

## 瓊玉膏가 노화유발 흰쥐의 항산화능에 미치는 영향

곽병준 · 이송실 · 백진웅 · 이상재 · 김광호  
경희대학교 한의과대학 예방의학교실, 경희대학교 한의학연구소

### Effect of Kyungohkgo(瓊玉膏) on Antioxidant Capacity in D-galactose Induced Aging Rats

Byung-Jun Kwak, Song-Shil Lee, Jin-Woong Baek, Sang-Jae Lee & Kwang-Ho Kim

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

#### Abstract

**Objectives** : In order to examine the antioxidant activities of Kyungohkgo(瓊玉膏), the study was done through measurement of parameters such as Thiobarbituric acid reactive substance(TBARS), Superoxide dismutase(SOD), Catalase(CAT), Glutathione peroxidase(GSH-px), Plasma total lipid, Plasma total triglyceride, Plasma total cholesterol, HDL-cholesterol concentrations in rat erythrocytes and plasma.

**Methods** : Sprague-Dawley rats divided into 3 groups, Normal group(12 weeks old), pathologically induced group(injected D-galactose 50mg/kg, 1time/day for 6 weeks, CONTROL) and Kyungohkgo(瓊玉膏) administered group(D-galactose 50mg/kg and Kyungohkgo extracts 1125.0mg/kg 1time/day for 6 weeks, KOG). Rats were sacrificed and TBARS, SOD, CAT, Plasma total lipid, Plasma triglyceride, Plasma total cholesterol, Plasma HDL-cholesterol concentrations and GSH-px were measured in rat erythrocytes and plasma.

**Results** : Plasma TBARS concentrations of KOG group were significantly lower than those of control. Red blood cell(RBC) SOD activities of KOG group was increased( $F=3.619$ ,  $p=0.052$ , ANOVA test), and RBC catalase activities of all experimental group were not significantly different. RBC GSH-px activities of KOG group was increased( $F=6.844$ ,  $p=0.008$ , ANOVA test). The changes of Plasma triglyceride was not significantly different. Plasma total lipid of KOG group showed significant decrease compared to the control group( $F=19.337$ ,  $p=0.0001$ , ANOVA test). Plasma total cholesterol and HDL-cholesterol concentrations of all experimental groups were not significantly different.

**Conclusions** : According to the above results, it is considered that Kyungohkgo(瓊玉膏) is effective in

\* Corresponding author : Dept. of Oriental Preventive Medicine, College of Oriental Medicine, Kyunghee University, Tel : 82-2-961-0329. E-mail : prehan@hanmail.net

inhibiting lipid peroxidation and increasing antioxidative enzyme activities in D-galactose induced aging rat.

**Key words** : Kyungohkgo, Antioxidant Capacity, D-galactose Induced Aging Rat

## I. 緒論

老化는 生命體의 成長과 同時에 進行되는 一連의 反應으로서<sup>1)</sup> 人體의 生理는 出生, 成長, 成熟, 老化的 過程으로 이어지는데, 여기서 老化란 人間의 生成과 成長 및 成熟 過程 후 時間의 흐름에 따라 進行되는 一連의 變化로서 形態의, 機械的으로 衰退하여 死亡에 이르게되는 生理的인 現象을 意味한다.<sup>2-5)</sup> 지금까지 老化현상을 규명하기 위한 많은 연구가 진행되어 온 결과, 老化기전으로 제시된 가설은 크게 예정설과 에러설로 나누어진다. 예정설에 의하면 성장과정이 유전자에 의하여 조절되듯이 老化과정도 이미 예정되어 있다는 것이다. 이에 비하여 세포분열이 반복되는 과정에서 여러 가지 과오를 일으키거나 유전자 손상이 일어나 老化되거나 죽게 된다는 이론이 에러설이다.<sup>6)</sup>

에러설 중에서도 활성산소와 관련된 free radical 이론이 성인병 및 老化的 기전으로 가장 많이 연구되고 있다. free radical 이론은 생체가 외부로부터 물리화학적 자극이나 정신적 스트레스 등을 받게 되면 생화학적 반응에 의하여 free radical 이 생성되고, 이 free radical 에 의하여 세포나 조직의 손상 및 과산화지질 등의 생성으로 기능이 저하되어 각종 성인병의 발생과 老化的 촉진을 유발한다는 설이다.<sup>3,4,7,8)</sup>

韓醫學에서는 老化를 生, 長, 壯, 老, 死하는 人類生命의 自然法則으로 인식하였고 老化的 원인을 나이가 증가함에 따라서 장기간에 걸친 陰陽, 臟腑, 氣血, 經絡, 情志의 변화로 인한 生命의 衰退現象으로 파악하였다.<sup>3,9)</sup> 이러한 老化的을 遲延시키고 壽命을 延長시키는 여러 약물에 대한 연구가 있어왔는데 예를 들면 瓊玉膏,<sup>11,12)</sup>

