

山査가 老化誘發 흰쥐의 抗酸化能에 미치는 影響

김경호 · 이송실 · 백진웅 · 이상재 · 김광호

경희대학교 한의과대학 예방의학교실 · 경희대학교 한의학연구소

Effect of *CRATAEGII FRUCTUS*(山査) on Antioxidant Capacity in D-galactose induced Aging Rats

Kyung-Ho Kim, Song-Shil Lee, Jin-Woong Baek, Sang-Jae lee & Kwang-Ho Kim

Dept. of Preventive Medicine, College of Oriental Medicine, KHU
Institute of Oriental Medicine, KyungHee University

Abstract

Objectives : *CRATAEGII FRUCTUS*(山査) is known as the substance which delays aging by the antioxidant effects. The purpose of this study is to investigate the effects of *CRATAEGII FRUCTUS*(山査) on antioxidant enzyme activities such as Thiobarbituric acid reactive substance(TBARS), Superoxide dismutase(SOD), Catalase(CAT), Glutathione peroxidase (GSH-px) in rat erythrocytes and blood plasma.

Methods : Sprague-Dawley rats were divided into 3 groups, Normal group (supplied enough water and feeds only, Normal Group), D-galactose administered group(injected D-galactose 50mg/kg, 1time/day for 6 weeks, Control Group) and *CRATAEGII FRUCTUS*(山査) administered group (D-galactose 50mg/kg and *CRATAEGII FRUCTUS*(山査) extracts 85.0mg/200g 1time/day for 6 weeks, SS Group). Rats were sacrificed and TBARS, SOD, CAT, GSH-px, neutral fat and cholesterol were measured in rat erythrocytes and blood plasma.

Results : There was no significant difference in the level of TBARS in the blood plasma between each experimental group. Red blood cell SOD activities were significantly different in each group. They were significantly decreased in the Control group compared to those of Normal and there was an increasing phenomenon in the SS group compared to the Control group.

There was a significant difference in the activities of the red blood cell - glutathione peroxides in each group. There was a significant increase in the SS group compared to the Control group. Red blood cell

* Corresponding author : Kyung-Ho Kim, Dept. of Oriental Preventive Medicine, College of Oriental Medicine, KyungHee University. Tel : 82-2-961-0329 Fax : 82-2-959-5189 E-mail : prehan@hanmail.net

catalase activities was no significant difference in each group.

Plasma total lipid concentration was significantly different in each group. It was significantly increased in the Control group compared with the Normal group and it was decreasing in the SS group compared to the control group.

Plasma triglyceride was not significantly different in each group. Plasma total cholesterol and Plasma HDL-cholesterol concentrations in the blood plasma were not significantly different in each group.

Conclusions : According to the above results, it is considered that *CRATAEGII FRUCTUS*(山査) is effective in inhibiting lipid peroxides and increasing the activities of antioxidative(anti aging) enzyme in D-galactose induced aging rat.

Key words : *CRATAEGII FRUCTUS*, Antioxidant Capacity, D-galactose, Aging Rat

I. 緒論

일반적으로 老化는 나이가 增加함에 따라 나타나는 個體에게 害로운 段階로 解釋되며 이것은 결국 死亡으로 連結된다고 보는 見解이다.¹⁾²⁾

老化의 原因으로는 遺傳子에 의해 生命體의 老化와 壽命이 豫定되어 있다는 老化 豫定說(genetic programme theories of aging)로 Telomere 理論이 가장 대표적이고, 다음으로 여러 가지 害로운 因子들에 의한 生體物質의 損傷이 蓄積되어 老化에 이른다는 有害因子 損傷說(theories of aging related to primary damage)로 Free radical 理論이 대표적이다.³⁾⁴⁾

韓醫學에서 老化는 加齡이라는 長期間에 걸친 陰陽, 臟腑, 氣血, 經絡, 情志의 相關, 相對的 變容의 結果로 招來된 生體의 衰退現象으로 認識하며 그 原因으로는 不明이지만 先天的 要素, 內性因子를 重視하고 있으며 衰退現象은 可逆性이라고 斷定하지는 않지만 對應方法에 따라 發現을 遲延시킬 수 있다는 見解를 갖고 있다. 老化(衰老)發生의 原因은 七情太過, 憂鬱內傷, 六淫所傷, 勞傷過度; 房勞過度, 飲食

不節, 飢飽失常, 吸煙嗜酒, 先天因素, 環境失宜, 睡眠失當 등으로 整理할 수 있다.⁵⁾⁶⁾⁷⁾

老化를 遲延하며 壽命을 延長하기 위한 여러 方法들로서 養生, 導引, 延年益壽 藥物 등이 提示되어 있다.⁸⁾⁹⁾ 藥物을 이용한 老化遲延의 方法으로는 複合製劑을 利用한 것과 單味劑을 利用한 것이다. 複合製劑는 瓊玉膏,¹⁰⁾ 醒心散,¹¹⁾ 補肺散,¹²⁾ 鹿蔘地黃湯¹³⁾ 等¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾²²⁾²³⁾²⁴⁾²⁵⁾²⁶⁾²⁷⁾²⁸⁾²⁹⁾³⁰⁾³¹⁾에 대한 研究가 있고, 單味劑는 高麗人蔘,³²⁾³³⁾³⁴⁾ 柴胡,³⁵⁾ 薏苡仁, 苦蔘,³⁶⁾ 兔絲子³⁷⁾ 等³⁸⁾³⁹⁾⁴⁰⁾⁴¹⁾⁴²⁾⁴³⁾⁴⁴⁾에 대한 研究가 있다. 그 외에 五加皮,⁴⁵⁾ 桂枝,⁴⁶⁾ 覆盆子⁴⁷⁾ 等⁴⁸⁾⁴⁹⁾⁵⁰⁾⁵¹⁾⁵²⁾의 藥鍼製劑을 이용한 抗酸化效果를 研究한 報告들이 있다.

山査(*CRATAEGII FRUCTUS*)는 薔薇科에 속한 落葉喬木인 山里紅, 山査 또는 野山査의 成熟한 果實을 乾燥한 것으로 가을에 採取하여 切片해서 乾燥시킨 것으로 본 實驗에서는 慶熙醫療院에서 嚴選한 것을 사용하였다.⁵³⁾ 山査에 대한 연구로는 山査는 血管을 擴張시키고 血流의 抵抗을 줄이는 作用이 있어서 血壓降下效果가 緩慢하기는 하나 持續되는 効果과 콜레스테롤을 줄이는 效果가 있다고 알려진 藥物이기도 하다. 또한 山査는 血中脂質을 低下시키는 效能이 顯著하다.⁵⁴⁾ 山査가 中風患者의 高脂血症을 低下시키는 作用을 觀察한 보

고가 있다.⁵⁵⁾

山査를 이용한 抗酸化研究도 있었는데, 이 研究에 의하면 山査에는 caffeic acid, protocatechuic acid와 그 외 多種의 抗酸化性 物質이 包含되어 있다고 보고하였다.⁵⁶⁾ 그 외에도 산사에 효능에 대한 연구들이 있었는데,⁵⁷⁾ 그러나 항산화효능이 흰쥐에 미치는 영향을 보고한 바는 없다. 이에 저자는 이러한 抗酸化能이 실제 흰쥐 生體內에서는 어떠한 作用을 갖는지에 대해서 實驗 考察하였다.

본 研究에서는 實驗을 위하여 張⁵⁸⁾의 方法을 사용하여 D-galactose를 6週間 皮下에 投與하여 老化가 促進된 쥐에게 山査를 經口投與한 후 血漿의 脂質過酸化物, 赤血球의 superoxide dismutase(SOD) 活性, 赤血球의 glutathione peroxidase(GSH-px)活性, 赤血球의 catalase 活性, 血漿內 總脂肪 및 中性脂肪 濃度, 血漿內 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤 濃度를 測定·比較하여 有意한 結果를 얻었기에 이에 報告하는 바이다.

