

원저

黃芩藥鍼液이 토끼의 신장절편에서 t-BHP로 유발된 유기양이온의 이동장애에 미치는 影響

조미형 · 장경전

동의대학교 한의과대학 침구경혈학교실

Abstract

Beneficial Effect of *Scutellaria Balicalensis* Georgi Extract ont-Buthylhydroperoxide-Induced Inhibition of Organic Cation in Rabbit Renal Cortical Slices

Mee-hyeong, Jo · Kyung-jeon, Jang

Department of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Dong-Eui University

Objective : This study was undertaken to determine whether *Scutellaria balicalensis* Georgi (SbG) extract exerts the protective effect against oxidant-induced alterations in organic cation transport in the renal proximal tubule.

Methods : Organic cation transport was estimated by examining alterations in tetraethylammonium (TEA) uptake in rabbit renal cortical slices. The slices were treated with 0.2 mM tBHP for 60 min at 37°C. tBHP caused an inhibition in TEA uptake by renal cortical slices. Such an effect was accompanied by depressed Na⁺-K⁺-ATPase activity and ATP depletion. tBHP also induced a significant increase in LDH release.

Results : SbG prevented tBHP-induced inhibition of TEA uptake in a dose-dependent manner at the concentration ranges of 0.05-0.1%. tBHP-induced inhibition of Na⁺-K⁺-ATPase activity and ATP depletion were significantly prevented by 0.05% SbG. tBHP-induced LDH release also was blocked by SbG. tBHP caused a significant increase in lipid peroxidation and its effect was prevented by SbG.

Conclusion : These results suggest that SbG prevents oxidant-induced alterations in organic cation transport in rabbit renal cortical slices. Such protective effects of SbG may be attributed to inhibition of peroxidation of membrane lipid.

Key words : *Scutellaria Balicalensis* Georgi Extract, t-Buthylhydroperoxide, Organic Cation, Rabbit Renal Cortical

- 접수 : 7월 6일 · 수정 : 7월 19일 · 채택 : 7월 21일
· 교신저자 : 장경전, 부산시 부산진구 양정2동 동의대부속한방병원 침구2과 (Tel : 051-850-8612)
E-mail : kjang@demc.or.kr

I. 서론

-腎臟은 濾過 分泌하고, 排便하며, 精을 貯藏하고 施泄하는 作用 등의 内分泌를 包括하는 機能을 하는데, 人體의 體液代謝를 調節하고, 肺와 더불어 協助하여 納氣하며, 生體의 基本物質인 精을 藏하고, 骨과 髓를 主한다.^{1,2)}

-반응성산소기(Reactive oxygen species; ROS)는 細胞膜에 있는 고도의 불포화지방산을 공격하여 지질과산화 반응을 일으키는 요인으로, 이러한 지질과산화 반응의 결과로 생성된 부산물들은 세포의 구성성분인 단백질과 DNA를 손상시켜 세포막구조의 변화, 산소활성의 저하 및 세포의 변이를 초래한다.³⁾

ROS는 老化促進 및 癌誘發 등에 관계할 뿐만 아니라 腎臟에서 炎症性疾患을 포함하는 虛血性 急性腎不全, 항생제나 독성물질에 의한 急性腎不全 및 絲絨體腎炎 등과 같은 여러 急性 및 慢性疾患을 일으키는 원인으로 알려져 있다⁴⁻⁷⁾.

神農本草經⁸⁾에서 治諸熱黃疸, 逐水, 下血閉, 惡瘡疽蝕, 火瘍이라고 수록된 黃芩은 淸熱燥濕, 止血安胎하는 效能이 있어-黃疸, 熱淋, 吐衄, 崩漏, 目赤腫痛, 胎動不安, 癰腫 등을 치료한다⁹⁾.

黃芩藥鍼液(SbG)의 效能에 관한 실험적 연구로 김¹⁰⁾은 황금의 혈관이완효과를, 이 등¹¹⁾은 황금이 면역기능, 미생물증식 및 세균변이에 미치는 영향을, 김 등¹²⁾은 黃芩藥鍼液의 흰쥐肝細胞內的 抗酸化 효능에 관한 연구를 보고하였다.

