

# 老化過程의 흰쥐에서 醒心散이 心臟의 代謝酵素系에 미치는 影響

郭重文 · 吳旼錫 · 宋泰元\*

## Abstract

### A Study on the Effects of Sungshimsan on the Heart Lipid Peroxide and Metabolic Enzyme System in Senescence Induced Rats

Kwak Jung-mun · Oh Min-Suck · Song Tae-won  
Dept. of Oriental Medicine Graduate School, Tae-jeon University

Aging occurs as a part of maturation as the time progresses which manifests in the human body causing morphological and functional degeneration, eventually leading to death. This experimental study was conducted to investigate a herbal formula to fortify the heart with easy clinical applications. Sungshimsan was chosen to study its effects in heart lipid peroxide and metabolic enzyme system in senescence induced rats. After pre-treatment of Sungshimsan for 2 weeks at the dosage of A (100mg/kg), B (250mg/kg), C (350mg/kg), and D (500mg/kg), a lipid peroxide and metabolic enzyme system changes of the heart were measured in 32 weeks old rats.

The following results were obtained in this study:

1. The contents of lipid peroxide was significantly reduced in the experimental groups treated with greater than 2 weeks at 250mg/kg.
2. The enzymatic activity of cytochrome P-450, cytochrome b5, and NADPH-cytochrome P450 reductase were significantly decreased in the 250mg/kg, 350mg/kg, and 500mg/kg experimental groups.
3. The activity of glutathione and glutathione S-transferase were significantly increased in the 250mg/kg, 350mg/kg, and 500mg/kg experimental groups.
4. The activity of glutathione reductase and glutathione peroxidase were not influenced compared to the control group.
5. The activity of  $\gamma$ -glutamylcystein synthetase was significantly increased in the 250mg/kg, 350mg/kg, and 500mg/kg experimental groups.
6. The activity of enzymes detoxification superoxide dismutase and catalase were not influenced

---

\* 大田大學校 韓醫科大學 再活醫學教室

compared to the control group.

Summarizing above results suggest that the Sungshimsan has profound effects in the heart lipid peroxide, free radicals, and delaying the heart aging process. Further clinical researches and application can be anticipated on the topic of senility and gerontology.

## I. 緒 論

老化란 人間の 生成과 成長 및 成熟 過程 後 時間의 흐름에 따라 나타나는 形態的, 機能的인 衰退로 死亡에 歸着되는 生理的인 現象을 말하는데<sup>1-3)</sup>, 老化에 대한 韓醫學의 原因說은 陰陽學說, 形神說, 氣血學說 및 腎氣說 등이 있는데, 人體의 衰退를 陰陽, 臟腑, 氣血, 經絡 및 精神의 變化로 보고 있다<sup>1-5)</sup>.

西洋醫學에서는 老化의 原因에 대해 生理學의 原因으로 恒常性의 과탄, 適應力의 缺陷, 反應力의 變化, 臟器들의 豫備力 減少說 등을, 生物學의 原因으로 消耗說, 新進代謝速度說, 生氣說, 衝擊說, 中毒說, 臟器의 原發性萎縮說, 細胞學說, 突然變異說, 細胞遺傳學說, 自己免疫說 등을, 形態學의 原因으로 結合組織 및 組織再生機能의 老化, 細胞數 및 核의 變化와 老化 등을, 生化學的 原因으로 collagen의 老化, 酵素作用 障礙說, 自由遊離基說 등을 提示하고 있다<sup>5-13)</sup>.

이 中 自由遊離基說(free radical theory)은 老化가 進行되는 동안 酸素에서 由來된 free radical에 의해 細胞內 酸化의 損傷이 蓄積되어 疾病과 老化가 招來한다는 說로<sup>12-18)</sup>, 老化의 程度와 抗老化의 效果를 測定하는 基準으로 應用하기 쉬워 많은 研究가 進行되고 있는 分野이다. 이와 關聯되어 現在까지 發表된 韓醫學 分野의 研究들을 分類하면 單味劑<sup>19-21)</sup>, 複合 處方<sup>22-30)</sup>, 藥針液<sup>31-41)</sup> 및 理學的 因子를 利用한 研究<sup>42)</sup> 등으로 區分할 수 있는데, 實驗動物, 實驗條件 및 實驗內容 등에 多少 差異가 나며, 藥物이나 複合處方 등의 選擇에 있어서도 補腎하는 藥物 및 處方이 主從을 이루고 있고 他 臟腑와 關聯된 研究 또한 未洽한 實情이다.

한편, 老化現象도 先天的인 要因과 後天的인 環境 및 攝生에 따라 差異를 나타내며<sup>4)</sup> 老年의 生理

特性이 “五臟皆虛”임에<sup>6)</sup> 着眼하여, 本 教室에서는 韓國의 醫家가 選輯한 韓方醫書中 가장 有名한<sup>43)</sup> 《東醫寶鑑》의 〈內景篇〉에 收載된 各 臟腑를 補하는 代表的인 處方들이 老化過程의 臟器變化에 어떠한 影響을 미치는 가를 實驗的으로 立證하기 위하여, 同一한 條件과 方法으로 過酸化脂質 및 代謝酵素系에 미치는 研究를 試圖하였는 바, 그 一環으로 心臟과의 關係를 살펴보았다.

心臟은<sup>44)</sup> 《黃帝內經》에서 “五臟六腑之大主” “心主神之血脈” “諸血者 皆屬於心” “心動則 五臟之府 皆搖” “心之生之本 神之變” 이라 하였는데, 그 重要性에 비하여 心臟과 關聯된 複合處方의 報告로는 定志丸<sup>24)</sup>과 聰明湯<sup>30)</sup> 뿐으로 老化過程의 心臟 代謝酵素系에 대한 研究는 없었다.

이에, 著者는 《東醫寶鑑》에 收載된 補心處方 中 臨床的으로 쉽게 活用할 수 있는 藥劑들로 構成된 醒心散<sup>45)</sup>을 選定하여, 醒心散 煎湯液이 老化 흰쥐 (32週齡 500g 內外)의 心內 過酸化脂質 및 代謝酵素系에 미치는 影響을 實驗的으로 觀察한 結果 有意性 있는 成果를 얻었기에 報告하는 바이다.

## II. 實 驗

### 1. 材料

#### 1) 試藥 및 器具

試藥中 reduced glutathione, glutathione reductase, thiobarbituric acid sodium, N-1-naphthylendiamine, sodium dodecyl sulfate, thiobarbituric acid, EDTA, trichloroacetic acid, ninhydrin, cysteine, glutathione, glycerol, sodium cholate, Triton N-101, sodium dithionite, NADH, dichlorophenolindophenol, NADPH, bovine serum albumin, sulfonamide, glutathione, dichlorophenolindophenol는 Sigma社 製品,

malondialdehyde, l- $\alpha$ -aminobutyric acid는 Aldrich사로부터 購入하였으며, 그의 試藥은 特級 또는 一級試藥을 使用하였다. 實驗에 使用한 機器로는 Spectrophotometer(Shimadzu UV-240), High centrifuge(Hanil, HMR-1610V), Ultra centrifuge (Hitachi, 695-7), Cold Lab. Chamber(Korean Manhattan, KMC-8512)등 이었다.

2) 材料

(1) 藥材

本 實驗에 使用한 醒心散은 大田大學校 附屬 韓方病院에서 購入하여 嚴選한 것을 使用하였으며, 處方은 東醫寶鑑에 收劑된 醒心散<sup>45,46)</sup>으로 1貼의 處方內容과 重量은(各 藥物의 重量은 各 等分으로 記載되어 있어 本 實驗에서는 便宜上 各 4g씩으로 算定함) 다음과 같다.

Prescription of SungShimSan(SSS)

韓藥名	生藥名	重量(g)
人蔘	Ginseng Radix	4
麥門冬	Liripis Tuber	4
五味子	Schizandrae Fructus	4
遠志	Polygalae Radix	4
白茯苓	Poria Cocos Wolff	4
生地黃	Rehmanniae Radix	4
石菖蒲	Acori Graminei Rhizoma	4
Total amount		28

(2) 動物

實驗動物로는 韓國實驗 動物開發로 부터 分讓받은 雄性 Sprague-Dawley系 正常흰쥐(週齡 8週齡, 180±10g) 및 老化흰쥐(週齡 32週, 550±10g)를 實驗室에서 1週日 동안 一定한 條件(溫度: 20±2°C, 濕度: 50%, 明暗: 12時間 light/dark cycle)에서 飼育한 後 使用하였다. 對照群은 同一量의 生理食鹽水를 投與하였다. 實驗動物은 實驗前 24時間 물만 주고 絶食시켰다.

2. 方法

1) 檢液의 製造

醒心散의 20貼 分量 560g을 水洗하여 蒸溜水로 8時間씩 3回 加熱 抽出하고 吸引 濾過한 後, 餘液을 rotary evaporator(Eyela, M-N, 日本)로 減壓濃

縮하여 稠粘狀의 抽出物은 冷凍乾燥器(Eyela, FD-5X, 日本)에서 乾燥하여 粉末 94.2g을 얻어, 本 實驗에서 必要로 하는 濃度로 生理食鹽水에 溶解하여 使用하였다.

