

桑寄生의 抗酸化作用에 관한 연구

차은이 · 김병수 · 김동희 · 이용규¹ · 김연진¹ · 강정수*

대전대학교 한의과대학 생리학교실, 1:대전대학교 한의과대학 혜화병원

Study on Antioxidant Action of *Loranthus parasiticus*(L.) merr

Eun Ee Cha, Byoung Soo Kim, Dong Hee Kim, Yong Koo Lee¹, Yeon Jin Kim¹, Jung Soo Kang*

Department of Pathology, College of Oriental Medicine, 1:Hyehwa General Hospital, College of Oriental Medicine, Daejeon University

In order to examine the antioxidant action of *Loranthus parasiticus* (L.) merr (LP), the study was done through measurement of parameters such as LPO, GSH, SOD, catalase, GOT, GPT and ALP. The results were obtained as follows: For the weight changes, in the left cerebrum, right cerebrum, cerebellum and testis, the group given LP showed small increase compared to the control group. But the weight changes were not significant. In the left cerebrum, the group given LP showed significant decrease compared to the control group in the content of LPO and significant increase compared to the control group in the activity of SOD. But in the right cerebrum, cerebellum the changes were not significant. For the changes of contents of SOD and catalase in the liver, the group given LP showed significant increase compared to the control group. For the changes of the activity of SOD in the kidney, the group given LP showed significant increase compared to the control group. For the changes of contents of LPO and GSH in the spleen, the group given LP were showed no significant decrease compared to the control group. And for the changes of the activities of SOD and catalase, the group given LP showed no significant increase compared to the control group. For the changes of content of LPO in the testis, the group given LP showed significant decrease compared to the control group. And for the changes of the activity of catalase, the group given LP showed significant increase compared to the control group. For the changes of GOT, GPT in the serum, the group given LP showed significant decrease compared to the control group. From above results, the antioxidant action of LP is effective. And it is expected to be necessary to the study of the mechanism in the antioxidant of LP.

Key words : *Loranthus parasiticus* (L.) merr(桑寄生), antioxidant, SOD, LPO, GSH, GOT, GPT

서론

노화란 인생의 후반에 한정된 것이며, 성장과 동시에 진행되는 생체기능의 非可逆적인 저하를 말한다¹⁾. 西洋醫學에서는 노화의 원인에 대하여 정확하게 밝혀지지는 않았으나²⁾, 生物學的原因說, 生化學的原因說, 形態學的原因說, 生理學的原因說 등^{3,4)}이 있는데, 최근에는 Harman에 의해 제창된 free radical에 의한 연속적인 有害反應의 결과로 노화과정이 진행되는 것으로 보고되고 있다⁷⁾. Free radical은 인체의 radiation에 의한 노출이나 內部酸素反應에 의하여 生成되는데, 蛋白質의 -SH기와 반응하여 효소의 활성을 잃게 되거나 가교결합의 촉진, DNA, RNA, 효소

및 membrane에 손상을 일으켜 細胞壞死를 誘發한다⁸⁾고 알려져 있다. 한의학에서는 노화가 陰陽, 臟腑, 氣血 및 精神 등의 變化로 인하여 발생되며⁹⁾, 『素問·上古天眞論』¹⁰⁾에서 “女子七歲腎氣盛 … 七七任脈虛, 太衝脈衰少, 天癸竭, 地道不通, 故形壞而無子也 … 丈夫八歲腎氣實 … 八八齒髮去 …… 腎者主水, 受五臟六腑之精而藏之”, “天壽過度, 氣脈相通, 而腎氣有餘也”라고 하여 五臟中 腎臟의 성쇠가 노화와 깊은 관련이 있다고 하였고, 『陰陽應象大論』¹⁰⁾에는 “年五十體重 耳目不清明矣. 年六十, 陰痿, 氣大衰, 九竅不利”라 하고, 『靈樞·天年』¹¹⁾에는 “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, 苦憂悲, 血氣懈惰, 故好臥. 七十歲, 脾氣虛, 皮膚枯. 八十歲, 肺氣衰 … 九十歲, 腎氣焦, 四藏經脈空虛. 百歲, 五臟皆虛, 神氣皆往.”이라 하여 연령의 증가에 따른 臟腑의 변화를 설명하였다.

桑寄生은 桑寄生科(Loranthaceae)에 속한 상록 寄生小灌木

* 교신저자 : 강정수, 대전광역시 동구 용운동 96-3 대전대학교 한의과대학
· E-mail : omdkjs@dju.ac.kr · Tel : 043-280-2627
· 접수 : 2003/04/12 · 수정 : 2003/05/20 · 채택 : 2003/07/18

인 뽕나무 겨우살이 *Loranthus parasiticus* (L.) merr의 帶葉한 莖枝를 乾燥한 것¹²⁾으로 補腎補血, 強筋骨, 除風濕의 要藥으로 사용되고 있다. 桑寄生은 『神農本草經』¹³⁾에서 “味苦平. 主腰痛, 小兒背強, 癰腫, 安胎, 充肌膚, 堅髮齒, 長髮眉”라고 처음 記載되었으며, 歸經¹⁴⁻¹⁵⁾은 肝·腎經이며, 癰腫(金瘡)^{13-17,19-26,28-29)}, 補肝腎^{15-16,20,27-28)}, 強筋骨^{15-16,18-20,23,27,29)}, 堅齒長髮^{13,15,19-22,24-29)}, 祛風濕^{14,16,20,22,29)}, 通經絡^{16,27-29)}, 益血^{14-16,18-23,28-29)}, 安胎^{13-16,18-29)}, 腰膝酸痛^{13,15,18-19,21-29)}, 筋骨痿弱^{15,29)}, 偏枯(下肢麻木)^{27,29)}, 風寒濕痺^{15-19,24,26-27)}, 胎漏血崩^{14-20,22-24,26-27,29)}, 產後乳汁不下^{14-20,23-24,26,29)} 등의 치료에 응용되어진다. 桑寄生에 관한 實驗的 연구로 안 등³⁰⁻³¹⁾은 한국산 겨우살이類에서 抗菌活性 또는 抗酸化力을 가진 물질이 존재함을, 함³²⁾은 겨우살이 추출물이 항돌연변이에 효과가 있음을, 박³³⁾은 겨우살이 중의 렉틴 성분의 생리활성을, 황³⁴⁾은 桑寄生 및 槲寄生 전당액이 항종양 면역효과가 있음에 대한 보고는 있었으나, 항산화작용에 대한 연구는 없었다.

