

HK-1001 약침이 흰쥐의 고지혈증에 미치는 영향

김지남 · 홍권의

대전대학교 한의과대학 침구학교실

The Effect of HK-1001 Pharmacopuncture on Hyperlipidemia Induced Rats

Kim Ji-Nam, Hong Kwon-Eui

Dept. of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Daejeon University

ABSTRACT

Objective&Methods The purpose of this study is to observe the effects of HK-1001 Pharmacopuncture at GB34 (Yangleungchean) on hyperlipidemia in rats. The author performed several experimental items to analyze the levels of various components and enzymes in serum, urine and liver, as well as the histological changes of liver and aorta.

Results

1. HK-1001 Pharmacopuncture infusion solution increased the cell viability rate, DPPH radical scavenging activity and HMG-CoA reductase inhibition rate in rat liver cells.
2. The levels of total cholesterol, free cholesterol, LDL-cholesterol, phospholipid in serum and AI(atherogenic index) were decreased, and the ratio of HDL to TCL (HDL/TCL) and the level of TG in serum were increased as compared with those of the control group.
3. In the HK-1001 group, serum GOT was significantly lower than those of the HG group and the saline group, and serum ALP was significantly higher than that of the HG group.
4. Hepatic GSH and catalase activities were significantly increased as compared with those of the saline group.

Conclusion From the above results, it is suggested that HK-1001 Pharmacopuncture at GB34 has a therapeutic effect on hyperlipidemia.

Key words *Hyperlipidemia, HK-1001, Pharmacopuncture, GB34(Yangleungchean)*

I. 서론

서구에서는 오래전부터 심혈관계 질환은 남성과 여성 모두에게 있어 중요한 사망 원인 중의 하나로 알려져 왔으며 최근 우리나라도 사망원인의 2위와 3위가 뇌혈관질환과 심장질환인 것으로 밝혀졌다^{1,2)}.

고지혈증은 혈중 콜레스테롤이 240mg/dL 이상인 고콜레스테롤혈증이나 중성지방이 많은 고중성지방증을 지칭하는 것으로, 지질의 농도가 비정상적으로 상승된 상태를 말한다³⁾.

현재 고지혈증 치료 약물은 주로 콜레스테롤의 합성을 억제한다든지 배설을 촉진하는 약으로, 이 계통의 약들之間 장애나 근육통, 발기부전 등의 부작용이 나타날 수 있는 단점을 지니고 있어, 최근 천연물에서의 치료제 개발에 많은 노력과 투자가 이루어지고 있다³⁾.

한의학에서 고지혈증은 주로 頭痛, 痺證, 胸悶, 心悸, 中風, 眩暈, 心暈, 胸痛 및 肝陽上亢 등의 범주로 痰濁, 火熱, 氣滯血瘀, 脾胃濕熱 등의 實證性 病因과 肝腎陰虛, 脾腎虧虛 등의 虛證性 病因에 기인하는 것으로 인식되고 있다^{4,5)}.

최근의 고지혈증의 연구로는 처방을 이용한 연구⁶⁻⁹⁾, 單味劑를 이용한 연구¹⁰⁻¹²⁾가 있었으나 한약복합제제를 이용한 약침 연구는 미흡한 실정이다.

이에 저자는 임상적으로 고지혈증의 치료에 효과가 있다고 알려진 海棠根, 桑白皮, 葛根, 柴胡로 이루어진 한약복합제 HK-1001 약침이 고지방 식이로 고지혈증을 유발한 흰쥐에 미치는 영향을 알아보기 위하여 약침액의 독성 및 효과를 실험하고, 양릉천에 약침을 시술한 후 흰쥐의 체중 및 장기의 무게 측정, 혈청, 뇨, 간내효소 및 조직학적 분석을 통해 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험

1. 재료

1) 동물

동물은 6주령의 수컷 Wistar rat(200±20g, 이하 흰쥐라 표기함)을 (주)중앙실험동물로부터 공급받아, 실험 적응기간 동안에는 일반 고형사료(항생제 무첨가, 삼양사료)를 공급하며 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

2) 약제

본 실험에 사용된 HK-1001은 대전대학교 부속 대전한방병원에서 구입하여 이용하였다. HK-1001의 구성은 다음과 같다(Table 1).

Table 1. Composition of HK-1001.

약재	생약명	용량(g)
해당근	Rosa Rugosa Radix	60
상백피	Mori Cortex	60
갈근	Puerariae Radix	40
시호	Bupleuri Radix	24
총량		184

2. 방법

1) 약침액의 제조

HK-1001의 약재를 분쇄하여 분말로 만들어, 삼각 flask에 넣고 증류수 500mL를 가하여 3시간 동안 shaking water bath에서 유출한 후 여과하였다. 여과액을 여과지로 3회 여과한 후, rotary evaporator에 감압농축하고 95% ethyl alcohol 30mL를 가하여, 실온에서 교반하였다. 침전물이 생성되면 여과하여 감압농축한 후, 다시 여과하였다. 이 여과액에 85% ethyl alcohol 30mL를 가하여 교반하고 침전물이 생성되면 여과하였다. 여과액에 75% ethyl alcohol 30mL를 가하고 교반하여 다시 여과하는 조작을 2회 반복하였다. 여과액 중의 ethyl alcohol성분을 rotary evaporator로 감압 제거하고, 남은 농축액이 20mL가 되게 하였다. 1N NaOH를 이용하여 농축액을 pH 6.8이 되도록 조절하고, 4℃에서 12시간 방치한 후, 침전물을 제거하기 위해 syringe filtering을 실시하였다. 여과된 농축액에 PBS를 첨가하여 1%로 희석하여 약침액으로 사용하였다.

2) 약침액의 세포독성 검사

정상 흰쥐의 간세포 1x10⁵cell/well에 5%, 1%, 0.5%의 HK-1001약침액을 처리한 후 MTT assay를 이용하여, 세포 생존률을 측정하였다.

3) 약침액의 DPPH 소거능 측정

1,1-Diphenyl-2-Picryl-Hydrazyl(DPPH, Sigma, USA) 80mg을 에탄올 50mL과 멸균 증류수 50mL를 첨가하여 녹였다. 96well에 180μl 씩 분주하고, 농도별 HK-1001 약침액을 첨가 하여 30분 동안 방치하였다. 517nm

로 O.D. 값을 측정하고, activity로 환산하였다.

4) 약침액의 cholesterol 생합성 저해활성 검사

흰 쥐에게 7일간 AIN-76A diet(Dyet INC., PA, USA)를 섭취시킨 후 간 내 HMG-CoA reductase를 추출 및 분리하여 5%, 1%, 2.5%, 0.1%의 HK-1001 약침액 또는 control로 사용한 DMSO 20 μ l를 첨가하고 효소 반응 시작과 동시에 340nm에서 5분간 흡광도 변화를 확인하였다.

