



# Immunity enhancement efficacy of the extracts prepared from blanched and dried aerial part in *Cirsium setidens* Nakai

Seong Il Heo\*, Sang Mi Jung  
 Hongcheon Institute of Medicinal Herb, Hongcheon 25142, Korea

## 고려엉겅퀴 목나물 추출물의 면역활성 증진 효과

허성일\* · 정상미  
 재단법인 흥천메디칼허브연구소

### Abstract

Immune stimulation has emerged as a novel strategy for improving the immune system of the body. Research attention has been focused on identification of natural and dietary substances that can potentially improve immune activity, with fewer side effects than those of chemical substances. *Cirsium setidens* Nakai, also called ‘gondre,’ is a perennial plant belonging to the Asteraceae family and grows only in Korea. It has alternate leaves and leafy edges, and its tip is pointed. The leaf is somewhat broader, and the flower is purple from July to October. It is used in the treatment of inflammation, edema, and hypertension. Various physiological activities of raw *C. setidens* Nakai aerial part extracts have been reported recently. Here, we evaluated the antioxidant activity and immune enhancement efficacy of extracts prepared from blanched and dried *C. setidens* Nakai in addition to their potential use in not only regular but also functional health food. The total phenolic compound content was five times higher in the extract prepared by freeze drying than in that prepared by blanching. However, production of nitric oxide and secretion of immunostimulating cytokines such as IL-6 and TNF- $\alpha$  were relatively higher in the extract prepared by blanching than in that prepared by drying. Overall, an immunostimulating effect was observed for the *C. setidens* Nakai aerial part extract prepared by blanching, confirming its potential as a functional health food ingredient.

**Key words :** blanching plants, *Cirsium setidens* Nakai, health functional food, immunostimulating effect

### 서 론

면역이란 생체 내의 내부환경이 외부인자에 대한 방어 수단을 말하며, 인체 면역계는 단핵구, 호중구, 호산구, 호염구 등의 백혈구, 대식세포 및 자연살해세포 등과 같은 다양한 면역세포들 간의 상호작용에 의하여 그 체계가 유지된다. 대식세포는 몸 전체에 분포하며, 선천 면역을 담당하는 주요 세포이며, 바이러스 및 박테리아와 같은 외부 항원을 포식하고, 면역 조절인자인 NO(nitric oxide)와 TNF- $\alpha$ (tumor necrosis

factor- $\alpha$ ), IL-1 $\beta$ (Interleukin-1 $\beta$ ), IL-6(Interleukin-6)와 같은 염증성 사이토카인 (pro-inflammatory cytokine)을 생산하여 생체방어에 중요한 역할을 한다(Higuchi 등, 1990). 이러한 관점에서 면역자극은 체내의 면역 방어체계 향상을 위한 중요한 전략으로 대두되고 있으며, 최근 이러한 요구에 부응하여 면역 잠재력을 향상시킬 수 있는 천연물 및 식이소재 개발에 관심이 집중되고 있다.

고려엉겅퀴(*Cirsium setidens* Nakai)는 국화과에 속하는 다년생 초본으로 우리나라에서만 자란다. ‘곤드레’라고도 불리

\*Corresponding author. E-mail : h.seongil@himh.re.kr, Phone : +82-33-439-3232, Fax : +82-33-439-3246

Received 08 March 2021; Revised 28 April 2021; Accepted 13 May 2021.

Copyright © The Korean Society of Food Preservation.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

는 고려엉겅퀴는 잎은 어긋나고 잎 가장자리에는 잔가시들이나 있으며, 잎끝은 뾰족하나 잎밑은 다소 넓고, 꽃은 7-10월에 보라색으로 핀다. 봄철에 어린 순을 캐서 나물로 먹기도 하고, 순을 데친 후 건조하여 묵나물로 섭취하기도 한다(Lim 등, 1997; Park 등, 2015). 또한 고려엉겅퀴는 한방에서 염증, 부종, 고혈압 등의 여러 증상에서 사용되었다(Lee 등, 2002).

