

# 백화수오약침의 항산화작용에 관한 실험적 연구

이종현·성락기\*·김성훈\*\*

## ABSTRACT

### Experiment Study on Antioxidant Activites of Aqua-acupuncture of Cynanchum Wilfordii Hemsley

Jong hyun Lee, Rak Ki Seong, Sung Hoon Kim

This study was performed to prove the antioxidant activities of Cynanchum Wilfordii Hemsley(白何首烏) by way of aqua-acupuncture methods.

After 10% & 20% concentrations of liquid extract of Cynanchum Wilfordii Hemsley were acupunctured on Joksamri(足三里) of rats with acute and chronic experimental oxidation by AAPH(2, 2'-azobis(aminoinidinopropane), hydrochloride), various kinds of experiments were measured.

The results were obtained as follows:

1. In acute antioxidant experiment, the amount of TBARS indicated irregular increase and decrease to over 68% in experiment group in comparison with normal group.
2. In the serum test of acute antioxidant experiment, uric acid and total protein and albumin were significantly increased in experiment group in comparison with control group.
3. In chronic antioxidant experiment, the change of body weight was significantly decreased in 20% experimental groups in comparison with control group, and only liver significantly increased in 10% & 20% experiment group.

---

\* 대전대학교 한의과대학 침구학교실

\*\* 대전대학교 한의과대학 병리학교실

4. In chronic antioxidant experiment, total protein significantly increased in 10%, 20% experimental groups and creatinine and BUN were significantly decreased in 10% experiment group.

5. In the chronic antioxidant experiment, serum GOT, GPT activity didn't show no significantly change, LDH activity was significantly increase in 10% experiment group in comparison with control group.

6. In the chronic antioxidant experiment, the tolerance test with enzyme activities of erythrocyte membrane was significantly decreased in 10% & 20% experimental groups.

7. In the chronic antioxidant experiment, the change of TBA was significantly decreased in 10% & 20% experimental group.

8. In the chronic antioxidant experiment, the amount of cytochrome p-450 was significantly increased in 10% & 20% experimental groups in comparison with control group, the change of p-450 reeductase activity was significantly increased in 20% experimental group.

9. In the chronic antioxidant experiment, the amount of cytochrome b5 was significantly increase in 20% experimental group in comparison with control group.

10. In the chronic antioxidant experiment, the change of activity of superoxide dismutase, and catalase were significantly increased in 20% experiment group in comparison with control group.

From the above result, it was concluded considers the liquid extract of *Cynanchum Wilfordii* Hemsley(白何首烏) could be used as antiaging drugs, because it delayed the aging process and retarded senility.

---

Key word : antioxidant, *Cynanchum Wilfordii* Hemsley, AAPH, Joksamri, Aqua-acupuncture

## I. 緒 論

鍼療法은 最近에 이르러 鍼灸와 操作方法이 發展함에 따라 藥鍼療法, 電鍼用法, 割治用法 및 血位結紮療法 等 多様な 新鍼療法이 開發되고 있는데<sup>1)</sup>, 그 중에서도 藥鍼療法은 經絡學說과 藥物療法の 原理를 바탕으로 有關한 血位, 壓痛點 혹은 體表의 觸診으로 얻어진 陽性反應點에 精製한 各種藥物을 選擇하여 注入함으로써 刺鍼刺戟과 藥理作用을 통해 各種 疾病을 治療한다는 점<sup>2)</sup>에서 臨床에서 널리 應用되고 있으며, 여러 動物實驗報告가 이루어지고 있다.

老化란 受精으로부터 죽음에 이르기까지의 生體變化 혹은 成熟期 이후부터 생기는 身體變化로

써, 몸안에서 漸次的이고 法則的으로 이루어지는 機能形態學的 變化의 生物學的過程으로 認識되고 있다<sup>3)</sup>.

現代醫學에서 老化의 발생 原因은 多様하지만 가장 認定되고 있는 理論은 자유유리기설(free radical theory)로 環境因子와 內的因子들로 인해 體内に 過酸化脂質이 많이 발생하고 抗酸化劑의 體內減少로 인해 老化가 促進된다고 알려져 있어<sup>4)</sup>, 老化의 防止를 위하여 最近에는 抗酸化作用을 나타내는 物質을 찾는 데 많은 實驗研究가 行하여지고 있다.

韓醫學에서는 老化를 모든 萬物이 陰陽五行的 生長收藏의 規律에 의해 變化하는 過程으로 認識하고 있다. 《黃帝內經素問》〈上古天真論〉<sup>5)</sup>

에서는 여자 7歲에 腎氣가 盛하여 發育하고 14歲, 21歲, 28歲의 成長 成熟의 過程을 거쳐 35歲에 陽明脈이 衰해지면서 女子의 老化가 始作된다고 하였고, 男子는 8歲에 腎氣가 實하게 되어 發育하여 16歲, 24歲, 32歲의 成長 成熟의 段階를 거쳐 40歲에 腎氣가 衰해지면서 老化가 始作된다고 하여 人間의 出生, 發育, 成長, 成熟, 老化의 過程을 腎氣의 盛衰로 說明하였고, 特히 五臟중 腎이 人體 生命力과 老化에 關與하는 主臟器로 認識하였다.

白何首烏은 蘿摩科(박주과리과 Asclepidaceae)에 屬한 多年生의 蔓性草本<sup>6)</sup>로서 그 性은 微溫 無毒하고 味는 苦甘하며 瀟하고, 補肝腎益陰, 收斂精氣, 強筋益髓, 養血祛風, 烏鬚髮, 強陽事, 悅顏色하는 效能이 있어 遺精, 崩帶, 久痢, 久瘡, 腸風, 瘰癧등을 治療한다<sup>6,9)</sup>.

白何首烏의 主要 成分은 oxymethylanthraquinone類, chrysophanol, emodol, rhein이 含有되어 있고, 微量의 physcion, chrysophanol anthrone과 澱粉, 粗脂肪, lecithin 등이 밝혀졌고<sup>10)</sup>, 藥理 作用에는 心血管 系統에 作用하여 動脈粥狀病變에 血之降下作用이 있으며, 血糖降下作用 및 抗菌作用이 있고, 그 以外에는 神經과 肌肉을 刺戟하여 肌肉麻痺에 活用되고, 強心作用을 한다고 報告되었다<sup>11)</sup>.

이에 著者는 補肝益腎인 白何首烏의 抗老化作用을 實驗의으로 立證하고 이를 藥針液으로 開發하고자 白何首烏 藥針液 10%와 20% 溶液을 試料로 하여 酸化誘發物質인 AAPH (2, 2'-azobis (2-aminodinopropane) hydrochloride)을 腹腔에 注射하여 實驗的 急慢性酸化症을 誘發시킨 後 血液成分 變化, 肝組織異物質代謝(蛋白質定量, NADPH-cytochrome P-450, P-450 reductase, cytochrome b<sup>5)</sup>, 肝抗酸化活性(superoxide dismutase, catalase, glutathion peroxidase, glutathion reductase)등을 測定하여 얻은 바가 있어 報告하는 바이다.

## II. 實驗 材料 및 方法

### 1. 材 料

#### 1) 動物 및 飼育條件

本 實驗을 위하여 使用된 흰쥐는 體重 180~220g의 Sprague-Dawley系(韓國化學研究所) 雄性 白鼠를 使用하였다. 實驗 當日까지 固型飼料(조단백질 22.1%이상, 조지방 8.0%이하, 조섬유 5.0%이하, 조회분 8.0%이하, 칼슘0.6%이상, 인 0.4%이상)(삼양사 배합 사료 Co.)와 물을 充分히 供給하고 室溫 22±2℃를 繼續 維持하여 2週日間 實驗室 環境에 適應시킨 後 實驗에 使用하였다.

#### 2) 藥 物

實驗에 使用된 白何首烏(Cynanchum wilfordii Hemsley)는 市中 乾材 藥房에서 購入한 것을 精選하여 使用하였다.

#### 3) 試藥 및 機器

Thiobarbituric acid(TBA), malonaldehyde bis (diethyl acetal), ascorbic acid, reductase glutathione (GSH), N-acetylcysteine(NAC), 5, 5'-dithiobis-(2-nironenzoic acid) (DTNB), trichloroacetic acid (TC), ortho-phosphoric acid, ferric chloride, HEPES, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, sodium tartrate, folin reagent, Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>(sodium hyrosulfite), cytochrome C, NADPH, potassium ferricyanide, 7-ethoxy-oumarin, chloroform, magnesium chloride(MgCl<sub>2</sub>), Benzphetamine, ZnSo<sub>4</sub>, Ba(OH)<sub>2</sub>, ammonium acetate, acetyl acetone, 1-chloro-2, 4-dinitrobenzen(cDNB), epinephrine, hydrogen peroxide(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), catalase, acetic acid, EDTA, xanthine, potassium cyanide, sodium deoxycholate, xanthine oxidase, glutathione peroxidase (GSSG), sodium azide, glutathione reductase, cumene hydroperoxide등은 Sigma社 製品을, 2,2'-azobis(2-ami-

dinopropane)HIC(AAPH)는 Polyscience社 製品을 사용하였고, 그 외 試藥들은 特級 및 一級을 사용하였다.

本 研究에 使用된 機器는 Spectrophotometer (Shimadzu), Centrifuge (Centrikon), Bio-freezer (Sanyo), Ice-maker(Vision sci.) 및 Homogenizer (OMNI) 등을 使用하였다.

## 2. 實驗 方法

### A. 急性酸化實驗

#### 1) AAPH에 의한 TBA反應 測定

S.D 흰쥐를 各各 10마리씩 正常群, 對照群, 實驗群으로 區分하여 對照群과 實驗群에 AAPH (50mg/kg)를 腹腔에 注射하였고, 實驗群은 AAPH 처리 1時間前에 10% 白何首烏 藥鍼으로 處理하였고, 對照群에는 同量의 生理食鹽水를 注入하였다. 흰쥐는 AAPH처리 후 0.5, 1, 1.5, 3, 6時間後에 致死시켜 直接心臟採血法으로 5ml의 血液을 포집하였다. TBA測定은 Suematsu등의 方法<sup>12)</sup>에 따라 clean test tube에 血清 200ul를 넣고, 8.1% sodium dodesyl sulfate(SDS) solution 225ul를 가하고 5초 동안 voltex mixer로 mixing하였다. 여기에 20% acetic acid 1.5ml을 加한 후 75ul 蒸溜水를 넣고 5초동안 voltex mixer로 mixing하였다. 여기에 다시 1.2% thiobarbituric acid solution을 各各의 1ml씩 tube에 더하고, clean dry marble(유리구슬)로 cover한 후, 30분간 water bath에서 끓였다. 이후 室溫에서 30분간 cooling하고 3000 r.p.m에서 20분간 원심 분리하여 上層液을 實驗에 使用하였다. 測定은 532nm 吸光度에서 測定하였다.

