

원저

## 活絡湯의 NO 억제, DPPH 소거 및 Microarray상 유전자 발현에 미치는 영향

김철홍 · 윤현민 · 장경전 · 송춘호 · 안창범

동의대학교 한의과대학 침구경혈학교실

### Abstract

#### Inhibitory Effect on NO, Scavenging Effect on DPPH Radical in Whallak-tang

Kim Cheol-hong, Youn Hyoun-min, Jang Kyung-jeon, Song Choon-ho and Ahn Chang-bum

Dept. of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Dong-Eui University

**Objective** : This study was undertaken to determine the inhibitory effect of Whallak-tang against Nitric Oxide, the scavenging effect of Whallak-tang on DPPH radical.

**Methods** : Both nitric concentration 1, 3, 6 and 24 hours after treatment with Vit. C and Whallak-tang at 0.1, 1, 10 mg/ml and scavenging effect 10, 20, 30 and 60 minute after treatment with Vit. C and Whallak-tang at 0.1, 1, 10 mg/ml were estimated.

**Results** : The inhibitory effect of Whallak-tang against Nitric Oxide was dose-dependent. The scavenging effect of Whallak-tang on DPPH radical was dose-dependent.

- 접수 : 2004년 7월 19일 · 수정 : 2004년 7월 24일 · 채택 : 2004년 9월 18일  
· 교신저자 : 김철홍, 부산시 진구 양정2동 산45 동의대학교 한의과대학 침구경혈학교실  
Tel. 052-226-8111 E-mail : kmdkch@kornet.net

**Conclusion :** These results would provide important basic data on the possibility of the clinical treatment of Whallak-tang in musculoskeletal disease.

**Key words :** Whallak-tang, Nitric Oxide, DPPH radical

## I. 서론

서양의학에서 各種 關節炎과 筋骨格系에 痛症이 나타나는 疾患에 대하여 病因病理와 臨床症狀를 살펴보면 한의학에서 痺證의 範疇에 屬한다<sup>1-2)</sup>. 痺證은 閉而不通하여 痛症이 발생함을 말하며 대개 風寒濕의 邪氣가 經絡으로 侵入하거나 關節에 凝滯됨으로써 氣血運行이 順調롭지 못하여 肌肉, 筋骨, 關節 등에 麻木, 重着, 疼痛, 屈伸不利, 腫脹, 發赤, 熱感 등의 증상을 나타내며甚하면 關節의 強直性 變形을 招來한다<sup>3-5)</sup>. 治療原則은 病의 新久虛實을 구분하여 活血通絡, 祛痰散寒, 除濕清熱, 祛風止痛 등의 治法으로 응용한다<sup>6)</sup>.

痺證治療의 여러 處方中 活絡湯은 活血, 通經 活絡, 止痛 등의 효능이 있어 最급성기 및 급성기 요통, 요각통, 견비통 등에 활용되고 특히 關節염 등 근골격계의 염증성, 동통성 질환에서 광범위하게 응용되고 있다<sup>7-8)</sup>.

산소는 생명유지에 절대적으로 필요한 원소이지만 각종 물리적, 화학적 요인 등에 의하여 반응성 활성산소로 전환되면 생체에 치명적인 毒性을 일으키는 양면성을 지니고 있다<sup>9-10)</sup>.

반응성 활성산소 중 산화질소(Nitric Oxide : NO)는 신경계통 조직에서 신경전달물질, 신경조절물질 또는 2차전령물질(second messenger)로서 작용하는 것으로 알려진 자유기(free radical)인데,

NO가 과다 생성되면 關節의 炎症, 癌 등을 나타내게 되고, DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)는 비교적 안정된 자유기로 과다 생성시 염증을 일으킬 수 있다<sup>11)</sup>.

關節염에 대한 실험적연구<sup>12-16)</sup>는 많이 이루어졌으나 活絡湯에 의한 연구로는 임 등<sup>8)</sup>의 임상보고와 권<sup>16)</sup>의 실험보고에서 活絡湯이 급만성 근골격계 질환에 대해 광범위한 응용가능성이 있음을 제시하였으나 항산화활성에 관한 연구는 없었다.

