대한예방한의학회지 제8권 제1호(2004년 6월)
Kor. J. Oriental Preventive Medical Society 2004 ; 8(1) : 115-133

何首烏丸이 老化유발 白鼠의 항산화능에 미치는 영향

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

Effect of Hasuohwan(何首烏丸) on Antioxidant Capacity in D-galactose Induced Aging Rats

Jeong-won Lee, 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

Hasuohwan(何首烏丸) composed of Polygonum multiflorum Thunb and some medical herbs are known as formula of senescence delay effect. The aim of this study is to investigate the effect of Hasuohwan(何首烏丸) on antioxidant enzyme activity such as Thiobarbituric acid reactive substance(TBARS) in rat plasma and liver, Superoxide dismutase(SOD), Glutathione peroxidase(GSH-px), Catalase(CAT) in rat erythrocyte and liver. Rats were sacrificed and TBARS was measured in rat plasma and liver. SOD, GSH-px and CAT were measured in rat erythrocytes and liver.

TBARS in plasma concentrations of HSO group was significantly lower than those of control group.

RBC and liver GSH-px activities of HSO group were significantly higher than those of control group.

According to above results, it is considered that Hasuohwan is effective in inhibiting lipid peroxidation and increasing antioxidative enzyme activities in D-galactose induced aging rat. Therefore, Hsuohwan is considered in effective of senescence delay.

Key words : Hasuohwan, Antioxidant Capaciyt, D-galactose Induced Aging Rat

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

I. 序 論

東西古今을 막론하고 不老長生은 人間의 오래된 꿈이며, 長壽하기 위한 노력은 계속되어 왔다. 점차 노령화사회로 진행하고 있는 시대 상황 때문에 최근 老化에 대한 일반인의 관심이 높아지고 있으며, 老化에 대한 硏究도 활발해지고 있다.[1,2]

內經《素問 上古天眞論》에 "女子 六七三陽脈衰於上 面皆焦 髮始白"하며, "男子 六八陽氣衰於上 面焦 鬢髮頒白 形體皆極"하여, 사람의 最後엔 "天癸竭"하고 "形體皆極"하여 "形骸獨居而終矣"한다고 하였다.[3] 즉, 年老하면 精血이 損하므로 身體의 榮衛順行이 微弱遲鈍하게 되며 精, 氣, 神의 작용이 모두 沈滯鈍化하게 되는 것이다.[4,5]

老化의 원인과 기전에 대한 유력한 假設 중에서[6-8] 活性酸素 이론은 생체내의 산소화합물(活性酸素種 ; Reactive Oxygen Species, ROS)이 체내의 세포조직을 비롯한 여러 물질에 악영향을 미쳐서 생체유지 기능을 저하시키고, 老化를 촉진하며, 여러 가지 疾病을 일으키는 因素가 된다는 이론[9-11]으로 인체 내 에서는 活性酸素의 생성을 未然에 방지하거나 생성된 산소화합물을 脯燭하여 제거하는 기능을 지닌 Superoxide dismutase(SOD), Glutathione peroxidase, catalase 같은 항산화 효소들이 존재하며, 이 효소들이 생체 내 항산화 능을 증진시켜 생체의 酸化를 방지하는 것이다.[11,67,72] 이를 應用하여 항산화를 통한 抗老化를 검증하기 위해서 여러 가지 實驗硏究가 이루어지고 있는데, 그 중에서 韓藥으로는 人蔘,[12,13] 黃耆,[14] 枸己子,[15] 鹿茸[16] 같은 單味劑, 六味地黃湯,[17] 加味歸脾聰明湯,[18] 十全大補湯,[19] 瓊玉湯,[20] 不老丸,[21] 鹿蔘地黃湯,[22] 延年益壽不老丹[23] 등 複合處方, 鹿茸,[24] 胡桃 藥鍼[25] 등의 항산화 효과가 보고되었고, 藥物 및 藥針製材 外에도, 綠茶[26]와 비타민[27]의 항산화 효과에 대한 硏究도 보고된 바 있다.

본 論文에서는 인위적으로 노화를 유도한 白鼠의 항산화 효소를 측정하여 何首烏丸의 항산화 활성에 대한 효과를 검증하려고 하였다. 실험의 君藥으로 쓰인 赤何首烏는 滋養强壯의 효능을 가진 것으로 알려진 藥物로,[28-32] 항산화실험,[33,34] 약침,[35] 高脂血症,[36] 면역기능에 대한 실험논문[37]이 보고된 바 있다. 何首烏丸은 赤何首烏와 補陰强壯藥인 熟地黃[28,29]과 輕身不勞의 효능이 있는 地骨皮[38] 등의 약물로 構成되어 있으며, 何首烏丸을 사용하여 항산화 능을 측정한 결과 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實 驗

1. 動物 및 材料

1) 動 物

생후 6주와 10주된 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐를 구입하여 實驗 시작 전 2주일간 고형배합사료(구성성분 : 조단백질 21.1% · 조지방 3.5% · 조섬유 5.0% · 조회분 8.0% · 칼슘 0.6% · 인 0.6%)로 적응시켰다. 적응기간 후 체중이 180±20g(8주령) 400±20g(12주령)인 쥐들을 實驗에 사용하였다. 實驗동물은 한 마리씩 분리하여 stainless steel cage에서 사육하였고, 사료와 물은 충분히 공급하였다.

2) 材 料

본 實驗에서 사용된 약재는 慶熙醫療院 藥劑科에서 엄선한 것을 사용하였으며 처방내용은 《太平聖惠方》에 기재된 何首烏丸으로 내용은 다음과 같으며 분량은 한제 분량이다.

韓 藥 名	生 藥 名	用量
何首烏	Polygony Multifflori Radix	150.0g
熟地黃	Rehmanniae Radix Preparat	150.0g
地骨皮	Lycii Radicis Cortex	120.0g
牛膝	Achyranthis Bidentatae Radix	90.0g
桂皮	Cinnamomi Ramulus	90.0g
兎絲子	Cuscutae Semen	90.0g
肉蓯蓉	Cistanches Herba	90.0g
附子	Aconiti Iateralis Preparata Radix	60.0g
桑椹子	Mori Fructus	60.0g
柏子仁	Biotae Semen	60.0g
五味子	Schizandrae Fructus	30.0g
總 量		990.0g

2. 方 法

1) 實驗群 설정

實驗실 환경에서 2주간 적응시킨 SD계 rat를 체중별로 고르게 분포시켜 8주령의 無處置群(N-8 group)과 12주령의 無處置群(N-18 group), D-galactose 투여군(Control group), D-galactose와 何首烏丸 투여군(HSO group)으로 나누어 각 群에 6마리씩 배정하였다.

N-8군은 바로 실험에 사용하였고 N-18군은 어떤 처치도 하지 않고 고형사료와 물만을 6주간 充分히 供給하였다. Control군은 12주령 rat에 D-galactose를 6주간 피하주사하여 老化를 유발하였다. HSO군은 D-galactose를 피하주사 함과 동시에 何首烏丸을 경구투여하였다.

2) 老化 誘發

老化촉진유발은 D-galactose를 피하주사하는 방법을 사용하였다. D-galactose (Sigma, USA)를 50mg/kg의 비율로 1회/1일 6주간 연속으로 rat 背部에 피하주사 하였다.

3) 檢液의 준비

何首烏丸 10첩 분량인 495g을 5,000cc의 둥근 플라스크에 3,000cc의 증류수와 함께 넣은 다음 냉각기를 부착하고 3시간 동안 煎湯하여 0.2㎛ filter로 여과한 여액을 rotary vacumn evaporator(EYELA, Japan)에서 감압 농축하였다. 이 농축액을 -80℃ deep freezer(SANYO, Japan)에서 한 시간 방치한 후 freezer dryer (EYELA, Japan)로 24시간 동안 동결건조하여 何首烏丸 엑기스 78.0g을 얻어 이를 實驗에 필요한 농도로 증류수에 녹여 조정하여 50㎖ cornical tube(Falcon, USA)에 넣어 2~4℃의 냉장고에 보관하였으며, 사용할 때 water bath에 넣어 gel 상태를 완전히 녹여 사용하였다.