#### 2) AAPH에 의한 血清의 변화

實驗群에는 AAPH처리 1時間前에 10% 白何首烏 藥鍼液을 投與하고, AAPH처리 1시간 후에 致死시켜 直接心臟採血法으로 5ml의 血液을 포집하였다. 5ml의 血液은 centrifuge tube에 넣은

다음 遠心分離器(Hettich Universal, U.S.A)에서 3,000 r.p.m으로 15分間 遠心分離시켜 上層의 血清을 serum separator(녹집자)에 取하여 total protein, albumin, uric acid, t-bilirubin 含量 및 TBARS를 550Express(CIBA-Corning, U.S.A)를 使用하여 測定하였다.

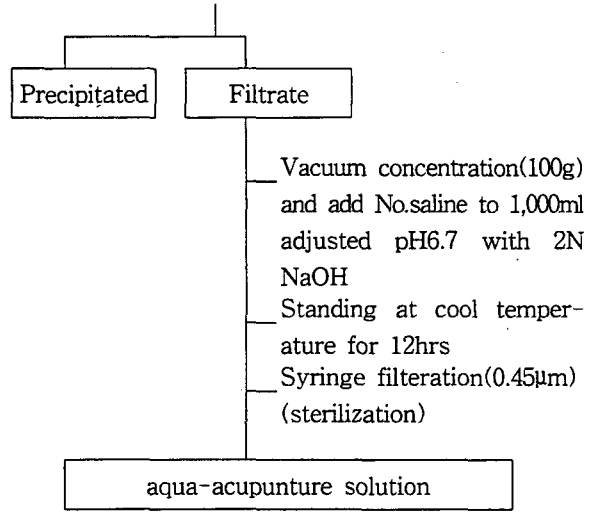
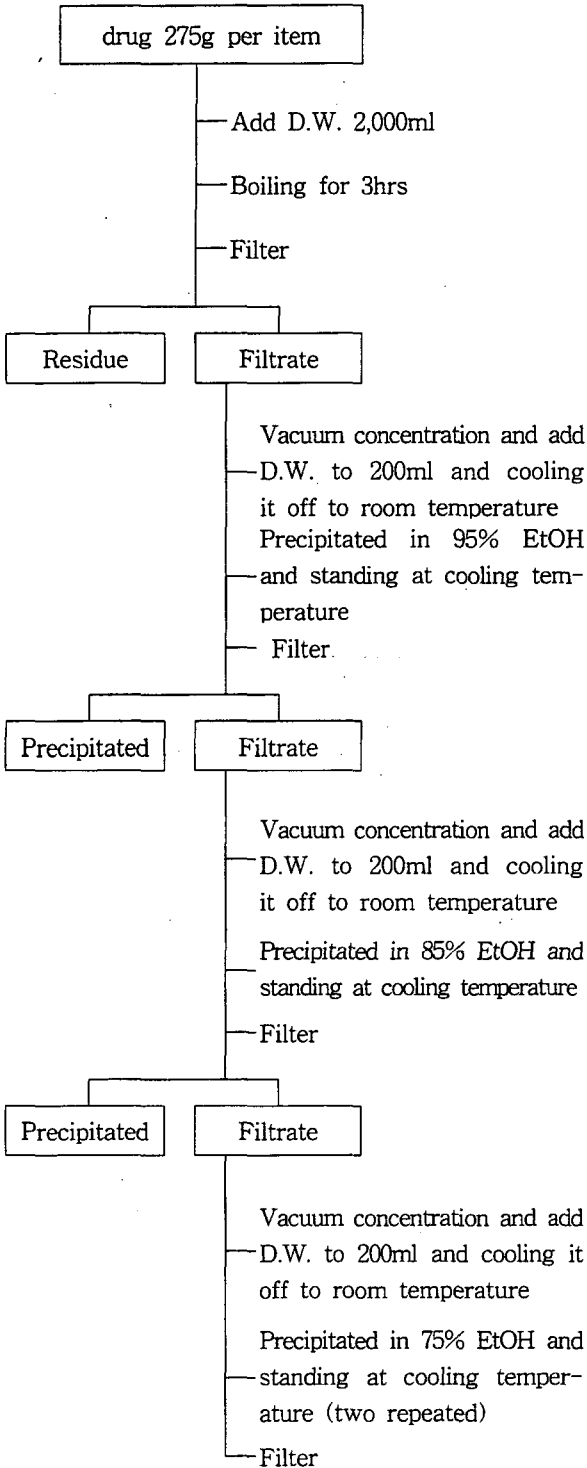
### B. 慢性酸化實驗

#### 1) 藥鍼液 製造

白何首烏 275g을 粗末로하여 圓形 flask에 넣고 蒸溜水 2000ml을 加하여 3時間 水浴에서 流出하고 濾過한 다음 이 濾過液을 rotary evaporator로 減壓 濃縮하여 全量을 200ml로 하였다. 室溫까지 冷却하고 95% ethyl alcohol 100ml을 加하여 室溫에서 攪拌한 後 放置하여 生成된 沈澱物을 濾別하고, 濾液을 다시 rotary evaporator로 減壓 濃縮하여 生成된 沈澱物을 濾別한다. 濾液을 다시 85% ethyl alcohol 100ml을 加하여 잠시 攪拌하고 放置하여 生成된 沈澱物을 濾別하고, 다시 濾液을 75% ethyl alcohol 100ml를 加한 後 같은 操作을 2回 反復한 다음 濾液中 ethyl alcohol을 減壓留去하여 殘渣全量을 100g이 되게 한 후 生理食鹽水 1,000ml를 加하고 3% 鹽酸으로 pH6.7로 調節하여 低溫에서 12時間 放置 後 微量의 浮遊液을 濾別하고 高壓 滅菌하여 藥鍼液으로 使用하였다(Scheme 1)

#### 2) 實驗 動物 및 取穴

實驗 動物은 各各 10마리씩 正常群, 對照群, 實驗群으로 區分하여 對照群과 實驗群에 AAPH (50mg/kg)을 1日 1回 5日間 腹腔에 注射하였고 對照群에는 同量의 生理食鹽水를 注入하였다. 그리고 實驗群은 20% 白何首烏 藥鍼群과 10% 白何首烏 藥鍼群으로 區分하여 AAPH 注射 후 2주간 1日 1回 足三里穴에 取穴하였다.



Scheme 1. Manufacturing Procedure of Aqua-acupuncture Solution by Water-alcohol Method

3) 흰쥐의 發育에 미치는 影響

(1) 生理的 變化의 觀察

흰쥐의 成長이 AAPH와 白何首烏 藥鍼液에 의하여 影響을 받는지 確認하기 위하여 生後 4 주부터 犧牲시킬 때까지 體重의 變化를 調査하였다.

(2) 各 臟器 무게 測定

흰쥐의 나이가 8주가 되었을 때 각각 犧牲시키고, 心, 肺, 肝, 脾, 腎臟等 各臟器를 摘出하여 무게를 測定한 후 -70 °C에 보관하면서 여러 가지 生體 成分을 分析하였다.

4) 血液의 成分 變化 測定

(1) 血液 成分의 變化.

흰쥐에 AAPH 주사 후 白何首烏 水鍼液을 2주간 取穴한 다음 直接心臟採血法으로 10ml의 血液을 포집하였다. 그 중 2ml는 CBC bottle(녹십자)에 넣었고, 나머지 8ml의 血液은 centrifuge tube에 넣은 다음 遠心分離器(Hettich Universal,

U.S.A)에서 3,000 rpm으로 15분간 遠心分離시켜 上層의 血清을 Serum Separator(녹십자)에 取하여 total protein, cholesterol, creatinine, BUN, triglyceride의 含量을 550 Express (CIBA-Corning, U.S.A) 이용하여 測定하였고, CBC bottle의 血液은 血小板數, 白血球數, 赤血球數, hemoglobin 數의 含量 計算에 使用하였다.

(2) 赤血球膜의 活性 酸素에 대한 耐性 비교  
NIKI등의 方法<sup>13)</sup>에 따라 8주가 된 흰쥐의 血液을 heparin으로 항응고 시킨 후 hematology를 測定하였다. 그리고 이 血液을 시험관에 다시 넣고 10mM potassium phosphate buffered saline (pH7.4, PBS)溶液을 첨가하여 원심 분리(3,000 r.p.m, 10분)하였다. 3회 반복하여 血液을 세척한 다음 20% RBC溶液 1ml를 넣고 50mM AAPH溶液 1ml를 첨가하여 37 °C에서 3시간 incubation 하였다. 이 溶液을 50ul을 취하여 2ml saline 溶液에 넣은 것을 A溶液이라 하고, 또 50ul을 취하여 2ml 증류수에 넣은 것을 B溶液이라 하였다. 각각의 두 溶液을 잘 혼합한 다음 540nm에서 吸光度를 測定하였다. 그리고 A溶液의 吸光度/ B溶液의 吸光度 x100을 %hemolysis value로 계산하였다.

(3) 血清 TBA 反應性 物質 含量 測定  
Suematsu등의 方法<sup>12)</sup>에 따라 clean test tube에 血清 200ul를 넣고, 8.1% sodium dodesyl sulfate(SDS) solution 225ul를 가하고 5초동안 voltex mixer로 mixing한 후 다시 20% acetic acid 1.5ml를 가하였다. 여기에 75ul 증류수를 넣고 5초동안 voltex mixer로 mixing한 후 1.2% thiobarbituric acid solution을 각각의 1ml씩 tube에 더하고, clean dry marble(유리구슬)로 cover한 후, 30분간 water bath에서 끓였다. 이후 실온에서 30분간 cooling하고 3000 r.p.m에서 20분간 원심 분리 상층액을 實驗에 사용하였다. 測定은 532nm 흡광도에서 測定하였다.

5) 肝의 異物質代謝系 活性 測定

(1) 肝 組織의 각 分割조제

Bansal등의 方法<sup>14)</sup>에 따라 摘出した 흰쥐의 肝을 잘게 썰고 4배의 150mM KCl을 함유한 30mM HEPES완충액(pH 7.4)으로 稀釋하여 均質化한 다음, 遠心分離官에 넣고 1차 遠心分離(700xg, 20분)하였다. 그 상등액을 遠心分離官에 취하고 2차 高速遠心分離(11,000xg, 30분)하여 2차 상등액을 얻었으며 11,000xg pellet은 除去하였다. 또 2차 상등액을 취하여 다시 3차 超高速遠心分離(105,000xg, 60분)하고 그 3차 상등액으로 細胞質 分割을 얻었다. 그리고 105,000xg pellet은 130mM KCl 함유 hepes 완충액으로 씻어 낸 다음, 다시 超高速遠心分離(105,000xg, 60분)하고 얻은 pellet을 같은 완충액으로 재 균질화하여 마이크로솜 分割을 얻었다. 마이크로솜과 細胞質 分割을 분리하는 전 過程은 0-4 °C 저온실에서 수행하였으며, -70°C에 보관하면서 각종 實驗에 使用하였다.

