

五子衍宗丸이 老化誘發 흰쥐의 抗酸化能에 미치는 影響

김기홍 · 정국훈 · 김광호 · 고성규

경희대학교 한의과대학 예방의학교실

Effect of Ojayeonjonghwan(五子衍宗丸) on Antioxidant Capacity in D-galactose Induced Aging Rats

Ki-Hong Kim, Guo-xun Ding, Kwang-Ho Kim & Seong-gyu Ko

Dept. of Preventive Medicine, College of Oriental Medicine, KHU

Abstract

Objectives : Ojayeonjonghwan(五子衍宗丸) is composed of Polygonum multiflorum THUNB, and some medical herbs that are known as formula of senescence delay effect. The purpose of this study is to investigate the effect of Ojayeonjonghwan 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 Ojayeonjonghwan administered group (D-galactose 50mg/kg and Ojayeonjonghwan extracts 245.0mg/200g 1time/day for 6 weeks, OJY Group). Rats were sacrificed and TBARS, SOD, CAT, GSH-px, Plasma total lipid, Plasma triglyceride and cholesterol were measured in rat erythrocytes and blood plasma.

Results : TBARS in plasma concentration of OJY group was significantly lower than that of control group. Red blood cell(RBC) SOD activity of OJY group was significantly higher than that of control group(F=16.057, p=0.0001, ANOVA test), RBC GSH-px activity of OJY group was increased(F=4.271, p=0.034, ANOVA test). RBC catalase activities of all experimental group were not significantly different. Total lipid and triglyceride concentration in plasma of all experimental groups were not significantly

* Corresponding author : Seong-gyu Ko, Dept. of Preventive Medicine, College of Oriental Medicine, KyungHee University. Tel : 82-2-961-0329 Fax : 82-2-966-1165 E-mail : opiko@khu.ac.kr

different. Total cholesterol concentrations in plasma of OJY group were significantly lower than those of control group(F=4.387, p=0.032, ANOVA test).

Conclusions : According to the above results, it is considered that Ojajeonjonghwan is effective in inhibiting lipid peroxidation and increasing antioxidative enzyme activities in D-galactose induced aging rat.

Key words : Ojajeonjonghwan, Antioxidant Capacity, D-galactose Induced Aging Rats

1. 緒論

우리나라는 21세기에 이르러 급속도로 고령화 사회로 접근하고 있다. 1960년도에는 65세 이상 노인인구가 전인구의 2.9%에 불과했으나 2000년에는 7.1%를 넘어 고령화 시대로 접어들었으며 2022년에는 14.0%를 완전히 넘어 고령사회가 될 것으로 전망된다. 이러한 시대적 흐름에 따라서老化에 대한 관심이 증가하고 있으며 아울러老化에 대한 연구도 점차 활발해지고 있다.¹⁾²⁾

韓醫學에서는 誕生時點에서 生·長·壯·老·死라는 生體의 加齡的 變化의 過程에서 老化를 파악해 왔다.³⁾ 《素問·上古天真論》篇에서는 사람의 加齡的 變化를 主로 하여 男女로 구분하여 설명하였으며, 生殖能力에 關係되는 腎의 重要性을 강조하였다. 또한 《靈樞·天年》篇에서는 人體의 形成 成長 老衰의 過程을 설명하고 壽命의 長短은 血氣의 盛衰, 臟腑의 強弱, 皮膚, 筋骨, 榮衛의 運行의 良否와 關係가 있음을 설명하고 있으며, 인생의 各年代에서의 生理, 形態, 性格 등의 變化에 대하여 설명하고 있다.⁴⁾⁵⁾¹⁰⁾ 韓醫學的인 老化의 原因을 요약하면 先天不足과 後天失調로 大別해 볼 수 있는데, 후자는 七情太過, 環境失宜, 飲食失調로 因한 것이며 근본적으로 精과 腎氣가 老化와 가장 관련이 깊다고 볼 수 있

다.⁵⁾⁶⁾

老化現象에 의한 變化로는 頭髮 皮膚 등의 外觀上 變化, 身體 臟器重量 減少 등의 形態的 變化와, 機能의 變化, 및 知的機能 低下, 人格的 機能 低下 및 心理的 變化 등이 나타나는 것이 일반적인 특징이다.⁷⁾⁸⁾⁹⁾ 老化現象을 遲延 緩和시키기 위한 方法으로는 導引, 按摩, 經絡療法, 氣功療法, 運動療法, 食餌療法 및 藥物療法 등의 養生法이 제시되었다.⁵⁾⁹⁾⁻¹¹⁾

西洋醫學에서 老化의 原因은 自由基(free radical)에 의해서 유도되는 脂質의 過酸化 반응이 老化와 밀접한 關係가 있는 것으로 보고되고 있다.¹³⁾¹⁴⁾ 活性酸素는 蛋白質과 DNA의 손상 및 細胞膜 脂質의 過酸化를 촉진하여 生體組織을 손상시킴으로서 老化를 유발할 뿐만 아니라 糖尿病 心臟病 腎不全 癌 등의 急慢性疾患의 病因으로 認定되고 있다.¹⁵⁾⁻¹⁷⁾ 생체내의 활성산소를 해독하기 위한 방어체계로는 selenium, Vt. C, Vt. E 등의 非酵素系와 superoxide mutase(SOD), catalase, glutathione peroxidase 등과 같은 酵素系가 過酸化 작용을 억제하는데 關係하는 것으로 알려져 있으며, 이러한 인자들이 抗酸化 效能에 대한 객관적인 지표로 활용되고 있다.¹⁸⁾⁻²⁰⁾

五子衍宗丸은 《醫學入門》²¹⁾ 및 《東醫寶鑑》²²⁾에 수록된 方劑로 “添精補髓 疎利腎氣”의 效能이 있으며, 枸杞子를 君藥으로 菟絲子 覆盆子 車前子 五味子 등이 배오되어 있다. 그간 五子衍宗丸의 구성약물 중 枸杞子²³⁾²⁴⁾, 菟絲子²⁵⁾,

覆盆子²⁶⁾²⁷⁾의 抗酸化能에 대한 보고가 있었지만, 五子衍宗丸이 白鼠의 抗酸化能에 미치는 영향을 보고한 내용은 없었다.

