

Protective Effects of *Paeonia japonica* against Radiation-induced Damage

Heon Oh · Hae-Ran Park · Ill-Yun Jeong · Sung-Ho Kim*
and Sung-Kee Jo[†]

Radiation Food Technology and Bioscience team, Korea Atomic Energy Research Institute,
*College of Veterinary medicine, Chonnam National University

방사선 장해에 대한 백작약의 방호효과

오현 · 박혜란 · 정일윤 · 김성호* · 조성기[†]

한국원자력연구소 방사선식품·생명공학기술 개발팀

*전남대학교 수의과대학

(2002년 8월 1일 접수, 2002년 8월 20일 채택)

Abstract - We investigated the effect of *Paeonia japonica* (PJ) on radiation-induced oxidative damage to macromolecules *in vitro* and *in vivo*. The PJ reduced the tail moment (TM), which was a marker of DNA strand break in single-cell gel electrophoresis (SCGE; comet assay) in the human peripheral blood lymphocytes. Lipid peroxidation in the liver of the ICR mouse, measured as malondialdehyde (MDA), was also reduced by PJ administration. Ethanol fraction of PJ was more effective than polysaccharide fraction of that on reduction of TM in SCGE and lipid peroxidation. Also, Their activities to scavenge DPPH radicals and hydroxyl radicals were observed *in vitro*, and the activities were due to its ethanol fraction. It is plausible that scavenging of free radicals by PJ extract may have played an important role in providing the protection against the radiation-induced damage. These results indicated that *Paeonia japonica* might be a useful radioprotector, especially since it is a relatively nontoxic natural product.

Key words : *Paeonia japonica*, radioprotector, single-cell gel electrophoresis(SCGE; comet assay), lipid peroxidation, radical

요약 - 방사선 생체 손상에 대한 방호 효과를 나타내는 천연물을 검색하기 위한 일환으로 한의 학에서 보혈양혈 당체에 널리 사용되는 백작약 (*Paeonia japonica*)을 열수추출물, 에탄올분획, 조다당분획으로 나누어 방사선에 의한 산화적 손상 경감 효과를 검정하였다. 사람 림프구에서 단세포전기영동 (single-cell gel electrophoresis; comet assay)을 수행하여 DNA 손상 경감정도를 관찰하였으며, 마우스에 백작약 추출물을 투여한 다음 8 Gy의 감마선을 조사한 후 간에서 지질과산화 정도를 살펴보았다. 에탄올분획 처리군에서 높은 DNA 손상 경감효과를 확인할 수 있었으며, 지질과산화 억제작용 및 라디칼 소거효과 또한 에탄올분획이 높은 효과를 나타내어 에탄올분획이 방사선 방호에 주된 역할을 하는 것으로 사료된다. 이상의 결과로 보아 백작약은 방사선의 산화적 손상에 대하여 효과적으로 세포 DNA를 방호하고, 생체막의 주성분인 지질의 과산화를 억제하는 것으로 관찰되어 특히, 독성이 거의 없는 천연물이라는 관점에서 방사선 방호제로 적용이 가능할 것으로 사료된다.

중심어 : 백작약, 방사선, 방호제, 단세포전기영동, 지질과산화, 라디칼

[†]Corresponding author. E-mail : skjo@kaeri.re.kr

서 론

방사선 및 방사성 동위원소의 의학적 이용과 원자력 시설의 이용 증대에 따라 방사선의 피폭 가능성이 증가하고 있다. 이에 따라 전신이나 국소 장기가 방사선에 노출되어 일어나는 장애에 대한 관심도가 높아지고 있으며 방사선 피폭시 발생하는 생체손상의 예방 및 경감을 위한 방호제의 개발이 중요한 문제로 대두되고 있다 [1, 2].

방사선 방호제에 대한 연구는 1949년 Patt 등 [3]에 의해 최초로 보고된 이래 주로 thiol 복합체를 중심으로 한 합성물질들이 연구의 대상이 되었으며, 그외 interleukin-1, tumor necrosis factor 와 같은 면역조절물질, granulocyte colony-stimulating factor 등의 조혈 인자에 대한 연구가 진행되고 있다 [4-6]. 이러한 물질들은 유효용량에서 수반되는 강한 독성 또는 실제 적용에서의 미미한 효과에도 불구하고 암의 방사선치료 분야 등에 적용할 목적으로 연구되고 있다 [7].