-이에 黃芩藥鍼液이 근위세뇨관에서 oxidant에 의한 유기양이온의 이동장애를 방지할 수 있는지 살펴보기 위하여 本 실험에서는 tBHP로 유발된 신피질세포의 TEA uptake와 microsome의 Na⁺-K⁺-ATPase 活性度를 측정하여 黃芩藥鍼液이 산

화로 유발된 세포막의 방어효과를 살펴보고, LDH와 脂質過酸化反應을 측정하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

1. 황금약침액 제조

황금 300 g을 분쇄하여 메틸알콜을 가하여 4시간씩 3회 열환류추출하고, 추출액을 감압농축하여 46 g이 되게 하고 이것을 배지에 용해시켜 사용하였다.

2. 신피질절편 제작

몸무게가 1.5~2kg되는 뉴질랜드산 흰 토끼를 희생시킨 후 재빨리 신장을 들어내어 가능한 혈액을 빨리 제거하기 위하여 140mM NaCl, 10mM KCl and 1.5mM CaCl₂로 된 차가운 용액을 즉시 주입하였다. 0.4~0.5 Stadie-Riggs microtome을 사용하여 약 0.4~0.5mm두께의 신피질절편을 준비하여 130mM NaCl, 10mM KCl, 1.5mM CaCl₂, 5mM Na acetate, 5mM glucose and 20mM Tris/HCl (pH 7.4)를 함유한 차가운 Cross-Ta-ggart medium용액에 저장하였다.

3. t-Butylhydroperoxide(tBHP)의 처리

신피질절편을 100%산소를 공급하면서 37℃에서 60분간 Cross-Taggart medium용액에서 0.1 mM tBHP 처리하였다.

4. Tetraethylammonium (TEA) Uptake 의 측정

신피질절편 50mg(wet wt.)을 4ml Cross-Ta-ggart medium용액을 넣은 20ml 비이커에 옮기고, 10μM ¹⁴C-TEA를 함께 배양하였다. 100% 산소를 공급하면서 25℃의-Dubnoff metabolic shaker 안

에서 60분동안 배양시켰다. 배양후 즉시 조직을 들어내어 물기를 닦고 무게를 측정한다. 다음 1N NaOH에 용해시켰다. 이들 용해된 액과 배양용액을 적당량 취하여 aquasol(New England Nuclear)을 함유하고 있는 scintillation병에 피펫으로 따르고, 방사선동위원소의 양을 liquid scintillation counter(Packard Tricarb 300C)로 측정하여 절편내 축적된 TEA uptake를 S/M(Slice/Medium)ratio 즉 용액내의 농도(mole/ml medium)에 대한 조직내 축적된 양(mole/g wet tissue)의 비로 나타내었다.

5. Lactate Dehydrogenase (LDH) 의 측정

LDH 양을 측정하기 위해 신피질절편을 2ml의 중류수에 파쇄시키고, 이 파쇄균질액을 5분동안 1,000rpm으로 원심분리시켰다. 이후 침전물은 버리고 상층액을 이용하였으며, 상층액에서의 LDH 활성도는 LDH 측정 kit(Iatron Lab., Japan)를 사용하여 측정하였다.

6. 脂質過酸化度 測定

-脂質過酸化도는 Uchiyama와 Mihara법¹³⁾에 따라서 MDA의 양을 측정하였다. Oxidant로 처리된腎皮質切片을 차가운 1.15% KCl 용액(5% wt/vol)속에서 破碎한 후 이 破碎 均質液 0.5ml에 1% 磷酸溶液 3ml와 0.6% thiobarbituric acid용액 1ml를 첨가하여 끓는 물에서 45분간 가열하였다. n-butanol 4ml를 첨가하여 완전히 섞은 다음 2,000g에서 20분간 遠心分離한 후 上層液의 吸光度를 535nm와 520nm에서 측정하였다. 그리고 준비해둔 MDA tetraethylacetal표준과 비교하였다.-MDA값은 단백질 1g당 nmoles로 표시하였고, 단백질농도는 Bradford방법¹⁴⁾으로 측정하였다.

