

# 老化過程의 淸쥐에서 補肺散이 肺의 代謝酵素系에 미치는 影響

金仁洙·高光贊·吳旼錫·宋泰元\*

## Abstract

### Through observing effect of BOPEASAN(BPS) on an aging white rat's Metabolic Enzyme System

Kim In-su, Oh Min-suk, Oh Min-suk, Song Tae-won.  
Dept. of Oriental Medicine Graduate School Tae jon University

Through observing effect of BOPEASAN(BPT) on an aging white rat's metabolic enzyme system, the following conclusions were addressed

1. The quantity of the lipid peroxide in lung of was decreased meaningfully in all of experimental subject groups, relatively to counterpart groups.
2. Cytochrome P-450, Cytochrome b5, NADPH-Cytochrome P45, was decreased meaningfully in the experimental subject groups B,C and D.
3. superoxide dismutase, catarase, glutathione peroxidase, was increased meaningfully in the experimental subject groups B,C and D.
4. glutathione, glutathione S-transferase, glutathione reductase,  $\gamma$ -Glutamylcystein synthetase, had no meaningful change in the experimental subject groups.

Regarding the above conclusions, the Bopeasan was affecting positively on both lipid peroxide and the enzyme system, as well as it has efficacy of suppressing the phenomena of aging, Therefore, the Bopeasan is, hereafter, expected to be applied clinically.

## I. 緒 論

老化란 人間의 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 말한다<sup>1-3)</sup>.

韓醫學의 古典인 《黃帝內經》의 <素問·上古天真論><sup>4)</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……” 이라 하였고, <靈樞·天年篇><sup>5)</sup>에 “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……” 라 하여 年齡의 增加에 따른 身體 各部位의 老化現象에 對하여 記述하였으며, <素問·上古天真論><sup>4)</sup>에는 “天壽過度, 氣脈常通, 而腎氣有餘也” 라 하여 腎氣의 盛衰與否가 壽命과 關聯있음을 말하고 있다.

西醫的인 老化의 概念으로는 計劃理論

\* 大田大學校 韓醫科大學 再活醫學教室

(programmed theory), 遊離酸素基理論(free radical theory), 誤謬理論(error catastrophe theory), 體細胞突然變異理論(somatic mutation theory), DNA變形理論등이 現在研究의 主從을 이루고 있고<sup>3,6-11)</sup>, 最近에는 遊離酸素基(free radical)에 의해 誘導되는 脂質의 過酸化反應이 老化에 密接한 關係가 있는 것으로 報告되어 이에 대한 研究가 活潑한 實情이다<sup>7,12-15)</sup>.

最近의 老化에 대한 韓醫學 分野의 研究들을 分類하면 單味劑<sup>16-18)</sup>, 複合 處方<sup>19-27)</sup>, 藥針液<sup>28-38)</sup> 및 理學的 因子를 利用한 研究<sup>39)</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 관련된 研究 또한 未洽한 實情이다.

이에 著者は 大氣中에 酸素를 直接 吸入하고 氣體의 交換을 進行함으로써 生命活動을 維持시키는 臟器인 肺<sup>40)</sup>의 重要性에 입각하여 韓方의 肺의 概念이 老化에도 有效하게 作用 하는지를 free radical理論에 根據하여 老化科程에 미치는 影響을 알아보고자 《東醫寶鑑》<sup>41)</sup> 內經篇에 收錄된 대표적인 補肺處方인 補肺散 煎湯液이 老化Rat(32週齡 500g 內外)의 肺內 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 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, reduced glutathione, glutathione reductase, N-1-naphthylenediamine, sulfonamide, dichlorophenolindophenol은 Sigma社

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

### 2) 材料

#### (1) 藥材의 選擇

本 實驗에 使用한 補肺散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》<sup>41)</sup>에 收錄된 補肺散으로 1貼의 處方內容과 重量은 다음과 같다.

#### Prescription of Bopeasan(BPS)

韓藥名	生藥名	重量(g)
阿膠珠	Gelatina Nigra	8
鼠粘子	Pteropi Stercus	5
糯米	Oryza Sativa L	5
馬兜鈴	Aristolochiae Fructus	3
甘草	Glycyrrhizae Radix	2
杏仁	Ansu Semen	7
Total amount		30

#### (2) 實驗動物

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 6週, 190±10g) 및 老化흰쥐(週齡 32週, 500±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 물만주고 絶食시켰다.

### 2. 方法

#### 1) 檢液의 製造

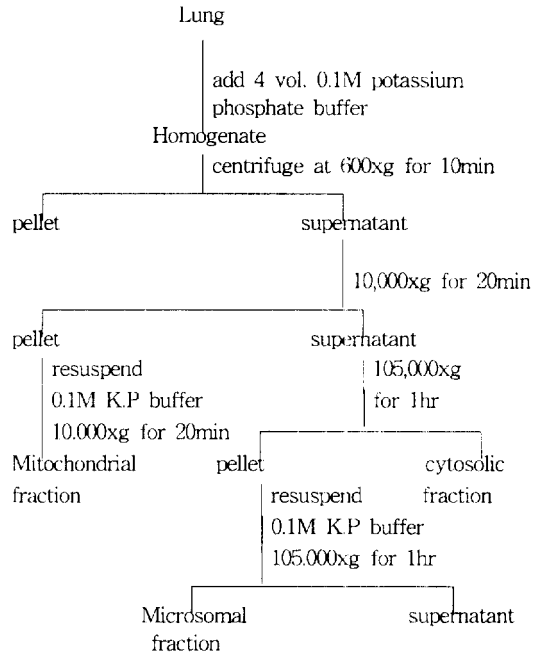
補肺散의 20貼 分量 600g을 水洗하여 蒸溜水로 8時間씩 3回加熱 抽出하고 吸引 濾過한 後, 餘液을 rotary evaporator(Eyela, M-N, 日本)로 減壓濃縮하여 稠粘狀의 抽出物은 冷凍乾燥器(Eyela, FD-5X, 日本)에서 乾燥하여 粉末 81.4g을 얻어서 本 實驗에서 必要로하는 濃度로 生理食鹽水에 溶解하여 使用하였다.