현대의학의 발전에 따라 각종 의약품들이 개발되어 치료에 응용되고 있으나 아직도 다수의 질병치료에 한계가 있으며, 약물의 지속적인 사용에 따른 부작용도 나타나고 있다. 따라서 독성이 적으면서 치료효과가 입증된 천연물에 의한 대체요법과 건강식품 개발의 필요성이 증가되고 있다. 천연물에 의한 처방은 동아시아와 일부 유럽에서 응용되고 있으며, 동양에서는 한의학의 처방에 따라 여러 종류의 생약을 혼합하여 열탕 추출 후 건조 분말을 사용하기도 한다. 이러한 생약 처방제는 여러 종류의 급·만성질환의 치료에 대한 효능은 일부 알려져 있으나 이들의 약리학적 작용기전 또는 성분이 명확히 밝혀져 있지 않으며, 실험적으로나 임상적으로 충분한 검증이 이루어지지 않았다. 한편, 최근에는 급·만성 질환의 치료 및 예방을 위하여 독성이 거의 없으면서 효과가 입증된 천연물을 이용하는 대체요법과 건강식품에 대한 관심이 고조되고 있다. 이와 같은 관점에서 생약재 등 천연물의 방사선 방호효과 연구도 부분적으로 진행되고 있다.

본 연구에서는 한의학에서 보혈양혈 작용이 알려져 있으며 [8] 많은 처방에 사용되는 백작약 (*Paeonia japonica*)의 방사선에 의해 유도되는 산화적 손상에 대한 경감효과를 살펴보고자 하였다. 백작약은 미나리 아재비과 Ranunculaceae *Paeonia* 속에 속하며, 1960년대에 백작약의 주요성분인 paeoniflorin이 분리되었다 [9]. 그후 Egger 등 [10]에 의해 paeoniflorin의 항염증 작용 및 스트

레스성 궤양 예방효과가 보고되었다. 또한 백작약 추출물의 항산화 효능과 관련하여 연구 보고되어 있다 [11-13]. 그러나 현재까지 많은 연구에도 불구하고 백작약의 방사선 장애 경감효과에 관한 연구 보고는 국내·외에서 아직 나오지 않고 있다. 이에 본 연구에서 백작약 추출물의 방사선 장애경감 효과와 작용특성을 살펴보고자 DNA 손상 경감 정도는 사람 림프구에서 단세포전기영동법 (Single cell gel electrophoresis, SCGE; Comet assay)을 시행하고, 지질과산화에 대한 영향은 방사선을 조사한 마우스의 간조직에서 TBA (thiobarbituric acid) reaction을 이용하여 확인하였다. 그리고 시료의 자유라디칼 (free radical) 소거효과를 확인하기 위하여 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) 라디칼 소거 활성법을 이용하여 전자공여능과 2-deoxyribose oxidation method를 이용하여 hydroxyl 라디칼 ($\cdot\text{OH}$) 소거활성을 측정하였다.

재료 및 방법

시료제조

시중에서 구입한 생약재 백작약을 세절하여, 10 배량의 증류수를 가하고 2시간씩 열탕 추출한 뒤 고형분을 제거한 현탁액을 200g에서 10분간 원심 분리시키고 상층액을 여과하여 감압농축하고 동결 건조시켰다. 물 추출물에 80% ethanol을 가해 4 °C에서 24시간 방치하여 생긴 침전물을 수거하여 조다당분획으로 사용하였고, 상층액은 ethanol 분획으로 사용하였으며 각 시료는 실험에 사용 전까지 -70 °C로 냉동 보관하였다.

림프구에 대한 방사선 조사 및 시료처리

건강한 비흡연 남자의 말초혈액을 채취하여 Ficoll-Histopaque gradient 방법으로 림프구를 분리하고 HBSS에 수세 후 10% fetal bovine serum, L-glutamine, antibiotics가 첨가된 RPMI 1640 배지에 부유시켰다. 시료처리는 선행 실험에 의거하여 300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 을 최대농도로 하였으며, 조사 전 4 시간동안 세포배양기에서 시료를 처리한 후 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 선을 50 cGy/min의 선량률로 300 cGy의 방사선을 1회 조사하였다. 림프구는 방사선 조사 후 DNA 수복을 차단하기 위하여 전기영동을 시행하기 전까지 4°C를 유지하였다.