六味地黃湯,<sup>13,23)</sup> 歸脾湯,<sup>18)</sup> 瀉青丸,<sup>32)</sup> 十全大補湯<sup>14)</sup> 등<sup>15,16,21,22,25,26,31,33)</sup>이 있고 單味劑로는 葛花,<sup>28)</sup> 韭子,<sup>29)</sup> 苦參, 薏苡仁,<sup>24)</sup> 人蔘,<sup>17,35)</sup> 紫河車,<sup>36)</sup> 가시五加皮<sup>27)</sup> 등<sup>19,20,30,34,37,38)</sup>의 抗酸化效果를 연구한 결과들이 있다. 東醫寶鑑에 의하면 瓊玉膏는 填精, 補髓, 調眞, 養性, 返老, 還童하며 百損을 補하고 百病을 除去하며 萬神이 모두 足하며 五臟을 充溢하게 하며 白髮을 검게 하고 落齒가 다시 나며 奔馬처럼 달리게 한다라고 기재되어 있다.<sup>39)</sup> 지금까지의 경옥고 연구는 면역반응과 항암작용에 대한 연구가 있었다.<sup>11,12)</sup> 이에 저자는 瓊玉膏의 老化 遲延효과를 알아보기 위하여 張<sup>42)</sup> 등의 방법을 사용하여 D-galactose를 6주간 피하에 투여하여 老化가 촉진된 쥐에게 瓊玉膏를 경구투여한 후 血漿의 脂質過酸化物, 적혈구의 superoxide dismutase(SOD) 活性, 적혈구의 glutathione peroxide(GSH-px)活性, 적혈구의 catalase 活性, 혈장내 총지방, 중성지방 농도, 혈장내 총 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤 농도를 측정하여 비교한 결과 유의한 결과를 얻었기에 이에 報告하는 바이다.

## II. 實驗

### 1. 動物 및 材料

#### (1) 動物

10주된 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐를 구입하여 實驗 시작 전 2주일간 고품배합사료(퓨리나 실험용 쥐사료 : 애그리브랜드 퓨리나코리아)와 물을 충분히 공급시켰다. 實驗동물은 한 마리씩 분리하여 stainless steel cage에서 사육하였고, 사료와 물은 자유롭게 먹도록 하였다.

(2) 材料

본 實驗에서 사용된 약제는 慶熙醫療院에서 엄선한 것을 사용하였고 처방내용은 《동의보감》에 기재된 경옥고로 내용과 분량은 다음과 같다.

韓藥名	生藥名	用 量
生地黃	Rehmanniae Radix	960g
人蔘	Ginseng Radix	90g
白茯苓	Poria	180g
蜂蜜	Mel	600g
總 量		1,830.0g

2. 方法

(1) 實驗群 설정

實驗실 환경에서 2주간 적응시킨 체중이 400 ± 20g(12주령)인 SD계 흰쥐들을 체중별로 크게 분포시켜 12주령의 無處置群(Normal group)과 D-galactose 투여군(Control group), 瓊玉膏 투여군(KOG group)으로 나누어 각 군에 6마리씩 배정하였다.

Normal 군은 어떤 처치도 하지 않고 고형사료와 물만을 6주간 充分히 供給하였다. Control 군은 12주령 rat에 D-galactose를 6주간 피하주사하여 老化를 유발하였다. KOG군은 D-galactose를 피하주사 함과 동시에 瓊玉膏를 증류수에 녹여 물대용으로 공급하였다.

(2) 老化 誘發

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

(3) 檢液의 준비

동의보감의 제조방법에 따라 瓊玉膏는 제조

하였다. 이를 증류수에 녹여 조정하여 200ml cornical tube(Falcon, USA)에 넣어 2-4℃의 냉장고에 보관하였으며, 사용할 때 water bath에 넣어 gel상태를 완전히 녹여 사용하였다.

(4) 檢液 투여

瓊玉膏는 증류수에 녹여 물대용으로 공급하였다. 경옥고 333.0mg/200g을 증류수 50ml에 희석하여 KOG군 흰쥐에 6주간 공급하였다.

(5) 血液 채취

實驗기간이 종료된 實驗동물은 12시간 절식시킨 후 diethyl ether로 마취시켜 개복한 후 10 ml 주사기를 이용하여 심장에서 血液을 채취하였다. 이때 주사기는 血液 응고를 방지하기 위해 3.8% sodium citrate 용액 0.1ml로 내부를 coating하여 사용하였다. 채취된 血液은 응고되는 것을 방지하기 위해 EDTA(Ethylene Diamine Tetra Acetate)가 들어있는 polystyrene 원심분리관에 담아 ice bath에 20분간 방치한 후 원심분리기로 2,800rpm, 4℃에서 30분간 원심분리하여 아래층의 red blood cell(RBC)과 혈장을 분리하고, 혈장은 혈장내 脂質過酸化物 量과 지방수준을 측정하기 위해 -70℃ deep freezer (SANYO, JAPAN)에 보관하였다.

아래층의 RBC는 ice cold saline을 첨가하여 원심분리기로 2,800rpm, 4℃에서 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 抗酸化酵素의 活性을 측정하기 전까지 -70℃ deep freezer에 보관하였다.

(6) 혈장의 Thiobarbituric Acid Reactive

Substance 함량

혈장의 Thiobarbituric Acid Reactive Substance (TBARS) 함량은 혈장 20μl에 1/12N 황산 4ml

와 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°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-tetrahydroxypropane을 표준용액으로 하여 luminescence spectrometer(Perkin Elmer, LS50)로 excitation 515nm, emission 553nm에서 정량하였다.