7. ATP 함량 측정

ATP함량은 luciferin-luciferase 방법으로 측정

하였다. Oxidant에 노출시킨 후, cell들은 0.5% Triton X-100 500 μ l로 용해시켰고, 0.6M perchloric acid 100 μ l로 산화시킨 후 얼음 위에 놓아두었다. Cell 현탁액은 4mM MgSO₄ (pH 7.4)을 함유한 10mM potassium phosphate buffer로 희석시켰고, 20mg/ml luciferin-luciferase 100 μ l를 10 μ l의 희석액에 첨가하였다. luciferase 활성도는 luminometer(MicroLumat LB96P, Berthold, Germany)로 20초마다 기록하였다. 단백질 함량은 cell 현탁액으로 측정하였다.

8. Na⁺-K⁺-ATPase活性度 測定

Microsome切片을 아무처치를 하지 않은 Control 群(對照群)과-tBHP을 처리한 토끼의 腎皮質 조직으로부터 준비하였다. ATPase의 活性度는 3mM ATP를 포함하고 있는 적절한 용액에 microsome切片을 培養하는 동안 ATP의 加水分解에 의해서 유출된 무기인산(Pi)을 測定하여 결정되었다. 總 ATP의 活性度는 100mM Na⁺, 20mM K⁺, 3mM Mg²⁺, 2mM EDTA 그리고 40mM imidazole로 구성된 용액속에서 측정하였다. Mg²⁺-ATPase 活性度는 總 ATPase 活性度を 측정하는 용액내에서 K⁺를 제외하고 대신 1mM ouabain을 첨가하여 측정하였으며, 總 ATPase 活性도와 Mg²⁺-ATPase 活性도의 차이를 Na⁺-K⁺-ATPase 活性도로 하였다. 37 °C에서 5분동안 前培養한 후에 microsome切片을 첨가하여 반응을 시작하였으며 10분의 培養 後에 冷한 6% perchloric acid를 첨가하여 반응을 정지시켰다. 混合液을 3,500g에서 遠心分離한 후 상층액내의 무기인산의 농도를 Fiske와 Subbarow방법¹⁵⁾으로 측정하였다.

9. 試藥

Thiobarbituric acid와 Tris는 Sigma Chemical(St. Louis, MO)로부터 구입하였다. ¹⁴C-T-

EA와 Aquasol은 New England Nuclear(Boston, MA)로부터 구입하였고, 다른 모든 시약은 가장 높은 등급으로 구입하였다.

10. 統計學的 處理

통계는 평균치 ± 표준오차로 표현하였고 對照群과 實驗群의 平均値는 Student's t-test를 이용하였으며, P 값이 0.05 미만일 때 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

III. 실험 성적

1. 신피질절편에서 TEA 이동의 시간변화

Fig.1은 0.2 mM tBHP가 있을때와 없을때의 신피질절편에서 TEA 이동의 시간에 따른 변화를 표현한 것이다. 이동은 배양후 60분까지 증가하였다. 배양시간이 120분까지 되었을 때는 오히려 60분때와 비슷하였다. 따라서 계속되는 실험에서 60분동안만 이동을 측정하였다. 0.2 mM tBHP를 배양액에 첨가하였을 때 TEA 이동은 20분후부터 유의성있게 감소하였다(Fig.1).

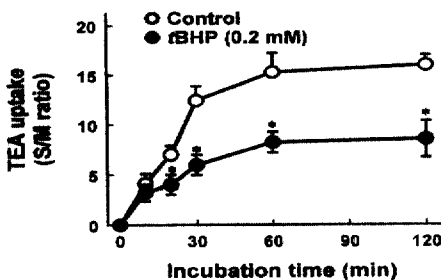


Fig. 1. Time course of TEA uptake in the presence or absence of 0.2 mM tBHP in renal cortical slices. Slices were incubated for 60 min at 37°C. Data are mean ± SE of four experiments. *p<0.05 compared with control.

