

黃芩의 항산화 효과

조수인*, 오원우

동신대학교 한의과대학

Anti-Oxidative Effects of Scutellariae Radix

Su-In Cho**, Won-Woo Oh

College of Oriental Medicine, Dongshin University

ABSTRACT

Objectives : This study was carried out to determine if Scutellariae Radix have protective effect against cell injury induced by various toxic agents in rat kidney slices.

Methods : Water(SWe) and methanol(SMe) extracts were prepared for this experiment. Cell injury was estimated by measuring lactate dehydrogenase(LDH). Lipid peroxidation was examined by measuring malondialdehyde.

Results : SMe prevented the LDH release by CCl₄, menadione, tert-butyl hydroperoxide and mercury treatment in vitro in kidney slices, but SWe prevented the LDH release by CCl₄ and mercury. SMe also prevented reduction in GSH by CCl₄ and lipid peroxidation induced by mercury.

Conclusions : Thus, SMe may have more powerful efficacy on anti-oxidative effects when compared with SWe. And further studies have to be followed concerned with procedure of extraction of SMe and its change of effects.

Key words : Scutellariae Radix, anti-oxidative effect, toxic agent induced kidney cell injury.

#*제1저자, 교신저자 : 조수인, 전라남도 나주시 대호동 동신대학교 한의과대학 본초학교실.
· Tel : 061-330-3513 · Fax : 061-330-3519 · E-mail : sicho@dsu.ac.kr
· 접수 : 2005년 7월 25일 · 수정 : 2005년 9월 13일 · 채택 : 2005년 9월 20일

서 론

黃芩은 꿀풀과에 속한 다년생 초본인 황금(속썩은 풀, *Scutellaria baicalensis* Georgi)의 껍질을 벗긴 뿌리로, 가을에 채취하여 잔뿌리와 겹겹질을 제거하여 건조한 것이다. 黃芩의 효능으로는 淸熱燥濕·瀉火解毒·止血·安胎 등이 있어 濕溫·暑溫胸悶嘔惡·濕熱痞滿·瀉利·黃疸·肺熱咳嗽·高熱煩渴·血熱吐衄·癰腫瘡毒·胎動不安·崩漏·熱淋 등의 病症을 치료 한다¹⁾.

黃芩은 baicalein, baicalin, wogonin, wogonoside, neobaicalein, 安息香酸 및 β -sitosterol 등을 포함하고 있고, 莖葉 속에는 scutellarein 이 함유되어 있다¹⁾. 黃芩에 관한 생리·약리학적 연구는 최근에 이르러 항불안 효과, 약침 형태로의 독성, 농수산 식품원료의 선도 유지 효과, 면역 조절 기능, 항산화적 성질에 대한 발표 등²⁻⁶⁾ 이 보고되고 있다.

黃芩에 관한 국제 연구로는 Son 등⁷⁻¹¹⁾ 이 黃芩에 포함되어 있는 성분 중 wogonin과 baicalein 등과 같은 특정 성분의 활성에 관하여 보고하고 있다. 우리 몸의 세포 속에는 superoxide dismutase, catalase 및 glutathione peroxidase와 같은 항산화제 역할을 하는 물질을 가지고 있어 세포의 정상적인 대사과정 중에 발생하는 반응성 산소기들은 이들 효소나 물질들에 의해 제거되고 있다. 인체 내에서 반응성 산소기들의 발생량이 많거나 항산화제 역할을 하는 물질들의 체내 농도가 감소하게 되면 세포는 손상을 받아서 여러 가지 질병을 유발시키는 원인이 되기 때문에^{12,13)} 반응성 산소기를 제거하거나 발생을 억제하는 약물이 개발된다면 여러 가지 형태의 생체 조직 손상을 방지하거나 예방할 수 있을 것이다. 이에 본 연구에서는 사염화탄소(CCl_4), menadione, tert-butyl hydroperoxide (tBHP), 수은을 사용하여 신장 조직 손상을 유발시킨 후 黃芩의 물 추출물과 메탄올 추출물이 산화적 스트레스에 의한 흰쥐의 신장 조직 손상을 어떤 기전으로 보호하는지를 관찰한 결과 유의성을 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

동물은 시험관 내 실험용으로 체중 200g 내외의

Sprague-Dawley 계 수컷 흰쥐를 대한실험동물(대한실험동물, 한국)에서 구입하여 본 대학 동물 사육실에서 고형사료(삼양사료, 한국)와 물을 충분히 공급하면서 2 주일 이상 실험실 환경에 적응시킨 후 사용하였다.

2) 약재

黃芩은 시중(음니허브, 경북 영천, 한국)에서 구입하여 본 대학 본초학교실에서 精選하여 사용하였다.

