

## LPS로 활성화된 복강 대식세포에서 麻黃이 配伍된 10種 처방의 NO 억제 효과

배주연<sup>1)</sup> · 조은희<sup>2)</sup> · 김훈영<sup>3)</sup> · 박민철<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 원광대학교 한의과대학 안이비인후과

<sup>2)</sup> 원광대학교 한의과대학 침구과

<sup>3)</sup> 원광대학교 운영 군산의료원 산부인과

### Inhibitory Effect of Ten Kinds of Herbal Medicine Including Ephedrae Herba on Nitric Oxide in LPS-induced Murine Peritoneal Macrophage

*Ju-Yeon Bae · Eun-Hee Jo · Hun-young Kim · Min-Cheol Park*

**Objective :** The purpose of this study is to find out whether Herba Ephedrae, solely used, and Herbal medicine in which this was included, have inhibitory effects of Nitric Oxide(NO).

**Methods :** We tested the inhibitory effects of Nitric Oxide(NO) with Herba Ephedrae and ten kinds of Herbal medicine combined with Herba Ephedrae(Worlbikachul-Tang, 越婢加朮湯; Mahaengkamsuk-Tang, 麻杏甘石湯; Shinbi-Tang, 神秘湯; Mahwangbujaseshin-Tang, 麻黃附子細辛湯; Euiin-Tang, 薏苡仁湯; Galgeun-Tang, 葛根湯; Mahaengeuigam-Tang, 麻杏薏甘湯; Mahwang-Tang, 麻黃湯; Socheongryong-Tang, 小青龍湯; Gaemagakban-Tang, 桂麻各半湯) on RAW264.7 cells.

#### **Results and Conclusions :**

1. We carried out MTT assay on Herba Ephedrae and those decoctions including this in order to determine whether they accommodate cytotoxicity. The results were that Worlbikachul-Tang, Mahaengkamsuk-Tang, Mahwangbujaseshin-Tang, Mahaengeuigam-Tang, Mahwang-Tang, Socheongryong-Tang and Gaemagakban-Tang showed no cytotoxicity on RAW264.7 with 0.1mg/ml and 0.5mg/ml dosages of decoctions but displayed cytotoxicity on the cell with 1mg/ml. Solely used Herba Ephedrae, Shinbi-Tang, Euiin-Tang and Galgeun-Tang exhibited cytotoxicity beyond the concentration of 0.5mg/ml.
2. Worlbikachul-Tang, Mahaengkamsuk-Tang, Shinbi-Tang, Mahwangbujaseshin-Tang, Euiin-Tang, Galgeun-Tang, Mahaengeuigam-Tang, Mahwang-Tang and Socheongryong-Tang showed inhibition of NO production but solely used Herba Ephedrae and Gaemagakban-Tang did not exhibit such reaction.

**Key words :** Nitric Oxide, Herba Ephedrae, LPS

## I. 緒 論

Nitric oxide(NO)는 광범위한 생물학적 시스템에서 전염증성 매개물질로 cytokine과 비슷한 기능을 하는 새로운 유형의 매개체로 인식되어져 왔으며, 높은 반응성을 가지고, 혈압조절, 신경전달, 혈소판 응집억제, 면역기능, 항균 작용 등의 역할을 하는 것으로 알려져 있다<sup>1)</sup>. NO의 합성에 관여하는 nitric oxide synthase(NOS) 중 inducible NOS(iNOS)에 의해 다량으로 생성된 NO는 폐혈성 쇼크, 류마티드, 염증성 관절염, 뇌졸중 후의 대뇌 손상의 확장을 포함하는 여러 가지 질병을 가져올 수 있으며<sup>2-4)</sup>, 염증 매개 물질이 과량 생산되면, 과도한 면역 반응을 야기하게 되어 각종 인체 질환을 악화시키는 원인이 된다<sup>5,6)</sup>. 그러므로, NO와 같은 염증 매개 물질을 억제하는 물질을 발견한다면, 각종 면역질환 및 인체 질환의 치료에 도움이 될 것이다.

麻黃은 發汗散寒, 宣肺平喘, 利水消腫의 효능이 있어 頭痛, 鼻塞, 骨節疼痛, 咳嗽氣喘, 風水浮腫, 小便不利, 皮膚不仁, 風疹癢痒 등의 症狀을 치료한다<sup>7)</sup>. 약리학적으로는 ephedrine, pseudoephedrine, ephedroxane, norephedrine 등을 함유하고 있으며, ephedrine은 교감신경 흥분작용으로 심박동수 및 심장 수축력을 증가시키고 말초혈관 수축 기관지 확장을 유발하며 dopamine양 증추흥분작용을 가지는 물질로써 鎮咳, 解熱, 消炎作用 및 항알러지 작용을 갖으며, pseudoephedrine은 혈관수축, 소염작용으로 鼻充血을 제거한다<sup>8)</sup>.

麻黃은 發汗散寒, 宣肺平喘 등의 작용이 강하므로, <傷寒論>에서 자주 쓰이며, 정<sup>9)</sup>의 薏苡仁湯의 消炎, 鎮痛효과에 대한 연구, 홍<sup>10)</sup>등에서 麻杏甘石湯의 鎮痛, 解熱, 消炎, 祛痰, 摘出腸管 및 血

壓과 呼吸에 미치는 영향에 대한 연구, 문<sup>11)</sup>등에서 麻杏薏甘湯의 消炎, 鎮痛, 解熱作用에 대한 연구를 보면 麻黃이 들어간 처방들이 항염증 작용을 가지는 것을 볼 수 있다.

최근 麻黃의 항염증에 관한 연구로는 이<sup>12)</sup>등의 흰쥐의 Adjuvant 유발 다발성 관절염에 麻黃 약침의 치료효과에 관한 연구에서 麻黃이 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 mRNA의 발현을 감소시켜 염증을 억제한다는 보고가 있다.

위와 같이 麻黃의 경우 麻黃이 배오된 처방이 항염증 작용을 가진다는 논문들이 있으나, 麻黃에 의한 항염증인지, 麻黃이 배오된 처방의 다른 한약이 항염증 효과를 가지는 것인지에 대해 밝혀져 있지 않다.

이에 麻黃의 항염증과 麻黃이 配伍된 처방의 항염증을 알아보기 위해 麻黃 단미제와 麻黃이 配伍된 10종의 처방(越婢加朮湯, 麻杏甘石湯, 神秘湯, 麻黃附子細辛湯, 薏苡仁湯, 葛根湯, 麻杏薏甘湯, 麻黃湯, 小青龍湯, 桂麻各半湯)의 LPS로 유도된 대식세포의 활성화를 억제하는 효과를 검증하고자 NO 발현 억제를 실험하였다.

## II. 研究方法

### 1. 재료

#### 1) 약재

본 실험에 사용한 전탕액 麻杏甘石湯, 麻黃附子細辛湯, 葛根湯, 麻黃湯, 小青龍湯, 桂麻各半湯은 <傷寒論>, 越婢加朮湯, 麻杏薏甘湯은 <金匱要略>, 神秘湯은 <外治秘要>, 薏苡仁湯은 <明醫指掌>에 기재된 내용을 근거로 하였다<sup>13)</sup>. 실험의 대조군으로 麻黃 단미제를 사용하였다. 약재는 원광대학교 한의과대학 부속 익산한방병원에서 구입한 후 정선하여 사용하였으며, 1침의 내용과 분량은 다음과 같다.

교신저자 : 박민철, 전북 익산시 신용동 344-2 원광대학교 부속 한방병원 안이비인후과

(Tel : 063-859-2821, E-mail : spinx11@wonkwang.ac.kr)

• 접수 2009/06/30 • 수정 2009/07/22 • 채택 2009/08/03

Table 1. The Prescription of Herba Ephedrae(麻黃)

Scientific Name	Herbal Name	Amount(g)
<i>Ephedra sinica</i> STAPF.	Herba Ephedrae(麻黃)	8
Total Amount		8

Table 2. The Prescription of Worlbikachul-Tang(越婢加朮湯)

Scientific name	Herbal name	Amount(g)
<i>Ephedra sinica</i> STAPF.	Herba Ephedrae(麻黃)	12
CaSO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	Gypsum Fibrosum(石膏)	16
<i>Zingiber officinale</i> ROSC.	Rhizoma zingiberis Recens(生薑)	6
<i>Ziziphus jujuba</i> MILL.	Fructus Ziziphi jujubae(大棗)	8
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> FISCH.	Radix Glycyrrhizae(甘草)	4
<i>Atractylodes macrocephala</i> KOIDZ.	Rhizoma Atractylodis Macrocephalae(白朮)	8
Total Amount		54

Table 3. The Prescription of Mahaengkamsuk-Tang(麻杏甘石湯)

Scientific Name	Herbal Name	Amount(g)
<i>Ephedra sinica</i> STAPF.	Herba Ephedrae(麻黃)	8
<i>Prunus armeniaca var. ansu</i> MAXIM.	Semen Armeniacae Amarum(杏仁)	8
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> FISCH.	Radix Glycyrrhizae(甘草)	4
CaSO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	Gypsum Fibrosum(石膏)	20
Total Amount		40

Table 4. The Prescription of Shinbi-Tang(神祕湯)

