

## 胡桃藥鍼液의 抗酸化 效果에 對한 研究

I. 胡桃藥鍼液이 腎臟細胞에서 oxidant에 의한 損傷에 미치는 影響

金 永 海\* · 金 甲 成\*

### ABSTRACT

Antioxidant Effect of Juglandis Semen Herb-acupuncture Solution

I. Effect on Oxidant-induced Injury in Kidney Tubular Cells

Young-Hae Kim, Kap-Sung Kim  
Dept. of Acupuncture & Moxibution,  
Oriental Medical College, Dongguk University

Oxygen free radicals can generated during metabolic processes in normal cells and by exposure of cells to toxic substances. These radicals have been recognized to play a critical role in several pathological conditions including carcinogenesis and aging, and they have been implicated in pathogenesis of various diseases such as seizure, Alzheimer's disease, Parkinson's disease, myocardial infarction, respiratory distress syndrome, and rheumatoid arthritis.

---

\* 東國大學校 韓醫科大學 鍼灸學教室

This study was undertaken to determine if Juglandis semen herb-acupuncture solution (JSHAS) has a protective effect against cell injury caused by oxidants, t-butylhydroperoxide (t-BHP) and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Cell injury was estimated by measuring lactate dehydrogenase (LDH) release and lipid peroxidation was estimated by measuring malondialdehyde, a product of lipid peroxidation. JSHAS significantly prevented LDH release induced by t-BHP or H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in a dose-dependent manner at concentrations of 0.5-10%. Such protective effect was observed in control tissues untreated with oxidants. JSHAS, at 5% concentration, significantly reduced LDH release even when the concentrations of t-BHP and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> increased to 5 and 200 mM, respectively. JSHAS, at 5% concentration, significantly reduced the lipid peroxidation by t-BHP and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

These results indicate that JSHAS prevents cell injury and lipid peroxidation induced by oxidants in rabbit kidney cells. However, the underlying mechanisms remain to be determined.

Key word : Juglandis semen herb-acupuncture solution, LDH release, t-butylhydroperoxide, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, lipid peroxidation, rabbit kidney cortical tissue

## I. 緒 論

산소유리기들(oxygen free radicals)은 老化 및 암 유발에 관계할 뿐만아니라<sup>1,2)</sup> 간질, 치매, 파킨슨 병과 같은 중추신경성 질병, 그리고 심근 경색과 같은 심장 질병, 호흡장애 증후군, 류마치스 관절염 등 여러 종류의 질병에서 중요한 병인으로 인정되고 있다.<sup>1,3,4,5)</sup> 또한 腎臟에서 허혈성 급성 신부전, 항생제나 독성 물질에 의한 급성 신부전, 및 사구체 신염 등과 같은 여러 급성 및 만성 질환을 일으키는 원인으로 알려져 있다.<sup>6,7,8)</sup>

이러한 산소유리기들은 정상적인 細胞에서도

발생되고 있으나 몸속에는 이들을 제거하는 효소나 물질들을 가지고 있어 細胞 속에서 발생하는 유해 산소기들이 細胞 損傷을 일으키지 못하도록 조절하고 있다.<sup>5,9,10)</sup> 따라서 외부 자극에 의해 細胞 내에서 산소유리기들이 과량으로 발생하거나, 유해산소에 대한 방어 기전들의 기능이 저하되게 되면 細胞는 損傷을 받게 될 것이다.

이와같이 산소유리기들이 여러 조직에서 심한 독성을 나타내고 있기 때문에 이들을 제거하거나 몸속에 이들에 대한 방어 기전을 증대시키는 약물이 있는지를 밝히는 것은 대단히 중요하고 의미 있는 일로 인정된다. 특히 지금까지 질병의 치료에 직접 이용할 수 있는 천연산 또는 합

성된 抗酸化劑가 제한되어 있는 현실에서<sup>4)</sup> 이러한 연구의 필요성이 강조되고 있다.

抗酸化 作用에 관한 東醫學에서의 연구는 老衰의 重要 原因인 腎虛에 대하여 많이 이루어지고 있는데<sup>11,12,13,14)</sup> 補腎 效能을 가진 地黃<sup>15)</sup>, 山藥<sup>15)</sup>, 枸杞子<sup>16,17)</sup>, 山茱萸<sup>18)</sup> 등의 藥物에 對한 實驗 報告가 있으나 腎에 歸經하여 補腎固精 通命門 利三焦 抗衰老 등의 效能이 있는 胡桃<sup>19,20-23)</sup>의 藥鍼 劑材에 대한 報告는 접하지 못하였다.