#### (7) 적혈구의 superoxide dismutase 活性

적혈구의 superoxide dismutase(SOD) 活性은 적혈구 현탁액 200 $\mu$ 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 $\mu$ l의 증류수를 가하여 원심분리기로 20,000 $\times$ g, 4°C에서 30분간 원심분리하여 얻은 상층액을 SOD 活性을 측정하기 위한 酵素원으로 이용하였다. SOD 活性은 xanthine이 xanthine oxidase에 의해 superoxide를 생성하고, 이 superoxide가 ferricytochrome c(Fe<sup>+++</sup>)를 ferrous cytochrome c(Fe<sup>++</sup>)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<sup>+++</sup>)를 넣고 혼합한 후 25°C로 유지시킨 용액 2ml에 酵素시료 50 $\mu$ l를 가하고, 사용 직전에 xanthine oxidase 용액을 제조하여 50 $\mu$ l를 첨가시켜 ferricytochrome c의 환원이 방해되는 정도를 550nm에

서 30초 간격으로 3분간 비색정량하였다. 이때 SOD의 분당 活性 정도는 ferricytochrome c의 환원을 50% 방해하는 SOD의 양을 1 unit으로 하여 나타내었다.

#### (8) 적혈구의 catalase 活性

적혈구의 catalase 活性은 적혈구 현탁액을 10배의 10mM Tris-1mM EDTA buffer(pH 7.4)로 용혈시킨 후 0.01M phosphate buffer(pH 7.0)로 희석하여 酵素원으로 사용하였다. 250mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-NaOH(pH 7.0) 300 $\mu$ l, 100% methanol 300 $\mu$ l, 0.27% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 60 $\mu$ l를 polystyrene tube에 넣고 여기에 酵素원을 600 $\mu$ l 가하여 20°C에서 20분간 shaking 시키면서 반응이 일어나게 한 후 7.8M KOH 300 $\mu$ l를 가하여 반응을 종결시키고, 34.2mM Purpald 용액을 600 $\mu$ l를 가하여 20°C에서 10분간 shaking시킨 후 65.2mM potassium periodate를 300 $\mu$ l를 가하여 발색시켰다. 이를 9,500 $\times$ g에서 10분간 원심분리시켜 spectrophotometer (DU530, Beckman)로 550nm에서 흡광도를 측정한 후 formaldehyde를 표준용액으로 하여 얻은 표준곡선으로부터 活性을 계산하였다.

#### (9) 적혈구의 glutathione peroxidase 活性

적혈구의 glutathione peroxidase(GSH-px) 活性은 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 酵素원으로 사용하였다.

Glutathione peroxidase의 活性측정은 GSH-px가 환원형 glutathione(GSH)과 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 반응을 촉진시켜 환원형 GSH를 酸化형 glutathione(GKOGG)으로 전환시키고, GKOGG는 glutathione reductase의 作用으로 NADPH의 H를 받아 다시 환원형인 GSH로 되는데, 이때 형광을 띠는

NADPH는 H를 빼앗겨 형광을 띠지 않는 酸化형 NADP가 된다는 원리를 이용하였다. Tube에 0.1M phosphate buffer 500 $\mu$ l, 10mM GSH 100 $\mu$ l, glutathione reductase 100 $\mu$ l를 넣고, 酵素원 100 $\mu$ l를 첨가하여 37 $^{\circ}$ C에서 10분간 incubation시킨 후 1.5mM NADPH 100 $\mu$ 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 活性을 측정하여 unit단위로 나타내었다. 여기에서 1 unit은 1분동안 1.0 $\mu$ M의 GSH가 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 作用으로 GKOGH로 酸化되는 것을 측매한다.

#### (10) 효소원의 단백질 함량

각 酵素들의 活性측정을 위해 사용된 적혈구의 단백질 함량은 bovine serum albumin (Sigma)을 표준용액으로 하여 측정하였다. 먼저 2.0% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 0.4% NaOH, 0.16% sodium potassium tartrate, 1.0% sodium laurylsulfate (SDS)를 포함하는 solution A와 4.0% CuSO<sub>4</sub>인 solution B를 100 : 1(v : v)로 혼합하여 solution C를 만들었다. 酵素원 50 $\mu$ l에 solution C 3ml를 첨가하여 실온에서 10분간 방치한 후 여기에 동량의 증류수로 희석된 phenol reagent 300 $\mu$ l를 넣어 실온에서 45분간 방치하였다가 파장 660nm에서 spectrophotometer로 비색정량하였다.

#### (11) 혈장의 총지방, 중성지방, 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤

혈장의 총지방 농도는 Frings법으로 측정하였다. 혈장 100 $\mu$ l에 진한 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2ml를 첨가하고 boiling water bath에서 10분간 가열하여 산분해시킨 후 ice cold bath에서 5분간 냉각시켰다. 다시 이 용액 100 $\mu$ 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 측정하였고, 혈장의 HDL-콜레스테롤 농도는 LDL(Low-Density Lipoprotein) 및 VLDL(Very Low Density Lipoprotein)을 침전시킨 후 효소법으로 HDL-콜레스테롤의 농도를 측정하는 kit(영동제약)로 측정하였다.

