

오미자 추출물이 산소자유기에 의하여 손상된 생쥐의 배양 심근세포에 미치는 영향

주은정* · 김인숙[§] · 서은아

우석대학교 식품영양학과, 원광대학교 식품영양학과

Effects of Fructus Schisandrae Water Extract on Cultured Mouse Myocardial Cells Induced by Xanthine Oxidase/Hypoxanthine

Joo, Eun Jung* · Kim, In Sook[§] · Seo, Eun A

Department of Food and Nutrition,* Woosuk University, Samrye 565-701, Korea

Department of Food and Nutrition, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

ABSTRACT

The purpose of this study was to elucidate protective effect of *Fructus Schisandrae*(FS) water extract against xanthine oxidase/hypoxanthine(XO/HX)-induced cardiotoxicity in myocardial cells, this experiment was performed. Cardiotoxicity of XO/HX was examined by MTT(MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) assay. XO/HX induced the decrease of cell viability. Also, XO/HX induced the increase of LDH activity and the decrease of beating rate on cultured myocardial cells in a dose-dependent manner. To investigate cardioprotective effect of FS water extract, cultures were preincubated with FS water extract for 3 hours. Cultures were then, exposed to XO/HX for 72 hours. FS water extract have an efficacy in decreasing LDH activity and increasing heart beating rate on cultured myocardial cells damaged by XO/HX. From the results, it is suggested that XO/HX may show toxic effect in cultured myocardial cells derived from neonatal mouse and FS water extract is effective in the prevention of XO/HX-induced cardiotoxicity. (*Korean J Nutrition* 33(7) 739~744, 2000)

KEY WORDS. xanthine oxidase/Hypoxanthine(XO/HX), fructus schisandrae water extract, myocardial cell, MTT, LDH, beating rate.

서론

오미자는 목련과에 속하는 다년생 자생목으로 현급, 회급, 수신, 금령자, 흥내소, 경저 등의 이름으로 불리운다¹⁾. 우리나라에서는 중북부지방에 분포하고 있으며 6~8월에 개화하여 9~10월에 과실이 열리고 서리가 내린 후 채취하여 사용하며, 음식으로는 오미자차, 오미자술, 오미자편, 오미자국, 오미자화채 등으로 이용되고 있다.¹²⁾

오미자의 약리작용은 중추신경계의 흥분과 억제 과정에 관여하며, 심장혈관계통을 조절하여 혈액순환을 개선하고 혈압을 강하시키며, 호흡에 대해서는 흥분작용이 있다. 또한 현저한 진해 거담작용을 하며 위액의 분비조절작용, 담즙의 분비촉진작용, 간보호 및 알코올에 대한 해독작용 등이 있다고 알려져 있다.¹³⁻¹⁵⁾

최근의 실험보고에 의하면 오미자 추출액은 CCl₄로 유발된 간손상의 회복에 효과가 있다고 하였고,^{8,9)} 위액분비와 위장운동을 억제한다고¹⁰⁾ 보고되었으나, 오미자 추출물의 심근세포에 대한 보고는 접할 수 없었다.

본 실험은 산소자유기가 심근세포에 독성을 유발한다는 보고¹¹⁾에 근거하여 수행되었다. 산소자유기는 최외각 전자 궤도에 쌍을 이루고 있지 않는 홀수개의 전자가 존재하는 원자나 분자를 지칭하는 것으로서 이러한 특수구조 때문에 대단히 큰 반응성을 보여 생체내의 여러 가지 병태생리적인 반응에 관여하고 있으며, 생체막의 불포화지방산을 과산화시키거나 단백질, DNA를 변성시키는데,^{12,13)} 특히 산소자유기는 흥분성아미노산(excitatory amino acid, EAA)의 분비를 촉진시키고,^{12,13)} 세포내 Ca²⁺의 농도를 증가시켜 결국 세포의 사멸을 초래하며,^{14,15)} 중추나 말초신경계를 구성하고 있는 신경세포에 산화적 손상을 유발함으로써 노인성 치매나 파킨슨씨병을 비롯하여, 뇌허혈 및 근위축성측삭경화증(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)과 같은 각종 신

채택일 : 2000년 10월 6일

[§]To whom correspondence should be addressed.