이에 活絡湯의 작용기전을 보다 깊이 이해하고 기초자료로 쓰일 수 있도록 活絡湯의 Nitric Oxide 억제 효과, DPPH 소거 효과를 살펴 유익한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 실험방법

### 1. NO 억제 효과 측정

#### 1) NO 생성화합물

NO generator로는 S-nitroso-N-acetylpenicillamine (SNAP)를 사용하였다. SNAP의 제조방법은 Field 등<sup>17)</sup>에 의한 방법을 따랐다. 먼저 NaNO<sub>2</sub> 1.63 g를 20 ml에 녹였다. 20 ml의 메탄올과 20 ml의 염산을 섞어 1.91 g의 N-acetylpenicillamine를 녹였다. 후드 안에서 NaNO<sub>2</sub>용액을 N-acetylpenicillamine용액에 2-3 ml씩 첨가하면서 dull green이

나타나는지를 확인하면서 천천히 반응시켰다. 반응이 다 끝나면 여과를 하여 여과지에 2-3일 동안 호일을 덮어 공기 중에 말렸다. 여과지에 남아 있는 분말을 수거하여 다음 실험에 사용하였다.

## 2) 活絡湯의 준비

藥材는 東義大學校 附屬韓方病院 藥劑課에서 구입한 것을 정선하여 사용하였으며, 處方은 <동

의대학교 한방병원 처방집><sup>7)</sup>에 기재된 것으로 處方內容과 1첩 분량은 Table 1과 같다.

檢液의 製造는 活絡湯 1첩 分量(약 102g)을 取하여 蒸溜水 700ml를 넣은 다음, 80℃에서 3시간 동안 熱湯處理하여 抽出된 液을 rotary evaporator에 n-放置하여 粉末로 만들어, 試料로 사용할 때 마다 500 ug/ml를 buffer에 녹여 減壓滅菌하여 使用하였다.

Table 1. Composition of Whallak-tang used in this Study<sup>7,18-19)</sup>

Herbs	Herb medicine name	Scientific name	Amounts(g)
木瓜	Chaenomelis Fructus	<i>Chaenomeles sinensis</i> KOEHNE	10
白屈菜	Chelidonii Herba	<i>Chelidonium majus</i> LINNE	10
玄胡索	Corydalis Tubers	<i>Corydalis turtschaninovii</i> BESS.	8
羌活	Osterici koreani Radix	<i>Ostericum koreanum</i> KITAKAWA	8
威靈仙	Clematidis Radix	<i>Clematis florida</i> THUNB.	6
獨活	Aralia cordatae Radix	<i>Aralia cordata</i> THUNB.	6
當歸	Angelicae gigantis Radix	<i>Angelica gigas</i> NAKAI	6
乾地黄	Rehmanniae RHIZOMA	<i>Rehmannia glutinosa</i> LIBOSCH.	6
芍藥	Paeoniae Radix	<i>Paeonia japonica</i> MIYABE et TAKEDA	6
蒼朮	Atractylodis Rhizoma	<i>Atractylodes japonica</i> KOIDZ.	6
陳皮	Pericarpium citri Nobilis	<i>Citrus unshiu</i> MARCOR	4
乳香	Mastix	<i>Boswellia carterii</i> BIRDW.	4
沒藥	Myrrha	<i>Commiphora molmol</i> ENGLER.	4
紅花	Carthami Flos	<i>Carthamus Tinctorius</i> L.	3
砂仁	Amomi Fructus	<i>Amomum villosum</i> LOUR.	3
甘草	Glycyrrhizae Radix	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> FISCH.	2
生薑	Zingiberis Rhizoma	<i>Zingiber officinale</i> ROSC.	4
大棗	Zizyphi jujubae Fructus	<i>Zizyphus jujuba</i> MILL. var. <i>inermis</i> (BUNGE) REHD.	6
Total amounts			102

### 3) NO 측정

Phosphate-buffered saline (PBS) 1 ml에 SNAP 500 uM을 첨가한 후, 活絡湯을 농도 별로 첨가하여 CO<sub>2</sub> 인큐베이터 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>, 95% O<sub>2</sub> 조건하에서 24시간동안 인큐베이션하였다. 각 조건마다 100ul로 3개씩 96-well plate를 사용하여 분주한 후 100ul의 Griess 용액을 첨가하여 550nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 NaNO<sub>2</sub> 용액을 표준으로 하여 농도를 계산하였다.

### 4) 통계분석

통계분석은 Statistical Package for Social Science software SAS (version 6.1.2)를 사용하였으며 데이터 분석은 Student's *t*-test를 이용하였고 통계적인 유의성은 P<0.05로 하였다. 모든 실험은 독립적으로 3번 이상 반복하였고 mean± standard errors of means(SEM)로 나타내었다.

