

## 覆盆子が 老化誘發 흰쥐의 抗酸化能에 미치는 影響

박성준 · 이송실 · 백진웅 · 이상재 · 김광호

경희대학교 한의과대학 예방의학교실, 경희대학교 한의학연구소

### Effect of Rubi Fructus(Fruit of Rubus Coreanus Miq.) on Antioxidant Capacity in D-galactose Induced Aging Rats

Sung-Jun Park, 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** : Rubi Fructus(fruit of Rubus coreanus Miq.) composed of Polygonum multiflorum THUNB. and some medical herbs is known as formula of senescence delay effect. The purpose of this study is to investigate the effect of Rubi Fructus(fruit of Rubus coreanus Miq.) on antioxidant enzyme activity such as Thiobarbituric acid reactive substance(TBARS), Superoxide dismutase(SOD), Catalase(CAT), Glutathione peroxidase(GSH-px) in rat erythrocytes and blood plasma.

**Methods** : Sprague-Dawley rats were divided into 3 groups, Normal group(supplied enough water and feeds only, Normal Group), D-galactose administered group(injected D-galactose 50mg/kg, 1time/day for 6 weeks, Control Group) and Rubi Fructus(fruit of Rubus coreanus Miq.) administered group(D-galactose 50mg/kg and Rubi Fructus(fruit of Rubus coreanus Miq.) extracts 85.0mg/200g 1time/day for 6 weeks, BBJ Group). Rats were sacrificed and TBARS, SOD, CAT, GSH-px, Plasma total lipid, Plasma triglyceride and cholesterol were measured in rat erythrocytes and blood plasma.

**Results** : Plasma TBARS concentrations of all experimental group were not significantly different. Red blood cell(RBC) SOD activities of BBJ group was increased, and RBC catalase activities of all experimental group were not significantly different. RBC GSH-px activities of BBJ group was increased. Plasma total lipid concentration of BBJ group were significantly lower than those of control. Plasma triglyceride, total cholesterol and HDL-cholesterol concentrations of all experimental group were not significantly different.

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

Conclusions : According to the above results, it is considered that Rubi Fructus(fruit of *Rubus coreanus* Miq.) is effective in inhibiting lipid peroxidation and increasing antioxidative enzyme activities in D-galactose induced aging rat.

**Key words** : Rubi Fructus, Antioxidant Capacity D-galactose Induced Aging Rats,

## I. 緒論

노화는 노화자체로 발생하는 생물학적 문제 뿐만 아니라 최근 수명연장으로 인한 노년층의 증가로 야기되는 성인병 또는 노인성 질환의 주원인이 되며 이를 극복하는 것이 노인병을 경감시키는 방법 중의 하나로 부각되고 있다.<sup>1-4)</sup> 노화의 학설 중 가장 많이 연구되고 있는 것은 Harman의 活性酸素說이며 이는 정상적인 代謝과정 중에 부수적으로 발생되기 마련인 여러 가지 活性酸素들에 의해 지질의 산화, 단백질의 변성, DNA의 절단 등 생체 물질이 酸化的 손상을 받게 되고 이러한 손상들이 축적되어 老化에 이르게 된다는 설이다.<sup>5-10)</sup>

韓醫學에서는 老化의 원인을 腎臟毀虛, 脾胃虛衰, 心臟虛衰, 肝臟衰憑, 正氣衰竭 및 陰陽失調 등으로 보고 있으며,<sup>11-13)</sup> 특히 先天之本인 腎은 腎陰과 腎陽을 臧하며, 腎氣의 盛衰與否에 의하여 生長發育과 老化, 死亡이 決定된다고 보고 있다.<sup>14,15)</sup> 이러한 노화를 지연하고 수명을 연장하기 위하여 藥物, 導引, 食餌 등 여러 養生의 방법들이 제시되고 있다.<sup>13,16,17)</sup>

覆盆子是 古來의 本草文헌에 益腎, 陽萎, 遺精, 早泄, 遺尿, 小便過多, 不妊 등 증을 치료한다고 收載되어 왔다.<sup>18-20)</sup> 이미 覆盆子 藥鍼에 대한 抗氧化作用에 관한 실험적 연구가 보고되어 있고,<sup>21)</sup> 益腎의 관점에서 경구투여에 의한 방법으로도 老化 지연 효과가 있을 것으로 예상되어서 본 실험에 사용하는 약물로 선택

하게 되었다.

覆盆子の 抗氧化能에 미치는 영향을 측정하기 위하여 張<sup>22)</sup>의 방법을 사용하여 D-galactose를 6주간 피하에 투여하여 老化가 촉진된 쥐에게 覆盆子를 경구투여한 후 血漿의 脂質過氧化物, 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 고형배합사료 ([주]애그리브랜드 퓨리나 크리아, 퓨리나 실험용 쥐사료 5057, 구성성분 : 조단백질 21.1% · 조지방 3.5% · 조섬유 5.0% · 조회분 8.0% · 칼슘 0.6% · 인 0.6%)로 적응시켰다. 적응기간 후 체중이 400±20g(12주령)인 쥐들을 實驗에 사용하였다. 實驗동물은 한 마리씩 분리하여 stainle BBJ steel cage에서 사육하였고, 사료와 물은 자유롭게 먹도록 하였다.

## 2) 材 料

본 實驗에서 사용된 覆盆子是 慶熙醫療院에서 엄선한 것을 사용하였다.