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 投與한 正常群(Normal), 老化 흰쥐에 生理食鹽水만 投與한 對照群(Control), 老化 흰쥐에 補肺散을 이의 方法에 準하여 補肺散의 濃度를(100mg/kg)으로하여 1週間 投與한 群 (BPS A), 補肺散의 濃度를(200mg/kg)으로하여 1週間 投與한 群 (BPS B), 補肺散의 濃度를(300mg/kg)으로하여 1週間 投與한 群 (BPS C), 補肺湯의 濃度를(400mg/kg)으로하여 1週間 投與한 群 (BPS D), 로 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 肺臟은 生理食鹽水로 貫流하여 血液을 除去한 肺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 가 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 1시간 초원심분리하여 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에 0.1M potassium phosphate buffer를 加하여 懸탁 시킨 液을 microsomal fraction으로 하였다. 磨碎液은 過酸化脂質 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 酵素原으로, microsomal fraction은 cytochrome P-450, cytochrome b5, NADPH-cytochrome P450活性 測定에 使用하였다. 한편 mitochondria 分획은 catalase의 活性 測定の 酵素原으로 使用하였다. 이상의 모든 造作은 따로 規定이 없는한 4°C以下에서 行 하였다 (Scheme I).



Scheme I. Preparation of mitochondrial, microsomal and cytosolic fractions

4) 肺 組織中 過酸化脂質의 含量 測定

Ohkawa등의 方法<sup>42)</sup>에 準하여 肺 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 後 室溫에서 冷却 시켜 n-BuOH : pyridine(15:1)을 添加하여 15분간 遠心分離 시킨 後 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 肺 組織 1g당 malondialdehyde nmole 로 表示하였다

5) 肺 組織中 glutathione의 含量 測定

Ellamn의 方法<sup>43)</sup>을 약간 變更하여 10% 肺組織 1 ml에 1mM EDTA가 含有된 5% trichloroacetic acid를 加하여 遠心分離한 後 上騰液 0.5 ml를 取하여 0.5 ml ninhydrin 試藥을 加한 後 10分間 加熱하여 冷水에 冷却하고서 560nm에서 吸光度를 測定하였다. 이곳에서 nonprotein-SH에서 cysteine

의制限값을 glutathione의 量으로算定 하였다.

6) 酵素活性的測定

(1) Cytochrome P-450의測定

Omura와 Sato등의 方法<sup>44)</sup>에 準해 시험관에 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 후 sodium dithionite를 넣고 混合한다. 다음 CO gas를 1分間 bubbling 후 광장 400-500nm에서 吸光度를 測定하고 450-490nm에서 吸光度의 차이를 cytochrome P-450 Co complex에 의한 吸光量 吸光計數  $91 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 을 利用하여 算定하였다.

(2) Cytochrome b5 含量測定

Omura와 Sato등의 方法<sup>44)</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도가 0.2mM이 되도록 한 다음 424nm와 409nm에서 吸光度를 測定하였다. 이때의 molar extinction coefficient는  $185\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 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도를 算定하였다. 즉 microsomal溶液을 0.05M phosphate buffer(pH 7.7,  $10^{-4}$ M EDTA 含有)로 稀釋시켜 1 mg/ml의 蛋白質 濃도로 만든 다음 semimicro cell 내에서 稀釋溶液이 DCIP  $96 \times 10^{-9}$ M이 含有되도록 하고  $10^{-3}$ M NADPH 溶液을 가 하여 最終 부피가 1.1ml 되도록 하고 이때 NADPH 溶液을 넣은 후 30°C에서 1分間 吸光度의 減少를 測定하여 molar extinction coefficient는  $21\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 로 하였다.

(4) Glutathione S-transferase의 活性測定

Habig등의 方法<sup>45)</sup>에 準하여 反應液 3.5 ml에 0.1M potassium phosphate buffer(pH 6.5)에 1mM glutathione, 1mM 1-chloro 2,4-dinitrobenzene 및 0.1 ml 酵素液을 加하여 25°C에서 2分間 反應 시킨 後 이때 生成되는

thioether를 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도를 算定하였다.

(5) Superoxide dismutase(SOD)의 活性測定

7.5mM exanthine  $50\mu\text{l}$ 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°C에서 10分間 preincubation시켰다. 0.42unit/ml의 exanthine oxidase를 0.2ml 加한 후 20分間 incubation시키고 sulfanilamide溶液 1ml와 naphthylethylenediamine 1ml를 加하여 室溫에서 20分間 방치 후 540nm에서 吸光度를 測定하여 총 SOD活性를 구한 뒤 4mM KCN을 0.2ml 넣고 測定한 Mn-SOD값을 제하여 Cu, Zn-SOD 값을 구하였다.

(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 加하여 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>46)</sup>에 準하여 0.75mM hydrogen peroxide, 6mM NADPH 및 40mM glutathione이 含有된 0.1M Tris buffer(pH 7.5) 중에서 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도를 算定하였다. 酵素活性的 單位는 1分當 1mg protein이 生成하는 NADP의 量을 nmole로 表示하였다.