2. 방법

1) 黃芩 추출물의 조제

黃芩의 물 추출물(SWe)과 메탄올 추출물(SMe)을 얻기 위해 100g 씩으로 나누었으며, SWe 추출을 위해서는 증류수 1,500 ml와 함께 전기 약탕기(DWP-1800T, 대웅, 한국)로 100℃에서 2시간 전탕한 후 추출액을 부직포를 이용하여 찌꺼기를 제거하였으며, SMe 추출을 위해서는 메탄올 1,500ml와 함께 실온에서 24 시간 방치한 후 1차 추출액을 얻었으며 다시 메탄올 1,000ml를 가한 후 24 시간 실온에 방치한 후 2차 추출액을 얻은 후 1차 및 2차 추출액을 합하여 감압 농축하였다. 위의 추출액 두 가지를 동결 건조기(SFDSM06, 삼원, 한국)를 이용하여 각각 11.3g의 SWe과 7.8g의 SMe 건조 추출물을 얻었다. 이들을 냉동실에 신선하게 보관하였다가 실험 직전에 필요한 농도로 배양액에 희석하여 사용하였다.

2) 신장 조직 절편의 제작

실험용 흰쥐를 희생시킨 후 신장을 들어내어 100mM NaCl, 10mM KCl, 1.5mM $CaCl_2$, 40mM Tris-HCl로 된 차가운 용액(pH, 7.5)을 신장 동맥 내에 주입하여 혈액을 제거한 다음 Stadie-Riggs microtome으로 약 0.3~0.5mm 두께의 신장 조직 절편을 만들어 사용하였다.

3) 신장 조직에 대한 독성 약물의 처리

조직 절편 약 50mg을 4 ml의 배양 용액이 들어 있는 비커 속에 넣고 항온수조 속에 든 배양 튜브 속에서 100% 산소를 계속 공급하면서 37℃에서 배양하였다. 기본 배양액의 조성은 130mM NaCl, 10mM KCl, 1.5mM $CaCl_2$, 5 mM glucose, 10mM Tris-HCl (pH

7.5)로 되어 있으며, 독성 약물을 처리할 때는 이들 약물이 들어 있는 용액 내에서 60분 동안 배양하였다. 배양 후에 조직을 들어내어 세포의 손상 정도를 조사하기 위하여 lactate dehydrogenase(LDH)의 유출을 측정하였으며, 또한 세포 손상이 지질의 과산화와 연관이 있는지는 그 생성물인 malondialdehyde(MDA)의 함량을 측정하여 평가하였다. 본 실험에서 각 추출물의 효과를 조사할 때는 용액 내에 적당한 농도로 녹여 사용하였다.

4) LDH 유출 측정

약물로 처리된 신장 조직 절편을 들어내어 증류수를 넣고 갈아서 만든 조직액과 배양 용액을 각각 50 μ 취하여 LDH 활성을 LDH 측정 kit(아산제약, 한국)를 이용하여 측정하였다.

5) 지질의 과산화 측정

신장 조직의 지질의 과산화는 그 산물인 MDA를 측정하여 평가하였다. 신장 조직 내 MDA 함량은 Uchiyama와 Mihara의 방법¹⁴⁾으로 측정하였다. 신장 조직 절편을 차가운 1.15%KCl 용액 (5%wt/vol) 속에서 파쇄 하여 이 조직 파쇄 균질액 0.5 ml에 1%인산 용액 3 ml과 0.6%thiobarbituric acid 용액 1ml을 첨가하여 끓는 물에서 45분간 가열하였다. n-Butanol 4 ml를 첨가하여 완전히 섞은 다음 2,000 \times g에서 20분간 원심분리한 후, 상층액의 흡광도를 536nm와 520nm에서 측정하였다. MDA값은 단백질 1mg당 pmoles로 표시하였고 단백질 농도는 Bradford¹⁵⁾의 방법으로 측정하였다.

6) 환원성 glutathione(GSH)의 함량 측정

GSH 함량은 Anderson의 방법¹⁶⁾으로 측정하였다. 0.248mg/ml NADPH(143mM sodium phosphate, 6.3mM Na₂-EDTA, pH. 7.5를 함유하고 있는) 용액 700 μ l, 6mM 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid(DTNB) 용액 100 μ l와 증류수 198 μ l를 cuvette에 넣어 30 $^{\circ}$ C에서 15분간 대운 후 시료 2 μ l를 넣고 섞은 다음 266U/ml GSSG reductase 10 μ l를 첨가하여 412nm에서 흡광도의 변화를 관찰하였고 단위는 μ g/mg protein으로 나타내었다.

