

## 황련해독탕 및 발효황련해독탕의 항염증 효과

양현주 · 주현아 · 백상철\* · 박진수\*\* · 홍석훈\*  
\*원광대학교 한의과대학 안이비인후피부과학 교실  
\*\*원광대학교부속 전주한방병원 침구과

### Anti-inflammatory effects of Hwangnyeonhaedok-tang and Fermented Hwangnyeonhaedok-tang

*Hyun-Ju Yang · Hyun-A Joo · Sang-Chul Baek · Jin-Soo Park · Seok-Hun Hong*

**Objective** : Recently interest of fermented herb medicine has increased in Oriental medicine. Herb medicine fermented in a proper condition resultingly has better or new virtue by microbe. This study was designed to compare the anti-inflammatory effects of herbal decoction and fermented herbal decoction in Hwangnyeonhaedok-tang (Huanglian fiedu -tang; HHT).

**Methods** : The effects of HHT and FHHT on anti-inflammation were measured by production of NO and pro-inflammatory cytokine productions including TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$ , IL-6 in LPS induced RAW 264.7 cells.

- Results** : 1. Cell viability in three doses of HHT extract (0.01, 0.05 and 0.10 mg/ml) and two doses of FHHT extract (0.01, 0.05 mg/ml) was more than 70% and 80% each.
2. In RAW 264.7 cells, LPS displayed significant stimulatory effects on the production of NO. However, both HHT, FHHT showed significant inhibitory effects on the production of NO.
3. Pre-treatment by HHT in a various concentrations (0.01, 0.05, 0.10, 0.50mg/ml) reduced the elevated production of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$  mRNA, IL-6 mRNA. More than 0.05mg/ml concentrations of HHT reduced the production of IL-6. And TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  level of mouse serum reduced in a various dose(0.1, 0.5, 1.0 g/kg).
4. Pre-treatment by FHHT in a various concentrations (0.01, 0.05, 0.10, 0.50mg/ml) reduced the elevated production of TNF- $\alpha$ . More than 0.05mg/ml concentrations of FHHT reduced the expression of TNF- $\alpha$  mRNA. 0.1, 0.50mg/ml concentrations of FHHT reduced the production of IL-6. And IL-1 $\beta$  level of mouse serum reduced in a various dose(0.1, 0.5, 1.0 g/kg).

**Conclusions** : These results indicated that both HHT and FHHT could have anti-inflammatory capacity by inhibiting the production of NO and cytokines in vitro. But HHT has more strong anti-inflammatory effects than that of FHHT in broad outlines.

---

**Key words** : Hwangnyeonhaedok-tang(Huanglian fiedu-tang; HHT),fermented herb medicine,anti-inflammation

## I. 서 론

미생물은 동식물과 같이 외부로부터 영양물질을 세포 내로 섭취하고, 이 영양 물질이 효소에 의해서 분해 되서 생성되는 에너지를 이용하여 세포성분을 합성하여 생명의 유지와 성장을 하게 된다. 이와 같이 생체 내에 있어서의 물질의 효소에 의한 화학반응을 대사(metabolism)라고 한다. 대사경로들은 혐기적 대사인 발효(fermentation)와 호기적 대사인 호흡(respiration)의 두 그룹으로 나뉘어 진다<sup>1)</sup>. 발효는 넓은 뜻으로는 미생물에 의한 유용한 물질생산으로 볼 수 있는데, 이 현상은 예로부터 알코올음료, 빵 그 밖의 소위 양조제품 제조에 이용되어 왔다.

발효 한약이란 한약을 적당한 조건에서 발효시켜 원래의性と 효능이 효소 등 미생물에 의해 변화되어 증강되거나 새로운 효능이 생겨 임상에서 변증론으로 다스릴 때 치료에 사용되는 한약을 말한다<sup>2)</sup>.

전통적인 발효 한약재로는 神麴, 半夏麴, 豆豉, 紅麴, 靑黛 등이 있으며<sup>3)</sup>, 최근에는 임상에서 많이 활용되는 한약재인 인삼<sup>4)</sup>과 홍삼<sup>5)</sup>을 비롯하여 백지<sup>6)</sup>, 녹용<sup>7)</sup>, 울금<sup>8)</sup>, 오미자<sup>9)</sup>, 진피<sup>10)</sup>, 어성초<sup>11)</sup>, 대황<sup>12)</sup> 등의 발효에 대한 연구가 발표되었다. 이들 연구에서 발효 한약은 발효 전에 비해 대체로 性味, 약효, 안정성 등이 증가 하였고, 본래의 효능 외에 부가적 효능이 나타난 경우도 있었다<sup>3)</sup>.

단일 약제 뿐 아니라 한방처방 중에서는 방풍통성산<sup>13,14)</sup>이 발효 후 항산화, 항염증, 체지방 감소 효과가 증가하는 것으로 보고되었으며, 가미온청음<sup>15)</sup> 또한 항염증, 항산화, 체지방 감소효과가 있는 것으로 보고 되어있는데, 단일 약제의 연구에 비하여 한방처방에 대한 연구는 부족한 편이다.

황련해독탕은 항염증, 항알레르기 효과가 알려져 있는 처방으로 임상에서 널리 활용되고 있는 방제

로, 저자는 황련해독탕과 발효한 황련해독탕의 항염증효과를 비교하기 위하여 마우스 대식세포주인 RAW 264.7 cell에서 LPS의 자극에 따른 NO와 전염증성 사이토카인(IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6)의 발현에 대한 실험 및 마우스의 복강 내 LPS 투여에 따른 마우스 serum cytokine (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ) level 조사를 수행하였다.

## II. 實驗 材料 및 方法

### 1. 재료

#### 1) 약재

황련해독탕(HHT)에 사용되는 한약재는 동성약업사에서 황련, 황금, 황백, 치자를 구입하여 사용하였다. <방약합편>의 용량을 근거로 黃連解毒湯 1첩을 아래 Table 1과 같이 제조하였다(Table 1).

Table 1. Prescription of HHT

Herb name	Scientific name	Weight(g)
黃連	<i>Coptis Rhizoma</i>	5.0
黃芩	<i>Scutellariae Radix</i>	5.0
黃柏	<i>Phellodendri Cortex</i>	5.0
梔子	<i>Gardenia Fructus</i>	5.0

#### 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 chloroform, Tri-zol, 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-Ba, anti-

교신저자 : 홍석훈, 전라북도 전주시 덕진동2가  
원광대학교부속 전주한방병원 안이비인후과  
(Tel:063-270-1020, E-Mail:gate111@wonkwang.ac.kr)  
• 접수 2011/06/10 • 수정 2011/08/03 • 채택 2011/08/10

phospho-JNK는 Cell signaling사에서 구입하였다. 실험에 사용된 모든 시약은 분석용 등급이상으로 사용하였다.

## 2. 방법

### 1) 추출물의 제조

#### ① 황련해독탕(HTT) 조제

黃連解毒湯 4첩 분량 80g을 물 1l에 넣고 3시간 동안 약탕기에서 전탕하였다.

#### ② 발효 황련해독탕(FHTT) 조제

청원발효한약연구소에 의뢰하여 UBO복합균주를 이용하여 제조하였다.

### 2) MTT 분석

RAW 264.7 cell의 생존율은 밀집세포의 미토콘드리아 탈수소 효소에 의해 자줏빛 formazan 생성물로 변하는 MTT환원을 바탕으로 MTT분석법으로 측정했다. 간단히 설명하면 지수성장을 하는 세포들은 RPMI-1640배지에서  $2 \times 10^5$ 의 밀도로 현탁하였고, 여러 가지 농도로 HHT 및 FHHT를 처리하였다. 24시간 동안 배양한 뒤 0.5 mg/ml의 농도로 MTT용액을 첨가하고 다시 30분 동안 배양하였다. MTT-formazan 생성물은 DMSO를 첨가함으로써 용해했다. formazan의 양은 해액을 96-well plate에 loading한 후, 540 nm에 흡수되는 흡광도를 측정함으로써 결정했다.