이에 저자는 桑寄生이 각 臟器에 대한 항산화 작용을 실험적으로 입증하고자, 左腦, 右腦, 小腦, 肝臟, 腎臟, 脾臟, 睪丸의 중량과 이들 臟器의 過酸化脂質(LPO) 함량, glutathione (GSH) 함량과 catalase와 superoxide dismutase(SOD) 활성도 및 glutamate-oxaloacetate transaminase(GOT), Glutamate-pyruvate transaminase(GPT), Alkaline phosphatase(ALP)의 활성도를 측정된 결과 유의성 있는 성적을 얻었기에 보고하는 바이다.

실 험

1. 재료

1) 동물 및 약재

본 실험에 사용된 실험용 쥐는 연령이 20개월된 380g내외의 Sprague-Dawley계(SD) 雄性 白鼠를 사용하였으며, 실험 당일까지 固形飼料(조단백질 22.1%이하, 조지방 8.0%이하, 조섬유 5.0%이하, 조회분 8.0%이하, 칼슘 0.6%, 인 0.4%이상, 삼양사 배합 사료 Co.)와 물을 충분히 공급하고 실온 22±2 °C, 상대 습도 50±10%, 조명 시간 12시간(07:00~19:00), 조도 150~300 Lux로 설정하여 2주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

본 실험에 사용한 桑寄生(*Loranthus parasiticus* (L.) merr)은 중국 상해중의약학원에서 구입하였다.

2) 시약 및 기기

실험에 사용된 시약은 2-thiobarbituric acid(TBA), trichloroacetic acid (TCA), 5, 5'-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid)(DTNB), hydrogen peroxide(H₂O₂), ethylene-diaminetetraacetic acid (EDTA), chloroform, hematoxylin, potassium phosphate monobasic(KH₂PO₄), potassium phosphate dibasic(K₂HPO₄) 등은 Sigma社 (Sigma Chem. Co., U.S.A.), ferric sulfate(FeSO₄), batanol, sulfosalicylic acid는 Junsei社(Junsei Chem. Co., Japan)로부터 구입하였으며, glutamate-oxaloacetate transaminase(GOT), glutamate-pyruvate transaminase(GPT), alkaline phosphatase (ALP) 측정 kit은 Hitachi社(Hitachi Co., Japan)로부터, ethanol은 Merck社(Merck Chem. Co., Germany)로부터 구입하여 사용

하였다. 본 실험에 사용된 기기는 rotary vacuum evaporator (Buchi 461, Germany), centrifuge(GS-6R, Beckman Co., U.S.A.), spectrophotometer (Shimadzu, Japan), autoclave(Hirayama, Japan), micro pipet(Gilson, U.S.A), water bath(Vision, Korea) 등을 사용하였다.

2. 방법

1) 약물 제조와 검액 투여

桑寄生(이하 LP라 한다.) 150g을 증류수 2,000ml에 3 시간 가열 추출하고, 침전물을 3회 여벌(3M filter paper)한 후, 3,000ml round flask에 넣고 여과액을 rotary vacuum evaporator에서 감압 농축하였다. Round flask에 농축된 용액을 -70 °C deep freezer에서 4시간 동안 방치하고, 24시간 동안 freeze dryer로 동결 건조하여 32.5 g의 분말을 얻어서 실험에 필요한 농도로 생리식염수에 희석하여 사용하였다. 검액의 투여는 농축된 LP를 3주일간 매일 350mg/kg의 농도로 경구 투여하였다.

2) 효소원의 제조

실험 동물을 ether로 마취시킨 후 복부 정중선을 따라 절개하고 腹部大動脈을 통하여 채혈한 후, 각 장기를 적출하여 생리식염수로 혈액 및 기타 이물질을 제거하였다. 조직 1g당 4배량의 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.5)를 가하여 조직분쇄기로 마쇄하였다. 이 마쇄액을 600×g에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미미쇄 부분을 제거한 상등액을 10,000×g에서 20분간 원심분리하였다. 이 상등액 105,000×g에서 1시간 초원심분리하여 cytosolic fraction을 얻고, 12,000×g에서 20분간 원심분리하여 mitochondrial fraction을 얻었다. 마쇄액으로 지질과산화 및 glutathione의 함량을 측정하였으며, cytosolic fraction은 superoxide dismutase 활성 측정의 효소원으로, mitochondrial fraction은 catalase의 활성 측정의 효소원으로 사용하였다. 이상의 모든 조작은 따로 규정이 없는 한 4 °C 이하에서 행하였다.

3) 과산화지질(LPO) 함량 측정(TBA 측정)

조직 1 g당 4배량의 potassium phosphate buffer를 가해 마쇄하고 이 마쇄액 200µl에 증류수 1.3ml, 20% TCA에 1mM 농도로 녹인 FeSO₄ 용액 500µl를 넣고 5초 동안 vortex mixer로 혼합하였다. 0.8% TBA 용액 1ml을 test tube에 가하고, clean dry marble(유리구슬)을 올려놓은 후, 20분간 water bath에서 끓였다. 그리고 찬물에 담가 식힌 후, butanol 5ml를 첨가하여 완전히 섞어 준 다음 3,000 rpm에서 10 분간 원심분리하여 상층액을 실험에 사용하였다. 532nm에서 흡광도를 측정하였으며, 조직 단위 g 당 과산화지질의 농도는 아래의 식에 의해 산출하였다.

$$\text{흡광도} \times \text{factor} = \text{nmoles/g of tissue} \quad (\text{Factor} : 32.051)$$

4) Glutathione(GSH) 함량 측정

조직 1 g당 4배량의 potassium phosphate buffer를 가해 마쇄한 용액 200µl에 증류수 0.3ml, 4% sulfosalicylic acid 용액 500µl를 넣고 섞어 준 후, 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하였다. 상층액 300µl에 0.1mM DTNB 발색 시약 2.7ml를 넣고 실온에서 20분간 방치한 후 412nm에서 흡광도를 측정하였으며, 조직

단위 g당 GSH의 농도는 아래의 식에 의해 산출하였다.

$$\text{吸光度} \times \text{factor} = \mu\text{moles/g of tissue} \quad (\text{Factor} : 9.75)$$

5) Catalase 활성도 측정

Mitochondrial fraction에 0.1M potassium phosphate buffer (pH7.4) 2~3ml를 넣고 얼렸다 녹였다 하는 과정을 3회 반복하여 막단백질인 catalase를 유리시켰다. 기질은 50mM potassium phosphate buffer(pH6.8)에 10.5mM H₂O₂를 넣어 조제하였다. 반응은 25°C에서 5분간 예비 반응시킨 기질에 mitochondria 분획 20 μl를 넣어 섞어 준 후 240nm에서 0초와 30초의 흡광도를 측정하였으며, catalase 활성도는 아래의 식에 의해 산출하였다.