본 연구에서는 RWA264.7 대식세포에 고려엉겅퀴의 생물상태와 묵나물로 가공된 상태의 추출물을 이용하여 대표적인 지표성분인 pectolinarin의 함량을 가공 형태에 따라 HPLC를 사용하여 비교분석하였으며, 열수추출물과 에탄올의 비율을 달리한 유기용매 추출물을 처리하여 항산화 효능, 세포독성, 사이토카인 및 NO 생성에 미치는 영향을 관찰함으로써 이들의 면역증강활성 및 real time PCR을 이용하여 RNA상의 분자적 작용기전을 확인하고, 면역증강 식품소재로서의 개발 가능성을 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용한 고려엉겅퀴(*Cirsium setidens* Nakai)는 강원도 정선에서 재배된 것을 구입하여 동결건조하여 사용하였다. 묵나물은 전통적 방법으로 끓는물에 5분간 데친 후 그늘에서 음건한 것을 사용하였다. 고려엉겅퀴 동결건조물과 묵나물의 추출물 제조는 각각 50 g을 칭량하고, 증류수 및 용매를 10배(v/v)로 가하여 환류추출기를 이용하여 90°C에서 1시간 동안 추출하였으며, 온도 조건은 열수는 90°C, 30% EtOH, 50% EtOH, 70% EtOH, 100% EtOH 용매는 70°C에서 진행하였다. 그 다음 용출액을 여과하여 동결건조하여 실험에 사용하였다.

### 기기 및 시약

추출물의 효능평가에 사용된 tannic acid는 Sigma-Aldrich(에서 구매하여 사용하였으며, 면역증진 활성효능을 확인하여 사용된 세포주는 마우스 대식세포(RAW264.7)는 ATCC에서 구입하였으며, 세포배양에 사용된 DMEM (Dulbecco's modification of Eagle' medium)은 Corning 제품을, FBS(fetal bovine serum)은 gibco 제품을 구입하여 사용하였으며, 세포독성 평가에 사용된 EZ-Cytox cell viability assay reagent는 Biogen 제품을, 추출물 처리에 의한 NO 생성량 측정을 위하여 Griess reagent system은 Promega 제품을 구입하여 사용하였으며, 세포 내 RNA 추출을 위해 illustra RNAspin Mini를 GE healthcare 제품, Real time PCR 분석을 수행하기 위해 High capacity cDNA reverse transcription kit와 Power SYBR green PCR master Mix를 Thermo Fisher Scientific 제품을 구입하여 사용하였다.

추출물의 동결건조는 ilshinbiobase사의 TFD8503을 사용하였으며, 흡광도 측정은 Bio-rad사의 xMark microplate spectrophotometer를 사용하였다. 유전자분석을 위하여 Applied Biosystems사의 StepOnePlus를 사용하였으며, 지표성분을 분석하기 위해 Shimadzu HPLC system(HPLC-UV)가 사용되었다.

### 총페놀성 화합물 함량 분석

총페놀성 화합물 함량은 페놀성 물질이 phosphomolibdic acid와 반응하여 청색으로 발색되는 것을 이용한 Folin-Denis 방법에 따라 분석하였다. 1 mg/mL의 농도로 조제한 추출물 0.25 mL에 Folin-Denis reagent 0.5 mL를 넣고 탄산나트륨(Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 0.35 g/mL) 용액을 0.5 mL 넣어준 다음 실온에서 30분간 보관한 뒤 xMark microplate spectrophotometer를 이용하여 760 nm에서 흡광도를 측정한다. 측정된 흡광도는 탄닌산(tannic acid)를 이용하여 작성된 표준곡선을 이용하여 검량선을 작성한 뒤, 각 시료 추출물의 총페놀성 화합물 함량을 계산하였다.

### 세포배양 및 세포독성 평가

실험에 사용된 마우스 대식세포 RAW264.7 세포는 ATCC (American Type Culture Collection)에서 분양받아 100 unit/mL의 penicillin 및 streptomycin, 10% fetal bovine serum이 첨가된 Dulbecco's Modified Eagle's Medium 배지를 사용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건 하에서 배양하였다.

추출물의 처리에 의한 세포독성 평가는 water-soluble tetrazolium salt(WST)를 이용하여 살아있는 세포의 양을 측정하는 것으로 96 well plate에 1.0×10<sup>5</sup> cells/well로 RAW264.7 세포를 분주하고, 16시간 동안 배양한 후 다양한 농도의 추출물을 처리하여 24시간 동안 배양 후 EZ-cytox 시약을 첨가한 후 CO<sub>2</sub> 배양기(37°C, 5% CO<sub>2</sub>)에서 2시간 반응시킨 후, 450 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 대조군에 대한 세포 생존율을 백분율로 표시하였다.