4) 檢液 투여

何首烏丸 추출물은 260.0mg/200g의 비율로 檢液을 증류수로 희석하여 HSO군 흰쥐에 1일 1회 6주간 경구 투여하였다.

5) 血液과 장기의 채취

實驗기간이 종료된 實驗동물은 12시간 절식시킨 후 diethyl ether로 마취시켜 開腹한 후 10㎖ 주사기를 이용하여 심장에서 血液을 채취하였다. 이때 주사기는 血液 응고를 예방하기 위해 3.8% sodium citrate 용액 0.1㎖로 내

부를 coating하여 사용하였다. 채취된 血液은 응고되는 것을 예방하기 위해 EDTA(Ethylene Diamine Tetra Acetate)가 들어있는 polystylene 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 지방 수준을 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.

血液을 채취한 후 ice bath위에서 즉시 간과 신장을 떼어 ice cold saline에 넣어 세척한 다음 여지로 물기를 제거한 후 무게를 측정하고 바로 -70℃ deep freezer에 보관하여 過酸化物 양과 酵素活性 측정에 사용하였다.

6) 혈장과 간의 脂質過酸化物 함량

혈장의 脂質過酸化物(TBARS) 함량은 혈장 20㎕에 1/12N 황산 4㎖와 10% phosphotungstic acid 0.5㎖를 넣고 5분간 방치한 후 3,000rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액은 버리고, 침전물은 위의 과정을 다시 한번 반복한다. 이때 얻어진 침전물에 증류수 2㎖와 thiobarbituric acid(TBA) reagent 1㎖를 가하여 잘 섞은 후 뚜껑을 단단히 막고 95℃ water bath에서 1시간 동안 incubation시켰다. 여기에 n-butanol 3㎖를 가하여 격렬히 섞은 후 3,000rpm에서 15분간 원심분리하여 얻은 상층액에 있는 TBARS의 양을 1,1,4,4,-tetramethoxypropane을 표준용액으로 하여 luminescence spectrometer (Perkin Elmer, LS50)로 excitation 515nm, emission 553nm에서 정량하였다.

간의 TBARS 함량은 간 1g에 0.1M phosphate buffer(pH 7.4) 3㎖를 가하여 균질화시킨 후 1.5㎖씩 duplicate로 취하여 33mM $FeSO_4$ 용액 50㎕, 0.33mM butylated hydroxytoluen(BHT) 50㎕, 33mM L-ascorbic acid 용액 50㎕를 가하여 잘 섞은 후 37℃에서 30분간 incubation시켰다. 여기에 10% trichloroacetic acid(TCA) 용액 1.5㎖를 가하고 12,000×g에서 10분간 원심분리하여 얻은 상층액 2㎖에 1% thiobarbituric acid(TBA) reagent 0.5㎖를 가하여 10분간 끓이고 실온에서 냉각시켜 3,000rpm에서 5분간 원심분리한 다음 상층액을 취하여 spectrophotometer (DU530, Beckman)로 532nm에서 비색정량하였다.

7) 적혈구와 간의 SOD 活性

적혈구의 SOD 活性은 적혈구 현탁액 200㎕를 10mM Tris-1mM EDTA buffer(pH 7.4) 1.8㎖로 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㎕의 증류수를 가하여 원심분리기로 20,000×g, 4℃에서 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 ferriccytochrome c(Fe+++)를 ferrouscytochrome c(Fe++)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+++)를 넣고 혼합한 후 25℃로 유지시킨 용액 2㎖에다 酵素시료 50㎕를 가하고, 사용 직전에 xanthine oxidase 용액을 제조하여 50 ㎕를 첨가시켜 ferriccytochrome c의 환원이 방해되는 정도를 550nm에서 30초 간격으로 3 분간 비색정량하였다. 이때 SOD의 분당 活性 정도는 ferriccytochrome c의 환원을 50% 방해하는 SOD의 양을 1 unit으로 하여 나타내었다.

간의 SOD 活性을 측정하기 위해 간 1g을 10㎖의 50mM phosphate- 0.25M sucrose-0.5mM EDTA buffer(pH 7.4)로 균질화시킨 후 10,000×g, 4℃에서 20분간 원심분리하여 얻은 상층액 중 3㎖는 glutathione peroxidase의 酵素원으로 이용하였고, 5㎖는 SOD의 酵素원으로 사용하였다. 즉, 3㎖의 상층액은 4℃, 105,000×g에서 50분간 원심분리한 후 그 상층액을 -70℃ deep freezer에 냉동보관하여 glutathione peroxidase (GSH-px)의 酵素원으로 사용하였고, 5㎖의 상층액은 30초씩 2회 ultrasonication(Heat System-Ultrasonics. Inc., Ultrasonic processor W-385)시키고 다시 2㎖를 취해 chloroform과 ethanol의 부피비가 5 : 3 이 되도록 만든 용액 800㎕를 가하여 2분간 강하게 혼합한 후 20,000×g, 4℃에서 20분간 원심분리시켜 얻은 상층액을 SOD 酵素원으로 하였다. 간의 SOD 活性은 적혈구에서와 동일한 방법으로 측정하였다.

8) 적혈구와 간의 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_2PO_4-NaOH(pH 7.0) 300㎕, 100% methanol 300㎕, 0.27% H_2O_2 60㎕를 polystylene tube에 넣고 여기에 酵素원을 600㎕ 가하여 20℃에서 20분간 shaking 시키면서 반응이 일어나게 한 후 7.8M KOH 300㎕를 가하여 반응을 종결시키고, 34.2mM의 Purpald 용액을 600㎕를 가하여 20℃에서 10분간 shaking시킨 후 65.2mM potassium periodate를 300㎕를 가하여 발색시켰다. 이를 9,500×g에서 10분간 원심분리시켜 spectrophotometer (DU530, Beckman)로 550nm에서 흡광도를 측정한 후 formaldehyde를 표준용액으로 하여 얻은 표준곡선으로부터 活性을 계산하였다.

간의 catalase 活性을 측정하기 위하여 먼저 간 0.2g을 20배의 25mM KH2PO4-NaOH buffer(pH 7.0)에 넣고 균질화시키고 이 homogenate를 같은 buffer로 60배 희석한 후 ice bath에서 ultrasonicator(Heat System-Ultrasonics. Inc., Ultrasonicf Propessor W-385)로 15초씩 2회 반복하여 sonication한 후 적혈구에서와 같은 방법으로 catalase 活性을 측정하였다.

9) 적혈구와 간의 GSH-px 活性

적혈구의 GSH-px 活性은 적혈구 현탁액에 10배의 증류수를 가하여 적혈구를 용혈시키고 다시 증류수로 이 hemolysate를 희석한 후 Drabkin 용액을 hemolysate와 1 : 1의 비율로 혼합하여 hemoglobin(Hb)을 cyanomethemoglobin으로 전환시킨 후 酵素원으로 사용하였다.

GSH-px의 活性측정은 GSH-px가 환원형 glutathione(GSH)과 H_2O_2의 반응을 촉진시켜 환원형 GSH를 酸化형 glutathione(GSSG)으로 전환시키고, GSSG는 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㎕, 10mM GSH 100㎕, glutahione reductase 100 ㎕를 넣고, 酵素원 100㎕를 첨가하여 37℃에서 10분간 incubation시킨 후 1.5mM NADPH 100 ㎕를 넣어 다시 3분간 incubation시켰다. 여기

에 미리 37℃로 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 1분 동안 1.0㎛M의 GSH가 H_2O_2의 作用으로 GSSH로 酸化되는 것을 觸媒한다.