## 2. 方 法

### 1) 實驗群 설정

實驗실 환경에서 2주간 적응시킨 SD계 흰쥐를 체중별로 고르게 분포시켜 12주령의 Normal group, D-galactose를 투여한 Control group 및 覆盆子를 투여한 BBJ group으로 나누어 각 군에 6마리씩 배정하였다.

Control군은 12주령 흰쥐에 D-galactose를 6주간 피하주사하여 老化를 유발하였다. BBJ군은 D-galactose를 피하주사 함과 동시에 覆盆子를 경구투여하였다.

### 2) 檢液 제조

覆盆子 300g을 5,000cc의 둥근 플라스크에 3,000cc의 증류수와 함께 넣은 다음 냉각기를 부착하고 3시간 동안 煎湯하여 0.2 $\mu$ m filter로 여과한 여액을 rotary vacuum evaporator (EYELA, JAPAN)에서 감압 농축한 후, 이 농축액을 -80°C deep freezer(SANYO, JAPAN)에서 한 시간 방치한 후 freezer dryer(EYELA, JAPAN)로 24시간 동안 동결 건조하여 覆盆子 엑기스 42.0g을 얻었다.

### 3) 老化 誘發

D-galactose(Sigma, USA) 50mg/kg을 1회 /1일 6주간 흰쥐 背部에 피하주사하여 노화를 유발하였다.

### 4) 檢液 투여

覆盆子 추출물 70.0mg/200g을 증류수로 희석하여 BBJ군 흰쥐에 1일 1회 6주간 경구 투여하였다.

### 5) 채혈, 혈장 및 RBC분리

6주간 검액을 투여시킨 實驗동물은 12시간 절식시킨 후 diethyl ether로 마취시켜 개복한 후 10ml 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 튜브에 담아 ice bath에 20분간 방치한 후 원심분리기로 2,800rpm(HERMLE, Z383K, GERMANY), 4°C에서 30분간 원심분리하여 -70°C deep freezer(SANYO, JAPAN)에 보관하였다.

RBC는 ice cold saline을 첨가하여 원심분리기로 2,800rpm(HERMLE, Z383K, GERMAN- NY), 4°C에서 10분간 원심분리하는 세척과정을 세 차례 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°C deep freezer에 보관하였다.

### 6) 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 ferrouscytochrome c(Fe<sup>++</sup>)로 환원시키는데 이때 SOD가 존재하

면 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 효소시료 50 $\mu$ l를 가하고, 사용 직전에 xanthine oxidase 용액을 제조하여 50 $\mu$ l를 첨가시켜 ferricytochrome c의 환원이 방해되는 정도를 550nm에서 30초 간격으로 3분간 비색정량하였다. 이때 SOD의 분당 활성 정도는 ferricytochrome c의 환원을 50% 방해하는 SOD의 양을 1 unit으로 하여 나타내었다.

#### 7) 적혈구의 catalase 활성

적혈구의 catalase 활성은 적혈구 현탁액을 10배의 10mM Tris-1mM EDTA buffer(pH 7.4)로 용혈시킨 후 0.01M phosphate buffer (pH 7.0)로 희석하여 효소원으로 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 효소원을 600 $\mu$ l 가하여 20°C에서 20분간 가볍게 흔들면서 반응이 일어나게 한 후 7.8M KOH 300 $\mu$ l를 가하여 반응을 종결시키고, 34.2mM Purpald 용액을 600 $\mu$ l를 가하여 20°C에서 10분간 가볍게 흔든 후 65.2mM potassium periodate를 300 $\mu$ l를 가하여 발색시켰다. 이를 9,500 $\times$ g에서 10분간 원심분리시켜 spectrophotometer(DU 530, BECKMAN, USA)로 550nm에서 흡광도를 측정 후 formaldehyde를 표준용액으로 하여 얻은 표준곡선으로부터 활성을 계산하였다.

#### 8) 적혈구의 glutathione peroxidase 활성

적혈구의 glutathione peroxidase(GSH-px) 활성은 적혈구 현탁액에 10배의 증류수를 가하여 적혈구를 용혈시키고 다시 증류수로 이 hemolysate를 희석한 후 Drabkin용액을 hemo-

lysate와 1:1의 비율로 혼합하여 hemoglobin(Hb)을 cyanomethemoglobin으로 전환시킨 후 효소원으로 사용하였다.

Glutathione peroxidase의 활성측정은 GSH-px가 환원형 glutathione (GSH)과 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 반응을 촉진시켜 환원형 GSH를 산화형 glutathione(GBBJG)으로 전환시키고, GBBJG는 glutathione reductase의 작용으로 NADPH의 H를 받아 다시 환원형인 GSH로 되는데, 이때 형광을 띠는 NADPH는 H를 빼앗겨 형광을 띠지 않는 산화형 NADP가 된다는 원리를 이용하였다.

Tube에 0.1M phosphate buffer 500 $\mu$ l, 10mM GSH 100 $\mu$ l, glutathione reductase 100 $\mu$ l를 넣고, 효소원 100 $\mu$ l를 첨가하여 37°C에서 10분간 incubation시킨 후 1.5mM NADPH 100 $\mu$ l를 넣어 다시 3분간 incubation시켰다. 여기에 미리 37°C로 데워진 12mM t-butyl hydroperoxide를 가하여 반응을 개시시킨 후 spectrophotometer(DU530, BECKMAN, USA)로 365nm에서 30초 간격으로 3분간 GSH-px의 활성을 측정하여 unit단위로 나타내었다. 여기에서 1 unit은 1분 동안 1.0 $\mu$ M의 GSH가 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 작용으로 GBBJH로 산화되는 것을 측매한다.

