

LPS로 활성화된 대식세포에서 玄附理經湯의 시험관내 항염효과 및 Piroxicam과 병용효과

대구한의대학교 한의과대학 부인과교실
김정아, 김동철

ABSTRACT

In Vitro Anti-inflammatory Effects of *Hyunbulikyung-tang* Aqueous Extracts on LPS activated Raw 264.7 Cells, and Synergic Effects with Piroxicam

Jung-Ah Kim, Dong-Chul Kim
Dept. of Korean Obstetric & Gynecology, College of Korean Medicine,
Deagu Haany University

Objectives: To observe the *in vitro* anti-inflammatory effects of *Hyunbulikyung-tang* aqueous extracts (HBLKT) and the possible synergic combination effects with a nonsteroidal anti-inflammatory drug, piroxicam.

Methods: Anti-inflammatory effects of HBLKT (yield=16.17%) were observed on LPS activated raw 264.7 cells based on ED₅₀ to cell viability, NO, PGE₂, TNF- α , IL-1 β and IL-6 productions as compared with piroxicam, in the present study. In addition, the combination effects of HBLKT with piroxicam were observed after treatment of HBLKT 1/4 ED₅₀ + piroxicam 1/4 ED₅₀, 1/8 ED₅₀, 1/16 ED₅₀, 1/32 ED₅₀ and 1/64 ED₅₀ concentrations, respectively.

Results: Significant (p<0.01 or p<0.05) increases of cell viabilities and decreases of NO, PGE₂, TNF- α , IL-1 β and IL-6 cytokine releases were detected in HBLKT 1/4 ED₅₀ + piroxicam 1/4 ED₅₀, 1/8 ED₅₀, 1/16 ED₅₀ and 1/32 ED₅₀ concentration co-treatment as compared with each of single 1/4 ED₅₀ concentration of piroxicam and HBLKT treatments, respectively. Although significant (p<0.01 or p<0.05) increases of cell viabilities and decreases of NO, PGE₂, TNF- α , IL-1 β and IL-6 cytokine releases were also demonstrated in piroxicam 1/64 ED₅₀ + HBLKT 1/4 ED₅₀ co-treatment as compared with LPS control, no significant changes were detected as compared with each of single 1/4 ED₅₀ concentration of piroxicam and HBLKT treatments, in this experiment.

Conclusions: *Hyunbulikyung-tang* showed cell protective and anti-inflammatory effects against LPS activated raw 264.7 cells. It, therefore, expected that HBLKT will be showed favorable effects to relieve dysmenorrhea related to over expressed inflammatory cytokines, and it also expected that the clinical dosages of piroxicam can be reduced as 1/8 levels as combination with HBLKT.

Key Words: *Hyunbulikyung-tang*, Piroxicam, Anti-inflammatory Effect, Raw 264.7 Cell, Dysmenorrhea

I. 서 론

월경(menstruation)은 사춘기 이후 호르몬 분비에 의해 여성에게 나타나는데 가임기간 동안 주기적으로 일어나는 자궁 출혈을 의미하며 이때 월경 주기와 직접적인 연관성을 보이면서 나타나는 통증을 월경통 혹은 월경곤란증(dysmenorrhea)이라고 한다^{1,2)}.

월경통의 기전은 확실히 밝혀지지 않았지만 여성의 월경시 자궁의 붓기에 따른 출혈은 월경 직전 프로게스테론 농도의 감소로 자궁근의 수축과 혈류량의 감소로 인한 자궁근의 허혈을 일으키고 이 과정에서 자궁내막에 prostaglandin의 생성을 증가시키는 것으로 알려져 있다¹⁾. 이러한 과정에서 다양한 염증성 매개물질들이 관여하고 있어 이들을 제어하기 위해서 다양한 소염 진통제가 사용되고 있다³⁾. 특히 염증으로 인한 통증 완화 및 치료제로 사용되어 온 대표적인 NSAIDs인 piroxicam⁴⁾은 위궤양 등의 부작용⁵⁾으로 인해 장기복용에 적합하지 않으므로 이에 대한 다양하고 적극적인 대처방안의 모색이 필요하다.

한의학에서 월경통은 痛經, 經行腹痛, 經期腹痛 등에 해당하며 《東醫寶鑑》⁶⁾에서는 시기에 따라 虛實로 변증하여 월경시의 복통은 血滯에 기인하고 월경 후 복통은 虛中有熱로 변증하여 치료했으며, 이후 《晴崗醫鑑》⁷⁾에는 氣滯에 활용할 수 있는 대표적인 처방으로 玄附理經湯이 있는데²⁾ 이는 香附子를 君藥으로 하고 血中氣滯 하여 月經難行하며 臨經腹痛이 심한데 사용되었다⁷⁾. 玄附理經湯과 관련된 연구에 따르면 월경통에 효과가 있는

것으로 보고되고 있으며⁸⁾ 처방을 구성하고 있는 약재들은 각각의 항염 및 진통 효과가⁹⁻²³⁾ 비교적 잘 알려져 있다.

따라서 월경통에 효과가 있는 玄附理經湯에 진통제를 병용했을 때 진통제의 용량을 줄이면서 더 높은 효과를 얻을 수 있을 것으로 생각되어 玄附理經湯 및 piroxicam 병용시 항염효과에 대해 알아보고자 실험하였다. 그 결과, 玄附理經湯 및 piroxicam 각각의 항염효과를 확인하였으며 두 가지 약물을 병용했을 경우 항염효과에 대해 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 약 재

본 실험에 사용된 모든 약재는 대원약업사(Daegu, Korea)에서 매입한 것을 관능평가 하였고 《晴崗醫鑑》⁷⁾에 근거하여 玄附理經湯 1첩 분량의 조성은 다음과 같다(Table 1). 선정된 약재 0.5첩 분량(34.00 g)을 취하여 정제수 500 ml로 가열 추출한 후(60℃, 3시간, 3회), 흡인 여과한 여과액을 rotary vacuum evaporator (Eyela N-1110, Tokyo, Japan)로 감압·농축하여 점조성의 추출물을 얻은 다음 programmable freeze dryer (Operon FDB-5503, Kimpo, Korea)를 사용하여 동결 건조시켜 5.50 g(수율: 16.17%)을 얻었으며, 20℃의 냉장고에 보관 후 실험에 사용하였으며 구입한 piroxicam은 4℃의 냉장고에 보관 후 사용하였다.