## 2. DPPH 소거 효과 측정

### 1) DPPH 측정

活絡湯과 대조약물군으로는 대표적인 항산화물질인 Vit. C를 선택하여 3차 증류수에 100 mM으로 녹여 보관하였다. DPPH 용액은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)을 무수 에탄올에 녹여 540 nM에서 흡광도가 0.96~0.97이 되는 농도로 희석하였다. 活絡湯과 Vit. C는 에탄올에 10 mM과 100 uM으로 희석하였다. 반응은 96well plate에 에탄올 40 ul, 시약 10 ul을 넣은 후 위에 조성한 DPPH 용액 50 ul을 넣어 100 ul로 만들어 (최종농도가 1 ug/ml, 0.1 ug/ml이 되도록 함) Vortex로 균일하게 혼합한 다음, 실온에서 1시간 방치한 후, ELIZA reader을 이용하여 540 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

### 2) 통계분석

통계분석은 Statistical Package for Social Science software SAS (version 6.1.2)를 사용하였으며 데이터 분석은 Student's *t*-test를 이용하였고 통계적인 유의성은 P < 0.05로 하였다. 모든 실험은 독립적으로 3번 이상 반복하였고 mean± standard errors of means(SEM)로 나타내었다.

## III. 結 果

### 1. NO 억제 효과

活絡湯에 대하여 NO 억제 효과를 확인하고자 0.1 mg/ml, 1 mg/ml, 10 mg/ml의 농도로 24시간 동안 측정하였다. 본 실험 결과 1시간 경과 후 NO 농도는 무처리군이 17.3±5.7%, Vit. C 처치군은 7.4±0.2%, 活絡湯 0.1 mg/ml 처치군은 14.1±1.8%, 1 mg/ml 처치군은 11.5±3.4%, 10 mg/ml 처치군은 9.4±3.3%로 나타났다. 3시간 경과 후 NO 농도는 무처리군이 27.9±9.1%, Vit. C 처치군은 16.8±0.6%, 活絡湯 0.1 mg/ml 처치군은 23.0±5.6%, 1 mg/ml 처치군은 18.4±6.3%, 10 mg/ml 처치군은 15.4±8.8%로 나타났다. 6시간 경과 후 NO 농도는 무처리군이 50.5±14.3%, Vit. C 처치군은 21.6±11.0%, 活絡湯 0.1 mg/ml 처치군은 45.2±19.9%, 1 mg/ml 처치군은 39.2±8.2%, 10 mg/ml 처치군은 27.2±7.9%로 나타났다. 24시간 경과 후 NO 농도는 무처리군이 100.0±26.0%, Vit. C 처치군은 9.6±16.6%, 活絡湯 0.1 mg/ml 처치군은 86.9±21.3%, 1 mg/ml 처치군은 81.9±29.4%, 10 mg/ml 처치군은 64.8±11.3%로 나타났다.

Vit. C는 강력한 항산화제로서 본 실험에서도 NO 제거 효과가 큼을 보여주었다. 한편 活絡湯을 투여한 군에서 농도의존적으로 항산화활성이

높게 나타났으며, 특히 10 mg/ml 처치군에서 6시간과 24시간 경과 후 대조군에 비해 유의하게 높았다(Fig. 1).

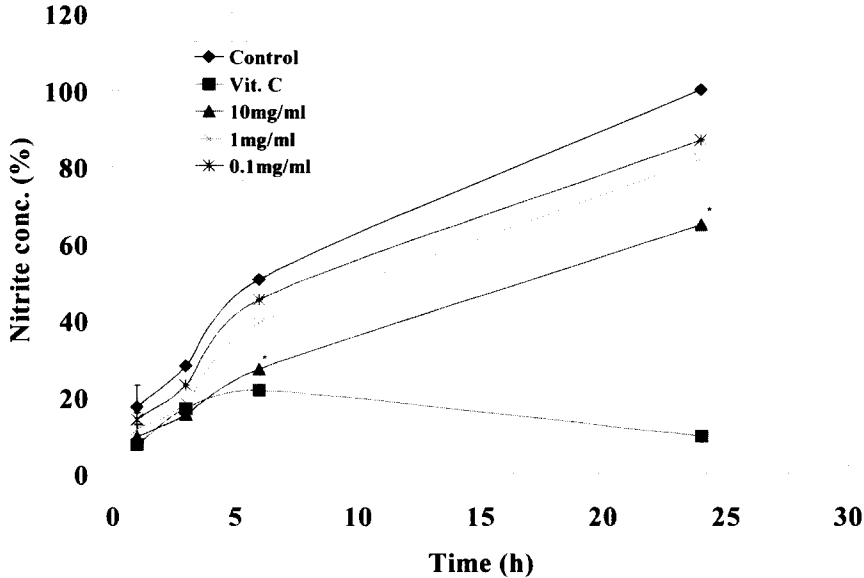


Fig. 1. Inhibitory effect of Whallak-tang on Nitric Oxide

Nitrite Concentration 1, 3, 6 and 24 hours after treatment with Vit. C and Whallak-tang at 0.1, 1, 10 mg/ml. Each data point is represented as mean ( $\pm$ SEM). (n=3). Data were obtained from at least 3 independent repetitions. Differences of significance as calculated via Student's t-test are marked with asterisks. \*  $p < 0.05$  compared to the control group