### 3. 통계분석

모든 통계분석은 윈도우용 SPKOG(ver. 8.0)를 이용하여 실시하였다. 기술통계학적 분석을 통해 각 집단에서의 측정값을 평균 $\pm$ 표준편차로 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

혈장 지질의 過酸化 정도를 알아보기 위해 脂質過酸化物 함량(TBARS values)을 측정한다. 결과 Normal군이 34.43 $\pm$ 3.14nmol/100ml, Control군이 48.89 $\pm$ 4.17nmol/100ml, KOG군이 37.87 $\pm$ 4.41nmol/100ml으로 나타나 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며(F=4.065, p=0.039, ANOVA test), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意성을 검정한 결과 Control군이 Normal군에 비해 有意하게 증가하였고, KOG군이 Control군에 비하여 감소하는 경향을 나타내었다(Table I).

Table I. Plasma TBARS Levels

Group	No. of animal	Plasma TBARS (nmol/100ml)	Duncan grouping
Normal	6	33.43±3.14 <sup>1)</sup>	A <sup>2)</sup>
Control	6	48.89±4.17	B
KOG	6	37.87±4.41	AB

F-value : 4.065\*

<sup>1)</sup> Mean±Std. Error.

<sup>2)</sup> Means with the same letter are not significantly different at  $\alpha=0.05$  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.

KOG : treated with Kyungohkgo extracts and D-galactose(50mg/kg/rat) for 6 weeks.

### 2. 적혈구의 superoxide dismutase(SOD) 活性

적혈구에서의 항산화 효소들의 活性을 알아보기 위해 항산화 효소인 SOD의 活性을 측정 한 결과 Normal군이 17.34±0.94, Control군이 12.45±0.69, KOG군이 13.23±2.09으로 나타나 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며(F=3.619, p=0.052, ANOVA test), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意성을 검정한 결과 KOG군이 Control군에 비하여 증가하는 경향을 나타내었다 (Table II).

### 3. 적혈구의 glutathione peroxidase (GSH-px) 活性

적혈구에서의 항산화 효소들의 活性을 알아보기 위해 항산화 효소인 GSH-px의 活性을 측정 한 결과 Normal군이 0.156±0.013, Control군이 0.090±0.008, KOG군이 0.113±0.016로 나타나 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며(F=6.844, p=0.008, ANOVA test), 다중

비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意성을 검정한 결과 Control군은 Normal군에 비하여 有意한 감소를 보였고, KOG군은 Control군에 비하여 증가하는 경향을 보였다(Table III).

Table II. Erythrocyte antioxidative enzyme activities (SOD)

Group	No. of animal	RBC SOD	Duncan grouping
Normal	6	17.34±0.94 <sup>1)</sup>	A <sup>2)</sup>
Control	6	12.45±0.69	B
KOG	6	13.23±2.09	A

F-value : 3.619\*

<sup>1)</sup> Mean±Std. Error.

<sup>2)</sup> Means with the same letter are not significantly different at  $\alpha=0.05$  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).

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

Group	No. of animal	RBC GSH-px	Duncan grouping
Normal	6	0.156±0.013 <sup>1)</sup>	A <sup>2)</sup>
Control	6	0.090±0.008	B
KOG	6	0.113±0.016	AB

F-value : 6.844\*

<sup>1)</sup> Mean±Std. Error.

<sup>2)</sup> Means with the same letter are not significantly different at  $\alpha=0.05$  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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> of 1.0μmol of reduced glutathione to oxidized glutathione per min at pH 7.0 and 25°C).

#### 4. 적혈구의 Catalase 活性

적혈구에서의 抗酸化 酵素들의 活性을 알아 보기 위해 抗酸化 酵素인 Catalase의 活性을 측정 한 결과 Normal군이 4544.2±141.1, Control군이 4717.3±145.0 KOG군이 4298.7±234.4으로 나타나 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 없었다(F=1.154, p=0.342, ANOVA test)(Table IV).

Table IV. Erythrocyte antioxidative enzyme activities (Catalase)

Group	No. of animal	RBC Catalase	Duncan grouping
Normal	6	5444.2±141.1 <sup>1)</sup>	A <sup>2)</sup>
Control	6	4717.3±145.0	B
KOG	6	4298.7±234.4	A

F-value : 1.154\*

<sup>1)</sup> Mean±Std. Error.

<sup>2)</sup> Means with the same letter are not significantly different at  $\alpha=0.05$  level by Duncan test.

\* Calculated by ANOVA test.

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

#### 5. 혈장내 총지방, 중성지방 농도

혈장내 총지방의 농도를 측정한 결과 Normal군이 181.33±16.74, Control군이 440.67±41.20, KOG군이 303.17±32.71으로 나타나 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며 (F=19.337, p=0.0001, ANOVA test), 다중 비교 (Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意성을 검정한 결과 KOG군이 Control군에 비하여 유의한 감소를 나타내었다.

혈장내 중성지방의 농도를 측정한 결과 Normal군이 87.50±9.61, Control군이 120.00±12.24, KOG군이 109.50±10.74으로 나타나 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 없었다

(F=2.308, p=0.134, ANOVA test)(Table V).

Table V. Plasma total lipid and triglyceride

Group	No. of animal	Plasma total lipid	Plasma triglyceride
Normal	6	181.33±41.00 <sup>1)</sup> A <sup>1)</sup>	36.30±2.47 <sup>1)</sup> A <sup>2)</sup>
Control	6	440.67±100.92 C	54.00±3.68 A
KOG	6	303.17±80.13 B	45.17±2.39 A

F-value : 19.337\* 2.308\*

<sup>1)</sup> Mean±Std. Error.

