

원저

금은화 추출액이 RAW 264.7 Macrophage에서의 NO와 PGE₂ 생성에 미치는 영향

윤경진 · 이은용

세명대학교 부속충주한방병원 침구과

Abstract

Effects of Hot Aqueous and Ethanol Extract from *Lonicera japonica Flos* on NO and PGE₂ in Macrophage

Yun Kyung-jin and Lee Eun-yong

Dept. of Acupuncture & Moxibustion, Chung-ju Oriental Medicine Hospital,
Semyung University

Objectives : The objective of this study is to study the effects of hot aqueous extract and ethanol extract from *Lonicera japonica Flos* on nitric oxide(NO) and prostaglandin E₂(PGE₂) production in macrophage.

Methods : *Lonicera japonica Flos* was extracted in two ways. One was extracted with distilled water(2L) for 4 h and the other one was extracted with 70% ethanol (2L) for 4h. The RAW 264.7 macrophage was subclutured. In order to evaluate cytotoxicity, MTT assay was performed. The concentrations of NO were measured by Griess assay. The concentrations of PGE₂ were measured by enzyme immunoassay.

Results : 25, 125 $\mu\text{g/ml}$ hot aqueous extract from *Lonicera japonica Flos* inhibited NO production in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages significantly.

25, 125, 625 $\mu\text{g/ml}$ ethanol extract from *Lonicera japonica Flos* inhibited NO production in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages significantly.

150, 200 $\mu\text{g/ml}$ hot aqueous extract and ethanol extract from *Lonicera japonica Flos* inhibited PGE₂ production in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages significantly.

Conclusions : This study suggests that hot aqueous extract and ethanol extract from *Lonicera japonica Flos* suppress NO and PGE₂ production. So hot aqueous extract and ethanol extract from *Lonicera japonica Flos* may have an anti-inflammation effect.

- 접수 : 2012. 1. 31. · 수정 : 2012. 2. 9. · 채택 : 2012. 2. 9.
· 교신저자 : 이은용, 충북 충주 봉방동 836번지 세명대학교 부속한방병원 침구과
Tel. 043-841-1735 E-mail : acupley@semyung.ac.kr

Key words : *Lonicera japonica* Flos, NO, PGE₂, macrophage, cytotoxicity, anti-inflammation, hot aqueous extract, ethanol extract.

I. 서론

금은화(*Lonicera japonica* Flos)는 인동과의 식물인 *Lonicera japonica* T_{HUNB.}의 꽃봉오리로 銀花·雙花·忍冬花라고도 한다¹⁾. 본래 性은 寒하고 味는 甘하며 歸經은 心·肺·胃經이며, 清熱解毒하고 涼散風熱하는 대표적인 약물로 癰腫疔瘡, 喉痺, 丹毒, 熱毒血痢, 風熱感冒, 溫病發熱 등을 치료하는 효과가 있어²⁾, 임상적으로 많은 감염성 질환, 외이도염, 화농증, 중이염과 같은 질환에 효과가 있으며³⁾, 바이러스성 결막염, 인플루엔자, 폐렴 등의 염증에 사용되고 있다⁴⁾.

염증은 상처를 줄 수 있는 자극을 생체가 방어하기 위해 일어나는 반응으로⁵⁾, 대식세포에서 cytokine, TNF- α (tumor necrosis factor- α), LPS(lipopolysaccharide)와 같은 자극에 의해 염증반응의 전사인자인 NF- κ B (nuclear factor kappa B)를 활성화시키고, 그 결과 발현된 iNOS(inducible nitric oxide synthase), COX-2 (cyclooxygenase-2)에 의해 과량의 NO(nitric oxide)와 PGE₂(prostaglandin E₂)가 생성되어 염증이 유발되는데^{6,7)}, 기존의 향부자 등^{8,9)}의 약재를 활용한 염증 관련 실험 연구들에서 NO의 생성을 측정하여 항염증에 유의성이 있음이 관찰되었고, 윤 등^{10,11)}의 열수추출 금은화 관련 연구에서도 NO 등의 염증매개물을 측정하여 항염증에 유의성 있음이 증명되었다.

저자는 이에 윤 등^{10,11)}의 논문에서 열수추출로 항염증효과의 유의성을 보인 금은화를 추출방식을 다양화하여 열수추출과 에탄올추출의 두 가지 방식으로 추출하여 LPS로 유도된 RAW 264.7 macrophage에서의 NO와 PGE₂의 생성에 미치는 영향에 대해 비교 실험하여 항염증 효과에 대한 유의한 결과를 얻었으며, 향후 금은화 약침제조에 응용하고자 이에 보고하는 바이다.