## 2. DPPH 소거 효과

活絡湯에 대하여 DPPH 소거 효과를 확인하고자 0.1 mg/ml, 1 mg/ml의 농도로 60분 동안 측정하였다. 본 실험 결과 무처리군의 경우 DPPH 소거 효과가 없었으나 강력한 항산화제인 Vit. C에서는 10분 경과 후 56.9 $\pm$ 6.3%, 20분 경과 후 52.3 $\pm$ 6.2%, 30분 경과 후 49.7 $\pm$ 6.5%, 60분 경과 후 42.8 $\pm$ 5.7%로 시간이 경과하여도 DPPH 소거 효과가 높게 유지되었다. 한편 0.1 mg/ml의 活絡湯을 투여한 군에서는 DPPH 소거 효과가 10분

경과 후 6.8 $\pm$ 5.7%, 20분 경과 후 8.0 $\pm$ 6.9%, 30분 경과 후 9.0 $\pm$ 6.9%, 60분 경과 후 10.2 $\pm$ 8.1%로 나타났고, 1 mg/ml의 活絡湯을 투여한 군에서는 10분 경과 후 36.5 $\pm$ 0.7%, 20분 경과 후 42.6 $\pm$ 1.4%, 30분 경과 후 44.7 $\pm$ 1.4%, 60분 경과 후 48.9 $\pm$ 1.7%로 나타났다(Fig. 2). 즉 活絡湯을 투여한 군에서는 농도의존적으로 DPPH 소거 효과가 높게 나타났고, 특히 1 mg/ml 투여군에서 대조군에 비해 유의하게 높았으며, 따라서 10 mg/ml의 농도로는 관찰하지 않았다.

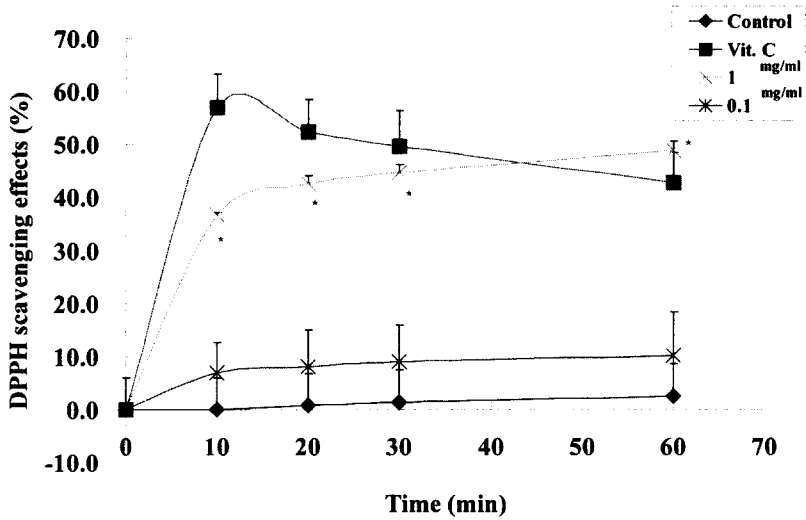


Fig. 2. Scavenging effect of Whallak-tang on DPPH radical

DPPH scavenging effect 10, 20, 30 and 60 minute after treatment with Vit.C and Whallak-tang at 0.1, 1, 10 mg/ml. Each data point is represented as mean ( $\pm$ SEM). (n=3). Data were obtained from at least 3 independent repetitions. Differences of significance as calculated via Student's t-test are marked with asterisks. \* p < 0.05 compared to the control group

#### IV. 考 察

西洋醫學에서의 各種 關節炎과 筋骨格系에 痛症이 나타나는 疾患, 例를 들면 骨關節炎, 류마티드 關節炎, 骨質增殖性疾疾病, 痛風, 硬皮症, 閉塞性 血栓血管炎, 筋炎, 全身性紅斑性狼瘡 등은 病因病理와 臨床症狀를 살펴보면 韓의학에서 痺證의 範疇에 屬한다<sup>1-2)</sup>.