Table 1. Composition of *Hyunbulikyung-tang*

Korean name	Scientific name	Amounts (g)
香附子	<i>Cyperus rotundus</i> L.	12.00
蒼朮	<i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC.	6.00
烏藥	<i>Lindera strychnifolium</i> (Sieb. et Zucc.)	6.00
玄胡索	<i>Corydalis turtschaninovii</i> Bess.	4.00
橘皮	<i>Citrus tangerina</i> Hort. et Tanaka	4.00
當歸	<i>Angelica gigas</i> N.	4.00
白芍藥	<i>Paeonia lactiflora</i> Pall.	4.00
川芎	<i>Ligusticum chuanxiong</i> Hort	4.00
枳殼	<i>Poncirus trifoliata</i> Rafin.	4.00
蓬朮	<i>Curcuma zedoaria</i> Rosc.	4.00
桃仁	<i>Prunus persica</i> (L.) Batsch	4.00
肉桂	<i>Cinnamomum cassia</i> Presl	3.00
木香	<i>Aucklandia lappa</i> Decne	3.00
紅花	<i>Carthamus tinctorius</i> L.	3.00
生薑	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	3.00
Total		68.00

2. 시약 및 기기

DMEM은 Difco(Detroit, MI, USA)에서 구입하였으며 MTT, LPS(from *Escherichia coli* 0111:B4), piroxicam은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)에서 각각 구입하였다. 또한 96 well plate는 Greiner(Frickenhausen, Germany)에서 구입하였으며, PGE₂, TNF- α , IL-1 β 와 IL-6의 ELISA kit는 Pierce endogen(Rockford, IL, USA)에서 구입하였고 이외 대부분의 시약은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다.

3. 세포주 및 배양

Murine macrophage 세포주인 raw 264.7 세포를 한국세포주은행(KCLB, Seoul, Korea)에서 구입하였다. 실험에 사용한 raw 264.7 세포는 DMEM 배지에 10% FBS, 100 U/ml penicillin 및 100 μ g/ml streptomycin을 혼합한 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다.

4. 세포 생존율 측정

Raw 264.7 세포를 96 well plate에 5×10^4 cells/well로 분주한 다음 piroxicam 및 玄附理經湯 물 추출물을 각각 농도별로 처리하여 세포의 생존율을 구하였다. 즉, piroxicam을 100, 10, 5, 2.5, 1.25 및 0 μ g/ml의 총 여섯 가지 농도와 玄附理經湯 물 추출물을 10, 1, 0.1, 0.01, 0.001 및 0 mg/ml의 총 여섯 가지 농도를 준비하여 각각 세포에 처리한 후, 37°C, 5% CO₂의 환경이 유지되는 배양기에서 배양하였다. 처리 1시간 후, 1 μ g/ml 농도의 LPS를 다시 첨가한 다음, 24시간 배양한 후, 생존세포에 0.1 mg/ml 농도의 MTT 용액 50 μ l를 첨가하고 4시간 배양한 후 배지를 제거하고 생성된 formazan crystals을 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹여 Automatic ELISA microplate reader(Huntsville, AL, USA)를 사용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료 및 LPS를 첨가하지 않은, 무처리군에 대한 ratio로 세포 생존율을 측정하였으며 5회 반복실험을 거쳐 산출된 평균 수치를 이용하여, 세포의 생존율 감소를 50% 억제하는 추출물의 ED₅₀를 산출하였다. 또한 piroxicam과 玄附理經湯 물 추출물의 병용효과를 평가하기 위해 동일한 방법으로 준비된 cell suspension에 piroxicam 1/4 ED₅₀, 玄附理經湯 물 추출물

1/4 ED₅₀, (piroxicam 1/4 ED₅₀, piroxicam 1/8 ED₅₀, piroxicam 1/16 ED₅₀, piroxicam 1/32 ED₅₀ 및 piroxicam 1/64 ED₅₀) + 玄附理經湯 물 추출물 1/4 ED₅₀ 농도를 첨가한 다음, LPS를 첨가하고 24시간 배양한 후, 무처리군에 대한 ratio로 세포 생존율을 측정하여 상호 비교하였다. 모든 실험은 5회 반복하였다.

5. NO 생성량 측정

세포배양 상등액 50 µl와 Griess 시약 (1% sulfanilamide in 5% phosphoric acid + 1% α-naphthylamide in H₂O) 50 µl를 96 well plate에 혼합하고 암실에서 10분 동안 반응시킨 후 540 nm에서 Automatic ELISA microplate reader로 흡광도를 측정하였다. NO₂⁻의 농도는 sodium nitrate를 희석하여 흡광도를 측정하여 표준 곡선을 얻었다. 실험결과는 무처리 control에 대한 ratio로 NO 생성량의 변화를 표시하였으며 5회 반복실험을 거쳐 산출된 평균 수치를 이용하여 각각의 물 추출물의 ED₅₀를 산출하였다. 또한 세포 생존율 측정과 마찬가지로 玄附理經湯 물 추출물 1/4 ED₅₀과 농도별 piroxicam을 병용처리 한 후 NO 생성량을 측정하여 상호 비교하였다.

6. PGE₂ 생성량 측정

PGE₂ 생성량을 측정하기 위하여 6 well plate에 cells(5×10⁵/ml)로 분주하고 piroxicam 및 玄附理經湯 물 추출물을 각각 농도별로 처리한 다음, 1시간 후에 LPS 1 µg/ml를 처리하였다. LPS 처리 24시간 후 배지를 수거하고 PGE₂ ELISA kit를 이용하여 manufacturer's instruction에 따라 측정하였다. 실험결과는 무처리군에 대한

ratio로 PGE₂ 생성량의 변화를 표시하였으며 5회 반복실험을 거쳐 산출된 평균 수치를 이용하여 물 추출물 각각의 ED₅₀를 산출하였다. 또한 세포 생존율 측정과 마찬가지로 玄附理經湯 물 추출물 1/4 ED₅₀과 농도별 piroxicam을 병용처리 한 후 PGE₂ 생성량을 측정하여 상호 비교하였다.

7. Cytokine 생성량 측정

TNF-α, IL-1β 및 IL-6 생성량을 측정하기 위하여 6 well plate에 cells(5×10⁵/ml)을 분주하고 piroxicam 및 玄附理經湯 물 추출물 각각 농도별로 처리한 다음, 1시간 후에 LPS 1 µg/ml를 처리하였다. LPS 처리 12시간 후 배지를 수거하고 각각의 TNF-α, IL-1β 및 IL-6 ELISA kit(Pierce endogen, Rockford, IL, USA)를 이용하여 manufacturer's instruction에 따라 함량을 측정하였다. 실험결과는 무처리군에 대한 ratio로 cytokine(TNF-α, IL-1β 및 IL-6) 생성량의 변화를 표시하였으며 5회 반복실험을 거쳐 산출된 평균 수치를 이용하여 각각의 ED₅₀를 산출하였다. 또한 세포 생존율 측정과 마찬가지로 玄附理經湯 물 추출물 1/4 ED₅₀과 농도별 piroxicam을 병용처리 한 후 ratio로 cytokine(TNF-α, IL-1β 및 IL-6) 생성량을 측정하여 상호 비교하였다.

8. 통계처리

모든 수치는 5회 반복실험의 평균±표준편차로 표시하였으며 다중비교검증을 이용하여 통계처리를 실시하였고 분산동질성을 Levene test를 실시하여 검증하였다. 등분산일 경우, one way ANOVA test를 실시한 다음, LSD로 사후 검증을 실시하여 군간의 유의성을 측정하였다.

