十全大補湯의 항산화작용에 관한 연구

허준영 · 김병수 · 강정수*

대전대학교 한의과대학 생리학교실

Study on Antioxidant Aaction of Sibjeondaebo-tang

Jun Young Heo, Byoung Soo Kim, Jung Soo Kang*

Department of Phisiology, College of Oriental Medicine, Daejeon University

In order to examine the antioxidant activities of SJDBT(Sibjeondaebo-tang), the study was done through measurement of parameters such as LPO(lipidperoxidation), GSH(glutathione), SOD(superoxidation dismutase), catalase, GOT, GPT, ALP. The results were obtained as follows: For the weight changes, the kidney and testis of group given SJDBT showed decrease in the weight compared to the control group, and the left cerebrum, right cerebrum, cerebellum and liver of group given SJDBT showed increase. But the changes were not significant. The left cerebrum and right cerebrum of group given SJDBT showed significant decrease in the content of LPO compared to the control group, and in the activity of SOD and catalase showed significant increase. The cerebellum of group given SJDBT showed significant decrease in the content of LPO and GSH compared to the control group, and in the activity of SOD and catalase showed significant increase. For the changes of LPO, GSH in the liver, the group given SJDBT showed significant decrease in the content of LPO and GSH compared to the control group, and in the activity of catalase showed significant increase. For the changes of LPO in the kidney, the group given SJDBT showed significant decrease in the content of LPO compared to the control group. For the changes of LPO, GSH and the activity of SOD, catalase in the testis, the group given SJDBT showed significant decrease in the content of LPO and GSH compared to the control group, and in the activity of SOD and catalase showed significant increase. From above results, the antioxidant action of SJDBT is effective. And it is expected to be necessary to the study of the mechanism in the antioxidant of SJDBT.

Key words : Sibjeondaebo-tang(十全大補湯), LPO(lipidperoxidation), GSH(glutathione), SOD(superoxidation dismutase), catalase, GOT, GPT, ALP

서 론

인체는 출생, 성장, 성숙, 노화의 과정으로 이어지는데, 여기서 노화란 인간의 생성과 성장 및 성숙 과정 후 시간의 흐름에 따라 진행되는 일련의 변화로서 형태적, 기계적으로 쇠퇴하여 사망에 귀착되는 생리적인 현상을 의미한다[1-5]. 노화의 원인학설로는 遺傳學說, error破滅說, 體細胞突然變異說, 代謝產物蓄積說, 自由遊離基說, 生體防禦機構障碍說, 스트레스說 등[2,5,7] 다양하며, 최근에는 自由遊離基說에 관련된 연구가 증대하고 있다[18-33]. 이 가설은 세포내의 정상대사 과정 중에 발생하는 자유유리기가 세포성분과 임의로 반응하여 산화체 혹은 과산화체를 만들고, 그 결과 세포성분 본래의 기능을 상실하게 됨으로써 노화와 만성퇴행성 질병의 근본적 원인이 되며, 인체는 이러한 자유유리기와 산화체를 분해하거나 생성억제하는 물질을 생산한다는 이론이다[1-5,7]. 노화의 원인에 대하여 한의학에서는 腎臟虧虛, 脾胃虛衰, 心臟虛衰, 肝臟衰憊, 精氣衰竭 및 陰陽失調와 관계되며[9], 張景岳은 『類經』[10]에서 "人生之本 精與氣耳 … 蓋以天地萬物 皆由氣化 氣存數亦存 氣盡數亦盡 所以生者由乎此 所以死者亦由乎此 此氣之不可不寶 能寶其氣 則延年之道也"라 하여 氣는 인체의 盛衰壽夭의 근본임을 지적하고 있으며, 『靈樞·營衛生會篇』[12]에 "老者之氣血衰, 其肌肉枯, 氣道澁, 五藏之氣相搏, 其營氣衰少"라 하여 가령에 따른 氣血衰落을 설명하고 있다

十全大補湯은 『太平惠民和劑局方』[13]에 "諸虛不足, 五勞七傷, 不進飮食, 久病虛損"으로 처음 기재된 이후, 氣血虛를 치료하는 대표적인 방제로 임상에 널리 응용되고 있다[13-16]. 十全大補湯에 관한 연구로서 李[35]가 抗癌活性 및 抗轉移 효과에 관한 연구를, 辛[36]이 生肌作用에 미치는 영향을, 金[37]은 Rat의 성장에 미치는 영향을, 金[38]은 생쥐의 세포성 및 체액성 면역반응에 미치는

* 교신저자 : 강정수, 대전시 중구 용운동 96-3, 대전대학교 한의과대학
· E-mail : omdkjs@dju.ac.kr, Tel : 042-280-2617
· 접수 : 2003/01/21 · 수정 : 2003/02/27 · 채택 : 2003/03/22

영향을, 朴[39]은 少陰人 十全大補湯이 면역반응에 미치는 영향을, 張[40]은 少陰人十全大補湯과 局方十全大補湯이 양허병증에 미치는 影響을, 黃[41]은 十全大補湯 瓦松 및 十全大補湯加瓦松의 항암효과와 면역반응에 관한 연구 등을 보고하였으나, 十全大補湯을 이용한 抗酸化에 대한 연구는 아직 없었다.

이에 저자는 大補氣血하는 효능을 지닌 十全大補湯이 各 장기별로 항산화작용을 실험적으로 입증하고자, 十全大補湯 濃縮液을 자연 老化白鼠에게 투여한 뒤, 左腦, 右腦, 小腦, 肝臟, 腎臟, 脾臟, 睾丸의 중량과 이들 장기의 過酸化脂質 (LPO) 함량, glutathione(GSH) 含量과 superoxide dismutase(SOD), catalase, 血淸內의 GOT, GPT, ALP의 활성도를 측정한 결과, 유의한 성적을 얻었기에 보고하는 바이다.