7) 통계처리

실험 자료에 대한 통계적 분석은 통계 패키지인

SAS(The SAS System for Windows, ver. 6.12, SAS Institute, U.S.A.)를 이용하였다. 실험 성적은 평균 \pm 표준오차(mean \pm S.E.)로 나타내었으며, 실험군 간 평균의 차이를 검정할 때에는 Student's t-test로 검정하여 p-값이 0.05미만일 때 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

실험 결과

1. CCl₄에 의한 LDH 유출과 이에 대한 SWe와 SMe의 영향

CCl₄에 의한 신장 세포의 손상을 약물이 효과적으로 억제하는지를 시험관 내 실험을 통해 확인하기 위해 여러 농도의 SWe와 SMe가 들어 있는 용액 내에서 1mM의 CCl₄를 신장 조직 절편에 처리하고 LDH 유출 정도를 조사하였다. 실험 결과에 나타내지는 않았지만 조직 절편에 아무런 처치를 하지 않은 상태에서 단순 배양만 60분간 실시한 정상 배양군의 경우 LDH 유출은 8.2 \pm 1.4%였으며 1mM CCl₄에 노출시킨 대조 배양군에서의 27.3 \pm 1.2%에 비해 거의 4배 가까이 증가함으로써 CCl₄가 시험관 내에서도 간조직 손상을 일으키고 있음을 확인하였다(Fig. 1). CCl₄를 처리한 용액 내에 SWe와 SMe를 각각 0.5, 1, 2% 농도로 첨가하였을 때 각각의 약물의 농도에 비례하여 CCl₄에 의한 LDH 유출이 감소하였으며 모두 대조 배양군과 유의한 차이를 보였다.

또한 SWe와 SMe의 LDH 유출 비교에서 모두 유의한 차이를 보였다(Fig. 1).

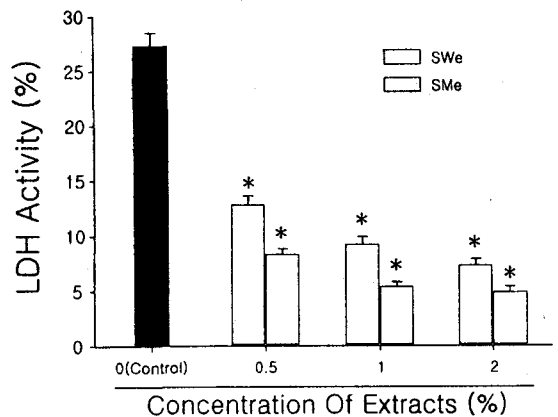


Fig. 1. Dose-dependency of protective effect of

water(SWe) and methanol(SMe) extract on CCl_4 -induced LDH release in rat kidney slices. Slices were treated with various concentrations of SWe and SMe in the presence of 1mM CCl_4 for 60 min at 37°C, and LDH release was measured. Data are mean \pm SE of five experiments. *, $p < 0.05$ compared with control(0%).

2. GSH 함량에 대한 SWe와 SMe의 영향

SWe와 SMe가 포함된 배양액과 포함되어있지 않은 배양액 내에 CCl_4 를 처리하여 조직 내 GSH 함량을 측정된 결과 정상 배양군의 경우 $43.2 \pm 5.1 \mu\text{mole/g protein}$ 이었던 것이 1mM 농도의 CCl_4 가 처리된 대조 배양군에서는 $13.1 \pm 3.2 \mu\text{mole/g protein}$ 으로 감소하였다.

그러나 CCl_4 를 처리한 배양액 내에 SWe와 SMe를 각각 2% 농도로 첨가하였을 경우 SWe의 경우 유의한 변화가 나타나지 않은 반면 SMe가 첨가된 경우에는 대조 배양군에 비해 GSH의 함량이 유의하게 증가하였다(Fig. 2).

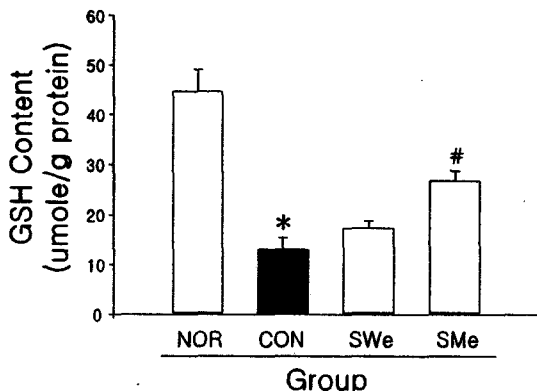


Fig. 2. Effect of water(SWe) and methanol(SMe) extract on CCl_4 -induced alterations in reduced glutathione in rat kidney slices. Slices were treated with 1mM CCl_4 in the presence or absence of 2% SWe and SMe for 60 min at 37°C, and glutathione content were measured. *, $p < 0.05$ compared with normal; #, $p < 0.05$ compared with control.

3. Menadione에 의한 세포 손상에 대한 SWe 및 SMe의 영향

신장 조직에 1mM menadione을 처리했을 때 LDH 유출이 $6.2 \pm 1.1\%$ 에서 $23.5 \pm 4.2\%$ 로 현저하게 증가하였으며, 여기에 SWe 및 SMe를 처리하였을 경우 각각

$17.6 \pm 1.8\%$ 및 $11.8 \pm 1.7\%$ 로 나타나 SMe의 경우 유의하게 세포 손상이 억제되었다(Fig. 3).

