대한한방부인과학회지
THE JOURNAL OF ORIENTAL OBSTETRICS & GYNECOLOGY
VOL.24 NO.4 : 001-009 (2011)

우고닌-하이드로젤 지지체의 파골세포 분화 억제 효과

경희대학교 한의과대학 한방부인과
양나래, 이진무, 이창훈, 장준복, 이경섭

ABSTRACT

Inhibitory Effects of Wogonin Mixed with Hydrogel on Osteoclast Differentiation

Na-Rae Yang, Jin-Moo Lee, Chang-Hoon Lee, Jun-Bock Jang, Kyung-Sub Lee
Dept. of Gynecology, College of Oriental Medicine, Kyung-Hee University

Purpose: Wogonin is an active component isolated from *scutellariae radix*. This study was conducted to evaluate the inhibitory effect of wogonin mixed with hydrogel on osteoclast differentiation.

Methods: It was performed to estimate cytotoxicity of Wogonin alginate hydrogel disk(WHD) in BMMs stimulated with RANKL, M-CSF. ROS synthesis and actin ring formation were analysed to observe the effect of WHD.

Results: WHD has no cytotoxicity at the concentration of 0.1 ㎍/㎖ or lower. 0.1 ㎍/㎖, 1 ㎍/㎖ WHD restrained the synthesis of ROS and 0.1 ㎍/㎖, 1 ㎍/㎖ WHD restrained the formation of actin ring.

Conclusions: WHD has the inhibitory effect of osteoclast differentiation and bone resorption. Further studies are needed to treat osteoporosis by herbal medicine.

Key Words: S*cutellariae Radix*, Wogonin alginate hydrogel disk, osteoclast, hydrogel, RANK ligand

교신저자(이경섭) : 서울시 강남구 대치동 994-5번지 강남경희한방병원 여성의학과
전화 : 02-3457-9003 이메일 : kyungsl@nate.com

Ⅰ. 서 론

현대는 경제사회적인 발전과 더불어 의료수준의 향상과 보급으로 노령화 사회에 직면해 있다. 통계청의 발표에 의하면, 2009년 출생한 여성의 평균 기대수명은 83.8세로 폐경 후 30여 년 동안을 보내게 되므로 폐경기의 건강관리가 더욱 중요해졌다[1].

폐경 후 난소에서의 여성호르몬의 급격한 감소로 혈관운동계, 정신·정서적, 비뇨생식기계, 순환기계 증상 및 골다공증 등이 발생하며 소주골이 많이 포함된 골부위 즉 척추골에서의 골량 감소로 만성통증, 우울증, 골절 특히 대퇴골 골절환자의 20%에서 사망의 위험이 있다[2].

폐경 후 여성 호르몬 감소로 인한 각종 증상을 경감시키기 위해 호르몬 대체요법을 사용하고 있지만 이러한 치료는 골다공증 예방 효과가 있으나 건강한 폐경후기 여성에게 만성 질환을 예방할 목적으로 사용해서는 안 된다는 견해가 있어[3] 골량 감소를 억제할 수 있는 치료약재에 대한 다양한 연구가 시도되고 있다[4-8].

한의학에서 골다공증은 骨枯, 骨痿, 骨痺 등과 관련이 있으며[9] 腎이 骨의 변화를 주관하므로 補腎 强筋骨하는 치료가 위주가 되지만[10] 骨痿는 大熱에 의해 생기므로 淸熱燥濕하는 치료법을 활용하기도 한다[11].

黃芩은 꿀풀과에 속하는 다년생 본초인 黃芩의 주피를 벗긴 뿌리로, 性味는 苦寒하고 淸熱燥濕, 瀉火解毒, 止血, 安胎의 효능이 있다. 그 주요 성분은 baicalein, baicalin 및 wogonin 등을 포함한 flavonoid 계 화합물들이며[12], 이 중에서 우고닌은 파골 세포의 분화 억제 효과가 우수하게 나타나 골다공증 치료에 관한 가능성이 제시되어 왔다[13].

이에 저자는 우고닌의 지속적인 적용을 위해 우고닌-하이드로젤 지지체를 제작하고 우고닌의 파골세포 분화 억제 효과를 알아보기 위해서 reactive oxygen species(ROS)와 actin ring 염색을 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

Ⅱ. 실 험

1. 재 료

1) 약 재

꿀풀과(Labiatae)에 속하는 다년생 초본인 黃芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi의 뿌리(Scutellariae Radix)의 주성분인 우고닌은 Wako(Osaka, Japan)에서 구입하여 용해 후 Millopore사(Carrigtwohill, Ireland)에서 구입한 0.22 ㎛ 필터에 여과하여 4℃에 보관하였다.

