

## 石斛의 항산화 효과

김영균<sup>#1</sup>, 양기호<sup>2</sup>, 조수인<sup>\*2</sup>

1 : 동의대학교 한의과대학, 2 : 동신대학교 한의과대학

### Anti-oxidative Effects of Dendrobii Herba on Toxic Agent Induced Kidney Cell Injury

Young-Gyun Kim<sup>#1</sup>, Gi-Ho Yang<sup>2</sup>, Su-In Cho<sup>\*2</sup>

1 : College of Korean Medicine, Dong-Eui University

2 : College of Korean Medicine, Dongshin University

#### ABSTRACT

**Objectives** : This study was carried out to determine if Dendrobii Herba have protective effect against cell injury induced by various toxic agents in rat kidney slices. Water(DWe) and methanol(DMe) extracts were prepared for this experiment.

**Methods** : Cell injury was estimated by measuring lactate dehydrogenase(LDH). Lipid peroxidation was examined by measuring malondialdehyde, a product of lipid peroxidation.

**Results** : DMe prevented the LDH release by CCl<sub>4</sub>, menadione, tert-butyl hydroperoxide and mercury treatment *in vitro* in kidney slices, but DWe prevented the LDH release by CCl<sub>4</sub> and mercury. DMe also prevented reduction in GSH and lipid peroxidation induced by CCl<sub>4</sub> and mercury.

**Conclusion** : Thus, DMe may have more powerful efficacy on anti-oxidative effects when compared with DWe. And further studies have to be followed concerned with extraction of Dendrobii Herba and its change of effects.

**Key words** : Dendrobii Herba, anti-oxidative effect, toxic agent induced kidney cell injury.

---

# 제1저자 : 김영균. 부산광역시 동의대학교 한의과대학 내과학교실.

\* 교신저자 : 조수인. 전라남도 나주시 대호동 동신대학교 한의과대학 본초학교실.

E-mail : sicho@dsu.ac.kr 전화 : 061-330-3513, Fax : 061-330-3519

· 접수 : 2005년 10월 21일 · 수정 : 2005년 12월 15일 · 채택 : 2005년 12월 20일

## 서 론

石斛은 난초과에 속한 *Dendrobium nobile* Lindl. 또는 기타 동속근연식물의 지상부를 건조한 것으로,性は微寒하고味는甘하며,胃·腎으로歸經한다. 또한益胃生津·滋陰清熱 등의 효능이 있어熱病傷津·口乾煩渴·病後虛熱·日暗不明 등의 병증에 이용되고 있으며,甘寒한 성미로 인해 주로胃中虛熱을 없애주고煩渴을 그치게 하며,아울러腎中에浮火를 맑게 해주어虛熱을 없애준다<sup>1)</sup>.

石斛에 관한 생리·약리학적 연구는 아직 초보적인 단계에 불과하며 효능에 관한 연구 논문들은 충분히 발표되지 못하고 있는 실정인데,한 등<sup>2)</sup>이 골다공증에 관한 연구를, Mizue 등<sup>3)</sup>이 반응성 산소기의 발생을 억제한다는 연구 결과를 발표한 바 있다.

인체 내에서 반응성 산소기들의 발생량이 많거나 항산화제 역할을 하는 물질들의 체내 농도가 감소하게 되면 세포는 손상을 받아서 여러 가지 질병을 유발시키는 원인이 된다<sup>4,5)</sup>. 반응성 산소기를 제거하거나 발생을 억제하는 약물이 개발된다면 여러 가지 형태의 생체 조직 손상을 방지하거나 예방할 수 있을 것이다.

따라서 본 연구에서는石斛의 다양한 효능 검색의 기초 연구를 위해石斛의 물 추출물과 메탄올 추출물이 사염화탄소(CCl<sub>4</sub>), menadione, tert-butyl hydroperoxide(tBHP), 수은 등의 산화제로 유발된 흰쥐의 신장 조직 손상을 억제할 수 있는지 그리고 이러한 신장 조직 손상을 어떤 기전으로 보호하는지를 조사하여 그 결과를 보고하는 바이다.