痺證은 閉而不通하여 痛症이 발생함을 말하며 대개 風寒濕의 邪氣가 人體의 營衛失調, 腠理空疎 或은 正氣虛弱한 틈을 타고 經絡으로 侵入하거나 關節에 凝滯됨으로써 氣血運行이 順調롭지 못하여 肌肉, 筋骨, 關節 등에 麻木, 重着, 疼痛, 屈伸不利, 腫脹, 發赤, 熱感 등의 증상을 나타내며甚하면 關節의 強直性 變形을 招來하는 病證의 하

나이다<sup>3-5)</sup>.

痺證에 대한 최초의 言及으로 <黃帝內經素問·痺論篇><sup>20)</sup>에 “風寒濕三氣雜至 合而爲痺也 其風氣勝者爲行痺 寒氣勝者爲痛痺 濕氣勝者爲着痺也”라고 하였다. 後世에는 歷節風, 白虎歷節風, 痛風, 鶴膝風, 痺痛 등으로 불렀다<sup>3-4)</sup>. 分類를 살펴보면 實證인 경우에는 原因에 따라 行痺(風痺), 痛痺(寒痺), 着痺(濕痺), 熱痺, 瘀血痺 등으로 나누고, 虛證인 境遇에는 臨床적으로 氣血虛痺, 陽虛痺, 陰虛痺 등으로 나누었으며 五臟이 外部로 配屬되는 신체부위에 따라 筋痺, 脈痺, 肌痺, 皮痺, 骨痺, 그리고 五臟의 氣와 四時季節 및 五行의 상관관계에 따라 肝痺, 心痺, 脾痺, 肺痺, 腎痺, 腸痺, 胞痺로 구분된다<sup>1,5)</sup>.

痺證의 治療原則은 寒者는 溫之하고, 熱者는 清之하며, 濕·痰·瘀 등의 有形之邪가 있으면 祛之하고, 虛者는 補之하는 것이라고 할 수 있으

나<sup>21)</sup>, 반드시 病의 新久虛實을 區分하여 活血通絡, 祛痰散寒, 除濕清熱, 祛風止痛등의 治法으로 응용한다<sup>6)</sup>.

文獻에 기재된 活絡湯은 <東醫寶鑑><sup>22)</sup>에 羌活, 獨活, 川芎, 當歸, 甘草, 白朮로 구성되어 風濕痺痛을, <得效力><sup>23)</sup>에 白朮, 當歸, 獨活, 羌活, 甘草, 川芎으로 구성되어 風濕痺痛을, <鄭氏家傳女科萬金方><sup>23)</sup>에 陳皮, 半夏, 白朮, 蒼朮, 香附子, 南星, 黃芩, 麻黃, 當歸, 威靈仙, 荊芥, 甘草, 生薑으로 구성되어 濕熱痰邪流絡으로 인한 臂痛을 다스린다 하였다.

그리고, <女科指南><sup>23)</sup>에 茯苓, 半夏, 陳皮, 甘草, 蒼朮, 白朮, 南星, 黃芩, 香附子, 當歸, 羌活, 威靈仙, 生薑으로 구성되어 風痰濕熱, 臂痛을, <醫學入門><sup>4)</sup>에 川烏, 草烏, 乳香, 沒藥, 地龍, 南星으로 구성된 活絡丹으로 風濕毒에 의한 筋脈拘攣, 腰腿沈重, 腹脇膨脹 등을, <赤水玄珠><sup>24)</sup>에 南星, 川芎, 草烏, 地龍, 乳香, 沒藥으로 구성된 活絡丹으로 風邪濕毒에 의한 渾身走注疼痛을 다스린다 하였다.

본 실험에서 사용된 活絡湯은 정확한 출전은 보이지 않으나 上記 文獻과 유사한 출전으로 보여지며 이들 처방의 變方으로 보여지는 동의대학교 부속한방병원 처방집<sup>7)</sup>을 기준으로 한 것으로 써 木瓜, 白屈菜가 君藥, 玄胡索, 羌活이 臣藥, 威靈仙, 獨活, 當歸, 乾地黃, 赤芍藥이 佐藥, 蒼朮, 陳皮, 乳香, 沒藥, 紅花, 砂仁, 甘草, 生薑, 大棗가 使藥으로 구성된 처방이다(Table 1).

