

三種 地黃 추출물이 배양 심근세포에 미치는 영향

황인진 · 권강범 · 조현익 · 민영기 · 허재혁 · 김구환 · 류도곤*

원광대학교 한외과대학 생리학교실

Effects of three kinds of Radix Rehmanniae Water Extract in Cultured Rat Myocardial Cells

In Jin Hwang, Kang Beom Kwon, Hyun Ik Cho, Young Gi Min, Jae Hyuk Heo, Gu Hwan Kim, Do Gon Ryu*

Department of Physiology, College of Oriental Medicine, Wonkwang University

To test the protective effect of herbal medicine on myocardial damage against oxygen free radical-induced mycardiotoxicity, cytotoxicity was examined using MTT, Beating rate and DNA synthesis assay in the presence of water extract of three kinds of Radix Rehmanniae. Myocardial toxicity was evaluated in neonatal rat mycardiocytes in cultures. The results of these experiments were obtained as follows : Xanthine oxydase/hypoxanthine resulted in a decrease in viability, beating rate and DNA synthesis in cultured myocardial cells. Radix Rehmanniae Recens(生地黃, RRR) water extract shows effects of protection from the cardiocyte toxicity induced by xanthine oxydase/hypoxanthine treatment such as increases in beating rate. Radix Rehmanniae Preparat(熟地黃, RRP) water extract shows effects of protection from the cardiocyte toxicity induced by xanthine oxydase/hypoxanthine treatment such as increases in DNA synthesis. These results show that xanthine oxydase/hypoxanthine elicits toxic effects in cultured myocardial cells derived from neonatal rat, and suggest that water extract of three kinds of Radix Rehmanniae is very effective in the prevention of xanthine oxydase/hypoxanthine-induced cardiotoxicity.

Key words : Radix Rehmanniae Recens, Radix Rehmanniae, Radix Rehmanniae Preparat, Myocardial cell, Cardiotoxicity, xanthine oxydase/hypoxanthine.

서 론

生地黃는 玄蓼科에 속한 地黃의 根으로 性은 大寒 無毒하고 味는 甘微苦하며, 歸經은 心, 肝, 腎하여 祛瘀, 生津止渴하는 약이며^{1,3}, 乾地黃은 地黃의 根을 건조한 것으로 性은 寒 無毒하고 味는 甘하며, 歸經은 心, 肝, 腎, 心包, 小腸經으로 補血, 滋陰, 益氣, 破惡血, 利耳目, 清血調經하는 약이고^{1,3,4}, 熟地黃은 地黃의 根을 九蒸九曝한 것으로 性은 微溫無毒하고 味는 甘하며 歸經은 心, 肝, 腎經으로 補血氣, 滋腎水, 益眞陰, 補骨髓하며 滋養強壯의 效果가 있으며 補身長壽의 要藥이다^{1,4}. 산소자유기는 xanthine 혹은 hypoxanthine이 oxygen에 의해서 산화되는데 이 반응은 xanthine oxidase에 의해서 촉매되어 superoxide radical(O²⁻)과 hydrogen peroxide(H₂O₂)가 생산된다^{5,6}. 이렇게 생성된 산소자유기는 철(iron)과 반응하여 hydroxyl radical(OH·)이 생성된다^{7,8}. 산소자유

기는 저산소증이나 허혈 및 증풍과 같은 이상적인 상태에서는 산소자유기가 비정상적으로 형성되어⁹, 그 결과 세포막의 지질과산화반응을 촉진시킬 뿐만 아니라¹⁰ protein kinase C(PKC)나 lipid-phosphatase A2와 같은 이차전달자를 비롯하여 각종 효소나 단백질질을 불활성시킴으로써 세포의 손상 및 조직의 괴사를 초래한다¹¹.

이에 저자는 삼종 地黃 전탕액의 배양 심근세포 독성에 대한 방어효과를 구명하기 위하여 먼저 XO/HX에 의한 백서의 배양 심근세포 독성 효과를 MTT 정량을 이용하여 조사하였으며 이에 대한 삼종 地黃 전탕액의 방어효과를 심근세포 박동수 측정, DNA 합성량의 측정을 통하여 관찰한 바 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 실험동물

동물은 ICR 계통의 건강상태가 양호한 생후 3일된 백서를 사용하였다.