## 실 험

### 1. 재 료

#### 1) 동물

실험 동물은 체중 200g 내외의 Sprague-Dawley 계 수컷 흰쥐를 구입하여(대한실험동물, 한국) 동신대학교 한의과대학 실험 동물 사육실에서 고형사료(삼양사료, 한국)와 물을 충분히 공급하면서 2주일 이상 실험실 환경에 적응시킨 후 사용하였다.

#### 2) 약재

본 실험에 사용된石斛은 시중(옴니허브, 경북 영

천, 한국)에서 구입한 것을 동신대학교 한의과대학 본 초학교실에서精選하여 사용하였다.

## 2. 방 법

### 1) 石斛 추출물의 調製

石斛의 물 추출물(DWe)과 메탄올 추출물(DMe)을 얻기 위해 100g 씩으로 나누었으며, DWe 추출을 위해서는 증류수 1,500ml와 함께 전기 약탕기(DWP-1800T, 대웅, 한국)로 100℃에서 2시간 전탕한 후 추출액을 부직포를 이용하여 찌꺼기를 제거하였다.

DMe 추출을 위해서는 메탄올 1,500ml와 함께 실온에서 24시간 방치한 후 1차 추출액을 얻었으며 다시 메탄올 1,000ml를 가한 후 24시간 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 17.4g의 DWe과 15.1g의 DMe 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<sub>2</sub>, 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 4ml의 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<sub>2</sub>, 5mM 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 잘라서 만든 조직액과 배양 용액을 각각 50  $\mu$  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 방법<sup>6)</sup>으로 측정하였는데, 간단히 설명하면 신장 조직 절편을 차가운 1.15% KCl 용액 (5% wt/vol) 속에서 파쇄 하였다. 이 조직 파쇄 균질액 0.5ml에 1% 인산 용액 3ml와 0.6% thiobarbituric acid 용액 1ml를 첨가하여 끓는 물에서 45분간 가열하였다. n-Butanol 4ml를 첨가하여 완전히 섞은 다음 2,000 $\times$ g에서 20분 간 원심분리한 후, 상층액의 흡광도를 536와 520nm에서 측정하였다. MDA 값은 단백질 1mg 당 pmoles로 표시하였다. 단백질 농도는 Bradford의 방법<sup>7)</sup>으로 측정하였다.

6) 환원성 glutathione(GSH)의 함량 측정

GSH 함량은 Anderson의 방법<sup>8)</sup>으로 측정하였다. 0.248mg/ml NADPH(143 mM sodium phosphate, 6.3 mM Na<sub>4</sub>-EDTA, pH. 7.5를 함유하고 있는) 용액 700  $\mu$ l, 6 mM 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid(DTNB) 용액 100 $\mu$ l와 증류수 198 $\mu$ l를 cuvette에 넣어 30°C에서 15분간 데운 후 시료 2 $\mu$ l를 넣고 섞은 다음 266 U/ml GSSG reductase 10 $\mu$ l를 첨가하여 412nm에서 흡광도의 변화를 관찰하였고 단위는  $\mu$ 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 0.05 미만일 때 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

성 적

1. CCl<sub>4</sub>에 의한 LDH 유출과 이에 대한 DWe와 DMe의 영향

CCl<sub>4</sub>에 의한 신장 세포의 손상을 약물이 효과적으로 억제하는지를 시험관 내 실험을 통해 확인하기 위해 여러 농도의 DWe와 DMe가 들어 있는 용액 내에서 1mM의 CCl<sub>4</sub>를 신장 조직 절편에 처리하고 LDH 유출 정도를 조사하였다. 1mM CCl<sub>4</sub>에 노출시킨 대조 배양군에서 LDH 유출률이 27.3 $\pm$ 1.2%에 비해 DWe와 DMe를 각각 0.5, 1, 2% 농도로 첨가하였을 때 각각의 추출물의 농도에 비례하여 CCl<sub>4</sub>에 의한 LDH 유출이 감소하였으며 모두 대조 배양군과 유의한 차이를 보였다(Fig. 1). 위와 같은 결과는 DWe와 DMe 모두 사염화탄소에 의한 신장 조직의 손상을 억제하는 효과를 가졌으며, 아울러 DWe에 비해 DMe의 효과가 훨씬 뛰어남을 나타낸다.