II. 방법

1. 시료의 조제

이 실험에 이용한 금은화는 (주) HMAX(한국)에서 구매하여 사용하였다. 열수추출 조제방법은 금은화 300g을 3차 증류수 2L와 혼합하여 100℃로 4시간 동안 열수추출 하였으며, 여과지로 여과한 추출액을 rotary evaporator를 이용하여 100ml까지 농축하고 -80℃로 동결하였으며, 농축한 동결액을 freeze dryer system(Labconco, USA)을 이용하여 7일간 동결건조 하였다. 에탄올추출 조제방법은 금은화 300g을 70% 에탄올 2L와 혼합하여 70℃로 4시간 추출 하였으며, 상층액을 여과지로 여과한 후 rotary evaporator를 이용하여 농축하고 이후 과정은 열수 추출과 동일하게 조제하였다.

2. 세포배양

실험에 사용된 세포는 RAW 264.7 cell(생쥐 대식세포주)을 American type culture collection(ATCC, Rockville, MD, USA)에서 분양받아 사용하였다. 10% FBS(fetal bovine serum)와 1% 항생제가 포함된 DMEM(dulbecco's modified eagle's medium)배지를 사용하여 37℃, 5% CO₂가 공급되는 배양기에서 배양하였다.

3. 세포독성평가

세포 생존율은 MTT assay 방법을 사용하여 측정하였다. 세포를 well 당 1 × 10⁵이 되도록 96 well plate에 깔고 16시간 동안 37℃, 5% CO₂가 공급되는 배양기에서 세포를 안정화 시킨 후, 이 세포에 시료를 농도별로 처리하고 16시간 동안 배양한 다음 MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)시약을 처리하여 2시간 동안 배양하였다. 상층액을 제거하고 DMSO(dimethyl sulfoxide)로 form-

azan을 녹여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

4. NO 농도 측정

세포를 well 당 1×10^5 이 되도록 96 well plate에 깔고 16시간 동안 37°C, 5% CO₂가 공급되는 배양기에서 세포를 안정화 시켰다. 안정화 시킨 세포에 LPS 10µg/ml와 시료를 농도별로 처리하고 16시간 동안 배양한 다음 배양 상층액 100µl와 Griess 시약 100µl를 섞어 흡광도 540nm에서 측정하였다. Griess 시약은 0.1% naphthylethylenediamine dihydrochloride 50µl와 5% H₃PO₄에 녹인 1% sulfanilamide 50µl를 섞어 조제하였다.

5. PGE₂ 농도 측정

PGE₂는 commercial competitive enzyme immunoassay kit를 R&D systems(Minneapolis, USA)에서 구입하여 측정하였다. RAW 264.7cell에 금은화 추출액을 1시간 동안 전처리하고 10µg/ml의 LPS를 처리하여 18시간 배양한 후 세포 배양상층액을 수거하여 PGE₂ 측정에 사용하였다. 배양액을 goat anti-mouse로 coating된 96well plate에 각각의 배양액을 100µl씩 loading하고, 여기에 primary antibody solution 50µl와 PGE₂ conjugate 50µl씩 첨가하여 4°C에서 overnight시킨 다음 기질용액을 200µl씩 처리하여 5~20분간 반응시킨 후, 50µl의 stop solution으로 처리하고 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

6. 통계처리 및 그래프 작성

실험결과는 SPSS Window program(ver. 10.0)을 이용하였으며, 모든 측정값은 평균값 ± 표준편차로 나타냈으며, 통계학적 분석은 student's t-test를 실시하였고, 유의성은 p<0.05로 하였다. 그래프 작성은 Microsoft Office Excel 2007을 사용하였다.