비등분산일 경우에는 비모수 검증인 Kruskal-Wallis H test를 실시하여 유의성이 있는 경우에는, MW test를 실시하여 군간의 유의성을 검증하였다. 모든 통계 처리는 SPSS for Windows(Release 14.0K, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하였으며 p-value가 0.05 이하인 경우 통계적 유의성을 확인하였다. LPS에 의해 유발되는 raw 264.7 세포의 활성을 보다 정확히 판단하기 위해 하기의 공식으로 무처리군과 LPS 단독 처리군과의 percent change를 산출하였으며 후보 물질의 항염효과를 보다 명확히 하기 위하여 후보 물질 처리군과 LPS 단독 처리군과의 percent change 역시 하기의 공식을 이용하여 측정하였다.

Percentage Changes as Compared with Vehicle Control(%) = $\{(Data\ of\ LPS\ control - vehicle\ control) / Data\ of\ vehicle\ control\} \times 100$

Percentage Changes as Compared with LPS Control(%) = $\{(Data\ of\ test\ material\ treated\ groups - Data\ of\ LPS\ control) / Data\ of\ LPS\ control\} \times 100$

III. 결 과

1. 세포 생존율의 변화

1) Piroxicam의 영향

LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 42.00%의 raw 264.7 세포 생존율 감소가 있었으며, piroxicam 1.25, 2.5, 5, 10 및 100 µg/ml 농도 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 2.76, 17.59, 31.38, 46.21 및 62.07%의 변화를 나타내었다. LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 세포 생존율 감소

가 있었고, 5 µg/ml의 piroxicam 처리군에서부터 LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) 세포 생존율이 농도 의존적으로 증가되어 LPS 처리에 의한 세포 생존율 감소에 대한, piroxicam의 ED₅₀가 27.30 µg/ml로 산출되었다.

2) 玄附理經湯 물 추출물의 영향

LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 44.00%의 raw 264.7 세포 생존율 감소가 있었으며, 玄附理經湯 물 추출물 0.001, 0.01, 0.1, 1 및 10 mg/ml 농도 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 1.43, 13.57, 35.36, 52.50 및 64.64%의 변화를 나타내었다. LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 세포 생존율의 감소가 있었고, 0.1 mg/ml의 玄附理經湯 물 추출물 처리군에서부터 LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 세포 생존율이 농도 의존적으로 증가되어 LPS 처리에 의한 세포 생존율 감소에 대한, 玄附理經湯 물 추출물의 ED₅₀가 1.05 mg/ml로 산출되었다.

3) Piroxicam과 玄附理經湯 물 추출물 병용 처리의 영향

LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 raw 264.7 세포 생존율 41.60%의 감소가 있었으며, 1/4 ED₅₀ 농도의 piroxicam (6.83 µg/ml) 및 玄附理經湯 물 추출물 (0.27 mg/ml) 단독 처리군, {piroxicam 1/4 ED₅₀, piroxicam 1/8 ED₅₀(3.41 µg/ml), piroxicam 1/16 ED₅₀(1.71 µg/ml), piroxicam 1/32 ED₅₀(0.86 µg/ml) 및 piroxicam 1/64 ED₅₀(0.43 µg/ml)} + 玄附理經湯 물 추출물 1/4 ED₅₀ 농도 병용 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 31.51, 30.48, 72.26, 61.99, 58.56, 48.63 및 32.88%의 세포 생존율의 변화를 나타내었다.

LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 유의성 있는($p<0.01$) 세포 생존율의 감소가 있었고, 1/4 ED₅₀ 농도의 piroxicam 및 玄附理經湯 물 추출물 단독 처리군에서 LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는($p<0.01$) 세포 생존율의 증가가 있었다. 특히, piroxicam 1/4, 1/8, 1/16 및 1/32 ED₅₀ + 玄附理經湯 물 추출물 1/4 ED₅₀ 농도 병용 처리군에서 각각의 1/4 ED₅₀ 농도의 piroxicam 및 玄附理經湯 물 추출물 단독 처리군에 비해서도 유의성 있는($p<0.01$ 또는 $p<0.05$) 세포 생존율의 증가가 있었다. 한편, piroxicam 1/64 ED₅₀ + 玄附理經湯 물 추출물 1/4 ED₅₀ 병용 처리군에서도 LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는($p<0.01$) 세포 생존율의 증가가 있었으나 각각의 1/4 ED₅₀ 농도의 piroxicam 및 玄附理經湯 물 추출물 단독 처리군에 비해서 유의성 있는 세포 생존율의 변화는 없었다(Fig. 1).

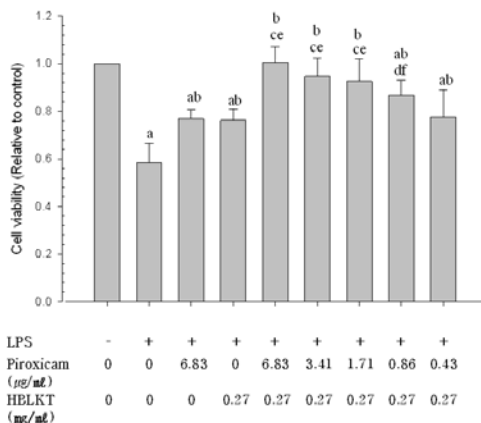


Fig. 1. Combination effects of HBLKT with piroxicam on the cell viability.

a : $p<0.01$ as compared with control by LSD test.
 b : $p<0.01$ as compared with LPS treated control by LSD test.
 c : $p<0.01$ and d : $p<0.05$ as compared with piroxicam single treatment by LSD test.

e : $p<0.01$ and f : $p<0.05$ as compared with HBLKT single treatment by LSD test.

2. NO 생성량의 변화

1) Piroxicam의 영향

LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 raw 264.7 세포의 NO 생성량이 421.80%의 변화가 있었으며, piroxicam 1.25, 2.5, 5, 10 및 100 μg/ml 농도 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 28.17, 38.29, 46.17, 63.20 및 74.36%의 변화를 나타내었다. LPS 단독처리군에서는 무처리군에 비해 유의성 있는($p<0.01$) NO 생성량의 증가가 있었고, 1.25 μg/ml의 piroxicam 처리군에서부터 LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는($p<0.01$ 또는 $p<0.05$) NO 생성량이 농도 의존적으로 감소되어 LPS 처리에 의한 NO 생성량의 증가에 대한, piroxicam의 ED₅₀가 6.67 μg/ml로 산출되었다.

2) 玄附理經湯 물 추출물의 영향

LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 raw 264.7 세포의 NO 생성량이 437.40%의 변화가 있었으며, 玄附理經湯 물 추출물 0.001, 0.01, 0.1, 1 및 10 mg/ml 농도 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 30.33, 43.69, 49.80, 64.72 및 72.83%의 변화를 나타내었다. LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 유의성 있는($p<0.01$) NO 생성량의 증가가 있었고, 0.001 mg/ml의 玄附理經湯 물 추출물 처리군에서부터 LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는($p<0.01$) NO 생성량이 농도 의존적으로 감소되어 LPS 처리에 의한 NO 생성량의 증가에 대한, 玄附理經湯 물 추출물의 ED₅₀가 0.06 mg/ml로 산출되었다.