II. 實驗

1. 動物 및 材料

1) 動物

10週된 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐를 구입하여 實驗 始作 前 2週日間 사료([주]애그리 브랜드 퓨리나 코리아, 퓨리나 실험용 쥐사료 5057)와 물을 충분히 공급하였다. 實驗動物은 한 마리씩 分離하여 stainless steel cage에서 飼育하였고, 飼料과 물은 자유롭게 먹도록 하였다.

(2) 材料

본 實驗에서 사용된 山査(CRATAEGII FRUCTUS)는 慶熙醫療院 藥劑科에서 嚴選한

것을 사용하였다.

2. 方法

1) 實驗群 設定

適應期間 후 體重이 400±20g(12週齡)인 쥐들을 實驗에 사용하였다. 實驗室 環境에서 2週間 適應시킨 SD係 흰쥐를 體重別로 고르게 分布시켜 12週齡의 無處置群(Normal group)과 D-galactose 投與群(Control group), 山査 投與群(SS group)으로 나누어 各 群에 6마리씩 配定하였다.

Normal群은 어떤 處置도 하지 않고 固形飼料과 물만을 6週間 充分히 供給하였다. Control群은 12週齡 rat에 D-galactose를 6週間 皮下注射하여 老化를 誘發하였다. SS群은 D-galactose를 皮下注射 함과 同時에 山査를 經口 投與 하였다.

2) 老化 誘發

老化促進誘發은 D-galactose를 皮下注射하는 方法을 사용하였다. D-galactose (Sigma, USA)를 50mg/kg의 比率로 1회/1일 6週間連續으로 rat 背部에 皮下注射 하였다.

3) 檢液의 準備

山査 300g을 5,000cc의 등근 플라스크에 3,000cc의 蒸溜水와 함께 넣은 다음 冷却器를 附着하고 3시간 동안 煎湯하여 0.2µm filter로 濾過한 濾液을 rotary vacuum evaporator (EYELA, Japan)에서 減壓 濃縮하였다. 이 濃縮液을 -80°C deep freezer(SANYO, Japan)에서 한 시간 放置한 후 freezer dryer(EYELA, Japan)로 24시간 동안 凍結乾燥하여 山査추출물 52.0g을 얻었다.

4) 檢液 投與

山査 抽出物은 85.0mg/200g의 檢液을 蒸溜水

로 稀釋하여 SS群 흰쥐에 1일 1회 6週間 經口 投與하였다.

5) 血液의 採取

實驗期間이 終了된 實驗動物은 12시간 絶食 시킨 후 diethyl ether로 麻醉시켜 開腹한 後 10ml 注射器를 이용하여 心臟에서 血液을 採取하였다. 이때 注射器는 血液 凝固를 防止하기 위해 3.8% sodium citrate 溶液 0.1ml로 内部를 coating하여 사용하였다. 採取된 血液은 凝固되는 것을 防止하기 위해 EDTA(Ethylene Diamine Tetra Acetate)가 들어있는 polystyrene 遠心分離管에 담아 ice bath에 20分間 放置한 後 遠心分離器로 2,800rpm, 4°C에서 30分間 遠心分離하여 아래층의 red blood cell(RBC)과 血漿을 分離하고, 血漿은 血漿內 脂質過酸化物 量과 脂肪 水準을 測定하기 위해 -70°C deep freezer(SANYO, JAPAN)에 보관하였다.

아래층의 RBC는 ice cold saline을 添加하여 遠心分離器로 2,800rpm, 4°C에서 10分間 遠心分離하는 洗滌過程을 세 차례 反覆하여 washed RBC를 얻었다. 이 RBC를 cell과 0.9% NaCl 溶液의 부피비가 1:1이 되도록 稀釋하여 50% hematocrit suspension(RBC suspension)을 만든 後 抗酸化酵素의 活性을 測定하기 전까지 -70°C deep freezer에 보관하였다.

6) 血Thiobarbituric Acid Reactive Substance 含量

血漿의 Thiobarbituric Acid Reactive Substance(TBARS) 含量은 血漿 20 μ l에 1/12N 黃酸 4ml와 10% phosphotungstic acid 0.5ml를 넣고 5分間 放置한 後 3,000rpm에서 10分間 遠心分離하여 上層液은 버리고, 沈澱物은 위의 過程을 다시 한번 反覆한다. 이때 얻어진 沈澱物에 蒸溜水 2ml와 thiobarbituric acid(TBA)

reagent 1ml를 加하여 잘 섞은 後 뚜껑을 단단히 막고 95°C water bath에서 1시간동안 incubation시켰다. 여기에 n-butanol 3ml를 加하여 격렬히 섞은 後 3,000rpm에서 15分間 遠心分離하여 얻은 上層液에 있는 TBARS의 量을 1,1,4,4-tetramethoxypropane을 標準溶液으로 하여 luminescence spectrometer(Perkin Elmer, LS50)로 excitation 515nm, emission 553nm에서 定量하였다.

7) 赤血球의 superoxide dismutase 活性

赤血球의 superoxide dismutase(SOD) 活性은 赤血球 懸濁液 200 μ l를 10mM Tris-1mM EDTA buffer(pH 7.4) 1.8ml로 溶血시킨 後, 이 hemolysate에 chloroform과 ethanol을 부피비가 5:3이 되도록 만든 溶液을 hemolysate 부피의 0.4배 가하고 vortex로 강하게 2분간 잘 섞어 hemoglobin을 沈澱시켰다. 여기에 280 μ l의 蒸溜水를 가하여 遠心分離器로 20,000 \times g, 4°C에서 30분간 遠心分離하여 얻은 上層液을 SOD 活性을 測定하기 위한 酵素原으로 이용하였다.

SOD 活性은 xanthine이 xanthine oxidase에 의해 superoxide를 生成하고, 이 superoxide가 ferricytochrome c(Fe^{+++})를 ferrous cytochrome c(Fe^{++})로 還元시키는데 이때 SOD가 存在하면 SOD가 superoxide에 대해 競爭하여 cytochrome c의 還元速度가 減少된다는 原理를 이용하여 測定하는 方法을 사용하였다.

0.1mM EDTA를 含有한 50mM phosphate buffer(pH 7.8)에 xanthine과 cytochrome c(Fe^{+++})를 넣고 混合한 後 25°C로 維持시킨 溶液 2ml에다 酵素試料 50 μ l를 가하고, 사용 직전에 xanthine oxidase 溶液을 製造하여 50 μ l를 添加시켜 ferricytochrome c의 還元이 妨害되는 정도를 550nm에서 30초 간격으로 3분간 비색정량하였다. 이때 SOD의 분당 活性 정도는 ferricytochrome c의 還元을 50% 妨害하는

SOD의 量을 1 unit으로 하여 나타내었다.

8) 赤血球의 catalase 活性

赤血球의 catalase 活性은 赤血球 懸濁液을 10배의 10mM Tris-1mM EDTA buffer(pH 7.4)로 溶血시킨 후 0.01M phosphate buffer (pH 7.0)로 稀釋하여 酵素原으로 사용하였다. 250mM KH_2PO_4 -NaOH(pH 7.0) 300 μl , 100% methanol 300 μl , 0.27% H_2O_2 60 μl 를 polystyrene tube에 넣고 여기에 酵素原을 600 μl 가하여 20 $^\circ\text{C}$ 에서 20분간 shaking 시키면서 反應이 일어나게 한 후 7.8M KOH 300 μl 를 가하여 反應을 종결시키고, 34.2mM Purpald 溶液을 600 μl 를 가하여 20 $^\circ\text{C}$ 에서 10분간 shaking시킨 후 65.2mM potassium periodate를 300 μl 를 가하여 발색시켰다. 이를 9,500 $\times\text{g}$ 에서 10분간 遠心分離시켜 spectrophotometer (DU530, Beckman)로 550nm에서 吸光度를 測定한 후 formaldehyde를 標準溶液으로 하여 얻은 標準曲線으로부터 活性을 計算하였다.

