

## 월경통 랫트 모델에서 현호색 열수 추출물의 항산화 매개 진통 효과

대구한의대학교 한의과대학 부인과학교실  
이지원, 김동철

### ABSTRACT

#### Antioxidant-mediated Analgesic Effects of *Corydalis Tuber* Aqueous Extracts on the Rat Experimental Dysmenorrhea

Ji-Won Lee, Dong-Chul Kim

Dept. of Korean Obstetrics & Gynecology, College of Korean Medicine,  
Daegu Haany University

**Objectives:** Primary dysmenorrhea (PD) is defined as abdominal pain during menstruation period in the absence of an identifiable pathological lesion. *Corydalis tuber* (CT) is an herbal medicine that has an excellent effect in relieving pain and convulsions. The purpose of this study is to observe the effect of *Corydalis tuber* aqueous extracts (CTe) on primary dysmenorrhea.

**Methods:** The rats were injected with estradiol benzoate subcutaneously for 10 days (2.5 mg/kg on the first and 10th days, and 1 mg/kg from the 2~9th day). Oxytocin 1 U/kg was treated by peritoneal injection 1 hour after the last 10th injection of estradiol benzoate. CTe 400, 200 and 100 mg/kg were administered orally, once a day for 10 days at 30 minutes after each estradiol benzoate treatment. The results of CTe were compared to those of IND 5 mg/kg orally treated rats.

**Results:** As results of estradiol benzoate and oxytocin administration, noticeable decreases of body weights and gains, uterus weights were observed with congestion and enlargement of the uterus at gross inspections, and increases of abdominal writhing responses, uterus MDA levels, GSH contents, SOD and CAT activities. However, these oxidative stress mediated PD signs were dose-dependently decreased by 10 consecutive days of oral administration of three different doses of CTe 400, 200 and 100 mg/kg as comparable to those of IND 5 mg/kg in CTe 200 mg/kg.

**Conclusions:** CTe had a significant improvement effect on primary dysmenorrhea in the PD rat model induced by estrogen benzoate and oxytocin.

**Key Words:** Corydalis, Dysmenorrhea, Anti-oxidative Stress

## I. 서론

월경통은 원발성 월경통과 속발성 월경통으로 분류되는데, 골반의 병변으로 통증이 유발되는 속발성 월경통과 달리, 원발성 월경통(Primary dysmenorrhea, PD)은 기질적인 질환 없이 나타나는 월경기간 동안의 치골 상부와 하복부의 경련통을 의미한다<sup>1)</sup>. 원발성 월경통은 월경을 하는 여성에게 나타나는 가장 흔한 부인과 질환 중 하나로 유병률은 50~60% 정도이고, 초경 1~2년 이내에 발병해서 40대까지 지속되기도 한다<sup>1,2)</sup>.

원발성 월경통의 원인은 다양하나 프로스타글란딘에 의한 자궁근의 수축이 주요한 원인으로 설명되고 있다<sup>3)</sup>. 따라서 일반적으로 프로스타글란딘 합성억제제인 비스테로이드성 진통소염제(Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)가 원발성 월경통의 치료에 주로 사용된다<sup>2)</sup>. 그러나 오심, 소화불량, 설사, 피로 등이 약물의 부작용으로 보고되고 있어서<sup>2,3)</sup> NSAIDs를 대체할만한 약제 개발의 필요성이 대두되고 있다.

한의학에서는 월경통을 痛經, 經行腹痛, 經期腹痛 등으로 설명하고 있다<sup>1)</sup>. 병기는 크게 虛實에 따라 不通則痛과 不榮則痛으로 나누고 있는데, 衝任氣血을 조화시키는 치료 원칙을 바탕으로 變證에 따라 活血化瘀, 溫經散寒, 補腎養血 등의 치료법을 활용하고 있다<sup>1)</sup>. 국내에서는 월경통 치료에 현부이경당을 포함한 다양한 한약과 침<sup>4,5)</sup>, 약침<sup>6)</sup>, 뜸<sup>7)</sup>, 추나<sup>8)</sup> 등의 여러 임상 연구들이 보고 되고 있다.

현호색(*Corydalis Tuber*, CT)은 양귀비과에 속한 *Corydalis ternata Nakai* 및

近緣植物의 塊莖으로 한국의 각지에 분포하는 고유 식물이다<sup>9)</sup>. 따뜻한 성질과 맵고 쓴 맛으로 氣滯와 血滯를 行하게 하여 전신의 통증과 경련을 완화시키는 데 탁월한 효과가 있고, 특히 胸脇脘腹疼痛, 經行腹痛에 치료 효과가 더욱 뛰어나다<sup>9)</sup>. 이전 연구들에서 향암<sup>10,11)</sup>, 신경보호<sup>12,13)</sup>, 항진균<sup>14)</sup>, 과잉운동조절<sup>15)</sup>과 같은 현호색의 주요한 약리 작용들이 보고되었지만, 원발성 월경통에 미치는 진통 효과 연구는 아직 접하지 못했다.

따라서 본 연구에서는 현호색 열수 추출물의 원발성 월경통에 대한 효과를 규명하고자 월경통 랫트 모델에 현호색과 인도메타신을 투여하고 그 효과를 비교하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험동물 및 사육관리

건강한 암컷 Sprague-Dawley(SD; Crl:CD) 랫트 60마리(수령 시 생후 6주령; OrientBio, Seungnam, Korea; 수령 시 체중 140~160 g 범위)를 7일간의 적응기간 후 사용하였다. 랫트들은 온도(20-25℃)와 습도(50-55%) 조절실에서 일반 쥐 폴리카보네이트 케이지(280×420×180 mm; DJ-102, Daejong Instrument Ind. Co., Seoul, Korea) 당 4~5마리씩 배정되었다. 명암 주기는 12시간이었으며, 표준 설치류 사료(Cat. No. 38057; Purinafeed, Seungnam, Korea)와 물은 자유롭게 먹을 수 있도록 공급되었다. 본 실험에는 각각 10마리씩 6개의 그룹을 사용하였으며, 총 50마리의 PD 랫트와 10마리의 아

무런 처치도 하지 않은 랫트를 7일간의 적응기간 후 에스트라디올 벤조에이트와 시험물질들을 투여하기 전 체중(평균 175.28±9.66 g, 160.00~198.00 g 범위)을 기준으로 선정하였다(Table 1, Fig. 1). 모든 실험동물은 실험동물의 이용 및 복지에 관한 국가규정 하에 사용되었으며, 대구한의대학교 동물실험윤리위원회(Gyeongsan, Korea)의 승인을 받았다. 모든 동물은 에스트라디올 벤조에이트와 시험 물질을 처음 투여하기 전에 물은 제한하지 않은 상태에서 약 18시간 동안 금식을 했고, 마지막 10번째 에스트라디올 벤조에이트와 시험 물질을 투여하기 전 음식 섭취의 개인차를 줄였다.

## 2. 월경통 랫트 모델의 유도

에스트라디올 벤조에이트 및 옥시토신은 랫트 PD 모델을 유도하기 위해 사용

되었다<sup>16,17</sup>). 생리식염수에 각각 0.5 mg/ml와 0.2 U/ml의 농도로 에스트라디올 벤조에이트와 옥시토신을 용해한 후, 5 ml 주사기에 26 G 주사침을 사용하여 5 ml/kg의 부피로 비경구 방법으로 주사하였다. 랫트들에게 에스트라디올 벤조에이트(Sigma-Aldrich, St. Louise, MO, USA)를 10일간 피하 주사하였는데, 1일차와 10일차는 2.5 mg/kg, 2일차부터 9일차까지는 1 mg/kg 용량으로 주사하였다. 그리고 옥시토신(Sigma-Aldrich, St. Louise, MO, USA) 1 U/kg을 에스트라디올 벤조에이트 10일차의 마지막 투여 1시간 후 복강 주사하였다<sup>16,17</sup>). 본 연구에서는 정상 대조군 랫트에게 동일한 스트레스를 제공하기 위해 에스트라디올 벤조에이트와 옥시토신 대신 동일한 부피의 생리식염수를 각각 피하주사, 복강주사 하였다(Table 1, Fig. 1).

