

## 산약 추출물의 항산화 및 항염증에 관한 실험적 연구

최가영, 김병우  
상지대학교부속한방병원 한방내과

### Experimental Study on the Antioxidant and Antimicrobial Properties of *Dioscoreae Rhizoma*

Ga-young Choi, Byoung-woo Kim  
Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Sang-Ji University

#### ABSTRACT

**Objectives :** This study evaluated the effect of *Dioscoreae Rhizoma* on antioxidant and antimicrobial activity *in vitro*.

**Methods :** *In vitro* experiments were made on antioxidant by DPPH radical scavenging activity, enzyme activity of SOD, protective effect about H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and DNA fragmentation in RAW264.7 cells, as well as antimicrobial by Cox-2 expression in LPS-induced RAW264.7 cells.

#### Results :

1. *Dioscoreae Rhizoma*'s antioxidant ability was improved by DPPH radical scavenging activity.
2. Antioxidant ability of *Dioscoreae Rhizoma* produced good results at more than 0.025 mg/ml.
3. On protective effect of *Dioscoreae Rhizoma* about H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on RAW264.7 cells, with addition of *Dioscoreae Rhizoma* extract the cells' survival increased compared to adding H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> only.
4. About revelation-control of Cox-2 at RAW264.7 cells which induce by LPS, when *Dioscoreae Rhizoma*'s concentration was higher from 0.0125 mg/ml to 1 mg/ml, its control activity was stronger. Thus we found *Dioscoreae Rhizoma* has antimicrobial activity.
5. The power of DNA fragmentation control of *Dioscoreae Rhizoma* was time-independent.

**Conclusions :** From this study we conclude that *Dioscoreae Rhizoma* has effects on antioxidant and antimicrobial activity. However, considerable work still needs to be done studying antioxidants by concentration, as well as a variety of experiments about antimicrobial activity.

**Key words :** *Dioscoreae Rhizoma*, antioxidant, antimicrobial activity

## 1. 서론

건강에 관한 관심은 예로부터 꾸준히 이어져 오고 있으며, 黃帝內經에서도 “正氣存內 邪不可干”, “風雨寒熱 不得虛邪 不能獨傷人” 및 “邪氣所溱 其

氣必虛”<sup>1)</sup>이라 하여 면역의 중요성에 대해 논한 바 있다. 특히, 현대 사회가 과거에 비해 점차 고령화 시대로 나아감에 따라 건강에 관한 관심은 높아지고 있으며, 더불어 우리의 몸을 노화시키고 손상시키는 활성산소를 저해하는 항산화작용을 통해 면역력을 증강시키는 연구가 활발히 진행되고 있다.

인간이 살아가는데 필요한 에너지는 체내에서 일어나는 산화반응을 통해서 충족된다. 여러 장기 및 조직에서 세포 내로 산소를 받아들이면 미토콘

· 교신저자: 김병우 강원 원주시 우산동 283번지  
상지대학교 부속한방병원 6내과  
TEL: 033-741-9383 FAX: 033-741-9385  
E-mail: w-mill@hanmail.net

드리아 내에서 산소대사과정이 행해지는데, 이 때 생성되는 것이 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)이다<sup>2,3</sup>. 활성산소종은 전자공여작용, superoxide dismutase(SOD)등의 생체내의 자기 방어 기능에 의해 대부분 소멸되나, 외부환경의 자극이나 노화에 의해 과생성되면, 여러 반응에 의해 세포막이 변화를 일으켜 다양한 질환을 일으킨다<sup>4,6</sup>.

최근에 한약의 항산화 효과에 대한 다양한 연구가 진행되고 있는데, 그 중 산약은 면역 증가 및 항암 작용 기능이 있는 saponin이 주성분으로 알려져 있다<sup>7</sup>. 이러한 산약을 이용한 항산화 및 항종양 효과 등에 대한 실험연구<sup>8-12</sup>가 보고된 바 있으나 이는 주로 암세포 및 생식 세포에 대한 항종양효과를 위주로 한 실험으로, 면역과 관련된 대식세포의 활성에 영향을 미쳐 항산화능 이나 항염증 효과를 발휘한다는 연구는 보고된 바 없었다.