5) 고지혈증 동물 모델

흰쥐에 alloxan(150mg/kg body weight)을 복강투여하고 일주일 뒤 혈액 내 총콜레스테롤 수치가 180-220mg/dl로 증가된 것을 확인한 후, 고지방식 사료인 AIN-76A diet를 4주간 매일 일정시간에 공급하여 고지혈증을 유발하였다¹⁰⁾. 사료는 4℃에서 보관하였다.

6) 취혈 및 약침처리

흰쥐 8마리씩을 한 군으로 하여 정상군(normal), 대조군(control), HG군(hand grasping), NP군(needle prick), saline군(saline injection), HK-1001약침군(HK-1001)의 6군으로 나누고, 骨度分寸法에 의거하여 흰쥐의 뒷다리에서 인체의 양릉천(GB34)에 상응하는 부위를 매 시술마다 좌우 교대로 취하였다.

정상군은 실험기간동안 일반 사료를 섭취하였으며, 정상군 이외의 모든 실험군의 흰쥐는 고지방식 사료를 섭취하였다. 대조군은 고지방식 섭취 이외에 아무런 처치도 하지 않았다. HG군은 약침처치와 같이 흰쥐를 잡았다 놓는 동작만 하고, 이외의 처치는 하지 않았다. Saline군은 양릉천 상응부위에 saline 0.2mL를 주입하였다. NP군은 양릉천 상응부위에 26 gauge 주사기를 0.5cm 정도 깊이로 자입하고 즉시 제거하였다. HK-1001 약침군은 양릉천 상응부위에 1%의 HK-1001 약침액 0.2mL를 주입하였다. HG, NP, saline주입, HK-1001약침 처치는 모두 alloxan투여 1주 이후부터 4주간 주 3회 시행하였다.

7) 고지혈증 평가

(1) 몸무게, 간무게 및 간비중 측정

실험 종료 시까지 1주일 간격으로 각 실험군의 흰쥐의 몸무게를 측정하여 기록하였다. 간 비중은 실험 종료 시, 흰쥐의 몸무게와 간 무게를 측정하여 Liver index를 계산하였다.

(2) 혈청 분석

실험 종료후, ethyl ether를 이용하여 흰쥐를 마취하고, 심장 채혈 법으로 채혈한 혈액에서 혈장을 분리하여, (주)이원 임상검사센터(대전, 한국)에 의뢰하여 혈청 중의 Total cholesterol, Free cholesterol, LDL, HDL cholesterol, 중성지방, 인지질, AST, ALT, LDH, ALP를 측정하였다.

(3) 동맥경화지수 판정

Atherosclerosis index는 혈청에서 측정된 Total cholesterol과 HDL cholesterol의 값을 이용하여 계산하였다.

Atherosclerosis index(AI) =

$$\frac{(\text{Total cholesterol} - \text{HDL cholesterol})}{\text{HDL cholesterol}}$$

(4) 뇨 분석

실험 종료 시, 각 실험군의 urine을 채취하여, glucose 및 pH를 uriscan 4 hemoghph(영동제약, 한국) 시험지를 사용하여 측정하고, 시험지의 기준 표를 참고하여 판정하였다.

(5) 간 내 효소 분석

① HMG-CoA reductase 활성 측정

HBSS를 이용하여 적출한 흰 쥐의 간에서 HMG-CoA reductase를 추출 및 분리한 후 1mL cuvette에 0.5mM phosphate buffer(pH 7.0)와 20 mM DTT 100 μ l를 분주하고, 3mM NADPH 100 μ l, 효소원 100 μ l를 첨가하였다. 37℃에서 10분간 preincubation을 실시하고 3mM HMG-CoA 100 μ l를 가하여 효소반응 시작과 동시에 340nm에서 5분간 흡광도 변화를 확인하였다.

② Glutathione, superoxide dismutase(SOD) and catalase activity

간조직의 일부를 취하여 여지로 혈액 및 이물질을 제거하고 Bansal 등¹⁴⁾의 방법에 의해 간 조직 1g에 4배의 150mM의 KCl을 가하여 homogenizer로 균질화하였다. 균질화한 조직을 600xg에서 10분간 원심분리하여 균질화되지 않은 조직 등을 제거한 후, 1000xg에서 30분간 원심분리하고 10,000xg에서 1시간 원심분리하여 mitochondrial fraction을 얻었다. 이 상등액을 105,000xg에서 1시간 원심분리 하

여 cytosolic fraction을 얻고, 그 침전물에 동일한 양의 0.1M potassium phosphate buffer를 가하여 현탁시켜 microsomal fraction을 얻었다. microsomal fraction은 glutathion의 함량과 MDA의 함량을 측정하였고 cytosolic fraction을 이용하여 SOD 생성저해 효과를 측정하였다. Mitochondrial fraction에서 Catalase의 활성을 측정하였다.

(6) 간의 조직학적 검사

간 조직을 절취하여, 10%의 formalin에 고정한다. gum-sucrose 용액에 24시간 동안 4℃에서 조직을 침수하고 액체질소로 급속 동결한 후 10μm의 두께로 박절한다. 100% propylene glycol용액에서 완전 탈수하고 60℃ oven에 있는 Sudan black B용액에서 염색 후 85% propylene glycol용액에서 감별한다. 증류수로 세척한 후, Nuclear fast red용액으로 핵 염색을 실시한 다음 다시 세척하고 수용성 봉입제로 봉입한다. 형광현미경(ECLIPSE E600, Nikon, Japan)으로 관찰한 후, 사진 촬영하고 ACT-1 program을 이용하여 분석하였다.

(7) 동맥의 조직학적 검사

동맥을 절취하여, 10%의 formalin에 고정한다. gum-sucrose용액에 24시간 동안 4℃에서 조직을 침수하고 액체질소로 급속 동결한 후 10μm의 두께로 박절한다. 100% propylene glycol용액에서 완전 탈수하고 60℃ oven에 있는 oil red O용액에서 염색한 후 85% propylene glycol용액에서 감별한다. 증류수로 세척한 후, 1% 희석 Harris' hematoxylin용액으로 감별 염색한 다음 다시 세척하고 수용성 봉입제로 봉입한다. 형광현미경(ECLIPSE E600, Nikon, Japan)으로 관찰한 후, 사진 촬영하고 ACT-1 program을 이용하여 분석하였다.

8) 통계처리

실험 결과는 평균 ± 표준편차로 표시하였고 SPSS(14.0 KO)통계프로그램의 ANOVA test를 이용하여 군간 평균을 비교하였으며 사후검정은 Scheffe's test를 이용하였다. 각 실험군의 결과를 비교하여 신뢰도 95%이상(p ≤ 0.05)일 때 유의한 것으로 판정하였다.

III. 성적

1. 약침액의 세포독성

약침액을 처리한 군의 세포 생존률이 control에 비하여 유의하게 증가하였으며, 약침액의 농도가 감소함에 따라 농도 의존적으로 감소하였다(Fig. 1).