실 험

1. 재료

1) 동물

본 실험에 사용된 실험용 쥐는 연령이 20개월 된 Sprague-Dawley계 (SD) 웅성 백서를 사용하였으며, 실험 당일까지 고형사료(조단백질 22.1%이하, 조지방 8.0%이하, 조섬유 5.0%이하, 조회분 8.0%이하, 칼슘 0.6%, 인 0.4%이상, 삼양사 배합 사료 Co.)와 물을 충분히 공급하고 실온 22±2 ℃, 상대 습도 50±10%, 조명 시간 12시간(07:00~19:00), 조도 150~300 Lux로 설정하여 2주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

2) 약재

본 실험에 사용한 十全大補湯의 용량은 『方藥合編』[17]에 의거하였으며, 약재는 대전대학교 부속 한방병원에서 구입, 정선하여 사용하였고 처방 내용과 분량은 다음과 같다(Table 1).

Table 1. The Compositions of Sibjeondaebo-tang(SJDBT) Extracts

韓藥名	生藥名	重量(g)
人 蔘	*Ginseng Radix*	6
肉 桂	*Ciniamomi Cortex*	6
川 芎	*Cnidii Rhizoma*	6
地 黃	*Rehmanniae Radix Preparat*	6
茯 苓	*Poria*	6
白 朮	*Atractylodis Rhizoma Alba*	6
炙甘草	*Glycyrrhizae Radix*	6
黃 芪	*Astragali Radix*	6
當 歸	*Angelicae Gigantis Radix*	6
白芍藥	*Paeoniae Radix Alba*	6
Total Amount		60

3) 시약 및 기기

실험에 사용된 시약은 2-thiobarbituric acid (TBA), trichloroacetic acid(TCA), 5, 5'-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB), hydrogen peroxide(H_2O_2), ethylene-diaminetetraacetic acid(EDTA), chloroform, hematoxylin, potassium phosphate monobasic(KH_2PO_4), potassium phophate dibasic(K_2HPO_4) 등은 Sigma사(Sigma Chem. Co., U.S.A.), ferric sulfate($FeSO_4$), batanol, sulfosalicylic acid는 Junsei사 (Junsei Chem. Co., Japan)로부터 구입하였으며, glutamate-oxaloacetate transaminase (GOT), glutamate-pyruvate transaminase (GPT), alkaline phosphatase(ALP) 측정 kit은 Hitachi사(Hitachi Co., Japan)로부터, ethanol은 Merck사(Merck Chem. Co., Germany)로부터 구입하여 사용하였다. 본 실험에 사용된 기기는 round flask, rotary vacuum evaporator(Buchi 461, Germany), centrifuge(GS-6R, Beckman Co., U.S.A.), spectrophotometer (Shimadzu, Japan), autoclave(Hirayama, Japan), micro pipet(Gilson, U.S.A), water bath(Vision, Korea) 등을 사용하였다.

2. 방법

1) 검액의 제조 및 투여

十全大補湯(이하 SJDBT이라 한다) 4첩을 증류수 2,000㎖에 3시간 가열 추출하고, 침전물을 3회 여별(3M filter paper)한 뒤, 3,000㎖ round flask에 넣고 여과액을 rotary vacuum evaporator에서 감압 농축하였다. round flask에 농축된 용액을 -70℃ deep freezer에서 4시간 동안 방치하고, 24 시간 동안 freeze dryer로 동결 건조하여 39.5 g 의 분말을 얻어서 실험에 필요한 농도로 생리식염수에 희석하여 사용하였다. SJDBT 투여군은 농축된 SJDBT을 3주일간 매일 330㎎/㎏의 농도로 경구 투여하였다.

2) 효소원의 제조

실험 동물을 ether로 마취시킨 후 복부 정중선을 따라 절개하고 腹部大動脈을 통하여 채혈한 후, 각 장기를 적출하여 생리식염수로 혈액 및 기타 이물질을 제거하였다. 조직 1g당 4배량의 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.5)를 가하여 組織粉碎機로 磨碎하였다. 이 磨碎液을 600×g에서 10분간 원심분리하여 核 및 미마쇄부분을 제거한 상등액을 10,000×g에서 20분간 원심분리하였다. 이 상등액 105,000×g에서 1시간 초원심분리하여 cytosolic fraction을 얻고, 12,000×g에서 20분간 원심분리하여 mitochondrial fraction을 얻었다. 磨碎液으로 脂質過酸化 및 glutathione의 함량을 측정하였으며, cytosolic fraction은 superoxide dismutase 활성 측정의 효소원으로, mitochondrial fraction은 catalase의 활성 측정의 효소원으로 사용하였다. 이상의 모든 조작은 따로 규정이 없는 한 4℃ 이하에서 행하였다.

3) 過酸化脂質(LPO) 함량 측정(TBA 측정)

조직 1 g당 4배량의 potassium phosphate buffer를 가해 마쇄하고 이 磨碎液 200㎕에 증류수 1.3㎖, 20% TCA에 1mM 농도로 녹인 FeSO4 용액 500㎕를 넣고 5초 동안 vortex mixer로 혼합하였다. 0.8% TBA 용액 1㎖을 test tube에 가하고, clean dry marble(유리구슬)를 올려놓은 후, 20분간 water bath에서 끓였다. 그리고 찬물에 담가 식힌 후, butanol 5㎖를 첨가하여 완전히 섞어 준 다음 3,000rpm에서 10 분간 원심분리하여 상층액을 실험에 사용하였다. 532㎚에서 吸光度를 측정하였으며, 조직 단위 g 당 과산화지질의 농도는 아래의 식에 의해 산출하였다.

吸光度 × factor = nmoles/g of tissue Factor : 32.051

4) Glutathione(GSH) 함량 측정

조직 1 g당 4배량의 potassium phosphate buffer를 가해 마쇄한 용액 200㎕에 蒸溜水 0.3㎖, 4% sulfosalicyclic acid 용액 500㎕를 넣고 섞어 준 후, 3,000rpm에서 15분간 원심분리하였다. 상층액 300㎕에 0.1mM DTNB 발색 시약 2.7㎖를 넣고 실온에서 20분간 방치한 후 412㎚에서 흡광도를 측정하였으며, 조직 단위 g당 GSH의 농도는 아래의 식에 의해 산출하였다.