(8) Glutathione reductase의 活性測定

Mize과 Langdon의 方法<sup>47)</sup>에 準하여 反應液 3.0 ml중 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>48)</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 酵素係(100-300 $\mu\text{g}$  단백질)

을 加하여 37℃에서 10분간 반응시킨 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>49)</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 ± 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

Table 1. Effect of water extract from Bopeasan(BPS) 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				10.2±1.24a	
Control				24.8±2.63b	
BPS A	100	20.6±2.30 <sup>a</sup>	22.7±2.74 <sup>b</sup>	20.6±1.92 <sup>b</sup>	19.6±1.56 <sup>b</sup>
B	200	16.3±1.92	15.0±1.13 <sup>cd</sup>	16.7±2.18 <sup>c</sup>	15.6±1.63 <sup>c</sup>
C	300	18.2±1.66	16.8±1.67 <sup>c</sup>	15.4±1.75 <sup>c</sup>	14.9±1.82 <sup>d</sup>
D	400	17.2±1.87	15.7±1.92 <sup>c</sup>	15.0±1.01 <sup>cd</sup>	15.3±1.18 <sup>c</sup>

Rats were orally administered water extract from Bopeasan(0, 100, 200, 300, 400mg/kg) daily for one to four weeks. 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.

1. 過酸化脂質의 含量 에 미치는 影響

補肺散의 抽出物의 投與 用量 및 期間을 設定하기 위한 豫備 實驗으로 用量별( 100, 200, 300, 400 mg/kg)로 1週에서 4週間 投與하고서 肺 組織中 過酸化脂質의 含量을 測定한 結果 實驗群 B, C, D에서 1週間 후 부터 顯著히 增加되던 過酸化脂質의 含量이 抑制되었다 (Table 1, Fig. 1). 따라서 以後의 實驗에서는 補肺散 煎湯液을 100, 200, 300, 400mg/kg씩 1週間 投與하였다.

Fig. 1. Effect of water extract from Bopeasan(BPS) on heart lipid peroxide content in eight month rats.

2. 肺 組織中 glutathione의 含量에 미치는 影響  
 肺臟中에 含有되어진 glutathione의 變化(單位:  
 $\mu\text{M/g}$ )를 測定한 結果 正常群 100%( $2.47 \pm 0.13$ )에  
 對하여 對照群은 47%( $1.16 \pm 0.09$ )로 有意性있게  
 減少되어진 것과 比較하여 全 實驗群에서 有意性  
 있는 變化는 없었다(Table 2, Fig. 2).

Table 2. Effect of water extract from Bopeasan(BPS) on heart glutathione content in eight month rats

Group	Dose (mg/kg)	Content	Percentage of Normal
		$\mu$ mole/g of tissue	
Normal		$2.47 \pm 0.13^a$	100%
Control		$1.16 \pm 0.09^{bc}$	47%
BPS A	100	$1.38 \pm 0.11^c$	56%
B	200	$1.27 \pm 0.14^b$	52%
C	300	$1.12 \pm 0.06^{bc}$	46%
D	400	$1.28 \pm 0.12^b$	52%

Rats were orally administered water extract from Bopeasan(0, 100, 200, 300, 400mg/kg) daily for consecutive one 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  $\pm$  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.

Fig. 2. Effect of water extract from Bopeasan(BPS) on heart glutathione content in eight month rats.

3. Cytochrome P450의 活性에 미치는 影響  
 Cytochrome P450의 活性(單位: nmole/mg

protein)을 測定한 結果 正常群 100%( $0.37 \pm 0.026$ )  
 에 對하여 對照群은 205%( $0.76 \pm 0.033$ )로 有意性  
 있게 增加되어진 것과 比較하여 實驗群 B, C, D에  
 서 有意性있는 減少를 나타내었으며 實驗群A에서  
 는 有意性없는 減少를 나타내었다(Table 3, Fig.  
 3).

Table 3. Effect of water extract from Bopeasan(BPS) on lung microsomal cytochrome P450 activity in eight month rats

Group	Dose (mg/kg)	Content	Percentage of Normal
		nmole/mg protein	
Normal		$0.37 \pm 0.026^a$	100%
Control		$0.76 \pm 0.033^b$	205%
BPS A	100	$0.78 \pm 0.036^b$	210%
B	200	$0.58 \pm 0.041^{cd}$	157%
C	300	$0.57 \pm 0.024^d$	154%
D	400	$0.60 \pm 0.020^d$	162%

Rats were orally administered water extract from Bopeasan (BPS, 0, 100, 200, 300, 400mg/kg) daily for consecutive one 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  $\pm$  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.

Fig. 3. Effect of water extract from Bopeasan(BPS) on lung microsomal cytochrome P450 activity in eight month rats.

4. Cytochrome b5 含量에 미치는 影響

肺臟中에 含有되어진 Cytochrome b5 (單位:  
 $\text{nmole/mg protein}$ )을 測定한 結果 正常群  
 100%( $0.198 \pm 0.012$ )에 對하여 對照群은  
 189%( $0.375 \pm 0.021$ )로 有意性있게 增加되어진 것

과 比較하여 實驗群 B, C, D에서 有意性있는 減少를 나타내었다(Table 4, Fig. 4).

Table 4. Effect of water extract from Bopeasan(BPS) on the lung microsomal cytochrome b5 content in eight month rats

Group	Dose (mg/kg)	Content	Percentage of Normal
		nmole/mg protein	
Normal		0.198 ± 0.012 <sup>a</sup>	100%
Control		0.375 ± 0.021 <sup>b</sup>	189%
BPS A	100	0.362 ± 0.015 <sup>b</sup>	182%
B	200	0.255 ± 0.024 <sup>c</sup>	129%
C	300	0.248 ± 0.032 <sup>c</sup>	125%
D	400	0.212 ± 0.020 <sup>d</sup>	107%

Rats were orally administered water extract from Bopeasan (BPS, 0, 100, 200, 300, 400mg/kg) daily for consecutive one 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

Fig. 4. Effect of water extract from Bopeasan(BPS) on the lung microsomal cytochrome b5 content in eight month rats.