3) Piroxicam과 玄附理經湯 물 추출물 병용 처리의 영향

LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 raw 264.7 세포의 NO 생성량이 425.20%의 변화가 있었으며, 1/4 ED₅₀ 농도의 piroxicam(1.68 µg/ml) 및 玄附理經湯 물 추출물(0.02 mg/ml) 단독 처리군, {piroxicam 1/4 ED₅₀, piroxicam 1/8 ED₅₀(0.84 µg/ml), piroxicam 1/16 ED₅₀(0.42 µg/ml), piroxicam 1/32 ED₅₀(0.21 µg/ml) 및 piroxicam 1/64 ED₅₀(0.11 µg/ml)}+玄附理經湯 물 추출물 1/4 ED₅₀ 농도 병용 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 33.02, 45.35, 66.79, 64.97, 59.33, 58.04 및 48.21%의 NO 생성량의 변화를 나타내었다.

LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 유의성 있는(p<0.01) NO 생성량의 증가가 있었고, 1/4 ED₅₀ 농도의 piroxicam 및 玄附理經湯 물 추출물 단독 처리군에서 LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) NO 생성량의 감소가 있었다. 특히, piroxicam 1/4, 1/8, 1/16 및 1/32 ED₅₀+玄附理經湯 물 추출물 1/4 ED₅₀ 농도 병용 처리군에서 각각의 1/4 ED₅₀ 농도의 piroxicam 및 玄附理經湯 물 추출물 단독 처리군에 비해서도 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) NO 생성량 감소가 있었다. 한편, piroxicam 1/64 ED₅₀+玄附理經湯 물 추출물 1/4 ED₅₀ 병용 처리군에서도 LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는(p<0.01) NO 생성량의 감소가 있었으나 각각의 1/4 ED₅₀ 농도의 piroxicam 및 玄附理經湯 물 추출물 단독 처리군에 비해서 유의성 있는 NO 생성량의 변화는 없었다(Fig. 2).

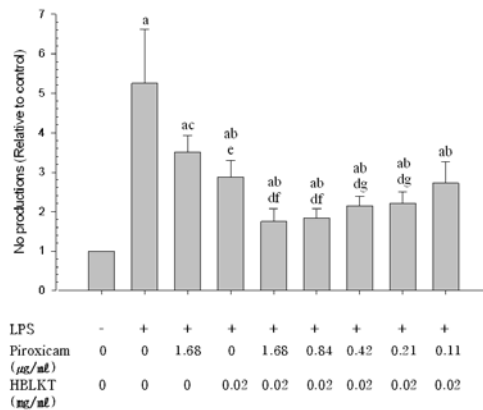


Fig. 2. Combination effects of HBLKT with piroxicam on the NO production. a : p<0.01 as compared with control by MW test. b : p<0.01 and c : p<0.05 as compared with LPS treated control by MW test. d : p<0.01 and e : p<0.05 as compared with piroxicam single treatment by MW test. f : p<0.01 and g : p<0.05 as compared with HBLKT single treatment by MW test.

3. PGE₂ 생성량의 변화

1) Piroxicam의 영향

LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 raw 264.7 세포의 PGE₂ 생성량이 37162.20%의 변화가 있었으며, piroxicam 1.25, 2.5, 5, 10 및 100 µg/ml 농도 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 36.54, 55.07, 72.68, 76.37 및 81.94%의 변화를 나타내었다. LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 유의성 있는(p<0.01) PGE₂ 생성량의 증가가 있었고, 1.25 µg/ml의 piroxicam 처리군에서부터 LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) PGE₂ 생성량이 농도 의존적으로 감소되어 LPS 처리에 의한 PGE₂ 생성량의 증가에 대한, piroxicam의 ED₅₀가 1.59 µg/ml로 산출되었다.

2) 玄附理經湯 물 추출물의 영향

LPS 단독 처리군에서는 무처리군에

비해 raw 264.7 세포의 PGE₂ 생성량이 38107.80%의 변화가 있었으며, 玄附理經湯 물 추출물 0.001, 0.01, 0.1, 1 및 10 mg/ml 농도 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 16.23, 33.17, 51.45, 60.38 및 72.80%의 변화를 나타내었다. LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 유의성 있는(p<0.01) PGE₂ 생성량의 증가가 있었고, 0.01 mg/ml의 玄附理經湯 물 추출물 처리군에서부터 LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는(p<0.01) PGE₂ 생성량이 농도 의존적으로 감소되어 LPS 처리에 의한 PGE₂ 생성량의 증가에 대한, 玄附理經湯 물 추출물의 ED₅₀가 0.18 mg/ml로 산출되었다.

3) Piroxicam과 玄附理經湯 물 추출물 병용 처리의 영향

LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 raw 264.7 세포의 PGE₂ 생성량이 38630.20%의 변화가 있었으며, 1/4 ED₅₀ 농도의 piroxicam(0.40 µg/ml) 및 玄附理經湯 물 추출물(0.05 mg/ml) 단독 처리군, {piroxicam 1/4 ED₅₀, piroxicam 1/8 ED₅₀ (0.20 µg/ml), piroxicam 1/16 ED₅₀(0.10 µg/ml), piroxicam 1/32 ED₅₀(0.05 µg/ml) 및 piroxicam 1/64 ED₅₀(0.02 µg/ml)}+ 玄附理經湯 물 추출물 1/4 ED₅₀ 농도 병용 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 27.13, 33.93, 62.45, 59.44, 48.66, 46.12 및 32.04%의 PGE₂ 생성량의 변화를 나타내었다.

LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 유의성 있는(p<0.01) PGE₂ 생성량의 증가가 있었고, 1/4 ED₅₀ 농도의 piroxicam 및 玄附理經湯 물 추출물 단독 처리군에서 LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는 (p<0.01 또는 p<0.05) PGE₂ 생성량의 감

소가 있었다. 특히, piroxicam 1/4, 1/8, 1/16 및 1/32 ED₅₀+ 玄附理經湯 물 추출물 1/4 ED₅₀ 농도 병용 처리군에서 각각의 1/4 ED₅₀ 농도의 piroxicam 및 玄附理經湯 물 추출물 단독 처리군에 비해서도 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) PGE₂ 생성량 감소가 있었다. 한편, piroxicam 1/64 ED₅₀+ 玄附理經湯 물 추출물 1/4 ED₅₀ 병용 처리군에서도 LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는(p<0.01) PGE₂ 생성량의 감소가 있었으나 각각의 1/4 ED₅₀ 농도의 piroxicam 및 玄附理經湯 물 추출물 단독 처리군에 비해서 유의성 있는 PGE₂ 생성량의 변화는 없었다(Fig. 3).