Scientific Name	Herbal Name	Amount(g)
<i>Ephedra sinica</i> STAPF.	Herba Ephedrae(麻黃)	6
<i>Perilla frutescens</i> L.	Folium Perillae(蘇葉)	6
<i>Citrus unshiu</i> MARCOR.	Pericarpium citri Reticul atae(陳皮)	6
<i>Bupleurum chinense</i> DC.	Raix Bupleuri(柴胡)	8
<i>Prunus armeniaca var. ansu</i> MAXIM.	Semen Armeniacae Amarum(杏仁)	8
<i>Magnolia officinalis</i> REHD. et WILS.	Cortex Magnoliae Officinalis(厚朴)	5
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> FISCH.	Radix Glycyrrhizae(甘草)	4
Total Amount		43

Table 5. The Prescription of Mahwangbujaseshin-Tang(麻黃附子細辛湯)

Scientific Name	Herbal Name	Amount(g)
<i>Ephedra sinica</i> STAPF.	Herba Ephedrae(麻黃)	8
<i>Asarum sieboldii</i> MIQ.	Herba Asari(細辛)	6
<i>Aconitum camichaeli</i> DEBX.	Radix Aconiti Lateralis Preparata(附子)	2
Total Amount		16

Table 6. The Prescription of Euiin-Tang(薏苡仁湯)

Scientific Name	Herbal Name	Amount(g)
<i>Ephedra sinica</i> STAPF.	Herba Ephedrae(麻黃)	8
<i>Angelica gigas</i> NAKAI.	Radix Angelicae Sinens(當歸)	8
<i>Atractylodes macrocephala</i> KOIDZ.	Rhizoma Atractylodis Macrocephalae(白朮)	8
<i>Coix Lachryma-jobi</i> L.	Semen Coicis(薏苡仁)	20
<i>Cinnamomum cassia</i> PRESL.	Ramulus Cinnamomi(桂枝)	6
<i>Paeonia Lactiflora</i> PALL.	Radix Paeoniae Alba(白芍藥)	6
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> FISCH.	Radix Glycyrrhizae(甘草)	4
Total Amount		60

Table 7. The Prescription of Galgeun-Tang(葛根湯)

Scientific Name	Herbal Name	Amount(g)
<i>Pueraria Lobata</i> (WILLD.) OHWI.	Radix Puerariae(葛根)	12
<i>Ephedra sinica</i> STAPF.	Herba Ephedrae(麻黃)	6
<i>Zingiber officinale</i> ROSC.	Rhizoma zingiberis Recens(生薑)	6
<i>Ziziphus jujuba</i> MILL.	Fructus Ziziphi jujubae(大棗)	6
<i>Cinnamomum cassia</i> PRESL.	Ramulus Cinnamomi(桂枝)	4
<i>Paeonia Lactiflora</i> PALL.	Radix Paeoniae Alba(白芍藥)	4
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> FISCH.	Radix Glycyrrhizae(甘草)	4
Total Amount		42

Table 8. The Prescription of Mahaengeuigam-Tang(麻杏薏甘湯)

Scientific Name	Herbal Name	Amount(g)
<i>Ephedra sinica</i> STAPF.	Herba Ephedrae(麻黃)	8
<i>Prunus armeniaca</i> var. <i>ansu</i> MAXIM.	Semen Armeniacae Amarum(杏仁)	6
<i>Coix Lachryma-jobi</i> L.	Semen Coicis(薏苡仁)	20
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> FISCH.	Radix Glycyrrhizae(甘草)	4
Total Amount		38

Table 9. The Prescription of Mahwang-Tang(麻黃湯)

Scientific Name	Herbal Name	Amount(g)
<i>Ephedra sinica</i> STAPF.	Herba Ephedrae(麻黃)	6
<i>Prunus armeniaca</i> var. <i>ansu</i> MAXIM.	Semen Armeniacaе Amarum(杏仁)	6
<i>Cinnamomum cassia</i> PRESL.	Ramulus Cinnamomi(桂枝)	4
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> FISCH.	Radix Glycyrrhizae(甘草)	2
Total Amount		18

Table 10. The Prescription of Socheongryong-Tang(小青龍湯)

Scientific Name	Herbal Name	Amount(g)
<i>Ephedra sinica</i> STAPF.	Herba Ephedrae(麻黃)	4
<i>Paeonia Lactiflora</i> PALL.	Radix Paeoniae Alba(白芍藥)	4
<i>zingiber officinale</i> ROSC.	Rhizoma zingiberis(乾薑)	6
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> FISCH.	Radix Glycyrrhizae(甘草)	4
<i>Cinnamomum cassia</i> PRESL.	Ramulus Cinnamomi(桂枝)	4
<i>Asarum sieboldii</i> MIQ.	Herba Asari(細辛)	4
<i>Schisandra chinensis</i> BAILL.	Fructus Schisandrae(五味子)	4
<i>Pinellia ternata</i> (THUNB.) BREIT.	Rhizoma Pinelliae(半夏)	10
Total Amount		38

Table 11. The Prescription of Gaemagakban-Tang(桂麻各半湯)

Scientific Name	Herbal Name	Amount(g)
<i>Cinnamomum cassia</i> PRESL.	Ramulus Cinnamomi(桂枝)	6
<i>Paeonia Lactiflora</i> PALL.	Radix Paeoniae Alba(白芍藥)	6
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> FISCH.	Radix Glycyrrhizae(甘草)	6
<i>zingiber officinale</i> ROSC.	Rhizoma zingiberis Recens(生薑)	6
<i>Ephedra sinica</i> STAPF.	Herba Ephedrae(麻黃)	6
<i>Ziziphus jujuba</i> MILL.	Fructus Ziziphi jujubae(大棗)	6
<i>Prunus armeniaca</i> var. <i>ansu</i> MAXIM.	Semen Armeniacaе Amarum(杏仁)	4
Total Amount		40

2) 시약

Fetal bovine serum (FBS), RPMI-1640, penicillin-streptomycin 등의 세포 배양용 시약들은 Gibco BRL (Grand Island, USA)사에서 배양조는

Corning (Rochester, USA)사에서 구입하였다. 실험에 사용된 시약 중 HEPES, sodium dodesyl sulfate (SDS), acrylamide, bisacrylamide, LPS, Tris-HCl 등은 SIGMA (St. Louis, USA)사에서 구입하였으며, 실험에 사용된 항체인 anti-phospho-

ERK1/2, anti-phospho-p38, anti-IK-B-a, anti-phospho-JNK는 Cell signaling사에서 구입하였다. anti-mouse IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  antibodies, 재조합 IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ 는 R & D Systems (Minneapolis, MN, USA)에서 구입했다. 실험에 사용된 모든 시약은 분석용 등급이상으로 사용하였다.

## 2. 방법

### 1) 시료의 제조

실험에 사용된 약재는 麻黃 단미제(Table 1)와 麻黃이 配伍된 10種의 처방(越婢加朮湯, 麻杏甘石湯, 神秘湯, 麻黃附子細辛湯, 薏苡仁湯, 葛根湯, 麻杏薏甘湯, 麻黃湯, 小青龍湯, 桂麻各半湯) (Table 2~11)을 각각 1l의 3차 증류수로 2시간 30분 동안 전탕하여 거즈로 여과한 다음 -70 $^{\circ}$ C (Defreezer)에서 12시간 동안 동결시키고, Freezing Dryer로 동결 건조시켜서 5g의 분말을 얻었다. 그 얻어진 분말을 생리식염수로 녹여서 filter (0.2  $\mu$ m syringe filter)로 3회 여과한 후 실험에 사용하였다.

### 2) MTT 분석

RAW264.7 세포의 생존율은 밀집세포의 미토콘드리아 탈수소 효소에 의해 자줏빛 formazan 생성물로 변하는 MTT환원을 바탕으로 MTT분석법으로 측정했다. 간단히 설명하면 지수성장을 하는 세포들은 RPMI-1640배지에서 1 x 10<sup>6</sup>/ml의 밀도로 현탁하였고, 여러 가지 농도로 AETD로 처리하였다. 4시간 동안 배양한 뒤 1 mg/ml의 농도로 배양하기 위해서 MTT용액을 첨가하고 다시 2시간 동안 배양하였다. MTT-formazan 생성물은 동일한 용량의 용해 완충액 (50% n, n-dimethylformamide을 포함하는 20% SDS 용액, pH4.7)을 첨가함으로써 용해했다. 그리고 계속해서 20~24시간 동안 배양

하였다. formazan의 양은 540 nm에 흡수되는 양을 측정함으로써 결정했다.

### 3) 일산화질소 농도의 측정

NO의 기질인 L-알기닌은 L-시트룰린과 일산화질소로 변하는데, 이는 빠르게 안정된 이산화질소, 아질산염, 질산염으로 변한다. 그리스 시약 (Griss reagent: 0.5%의 설파닐아미드, 2.5%의 인산 및 0.5%의 나프틸에틸렌아민)은 아질산염과 화학 반응하여 보라색의 아조염을 형성하고 이것은 일산화질소의 농도와 일치하기 때문에, 아조염의 농도로부터 아질산염의 농도를 측정하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 즉, 100  $\mu$ l의 그리스 시약을 상기 대조군과 실험군의 샘플 1내지 6의 각각에 100  $\mu$ l씩을 첨가하고, 그 혼합물을 37 $^{\circ}$ C에서 10분간 배양하였다. 그 샘플의 빛의 흡수는 스펙트로포토미터 (MD, USA)로 540 nm에서 측정하였다. 일산화질소의 농도는 아질산염의 표준커브로부터 계산하였다.