2. CCl<sub>4</sub> 처리에 대한 GSH 함량 변화와 이에 대한 DWe와 DMe의 영향

DWe와 DMe가 포함된 배양액과 포함되어있지 않은 배양액 내에 CCl<sub>4</sub>를 처리하여 조직 내 GSH 함량을 측정한 결과 정상 배양군의 경우 43.2 $\pm$ 5.1 $\mu$ mol/g protein이었던 것이 1mM 농도의 CCl<sub>4</sub>가 처리된 대조 배양군에서는 13.1 $\pm$ 3.2 $\mu$ mol/g protein으로 감소하였다. 그러나 CCl<sub>4</sub>를 처리한 배양액 내에 DWe와 DMe를 각각 2% 농도로 첨가하였을 경우 DWe의 경우 유의한 변화가 나타나지 않은 반면 DMe가 첨가된 경우에는 대조 배양군에 비해 GSH의 함량이 유의하게 증가하였다(Fig. 2).

3. Menadione에 의한 세포 손상과 이에 대한 DWe 및 DMe의 영향

신장 조직에 1mM menadione을 처리했을 때 LDH 유출이 6.2 $\pm$ 1.1%에서 23.5 $\pm$ 4.2%로 현저하게 증가하였으며, 여기에 DWe 및 DMe를 처리하였을 경우 각각 20.7 $\pm$ 2.1% 및 12.4 $\pm$ 1.5%로 나타나 DMe의 경우 유익하게 세포 손상이 억제되었다(Fig. 3).

4. tBHP에 의한 세포 손상과 이에 대한 DWe 및 DMe의 영향

DWe 및 DMe가 산화제에 의한 세포 손상을 직접 방지할 수 있는지를 확인하기 위하여 2% 농도의 DWe 및 DMe를 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 증

가하였다. DWe 및 DMe를 처리하였을 경우 DWe의 경우 LDH 유출에 감소의 경향이 있었으나 통계적으로 유의하지는 않았으며, DMe의 경우에는 LDH 유출이  $12.7 \pm 1.3\%$ 로 유의하게 감소하였다(Fig. 4).

### 5. 수은에 의한 세포 손상과 이에 대한 DWe 및 DMe의 영향

수은이 신장 조직에서 지질의 과산화를 증가시켜 세포 손상을 일으키는지와, 수은에 의한 손상을 DWe 및 DMe가 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 DWe 및 DMe를 처리하였을 때  $15.7 \pm 1.7\%$ 와  $13.2 \pm 1.8\%$ 로 모두 유의하게 감소하였다(Fig. 5).

수은이 신장 조직 손상을 일으키는 농도에서 지질의 과산화를 일으키는지를 조사한 결과, 0.5mM 수은을 처리했을 때 지질의 과산화가  $81.5 \pm 7.3$  pmole MDA/mg protein에서  $208.4 \pm 10.8$  pmole MDA/mg protein로 증가하였고, 2% 농도의 DWe와 DMe를 처리하였을 경우  $175.4 \pm 11.8$  pmole MDA/mg protein과  $119.7 \pm 9.6$  pmole MDA/mg protein로 DMe의 경우 유의하게 감소하였다(Fig. 6).

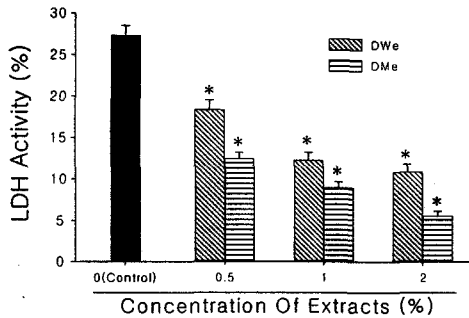


Fig. 1. Dose-dependency of protective effect of water(DWe) and methanol(DMe) extracts on  $\text{CCl}_4$ -induced LDH release in rat kidney slices. Slices were treated with various concentrations of DWe and DMe in the presence of 1mM  $\text{CCl}_4$  for 60 min at  $37^\circ\text{C}$ , and LDH release was measured. Data are mean $\pm$ SE of five experiments. \*,  $p < 0.05$  compared with control(0%).