9) 赤血球의 glutathione peroxidase 活性

赤血球의 glutathione peroxidase(GSH-px) 活性은 赤血球 懸濁液에 10배의 蒸溜水를 가하여 赤血球를 溶血시키고 다시 蒸溜水로 이 hemolysate를 稀釋한 후 Drabkin溶液을 hemolysate와 1:1의 比率로 混合하여 hemoglobin(Hb)을 cyanomethemoglobin으로 轉換시킨 후 酵素原으로 사용하였다.

Glutathione peroxidase의 活性測定은 GSH-px가 還元形 glutathione(GSH)과 H_2O_2 의 反應을 促進시켜 還元形 GSH를 酸化形 glutathione(GSSG)으로 轉換시키고, GSSG는 glutathione reductase의 作用으로 NADPH의 H를 받아 다시 還元形인 GSH로 되는데, 이때 螢光을 띠는 NADPH는 H를 빼앗겨 螢光을 띠지 않는 酸化形 NADP가 된다는 原理를 이용하였다.

Tube에 0.1M phosphate buffer 500 μl , 10mM GSH 100 μl , glutathione reductase 100 μl 를 넣고, 酵素原 100 μl 를 添加하여 37 $^\circ\text{C}$ 에서 10분간 incubation시킨 후 1.5mM NA DPH 100 μl 를 넣어 다시 3분간 incubation시켰다. 여기에 미리 37 $^\circ\text{C}$ 로 데워진 12mM t-butyl hydroperoxide를 가하여 反應을 開始시킨 후 spectrophotometer로 365nm에서 30초 간격으로 3분간 GSH-px의 活性을 測定하여 unit단위로 나타내었다. 여기에서 1unit은 1분동안 1.0 μM 의 GSH가 H_2O_2 의 作用으로 GSSH로 酸化되는 것을 觸媒한다.

10) 酵素原의 蛋白質 含量

各 酵素들의 活性測定을 위해 사용된 赤血球의 蛋白質 含量은 bovine serum albumin (Sigma)을 標準溶液으로 하여 測定하였다. 먼저 2.0% Na_2CO_3 , 0.4% NaOH, 0.16% sodium potassium tartrate, 1.0% sodium lauryl-sulfate(SDS)를 包含하는 solution A와 4.0% CuSO_4 인 solution B를 100:1(v:v)로 混合하여 solution C를 만들었다. 酵素原 50 μl 에 solution C 3ml를 添加하여 室溫에서 10분간 放置한 후 여기에 同量의 蒸溜水로 稀釋된 phenol reagent 300 μl 를 넣어 室溫에서 45분간 放置하였다가 파장 660nm에서 spectrophotometer로 비색정량하였다.

11) 血漿의 總脂肪, 中性脂肪, 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤

血漿의 總脂肪 濃度는 Frings法으로 測定하였다. 血漿 100 μl 에 진한 H_2SO_4 2ml를 添加하고 boiling water bath에서 10분간 加熱하여 산분해시킨 후 ice cold bath에서 5분간 冷却시켰다. 다시 이 溶液 100 μl 를 聚해 5ml phospho-vanillin reagent를 添加하여 37 $^\circ\text{C}$ water bath에서 15분간 incubation하여 발색시키고 이를 室溫에서 5분간 冷却시킨 후

spectrophotometer로 파장 540nm에서 비색정량하였다.

血漿의 中性脂肪 濃度는 GPO-PAP법을 이용한 kit(영동제약)로 測定하였다. 血漿의 콜레스테롤 濃度는 酵素法을 이용한 kit(영동제약)를 이용하여 測定하였고, 血漿의 HDL-콜레스테롤 濃度는 LDL(Low-Density Lipoprotein) 및 VLDL(Very Low Density Lipoprotein)을 沈澱시킨 후 酵素法으로 HDL-콜레스테롤의 濃度를 測定하는 kit(영동제약)로 測定하였다.

3. 統計分析

모든 統計分析은 윈도우용 SPSS(ver. 8.0)를 이용하여 실시하였다. 技術統計學的 分析을 통해 各 集團에서의 測定값을 平均±標準偏差로 要約하였으며, 各 集團間의 有意性은 ANOVA test with multiple comparisons(Duncan's method)으로 分析하였고, 有意水準은 0.05로 하였다.

III. 成績

1. 血漿의 脂質過酸化物

血漿 脂質의 過酸化 定度를 알아보기 위해 脂質過酸化物 含量(Thiobarbituric Acid Re-

active Substances : TBARS values)을 測定한 結果 Normal群이 36.04±3.94nmol/100ml, Control群이 47.52±6.98nmol/100ml, SS群이 39.93±4.40nmol/100ml으로 나타나 集團間 差異는 統計的으로 有意한 差異가 없었다(Table I).

2. 赤血球의 superoxide dismutase(SOD) 活性

赤血球에서의 抗酸化 酵素들의 活性을 알아보기 위해 抗酸化 酵素인 superoxide dismutase(SOD)의 活性을 測定한 結果 Normal群이 17.28±2.33, Control群이 10.60±0.98, SS群이 13.34±1.38으로 나타나 集團間 差異는 統計的으로 有意한 差異가 있었으며, 다중비교(Duncan's method)를 통하여 各 集團間 差異의 有意性을 檢正한 結果 Control群이 Normal群에 비해 有意하게 減少하였고, SS群이 Control群에 비하여 增加하는 傾向을 나타내었다(Table II).

3. 赤血球의 glutathione peroxidase (GSH-px) 活性

赤血球에서의 抗酸化 酵素들의 活性을 알아보기 위해 抗酸化 酵素인 glutathione peroxidase(GSH-px)의 活性을 測定한 結果 Normal群이 0.147±0.019, Control群이 0.070±0.002, SS

Table I. Plasma TBARS Levels

Group	No. of animal	Plasma TBARS(nmol/100ml)	Duncan grouping
Normal	6	36.04±3.94 ¹⁾	A ²⁾
Control	6	47.52±6.98	A
SS	6	39.93±4.40	A

¹⁾ Mean±Standard Deviation.

²⁾ Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test.

Normal : not specially treated in 18weeks-old rat.

Control : D-galactose (50mg/kg/rat) was injected for 6 weeks.

SS : treated with San-sa extracts and D-galactose(50mg/kg/rat) for 6 weeks.

Table II. Erythrocyte Antioxidative Enzyme Activities(SOD)

Group	No. of animal	RBC SOD	Duncan grouping
Normal	6	17.28±2.33 ¹⁾	A ²⁾
Control	6	10.60±0.98	B
SS	6	13.34±1.38	AB

1) Mean±Standard Deviation.

2) Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test.

Superoxide dismutase(SOD) activities are expressed as Units per minute per mg protein(1 unit will inhibit the rate of reduced of cytochrome c by 50% in a coupled system with xanthine oxidase at pH 7.8 and 25°C in a 3.0ml reaction volume).

Table III. Erythrocyte Antioxidative Enzyme Activities(GSH-px)

Group	No. of animal	RBC GSH-px	Duncan grouping
Normal	6	0.147±0.019 ¹⁾	A ²⁾
Control	6	0.070±0.002	B
SS	6	0.118±0.014	A

1) Mean±Standard Deviation.

2) Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test.