<sup>2)</sup> Means with the same letter are not significantly different at  $\alpha=0.05$  level by Duncan test.

\* Calculated by ANOVA test.

#### 6. 혈장내 총 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤 농도

혈장내 총 콜레스테롤 농도를 측정한 결과 Normal군이 50.17±3.68, Control군이 49.50±4.94, KOG군이 52.83±3.63로 나타나 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 없었다 (F=0.182, p=0.835, ANOVA test).

혈장내 총 HDL-콜레스테롤 농도를 측정한 결과 Normal군이 26.50±3.45, Control군이 22.67±2.30, KOG군이 24.50±2.17로 나타나 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 없었다 (F=0.503, p=0.615, ANOVA test)(Table VI).

Table VI. Plasma total cholesterol, HDL-cholesterol concentrations

Group	No. of animal	Plasma total cholesterol	Plasma HDL-cholesterol concentrations
Normal	6	50.17±3.68 <sup>1)</sup> A <sup>2)</sup>	26.50±3.45 <sup>1)</sup> A <sup>1)</sup>
Control	6	49.50±4.94 A	22.67±2.30 A
KOG	6	52.83±3.63 A	24.50±2.17 A

F-value : 0.182\* 0.503\*

<sup>1)</sup> Mean±Std. Error.

<sup>2)</sup> Means with the same letter are not significantly different at  $\alpha=0.05$  level by Duncan test.

\* Calculated by ANOVA test.

#### IV. 考 察

老化는 動物의 發育, 成長, 成熟과 老化의 生物學的 過程에서 形態의 機械的 衰退, 豫備力과 適應力の 低下로 死亡에 歸着되는 普遍的인 生理現象이다.<sup>2)</sup>

의학의 발달로 인하여 노인인구도 점차 늘어나 우리나라의 경우 1985년에는 4.1%, 1990년에는 4.7%, 2000년에는 6%, 2005년에는 7%에 도달하여 고령화 사회로 진입할 것으로 예상되며 이로 인해 노화자연에 대한 관심과 연구가 많아지고 있으나, 아직까지 명확하게 밝혀진 사실은 없으며 여러 가지 가설이 제시되고 있다.<sup>40)</sup> 지금까지 노화현상을 규명하기 위한 많은 연구가 진행되어온 결과, 노화기전으로 제시된 가설은 크게 예정설과 에러설로 나누어진다. 예정설에 의하면 성장과정이 유전자에 의하여 조절되듯이 노화과정도 이미 예정되어 있다는 것이다. 이에 비하여 세포분열이 반복되는 과정에서 여러 가지 과오를 일으키거나 유전자 손상이 일어나 노화되거나 죽게 된다는 이론이 에러설이다.<sup>6)</sup>

에러설 중에서도 활성산소와 관련된 free radical 이론이 성인병 및 노화의 기전으로 가장 많이 연구되고 있다. free radical 이론은 Harman(1956) 이 제안한 것으로 생체가 외부로부터 물리화학적 자극이나 정신적 스트레스 등을 받게 되면 생화학적 반응에 의하여 free radical 이 생성되고, 이 free radical 에 의하여 세포나 조직의 손상 및 과산화지질 등의 생성으로 기능이 저하되어 각종 성인병의 발생과 노화의 촉진을 유발한다는 설이다.<sup>41,43,44,48)</sup>

활성산소란 산소라디칼(oxygen free radical) 및 이것으로부터 파생된 여러 가지 산소화합물들을 통칭하는 것으로, 이들은 모두 반응성이 높은 특징을 가지고 있다. 대부분의 free radical

은 미토콘드리아의 전자전달체계, endoplasmic reticulum, peroxisome, phagocytic cell, 흡연, 자외선, 食餌로 섭취되는 金屬原子등의 작용으로부터 생성된다. 우리 몸은 항상 free radical 의 공격을 받고 있다. 그리고 이러한 毒性物質의 작용은 抗酸化劑와 防禦酵素가 결핍되어 있는 경우 組織의 損傷과 疾病으로 이어질 수 있다.<sup>3,45)</sup> 현재 우리가 앓고 있는 질환 중 약 90% 정도가 活性酸素와 관련이 있다고 하며, 그 질환에는 주로 암, 동맥경화, 당뇨병, 뇌졸중, 심근경색, 간염, 신경염, 교원병, 아토피성 피부염, 파킨슨병, 자외선과 방사선에 의한 질병 등이 있다.<sup>7,46)</sup> 抗酸化劑란 free radical에 의해서 lipid, protein, nucleic acid, carbohydrate가 손상될 때 oxidative damage를 억제하는 물질을 말한다. 유산소 호흡을 하는 인간은 산소의 산화에 의한 독성작용을 피할 수 없으며 이때 抗酸化劑는 필수 불가결한 존재로서 우리 몸에 존재하거나 외부로부터 섭취된다. 여기에는 catalase, SOD, GSH-px 와 같은 酵素性 抗酸化劑들과 Vit A, Vit E, beta-carotene, cysteine 등의 非酵素性 抗酸化劑들이 있다.<sup>47,49,51)</sup>

