

산화동물모델 흰 쥐 간세포에 대한 紫根의 항산화 효과 연구

김성흠^{#1}, 박완수¹, 성낙술², 이영종^{*1}

1: 경원대학교 한의과대학 본초학교실
2: 농촌진흥청 작물과학원

Study on Antioxidant Effect of Lithospermi Radix on Liver Cells Isolated from Oxidatively Stressed Rat.

Sung-Hyum Kim^{#1}, Wan-su Park¹, Nak-Sull Seong², Young-Jong Lee^{*}

1: College of Oriental medicine, Kyungwon University, Seongnam 461-100, Korea
2: National Crop Experiment Station, RDA, Suwon 441-100, Korea

ABSTRACT

Objective : This study purposed to investigate the anti-oxidative effect of Lithospermi Radix (root of *Lithospermum erythrorhizon* S.) on liver cells isolated from oxidatively stressed rat by AAPH.

Method : We investigate effects of Lithospermi Radix(LR) and its fractions on normal liver cells' proliferation. And the amounts of SOD, GSH, catalase, NO, MDA production by liver cells isolated from the oxidatively stressed rat by AAPH also were measured after incubation with various fractions of LR extraction.

Results : LR and its fractions showed no toxicity on the normal liver cells from rat. LR and its fractions increased the activity of SOD and reduced the amounts of NO and MDA in the liver cells from the oxidatively stressed rat.

Conclusion : Lithospermi Radix could be supposed to have antioxidant effect on liver cells with no toxicity.

Keywords : Lithospermi Radix, *Lithospermum erythrorhizon*, Antioxidant effect, Liver cell.

* 교신저자 : 이영종. 경기도 성남시 수정구 복정동 산 65, 경원대학교 한의과대학 본초학교실.
· Tel: 031-750-5415 · E-mail : garak@kyungwon.ac.kr
제1저자 : 김성흠. 경원대학교 한의과대학 본초학교실
· Tel: 031-750-5415 · E-mail: ssogal42@hanmail.net
· 접수 : 2007년 11월 12일 · 수정 : 2007년 12월 11일 · 채택 : 2007년 12월 21일

서론

紫根은 神農本草經 中品¹⁾에 “紫草. 味苦寒. 主心腹邪氣五疸, 補中益氣, 利九竅, 通水道. 一名紫丹, 一名紫芙. 生川谷.”이라고 처음 수록된 이래 涼血活血, 解毒透疹의 효능이 있어 斑疹, 癩疹, 吐血, 衄血, 尿血, 紫癍, 黃疸, 癰疽, 燙傷 등의 증상을 치료하는데 상용되고 있다²⁾.

紫根은 대한약전³⁾에 紫根으로 수재되어 있고, 그 基原에 대해서는 대한약전³⁾, 일본약국방⁴⁾, 중화민국중약전범⁵⁾ 및 북한약전⁶⁾에는 모두 지치과(Boraginaceae)에 속하는 지치 *Lithospermum erythrorhizon* Siebold et Zuccarini 의 뿌리로 되어 있으나, 중국약전 2000년판⁷⁾에는 新疆紫草 *A. euchroma*, 紫草 *L. erythrorhizon* 혹은 內蒙紫草 *A. guttata*의 뿌리라 하고, 이 가운데 新疆紫草 *A. euchroma* 를 軟紫草라 하고, 지치 *L. erythrorhizon* 를 硬紫草로 구분하였으나, 2005년판⁸⁾에서는 紫草 *L. erythrorhizon* 를 삭제하고 新疆紫草와 內蒙紫草만을 기원으로 인정하였다.

인체 내의 다양한 경로에 의하여 유발되는 산화적 스트레스는 생체 안에 존재하는 항산화계에 의해 제거되지만 산화적 스트레스가 항산화계의 수준을 초과하여 제거되지 못하면 생체막의 손상, 고분자 단백질 및 DNA의 변형과 기능상실 등으로 인한 다양한 퇴행성 질환이 유발될 수 있는데^{9,10)}, 紫根은 涼血活血, 解毒透疹²⁾ 등의 효능이 있어 斑疹, 癩疹 등의 질환에 효능이 있기 때문에 항산화 효과와 관련이 있을 것으로 사료되는데, 紫根이 UVB irradiation에 의한 염증반응을 억제하며¹¹⁾ 紫根에서 추출된 성분(shikonin)이 흰 쥐의 혈관평활근 증식을 억제하고 세포자멸사(apoptosis)를 유도한다¹²⁾는 연구결과가 이미 실험적으로 보고되었지만 간세포를 이용한 紫根의 항산화 실험연구에 대해서는 아직까지 자세히 보고되지 않고 있다.