#### 9) 효소원의 단백질 함량

각 효소들의 활성측정을 위해 사용된 적혈구의 단백질 함량은 bovine serum albumin (Sigma, USA)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. 효소원 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 spectrophotometer(DU530, BECKMAN, USA)로 비색정량하였다.

10) 혈장의 Thiobarbituric Acid Reactive Substance 함량

혈장의 Thiobarbituric Acid Reactive Substance(TBARS) 함량은 혈장 20 $\mu$ l에 1/12N 황산 4ml와 10% phosphotungstic acid 0.5ml를 넣고 5분간 방치한 후 3,000rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액은 버리고, 침전물은 위의 과정을 다시 한 번 반복하였다. 이때 얻어진 침전물에 증류수 2ml와 thiobarbituric acid(TBA) reagent 1ml를 가하여 잘 섞은 후 뚜껑을 단단히 막고 95 $^{\circ}$ C water bath에서 1시간 동안 incubation시켰다. 여기에 n-butanol 3ml를 가하여 격렬히 섞은 후 3,000rpm(HERMLE, Z383K, GERMANY)에서 15분간 원심분리하여 얻은 상층액에 있는 TBARS의 양을 1,1,4,4-tetramethoxypropane을 표준용액으로 하여 luminescence spectrometer(PERKIN ELMER, LS50, USA)로 excitation 515nm, emission 553nm에서 정량하였다.

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 spectrophotometer (DU530, BECKMAN, USA) 로 파장 540nm에서 비색정량하였다.

혈장의 중성지방 농도는 GPO-PAP법을 이용한 kit(영동제약)로 측정하였다. 혈장의 콜레

스테롤 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

각 집단의 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. 적혈구의 SOD 活性

抗酸化 酵素인 SOD의 活性을 측정한 결과 Normal군이 16.71 $\pm$ 1.52, Control군이 10.17 $\pm$ 1.04, BBJ군이 12.60 $\pm$ 1.22으로 나타나 집단간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며, 다중비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意성을 검정한 결과 BBJ군이 Control군에 비하여 증가하는 경향을 나타내었다(Table I).

Table I. Erythrocyte antioxidative enzyme activities(SOD)

Group	No. of animal	RBC SOD	Duncan grouping
Normal	6	16.71 $\pm$ 1.52 <sup>1)</sup>	A <sup>2)</sup>
Control	6	10.17 $\pm$ 1.04	B
BBJ	6	12.60 $\pm$ 1.22	AB

<sup>1)</sup> Mean $\pm$ Standard deviation.

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

2. 적혈구의 GSH-px 活性

抗酸化 酵素인 GSH-px의 活性을 측정 한 결과 Normal군이 0.149±0.014, Control군이 0.080±0.007, BBJ군이 0.137±0.018로 나타나 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며, 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意性을 검정한 결과 BBJ군이 Control군에 비하여 有意한 증가를 나타내었다(Table II).

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

Group	No. of animal	RBC GSH-px	Duncan grouping
Normal	6	0.149±0.014 <sup>1)</sup>	A <sup>2)</sup>
Control	6	0.080±0.007	B
BBJ	6	0.137±0.018	A

<sup>1)</sup> Mean±Standard deviation.  
<sup>2)</sup> Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test.

3. 적혈구의 Catalase 活性

抗酸化 酵素인 Catalase의 活性을 측정 한 결과 Normal군이 4864.5±152.8, Control군이 4631.4±98.6 BBJ군이 4607.9±81.2으로 나타나 집단간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 없었다(Table III).

Table III. Erythrocyte antioxidative enzyme activities(Catalase)

Group	No. of animal	RBC Catalase	Duncan grouping
Normal	6	4864.5±152.8 <sup>1)</sup>	A <sup>2)</sup>
Control	6	4631.4± 98.6	A
BBJ	6	4607.9± 81.2	A

<sup>1)</sup> Mean±Standard deviation.  
<sup>2)</sup> Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test.

4. 혈장의 脂質過酸化物 含量

脂質過酸化物 含量(Thiobarbituric Acid Reactive Substances : TBARS values)을 측정 한 결과 Normal군이 34.99±3.74nmol/100ml, Control군이 47.61±4.06nmol/100ml, BBJ군이 43.62±4.64nmol/100ml으로 나타나 집단간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 없었다(Table IV).

Table IV. Plasma TBARS levels

Group	No. of animal	Plasma TBARS (nmol/100ml)	Duncan grouping
Normal	6	34.99±3.74 <sup>1)</sup>	A <sup>2)</sup>
Control	6	47.61±4.06	A
BBJ	6	43.62±4.64	A

<sup>1)</sup> Mean±Standard deviation.  
<sup>2)</sup> Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test.

5. 혈장내 총지방, 중성지방 농도

혈장내 총지방의 농도를 측정 한 결과 Normal군이 185.33±22.78,Control군이 497.33±70.24, BBJ군이 336.50±35.77으로 나타나 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며, 다중비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意性을 검정한 결과 BBJ군이 Control군에 비하여 有意한 감소를 나타내었다.