吸光度 × factor = μmoles/g of tissue Factor : 9.75

5) Catalase 활성도 측정

Mitochodrial fraction에 0.1M potassium phosphate buffer (pH7.4) 2~3㎖를 넣고 얼렸다 녹였다 하는 과정을 3회 반복하여 막단백질인 catalase를 유리시켰다. 기질은 50mM potassium phosphate buffer(pH6.8)에 10.5mM H_2O_2를 넣어 조제하였다. 반응은 25℃에서 5분간 예비 반응시킨 기질에 mitochodria 분획 20 ㎕를 넣어 섞어 준 후 240㎚에서 0초와 30초의 흡광도를 측정하였으며, catalase 활성도는 아래의 식에 의해 산출하였다.

Unit : nmole H_2O_2 decreased/㎎ protein/min

= 吸光度 × factor/사용한 효소량에 해당하는 protein량

Factor : 24.390 nmole/㏄ × time(min) × total volume(㎖)

6) Superoxide dismutase(SOD) 활성도 측정

Cytosolic fraction에 ethanol : chloroform(5:3)용액을 0.4배량 첨가하여 섞어 준 후, 10,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 상층액을 실험에 이용하였다. 상층액 10㎕를 0.1mM EDTA가 첨가된 50mM potassium phosphate buffer 2.93㎖에 가한 후, 실온에서 15분간 반응시켰다. 그런 다음 50mM hematoxylin 60㎕를 첨가한 후, 560㎚에서 0분, 4분의 흡광도를 측정하였으며, SOD 활성도는 아래의 식에 의해 산출하였다.

Unit(50% inhibition of autoxidation of hematoxylin)

= Control unit ÷ test OD/㎎ protein

Control unit : (control 4분 OD - control 0분 OD)/2
Test OD : sample 4분 OD - sample 0분 OD

7) Glutamate-oxaloacetate transaminase(GOT) 활성도 측정

血淸 10㎕에 GOT 효소액(malate dehydrogenase, nicotinamide adenine nucleotide) 300㎕를 넣고, 37℃에서 3분간 반응시킨 후, GOT 기질액 (L-aspartate, 2-amino-2-hydroxymethyl-1, 3-propandiol buffer) 90㎕를 첨가하여 37℃, 48~216초 동안 반응시켜 415㎚와 340㎚의 흡광도를 측정하였다.

8) Glutamate-pyruvate transaminase(GPT) 활성도 측정

血淸 10㎕에 GPT 酵素劑 (lactate dehydrogenase, nicotinamide adenine nucleotide) 300㎕를 넣고, 37℃에서 3분간 반응시킨 후, GPT 기질액(L-alanine, 2-amino-2-hydroxymethyl-1, 3-propandiol buffer) 90㎕를 첨가하여 37℃, 48~216초 동안 반응시켜 415㎚와 340㎚의 흡광도를 측정하였다.

9) Alkaline phosphatase(ALP) 활성도 측정

血淸 4㎕에 ALP 완충액(Magnesium chloride, 2-amino-2-methyl-1-propanol buffer) 300㎕를 넣고, 37℃에서 3분간 반응시킨 후, ALP 기질제(p-Nitrophenylphosphate) 70㎕를 첨가하여 37℃, 48~264초 동안 반응시켜 505㎚와 415㎚의 흡광도를 측정하였다.

성 적

1. 각 장기의 중량

각 장기의 중량은 체중에 대한 비율로 표시하였는데, SJDBT를 장기적으로 투여한 군의 腎臟과 睾丸에서 감소되었고, 左腦, 右腦, 小腦 및 肝臟에서는 증가되었으나 유의성이 없었다(Table 2).

Table 2. Effect of on the Weight of Organs

Group	% of body weight(g)	
	Control	SJDBT
Left cerebrum	0.0012±0.0003	0.00125±0.0007
Right cerebrum	0.0013±0.0007	0.00135±0.0004
Cerebellum	0.0011±0.0003	0.00115±0.0007
Liver	0.025±0.0028	0.026±0.0007
Kidney	0.0068±0.0011	0.0063±0.0007
Spleen	0.0019±0.0002	0.0019±0.0003
Testis	0.0072±0.0002	0.0071±0.0001

Body weight of control:484.0±21.3(g), Body weight of SJDBT treated group:554.5±23.5(g)

2. 뇌에서의 항산화 효과

1) 左腦에서의 항산화 효과

左腦에서 LPO, GSH 함량과 SOD, catalase 활성도를 측정한 결과, LPO 함량은 대조군과 SJDBT 투여군에서 각각 13.93±0.75, 10.14±0.69(nmoles/g tissue)로, GSH 함량은 각각 0.93±0.09, 0.91±0.07(μmoles/g tissue)로, SOD 활성도는 24.4±4.6, 56.9±7.2(unit/㎎ protein/min)로, catalase 활성도는 73.2±11.0, 471.5±13.4(μmoles/㎎ protein/min)로 나타나, LPO함량, SOD와 catalase 활성도에서 대조군에 비하여 유의성($p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.001$)있는 결과가 나타났다(Table 3).

Table 3. Effect of SJDBT on the Content of LPO, GSH and Activity of SOD and Catalase in Left Cerebrum

	Unit	Control	SJDBT
LPO	nmoles/g tissue	13.93±0.75	10.14±0.69**
GSH	μ moles/g tissue	0.93±0.09	0.91±0.07
SOD	unit/㎎ protein/min	24.4±4.6	56.9±7.2*
Catalase	μ moles/㎎ protein/min	73.2±11.0	471.5±13.4***

Control : None treated group, SJDBT : SJDBT treated group, * : Statically significant value compared with control data by T test (*:p<0.05, **:p<0.01, ***:p<0.001)

2) 右腦에서의 항산화 효과

右腦에서 GSH 함량은 대조군과 SJDBT 투여군에서 각각 0.88±0.11, 0.90±0.07(μmoles/g tissue)로 有意性있는 효과는 없었고, LPO 함량은 각각 10.02±0.21, 9.11±0.33 (nmoles/g tissue)으로, SOD 활성도는 43.6±4.1, 61.5±4.3 (unit/㎎ protein/min) 으로, catalase 활성도는 234.1±26.3, 375.0±11.5(μmoles/㎎ protein/min)로 대조군에 비하여 유의성($p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.01$)있는 결과를 나타내었다(Table 4).