(2) 蛋白質 定量

Bovine serum albumin(BSA)을 표준 물질로 사용하여 Lowry등의 方法<sup>15)</sup>에 따라 蛋白質 濃度を 決定하였다.

(3) NADPH-cytochrome P-450 reductase 活性度 測定

William 와 Kamin의 方法<sup>16)</sup>에 따라 분광광도계의 기준 및 試料 cuvette에 200nM cytochrome C 0.3ml와 간 마이크로솜의 蛋白質이 0.25mg/ml의 농도가 되게 만든 희석액을 0.3ml 넣고 0.5M 인산염 완충액(pH 7.7)으로 총 용량을 1.5ml로 한 다음 37°C에서 분광광도계의 吸光度를 0으로 맞추었다. 그리고 試料 cuvette에 0.1 μmole의 NADPH 0.1ml를 첨가하고 550nm에서 3-4분간 吸光度 변화를 測定하였다. 吸光度의 차이로부터 밀리몰흡광계수 21 cm-1mM-1를 이용하여 cytochrome C의 환원 속도를 計算하였다.

(4) Cytochrome b5 定量

Omura와 Sato의 方法<sup>17)</sup>에 따라 분광도계의 基準 및 試料 cuvette에 간 마이크로솜의 蛋白質

質이 1mg/ml의 濃도가 되게 만든 稀釋液을 각각 995 $\mu$ l씩 주입한 다음 baseline을 決定하였다. 그리고 試料 cuvette에 다시 30mM NADH 5 $\mu$ l를 첨가하고 426nm 와 409nm에서 吸光度의 차이를 測定하였으며 밀리몰흡광계수 185 cm<sup>-1</sup>mM<sup>-1</sup>을 이용하여 cytochrome b5의 함량을 정하였다.

### 6) 肝의 抗酸化 活性 測定

#### (1) Superoxide dismutase의 活性度 測定

이 효소의 活性度 測定은 McCord 등의 方法<sup>18)</sup>에 따라 xanthine과 xan-thine oxidase의 존재 하에 생성되는 superoxide anion이 cytochrome c의 환원을 억제시키는 반응 원리를 이용하였다. 즉 3.0ml 용량의 cuvette에 0.1 mM EDTA를 함유하는 50 mM 인산염 완충액(pH 7.8) 2.1ml와 0.5mM xanthine 0.3ml 및 0.1 mM cytochrome c 0.3ml을 가한 다음 cytochrome oxidase에 의한 환원형의 cytochrome c의 재산화를 막기 위해 반응액에 50 $\mu$ M potassium cyanide 0.1ml을 가하였다. 반응액의 미립자를 분해시키기 위해서 sodium deoxycholate(0.1mg/ml)를 0.1ml 넣어 0.033% 되도록 하였다. 혼합액을 잘 섞는 다음 xanthine oxidase 0.1 ml 와 細胞質 分割 20 $\mu$ l을 첨가한 후 550nm에서 吸光度의 증가율을 결정하였다. 吸光度 증가에 대한 기준은 xanthine oxidase의 濃도를 조절하여 吸光度 증가를 분당 0.021이 되도록 하였다.

#### (2) Catalase 活性度 測定

Aebi의 方法<sup>19)</sup>에 따라 3.0ml cuvette에 130mM 인산염 완충액(pH 7.0) 500 $\mu$ l, 細胞質 分割 40 $\mu$ l, 증류수 660 $\mu$ l와 기질인 15mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>濃도에 의한 吸光度의 감소율을 測定하였다. 효소의 活性度는 1분동안에 1  $\mu$ mole의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 분해시키는 효소의 양을 1 unit로 표시하였다.

#### (3) Glutathione peroxidase 活性度 測定

Flohe와 Gunzler의 方法<sup>20)</sup>에 따라 試験管에 4mM EDTA를 함유한 0.3 M 磷酸鹽 완충액(pH 7.0) 1ml, 細胞質 分割 30 $\mu$ l, 25.6 mM sodium

azide 500 $\mu$ l, 294.37 mM GSH 60 $\mu$ l, 8.4 mM NADPH 110 $\mu$ l, gluta-thione reductase(5mg/ml) 5 $\mu$ l, 증류수 975 $\mu$ l와 기질인 1mM cumene hydroperoxidase 320 $\mu$ l을 넣어 총 용량을 3ml로 하였다. 그리고 試料 溶液을 잘 혼합한 다음 340nm에서 3-4분동안 NADPH濃도에 의한 吸光度의 감소를 測定하고 밀리몰흡광계수 6,200cm<sup>-1</sup>mM<sup>-1</sup>으로 計算하였다.

#### (4) Glutathione reductase 活性度 測定

Racker의 方法<sup>21)</sup>에 따라 시험관에 細胞質 分割 10 $\mu$ l, EDTA 溶液 (10mg/ml) 35 $\mu$ l, 66.01 mM GSSG 50 $\mu$ l와 9.184 mM NADPH 20 $\mu$ l를 넣고 0.1 M tris완충액(pH 8.0)을 넣어 총 용량을 1ml로 하였다. 그리고 試料 溶液을 잘 혼합한 다음 340nm에서 3-4분동안 NADPH濃도에 의한 吸光度의 감소율을 測定하고 밀리몰흡광계수 6,200 cm<sup>-1</sup>mM<sup>-1</sup>로 計算하였다.

## III. 實驗 成績

### A. 急性酸化實驗

#### 1. 血清 TBA 反應性 物質의 含量 比較

AAPH로 處理 1時間 前 10%의 白何首烏 水 鉞液(CWH)을 投與하고 30分, 1時間, 1時間30分, 3時間 및 6時間 後 致死시켜 흰쥐 血清에서 TBA 反應性物質 含量의 吸光度를 測定한 結果, 正常群에서는 0.016 $\pm$ 0.004로 나타난 반면, 10%의 白何首烏 水鉞液이 投與된 實驗群에서는 各各 時間當 0.030 $\pm$ 0.009, 0.027 $\pm$ 0.008, 0.031 $\pm$ 0.008, 0.024 $\pm$ 0.003, 0.024 $\pm$ 0.005로 나타났다(Table 1).

Table 1. AAPH-induced the Depletion of Plasma Antioxidants and Formation of Thiobarbituric Acid(TBA) Reactive Substances 10% CWH with Time

Time after AAPH treatment(hrs)	% of Dosage of CWH	Thiobarbituric acid (Absor. at 532nm)
Normal (AAPH not treated)	Not treated	0.016 ± 0.004a)
0.5	10	0.030 ± 0.009
1	10	0.027 ± 0.008
1.5	10	0.031 ± 0.008
3	10	0.024 ± 0.003
6	10	0.024 ± 0.005

a) : Mean ± Standard Error.

## 2. 血液學的 變化

酸化誘發物質인 AAPH로 誘發 후 1 시간 후 실시한 血清檢査에서 uric acid는 AAPH만 處理한 對照群이 1.36±0.07, AAPH와 10% 白何首烏水 藥液을 處理한 實驗群이 1.71±0.09(p<0.01)로 對照群에 比하여 有意性있는 增加를 나타냈고 (Fig 2), total protein은 對照群이 4.59±0.03, 實驗群이 4.94±0.04로(p<0.001)(Fig 3), albumin은 對照群이 2.50±0.003, 實驗群이 2.56±0.01로 (p<0.001)(Fig 5) 모두 對照群에 比하여 有意性 있는 增加를 나타냈으며, TBARS는 對照群이 0.03±0.0009, 實驗群이 0.024±0.0005(p<0.001)로 對照群에 比하여 有意性있는 減少를 나타낸 반면, bilirubin은 對照群이 0.29±0.04, 實驗群이 0.27±0.04로 有意性없는 減少를 나타냈다(Table 2)(Fig 4).

Table 2. Effect of AAPH and AAPH & 10% CWH Treated on Plasma Antioxidant in Rat

Group	Normal	AAPH treatment (after 60min)	AAPH & 10% CWH (after 60min)	P-value
Uric acid	1.96±0.04	1.36±0.07	1.71±0.09a)	< 0.01
Total protein	5.24±0.04	4.59±0.03	4.94±0.04	< 0.001
Bilirubin	0.21±0.01	0.29±0.04	0.27±0.04	-
Albumin	2.58±0.03	2.50±0.003	2.56±0.01	< 0.001
TBARS	0.015±0.0004	0.03±0.0009	0.024±0.0005	< 0.001

a) : Mean ± Standard Error.

## B. 慢性酸化實驗

### 1. 體重 및 臟器무게 變化

體重變化에서는 正常群, 對照群, 10% CWH群, 20% CWH群이 각각 265±4.33, 268±3.89, 265±5.64, 252±4.77(g)(p<0.01)로 20% CWH群만이 對照群에 比하여 有意性있는 減少를 나타내었다(Table 3)(Fig 6).

臟器 變化에서 心臟의 무게 變化는 正常群, 對照群, 10% CWH群, 20% CWH群이 각각 1.08±0.05, 1.08±0.03, 1.03±0.02, 1.03±0.03(g)으로(Fig 7), 肺臟의 무게 變化는 각각 1.35±0.04, 1.40±0.07, 1.35±0.04, 1.48±0.03(g)으로(Fig 9), 脾臟의 무게 變化는 각각 0.80±0.03, 0.78±0.04, 0.73±0.03, 0.73±0.03(g)으로(Fig 10), 腎臟의 무게 變化는 1.98±0.08, 2.10±0.06, 2.13±0.09, 2.00±0.05(g)로(Fig 11) 모두 有意性있는 變化는 나타나지 않았고, 肝臟의 무게 變化는 각각 11.2±0.28, 10.6±0.15, 11.2±0.25(p<0.05), \*11.5±0.37(g) (p<0.05)으로 두 實驗群 모두에서 對照群에 比하여 有意性있는 增加를 나타내었다(Table 3) (Fig 8).

### 2. 血液學的 變化

#### 1) 血球細胞의 變化

白血球數 變化는 正常群, 對照群, 10% CWH群, 20% CWH群에서 각각 8.73±0.11, 11.6±0.43, 11.1±0.58, 10.5±0.68(×10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>)로 有意性 있는 變化는 나타나지 않았고(Table 4) (Fig<sup>12</sup>), 赤血球數 變化는 各各 6.66±0.11, 7.35±0.10, 7.29±0.10, 6.99±0.11(×10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>)(p<0.05)(Table 5) (Fig 13), 赤血球가 차지하는 容積을 白粉律로 표시한 hematocrit치는 31.1±0.64, 33.4±0.32, 33.4±0.27, 32.5±0.18(%) (p<0.05)(Table 6)(Fig14), hemoglobin은 13.1±0.35, 14.6±0.16, 14.4±0.14, 14.1±0.12(g/dL) (p<0.05)(Table 7)(Fig 15)로 나타나 20% CWH群만이 對照群에 比하여 有意性 있는 減少를 나타냈다.

血小板數는 81.3±4.00, 69.7±3.39, 72.5±2.32, 75.7±1.55(×10<sup>4</sup>/mm<sup>3</sup>)로 有意性있는 變化는 나타나지 않았고(Table 8)(Fig 16).