2) 시 약

Human receptor activator of nuclear factor-ĸB ligand(RANKL)과 Human macrophage-colony stimulating factor (M-CSF)는 Peprotech사(London, UK)에서 구입하였다. Actin 항체는 Santa Cruz Biotechnology사(Santa Cruz, CA, USA)에서 구입하였다. α-minimum essential medium(α-MEM), 10% fetal bovine serum(FBS), antibiotic, Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM), Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline(DPBS)는 Gibco사(Rockville, MD, USA)에서 구입하였

으며 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCFH), rhodamin-conjugated phalloidin은 Molecular Probes(Eugene, OR, USA)에서 구입하였다. Sodium Alginate, Calcium Sulfate는 sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다.

3) 세포 배양

6주령의 ICR계 수컷 생쥐를 희생시킨 후 antibiotic을 첨가한 α-MEM을 1cc 주사기에 충전하여 경골 및 대퇴골에서 골수를 채취하였다. 채취한 골수세포에서 적혈구를 제거한 후 FBS와 M-CSF 30 ng/㎖를 첨가한 α-MEM배지에서 5% CO_2, 95% 습도 및 37℃로 3일간 배양하였다. 배양 후 부착된 세포를 파골전구세포로서의 대식세포(bone marrow macrophages, BMMs)로 사용하였다.

2. 방 법

1) 우고닌의 HPLC 분석

우고닌을 100 ㎍/㎖의 농도로 만든 후 냉장 보관하고, 이를 희석하여 50, 20 및 10 ㎍/㎖의 농도로 만들어 검량선을 작성하였다. 이를 분석하기 위한 장비로써 고속 액체 크로마토그래피(Agilent 1200 series)를 사용하였으며, 컬럼은 YMC-C18 (300 ㎜*4.8 ㎜, 5 ㎛)을 이용하였다. 사용된 용매의 조건은 0.1% 인산 액이 포함된 3차 증류수와 아세토니트릴을 20대 80의 비율로 흘려준다. 용매의 흐름시간은 5분으로 하였으며 우고닌의 270 ㎚에서 흡수 최대파장을 가지고 있어 검출기는 270 ㎚의 파장을 이용하였다. 3.7분대에 피크를 형성하였으며 상관계수(R2)는 0.9998을 나타내었으며 정량수식 y = 48.265x-20.074을 보였다.

2) 우고닌-하이드로젤 제작

Sodium alginate를 2wt% DMEM에 24시간 300rpm으로 충분히 용해시켰고, calcium sulfate를 DPBS에 충분히 분산시켰다. 용해된 두 용액인 2wt% alginate solution과 calcium sulfate를 주사기에 연결하여 혼합하고 동시에 우고닌을 0 ㎍/㎖, 0.1 ㎍/㎖ 및 1 ㎍/㎖ 농도별로 첨가하여 상온에서 15분간 하이드로젤을 架橋시켰다. 架橋된 우고닌-하이드로젤 지지체를 지름 15 ㎜와 두께 1 ㎜ disk로 제작하여 사용하였다.

3) 하이드로젤에 함유된 우고닌의 방출 실험

NaCl 8 g, KCl 0.2 g, Na_2HPO_4 1.44 g과 KH_2PO_4 0.24 g를 volumetric flask에 넣어 녹인 후 전체 volume을 1ℓ로 맞추어 PBS(Phosphate-buffered saline, pH7.4) 용액을 제조하였다. 각 well에 들어 있는 지지체의 무게를 정확히 측정한 후, 제조된 PBS용액을 1 ㎖씩 분주하여 시간에 따라 용액을 회수하여 vial에 옮긴 후 냉장보관을 하였다. 시간은 함유된 우고닌의 양에 따라 0.1 ㎍/㎖은 0.5, 1, 2, 3 4 day로 그리고 1 ㎍/㎖은 0.5, 1, 1.5, 2, 4, 8day로 관찰하였으며 검체는 시간별로 각각 2개로 하였다. 방출된 우고닌은 HPLC를 이용하여 측정하였으며 검출된 우고닌의 각각의 양은 cumulative method에 의해 나타내었다[14].