Table 4. Effect of SJDBT on the Content of LPO, GSH and Activity of SOD and Catalase in Right Cerebrum

	Unit	Control	SJDBT
LPO	nmoles/g tissue	10.02±0.21	9.11±0.33*
GSH	μ moles/g tissue	0.88±0.11	0.90±0.07
SOD	unit/㎎ protein/min	43.6±4.1	61.5±4.3*
Catalase	μ moles/㎎ protein/min	234.1±26.3	375.0±11.5**

Control : None treated group, SJDBT : SJDBT treated group, * : Statically significant value compared with control data by T test(* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001)

3) 小腦에서의 항산화 효과

小腦에서 LPO 함량은 대조군과 SJDBT 투여군에서 각각 7.31±0.01, 6.02±0.28(nmoles/g tissue)로, GSH 함량은 각각 0.61±0.09, 0.55±0.02(μmoles/g tissue)로 유의성있는 감소(p<0.01, p<0.01)를 나타내었으며, SOD 활성도는 43.7±5.3, 73.3±9.1(unit/㎎ protein/min)로, catalase 활성도는 100.6±8.3, 188.2±14.8(μmoles/㎎ protein /min)로 대조군에 비하여 유의성(p<0.05, p<0.01)있게 증가하였다(Table 5).

Table 5. Effect of SJDBT on the Content of LPO, GSH and Activity of SOD and Catalase in Cerebellum

	Unit	Control	SJDBT
LPO	nmoles/g tissue	7.31±0.01	6.02±0.28**
GSH	μ moles/g tissue	0.61±0.09	0.55±0.02**
SOD	unit/㎎ protein/min	43.7±5.3	73.3±9.1*
Catalase	μ moles/㎎ protein/min	100.6±8.3	188.2±14.8**

Control : None treated group, SJDBT : SJDBT treated group, * : Statically significant value compared with control data by T test(* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001)

3. 肝臟에서의 항산화 효과

肝臟에서 SOD 활성도는 대조군과 SJDBT 투여군에서 각각 357.4±4.0, 362.0±7.5(unit/㎎ protein/min)로 유의성있는 결과가 나타나지 않았고, LPO 함량은 2.21±0.13, 1.78±0.14(nmoles/g tissue)로, GSH 함량은 5.24±0.19, 4.61±0.21(μmoles/g tissue)로, catalase 활성도는 각각 69.8±3.7, 151.0±13.7(μmoles/㎎ protein/min)로 유의성(p<0.05, p<0.05, p<0.05)있는 결과를 나타내었다(Table 6).

Table 6. Effect of SJDBT on the Content of LPO, GSH and Activity of SOD and Catalase in Liver

	Unit	Control	SJDBT
LPO	nmoles/g tissue	2.21±0.13	1.78±0.14*
GSH	μ moles/g tissue	5.24±0.19	4.61±0.21*
SOD	unit/㎎ protein/min	357.4±4.0	362.0±7.5
Catalase	μ moles/㎎ protein/min	69.8±3.7	151.0±13.7*

Control : None treated group, SJDBT : SJDBT treated group, * : Statically significant value compared with control data by T test(* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001)

4. 腎臟에서의 항산화 효과

腎臟에서 GSH 함량은 대조군과 SJDBT 투여군에서 각각 2.43±0.12, 2.26±0.11(μmoles/g tissue)로, SOD 활성도는 각각 117.6±9.8, 120.4±10.1(unit/㎎ protein/min)로, catalase 활성도는 69.7±3.2, 79.8±5.8(μmoles/㎎ protein/min)로 유의성있는 효과를 나타내지 않았고, LPO 함량은 각각 3.92±0.22, 2.64±0.13(nmoles/g tissue)으로 나타나 유의성(p<0.01)있는 감소를 나타내었다(Table 7).

Table 7. Effect of SJDBT on the Content of LPO, GSH and Activity of SOD and Catalase in Kidney

	Unit	Control	SJDBT
LPO	nmoles/g tissue	3.92±0.22	2.64±0.13**
GSH	μ moles/g tissue	2.43±0.12	2.26±0.11
SOD	unit/㎎ protein/min	117.6±9.8	120.4±10.1
Catalase	μ moles/㎎ protein/min	69.7±3.2	79.8±5.8

Control : None treated group, SJDBT : SJDBT treated group, * : Statically significant value compared with control data by T test(* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001)

5. 脾臟에서의 항산화 효과

脾臟에서 LPO 함량은 대조군과 SJDBT 투여군에서 각각 4.43±0.16, 4.36±0.23(nmoles/g tissue)으로, GSH 함량은 각각 1.21±0.20, 1.19±0.22(μmoles/g tissue)로, SOD 활성도는 27.9±6.8, 36.2±5.5(unit/㎎ protein/min)로, catalase 활성도는 17.5±5.9, 22.9±9.9(μmoles/㎎ protein/min)로 나타나 유의성있는 결과가 나타나지 않았다(Table 8).

