배양 인체피부섬유모세포에 있어서 활성산소의 산화적 손상에 대한 山査추출물의 항산화 효과

임영미 · 김병륜[1] · 홍기연[1]*

원광대학교 의과대학원, 1 : 원광대학교 의과대학 산부인과학교실

Antioxidant Effect of Crataegi Fructus Extract on the Oxidative Stress of Reactive Oxygen Species in Cultured Human Skin Fibroblast

Young Mi Lim, Byoung Ryun Kim[1], Gi Youn Hong[1]*

Department of School of Medicine, Wonkwang University Graduate School,
1 : Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Wonkwang University

This study was done to evaluate the antioxidant effect of Crataegi Fructus (CF) extract on the oxidative stress induced by reactive oxygen species (ROS), The human skin fibroblasts (Detroit 551) were cultured with various concentrations of hydrogen peroxide (H_2O_2). The cytotoxicity of H_2O_2-induced oxidative stress was performed by XTT assay for the cell viability according to the dose- and time-dependent treatment. For the protective effect of CF extract on H_2O_2-mediated oxidative stress, cell viability, lactate dehydroganase (LDH) activity, and ferric thiocyanate (FTC) assay for the inhibitive activity of lipid peroxidation on CF extract were carried out. In this study, H_2O_2-mediated oxidative stress was decreased cell viability dose-, and time-dependent manner and increased LDH activity compared with the control in these cultures. In the protective effect, CF extract increased cell viability and decreased LDH activity on H_2O_2-mediated oxidative stress, especially, CF extract has antioxidant effect by the showing the inhibitive activity of lipid peroxidation by FTC assay. From these results, It is suggested that H_2O_2-mediated oxidative stress was highly toxic, and also, CF extract showed the protective effect on H_2O_2-mediated oxidative stress by showing the increased cell viability, decreased LDH activity and lipid peroxidation inhibition in these cultures.

Key words : Antioxidant, Oxidative stress, Crataegi Fructus extract

서 론

활성산소의 산화적 손상은 노화뿐만 아니라 류미티스관절염을 비롯한 종양이나 외피, 신경계등에 손상을 줌으로서 헌팅턴병을 비롯한 파킨슨병, 근위축성측삭경화증 (amyotrophic lateral sclerosis)과 같은 각종 병리적 요인으로 밝혀지고 있다[1]. 특히, 세포속 사립체 (mitochondria)내에서 산화적 인산화반응 시 고에너지의 전자이탈로 $-O_2$나 OH^-, H_2O_2와 같은 자유라디칼 (free radicals)이 생성되어 사립체내 지질과산화나 DNA나 RNA와 같은 핵산물질의 산화적 손상을 유발하게 된다[2]. 활성산소 (reactive oxygen species, ROS)의 산화적 손상에 의하여 세포소기관인 사립체의 손상은 결국 세포의 돌연변이나 퇴화를 유발함은 물론, 점진적인 세포내 자유라디칼의 축적에 의한 산화적 손상은 세포고사와 이에 따른 각종 질환의 발병율을 가속화 시킨다[3]. 이를 대비하여 세포는 자체적으로 이를 방어할 수 있는 방어시스템을 구축하고 있는데 이는 catalase를 비롯하여 superoxide dismutase(SOD), glutathiopne peroxidase와 같은 항산화효소를 가지고 있다[4]. 이같은 항산화효소들은 자유라디칼을 물로 변환시킴으로서 세포에는 아무런 산화적 손상이 가지 않도록 방어하는 기능을 가지고 있다[5]. 활성산소의 산화적 손상은 특히 세포막의 지질을 과산화시킴으로서 막손상을 유발하며[6], 또한, 세포로 하여금 glutamate와 같은 흥분성 아미노산의 분비를 촉진시켜 N-methyl-D-aspartate (NMDA) 수용체나 kainate (KA) 수용체를 과흥분시킨다. 이같은 현상은 결국 세포내 과량의 Ca^{2+}유입과 새로운 활성 산소종 (reactive oxygen species,

