

## 갈근탕 추출물의 카드뮴 독성에 대한 세포 보호효과

박소윤 · 백종민\* · 백승화#

원광대학교 한의학전문대학원 한약자원개발학과, \*서울대학교 비알엔사이언스 연구개발부  
(Received September 24, 2009; Revised March 20, 2010; Accepted March 20, 2010)

### Cytoprotective Effect of *Galgeuntang* Extract on Cadmium-Induced Cytotoxicity

So Yun Park, Jong Min Baek\* and Seung Hwa Baek#

Department of Herbal Resources, Professional Graduate School of Oriental Medicine,  
Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

\*R&D Center, BRNScience Co. LTD., Seoul National University, Seoul 151-897, Korea

**Abstract** — Cytotoxicity of cadmium on NIH 3T3 fibroblasts was utilized in order to discover antitoxic compound in *Galgeuntang* extract in this study. Treatment groups were chosen as follows; control (medium only), MTT<sub>50</sub> group and five experimental groups. MTT {3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazoliumbromide} method was performed to evaluate the cytotoxicity of cell organelles and IC<sub>50</sub> was also measured. Accordingly we have examined the detoxification effects of *Galgeuntang* extract on cadmium-treated NIH 3T3 fibroblasts to observe morphological changes by the light microscopy. *Galgeuntang* extract showed cytoprotective effects on cadmium-induced cytotoxicity. Furthermore, *Galgeuntang* showed a dose-dependency in detoxication. The phenolic content of *Galgeuntang* ethanol extract was higher than that of water content. These results suggest that *Galgeuntang* extract may be used as a cytoprotective agent against cadmium (II)-mediated cytotoxicity.

**Keywords** □ cytoprotective effect, cadmium (II)-mediated cytotoxicity, NIH 3T3 fibroblasts, *Galgeuntang* extract

현대사회는 급속한 산업의 발달과 더불어 자동차 배기가스와 각종 산업체에서 배출되고있는 여러가지 오염물질로 인해 공기, 물, 토양 그리고 각종 식품이 오염되고 있다. 특히 심각한 사회 문제로 대두되고 있는 환경오염성 중금속 중에서도 카드뮴(cadmium, Cd)은 급속성의 부식성을 방지하는 효과가 있어 전기도금 플라스틱 열안정제 및 축전지(Ni-Cd battery) 등에 사용되고 있다. Cd는 크게 식품과 음료의 섭취 및 공기의 흡입을 통해서 일단 체내에 흡수되면 간, 신장 및 고환등에 축적되어 간독성, 신장장해, 고환의 염증 및 괴사 등을 일으키는 것으로 보고되어 있다.<sup>1-3)</sup> 카드뮴과 같은 중금속 해독제로 사용되는 Ca<sub>2</sub>Na<sub>2</sub>EDTA는 중금속과 강한 친화성 킬레이트제이나 신장독성을 유발하고,<sup>4)</sup> 해독제인 penicillamine의 백혈구 감소증, 재생 불량성 빈혈 등의 부작용을 일으키는 것으로 보고하고 있다.<sup>5)</sup> 최등<sup>6)</sup>은 현재 사용되고 있는 해독제의 부작용을 경감시킬 수 있는

플라보노이드 화합물을 사용하여, 카드뮴의 독성을 경감시킬 수 있는 카드뮴(II)-착물로 인한 Vero 세포에 대한 세포독성을 효과적으로 억제할 수 있다고 보고하였다. 이 등은 암모니아 완충용액(pH=8.0)에서 카드뮴(II)-착물반응에 대한 최적농도를 규명함으로써, 카드뮴 독성에 대한 효과적인 억제효과를 보고하였다.<sup>7,8)</sup>

갈근탕은 중국, 일본, 한국 등지에서 협심증, 심근경색 등으로 사용되어 왔으며, 중국의 고대 문헌과 현대 약학에서는 혈압을 낮추어주거나, 지질 저하를 효과, 항산화 그리고 미세혈관 순환이 잘되게 해주는데 사용되었다.<sup>9,10)</sup> 갈근탕은 갈근, 감초, 백작약, 마황, 대추, 계지, 생강 일곱가지 한약재로 조성되었다. 신 등<sup>11)</sup> 갈근탕이 자유 라디칼 소거능과 기력 감퇴 방지 효과는 농도를 증가시킴에 따라 증가되었으며, 가장 높은 라디칼 소거능을 보인 탕제는 갈근탕(116.93 µg/ml)과 계지(*Cinnamomum cassia* Presl.) (95.01 µg/ml)를 이용한 물 추출물에서 측정되었다. 갈근탕의 물 추출물에 페놀과 플라보노이드 함량은 갈근탕을 조성하는 한약재중에 계지에 함유되어 있는 생리활성물질에 기인한다고 보고하였다.

