

老化過程의 腎臟에서 補腎丸이 腎臟의 代謝酵素系에 미치는 影響

孫旻成 · 吳旻錫 · 宋泰元*

Abstract

Effect of BOSINHWAN(BSH) Water Extract on Renal Lipid Peroxide Content and Metabolic Enzyme System.

Son Min-sung, Oh Min-suk, Song Tae-won.
Dept. of Oriental Medicine
Graduate School Tae jon University

The experimental studies were carried out in order to prove the effect of BSH water extract on Renal lipid peroxide content and metabolic enzyme system experimental studies about peroxide content, transferase, enzyme activity were carried out.

The result were obtained as follows :

1. In the change of lipid peroxide of renal tissue, all group was decreased, more of two weeks was decreased.
2. In the change of BUN of renal tissue, all group was decreased.
3. In the change of LDH of urine, all group was not significant.
4. In the change of γ -glutamyltransferase, Xanthine oxidase, Aldehyde oxidase of urine, all group was decreased.
5. In the change of protein-bound SH, nonprotein-bound SH, glutathione, glutathione S-transferase, γ -Glutamylcystein synthetase of renal tissue, all group was increased.

From above results, BSH was had significant effects on the senile, so it is expected to clinical application on senility and geratology.

I. 緒 論

老化는 人體의 生理的인 過程 中の 하나로 各自의 先天的인 稟賦와 後天的인 環境 및 各自가 含有하고 있는 精神機能에 따라 老化가 다르게 表出되고 있다¹⁻²⁾.

韓醫學의 古典인 《黃帝內經》 <靈樞·千年篇>³⁻⁴⁾에서는 “五十歲, 肝氣始衰……九十歲, 腎氣焦, 四臟經脈空虛. 百歲, 五臟皆虛, 腎氣皆去, 形骸獨居而終矣.”라 하였으며, <素問·陰陽應象大論>³⁻⁴⁾에서는 “年四十而陰氣自半也, 起居衰矣, 年五十體重, 耳目不聰明矣. 年六十, 陰痿, 氣大衰, 九竅不利, 下虛上實, 涕泣俱出矣. 故曰, 知之則強, 不知則老.”라 하여 五十歲 以上이 되면 老人으로서의 變化가 나

* 大田大學校 韓醫科大學 再活醫學教室

타나므로 이를 알고 養生을 하여야한다고 說明하고 있다⁵⁻⁶⁾.

西醫學의인 老化的 概念으로는 消耗說과 遺傳子說로 나누고, 消耗說은 다시 直接的인 原因으로 생각되는 有毒代謝産物의 蓄積과 遊離酸素基理論 (free radical theory), 誤謬理論(error catastrophe theory)등으로 나누며, 遺傳子說은 豫定說, 體細胞突然變異理論(somatic mutation) 및 計劃理論(programmed theory)등이 있고 이 中에서도 遊離基說에 根據한 實驗의 研究가 활발히 이루어지고 있는 實情이다⁷⁻¹¹⁾.

한편, 腎臟은 “臟腑之本, 十二脈之根, 呼吸之本, 三焦之源”으로 人身의 生長·發育過程과 關聯이 있으며, <素問·上古天眞論>³⁾에 “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 密接한 關聯이 있음을 알 수 있다.

따라서 最近의 老化에 對한 研究중에서 韓醫學分野에 該當되는 것을 살펴보면 高麗紅蔘, 高麗人蔘, 熟地黃, 黃芪, 鹿茸, 柴胡 等の 單味劑를 利用한 論文¹³⁻¹⁵⁾, 鹿蔘地黃湯, 六味地黃湯, 左歸飲과 右歸飲, 定志丸 等の 複合處方을 利用한 論文¹⁶⁻²¹⁾, 當歸, 胡桃, 桂枝, 巴戟, 益智仁 等の 藥針製劑를 利用한 論文²²⁻²⁶⁾ 및 理學的 因子를 利用한 研究²⁷⁾ 등으로 區分할 수 있는데, 그 中에서 補腎하는 藥物 및 處方이 主從을 이루고 있었다.

이에 著者는 實際臨床에서 가장 多用되는 醫書인 《東醫寶鑑》²⁸⁾에 收載된 代表的인 補腎處方中 腎水不足과 陰虛에 活用되는 補腎丸의 抗老化作用을 實驗的으로 立證하고자 補腎丸 煎湯液을 老化 흰쥐(32週齡, 500g內外)에 投與하고 腎臟內 過酸化脂質 및 代謝酵素系를 觀察한 結果 有意性 있는 成績을 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實 驗

1. 材料

1) 試藥 및 器具

試藥중 atp-disodium salt, glycylglycine, sodium dodecyl sulfate, thiobarbituric acid,

5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid, sulfamic acid ammonium, sulfanilamide, glutathione, edta, trichloroacetic acid, ninhydrin reagent, cysteine, xanthine sodium, nad, uric acid, n-methyl nicotinic chloride, 2-pyridone, 1-chloro-2,4-dinitrobenzene, tris hcl, 1-glutamic acid, atp, oxidized glutathione, nadph, bovine serum albumin는 Sigma社로부터, malondialdehyde는 Aldrich社로부터 購入하였으며, blood urea nitrogen kit(Iatron Lab. Japan), lactate dehydrogenase kit(AM 159-K, Asan)를 使用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), light microscopy(Olympus BH-2 with C-35-AD2), cold lab, chamber(Korean Manhattan, KMC-8512)등을 使用하였다.

2) 材料

(1) 藥材의 選擇

本 實驗에 使用한 藥劑는 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》²⁸⁾에 收載된 補腎丸으로 1貼의 處方內容과 分量은 다음과 같다.

Prescription of BOSINHWAN(BSH)

韓藥名	生藥名	重量(g)
龜板	Testudinis Carapax	8
知母	Anemarrhen Rhizoma	6
黃栢	Phellodendri Cortex	6
乾薑	Zingiberis Rhizoma	2
Total amount		22

(2) 動物

實驗動物로는 韓國實驗 動物開發로 부터 分讓 받은 雄性 Sprague-Dawley계 正常흰쥐(週齡 6週, 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: 12시간 light/dark cycle)에서 飼育한 후 使用하였다. 對照群은 同一量의 生理食鹽

물을 投與하였다. 實驗동물은 실험前 24시간 동안 물만주고 絶食하였다.