간의 GSH-px 活性 측정은 간의 SOD 活性 측정시 제조하여 보관한 酵素원을 이용하여 적혈구와 동일한 방법으로 측정하였는데, 간의 경우는 적혈구와 달리 t-butyl hydroperoxide 대신 H_2O_2를 사용하였고, catalase의 作用을 억제하기 위하여 1mM sodium azide를 첨가하였다.

10) 효소원의 단백질 함량

각 酵素들의 活性측정을 위해 사용된 적혈구와 간의 단백질 함량은 bovine serum albumin(Sigma)을 표준용액으로 하여 측정하였다. 먼저 2.0% Na_2CO_3, 0.4% NaOH, 0.16% sodium potassium tartrate, 1.0% sodium laurylsulfate(SDS)를 포함하는 solution A와 4.0% $CuSO_4$인 solution B를 100 : 1(v : v)로 혼합하여 solution C를 만들었다. 酵素원 50㎕에 solution C 3㎖를 첨가하여 실온에서 10분간 방치한 후 여기에 동량의 증류수로 희석된 phenol reagent 300㎕를 넣어 실온에서 45분간 방치하였다가 파장 660nm에서 spectrophotometer로 비색정량하였다.

3. 통계분석

모든 통계분석은 윈도우용 SPSS(ver. 8.0)를 이용하여 실시하였다. 기술통계학적 분석을 통해 각 집단에서의 측정값을 평균±표준편차로 요약하였으며, 각 집단간의 유의성은 ANOVA test with multiple comparisons(Duncan's method)으로 분석하였고. 유의수준은 0.05로 하였다.

Ⅲ. 成 績

1. 간과 신장의 중량변화

實驗에 사용된 쥐의 간중량은 N-8군이 13.57±0.34g, N-18군이 19.25±0.94g, Control군이 17.69±0.83g, HSO군이 18.27±0.53g으로 나타나, 다중비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意性을 검정한 결과 N-8군에 비해 N-18군, Control군, HSO군에서 유의한 증가가 있었으며 N-18군, Control군, HSO군 사이에는 유의한 차이가 없었다(Table I).

實驗에 사용된 쥐의 신장중량은 N-8군이

Table I. Comparison of Liver & Kidney Weight

Group	No. of animal	Liver Weight(g)		Kidney Weight(g)	
N-8	6	13.57±0.34[1)]	A[2)]	2.27±0.08[1)]	A[2)]
N-18	6	19.25±0.94	B	3.50±0.14	C
Control	6	17.69±0.83	B	2.89±0.08	B
HSO	6	18.27±0.53	B	3.15±0.18	BC

[1)] Mean±Standard Error.

[2)] Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test.

* N-8 : not specially treated in 8 week-old rat.

* N-18 : not specially treated in 18 week-old rat.

* Control : D-galactose(50mg/kg/rat) was injected for 6 weeks before sacrifice.

* HSO : treated with Hasuohwan(HSO) and D-galactose (50mg/kg/rat) for 6 weeks before sacrifice.

2.27±0.08g, N-18군이 3.50±0.14g, Control군이 2.89±0.08g, HSO군이 3.15±0.18g으로 나타나, N-8군에 비해 N-18군, Control군, HSO군에서 유의한 증가가 있었으며 Control군에 비해 HSO군이 증가하는 경향을 나타내었다(Table I).

2. 혈장과 간의 脂質過酸化物

혈장 지질의 過酸化 정도를 알아보기 위해 脂質過酸化物 함량(Thiobarbituric Acid Reactive Substances : TBARS values)을 측정한 결과 N-8군이 32.67±3.74 nmol/100㎖, N-18군이 37.83±4.00nmol/100㎖, Control군이 49.67±3.74nmol/100㎖, HSO군이 43.00±2.89nmol/100㎖으로 나타나, N-18군과 HSO군에서 Control군에 비하여 감소하는 경향을 나타내었다(Table II).

간의 脂質過酸化物 함량(Thiobarbituric Acid Reactive Substances : TBARS values)을 측정한 결과 N-8군이 48.50±5.26 nmol/g, N-18군이 64.17±6.71nmol/g, Control군이 83.50±7.16nmol/g, HSO군이 70.67±8.11nmol/g으로 나타나, Control군과 HSO군은 유의한 차이가 없었다(Table II).

3. 적혈구의 superoxide dismutase(SOD) 活性

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 N-8군이 1.88±0.22, N-18군이 1.20±0.11, Control군이 1.00±0.12, HSO군이 1.25±0.13으로 나타나, N-8군에 비해 N-18군, Control군, HSO군에서 유의한 감소가 있었으며 N-18군, Control군, HSO군 사이에는 유의한 차이가 없었다(Table III).

Table II. Plasma and liver TBARS levels

Group	No. of animal	Plasma TBARS(nmol/100㎖)		Liver TBARS(nmol/g)	
N-8	6	32.67±3.74[1)]	A[2)]	48.50±5.26[1)]	A[2)]
N-18	6	37.83±4.00	A	64.17±6.71	AB
Control	6	49.67±3.74	B	83.50±7.16	B
HSO	6	43.00±2.89	AB	70.67±8.11	B

1) Mean±Standard Error.

2) Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test.

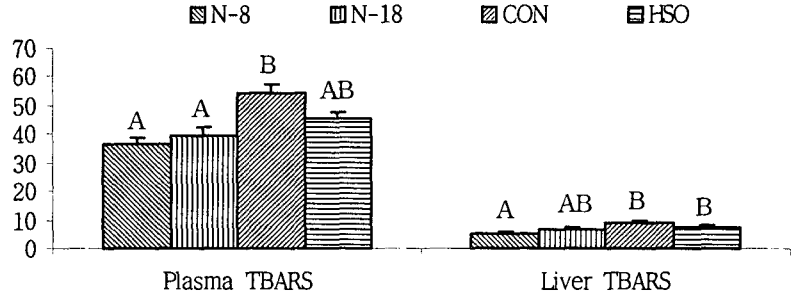

Fig. 1. Plasma and liver TBARS levels

Means and standard error are shown. Different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

Table III. Erythrocyte antioxidative enzyme activities(SOD)

Group	No. of animal	RBC SOD	Duncan Grouping
N-8	6	23.00±1.60[1)]	A[2)]
N-18	6	20.33±1.65	B
Control	6	16.00±1.53	B
HSO	6	21.50±1.41	B

1) Mean±Standard Error.

2) Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test.
Superoxide dismutase(SOD) activities are expressed as Units per minute per ㎎ 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℃ in a 3.0㎖ reaction volume).

4. 적혈구의 glutathione peroxidase (GSH-px) 活性

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 N-8군이 0.148±0.019, N-18군이 0.098±0.013, Control군이 0.060±0.010, HSO군이 0.093±0.011로 나타나, N-8군에 비해 N-18군, Control군, HSO군에서 유의한 감소가 있었으며 N-18군, Control군, HSO군 사이에는 유의한 차이가 없었고, Control군에 비해 HSO군에서 증가하는 경향을 보였다(Table IV).

5. 적혈구의 Catalase 活性

적혈구에서의 抗酸化 酵素들의 活性을 알아보기 위해 抗酸化 酵素인 Catalase의 活性을 측정한 결과 N-8군이 5099.50±631.94, N-18군이 4190.83±523.60, Control군이 4691.33±661.97 HSO군이 4895.50±766.52으로 나타나 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 없었다(Table V).

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

Group	No. of animal	RBC GSH-px	Duncan Grouping
N-8	6	0.148±0.019[1)]	A[2)]
N-18	6	0.098±0.013	B
Control	6	0.060±0.010	B
HSO	6	0.093±0.011	B

1) Mean±Standard Error.

2) Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test.
Glutathione peroxidase(GSH-px) activities are expressed as unit per ㎎ protein(1 unit will catalyze the oxidation by H_2O_2 of 1.0㎛ol of reduced glutathione to oxidized glutathione per min at pH 7.0 and 25℃).