### 추출물 처리에 의한 NO 생성량 평가

48 well plate에 RAW264.7 cell을 1×10<sup>5</sup> cell/well로 분주한 후, 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에 12시간 동안 배양한 후 각각의 추출물을 5 µg/mL에서 500 µg/mL의 농도로 처리하였고, 양성대조군인 lipopolysaccharide(LPS)는 0.2 µg/mL 농도로 처리하여 24시간 동안 배양한 후, 배양 상등액을 분리하였다. 분리된 배양 상등액 50 µL에 100 µL의 Griess 시약을 처리하여 10분 동안 암실에서 반응시킨 후 xMark microplate spectrophotometer를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. NO의 농도는 sodium nitrite (NaNO<sub>2</sub>)를 사용하여 얻은 표준 직선과 비교하여 산출하였다.

### 유전자 발현량 분석

추출물 처리에 의한 iNOS, COX-2, IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  등 사이토카인의 발현에 미치는 효과를 유전자 단위에서 확인하기 위하여 real time RT-PCR을 수행하였다.

추출물을 처리한 세포를 24시간 배양한 후 illustra RNAspin Mini를 이용하여 total RNA를 분리한 후 Nano drop을 이용하여 mRNA를 정량하였다. 정량 후 동일한 농도(100 ng/ $\mu$ L)의 RNA를 cDNA reverse transcription kit를 이용하여 cDNA를 역전사시켰으며, 역전사된 cDNA를 이용하여 target cytokine의 유전자 발현을 real time RT-PCR을 이용하여 확인하였다. AppliedBiosystems의 SYBR green PCR master Mix를 각각의 샘플에 처리하여 95 $^{\circ}$ C에서 5분, 그리고 10초 반응시킨 뒤 60 $^{\circ}$ C에서 20초 반응시키는 것을 총 40회 반복 증폭하였다. Melt curve는 65 $^{\circ}$ C-95 $^{\circ}$ C 사이에서 확인하였으며, 유전자 분석 실험에 사용된 primer의 염기서열은 Table 1에 나타내었다.

### 추출물 지표성분의 함량 분석

고려엉겅퀴의 지표성분은 pectolarin을 비롯하여 luteolin, hispidulin, apigenin 등 여러 종류의 플라보노이드를 함유하고 있는 것으로 보고되었다(Jeong 등, 2008; Thao 등, 2011). 이에 대표적인 성분인 Pectolarin (C<sub>29</sub>H<sub>34</sub>O<sub>15</sub>, MW. 622.57)의 함량을 용매별 추출물에서 HPLC를 이용하여 분석하였다. 분석조건은 Table 2와 같다.

### 통계처리

모든 실험 결과는 3회 반복으로 진행하여 평균과 표준편차

**Table 2. HPLC conditions of pectolarin analysis for *C. setidens* Nakai extracts**

Instrument	Shimadzu HPLC system (HPLC-UV)	
Column	XBridge C18 (4.6 $\times$ 250 mm, 5 $\mu$ m)	
	Solution(A) : 0.1% TFA in D.W Solution(B) : Acetonitrile	
	Time (min)	B Conc. (%)
	0.1	10
	5	10
Mobile phase	15	30
	20	47
	30	47
	33	10
	40	-
Oven temp.	35 $^{\circ}$ C	
Wavelength	330 nm	
Injection volume	10 $\mu$ L	
Flow rate	1 mL/min	
Run time	40 min	

로 표시하고, 각 실험군 간의 유의성 검증은 GraphPad Prism 8.0 version(GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA)을 사용하여 One-way ANOVA 중 Tukey test로 검증하여 p

**Table 1. Primers for real-time PCR**

Gene name	Orientation	Primer sequence (5' - 3')	Product size (bp)
iNOS	Sense	5'-TCCTACACCACACCAAAC-3'	199
	Antisense	5'-CTCCAATCTCTGCCTATCC-3'	
COX-2	Sense	5'-AGAAGGAAATGGCTGCAGAA-3'	194
	Antisense	5'-GCTCGGCTTCCAGTATTGAG-3'	
IL-1 $\beta$	Sense	5'-GGGCTCAAAGGAAAGAATC-3'	183
	Antisense	5'-AGAAGGTGCTCATGTCTCA-3'	
IL-6	Sense	5'-CAAGAAAGACAAAGCCAGAGTCCTT-3'	150
	Antisense	5'-TGGATGGTCTTGGTCCTTAGCC-3'	
TNF- $\alpha$	Sense	5'-AGCCCCAGTCTGTATCCTT-3'	186
	Antisense	5'-CATTCGAGGCTCCAGTGAAT-3'	
GAPDH	Sense	5'-CACTCACGGCAAATCAACGGCAC-3'	141
	Antisense	5'-GACTCCACGACATACTCAGCAC-3'	

값이 0.05 미만을 유의한 것으로 간주하였다.