### 3) NO농도의 측정

NO의 기질인 L-알기닌은 L-시트룰린과 일산화질소로 변하는데, 이는 빠르게 안정된 이산화질소, 아질산염, 질산염으로 변한다. 그리스 시약 (Griess 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 측정할 수 있다. 세포들은 RPMI-1640배지에서  $2 \times 10^5$ 의 밀도로 현탁하였고, 여러 가지 농도로 HHT 및 FHHT를 처리하고, 1시간 후 LPS로 염증을 유발하였다. 24시간 동안 배양한 뒤, 세포 상층액 따서 96-well plate에 loading하였다. 100  $\mu$ l의 그리스 시약을 첨가하고, 그 혼합물의 흡광도를 측정하였다. 흡광도는 스펙트로 포토미터 (MD, U.S.A)에서 540 nm의 파장으로 측정하였다. 일산화질소의 농도는 아질산염의 표준 커브로부터 계산하였다.

### 4) Cytokine(IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6)의 측정

LPS (500ng/ml)로 RAW 264.7 cell을 자극하기 전 HHT 및 FHHT 추출물을 1시간동안 전 처리하였다. Pro-inflammatory cytokine의 염증매개물질의 생성에 미치는 약물의 효과를 검증하기 위해서 LPS (500 ng/ml)로 자극한 후 24시간 뒤 이들 염증 매개물을 세포 상층액에서 ELISA법으로 정량하였다. ELISA는 BD pharmingen (USA)에서 Mouse ELISA kit for IL-1beta, IL-6, TNF-alpha를 구입하여 시행하였다.

### 5) RNA 추출 및 Real-time RT-PCR

Total RNA는 Tri-zol 시약을 이용하여 추출하였다. 먼저 배양한 세포에 HHT 및 FHHT를 전 처리한 뒤 LPS로 자극한 후 24시간 배양한 세포를 PBS로 2회 씻은 다음 PBS 1 ml씩 가해 세포를 포집한 후, 원심분리를 하여 위의 PBS는 버리고 바닥에 남은 세포를 Tri-zol (invitrogen, USA) 용액을 1ml 넣어서 세포 용해시킨 후 100 $\mu$ l의 chloroform 용액을 가하고 두 세번 잘 섞어준 뒤 15,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 맨 위의 상층액을 취한다. 그 후 2-propanol과 1:1로 섞은 뒤 15,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 위에 상층액은 버리고 남은 침전물에 80% ethanol로 2회 씻고 침전물을 건조시켰다. 그리고 침전물에 DEPC 처리한 증류수를 15  $\mu$ l

Table 2. Primers of Cytokine Genes Used for RT-PCR Analysis

cDNA	Direction	Sequence (5'→3')
IL-1 $\beta$	Forward	GCA ACT GTT CCT GAA CT
	Reverse	TTA GGA AGA CAC AGA TTC
IL-6	Forward	ATG AAG TTC CTC TCT GCA AG
	Reverse	GGT TTG CCG AGT ACA TCT CA
TNF- $\alpha$	Forward	CGG GAT CCA TGA GCA CAG AAA GCA
	Reverse	CCC AAG CTT TCA CAG AGC AAT GAC TC

씩 넣어 RNA를 용해시키고 정량한다. 추출한 RNA는 reverse transcriptase PCR 의 protocol을 사용하여 cDNA로 합성하였다. 간단히 기술하자면 역전사 반응을 위하여 total RNA (1 mg) 에 0.5 mg 의 oligo-(dT)을 넣고 70°C 에서 10 분간 변성시켰다. 그 후에 1× single strand buffer, 0.5 mM DTT, 500 mM dNTPs, 200Unit reverse transcriptase 을 첨가하고 42°C에서 1시간동안 반응시켰다. 그 후에 PCR은 각각의 tube에 1 ml cDNA, 1× PCR buffer, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 mM dNTPs, 0.2 mM 의 primer를 넣고 PCR 조건인 92°C에서 30초, 58°C에서 45초, 그 후에 72°C에서 30초를 30cycle 반복하였다. Forward (f)와 reverse (r) primer 및 TaqMan probe는 Applied Biosystems에서 합성하였다.

6) 마우스에서 serum Cytokine (IL-1 $\beta$  , TNF- $\alpha$  , IL-6) level의 측정

마우스에 HHT와 FHHT를 5일간 0.1 g/kg, 0.5 g/kg, 1 g/kg로 경구투여 하였다. 5일째 되는 날 경구 투여 후, LPS를 복강 투여하였다. 3시간 후에 마우스로부터 혈액을 채취하였다. 혈액에서의 염증성 인자 발현은 ELISA법으로 정량하였다. ELISA는 BD pharmingen (USA)에서 Mouse ELISA kit for IL-1beta, IL-6, TNF-alpha를 구입하여 시행하였다.

7) 통계처리

모든 실험 결과는 3회 이상 실시하여 그 평균값

을 기초로 Mean±S.D. 로 나타나었으며, 실험결과에 대한 통계처리는 One way ANOVA 였고 p-value 가 0.05 미만일 경우 유의한 것으로 판정하였다.

III. 實驗 結果

1. 황련해독탕(HHT) 및 발효황련해독탕(FHHT)의 RAW 264.7 cell에 대한 독성

HHT 및 FHHT의 세포독성에 관해 알아보기 위

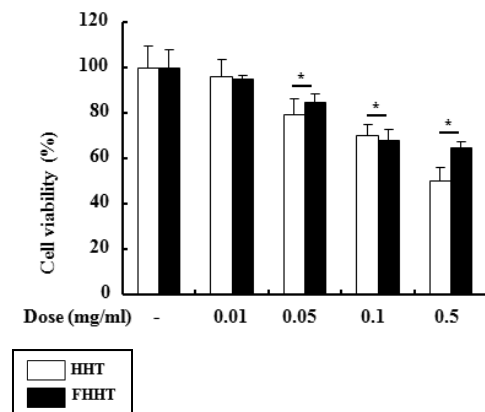


Fig. 1. Effect of HHT and FHHT cytotoxicity in RAW 264.7 cells.

RAW 264.7 cells were incubated with HHT and FHHT as indicated dose. After 24h, cell viability was measured by MTT assay as described in materials and methods. Data are means of three independent experiment. \*P < 0.05 : significant as compared to saline. The similar results were obtained from three additional experiments.

하여 RAW 264.7cell에서 HHT와 FHHT를 농도의존적으로 처리하여 24시간 후에 MTT assay로 세포의 생존율을 측정하였다. HHT처리군에서는 0.01 mg/ml에서 96.02±8% ,0.05mg/ml에서 79.67±7%, 0.1mg/ml에서 70.11±5%, 0.5mg/ml에서 50.40±6%의 생존율을 나타내었으며, FHHT처리군에서는 0.01mg/ml에서 95.00±2% 0.05mg/ml에서 84.79±4%, 0.1mg/ml에서 68.14±5%, 0.5mg/ml에서 64.61±3%의 생존율을 나타내었다(Fig. 1).

## 2. 황련해독탕(HHT) 및 발효황련해독탕(FHHT)이 NO 생성에 미치는 영향

HHT 및 FHHT의 항염효과에 대한 조사를 위해 먼저 RAW 264.7cell에서 LPS에 의한 NO생성의 영향을 조사하였다. HHT와 FHHT를 다양한 농도로 전 처리하고, LPS로 처리한 후, 24시간 후에 세포 상층액에서 NO의 생성을 측정하였다. LPS로 자

극한 군에서는 대조군에 비하여 모두 NO 증가가 나타났다. 또한 HHT군에서는 LPS 단독처리 시 18.507±0.479 μM의 NO생성이 측정되었으며, HHT 0.01mg/ml 농도로 전처리 시 17.36±2.543 μM, 0.05 mg/ml에서 17.51±3.949 μM, 0.1mg/ml에서 13.72±0.403 μM, 0.5mg/ml에서 4.81±0.413 μM으로 전 농도에서 모두 NO생성 감소가 유의하게 나타났으며, FHHT군에서는 LPS 단독처리 시 20.02±0.234 μM NO생성이 측정되었으며, FHHT 0.01mg/ml 농도로 전처리 시 19.83±0.239 μM, 0.05mg/ml에서 18.10±0.267 μM, 0.1mg/ml에서 15.68±0.79 μM, 0.5mg/ml에서 6.89±0.165 μM으로 전 농도에서 모두 NO생성 감소가 나타났으며 0.05mg/ml 이상 농도에서는 통계적 유의성이 있었다(Fig. 2).