## 3. 통계처리

실험결과에 대한 통계처리는 students' t-test에 준하였고 p-value가 0.05 미만일 경우 유의한 것으로 판정하였다.

## III. 研究結果

### 1. 麻黃

#### 1) 麻黃의 RAW264.7 세포에 대한 독성

麻黃(Herba Ephedrae: HE)의 세포독성에 관해 알아보기 위하여 RAW264.7 세포에 麻黃을 농도 의존적으로 처리하여 24시간 후에 세포의 생존율을 측정하였다. 麻黃은 RAW264.7 세포에 0.5mg/

ml, 1mg/ml에서 독성 경향이 있으나 0.1mg/ml에서 대조군과 비교했을 때 유의한 차이가 없었다(Fig. 1-a).

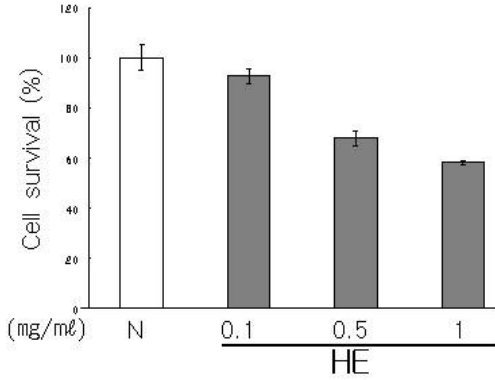


Fig. 1-a. The Effect of HE on Cytotoxicity on RAW264.7 Cells.

The cells were incubated for 24 hrs in the presence or absence of HE at indicated dose. Cell viability was measured by MTT assay described in materials and methods. Data are means of three independent experiment.

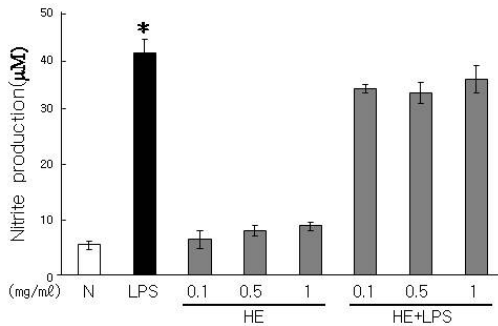


Fig. 1-b. Inhibition of LPS-Induced NO Production by HE.

The cells were treated with HE extract at indicated concentration for 20 min, and then stimulated with 500 ng/ml LPS for 24 hrs. NO release was measured by the method of Griess. \* $P < 0.05$  vs. unstimulated cell; + $p < 0.05$  vs. LPS stimulation alone.

## 2) 麻黃이 NO 생성에 미치는 영향

麻黃을 다양한 농도로 전 처리하고 LPS로 자극하였다. 24시간 후에 세포 상층액에서 NO의 생성을 측정된 결과 LPS로 자극한 대조군에 비해 麻黃을 전처리한 군에서 NO 생성의 감소가 미미함을 알 수 있다(Fig. 1-b).

## 2. 越婢加朮湯

### 1) 越婢加朮湯의 RAW264.7 세포에 대한 독성

越婢加朮湯(Worbikachul-Tang: WBKCT)의 세포독성에 관해 알아보기 위하여 RAW264.7 세포에 越婢加朮湯을 농도 의존적으로 처리하여 24시간 후에 세포의 생존율을 측정하였다. 越婢加朮湯은 RAW264.7 세포에 1mg/ml에서 독성 경향이 있으나 0.1mg/ml, 0.5mg/ml에서 대조군과 비교했을 때 유의한 차이가 없었다(Fig. 2-a).

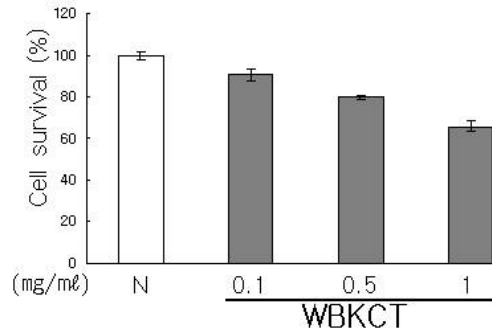


Fig. 2-a. The Effect of WBKCT on Cytotoxicity on RAW264.7 Cells.

The cells were incubated for 24 hrs in the presence or absence of WBKCT at indicated dose. Cell viability was measured by MTT assay described in materials and methods. Data are means of three independent experiment.

### 2) 越婢加朮湯이 NO 생성에 미치는 영향

越婢加朮湯을 다양한 농도로 전 처리하고 LPS로

자극하였다. 24시간 후에 세포 상층액에서 NO의 생성을 측정된 결과 LPS로 자극한 대조군에 비해 越婢加朮湯을 전처리한 군에서 NO 생성이 감소하고 있음을 알 수 있다(Fig. 2-b).

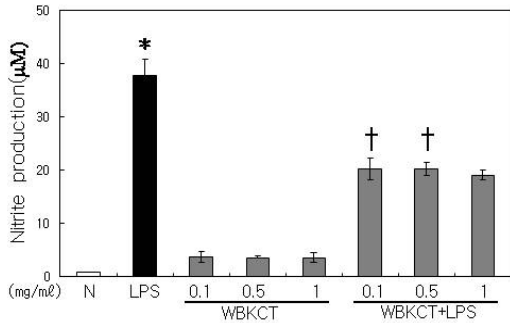


Fig. 2-b. Inhibition of LPS-Induced NO Production by WBKCT.

The cells were treated with WBKCT extract at indicated concentration for 20 min, and then stimulated with 500 ng/ml LPS for 24 hrs. NO release was measured by the method of Griess. \* $P < 0.05$  vs. unstimulated cell; † $p < 0.05$  vs. LPS stimulation alone.

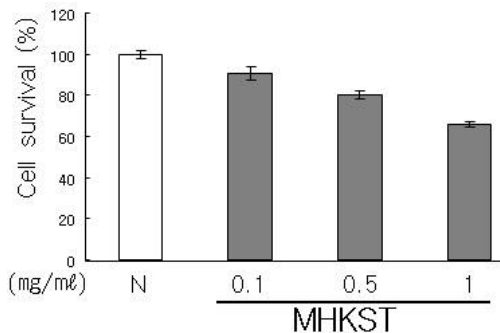


Fig. 3-a. The Effect of MHKST on Cytotoxicity on RAW264,7 Cells.

The cells were incubated for 24 hrs in the presence or absence of MHKST at indicated dose. Cell viability was measured by MTT assay described in materials and methods. Data are means of three independent experiment.

### 3. 麻杏甘石湯

#### 1) 麻杏甘石湯의 RAW264,7 세포에 대한 독성

麻杏甘石湯(Mahaengkamsuk-Tang: MHKST)의 세포독성에 관해 알아보기 위하여 RAW264,7 세포에 麻杏甘石湯을 농도 의존적으로 처리하여 24 시간 후에 세포의 생존율을 측정하였다. 麻杏甘石湯은 RAW264,7 세포에 1mg/ml에서 독성 경향이 있으나 0.1mg/ml, 0.5mg/ml에서 대조군과 비교했을 때 유의한 차이가 없었다(Fig. 3-a).

#### 2) 麻杏甘石湯이 NO 생성에 미치는 영향

麻杏甘石湯을 다양한 농도로 전 처리하고 LPS로 자극하였다. 24시간 후에 세포 상층액에서 NO의 생성을 측정된 결과 LPS로 자극한 대조군에 비해 麻杏甘石湯을 전처리한 군에서 NO 생성이 감소하고 있음을 알 수 있다(Fig. 3-b).

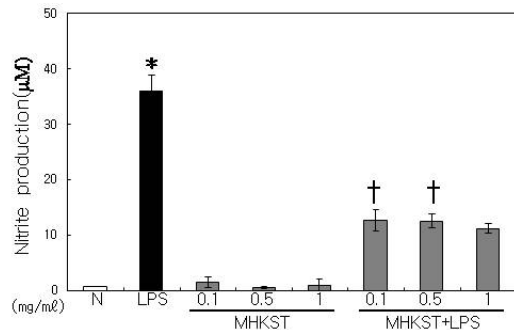


Fig. 3-b. Inhibition of LPS-Induced NO Production by MHKST.

The cells were treated with MHKST extract at indicated concentration for 20 min, and then stimulated with 500 ng/ml LPS for 24 hrs. NO release was measured by the method of Griess. \* $P < 0.05$  vs. unstimulated cell; † $p < 0.05$  vs. LPS stimulation alone.

### 4. 神秘湯

#### 1) 神秘湯의 RAW264,7 세포에 대한 독성

神秘湯(Shinbi-Tang: SBT)의 세포독성에 관해 알



아보기 위하여 RAW264.7 세포에 神秘湯을 농도 의존적으로 처리하여 24 시간 후에 세포의 생존율을 측정하였다. 神秘湯은 RAW264.7 세포에 0.5 mg/ml, 1mg/ml에서 독성 경향이 있으나 0.1mg/ml에서 대조군과 비교했을 때 유의한 차이가 없었다 (Fig. 4-a).

