

瓜蒌仁, 梔子, 白芷의 시험관내 항균 및 항염 효과

대구한의대학교 한의과대학 부인과 교실
손지혜, 김동철

ABSTRACT

In Vitro Anti-Bacterial and Anti-Inflammatory Effects of Trichosanthes Semen, Gardeniae Fructus, and Angelicae Dahuricae Radix Aqueous Extracts

Ji-Hye Son, Dong-Chul Kim

Dept. of Oriental Obstetric & Gynecology, College of Oriental Medicine,
Daegu Haany University

Objectives: The object of this study was to observe the in vitro anti-bacterial and anti-inflammatory effects of three single aqueous herbal extracts(Trichosanthes Semen, Gardeniae Fructus, and Angelicae Dahuricae Radix), traditionally used for treating various gynecological diseases including mastitis in Korea, against *Staphylococcus aureus* and lipopolysaccharide(LPS)-activated Raw 264.7 cells.

Methods: Anti-bacterial activities of three single aqueous herbal extracts against *S. aureus* were detected using standard agar microdilution methods. In addition, the effects on the cell viability, PGE₂, NO, TNF- α , IL-1 β and IL-6 productions of LPS activated Raw 264.7 cells. The anti-bacterial and anti-inflammatory effects were compared with lincomycin and piroxicam, respectively in the present study.

Results: MIC of three single aqueous herbal extracts against *S. aureus* were detected as over 25, 4.063 \pm 2.096 and 1.641 \pm 0.972 mg/ml, respectively. MIC of lincomycin was detected as 0.469 \pm 0.297 μ g/ml at same conditions. In addition, ED₅₀ against LPS-induced cell viabilities and cytokine releases of three single aqueous herbal extracts were as follows - cell viability: 7.635, 13.761, 6.986 mg/ml, NO production : 4.808, 22.015, 2.949 mg/ml, PGE₂ production : 3.040, 4.312, 0.821 mg/ml, TNF- α production : 9.563, 54.931, 1.240 mg/ml, IL-1 β production : 1.362, 1.801, 0.534 mg/ml, IL-6 production : 0.371, 0.797, 0.202 mg/ml, respectively. ED₅₀ of piroxicam against LPS-induced cell viabilities, NO, PGE₂, TNF- α , IL-1 β and IL-6 were detected as 35.179, 6.552, 1.162, 7.273, 7.101 and 5.044 μ g/ml, respectively at same conditions.

Conclusions: The results of the study showed anti-bacterial effects against *S. aureus* in the order of Gardeniae Fructus and Angelicae Dahuricae Radix aqueous extracts, except for Trichosanthes Semen. They also showed anti-inflammatory effects against LPS-activated Raw 264.7 cells in the order of Angelicae Dahuricae Radix, Trichosanthes Semen, and Gardeniae Fructus aqueous extracts. These three herbs are expected to be great substitutes to reduce side-effect of lincomycin and piroxicam, if the amount of those three single aqueous herbal extracts is adjusted appropriately.

Key Words: Trichosanthes Semen, Gardeniae Fructus, Angelicae Dahuricae Radix, *Staphylococcus aureus*, Anti-bacterial, Anti-inflammatory

I. 서 론

유방염은 수유 중 발생할 수 있는 흔한 질환으로 유두에 균열이 있거나 찰과상을 입게 되어 세균 감염이 일어나면, 세균이 과증식하여 유관을 막음으로써 생기는 염증 질환을 말한다. 이는 산욕기 임산부에게 흔히 발생하는데, 수유를 하는 여성의 2.5%에서 33%까지도 보고되고 있다¹⁾. 유방염의 증상은 편측 유방의 경도 증가, 발적, 38.5℃ 이상의 발열, 불쾌감이 있으며, 피로, 몸살 및 두통과 같은 전신 증상이 동반된다²⁾. 유방염은 다양한 원인균 감염으로 발생하며, 그 중 *S. aureus*는 유방염의 가장 흔한 원인균이다³⁾. 유방염의 치료에는 다양한 항생제가 사용되어 왔으며, 이중 β -lactam계 항생제가 오랜 기간 사용되어 왔으나⁴⁾ 내성을 나타내기 시작하였고, 새로 개발된 항생제들 또한 내성과 다양한 부작용으로 그 사용이 문제시 되고 있다⁵⁾. 따라서 항생제의 사용을 줄이고, 효과가 우수한 대체 약물, 특히 천연물 유래의 치료제의 개발이 시급한 실정이다.

한의학에서는 유방의 염증성 질환을 吹乳, 乳奶 乳癰, 乳妬, 乳妬 등으로 문헌에 표기하고 있다⁶⁾. 그 중 유방염에 해당하는 乳癰은 전신의 惡寒發熱 등을 수반하며 유방의 紅腫熱痛을 일으키는 유선 조직의 化膿性질환이다.

瓜蒌仁, 梔子, 白芷는 清熱解毒의 효능이 있는 약물들로 염증성, 감염성 질환에 빈용되는 단미제이다^{7,8)}. 따라서 이들 약물은 유방염의 가장 대표적인 원인균인 *S. aureus*에 대해 유효한 항균 및 항염 효과를 동시에 나타낼 것이라 기대되

어 본 연구를 시행하게 되었다.

본 연구에서는 *S. aureus* ATCC 25923 세균주를 이용하여, 표준 액체배지 희석법 (agar microdilution method)⁹⁾으로 최소 저농도(Minimal Inhibition Concentration: MIC)를 측정된 후, 瓜蒌仁, 梔子, 白芷 물 추출물의 항균력을 평가하였다. 또 항염 및 염증관련 cytokine의 발현에 대한 연구를 수행하기 위해 LPS로 활성화된 murine macrophage 세포주인 Raw 264.7 세포를 이용하여 세포 생존율, PGE₂, NO, TNF- α , IL-1 β 및 IL-6 분비에 미치는 영향을 각각 평가하였다. 본 실험에서 각각의 물 추출물의 항균력은 lincomycin과 비교하였으며, 항염 효과는 piroxicam과 비교하였다.

지금까지 과루인, 치자, 백지 각각의 항균¹⁰⁻¹²⁾ 및 항염효과¹³⁻¹⁵⁾에 대한 여러 가지 연구가 있었으나, 유방염의 대표적인 원인균인 *S. aureus*를 이용한 과루인, 치자, 백지의 항균 및 항염 효과에 대한 연구는 아직 접하지 못하였다. 이에 저자는 *S. aureus*에 대한 이 세 가지 약재의 항균 및 항염 효과에 대한 분석을 통하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

본 실험에 사용된 모든 약재는 제천한방약초(제천, 한국)에서 매입한 것을 현미경 하에서 관능 검사를 통하여 선정하여 사용하였으며, 배지 및 시약으로 사용된 BHI, MH agar 또는 DMEM은 Difco (MI, USA)에서 각각 구입하였으며, MTT, LPS(from *Escherichia coli* 0111:B4), 대조약물인 lincomycin hydrochloride 및

piroxicam은 Aldrich-Sigma(MO, USA)에서 각각 구입하여 사용하였다. 또한 96 well-plate는 Greiner(Germany)에서 구입하였으며, PGE₂, TNF- α , IL-1 β 와 IL-6의 ELISA Kit는 Pierce endogen(Rockford, IL, USA)에서 구입하여 사용하였고, 이외 대부분의 시약은 Aldrich-Sigma(MO, USA)에서 구입하여 사용 하였다.

1. 시료(물 추출물)의 준비

시중에서 구입한 瓜蒌仁, 梔子, 白芷 각 100 g을 취하여, 정제수 1000 ml로 80℃에서 3시간 동안 3번 가열 추출한 후, 흡인 여과한 여과액을 rotary vacuum evaporator (Buchi Rotavapor R144, Buchi Labortechnik AG, Switzzland)로 감압·농축하였다. 각각

점조성의 추출물을 얻은 다음 programmable freeze dryer(Labconco Freezone1, Labconco Corp., MO, USA)를 사용하여 동결 건조시켜, 갈색, 적갈색 또는 연갈색의 瓜蒌仁, 梔子 및 白芷 물 추출물을 각각 12.06(수율 12.06%), 13.17(수율 13.17%), 13.86(수율 13.86%) g을 얻어 실험에 사용하였다. 각각의 학명 및 특성은 다음과 같다(Table 1). 준비한 각각의 동결건조 추출물은 -20℃의 냉장고에 보관 후 실험에 사용하였으며, 구입한 lincomycin 및 piroxicam은 4℃의 냉장고에 보관한 후 사용하였다. 모든 동결 건조 추출물은 사용한 용매인 증류수에 25 mg/ml의 농도까지 비교적 잘 용해되었고, lincomycin 및 piroxicam은 25 및 100 μ g/ml까지 비교적 잘 용해되었다.