2. 황금약침액이 TEA 이동에 미치는 영향

황금약침액이 활성산소로 유발된 TEA이동장애에 미치는 영향을 검사하기 위해 0.2 mM tBHP를 처리한 절편에 여러 농도의 황금약침액을 처리하였다. 황금약침액은 0.01%에서 유의성있게 tBHP로 인한 TEA 이동장애를 방어하였고, 0.01~0.1%까지 황금약침액의 방어효과는 농도 의존적으로 높아졌으며, 0.1%에서는 Control과 거의 같았다(Fig.2).

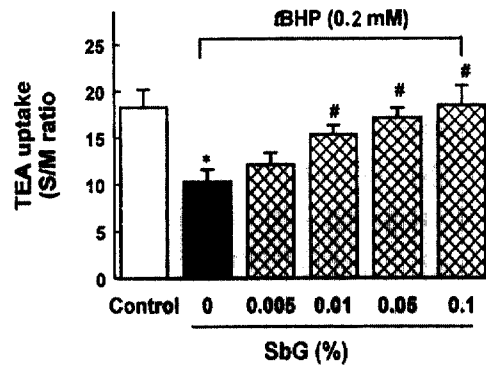


Fig. 2. Effect of *Scutellaria balicalensis* Georgi extract (SbG) extract on oxidant-induced inhibition of TEA uptake in renal cortical slices. Slices were incubated in the presence or absence of 0.2 mM tBHP in a medium containing various concentrations of SbG for 60 min at 37°C. Data are mean ± SE of four experiments. *p<0.05 compared with control; #p<0.05 compared with tBHP alone

3. 황금약침액이 Na⁺-K⁺-ATPase 活性度와 ATP 함량에 미치는 영향

TEA는 근세뇨관의 기저외막에서 능동적으로 이동하기에¹⁶⁾, 황금약침액이 tBHP로 유발된 Na⁺-K⁺-ATPase 活性의 저하와 ATP 소모를 방지할 수 있는지 검사하였다. tBHP는 Na⁺-K⁺-ATPase 活性度를 38.92±4.94에 비해 22.84±2.27 μM Pi/mg/hr로 유의성있게 감소시켰다. 그러나 tBHP가 처리된 절편에 0.05% 황금약침액을 처리한 것은 35.27±0.58 μM Pi/mg/hr로 有意性있게 增加

하였다(Fig.3).

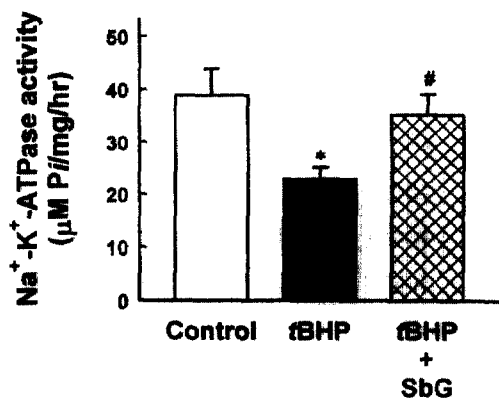


Fig. 3. Effect of *Scutellaria bicalcalensis* Georgi extract (SbG) on oxidant-induced inhibition of Na⁺-K⁺-ATPase activity in microsomal fraction prepared from renal cortical slices. Microsomal fraction was incubated in the presence or absence of 0.05% SBG in a medium containing 0.2 mM tBHP for 60 min at 37°C and then the enzyme activity was measured for 10 min. Data are mean ± SE of four experiments. *p<0.05 compared with control; #p<0.05 compared with tBHP alone.

비슷한 결과가 tBHP로 유발된 ATP 소모에서 관찰되었다. Control에서 ATP함량은 9.48 ± 1.11 nmole/mg protein이었고, 0.2 mM tBHP를 처리한 후 5.27 ± 0.89 nmole/mg protein로 저하되었다. 0.05%황금약침액을 처리한 것은 8.55 ± 0.88nmole/mg protein로 有意性있게 增加하였다(Fig.4).

4. 황금약침액이 LDH유출에 미치는 영향

Fig.5에서 보여지는 바와 같이 0.2 mM tBHP를 처리한 후 LDH유출은 Control에 비해 18.99 ± 2.99 %로 有意性있게 增加하였다. 그러나 0.05 % 황금약침액을 함께 처리한 후 6.28 ± 1.67%로 有意性있게 減少하였다(Fig.5).

