

적백하오관중탕 증류액이 노화 흰쥐 비장세포의 항산화능에 미치는 영향

박영춘[#], 김일구, 김태민^{*}

대전대학교 한의과대학 경락경혈학교실

Anti-Oxidative Effect of *Jeokbaekhaogwanjoong-tang* Distillate on Spleen Cells of Aged Rats

Young-Chun Park[#], Il-Gu Kim, Tae-Min Kim^{*}

Department of Meridian & Acupoint, College of Korean Medicine, Daejeon University

ABSTRACT

Objective : The purpose of this study is to investigate the anti-oxidative effect of *Jeokbaekhaogwanjoong-tang* (JGT) distillate in spleen cells of aged rats.

Methods : This experiment was performed using spleen cells of 10w, 52w, 72w old sprague dawley (SD) rats. The spleen cells of 10, 52, 72 weeks old rats were divided into three groups; DW group, Vit. C group, and JGT group. The cells of DW group were treated with distilled water. The cells of Vit.C group were treated with Vitamin C. And the cells of JGT group were treated with JGT distillate. After the treatment of DW, Vit.C, and JGT, the levels of superoxide dismutase (SOD), glutathione (GSH), nitric oxide (NO) and lipid peroxidation (MDA) were measured.

Results : In the spleen cells of 72 weeks old rats, SOD activity was significantly increased in the JGT group compared to those in the DW group and the Vit.C group. In the spleen cells of 52 weeks old rats, GSH activity was significantly increased in the JGT group compared to the Vit.C group, and NO concentration was significantly decreased in the JGT group compared to the DW group and the Vit.C group. MDA concentration was not changed significantly in any cell groups by the treatment of JGT distillate.

Conclusions : *Jeokbaekhaogwanjoong-tang* (JGT) distillate may have an anti-oxidative effects in the spleen cells of aged rats. Further investigation is needed for the anti-aging effect of JGT.

Key words : *Jeokbaekhaogwanjoong-tang*(*Chibaihewukuanzhong-tang*), anti-oxidative effect, spleen cells, aged rats.

I. 서 론

노화란 생체의 생리적 재생 기능의 점진적인 약화에 의한 생체 장기조직 세포 수 감소와 이로 인해 발생하는 기능저하로 정의된다¹⁾.

노화를 설명하기 위한 다양한 학설 중 최근 활성산소설²⁻⁴⁾이 주목받고 있는데, 이는 산화 스트레스에 해당하는 활성 산소에 의한 세포손상이 노화와 수명 결정에 중요한 역할을 한다고 보는 가설로, 이에 따르면 활성산소 자체가 세포의 노화를 촉진하며 인체 전체의 노화와 질환을 일으키므로, 활성산소에 반한 항산화 작용 약물이 노화 방지에 결정적 역할을 할 수 있을

것으로 기대되고 있다⁵⁾.

한의학에서도 다양한 한약처방을 사용하여 항산화 작용에 대한 연구를 진행해왔다. 기존에 보고된 항산화작용이 있는 한의처방으로는 共振黑元丹⁶⁾, 清心蓮子湯⁷⁾, 鹿茸大補湯⁸⁾, 香砂養胃湯⁹⁾, 升陽益氣湯¹⁰⁾ 등이 있다.

또한 赤白何烏寬中湯은 노화 흰쥐의 비장세포에서 노화에 의한 사이토카인의 변화를 억제함으로써 면역계에 대한 항노화 효과가 있다고 보고되었다¹¹⁾. 그러나, 赤白何烏寬中湯의 항산화 효능에 대해서는 아직 보고된 바가 없다. 이에 본 연구에서는 赤白何烏寬中湯을 사용하여 비장에서의 항산화 효과를 알아보고자 하였다.