* 교신저자 : 홍기연, 익산시 신용동 원광대학교 의과대학 산부인과학교실
· E-mail : hong57@wonkwang.ac.kr, · Tel : 063-859-1543
· 접수 : 2007/11/27 · 채택 : 2008/01/16

ROS)의 생성과 같은 일련의 항상성 파괴현상을 초래하게 된다[7,8]. 따라서 산화적 손상에 의하여 매개되는 각종 질환의 치료적 접근방법의 하나로서 SOD나 catalase와 같은 항산화제는 물론, vitamin E나 ascorbic acid와 같은 활성산소제거제 등의 투여 등을 적용하고 있다[9,10]. 최근 한약재나 허브 등에 항산화능이 뛰어난 활성성분이 다량 함유되어 있다고 밝혀지면서 이들을 대상으로 산화적 손상에 유효한 성분추출에 대한 많은 연구가 진행되고 있다[11,12]. 山査는 薔薇科식물에 속하는 낙엽교목의 일종인 山査나무 (Crataegus pinnatifida Beg.)의 과실로 우리나라와 중국 등에 널리 분포하고 있다. 山査의 효능으로는 建脾行氣를 비롯하여 脘腹脹滿, 消食磨積과 같은 효능이 있으며[13,14], 그 밖에도 고혈압의 치료에도 널리 사용되고 있다[15]. 한편, 山査에 대한 최근의 연구에서 항산화작용을 비롯하여[16], 지질과 체지방의 증가억제[17] 및 혈관확장과 같은 각종 약리활성을 나타낸다고 보고된 바 있다[18,19]. 예를 들면, 신홍묵[16]등은 흰쥐의 위장에서 산사가 항산화효소 활성에 미치는 영향을, 고광재[17]등은 고지방식이로 유발된 비만 생쥐에 산사가 미치는 영향을, 손창우[19]등 가토의 혈관절편에서 항산화효소 작용을 각각 보고하였다. 지금까지 한의학적 측면에서의 산사에 대한 연구는 주로 생체 내(in vivo)에서의 실험[16,17,19]이 대부분인 것에 비하여 시험관 내(in vitro) 연구는 드물고 특히 배양세포를 이용한 항산화적 측면에서의 연구는 많이 시행되지 않았다. 최근 세포배양기술을 이용하여 실험목적에 따라 제작한 병변 모델을 이용하여 병변에 대한 기전 규명이나 치료적 접근을 위하여 시험관내 분석기술이 널리 적용되고 있는데[12,20], 세포를 이용한 각종 병변에 대한 연구는 생체실험에 비하여 용이한 실험재료의 확보와 생리적 특성이 균일화되어 있어 자료 분석에 있어 객관성이 뚜렷하다는 장점이 있다[21]. 또한 이러한 객관적인 분석방법을 이용한 연구에서 생체보호 기능이 충분히 밝혀져야만 어떤 한약재나 기타 식물 등을 이용한 신약이나 건강보조제의 개발이 이루어질 수 있을 것이다.

본 연구는 山査의 항산화효과를 조사하기 위하여 배양된 인체피부섬유모세포를 이용하여 ROS의 일종인 hydrogen peroxide (H_2O_2)를 처리한 후 산화적 손상으로 인한 세포독성을 조사하였으며 또한 H_2O_2의 산화적 손상에 대한 山査의 항산화효과를 세포생존율을 비롯한 lactate dehydrogenase (LDH) 활성 및 지질과산화 억제능 (lipid peroxidation inhibition) 측면에서 조사하여 유의한 결과를 얻었기에 다음과 같이 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 시약 제조

본 실험에 사용한 hydrogen peroxide (H_2O_2, Sigma)는 혈청이 포함되어 있지 않은 MEM (minimun essential medium, Sigma) 배양액에 최종 농도가 각각 10 uM, 100 uM, 500 uM, 1 mM이 되도록 저장액을 만들어 냉장고에 보관한 후 실험 당일 일정 농도로 희석하여 사용하거나 또는 직접 필요한 양을 배양액에 넣어 첨가하여 사용하였다. XTT(2,3-bis-[2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl]-2H-tetrazolium-5-caboxanilide, disodium salt)는 실험 전날 0.5 mg/ml의 저장액을 만들어 각각 냉암소에 보관 한 후 실험 당일 0.3 mg/ml, 0.1 mg/ml 농도로 희석하거나 필요한 양만큼 배양액에 넣어 사용하였다.