이에 저자는 五子衍宗丸의 抗酸化能을 알아보기 위하여 張²⁸⁾ 등의 방법을 사용하여 D-galactose를 6주간 피하에 투여하여 老化가 촉진된 쥐에게 五子衍宗丸을 경구투여한 후 혈장의 지질과산화물, 적혈구의 superoxide dismutase(SOD)활성, 적혈구의 glutathione peroxidase(GSH-px)활성, 적혈구의 catalase 활성, 혈장내 총지방, 중성지방, 총 콜레스테롤의 농도를 측정하여 비교한 결과 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

II. 實驗

1. 動物 및 材料

1) 動物

10주된 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐를 구입하여 實驗 시작 전 2주일간 고형배합사료(구성성분 : 조단백질 21.1%·조지방 3.5%·조섬유 5.0%·조회분 8.0%·칼슘 0.6%·인 0.6%)로 적응시켰다. 적응기간 후 체중이 400±20g(12주령)인 쥐들을 實驗에 사용하였다. 實驗동물은 한 마리씩 분리하여 사육하였고, 사료와 물은 자유롭게 먹도록 하였다.

2) 材料

본 實驗에서 사용된 약제는 《醫學入門》과 《東醫寶鑑》에 기재된 五子衍宗丸으로 내용과 한제의 분량은 다음과 같다.

2. 方法

1) 實驗군 설정

실험실 환경에서 2주간 적응시킨 SD계 rat를 체중별로 고르게 분포시켜 12주령의 무처치군(Normal group)과 D-galactose 투여군(Control group), 五子衍宗丸 투여군(OJY group)으로 나누어 각 군에 6마리씩 배정하였다.

Normal 군은 어떤 처치도 하지 않고 고형사료와 물만을 6주간 충분히 공급하였다. Control군은 12주령 rat에 D-galactose를 6주간 피하주사하여 老化를 유발하였다. OJY군은 D-galactose를 6주간 피하주사 함과 동시에 五子衍宗丸을 경구 투여 하였다.

2) 老化 誘發

老化촉진유발은 D-galactose를 피하주사하는 방법을 사용하였다. D-galactose(Sigma, USA)를 50mg/kg의 비율로 1회/1일 6주간연속으로 rat 背部에 피하주사 하였다.

韓藥名	生藥名	用量
枸杞子	Lycci Fructus	340.0g
兔絲子	Cuscutae Semen	280.0g
覆盆子	Rubi Fructus	200.0g
車前子	Planaginis Semen	120.0g
五味子	Maximowicziae Fructus	40.0g
總量		980.0g

3) 檢液의 준비

五子衍宗丸 반제 분량인 490g을 5,000cc의 둥근 플라스크에 3,000cc의 증류수와 함께 넣은 다음 냉각기를 부착하고 3시간 동안 전탕하여 0.2 μ m filter로 여과한 여액을 rotary vacuum evaporator(EYELA, Japan)에서 감압 농축하였다. 이 농축액을 -80 $^{\circ}$ C deep freezer(SANYO, Japan)에서 한시간 방치한 후 freezer dryer(EYELA, Japan)로 24시간 동안 동결건조하여 五子衍宗丸액기스 92.0g을 얻어 이를 실험에 필요한 농도로 증류수에 녹여 조정하여 50ml conical tube(Falcon, USA)에 넣어 2-4 $^{\circ}$ C의 냉장고에 보관하였으며, 사용할 때 water bath에 넣어 gel상태를 완전히 녹여 사용하였다.

4) 檢液 투여

五子衍宗丸을 증류수에 녹여 물대용으로 공급 하였다. rat의 하루 물 섭취량을 50ml/200g으로 보고 五子衍宗丸 245.0mg을 증류수 50ml에 희석하여 OJY군 흰쥐에 6주간 투여하였다.

5) 血液 채취

실험기간이 종료된 실험동물은 12시간 절식시킨 후 diethyl ether로 마취시켜 개복한 후 10ml 주사기를 이용하여 심장에서 혈액을 채취하였다. 이때 주사기는 혈액 응고를 방지하기 위해 3.8% sodium citrate 용액 0.1ml로 내부를 coating하여 사용하였다. 채취된 혈액은 응고되는 것을 방지하기 위해 EDTA(Ethylene Diamine Tetra Acetate)가 들어있는 polystyrene 원심분리관에 담아 ice bath에 20분간 방치한 후 원심분리기로 2,800rpm, 4 $^{\circ}$ C에서 30분간 원심분리하여 아래층의 red blood cell(RBC)과 혈장을 분리하고, 혈장은 혈장내 脂

質過氧化物 양과 지방 수준을 측정하기 위해 -70 $^{\circ}$ C deep freezer(SANYO, JAPAN)에 보관하였다.

아래층의 RBC는 ice cold saline을 첨가하여 원심분리기로 2,800rpm, 4 $^{\circ}$ C에서 10분간 원심분리하는 세척과정을 세차례 반복하여 washed RBC를 얻었다. 이 RBC를 cell과 0.9% NaCl 용액의 부피비가 1:1이 되도록 희석하여 50% hematocrit suspension(RBC suspension)을 만든 후 항산화효소의 활성을 측정하기 전까지 -70 $^{\circ}$ C deep freezer에 보관하였다.

6) 혈장의 Thiobarbituric Acid Reactive Substance 함량

혈장의 Thiobarbituric Acid Reactive Substance(TBARS) 함량은 혈장 20 μ l에 1/12N 황산 4ml와 10% phosphotungstic acid 0.5ml를 넣고 5분간 방치한 후 3,000rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액은 버리고, 침전물은 위의 과정을 다시 한번 반복한다. 이때 얻어진 침전물에 증류수 2ml와 thiobarbituric acid(TBA) reagent 1ml를 가하여 잘 섞은 후 뚜껑을 단단히 막고 95 $^{\circ}$ C water bath에서 1시간동안 incubation시켰다. 여기에 n-butanol 3ml를 가하여 격렬히 섞은 후 3,000rpm에서 15분간 원심분리하여 얻은 상층액에 있는 TBARS의 양을 1,1,4,4-tetramethoxypropane을 표준용액으로 하여 luminescence spectrometer (Perkin Elmer, LS50)로 excitation 515nm, emission 553nm에서 정량하였다.