* 교신저자 : 류도곤, 전북 익산시 신용동 344-2, 원광대학교 한외과대학

E-mail : tkryu@wonkwang.ac.kr, Tel : 063-850-6846

· 접수: 2002/07/08 · 수정: 2002/08/26 · 채택 : 2002/11/18

2. 세포배양

심장조직에서 분리된 심근세포를 Ca^{2+} , Mg^{2+} -free인 Hank's balanced salt solution (HBSS, Gibco)으로 3회 세척한 후 1,000rpm에서 20분간 원심시켰다. 심장조직을 0.05% trypsin으로 20분 동안 항온기에 넣은 다음 pasteur pipette으로 3, 4회 분쇄한 후 800×g에서 10분간 원심시킨다. 원심된 세포를 Eagle's minimum essential medium(MEM, Gibco)에 10% fetal bovine serum(FBS, Gibco)과 penicillin G(25 unit/ml)가 첨가된 혼합액에 부유시킨 다음 96-multiwell plate(Gibco)에 1×10^6 cell/well의 세포 밀도로 분주하였다. 분주된 세포는 3일 간격으로 새로운 배양액으로 교환하여 주었으며 xanthine oxydase/hypoxanthine (XO/HX)이 포함되지 않은 배양액을 대조군으로 하여 비교 조사하였다. 실험전 배양액을 버리고 세포를 PBS로 3-4회 세척하였으며 세포는 배양 7일 후 본 실험에 사용하였다.

3. 전탕액의 제조

실험에 사용한 약재는 生地黃 200g, 熟地黃 200g, 乾地黃 200g을 환저플라스크에 넣고 冷却器를 附着하여 3시간 동안 電熱器로 煎湯한 후 3,000rpm에서 20분간 원심분리하고 회전 진공 농축기로 감압농축한 후 凍結乾燥器에서 乾燥하여 각각 生地黃 15.05g, 熟地黃 108.23g, 乾地黃 40.49g의 분말 시료를 얻었다.

4. Xanthine Oxydase(XO)/Hypoxanthine(HX)의 제조 및 처리

본 실험에 사용한 시약으로는 xanthine oxidase(XO, Sigma)와 hypoxanthine (HX, Sigma)으로 XO의 경우 100 mU/ml, 10 mU/ml, 1 mU/ml의 저장액을, HX의 경우 1 M, 100 mM, 10 mM의 저장액을 만들어 냉암소에 보관한 후 실험 당일 적당한 양으로 희석 사용하거나 필요한 양을 직접 배양액에 첨가하여 사용하였다.

5. 전탕액의 처리

실험에 사용한 각각의 검액을 여러 농도로 하여, 백서의 배양 심근세포를 XO/HX에 노출시키기 3시간 전에 각각 전처리한 다음 XO/HX에 노출시킨 후 이들 한약재가 XO/HX의 심근세포 독성에 미치는 효과를 조사하였다.

6. 세포독성 및 방어효과 검증

1) MTT 정량

세포생존율 측정을 위한 MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide] (Sigma) 정량¹²⁾은 XO/HX을 처리한 배양 심근세포를 PBS로 3회 세척한 다음, 전날 제조한 50 mg/ml의 MTT를 well당 최종농도로 희석하여 넣어 37℃, 5% CO₂로 조절된 정온기에서 배양한 후 하였다. 배양 완료 후 dimethylsulfoxide (DMSO, Merck)를 처리한 다음 ELISA leader (Molecular Device, USA)로 570nm에서 흡광도를 측정하여 대조군과 비교하였다.

2) 심근세포 박동수(beat rate, BR) 측정¹³⁾

배양 심근세포의 BR의 측정을 위하여 일정 시간 배양한 심

근세포에 여러 농도의 XO/HX가 포함된 배양액에서 48시간 동안 배양한 후 약제가 포함되지 않은 배양액을 대조군으로 하여 분당 심근세포의 박동수를 대조군과 비교하였다.