Table 3. Changes in The Organs Weight of 20% & 10% CWH

Group	No. of Animals	Organ weight(g)					
		Body weight	Heart	Liver	Lung	Spleen	Kidney
Normal	8	265±4.33	1.08±0.05	11.2±0.28	1.35±0.04	0.80±0.03	1.98±0.08a
Control	8	268±3.89	1.08±0.03	10.6±0.15	1.40±0.07	0.78±0.04	2.10±0.06
10% CWH	8	265±5.64	1.03±0.02	11.2±0.25*	1.35±0.04	0.73±0.03	2.13±0.09
20% CWH	8	252±4.77**	1.03±0.03	11.5±0.37*	1.48±0.03	0.73±0.03	20% CWH

a) : Mean ± Standard Error.

\* : Statistically significant value compared with control data by T test(\* : <0.05, \*\* : <0.01, \*\*\* : <0.001)

Table 4. Effect of Aqua-acupuncture of CWH Drug on the White Blood Cell in Rats Induced by AAPH

Group	No. of Animals	White Blood Cell (x103/mm3)	P-value <sup>a)</sup>
Normal	8	8.73 ± 0.11a)	
Control	8	11.6 ± 0.43	-
10% CWH	8	11.1 ± 0.58	-
20% CWH	8	10.5 ± 0.68	

a) : Mean ± Standard Error.

Table 5. Effect of Aqua-acupuncture of CWH Drug on the Red Blood Cell in Rats Induced by AAPH

Group	No. of Animals	Red Blood Cell (x104/mm3)	P-value <sup>a)</sup>
Normal	8	6.66 ± 0.11 <sup>a)</sup>	
Control	8	7.35 ± 0.10	-
10% CWH	8	7.29 ± 0.10	< 0.05
20% CWH	8	6.99 ± 0.11	

a) : Mean ± Standard Error.

Table 6. Effect of Aqua-acupuncture of CWH Drug on the Hematocrit in Rats Induced by AAPH

Group	No. of Animals	Hematocrit (%)	P-value <sup>a)</sup>
Normal	8	31.1 ± 0.64a)	
Control	8	33.4 ± 0.32	-
10% CWH	8	33.4 ± 0.27	< 0.05
20% CWH	8	32.5 ± 0.18	

a) : Mean ± Standard Error.

Table 7. Effect of Aqua-acupuncture of CWH Drug on the Hemoglobin in Rats Induced by AAPH

Group	No. of Animals	Hemoglobin (g/dL)	P-value <sup>a)</sup>
Normal	8	13.1 ± 0.35 <sup>a)</sup>	
Control	8	14.6 ± 0.16	
10% CWH	8	14.4 ± 0.14	-
20% CWH	8	14.1 ± 0.12	< 0.05

a) : Mean ± Standard Error

Table 8. Effect of Aqua-acupuncture of CWH Drug on the Platelet in Rats Induced by AAPH

Group	No. of Animals	Platelet (x104/mm3)	P-value <sup>a)</sup>
Normal	8	81.3 ± 4.00 <sup>a)</sup>	
Control	8	69.7 ± 3.39	
10% CWH	8	72.5 ± 2.32	-
20% CWH	8	75.7 ± 1.55	-

a) : Mean ± Standard Error.

## 2) 血清成分의 변화

Total protein 含量은 正常群, 對照群, 10% CWH群, 20% CWH群에서 각각 5.33±0.01, 5.01±0.06, 5.39±0.09(p<0.01), 5.17±0.07(g/dL) (p<0.05)

로 모두 對照群에 비해 有意性있는 增加를(Table 9)(Fig 17), creatinine 含量은  $0.41 \pm 0.01$ ,  $0.48 \pm 0.02$ ,  $0.44 \pm 0.01$  ( $p < 0.05$ ),  $0.41 \pm 0.02$ (mg/dL) ( $p < 0.05$ )로 (Table 10)(Fig 18), BUN치는  $14.0 \pm 0.45$ ,  $19.9 \pm 0.91$ ,  $15.6 \pm 0.63$ ( $p < 0.001$ ),  $16.0 \pm 0.56$  (mg/dL)( $p < 0.01$ )(Table 12)(Fig 20)로 나타나 모두 對照群에 비해 有意性있는 減少를 나타냈다.

Table 9. Effect of Aqua-acupuncture of CWH Drug on the Total Protein in Rats Induced by AAPH

Group	No. of Animals	Total protein (g/dL)	P-value <sup>a)</sup>
Normal	8	$5.33 \pm 0.01^{a)}$	
Control	8	$5.01 \pm 0.06$	< 0.01
10% CWH	8	$5.39 \pm 0.09$	< 0.05
20% CWH	8	$5.17 \pm 0.07$	

a) : Mean  $\pm$  Standard Error.

Table 10. Effect of Aqua-acupuncture of CWH Drug on the Serum Creatinine in Rats Induced by AAPH

Group	No. of Animals	Creatinine (mg/dL)	P-value <sup>a)</sup>
Normal	8	$0.41 \pm 0.01^{a)}$	
Control	8	$0.48 \pm 0.02$	< 0.05
10% CWH	8	$0.44 \pm 0.01$	< 0.05
20% CWH	8	$0.41 \pm 0.02$	

a) : Mean  $\pm$  Standard Error.

Table 11. Effect of Aqua-acupuncture of CWH Drug on the Serum Cholesterol in Rats Induced by AAPH

Group	No. of Animals	Cholesterol (mg/dL)	P-value <sup>a)</sup>
Normal	8	$38.2 \pm 2.09^{a)}$	
Control	8	$51.6 \pm 3.20$	-
10% CWH	8	$47.1 \pm 1.38$	< 0.05
20% CWH	8	$45.4 \pm 0.75$	

a) : Mean  $\pm$  Standard Error.

Table 12. Effect of Aqua-acupuncture of CWH Drug on the Serum BUN in Rats Induced by AAPH

Group	No. of Animals	B U N (mg/dL)	P-value <sup>a)</sup>
Normal	8	$14.0 \pm 0.45^{a)}$	
Control	8	$19.9 \pm 0.91$	< 0.001
10% CWH	8	$15.6 \pm 0.63$	< 0.01
20% CWH	8	$16.0 \pm 0.56$	

a) : Mean  $\pm$  Standard Error.

Cholesterol 含量은 각각  $38.2 \pm 2.09$ ,  $51.6 \pm 3.20$ ,  $47.1 \pm 1.38$ ,  $45.4 \pm 0.75$  ( $p < 0.05$ ), (mg/dL) (Table 11)(Fig 19)로, triglyceride의 含量은  $72.0 \pm 3.01$ ,  $77.4 \pm 3.39$ ,  $67.1 \pm 4.28$ ( $p < 0.05$ ),  $66.6 \pm 5.77$ (mg/dL)로 나타나 20% CWH群만이 有意性 있는 減少를 나타냈다(Table 13)(Fig 21).

Table 13. Effect of Aqua-acupuncture of CWH Drug on the Serum Triglyceride in Rats Induced by AAPH

Group	No. of Animals	Triglyceride (mg/dL)	P-value <sup>a)</sup>
Normal	8	$72.0 \pm 3.01^{a)}$	
Control	8	$77.4 \pm 3.39$	
10% CWH	8	$67.1 \pm 4.28$	
20% CWH	8	$66.6 \pm 5.77$	< 0.05

a) : Mean  $\pm$  Standard Error.

### 3) 血清酵素들의 活性度 變化

血清中에 存在하는 여러가지 酵素들의 活性度の 變化중 glutamate-oxaloacetate transaminase는 正常群, 對照群, 10% CWH群, 20% CWH群에서 각각  $47.4 \pm 3.90$ ,  $88.0 \pm 3.06$ ,  $124.5 \pm 2.45$ ,  $95.0 \pm 0.55$ (mg/dL)(Table 14)(Fig 22), glutamate-pyruvate transaminase는 各各  $39.0 \pm 1.30$ ,  $44.5$

$\pm 2.17$ ,  $45.8 \pm 0.28$ ,  $44.1 \pm 0.86$ 로 나타나 有意性 있는 變化는 없었다(Table 15)(Fig 23).

Lactate dehydrogenase의 活性은 正常群이  $938 \pm 45.8$ , 對照群과 10%, 20% CWH群이 각각  $624 \pm 59.1$ ,  $954 \pm 62.8$ ( $p < 0.001$ ),  $691 \pm 36.5$ (mg/dL)으로 나타나 10% CWH群만이 對照群에 比하여 有意性 있는 增加를 나타냈다(Table 16)(Fig 24).

Table 14. Effect of Aqua-acupuncture of CWH Drug on the Serum Glutamate-oxaloacetate Transaminase in Rats Induced by AAPH

Group	No. of Animals	G O T (mg/dL)	P-value <sup>a)</sup>
Normal	8	$47.4 \pm 3.90^{a)}$	
Control	8	$88.0 \pm 3.06$	
10% CWH	8	$124.5 \pm 2.45$	-
20% CWH	8	$95.0 \pm 0.55$	-

a) : Mean  $\pm$  Standard Error.

Table 15. Effect of Aqua-acupuncture of CWH Drug on the Serum Glutamate-pyruvate Transaminase in Rats Induced by AAPH

Group	No. of Animals	G P T (mg/dL)	P-value <sup>a)</sup>
Normal	8	$39.0 \pm 1.30^{a)}$	
Control	8	$44.5 \pm 2.17$	
10% CWH	8	$45.8 \pm 0.28$	-
20% CWH	8	$44.1 \pm 0.86$	-

a) : Mean  $\pm$  Standard Error.

#### 4) 赤血球膜의 活性酸素에 대한 耐性

Oxidative stress에 의하여 誘發되는 溶血정도는 正常群이  $33.8 \pm 0.47$ (%)인데 比하여, 對照群,

10%, 20% CWH群은 각각  $39.3 \pm 0.44$ ,  $32.8 \pm 0.95$ ( $p < 0.001$ ),  $35.2 \pm 0.54$ (%)( $p < 0.001$ )로 나타나 두 實驗群 모두 對照群에 比하여 有意性 있는 減少를 나타내었다(Table 17)(Fig 25).

Table 16. Effect of Aqua-acupuncture of CWH Drug on the Serum Lactate Dehydrogenase in Rats Induced by AAPH

Group	No. of Animals	L D H (mg/dL)	P-value <sup>a)</sup>
Normal	8	$938 \pm 45.8^{a)}$	
Control	8	$624 \pm 59.1$	$< 0.001$
10% CWH	8	$954 \pm 62.8$	-
20% CWH	8	$691 \pm 36.5$	-

a) : Mean  $\pm$  Standard Error.