韓醫學에서는 老化를 生, 長, 壯, 老, 死하는 人類生命의 自然法則으로 인식하였고 老化의 원인을 나이가 증가함에 따라서 장기간에 걸친 陰陽, 臟腑, 氣血, 經絡, 情志의 변화로 인한 生命의 衰退現象으로 파악하였다.<sup>3,9)</sup> 이는 腎臟虧虛, 脾胃虛衰, 心臟虛衰, 肝臟衰憑, 精氣衰竭, 및 陰陽失調와 관계되며,<sup>50)</sup> <素問·上古天真論><sup>52)</sup>에서 여자는 “六七三陽脈衰於上, 面皆焦, 髮始白” 하고 남자는 “六八陽氣衰竭於上, 面焦, 髮鬢頰白 形體皆極” 한다 하였다. 사람이 50세 이상이 되면 인체의 陰陽이 俱虛해지므로 老衰症이 나타나며, 나이가 더할수록 臟腑가 더욱 衰弱해지고 최후엔 “精氣皆竭”하여 “形骸獨居而終矣”가 된다고 하였다. <素問·陰陽應象大論><sup>52)</sup>에서는 40세 이후의 생리적인 특성과 그에 신체의 변화에 따른 老化의 진행 과정에 대하여 “年



四十, 而陰氣自半也, 起居衰矣.年五十, 體重, 耳目不聰明矣. 年六十, 陰痿, 氣大衰, 九竅不利, 下虛上實, 涕泣俱出矣”라 하였고, <素問·上古天真論><sup>52)</sup>에 “天壽過度, 氣脈常通, 而腎氣有餘也”라 하고, 虞<sup>53)</sup>는 “腎元盛則壽延, 腎元衰則壽夭”라 하여 腎氣와 壽命의 관련성을 언급하고 있다. 그 治療法으로는 抗老益壽方<sup>54)</sup>에서 補腎方, 健脾補氣方, 滋陰方, 補陽氣方을 언급하고 있으며 치료의 관점으로는 補腎益元, 補脾腎, 調心補腎, 補氣虛, 補益化痰, 補益扶正 등으로 보고 있다.<sup>53,54,55)</sup>

韓醫學에서는 약물을 복용하여 老化를 遲延시키고 壽命을 延長시키는 처방에 대해서 연구해왔는데 그 중에 하나로 瓊玉膏가 있다. 東醫寶鑑에 의하면 瓊玉膏는 填精, 補髓, 調眞, 養性, 返老, 還童하며 百損을 補하고 百病을 除去하며 萬神이 모두 足하며 五臟을 充溢하게 하며 白髮을 검게 하고 落齒가 다시 나며 奔馬처럼 달리게 한다라고 기재되어 있어서<sup>39)</sup> 이는 한의학에서 보는 老化의 원인을 보충하는 역할을 할 것으로 추측할 수 있다.

본 연구에서는 경옥고의 老化방지 효과를 실험적으로 알아보기 위하여 老化유발 흰쥐를 이용하여 항산화능을 측정하였다. 老化촉진은 張<sup>42)</sup> 등의 방법에 따라 D-Galactose를 피하주사하여 유발하였다.

혈장 지질의 過酸化 정도를 알아보기 위해 脂質過酸化物 함량(Thiobarbituric Acid Reactive Substances : TBARS values)을 측정한 결과는 Normal 군과 Control 군, 그리고 KOG 군의 집단간 차이는 통계적으로 유의한 차이가 있었으며 (F=4.065, p=0.039, ANOVA test), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意性を 검정한 결과 Control군이 Normal군에 비해 유의하게 증가하였고, KOG군이 Control군에 비하여 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 老化가 진행되면서 지질과산화물의 생성이 증가한다는 사실을 말해주는 것으로 이해할 수

있고 Control 군에 비해서 KOG 군에서 낮게 나타난다는 것은 瓊玉膏의 투여가 老化과정에서 증가하는 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 측정한 결과 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며(F=3.619, p=0.052, ANOVA test), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意性を 검정한 결과 KOG군이 Control군에 비하여 증가하는 경향을 나타내었다.

적혈구에서의 抗酸化 酵素들의 活性을 알아보기 위해 抗酸化 酵素인 glutathione peroxidase (GSH-px)의 活性을 측정한 결과 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며(F=6.844, p=0.008, ANOVA test), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意性を 검정한 결과 Control군은 Normal군에 비하여 유의한 감소를 보였고, KOG군은 Control군에 비하여 증가하는 경향을 보였다. 이는 瓊玉膏의 투여가 적혈구의 GSH-px의 양을 증가시키는 것을 알 수 있다.

적혈구에서의 抗酸化 酵素들의 活性을 알아보기 위해 抗酸化 酵素인 Catalase의 活性을 측정한 결과 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 없었다(F=1.154, p=0.342, ANOVA test). 혈장내 총지방의 농도를 측정한 결과 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며 (F=19.337, p=0.0001, ANOVA test), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意性を 검정한 결과 KOG군이 Control군에 비하여 유의한 감소를 나타내었다.

혈장내 중성지방의 농도를 측정한 결과 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 없었다 (F=2.308, p=0.134, ANOVA test). 혈장내 총 콜레스테롤 농도를 측정한 결과 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 없었다(F=0.182,

p=0.835, ANOVA test). 혈장내 총 HDL-콜레스테롤 농도를 측정된 결과 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 없었다(F=0.503, p=0.615, ANOVA test).