2. 약재 추출

山査 (Crataegi Fructus, CF) 250 g을 1,000 ml의 증류수와 함께 냉각기가 부착된 환저 플라스크에 넣고 2 시간 동안 가열한 후 3,000 rpm에서 20 분간 원침하였다. 원침 후 진공농축기로 감압농축한 다음 동결건조기에서 24 시간 동안 건조시켜 28.5 g의 분말시료를 얻었다.

3. 세포 배양

본 실험에 사용한 인체피부섬유모세포 (Detroit 551)는 Michikawa 등[22]의 변형된 배양방법에 따라 행하였다. 즉, 배양용기에서 다 자란 세포는 trypsin에 의한 효소분리법에 의하여 용기로 부터 분리한 후 Eagle´s minimum essential medium (EMEM, Gibco)에 10% fetal bovine serum (FBS, Gibco)이 포함된 배양액에 부유시켰다. 부유된 세포들은 1×10^6 cells/well의 밀도로 96 배양용기 (well plate)에 넣어 48 시간 동안 배양하였으며 배양이 완료된 세포는 본 실험의 분석에 사용하였다.

4. 활성산소 처리

96 배양용기에 분주한 후 배양이 완료된 세포에 10 uM 부터 50 uM 까지의 H_2O_2가 농도별로 각각 포함된 배양액에서 8 시간 동안 배양한 후 H_2O_2가 인체피부섬유모세포에 미치는 영향을 분석하였다.

5. 약재 처리

H_2O_2에 대한 山査의 영향을 조사하기 위하여를 H_2O_2를 배양세포에 처리하기 전에 山査가 90~120 ug/ml의 농도로 각각 포함된 배양액에서 인체피부섬유모세포를 2 시간 동안 처리한 후 대조군과 비교 조사하였다.

6. 세포독성 조사

XTT에 의한 정량방법은 비색분광분석방법에 의하였다. 즉 H_2O_2를 처리하지 않은 배양 인체피부섬유모세포를 5×10^6 세포수로 하여 laminin으로 코팅한 배양용기에서 24 시간 동안 배양하였다. 배양이 완료된 후 H_2O_2나 약재추출물을 처리하여 일정 시간 동안 배양하였다. 배양 완료후 세포를 PBS로 3 회 세척한 다음 실험전날 제조한 XTT를 well당 200 ul씩 넣어 37℃, 5% CO_2/95% air로 조절된 정온기에서 3 시간 동안 배양하였다. 배양이 완료된 후 효소산물추출액으로 처리한 다음 Elizer reader로 450 nm에서 흡광도를 측정하여 대조군과 비교 조사하였다.

7. Lactate dehydrogenase (LDH) 활성 분석

LDH 측정은 CytoTox detection kit (Takara)를 사용하여 측정하였으며, 반응액내에 NAD의 산화로 의해 형성된 formazan을 490 nm에서 흡광도를 측정하여 대조군과 비교 조사하였다.

8. 지질과산화 저해능분석

지질과산화 저해능분석은 Kikuzaki와 Nakatani[23]의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 에탄올에 녹여 준비한 시료를 2.52% linoleic acid와 phosphate buffered saline (PBS, pH 7.0)을 2:1로 섞은용액에 넣어 40℃의 암소에서 96 시간 동안 배양하였다. 배양완료 후 반응액 0.1 ml를 취하여 30% ammonium thiocyanate와 ferrous chloride를 각각 첨가하여 실온에 방치한 다음 500 nm에서 흡광도를 측정하여 증류수인 대조군과 비교 조사하였다. 지질과산화수치는 대조군에 대한 백분율로 표시하였다.