갈근은 고혈압, 관상동맥 경화증, 협심증, 당뇨병, 숙취제거의

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로  
(전화) 063-850-6225 (팩스) 063-850-6225  
(E-mail) shbaek@wonkwang.ac.kr

효과와 혈압강화작용, 지방산화의 억제작용, 항염작용, 해독작용, 항산화작용 및 보관작용이 있는 것으로 알려졌으며, 발한, 해열제로서 고열·두통을 치료하고 진액을 생기게 하며 갈증을 멎게 한다. 갈근은 병을 다스리기 위해 땀을 내게 할 때나 해열할 때 많이 쓰지만, 다른 여러 증상에도 두루 사용되며, 소화불량, 두통, 빈혈, 이질, 복통, 술독, 감기, 구토와 부인들의 하혈에 쓰이고, 민간에서는 위장약으로 갈근을 이용한다.<sup>12-15)</sup> 갈근의 구성성분으로는 isoflavonoids인 daidzin, daidzein, puerarin 등과 그 외에 D-mannitol, succinic acid, miroestrol 및 starch을 함유되어 있다.<sup>10,16)</sup>

본 연구에서는 갈근탕의 물과 에탄올 추출물을 얻은 후, 추출물을 이용한 NIH3T3 fibroblasts 세포에 대한 세포독성과 카드뮴 독성에 대한 세포 보호효과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## 실험재료 및 방법

### 시약 및 기기

추출에 사용한 용매는 EP급 시약을 재증류하여 사용하였으며, 세포배양에 사용한 RPMI 1640 배지, 10% heat-inactivated FBS penicillin, 0.25% trypsin, DMSO, streptomycin, MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-diphenyltetrazolium bromide), FeCl<sub>2</sub>와 ferrozine에 사용한 시약은 Sigma사에서 구입하였다. 세포배양은 95% air/5% CO<sub>2</sub> incubator(Shellab Co. U.S.A.)를 사용하였으며, 세포수의 계산은 Truk형 혈구계산기를 이용하였다. MTT 정량에는 ELISA reader(Spectra max 240. Molecular Devices, U.S.A.)를 사용하였다.

### 실험재료

본 실험에 사용된 갈근탕을 경남 창원시 오시오 한의원에서 제공받아, Blender로 분쇄하여 사용하였으며, 실험에 사용된 식물체는 원광대학교 한의학전문대학원 한약자원개발학과에 보관되어 있다(Table I).

### 용매추출법

본 연구에 사용된 갈근탕(68.0 g)을 세절하여 Blender로 분쇄한

후, 상온에서 95% 에탄올(3×100 ml)로 추출한후, 추출물을 여과지로 여과하여, 그 여액을 진공증류기로 감압 농축하여 38°C 이하에서 에탄올 추출물을(10.21 g, 15.02%)을 얻었다. 동량의 갈근탕을 물(3×100 ml)로 추출하였으며, 동일한 추출법으로 추출물을 80~85°C에서 물 추출물(13.70 g, 20.15%) 얻어, 시료로 사용하였다.

### 세포배양

갈근탕 추출물의 세포독성을 측정하기 위하여, 한국 세포주은행에서 분양받은 NIH3T3 섬유세포주는 RPMI1640 배지에 10% heat-inactivated FBS penicillin(100 units/ml)과 streptomycin (100 µg/ml)을 첨가하여 사용하였으며, 세포배양은 온도 37°C, 습도 95%, 5% CO<sub>2</sub> 배양기를 사용하였다. 실험을 위하여, 일차 배양한 flask의 세포주를 0.25% trypsin으로 처리하여, Turk형 혈구계산기를 이용하여, 세포주가 2×10 cells/well가 되도록 세포부유액을 만들었다.