혈장내 중성지방의 농도를 측정 한 결과 Normal군이 76.67±14.68,Control군이 120.33±17.08, BBJ군이 85.67±10.57으로 나타나 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 없었다 (Table V).

Table V. Plasma total lipid and triglyceride

Group	No. of animal	Plasma total lipid	Plasma triglyceride
Normal	6	185.33±22.78 <sup>1)</sup> A <sup>2)</sup>	76.67±14.68 <sup>1)</sup> A <sup>2)</sup>
Control	6	497.33±70.24 C	120.33±17.08 A
BBJ	6	336.50±35.77 B	85.67±10.57 A

<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.

Table VI. Plasma total cholesterol, HDL-cholesterol concentrations

Group	No. of animal	Plasma total cholesterol	Plasma HDL-cholesterol concentrations
Normal	6	54.83±3.75 <sup>1)</sup> A <sup>2)</sup>	26.50±5.19 <sup>1)</sup> A <sup>2)</sup>
Control	6	57.50±4.01 A	25.17±2.09 A
BBJ	6	56.33±4.27 A	24.83±0.75 A

<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.

## 6. 혈장내 총 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤 농도

혈장내 총 콜레스테롤 농도를 측정된 결과 Normal군이 54.83±3.75, Control군이 57.50±4.01, BBJ군이 56.33±4.27로 나타나 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 없었다.

혈장내 총 HDL-콜레스테롤 농도를 측정된 결과 Normal군이 26.50±5.19, Control군이 25.16±2.09, BBJ군이 24.83±0.75로 나타나 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 없었다 (Table VI).

## IV. 考察

노인인구의 증가는 전 세계적인 추세로 우리나라의 65세 이상의 노인인구는 1980년에는 전 인구의 3.6%를 차지하고 있었으나 2000년에는 6.2%, 2020년에는 11%에 이를 것으로 전망되며 따라서 노인의 건강문제와 함께 노화 과정에 대한 관심이 고조되고 있으며, 의료형

태도 인간의 육체적 정신적 건강과 더불어 삶의 질적 향상 특히 노인인구의 건강관리, 노인성 질환과 각종 성인병 및 난치병의 예방치료 등 건강증진을 목적으로 하는 새로운 과제에 직면하게 되었다.<sup>5,23,24)</sup>

서양의학에서 노화의 발생원인은 아직 충분히 규명되지는 못하고 있으나 細胞·細胞下單位 老化說과, 生體의 防禦, 調節機構에 대한 老化의 영향이 본질적인 것이라고 보는 個體單位에서의 老化學說로 크게 나누어 볼 수 있다. 老化가 유전적으로 예정되어 不可逆적으로 경과한다는 遺傳學說, 體內 蛋白質 合成에 이상이 생겨 老化가 발생한다는 error破滅說, 體細胞 遺傳子의 확률적 과정으로 突然變異가 발생하고 이것이 쌓여서 세포의 기능장애가 발생한다는 體細胞突然變異說, Lipofuscin 등의 細胞 體內蓄積에 老化가 나타난다는 代謝產物 蓄積說, 물질과 기능이 시간이 지남에 따라 磨耗된다는 磨耗說, 自由遊離基들에 의해 老化가 발생한다는 自由遊離基說(free radical theory) 등이 前者에 속하고 면역기능이나 중추신경계의 저하로 인한 生體防禦機構 혹은 調節機構

의 障礙說, 老化는 과거에 받은 스트레스 혹은 질병의 종합이라는 스트레스설 등은 後者에 속한다.<sup>1),2),6)-8)</sup>

최근에 주목받고 있는 프리라디칼설은 1956년 Harman에 의해 제안되었으며, 정상적인 대사과정에서 부수적으로 생성되는 여러 가지 활성산소들에 의하여 생체구성 성분들이 산화적 손상을 받게 되고 이러한 손상들이 축적되어 노화와 죽음에 이르게 된다는 것이다. 이러한 활성산화물질로부터 세포막과 세포 내 물질을 보호하기 위해 抗酸化 system이 존재하는데 크게 세 가지 측면으로 분류할 수 있다.

첫 번째로 프리라디칼의 생성 자체를 저해하는 예방적인 항산화제를 들 수 있다. SOD는 free radicals 생성과정 초기에 생성되어 다른 free radical의 생성 및 lipid peroxidation 과정을 단계적으로 일으키는 superoxide anion radical을 hydrogen peroxide(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)로 만들어 주는 효소이다. 이 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 제거는 catalase와 GSH-px가 담당한다. 조직의 peroxisomes에서 대부분 발견되는 catalase는 SOD로 인해 생성된 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 H<sub>2</sub>O로 환원시키는 catalytic activity와 methanol, ethanol, formic acid, phenol과 같은 hydrogen donor의 산화에 관여하는 peroxidic activity를 가진다. 또한 GSH-px는 생체 내에서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 환원형 glutathion (GSH)이 산화형 glutathion (GSSG)으로 되면서 물을 생성하게 된다. GSH-px은 이외에도 과산화물(ROOH)과 GSH로부터 GSSG, alcohol (ROH) 및 물을 생성하는 반응을 촉매 함으로써 조직의 과산화적 손상을 방지한다.

