

원 저

沒藥 煎湯液이 培養 心筋細胞에 미치는 影響

권강범, 조현익, 김구환, 김상범, 이호섭, 황우준¹⁾, 박승택²⁾, 류도곤

원광대학교 한의과대학 생리학교실, 원광대학교 한의과대학 침구학교실¹⁾, 원광대학교 의과대학 해부학교실²⁾

Effects of Myrrha Water Extract on Rat Myocardial Cells in Cultures

Kang-Beom Kwon, Hyun-Ik Cho, Gu-Hwan Kim, Sang-Beom Kim, Ho-Sub Lee, Woo-Jun Hwang¹⁾,
Seung-Taeck Park²⁾, Do-Gon Ryu

Department of Physiology, Department of Acupuncture¹⁾, College of Oriental Medicine,
Department of Anatomy, College of Medicine²⁾, Wonkwang University

Objectives and Methods : In order to elucidate toxic mechanism of myocardial damage and protective effect of *myrrha* water extract against cytotoxic effect of xanthine oxidase/hypoxanthine(XO/HX), cardioprotective effect of *myrrha* water extract was examined by MTT assay, LDH (Lactate Dehydrogenase) activity and heart beating rate after cultured myocardial cells derived from neonatal mouse were treated with various concentration of XO/HX, a free radical.

Results : XO/HX induced a decrease of cell viability, an increase in the amount of LDH, and a decrease of heart beating rate on cultured myocardial cells in a dose-dependent manner. In cardioprotective effect of *myrrha* water extract, it showed a decrease in the amount of LDH and an increase of heart beating rate on cultured myocardial cells damaged by XO/HX.

Conclusions : From the above results, it is suggested that XO/HX showed toxic effect in cultured myocardial cells derived from neonatal mouse and that *myrrha* water extract is very effective in the prevention of XO/HX-induced cardiotoxicity. (*J Korean Oriental Med 2000;21(2):79-86*)

Key Words: Xanthine oxidase/Hypoxanthine(XO/HX), *Myrrha* water extract, Myocardial cell, MTT, LDH, Heart beating rate

서 론

沒藥은 起源이 橄欖科에 속한 小喬木인 沒藥樹의 樹內像口로부터 抽出되는 黃汁의 乳狀樹脂를 乾燥하여 赤黑色의 塊狀을 이룬 것으로^{1,2)} 產地는 아프리카, 아라비아 등이며^{3,4)} 氣味는 溫平無毒 苦辛하다^{5,6)}. 藥理作用으

로 活血祛瘀止痛, 外用時收斂, 消炎作用이 있다⁷⁾.

본 실험은 산소자유기가 심근세포에 독성을 유발한다는 보고⁸⁾에 근거하여 수행하였다. 산소자유기는 정상 상태에서 산화-환원작용이나 사립체의 산화인산화작용에 의하여 소량 형성되며 항산화제인 superoxide dismutase (SOD)나 사립체와 세포질내의 glutathione peroxidase 및 catalase에 의하여 소실되고⁹⁾, 저산소증이나 허혈과 같은 병적인 상태에서 비정상적으로 생성된 산소자유기는 세포막의 지방을 과산화시킬뿐만아니라 각종 효소나 단백질을 불활성화시킴으로써 세포 및 조

· 접수 : 2000년 5월 23일 · 수정 : 7월 11일 · 채택 : 8월 6일
· 교신저자 : 류도곤, 원광대학교 한의과대학 생리학교실 (Tel. 063-850-6846, E-mail. tkryu@wonkwang.ac.kr)

직의 손상을 초래하게 된다¹⁰⁾.

배양세포를 이용한 실험은 분화가 활발하고 외부의 독성물질에 매우 민감하게 반응하기 때문에 동물실험에 비하여 단시간내에 독성을 검정할 수 있고 비교적 일정한 실험조건을 갖추기가 용이하며 반복실험 및 실험결과의 수치화가 가능하기 때문에 독성물질의 검정에 매우 효과적으로 이용되고 있다^{11,12)}.