이에 저자는 DPPH와 SOD를 이용한 항산화 실험과 murine macrophage인 Raw264.7 세포를 대상으로 산약추출물의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의한 세포 보호 효과 및 DNA 분절 억제 효과, LPS로 유도된 염증에서의 Cox-2 발현 억제 효과 등을 실험하고 그 결과를 보고하는 바이다.

## II. 실험 재료 및 방법

### 1. 재 료

#### 1) 약 물

본 실험에 사용한 산약은 상지대학교 한의과대학 본초학교실의 김수를 거쳐 사용하였으며, 건조된 산약 100 g을 증류수 1000 ml에 넣어 전탕 한 후 동결 건조하여 13.5 g을 얻었다. 실험에 앞서 필요한 농도로 조정하여 사용하였다.

#### 2) 세포주 및 세포배양

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 대한 세포 보호와 DNA 분절 억제 실험 및 Cox-2의 억제실험에 사용한 세포주는 Raw264.7로서 한림대학교에서 분양받아 사용하였다. 분양 즉시, 10% fetal bovine serum(FBS, Hyclone, USA),

penicillin(100 units/ml)(Sigma, USA), streptomycin (100 µg/ml)(Sigma, USA)이 첨가된 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM, Hyclone, USA) 배지로 5% CO<sub>2</sub>, 37°C에서 배양하였다.

### 2. 방 법

#### 1) DPPH에 의한 항산화 효과

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)에 의한 산약추출물의 라디칼 소거능을 Blois법<sup>13</sup>에 의하여 분석하였다. 산약추출물 200 µl에 1.5×10<sup>-4</sup> M농도로 메탄올에 용해시킨 DPPH 용액 800 µl를 첨가 혼합하여 30분간 실온에서 방치하였다. 그 후 520 nm에서 UV-VIS Spectrophotometer를 이용하여 흡광도를 측정하였다. Blank는 DPPH대신 에탄올을 사용하였고, control은 산약추출물 대신 증류수를 사용하였으며, DPPH에 의한 항산화능(%)는 다음과 같다.

항산화능(%)=

$$1 - \left( \frac{\text{sample 흡광도} - \text{blank 흡광도}}{\text{Control 흡광도}} \right) \times 100$$

#### 2) SOD에 의한 항산화 효과

Superoxide dismutase (SOD)의 효소활성은 Fluka사에서 판매하는 kit (SOD determination kit, 19160)를 사용하였다. Xanthine oxidase(XOD)에 의해 생성된 superoxide radical들은 반응액에 포함된 NBT와 반응하여 보라색의 NBT-diformazan을 형성하므로, SOD의 활성이 높을 경우 XOD에 의해 형성된 oxygen radical이 SOD에 의해 제거됨으로서 상대적으로 formazan의 형성이 감소하게 된다. 이에 형성된 formazan을 450 nm에서 흡광도를 측정하여 SOD의 활성을 검증하였다.

96 well plate의 각 well에 산약 추출물을 각 농도별로 20 µl씩 넣고, 음성대조군에는 같은 양의 증류수를 넣은 후, 각 well에 200 µl의 WST 염색 시약을 첨가한다. 이 때 대조군에는 희석용 buffer를 사용하였다. 그 다음 각 well에 미리 정해놓은 농도의 SOD 효소(enzyme working solution)를 처

리하고 37°C에서 20분 동안 방치 후에 450 nm의 흡광도에서 염색시약의 정도를 정량적으로 측정하고, 제조사의 실험방법에 따라 SOD 활성 정도를 계산한다.

#### 3) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의한 세포 보호 효과

Raw264.7 세포를 각 배양접시에  $3 \times 10^5$  cells/ml 되게 분주한 후에 0.1 mg/ml로 조정된 산약 추출물을 5%(v/v)의 농도로 처리한다. 약 3시간 정도 배양 해 준 후, 1 mM의 농도로 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리한다. 실험은 아무것도 처리하지 않은 음성대조군(Normal)과 천연물 시료를 처리하지 않고 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>만을 처리한 양성대조군(Control)을 시료군(Treat)과 같이 수행하였다.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 처리 6시간 경과한 시점과 18시간 경과한 시점에서 Trypan Blue로 염색 후 Hemocytometer로 측정하였다. 전체 세포 중 염색된 세포수를 백분율로 나타내었다.