이에 저자는 흰 쥐의 간세포를 대상으로 하여 대한약전에 紫根의 기원식물로 수록되어 있는 지치 *L. erythrorhizon*의 산화반응 억제 효과 실험을 수행하고 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 약재

실험에 사용된 紫根(*Lithospermi Radix*; LR)은 경북 군위군 고로면에서 2005년도에 재배 수확한 것을 동년 12월에 구입하여 기원의 진위와 품질의 우열을 경원대학교 한의과대학 본초학교실에서 감정하였으며, 모든 약재는 초음파세척기를 이용해 불순물을 씻어내고 건조 후 사용하였다.

2) 동물

동물은 6주령의 수컷 Sprague-Dawley계 흰쥐를 (주)대한 바이오링크로부터 공급받아 실험당일까지 고형사료(抗生劑 無添加, 삼양사료)와 물을 충분히 공급하고, 실온 22±2°C를 유지하여 1주일 간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

3) 시약 및 기기

Ethyl alcohol, Methyl alcohol, n-butanol, Ethyl ether, Ethyl acetate는 Samchun Chemical (Korea)사 제품을 사용하였으며, DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), TBA (2-thiobarbituric acid), D-PBS (Dulbecco's phosphate buffered saline), Sodium phosphate dibasic, Sodium phosphate monobasic, Acetic acid, Sulfanilamide, H₂SO₄, Potassium phosphate, Phosphoric acid는 Sigma (USA)사 제품을, Fetal bovine serum (FBS)는 Logan (USA)사 제품을, SOD (superoxide dismutase) assay kit, GSH (glutathione) assay kit는 Dojindo (Japan)사 제품을, AAPH[2,2-azobis(2-aminopropane)hydrochlorid]는 Wako (Japan)사 제품을, Catalase assay kit, Nitric oxide assay kit, Lipid peroxidation assay kit는 Oxford Biomedical Research (USA)사 제품을 사용하였고, 기타 일반 시약은 특급 시약을 사용하였다.

본 연구에 사용된 기기는 Pulverizer (Rongtsong, Taiwan), Rotary evaporator (Eyela, Japan), Air compressor (Tamiya, Japan), Homogenizer (OMNi, USA), Research microscope (Becton dickinson, USA), Centrifuge (Hanil, Korea), Fume hood (Hanil, Korea), Clean bench (Jeio tech, Korea), Bio-freezer (Sanyo, Japan), Spectrophotometer (Shimadzu, Japan), ELISA reader (TECAN, Austria), Ice-maker (Vision Scientific Co, Korea), LC-10AD (Shimadzu, Japan), Electric chemical balance (MCI, Germany) 등이다.

2. 방법

1) 검액 제조

(1) 전탕액

紫根 100g에 1L의 증류수를 가하고 약탕기(웅진 약탕기, 한국)를 이용하여 3시간 동안 끓인 다음 여과지로 여과한 후 감압증류장치를 이용하여 수분을 제거하여 분말로 만들었다.

(2) 분획

전탕액 분말 20g에 증류수 400ml를 넣고 극성이 다른 여러 가지 용매 (n-hexane, ethyl ether, ethyl acetate, n-butanol)를 이용하여 단계적으로 분획하였다. 얻어진 분획 생성물들은 감압증류장치를 이용하여 용매를 완전히 제거한 후 실험에 사용하였다.

2) 분획별 세포 독성 측정

(1) 간세포 분리

6주령 수컷의 SD계 흰쥐의 간 조직을 사용하였다. Ethyl ether를 이용하여 실험동물을 마취시킨 후, 대동맥 혈관에 HBSS(Ca²⁺, Mg²⁺ free)를 투여하며 복부쪽 혈관을 절단시켜 동물의 혈액을 모두 배출시켰다. 조직을 잘게 잘라서 RPMI 1640 media(with 10% FBS)와 collagenase typeIV(300u/ml)를 넣고 실온에서 90분간 incubation 하고, 이때 20분에 한번씩 흔들어 줌으로써 간세포가 분리가 잘 되도록 도와주었다. 간 조직을 HBSS(Ca²⁺, Mg²⁺ free)를 사용하여 mesh에서 갈아서 얻어진 시료를 원심 분리하여 획득한 세포는 63%와 36%의 percoll을 이용하여 간세포와 섞여있는 lymphocyte를 분리 제거한 후 사용하였다.