Table V. Erythrocyte antioxidative enzyme activities(Catalase)

Group	No. of animal	RBC Catalase	Duncan Grouping
N-8	6	5099.50±631.94[1)]	A[2)]
N-18	6	4190.83±523.60	A
Control	6	4691.33±661.97	A
HSO	6	4895.50±766.52	A

1) Mean±Standard Error.

2) Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test.
Catalase activities are expressed as nmole formaldehyde utilized as standard per ㎎ protein.

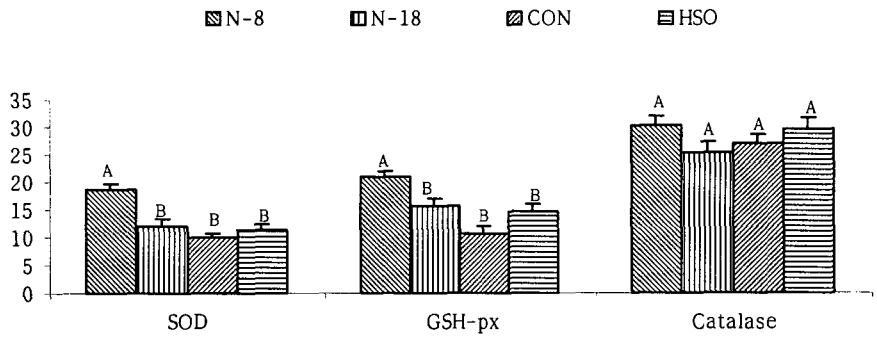

Fig. 2. Erythrocyte antioxidative enzyme activities

Means and standard error are shown.

Different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range 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℃ in a 3.0mℓ reaction volume).

Glutathione peroxidase(GSH-px) activities are expressed as unit per mg protein(1 unit will catalyze the oxidation by H_2O_2 of 1.0μmol of reduced glutathione to oxidized glutathione per min at pH 7.0 and 25℃).

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

Table VI. Liver antioxidative enzyme activities (SOD)

Group	No. of animal	Liver SOD	Duncan Grouping
N-8	6	45.27±3.77[1)]	A[2)]
N-18	6	40.40±1.98	A
Control	6	39.77±1.55	A
HSO	6	45.07±2.41	A

1) Mean±Standard Error.

2) Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan 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℃ in a 3.0mℓ reaction volume).

6. 간의 superoxide dismutase(SOD) 活性

간의 抗酸化 酵素인 superoxide dismutase (SOD)의 活性을 측정한 결과 N-8군이 45.27±3.77, N-18군이 40.40±1.98, Control군이 39.77±1.55, HSO군이 45.07±2.41으로 나타나, 집단간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 없었다(Table VI).

7. 간의 glutathione peroxidase (GSH-px) 活性

간의 抗酸化 酵素인 glutathione peroxidase (GSH-px)의 活性을 측정한 결과 N-8군이 1.467±0.074, N-18군이 1.215±0.098, Control군이 1.090±0.113, HSO군이 1.531±0.148로 나타나, HSO군이 Control군에 비하여 유의한 증가를 나타내었다(Table Ⅵ).

8. 간의 Catalase 活性

간의 抗酸化 酵素인 Catalase의 活性을 측정한 결과 N-8군이 1920.17±993.34, N-18군이 1572.83±281.54, Control군이 1284.00±193.99, HSO군이 1699.50±185.73로 나타나 집단간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 없었다 (Table Ⅷ).

Ⅳ. 考 察

최근 老人인구가 늘어나면서 老人들의 삶의 질, 건강, 老人病에 대한 관심은 일반인들뿐 아니라 학문적으로도 중요한 연구주제가 되고 있으며, 老化와 老人건강에 대한 연구문헌이 많이 나오고 있다.[1,39,40]

老化란 시간의 증가에 따른 機能的, 形態的 쇠퇴와 맞물린 生理的 現象이며, 老化의 因子가 다양하다는 점에는 異論이 없으나 老化의 원인을 규명하는 것에는 학설마다 미묘한 차이가 있다. 서의학적인 관점에서 볼 때, 老化의 기전은 아직 뚜렷하게 밝혀지지 않았고, 人間의 老化를 세포나 기관 등 어느 수준에서 보아야할 지에 대한 견해도 엇갈리고 있기 때문이다. 심지어 동일한 개인에서도 臟器나 組織에 따라 老化의 樣態는 다르게 나타난다.[41-44]

老化의 공통적인 현상으로서는 보편성, 비가

Ⅶ. Liver antioxidative enzyme activities(GSH-px)

Group	No. of animal	Liver GSH-px	Duncan Grouping
N-8	6	1.467±0.074[1)]	A[2)]
N-18	6	1.215±0.098	AB
Control	6	1.090±0.113	B
HSO	6	1.531±0.148	A

1) Mean±Standard Error.

2) Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test.
Glutathione peroxidase(GSH-px) activities are expressed as unit per ㎎ protein(1 unit will catalyze the oxidation by H_2O_2 of 1.0㎛ol of reduced glutathione to oxidized glutathione per min at pH 7.0 and 25℃).

Table Ⅷ. Liver antioxidative enzyme activities(Catalase)

Group	No. of animal	Liver Catalase	Duncan Grouping
N-8	6	1920.17±993.34[1)]	A[2)]
N-18	6	1572.83±281.54	A
Control	6	1284.00±193.99	A
HSO	6	1699.50±185.73	A

1) Mean±Std. Error.

2) Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test.
Catalase activities are expressed as nmole formaldehyde utilized as standard per ㎎ protein.

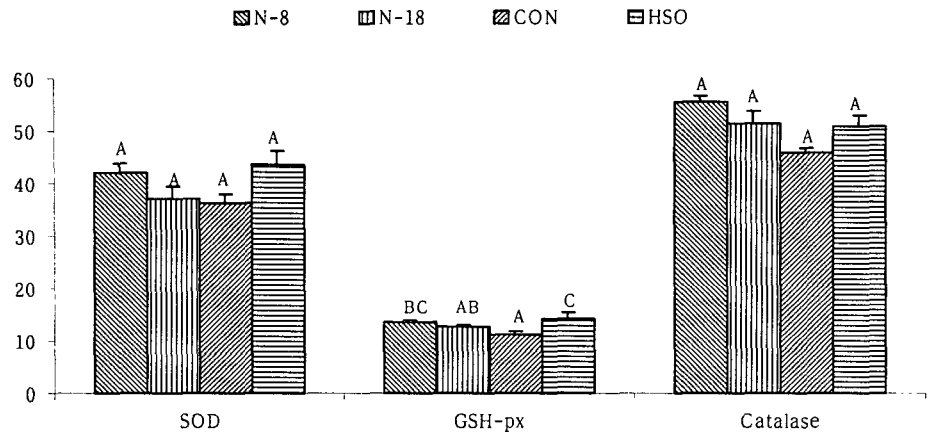

Fig. 3. Liver antioxidative enzyme activities

Means and standard error are shown.

Calculated by ANOVA test. Different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range 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℃ in a 3.0mℓ reaction volume).

Glutathione peroxidase(GSH-px) activities are expressed as unit per mg protein(1 unit will catalyze the oxidation by H_2O_2 of 1.0μmol of reduced glutathione to oxidized glutathione per min at pH 7.0 and 25℃).