Table 8. Effect of SJDBT on the Content of LPO, GSH, and Activity of SOD and Catalase in Spleen

	Unit	Control	SJDBT
LPO	nmoles/g tissue	4.43±0.16	4.36±0.23
GSH	μ moles/g tissue	1.21±0.20	1.19±0.22
SOD	unit/㎎ protein/min	27.9±6.8	36.2±5.5
Catalase	μ moles/㎎ protein/min	17.5±5.9	22.9±9.9

Control : None treated group, SJDBT : SJDBT treated group

6. 睾丸에서의 항산화 효과

睾丸에서 LPO 含量은 대조군과 SJDBT 투여군에서 각각 2.23±0.21, 1.61±0.18(nmoles/g tissue)로, GSH 함량은 각각 3.33±0.16, 2.72±0.18 μmoles/g tissue)로 나타나 유의성(p<0.05, p<0.05)있는 감소를 나타내었고, SOD 활성도는 377.2±10.0, 478.1±15.0(unit/㎎ protein/min)로, catalase 활성도는 23.6±5.1, 41.9±6.7(μmoles/㎎ protein /min)로 유의성(p<0.001, p<0.05)있는 증가를 나타내었다(Table 9).

Table 9. Effect of SJDBT on the Content of LPO, GSH, and Activity of SOD and Catalase in Testis

	Unit	Control	SJDBT
LPO	nmoles/g tissue	2.23±0.21	1.61±0.18*
GSH	μ moles/g tissue	3.33±0.16	2.72±0.18*
SOD	unit/㎎ protein/min	377.2±10.0	478.1±15.0***
Catalase	μ moles/㎎ protein/min	23.6±5.1	41.9±6.7*

Control : None treated group, SJDBT : SJDBT treated group, * : Statically significant value compared with control data by T test(* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001)

7. GOT, GPT, ALP의 활성도 변화

血淸中에 존재하는 관련 효소들의 활성도 변화에서, GOT는 대조군이 335±39(IU/L)인데 비하여 SJDBT 투여군이 221±27(IU/L)로, GPT는 대조군이 63±5(IU/L)인데 비하여 SJDBT 투여군이 46±3(IU/L)로, ALP는 대조군이 584±61(IU/L)인데 비하여 SJDBT 투여군 255±91(IU/L)로 유의성($p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$)있는 감소를 나타내었다(Table 10).

Table 10. Effect of SJDBT on GOT, GPT and ALP Activities in Serum

Test Group	Serum enzymes		
	GOT(IU/L)	GPT(IU/L)	ALP(IU/L)
Control	335±39	63±5	584±61
SJDBT	221±27*	46±3*	255±91*

Control : None treated group, SJDBT : SJDBT treated group, * : Statically significant value compared with control data by T test(* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001)

고 찰

인체는 출생, 성장, 성숙, 노화의 과정으로 이어지는데, 노화란 인체의 생성과 성장 및 성숙 과정 후 시간의 흐름에 따라 진행되는 일련의 퇴행성 변화로서, 형태적, 기계적으로 쇠퇴하여 사망에 귀착되는 생리적인 현상을 의미한다[1-5]. 서양의학에서 노화에 대한 가설은 지금까지 약 200여가지가 제안되었으나 그 중에서 가장 유력시되고 있는 것은 自由遊離基說이다.[1,3,5,7] 이 가설은 1956년 Harman이 자유유리기로 인해 생성된 해로운 물질의 축적된 결과가 노화와 만성 퇴행성질병의 근본적인 원인이라고 주창한 이래로, 많은 연구가 진행되고 있다[1-7]. 自由遊離基說은 생체내 정상대사 과정에서 생긴 자유유리기가 생분자(biomolecule)와 반응하여 세포에 손상을 주는데 이러한 自由遊離基의 생성은 나이가 증가함에 따라 증가하고 따라서 세포기능이 점차 감쇠되어 노쇠현상을 초래하게 된다는 가설이다. 自由遊離基에 의한 損傷을 最小化하기 위해서는 superoxide anion(O^{2-}), hydrogen peroxide(H_2O_2)를 대사과정에서 형성되는대로 제거해야 한다[7]. 현재 韓醫學界에서는 이 이론을 기초로 하여 실험동물에 항산화제를 투여함으로써 조직의 손상을 막고 수명을 연장시키는 다양한 연구가 진행되고 있다. 항산화 관련 논문을 살펴보면, 單味劑를 이용한 논문으로 高麗人蔘 · 高麗紅蔘[18], 柴胡[20], 熟地黃, 黃芪, 鹿茸[19] 등이 있고, 복합처방을 사용한 논문으로는 五子地黃飮子[22], 拱淸丸[23], 六味地黃湯[24,25], 補肝丸[26] 등이 있으며, 藥鍼液을 이용한 논문으로는 五加皮[27], 桂枝[28], 覆盆子[29], 山茱萸[30], 淫羊藿[32], 胡桃[31] 등이 있으나, 이들 연구가 단일 장기에 국한되어 있거나 補腎하는 약제가 주종을 이루고 있다. 노화에 대하여 한의학에서는 腎臟虧虛, 脾胃虛衰, 心臟虛衰, 肝臟衰憊, 精氣衰竭과 陰陽失調와 관계되며[9], 인체의 노쇠를 음양의 변화, 장부의 변화, 경락의 변화, 정신의 변화, 기혈의 변화로 보고 있다[3,6]. 『素問·陰陽應象大論』[11]에 "年六十陰痿, 氣大衰, 九竅不利"라 했고, 『靈樞·營衛生會篇』[12]에 "老者之氣血衰, 其肌肉枯, 氣道澁, 五藏之氣相搏, 其營氣衰少"라 했으며, 『靈樞·天年篇』[12]에 "五十歲, 肝氣始衰 … 目始不明. 六十歲, 心氣始衰 … 血氣懈惰. 七十歲, 脾氣虛, 皮膚枯 … 百歲, 五藏皆虛, 神氣皆去, 形骸獨居而終矣."라 하여 가령에 따른 氣血衰落으로 인한 신체 각 부위의 변화와 각 장부의 기능 저하를 설명하고 있다. 氣血和暢은 延年益壽하는 하나의 중요한 조건인데, 五臟皆虛하고 氣血不足하면 기혈의 운행이 느리기 때문에 쉽게 어혈이 생기고 질병을 일으키게 된다. 기혈부족은 개인차에 의하여 각각 氣虛, 血虛, 氣血俱虛의 유형으로 표현된다[42-43]. 노인이 되면 질병에 대한 저항력이 저하되고, 氣가 부족하여 鼓動이 무력해지고 혈류가 완만해져서 氣滯血瘀가 招來되기 쉽다고 하여 補氣補血하는 방법으로 인체의 眞氣를 보양하여야 한다[42]고 하였다.