경질환의 병인으로 밝혀지고 있다.¹⁶⁾

따라서 본 실험에서는 생쥐의 심근세포를 배양하고 xanthine oxidase/hypoxanthine(XO/HX)에 노출시켜 산소 자유기를 유발하여 심근세포의 손상여부를 먼저 관찰하고, 이러한 손상에 대한 오미자 추출물의 방어효과를 조사하였다.

실험재료 및 방법

1. 재 료

본 실험에서는 ICR 계통의 생후 3일된 건강상태가 양호한 생쥐를 사용하였으며 오미자는 원광대학교 한의과대학 부속 한방병원에서 건제품으로 구입하여 색, 형태가 좋은 것으로 선별하였다.

2. 실험방법

1) 추출물의 제조

오미자 200g에 3차 증류수 1.8l를 환저플라스크에 넣고 냉각기를 부착하여 2시간동안 전열기로 끓인 후 3,000rpm에서 20분간 원심분리하고 진공 농축기로 감압농축하였으며, 동결건조기에서 24시간 동결건조하여 44g의 분말 시료를 얻었다.

2) 산소자유기의 처리

본 실험에 사용한 xanthine oxidase(XO, Sigma)와 hypoxanthine(HX, Sigma)은 각각 100mU/ml, 10mU/ml, 1mU/ml의 저장액을, HX의 경우 1M, 100mM, 10mM의 저장액을 만들어 냉암소에 보관한 후 실험 당일 적당한 양으로 희석 사용하거나 필요한 양을 직접 배양액에 첨가하여 사용하였다. XO/HX가 생쥐의 심근세포에 미치는 영향을 조사하기 위하여 일정시간 배양한 심근세포를 phosphate buffered saline(PBS)으로 3회 세척하고, 각 농도의 XO/HX가 포함된 배양액에서 24~96시간 동안 배양한 후, XO나 HX를 처리하지 않은 군을 대조군으로 하여 심근세포에 미치는 영향을 분석하였다.

3) 세포배양

본 실험에 사용한 심근세포는 생후 3일째의 ICR계통의 생쥐의 심장에서 분리 배양하였다. 생쥐의 흉부를 정중선을 따라 절개한 후 심장을 적출하고 심실만을 분리하여 잘게 잘라 직경 100mm 배양용 petri dish(Nunc)에서 PBS로 3회 세척한 후 4℃의 0.125% trypsin-0.1% collagenase 용액에서 하룻밤 방치하고, 다음날 37℃ shaking water

bath(Precision Co.)에서 60회/분으로 10분간 진탕하여 세포를 분리하였다. 배양액은 alpha-minimum essential medium(α -MEM, Gibco)에서 10% fetal bovine serum (FBS, Gibco)을 넣어 사용하였다. 분리된 세포를 2시간 동안 배양하면 먼저 내피세포가 petri dish에 부착하므로 부착되지 않은 세포만을 모아서 24well plate(Nunc)에 1×10^6 cells/well로 분주하였다. 분주한 심근세포는 37℃, 5% CO₂ 정온기(Bellco)에서 배양하였으며, 24시간 배양하여 심근세포가 24well plate 바닥에 완전히 부착된 후 배양액을 교환하여 실험에 사용하였다. 이 때 세포생존율은 100%이며 세포의 순수도는 98%였다

4) 시료의 처리

본 실험에 사용한 오미자 추출물을 각 농도별로 준비하여, 생쥐의 배양 심근세포를 XO/HX에 노출시키기 전에 3시간 동안 오미자 추출물을 전처리한 다음 이를 XO/HX에 72시간 동안 처리한 후 오미자 추출물이 심근세포에 미치는 영향을 조사하였다