(2) 간세포의 배양 및 분획별 세포 독성 측정

분리한 간세포는 RPMI 1640 media에 10%의 FBS와 항생제를 처리한 complete media를 이용하여 배양하였다. 5×10⁵ cell/well 로 세포를 분주한 후 분획별로 얻은 약물을 1%로 희석하여 10μ씩 분주하고 72시간 동안 36℃에서 배양하였다. 배양된 세포를 harvest하기 12-18시간 전에 [3H]-thymidine을 1μCi 처리해주고, 세포를 beta-counter (BECMAN)에 사용하는 safe cuvette에 500μ씩 분주한다음, cocktail solution 2ml를 첨가 한 후, thymidine의 uptake를 beta-counter로 확인하였다.

3) 산화 동물모델 간세포의 분리 및 약물투여

6주령 수컷의 SD계 흰쥐에 AAPH 50mg/kg를 복강에 매일 투여하여 산화 스트레스를 유발한 뒤 분획별 세포 독성 측정 시와 마찬가지로 간세포를 분리하였다. 분리된 간세포에 분획별로 얻은 약물을 1%로 희석하여 10μ씩 분주하고 72시간 동안 36℃에서 배양하였다. 배양을 끝낸 뒤 배양액을 이용하여 항산화 효과를 검정하였다.

4) 산화 동물모델 간세포에 대한 항산화 효과 측정

(1) SOD activity

SOD 활성도는 SOD assay kit (Dojindo, Japan)을 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정 후 SOD 활성도를 계산하였다.

(2) Glutathione

조직 내 glutathione 함량은 kit (Dojindo, Japan)를 이용하여 405nm에서 흡광도를 측정해서 결과를 얻었다.

(3) Catalase

Catalase assay kit (Oxford Biomedical Research. USA)를 이용하여 측정하였으며, 520nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다.

(4) NO assay

조직 내 NO함량은 Nitric oxide assay kit (Oxford Biomedical Research. USA)을 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정해서 결과를 얻었다.

(5) Lipid peroxidation

Lipid peroxidation assay kit (Oxford Biomedical Research. USA)을 이용하여 측정하였고 586nm에서 흡광도를 측정한 후 MDA를 계산하였다.

5) 통계처리

본 실험에서 얻은 결과에 대해서는 means ± S.E로 나타내었으며, 통계학적 분석은 t-test와 Anova multi t-test(JAVA, Bonferroni Ver 1.1)를 실시하여 p<0.05 일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

1. 紫根의 분획별 세포 독성

분획별로 얻은 시료에 대한 세포 독성을 확인하고자, 흰쥐의 간세포 배양액에 紫根 전탕액 및 전탕액의 분획물을 처리한 후, 세포의 증식을

[3H]-thymidine의 uptake 정도로 확인 하였다. 대조군에 비해서 n-hexane 분획과 물 분획물을 처리한 세포에서 증식이 유의하게(p<0.05) 증가하였다(Fig. 1).

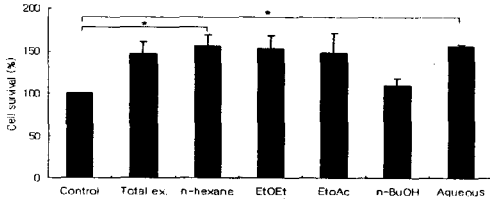


Fig. 1. Cell proliferation with various fractions of LR decoction. Liver cells from oxidatively stressed rat were prepared and cultured with 1% diluted solution of various fractions of Lithospermi Radix decoction, and the cell survival rates were measured. Values represent the means ± S.E. *: p<0.05.

2. 紫根의 분획별 항산화 효과

1) SOD activity

산화적 스트레스를 받은 실험동물의 간세포에 紫根의 전탕액 및 전탕액의 여러 분획물을 분주한 후 3일간 배양하여 얻은 세포 배양액에서 SOD 활성도를 측정하였다. 대조군에 비해 약물 처리를 한 모든 세포에서 SOD 활성도가 유의하게(p<0.01) 증가하였다(Fig. 2).