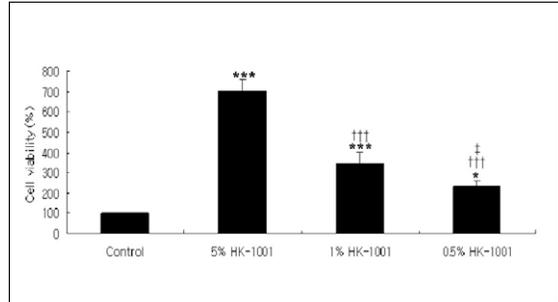


Fig. 1. Cell viability rate with various concentrations of H K-1001 HAS. Values represent the means ± SEM of 3 independent experiments. ***: p<0.001, *: p<0.05 compared to control. † † † :

2. 약침액의 DPPH소거능

모든 농도에서 DPPH소거능을 나타내었으며, HK-1001약침액의 DPPH소거능은 약침액의 농도가 감소함에 따라 농도 의존적으로 감소하였다(Fig. 2).

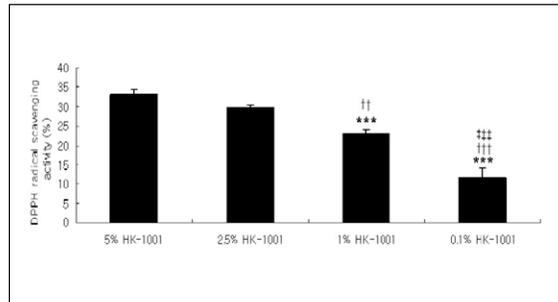


Fig. 2. Effect of various concentrations of HK-1001-HAS on DPPH radical scavenging activity. Values represent the means ± SEM of 3 independent experiments. ***: p<0.001 compared to 5% HK-1001 HAS. † † † :

3. 약침액의 HMG-CoA reductase 활성 억제
 HMG-CoA reductase의 활성이 control에 비하여 유의하게 억제되었으며, HK-1001약침액의 농도가 감소함에 따라 HMG-CoA reductase의 활성 억제는 증가하는 경향을 나타내었다(Fig. 3).

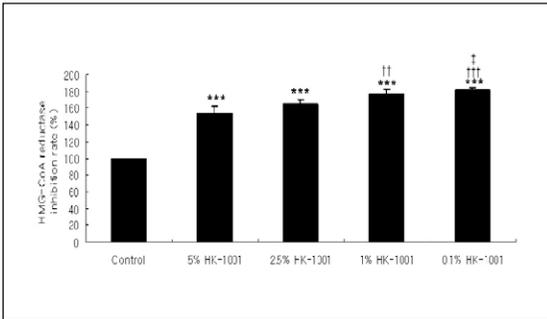


Fig. 3. Hepatic HMG-CoA reductase inhibition rate of various concentrations of HK-1001-HAS.
 ***: p<0.001 compared to control group.

2) 간 무게
 정상군에 비하여 대조군에서 간 무게가 유의하게 증가하였으며, HK-1001군에서 대조군에 비하여 간 무게가 감소하였으나, 통계적 유의성은 없었다(Fig. 5).

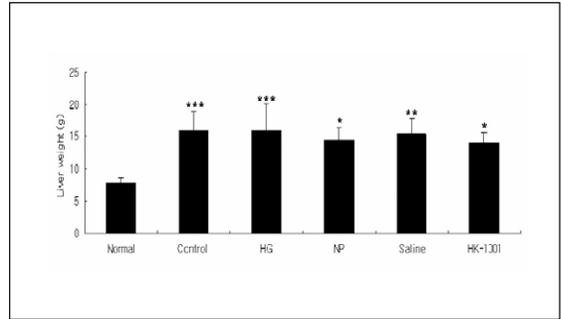


Fig. 5. Effect of HK-1001 HA at GB34 on liver weight in rats with hyperlipidemia.
 Values represent the mean±SD(n=8).
 *: p<0.05, **: p<0.01,
 ***: p<0.001 compared to normal group.

4. 몸무게, 간무게 및 간비중 측정

1) 몸무게

정상군에 비하여 대조군에서 몸무게가 유의하게 높게 나타났으며, HK-1001군에서 대조군에 비하여 낮은 몸무게를 나타내었다(Fig. 4).

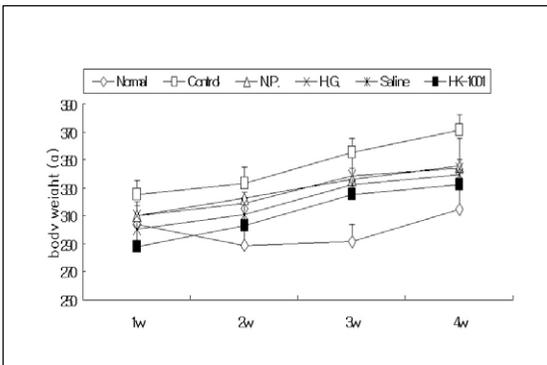


Fig. 4. Effect of HK-1001 HA at GB34 on body weight in rats with hyperlipidemia.

3) 간 비중

정상군에 비하여 대조군에서 간 비중이 유의하게 증가하였으며, HK-1001군에서 대조군에 비하여 간 비중이 감소하였으나, 통계적 유의성은 없었다(Fig. 6).

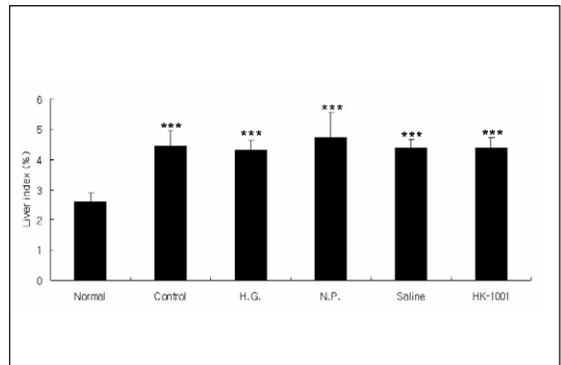


Fig. 6. Effect of HK-1001 HA at GB34 on the liver index in rats with hyperlipidemia.
 Values represent the mean±SD(n=8).
 **: p<0.001 compared to normal group.

5. 혈청 분석

1) 지질성분

각 흰쥐의 혈청에서 지질성분인 Total cholesterol, Free cholesterol, HDL, LDL, Triglyceride 및 Phospholipid를 측정하였다(Table 2).

Table 2. Effect of HK-1001 HA at GB34 on various components in serum of rats with

Parameter	Normal	Control	H.G.	N.P.	Saline	HK-1001
Total cholesterol	59.2 ±7.694	214.4 ±23.093	125 ±13.398	105.6 ±9.788	130.6 ±38.102	117 ±17.103
Free cholesterol	3.8 ±2.775	19 ±3.162	18.6 ±7.57	11 ±2	16 ±4.637	15.8 ±4.764
HDL cholesterol	40.6 ±5.497	84.2 ±5.11	73.2 ±7.121	67.92 ±6.736	66.724 ±8.75	72.46 ±10.332
LDL cholesterol	8 ±1.871	34.4 ±3.362	32.75 ±3.961	24.8 ±4.324	32 ±2.345	33.6 ±6.066
Triglyceride	25.2 ±6.943	14.6 ±4.561	27.8 ±8.04	26.2 ±7.497	26 ±5.148	19 ±3.082
Phospholipid	95.6 ±6.465	137.2 ±15.32	133 ±14.265	118.8 ±7.95	121.8 ±9.783	132.6 ±15.076

Data were expressed as mean±SD (n=5)

(1) Total cholesterol

정상군에 비하여 대조군에서 혈중 Total cholesterol이 유의하게 증가하였으며, HG군, NP군, saline군, HK-1001군에서 대조군에 비하여 유의하게 감소하였다.

