones*

1. 서론

체내의 대사과정에서 유발되는 활성산소류(ROS, reactive oxygen species)는 대부분의 전자 운반 기전 중 완전하지 못하게 환원되거나 cytokine 등 같은 자극에 의해 생성된다. 정상적인 경우에는 체내에 존재하는 항산화 시스템에 의해 활성산소류는 제거되지만 산화-항산화 시스템의 균형이 깨어지게 되면 세포는 산화적 손상을 입게 되어 지질 과산화, 단백질의 변성, DNA 손상 및 면역계 교란 등으로 인한 노화, 당뇨, 비만과 같은 각종 질병들을 야기하게 된다[1]. 따라서 이러한 질병의 원인이 되는 활성산소류에 의한 체내 조직 손상을 보호하는 생리활성 물질에 대한 많은 연구가 활발히 진행되고 있다[2-7].

개똥쑥(*Artemisia annua* L.)은 국화과에 속하는 일년생 초본으로 예로부터 진통, 안면마비 등의 신경계 질환과 위염, 호흡기 등의 질병치료 목적으로 이용되는 식물로 알려져 있다[8, 9]. 개똥쑥은 주로 유럽과 중국, 한국, 일본 등 아시아 전역 및 아메리카 지역의 임야에서 서식하고 있으며, 전 세계적으로 약 400여종이 자생하고 있다[10]. 개똥쑥 높이는 약 1m정도에 달하고 우리나라의 경기, 제주, 평북, 함남 지역에 인가 부근, 황무지, 길가, 산비탈 등지에 널리 분포되고 있다. 우리나라에서는 개똥쑥이란 식물명은 손으로 식물의 잎을 비비면 나는 냄새가 개똥 냄새가 난다고 하여 붙여진 이름으로, 잔잎쑥, 비쑥으로도

불린다[11]. 개똥쑥에 유효성분 관한 연구로는 phenolic acid 및 catechin류를 비롯한 rutin, quercetin, chlorogenic acid 등 항산화 활성이 높은 페놀 화합물이 함유되는 것으로 밝혀졌다[12, 13]. 성분연구로는 artemisinin류의 화합물인 dihydroartemisinin, artesunate, deoxyartemisinin, artemether 그 밖에 aliphatics, coumanins, sterols, triterpenoids 등과 에센셜 오일에 많은 휘발성 유기화합물 등 각종 생리활성 물질이 다량 함유되어 있다고 보고한 바 있다[14]. 이런 화합물들은 항암 활성, 항산화 활성, 항염증 활성, 항통각 활성, 항박테리아 활성, 항균활성, 항알러지 활성 등 다양한 생리적 활성이 있음이 보고되고 있다[15-22]. 예로부터 중국에서는 말라리아 치료하는 한약초로 잘 알려져 있는데 sesquiterpene의 주성분인 artemisinin이 강력한 항말라리아 효능이 있는 것으로 알려져 있다[23]. 개똥쑥을 20, 40, 60, 80, 99.5% 에탄올 용매로 추출하여 생리활성을 조사한 결과, 총 phenol과 flavonoid 함량은 40% 에탄올 추출물에서 가장 높았고 항산화효과는 20%와 40% 에탄올 추출물에서 가장 높았다는 결과들을 통하여 특정 생리활성 물질의 추출시 특정한 농도의 용매가 필요하다는 것으로 보고하였다 [24].

따라서, 본 연구에서는 개똥쑥 열수와 70% 에탄올용매에서 추출한 개똥쑥 추출물의 항산화 활성과 NO 생성 및 염증성 사이토카인을 발현을 비교해 열수와 70% 에탄올 용매에 따른 개똥쑥의 항염증 효과를 살펴보았다.