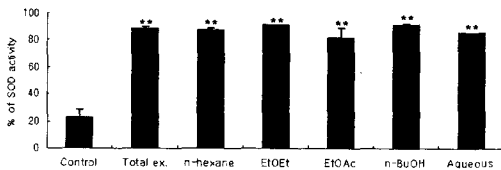


Fig. 2. Effects of various fraction extracts of LR decoction on SOD activity in liver cell culture supernatant. Liver cells were isolated from the rats that were injected intraperitoneally (i.p.) with AAPH for 7 days (50mg/kg/day). The cells were cultured with various fraction extracts of Lithospermi Radix decoction for 3 days. The supernatant from the liver cell culture was removed and SOD was estimated at 450nm by ELISA. Values represent the means ± S.E. **: p<0.01.

2) Glutathione 생성 변화

산화적 스트레스를 받은 실험동물의 간세포에 紫根의 전탕액 및 전탕액의 여러 분획물을 분주하고 3일간 배양후 얻은 세포 배양액에서 glutathione 함량

을 측정하였다. 대조군에 비해 약물 처리를 한 모든 세포군에서 glutathione 함량이 증가하였으나 통계적 유의성은 나타나지 않았다(Fig. 3).

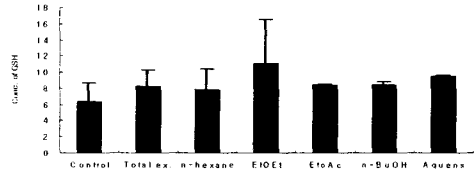


Fig. 3. Effects of various fraction extracts of LR decoction on the level of GSH in liver cell culture supernatant. Liver cells were isolated from the rats that were injected intraperitoneally (i.p.) with AAPH for 7 days (50mg/kg/day). The cells were cultured with various fraction extracts of Lithospermi Radix decoction for 3 days. The supernatant from the liver cell culture was removed and the concentration of glutathione was estimated at 450nm by ELISA. Values represent the means ± S.E.

3) Catalase 발현 변화

산화적 스트레스를 받은 실험동물의 간세포에 紫根의 전탕액 및 전탕액의 여러 분획물을 처리한 후 세포 배양액에서 나타나는 catalase의 농도 변화를 확인 하였으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 4).

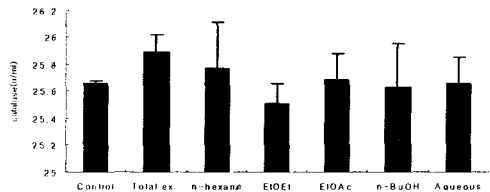


Fig. 4. Effects of various fraction extracts of LR decoction on the level of catalase in liver cell culture supernatant. Liver cells were isolated from the rats that were injected intraperitoneally (i.p.) with AAPH for 7 days (50mg/kg/day). The cells were cultured with various fraction extracts of Lithospermi Radix decoction for 3 days. The supernatant from the liver cell culture was removed and the concentration of catalase was estimated at 450nm by ELISA. Values represent the means ± S.E.

4) Nitric oxide 생성억제 효과

산화적 스트레스를 받은 실험동물의 간세포에 紫根의 전탕액 및 전탕액의 여러 분획물을 처리한 후 세포 배양액에서 나타나는 NO의 함량 변화를 확인 하였다. 대조군에 비해 약물 처리를 한 모든 세포군에서 NO의 함량이 유의하게(p<0.01) 감소하였다

(Fig. 5).

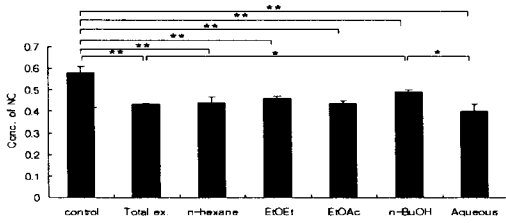


Fig. 5. Effects of various fraction extracts of LR decoction on the level of NO in liver cell culture supernatant. Liver cells were isolated from the rats that were injected intraperitoneally (i.p.) with AAPH for 7 days (50mg/kg/day). The cells were cultured with various fraction extracts of Lithosperi Radix decoction for 3 days. The supernatant from the liver cell culture was removed and the concentration of nitric oxide was estimated at 450nm by ELISA. Values represent the means ± S.E. *: p<0.05, **: p<0.01.