Glutathione peroxidase(GSH-px) activities are expressed as unit per mg protein(1 unit will catalyze the oxidation by H₂O₂ of 1.0μmol of reduced glutathione to oxidized glutathione per min at pH 7.0 and 25°C).

Table IV. Erythrocyte Antioxidative Enzyme Activities (Catalase)

Group	No. of animal	RBC Catalase	Duncan grouping
Normal	6	5387.68±184.58 ¹⁾	A ²⁾
Control	6	4650.26±85.83	A
SS	6	5017.96±377.65	A

1) Mean±Standard Deviation.

2) Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test.

Catalase activities are expressed as nmole formaldehyde utilized as standard per mg protein.

群이 0.118±0.014로 나타나 集團間 差異는 統計的으로 有意한 差異가 있었으며, 다중비교(Duncan's method)를 통하여 各 集團間 差異의 有意性을 檢正한 結果 SS群이 Control群에 비하여 有意한 增加를 나타내었다(Table III).

測定한 結果 Normal群이 5387.68±184.58, Control群이 4650.26±85.83 SS群이 5017.96±377.65으로 나타나 集團間 差異는 統計的으로 有意한 差異가 없었다(Table IV).

4. 赤血球의 Catalase 活性

赤血球에서의 抗酸化 酵素들의 活性을 알아 보기 위해 抗酸化 酵素인 Catalase의 活性을

5. 血漿內 總脂肪, 中性脂肪 濃度

血漿內 總脂肪의 濃度を 測定한 結果 Normal群이 185.33±22.78, Control群이 321.00±38.36, SS群이 263.83±22.41으로 나타나 集團

間 差異는 統計的으로 有意한 差異가 있었으며, 다중비교(Duncan's method)를 통하여 各集團間 差異의 有意성을 檢正한 結果 Control 群이 Normal群에 비해 有意하게 增加하였고, SS群이 Control群에 비하여 減少하는 傾向을 나타내었다.

血漿內 中性脂肪의 濃度を 測定한 結果 Normal群이 76.67±14.68, Control群이 82.50±13.62, SS群이 85.33±16.71으로 나타나 集團間 差異는 統計的으로 有意한 差異가 없었다 (Table V).

6. 血漿內 總 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤 濃度

血漿內 總 콜레스테롤 濃度を 測定한 結果 Normal群이 58.83±3.75, Control群이 64.33±8.12, SS群이 54.33±8.08로 나타나 集團間 差異는 統計的으로 有意한 差異가 없었다.

血漿內 總 HDL-콜레스테롤 濃度を 測定한 結果 Normal群이 26.50±5.19, Control群이 17.17±2.02, SS群이 22.83±3.03로 나타나 集團

間 差異는 統計的으로 有意한 差異가 없었다 (Table VI).

IV. 考 察

韓醫學에서는 生, 長, 壯, 老, 死라는 人類生命의 自然法則속에 老化를 認識해 왔으며 老化를 生體衰退의 變化로 全一觀에 依據한 有機的 關聯下에서 把握하였고 또한 老化는 人體의 生理的인 過程 중의 하나로 各自의 先天的인 稟賦와 後天的인 環境과 自己가 含有하고 있는 精神機能에 따라 老化가 다르게 表出되고 있다. 《莊子 盜跖篇》에는 “人上壽百歲, 中壽八十, 下壽六十”라 하였고⁵⁹⁾ 《說文解字》에는 “久也, 從老省” “考也, 七十曰老, ... 言須髮變白也, 凡老之屬皆從老” “年八十曰耄” “年九十曰耄”라 하였으며 《靈樞 衛氣失常》에는 “人年五十以上爲老”라 하였고,⁶⁰⁾ 《千金方 小品方》에도 “五十以上老” “五十歲以上爲老”라 하였고 <東醫壽世保元 廣濟說>에서는 “四十九歲至六十四歲曰老”⁶¹⁾라 하였는데, 一般的으로 보

Table V. Plasma Total Lipid and Triglyceride

Group	No. of animal	Plasma total lipid	Plasma triglyceride
Normal	6	185.33±22.78 ¹⁾	76.67±14.68 ¹⁾
Control	6	321.00±38.36	82.50±13.62
SS	6	263.83±22.41	85.33±16.71

¹⁾ Mean±Standard Deviation.

²⁾ Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test.

Table VI. Plasma Total Cholesterol, HDL-cholesterol Concentrations

Group	No. of animal	Plasma total cholesterol	Plasma HDL-cholesterol concentrations
Normal	6	58.83±3.75 ¹⁾	26.50±5.19 ¹⁾
Control	6	64.33±8.12	17.17±2.02
SS	6	54.33±8.08	22.83±3.03

¹⁾ Mean±Standard Deviation.

²⁾ Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test.

면 五十以上을 ‘老’로 表現하고 있다.

老化的 남녀에 대한 표현으로는 《素問 上古天真論》에서는 사람의 生, 長, 壯, 老, 死의 人體의 變化에 對하여, 女子는 “六七三陽脈衰於上 面皆焦 髮始白”하고, 男子는 “六八陽氣衰於上 面焦 髮鬢頰白 形體皆極”한다 하였다. 女子는 男子보다 發育도 빠르지만 老衰 역시 빠르다. 사람이 50歲 以上이 되면 人體의 陰陽이 俱虛해지므로 老衰症이 나타나며, 나이가 더할 수록 臟腑가 더욱 衰弱해지고, 最後엔 “精氣皆竭”하여 “形骸獨居而終矣”가 된다고 하였다.⁶²⁾

韓醫學에서 老化는 加齡이라는 長期間에 걸친 陰陽, 臟腑, 氣血, 經絡, 情志의 相關, 相對的 變容의 結果로 招來된 生體의 衰退現象으로 認識하며 그 原因으로는 不明이지만 先天的要素, 內性因子를 重視하고 있으며 衰退現象은 對應方法에 따라 可逆性이라고 斷定하지는 않지만 發現을 遲延시킬 수 있다는 見解를 취하고 있다.⁶³⁾ 老化(衰老)發生의 原因은 七情太過, 憂鬱內傷, 六淫所傷, 勞傷過度, 房勞過度, 飲食不節, 飢飽失常, 吸煙嗜酒, 先天因素, 環境失宜, 睡眠失當整 등으로 정리할 수 있다.⁶⁴⁾

韓醫學의 老化學說은 대략 脾胃虛衰學說, 腎氣虛衰學說, 精氣虛衰學說로 나타나고 있으며 變老, 夭折, 老衰의 原因 및 그 對策은 飲食因素-飲食有節, 運動因素-動則不衰, 性慾因素-節欲保精, 心理因素-恬淡虛無, 睡眠因素-起居有常, 環境因素-法于自然, 藥物因素-合理用藥, 疾病因素-祛病延年로 요약할 수 있다.⁶⁵⁾

老화를 生體에서의 衰退現象으로 把握한 記述로서 잘 引用되는 것은 《素問 上古天真論》인데, 女子의 成長, 成熟이 男子보다 빠르며 生殖能力에 關係되는 腎의 重要性을 強調하였다.⁶⁶⁾⁶⁷⁾ 한편 老화를 生體衰退의 變化로 全一觀에 依據한 有機的 關聯下에 考察한 바, 老화를 陰陽의 變化, 臟腑의 變化, 氣血의 變化, 經絡의 變化, 精神의 變化로 나누어 볼 수 있다.⁶⁸⁾ 이로 보아 老化現象에 대한 主訴는 各樣

各色으로 多樣하다. 조금만 움직여도 숨이 차고 어지럽고 가슴이 뛰며 頭痛, 腰痛, 肢節痛과 肩臂痛, 不眠, 食慾不振, 疲勞가 곧 오고 性慾減退 등 헤아릴 수 없이 많다. 이들 중에는 가끔 重病의 실마리가 되는 수도 있지만, 대부분의 경우 뚜렷한 病名을 찾을 수 없는 이른바 老化現象에서 오는 것이 많다.⁶⁹⁾

韓醫學은 老化에 대하여 自然主義的 立場을 취해왔으며 또한 주어진 先天之氣의 強弱에 의해 날 때부터 壽命이 어느 정도 정해져 있다는 立場을 堅持해왔다. 그러므로 韓醫學의 주된 관심사는 타고난 壽命을 줄이지 않고 어떻게 保存하여 天命을 다하는가에 關心이 집중되어있다 해도 과언은 아닐 것이다.