### MTT 정량분석법

Mosmann의 방법<sup>17)</sup>에 의하여, NIH3T3 섬유모 세포를 각 배양용기에 2×10<sup>4</sup> cells/ml 세포수를 넣고 24시간 배양 후, 카드뮴 IC<sub>50</sub> 농도의 세포독성에 대한 갈근탕 추출물의 독성경감 효과를 측정하기 위하여, 갈근탕 추출물을 각각 농도별(0.01, 0.1, 1, 10 µg/ml)로 첨가하여 48시간 배양한 후, 분석 당일 조제한 MTT 50 µg/ml가 포함된 배양액을 배양 용기당 1 ml씩 넣고 3시간 배양 후 배양액을 버리고, DMSO를 2 ml/well씩 넣어 5분간 실온 방치하여 MTT formazan을 용해한 후, 흡광도는 분광광도계 ELISA Reader로 MTT의 흡광도(540 nm)를 측정하여 대조군과 비교 조사하였다.

### 총 페놀함량 측정

총 페놀함량은 Folin-Ciocalteu<sup>18)</sup>의 방법에 의해 측정되었으며, 반응액은 시료(20 µl)와 증류수(1.58 ml) 그리고 Folin-Ciocalteu reagent(100 µl)을 혼합하여 만들었다. 위 반응액에 300 µl의 20% sodium carbonate solution을 첨가하고 잘 혼합하였으며, 그런 다음, 실온에서 2시간 동안 배양한 후 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료대신 증류수를 가하여 측정하였으며, 표준물질로 gallic acid를 사용하였다. 총 페놀함량은 gallic acid equivalents(GAE µl)/시료 100 mg로 나타내었다.

### 금속착물에 대한 활성

철이온(II)의 착물활성은 Dinis 등의 방법으로 측정하였으며,<sup>19)</sup> 0.4 ml 메탄올안에 각각의 시료용액을 넣고, 2 mM FeCl<sub>2</sub> 용액(50 µl)와 5 mM ferrozine(200 µl)을 첨가하여, 전체부피가 4 ml가 되도록 메탄올로 넣는다. 상온에서 혼합용액을 10분간 잘 흔들어준 다음, ELYSA로 파장(562 nm)에서 흡광도를 측정한다.

Table I - The composition of *Galgeuntang*

| Botanical name                       | Weight (g) | Percentage (%) | Origin |
|--------------------------------------|------------|----------------|--------|
| <i>Puerariae thunbergiana</i> Benth. | 15         | 22.06          | China  |
| <i>Paeonia lactiflora</i> Pall.      | 7.5        | 11.03          | Korea  |
| <i>Ephedra sinica</i> Stapf.         | 11.25      | 16.54          | China  |
| <i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch.  | 7.5        | 11.03          | China  |
| <i>Zizyphus jujuba</i> Mill.         | 8          | 11.76          | Korea  |
| <i>Cinnamomum cassia</i> Presl.      | 7.5        | 11.03          | China  |
| <i>Zingiber officinale</i> Rosc.     | 11.25      | 16.54          | Korea  |

Ferrozine-Fe<sup>2+</sup> 착물형성 능력에 대한 억제율(%)은 다음 공식에 의거하여 측정하였다.

$$\text{금속착물 효과율(}\%) = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

A<sub>0</sub>는 대조군의 흡광도

A<sub>1</sub>는 시료와 기준물질의 흡광도.

대조군에는 FeCl<sub>2</sub>, ferrozine와 착물형성 분자들이 포함되어 있다.

### IC<sub>50</sub> 결정

식물 추출물의 IC<sub>50</sub> 결정은 배양중인 NIH3T3 섬유모세포를 96well plate에 2×10 cells/well씩 넣고 24시간 배양한 다음 0.01, 0.1, 1, 10 µg/ml 농도의 갈근탕 추출물을 첨가하여, 4시간 배양한 후 MTT 정량을 하여, 이들 각각에 대한 50% 억제농도인 IC<sub>50</sub>을 희귀 직선식에 의해 구하였다.<sup>20)</sup>

### 세포의 광학 현미경적 관찰

세포의 광학 현미경적 관찰을 위하여, NIH3T3 섬유모세포는 각각 세포분주 후 갈근탕 물 추출물을 처리하여, MTT를 처리하기 전에 도립위상차 현미경(Inverted Microscope, Olympus, Tokyo, Japan)으로 관찰하였다.