본 실험은 위에서 기술한 세포배양기술을 이용, 심근세포를 배양하여 xanthine oxidase /hypoxanthine (XO/HX)에 노출시켜 산소자유기를 유발하여 심근세포의 손상여부를 먼저 관찰하고 이러한 손상에 대한 沒藥煎湯液의 방어효과를 조사하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

실험재료 및 방법

1. 재료

1) 동물 : 본 실험에 사용한 동물은 International Centor Research (ICR)系的 생후 3일된 건강상태가 양호한 생쥐를 사용하였다.

2) 약재 : 본 실험에 사용한 沒藥(myrrha)은 圓光大學校 附屬益山韓方病院에서 구입한 후 嚴選하여 사용하였다.

2. 실험방법

1) 진탕액의 제조

沒藥 200g에 3차 증류수 1.8 l 를 환저플라스크에 넣고 冷却器를 附着하여 2시간동안 電熱器로 煎湯한 후 3,000rpm에서 20분간 원심분리하고 진공 농축기로 감압농축한 후 凍結乾燥器에서 24시간 凍結乾燥하여 41.11g의 분말 시료를 얻었다.

2) 산소자유기의 처리

본 실험에 사용한 산소자유기로는 xanthine oxidase (XO, Sigma)와 hypoxanthine(HX, Sigma)로서 XO는 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.

XO/HX가 생쥐의 심근세포에 미치는 영향을 조사하기 위하여 일정시간 배양한 심근세포를 phosphate buffered saline(PBS)으로 3회 세척한 후 여러농도의 XO/HX가 포함된 배양액에서 24-96시간 동안 배양한 후 심근세포에 미치는 영향을 분석하였다.

3) 세포배양

본 실험에 사용한 심근세포는 생후 3일째의 ICR系的 생쥐의 심장에서 분리 배양하였다. 생쥐의 흉부를 정중선을 따라 절개한 후 심장을 적출하고 심실만을 분리하여 잘게 잘라 직경 100 mm 배양용 petri dish(Nunc)에서 PBS로 3회 세척한 후 4℃의 0.125% trypsin-0.1% collagenase 용액에서 하룻밤 방치하고, 다음날 37℃ shaking water bath(Precision Co.)에서 60회/분으로 10분간 진탕하여 세포를 분리하였다. 배양액은 alpha-minimum essential medium(α -MEM, Gibco)에서 10% fetal bovine serum(FBS, Gibco)을 넣어 사용하였다. 분리된 세포를 2시간 동안 배양하면 먼저 내피세포가 petri dish에 부착하므로 부착되지 않은 細胞만을 모아서 24well plate(Nunc)에 1×10^6 cells/well로 분주하였다. 분주한 심근세포는 37℃, 5% CO₂ 정온기(Bellco)에서 배양하였으며, 24시간 배양하여 심근세포가 24well plate 바닥에 완전히 부착된 후 배양액을 교환하여 실험에 사용하였다.

4) 한약재의 처리

본 실험에 사용한 沒藥煎湯液을 여러 농도로 준비하여, 생쥐의 배양 심근세포를 XO/HX에 노출시키기 전에 3시간 동안 沒藥煎湯液을 전 처리한 다음 이를 XO/HX에 72시간 동안 처리한 후 沒藥煎湯液이 심근세포에 미치는 영향을 조사하였다.

5) 세포독성 및 방어효과 검정

① MTT 정량

대조군과 실험군들을 각각 8개의 well을 한 군으로 하였으며, MTT [3 - (4,5 - dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide, Sigma]정량은 Mosmann¹³⁾의 방법에 따랐다. 즉 심근세포를 배양한 후

상층액을 버리고 사용당일 제조한 1 mg/ml MTT를 배양 용기당 20 μ l(0.05%)씩 넣어 은박지로 포장한 후 3시간 동안 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂로 유지된 정온기내에서 배양하였다. 培養 완료 후 세포내의 formazan을 용해시키기 위하여 상층액을 버리고 dimethyl sulfoxide(DMSO, Merck)를 배양용기당 1 ml씩 넣고 15분간 실온에서 방치한 후 ELISA reader로 540 nm에서 흡광도를 측정하여 대조군과 비교 조사하였다.