그러나 예로부터 人間의 壽命을 無病長壽한다면 百歲以上으로 보는 것이 定說이므로 주어진 壽命을 다하는 것으로도 現代의 觀點에서 본다면 平均壽命을 延長하는 것으로 解釋할 수 있다. 人間은 自然에 法하여 살면 百歲 以上 되는 天壽를 누릴 수 있으나 環境條件, 個人의 慾心, 疾病 등으로 인해 天壽를 다하지 못하는 것이다. 여기서 老化는 生命의 誕生으로 인해 必然的으로 주어지는 宿命이지만 自然의 順理를 거스르고, 慾心を 넘으로 인해 그 發顯이 앞당겨 진다는 立場을 聚하는 것이다. 그러므로 順理的인 生活習慣과 自然과 하나되는 生活, 慾心を 줄이는 養生 및 適切한 疾病管理 등으로 老化를 늦추며 天壽를 누리도록 해야 한다.⁷⁰⁾

老化的 原因은 크게 세 群으로 나누어 보면 첫째가 老化豫定說, 둘째는 有害因子 損傷說, 마지막으로는 위의 두 假說을 통합하여 하나의 假說로 발전시킨 老化의 통합모델이다. 老化豫定說의 대표적인 理論으로는 Telomere理論이 있고, 有害因子 損傷說로는 Free radical理論이 脚光을 받고 있는 趨勢이다. 전체적으로 볼 때 老化는 豫定되어진 生命體의 宿命이라는 見解와 生命體와 外界 혹은 內部的 有害

因子間の 闘爭이라는 見解로 綜合할 수 있겠다. 예로부터 無病長壽는 人類의 오랜 宿願이었다. 生命의 誕生은 죽음을 前提로 하는 事件이지만 건강한 삶을 오래도록 維持하는 것은 人類의 幸福에 기여한다고 할 것이다. 老化의 研究는 이런 意味에서 人類의 幸福한 삶을 유지하는 데 중요한 役割을 擔當하는 分野이며, 앞으로 高齡화된 社會에서 그 위치가 점점 더 높아지리라 본다.⁷¹⁾⁷²⁾⁷³⁾⁷⁴⁾

앞서 例示한 老化理論 중에서 有害因子 損傷說은 細胞나 組織에 不可易의 變化를 招來하는 內的인 또는 外的인 損傷 因子에 의한 生體物質의 損傷 蓄積을 老化의 주된 原因으로 보는 假說로서 學者에 따라 많은 主張이 있으나 現在 가장 많이 研究되고 있는 것으로 1956년 Harman에 의해 제안된 老化의 活性酸素說(free radical theory of aging)을 들 수 있다.⁷⁵⁾ 이는 정상적인 代謝 過程 중에 부수적으로 발생하는 여러 가지 活性酸素들에 의해 生體物質이 酸化的 損傷을 받게 되고 이러한 損傷들이 蓄積되어 老化와 죽음에 이르게 된다는 說이다.

活性酸素들에 의한 損傷들은 生體가 가지고 있는 防禦能力으로 對處되고 있지만, 防禦가 완전치 못하므로 一部の 活性酸素에 의한 有害作用을 받게 된다. 이 有害作用은 천천히, 경우에 따라서 數年 내지는 一生을 통하여 慢性的으로 일어나 累積되어 細胞나 組織의 機能을 低下시키고, 이것이 곧 疾病 및 老化의 原因이 된다. 그리고 이러한 有害作用이 계속될 때 마침내 죽음에 이르게 된다는 것이다. 이에 따른 現象들은 짧은 시간에는 나타나지 않으며 長時間에 걸쳐 나타나게 되는데 이것이 바로 老化過程이라고 보는 것이다.⁷⁶⁾

活性酸素란 酸素라디칼(oxygen free radical) 및 이것으로부터 派生된 여러 가지 酸素化合物들을 通稱하는 것으로, 이들은 모두 反應성이 높은 特徵을 가지고 있다. Free radical이란

化學적으로 最外殼 電子軌道에 雙을 이루고 있지 않는 電子를 지닌 原子나 分子를 意味한다. 이들은 이 雙을 이루고 있지 않는 電子를 잃거나 혹은 周圍로부터 電子 하나를 더 얻어 보다 安定된 狀態로 가려는 性質을 가지고 있기 때문에 不安定하다. 따라서 周圍의 化合物과 쉽게 反應하여 電子를 잃거나 얻으려 하기 때문에 높은 反應성을 갖는다.

活性酸素들은 體內 各種 細胞들의 여러 代謝過程에서 끊임없이 生成되고 있다. 그 例로서 미토콘드리아의 電子傳達係, peroxisome의 脂肪酸 代謝過程, cytochrome p-450 反應 그리고 飽食細胞들에 의한 respiratory burst過程 등을 들 수 있다. 生成된 活性酸素는 言及 한 바와 같이 反應성이 높기 때문에 周圍의 어떤 物質들과도 쉽게 反應한다. 따라서 主된 生體構成成分인 脂質 蛋白質 核酸들에 쉽게 活性酸素들이 作用하며, 이들의 酸化的 損傷에 關하여는 수없이 많이 報告 되고 있다.⁷⁷⁾

脂質의 酸化는 活性酸素에 의한 損傷으로서 오랫동안 잘 알려져 있으며, 脂肪 썩는 냄새가 나는 것이 脂質의 過酸化 反應에 의한 것이다. 脂質의 hydroperoxyl radical은 이웃한 不飽和 脂質의 二中 結合鎖로부터 水素原자를 하나 빼앗아 hydroperoxide와 alkyl radical로 된다.

그리고 alkyl radical는 酸素와 結合하면 새로이 hydroperoxyl radical로 되고 이는 連鎖的인 酸化反應을 일으킬 수 있다. 이때 不飽和된 알데히드를 비롯한 여러 가지 副産物들이 만들어지고 이들은 活性을 가지며 突然變異原으로 作用하거나 酵素들의 活性을 抑制할 수 있고 또는 蛋白質이나 核酸과 作用하여 cross-link를 이루기도 한다. 더욱이 脂質過酸化에 의하여 細胞膜의 流動성이 減少되고 膜蛋白質의 損傷이 招來되기도 한다.⁷⁸⁾

核酸이 酸化的 損傷을 받으면 8-OH-dG를 비롯한 여러 가지 DNA adduct들이 生成되고 DNA의 strand break를 일으키거나 protein 등

의 다른 分子들과 cross link가 일어난다. 이러한 反應들은 遺傳子 突然變異나 電子傳達過程에 影響을 미쳐 정상적인 遺傳子發顯에 變化를 招來한다.⁷⁹⁾

活性酸素에 대한 細胞내 抗酸化 防禦體系는 놀랄 만큼 精巧하게 發達되어있는데 크게 酵素係와 非酵素係로 나눌 수 있다. 이들은 抗酸化 酵素係인 SOD, Catalase, GSHpx, 親水性 抗酸化因子인 ascorbate, urate, glutathione, 疏水性 抗酸化因子 tocopherol, flavonoid, carotenoid, ubiquinol들이 있다.