#### 4) DNA 분절 억제

산약추출물을 다양한 농도로 처리한 배양세포를 수거하여 얼음으로 차갑게 한 PBS로 한번 세척한 후 세포 침전물을 700  $\mu$ l의 lysis buffer(20 mM Tris-HCl, pH8.0, 10 mM EDTA, 0.5% Triton X-100)로 현탁시키고, 얼음에서 45분간 항온 시키면서 가끔씩 침전된 세포를 현탁시켜 세포의 lysis를 용이하게 하였다. 파쇄된 세포를 4°C에서 13,000  $\times$  G로 20분간 원심 분리하여 세포질을 회수하였다. 이 세포질 용액을 phenol/chloroform으로 두 번 extraction하여 단백질을 제거하고 세포질내로 유출된 DNA와 RNA를 sodium acetate/isopropanol로 침전시켰다. 침전된 핵산을 40  $\mu$ l의 TE buffer(10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 10 mM EDTA)로 용해시키고, 200  $\mu$ g/ml의 농도가 되게 DNase-free RNase를 넣고 37°C에서 1시간 동안 온도를 유지시킨 다음 RNA가 제거된 DNA 용액을 1.5% agarose gel에서 전기영동하고, DNA를 ethidium bromide로 염색한 후 UV light하에서 사진을 찍어 가시화하였다.

#### 5) Cox-2의 발현 억제

Raw264.7 세포를 각 배양접시에  $3 \times 10^5$  cells/ml 되게 분주한 후에, 산약 추출물을 농도별로 3시간 처리한 후에 염증 유발물질인 LPS(lipopolysacharride)를 0.5  $\mu$ g/ml의 농도로 처리한다. 이 후 15시간 처리한 후에 각 세포를 취해 western blotting 한다.

Western blotting은 각 실험군의 단백질 농도를 측정하여 일정하게 정한 다음(10  $\mu$ g/ $\mu$ l), 10% SDS-PAGE를 수행 후, gel을 nitrocellulose paper에 transfer하는 것으로 단백질이 binding된 nitrocellulose paper를 5% skim milk에서 blocking한 후, Cox-2의 항체(1차 항체)를 붙인다. 상온에서 1시간 방치 후 TBS buffer (pH 7.5)를 이용하여 3회 세척 해 준다. 그 후 HRP효소가 붙어있는 2차 항체를 1시간 처리하고 세척한다. 모든 과정이 끝나면 HRP효소에 대한 기질을 넣어준 다음 암실에서 film에 노출하여 현상한다.

#### 6) 통계처리

기술통계와 Student t-test를 Graphpad Prism (Ver. 5.02, Graphpad. software, USA)로 수행하였으며, 사후검정으로 tukey's multiple comparison을 수행하고, P<0.05인 경우를 유의한 것으로 인정하였다.

### III. 결 과

#### 1. DPPH에 의한 항산화 효과

다양한 농도에서 산약의 항산화능을 DPPH법으로 측정한 결과 1 mg/ml, 0.1 mg/ml, 0.05 mg/ml, 0.025 mg/ml, 0.0125 mg/ml에서 각각 8.1 $\pm$ 0.9, 45.8 $\pm$ 0.8, 43.4 $\pm$ 0.8, 43.1 $\pm$ 1.2, 37.6 $\pm$ 0.9(%)로 나타났다(Table 1).