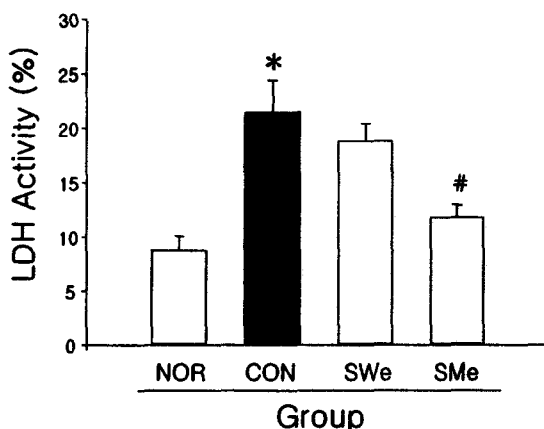


Fig. 3. Protective effect of water(SWe) and methanol(SMe) extract on menadione-induced LDH release in rat kidney slices. Slices were treated with 2% concentrations of SWe and SMe in the presence of 1mM menadione for 60 min at 37°C, and LDH release was measured. *, $p < 0.05$ compared with normal; #, $p < 0.05$ compared with control.

4. tBHP에 의한 세포 손상에 대한 SWe 및 SMe의 영향

SWe 및 SMe가 산화제에 의한 세포 손상을 직접 방지할 수 있는지를 확인하기 위하여 2% 농도의 SWe 및 SMe를 처리하여 세포 손상 억제 효과를 관찰하였다. 정상 배양군에서는 $8.3 \pm 1.5\%$ 이던 세포에서의 LDH 유출이 1mM tBHP에 의해 $23.7 \pm 4.2\%$ 로 증가하였다. SWe 및 SMe를 처리하였을 경우 SWe의 경우 LDH 유출에 감소의 경향이 있었으나 통계적으로 유의하지는 않았으며, SMe의 경우에는 LDH 유출이 $13.1 \pm 1.4\%$ 로 유의하게 감소하였다(Fig. 4).

5. 수은에 의한 세포 손상에 대한 SWe 및 SMe의 영향

수은이 신장 조직에서 지질의 과산화물을 증가시켜 세포 손상을 일으키는지와, 수은에 의한 손상을 SWe 및 SMe가 억제할 수 있는지를 조사하였다. 신장 조직에 0.5mM 수은을 처리했을 때 LDH 유출이 $11.7 \pm 2.3\%$ 에서 $25.6 \pm 4.7\%$ 로 증가하였고, 여기에 각각 2% 농도의 SWe 및 SMe를 처리하

였을 때 $16.4 \pm 1.5\%$ 와 $14.8 \pm 1.9\%$ 로 모두 유의하게 감소하였다(Fig. 5).

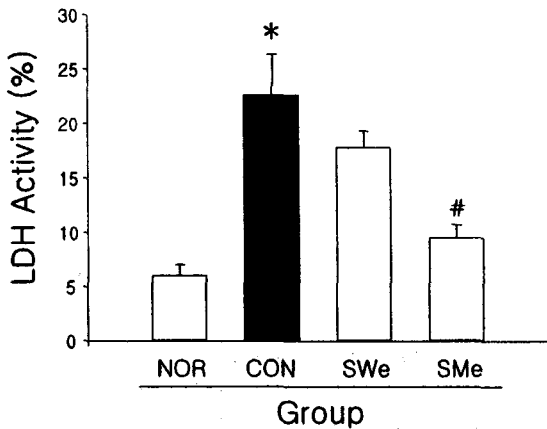


Fig. 4. Effect of water(SWe) and methanol(SMe) extract on 1mM tBHP induced LDH release in rat kidney slices. Slices were treated with 1mM tBHP in the presence or absence of 2% SWe and SMe for 60 min at 37°C, and LDH release was measured. *, $p < 0.05$ compared with normal; #, $p < 0.05$ compared with control.

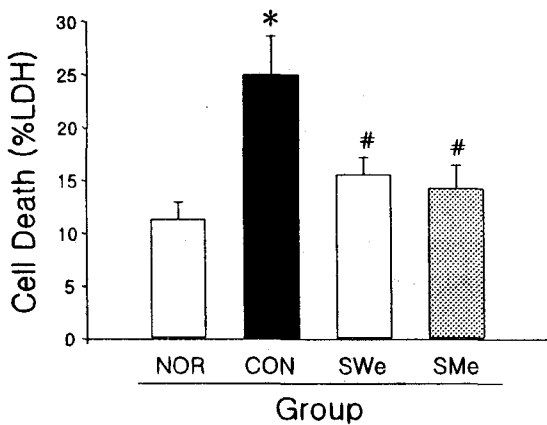


Fig. 5. Effect of water(SWe) and methanol(SMe) extract on Hg-induced LDH release in rat kidney slices. Slices were treated with 0.5mM HgCl₂ in the presence or absence of 2% SWe and SMe for 60min at 37°C, and LDH release was measured. *, $p < 0.05$ compared with normal; #, $p < 0.05$ compared with control.