이상의 결과로 보면 瓊玉膏는 D-Galactose의 피하주사로 老化가 촉진된 쥐의 적혈구에서 지질과산화물의 함량을 감소시키고 항산화효소인 SOD와 GSH-px 活性을 증가시키는 작용을 나타내었다. 따라서 瓊玉膏는 본 실험에서 抗酸化 효과를 갖고 있다고 볼 수 있으며 향후 다양한 지표를 이용한 보다 심도 있는 연구가 필요하다고 생각한다.

## V. 結 論

경육고의 항산화능을 알아보기 위하여 18 주령의 Normal군, D-Galactose를 투여한 Control군과 D-Galactose와 瓊玉膏를 동시에 투여한 KOG군에서 혈장의 TBARS 함량과 적혈구의 SOD, GSH-px, catalase 활성과 혈장내 총지방, 중성지방, 총콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤 농도를 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 혈장의 TBARS 수준은 D-galactose를 투여한 흰쥐에서는 KOG 군이 Control 군에 비하여 유의하게 감소하였다.
2. 적혈구의 SOD 활성은 Control 군에 비하여 KOG 군에서 유의하게 증가하였다
3. 적혈구의 GSH-px 활성은 KOG 군이 Control 군에 비하여 유의하게 증가하였다.
4. 적혈구의 catalase 활성은 모든 실험군 간에 유의한 차이가 없었다.
5. 혈장내 총지방의 농도는 KOG 군이 Control 군에 비하여 유의한 감소를 나타내었다.
6. 혈장내 총콜레스테롤 농도와 총 HDL-콜레스테롤 농도, 혈장내 중성지방의 농도는 실험군 간에 유의한 차이가 없었다.

이상의 결과로 瓊玉膏는 D-galactose로 유발된 老化촉진 흰쥐에서 항산화능 증진 효과가 있었다.

## 參考文獻

1. 최진호 : 노화의 메커니즘과 연구방향, 생화학뉴스, 한국생화학회, 5(3) : 39-53, 1985.
2. 徐舜圭 : 成人病 老人醫學, 서울, 고려의학, pp 10-13,30-37, 225-228, 1992.
3. 이정복 : 장수학, 의성당, 서울, pp.11-99, 492-576, 1325-1388, 1993.
4. 오유진 : 활성산소(유해산소)가 질병의 원인이었다, 이화문화출판사, pp. 57-58, 1997.
5. 전남대학교 대학원 의학과 : 노인의학, 의학의 최신동향, Vol 23, pp. 1-11.
6. 醫學教育研修院 : 老人醫學, 서울대학교출판부, pp.27-35, 1999.
7. 김종평, 유익동 : 노화억제를 위한 항산화제 연구, 생명공학동향, 6(2) : 25-26, 1998.
8. 김숙희, 김화영 : 노화, 서울, 민음사, pp 83-85, 1995.
9. 杜鎬京 : 東醫腎系學, 서울, 東洋醫學研究院, pp. 1093-1100 1325-1383, 1993.
10. 김병탁, 김성훈 : 瓊玉湯의 抗酸化作用에 대한 實驗的 研究, 대전대학교 한의학연구소 논문집7(1), p741, 1998.
11. 이은숙, 서부일, 이준우 등 : 경육고와 경육고 가미방의 면역활성에 관한 연구, 대한본초학회지, 17(2) : 95-100, 2002.
12. 이은숙, 서부일, 이준우 등 : 경육고 및 경육고 가미방이 폐암에 미치는 영향, 대한본초학회지, 17(2) : 101-109, 2002.
13. 안상원, 이철완 : 熟地黃과 六味地黃湯이 老化過程 흰쥐에서의 抗酸化 機轉에 미치는 影響, 대전대학교 한의학연구소논문집8(1) p.593, 1999.