$$\begin{aligned} \text{Unit} &: \text{nmole H}_2\text{O}_2 \text{ decreased/mg protein/min} \\ &= \text{흡광도} \times \text{factor} / \text{사용한 효소량에 해당하는 protein양} \\ \text{Factor} &: 24.390 \text{ nmole/cc} \times 1 \text{ ml(mn)} \times \text{total volume(ml)} \end{aligned}$$

6) Superoxide dismutase(SOD) 활성도 측정

Cytosolic fraction에 ethanol : chloroform(5:3)용액을 0.4배 량 첨가하여 섞어 준 후, 10,000rpm에서 30분간 원심분리하여 상층액을 실험에 이용하였다. 상층액 10μl를 0.1mM EDTA가 첨가된 50mM potassium phosphate buffer 2.93ml에 가한 후, 실온에서 15분간 반응시켰다. 그런 다음 50mM hematoxylin 60μl를 첨가한 후, 560nm에서 0분, 4분의 흡광도를 측정하였으며, SOD 활성도는 아래의 식에 의해 산출하였다.

$$\begin{aligned} \text{Unit}(50\% \text{ inhibition of autoxidation of hematoxylin}) &= \text{Control unit} \div \text{test OD/mg protein} \\ \text{Control unit} &: (\text{control 4분 OD} - \text{control 0분 OD})/2 \\ \text{Test OD} &: \text{sample 4분 OD} - \text{sample 0분 OD} \end{aligned}$$

7) Glutamate-oxaloacetate transaminase(GOT) 활성도 측정

혈청 10μl에 GOT 효소액(malate dehydrogenase, nicotinamide adenine nucleotide) 300μl를 넣고, 37°C에서 3분간 반응시킨 후, GOT 기질액(L-aspartate, 2-amino-2-hydroxymethyl-1,3-propanediol buffer) 90μl를 첨가하여 37°C, 48~216초 동안 반응시켜 415nm와 340nm의 흡광도를 측정하였다.

8) Glutamate-pyruvate transaminase(GPT) 활성도 측정

혈청 10μl에 GPT 효소제(lactate dehydrogenase, nicotinamide adenine nucleotide) 300μl를 넣고, 37°C에서 3분간 반응시킨 후, GPT 기질액(L-alanine, 2-amino-2-hydroxymethyl-1,3-propanediol buffer) 90μl를 첨가하여 37°C, 48~216초 동안 반응시켜 415nm와 340nm의 흡광도를 측정하였다.

9) Alkaline phosphatase(ALP) 활성도 측정

血清 4μl에 ALP 완충액(Magnesium chloride, 2-amino-2-methyl-1-propanol buffer) 300μl를 넣고, 37°C에서 3분간 반응시킨 후, ALP 기질액(p-Nitrophenyl phosphate) 70μl를 첨가하여 37°C, 48~264초 동안 반응시켜 505nm와 415nm의 흡광도를 측정하였다.

성 적

1. 각 장기의 증량

각 장기의 무게는 체중에 대한 비율로 표시하였는데, LP를 장기적으로 투여한 경우 左腦·右腦·小腦와 辜丸에서 소폭 증가되는 경향을 보였으나 유의성은 없었다(Table 1).

Table 1. Effect of LP on the Weight of Organs

Group	% of body weight(g)	
	Control	LP
Left cerebrum	0.0012±0.0003	0.0016±0.0007
Right cerebrum	0.0013±0.0007	0.0018±0.0003
Cerebellum	0.0011±0.0003	0.0016±0.0003
Liver	0.025±0.0028	0.0024±0.0014
Kidney	0.0068±0.0011	0.0048±0.0028
Spleen	0.0019±0.0002	0.0012±0.0002
Testis	0.0072±0.0002	0.0082±0.0007

Body weight of control : 388.0±21.3(g), Body weight of 350mg/kg conc. of LP treated group : 418.5±13.8(g)

2. 뇌에서의 항산화 효과

1) 左腦에서의 항산화 효과

左腦에서 LPO 함량은 대조군, LP 투여군에서 각각 12.3±0.5, 9.7±0.2(nmol/g tissue)로, GSH 함량은 0.92±0.04, 0.81±0.08(μ mole/g tissue)로, SOD 활성도는 45.85±1.78, 56.9±2.2 (unit/mg protein/min)로, catalase 활성도는 83.7±6.63, 355.9±23.1(μ mole/mg protein/min)로 나타나, LPO 함량과 catalase 활성도는 유의성있는 변화(p<0.05, p<0.001)를 나타내었고, GSH 함량과 SOD 활성도는 유의성있는 변화가 나타나지 않았다(Table 2).

Table 2. Effect of LP on the Content of LPO, GSH and Activity of SOD and Catalase in Left Cerebrum

	Unit	Control	LP
LPO	nmole/g tissue	12.3±0.50	9.7±0.2*
GSH	μ moles/g tissue	0.92±0.04	0.81±0.08
SOD	unit/mg protein/min	45.85±1.78	56.9±2.2
Catalase	μ moles/mg protein/min	83.7±6.63	355.9±23.1***

Control : None treated group, LP : 350mg/kg conc. of LP treated group, * : Statcally significant value compared with control data by T test (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001)

2) 右腦에서의 항산화 효과

右腦에서 LPO 함량은 대조군, LP 투여군에서 각각 10.0±0.6, 9.7±0.4(nmol/g tissue)로, GSH 함량은 0.85±0.06, 0.97±0.04(μ mole/g tissue)로, SOD 활성도는 61.5±3.20, 98.0±4.34(unit/mg protein/min)로, catalase 활성도는 331.2±24.5, 375.0±20.5(μ mole/mg protein/min)로 나타나 유의성있는 변화가 나타나지 않았다(Table 3).

Table 3. Effect of LP on the Content of LPO, GSH and Activity of SOD and Catalase in Right Cerebrum

	Unit	Control	LP
LPO	nmole/g tissue	10.0±0.6	9.7±0.4
GSH	μ moles/g tissue	0.85±0.06	0.97±0.04
SOD	unit/mg protein/min	61.5±3.20	98.0±4.34
Catalase	μ moles/mg protein/min	331.2±24.5	375.0±20.5

Control : None treated group, LP : 350mg/kg conc. of LP treated group

3) 小腦에서의 항산화 효과

小腦에서의 LPO 함량은 대조군, LP 투여군에서 각각 7.3±0.4, 6.9±0.2(nmol/g tissue)로, GSH 함량은 0.61±0.03, 0.64±

0.04(μ mole/g tissue)로, SOD 활성도는 26.8 ± 1.65 , 32.4 ± 2.34 (unit/mg protein/min)로, catalase 활성도는 188.15 ± 10.3 , 200.25 ± 12.7 (μ mole/ mg protein/min)로 나타나 유의성있는 변화가 나타나지 않았다(Table 4).