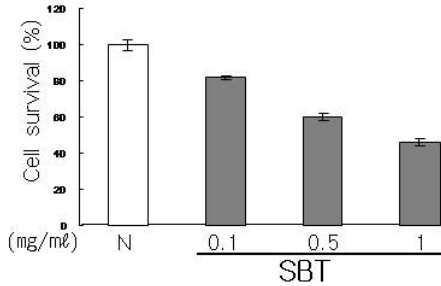


Fig. 4-a. The Effect of SBT on Cytotoxicity on RAW264.7 Cells.

The cells were incubated for 24 hrs in the presence or absence of SBT at indicated dose. Cell viability was measured by MTT assay described in materials and methods. Data are means of three independent experiment.

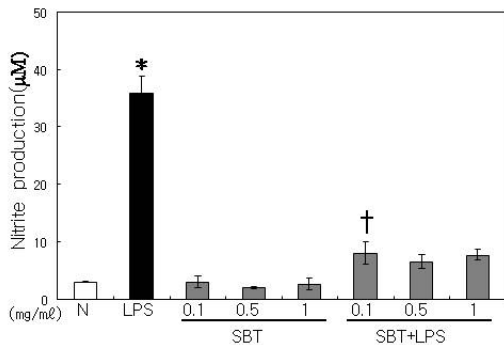


Fig. 4-b. Inhibition of LPS-Induced NO Production by SBT.

The cells were treated with SBT extract at indicated concentration for 20 min, and then stimulated with 500 ng/ml LPS for 24 hrs. NO release was measured by the method of Griess. \* $P < 0.05$  vs. unstimulated cell; † $p < 0.05$  vs. LPS stimulation alone.

## 2) 神秘湯이 NO 생성에 미치는 영향

神秘湯을 다양한 농도로 전 처리하고 LPS로 자극하였다. 24시간 후에 세포 상층액에서 NO의 생성을 측정한 결과 LPS로 자극한 대조군에 비해 神秘湯을 전처리한 군에서 NO 생성이 감소하고 있음을 알 수 있다(Fig. 4-b).

## 5. 麻黃附子細辛湯

### 1) 麻黃附子細辛湯의 RAW264.7 세포에 대한 독성

麻黃附子細辛湯(Mahwangbujaseshin-Tang: MBST)의 세포독성에 대해 알아보기 위하여 RAW264.7 세포에 麻黃附子細辛湯을 농도 의존적으로 처리하여 24 시간 후에 세포의 생존율을 측정하였다. 麻黃附子細辛湯은 RAW264.7 세포에 1 mg/ml에서 독성 경향이 있으나 0.1mg/ml, 0.5mg/ml에서 대조군과 비교했을 때 유의한 차이가 없었다 (Fig. 5-a).

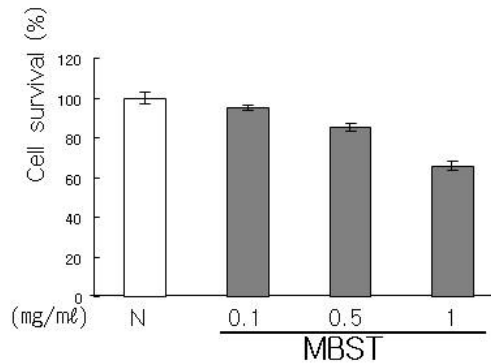


Fig. 5-a. The Effect of MBST on Cytotoxicity on RAW264.7 Cells.

The cells were incubated for 24 hrs in the presence or absence of MBST at indicated dose. Cell viability was measured by MTT assay described in materials and methods. Data are means of three independent experiment.

2) 麻黃附子細辛湯이 NO 생성에 미치는 영향

麻黃附子細辛湯을 다양한 농도로 전 처리하고 LPS로 자극하였다. 24시간 후에 세포 상층액에서 NO의 생성을 측정된 결과 LPS로 자극한 대조군에 비해 麻黃附子細辛湯을 전처리한 군에서 농도 의존적으로 NO 생성이 감소하고 있음을 알 수 있다(Fig. 5-b).

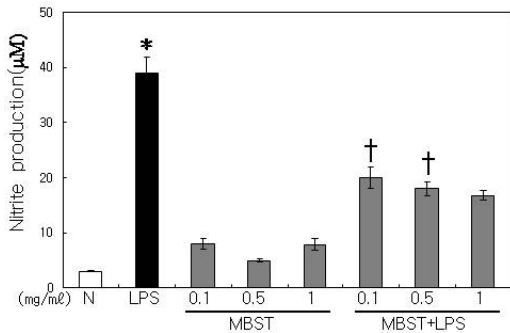


Fig. 5-b. Inhibition of LPS-Induced NO Production by MBST.

The cells were treated with MBST extract at indicated concentration for 20 min, and then stimulated with 500 ng/ml LPS for 24 hrs. NO release was measured by the method of Griess. \* $P < 0.05$  vs. unstimulated cell; † $p < 0.05$  vs. LPS stimulation alone.

6. 薏苡仁湯

1) 薏苡仁湯의 RAW264.7 세포에 대한 독성

薏苡仁湯(Euiin-Tang: EIIT)의 세포독성에 관해 알아보기 위하여 RAW264.7 세포에 薏苡仁湯을 농도 의존적으로 처리하여 24시간 후에 세포의 생존율을 측정하였다. 薏苡仁湯은 RAW264.7 세포에 0.5mg/ml, 1mg/ml에서 독성 경향이 있으나 0.1mg/ml에서 대조군과 비교했을 때 유의한 차이가 없었다(Fig. 6-a).

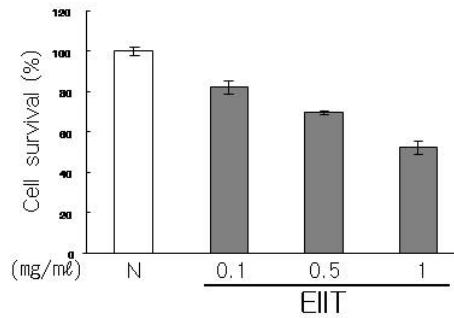


Fig. 6-a. The Effect of EIT on Cytotoxicity on RAW264.7 Cells.

The cells were incubated for 24 hrs in the presence or absence of EIT at indicated dose. Cell viability was measured by MTT assay described in materials and methods. Data are means of three independent experiment.

2) 薏苡仁湯이 NO 생성에 미치는 영향

薏苡仁湯을 다양한 농도로 전 처리하고 LPS로 자극하였다. 24시간 후에 세포 상층액에서 NO의 생성을 측정된 결과 LPS로 자극한 대조군에 비해 薏苡仁湯을 전처리한 군에서 NO 생성이 감소하고 있음을 알 수 있다(Fig. 6-b).

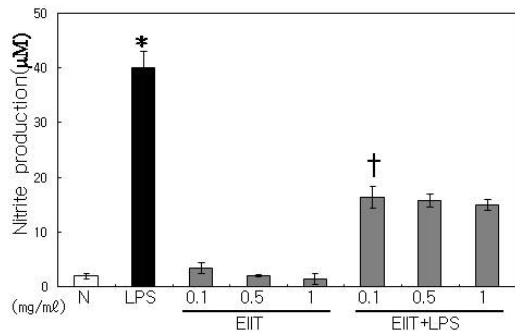


Fig. 6-b. Inhibition of LPS-Induced NO Production by EIIT.

The cells were treated with EIIT extract at indicated concentration for 20 min, and then stimulated with 500 ng/ml LPS for 24 hrs. NO release was measured by the method of Griess. \* $P < 0.05$  vs. unstimulated cell; † $p < 0.05$  vs. LPS stimulation alone.

## 7. 葛根湯

### 1) 葛根湯의 RAW264.7 세포에 대한 독성

葛根湯(Galgeun-Tang: GGT)의 세포독성에 대해 알아보기 위하여 RAW264.7 세포에 葛根湯을 농도 의존적으로 처리하여 24 시간 후에 세포의 생존율을 측정하였다. 葛根湯은 RAW264.7 세포에 0.5mg/ml, 1mg/ml에서 독성 경향이 있으나 0.1mg/ml에서 대조군과 비교했을 때 유의한 차이가 없었다 (Fig. 7-a).

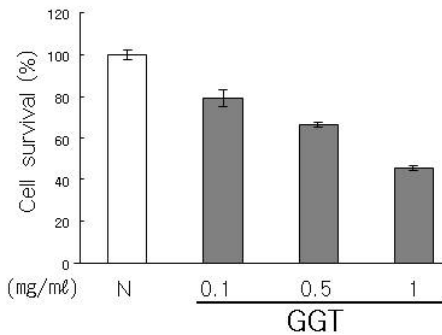


Fig. 7-a. The Effect of GGT on Cytotoxicity on RAW264.7 Cells.

The cells were incubated for 24 hrs in the presence or absence of GGT at indicated dose. Cell viability was measured by MTT assay described in materials and methods. Data are means of three independent experiment.