(2) Free cholesterol

정상군에 비하여 대조군에서 혈중 Free cholesterol이 유의하게 증가하였으며 NP군, saline군 및 HK-1001군에서 대조군에 비해 감소하였으나 통계적 유의성은 나타나지 않았다.

(3) HDL cholesterol

정상군에 비하여 모든 실험군에서 혈중 HDL cholesterol이 유의하게 증가하였다.

(4) HDL/Total cholesterol

정상군에 비하여 대조군에서 혈중 HDL/Total cholesterol이 유의하게 감소하였으며, HG군, NP군, saline군 및 HK-1001군에서 대조군에 비해 유의하게 증가하였다.

(5) LDL cholesterol

정상군에 비하여 대조군에서 혈중 LDL cholesterol이 유의하게 증가하였고, 대조군에 비하여 HG군, NP군, saline군 및 HK-1001군에서 LDL cholesterol이 감소하였으나 HG군, saline군 및 HK-1001군에서는 통계적 유의성은 없었다.

(6) Triglyceride

정상군에 비하여 대조군에서 혈중 Triglyceride가 감소하였으며, HG군, NP군, saline군 및 HK-1001군에서 대조군에 비해 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다.

(7) Phospholipid

정상군에 비하여 대조군에서 혈중 Phospholipid가 유의하게 증가하였으며, NP군, saline군 및 HK-1001군에서 대조군에 비해 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다.

(8) 동맥경화지수(atherogenic index; AI)

정상군에 비하여 대조군에서 동맥경화지수가 유의하게 증가하였으며, NP군 및 HK-1001군에서 대조군에 비하여 감소하였으나, HK-1001군에서는 통계적 유의성은 없었다.

2) 효소 활성

각 흰쥐의 혈청으로부터 ALP, AST, ALT 및 LDH 농도를 측정하였다(Table 3).

Table 3. Effect of HK-1001 HA at GB34 on various enzymes in serum of rats with hyperlipidemia.

Parameter	Normal	Control	H.G.	N.P.	Saline	HK-1001
ALP	353.6 ±76.402	322.6 ±16.682	267.2 ±19.33	306.6 ±34.428	340.4 ±39.539	373 ±47.88
AST	344.2 ±81.3	367.6 ±110.19	392.8 ±38.713	347.6 ±65.854	426.8 ±51.183	219 ±20.285
ALT	68 ±12.43	90.6 ±19.45	150.6 ±43.24	121.2 ±35.39	148.8 ±49.93	113.2 ±55.859
LDH	1908 ±167.22	2206.8 ±199.68	2263 ±210.66	2372 ±125.11	2120.4 ±276.26	2352.2 ±295.709

(1) Alkaline phosphatase(ALP)

HK-1001군의 혈중 ALP level은 HG군에 비하여 유의한 증가를 나타냈다.

(2) AST

정상군에 비하여 대조군, HG군 및 saline군에서 혈중 AST가 약간 증가하였으나 통계적 유의성은 없었으며, HK-1001군의 혈중 AST는 HG군 및 saline군에 비하여 유의하게 감소하였다.

(3) ALT

정상군에 비하여 대조군, HG군, NP군 및 saline군에서 혈중 ALT가 증가하였으나 통계적 유의성은 없었으며, HK-1001군의 혈중 ALT는 HG군, NP군 및 saline군에 비해 감소하였으나, 통계적 유의성은 없었다.

(4) LDH

정상군에 비하여 다른 군에서는 혈중 LDH가 증가하였으나, 통계적으로 유의한 차이가 나타나지 않았다.

6. 뇨 분석

정상군과 Saline군, HK-1001군에서는 glucose에 대하여 음성반응을 나타내었으나 대조군, HG군 및 NP군에서는 1mg/mL이하의 양성반응을 나타내었다. 대조군의 urine pH는 7로 정상군의 9에 비하여 낮게 나타났으며, HK-1001군의 urine pH는 7.5로 나타났다(Table 4).

7. 간 내 효소 분석

간 조직으로부터 HMG-CoA reductase와 SOD activity, glutathione 농도, catalase activity를 측정하였다(Table 5).

1) HMG-CoA reductase activity

정상군에 비하여 대조군, HG군, NP군 및 saline군에서 HMG-CoA reductase activity가 유의하게 증가하였으며, HK-1001군의 간내 HMG-CoA reductase activity는 대조군 및 saline군에 비해 유의하게 감소하였다.

Table 4. Effect of HK-1001 HA at GB34 on urine glucose and pH in rats with hyperlipidemia.

Parameter	Normal	Control	H.G.	N.P.	Saline	H K-1001
glucose	-	±	±	±	-	-
pH	9	7	8.5	9	9	7.5

Data were expressed as mean±SD(n=3). Glucose; ± :1, +:2.5, ++:5, +++:10, ++++:20(mg/mL) ≤

Table 5. Effect of HK-1001 HA at GB34 on various hepatic enzymes in rats with hyperlipidemia.

Parameter	Normal	Control	H.G.	N.P.	Saline	HK-1001
HMG-CoA reductase activity(%)	54.321 ±5.685	91.124 ±5.685	85.185 ±7.407	79.012 ±8.553	94.443 ±1.852	65.432 ±5.658
SOD activity(%)	92.522 ±6.148	93.439 ±6.432	97.137 ±5.687	91.02 ±5.928	101.835 ±4.96	69.3085 ±7.997
Glutathione Conc. (umol/L)	155.19 4±15.416	118.931±1 0.418	134.778 ±11.338	132.125 ±14.108	112.389 ±8.361	155.222 ±8.105
Catalase activity (U/mL)	176.26 ±0.087	126.02 ±3.007	141.267 ±0.785	138.207± 4.627	128.877 ±0.894	146.62 ±1.444

Data were expressed as mean±SD (n=5).

2) GSH

정상군에 비하여 saline군에서 간내 GSH activity가 유의하게 감소하였으며, HK-1001군의 간내 GSH activity는 saline군에 비하여 유의하게 증가하였다.

3) SOD

정상군에 비하여 대조군, HG군, NP군 및 saline군에서 간내 GSH activity에 유의한 변화가 없었으며, HK-1001군의 간내 SOD activity는 대조군, HG군, NP군 및 saline군에 비하여 유의하게 감소하였다.