이에 著者는 臨床에서 널리 活用되고 있는 胡桃 藥鍼의 抗酸化 效能 여부를 究明하기 위한 一環으로 胡桃藥鍼液이 유해 산소기들에 의한 細胞 損傷을 방지할 수 있는 지를 검토하고자 토끼 腎臟의 皮質 組織에서 oxidant인 t-butylhydroperoxide(t-BHP)와 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의한 損傷에 대한 影響을 관찰하였던 바 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 實驗 材料 및 方法

### 1. 動物 및 材料

#### 1) 動物

體重 1.5-2.0 kg 되는 토끼를 使用하였다.

#### 2) 藥材

胡桃(Juglandis Semen)를 市中에서 購入하여 精選하여 使用하였다.

## 2. 方法

### 1) 藥鍼液의 製造<sup>24)</sup>

胡桃(Juglandis Semen) 300g을 粗末로하여 圓底 flask에 넣고 증류수 2,000ml를 가하여 3시간 煎湯하여 추출하고 여과하였다. 여액을 rotary evaporator로 감압 농축하고 농축액에 증류수를 가하여 전량이 200ml가 되게 한 다음 실온까지 냉각하였다. 여기에 ethanol을 가하여 75% ethanol 용액으로 한 다음, 攪拌하고 저온에서 방치하여 생성된 침전물을 濾別하였다. 여액을 다시 rotary evaporator로 감압 농축하여 생성된 농축액에 증류수 100ml를 가하여 용해시키고 ethanol을 가하여 85% ethanol 용액으로 한 다음, 攪拌하고 저온에서 방치하여 생성된 침전물을 濾別하였다. 여액을 다시 rotary evaporator로 감압 농축하여 생성된 농축액에 증류수 100ml를 가하여 용해시키고 ethanol을 가하여 95% ethanol 용액으로 한 다음, 攪拌하고 저온에서 방치하여 생성된 침전물을 濾別하였다. 여액을 다시 rotary evaporator로 감압 농축하여 생성된 농축액에 saline액을 가하고 1 N NaOH로 pH 6-7로 조절하여 전량이 1,000 ml 되게 한 다음 이를 저온에서 24시간 방치한 후, nuclepore filter paper (0.45 μm, 直徑 25mm, U.S.A.)로 여과하고 加壓滅菌하여 藥鍼液을 만들어 적당한 농도가 되게 용액내에 녹여 실험에 사용하였다.

## 2) 腎皮質 切片의 製作

토끼를 희생시킨 후 腎臟을 들어 내어 100 mM NaCl, 10 mM KCl, 1.5 mM CaCl<sub>2</sub>, 40 mM Tris-HCl (pH, 7.5)로 된 冷한 용액을 腎動脈內에 주입하여 혈액을 제거한 다음 Stadie-Riggs microtome으로 약 0.3 - 0.5 mm 두께의 腎皮質 切片을 만들어 사용하였다. 이렇게 제작된 腎皮質 切片은 대부분이 근위세뇨관으로 구성되어 있으며, 여러 독성 물질에 의한 腎臟 기능 변화를 연구하는데 많이 이용되고 있다.<sup>25,26)</sup>

## 3) Oxidant의 처리

腎皮質 切片 약 50 mg을 4ml의 incubation 용액이 들어 있는 비커 속에 넣고 Dubnoff metabolic shaker 내에서 100% 산소를 계속 공급하면서 37°C에서 incubation하였다. 기본 incubation 용액의 조성은 130 mM NaCl, 10 mM KCl, 1.5 mM CaCl<sub>2</sub>, 5 mM glucose, 10 mM Tris-HCl (pH 7.5)로 되어 있으며, t-BHP 나 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리할 때는 이들 oxidant가 들어 있는 용액 내에서 60분 동안 incubation하였다. Incubation 후에 腎皮質 切片을 들어 내어 細胞의 損傷 정도를 조사하기 위하여 lactate dehydrogenase(LDH) 유출을 측정하였으며, 또한 細胞 損傷이 脂質의 過酸化와 연관이 있는지를 조사하였다.

## 4) LDH 측정

Oxidant로 처리된 腎皮質 切片을 들어 내어 증

류수로 마쇄시켜 만든 조직액과 incubation용액을 각각 50 μl 취하여 LDH 활성을 LDH assay kit (Sigma Chemical)를 이용하여 측정하였다.