14. 허준령, 김병수, 강정수 : 十全大補湯의 抗酸化作用에 관한 研究, 동 의 생 리 병 리 학 회 지, 17(2) : 356-362, 2003.
15. 윤철호, 정지천, 박선동 : 左歸飲과 右歸飲이 老化 Rat의 腦 過酸化 脂質 生成 및 活性 酸素 生成系 酵素 活性에 미치는 影響, 대 한 한 의 학 회 지, 16(2) : 348-364, 1995.
16. 황영근 : 靑娥丸의 抗酸化作用에 관한 研究, 동국대학교대학원, 1995.
17. 배기채 : 高麗人蔘, 高麗紅蔘 및 total saponin의 抗酸化作用, 대전대학교 대학원, 1997.
18. 박선동, 박현준, 주왕석 : 歸脾湯 및 그 構成 藥物群이 抗酸化效果에 미치는 영향, 대한 본초학회지, 16(1) : 11-27, 2001.
19. 한기준 : 白何首烏의 抗酸化活性和 amino acid의 分布에 관한 實驗的 研究, 대전대학교 대학원, 1996.
20. 차은이 : 桑寄生의 抗酸化作用에 관한 研究, 대전대학교 대학원, 2001.
21. 곽중문, 오민석, 송태원 : 老化過程의 흰쥐에서 醒心散이 心臟의 代謝酵素系에 미치는 影響, 대전대학교 한의학연구소, 8(1) : 625-641, 1998.
22. 서경석, 이상룡 : 五子地黃飲子가 老化白鼠의 血液變化와 血清, 뇌조직의 抗酸化活性和 미치는 影響, 동 의 신 경 정 신 과 학 회 지, 10(1) : 79-93, 1999.
23. 윤일지 : 六味地黃湯이 老化Rat의 肝內 過酸化脂質 및 代謝酵素系에 미치는 影響, 대전대학교 대학원, 1998.
24. 박용기, 강병수 : 薏苡仁과 苦參의 抗酸化作用에 관한 研究, 대한본초학회지, 15(2) : 57-67, 2000.
25. 하재원 : 定志丸이 老化에 미치는 影響, 대전대학교 대학원, 1996.
26. 박재상 : 延年丸이 老化에 따른 免疫機能低下에 미치는 影響, 대전대학교 대학원, 1993.
27. 김려화, 한상섭, 최용순 : 가시오갈피 추출물의 항산화효과, 생약학회지, 33(4) : 359-363, 2002.
28. 박용기 : 葛花와 鬱金 및 苦參의 抗酸化作用에 관한 比較研究, 대한본초학회지, 16(1) : 41-53, 2001.
29. 박용기 : 菴子의 抗酸化作用에 관한 研究, 대한본초학회지, 14(2) : 33-41, 1999.
30. 김연태, 김정숙 : 노화 촉진 생쥐에서 녹용의 조혈 작용에 관한 연구, 생약학회지, 27(4) : 371-377, 1996.
31. 김형환, 조수인, 이용태 등 : 四君子湯에서 甘草의 抗酸化劑로서의 役割, 대한본초학회지, 14(2) : 13-22, 1999.
32. 권영모, 박선동 : 瀉靑丸과 그 構成藥物群의 항산화 효과, 대한본초학회지, 17(2) : 225-233, 2002.
33. 정봉연, 송일병 : 少陰人 十二味寬中湯, 吳茱萸附子理中湯이 흰쥐의 腦와 肝組織의 抗酸化 機轉에 미치는 影響, 사상의학회지, 11(2) : 227-250, 2000.
34. 이영구, 손형욱, 이동욱 등 : 음양곽의 추출물이 노화에 따른 흰쥐 간의 이물질대사 효소계에 미치는 영향, 藥作誌, 10(1) : 29-36, 2002.
35. 박영철, 이선동, 정해원 : 인삼의 항노화효과와 미래의 연구방향, 대한보건협회학술지, 25(2) : 65-76, 1999.
36. 김로사, 조정훈, 장준복 등 : 紫河車가 老化생쥐의 生殖能力에 미치는 영향, 대한한방부인과학회지, 15(2) : 56-59, 2001.
37. 김봉수, 박용기, 강병수 : 菟絲子類의 抗酸化作用에 對한 研究, 대한본초학회지, 12(1) : 67-84, 1997.
38. 한병훈, 유시용, 박명환 등 : 生藥의 抗酸化 活性檢索 研究, 생약학회지, 10(3) : 108-111, 1979.

39. 許浚 : 東醫寶鑑, 서울, 남산당. 1981 : 11.
40. 고기완 : 老化 및 老人의 病因 病機 病證에 關한 文獻的 研究, 경희대학교 대학원, 1993.
41. Totter, J.R. Proc : Natl. Acad. Sci. USA. 1980 : 77 : 1763-1767.
42. 張熙 외 : D-galactose에 의해 유발된 백서 老化 모델의 생화학적 변화, 중국약리와 독성학회지 4(4), pp.309, 1990.
43. Harman, D. Proc : Natl. Acad. Sci. USA. 1981 : 78 : 7124-7128.
44. Ames, B. N : Science. 1983 : 221 : 1256-1264.
45. 金永坤, 金永均 : 프리라디칼, 서울,麗文閣, pp.31-35, 98-101, 259-260, 278-286, 396-400, 425-426, 564-568, 1997.
46. Marx, J. L. : Oxygen free radicals linked to many diseases, Science, 235 : 529, 1987.
47. 박진우 : 노화, 암과 라디칼에 의한 DNA 손상, 생화학뉴스, 9(4) : 314-320, 1990.
48. 김도희 : 과산화지질과 성인병, 노화와의 관계, 운동영양학회지, 4(2) : 63-71, 2000.
49. 조경환 : 항산화제의 작용과 임상적 이해, 가정의학회지, 19(5) : 60-65, 1998.
50. 과학백과사전출판사 : 자연치료건강학, 서울, 일월서각, p.465, 1990.
51. 한복기 : 노화과정에서의 활성산소의 역할, 생명공학동향, 6(2) : 9-14, 1998.
52. 南京中醫學院醫經教研組 : 黃帝內經素問譯釋, 上海, 上海科學技術出版社, p337, 1986.
53. 虞搏 : 醫學正傳, 서울, 成輔社, p9, 1986.
54. 李聰甫 : 傳統老年醫學, 湖南, 湖南科學技術出版社, pp 212-215, 1988.
55. 中國中西醫結合雜誌編輯委員會 : 中國中西醫結合雜誌, 서울, 一中社, 13(4) : 14, 17-18, 13(5) : 101-102 1993.