그 외에 關聯要素로서 非酵素係 抗酸化因子들이 酸化되었을 때 還元시키는데 필요한 酵素들인 GSH reductase dehydroascorbate reductase과 protein thiol을 維持시키는 thioredoxin reductase 들이 있으며 또한 還元에 필요한 環境을 維持시키는데 관련된 酵素들 例를 들면 glucose-6-phosphate dehydrogenase 등이 있다.

活性酸素에 의한 酸化的 損傷의 産物들인 脂肪褐色素, 脂質過酸化物(lipid hydroperoxides), 말론디알데히드(malondialdehyde), 카르보닐(carbonyl)기 및 히드록시데옥시구아노신(8-hydroxy-2'-deoxyguanosine) 등이 實驗動物에서 老化에 따라 이들의 組織에서 增加된다는 것이 밝혀졌다.⁸⁰⁾

이와 같이 活性酸素는 正常的인 代謝過程중에 生成되어, 生體 構成成分들과 反應하여 酸化的 損傷을 일으켜 老化와 죽음을 招來한다. 이 活性酸素說에 의하면, 年齡 增加에 따라 低下되는 活性酸素에 대한 防禦能力을 增加시켜 준다면 우리의 壽命은 延長될 수 있을 것이다. 또한 老化現象 뿐만 아니라 現在 現代醫學의 宿題가 되고 있는 各種 成人病, 心臟疾患, 發癌을 비롯한 不治의 疾患들이 바로 活性酸素의 酸化的 作用과 關聯되므로, 活性酸素의 作用을 調節할 수 있다면 그것이 곧 老化를 遲延시키고 各種 慢性疾患을 豫防하는 지름길

이 될 것이다. 活性酸素說은 年齡增加에 따라 活性酸素에 대한 抵抗能力이 低下됨을 알려주고 있는데 이 低下되는 抵抗能力(抗酸化能)을 增加시켜 준다면 人間의 壽命延長에 其餘할 것이다.⁸¹⁾

본 研究에서는 山査의 抗酸化效能을 통한 老化防止 效果를 實驗的으로 알아보기 위하여 老化誘發 흰쥐를 이용하여 抗酸化能을 測定하였다. 10주된 SD계 수컷 흰쥐를 實驗室 環境에서 2週間 適應시킨 뒤 體重別로 고르게 分布시켜 12週齡의 無處置群(Normal group)과 D-galactose 投與群(Control group), 山査 投與群(SS group)으로 나누어 各 群에 6마리씩 排定하였다.

Normal 群은 어떤 處置도 하지 않고 固形飼料과 물만을 6週間 充分히 供給하였다. Control群은 12週齡 rat에 D-galactose를 6週間 皮下注射하여 老化를 誘發하였다. SS群은 D-galactose를 皮下注射 함과 동시에 山査를 經口 投與 하였다. 老化促進誘發은 D-galactose를 皮下注射하는 方法을 사용하였다. D-galactose(Sigma, USA)를 50mg/kg의 比率로 1회/1일 6週間連續으로 rat 背部에 皮下注射 하였다.

活性酸素의 反應物인 脂質過酸化物은 自動 酸素反應에 의한 多價不飽和脂肪酸에 O₂가 附加된 生成物인데 脂質過酸化物은 生體膜 등에 損傷을 입히고, 細胞機能을 低下시키며 壞死에 關與하며 여러 가지 疾病, 즉 alcohol性 脂肪肝, 急性 肝炎, 慢性 活動性肝炎, 非對象期의 肝硬變, 動脈硬化症 등과 密接한 關聯이 있다.⁸²⁾

血漿 脂質의 過酸化 정도를 알아보기 위해 脂質過酸化物 含量(Thiobarbituric Acid Reactive Substances : TBARS values)을 測定한 結果 Normal群이 36.04±3.94nmol/100ml, Control群이 47.52±6.98nmol/100ml, SS群이 39.93±4.40nmol/100ml으로 나타나 集團間 差異는 統計的으로 有意한 差異가 없었다(F=1.224,

$p=0.322$, ANOVA test)(Table I).

Superoxide dismutase(SOD)는 인체내에서 강한 독성으로 작용하는 O_2^- 를 과산화수소로 바꾸는 역할을 한다.⁸³⁾ 赤血球에서의 抗酸化酵素들의 活性을 알아보기 위해 抗酸化酵素인 superoxide dismutase(SOD)의 活性을 測定한 結果 Normal群이 17.28 ± 2.33 , Control群이 10.60 ± 0.98 , SS群이 13.34 ± 1.38 으로 나타나 集團間 差異는 統計적으로 有意한 差異가 있었으며($F=4.077$, $p=0.039$, ANOVA test), 다중비교(Duncan's method)를 통하여 각 集團間 差異의 有意性을 檢正한 結果 Control群이 Normal群에 비해 有意하게 減少하였고, SS群이 Control群에 비하여 增加하는 傾向을 나타내었다(Table II).

Glutathione peroxidase(GSH-px)는 過酸化水素와 過酸化脂質을 동시에 還元시킴으로써 細胞 構成 成分을 酸化의 損傷으로부터 保護해 주는 作用을 한다.⁸⁴⁾ 赤血球에서의 抗酸化酵素들의 活性을 알아보기 위해 抗酸化酵素인 glutathione peroxidase(GSH-px)의 活性을 測定한 結果 Normal群이 0.147 ± 0.019 , Control群이 0.070 ± 0.002 , SS群이 0.118 ± 0.014 로 나타나 集團間 差異는 統計적으로 有意한 差異가 있었으며($F=8.124$, $p=0.004$, ANOVA test), 다중비교(Duncan's method)를 통하여 각 集團間 差異의 有意性을 檢正한 結果 SS群이 Control群에 비하여 有意한 增加를 나타내었다(Table III).

Catalase는 SOD에 의해 生成된 過酸化水素와 有機過酸化物을 물로 排泄함으로서 生體를 保護하는 酵素이다.⁸⁵⁾ 赤血球에서의 抗酸化酵素들의 活性을 알아보기 위해 抗酸化酵素인 Catalase의 活性을 測定한 結果 Normal群이 5387.68 ± 184.58 , Control群이 4650.26 ± 85.83 SS群이 5017.96 ± 377.65 으로 나타나 集團間 差異는 統計적으로 有意한 差異가 없었다($F=2.216$, $p=0.143$, ANOVA test)(Table IV).

血漿內 總脂肪의 濃度를 測定한 結果 Normal群이 185.33 ± 22.78 , Control群이 321.00 ± 38.36 , SS群이 263.83 ± 22.41 으로 나타나 集團間 差異는 統計적으로 有意한 差異가 있었으며($F=5.584$, $p=0.015$, ANOVA test), 다중비교(Duncan's method)를 통하여 각 集團間 差異의 有意性을 檢正한 結果 Control群이 Normal群에 비해 有意하게 增加하였고, SS群이 Control群에 비하여 減少하는 傾向을 나타내었다.

血漿內 中性脂肪의 濃度를 測定한 結果 Normal群이 76.67 ± 14.68 , Control群이 82.50 ± 13.62 , SS群이 85.33 ± 16.71 으로 나타나 集團間 差異는 統計적으로 有意한 差異가 없었다($F=0.086$, $p=0.918$, ANOVA test)(Table V).

血漿內 總 콜레스테롤 濃度를 測定한 結果 Normal群이 58.83 ± 3.75 , Control群이 64.33 ± 8.12 , SS群이 54.33 ± 8.08 로 나타나 集團間 差異는 統計적으로 有意한 差異가 없었다($F=0.655$, $p=0.533$, ANOVA test).