마우스에 대한 방사선 조사 및 시료투여

마우스 방사선 조사는 ^{60}Co - γ 선을 100 cGy/min의 선량율로 800 cGy의 방사선을 1회 전신조사하였다. 시료투여는 1mg/mouse 용량으로 방사선 조사 전 36 및 12시간에 복강내로 2회 주사하였다.

단세포 전기영동

방사선 조사에 의한 혈액 림프구의 DNA 손상 정도를 측정하기 위하여 Singh 등 [14]의 방법에 준해 시행하였다.

슬라이드 준비 : Frosted slide에 0.6% agarose 130 μl 를 처리 후 cover glass로 덮고 4 $^{\circ}\text{C}$ 에서 10분간 방치하여 agarose를 굳힌 후 cover glass를 제거하였다. 세포를 0.5% low melting agarose 75 μl 와 혼합하고 이를 slide에 점적 후 cover glass로 덮고 4 $^{\circ}\text{C}$ 에서 10분간 굳힌 다음 lysis buffer (2.5M NaCl, 100mM Na₂EDTA, 10mM Tris base, 1% N-Lauryl sarcosinate, 1% Triton X-100, pH 10)에서 4 $^{\circ}\text{C}$ 로 1시간동안 용해시켰다.

전기영동 : Electrophoretic buffer (300mM NaOH, 0.1% 8-hydroxyquinoline, 2% dimethyl sulfoxide, 10mM Na₄EDTA, pH>12.3)를 이용 22V, 300mA에서 25분간 전기영동을 시행하였다. 이후 Tris buffer (0.4M Tris, pH7.4)로 10분씩 3회 세척하여 슬라이드를 중화시키고 DNA가 슬라이드에 침착될 수 있도록 ethanol에 1시간 이상 침적하였다.

염색 및 관찰 : 슬라이드를 건조시킨 후 60 μl 의 ethidium bromide(20 $\mu\text{g}/\text{ml}$)로 염색하였다. 형광현미경을 사용하여 이미지분석 프로그램 (Komet 4.0, Kinetic imaging, Ltd., Great Britain)을 통해 60개의 세포를 선택하여 분석하였다. DNA 손상 정도는 [tail moment = (tail mean - head mean) \times tail %DNA /100]으로 정의되는 tail moment로 나타내었다.

지질과산화(Lipid peroxidation) 측정

Ohakawa 등 [15]의 방법에 준하여 방사선 조사 마우스 간 조직내에 생성된 lipid peroxide 함량을 측정하였다. 방사선 조사 4시간 후 일장양의 liver를 homogenizer (Tissue Trearor Homogenizer, biospec product, Ins.)를 이용해 균질화 시킨 다음 Pierce BCA protein assay kit를 이용하여 단백질량을 정량하였다. sample 당 단백질량이 3mg 되게 균질액을 취하고 여기에 8.1% sodium dodecyl sulfate (SDS) 0.2ml, 20% acetic acid

(pH 3.0) 1.5ml, 0.8% thiobarbituric acid (TBA) solution 1.5ml을 넣어 고루 섞은 다음, 최종 부피가 4ml되게 증류수를 넣었다. 95 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30분 동안 중탕을 한 후 3500 rpm에서 10분간 원심분리하여 UV-분광광도계 (Shimadzu UV-1201, Japan)를 이용하여 532nm에서 흡광도를 측정하였다. MDA 농도는 extinction coefficient로서 $1.56 \times 10^5 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 을 사용하여 흡광도 값을 nmol로 환산하여 MDA/mg protein으로 나타내었다.

DPPH 라디칼 소거활성 측정

전자공여작용은 각기 다른 농도의 시료 0.2 ml에 $4 \times 10^{-4} \text{ M}$ DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 용액 (99.9% methanol에 용해) 1.8 ml씩을 가한 후 vortex mixer로 10초간 진탕하여 30분 후 분광광도계 (Shimadzu UV-1201, Japan)를 사용하여 517nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여작용 (Electron donating abilities, EDA)은 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소차이를 백분율로 나타내었다 [16].