2. 方法

1) 檢液의 製造 老化過程의 흰쥐에서 補腎丸이

上記 處方 20貼의 分量 440g을 水洗하여 蒸溜水로 2回 8시간씩 3回 還流 冷却器에서 反復 實施한 後 抽出物을 모아 rotary evaporator로 減壓 濃縮하여 造抽出物을 冷凍乾燥하여 粉末 69.1g을 얻어 本 實驗에 必要로 하는 濃度로 生理食鹽水로 稀釋하여 使用하였다.

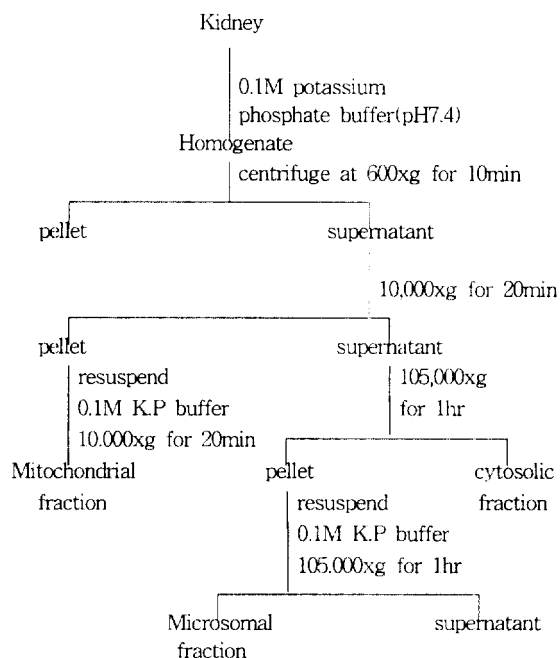
2) 檢液의 投與

檢液의 投與는 正常흰쥐 10마리 1群과 老化흰쥐 10마리를 3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 補腎丸 抽出物을 用量別(100, 200, 300, 400 mg/kg — BSH A, B, C, D)로 投與한 群으로 各 各 區別하였다. 各 各의 投與 期間은 豫備 實驗에 準하여 2週間 投與하였다.

3) 酵素源의 調製

實驗動物을 CO₂ gas로 痲醉 시킨 後 腹部正中線을 따라 切開하고 腹部大動脈에서 血液을 採取하였다. 이 血液을 3,000rpm에서 15分間 遠心分離하여 얻은 血清을 blood urea nitrogen(BUN)의 測定의 酵素源으로 使用하였으며, 尿는 metabolic cage에서 24時間 尿를 採取하여 600xg에서 20分間 遠心分離하여 上騰液을 取하여 lactate dehydrogenase(LDH) 및 γ -glutamyltransferase (γ -GT)의 活性을 測定하였다. 腎臟을 摘出하여 生理食鹽水로 씻은後 濾紙로 血液 및 其他 異物質을 除去하고 평량한 다음 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.4)를 添加하여 glass teflon homogenizer로 磨碎하여 10%로 하였다. 이 磨碎液을 600 xg에서 10分間 遠心分離하여 核 및 未磨碎 部分을 除去한 上騰液을 10,000 xg에서 20分間 遠心分離하였다. 이 上騰液을 105,000 xg에서 1시간 超遠心分離하여 cytosolic fraction으로, 그 沈澱物에 同一한 量에 0.1M potassium phosphate buffer를 가하여 懸탁 시킨 液을 microsomal fraction으로 하였다. 磨碎液은 蛋白

結合 SH, 非蛋白 結合 SH, 脂質過酸化의 含量 및 glutathione의 含量을 測定하였으며, cytosolic fraction은 xanthine oxidase, aldehyde oxidase, glutathione S-transferase, glutathione reductase 및 γ -glutamylcystein synthetase 活性의 酵素源으로 使用하였다. 以上의 모든 造作은 따로 規正이 없는한 4°C이하에서 行하였다.(Scheme I)



Scheme I. Preparation of mitochondrial, microsomal and cytosolic fractions

4) Blood urea nitrogen의 測定

市販 kit(Iatron Lab. Japan)를 使用하여 urease-indophenol法²⁹⁾으로 測定하였다. 즉 血清에 酵素試液을 가한 後 37°C에서 15分間 放置 시킨 後, 이곳에 次亞鹽素酸 試液을 加하여 540nm에서 吸光度를 測定하여 檢量線에서 活性度를 算定하였다.

5) 尿中 lactate dehydrogenase의 活性 測定

市中에서 購入한 kit(AM 159-K, Asan)를 使用하였다. 卽 器質液 (100ml當 젓산리튬 2.31g 및 tris-hydroxymethyl aminomethane 2.42g 含有)과 晶色試液(100ml當 NAD 574mg 및 1-methylphenassium metalsulfate 3.4ml 含有)을

1:1로 混合하여 37°C에서 5分間 preincubation한 후 尿를 加하여 37°C에서 10分間 放置한 후 鹽酸으로 反應을 終了시켜 波長 570nm에서 그 吸光度를 읽고 標準曲線에서 그 活性도를 算定하였다.

6) 尿中 γ -glutamyltransferase의 活性 測定

40mM glycylglycine을 含有하는 Tris緩衝液(pH 8.2)의 反應液에 尿를 加하여 405nm에서 吸光度를 測定하여 生成되는 p-nitroaniline을 測定하였다.

7) 腎組織中 含量 測定

(1) 脂質過酸化의 含量 測定

Ohkawa등의 方法³⁰⁾에 準하여 腎 組織 1g당 9 倍量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 후 95°C에서 1시간 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 腎 組織 1g당 malondialdehyde nmole로 表示하였다.

(2) 蛋白結合 SH濃度の 測定

0.2M tris buffer(pH 8.2) 1ml, 0.01M DTNB(5,5'-dithiobis-2-nitro benzoic acid) 0.1ml, methanol 4ml를 取한 후 여기에 homogenate 0.1ml를 取하여 24°C, 15分間 放置하였다. 이것을 4000rpm에서 30分間 遠心分離 한 후 上騰液을 412nm에서 吸光度를 測定하여 全體 蛋白 SH濃度を 구하였다. 여기에서 非蛋白 SH濃度を 除하여 蛋白結合 SH濃度を 計算하였다.

(3) 非蛋白結合 SH濃度の 測定

Higashita³¹⁾에 의해서 測定했으며 homogenate에 同量의 10% trichloroacetic acid 溶液을 加하여 遠心分離한 上騰液을 sample로 하였다. 對照群 0.1ml에 0.01M NaNO₂ 1vol.과 0.2N H₂SO₄ 9vol.을 混合調製하여 0.5ml를 加한 다음에 5分間 放置시켰다. 0.5% sulfamic acid ammonium 收容液 0.2ml를 加하여 强하게 混合한 후 1% HgCl₂ 1vol.과 3.4% sulfanilamide/0.4N HCl 9vol. 혼합을 1ml 加하였다. 그리고 0.1%

N-1-naphthylethylenediamine/0.4N HCl 溶液 1ml 加하고 5分 후 540nm에서 吸光度를 測定하였다. 標準溶液으로서 125nM glutathione 溶液을 使用하였다.