III. 결 과

1. 세포독성에 미치는 영향

금은화 열수추출액의 세포생존율은 대조군을 1.00 ± 0.05 로 설정하였을 경우, 열수추출액 1, 5, 25, 125,

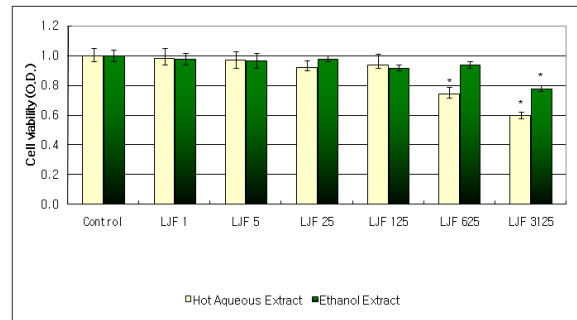


Fig. 1. Influence of hot aqueous extract and ethanol extract from *Lonicerae japonica Flos* on the viability of RAW 264.7 cells

Control : *Lonicera japonica Flos* Extract 0 µg/ml.

LJF 1 : *Lonicera japonica Flos* Extract 1 µg/ml.

LJF 5 : *Lonicera japonica Flos* Extract 5 µg/ml.

LJF 25 : *Lonicera japonica Flos* Extract 25 µg/ml.

LJF 125 : *Lonicera japonica Flos* Extract 125 µg/ml.

LJF 625 : *Lonicera japonica Flos* Extract 625 µg/ml.

LJF 3,125 : *Lonicera japonica Flos* Extract 3,125 µg/ml.

Values are represented as mean ± SD.

* : statistically significant difference from the control group, as determined by the student's t-test as p<0.05.

625 및 3,125µg/ml 처치군에서 각각 0.98 ± 0.07 , 0.97 ± 0.06 , 0.92 ± 0.05 , 0.94 ± 0.07 , 0.74 ± 0.05 및 0.60 ± 0.02 로 나타나 625 및 3,125µg/ml 처치군에서 세포 생존율이 유의하게 감소하였다(Fig. 1).

금은화 에탄올추출액에서는 대조군을 1.00 ± 0.04 로 설정하였을 경우, 에탄올추출액 1, 5, 25, 125, 625 및 3,125µg/ml 처치군에서 각각 0.98 ± 0.04 , 0.97 ± 0.05 , 0.98 ± 0.02 , 0.92 ± 0.02 , 0.94 ± 0.02 및 0.78 ± 0.02 로 나타나 3,125µg/ml에서 세포생존율이 유의하게 감소하였다(Fig. 1).

2. NO 생성에 미치는 영향

금은화 열수추출액의 NO 생성률을 조사한 결과 대조군에서는 $54.5 \pm 2.1\mu\text{M}$ 농도로 나타났고, 금은화 열수추출액 1, 5, 25, 125, 625 및 3125µg/ml 처치군에서 각각 51.8 ± 2.2 , 49.7 ± 2.0 , 45.6 ± 0.7 , 46.5 ± 0.4 , 37.6 ± 1.2 및 $12.2 \pm 1.4\mu\text{M}$ 로 나타나, 대조군에 비해 25, 125, 625 및 3,125µg/ml 처치군에서 유의하게 감소하였다(Fig. 2).

금은화 에탄올추출액에서는 대조군에서 $79.1 \pm 1.7\mu\text{M}$ 농도로 나타났고, 금은화 에탄올추출액 1, 5, 25, 125, 625 및 3,125µg/ml 처치군에서는 각각 78.3 ± 2.2 , 78.0 ± 1.3 , 66.4 ± 2.9 , 62.0 ± 1.6 , 46.9 ± 1.9 및 $2.5 \pm 0.2\mu\text{M}$ 로 나타나, 대조군에 비해 25, 125, 625 및 3,125µg/ml

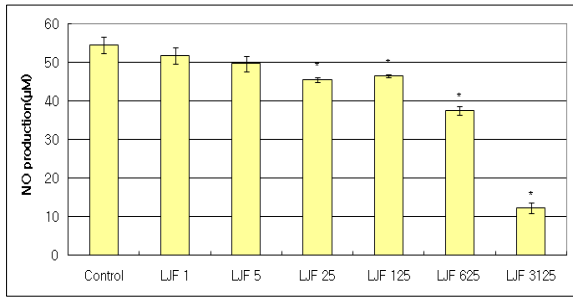


Fig. 2. Influence of hot aqueous extract from *Lonicera japonica Flos* on the NO production of RAW 264.7 cells

Control : LPS 10 µg/ml .

LJF 1 : Control + Hot Aqueous Extract from *Lonicera japonica Flos* 1µg/ml.

LJF 5 : Control + Hot Aqueous Extract from *Lonicera japonica Flos* 5µg/ml.

LJF 25 : Control + Hot Aqueous Extract from *Lonicera japonica Flos* 25µg/ml.