3) DNA synthesis 측정

일정 시간동안 약제를 처리한 실험군과 약제처리를 하지 않은 대조군을 [3H]thymidine이 10uCi/ml 포함된 배양액으로 교환하여 1시간동안 표식하였다. 100ug/ml의 sodium azide로 DNA합성을 억제시켜 Ca^{2+} , Mg^{2+} 가 없는 PBS로 3회 세척한 후 0.05% trypsin-EDTA로 세포를 부유시켰다. 세포를 Whatman GF/C glass filter paper로 수확한 후 여과지를 건조시켜 scintillation cocktail(PPO 4g, POPOP 0.1g/Toluene 1L)을 넣고 반응시킨 다음 액체섬광계수기로 방사능을 측정하여 이를 대조군과 비교하여 백분율로 표시하였다.

7. 통계처리

실험결과에 대한 유의성의 검정은 ANOVA후에 Tukey-Kramer multiple comparison test에 의하였으며 p값이 0.05 이하인 것만 유의한 것으로 하였다.

실험성적

1. XO/HX가 심근세포의 생존율에 미치는 영향

1) 심근세포 생존율 : MTT 정량

XO가 배양 심근세포에 미치는 독성을 관찰하기 위하여 1~30 mU/ml 농도로처리한 배양 심근세포에 세포생존율을 MTT 정량법에 의하여 측정된 결과 처리한 XO의 농도에 비례하여 세포의 생존율이 감소하였다. 특히 15 mU/ml, 30 mU/ml XO의 처리에서는 세포의 생존율이 대조군에 비하여 51.3%(p<0.05), 44.6%(p<0.01)로 유의한 감소를 나타냈다 (Fig. 1).

또한 15 mU/ml의 XO가 포함된 배양액에서 심근세포를 32-56시간동안 배양한 후 시간의 경과에 따른 세포의 생존율을 MTT assay법에 의하여 조사하였다. 그 결과 처리한 시간에 의존적으로 세포 생존율이 감소하였으며 특히 48시간, 56시간에서 유의한 감소를 나타냈다 (Fig. 2).

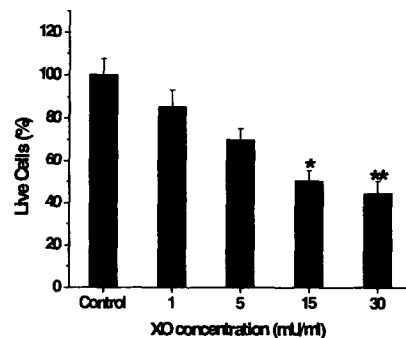


Fig. 1. Dose-response relationship of XO treatment in cultured rat myocardial cells. Cultures were exposed to various concentrations of XO for 48 hours, respectively. Cell viability was measured by MTT assay and determined as % of control. The results indicate mean±SE(n=5). Significant differences from the control group are marked with asterisk. *p<0.05, **p<0.01

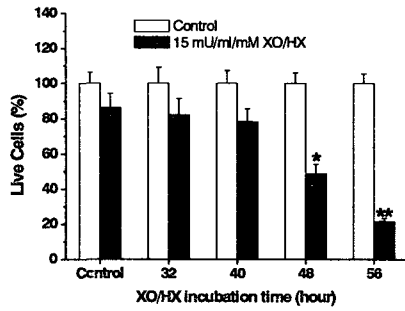


Fig. 2. Time-response relationship of XO/HX treatment in cultured rat myocardial cells. Cultured rat myocardial cells were treated with 15 μU/ml XO in 0.1 mM HX for various time intervals. Cell viability was measured by MTT assay and determined as % of control. The values are the mean±SE for 6 experiments. Asterisk indicate the significant differences between groups. *p<0.05, **p<0.01

2. XO/HX의 심근세포 손상에 대한 한약재의 영향

1) 심근세포 박동수의 측정

(1) XO/HX가 심근세포의 박동수에 미치는 영향

XO/HX의 농도에 따른 심근세포 박동수를 측정하기 위하여 0.1 mM HX에 5~40 mU/ml XO의 농도가 각각 포함된 배양액에서 심근세포를 48시간 동안 처리한 후 세포의 박동수 변동을 대조군과 비교 조사하였다. 그 결과 처리한 XO의 농도에 비례하여 박동수가 감소하였으며 20 mU/ml, 40 mU/ml XO의 처리에서는 심근박동수가 대조군100%(114±10.7 beats/min)에 비하여 각각 51.8%(p<0.05), 40.4%(p<0.01)로 통계적으로 유의한 감소를 나타냈다 (Fig. 3).