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

역성, 진행성을 들 수 있다. 또한 老化에 따른 생체유지 기능의 저하는 필연적으로 면역의 저하를 초래하고, 따라서 老人질환의 이환율을 증가시킨다.[45]

老化가 질병이나 외부 스트레스와 같은 環境因子에 영향을 받는다고 해서 老化와 老人질환이 반드시 일치한다고 볼 수는 없지만, 老人질환이 老化에 의해서 영향을 받으며, 中風, 암, 당뇨와 고혈압, 심장병을 비롯한 成人病과 각종 退行性질환은 老化현상과 밀접한 관련이 있는 것이 사실이다. 그러므로 이에 대한 대처방안도 老化연구의 중요한 목적이라고 볼 수 있다.[6,46,47]

《內經》에는 "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."[3]라 하였으니, 이를 미루어 古代에는 약 오십 세부터 老人으로 본 듯하며, <<壽世保元>>의 "初一歲至十六歲曰 幼 十七歲至三十二歲曰 少, 三十三歲至四十八歲曰 壯四十九歲至六十四歲曰老."[48]의 내용도 비슷하다. 이를 정리하면 오십 세가 지나면 肝氣가 약해져서 視力이 떨어지고 점차 腎氣가 衰해져서 齒牙와 毛髮이 脫落하기 시작하며, 육십 세가 가까워지면 陽氣가 점차로 衰弱해지며, 老人이 되면 血氣와 精力이 다 耗竭되므로, 視力, 聽力, 言語, 行動 寤寐, 飮食 등의 능력이 다 정상을 유지하지 못하게 되며, 老人은 腎氣가 衰弱하여 聽力이 감

퇴되고, 귀 울림 등의 症狀이 있는 것이 보통이다.[4,5]

이러한 老化현상의 원인은 요약하면 先天不足과 後天失調로 大別하여 後者는 七情太過, 環境失宜, 飮食失調로 因하는 것이며, 근본적으로는 精과 腎氣가 老化와 가장 관련이 깊다고 볼 수 있다.[50]

精은 생명의 물질적 기초로 養生의 중요한 부분을 차지하며 先天之精과 五臟六腑의 精으로 나눌 수 있는데, 精이 충실해야 老化를 예방할 수 있으며 精이 육체의 근본이라 하였다.[51-54]

또한, 安 등[42]은 老化와 腎精, 腎氣의 관계에 대해서 考察하여, 腎을 인체의 근본이라고 서술하였으며, 李 등[39]은 기존의 老化의 연구동향을 고찰한 결과, 痰飮, 瘀血, 腎虛 등 老化의 諸원인 중에서 腎虛에 대한 연구가 가장 활발하다고 서술하였다. 精을 藏하는 곳이 腎이므로, 精과 腎은 불가분의 관계에 있다고 볼 수 있고, 결국 老化예방도 陽精과 補腎에 주로 관련되어 있는 것이다.[55]

이밖에도 한의학적인 입장에서 老化의 원인과 기전을 고찰한 논문을 살펴보면, 高,[56] 金 등[57]은 老化에 대한 동서의학적인 관점을 비교고찰하여, 老化에 대한 한의학적인 견해를 정리하였고, 白[58]은 內經을 중심으로 한 연구논문에서 老化가 陰精의 衰竭과 虛火의 上逆으로 因한 것이란 결론을 내리며, 老化예방은 陰精의 保存과 氣血의 보충에 주력해야하며, 肺와 腎을 保養하는 것이 관건이 되어야 한다고 보았다.

老化에 따른 병의 예방에 대해서는《醫學入門》에 "古云 與其病後 善服藥 莫若病前 善自防."[59] 이라 하였고,《靈樞》逆順篇에도 "上工治未病"[60]이라 하였으며, 《東醫寶鑑》에는 精氣神의 保養, 修養을 통한 養生의 중요성을 강조하였다.[61] 老化예방의 관건이 되는 因素를 요약하면 季節, 陰陽, 性情, 飮食 등이며, 최근에 金[4]은 老人養生의 원칙으로 順應自然, 協助陰陽, 保養精氣神, 動靜適度, 調飮食節, 愼於起居, 輔助用藥, 祛邪防病을 열거하였다. 이외에 養生을 통해서 적극적으로 老化를 예방하거나 기공수련과 도교사상을 통한 무병장수방법도 가능하다고 볼 수 있다.[42,62]

서양의 老化학설은 대단히 다양하다. 消耗說, 內分泌說, 生氣說, 中毒說, 스트레스說, 突然變異說, 自己免疫說, 化學反應說, DNA說 등 지금까지 수많은 원인학설이 제기되었는데, 각각의 학설은 그 학설의 절대성보다 각 학설들을 상호보완적으로 이해하면 도움이 될 듯하다.[11]

이 중에서 최근에 가장 주목받고 있는 학설이 Harman에 의해 최초로 제기된 free radical theory, 즉 活性酸素說인데, 생체 내에서 생성되는 活性酸素種(Reactive Oxygen Species, ROS)들이 연속적으로 유해반응을 일으켜서 老化과정을 촉진시킬 뿐 아니라 각종 老人질환을 일으킨다는 학설로써 생체 내 酸化반응에 대한 free radical의 관여나 생체老化에 관여하는 過酸化脂質의 존재 등이 그 근거로 제시되었고, 오늘날에는 老化의 유력한 실험적 증거로써 다양한 연구보고에 많이 인용되고 있다.[9]

생체 내 다른 물질과 반응하기 쉬운 산소 radical 및 이것으로부터 연쇄적으로 파생된 산소화합물은 정상적인 대사과정뿐 아니라 외부의 자극이나 스트레스, 오존(O_3)이나 방사선 등으로도 촉진될 수 있는데, 이들은 체내에서 세포구성물질에 손상을 일으키고, 세포 구조를 변형시키며, 나아가서 세포의 老衰를 초래한다고 알려져 있으며, 결국 생체구성 성분의 酸化的 손상들이 축적되어 생체가 老化와 죽음에 이르게 된다는 것이다.[63,64,67]

活性酸素는 인체 내에서 superoxide anion이나 hydroxy radical 같은 반응성이 큰 ROS로 생성되는데, ROS는 DNA와 반응하여 脂質의 過酸化를 일으키기도 하고, 암과 돌연변이

를 유발하거나 세포의 老化를 촉진하는 동시에 유해물질을 생성시키고, 염증을 촉진하는 등 여러 가지 질병의 원인이 된다고 알려졌으며,[64-67,71] 활성산소가 질병에 미치는 영향에 대한 연구로 뇌혈관질환,[68] 신부전증,[69] 당뇨[70] 등이 있다.

물론, 생체 내에는 活性酸素로부터 스스로를 보호하기 위한 항산화 기전이 존재한다. 대표적인 항산화 효소로는 superoxide mutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase(GSH-px) 등이 있으며, 이들 효소들은 種이나 臟器에 따라 다르지만 나이에 따라 대체로 효소활성이 감소한다고 한다. 물론 老化에 의해 항산화능이 항상 저하되는 것이 아니며, 어떤 원인으로 인해 活性酸素 발생률이 증가했을 경우, 얼마만큼 원활히 항산화능력을 상승시킬 수 있는가가 중요한 것이다.[72]

생체 내에서 항산화제가 항산화작용을 잘 發顯하려면 活性酸素의 발생을 未然에 막거나 생성된 遊離基(free radical)를 捕捉, 제거하거나 철 등의 금속이온과 복합체를 형성해서 반응계에서 금속이온을 제거하여 脂質過酸化를 억제함으로써 항산화작용을 나타내는데,[73] 최근 이런 기전의 항산화 능을 가진 한약처방에 대한 보고가 다양하게 이루어지고 있으며, 그 중에서도 四物湯74)과 四君子湯,[75] 左歸飮, 右歸陰,[76] 醒心散,[77] 補腎丸,[78] 補肺散[79] 등의 항산화효과를 실험한 결과, 항산화 효과와 함께 抗老化 효과도 탁월한 것으로 밝혀졌다.