## 3. 황련해독탕(HHT) 및 발효황련해독탕(FHHT)이 TNF-α 분비에 대한 영향

TNF-α는 macrophage와 mast cell 등에서 분비되며, 과도한 TNF-α의 분비는 패혈증, 염증성 장 질환과 같은 자가면역질환, 헬리코박터 위장염, 요로 감염 등을 유발한다. Fig. 3에서와 같이 LPS는 TNF-α의 분비를 증가시켰다. 즉 대조군에서 TNF-α는 0.10±0.009ng/ml로 측정되었으며 LPS 단독 처리군에서 14.74±3.223ng/ml로 증가하였다. HHT 처리군을 살펴보면, 0.01mg/ml의 농도에서 TNF-α는 14.51±1.066 ng/ml, 0.05mg/ml에서는 12.94±0.907 ng/ml, 0.10mg/ml에서는 12.00±1.248 ng/ml, 0.50mg/ml에서는 9.80±0.431 ng/ml로 농도에 따라 TNF-α의 분비가 감소하였으며, 0.05mg/ml 이상의 농도에서는 통계적 유의성이 있었다. FHHT 처리군에서는 0.01mg/ml의 농도에서 TNF-α가 13.5±0.8ng/ml, 0.05mg/ml에서는 12.1±0.6ng/ml, 0.10mg/ml에서는 10.3±0.4ng/ml ,0.50mg/ml에서는 6.2±0.3ng/ml로 측정되어 농도에 따라 TNF-α의 분비가 감소하였으며, 전 농도에서 통계적 유의성이 있었다(Fig. 3).

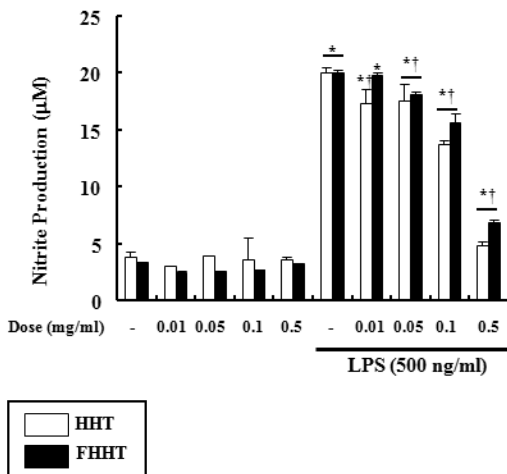


Fig. 2. The inhibitory effects of HHT and FHHT on LPS-induced NO production.

The cells were treated with HHT and FHHT water extract as indicated concentration for 1h, and then incubated with or without 500 ng/ml LPS for 24 h, NO release was measured by the method of Griess.\*P < 0.05 : significant as compared to saline, +P < 0.05 : significant as compared to LPS alone.

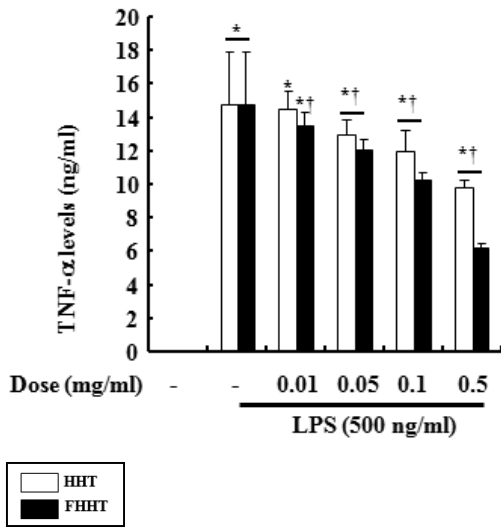


Fig. 3. Effect of HHT and FHHT on the productions of TNF- $\alpha$  in RAW 264.7 cells.

The cells were pre-treated HHT and FHHT as indicated concentrations for 1 h, and then incubated with or without 500 ng/ml LPS for 24 h. Detail methods were described Materials and Methods.\*P < 0.05 : significant as compared to saline, +P < 0.05 : significant as compared to LPS alone.

#### 4. 황련해독탕(HHT) 및 발효황련해독탕(FHHT)이 IL-1 $\beta$ 분비에 대한 영향

IL-1 $\beta$ 는 원래 내인성 발열인자로 염증반응 초기에 나타나며 발열과 같은 급성기 반응 및 CRP와 같은 급성기 발열 물질의 분비를 증가시키며, 말초의 호중구 증가증에 관여한다. Fig. 4에서와 같이 LPS는 IL-1 $\beta$ 의 분비를  $0.22 \pm 0.005 \text{ ng/ml}$ 에서  $0.62 \pm 0.028 \text{ ng/ml}$ 로 2.8배 증가시켰다.

HHT 처치군에서 0.01mg/ml의 농도에서 IL-1 $\beta$ 는  $0.4 \pm 0.024 \text{ ng/ml}$ , 0.05mg/ml에서는  $0.3 \pm 0.023 \text{ ng/ml}$ , 0.10mg/ml에서는  $0.29 \pm 0.061 \text{ ng/ml}$ , 0.50mg/ml에서는  $0.26 \pm 0.065 \text{ ng/ml}$ 로 농도에 따라 IL-1 $\beta$ 의 분비가 감소하였으나, 통계적 유의성은 없었다. FHHT 처치군에서는 FHHT 0.01mg/ml의 농도에서 IL-1 $\beta$ 가  $0.62 \pm 0.02 \text{ ng/ml}$ , 0.05mg/ml에서는  $0.61 \pm 0.03 \text{ ng/ml}$ ,

0.10mg/ml에서는  $0.62 \pm 0.02 \text{ ng/ml}$ , 0.50mg/ml에서는  $0.61 \pm 0.21 \text{ ng/ml}$ 로 측정되어 IL-1 $\beta$ 의 생성 감소가 나타나지 않았다(Fig. 4).

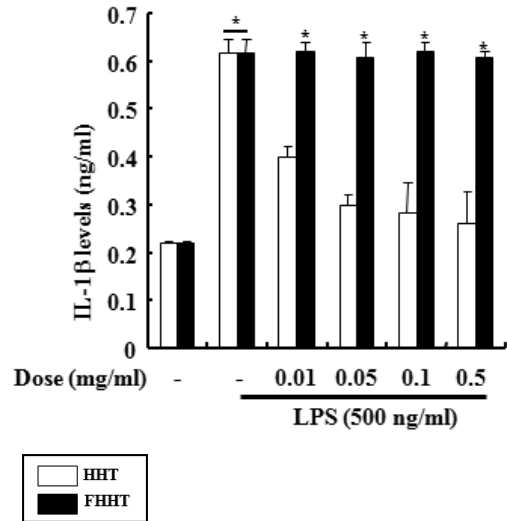


Fig. 4. Effect of HHT and FHHT on the productions of IL-1 $\beta$  in RAW 264.7 cells.

The cells were pre-treated HHT and FHHT as indicated concentrations for 1 h, and then incubated with or without 500 ng/ml LPS for 24 h. Detail methods were described Materials and Methods.\*P < 0.05 : significant as compared to saline, +P < 0.05 : significant as compared to LPS alone.