② Lactate Dehydrogenase(LDH) 활성도 조사

LDH 활성도의 측정은 최적화된 LDH/LD procedure (Sigma Diagnostics)를 이용하여 배양액의 일부를 사용하였다. 즉 phosphate buffer (pH 7.5)에 등몰농도의 NADH를 pyruvate 환원의 반응에 이용하여 spectrometer의 340 nm에서의 흡광도의 감소율은 배양액의 LDH 활성도에 비례하게 됨을 이용하여 LDH 활성도를 측정하였다.

③ Beating Rate 측정

대조군과 실험군들을 각각 8개의 well을 한 군으로 하여 72시간 배양한 후 전체 심근세포가 규칙적으로 박동하는 것을 확인한 다음, 온도와 CO₂농도가 정온기와 같은 상태로 유지되는 소형 chamber(Nikon, NP-2)내에서 대조군과 실험군 모두 동일한 시간대에 1분 동안의 심근세포 박동수를 3회 반복 측정하여 평균치를 구하고 이를 대조군과 비교 조사하였다.

6) 통계 처리

실험 결과에 대한 유의성의 검정은 ANOVA후에 Tukey-Kramer multiple comparison test에 의하였으며 P값이 0.05 이하인 것만 유의한 것으로 하였다.

실험성적

1. 세포생존율 분석

1) MTT 정량

① Xanthine Oxidase(XO)의 농도별 영향

XO가 배양 심근세포에 미치는 영향을 조사하기 위하여 XO가 5~40 mU/ml까지의 농도로 각각 포함된 배양액에서 72시간 동안 배양한 후 XO의 독성효과를

MTT assay법에 의하여 조사한 결과 5 mU/ml XO 처리에서는 세포생존율이 대조군(100%)에 비하여 68.2%로 나타났으며 10 mU/ml XO의 처리에서는 59.7%로 다소 낮게 나타났다. 또한 20 mU/ml XO와 40 mU/ml XO를 처리한 경우 생존율은 각각 50.6%(P<0.05)와 37.0%(P<0.01)로 대조군에 비하여 모두 유의하게 낮게 나타났다(Fig. 1A).

② Xanthine Oxidase/Hypoxanthine (XO/HX)의 시간별 영향

XO/HX의 처리 시간에 따라 배양 심근세포에 미치는 영향을 조사하기 위하여 20 mU/ml XO /0.1 mM HX가 포함된 용액에 심근세포를 각각 24시간에서 96시간 동안 배양한 후 세포생존율을 MTT assay법에 의하여 대조군과 비교 조사한 결과 24시간 배양에서는 대조군100%(1.32 \pm 0.11)에 비하여 81.1%의 세포생존율을 보였다. 또한 48시간 배양에 있어서는 75.6%로 대조군100%(1.31 \pm 0.08)에 비하여 다소 낮은 생존율을 나타냈으며 72시간 배양에서는 대조군100%(1.34 \pm 0.14)에 비하여 50.8%(P<0.05)의 생존율을, 96시간 배양에서는 대조군100%(1.30 \pm 0.18)에 비하여 41.5%(P<0.01)의 생존율을 각각 나타내 유의성을 보였다(Fig. 1B).

2) LDH 활성에 대한 沒藥(Myrrha) 전탕액의 효과

① Xanthine Oxidase/Hypoxanthine(XO/HX)의 영향

XO/HX의 농도에 따른 LDH 활성도를 측정하기 위하여 0.1 mM의 HX에 5~50 mU/ml의 XO가 각각 포함된 배양액에서 배양 심근세포를 72시간 동안 처리한 후 세포배양액내로 유출된 LDH양을 대조군과 비교 조사하였다. 그 결과 5 mU/ml XO, 10 mU/ml XO 처리에서는 대조군100%(16.5 \pm 1.8)에 비하여 각각 111.5%, 121.2%로 증가하는 경향을 나타냈으나 유의성은 보이지 않았다. 또한 25 mU/ml, 50 mU/ml XO를 처리한 경우 각각 149.1%(P<0.05), 192.7%(P<0.01)로 유의한 증가를 나타냈다. LDH활성도의 MCV(midcytotoxicity value)값은 25 mU/ml XO/0.1 mM HX의 처리에서 나타났다(Fig. 2A).