## 5) Malondialdehyde 함량 측정

細胞膜 脂質의 過酸化 정도는 그 산물인 malondialdehyde(MDA) 양을 Uchiyama와 Mihara 방법<sup>27)</sup>으로 측정하여 평가하였다. 간단히 설명하면, oxidant로 처리된 腎皮質 切片을 차가운 1.15% KCl 용액(5% wt/vol) 속에서 파쇄하였다. 이 조직 파쇄 균질액 0.5 ml에 1% 인산 용액 3 ml과 0.6% thiobarbituric acid 용액 1 ml을 첨가하여 끓는 물에서 45분간 가열하였다. n-Butanol 4 ml을 첨가하여 완전히 섞은 다음 2000g에서 20분간 원심분리한 후, 상층액의 흡광도를 536과 520 nm에서 측정하였다. MDA 값은 단백질 1 mg 당 nmoles로 표시하였다. 단백질 농도는 Bradford 방법<sup>28)</sup>으로 측정하였다.

## 6) 통계 처리

성적은 평균치±표준편차로 나타내었으며, 평균치간의 유의성은 Student's t-test를 이용하여 검정하였고 p 값이 0.05 미만일 때 유의한 것으로 판정하였다.

## III. 實驗 成績

### 1. 정상 및 Oxidant를 처리한 조직에서

## LDH유출에 대한 胡桃藥鍼液의 효과

### 1) 정상 및 t-BHP를 처리한 조직에서 胡桃藥鍼液의 효과

Oxidant에 의한 細胞 損傷에 胡桃藥鍼液이 보호 작용을 가지고 있는 지를 확인하기 위하여 정상 조직과 Oxidant로 0.3 mM t-BHP를 처리한 조직에서 胡桃藥鍼液의 농도를 0.55에서 10%까지 변화시키고 LDH 유출의 변화를 관찰하였다. 정상 조직에서는 胡桃藥鍼液의 농도가 2% 이상 일 때 LDH 유출이 유의하게 감소하였다. 胡桃藥鍼液이 없는 정상 조직에서는 LDH 유출이  $5.60 \pm 1.04\%$ 로 나타났으며 용액 내에 t-BHP 0.3 mM을 첨가했을 때  $15.29 \pm 1.63\%$ 로 약 3배 정도 증가함으로써 oxidant에 의해 細胞 損傷이 현저하게 유발되었음을 보였다. t-BHP에 의한 LDH 유출의 증가는 용액 내에 胡桃藥鍼液의 첨가 농도에 비례하여 유의하게 감소되어 5% 농도에서는 정상 조직에서와 같은 LDH 유출을 보였다. (그림 1)

### 2) t-BHP의 농도 변화에 따른 胡桃藥鍼液의 효과

t-BHP의 농도를 0.2에서 5 mM까지 변화시켜 관찰한 결과 LDH 유출은 t-BHP 농도에 비례하여 증가함으로써 oxidant의 농도 증가에 따라 細胞 損傷 정도가 비례하여 증가함을 보였다. 여기에 胡桃藥鍼液 5%를 첨가했을 때 LDH 유출은 유의하게 감소하였으며, 이러한 효과는 t-BHP의 모든 농도에서 유사하게 나타났다. 그리고 胡桃藥鍼液은 t-BHP를 처리하지 않은 정

상 조직에서도 LDH 유출을 유의하게 감소시켰다. (그림 2)

### 3) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의한 LDH 유출에 대한 胡桃藥鍼液의 효과

胡桃藥鍼液이 t-BHP 뿐만 아니라 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의한 細胞 損傷도 방지할 수 있는 지를 관찰하기 위하여 50 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리하고 LDH 유출의 변화를 관찰하였다. 정상조직에서  $5.11 \pm 0.7\%$ 이던 LDH 유출이 50 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리에 의해  $12.57 \pm 0.39\%$ 로 현저하게 증가되었다. 그러나 胡桃藥鍼液을 0.5%에서 10%까지 첨가한 후 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리했을 때는 농도에 비례하여 LDH 유출을 감소시킴으로써 胡桃藥鍼液이 t-BHP에 의한 細胞 損傷 뿐만 아니라 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의한 細胞 損傷도 현저하게 방지하고 있음을 보였다. (그림 3)

### 4) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 농도변화에 따른 胡桃藥鍼液의 효과

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 농도를 20에서 200 mM까지 변화시키고 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의한 細胞 損傷을 胡桃藥鍼液이 5% 들어 있는 용액과 없는 용액 내에서 관찰하였다. LDH 유출은 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 농도가 증가함에 따라 증가하였으며, 胡桃藥鍼液이 들어 있을 경우에는 LDH 유출이 유의하게 감소되었다. 5% 胡桃藥鍼液은 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리하지 않은 정상 조직에서도 LDH 유출을 유의하게 감소시켰다. (그림 4)