Table 17. Effect of Aqua-acupuncture of CWH Drug on the Hemolysis of Erythrocytes (20% in 0.34M NaCl aqueous suspensions, pH7.4) in Rats Induced by 50mM AAPH for 3 Hours Incubation at 37 °C

Group	No. of Animals	Erythrocytes hemolysis (%)	P-value <sup>a)</sup>
Normal	8	$33.8 \pm 0.47^{a)}$	
Control	8	$39.3 \pm 0.44$	$< 0.001$
10% CWH	8	$32.8 \pm 0.95$	$< 0.001$
20% CWH	8	$35.2 \pm 0.54$	

a) : Mean  $\pm$  Standard Error.

#### 5) 血清 TBA 反應性 物質의 含量 比較

원쥐 血清에서 TBA 反應性 物質 含量의 吸光度를 測定하였는데, 正常群에서는  $0.025 \pm 0.002$ 로 나타난 반면, 對照群은  $0.045 \pm 0.005$ 로 크게 增加하였으며, 10% CWH群은  $0.026 \pm 0.002$ ( $p < 0.001$ ), 20% CWH群은  $0.028 \pm 0.001$  ( $p < 0.001$ )로 두 實驗群 모두에서 有意性 있는 減少를 나타냈다 (Table 18)(Fig 26).

Table 18. Effect of Aqua-acupuncture of CWH Drug on the Thiobarbituric Acid Reactive Substances in Serum in Rats Induced by AAPH

Group	No. of Animals	Thiobarbituric acid Absor. at 532nm)	P-value <sup>a)</sup>
Normal	8	0.025 ± 0.002 <sup>a)</sup>	
Control	8	0.045 ± 0.005	< 0.001
10% CWH	8	0.026 ± 0.002	< 0.001
20% CWH	8	0.028 ± 0.001	

a) : Mean ± Standard Error.

### 3. 肝의 異物質代謝 能力에 미치는 影響

#### 1) Cytochrome P-450 含量과 P-450 reductase 活性化 變化

肝臟중 microsomal cytochrome P-450의 活性은 正常群에서 肝 마이크로솜 蛋白質 1g당 0.98 ± 0.014(nmole)인데 比하여, 對照群에서는 0.65 ± 0.016, 10%, 20% CWH群에서는 각각 0.78 ± 0.037(p<0.01), 0.77 ± 0.028 (nmole) (p<0.01)로 實驗群 모두 對照群에 比하여 有意性있게 增加하였고(Table 19) (Fig 27). P-450 reductase 活性化 變化는 正常群, 對照群, 10%, 20% CWH群에서 각각 87.4 ± 13.5, 70.1 ± 3.56, 74.4 ± 9.1, 80.6 ± 2.35(nmole) (p<0.05)로 나타나 20% CWH群에서만 有意性이 認定되었다(Table 20)(Fig 28).

Table 19. Effect of aqua-acupuncture of CWH drug on the changes cytochrome P-450 contents activities in liver microsomes in Rats induced by AAPH

Group	No. of Animals	Cytochrome P-450 content (nmole/mg protein)	P-value <sup>a)</sup>
Normal	8	0.98 ± 0.014 <sup>a)</sup>	
Control	8	0.65 ± 0.016	< 0.01
10% CWH	8	0.78 ± 0.037	< 0.01
20% CWH	8	0.77 ± 0.028	

a) : Mean ± Standard Error.

Table 20. Effect of aqua-acupuncture of CWH drug on the changes cytochrome P-450 reductase activities in liver microsomes in Rats Induced by AAPH

Group	No. of Animals	Cytochrome P-450 reductase (nmole/mg protein/min)	P-value <sup>a)</sup>
Normal	8	87.4 ± 13.5 <sup>a)</sup>	
Control	8	70.1 ± 3.56	
10% CWH	8	74.4 ± 9.1	-
20% CWH	8	80.6 ± 2.35	< 0.05

a) : Mean ± Standard Error.

#### 2) Cytochrome b5 含量의 變化

흰쥐 肝의 cytochrome b5의 수준은 正常群이 0.54 ± 0.03(nmole)인데 比하여, 對照群에서는 0.40 ± 0.01, 10%, 20% CWH群에서는 각각 0.45 ± 0.03, 0.49 ± 0.05(nmole)(p<0.05)로 20% CWH群만이 對照群에 比하여 有意性있게 增加하였다 (Table 21)(Fig 29).

Table 21. Effect of Aqua-acupuncture of CWH Drug on the Changes Cytochrome b5 Contents Activities in Liver Microsomes in Rats Induced by AAPH

Group	No. of Animals	Cytochrome b5 contents (nmole/mg protein)	P-value <sup>a)</sup>
Normal	8	0.54 ± 0.03 <sup>a)</sup>	
Control	8	0.40 ± 0.01	-
10% CWH	8	0.45 ± 0.03	< 0.05
20% CWH	8	0.49 ± 0.05	

a) : Mean ± Standard Error.

### 4. 抗酸化活性에 미치는 영향

#### 1) Superoxide dismutase의 活性에 미치는 영향

肝 cytosolic superoxide dismutase의 活性은 正常群이  $24.2 \pm 4.32$ , 對照群이  $11.5 \pm 3.22$ , 10%, 20% CWH群이 각각  $14.0 \pm 1.89$ ,  $17.5 \pm 1.10$  (units) ( $p < 0.05$ )로 나타나 20% CWH群만이 對照群에 比하여 有意性있는 增加를 나타냈다 (Table 22)(Fig 30).

Table 22. Effect of Aqua-acupuncture of CWH Drug on the Changes of Superoxide Dismutase Activities in Liver Microsomes in Rats Induced by AAPH

Group	No. of Animals	Superoxide dismutase activity (units/mg protein/min)	P-value <sup>a)</sup>
Normal	8	$24.2 \pm 4.32^{a)}$	< 0.05
Control	8	$11.5 \pm 3.22$	
10% CWH	8	$14.0 \pm 1.89$	
20% CWH	8	$17.5 \pm 1.10$	

a) : Mean  $\pm$  Standard Error.

2) Catalase의 活性度 變化

Mitochondrial catalase의 活性은 正常群에서  $217.4 \pm 5.40$ 인데 比하여, 對照群에서는  $147.6 \pm 4.05$ , 10%, 20% CWH群이 각각  $156.6 \pm 4.50$ ,  $198.9 \pm 11.3$ (units)( $p < 0.001$ )로 나타나 20% CWH群만이 對照群에 比하여 有意性있는 增加를 나타내었다(Table 23)(Fig 31).

Table 23. Effect of Aqua-acupuncture of CWH Drug on the Changes of Catalase Activities in Liver Microsomes in Rats Induced by AAPH

Group	No. of Animals	Catalase activity (units/mg protein)	P-value <sup>a)</sup>
Normal	8	$217.4 \pm 5.40^{a)}$	< 0.001
Control	8	$147.6 \pm 4.05$	
10% CWH	8	$156.6 \pm 4.50$	
20% CWH	8	$198.9 \pm 11.3$	

a) : Mean  $\pm$  Standard Error.

3) Glutathione peroxidase, glutathione reductase의 活性度 變化

Glutathione peroxidase의 活性度은 正常群, 對照群, 10%, 20% CWH群이 各各  $1.62 \pm 0.150$ ,  $0.48 \pm 0.059$ ,  $0.55 \pm 0.018$ ,  $0.65 \pm 0.016$ (units) ( $p < 0.01$ )로 나타나, 20% CWH群만이 對照群에 比하여 有意性있는 增加를 나타내었으며(Table 24) (Fig 32), glutathione reductase의 活性度은 각각  $29.8 \pm 2.34$ ,  $21.4 \pm 1.23$ ,  $25.1 \pm 1.87$ ,  $27.5 \pm 3.02$  (units)( $p < 0.05$ )로 나타나 glutathione peroxidase의 活性度에서 나타난 바와 같이 20% CWH群만이 對照群에 比하여 有意性있는 增加를 나타냈다(Table 25)(Fig 33).

Table 24. Effect of Aqua-acupuncture of CWH Drug on the Changes of Glutathione Peroxidase Activities in Liver Microsomes in Rats Induced by AAPH

Group	No. of Animals	Glutathione peroxidase activity ( $\mu$ M/mg protein/min)	P-value <sup>a)</sup>
Normal	8	$1.62 \pm 0.150^{a)}$	< 0.01
Control	8	$0.48 \pm 0.059$	
10% CWH	8	$0.55 \pm 0.018$	
20% CWH	8	$0.65 \pm 0.016$	

a) : Mean  $\pm$  Standard Error.

Table 25. Effect of Aqua-acupuncture of CWH Drug on the Changes of Glutathione Reductase Activities in Liver Microsomes in Rats Induced by AAPH

Group	No. of Animals	Glutathione reductase activity (nM/mg protein)	P-value <sup>a)</sup>
Normal	8	$29.8 \pm 2.34^{a)}$	< 0.05
Control	8	$21.4 \pm 1.23$	
10% CWH	8	$25.1 \pm 1.87$	
20% CWH	8	$27.5 \pm 3.02$	

a) : Mean  $\pm$  Standard Error.

#### IV. 考 察

人間은 누구나 할것없이 苦痛없이 健康을 維持하고 快適한 生活안에서 長壽하고자 하는 것이 本能이다. 醫學은 이러한 人間의 本能을 具現하고자 疾病을 豫防하고 健康을 維持하는 豫防의 役割과 疾病이나 健康하지 못한 狀態에서 完全한 狀態로 復歸시키는 治療役割을 줄 곧 修行해왔다. 그러나 이러한 疾病의 豫防과 治療는 모두 老化和 깊은 關係가 있어 現代에 이르러서는 老화를 豫防하고 防止하는것이 곧 人間의 가장 根本的인 本能을 解決하는 最善의 方策으로 여겨지고 있다.

老化란 몸안에서 漸次的이고 法則的으로 이루어지는 機能形態學的變化的 生物學的過程<sup>3)</sup>으로, 沈<sup>22)</sup>은 老化란 生物學的인 普遍的 自然現象으로서 漸次的인 臟腑組織의 衰退와 變質 및 老衰와 더불어 進行性으로 나타나는 現狀이라 規定하였다.

대부분 老化現狀은 40대 以後부터 始作된다고 할 수 있는데, 50대까지는 輕微하여 生理的인 老化現狀 程度로 取扱되고 있으나, 69-70歲에 가서는 老化가 增加되어 老化現狀과 疾病과의 區分이 明確하지 않을 수 있게 되고, 70歲 이후는 老化自體로서도 生體에 變患을 發生시킬 수 있으며, 80歲 이상의 高齡에서는 老化에 의하여 臟器가 成熟期의 半程度로 減退된다고 보고있다<sup>23)</sup>.

臨床에서 老衰現狀은 눈의 水晶體 不透明, 最高 筋力의 減少, 血壓上昇, 生殖機能의 衰退 등으로 血管系, 神經系, 結合組織, 皮膚, 筋肉 등에서 잘 나타나는데, 이는 각 組織의 細胞가 破壞되는 必然性이 있다는 것이 밝혀진 바가 있다<sup>24)</sup>.