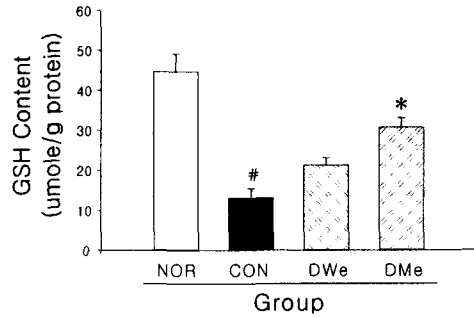


Fig. 2. Effect of DWe and DMe on  $\text{CCl}_4$ -induced alterations in reduced glutathione in rat kidney slices. Slices were treated with 1mM  $\text{CCl}_4$  in the presence or absence of 2% DWe and DMe for 60 min at  $37^\circ\text{C}$ , and glutathione content were measured. #,  $p < 0.05$  compared with normal group ; \*,  $p < 0.05$  compared with control group.

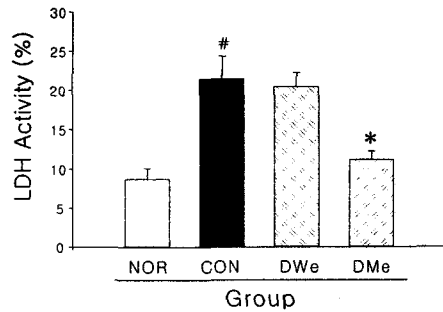


Fig. 3. Protective effect of DWe and DMe on menadione-induced LDH release in rat kidney slices. Slices were treated with 2% concentrations of DWe and DMe in the presence of 1mM menadione for 60 min at  $37^\circ\text{C}$ , and LDH release was measured. #,  $p < 0.05$  compared with normal group ; \*,  $p < 0.05$  compared with control group.

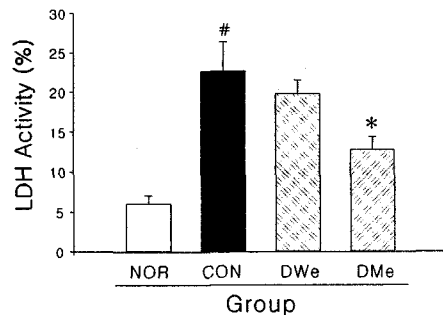


Fig. 4. Effect of DWe and DMe on 1mM tBHP induced LDH release in rat kidney slices. Slices were treated with 1mM tBHP in the presence or absence of 2% DWe and DMe for 60 min at  $37^\circ\text{C}$ , and LDH release was measured. #,  $p < 0.05$  compared with normal group ; \*,  $p < 0.05$  compared with control group.

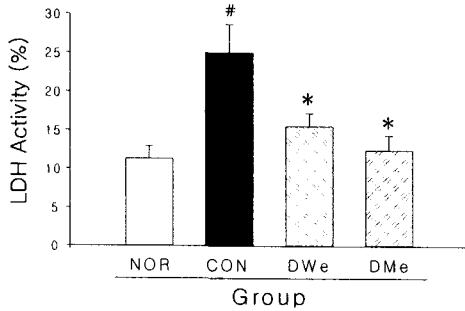


Fig. 5. Effect of DWe and DMe on Hg-induced LDH release in rat kidney slices. Slices were treated with 0.5mM HgCl<sub>2</sub> in the presence or absence of 2% DWe and DMe for 60 min at 37°C, and LDH release was measured. #, p<0.05 compared with normal group; \*, p<0.05 compared with control group.

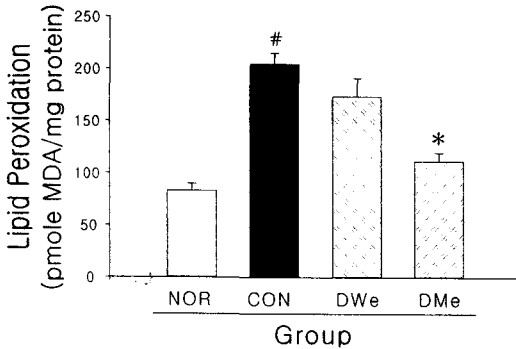


Fig. 6. Effect of DWe and DMe on Hg-induced lipid peroxidation in rat kidney slices. Slices were treated with 0.5mM HgCl<sub>2</sub> in the presence or absence of 2% DWe and DMe for 60 min at 37°C, and lipid peroxidation was measured. #, p<0.05 compared with normal group; \*, p<0.05 compared with control group.