수은이 신장 조직 손상을 일으키는 농도에서 지질의 과산화를 일으키는지를 조사한 결과, 0.5mM 수은을 처

리했을 때 지질의 과산화가 81.5 ± 7.3 pmole MDA/mg protein에서 208.4 ± 10.8 pmole MDA/mg protein로 증가하였고, 2% 농도의 SWe와 SMe를 처리하였을 경우 150.6 ± 13.6 pmole MDA/mg protein과 122.6 ± 6.5 pmole MDA/mg protein로 유의하게 감소하였다(Fig. 6).

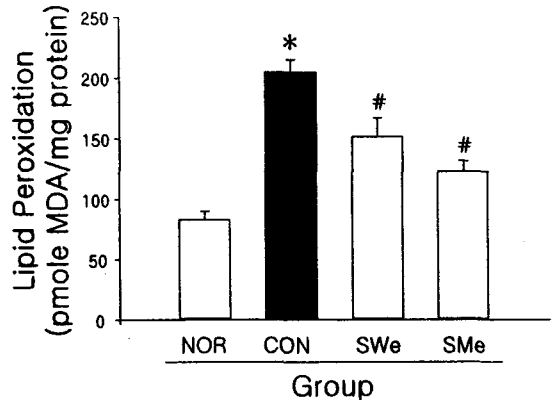


Fig. 6. Effect of water(SWe) and methanol(SMe) extract on Hg-induced lipid peroxidation in rat kidney slices. Slices were treated with 0.5mM HgCl₂ in the presence or absence of 2% SWe and SMe for 60min at 37°C, and lipid peroxidation was measured. *, $p < 0.05$ compared with normal; #, $p < 0.05$ compared with control.

고찰

우리 몸의 세포 속에는 superoxide dismutase, catalase 및 glutathione peroxidase와 같은 항산화제 역할을 하는 물질을 가지고 있어 세포의 정상적인 대사 과정 중에 발생하는 반응성 산소기들은 이들 효소나 물질들에 의해 제거되고 있다. 그러나 그 발생하는 양이 많거나 항산화제 역할을 하는 이들의 체내 농도가 감소하게 되면 세포는 손상을 받아서 여러 가지 질병을 유발시키는 원인이 된다^{12,13}.

반응성 산소기는 인체 여러 조직에서 허혈/재관류에 의한 세포 손상, 그리고 사염화탄소, menadione, 수은, 알콜, paraquat 등 여러종류의 독성 물질에 의한 세포 손상의 병인으로 인정되고 있기 때문에¹⁷⁻²² 반응성 산소기를 제거하거나 발생을 억제하는 약물이 개발된다면 여러 가지 형태의 신장 조직 손상을 방지하거나 예방할 수 있을 것이다. 따라서 본 연구에서는 반응성 산소기를 발생시켜 신장 조직 손상을 유발하는

것으로 알려진 몇 가지 독성 약물들에 의한 신장 조직 손상을 SWe와 SMe가 방지할 수 있는지를 조사하고 두 약물의 효능의 차이를 비교하고자 하였다.

재료로 사용된 黃芩은 꿀풀과에 속한 다년생 초본인 황금(속씨은풀, *Scutellaria baicalensis* Georgi)의 껍질을 벗긴 뿌리로, 가을에 채취하여 잔뿌리와 걸겉질을 제거하고 건조한 것이다. 性은 寒하고 味는 苦하며, 肺·膽·胃·大腸·小腸으로 歸經한다. 淸熱燥濕·瀉火解毒·止血·安胎 등의 효능이 있어 濕溫·暑溫胸悶嘔惡·濕熱痞滿·瀉利·黃疸·肺熱咳嗽·高熱煩渴·血熱吐衄·癰腫瘡毒·胎動不安·崩漏·熱淋 등의 病症을 치료하는 것으로 알려져 있다¹⁾.

黃芩의 뿌리는 baicalein, baicalin, wogonin, wogonoside, neobaicalein 등을 함유하고 있으며¹⁾, 이들 중 wogonin과 baicalein 등과 같은 특정 성분의 활성에 관한 연구들이 주류를 이루고 있다. Wogonin에 대해서는 Son 등이 신경보호 효과⁷⁾, Cho 등은 산화적 신경 손상으로부터의 보호 효과⁸⁾, Ichiro 등은 prostaglandin E₂의 생성 저해 효과¹¹⁾ 보고한 바 있으며, baicalein에 관해서는 Chen 등은 nitric oxide 합성 저해 효과⁹⁾, Shen 등은 염증 억제 효과¹⁰⁾ 발표한 바 있다.