LJF 125 : Control + Hot Aqueous Extract from *Lonicera japonica Flos* 125µg/ml.

LJF 625 : Control + Hot Aqueous Extract from *Lonicera japonica Flos* 625µg/ml.

LJF 3,125 : Control + Hot Aqueous Extract from *Lonicera japonica Flos* 3,125µg/ml.

Values are represented as mean ± SD.

* : statistically significant difference from the Control group, as determined by the student's *t*-test as $p < 0.05$.

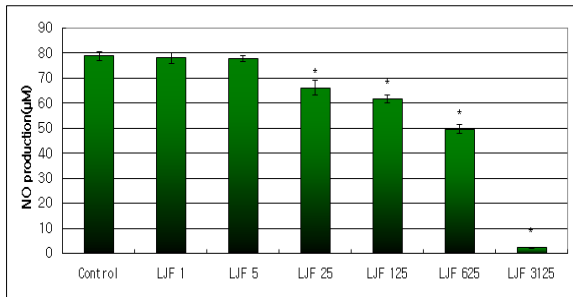


Fig. 3. Influence of ethanol extract from *Lonicera japonica Flos* on the NO production of RAW 264.7 cells

Control : LPS 10 µg/ml.

LJF 1 : Control + Ethanol Extract from *Lonicera japonica Flos* 1 µg/ml.

LJF 5 : Control + Ethanol Extract from *Lonicera japonica Flos* 5 µg/ml.

LJF 25 : Control + Ethanol Extract from *Lonicera japonica Flos* 25 µg/ml.

LJF 125 : Control + Ethanol Extract from *Lonicera japonica Flos* 125 µg/ml.

LJF 625 : Control + Ethanol Extract from *Lonicera japonica Flos* 625 µg/ml.

LJF 3,125 : Control + Ethanol Extract from *Lonicera japonica Flos* 3,125 µg/ml.

Values are represented as mean ± SD.

*: statistically significant difference from the control group, as determined by the student's *t*-test as $p < 0.05$.

처치군에서 유의한 감소가 나타났다(Fig. 3).

3. PGE₂ 생성에 미치는 영향

PGE₂ 생성률을 조사한 결과 정상군에서 4.15 ± 0.02 pg/well로 나타난 반면 대조군에서는 821.24 ± 1.63 pg/well로 나타났다.

금은화 열수추출액 50, 100, 150 및 200µg/ml 처치군에서 818.22 ± 8.19 , 807.63 ± 9.89 , 750.61 ± 16.28 및 690.00 ± 15.97 pg/well 농도로 각각 나타났고(Fig. 4), 금은화 에탄올추출액 처치군에서는 각각 810.98 ± 10.92 , 820.58 ± 15.93 , 760.39 ± 8.49 및 759.95 ± 8.04 pg/well로 각각 나타나, 금은화 열수추출액 및 에탄올추출액 처치군 모두 150 및 200µg/ml에서 유의한 감소가 나타났다(Fig. 4).

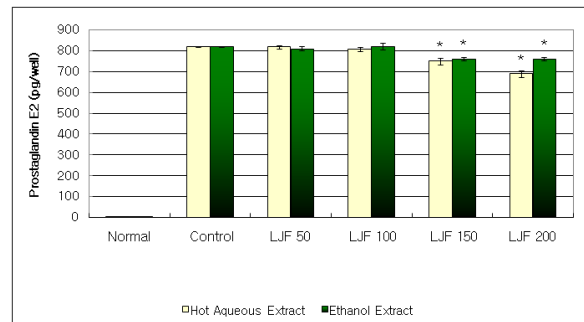


Fig. 4. Influence of hot aqueous extract and ethanol extract from *Lonicera japonica Flos* on the Prostaglandin E₂ production of RAW 264.7 cells

Normal : *Lonicera japonica Flos* Extract 0 µg/ml + LPS 0 µg/ml.

Control : LPS 10 µg/ml.

LJF 50 : Control + *Lonicera japonica Flos* Extract 50 µg/ml.

LJF 100 : Control + *Lonicera japonica Flos* Extract 100 µg/ml.

LJF 150 : Control + *Lonicera japonica Flos* Extract 150 µg/ml.

LJF 200 : Control + *Lonicera japonica Flos* Extract 200 µg/ml.

Values are represented as mean ± SD.