## 고찰

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. 그러나 그 발생하는 양이 많거나 항산화제 역할을 하는 이들의 체내 농도가 감소하게 되면 세포는 손상을 받아서 여러 가지 질병을 유발시키는 원인이 된다<sup>4, 5)</sup>.

반응성 산소기는 인체 여러 조직에서 허혈/재관류

에 의한 세포 손상, 그리고 사염화탄소, menadione, 수은, 알콜, paraquat 등 여러 종류의 독성 물질에 의한 세포 손상의 병인으로 인정되고 있기 때문에<sup>4, 14)</sup> 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 DWe와 DMe가 방지할 수 있는지를 조사하고 두 약물의 효능의 차이를 비교하고자 하였다.

石斛은 甘寒한 性味를 가지고 있으며 주로 熱病 후기에 津液口渴 夜熱早涼 舌絳少津 등의 증상을 치료하는 要藥으로 사용된다. 石斛의 효능은 비교적 단순하여 주로 養胃陰 清虛熱한다고 말할 수 있으며, 石斛의 養胃生津작용은 麥門冬에 비해서 우수하나, 潤肺止咳 清心除煩의 효능이 없다. 이런 면에 착안하여 임상에서 麥門冬을 대체하는데 응용하기도 하는데, 즉 麥門冬은 肺水를 보충해주면서 胃陰을 보충해주는 金生水의 원리이며, 石斛은 腎水를 보충해주면서 胃陰을 보충하여 주는 원리이다. 신선한 鮮石斛은 清熱生津작용이 강하여 熱病傷津·舌絳煩渴한 것에 응용되어지며, 마른 霍石斛은 滋陰生津 작용이 강하여 병후에 陰虛津虧하여 虛熱이 不退한 證에 응용될 수 있다. 아울러 強壯劑로서의 石斛은 益精 補精작용을 하며, 治風劑로서의 石斛은 風痺를 치료하므로 中風半身不遂 神經障礙 등에 응용할 수 있다<sup>1)</sup>.

石斛의 효능에 관한 연구는 아직 초보적인 단계에 불과한데, 국내에서는 한 등<sup>2)</sup>이 암컷 흰쥐의 난소 적출로 인한 골다공증 모델을 대상으로 한 연구에서 石斛이 폐경기 이후 여성의 골다공증의 예방 및 치료에 효과적으로 응용될 수 있음을 보고하였고, 국외에서는 Mizue 등<sup>3)</sup>이 반응성 산소기의 발생을 강력하게 억제함으로써 산화적 손상으로 인한 노화 또는 노화와 관련되는 알츠하이머 병, 파킨슨씨 병, 헌팅턴씨 병 등의 신경계 질환들을 예방하거나 관리하는데 효과적으로 이용될 수 있음을 보고한 바 있다.

본 연구에서는 石斛의 물 추출물(DWe)과 메탄을 추출물(DMe)이 산화적 스트레스에 의한 흰쥐의 신장 조직 손상을 억제할 수 있는지를 확인하여 보았다.

신장 조직 손상 유발을 목적으로 사용된 산화제는 CCl<sub>4</sub>, menadione, tBHP 및 수은을 사용하였으며 이로 인해 유발된 신장 조직 손상을 어떤 기전으로 보호하는지를 조사하였다.

본 실험에 사용된 CCl<sub>4</sub>는 체내에서 대사된 생성물

이 주로 간에 독성을 나타내는데<sup>13, 15, 16)</sup>, 이러한 간 기능 장애에 관여하는 반응성 산소기는 여러 가지 병적상태에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려졌기 때문에 실험적으로 간독성을 유발하는 약물로 많이 이용하고 있다<sup>17, 18)</sup>. 본 실험에서는 시험관 내 실험에서  $CCl_4$ 가 신장 세포의 손상도 유발하는지를 확인하기 위해 LDH 유출 정도를 조사한 결과, 조직 절편을 1mM  $CCl_4$ 에 노출시켰을 때 시험관 내 실험에서 신장 조직을 손상시켰으며(Fig. 1),  $CCl_4$ 를 처리한 용액 내에 DWe와 DMe를 0.5, 1.0 및 2% 농도로 각각 첨가하였을 때 각 약물의 농도에 비례하여  $CCl_4$ 에 의한 LDH 유출이 유의하게 감소하였다. 그리고 각 농도에서 DWe와 DMe 사이에도 유의한 차이가 있었으므로  $CCl_4$ 에 의한 세포 손상에 DMe 투여가 더 효과적임을 알 수 있다.