### 통계처리

실험결과와 통계처리는 Student's t-test에 준하였으며, p-value가 0.05 미만일 경우, 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

## 실험결과 및 고찰

### NIH3T3 섬유모세포의 카드뮴 독성에 대한 IC<sub>50</sub> 측정값

카드뮴에 영향을 받는 기관으로 알려진 피부의 구성세포인 NIH3T3 섬유모세포를 배양하여, 여러 농도의 카드뮴을 투여하면서, 세포독성을 조사하여 얻은 MTT<sub>50</sub>량(IC<sub>50</sub> = 40.0 µM)과 카드뮴과 갈근탕의 물과 에탄올 추출물에 함유된 배위 공유결합을 할 수 있는 생리활성물질으로 인한 세포의 보호효과를 관찰하였다. 카드뮴의 농도를 NIH3T3 섬유모세포에 농도별로 적용한 후, 세포 생존율을 확인할 수 있는 MTT 정량분석법으로 흡광도를 측정하였으며, 카드뮴의 처리농도에 따라 NIH3T3 섬유모세포의 세포 생존율이 감소하였으며, 이는 흡광도의 감소가 카드뮴의 농도 의존적으로 관찰되었다. IC<sub>50</sub>인 MTT<sub>50</sub>량은 세포의 수와 종류에 따라, 다른 측정값이 관찰할 수 있었다(Fig. 1).<sup>21,22)</sup>

### 카드뮴 독성에 대한 갈근탕 물 추출물의 세포 보호효과

갈근탕의 물 추출물을 NIH3T3 섬유모세포에 농도별로 적용한 후, 갈근탕의 물 추출물의 처리농도에 따라 NIH3T3 섬유모

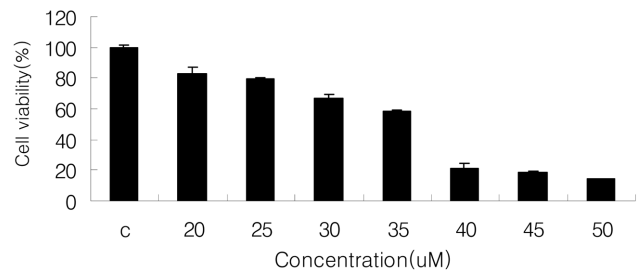


Fig. 1 – Determination of cell viability against various cadmium concentrations on NIH3T3 fibroblasts. This was serially diluted with RPMI-1640 with 10% FBS in NIH3T3 cells (2×10<sup>4</sup> cells). The MTT assay was performed. Data are mean values of experiment results. \*Significantly different from the control value: \*p<0.05 (Student's t-test).

세포의 세포 생존율이 증가하였으며, MTT의 흡광도는 농도에 따라 농도 의존적으로 증가하였다. 갈근탕의 물 추출물은 모든 농도범위에서 통계적으로 유의성(p<0.01)이 관찰되었으며, 카드뮴 독성에 대한 NIH3T3 섬유모세포의 보호효과도 관찰할 수 있었다. 갈근탕의 10.0 µg/ml 물 추출물에서 카드뮴 독성에 대한 NIH3T3 섬유모세포의 보호효과는 높은 보호율(78.18%)이 관찰되었다. 갈근탕 물 추출물에 함유되어있는 페놀 혹은 플라보노이드 화합물에 기인하는 것으로 생각된다(Fig. 2와 5).<sup>21,23)</sup>

### 카드뮴 독성에 대한 갈근탕 에탄올 추출물의 세포 보호효과

갈근탕의 에탄올 추출물을 여러 농도의 카드뮴으로 처리하여, MTT 흡광도의 측정값은 갈근탕의 물 추출물에 대한 흡광도처럼 갈근탕의 에탄올 추출물의 측정값은 농도 의존적으로 감소하였다. 갈근탕의 에탄올 추출물의 모든 농도범위에서 통계적으로 유의성(p<0.05)있는 카드뮴 독성에 대한 NIH3T3 섬유모세포의