Table 1. Experimental Designs

Groups	Inducer	Dose of treatment drug	Animal ID*
Controls			
Intact vehicle	Saline	5 ml/kg, distilled water, oral administration	R01 ~ R10
PD†	E/O‡	5 ml/kg, distilled water, oral administration	R11 ~ R20
Reference			
Indomethacin	E/O	5 mg/kg, oral administration	R21 ~ R30
CTe§			
The highest	E/O	400 mg/kg, oral administration	R31 ~ R40
The middle	E/O	200 mg/kg, oral administration	R41 ~ R50
The lowest	E/O	100 mg/kg, oral administration	R51 ~ R60

\*ID : Identification number, †PD : Primary dysmenorrhea, ‡E/O : estradiol benzoate and oxytocin, §CTe : *Corydalis Tuber* aqueous extracts

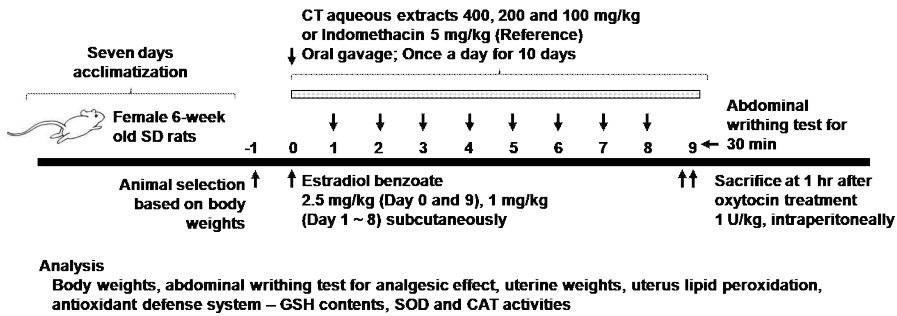


Fig. 1. Experimental designs.

SD : Sprague-Dawley, CT : *Corydalis tuber*, GSH : Glutathione, SOD : Superoxide dismutase, CAT : Catalase

### 3. 약재 준비 및 투여

제천한방약초(Jecheon, Korea)에서 구입한 건조 CT를 현미경하에서 관능검사를 통해 선별 후 사용하였다. 회전식 진공 증발 농축기(N-1110, Eyela, Tokyo, Japan)와 동결 건조기(FDB-5503, Operon, Kimpo, Korea)를 이용하여 갈색 분말인 CTe(수율=19.36%)를 제조하였다. 총 500.00 g의 건조된 CT를 10배 용량의 증류수 100℃에서 6시간 동안 가열한 후, 자동식 원형 플라스크 증발 농축기(Eyela N-1110, Tokyo, Japan)를 이용하여 증발시킨 후 완전히 동결 건조하여 총 96.80 g의 CTe를 얻었고, 사용 전까지 빛과 습도로부터 보호하기 위해 -20℃의 냉동고에 보관하였다. Indomethacin(IND)(Sigma-Aldrich, St. Louise, MO, USA)의 회백색 분말은 CTe의 비교 약물로 사용되었으며 본 실험에 사용하기 전까지 빛과 습도로부터 보호하기 위해 4℃의 냉장고에 보관했다.

각각의 에스트라디올 벤조에이트 투여 후 30분마다 CTe 400, 200, 100 mg/kg, IND 5 mg/kg을 10일 동안 하루에 한 번씩 경구 투여하였다. CTe를 증류수에 80, 40, 20 mg/ml 농도로 용해시키고, 5 ml 주사기에 부착된 존드(zonde)를 이용

하여 400, 200, 100 mg/kg에 해당하는 용량으로 5 ml/kg을 경구 투여하고, IND는 또한 증류수에 1 mg/ml 농도로 용해하여 각각 5 ml/kg(5 mg/kg과 동일)의 용량으로 경구 투여했다. 온전한 대조군과 PD 대조군 랫트에서는 시험 물질 대신 동일한 양의 증류수를 10일 동안 하루에 한 번씩 경구 투여했다(Table 1, Fig. 1).

CTe의 최고 투여량인 400 mg/kg은 이전에 보고된 생체 내 신경 보호 효능 연구에 기초하여 선택되었다<sup>12,13</sup>. 그리고 공비 2를 사용하여 중간 및 최저 용량으로 200 및 100 mg/kg을 선택했다. 또한, IND 5 mg/kg의 용량과 경구 투여 또한 이전의 항염증 효능 연구를 바탕으로 선정되었다<sup>18,19</sup>.

### 4. 체중의 변화

개별 체중은 최초 에스트라디올 벤조에이트 및 시험 물질 처리 직전(Day 0)부터 마지막 10번째 시험 물질 투여일인, 최종 희생일(Day 9)까지 각각 자동 전자저울(XB320M, Precisa Instrument, Dietikon, Switzerland)를 이용하여 매일 측정하였다. 개체차를 줄이기 위해 투여 10일 후 체중증가는 공식 [1]과 같이 계

산되었다.

EQUATION [1]. Body Weight Gains (g)

From just immediately before initial estradiol benzoate and test material administration (Day 0) to the last 10th test substance treatment

= Body weights at Day 9 - Body weights at Day 0

## 5. 자궁 무게의 측정과 육안 검사

모든 동물은 옥시토신 처리 후 1시간 뒤 희생되었다. 70% Nitrous oxide(N<sub>2</sub>O)와 28.5% Oxygen(O<sub>2</sub>)의 혼합물에 2~3% 이소플루란(Hana Pharm. Co., Hwasung, Korea)을 넣고 설치류용 흡입 마취기(Surgivet, Waukesha, WI, USA)와 설치류용 인공호흡기(Model 687, Harvard Apparatus, Cambridge, UK)를 사용하여 마취한 상태에서 자궁의 무게를 g 수준(absolute wet-weights)으로 측정하였다. 그리고 디지털 카메라(FinePix S700, Fujifilm, Tokyo, Japan)를 이용하여 자궁을 촬영하였다. 개별 체중의 오차를 줄이기 위해 상대적인 자궁 무게(전체 체중에서의 자궁 무게 비중)도 공식 [2]와 같이 희생될 당시 체중을 이용하여 계산하였다.

EQUATION [2]. Relative Uterus Weights (% of body weight)

= [(Absolute uterus wet-weights/Body weights at sacrifice(the last 10th test substance treatment day)×100]

## 6. 복부 비틀림 검사

기준에 확립된 방법에 따라 복부 비틀림 반응을 통해 진통 효과를 모니터링 하였다<sup>20,21</sup>. 옥시토신 복강내주사 후 3분

부터 개별의 랫트들을 분리된 폴리카보네이트 케이지(280×420×180 mm; DJ-102, Daejong Instrument Ind. Co., Seoul, Korea)에 넣어두었다. 복부의 비틀림 횟수는 30분 동안 기록되었다. 결과의 정확성을 위해 두 명의 잘 훈련된 연구자들이 이중맹검방식으로 테스트를 수행하였다.