十全大補湯은 『太平惠民和劑局方』에 처음 기재된 처방으로 "男子婦人, 諸虛不足, 五勞七傷, 不進飮食, 久病虛損 … 順正辟邪, 溫暖脾胃"에 活用한다고 하여,[6,13-16] 氣血虛를 치료하는 八物湯에 黃芪 肉桂를 가미하여 上으로 固表하고 下로 引火歸源케하여 左血右氣 陰陽皆衰를 온전히 하는 처방으로 임상에서 널리 쓰여지고 있다.[6,13-16] 十全大補湯을 구성하는 個別藥物의 효능을 살펴보면, 四君子湯의 構成藥物인 人蔘은 微溫, 微甘微苦하여 培保元氣, 固脫生津하고, 白朮은 溫, 苦甘하여 補脾和中 固表止汗하며, 白茯苓은 平甘淡하여 利水滲濕하고, 甘草는 補脾益氣 淸熱解毒 調和諸藥한다. 四物湯의 構成藥物인 當歸는 溫甘辛하여 補血和血 潤腸滑腸 溫中止痛하고, 熟地黃은 微溫甘하여 滋陰補血 益精塡髓하며, 白芍藥은 微寒, 苦酸하여 養血柔肝 緩中止痛 斂陰收汗하고, 川芎은 溫無毒하고 辛하여 活血行氣 祛風止痛한다. 黃芪는 溫甘하여 益胃固表 利水消腫 托毒生肌하고, 肉桂는 熱辛甘하여 補暖陽 暖脾胃 諸積冷 通血脈한다[31-32]. 十全大補湯에 대한 實驗的 연구로서 李[35]가 항암활성 및 항전이 효과에 관한 연구를, 辛[36]이 生肌作用에 미치는 영향을, 金[37]은 Rat의 성장에 미치는 영향을, 金[38]은 생쥐의 세포성 및 체액성 면역반응에 미치는 영향을, 朴[39]은 少陰人 十全大補湯이 면역반응에 미치는 영향을, 張[40]은 少陰人十全大補湯과 局方十全大補湯이 陽虛病症에 미치는 影響을, 黃[41]은 十全大補湯 瓦松 및 十全大補湯加瓦松의 항암효과와 면역반응에 관한 연구 등을 보고하였으나, 十全大補湯을 이용한 抗酸化에 대한 연구는 없었다.

이에 저자는 大補氣血하는 효능을 지닌 十全大補湯이 각 臟器에서의 항산화작용을 규명하고자, 十全大補湯 검액을 자연 老化白鼠의 腦, 肝臟, 腎臟, 脾臟, 睾丸에 투여하고, 이들 臟器의 체중변화와 LPO, GSH 함량과 catalase, SOD 활성도와 혈청내의 GOT, GPT, ALP의 활성도를 측정하였다.

본 실험에서 腦, 肝臟, 脾臟, 腎臟, 睾丸의 중량에 대하여 비교 결과, 이들 臟器에서 體重에 대한 重量變化는 腎臟과 睾丸에서 감소하였고, 左腦 · 右腦 · 小腦 · 肝臟에서 증가되었으나 유의성은 없었다(Table 2). 일반적으로 노화가 진행되면 뇌의 중량은 神經細胞數의 감소, 腦質量의 감소하여 60歲 이상에서는 평균 100g이 감소[44]하고, 腎臟의 무게가 감소[45]한다고 하였는데, SJDBT 투여가 유의성은 없었으나 腦의 중량을 증가하게 한 것으로 보여진다. 左腦에서는 대조군에 비하여 SJDBT 투여군이 LPO 함량이 유의성($p<0.01$)있는 감소를, SOD 활성도가 유의성

($p<0.05$)있는 증가를, catalase 활성도가 유의성($p<0.001$)있는 증가를 보였고, 右腦에서는 대조군에 비하여 SJDBT 투여군이 LPO 함량이 유의성($p<0.05$)있는 감소를, SOD 활성도가 유의성($p<0.05$)있는 증가를, catalase 활성도가 유의성($p<0.01$)있는 증가를 보였으며, 小腦에서는 대조군에 비하여 SJDBT 투여군이 LPO 함량과 GSH 함량이 유의성($p<0.01$)있는 감소를, SOD 활성도가 유의성($p<0.05$)있는 증가를, catalase 활성도가 유의성($p<0.01$)있는 증가를 보였다(Table 3-5). 이는 蔘茸地黃湯[14]이 LPO함량을 감少시키고, SOD와 catalase 활성도를 上升시켜 뇌조직의 노화를 지연시키는 효과있다는 실험결과와 같은 것이다.

肝臟은 인체내 대사를 총괄하는 臟器로, 근래에 와서 各種 stress 및 화학물질에 의한 간손상은 사회적으로 지대한 관심의 대상이 되고 있는데, 이러한 화학물질에 의한 간손상의 기전은 일반적으로 생체 조직세포의 生體膜 구성성분인 多價不飽和脂肪酸의 과산화가 그 한가지 원인[33-34]으로 지적되고 있다. 肝臟에서는 對照群에 비하여 SJDBT 투여군이 LPO와 GSH의 含量이 유의성($p<0.05$)있는 감소를, catalase 활성도가 유의성($p<0.05$)있는 증가를 보였다(Table 6). 自由遊離基에 의한 손상을 최소화하기 위해서는 superoxide anion(O^{2-}), hydrogen peroxide(H_2O_2)를 대사과정에서 형성되는대로 제거해야 한다[7]. 본 실험에서 SOD와 catalase의 활성도 증가는 趙[26]의 실험결과와 같은 것으로, SOD, catalase 등이 H_2O_2와 같은 peroxide를 분해하여 체내에 축적되는 것을 억제한 것으로 추측된다. Glutathione은 여러 조직에서 세포내 기능을 정상적으로 유지하도록 하며 특히, 酸化性 물질에 의한 세포손상을 방지하는 강력한 抗酸化劑로 작용하고 있다[34]. 본 실험결과에서 GSH 함량의 감소는 GSH나 glutathione peroxidase의 활성도가 증가한다는 金 등[26,31]의 보고와는 상반된 결과로서 이에 대한 추가적인 연구가 필요하다고 사려된다.