(4) 腎 組織中 glutathione의 定量

Gaitonde의 方法³²⁾을 약간 變更하여 10% 腎組織 1 ml에 1mM EDTA가 含有된 5% trichloroacetic acid를 加하여 遠心分離한 후 上騰液 0.5 ml를 取하여 0.5 ml ninhydrin 試藥을 加한 후 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 제한값을 glutathione의 量으로 하였다.

8) 腎臟中 酵素活性의 測定

(1) Xanthine oxidase의 活性 測定

Stripe와 Della Corte의 方法³³⁾에 準하여 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.5)에 器質인 xanthine sodium과 酵素源 및 電子收容體인 NAD를 加하여 37°C에서 反應 시킨 다음 20% trichloroacetic acid를 加하여 除蛋白 시키고 遠心分離하여 上騰液을 취한 후 生成되는 尿酸의 吸光度를 292nm에서 測定하여, xanthine dehydrogenase와 xanthine oxidase 活性度の 合으로 算定하고 NAD를 變 反應液 中에서 生成된 尿酸의 量을 波長 292nm에서 읽은 값을 xanthine oxidase의 活性도로 計算하였다. 酵素의 活性도는 1分間 1mg 蛋白質이 生成 시킨 尿酸의 量을 nmole로 表示하였다.

(2) Aldehyde oxidase의 活性 測定

Rajagopalan등의 方法³⁴⁾에 準하여 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.5)에 器質인 n-methyl nicotinic chloride와 酵素液을 加하여 37°C에서 反應 시킨후 生成物인 2-pyridone을 波長 300nm에서 吸光度의 變化를 읽고 檢量線에 準하여 活性도를 算定하였다. 酵素의 活性도는 1分間 1mg 蛋白質이 生成 시킨 2-pyridone을 nmole로 表示하였다.

(3) Glutathione S-transferase의 活性 測定

Habig등의 方法³⁵⁾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 후 이때 生成되는 thioether를 340nm에서 吸光度의 變化를 읽고 吸光計數 9.6 mM⁻¹cm⁻¹을 利用하여 酵素의 活性度를 算定하였다.

(4) γ-Glutamylcystein synthetase의 活性 測定
Meister와 Richman의 方法³⁶⁾에 準하여 反應液 3.5 ml中 0.1M tris HCl buffer(pH 8.0), 8.9 mM L-glutamic acid, 0.94 mM EDTA, 3.2 mM MgCl₂, 1.35 mM ATP 와 酵素液(100-300 μg 蛋白質)을 加하여 37°C 에서 10分間 反應시킨 후 spectrophotometer를 利用하여 吸光度 600nm에서 酵素의 活性를 測定하였다.

(5) Glutathione reductase의 活性 測定
Mize and Langdon의 方法³⁷⁾에 準하여 反應液 3.0 ml中 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5), 0.94 mM EDTA, 4.6 mM oxidized glutathione, 0.16 mM NADPH 및 酵素液(400-600 μg 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) 蛋白質 定量 및 統計處理

蛋白質의 含量은 Lowry등의 方法³⁸⁾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 平均値 ± 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. 腎臟의 過酸化脂質 含量에 미치는 影響

補腎丸의 煎湯液의 投與 用量 및 期間을 設定하기 위한 豫備 實驗으로 用量別(100, 200, 300, 400 mg/kg)로 1週에서 4週間 投與하고서 老化 흰쥐의 腎臟 脂質過酸化의 含量을 觀察하였다. 全 sample群에서 2週 후부터 有意性 있는 變化가 나타났고, 그 以上 및 以下의 濃度 및 期間에서는 有意性 있는 變化는 없었다. 단지 sample B에서만 期間이 지날수록 有意性 있게 減少하였다(Table 1, Fig. 1). 이 結果를 上臺로하여 以後의 實驗에서는 補腎丸 煎湯液을 100, 200, 300, 400 mg/kg 씩 2週間 投與하였다.

Fig. 1. Effect of water extract from Bosinhwan(BSH) on hepatic lipid peroxide content in eight month rats.

Table 1. Effect of water extract from Bosinhwan(BSH) on hepatic lipid peroxide content in eight month rats

Dose Group(mg/kg)	Content(MDA nmole/g of tissue)				
	0	1	2	3	4(week)
Normal	14.3±8.6 ^a				
Control	36.2±7.6 ^a				
BSH A 100		37.2±8.0 ^b	35.6±9.2 ^b	32.4±6.8 ^b	31.7±8.2 ^b
BSH B 200		21.3±6.8 ^c	20.7±7.3 ^c	18.6±7.9 ^c	22.4±5.3 ^c
BSH C 300		16.7±4.3 ^{c,d}	18.9±5.6 ^c	17.2±3.9 ^c	17.5±3.8 ^c
BSH D 400		18.2±5.6 ^c	16.2±3.9 ^d	17.6±4.3 ^c	16.8±4.6 ^c

Rats were orally administered water extract from Bosinhwan(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.

2. Blood urea nitrogen의 活性에 미치는 影響

Blood urea nitrogen의 活性을 測定한 結果 對照群은 180%(58.7±4.87)로 顯著히 增加한 것에 比하여 全實驗群에서 有意性 있게 減少하였다 (Table 2, Fig. 2).

Table 2. Effect of water extract from Bosinwan (BSH) on blood urea nitrogen(BUN) concentration in eight month rats

Dose Group (mg/kg)	Concentration	
	mg/ml	% of Normal
Normal	32.6 ± 4.15 ^a	100
Control	58.7 ± 4.87 ^b	180
BSH A 100	42.3 ± 3.21 ^c	130
BSH B 200	39.8 ± 6.17 ^c	122
BSH C 300	37.2 ± 4.36 ^c	114
BSH D 400	35.6 ± 3.21 ^c	109

Rats were orally administered water extract from Bosinwan(0, 100, 200, 300, 400mg/kg) daily for two 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.

Fig. 2. Effect of water extract from Bosinwan (BSH) on blood urea nitrogen (BUN) concentration in eight month rats.

3. 尿中 lactate dehydrogenase의 活性에 미치는 影響

尿中 lactate dehydrogenase의 活性을 測定한

結果 對照群과 全實驗群에서 有意性 있는 變化가 없었다(Table 3, Fig. 3).