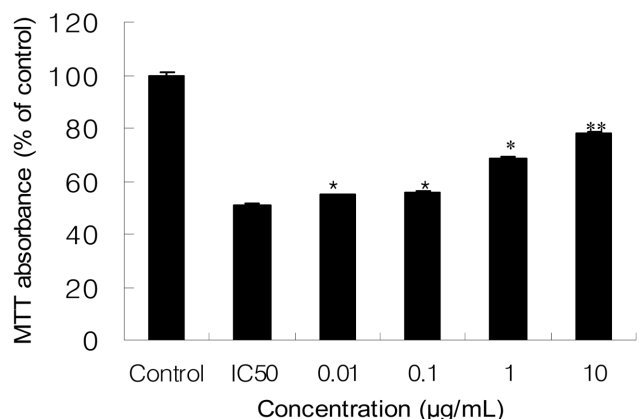
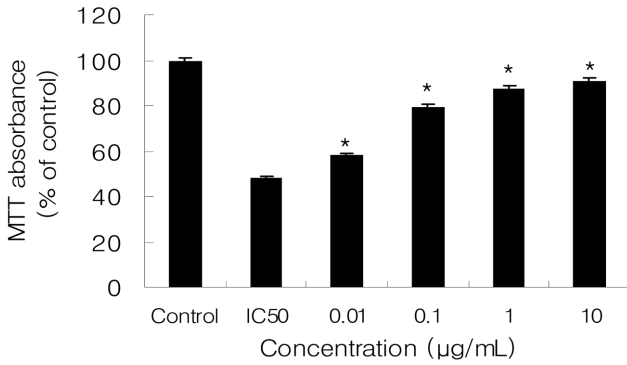
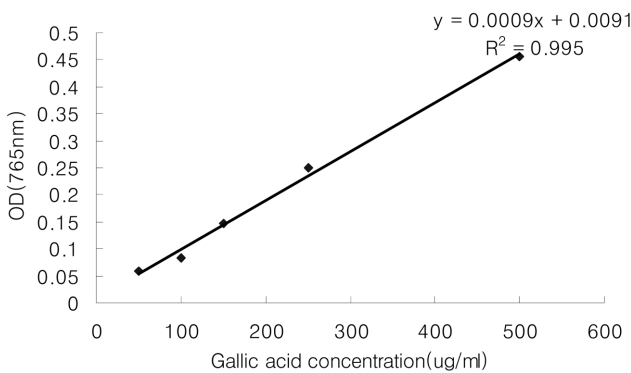


Fig. 2 – The MTT absorbance of *Galgeuntang* water extract on NIH3T3 fibroblasts treated with cadmium. The value represent the mean±standard deviations for triplicate experiments. Significantly different from the control values, \*p<0.05, \*\*p<0.01 (Student's t-test).

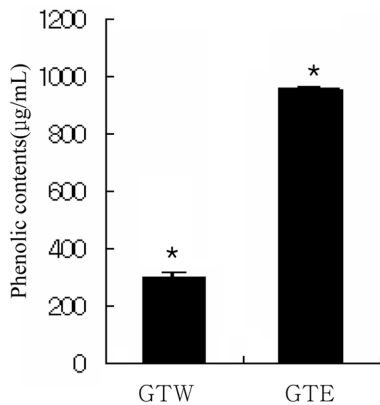
보호효과를 관찰할 수 있었으며, 카드뮴의 억제농도인 IC<sub>50</sub> 농도와 갈근탕의 10.0 µg/ml 에탄올 추출물에서 카드뮴 독성에 대한 NIH3T3 섬유모세포의 보호효과가 가장 높은 보호율(90.79%)로



**Fig. 3** – The MTT absorbance of *Galgeuntang* ethanol extract on NIH3T3 fibroblasts treated with cadmium. The value represent the mean±standard deviations for triplicate experiments. Significantly different from the control values, \*p<0.05 (Student's t-test).



**Fig. 4** – Calibration curve method of gallic acid (r<sup>2</sup>=0.995).



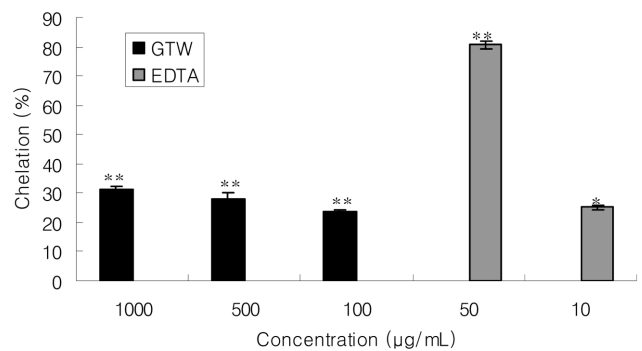
**Fig. 5** – Phenolic contents of *Galgeuntang* extracts. The value represent the mean±standard deviations for triplicate experiments. Significantly different from the control values, \*p<0.05 (Student's t-test). GTW; *Galgeuntang* water extract, GTE; *Galgeuntang* ethanol extract.