5. NADPH-cytochrome P450 reductase의 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%(13.65±0.12)에 對하여 對照群은 266%(36.48±1.28)로 有意性있게 增加되어진 것과 比較하여 實驗群 B, C, D에서 有意性있는 減少를 나타내었으며 實驗群 A에서 有意性없는 減少를

나타내었다(Table 5, Fig. 5).

Table 5. Effect of water extract from Bopeasan(BPS) on the lung microsomal NADPH-cytochrome P450 reductase activity in eight month rats

Group	Dose (mg/kg)	Content	Percentage of Normal
		nmole/mg protein/min	
Normal		13.65 ± 1.12 <sup>a</sup>	100%
Control		36.48 ± 1.28 <sup>b</sup>	266%
BPS A	100	35.50 ± 1.33 <sup>b</sup>	261%
B	200	23.59 ± 1.20 <sup>c</sup>	173%
C	300	21.55 ± 1.16 <sup>c</sup>	158%
D	400	20.49 ± 1.23 <sup>c,d</sup>	150%

Rats were orally administered water extract from Bopeasan (BPS, 0, 100, 200, 300, 400mg/kg) daily for consecutive one 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.

Fig. 5. Effect of water extract from Bopeasan(BPS) on the lung microsomal NADPH-cytochrome P450 reductase activity in eight month rats.

6. Glutathione S-transferase의 活性에 미치는 影響

Glutathione-S-transferrase의 活性(單位: nmole/mg protein/min)을 測定한 結果 正常群 100%(24.8±1.20)에 對하여 對照群은 46%(11.5±1.49)로 有意性있게 減少되었으며, 전 實驗群에서

有意性있는 변화는 없었다(Table 6, Fig. 6).

Table 6. Effect of water extract from Bopeasan(BPS) on the lung glutathione S-transferase activity in eight month rats

Group	Dose (mg/kg)	Content	Percentage of Normal
		*nmole/mg protein/min	
Normal		24.8 ± 1.20 <sup>a</sup>	100%
Control		11.5 ± 1.49 <sup>b</sup>	46%
BPS A	100	10.6 ± 1.10 <sup>b</sup>	43%
B	200	13.3 ± 1.33 <sup>b</sup>	54%
C	300	11.9 ± 1.27 <sup>b</sup>	48%
D	400	10.8 ± 1.56 <sup>b</sup>	44%

Rats were orally administered water extract from Bopeasan(BPS, 0, 100, 200, 300, 400mg/kg) daily for consecutive one 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

Fig. 6. Effect of water extract from Bopeasan(BPS) on the lung glutathione S-transferase activity in eight month rats.

7. Superoxide dismutase의 활성에 미치는影響  
Superoxide dismutase의 활성 (單位:  $\mu$  mole/mg protein/min)을測定한結果 正常群 100%(4.26±0.22)에對하여 對照群은 50%(2.13±0.18)로 有意性있게 減少 되어진 것과 比較하여 實驗群 B, C, D에서 有意性있는 增加를 나타내었다

(Table 7, Fig. 7).

Table 7. Effect of water extract from Bopeasan(BPS) on the lung superoxide dismutase activity in eight month rats

Group	Dose (mg/kg)	Content	Percentage of Normal
		*nmole/mg protein/min	
Normal		4.26 ± 0.22 <sup>a</sup>	100%
Control		2.13 ± 0.18 <sup>b</sup>	50%
BPS A	100	2.44 ± 0.15 <sup>b</sup>	57%
B	200	3.95 ± 0.27 <sup>c</sup>	93%
C	300	3.83 ± 0.20 <sup>c</sup>	90%
D	400	4.05 ± 0.29 <sup>c</sup>	95%

Rats were orally administered water extract from Bopeasan (BPS, 0, 100, 200, 300, 400mg/kg) daily for consecutive one 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%

Fig. 7. Effect of water extract from Bopeasan(BPS) on the lung superoxide dismutase activity in eight month rats.

8. Catalase의 활성에 미치는影響  
Catalase의 활성 (單位:  $\mu$  mole/mg protein/min)을測定한結果 正常群 100%(1.89±0.023)에對하여 對照群은 41%(6.48±1.028)로 有意性있게 減少 되어진 것과 比較하여 實驗群 B, C, D에서 有意性있는 增加를 나타내었다(Table 8, Fig. 8).



Table 8. Effect of water extract from Bopeasan(BPS) on the lung catalase activity in eight month rats

Group	Dose (mg/kg)	Content	Percentage of Normal
		* $\mu$ mole/mg protein/min	
Normal		1.89 $\pm$ 0.023 <sup>a</sup>	100%
Control		0.78 $\pm$ 0.018 <sup>b</sup>	41%
BPS A	100	0.83 $\pm$ 0.011 <sup>b</sup>	44%
B	200	1.23 $\pm$ 0.028 <sup>c</sup>	65%
C	300	1.36 $\pm$ 0.024 <sup>c,d</sup>	72%
D	400	1.47 $\pm$ 0.015 <sup>d</sup>	78%

Rats were orally administered water extract from f Bopeasan (BPS, 0, 100, 200, 300, 400mg/kg) daily for consecutive one 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  $\pm$  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

Fig. 8. Effect of water extract from Bopeasan(BPS) on the lung catalase activity in eight month rats.

9. Glutathione peroxidase의 活性에 미치는 影響

Glutathione peroxidase의 活性 (單位: nmole/mg protein/min)을 測定한 結果 正常群 100%(18.7 $\pm$ 0.23)에 對하여 對照群은 50%(9.36 $\pm$ 0.14)로 有意性있게 減少 되어진 것과 比較하여 實驗群 B, C, D에서 有意性있는 增加를 나타내었다

(Table 9 Fig. 9).