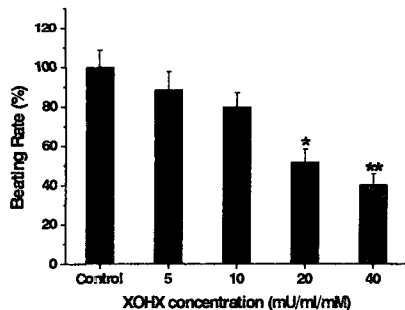


Fig. 3. Dose-response relationship of XO/HX on beating rate in cultured rat myocardial cells. Cultured rat myocardial cells were treated with various concentrations of XO in 0.1 mM HX for 48 hours. Beating rate was measured by count of beating frequency per minute. Control value represent 114±10.7 beats/min. The values are the mean±SE for 5 experiments. Significant differences from the control are marked with asterisk. *p<0.05, **p<0.01

(2) XO/HX에 의해 감소한 심근세포 박동수에 미치는 한약재의 효과

배양 심근세포에 대한 XO/HX의 세포독성에 대한 生地黃, 乾地黃, 熟地黃 전탕액의 효과를 심근세포 박동수의 측면에서 조사하기 위하여 XO/HX의 MCV값인 20 mU/ml 농도에서 48시간 동안 노출시키기 3시간 전에 각각 15~100 μg/ml의 삼종 地黃 전탕액이 포함된 배양액에서 전처리한 후 심근세포 박동수를 조사하였다. 生地黃의 경우 배양한 후 XO/HX을 처리하지 않고 生地黃 전탕액을 농도별로 처리한 경우 심근세포 박동수에 유의한 변화는 나타나지 않았다. 20 mU/ml XO/0.1 mM HX를 처리한

경우 XO/HX을 처리하지 않은 경우에 비하여 39.5%로 감소하여 세포에 독성을 나타냈다. 그러나 生地黃 전탕액을 전 처리한 경우 처리한 농도에 비례하여 심근세포 박동수 감소효과가 감약되어 XO/HX에 의한 독성을 방어하였다. 특히 100 μg/ml 生地黃 전탕액을 전처리한 경우에 生地黃 전탕액을 전 처리하지 않고 XO/HX만을 처리한 군 39.5%에 비하여 71.7%(p<0.05)로 XO/HX에 의한 감소효과를 유의하게 억제하였다 (Fig. 4). 乾地黃의 경우 배양한 후 XO/HX을 처리하지 않고 乾地黃 전탕액을 농도별로 처리한 경우 심근세포 박동수에 유의한 변화는 나타나지 않았다. 20 mU/ml XO/0.1 mM HX를 처리한 경우 XO/HX을 처리하지 않은 경우에 비하여 심근세포 박동수가 51.7%로 감소하여 세포에 독성을 나타냈다. 그러나 乾地黃 전탕액을 전 처리한 경우 처리한 농도에 비례하여 심근세포 박동수가 증가하여 XO/HX에 의한 독성을 방어하였으나 통계적인 유의성은 나타나지 않았다 (Fig. 4). 熟地黃의 경우 배양한 후 XO/HX을 처리하지 않고 熟地黃 전탕액을 농도별로 처리한 경우 심근세포 박동수에 유의한 변화는 나타나지 않았다. 20 mU/ml XO/0.1 mM HX를 처리한 경우 XO/HX을 처리하지 않은 경우에 비하여 심근세포 박동수가 42.7%로 감소하여 세포에 독성을 나타냈다. 그러나 熟地黃 전탕액을 전 처리한 경우 처리한 농도에 비례하여 심근세포 박동수가 증가하여 XO/HX에 의한 독성을 방어하였으나 통계적인 유의성은 나타나지 않았다 (Fig. 4).