EDA (Electron donating abilities, %)
= (Ac-As)/Ac \times 100

Ac : 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도

As : 시료를 첨가한 반응구의 흡광도

Hydroxyl 라디칼 소거활성 측정

시료의 hydroxyl 라디칼 ($\cdot\text{OH}$) 소거활성은 2-deoxyribose oxidation method [17]로 측정하였다. 시험관에서 0.1mM FeSO₄/EDTA 용액 0.2ml, 10mM 2-deoxyribose 0.2ml, 각기 다른 농도 시료액 0.2ml과 0.1M phosphate buffer (pH 7.4) 1.2ml을 가하고, 10mM H₂O₂ 0.2ml을 가하여 반응을 개시시켰다. 37 $^{\circ}\text{C}$ 수욕조에서 4시간 반응시킨 후 2.8% TCA (trichloroacetic acid)용액 1ml을 가하여 반응을 중지시키고, 1% TBA (2-thiobarbituric acid)용액 1ml를 가하여 95 $^{\circ}\text{C}$ 에서 10분간 중탕한 후 냉각하고 UV-분광광도계 (Shimadzu UV-1201, Japan)를 이용하여 532nm에서 흡광도를 측정하였다. Hydroxyl 라디칼 소거활성은 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소차이를 백분율로 나타내었다

Hydroxyl radical scavenging activity(%)

$$= \left\{ 1 - \frac{\text{As}-\text{Ao}}{\text{Ac}-\text{Ao}} \right\} \times 100$$

Ao : 시료와 H₂O₂를 첨가하지 않은 정상대조구의 흡광도

Ac : 시료를 첨가하지 않은 H₂O₂ 처리대조구의 흡광도

As : 시료를 첨가한 H₂O₂ 처리구의 흡광도

결 과

단세포전기영동분석에서 DNA 외가닥절단(single strand break) 억제효과

방사선에 의해 절단된 DNA 가닥은 전기영동 상에서 양극 (+)방향으로 이동하여 head와 tail로 구성된 혜성 (comet) 모양으로 관찰되며 손상을 받지 않은 정상적인 세포는 핵체로 생각되는 원형의 양상을 나타낸다.

백작약 추출물의 처리농도에 따른 인체 림프구에 대한 DNA 손상을 살펴보기 위해 시료 처리 후 3시간동안 37°C CO₂ incubator에서 배양 후 단세포전기영동을 시행하였다. 열수추출물, 조다당분획 및 에탄올분획 공히 적용농도 (60~300 µg/ml)에서 손상을 나타내지 않았다 (Fig. 1).

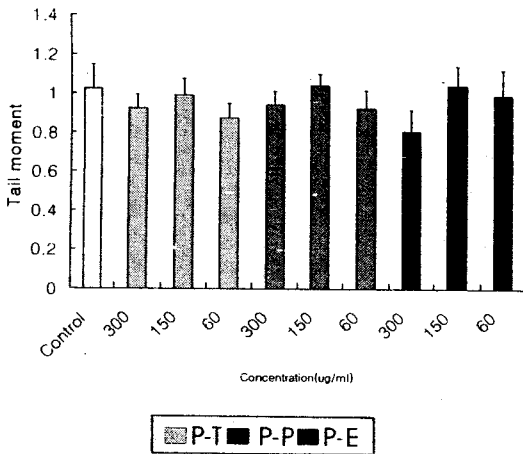


Fig. 1. Tail moment values among human lymphocytes cultured with water extracts, polysaccharide and ethanol fraction from *P. japonica* in the comet assay. Human peripheral blood lymphocytes were cultured with various doses of *P. japonica* extracts for 3hrs. Error bars represent standard error. P-T : Total water extract of *P. japonica*, P-P : Polysaccharide fraction of *P. japonica*, P-E : Ethanol fraction of *P. japonica*.

열수추출물과 에탄올분획 처리시 각 농도 (60~300µg/ml)에서 DNA 손상 경감효과가 나타났고 조다당분획처리군에서는 300, 150µg/ml 농도로 처리 시 방호효과를 관찰할 수 있었다 (p<0.01). 에탄올분획에서 가장 높은 DNA 손상

억제효과를 보였다 (Fig. 2).