## 2. 脂質의 過酸化에 대한 胡桃藥鍼液의 影響

### 1) t-BHP에 의한 脂質의 過酸化에 대한 胡桃

### 藥鍼液의 효과

胡桃藥鍼液이 oxidant에 의한 脂質의 過酸化를 억제하는 지를 확인하기 위하여 0.3 mM의 t-BHP에 의해 발생하는 脂質의 過酸化에 대한 여러 농도의 胡桃藥鍼液 효과를 관찰하였다. 脂質의 過酸化는 t-BHP를 처리하지 않은 정상 조직의  $139.72 \pm 8.71$  pmole MDA/mg protein에서 0.3 mM t-BHP를 처리한 결과  $487.69 \pm 36.21$  pmole MDA/mg protein으로 약 3배 이상 증가하였으며 胡桃藥鍼液의 첨가 농도가 증가함에 비례하여 감소하였다. Oxidant를 처리하지 않은 정상 조직에서도 胡桃藥鍼液의 농도를 증가시켰을 경우 통계적인 유의성은 없었으나 脂質의 過酸化를 감소시키는 경향을 보였다. 즉 脂質의 過酸化는 胡桃藥鍼液이 없을 때  $139.72 \pm 8.71$  pmole MDA/mg protein에서 胡桃藥鍼液 5% 및 10%를 첨가하게 되면 각각  $115.75 \pm 6.53$ ,  $107.72 \pm 12.09$  pmole MDA/mg protein으로 감소하였다. (그림 5)

### 2) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의한 脂質의 過酸化에 대한 胡桃藥鍼液의 효과

50 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리한 결과 脂質의 過酸化는 정상 조직의  $214.84 \pm 16.39$  pmole MDA/mg protein에서  $663.03 \pm 31.34$  pmole MDA/mg protein으로 약 3배 이상 증가하였다. 여기에 胡桃藥鍼液을 0.5%에서 10% 농도로 첨가하였을 때 脂質의 過酸化는 胡桃藥鍼液의 농도에 비례하여 유의하게 억제되었다. (그림 6)

## IV. 考 察

산소유리기들은 老化나 癌 유발 뿐만아니라 여러 가지 급성 및 만성 질환의 병인으로 인정되고 있으며, 이에 의한 過酸化脂質의 생성도 成人病의 발병 과정과 질병의 진행 및 老化와 밀접한 관계가 있다고 알려져 있다.<sup>29,30)</sup>

몸속에는 산소유리기들을 분해하는 酵素들을 가지고 있는데 이들 酵素에는 superoxide를 분해하는 superoxide dismutase(SOD), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 분해하는 catalase와 glutathione peroxidase 등이 있다. 이외에도 체내에 존재하여 抗酸化劑 역할을 하는 물질로는 tocopherol, ascorbic acid 및 glutathione 등이 있으며, 이들 酵素나 물질들의 체내 농도가 감소하게 되면 細胞는 損傷을 받아 여러 가지 질병을 유발시키는 원인이 될 것이다.<sup>2,4)</sup>

이들을 제거할 수 있는 천연산이나 합성된 抗酸化劑의 개발이 요구되고 있으나 지금까지 성과는 미미한 실정이다. α-Tocopherol이 건강에 필수적일 뿐만아니라 산소유리기들을 제거하는 효과를 가지고 있어 산소유리기로 인해 유발되는 질병 상태의 치료에 이용 가능성이 제기되어 왔으나 몇몇 연구자들은 만약 장관에서 지방의 흡수가 장애되어 vitamin E의 흡수 장애로 인해 결핍 상태가 아닌 이상 이 약물을 치료 목적으로 투여하는 데는 효력이 없을 것으로 주장하고 있다.<sup>31,32)</sup> 특히 vitamin E와 유사한 약물인 Trolox C는 시험관내 실험에서 酸化劑의 특성

을 가지고 있음이 밝혀졌으며, 抗酸化劑로 잘 알려진 propyl gallate도 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에서 OH radical 전환을 촉진하는 효과가 있음이 밝혀짐으로서 抗酸化劑를 이용하는 데는 많은 주의와 사전에 충분한 검증이 필요한 것으로 지적되고 있다.<sup>33,34)</sup>

抗酸化作用에 관한 東醫學에서의 연구는 腎虛에 關聯하여 많이 이루어지고 있는데, 腎은 先天之本으로 生長發育과 老衰를 主管하므로 腎虛는 老衰의 重要原因이 되며 老化和 關聯된 症候가 發生한다.<sup>22,35)</sup> 그러므로 腎虛한 경우에 過酸化脂質 含量이 上昇하고 SOD 活性이 低下되어 있다고 하였으며<sup>11,12,13,14)</sup> 補腎 및 延年耐老 效能을 가진 地黃, 山藥, 枸杞子, 山茱萸 등의 藥物이 過酸化脂質의 含量을 저하시키고 SOD 活性을 增加시켜 老化를 抑制한다고 하였다.<sup>15,16,18)</sup> 또한 活血化痰 藥物인 丹參도 過酸化脂質의 含量을 低下시키고 SOD 活性을 增加시킨다고 하였다.<sup>36)</sup>