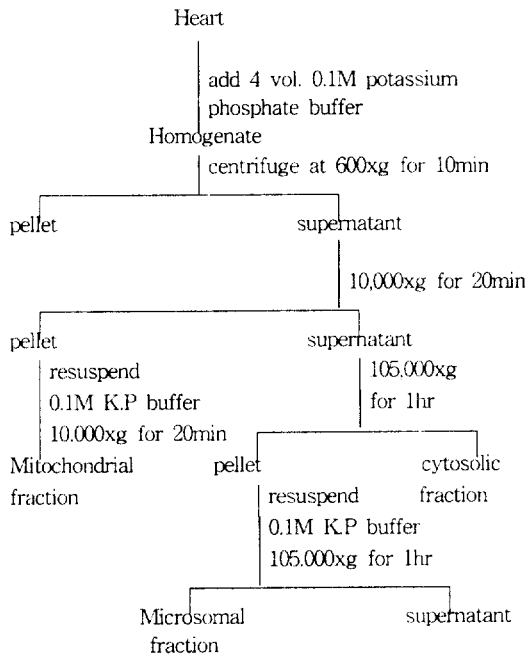
2) 檢液의 投與

檢液의 投與는 正常흰쥐 10마리 1群과 老化흰쥐 10마리를 5群으로 나누어 全期間 동안 正常 흰쥐에 生理食鹽水만 투여한 正常群(Normal), 老化 흰쥐에 生理食鹽水만 投與한 對照群(Control), 老化 흰쥐에 豫備實驗에 準하여 醒心散의 濃度를 100mg/kg으로 하여 2週間 投與한 群(SSS A), 醒心散의 濃度를 250mg/kg 으로 하여 1週間 投與한 群(SSS B), 醒心散의 濃度를 350mg/kg 으로 하여 1週間 投與한 群(SSS C), 醒心散의 濃度를 500mg/kg 으로 하여 1週間 投與한 群(SSS D)으로 各各 區分하였다.

3) 酵素源의 調製

實驗動物을 CO<sub>2</sub> gas로 麻醉시킨 後 腹部正中線을 따라 切開하고 腹部大動脈을 通하여 失血死 시킨 後, 心臟은 生理食鹽水로 貫流하여 血液을 除去한 心臟을 摘出하여 濾紙로 血液 및 其他 異物質을 除去하고 摘出하여, 濾紙로 血液 및 其他 附着物質을 除去한 다음, 組織 1g當 1配量의 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.5)를 加하여 glass teflon homogenizer로 磨碎 하였다. 이 磨碎液을 600xg에서 10分間 遠心分離하여 核 및 未磨碎 部分을 除去한 上騰液을 10,000xg에서 20分間 遠心分離하였다. 이 上騰液 105,000xg에서 1時間 超遠心分離하여 cytosolic fraction을 얻고, 12,000xg에서 20分間 遠心分離하여 mitochondrial fraction을 얻었다. 그 沈澱物에 同一한 量의 0.1M potassium phosphate buffer를 加하여 懸濁 시킨후 그 液을 microsomal fraction으로 하였다. 磨碎液은 脂質過酸化 및 glutathione의 含量을 測定하였으며, Cytosolic fraction은 superoxide dismutase, glutathione peroxidase, glutathione S-transferase, glutathione reductase 및  $\gamma$ -glutamylcystein synthetase活性的 酵素源으로, microsomal fraction은 cytochrome P-450, cytochrome b5, NADPH-cytochrome P450活性 測定에 使用하였

다. 한편 mitochondria 分劃은 catalase의 活性 測定 酵素源으로 使用하였다. 以上の 모든 操作은 따로 規定이 없는 한 4°C 以下에서 行 하였다 (Scheme I).



Scheme I. Preparation of mitochondrial, microsomal and cytosolic fractions

4) 心臟 組織中 脂質過酸化의 含量 測定

Ohkawa등의 方法<sup>47)</sup>에 準하여 心 組織 1g당 1 配量의 生理食鹽水를 加해 磨碎하고 이 磨碎液에 8.1% sodium dodecyl sulfate와 20% acetate buffer(pH 3.5)및 發色의 目的으로 0.8% thiobarbituric acid를 加한後 95°C에서 1時間 동안 反應 시킨 후 室溫에서 冷却 시켜 n-BuOH: Pyridine(15:1)을 添加하여 15分間 遠心分離 시킨 후 紅色의 n-BuOH : pyridine層을 取하여 波長 532nm에서 그 吸光度를 測定하여 標準曲線에서 그 含量을 心臟 組織 1g當 malondialdehyde n mole로 表示하였다.

5) 心臟 組織中 glutathione의 含量 測定

Ellamn의 方法<sup>48)</sup>을 약간 變更하여 10% 心臟組織 1ml에 1mM EDTA가 含有된 5% trichloroacetic acid를 加하여 遠心分離한 후 上騰

液 0.5ml를 取하여 0.5ml ninhydrin 試藥을 家한後 10分間 加熱하여 冷水에 冷却하고서 560nm에서 吸光度를 測定하였다. 이곳에서 non-protein-SH에서 cysteine을 制限값을 glutathione의 量으로 하였다.

6) 酵素活性의 測定

(1) Cytochrome P-450의 含量 測定

Omura와 Sato등의 方法<sup>49)</sup>에 準해 試驗管에 1 mM EDTA, 20% glycerol, 0.5% sodium cholate 및 0.4% Triton N-101이 含有된 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.4)에 microsomal suspension(1 mg protein/ml)을 添加한後 sodium dithionite를 넣고 混合한 다음 CO gas를 1分間 bubbling시킨다. Bubbling이 끝난 後 400-500nm에서 吸光度를 測定하고 450-490nm에서 吸光度의 差異를 cytochrome P-450 CO complex에 의한 吸光量 吸光計數 91 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>을 利用하여 算定하였다.

(2) Cytochrome b5 含量 測定

Omura와 Sato등의 方法<sup>49)</sup>을 약간 變更하여 cytochrome b5의 還元形과 酸化形 사이의 吸光度를 測定하였다. 즉 microsomal 溶液을 0.1M phosphate buffer(pH 7.0)로 稀釋시킨 다음 NADH 溶液을 넣어 NADH 最終濃度가 0.2mM이 되도록 한 다음 424nm와 409nm에서 吸光度를 測定하였다. 이때의 molar extinction coefficient는 185mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>로 하였다.

(3) NADPH-cytochrome P450 含量 測定

Dichlorophenolindophenol(DCIP)의 吸光度 減少를 600nm에서 1分間 觀察하여 活性度를 算定하였다. 즉 microsomal 溶液을 0.05M phosphate buffer(pH 7.7, 10<sup>-4</sup>M EDTA 含有)로 稀釋시켜 1 mg/ml의 蛋白質 濃度로 만든 다음 semimicro cell內에서 稀釋溶液이 DCIP 96x10<sup>-9</sup>M이 含有되도록 하고 10<sup>-3</sup>M NADPH 溶液을 加하여 最終 부피가 1.1ml 되도록 하고 이때 NADPH 溶液을 넣은後 30°C에서 1分間 吸光度의 減少를 測定하여 molar extinction coefficient는 21mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>로 하였다.

(4) Glutathione S-transferase의 活性 測定

Habig등의 方法<sup>50)</sup>에 準하여 反應液 3.5ml에

0.1M potassium phosphate buffer(pH 6.5)에 1mM glutathione, 1mM 1-chloro 2,4-dinitrobenzene 및 0.1ml 酵素液을 가하여 25°C 에서 2분간 反應 시킨 후 이때 生成되는 thioether 를 340nm에서 吸光度의 變化를 읽고 吸光計數 9.6  $\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 을 利用하여 酵素의 活性度를 算定 하였다.

(5) Superoxide dismutase의 活性 測定

7.5mM xanthine 50 $\mu\text{l}$ 와 10mM hydroxylamine hydrochloride 50 $\mu\text{l}$ 에 濃度別 稀釋 試料 0.5ml, blank로써 65mM P.B.(pH 7.8) 0.5ml를 取해 37°C 에서 10分間 preincubation시켰다. 0.42unit/ml의 xanthine oxidase를 0.2ml 가한 후 20分間 incubation시키고 sulfanilamide溶液 1ml와 naphthylethylenediamine 1ml를 加하여 室溫에서 20分間 放置 後 540nm에서 吸光度를 測定하여 총 SOD活性을 구한 뒤 4mM KCN을 0.2ml 넣고 測定한 Mn-SOD값을 除하여 Cu, Zn-SOD 값을 구 하였다.

(6) Catalase의 活性 測定

50mM phosphate buffer(pH 7.0) 1.5ml에 酵素 源100 $\mu\text{l}$ 를 加하고 30mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  溶液의 3배 稀釋液 을 1ml 가하여 240nm에서 吸光度 變化를 2分間 觀察하여 測定하였다.

(7) Glutathione peroxidase의 活性 測定

Paglia와 valentine의 方法<sup>51)</sup>에 準하여 0.75mM hydrogen peroxide, 6mM NADPH 및 40mM glutathione이 含有된 0.1M Tris buffer(pH 7.5) 中에서 酵素液을 加하여 波長 340nm에서 吸光度를 測定하고 標準 檢量線에 準하여 活性度를 算定 하였다. 酵素活性의 單位는 1분당 1mg protein이 生成하는 NADP의 量을 nmole로 表示하였다.

(8) Glutathione reductase의 活性 測定

Mize과 Langdon의 方法<sup>52)</sup>에 準하여 反應液 3.0 ml中 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.5), 0.94 mM EDTA, 4.6 mM oxidized glutathione, 0.16mM NADPH 및 酵素系(400-600 $\mu\text{g}$  蛋白質)을 加하여 37°C에서 10分間 反應시킨 후 340nm에서 NADPH의 減少되는 量을 測定하였다.