5) 세포독성 및 방어효과 검증

(1) MTT 정량

대조군과 실험군들을 각각 8개의 well을 한 군으로 하였으며, MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide, Sigma]정량은 Mosmann¹⁷⁾의 방법에 따랐다. 즉 심근세포를 배양한 후 상층액을 버리고 사용 당일 제조한 1mg/ml MTT를 배양용기당 20 μ l(0.05%)씩 넣어 은박지로 포장한 후 3시간 동안 37℃, 5% CO₂로 유지된 정온기내에서 배양하였다. 배양 완료 후 세포내의 formazan을 용해시키기 위하여 상층액을 버리고 dimethyl sulfoxide(DMSO, Merck)를 배양용기당 1ml씩 넣고 15분간 실온에서 방치한 후 흡광광도계로 540nm에서 흡광도를 측정하여 대조군과 비교 조사하였다.

(2) Lactate dehydrogenase(LDH) 활성도 조사

LDH 활성도의 측정엔 최적화된 LDH/LD procedure (Sigma Diagnostics)를 이용하여 배양액의 일부를 사용하였다. 즉 phosphate buffer(pH 7.5)에 등몰농도의 NADH를 pyruvate 환원의 반응에 이용하여 spectrometer의 340nm에서의 흡광도의 감소율은 배양액의 LDH 활성도에 비례하게 됨을 이용하여 LDH 활성도를 측정하였다.

(3) Beating rate 측정

대조군과 실험군들을 각각 8개의 well을 한 군으로 하여 72시간 배양한 후, 대조군과 실험군 각각에서 전체 심근세

포가 규칙적으로 박동하는 것을 도립위상차현미경으로 확인한 다음, 세포가 동시에 박동하는 것을 조사하였다. 조사 후 온도와 CO₂농도가 정온기와 같은 상태로 유지되는 소형 chamber(Nikon, NP-2) 내에서 대조군과 실험군 모두 동일한 시간대에 1분 동안에 1×10⁶cells/well에서 심근세포 박동수를 3회 반복 측정하여 평균치를 구하고 이를 대조군과 비교 조사하였다.

6) 통계 처리

실험결과에 대한 유의성의 검정은 ANOVA test후에 Tukey-Kramer multiple comparison test에 의하였으며 p값이 0.05 이하일 때 유의한 것으로 하였다.

결과 및 고찰

1. 세포생존율 분석

1) Xanthine oxidase(XO)의 농도별 영향

XO가 배양 심근세포에 미치는 영향을 조사하기 위하여 XO가 15~60mU/ml까지의 농도로 각각 포함된 배양액에서 72시간 동안 배양한 후 XO의 독성효과를 MTT assay 법에 의하여 조사한 결과 15mU/ml XO 처리에서는 세포의 생존율이 대조군(100%)에 비하여 82.4%로 나타났으며 30mU/ml XO의 처리에서는 64.8%로 다소 낮게 나타났다. 또한 45mU/ml XO와 60mU/ml XO를 처리한 경우 생존율은 각각 52.1%(p < 0.05)와 41.8%(p < 0.01)로 대조군에 비하여 모두 유의하게 낮게 나타났다(Fig. 1의 Left).

2) Xanthine oxidase/hypoxanthine(XO/HX)의 시간별 영향
XO/HX의 처리 시간에 따라 배양 심근세포에 미치는 영

향을 조사하기 위하여 45mU/ml XO/0.1mM HX가 포함된 용액에 심근세포를 각각 24시간에서 96시간 동안 배양한 후 세포의 생존율을 MTT assay법에 의하여 대조군과 비교 조사한 결과 24시간 배양에서는 대조군 100%(1.37 ± 0.14)에 비하여 68.6%의 세포생존율을 보였다. 또한 48시간 배양에 있어서는 61.3%로 대조군100%에 비하여 다소 낮은 생존율을 나타냈으며 72시간 배양에서는 대조군 100%에 비하여 47.4%(p < 0.05)의 생존율을, 96시간 배양에서는 대조군 100%에 비하여 24.8%(p < 0.01)의 생존율을 각각 나타내 유의성을 보였다(Fig 1의 Right).