胡桃는 補腎 藥物으로써 性味が 甘, 溫하고 腎, 肺에 歸經하여 壯陽固精 通命門 利三焦 潤腸胃 滋養強壯 抗衰老 健腦 溫肺定喘 補氣養血 潤燥化痰 通潤血脈 潤肌 利小便 등의 效能이 있다.<sup>19-23,37,38)</sup> 그러므로 腰痛脚弱 陽痿 遺精 腎虛 咳嗽 등의 治療에 活用되어 왔으며,<sup>19,22,37,38)</sup> 虛損 陽痿를 治療하는 膈肭補天丸과 腎虛腰痛을 治療하는 靑娥元 등의 구성 藥物에 속한다.<sup>39)</sup> 주성분은 지방, 단백질, 당분, 회분 및 vitamin A,B,C,E 등으로 알려져 있고,<sup>19,22)</sup> 胡桃油 藥鍼이

鎮痛 效果를 나타낸다는 실험 보고가 있다.<sup>40)</sup>

이 실험에서는 胡桃藥鍼液이 抗酸化 效能을 가지고 있는 지를 확인하기 위하여 腎臟 및 肝을 포함한 여러 조직에서 유해산소기들에 의한 細胞 損傷 기전을 연구하는데 자주 이용되고 있는 oxidant인 t-BHP와 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>41,42)</sup>를 처리하여 細胞 損傷이 유발된 腎臟 組織에서 胡桃藥鍼液의 效果를 관찰하였다.

胡桃藥鍼液은 0.5에서 10% 농도에서 t-BHP 뿐만 아니라 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의한 LDH 유출을 현저하게 감소시킴으로서 oxidant에 의한 腎臟 細胞 損傷을 유의하게 감소시키는 效果를 가지고 있음을 보였다. 또한 胡桃藥鍼液은 oxidant를 처리하지 않은 상태에서도 LDH 유출을 현저하게 감소시킴으로써 정상 조직에서도 細胞를 보호하는 效果가 있음을 알 수 있었다.

Oxidant들이 細胞 損傷을 일으키는 기전 중의 하나는 脂質의 過酸化이기 때문에<sup>43)</sup> 일반적으로 脂質의 過酸化 정도를 측정하여 oxidant에 기인된 細胞 損傷인 지를 확인하고 있다. 따라서 oxidant에 의한 細胞 毒性을 방지하는 藥物들은 oxidant에 의한 脂質의 過酸化를 감소시키는 效果를 가지고 있음은 잘 알려진 사실이다.

脂質의 過酸化에 對한 影響을 관찰한 실험에서 胡桃藥鍼液은 t-BHP와 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의한 脂質의 過酸化를 有意하게 감소시켰다. 따라서 胡桃藥鍼液은 脂質의 過酸化를 억제함으로써 細胞 損傷을 방지하는 效果를 나타낼 가능성을 보였다.

이상의 결과를 종합해 보면 胡桃藥鍼液의 補腎 效能이 抗酸化作用을 나타내어 질병 치료와

老化防止에 활용될 수 있을 것으로 여겨진다. 그러나 어떤 기전으로 oxidant에 의한 細胞 損傷을 보호하고 脂質의 過酸化를 억제할 수 있는지는 더욱 추구해 보아야 밝혀질 것으로 사료된다.

## V. 結 論

胡桃藥鍼液이 산소유리기들에 의한 細胞 損傷을 방지할 수 있는지를 확인하기 위하여 腎臟 조직에서 oxidant인 t-butylhydroperoxide(t-BHP)와 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의한 細胞 損傷에 대한胡桃藥鍼液의 효과를 관찰하였다.

胡桃藥鍼液은 0.5%에서 10% 농도 범위에서 농도에 비례하여 oxidant에 의한 LDH 유출을 현저하게 감소시켰으며, oxidant를 처리하지 않은 정상 조직에서도 LDH 유출을 감소시켰다. 5%胡桃藥鍼液은 t-BHP를 5 mM까지 그리고 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 200 mM까지 증가시켰을 때도 LDH 유출을 유의하게 방지하였다.胡桃藥鍼液은 0.5%에서 10% 농도 범위에서 농도에 비례하여 t-BHP와 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의한 脂質의 過酸化를 현저하게 억제하였다.