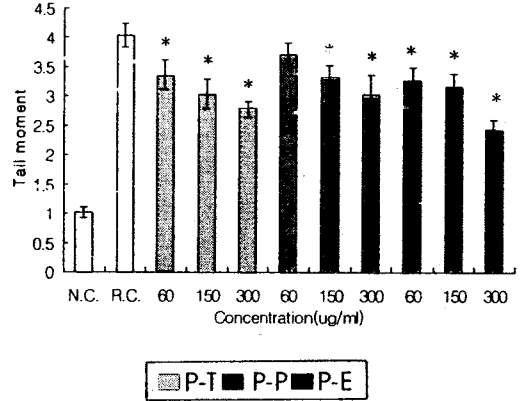


Fig. 2. The inhibitory effects of *P. japonica* on DNA damage induced by 300 cGy of gamma radiation. Error bars represent standard error. N.C. : Normal Control, R.C. : Irradiation Control, P-T : Total water extract of *P. japonica*, P-P : Polysaccharide fraction of *P. japonica*, P-E : Ethanol fraction of *P. japonica*. * Significantly different from irradiated control group (p<0.01).

지질과산화 억제효과

방사선에 의해 유도되는 산화적 생체 손상에 대한 방호효과를 살펴보고자 마우스에 시료를 투여한 후 방사선을 조사한 다음 간 조직에서 지질과산화에 대한 억제정도를 관찰하였다.

백작약 열수추출물을 투여한 군에서 약 51%의 지질과산화 억제효과를 관찰할 수 있었으며, 에탄올분획 투여군과 조다당분획 투여군에서도 각각 41%, 36%의 억제효과를 나타내었다 (Table 1).

DPPH 라디칼 소거활성

각 시료가 라디칼 분자에 전자를 공여함으로써 라디칼 활성을 소거하는 효과를 DPPH 라디칼 분자에 대한 전자공여능으로 측정하였다.

백작약의 DPPH 라디칼 소거활성을 살펴본바 라디칼 소거활성은 농도의존성을 나타내었으며, 에탄올분획, 열수추출물, 조다당분획 순으로 소거활성을 나타내었다. 유효농도인 300µg/ml 에서 90% 이상의 소거효과를 나타내었다 (Table 2).

Hydroxyl 라디칼 소거활성

활성산소종 중에서 반응성이 매우 강하여 생체의 산화적 손상에 중요한 역할을 하는 hydroxyl

라디칼에 대한 소거효과를 시험관 내에서 2-de [18]과 Cairnie [19]는 thiol기가 포함된 WR2721과 Table 2. Electron donating abilities (EDA) of fraction of *P. japonica*

Sample	Electron donating ability (EDA), %				
	25 μ g/ml	50 μ g/ml	100 μ g/ml	300 μ g/ml	600 μ g/ml
Total water extract	22.1	40.8	72.2	90.4	91.9
Polysaccharide fraction	14.0	26.6	47.7	80.7	85.0
Ethanol fraction	22.5	44.0	73.7	91.9	92.3

Table 1. Protective effect of *P. japonica* against radiation-induced lipid peroxidation in mouse liver.

Treatment Group	MDA (nmol/mg protein)		
	Mean \pm S.D.		Inhibition rate (%)
Normal control	30.91 \pm 2.82		-
Irradiation control	50.23 \pm 2.64		-
Total water extract	40.35 \pm 0.53*		51.1
Polysaccharide fraction	43.21 \pm 3.21*		36.3
Ethanol fraction	42.23 \pm 1.58*		41.4

Extract of *P. japonica* were given intraperitoneally (I.P.) at 36 and 12 hrs. before irradiation.

*Significantly different from irradiated control group ($p < 0.05$) ($n = 4$).

oxyribose oxidation method로 확인하였다.

에탄올분획에서 가장 좋은 소거효과를 관찰할 수 있었으며, 농도에 비례하여 소거활성이 증가하는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 3).

고찰

본 실험에서는 백작약 (*Paeonia japonica*)의 방사선에 의한 산화적 손상 방호효과를 확인하기 위해서 사람 림프구에서 단세포진기영동법을 이용한 DNA 손상 억제효과와 마우스 간조직에서 지질과산화 억제효과 및 라디칼 소거효과 등을 관찰하였다.