#### 5. 황련해독탕(HHT) 및 발효황련해독탕(FHHT)의 IL-6 분비에 대한 영향

증가된 IL-6는 폐혈증의 정도, 염증 반응의 강도와 직접적 연관이 있다고 보며, 비만 및 고혈압과도 관련이 있다.

Fig. 5에서와 같이 LPS는 IL-6의 분비를  $0.46 \pm 0.117 \text{ ng/ml}$ 에서  $15.54 \pm 1.297 \text{ ng/ml}$ 로 33.78배 증가시켰다. HHT 처치군에서 HHT 0.01mg/ml의 농도에서 IL-6는  $16.36 \pm 0.747 \text{ ng/ml}$ , 0.05mg/ml에서는  $14.38 \pm 1.527 \text{ ng/ml}$ , 0.10mg/ml에서는  $11.04 \pm 0.544 \text{ ng/ml}$ , 0.50mg/ml에서는  $3.12 \pm 0.251 \text{ ng/ml}$ 로 0.05mg/ml 이상의 농도에서 IL-6의 분비가 감소하였으며 0.10

mg/ml 이상의 농도에서 통계적 유의성이 있었다. FHHT 처치군에서는 FHHT 0.01mg/ml의 농도에서 IL-6가 16.22±0.5ng/ml, 0.05mg/ml에서는 15.88±0.6ng/ml, 0.10mg/ml에서는 14.33±0.2ng/ml, 0.50mg/ml에서는 6.12±0.3ng/ml로 측정되어 0.10mg/ml, 0.50mg/ml 농도에서 IL-6의 생성 감소가 유의하게 나타났다(Fig. 5).

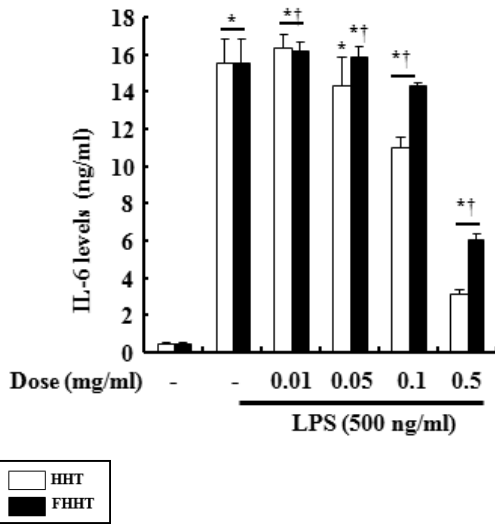


Fig. 5. Effect of HHT and FHHT on the productions of IL-6 in RAW 264.7 cells.

The cells were pre-treated HHT and FHHT as indicated concentrations for 1 h, and then incubated with or without 500 ng/ml LPS for 24 h. Detail methods were described Materials and Methods.\*P < 0.05 : significant as compared to saline, +P < 0.05 : significant as compared to LPS alone.

### 6. 황련해독탕(HHT) 및 발효황련해독탕(FHHT)의 TNF-α mRNA 발현에 대한 영향

Fig. 6에서와 같이 LPS는 TNF-α mRNA 발현을 5.5±0.5배 증가시켰다. 대조군을 1±0.05로 하였을 때, HHT 처치군 0.01mg/ml의 농도에서 상대적인 TNF-α mRNA는 6±1, 0.05mg/ml에서는 6.05±0.5, 0.10mg/ml에서는 5.5±0.4, 0.50mg/ml에서는 5.55±0.3로 농도에 따라 TNF-α mRNA의 발현

감소는 없었다. FHHT 처치군에서는 0.01mg/ml의 농도에서 상대적인 TNF-α mRNA는 5.5±0.05, 0.05mg/ml에서는 5.3±0.3, 0.10mg/ml에서는 4.7±0.2, 0.50mg/ml에서는 2.15±0.3 로 측정되어 0.05mg/ml 이상의 농도에서 TNF-α mRNA의 발현 감소가 나타났다으며 0.10mg/ml이상의 농도에서 통계적 유의성이 있었다(Fig. 6).

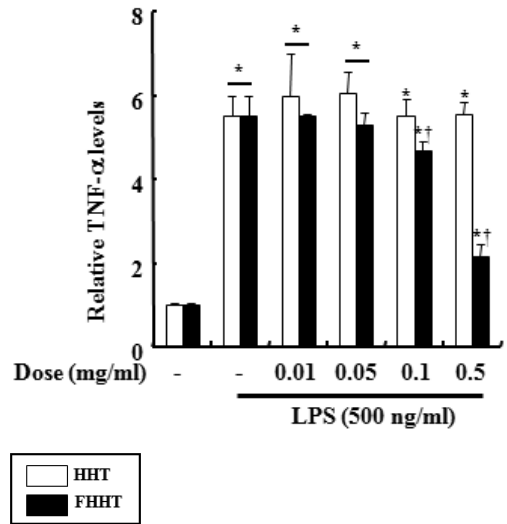


Fig. 6. Effect of HHT and FHHT on the mRNA expression of TNF-α .

The cells were pre-treated HHT and FHHT water extract as indicated concentrations for 1 h, and then incubated with or without 500 ng/ml LPS for 24 h. Detail methods were described Materials and Methods.\*P < 0.05 : significant as compared to saline, +P < 0.05 : significant as compared to LPS alone.

### 7. 황련해독탕(HHT) 및 발효황련해독탕(FHHT)의 IL-1β mRNA 발현에 대한 영향

대조군의 IL-1β mRNA 발현을 1±0.1로 하였을 때 LPS처리군에서 5.56±1배 발현이 증가하였으며 HHT 0.01mg/ml의 농도에서는 5.36±1.1, 0.05mg/ml에서는 3.94±0.5, 0.10mg/ml에서는 2.1±0.41, 0.50mg/ml에서는 1.2±0.2로 농도에 따라 IL-1β mRNA 발현이 감소하였으며 0.05mg/ml 이상의 농도에서 통

계적 유의성이 있었다. FHHT 처치군에서는 0.01mg/ml의 농도에서 5.55±0.8, 0.05mg/ml에서는 5.51±0.4, 0.10mg/ml에서는 5.52±0.7, 0.50mg/ml에서는 5.55±0.2로 측정되어 IL-1β mRNA 발현 감소가 나타나지 않았다(Fig. 7).

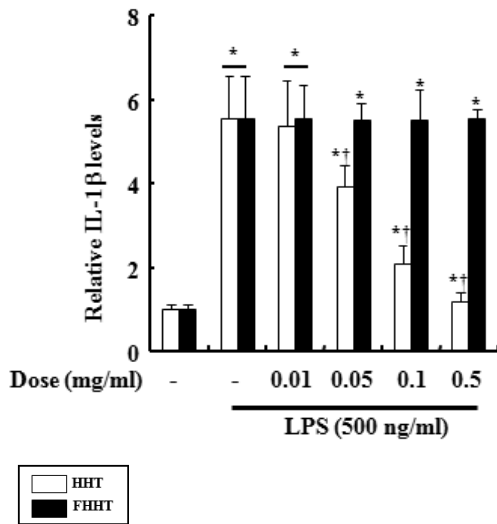


Fig. 7. Effect of HHT and FHHT on the mRNA expression of IL-1β.

The cells were pre-treated HHT and FHHT water extract as indicated concentrations for 1 h, and then incubated with or without 500 ng/ml LPS for 24 h. Detail methods were described Materials and Methods. \*P < 0.05 : significant as compared to saline, +P < 0.05 : significant as compared to LPS alone.