두 번째 분류군으로는 예방적 항산화적 효소와는 달리 세포막의 지질 또는 단백질에 작용하여 손상을 유도하는 라디칼 및 superoxide 나 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 등이 Fenton반응과 Haber-Weiss반응을 통해 생성된 hydroxyl radical을 제거하는 항산화제를 들 수 있다. 수용성비타민 C와 지용성 비타민 A, E 등이 있다. 세 번째 항산화

기전으로는 라디칼에 의해 상해를 입은 세포 내 거대분자들의 수복(repair)효소를 들 수 있다. 산화적으로 상해를 입은 인지질을 수복하는 phospholipase와 DNA상해를 수복하는 glycosylase와 nuclease 등이 이에 해당한다.<sup>25)-32)</sup>

한의학에서는 일찍부터 노화기전에 대한 인식과 노화 지연의 방법들을 체계적으로 제시하였다. <素問·上古天真論><sup>33)</sup>에서는 “女子七歲腎氣盛 齒更髮長… 七七任脈虛 太衝脈衰 少天癸竭 地道不通 故形壞而無子也”, “丈夫八歲腎氣實 髮長齒更… 七八肝氣衰 筋不能動 天癸竭 精少腎臟衰 形體皆極; 八八則齒髮去”라 하여 男女의 年齡에 따른 신체변화에 대해 설명하였고, <靈樞·千年篇><sup>34)</sup>에는 “五十歲 肝氣始衰, 肝葉始薄, 膽汁始減, 目視不明. 六十歲 心氣始衰 苦憂悲, 血氣懈惰, 故好臥. 七十歲 脾氣虛 皮膚枯. 八十歲 肺氣衰 魄離 故言善誤. 九十歲 腎氣焦 四臟經脈空虛. 百歲 五臟皆虛 腎氣皆去 形骸獨居而終矣”라 하여 나이가 들어감에 따라 五臟의 衰弱에 의하여 나타나는 老化現象에 대하여 기술하고 있다.

또한 <素問·上古天真論><sup>33)</sup>에서는 “天壽過度 氣脈相通 而腎氣有餘也”라 하였고 <醫學正傳>에서는 “腎元盛則壽延 腎元衰則壽夭”라고 하여 壽命維持에 腎氣가 중요한 역할을 하고 있음을 기술하고 있다.<sup>35)</sup> 인체에 있어서 生命의 根源은 腎에 존재하므로 腎氣(또는 腎元)와 腎陰(또는 腎精)은 生長壯老死의 과정에 중요한 기능적 물질적 바탕이 되며, 養生學者들은 이러한 이론을 근거로 春生, 夏長, 秋收, 冬藏의 섭생원칙에 따라 腎精을 보존해야만 老化를 遲延시켜 長壽한다고 강조하였다.<sup>13),36)</sup>

覆盆子是 장미과(Rosaceae)에 속한 낙엽관목인 覆盆子 딸기 및 同屬 近緣植物의 성숙한 果實로서<sup>37)</sup> 文獻的으로는 처음으로 神農本草經<sup>38)</sup> 上品에 “蓬蘽, 味酸平, 主安五臟, 益精氣, 長陰令堅, 強志, 倍力有子, 久服輕身不老, 一名 覆



盆, 生平澤”으로 기재되어 있고, 名醫別錄<sup>39)</sup> 上品에 “味甘平無毒, 主益氣輕身, 令髮不白, 五月採實”로 蓬蘽와 구별하여 기록한 이래, 古來의 본초문헌에 益腎, 陽萎, 遺精, 早泄, 遺尿, 小便過多, 不妊 등 증을 치료한다고 收載되어 왔다.<sup>38-39)</sup>

또한 覆盆子の 藥理的인 연구로는 시험관내에서 콜레라균의 성장을 억제하며,<sup>40,41)</sup> 人型결핵간균, 황색포도상구균 등에도 억제작용이 있음을 보고하였고,<sup>42)</sup> 覆盆子를 투여한 흰쥐와 토끼의 질도말표본 및 자궁내막을 관찰한 결과 estrogen과 유사한 작용이 있음이 알려져 있다.<sup>43)</sup>

또한 補腎의 작용에 대하여 여성의 性腺衰弱으로 인한 불임에 관한 연구로 覆盆子 딸기를 암컷 흰쥐에 투여한 결과 뇌하수체의 무게 및 난소를 제거한 회귀의 황체형성호르몬(Luteinizing Hormone, LH)에 대한 반응성이 유의하게 증가되었으며, 여성의 생식내분비기능의 부조화에 일정한 효과가 있다는 보고가 있다.<sup>44)</sup>

覆盆子에 대한 補腎의 관점에서 다양한 연구가 실시되었지만 抗酸化에 대한 연구는 아직 실시되지 않았다. 이에 補腎의 관점에서 抗酸化작용에 적합할 것으로 추측할 수 있었다. 이미 여러 한약제의 抗酸化 效果에 對한 報告들이 있는데 單味製로서는 高麗人蔘,<sup>45-47)</sup> 柴胡,<sup>48)</sup> 薏苡仁, 苦蔘,<sup>49)</sup> 菟絲子<sup>50)</sup> 등<sup>51-55)</sup>이 있고, 藥鍼製劑로는 覆盆子<sup>21)</sup> 뿐 아니라 五加皮,<sup>56)</sup> 桂枝<sup>57)</sup> 등<sup>58-61)</sup>의 抗酸化 效果를 研究한 報告들이 있고, 또한 복합제제로는 醒心散,<sup>62)</sup> 補肺散,<sup>63)</sup> 延年益壽不老丹<sup>64)</sup> 등<sup>65-71)</sup>의 抗酸化效果에 對한 報告들이 있었으며, 氣功<sup>72,73)</sup>의 抗老化 效果에 대한 報告도 있었다.