이러한 결과는胡桃藥鍼液이 腎臟 組織에서 oxidant에 의한 細胞 損傷과 脂質의 過酸化를 방지하는 효과를 나타냄을 가르킨다. 그러나 그 정확한 작용 기전을 밝히기 위해서는 더 많은 연구가 필요한 것으로 사료된다.

## 參 考 文 獻

1. Floyd RA : Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia. FASEB J, 4:2587-2597, 1990.
2. Reiter RJ : Oxidative processes and antioxidative defense mechanisms in the ageing brain. FASEB J, 9:526-533, 1995.
3. Halliwell B : Oxidants and the central nervous system : some fundamental questions. Is oxidant damage relevant to Parkinson's disease, Alzheimer's disease, traumatic injury or stroke? Acta Neurol Scand, 126:23-33, 1989.
4. Halliwell B, Gutteridge JMC and Cross CE : Free radicals, antioxidants, and human disease : Where are we now? J Lab Clin. Med, 119:598-620, 1992.
5. Jaeschke H : Mechanisms of oxidant stress-induced acute tissue injury. Proc Soc Exp Biol Med, 209:104-111, 1995.
6. Paller MS and Neumann TV : Reactive oxygen species and rat renal epithelial cells during hypoxia and reoxygenation. Kid Int, 40:1041-1049, 1991.
7. Rehan A, Johnson KJ, Wiggins RC, Kunkel RG and Ward PA : Evidence for the role of oxygen free radicals in acute nephrotoxic nephritis. Lab Invest, 51 :



- 396-403, 1984.
8. Walker PD and Shah SV : Evidence of the role of hydroxyl radical in gentamicin-induced acute renal failure in rats. *J Clin Invest*, 81:334-341, 1988
  9. Freeman BA and Crapo JD : Biology of disease. Free radicals and tissue injury. *Lab Invest*, 47:412-426, 1982.
  10. Halliwell B : Antioxidant characterization. Methodology and mechanism. *Biochem Pharmacol*, 49:1341-1348, 1995.
  11. 梁曉春 外 : 腎虛,衰老與自由基的關係以及補腎藥對自由基的影響, 中西醫結合雜誌 10(8):511-512, 1990.
  12. 余月明 外 : 自由基衰老學說,腎虛與衰老及補腎抗衰老研究, 陝西中醫 14(4):187-188, 1993.
  13. 陳晏珍 外 : 腎虛與超氧化物歧化酶關係初探, 中醫雜誌 30(4):42, 1989.
  14. 許沛虎 外 : 中醫藥研究中有關自由基研究近況, 中西醫結合雜誌 15(3):185-188, 1995.
  15. 李獻平 外 : 四大懷藥延緩衰老作用的研究, 中西醫結合雜誌 11(8):486-487, 1991.
  16. 李 爲 外 : 口服枸杞子對老年人血中超氧化物歧化酶,血紅蛋白和過氧化脂質含量的動態觀察, 中草藥 22(6):251,268, 1991.
  17. 曾一飛 外 : 補腎抗衰口服液抗自由基損傷的實驗研究, 四川中醫 10:12-14, 1992.
  18. 李春生 : 中國傳統延緩衰老藥物的現代研究概述, 中醫雜誌 29(1):59-62, 1988.
  19. 李尚仁 : 本草學, 醫藥社, p.91, 1980.
  20. 唐慎微 編著 : 重修政和經史證類備用本草, 大成文化社, p.478, 1983.
  21. 吳儀洛 : 本草從新, 上海科學技術出版社, pp.203-204, 1982.
  22. 王其飛, 王瑞廷 編著 : 中醫長壽學, 遼寧科學技術出版社, pp.340-342, 1989.
  23. 李時珍 : 本草綱目, 文光圖書公司, p.1032, 1980.
  24. 錢百炎 外 : 中草藥注射劑, 上海科學技術出版社, pp.71-93,130-132, 1981.
  25. Phelps JS, Gandolfi AJ, Brendel K and Dorr RT : Cisplatin nephrotoxicity: In vitro studies with precision-cut rabbit renal cortical slices. *Toxicol Appl Pharmacol*, 90:501-512, 1987.
  26. Ricardo SD, Bertram JF and Ryan GB : Reactive oxygen species in puromycin aminonucleoside nephrosis : In vitro studies. *Kid Int*, 45:1057-1069, 1994.
  27. Uchiyama M and Mihara M : Determination of malonaldehyde precursor in tissue by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem*, 86: 271-278, 1978.
  28. Bradford, M. M. : A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem*. 72:248-524. 1976