### 8. 황련해독탕(HHT) 및 발효황련해독탕(FHHT)의 IL-6 mRNA 발현에 대한 영향

대조군의 IL-6 mRNA 발현을 1±0.2로 하였을 때 LPS처리군에서 IL-6 mRNA 발현이 402±23배 증가하였으며 HHT 0.01mg/ml의 농도에서 361±21, 0.05mg/ml에서는 375±14, 0.10mg/ml에서는 308±10, 0.50mg/ml에서는 238±11로 농도에 따라 IL-6 mRNA 발현이 감소하였으며 전 농도에서 통계적 유의성이 있었다. FHHT 처치군에서는 0.01mg/ml의 농도에서 440±19, 0.05mg/ml에서는 415±11, 0.10mg/ml

에서는 353±14, 0.50mg/ml에서는 45±12로 측정되어 0.10mg/ml, 0.50mg/ml 농도에서 IL-6 mRNA 발현의 감소가 나타났으며 0.50mg/ml 농도에서 통계적 유의성이 있었다(Fig. 8).

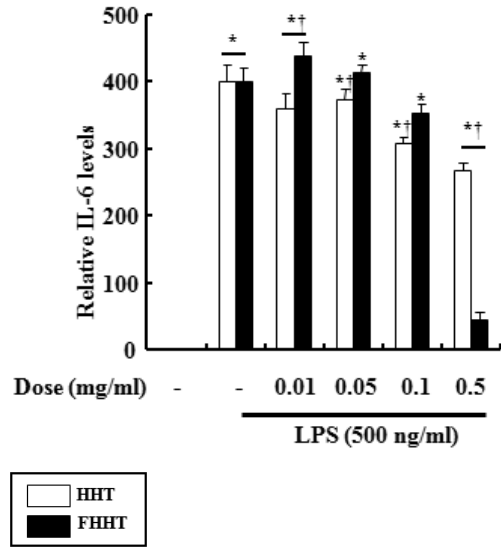


Fig. 8. Effect of HHT and FHHT on the mRNA expression of IL-6.

The cells were pre-treated HHT and FHHT water extract as indicated concentrations for 1 h, and then incubated with or without 500 ng/ml LPS for 24 h. Detail methods were described Materials and Methods. \*P < 0.05 : significant as compared to saline, +P < 0.05 : significant as compared to LPS alone.

### 9. 황련해독탕(HHT) 및 발효황련해독탕(FHHT)의 마우스에서 serum TNF-α 농도에 대한 영향

대조군 마우스의 serum TNF-α level 이 200±35.35 pg/ml에서 LPS 처리 후에 465±84.85 pg/ml로 증가하였다.

HHT 복용 마우스의 serum TNF-α level은 0.1g/kg에서는 445±56.57 pg/ml, 0.5g/kg에서 430±28.28 pg/ml, 1.0g/kg에서 400±14.14 pg/ml로 측정되었으며 LPS단독 처리군에 비하여 수치는 낮게 측정되었으나 통계적 유의성은 없었다. FHHT 복용



마우스의 serum TNF- $\alpha$  level은 0.1g/kg에서는 667.5 $\pm$ 10.6 pg/ml, 0.5g/kg에서 525 $\pm$ 63.63 pg/ml, 1.0g/kg에서 450 $\pm$ 20.61 pg/ml로 측정되어, LPS단독 처리군에 비하여 증가하였으며 0.1g/kg, 0.5g/kg에서 통계적 유의성이 있었다(Fig. 9).

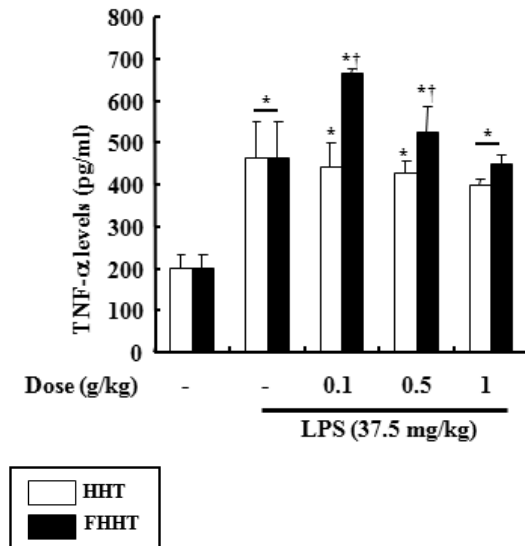


Fig. 9. Effect of HHT and FHHT on serum TNF- $\alpha$  level of mice.

HHT and FHHT were administered to rats at an oral dose of 0.1, 0.5 1.0 g/kg/day for 5 days. On the 5th day, LPS was injected after oral administration. After 3 hours blood sample was harvested. Detail methods were described Materials and Methods. \*P < 0.05 : significant as compared to saline, +P < 0.05 : significant as compared to LPS alone.

#### 10. 황련해독탕(HHT) 및 발효황련해독탕(FHHT)의 마우스에서 serum IL-1 $\beta$ 농도에 대한 영향

대조군 마우스의 serum IL-1 $\beta$ 가 1.29 $\pm$ 0ng/ml에서 LPS 처리 후에 2.74 $\pm$ 0.841ng/ml로 증가하였다. HHT 복용 마우스의 serum IL-1 $\beta$  level은 HHT 0.1g/kg 복용시에는 1.72 $\pm$ 0.166ng/ml, 0.5g/kg에서 1.61 $\pm$ 0.117ng/ml, 1.0g/kg에서 1.66 $\pm$ 0.057ng/ml로 측정되었으며, FHHT 복용 마우스의 serum IL-1 $\beta$  level은 FHHT 0.1g/kg 복용시에는 1.68 $\pm$ 0.039ng/

ml, 0.5g/kg에서 2.53 $\pm$ 0.131ng/ml, 1.0g/kg에서 2.17 $\pm$ 0.060ng/ml로 측정되어, LPS단독 처리군에 비하여 serum IL-1 $\beta$  level이 전 농도에서 감소가 있었으며, 통계학적 유의성이 있었다(Fig. 10).

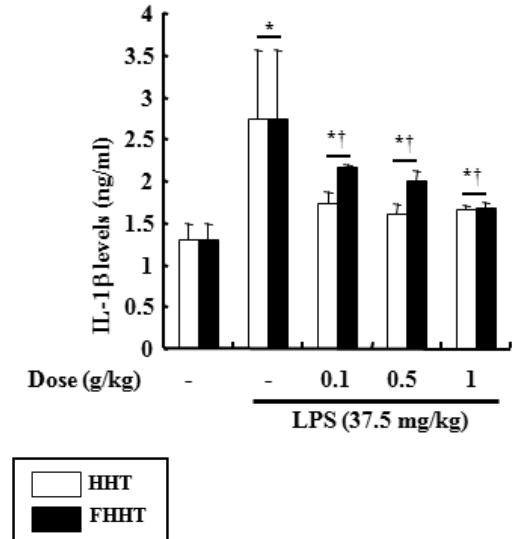


Fig. 10. Effect of HHT and FHHT on serum IL-1 $\beta$  level of mice

HHT and FHHT were administered to rats at an oral dose of 0.1, 0.5 1.0 g/kg/day for 5 days. On the 5th day, LPS was injected after oral administration. After 3 hours blood sample was harvested. Detail methods were described Materials and Methods.\*P < 0.05 : significant as compared to saline, +P < 0.05 : significant as compared to LPS alone.

#### 11. 황련해독탕(HHT) 및 발효황련해독탕(FHHT)의 마우스에서 serum IL-6 농도에 대한 영향

대조군 마우스의 serum IL-6 이 1.69 $\pm$ 0.318pg/ml에서 LPS 처리 후에 95.11 $\pm$ 6.912pg/ml로 증가하였다. HHT 복용 마우스의 serum IL-6 level은 HHT 0.1g/kg 복용시 97.01 $\pm$ 4.257pg/ml, 0.5g/kg에서 97.42 $\pm$ 4.639pg/ml, 1.0g/kg에서 101.83 $\pm$ 0.537pg/ml로 측정되었으며, FHHT 복용 마우스의 serum IL-6 level은 FHHT 0.1g/kg 복용시 118.96 $\pm$ 5.155pg/ml 0.5g/kg에서 117.03 $\pm$ 2.871pg/ml, 1.0g/

kg에서  $104.94 \pm 2.312 \text{ pg/ml}$  로 측정되어, LPS단독 처리군에 비하여 serum IL-6 level이 전 농도에서 증가가 있었으며 통계학적 유의성이 있었다(Fig. 11).