(9)  $\gamma$ -Glutamylcystein synthetase의 活性 測定

Richman과 Meister의 方法<sup>53)</sup>에 準하여 反應液 3.5ml중 0.1M tris HCl buffer(pH 8.0), 8.9mM L-glutamin acid, 0.94mM EDTA, 3.2mM  $\text{MgCl}_2$ , 1.35mM ATP와 酵素系(100-300 $\mu\text{g}$  蛋白質)을 加하여 37°C에서 10分間 反應시킨 후 spectrophotometer를 利用하여 吸收度 600nm에서 酵素의 活性을 測定하였다.

7) 蛋白質 定量 및 統計處理

蛋白質의 含量은 Lowry등의 方法<sup>54)</sup>에 準하여 bovine serum albumin(Sigma Fr. V)을 標準品으로 하여 測定하였으며, 本 實驗에서 얻어진 結果는 平均置  $\pm$  標準偏差로 表示하였고, 統計的 有意性 檢證은 Duncan's multiple range test를 利用 하였다.

### III. 成 績

1. 心臟 組織中 過酸化脂質 含量에 미치는 影響

醒心散의 抽出物의 投與 用量 및 期間을 設定하기 위한 豫備 實驗으로 用量別(100, 150, 250, 350, 500mg/kg)로 1週에서 4週間 投與하고서 心臟 組織中 脂質過酸化의 含量을 測定하였다(Table 1). 250 mg/kg을 2週間 投與한 경우 顯著히 增加되던 脂質 過酸化의 含量이 抑制되었으며, 豫備實驗에서 그 以上의 期間에서 用量에 比例한 有意性 있는 變化는 없었다. 따라서 以後의 實驗에서는 醒心散 抽出物을 100, 250, 350, 500mg/kg씩 2週間 投與하였다.

心臟 組織中 過酸化脂質의 含量(單位:MDA nmole/g of tissue)을 測定한 結果, 正常群 50.2 $\pm$  6.27에 對하여 對照群이 89.3 $\pm$ 7.26으로 나타난 것 과 比較하여, 醒心散을 2週間 250mg/kg, 350mg/kg, 500mg/kg 實驗群에서 66.0 $\pm$ 5.96, 68.7 $\pm$ 4.05, 64.4 $\pm$  3.97로 有意性 있는 減少를 나타내었다(Table 1, Fig. 1).

2. Cytochrome P-450의 活性에 미치는 影響

Cytochrome P-450의 活性(單位: nmole/mg protein/min)을 測定한 結果, 正常群 100%(0.42 $\pm$  0.032)에 對하여 對照群은 233%(0.98 $\pm$ 0.045)로 增

Table 1. Effect of water extract from Sungshimsan(SSS) on heart lipid peroxide content in eight month rats

Group	Dose (mg/kg)	Content(MDA nmole/g of tissue)			
		0	1	2	3 4(week)
Normal					50.2±6.27 <sup>a</sup>
Control					89.3±7.26 <sup>b</sup>
SSS A	100	91.6±8.36 <sup>b</sup>	86.9±4.95 <sup>b</sup>		79.9±4.07 <sup>a,d</sup>
B	250	88.6±5.27 <sup>b</sup>	66.0±5.96 <sup>c</sup>		65.7±6.21 <sup>c</sup>
C	350	93.7±6.24 <sup>b</sup>	68.7±4.05 <sup>c</sup>		61.2±5.46 <sup>c,e</sup>
D	500	85.2±5.26 <sup>b</sup>	64.4±3.97 <sup>c</sup>		68.7±7.63 <sup>c</sup>

Rats were orally administered water extract from Sungshimsan(0, 100, 250, 350, 500mg/kg) daily for one to four weeks, and the animals were decapitated 24hr after administration of last treatment of extract. The assay procedure was described in the experimental methods.

Values represent mean ± S.D.(n=8). Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other(p<0.05) by Duncan's multiple range test.

加되어진 것과 比較하여, 醒心散 煎湯液 250mg/kg, 350mg/kg, 500mg/kg 實驗群에서 各各 150%(0.63±0.040), 160%(0.67±0.062), 131%(0.55±0.058)로 有意性 있는 減少를 나타내었다(Table 2, Fig. 2).

Table 2. Effect of water extract from Sungshimsan(SSS) on heart microsomal cytochrome P450 activity in eight month rats

Group	Dose (mg/kg)	Content nmole/mg protein	Percentage of
			Normal
Normal		0.42 ± 0.032 <sup>a</sup>	100%
Control		0.98 ± 0.045 <sup>b</sup>	233%
SSS A	100	0.87 ± 0.025 <sup>b</sup>	207%
B	250	0.63 ± 0.040 <sup>c</sup>	150%
C	350	0.67 ± 0.062 <sup>c</sup>	160%
D	500	0.55 ± 0.058 <sup>d</sup>	131%

Rats were orally administered water extract from Sungshimsan(0, 100, 250, 350, 500mg/kg) daily for consecutive two weeks. Rats were decapitated 24hr after the administration of last treatment of extract. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are expressed as mean ± S.D. for eight experiments. Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other(p<0.05) by Duncan's multiple range test.

3. Cytochrome b5 活性에 미치는 影響

Cytochrome b5의 活性 (單位: nmole/mg protein/min)을 測定한 結果, 正常群 100%(0.256±0.021)에 對하여 對照群은 182%(0.465±0.048)로 增加되어진 것과 比較하여, 醒心散 煎湯液 250mg/kg, 350mg/kg, 500mg/kg 實驗群에서 各各 122%(0.312±0.047), 119%(0.304±0.050), 125%

(0.322±0.039)로 有意性 있는 減少를 나타내었다 (Table 3, Fig. 3).

Table 3. Effect of water extract from Sungshimsan(SSS) on the heart microsomal cytochrome b5 content in eight month rats

Group	Dose (mg/kg)	Content nmole/mg protein	Percentage of
			Normal
Normal		0.256 ± 0.021 <sup>a</sup>	100%
Control		0.465 ± 0.048 <sup>b</sup>	182%
SSS A	100	0.502 ± 0.055 <sup>b</sup>	196%
B	250	0.312 ± 0.047 <sup>c</sup>	122%
C	350	0.304 ± 0.050 <sup>c</sup>	119%
D	500	0.322 ± 0.039 <sup>c</sup>	126%

Rats were orally administered water extract from Sungshimsan(0, 100, 250, 350, 500mg/kg) daily for consecutive two weeks. Rats were decapitated 24hr after the administration of last treatment of extract. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are expressed as mean ± S.D. for eight experiments. Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other(p<0.05) by Duncan's multiple range test.

4. NADPH-cytochrome P450 reductase 活性에 미치는 影響

NADPH-cytochrome P450 reductase의 活性(單位: nmole/mg protein/min)을 測定한 結果, 正常群 100%(24.59±1.21)에 對하여 對照群은 199%(48.92±1.34)로 增加되어진 것과 比較하여, 醒心散 煎湯液 250mg/kg, 350mg/kg, 500mg/kg 實驗群에서 各各 136%(33.47±2.01), 129%(31.65±1.26), 119%(29.38±1.03)로 有意性 있는 減少를 나

타내었다(Table 4, Fig. 4).

Table 4. Effect of water extract from Sungshimsan(SSS) on the heart microsomal NADPH-cytochrome P450 reductase activity in eight month rats

Group	Dose (mg/kg)	Content	Percentage of
		nmole/mg protein/min	Normal
Normal		24.59 ± 1.21 <sup>a</sup>	100%
Control		48.92 ± 1.34 <sup>b</sup>	199%
SSS A	100	50.36 ± 1.78 <sup>b</sup>	205%
B	250	33.47 ± 2.01 <sup>c</sup>	136%
C	350	31.65 ± 1.26 <sup>c</sup>	129%
D	500	29.38 ± 1.03 <sup>c</sup>	119%

Rats were orally administered water extract from Sungshimsan(0, 100, 250, 350, 500mg/kg) daily for consecutive two weeks. Rats were decapitated 24hr after the administration of last treatment of extract. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are expressed as mean ± S.D. for eight experiments. Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other(p<0.05) by Duncan's multiple range test.

5. Glutathione의 含量에 미치는 影響

Glutathione의 含量(單位:μ mole/g of tissue)을 測定한 結果, 正常群 100%(3.56±0.21)에 對하여 對照群은 43%(1.54±0.19)로 減少 되어진 것과 比較하여, 醒心散 煎湯液 250mg/kg, 350mg/kg, 500mg/kg 實驗群에서 各各 81%(2.87±0.15), 88%(3.12±0.22), 89%(3.18±0.18)로 有意性 있는 增加를 나타내었다(Table 5, Fig. 5).

Table 5. Effect of water extract from Sungshimsan(SSS) on heart glutathione content in eight month rats

Group	Dose (mg/kg)	Content	Percentage of
		μ mole/g of tissue	Normal
Normal		3.56 ± 0.21 <sup>a</sup>	100%
Control		1.54 ± 0.19 <sup>b</sup>	43%
SSS A	100	1.77 ± 0.10 <sup>b</sup>	50%
B	250	2.87 ± 0.15 <sup>c</sup>	81%
C	350	3.12 ± 0.22 <sup>c,d</sup>	88%
D	500	3.18 ± 0.18 <sup>d</sup>	89%

Rats were orally administered water extract from Sungshimsan(0, 100, 250, 350, 500mg/kg) daily for consecutive two weeks. Rats were decapitated 24hr after the administration of last treatment of extract.

The assay procedure was described in the experimental methods. Values are expressed as mean ± S.D. for eight experiments. Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other(p<0.05) by Duncan's multiple range test.

6. Glutathione S-transferase의 活性에 미치는 影響

Glutathione S-transferase의 活性(單位: \*nmole/mg protein/min)을 測定한 結果, 正常群 100%(54.9 ± 2.20)에 對하여 對照群은 58%(31.8 ± 1.52)로 減少 되어진 것과 比較하여, 醒心散 煎湯液 250mg/kg, 350mg/kg, 500mg/kg 實驗群에서 各各 79%(43.5 ± 2.36), 88%(48.7 ± 2.97), 84%(45.9 ± 3.11)로 有意性 있는 增加를 나타내었다(Table 6, Fig. 6).

