

원저

黃芩藥鍼液이 腎臟組織에서 Oxidant에 의한 細胞損傷에 미치는 影響

허경미 · 송춘호

동의대학교 한의과대학 경혈학교실

Abstract

Effect of *Scutellaria baicalensis* Georgi Aquacupuncture on Oxidant-induced Cell Injury in Renal Cortical Slices

Heo, Kyoung-Mee · Song, Choon-Ho

Department of AM-Meridian & Pointology, College of Oriental Medical, Dong-Eui University

Objective : This study was undertaken to determine if *Scutellaria baicalensis* Georgi (SbG) extract exerts protective effect against oxidant-induced cell injury in renal proximal tubular cells.

Methods : The cell injury was evaluated by lactate dehydrogenase (LDH) release in rabbit renal cortical slices and lipid peroxidation was estimated by measuring malondialdehyde (MDA). t-Bu-tylhydroperoxide (tBHP) was used as a model of oxidant.

Results : tBHP at 1 mM increased LDH release and lipid peroxidation, which were prevented by SbG in a dose dependent manner over concentration range of 0.001-0.1%. SbG provided the protective effect against oxidant-induced reduction in PAH uptake by renal cortical slices and microsomal Na⁺-K⁺-ATPase activity. SbG attenuated tBHP-induced depletion of reduced glutathione. 0.2 mM HgCl₂ increased LDH release and lipid peroxidation, which were completely prevented by 0.05% SbG.

Conclusion : SbG prevents oxidant-induced impairment in membrane transport function.

Key words : *Scutellaria baicalensis* Georgi, LDH, MDA, t-butylhydroperoxide, Na⁺-K⁺-ATPase activity, HgCl₂

·접수 : 3월 6일 ·수정 : 3월 15일 ·채택 : 3월 21일

·교신저자 : 송춘호, 부산시 부산진구 양정2동 산45 동의대학교 한의과대학 경혈학교실(TEL.051-850-8643)

E-mail : chsong@dongeui.ac.kr

과를 얻었기에 보고하는 바이다.

I. 서론

活性酸素基(reactive oxygen species)는 細胞膜에 있는 고도의 不飽和脂肪酸를 공격하여 脂質過酸化反應을 일으키는 요인으로, 이러한 脂質過酸化反應의 결과로 생성된 副産物들은 세포의 구성성분인 蛋白質과 DNA를 손상시켜 細胞膜構造의 變化, 酸素活性의 低下 및 細胞의 變異를 초래한다.¹⁾

活性酸素基는 老化促進 및 癌誘發 등에 관계할 뿐만 아니라²⁾ 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 있다.³⁻⁶⁾

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 치료한다.⁷⁾

黃芩藥液(SbG)의 效能에 관한 실험적 연구로 金 등⁸⁾은 黃芩藥液의 흰쥐肝細胞內的 抗酸化효능에 관한 연구를 보고하였다.

抗酸化에 대한 현재까지의 연구방향은 細胞膜의 물리적인 파괴로 인한 LDH의 流出過程에 초점을 두어왔다. 그러나 本 論文에서는 細胞膜의 物理的인 파괴 뿐만 아니라 機能的인 파괴에도 중점을 두어 tBHP로 유발된 腎細胞의 PAH uptake와 microsome의 $Na^+-K^+-ATPase$ 活性度を 측정하여 黃芩藥液이 酸化로 유발된 細胞膜의 物理的 그리고 機能的인 파괴에도 防禦的인 역할을 담당할 것으로 보았다.

따라서 黃芩藥液이 活性酸素基에 의해 유발된 腎細胞缺陷에 대하여 유익한 영향을 미칠 것이라는 판단하에 細胞損傷은 LDH와 PAH uptake 및 $Na^+-K^+-ATPase$ 活性度を 측정하고, 脂質過酸化反應은 脂質過酸化産物인 MDA를 측정하여 유의한 결

II. 실험재료 및 방법

1. 藥材

市中에서 구입하여 동의대학교 한의과대학 본초 학교실의 檢證을 받은 黃芩(Scutellaria baicalensis Georgi) 300g에 methyl alcohol을 加한 후 약 3 시간 동안 煎湯을하여 남은 총량이 46g이 되게 하였다.