그리고  $CCl_4$ 로 인한 신장 세포 손상과 이에 따른 세포 내 GSH의 함량에 미치는 2% 농도의 DWe와 DMe의 효과를 확인하기 위하여 배양액 내에  $CCl_4$ 를 처리하여 조직 내 GSH 함량을 측정된 결과, LDH 유출을 현저히 증가시키는  $CCl_4$  1mM 농도에서의 GSH 함량은 감소하였다.  $CCl_4$ 를 처리하는 용액 내에 DWe를 처리한 경우 LDH 유출을 감소시킨 앞의 결과와는 달리 GSH 함량은 증가의 양상을 보였지만 유의하지는 않았다(Fig. 2). 하지만 DMe를 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 세포 내 GSH의 농도를 증가시키게 되면 여러 독성물질에 대한 방어 능력이 증가됨은 잘 알려져 있다<sup>19, 20)</sup>. 따라서 본 실험에서 DMe의 경우  $CCl_4$ 에 의한 세포 내 GSH의 감소현상을 방지한 결과로 반응성 산소기를 제거하여 LDH의 유출을 방지하는 작용에 영향을 받았지만 DWe의 경우 이와는 다른 작용에 의한 것으로 추측된다. 이에 대해서는 앞으로 추가적인 연구가 뒤따라야 할 것으로 생각된다.

Menadione은 세포에서 반응성 산소기를 발생시켜 세포손상을 유발하는 것으로 알려져 있다<sup>10, 11)</sup>. 따라서 DWe와 DMe가 항산화 작용에 의해 세포손상을 방지한다면 menadione에 의한 LDH 유출을 감소시킬 수 있을 것이다. 신장 조직에 1mM menadione을 처리했을 때 LDH 유출은 현저하게 증가하였으며, 여기에 DWe와 DMe를 2% 농도로 첨가한 결과 LDH 유출은 DMe의 경우에서만 유의하게 감소하였다(Fig. 3).

DWe와 DMe가 산화제에 의한 세포 손상을 직접

방지할 수 있는지를 확인하기 위하여 소수성 산화제<sup>21)</sup>인 tBHP에 신장 조직을 노출시킨 후 각 약물의 반응을 관찰하였다. 신장 조직을 1mM tBHP에 노출시킨 결과 LDH 유출이 증가하였다. 2% 농도의 DWe와 DMe를 첨가한 경우에는 LDH 유출이 DMe의 경우에만 유의하게 감소하였다(Fig. 4). 그러므로 위와 같은 결과로 미루어보면 DMe는 산화제에 의한 반응성 산소기의 발생을 억제함으로써 신장 조직의 손상을 억제하고 있으며 DWe의 경우는 이와 유사한 작용을 하지만 그 작용의 정도에 있어서는 DMe에 미치지 못함을 알 수 있는데 이는 한약재의 추출 과정의 차이에 있어서 일어날 수 있는 여러 추출 성분의 변화로 인한 것으로 추정할 수 있다.

$CCl_4$ 와 마찬가지로 반응성 산소기를 발생시켜 세포 독성을 나타내는 것으로 알려진 수은<sup>12)</sup>을 이용하여 DWe와 DMe의 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 DWe 및 DMe를 첨가하였을 때 DMe의 경우에만 지질의 과산화가 유의하게 감소하였다(Fig. 6).

이상과 같은 결과에서, DWe와 DMe는 독성 약물에 의한 신장 조직의 지질 과산화를 방지하는 항산화 작용을 가지고 있으며, 그 정도에 있어서는 DMe가 DWe 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 기전에 관해서는 앞으로 더욱 많은 연구를 진행하여야 할 것으로 생각된다.