## 7. 자궁 지질 과산화의 측정

각 랫트의 왼쪽 자궁각은 옥시토신 투여 후 1시간이 지났을 때 분리되었고 육안 검사와 무게 측정을 시행하였다. 10 mM sucrose, 10 mM Tris-HCl, and 0.1 M MEDTA (pH 7.4)로 구성된 버퍼와 비드 비터(Model TacoTMPre, GeneResearch Biotechnology Corp., Taichung, Taiwan)와 초음파 세포 파쇄기(Model KS-750, Madell Technology Corp., Ontario, CA, USA)로 균질화되었다. 그리고 Zhan and Yang<sup>22</sup>이 설명한대로 12,000 g에서 15분 동안 원심분리하였다. 자궁 조직 균질액은 분석 전까지 극저온 냉동기(MDF-1156; Sanyo, Tokyo, Japan)를 사용하여 -150℃에서 보관하였다. 자궁 지질 과산화 농도는 흡광도 525 nm에서 티오바비투르산 시험과 자외 및 가시선 분광광도계(OPTIZEN POP, Mecasys, Daejeon, Korea)를 이용해서 Malonaldehyde(MDA)를 μM의 MDA/mg단백질로 추정하여 측정하였다<sup>23</sup>. 총 단백질의 함량은 소 혈청 알부민(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)을 내부 표준으로 사용한 이전 방법<sup>24</sup>에 의해 측정되었다.

## 8. 자궁 항산화 방어 시스템 측정

Glutathione(GSH) 함량 측정을 위해

준비된 균질 현탁액을 25% 트리클로로 아세트산(trichloroacetic acid)(Merck, San Francisco, CA, USA) 0.1 ml와 혼합한 후 4°C에서 40분 동안 4,200 rpm으로 원심분리하였다. GSH 함량은 2-니트로벤조산(2-nitrobenzoic acid)(Sigma-Aldrich, St. Louise, MO, USA)을  $\mu\text{M}/\text{mg}$  단백질로 사용하여 흡광도 412 nm에서 분광광도계를 사용하여 측정되었다<sup>25)</sup>. Catalase (CAT) 존재 하의 Hydrogen peroxide( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 분해는 240 nm에서 관찰되었다. CAT 활성은 pH 7.8과 25°C에서 분당 1 nM의  $\text{H}_2\text{O}_2$ 를 분해하는데 필요한 효소의 양으로 정의되었다<sup>26)</sup>. 결과는 U/mg 단백질로 기록되었다. SOD 활성의 측정은 Sun 등<sup>27)</sup>의 방법에 따라 수행되었다. Superoxide dismutase(SOD) 추정은 니트로블루 테트라졸리움와 반응하여 포르마잔 염료를 형성하는 잔틴과 잔틴 산화효소에 의해 생성된 초과산화물 라디칼의 생성을 기반으로 하였다. SOD 활성은 이후 이 반응의 억제 정도에 따라 560 nm에서 분광광도계로 측정되었으며,  $\mu\text{U}/\text{mg}$  단백질로 표시되었다. SOD 효소 활성의 1단위는 1분 동안 니트로블루 테트라졸리움의 초기 흡광도를 1/2 감소시키는 효소의 양과 동일하다.

### 9. 통계 분석

모든 데이터는 10마리 랫트의 평균±표준 편차(S.D.)로 표현되었다. 상이한 용량 그룹에 대한 다중 비교 테스트가 수행되었다. 레빈 검정(Levene's test)<sup>28)</sup>을 사용하여 분산 동질성을 검사했다. 레빈 검정에서 분산 동질성에 유의한 편차가 없는 경우, 얻은 데이터는 일원 배치 분산 분석(Analysis of Variance, ANOVA) 검정

에 이어 Tukey의 HSD(Honest Significant Difference) 검정을 통해 분석해서 어떤 그룹의 비교가 유의하게 다른지 결정했다. 레빈 검정에서 분산 균질성에 유의한 편차가 관찰되면 비모수 비교 검정인 크루스칼-왈리스 검정(Kruskal-Wallis H test)을 실시했다. 크루스칼-왈리스 검정에서 유의한 차이가 관찰되면 맨-휘트니 U (Mann-Whitney U, MW)검정을 실시하여 유의한 차이가 있는 그룹 비교의 구체적인 쌍을 결정했다. 통계 분석은 Windows 용 SPSS(Release 14.0K, IBM SPSS Inc., Armonk, NY, USA)<sup>29)</sup>를 사용하여 수행되었다. 또한, 본 연구에서는 에스트라디올 벤조에이트 및 옥시토신 투여에 의해 유발된 PD 징후의 중증도를 확인하기 위해 정상 대조군과 PD 대조군 사이의 백분율 변화를 공식 [3]의 방법으로 계산하였고, 이전 연구<sup>30,31)</sup>에서 처럼 시험 물질의 효과를 알기 위해서 PD 대조군과 시험 물질 처리된 랫트들간의 백분율 변화를 공식 [4]의 방법으로 계산하였다.

EQUATION [3]. Percent Changes Compared to Intact Vehicle Control (%)

$$= [((\text{Data of PD control rats} - \text{Data of intact vehicle control rats}) / \text{Data of intact vehicle control rats}) \times 100]$$

EQUATION [4]. Percent Changes Compared to PD Control (%)

$$= [((\text{Data of test material treated rats} - \text{Data of PD control rats}) / \text{Data of PD control rats}) \times 100]$$

### Ⅲ. 결 과

#### 1. 체중 및 증체량

첫 에스트라디올 벤조에이트 투여 후 3일 뒤부터 PD 대조군에서 정상 대조군과 비교했을 때 유의한 체중 감소가 관찰되었다( $p < 0.01$  or  $p < 0.05$ ). 그 결과 10 일간의 투여동안 체중 증가 정도도 유의미하게 감소되었다( $p < 0.01$ ). 그러나 첫 에스트라디올 벤조에이트 처리 후 5~8 일 후부터 IND 5 mg/kg 투여 그룹과 CTe 400, 200, 100 mg/kg 투여 그룹 모두에서 PD 대조군과 비교했을 때 체중이 유의하게 증가한 것으로 나타났다( $p < 0.01$  or  $p < 0.05$ ). 그리고 PD 대조군과

비교하여 투여기간 10일 동안 체중 증가 또한 각각 유의하게 증가하였다( $p < 0.01$ ). 특히 CTe를 투여한 세 용량 그룹의 랫트는 모두 용량 의존적으로 PD로 인한 증체량 감소의 억제 효과를 보였고, 특히 이 실험 조건 하에서는 CTe 200 mg/kg 와 IND 5 mg/kg의 결과가 유사하게 나타났다(Table 2, Fig. 2).

PD 대조군에서 투여기간 10일 동안의 체중 증가는 정상 대조군과 비교하여 -144.28%로 변화하였으나, IND 5 mg/kg, CTe 400, 200, 100 mg/kg에서 PD 대조군 랫트와 비교하여 각각 186.39, 227.97, 176.28, 144.82%로 변화했다(Table 2).