4) Catalase

정상군에 비하여 다른 모든 실험군에서 간내 Catalase activity가 유의하게 감소하였으며, HK-1001군의 간내 Catalase activity는 대조군, HG군, NP군 및 saline군에 비하여 유의하게 증가하였다.

8. 조직학적 분석

1) 간조직

정상군에 비하여 대조군에서 흑갈색으로 착색된 부분이 조직절편 전체에서 관찰되었으며, HK-1001군의 간조직에서는 흑갈색의 착색이 대조군에 비하여 감소하였다(Fig. 7).

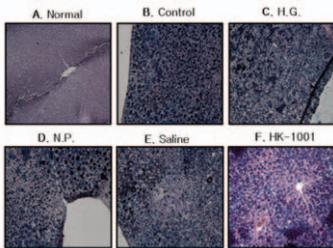


Fig. 7. Histological analysis of liver in rats with hyperlipidemia(Oil red O stain).

hyperlipidemia(SBB stain).

2) 대동맥

정상군에 비하여 대조군에서 맥관 주변에 붉은색 착색이 유의하게 증가하였으며, HK-1001군에서는 붉은색의 착색이 대조군에 비하여 감소하였다(Fig. 8).

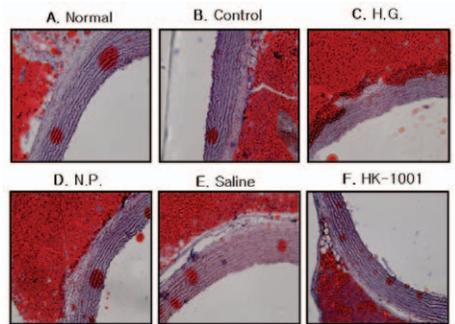


Fig. 8. Histological analysis of aorta in rats with hyperlipidemia(SBB stain).

hyperlipidemia(Oil red O stain).

IV. 고찰

고지혈증은 혈중 콜레스테롤이 240mg/dL이상인 고콜레스테롤혈증이나 중성지방이 많은 고중성지방증을 지칭하며, 지질의 농도가 비정상적으로 상승된 상태를 말한다²⁾. 혈청지질의 증가는 혈액의 점도와 혈소판 응집력을 증가시켜 혈액순환장애를 유발함으로써 고혈압, 동맥경화증, 뇌졸중, 허혈성심질환 등의 주요한 원인이 된다³⁾.

고지혈증의 임상적 의의는 동맥경화증, 췌장염, 피부지방

침착 등의 발생빈도가 높아지는 것인데, 특히 동맥경화증의 위험인자로서 중요한 의미를 갖는다¹⁶⁾.

이에 대한 치료는 식이요법이 기본이 되며, 중증의 경우에는 약물치료 등을 병행하여야한다. 3-6개월간의 식이요법, 운동, 금연 등의 비약물요법에도 불구하고 LDL cholesterol의 농도가 190mg/dL 이상이거나, 심혈관 질환의 위험인자가 2가지 이상이면서 LDL cholesterol의 농도가 160mg/dL 이상인 경우 약물요법을 고려해야한다¹⁷⁾.

韓醫學에서는 고지혈증이란 병명은 없으나 《靈樞衛氣失常論》¹⁸⁾에서 “肥人多有膏, 有肉”라고 하여 지질과의 연관성이 있다고 보고 있으며, 고지혈증은 고량후미의 과식과 과음 등으로 臟腑轉化不及, 臟腑機能失調, 飲食不歸正化, 脂質轉化障礙 등을 일으켜 발병하게 된다고 보았다. 지질은 본래 정상영양물질인데 단 過剩이면 해가 되어 痰濁의 병이 된다고 보았으며, 이를 종합하면 고지혈증은 正虛邪實에 속하는데 正虛則臟腑氣血虛損인데, 그 증점은 肝脾腎에 있으며 邪實은 痰濁 濕濁과 瘀血이 추가 되는 것이다¹⁹⁾.

약침요법은 동서의결합 신요법의 일종으로 혈위주사요법이라고도 하며, 경락학설과 약물요법에 근거하여 환자의 질병에 상응하는 수혈과 약물을 선택하고 약침액을 수혈내에 주입하여 수혈과 약물이 질병에 대해 종합적인 작용을 발휘하여 질병을 치료하는 방법인데, 약물의 흡수가 빠르고, 경구투여가 불가능한 경우에 처치할 수 있으며, 환처에 처치할 수 있는 등의 장점이 있다^{20,21)}.

양릉전은 筋會, 陽之陵泉이라고도 하며, 足少陽膽經의 合土穴이며 八會穴 중 筋會穴이다. 疎經絡濕滯, 活血通脈의 효능이 있어 瘀血, 痰飲으로 인해 발생한다고 여겨지는 고지혈증의 치료에 임상적으로 활용할 수 있다²¹⁻²³⁾.

한약복합제 HK-1001은 海棠根, 桑白皮, 葛根, 柴胡로 이루어진 처방이다. 海棠根은 장미과 매과의 뿌리로 理氣解鬱하고 和血散瘀하는 효능이 있어서 肝胃氣痛, 유주성 관절풍습통, 토혈과 각혈, 월경불순, 적백대하, 이질, 화농성 유선염, 종독을 치료하는 약재이다. 桑白皮는 뽕나무과 桑의 코르크층을 제거한 뿌리껍질로 肺氣를 瀉下하고 천식을 억제하며 水를 배출시키고 부기를 가라앉히는 효능이 있어서 肺熱咳嗽, 토혈, 水腫, 脚氣, 小便不利에 응용된다. 葛根은 콩과 菍의 덩이뿌리로 升陽解肌, 透疹止瀉, 除煩止渴하는 효능이 있어 장티푸스, 급성열병으로 인한 두통과 항강, 열이 나는 것과 목이 말라서 물이 자주 먹고 싶은 증상, 설사, 이질, 斑疹不透, 고혈압, 협심증, 이통을 치료하는 본초이다. 柴胡는 미나리아재비과 北柴胡, 狹葉柴胡 등의 뿌리로 표리를 조화시키고 풀어주며 肝氣를 통하게 하고 陽을 상승

시키는 효능이 있어서 寒熱往來, 胸滿脇痛, 口苦, 耳聾, 頭痛目眩, 말라리아, 설사탈항, 월경불순, 자궁하수를 치료한다^{24,25)}.

이에 저자는 임상적으로 고지혈증의 치료에 효과가 있다고 알려진 海棠根, 桑白皮, 葛根, 柴胡로 이루어진 한약복합제 HK-1001 약침이 고지방 식이로 고지혈증을 유발한 흰쥐에 미치는 영향을 알아보기 위하여 약침액의 독성 및 효과를 실험하고, 양릉전에 약침을 시술한 후에 흰쥐의 체중 및 장기의 무게를 측정하였으며, 혈청, 뇨, 간내효소 및 조직학적 분석을 통해 관찰하였다.

정상 흰쥐의 간세포에 HK-1001 약침액을 여러 농도로 처리한 후 세포 생존률을 측정한 결과 세포 생존률이 control에 비하여 유의하게 증가하였고 약침액의 농도가 감소함에 따라 농도 의존적으로 감소하여 HK-1001 약침액의 세포 증식 효과를 알 수 있었다(Fig. 1).