그 주요 구성약물에 대해 살펴보면,

木瓜는 舒筋活絡, 和胃化濕하여 脚氣浮腫, 濕痺膝痛, 腰膝無力, 吐瀉霍亂, 腹痛泄瀉 등을 다스리고<sup>18)</sup>, 白屈菜는 理氣止痛, 止咳, 利水消腫, 解瘡毒하여 消炎, 鎮痛, 急慢性胃炎, 肝硬化腹水, 疥癬 등에 다방면으로 응용할 수 있고<sup>25)</sup>, 玄胡索은 活血理氣의 要藥으로 活血, 散瘀, 理氣, 止痛하여 胸脇腕腹痛을 비롯한 一身의 上下諸痛에 고루 응용되고<sup>25)</sup>, 羌活은 發散風寒, 祛風濕止痛하여 惡寒

發熱, 頭痛, 腰背肢節疼痛 등을 다스리고<sup>18)</sup>, 威靈仙은 祛風濕, 通經絡하여 風濕痺痛과 上體痛風을 다스리고<sup>19)</sup>, 獨活은 祛風勝濕, 散寒止痛하여 痺痛, 兩足濕痺, 腰膝酸重疼痛, 下腿屈伸不利 등을 다스리고<sup>25)</sup>, 當歸는 補血和血, 調經止痛, 祛瘀生新, 潤燥滑腸하여 疲勞, 頭痛, 腰痛, 跌打血凝作脹, 一切血證, 腸燥便秘 등을 다스린다<sup>18-19,25)</sup>.

그리고, 赤芍藥은 涼血活血, 消癰散腫하여 癰腫疼痛, 婦人月經閉塞, 血滯疼痛 등을 다스리고<sup>18,25)</sup>, 乳香은 活血止痛, 伸筋, 散瘀止痛하여 腕腹疼痛, 跌打傷痛, 風濕痺痛 등을 치료하고<sup>18)</sup>, 沒藥은 活血祛瘀止痛, 散血消腫하여 風濕痺痛, 產後血氣痛, 關節疼痛腫脹, 打撲捻挫 등을 치료하고<sup>19)</sup>, 紅花는 活血通經, 祛瘀止痛하여 經閉, 腹痛, 癥瘕, 瘀血疼痛, 關節痠痛, 瘡癰腫毒 등을 다스린다<sup>18)</sup>.

위의 藥들이 배합되어 活血, 通經活絡, 止痛 등의 효능이 있어 최급성기 및 급성기 腰痛, 腰脚痛, 肩臂痛 등에 활용되고 특히 관절염 등 근골격계의 염증성, 동통성 질환에서 광범위하게 응용되고 있다<sup>7-8,16)</sup>.

관절염에 대한 실험적연구로는 桂枝芍藥知母湯<sup>12)</sup>, 行濕流氣飲<sup>13)</sup>, 三氣飲去附子<sup>14)</sup>, 三痺湯<sup>15)</sup> 등이 있었다. 그러나 活絡湯을 이용한 연구는 林 등<sup>8)</sup>의 임상보고에서 活絡湯이 급성요통에 유효하고 안전함을 제시하였고, 權<sup>16)</sup>의 실험보고에서 급만성 근골격계 질환에 대해 유효성과 안전성을 규명하여 광범위한 응용가능성을 제시하였으나 미약한 실정이다.

산소는 생명유지에 절대적으로 필요한 원소이지만 각종 물리적, 화학적 요인 등에 의하여 반응성 활성산소(reactive oxygen, 예컨대 HO, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, NO 등)로 전환되면 생체에 치명적인 毒性을 일으키는 양면성을 지니고 있다. 이들 활성산소는 비가역적인 파괴작용을 함으로써 老化는 물론 炎症, 류머티스, 自己免疫疾患 등의 각종 질병을 일으키는 것으로 알려져 있다<sup>9-10)</sup>. 또한 이들 활성산소에 의한 지질과산화 결과 생성되는 지질과

산화물을 비롯하여 여러 가지 體內 과산화물도 細胞에 대한 산화적 파괴로 인한 각종 기능장애를 야기함으로써 老化和 疾病의 원인이 되기도 한다<sup>9-10</sup>.