## 결과 및 고찰

### 고려엉겅퀴 목나물의 총페놀성 화합물 함량

페놀성 화합물은 식물의 2차 대사산물의 하나이며, 페놀성 화합물들은 다양한 구조와 분자량으로 식물체에 널리 분포하고 있다. 또한 phenolic hydroxy기를 가지고 있기 때문에 단백질 등의 거대분자들과 결합하는 성질을 가지고 있어, 항산화 효과, 항균성, NO 소거능 등의 다양한 생리활성 기능을 나타낸다고 보고되었다(Lee 등, 1994). 고려엉겅퀴의 다른 섭취 형태인 생물과 목나물의 추출물을 제조하여 총페놀성 화합물의 함량을 측정하고, tannic acid를 equivalent로 환산하여 나타내었다(Table 3).

생물 상태로 동결 건조한 추출물에서 상대적으로 높은 총페놀성 화합물의 함량을 나타냈다. 목나물 열수추출물은 3.17±0.08 g/100 g으로 가장 낮게 나타났으며, 30% 에탄올 추출물은 4.38±0.13 g/100 g, 50% 에탄올 추출물은 4.92±0.14 g/100 g, 70% 에탄올 추출물은 4.69±0.12 g/100 g 그리고 100% 에탄올 추출물은 5.63±0.16 g/100 g으로 나타났다. 생물 상태로 동결건조한 고려엉겅퀴의 용매별 추출물의 총페놀성 화합물의 함량은 열수 추출물이 15.16±0.91 g/100 g, 30% 에탄올 추출물은 16.88±1.06 g/100 g, 50% 에탄올 추출물은 19.05±1.25 g/100 g, 70% 에탄올 추출물은 17.97±1.21 g/100 g 그리고 100% 에탄올 추출물은 29.32±2.29 g/100 g으로 나타나 목나물의 추출물에 비해 5배 가량 높은 함량을 나타냈다.

### 추출물이 대식세포 생존율에 미치는 영향

고려엉겅퀴 목나물 추출물의 세포독성 여부를 평가하기 위하여 RAW264.7 대식세포에 열수추출물, 30% 에탄올 추출물, 50% 추출물, 70% 에탄올 추출물, 100% 에탄올 추출물의 각각 50 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL의 농도로 처리하여 24시간 배양한 후 세포 생존율을 EZ-cytox를 이용하여 측정하였다(Fig. 1). 추출물을 처리하지 않고 배양한 대조군

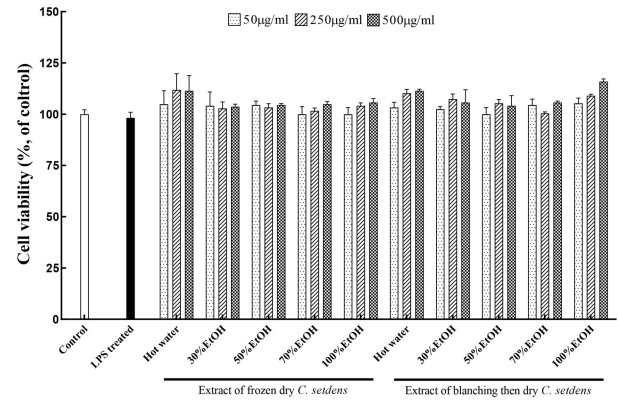


Fig. 1. Effects of various solvent extracts of *C. setidens* on the cell viability in RAW264.7 cells.

(Control)의 세포생존율 100%와 비교하였을 때 추출물을 처리한 경우 500 µg/mL 농도까지 생존율에 변화가 없거나 증가하는 경향을 나타내었다. 이에 각각의 추출물의 농도 500 µg/mL 이하에서는 RAW264.7 대식세포에 대한 추출물의 세포독성은 없는 것으로 판단하여 이후 실험의 농도를 500 µg/mL 이하로 설정하였다.