화학적 방사선 증감제 및 방호제는 암치료를 위한 방사선 및 화학요법시 함께 적용할 경우 큰 효과를 얻을 수 있을 것이라는 가정하에 과거 수십 년간 주요 연구 대상이 되어왔다. Washburn

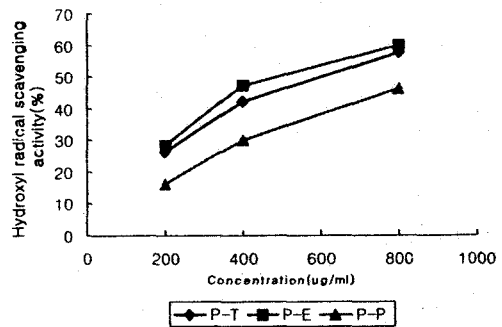


Fig. 3. Hydroxyl radical scavenging activities of fractions from *P. japonica*.

P-T : Total water extract of *P. japonica*, P-P : Polysaccharide fraction of *P. japonica*, P-E : Ethanol fraction of *P. japonica*.

같은 화합물이 가장 강력한 방호효과가 있다는 결과를 보고하였으나, 이러한 합성물질들의 대부분은 방사선 조사 후 투여 또는 경구투여의 경우

효과가 경미하여 조사직전에 주사하여야 하며 또한 정상세포에 대해서도 심한 독성을 나타내는 단점을 가지고 있다. 따라서 방사선에 노출되는 환자들에게 부가적인 부작용이 없이 이러한 화합물을 투여하는 것은 한계가 있다. 그러나 이러한 합성물질과는 달리 생약과 같은 천연물들은 각종 질병이나 상해회복에 효과적이며, 독성이 적어서 특별한 부작용을 나타내지 않는다. 따라서 방사선 장해를 예방 또는 경감시키는 효과를 가진 천연물에 대한 연구가 계속 되고 있다.

생약제제에 의한 방사선 방호효과는 조혈조직의 보호 및 회복 [20-22], 면역증강 [23, 24], 약제 성분 중 미량원소 [25]의 흡수 등의 관점에서 연구가 진행되고 있으며, 조혈장기의 장해 극복효과에 관한 연구가 주를 이룬다. 단일 생약제에 대한 연구에서는 인삼 [26]을 비롯하여 당귀 [27], 천궁 [28], 영지 [29], 가시오가피 [21] 만삼 [23], 자리공 [24], 황기 [30, 31] 및 지황 [20] 등의 효과가 보고되었다.

백작약은 참작약의 뿌리를 그대로 혹은 주피를 제거하여 말린 것으로 위 운동 항진, 진경, 진정, 항염증, 평활근이완, 혈압강하 등의 효과가 있으며 한방에서는 진경, 진통, 수렴약으로 사용된다 [32]. 뿌리에는 paeoniflorin, oxypaeoniflorin, paeonol, paeonin, albiflorin, galloyl-paeoniflorin, β -sitosterol, triterpenoid가, 꽃에는 astraglin, kaempferol-3,7-diglucoside, pyrogallol-tannin, pyrethrin, 13-methyl-tetradecan acid, β -sitosterol, hexacosan 등이, 잎에는 tanin이 함유되어있는 것으로 알려져 있다 [33]

방 등 [11]은 백작약에서 분리·동정한 (+)-catechin, 1,2,3,4-tetragalloyl-6-digalloyl-D-glucose 및 1,2,3,4,6-pentagalloyl- β -D-glucose가 DPPH 라디칼 소거효과가 뛰어난 것으로 보고하였다. Okubo 등 [34]은 주요 성분 중 galloyl-paeoniflorin과 1,2,3,4,6-pentagalloyl- β -D-glucose가 라디칼 소거 효과를 가짐으로 산화적 DNA 손상에 대한 경감 작용에 중요한 역할을 하며, 그 외에도 paeonol, paeoniflorin, albiflorin이 미약하지만 산화적 DNA 손상 경감효과를 나타내는 것으로 보고하였다. 또한, 작약 추출물은 화학물질이나 방사선 등에 의해 유도되는 catalase, superoxide dismutase 등과 같은 항산화 효소의 활성 저하를 억제함으로써 산화적 손상을 보호하는 것으로 알려져 있다 [12, 13].