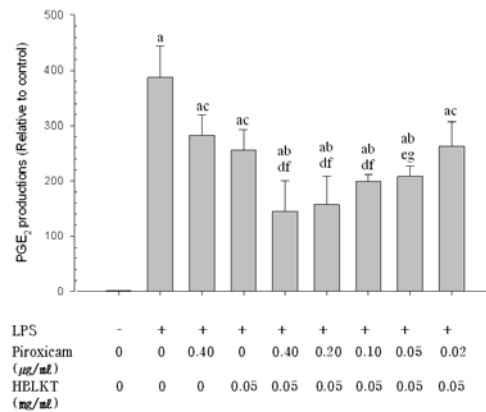


Fig. 3. Combination effects of HBLKT with piroxicam on the PGE₂ production. a : p<0.01 as compared with control by MW test. b : p<0.01 and c : p<0.05 as compared with LPS treated control by MW test. d : p<0.01 and e : p<0.05 as compared with piroxicam single treatment by MW test. f : p<0.01 and g : p<0.05 as compared with HBLKT single treatment by MW test.

4. TNF-α 생성량의 변화

1) Piroxicam의 영향

LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 raw 264.7 세포의 TNF-α 생성량이

1417.60%의 변화가 있었으며, piroxicam 1.25, 2.5, 5, 10 및 100 $\mu\text{g/ml}$ 농도 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 33.57, 39.81, 45.19, 54.84 및 62.57%의 변화를 나타내었다. LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) TNF- α 생성량의 증가가 있었고, 1.25 $\mu\text{g/ml}$ 의 piroxicam 처리군에서부터 LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) TNF- α 생성량이 농도 의존적으로 감소되어 LPS 처리에 의한 TNF- α 생성량의 증가에 대한, piroxicam의 ED₅₀가 10.47 $\mu\text{g/ml}$ 로 산출되었다.

2) 玄附理經湯 물 추출물의 영향

LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 raw 264.7 세포의 TNF- α 생성량이 1412.20%의 변화가 있었으며, 玄附理經湯 물 추출물 0.001, 0.01, 0.1, 1 및 10 mg/ml 농도 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 7.79, 22.97, 38.58, 51.84 및 62.04%의 변화를 나타내었다. LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) TNF- α 생성량의 증가가 있었고, 0.01 mg/ml의 玄附理經湯 물 추출물 처리군에서부터 LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$ 또는 $p < 0.05$) TNF- α 생성량이 농도 의존적으로 감소되어 LPS 처리에 의한 TNF- α 생성량의 증가에 대한, 玄附理經湯 물 추출물의 ED₅₀가 0.98 mg/ml로 산출되었다.

3) Piroxicam과 玄附理經湯 물 추출물 병용 처리의 영향

LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 raw 264.7 세포의 TNF- α 생성량이 1428.00%의 변화가 있었으며, 1/4 ED₅₀ 농도의 piroxicam(2.62 $\mu\text{g/ml}$) 및 玄附理經湯 물 추출물(0.25 mg/ml) 단독 처리군,

{piroxicam 1/4 ED₅₀, piroxicam 1/8 ED₅₀ (1.31 $\mu\text{g/ml}$), piroxicam 1/16 ED₅₀(0.65 $\mu\text{g/ml}$), piroxicam 1/32 ED₅₀(0.33 $\mu\text{g/ml}$) 및 piroxicam 1/64 ED₅₀(0.16 $\mu\text{g/ml}$)}+ 玄附理經湯 물 추출물 1/4 ED₅₀ 농도 병용 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 38.89, 42.43, 71.66, 67.42, 60.41, 56.41 및 46.23%의 TNF- α 생성량의 변화를 각각 나타내었다.

LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) TNF- α 생성량의 증가가 있었고, 1/4 ED₅₀ 농도의 piroxicam 및 玄附理經湯 물 추출물 단독 처리군에서 LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) TNF- α 생성량의 감소가 있었다. 특히, piroxicam 1/4, 1/8, 1/16 및 1/32 ED₅₀+ 玄附理經湯 물 추출물 1/4 ED₅₀ 농도 병용 처리군에서 각각의 1/4 ED₅₀ 농도의 piroxicam 및 玄附理經湯 물 추출물 단독 처리군에 비해서도 유의성 있는($p < 0.01$ 또는 $p < 0.05$) TNF- α 생성량 감소가 있었다. 한편, piroxicam 1/64 ED₅₀+ 玄附理經湯 물 추출물 1/4 ED₅₀ 병용 처리군에서도 LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) TNF- α 생성량의 감소가 있었으나 각각의 1/4 ED₅₀ 농도의 piroxicam 및 玄附理經湯 물 추출물 단독 처리군에 비해서 유의성 있는 TNF- α 생성량의 변화는 없었다(Fig. 4).

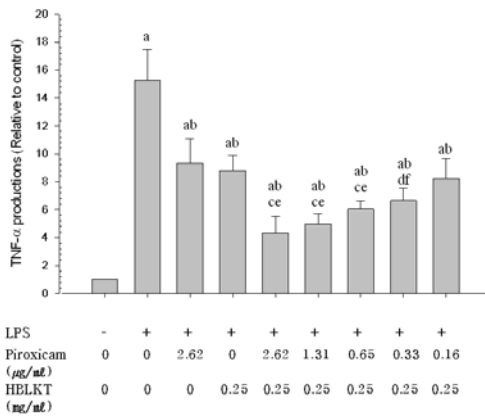


Fig. 4. Combination effects of HBLKT with piroxicam on the TNF- α production. a : $p < 0.01$ as compared with control by MW test. b : $p < 0.01$ as compared with LPS treated control by MW test. c : $p < 0.01$ and d : $p < 0.05$ as compared with piroxicam single treatment by MW test. e : $p < 0.01$ and f : $p < 0.05$ as compared with HBLKT single treatment by MW test.

5. IL-1 β 생성량의 변화

1) Piroxicam의 영향

LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 raw 264.7 세포의 IL-1 β 생성량이 350.00%의 변화가 있었으며, piroxicam 1.25, 2.5, 5, 10 및 100 $\mu\text{g/ml}$ 농도 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 21.51, 35.11, 43.51, 55.60 및 73.56%의 변화를 나타내었다. LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) IL-1 β 생성량의 증가가 있었고, 1.25 $\mu\text{g/ml}$ 의 piroxicam 처리군에서부터 LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) IL-1 β 생성량이 농도 의존적으로 감소되어 LPS 처리에 의한 IL-1 β 생성량의 증가에 대한, piroxicam의 ED₅₀가 9.68 $\mu\text{g/ml}$ 로 산출되었다.