4) 세포 독성 측정

96-well plate에 0 ㎍/㎖, 0.1 ㎍/㎖ 및 1 ㎍/㎖ 우고닌-하이드로젤 지지체를 넣은 후 BMMs가 1×10^4cells/well이 되도록 분주하고 M-CSF 30 ng/㎖를 처리한 후 24시간 및 48시간 배양하였다. 그 후 각각의 well에 cell counting kit(CCK-8, Dojindo, Japan) 용액을 처리하고 2시간

동안 incubation한 후 ELISA microplate reader(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 이용하여 450 ㎚에서 흡광도를 측정하였다. 세포 독성 효과는 시료를 첨가하지 않는 대조군에 대한 백분율(%)로 표시하였다.

5) ROS 염색

24-well plate에 0 ㎍/㎖, 0.1 ㎍/㎖ 및 1 ㎍/㎖ 우고닌-하이드로젤 지지체를 넣은 후 BMMs가 5×10^4cells/well이 되도록 분주하고 BMMs에 RANKL 100 ng/㎖과 M-CSF 30 ng/㎖를 처리하여 1일 배양하였다. 그 후 세포를 PBS로 세척하고 10uM DCFH-DA을 30분 동안 처리하였다. 3번의 세척 과정을 거친 후 DCF의 형광은 confocol laser scanning microscopy로 관찰하였다.

6) Actin-ring 염색

4-well plate에 농도별로 우고닌-하이드로젤 지지체를 넣고 BMMs가 5×10^4 cells/well이 되도록 분주하고 BMMs에 RANKL 100 ng/㎖과 M-CSF 30 ng/㎖를 처리하여 파골 세포 분화를 6일간 유도시킨 후 세포를 3.7% formaldehyde에 10분간 고정하고 PBS로 세척 후에 rhodamin-conjugated phalloidin을 처리하여 30분간 배양하였다. Actin-ring 형성은 형광현미경 Olympus IX71-F32PH 모델(Olympus, Tokyo, Japan)을 사용하여 관찰하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 우고닌의 HPLC 분석 결과

우고닌의 HPLC 분석 결과는 Fig. 1과 같다.

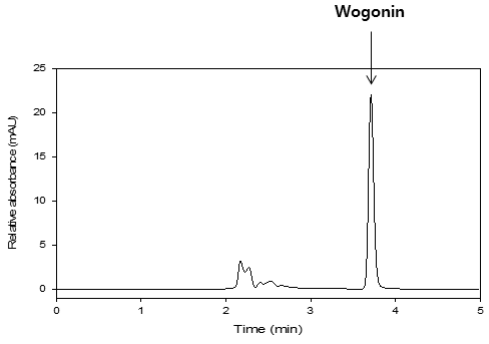

Fig. 1. Wogonin HPLC Peak.

2. 우고닌-하이드로젤 지지체 약물 방출 패턴

0.1 ㎍/㎖와 1 ㎍/㎖의 우고닌-하이드로젤 지지체에서 우고닌 방출량을 시간대별로 측정한 결과, 0.1 ㎍/㎖ 우고닌-하이드로젤 지지체는 4일, 1 ㎍/㎖ 우고닌-하이드로젤 지지체는 10일까지 방출되었다(Fig. 2).

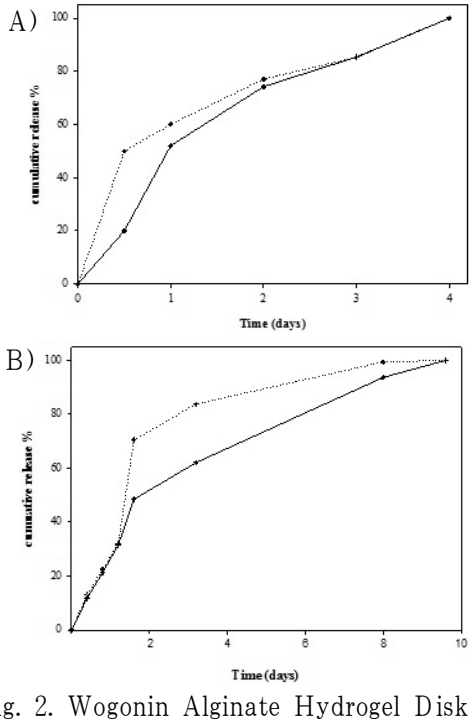

Fig. 2. Wogonin Alginate Hydrogel Disk (WHD) Release Profile(HPLC)
A) Wogonin release rate in 0.1 ㎍/㎖
B) Wogonin release rate in 1 ㎍/㎖