Table 9. Effect of water extract from Bopeasan(BPS) on the lung glutathione peroxidase activity in eight month rats

Group	Dose (mg/kg)	Content	Percentage of Normal
		*nmole/mg protein/min	
Normal		18.7 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	100%
Control		9.36 $\pm$ 0.14 <sup>b</sup>	50%
BPS A	100	10.8 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	58%
B	200	14.9 $\pm$ 0.11 <sup>c</sup>	80%
C	300	16.3 $\pm$ 0.19 <sup>c,d</sup>	87%
D	400	15.3 $\pm$ 0.16 <sup>d</sup>	82%

Rats were orally administered water extract from Bopeasan (BPS, 0, 100, 200, 300, 400mg/kg) daily for consecutive one 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  $\pm$  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

Fig. 9. Effect of water extract from Bopeasan(BPS) on the lung glutathione peroxidase activity in eight month rats.

10. Glutathione reductase의 活性에 미치는 影響

Glutathione reductase의 活性 (單位: glutathione nmole/mg protein/min)을 測定한 結果 正常群 100%(8.86 $\pm$ 0.23)에 對하여 對照群은 45%(3.97 $\pm$ 0.17)로 有意性있게 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 Bopeasan(BPS) on the lung glutathione reductase activity in eight month rats

Group	Dose (mg/kg)	activity		Percentage of Normal
		glutathione protein/min	nmole/mg	
Normal		8.86 ± 0.23 <sup>a</sup>		100%
Control		3.97 ± 0.17 <sup>b</sup>		45%
BPS A	100	4.13 ± 0.14 <sup>b</sup>		47%
B	200	3.86 ± 0.21 <sup>b</sup>		44%
C	300	3.90 ± 0.19 <sup>b</sup>		44%
D	400	4.08 ± 0.15 <sup>b</sup>		46%

Rats were orally administered water extract from Bopeasan (BPS, 0, 100, 200, 300, 400mg/kg) daily for consecutive one 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.

Fig. 10. Effect of water extract from Bopeasan(BPS) on the lung glutathione reductase activity in eight month rats.

11.  $\gamma$ -Glutamylcystein synthetase의 活性에 미치는 影響

Glutathione S-transferrase의 活性 (單位: pi nmole/mg protein/min)을測定한 結果 正常群 100%(5.34±0.30)에 對하여 對照群은 51%(2.73±0.09)로 有意性있게 減少되어진 것과 比較하여 全

實驗群에서 有意性있는 變化는 없었다(Table 11, Fig. 11).

Table 11. Effect of water extract from Bopeasan(BPS) on the lung  $\gamma$ -Glutamylcystein synthetase activity in eight month rats

Group	Dose (mg/kg)	activity		Percentage of Normal
		pi protein/min	nmole/mg	
Normal		5.34 ± 0.30 <sup>a</sup>		100%
Control		2.73 ± 0.09 <sup>b,c</sup>		51%
BPS A	100	2.87 ± 0.19 <sup>b</sup>		54%
B	200	2.68 ± 0.15 <sup>c</sup>		50%
C	300	2.79 ± 0.21 <sup>b,c</sup>		52%
D	400	2.88 ± 0.24 <sup>b</sup>		54%

Rats were orally administered water extract from Bopeasan (BPS, 100, 200, 300, 400mg/kg) daily for consecutive one 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.

Fig. 11. Effect of water extract from Bopeasan(BPS) on the lung  $\gamma$ -Glutamylcystein synthetase activity in eight month rats.

#### IV. 考 察

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>50-52)</sup>.

老化現象에 의한 變化로는 頭髮, 皮膚 등의 外觀上 變화와 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>52-54)</sup>.

西洋醫學에서는 老化의 原因에 대해 生物學的原因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, 生化學的原因으로 collagen의 老化, 自由遊離基說, 酵素作用 障礙說 등을, 形態學的原因으로 組織再生機能의 老化, 細胞數의 變화와 老化, 核의 變화와 老化, 結合組織의 老化 등을, 生理學的原因으로 恒常性의 파탄, 適應力의 缺陷, 反應力의 變化, 臟器들의 豫備力 減少說 등을 提示하고 있다<sup>53-55,56-63)</sup>.

이 중 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 죽음을 招來한다는 說로 人體에 吸入된 酸素의 一部가 superoxide anion, hydroxy radical, hydrogen peroxide 등과 같은 活性酸素인 free radical로 變換되어 脂質의 過酸化反應을 進行시켜 細胞膜의 破壞, 細胞의 老化, 細胞의 壞死 그리고 DNA에 대한 細胞損傷등을 誘發시켜 生體의 機能을 弱화 시킴으로써 老化가 進行된다는 理論인데 老化의 程度와 抗老化 效果를 測定하는 基準으로 應用되기 쉬워 最近 많은 研究가 進行되는 分野 중 하나이다. 그러나 人體內에는 이러한 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의 抗酸化系가 存在하는데 superoxide dismutase(SOD), catalase, glutathione(GSH), glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione S-transferase, protein bound-SH, nonprotein bound-SH, 비타민 E 등이 이에 該當된다<sup>64,65)</sup>고 하였다.

韓醫學에서는 《內經》 <素問·上古天眞論><sup>4)</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, 髮鬢頽去, 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>5)</sup>에 “四十歲……腠理始疏, 榮華頽落, 髮顏斑白……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,……八十歲, 肺氣衰, 魄離, 故言善誤, 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하였으 며, 《黃帝內經》<sup>4)</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 등<sup>55)</sup>으로 說明하고 있다.