2. 腎皮質切片의 製作

토끼를 犧牲시킨 후 腎臟을 들어내어 가능한 한 血液을 빨리 제거하기 위하여 140mM NaCl, 10mM KCl, 1.5mM $CaCl_2$ 로 된 차가운 용액을 즉시 주입하였다.

Stadie-Riggs microtome으로 약 0.4~0.5mM 두께의 腎皮質切片을 준비하여 130mM NaCl, 10mM KCl, 1.5mM $CaCl_2$ 와 20mM Tri/HCl를 함유한 차가운 Cross-Taggart 용액에 저장하였다.

3. 腎皮質切片에서 LDH의 活性 測定

LDH量을 측정하기 위하여 腎皮質切片을 2ml 의 증류수에 破碎시키고 이 破碎均質液을 5분동안 1,000 rpm으로 원심분리시켰다. 이후 침전물은 버리고 상층액을 이용하였으며 상층액에서의 LDH 活性도는 LDH 測定 kit를 이용하여 측정하였다.

4. 腎皮質切片에서의 PAH Uptake 測定

동물을 犧牲시킨 후 腎臟을 빨리 들어내어 切片을 준비한 후 組織切片50mg을 $75 \mu M$ ^{14}C -PAH를 함유하고 있는 5mM Na^+ acetate에 중화된 Cr-

oss-Taggart 溶液 4ml에 배양하였다. 100% 산소를 공급하면서 25°C의 Dubnoff metabolic 溶液 안에서 60분동안 배양시켰다. 培養後에 즉시組織을 들어내어 물기를 닦고 무게를 측정한다. 다음 1N NaOH에 溶解시켰다. 이들 溶解된 액과 培養溶液을 適當量 取하여 aquasol을 함유하고 있는 scintillation 瓶에 피펫으로 따르고, 放射線同位元素의 量을 scintillation counter로 測定하여 切片內 蓄積된 ^{14}C -PAH의 量을 S/M(Slice/Medium) ratio 즉, 溶液內의 濃도에 대한 組織內 蓄積된 量의 比로 나타내었다.

5. 脂質過酸化度 測定

脂質過酸化度は Uchiyama와 Mihara법⁹⁾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 acid 용액 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 tetraethylacetal 표준과 비교하였다. MDA값은 단백질 1g당 n moles로 표시하였고, 단백질농도는 Bradford방법¹⁰⁾으로 측정하였다.

6. $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活性度 測定

Microsome切片을 對照群과 Glycerol로 처리된 토끼의 腎皮質組織으로부터 준비하였다. ATPase의 活性度は 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 活性度は 100mM Na^+ , 20mM K^+ , 3mM Mg^{2+} , 2mM EDTA 그리고

40mM imidazole로 구성된 용액속에서 측정하였다. $\text{mg}^{2+} - \text{ATPase}$ 活性度は 總 ATPase 活性度を 측정하는 용액내에서 K^+ 를 제외하고 대신 1mM ouabain을 첨가하여 측정하였으며, 總 ATPase 活性도와 $\text{mg}^{2+} - \text{ATPase}$ 活性度の 차이를 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活性度로 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 3,500 g에서 遠心分離한 후 상층액내의 무기인산의 농도를 Fiske와 Subbarow방법¹¹⁾으로 측정하였다.

7. 試藥

^{14}C -PAH는 Amersham International로부터 구입하였고, 다른 모든 시약은 가장 높은 등급으로 구입하였다.

8. 統計學的 處理

통계는 평균치±표준오차로 표현하였고 各 群의 平均値는 Student's t-test를 이용하였으며 P 값이 0.05 미만일 때 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

III. 실험성적

1. LDH流出的 變化에 미치는 影響

腎皮質切片에서의 LDH流出은 1mM tBHP 처리 전 $3.92 \pm 0.53\%$ 였고, 처리 후 $12.08 \pm 1.05\%$ 로 증가하였으나, 0.001~0.05% SbG에서 LDH流出은 減少하는 경향을 보였으나 有意性은 없었고, 0.1% SbG에서는 tBHP 처리 전보다 有意性있게 減少하였다(Fig. 1).