9. 통계 처리

대조군과 실험군 사이의 통계학적 유의성 검정은 Studen t´s t-test를 사용하였으며 p가 0.05 이하인 것만 유의한 것으로 하였다.

결 과

1. 세포 생존율에 대한 H_2O_2의 영향

1) 농도에 의한 영향

배양중인 인체피부섬유모세포를 PBS로 3회 세척한 후 10 uM~50 uM까지의 H_2O_2가 각각 포함된 배양액에서 8시간 배양한 다음 흡광도에 의한 세포생존율을 대조군과 비교 조사하였다. 10 uM에서 세포생존율은 대조군인 100%(6.46±0.42)에 비하여 86.8%(5.61±0.32)로 나타났으며 30 uM의 경우 60.7%(3.92±0.27)로 나타났다. 그리고 50 uM에서는 48.0%(3.10±0.15)로 대조군에 비하여 세포생존율이 유의하게 감소하였다($p<0.05$). 위 실험에서 XTT50값은 50 uM에서 나타났다(Fig. 1).

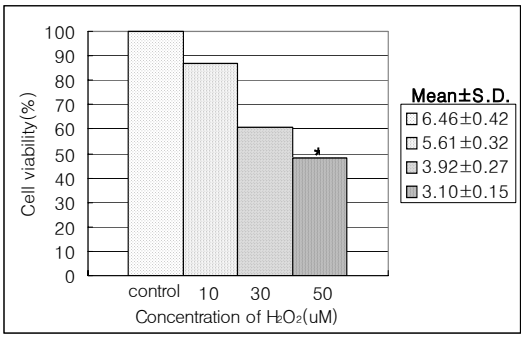

Fig. 1. The XTT values of cultured human skin fibroblasts treated with various concentrations of hydrogen peroxide(H_2O_2) for 8hours. The data indicate the mean±SD for triplicate experiments. Significantly different from control. *p<0.05

2) 시간에 의한 영향

인체피부섬유모세포에 H_2O_2를 처리한 시간에 따른 세포생존율을 조사하기 위하여 XTT50농도의 H_2O_2의 농도에서 4~12 시간 동안 처리한 결과 4 시간 처리에서 세포생존율은 대조군인 100%(4.84.±0.27)에 비하여 59.5%(2.38±0.18)로 나타났다. 그리고 8시간 배양에서는 48.1%(2.33.±0.20), 12시간 배양에서는 42.6%(2.06±0.16)로 대조군에 비하여 세포생존율이 유의하게 감소하였다($p<0.05$)(Fig. 2).

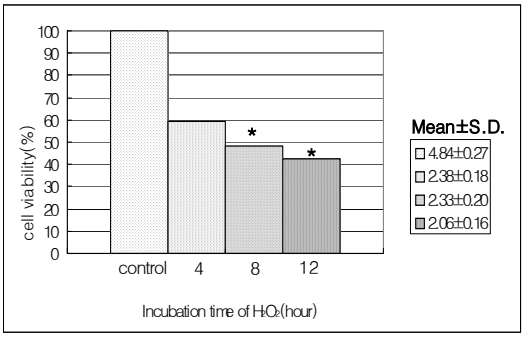

Fig. 2. The human skin fibroblasts were cultured in the media containing hydrogen peroxide(H_2O_2) for 4, 8, and 12hours, respectively. Cell viability was determined by XTT assay. The data indicate the mean±SD for triplicate experiments. Significantly different from control. *p<0.05

2. 山査추출물이 세포 생존율에 미치는 영향

배양중인 인체피부섬유모세포를 PBS로 3 회 세척한 후 90 ug/ml, 120 ug/ml의 山査가 각각 포함된 배양액에서 2 시간 전 배양한 다음 세포생존율을 조사하였다. 50 uM H_2O_2만 처리한 경우 대조군인 100%(6.17±0.53)에 비하여 세포생존율은 58.0%(3.58±0.27)로 감소하였다. 그리고 90 ug/ml 山査추출물을 처리한 경우에는 세포생존율이 68.2%(4.21±0.38)로 다소 증가하였으며, 120 ug/ml 山査추출물을 처리한 경우에는 세포생존율이 78.6%(2.30±0.18)로 H_2O_2만 처리경우에 비하여 유의한 증가를 보였다($p<0.05$)(Fig. 3).