또한 <素問·上古天眞論><sup>4)</sup>에 “天壽過度, 氣脈常通, 而腎氣有餘也”라 하였고, 虞<sup>65)</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>55)</sup>에서는 補腎方, 健脾補氣方, 養陰方, 補陽氣方을 들고있으며, 全般的으로 韓醫學에서 보는 老化의 治療觀點은 補腎益元<sup>67)</sup>, 補脾腎<sup>53,56)</sup>, 調心補腎, 補氣虛, 補益化痰<sup>66)</sup>, 補益扶正<sup>53,56)</sup> 등으로 接近하고 있는 實情이다.

이와같이 韓醫界에서는 主로 補腎의 觀點에서 主로 研究되어 왔는데 五臟의 各 臟氣의 重要性에 立脚하여 이를 比較 檢討하기 위하여 《東醫寶鑑》<sup>41)</sup>에 收載된 五臟을 各其 補하는 代表的인 處方을 選定하여 free radical 理論을 中心으로 살펴 보았다.

肺臟<sup>40)</sup>은 <素門, 靈蘭秘典論>에서 “相傳之官, 治節出焉”이라 하여 心臟을 補佐하여 生命活動을 維持하며 《入門》에서는 “腎納氣, 肺主氣”라 하여 人體의 呼吸機能을 隨行하고 酸素吸入에서 發生되는 正氣를 主管한다고 하였으며 <素門 經脈別論>에는 “肺主肅降, 通調水道”라 하여 인체내

의水道를 조절하여 水의 上源이 된다고 하였는바, 著者는 《東醫寶鑑》<sup>41)</sup> 〈內景篇〉에서 肺臟을 補하는 處方中, 臨床에서 쉽게 구할 수 있는 藥劑들로 構成된 補肺散을 選定하였다.

補肺散은 明代 王肯堂의《證治準繩》<sup>68)</sup>에 처음 收載된 肺氣虛를 治하는 處方으로 阿膠, 白茯苓, 馬兜鈴, 糯米, 甘草, 杏仁으로 構成되었는데 著者는 肺臟을 補하는 補肺散이 老化에 미치는 影響 및 機轉을 實驗의으로 糾明하기 위하여 過酸化脂質의 含量과 glutathione, Cytochrome p-450, Cytochrome b5, NADPH-Cytochrome P450, glutathione S-transferase, superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase,  $\gamma$ -Glutamylcystein synthetase의 變化를 檢討하였다.

活性酸素의 反應物인 過酸化脂質은 自動酸化反應에 의한 다가불포화 脂肪酸에  $O_2$ 가 附加된 生成物의 總稱인데 過酸化脂質은 生體膜等に 損傷을 입히고, 細胞機能을 低下시키며 壞死에 關係하며 여러가지 疾病<sup>69,70)</sup>과 密接한 關聯이 있는데 全實驗群에서 1週日 후부터 對照群에 比較하여 有意性 있는 減少를 나타내었다(Table 1, Fig. 1). Glutathione은 呼吸에 있어서 酸素의 傳達體로 作用하는데, 酸化型 glutathione은 vitamin E와 더불어 불포화 지방산의 過酸化를 防止하며, 缺乏症狀도 vitamin E 缺乏症狀와 매우 恰似하여 肝의 壞死, 筋肉弱化, 溶血, 心筋弱化痰等이 있는데<sup>70)</sup>, 肺臟中 glutathione의 變化에 미치는 影響을 觀察한 結果 別다른 變化는 없었다(Table 2, Fig. 2).

Cytochrome p-450은 生體에 毒性을 일으키는 有毒한 產物들을 水溶性形態로 바꾸어 體外로 주로 小便을 通하여 排出할 때 쓰이는 酸化酵素係 물질로<sup>71)</sup> 肺臟中 Cytochrome p-450 變化에 미치는 影響을 觀察한 結果 正常群에 對하여 對照群이 顯著히 增加된 狀態에서 實驗群 B, C, D에서 有意性 있는 減少를 나타내었다(Table 3, Fig. 3).

Cytochrome b5는 cytochrome P450과 함께 소포체내에 存在하고 분자량이 비교적 적은 蛋白質로 NADPH-cytochrome P450 reductase와 相互作用을 하여 이물질대사 및 지방산, hormone등의 代

謝時에 여러 가지 酸化反應에 관여하여 電子를 공급해주는 物質로 알려져 있는데<sup>70)</sup>, 本 실험에서 正常群에 對하여 對照群이 顯著히 增加된 狀態에서 實驗群 B, C, D에서 有意性 있는 減少를 나타내었다(Table 4, Fig. 4).

Microsomal mixed function oxidase系에 存在하고 endogeneous substance와 이물질 代謝에 많은 作用을 하고, 分子內 酸化還元 反應에 있어서 요구되는 두개의 電子中 하나를 運搬하는 것으로 알려져 있는 NADPH-cytochrome P450 reductase는 flavoprotein component로 전자를 terminal oxidase인 cytochrome P450으로 전달하는데 觸媒 役割을 하는데<sup>70)</sup>, 本 실험에서 正常群에 對하여 對照群이 顯著히 增加된 狀態에서 實驗群 B, C, D에서 有意性 있는 減少를 나타내었다(Table 5, Fig. 5).

Glutathione S-transferase는 細胞質 glutathione S-transferase와 mitochondria 및 小包體膜 glutathione S-transferase로 大別되는데 兩 glutathione S-transferase는 生體 全體組織에 含有되어 있으며 細胞質 glutathione S-transferase의 體內 중요한 役割의 하나는 親 電子性的 發癌性 活性代謝物의 解毒作用으로서 最終적으로 N-acetyl conjugate로 尿中 排泄시키는 最初段階의 反應을 觸媒한다는 事實이 一般의으로 알려져 있는데<sup>70)</sup> 本 실험에서 全實驗群에서 有意性 없는 結果를 나타내었다(Table 6, Fig. 6).