5) Lipid peroxidation 억제효과

산화적 스트레스를 받은 실험동물의 간세포에 紫根의 전탕액 및 전탕액의 여러 분획물을 처리한 후 세포 배양액에서 나타나는 MDA의 함량 변화를 확인 하였다. 대조군에 비해 n-hexane군(p<0.001), n-BuOH군(p<0.001), 그리고 나머지 군(p<0.01)이 모두 유의한 감소를 나타내었다(Fig. 6).

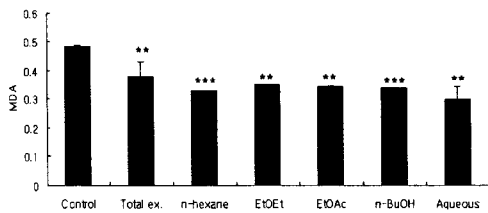


Fig. 6. Effects of various fraction extracts of LR decoction on the level of MDA in liver cell culture supernatant. Liver cells were isolated from the rats that were injected intraperitoneally (i.p.) with AAPH for 7 days (50mg/kg/day). The cells were cultured with various fraction extracts of Lithosperi Radix decoction for 3 days. The supernatant from the liver cell culture was removed and the concentration of MDA was estimated at 450nm by ELISA. Values represent the means ± S.E. **: p<0.01, ***: p<0.001.

고 찰

紫根은 神農本草經 中品¹⁾에 “紫草. 味苦寒. 主心,

腹邪氣五疸, 補中益氣, 利九竅, 通水道. 一名紫丹, 一名紫芙. 生川谷.”이라고 처음 수록되었으며, 本草綱目¹³⁾에 “治斑疹痘毒, 活血涼血, 利大腸”이라 하였고, 東醫寶鑑¹⁴⁾에는 “痘瘡須用茸”이라 하여 임상에서 斑疹, 癩疹, 吐血, 衄血, 尿血, 紫癍, 黃疸, 癰疽, 燙傷 등의 증상을 치료하는데 상용되고 있다²⁾.

紫根의 基原은 대한약전³⁾, 일본약국방⁴⁾, 중화민국 중약전범⁵⁾ 및 북한약전⁶⁾에는 모두 지치과(Boraginaceae)에 속하는 지치 *Lithospermum erythrorhizon* Siebold et Zuccarini 의 뿌리로 되어 있으나, 중국약전⁸⁾에는 같은 과의 新疆紫草 *Arnebia euchroma* (Royle) Johnston. 혹은 内蒙紫草 *A. guttata* Bunge의 뿌리로 되어 있다.

지치 *L. erythrorhizon* 의 성분으로는 naphthoquinones계 색소인 acetylshikonin과 그 同族體인 propionylshikonin, isobutyrylshikonin, β,β-dimethylacrylshikonin, isovalerylshikonin, β-hydroxyisovalerylshikonin, α-methyl-n-butyrylshikonin을 함유하고 있으며¹⁵⁾, lithospermic acid, 靑酸배당체인 lithospermoside, allantoin⁴⁾, lithospermidin A, B, C를 함유하고 있으며, 알카로이드 성분인 pyrrolizidine alkaloids, hydroxymyoscorpine, 테르펜류 성분인 shikonofuran A, B, C, D, E, F를 함유하고 있고, 이밖에 caffeic acid, stearyl alcohol, 1-epicosanol, 1-docosanol, 1-tetracosanol 등 에스테르 화합물을 함유하고 있다²⁾.

지치 *L. erythrorhizon* 의 약리작용으로는 뿌리 추출물에서 Chung 등⁹⁾은 종양괴사인자의 억제효과를 보고하였고, Kim 등¹⁷⁾, Jin 등¹⁸⁾, Konoshima 등¹⁹⁾은 항암작용을 보고하였으며, Weng 등²⁰⁾, Pan 등²¹⁾은 항산화 효과를 보고하였으며, Choi 등²²⁾은 monoamine oxidase를 억제하는 naphthoquinones 계열 성분이 존재함을 확인하였고, Chung 등¹⁶⁾은 지치 뿌리 추출물이 NF-κB의 활성을 억제함으로써 LPS/rIFN-γ induced로 생성되는 NO와 TNF-α의 생성을 억제한다고 보고하였다. 또한 Hwang 등²³⁾은 항염 효과를 보고하였으며, Bulgakov 등²⁴⁾은 항 AIDS와 항 알레르기 효과를, Yamasaki 등²⁵⁾은 紫草의 뜨거운 물 추출물이 차가운 물 추출물보다 더 강한 항 AIDS 효과가 있다고 보고하였다.