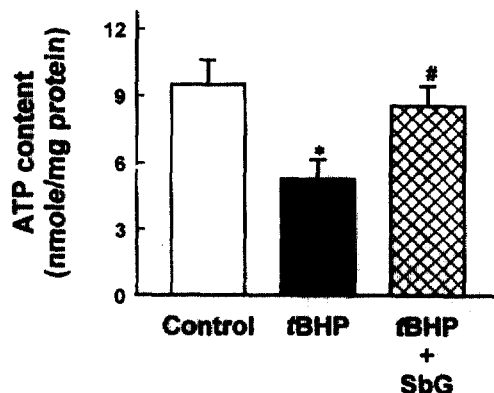


Fig. 4. Effect of *Scutellaria bicalcalensis* Georgi extract (SbG) on oxidant-induced ATP depletion in renal cortical slices. Slices were incubated in the presence or absence of 0.05% SBG in a medium containing 0.2 mM tBHP for 60 min at 37°C and then the enzyme activity was measured. Data are mean ± SE of four experiments. *p<0.05 compared with control; #p<0.05 compared with tBHP alone.

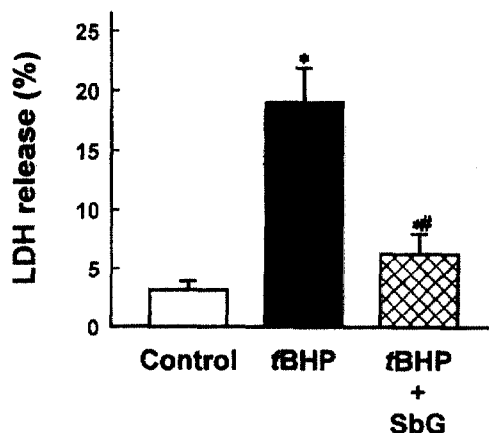


Fig. 5. Effect of *Scutellaria bicalcalensis* Georgi extract (SbG) on oxidant-induced release of lactate dehydrogenase (LDH) in renal cortical slices. Slices were incubated in the presence or absence of 0.05% SBG in a medium containing 0.2 mM tBHP for 60 min at 37°C and then LDH release was measured. Data are mean ± SE of four experiments. *p<0.05 compared with control; #p<0.05 compared with tBHP alone.

5. 황금약침액이 지질과산화에 미치는 영향

Fig.6에서 보여지는 바와 같이 0.2 mM tBHP를 처리한 후 지질의 과산화는 증가하였고, 0.05% 황금약침액을 처리한 후 유의성있게 감소하였다(Fig.6).

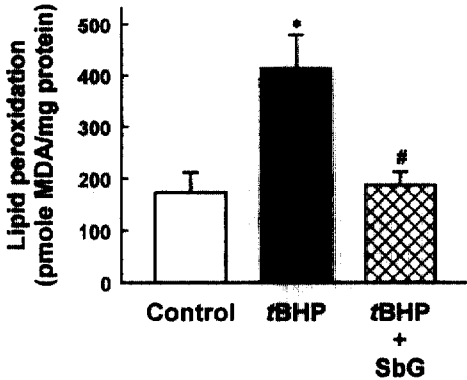


Fig. 6. Effect of *Scutellaria baicalensis* Georgi extract (SbG) on oxidant-induced lipid peroxidation in renal cortical slices. Slices were incubated in the presence or absence of 0.05% SBG in a medium containing 0.2 mM tBHP for 60 min at 37°C and then lipid peroxidation was measured. Data are mean ± SE of four experiments. *p<0.05 compared with control; #p<0.05 compared with tBHP alone.