Table 2. Body Weight Gains after 10 Days of Treatment

Groups	Times	Body weights (g)		Body weight gains [B-A]
		At initiation of test article treatment [Day 0, A]	At sacrifice [Day 9, B]	
Controls				
Intact vehicle		155.90±9.68	175.00±11.72	20.10±5.38
PD*		155.30±13.45	146.40±10.38 <sup>a</sup>	-8.90±5.30 <sup>a</sup>
Reference				
Indomethacin		156.30±11.05	163.90±12.35 <sup>b</sup>	7.60±6.74 <sup>ab</sup>
CTe <sup>†</sup>				
400 mg/kg		155.30±9.87	166.60±11.03 <sup>b</sup>	11.30±3.40 <sup>ab</sup>
200 mg/kg		156.20±7.76	162.90±8.43 <sup>b</sup>	6.70±3.55 <sup>ab</sup>
100 mg/kg		154.80±7.05	158.70±7.12 <sup>a</sup>	3.90±3.03 <sup>ab</sup>

Values are expressed mean±Standard deviation of 10 rats, g

\*PD : Primary dysmenorrhea, †CTe : *Corydalis Tuber* aqueous extracts

a :  $p < 0.01$  as compared with intact vehicle control by Tukey's honest significant difference test

b :  $p < 0.01$  as compared with PD control by Tukey's honest significant difference test

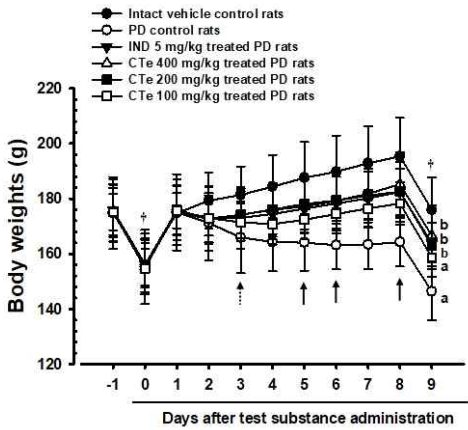


Fig. 2. Body weights changes during 10 days in each group. Values are expressed as Mean±Standard deviation of 10 rats  
 PD : Primary dysmenorrhea, IND : Indomethacin, CTe : *Corydalis Tuber* aqueous extracts  
 a :  $p < 0.01$  as compared with intact vehicle control by Tukey's honest significant difference test  
 b :  $p < 0.01$  as compared with PD control by Tukey's honest significant difference test

2. 자궁 무게의 변화 및 육안 검사

육안 검사 시 정상 대조군 랫트와 비교했을 때 PD 대조군에서 뚜렷한 자궁 울혈과 증대가 관찰되었고, 자궁 절대 무게와 상대 무게의 유의한 증가도 정상 대조군 랫트와 비교했을 때 PD 대조군에서 각각 확인되었다( $p < 0.01$ ). 그러나 PD 대조군과 비교하여 IND 5 mg/kg을 포함한 모든 시험 물질 투여 랫트에서 자궁 울혈 및 증대의 현저한 감소와 유의한 자궁 무게 감소가 각각 관찰되었다( $p < 0.01$ ). 특히 CTe 투여 랫트의 세 가지 다른 투여량 모두 PD 유도하의 자궁 울혈 및 증대에 대한 명확한 용량 의존적인 억제 효과를 나타냈고, 본 실험에서는 CTe 200 mg/kg와 IND 5 mg/kg의 상대 자궁 무게가 유사하게 증가했다 (Fig. 3, 4).

PD 대조군의 절대 자궁 무게는 정상 대조군과 비교하여 104.85%로 변화하였으나, IND 5 mg/kg, CTe 400, 200, 100 mg/kg 경구 투여 랫트는 PD 대조군 랫트와 비교하여 각각 -35.00, -44.90, -35.42, -24.11%로 변화하였다. 또한 PD 대조군의 상대적 자궁 무게는 정상 대조군과 비교하여 146.68%로 변화하였으나, IND 5 mg/kg, CTe 400, 200, 100 mg/kg 경구 투여 랫트에서는 PD 대조군 랫트와 비교하여 각각 -41.90, -51.63, -42.12, -30.23%로 변화하였다.

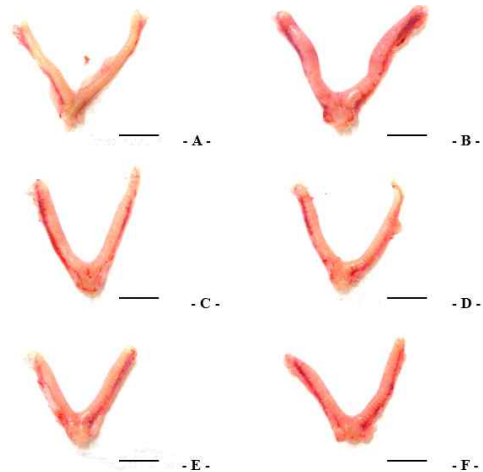


Fig. 3. Representative gross uterus images. Scale bars = 11 mm  
 A : Intact control (Physiological saline and distilled water treated intact vehicle control rats)  
 B : PD control (Distilled water orally treated PD vehicle control rats)  
 C : IND (5 mg/kg of IND orally treated PD rats)  
 D : CTe 400 (400 mg/kg of CTe orally treated PD rats)  
 E : CTe 200 (200 mg/kg of CTe orally treated PD rats)  
 F : CTe 100 (100 mg/kg of CTe orally treated PD rats)  
 PD : Primary dysmenorrhea, IND : Indomethacin, CTe : *Corydalis Tuber* aqueous extracts



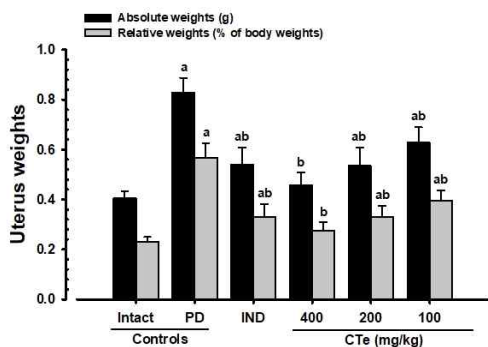


Fig. 4. Uterus weights after 10 days. PD : Primary dysmenorrhea, IND : Indomethacin, CTe : *Corydalis Tuber* aqueous extracts  
 a :  $p < 0.01$  as compared with intact vehicle control by Tukey's honest significant difference test  
 b :  $p < 0.01$  as compared with PD control by Tukey's honest significant difference test

### 3. 복부 비틀림 검사와 진통 효과

복부 비틀림 반응 횟수의 유의한 증가는, PD 대조군에서 정상 대조군과 비교하여 월경통의 증가가 확인되었음을 의미한다( $p < 0.01$ ). 그러나 CTe 400 mg/kg 을 포함한 모든 시험 물질 투여 랫트에서 복부 비틀림 반응 횟수가 PD 대조군과 비교했을 때 유의한 감소가 관찰되었으며( $p < 0.01$ ), 특히 CTe 투여 랫트들은 PD 관련 복통에 대한 명확한 용량 의존적인 억제효과를 보였고, 본 실험 조건 하에서는 CTe 200 mg/kg와 IND 5 mg/kg 이 유사한 결과를 보였다(Fig. 5).

PD 대조군에서 옥시토신 처리 후 30 분간 복부 비틀림 반응의 수는 정상 대조군과 비교하여 8142.86%로 변화하였으나, IND 5 mg/kg, CTe 400, 200, 100 mg/kg 경구 투여 랫트에서 PD 대조군과 비교하여 각각 -67.94, -86.31, -67.42, -48.87%로 변화하였다.