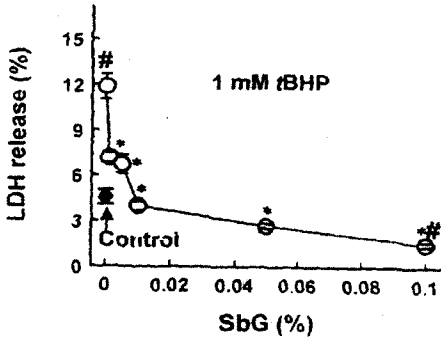


Fig. 1. Effect of *Scutellaria baicalensis* Georgi acupuncture (SbG) on t-butylhydroperoxide (tBHP)-induced lactate dehydrogenase (LDH) release in rabbit renal cortical slices. Slices were treated with 1mM tBHP for 60 min in the presence or absence of 0.001~0.1% SbG, and then LDH release was measured. Data are mean±SE of four experiments. *p<0.05 compared with tBHP alone, #p<0.05 compared with control.

2. MDA量의 變化에 미치는 影響

MDA量은 1mM tBHP 처리 전 254±38.41 pmole MDA/mg protein 이었고, 처리 후 516.75±47.98 pmole MDA/mg protein으로 증가 하였으나, 0.05%와 0.1% SbG에서는 171.02±24.85와 158.37±38.67 pmole MDA/mg protein으로 모두 有意性있게 減少하였다(Fig. 2).

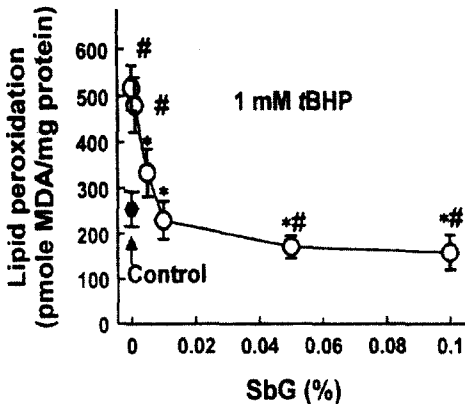


Fig. 2. Effect of *Scutellaria baicalensis* Georgi acupuncture (SbG) on t-butylhydroperoxide (tBHP)-induced lipid peroxidation in rabbit renal cortical slices. Slices were treated with 1mM tBHP for 60 min in the presence or absence of 0.001~0.1% SbG, and then lipid peroxidation was measured. Data are mean±SE of four experiments. *p<0.05 compared with tBHP alone, #p<0.05 compared with control.

3. PAH Uptake 와 Na⁺-K⁺-ATPase 活性 度에 미치는 影響

1mM tBHP 처리 전 PAH uptake S/M 比率은 15.36±1.69이었고, 처리 후 7.32±1.21로 減少하였으나, 0.05% SbG에서 13.28±2.98로 有意性있게 增加하였다. 또 0.05% SbG에서 tBHP로 인해 유발된 Na⁺-K⁺-ATPase 活性度의 減少가 有意性있게 增加하였다(Fig. 3,4).

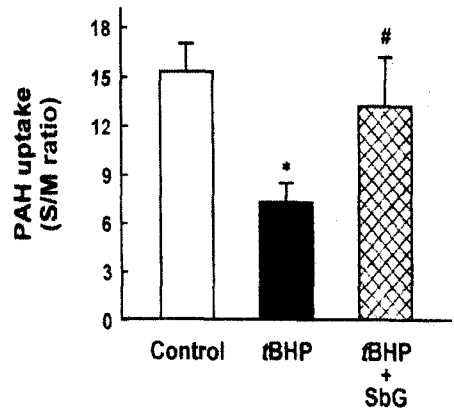


Fig. 3. Effect of *Scutellaria baicalensis* Georgi acupuncture (SbG) on t-butylhydroperoxide (tBHP)-induced inhibition of p-aminhippurate (PAH) uptake in rabbit renal cortical slices. Slices were treated with 1mM tBHP for 60min in the presence or absence of 0.05% SbG, and then PAH uptake was measured. Data are mean±SE of four experiments. *p<0.05 compared with control, #p<0.05 compared with tBHP alone.