*: statistically significant difference from the control group, as determined by the student's *t*-test as $p < 0.05$.

IV. 고찰

염증은 상처를 줄 수 있는 자극에 대하여 일어나는 생체의 방어반응으로, 발적, 발열, 종창, 동통, 기능장애의 5가지 증상이 동반되며, cytokines, PGE₂, lysosomal enzyme, free radicals 등 다양한 매개물질이 관여하는 작용이다⁵⁾. 대식세포는 동물체 내 모든

조직에 분포하며 인체 내 선천적 면역반응을 담당하는 면역세포로서, 외부로부터 침입하는 이물질이나 세균, 바이러스, 노화세포 등을 포식하고 소화하는 식균작용을 하는 기능과 함께 다양한 염증매개물질들을 분비하여 초기 염증 반응에서 핵심적인 역할을 한다¹²⁾. 대식세포에서 cytokine, TNF- α , LPS와 같은 자극에 의해 염증반응의 전사인자인 NF- κ B를 활성화시키고, 그 결과 발현된 iNOS, COX-2에 의해 과량의 NO와 PGE₂가 생성되어 염증이 유발된다^{6,7)}.

NO는 free radical로 심혈관계와 신경계 및 면역계의 전달물질로서 세포 내 항상성의 유지, 신경전달 물질의 운반, 항암작용 및 세포독성 등 다양한 기능을 하는 물질로 알려져 있는데¹³⁾, 다량 생성된 NO는 혈관확장, 세포독성, 조직손상 등과 같은 생체에 유해한 작용을 나타내어¹⁴⁾ 관절의 염증, 암 등을 나타낼 수 있다¹⁵⁾. 이러한 NO 생성억제를 위한 많은 실험적 연구가 이루어졌으며, 향부자^{8,16)} · 당귀⁹⁾ · 관동화¹⁷⁾ · 강활^{18,19)} · 봉약침액^{20,21)} · 황기약침액²²⁾ · 백하수오약침액²³⁾ 등이 NO 생성에 억제 작용이 있는 것으로 보고되고 있다.

PGE₂는 NO와 마찬가지로 손상된 부위나 조직에서 통증과 발열의 전달에 주로 관여하는 중요한 염증매개물질로서 COX-2에 의해 합성되는데, 과량 생산되면 과도한 면역반응을 야기하여 다발성 경화증, 파킨슨병, 알츠하이머병, 대장암과 같은 각종 염증성 질환을 유발시키게 된다²⁴⁾. PGE₂는 국소적으로 활성화되며 arachidonic acid로부터 COX 효소의 작용에 의해 합성된다²⁵⁾. 조직이 손상되면 물리적인 손상뿐 아니라 염증을 매개하는 물질들이 다량 생성되기 때문에 통증이 유발되는데, 이 중 PGE₂는 조직손상이 일어나는 부위에서 생성되어 말초신경 말단부위에 작용하여 통증에 대한 역치를 감소시키게 된다²⁶⁾.

금은화는 인동과의 덩굴성 갈잎떨기나무 인동덩굴 *Lonicera japonica* THUNB, 잔털인동덩굴 *Lonicera japonica* THUNB. var. *repens*(SIEB.) REHDER for. *chinensis* WATSON HARA, 붉은인동 *Lonicera sempervirens* LINNE의 꽃으로²⁷⁾, 消炎, 清血, 利尿, 殺菌작용이 있어 熱性病, 身熱無汗, 化膿性疾患, 急性淋疾, 梅毒, 痢疾, 膿瘍, 癰疽, 疥癬腫毒惡瘡, 咽喉腫痛에 사용하고, 癰疽초기와 혹은 潰爛 후에 응용하기도 한다²⁾. 또한 금은화는 임상적으로 감모나 감염성 질환의 발열, 오한, 두통, 인후통에 응용되며^{28,29)}, 바이러스성 결막염, 인플루엔자, 폐렴 등의 염증에 사용되고 있다⁴⁾.

금은화에 대하여 박³⁰⁾은 항바이러스작용을 하며 황색포도상구균, 용혈성 연쇄상구균, 폐렴쌍구균, 결핵균 등의 억제작용이 있다고 하였고, 김³¹⁾은 항균, 항바이러스작용 및 항내독소작용, 소염작용, 면역증강작용 등이 있다고 하였으며, 또한 금은화 추출물은 치은염 유발 세균의 억제작용³²⁾ 등의 효능이 있는 것으로 보고되고 있다. 최근 알코올에 의한 금은화 추출물은 간손상에 대한 보호작용이 있고, 수용성 추출물은 간세포의 NF- κ B의 선택적 조절 능력이 있는 것으로 보고되었으며^{33,34)}, 금은화약침의 항암효과^{35,36)}에 관한 연구도 조사되었다.