2. LDH 활성도에 대한 오미자 추출물의 효과

1) Xanthine oxidase/hypoxanthine(XO/HX)의 영향

XO/HX의 농도에 따른 LDH 활성도를 측정하기 위하여 0.1mM의 HX에 10~80mU/ml의 XO가 각각 포함된 배양액에서 배양 심근세포를 72시간 동안 처리한 후 세포배양액내로 유출된 LDH양을 대조군과 비교 조사하였다. 그 결과 10mU/ml XO, 20mU/ml XO 처리에서는 대조군 100%(14.3 ± 1.6)에 비하여 각각 136.4%, 141.3%로 증가하는 경향을 나타냈으나 유의성은 보이지 않았다. 또한 40mU/ml, 80mU/ml XO를 처리한 경우 각각 155.9%(p < 0.05), 194.4%(p < 0.01)로 유의한 증가를 나타냈다. LDH활성도의 MCV값(Mid-Cytotoxicity Value)은 40 mU/ml XO/0.1mM HX의 처리에서 나타났다(Fig. 2의 Left).

2) 오미자 추출물의 효과

배양 심근세포에 대한 XO/HX의 세포독성에 있어서 오미자 추출물의 효과를 LDH활성측면에서 조사하기 위하여

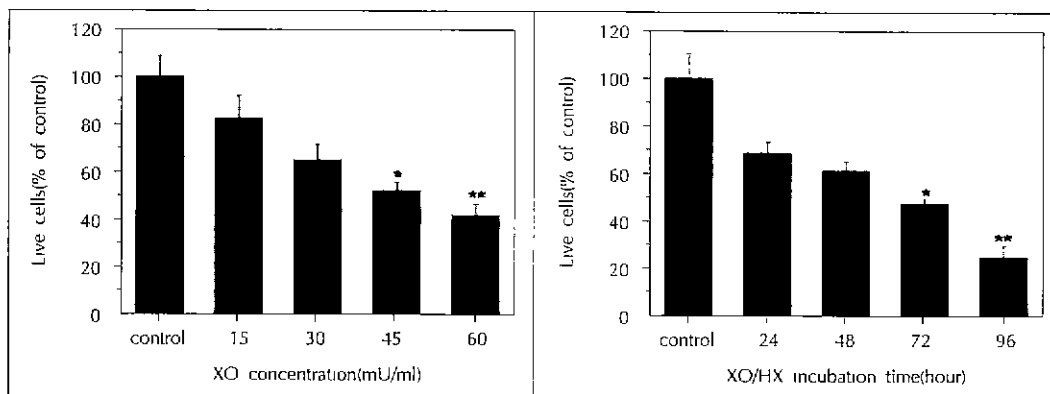


Fig. 1. Dose-dependency of xanthine oxidase(XO)(Left) and time-dependency of xanthine oxidase/hypoxanthine(XO/HX)(Right) for cell viability in cultured mouse myocardial cell. Cell viability was measured by MTT assay and determined as % of control. Cultured mouse myocardial cells were treated with various concentrations of XO for 72 hours and exposed to 45 mU/ml XO and 0.1 mM HX for 24, 48, 72 and 96 hours, respectively. The values are the mean ± SE for 6 experiments. Significant differences from the control are marked with asterisks *p < 0.05 ; **p < 0.01.

XO/HX의 MCV값인 40mU/ml XO/0.1mM HX 농도에
서 72시간 동안 노출시키기 3시간 전에 10~100µg/ml 오
미자 추출물이 각각 포함된 배양액에서 전처리한 후 이의
방어효과를 조사하였다. 그 결과 40mU/ml XO/0.1mM
HX만을 처리한 경우 XO를 처리하지 않은 대조군 100%
(15.8 ± 1.7)에 비하여 251.9%로 나타나 유의한 독성을
나타냈다. 10µg/ml, 25µg/ml 오미자 추출물의 처리에서는
40mU/ml XO만 처리한 군 100.0%(15.8 ± 1.7)에 비하
여 각각 202.0%, 198.0%로 나타나 XO에 의한 LDH 활성
도의 증가를 감소시키는 경향을 나타냈으나 유의성은 보이
지 않았다. 그러나 50µg/ml, 100µg/ml 오미자 추출물의 처
리에서는 각각 141.8%(p < 0.05), 99.2%(p < 0.01)로 유
의한 감소를 나타냈다(Fig. 2의 Right).