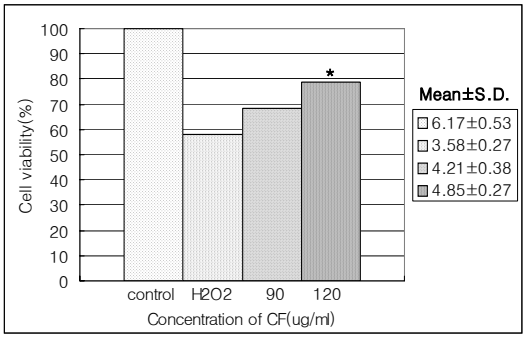

Fig. 3. Cultured human skin fibroblasts were preincubated with 90 &120 ug/ml CF extract, respectively. The values were determined by XTT assay in cultured human skin fibroblasts. The data indicate the mean±SD for triplicate experiments. Significantly different from H_2O_2-treated group. *p<0.05

3. LDH 활성에 대한 H_2O_2와 山査추출물의 영향

H_2O_2의 산화적 손상에 대한 山査추출물의 영향을 조사하기 위하여 山査추출물이 120 ug/ml, 160 ug/ml 농도로 각각 포함된 배양액에서 배양세포를 2시간 동안 노출시킨 후 LDH 활성을 조사하였다. 50 uM H_2O_2만 처리에서는 대조군인 100%(1.78±0.25)에 비하여 LDH 활성이 123.0%(2.19±0.17)로 증가한 것으로 나타난 반면, 120 ug/ml 山査추출물을 처리한 경우 72.5%(1.29±0.10), 160 ug/ml 山査추출물의 처리한 경우 62.9%(1.12±0.08)로 LDH 활성이 각각 감소하여 H_2O_2만을 처리

한 경우에 비하여 모두 유의한 감소를 보였다(p<0.01)(Fig. 4).

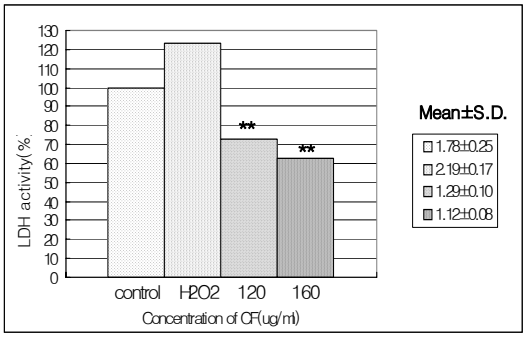

Fig. 4. Cultured human skin fibroblasts were preincubated with 120, 160 ug/ml CF extract, respectively. The values were determined by LDH activity assay in cultured human skin fibroblasts. The data indicate the mean±SD for triplicate experiments. Significantly different from H_2O_2-treated group. **p<0.01

4. 과지질산화능에 대한 山査추출물의 영향

山査추출물이 지질과산화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 ferric thiocyanate(FTC) 분석방법에 따라 45~180 ug/ml의 山査추출물 각각의 농도에 대한 분석을 시행하였다. 그 결과 대조군인 100%에 비하여 45 ug/ml의 山査추출물 처리군에서는 지질과산화 값이 95.5%로 나타났다. 그리고 90 ug/ml, 180 ug/ml의 山査추출물 처리에서는 지질과산화 값이 각각 73.1%(p<0.05), 43.3%(p<0.01)로 모두 대조군에 비하여 유의한 감소를 보였다(Fig. 5).