NO는 신경계통 조직에서 신경전달물질, 신경 조절물질 또는 이차전령물질로 작용하는 것으로 알려진 자유기이다. 그런데 NO가 과다 생성되면 關節의 炎症, 癌 등을 나타내게 된다. 과거에는 endothelium derived relaxing factor(EDRF)로 알려졌지만 현재는 기체임이 확인되었다<sup>11</sup>. 즉 NO는 자유롭게 확산하는 가스로서 신경계, 혈관계 및 면역계에서 세포사이의 작용을 매개하는 중요한 역할을 하여<sup>26</sup>, 중추신경계통, 말초신경계통, 심장혈관계통에서 작용함이 보고되었다. NO의 형성은 흥분성 아미노산 수용체에 대한 자극과 관련이 있으며 일단 NO가 생성되면 수용성 guanylate cyclase가 자극된다. 또한 산화질소합성효소(nitric oxide synthase : NOS)에 의하여 arginine으로부터 합성되며 이때 NADH와 tetrahydrobiopterin이 조효소로 작용하는 것으로 알려져 있다<sup>11</sup>. 1990년 초에 동물세포에서 세포간의 메신저로서 생성된다는 것을 발견하였고 혈압, platelet adhesion, neutrophil의 집성뿐만 아니라 腦에서 synaptic plasticity의 역할과 관련이 있을 것으로 보고되었다<sup>27</sup>. 즉 NO는 혈소판 內에서의 혈소판의 응집을 억제하며 大食細胞에서 細胞毒性을 매개하는 작용을 하며 일부 인체조직에서는 혈관확장을 매개하는 물질로도 알려져 있다. 신경계에서 NO는 장기기억의 역행성전도물질로 작용할 것으로 생각되며<sup>28</sup>, 이 NO가 적게 만들어지면 고혈압, 성교불능, 동맥경화 등의 증상을 나타내고 菌에 감염되기 쉽다. 반면 NO가 과다 생성되면 신경독소로 작용하여, 자가면역성 당뇨병, 동맥류, 뇌졸중, 감염성 대장병, 류머티즘, 癌, 패혈성 쇼크, 복합 경화증을 나타내고 이식 거부반응도 나타나게 된다. 요컨대 NO는 낮은 농도에서만 신호로 작용하고 높은 농도로 존재하면 독

성을 나타내기 때문에 NO의 합성은 아주 조심스럽게 조절되어야만 하며 신체 상태에 따라 균형이 잘 맞아야 한다<sup>28</sup>.

DPPH는 비교적 안정한 자유기로 과다 생성시 염증이나 질병을 일으킬 수 있으며, DPPH radical 소거 활성법은 여러 항산화 활성을 측정하는 방법중 가장 간단하면서 대량으로 측정이 가능하며 실제 항산화 활성과도 연관성이 높다<sup>29</sup>.

이에 저자는 以上과 같은 이론적 근거를 토대로 活血, 通經活絡, 止痛 등의 효능이 있는 活絡湯이 가지는 NO억제 및 DPPH 소거능력을 파악하고자 본 실험을 시행하였다.

活絡湯에 대하여 NO 억제 효과를 확인하고자 0.1 mg/ml, 1 mg/ml, 10 mg/ml의 농도로 24시간 동안 측정하였다. 24시간 경과 후 NO 농도는 무처리군이 100.0±26.0%, Vit. C 처리군은 9.6±16.6%, 活絡湯 0.1 mg/ml 처리군은 86.9±21.3%, 1 mg/ml 처리군은 81.9±29.4%, 10 mg/ml 처리군은 64.8±11.3%로 나타났다. Vit. C는 강력한 항산화제로서 본 실험에서도 NO 제거 효과가 큼을 알 수 있었고, 活絡湯을 투여한 군에서 농도의존적으로 항산화활성이 높게 나타났으며 특히 10 mg/ml 처리군에서 6시간과 24시간 경과 후 대조군에 비해 유의하게 높았다(Fig. 1).

活絡湯에 대하여 DPPH 소거 효과를 확인하고자 0.1 mg/ml, 1 mg/ml의 농도로 60분 동안 측정하였다. Vit. C 처리군에서는 60분 경과 후 DPPH 소거 효과가 42.8±5.7%로서 시간이 경과하여도 높게 유지되었고, 活絡湯을 투여한 군에서는 60분 경과 후 DPPH 소거 효과가 0.1 mg/ml의 농도에서는 10.2±8.1%로 나타났고, 1 mg/ml의 농도에서는 48.9±1.7%로, 농도의존적으로 DPPH 소거 효과가 높게 나타났으며, 특히 1 mg/ml 투여군에서 대조군에 비해 유의하게 높았다(Fig. 2).

이는 活絡湯의 근골격계의 염증성, 동통성 질환의 치료효과가 항산화활성을 통해 이루어짐을 시사하는 것이라고 사려되나 추후 심도 있는 연



구가 필요하다 하겠다.

## V. 結 論

活絡湯의 Nitric Oxide 억제, DPPH 소거 효과 및 Microarray상 유전자 발현에 미치는 영향을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 活絡湯은 농도의존적으로 NO 억제 효능이 높게 나타났다.
2. 活絡湯은 농도의존적으로 DPPH 소거 활성이 높게 나타났다.