본 연구에서 저자는 금은화의 항염증작용에 착안하여, 먼저 macrophage cell line인 RAW 264.7 cell을 선정하여 금은화 추출액을 처리한 후 금은화의 세포독성을 알아보기 위한 MTT 반응실험을 하였다. 또한 금은화 추출액이 염증 반응에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 LPS로 유도된 RAW 264.7 cell에서 NO 생성과 PGE₂ 생성에 미치는 영향을 관찰하였다. 윤등^{10,11)}의 연구에서 금은화의 열수추출물이 염증매개물질을 억제함을 시사하였으며, 본 연구에서는 금은화를 열수추출과 에탄올추출 두 가지로 나누어 비교 실험하여 향후 약침액 제조 시 참고하려 하였다.

금은화 추출액의 세포독성을 관찰한 결과, 금은화 열수추출액의 경우 세포생존율은 1, 5, 25, 125, 625 및 3,125 μ g/ml 농도일 때 125 μ g/ml 농도까지는 세포독성이 없음을 확인하였고, 금은화 에탄올추출액의 경우 세포생존율은 1, 5, 25, 125, 625 및 3,125 μ g/ml 농도일 때 625 μ g/ml 농도까지는 세포독성이 없음을 알 수 있었다(Fig. 1).

금은화 열수추출액의 NO 생성률을 조사한 결과 1, 5, 25, 125, 625 및 3,125 μ g/ml 처치한 경우, 농도가 높을수록 NO 생성률이 낮아지는 경향을 보였으며 농도 25, 125, 625 및 3,125 μ g/ml 처치군에서 대조군에 비해 통계학적으로 유의한 감소가 나타났으나, 625 및 3,125 μ g/ml의 처치군에서는 세포독성으로 인한 영향이 포함된 결과로 사료된다(Fig. 2).

금은화 에탄올추출액의 NO 생성률은 1, 5, 25, 125, 625 및 3,125 μ g/ml 처치군에서 농도 25, 125, 625 및 3,125 μ g/ml 군에서 대조군에 비하여 통계학적으로 유의한 감소가 나타나 추출액의 농도가 높을수록 NO의 생성률이 낮아지는 경향을 보였고, 3,125 μ g/ml 처치군에서는 세포독성으로 인한 영향이 포함된 결과로 사료된다(Fig. 3).

PGE₂ 생성률은 정상군에서 4.15 \pm 0.02pg/well로

나타난 반면 대조군에서는 $821.24 \pm 1.63\text{pg/well}$ 로 나타났다. 금은화 열수추출액 50, 100, 150 및 $200\mu\text{g/ml}$ 처치군에서는 농도가 증가할수록 PGE_2 생성률이 낮아지는 경향을 보였고, 또한 금은화 에탄올추출액에서는 대조군에 비해 처치군에서 농도가 감소하는 경향을 보였으며, 금은화 열수추출액과 금은화 에탄올추출액 모두 150 및 $200\mu\text{g/ml}$ 에서 통계학적으로 유의한 감소가 나타났다(Fig. 4).

본 실험의 결과를 종합적으로 고려해볼 때 금은화 열수추출액과 금은화 에탄올추출액은 염증반응에 관여하는 NO의 생성 및 PGE_2 의 생성을 억제시킴으로써, 항염증효과가 있는 것으로 알 수 있었다. 또한 금은화가 두 가지 추출 방식에 따라 세포독성에 차이가 있어, 향후 금은화를 약침 등으로 임상에 이용할 때 추출 방식은 열수추출 방식에 비해 세포독성이 약한 에탄올추출 방식이 고려되어야 할 것으로 사료되며, 향후 다른 추출방식에 따른 독성 및 유효성 관련 연구가 추가적으로 필요하다 생각된다.