② 沒藥(Myrrha) 전탕액의 효과

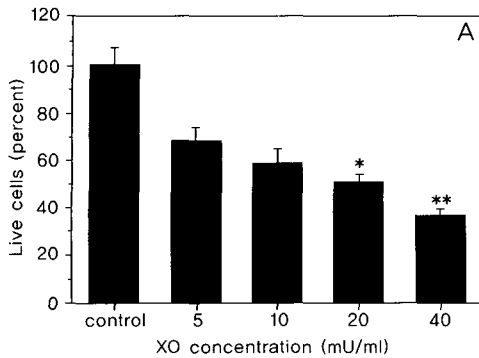


Fig. 1A. Dose-dependency of xanthine oxidase(XO). Cell viability was measured by MTT assay and determined as % of control. Cultured mouse myocardial cells were treated with various concentrations of xanthine oxidase(XO) for 72 hours. The values are the mean \pm SE for 6 experiments. Significant differences from the control are marked with asterisks. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

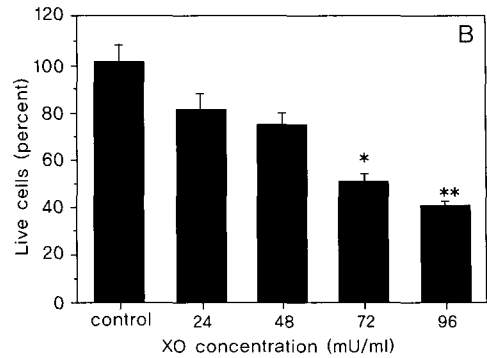


Fig. 1B. Time-dependency of xanthine oxidase(XO) and hypoxanthine (HX) in cultured mouse myocardial cells. Cultures were exposed to 20 mU/ml xanthine oxidase(XO) and 0.1 mM hypoxanthine(HX) for 24, 48, 72 and 96 hours, respectively. Cell viability was measured by MTT assay and determined as % of control. The results represent the mean \pm SE (n=6). * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

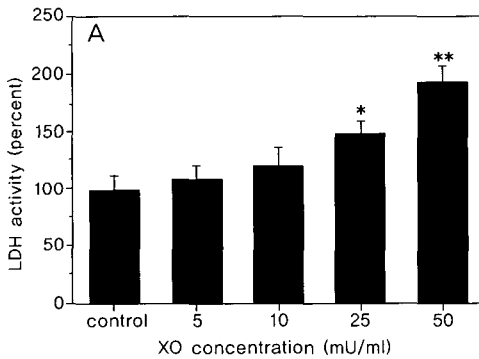


Fig. 2A. Dose-dependency of xanthine oxidase(XO) and hypoxanthine(HX). LDH activity was determined as % of control. Cultured mouse myocardial cells were treated with various concentrations of xanthine oxidase(XO) with 0.1 mM hypoxanthine(HX) for 72 hours. LDH activity was measured at wavelength of 340 nm. The values are the mean \pm SE for 6 experiments. Significant differences from the control are marked with asterisks. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

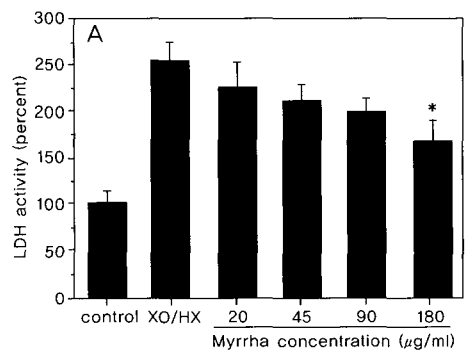


Fig. 2B. Dose-dependency of Myrrha water extract in LDH activity. LDH activity was determined as % of control. Cultured mouse myocardial cells were treated with 20, 45, 90 and 180 μ g/ml Myrrha water extract. Cultures were preincubated with Myrrha water extract for 3 hours, after then cultures were exposed to 25 mU/ml XO/0.1 mM HX for 72 hours. LDH activity was measured at wavelength of 340 nm. The values are the mean \pm SE for 6 experiments. Significant differences from the XO/HX-treated group are marked with asterisks. * $P < 0.05$