7) 적혈구의 superoxide dismutase(SOD) 활성

적혈구의 superoxide dismutase(SOD) 활성은 적혈구 현탁액 200 μ l를 10mM Tris-1mM EDTA buffer(pH 7.4) 1.8ml로 용혈시킨 후,

이 hemolysate에 chloroform과 ethanol을 부피비가 5:3이 되도록 만든 용액을 hemolysate 부피의 0.4배 가하고 vortex로 강하게 2분간 잘 섞어 hemoglobin을 침전시켰다. 여기에 280 μ l의 증류수를 가하여 원심분리기로 20,000 \times g, 4 $^{\circ}$ C에서 30분간 원심분리하여 얻은 상층액을 SOD 활성을 측정하기 위한 효소원으로 이용하였다. SOD 활성은 xanthine이 xanthine oxidase에 의해 superoxide를 생성하고, 이 superoxide가 ferricytochrome c(Fe⁺⁺⁺)를 ferrouscytochrome c(Fe⁺⁺)로 환원시키는데 이때 SOD가 존재하면 SOD가 superoxide에 대해 경쟁하여 cytochrome c의 환원속도가 감소된다는 원리를 이용하여 측정하는 방법을 사용하였다. 0.1mM EDTA를 함유한 50mM phosphate buffer(pH 7.8)에 xanthine과 cytochrome c(Fe⁺⁺⁺)를 넣고 혼합한 후 25 $^{\circ}$ C로 유지시킨 용액 2ml에다 효소시료 50 μ l를 가하고, 사용 직전에 xanthine oxidase 용액을 제조하여 50 μ l를 첨가시켜 ferricytochrome c의 환원이 방해되는 정도를 550nm에서 30초 간격으로 3분간 비색정량하였다. 이때 SOD의 분당 활성 정도는 ferricytochrome c의 환원을 50% 방해하는 SOD의 양을 1 unit으로 하여 나타내었다.

8) 적혈구의 catalase 活性

적혈구의 catalase 활성은 적혈구 현탁액을 10배의 10mM Tris-1mM EDTA buffer(pH 7.4)로 용혈시킨 후 0.01M phosphate buffer(pH 7.0)로 희석하여 효소원으로 사용하였다. 250mM KH₂PO₄-NaOH(pH 7.0) 300 μ l, 100% methanol 300 μ l, 0.27% H₂O₂ 60 μ l를 polystyrene tube에 넣고 여기에 효소원을 600 μ l 가하여 20 $^{\circ}$ C에서 20분간 shaking 시키면서 반응이 일어나게 한 후 7.8M KOH 300 μ l를 가하여 반응을 종결시키고, 34.2mM Purpald

용액을 600 μ l를 가하여 20 $^{\circ}$ C에서 10분간 shaking시킨 후 65.2mM potassium periodate를 300 μ l를 가하여 발색시켰다. 이를 9,500 \times g에서 10분간 원심분리시켜 spectrophotometer(DU530, Beckman)로 550nm에서 흡광도를 측정한 후 formaldehyde를 표준용액으로 하여 얻은 표준곡선으로부터 활성을 계산하였다.

9) 적혈구의 glutathione peroxidase 活性

적혈구의 glutathione peroxidase(GSH-px) 활성은 적혈구 현탁액에 10배의 증류수를 가하여 적혈구를 용혈시키고 다시 증류수로 이 hemolysate를 희석한 후 Drabkin용액을 hemolysate와 1:1의 비율로 혼합하여 hemoglobin(Hb)을 cyanomethemoglobin으로 전환시킨 후 효소원으로 사용하였다.

Glutathione peroxidase의 활성측정은 GSH-px가 환원형 glutathione(GSH)과 H₂O₂의 반응을 촉진시켜 환원형 GSH를 산화형 glutathione(GOGYG)으로 전환시키고, GOGYG는 glutathione reductase의 작용으로 NADPH의 H를 받아 다시 환원형인 GSH로 되는데, 이때 형광을 띠는 NADPH는 H를 빼앗겨 형광을 띠지 않는 산화형 NADP가 된다는 원리를 이용하였다. Tube에 0.1M phosphate buffer 500 μ l, 10mM GSH 100 μ l, glutathione reductase 100 μ l를 넣고, 효소원 100 μ l를 첨가하여 37 $^{\circ}$ C에서 10분간 incubation시킨 후 1.5mM NADPH 100 μ l를 넣어 다시 3분간 incubation시켰다. 여기에 미리 37 $^{\circ}$ C로 데워진 12mM t-butyl hydroperoxide를 가하여 반응을 개시시킨 후 spectrophotometer로 365nm에서 30초 간격으로 3분간 GSH-px의 활성을 측정하여 unit단위로 나타내었다. 여기에서 1 unit은 1분동안 1.0 μ M의 GSH가 H₂O₂의 작용으로 GOGYH로 산화되는 것을 측정한다.

10) 효소원의 단백질 함량

각 효소들의 활성측정을 위해 사용된 적혈구의 단백질 함량은 bovine serum albumin (Sigma)을 표준용액으로 하여 측정하였다. 먼저 2.0% Na₂CO₃, 0.4% NaOH, 0.16% sodium potassium tartrate, 1.0% sodium laurylsulfate(SDS)를 포함하는 solution A와 4.0% CuSO₄인 solution B를 100:1(v:v)로 혼합하여 solution C를 만들었다. 효소원 50 μ l에 solution C 3ml를 첨가하여 실온에서 10분간 방치한 후 여기에 동량의 증류수로 희석된 phenol reagent 300 μ l를 넣어 실온에서 45분간 방치하였다가 파장 660nm에서 spectrophotometer로 비색정량하였다.

11) 혈장의 총지방, 중성지방, 콜레스테롤

혈장의 총지방 농도는 Frings법으로 측정하였다. 혈장 100 μ l에 진한 H₂SO₄ 2ml를 첨가하고 boiling water bath에서 10분간 가열하여 산분해시킨 후 ice cold bath에서 5분간 냉각시켰다. 다시 이 용액 100 μ l를 취해 5ml phosphovanillin reagent를 첨가하여 37 $^{\circ}$ C water bath에서 15분간 incubation하여 발색시키고 이를 실온에서 5분간 냉각시킨 후 spectrophotometer로 파장 540nm에서 비색정량하였다.