Table 4. Effect of LP on the Content of LPO and GSH, and Activity of SOD and Catalase in Cerebellum

	Unit	Control	LP
LPO	nmoles/g tissue	7.3 ± 0.4	6.9 ± 0.2
GSH	μ moles/g tissue	0.61 ± 0.03	0.64 ± 0.04
SOD	unit/mg protein/min	26.8 ± 1.65	32.4 ± 2.34
Catalase	μ moles/mg protein/min	188.15 ± 10.3	200.25 ± 12.7

Control : None treated group, LP : 350mg/kg conc. of LP treated group

3. 肝臟에서의 항산화 효과

肝臟에서의 LPO 함량은 대조군, LP 투여군에서 각각 2.2 ± 0.12 , 1.9 ± 0.11 (nmol/g tissue)로, GSH 함량은 5.2 ± 0.12 , 4.85 ± 0.18 (μ mole/g tissue)로 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성은 나타나지 않았고, catalase 활성도는 137.4 ± 9.7 , 151.0 ± 8.6 (μ mole/ mg protein/min)으로, SOD 활성도는 133.1 ± 6.45 , 235.1 ± 10.3 (unit/mg protein /min)로 대조군에 비하여 유의성있는 증가($p < 0.001$)를 나타내었다(Table 5).

Table 5. Effect of LP on the Content of LPO, GSH and Activity of SOD and Catalase in Liver

	Unit	Control	LP
LPO	nmoles/g tissue	2.2 ± 0.12	1.9 ± 0.11
GSH	μ moles/g tissue	5.2 ± 0.12	4.85 ± 0.18
SOD	unit/mg protein/min	133.1 ± 6.45	$235.1 \pm 10.3^{***}$
Catalase	μ moles/mg protein/min	137.4 ± 9.7	$151.0 \pm 8.6^{***}$

Control : None treated group, LP : 350mg/kg conc. of LP treated group, * : Statically significant value compared with control data by T test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)

4. 腎臟에서의 항산화 효과

腎臟에서의 LPO 함량은 대조군, LP 투여군에서 각각 3.1 ± 0.11 , 2.85 ± 0.08 (nmol/g tissue)로, GSH 함량은 2.4 ± 0.16 , 2.4 ± 0.07 (μ mole/g tissue)로 나타나 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성은 나타나지 않았고, SOD 활성도는 49.23 ± 1.45 , 68.7 ± 2.35 (unit/mg protein/min)로 대조군에 비하여 유의성있는 증가($p < 0.001$)를 나타낸 반면 catalase 활성도는 38.91 ± 1.12 , 41.36 ± 2.23 (μ mole/ mg protein/min)으로 나타나 증가하였으나 유의성은 나타나지 않았다(Table 6).

Table 6. Effect of LP on the Content of LPO, GSH and Activity of SOD and Catalase in Kidney

	Unit	Control	LP
LPO	nmoles/g tissue	3.1 ± 0.11	2.85 ± 0.08
GSH	μ moles/g tissue	2.4 ± 0.16	2.4 ± 0.07
SOD	unit/mg protein/min	49.23 ± 1.45	$68.7 \pm 2.35^{***}$
Catalase	μ moles/mg protein/min	38.91 ± 1.12	41.36 ± 2.23

Control : None treated group, LP : 350mg/kg conc. of LP treated group, * : Statistically significant value compared with control data by T test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)

5. 脾臟에서의 항산화 효과

脾臟에서 LPO 함량은 대조군, LP 투여군에서 각각 5.3 ± 0.2 , 5.9 ± 0.3 (nmol/g tissue)로, GSH 함량은 1.2 ± 0.03 , 1.2 ± 0.11 (μ

mole/g tissue)로, SOD 활성도는 25.4 ± 1.07 , 53.0 ± 0.67 (unit/mg protein/min)로, catalase 활성도는 37.2 ± 0.29 , 42.72 ± 2.58 (μ mole/mg protein/min)로 나타나 유의성있는 변화가 나타나지 않았다(Table 7).

Table 7. Effect of LP on the Content of LPO, GSH and Activity of SOD and Catalase in Spleen

	Unit	Control	LP
LPO	nmoles/g tissue	5.3 ± 0.2	5.9 ± 0.3
GSH	μ moles/g tissue	1.2 ± 0.03	1.2 ± 0.11
SOD	unit/mg protein/min	25.4 ± 1.07	53.0 ± 0.67
Catalase	μ moles/mg protein/min	37.2 ± 0.29	42.72 ± 2.58

Control : None treated group, LP : 350mg/kg conc. of LP treated group

6. 辜丸에서의 항산화 효과

辜丸에서 LPO 함량은 대조군, LP 투여군에서 각각 3.7 ± 0.2 , 2.5 ± 0.1 (nmol/g tissue)로, catalase 활성도는 39.1 ± 1.28 , 67.1 ± 0.23 (μ mole/ mg protein/min)로 나타나 대조군에 비하여 유의성있는 변화($p < 0.05$, $p < 0.001$)를 나타내었고, GSH 함량은 3.3 ± 0.2 , 3.2 ± 0.4 (μ mole/g tissue)로, SOD 활성도는 295.2 ± 16.7 , 325.2 ± 45.7 (unit/mg protein/min)로 유의성있는 변화가 나타나지 않았다(Table 8).

Table 8. Effect of LP on the Content of LPO, GSH and Activity of SOD and Catalase in Testis

	Unit	Control	LP
LPO	nmoles/g tissue	3.7 ± 0.2	$2.5 \pm 0.1^*$
GSH	μ moles/g tissue	3.3 ± 0.2	3.2 ± 0.4
SOD	μ moles/g tissue	295.2 ± 16.7	325.2 ± 45.7
Catalase	μ moles/mg protein/min	39.1 ± 1.28	$67.1 \pm 0.23^{***}$

Control : None treated group, LP : 350mg/kg conc. of LP treated group, * : Statistically significant value compared with control data by T test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)

7. 혈청 효소들의 활성도 변화

혈청 효소들의 활성도 검사중에서는 GOT, GPT, ALT 활성도를 측정하였는데, 대조군에서는 각각 193 ± 13.3 , 45 ± 1.4 , 188 ± 11.8 로, LP 투여군에서는 각각 143.5 ± 9.7 , 33.5 ± 1.54 , 189 ± 9.4 로 나타나 GOT와 GPT에서 유의성있는 감소($p < 0.05$, $p < 0.05$)를 나타내었다(Table 9).