관찰되었다. 이러한 연구결과에 의하면, 갈근탕 추출물에 함유된 생리활성물질이 물 추출물보다 유기용매인 에탄올로 추출할 때에 높은 농도의 배위화합물이 추출되어, 카드뮴의 독성으로부터 NIH3T3 섬유모세포를 보호할 수 있다고 생각된다(Fig. 3).<sup>22,23)</sup>

**갈근탕 추출물의 총 페놀함량 측정**

갈근탕의 물 추출물 중에 함유되어 있는 많은 생리활성물질 중 phenol은 가장 널리 함유되어 항산화 활성을 가지는 것으로 알려져 있으며,<sup>23)</sup> Sinkard *et al.*<sup>18)</sup>은 chlorogenic acid와 caffeic acid등이 매우 높은 항산화 효과를 나타낸다고 보고하였다. 갈근탕의 물 추출물에 대한 총 페놀함량은 갈릭산 표준물질로 사용하였으며, gallic acid equivalents(GAE, µg)/시료 mg로 측정하여 검량선을 작성하였다. 갈근탕 추출물의 페놀함량에 대한 측정값은 1차 함수식은 y=0.0009x+0.0091이며, 직선성은(R<sup>2</sup>) 0.995으로 계산되었다(Fig. 4). 갈릭산은 농도 의존적으로 통계적으로 유의성 있는 OD값의 증가를 나타냈으며, 갈릭산의 표준곡선을 토대로 시료 1mg의 총 페놀함량은 약 320 µg/ml로 관찰되었다. 그렇지만 유기용매인 에탄올로 추출한 페놀 함량은 물 추출물(약 320 µg/ml)보다 약 3배 정도로 높은 페놀함량이 측정되었다. 이러한 연구결과에 의하면, 갈근탕 추출물에 함유된 생리활성물질이 물 추출물보다 에탄올 추출물에 높은 농도의 배위화합물이 추출되어, 카드뮴의 독성으로부터 NIH3T3 섬유모세포를 보호할 수 있는 페놀 화합물에 기인된 것으로 사료된다(Fig. 5).<sup>11)</sup>

Fig. 6에서 관찰한 것처럼, 갈근탕 물 추출물에 대한 카드뮴 착물의 형성능력은 농도 의존적이었으나, 갈근탕 물 추출물의 농도증가에 따라 카드뮴 착물에 대한 형성능력이 크게 증가하지 않았다. 갈근탕의 100 µg/ml 물 추출물에 대한 카드뮴 착물의 형성능력(23.69%)은 10 µg/ml EDTA와 유사한 착물형성의 능력(25.08%)에 대한 측정값을 관찰할 수가 있었다. 갈근탕 물 추출



**Fig. 6** – Metal chelating ability of *Galgeuntang* water extract. The value represents the mean±standard deviations for triplicate experiments. Significantly different from the control values, \*p<0.05, \*\*p<0.01 (Student's t-test). GTW; *Galgeuntang* water extract, EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acid.

물에서 카드뮴과 착물을 형성할 수 있는 배위 화합물은 낮은 농도로 함유되어 있으나, 갈근탕 에탄올 추출물에서는 갈근탕 물 추출물보다 많은 함량의 배위 화합물이 함유되어 있으리라 생각된다(Fig. 6).<sup>11,24,25)</sup> 이는 카드뮴 착물이 형성될때에 카드뮴(II)의 4d 원자궤도함수의 참여와 갈근탕 물 추출물에 함유되어있는 배위 화합물과 카드뮴 착물이 형성되며, 배위 화합물에 분자구조에 따른 낮은 전하이동이 일어나, ligand-to-metal charge transfer로 인한 특이한 스펙트럼의 변화가 관찰되리라 생각된다.<sup>26,27)</sup>

### 세포의 광학현미경적 관찰

NIH3T3 섬유모세포를 MEM배지 또는 DMEM배지에서 배양하면, 72시간째에 Fig. 7에서 보는 바와 같이, 세포의 밀도가 치밀해 지고 세포의 크기가 작아지는 경향이였다. 세포배양 24시간째에 카드뮴(II) IC<sub>50</sub> 농도를 처리하고 48시간이 지나면 세포수가 감소하고, 세포가 cluster를 형성하며, 세포에서 뻗어나간 돌기가 감소하여 원형의 세포로 변형되며 세포사이에서는 부스러기들을 관찰 할 수 있었다(Fig. 8). 세포배양 24시간째 카드뮴



Fig. 7 – Inverted photomicrograph of fibroblast cells treated with MTT for an additional 3 hrs after incubation in unmodified medium (control) for 2 days×100. Most cells had abundant cytoplasm and cytoplasmic process.



Fig. 8 – Inverted photomicrograph of NIH 3T3 fibroblasts treated with MTT for an additional 3 hrs after incubation in the IC<sub>50</sub> value of cadmium chloride containing medium for 2 days×100. Most cells were formed cell cluster and number of cells were decreased.