### 추출물 처리에 의한 NO 생성량 억제 효과

Nitrate oxide는 생체 내 NO synthase(NOS)에 의해 생성되는 물질로 대식세포를 비롯한 신체 내 다양한 세포에서 생성되며, 생체 내 세포사이의 작용을 매개하는 물질로 여러 가지 기능을 매개 또는 조절 작용을 한다. 과다한 NO 생성은 혈관 확장이나 염증반응을 나타내는 것으로 알려져 있으나, 적정량의 NO는 미생물에 감염된 세포나 암세포를 제어하는 것으로 알려져 있다. 따라서 세포독성을 유발하지 않는 농도에서 NO의 증가는 면역 기능을 증가시키는 지표로 사용할 수 있다고 알려져 있다(Hibbs 등, 1987).

고려엉겅퀴 동결건조물의 열수 추출물, 30% 에탄올 추출물, 50% 추출물, 70% 에탄올 추출물, 100% 에탄올 추출물에

Table 3. Total polyphenolics contents of *C. setidens* Nakai hot water and ethanolic extracts

Sample	Solvent	Frozen dry (Tannic acid, g/100 g)	Blanching then dry (Tannic acid, g/100 g)
<i>C. setidens</i> Nakai	Hot water	15.16±0.91	3.17±0.08
	30% EtOH	16.88±1.06	4.38±0.13
	50% EtOH	19.05±1.25	4.92±0.14
	70% EtOH	17.97±1.21	4.69±0.12
	100% EtOH	29.32±2.29	5.63±0.16

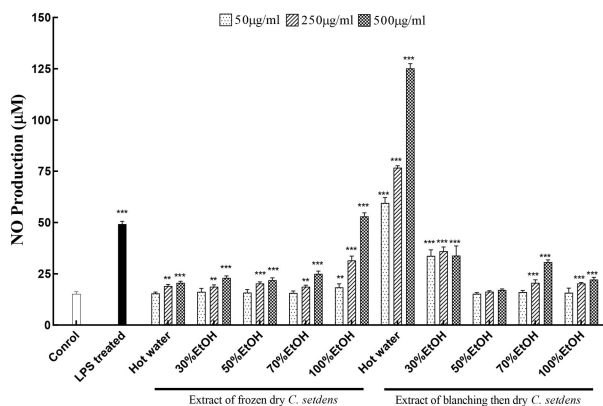
서 농도 의존적으로 NO의 함량이 증가하였으며, 100% 에탄올 추출물에서 가장 높게 증가하였다(Fig. 2).

반면, 묵나물의 추출물에서는 NO의 생성량이 열수추출물, 70% 에탄올 추출물, 100% 에탄올 추출물에서만 농도 의존적으로 증가하였다. 특히 묵나물 열수 추출물의 경우 양성 대조군으로 사용된 LPS 처리군에 비해 50 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL 농도에서 더 높은 NO 생성량을 나타냈으며, 500 µg/mL 농도로 처리한 군에서는 LPS 처리군에 비해 3배 가량 높은 NO의 생성량을 나타내었다. Jeon 등(2005)에 따르면 황기에서 추출한 다당체 100 µg/mL의 농도로 처리한 군과 LPS(1 µg/mL)를 처리한 양성대조군에서 유사한 NO 생성량을 나타내었다고 보고하였다(Jeon 등, 2005). 주정을 포함하지 않은 고려엉겅퀴 묵나물의 열수추출물에서만 높은 NO 생성량을 나타내어 활성을 나타내는 유효성분은 수용성 화합물일 것으로 사료되며, 고려엉겅퀴 묵나물 열수추출물의 유효성분에 대한 연구가 필요할 것이다.

이러한 결과를 바탕으로 가장 높은 NO 생성량을 나타낸 고려엉겅퀴 묵나물의 열수 추출물을 대상으로 추출물 처리에 의한 iNOS, COX-2, IL-1β, IL-6, TNF-α의 유전자 발현 양상을 확인하였다.