혈장의 중성지방 농도는 GPO-PAP법을 이용한 kit(영동제약)로 측정하였다. 혈장의 콜레스테롤 농도는 효소법을 이용한 kit(영동제약)를 이용하여 측정하였다.

3. 통계분석

모든 통계분석은 윈도우용 SPSS(ver. 12.0)를 이용하여 실시하였다. 기술통계학적 분석을 통해 각 집단에서의 측정값을 평균 \pm 표준편차

로 요약하였으며, 각 집단간의 유의성은 ANOVA test with multiple comparisons (Duncan's method)으로 분석하였고, 유의수준은 0.05로 하였다.

III. 成績

1. 혈장의 脂質過酸化物

Thiobarbituric Acid Reactive Substances의 함량을 측정한 결과 Normal군은 32.54 \pm 2.22nmol/100ml, Control군이 46.42 \pm 4.16nmol/100ml, OJY군이 37.02 \pm 2.03nmol/100ml로 나타나 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며(F=4.065, p=0.014, ANOVA test), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단 간 차이의 有意성을 검정한 결과 Control군이 Normal군에 비해 有意하게 증가하였고, OJY군이 Control군에 비하여 有意하게 감소하였다(Table I).

2. 적혈구의 superoxide dismutase(SOD) 活性

superoxide dismutase의 활성을 측정한 결과 Normal군은 21.14 \pm 1.25, Control군이 10.37 \pm 1.53, OJY군이 15.88 \pm 1.23으로 나타나 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며(F=16.057, p=0.0001, ANOVA test), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단 간 차이의 有意성을 검정한 결과 Control군이 Normal군에 비해 有意하게 감소하였고, OJY군이 Control군에 비하여 有意하게 증가하였다(Table II).

Table I. Plasma Thiobarbituric Acid Reactive Substances levels

Group	No. of animal	Plasma TBARS (nmol/100ml)	Duncan grouping
Normal	6	32.54±2.22 ¹⁾	A ²⁾
Control	6	46.42±4.16	B
OJY	6	37.02±2.03	A

¹⁾ Mean±Std. Error.

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

* calculated by ANOVA test.

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

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

OJY : treated with Ojayounjongwhan 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	21.14±1.25 ¹⁾	A ²⁾
Control	6	10.37±1.53	C
OJY	6	15.88±1.23	B

¹⁾ Mean±Std. Error.

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

* calculated by ANOVA 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).

3. 적혈구의 glutathione peroxidase (GSH-px) 活性

glutathione peroxidase(GSH-px)의 活性을 측정 한 결과 Normal군이 0.149±0.023, Control군이 0.084±0.013, OJY군이 0.115±0.008로 나타나 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며(F=4.271, p=0.034, ANOVA test), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단 간 차이의 有意性을 검정한 결과 Control군은 Normal군에 비하여 有의한 감소를 보였고, OJY군은 Control군에 비하여 증가하는 경향을 보였다(Table III).

4. 적혈구의 Catalase 活性

Catalase의 활성을 측정 한 결과 Normal군이 4880.8±271.6, Control군이 4468.5±178.6 OJY군이 5079.1±331.0으로 나타나 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 없었다(F=1.352, p=0.288, ANOVA test)(Table IV).

5. 혈장내 총지방, 중성지방 농도

혈장내 총지방의 농도를 측정 한 결과 Normal군이 403.50±18.95, Control군이 481.00±36.03, OJY군이 477.00±29.19으로 나타나 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 없었다(F=2.276, p=0.137, ANOVA test).

Table III. Erythrocyte antioxidative enzyme activities (GSH-px)

Group	No. of animal	RBC GSH-px	Duncan grouping
Normal	6	0.149±0.023 ¹⁾	A ²⁾
Control	6	0.084±0.013	B
OJY	6	0.115±0.008	AB

¹⁾ Mean±Std. Error.

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

* calculated by ANOVA 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	4880.8±271.6 ¹⁾	A ²⁾
Control	6	4468.5±178.6	B
OJY	6	5079.1±331.0	A

¹⁾ Mean±Std. Error.

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

* calculated by ANOVA test

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

혈장내 중성지방의 농도를 측정한 결과 Normal군이 90.16±11.43, Control군이 110.33±6.83, OJY군이 111.67±14.39로 나타나 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 없었다(F=1.133, p=0.348, ANOVA test)(Table V).

Control군에 비하여 有意하게 감소하였다 (Table VI).

6. 혈장내 총 콜레스테롤

혈장내 총 콜레스테롤 농도를 측정한 결과 Normal군이 42.00±3.62, Control군이 56.83±5.00, OJY군이 43.83±2.57로 나타나 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며(F=4.387, p=0.032, ANOVA test), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意성을 검정한 결과 Control군이 Normal군에 비해 有意하게 증가하였고, OJY군이

IV. 考 察

老化는 대개 生理的인 과정중의 하나로 認識되어지고 있으며 나이가 증가함에 따라 나타나는 普遍性的인 生物學的인 自然現象으로 漸次的인 臟腑의 消滅와 變質이 老衰와 더불어 進行性으로 나타나는 現象으로 간주한다.⁹⁾ 韓醫學에서는 일찍부터 老化 機轉에 대한 認識과 老化 遲延의 方法들을 체계적으로 제시하였다. 歷代 文獻에 나타난 老化에 대한 시각들을 살펴보면 주로 陰陽, 臟腑, 氣血, 經絡, 情志 등의 有機的 關係에서 파악되고 있다.¹⁰⁾

Table V. Plasma total lipid and triglyceride

Group	No. of animal	Plasma total lipid	Plasma triglyceride
Normal	6	403.50±18.95 ¹⁾ A ²⁾	90.16±11.43 ¹⁾ A ²⁾
Control	6	481.00±36.03 A	110.33±6.83 A
OJY	6	477.00±29.19 A	111.67±14.39 A

¹⁾ Mean±Std. Error.

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

* calculated by ANOVA test.