Table 9. Effect of LP on the GOT, GPT and ALP activities in serum

Test Group	Serum enzymes		
	GOT	GPT	ALP
Control	193 ± 13.3	45 ± 1.4	188 ± 11.8
LP	$143.5 \pm 9.7^*$	$33.5 \pm 1.54^*$	189 ± 9.4

Control : None treated group, LP : 350mg/kg conc. of LP treated group, * : Statistically significant value compared with control data by T test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)

고찰

노화는 생명체의 성장과 동시에 진행되는 일련의 반응¹⁾으로서 생명체에서 발생하는 많은 손상을 보수하는 과정에서 생식을 위한 에너지를 위해 일정선에서 보수를 포기하게 됨으로써 발생하는 세포내 여러 가지 손상의 축적과정이다³⁵⁾. 서양의학에서는 노화의 원인에 대하여 정확하게 밝혀지지는 않았으나²⁾, 생물학

적 원인설, 생화학적 원인설, 형태학적 원인설, 생리학적 원인설 등³⁻⁶⁾이 있는데, 최근에는 Harman³⁶⁾에 의해 제창된 free radical에 의한 연속적인 유해반응의 결과로 노화과정이 진행되는 것으로 보고되고 있다⁷⁾. Free radical 이론은 생체내 정상대사 과정에서 생긴 free radical이 생분자(biomolecule)와 반응하여 세포에 손상을 주는데 이러한 free radical의 생성은 나이가 증가함에 따라 증가하고 따라서 세포기능이 점차 감소되어 노쇠현상을 초래하게 된다는 가설이다³⁵⁾. 즉 이 이론은 대사과정에서 발생하는 superoxide anion(O²⁻), hydrogen peroxide(H₂O₂) 및 hydroxy radical(OH) 등의 free radical이 세포나 결합조직에 작용하여 해로운 물질을 생성하게 되고 이것이 축적된 결과가 노화와 만성 퇴행성 질병의 근본적인 원인이라고 보는 것으로, free radical이 축적되는 것을 방지하기 위하여 정상세포는 O²⁻를 분해하는 SOD, H₂O₂을 분해하는 catalase같은 효소들을 가지게 된다^{5,37)}. 노화에 대하여 한의학에서는 『靈樞·衛氣失常篇』¹¹⁾에서는 “年五十已上爲老”라 하여 오십세부터 노년 혹은 노화가 점차 이루어지는 시기로 보았고, 『素問·上古天眞論』¹⁰⁾에서 “女子七歲腎氣盛 … 七七任脈虛, 太衝脈衰少, 天癸竭, 地道不通, 故形壞而無子也 … 丈夫八歲腎氣實 … 八八齒髮去 … 腎者主水, 受五臟六腑之精而藏之”라고 하여 五臟中 腎臟의 盛衰與否에 의하여 노화가 좌우되고 신기 허쇠가 노화의 중요 원인이 된다고 보았다. 또한 『陰陽應象大論』¹⁰⁾에는 “年五十體重 耳目不清明矣. 年六十, 陰痿, 氣大衰, 九竅不利”라 하고, 『靈樞·天年』¹¹⁾에는 “五十歲, 肝氣始衰, 肝葉始薄, 膽汁始滅, 目始不明. 六十歲, 心氣始衰, 苦憂悲, 血氣懈惰, 故好臥. 七十歲, 脾氣虛, 皮膚枯. 八十歲, 肺氣衰 … 九十歲, 腎氣焦, 四藏經脈空虛. 百歲, 五臟皆虛, 神氣皆去.”이라 하여 연령의 증가에 따른 五臟의 변화를 설명하였다. 따라서 노화는 陰陽, 臟腑, 氣血 및 精神 등의 변화로 인하여 발생되는데⁹⁾, 『黃帝內經』¹⁰⁾에서는 自然順應, 飲食調節, 起居調節을 통해서 陰陽을 調節하고 氣血을 보충하라고 하였다. 韓醫學에서 노화의 처방으로는 補腎方, 健脾補氣方, 養陰方, 補養氣方 등³⁸⁾이 있으며, 처방은 補腎益元³⁹⁾, 補脾腎³⁸⁾, 調心補腎, 補氣虛, 補益化痰³⁹⁾, 補益扶正⁴⁰⁾ 등의 방법으로 접근하고 있다. 최근 한의학에서 앞에서 언급한 free radical 이론을 기초로 하여 항산화에 대한 연구가 활발히 진행되고 있는데 본 논문과 관련된 분야만을 유형별로 보면, 單味劑를 이용한 실험⁴¹⁻⁴⁵⁾, 腎臟과 관련한 실험⁴⁶⁻⁵¹⁾, 肝臟과 관련한 실험⁵²⁻⁵⁵⁾ 등으로 나눌 수 있으며, 중국에서도 腎虛와 관련하여 다수의 실험적, 임상적 연구⁵⁶⁻⁶⁰⁾가 보고되고 있다.

桑寄生은 桑寄生科(Loranthaceae)에 속한 상록 寄生小灌木인 뽕나무 겨우살이 Taxillus chinensis(DC.) Danser의 帶葉한 莖枝를 건조한 것¹²⁾으로, 寄屑, 寓木, 宛童, 蔦 등^{13,19,24,26,29)}의 異名이 있으며, 補腎補血, 強筋骨, 除風濕의 要藥으로 사용되고 있다.