Table 1. Characteristics of Individual Herbal Extracts Used in This Study

Korean Name	Herbs	Scientific Name	Yields (%)
瓜蒌仁	Trichosanthes Semen	<i>Trichosanthes kirilowii</i> MAX.	12.06
梔子	Gardeniae Fructus	<i>Gardenia jasminoides</i> Ellis	13.17
白芷	Angelicae Dahuricae Radix	<i>Angelica dahurica</i> Benth.et Hooker F.	13.86
Total		3 Types	

2. 균주, 세포주 및 배지

*S. aureus*는 American Type Culture Collection Center(VA, USA)에서 동결 건조 상태로 구입하여, BHI 배지에 녹인 후 BHI agar에 2~3회 계대 배양한 후 사용하였으며, MH agar 또는 broth에서 유지시켰다. 또한 murine macrophage 세포 주인 Raw 264.7 세포는 한국세포주은행(KCLB, Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 실험에 사용한 Raw 264.7 세포는 DMEM에 10% FBS, 100 U/ml penicillin 및 100 μ g/ml streptomycin을

혼합한 배지를 사용하여, 37℃, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 실험 과정의 모든 세포는 80~90%의 confluence에서 실험하였고, 20 passages를 넘기지 않은 세포만 사용하였다.

3. 생균 수의 측정

비교적 정확한 흡광도 OD와 세균 수의 상관관계를 알아보기 위하여, 정량 평판법(Quantitative Plating Methods, Standard Plate Count)을 이용하여 균수를 측정하였다^{16,17}. *S. aureus*를 spectrophotometer

(Milton Roy Spectronic 20D: Milton Roy Company, PA, USA)를 이용하여, 600 nm (OD₆₀₀)에서의 흡광도를 0.5 Mcfarland standard와 같은 탁도로 조정된 다음, 균액을 10, 100, 1000 및 10000배로 단계 희석하여 균의 농도가 1×10⁴ CFU/ml이 되도록 만들어 MH agar에 접종하였다. 37°C, 10% CO₂ 조건에서 24시간 배양한 다음 조직에 형성된 집락 수를 희석된 순서대로 OD와 비교하였다. 0.5 Mcfarland standard 탁도는 1.175% barium chloride dihydrate (BaCl₂·2H₂O) 0.05 ml와 1% sulfuric acid (H₂SO₄) 9.95 ml를 혼합하여 준비하였다¹⁸⁾.

4. 항균 활성도 측정

瓜蒌仁, 梔子, 白芷 물 추출물의 *S. aureus*에 대한 최소 저지농도를 표준 액체배지 희석법을 이용하여 측정하였다. 즉 각각의 물 추출물을 25 mg/ml의 농도로 멸균 증류수에 용해시킨 다음 계단식으로 배수 희석하여 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.563, 0.782, 0.391, 0.195, 0.098 및 0 mg/ml의 총 10가지 농도를 준비하여 각각 멸균된 96 well plate에 100 µl씩 분주하였다. 여기에 *S. aureus*의 단일 집락을 MH broth 배지에 접종한 지 48 시간 후 OD₆₀₀을 spectrophotometer로 측정하여, 1.5×10⁶ cell이 들어가도록 준비한 cell suspension 100 µl를 분주 하였다. 이후 37°C에서 48시간 배양하였다. Lincomycin 역시 25 µg/ml의 농도로 멸균증류수에 용해시킨 다음 계단식으로 배수 희석하여, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.563, 0.782, 0.391, 0.195, 0.098 및 0 µg/ml 의 총 10가지 농도를 준비하고, 동일한 방법으로 bacteria suspension(1.5×10⁶ CFU/ml)을 첨가한 다음 48시간동안 37°C에 배양하였다. Pfaller

등의 방법에 따라, MIC는 각각의 growth control well과 시료가 함유된 well의 *S. aureus* 성장을 육안적으로 비교 관찰하여, 균의 성장 억제가 나타나는 최소 농도로 결정하였다. 모든 실험은 5회 반복하였다.

5. 세포 생존율 측정

Raw 264.7 세포를 96 well plate에 5×10⁴ cells/well로 분주한 다음 瓜蒌仁, 梔子, 白芷 물 추출물을 각각 농도 별로 처리하여 세포의 생존율을 구하였다. 즉, 각각의 물 추출물을 10 mg/ml의 농도로 멸균 증류수에 용해시킨 다음 계단식으로 배수 희석하여 10, 1, 0.1, 0.01, 0.001 및 0 mg/ml의 총 6가지 농도를 준비하고, piroxicam 역시 100, 10, 5, 2.5, 1.25 및 0 µg/ml 농도의 총 6가지 농도를 준비하여, 각각 세포에 처리한 후에 37°C, 5% CO₂의 환경이 유지되는 배양기에서 배양하였다. 각각의 물 추출물 처리 1시간 후, 1 µg/ml 농도의 LPS를 다시 첨가한 다음 37°C, 5% CO₂하에서 24시간 배양했다. 생존 세포에 0.1 mg/ml 농도의 MTT 용액 50 µl를 첨가하고, 4시간 배양한 후 배지를 제거하고, 생성된 formazan crystals을 DMSO에 녹여 Automatic ELISA microplate reader(Huntsville, AL, USA)를 사용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. LPS 무처리군에 대한 ratio로 세포 생존율을 측정하였으며, 5회 반복실험을 거쳐 산출된 평균 수치를 이용하여, 세포의 생존율 감소를 50% 억제하는 추출물의 ED₅₀를 산출하였다.

6. NO 생성량 측정

Raw 264.7 세포주로부터 생성된 NO의

양은 세포 배양액 중에 존재하는 NO_2^- 의 형태로 Griess 시약을 이용하여 측정하였다. 즉, 세포 배양 상등액 50 μl 와 Griess시약(1% sulfanilamide in 5% phosphoric acid + 1% α -naphthylamide in H_2O) 50 μl 를 96 well plates에 혼합하고 암실에서 10분 동안 반응시킨 후 540 nm에서 Automatic ELISA microplate reader로 흡광도를 측정하였다. NO_2^- 의 농도는 sodium nitrate를 희석하여 흡광도를 측정하여 표준 곡선을 얻었다. 실험 결과는 무처리 대조군에 대한 ratio로 NO 생성량의 변화를 표시하였으며, 5회 반복 실험을 거쳐 산출된 평균 수치를 이용하여, 각각의 물 추출물이 NO 생성량을 50% 억제하는 ED_{50} 를 산출하였다.

7. PGE_2 생성량 측정

PGE_2 생성량을 측정하기 위하여 6 well plate에 cells 5×10^5 CFU/ml를 분주하고, 瓜蒌仁, 梔子, 白芷 물 추출물을 각각 농도별로 처리한 다음, 1시간 후에 LPS 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 처리하였다. LPS 처리 24시간 후 배지를 수거하고, PGE_2 ELISA Kit(Pierce endogen, Rockford, IL, USA)를 이용하여, manufacturer's instruction에 따라 함량을 측정하였다. 실험 결과는 무처리 대조군에 대한 ratio로 PGE_2 생성량의 변화를 표시하였으며, 5회 반복 실험을 거쳐 산출된 평균 수치를 이용하여, 각각의 물 추출물이 PGE_2 생성량을 50% 억제하는 ED_{50} 를 산출하였다.

8. Cytokine 생성량 측정

TNF- α , IL-1 β 및 IL-6 생성량을 측정하기 위하여 6 well plate에 cells 5×10^5 CFU/ml를 분주하고, 瓜蒌仁, 梔子, 白芷

물 추출물을 각각 농도별로 처리한 다음, 1시간 후에 LPS 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 처리하였다. LPS 처리 12시간 후 배지를 수거하고, 각각의 TNF- α , IL-1 β 및 IL-6 ELISA Kit(Pierce endogen, Rockford, IL, USA)를 이용하여, manufacturer's instruction에 따라 함량을 측정하였다. 실험 결과는 무처리 대조군에 대한 ratio로 TNF- α , IL-1 β 및 IL-6 생성량의 변화를 표시하였으며, 5회 반복 실험을 거쳐 산출된 평균 수치를 이용하여, 각각의 물 추출물이 cytokine에 대한 증가를 50% 억제하는 ED_{50} 를 산출하였다.