腎臟은 구조적인 면에서 30代 이후로 신장의 무게는 줄어들기 시작하여 80代에 이르면 9~43%의 감소가 있다고 하며, 크기는 20~30%, 용적은 40%정도 감소하고, 기능적인 면에서 신기능은 30代 이후부터 연령이 증가함에 따라 저하되는 것[45]으로 알려져 있다. 신장에서는 대조군에 비하여 SJDBT 투여군이 LPO 함량이 유의성($p<0.01$)있는 감소를 보였다(Table 7). LPO는 자동산화반응에 의한 多價 不飽和脂肪酸에 산소가 부가된 생성물의 총칭으로, 생체 내에서는 SOD, glutathione peroxidase, vitamin E 등에 의한 과산화반응 방어기구가 있기 때문에 통상은 과산화지질이 대량으로 축적되지는 않으나 연령증가에 따른 血管壁의 퇴행성 병변이나 肝疾患, 糖尿病 등에서는 過酸化脂質이 증가한다고 보고[21]되고 있다. 따라서 LPO 함량의 감소는 SJDBT이 항노화와 腎臟機能에 영향을 미친 것으로 사려된다.

脾臟에서는 대조군에 비하여 SJDBT 투여군이 LPO와 GSH의 함량이 감소를, SOD와 catalase 활성도가 증가하였으나 유의성은 없었다(Table 8). SJDBT이 기혈을 大補하는 방제이고, 溫暖脾胃[13]하는 효능에 비추어 볼 때, 유의성을 나타내지 않은 것은 실험기간 또는 검액의 농도 등에 의한 문제가 아닌가 추측되며 이에 대한 추가적인 연구가 필요하다고 보여진다.

睾丸의 기능은 출생후 3개월 동안 상승한 채로 유지하다가 6개월에서 1연이 되면 낮은 수준으로 떨어지나 약 17세에 이르러 성인 수준에 도달한다. 평균 血漿値는 성인기부터 중년 말까지 다소 일정하게 유지되고 그 후 수십년동안 천천히 감소한다. 감소된 테스토스테론 치의 원인은 睾丸의 라이디히 세포수의 감소 때문인 것 같다. 또한 노년에는 細精管 기능이 저하되고 정자생산이 감소하기 때문이다[15]. 睾丸에서는 대조군에 비하여 SJDBT 투여군이 LPO와 GSH의 함량이 유의성($p<0.05$)있는 감소를, SOD 활성도가 유의성($p<0.001$)있는 증가를, catalase 활성도가 유의성($p<0.05$)있는 증가를 보여 SJDBT은 睾丸에서 가장 강력한 抗老化 작용이 있는 것으로 보인다(Table 9). 다만 肝臟에서와 같이 GSH 함량이 감소한 것으로 나타나 이에 대한 追加的인 硏究가 필요하다고 보여진다.

血淸內에 존재하는 GOT, GPT, ALP 효소들의 활성도를 측정한 결과, 대조군에 비하여 SJDBT 투여군에서 GOT, GPT, ALP 모두 유의성($p<0.05$)있는 감소를 보였다(Table 10). 이는 혈청내의 酵素活性을 감소시켜 노화를 抑制한 것으로 사려되며, 河[16]의 실험 결과와 유사한 것이다.

이상의 결과를 총괄해보면, 十全大補湯液 투여가 腦, 肝臟, 腎臟, 睾丸 血淸酵素 등에서 유의성있는 抗酸化效果를 나타내었으며, 예방적 수준에서 老化防止와 억제에 일정한 역할을 할 수 있을 것으로 기대된다. 또한 이 실험을 통하여 노화가 단순히 腎臟機能의 저하뿐만 아니라 腦, 肝臟, 睾丸 등과도 관련이 있음을 입증하였는데, 이는 臟器가 서로 유관하게 연결되어 작용한다는 韓醫學 이론과 부합하는 것이다. 향후 이들 臟器에 대한 組織學的, 解剖學的 변화와 이러한 효과를 나타내는 정확한 기전에 대한 연구를 지속해야 할 것으로 사려된다.

결 론

左腦, 右腦, 小腦, 肝臟, 腎臟, 脾臟, 睾丸에서 十全大補湯의 抗酸化作用을 실험적으로 증명하고자 이들 臟器의 체중변화, LPO, glutathione 함량과 SOD, catalse 활성도와 혈청내 효소인 GOT, GPT, ALP의 활성도를 측정한 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

증량은 腎臟과 睾丸에서 감소하였고, 左腦, 右腦, 小腦, 肝臟에서 증가하였으나 유의성은 없었다. 左·右腦에서는 SJDBT 투여군에서 LPO 함량은 유의성있게 감소를, SOD와 catalase 활성도는 유의성있게 증가하였고, 소뇌에서는 SJDBT 투여군에서 LPO와 GSH 함량은 유의성있게 감소를, SOD와 catalase 활성도는 유의성있게 증가하였다. 肝臟에서는 SJDBT 투여군에서 LPO와 GSH 함량은 유의性있는 감소를, catalase 활성도는 유의성있게 증가하였다. 腎臟에서는 SJDBT 투여군에서 LPO 함량은 유의성있게 감소를 하였다. 脾臟에서는 SJDBT 투여군에서 LPO와 GSH 함량은 감소를, SOD와 catalase 활성도는 감소하였으나 모두 유의성은 없었다. 睾丸에서는 SJDBT 투여군에서 LPO와 GSH 함량은 유의성있게 감소를, SOD와 catalase 활성도는 유의성있게 증가하였다. 혈청내 GOT, GPT, ALP 활성도는 SJDBT 투여군에서 유의성있게 감소하였다.