본 실험에서 紫根 전탕액과 전탕액의 각종 분획물의 세포독성을 측정된 결과, 紫草는 n-BuOH 분획물을 제외한 모든 분획물에서 세포 증식을 유도하는 것으로 나타났다.

AAPH[2,2-azobis(2-aminopropane)hydrochlorid]

는 수용성 azo 화합물의 일종으로서 열분해에 의해 자유기를 생성하는 것으로 알려져 있다. 복강 내로 투여된 AAPH는 짧은 시간 내에 혈류를 타고 전신을 순환하며, 산소분자와 반응하여 carbon radical을 생성하게 되며, carbon radical은 다시 peroxy radical을 생성하여 여러 형태의 생물학적 분자와 결합반응을 일으켜 생체막 구조를 붕괴시키는 것으로 알려져 있다²⁶⁾. 본 실험에서는 SD계 흰쥐에 매일 50 mg/kg의 AAPH를 복강에 투여하여 실험적 급성 산화증을 유도한 뒤, 실험동물의 간세포를 분리하여 紫根 전탕액 및 전탕액의 분획물을 처리한 후, 항산화 효과를 관찰하였다.

Superoxide dismutases(SOD)는 항산화 효소들 중에서도 가장 널리 연구된 것으로, superoxide radical(O₂⁻)을 과산화수소(H₂O₂)와 산소(O₂)로 전환시킴으로써 superoxide의 독성을 제거하는 금속이온 의존성 효소(metalloenzyme)로 알려져 있다²⁷⁾. 본 실험에서 급성 산화증이 유도된 실험동물의 간세포에 紫根 전탕액 및 전탕액의 분획물을 처리한 후 SOD 활성을 측정된 결과, 대조군에 비해 모든 분획물에서 간세포 배양액의 SOD 활성도가 유의하게(p<0.01) 증가하였다.

GSH(glutathione)는 비특이성 내인성 소거제로서, 내피 세포 및 간세포에 고농도로 존재한다. 이것은 hydrogen peroxide를 H₂O로 환원시켜 산화성 스트레스에 대해 세포를 보호하는 작용이 있다²⁸⁾. 본 실험에서 급성 산화증이 유도된 실험동물의 간세포에 紫根 전탕액 및 전탕액의 분획물을 처리한 후 GSH의 농도를 측정된 결과 유의한 변화는 나타나지 않았다.

Catalase는 세포 소기관인 peroxisome 내에서 과산화수소를 물과 산소로 분해하는 효소로, 과산화수소에 의한 산화적 손상으로부터 세포를 보호하는 역할을 한다²⁹⁾. 본 실험에서 급성 산화증이 유도된 실험동물의 간세포에 紫根 전탕액 및 전탕액의 분획물을 처리한 후 catalase의 농도를 측정된 결과 유의한 변화는 나타나지 않았다. 紫根 전탕액 및 분획물이 GSH와 Catalase의 농도에 유의한 변화를 주지 않는 실험 결과를 통하여 紫根의 약리 효능이 GSH와 Catalase에 관여하는 대사과정에는 영향을 미치지 않는 것으로 추정할 수 있다.

질소 중간산대사물 중 하나인 NO (nitric oxide)는 면역전달물질인 cytokine의 영향으로 면역세포로부터 생산되어, 염증반응부위에 유리됨으로서 Fe-S를 함유하는 효소의 작용을 억제 시키거나 DNA에

소산을 미쳐 항 미생물작용이나 항암 작용을 나타낸다. 그러나 과다 방출된 NO는 조직의 손상을 야기하여 패혈증성 쇼크(septic shock), 류마티스관절염(rheumatoid arthritis), 대뇌성빈혈(cerebral ischemia), 다발성 경화증(multiple sclerosis)과 당뇨병(diabetes)을 유발하는 것으로 알려져 있다³⁰⁾. 본 실험에서 급성 산화증이 유도된 실험동물의 간세포에 紫根 전탕액 및 전탕액의 분획물을 처리한 후 NO 함량을 측정된 결과, 대조군에 비해 모든 분획물에서 간세포 배양액의 NO 함량이 유의하게(p<0.01) 감소하였다.