Table 3. Effect of water extract from Bosinwan (BSH) on urinaru lactate dehydrogenase activity in eight month rats

Dose Group (mg/kg)	Activity	
	U /24hr urine	% of Normal
Normal	27.9 ± 3.27 ^{ns}	100
Control	33.2 ± 2.43	119
BSH A 100	31.3 ± 5.36	121
BSH B 200	29.9 ± 3.41	110
BSH C 300	31.7 ± 4.46	113
BSH D 400	30.6 ± 5.43	109

Rats were orally administered water extract from Bosinwan(0, 100, 200, 300, 400mg/kg) daily for two 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. ns : not significant

Fig. 3. Effect of water extract from Bosinwan(BSH) on urinaru lactate dehydrogenase activity in eight month rats.

4. 尿中 γ-glutamyltransferase의 活性에 미치는 影響

尿中 γ-glutamyltransferase의 活性을 測定한 結果 對照群은 320%(69.8±5.62)로 顯著히 增加한 것에 比하여 300mg/kg을 投與한 群 166%(36.2±3.12), 400mg/kg을 投與한 群 174%(36.0±3.30), 200mg/kg을 投與한 群 182%(39.8±4.27), 100mg/kg을 投與한 群 199%(43.2±3.19)의 順으로 有意性

있는 減少를 나타내었다(Table 4, Fig. 4).

Table 4. Effect of water extract from Bosinhwan (BSH) on urinary γ -glutamyltransferase in eight month rats

Dose Group (mg/kg)	Activity	% of Normal
	U /24hr urine	
Normal	21.8±3.15 ^a	100
Control	69.8±5.62 ^b	320
BSH A 100	43.2±3.19 ^c	199
BSH B 200	39.8±4.27 ^c	182
BSH C 300	36.2±3.12 ^c	166
BSH D 400	38.0±3.30 ^c	174

Rats were orally administered water extract from Bosinhwan(0, 100, 200, 300, 400mg/kg) daily for two 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 \pm 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.

Fig. 4. Effect of water extract from Bosinhwan (BSH) on urinary γ -glutamyltransferase in eight month rats.

5. Xanthine oxidase 의 活性에 미치는 影響

Xanthine oxidase 活性을 測定한 結果 對照群은 300%(2.34±0.30)으로 顯著히 增加한 것에 比하여 300mg/kg을 投與한 群 125%(0.98±0.33), 200mg/kg을 投與한 群 140%(1.09±0.23), 400mg/kg을 投與한 群 143%(1.12±0.21), 100mg/kg을 投與한 群 154%(1.21±0.13)의 順으로 有意性 있는 減少를 나타내었다(Table 5, Fig. 5).

Table 5. Effect of water extract from Bosinhwan (BSH) on renal cytosolic xanthine oxidase activity in eight month rats

Dose Group (mg/kg)	Activity*	% of Normal
Normal	0.78±0.25 ^a	100
Control	2.34±0.30 ^b	300
BSH A 100	1.21±0.13 ^c	155
BSH B 200	1.09±0.23 ^c	140
BSH C 300	0.98±0.33 ^{c-d}	125
BSH D 400	1.12±0.21 ^c	143

Rats were orally administered water extract from Bosinhwan(0, 100, 200, 300, 400mg/kg) daily for two 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 \pm 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.
* : uric acid nmole/mg protein/min

Fig. 5. Effect of water extract from Bosinhwan (BSH) on renal cytosolic xanthine oxidase activity in eight month rats.

6. Aldehyde oxidase의 活性에 미치는 影響

Aldehyde oxidase 活性을 測定한 結果 對照群은 276%(36.8±0.53)로 顯著히 增加한 것에 比하여 400mg/kg을 投與한 群 132%(17.6±0.37), 300mg/kg을 投與한 群 140%(18.7±0.42), 200mg/kg을 投與한 群 160%(21.35±0.49), 100mg/kg을 投與한 群 154%(20.5±0.31)의 順으로 有意性 있는 減少를 나타내었다(Table 6, Fig. 6).

Table 6. Effect of water extract from Bosinhwan (BSH) on renal aldehyde oxidase activity in eight month rats

Dose Group (mg/kg)	Activity	
	2-pyridone nmole/mg protein/min	% of Normal
Normal	13.3 ± 0.20 ^a	100
Control	36.8 ± 0.53 ^b	276
BSH A 100	20.5 ± 0.31 ^c	154
BSH B 200	21.35 ± 0.49 ^c	160
BSH C 300	18.7 ± 0.42 ^{c,d}	140
BSH D 400	17.6 ± 0.37 ^d	132

Rats were orally administered water extract from Bosinhwan(0, 100, 200, 300, 400mg/kg) daily for two 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.

Table 7. Effect of water extract from Bosinhwan (BSH) on renal protein-bound SH concentration in eight month rats

Dose Group (mg/kg)	Concentration	
	μ mole/g of tissue	% of Normal
Normal	19.2 ± 2.11 ^d	100
Control	9.89 ± 0.98 ^b	52
BSH A 100	15.3 ± 1.37 ^c	79
BSH B 200	17.2 ± 2.01 ^c	90
BSH C 300	16.8 ± 1.67 ^c	88
BSH D 400	17.8 ± 1.43 ^a	93

Rats were orally administered water extract from Boganhwan(0, 100, 200, 300, 400mg/kg) daily for two 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.

Fig. 6. Effect of water extract from Bosinhwan(BSH) on renal aldehyde oxidase activity in eight month rats.

7. 蛋白結合 SH濃度에 미치는 影響

蛋白結合 SH濃度を測定한 結果 對照群은 52%(9.89 ± 0.98)로 顯著히 減少한 것에 比하여 400mg/kg을 投與한 群 93%(17.8 ± 1.43), 300mg/kg을 投與한 群 88%(16.8 ± 1.67), 200mg/kg을 投與한 群 90%(17.2 ± 2.01), 100mg/kg을 投與한 群 79%(15.3 ± 1.37)의 順으로 有意性 있는 增加를 나타내었다(Table 7, Fig. 7).

Fig. 7. Effect of water extract from Bosinhwan(BSH) on renal protein-bound SH concentration in eight month rats.

8. 非蛋白結合 SH濃度에 미치는 影響

非蛋白結合 SH濃度を測定한 結果 對照群은 34%(1.24 ± 0.09)로 顯著히 減少한 것에 比하여 400mg/kg을 投與한 群 82%(2.98 ± 0.41), 200mg/kg을 投與한 群 77%(2.78 ± 0.29), 300mg/kg을 投與한 群 71%(2.59 ± 0.33), 100mg/kg을 投與한 群 64%(2.32 ± 0.18)의 順으로 有意性 있는 增加를 나타내었다(Table 8, Fig. 8).