배양 심근세포에 대한 xanthine oxidase/hypoxanthine (XO/HX)의 세포독성에 있어서 沒藥 전탕액의 효과를 LDH활성측면에서 조사하기 위하여 XO/HX의 MCV값인 25 mU/ml XO/0.1 mM HX 농도에서 72시간 동안 노출시키기 3시간 전에 20-180 μ g/ml 沒藥 전탕액이 각각

포함된 배양액에서 전처리한 후 이의 방어효과를 조사하였다. 그 결과 25 mU/ml XO/0.1 mM HX만을 처리한 경우 XO를 처리하지 않은 대조군 100%(14.9 \pm 1.9)에 비하여 255.7%로 나타나 유의한 독성을 나타냈다. 20

μg/ml, 45 μg/ml, 90 μg/ml 沒藥 전탕액의 처리에서는 25 mU/ml XO만 처리한 군 100.0%(38.1±3.1)에 비하여 89.0%, 83.7%, 78.5%로 나타나 감소의 경향을 나타냈으나 유의성은 보이지 않았다. 그러나 180 μg/ml 沒藥 전탕액의 처리에서는 67.7%(P<0.05)로 유의한 감소를 나타냈다(Fig. 2B).

3) Beating Rate(BR)에 대한 沒藥(Myrrha) 전탕액의 효과

① Xanthine Oxidase/Hypoxanthine(XO/HX)의 영향
XO/HX의 농도에 따른 심근박동(Beating Rate, BR)의 측정을 위한 조사를 위하여 0.1 mM HX에 5~60 mU/ml의 XO가 각각 포함된 배양액에서 심근세포를 72시간 동안 처리한 후 세포의 BR을 대조군과 비교 조사하였다. 그 결과 5 mU/ml XO, 15 mU/ml XO 처리에서는 세포의 BR은 대조군100%(128.3±11.6)에 비하여 각각 63.8%, 55.1%로 감소하는 경향을 나타냈으나 유의성은 보이지 않았다. 그러나 30 mU/ml XO, 60 mU/ml XO 처리에서는 각각 47.3%(P<0.05), 36.4%(P<0.01)로 나타나 유의한 감소를 나타냈다. 또한

30 mU/ml XO 처리에서 47.3%(P<0.05)의 BR을 보여 MCV값을 나타냈다(Fig. 3A).

② 沒藥(Myrrha) 전탕액의 효과

배양 심근세포에 대한 XO/HX의 심근독성에 대한 沒藥 전탕액의 효과를 BR의 측면에서 조사하기 위하여 XO/HX의 MCV값인 30 mU/ml XO/0.1 mM HX농도에서 72시간 동안 노출시키기 3시간 전에 20~180 μg/ml 沒藥 전탕액이 각각 포함된 배양액에서 전처리한 후 이의 방어효과를 조사하였다. 그 결과 30 mU/ml XO만을 처리한 경우 처리하지 않은 대조군100%(125.5±11.8)에 비하여 BR은 54.6%로 나타나 심근세포에 독성을 나타냈다. 또한 20 μg/ml, 40 μg/ml, 60 μg/ml, 80 μg/ml 沒藥 전탕액의 처리에서는 XO/HX만을 처리한 대조군100%(68.5±5.6)에 비하여 각각 112.3%, 125.8%, 137.8%, 145.3%로 나타나 전 처리농도에 비례하여 증가하였으나 유의성은 보이지 않았다(Fig. 3B).