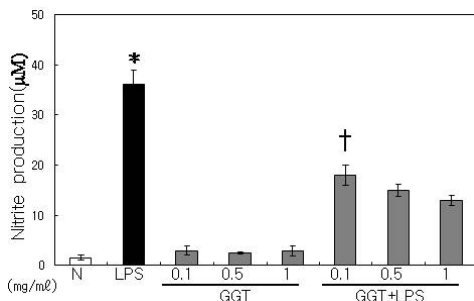


Fig. 7-b. Inhibition of LPS-Induced NO Production by GGT.

The cells were treated with GGT extract at indicated concentration for 20 min, and then

stimulated with 500 ng/ml LPS for 24 hrs. NO release was measured by the method of Griess. \* $P < 0.05$  vs. unstimulated cell; † $P < 0.05$  vs. LPS stimulation alone.

### 2) 葛根湯이 NO 생성에 미치는 영향

葛根湯을 다양한 농도로 전 처리하고 LPS로 자극하였다. 24시간 후에 세포 상층액에서 NO의 생성을 측정한 결과 LPS로 자극한 대조군에 비해 葛根湯을 전처리한 군에서 농도 의존적으로 NO 생성이 감소하고 있음을 알 수 있다(Fig. 7-b).

## 8. 麻杏薏甘湯

### 1) 麻杏薏甘湯의 RAW264.7 세포에 대한 독성

麻杏薏甘湯(Mahaengeuigam-Tang: MHEGT)의 세포독성에 대해 알아보기 위하여 RAW264.7 세포에 麻杏薏甘湯을 농도 의존적으로 처리하여 24 시간 후에 세포의 생존율을 측정하였다. 麻杏薏甘湯은 RAW264.7 세포에 1mg/ml에서 독성 경향이 있으나 0.1mg/ml, 0.5mg/ml에서 대조군과 비교했을 때 유의한 차이가 없었다(Fig. 8-a).

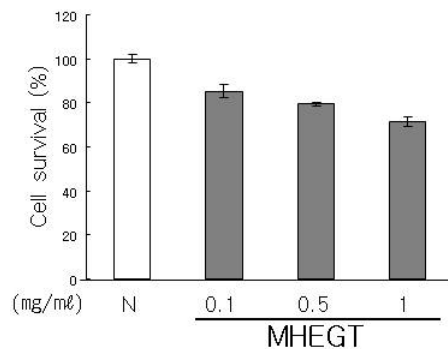


Fig. 8-a. The Effect of MHEGT on Cytotoxicity on RAW264.7 Cells.

The cells were incubated for 24 hrs in the presence or absence of MHEGT at indicated dose. Cell viability was measured by MTT assay described in materials and methods. Data are means of three independent experiment.

2) 麻杏薏甘湯이 NO 생성에 미치는 영향

麻杏薏甘湯을 다양한 농도로 전 처리하고 LPS로 자극하였다. 24시간 후에 세포 상층액에서 NO의 생성을 측정된 결과 LPS로 자극한 대조군에 비해 麻杏薏甘湯을 전처리한 군에서 NO 생성이 감소하고 있음을 알 수 있다(Fig. 8-b).

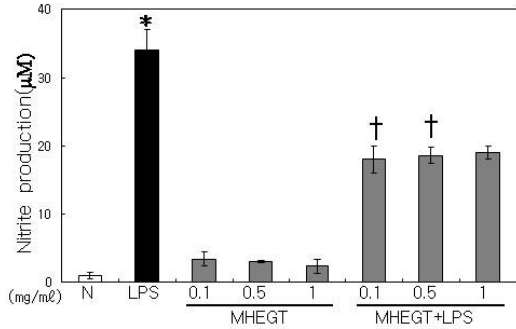


Fig. 8-b. Inhibition of LPS-Induced NO Production by MHEGT.

The cells were treated with MHEGT extract at indicated concentration for 20 min, and then stimulated with 500 ng/ml LPS for 24 hrs. NO release was measured by the method of Griess. \* $P < 0.05$  vs. unstimulated cell; † $p < 0.05$  vs. LPS stimulation alone.

9. 麻黃湯

1) 麻黃湯의 RAW264.7 세포에 대한 독성

麻黃湯(Mahwang-Tang: MHT)의 세포독성에 관해 알아보기 위하여 RAW264.7 세포에 麻黃湯을 농도 의존적으로 처리하여 24 시간 후에 세포의 생존율을 측정하였다. 麻黃湯은 RAW264.7 세포에 1mg/ml에서 독성 경향이 있으나 0.1mg/ml, 0.5mg/ml에서 대조군과 비교했을 때 유의한 차이가 없었다(Fig. 9-a).

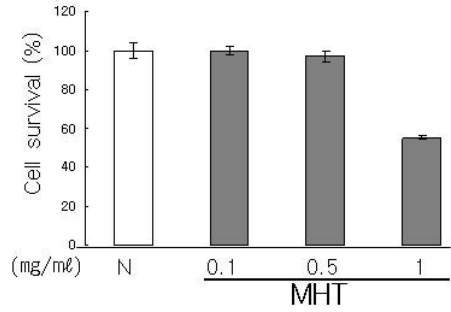


Fig. 9-a. The Effect of MHT on Cytotoxicity on RAW264.7 Cells.

The cells were incubated for 24 hrs in the presence or absence of MHT at indicated dose. Cell viability was measured by MTT assay described in materials and methods. Data are means of three independent experiment.

2) 麻黃湯이 NO 생성에 미치는 영향

麻黃湯을 다양한 농도로 전 처리하고 LPS로 자극하였다. 24시간 후에 세포 상층액에서 NO의 생성을 측정된 결과 LPS로 자극한 대조군에 비해 麻黃湯을 전처리한 군에서 농도 의존적으로 NO 생성이 미약하게 감소하고 있음을 알 수 있다(Fig. 9-b).

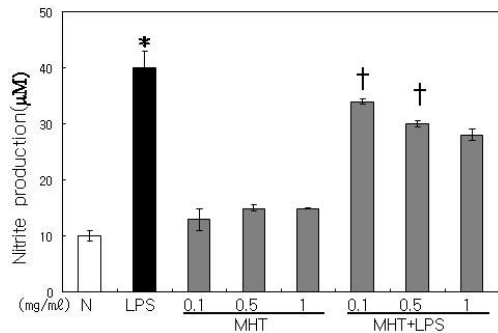


Fig. 9-b. Inhibition of LPS-Induced NO Production by MHT.

The cells were treated with MHT extract at indicated concentration for 20 min, and then stimulated with 500 ng/ml LPS for 24 hrs. NO release was measured by the method of Griess. \* $P < 0.05$  vs. unstimulated cell; † $p < 0.05$  vs. LPS stimulation alone.

## 10. 小青龍湯

### 1) 小青龍湯의 RAW264.7 세포에 대한 독성

小青龍湯(Socheongryong-Tang: SCRT)의 세포 독성에 대해 알아보기 위하여 RAW264.7 세포에 小青龍湯을 농도 의존적으로 처리하여 24 시간 후에 세포의 생존율을 측정하였다. 小青龍湯은 RAW264.7 세포에 0.1mg/ml, 0.5mg/ml, 1mg/ml에서 대조군과 비교했을 때 유의한 차이가 없었다(Fig. 10-a).

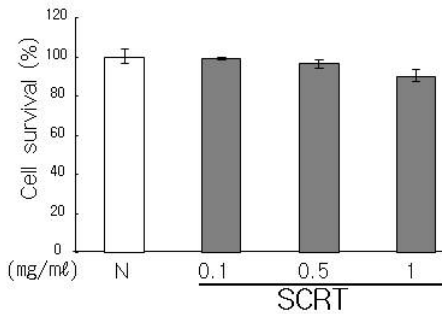


Fig. 10-a. The Effect of SCRT on Cytotoxicity on RAW264.7 Cells.

The cells were incubated for 24 hrs in the presence or absence of SCRT at indicated dose. Cell viability was measured by MTT assay described in materials and methods. Data are means of three independent experiment.

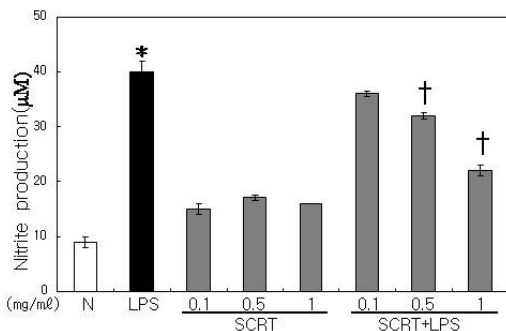


Fig. 10-b. Inhibition of LPS-Induced NO Production by SCRT.

The cells were treated with SCRT extract at indicated concentration for 20 min, and then

stimulated with 500 ng/ml LPS for 24 hrs. NO release was measured by the method of Griess. \* $P < 0.05$  vs. unstimulated cell; † $P < 0.05$  vs. LPS stimulation alone.

### 2) 小青龍湯이 NO 생성에 미치는 영향

小青龍湯을 다양한 농도로 전 처리하고 LPS로 자극하였다. 24시간 후에 세포 상층액에서 NO의 생성을 측정한 결과 LPS로 자극한 대조군에 비해 小青龍湯을 전처리한 군의 0.5mg/ml, 1mg/ml에서 농도 의존적으로 NO 생성이 감소하고 있음을 알 수 있다(Fig. 10-b).