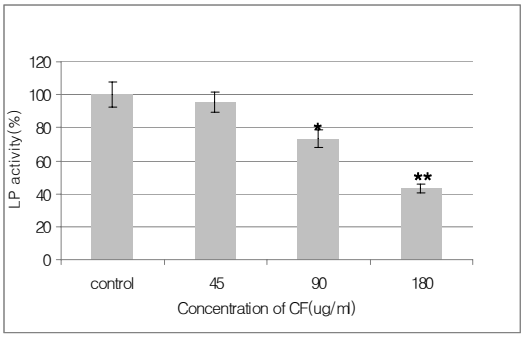

Fig. 5. The activity of lipid peroxidation on 45~180 ug/ml CF extract. The values were determined by ferric thiocyanate(FTC) assay. The data were expressed as % of control and indicate the mean±SD for triplicate experiments. Significantly different from control. *p<0.05, **p<0.01

고 찰

최근 각종 한약재에는 항암효과나 항산화효과가 뛰어난 성분들이 들어 있다고 보고되면서 이에 대한 관심이 집중되고 있다[16,19]. 이중 山査는 항균효과를 비롯하여[24] 혈관확장기능에 대한 약리활성 성분이 있다고 보고되었으며[18], 더욱이 산화적 스트레스에 대한 항산화작용에도 유효한 성분이 있다고 제시된 바 있다[16]. 따라서 본 연구에서는 山査추출물의 항산화작용에 대하여 알아보기 위하여 먼저 배양 인체피부섬유모세포에 활성산소(ROS)의 일종인 hydrogen peroxide (H_2O_2)를 10~50 uM의 농도로 각각 처리하여 산화적 손상에 대한 세포독성을 조사하였다. 그 결과 H_2O_2는 처리한 농도와 시간에 의존적으로 세포생존율을 감소시켰으며 특히, 50 uM 농도 처리에서는 대조군에 비하여 유의하게 세포생존율의 감소를 나타냈다(p<0.05). 이러한 본 실험 결과는 H_2O_2가 세포독성을 가지고 있다는 것을 말해주고 있으며 이는 Loft 등[3]이 H_2O_2와 같은 자유라디칼들이 세포소기관의 지질과산화나 DNA의 돌연변이를 유발케 함으로서 세포독성을 나타냈다는 보고와 일치함을 알 수 있었다. 또한, 본 연구에서 H_2O_2의 산화적 손상에 의해 세포생존율이 감소된 것은 세포내 핵산물질의 손상이나[3], 단백질합성 계 등의 통로를 통해 세포손상을 유발하였을 가능성도 크지만[25], 이 보다는 본 실험에서 적용한 XTT assay가 주로 세포소기관과 밀접한 관련이 있음을 연관시켜 볼 때 아마도 H_2O_2의 산화적 손상이 세포소기관의 효소활성을 억제함으로서 세포손상을 초래하였을 것으로 생각된다. 한편, 山査추출물의 항산화작용에 대해 알아보기 위하여 山査추출물이 90~120 ug/ml로 각각 포함된 배양액에서 세포를 2 시간 동안 전처리한 결과 H_2O_2만을 처리한 실험군에 비하여 모두 세포생존율의 증가를 보였으며, 특히 120 ug/ml 山査추출물 처리에서는 유의한 세포생존율의 증가를 보였다(p<0.05). 이같은 결과는 山査추출물이 H_2O_2의 산화적 손상으로 부터 세포를 보호할 수 있는 능력을 가지고 있다는 것을 알 수 있으며, 이는 손창우 등[19]이 山査의 항산화 능을 보고한 연구 결과와 일치한다. 본 실험에서와 같이 山査추출물이 세포보호효과를 보인 것은 세포내 항산화효소의 활성을 증가시켰거나 또는 H_2O_2와 같은 산소라디칼의 제거나 변환 및 산화적 손상에 의해 유발되는 지질과산화반응의 억제등과 같은 항산화 작용을 나타낸 결과일 가능성이 클 것으로 생각된다[17,19]. 따라서 본 연구에서는 H_2O_2의 산화적 손상에 의해 유발되는 세포막 손상에 대한 山査추출물의 영향을 LDH 활성측면에서 조사하였다. 그 결과 XTT50 농도의 H_2O_2만의 처리에서는 대조군에 비하여 LDH 활성이 123.0%로 매우 높게 나타난 반면 120~160 ug/ml의 山査추출물을 처리한 경우 LDH 활성이 60~80%로 나타나 유의하게 감소하였다(p<0.01). LDH 활성분석은 산화적 손상의 특징 하나인 지질과산화반응을 간접적으로 알아볼 수 있는 방법의 하나로서 세포막 손상 정도를 측정하는 대표적인 분석법이다. 즉, LDH 활성이 높을수록 지질과산화반응에 의한 막손상이 심하여 세포내에서 LDH 유출이 증가하였다는 것을 의미한다. 따라서 본 연구 결과는 H_2O_2의 산화적 손상이 지질과산화반응을 유발하였음을 알 수 있었으며, 山査추출물이 LDH 활성을 감소시킴으로서 지질과산화 반응을 억제했다는 것을 증명하고 있다. 따라서 본 연구에서는 직접 山査추출물이 지질과산화반응에 미치는 영향을 알아보기 위하여 FTC assay에 의하여 지질과산화 능을 조사하였다. 그 결과 45~180 ug/ml 농도의 山査추출물의 처리에서는 대조군에 비하여 점점 감소하였으며 특히 90 ug/ml와 180 ug/ml의 처리에서는 대조군에 비하여 유의하게 감소한 것으로 나타났다. 이같이 山査추출물에 의하여 지질과산화능이 대조군에 비하여 농도 의존적으로 감소된 것은 山査추출물이 지질과산화억제 능을 가지고 있다는 것을 말해주고 있다. 그러나 항산화 측면에서의 山査추출성분의 약리적인 활용을 위해서는 각 추출성분에 대한 화학적 구