2) 玄附理經湯 물 추출물의 영향

LPS 단독 처리군에서는 무처리군에

비해 raw 264.7 세포의 IL-1 β 생성량이 348.20%의 변화가 있었으며, 玄附理經湯 물 추출물 0.001, 0.01, 0.1, 1 및 10 mg/ml 농도 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 18.07, 26.77, 36.46, 51.05 및 69.92%의 변화를 나타내었다. LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) IL-1 β 생성량의 증가가 있었고, 0.001 mg/ml의 玄附理經湯 물 추출물 처리군에서부터 LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$ 또는 $p < 0.05$) IL-1 β 생성량이 농도 의존적으로 감소되어 LPS 처리에 의한 IL-1 β 생성량의 증가에 대한, 玄附理經湯 물 추출물의 ED₅₀이 0.58 mg/ml로 산출되었다.

3) Piroxicam과 玄附理經湯 물 추출물 병용 처리의 영향

LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 raw 264.7 세포의 IL-1 β 생성량이 348.40%의 변화가 있었으며, 1/4 ED₅₀ 농도의 piroxicam(2.42 $\mu\text{g/ml}$) 및 玄附理經湯 물 추출물(0.15 mg/ml) 단독 처리군, {piroxicam 1/4 ED₅₀, piroxicam 1/8 ED₅₀ (1.21 $\mu\text{g/ml}$), piroxicam 1/16 ED₅₀ (0.61 $\mu\text{g/ml}$), piroxicam 1/32 ED₅₀ (0.30 $\mu\text{g/ml}$) 및 piroxicam 1/64 ED₅₀ (0.15 $\mu\text{g/ml}$)}+ 玄附理經湯 물 추출물 1/4 ED₅₀ 농도 병용 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 33.05, 38.49, 63.78, 59.28, 55.89, 46.57 및 28.46%의 IL-1 β 생성량의 변화를 나타내었다.

LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) IL-1 β 생성량의 증가가 있었고, 1/4 ED₅₀ 농도의 piroxicam 및 玄附理經湯 물 추출물 단독 처리군에서 LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$ 또는 $p < 0.05$) IL-1 β 생성량의 감소

가 있었다. 특히, piroxicam 1/4, 1/8, 1/16 및 1/32 ED₅₀+ 玄附理經湯 물 추출물 1/4 ED₅₀ 농도 병용 처리군에서 각각의 1/4 ED₅₀ 농도의 piroxicam 및 玄附理經湯 물 추출물 단독 처리군에 비해서도 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) IL-1β 생성량 감소가 있었다. 한편, piroxicam 1/64 ED₅₀+ 玄附理經湯 물 추출물 1/4 ED₅₀ 병용 처리군에서도 LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는(p<0.05) IL-1β 생성량의 감소가 있었으나 각각의 1/4 ED₅₀ 농도의 piroxicam 및 玄附理經湯 물 추출물 단독 처리군에 비해서 유의성 있는 IL-1β 생성량의 변화는 없었다(Fig. 5).

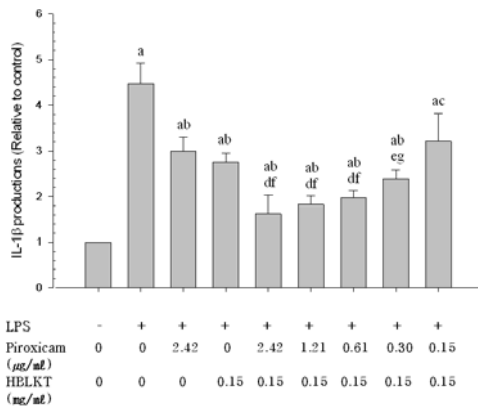


Fig. 5. Combination effects of HBLKT with piroxicam on the IL-1β production. a : p<0.01 as compared with control by MW test. b : p<0.01 and c : p<0.05 as compared with LPS treated control by MW test. d : p<0.01 and e : p<0.05 as compared with piroxicam single treatment by MW test. f : p<0.01 and g : p<0.05 as compared with HBLKT single treatment by MW test.

6. IL-6 생성량의 변화

1) Piroxicam의 영향

LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 raw 264.7 세포의 IL-6 생성량이 2347.00%의 변화가 있었으며, piroxicam 1.25, 2.5, 5,

10 및 100 μg/ml 농도 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 21.21, 37.78, 50.47, 63.61 및 74.38%의 변화를 나타내었다. LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 유의성 있는(p<0.01) IL-6 생성량의 증가가 있었고, 2.5 μg/ml의 piroxicam 처리군에서부터 LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) IL-6 생성량이 농도 의존적으로 감소되어 LPS 처리에 의한 IL-6 생성량의 증가에 대한, piroxicam의 ED₅₀가 7.02 μg/ml로 산출되었다.

2) 玄附理經湯 물 추출물의 영향

LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 raw 264.7 세포의 IL-6 생성량이 2345.80%의 변화가 있었으며, 玄附理經湯 물 추출물 0.001, 0.01, 0.1, 1 및 10 mg/ml 농도 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 23.43, 38.56, 45.20, 53.51 및 62.26%의 변화를 나타내었다. LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 유의성 있는(p<0.01) IL-6 생성량의 증가가 있었고, 0.001 mg/ml의 玄附理經湯 물 추출물 처리군에서부터 LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) IL-6 생성량이 농도 의존적으로 감소되어 LPS 처리에 의한 IL-6 생성량의 증가에 대한, 玄附理經湯 물 추출물의 ED₅₀가 0.39 mg/ml로 산출되었다.

3) Piroxicam과 玄附理經湯 물 추출물 병용 처리의 영향

LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 raw 264.7 세포의 IL-6 생성량이 2340.20%의 변화가 있었으며, 1/4 ED₅₀ 농도의 piroxicam (1.76 μg/ml) 및 玄附理經湯 물 추출물 (0.10 mg/ml) 단독 처리군, {piroxicam 1/4 ED₅₀, piroxicam 1/8 ED₅₀(0.88 μg/ml), piroxicam 1/16 ED₅₀(0.44 μg/ml), piroxicam

1/32 ED₅₀(0.22 µg/ml) 및 piroxicam 1/64 ED₅₀(0.11 µg/ml)+玄附理經湯 물 추출물 1/4 ED₅₀ 농도 병용 처리군에서는 LPS 단독 처리군에 비해 각각 31.20, 43.58, 77.71, 68.86, 62.58, 53.74 및 43.04%의 IL-6 생성량의 변화를 나타내었다.

LPS 단독 처리군에서는 무처리군에 비해 유의성 있는(p<0.01) IL-6 생성량의 증가가 있었고, 1/4 ED₅₀ 농도의 piroxicam 및 玄附理經湯 물 추출물 단독 처리군에서 LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는(p<0.01) IL-6 생성량의 감소 있었다. 특히, piroxicam 1/4, 1/8, 1/16 및 1/32 ED₅₀ +玄附理經湯 물 추출물 1/4 ED₅₀ 농도 병용 처리군에서 각각의 1/4 ED₅₀ 농도의 piroxicam 및 玄附理經湯 물 추출물 단독 처리군에 비해서도 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) IL-6 생성량 감소가 있었다. 한편, piroxicam 1/64 ED₅₀+玄附理經湯 물 추출물 1/4 ED₅₀ 병용 처리군에서도 LPS 단독 처리군에 비해 유의성 있는(p<0.01) IL-6 생성량의 감소가 있었으나 각각의 1/4 ED₅₀ 농도의 piroxicam 및 玄附理經湯 물 추출물 단독 처리군에 비해서 유의성 있는 IL-6 생성량의 변화는 없었다(Fig. 6).