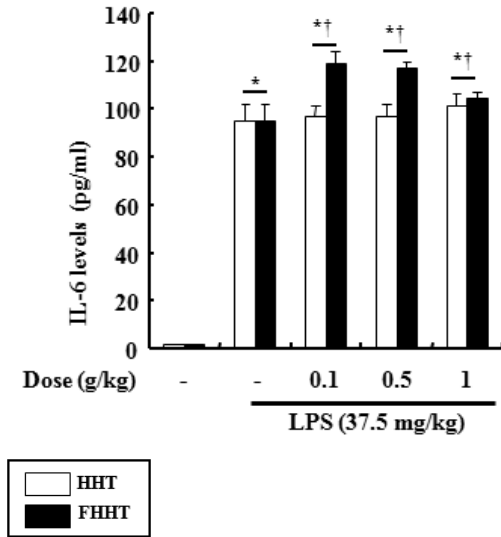


Fig. 11. Effect of HHT and FHHT on serum IL-6 level of mice

HHT and FHHT were administered to rats at an oral dose of 0.1, 0.5 1.0 g/kg/day for 5 days. On the 5th day, LPS was injected after oral administration. After 3 hours blood sample was harvested. Detail methods were described Materials and Methods. \*P < 0.05 : significant as compared to saline, †P < 0.05 : significant as compared to LPS alone.

#### Ⅳ. 考 察

黃連解毒湯은 肘後備急方<sup>16)</sup>에서 언급된 이래 瀉火解毒의 대표적인 처방으로, 일체의 實熱火毒이 三焦에 가득 차서 나타나는 大熱煩躁, 口燥咽乾, 言語錯亂, 不眠 등 증상과, 혹은 熱病으로 인한 吐血, 衄血 및 심한 熱로 인한 發斑 또는 身熱下痢, 濕熱黃疸, 癰疽疔毒 등 질환에서 小便이 黃赤하고, 舌紅苔黃하며, 脈이數하고 有力할 때 사용하며 黃芩, 黃連, 黃柏, 梔子로 구성되어있다<sup>17)</sup>.

황련해독탕에 관한 연구로는 혈압강화작용<sup>18)</sup>, 해독작용<sup>19)</sup>, 신경세포 보호효과<sup>20)</sup>, 저산소증에 대한 심근세포 보호효과<sup>21)</sup>, 암세포 증식 억제 효과<sup>22)</sup>, 스트레스로 인한 우울증 예방효과<sup>23)</sup>, 중성지방 축적 억제효과<sup>24)</sup> 등이 있다. 또한 접촉성 피부염<sup>25)</sup>, 알레르기 천식<sup>26)</sup>, 궤양성 대장염<sup>27)</sup>, 아토피 피부염<sup>28)</sup>과 관련하여 항염증효과<sup>29)</sup>, 항알레르기 효과가 알려져 있다.

특히 김<sup>30)</sup>은 황련해독탕 물 추출물의 항염증효과에 대한 연구를 발표하였다.

황련해독탕의 구성 약물인 황금은 항균, 항바이러스 작용 및 소염, 항알러지 작용, 진정작용, 혈중 지질 강하, 간기능 보호, 이담작용, 항산화 작용 등의 약리작용이 알려져 있다. 황련 역시 항균, 항바이러스 작용 및 해독, 해열, 소염, 면역증강 작용 등이 알려져 있다. 황백은 항균, 항궤양, 혈압강하 작용 등이 치자는 항균, 항바이러스, 소염, 이담, 진정 해열 작용 등이 알려져 있으며<sup>31)</sup>, 항염증효과와 관련한 다수의 연구가 약제별로 이루어져 있다(황금<sup>32)</sup>, 황련<sup>33)</sup>, 황백<sup>34)</sup>, 치자<sup>35)</sup>). 발효 한약이란 한약을 적당한 조건에서 발효시켜 원래의 性과 효능이 효소 등 미생물에 의해 변화되어 증강되거나 새로운 효능이 생겨 임상에서 변증론으로 다스릴 때 치료에 사용되는 한약을 말한다<sup>2)</sup>.

이런 발효 한약의 장점은 개략적으로 다음과 같다. 일반 한약에 비하여 맛이 좋으며, 약효가 빠르고 뛰어나며 소화도 용이하고 유효성분의 흡수율이 훨씬 높다. 또한 발효에 의해서 많은 효소가 생산되며, 저온 농축으로 효과를 증강시킨다. 미생물 발효와 2차에 걸친 정밀 여과 과정을 통해 농약과 중금속으로부터 안전하고, 항균성과 항충성이 강한 한약재나 독성을 지닌 한약재도 발효 할 수 있는 미생물로 액체나 고체를 가리지 않고 발효가 가능하므로 독성을 제어하는데 도움이 된다<sup>3)</sup>.

발효 한약은 최근 한약의 제형 변화 및 효능증진을 위한 새로운 법제 법으로 각광 받고 있는 분야로

다수의 약제에 관한 연구가 보고 되어있으며, 특히 황련해독탕의 구성 약물인 황금은 probiotics중 하나인 *Lactobacillus brevis* ROI 균주를 이용하여 배당체(bicalin과 wogonoside)들을 비배당체(bicalein과 wogonin)로 전환함으로써, 활성을 지닌 미량의 비배당체를 대량으로 분리, 획득 할 수 있다는 연구결과가 있다<sup>38)</sup>.

이에 본 연구에서는 황련해독탕 및 발효황련해독탕의 항염증효과를 비교하기 위하여 NO생성 억제효과 및 전염증성 사이토카인으로 알려진 IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 생성 억제 정도를 단백질, mRNA 수준에서 측정, 비교하였으며 마우스에서 serum level 을 측정하였다.

본 연구에서 먼저 HHT 및 FHHT의 세포 독성을 알아보기 위하여 시행한 MTT assay 에서 HHT 처리군에서는 0.01 0.05 0.1mg/ml 농도에서 70% 이상의 세포생존율을 나타냈으며, FHHT처리군에서는 0.01, 0.05 mg/ml 농도에서 80% 이상의 세포생존율을 나타냈다.

염증반응은 숙주를 보호하기 위하여, 침입한 미생물을 제거하는 다양한 종류의 세포를 동원하는 복잡한 과정들을 이르며, 통증·부종·발열·발적·기능의 상실을 특징으로 하는 병리과정이다. 감염된 숙주는 병원체 표면의 리간드를 인식하여, 특정 방어 메카니즘을 조직한다.

즉 숙주의 PRRs(pattern recognition receptors)가 lipopolysaccharide (LPS), bacterial DNA, viral RNA 와 같은 병원성 관련 분자 패턴(PAMPs: pathogen-associated molecular patterns)을 인식함으로써 면역 시스템이 가동되기 시작하며, PRRs와 PAMPs의 상호작용으로 염증반응이 일어나고, 침입한 유기체를 제거하기 위한 숙주의 반응이 시작된다.

염증을 일으킬 수 있는 원인 즉 염증 유발성 자극은 무수히 많은데 그중에서도 LPS(lipopolysaccharid)는 그람 음성박테리아의 세포벽의 주된 구조 성분이

면서, 박테리아 감염으로 인한 염증, shock등과 관련된 endotoxin이다. 또한 선천면역에 관여하는 수용체들은 LPS와 같은 분자에 의하여 활성화 되며, LPS는 숙주에 병리변화를 일으켜 sepsis syndrome 의 개시 등에 관여한다.