Table 1. Effect of *Dioscoreae Rhizoma* extract on DPPH free radical scavenging activity

Concentration (mg/ml)	Scavenging effect (%)
0	0
1	8.1±0.9 <sup>a</sup>
0.1	45.8±0.8 <sup>b</sup>
0.05	43.4±0.8 <sup>c,d</sup>
0.025	43.1±1.2 <sup>d</sup>
0.0125	37.6±0.9 <sup>e</sup>

<sup>a,b,c,d,e</sup> : Means in the same row with different superscripts are significantly different(P<0.05)

2. SOD를 이용한 항산화 효과

산약의 항산화능을 SOD를 이용하여 측정 한 결과 산약의 농도 1 mg/ml, 0.1 mg/ml, 0.05 mg/ml, 0.025 mg/ml, 0.0125 mg/ml에서 각각 72.95±1.52, 37.16±3.40, 32.29±4.21, 39.68±2.10, -39.28±2.40(%)로 나타났다 (Fig. 1).

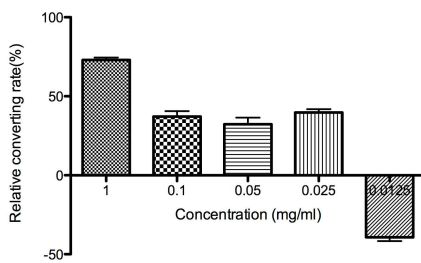


Fig. 1. Effect of *Dioscoreae Rhizoma* on SOD free radical scavenging activity Relative converting rate(%) : absorbance of NBT-diformazan at 450nm

3. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 대한 세포 보호 효과

산약이 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 대한 세포 보호가 있는지 확인 한 결과, 6시간 경과에서는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리하지 않았을 때 82.6±0.7%였던 것이 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리하면 28.9±5.5%로 감소하였고, 산약을 처리한 경우 41.9±4.7로 증가하였다. 18시간 경과 후에는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리하지 않았을 때 86.6±0.07%였던 것이 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리하면 25.3±3.1%로 감소하였고, 산약을 처리한 경우 30.25±9.26으로 증가하였다(Fig. 2).

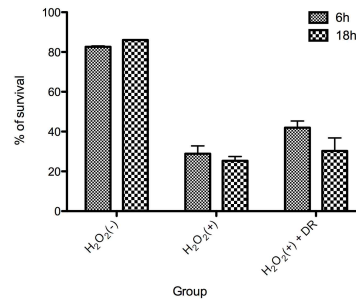


Fig. 2. The protective effect of *Dioscoreae Rhizoma* extract in Raw264.7 cells

4. DNA 분절 억제

Raw264.7 세포에서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리 후 산약추출물이 DNA 분절을 억제하는지 여부를 확인 한 결과 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>처리 후 6시간째 보다 18시간에서 분절화를 억제하는 것을 확인 하였다(Fig. 3).

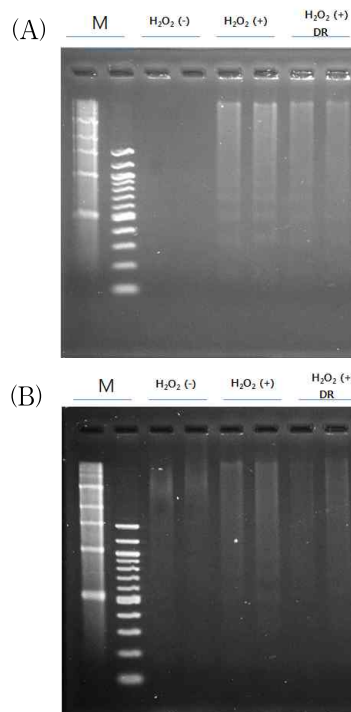


Fig. 3. *Dioscoreae Rhizoma* induced DNA fragmentation in Raw264.7 cells at 6 hours (A) and 18 hours(B)

### 5. Cox-2의 발현 억제

LPS로 유도된 Raw264.7세포에서의 Cox-2의 발현을 조절하는지 확인한 결과 농도 의존적으로 발현이 조절됨을 확인하였다(Fig. 4).