국내에 발표된 黃芩에 관한 연구 논문들에서 최근 연구 동향을 살펴보면 정 등²⁾ 이 黃芩의 항불안 효과에 대하여, 변 등³⁾ 이 약침의 형태로의 독성에 관하여, 김 등⁴⁾ 이 농수산 식품원료의 선도 유지 효과에 대하여, 이 등⁵⁾ 이 면역 조절 기능에 대하여, 박⁶⁾ 이 항산화적 성질에 대하여 발표하였다.

위에서와 같이 黃芩을 재료로 한 연구 동향들 중 세포내 산화의 억제에 관한 연구들이 발표되고 있는 추세이므로 본 연구에서는 黃芩의 물 추출물(SWe)과 메탄올 추출물(SMe)이 산화적 스트레스에 의한 흰쥐의 신장 조직 손상을 억제할 수 있는지를 확인하여 보았다.

신장 조직 손상 유발을 목적으로 사용된 산화제는 CCl₄, menadione, tBHP 및 수은을 사용하였으며 이로 인해 유발된 신장 조직 손상을 어떤 기전으로 억제하는지를 조사하였다.

본 실험에 사용된 CCl₄는 체내에서 대사된 생성물이 주로 간에 독성을 나타내는데^{21,23,24)}, 이러한 간기능 장애에 관여하는 반응성 산소기는 여러 가지 병적상태에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려졌기 때문에 실험적으로 간독성을 유발하는 약물로 많이 이용하고 있다^{25,26)}. 본 실험에서는 시험관 내 실험에서 CCl₄가 신장 세포의 손상도 유발하는지를 확인하기 위해 LDH 유출 정도를 조사한 결과, 조직 절편을 1mM CCl₄에 노출시

켰을 때 LDH 유출은 거의 4배 가까이 증가함으로써 CCl₄가 신장 조직을 손상시켰으며(Fig. 1), CCl₄를 처리한 용액 내에 SWe와 SMe를 0.5, 1.0 및 2% 농도로 각각 첨가하였을 때 각 약물의 농도에 비례하여 CCl₄에 의한 LDH 유출이 유의하게 감소하였다. 그러나 각 농도에서 SWe와 SMe 사이에도 유의한 차이가 있었으므로 CCl₄에 의한 세포 손상에 SMe 투여가 더 효과적임을 알 수 있다.

신장 세포 손상에 따른 세포내 GSH의 함량에 미치는 2% 농도의 SWe와 SMe의 효과를 확인하기 위하여 배양액 내에 CCl₄를 처리하여 조직내 GSH 함량을 측정된 결과, LDH 유출을 현저히 증가시키는 CCl₄ 1mM 농도에서의 GSH 함량은 감소하였다. CCl₄를 처리하는 용액 내에 SWe를 처리한 경우 LDH 유출을 감소시킨 앞의 결과와는 달리 GSH 함량은 증가의 양상을 보였지만 유의하지는 않았다(Fig. 2). 하지만 SMe를 처리한 경우 GSH 함량은 증가하였다. GSH는 여러 독성 물질에 의한 세포 손상을 방지하는 해독 효과를 나타낼 뿐만 아니라, 세포 내에서 항산화제 역할을 하고 있기 때문에 어떤 약물이 세포내 GSH의 농도를 증가시키게 되면 여러 독성물질에 대한 방어 능력이 증가됨은 잘 알려져 있다^{27,28)}. 따라서 본 실험에서 SMe의 경우 CCl₄에 의한 세포내 GSH의 감소현상을 방지한 결과로 반응성 산소기를 제거하여 LDH의 유출을 방지하는 작용에 영향을 받았지만 SWe의 경우 이와는 다른 작용에 의한 것으로 추측된다. 이에 대해서는 앞으로 추가적인 연구가 뒤따라야 할 것으로 생각된다.

Menadione은 세포에서 반응성 산소기를 발생시켜 세포 손상을 유발하는 것으로 알려져 있다^{18,19)}. 따라서 SWe와 SMe가 항산화 작용에 의해 세포 손상을 방지한다면 menadione에 의한 LDH 유출을 감소시킬 수 있을 것이다. 신장 조직에 1mM menadione을 처리했을 때 LDH 유출은 현저하게 증가하였으며, 여기에 SWe와 SMe를 2% 농도로 첨가한 결과 LDH 유출은 SMe의 경우에서만 유의하게 감소하였다(Fig. 3).