고 찰

沒藥의 起源은 橄欖科에 속한 小喬木인 沒藥樹의 樹

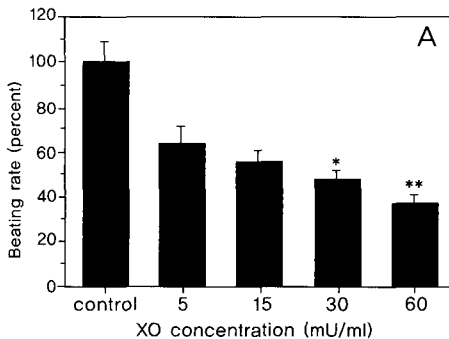


Fig. 3A. Dose-dependency of xanthine oxidase(XO) and hypoxanthine(HX) in beating rate. Beating rate was determined as % of control. Cultured mouse myocardial cells were treated with various concentrations of xanthine oxidase(XO) with 0.1 mM hypoxanthine(HX) for 72 hours. Beating rate was measured by count of beating number per minute, compared with control. The values are the mean ± SE for 6 experiments. Significant differences from the control are marked with asterisks. *P<0.05; **P<0.01

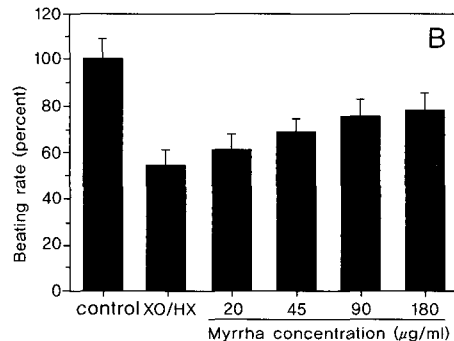


Fig. 3B. Dose-dependency of Myrrha water extract in Beating Rate. Beating Rate was determined as % of control. Cultured mouse myocardial cells were treated with 20, 40, 60 and 80 μg/ml Myrrha water extract. Cultures were preincubated with Myrrha water extract for 3 hours. After then, cultures were exposed to 30 mU/ml XO/0.1 mM HX for 72 hours. Other legends are the same as fig. 3A

內像口로부터 抽出되는 黃汁의 乳狀樹脂를 乾燥하여 赤黑色의 塊狀을 이룬 것으로¹²⁾ 그 產地는 아프리카, 아라비아 등이며³⁴⁾ 氣味는 溫平無毒 苦辛하고⁵⁶⁾ 歸經은 肝腎經¹⁴⁾ 肝心經⁵⁾에 들어 간다고 하였다. 主治症은 杖瘡諸惡瘡, 痔漏, 下血, 目中醫暈痛, 膚赤, 癩癧, 宿血, 或心膽虛, 肝血不足, 或墮胎, 產後心腹血, 氣通芽를 치료하고 消腫痛한다고 하였다⁵⁶⁾.

산소자유기는 최외각 전자궤도에 쌍을 이루고 있지 않는 홀수개의 전자가 존재하는 원자나 분자를 지칭하는 것으로서 이러한 특수구조 때문에 대단히 큰 반응성을 보여 생체내의 여러 가지 병태생리적인 반응에 관여하고 있으며, 생체막의 불포화지방산을 과산화시키거나 단백질, DNA를 변성시키는데^{15,16)}, 특히 산소자유기는 흥분성아미노산(excitatory amino acid, EAA)의 분비를 촉진시키고^{15,16)}, 세포내 Ca²⁺의 농도를 증가시켜 결국 세포의 사멸을 초래하며^{17,18)}, 중추나 말초신경계를 구성하고 있는 신경세포에 산화적 손상을 유발함으로써 노인성 치매나 파킨슨씨병을 비롯하여, 뇌허혈 및 근위축성 측삭경화증(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)과 같은 각종 신경질환의 병인으로 밝혀지고 있다¹⁹⁾.

심근세포에 독성을 유발하는 물질은 중금속²⁰⁾, 산소자유기¹⁰⁾를 비롯하여, adriamycin 및 dichloromethane 등과 화학약제가 있다²¹⁾. 특히 산소자유기는 신경병변의 원인으로 밝혀지면서 이들 병변에 대한 치료적 측면에서 산소자유기에 의한 신경세포의 산화적손상에 대한 작용구명파 병리적 현상을 밝히기 위하여 많은 연구가 이루어져 왔다^{21,22)}.

심근세포독성에 대한 한약재의 효과를 관찰한 연구보고로 adriamycin에 의한 심근세포독성에 대하여 한약이 효과를 나타낸다는 연구보고^{23,24)}가 있다.