許<sup>23)</sup>, 李<sup>24)</sup>, 全<sup>25)</sup>, 崔<sup>26)</sup>등에 의하면, 老化過程 정도에 따라 身體機能의 低下와 機能低下에 따른 機能障礙, 機能喪失, 病理的 變化등으로 나타나며, 이는 生物學的인 身痛, 精神의 問題와 社會的인 心理問題로 大別된다고 하였다.

現代 醫學에서는 生物學的, 生化學的, 形態學的 側面에서 본 여러가지 老化學說이 紛紛하지

만, 最近에는 生命現狀을 營爲하는 過程에서 內的, 外的으로 生成되어진 各種 障害因子의 蓄積에 초점이 맞추어지고 있으며, 이러한 障害因子로서 生體內에서 생기는 free radical에 많은 關心이 集中되고 있다<sup>4)</sup>. 生體의 老化나 癌, 心筋梗塞, 류마치즘, 炎症 등 현재 우리나라에서 많은 死亡率을 점하고 있는 여러 種類의 成人病 및 難治病은 相互 關聯이 있으며, 이는 生體에 吸入되어진 酸素의 일부가 superoxide, 과산화수소 및 hydroxy radical 등과 같은 活性酸素 free radical로 變換되면 脂質의 過酸化反應이 進行되고, 脂質의 酸化가 誘導되면 細胞膜의 破壞, 細胞의 老化, 細胞의 壞死 등으로 나타나는 것으로 보고있다.

現在 이러한 理論的 背景으로 過酸化脂質의 生成을 抑制하기 위한 抗酸化劑 및 이들 活性酸素를 除去시킬 수 있는 superoxide dimutase에 관한 研究등에 관련된 많은 研究<sup>27)</sup>가 進行되고 있으나, 化學的으로 安定하고 새로운 醫藥品의 開發에는 많은 어려움이 따르고 있다.

韓醫學에서는 老化를 모든 만물이 陰陽五行의 生長收藏의 規律에 의해 變化하는것으로 終局에는 死亡에 이르는 過程의 한 段階로 認識하고 있다.

《黃帝內經素問》<上古天真論><sup>5)</sup>에서는 女子 7歲에 腎氣가 盛하여 發育하여 14歲, 21歲, 28歲의 成長 成熟의 過程을 거쳐 35歲에 陽明脈이 衰해지면서 女子의 老化가 시작된다고 하였고, 男子는 8歲에 腎氣가 實하게 되어 發育하며, 16歲, 24歲, 32歲의 成長 成熟의 段階를 거쳐 40歲에 腎氣가 衰해지면서 老化가 始作된다고 하였고, 《黃帝內經素問》<陰陽應象大論><sup>5)</sup>에서는 “年五十體重 耳目不聰明矣 年六十陰痿氣大衰 九竅不利 …”라 하여 老化에 따른 各 器官의 構造의 機能的 變化를 言及하였고, 《黃帝內經靈樞》<天年篇><sup>5)</sup>에서는 “五十歲 肝氣始衰 肝葉始薄 膽汁始減 目視不明” “六十歲 心氣始衰 喜憂悲血氣解惰 故好臥” “七十歲 脾氣虛 皮膚枯” “八十

歲 肺氣衰…” “九十歲 腎氣焦 四臟經脈空虛” “百歲五藏皆虛 腎氣皆怯…” 라하여 五十歲엔 肝氣가, 六十歲엔 心氣가, 七十歲엔 脾氣가, 八十歲엔 肺氣가, 九十歲엔 腎氣가 虛衰하게 되어 百歲엔 五臟이 다 虛하게 되어 生命을 다한다고 하였으며, <黃帝內經靈樞><營衛生會篇><sup>5)</sup> “老子之氣血衰 其肌肉枯 氣道澁…”이라 하여 氣血變化에 의한 身體의 變化를 言及하였으며, <東醫腎系內科學><sup>28)</sup>에서는 老化的 原因을 先天不足, 後天失調, 精神失調라 했다. 先天不足이란 稟賦 先天腎氣不足을 말하며 稟賦(先天之氣)가 強하면 身體壯盛 精力充滿 不易變老하나 稟賦(先天之氣)가 弱하면 身體憔悴 精神萎憊하여 老化가 쉽게 되거나 加速되어 壽命이 短縮된다고 하였으며, 後天失調는 脾胃虛損 臟腑虛弱 起居無節 妄于勞作하는 것에 의하여 오는 것으로 氣候와 地域의 影響을 받는다고 하였으며, 精神失調는 精神의 思考方向에 따라 肉體의 健康이 支配를 받게 되어 老化가 加速된다고 하였다.

이와같이 韓醫學에서는 老化를 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 설명하고 있으며, 특히 老化的 症狀이 腎臟과 相生 關係에 있는 肝臟의 機能虛衰로 인한 것이 많아 五藏中 두 臟器가 老化에 直接的인 影響을 미치는 것으로 보고 있다<sup>29,35)</sup>. 臨床에서 老化로 나타나는 諸症狀들이 韓醫學에서 肝腎臟器의 異常으로 나타나는 症狀과 같거나, 類似한 경우가 많음은 이를 反證하는 것이라 하겠다.

따라서 老化的 豫防을 위해 古來로 韓醫學에서는 氣功등의 運動등을 비롯한 다양한 養生 方法이 소개되어왔으며<sup>36)</sup>, 氣血과 腎精을 補하는 延年益壽劑가 老化防止를 위해 使用되어왔다.

藥鍼療法은 經絡學說과 藥物療法の 原理를 바탕으로 各種 藥物을 一定한 方法으로 製造하여 有關한 血位, 壓痛點 혹은 體表의 觸診으로 얻어진 陽性反應點에 精製한 各種藥物을 選擇하여 注入함으로써 刺鍼刺戟과 藥理作用을 통해 各種

疾病을 治療하는 新鍼療法<sup>2)</sup>으로 현재 臨床에서 널리 應用되고 있으며, 最近에는 多様な 病症에 대한 藥鍼液을 開發할 目的으로 鎮痛<sup>37,50)</sup>, 消炎<sup>51,52)</sup>, 血壓降下<sup>53,54)</sup>, 免疫<sup>55,58)</sup>, 鎮痙<sup>39)</sup>, 抗腫瘍<sup>58,59)</sup>, 內分泌<sup>60,62)</sup> 및 貧血<sup>63,64)</sup> 등과 關聯된 實驗研究가 報告되고 있다.

白何首烏은 蘿摩科(박주가리과 Asclepidaceae)에 屬한 多年生의 蔓性草本로서<sup>6)</sup> 우리나라에서 李<sup>66)</sup>는 여귀과(Polygonaceae)에 屬한 多年生本 草인 何首烏(Polygonum multiflorum Thunb)의 根을 赤何首烏라 했고 박주가리과(Asclepiadaceae)에 속한 多年生 抄本인 은조롱(Cynanchum willfordii Hemsley)의 根을 白何首烏라고 했다. 그 性은 微溫無毒하고 味는 苦甘하며 濇하고, 補肝腎益陰, 收斂精氣, 強筋益髓, 養血祛風, 烏鬚髮, 強陽事, 悅顏色하는 效能이 있어 遺精, 崩帶, 久痢, 久瘧, 腸風, 瘰癧등을 治療한다<sup>69)</sup>. 申<sup>67)</sup>은 赤何首烏와 白何首烏가 다같이 補肝腎, 益精血의 效能이 있으나 赤何首烏에 比해 白何首烏의 效能이 더욱 良好하다고 報告한 바 있다.

白何首烏의 主要 成分은 oxymethylanthraquinone 類, chrysophanol, emodol, rhein이 함유되어 있고, 미량의 physcion, chrysophanol anthrone과 澱粉, 粗脂肪, lecithin 등이 있음이 밝혀졌고<sup>10)</sup>, 藥理 作用에는 心血管 系統에 作用하여 動脈粥狀病變에 血之降下作用이 있으며, 血糖降下作用 및 抗菌作用이 있고, 그 以外에는 神經과 肌肉을 刺戟하여 肌肉麻痺에 活用되고, 強心作用을 한다고 報告되었으<sup>11)</sup>, 臨床的 研究로 高コレ스테롤血症 患者 178例에 대해 61.8%의 抑制律을 나타냈다고 報告<sup>68)</sup>되었지만 抗酸化作用을 實驗的로 立證한 報告는 많지 않다.

이에 著者는 補肝腎藥物인 白何首烏의 抗老化作用을 實驗的으로 立證하고, 이를 藥針液으로 開發하고자 白何首烏 藥針液 10%와 20% 溶液을 試料으로 하여 酸化誘發物質인 AAPH (2,2'-azobis(2-aminodinopropane)hydrochloride)<sup>13)</sup>을 腹腔에 주사하여 實驗的 急慢性酸化證을 誘發시

켜 多樣한 檢査를 實施하였다.

急性酸化實驗에서는 酸化的 損傷의 指標로 使用되는 TBA 反應性物質(TBARS)<sup>69</sup>의 含量과 여러가지 生理 變化를 豫見할 수 있으며, 生化學的으로 좋은 指標로 이용되고 있는 血液成分檢査를 實施하였다.

먼저 free radical 반응에 의한 酸化的 損傷의 指標로서 血清中에 存在하는 TBA 反應性物質(TBARS)의 含量을 測定 比較하였는데, TBA는 脂質過酸化物 뿐만아니라 蛋白質의 酸化物과도 反應하여 complex를 형성하기 때문에 生體內의 主體的인 oxidative stress에 대한 結果<sup>69</sup>으로 볼 수 있다. 本 實驗은 AAPH를 처리 1時間前 10% CWH를 처리하여 5개의 時間群의 TBARS含量을 測定하였는데 1시간 30분까지는 正常群에 비하여 68%이상 增加된 狀態에서 不規則한 增減을 나타냈으나, 3時間 以後에는 50% 以內로 점차 낮은 값을 나타냈다.(Table 1). 酸化誘發物質인 AAPH로 誘發 후 1 시간 후 實施한 血清檢査에 선 uric acid, total protein, albumin 含量은 AAPH만 處理한 對照群에 비하여 AAPH & 10% CWH 複合群에서 모두 有意性있는 增加가 나타났고, bilirubin은 有意한 差異를 나타내지 않았다(Table 2).

以上の 短期的으로 實施한 急性酸化實驗 結果로 CWH群은 一定한 抗酸化作用이 있음을 알 수 있었다.

急性酸化實驗結果에 따라 實施한 慢性酸化實驗은 10%, 20% CWH를 足三里에 投與하여 크게 體重과 臟器의 무게 變化 血液學的變化, 肝組織異物質代謝 및 肝抗酸化活性등을 測定하였다.

生體의 正常的인 發育과 成長에 대한 指標인 體重變化에서는 20% CWH群만이 對照群에 비하여 有意性있는 減少를, 臟器의 變化에서는 肝臟만이 두 實驗群 모두에서 對照群에 비하여 有意性있는 增加를 나타내면서 正常群에 近接하였다(Table 3).