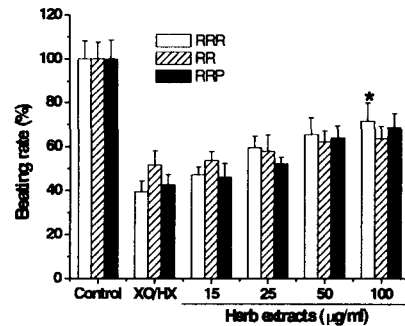


Fig. 4. Dose-response relationship of Radix Rehmanniae Recens (生地黃, RRR), Radix Rehmanniae(乾地黃, RR) and Radix Rehmanniae Preparat(熟地黃, RPP) water extracts for beating rate in cultured rat myocardial cells. Cultured rat myocardial cells were preincubated with various concentrations of agents for 3 hours, and then exposed to 20 μU/ml XO in 0.1 mM HX for 48 hours. Beating rate was measured by count of beating number per minute. The values represent the mean±SE for 5 experiments. Significant differences from the XO/HX treated group are marked with asterisk. *p<0.05

2) DNA 합성량의 측정

(1) XO/HX가 DNA 합성량에 미치는 영향

XO/HX의 농도에 따른 심근세포 DNA의 합성량을 측정하기 위하여 0.1 mM HX에 1~30 mU/ml XO의 농도가 각각 포함된 배양액에서 심근세포를 48시간 동안 처리한 후 세포의 DNA 합성량 변동을 대조군과 비교 조사하였다. 그 결과 처리한 XO의 농도에 비례하여 DNA 합성량이 감소하였으며 15 mU/ml, 30 mU/ml XO의 처리에서는 심근세포의 DNA 합성량이 대조군 100%에 비하여 각각 53.7%(p<0.05), 74.2%(p<0.01) 감소하여 통계적으로 유의한 감소를 나타냈다 (Fig. 5).

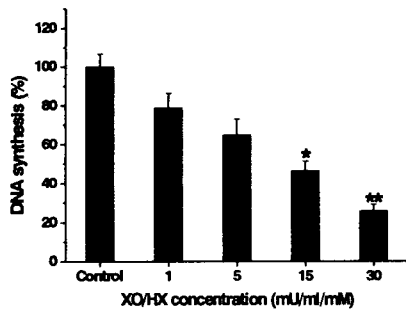


Fig. 5. Dose-response relationship of XO/HX on DNA synthesis in cultured rat myocardial cells. Cultured rat myocardial cells were treated with various concentrations of XO in 0.1 mM HX for 48 hours. DNA synthesis was measured by "material and method". The values are the mean±SE for 5 experiments. Significant differences from the control are marked with asterisk. *p<0.05, **p<0.01

(2) XO/HX에 의해 감소한 심근세포 DNA 합성량에 미치는 한약재의 효과

배양 심근세포에 대한 XO/HX의 세포독성에 대한 生地黃, 乾地黃, 熟地黃 전탕액의 효과를 심근세포 DNA 합성량의 측면에서 조사하기 위하여 XO/HX의 MCV값인 15 mU/ml 농도에서 48시간 동안 노출시키기 3시간 전에 각각 15~120 µg/ml의 한약재 전탕액이 포함된 배양액에서 전처리한 후 심근세포의 DNA 합성량을 조사하였다. 生地黃의 경우 배양한 후 XO/HX를 처리하지 않고 生地黃 전탕액을 농도별로 처리한 경우 심근세포 DNA 합성량에 유의한 변화는 나타나지 않았다. 15 mU/ml XO/0.1 mM HX를 처리한 경우 XO/HX를 처리하지 않은 경우에 비하여 심근세포 DNA 합성량이 57.4%로 감소하여 세포에 독성을 나타냈다. 그러나 生地黃 전탕액을 전 처리한 경우 처리한 농도에 비례하여 심근세포 DNA 합성량이 증가하여 XO/HX에 의한 독성을 방어하였으나 통계적인 유의성은 나타나지 않았다(Fig. 6).