Table VI. Plasma total cholesterol concentrations

Group	No. of animal	Plasma total cholesterol	Duncan grouping
Normal	6	42.00±3.62 ¹⁾	A ²⁾
Control	6	56.83±5.00	B
OJY	6	43.83±2.57	A

¹⁾ Mean±Std. Error

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

* calculated by ANOVA test

《黃帝內經 素問 上古天真論》篇에서는 “丈夫八歲，腎氣實，髮長齒更。二八，腎氣盛，天癸至，精氣溢寫，陰陽和，故能有子。三八，腎氣平均，筋骨勁強，故真牙生而長極。四八，筋骨隆盛，肌肉滿壯。五八，腎氣衰，髮墮齒槁。六八，陽氣衰竭於上，面焦，髮鬢頰白。七八，肝氣衰，筋不能動，天癸竭，精少，腎藏衰，形體皆極。八八，則齒髮去。腎者主水，受五藏六府之精而藏之，故五藏盛，乃能寫。今五藏皆衰，筋骨解墮，天癸盡矣。故髮鬢白，身體重，行步不正，而無子耳。”라 하여 加齡에 따른 身體의 變化를 男女를 구분하여 설명하고 腎精의 重要성을 강조하고 있으며, 《四氣調神大論》篇에서는 “陰陽四時者，萬物之終始也，死生之本也，逆之則災害生，從之則苛疾不起，是謂得道。道者，聖人行之，愚者佩之，從陰陽則生，逆之則死。”이라하여 四時陰陽과 身體 機能의 相關性에 대하여 설명하고 있으며, 《陰陽應象大論》篇에는 “年四十，而陰氣自半也，起居衰矣。”라 하여 老衰가 眞陰의 不足과 관련이 있음을 설명하고 있으며, 《靈蘭秘典

論》篇에서는 “心者，君主之官也，神明出焉。…凡此十二官者，不得相失也。故主明則下安，以此養生則壽”이라 하여 五臟의 均衡과 壽命의 相關性에 관하여 설명하고 있다.⁴⁾

《黃帝內經·靈樞·壽夭剛柔》篇에서 “形與氣相任則壽，不相任則夭。皮與肉相果則壽，不相果則夭。血氣經絡勝形則壽，不勝形則夭。”라 하여 形氣의 均衡과 天壽에 대하여 설명하였으며, 《天年》篇에서는 “人生十歲，五藏始定，血氣已通，其氣在下，故好走。二十歲，血氣始盛，肌肉方長，故好趨。三十歲，五藏大定，肌肉堅固，血氣盛滿，故好步。四十歲，五藏六府十二經脈，皆大盛以平定，腠理始疏，榮華頹落，髮頰斑白，平盛不搖，故好坐。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，魄離，故言善誤。九十歲，腎氣焦，四藏經脈空虛。百歲，五藏皆虛，神氣皆去，形骸獨居而終矣。”이라 하여 加齡에 따른 五臟, 氣血, 經絡의 調和常況과 身體의 特徵에 관하여

설명하고 있다. 또한 〈陰陽二十五人〉篇에서는 “火形之人…行安地, 疾心, 行搖, 肩背肉滿, 有氣輕材, 少信, 多慮, 見事明, 好顏, 急心, 不壽暴死.”라 하여體質적으로 성격이 급한 사람은天壽를 누리지 못하고急死할 수도 있음을 나타내 주고 있다.⁴⁾

後代의 醫家들을 살펴보면 吳搏의 《醫學正傳》에서는 “腎元盛則壽延, 腎元衰則壽夭”라고 주장하여 腎元의 盛衰가 壽命과 연관이 있음을 언급하였다.²⁹⁾

《東醫寶鑑》 雜病篇 虛勞에는 “世人惟知百病生於心, 而不知百病生於腎”이라 하여 腎氣의 補養에 대한 중요성을 말하고 있다.²²⁾

《東醫壽世保元》 廣濟說에는 “驕奢減壽 懶怠減壽 偏急減壽 貪慾減壽 爲人驕奢 必耽侈色 爲人懶怠 必嗜酒色 爲人偏急 必爭權勢 爲人貪慾 必殉貨財, 簡約得壽 勤幹得壽 警戒得壽 聞見得壽”라 하여 사람의性情과 壽夭의 상관성에 관하여 설명하고 있다.³⁰⁾

老化的 原因을 要約해보면 先天不足과 後天失調로 大別해 볼 수 있는데, 後者は 七情太過, 環境失義, 飲食失調로 인한 것이며 근본적으로 精과 腎氣가 老化和 가장 관련이 깊다고 볼 수 있다.⁵⁾⁶⁾ 《素問》 〈上古天眞論〉篇의 “法於陰陽, 和於術數, 飲食有節, 起居有常, 不妄作勞”이라는 記述과 〈四氣調神大論〉篇의 “聖人不治而病 治未病 不治已亂 治未亂”이라는 記述은 老化現象을 遲延 緩和시키기 위한 養生法의 根幹을 이루며⁴⁾, 그 方法으로는 導引, 按摩, 經絡療法, 氣功療法, 運動療法, 食餌療法 및 藥物療法 等の 養生法이 제시되었다.⁵⁾⁹⁾¹¹⁾

老化에 대한 西洋醫學의 原因 學說을 살펴보면, 老化를 유전적으로 계획되고 예정된대로 진행되는 능동적 과정이라고 보는 계획이론(Programmed Theory), 생체 내 정상대사 과정에서 생긴 自由基(free radical)가 생분자와 반응하여 세포에 손상을 주는데 이러한 自由基(free radical)의 생성은 나이가 증가함에 따

라 증가하고 따라서 세포 기능이 점차 쇠퇴되어 老衰現象을 초래하게 된다는 자유기 이론(Free radical theory), 老化를 정보전달 과정의 오류로 인하여 잘못 만들어진 체단백질이 축적된 결과로 본 오류설(Accumulation of Errors Theory)⁴⁾, 및 체세포 돌연변이설, DNA의 불안정설 등 많은 가설이 나왔다.¹⁸⁾³⁰⁾ 가장 널리 알려져 있으며 주목받는 것은 Harman이 제시한 자유기 이론(free radical theory)이다.¹²⁾ 최근에는 自由基(free radical)에 의해서 유도되는 脂質의 過酸化反應이 老化現象과 밀접한 관계가 있는 것으로 보고되고 있다.¹³⁾¹⁴⁾