Table 8. Effect of water extract from Bosinhwan (BSH) on renal nonprotein-bound SH concentration in eight month rats

Dose Group (mg/kg)	Activity	% of Normal
	μ mole/g of tissue	
Normal	3.62 \pm 2.34 ^a	100
Control	1.24 \pm 0.09 ^b	34
BSH A 100	2.32 \pm 0.18 ^c	64
BSH B 200	2.78 \pm 0.29 ^{c,d}	77
BSH C 300	2.59 \pm 0.33 ^c	71
BSH D 400	2.98 \pm 0.41 ^d	82

Rats were orally administered water extract from Bosinhwan(0, 100, 200, 300, 400mg/kg) daily for two 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 \pm 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.

Fig. 8. Effect of water extract from Bosinhwan(BSH) on renal nonprotein-bound SH concentration in eight month rats.

9. 腎組織中 glutathione의 定量에 미치는 影響

腎組織中 glutathione의 定量을 測定한 結果 對 照群은 44%(0.64 \pm 0.087)로 顯著히 減少한 것에 比하여 300mg/kg을 投與한 群 87%(1.26 \pm 0.115), 400mg/kg을 投與한 群82%(1.19 \pm 0.098), 200mg/kg을 投與한 群 80%(1.16 \pm 0.156), 100mg/kg을 投與한 群 74%(1.08 \pm 0.123)의 順으로 有意性 있는 增加를 나타내었다(Table 9, Fig. 9).

Table 9. Effect of water extract from Bosinhwan (BSH) on renal glutathione e concentration in eight month rats

Dose Group (mg/kg)	Concentration	% of Normal
	μ mole/mg protein	
Normal	1.45 \pm 0.136 ^a	100
Control	0.64 \pm 0.087 ^b	44
BSH A 100	1.08 \pm 0.123 ^c	74
BSH B 200	1.16 \pm 0.156 ^c	80
BSH C 300	1.26 \pm 0.115 ^{c,d}	87
BSH D 400	1.19 \pm 0.098 ^c	82

Rats were orally administered water extract from Bosinhwan(0, 100, 200, 300, 400mg/kg) daily for two 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 \pm 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.

Fig. 9. Effect of water extract from Bosinhwan(BSH) on renal glutathione e concentration in eight month rats.

10. Glutathione S-transferase의 活性에 미치는 影響

Glutathione S-transferase의 活性을 測定한 結果 對照群은 66%(103.9 \pm 9.23)로 顯著히 減少한 것에 比하여 300mg/kg을 投與한 群 93%(145.7 \pm 13.6), 400mg/kg을 投與한 群 89%(138.7 \pm 10.7), 200mg/kg을 投與한 群 84%(131.6 \pm 12.8), 100mg/kg을 投與한 群 77%(120.9 \pm 10.1)의 順으로 有意性 있는 增加를 나타내었다(Table 10, Fig. 10).

Table 10. Effect of water extract from Bosinhwan (BSH) on renal glutathione S-transferase activity in eight month rats

Dose Group (mg/kg)	Activity	
	nmole/mg protein/min	% of Normal
Normal	156.3 ± 14.6 ^a	100
Control	103.9 ± 9.23 ^b	66
BSH A 100	120.9 ± 10.1 ^c	77
BSH B 200	131.6 ± 12.8 ^c	84
BSH C 300	145.7 ± 13.6 ^{c,d}	93
BSH D 400	138.7 ± 10.7 ^c	89

Rats were orally administered water extract from Bosinhwan(0, 100, 200, 300, 400mg/kg) daily for two 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.

* : 1,2 dinitro-4-nitrobenzene

Table 11. Effect of water extract from Bosinhwan (BSH) on renal γ-Glutamylcystein synthetase activity in eight month rats

Dose Group (mg/kg)	Activity	
	Pi nmole/mg protein/min	% of Normal
Normal	13.26 ± 1.23 ^d	100
Control	6.48 ± 0.45 ^b	49
BSH A 100	9.36 ± 1.42 ^c	71
BSH B 200	10.07 ± 1.20 ^c	76
BSH C 300	11.72 ± 1.03 ^c	88
BSH D 400	10.92 ± 1.38 ^c	82

Rats were orally administered water extract from Bosinhwan(0, 100, 200, 300, 400mg/kg) daily for two 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.

Fig. 10. Effect of water extract from Bosinhwan(BSH) on renal glutathione S-transferase activity in eight month rats.

11. γ-Glutamylcystein synthetase의 활성에 미치는影響

γ-Glutamylcystein synthetase의 활성을測定한結果對照群은 49%(6.48±0.45)로顯著히減少한것에比하여 300mg/kg을投與한群 88%(11.72±1.03), 400mg/kg을投與한群 82%(10.92±1.38), 200mg/kg을投與한群 76%(10.07±1.20), 100mg/kg을投與한群 71%(9.36±1.42)의順으로有意性 있는增加를 나타내었다(Table 11, Fig. 11).

Fig. 11. Effect of water extract from Bosinhwan(BSH) on renal γ-Glutamylcystein synthetase activity in eight month rats.

12. Glutathione reductase의 활성에 미치는影響

Glutathione reductase의 활성을測定한結果對照群은 92%(26.4±2.45)로顯著히減少한것에比하여 300mg/kg을投與한群 102%(29.5±2.03), 200mg/kg을投與한群 101%(28.9±3.56), 100mg/kg을投與한群 97%(28.1±2.84), 400mg/kg을投與한群 93%(26.7±3.31)의順으로有意性 있는增加를 나타내었다(Table 12, Fig. 12).

Table 12. Effect of water extract from Bosinhwan (BSH) on renal glutathione reductase activity in eight month rats

Dose Group (mg/kg)	Activity	
	glutathione nmole/mg protein/min	% of Normal
Normal	28.7 ± 3.23 ^a	100
Control	26.4 ± 2.45 ^b	92
BSH A 100	25.1 ± 2.84 ^c	97
BSH B 200	28.9 ± 3.56 ^c	101
BSH C 300	29.5 ± 2.03 ^c	102
BSH D 400	26.7 ± 3.31 ^c	93

Rats were orally administered water extract from Bosinhwan(0, 100, 200, 300, 400mg/kg) daily for two 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.

지게 되는데, 이중 老化는 人類의 주된 關心事로 이에 대한 研究가 持續的으로 進行되어 왔다^{9,10,39}.