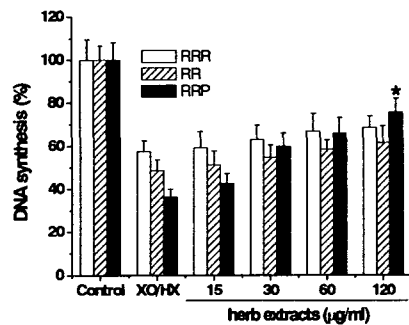


Fig. 6. Dose-response relationship of Radix Rehmanniae Recens (生地黃, RRR), Radix Rehmanniae(乾地黃, RR) and Radix Rehmanniae Preparat(熟地黃, RPP) water extracts for DNA synthesis in cultured rat myocardial cells. Cultured rat myocardial cells were preincubated with various concentrations of agents for 3 hours, and then exposed to 15 mU/ml XO in 0.1 mM HX for 48 hours. DNA synthesis was measured by "material and method". The values are the mean±SE for 5 experiments. Significant differences from the XO/HX-treated group are marked with asterisk. *p<0.05

乾地黃의 경우 배양한 후 XO/HX를 처리하지 않고 乾地黃 전탕액을 농도별로 처리한 경우 심근세포 DNA 합성량에 유의한 변화는 나타나지 않았다. 15 mU/ml XO/0.1 mM HX를 처리

한 경우 XO/HX를 처리하지 않은 경우에 비하여 심근세포 DNA 합성량이 48.6%로 감소하여 세포에 독성을 나타냈다. 그러나 乾地黃 전탕액을 전 처리한 경우 처리한 농도에 비례하여 심근세포 DNA 합성량이 증가하여 XO/HX에 의한 독성을 방어하였으나 통계적인 유의성은 나타나지 않았다 (Fig. 6).

熟地黃의 경우 배양한 후 XO/HX를 처리하지 않고 熟地黃 전탕액을 농도별로 처리한 경우 심근세포 DNA 합성량에 유의한 변화는 나타나지 않았다. 15 mU/ml XO/0.1 mM HX를 처리한 경우 XO/HX를 처리하지 않은 경우에 비하여 36.4%로 감소하여 세포에 독성을 나타냈다. 그러나 熟地黃 전탕액을 전 처리한 경우 처리한 농도에 비례하여 심근세포 DNA 합성량 감소효과가 감약되어 XO/HX에 의한 독성을 방어하였다. 특히 120 µg/ml 熟地黃 전탕액을 전처리한 경우에 熟地黃 전탕액을 전 처리하지 않고 XO/HX만을 처리한 군 36.4%에 비하여 71.5%(p<0.05)로 XO/HX에 의한 감소효과를 유의하게 억제하였다 (Fig. 6).

고찰

生地黃는 祛瘀, 生津止渴하는 요약으로^{1,3)}, 乾地黃은 補血, 滋陰, 益氣, 破惡血, 利耳目, 清血調經하는 요약으로^{1,3,4)}, 熟地黃은 補血氣, 滋腎水, 益真陰, 補骨髓하며 滋養強壯의 효과가 있어 補身長壽의 요약으로^{1,4)} 한방에서 널리 쓰이는 한약재이다. 본 논문은 이들 삼종 地黃류의 배양 심근세포의 산소자유기 독성에 대한 방어효과를 조사하여 비교한 실험으로 임상에서 널리 활용되는 이들 삼종 地黃 전탕액의 효능을 in vitro 모델에서 조사하고자 한 논문이다. 심근세포에 독성을 유발하는 물질은 증금속⁹⁾, 산소자유기를 비롯하여, adriamycin 및 dichloromethane 등과 화학약제가 있다¹⁰⁾. 특히 산소자유기는 신경병변의 원인으로 밝혀지면서 이들 병변에 대한 치료적 측면에서 산소자유기에 의한 신경세포의 산화적손상에 대한 작용구명과 병리적 현상을 밝히기 위하여 많은 연구가 이루어져 왔다^{10,11)}. 최근 산소자유기는 배양심근세포에 독성을 나타내며 이런 독성에 대하여 한약재 전탕액이 방어효과를 나타낸다고 보고되고 있다¹⁴⁻¹⁶⁾. 본 실험에 사용된 산소자유기인 XO/HX는 Zhang 등의 보고에 의하면 LDH 활성도를 증가시키고 심근세포 박동수를 감소시키며 ATP 양을 감소시켜 심근세포에 독성을 일으킨다 하였다.