## VI. 參考文獻

1. 申鉉大 外. 東醫再活醫學科學. 서울: 書苑堂. 1995 : 95-102.
2. 鄭錫熙 外. 痺證의 分類와 治療에 對한 考察. 東醫物理療法科學會誌. 1992 ; 2(1) : 181-90.
3. 方廣. 丹溪心法附餘. 서울: 大星文化社. 1993 : 188-91.
4. 李槭. 國譯編註醫學入門. IV卷. 서울: 南山堂. 1989 : 193-212, 626-39.
5. 上海中醫學院 編. 內科學(上). 上海: 上海科學技術出版社. 1983 : 234-8.
6. 王風岐 外. 炎症的 中醫辨證. 北京: 中醫藥學技術出版社. 1990 : 434-40.
7. 동의대학교 한의과대학. 동의대학교 한방병원 처방집. 부산. 2001 : 441.
8. 임정은, 송호섭, 권순정, 이성노, 강미숙, 변

임정, 황현서, 김기현. 鍼灸治療와 活絡湯 투여가 급성요통 및 간기능에 미치는 영향에 관한 임상적 고찰. 대한침구학회지. 2001 ; 18(5) : 43-9.

9. Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine : some problems and concepts. Arch Biochem Biophys. 1986 ; 246 : 501-14.
10. Kehrer JP. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. Crit Rev Toxicol. 1993 ; 23 : 21-48.
11. Giatgen A. The Dual Role of Nitric Oxide in Islet  $\beta$ -Cell. New Physiol Sci. 1999 ; 14 : 49-53.
12. 申炳熙, 李鍾秀, 申鉉大. 桂枝芍藥知母湯이 제II형 Collagen유발 관절염의 항체에 미치는 영향. 동의물리요법과학회지. 1994 ; 4(1) : 121-33.
13. 李世鉉. 行濕流氣飲이 Adjuvant 관절염에 미치는 실험적 연구. 대전대학교대학원. 1992.
14. 金旬中, 李哲沅. 三氣飲 및 三氣飲去附子가 Adjuvant 관절염 유발시 활성효소에 미치는 영향. 東醫再活醫學會誌. 1997 ; 7(2) : 1-43.
15. 정수현. 三痺湯이 Collagen으로 유발된 관절염에 미치는 영향. 세명대학교대학원. 2000.
16. 權純貞. 活絡湯이 Adjuvant 유발 관절염의 부종 및 혈액에 미치는 영향. 경원대학교 대학원. 2002.
17. Field L, Dilts RV, Ravichandran R, Lenhert PG, Carnahan GE. An unusually stable thionitrite from N-acetylpenicillamine: X-ray crystal and molecular structure of 2-(Acetylamino)-2-carboxy-

- 1, 1-dimethylethyl thionirite. J Chem Soc Chem Commun. 1978 : 249-50.
18. 辛民教. 臨床本草學. 서울 : 永林社. 1991 : 222, 300, 453-5, 467, 504, 668-9.
19. 王浴生. 中藥藥理與應用. 北京 : 人民衛生出版社. 1983 : 339-44, 424-34.
20. 王琦. 素問今釋. 貴州 : 貴州人民出版社. 1981 : 206-7.
21. 李京燮 外. 東醫心系內科學. 下卷. 서울 : 書苑堂. 1995 : 117-46.
22. 許浚. 東醫寶鑑. 서울 : 南山堂. 1983 : 372-3, 534, 708.
23. 彭怀仁. 中醫處方大辭典. 서울 : 永信文化社. 2000 : 893-4.
24. 孫一奎. 赤水玄珠. 北京 : 人民衛生出版社. 1986 : 507-27.
25. 李尙仁. 本草學. 서울 : 修書院. 1981 : 428-9, 101-2, 231, 410, 532-3.
26. Feldman PL, Griffith OW, Sheuhr DJ. The surprising life of nitric oxide. Chem Eng News. 1993 : 26-38.
27. Koh JY, Choi DW. Vulnerability of cultured cortical neurons to damage by endotoxins. Differential susceptibility of neurons containing N-ADPH-diaphorase. J Neurosci. 1993 ; 8 : 2153-63.
28. Schuman EM, Madison DV. A requirement for the intercellular messenger nitric oxide in long-term potentiation. Science. 1991 ; 254 : 1503-6.
29. 방면호. 植物資源으로부터 天然 抗酸化劑의 分離 · 同定. 경희대학교 대학원. 1999 : 18.