본 연구에서는 何首烏丸의 老化예방 효과를 실험적으로 檢證하고자 하였다. 何首烏丸의 君藥으로 쓰인 赤何首烏는 多年生草本인 何首烏(Polygonum multiflorum Thunb) 의 뿌리로서 白何首烏와 구분이 모호한 점이 있으나, 동일 식물 중에서 莖과 苗의 색택 및 雌雄에 따라서 雄을 赤何首烏, 雌를 白何首烏로, 또한 苗가 黃赤한 것을 赤何首烏, 苗가 黃白한 것을 白何首烏로 분류한 것으로 보아, 同種의 동일 식물임이 확실하지만 形態學的, 生藥學的 연구로서 赤白何首烏를 비교하여 同名이되, 異物이라고 보는 견해도 있다.[32] 何首烏의 효능은 동의보감을 비롯한 여러 문헌에 언급되어 있으며, 공통적으로 益血氣, 益精髓, 黑鬚髮, 長筋骨, 延年不老로 기술되어 있어,[28,31,61] 대표적인 滋養强壯 藥物중의 하나로 보아야 할 것이다. 何首烏의 최근 연구역시 주로 抗老化에 대한 것이며,[80,81] 李[82]는 赤何首烏가 고지혈증에 미치는 영향을, 林[83]은 약침제재로 白鼠실험을 통해서 항산화 효과를 연구한 바 있다.

실험에서는 老化유발 쥐를 이용하여 항산화능을 측정하였다. 먼저 성장기에 있는 8주齡 흰쥐의 항산화 능과 老化가 진행단계에 있는 18주齡 흰쥐의 항산화 능을 비교하고, 老化촉진은 12주齡 흰쥐에 D-Galactose를 6주간 피하 주사하여 유발하였으며(Control group ; 對照群), 藥物投與 쥐는 D-Galactose를 피하 주사함과 동시에 何首烏丸을 경구투여 하였다(HSO group ; 藥物投與群).

白鼠의 간 중량을 측정한 결과, 집단간 간중량의 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며, 다중비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意性을 檢定한 결과, 8주齡 쥐에 비해 18주齡 쥐, 對照群, 藥物投與群에서 有意한 증가가 있었으나, 8주齡 쥐를 제외한 餘他群은 상호간에 有意한 차이가 없었다.

實驗에 사용된 白鼠의 신장중량은 집단간 신장중량의 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며, 각 집단간 차이는 8주齡 쥐에 비해 18주齡 쥐, 對照群, 藥物投與群에서 有意하게 증가했고, 또한 藥物投與群이 對照群에 비해 有意하게 증가하는 경향을 나타내었다

實驗동물인 흰쥐의 경우, 간장이나 신장 같은 장기무게는 어느 정도 시기까지는 증가하는 것으로 알려졌는데,[67] 이는 본 硏究의 실험결과를 보아도 뚜렷하게 알 수 있다. 하지만 인위적으로 老化를 유도한 쥐는 18주齡 쥐보

다 臟器무게가 감소한 것으로 보아, 老化가 촉진되면 어느 시점을 계기로 臟器의 무게가 감소하는 것으로 보인다. 한편 신장중량의 경우, 藥物投與群이 對照群에 비해서 감소 폭이 크지 않은 것으로 보아, 藥物의 투여가 실험동물의 老化를 어느 정도 예방하는 데 효과가 있는 것으로 思料된다.

血漿脂質의 過酸化 정도를 알아보기 위해 脂質過酸化物 含量(Thiobarbituric Acid Reactive Substances : TBARS values)을 측정한 결과는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며, 각 집단간 차이의 有意性을 검정한 결과 有意한 수준에서 정상老化 쥐와 藥物投與群에서 對照群에 비해 감소하는 경향을 나타내었다.

간의 TBARS를 측정한 결과는 집단간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며, 각 집단간 차이의 有意性을 검정한 결과 對照群과 藥物投與群은 有意한 차이가 없었다. 혈장과 간 모두에서 8주齡과 18주齡에서의 脂質過酸化物의 차이는 없었고, 對照群에서는 8주齡 쥐와 18주齡 쥐에 비해 有意하게 증가하는 것을 알 수 있었다. 이는 老化가 진행되면서 脂質過酸化物의 생성이 증가한다는 사실을 말해주는 것으로 이해할 수 있다.

생체내의 脂質過酸化物은 불포화 지방산에 O_2가 부가된 생성물을 말하는 것으로, 過酸化脂質은 생체막 등에 손상을 입히고, 세포기능을 저하시키며, 여러 가지 질병, 예를 들어 肝硬便, 動脈硬化症, 心臟病等 각종 慢性疾患과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다.[17),67)] 過酸化脂質의 含量은 나이가 들거나 老化가 촉진되면서 증가하는데, 18주齡 쥐가 8주齡 쥐에 비해 혈장과 간의 過酸化脂質이 높았으며, 老化촉발 쥐(對照群)와는 현격한 차이를 보였다. 何首烏丸을 투여한 흰쥐(藥物投與群)는 對照群에 비해서 過酸化脂質의 含量이 혈장에서 뚜렷하게 낮게 나타났으며, 有意性 검정결과에서는 肝에서 별 차이가 없는 것으로 나타났지만, 對照群보다는 크게 낮은 수치였다. 이를 미루어 보아 藥物의 투여가 정상 상태에서 보다 老化상태나 病態에서 過酸化脂質의 含量 증가를 억제한다는 사실을 알 수 있다.

적혈구에서의 항산화 효소들의 활성을 알아보기 위해 SOD의 활성을 측정한 결과는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며, 각 집단간 차이는 8주齡 쥐에 비해 18주齡 쥐, 對照群, 藥物投與群에서 有意한 감소가 있었으나, 8주齡 쥐를 제외한 他群에서 有意한 차이가 없었다.

간의 SOD 활성을 측정한 결과는 집단간에 통계적으로 有意한 차이가 없었다. SOD는 인체 내에서 중요한 항산화효소 중 하나로써 생체에서 xanthine oxidase, aldehyde oxidase 등의 효소반응의 결과로 생성되어진 superoxide anion radical을 H2O2로 전환시키는 것으로[17),67)] 활성산소를 제거하는 작용을 한다. 적혈구와 간에서 SOD의 활성을 측정한 결과, 幼少한 쥐에 비해 老化가 정상적으로 진행한 쥐나 인위적으로 老化를 유도한 쥐(對照群) 모두 SOD 활성이 낮게 나타났다. 다만 적혈구에서는 幼少한 쥐에 비해 다른 群이 有意한 차이를 나타냈지만, 8주齡 쥐를 제외한 他群은 통계적으로 有意한 차이가 인정되지 않았고, 간의 實驗결과는 有意性이 검증되지 않았다. 이 實驗에서 알 수 있는 사실은 항산화 효소중의 하나인 SOD가 老化가 진행되면서 활성도가 떨어진다는 사실이다.

적혈구에서 GSH-px활성을 측정한 결과는 집단간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며, 18주齡 쥐, 對照群, 藥物投與群은 8주齡 쥐에 비해 有意한 감소가 있었으며, 藥物投與群이 對照群에 비해 有意한 증가를 나타내었다.

간의 GSH-px의 활성을 측정한 결과, 집단간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며, 藥物投與군이 對照群에 비해 有意한 증가를 나타내었다.

glutathione은 호흡에 있어서 효소의 전달체로 작용하는데, 酸化型 glutathione은 vitamin E와 더불어 불포화지방산의 過酸化를 예방하며,[67),84)] 적혈구와 간의 glutathione 활성은 幼少한 쥐에 비해 정상老化 쥐나 對照群, 藥物投與群에서 감소하였으나, 藥物投與群이 對照群에 비해 뚜렷하게 증가하는 경향을 보였다. 이를 미루어 보아 何首烏丸이 老化유발 쥐에서 glutathione 활성을 높이는 것은 분명하다고 볼 수 있다.

catalase의 활성은 적혈구와 간 모두에서 통계적으로 有意한 집단간 차이가 없었다. catalase 는 특히 간과 적혈구에 많이 존재하는 항산화 효소로써 다른 臟器에도 존재한다. catalase는 H_2O_2를 무독성의 H_2O로 환원시키거나, methanol, ethanol, phenol과 같은 hydro- gen donor의 酸化에 관여한다.[67)]

이를 종합하면, 老化촉진 쥐에 何首烏丸을 투여한 경우(藥物投與群)에서 성숙한 쥐에 비해 신장중량의 감소가 老化촉진 쥐(對照群)보다 크지 않았고, 혈장과 간에서 脂質過酸化物의 含量을 감소시켰으며, 적혈구와 간에서 항산화효소인 GSH-px의 활성을 顯著히 증가시키는 작용을 나타내었으나, 또 다른 항산화 효소인 SOD와 Catalase의 활성에 대해서는 有意한 결과가 발견되지 않았다.