自由基(free radical)는 정상적인 세포 대사 과정에서 생성되는데 방사선 약물 오존 등 환경적인 요인에 의하여 그 생성이 증가될 수도 있다. 自由基(free radical)와 반응하는 생체내의 고분자 물질로는 불포화지방산, 단백질 DNA 등이 있다. 自由基(free radical)가 불포화지방산과 반응하여 脂質過酸化化合物을 만들고 이것이 단백질, 핵산 등의 아미노기와 반응하면 그 반응 산물로 형광물질인 리포푸신이 형성된다. 또한 불포화지방산과의 반응은 연쇄적으로 일어나 계속적으로 많은 自由基(free radical) 형성을 유도하므로 불포화지방산의 산화는 세포내에서 일어나는 自由基(free radical) 형성 반응으로는 가장 중요하게 생각되고 있다. 불포화지방산은 세포막에 많이 포함되어 있으므로 이러한 自由基(free radical)의 작용은 세포막의 손상을 초래하여 自由基(free radical)가 축적되면 세포막, 혹은 미토콘드리아나 리소좀 등 미세 구조막의 구조를 변형시켜 물질이동이나 기능 등에 손상을 가져와 세포의 노쇠를 초래한다. 自由基(free radical)가 체단백질과 작용하여 생긴 부산물이 노화의 중요한 원인이 된다고 보는 견해가 있다. 동물의 나이가 증가함에 따라 DNA주형의 활성은 감소하고 두 사슬 가닥간의 교차 결합은 증가

하는데, 自由基(free radical)가 DNA와 반응하면 이러한 DNA 주형의 활성이 빨리 감소되고 유전자의 손상을 초래하여 부적절한 유전자 발현을 일으키게 되어 체기능의 손상이 초래된다. 결과적으로 自由基는 결체조직의 교차결합을 증가시키고 세포막을 손상시키며, DNA의 돌연변이를 유발하고 체단백질의 기능을 감퇴시킨다. 이러한 自由基(free radical)에 의한 반응 결과가 나이가 증가함에 따라 체내에 축적됨으로써 노화가 진행되는 것으로 보는 견해이다.¹⁸⁾³¹⁾

세포는 自由基(free radical)로부터 세포를 보호하기 위하여 구획화와 항산화 방어체계를 갖추고 있다. 항산화 작용을 하는 것으로는 glutathione peroxidase, superoxide dismutase (SOD), catalase와 같이 세포내에서 생성되는 효소系와, 비타민 A, C, E, 카로틴 등과 같이 외부에서 공급되는 영양소와 대사물들의 非 효素系가 있다.¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾ superoxide dismutase (SOD)는 自由基 생성과정 초기에 생성되어 활성산소(O₂⁻)를 과산화수소(H₂O₂)로 환원시켜 주는 효소이다.³¹⁾ catalase는 mitochondria와 peroxisome 내에 존재하며, 과산화수소(H₂O₂)을 물과 산소로 분해하는 효소이다.³²⁾ glutathione peroxidase(GSH-px)는 생체내에서 과산화수소(H₂O₂)와 환원형glutathion(GSH)이 산화형glutathion(GSSG)으로 되면서 물을 생성하게 된다. 이들은 自由基(free radical)가 체내에 축적되는 것을 억제하는 중요한 작용이 있으므로 세포내의 이들 抗酸化劑의 농도를 일정한 수준으로 유지하는 것이 중요하다. 생체의 대사실조나 老化에 의해서 抗酸化能이 저하되지만, 老化에 의해서 抗酸化能이 항상 저하되는 것은 아니며 어떤 원인으로 인해 활성산소 발생률이 증가했을 경우, 얼마만큼 원활히 抗酸化 능력을 상승시킬 수 있는가 하는 것이 중요한 것이다.³³⁾

최근 한의학계에서도 老化에 대한 文獻 研

究¹⁰⁾³⁴⁾⁻³⁷⁾⁵³⁾ 및 抗酸化 效能에 관한 實驗 研究⁴³⁾⁻⁵²⁾ 報告가 많이 있었다. 그 중 老化의 原因으로 가장 중요시되는 腎虛를 補할 목적으로 이루어진 方劑인 六味地黃湯³⁸⁾, 瓊玉膏³⁹⁾⁴¹⁾, 延年益壽不老丹⁴⁰⁾ 鹿參地黃湯⁴²⁾, 등의 抗酸化能에 대한 연구 보고가 있었으며, 單味劑로 枸杞子²⁴⁾ 兔絲子²⁵⁾ 覆盆子²⁶⁾ 등의 抗酸化能에 관한 연구 보고가 있었다. 그러나 아직 五子衍宗丸이 白鼠의 抗酸化能에 미치는 영향에 대한 보고 내용은 찾아볼 수 없었다.

五子衍宗丸은 《醫學入門》 및 《東醫寶鑑》에 수록된 方劑로 添精補髓 疎利腎氣하며 枸杞子 兔絲子 覆盆子 車前子 五味子로 구성되어 있다. 枸杞子は 肝, 腎經으로 歸經하여 滋肝益腎 生精助陽하며, 兔絲子は 肝 腎 脾經으로 歸經하여 強陰益精하며, 覆盆子は 肝 腎經으로 歸經하여 益腎臟 固精하며, 車前子は 腎 肝 小腸經으로 歸經하여 清肺肝風熱 滲膀胱濕熱하며, 五味子は 肺 腎經으로 歸經하여 能斂肺氣 滋腎水 益氣生津한다.⁴³⁾ 그러므로 五子衍宗丸이 인체의 精과 腎氣가 부족해서 생기는 老化에 대하여 老化遲延의 효과가 있을 것으로 추측할 수 있다.

본 研究에서는 五子衍宗丸의 老化豫防 效果를 實驗적으로 알아보기 위하여 老化 유발한 흰쥐를 이용하여 無處置群(Normal群)과 D-galactose 투여군(Control群)과 D-galactose 와 五子衍宗丸을 투여한 군(OJY群)으로 나누어 抗酸化能을 측정하여 관찰하였다.