3. Beating rate(BR)에 대한 오미자 추출물의 효과

1) Xanthine oxidase/hypoxanthine(XO/HX)의 영향

XO/HX의 농도에 따른 세포의 Beating Rate(BR) 측
정을 위한 조사를 위하여 0.1mM HX에 10~70mU/ml의
XO가 각각 포함된 배양액에서 심근세포를 72시간 동안 처
리한 후 세포의 BR을 대조군과 비교 조사하였다. 그 결과
10mU/ml XO, 20mU/ml XO 처리에서 세포의 BR은 대
조군 100%(126.2 ± 10.8)에 비하여 각각 69.4%(87.6 ±
7.4), 65.1%(82.2 ± 8.2)로 감소하는 경향을 나타냈으나
유의성은 보이지 않았다. 그러나 35mU/ml XO, 70mU/
ml XO 처리에서는 각각 48.2%(60.8 ± 5.4)(p < 0.05),
40.1%(50.6 ± 4.9)(p < 0.01)로 나타나 유의한 감소를 나

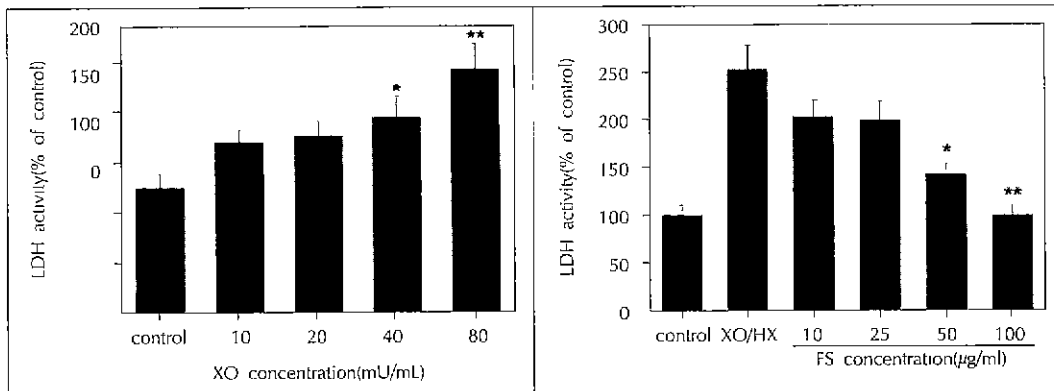


Fig. 2. Dose-dependency of xanthine oxidase(XO) and hypoxanthine(HX)(Left) and Fructus Schisandrae(FS) water extract(Right) for LDH activity in cultured mouse myocardial cells. Cultured mouse myocardial cells were treated with various concentrations of XO with 0.1 mM HX for 72 hours and preincubated with 10, 25, 50 and 100µg/ml FS water extract for 3 hours, after then cultures were exposed to 40 mU/ml XO and 0.1 mM HX for 72 hours. LDH activity was measured at wavelength of 340nm and was determined as % of control. The values are the mean ± SE for 6 experiments. Significant differences from the control are marked with asterisks. *p < 0.05 ; **p < 0.01.