이에 西洋醫學에서는 老化의 原因에 대하여 정확히 밝혀지지 않는으나⁴⁵ 一般的으로 西洋醫學에서 보는 老化의 原因 및 發生機轉에 대해서는 生物學의 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의 原因說로는 DNA說, 化學反應說, Collagen의 老化說, Free radical說, 酵素作用 障礙說 등이 있으며, 形態學의 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의 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 있는데⁴⁸⁻⁵¹, 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 있다⁵⁰. Free radical은 人體의 radiation에 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한다⁵¹고 알려져 있다.

韓醫學에서는 《內經》의 <素問·上古天真論>^{3,40}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 하여 年齡에 따른 臟腑와 外貌의 變化를 說明하고 있으며 그 具體的인 養生方法으로는 먼저 四時에 順應하며 陰陽의 法則에 따라야 한다고 하여 <素問·四氣調神大論>에서는 “陰陽四時者, 萬物之終始也, 死生之本也. 逆之則災害生, 從之即荷疾不起……從陰陽則生, 逆之則死”라 하였고, 老人이 됨에 따라 陰陽兩氣가 不足해지므로 이를 補하는 것을 原則으로 하였는데⁴¹ 老人이 되면 疾病에 대한 免疫力이 低下되고^{42,43} 氣가 不足하여 鼓動이 無力해지고 血流가 緩慢해져서 氣滯血瘀가 招來되기 쉽다고 하여 補氣補血

Fig. 12. Effect of water extract from Bosinhwan (BSH) on renal glutathione reductase activity in eight month rats.

IV. 考 察

老란 “늙는다”는 뜻을 가진 自然現象으로 自然界에 속해 있는 모든 生命體는 老化過程을 밟게 된다⁸⁾.

人體는 出生, 成長, 成熟, 老化의 過程으로 이어

하는 방법으로 人體의 眞氣를 保養하여야 한다^{42,43)}고 하였다.

이와 같이 韓醫學에서는 老化를 陰陽의 變化, 臟腑의 變化, 氣血의 變化, 精神의 變化로 나누어 說明하고 있으며⁵³⁾ 특히 老化의 症狀이 腎臟과 相生 關係에 있는 肝臟의 機能虛衰로 인한 것이 많아 五臟中 두 臟器가 老化에 直接的인 影響을 미치는 것으로 보고 있다. 따라서 虞⁴⁷⁾는 “腎元盛即壽延 腎元衰即壽夭”라고 하여 長壽하는 것이 腎氣의 盛衰與否에 의하여 決定된다고 하였다. 아울러 生長發育, 老衰와 密接한 關係가 있는 腎의 作用은 腎陰과 腎陽의 兩方面으로 概括되는데 腎陰은 一身의 陰液의 根本으로서 濡潤·滋養作用을 하며, 腎陽은 人體의 陽氣의 根本이자 先天의 眞火로서 溫照, 氣化作用을 하며, 腎陰과 더불어 發育과 生殖을 促進하여¹⁶⁾ 長壽하는 것이 腎氣의 盛衰與否에 의하여 決定된다고 하였으며, 腎氣 虛衰가 老化의 重要 原因이라고 하였다^{40,53)}.

따라서 治療法으로는 補腎方, 健脾補氣方, 養陰方, 補陽氣方⁵¹⁾을 들고있으며, 全般的으로 韓醫學에서 보는 老化의 治療觀點은 補腎益元⁴⁰⁾, 補脾腎⁵¹⁾, 調心補腎, 補氣虛, 補益化癥⁴⁶⁾, 補益扶正³⁹⁾ 등으로 接近하고 있는 實情으로 最近의 老化에 대한 研究로는 單味劑¹³⁻¹⁵⁾, 複合處方¹⁶⁻²¹⁾, 藥針液^{22, 26)} 및 理學的 因子를 利用한 研究²⁷⁾ 등으로 區分할 수 있는데 그 중에서 補腎하는 藥物 및 處方이 主從을 이루고 있었다.

이에 著者는 實際臨床에서 가장 多用되는 醫書인 《東醫寶鑑》²⁸⁾에 收載된 代表的인 補腎處方中 腎水不足과 陰虛에 活用되는 補腎丸에 관한 研究는 發見하지 못하였는데 이번에 補腎丸이 老化에 미치는 影響 및 機轉을 實驗的으로 糾明하였다. 補腎丸의 構成藥物에 대한 效能^{56,57)}을 살펴보면 龜板은 益腎滋陰, 補心資智하고 黃柏은 除熱益陰, 瀉膀胱相火하고 知母는 瀉腎家有餘之火, 壯水清金, 潤腎滋陰하고 乾薑은 除寒散結回陽通脈, 溫經止血한다. 이로 보아 補腎丸은 腎陰을 補하고 抗老益壽에 活用할수 있음에 着眼하였다.

補腎丸의 煎湯液이 老化 環徑의 抗老化에 미치는 影響을 觀察하는 實驗에서 老化에 따른 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 酸化物質인 尿中 lactate dehydrogenase, 尿中 γ -glutamyl transferase, Xanthine oxidase, Aldehyde oxidase와 抗酸化系인 glutathione, Glutathione S-transferase, γ -Glutamylcystein synthetase, nonprotein bound-SH 및 protein bound-SH의 變化를 檢討하여⁵⁸⁾ 다음과 같은 結果를 얻었다

活性酸素의 反應物인 過酸化脂質은 自動酸化反應에 의한 多價不包和 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, 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, 動脈硬化症等^{52,63)}과 密接한 關聯이 있는데 全sample群에서 2週後부터 有意性 있는 減少가 나타났고, 그 以上의 期間에서는 별 變化가 없었다. 특히 sample B에서는 期間이 지날수록 有意性 있는 減少가 있었다 (Table 1, Fig. 1).

BUN은 腎臟機能低下, 脫水, 尿毒症, 電解質異常 등⁵⁸⁾에서 볼 수 있는데 BUN측정에 있어 實驗群에 있어 對照群에 比較하여 有意性있는 減少를 나타내었다 (Table 2, Fig. 2).

Lactate dehydrogenase는 lactic acid를 酸化하여 pyruvic acid를 生成하는 酵素⁵⁹⁾로 反應은 可易的이다. lactate dehydrogenase는 동물의 筋肉, 心臟, 血液, 微生物 등에 널리 분포되어 있다. 活性 측정은 pyruvic acid 를 기질로 하여 NADH의 酸化 또는 lactic acid를 기질로 하여 NAD의 還元을 吸光度의 變化를 측정하여 調査하는데 實驗群에 있어 對照群에 比較하여 有意性있는 減少를 나타내지 않았다 (Table 3, Fig. 3).