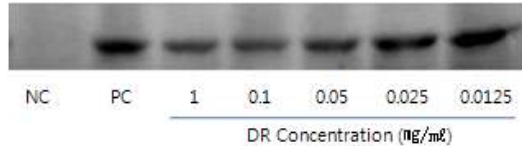


Fig. 4. Inhibitory Effect of *Dioscoreae Rhizoma* extract on Cox-2 expression in LPS-induced Raw264.7 cells<sup>2</sup>

NC : Normal Control  
PC : Positive Control

## IV. 고찰

산약(山藥, *Dioscoreae Rhizoma*)은 11-12월에 마속식물을 채취하여 根頭를 제거하고 竹刀로 外皮를 除去하여 烘乾한 것으로 無臭이고, 씹으면 점성이 있으며, 生用 또는 麥麩로 炒用하는 약물이다. 性溫味甘하며 脾, 肺, 腎으로 歸經한다. 補益脾胃의 효능이 있어 脾胃虛弱, 泄瀉, 小食, 自汗, 肺虛證에 사용되며 益肺 및 滋腎의 효능으로 消渴, 肺虛久咳, 腎虛遺精, 小便頻數에 사용된다<sup>14</sup>. <神農本草經·上品><sup>15</sup>에 기재된 바에 따르면 “性溫味甘無毒 主傷中, 補虛, 除寒熱邪氣, 補中益氣力, 長肌肉, 久服耳目聰明”이라 하였고, <東醫寶鑑·湯液編><sup>16</sup>에는 “補虛勞, 羸瘦, 充五藏, 益氣力, 長肌肉, 強筋骨하며 開達心孔 安神長志.”라 수록되어 있다. 또한 <本草備要><sup>17</sup>에서는 “補不足, 清虛熱, 益腸胃, 潤肌膚, 化痰涎, 止瀉痢하고, 虛損勞傷, 健忘, 遺精을 治하며 生으로 癰瘡에 塗布하면 腫硬을 消한다.”라고 한 바 있다.

산약은 saponin, cholin, allantoin, sopamine, batasine, amylase 등을 포함하고 있으며<sup>7</sup>, 혈당강화 작용<sup>18</sup>, 면역조절효과<sup>19</sup>, 간 보호 작용<sup>20</sup>, Estrogen 결핍성 골다공증 억제 효과 등의 내분비계에의 효과<sup>21,22</sup>,

항종양효과<sup>8,9</sup>, 항염증효과<sup>10</sup>, 항산화 효과<sup>11,12</sup> 등에 대한 연구가 보고된 바 있다. 그러나 항종양효과에 중점을 둔 과거 실험과는 달리 본 연구에서는 항산화효과를 보다 중점적으로 실험하기 위하여 대식세포주인 Raw264.7을 대상으로 연구를 시행하기로 하였다. Raw264.7 세포에 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리하여 세포 보호 효과 및 DNA 분절 억제 효과를 살펴보고, Cox-2의 발현 억제를 살펴보았다.

인간을 포함한 호기성 호흡을 하는 생명체는 생명유지에 필요한 에너지를 만들기 위해 산소를 세포 내로 받아들이며 일반적인 경우 대부분의 산소는 산화적 인산화 과정을 통해 정상적으로 환원된다. 그러나 일부의 산소는 부분 환원되어 활성 산소종을 생성하게 된다. 이러한 활성 산소종으로는 hydroxyl radical(OH·), superoxide anion radical (O<sub>2</sub><sup>-</sup>·), peroxy radical (RO<sub>2</sub>·) 등의 free radical과 hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), singlet oxygen, 오존 등의 radical 형태를 띠지 않는 것들이 있다<sup>23</sup>.

이러한 활성산소가 조절능력을 잃게 되면 세포 생체막의 불포화지방산이 활성산소의 공격을 받아 과산화 반응을 일으켜 과산화 지질을 생성해 세포막에 축적함으로써 세포막을 비가역적으로 파괴하여 사멸시키고, 단백질, DNA, 효소 및 T세포와 같은 면역계통의 인자를 손상시켜 노화, 뇌졸중, 당뇨병, 관절염, 면역결핍증, 동맥경화 및 암 등의 질환을 일으킨다<sup>4-6</sup>.