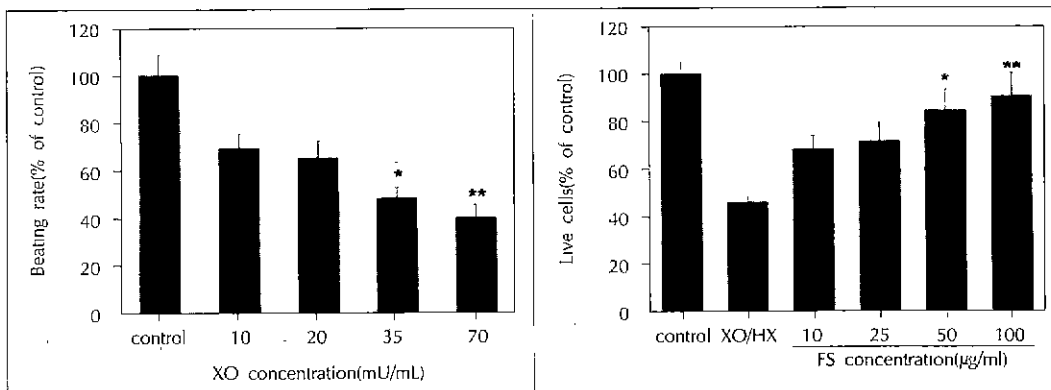


Fig. 3. Dose-dependency of xanthine oxidase(XO) and hypoxanthine(HX)(Left) and Fructus Schisandrae(FS) water extract(Right) for beating rate in cultured mouse myocardial cells. Cultured mouse myocardial cells were treated with various concentrations of XO with 0.1 mM HX for 72 hours and preincubated with 15, 30, 60 and 120µg/ml FS water extract for 3 hours, after then cultures were exposed to 35mU/ml XO and 0.1 mM HX for 72 hours. Beating rate was measured by count of beating number per minute, compared with control and determined as % of control. The values are the mean ± SE for 6 experiments. Significant differences from the control are marked with asterisks. *p < 0.05 ; **p < 0.01.

타냈다. 또한 35mU/ml XO 처리에서 대조군에 비하여 51.8%의 BR 감소율을 보여 MCV값을 나타냈다(Fig. 3의 Left).

2) 오미자 추출물의 효과

배양 심근세포에 대한 XO/HX의 심근독성에 대한 오미자 추출물의 효과를 BR의 측면에서 조사하기 위하여 XO/HX의 MCV값인 35mU/ml XO/0.1mM HX농도에서 72시간 동안 노출시키기 3시간 전에 15~120µg/ml 오미자 추출물이 각각 포함된 배양액에서 전처리한 후 이의 방어효과를 조사하였다. 그 결과 35mU/ml XO만을 처리한 경우 처리하지 않은 대조군 100%(128.4 ± 13.6)에 비하여 46.2%로 나타나 심근세포의 박동이 53.8% 감소함을 나타내 유의한 독성을 나타냈다. 또한 15µg/ml, 30µg/ml 오미자 추출물의 처리군에서는 XO/HX만을 처리한 대조군 100%에 비하여 각각 68.4%, 71.5%로 나타나 증가의 경향을 나타냈으며 60µg/ml, 120µg/ml 오미자 추출물의 처리에서는 XO/HX만을 처리한 대조군 100%에 비하여 각각 84.3% (p < 0.05), 90.2%(p < 0.01)로 나타나 유의한 증기를 나타냈다(Fig. 3의 Right).

산소자유기는 정상상태에서 산화-환원작용이나 사립체의 산화인산화작용에 의하여 소량 형성되며 항산화제인 superoxide dismutase(SOD)나 사립체와 세포질내의 glutathione peroxidase 및 catalase에 의하여 소실되고,¹⁸⁾ 저산소증이나 허혈과 같은 병적인 상태에서 비정상적으로 생성된 산소자유기는 세포막의 지방을 과산화시킬뿐만 아니라 각종 효소나 단백질을 불활성화시킴으로써 세포 및 조직의 손상을 초래하게 된다.¹⁹⁾ 이러한 산소자유기가 심근세포에 독성을 유발한다는 보고¹⁹⁾가 있으며, 산소자유기의 심근세포독성에 대한 한약재의 방어효과를 관찰한 연구보고로 Kim 등,²⁰⁾ Lee 등²¹⁾의 보고가 있다