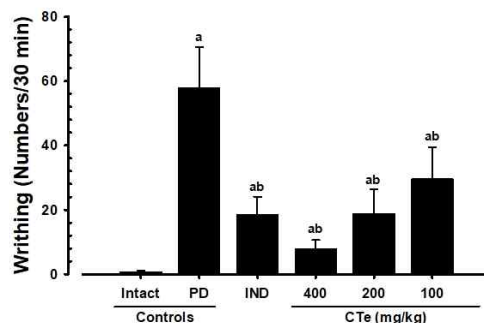


Fig. 5. Abdominal writhing responses after 10 days. PD : Primary dysmenorrhea, IND : Indomethacin, CTe : *Corydalis Tuber* aqueous extracts  
 a :  $p < 0.01$  as compared with intact vehicle control by Mann-Whitney U test  
 b :  $p < 0.01$  as compared with PD control by Mann-Whitney U test

### 4. 자궁 지질 과산화의 변화

정상 대조군과 비교하여 PD 대조군에서 좌측 자궁각 MDA 함량(지질 과산화)이 유의하게 증가하였으나, 모든 시험 물질 투여 랫트에서 PD 대조군과 비교하여 자궁 지질 과산화의 유의한 감소가 각각 확인되었다( $p < 0.01$ ). 특히 CTe 투여 랫트의 세 가지 용량 모두 PD 유도 자궁의 MDA 함량에 대한 명확한 용량 의존적인 억제 효과를 나타냈고, 적어도 본 실험의 조건에서는 CTe 200 mg/kg과 IND 5 mg/kg의 지질 과산화가 유사하게 나타났다(Table 3).

PD 대조군에서 좌측 자궁각 MDA 함량은 정상 대조군과 비교하여 1387.44%로 변화하였으나, IND 5 mg/kg, CTe 400, 200, 100 mg/kg 경구 투여 랫트에서는 PD 대조군과 비교하여 각각 -76.75, -85.53, -76.46, -59.62%로 변화하였다.

Table 3. Left Uterine Horn MDA Levels, GSH Contents, SOD and CAT Activities after 10 Days of Continuous Treatment of Test Substances in Intact Vehicle or PD Rats

Groups	Items	Left uterine horn tissues			
	(Unit)	MDA* contents ( $\mu\text{M}/\text{mg}$ protein)	GSH <sup>†</sup> contents ( $\mu\text{M}/\text{g}$ protein)	SOD <sup>‡</sup> activities (U/mg protein)	CAT <sup>§</sup> activities ( $\mu\text{U}/\text{mg}$ protein)
Controls					
Intact vehicle		3.56±2.22	14.27±5.15	478.00±131.75	124.36±32.48
PD <sup>  </sup>		52.94±14.84 <sup>a</sup>	3.06±1.20 <sup>a</sup>	139.80±32.43 <sup>a</sup>	29.79±12.05 <sup>a</sup>
Reference					
Indomethacin		12.31±3.52 <sup>ac</sup>	8.05±1.43 <sup>ac</sup>	304.30±79.39 <sup>ac</sup>	78.12±13.06 <sup>ac</sup>
CTe <sup>¶</sup>					
400 mg/kg		7.66±1.74 <sup>ac</sup>	10.13±1.15 <sup>c</sup>	389.00±114.98 <sup>c</sup>	94.70±13.59 <sup>bc</sup>
200 mg/kg		12.46±2.60 <sup>ac</sup>	7.95±2.13 <sup>ac</sup>	302.10±47.90 <sup>ac</sup>	79.62±16.13 <sup>ac</sup>
100 mg/kg		21.38±7.31 <sup>ac</sup>	6.98±1.30 <sup>ac</sup>	236.00±37.79 <sup>ac</sup>	64.38±10.96 <sup>ac</sup>

Values are expressed mean±Standard deviation of 10 rats

\*MDA : Malondialdehyde, <sup>†</sup>GSH : Glutathione, <sup>‡</sup>SOD : Superoxide dismutase, <sup>§</sup>CAT : Catalase,

<sup>||</sup> PD : Primary dysmenorrhea, <sup>¶</sup>CTe : *Corydalis Tuber* aqueous extracts

a : p<0.01 and b : p<0.05 as compared with intact vehicle control by Mann-Whitney U test

c : p<0.01 as compared with PD control by Mann-Whitney U test

### 5. 자궁 항산화 방어 시스템의 변화

좌측 자궁각의 내인성 항산화제인 GSH 함량과 내인성 항산화 효소인 SOD와 CAT 활성은 정상 대조군과 비교하여 PD 대조군에서 각각 유의한 감소를 보였다 (p<0.01). 그러나 모든 시험군에서 10일 간의 시험 물질 투여 이후 PD 대조군과 비교하였을 때 각각의 수치가 유의하게 정상화되었다(p<0.01). CTe 투여군에서는 명확하게 용량 의존적으로 GSH 함량, SOD 및 CAT 활성의 증가가 나타났는데 본 실험 조건에서는 CTe 200 mg/kg과 IND 5 mg/kg의 수치가 유사하였다(Table 3).

PD 대조군에서 좌측 자궁각의 GSH 함량은 정상 대조군과 비교하여 -78.58%로 변화하였으나, IND 5 mg/kg, CTe 400, 200, 100 mg/kg 경구 투여 랫트에서 PD 대조군과 비교하여 각각 163.45, 231.45, 160.24, 128.34%로 변화하였다.

PD 대조군에서 좌측 자궁각 SOD 활

성은 정상 대조군과 비교하여 -70.75%로 변화하였으나, IND 5 mg/kg, CTe 400, 200, 100 mg/kg 경구 투여 랫트에서 PD 대조군과 비교하여 각각 117.67, 178.25, 116.09, 68.81%로 변화되었다.

PD 대조군에서 좌측 자궁각 CAT 활성은 정상 대조군과 비교하여 -76.04%로 변화하였으나, IND 5 mg/kg, CTe 400, 200, 100 mg/kg 경구 투여 랫트에서 PD 대조군과 비교하여 각각 162.20, 217.84, 167.25, 116.08%로 변화되었다.

## IV. 고 찰

원발성 월경통은 구조적인 병변이 존재하지 않은 상태에서의 월경기 통증으로 정의된다<sup>1,2)</sup>. 원발성 월경통의 원인은 아직까지 명확히 밝혀지지 않았지만 자궁 수축을 촉진하는 프로스타글란딘과 옥시토신이 원인 중 하나로 설명되고 있

다<sup>2,3</sup>). 프로스타글란딘은 cyclooxygenase (COX)-2에 의해 생성되어 염증 반응에 관여한다고 알려져 있다<sup>32</sup>). 이러한 관점에서 COX-2를 억제하는 NSAIDs는 원발성 월경통을 치료하기 위한 약물로 주로 사용되고 있다<sup>2</sup>). 인도메타신은 비선택적 COX 억제제인 NSAIDs 중 하나로, 새로운 진통소염제 개발에 있어 대조군 약물로 가장 널리 사용된다<sup>33,34</sup>). 게다가 여러 연구에서 IND의 원발성 월경통에 대한 예방적 효과를 설명하고 있다<sup>35,36</sup>). 따라서 본 연구에서는 에스트라디올 벤조에이트 및 옥시토신의 투여로 랫트 PD 모델을 만들었으며, IND를 대조약물로 선택하여 실험결과를 비교분석하였다. 그러나 NSAIDs는 약효가 신속하다는 장점이 있는 반면 간 및 신장, 위장관 등에 다양한 부작용을 초래하는 것으로 보고되고 있다<sup>37</sup>). 이와 같은 사항을 고려했을 때 항염증 효과가 밝혀진 다양한 한약재가 NSAIDs의 대체재로 활용 가능할 것이다. 한약재들은 제약 산업에서의 영역이 넓어지며 그 중요성을 인정받고 있고<sup>38</sup>), 다양한 질환을 치료할 수 있는 항산화제의 공급원으로 생각된다<sup>39</sup>).