Table 6. Effect of water extract from Sungshimsan(SSS) on the heart glutathione S-transferase activity in eight month rats

Group	Dose (mg/kg)	Activity	Percentage of
		*nmole/mg protein/min	Normal
Normal		54.9 ± 2.20 <sup>a</sup>	100%
Control		31.8 ± 1.52 <sup>b</sup>	58%
SSS A	100	28.3 ± 1.89 <sup>b</sup>	52%
B	250	43.5 ± 2.36 <sup>c</sup>	79%
C	350	48.7 ± 2.97 <sup>c,d</sup>	89%
D	500	45.9 ± 3.11 <sup>c</sup>	84%

Rats were orally administered water extract from Sungshimsan(0, 100, 250, 350, 500mg/kg) daily for consecutive two weeks. Rats were decapitated 24hr after the administration of last treatment of extract. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are expressed as mean ± S.D. for eight experiments. Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other(p<0.05) by Duncan's multiple range test.

\* : 1,2-dinitro-4-nitrobenzene

7. Glutathione peroxidase의 活性에 미치는 影響

Glutathione peroxidase의 活性(單位:oxidized NADPH glutathione nmole/mg protain/min)을 測定한 結果, 正常群 100%(23.7 ± 0.34)에 對하여 對照群은 46%(10.8 ± 0.12)로 減少 되어진 것과 比較하여 全實驗群에서 有意性 있는 變化는 없었다(Table 7, Fig. 7).

Table 7. Effect of water extract from Sungshimsan(SSS) on the heart glutathione peroxidase activity in eight month rats

Group	Dose (mg/kg)	Activity	Percentage of
		nmole/mg protein/min	Normal
Normal		23.7 ± 0.34 <sup>a</sup>	100%
Control		10.8 ± 0.12 <sup>b</sup>	46%
SSS A	100	11.6 ± 0.17 <sup>b</sup>	49%
B	250	12.4 ± 0.26 <sup>b</sup>	52%
C	350	13.8 ± 0.41 <sup>bc</sup>	58%
D	500	10.3 ± 0.23 <sup>b</sup>	43%

Rats were orally administered water extract from Sungshimsan(0, 100, 250, 350, 500mg/kg) daily for consecutive two weeks. Rats were decapitated 24hr after the administration of last treatment of extract.

The assay procedure was described in the experimental methods. Values are expressed as mean ± S.D. for eight experiments. Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other(p<0.05) by Duncan's multiple range test.

\* : oxidized NADPH

8. Glutathione reductase의 활성에 미치는 영향

Glutathione reductase의 활성(單位:glutathione nmole /mg protein /min)을測定한 결과, 正常群 100%(8.86±0.23)에 대하여 對照群은 45%(5.23 ± 0.08)로 減少되어진 것과 比較하여 全實驗群에서의 有意性 있는 變化는 없었다(Table 8, Fig. 8).

Table 8. Effect of water extract from Sungshimsan(SSS) on the heart glutathione reductase activity in eight month rats

Group	Dose (mg/kg)	Activity	Percentage of
		glutathione nmole/mg protein/min	Normal
Normal		11.5 ± 0.26 <sup>a</sup>	100%
Control		5.23 ± 0.08 <sup>b</sup>	45%
SSS A	100	5.37 ± 0.19 <sup>b</sup>	47%
B	250	5.57 ± 0.16 <sup>b</sup>	48%
C	350	5.12 ± 0.11 <sup>b</sup>	45%
D	500	5.30 ± 0.17 <sup>b</sup>	46%

Rats were orally administered water extract from Sungshimsan(0, 100, 250, 350, 500mg/kg) daily for consecutive two weeks. Rats were decapitated 24hr after the administration of last treatment of extract. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are expressed as mean ± S.D. for eight experiments. Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other(p<0.05) by Duncan's multiple range test.

9. γ-Glutamylcystein synthetase의 활성에 미치는 영향

γ-Glutamylcystein synthetase의 활성(單位: pi nmole/mg protein /min)을測定한 결과, 正常群 100%(8.57 ± 0.22)에 대하여 對照群은 42%(3.62 ± 0.14)로 減少되어진 것과 比較하여, 醒心散 煎湯液 250mg/kg, 350mg/kg, 500mg/kg 實驗群에서 各 各 77%(6.59 ± 0.18), 83%(7.12 ± 0.28), 85%(7.28 ± 0.21)로 有意性 있는 增加를 나타내었다(Table 9, Fig. 9).

Table 9. Effect of water extract from Sungshimsan(SSS) on the heart γ-Glutamylcystein synthetase activity in eight month rats

Group	Dose (mg/kg)	Activity	Percentage of
		pi nmole/mg protein/min	Normal
Normal		8.57 ± 0.22 <sup>a</sup>	100%
Control		3.62 ± 0.14 <sup>b</sup>	42%
SSS A	100	3.43 ± 0.20 <sup>b</sup>	40%
B	250	6.59 ± 0.18 <sup>c</sup>	77%
C	350	7.12 ± 0.28 <sup>d</sup>	83%
D	500	7.28 ± 0.21 <sup>d</sup>	85%

Rats were orally administered water extract from Sungshimsan(0, 100, 250, 350, 500mg/kg) daily for consecutive two weeks. Rats were decapitated 24hr after the administration of last treatment of extract. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are expressed as mean ± S.D. for eight experiments. Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other(p<0.05) by Duncan's multiple range test.

10. Superoxide dismutase의 활성에 미치는 영향

心臟內的 Superoxide dismutase 活性(單位:Unit/mg protein)을測定한 결과, 正常群 100%(8.76±0.30)에 대하여 對照群은 61%(5.36 ± 0.26)로 減少되어진 것과 比較하여 全實驗群에서 有意性 있는 變化는 없었다(Table 10, Fig. 10).



Table 10. Effect of water extract from Sungshimsan(SSS) on the heart superoxide dismutase activity in eight month rats

Group	Dose (mg/kg)	Activity	Percentage of Normal
		unit*/mg protein/min	
Normal		8.76 ± 0.30 <sup>a</sup>	100%
Control		5.36 ± 0.26 <sup>b</sup>	61%
SSS A	100	4.87 ± 0.19 <sup>b</sup>	56%
B	250	4.94 ± 0.37 <sup>b</sup>	56%
C	350	5.38 ± 0.30 <sup>b</sup>	61%
D	500	5.12 ± 0.23 <sup>b</sup>	58%

Rats were orally administered water extract from Sungshimsan(0, 100, 250, 350, 500mg/kg) daily for consecutive two weeks. Rats were decapitated 24hr after the administration of last treatment of extract. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are expressed as mean ± S.D. for eight experiments. Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other(p<0.05) by Duncan's multiple range test. \*unit : 1 unit of superoxide dismutase activity was defined as the which inhibited the reduction of alkaline DMSO-mediated cytochrome C by 50%

11. Catalase의 活性에 미치는 影響

Catalase 活性(單位:Unit/mg)을 測定한 結果, 正常群 100%(2.65±0.032)에 對하여 對照群은 40%(1.05±0.020)로 減少되어진 것과 比較하여 全實驗群에서의 有意性 있는 變化는 없었다(Table 11, Fig. 11).

Table 11. Effect of water extract from Sungshimsan(SSS) on the heart catalase activity in eight month rats

Group	Dose (mg/kg)	Activity	Percentage of Normal
		μ mole/mg protein/min	
Normal		2.65 ± 0.032 <sup>a</sup>	100%
Control		1.05 ± 0.020 <sup>b</sup>	40%
SSS A	100	1.26 ± 0.012 <sup>b</sup>	48%
B	250	1.43 ± 0.037 <sup>bc</sup>	54%
C	350	0.98 ± 0.042 <sup>b</sup>	37%
D	500	1.09 ± 0.056 <sup>b</sup>	41%

Rats were orally administered water extract from Sungshimsan(0, 100, 250, 350, 500mg/kg) daily for consecutive two weeks. Rats were decapitated 24hr after the administration of last treatment of extract.

The assay procedure was described in the experimental methods. Values are expressed as mean ± S.D. for eight experiments. Values sharing the

same superscript letter are not significantly different each other(p<0.05) by Duncan's multiple range test.

\* : hydrogen peroxide decreased

IV. 考 察

老化는 옛부터 繼續的으로 研究되어온 重要한 課題中的 하나로서 人間의 壽命이 漸次 延長됨에 따라 老化로 因한 疾患 또한 增加되고 있는 實情이다<sup>55-57)</sup>.

老化란 生命體의 成長과 同時에 時間經過에 따른 連續的인 現象으로 生物學的 過程인 漸進的이고 內的인 退行性變化로서, 構造的, 機能的 變化가 招來되어 外部環境에 대해 反應하는 豫備力과 適應力이 低下되어 形態的 機能的으로 退蓄, 生命力이 減退되는 現象을 意味한다<sup>2,58,59)</sup>.

老化現象에 의한 變化로는 頭髮, 皮膚 등의 外觀上: 變化와 身體 臟器重量減少 등의 形態的 變化 및 知的, 人格的 機能低下, 心理的 變化 등이 나타나는 것이 一般的 特徵이다<sup>2,6,7)</sup>.