## 결론

石斛의 물 및 메탄올 추출물인 DWe 및 DMe가 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 CCl<sub>4</sub>에 노출시켰을 때, 0.5, 1.0 및 2% 농도에서 DWe 및 DMe 모두가 신장 조직의 손상을 억제하였으며 DMe 투여가 더 효과적이었다.
2. 신장 조직을 1mM CCl<sub>4</sub>에 노출시키면서 2% 농도의 DMe를 처치한 경우 신장 조직 내 GSH 함량이 증가하였다.
3. 신장 조직에 1mM menadione을 처리했을 때 DMe의 경우에서만 조직 내 LDH 유출의 감소를 나타내었다.
4. 신장 조직을 1mM tBHP에 노출시켰을 때 2% 농도의 DMe를 첨가한 경우에 LDH 유출의 감소가 나타났다.
5. 신장 조직에 0.5mM 수은을 처리하면서 DWe 및 DMe를 처리한 경우 신장 조직에서의 LDH 유출이 모두 유의하게 감소되었으며, 지질의 과산화의 경우는 DMe에서만 유의하게 감소되었다.

이상과 같이 DWe와 DMe는 독성 약물에 의한 신장 조직의 손상에 유효하였으며 DMe가 DWe 보다 그 효과가 뛰어났다. 따라서 한약재의 가공에 따른 화학적 변화와 이에 따른 효과의 차이에 대한 더욱 자세한 기전에 관해서는 앞으로 더욱 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

### 참고문헌

1. 전국한의과대학 공동교재편찬위원회. 本草學. 서울 : 永林社. 2004 : 650-652.
2. 한홍준, 김중환, 조한백, 최규섭. 석곡이 난소적출로 골다공증이 유발된 흰쥐에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2000 ; 13(2) : 120-135.
3. Mizue O, Wenzhe F, Koji H, Quanbo X, Yasuhiro T, Katsuko K, Tsuneo N, Tomohiro S, Kenji T and Shigetoshi K. Active-oxygen scavenging activity of traditional nourishing- tonic herbal medicines and active constituents of *Rhodiola sacra*. Journal of Ethnopharmacology. 1999 ; 67(1) : 111-119.
4. Reiter RJ. Oxidative process and antioxidative defense mechanisms in the aging brain. FASEB J. 1995 ; 9 : 526-533.
5. Halliwell B and Gutteridge JMC and Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease. Where are we now? J. Lab. Clin. Med. 1992 ; 119 : 598-620.
6. Uchiyama M and Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissue by thiobarbituric acid test. Anal. Biochem. 1978 ; 86 : 271-278.
7. 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.
8. Anderson ME. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. Methods Enzymol. 1985 ; 113 : 548-554.
9. Recknagle RO and Glende EA. Carbon tetrachloride hepatotoxicity : An example of lethal Cleavage. CRC Crit. Rev. Toxicol. 1973 ; 27 : 263-296.
10. 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 ; 257 : 12419-12425.
11. Belouqui 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.
12. Andersen HR and Andersen O. Effects of dietary  $\alpha$ -tocopherol and  $\beta$ -carotene on lipid peroxidation induced by methyl mercuric chloride in mice. Pharamcol. Toxicol. 1993 ; 73 : 192-201.
13. 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.
14. Jaeschke H, Smith CV and Mitchell JR. Reactive oxygen species during ischemia-reflow injury in isolated perfused rat liver. J. Clin. Invest. 1988 ; 81 : 1240-1246.
15. Alison MR. Regulation of hepatic growth. Physiol. Rev. 1986 ; 66 : 499-534.
16. Slater TF. Free radical mechanisms in tissue injury. Biochem. J. 1984 ; 222 : 1-15.
17. Halliwell B and Gutteridge JMC. Role of free radicals and catalytic metal ions in human

- disease : an overview. *Methods Enzymol.* 1990 : 186 : 1-85.
18. Sipes IG, El Sisi AE, Sim WW, Mobley SA and Earnest DL. Reactive oxygen species in the progression of CCl<sub>4</sub>-induced liver injury. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1991 : 283 : 489-497.
19. Meister A and Anderson ME. Glutathione. *Annu. Rev. Biochem.* 1983 : 52 : 711-760.
20. Starke PE and Farber JL. Endogenous defence against the cytotoxicity of hydrogen peroxide in cultured rat hepatocytes. *J. Biol. Chem.* 1985 : 260 : 86-92.
21. Di Giulio A, Saletti A, Oratore A et al. Monitoring by cis-parinaric fluorescence of free radical induced lipid peroxidation in aqueous liposome susoensions. *J. Microencapsul.* 1996 : 13(4) : 435-445.