본 실험에서는 산소자유기의 심근독성효과와 이에 대한 오미자 추출물의 영향을 조사하기 위하여 생쥐에서 순수 분리하여 배양한 심근세포를 배양한 다음 각 농도별로 xanthine oxidase/hypoxanthine(XO/HX)에 의하여 발생하는 H₂O₂에 세포를 72시간 동안 노출시킨 후 XO/HX가 심근세포에 미치는 영향을 MTT assay에 의하여 조사하였다. 그 결과 XO는 배양 심근세포에 처리한 농도에 비하여 이 세포의 생존율을 유의하게 감소시켰다(Fig. 1의 Left). 또한 시간에 따른 XO/HX의 영향을 조사한 결과 시간의존적으로 세포생존율을 억제하였다(Fig. 1의 Right). 이같은 결과는 XO/HX에 의한 H₂O₂가 심근세포에 독성을 나타낸다는 보고¹⁹⁾와 일치하였다. 또한 LDH는 살아있는 세포의

형질막의 손상으로 인하여 누출되는 효소이므로 세포막손상의 지표가 되는 효소이다 이러한 이론을 근거로 XO/HX의 독성에 대한 LDH 활성도를 측정했을 때, XO/HX의 처리 농도에 비례하여 LDH 활성도가 증가를 보여 XO/HX의 독성에 의하여 세포가 손상 받은 것을 증명하고 있다(Fig. 2의 Left). 또한 XO/HX의 심근독성효과에 대한 오미자 추출물의 영향을 LDH 활성도 측면에서 조사한 결과 심근세포에 처리한 농도에 비례하여 LDH 활성도가 감소되는 변화를 보였다(Fig. 2의 Right). 이러한 결과는 XO/HX의 심근독성으로부터 오미자 추출물이 세포의 손상을 방어함에 있어서, 세포의 형질막의 손상을 막아주는 기전을 통해서 방어효과를 나타낸다는 것을 제시하고 있다. 심근세포의 박동에 대한 조사에서는 처리한 농도에 비례하여 심근세포의 박동수가 감소함을 나타냈다(Fig. 3의 Left). 심근세포의 박동은 심장독성을 측정할 수 있는 척도라고 하였다.²²⁾ XO/HX에 의한 심근세포 박동수의 감소는 XO/HX에 의해 유발된 산소자유기가 심근세포에 독성을 나타낸다는 것을 알수 있으며, 이러한 심근세포 박동수의 감소에 대한 오미자 추출물의 방어효과를 조사한 결과 통계적으로 유의하지 않았으나 전 처리한 농도에 비례하여 심근세포의 박동수를 증가시키는 것으로 나타났다(Fig. 3의 Right).

이같은 결과는 아마도 오미자 추출물이 XO/HX으로 손상된 심근세포를 방어하는데 매우 효과적이며 앞으로 오미자의 심근세포에 대한 보호효과의 기전적인 연구와 오미자의 성분내에 대한 분석연구가 필요하리라 사료된다.

결 론

심근손상에 대한 기전과 심근손상에 대한 오미자 추출물의 영향을 조사하기 위하여 생쥐에서 순수분리하여 배양한 심근세포를 배양한 후 Xanthine Oxidase/Hypoxanthine(XO/HX)이 여러 농도로 포함된 배양액에서 세포를 배양하기 전 오미자 추출물을 농도별로 전처리하였다. 이의 방어효과를 보기 위하여 LDH활성도, 심근세포 박동수를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) XO/HX는 농도에 비례하여 심근세포의 생존율을 비롯하여 LDH 활성도의 증가, 심근세포 박동수의 감소를 나타냈다.

2) 오미자 추출물은 XO/HX에 의한 LDH 활성도의 증가를 억제시켰다.

3) 오미자 추출물은 XO/HX에 의한 심근세포 박동수의 감소를 억제하는 효과를 보였다

이상의 결과로부터 XO/HX는 생쥐의 배양 심근세포에 독

성작용을 나타내며, 오미자 추출물이 XO/HX에 의해 유발된 심근독성을 방어하는데 효과적임을 볼 수 있었다.