SWe와 SMe가 산화제에 의한 세포 손상을 직접 방지할 수 있는지를 확인하기 위하여 소수성 산화제²⁹⁾인 tBHP에 신장 조직을 노출시킨 후 각 약물의 반응을 관찰하였다. 신장 조직을 1mM tBHP에 노출시킨 결과 LDH 유출이 증가하였다. 2% 농도의 SWe와 SMe를 첨가한 경우에는 LDH 유출이 SMe의 경우에만 유의하게 감소하였다(Fig. 4). 그러므로 위와 같은 결과로 미루어 보면 SMe는 산화제에 의한 반응성 산소기의 발생을 억제함으로써 신장 조직의 손상을 억제하고 있으며 SWe의 경우는 이와 유사한 작용을 하지만 그 작용의 정도

에 있어서는 SMe에 미치지 못함을 알 수 있다. 이는 한약재의 추출 과정의 차이에 있어서 일어날 수 있는 여러 추출 성분의 변화가 약재의 성질인 氣味에도 직접적인 영향을 미칠 수 있다는 점을 보여주는 것이다.

CCl₄와 마찬가지로 반응성 산소기를 발생시켜 세포 독성을 나타내는 것으로 알려진 수은(20) 을 이용하여 SWe와 SMe의 영향을 조사하였는데, 신장 조직에 0.5mM 수은을 처리했을 때의 LDH 유출이 증가하였고, 여기에 2% 농도로 약재 추출물을 첨가하였을 때 두 약재의 경우 모두 세포의 손상이 유의하게 감소하였으며 (Fig. 5), 수은이 신장 조직 손상을 일으키는 농도에서 지질의 과산화를 유발하는지를 조사한 결과, 0.5mM 수은을 처리했을 때 지질의 과산화가 증가하였고, 2% 농도로 SWe 및 SMe를 첨가하였을 때 모두 유의하게 감소하였다(Fig. 6).

이상과 같은 결과에서, SWe와 SMe는 독성 약물에 의한 신장 조직의 지질 과산화를 방지하는 항산화 작용을 가지고 있으며, 그 정도에 있어서는 SMe가 SWe 보다 훨씬 뛰어남을 보였다. 이러한 실험 결과는 한의학에서 약물을 추출 또는 煎湯하는 과정에 거치게 되는 여러 화학적 변화를 통해 한약재가 가지고 있는 고유의 성질에 많은 변화가 일어나 이로 인해 생체에 각기 다른 양상으로 그 효과가 나타나는 것으로 생각되는데 이러한 효과들에 대한 더욱 자세한 기전과 한약재 추출 방법의 다양화에 관해서는 앞으로 더욱 많은 연구를 진행하여야 할 것으로 생각된다.

결 론

SWe 및 SMe가 독성 약물에 의한 신장 조직 손상을 방지할 수 있는지 확인하기 위하여 시험관내 실험을 통해 신장 세포 손상을 유발시킨 다음 이에 대한 각 약물의 효과를 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 신장 조직을 1mM CCl₄에 노출시켰을 때, 0.5, 1.0 및 2%농도에서 SWe 및 SMe 모두가 신장 조직의 손상을 억제하였으며 SMe 투여가 더 효과적이었다.
2. 신장 조직을 1mM CCl₄에 노출시키면서 2% 농도의 SMe를 처리한 경우 신장 조직 내 GSH 함량이 증가하였다.
3. 신장 조직에 1mM menadione을 처리했을 때 SMe의 경우에서만 조직 내 LDH 유출의 감소를 나타내었다.

4. 신장 조직을 1mM tBHP에 노출시켰을 때 2%농도의 SMe를 첨가한 경우에 LDH 유출의 감소가 나타났다.

5. 신장 조직에 0.5mM 수은을 처리하면서 SWe 및 SMe를 처리한 경우 신장 조직에서의 LDH 유출과 지질의 과산화가 유의하게 감소되었다.

이상과 같이 SWe와 SMe는 독성 약물에 의한 신장 조직의 손상에 유효하였으며 SMe가 SWe 보다 그 효과가 뛰어났다. 따라서 한약재의 추출에 따른 화학적 변화와 이에 따른 효과의 차이에 대한 더욱 자세한 기전에 관해서는 앞으로 더욱 많은 연구를 진행하여야 할 것으로 생각된다.