NO는 3가지 NO synthases (NOS)에 의하여 합성되며 그 종류에는 neuronal NOS(nNOS/NOS I)과 endothelial NOS(eNOS/NOS III)를 통칭한 constitutive (cNOS)와 inducible NOS(iNOS/NOSII)의 크게 두 가지가 있다. iNOS는 L-arginine을 세포 내 일련의 산화반응에 의해 N-hydroxy-L-arginine을 중간체로 하여 citrulline 과 함께 NO를 생성하는 반응을 촉매하게 된다<sup>39)</sup>. 병리적 상태의 휴지세포에서는 cNOS가 NO의 농도를 낮게 유지시켜주며, 사이토카인이나 LPS에 의한 자극이 있는 경우에는 iNOS가 작용하여 NO가 대량 생성되게 된다.

NO는 혈관확장 및 혈압조절에서부터 신경전달물질로의 역할이 밝혀져 있다. 또한 비특이적 면역반응에 관여하며, 조직손상과 같은 복잡한 메커니즘에 염증 및 apoptosis의 주된 매개체로써 관여한다. 즉 NO는 염증을 발현과 해소에 있어서 면역조절자의 역할을 하며, 중성구 및 대식세포에서 iNOS를 경유하여 발생한 대량의 NO는 직, 간접적으로 많은 염증성 및 감염성 질환을 매개하여 유해한 작용을 나타낸다<sup>40)</sup>.

본 연구에서 LPS로 자극한 군에서는 대조군에 비하여 모두 NO 증가가 나타났다. HHT 처치군에서는 전 농도(0.01 0.05 0.10 0.50 mg/ml)에서 모두 NO생성 감소가 유의하게 나타났으며, FHHT 처치군에서도 전 농도(0.01 0.05 0.10 0.50 mg/ml)에서 모두 NO생성 감소가 나타났으며 0.05mg/ml 이상 농도에서는 통계적 유의성이 있었다.

Cytokines은 면역계와 염증에 있어서 세포사이의 신호전달을 담당하는 단백질로서 중요한 매개자 역할을 담당한다.IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  와 같은 전염증

성 사이토카인들은 급,만성 염증성 질병의 중요한 매개자로, 과도한 생성 및 작용은 병리적 결과를 이끌 수 있으므로 사이토카인 혹은 그 저해제를 투여하는 것은 면역 질환 및 염증 질환과 관련된 생물학적 반응을 변화시킬 잠재적인 접근 방법이 될 수 있다<sup>41)</sup>.

Tumor necrosis factor (TNF)는 중요한 cytokine의 하나로 패혈증, 암, 류마티스 관절염, 궤양성 대장염 및 크론씨병 등을 포함하는 다양한 종류의 질병 병태에서 병리학적인 원인으로 오랫동안 고려되어 왔다. 본 연구에서 HTT, FHHT를 다양한 농도(0.01 0.05 0.10 0.50mg/ml)로 전 처치하였을 때 모두 TNF- $\alpha$  생성이 억제 되었으며 감소폭은 FHHT 처리군이 더 넓게 나타났다. HTT에 의한 TNF- $\alpha$  mRNA의 발현 감소는 없었으며 FHHT군에서는 0.05 0.10 0.50mg/ml의 농도에서 TNF- $\alpha$  mRNA의 발현 감소가 나타났다. HTT 복용 마우스의 serum TNF- $\alpha$  level은 다양한 dose(0.1 0.5 1.0g/kg)에서 모두 농도 감소를 나타내었으며, FHHT 복용 마우스의 serum TNF- $\alpha$  level은 농도증가를 나타냈다.

IL-1 $\beta$ 는 TNF나 IL-6 같은 다른 전염증성 사이토카인의 분비를 활성화 시키며 세포 적응 면역에서 Th17 분화 조절 및 in vivo에서는 발열, 급성 단백질 합성, 식욕부진, 졸음 등에 관여한다.

HTT 처치군에서 다양한 농도 (0.01 0.05 0.10 0.50mg/ml)에서 모두 IL-1 $\beta$ 의 생성, IL-1 $\beta$  mRNA 발현 억제가 나타났으나, FHHT군에서는 IL-1 $\beta$ 의 생성, IL-1 $\beta$  mRNA 발현 감소가 나타나지 않았다. HTT 복용 마우스의 serum IL-1 $\beta$  level과 FHHT 복용 마우스의 serum IL-1 $\beta$  level 모두 다양한 dose(0.1 0.5 1.0g/kg)에서 감소가 있었으며 감소폭은 HHT가 더 넓게 나타났다.

IL-6는 면역 반응, 염증 및 조혈작용, 신경계에 관련된 다기능의 사이토카인으로 과잉 생산 시 류마티스 관절염, systemic-onset juvenile idiopathic arthritis (soJIA), Castleman's disease 등 염증성

질환이 발생한다. HTT 처치군에서는 0.05mg/ml 이상의 농도에서 IL-6의 분비가 감소하였으며, FHHT 처치군에서는 0.10, 0.50mg/ml 농도에서 IL-6의 생성 감소가 유의하게 나타났다. HTT 처치군에서는 다양한 농도에서 (0.01 0.05 0.10 0.50 mg/ml) 모두 IL-6 mRNA 발현이 감소하였다. FHHT 처치군에서는 0.50mg/ml 농도에서만 IL-6 mRNA 발현의 감소가 나타났다.

HTT 복용 마우스의 serum IL-6 level, FHHT 복용 마우스의 serum IL-6 level은 다양한 dose(0.1 0.5 1.0g/kg)에서 증가가 있었다.

종합하여 보면 HHT는 NO, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-1 $\beta$  mRNA, IL-6 mRNA 및 마우스의 serum IL-1 $\beta$  level 에서 생성억제를 나타냈으며, FHHT는 NO, TNF- $\alpha$ , TNF- $\alpha$  mRNA, 마우스의 serum IL-1 $\beta$  level에서 생성억제를 나타내었으므로, HHT 및 FHHT 모두 염증성 질환의 치료에 응용 가능할 것으로 보이며, 대체적으로 HHT이 FHHT 보다 항염증 효과가 우수한 것으로 생각된다.

향후 혼합균주가 아닌 단독 균주별 연구 및 다양한 균주선택에 따른 추가 연구가 필요하리라 사료된다. 또한 이<sup>13)</sup>의 방풍통성산 발효에 대한 연구와 같이 항염증 효과 뿐 아니라, 맛의 증진, 소화의 용이성에 관한 연구 및 항산화, 미백, 체지방 축적 감소효과 등에 관한 연구도 진행되어야 할 것이라 생각된다.

## V. 結 論

저자는 황련해독탕(HHT)과 발효한 황련해독탕(FHHT)의 항염증효과를 비교하기 위하여 마우스 대식세포주인 RAW 264.7 cell에서 LPS의 자극에 따른 NO와 전염증성 사이토카인 (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6)의 발현에 대한 실험 및 마우스의 복강에 LPS 투여에 따른 마우스 serum cytokine (TNF- $\alpha$ , IL-1

$\beta$ , IL-6) level 조사를 수행하였으며, 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) HHT처리군에서는 0.01 0.05 0.1mg/ml 농도에서 70% 이상의 세포생존율을 나타냈으며, FHHT처리군에서는 0.01 0.05 mg/ml 농도에서 80% 이상의 세포생존율을 나타냈다.
- 2) LPS는 NO의 생성량을 유의성 있게 증가시켰으며, HHT군 FHHT군모두에서 0.01 0.05 0.1 0.5mg/ml 전 농도에서 모두 NO생성 감소가 유의하게 나타났다.
- 3) 다양한 농도 (0.01 0.05 0.10 0.50 mg/ml)의 HTT 로 전처리하였을 때 TNF- $\alpha$  생성, IL-1 $\beta$  생성, IL-1 $\beta$  mRNA 발현, IL-6 mRNA 발현이 억제 되었으며, 0.05mg/ml이상의 농도에서 IL-6의 생성이 감소하였다. HTT복용 마우스의 serum TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  level은 다양한 dose(0.1, 0.5, 1.0g/kg)에서 감소가 있었다.
- 4) 다양한 농도 (0.01 0.05 0.10 0.50 mg/ml)의 FHHT로 전 처리하였을 때 TNF- $\alpha$ 는 생성이 억제 되었으며, 0.05mg/ml 이상의 농도에서 TNF- $\alpha$  mRNA의 발현 감소가 나타났다. 0.10, 0.50mg/ml 농도에서 IL-6의 생성 감소가 있었고, 0.50mg/ml 농도에서 IL-6 mRNA 발현의 감소가 있었다. FHHT 복용 마우스의 serum IL-1 $\beta$  level 모두 다양한 dose(0.1, 0.5 1.0g/kg)에서 감소가 있었다.