IV. 고 찰

황금(*Scutellaria baicalensis* Georgi)은 꿀풀(脣形)과에 속한 다년생 초본식물로서 性은 寒無毒. 味苦하고. 心. 肺. 脾. 胃. 肝. 大腸. 小腸에 歸經하며. 淸熱燥濕. 止血安胎. 瀉火解毒하는 效能이 있어 黃疸. 熱淋. 吐衄. 崩漏. 目赤腫痛. 胎動不安. 癰腫 등을 치료한다⁹⁾. 주요성분으로 baicalin, baicein, woogonin, woogonoside, β-sitosterol 등이 함유되어 있으며¹⁷⁾. 혈당 상승작용과 혈압 강하작용. 해열. 해독. 항균작용. 항알레르기. 이완작용. 모세혈관

투과성 억제작용. 지질대사 개선작용. 이뇨작용. 항암작용 등이 보고되었다^{10-11.18-20)}.

Free radical說은 1956년 Harman에 의해 처음 제안된 理論으로. 抗酸化機能이 나이가 많아짐에 따라 減少되는 반면 活性酸素과 같은 free radical은 體內에 축적되어 細胞와 組織을 파괴시키고 여러 가지 退行性疾患을 유발시키면 生體의 機能을 弱화 시킴으로써 老化가 발생한다는 學說이다.^{21.22)}

Free radical이란 化學的으로 最외각 전자껍데에 雙을 이루고 있지 않은 전자를 지닌 원자나 분자를 의미하는데 이들은 쌍을 이루고 있지 않은 전자를 잃거나 혹은 주위로부터 전자를 얻어서 보다 안정된 상태로 가려는 性質을 가지고 있기 때문에 불안정하다. 따라서 주위의 화합물과 쉽게 반응하여 전자를 잃거나 얻기 때문에 높은 反應性을 갖는다.²³⁾

ROS는 藥物이나 放射線과 같은 外部要因에 의하여 發生하기도 하고 生體內에서 細胞의 정상적인 代謝過程 중에 발생하기도 하는데 그 例로 미토콘드리아의 전자전달계. peroxisome의 지방산대사과정. cytochrome p-450반응 그리고 포식세포들에 의한 respiratory burst과정 등을 들 수 있다.^{2.24.25)}

本 實驗에서는 oxidant에 의한 細胞損傷研究에 많이 이용되고 있는 藥物모델인 tBHP를 이용하여 細胞損傷을 유발한 다음 LDH release. TEA uptake. MDA의 量 및 Na⁺-K⁺-ATPase의 변화를 측정한 후 황금약침액 투여 후의 변화를 관찰하였다.

tBHP는 tert-Butylhydroperoxide(C4H10O2)로서 중합반응을 일으키는 촉매로 작용하며. radical의 치환반응을 일으키는 peroxy group의 산화제로 널리 사용되고 있는 약물이다²⁶⁾.

일반적으로 배양세포에 대한 tBHP의 毒性은 急性 oxidative stress로 인한 細胞의 비가역적인 손상에 관하여 기전 연구의 모델로서 자주 사용되어 왔다. 細胞內에서 tBHP의 작용은 다양하지만 특히

1mM이하의 저농도에서 유발되는 培養腎細胞의 피사기전에는 세포기질의 過酸化反應이 수반된다고 알려져 있다^{27,28)}.

TEA는 腎臟의 近位細尿管에서 능동적으로 분비되는 유기 음이온성물질로서 신장조직의 기능적 변화를 볼 때 많이 이용하게 되는데 腎臟을 통과하면서 얼마나 배설되었는지를 보아서 slice에서의 uptake 增加는 腎細胞의 排泄量 增加로 인식되어진다. 특히 Kluwe는 腎皮質切片에서 이들 이온들의 移動變化가 腎臟의 機能的 損傷 정도를 판단하는데 가장 銳敏한 방법임을 보고하였다.²⁹⁾

細胞膜을 구성하는 불포화지방산은 직접적으로 또는 간접적으로 과산화과정을 통해 분해되어 결과적으로 MDA를 形成하게 된다. 이 物質은 蛋白質의 제 1차 아미노그룹과 격렬하게 반응할 수 있기 때문에 細胞膜에 결합된 酵素의 活性度를 떨어뜨리거나 脂質層의 단단한 堅固性을 增加시키며 老衰함에 따라 많은 호르몬수용複合體의 活性度를 떨어뜨린다³⁰⁾.