여러 농도의 HK-1001 약침액으로 DPPH 소거능을 측정한 결과, 모든 농도에서 DPPH 소거능을 나타내었다. DPPH 소거능이 크면 높은 항산화 활성을 기대할 수 있으며, 항산화 능력은 항고지혈능과 관련이 있다고 알려져 있다²⁶⁾. HK-1001 약침액의 DPPH 소거능은 약침액의 농도가 감소함에 따라 농도 의존적으로 감소하여 HK-1001 약침액이 항산화 능력과 항고지혈능이 있음을 알 수 있었다(Fig. 2).

HMG-CoA reductase는 cholesterol 대사를 조절하는 주요 효소로 알려져 있으며, HMG-CoA reductase 활성 억제제는 고cholesterol 혈증과 동맥경화를 예방·치료하는데 유용한 것으로 보고되어 있다^{27,28)}. 본 실험에서 고지방식을 섭취한 흰쥐의 간에서 HMG-CoA reductase를 분리하여 HK-1001 약침액을 처리한 결과, HMG-CoA reductase의 활성이 control에 비하여 유의하게 억제되었다. HK-1001 약침액의 농도가 감소함에 따라 HMG-CoA reductase의 활성 억제는 증가하는 경향을 나타내었다(Fig. 3). 따라서 HK-1001 약침액은 고cholesterol 혈증과 동맥경화를 예방·치료하는 효과가 있을 것으로 사료된다.

체중의 변화는 혈청지질에 영향을 미쳐 일부 보고에 의하면 체중감소군은 Triglyceride, Total cholesterol, LDL cholesterol이 감소하는 경향을 보여주고 있다⁹⁾. 본 실험에서 매주 흰쥐의 몸무게를 측정한 결과 정상군에 비하여 대조군에서 유의하게 높은 몸무게를 나타내었으며, HK-1001 군에서 대조군에 비하여 낮은 몸무게를 나타내었다(Fig. 4). 실험종료 후 흰쥐의 간을 적출하여 무게를 측정한 결과 정상군에 비하여 대조군에서 간무게가 유의하게 증가하였다. HK-1001 군에서 대조군에 비하여 간무게가 감소

하였으나, 통계적 유의성은 없었다(Fig. 5). 실험종료 후 흰쥐의 간비중을 계산한 결과 정상군에 비하여 대조군에서 유의하게 증가하였다. HK-1001군에서 대조군에 비하여 간비중이 감소하였으나, 통계적 유의성은 없었다(Fig. 6). 이상의 결과에서 HK-1001약침이 고지혈증 유발로 인한 체중 증가, 간무게의 증가 그리고 간비중의 증가의 억제에 유효하다고 이해 할 수 있었다.

혈중의 Total cholesterol농도는 체내 지질 대사 이상의 지표로서 중요하며, 혈액 내에 필요이상 많이 존재하게 되면 고지혈증이 유발되고 죽상동맥경화증의 주요 원인이 된다^{8,29)}. 본 실험에서 혈중 Total cholesterol level을 측정할 결과 정상군에 비하여 대조군에서 유의하게 증가하였으며, HG군, NP군, saline군, HK-1001군에서 대조군에 비하여 유의하게 감소하였고, Free cholesterol level은 정상군에 비하여 대조군에서 유의하게 증가하였으며, NP군, saline군 및 HK-1001군에서 대조군에 비하여 감소하였으나 통계적 유의성은 나타나지 않았다. 이상의 결과에서 HK-1001약침액이 고지혈증으로 유발된 고콜레스테롤혈증의 억제에 유의한 효과를 나타낸 것으로 사료된다.

임상에서 HDL이 낮아진다는 것은 동맥경화증을 일으키기 쉬운 상태가 되는 것으로, 고지혈증과 비만 환자에게 낮아지고, 유전적으로 장수자들은 HDL이 높은 것으로 보고되고 있다³⁰⁾. 본 실험에서 혈중 HDL cholesterol level을 측정할 결과 정상군에 비하여 모든 실험군에서 혈중 HDL cholesterol이 유의하게 증가하였고, Total cholesterol에 대한 HDL cholesterol의 비를 측정할 결과 정상군에 비하여 대조군에서 유의하게 감소하였으며, HG군, NP군, saline군 및 HK-1001군에서 대조군에 비하여 혈중 HDL/Total cholesterol이 유의하게 증가하였다.

LDL은 혈장내 60-70%의 cholesterol을 운반하고 있으며, small dense LDL입자를 가지는 경우가 large buoyant LDL입자를 많이 가지는 경우보다 3배 더 높은 관상동맥질환 발병률을 보이고, 혈중 농도가 100mg/dL 이상인 경우 관상동맥 질환 위험률이 7배 이상 증가하는 것으로 보고되고 있다²³⁾. 본 실험에서 혈중 LDL cholesterol level을 측정할 결과 정상군에 비하여 대조군에서 의하게 증가하였으며, 대조군에 비하여 HG군, saline군 및 HK-1001군에서 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다.

관상동맥질환 환자들에서 관찰되는 이상지혈증은 실제 고cholesterol혈증 단독형태보다는 cholesterol과 Triglyceride가 모두 증가된 "혼합형 고지혈증"이 가장 흔한 형태이다²²⁾. 혈중 Triglyceride농도는 지방섭취량, 장관

의 흡수, 간장의 합성 및 분비, 지방조직에서의 흡수 및 저장 등 여러 가지 조건에 따라 달라진다³¹⁾. 고Triglyceride 혈증인 경우 단독으로는 관상동맥의 위험인자는 아니고 LDL의 상승, HDL의 저하와 동반된 지질 이상에 의한 이차적인 동반현상에 의해 발증한다고 보고되고 있다³⁴⁾. 본 실험에서 Triglyceride level을 측정할 결과 정상군에 비하여 대조군에서 혈중 Triglyceride가 감소하였으며, HG군, NP군, saline군 및 HK-1001군에서 대조군에 비하여 혈중 Triglyceride가 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다. 고cholesterol식이 처치로 혈청 Triglyceride함량의 감소를 보인 결과는 노 등^{35,36)} 및 김 등³⁷⁾의 실험에서 1, 2, 3주에 대조군에서의 Triglyceride가 감소한 것과 일치하나, 이에 대해서는 추후 계속 검토하여야 한다고 생각된다.

동맥경화증에 있어서의 Phospholipid의 역할은 cholesterol등의 용해도를 높여서 동맥벽에 지질침착을 억제시키는, 항동맥경화인자의 하나이므로, Total Phospholipid/Total cholesterol比의 감소는 동맥경화 촉진의 지표로 이용된다³⁰⁾. 본 실험에서 Phospholipid level을 측정할 결과 정상군에 비하여 대조군에서 유의하게 증가하였으며, NP군, saline군 및 HK-1001군에서 대조군에 비하여 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다.