조에 대한 정확한 분석과 이와 관련된 기능에 대한 연구가 체계적이고도 지속적으로 이루어져야 될 것으로 생각된다.

결 론

활성산소의 산화적 손상에 대한 山査 (Crataegi Fructus) 추출물의 영향을 항산화 측면에서 조사하기 위하여 배양 인체피부섬유모세포에 여러 농도의 hydrogogen peroxide (H_2O_2)를 처리한 후 H_2O_2의 산화적 손상과 H_2O_2의 산화적 손상에 대한 山査추출물의 영향을 세포생존율을 비롯한 LDH 활성 및 지질과산화능 측면에서 측정한 결과, H_2O_2는 산화적 손상에 의하여 처리농도와 시간에 의존적으로 세포생존율을 대조군에 비하여 유의하게 감소시킴으로서 세포독성을 나타냈으며, H_2O_2의 산화적 손상에 대한 山査추출물의 영향에 대한 조사에서, H_2O_2의 처리군에 비하여 山査추출물의 처리군에서 유의한 세포생존율의 증가와 LDH 활성감소를 보임으로서 山査추출물에 세포보호 효과가 있음을 알게 되었다. 또한 山査추출물의 지질과산화 능의 측정에 있어서도 山査추출물은 농도 의존적으로 지질과산화를 유의하게 감소시킴으로서 지질과산화 억제 능을 확인하였다. 이상의 결과로, 기존의 많은 연구 결과에서와 같이 H_2O_2와 같은 활성산소는 배양 인체피부섬유모세포에 세포독성을 나타내며, 이러한 세포독성 작용에 대항하여 山査추출물이 세포생존율 증가, LDH 활성감소 및 지질과산화억제 능 등의 기전으로 세포를 보호한다는 것을 알게 되었다. 향후 산사의 항산화작용에 대한 보다 많은 연구들이 행해지고 결과들이 축적 된다면 山査추출물을 이용한 신약이나 건강보조제의 개발에 밑거름이 될 수 있을 것이다.

감사의 글

이 논문은 2005년도 원광대학교 교비로 수행되었습니다.