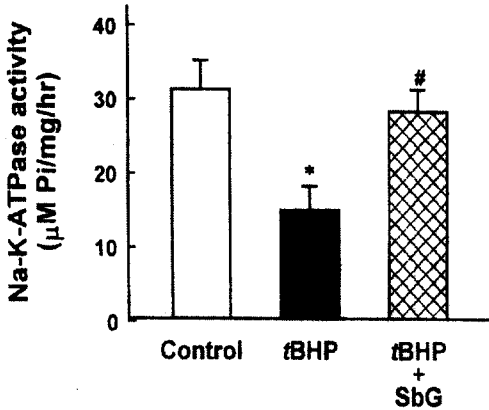


Fig. 4. Effect of *Scutellaria baicalensis* Georgi aquacupuncture (SbG) on t-butylhydroperoxide (tBHP)-induced inhibition of Na-K-ATPase activity in microsomal fraction prepared from rabbit renal cortical slices. Slices were treated with 1mM tBHP for 60 min in the presence or absence of 0.05% SbG, and microsomal fraction was prepared. Data are mean±SE of four experiments. *p<0.05 compared with control, #p<0.05 compared with tBHP alone.

4. tBHP로誘發된 GSH의減少에 미치는影響

1mM tBHP tBHP 처리 전 2.26±0.20 µmole/g wet wt.이었고, tBHP 처리 후 0.64±0.06 µmole/g wet wt.로減少하였으나, 0.05% SbG에서 1.96±0.10 µmole/g wet wt.로有意性있게增加하였다(Fig. 5).

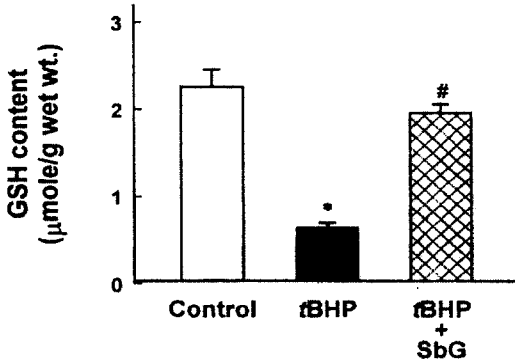


Fig. 5. Effect of *Scutellaria baicalensis* G-eorgi aqua-

cupuncture (SbG) on t-butylhydroperoxide (tBHP)-induced depletion of reduced glutathione (GSH) in rabbit renal cortical slices. Slices were treated with 1mM tBHP for 60 min in the presence or absence of 0.05% SbG, and then GSH content was measured. Data are mean±SE of four experiments. *p<0.05 compared with control, #p<0.05 compared with tBHP alone.

5. 水銀으로誘發된細胞損傷에 미치는影響

LDH流出은 0.2mM HgCl₂로 처리 전 3.25±0.60%에서 처리 후 22.84±1.42%로增加하였고, 0.05% SbG에서 LDH流出은 4.88±0.68%로有意性있게減少하였다. 그리고 HgCl₂로 유발된脂質過酸化反應에서 MDA量的增加는 SbG에 의해有意性있게減少하였다(Fig. 6,7).

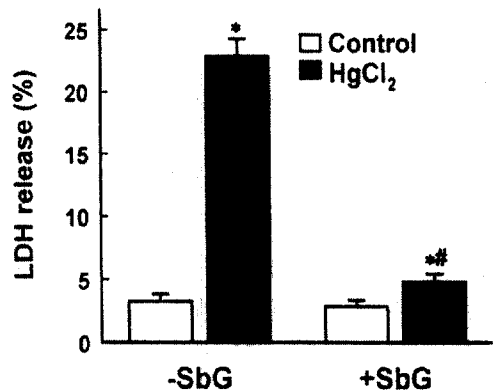


Fig. 6. Effect of *Scutellaria baicalensis* Georgi aquacupuncture (SbG) on HgCl₂-induced lactate dehydrogenase (LDH) release in rabbit renal cortical slices. Slices were treated with 0.2mM HgCl₂ for 60 min in the presence or absence of 0.001-0.1% SbG, and then LDH release was measured. Data are mean±SE of four experiments. *p<0.05 compared with control, #p<0.05 compared with HgCl₂ alone.