29. Harman D : Free radical theory of aging, Role of free radicals in the organization and evolution of life, aging and disease processes. Free Radicals, Aging and Degenerative Disease (ed. Johnson, J.E. et al.), Alan R.Liss.Inc., Newyork, pp.3-49, 1986.
30. Milan L., Jozef R., Viliaan K., Peter P. and Ladislav V. : Free Radicals in Chemistry and Biology, CRC Press, pp.29-31,283-284, 1989.
31. Downey JM : Free radicals and their involvement during long-term myocardial ischemia and reperfusion. Ann Rev Physiol, 52:487-504, 1990.
32. Greenwald RA : Therpeutic usages of oxygen radical scavengers in human diseases: myths and realities. Free Rdical Res Commun, 12-13:531-538, 1991.
33. Aruoma OI, Halliwell B, Butler J, and Hoey BM : Apparent inactivation of  $\alpha$ -antiproteinase by sulphur-containing radicals derived from penicillamine. Biochem Pharmacol, 38:4353-4357, 1989.
34. Aruoma OI, Evans PJ, Kaur H, et al. : An evaluation of the antioxidant and potential prooxidant properties of food additives and trolox C, vitamin E and probucol. Free Redical Res Commun, 10:143-157, 1991.
35. 杜鎬京 : 東醫腎系學(上), 東洋醫學研究院, pp.10-11, 1993.
36. 郭忠興 外 : 丹參對老齡小鼠SOD和LPO的影響, 中成藥 15(11):27-28, 1993.
37. 申佶求 : 申氏本草學, 壽文社, pp.63-65, 1982.
38. 江蘇中醫學院 編 : 中藥大辭典, 上海科學技術出版社, pp.1544-1546, 1988.
39. 許 浚 : 東醫寶鑑, 南山堂, p.278,316, 1981.
40. 吉村永星, 姜成吉 : 荏油 및 胡桃油水鉞의 鎮痛效果에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集 10:151-168, 1987.
41. Farber JL, Kyle ME and Coleman JB : Biology of disease. Mechanisms of cell injury by activated oxygen species. Lab Invest, 62:670-679, 1990.
42. Schnellmann RG : Mechansims of t-butylhydroperoxide-induced toxicity to rabbit renal proximal tubules. Am J Physiol, 255:C28-C33, 1988.
43. Sies H : Biochemistry of oxidant stress. Angew Chem Int Ed, 25:1058-1071, 1986.

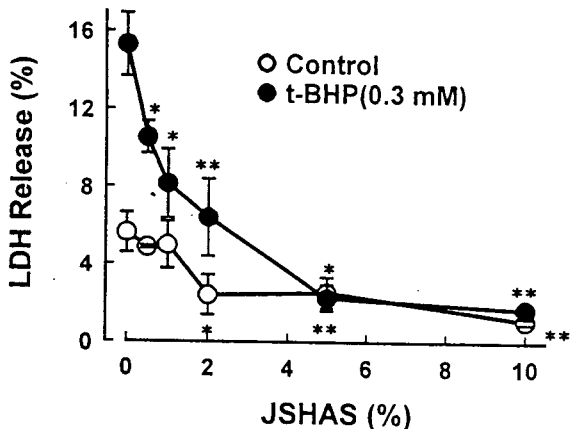


Fig. 1. Effect of various concentrations of JSHAS on LDH release induced by t-BHP in rabbit renal cortical slices. LDH release was measured for 60 min at 37°C in the presence or absence of 0.5 mM t-BHP. Data are mean  $\pm$  SE of four determinations. \*\* p < 0.01 compared with the control (0 JSHAS).

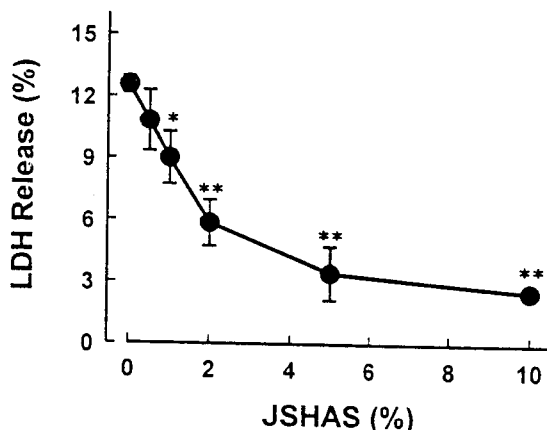


Fig. 3. Effect of JSHAS on LDH release induced by various concentrations of t-BHP. LDH release was measured for 60 min at 37°C in the presence or absence of 0.2-2 mM t-BHP. Data are mean  $\pm$  SE of four determinations. \*\* p < 0.01 compared with the control.