何首烏丸이 인체 내에서 활성산소를 제거하는 항산화 효소의 활성을 증가시키며 따라서 항산화를 통한 抗老化에 어느 정도 효과가 있는 것으로 판단되나, 더욱 深度있는 연구가 필요하다고 思料된다.

V. 結 論

何首烏丸의 항산화 능을 알아보기 위하여 8주齡의 흰쥐와 18주齡의 老化과정 흰쥐, 그리고 D-galactose를 투여하여 老化를 유발시킨 흰쥐(對照群)와 D-galactose와 何首烏丸을 동시에 투여한 흰쥐(藥物投與群)에서 각 群의 간장과 신장중량을 측정하고, 혈장과 간의 TBARS 含量과 적혈구와 간의 SOD, GSH-px, catalase 의 활성을 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 老化촉진 쥐의 신장의 중량변화에서 주齡이 늘어나면서 臟器의 중량이 증가했으나, D-galactose를 투여한 群들은 共히 18주齡 쥐에 비해 臟器중량이 감소했다. 특히 藥物投與群에서 對照群보다 신장중량의 감소 폭이 크지 않은 것으로 나타났다.

2) 혈장과 간의 TBARS 수준은 정상 흰쥐에서 주齡이 늘어남에 따라 증가하는 경향이 있었고, D-galactose를 투여한 흰쥐에서는 藥物投與群이 對照群에 비해 혈장의 TBARS수준이 有意하게 감소하였다.

3) 적혈구의 SOD 활성은 8주령 쥐에 비해 18주령 쥐와 對照群과 藥物投與群이 有意한 감소가 있었으나, 對照群과 藥物投與群에서 有意한 차이가 없었으며, 간의 SOD 활성은 實驗群간 차이가 없었다.

4) 적혈구와 간의 GSH-px 활성은 共히 藥物投與群 이 對照群에 비해 有意하게 증가하였다.

5) 적혈구와 간의 Catalase 활성은 모든 實驗群간에 有意한 차이가 없었다.

이상의 결과로 보면 何首烏丸은 D-galactose로 유발된 老化촉진 흰쥐에서 혈장의 過酸化脂質 含量을 저하시키고, 적혈구와 간의 GSH-px 活性을 증가시켰다. 따라서 何首烏丸이 제한된 조건하이긴 하지만, 인체 내에서 항산화 효소의 활성을 증가시키며, 항산화를 통한 老化예방에 어느 정도 효과가 있는 것으로 판단된다.

參考文獻

1) 김미옥 : 노인의 소외감과 신체적 老化에 관한 硏究, 대한간호학회지 17(1) : pp.64-78, 1987.
2) 임종호, 이진오 : 노년기 老化에 따른 신체 조성의 변화와 근력 및 근지구력의 관계, 한국노년학 21(2) : pp.15-24, 2001.
3) 洪元植 編著 : 精校黃帝內經素問, 東洋醫學硏究院 出版部, 韓國, 서울, p.11, pp.24-25, 1981.
4) 김광호 : 豫防韓醫學(上), 서울, 書苑堂, pp.523- 538, 2001.
5) 김완희, 최달영 : 臟腑辨證論治, 서울, 成輔社, pp.282-284, 1985.
6) 남홍길, 우혜련 : 老化의 유전적 조절 및 老化 조절 유전자연구에 대해, 화학세계 38(8) : pp.32-37, 1998.
7) 이재용 : 세포의 老化와 불멸화, 생명공학 동향 6(2), 1998.
8) 양성렬 : 세포의 老化과정, 대한의사협회지 40(10) : pp.1300-1306, 1997.
9) Harman, D. : Free radical theory of aging(the free radical disease, Age(7) : pp.111-131, 1984.
10) Culter, R,G. : Antioxidant aging and longevity. Free Radicals in Biology, Academic Press, 6 : pp.371-424, 1984.
11) 한복기 : 활성산소와 老化현상, 화학세계, pp.48~51, 38(8), 1998.
12) 박용기 外 2人 : 人蔘의 配合에 따른 抗酸化 作用에 關한 硏究, 大韓本草學會誌 14(1) : p.45, 1999.
13) 박영철, 이선동, 정해원 : 인삼의 抗老化효과와 미래의 연구방향, 대한보건협회학술지 25(2) : pp.65-76, 1999.
14) 안규석 外 : 흰쥐에서 老化와 관련 생리적 변화들에 미치는 人蔘 및 黃耆의 효과, 大韓韓醫學會誌 10(2) : pp.26-46, 1989.
15) 손예건 外 : 枸己子, 枸己葉, 地骨皮가 고혈압, 고지혈증 및 고혈당에 미치는 영향, 경희대 논문집 16, 1993.
16) 안봉전 外 : 한약재를 가미한 녹용추출물의 생리활성에 관한 연구, 방제학회지 9(1) : pp.335-354, 2001.
17) 안상원, 이철완 : 熟地黃과 六味地黃湯이 老化과정 흰쥐에서의 抗酸化 機轉에 미치는 영향, 대전대 논문집 8(1), 1999.
18) 김인재, 이상룡 : 加味歸脾聰明湯이 老化白鼠의 血液變化 및 血淸과 腦組織이 抗酸化物 活性에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지 9(2) : p.53, 1998.
19) 허준령 : 十全大補湯의 抗酸化作用에 대한 硏究, 大田大學校 大學院, 2001.
20) 김병탁, 김성훈 : 瓊玉湯의 抗酸化作用에 對한 實驗的 硏究, 大田大學校 韓醫學硏究所論文集 7(1), 1998.
21) 박진성 外 2人 : 不老丸을 投與한 흰쥐 腦의 抗酸化效果에 關한 硏究, 大韓豫防韓醫學會誌 5(1) : pp.90-102, 2001.
22) 소경순, 김광호 : 鹿蔘地黃湯이 抗老衰에 미치는 影響, 慶熙韓醫大 論文集 18(2), 1995.
23) 길호식 : 延年益壽不老丹이 老化유발 흰쥐의 抗酸化能에 미치는 影響, 경희대학교 대학원 박사학위논문, 2003.
24) 박상동 外 : 류마티스 관절염 실험용쥐의 활액에서 단백분해효소의 활성 및 항산화에 대한 녹용약침의 효과, 대한침구학회지 19(2) : pp.51-64, 2002/4.
25) 김영해 外 : 胡桃藥鍼의 抗酸化 效果에 對한 硏究, 大韓韓醫學會誌 17(2) : pp.8-18, 1997.
26) 정희정 : 綠茶가 흰쥐의 혈청 및 간의 지질