V. 결 론

금은화 추출액이 LPS로 유도된 대식세포에서 NO의 생성 및 PGE_2 의 생성에 미치는 영향을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 금은화 열수추출액은 1, 5, 25, $125\mu\text{g/ml}$ 의 농도까지 세포생존율에 유의한 감소가 나타나지 않았다.
2. 금은화 에탄올추출액은 1, 5, 25, 125, $625\mu\text{g/ml}$ 의 농도까지 세포생존율에 유의한 감소가 나타나지 않았다.
3. 금은화 열수추출액은 농도 25, 125, 625 및 $3,125\mu\text{g/ml}$ 처치군에서 NO 생성에 유의한 감소를 나타냈다.
4. 금은화 에탄올추출액은 농도 25, 125, 625 및 $3,125\mu\text{g/ml}$ 처치군에서 NO 생성에 유의한 감소를 나타냈다.
5. 금은화 열수추출액과 에탄올추출액은 모두 150 및 $200\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 PGE_2 생성에 유의한 감소를 나타냈다.

이상의 결과로 보아 금은화 열수추출액에 비해 에

탄올추출액이 약한 세포 독성을 나타냈으며, 금은화 열수추출액과 에탄올추출액은 모두 염증과 관련된 요소인 NO의 생성 및 PGE_2 의 생성을 억제함으로써, 항염증 효과를 나타낼 것으로 사료된다.

VI. 참고문헌

1. 전통의학연구소. 동양의학대사전. 서울 : 성보사. 2000 : 309.
2. 전국한의학대학교 공동교재편찬위원회. 본초학. 서울 : 영림사. 2005 : 242-3.
3. Dan Bensky, Andrew Gamble. Chinese herbal medicins, *Materia Media*. Eastland Press, Incorporated. 1986 : 85-6.
4. Huang KC. The Pharmacology of Chinese herbs (2nd Ed.). CRC. 1998 : 260, 388-9.
5. Fox JB, Doerr RC, Lakritz L. Interaction between sample preparation techniques and three methods of nitrite determination. *J Assoc Off Anal Chem*. 1982 ; 65(3) : 690-5.
6. Ito T, Ikeda U. Inflammatory Cytokines and Cardiovascular Disease. *Curr Drug Targets - Inflamm & Allergy*. 2003 ; 2(3) : 257-65.
7. Bratus' VV, Talaieva TV, Radalov'ska NV, Tretiak IV. Fiziol Zh. The role of a systemic inflammatory process in the atherogenic modification of lipoproteins and the development of hypercholesterolemia. *Fiziol Zh*. 1999 ; 45(1-2) : 40-9.
8. 이영선, 한옥경, 신상우, 박종현, 권영규. 향부자 열수추출물의 Nitric oxide 생성 및 iNOS 유전자 발현에 미치는 영향. *동의생리병리학회지*. 2003 ; 17(3) : 771-6.
9. 정미영, 박희준, 정지행, 김진용, 강전모, 이나경, 임사비나. 대식세포에서 산화질소 생성에 대한 當歸 에탄올 추출물의 억제효과. *대한한의학회지*. 2007 ; 28(2) : 155-65.
10. 윤용갑, 김규민, 이성준, 유승훈, 장선일. 금은화 수용성 추출물의 LPS 유도 염증매개물 억제효과. *대한본초학회지*. 2007 ; 22(3) : 117-25.
11. 이동언, 이재령, 김영우, 권영규, 변성희, 신상우, 서성일, 권택규, 변준석, 김상찬. 금은화 및