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  $H_2O_2$ 로 쉽게 轉換시키는 것으로 活性酸素를 除去하는 作用을 가지고 있는데<sup>70)</sup> 本 실험에서 正常群에 對하여 對照群이 顯著히 減少된 狀態에서 實驗群 B, C, D에서 有意性 있는 增加를 나타내었다(Table 7, Fig. 7).

Catalase는  $H_2O_2$ 를  $H_2O$ 와  $O_2$ 로 分解하는 酵素中에 強力한 것으로 알려져 있으며 脂肪酸이나 alcohol의 酸化에도 關與하는 것으로 생각되고 있는 것으로 活性酸素를 除去하는데 SOD,

glutathion peroxidase와 더불어 效果가 있는 것으로<sup>70)</sup> 本 실험에서 正常群에 對하여 對照群이 顯著히 減少된 狀態에서 實驗群 B, C, D에서 有意性있는 增加를 나타내었다(Table 8, Fig. 8).

Glutathion peroxidase는 Se가 主원소로 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 酸化型 glutathion은 vitamin E와 더불어 不飽和脂肪酸의 過酸化를 防止하는 作用을 가지고 있는 것으로<sup>70)</sup> 本 실험에서 正常群에 對하여 對照群이 減少된 狀態에서 實驗群 B, C, D에서 有意性있는 增加를 나타내었다(Table 9, Fig. 9).

Glutathion reductase는 酸化型 Glutathion을 還元시키는 作用을 가지고 있는 것으로<sup>70)</sup> 本 실험에서 別다른 變化는 없었다(Table 10, Fig. 10).

γ-Glutamylcystein synthetase은 Glutathion의 세포내 含量을 維持시키는 作用을 가지고 있는 것으로<sup>70)</sup> 本 실험에서 別다른 變化는 없었다(Table 11, Fig. 11).

以上의 結果를 總括해보면 實驗群은 對照群에 比較하여, 過酸化脂質 含量은 有意性있게 減少하였으며, 酸化酵素系인 Cytochrome p-450, Cytochrome b5, NADPH-Cytochrome P450 實驗群 中 補肺散의 濃도가 200mg/kg以上의 實驗群 B, C, D에서 有意性있게 減少하였으며 亢酸化因子中 superoxide dismutase, catalase, glutathion peroxidase에서 實驗群 B, C, D에서 有意性있게 增加하였다. 以上의 實驗結果로 보아 補肺散은 活性酸素 生成의 抑制 보다는 老化 暵界의 過酸化脂質 및 解毒系 酵素活性에 有意性 있게 作用하므로 老化에 따른 肺의 全般의인 機能低下를 改善시킬 것으로 思慮되며 向後로 臨床的인 活動과 研究가 기대된다.

## V. 結 論

老化過程의 暵界에서 補肺散이 代謝酵素系에 미치는 影響을 觀察한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 肺內 過酸化脂質의 含量은 全 實驗群에서 有意性있게 減少하였다.
2. Cytochrome p-450, Cytochrome b5, NADPH-Cytochrome P450은 實驗群 B, C, D, 에서 有意性있게 減少하였다.
3. superoxide dismutase, catalase, glutathion peroxidase는 實驗群 B, C, D, 에서 有意性있게 增加하였다.
4. glutathion, glutathion S-transferase, glutathion reductase, γ-Glutamylcystein synthetase는 全 實驗群에서 有意性 있는 變化는 없었다.

以上의 結果로 보아 補肺散이 肺內過酸化脂質 및 代謝酵素系에 肯定的 影響을 주었고 老化抑制 效能이 있는 것으로볼때 向後 臨床的인 活用이 기대되어 진다.

## 參 考 文 獻

1. 최진호 : 老化의 메커니즘과 ,연구방향, 생화학뉴스, 한국생화학회, 5(3):39-53,1985.
2. 徐舜圭 : 成人病.老人醫學, 고려의학, 서울, pp.10-11,13-19,1992.
3. 김숙희 外 : 노화, 민음사, 서울, pp.77-106, 1995.
4. 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, p.4-5. 1986,
5. 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, p337. 1986,
6. 이정복: 장수학, 과학·백과사전출판사, 서울, pp.20-37,52-54, 1987.
7. James D.Porterfield의 : 노화와건강, 대한미디어, 서울, pp.27-39, 1995.
8. 후지모토다이사부로 : 노화는 왜 일어나는가, 전파과학사, 서울, pp.31-55, 1987.
9. 도이 하루후미: 노화 DNA의 음모, 대광서림, 서울, pp.117-134, 1992.
10. 과학·백과사전출판사 : 자연치료건강학, 일월서각, 서울, pp.465-468, 1990.