桑寄生은 『神農本草經』¹³⁾에서 “味苦平. 主腰痛, 小兒背強, 癰腫, 安胎, 充肌膚, 堅髮齒, 長髮眉”라고 처음 收載되었으며, 歸經¹⁴⁻¹⁵⁾은 肝·腎經에 들어가며, 癰腫(金瘡)^{13-17,19-26,28-29)}, 補肝腎^{15-16,20,27-28)}, 強筋骨^{15-16,18-20,23,27,29)}, 堅齒長髮^{13,15,19-22,24-29)}, 祛風濕^{14,16,20,22,29)}, 通經絡^{16,27-29)}, 益血^{14-16,18-23,28-29)}, 安胎^{13-16,18-29)}, 腰膝酸痛^{13,15,18-19,21-29)}, 筋骨痿弱^{15,29)}, 偏枯(下肢麻木)^{27,29)}, 風寒濕痺

^{15-19,24,26-27)}, 胎瀉血崩^{14-20,22-24,26-27,29)}, 產後乳汁不下^{14-20,23-24,26,29)} 등의 治療藥으로 응용되어진다. 따라서 桑寄生은 肝·腎經에 들어가서 補肝腎, 強筋骨하여 노화 방지에도 효과가 있을 것으로 사려되나, 桑寄生에 실험적 연구로 안 등³⁰⁻³¹⁾ 외에 數篇³²⁻³⁴⁾에 불과하고, 抗酸化에 대한 실험은 없었다.

이에 桑寄生의 항산화작용을 규명하기 위해, 연령이 20개월 된 자연로화백서에 농축된 LP를 3주일간 매일 kg당 350mg의 농도로 경구투여한 후, 左腦, 右腦, 小腦, 肝臟, 腎臟, 脾臟, 辜丸의 중량 및 이들 臟器에서의 LPO와 GSH의 함량과, SOD와 catalase의 활성도, GOT, GPT, ALP 활성도를 측정하였다. 본 실험에서 腦, 肝臟, 脾臟, 腎臟, 辜丸의 重量에 대하여 비교한 결과, 이들 臟器에서 체중에 대한 중량변화는 LP 투여한 경우가 腦와 辜丸에서 소폭 증가되는 경향을 보였으나 유의성은 없었다(Table 1). 일반적으로 노화가 진행되면 腦의 중량은 神經細胞數와 腦質量이 감소하여 60세 이상에서는 평균 100g이 감소^{5,61)}하는데, LP 투여가 유의성은 없었으나 腦와 辜丸의 중량을 증가하게 한 것으로 보여진다. 腦神經系統이 노화되는 腦室의 확대, 腦회전의 萎縮, 神經細胞數의 감소, 腦質量의 감소, 動脈內膜의 細胞增殖과 肥厚와 內膜下層과 內彈力膜의 纖維化와 退行性變成 등의 腦血管의 노화, 老化色素(lipofuscin) 함량의 증가, alzheimer型 原纖維變化, 老人斑, 顆粒空砲變成, 神經축삭의 萎縮, 細胞內 崩입체의 형성 등 沈着物の 형성이 나타난다^{5,61)}. LPO는 체내의 不飽和脂肪酸이 free radical의 작용에 의해 변화된 脂質過酸化物로서 혈액중의 LPO 함량은 체내의 脂質過酸化物의 代謝狀況을 반영하는 것이다. 이에 대해 張⁶⁰⁾ 등은 건강한 사람의 血漿內의 LPO 함량이 나이가 증가함에 따라 높아진다고 하였고, 최근의 연구경향도 이를 낮추는 것에 역점을 두고 있다. Free radical에 의한 손상을 최소화하기 위해서는 superoxide anion(O²⁻), hydrogen peroxide(H₂O₂)를 대사과정에서 형성되는데로 제거해야 한다³⁵⁾. SOD는 superoxide를 제거하는 효소이다. 진핵세포의 세포질에 존재하고 copper와 zinc를 조효소로 사용하며 인체에서는 肝에 풍부히 존재한다. Catalase는 과산화수소(H₂O₂)를 분해하여 세포를 보호하는 효소로 알려져 있다⁶²⁾. Glutathione은 여러 조직에서 세포내 기능을 정상적으로 유지하도록 하며 특히, 산화성 물질에 의한 세포손상을 방지하는 강력한 항산화제로 작용하고 있다⁶³⁾. 본 실험에서 左腦에서는 대조군에 비하여 LP 투여군이 LPO 함량이 유의성(p<0.05)있는 감소를, catalase 활성도가 유의성(p<0.001)있는 증가를 보였고, 右腦와 小腦에서는 대조군에 비하여 LP 투여군이 유의성이 없었다(Table 2-4). 이는 蓼苳地黃湯^{5,50)}이 LPO 함량을 감소시키고, SOD와 catalase 활성도를 상승시켜 뇌조직의 노화를 지연시키는 효과인다는 실험결과와 같은 것이다. 肝臟은 인체내 대사를 총괄하는 장기로 근래에 와서 각종 stress 및 화학물질에 의한 간손상은 사회적으로 지대한 관심의 대상이 되고 있는데, 이러한 화학물질에 의한 간손상의 기전은 일반적으로 생체 조직세포의 생체막 구성성분인 다가불포화지방산의 과산화가 그 한가지 원인⁶⁾으로 지적되고 있다. 본 실험에서 간장에서는 대조군에 비하여 LP 투여군이 SOD와 catalase 활성도가 유의성(p<0.001)있는 증가를 보였었다(Table 5). 이러한 결과