2. 실험

2.1. 재료 및 시약

개풍쑥(*Artemisia annua* L.)은 강화도 지역에서 채취하여 건조시킨 개풍쑥을 구입하여 사용하였다. 비타민 C, ethanol, tannic acid, Folin reagent, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), sodium carbonate (Na₂CO₃), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS)으로 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 또한 FBS (fetal bovine serum : Thermo Fisher Scientific Inc., USA), DMEM 배지 (Cellgro Mediatech : Mediatech Inc., USA), EZ-Cytox(DoGen bio, Korea), lipopolysaccharide(LPS : Sigma-Aldrich, USA), Griess reagent(Nitric Oxide detection kit : iNtRON, Korea) 등을 구입하여 사용하였다. 한국세포주은행으로부터 공급받은 마우스 대식세포 Raw 264.7 세포는 실험실에서 배양하면서 실험에 사용하였다. TNF- α 와 IL-1 β 측정에 사용한 primer는 바이오니아 (bioneer, Korea)에서 구매하였다.

2.2. 시료추출

건조된 개풍쑥 50 g을 증류수 500 mL에 넣고 90°C에서 12시간 동안 3회 반복 추출하여 열수 추출물을 얻었다. 건조 개풍쑥 50 g을 70% ethanol 500 ml에 넣은 후 실온에서 12시간씩 교반하면서 3회 반복 추출하였다. 개풍쑥 열수 및 70% 에탄올 추출물은 감압회전농축기(N-1000S-W, EYELA, Tokyo, Japan)로 농축하고 동결건조(Bondiro Vacuum Freeze-Dryer, Ilshin Lab Co., Ltd, Seoul, Korea) 시킨 후 -70°C 냉동고에서 보관하여 실험 시료로 사용하였다.

2.3. 총 polyphenol 및 flavonoid 함량

총 polyphenol을 측정하기 위해 개풍쑥 열수 및 70% 에탄올 추출용액을 농도별로 희석하여 시료액 40 μ l를 eppendoff tube(e-tube)에 넣고 증류수 200 μ l를 첨가하여 교반한 후 Folin reagent 200 μ l를 혼합하여 즉시 교반한 후 3분 동안 실온에서 반응시켰다. 반응 후 10% Na₂CO₃ 600 μ l을 혼합하고 증류수 160 μ l 첨가하여 즉시 교반하였다. 교반된 혼합물을 실온

조건의 암실에서 2시간 동안 반응시켰다. 상등액 200 μ l를 취하여 96 well plate에 옮긴 후 microplate reader (UV-1601PC, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 polyphenol 함량은 tannic acid를 이용하여 작성한 표준검량곡선으로부터 함량을 구했다.

개풍쑥에 함유된 총 flavonoid를 측정하기 위해 개풍쑥 열수 및 70% 에탄올 추출용액을 농도별로 희석하여 시료액 100 μ l를 e-tube에 넣고 증류수 400 μ l를 첨가하여 교반한 후 5% NaNO₃ 용액 30 μ l를 넣고 즉시 교반한 후 컷 e-tube에 5% NaNO₃를 첨가한 시점부터 5분 후에 10% AlCl₃ 300 μ l를 첨가하여 6분 동안 실온에서 반응시킨다. 반응 후 1M NaOH 200 μ l 첨가하고 증류수 240 μ l를 첨가하여 잘 혼합한다. 혼합물의 상층액 200 μ l를 조심스레 취하여 96 well plate에 옮긴 후 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. tannic acid를 표준물질로 기초로 하여 작성한 표준곡선으로부터 총 flavonoid 함량을 구했다.

2.4. DPPH free radical 소거활성

개풍쑥 추출 용매별 용액을 농도별로 희석하여 시료액 40 μ l를 96 well plate에 처리하였고 200 μ M 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) 용액을 160 μ l 첨가 하였다. 37°C 암실에서 30분 동안 반응시킨 후 510 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조구으로 비타민 C를 사용하였다. DPPH radical 소거활성은 100- [(시료첨가구에 대한 흡광도/시료무첨가구에 대한 흡광도)X100] 으로 나타내었다.