혈청 Total cholesterol과 HDL cholesterol의 값을 이용하여 동맥경화지수를 계산한 결과 정상군에 비하여 대조군에서 동맥경화지수가 유의하게 증가하였으며, NP군 및 HK-1001군에서 대조군에 비하여 감소하였으나, HK-1001군에서는 통계적 유의성은 없었다.

이상의 혈청분석 결과에 의하면 HK-1001약침이 고지혈증의 유발로 인해 증가하는 Total cholesterol, Free cholesterol, LDL cholesterol, Phospholipid, AI의 억제에 효과적이라고 사료되며, Triglyceride의 증가는 다른 지표들의 하강으로 인해 고지혈증의 악화로 판단하긴 어렵다고 생각된다.

혈청 중 ALP의 증가는 주로 골질환, 간·담도질환, 임신, 악성종양 등에서 볼 수 있다^{29,30)}. 흰쥐의 혈중 ALP level을 측정할 결과 HK-1001군의 혈중 ALP level은 HG군에 비하여 유의하게 증가하였다.

AST와 ALT는 간이나 심장 등에서 다량 존재하여, 간세포가 상해되면 혈중으로 다량 逸脫하여 혈청 중의 농도가 현저하게 상승한다. 간세포 상해나 괴사의 정도와 AST·ALT의 상승도 사이에는 상관성이 있는데, ALT와의 상관성이 AST보다 높다³³⁾. 본 실험에서 혈중 AST와 ALT level을 측정할 결과, HK-1001군의 혈중 AST는 HG군

및 saline군에 비하여 유의하게 감소하였고, HK-1001군의 혈중 ALT는 HG군, NP군 및 saline군에 비하여 감소하였으나, 통계적으로 유의하지 않았다.

Lactic dehydrogenase(LDH)는 lactate와 pyruvate 간의 가역성 산화 반응을 촉매 하는 효소로 심장이나 간질 환이나 혈액 및 신장질환 등 각종 질환에서 그 활성이 상승된다³⁰⁾. 본 실험에서 혈중 LDH level을 측정된 결과 정상군에 비하여 다른 군에서는 혈중 LDH가 유의하게 증가하였으나, 통계적으로 유의한 차이가 나타나지 않았다.

이상의 효소 활성 분석결과에 의하면 HK-1001군이 다른 군에 비해 간보호 효과가 있다고 사료된다.

흰쥐의 urine에서 glucose 및 pH를 측정된 결과 정상군에서는 glucose에 대하여 음성반응을 나타내었으나 대조군, HG군 및 NP군에서는 1mg/mL이하의 양성반응을 나타내었으며 Saline군과 HK-1001군에서는 음성반응을 나타내었다. 대조군의 urine pH는 7로 정상군의 9에 비하여 낮게 나타났고 HK-1001군의 urine pH는 7.5로 나타났 다(Table 4).

HMG-CoA reductase activity를 측정된 결과, 정상군에 비해 대조군, HG군, NP군 및 saline군에서 유의하게 증가하였고, HK-1001군의 HMG-CoA reductase activity는 대조군 및 saline군에 비해 유의하게 감소하였다.

Glutathione peroxidase는 glutathione을 산화시키는 과정에서 hydrogen peroxidase나 lipid peroxidase 등을 제거하는 효소이다³⁸⁾. 본 실험에서 GSH level을 측정된 결과, 정상군에 비하여 saline군에서 유의하게 감소하였고 HK-1001군의 GSH activity는 saline군에 비하여 유의하게 증가하였다.

SOD는 활성산소 scavenger로서 산소의 대사과정에서 가장 먼저 생성되는 superoxide anion radical($\cdot O_2^-$)을 제거하는 효소로 2분자의 O_2^- 를 반응시켜 O_2 와 H_2O_2 로 변화시킨다³⁹⁾. 흰쥐의 간에서 SOD activity를 측정된 결과, HK-1001군의 간내 SOD activity는 대조군, HG군, NP군 및 saline군에 비하여 유의하게 감소하였다.

Catalase는 세포내에서 대사 산물인 H_2O_2 를 인체에 무해한 H_2O 와 O_2 로 분해하는 세포방어 제 2항산화효소로 생체에 유해한 활성산소를 보다 효율적으로 제거하는 효소이다⁴⁰⁾. 흰쥐의 간에서 Catalase activity를 측정된 결과, 정상군에 비하여 다른 모든 실험군에서 간내 Catalase activity가 유의하게 감소하였고, HK-1001군의 간내 Catalase activity는 대조군, HG군, NP군 및 saline군에 비하여 유의하게 증가하였다.

이상의 결과에서 HK-1001약침액의 유효한 항산화능력을 확인할 수 있었다.

흰쥐의 간조직을 염색한 결과 대조군에서 흑갈색으로 착색된 부분이 조직절편 전체에서 관찰되었고 HK-1001군의 간조직에서는 흑갈색의 착색이 대조군에 비하여 감소하였다(Fig. 7). 또한 흰쥐의 대동맥 절편을 염색한 결과 대조군에서 맥관 주변에 붉은색 착색이 현저히 증가하였고, HK-1001군에서는 붉은색의 착색이 대조군에 비하여 감소하였다(Fig. 8). 조직학적 분석에서 HK-1001약침군이 대조군에 비해 정상군에 가까운 소견을 보였는데, 이는 HK-1001약침이 고지혈증으로 인한 간조직 손상 억제 효과와 동맥경화 억제 효과가 있는 것으로 사료된다.

이상의 결과에서 한약복합제인 HK-1001약침은 고지방 사료로 고지혈증을 유발시킨 흰쥐의 고지혈증의 치료에 효과가 있는 것으로 사료되며, 추후 고지혈증 질환에 임상적인 응용 및 검토가 필요하리라 사료된다.

V. 결론

양릉천(GB34)에 시술한 HK-1001약침이 고지방 식이로 유발된 흰쥐의 고지혈증에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 혈청, 뇨, 간내 효소 분석 및 조직학적 분석을 통해 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. HK-1001약침액은 유효한 DPPH소거능과 HMG-CoA reductase효소 저해 효능을 나타내었다.

2. HK-1001약침군에서 대조군에 비해 혈청내 Total cholesterol, Free cholesterol, LDL-cholesterol, Phospholipid, AI가 감소하였고, HDL/Total cholesterol, TG가 증가하였다.