는 尹⁵³⁾과 趙⁵⁴⁾의 연구보고와 일치하는 것으로, 桑寄生이 세포내 항산화 효소의 활성을 증가시켜 free radical에 의한 세포손상을 방지하는 효과가 있음을 시사하는 것이다. 본 실험에서 腎臟에서는 대조군에 비하여 LP 투여군이 SOD 함량 증가가 유의성(p<0.001)있게 나타났다(Table 6). 이는 신허한 경우에 LPO 함량이 상승하고 SOD 활성이 저하되며, 補腎 및 延年耐老效能을 지닌 보신방이 LPO 함량을 저하시키고 SOD 활성을 증가시켜 노화를 억제한다는 결과⁴⁶⁾와 같은 것이다. 본 실험에서 脾臟에서는 대조군에 비하여 LP 투여군이 LPO 함량, SOD와 catalase 활성도가 증가하였으나 유의성은 없었는데, LP가 補腎腎하는 방제이어서 이와 같은 결과가 나타나지 않았나 추측된다(Table 7). 睪丸의 기능은 출생후 3개월 동안 상승한 채로 유지하다가 6개월에서 1년이 되면 낮은 수준으로 떨어지다가 사춘기가 시작할 때 상승하기 시작해서 약 17세에 이르러 성인 수준에 도달한다. 평균 혈장치는 성인기부터 중년 말까지 다소 일정하게 유지되고 그 후 수십년동안 천천히 감소한다. 감소된 테스토스테론 치의 원인은 睪丸의 라이디히 세포수의 감소 때문인 것 같다. 또한 노년에는 세정관 기능이 저하되고 정자생산이 감소하기 때문이다. 본 실험에서 睪丸에서는 대조군에 비하여 LP 투여군이 LPO 함량이 유의성(p<0.05)있는 감소를, catalase 활성도가 유의성(p<0.001)있는 증가를 보였다(Table 8). 혈액은 전신을 순환하며 생명을 유지하는데 필요한 물질이나 불필요해진 노폐물을 나르고 있으므로, 체내에서 일어나는 변화는 혈액의 성분에 영향을 준다. 생화학검사는 혈액을 원심분리기에 넣어 액체성분(혈장 또는 혈청)에 함유된 물질을 검사하여 내장의 상태, 특히 肝臟, 腎臟의 변화를 중심으로 그 기능을 검사하는 것을 말한다. Wroblewski 등이 GOT, GPT, ALT 활성이 간염환자에게서 증가한다는 사실로 그 임상적 의의가 밝혀지기 시작하였다. 이들 효소 활성치의 증가는 세포장애 정도와 비교적 상관성이 좋으며, 다른 혈중 유출효소에 비해 예민하게 변동한다. 또한 이들 효소증감으로 간질환의 진단 뿐만 아니라 다른 질환과의 감별 등에 널리 사용된다. GOT는 아미노산과 α-케토산간의 아미노기의 전이반응을 촉매하는 효소의 일종으로 心筋, 肝, 腦 등에 많이 분포하고 있다. 血清 GOT는 肝, 膽道 질환, 특히 급성 간염의 경우 상승한다. GPT는 아미노산과 α-케토산 간 아미노기의 전이반응을 촉매하는 일종으로 肝 또는 腎臟에 많이 포함하고 있다. 血清 GPT는 肝, 膽道 질환, 특히 급성 간염의 경우 상승한다. ALP는 인산화합물을 가수분해하는 효소이다. ALP 활성이 높은 조직으로는 腎臟의 近位尿細管, 소장의 粘膜上皮, 骨芽細胞, 胎盤, 肝臟, 乳腺 등이 있고 骨 질환, 肝·膽道 질환, 妊娠, 악성종양 등에서 활성의 증가가 알려져 있다. 본 실험에 GOT, GPT에서는 대조군에 비하여 LP 투여군이 유의성(p<0.05)있는 감소를 보였다(Table 9). 이는 혈청내의 효소활성인 GOT, GPT의 활성을 감소시켜 노화를 억제한 것으로 사려되며, 河²⁵⁾의 실험 결과와 유사한 것이다. 이상의 결과를 총괄해보면, 桑寄生 투여가 左腦, 肝臟, 腎臟, 睪丸, 血清酵素 등에서, 특히 肝臟에서 유의성 있는 항산화효과를 나타내었다. 이 실험을 통하여 노화가 단순히 신장기능의 저하뿐만 아니라 간장 과도 관련이 있음을 입증하였는데, 이는 장기가 서로 유관하게

연결되어 작용한다는 한의학 이론과 부합하는 것이다. 향후 이들 장기에 대한 조직학적, 해부학적 변화와 이러한 효과를 나타내는 정확한 기전에 대한 연구를 지속해야 할 것으로 사려된다.

결 론

桑寄生의 항산화작용을 규명하기 위하여 자연 老化白鼠의 腦, 肝臟, 腎臟, 脾臟, 睪丸의 중량과 이들 臟器의 LPO와 GSH의 함량, SOD와 catalase의 활성도 및 혈청 효소인 GOT, GPT, ALP의 활성도를 측정된 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

臟器의 중량은 腦와 睪丸에서 소폭 증가하였으나 유의성있는 변화는 없었다. 右腦, 小腦는 유의성있는 변화가 나타나지 않았고, 左腦에서는 LP 투여군에서 LPO 함량은 유의성있는 감소를, catalase 활성도는 유의성있는 증가를 나타내었다. 肝臟에서는 LP 투여군에서 LPO와 GSH 함량은 유의성있는 변화가 없었고, SOD와 catalase 활성도는 유의성있는 증가를 나타내었다. 腎臟에서는 LP 투여군에서 LPO와 GSH 함량 및 catalase 활성도는 유의성있는 변화가 없었고, SOD 활성도는 유의성있는 증가를 나타내었다. 脾臟에서는 LP 투여군에서 LPO와 GSH 함량, SOD와 catalase 활성도 모두 유의성있는 변화가 없었다. 睪丸에서는 LP 투여군에서는 LPO 함량이 유의성있는 감소를, catalase 활성도가 유의성있는 증가를 나타내었다. 혈청효소들의 활성도는 LP 투여군에서는 GOT, GPT가 유의성있는 감소를 나타내었다.

이상의 결과로 보아 桑寄生은 항산화작용이 있으며, 앞으로 항산화작용의 기전에 관한 연구가 더욱 필요할 것으로 사려된다.

참고문헌

1. 최진호, 노화의 메카니즘과 연구방향, 생화학뉴스, 한국생화학회, 5(3) : 39-53, 1985.
2. 후지모토 다이사부로, 老化는 왜 일어나는가, 서울, 전과과학사, pp. 31-55, 1987.
3. 徐舜圭, 成人病·老人病學, 서울, 高麗醫學, pp. 9-18, 28-30, 33-35, 73-77, 107, 225-228, 251-254, 277-280, 343-344, 402, 475-477, 505-506, 1992.
4. 리정복, 長壽學, 서울, 醫聖堂, p. 11-99, 492-576, 1987.
5. 金聖賢, 洗心湯이 腦組織의 酸化作用에 미치는 影響, 대전대학교 대학원, 1998.
6. Cirotti, A.W., Thomas, J.P., Jordan, J.E., Lipid photooxidation in erythrocyte ghosts: sensitization of membranes toward ascorbate and superoxide-induced peroxidation and lysis. Arch. Biochem. Biophys., p. 236, 238, 1985.
7. Cutler, R.G, Antioxidants, aging and longevity. Free radicals in Biology(ed. Pryor, W.), Academic Press, Vol.6, pp. 371-424, 1984.
8. Feher, J., Csomos, G and Vereckei, A, The free radical theory of aging. Free Radical Reactions in Medicine, Springer-Verlag, Berlin, pp. 57-59, 1987.