## 11. 桂麻各半湯

### 1) 桂麻各半湯의 RAW264.7 세포에 대한 독성

桂麻各半湯(Gaemagakban-Tang: GMGBT)의 세포 독성에 대해 알아보기 위하여 RAW264.7 세포에 桂麻各半湯을 농도 의존적으로 처리하여 24 시간 후에 세포의 생존율을 측정하였다. 桂麻各半湯은 RAW264.7 세포에 1mg/ml에서 독성 경향이 있으나 0.1mg/ml, 0.5mg/ml에서 대조군과 비교했을 때 유의한 차이가 없었다(Fig. 11-a).

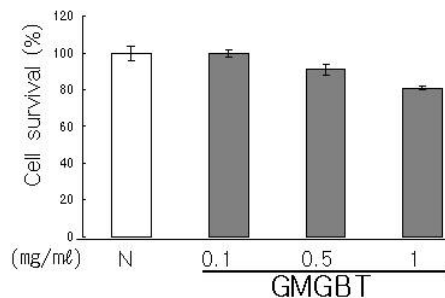


Fig. 11-a. The Effect of GMGBT on Cytotoxicity on RAW264.7 Cells.

The cells were incubated for 24 hrs in the presence or absence of GMGBT at indicated dose. Cell viability was measured by MTT assay described in materials and methods. Data are means of three independent experiment.

2) 桂麻各半湯이 NO 생성에 미치는 영향

桂麻各半湯을 다양한 농도로 전 처리하고 LPS로 자극하였다. 24시간 후에 세포 상층액에서 NO의 생성을 측정된 결과 LPS로 자극한 대조군에 비해 桂麻各半湯을 전처리한 군에서 NO 생성의 감소가 미미함을 알 수 있다(Fig. 11-b).

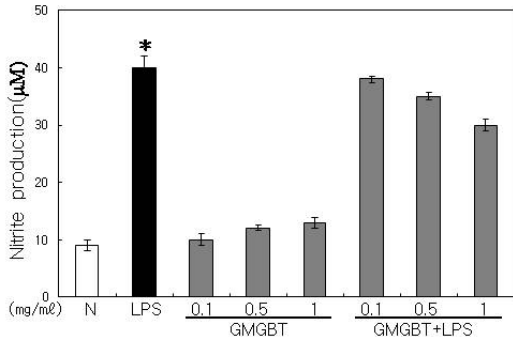


Fig. 11-b. Inhibition of LPS-Induced NO Production by GMGBT.

The cells were treated with GMGBT extract at indicated concentration for 20 min, and then stimulated with 500 ng/ml LPS for 24 hrs. NO release was measured by the method of Griess. \* $p < 0.05$  vs. unstimulated cell; + $p < 0.05$  vs. LPS stimulation alone.

IV. 考 察

염증반응은 외부 자극에 대한 생체의 방어반응으로 임상적으로 發赤, 發熱, 腫脹, 疼痛의 증상이 나타나며, 활성화된 면역세포에 의해 일어나는 일련의 면역반응이다<sup>14)</sup>. Di Rosa 등<sup>15,16)</sup>은 염증의 제1단계가 혈관확장과 투과성항진, 제2단계가 다핵백혈구의 침착과 유주, 제3단계가 그것에 연이은 여러 가지 단핵세포의 침윤, 결합 조직의 증식, 혈관의 신생 등 육아형성, 제4단계는 자가면역염증으로 나타난다고 하였다. 면역세포가 세균, 바이러스 등을 포함한 미생물 및 생체의 이물질 등을 인식하

면, 면역세포가 활성화되고, 활성화된 면역세포에서 염증의 원인이 되는 물질을 분비하여 염증반응이 유발된다.

LPS는 病原菌의 대표적인 내독소이며, 그람 음성 박테리아의 외부 세포막을 구성하는 성분으로 대식세포로 하여금 면역기능을 조절하는 여러 인자, 즉 TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-12 및 arachidonic acid 대사산물을 분비하도록 자극하여, 국소 염증, 항체 생산과 같은 다양한 반응을 일으킨다. 대식세포는 LPS 감염초기에 반응하고 숙주 방어에 중추적인 역할을 한다<sup>17-19)</sup>.

그러나 고농도의 LPS 자극은 대식세포로 하여금 IL, TNF- $\alpha$ , NO와 같은 전 염증성 매개물질을 분비시킨다<sup>20)</sup>. 이들은 정상적인 세포의 기능을 파괴하고, 또한 이러한 기능 파괴는 multiple-organ dysfunction syndromes이나 혹은 lethal septic shock을 유발할 수 있다<sup>21-24)</sup>.

전 염증성 매개물질 중 하나인 NO는 혈관의 평활근을 이완시킴으로서 혈관확장을 야기하는 내피세포이완인자이고, 또한 신경전달물질, 혈소판응집저해제로도 작용하며<sup>25)</sup>, 대식세포의 종양, 박테리아 파괴 능력과 같은 면역반응에 중요한 역할을 한다<sup>26)</sup>. NO는 여러 조직과 세포에서 L-arginine으로부터 NOS에 의해 합성된다<sup>27)</sup>. NO의 합성에 관여하는 NOS는 세 가지의 다른 형태가 존재하는데 neuronal NOS(nNOS)는 뇌 조직에 존재하고 endothelial NOS(eNOS)는 혈관내피세포에 주로 존재하고 iNOS는 평상시에는 거의 검출되지 않다가 내독소에 의해 대식세포가 활성화되면 증가하여 NO를 합성하게 되는데<sup>2,3)</sup>, iNOS는 세포내 Ca<sup>2+</sup>의 농도에 비의존성이며 대식세포, 혈관평활근 세포, 내피세포, 간세포와 심근세포 등 여러 세포에서 LPS, IFN- $\gamma$ , IL-1과 TNF- $\alpha$  등의 자극에 의해 활성화되어 NO를 생성한다. 이러한 NO의 과도한 생성은 세포독성과 염증반응을 유발함으로써 shock에 의한 hypotension, 염증반응으로 유발되

는 조직손상, mutagenesis, 신경조직의 손상 등을 일으켜 생체에 유해한 작용을 나타낸다<sup>28-31)</sup>.

東漢末年에 張仲景이 저술한 〈傷寒雜病論〉은 六經分證을 기본이론으로 하여<sup>32)</sup>, 臟腑, 經絡 및 病因 등의 학설로부터 診斷, 治療 등의 이론에 이르기까지 유기적으로 연계시켜 놓고 汗吐下和溫清消補 등의 치료방법을 이용하여 한의학의 기본이론과 임상을 밀접하게 연결시켜 놓은 古典이다<sup>33)</sup>. 北宋의 校正醫書局的 교정 후에 〈傷寒論〉, 〈金匱要略〉으로 分卷되었기 때문에 傷寒論이라고 하면 金匱要略까지 포함하여 말하기도 한다<sup>34)</sup>. 傷寒論의 치법 가운데 病邪가 太陽病 體表에 있을 때 汗法으로써 邪氣를 흠어버리는데, 이때 자주 쓰이는 약재가 發汗解表시키는 麻黃이다.

麻黃은 麻黃科에 속한 다년생초본 모양의 소관목으로서 *Ephedra sinica* STAPF, *E. equisetina* BUNGE, *E. intermedia* SCHR. et MEY.의 지상부 草質莖으로 중국의 하북, 산서, 협서, 내몽고, 요령, 사천 등지의 건조지에서 자생하거나 재배되며<sup>7)</sup>, 한의학에서 風寒表證에 發汗散寒, 宣肺平喘 등의 작용으로 風寒感冒, 鼻炎, 氣管支炎, 皮膚炎, 神經痛, 류마티스 關節炎, 腎臟炎 등에 多用된다<sup>12,35)</sup>.

본 연구에서는 麻黃이 配伍된 처방 중에 임상에서 頻用되는 처방으로서 越婢加朮湯, 麻杏甘石湯, 神秘湯, 麻黃附子細辛湯, 薏苡仁湯, 葛根湯, 麻杏薏甘湯, 麻黃湯, 小青龍湯, 桂麻各半湯을 選用하였다.

越婢加朮湯은 越婢湯에 白朮을 가한 처방으로 麻黃, 石膏, 生薑, 大棗, 甘草, 白朮로 구성되었으며, 〈金匱要略〉<sup>36)</sup>에 ‘裏水者, 一身面目洪腫, 其脈沈, 小便不利, 故令病水’라 하여, 裏水가 表로 外泛하여 浮腫, 自汗, 小便不利 등의 증상을 나타내는 자를 치료하며, 주로 腎臟炎, 關節류머티스, 皮膚性腎炎 등에 응용된다<sup>13,35)</sup>.

麻杏甘石湯은 麻黃, 杏仁, 甘草, 石膏로 구성되며, 〈傷寒論〉<sup>37)</sup>에 ‘汗出而喘, 無大熱者’라고 하여 發汗後에 內部的 水毒이 熱邪와 함께 上迫하여 喘

咳, 口渴 등을 일으킨 것을 치료한다<sup>35)</sup>. 氣管支炎, 氣管支 喘息, 心臟性 喘息, 百日咳, 경증의 디프테리아 등의 증상을 치료한다<sup>13,38-40)</sup>.