### 추출물 처리에 의한 유전자 발현향 변화

고려엉겅퀴 묵나물에서 가장 높은 NO 생성량을 나타내어 그 기작을 유전자 발현양상을 통해 확인하기 위하여 묵나물의 열수추출물을 5 µg/mL, 25 µg/mL, 50 µg/mL의 농도로 처리하여 iNOS, COX-2, IL-1β, IL-6, TNF-α의 발현양상을



**Fig. 2.** Effects of various solvent extracts of *C. setidens* on the nitric oxide production in RAW264.7 cells.

The cells were then incubated for 24 h with various concentrations of *C. setidens* Nakai or 0.2 µg/mL LPS. The concentrations of NO in the conditioned media were measured using the Griess reagent system.

Each bar represents mean±SEM (n=3).

\*\*\* p<0.001 significantly different from that of the control group.

real time PCR을 사용하여 확인하여 나타내었다(Fig. 3A).

LPS를 처리 시에 NO의 분비능이 크게 증가하는 것은 iNOS의 발현이 증가함으로써 기인하는 것으로 확인되었으며, 묵나물의 열수추출물의 처리에 의해 NO 생성량이 증가하였으며, OS의 발현도 증가하는 것으로 나타났다.

외부 항원에 의한 자극에 의해 활성화된 대식세포는 스스로 TNF-α, IL-1β 및 IL-6 등의 다양한 사이토카인을 분비하여 면역계를 담당하는 다양한 세포를 활성화하고, 적응면역 반응을 유도함으로써 감염인자를 제거하는 염증반응을 활성화한다. 정상 범위 내에서 사이토카인의 생성 증가는 면역 활성이 증진됨을 나타내며, 다양한 천연물이 사이토카인의 생성을 증가하여 면역 활성을 증진함이 보고되었다(Yoo 등, 2014). TNF-α는 대식세포 및 Th1 세포로부터 생성되는 사이토카인으로 단핵구 및 다른 면역세포를 자극하여 백혈구의 유주 및 보충 등에 중요한 역할을 하는 chemokine을 분비하게 해 백혈구의 활성을 통해 병원체를 제거한다고 보고되었다(Kiemer 등, 2001).

마우스 대식세포인 RAW264.7 세포에 고려엉겅퀴의 묵나물 추출물의 처리가 IL-6, IL-1β 및 TNF-α와 같은 사이토카인의 생성에 미치는 영향을 조사하였다.

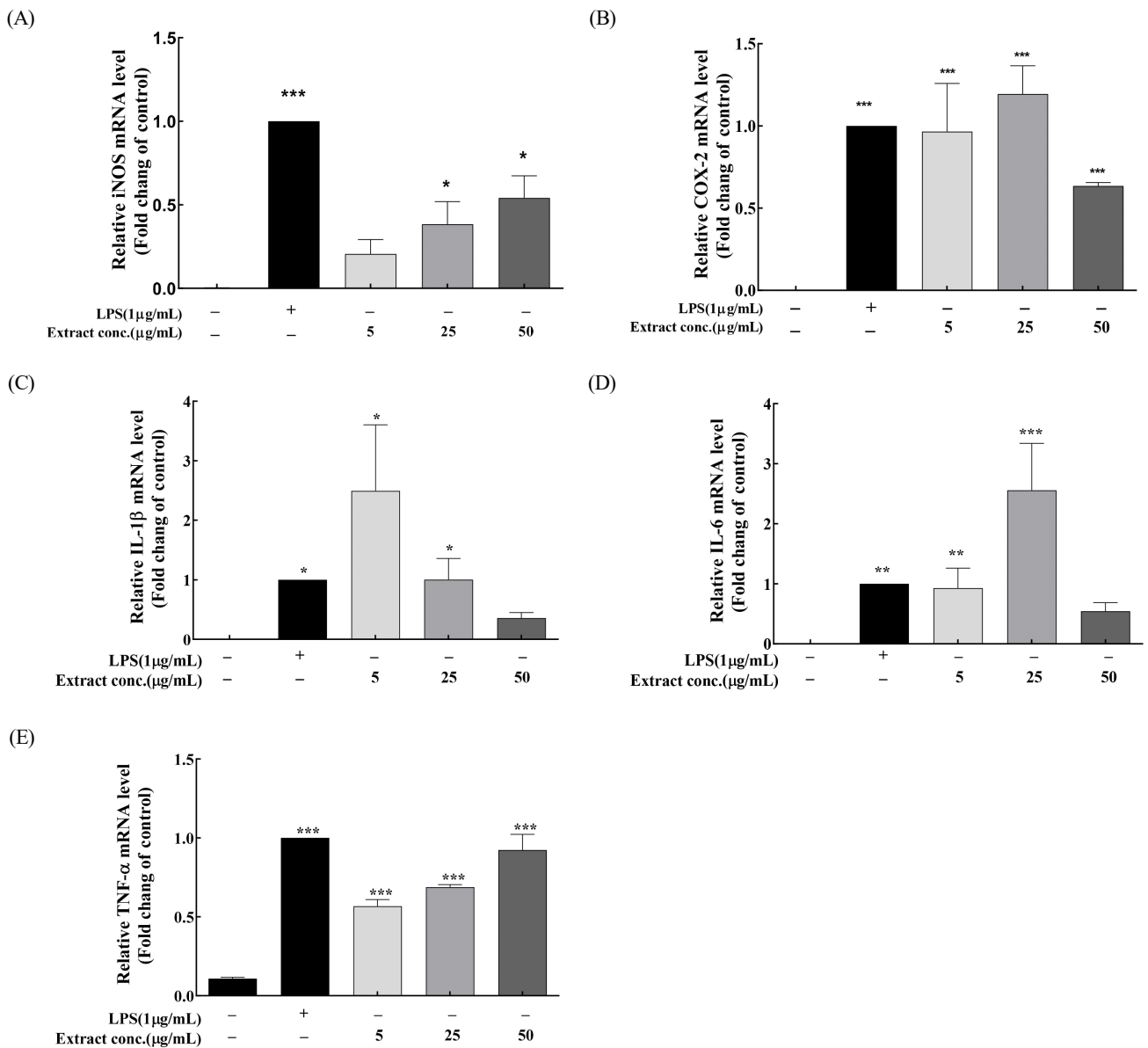
IL-6는 감염과 조직 손상에 따른 면역 초기 반응에서 생성되는 주요한 매개 물질로 TNF-α 등에 의해 유전자 발현이 자극되어 대식세포에서 생성되어 염증반응을 조절한다(Tanaka 등, 2016). IL-1β는 TNF-α와 함께 대식세포 및 다양한 면역세포에서 생성되어 염증반응 매개자로서 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Freidin 등, 1992).