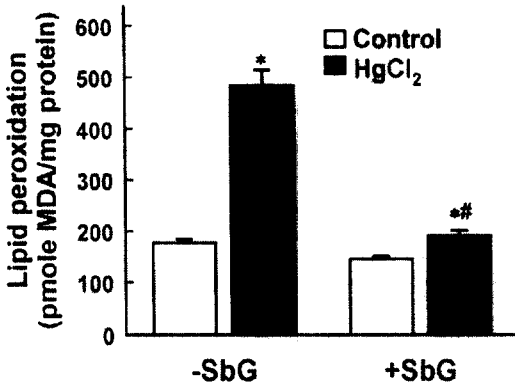


Fig. 7. Effect of *Scutellaria baicalensis* Georgi aqua-cupuncture (SbG) on HgCl₂-induced lipid peroxidation in rabbit renal cortical slices. Slices were treated with 0.2mM HgCl₂ for 60 min in the presence or absence of 0.001~0.1% SbG, and then lipid peroxidation was measured. Data are mean±SE of four experiments. *p<0.05 compared with control, #p<0.05 compared with HgCl₂ alone.

IV. 고찰

老化현상을 설명하기 위한 여러 學說 中 최근 주목받고 있는 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화시킴으로써 老化가 발생한다는 學說이다.^{12,13)} Free radical이란 化學적으로 最외각 전자궤도에 雙을 이루고 있지 않은 전자를 지닌 원자나 분자를 의미하는데 이들은 이 쌍을 이루고 있지 않은 전자를 잃거나 혹은 주위로부터 전자하나를 더 얻어 보다 안정된 상태로 가려는 性質을 가지고 있기 때문에 불안정하다. 따라서 주위의 化合物과 쉽게 반응하여 전자를 잃거나 얻으려하기 때문에 높은 反應性을 갖는다.¹⁴⁾

活性酸素基는 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 예로 미토콘드리아의 전자전달계, peroxisome의 지방산 대사과정, cytochrome p-450반응 그리고 포식세포들에 의한 respiratory burst과정 등을 들 수 있다.^{2,15,16)}

活性酸素基가 細胞損傷을 일으키는 기전 중의 하나는 脂質의 過酸化이기 때문에 일반적으로 脂質의 過酸化정도를 측정하여 細胞損傷이 酸化劑로 인하여 유발되었는지를 확인하고 있으며 生體 細胞膜들은 不飽和脂肪酸을 많이 함유하고 있기 때문에 free radical의 공격을 쉽게 받게된다.¹⁷⁾ 따라서 活性酸素基와 脂質過酸化反應은 細胞膜 뿐만 아니라 Na⁺-K⁺-ATPase 같은 基礎蛋白質의 機能에도 영향을 미친다.¹⁸⁾

人體 內에도 이러한 活性酸素基의 毒性으로부터 組織을 보호하고 恒常性을 유지하려는 防禦役割의 抗酸化界가 존재하는데 superoxide dismutase, catalase, glutathione, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione s-transferase, protein bound SH, nonprotein bound SH, 비타민 E 등이 이에 해당된다.^{19,20)}

過酸化脂質은 細胞膜을 통해 몸 안의 어디든 갈 수 있기 때문에 위험하고 細胞膜의 過酸化는 細胞膜의 透過性을 變化시키고 物質移動界에 관여하는 蛋白質의 機能을 阻害하기 때문에 細胞損傷의 중요한 원인으로 인정되고 있다.^{21,22)}

本 實驗에서는 oxidant에 의한 細胞損傷研究에 많이 이용되고 있는 藥物모델인 tBHP와 HgCl₂를 이용하여 細胞損傷을 유발한 다음 LDH realease, PAH uptake, MDA의 量 및 Na⁺-K⁺-ATPase의 變化를 측정한 후 SbG 투여 후의 變化를 관찰하였다.