γ -glutamyltransferase가 細胞內의 glutathion과 細胞外의 아미노산을 기질로 하여 生成한 γ -glutamyl 아미노산과 cysteinylglycine을 細胞內로 放出하는 것에 의해 아미노산을 細胞內로 運搬하며 이 過程에서 3ATP가 소모되는데 實驗群에 있어 對照群에 比較하여 有意性있는 顯著한 減少를 나타내었다 (Table 4, Fig. 4).

Xanthine oxidase는 肺臟, 肝臟, 筋肉, 腸 등에

含有하며 分子場酸素의 存在아래 크산틴, 히포크산틴의 酸化를 觸媒하여 尿酸으로 變하게 하는 酵素로 특히 魚油중에 다량으로 함유되어 있는 효소인데 實驗群에 있어 對照群에 比較하여 有意性있는 顯著的 減少를 나타내었다(Table 5, Fig. 5).

Aldehyde oxidase는 體內에 多量으로 存在하면 구리의 排泄이 增加하여 구리缺乏症이 發生하고 缺乏되면 痛風이 發生하는데 實驗群에 있어 對照群에 比較하여 有意性있는 減少를 나타내었고, 특히 400mg/kg을 投與한 群에서 더욱 顯著하였다(Table 6, Fig. 6).

抗酸化係인 protein-bound SH는 蛋白質이 -SH기와 反應하여 free radical의 活性을 잃게 하는 것으로 本 實驗에서의 腎臟中 protein-bound SH의 變化에 미치는 影響을 觀察한 結果 實驗群은 對照群과 比較하여 有意性있는 增加를 나타내었고 投與量의 變化에서는 有意性이 없었다(Table 7, Fig. 7)

또한 腎臟中 抗酸化係인 nonprotein-bound SH의 變化를 觀察한 結果 實驗群은 對照群에 比較하여 有意性있는 增加를 보였으며, 投與量이 많을수록 nonprotein-bound SH濃도가 增加하였다(Table 8, Fig. 8)

Glutathione은 呼吸에 있어서 酸素의 傳達體로 作用하는데, 酸化型 glutathione은 vitamin E와 더불어 不飽和 脂肪酸의 過酸化를 防止하며, 缺乏症狀도 vitamin E 缺乏症狀과 매우 相似하여 肝의 壞死, 筋肉弱化, 溶血, 心筋弱化症 등이 있는데⁶⁰⁾, 腎臟中 glutathione의 變化에 미치는 影響을 觀察한 結果 實驗群은 對照群에 比較하여 有意性있는 增加를 보였다(Table 9, Fig. 9).

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 있지만, 肝에서 最高의 含量을 나타내며 副腎等에도 兩 glutathione S-transferase가 高濃度로 分布되어 있다⁶¹⁾. 細胞質 glutathione S-transferase의 體內 重要한 役割의 하나는 親電子性의 發癌性 活性代謝物의 解毒作用으로서 最終

的으로 N-acetyl conjugate로 尿中 排泄시키는 最初段階의 反應을 觸媒한다는 事實이 一般的으로 알려져 있다⁶¹⁾. 따라서 腎臟中 glutathione S-transferase의 活性 變化에 미치는 影響을 觀察한 結果 有意性 있는 增加를 나타내었다(Table 10, Fig. 10).

또한 抗酸化係인 γ -Glutamylcystein synthetase는 Glutathione의 細胞내 含量을 維持시켜주는 因子로써 活性을 測定한 結果 實驗群은 對照群에 比較하여 有意性있는 增加를 보였다(Table 11, Fig. 11)

Glutathione reductase는 還元形 NAD또는 NAPP에 의해 酸化形글루타티온을 還元하여 글루타티온으로 되는 反應으로 각종 動物組織, 植物, 微生物에 널리 分布하는 酵素로 實驗群은 對照群에 比較하여 有意性있는 增加를 보였으며 投與量의 變化에서는 有意性이 없었다(Table 12, Fig. 12).

以上の 結果를 總括해보면, 腎臟內의 過酸化脂質 含量 및 Blood urea nitrogen, 尿中 γ -glutamyltransferase, Xanthine oxidase, Aldehyde oxidase의 活性은 全實驗群에서 有意性 있게 減少하였으며, glutathione, Glutathione S-transferase, γ -Glutamylcystein synthetase, nonprotein bound-SH 및 protein bound-SH 등은 有意性있게 增加하였다.

따라서 投與量의 變化에서는 有意性이 없었으나 全般的으로 補腎丸의 煎湯液을 投與한 群이 老化 원인인 腎臟의 酵素系 및 抗酸化의 過程에 有意性 있게 作用하므로 老化抑制作用이 있는 것으로 思慮된다.

V. 結 論

補腎丸 煎湯液이 老化원인(週齡 32週, 550±10g)의 腎臟內過酸化脂質 및 腎臟의 代謝酵素系에 미치는 影響을 實驗的으로 糾明하고자 老化誘發과 防止에 關與하는 過酸化物, 酸素傳達體 및 酵素活性 등을 觀察한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 腎臟內 過酸化脂質의 含量은 2周 以上 投與

한 實驗群이 對照群에 비해 有意性있게 減少하였다.

2. 血中 BUN의 變化는 對照群에 비해 全實驗群에서 有意性있게 減少하였다.

3. 尿中 LDH의 變化는 全實驗群에서 有意性 있는 變化가 없었다.

4. 尿中 γ -glutamyltransferase, Xanthine oxidase, Aldehyde oxidase의 活性은 全實驗群에서 有意性있게 減少하였다.

5. protein-bound SH, nonprotein-bound SH, glutathione, glutathione S-transferase의 活性, γ -Glutamylcystein synthetase의 活性은 全實驗群에서 有意性있게 增加하였다.

以上の 結果로 보아 補腎丸은 腎臟內過酸化脂質 및 代謝酵素系의 抗酸化物質에 效果의으로 作用하여 有效한 것으로 나타나므로 尙後 臨床的인 活用이 기대된다.