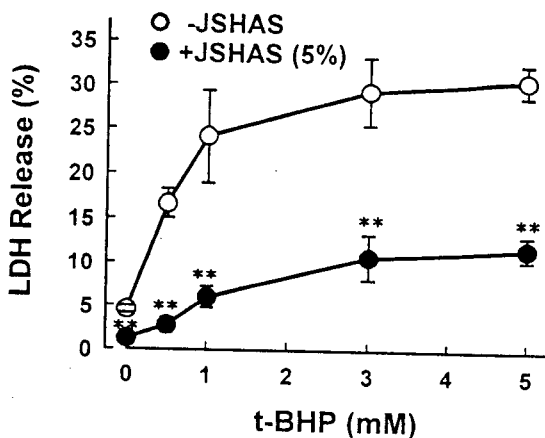


Fig. 2. Effect of dimethyl sulfoxide(DMSO) on LDH release in control and t-BHP-treated slices. LDH release was measured for 60 min at 37°C in the presence of 0.5 mM t-BHP alone or t-BHP plus 2.5% DMSO. Data are mean  $\pm$  SE of three determinations. NS : nonsignificant difference.

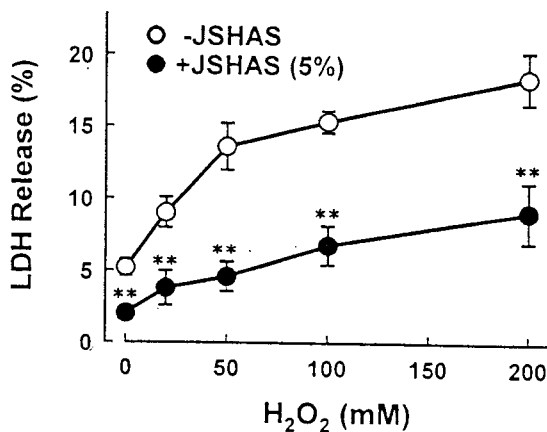


Fig. 4. Effect of JSHAS on LDH release induced by various concentrations of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. LDH release was measured for 60 min at 37°C in the presence or absence of 20-200 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Data are mean  $\pm$  SE of four determinations. \* p < 0.05, \*\* p < 0.01 compared with the control

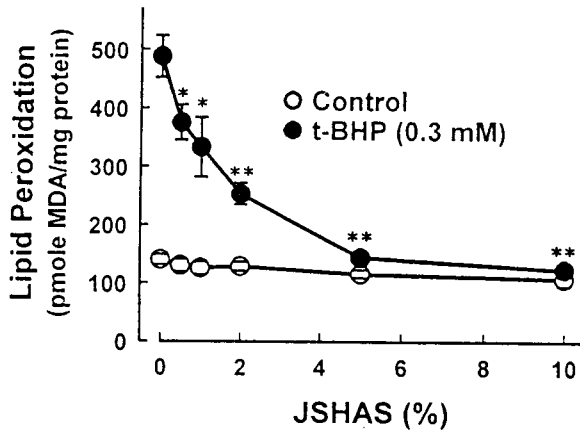


Fig. 5. Effect of various concentrations of JSHAS on lipid peroxidation induced by t-BHP in rabbit renal cortical slices. Lipid peroxidation was measured for 60 min at 37°C in the presence or absence of 0.5 mM t-BHP. Data are mean ± SE of four determinations.

\*\* p<0.01 compared with the control (0 JSHAS).

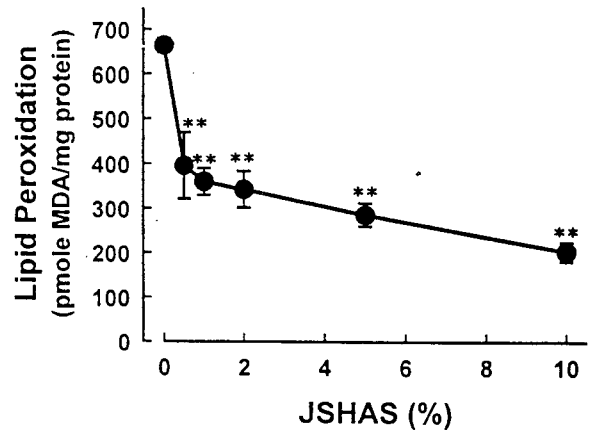


Fig. 6. Effect of JSHAS on lipid peroxidation induced by various concentrations of t-BHP. Lipid peroxidation was measured for 60 min at 37°C in the presence or absence of 0.2-2 mM t-BHP. Data are mean ± SE of four determinations.

\* p<0.05 compared with the control.