血液學的 變化에서는 血球細胞의 變化, 血清成

分の 變化, 血清酵素의 活性度變化, 赤血球膜의 酵素活性에 대한 耐性, 血清 TBA 反應性物質 含量比較등을 測定하였는데 血球細胞의 變化에서는 白血球와 血小板數는 有意性있는 變化가 나타나지 않았고(Table 4,8), 赤血球數, 헤모글로빈, 헤마토크리트치는 모두 對照群에 비하여 有意性있는 減少를 나타내었다(Table 5-7).

血清成分의 變化에서는 total protein 含量은 모두 對照群에 비해서 有意性있는 增加를(Table 9), creatinine 含量과 BUN치는 모두 對照群에 비해서 有意性있는 減少를 나타내어(Table 10, 12) 急性酸化實驗과 同一한 結果를 나타내었고, 특히 老化和 더불어 增加되는 代表的인 指標成分이며, 退行性疾患의 發生과 密接한 關聯이 있는 cholesterol 含量과 triglyceride의 含量<sup>70</sup>은 10% CWH群만이 有意性있는 減少를 나타냈다(Table 11-13).

血清中에 存在하는 여러가지 酵素들의 活性度の 變化에서는 肝機能의 指標가 되는 glutamate-oxaloacetate transaminase(GOT), glutamate-pyruvate trans aminase(GPT), lactate dehydrogenase(LDH)의 活性<sup>70</sup>을 측정하였는데 GOT, GPT 活性은 有意性있는 變化가 없었고(Table 14, 15), Lactate dehydro-genase의 活性은 10% CWH群만이 對照群에 비하여 有意性있는 增加를 나타냈다(Table 16).

赤血球膜의 活性酸素들의 攻擊에 대한 抵抗性을 測定하는 赤血球膜의 酵素活性에 對한 耐性實驗에서는 실험群에서 얻은 赤血球에 peroxy radical generator인 AAPH를 가하여 溶血되는 정도를 測定하였는데, 實驗群 모두 對照群에 비하여 有意性있는 減少가 나타났다(Table 17).

血清 TBA 反應性物質 含量比較에서는 흰쥐 血清에서 TBA 反應性 物質 含量의 吸光度를 測定하였는데 實驗群 모두에서 有意性있는 減少가 나타났다(Table 18).

결과적으로 血液學的 變化는 CWH 投藥으로 인해 對照群에 비해서 血中の 脂質이나 蛋白質의



酸化生成物は 줄어든 반면, 血球 自體는 oxidative stress에 耐性이 점차 增加됨을 알 수 있었다.

生體內에서 異物質의 代謝過程은 吸收, 分配, 生化學的인 轉換과 排泄의 過程을 거쳐 進行하는데, 대부분의 異物質들은 肝 microsomes의 phase I과 phase II 두가지 酵素群에 의해서 代謝가 이루어진다. phase I 酵素들은 化合物에 작용기를 添加함으로써 極盛을 增加시키는 役割을 하며, phase II 酵素들은 化合物의 作用기에 아미노산이나 peptide를 conjugation하게 하여 無毒化시키고 노를 통해 쉽게 배설될 수 있게 하는 것으로 알려져 있다<sup>71)</sup>.

肝의 phase I system의 대표적인 酵素인 microsomal mixed function oxidase system (MFOS)은 많은 異物質(drugs, carcinogen, insecticides and environmental pollutants 등)뿐만 아니라 여러 生體內 物質들(vitamin D, 지방산, hormone과 steroides 등)의 酸化에도 重要な 役割을 한다<sup>71)</sup>. 이 酵素系는 두개의 電子輸送系 즉 cytochrome P-450/P-450 reductase와 cytochrome b5/b5 reductase를 필요로 하며, 이들 중 P-450은 약 40여종의 同位酵素가 存在하고, 각기 독특한 기질특이성과 분자량을 가지고 있으며, phase I 反應의 가장 중요한 役割을 하는 酵素이다<sup>72)</sup>. 또한 cytochrome b5/b5 reductase 電子輸送系는 특히 MFO system뿐만 아니라 脂肪酸의 desaturation system에도 관련되어 있기 때문에 膜의 流動성과 老化에 따른 變化를 이해하는데 매우 중요한 要素로 주목되고 있다<sup>73)</sup>.

本 實驗에서 cytochrome P-450 含量은 實驗群 모두 對照群에 比하여 有意性있게 增加하였고(Table 19), P-450 reductase 活性度 變化는 20% CWH群에서만 有意性이 認定되었으며(Table 20), cytochrome b5 含量 變化는 20% CWH群만이 對照群에 比하여 有意性있게 增加하였다(Table 21).

以上の 結果로 보아 CHW 投藥은 결국 AAPH로 誘發된 酸化에 대하여 MFOS system

과 脂肪酸의 desaturation system에 作用하여 抗酸化 作用을 나타냄을 알 수 있다.

마지막으로 抗酸化活性에 미치는 影響은 異物質 또는 活性酸素들의 攻撃으로부터 細胞나 組織을 保護하고 生體內 恒常性 維持에 重要な 役割을 하는 superoxide dismutase<sup>74)</sup>, catalase<sup>75)</sup>, glutathion peroxidase<sup>76,78)</sup>, glutathion reductase<sup>76,78)</sup> 등의 抗酸化酵素活性를 測定하였다.

抗酸化酵素들은 대개 細胞質속에 存在하며 oxidative stress로부터 生體를 保護함으로써 老化過程에 直, 間接으로 寄與하고 있다.

生體內에서 superoxide를 hydrogen peroxide와 물로 轉換시키는 superoxide dismutase 活性 變化에서는 20% CWH群만이 對照群에 比하여 有意性있는 增加를 나타냈고(Table 22), hydrogen peroxide를 물과 酸素로 分解시키는 酵素인 catalase의 活性 역시 20% CWH群만이 對照群에 比하여 有意性있는 增加를 나타냈다(Table 23).

老化에 따라 一般의으로 減少된다고 報告되고 glutathion peroxidase와 glutathion reductase의 活性度는 모두 20% CWH群만이 對照群에 比하여 有意性있는 增加를 나타냈다(Table 24,25).

以上の 結果들을 綜合하여 보면 白何首烏 藥針液은 異物質代謝 酵素界의 適應力을 向上시키고, 抗酸化酵素들의 活性를 維持시켜 酸化誘發物質인 AAPH로 誘發된 急慢性酸化에 效果的으로 作用함으로써 抗老化作用을 發揮하는것으로 思料된다.

## V. 結 論

白何首烏의 抗老化作用을 實驗的으로 立證하고 이를 藥針液으로 開發하고자 白何首烏 藥針液 10%와 20% 溶液을 試料으로 하여 酸化誘發物質인 AAPH(2,2'-azobis (2-aminodinopropane) hydrochloride)을 腹腔에 주사하여 實驗的 急慢性酸化證을 誘發시켜 多樣的 實驗을 實施하여

다음과 결론을 얻었다.

1. 急性抗酸化實驗에서 TBA 反應性物質(TBARS)의 含量은 實驗群에서 1시간 30분까지는 正常群에 比하여 68%이상 增加된 狀態에서 不規則한 增減을 나타냈으나, 3 時間 以後에는 50% 以內로 점차 낮은 값을 나타냈다.

2. 急性抗酸化實驗 血清檢査에선 uric acid, total protein, albumin 含量은 對照群에 比하여 實驗群에서 有意性있는 變化가 나타났고, bilirubin은 有意性있는 差異를 나타내지 않았다.

3. 慢性抗酸化實驗에서 體重變化는 20% CWH 群만이 對照群에 比하여 有意性있는 減少를, 臟器의 變化는 肝臟만이 두 實驗群 모두에서 對照群에 比하여 有意性있는 增加를 나타내면서 正常群에 近接하였다.

4. 慢性抗酸化實驗에서 血清成分의 變化중 total protein 含量은 모든 實驗群에서 有意性있는 增加를, creatinine 含量과 BUN치는 모든 實驗群에서 有意性있는 減少를 나타냈으며, cholesterol 含量과 triglyceride의 含量은 10% CWH群만이 有意性있는 減少를 나타냈다.

5. 慢性抗酸化實驗에서 血清中에 存在하는 여러가지 酵素들의 活性度の 變化중GOT, GPT活性은 有意性있는 變化가 없었고, LDH 活性은 10% CWH群만이 對照群에 比하여 有意性있는 增加를 나타냈다.

6. 慢性抗酸化實驗에서 赤血球膜의 酵素活性에 對한 耐性實驗은 모든 實驗群 에서 對照群에 比하여 有意性있는 減少를 나타냈다.

7. 慢性抗酸化實驗에서 血清 TBA 反應性物質 含量變化에서는 모든 實驗群에서 有意性있는 減

少를 나타냈다.

8. 慢性抗酸化實驗에서 cytochrome P-450 含量은 모든 實驗群에서 對照群에 比하여 有意性있게 增加하였고, P-450 reductase 活性度 變化는 20% CWH群에서만 有意性있는 增加를 나타냈다.

9. 慢性抗酸化實驗에서 cytochrome b5 含量 變化는 20% CWH群만이 對照群에 比하여 有意性있는 增加를 나타냈다.

10. 慢性抗酸化實驗에서 superoxide dismutase, catalase 活性 變化는 20% CWH群만이 對照群에 比하여 有意性있는 增加를 나타냈다.

11. 慢性抗酸化實驗에서 glutathion peroxidase 와 glutathion reductase의 活性 變化는 모두 20% CWH群만이 對照群에 比하여 有意性있는 增加를 나타냈다.

以上の 結果로 보아 白何首烏 藥針液은 抗酸化作用이 있어 抗老化藥物로 活用可能하다고 思料된다.

## 參考文獻

1. 崔容泰 外 : 針灸學, 서울, 集文堂, pp.382-384, pp.1457-1458, 1991.
2. 安榮基 : 經穴學叢書, 成輔社, pp.12-21, 1986.
3. 최진호 : 老化的 메카니즘과 研究方向, 生化學 뉴스, 韓國生化學會, 5(3) : 39-53, 1985.
4. Harman, D. : Free radical theory of aging : Role of free radicals in the organization and evolution of life, aging and disease process. Free Radicals, Aging and Degenerative Disease(ed. Johnson, J.E. et al.), Alan R. Liss. inc., New York, pp.3-49, 1986.
5. 洪元植 : 精校黃帝內經, 서울, 東洋醫學研究院, p.11, 19-20, 246, 301, 1981.