2.5. ABTS radical 소거활성

개풍쑥 추출 용매별 ABTS radical 소거활성을 측정하기 위해 먼저 7.4 mM ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) 시약과 2.6 mM potassium persulfate 시약을 제조하여 두 시약을 1:1로 혼합 후 24시간 동안 암실에서 반응시켰다. ABTS 용액을 인산완충용액으로 732nm에서 흡광도가 0.8 전후가 되도록 희석한다. 개풍쑥 추출용매별 용액을 농도별로 희석하여 시료액 50 μ l를 e-tube에 넣고, 희석한 ABTS 용액 950 μ l를 가한 후 교반하고 암실에서 10분 동안 반응시켰다. 혼합물의 상층액 200 μ l를 조심스레 취하여 96 well plate에 옮긴 후 732 nm

에서 흡광도를 측정하였다 (UV-1601PC, Shimadzu, Kyoto, Japan). 양성 대조군으로는 L-ascorbic acid를 사용하였다. ABTS radical 소거활성율은 100-(시료첨가구에 대한 흡광도/시료 무첨가구에 대한 흡광도)X100] 으로 계산하여 나타내었다.

2.6. 세포 독성 시험

본 실험에 사용된 대식세포주(mouse macrophage Raw 264.7)는 10% FBS와 0.5% penicillin와 streptomycin이 첨가된 DMEM 배지를 이용하여 37°C에서 5% CO₂ 조건에서 적응시켜 배양하였다. 개똥쭉 추출 용매별 추출용액의 세포독성은 EZ-Cytox 시약을 이용하여 세포생존율을 측정하였다. Raw 264.7 세포를 96 well culture plate에 4.0 × 10⁴ cells/well로 분주하였다. 12시간 동안 배양 후 상층액을 제거하고 각 추출물의 농도가 125, 250, 500, 1000 μg/mL이 되도록 100 μL씩 첨가하여 다시 24시간 동안 배양하였다. 그 후 각 well에 EZ-cyox assay reagent를 10 μL씩 첨가하여 37°C 에서 1시간 동안 반응 후 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.7. NO 생성 저해 효과

Raw 264.7 세포주에 LPS를 처리하여 NO 생성을 유도하여 개똥쭉 추출물의 NO 생성 저해 효과를 측정하였다. Raw 264.7 세포가 2 × 10⁵ cells/mL 농도가 되도록 24 well plate에 분주하여 24시간 배양하였다. 대식세포 배양 후 열수와 70% 에탄올으로 추출한 개똥쭉 추출물의 농도가 125, 250, 500 μg/mL이 되도록 시료를 희석하여 처리하였고 1시간 후 100 ng/mL의 lipopolysaccharide(LPS) 용액을 첨가 후 37°C에서 24시간 동안 배양하였다. 세포 배양 상층액

100 μ를 획득하여 Griess reagent과 동량으로 첨가하여 실온에서 10분 동안 반응 시키고 microplate reader(Molecular Devices, USA)를 이용하여 570nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.8. 중합효소 연쇄반응(Polymerase chain reaction, PCR)

RAW 264.7 cell을 4 × 10⁶/well 이 되도록 6 well culture plate에 분주하고 12시간동안 배양하였다. 배양한 세포에 LPS(100ng/ml)를 처리 한 후 추출물을 125, 250 μg/mL이 되도록 각각 처리하여 24시간 배양하였다. 상층액을 제거한 후 1x cold PBS buffer로 1회 세척 하고, Trizol(MRCgene, USA)을 1ml 처리하였다. e-tube에 옮긴 후 Chloroform(daegeong, Korea)을 200 μl 넣고 10초 이상 vortexing한 뒤 상온에 10분간 방치하였다. 15,000 rpm에서 10분 동안 원심분리한 뒤 상층액 400 μl를 다른 e-tube에 옮긴 뒤 동량의 isopropanol(Daegung, Korea)을 넣어준 후 15000rpm에서 10분 동안 원심분리 하였다. 상층액을 제거한 후 70% ethanol (Millipore, USA) 500 μl를 넣고 15000rpm에서 5분 동안 원심분리 하였다. 상층액을 제거한 후 상온에서 30분간 건조시켜 mRNA를 추출하였다. mRNA는 RNase free water에 현탁 후 정량하였다. mRNA 발현을 비교하기 위해 PCR을 이용하였다. AccuPower® CycleScript RT PreMix (bioneer, korea)를 이용하여 cDNA로 합성 후 AccuPower® PCR PreMix (bioneer, korea)에 RNase free water와, primer, cDNA를 각각 16 μl, 2 μl, 2 μl 씩 넣고 95°C, 57°C, 72°C에서 각각 30초씩 27 cycle로 PCR한 후 전기영동 하였다. PCR반응에 사용된 Forward와 reverse primer는 Table 1에 정리하였다.