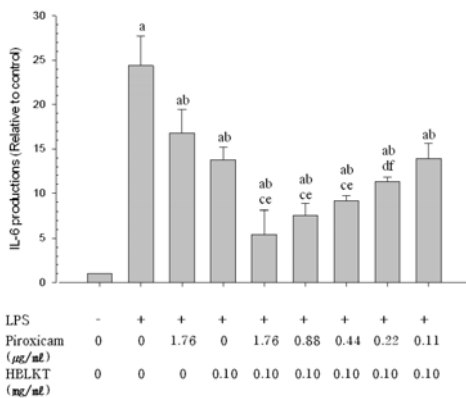


Fig. 6. Combination effects of HBLKT

with piroxicam on the IL-6 production.
a : p<0.01 as compared with control by MW test.

b : p<0.01 as compared with LPS treated control by MW test.

c : p<0.01 and d : p<0.05 as compared with piroxicam single treatment by MW test.

e : p<0.01 and f : p<0.05 as compared with HBLKT single treatment by MW test.

IV. 고 찰

월경 기간 혹은 월경 기간 전후로 하복부와 치골 상부의 통증을 월경통, 혹은 월경곤란증이라고 한다²⁾. 정확한 빈도와 발병률은 명확히 확인되지 않았지만 월경기 여성의 25~90%로 다양하게 보고되고 있다²⁴⁾. 사춘기 여학생들에게 가장 흔한 학교 결석의 원인이며 성인기에도 노동력 감소의 원인이 된다²⁵⁾.

여성 월경시 자궁의 붓기에 따른 출혈은 prostaglandin과 같은 다양한 염증성 매개물질들이 관여하고 정상적인 염증과정에 의해 수반되므로 통증과 같은 다양한 장애를 초래하게 되므로 월경통은 염증과 직접적으로 관련 있는 것으로 보인다²⁾. 이러한 염증을 억제하기 위해서 다양한 소염 진통제가 사용되고 있으나³⁾ 진통제 복용시 효과는 빠르지만 일시적이고 황달, 가려움증, 소변 배설량 감소, 오심, 구토, 복통과 같은 다양한 부작용을 유발한다⁵⁾. 또한 주기적인 월경의 특성상 장기복용에 따른 부작용이 발생할 수 있어 이에 대한 다양하고 적극적인 대처방안의 모색이 필요하다.

염증반응 시에 대식세포에서 cytokine을 생산하여 숙주의 방어와 항상성 유지에 관여하는 것으로 알려져 있다²⁶⁾. 염증반응은 감염 초기, 숙주의 필수적인 방어

체계이지만 과도한 염증반응은 숙주에 치명적인 결과를 초래 할 수도 있어 염증 제어 물질을 찾기 위한 연구가 활발하게 이루어지고 있다²⁷⁾. LPS는 인지질, 다당류 및 소량의 단백질로 구성되며 염증반응을 유발하는 유력한 인자로 다양한 cytokine을 생성시키며 가장 흔히 이용되는 *in vitro* 염증모델이다²⁸⁾. 한편, piroxicam은 비선택적으로 cyclooxygenase를 억제하는 대표적인 NSAIDs로, 다양한 염증질환에 소염 진통제로 이용되고 있으나^{4,29)} 대표적인 부작용으로 위궤양이 여전히 문제시 되고 있다⁵⁾.

본 연구에서는 월경통에 사용되어온 전통적인 부인과 질환 처방인 玄附理經湯의 통증 완화 효과를 LPS로 활성화된 murine macrophage 세포주인 raw 264.7 세포를 이용하여 세포 생존율, NO, PGE₂, TNF- α , IL-1 β 및 IL-6 분비에 미치는 영향을 piroxicam과 비교하여 관찰하였으며 piroxicam과 玄附理經湯 물 추출물의 병용효과 역시 piroxicam(1/4 ED₅₀, 1/8 ED₅₀, 1/16 ED₅₀, 1/32 ED₅₀ 및 1/64 ED₅₀)에 玄附理經湯 물 추출물의 1/4 ED₅₀를 첨가한 병용 처리군의 항염 및 염증성 cytokine의 분비에 미치는 효과를 관찰하였다.

본 실험의 결과, LPS로 활성화된 raw 264.7 세포의 생존율 감소와 NO, PGE₂, TNF- α , IL-1 β 및 IL-6 생성량 증가에 대한 玄附理經湯 물 추출물의 ED₅₀는 각각 1.05, 0.06, 0.18, 0.98, 0.58 및 0.39 mg/ml로 관찰되었으며 piroxicam은 raw 264.7 세포의 생존율, NO, PGE₂, TNF- α , IL-1 β 및 IL-6 생성량 변화에 대한 ED₅₀가 각각 27.30, 6.67, 1.59, 10.47, 9.68 및 7.02 μ g/ml로 관찰되었다. 특히, piroxicam

1/4, 1/8, 1/16 및 1/32 ED₅₀+玄附理經湯 물 추출물 1/4 ED₅₀ 농도 병용 처리군에서 각각의 piroxicam 및 玄附理經湯 물 추출물 1/4 ED₅₀ 농도 단독 처리군에 비해 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) 생존율 증가, NO, PGE₂, TNF- α , IL-1 β 및 IL-6 생성량 감소가 있었다. 한편, piroxicam 1/64 ED₅₀+玄附理經湯 물 추출물 1/4 ED₅₀ 농도 병용 처리군에서도 LPS 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) 항염효과가 나타났으나 각각의 piroxicam 및 玄附理經湯 물 추출물 1/4 ED₅₀농도 단독 처리군에 비해 유의성 있는 항염효과는 없었다. 따라서 玄附理經湯 물 추출물은 LPS로 활성화된 raw 264.7 세포에 대해 항염효과를 나타내는 것으로 관찰되어 과도한 염증반응에 수반되는 월경통 등에 유효한 효과를 나타낼 것으로 기대되며, piroxicam과 병용시 항염효과가 현저히 상승되어 piroxicam의 사용량을 대략 1/8까지 줄일 수 있을 것으로 기대되었다.

현재까지 玄附理經湯 자체의 항염 및 진통효과에 관한 실험적 연구는 찾아볼 수 없으나, 이들을 구성하고 있는 15종의 약재 각각 항염 및 진통효과가 잘 알려져 있어⁹⁻²³⁾ 본 실험에서 인정된 복합방제 玄附理經湯의 항염 활성은 구성 약재의 복합적인 상호 작용 등을 통해 일어나는 것으로 판단되나 명확한 기전은 본 실험에서는 알 수 없고 구성 약재 각각 수많은 생리 활성 물질을 함유하고 있어 향후 구성 약재의 상호 작용에 의한 항염 활성의 변화 및 생리 활성 화학성분의 검색을 수행해야 할 것으로 판단된다.