참고문헌

1. Colye, J.T., Puttfarken, P. Oxidative stress, glutamate, and neuroodegenerative disorders. Science. 262: 689-695, 1993.
2. Wallace, D.C. Mitochondrial genetics: a paradigm for aging and degenerative diseases. Science. 256: 628-632, 1992.
3. Loft, S., Astrup, A., Buemann, B., Poulsen, H.E. Oxidative DNA damage correlates with oxygen consumption in humans. FASEB J. 8: 534-537, 1994.
4. Harabin, A.L., Braisted, J.C., Flynn, E.T. Response of antioxidant enzymes to intermitent and continuous hyperbaric oxygen. J Appl physiol. 69: 328-335, 1990.
5. Reiter, R.J. Oxidative processes and antioxidative defense mechanisms in the aging brain. FASEB J. 9: 526-533, 1995.
6. Halliwell, B., Gutteridge, J.M. Lipid peroxidation, oxygen radicdals, cell damage and anti-oxidant therapy. Lancet. 23: 1396-1397, 1984.
7. Lipton, S.A., Rosenberg, P.A. Excitatory amino acids as a final common pathway for neurologic disorders. New Engl J Med. 330: 613-622, 1994.
8. Duffy, S., MacViar, B.A. In vitro ischemia promotes calcium influx and intracellular calcium release in hippocampal astrocytes. J Neurosci. 16: 71-81, 1996.
9. Jacobson JM, Michael JR, Jafri MH JR, Gurtner GH. Antioxidants and antioxidant enzymes protect against pulmonary oxygen toxicity in the rabbit. J Appl Physiol 68: 1252-1259, 1990.
10. Chuyen, N.V. On the antioxidative activity of aminocarbonyl reaction. 食品と開發. 28: 14-17, 1993.
11. Maggi-Capeyron, M.F., Ceballos, P., Cristol, J.P., Delbosc, S., Le Doucen, C., Pons, M., Leger, C.L., Descomps, B. Wine phenolic antioxidants inhibit AP-1 transcriptional activity. J Agric Food Chem. 49(11):5646-5652, 2001.
12. Sakagami, H., Arakawa, H., Maeda, M., Satoh, K., Kadofuku, T., Fukuchi, K., Gomi, K. Production of hydrogen peroxide and methionine sulfoxide by epigallocatechin gallate and antioxidants. Anticancer Res. 21(4A):2633-2641, 2001.
13. 李時珍. 本草綱目, 서울, 高文社, pp 1013-1014, 1987.
14. 江蘇中醫學院. 中藥大辭典. 大邱, 大成出版社, pp 170-172, 1984.
15. 辛民敎. 臨床本草學. 서울, 圖書出版, 永林社, pp 585-586, 1997.
16. 신홍묵, 신동훈, 김길훤. 위점막 보호효과에 대한 산사의 항산화작용과 SH기의 영향. 동의생리학회지 15(1):127-135, 2000.
17. 고광재, 송용선. 산사 추출액이 백서의 비만모형에 미치는 영향. 원광대 논문집. 8(1):1-8, 1998.
18. 王浴生, 鄧文龍, 薛春生. 中藥藥理與應用. 北京, 人民衛生出版社, pp 103-104, 1998.
19. 손창우, 채종구, 김길훤, 신홍묵. 산사의 혈관이완효능과 항산화작용. 동의생리병리학회지 16(1):67-71, 2002.
20. Mosmann, T. Rapid colorimetric assays for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. J. Immunol. Methods. 65: 55-63, 1983.
21. Mei, Y., Wei, D., Liu, J. Reversal of cancer multidrug resistance by tea polyphenol in KB cells. J Chemother. 15(3):260-265, 2003.
22. Michikawa, M., Lim, K.T., McLarnon, J.G., Kim, S.U. Oxygen radical-induce neurotoxicity in spinal cord neuron cultures. J Neurosci Res. 37: 62-70, 1994.
23. Kikuzaki, H., Nakatani, N. Antioxidant effects of some ginger constituents. J Food Sci. 58: 1407-1410, 1993.
24. 최승만, 김민주, 최영호, 안호정, 윤여표. Propionibacterium acnes에 대한 항균효과 검색. 약학회지 42(1):89-94, 1998.
25. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. Protein determination with the Folin phenol reagent. J Biol Chem. 193: 265-275, 1951.