9. 통계 처리

모든 수치는 5회 반복 실험의 평균 \pm 표준편차로 표시하였으며, 세포 생존율, NO, PGE_2 및 Cytokine 생성량에 미치는 효과는 다중 비교 검증을 이용하여 통계 처리를 실시하였다. 즉, 분산 동질성을 Levene test를 실시하여 검증하고, 등분산일 경우, one way ANOVA test를 실시한 다음 least-significant differences(LSD) test로 사후 검증을 실시하여 군 간의 유의성을 측정하였다. 비등분산일 경우에는 비모수 검증인 Kruskal-Wallis H test를 실시하여 유의성이 인정된 경우에는, Mann-Whitney U(MW) test를 실시하여 군 간의 유의성을 검증하였다. 모든 통계처리는 SPSS for Windows(Release 14.0K, SPSS Inc., USA)를 이용하였으며, p-value가 0.05 이하인 경우 통계적 유의성을 인정하였다. 또한 ED_{50} 는 Probit 방법을 이용하여, SPSS for Windows(Release 14.0K, SPSS Inc., USA)로 산출하였고, 후보 물질의 효과를 보다 명확히 하기 위하여, LPS 처리군과 비처리 대조군과의 percent change를 아

래의 공식을 이용하여 측정하였다.

EQUATION. Percentage Changes as Compared with LPS Control(%)

$$= \{(\text{Data of test material treated groups} - \text{Data of LPS control}) / \text{Data of LPS control}\} \times 100$$

III. 결 과

1. 항균 활성도(MIC)

Table 2. MIC against *S. aureus* Detected in This Study by Agar Microdilution Method

Test Materials	MIC	Ranges
Trichosanthes Semen (mg/ml)	> 25	> 25
Gardeniae Fructus (mg/ml)	4.063±2.096	1.563 ~ 6.250
Angelicae Dahuricae Radix (mg/ml)	1.641±0.972	0.391 ~ 3.125
Lincomycin (µg/ml)	0.469±0.297	0.195 ~ 0.782

Values are expressed Mean±SD

2. 세포 생존율의 변화

LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는 ($p < 0.01$ 또는 $p < 0.05$) 세포 생존율의 증가가 瓜蒌仁, 梔子, 白芷 물 추출물, piroxicam 처리군에서 각각 0.1 mg/ml, 0.1 mg/ml, 0.01 mg/ml, 5 µg/ml부터 인정되기 시작하였고, LPS 처리에 의한 세포 생존율 감소에 대한 瓜蒌仁, 梔子, 白芷 물 추출물, piroxicam의 ED₅₀는 각각 7.635 mg/ml, 13.761 mg/ml, 6.986 mg/ml, 35.179 µg/ml로 산출되었다.

LPS 단독 처리군에서는 무처리 대조군에 비해 瓜蒌仁, 梔子, 白芷 물 추출물, piroxicam 각각 -40.60%, -43.20%, -39.80%, -40.40%의 세포 생존율을 나타내었다.

瓜蒌仁 물 추출물 0.001, 0.01, 0.1, 1 및 10 mg/ml 농도 처리군에서는 LPS 단독

瓜蒌仁, 梔子, 白芷 물 추출물의 *S. aureus*에 대한 MIC를 표준 액체배지 희석법으로 평가한 결과, MIC는 각각 > 25, 4.063±2.096(1.563~6.250), 1.641±0.972(0.391~3.125) mg/ml로 관찰되어, 白芷, 梔子 물 추출물 순으로 항균력을 나타내었으나, 瓜蒌仁 물 추출물은 별 다른 항균력을 나타내지 않는 것으로 관찰되었다. 한편 lincomycin의 MIC는 0.469±0.297(0.195~0.782) µg/ml로 관찰되었다(Table 2).

처리군에 비해 각각 8.08, 19.53, 30.30, 38.72 및 49.49%의 변화를 나타내었고, 梔子 물 추출물은 각각의 농도 처리군에서 LPS 단독 처리군에 비해 각각 1.41, 13.38, 25.35, 34.15 및 43.31%의 변화를 나타내었으며, 白芷 물 추출물은 각각의 농도 처리군에서 LPS 단독 처리군에 비해 각각 7.31, 21.93, 26.25, 39.53 및 50.83%의 변화를 나타내었다. 마지막으로 piroxicam 1.25, 2.5, 5, 10 및 100 µg/ml 농도 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 3.02, 12.75, 30.20, 47.65 및 56.04%의 변화를 나타내었다(Fig. 1-4).

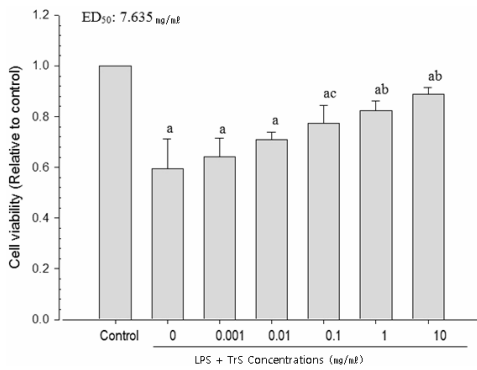


Fig. 1. Effects of Trichosanthes Semen Aqueous Extracts on the Cell Viability in LPS Stimulated Raw 264.7 Cells.

^a p<0.01 as compared with control by MW test. ^b p<0.01 and ^c p<0.05 as compared with LPS (1 µg/ml) treated control by MW test.

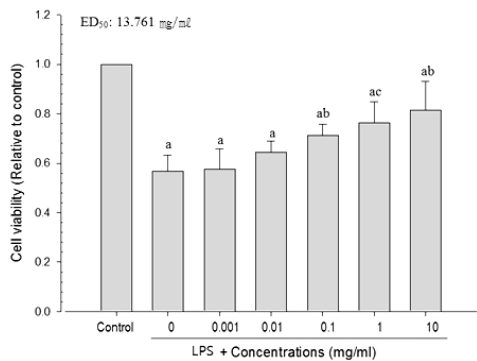


Fig. 2. Effects of Gardeniae Fructus Aqueous Extracts on the Cell Viability in LPS Stimulated Raw 264.7 Cells.

^a p<0.01 as compared with control by MW test. ^b p<0.01 and ^c p<0.05 as compared with LPS (1 µg/ml) treated control by MW test.

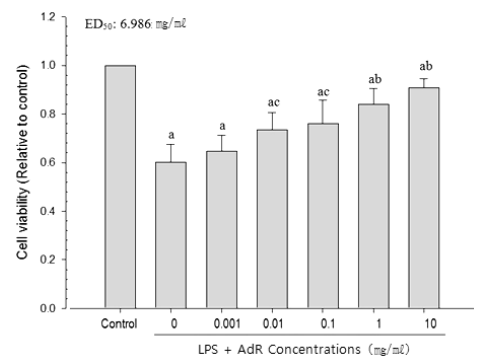


Fig. 3. Effects of Angelicae Dahuricae

Radix Aqueous Extracts on the Cell Viability in LPS Stimulated Raw 264.7 Cells.

^a p<0.01 as compared with control by MW test. ^b p<0.01 and ^c p<0.05 as compared with LPS (1 µg/ml) treated control by MW test.

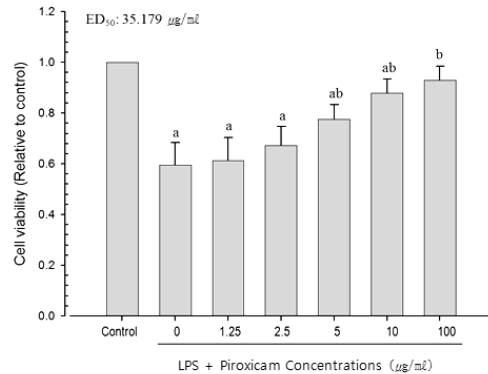


Fig. 4. Effects of Piroxicam on the Cell Viability in LPS Stimulated Raw 264.7 Cells.

^a p<0.01 as compared with control by LSD test. ^b p<0.01 as compared with LPS(1 µg/ml) treated control by LSD test.

3. NO 생성량의 변화

LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는 (p<0.01 또는 p<0.05) NO 생성량의 감소가 瓜蒌仁, 梔子, 白芷 물 추출물, piroxicam 처리군에서 각각 0.01 mg/ml, 0.001 mg/ml, 0.001 mg/ml, 1.25 µg/ml부터 인정되기 시작하였고, LPS 처리에 의한 NO 생성량의 증가에 대한 瓜蒌仁, 梔子, 白芷 물 추출물, piroxicam의 ED₅₀는 각각 4.808 mg/ml, 22.015 mg/ml, 2.949 mg/ml, 6.552 µg/ml로 산출되었다.

LPS 단독 처리군에서는 무처리 대조군에 비해 瓜蒌仁, 梔子, 白芷 물 추출물, piroxicam 각각 426.00%, 431.60%, 397.00%, 425.80%의 NO 생성량의 변화를 나타내었다.