6. 江蘇新醫學院編 : 中藥大辭典, 上海科學技術出版社, pp.1135-1138, 2041-2044, 1978.
7. 唐慎微 : 經史證類人觀本草, 서울, 崇文社, p.131, 298, 1976.
8. 劉壽山 : 中藥研究文獻抄錄, 北京, 科學出版社, pp.406-408, 1979.
9. 李時珍 : 本草綱目, 서울, 高文社, pp.416-419, 746-748, 1977.
10. 東京生藥協會 : 新常用和漢藥集, 東京, 南江堂, p.21, 1978.
11. 神戸中醫學研究會 : 漢藥の醫床應用, 東京, 醫齒藥出版株式會社, pp.318-319, 346-348, 1979.
12. Suematsu, T., Kamada, T., Abe, H., Kikuchi, S., and Yagi, K. : Serum lipoperoxide levels in patients suffering from liver disease. Clin. Chim. Acta. 79, 267-770, 1977.
13. Niki, E., Komuro, E., Takahashi, M., Urano, S., Ito, E. and Terao, K. : Oxidative hemolysis of erythrocytes and its inhibition by free radical scavengers. J. Biol. Chem. 263, 19809-19814, 1988.
14. Bansal, S.K., Love, J. and Gurtoo, H.L. : High pressure liquid chromatographic separation of multiple forms of cytochrome P-450. Biochem. Biophys. Res. Commun. 117, 268-274, 1983.
15. Lowry, O.H., Rosebrough, H.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. : Protein measurement with the Folin-phenol reagent. J. Biol. Chem. 193, 265-275, 1951.
16. Williams, C.H.Jr. and Kamin, M. : Microsomal triphopyridine nucleotide-cytochrome C reductase of liver. J. Biol. Chem. 237, 587-595, 1962.
17. Omura, T. and Sato, R. : The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature. J. Biol. Chem. 236-9, 2370-2378, 1964.
18. McCord, J.R., Colby, M.D. and Fridovich, I. : Superoxide dismutase, Enzymatic function for erythrocyuprein(hemocuprein). J. Biol. Chem. 231, 6049-6055, 1972.
19. Aebi, H. : Catalase erythrocytaire, in : Exposes Annuels de Biochimie Medicale, 29 ieme serie, Masson & Cie(eds), Paris, pp.139-164, 1969.
20. Flohe, L. and Gunzler, W.A. : Assay of glutathione peroxidase. In Method. Enzymol. 105, 114-121, 1984.
21. Racker, E. : Glutathione reductase from baker.s yeast and beef liver. J. Biol. Chem. 217, 855-865, 1955.
22. 沈吉浩 : 老化的 概念과 豫防, 成文出版社, pp.15-17, 1987.
23. 허근 외 : 脂質過酸化 反應과 Free Radical 生成系 酵素活性에 미치는 Testosterone의 影響, 藥學會誌, 38(2) : 166-173, 1994.
24. 李爲 外 : 口服枸杞子對老人血中超氧化物歧化酶,血紅蛋白化過氧化脂質含量的 同態觀察, 中焦藥, 22(6) : 251,268, 1991.
25. 田金洲 外 : 中醫老年病學, 天津科學技術出版社, p.17,60, 1994.
26. 崔雲權 譯 : 仙人이 되는 法, 서울, 보성출판사, pp.21-23, 1986.
27. Fridovich, I. and McCord, J.M. : Superoxide dismutase. An enzyme function for erythrocyuprein(hemocuprein). J. Biol. Chem, 244 : pp.6049-6055, 1969.
28. 杜錦京 : 東醫腎系學(上), 東洋醫學研究院, pp.10-11, 1993.
29. 王學美 外 : 五子衍種丸延緩衰老的臨床觀察, 中國中西醫結合雜誌, 12(1) : 23-25, 1992.
30. 杜辛 外 : 還少丹膠囊抗衰老及治療腎陽虛臨床觀察, 中國中西醫結合雜誌, 12(1) : 20-22, 1992.
31. 梁曉春 外 : 腎虛, 衰老與自由基的關係以及補

- 腎藥對自由基的影響, 中西醫結合雜誌, 10(8)  
: 511-512, 1990.
32. 徐月明 外: 自由基衰老學說, 腎虛與衰老及補  
腎抗衰老研究, 陝西中醫, 14(4): 187-188,  
1993.
33. 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.
34. 許沛虎: 中藥研究中有關自由基研究近況, 中  
西醫結合雜誌, 15(3): 185-188, 1995.
35. 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.
36. 王其飛 外: 中醫長壽學, 遼寧科學技術出版社,  
p.50, 53, 54, 1989.
37. 金正憲 外: 釣鈎藤水鍼이 鎮痛鎮痙效果에 미  
치는 影響, 大韓針灸學會誌, 12(1): 310-319,  
1995.
38. 姜成吉 外: 人戟水鍼이 鎮痛 및 水銀 中毒에  
미치는 影響에 關한 研究, 慶熙韓醫大論文集  
5: 1-18, 1982.
39. 吉斗永星 外: 荏油 및 胡桃水鍼液이 鎮痛效  
果에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集 10:  
151-168, 1987.
40. 金聖洙 外: 黃連解毒湯과 溫性瘀血方의 水鍼  
및 經口投與가 鎮痛, 消炎, 解熱作用에 미치  
는 影響, 大韓韓醫學會誌 15(1): 9-25, 1994.
41. 金榮振 外: 鹿茸水鍼이 鎮痛效果에 미치는  
影響, 大韓針灸學會誌 4(1): 63-74, 1987.
42. 盧植 外: 鍼 및 水鍼이 鎮痛效果에 미치는  
: 41-52, 1992.
43. 朴英培 外: Mouse의 鎮痛效果에 미치는 水  
鍼療法の 實驗의 研究, 慶熙韓醫 大論文集 3  
: 199-203, 1980.
44. 朴正鎬 外: 藜蘆水鍼이 疼痛에 미치는 影響,  
大韓針灸學會誌 9(1): 293-390, 1992.
45. 朴快煥 外: 當歸水鍼이 鎮痛作用에 미치는  
影響, 慶熙韓醫大論文集 7: 261-272, 1984.
46. 徐美英 外: 葛根水鍼이 抗痙攣, 鎮痛作用에  
미치는 影響, 大韓針灸學會誌 10(1): 315-388,  
1993.
47. 孫寬永 外: 針灸學에서의 鎮痛消炎에 關한  
小考, 大韓針灸學會誌 10(1): 75-101, 1993.
48. 宋春浩 外: 丹蔘水鍼이 鎮痛 및 血壓降下에  
미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集 8: 205-218,  
1985.
49. 李弼雄 外: 人蔘水鍼이 鎮痛 및 血壓에 미치  
는 影響, 東洋醫學 11(2): 66-75, 1985.
50. 張逸鎮 外: 天麻와 白蠟蠶水鍼이 鎮痛效果에  
미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集 11: 175-  
182, 1988.
51. 金聖洙 外: 黃連解毒湯과 溫性瘀血方의 水鍼  
및 經口投與가 鎮痛, 消炎, 解熱作用에 미치  
는 影響, 大韓韓醫學會誌 15(1): 9-25, 1994.
52. 孫寬永 外: 針灸學에서의 鎮痛消炎에 關한  
小考, 大韓針灸學會誌 10(1): 75-101, 1993.
53. 李鍾國 外: 防風水鍼이 高血壓 및 高脂血症  
에 미치는 影響, 大韓針灸學會誌 3(1): 11-  
23, 1986.
54. 盧昇奎 外: 防風水鍼이 高血壓 및 高脂血症  
에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集 8: 157-  
170, 1985.
55. 高敬錫 外: 人蔘水鍼이 MTX를 投與한 생쥐  
의 免疫反應에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文  
集 11: 37-53, 1988.
56. 高炯均 外: 鍼灸療法이 免疫機能에 미치는  
影響에 關한 考察, 大韓針灸學會誌 10(1):  
61-74, 1993.
57. 金大洙 外: 鹿茸, 人蔘 및 靈芝水鍼이 免疫  
反應에 미치는 影響, 慶熙韓醫 8(2): 138  
-153, 1992.
58. 車容碩 外: 熊膽, 牛黃 및 向日葵油藥針刺戟  
이 생쥐 皮膚癌의 免疫機能에 미치는 影響,  
大韓針灸學會誌 10(1): 9-19, 1993.
59. 金泰潤 外: 人蔘水鍼前處置가 發癌豫防에 미  
치는 影響, 大韓韓醫學會誌 9 (2): 33-44,  
1988.

60. 金雄時 外 : 水蓼, 白蓼 및 紅蓼水鍼이 Allo-xan 糖尿病 흰쥐에 미치는 影響, 大韓針灸學會誌 6(1) : 1-13, 1989.
61. 李惠貞 外 : Alloxan 糖尿病 家兔에 대한 人蓼水鍼의 效果 및 Horseradish Peroxidase의 軸突逆輸性에 關한 研究, 慶熙韓醫大論文集 10 : 169-187, 1987.
62. 李惠貞 : 降血糖作用에 依據한 種類別 人蓼水鍼 억기스 製法研究, 大韓韓醫學會誌, 13(1) : 23-40, 1992.
63. 李宗錫 外 : 丹蓼 및 當歸水鍼이 急性失血性 貧血을 誘發시킨 흰쥐의 恢復效果에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集 14 : 381-396, 1991.
64. 崔達永 外 : 鹿茸水鍼이 貧血家兔에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集 9 : 501-516, 1986.
66. 李尙仁 : 本草學, 서울, 醫藥社, p.50, pp.124-128, 1975.
67. 申佶求 : 申氏本草學, 서울, 壽文社, p.1, pp.118-123, 1973.,
68. 金希俊 : 白何首烏의 高콜레스테롤 患者 181 例에 對한 臨床 報告, 慶熙醫學, 5 (4):121-132, 1989.
69. Yu, B.P., Lee, D.W., Marler, C.G. and Choi, J.H. : Mechanism of food restriction : Protection of cellular hemeostasis. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 193, 13-15, 1990
70. 李文鎬 : 內科學, 서울, 金剛出版社, pp.1989-1999, 1979.
71. Lee, D.W. : Oxidative stress and age-related changes in micro-somal mixed function oxidase activity. Kor. J. Gerontol. 2, 187-201, 1991.
72. Nadler, S.G. and Strobel, H.W. : Role of electrostatic interaction in the reaction of NADPH-cytochrome P-450 reductase with cytochrome P-450. Arch. Biochem. Biophys. 261, 418-429, 1988.
73. Hawcraft, D.M., Jone, T.W.G. and Martine, P.A. : Studies on age related changes in cytochrome P-450, cytochrome b5 and mixed function oxidase activity in mouse liver microsomes in relation to their phospholipid composition. Arch. Gerontol. Geriat. 1, 55-74, 1982.
74. McCord, J.M. : Free radical and inflammation : Protection of synovial fluid by superoxide dismutase. Science, 185:pp.529-531, 1974.
75. 大韓病理學會 : 病理學(1), 高文社, pp.40-41, 1995.
76. Reddy, C.C., Tu, C.P.D., Burgess, J.R., Ho, C.Y., Scholz, R.W. and Massaro, E.J. Evidence for the occurrence of selenium-dependent glutathione peroxidase activity in rat liver microsome. Biochem. Res. Commun. 101 : 970-978, 1981.
77. Meister, A. : Selective modification of glutathione metabolism. Science. 220 : 427-477, 1983.
78. Little, C. and O'Brien, P.J. : An intracellular GSH-peroxidase with lipid peroxide substrate. Biochem. Biophys. Res. Comm., 31: pp. 145-150, 1968.