韓醫學에서는 <內經> <素問·上古天眞論><sup>60)</sup>에 “女子……五七陽明脈衰, 面始焦, 髮始墮, 六七三陽脈衰于上, 面皆焦, 髮始白, 七七任脈虛, 太衝脈衰少, 天癸竭, 地道不通, 故形壞而無子也, 丈夫……五八腎氣衰, 髮墮齒槁, 六八陽氣衰于上, 面焦, 髮鬢頰去, 七八肝氣衰, 筋不能動, 天癸竭, 精少, 腎臟衰, 形體皆極, 八八則齒髮去”라 하였고, <靈樞·千年篇><sup>61)</sup>에 “四十歲……腠理始疏, 榮華頰落, 髮頗斑白……五十歲, 肝氣始衰, 肝葉始薄, 膽汁始減, 目始不明, 六十歲, 心氣始衰,……九十歲, 腎氣焦, 四臟經脈空虛, 白歲, 五臟皆虛, 神氣皆去”라 하여 年齡의 增加에 따른 身體 各 部位의 老化現象에 對하여 技術하였으며, <黃帝內經><sup>60)</sup>에 나타난 養生方法에는 自然適應, 精神調攝, 飲食調理, 起居作息, 藥物保養, 運動收斂 등이 있고, <傳統醫學><sup>57)</sup>에서는 順應自然, 精神調攝, 飲食調理, 體育鍛鍊, 起居調理, 抗老化藥物 등으로 說明하고 있다.

또한 <素問·上古天眞論><sup>60)</sup>에 “天壽過度, 氣脈常通, 而腎氣有餘也”라 하였고, 虞<sup>62)</sup>는 “腎元盛則壽延, 腎元衰則壽夭”라고 하여 腎氣의 盛衰與

否가 壽命과 關聯있음을 認識하고 있었다.

그 治療法으로 《抗老益壽方藥》<sup>63)</sup>에서는 補腎方, 健脾補氣方, 養陰方, 補陽氣方을 들고 있으며, 全般的으로 韓醫學에서 보는 老化的 治療觀點은 補腎益元, 補脾腎, 調心補腎, 補氣虛, 補益化痰, 補益扶正<sup>57,62,63)</sup> 등으로 接近하고 있는 實情이다.

한편, 西洋醫學에서 보는 老化的 原因 및 發生機轉에 대해서는 生物學的 原因說로 消耗說, 新陳代謝速度說, 內分泌說, 生氣說, 衝擊說, 中毒說, 臟器의 原發性萎縮說, 細胞學說, 突然變異說, 細胞遺傳學說, 自己免疫說 등이 있고, 生化學的 原因說로는 DNA說, 化學反應說, collagen의 老化說, free radical說(自由遊離基說), 酵素作用障礙說 등이 있으며, 形態學的 原因說로는 組織再生機能의 老化, 細胞數의 變化와 老化, 核의 變化와 老化, 結合組織의 老化 등이 있으며, 生理學的 原因으로는 恒常性的 破綻, 適應力의 缺陷, 反應力의 變化, 臟器들의 豫備力 減少說 등이 있는데<sup>5-13,64,65)</sup>, 最近에는 Harman에 의해 提倡된 free radical에 의한 連續的인 有害反應의 結果로 老化過程이 進行되는 것으로 報告되고 있다<sup>1-3,64)</sup>. Free radical은 人體의 環境의 因子에 의한 露出이나 內部酵素反應에 의하여 生成되는데, 蛋白質의 -SH기와 反應하여 酵素의 活性을 잃게 되거나 假橋結合의 促進, DNA, RNA, 酵素 및 Membrane에 損傷을 일으켜 細胞壞死를 誘發한다. 즉 나이가 들어감에 따라 抗酸化 機能은 減少되는 반면 活性酸素와 같은 free radical은 體內에 蓄積되어 細胞나 組織을 破壞하고 여러 가지 退行性 疾患을 誘發하고 나아가서 生體의 機能을 弱화시킴으로써 老化가 發生된다고 하였다<sup>64,65)</sup>.

生體內 문제가 되는 것은 代謝過程에서 附隨的으로 생기는 活性酸素로 superoxide(O<sub>2</sub><sup>-</sup>), 過酸化水素(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), hydroxy radical(-OH) 등이 該當되는데 이들은 細胞內 顆粒(mitochondria, microsomes, peroxisome) 및 cytosol에서 生成되며 또한 macrophage, 白血球에서도 生成된다<sup>66)</sup>. 따라서 여러 酵素系에 의해 生成되는 superoxide radical은 金屬 이온(ion) 存在하에 여러 hydroperoxides와 反應하여 反應성이 큰 alkoxy radical(RO<sup>-</sup>)이나

hydroxyl radical이 되어 生體 分子를 攻擊하여 組織損傷을 일으키게 된다. 이러한 活性酸素는 macrophage의 殺菌作用과 오래된 蛋白質의 除去 등에 利用되는 物質이지만 反應성이 커서 生體內 有害한 作用을 나타낼 수 있다. 물론 生體에는 이런 free radical 反應의 有害作用을 抑制하고 活性酸素의 毒性으로부터 組織을 保護하고 恒常性을 維持하려는 防禦役割을 하는 superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione(GSH), glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione S-transferase, protein-SH, nonprotein-SH, 비타민 E 등의 抗酸化系가 存在한다. 그러나 끊임없이 生成되는 酸素radical의 一部는 細胞機能을 低下시켜 老化過程을 誘發할 것으로 推測되고 있다<sup>67)</sup>.

이러한 free radical 理論은 最近 老化를 抑制하는 因子들의 效能을 檢證하는 方法으로 많이 活用되고 있는데, 抗산화와 關聯된 實驗的 研究들은 앞서 言及한 體內에 必要한 抗酸化物質의 活性因子나 要因에 관한 것으로 生藥을 包含한 複合處方의 效能에 대한 檢證作業이 抗산화에 關與하는 酵素系의 測定을 中心으로 이루어지고 있다.

現在까지 發表된 國內의 研究들을 살펴보면 單味劑들을 利用한 老化抑制, 抗酸化 作用 研究, 複合處方을 利用한 抗老衰, 抗산화에 對한 研究, 藥針液을 利用한 抗酸化 研究, 老化에 따른 生理機能 變化, 食餌制限이 老化에 미치는 影響 및 理學的 因子를 利用한 抗老化 등으로 區分할 수 있으며, 研究項目으로는 動物의 週齡에 따르는 體重, 臟器重量의 變化, 酵素活性 測定, 血液學的 變化, 免疫學的 變化, 腎機能, 代謝機能 등을 測定하고 있으며, 臨床的으로는 行動實驗이나 運動量, 外形的인 狀態 測定 등이 있다<sup>19-42, 68-85)</sup>.

이중, 韓醫學과 聯關된 抗老化에 대한 實驗的 研究들은, 첫째 單味劑를 利用한 論文으로 高麗人蔘, 高麗紅蔘<sup>19)</sup>, 熟地黃, 黃芪, 鹿茸<sup>20)</sup>, 柴胡<sup>21)</sup> 등이 있고, 둘째 複合處方을 利用한 論文으로 鹿蔘地黃湯<sup>22)</sup>, 六味地黃湯<sup>23)</sup>, 定志丸<sup>24)</sup>, 延年丸<sup>25)</sup>, 左歸飲과 右歸飲<sup>26,27)</sup>, 平補湯<sup>28)</sup>, 更年1號丸<sup>29)</sup>, 聰明湯<sup>30)</sup> 등이 있으며, 셋째 藥針製劑를 利用한 論文들은 杜沖<sup>31)</sup>, 白何首烏<sup>32)</sup>, 胡桃<sup>33)</sup>, 鹿茸<sup>34)</sup>, 當歸<sup>35)</sup>, 芍藥<sup>36)</sup>, 桂枝<sup>37)</sup>, 巴戟<sup>38)</sup>,

益智仁<sup>39)</sup>, 淫羊藿<sup>40)</sup>, 山茱萸<sup>41)</sup> 등이 있고, 넷째 理學의 因子를 利用한 論文으로 B.E.P.<sup>42)</sup>가 있는 바, 以上의 韓醫科 大學과 研究所에서 使用된 總 50여가지 藥劑 中 歸經이 腎臟이거나 補腎하는 藥劑가 28가지로 가장 많았고, 9개의 複合處方 中에서도 6개의 處方이 補腎의 效能을 가지고 있었다. 이는 最近의 老化防止 研究들이 腎虛 및 老化和 關聯된 補劑의 活用을 통해 抗酸化效能을 糾明하려는 試圖로 解釋할 수 있다.

한편, 西洋醫學과 關聯된 老化研究는 주로 藥物의 主要成分과 抽出物 등<sup>68-72)</sup>에 대한 抗酸化 效能을 觀察하고 있고, 老化進行時 나타나는 生理的 變化를 腎의 臟器(肝, 腦, 皮膚 등)變化和 免疫機能 등<sup>78-81)</sup>을 통해 밝히고자 하였으며, 食餌制限, vitamin 등<sup>79-81)</sup>의 抗酸化 效果에 대해서도 研究하고 있어 多角的인 實驗方法의 資料가 될 수 있다.