9. 王其飛, 中醫長壽學, 遼寧科學技術出版社, p.50, 53, 54, 332, 1989.
10. 洪元植編纂, 精校黃帝內經素問, 서울, 東洋醫學研究院 出版部, pp. 11-12, 14-15, 24-25, 1985.
11. 洪元植編纂, 精校黃帝內經靈樞, 서울, 東洋醫學研究院 出版部, p. 241, 255, 1985.
12. 全國韓醫科大學本草學教室編, 本草學, 서울, 永林社, pp. 287-288, 1991.
13. 孫星衍輯, 神農本草經, 臺北, 文光圖書有限公司, p. 41, 1979.
14. 嚴西亭 外, 得配本草, 上海, 上海科學技術出版社, p.191, 1958.
15. 黃宮繡, 本草求真, 臺北, 宏業書局有限公司, pp.285-286, 1981.
16. 吳儀洛, 增註本草從新, 臺北, 文光圖書有限公司, pp.143-144, 1984.
17. 陶弘景集, 名醫別錄, 北京, 人民衛生出版社, pp. 62-63, 1986.
18. 沈金鰲, 中醫要藥分類, 臺北, 自由出版社, pp. 104-105, 1985.
19. 劉文泰·等勅撰, 本草品彙精要, 北京, 人民衛生出版社, p.480, 1982.
20. 汪昂, 增補本草備要, 서울, 高文社, p. 113, 1974.
21. 張隱庵 外 編, 本草三家合註, 서울, 成輔社, p. 64, 1981.
22. 張璐, 本經逢源, 北京, 中國中醫藥出版社, pp. 211-212, 1996.
23. 汪認庵, 本草易讀, 北京, 人民衛生出版社, p. 306, 1987.
24. 尙志鈞輯校, 開寶本草, 合肥市, 安徽科學技術出版社, p.265, 1998.
25. 河在原, 定志丸이 老化에 미치는 影響, 대전대학교 대학원, 1996.
26. 敬撰·尙志均輯校, 新修本草, 安徽省, 安徽科學技術出版社, pp. 311-312, 1981.
27. 王浴生主編, 中藥藥理與應用, 北京, 人民衛生出版社, p.930-932, 1983.
28. 常敏毅, 抗癌中藥, 長沙市, 湖南科學技術出版社, pp.397-400, 1998.
29. 冉先德主編, 中藥藥海, 北京, 哈爾濱出版社, pp.1689-1692, 1993.
30. 안원영, 韓國產 겨우살이類의 糖類와 triterpenoids의 化學的 組成分析, 목재공학, 24(1) : 27-33, 1996.
31. 이수희·안원영, 韓國產 겨우살이類의 糖類와 Triterpenoids의 化學的 組成(Ⅲ), 목재공학, 24(3) : 28-36, 1996.
32. 함승시 외, 겨우살이 추출물의 항돌연변이 효과, 한국식품영양과학회지, 27(2) : 359-365, 1998.
33. 박원봉 외, 유산균 발효에 의한 겨우살이 중의 락틴 성분의 변화, 약학회지, 39(1) : 24-30, 1995.
34. 黃金禪, 桑寄生 및 槲寄生 煎湯液이 마우스의 抗腫瘍 免疫反應에 미치는 影響, 원광대학교 대학원, 1993.
35. 김숙희, 노화, 서울, 민음사, pp. 83-84, 1995.
36. Harman, D., Free radical theory of aging(the free radical disease), Age(7), pp. 111-131, 1984.
37. 金永坤·金永均, 프리라디칼, 서울,麗文閣, pp. 31-35, 98-101, 259-260, 278-286, 396-400, 425-426, 564-568, 1997.
38. 李聰甫主編, 傳統老年醫學, 長沙, 湖南科學技術出版社, pp. 405-407, 1993.
39. 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(5) : 101-102, 1993.
40. 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, pp. 57-60, 139-146, 240-244, 1995.
41. 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.
42. 이영구 외, 인삼이 노화촉진생쥐의 노화에 미치는 영향, 한국노화학회지, 5 : 1-7, 1995.
43. 朴涌基·康秉秀, 玄蔘의 抗酸化 作用에 關한 研究, 대한본초학회지, 13:201-220, 1998.
44. 문진영 外, 柴胡가 Free Radical에 의한 지질과산화물 생성에 미치는 효과, 東國論輯 自然科學篇, 15:361-375, 1996.
45. 김정숙 外, 老化防止를 위한 韓藥劑의 效能 研究, 韓國韓醫學研究所, 1995.
46. 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 對한 研究, 大韓韓醫學會誌, 17(1) : 21-36, 1996.
47. 徐璟錫, 五子地黃飲子가 老化 白鼠의 血液變化 및 血清과 腦組織의 抗酸化物 活性에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1999.
48. 安相源, 熟地黃과 六味地黃湯이 老化過程 흰쥐에서의 抗酸化 機轉에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1999.
49. 孫旻成, 老化過程의 흰쥐에서 補腎丸이 腎臟의 代謝酵素系에 미치는 影響, 대전대학교 대학원, 1999.
50. 金保瓘, 蓼茸地黃湯이 腦組織의 酸化作用에 미치는 影響, 대전대학교 대학원, 1998.
51. 徐元熙, 還少丹이 腦組織의 酸化作用에 미치는 影響, 대전대학교 대학원, 1998.
52. 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) : 62-70, 1995.
53. 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.
54. 趙漢淑, 老化過程의 흰쥐에서 補肝丸이 肝臟의 代謝酵素系에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1999.
55. 禹大潤 외, 人工膜과 Rat의 肝細胞를 利用한 血府逐瘀湯의 抗酸化 作用에 關한 研究, 대한한의학회지, 17(1):465-477, 1996.
56. 王學美 外, 五子衍宗液延緩衰老의 臨床觀察, 中國中西醫結合雜誌, 12(1) : 23-25, 1992.
57. 陳晏珍 外, 腎虛與超氧化物歧化酶關係初探, 中醫雜誌, 30(4):42, 1989.
58. 杜辛 外, 還少丹膠囊抗老衰及治療腎陽虛臨床觀察, 中國中西醫結合雜誌, 12(1) : 20-22, 1992.
59. 陳晏珍 外, 腎虛與超氧化物歧化酶關係初探, 中醫雜誌, 30(4) : 42, 1989.
60. 張文彭 外, 老年腎虛證血漿過氧化脂質, 高密度脂蛋白, 膽固醇及基亞組分水平變化, 中醫雜誌, 30(2) : 43-46, 1989.
61. Alexander Leaf, 世界 長壽村 探訪, 서울, 大光文化社, pp. 199-202, 1978.
62. Ross D and Modeus P, antioxidant defence systems and oxidative stress. In Membrane Lipid Oxidation, ed. by Vign-Pelfrey C., Vol II, CRC Press, Boston, pp.151-170, 1993.
63. Deneke SM and Fanburg BL : Regulation of cellular glutathione. Am J physiology, 257 : L163-L173, 1989.