항산화 작용이란 활성산소로부터 체내의 세포 및 조직을 보호하는 생물학적 반응이다. 세포 내에 SOD, catalase 등의 생리적 항산화 효소가 생성되어 free radical을 제거하는 것<sup>24</sup>으로 항산화 물질들은 free radical에 전자를 공여함으로써 항산화 작용을 일으킨다.

DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)는 free radical로서 비교적 안정한 515-520 nm에서 최대 흡광도를 가지며, 항산화활성이 있는 물질과 만나면 DPPH radical에 전자를 공여함으로써 free radical이 소멸되고 색깔이 탈색된다. 이러한 성질로 인하여 항산

화능 측정에 다용되며<sup>13</sup>, 본 연구에서도 DPPH를 이용해 산약의 농도별에 따른 소거 효과를 측정하였다(Table 1).

또한 본 실험에서는 산약의 항산화능을 SOD를 이용하여 측정하였는데, SOD는 과도한 활성산소로부터 신체를 보호하는 효소 중 하나로 hydrogen ion과 superoxide radical이 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 전환되는 반응을 촉매한다. 이 때 생성된 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>는 catalase, GSH-Px(glutathione peroxidase)에 의해 O<sub>2</sub>와 H<sub>2</sub>O로 분해됨으로써 superoxide radical과 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의한 조직 손상을 방어한다<sup>25</sup>(Fig. 1).

실험 결과 다양한 농도에서 산약의 항산화능을 DPPH법으로 측정 시 그 소거 효과는 0.0125, 0.025, 0.05, 0.1, 1 (mg/ml)의 농도에서 각각 37.6±0.9, 43.1±1.2, 43.4±0.8, 45.8±0.8, 8.1±0.9(%)로 나타나 0.0125, 0.025, 0.05, 0.1 (mg/ml)의 농도에서는 항산화능이 농도 의존적인 경향을 나타내었다. 반면 1 (mg/ml) 일 때는 8.1±0.9(%)로 항산화능이 급격히 저하됨을 확인할 수 있었다.

SOD를 이용한 결과에서는 산약의 농도가 1 mg/ml 일 때 72.95±1.52%로 높은 항산화능을 확인하였다. 산약의 농도가 낮아짐에 따라 그 효능도 약화되다 0.0125 mg/ml시에는 -39.28±2.40%로 오히려 반작용을 함을 알 수 있었다. 양 실험에서 0.025, 0.05, 0.1 (mg/ml)의 농도에서 산약 추출물의 농도 증가에 따라 항산화능의 발현이 증가하는 양상을 띄어 산약의 농도에 대한 항산화능 발현 증가가 어느 정도 유의성이 있다 볼 수 있었다. 그러나 1 mg/ml에서는 두 실험에서 항산화능이 상이한 결과가 나타났는데, 이는 두 검사를 비교해 보았을 때 SOD실험에서 나타난 높은 수치가 산약 추출물의 색이 고농도로 인해 과발현되어 실험결과에 영향을 미쳤을 가능성을 무시할 수 없으므로 이에 고농도의 산약에서의 항산화능을 보다 자세히 연구할 필요성이 있다고 사료되었다.

그 외에도 free radical은 단백질의 -SH기와 반응하여 효소의 활성을 잃게 하고, DNA, RNA, 효

소 및 세포막 등에 손상을 일으켜 세포사를 유발하므로<sup>26</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 대한 산약의 세포 보호 효과 및 세포 분절화 억제력을 확인해 보기로 하였다.

산약의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 대한 세포 보호 효과를 확인하였을 때 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>만을 처리했을 때 6시간 경과 시 28.9±5.5%, 18시간 경과 시 25.3±3.1%였던 생존률이 산약을 처리한 경우 6시간 경과 시 41.9±4.7%, 18시간 경과 시 30.25±9.26%로 증가하여 산약이 세포 보호에 유효한 효과를 나타냄을 알 수 있었다. 그리고, DNA 분절실험 결과 산약에서 6시간 노출된 실험군보다 18시간동안 노출된 실험군의 경우에 DNA 분절화가 보다 더 억제된 것이 확인 되었다(Fig. 2, Fig. 3).