본 실험의 결과 백작약은 방사선에 의해 유도된 DNA 손상을 경감시켰으며, 생체막의 주요 성분인 지질의 과산화를 효과적으로 억제하였다. 대

부분의 방사선 방호제가 자유라디칼 소거제로 작용하여 산화적 손상을 억제한다는 보고 [35, 36]와 본 실험의 라디칼 소거효과의 결과, 자유라디칼 소거 작용이 백작약의 방사선 장해 경감효과에 중요한 역할을 하는 것으로 사료된다.

이상의 결과를 종합하여 볼때, 백작약 추출물은 DNA 상해를 효과적으로 방호하였으며, 자유라디칼 소거효과도 뛰어났다. 또한 생체막의 주성분인 지질과산화를 효과적으로 억제하여 방사선 방호제로써 적용 가능함을 시사하였다. 특히, 독성이 거의 없는 천연물이라는 관점에서 방사선 방호제로 적용이 가능할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부의 원자력연구개발사업의 일환으로 수행되었음.

참고문헌

1. IAEA safety series No. 47 "Manual on Early Medical Treatment of Possible Radiation Injury" IAEA, Vienna, P.74 (1978).
2. NCP report No. 65 "Management of persons Accidentally Contaminated with Radionuclides" P.77 (1980).
3. Patt, H., Tyree, M. and Straube, R. L. "Cystein protects against x-irradiation" *Science*, 110, 213-214 (1949).
4. Milas, L., Hunter, N. Reid, B. O. and Thames, Jr. H. D. "Protective effects of S-2-(3-aminopropylamino) ethylphosphorothioic acid against radiation damage of normal tissues and a fibrosarcoma in mice" *Cancer Res.*, 42, 1888-1987 (1982).
5. Neta, R. "Role of cytokines in radioprotection" *Pharmacol. Ther.*, 39, 261-266 (1988).
6. MacVittie, T. J., Monroy, R. L., Patchen, M. L. and Souza, L. M. "Therapeutic use of recombinant human G-CSF (rhG-CSF) in a canine model of sublethal and lethal whole body irradiation" *Int. J. Radiat. Biol.*, 57, 723-736 (1990).

7. Kligerman, M. M., Shaw, M. T., Slavid, M. and Yudas, J. M. "Phase I clinical studies with WR2721" *Cancer Clin. Trials*, 3, 217-221 (1980).
8. 한약위원회, 조제지침연구소위원회 : 한약조제 지침서 해설, 사단법인 대한약사회 (1995).
9. Aimi N., Inaba M., Watanabe M. and Shibata S. "Chemical studies on the oriental plant drugs. XXIII. Paeoniflorin, a glucoside of Chinese paeony root" *Tetrahedron*, 25, 1825-1838 (1969).
10. Egger K. and Keil M. "Flavone glycoside in the flowers of *Paeonia arborea*, *P. suffruticosa*" *Planta*, 88, 154-156 (1969).
11. 방면호, 송정춘, 이상양, 박남규, 백남인 "작약 뿌리로부터 항산화활성 물질의 분리" *한국농화학회지*, 42, 170-175 (1999).
12. 임창수, 김갑성 "작약 약침의 항산화 효능에 미치는 영향" *대한침구학회지*, 16, 269-286 (1999).
13. 문진영 "작약 약침액이 tert-butyl hydroperoxide 로 유도된 흰쥐 배양 간세포의 지질과산화반응 및 항산화효소 활성에 미치는 영향" *대한침구학회지*, 17, 176-187 (2000).
14. Singh N.P., Stephens R.E. and Schneider E.L. "Induction of DNA single-strand breaks in human lymphocytes by low doses of γ -ray" *Int. J. Radiat Biol.*, 66, 563-569 (1995).
15. Ohkawa H., Ohnishi N. and Yagi K. "Assay for lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric acid reaction" *Anal. Biochem.*, 95, 351-358 (1979).
16. Blois M.S. "Antioxidant determination by the use of a stable free radical" *Nature*, 26, 1199-1200 (1958).
17. Gutteridge J.M. "Reactivity of hydroxyl and hydroxyl-like radicals discriminated by release of thiobarbituric acid-reactive material from deoxy sugars, nucleosides and benzoate" *Biochem. J.*, 224, 761-767 (1984).
18. Washburn LC, Carlton JE, Hayes RL. "Distribution of WR-2721 in normal and malignant tissue of mice and rats bearing solid tumors: Dependence on tumor type, drug dose and species" *Radiat. Res.*, 59, 483-575 (1974).
19. Caimie AB. "Adverse effect of radioprotector WR 2721" *Radiat. Res.*, 94, 221-226 (1983).
20. Yuan Y, Hou S, Lian T and Han Y. "Studies of *Rehmannia glutinosa* Libosch. f. *hueichingensis* as a blood tonic" *Chung Kuo Chung Yao Tsa Chih*, 17: 366-368 (1992).
21. Miyanomae T. and Frindel E. "Radioprotection of hemopoiesis conferred by *Acanthopanax senticosus* Harms (Shigoka) administered before or after irradiation" *Exp. Hematol.*, 16, 801-806 (1988).
22. Wang Y. and Zhu B. "The effect of angelica polysaccharide on proliferation and differentiation of hematopoietic progenitor cell" *Chung Hua I Hsueh Tsa Chih* 76, 363-366 (1996).
23. Zneg X.L., Li X.A. and Zhang B.Y. "Immunological and hematopoietic effect of *Codonopsis pilosula* on cancer patients during radiotherapy" *Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih*, 12, 607-608 (1992).
24. Wang H.B., Zheng Q.Y., Ju D.W. and Fang J. "Effects of *Phytolacca acinosa* polysaccharides II on lymphocyte proliferation and colony stimulating factor production from mice splenocytes *in vitro*" *Yao Hsueh Hsueh Pao*, 28, 490-493 (1993).
25. Lu G., Yang M., Shen Y. and Meng J. "The absorption of Fe, Zn, Cu in siwu, sijunzi, and Liuwei dihuang decoction by small intestine in rats" *Chung Kuo Chung Yao Tsa Chih*, 16, 297-298 (1991).
26. Kim S.H., Cho C.K., Yoo S.Y., Koh K.H., Yun H.G. and Kim T.H. "In vivo radioprotective activity of *Panax ginseng* and diethylthiocarbamate" *IN VIVO*, 7,