Table 1. The primers used in polymerase chain reaction experiment

name	F/R	sequence	size
GAPDH	F	5'-ATGACCACAGTCCATGCCAT-3'	417
	R	5'-CCAGGAAATGAGCTTGACAA-3'	
IL-1B	F	5'-AGGAGAACCAAGCAACGACAA-3'	499
	R	5'-AGGCAAGGAGGAAAACACAGG-3'	
TNF-a	F	5'-AGGTCAATCTGCCCAAGTACT-3'	370
	R	5'-ACCACTCTCCCTTTGCAGAA-3'	

2.9. 통계처리

본 실험의 통계처리는 IBM SPSS statistic ver. 22를 사용하여 산출하였고 각 군당 평균의 통계적 유의성은 one-way ANOVA로 분석 한 뒤 Duncan's multiple range test를 시행하여 $p < 0.05$ 수준에서 분석하였다. 시료 추출물의 군간 차이는 Student's t-test를 이용하여 유의성을 검증하였다. 모든 실험결과는 평균값과 표준편차로 표시하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 총 polyphenol 및 flavonoid 함량

추출 용매에 따른 개뽕쑥 추출물의 총 polyphenol 및 flavonoid 함량 측정 결과는 Table 2와 같다. 총 polyphenol의 함량은 개뽕쑥 70% 에탄올 추출물에서 열수 추출물에 비하여 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$). 총 flavonoid 함량

은 개뽕쑥 70% 에탄올 추출물에서 열수 추출물에 비해 높게 나타났으나 유의적 차이는 보이지 않았다.

3.2. DPPH radical 소거활성

추출 용매를 달리하여 추출한 개뽕쑥 추출물의 DPPH radical 소거활성은 Table 3과 같다. 개뽕쑥 열수 추출물과 70% 에탄올 추출물의 DPPH radical 소거활성은 양성대조구인 비타민 C보다는 낮게 나타났으나, 농도의존적인 DPPH radical 소거활성을 보였다($p < 0.05$). 62.5~500 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서는 비타민 C 처리구에서 가장 높은 DPPH radical 소거활성이 나타났고 그 다음으로는 70% 에탄올 추출물, 열수 추출물 순으로 높게 나타났다($p < 0.05$). 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서는 비타민 C 처리구에서 가장 높은 DPPH radical 소거활성이 나타났고 그 다음으로는 열수 추출물, 70% 에탄올 추출물 순으로 높게 나타났다($p < 0.05$).

Table 2. Total polyphenol and flavonoid content of *Artemisia annua* L. extract by hot water and 70% ethanol

Extract solvent	(mg/g)	
	Total polyphenol	Total flavonoid
Water extract	1160.66 ± 3.55 ^a	552.42 ± 13.51
70% extract	1212.49 ± 0.76 ^b	577.58 ± 3.014

¹⁾The concentrations of all samples was 1,000 ppm.

²⁾All values are expressed as mean ± SE of triplicate determinations.

³⁾Means with different superscript within the same row are significantly different by Student's t-test ($p < 0.05$).