혈장 지질의 過酸化 정도를 알아보기 위해 지질과산화물 함량(Thiobarbituric Acid Reactive Substances : TBARS values)을 측정할 결과 無處置群(Normal군)과, D-galactose 투여군(Control군)과 五子衍宗丸투여군(OJY군)의 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며(F=4.065, p=0.014, ANOVA test), 다중비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意성을 검정한 결과 Control군이

Normal군에 비해 유의하게 증가하였고, OJY군이 Control군에 비하여 유의하게 감소하였다. 이는 老化가 진행되면서 지질과산화물의 생성이 증가한다는 사실을 말해주는 것으로 이해할 수 있으며 Control군에 비하여 OJY군에서 낮게 나타난 것은 五子衍宗丸의 투여가 지질과산화물의 생성을 억제시키는 작용을 한다는 것을 추측할 수 있다.

적혈구에서의 抗酸化 酵素들의 活性을 알아보기 위해 抗酸化 酵素인 superoxide dismutase(SOD)의 活性을 측정된 결과 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며(F=16.057, p=0.0001, ANOVA test), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意성을 검정한 결과 Control군이 Normal군에 비해 유의하게 감소하였고, OJY군이 Control군에 비하여 유의하게 증가하였다. SOD는 활성산소(O⁻)를 과산화수소(H₂O₂)로 환원시켜 활성산소를 소거하는 작용을 하는 효소이다. 五子衍宗丸 투여가 적혈구의 항산화 효소인 superoxide dismutase(SOD)의 활성도를 유의하게 증가 시킨 것으로 추측할 수 있다.

적혈구에서의 항산화 효소들의 활성을 알아보기 위해 항산화 효소인 glutathione peroxidase(GSH-px)의 活性을 측정된 결과 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며(F=4.271, p=0.034, ANOVA test), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意성을 검정한 결과 Control군은 Normal군에 비하여 유의한 감소를 보였고, OJY군은 Control군에 비하여 증가하는 경향을 보였다. peroxidase(GSH-px)는 생체내에서 과산화수소(H₂O₂)와 환원형glutathion(GSH)이 산화형 glutathion(GSSG)으로 되면서 물을 생성하여 과산화수소를 소거하는 항산화 효소이다. 五子衍宗丸의 투여가 적혈구의 항산화효소인 glutathione peroxidase의 양을 증가시키는 것으로 추측할 수 있다.

적혈구에서의 항산화 효소들의 활성을 알아보기 위해 항산화 효소인 Catalase의 활성을 측정된 결과 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 없었다(F=1.352, p=0.288, ANOVA test). 혈장내 총지방의 농도를 측정된 결과 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 없었다(F=2.276, p=0.137, ANOVA test). 혈장내 중성지방의 농도를 측정된 결과 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 없었다(F=1.133, p=0.348, ANOVA test). 혈장내 총 콜레스테롤 농도를 측정된 결과 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며(F=4.387, p=0.032, ANOVA test), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意성을 검정한 결과 Control군이 Normal군에 비해 유의하게 증가하였고, OJY군이 Control군에 비하여 유의하게 감소하였다

이상의 결과로 보면 五子衍宗丸은 D-galactose를 피하주사하여 老化 촉진한 흰쥐의 적혈구에서 지질과산화물의 함량을 감소시키고 抗酸化酵素인 SOD와 GSH-px의 활성을 증가시키는 작용을 나타냈으며, 혈장내 총콜레스테롤의 감소 효과를 나타내었다. 따라서 五子衍宗丸은 본 실험에서 활성산소의 생성과 노화물질의 축적을 막아 抗酸化를 통한 抗老化 효과가 어느 정도 있을 것으로 판단되며, 다양한 자료를 이용한 보다 심도 있는 연구가 필요하다고 사료된다.

V. 結 論

五子衍宗丸의 항산화능을 알아보기 위하여 12주령의 흰쥐의 무처치군, D-galactose를 투여한 Control군과 D-galactose와 오자연중환을 동시에 투여한 OJY군에서 혈장의 지질과산화물 함량과 적혈구의 Superoxide dismutase(SOD), Glutathione peroxidase(GSH-px), cata-

lase활성과 혈장내 총지방 중성지방 총콜레스테롤 농도를 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 혈장의 지질과산화물의 수준은 OJY군이 Control군에 비하여 유의하게 감소하였다.
2. 적혈구의 Superoxide dismutase(SOD) 활성은 Control군에 비하여 OJY군이 유의하게 증가하였다.
3. 적혈구의 Glutathione peroxidase(GSH-px) 활성은 Control군에 비하여 OJY군이 증가하는 경향을 보였다.
4. 적혈구의 catalase 활성은 모든 실험군 간에 유의한 차이가 없었다.
5. 혈장 내의 총지방 농도와 중성지방농도는 모든 실험군 간에 유의한 차이가 없었다.
6. 혈장내 총콜레스테롤 농도는 Control군에 비하여 OJY군이 유의하게 감소하였다.

이상의 결과로 볼때 五子衍宗丸은 D-galactose로 노화유발한 齧취에서 활성산소의 생성과 노화물질의 축적을 막아 抗酸化能의 증진 효과가 있는 것으로 추정되며, 더 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

參考文獻

1. 고영완 외 5인 : 노인생리학, 도서출판 흥경, pp.1-13, 2002.
2. 박상철 : 한국의 백세인. 서울대학교 출판부, pp.253-254, 2002.
3. 석산순일 : 한의학에서의 노화의 개념, 서울, 동양의학, 14(1) : 63-75, 1988.
4. 권건혁 : 편집 황제내경, 반룡출판사, 서울, pp.3-6, 13-17, 228-230, 403-404, 422-423, 2001.
5. 김광호 : 예방한의학, 서원당, 서울, pp.435-442, 448-501, 2001.
6. 홍상훈 : 노화의 인식에 대한 연구, 성인병학회지, 1 : 126-145, 1997.
7. 서순규 : 성인병 노인의학, 고려의학, pp.10-16, 225-228, 1992.
8. 이정복 : 장수학, 의성당, 서울, pp.11-99, 492-576, 1987.
9. 두호경 : 동의신계학, 동양의학연구원, 서울, pp.1325-1383, 1993
10. 고기완 : 노화 및 노인의 병인 병기에 관한 문헌적 연구, 경희대학교 한의과대학 석사학위논문, 1993.
11. 王其飛 外 : 中醫長壽學, 遼寧科學技術出版社, pp.50-54, 1989.
12. Harman, D. : Free radical theory of aging(the free radical disease), Age(7) : 111-131, 1984.
13. Cutler, R. G. : Antioxidants, aging and longevity, Free radicals in Biology, Academic Press, 6 : 371-424, 1988.
14. 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.
15. 박진우 : 노화, 암과 라디칼에 의한 DNA 손상, 생화학뉴스, 9(4) : 314-320, 1990.
16. 김안근, 김지현 : 산화적 스트레스 및 항산화제가 항산화효소 활성화에 미치는 영향. 응용약물학회지, 9 : 249-257, 2001.
17. 조경환 : 항산화제의 작용과 임상적 이해, 가정의학회지, 19(5) : 60-65, 1998.
18. 김숙희, 김화영 : 노화, 서울, 민음사, pp.77-106, 1995.
19. 최진호 : 노화의 메카니즘과 연구방향. 생화학뉴스, 한국생화학회, 5(3) : 39-53, 1985.
20. Massey, V., Strickland, S., Mayhew, S.G., Howell, L. G. and Engel, P. C. The production of superoxide anion radical in the reaction of reduced flavins and