본 연구에서는 覆盆子の 老化방지 效果를 실험적으로 알아보기 위하여 老化유발 흰쥐를 이용하여 抗酸化能을 측정하였다. 12주령의 無處置群(Normal group)과 D-galactose 투여군

(Control group), 覆盆子 투여군(BBJ group)으로 나누어 비교하였다. 그 결과 SOD, glutathione peroxidase (GSH-px), 혈장내 총지방농도에서 유의한 차이가 있었다.

SOD는 인체내에서 강한 독성으로 작용하는 O<sub>2</sub>-를 과산화수소로 바꾸는 작용을 한다.<sup>25)</sup> 적혈구에서의 抗酸化 酵素들의 活性을 알아보기 위해 抗酸化 酵素인 SOD의 活性을 측정한 결과, 집단간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며, 다중비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意性을 검정한 결과 BBJ군이 Control군에 비하여 증가하는 경향을 나타내었다.

GSH-px는 과산화수소와 과산화지질을 동시에 환원시킴으로써 세포 구성 성분을 산화적 손상으로부터 보호해 주는 작용을 한다.<sup>27)</sup> 적혈구에서의 抗酸化 酵素들의 活性을 알아보기 위해 抗酸化 酵素인 GSH-px의 活性을 측정한 결과, 집단간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며, 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意性을 검정한 결과 BBJ군이 Control군에 비하여 유의한 증가를 나타내었다.

Catalase는 SOD에 의해 생성된 과산화수소와 유기과산화물을 물로 배설함으로써 생체를 보호하는 효소이다.<sup>25)</sup> 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.

활성산소의 반응물인 脂質過酸化物은 自動酸化反應에 의한 多價不飽和脂肪酸에 O<sub>2</sub>가 부가된 生成物의 總稱인데 脂質過酸化物은 生體膜 등에 損傷을 입히고 細胞機能을 低下시키며 壞死에 관계하며 여러 가지 疾病, 즉 alcohol性 脂肪肝, 急性 肝炎, 慢性 活動性肝炎, 非對象期의 肝硬變, 動脈硬化症 등과 밀접한 관련이 있다. 혈장 지질의 過酸化 정도를 알아보기 위해 脂質過酸化物 含量을 측정한 결과,

집단간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 없었다.

혈장내 총지방의 농도를 측정한 결과, 집단간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며, 다중비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意성을 검정한 결과 BBJ군이 Control군에 비하여 有意한 감소를 나타내었다.

혈장내 중성지방의 농도와 총 콜레스테롤 농도와 HDL-콜레스테롤 농도를 측정한 결과, 집단간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 없었다.

이상의 결과로 보면, 覆盆子は D-galactose 의 피하주사로 老化가 촉진된 쥐의 적혈구에서 抗酸化효소인 SOD와 GSH-px 活性을 증가시키는 작용을 나타내었다. 따라서 覆盆子は 일정한 조건에서 抗酸化 효과를 갖고 있다고 볼 수 있으며 향후 다양한 지표를 이용한 보다 심도 있는 연구가 필요하다고 생각한다.

### V. 結 論

覆盆子の 抗酸化能을 알아보기 위하여 12주령의 흰쥐(N-8)와 12주령의 D-galactose를 투여하여 老化를 유발시킨 흰쥐(CON)와 D-galactose와 覆盆子を 동시에 투여한 흰쥐(BBJ)에서 혈장의 脂質過酸化物 함량과 적혈구의 SOD, catalase, GSH-px의 활성, 그리고 혈장내 총지방, 중성지방 농도, 혈장내 총 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤 농도를 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) 적혈구의 SOD활성은 BBJ군이 CON군에 비하여 有意한 차이가 있었다.
- 2) 적혈구의 GSH-px 활성은 BBJ군이 CON군에 비하여 有意한 차이가 있었다.
- 3) 적혈구의 Catalase 활성은 모든 실험군간에 有意한 차이가 없었다.
- 4) 혈장의 지질과산화물 함량은 모든 실험군

간에 有意한 차이가 없었다.

- 5) 혈장 내 총지방 농도는 BBJ군이 CON군에 비하여 有意한 감소를 나타내었다.
- 6) 혈장내 중성지방농도와 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 농도는 모든 실험군간에 有意한 차이가 없었다.

이상의 결과로 覆盆子は D-galactose로 유발된 老化촉진 흰쥐에서 抗酸化能 증진 효과가 있었는데 적혈구의 SOD와 GSH-px 활성 증진효과가 현저하였다.