3. 우고닌-하이드로겔 지지체 세포 독성 평가

BMMs에 대한 0.1 ㎍/㎖와 1 ㎍/㎖ 우고닌-하이드로겔 지지체의 세포 독성을 측정한 결과 24시간과 48시간 후의 모든 농도에서 세포 독성이 나타나지 않았다(Fig. 3).

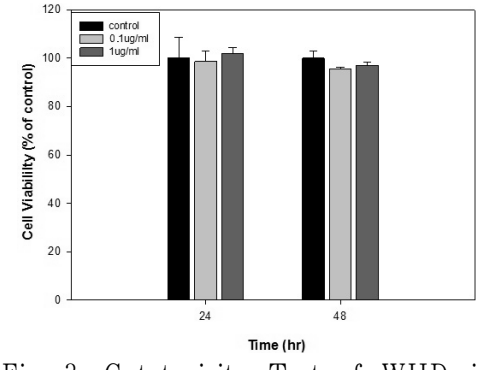

Fig. 3. Cytotoxicity Test of WHD in RANKL, M-CSF Stimulated BMMs for 24, 48 hours Incubation.
WHD means Wogonin alginate hydrogel disk

4. 우고닌-하이드로겔 지지체 ROS 억제 확인

DMMs에 대한 0.1 ㎍/㎖와 1 ㎍/㎖의 우고닌-하이드로겔 지지체에서 ROS 생성 억제를 관찰한 결과, 농도 의존적으로 ROS가 억제되었다(Fig. 4).

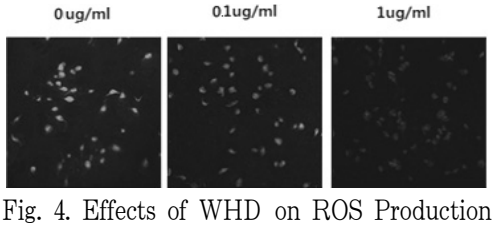

Fig. 4. Effects of WHD on ROS Production in RANKL, M-CSF Stimulated BMMs : Immunostaining(1 day)

5. 우고닌-하이드로겔 지지체 골 재흡수 억제 효과

Actin ring 염색을 실시한 결과, 0.1 ㎍/㎖ 및 1 ㎍/㎖ 우고닌-하이드로겔 지지체에서 농도 의존적으로 actin ring 형성이 억제됨을 확인하였다(Fig. 5).

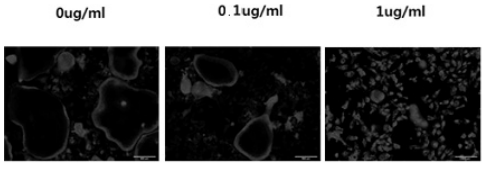

Fig. 5. Effects of WHD on Actin Ring Formation in RANKL, M-CSF Stimulated BMMs : Actin Ring Staining(5 day)

Ⅳ. 고 찰

세계보건기구(WHO)는 골다공증을 "골량의 감소와 미세구조의 이상을 특징으로 하는 전신적인 골격계 질환으로, 결과적으로 뼈가 약해져서 부러지기 쉬운 상태가 되는 질환"으로 정의하고 있고, 이는 골형성과 골흡수의 균형이 파괴되어 나타난다[15].

파골세포는 monocyte/macrophage 전구체가 증식과 분화과정을 거쳐서 형성되는데, 그 과정에서 RANKL와 M-CSF가 필수적인 역할을 한다. RANKL는 세포분화와 생존에 중요한 역할을 하며, M-CSF는 주로 세포의 증식, 생존 및 세포골격화에 중요한 역할을 담당하고 있다[16].

골다공증의 중요한 위험인자는 노화 및 폐경으로 인한 빠른 골 소실이다. 여성의 경우, 폐경 이후 여성 호르몬의 결핍으로 급격한 골 흡수가 야기되고, 이후 노화로 골형성 기능이 점차 감소되어 골 소실이 지속된다. 따라서 골다공증의 예방을 위해서는 폐경 이후 노년층에서

골 소실을 가능한 막고자 하는 노력을 해야 한다[15].