$Na^+-K^+-ATPase$ 는 Na -pump의 중요한 일부분으로서 모든 종류의 細胞에 존재하여 여러 가지 細胞의 機能을 調節하게 되는데 단순히 細胞内外의 이온분포를 조절하는 것 이외에도 神經의 傳導活動, 心臟의 活動, 筋肉收縮 그리고 여러 上皮組織에서 物質의 分泌 및 再吸收 등 여러 가지 生理현상에 관여한다³¹⁾.

본 연구에서 0.2 mM tBHP 는 토끼의 신피질절편에서 TEA 이동을 현저하게 억제하였다(Fig. 1). TEA는 신장의 근위세뇨관의 기저외막에서 능동적으로 이동되므로^{16,33)}, 따라서 세포의 ATP 함량과 $Na^+-K^+-ATPase$ 활성의 변화는 신피질절편의 TEA 이동에 영향을 미친다. 본 연구에서 tBHP는 ATP를 소모시켰고, $Na^+-K^+-ATPase$ 활성을 억제시켰다(Fig. 3 and 4). 이러한 결과는 tBHP가 신피질절편에서 억제된 $Na^+-K^+-ATPase$ 활성과

ATP 소모로 인해 TEA 이동을 억제시킨다는 것을 보여준다. 그러나 tBHP는 TEA이동과는 반대로 LDH유출을 현저하게 증가시키는데(Fig. 5). 이는 tBHP로 인한 TEA 이동의 억제가 일정부분 세포사망에 기여하는 것을 보여준다.

황금약침액은 0.05~0.1% 농도에서 tBHP로 인한 TEA이동의 억제에 농도의존적으로 방어효과를 보여주었다(Fig. 2). 그러한 방어효과는 tBHP로 인한 ATP소모, $Na^+-K^+-ATPase$ 활성 억제, 그리고 LDH 유출에 모두 나타났다.-

tBHP로 인한 신피질절편의 TEA이동과 LDH 유출의 기전은 명확하지 않다.

본 연구에서, tBHP는 현저하게 지질과산화를 증가시켰고(Fig. 6). 지질과산화는 tBHP로 인한 신장 세포손상에 중요한 역할을 한다고 생각되고, 황금약침액은 현저하게 tBHP로 유발된 지질과산화를 감소시켰다. 따라서 tBHP로 유발된 TEA의 이동억제에 대해서 황금약침액의 효과는 산화방지효과에 의한 것으로 생각된다. 그러나, 황금약침액의 산화방지효과에 대한 정확한 기전은 좀더 연구되어야 할 것으로 보인다.

V. 결론

黃芩藥鍼液이 腎臟의 近位細尿管에서 t-BHP로 유발된 유기양이온의 이동장애에 미치는 영향을 연구하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 0.2mM tBHP를 배양액에 첨가하였을 때 TEA 이동은 20분후부터 유의성있게 감소하였다.
2. tBHP에 의한 TEA 이동장애는 0.01~0.1% 황금약침액에서 有意性있게 방어하였다.
3. tBHP에 의한 ATP함량과 $Na^+-K^+-ATPase$ 活性度 減少는 0.05% 濃度에서 모두 有意性있게

增加하였다.

4. tBHP에 의한 LDH流出 增加는 0.05% 濃度에서 有意性있게 減少하였다.

5. tBHP에 의한 지질과산화는 0.05% 濃度에서 有意性있게 減少하였다.