일반적으로 배양세포에 대한 tBHP의 毒性은 急性 oxidative stress로 인한 細胞의 비가역적인 손

상에 관하여 기전 연구의 모델로서 자주 사용되어 왔다. 細胞 內에서 tBHP의 작용은 다양하지만 특히 1mM이하의 저농도에서 유발되는 培養腎細胞의 괴사기전에는 세포기질의 過酸化反應이 수반된다고 알려져 있다.^{23,24)}

그리고 水銀은 우리 몸의 여러 기관에서 강력한 毒性效果를 나타내는 것으로 알려져 있으며 이러한 作用은 水銀이 sulfhydryl group과 反應하여 free sulfhydryl group들을 減少시키는 效果를 가지고 있기 때문에 認定되고 있다. 體內에 들어온 水銀은 대부분 腎臟을 통하여 排泄되기 때문에 水銀에 대한 대부분의 研究들은 腎臟組織에 축적되는 기전과 腎臟組織의 損傷에 대한 문제 등에 집중되어 왔다. 따라서 水銀中毒은 毒性物質에 의한 急性腎不全의 실험모델로 많이 이용되고 있다.^{24~28)}

PAH는 腎臟의 近位尿管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 不飽和脂肪酸은 直接的으로 또는 間接的으로 過酸化過程을 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도를 떨어뜨리거나 脂質層의 단단한 堅固性を 增加시키며 老衰함에 따라 많은 호르몬수용 複合體의 活性도를 떨어뜨린다.³⁰⁾

$Na^+ - K^+ - ATPase$ 는 Na-pump의 중요한 일부분으로서 모든 종류의 細胞에 존재하여 여러 가지 細胞의 機能을 調節하게 되는데 단순히 細胞內外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 參與한다.³¹⁾

小柴胡湯, 三黃瀉心湯 및 黃連解毒湯 등에 主要構成藥物로서 사용되는 黃芩은 治壯熱, 煩渴, 肺熱咳嗽, 濕熱瀉痢하는 效능을 지니고 있다.⁷⁾ 黃芩은 baicalin, baicalein, wogonoside 등을 함유하고 解熱作用이 있으며 또한 血管을 직접 擴張하여 降壓하는 동시에 毛細血管의 透過性を 強化시키는 作用이 있으므로 止血作用도 있고 鎮靜作用도 있으며, 性味が 苦寒하여 瀉火解毒, 清熱燥濕, 安胎作用 등이 있다.³²⁾

黃芩의 效能에 관한 實驗의 연구로 신 등³³⁾은 黃芩의 瀉火解毒하는 效能에 착안하여 실험동물에서 galactose로 유발된 水晶體의 白內障에 미치는 영향과 streptozotocin으로 유발된 糖尿病의 sorbitol含量에 미치는 영향을 보고하였고 金 등⁸⁾은 黃芩藥液의 흰쥐 肝細胞內의 抗酸化效能에 대한 연구를 보고하였다.

活性酸素基를 제거하는 抗酸化劑에 관한 韓醫學에서의 研究는 주로 腎臟에 대하여 이루어졌다. 腎은 先天之本으로 生長發育과 老衰를 주관하는데 素問³⁴⁾에서는 “天壽過度 氣脈相通 而腎氣有餘也”, 虞³⁵⁾는 “腎元盛則 壽延 腎元衰則 壽夭”라 하여 長壽하는 것이 腎氣의 盛衰與否에 의하여 決定된다고 하였고 腎氣盛衰가 老化의 重要원인이라 하였다.

또한 腎은 西洋醫學의 老廢物의 排泄, 恒常性의 維持, 酸과 鹽基의 平衡에 기여, 內分泌器官의 역할 등을 담당한다.³⁶⁾

抗酸化效果에 대한 韓醫學의 研究는 주로 老化를 방지하는 補劑³⁷⁾나 瘀血과 관련된 活血化瘀劑 등³⁸⁾을 중심으로 진행되어 왔는데 文 등³⁰⁾은 柴胡抽出物이 脂質過氧化物 生成에 미치는 영향을 보고하였다.

이에 본 研究에서는 培養腎細胞에 黃芩藥液을

濃度別로 前處理하고 1mM tBHP로 處理한 후 實驗한 結果, 腎皮質切片에서의 LDH流出은 0.001~0.05% SbG에서 減少하는 傾向을 보였으나 有意性은 없었고, 0.1% SbG에서는 tBHP 처리 전보다 有意性있게 減少하였는데 이것은 SbG가 내부적 원인에 의한 LDH流出을 감소시키는 것으로 볼 수 있다 (Fig. 1).