3. HK-1001약침군의 혈청 GOT는 HG군 및 saline군에 비해 유의하게 감소하였고, 혈청 ALP는 HG군에 비해 유의하게 증가하였다.

4. HK-1001약침군에서 대조군 및 saline군에 비해 간내 GSH activity와 catalase activity가 유의하게 증가하였다.

VI. 참고 문헌

1. Korea National Statistical Office. Statistics of Death Cause. 2004. Available from: URL:http://www.kosis.kr/domestic/theme/do01_index.jsp
2. 김효수. 고지혈증과 죽상경화증: 고지혈증의 관리 및 치료. KMA Congress. 2003;8-18.
3. 김상현. 이상지질혈증의 최신진료지침. 한국지질동맥경화학회 연수강좌. 2006;250-64.
4. 陸紀宏. 試論中醫辨治高脂血症. 遼寧中醫雜誌. 1991; 18(2):1-3.
5. 陳文塏. 高脂血症的中醫治療. 中國古籍出版社. 1988:1-37.
6. 김병철. 丹蔘飲이 高脂血症에 미치는 影響. 大韓韓方內科學會誌. 2000;21(1):126-34.
7. 이원구, 이용구, 남궁옥, 김동희. 淸神導痰湯이 食餌性 高脂血症 動物 病態에 미치는 影響. 대전대학교 한의학연구소 논문집. 2004;13(2):109-23.
8. 김정현. 除濕順氣湯이 高脂血症 病態 모델에 미치는 影響. 대한한방내과학회지. 2006;27(1):16-26.
9. 이은주, 강상렬, 권형수, 금현수, 강승준, 박치상, 박창국. 淸上鑷痛湯이 고지혈증에 미치는 영향. 大韓韓方內科學會誌. 2000;21(3):409-16.
10. 박희준, 남정환, 정현주, 이명선, 이정태, 정민화, 최종원. 고지방 식이로 유도된 비만 흰쥐에서 해당근에서 분리된 Euscaphic Acid 및 Tormentic Acid의 효과. 한국생약학회지. 2005;36(4):324-31.
11. 홍성희, 채희열, 김태명, 이남진, 김동규, 조정희, 박정휘, 김윤배, 강종구, 황석연. 고지혈증 토끼에서 상백피 에탄올추출물의 동맥경화 개선효과. 한국실험동물학회지. 2005;21(3):273-9.
12. 이정숙, 이경희, 정재홍. 갈근추출물이 고지방식을 섭취한 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지. 1999;28(1):218-24.
13. Xie W, Wang W, Su H, Xing D, Cai G, Du L. Hypolipidemic mechanisms of Ananascomosus L. leaves in mice: different from fibrates but similar to statins. J pharmacol Sci. 2007;103:267-74.
14. Bansal VS, Kanfer JN. The phospholipid-N-methyltransferase of rat brain microsomes. Biochim Biophys Acta. 1985;836(1):73-9.
15. 陣貴延. 實用中西醫結合診斷治療學. 서울: 一中社. 1992:689-91.
16. 杜鎬京. 東醫腎系學(下). 서울: 東洋醫學研究院. 1991:995-1005.
17. 신현호. 고지혈증의 약물요법. 한국지질학회 제1차 동맥경화와 고지혈증 Workshop. 1994:41-4.
18. 楊維傑. 黃帝內經靈樞經釋. 서울: 일증사. 1991:296, 397, 416, 611-2.
19. 鄭遇悅, 安圭錫. 韓方臨床病理學. 初版. 서울: 永林社. 1998:545.
20. 대한약침학회. 약침제재와 임상응용. 서울: 대한약침학회. 1997:1-5.
21. 임윤경, 김준표, 김태한. 대학경혈학 각론. 대전: 오비기획. 2005:2783-6.
22. 전국한의과대학 침구경혈학교실. 침구학. 서울: 집문당. 2001:648-9, 1457-67.
23. 안점우, 유윤조, 김정연. 족삼리와 양릉천의 침, 전침과 경혈단위 전침기구 자극이 혈중 Gastrin 농도에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2004;21(3):179-91.
24. 중앙대사전 편찬위원회. 완역 중앙대사전. 서울: 정담. 1997:33-40, 1254-6, 2158-60, 2622-33.
25. 전국한의과대학 본초학교실. 본초학. 서울: 영림사. 2000:148-50, 364-5, 484-5.
26. 이경민, 서정철, 한상원. 黃耆藥液의 NO, DPPH 消去 및 IL-4 抑制效果. 대한침구학회지. 2003;20(2):184-94.
27. LEE MK, Moon SS, Lee SE, Bok SH, Jeong TS, Park YB, Choi MS. Naringenin 7-Ocetyl ether as inhibitor of HMG-CoA reductase and modulator of plasma and hepatic lipids in high cholesterol-fed rats. Bioorganic and medicinal chemistry. 2003;11:393-8.
28. Bocan TM, Mueller SB, Brown EQ, Lee P, Bocan MJ, Rea T, Pape ME. HMG-CoA reductase and ACAT inhibitors act synergistically to lower plasma cholesterol and limit atherosclerotic lesion development in the cholesterol-fed rabbit. Atherosclerosis. 1998;139:21-30.
29. Martin MJ. Serum cholesterol, blood pressure, and mortality: implications from a cohort of 361662 men. Lancet. 1986;2:933-9.

30. 이삼열, 정윤섭, 권오녕, 손경순. 임상병리검사법. 서울: 연세대학교 출판부. 2001:273-6, 281-3, 303-15.
31. Griffin BA, Freeman DJ, Tait GW, Thomson J, Caslake MJ, Packard CJ, Shepherd J. Role of plasma triglyceride in the regulation of plasma lowdensity lipoprotein(LDL)subfractions: relative contribution of small, dense LDL to coronary heart disease risk. *Atherosclerosis*. 1994;106:241-53.
32. 윤건호, 손호영. 고지혈증 치료의 최신지견. 가정의학회지. 2000;21(5):31-6.
33. 이귀녕, 권오현. 임상병리파일. 서울: 의학문화사. 2003:196-200.
34. Anber V, Griffin BA, McConnel M, Packard CJ, Shepherd J. Role of plasma Triglyceride in the regulation of plasma lowdensity lipoprotein(LDL) subfractions: relative contribution of small, dense LDL to coronary heart disease risk. *Atherosclerosis*. 1994;106:241-53.
35. 노환성, 김운자, 박건구, 조영환, 박형섭. 고지혈증 동물 모델 설정을 위한 식이처방의 실험적 연구. 약제학회지. 1994;24(4):297-300.
36. 노환성, 고우경, 김운자, 박건구, 조영환, 박형섭. 고지혈증 랫트를 이용한 수종 전통 한약제의 항고지혈 효과. 임상약학회지. 1995;5(2):61-9.
37. 김남재, 정은아, 김동현, 이상인. 한방약물로부터 항고지혈증 치료약물개발(2)-수종 한약제의 항고지혈증 효과, 생약학회지. 2000;31(2):190-5.
38. Ozturk O, Gumuslu S. Changes in glucose-6-phosphate dehydrogenase, copper, zinc-superoxide dismutase and catalase activities, glutathione and its metabolizing enzymes, and lipid peroxidation in rat erythrocytes with age. *Experimental gerontology*. 2004;39(2):211-6.
39. 최우석, 강석봉. 玄菟 固本丸이 노화유발 백서의 항산화능에 미치는 영향. 大韓韓方內科學會誌. 2004;25(4):147-57.
40. Kim SM, Cho YS and Sung SK. The antioxidant and nitrite scavenging ability of waste resource (crop shell, sesame meal, korean tangrin peel) extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 2001;30:589-93.