이에 저자는 XO/HX를 이용하여 산소자유기를 유발시켜 심근세포에 대한 독성을 조사하고 이 독성에 대한 삼종 地黃 전탕액의 방어효과를 조사하였다. 실험에서는 먼저 XO/HX의 심근독성효과를 MTT assay를 이용하여 조사하였다. MTT assay는 세포의 생존율을 측정하는 방법으로서 이 실험에서 XO/HX를 처리한 후 위의 방법에 의하여 세포의 생존율을 조사한 결과 농도와 시간에 의존적으로 생존율을 감소시켜 (Fig. 1-2) 세포에 독성을 유발하여 Takahashi 등¹³⁾, Zhang 등이 보고한 결과와 일치하였다. 이러한 XO/HX의 독성에 대하여 삼종 地黃 전탕액의 방어효과를 심근세포 박동수를 이용하여 조사하였다. 먼저 XO/HX의 심근세포 박동수에 대한 효과를 조사한 결과 처리한 XO/HX의 농도에 비례하여 박동수가 감소하여 세포에 독성을 나타냈으

며 20 mU/ml XO의 농도에서 대조군에 비하여 약 50%의 감소 효과를 보여(Fig. 3) 전 실험자들의 결과¹³⁾와 일치하였다. 20 mU/ml XO의 심근세포 박동수의 감소효과에 대하여 삼종 地黃 전탕액을 3시간 동안 전 처리할 경우 처리한 삼종 地黃 전탕액의 농도에 비례하여 심근세포 박동수의 감소가 억제되어 방어효과를 나타냈다(Fig. 4). 특히 삼종 地黃 전탕액 중 生地黃 전탕액 100 ug/ml의 농도에서 통계적으로 유의한 억제효과를 나타냈다. 삼종 地黃 전탕액은 XO/HX에 의해 감소한 심근세포 박동수에 대하여 억제효과를 나타냈으며 生地黃 전탕액이 가장 효과가 두드러진 것으로 나타났다. 산소자유기의 세포에 대한 많은 독성효과 중의 하나는 DNA 합성량의 감소이다. XO/HX는 처리한 농도에 비례하여 DNA 합성량을 감소시켰으며(Fig. 5) 15 mU/ml의 XO 농도에서 대조군에 비하여 50%의 감소효과를 나타내 이 농도에서 삼종 地黃 전탕액의 방어효과를 조사하였다. 15 ug/ml ~ 120 ug/ml의 농도로 전 처리한 삼종 地黃 전탕액은 처리한 농도에 비례하여 XO/HX에 의한 DNA 합성의 감소를 억제시켰으며 특히 삼종 地黃 중 熟地黃 전탕액의 효과가 두드러진 것으로 나타났다(Fig. 6).

위의 결과는 삼종 地黃 전탕액은 XO/HX에 의한 심근세포 독성에 대하여 방어효과를 나타냈으며 심근세포 박동수의 경우는 生地黃 전탕액이 DNA 합성량의 경우는 熟地黃 전탕액이 효과가 뛰어난 것으로 나타났다. 이같은 결과는 삼종 地黃의 in vitro 병태 모델에서의 효과비교를 통하여 임상에서의 활용폭을 넓힐 수 있는 근거를 마련하였다고 할 수 있으며 앞으로 다른 병태모델에서의 효능비교가 필요하리라 사료된다.