神秘湯은 麻黃, 蘇葉, 陳皮, 柴胡, 杏仁, 厚朴, 甘草로 구성되며 〈外治秘要〉에 久咳, 奔喘, 坐臥不能하며, 또한 喉裏呀聲氣絶하는 것을 治療한다고 하였다. 주로 呼吸困難을 주스로 하며, 비교적 痰이 적고 氣鬱의 神經症을 겸한 氣管支 喘息에 사용된다<sup>13)</sup>.

麻黃附子細辛湯은 麻黃, 附子, 細辛으로 구성되어 있으며, 〈傷寒論〉<sup>37)</sup>에 ‘少陰病, 始得之, 反發熱, 脈沈者, 麻黃細辛附子湯主之’라고 하여<sup>13)</sup>, 少陰病에 表證이 있어 惡寒과 微熱이 있고, 顏色이 蒼白하며 脈沈細, 全身倦怠, 手足冷, 喘咳 등의 증상을 치료한다고 하였고<sup>35)</sup>, 助陽解表 하는 功效가 있어 近來에는 感冒, 肺炎, 氣管支炎, 暴啞聲不出, 咽痛, 急性腎炎, 알레르기성鼻炎, 류마티스성疾患, 風濕痺痛, 諸頭痛, 血漿粘度 全血粘度改善에 應用되고 있다<sup>33,41-43)</sup>.

薏苡仁湯은 麻黃, 當歸, 白朮, 薏苡仁, 桂枝, 白芍藥, 甘草로 구성되어 있으며 〈明醫指掌〉에 溫經通絡, 除濕宣痺 작용이 있다고 하여, 關節에 물이 고여서 腫脹, 發熱, 疼痛이 생기는 濕痺에 해당하는 다발성 관절 류마티스, 장액성 관절 류마티스의 아급성 및 만성기에 들어간 자에게 쓰인다<sup>35,44,45)</sup>.

葛根湯은 葛根, 麻黃, 生薑, 大棗, 桂枝, 白芍藥, 甘草로 구성되어 있으며 〈傷寒論〉<sup>37)</sup>에 ‘太陽病, 項背強几几, 無汗惡風, 葛根湯主之.’, ‘太陽與陽明合病者, 必自下利 葛根湯主之’라 하여 陽實證의 체질을 가진 자가 感氣, 기타의 熱性病에 걸려서 太陽病이 發하여 惡寒, 發熱, 頭痛, 項背強急하여 無汗하고 혹은 喘하며, 身體疼痛한 자를 목표로 한다. 流行性感氣, 肝炎, 肩胛痛, 五十肩, 破傷風 초기, 蓄膿症 등을 치료한다<sup>13,33)</sup>.

麻杏薏甘湯은 麻黃, 杏仁, 薏苡仁, 甘草로 구성되어 있으며, 〈金匱要略〉에 처음 기재되었으며

發汗解表, 祛風化濕 및 止咳平喘의 효능이 있어 땀을 흘리면서 갑자기 바람을 쏘이거나 오랫동안 냉에 상하여 風濕邪氣가 體表에 머무른 결과 全身의 關節이 아프고 열이 나며 해질 무렵에 그 증상이 더욱 심함을 치료한다. 류마티스, 神經痛으로 發熱이 있고 저녁에 痛症이 더 심해지는 자나, 사마귀, 무좀, 비듬, 喘息 등에 응용된다<sup>13,46-47</sup>.

麻黃湯은 麻黃, 杏仁 桂枝, 甘草로 구성되어 있으며 <傷寒論><sup>37)</sup>에 ‘太陽病 頭痛發熱 身疼腰痛, 骨節疼痛 惡風 無汗而喘’과 ‘喘而胸滿’, ‘脈浮胸滿脇痛’라 하여 태양병의 表熱實證이며 熱性病으로 체질이 튼튼하고 充實感이 있는 자의 喘證을 치료에 쓰인다. 熱性病의 초기, 流行性 感氣, 장티푸스, 肺炎, 關節 류마티스, 氣管支喘息에 활용된다<sup>13,48)</sup>.

小青龍湯은 麻黃, 白芍藥, 乾薑, 甘草, 桂枝, 細辛, 五味子, 半夏로 이루어져 있고 <傷寒論><sup>37)</sup>에 ‘傷寒表不解, 心下水氣, 乾嘔, 氣逆, 發熱咳喘’라 하여 胃內停水 등 水毒이 있는 자가 外邪를 입어 發熱하고 喘咳, 上衝, 頭痛, 惡風, 乾嘔 등의 증상을 나타내는 자를 치료한다. 感氣, 氣管支炎, 肺炎, 氣管支擴張症, 肺結核 등에 응용된다<sup>13,35)</sup>.

桂麻各半湯은 桂枝湯과 麻黃湯의 합방으로 桂枝, 白芍藥, 甘草, 生薑, 麻黃, 大棗, 杏仁으로 구성되어 있고, 外感性表證이 緩慢하게 經過하여 열이 말라리아의 발작과 비슷하며, 열이 나는 시간이 길고 惡寒의 시간이 짧으며, 발작이 하루에 2-3회까지 있고 땀이 나지 않으므로 몸의 癢痒感을 호소하는 것을 치료한다. 感氣, 風疹, 麻疹, 두드러기에 응용된다<sup>13,33)</sup>.

이에 麻黃의 항염증과 麻黃이 配伍된 처방의 항염증을 알아보기 위해, 대식세포에 麻黃 단미제와 麻黃이 配伍된 처방이 NO 생성 억제에 미치는 영향을 알아보았다.

본 연구에서 우선 麻黃과 麻黃이 配伍된 처방의 세포독성을 확인하기 위해 MTT assay를 수행한 결과 越婢加朮湯, 麻杏甘石湯, 麻黃附子細辛湯, 麻杏薏甘湯, 麻黃湯, 小青龍湯, 桂麻各半湯은 RAW264.7 세포에 0.1mg/ml, 0.5mg/ml에서 독성을 나타내지 않으나 1mg/ml에서 세포독성을 나타냈고, 麻黃 단미제, 神祕湯, 薏苡仁湯, 葛根湯은 0.5mg/ml 이상에서 세포독성을 나타냈다. 그 다음 NO 생성 억제에 대해 조사한 결과 越婢加朮湯, 麻杏甘石湯,

Table 12. Inhibition of LPS-Induced NO Production by Herbal Medicine

Herbal medicine	density	0.1mg/ml	0.5mg/ml	1mg/ml
Herba Ephedrae(麻黃)		-	-	-
Worlbikachul-Tang(越婢加朮湯)		+	+	-
Mahaengkamsuk-Tang(麻杏甘石湯)		+	+	-
Shinbi-Tang(神祕湯)		+	-	-
Mahwangbujaseshin-Tang(麻黃附子細辛湯)		+	+	-
Euiin-Tang(薏苡仁湯)		+	-	-
Galgeun-Tang(葛根湯)		+	-	-
Mahaengeuigam-Tang(麻杏薏甘湯)		+	+	-
Mahwang-Tang(麻黃湯)		+(mild)	+(mild)	-
Socheongryong-Tang(小青龍湯)		-	+	+
Gaemagakban-Tang(桂麻各半湯)		-	-	-



神秘湯, 麻黃附子細辛湯, 薏苡仁湯, 葛根湯, 麻杏薏甘湯, 麻黃湯, 小青龍湯에서 NO 생성의 억제가 일어났으나, 麻黃단미제와 桂麻各半湯에서는 NO 생성 억제가 일어나지 않았다(Table 12).

이는 麻黃 자체에 NO 생성 억제 효과가 없고, 桂麻各半湯의 麻黃 외의 개별 한약도 NO 생성 억제 효과가 없었음과, 麻黃과 桂麻各半湯의 다른 한약과의 배합 상성에 따른 NO 생성 억제 효과가 없었음을 알 수 있다. 桂麻各半湯 처방 성분의 한약으로만 이루어진 麻黃湯의 NO 생성 억제 효과가 mild하게 나온 것도 이와 같은 이유인 것으로 보인다.

이러한 실험 결과들로 보아 麻黃 자체적으로는 RAW264.7 세포에서 NO 억제를 못하지만, 麻黃이 配伍된 처방의 다른 한약 성분이 NO를 억제시키거나 麻黃과 다른 한약과의 배합 상성에 따라 NO 생성 억제 효과가 나타났음을 유추할 수 있다.

추후 연구에서는 麻黃과 麻黃이 配伍된 처방의 NO 외의 전염증성 물질인 TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-12 등의 생성 억제 및 麻黃과 다른 약물과의 배합에 따른 항염증 효과에 대해 연구를 하여, 麻黃과 麻黃이 配伍된 처방의 항염증 작용에 대한 규명이 필요하다고 사료된다.

## V. 結 論

麻黃의 항염증 작용과 麻黃이 配伍된 처방의 항염증 작용을 알아보고자 麻黃 단미제와 麻黃이 配伍된 10종의 처방(越婢加朮湯, 麻杏甘石湯, 神秘湯, 麻黃附子細辛湯, 薏苡仁湯, 葛根湯, 麻杏薏甘湯, 麻黃湯, 小青龍湯, 桂麻各半湯)을 가지고 NO 억제 효과를 실험하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 麻黃과 麻黃이 配伍된 탕약의 세포독성을 확인

하기 위해 MTT assay를 수행한 결과 越婢加朮湯, 麻杏甘石湯, 麻黃附子細辛湯, 麻杏薏甘湯, 麻黃湯, 小青龍湯, 桂麻各半湯은 RAW264.7 세포에 0.1mg/ml, 0.5mg/ml에서 독성을 나타내지 않으나 1mg/ml에서 세포독성을 나타냈고, 麻黃 단미제, 神秘湯, 薏苡仁湯, 葛根湯은 0.5mg/ml 이상에서 세포독성을 나타냈다.