V. 참고문헌

1. 杜鎬京. 臨床腎系學研究. 서울:成輔社. 1995:191-192, 195-196, 293-297.
2. 杜鎬京. 東醫腎系內科學. 서울:東洋醫學研究院. 1989:5-8, 425-427, 437.
3. Hatano. T., Kagawa. H., Yasuhara. T., Okuda. T.: Two new flavonoid and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects. Chem.Pharm.Bull. 1988:36:2090-2097.
4. Floyd RA. Role of oxygen free radical in carcinogenesis and brain ischemia. FA-SEB J. 1990;4:2587-2597.
5. Baud. L.. and Ardaillou. R., Reactive oxygen species : production and role in the kidney. Am.J.Physiol. 1986:251: F765-F776.
6. Diamond. J.R., Bonventre. J.V., and Karnovsky. M.J. A role for oxygen free radicals in aminonucleoside nephrosis. Kidney Int. 1986:29: 478-483.
7. Johnson. K.J.,-and Weinberg. J.M. Post-ischemic renal injury due to oxygen radicals. Curr.Opin.Nephrol.Hypertens. 1993;2:625-635.
8. 馬繼興 主編. 神農本草經輯注. 北京:人民衛生出版社. 1995:215-216.
9. 辛民教 編著. 原色臨床本草學. 서울:泳林出版社. 1988:308-310.
10. 金昊顯. 황금의 혈관이완효과에 대한 기전. 한의학연구소 논문집. 1998:55-70.
11. 이정호.신숙정.문용. 황금 추출물이 면역기능, 미생물증식 및 세균변이에 미치는 영향. 대한면역학회지. 1998:20:343-348.
12. 金性逸, 都垣錫, 金甲成. 黃芩藥液의 흰쥐 肝細胞內的 抗酸化效能에 관한 연구. 침구학회지 1997 :16(1).
13. Uchiyama M. and Mihara M.: Determination of malonaldehyde precursor in tissue by thiobarbituric acid test. Anal. Biochem. 1987;86:271-278.
14. Bradford M. M.: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dry binding. Anal. Biochem. 1976;72:248-254.
15. Fiske C.H., Subbarow.Y. The colorimetric determination of phosphorus J. Biol. Chem. 1925;66:375-400.
16. Holm J: In vitro studies on the uptake of 14C-labelled tetraethylammonium in mouse kidney. Acta Pharmacol Toxicol. 1972;31:129-137.
17. 이상인, 안덕균. 본초학. 서울:영림사. 1992 :178.
18. 이상인, 안덕균, 신민교, 노승현, 이영중, 김선희. 한약임상응용. 서울:성보사. 1990:114-116.
19. Kubo M. Kimura Y. Odani T. Tani T. Namba K. Studies on Scutellariae radix. Part II: The antibacterial substance.

- Planta Med 1981;43(2):194-201.
20. Kimuya Y, Kubo M, Tani T, Arichi S, Okuda H. Studies on Scutellariae Radix. IV. Effects on lipid peroxidation in rat liver. Chem Pharm Bull (Tokyo) 1981 ;29(9):2610-7.
 21. Cutler. R., G. : Antioxidant aging and longevity. Free Radicals--in Biology. Academic Press. 1984:371-424.
 22. Feher. J., Csomos G., Verekei. A. : The free radical theory of aging. free radical reaction in medicine. springer verlage. Berline. 1987:57-59.
 23. Oyanagui. Y. : SOD and active oxygen moduiater. Nihon Jagkuan Tokyo. 1989 :17-36.
 24. Reiter RJ. Oxidative processes and antioxidative defense mechanism in the againg brain. FASEB J. 1995;9:5 26-533.
 25. Halliwell B and Gutteridge JMC and Cross CE.: Free radicals. antioxidants and human disease. Where are we now? J Lab Clin-Med. 1992;119:59 8-620.
 26. Susan Budavari., Mereck Index twelfth edition. Merck& Co. Inc., New Jersey. 1996:259.
 27. Schnellmann RG : Mechansims of t-butylhydroperoxide-induced toxicity to rabbit renal proximal tubules. Am J Physiol. 1988;255:C28-C33.
 28. Clarkson. T. W., "the pharmacology of mercury compounds". Annual Review of pharmacology Vol. 12. ed. H. W. Elliott. R. Okun and R. George. California:Annual Review INC., 1972:375-406.
 29. 黃樹寬, 全世烈, 생리학. 서울:광문각. 19 93:246.
 30. 문진영, 최미정, 남경수, 임종국, 柴胡가 free radical에 의한 지질과산화물 생성에 미치는 영향. 東國論集 自然科學編. 1996;15:36 1-375.
 31. 李炳熙, 生理學. 서울:신광출판사. 1987:78.
 32. Hohage H, Morth DM, Querl IU and Grefen J: Regulation by protein kinase C of the contraluminal transport system for organic cations in rabbit kidney S2 proximal tubules. J Pharmacol Exp Ther. 1994;268: 897-901.