따라서 韓醫學界에서도 老化에 대해 實驗動物의 選定, 方法, 項目 및 이를 解釋하는 論理 등에서 多樣한 檢證 및 臨床的 研究가 隨伴되어야 할 것이며, 既存에 주로 補腎의 觀點으로만 研究되던 것을 老化現象은 各 臟器 및 氣血의 變化이며<sup>5,6)</sup>, 先天的인 要因과 後天的인 環境 및 攝生에 따라 差異를 가지며<sup>4)</sup>, 老年의 生理特性이 “五臟皆虛”임에<sup>6)</sup> 根據하여, 虛即補의 原理에 따라 各各의 臟器를 補하면 老化和 어떠한 相關性이 있는가 하는 體系的인 研究가 必要하다고 생각된다. 心臟은<sup>44)</sup> 《黃帝內經》〈邪客篇〉에 心은 五臟六腑의 大主라 하였고 〈痿論〉에 心主神之血脈이라 하였으며 〈五藏生成篇〉에 諸血者는 皆屬於心이라 하고 〈口問篇〉에 心動則 五臟之府 皆搖라 하였으니, 心臟은 精神 意識 思惟作用과 血管 및 血液을 主管하는 生命活動에 重要한 臟器이므로 〈六節藏象論〉에는 心은 生之本이요 神之變이라 하였고 《入門》에는 人身이 動하면 血行於諸經하고 靜則血藏於肝하므로 肝은 血海요 心內運行하므로 心主血이라 하였다. 故로 〈靈蘭秘典論〉에 心이 不明하면 十二官이 危重하고 使道閉塞不通하여 形體가 損傷된다 하였다. 《入門》에 心臟은 五臟系와 相連하여 있는 故로 五臟有病하면 先于於心이라 하였는 바, 著者는 《東醫寶鑑》〈內景篇〉에서 心臟을 補하

는 處方 中, 臨床에서 쉽게 구할 수 있고 長期服用에도 比較적 安全한 藥劑들로 構成된 醒心散을 選定하여 實驗에 使用하였다.

醒心散은 心經의 虛熱을 治하는 處方으로 人蔘, 麥門冬, 五味子, 白茯苓, 遠志, 石菖蒲, 生地黄으로 構成되었는데<sup>45,46)</sup> 이들 各 藥物의 效能을 살펴보면 人蔘은 大補元氣, 固脫生津, 安神, 麥門冬은 滋陰潤燥, 清肺降火, 五味子是 斂肺, 滋腎, 生津, 收汗, 澁精, 遠志는 寧心安神, 祛痰利竅, 消散癰腫, 白茯苓은 寧心, 安神, 利水, 生地黄은 清熱涼血, 養陰生津, 石菖蒲는 化濕開胃, 開竅豁痰, 醒神益智의 效能<sup>46)</sup>이 있다.

이에, 著者는 心臟을 補하는 醒心散이 老化에 미치는 影響 및 機轉을 實驗的으로 糾明하기 위하여 老化過程의 硯지(32週齡, 500g內外)의 活性酸素生成能의 變化와 이에 對한 生體內 防禦機轉을 檢討하고자 過酸化脂質, cytochrome P-450, cytochrome b5, NADPH-cytochrome P450 reductase, glutathione, glutathione S-transferase, glutathione peroxidase, glutathione reductase,  $\gamma$ -glutamylcystein synthetase, superoxide dismutase 및 catalase의 含量을 觀察하였다.

活性酸素의 反應物인 過酸化脂質은 自動酸化反應에 의한 多價不飽和 脂肪酸에 O<sub>2</sub>가 附加된 生成物의 總稱이다. 生體內 脂質酸化에 重要한 것은  $\beta$ 酸化와 過酸化(自動酸化)인데,  $\beta$ 酸化는 生體內에서 없어서는 안 되는 것으로 에너지(ATP) 生産에 關與하는 反應이며, 過酸化는 高度로 不飽和된 脂肪酸의 二重結合에 炭化水素에서 水素를 빼내어 free radical이나 活性酸素가 생기는 反應이다. 따라서 過酸化脂質의 生成은 病態生理現象이나 組織의 損傷程度를 나타내는 指標로, 生體膜 등에 損傷을 입히고 細胞機能을 低下시키며 壞死에 關係하며 여러가지 疾病, 즉 alcohol性 脂肪肝, 急性肝炎, 慢性活動性肝炎, 非對象期의 肝硬變, 動脈硬化症 등과 密接한 關聯이 있다<sup>87)</sup>.

本 實驗에서 醒心散의 抽出物의 投與 用量 및 期間을 設定하기 위한 豫備 實驗으로 用量別(100, 150, 250, 350, 500 mg/kg)로 1週에서 4週間 投與하고서 心臟組織中 脂質過酸化의 含量을 測定한 결

과(Table 1, Fig.1), 250mg/kg을 2週間 投與한 경우 顯著히 增加되던 脂質過酸化의 含量이 抑制되었고, 期間의 增加에 따른 有意性 있는 變化는 없었다. 따라서 以後의 實驗에서는 醒心散 抽出物을 100, 250mg/kg, 350mg/kg, 500mg/kg씩 2週間 投與하였다. 心臟組織中 過酸化脂質의 含量(單位:MDA nmole/g of tissue)을 測定한 結果 正常群 50.2±6.27에 對하여 對照群이 89.3±7.26으로 顯著히 增加한 것과 比較하여, 醒心散煎湯液을 2週間 250mg/kg, 350mg/kg, 500mg/kg 實驗群에서 66.0±5.96, 68.7±4.05, 64.4±3.97로 有意性 있는 減少를 나타내었다(Table 1, Fig.1).

一般的으로 肝에서 일어나는 解毒作用은 肝細胞의 smooth endoplasmic reticulum에 存在하는 藥物代謝 酵素系에 의하여 解毒 또는 不飽和되어 體外로 排泄되는 酸化와 非合成段階인 phase I 과, 抱合 및 合成段階인 phase II로 나눌 수 있는데, 그 中 phase I 段階의 代表的인 酵素인 microsomal mixed function oxidase system(MFOS)은 많은 異物質(drugs, carcinogen 등) 뿐만 아니라 여러 生體內 物質들(vitamin D, 脂肪酸, hormone, steroides 등)의 酸化에도 중요한 役割을 하는데 이 酵素系는 두 개의 電子輸送系 즉 cytochrome P-450/P-450 reductase 와 cytochrome b5/b5 reductase를 必要로 한다<sup>88-89)</sup>. 本 實驗에서 cytochrome P-450의 活性 (單位: nmole/mg protein/min)을 測定한 結果 正常群 100%(0.42±0.032)에 對하여 對照群은 233%(0.98±0.045)로 有意性 있게 增加되어진 것과 比較하여, 醒心散煎湯液 250mg/kg, 350mg/kg, 500mg/kg 實驗群에서 各各 150%(0.63±0.040), 160%(0.67±0.062), 131%(0.55±0.058)로 有意性 있는 減少를 나타내었고(Table 2, Fig. 2), cytochrome b5의 活性(單位: nmole/mg protein/min)을 測定한 結果 正常群 100%(0.256±0.021)에 對하여 對照群은 182%(0.465±0.048)로 有意性 있게 增加되어진 것과 比較하여, 醒心散煎湯液 250mg/kg, 350mg/kg, 500mg/kg 實驗群에서 各各 122%(0.312±0.047), 119%(0.304±0.050), 125%(0.322±0.039)로 有意性 있는 減少를 나타내었다(Table 3, Fig. 3). 또한 NADPH-cytochrome

P450 reductase의 活性(單位: nmole/mg protein/min)을 測定한 結果 正常群 100%(24.59±1.21)에 對하여 對照群은 199%(48.92±1.34)로 有意性 있게 增加되어진 것과 比較하여, 醒心散煎湯液 250mg/kg, 350mg/kg, 500mg/kg 實驗群에서 各各 136%(33.47±2.01), 129%(31.65±1.26), 119%(29.38±1.03)로 有意性 있는 減少를 나타내었다(Table 4, Fig. 4).

Glutathione(GSH)은 哺乳動物의 細胞 內에서 가장 豊富한 非蛋白質인 thiol을 지니며 트리펫타이드를 包含하고 있는 시스테인이다. GSH는 GSH transferases와 GSH peroxidase를 위한 基質로서 알려졌으며, GSH peroxidase의 作用을 받아 過酸化水素를 無毒한 물로 變換시키는 대신 自身은 酸化型이 되고 肝에서는 GSH S-transferase의 作用을 받아 外部로부터 온 化學物質과 結合하여 化學物質을 無毒化 시키고 最終的으로는 mercapturic acid로 排出한다. GSH는 異物質性 化合物의 脫毒性을 위한 反應을 促進하며 역시 反應酸素들이나 free radical의 抗酸化劑를 위한 反應을 觸媒한다. 따라서 細胞 內 還元劑로서, 觸媒라든가 物質代謝를 包含해서 細胞 內 輸送이나 貯藏, 細胞 酸化還元の 均衡調節, DNA 合成, 免疫機能 및 細胞 增殖에서 매우 重要하다<sup>10)</sup>. 本 實驗에서 心臟中 glutathione의 含量(單位:μ mole/g of tissue)變化에 미치는 影響을 測定한 結果 正常群 100%(3.56±0.21)에 對하여 對照群은 43%(1.54±0.19)로 有意性 있게 減少 되어진 것과 比較하여, 醒心散煎湯液 250mg/kg, 350mg/kg, 500mg/kg 實驗群에서 各各 81%(2.87±0.15), 88%(3.12±0.22), 89%(3.18±0.18)로 有意性 있는 增加를 나타내었다(Table 5, Fig. 5).

GSH S-transferase는 細胞質과 mitochondria나 小包體膜의 GSH S-transferase로 大別되는데, 兩 GSH S-transferase는 生體 全體組織에 含有되어 있지만, 肝에서 最高의 含量을 나타내며 副腎 等에도 兩 GSH S-transferase가 高濃度로 分布되어 있다<sup>92)</sup>. 細胞質 GSH S-transferase의 體內 重要한 役割中的의 하나는 親電子性 發癌性 活性代謝物의 解毒作用에 처음 段階의 反應을 觸媒한다는 事實

이 一般的으로 알려져 있다<sup>90)</sup>. 本 實驗에서 GSH S-transferase의 活性(單位: nmole/mg protein/min)을 測定한 結果 正常群 100%(54.9±2.20)에 對하여 對照群은 58%(31.8 ±1.52)로 有意性 있게 減少되어진 것과 比較하여, 醒心散煎湯液 250mg/kg, 350mg/kg, 500mg/kg 實驗群에서 各各 79%(43.5±2.36), 88%(48.7±2.97), 84%(45.9±3.11)로 有意性 있는 增加를 나타내었다(Table 6, Fig. 6).