고려엉겅퀴 묵나물의 열수추출물을 RAW264.7 세포에서 처리 시 IL-1β는 농도가 증가함에 따라 감소하는 경향이 나타난 반면에, IL-6의 발현량은 5 µg/mL, 25 µg/mL의 농도로 증가할수록 발현량도 증가하였으나, 50 µg/mL 처리 시에는 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 3C, D).

고려엉겅퀴 묵나물 추출물의 50 µg/mL 처리에 따른 TNF-α의 발현량은 양성 대조군인 LPS를 처리했을 때와 유의적인 차이가 없게 증가하였으며, 농도 의존적으로 증가하였다(Fig. 3E). 이는 고려엉겅퀴 묵나물의 열수 추출물이 대식세포를 활성화해 TNF-α 및 IL-6의 생성 분비를 증가시키고, 이들 사이토카인들의 상호작용으로 T세포와 B세포를 자극하여 체내 면역체계를 활성화해 면역증강에 기여할 수 있을 것이라 사료된다.

### 추출물의 지표성분 변화

고려엉겅퀴의 섭취 형태에 따라 지표성분인 Pectolarin의 함량을 분석하기 위해 동결건조 고려엉겅퀴와 묵나물을 50 g씩을 취하여 에탄올 농도별 추출한 HPLC를 이용하여



**Fig. 3. Relative expression of iNOS (A), COX-2 (B), IL-1 $\beta$  (C), IL-6 (D), TNF- $\alpha$  (E) genes measured by real-time PCR in RAW264.7 cells compared with control after treatment with different concentrations of hot water extract of blanching and drying *C. setidens* Nakai (5, 25 and 50  $\mu$ g/mL), followed by LPS stimulation (1  $\mu$ g/mL).**

Each bar represents mean $\pm$ SEM (n=3).

\*\*\*p<0.001 significantly different from that of the control group.

지표성분의 함량 분석을 진행하였다(Table 4).

고려영경귀 추출물의 지표성분 Pectolarin 함량 분석 결과, 묵나물의 경우 50% 에탄올 추출물과 70% 에탄올 추출물에서 지표성분이 높게 확인되었으며, 생물 동결건조 고려영경귀는 에탄올 용매 비율이 높을수록 Pectolarin 함량이 높게 확인되었다.