2. 麻黃이 配伍된 10종의 처방 중 越婢加朮湯, 麻杏甘石湯, 神秘湯, 麻黃附子細辛湯, 薏苡仁湯, 葛根湯, 麻杏薏甘湯, 麻黃湯, 小青龍湯에서 NO 생성의 억제가 일어났고, 麻黃 단미제와 桂麻各半湯에서는 NO 생성 억제가 일어나지 않았다.

이와 같은 결과로 보아 麻黃 자체적으로는 NO 생성의 억제에는 아무 영향을 미치지 않지만, 麻黃이 配伍된 처방 중의 다른 한약이 NO 생성을 억제하였거나, 麻黃과 다른 한약과의 배합 상성에 따라 NO 생성 억제 효과가 나타났음을 유추할 수 있다.

## 감사의 글

이 논문은 2008년도 원광대학교의 교비 지원에 의해서 수행됨.

## 參 考 文 獻

1. Kuo, M. L. Chau, Y. P., Wang, J. H. and Shiah, S. G.. Inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase block nitric oxide-induced apoptosis but not differentiation in human leukemia HL-60 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1996;219:502-8.

2. Sessa WC. The nitric oxide synthase family of proteins. *J Vasc Res*. 1994;31:131-43.
3. Nathan C, Xie QW. Regulation of biosynthesis of nitric oxide. *J Biol Chem*. 1994;269:13725-8.
4. Wimalawansa SJ. Nitric oxide: new evidence for novel therapeutic indications. *Expert Opin Pharmacother*. 2008 Aug; 9(11):1935-54.
5. Matsuda H, Morikawa T, Ando S, Toguchida I and Yoshikawa M. Structural requirements of flavonoids for nitric oxide production inhibitory activity and mechanism of action. *Bioorganic Med, Chem*, 11, 1995-2000(2003).
6. Calixto JB, Campos MM, Otuki MF, Santos AR: Anti-inflammatory compounds of plant origin, Part II. modulation of pro-inflammatory cytokines, chemokines and adhesion molecules. *Planta Med*. 2004;70(2):93-103.
7. 신민교. 臨床本草學. 영림사. 2002:322-3.
8. 김동현, 김형민, 류종훈, 엄재영, 김상찬, 양재하, 조민경, 임종필, 홍승현. 한방약리학. 도서출판 신일상사. 2005:268-73.
9. 정선. 薏苡仁湯의 소염·진통 효과. 조선대학교 대학원 석사논문. 1998.
10. 홍남두, 주수만, 정규만, 문정호. 麻杏甘石湯이 鎮痛, 解熱, 消炎, 祛痰, 摘出腸管 및 血壓과 呼吸에 미치는 영향. 생약학회지. 1986;17(3).
11. 문영희, 노은미. 麻杏薏甘湯의 소염, 진통, 해열작용. 생약학회지. 2001;32(3).
12. 이한창, 염미정, 김건호, 심인섭, 최강덕, 이혜정, 함대현. 흰쥐의 Adjuvant 유발 다발성 관절염에 대한 마황 약침의 치료 효과. 동의생리병리학회지. 2003;17(2):346-51.
13. 이재희. 圖說 漢方診療要方, 醫方出版社, 2002:74-7, 140-1, 272-3, 276-82, 450-2, 482-3, 553-4, 570-1.
14. Lee TH, Kwak HB, Kim HH, Lee ZH, Chung DK, Baek NI, Kim J. Methanol extracts of *Stewartia koreana* inhibit cytooxygenase-2(COX-2) and inducible nitric oxide synthase(iNOS) gene expression by blocking NF-kappaB transactivation in LPS-activated RAW 264.7 cells. *MOL Cells*. 2007;23(3):398-404.
15. Di Rosa M, Giroud JP, Willoughby DA. Studies of the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. *J Pathol*. 1971;104:15-29.
16. 박은희, 신미자. 조각자 추출물의 항염증 작용. 약학회지. 1993;37:124-8.
17. Kiyoshi Takeda, Tsuneyasu Kaisho, and Shizuo Akira. Toll-like receptors. *Annu. Rev. Immunol*. 2003;21:335-76.
18. Bhattacharyya A, Pathak S, Datta S, Chattopadhyay S, Basu J, Kundu M. Mitogen-activated protein kinases and NF-kappaB regulate H. pylori-mediated IL-8 release from macrophages. *Biochem J*. 2002;366:376-82.
19. Binetruy B, Smeal T, Kariu M. Ha-Ras augments c-Jun activity and stimulates phosphorylation of its activation domain. *Nature*. 1991;351:122-7.
20. Santos, C. C. D., and Slutsky, A. S. J. *App. Physiol*. 2000;89:1645-55.
21. Su GL. Lipopolysaccharides in liver injury. molecular mechanisms of Kupffer cell activation. *American journal of physiology*.

- 2002;283:256-65.
22. Dos Santos CC, Slutsky AS. Invited review. mechanisms of ventilator-induced lung injury. a perspective. *Journal of applied physiology*. 1985;89:1645-55.
  23. Marshall JC. Inflammation, coagulopathy, and the pathogenesis of multiple organ dysfunction syndrome. *Critical care medicine*. 2001;29:99-106.
  24. Shen FM, Guan YF, Xie HH, Su DF. Arterial baroreflex function determines the survival time in lipopolysaccharide-induced shock in rats. *Shock*. 2004;21:556-60.
  25. 백형환 외 25인. 리핀코트의 그림으로 보는 생화학. 도서출판 신일상사. 2005:148.
  26. Wu GH, Zhang YW, Wu ZH. Modulation of postoperative immune and inflammatory response by immune-enhancing enteral diet in gastrointestinal cancer patients. *World J Gastroenterol*. 2001;7:357-62.
  27. Galla, H. J. Nitric oxide, NO, an intracellular messenger. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl*. 1993;32:378-80.
  28. Knowles, R. G. and Moncada, S. Nitric oxide as a signal in blood vessels. *TIBS* 1992;17:399-402.
  29. Nathan, C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB J*. 1992;6:3051-64.
  30. Stuehr, D., Cho, H. J., Kwon, N. S., Weise, M, and Nathan, C. F. Purification and characterization of the cytokine-induced macrophage nitric oxide synthase: an FAD-and FMN-containing flavoprotein. *Proc. Natl. Sci. USA*. 1991;88:7773-7.
  31. McCartney-Francis, N., Allen, J. B., Mizel, D. E., Albina, J. E., Xie, Q. W., Nathan, C. F. and Wahl, S. M. Suppression of arthritis by an inhibitor of nitric oxide synthase. *J. Exp. Med*. 1993;178:749-54.
  32. 福州市人民醫院. 脈經校釋. 北京. 人民衛生出版社. 1984:344-485.
  33. 맹웅재. 傷寒論概說. 원광대학교출판국. 1996: 18, 65-7, 76-7, 302.
  34. 錢超塵, 校注. 唐本傷寒論. 北京. 中國中醫學出版社. 1994:1-332.
  35. 이재희. 이재희 선생의 本草講座. 의방출판사. 2004:91, 123, 187, 200-205, 375. 570.
  36. 張機 原著. 李克光 主編. 金匱要略. 北京, 人民衛生出版社. 1989:149, 411-2.
  37. 張機 原著. 李培生 主編. 傷寒論. 北京, 人民衛生出版社. 1987:38, 55, 58, 62, 70, 72, 78, 109, 472.
  38. 朴南錯. 漢方治療大全. 南山堂. 1980:335.
  39. 朴盛洙, 廉泰煥. 現代漢方講座. 醫藥社. 1963: 46-7.
  40. 廉泰煥 譯. 仲景方類聚. 翰林社. 1974:104.
  41. 廉泰煥. 漢方處方解說 現代漢方講座 第2卷, 1995:50-1.
  42. Kiani A, Viola JP, Lichtman AH, Rao A. Down-regulation of IL-4 gene transcription and control of Th2 cell differentiation by a mechanism involving NFAT1. *Immunity* 1997 Dec;7(6):849-60.
  43. Schuh K, Kneitz B, Heyer J, Bommhardt U, Jankevics E, Berberich-Siebelt F, Pfeffer K, Muller-Hermelink HK, Schimpl A, Serfling E. Retarded thymic involution and massive germinal center formation in NFATp-deficient mice. *Eur J Immunol* 1998 Aug;28(8):2456-66.
  44. 朴盛洙, 廉泰煥. 現代漢方講座. 행림서원.

- 1996:267.
45. 하연석. 한방처방의 구성과 해설. 약업신문사. 1996:313.
46. 김창민, 노재섭, 문영희, 신승원, 육창수, 이경  
순. 임상상용방제해설. 정담. 1997:80.
47. 진갑덕 譯. 皇漢醫學. 癸丑文化社. 1974:332.
48. 蔡仁植. 傷寒論譯詮. 高文社. 1984:41-2.