MDA(malondialdehyde)는 세포막에서 다중불포화지방산과 새로운 지질자유기가 반응하여 산소 radical 화합물이 생성되고, 과잉산소가 존재할 때 과산화 radical은 지질과산화라고 하는 연쇄반응을 일으키게 된다³¹⁾. 따라서 산화물의 지표로서 MDA 함량을 측정하게 된다. 본 실험에서, 급성 산화증이 유도된 실험동물의 간세포에 紫根 전탕액 및 전탕액의 분획물을 처리한 후 MDA 함량을 측정된 결과, 紫根 분획물 모두 대조군에 비하여 MDA 함량을 유의하게(p<0.01) 감소시켰다.

결론

한국에서 紫根의 기원식물로 사용되고 있는 紫根을 대상으로 산화동물모델 흰 쥐의 간세포를 이용한 세포독성 및 항산화 효능실험을 통하여 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. 흰 쥐의 간세포에 대한 紫根의 세포독성은 없었다.
2. 紫根 전탕액 및 전탕액의 분획물은 산화동물모델 흰 쥐 간세포의 SOD 활성도를 유의하게(p<0.01) 증가시켰다.
3. 紫根 전탕액 및 전탕액의 분획물은 산화동물모델 흰 쥐 간세포의 glutathione 함량에 유의한 변화를 주지 않았다.
4. 紫根 전탕액 및 전탕액의 분획물은 산화동물모델 흰 쥐 간세포의 Catalase 농도에 유의한 변화를 주지 않았다.
5. 紫根 전탕액 및 전탕액의 분획물은 산화동물모델 흰 쥐 간세포의 Nitric oxide 함량을 유의하게(p<0.01) 감소시켰다.
6. 紫根 전탕액 및 전탕액의 분획물은 산화동물모델 흰 쥐 간세포의 MDA 함량을 유의하게(p<0.01)

감소시켰다.

이상의 결과를 통하여 산화동물모델 흰 쥐의 간 세포에 대한 紫葍의 항산화 효과가 있음을 알 수 있었으며 향후 紫葍가 가지고 있는 항산화 효과를 규명하기 위하여 보다 많은 연구가 필요한 것으로 사료된다.