현호색은 한국, 중국, 일본 등에서 많이 사용되는데 活血散瘀, 理氣止痛하는 효능을 가지고 있으며, 氣分과 血分에 들어가 氣中血滯와 血中氣滯를 行하게 하여 理氣活血의 要藥으로 쓰이고 있다<sup>9</sup>). 대한약전에서는 Coptisine과 berberine을 현호색의 주요 성분으로 규정하고 있고<sup>40</sup>), 그 외 tetrahydropalmatine, dehydrocorydalin, corydaline, protopine, 1-tetrahydrocoptisine, corybulbine,  $\beta$ -homochelidonine, corydalmine 등이 현호색에 함유된 유효 성분으로 확인되었다<sup>9</sup>). 한의학에서는 현호색을 오랫동안

동안 통증 및 경련 완화를 위한 의약품으로 사용해 왔다<sup>10,13</sup>). 이에 본 실험에서는 랫트의 원발성 월경통에 현호색 열수 추출물의 진통 효과 및 항산화 효과를 규명하고자 하였다.

본 연구에서는 CTe의 원발성 월경통 개선 효과를 증체량 감소의 억제 효과 및 자궁 출혈의 억제 효과, 진통 효과, 지질 과산화 감소 효과, 항산화 활성 효과를 통해 확인했고, PD 랫트 모델에 CTe 400, 200, 100 mg/kg의 각기 다른 용량을 10일간 1일 1회 경구투여하여 IND 5 mg/kg 경구투여군과 각 효과를 비교 분석하였다.

PD 랫트 모델은 에스트라디올 벤조에이트와 옥시토신 투여를 통해 만들었다<sup>16,17</sup>). 에스트라디올 벤조에이트를 1일차와 10일차는 2.5 mg/kg, 2일차부터 9일차까지는 1 mg/kg의 용량으로 총 10일간 랫트들에게 피하 주사하였고, 10일째 되는 날 에스트라디올 벤조에이트의 마지막 투여 1시간 후 옥시토신 1 U/kg을 복강내 주사하였다. 시험물질 투여 그룹에서는 에스트라디올 벤조에이트 투여 30분 후 10일간 하루에 1번씩 CTe 400, 200, 100 mg/kg, IND 5 mg/kg가 경구투여되었다. 정상 대조군과 PD 대조군에서는 시험 물질 대신 동일한 용량의 증류수를 경구로 10일 연속 하루에 한 번씩 투여하여 동일한 스트레스를 제공하였다. CTe의 가장 높은 용량인 400 mg/kg은 이전에 보고된 신경 보호 효능의 *in vivo* 연구를 바탕으로 선정되었으며<sup>12,13</sup>), 200 mg/kg과 100 mg/kg은 공비 2를 이용하여 중간과 가장 적은 용량으로 선정되었다. 또한, IND 5 mg/kg의 용량과 또한 이전의 항염증 효능 연구를 바탕으

로 선정되었다<sup>18,19)</sup>.

랫트는 통증을 포함한 스트레스 상황에서 사료섭취량 및 음수량이 감소하며 탈수와 체중저하가 나타난다. 본 실험에서 정상 대조군은 실험 기간 10일 동안 체중이 크게 증가한 반면, PD 대조군에서 에스트라디올 벤조에이트 투여 후 3일부터 정상 대조군과 비교하여 현저한 체중 감소가 나타났다. 그러나 IND 5 mg/kg 와 CTe 400, 200, 100 mg/kg 투여 랫트 모두에서 초기 에스트라디올 벤조에이트 처리 후 5~8일 후부터 체중의 유의한 증가가 입증되었으며, 투여 기간 10일 동안 체중 증가량이 유의하게 증가한 것을 확인할 수 있었다. 특히 CTe 투여 랫트에서 PD 유도 체중 증가량 감소에 대한 명확한 용량 의존적인 억제 효과를 보였고, 본 실험의 조건에서 CTe 200 mg/kg가 IND 5 mg/kg과 유사한 체중 증가량을 보였다. 이와 같은 결과는 CTe 200 mg/kg에서 IND 5 mg/kg과 비교할 만큼 충분한 원발성 월경통의 개선 효과가 있다는 증거로 간주된다. 본 연구의 정상 대조군 랫트들은 표준 SD 랫트의 해당 연령과 일치하는 체중 증가 범위를 나타냈다.

한의학에서는 통증의 병태 생리에 대해 통즉불통, 불통즉통(通則不痛, 不通則痛)으로 설명하고 있다<sup>1)</sup>. 자궁 정맥의 확장과 울혈이 통증을 유발할 수 있고 혈류 정체로 인해 자궁의 크기가 증가할 수 있다<sup>1)</sup>. 정상 대조군과 비교했을 때 PD 대조군에서 뚜렷한 자궁 울혈과 증대가 관찰되었고, 자궁의 절대 무게와 전체 체중에서의 자궁 무게가 차지하는 자궁의 비율인 상대 무게 또한 유의하게 증가하였다. 그러나 모든 시험 물질 투여 랫트

에서 육안상 자궁 울혈 및 증대의 현저한 감소와 유의한 자궁 무게의 감소가 관찰되었고, CTe 투여 그룹에서는 용량 의존적인 억제 효과를 보였다. IND 투여 그룹과 비교했을 때 CTe 200 mg/kg 투여 그룹과 IND 5 mg/kg 투여 그룹의 결과가 유사하게 나타났다. 즉 현호색 열수추출물의 자궁 혈류 흐름 개선을 통한 울혈 감소를 확인할 수 있었다.

복부 비틀림 반응의 증가는 곧 복통의 증가를 의미하며 월경통의 지표로 삼을 수 있다<sup>20)</sup>. 본 연구에서는 옥시토신 투여 30분 후 정상 대조군과 비교했을 때 PD 대조군에서 복부 비틀림 반응 횟수의 유의한 증가가 관찰되었다. 그리고 IND 5 mg/kg을 포함한 모든 시험 물질 투여 랫트에서 PD 대조군과 비교했을 때 복부 비틀림 반응의 유의한 감소가 각각 나타났다. 특히 CTe 투여 세 가지 그룹에서 PD 유도 복부 비틀림 반응 증가에 대한 명확한 용량 의존적 억제 효과를 나타냈는데, CTe 200 mg/kg 투여 그룹과 IND 5 mg/kg 투여 그룹의 결과가 유사하게 나타났다. 이러한 결과는 CTe가 적어도 본 실험 조건 하에서 CTe 200 mg/kg이 IND 5 mg/kg과 동등한 수준으로 PD를 제어할 충분한 진통 활성을 가지고 있다는 것을 의미한다.

활성산소는 생체 내에서 에너지를 만들기 위한 산소의 대사 반응 결과로 생성되는데 이에 대응하는 항산화 물질과 평형을 이루지 못하고 산화물질이 과다 생성되거나 항산화 물질이 부족해져 불균형이 일어난 상태를 산화 스트레스라고 한다<sup>41)</sup>. 활성산소는 반응성이 강해 지질, 단백질, DNA 등에 손상을 주고, 다양한 질환들의 주요 기전으로 여겨지고

있으며, 원발성 월경통의 병태 생리에서 산화 스트레스의 역할이 중요하다는 실험적이고 임상적인 증거가 많다<sup>16,42,43</sup>. 활성산소는 단시간 내에 반복적으로 생성되면서 생체 내의 항산화 물질과 반응하기 때문에 직접 측정하기엔 어려운 점이 있다. 따라서 내인성 항산화 물질 또는 지질, 단백질, DNA의 산화 물질의 농도를 통해 간접적으로 측정하는 방법이 주로 사용된다. 흔히 사용되는 지질 과산화를 평가하는 표지자 중 하나가 MDA이다<sup>41</sup>. 지질 과산화는 세포막의 산화적 파괴를 유도하는 자동 촉매 메커니즘으로<sup>44</sup>, 이러한 파괴는 세포의 사멸을 초래할 수 있고, 여기서 MDA가 가장 중요한 자유 라디칼이라 불리는 독성 및 반응성 알데히드 대사 물질의 생성을 초래할 수 있다<sup>45</sup>. PD 랫트에서 자궁 MDA 함량의 현저한 증가가 관찰되었는데<sup>16,42</sup>, 마찬가지로 본 연구에서도 에스트라디올 벤조에이트와 옥시토신 투여 후 자궁 MDA가 증가하는 양상을 확인할 수 있었다.