Table 3. DPPH radical scavenging of *Artemisia annua* L. extract by water and 70% ethanol

Extract solvent	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)				
	62.5	125	250	500	1000
Water	13.68 ± 0.54 ^{eC}	23.59 ± 0.45 ^{dC}	38.99 ± 5.065 ^{cC}	68.89 ± 3.94 ^{bC}	82.03 ± 0.15 ^{aB}
70% ethanol	16.92 ± 2.17 ^{dB}	39.40 ± 1.10 ^{cB}	66.71 ± 3.879 ^{bB}	81.05 ± 0.54 ^{aB}	80.55 ± 0.64 ^{aC}
Vit. C	88.08 ± 0.04 ^A	87.62 ± 0.52 ^A	87.68 ± 0.74 ^A	87.93 ± 0.43 ^A	88.39 ± 0.07 ^A

¹⁾Mean ± SD

²⁾Values represent an average of three determinations.

³⁾Means in the column(A-D) and row(a-d) with different superscripts are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

3.3. ABTS radical 소거활성

추출 용매를 달리하여 추출한 개똥쑥 추출물의 ABTS radical 소거활성은 Table 4와 같다. 개똥쑥 열수 추출물과 70% 에탄올 추출물의 ABTS radical 소거활성은 양성대조군인 비타민 C보다는 낮게 나타났으나, 농도의존적인 ABTS radical 소거활성을 보였다($p < 0.05$). 62.5~500 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서는 비타민 C 처리구에서 가장 높은 ABTS radical 소거활성이 나타났고 그 다음으로 70% 에탄올 추출물, 열수 추출물 순으로 높게 나타났다($p < 0.05$). 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서는 비타민 C 처리구에서 가장 높은 DPPH radical 소거활성이 나타났고 열수 추출물과 70% 에탄올 추출물에서는 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

3.4. 세포독성

추출 용매에 따른 개똥쑥 추출물의 농도별(125, 250, 500 $\mu\text{g/mL}$)로 세포독성을 RAW 264.7 세포에서 확인한 결과는 Fig. 1과 같다. 개똥쑥 열수 및 70% 에탄올 추출물에서는 세포독성이 나타나지 않으며, 오히려 70% 에탄올 추출물에서는 약한 세포 증식 효과가 나타난다. 각 추출물의 125~500 $\mu\text{g/mL}$ 이하의 농도에서 개똥쑥 열수 및 에탄올 추출물은 세포생존을 변화에 유의한 영향을 미치지 않음을 확인하였고 다음 단계의 NO 생성 억제 및 염증성 사이토카인의 분석에서는 125 ~ 500 $\mu\text{g/mL}$ 이하에서 진행하였다.

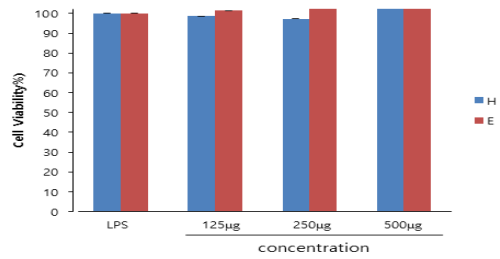


Fig. 1. Cytotoxicity of *Artemisia annua* L. extract by water and 70% ethanol against RAW 264.7 cell stimulated with LPS.

¹⁾Values are means \pm SE.

²⁾Values represent an average of three determinations

³⁾W; water extract of *Artemisia annua* L.

⁴⁾E; 70% ethanol extract of *Artemisia annua* L.

3.5. NO 생성 억제

추출 용매에 따른 개똥쑥 추출물의 항염증 효과 실험을 위해 LPS로 염증이 유도되어 NO 생성이 증가된 RAW 264.7 세포에 추출물을 농도별 (125 ~ 500 $\mu\text{g/mL}$)로 처리하여 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. 대식세포에 LPS를 처리하지 않은 상태에서 1.89 μM 농도로 NO가 생성되지만, LPS를 처리하면 NO 생성이 43.82 μM 농도로 현저히 증가하는 것을 알 수 있다. 125 ~ 500 $\mu\text{g/mL}$ 에서 NO 생성 억제효과를 측정할 결과 열수 추출물에서는 500 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 강한 NO 생성 억제를 보이며, 농도가 증가할수록 NO 생성 억제 효과가 농도의존적으로 증가하