참고문헌

1. 吳普等 述, 孫星衍, 孫馮翼 輯. 神農本草經. 北京: 科學技術文獻出版社. 1999:65,66.
2. 國家中醫藥管理局 編委會. 中華本草. 上海: 科學技術出版社. 1999:525-531.
3. 식품의약품안전청 고시 제2002-73. 대한약전 8 개정. 2002:1461,1462.
4. 日本藥局方解説書第 編纂委. 第十四改正 日本藥局方解説書. 東京: 廣川書店. 2001:493-503.
5. 行政院衛生署中醫藥委員會. 中藥典編輯委員會. 中華民國中藥典範 1985年版. 台北: 達昌印刷有限公司. 1985:133-135.
6. 조선민주주의인민공화국 보건부 약전위원회. 조선민주주의 인민공화국약전 제 5판. 평양: 의과학출판사. 1996:249.
7. 國家藥典委員會 編. 中華人民共和國藥典 2000年版. 北京: 化學工業出版社. 2000:280,281.
8. 國家藥典委員會 編. 中華人民共和國藥典 2005年版. 北京: 化學工業出版社. 2005:238,239.
9. Evance CR, Halliwell B and Lunt GG. Free radicals and oxidative stress : environment, drugs and food additives. Portland Press. 1995:1-31.
10. Sozmen EY, Tanyakin T, Onat T, Kufay F, Erlacin S. Ethanol-induced oxidative stress and membrane injury in rat erythrocytes. Eur J Clin Chem Clin Biochem. 1994;32:741-744.
11. Ishida T, Sakaguchi I. Protection of human keratinocytes from UVB-induced inflammation using root extract of *Lithospermum erythrorhizon*. Biol Pharm Bull. 2007;30(5):928-934.
12. Zhang ZQ, Cao XC, Zhang L, Zhu WL. Effect of Shikonin, a phytochemical from *Lithospermum erythrorhizon*, on rat vascular smooth muscle cells proliferation and apoptosis in vitro. Zhonghua Yi Xue Za Zhi. 2005;85(21):1484-1488.
13. 李時珍. 本草綱目. 北京: 人民衛生出版社. 1982:762-764.
14. 許浚. 東醫寶鑑. 서울: 南山堂. 1986:729.
15. Bulgakov VP, Kozyrenko MM, Fedoreyev SA, Mischenko NP, Denisenko VA, Zvereva LV, Pokushalova TV, Zhuravlev YN. Shikonin production by p-fluorophenylalanine resistant cells of *Lithospermum erythrorhizon*. Fitoterapia. 2001;72(4):394-401.
16. Chung HS, Kang MK, Cho CW, Park SK, Kim HY, Yoon YS, Kang JH, Shin MK, Hong MC, Bae HS. Inhibition of lipopolysaccharide and interferon-gamma-induced expression of inducible nitric oxide synthase and tumor necrosis factor-alpha by *Lithospermi radix* in mouse peritoneal macrophages. J Ethnopharmacology. 2005;102(3):412-417.
17. Kim SH, Kang IC, Yoon TJ, Park YM, Kang KS, Song GY, Ahn BZ. Antitumor activities of a newly synthesized shikonin derivative, 2-hyim-DMNQ-S-33. Cancer Lett. 2001;172(2):171-175.
18. Jin R, Wan LL, Mitsuishi T. Effects of shi-ka-ron and Chinese herbs in mice treated with anti-tumor agent mitomycin C. Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi. 1995;15(2):101-103.
19. Konoshima T, Kozuka M, Tokuda H, Tanabe M. Anti-tumor promoting activities and inhibitory effects on Epstein-Barr virus activation of Shi-un-kou and its constituents. Yakugaku Zasshi. 1989;109(11):843-846.
20. Weng XC, Xiang GQ, Jiang AL, Liu YP, Wu LL, Dong XW, Duan S. Antioxidant properties of components extracted from puccoon (*Lithospermum erythrorhizon* Sieb. et Zucc.). Food Chemistry. 2000;69:143-146.
21. Pan YM, Liang Y, Wang HS, Liang M. Antioxidant activities of several Chinese medicine herbs. Food Chemistry. 2004;88:347-350.
22. Choi WH, Hong SS, Lee SA, Han XH, Lee KS, Lee MK, Hwang BY, Ro JS. Monoamine oxidase inhibitory naphthoquinones from the roots of *Lithospermum erythrorhizon*. Arch Pharm Res. 2005;28(4):400-404.
23. Hwang HJ, Kim HY, Yu HJ, Oh MH, Lee IH, Kim SG. Gene encoding pathogenesis-related

10 protein of *Lithospermum erythrorhizon* is responsive to exogenous stimuli related to the plant defense system. *Plant Science*. 2003;165:1297-1302.

24. Wang WJ, Bai JY, Liu DP, Xue LM, Zhu XY. The antiinflammatory activity of shikonin and its inhibitory effect on leukotriene B4 biosynthesis. *Yao Xue Xue Bao*. 1994;29(3):161-165.

25. Yamasaki K, Otake T, Mori H, Morimoto M, Ueba N, Kurokawa Y, Shiota K and Yuge T. Screening test of crude drug extract on anti-HIV activity. *Yakugaku Zasshi*. 1993;113(11):818-824.

26. Hong SG, Kang BJ, Kang SM and Cho DW. Antioxidative effects of traditional korean herbal medicines on AAPH-induced oxidative damage. *Food Sci. Biotechnol*. 2001;10(2):183-187.

27. Bannister et al. Aspects of the structure, function, and applications of superoxide dismutase. *CRC Crit Rev Biochem (CRC critical reviews in biochemistry)*. 1987;22(2):111-180.

28. Meister A. Glutathione deficiency produced by inhibition of its synthesis, and its reversal: applications in research and therapy. *Pharmacol Ther* 1991;51:155-194.

29. Deisseroth A and Dounce AL. Catalase physical and chemical properties, Mechanism of catalysis, and physiological role. *Physiological reviews*. 1970;50:319-375.

30. Mac Micking J, Xie QW, Nathan C. Nitric oxide and macrophage function. *Annu Rev Immunol*. 1997;15:323-350.

31. Sumida S, Tanka K, Kitao H and Nakadomo H. Exercise induced lipid peroxidation and leakage of enzymes before and after Vitamin E supplementation, *Int. J Biochem*. 1989;21:835-838.