또한 산화적 스트레스는 신체 지방세포에 영향을 미쳐 체지방량의 감소 및 체중의 감소를 가져온다고 알려져 있다<sup>46</sup>. GSH는 대표적인 내인성 항산화제로, 활성 산소를 낮은 수준과 특정 세포 농도로 유지함으로써 조직의 손상을 방지하고, 조직에서 항산화 보호 인자로 받아들여지고 있다<sup>47</sup>. SOD는 항산화 효소 중 하나로 효소 방어 기전에 기여하며, CAT는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 H<sub>2</sub>O나 O<sub>2</sub>로의 전환을 촉매하는 효소이다<sup>48</sup>. SOD나 CAT와 같은 항산화 효소 활성의 감소 및 GSH 함량의 감소는 PD에 의해 유발된 산화적 스트레스를 보호하지 못하였음을 의미한다<sup>16,42,43</sup>.

그러나 본 실험에서는 CTe 400, 200, 100 mg/kg의 세 가지 용량을 10일 연속 경구 투여함으로써 PD에 의한 지질 과산화 증가 및 산화적 스트레스가 명확하게 억제되었고, CTe 200 mg/kg의 IND 5 mg/kg의 결과는 유사하게 나타났다. 이 결과는 적어도 본 실험의 조건에서 CTe 200 mg/kg에서 IND 5 mg/kg과 동등한 수준으로 PD를 억제할 수 있을 정도로 CTe가 현저한 항산화 활성을 가지고 있음을 시사한다.

본 연구에서 에스트라디올 벤조에이트 및 옥시토신의 투여에 의해 달성된 PD 랫트 모델에서 PD에 대한 CTe의 원발성 월경통 개선 효과를 관찰할 수 있었고, 그 결과는 IND 5 mg/kg과 비교하였다. 에스트라디올 벤조에이트와 옥시토신 투여 결과, 전형적인 염증 및 산화 스트레스 매개 PD는 비교적 잘 달성되었다. 즉, 체중 및 체중 증가량의 감소, 자궁의 울혈 및 비대가 동반된 자궁 무게의 증가, 복부 비틀림 반응 증가, 자궁 지질 과산화(MDA 수준)의 증가, 자궁 GSH 함량 감소, SOD와 CAT 활동의 감소가 관찰되었다. 그러나 본 연구에서는 이러한 염증성 및 산화 스트레스 매개 PD 징후가 400, 200, 100 mg/kg의 세 가지 상이한 용량의 CTe를 10일 연속 경구 투여함으로써 용량 의존적으로 억제되었고, CTe 200 mg/kg에서 IND 5 mg/kg의 용량과 유사한 결과가 나타났다. 이러한 발견은 CTe가 에스트라디올 벤조에이트 및 옥시토신 투여로 유도된 PD 랫트에서 진통 및 항산화 효과를 가지고 있다는 가능성을 시사하며, 적어도 본 실험의 조건에서는 CTe 200 mg/kg에서 IND 5 mg/kg이 유사한 항산화 활

성을 보이는 것을 확인하였다. 따라서 CTe는 원발성 월경통을 포함한 다양한 월경기 통증을 조절하는 새로운 대체 약물로 유망할 것으로 예상된다. 현호색은 Coptisine과 berberine, tetrahydropalmatine, dehydrocorydalin 등 다양한 유효 성분을 가지고 있기 때문에 향후 생물학적 활성 화합물에 대한 스크리닝이 보다 상세한 기전 연구와 함께 이루어져야 할 것이다.

## V. 결 론

본 연구에서는 현호색 열수 추출물의 월경통 개선 효과를 알아보기 위해 에스트라디올 벤조에이트와 옥시토신 투여로 유도된 PD 랫트 모델에 CTe 400, 200, 100 mg/kg를 경구투여하여 IND 5 mg/kg 경구투여군과 비교 후 아래와 같은 결과를 얻었다.

1. CTe는 PD로 인한 체중 증가량 감소에 유의한 억제 효과를 보였다( $p<0.01$ ).
2. CTe는 자궁 울혈 및 증대를 감소시키고 자궁의 무게 또한 유의하게 감소시켰다( $p<0.01$ ).
3. CTe는 복부 비틀림 반응 횟수를 유의하게 감소시켰다( $p<0.01$ ).
4. CTe는 좌측 자궁각의 MDA 함량에 대한 유의한 억제 효과를 나타냈다( $p<0.01$ ).
5. CTe 투여군에서 내인성 항산화제인 GSH 수치와 내인성 항산화 효소인 SOD와 CAT 활성이 유의하게 증가되었다( $p<0.01$ ).

6. 원발성 월경통에 대한 CTe 200 mg/kg 경구투여군의 효과는 IND 5 mg/kg 경구투여군과 유사한 것으로 나타났다.

위의 결과에 따라서 현호색 열수 추출물은 원발성 월경통에 대한 유의한 개선 효과가 있었다.

Received : Jan 10, 2024

Revised : Jan 15, 2024

Accepted : Feb 23, 2024

## References

1. The Society of Korean Medicine Obstetrics and Gynecology. Korean Medicine Obstetrics & Gynecology (2nd vol). 4th rev. ed. Seoul:Euiseongdang. 2021: 106-13.
2. Korean Society of Obstetrics and Gynecology. Gynecology. 6th rev. ed. Seoul:Koonja publisher. 2019:129-30.
3. Koo BS, et al. Clinical Gynecologic Endocrinology. 2nd rev. ed. Seoul:Goryeoeuihak. 2001:211-3.
4. Park SJ, et al. Effect and Satisfaction Measurement of Korean Medicine Treatment on Adolescent Dysmenorrhea. J Korean Obstet Gynecol. 2016;29(1): 69-77.
5. Kim HJ, Sohn YJ, Lee YH. A Clinical Study on the Effect of Dysmenorrhea Clinic for Female College Students. J Korean Obstet Gynecol. 2012;25(2): 142-53.
6. Chang SY, et al. Effect of Hominis