瓜蒌仁 물 추출물 0.001, 0.01, 0.1, 1 및

10mg/ml 농도 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 -20.19, -28.52, -32.28, -44.68 및 -53.31%의 변화를 나타내었고, 梔子 물 추출물은 각각의 농도 처리군에서 LPS 단독 처리군에 비해 각각 -16.06, -21.63, -23.14, -33.07 및 -51.69%의 변화를 나타내었으며, 白芷 물 추출물은 각각의 농도 처리군에서 LPS 단독 처리군에 비해 각각 -26.84, -27.85, -29.01, -50.42 및 -55.98%의 변화를 나타내었다. 마지막으로, piroxicam 1.25, 2.5, 5, 10 및 100 µg/ml 농도 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 -25.03, -30.81, -40.06, -69.49 및 -79.16%의 변화를 나타내었다 (Fig. 5-8).

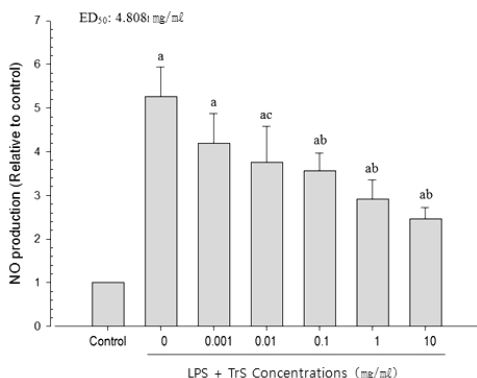


Fig. 5. Effects of Trichosanthes Semen Aqueous Extracts on the NO Production in LPS Stimulated Raw 264.7 Cells.
^a p<0.01 as compared with control by MW test.
^b p<0.01 and ^c p<0.05 as compared with LPS (1 µg/ml) treated control by MW test.

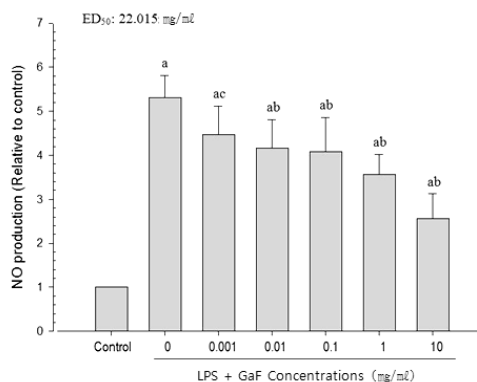


Fig. 6. Effects of Gardeniae Fructus Aqueous Extracts on the NO Production in LPS Stimulated Raw 264.7 Cells.
^a p<0.01 as compared with control by LSD test.
^b p<0.01 and ^c p<0.05 as compared with LPS (1 µg/ml) treated control by LSD test.

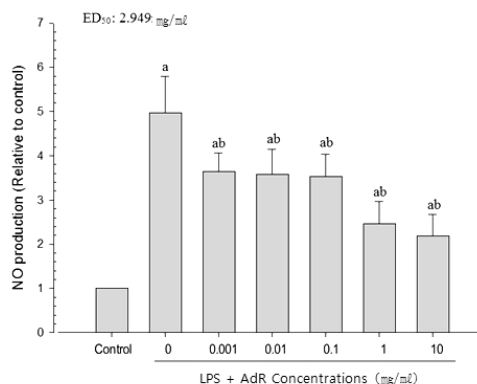


Fig. 7. Effects of Angelicae Dahuricae Radix Aqueous Extracts on the NO Production in LPS Stimulated Raw 264.7 Cells.
^a p<0.01 as compared with control by LSD test.
^b p<0.01 as compared with LPS(1 µg/ml) treated control by LSD test.

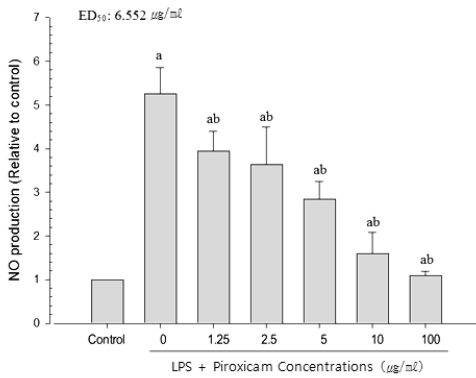


Fig. 8. Effects of Piroxicam on the NO Production in LPS Stimulated Raw 264.7 Cells.

^a p<0.01 as compared with control by LSD test.
^b p<0.01 as compared with LPS(1 µg/ml) treated control by LSD test.

4. PGE₂ 생성량의 변화

LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는 (p<0.01 또는 p<0.05) PGE₂ 생성량의 감소가 瓜蒌仁, 梔子, 白芷 물 추출물, piroxicam 처리군에서 각각 0.01 mg/ml, 0.1 mg/ml, 0.01 mg/ml, 1.25 µg/ml 부터 인정되기 시작하였고, LPS 처리에 의한 PGE₂ 생성량의 증가에 대한 瓜蒌仁, 梔子, 白芷 물 추출물, piroxicam의 ED₅₀는 각각 3.040mg/ml, 4.312 mg/ml, 0.821 mg/ml, 1.162 µg/ml로 산출되었다.

LPS 단독 처리군에서는 무처리 대조군에 비해 瓜蒌仁, 梔子, 白芷 물 추출물, piroxicam 각각 39671.00%, 40150.20%, 39529.60%, 39534.00%의 PGE₂ 생성량의 변화를 나타내었다.

瓜蒌仁 물 추출물 0.001, 0.01, 0.1, 1 및 10 mg/ml 농도 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 -15.16, -23.86, -32.90, -47.04 및 -54.19%의 변화를 나타내었고, 梔子 물 추출물은 각각의 농도 처리군에서 LPS 단독 처리군에 비해 각각 -7.95, -18.94, -20.60, -48.06 및 -52.39%의 변화

를 나타내었으며, 白芷 물 추출물은 각각의 농도 처리군에서 LPS 단독 처리군에 비해 각각 -22.36, -30.40, -42.33, -51.64 및 -59.80%의 변화를 나타내었다. 마지막으로 piroxicam 1.25, 2.5, 5, 10 및 100 µg/ml 농도 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 -41.94, -59.07, -69.96, -77.87 및 -82.52%의 변화를 나타내었다 (Fig. 9-12).

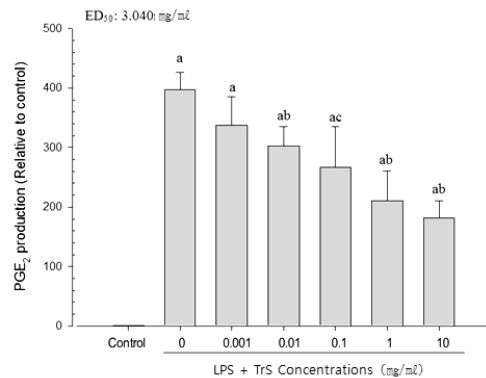


Fig. 9. Effects of Trichosanthes Semen Aqueous Extracts on the PGE₂ Production in LPS Stimulated Raw 264.7 Cells.

^a p<0.01 as compared with control by MW test.
^b p<0.01 and ^c p<0.05 as compared with LPS (1 µg/ml) treated control by MW test.

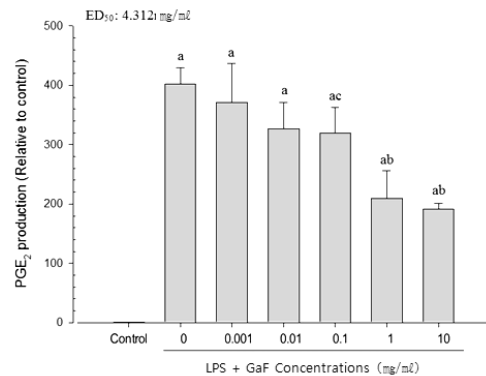


Fig. 10. Effects of Gardeniae Fructus Aqueous Extracts on the PGE₂ Production in LPS Stimulated Raw 264.7 Cells.

^a p<0.01 as compared with control by MW test.
^b p<0.01 and ^c p<0.05 as compared with LPS (1 µg/ml) treated control by MW test.

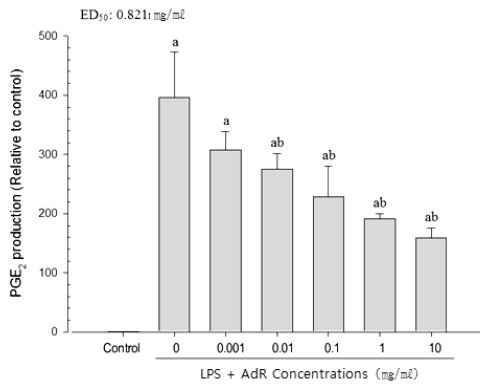


Fig. 11. Effects of Angelicae Dahuricae Radix Aqueous Extracts on the PGE₂ Production in LPS Stimulated Raw 264.7 Cells.

^a p<0.01 as compared with control by LSD test.
^b p<0.01 as compared with LPS (1 µg/ml) treated control by LSD test.