Literature cited

- 1) Lee SH, Lim YS. Antimicrobial effects of *Schizandra chinensis* extract on pathogenic microorganism. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27(2): 239-243, 1998
- 2) Kang KC, Park JH, Baek SB, Jhin HS, Rhee KS. Optimization of beverage preparation from *Schizandra chinensis* baillon by response surface methodology. *Korean J Food Sci Technol* 24(1): 74-81, 1992
- 3) Ock ES. Effect of *Schizandra chinensis* extract in hyperlipidemic rats. *J Korean Soc Food Nutr* 24(5) 658-662, 1995
- 4) 李時珍. 本草綱目, 北京, 人民衛生出版社, pp.1238-1240, 1982
- 5) 江蘇新醫學院編. 中藥大辭典, 上海, 科學技術出版社, pp.386-389, 1978
- 6) Huang KC. The pharmacology of Chinese Herbs Florida, CRC Press, pp.201-203, 1993
- 7) Tang W, Eisenbrand G. Chinese Drugs of plant Origin. Berlin, Springer-Verlag, pp.903-912, 1992
- 8) Pao TT, Liu KT, Hsu KF, Ung CY. Fructus schizandrae. I. Effect on increased SGPT (serum glutamic pyruvic transaminase) levels in animals caused by hepatotoxic chemical agents. *Natl Med J China*. 54: 275-278, 1974
- 9) Liu GT, Wei HL. Protection by Fructus schizandrea against acetaminophen hepatotoxicity in mice. *Acta Pharm Sin* 1 22: 650-654, 1987
- 10) Maeda S, Sudo K, Aburada M, Ikeya Y, Taguchi H, Yosioka I, Hara-da M. Phamacological studies on Schizandra fruit. I, General pharmacological effects of gomisin A and schisandrin. *Yakugaku Zasshi* 101: 1030-1041, 1981
- 11) Myers ML, Bolli R, Lekich RF, Hartley CJ, Roberts R. Enhancement of recovery of myocardial function by oxygen free radical scavengers after reversible regional ischemia. *Circulation* 72: 915-921, 1985
- 12) Pellegrini-Giampietro DE, Cherici G, Alesiani M, Carla V, Moroni F. Excitatory amino acid release from rat hippocampal slices as a consequence of free-radical formation. *J Neurochem* 51: 1960-1963, 1988
- 13) Pellegrini-Giampietro DE, Cherici G, Alesiani M, Carla V, Moroni F. Excitatory amino acid and free radical formation may cooperate in the genesis of ischemia-induced neuronal damage. *J Neurosci* 10 1035-1041, 1990
- 14) Mayer ML, Westbrook GL. Permeation and block of N-methyl-D-aspartic acid receptor channels by divalent cations in mouse cultured central neurons. *J Physiol* 394 501-527, 1987
- 15) Zeman S, Lioyd C, Meldrum B, Leigh PN. Excitatory amino acids, free radicals and the pathogenesis of motor neuron disease. *Neuropathol Appl Neurobiol* 20 219-231, 1994
- 16) Yamamoto M, Scima T, Uozumi T, Yamada K, Kawasaki T. A possible role of lipid peroxidation in cellular damages caused by cerebral ischemia and protective effect of alpa-tocopherol administration. *Stroke* 14: 977-982, 1983
- 17) Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 65: 55-63, 1983
- 18) Vanucci RC, Vasta F, Vanucci SJ. Cerebral metabolic response of hyperglycemic immature rats to hypoxia-ischemia. *Pediatr Res* 21: 524-529, 1987
- 19) Cao W, Carney JM, Duchon A, Floyd RA, Chevion M. Oxygen free radical involvement in ischemia and reperfusion injury to brain. *Circulation*, pp.233-238, 1988
- 20) Kim HK, Park JS, Kwon KB, Lee HS, Han JH, Park SJ, Ryu DG. Effects of sophorae radix water extract on cultured rat myocardial cells. *J of Korean Oriental Medicine* 20(1) 142-150, 1999
- 21) Lee LC. Effects of Jagamchotang on the cultured rat neonatal myocardial cells. *J of Oriental Physiology* 14(2) 179-187, 1999
- 22) Takahashi K, Fujita T, Mayum T, Hama T, Kish T. Effect of adriamycin on cultured mouse embryo myocardial cells. *Chem Pharm* 35(1): 326-334, 1987