성분과 항산화계 효소 활성도에 미치는 영향, 동국대학교 대학원, 1994.
27) 윤수홍 外 : 대학생들의 혈청지질 및 항산화비타민과 관련인자 연구, 한국위생과학회지 4(1) : pp.91-107, 1998.
28) 申佶求 : 申氏本草學各論, 서울, 壽文社, pp.92-94, 118-120, 1988.
29) 全國韓醫科大學 本草學敎室 編著 : 本草學, 韓國, 서울, 永林社, pp. 580-581, 583-584, 1991.
30) 上海中醫學院 : 中草藥學, 中國, 上海, 商務印書館, p.227,229, 1982.
31) 李時珍 : 本草綱目, 서울, 高文社, 18卷, pp.31-32, 1983.
32) 辛民敎 : 白鼠肝組織에 미치는 赤何首烏와 白何首烏의 效能에 關한 比較 硏究, 생약학회지 16(2) : p.82, 1985.
33) 韓基璿 : 白何首烏의 抗酸化活性과 amino acid의 分布에 관한 實驗的 硏究, 동국대학교 대학원 석사학위 논문, 1996.
34) 이종현 : 白何首烏藥鍼의 抗酸化作用에 관한 實驗的 硏究, 大韓韓醫學會 誌 18(1), 1997.
35) 朴元煥 : 內關·足三里穴의 何首烏 藥鍼이 고콜레스테롤血症 病態 白鼠에 미치는 影響, 대한동의병리학회지 14(1) : p.144, 2000.
36) 李暎鍾, 孫永宗 : 何首烏가 高脂血症 흰쥐의 혈중지질 및 효소활성에 미치는 영향, 대한본초학회지 14(1) : p.76, 1999.
37) 김일영 外 : 하수오가 metrotrexate로 유도된 흰쥐의 면역기능저하에 미치는 영향, 대한예방한의학회지 4(2), 2000.
38) 吳晏向, 成樂箕 : 地骨皮에 관한 문헌적 고찰, 대전대학교 논문집 2(1), 1993/8.
39) 이홍민 外 : 老化의 硏究동향에 관한 考察, 침구과학회지18(1) : pp.146-156, 2001.
40) 홍현방, 최혜경 : 성공적인 老化 정의를 위한 문헌연구, 한국가정관리학회지 21(2) : pp.145-154, 2003.
41) 리정복 : 장수학, 한국, 서울, 의성당, pp.11-36. 1987.
42) 안현국 外 : 老化豫防 및 老人保健에 관한 文獻的 考察, 大韓醫療氣功學會誌 4(1) : pp.244-269, 2000.
43) 徐舜圭 : 成人病 老人醫學, 서울, 고려의학, pp.10-13, 225-228, 1992.
44) 박상철 : 老化현상－제어가 가능한가? 화학세계 21(3), 2001.
45) Hayflick L : Antecedents of cell aging research, Exp Gerontol : p.24, pp.355-365, 1989.
46) 이호준, 오승은 : 환경 스트레스, 활성산소와 스트레스-에틸렌 간의 상호관계, 한국생태학회지 17(1) : pp.91-100, 1994.
47) 김재식 : 老化의 기전과 예방, 면역학회지 1(2), 2001.
48) 洪淳用, 李乙浩 : 四象醫學原論, 서울, 杏林出版社, p.114, 1989.
49) 金秉雲外 4人 : 東醫肝係內科學, 韓國, 서울, 集文堂, p.145, 1986.
50) 홍상훈 : 老化의 인식에 대한 연구, 성인병학회지 1 : pp.126-145, 1997.
51) 杜鎬京 編著 : 東醫腎係內科學, 서울, 東洋醫學硏究院, pp.6-9, 1987.
52) 金完熙 : 韓醫學槪論, 서울, 成輔社, pp.133-35, 1982.
53) 尹吉榮 : 東醫學의 방법론 연구, 서울, 成輔社, p.25, 1983.
54) 金恩基 外 2人 : 老化防止를 위한 韓醫學的 方法, 韓方成人病學 2(1) : p.146, 1996.
55) 徐定海 外 2人 : 養精益腎功對高血壓病患者的延緩衰老作用, 上海中醫藥雜誌 12 : p.17, 1994.
56) 高綺完 : 老化 및 老人의 病因 病機에 關한 文獻的 硏究, 경희대학교 대학원 석사학위

논문, 1993.
57) 김신석, 이철완 : 노인성질환의 東西醫學的 考察, 한방재활의학과학회 2(1) : pp.157-171, 1992.
58) 백상용 : 老化에 대한 연구, 경희대논문집 22(1) : pp. 107-118, 1999.
59) 李樞著, 蔡仁植 外 共譯 : 國譯醫學入門, 서울, 南山堂, p.162, pp.186-192, 1984.
60) 洪元植 編著 : 精校黃帝內經靈樞, 서울, 東洋醫學研究院出版部, p.244, 1981.
61) 許浚 : 東醫寶鑑, 서울, 麗江出版社, pp.7-16, 60, 1994.
62) 위영택, 김길수 : 養生과 老化의 相關性에 관한 硏究, 大韓醫療氣功學會誌 3(1) : pp.77-89, 1999.
63) 김안근 外 : 산화적 스트레스 및 항산화제가 항산화효소 활성에 미치는 영향, 응용약물회지 9 : pp.249-257, 2001.
64) Barry, H. : Oxidants and human disease ; Some new concept. FASEB J.1 : pp.358-364, 1987.
65) 林水森 外 : 中醫論衰老機理, 上海中醫藥雜誌 12 : p.14, 1994.
66) 余月明 外 : 自由基衰老學說, 腎虛與衰老及補腎抗衰老硏究, 陝西中醫14(4) : pp.187-188, 1993.
67) 노경아, 김미경 : 老化과정에 따른 흰쥐의 DNA손상과 抗酸化能의 변화, 한국영양학회지 35(3) : pp.279-290, 2002.
68) 윤수홍, 권정숙, 박경희 : 뇌혈관질환 환자들의 혈청지질 및 비타민과 관련인자 연구, 한국위생과학회지 4(1) : pp.23-40, 1998.
69) 임현성 外 : 만성 신부전증 환자에서의 혈액 글루타치온치와 적혈구 항산화효소 활성도 변화, 대한신장학회지 12(3) : pp.369-376, 1993.
70) 박근용 : 당뇨병성 신증환자에서 Malondialdehyde(MDA)와 항산화효소의 변화에 관한 연구, 대한내과학회지 53(5) : pp.612-616, 1997.
71) Marx, J.L : Oxygen free radicals linked to many diseases, Science, p.235, 529, 1987.
72) McCord, J.M. : Free radical and inflammation : Prothection of synovial fluid by superoxide dismutase. Science, p.185, pp.529-531, 1974.
73) 정해영 外 : 활성산소와 老化조절, 화학세계 38(8) : pp.51-55, 1998.
74) 박종운 外 : 四物湯이 老化白鼠 뇌조직의 생화학적 변화에 미치는 영향, 내과학회지 19(1) : pp.185-201, 1999.
75) 김영균, 조수인 : 四君子湯이 CCl_4에 의한 생쥐의 간 조직 손상에 미치는 영향, 방제학회지 9(1) : pp.375-385, 2001.
76) 윤철호 外 : 左歸飮과 右歸飮이 老化 Rat의 뇌 과산화지질 생성 및 활성산소 생성계 효소 활성에 미치는 영향, 韓醫學會誌 16(2) : pp.348-364, 1995.
77) 곽중문 外 : 老化과정의 흰쥐에서 醒心散이 심장의 대사효소계에 미치는 영향, 대전대논문집 8(1) : pp.625-641, 1999.
78) 손민성 外 : 老化과정의 흰쥐에서 補腎丸이 신장의 대사효소계에 미치는 영향, 대전대논문집 8(1) : pp.659-674, 1999.
79) 김인수 外 : 老化과정의 흰쥐에서 補肺散이 폐의 대사효소계에 미치는 영향, 대전대논문집 8(1) : pp.643-657, 1999.
80) 左莉 : 首烏長春寶口服液延緩衰老的臨床硏究, 甘肅中醫學院學報 14(4) : p.22, 1998.
81) 劉靑云 : 首烏丸抗衰老作用的實驗硏究, 中成藥 13(4) : p.28, 1991.
82) 이원철 : 赤何首烏가 高Cholesterol食餌에 의하여 誘發된 家兎 冠狀動脈의 粥狀硬化에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌 16(1) : 1995.

83) 임락철 : 赤何首烏 藥針의 AAPH처리된 흰 쥐에 대한 항산화작용, 대전대학교 한의학 연구소 논문집 8(2) : 2000.

84) 이귀녕, 이종순 : 임상병리화일, 서울, 의학 문화사, p.138, 1986.