활성산소종은 식균 작용이나 면역체계에서도 생성되어 이물질 침입에 대한 방어기작으로 이용되고 있으며<sup>27</sup>, 기존 연구에 따르면 항산화제는 활성산소종의 활성을 감소시킴으로 Cox-2의 활성을 감소시킨다는 보고가 있으며 Cox-2의 활성은 활성산소종에 의해 증가하는 것으로 알려져 있다<sup>28</sup>. Cox-2는 염증에 관계된 인자로 자극으로 인하여 TNF-α convertase(TACE)가 활성화 되어 TNF-α가 분비됨으로 Nuclear transcription factor-kappa-B (NF-κB)등의 전사인자가 활성화 되면서 핵 내로 전이 되어 표적 유전자의 promoter regions에 있는 κB 결합 자리에 결합하여 iNOS, Cox-2, TNF-α, IL-6 등의 염증 매개물질의 전사를 촉진시키게 된다<sup>29</sup>.

본 연구에서는 산약의 항염증 효과를 알아보기 위하여 산약의 Cox-2의 발현 조절능력을 확인하는 실험을 하였다. 우선 산약이 LPS로 유도된 Raw264.7 세포에서의 Cox-2 발현 억제를 확인하기 위하여 산약추출물을 1, 0.1, 0.05, 0.025, 0.0125 mg/ml의 농도로 Raw 264.7세포에 처리하여 대조군과 비교해 본 결과 Cox-2의 경우는 산약의 농도가 0.125 mg/ml에서 1 mg/ml로 진해질수록 Cox-2 단백질의 발현을 저해하는 것을 알 수 있었다(Fig. 4).

위의 실험들을 통하여 산약의 항산화능 및 항염증효과를 확인할 수 있었다. 그러나 본 연구는 산

약의 고농도에서 급격히 저하되는 항산화능 및 일정 농도 이하에서는 발휘되지 못함 또한 확인하였으나 이에 대한 보다 정밀한 실험은 하지 못하였다. 또한 산약의 항염증 효과를 확인하였으나 이는 Cox-2에 관한 실험으로 차후 염증매개물질들에 대한 연구가 보다 상세히 진행되어야 할 것으로 사료된다.

## V. 결론

산약의 항산화와 항염증능을 측정한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. DPPH에 의한 산약의 항산화능은 0.1 mg/ml에서 0.0125 mg/ml사이에서 나타났다.
2. SOD에 의한 산약의 항산화능은 0.025 mg/ml이상에서 나타났다.
3. 산약의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 대한 세포보호 효과를 확인한 결과 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>만을 처리했을 때 보다 山藥을 처리한 경우의 생존율이 증가했다.
4. 산약이 LPS로 유도된 Raw264.7세포에서의 Cox-2 발현억제를 확인한 결과 산약의 농도가 0.0125 mg/ml에서 1 mg/ml로 진해질수록 Cox-2 단백질의 발현을 저해하여 농도 의존적으로 Cox-2의 발현을 억제함을 확인하였다.
5. 산약의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 대한 DNA분절 실험에서 시간이 지남에 따라 DNA 분절이 억제됨을 확인하였다.

이상으로 산약이 항산화능 및 세포보호 효과를 확인하였으며, 향후 지속적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

## 참고문헌

1. 전국 한의과대학 피부외과학 교재편찬위원회. 韓醫皮膚外科學. 서울: 도서출판 선우; 2007, p.

81-2.