GSH peroxidase는 Se가 主元素로 되어 있으며 free radical을 H<sub>2</sub>O로 變換시켜 生成된 活性酸素를 體外로 排泄시키는 解毒系 酵素이며, GSH reductase는 酸化型 glutathion을 還元시키는 作用을 가지고 있는 解毒系 酵素인데<sup>10)</sup>, 本 實驗에서 GSH peroxidase과 GSH reductase의 活性을 測定한 結果 有意性 있는 變化는 없었다(Table 7,8, Fig. 7,8).

γ-Glutamylcystein synthetase은 glutathion의 細胞內 含量을 維持시키는 作用을 가지고 있는 것으로<sup>10)</sup>, 本 實驗에서 γ-Glutamylcystein synthetase의 活性(單位: pi nmole/mg protein/min)을 測定한 結果 正常群 100%(8.57 ± 0.22)에 對하여 對照群은 42%(3.62 ± 0.14)로 有意性 있게 減少되어진 것과 比較하여, 醒心散煎湯液 250 mg/kg, 350mg/kg, 500mg/kg 實驗群에서 各各 77%(6.59 ± 0.18), 83%(7.12 ± 0.28), 85%(7.28 ± 0.21)로 有意性 있는 增加를 나타내었다(Table 9, Fig. 9).

Superoxide dismutase(SOD)는 人體內에 過酸化反應 防禦機具(抗酸化 機具)中 하나이며, 生體에서 xanthine oxidase, aldehyde oxidase 등의 酵素反應의 結果로 生成되어진 superoxide anion radical을 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 쉽게 轉換시키는 것으로 活性酸素를 除去하는 作用을 가지고 있으며<sup>91)</sup>, catalase는 動植物 組織中에 널리 分布하고 있으며 人體에는 赤血球, 肝, 腎臟 等に 豊富하며 대개 preoxisome內에 存在하는 것으로 알려져 있으며, 甲狀腺機能亢進症, 脂肪肝, 急性 알콜性肝炎, 急性黃色肝萎縮, 毒物性肝炎 등의 肝疾患이나 急性脾臟炎, 溶血性疾患 등에서 catalase가 增加하는데<sup>94)</sup> superoxide dismutase(SOD) 活性과 catalase의 活性을 測定한

結果 本 實驗에서 有意性 있는 變化는 없었다 (Table 10,11, Fig. 10,11).

以上の 結果를 總括해 보면, 過酸化脂質 含量 및 cytochrome P-450, cytochrome b5, NADPH-cytochrome P450 reductase의 活性은 醒心散煎湯液 250mg/kg, 350mg/kg, 500mg/kg 實驗群에서 有意性 있는 減少를 나타내었다. 또한 glutathione, glutathione S-transferase, γ-glutamylcystein synthetase의 活性은 醒心散煎湯液 250mg/kg, 350mg/kg, 500mg/kg 實驗群에서 有意性 있는 增加를 나타내었다. 한편, 解毒系酵素인 glutathione reductase, glutathione peroxidase과 superoxide dismutase, catalase의 活性은 全實驗群에서 別다른 變化는 없었다.

따라서, 醒心散은 老化過程의 環界의 心臟內 過酸化脂質 및 遊離基의 生成에는 抑制的으로 作用하나, 解毒에는 깊이 關與하지 않으므로, 向後 臨床에서는 豫防的 次元에서의 活用이 보다 效果의 일 것으로 推定된다.

## V. 結 論

醒心散煎湯液이 老化 抑制에 미치는 效果를 實驗的으로 立證하고자, 老化 環界(32週齡, 500g內外)의 心臟內 過酸化脂質含量과 代謝酵素系에 미치는 影響을 살펴본 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 心臟內 過酸化脂質의 含量은 2週間・250mg/kg 以上の 實驗群에서 有意性 있게 減少하였다.
2. Cytochrome P-450, cytochrome b5, NADPH-cytochrome P450 reductase의 活性은 250mg/kg, 350mg/kg, 500mg/kg 實驗群에서 有意性 있게 減少하였다.
3. Glutathione, glutathione S-transferase의 活性은 250mg/kg, 350mg/kg, 500mg/kg 實驗群에서 有意性 있게 增加하였다.
4. Glutathione reductase, glutathione peroxidase의 活性은 全實驗群에서 有意性 있는 變化가 없었다.

5.  $\gamma$ -glutamylcystein synthetase의 活性을 測定은 250mg/kg, 350mg/kg, 500mg/kg 實驗群에서 有意性 있게 增加하였다.

6. Superoxide dismutase, catalase의 活性은 全實驗群에서 有意性 있는 變化가 없었다.

以上の 結果를 綜合해 보면, 醒心散은 老化 心臓의 心臟內 過酸化脂質 및 遊離基의 生成에 有意性 있게 作用하므로 抗老化의 效果가 認定되며, 尙後 臨床的인 研究 및 積極的인 活用이 期待된다.

### 參考文獻

1. 최진호 : 노화의 메커니즘과 연구방향, 생화학 뉴스, 한국생화학회, 1985, 5(3):39-53.
2. 徐舜圭 : 成人病. 老人醫學, 서울, 고려의학, 1992, pp.9-18, 28-30, 33-35, 73-77, 107, 251-254, 277-280, 343-344, 402, 475-477, 505-506.
3. 김숙희 외 : 노화, 민음사, 서울, 1995, pp.77-106.
4. 노화 방지를 위한 한약재의 연구 : 한국한의학 연구소, 1995, p1, pp
5. 金光湖 : 東醫豫防醫學, 慶熙大學校韓醫科大學 豫防醫學教室, 서울, 1995, pp.57-60, 139-146, 240-244.
6. 杜鎬京 : 東醫腎系學, 東洋醫學研究院, 서울, 1993, pp.1325-1383.
7. 리정복 : 장수학, 醫聖堂, 서울, 1987, pp.11-99, 492-576.
8. 李聰甫 : 傳統老年醫學, 湖南科學技術出版社, 湖南省, 1986, pp.212-215.
9. 林乾良 : 養生壽老集, 上海科學技術出版社, 上海, 1982, pp.26-27, 110-125, 132-143.
10. 金永坤 外 : 프리라디칼, 麗文閣, 서울, 1997, p.455, 564.
11. 李吉相 : 世界 長壽村 探訪, 大光文化社, 서울, 1978, pp.200-248.
12. Cutler, R. G. : Antioxidant aging and longevity. Free Radicals in Biology(ed.Pryor, W.), Academic Press, Vol.6, 1984, pp.371-424.
13. Feher, J, Csomos, G and Vereckei, A : The free radical theory of aging, Free Radicals Reactions in Medicine, Springer-Verlag, Berlin, 1987, pp.57-59.
14. Harman, D : Free radical theory of aging, J Gerontol, 1968, 23:476-482.
15. 오유진 : 활성산소가 질병의 원인이었다, 이화문화출판사, 서울, 1997, pp.57-67.
16. 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), New York, Alan R Liss. Inc., 1986, pp.3-49.
17. Oyanagui, Y. : SOD and active oxygen modulator. Nihon Jgakukan Tokyo, 1989, pp.17-36.
18. Forman HJ, Boveris A. : Superoxide radical and hydrogen peroxide in mitochondria. In Free radicals in biology, Vol 5, Edited by Pryor WA, Academic Press, New York, 1982, pp.65-90.
19. 裴基采 : 高麗人蔘, 高麗紅蔘 및 total saponin의 抗酸化 作用, 大田大學校大學院, 1997.
20. 김정숙 외 : 老化防止를 위한 韓藥劑의 效能 研究, 韓國韓醫學研究所, 1995.
21. 문진영 외 : 柴胡가 free radical에 의한 脂質 過氧化物 生成에 미치는 效果, 東國論集 自然科學篇, 1996, Vol.15, pp.361-375.
22. 蘇敬順 外 : 鹿蔘地黃湯이 抗老衰에 미치는 影響, 慶熙大學校論文集, 서울, 1995, 18(2):pp.127-148.
23. 尹一智 : 六味地黃湯이 老化 RAT의 肝內 過酸化脂質 및 代謝酵素系에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1998.
24. 河在原 : 定志丸이 老化에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1996.
25. 朴載彦 : 延年丸이 老化에 따른 免疫機能低下에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1992.
26. 鄭智天 : 左歸飲과 右歸飲에 의한 活性酸素類의 消去作用과 抗酸化 酵素系의 活性增加效果에 대

한 研究, 大韓韓醫學會誌, 1996, 17(1):pp.465-477.

27. 尹哲浩 外 : 左歸飲과 右歸飲이 老化 RAT의 腦 過酸化脂質 生成 및 活性酸 素生成系 酵素活性에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌, 1995, 16(2):pp.348-364.

28. 金潤子 : 平補湯이 老化에 미치는 影響, 東國大學校大學院, 1996.

29. 이현숙 : 更年1號丸의 抗酸化 活性에 관한 研究, 東國論集, 1996, Vol.15, pp.343-357.

30. 徐敏華 : 聰明湯이 老化白鼠 腦組織의 生化學的 變化와 神經細胞의 損傷에 미치는 影響, 圓光大學校大學院, 1996.