細胞膜 構成成分인 不飽和脂肪酸의 變形物質인 MDA量의 增加는 0.05%와 0.1% SbG에서 減少하는 結果를 보여 SbG가 酸化劑로 인한 細胞膜의 物理的인 破壞를 防禦한다고 볼 수 있다(Fig.2).

腎毒性 測定의 민감한 指標가 되는 PAH uptake³⁹⁾의 측정에서 0.05% SbG에서 有意性있게 增加하였고, Na^+-K^+ -ATPase 活性度の 측정에서도 0.05% SbG에서 增加하여 SbG가 細胞膜 輸送過程中에도 關여하여 酸化劑로 인한 細胞膜의 機能的인 破壞에도 防禦的인 역할을 한다고 볼 수 있다(Fig.3,4).

GSH는 SOD나 catalase와 같이 인체내 過酸化反應의 산물인 不飽和脂肪酸의 過酸化를 방지하고 過酸化水素를 무독한 물로 變化시키는 역할을 한다.⁴⁰⁾ tBHP로 유발된 GSH의 變化에 있어서도 0.05% SbG에서 增加하였는데 이것으로 볼 때 SbG가 人體의 抗酸化호르몬에도 影響을 미친다고 볼 수 있다(Fig.5).

直接的인 酸化物質이 아닌 2차적인 酸化物質로 인식되는 독성물질인 $HgCl_2$ 의 투여로 LDH流出과 MDA量은 增加하였으나 0.05% SbG에서 有意性있게 減少하여 SbG가 toxic agent로 유발된 細胞損傷에 대하여서도 防禦的인 역할을 한다고 볼 수 있다(Fig.6,7).

以上的 結果에서 黃芩藥鍼液은 tBHP와 $HgCl_2$ 에 의한 脂質過酸化와 LDH流出을 有意性있게 減少시켰을 뿐만 아니라 PAH uptake와 Na^+-K^+ -ATPase의 活性度を 有意性있게 增加시켰으므로 過

酸化로 인한 細胞損傷을 防止하는 效果를 나타낼 可能性을 보여주었다. 그러나 그 精確한 作用기전을 밝히기 위해서는 계속적인 研究가 필요할 것으로 생각된다.

V. 結 論

黃芩藥鍼液이 腎臟組織에서 oxidant에 의한 細胞損傷에 미치는 影響을 研究하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. tBHP에 의한 LDH流出 增加는 0.1% 濃度에서 有意性있게 減少하였다.
2. tBHP에 의한 MDA量 增加는 0.05와 0.1% 濃度에서 有意性있게 減少하였다.
3. tBHP에 의한 PAH uptake 와 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 GSH減少는 0.05% 濃度에서 有意性있게 增加하였다.
5. $HgCl_2$ 에 의한 LDH流出과 MDA量 增加는 0.05% 濃度에서 모두 有意性있게 減少하였다.