血漿內 總 HDL-콜레스테롤 濃度를 測定한 結果 Normal群이 26.50 ± 5.19 , Control群이 17.17 ± 2.02 , SS群이 22.83 ± 3.03 로 나타나 集團間 差異는 統計적으로 有意한 差異가 없었다($F=1.648$, $p=0.225$, ANOVA test)(Table VI).

以上の 結果로 보면, 山査는 D-galactose의 皮下注射로 老化가 促進된 쥐의 抗酸化酵素인 superoxide dismutase(SOD)와 glutathione peroxide(GSH-px) 活性을 增加시키는 作用을 나타내었다. 또한 血漿內 總脂肪의 濃度를 減少시키는 作用을 나타내었다. 따라서 山査가 一定한 條件에서 抗酸化 效果를 갖고 있다고 볼 수 있으며 向後 多樣한 指標를 이용한 보다 深度 있는 研究가 필요하다고 생각한다.

V. 結論

山査의 抗酸化能을 알아보기 위하여 흰쥐를

12週齡의 Normal group과 Control group, SS group으로 나누어 흰쥐의 血漿의 TBARS 含量과 赤血球의 SOD, catalase, GSH-px의 活性, 血漿의 總脂肪, 中性脂肪, 總 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤의 濃度を 測定하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1) 血漿의 TBARS의 水準은 各 集團間의 有意한 差異가 없었다.

2) 赤血球의 SOD活性은 各 集團間의 有意한 差異가 있었으며, Control群이 Normal群에 비해 有意하게 減少하였고, SS群이 Control群에 비하여 增加하는 傾向을 나타내었다.

3) 赤血球의 GSH-px 活性은 各 集團間의 有意한 差異가 있었으며, SS群이 Control群에 비하여 有意한 增加를 나타내었다.

4) 赤血球의 Catalase의 活性은 各 集團間의 有意한 差異가 없었다.

5) 血漿內 總脂肪의 濃度は 各 集團間의 有意한 差異가 있었으며, Control群이 Normal群에 비해 有意하게 增加하였고, SS群이 Control群에 비하여 減少하는 傾向을 나타내었다.

6) 血漿內 中性脂肪의 濃度は 各 集團間의 有意한 差異가 없었다.

7) 血漿內 總콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤 濃度は 各 集團 間의 有意한 差異가 없었다.

이상의 結果로 山査는 D-galactose로 誘發된 老化促進 흰쥐에서 抗酸化能 增進 效果가 있었는데, 특히 赤血球의 SOD와 GSH-px 活性 增進效果 및 血漿內 總脂肪 濃度の 減少效果가 顯著하였다.

參考文獻

- 1) 徐舜圭 : 成人病 老人醫學, 고려의학, pp.10-13, pp.225-228, 1992.
- 2) 리정복 : 장수학, 의성당, 서울, pp.11-99, pp.492-576, 1987.
- 3) 醫學教育練修院 : 老人醫學, 서울大學校出版部, pp.27-35, 1999.
- 4) 배철영 외 1人 : 老人醫學, 高麗醫學, p.21, pp.25-27, 1996.
- 5) 金光湖 : 豫防韓醫學, 書苑堂, p.548, pp.553-560, pp.598-608, 2001.
- 6) 金東榮 : 老年養生의 老衰機轉에 관한 文獻的 考察, 第3醫學 3(2):75-82, 1998.
- 7) 高綺完 : 老化 및 老人의 病因 病機에 關한 文獻的 研究, 慶熙大學校 韓 醫科大學 碩士學位 論文, 1993.
- 8) 金恩基 외 2人 : 老化防止를 위한 韓醫學의 方法, 韓方成人病學會誌 2(1) p.146, 1996.
- 9) 錢伯文, 江克明 : 抗衰老中藥與食物, 上海中醫學院出版社, p.11, 13, 37, 53, 54, 97, 1992.
- 10) 김병탁, 김성훈 : 瓊玉湯의 抗酸化作用에 對한 實驗的 研究, 大田大學校 韓醫學研究所 論文集 7(1), p.741, 1998.
- 11) 郭重文, 吳旼錫, 宋泰元 : 老化過程의 흰쥐에서 醒心散이 心臟의 代謝酵素系에 미치는 影響, 大田大學校 韓醫學研究所 論文集 8(1), p.625, 1999.
- 12) 金仁洙, 高光贊, 吳旼錫, 宋泰元 : 老化過程의 흰쥐에서 補肺散이 肺의 代謝酵素系에 미치는 影響, 大田大學校 韓醫學研究所 論文集 8(1), p.643, 1999.
- 13) 소경순, 김광호 : 鹿蓼地黃湯이 抗老衰에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集 18(2):127, 1995.
- 14) 이동순, 오민석, 송태원 : 老化過程의 흰쥐에서 補脾湯이 脾臟의 代謝酵素系에 미치는 影響, 大田大學校 韓醫學研究所 論文集 8(1), pp.689-710, 1999.
- 15) 조한숙, 오민석, 송태원 : 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 韓醫學研究所 論文集 8(1), pp.711-726, 1999.

- 16) 박진성 외 2인 : 不老丸을 투여한 흰쥐 腦의 抗酸化效果에 關한 研究, 大韓豫防韓醫學會誌 5(1) pp.90-102, 2001.
- 17) 손호성 외 2인 : 老化過程의 흰쥐에서 補腎丸이 腎臟의 代謝酵素系에 미치는 影響, 大田大學校 韓醫學研究所論文集 8(1), p.659, 1999.
- 18) 안상원 외 1인 : 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 韓醫學研究所論文集 8(1) p.593, 1999.
- 19) 조한숙 : 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, 1998.
- 20) 이상룡 외 1인 : 五子地黃飮子가 老化白鼠의 血液 變化와 血清 腦組織의 抗酸化 活性에 미치는 影響, 東醫神經精神科學會誌 10(1) p.79, 1999.
- 21) 박용기 외 2인 : 人蔘의 配合에 따른 抗酸化 作用에 關한 研究, 大韓本草學會誌 14(1), p.45, 1999.
- 22) 이태균 외 1인 : 이선소요조영탕의 抗酸化 作用에 關한 研究, 大韓韓方婦人科學會誌 10(2), p.85, 1997.
- 23) 이상룡 외 1인 : 加味歸脾聰明湯이 老化 白鼠의 血液變化 및 血清과 腦 組織이 抗酸化物 活性에 미치는 影響, 9(2) p.53, 1998.
- 24) 허준령 : 十全大補湯의 抗酸化作用에 대한 研究, 大田大學校 大學院, 2001.
- 25) 皮明均 외 : 加味溫膽湯對亞急性衰老大鼠大 腦皮質超微結構改變의 影響, 湖南中醫學院 學報, Mar. 1999, Vol.19, No.1 p.8
- 26) 張其蘭 : 降脂延衰流膏抗衰老作用의 研究, 山東中醫學院, Vol.26 No.5 May, 1999. p.33.
- 27) 黃玉芳 외 3인 : 開心散對4種動物模型 SOD, MDA 含量의 影響, 南京中醫藥大學學報 15 (2) p.151, 1999.
- 28) 張永杰 외 6인 : 藥王五補口服液抗衰老作用의 實驗研究, 中藥學 24(1) p.32, 1993.
- 29) 沈小珩 외 6인 : 二仙湯及其坵方對老年大鼠 部分抗酸化酶活性及其因表達水平的 影響, 中國中西醫結合雜誌 15(11) p.672, 1995.
- 30) 黃紅英 : 百年樂延緩衰老作用의 研究, 中成藥 16(7) p.39, 1994.
- 31) 邱琳 : 參杞安泰抗衰老作用의 研究, 中成藥 13(3) p.24, 1991.
- 32) 崔鎮浩 : 高麗人蔘의 老化抑制作用에 關한 研究, 慶熙大學校 大學院, 1982.
- 33) 배기채 : 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.
- 34) 王林江 외 1인 : 人蔘對老年大鼠自由基代謝 影響의 研究, 遼寧中醫雜誌, Vol.26 No.5 May, 1999. p.238.
- 35) 문진영 외 : 紫胡가 Free Radical에 의한 脂質過酸化物 生成에 미치는 效果, 東國論集 자연과학편, 15, pp.361-375, 1996.
- 36) 박용기 외 1인 : 薏苡仁과 苦蔘의 抗酸化作用에 關한 研究, 大韓本草學會誌 15(2) p.57, 2000.
- 37) 김봉수 외 2인 : 兔絲子類의 抗酸化作用에 對한 研究, 大韓本草學會誌 12(1), p.67, 1997.
- 38) 김정숙 외 : 老化防止를 위한 韓藥製의 效能 研究, 韓國韓醫學研究所, 1995.
- 39) 한병훈 외 3인 : 生藥의 抗酸化活性 檢索 研究, 生藥學會誌 12(1) p.66, 1981.
- 40) 王林江 외 1인 : 人蔘對老年大鼠自由基代謝 影響의 研究, 遼寧中醫雜誌, Vol.26 No.5 May, 1999. p.238.
- 41) 黃正良 외 8인 : 紅芪多糖抗衰老作用의 實驗 研究, 中藥學 23(9) p.469, 1999.
- 42) 孟廣森 : 肉從蓉延緩衰老研究의 進展, 中醫雜誌 37(8) p.501, 1996.
- 43) 楊朝嘩 : 何首烏抗衰老作用研究近況, 時珍