Fig. 9 – Inverted photomicrograph of KB cells treated with MTT for an additional 3 hrs after incubation in 10 µg/ml Galgeuntanag water extract (×100) containing medium for 2 days×100. Most cells were formed cell cluster and number of cells were decreased.

(II) IC<sub>50</sub> 농도와 갈근탕 물 추출물을 농도별로 처리하면 농도 의존적으로 세포수가 증가하고, 세포의 형태는 방추형으로 변형되며, 세포의 재생현상이 관찰되었다(Fig. 9). 카드뮴(II) IC<sub>50</sub> 농도와 갈근탕 물 추출물을 농도별로 처리하면, 카드뮴(II) IC<sub>50</sub> 농도 처리군에서와 같이 농도 의존적으로 세포수가 감소하는 경향이였다. 카드뮴(II) IC<sub>50</sub> 농도 처리군의 세포수 및 세포형태의 변화를 재생시킬 수 있는 능력을 관찰할 수가 있었다.<sup>21,28)</sup>

## 결 론

갈근탕 추출물에 대한 MTT의 흡광도는 추출물의 농도 의존적으로 감소하였으며, 10 µg/ml 추출물에서 통계적으로 유의성 (p<0.05-0.01)이 측정되었다. 카드뮴 독성에 대한 NIH3T3 섬유모세포에 대한 세포 보호효과는 에탄올 추출물(90.42%)이 물 추출물(78.18%)보다 약 12% 정도로 높게 억제되었다. 갈근탕의 에탄올 추출물로 인한 NIH3T3 섬유모세포의 높은 보호효과는 카드뮴의 독성을 억제하는 리간드 화합물의 용해도에 따른 시너지 효과로 사료된다. 갈근탕의 물과 에탄올 추출물에서 페놀의 함량이 높을수록 카드뮴 독성에 대한 NIH3T3 섬유모세포에 따른 보호효과가 높게 나타났으며, 카드뮴의 억제농도인 IC<sub>50</sub> 농도는 10<sup>-2</sup> mg/ml에서 큰 차이의 높은 세포 보호율이 관찰되었다. 갈근탕 물 추출물에 대한 카드뮴 착물의 형성능력은 농도 의존적으로 증가하였으며, 갈근탕의 100 µg/ml 물 추출물에 대한 카드뮴 착물의 형성능력은 10 µg/ml EDTA와 유사한 착물형성의 능력에 대한 측정값을 관찰할 수가 있었다. IC<sub>50</sub> 카드뮴(II)의 처리군과 갈근탕의 물 추출물을 농도별로 첨가한 처리군과의 세포 형태를 비교하면, 농도 의존적으로 세포의 재생이 증가하였다. 이상의 연구결과를 검토하여 볼 때 갈근탕을 조성하는 구성약재와 용매에 따라 카드뮴의 독성을 억제하는 리간드 화합물을 연구할 필요성이 요구된다.