결 론

生地黃, 乾地黃, 熟地黃 전탕액이 심근세포 손상에 미치는 영향을 구명하기 위하여 백서에서 분리하여 배양한 심근세포에 이들 삼종 地黃 전탕액을 전 처리한 후 XO/HX의 세포독성효과와 이에 대한 방어효과를 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

XO/HX는 농도와 시간의존적으로 심근세포 생존율의 감소를 나타냈다. 生地黃 전탕액은 XO/HX에 의하여 유발된 심근세포 박동수의 감소에 대하여 유의한 방어효과를 나타냈다. 熟地黃 전탕액은 XO/HX에 의하여 유발된 심근세포 DNA 합성량의 감소에 대하여 유의한 억제효과를 나타냈다.

이상의 결과에서 XO/HX는 심근세포에 독성을 나타냈으며 生地黃, 熟地黃 전탕액을 전처리하여 효과적으로 차단하였으며 앞으로 삼종 地黃간의 비교연구와 더불어 지속적인 기전구명이 필요하리라 생각된다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부 한방치료기술개발사업의 지원(HMP-CO-03-0003)과 2002년도 원광대학교 교비지원에 의하여 연구된 것임.

참고문헌

1. 陸昌洙 외 : 韓藥學II, 서울, 光明醫學社, p.141, 1992.
2. 李尙仁 외 : 漢藥臨床應用, 서울, 成輔社, p.199-201, 254-355, 1986.
3. 申佶求 : 申氏本草學, 서울, 壽文社, pp.92-93, 1981.
4. 辛民教 : 本草維新, 서울, 慶苑文化社, p.78, 1979.
5. Fridovich I. : Quantitative aspects of the production of superoxide anion radical anion radical by milk xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.*, 245:4053-4057, 1970.
6. Killogg E. W., Fridovich I. : Liposome oxidation and erythrocyte lysis by enzymatically generated superoxide and hydrogen peroxide. *J. Biol. Chem.* 252:6721-6728, 1977.
7. Harber, F., Weiss, J. : The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by anion salts. *Proc. Roy. Soc. London A.* 147:333-351, 1934.
8. Graf E., Mahoney JR, Bryant RG, Eaton JW : Iron-catalyzed hydroxyl radical formation: Stringent requirement for free iron coordination site. *J. Biol. Chem.* 259:3620-3624, 1984.
9. Jesberger J. A., Richardson J. S. : Oxygen free radicals and brain dysfunction. *Int. J. Neurosci* 57:1-17, 1991.
10. Zhang Y., Tatsuno T., Carney J. M., Mattson M. P. : Basic FGF, NGF, and IGFs protect hippocampal and cortical neurons against iron-induced degeneration. *J. Cereb Blood Flow Metab.* 13:378-388, 1993.
11. Floyd R. A. : Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia. *FASEB J.* 4:2587-2597, 1990.
12. Mosmann T. : Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay. *J. Immunol. Methods*, 65:55-63, 1983.
13. K. Takahashi, Y. Fujita, T. Mayumi, T. Hama, T. Kishi : Effect of adriamycin on cultured mouse embryo myocardial cells. *Chem. Pharm. Bull.* 35(1) 326-334, 1987.
14. Kwon K. B., Jo H. I., Kim G. H., Kim S. B., Lee H. S., Hwang W. J., Park S. T., Ryu D. G. : Effects of Myrrha Water Extract on Rat Myocardial Cells in Cultures. *J. Korean Oriental Med.* 21(2):79-86. 2000.
15. Son C. S., Kwon K. B., Kim S. B., Lee H. S., Seo E. H., Lee H. S., Ryu D. G. : Effects of Dansamyeum Water Extract on Heart Beating Rate in Cultured Mouse Myocardial Cells. *Korean Journal of Oriental Medical Physiology & Pathology* 15(2):241-245, 2001.
16. Son C. S., Kwon K. B., Jung J. S., Hwang I. J., Kim W. K., Kim H. C., Oh K. S., Lee H. S., Ryu D. G. : Effects of Dansam-yeum Water Extract on LDH Activity of Myocardial Cells damaged by Reactive Oxygen Species. *Korean Journal of Oriental Medical Physiology & Pathology* 15(4):621-625. 2001.