참고문헌

1. 전국한의과대학 공동교재편찬위원회. 本草學. 서울: 永林社. 2004:218-220.
2. 정지옥, 안남윤, 박성환, 오진경, 오혜림, 이보경, 엄애선, 김범수, 김동현, 류종훈. Rat에서 Elevated plus-maze를 이용한 황금의 항불안 효과. 한국생약학회지. 2004;35(1):22-27.
3. 변부형, 서부일. 황금 약침의 DNA 합성 및 세포 독성에 대한 분자 생물학적 실험 연구. 대한본초학회지. 2004;19(1):35-40.
4. 김영록, 조성환. 황금추출물처리에 의한 농수산 식품원료의 선도유지효과. 농업생명과학연구. 2004; 38(1):19-29.
5. 이순희, 임병우, 조여원. DSS로 유도된 염증성 장 질환 동물 모델에서 황금 열수 추출물이 면역 조절 기능에 미치는 영향. 한국영양학회지. 2004;37(6):431-439.
6. 박수남. 황금(黃芩)성분, 바이칼레인의 항산화적 성질과 화장품에의 응용(제1보). 공업화학. 2003; 14(5):657-665.
7. Dong-Wook S, Pyeong-Jae L, Jong-Seok L, Ho-Cheol K and Sun-Yeou K. Neuroprotective effect of wogonin in hippocampal slice culture exposed to oxygen and glucose deprivation. European Journal of Pharmacology. 2004;493 (1-3):99-102.
8. Jung-Sook C and Hyeong-Kyu L. Wogonin inhibits excitotoxic and oxidative neuronal damage

- in primary cultured rat cortical cells. *European Journal of Pharmacology*. 2004;485(1-3):105-110.
9. Chun-Jung C, Shue-Ling R, Su-Lan L and Shih-Yun C. Inhibition of inducible nitric oxide synthase expression by baicalein in endotoxin/cytokine-stimulated microglia. *Biochemical Pharmacology*. 2004;67(5):957-965.
 10. Yuh-Chiang S, Wen-Fei C, Yueh-Ching C and Chieh-Fu C. Mechanisms in mediating the anti-inflammatory effects of baicalin and baicalein in human leukocytes. *European Journal of Pharmacology*. 2003;465(1-2):171-181.
 11. Ichiro W and Kenichi Y. Wogonin inhibits inducible prostaglandin E2 production in macrophages. *European Journal of Pharmacology*. 2000;406(3):477-481.
 12. Reiter RJ. Oxidative process and antioxidative defense mechanisms in the aging brain. *FASEB J*. 1995;9:526-533.
 13. Halliwell B, Gutteridge JMC and Cross CE. Free radicals, antioxidants and human disease. Where are we now? *J. Lab. Clin. Med*. 1992;119:598-620.
 14. Uchiyama M and Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissue by thiobarbituric acid test. *Anal. Biochem*. 1978;86:271-278.
 15. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem*. 1976;72: 248-524.
 16. Anderson ME. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. *Methods Enzymol*. 1985;113:548-554.
 17. Recknagle RO and Glende EA. Carbon tetrachloride hepatotoxicity. An example of lethal Cleavage. *CRC Crit. Rev. Toxicol*. 1973;27:263-296.
 18. Thor H, Smith MT, Hartzell P, Bellomo G, Jewell SA and Orrenius S. The metabolism of menadione(2-methyl-1,4-naphthoquinone) by isolated hepatocytes. *J. Biol. Chem*. 1982;25:12419-12425.
 19. Beloqui O and Cederbaum AI. Microsomal interactions between iron, paraquat and menadione. effect on hydroxyl radical production and alcohol oxidation. *Arch. Biochem. Biophys*. 1985;242:187-196.
 20. Andersen HR and Andersen O. Effects of dietary α -tocopherol and β -carotene on lipid peroxidation induced by methyl mercuric chloride in mice. *Pharmacol. Toxicol*. 1993;73:192-201.
 21. Castillo T, Koop DK, Kamimura S, Triasafilopoulos G and Tsukamoto H. Role of cytochrome P-450 3E1 in ethanol-carbon tetrachloride and iron-dependent microsomal lipid peroxidation. *Hepatology*. 1992;16:992-996.
 22. Jaeschke H, Smith CV and Mitchell JR. Reactive oxygen species during ischemia-reperfusion injury in isolated perfused rat liver. *J. Clin. Invest*. 1988;81:1240-1246.
 23. Alison MR. Regulation of hepatic growth. *Physiol. Rev*. 1986;66:499-534.
 24. Slater TF. Free radical mechanisms in tissue injury. *Biochem. J*. 1984;222:1-15.
 25. Halliwell B and Gutteridge JMC. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease. an overview. *Methods Enzymol*. 1990;186:1-85.
 26. Sipes IG, El Sisi AE, Sim WW, Mobley SA and Earnest DL. Reactive oxygen species in the progression of CCl4-induced liver injury. *Adv. Exp. Med. Biol*. 1991;283:489-497.
 27. Meister A and Anderson ME. Glutathione. *Annu. Rev. Biochem*. 1983;52:711-760.
 28. Starke PE and Farber JL. Endogenous defence against the cytotoxicity of hydrogen peroxide in cultured rat hepatocytes. *J. Biol. Chem*. 1985;260: 86-92.
 29. Di Giulio A, Saletti A, Oratore A, et al. Monitoring by cis-parinaric fluorescence of free radical induced lipid peroxidation in aqueous liposome suspensions. *J. Microencapsul*. 1996;13(4):435-445.