이상의 결과로 보아 十全大補湯은 항산화작용이 있으며, 앞으로 항산화작용의 기전에 관한 연구가 더욱 필요할 것으로 사려된다.

참고문헌

1. 徐舜圭, 成人病 老人醫學, 서울, 고려의학, pp. 10-13, 225-228, 1992.
2. 전남대학교 대학원 의학과, 노인의학, 의학의 최신동향, 23:1-11.
3. 리정복, 장수학, 의성당, 서울, pp. 1325-1388, 1993.
4. 오유진, 활성산소(유해산소)가 질병의 원인이었다, 이화문화출판사, pp.57-58, 1997.
5. 최진호, 노화의 메카니즘과 연구방향, 생화학뉴스, 한국생화학회, 5(3):39-53, 1985.
6. 杜鎬京, 東醫腎系學, 서울, 東洋醫學研究院, pp. 1093-1100, 1325-1383, 1993.
7. 김숙희·김화영, 노화, 서울, 민음사, pp. 83-85, 1995.
8. 金秉雲 外, 肝系內科學, 東洋醫學研究院出版部, pp.21-29,1992.
9. 과학백과사전 출판사, 자연치료 건강학, 서울, 일월서각, 465, 1990.
10. 張介賓, 類經, 大星文化社, p. 660, 1990.
11. 洪元植 編, 黃帝內經素問, 傳統文化研究會, p. 19, 46, 71, 165, 345, 1993.
12. 河北醫學院, 靈樞經校釋(上,下), 人民衛生出版社, p. 355,509, 126, 1982.
13. 陳師文, 太平惠民和劑局方, 臺北, 旋風出版社, p. 318, 1975.
14. 金保冏, 蔘茸地黃湯이 腦組織의 酸化作用에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1998.
15. 해리슨 내과학 편찬위원회 편, Harrison's 내과학, 서울, 정담, p.2180, 2184, 1997.
16. 河在原, 定志丸이 老化에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1996.
17. 黃度淵, 方藥合編, 南山堂, p. 157, 1985.
18. 裵基采, 高麗人蔘, 高麗紅蔘 및 total saponin의 抗酸化 作用, 大田大學校大學院, 1997.
19. 김정숙 外, 老化防止를 위한 韓藥劑의 效能 研究, 韓國韓醫學研究所, 1995.
20. 문진영 外, 柴胡가 Free Radical에 의한 지질과산화물 생성에 미치는 效果, 東國論輯 自然科學篇, 15:361-375, 1996.
21. 이귀영, 임상 병리 파일, 의학문화사, 서울, pp. 138-139, 348-349, 1990.
22. 徐璟錫, 五子地黃飮子가 老化 白鼠의 血液變化 및 血淸과 腦組織의 抗酸化物 活性에 미치는 影響, 大田大學校 大學院, 1999.
23. 蔡鐘杰, 拱淸丸이 老化 白鼠의 血液變化 및 血淸과 腦組織의 抗酸化物 活性에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1999.
24. 安相源, 熟地黃과 六味地黃湯이 老化過程 흰쥐에서의 抗酸化機轉에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1999.
25. 尹一智, 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, 大田大學校大學院, 1998.
26. 趙漢淑, 老化過程의 흰쥐에서 補肝丸이 肝臟의 代謝酵素系에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1999.
27. 李根東, 五加皮藥鍼의 抗酸化作用에 관한 實驗的 研究, 大田大學校大學院, 1999.
28. 朴泰均, 桂枝藥鍼의 抗酸化作用에 관한 實驗的 研究, 大田大學校大學院, 1998.
29. 孫鐘洙, 覆盆子藥鍼의 抗酸化作用에 관한 實驗的 研究, 大田大學校大學院, 1999.
30. 朴炫宣, 山茱萸藥鍼의 抗酸化作用에 관한 實驗的 研究, 大田大學校大學院, 1998.
31. 金永梅 外, 胡桃藥鍼의 抗酸化 效果에 對한 연구, 大韓韓醫學會誌, 17(2):8-18, 1997.
32. 박겨울, 淫羊藿藥鍼의 抗酸化作用에 관한 실험적 연구, 大田大學校大學院, 1998.
33. Curtis, M. T., Gilfor, D and Farber, J. L., lipid peroxidation increases the molecular order of microsomal membanes. Arch. Biochem. Biophys., p. 235, 644, 1984.
34. Deneke SM, Fanburg BL : Regulation of cellular glutathione. Am J physiology, 257 : L163-L173, 1989.
35. 李泰亨, 十全大補湯加味方이 抗癌活性 및 抗轉移 效果에 關한 研究, 大田大學校大學院, 1999.
36. 辛美香, 十全大補湯이 生肌作用에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1993.
37. 金吉萱 外, 十全大補湯 Extract 投與가 Rat의 成長에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集, 1(1):101, 1978.
38. 金在燮, 十全大補湯煎湯 엑기스가 생쥐의 細胞性 및 體液性 免疫反應에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院, 1984.
39. 朴聖浩, 少陰人 十全大補湯이 免疫反應에 미치는 影響, 慶熙大學校 大學院, 1991.
40. 張寧根 外, 少陰人十全大補湯과 局方十全大補湯이 陽虛病症에 미치는 影響, 四象醫學會誌, 7(1):155, 1992.
41. 黃奎東 外, 十全大補湯 瓦松 및 十全大補湯加瓦松의 抗癌效果와 免疫反應에 關한 研究, 大韓韓方腫瘍學會誌, 2(1):1, 1996.
42. 李聰甫 主編, 傳統老年醫學, 長沙, 湖南科學技術出版社, pp. 174-195, 212-215, 300-304, 1988,
43. 李華, 老人 保健에 대한 研究, 大田大學校大學院, 2000.
44. Alexander Leaf, 世界 長壽村 探訪, 서울, 大光文化社, pp. 199-202, 1978.
45. 대한노인병학회, 노인병학, 서울, 의학출판사, p. 727,740, 2000.