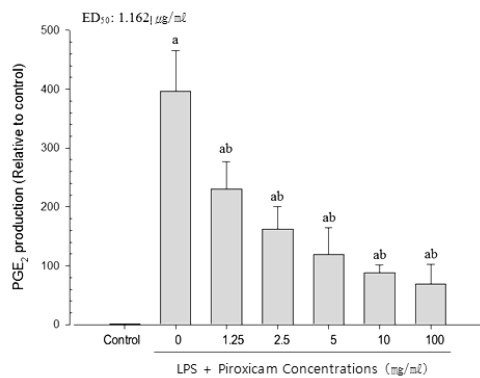


Fig. 12. Effects of Piroxicam on the PGE₂ Production in LPS Stimulated Raw 264.7 Cells.

^a p<0.01 as compared with control by MW test.
^b p<0.01 as compared with LPS (1 µg/ml) treated control by MW test.

5. TNF-α 생성량의 변화

LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는 (p<0.01 또는 p<0.05) TNF-α 생성량의 감소가 瓜蒌仁, 梔子, 白芷 물 추출물, piroxicam 처리군에서 각각 0.01 mg/ml, 0.01 mg/ml, 0.001 mg/ml, 1.25 µg/ml부터 인정되기 시작하였고, LPS 처리에 의한 TNF-α 생성량의 증가에 대한 瓜蒌仁, 梔子, 白芷 물 추출물, piroxicam 의 ED₅₀는 각각

9.563 mg/ml, 54.931 mg/ml, 1.240 mg/ml, 7.273 µg/ml 로 산출되었다.

LPS 단독 처리군에서는 무처리 대조군에 비해 瓜蒌仁, 梔子, 白芷 물 추출물, piroxicam 각각 1462.40%, 1452.40%, 1469.60%, 1460.60%의 TNF-α 생성량의 변화를 나타내었다.

瓜蒌仁 물 추출물 0.001, 0.01, 0.1, 1 및 10 mg/ml 농도 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 -9.58, -13.50, -25.77, -34.34 및 -51.97%의 변화를 나타내었고, 梔子 물 추출물은 각각의 농도 처리군에서 LPS 단독 처리군에 비해 각각 -7.03, -11.16, -15.65, -24.75 및 -44.06%의 변화를 나타내었으며, 白芷 물 추출물은 각각의 농도 처리군에서 LPS 단독 처리군에 비해 각각 -11.96, -22.39, -36.61, -47.53 및 -62.68%의 변화를 나타내었다. 마지막으로 piroxicam 1.25, 2.5, 5, 10 및 100 µg/ml 농도 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 -29.19, -42.21, -50.07, -55.63 및 -69.88%의 변화를 나타내었다 (Fig. 13-16).

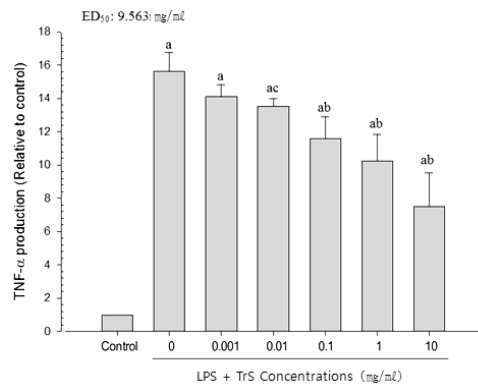


Fig. 13. Effects of Trichosanthes Semen Aqueous Extracts on the TNF-α Production in LPS Stimulated Raw 264.7 Cells.

^a p<0.01 as compared with control by MW test.
^b p<0.01 and ^c p<0.05 as compared with LPS (1 µg/ml) treated control by MW test.

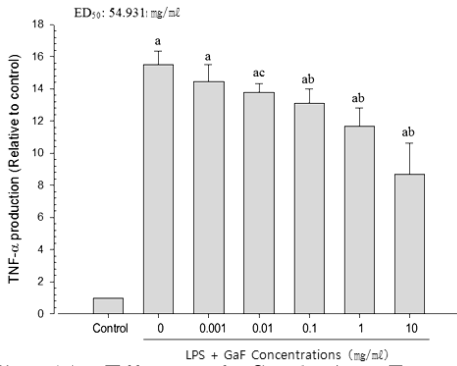


Fig. 14. Effects of *Gardeniae Fructus* Aqueous Extracts on the TNF- α Production in LPS Stimulated Raw 264.7 Cells.

^a p<0.01 as compared with control by MW test.
^b p<0.01 and ^c p<0.05 as compared with LPS (1 μ g/ml) treated control by MW test.

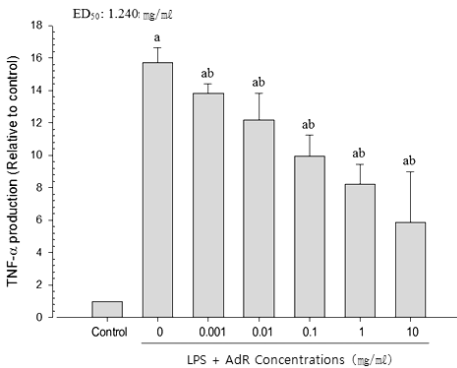


Fig. 15. Effects of *Angelicae Dahuricae Radix* Aqueous Extracts on the TNF- α Production in LPS Stimulated Raw 264.7 Cells.

^a p<0.01 as compared with control by MW test.
^b p<0.01 as compared with LPS (1 μ g/ml) treated control by MW test.

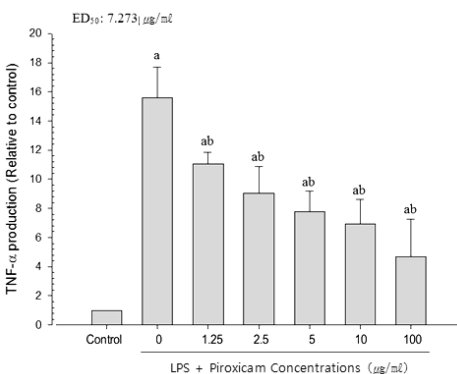


Fig. 16. Effects of Piroxicam on the

TNF- α Production in LPS Stimulated Raw 264.7 Cells.

^a p<0.01 as compared with control by MW test.
^b p<0.01 as compared with LPS (1 μ g/ml) treated control by MW test.

6. IL-1 β 생성량의 변화

LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는 (p<0.01 또는 p<0.05) IL-1 β 생성량의 감소가 *瓜蒌仁*, *梔子*, *白芷* 물 추출물, piroxicam 처리군에서 각각 0.001 mg/ml, 0.01 mg/ml, 0.001 mg/ml, 1.25 μ g/ml부터 인정되기 시작하였고, LPS 처리에 의한 IL-1 β 생성량의 증가에 대한 *瓜蒌仁*, *梔子*, *白芷* 물 추출물, piroxicam의 ED₅₀는 각각 1.362 mg/ml, 1.801 mg/ml, 0.534 mg/ml, 7.101 μ g/ml 로 산출되었다.

LPS 단독 처리군에서는 무처리 대조군에 비해 *瓜蒌仁*, *梔子*, *白芷* 물 추출물, piroxicam 각각 366.80%, 369.40%, 368.00%, 365.60%의 IL-1 β 생성량의 변화를 나타내었다.

瓜蒌仁 물 추출물 0.001, 0.01, 0.1, 1 및 10 mg/ml 농도 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 -18.42, -21.89, -33.12, -50.77 및 -61.18%의 변화를 나타내었고, *梔子* 물 추출물은 각각의 농도 처리군에서 LPS 단독 처리군에 비해 각각 -10.52, -19.98, -28.33, -48.53 및 -60.80%의 변화를 나타내었으며, *白芷* 물 추출물은 각각의 농도 처리군에서 LPS 단독 처리군에 비해 각각 -17.56, -22.48, -47.39, -57.05 및 -62.09%의 변화를 나타내었다. 마지막으로 piroxicam 1.25, 2.5, 5, 10 및 100 μ g/ml 농도 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 -27.06, -37.97, -44.97, -61.38 및 -75.39%의 변화를 나타내었다 (Fig. 17-20).

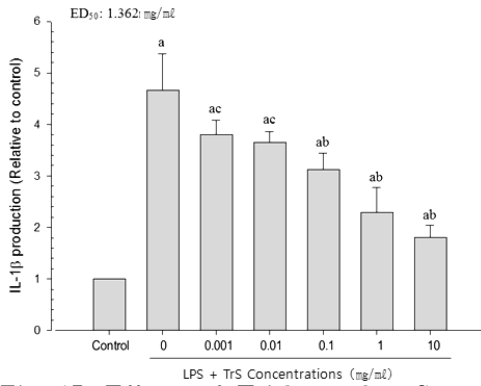


Fig. 17. Effects of Trichosanthes Semen Aqueous Extracts on the IL-1 β Production in LPS Stimulated Raw 264.7 Cells.
^a p<0.01 as compared with control by MW test.
^b p<0.01 and ^c p<0.05 as compared with LPS (1 μ g/ml) treated control by MW test.