V. 결 론

1. 玄附理經湯 물 추출물 및 piroxicam은 LPS로 활성화된 raw 264.7 세포에 대해 생존률 감소와 NO, PGE₂, TNF- α , IL-1 β 및 IL-6 생성량 증가에 대한 억제 효과를 보였다.
2. 玄附理經湯 물 추출물의 1/4 ED₅₀ 농도+piroxicam 1/4, 1/8, 1/16 및 1/32 ED₅₀ 병용 처리군은 LPS 단독 처리군에 비해 LPS 처리 대식세포의 생존율 증가, NO, PGE₂, TNF- α , IL-1 β 및 IL-6 생성량 감소 효과가 유의성이 있었으며, 각각의 玄附理經湯 물 추출물 및 piroxicam 1/4 ED₅₀ 농도 단독 처리군에 비해서도 유의성이 있었다.
3. 玄附理經湯 물 추출물의 1/4 ED₅₀ 농도+piroxicam 1/64 ED₅₀ 병용 처리군에서 LPS 단독 처리군에 비해 LPS 처리 대식세포의 생존률 증가, NO, PGE₂, TNF- α , IL-1 β 및 IL-6 생성량 감소 효과가 유의성이 있었으나, 각각의 玄附理經湯 물 추출물 및 piroxicam 1/4 ED₅₀ 농도 단독 처리군에 비해 항염 효과는 유의성이 없었다.

- Received : January 28, 2015
- Revised : February 01, 2015
- Accepted : February 07, 2015

참고문헌

1. Korean society of obstetrics and gynecology. Gynecology. The 4th. Seoul:Korea Med. 2008:132-5.
2. The society of Korean obstetrics and gynecology. Oriental obstet & gynecol. Seoul:Euseongdang. 2012:72-112.
3. Eby GA. Zinc treatment prevents dysmenorrhea. Med Hypotheses. 2007; 69:297-301.
4. 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.
5. Wolfe MM, Lichtenstein DR, Singh G. Gastrointestinal toxicity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. N Engl J Med. 1999;340(24):1888-99.
6. Heo J. Donguibogam. Hadong:Donguibogam publishing co. 2006:294-320.
7. Kim YH. Chunggangeuigam. Seoul: seongbosa. 2001:390-3.
8. Lim JH, et al. Clinical efficacy of Hyunbulikyungtang-gagam for dysmenorrhea caused qi-stagnation and blood clots. J Korean Obstet & Gynecol. 2002; 15(4):228-37.
9. Dang GK, et al. Antiinflammatory activity of Phyllanthus emblica, Plumbago zeylanica and Cyperus rotundus in acute models of inflammation. Phytother Res. 2011;25(6):904-8.
10. Li CQ, et al. Screening for the anti-inflammatory activity of fractions and compounds from Atractylodes macrocephala koidz. J Ethnopharmacol. 2007;114(2):212-7.
11. Yang CP, et al. A new butanolide compound from the aerial part of Lindera akoensis with anti-inflammatory activity. Molecules. 2012;17(6):6585-92.
12. Choi JG, et al. Antinociceptive effect

- of *Cyperus rhizoma* and *Corydalis tuber* extracts on neuropathic pain in Rats. *Korean J Physiol Pharmacol.* 2012;16:387-92.
13. Oh YC, et al. Anti-inflammatory effect of Citrus unshiu peel in LPS stimulated RAW 264.7 macrophage cells. *Am J Chin Med.* 2012;40:611-29.
 14. Seo YJ, et al. The analgesic effect of decursinol. *Arch Pharm Res.* 2009; 32(6):937-43.
 15. Zhang W, Dai SM. Mechanisms involved in the therapeutic effects of *Paeonia lactiflora* Pallas in rheumatoid arthritis. *Int Immunopharmacol.* 2012;14:27-31.
 16. Or TC, et al. Isolation and identification of anti-inflammatory constituents from *Ligusticum chuanxiong* and their underlying mechanisms of action on microglia. *Neuropharmacology.* 2011; 60:823-31.
 17. Shin TY, et al. Anti-inflammatory effect of *Poncirus trifoliata* fruit through inhibition of NF- κ B activation in mast cells. *Toxicol In Vitro.* 2006; 20(7):1071-6.
 18. Jang MK, Sohn DH, Ryu JH. A curcuminoid and sesquiterpenes as inhibitors of macrophage TNF- α release from *Curcuma zedoaria*. *Planta Med.* 2001;67(6):550-2.
 19. Shin TY, et al. Anti-allergic inflammatory activity of the fruit of *Prunus persica*: role of calcium and NF- κ B. *Food Chem Toxicol.* 2010;48(10):2797-802.
 20. Yu T, et al. The ability of an ethanol extract of *Cinnamomum cassia* to inhibit Src and spleen tyrosine kinase activity contributes to its anti-inflammatory action. *J Ethnopharmacol.* 2012;139(2):566-73.
 21. Chun J, et al. Alantolactone suppresses inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression by down-regulating NF- κ B, MAPK and AP-1 via the MyD88 signaling pathway in LPS-activated RAW 264.7 cells. *Int Immunopharmacol.* 2012;14(4):375-83.
 22. Lee SY. Influence of *Carthamus tinctorius* seed extract on the proliferation and differentiation in MC3T3-E1 osteoblastic cell line. Gwangju:Chosun university. 2013:9-22.
 23. Ramadan G, Al-Kahtani MA, El-Sayed WM. Anti-inflammatory and anti-oxidant properties of *Curcuma longa* (turmeric) versus *Zingiber officinale* (ginger) rhizomes in rat adjuvant-induced arthritis. *Inflammation.* 2011;34(4):291-301.
 24. Banard K, et al. Health status among women with menstrual symptoms. *J Women Health.* 2003;12:911-9.
 25. Slap GB. Menstrual disorders in adolescence. *Best Pract Res Clin Obstet Gynecol.* 2003;17:75-92.
 26. Higuchi M, et al. Cytolytic mechanism of activated macrophages. Tumor necrosis factor and L-arginine-dependent mechanism acts as synergistically as the major cytolytic mechanism of activated macrophages. *J Immunol.* 1990;144(4):1425-31.
 27. Kim DH, et al. Anti-inflammatory

- effects of the aqueous extract of hawngyeonhaedok-tang in LPS activated Macrophage Cells. Korea J Herbology. 2009;24(4):39-47.
28. Seo WG, et al. Inhibitory effects of methanol extract of *Cyperus rotundus* rhizomes on nitric oxide and superoxide production by murine macrophage cell line, RAW 264.7 cells. J Ethnopharmacol. 2001;76(1):59-64.
29. DR Haynes, et al. The cyclo-oxygenase inhibitor, Piroxicam, enhances cytokine-induced lymphocyte proliferation in vitro and in vivo. Immunol. Cell Biol. 1990;68:225-30.