이러한 결과로 보아, HHT 및 FHHT는 염증성질환의 치료에 모두 응용가능하나, 대체적으로 HHT의 항염증효과가 더 뛰어나다고 할 수 있다.

## VI. 參考文獻

1. 허운행, 송리라, 김재근, 강병태, 박인숙, 이은수. 식품미생물학. 경기도:지구문화사. 2004:297.
2. 김기영, 송호준. 한약포제학. 서울:신일상사. 2002:547, 553-5.
3. 김용미. 발효한약의 연구동향 연구. 경원대학교 대학원. 석사논문. 2009.
4. 정동원. 人蔘, 紅蔘 및 발효紅蔘이 정상인의 뇌혈류 평균혈압 맥박수에 미치는 영향. 경희대학교 대학원. 석사논문. 2006.
5. 제지혜. 발효 홍삼의 항당뇨 및 산화 스트레스 개선효과. 부산대학교 대학원. 석사논문. 2007.
6. 박경호. 白朮와 발효白朮의 성분 및 항염활성 비교. 경희대학교 대학원. 박사논문. 2007.
7. 김동현, 한상범, 박주석, 한명주. 녹용발효와 생리활성. 생약학회지. 1994;98(9):25-6.
8. 배명숙. 울금(Curcuma longa L.) 발효액의 항산화 및 항균효과. 숭실대학교 대학원. 석사논문. 2008.
9. 김철희, 권민철, 김효성, 안주희, 최근표, 최영범, 고정림, 이현용. 오미자의 전통발효에 의한 면역활성 증진. 韓國藥用作物學會誌. 2007;15(3):162-9.
10. 윤철상. 陳皮의 효모 발효에 관한 연구. 경희대학교 대학원. 석사논문. 2007.
11. 서영국. 어성초즙 발효제품의 항산화 및 항알레르기 활성. 순천대학교 대학원. 석사논문. 2005.
12. 김난영. 물추출 발효 대황과 에탄올추출 발효 대황의 항염증 효과에 관한 비교. 원광대학교 대학원. 박사논문. 2010.
13. 이상봉. 발효 방풍통성산(防風通聖散)의 생리활성에 관한 연구. 부경대학교 대학원. 박사논문. 2010.
14. 강동희. Lactobacillus 균주로 발효시킨 한약의 기능성 연구. 계명대학교 대학원. 석사논문. 2009.
15. 정현철. 미생물 발효처리 방법에 따른 가미은청음의 항염증 효능 연구. 원광대학교 대학원. 석

1. 허운행, 송리라, 김재근, 강병태, 박인숙, 이은

- 사논문. 2009.
16. 葛洪, 肘後備急方. 上海:人民衛生出版社. 1996: 34-3.
  17. 방제학교수. 방제학. 서울:영림사. 1999:180.
  18. 국윤범. 황련해독탕(黃連解毒湯)이 자발적(自發的) 고혈압(高血壓) 백서(白鼠)의 혈압(血壓) 신장(腎臟) 기능(機能)에 미치는 영향(影響). 대한한의약방제학회지. 2002;10(1):113-29.
  19. 金承模. 黃連解毒湯이 斑貓의 독성에 미치는 영향. 경산대학교 대학원. 석사논문. 2002.
  20. 공민정, 하니나, 이하영, 김용태, 노승주, 김호철. 황련해독탕(黃連解毒湯)과 및 가미방의 인지 기능회복에 대한 연구. 大韓本草學會誌. 2004;19(4):161-8.
  21. 정재은. 黃連解毒湯이 저산소증에 의한 培養心筋細胞枯死에 미치는 영향. 원광대학교 대학원. 석사논문. 2004.
  22. 성현경. 黃連解毒湯이 數種의 人間 癌細胞 增殖에 미치는 影響. 동국대학교 대학원. 석사논문. 2010.
  23. 홍성원, 김종우, 김은주, 김현주, 김현택, 황의완. 황련해독탕(黃連解毒湯)이 우울증(憂鬱症) 모형동물(模型動物)의 수중미로학습(水中迷路學習)과 뇌(腦)의 Tyrosine Hydroxylase 발현(發顯) 수준(水準)에 미치는 효과(效果). 동의신경정신과학회지. 2003;14(1):27-44.
  24. 차재영. 실험적 중성지방 축적 HepG2세포에 미치는 황련해독탕의 약리적 효과. 한국식품영양과학회지. 2003;32(4):586-90.
  25. 이정현. 接觸性 皮膚炎에서 黃連, 黃連解毒湯, 金銀花가 림프구 活性에 미치는 影響. 동아대학교 대학원. 박사논문. 2000.
  26. Choi Jong-Min, Kim Hee-Taek. 사람 기관지 상피 A549 세포에서 TNF-와 IL-4 자극 TARC, eotaxin, RANTES에 미치는 황련해독탕의 영향. 동의생리병리학회지. 2006;20(6):1649-53.
  27. 안중환. 황련해독탕이 DSS로 유발된 흰쥐의 궤양성 대장염에 미치는 영향. 동국대학교 대학원. 박사논문. 2006.
  28. 김보애. 황련해독탕이 NC/Nga Mice에서 유발된 아토피 피부염에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2008;23(2):59-65.
  29. 박수현. 黃連解毒湯과 乾薑附子湯이 Lipopolysaccharide의 뇌실 주입으로 유발된 생쥐의 혈중 IL-6와 TNF-a 변화에 미치는 영향. 경원대학교 대학원. 석사논문. 2007.
  30. 김대희. 黃連解毒湯 물추출물의 항염증효과. 대구한의대학교 대학원. 박사논문. 2009.
  31. 김호철. 한약리학. 서울:집문당. 2001:130-2, 134-5, 138-9.
  32. 이중근. 황금의 진통 및 항염증효과에 대한 연구. 경원대학교 대학원. 석사논문. 2008.
  33. 윤광로. 황련의 항염증효과. 상지대학교 대학원. 석사논문. 2009.
  34. 장종화. 黃柏 물 추출물의 항염효능에 관한 연구. 경원대학교 대학원. 박사논문. 2010.
  35. 고광목. 치자 엑스의 가수분해에 의한 피부투과 및 항염효과. 우석대학교 대학원. 박사논문. 2002.
  36. 박영민. Anti-inflammatory Effects of Crocin,a Major Component of Chunghyul-dan, and Its Metabolite Crocetin in Rat Brain Microglial Cells. 경희대학교 대학원. 박사논문. 2010.
  37. 권종훈. 梔子抽出物이 DNCB로 誘導된 생쥐의 Allergy性 接觸皮膚炎에 미치는 影響. 동국대학교 대학원. 석사논문. 1998.
  38. Kim, Hyun-Sung Kim, Jin-Yong Park, Myeong-Soo Zheng, Hua Ji, Geun-Eog. Cloning and Expression of  $\beta$ -Glucuronidase from Lactobacillus brevis in E. coli and Application in Bioconversion of Baicalin and Wogonoside. Journal of microbiology and biotechnology. 2009;19(12):1650-5.

39. Murphy MP. Nitric oxide and cell death, *Biochim Biophys Acta*, 1999;1411(2-3):401-14.
40. Kobayashi Y. The regulatory role of nitric oxide in proinflammatory cytokine expression during the induction and resolution of inflammation, *J Leukoc Biol.*, 2010. (Epub ahead of print).
41. Abul K, Abas. 세포분자면역학. 서울:범문사, 2004:273