- flavoprotein with molecular oxygen, *Biocem, Biophys. Res. Comm*, 36 : 891-897, 1969.
21. 이천 : 의학입문, 대성문화사, p.460, 1989.
 22. 허준 : 동의보감, 남산당, 서울, pp.443, 603, 1987.
 23. 손예건 : 구기자, 구기엽, 지골피가 고혈압, 고지혈증 및 고혈당에 미치는 영향, 경희대학교 한의과대학 석사논문, 1993.
 24. 윤상주 : 백서의 간손상에 의한 구기자의 유리자유기 소거능에 관한 연구, 동국대학교 한의과대학원 박사논문, 2002.
 25. 김봉수 외 2인 : 口絲子類의 항산화작용에 대한 연구, 대한본초학회지, 12(1) : 67, 1997.
 26. 박성준 : 覆盆子가 노화유발 흰쥐의 항산화능에 미치는 영향, 경희대학교 대학원 석사논문, 2004.
 27. 손중수 : 覆盆子 약침의 항산화 작용에 관한 실험적 연구, 대전대학교 대학원, 1999.
 28. 장희 외 2인 : D-galactose에 의해 유발된 백서 老化 모델의 생화학적 변화, 중국약리와 독성학회지, 4(4) : 309, 1990.
 29. 우박 : 의학정전, 성보사, p.9, 1986.
 30. 한동석 : 동의수세보원주석, 성리회출판사, pp.335-338, 1967.
 31. 이영진, 배철영 : 노화의 시계를 멈춰라, 집사재, 서울, pp.1-43, 1994.
 32. 박용기, 남유호 : 변행의 항산화작용에 관한 연구, 대한본초학회지, 17(2) : 191-202, 2002.
 33. Marx, J.L. : Free radical and inflammation, Protection of synovial fluid by superoxide dismutase, *Science* : 185 529-531, 1974.
 34. 백상룡 : 노화에 대한 연구(황제내경을 중심으로), 대한원전진지사학회지, 12(2) : 176-183, 1999.
 35. 김신석, 이철완 : 노인성질환의 동서의학적 고찰, 서울, 한방물리요법과학회지, (1) : 157-171, 1992.
 36. 김동영 : 노년양생의 노쇠기전에 관한 문헌적 고찰, 제3의학, 3(2) : 75-82, 1998.
 37. 김은기, 성우용, 이경섭 : 노화방지를 위한 한의학적 방법, 한방성인병학회지, 2(1) : 146, 1996.
 38. 안상원, 이철완 : 熟地黃과 六味地黃湯이 노화 과정 흰쥐에서의 항산화 기전에 미치는 영향, 대전대학교 한의학연구소논문집, 8(1), 1999.
 39. 곽병준 : 瓊玉膏가 노화유발 흰쥐의 항산화능에 미치는 영향, 경희대학교 대학원 석사학위논문, 2004.
 40. 길호식 : 延年益壽不老丹이 노화유발 흰쥐의 항산화능에 미치는 영향, 경희대학교 대학원 박사학위논문, 2003.
 41. 김병탁, 김성훈 : 瓊玉湯의 항산화작용에 대한 실험적 연구, 대전대학교 한의학연구소 논문집, 7(1), 1998.
 42. 소경순, 김광호 : 녹삼지황탕이 항노화에 미치는 영향, 경희한의대 논문집, 18(2), 1995.
 43. 이상인 : 본초학, 학림사, 서울, pp.117-120, 172, 173, 276, 277, 1986.
 44. 최진호 : 高麗人蔘의 노화억제작용에 관한 연구, 경희대학교 대학원, 1982.
 45. 박진성 외 2인 : 不老丸을 투여한 흰쥐 뇌의 항산화효과에 관한 연구, 대한예방한의학회지, 5(1) : 90-102, 2001.
 46. 김정숙 외 : 노화방지를 위한 韓藥製의 효능 연구, 한국한의학연구소, 1995.
 47. 배기채 : 高麗人蔘, 高麗紅蔘 및 total saponin의 항산화 작용, 대전대학교 대학원, 1997.
 48. 문진영 : 柴胡가 Free Radical에 의한 지질 과산화물 생성에 미치는 효과, 동국논집 자연과학편, 15(2) : 361-375, 1996.
 49. 박용기, 강병수 : 薏苡仁과 苦蔘의 항산화

- 작용에 관한 연구, 대한본초학회지, 15(2) : 57, 2000.
50. 박영철, 이선동, 정해원 : 人蔘의 항노화 효과와 미래의 연구 방향, 대한보건협회학술지, 25(2) : 65-67, 1999.
51. 余月明 : 自由基衰老學說, 腎虛與衰老及補腎抗老研究, 陝西中醫, 14(4) : 187-188, 1993.
52. 이송실 : 交藤圓이 백서의 산화 유발을 방어하는 작용에 관한 연구, 경희대학교 대학원 박사논문, 2004.
53. 안현국, 유창순, 김준한 : 노화예방 및 노인 보건에 관한 문헌적 고찰, 대한의료기공학회지, 4(1), 2000.