參考文獻

1. 杜鎬京 : 東醫腎系學, 서울, 東洋醫學研究院, 1993, pp.1325-1383.
2. 다팍 초프라 : 사람은 늙지않는다, 서울, 정신세계사, 1994, pp.21-22, 102-103.
3. 王琦編著 : 黃帝內經素問今釋, 서울, 成輔社, 1983, pp.8, 28.
4. 楊維傑 編 : 黃帝內經靈樞譯解, 서울, 成輔社, 1980, pp.196, 397, 415.
5. 李聰甫 主編 : 傳統老年醫學, 長沙, 湖南科學技術出版社, 1986, pp.212-215, 300-304.4
6. 金完興 外 : 東醫生理學, 서울, 慶熙大學校出版局, 1993, pp.405-407.
7. 李哲浚 : 老人病研究, 서울, 一中社, 1997, pp.134-135.
8. 리정복 : 長壽學, 서울, 醫聖堂, 1987, pp.11-99, 492-576.
9. 김숙희 外 : 노화, 서울, 민음사, 1995, pp.77-80, 83, 94.
10. James D. Porterfield 外 : 노화와 건강, 서

울, 대한미디어, 1995, pp.27-39.

11. 李吉相 : 世界 長壽村 探訪, 서울, 大光文化社, 1978, pp.241-246.

12. 姜孝信 : 東洋醫學概論, 서울, 高文社, 1981, pp.52-56.

13. 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.

14. 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.

15. 문진영 외 : 紫胡가 free radical에 의한 脂質過산화物 生成에 미치는 效果, 東國論文集 自然科學篇, 1996, Vol.15.

16. 蘇敬順 外 : 鹿蔘地黃湯이 抗老化에 미치는 影響, 서울, 慶熙韓醫大論文集, 18(2), 127-148, 1995.

17. 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.

18. 尹哲浩 : 左歸飲과 右歸飲이 老化 Rat의 肝過酸化脂質 生成 및 活性酵素 生成系 酵素活性에 미치는 影響, 大韓韓方內科學會誌, 16(1) : 62-79, 1995.

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

20. 鄭智天 : 左歸飲과 右歸飲에 의한 活性酸素類의 消炎作用과 抗酸化 酵素系의 活性增加 效果에 對한 研究, 大韓韓醫學會誌, 17(1) : 21-36, 1996.

21. 河在原 : 定志丸이 老化에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1996.

22. 安坡徹 외 : 當歸 藥針液이 抗酸化 效果에 관한 研究, 大韓鍼灸學會誌, 1996, 13(2):pp254-262.

23. 金永海 외 : 胡桃藥鍼液의 抗酸化 效果에 대한 研究, 大韓鍼灸學會誌, 1996, 17(1):pp9-20.

24. 박태관 : 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.

25. 이종무 : 巴戟 藥針의 抗酸化作用에 관한 實

驗의 研究, 大田大學校大學院, 1998.

26. 우상욱 : 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.

27. 楊棟元 : B. E. P. 照射가 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.

28. 許浚 : 東醫寶鑑, 서울, 大星文化社, 1990, pp.368.

29. Chaney, A. L., Marbach, E. P. : Modified reagents for determination of urea and ammonia, Clin. Acta, 9:130-132, 1962.

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

31. Higash, T. : Critical review on the determination of glutathione in biological preparations. Proteins, Nucleic Acid and Enzyme, 1988, p.33, 1370.

32. Gaitonide, M.K. : A spectrophotometric method for the direct determination of cysteine in the presence of other naturally occurring amino acids. Biochem. J., 1967, p.104, 627.

33. F. Strip and C.E. Della : The regulation of rat liver xanthine oxidase conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (Type D) to oxidase (Type O), J.Biol. Chem. 24, 3855, (1969).

34. K. V. Rajagoplan, I. Fridovich and P. Handler, Hepatic aldehyde oxidase, In : Purification and properties, J. Biol. Chem, 237, 922, (1962).

35. Habig, W.H., Pabst, M.J. and jakoby, W.B. : Glutathione S-transferase. J. Biol. Chem., 1974, p.249, 7139.

36. A. Meister and P. G. Richman, Regulation of γ -Glutamylcystein synthetase by nonallosteric feedback inhibition by glutathion J. Biol. Chem, 250, 1422, 1975.

37. C. E. Mize and R. G. Langdon, Hepatic

glutathione reductase. In : Purification and general kinetic properties, J. Biol. Chem, 237, 1589, 1962.

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

39. 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.

40. 任應秋 編 : 黃帝內經章句索引, 서울, 一社, 1992, pp.22, 325, 410, 418.

41. 胡熙明 編 : 中醫雜誌 1994年 35卷, 서울, 一社, 1994, pp.101-103.

42. 서울大學校醫科大學 : 免疫學, 서울, 서울大學校出版局, 1989, pp.223-228.

43. 菊地浩吉 外 : 最新免疫學, 서울, 集文堂, 1989, pp.346-351.

44. 이영진 : 몸안의 활성산소를 제거하라, 서울, KBS 문화사업단, 1998, pp.222-225.

45. 후지모토 다이사부로 : 老化는 왜 일어나는가, 서울, 전파과학사, 1987, pp.31-55.

46. 中國中西醫結合雜誌編輯委員會 : 中國中西醫結合雜誌, 서울, 一社, 13(5) : 101-102, 1993.

47. 虞搏 : 醫學正傳, 서울, 成輔社, 1986, p9.

48. 李獻平 外 : 四大懷藥延緩衰老作用的研究, 서울, 中西醫結合雜誌, 11(8) : 486-487, 1991.

49. 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, 113, 332-143, 190-191, 194-209.

50. Cutler, R.G. : Antioxidants, aging and longevity. Free Radicals in Biology (ed.Pryor, W.), Academic Press, Vol.6, 1984, pp.371-424.

51. 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.

52. 張錫泰 : 皮膚과학, 서울, 여문각, 1994, pp.23-25.

53. 王其飛 : 中醫長壽學, 遼寧科學技術出版社,

pp.50, 53, 54, 332, 1989.

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

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

56. 李尙仁 : 本草學, 서울, 學林社, 1986, pp.140, 383, 482, 508.

57. 李尙仁 외 : 韓藥臨床應用, 서울, 成輔社, 1982, pp.103, 134, 230, 425.

58. 申剛雨 : 三氣陰과 三氣陰去附子가 Adjuvant關節炎에 미치는 研究大田大學校大學院, 1994.

59. 鄭東孝 編 : 酵素學, 서울, 先進文化社, 1993, pp.189.

60. 上田成記, 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.

61. Watabe, T., Ishizuka, T., Isobe, M. and Ozawa, N. : 7-hydroxymethylsulfate ester as an active metabolic of 7, 12-dimethylbenz(a)anthracence. *Science*, 1982, p.215, 403.

62. 韓承연 : 東洋醫學에 있어서의 瘡癤療法에 關한 醫史學的 考察, 大韓韓醫學會報, 30號, 1970

63. 이귀녕 외 : 임상병리과일, 서울, 의학문화사, 1993, p.138, 139, 241, 348.