본 실험은 산소자유기의 심근독성효과와 이에 대한 沒藥 煎湯液의 영향을 조사하기 위하여 생쥐에서 순수 분리하여 배양한 심근세포를 배양한 다음 여러 농도의 xanthine oxidase/hypoxanthine(XO/HX)이 포함된 배양액에 세포를 72시간 동안 노출시킨 후 XO/HX가 심근세포에 미치는 영향을 MTT assay에 의하여 조사하였다. 그 결과 XO는 배양 심근세포에 처리한 농도에 비례하여 세포 생존율을 유의하게 감소시켰다(Fig. 1A). 또

한 시간에 따른 XO/HX의 영향을 조사한 결과 시간의 존적으로 세포생존율을 억제하였다(Fig. 1B). 이같은 결과는 XO가 심근독성을 가지고 있음을 말해주고 있는데, XO가 생쥐의 배양 심근세포에 독성을 나타낸 것은 XO가 아마도 사립체(mitochondria)와 같은 세포소기관의 기능에 손상을 주어 석신산과 같은 효소들의 활성을 저해하였을 가능성이 클 것으로 생각되며 또한, 산소자유기가 심근세포에 독성을 나타낸다는 보고⁹⁾와 일치하였다. 또한, XO/HX의 독성에 대한 LDH활성도의 측정에 있어서 XO/HX의 처리 농도에 비례하여 LDH활성도의 증가를 보여 XO/HX의 독성에 의하여 세포가 손상 받은 것을 증명하고 있다(Fig. 2A). 또한 XO/HX의 심근독성효과에 대한 沒藥 煎湯液의 영향을 LDH 활성도 측면에서 조사한 결과 배양 심근세포에 처리한 농도에 비례하여 감소되는 LDH 활성도의 변화를 보였다(Fig. 2B). 이러한 결과는 XO/HX의 심근독성으로부터 沒藥 煎湯液이 세포의 손상을 방어하는데 세포막의 파괴를 막아주는 기전을 통해서 방어효과를 나타낸다는 것을 제시하고 있다. 심근박동에 대한 조사에 있어서는 LDH와 마찬가지로 처리한 농도에 비례하여 심근박동수가 감소함을 나타냈다(Fig. 3B). 심근세포의 박동은 심장독성의 측정할 수 있는 척도라고 하였다²¹⁾. XO/HX에 의한 심근박동수의 감소는 XO/HX에 의해 유발된 산소자유기가 심근세포에 독성을 나타낸다는 것을 알 수 있으며 이런 심근박동수의 감소에 의한 沒藥 煎湯液의 방어효과를 조사한 결과 통계적으로 유의한 결과는 나타내지 못했으나 처리한 농도에 비례하여 심근박동수를 증가시키는 것으로 나타났다(Fig. 3B)

이같은 결과는 아마도 沒藥 煎湯液이 XO/HX으로 손상된 심근세포를 방어하는데 매우 효과적이며 앞으로 沒藥의 심근세포에 대한 보호효과에 대한 기전적인 연구와 沒藥의 성분에 대한 분석연구가 필요하리라 사료된다.

결론

심근세포손상에 대한 沒藥 煎湯液의 영향을 조사하기 위하여 생쥐에서 순수분리하여 배양한 심근세포를

배양한 후 Xanthine Oxidase/Hypoxanthine (XO/HX) 이 여러 농도로 포함된 배양액에서 세포를 배양하기 전 沒藥 煎湯液을 농도별로 전 처리한 후 이의 방어효과를 LDH활성도, 심근박동수를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. XO/HX는 농도에 비례하여 배양 심근세포의 생존율을 비롯하여 LDH 활성도의 증가, 심근박동수의 감소를 나타냈다.
2. 沒藥 煎湯液은 XO/HX에 의한 LDH 활성도의 증가를 감소시켰다.
3. 沒藥 煎湯液은 XO/HX에 의한 심근박동수의 감소에 대하여 증가의 효과를 보였다.

이상의 결과로 부터 XO/HX는 생쥐의 배양 심근세포에 독성효과를 나타냈으며 沒藥 煎湯液이 XO/HX에 의해 유발된 심근독성을 방어하는데 효과적인 것으로 나타났다.