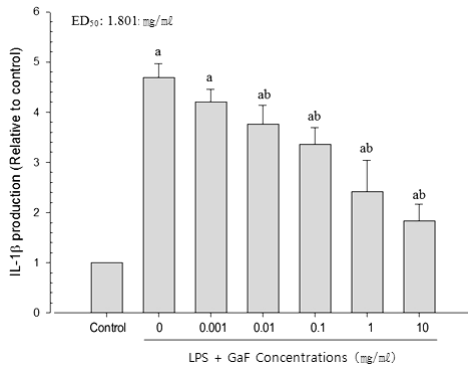


Fig. 18. Effects of Gardeniae Fructus Aqueous Extracts on the IL-1 β Production in LPS Stimulated Raw 264.7 Cells.
^a p<0.01 as compared with control by MW test.
^b p<0.01 as compared with LPS(1 μ g/ml) treated control by MW test.

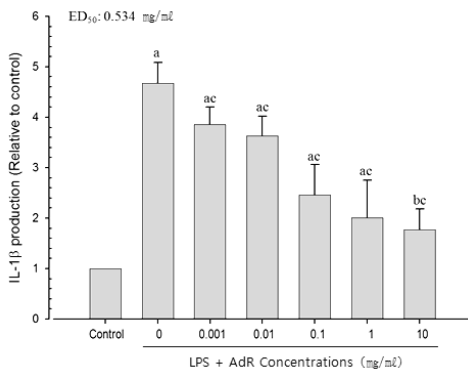


Fig. 19. Effects of Angelicae Dahuricae

Radix Aqueous Extracts on the IL-1 β Production in LPS Stimulated Raw 264.7 Cells.

^a p<0.01 and ^b p<0.05 as compared with control by LSD test.

^c p<0.01 as compared with LPS (1 μ g/ml) treated control by LSD test.

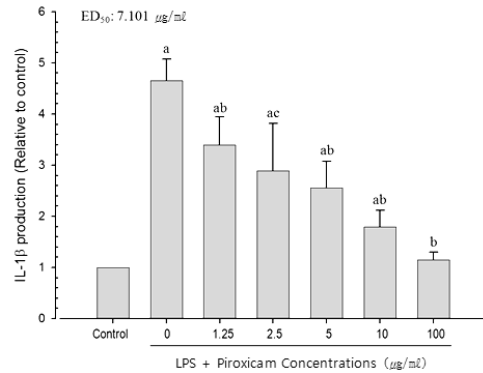


Fig. 20. Effects of Piroxicam on the IL-1 β Production in LPS Stimulated Raw 264.7 Cells.

^a p<0.01 as compared with control by MW test.
^b p<0.01 and ^c p<0.05 as compared with LPS (1 μ g/ml) treated control by MW test.

7. IL-6 생성량의 변화

LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는 (p<0.01 또는 p<0.05) IL-6 생성량의 감소가 瓜蒌仁, 梔子, 白芷 물 추출물, piroxicam 처리군에서 각각 0.001 mg/ml, 0.001 mg/ml, 0.001 mg/ml, 2.5 μ g/ml 부터 인정되기 시작하였고, LPS 처리에 의한 IL-6 생성량의 증가에 대한 瓜蒌仁, 梔子, 白芷 물 추출물, piroxicam 의 ED₅₀는 각각 0.371 mg/ml, 0.797 mg/ml, 0.202 mg/ml, 5.044 μ g/ml 로 산출되었다.

LPS 단독 처리군에서는 무처리 대조군에 비해 瓜蒌仁, 梔子, 白芷 물 추출물, piroxicam 각각 2354.20%, 2386.20%, 2366.00%, 2385.60%의 IL-6 생성량의 변화를 나타내었다.

瓜蒌仁 물 추출물 0.001, 0.01, 0.1, 1 및

10 mg/ml 농도 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 -14.58, -19.62, -41.85, -62.14 및 -70.61%의 변화를 나타내었고, 梔子 물 추출물은 각각의 농도 처리군에서 LPS 단독 처리군에 비해 각각 -13.02, -19.00, -34.29, -56.29 및 -65.36%의 변화를 나타내었으며, 白芷 물 추출물은 각각의 농도 처리군에서 LPS 단독 처리군에 비해 각각 -21.69, -23.60, -48.72, -64.06 및 -71.73%의 변화를 나타내었다. 마지막으로 piroxicam 1.25, 2.5, 5, 10 및 100 µg/ml 농도 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 -28.36, -39.39, -51.52, -63.08 및 -84.32%의 변화를 나타내었다 (Fig. 21-24).

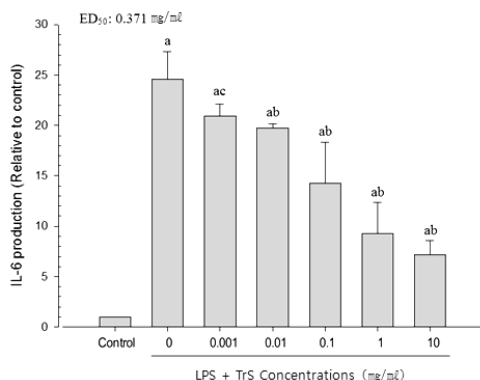


Fig. 21. Effects of Trichosanthes Semen Aqueous Extracts on the IL-6 Production in LPS Stimulated Raw 264.7 Cells.
^a p<0.01 as compared with control by MW test.
^b p<0.01 and ^c p<0.05 as compared with LPS (1 µg/ml) treated control by MW test.

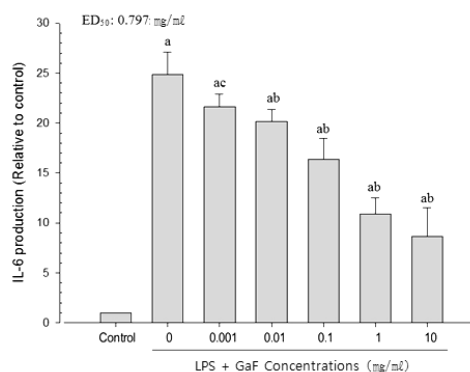


Fig. 22. Effects of Gardeniae Fructus Aqueous Extracts on the IL-6 Production in LPS Stimulated Raw 264.7 Cells.
^a p<0.01 as compared with control by MW test.
^b p<0.01 and ^c p<0.05 as compared with LPS (1 µg/ml) treated control by MW test.

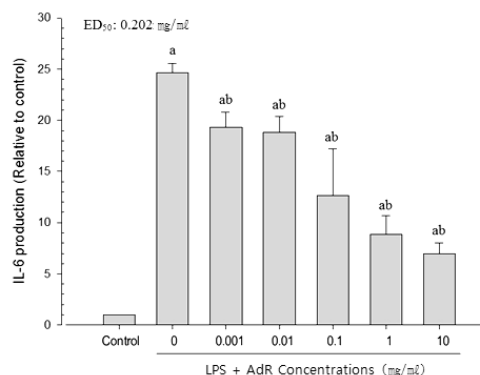


Fig. 23. Effects of Angelicae Dahuricae Radix Aqueous Extracts on the IL-6 Production in LPS Stimulated Raw 264.7 Cells.
^a p<0.01 as compared with control by MW test.
^b p<0.01 as compared with LPS(1 µg/ml) treated control by MW test.

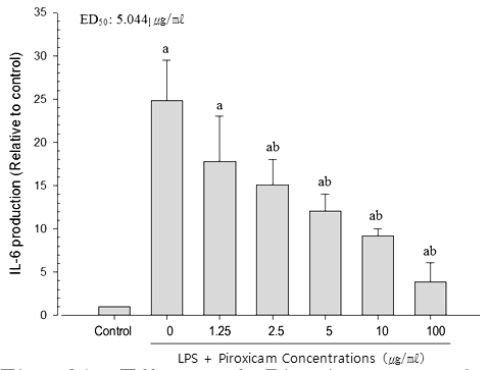


Fig. 24. Effects of Piroxicam on the IL-6 Production in LPS Stimulated Raw 264.7 Cells.

^a p<0.01 as compared with control by MW test.
^b p<0.01 as compared with LPS(1 µg/ml) treated control by MW test.

IV. 고찰

유방염은 유방의 피부나 피지낭종, 화농성 한선염같이 피하 구조물에 이차적 감염이 일어난 것으로, 18~50세 여성에서 흔히 발생하는 유방의 염증성 질환이다¹⁹⁾. 수유기의 어느 시기에서든지 일어날 수 있으나, 분만 2~3주에 집중적으로 일어나며, 75~80%는 출산 후 3개월 이내에 발생하고, 좌우 유방의 유병율은 거의 동일하다²⁰⁾. 근래에는 산모의 의식향상과 항생제의 사용으로 유행성 유방염 및 유방 농양의 발생 빈도가 전체 농양의 10%이하로 과거에 비해 감소하였으나 여전히 산모들의 중요한 관심사 중 하나이다²¹⁾.