- Placenta Herbal Acupuncture on Dysmenorrhea. *J Acupunct Res.* 2005; 22(6):85-92.
7. Cho JH, et al. A Clinical Study on the Effect of Aroma Ceramic Moxibustion for Primary Dysmenorrhea. *J Korean Obstet Gynecol.* 2009;22(1):172-81.
  8. Cho DI, et al. The Comparative Study on the Effects of Chuna and Combined with Acupuncture in Patients with Dysmenorrhea. *Korean Med rehab.* 2014;24(3):157-64.
  9. The national college of Korean medicine herbology textbook compilation committee. *Herbology.* 3rd rev. ed. Seoul:Younglimsa. 2014:2451-2.
  10. Kim KH, et al. Benzyloisoquinoline Alkaloids from the Tubers of *Corydalis ternata* and Their Cytotoxicity. *Bioorg Med Chem Lett.* 2010;20(15):4487-90.
  11. Kim KH, et al. New Triterpenoids from the Tubers of *Corydalis ternata*: Structural Elucidation and Bioactivity Evaluation. *Planta Med.* 2011;77(13):1555-8.
  12. Lee KH, et al. Regulation of Glutamate Level in Rat Brain through Activation of Glutamate Dehydrogenase by *Corydalis ternata*. *Exp Mol Med.* 2005;37(4):371-7.
  13. Kim YJ, et al. Neuroprotective Effect of *Corydalis ternata* Extract and its Phytochemical Quantitative Analysis. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 2017; 65(9):826-32.
  14. Han JW, et al. In Vivo Disease Control Efficacy of Isoquinoline Alkaloids Isolated from *Corydalis ternata* against Wheat Leaf Rust and Pepper Anthracnose. *J Microbiol Biotechnol.* 2018;28(2):262-6.
  15. Yun J. L-tetrahydropalmatine Inhibits Methamphetamine-induced Locomotor Activity via Regulation of 5-HT Neuronal Activity and Dopamine D3 Receptor Expression. *Phytomedicine.* 2014;21(11):1287-91.
  16. Chen Y, et al. Traditional Chinese Medicine for the Treatment of Primary Dysmenorrhea: How Do Yuanhu Painkillers Effectively Treat Dysmenorrhea? *Phytomedicine.* 2013;20(12):1095-104.
  17. Liu P, et al. Effects of Xiang-fu-si-wu Decoction and its Main Components for Dysmenorrhea on Uterus Contraction. *J Ethnopharmacol.* 2011;133(2):591-7.
  18. Kim YS, et al. Effects of Polycan, a  $\beta$ -glucan, on Experimental Periodontitis and Alveolar Bone Loss in Sprague-Dawley Rats. *J Periodontal Res.* 2012; 47(6):800-10.
  19. Park SI, et al. The Effects of Topical Application of Polycal (a 2:98 (g/g) Mixture of Polycan and Calcium Gluconate) on Experimental Periodontitis and Alveolar Bone Loss in Rats. *Molecules.* 2016;21(4):527.
  20. Yang L, et al. Ge-gen Decoction Attenuates Oxytocin-induced Uterine Contraction and Writhing Response: Potential Application in Primary Dysmenorrhea Therapy. *Chin J Nat Med.* 2016;14(2):124-32.
  21. Li Z, et al. Flucrypyrim, a Novel

- Uterine Relaxant, has Antinociceptive and Anti-inflammatory Effects in vivo. *Sci Rep*. 2017;7:42040.
22. Zhan C, Yang J. Protective Effects of Isoliquiritigenin in Transient Middle Cerebral Artery Occlusion-induced Focal Cerebral Ischemia in Rats. *Pharmacol Res*. 2006;53(3):303-9.
  23. Tsikas D. Assessment of Lipid Peroxidation by Measuring Malondialdehyde(MDA) and Relatives in Biological Samples: Analytical and Biological Challenges. *Anal Biochem*. 2017;524:13-30.
  24. Goldring JPD. Measuring Protein Concentration with Absorbance, Lowry, Bradford Coomassie Blue, or the Smith Bicinchoninic Acid Assay Before Electrophoresis. *Methods Mol Biol*. 2019;1855:31-9.
  25. Riener CK, Kada G, Gruber HJ. Quick Measurement of Protein Sulfhydryls with Ellman's Reagent and with 4,4'-dithiodipyridine. *Anal Bioanal Chem*. 2002;373(4-5):266-76.
  26. Weydert CJ, Cullen JJ. Measurement of Superoxide Dismutase, Catalase and Glutathione Peroxidase in Cultured Cells and Tissue. *Nat Protoc*. 2010; 5(1):51-66.
  27. Sun Y, Larry WO, Ying L. A Simple Method for Clinical Assay of Superoxide Dismutase. *Clin Chem*. 1988;34(3): 497-500.
  28. Levene A. Pathological Factors Influencing Excision of Tumours in the Head and Neck. Part I. *Clin Otolaryngol Allied Sci*. 1981;6(2):145-51.
  29. Ludbrook J. Update: Microcomputer Statistics Packages. A Personal View. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 1997; 24(3-4):294-6.
  30. Choi EH, et al. Modulating Lipid and Glucose Metabolism by Glycosylated Kaempferol Rich Roasted Leaves of *Lycium chinense* via Upregulating Adiponectin and AMPK Activation in Obese Mice-induced Type 2 diabetes. *J Funct Foods*. 2020;72:104072.
  31. Min BG, et al. Effects of Pelargonium Sidoides and Coptis Rhizoma 2 : 1 Mixed Formula (PS + CR) on Ovalbumin-induced Asthma in Mice. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2020;2020:9135637.
  32. Ji JD, Lee YH, Song GG. Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>): Roles in Immune Responses and Inflammation. *J Rheum Dis*. 2004;11(4):307-16.
  33. Kim HD, et al. Effect of Exopolymers from *Aureobasidium Pullulans* on Formalin-induced Chronic Paw Inflammation in Mice. *J Microbiol Biotechnol*. 2006;16(12):1954-60.
  34. Kim HD, et al. Effects of  $\beta$ -glucan from *Aureobasidium Pullulans* on Acute Inflammation in Mice. *Arch Pharm Res*. 2007;30(3):323-8.
  35. Marjoribanks J, et al. Nonsteroidal anti-inflammatory Drugs for Dysmenorrhoea. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015; 2015(7):CD001751.
  36. Feng X, Wang X. Comparison of the Efficacy and Safety of Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs for Patients



- with Primary Dysmenorrhea: A Network Meta-analysis. *Mol Pain*. 2018;14:1744806918770320.
37. Park MG, Yoo JD, Lee KH. Current Guidelines for Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs. *J Korean Orthop Assoc*. 2020;55(1):9-28.
  38. Kim HS, et al. Single Oral Dose Toxicity Test of Blue Honeysuckle Concentrate in Mice. *Toxicol Res*. 2015;31(1):61-8.
  39. Noh JR, et al. Hepatoprotective Effect of Platycodon Grandiflorum against Chronic Ethanolinduced Oxidative Stress in C57BL/6 Mice. *Ann Nutr Metab*. 2011;58(3):224-31.
  40. Korea Food and Drug Administration. The Korean Pharmacopoeia. 11th rev. ed. Seoul:Sinil. 2014:1885-6.
  41. Kim YK, et al. Relationships among Oxidative Stress Markers, Life Style Factors and Biochemical Findings. *Korean J Lab Med*. 2006;26(5):343-50.
  42. Videla LA. Energy Metabolism, Thyroid Calorigenesis, and Oxidative Stress: Functional and Cytotoxic Consequences. *Redox Rep*. 2000;5(5):265-75.
  43. Subudhi U, et al. Alleviation of Enhanced Oxidative Stress and Oxygen Consumption of L-thyroxine Induced Hyperthyroid Rat Liver Mitochondria by Vitamin E and Curcumin. *Chem Biol Interact*. 2008;173(2):105-14.
  44. Messarah M, et al. Influence of Thyroid Dysfunction on Liver Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in Experimental Rats. *Exp Toxicol Pathol*. 2010;62(3):301-10.
  45. Das K, Chainy GB. Modulation of Rat Liver Mitochondrial Antioxidant Defence System by Thyroid Hormone. *Biochim Biophys Acta*. 2001;1537(1):1-13.
  46. Sodhi K, et al. Oxidant-Induced Alterations in the Adipocyte Transcriptome: Role of the Na, K-ATPase Oxidant Amplification Loop. *Int J Mol Sci*. 2020;21(16):5923.
  47. Odabasoglu F, et al. Gastroprotective and Antioxidant Effects of Usnic Acid on Indomethacin-induced Gastric Ulcer in Rats. *J Ethnopharmacol*. 2006;103(1):59-65.
  48. Hao M, Liu R. Molecular Mechanism of CAT and SOD Activity Change under MPA-CdTe Quantum Dots Induced Oxidative Stress in the Mouse Primary Hepatocytes. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 2019;220:117104.