Table 4. ABTS radical scavenging of *Artemisia annua* L. extract by water and 70% ethanol (%)

Extract solvent	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)				
	62.5	125	250	500	1000
Water	14.94 \pm 0.89 ^{eC}	26.55 \pm 0.93 ^{dC}	49.62 \pm 0.48 ^{cC}	79.59 \pm 0.14 ^{bC}	94.09 \pm 0.09 ^{aB}
70% ethanol	17.06 \pm 0.65 ^{eB}	31.143 \pm 0.31 ^{dB}	55.50 \pm 0.60 ^{cB}	88.25 \pm 0.56 ^{bB}	94.09 \pm 0.09 ^{aB}
Vit. C	66.00 \pm 0.767 ^{bA}	94.76 \pm 0.076 ^{aA}	94.80 \pm 0.02 ^{aA}	94.60 \pm 0.03 ^{aA}	94.63 \pm 0.175 ^{aA}

¹⁾All values are expressed as mean \pm SE of triplicate determinations.

²⁾Values represent an average of three determinations.

³⁾Means in the column(A-D) and row(a-d) with different superscripts are significantly different by Duncan's multiple range test($p < 0.05$).

게 나타났다($p < 0.05$). 70% 에탄올 추출물에서도 NO 생성 억제 효과가 보이지만 열수 추출물보다 낮게 나타났다. 70% 에탄올 추출물도 농도가 증가할수록 NO 생성 억제효과가 농도 의존적으로 증가하게 나타났다($p < 0.05$).

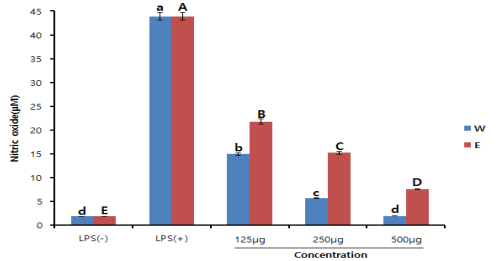


Fig. 2. Inhibitory activity of *Artemisia annua* L. by water and 70% ethanol on NO production.

- 1) Values are means ± SE.
- 2) Values represent an average of three determinations.
- 3) a-e, A-E Values with different superscripts indicate significant differences at $p < 0.05$ by Duncan's test.
- 4) W; water extract of *Artemisia annua* L.
- 5) E; 70% ethanol extract of *Artemisia annua* L.

3.6. 염증성 사이토카인 생성 억제 효과

추출 용매에 따른 농도별 개풍쑥 추출물의 염증성 사이토카인 생성 억제 효과를 측정하기 위해 LPS로 염증이 유도되어 염증성 사이토카인의 생성이 증가된 RAW 264.7 세포에 추출물을 농도별(125 ~ 250 µg/mL)로 처리하여 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. 열수추출물에서는 NO 생성 억제 효과와는 달리 염증성 사이토카인의 발현을 억제하지 못하였다. 이에 반해, 70% 에탄올 추출물은 염증성 사이토카인 TNF-α를 현저히 감소시키며, IL-1β는 매우 약하게 억제시키는 결과를 나타냈다. 따라서 개풍쑥 70% 에탄올 추출물은 TNF-α에 대하여 매우 강한 항염증 효과를 보이는 것으로 판단된다. 특히 개풍쑥 70% 에탄올 추출물의 경우 NO 생성을 감소시킬 뿐 아니라 염증성 사이토카인을 효과적으로 억제하는 것으로 나타났다.

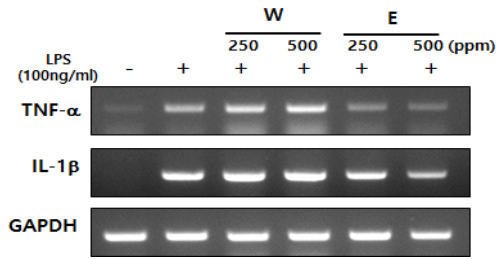


Fig. 3. Effects of *Artemisia annua* L on the production of pro-inflammatory cytokines in LPS-induced RAW264.7 macrophages cells.