유방염의 주 원인균은 *S. aureus*, *Streptococcus*이며, 여러 가지 요인에 의해 발생한다. 유두에 생긴 균열이나 찰과상으로 세균이 감염되어 염증이 생기기도 하는데, 특히 구강 기형이 있는 영아나 설소대가 짧은 영아에게 수유하는

경우에 유두 손상에 의한 유방 감염이 일어날 수 있다. 또 정체된 유즙에 의해서 발생하는 경우도 있다²²⁾.

*Streptomyces lincolnensis*에서 생산되는 lincosamide계 항생물질인 lincomycin은 *S. aureus*에 강력한 항균력을 나타낼 뿐만 아니라, 고질적인 actinomycetes, mycoplasma 및 plasmodium 일부 원충류에도 강력한 항균력을 나타내어²³⁾, 다양한 내성균과 penicillin에 알레르기 반응을 나타내는 환자에 이용되고 있다²⁴⁾. 하지만 다양한 부작용으로 그 사용이 제한되고 있으며²⁵⁾, lincomycin 내성 *S. aureus* 역시 출현하고 있다²⁶⁾. Piroxicam은 대표적인 NSAIDs로, 다양한 염증질환에 소염진통제로 이용되고 있으나²⁷⁾, 대표적인 부작용인 위궤양 등의 부작용이 여전히 문제시 되고 있다²⁸⁾. 따라서 항생제 및 진통소염제의 사용을 줄이고, 항염 효과가 우수한 대체 약물, 특히 천연물 유래의 치료제의 개발이 시급한 실정이다.

한의학에서 유방의 염증성 질환을 乳癰, 乳疽, 乳發, 乳癆라 한다. 乳癰은 유선 조직의 급성 화농성 질환으로 전신惡寒發熱과 유방의 紅腫熱痛 등을 동반하며 쉽게 消散하기도 하고 쉽게 潰瘍하기도 하는 것을 말한다²⁹⁾.

연구에 사용된 瓜蒌仁, 梔子, 白芷는 전통적으로 清熱解毒의 효능이 있는 약재들로, 주로 질염 및 유방염을 위시한 부인과의 염증성, 감염성 질환에 頻用되는 단미제이다. 각 약재 효능과 약리에 대해 《本草學》에서는 瓜蒌仁의 潤肺化痰, 活腸通便의 효능, 梔子の 瀉火除煩, 清熱利尿, 涼血解毒, 白芷의 祛風解表, 祛風濕, 通竅止痛 및 消腫排膿의 효능에 대하여 기재되어 있으며, 각각의 항염³⁰⁾,

면역조절^{31,32)}, 항균³³⁾ 및 항산화 효과³⁴⁾가 여러 연구를 통해 증명되어 왔다.

본 연구에서는 유방염 등의 부인과 질환에서 이들 약재의 효능을 검토하기 위해, *S. aureus* 세균주에 대한 MIC를 표준 액체배지 희석법으로 측정하여, 항균 효과를 평가하였다. 항염 및 염증 관련 cytokine의 발현에 대한 연구를 수행하기 위해 LPS로 활성화된 murine macrophage 세포 주인 Raw 264.7 세포를 이용하였고, 세포 생존율, PGE₂, NO, TNF- α , IL-1 β 및 IL-6 분비에 미치는 영향을 각각 평가하였다. 항균력은 lincomycin과 항염 효과는 piroxicam과 각각 비교하였다.

*S. aureus*에 대한 lincomycin의 MIC는 대략 1.56 μ g/ml로 알려져 있는데³⁵⁾, 본 실험의 결과에서도 0.469 \pm 0.297(0.195~0.782) μ g/ml로 관찰되어 이전의 연구와 유사한 항균 활성이 인정되었다. 또한 piroxicam의 LPS 처리에 의한 Raw 264.7 세포의 생존율, NO, PGE₂, TNF- α , IL-1 β 및 IL-6 생성량 증가 억제에 대한 ED₅₀가 각각 35.179, 6.552, 1.162, 7.273, 7.101 및 5.044 μ g/ml로 관찰되어, 5.30 μ g/ml 전후에서 비교적 강력한 항염 효과를 나타낸다는 이전의 보고³⁶⁾와 유사한 항염 효과가 인정되었다.

표준 액체배지 희석법에 의한 MIC 측정은 세균 및 다양한 감염증에 대한 후보 물질의 항균 활성을 측정하는 가장 기본적인 방법으로, 본 실험에서는 白芷, 梔子 물 추출물 순으로 *S. aureus*에 대한 항균력을 나타내었으나, 瓜蒌仁 물 추출물은 별 다른 항균력을 나타내지 않는 것으로 관찰되었다.

본 실험의 결과 瓜蒌仁, 梔子, 白芷 물 추출물의 LPS 처리 Raw 264.7세포 생존율

에 대한 ED₅₀가 각각 7.635, 13.761, 6.986 mg/ml로 관찰되어 白芷, 瓜蒌仁, 梔子の 순으로 대식 세포 보호 효과를 나타내는 것으로 판단되었으며, LPS처리 후 그 효과는 농도 의존적으로 나타나는 것을 관찰할 수 있었다.

NO는 강한 활성을 나타내는 대표적인 free radical의 일종으로, 저농도에서는 면역계의 방어 인자로서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으나³⁷⁾, 고농도의 NO는 과잉 염증 반응 등의 병리 반응을 일으키므로 이 또한 적절한 제어가 필수적이다³⁸⁾. 본 실험의 결과 瓜蒌仁, 梔子, 白芷 물 추출물의 LPS 처리에 의한 Raw 264.7 세포의 NO 생성량 증가 억제에 대한 ED₅₀가 각각 4.808, 22.015, 2.949 mg/ml로 관찰되어, 白芷, 瓜蒌仁, 梔子の 순으로 과도한 대식세포의 NO 생산 억제 효과, 즉 항산화 효과를 나타내는 것으로 판단되었으며, LPS처리 후 그 효과는 농도 의존적으로 나타나는 것을 관찰할 수 있었다.

PGE₂ 역시 NO와 유사하게 손상된 조직에서 통증과 발열에 관여하는 대표적인 염증 매개 물질로, 과량의 PGE₂는 과잉의 면역 반응을 일으켜 각종 염증성 질환을 유발하므로, PGE₂ 생성 억제는 염증과 통증을 완화시키는 데 매우 유용한 것으로 알려져 있다³⁹⁾. 본 실험의 결과, 瓜蒌仁, 梔子, 白芷 물 추출물의 LPS 처리에 의한 Raw 264.7 세포의 PGE₂ 생성량 증가 억제에 대한 ED₅₀가 각각 3.040, 4.312, 0.821 mg/ml로 관찰되어, 白芷, 瓜蒌仁, 梔子の 순으로 과도한 대식 세포의 PGE₂ 생산 억제 효과, 즉 항염 효과를 나타내는 것으로 판단되었으며, LPS 처리 후 그 효과는 농도 의존적으로 나

타나는 것을 관찰할 수 있었다.

TNF- α 는 pro-inflammatory cytokine 으로서 다양한 염증 관련 세포에서 분비되며, 다양한 염증성 질환 및 자가 면역 질환에 있어서 염증의 개시 및 유지에 핵심적 역할을 하는 것으로 알려져 있으며⁴⁰⁾, 염증 관련 cytokine 중 IL-1 β 은 pro-inflammatory cytokine으로서 T-cell의 활성화, B-cell의 성숙, NK cell의 activity를 활성화하고, 단핵구나 대식 세포에서 분비되는 IL-6는 림프구를 활성화시켜 항체 생산을 증가시키는 것으로, IL-6의 level은 염증성 병변에서 항상 증가하는 것으로 보고되고 있어, 이들의 적절한 제어가 세포보호, 항염, 항산화에 필수적이다. 본 실험의 결과, 瓜蒌仁, 梔子, 白芷 물 추출물의 LPS 처리에 의한 Raw 264.7 세포의 TNF- α 생성량 증가 억제에 대한 ED₅₀가 각각 9.563, 54.931, 1.240 mg/ml로, IL-1 β 생성량 증가 억제에 대한 ED₅₀가 각각 1.362, 1.801, 0.534 mg/ml로, IL-6 생성량 증가 억제에 대한 ED₅₀가 각각 0.371, 0.797, 0.202 mg/ml로 관찰되어, 白芷, 瓜蒌仁, 梔子의 순으로 세포보호, 항염 또는 항산화 효과를 나타내었으며, LPS처리 후 그 효과는 농도 의존적으로 나타나는 것을 관찰할 수 있었다.