31. 成日煥 : 抗酸化作用에 對한 杜沖葉 藥針의 實驗的 研究, 大田大學校大學院, 1996.

32. 李鐘賢 : 白何首烏 藥針의 抗酸化 作用에 關한 實驗的 研究, 大田大學校大學院, 1997.

33. 金永海 外 : 胡桃藥針液의 抗酸化 效果에 對한 研究, 大韓韓醫學會誌, 1997, 17(2), pp.8-18.

34. 尹哲浩 外 : 硯境의 肝 組織에서 鹿茸 藥針製劑의 抗酸化 作用에 關한 研究, 大韓韓醫學會誌, 1996, 17(2), pp.191-202.

35. 安竣徹 外 : 當歸 藥針液의 抗酸化 效能에 關한 研究, 大韓鍼灸學會誌, Vol.13, No.2, pp.254-262, 1996.

36. 林昌秀 外 : 芍藥 藥針液의 抗酸化 效能에 關한 研究, 大韓鍼灸學會誌, Vol.14, No.2, pp.191-198, 1997.

37. 박태균 : 桂枝 藥針의 抗酸化作用에 關한 實驗的 研究, 大田大學校大學院, 1998.

38. 이종무 : 巴戟 藥針의 抗酸化作用에 關한 實驗的 研究, 大田大學校大學院, 1998.

39. 우상욱 : 益智仁 藥針의 抗酸化作用에 關한 實驗的 研究, 大田大學校大學院, 1998.

40. 박겨울 : 淫羊藿 藥針의 抗酸化作用에 關한 實驗的 研究, 大田大學校大學院, 1998.

41. 朴炫宣 : 山茱萸 藥針의 抗酸化作用에 關한 實驗的 研究, 大田大學校大學院, 1998.

42. 楊棟元 : B.E.P가 老化RAT의 肝內 過酸化脂質 및 代謝酵素系에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1998.

43. 漢醫學大辭典編纂委員會 : 漢醫學大辭典·醫史文獻編, 서울, 東洋醫學研究院出版部, p.43, 1985.

44. 全國韓醫科大學心系內科學教室 編 : 東醫心系內科學(上), 書苑堂, 서울, pp.34-35, 1995.

45. 許浚 : 東醫寶鑑, 南山堂, 서울, p.121, 1988.

46. 申載鏞 : 方藥合編解說, 成輔社, 서울, p.126, 1991.

47. Ohkawa, H. Ohishin and Yaki, K. : Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal. Biochem., p.95, pp.351-358, 1979.

48. G. I. Ellman : Tissue sulfhydryl group, Arch. Biochem. B. O. physis. 30, p.2409, 1959.

49. F. Omura and R. Sato : The carbon monoxide binding pigments of liver microsomes. In : Evidence for its hemoprotein nature, J. Biol. Chem., 239, p.2370 1964.

50. W. H. Habig, M. J. Pabist and W. B. Jakoby : Glutathione S-transferase: The first enzymatic step in marcapturic acid formation, J. Biol. Chem, 249, p.7130, 1974.

51. E. D. Paglia and W. N. Valentine : Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathion peroxidase, J. Lab. Clin. Med., p.70, 158 1967.

52. C. E. Miz and R. G. Langdon : Hepatic glutathion reductase, Purification and general kinetic properties, J. Bil. Chem, 237, p1589, 1962.

53. A. Meister and P. G. Richman : Regulation of  $\gamma$ -glutamylcystein synthetase by nonallosteric feedback inhibition by glutathion J. Biol. Chem, 250, p.1422, 1975.

54. O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr and R. J. Rendall : Protein measurement with folin phenol reagent, J. Biol. Chem., 1951, p.193, pp.265-275.

55. 이근후 외 : 최신임상정신의학, 서울, 하나의 학사, 1988, p.138, pp.216-228.

56. 金光湖 : 東醫豫防醫學, 서울, 慶熙大學校韓

- 醫科大學豫防醫學教室, 1995, pp.57-60, 139-146, 240-244.
57. 李聰甫 : 傳統老年醫學, 湖南, 湖南科學技術出版社, 1988, pp.212-215.
58. 張錫泰 : 皮膚과학, 서울, 여문각, 1994, pp.23-25.
59. 디팍 초프라 : 사람은 늙지않는다, 서울, 정신세계사, 1994, pp.21-22, 102-103.
60. 南京中醫學院醫經教研組 : 黃帝內經素問譯釋, 上海, 上海科學技術出版社, 1983, pp.4-5.
61. 南京中醫學院醫經教研組 : 黃帝內經靈樞譯釋, 上海, 上海科學技術出版社, 1986, p337.
62. 虞搏 : 醫學正傳, 서울, 成輔社, 1986, p9.
63. 中國中西醫結合雜誌編輯委員會 : 中國中西醫結合雜誌, 서울, 一中社, 13(4) : 14, 17-18, 13(5) : 101-102 1993.
64. Cutler,R.G. : Antioxidants, aging and longevity. Free Radicals in Biology(ed.Pryor, W.), Academic Press, Vol.6, 1984, pp.371-424.
65. Feher,J., Csomos,G and Vereckei,A : The free radical theory of aging. Free Radicals Reactions in Medicine, Springer-Verlag, Berlin, 1987, pp.57-59.
66. Oyanagui, Y. : Reevaluation of assay methods and establishment of kit for superoxide dismutase activity. Anal. Biochem., 1948, p.42, 290.
67. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J, Farr, A. L, and RANDALL, R.J. : Protein measurement with folin phenol reagent, J.Biol. Chem. 1951, pp.265-275.
68. 崔鎮浩 : 高麗人蔘의 老化抑制作用에 關한 研究, 慶熙大學校大學院, 1982.
69. 李榮九 : 人蔘이 老化促進생쥐의 老化에 미치는 影響, 公州大學校大學院, 1994.
70. 金永姬 外 : 몇 가지 생약 Methanol 추출물의 抗酸化 效果, 翰林大學論文集, 1988, Vol6, pp.145-154.
71. 金貞淑 : 山查 추출물의 抗酸化 效果에 關하여, 啓明研究論業, 1991, Vol9, pp.281-298.
72. 崔榮辰 外 : 생강 추출물의 抗酸化 效果, 關東論文集, 1992, Vol20, pp.93-104.
73. 이혜란 : 쥐의 腦와 肝에서 protein carboxyl methlation의 老化에 따른 變化, 梨花女子大學教大學院, 1989.
74. 金윤경 : 老化促進 마우스에서 老化에 따른 肝臟의 superoxide生成 및 抗酸化能의 變化, 부산대학교대학원, 1993.
75. 金희섭 : 老化에 따른 흰쥐 시상하부 vasopressin 및 oxytocin 分泌細胞의 變化, 서울대학교대학원, 1993.
76. 徐廷旭 : 老化促進 마우스에서 加齡에 따른 抗酸化能 및 生理的, 血液學的 變化, 忠南大學校大學院, 1994.
77. 梁윤숙 : 老化와 營養狀態에 따른 免疫能의 變化에 關한 研究 : cytokine 생성능력과 지연성 피부과민반응을 중심으로, 숙명여자대학교, 1995.
78. 이지혜 : 老化와 營養狀態에 따른 免疫能의 變化에 關한 研究 : 혈중 T림프구 및 T림프구 아형과 면역글로블린 농도를 중심으로, 숙명여자대학교, 1996.
79. 李宜周 : 食餌脂肪의 種類가 흰쥐의 老化過程中 腎臟機能에 미치는 影響, 이화여자대학교대학원, 1997.
80. 金기숙 : 老化 및 食餌制限에 의한 腎臟 抗酸化 酵素의 調節, 釜山大學校大學院, 1996.
81. 金性勳 : 老化促進생쥐에서 나이에 따른 皮膚組織의 酸化狀態와 抗酸化劑의 變化, 全南大學校大學院, 1994.
82. 梁재수 : 老化促進생쥐에서 산소라디칼 관련 물질의 검색에 關한 研究, 서울대학교대학원, 1989.
83. 金주섭 : 老化促進생쥐의 各種臟器에서 酸化性 變性和 산소라디칼 除去 酵素系의 活性에 關한 研究, 서울대학교대학원, 1991.
84. 송상호 : 老化過程中서 食餌制限에 의한 Xanthine dehydrogenase/Xanthine oxidase 遺傳子 發顯 및 酵素變換에 關한 研究, 부산대학교대학원, 1997.
85. 趙현국 : 비타민 A가 老化 흰쥐의 肝臟에



미치는 影響, 영남대학교대학원, 1991.

86. 전국한의학대학 본초학교수 공편: 本草學, 永林社, 서울, p.190, 302, 496, 523, 531, 588, 622, 1994.

87. 이귀영: 임상병리파일, 의학문화사, 서울, pp.138-139, 241, 348-349, 1990.

88. T. Croci and G. M. Williams : Activities of several phase I and phase II xenobiotransformation enzymes in cultured hepatocytes from male and female rats, 1985, p34, 3029.

89. A. Tappel : Lipid peroxidation and fluorescent molecula damage to membranes in pathology of cell membranes, academic press, Vol.1, 1975, p145.

90. 土田成記, 佐藤清美 : Glutathione S-transferase isozyme, glutathione 研究 のエホシワ, 蛋白質, 核酸, 酵素. 臨時増刊, 1988, p.33, 1564.

91. McCord, J. M. : Free radical and inflammation : Protection of synovial fluid by superoxide dismutase. *Science*, 1974, p.185, pp.529-531.

92. Aebi, H. : La Catalase erythrocytaire, in : Exposes Annuels de Biochimie Medicale, 29 ieme serie, Masson & Cie(eds), Paris, 1969, pp.139-164.