2. Papa S, Skulachev VP. Reactive oxygen species, mitochondria, apoptosis and aging. *Mol Cell Biochem.* 1997;174(1-2):305-19.
3. 강경아, 채성욱, 강대길, 김진숙, 현진원. 산화적 스트레스에 대한 생약추출물의 항산화활성 검색. *생약학회지.* 2005;36(3):159-63.
4. Halliwell B. Drug antioxidant effects. A basis for drug selection? *Drugs.* 1991;42(4):569-605.
5. Acharyr K, Samui K, Rai M, Dutta BB, Acharya R. Antioxidant and nitric oxide synthase activation properties of *Auricularia auricula*. *Indian J Exp Biol.* 2004;42(5):538-40.
6. Adelman R, Saul RL, Ames BN. Oxidative damage to DNA; relation to species metabolic rate and life span. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998;85:2706-8.
7. 김호철. 한방약리학. 서울: 교학사; 1998, p. 835.
8. Hu K, Yao X. The cytotoxicity of methyl protodioscin against human cancer cell lines in vitro. *Cancer Invest.* 2003;21(3):389-93.
9. Cai J, Liu M, Ju Y. Apoptosis induced by dioscin in HeLa cells. *Biol Pharm Bull.* 2002;25(2):193-6.
10. Kim MJ, Kim HN, Kang KS, Baek NI, Kim DK, Kim YS et al. Methanol extract of *Dioscoreae rhizoma* inhibits pro-inflammatory cytokines and mediators in the synoviocytes of rheumatoid arthritis. *Int Immunopharmacol.* 2004;4(12):1489-97.
11. 양정민, 이지형, 성정석, 김동일. 山藥의 항산화 작용에 대한 단백질체 분석 연구 대한한방부인과학회지. 2008;21(2):108-24.
12. 전영준, 손미영, 길미정, 성정석, 정재철, 김동일. 山藥의 HeLa cell 분화에 미치는 영향과 항산화효과에 대한 연구. 대한한방부인과학회지. 2007;20(2):139-54.
13. Blois MS. Antioxidant determination by the

- use of a stable free radical. *Nature*. 1958;181:1199-200.
14. 康秉秀, 金永坂. 臨床配合本草學. 서울: 永林社; 1996, p. 106-8.
  15. 임진석. 本經疎證. 서울: 아티전; 1998, p. 79.
  16. 許浚. 東醫寶鑑. 서울: 南山堂; 1998, p. 1182.
  17. 楊東喜. 本草備要解析. 서울: 醫聖堂; 1993, p. 491.
  18. 곽규호, 김성훈, 송효정. 六味地黃湯加山藥이 Alloxan 糖尿 白鼠의 血糖 및 血清變化에 미치는 影響. 동의병리학회지. 1993;8:137-56.
  19. 신상우, 이영선, 박종현, 권택규, 서성일, 권영규. 대표적 보기약인 인삼, 당삼, 황기, 백출, 산약 물추출액의 면역조절효과 비교. 동의생리병리학회지. 2004;18(4):1140-6.
  20. Lee SC, Tsai CC, Chen JC, Lin CC, Hu ML, Lu S. The evaluation of Hepato-protective Effects of Huai-Shan-Yao (Rhizoma Dioscoreae). *Am J Chin Med*. 2002;30(4):609-16.
  21. 황귀서, 이대영. Estrogen 缺乏性 骨多孔症에 미치는 山藥抽出物の 影響. 대한예방의학회지. 2003;7(1):55-66.
  22. Tanno N, Yokota T, Okagami N. Identification of Endogenous Gibberellins Dormant Bulbils of Chinese Yam. *Diosorea opposita*. *Plant physiol*. 1992;100:1823-6.
  23. Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE. Free radicals, antioxidants and human disease: where are we now? *J Lab Clin Med*. 1992;119:598-620.
  24. Borrello S, Seccia A, Galleotti T, Bartoli GM, Farallo E, Serri F. Protective enzymes in human epidermal carcinomas and psoriasis. *Arch Dermatol Res*. 1984;276:338-40.
  25. 장남수, 류선미. 뇌 조직에서 알코올 투여에 대한 녹차 건분의 항산화 효과. 한국영양학회지. 2001;34(5):525-31.
  26. Harman D. Aging; A theory based on free radical and radical chemistry. *J Gerontol*. 1956;11(3):298.
  27. Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. *Annual Review of Nutrition*. 1996;16:33-50.
  28. Thengchaisri N, Kuo L. Hydrogen peroxide induces endothelium-dependent and -independent coronary arteriolar dilation: role of cyclooxygenase and potassium channels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003;285:2255-63.
  29. Liu SF, Malik AB. NF- $\kappa$ B activation as a pathological mechanism of septic shock and inflammation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2005;290:622-45.