Cells were pre-treated with indicated concentrations of each extractor and LPS (100 ng/mL), and then incubated for 24 h.

4. 결론

본 연구는 열수와 70% 에탄올 용매에 따른 개풍쑥 추출물의 농도별로 항산화 활성, 항염증 효과 및 염증성 사이토카인의 생성에 미치는 영향을 살펴보고자 진행하였다. 총 polyphenol의 함량은 개풍쑥 70% 에탄올 추출물에서 열수 추출물에 비하여 유의적으로 높게 나타났으나, 총 flavonoid 함량은 개풍쑥 열수 추출물과 70% 에탄올 추출물에서 유의적 차이는 보이지 않았다. DPPH radical 소거능력은 62.5~500 µg/mL 농도에서는 비타민 C 처리구에서 가장 높게 나타났고 그 다음으로는 70% 에탄올 추출물, 열수 추출물 순으로 높게 나타났다. ABTS radical 소거능력도 62.5~500 µg/mL 농도에서는 비타민 C 처리구에서 가장 높게 나타났고 그 다음으로는 70% 에탄올 추출물, 열수 추출물 순으로 높게 나타났다. 125 ~ 500 µg/mL에서 NO 생성 억제효과를 측정한 결과, 열수 추출물에서는 500 µg/mL 농도에서 강한 NO 생성 억제를 보이며, 농도의존적으로 NO 생성 억제를 나타냈다. 70% 에탄올 추출물에서는 NO 생성 억제 효과를 나타낼 뿐 아니라 강한 염증성 사이토카인의 발현을 억제하였다. 따라서, NO 및 TNF-α가 과도하게 생성되어 문제가 되는 염증성 장질환, 퇴행성 뇌질환, 암 등과 같은 질환을 개선하거나 치료하는데 개풍쑥을 사용할 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2022년 장안대학교 연구비로 이루어진 연구로 이에 감사를 표합니다.

References

- Halliwill B, "Antioxidant in human health and disease", *Annu Rev Nutr*, Vol.16, pp. 33-50, (1996).
- J. P. Kehrer, L. O. Klotz, "Free radicals and related reactive species as mediators of tissue injury and disease: implications for health", *Crit. Rev. Toxicol*, Vol.45, No.9, pp. 765-798, (2015).
- S. O. Abarikwu, "Kolaviron, a natural flavonoid from the seeds of *Garcinia kola*, reduces LPS-induced inflammation in macrophages by combined inhibition of IL-6 secretion, and inflammatory transcription factors, ERK1/2, NF- κ B, p38, Akt, p-c-Jun and JNK", *Biochim. Biophys. Acta.*, Vol.1840, No.7, pp. 2373-2381, (2014).
- C.C. Bain, A. M. Mowat, "Macrophages in intestinal homeostasis and inflammation", *Immunol. Rev*, Vol.260, No.1, pp. 102-117, (2014).
- Y. H. Lee, N. Y. Kim, I. Y. Jo, Y. S. Yi, "Evaluation of Antiaging Activity on *Lycium chinese Miller*. Extracts" *Journal of the Korean Applied Science and Technology*, Vol.39, No.1, pp. 27-33, (2022).
- H, K. Oh, "Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of *Atractylodes japonica* According to extract Methods", *Journal of the Korean Applied Science and Technology*, Vol.39, No. 6, pp. 27-33, (2022).
- H, K. Oh, "Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Different Parts of *Ixeris dentata* According to extract Methods", *Journal of the Korean Applied Science and Technology*, Vol.6, No. 6, pp. 1567-1574, (2022).
- C. Lodari, K. Hattori, Y. Futsuhara, "Difference on leaf surface and pollen grains in genus *Artemisia*", *Jpn. J. Breed*, Vol.39, No.1, pp. 9-12, (1989).
- L. B. Li, A. Josef, B. Liu, S. Zheng, L. Huang, S. Chen, "Three-dimensional evaluation on ecotypic diversity of traditional Chinese Medicine: a case study of *Artemisia annua* L.", *Front. Plant Sci*, Vol.8, pp. 1-10, (2017).
- J. H. Ryu, R. J. Kim, S. J. Lee, I. S. Kim, H. J. Lee, N. J. Sung, "Antioxidant and anticancer activities of *Artemisia annua* L. and determination of functional compounds", *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr*, Vol.40, pp. 163-170, (2011).
- Y. N. Lee, "New flora of Korea", Kyohak publishing Co., Vol. I, II, pp. 327-334, (2006).
- G. D. Brown, "The biosynthesis of Artemisinin (Qinghaosu) and the phytochemistry of *Artemisia annua* L. (Qinghao).", *Molecules*, Vol.15, No.11, pp. 7603-7698, (2010).
- T. Efferth, "From ancient herb to modern drug: *Artemisia annua* and artemisinin for cancer therapy.", *Sem. Cancer Biol*, Vol.46, pp. 65-83, (2017).
- B. M. Kim, G. T. Kim, E. J. Kim, E. G. Lim, S. Y. Kim, "The Extract from *Artemisia annua* Linné. induces p53-independent apoptosis through mitochondrial signaling pathway in A549 lung cancer cells", *Kor. J. Life Sci*, Vol.26, No.8, pp. 887-894, (2016).
- Y. Cai, Q. Luo, M. Sun, H. Corke, "Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer", *Life Sci*, Vol.74, No. 17, pp. 2157- 2184, (2004).
- J. H. Ryu, S. J. Lee, M. J. Kim, J. H. Shin, S. K. Kang, "Antioxidant and anticancer activities of *Artemisia annua* L.