VI. 참고문헌

1. 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.
2. Floyd RA. Role of oxygen free radical in carcinogenesis and brainischemia. *FASEB J.* 1990;4:2587~2997.
 3. Paller MS, Neumann TV. Reactive oxygen species and ratrenal epithelial cells during hypoxia and reoxygenation. *Kid Int.* 1991;40:1041~1049.
 4. Baud L, Ardaillou R. Reactive oxygen species : production and role in the kidney. *Am J Physiol.* 1986;251, F765~F776.
 5. Diamond JR, Bonventre JV, Karnovsky MJ. A role for oxygen free radicals in aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int.* 1986;29:478~483.
 6. Johnson KJ, Weinberg JM. Postischemic renal injury due to oxygen radicals. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 1993;2:625~635.
 7. 全國韓醫科大學 本草學教室. 本草學. 서울:영림사, 1991:178~179.
 8. 金性逸, 都垣錫, 金甲成. 黃芩藥鍼液의 환귀 肝細胞內的 抗酸化 效能에 관한 研究. 大韓鍼灸學會誌. 1999;16(1):497~509.
 9. Uchiyama M, Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissue by thio-barbituric acid test. *Anal Biochem.* 1987;86:271~278.
 10. Bradford MM. 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.
 11. Fiske CH, Subbarow Y. The colorimetric determination of phosphorus. *J Biol Chem.* 1925;66:375~400.
 12. Cutler RG. Antioxidant aging and longevity, *Free Radicals in Biology.* Academic Press. 1984:371~424.
 13. Feher J, Csomos G, Verekei A. The free radical theory of aging, free radical reaction in medicine, Berlin: Springer Verlag, 1987:57~59.
 14. Oyanagui Y. SOD and active oxygen modulator. Tokyo: Nihon Jigokuan. 1989: 17~36.
 15. Reiter RJ. Oxidative processes and antioxidative defense mechanism in the aging brain. *FASEB J.* 1995; 9:526~533.
 16. Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE. Free radicals antioxidants and human disease. Where are we now?. *J Lab Clin Med.* 1992;119: 598~620.
 17. Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev.* 1979;59:527~605.
 18. Kako K, Kato M, Matsuoka T, Mustapha A. Depression of membrane-bound $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ activity induced by free radical and by ischemia of kidney. *Am J Physiol.* 1988;254:C330~C337.
 19. Harman D. Free radical theory of aging. *J Gerontol.* 1968;23:476~482.
 20. 오유진. 活性酸素가 질병의 원인이다. 서울:이화문화출판사. 1997:57~67.
 21. 蔡範錫. 지방질대사. 서울:아카데미서적. 1990:14.
 22. Farber JL, Kyle ME, Coleman JB. Bio-

- logy of disease. Mechanisms of cell injury by activated oxygen species. Lab Invest.1990;62:670~679.
23. Schnellmann RG. Mechanisms of t-butylhydroperoxide-induced toxicity to rabbit renal proximal tubules. Am J Physiol, 1988;255:C28~C33.
24. Clarkson TW. The pharmacology of mercury compounds. Ann RevPharmacol. Vol. 12. ed.Elliott HW, Okun R, George R.California:Annual Review Inc.. 1972:375~406.
25. Felton JS, Kahn E, Salick B, Van Natta FC, Whitehouse MW. Heavy metal poisoning, mercury and lead. Ann Intern Med. 1972;76: 779~792.
26. Goyer RA. Toxic effect of metals, the basic science of poisoning.4th ed. Amder MO,Doull J , Klassen CD. Pergmon Press. 1991:629~681.
27. Bergstrand A, Friberg L, Mendel L, Odeblad E. The localization of subcutaneously administered radioactive mercury in the rat kidney.J Ultrastruct Res. 1959;3:234~243.
28. Bowman FJ, Landon, EJ. Organic mercurial and net movement of potassium in rat kidney slices. Am J Physiol. 1967 ;213:1209~1217.
29. 黃樹寬, 全世烈. 생리학. 서울:광문각. 1993: 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: 361~ 375.
31. 李炳熙. 生理學. 서울:신광출판사. 1987:78.
32. 姜秉秀, 金永板. 臨床配合本草學. 서울: 영림사. 1994:287~288.
33. 신국현, 채운정, 정명숙, 이희주. 黃芩의 Flavonoid 성분들이 Rat 수정체의 백내장 형성과 Polyol축적에 미치는 영향. 생리학회지. 1994;25(1):41~46.
34. 南京中醫學院醫經教研組. 黃帝內經素問解釋. 上海:上海科學技術出版社.1983:4~5.
35. 虞搏. 醫學正傳. 서울: 성보사. 1986:9.
36. 杜鎬京. 東醫醫系內科學. 서울:동양의학연구원. 1989:12.
37. 鄭智天. 左歸飲과 右歸飲에 의한 활성산소류의 消去作用과 抗酸化酵素系の 활성증가효과에 대한 연구. 대한한의학회지. 1996;17(1): 21~36.
38. 禹大潤, 李泰均, 文振榮, 林種國. 人工膜과 Rat의 肝細胞를 이용한 血府逐瘀湯의 항산화 작용에 관한 연구. 대한한의학회지. 1996;17(1):465~477.
39. Hirsch FH. Differential effects of nephrotoxic agents on renal transport and metabolism by use of in vitro techniques. Environ Health Perspect. 1976; 15 : 89~99.
40. 김영곤 외. 프리라디칼. 서울:여문각. 1997: 455,564.