고려영경귀는 봄에는 나물로 또는 데침을 통한 묵나물의

형태로 섭취되어왔다. 생물 상태로는 자유라디칼의 소거를 통한 항산화 효능을 확인하였으며, 저장이 용이한 묵나물은 iNOS의 발현을 촉진시켜 nitrite oxide를 생성을 증가시키고, IL-6 및 TNF- $\alpha$ 의 발현을 증가시켜 면역 활성을 증진시키는 것으로 확인되었다. 이는 생나물뿐만 아니라 묵나물도 면역 활성을 증진시키는 건강기능식품 소재로의 개발 가능성을 확인할 수 있었다.

**Table 4. Content of pectolinarin in *C. setidens* Nakai extracts by HPLC analysis**

Sample	Solvent	Freeze drying (mg/g)	Blanching and drying (mg/g)
<i>C. setidens</i> Nakai	Hot water	18.96±5.96	4.33±0.75
	30% EtOH	78.70±1.57	34.38±0.17
	50% EtOH	81.02±0.98	51.86±0.12
	70% EtOH	89.60±3.07	53.24±0.24
	100% EtOH	107.16±1.29	44.33±0.18

### 감사의 글

본 연구는 고부가가치식품기술개발사업(과제번호: 117081-02-1-HD030)의 지원에 의해 수행된 연구 결과입니다.

### Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

### ORCID

Seong Il Heo <https://orcid.org/0000-0002-3244-5026>

### References

- Freidin M, Bennett MV, Kessler JA. Cultured sympathetic neurons synthesize and release the cytokine interleukin 1 beta. *Proc Natl Acad Sci USA*, 89, 10440-10443 (1992)
- Hibbs JB Jr, Taintor RR, Vavrin Z. Macrophage cytotoxicity: Role for L-arginine deiminase and imino nitrogen oxidation to nitrite. *Science*, 235, 473-476 (1987)
- Higuchi M, Higashi N, Taki H, Osawa T. Cytolytic mechanisms of activated macrophages. Tumor necrosis factor and L-arginine-dependent mechanisms act synergistically as the major cytolytic mechanisms of activated macrophages. *J Immunol*, 144, 1425-1431 (1990)
- Jeong DM, Jung HA, Choi JS. Comparative antioxidant activity and HPLC profiles of some selected Korean thistles. *Arch Pharm Res*, 31, 28-33 (2008)
- Jeon YJ, Yoon SP, You HJ, Chang IN. iNOS induction by polysaccharide isolated from *Astragalus membranaceus*. *Korean J Phys Anthropol*, 18, 131-138 (2005)
- Kierner AK, Vollmar AM. The atrial natriuretic peptide regulates the production of inflammatory mediators in macrophages. *Ann Rheum Dis*, 60, iii68-iii70 (2001)
- Lee J, Lee SR. Some physiological activity of phenolic substances in plant foods. *Korean J Food Sci Technol*, 26, 317-323 (1994)
- Lee WB, Kwon HC, Cho OR, Lee KC, Choi SU, Baek NI, Lee KR. Phytochemical constituents of *Cirsium setidens* Nakai and their cytotoxicity against human cancer cell lines. *Arch Pharm Res*, 25, 628-635 (2002)
- Lim SS, Kim MH, Lee JH. Effect of *Artemisia princeps* var. *orientalis* and *Cirsium japonicum* var. *ussuriense* on liver function, body lipid and bile acid of hyperlipidemic rat. *Korean J Nutr*, 30, 797-802 (1997)
- Park SJ, Lee DW, Park SH, Rha YA. Effects of blanching conditions by various salt contents on the quality properties of *Cirsium setidens* Nakai. *Korean J Culinary Research*, 20, 280-290 (2015)
- Thao NT, Cuong TD, Hung TM, Lee JH, Na M, Son JK, Jung HJ, Fang Z, Woo MH, Choi JS, Min BS. Simultaneous determination of bioactive flavonoids in some selected Korean thistles by highperformance liquid chromatography. *Arch Pharm Res*, 34, 455-461 (2011)
- Yoo SA, Kim OK, Nam DE, Kim Y, Baek H, Jun W. Immunomodulatory effects of fermented *Curcuma longa* L. extracts on RAW264.7 cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 43, 216-223 (2014)
- Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. Immunotherapeutic implications of IL-6 blockade for cytokine storm. *Immunotherapy*, 8, 959-970 (2016)