멜라토닌은 뇌의 송과체에서 분비되는 호르몬으로 생후 급격히 증가하여 25세 전후하여 가장 높고 그 이후 점차로 감소하여 노년기에는 극히 낮아지는데, 폐경 초기 단계에 멜라토닌의 혈장농도가 감소하는 것은 폐경 후 골다공증의 유발에 중요한 인자라고 보여 진다[17].

한의학에서의 骨痿, 骨枯, 骨痺 등이 골다공증의 범주에 속하고 주된 병인을 大熱, 특히 폐경기 후 골다공증의 주된 병인을 腎虛라고 보았다[9]. 최근 여러 천연추출물의 파골세포 분화 억제 작용을 연구한 결과, 파고지, 호두, 용안육씨, 황금 등에서 우수한 효과가 나타났다. 특히, 전통 한약재인 黃芩 추출물에서 낮은 농도에서 가장 좋은 파골분화 억제 효과가 나타났다[18].

黃芩은 淸熱燥濕의 효능이 있어[19], 軟堅작용을 하는 濕熱을 제거해 줌으로써 골다공증의 치료에 도움이 될 수 있다. 최근 黃芩에 함유된 wogonin의 항염증 연구[20,21]효과를 나타내고 있다. 또한 黃芩은 2,000-4,000 ng/g의 멜라토닌을 함유하고 있는데, 이는 골아세포의 분화 및 골 성장을 촉진한다[22].

우고닌은 黃芩의 뿌리로부터 얻은 유효성분이다[23]. 최근 항염증 작용[24], 항B형간염 바이러스 작용[25], 항산화 작용[26-31], 항알러지 작용[32], 항바이러스 작용[33] 및 항불안 효과를 나타낸다는 보고가 있다[34]. 또한 신경보호 작용으로 뇌 보호 작용이 있고[35], 골다공증 관련해서는 조골세포와 파골세포의 활성에 영향을 미치며[13], 파골세포 억제효과가 있다[18].

하이드로젤은 친수성 가교 고분자로서, 제조하기 쉽고, 장기 안정성 등의 장점을 가지고 있어서 세포 보호, 약물 전달, 생체 주입, 세포 부착 ligand로 변형, 생물학적 접합성이 용이하다. 현재 조직공학, 약물 전달용 물질 등 다양한 생체의학 분야에 이용하고 있다[36]. 약물의 효과를 지속적으로 발현하게 할 수 있으며, 국소부위 처리에 유용하다.

이에 저자는 RANKL, M-CSF로 자극한 BMMs에 우고닌의 지속적인 적용을 위해 우고닌-하이드로젤 지지체를 제작하고 ROS 염색을 관찰하여 파골세포 분화 억제 효과를 알아보고 actin ring 형성을 관찰하여 골 재흡수 억제 효과를 실험하였다.

HPLC로 우고닌의 main peak를 검출하여 우고닌-하이드로젤 지지체 합성 후 우고닌의 방출 패턴을 확인하고, 우고닌-하이드로젤 지지체의 세포 독성 여부를 확인한 결과, 0.1 ㎍/㎖ 및 1 ㎍/㎖군 모두에서 세포독성이 나타나지 않았다.

산화 스트레스 상태란 신체의 대사 과정에서 발생하는 ROS와 항산화제의 균형이 깨지면서 ROS이 많아지는 경우를 뜻한다. 이런 기전으로 ROS 증가가 파골 세포의 기능을 항진시키며, 조골세포로의 분화 및 활성도를 억제한다[37-39].

ROS 생성을 측정한 결과, 우고닌-하이드로젤 지지체의 농도 의존적으로 ROS가 억제되었고, 이로써 파골세포 분화가 억제됨을 알 수 있었다.

골 흡수를 위해서 파골세포 표면의 actin ring 구조는 필수적이다. 파골세포의 세포골격화 과정에서 뼈에 부착함과 동시에 세포외 공간과 뼈를 흡수하는 공간을 구분하기 위해, 파골세포의 actin이 하나의 큰 ring으로 조직화된다. 파골세

포에 있어 actin ring의 형성은 세포가 뼈를 흡수할 수 있는 능력에 대한 중요한 표지가 된다.