- 금은화전초가 Raw 264.7 cell에서 LPS로 유도된 NO의 생성, iNOS, COX-2 및 cytokine에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2005 ; 19(2) : 481-9.
12. Guo LY, Hung TM, Bae KH, Shin EM, Zhou HY, Hong YN, Kang SS, Kim HP, Kim YS. Anti-inflammatory effects of schisandrin isolated from the fruit of *Schisandra chinensis* Baill. *Eur J Pharmacol.* 2008 ; 591(1-3) : 293-9.
 13. Lowenstein CJ, Snyder SH. Nitric oxide, a novel biologic messenger. *Cell.* 1992 ; 70(5) : 705-7.
 14. Helmer KS, Chang L, Cui Y, Mercer DW. Induction of NF-kappaB, IkappaB-alpha, and iNOS in rat gastric mucosa during endotoxemia. *J Surg Res.* 2002 ; 104(1) : 46-52.
 15. Giatgen A, Spinas The Dual Role of Nitric Oxide in Islet β -Cells. *News in Physiol Sci.* 1999 ; 14 : 49-53.
 16. Seo WG, Pae HO, Oh GS, Chai KY, Kwon TO, Yun YG, Kim NY, Chung HT. Inhibitory effects of methanol extract of *Cyperus rotundus* rhizomes on nitric oxide and superoxide productions by murine macrophage cell line, RAW 264.7 cells. *J Ethnopharmacol.* 2001 ; 76(1) : 59-64.
 17. 윤태경, 변부형, 권택규, 서승일, 변성희, 권영규, 김상찬. 관동화(*Farfarae Flos*) 수용성 추출물이 지질다당류로 활성화된 RAW 264.7 세포에의 COX-2, iNOS 발현과 산화질소 생성에 미치는 저해효과. 동의생리병리학회지. 2004 ; 18(3) : 908-13.
 18. 김창민, 박용기. 강활의 RAW264.7 세포에서 LPS에 의해 유도되는 염증물질 생성에 대한 효과. 대한본초학회지. 2009 ; 24(1) : 169-78.
 19. 박희제, 배기상, 김도운, 서상완, 박경배, 김병진, 송제문, 이경용, 나철, 신병철, 박성주, 송호준, 황성연. LPS로 자극한 RAW264.7 세포에서 강활 추출물의 염증성세포활성물질의 억제 효과. 대한본초학회지. 2008 ; 23(3) : 127-34.
 20. 정일국, 송호섭. 봉약침액과 Melittin 약침액이 RAW 264.7 세포의 PGE₂, COX-2 및 NF-kB에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2004 ; 21(6) : 19-36.
 21. 조태성, 윤현민, 송춘호, 장경진, 안창범. 蜂藥鍼液의 NO 소거 및 Chemokine 유전자 발현에 대한 효과. 대한침구학회지. 2003 ; 20(4) : 53-65.
 22. 이경민, 서정철, 한상원. 황기약침액의 NO, DPPH 소거 및 IL-4 억제효과. 대한침구학회지. 2003 ; 20(2) : 184-94.
 23. 김동현, 서정철, 임성철, 정태영, 한상원. 백하수 오약침액의 NO, DPPH, 소거 및 IL-4 억제효과. 대한침구학회지. 2003 ; 20(4) : 42-52.
 24. Kuo CL, Chi CW, Liu TY. The anti-inflammatory potential of berberine in vitro and in vivo. *Cancer letters.* 2004 ; 203(2) : 127-37.
 25. Rocca B, FitzGerald GA. Cyclooxygenases and prostaglandins : shaping up the immune response. *Int Immunopharmacol.* 2002 ; 2(5) : 603-30.
 26. Park JY, Pillinger MH, Abramson SB. Prostaglandin E2 synthesis and secretion: the role of PGE2 synthases. *Clinical immunology.* 2006 ; 119(3) : 229-40.
 27. 안덕균. 한국본초도감. 서울 : 교학사. 2003 : 108.
 28. 이상인, 안덕균, 신민교, 노승현, 이영종, 김선희. 한약임상응용. 서울 : 전통의학연구소. 2003 : 123-4.
 29. 이용성. 경약분류진. 서울 : 도서출판 정담. 2002 : 22.
 30. 박영순. 한방의 약리 해설. 서울 : 아카데미서적. 2002 : 120-1.
 31. 김호철. 한약 약리학. 서울 : 집문당. 2001 : 150-2.
 32. 홍석진, 최유진, 임희순, 손재범, 정성숙. 금은화와 포공영추출물이 첨가된 치약의 치면세균막 및 치은염에 미치는 영향. 대한구강보건학회지. 2001 ; 25(4) : 347-55.
 33. Lee JH, Ko WS, Kim YH, Kang HS, Kim HD, Choi BT. Anti-inflammatory effect of the aqueous extract from *Lonicera japonica* flower is related to inhibition of NF-kappaB activation through reducing I-kappa B alpha degradation in rat liver. *Int J Mol Med.* 2001 ; 7(1) : 79-83.
 34. Ohta S, Sato N, Tu SH, Shinoda M. *Yakugaku Zasshi.* Protective effects of

- Taiwan crude drugs on experimental liver injuries Yakugaku Zasshi. 1993 ; 113(12) : 870-80.
35. 박희수. 금은화 약침의 항암효과에 관한 연구. 대한침구학회지. 2005 ; 22(5) : 91-7.
36. 김중완, 임종국. 금은화 약침의 항종양 작용 및 생체 장기에 대한 영향. 대한침구학회지. 1999 ; 16(1) : 255-67.