- 467-470 (1993).
27. Mei Q.B., Tao T.Y. and Cui B. "Advances in the pharmacological studies of radix *Angelica sinensis*(Oliv) Diels (Chinese Danggui)" *Chin Med J Engl*, 104, 776-781 (1991).
 28. Ohta S., Sakurai N., Sato Y., Inoue T. and Shinoda M. "Studies on chemical protectors against radiation. XXX. Radioprotective substances of *cnidii rhizoma*" *Yakugaku Zasshi*, 110, 746-754 (1990).
 29. Hsu H.Y., Lian S.L. and Lin CC. "Radioprotective effect of *Ganoderma lucidum* (Leyss. ex. Fr.) Karst after X-ray irradiation in mice" *Am. J. Chin. Med.*, 18, 61-69 (1990).
 30. Li N.Q. "Clinical and experimental study on shen-qi injection with chemotherapy in the treatment of malignant tumor of digestive tract" *Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih*, 12, 588-592 (1992).
 31. Quan H.X. and Li H.S. "Effects of radix *Astragali* on hemopoiesis in irradiated mice" *Chung Kuo Chung Yao Tsa Chih*, 19, 741-743 (1994).
 32. 한대석, "생약학" 동명사, (1995).
 33. Soka T. "Encyclopedia of Chinese Medicine" vol. 3. 2066-2070. Tokyo, Japan, 1985
 34. Okubo T., Nagai F., Seto T., Satoh K., Ushiyama K. and Kano I. "The inhibition of phenylhydroquinone-induced oxidative DNA cleavage by constituents of Moutan Cortex and *Paeoniae Radix*" *Biol. Pharm. Bull.*, 23, 199-203 (2000).
 35. Hanson W.R. "Radiation protection of murine intestine by WR-2721, 16, 16-dimethyl prostaglandin E₂ and the combination of both agents" *Radiat. Res.*, 111, 361-373, (1987).
 36. Booth V.K., Roberts J.C., Warters R.L., Wilmore B.H. and Lepock J.R. "Radioprotective thiolamines WR-1065 and WR-33278 selectively denature nonhistone nuclear proteins" *Radiat. Res.*, 153, 813-822 (2000).