DMMs에 우고닌-하이드로젤 지지체를 처리한 결과, 파골세포의 actin ring이 농도 의존적으로 둥글고 매끄러운 전형적인 형태를 유지되지 않았다[40]. 이는 우고닌-하이드로젤 지지체가 골 흡수 과정에 관여하여 파골세포 분화를 억제함을 의미한다고 볼 수 있다.

이상의 실험 결과를 통해 우고닌의 지속적인 적용을 위해 제작한 우고닌-하이드로젤 지지체는 세포독성을 나타내지 않는 범위에서 ROS 발생을 감소시켜 파골 세포의 분화를 억제시키고 actin ring 구조를 붕괴시켜 골 재흡수 과정을 억제함을 확인함으로써 향후 폐경기 골량 감소에 활용할 수 있는 치료제로 개발될 수 있는 가능성을 제시하고 있다.

Ⅴ. 결 론

黃芩의 성분인 우고닌의 지속적인 적용을 위해 우고닌-하이드로젤 지지체를 제작하고 ROS 염색을 관찰하여 파골세포 분화 억제 효과를 알아보고, actin ring 형성을 관찰하여 골 재흡수 억제 효과를 연구하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 0.1 ㎍/㎖ 이하의 농도에서 우고닌-하이드로젤 지지체는 세포 독성이 나타나지 않았다.
2. 0.1 ㎍/㎖ 및 1 ㎍/㎖ 우고닌-하이드로젤 지지체는 농도 의존적으로 ROS 생성을 억제하였다.
3. 0.1 ㎍/㎖ 및 1 ㎍/㎖ 우고닌-하이드로젤 지지체는 농도 의존적으로 actin ring 형성을 억제되었다.

□ 투 고 일 : 2011년 10월 31일
□ 심 사 일 : 2011년 11월 01일
□ 게재확정일 : 2011년 11월 07일

참고문헌

1. 2009년 생명표. 한국통계청. 2010:http://kostat.go.kr/.
2. 대한산부인과학회 교과서편찬위원회. 부인과학 제4판. 서울:도서출판 고려의학. 2008:563-7.
3. 조형래 등. 폐경후기 여성들이 호르몬 보충요법. 대한한방부인과학회지. 2002;15(3):75-81.
4. 김동일. 2007년 7월 폐경후 여성의 호르몬 요법에 대한 WHI 연구 발표 이후 한의학은 어떤 기여를 할 수 있을까?. 대한한방부인과학회지. 2004;17(3):105-15.
5. 강병문. 골다공증 치료의 의학약제와 대체 약물의 비교. 대한산부회지. 2006;49(12):2459-73.
6. 박형무. 한국의 골다공증 약제의 사용 현황. 대한산부회지. 2010;53(2):152-9.
7. 손계순. 콩 섭취가 폐경 후 여성의 골밀도 및 골대사 지표에 미치는 영향. 대한간호학회지. 2006;36(6):933-41.
8. 김정근 등. 숙지황과 가시오가피 추출물이 조골세포의 활성과 증식 및 파골세포의 골흡수 억제에 미치는 효과. 대한골대사학회지. 2002;9(2):133-43.
9. 김희진, 이태균. 폐경기골다공증에 관한 문헌적 고찰. 대한한방부인과학회