11. 윤방부: 임상가정의학, 수문사, 서울, pp.130-131, 1991.
12. 李吉相 譯: 世界 長壽村 探訪, 大光文化社, 서울, pp.241-246, 1978.
13. 大韓病理學會 編: 病理學, 高文社, 서울, pp.36-40, 1990.
14. 大韓皮膚科學會: 皮膚科學, 麗文閣, 서울, pp.23-25, 1979.
15. 盧德三: 自然食과 健康長壽, 서울, pp.41-50, 1983.
16. 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.
17. 김경숙 의 : 老化防止를 위한 韓藥劑의 效能 研究, 韓國韓醫學研究所, 1995.
18. 문진영 의 : 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, 15:361-375, 1996.
19. 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, 18(2):127-148, 1995.
20. 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.
21. 河在原 : 定志丸이 老化에 미치는 影響, 大田 大學校大學院, 1996.
22. 朴載瑛 : 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.
23. 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, 17(1):465-477, 1996.
24. 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, 16(2):348-364, 1995.
25. 金潤子 : 平補湯이 老化에 미치는 影響, 東國 大學校大學院, 1996.
26. 이현숙 : 更年1號丸의 抗酸化 活性에 관한 研 究, 東國論集, 15:343-357, 1996.
27. 徐敏華 : 聰明湯이 老化白鼠 腦組織의 生化學 的 變化和 神經細胞의 損傷에 미치는 影響, 圓光大 學校大學院, 1996.
28. 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.
29. 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.
30. 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, 17(2):8-18, 1997.
31. 尹哲浩 外 : 흰쥐의 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, 17(2):191-202, 1996.
32. 安竣徹 外 : 當歸 藥針液의 抗酸化 效能에 관한 研究, 大韓鍼灸學會誌, 13, No.2:254-262, 1996.
33. 林昌秀 外 : 芍藥 藥針液의 抗酸化 效能에 관한 研究, 大韓鍼灸學會誌, 14, No.2:191-198, 1997.
34. 朴태균 : 桂枝 藥針의 抗酸化作用에 관한 實 驗的 研究, 大田大學校大學院, 1998.
35. 이종무 : 巴戟 藥針의 抗酸化作用에 관한 實 驗的 研究, 大田大學校大學院, 1998.
36. 이상욱 : 益智仁 藥針의 抗酸化作用에 관한 實驗的 研究, 大田大學校大學院, 1998.
37. 朴겨울 : 淫羊藿 藥針의 抗酸化作用에 관한 實驗的 研究, 大田大學校大學院, 1998.
38. 朴炫宣 : 山茱萸 藥針의 抗酸化作用에 관한 實驗的 研究, 大田大學校大學院, 1998.
39. 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.
40. 鄭昇紀 外 : 東醫肺系內科學, 민서출판사, 서 울, pp11-13, 1991.
41. 許 浚 : 東醫寶鑑 I (內經篇) 大星文化史, 서울 p.361, 1990.
42. H. Ohkawa, N. Ohishi and K. Yaki: Assay for lipid peroxide in animal tissue by thiobarbituric acid reaction, Anal.Biochem., 95, 351(1979).
43. G. I. Ellman. Tissue sulfhydryl group, Arch. Biochem. B. O. physis. 30. 1959. 2409.
44. F. Omura and R. Sato, Th carbon monoxide binding pigments of liver microsomes.

- in : Evidence for its hemoprotein nature, J. Biol. Chem, 239, 2370, 1964.
45. W. H. Habig, M. J. Pabist and W. B. Jakoby, Glutathione S-transferase: The first enzymatic step in mercapturic acid formation, J. Biol. Chem, 249, 7130, (1974).
46. E. D Paglia and W. N. Valentine, Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathion peroxidase, J. Lab. Clin. Med, 70, 158, 1967.
47. C. E. Mize and R. G. Langdon, Hepatic glutathione reductase. In : Purification and general kinetic properties, J. Biol. Chem, 237, 1589, 1962.
48. A. Meister and P. G. Richman, Regulation of  $\gamma$ -Glutamylcystein synthetase by nonallosteric feedback inhibition by glutathion J. Biol. Chem, 250, 1422, 1975.
49. O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Rendall: Protein measurement with tolin phenol reagent, J. Biol. Chem., 193, 265, (1951).
50. 張錫泰 : 피부과학, 여문각, 서울 pp.23-25, 1994.
51. 디팍 초프라 : 사람은 늙지않는다, 정신세계사, 서울 pp.21-22, 102-103, 1994.
52. 徐舜圭 : 成人病·老人病學, 서울, 高麗醫學, p. pp.9-18, 28-30, 33-35, 73-77, 107, 251-254, 277-280, 343-344, 402, 475-477, 505-506, 1992.
53. 杜鎬京 : 東醫腎系學, 東洋醫學研究院, 서울, pp.1325-1383, 1993.
54. 李正복: 장수학,과학·백과사전출판사, 서울, pp.11-99,492-576, 1987.
55. 李聰甫: 傳統老年醫學,湖南,湖南科學技術出版社,1988, pp.212-215.
56. 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 pp.57-60, 139-146, 240-244,1995.
57. 林乾良 : 養生壽老集, 上海科學技術出版社海, pp.26-27, 110-125, 132-143, 1982.
58. 金永坤 外 : 프리라디칼, 麗文閣, 서울, p.455, 564, 1997.
59. 李吉相 : 世界 長壽村 探訪, 大光文化社, 서울, pp.200-248, 1978.
60. Cutler , R., G. : Antioxidant aging and longevity. Free Radicals in Biology(ed.Pryor, W.), Academic Press, Vol.6:371-424, 1984.
61. Feher,J, Csomos, G and Vereckei,A : The free radical theory of aging, Free Radicals Reactions in Medicine, Springer-Verlag, Berlin, pp.57-59, 1987.
62. Harman, D : Free radical theory of aging, J Gerontol, 23:476-482, 1986.
63. 오유진 : 활성산소가 질병의 원인이었다, 이화문화출판사, 서울, pp.57-67, 1997.
64. 蘇敬順 外 : 鹿蓼地黃湯이 抗老衰에 미치는 影響, 慶熙大學校論文集, 서울, 18(2):127-148, 1995.
65. 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., pp.3-49, 1986.
66. 虞搏 : 醫學正傳, 成輔社, 서울, p.9, 1986.
67. 中國中西醫結合雜誌編輯委員會 : 中國中西醫結合雜誌, 一中社, 서울, pp101-102, 1993.
68. 王肯堂 : 證治準繩, 大星文化史, 서울, 1995.
69. 韓承연 : 東洋醫學에 있어서의 暎蒙療法에 關한 醫史學的 考察, 大韓韓醫學會報, 30號, 1970.
70. 이귀녕 外 : 임상병리과일 , 의학문화사, 서울 p.138, 139, 241, 348, 1993.
71. 全國韓醫科大學肝系內科學教授共著 : 肝系內科學, 社團法人東洋醫學研究院, pp182-184, 1989.