### 參考文獻

- 1) 徐舜圭 : 成人病 老人醫學, 고려의학, pp.10-13, 225-228, 1992.
- 2) 崔진호 : 老化의 메카니즘과 研究方向, 生化學뉴스, 韓國生化學會, 5(3), pp.39-53, 1985.
- 3) 김숙희 外 : 노화, 서울, 민음사, pp.77-106, 1995.
- 4) 李哲浣 外, 老人性疾患의 東西醫學的 考察, 서울, 韓方物理療法科學會誌, 제1권, pp.157-171, 1992.
- 5) 이정복 : 장수학, 의성당, 서울, pp.11-99, 492-576, 1987.
- 6) 배철영 外 1人 : 老人醫學, 高麗醫學, pp.21, 25-27, 1996.
- 7) 大韓老人病學會 : 老人病學, 서울, 醫學出版社, p.727, 740, 2000.
- 8) 오유진 : 活性酸素(有害酸素)가 疾病의 原因이었다, 梨花文化出版社, pp.57-58, 1997.
- 9) 余月明 外 : 自由基衰老學說, 腎虛與衰老及補腎抗衰老研究, 陝西中醫 14(4) pp.187-188, 1993.
- 10) Harman, D. : Free radical theory of aging(the free radical disease), Age(7),

- 1984, pp.111-131
- 11) 金光湖 : 豫防韓醫學, 書苑堂, pp.548, 553-560, 598-608, 2001.
  - 12) 金東榮 : 老年養生의 老衰機轉에 관한 文獻的 考察, 第3醫學 3(2) : 75-82, 1998.
  - 13) 高綺完 : 老化 및 老人의 病因 病機에 關한 文獻的 研究, 慶熙大學校 韓醫科大學 碩士學位 論文, 1993.
  - 14) 王其飛 外 : 中醫長壽學, 遼寧科學技術出版社, pp.50, 53, 54, 1989.
  - 15) 曾一飛 外 : 補腎抗衰口服液自由基損傷的實驗研究, 四川中醫, 10 : 12-14, 1992
  - 16) 金恩基 外2人 : 老化防止를 위한 韓醫學的方法, 韓方成人病學會誌 2(1) p.146, 1996.
  - 17) 錢伯文, 江克明 : 抗衰老中藥與食物, 上海中醫學院出版社, p.11, 13, 37, 53,54,97, 1992.
  - 18) 李時珍 : 本草綱目, 서울, 高文社, pp.720-721, 1973.
  - 19) 唐慎微 : 證類本草, 서울, 麗江出版社, pp.740, 946-947, 1987.
  - 20) 吳儀洛 : 本草從新, 上海, 上海科學技術出版社, pp.121-122, 1982.
  - 21) 손중수 : 覆盆子藥鍼의 抗酸化作用에 關한 實驗的 研究, 大田大學校 大學院, 1999.
  - 22) 張熙 외 : D-galactose에 의해 유발된 백서 老化 모델의 생화학적 변화, 중국약리와 독성학회지 4(4), p.309, 1990.
  - 23) 공세권, 유호신 : 한국인의 노령화에 관한 고찰, 인구문제론집 25(12), pp.50-59, 1984
  - 24) 田金洲 : 中醫老年病學, 天津科學技術出版社, pp.28-29, 1994.
  - 25) Yoon, Y.H. and Rhee, S.J. : Effects of Korean green tea, oolong tea and bleak tea beverage on the antioxidative detoxification in rat poisoned with cadmium. Kor. J. Nutr., 27, 1007-1017(1994)
  - 26) Hilton, J. W., Hodson, P.V. and Slinger, S.J. : The reuiremunt and toxicity of selenium in rainbow trout(Salmo Gaird- neri). J.Nutr, 110, 2527-2523(1980)
  - 27) Chow, C.K. : Glucose and dietary vitamin E protection against catalase inactivation in the red sells on rats. internat. J. Vit. Nutr. Res., 50, 364-371, 1980.
  - 28) Strehler BL. Aging Research : DNA synthesis inhibitors in cellular senescence. J gerontol 45 : B32, 1990.
  - 29) Cutler, R. G. : Antioxidant aging and longevity. Free Radicals in Biology(ed. Pryor, W.), Academic Press, 6 : pp.371-424, 1984.
  - 30) Monti D, Troiano L, Trocea F, Grassilli E, Cossarizza A, Barozzi D, Pelloni MC, Tamassia MG, Franceachi C. Apoptosis-programmed cell death : A role in the aging process? Am J Clin Nutr 55 : 1285S, 1992
  - 31) 오현명 : 감잎, 녹차의 건분 및 물, 에탄올 추출물이 노령쥐의 지방대사와 抗酸化能에 미치는 영향, 이화여자대학교 대학원, 2000.
  - 32) 박영철, 이선동, 정해원 : 인삼의 항노화효과와 미래의 연구 방향, 대한보건협회학술지 25(2), pp.65-67, 1999.
  - 33) 洪元植 : 精交 黃帝內經素問, 서울, 東洋醫學研究院 出版部, pp.11, 24, 1981.
  - 34) 洪元植 : 黃帝內經解釋(靈樞), 高文社, pp.233-235, 1986.
  - 35) 余月明 外 : 自由基衰老學說, 腎虛與衰老及補腎抗衰老研究, 陝西中醫 14(4), pp.187-188, 1993.
  - 36) 백상룡 : 老化에 대한 研究(黃帝內經을 중심으로), 慶熙韓醫大論文集 22(1) : 107, 1999.
  - 37) 신길구 : 신씨본초학, 서울, 주문사, p.108, 1988.
  - 38) 吳普 : 神農本草經, 北京, 人民衛生出版社, pp.52-53, 1982.