이상의 결과에서, 白芷, 梔子 물 추출물 순으로 *S. aureus*에 대한 항균력을 나타내었으며, 瓜蒌仁 물 추출물은 *S. aureus*에 대해 별 다른 항균력을 나타내지 않는 것으로 관찰되었다. 또 白芷, 瓜蒌仁, 梔子 물 추출물의 순으로 세포 보호, 항염 또는 항산화 효과를 나타내는 것으로 관찰되었다.

이 실험에서 사용된 lincomycin과 piroxicam

은 세 가지 약제 물 추출물과 비교했을 때 효과 대비 용량 차이가 많이 난다. 하지만 白芷, 梔子 물 추출물은 분명한 항균 효과가 있는 것으로 관찰되었고, 白芷, 瓜蒌仁, 梔子 물 추출물에도 분명한 항염 효과가 있는 것으로 관찰되었으므로 용량 조절을 잘 한다면 瓜蒌仁, 梔子, 白芷 물 추출물이 lincomycin과 piroxicam의 부작용을 줄일 수 있는 훌륭한 대체물이 될 것으로 기대된다.

V. 결 론

瓜蒌仁, 梔子, 白芷 물 추출물의 *S. aureus*에 대한 항균력을 표준 액체배지 희석법으로 평가하였으며, LPS로 활성화된 세포주인 Raw 264.7 세포를 이용하여 항염 효과를 각각 평가한 결론은 다음과 같다.

1. *S. aureus*에 대한 瓜蒌仁, 梔子, 白芷 물 추출물의 MIC는 각각 > 25, 4.063 ± 2.096(1.563~6.250), 1.641 ± 0.972(0.391~3.125) mg/ml로 관찰되어, 白芷, 梔子 물 추출물 순으로 *S. aureus*에 대한 항균력을 나타내었으나, 瓜蒌仁물 추출물은 별 다른 항균력을 나타내지 않는 것으로 관찰되었다.
2. LPS 처리된 Raw 264.7 세포의 생존율, NO, PGE₂, TNF- α , IL-1 β 및 IL-6 생성량 증가 억제에 대한 ED₅₀를 관찰한 결과 白芷, 瓜蒌仁, 梔子の 순으로 세포 보호, 항염 또는 항산화 효과 부분에서 유의성 있는 결과를 나타내었다.

□ 투 고 일 : 2013년 1월 23일

□ 심 사 일 : 2013년 2월 1일

□ 게재확정일 : 2013년 2월 8일

참고문헌

1. 신혁재. 유선염의 최신지견. 서울:의약정보. 2011:22-7.
2. Peters F, Flick-Filliés D. Hand disinfection to prevent puerperal mastitis. *Lancet*. 1991;338:831.
3. Cassat J et al. Transcriptional profiling of a *Staphylococcus aureus* clinical isolate and its isogenic agr and sarA mutants reveals global differences in comparison to the laboratory strain RN6390. *Microbiology*. 2006;152:3075-90.
4. Ogawara H. Antibiotic resistance in pathogenic and producing bacteria with special reference to β -lactam antibiotics. *Micro Biol Rev*. 1981;45(4):591-619.
5. Lyon BR, Skurray R. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus*: genetic basis. *Microbiol Rev*. 1987;51(1):88-134.
6. 배종국. 한방유방학. 서울:정담. 2005:153-81.
7. 김인락 등. 本草學. 서울:영림사. 2004:163-4, 209-10, 501-2.
8. 김동현 등. 한방약리학. 서울:신일상사. 2006:166-9, 260-2, 624-7.
9. Pfaller MA et al. Multicenter evaluation of four methods of yeast inoculum preparation. *J Clin Microbiol*. 1988;26(8):1437-41.
10. 마진열 등. *Vibrio parahemolyticus*에 대한 한방처방 [방약합편] 및 그 단미제의 항균활성에 관한 연구. 한국한의학연구원논문집. 2000.
11. 최철순 등. 치자(梔子) 수용성 추출액의 결핵균 외의 기타 Mycobacteria에 대한 항균작용. *대한미생물학회*. 1986;21(1):53-62.
12. 유시용 등. 당귀와 백지로부터 분리한 Coumarin계 물질들의 식물병원균에 대한 항균활성. *농약과학회지*. 2001;5(3):26-35.
13. 서운교, 정지천. Melanoma B-16에서 IL-1 β 유발 GnT-III, V 활성화에 대한 과루인, 황금 추출물의 영향. *대한한방종양학회지*. 1999;5(1):103-18.
14. 양재현, 이남희. 치자 엑스의 가수분해에 의한 피부투과 및 항염효과. *약제학회지*. 2004;34(2):115-23.
15. 김명규 등. 백지의 사람비만세포 사이토카인 및 케모카인 발현 양상. *대한본초학회지*. 2007;22(1):81-7.
16. Pfaller MA et al. Standardized susceptibility testing of fluconazole : an international collaborative study. *Antimicrob Agents Chemother*. 1992;36(9):1805-9.
17. Pfaller MA et al. Collaborative investigation of variables in susceptibility testing of yeasts. *Antimicrob Agents Chemother*. 1990;34(9):1648-54.
18. Tenover FC et al. Characterization of staphylococci with reduced susceptibilities to vancomycin and other glycopeptides. *J Clin Microbiol*. 1998;36(4):1020-7.
19. 정상설. 핵심유방학개론. 서울:고려의학. 1998:14-7.
20. Spencer JP. Management of mastitis in breast feeding women. *Am Fam Physician*. 2008;78(6):727-31.
21. 한국유방암학회. 유방학. 서울:일조각.

- 1999:47-9.
22. 대한산부인과학회. 산과학. 제4판. 서울 :군자출판사. 2007:490.
 23. Ulanova D et al. Mutasyntesis of lincomycin derivatives with activity against drug-resistant staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010; 54(2):927-30.
 24. Hawks GH. Antibiotic therapy of staphylococcal infections. *Can Med Assoc J.* 1965;93(16):848-53.
 25. Frankel RI. Clindamycin-Efficacy and toxicity(Medical Information). *West J Med.* 1975;122(6):526-30.
 26. HW Engel et al. Transferability of Macrolide, Lincomycin, and Streptogramin Resistances Between Group A, B, and D Streptococci, *Streptococcus pneumoniae*, and *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* 1980;142(2):407-13.
 27. Kim JY et al. Efficacy of piroxicam patch compared to lidocaine patch for the treatment of postherpetic neuralgia. *Ann Dermatol.* 2011;23(2):162-9.
 28. Markiewicz M, Pasenkiewicz-Gierula M. Comparative model studies of gastric toxicity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Langmuir.* 2011;27(11):6950-61.
 29. 한의부인과학 교재편찬위원회. 한방여성의학 II. 서울:정담. 2007:446-9.
 30. 구성태 등. 梔子 藥鍼이 白鼠 모델 足踝捻挫 痛症에 미치는 영향. *대한 경락경혈학회지.* 2005;22(2):57-74.
 31. 서산, 정희재, 정승기. 조절 T세포에 미치는 치자(梔子)의 효과. *대한한방내과학회지.* 2010;31(2):189-200.
 32. 임강현 등. 백지의 사람비만세포 사 이토카인 및 케모카인 발현 양상. *대한본초학회지.* 2007;22(1):81-7.
 33. Lechner D et al. The anti-staphylococcal activity of *Angelica dahurica*(Bai Zhi). *Phytochemistry.* 2004;65(3):331-5.
 34. Xu SF et al. Chemical Composition and Antioxidant Activities of Different Polysaccharides from the Roots of *Angelica dahurica*. *Chem Biodivers.* 2011;8(6):1121-31.
 35. Shadomy S, Bruce JL, Kannan MM. Effect of inoculum size on in vitro susceptibility testing with lincomycin. *Appl Microbiol.* 1968;16(11):1663-8.
 36. Chen Y et al. CpG DNA induces cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin production. *Int Immunol.* 2001;13(8):1013-20.
 37. Ogden JE, Moore PK. Inhibition of nitric oxide synthase- potential for a novel class of therapeutic agent. 1995;13(2):70-8.
 38. Korhonen R et al. Nitric oxide production and signaling in inflammation. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy.* 2005; 4(4):471-9.
 39. Kuo CL, Chi CW, Liu TY. The anti-inflammatory potential of berberine in vitro and in vivo. *Cancer Lett.* 2004;203(2):127-37.
 40. Delgado AV, McManus AT, Chambers JP. Production of tumor necrosis factor -alpha, interleukin 1-beta, interleukin 2, and interleukin 6 by rat leukocyte subpopulations after exposure to substance P. *Neuropeptides.* 2003;37(6):355-61.