참고문헌

1. 李尙仁. 本草學. 서울:醫藥社. 1975:435-437.
2. 小泉榮次郎. 和漢藥考. 東京:朝香屋書店. 1893: 165,640,643.
3. 唐慎微. 經史証類大觀本草(卷十二本部). 서울:崇文社. 1982:351,352,389.
4. 陳士鏗. 石室秘錄. 서울:杏林書院. 1973:18-20.
5. 雷學文. 雷公炮製藥性賦. 臺北:文化圖書公司. 1966:96.
6. 洪淳用. 四象醫學原論. 서울:壽文社. 1974:58.
7. 柳德烈. 乳香 沒藥이 鎮痛消炎作用에 미치는 影響. 서울:慶熙大學校 大學院 碩士論文. 1980.
8. Myers ML, Bolli R, Lekich RF, Hartley CJ, Roberts R. Enhancement of recovery of myocardial function by oxygen free radical scavengers after reversible regional ischemia. *Circulation*. 1985;72:915-921.
9. Vannucci RC, Vasta F, Vannucci SJ. Cerebral metabolic response of hyperglycemic immature rats to hypoxia-ischemia. *Pediatr Res*. 1987;21:524-529.
10. Cao W, Carney JM, Duchon A, Floyd RA, Chevion M. Oxygen free radical involvement in ischemia and reperfusion injury to brain. *Neurosci Lett*. 1988;88: 233-238.
11. Carmichael J, Dectraff WB, Gazder AF, Minna JD, Mitchell JB. Evaluation of a tetrazolium-based semiautomatic colorimetric assay: assessment of radiosensitivity. *Cancer Res*. 1987;47:943-946.
12. Dykens J, Stern A, Trenkner E. Mechanism of kainate toxicity to cerebellar neurons in vitro is analogous to reperfusion tissue injury. *J Neurochem*. 1987;49: 1222-1228.
13. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*. 1983;65:55-63
14. 江蘇新醫學院編. 中藥大辭典. 上海:上海科學技術出版社. 1977:1167-1168,1379,1381,2382.
15. Pellegrini-Giampietro DE, Cherici G, Alesiani M, Carrla V, Moroni F. Excitatory amino acid release from rat hippocampal slices as a consequence of free-radical formation. *J Neurochem*. 1988;51:1960-1963.
16. Pellegrini-Giampietro DE, Cherici G, Alesiani M, Carrla V, Moroni F. Excitatory amino acid and free radical formation may cooperate in the genesis of ischemia-induced neuronal damage. *J Neurosci*. 1990;10:1035-1041.
17. Mayer ML, Westbrook GL. Permeation and block of N-methyl-D-aspartic acid receptor channels by divalent cations in mouse cultured central neurons. *J Physiol*. 1987;394:501-527.
18. Zeman S, Lioyd C, Meldrum B, Leigh PN. Excitatory amino acids, free radicals and the pathogenesis of motor neuron disease. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 1994;20: 219-231.
19. Yamamoto M, Scima T, Uozumi T, Yamada K, Kawasaki T. A possible role of lipid peroxidation in cellular damages caused by cerebral ischemia and protective effect of alpa-tocopherol administration. *Stroke*. 1983;14:977-982.
20. Chen WJ, Body RL, Motilet NK. Some effects of continuous low dose congenital exposure to methylmercury on organ in the rat fetus. *Teratology*. 1979;20:31-36.
21. Takahashi K, Fujita T, Mayum T, Hama T, Kish T. Effect of adriamycin on cultured mouse embryo myocardial cells. *Chem Pharm*. 1987;35(1):326-334.

(200) 대한한의학회지 제21권 제2호(2000년 6월)

22. Kikuchi S, Kim SU. Glutamate neurotoxicity in mesencephalic dopaminergic neurons in cultures. J Neurosci Res. 1993;36:558-569.

23. 金賢奎 外. 苦蔘煎湯液이 培養心筋細胞에 미치는 影響.

서울:大韓韓醫學會誌. 1999;20(1):142-150.

24. 李來春 外. 炙甘草湯이 培養心筋細胞에 미치는 影響.

서울:東醫生理學會誌. 1999;14(2): 139-146.