- 國醫國藥 10(5) p.390, 1999.
- 44) 陳曉光 : 何首烏對老年小鼠衰老指標的影響, 中草藥 22(8) p.357, 1991.
 - 45) 이근동 : 五加皮藥鍼의 抗酸化作用에 關한 實驗的 研究, 大田大學校 大學院, 1999.
 - 46) 박태균 : 桂枝藥鍼의 抗酸化作用에 關한 實驗的 研究, 大田大學校 大學院, 1998.
 - 47) 손중수 : 覆盆子藥鍼의 抗酸化作用에 關한 實驗的 研究, 大田大學校 大學院, 1999.
 - 48) 박현선 : 山茱萸藥鍼의 抗酸化作用에 關한 實驗的 研究, 大田大學校 大學院, 1998.
 - 49) 김영해 外 : 胡桃藥鍼의 抗酸化 效果에 對한 研究, 大韓韓醫學會誌 17(2) pp.8-18, 1997.
 - 50) 박겨울 : 淫羊藿藥鍼의 抗酸化作用에 關한 實驗的 研究, 大田大學校 大學院, 1998.
 - 51) 윤철호 外 : 靑취의 肝組織에서 鹿茸 藥鍼 製劑의 抗酸化 作用에 關한 研究, 大韓韓醫學會誌 17(2) pp.191-202, 1996.
 - 52) 김갑성 外1人 : 胡桃藥鍼液의 抗酸化效果에 對한 研究, 大韓鍼灸學會誌 13(2) p.54, 1996.
 - 53) 全國韓醫科大學本草學教授 : 本草學, 永林社, pp.369-370, 1991.
 - 54) 진존인 : 도설 한방의약대사전 제3권, pp.24-25, 도서출판 송악, 1990
 - 55) 山査가 中풍환자의 高脂血症에 미치는 영향, 경희대학교 한의학과대학원, 한진안, 2001, p1
 - 56) 山査 抗酸化성 物質의 분리 및 동정, 한국 농화학회지, 김정숙 이기동 권중호 윤형식
 - 57) 산사자의 효능에 관한 연구, 한규언, 경희대학교 한의과대학원, 1984.
 - 58) 張熙 외 : D-galactose에 의해 유발된 백서 老化 모델의 생화학적 변화, 중국약리와 독성학회지 4(4), p.309, 1990.
 - 59) 이강수 : 도가사상의 연구, 서울, 고대 민족 문화연구소, p.16, 1985.
 - 60) 홍원식 : 정교 황제내경영추, 서울, 동양의학연구원 출판부, p.255, 1981.
 - 61) 이제마 : 동의수세보원, 서울, 의도한국사, p.352, 1977.
 - 62) 홍원식 : 정교 황제내경소문, 서울, 동양의학연구원 출판부, p. 11, 1981.
 - 63) 石山淳一 : 한의학에서의 노화의 개념, 서울, 동양의학 제14권 제1호, 동양의학연구원, pp.68-75, 1988.
 - 64) 유점문 : 중의양생학, 상해, 상해중의학원출판사, p.66-72, 1988.
 - 65) 왕기비 : 중의장수학, 요령, 요령과학기술출판사, p.52-54, 1989.
 - 66) 홍원식 : 정교 황제내경영추, 서울, 동양의학연구원 출판부, p.241, 1981.
 - 67) 홍원식 : 정교 황제내경소문, 서울, 동양의학연구원 출판부, p. 11, 1981
 - 68) 石山淳一 : 한의학에서의 노화의 개념, 서울, 동양의학 제14권 제1호, 동양의학연구원, pp.69-70, 1988.
 - 69) 高綺完 : 老化 및 老人의 病因 病機에 關한 文獻的 研究, 慶熙大學校 韓 醫科大學 碩士學位 論文, pp.36, 1993.
 - 70) 高綺完 : 老化 및 老人의 病因 病機에 關한 文獻的 研究, 慶熙大學校 韓 醫科大學 碩士學位 論文, 1993.
 - 71) 徐舜圭 : 成人病 老人醫學, 고려의학, pp.10-13, 225-228, 1992.
 - 72) 이정복 : 장수학, 의성당, 서울, pp.11-99, 492-576, 1987.
 - 73) 金東榮 : 老年養生의 老衰機轉에 關한 文獻的 考察, 第3醫學 3(2) : 75-82, 1998.
 - 74) 高綺完 : 老化 및 老人의 病因 病機에 關한 文獻的 研究, 慶熙大學校 韓 醫科大學 碩士學位 論文, 1993.
 - 75) Harman, D. : Free radical theory of aging(the free radical disease), Age(7), 1984, pp.111-131.

- 76) 노화과정에서 활성산소의 역할, 한복기, 생명공학동향 제6권 제2호, 1998.
- 77) 활성산소와 노화현상, 한복기, 화학세계, 38권 8호, 1998.
- 78) 노화의 기전과 예방, 김재식, Immune Network Vol.1, No.2, pp.104-108, 2001.
- 79) 노화억제를 위한 항산화제 연구, 김종평 외 1인, 생명공학동향 제6권 제2호, 1998.
- 80) 노화억제를 위한 항산화제 연구, 김종평 외 1인, 생명공학동향 제6권 제2호, 1998.
- 81) 노화과정에서 활성산소의 역할, 한복기, 생명공학동향 제 6권 제2호, 1998
- 82) 수오연수단이 노화유발 흰쥐의 항산화능에 미치는 영향, 곽병훈외 3인, 경희대학교 한의과대학원 예방의학교실, 2003
- 83) Yoon, Y. H. and Rhee, S. J. : Effect of Korean green tea, oolong tea and bleak tea beverage on the antioxidative detoxification in rat poisoned with cadmium. Kor. J. Nutr., 27, 1007-1017, 1994.
- 84) Chow, C. K. : Glucose and dietary vitamin E protection against catalase inactivation in the red sells on rats. internat. J. Vit. Nutr. Res., 50, 364-371, 1980.
- 85) Yoon, Y. H. and Rhee, S. J. : Effect of Korean green tea, oolong tea and bleak tea beverage on the antioxidative detoxification in rat poisoned with cadmium. Kor. J. Nutr., 27, 1007-1017, 1994.