## 참고문헌

- 1) Nriagu, J. O. and Pacyna, J. M. : Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. *Nature* **333**, 134 (1988).
- 2) World Health Organization.: Environmental Health Criteria 134, Cadmium, Geneva, Switzerland (1992).
- 3) Jin, T. and Nordberg, G. F. : Acta Pharmacol. Ed. Toxicol. *In Vitro*, p. 137 (1983).
- 4) Kostonis, F. N. and Klaassen, C. D. : Toxicity and distribution of cadmium administered to rats at sublethal doses. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **41**, 667 (1977).
- 5) Sillen, L. and Martel, A. : Stability constants of Metal-ion complexes, compiled for IUPAC, London. *Chem. Soc.* **6**, 67 (1964).
- 6) Choi, H. J., No, Y. J., Kang, J. I. and Baek, S. H. : The inhibitory effects of quercetin from *Houttuynia cordata* against cadmium-induced cytotoxicity. *J. Pharm. Soc. Korea* **53**, 12 (2009).
- 7) Lee, J. H. Shin, S. W. and Baek, S. H. : Optimum concentration of the Cd(II)-quercetin complexation reaction. *J. Pharm. Soc. Korea* **53**, 235 (2009).
- 8) Lee, J. H., Shin, S. W. and Baek, S. H. : Complexation studies for cadmium (II) with quercetin and (+)-catechin. *J. Pharm. Soc. Korea* **53**, 342 (2009).
- 9) Ji, X., Tan, B. K., Zhu, Y. C., Linz, W. and Zhu, Y. Z. : Comparison of cardioprotective effects using ramipril and DanShen for the treatment of acute myocardial infarction in rats. *Life Sci.* **73**, 1413 (2003).
- 10) Shin, J. M., Shin, S. W., Oh, H. J., Oh, H. K. and Baek, S. H. : Antioxidant activity of the extracts from *Pueraria thunbergiana* Benth. *J. Cosm. Pub. Health* **2**, 136 (2006).
- 11) Shin, J. M., Kim, Y. O. and Baek, S. H. : Free radical scavenging activity and kinetic behavior of the *Galgeuntang* water extract. *Orien. Pharm. Exp. Med.* **8**, 32 (2008).
- 12) Ashmore, C. R., Lee, Y. B. and Kim, Y. S. : Antioxidant and meat products. *J. Food Sci.* **51**, 20 (1996).
- 13) Oh, M. J., Lee, K. S., Son, H. Y. and Kim, S. Y. : Antioxidative components of Pueraria root. *Kor. J. Sci. Technol.* **22**, 793 (1995).
- 14) Han, S. H., Kim, J. B., Min, S. G. and Lee, C. H. : The effects of Puerariae Radix catechins administration on liver function in carbon tetrachloride-treated rats. *Kor. J. Soc. Food Nutr.* **24**, 713 (1995).
- 15) Lee, J. S., Lee, K. H. and Jeong, J. H. : Effects of extracts of Puerariae Radix on lipid metabolism in rats fed high fat diet. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 218 (1999).
- 16) Shin, J. M., Yu, H. H., Lee, H. O., Lee, M. H. and Baek, S. H. : Antimicrobial and antioxidative effects of isoflavonoids on skin microbial inflammation pathogens. *J. Pharm. Soc. Korea* **50**, 15 (2006).
- 17) Mosmann, T. : Rapid colorimetric assays for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods* **65**, 55 (1983).
- 18) Sinkard, K. and Singleton, V. L. : Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. *Am. J. Enol. Viticul.* **28**, 49 (1977).
- 19) Dinis, T. C. P., Madeira, V. M. C. and Almeida, L. M. : Action of phenolic derivatives (acetoaminophen, salicylate and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Arch. Biochem. Biophys.* **315**, 161 (1994).
- 20) 채영암, 구자옥, 서학수 : 이영만. 기초생물통계학 제 9장 직선회귀, 학문사, 서울 p. 179 (1991).
- 21) Young, H. T., Choi, H. J. and Baek, S. H. : Inhibitory effects of leachianone A from *Sophora flavescens* Ait. against cadmium induced cytotoxicity. *Kor. J. Orien. Physiol. Pathol.* **22**, 1163 (2008).
- 22) Lim, J. Y., Yang, H. O., Oh, H. J., Lim, J. A. and Baek, S. H. : The repaired effect of the crude extracts from *Cornus officinalis* in NIH 3T3 fibroblasts against cadmium-induced cytotoxicity. *J. Cosm. Pub. Health* **1**, 14 (2005).
- 23) Lee, M. H., Lim, H. Y., Kim, Y. H., Oh, H. J. and Baek, S. H. : The Inhibition effect of the crude extracts from *Puerariae thunbergiana* Beth. against cadmium-induced cytotoxicity. *J. Cosm. Pub. Health* **1**, 19 (2005).
- 24) Kostyuk, V. A., Potapovich, A. I., Vladkovskaya, E. N., Korkina, L. G. and Afanas'ev, I. B. A. : Influence of metal ions on flavonoid protection against asbestos-induced cell injury. *Arch. Biochem. Biophys.* **385**, 129 (2001).
- 25) Lapouge, C. and Cornard, J. P. : Time dependent density functional theory study of electronic absorption properties of lead (II) complexes with a series of hydroxyflavones. *J. Phys. Chem. A* **109**, 6752 (2005).
- 26) Cornard, J. P., Dangleterre, L. and Lapouge, C. : Computational and spectroscopic characterization of the molecular and electronic structure of the Pb(II)-quercetin complex. *J. Phys. Chem. A* **109**, 10044 (2005).
- 27) Cornard, J. P. and Merlin, J. C. : Spectroscopic and structural study of complexes of quercetin with Al(III). *J. Inorg. Biochem.* **92**, 19 (2002).
- 28) Lee, J. T., Lee, K. N., Lee, C. W., Chun, H. J., You, I. S., Lim, J. A. and Baek, S. H. : The inhibitory effects of quercitrin from *Houttuynia cordata* against cadmium induced cytotoxicity (VII). *J. Kor. Chem. Soc.* **47**, 175 (2003).