- and determination of functional compounds”, *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, Vol.40, No.4, pp. 509–516, (2011).
17. G. J. Kang, N. J. Kang, S. C. Han, D. H. Koo, Y. S. Kim, “Inhibitory effect of artemisinic acid isolated from *Artemisia annua* L on the MDC in HaCaT keratinocytes”, *Kor. J. Pharmacogn.*, Vol.43, No.3, pp. 217–223, (2012).
 18. M. Abid, K. Anupam, N. A. Khan, G. Islam, K. Gahlot, “Pharmacological evaluation of *Artemisia annua* for antinociceptive activity in rats”, *J. Appl. Pharm. Sci.*, Vol.3, No.5, pp. 61–64, (2013).
 19. S. M. Reza, M. Hamideh, S. Zahra, “The nociceptive and anti-inflammatory effects of *Artemisia dracunculus* L. aqueous extract on fructose fed male rats”, *Evid based Complement Alternat Med*, ID 895417, (2015).
 20. R. Donato, F. Santomauro, A. R. Bilia, G. Flamini, C. Sacco, “Antibacterial activity of Tuscan *Artemisia annua* essential oil and its major components against some food on pathogens”, *LWT-Food Sci. Technol.*, Vol.64, No.2, pp. 1251–1254, (2015).
 21. F. Juteau, V. Masotti, J. M. Bessière, M. Dherbomez, J. Viano, “Antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia annua* essential oil”, *Fitoterapia*, Vol.73, pp. 532–535, (2002).
 22. I. C. Marinas, E. Oprea, M. C. Chifiriuc, I. A. Badea, M. Buleandra, “Chemical composition and antipathogenic activity of *Artemisia annua* essential oil from Romania”, *Chem. Biodivers*, Vol.12, No.10, pp. 1554–1564, (2015).
 23. E. S. Kim, H. K. Yun, “In vitro and in vivo antimicrobial activities of medicinal plants against crown gall in grapevine”, *J. Horti. Sci. Technol.*, Vol.34, No.4, pp. 537–548, (2016).
 24. K. C. Kim, J. S. Kim, “Effect of varying ethanol concentrations on the extraction properties and physiological activity of *Artemisia annua* L.”, *Kor. J. Food Sci. Technol.*, Vol.52, No.2, pp. 130–137, (2020).