- 39) 邢琦, 謝文全: 中輯名醫別錄, 臺中, 中國醫藥學院 中國藥學研究所, pp.168-169, 1977.
- 40) 劉壽山主編: 中藥研究文獻摘要, 北京, 科學出版社, p.476, 1975.
- 41) 陳存仁: 漢方醫藥大辭典, 서울, 東都出版社, pp.356-359, 1984.
- 42) 中國醫學科學院藥物研究所等編著: 中藥志, 北京, 人民衛生出版社, pp.第二冊 416-418, 第三冊 702-706, 1984.
- 43) 紅蘇新醫學院編: 中藥大辭典, 上海, 上海科學技術出版社, pp.2698-2700, 1977.
- 44) 金護哲: 覆盆子類의 效能에 關한 比較 研究, 경희대학교 대학원 석사학위논문, p.16, 1989.
- 45) 崔鎮浩: 高麗人蔘의 老化抑制作用에 關한 研究, 慶熙大學校 大學院, 1982.
- 46) 배기채: 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.
- 47) 王林江 外1人: 人蔘對老年大鼠自由基代謝影響的研究, 遼寧中醫雜誌, Vol.26 No.5 May, 1999. p.238.
- 48) 문진영 外: 柴胡가 Free Radical에 의한 脂質過산화物 生成에 미치는 效果, 東國論集 자연과학편, 15, pp.361-375, 1996.
- 49) 박용기 外 1人: 薏苡仁和 苦蔘의 抗酸化 作用에 關한 研究, 大韓本草學會誌 15(2) p.57, 2000.
- 50) 김봉수 外 2人: 菟絲子類의 抗酸化作用에 對한 研究, 大韓本草學會誌 12(1), p.67, 1997.
- 51) 김정숙 외: 老化防止를 위한 韓藥製의 效能 研究, 韓國韓醫學研究所, 1995.
- 52) 한병훈 外 3人: 生藥의 抗酸化活性 檢索 研究, 生藥學會誌 12(1) p.66, 1981.
- 53) 黃正良 外 8人: 紅芪多糖抗衰老作用的實驗 研究, 中藥學 23(9) p.469, 1999.
- 54) 孟廣森: 肉從蓉延緩衰老研究的進展, 中醫雜誌 37(8) p.501, 1996.
- 55) 楊朝曄: 何首烏抗衰老作用研究近況, 時珍國醫國藥 10(5) p.390, 1999.
- 56) 이근동: 五加皮藥鍼의 抗酸化作用에 關한 實驗的 研究, 大田大學校大學院, 1999.
- 57) 박태균: 桂枝藥鍼의 抗酸化作用에 關한 實驗的 研究, 大田大學校大學院, 1998.
- 58) 박현선: 山茱萸藥鍼의 抗酸化作用에 關한 實驗的 研究, 大田大學校 大學院, 1998.
- 59) 김영해 外: 胡桃藥鍼의 抗酸化 效果에 對한 研究, 大韓韓醫學會誌 17(2) pp.8-18, 1997.
- 60) 박겨울: 淫羊藿藥鍼의 抗酸化作用에 關한 實驗的 研究, 大田大學校 大學院, 1998.
- 61) 윤철호 外: 흰쥐의 肝組織에서 鹿茸 藥鍼 製劑의 抗酸化 作用에 關한 研究, 大韓韓醫學會誌 17(2) pp.191-202, 1996.
- 62) 郭重文, 吳旼錫, 宋泰元: 老化過程의 흰쥐에서 醒心散이 心臟의 代謝酵素系에 미치는 影響, 大田大學校 韓醫學研究所論文集 8(1), p.625, 1999.
- 63) 金仁洙, 高光贊, 吳旼錫, 宋泰元: 老化過程의 흰쥐에서 補肺散이 肺의 代謝酵素系에 미치는 影響, 大田大學校 韓醫學研究所論文集 8(1), p.643, 1999.
- 64) 김호식: 延年益壽不老丹이 노화유발 흰쥐의 항산화능에 미치는 영향, 경희대학교 대학원 박사학위논문, 2003.
- 65) 김병탁, 김성훈: 瓊玉湯의 抗酸化作用에 對한 實驗的 研究, 大田大學校 韓醫學研究所論文集 7(1), p.741, 1998.
- 66) 이동순, 오민석, 송태원: 老化過程의 흰쥐에서 補脾湯이 脾臟의 代謝酵素系에 미치는 影響, 大田大學校 韓醫學研究所論文集 8(1), pp.689-710, 1999.
- 67) 조한숙, 오민석, 송태원: 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 韓醫學研究所論文集

- 8(1), pp.711-726, 1999.
- 68) 박진성 외 2인 : 不老丸을 투여한 흰쥐 腦의 抗酸化效果에 關한 研究, 大韓豫防韓醫學會誌 5(1) pp.90-102, 2001.
- 69) 손호성 외2人 : 老化過程의 흰쥐에서 補腎丸이 腎臟의 代謝酵素系에 미치는 影響, 大田大學校 韓醫學研究所論文集 8(1), p.659, 1999.
- 70) 안상원 외1人 : 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 韓醫學研究所論文集 8(1) p.593, 1999.
- 71) 조한숙 : 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, 1998.
- 72) 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.
- 73) 劉吉民 : 氣功外氣對老齡大鼠抗酸化酶活性的影響 中成藥 13(3), p.363