지. 1998;11(1):131-48.
10. 김진혁, 유동열. 골다공증에 응용되는 수종의 강근골 약물에 문헌적 고찰. 대한한방부인과학회지. 1999;12(1):105-24.
11. 허준. 대역 동의보감. 서울:동의보감출판사. 2005:770.
12. 전국한의과대학 본초학교수 공편저. 본초학. 서울:영림사. 2004:178-9.
13. 신정민 등. 황금 추출물이 조골세포와 파골세포의 활성에 미치는 영향. 한국식품과학회지. 2008;40(6):674-9.
14. Yoo HS, Lee EA, Park TG. Doxorubicin-conjugated biodegradable polymeric micelles having acid-cleavage linkages. J Control Release. 2002;82:17-27.
15. 정호연. 골다공증 진단 및 치료 지침 2007. 대한내분비학회지. 2008;23(2):76-108.
16. 김현주. 글루코코르티코이드에 의해 유도되는 골다공증의 병리학적 기전. 대한내분비학회지. 2009;24(4):231-6.
17. 오세인 등. 제 1형 골다공증에서 멜라토닌이 흰쥐 경골의 항산화효소 활성에 미치는 영향. 한국노화학회지. 2001;11(3):29-35.
18. 이효정 등. 천연물 추출물이 파골세포 분화억제 효과 검색. 한국식품과학회지. 2005;37(6):997-1004.
19. 신민교 편저. 임상본초학. 서울:영림사. 2002:400-1.
20. Chena YC *et al.* Wogonin, baicalin, and baicalein inhibition of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 gene expressions induced by nitric oxide synthase inhibitors and lipopolysaccharide. Biochem Pharmacol. 2001;61(11):1417-27.
21. Krakauer T, Li B, Young H. The flavonoid baicalin inhibits superantigen-induced inflammatory cytokines and chemokines. FEBS Lett. 2001;500(1-2):52-5.
22. Jerome AR, Kim BG. Melatonin promotes osteoblast differentiation and bone formation. J Biol Chem. 1999;274(31):22041-7.
23. Liaw J, Gau YY, Chao YC. Effect of baicalin on tracheal permeability in ovalbumin(OA)-sensitized guinea pigs. Pharm Res. 1999;16(10):1653-7.
24. You KM, Jong HG, Kim HP. Inhibition of cyclooxygenase/lipoxygenase from human platelets by polyhydroxylated/methoxylated flavonoids isolated from medicinal plants. Arch Pharm Res. 1999;22(1):18-24.
25. Guoa Q *et al.* Anti-hepatitis B virus activity of wogonin in vitro and in vivo. Antiviral Res. 2007;74(1):16-24.
26. Gao Z *et al.* Free radical scavenging and antioxidant activities of flavonoids extracted from the radix of Scutellaria baicalensis Georgi. Biochim Biophys Acta(BBA). 1999;1472(3):643-50.
27. Gao Z, Huang K, Xu H. Protective effects of flavonoids in the roots of scutellaria baicalensis georgi against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in hs-sy5y cells. Pharmacol Res. 2001;43(2):173-8.
28. Cho J, Lee HK. Wogonin inhibits excitoxic and oxidative neuronal damage in primary cultured rat cortical cells.

Eur J Pharmacol. 2004;485(1-3):105-10.
29. Lim BO. Effects of wogonin, wogonoside and 3, 5, 7, 2', 6' - pentahydroxyflavone on chemical mediator production in peritoneal exduate cells and immunoglobulin E of rat mesenteric lymph node lymphocytes. J Ethnopharmacol. 2003;84(1):23-9.
30. Kim HC *et al*. The plant flavonoid wogonin suppresses death of activated C6 rat glial cells by inhibiting nitric oxide production. Neurosci Lett. 2001;309(1):67-71.
31. Kim YO *et al*. Cytoprotective effect of Scutellaria baicalensis in CA1 hippocampal neurons of rats after global cerebral ischemia. J Ethnopharmacol. 2001;77(2-3):183-8.
32. Wakabayashi I, Yasui K. Wogonin inhibits inducible prostaglandin E(2) production in macrophages. Eur J Pharmacol. 2000;406(3):477-81.
33. Ma S *et al*. Antiviral Chinese medicinal herbs against respiratory syncytial virus. J Ethnopharmacol. 2002;79(2):205-11.
34. Hui KM *et al*. Anxiolytic effect of wogonin, a benzodiazepine receptor ligand isolated from Scutellaria baicalensis Georgi. Biochem Pharmacol. 2002;64(9):1415-24.
35. Kang SS *et al*. Neuroprotective effects of flavones on hydrogen peroxide induced apoptosis in SH-SY5Y neuroblostoma cells. Bioorg Med Chem Lett. 2004;14(9):2261-4.
36. Hoffman AS. Hydrogels for biomedical applications. Adv Drug Deliv Rev. 2002;43:3-12.
37. 이성수 등. 건강한 폐경 후 여성에서 혈청 산화스트레스 표식자와 골밀도 및 골대사와의 상관 관계. 대한골대사학회지. 2005;12(2):171-7.
38. Lee NK *et al*. A crucial role for reactive oxygen species in RANKL-induced osteoclast differentiation. Blood. 2005;106(3):852-9.
39. Ha H *et al*. Reactive oxygen species mediate RANK signaling in osteoclasts. Exp Cell Res. 2004;301(2):119-27.
40. 오성렬 등. 골 흡수에 M-CSF의 효과. 대한골대사학회지. 2009;16(1):15-21.