*Corresponding author : Tae-Min Kim, Department, of Meridian and Acupoint, Daejeon University, Daejeon, Republic of Korea.
· Tel : +82-42-280-2610 · Fax : +82-42-280-2647 · E-mail : singingomd@gmail.com

#First author : Young-Chun Park, Department, of Meridian and Acupoint, Daejeon University, Daejeon, Republic of Korea.
· Tel : +82-53-585-3399 · Fax : +82-42-280-2647 · E-mail : yc2440467@hanmail.net

· Received : 26 May 2016 · Revised : 20 June 2016 · Accepted : 18 July 2016

본 연구에서는 동물실험 및 임상연구 시행 전 기초연구로서, 赤白何烏寬中湯 증류액이 노화 흰쥐 비장세포의 항산화능에 미치는 영향을 관찰하였다. 기존 연구를 근거로 흰쥐의 주령에 따라 10주령, 52주령, 72주령을 각각 성장기, 초기노화기, 말기노화기로 설정하고¹²⁻¹⁶⁾, 각 주령별 비장세포에 赤白何烏寬中湯 증류액을 처리한 후 항산화 관련 효소들의 농도를 측정하여 비교 분석한 결과 약간의 지견을 얻었기에 보고하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

동물은 10주령, 52주령, 72주령의 SD rat을 사용하였다. 실험에 사용된 동물은 (주)중앙실험동물(경기도, 한국)에서 공급받아 실험 당일까지 고품사료(삼양사료, 한국)와 물을 충분히 공급하였고, 실험실은 실온(22±2℃)과 습도 40~60%를 유지하였다. 본 실험은 대전대학교 동물실험윤리규정¹⁷⁾을 준수하여 시행하였다.

2) 약재

본 실험에 사용된 赤白何烏寬中湯(*Jeokbaekhaogwanjung-tang* (*Chibaihewukuanzhong-tang*); JGT)의 약재들은 대전대학교 한방병원 약제실의 검수를 받아 구입하여 이용하였다. 赤白何烏寬中湯의 약재들은 정량하여, 사용하기 전에 증류수에 세척하였다. 赤白何烏寬中湯의 구성은 table 1과 같다.

Table 1. The Compositions of *Jeokbaekhaogwanjung-tang*(JGT)

Herbs	Pharmacognostic name	Dose(g)
白何首烏	Cynanchi Wilfordii Radix	4
赤何首烏	Polygoni Multiflori Radix	4
良薑	Alpiniae Officinarum Rhizoma	4
乾薑	Zingiberis Rhizoma Siccus	4
陳皮	Citri Pericarpium	4
青皮	Citri Unshiu Immaturi Pericarpium	4
香附子	Cyperii Rhizoma	4
益智仁	Alpiniae Fructus	4
大棗	Zizyphi Spinosae Semen	7
	Total	39

2. 방법

1) 증류액 제조

본 실험에서 수행한 증류법은 대한약침학회의 방법을 이용하였다. 赤白何烏寬中湯 약재 55g을 세척 후 분쇄기로 분쇄하여 1l의 증류수를 가하고 shaker를 이용하여 3시간동안

진탕을 실시한 다음 여과지로 여과하였다. Impeller에 반응조 하부와 반응조 상부조를 설치하고 그 위에 냉각관(환류, 증류)과 분액 여두를 설치한 후, 적백하오관중탕 진탕액을 반응조 하부에 넣고, 105℃에서 예열하였다. 탕약이 끓기 시작하면 추출온도 107℃에 맞춘 뒤, 3시간동안 전탕을 실시하였다. 이때 냉각수(4℃)가 환류냉각관에서 흐르도록 하였다. 시간의 경과에 따라 설정온도 범위(전탕 온도 105℃)에서 전탕되고, 충분히 끓은 약재의 온도가 높아지고(추출온도 107℃), 냉각수 순환위치가 바뀔에 따라 반응조 내부에서만 순환하던 기체가 냉각수에 의해 액체화되어, 증류액이 분액여두로 한 방울씩 받아들여, table 1의 한 첩 기준으로 적백하오관중탕 증류액 470 ml을 얻었다. 추출이 끝나고 1l 용기에 받아들인 증류액은 무기염류를 침강시키기 위해서 하루 동안 냉장 보관하였다. 하루 동안 냉장 보관된 赤白何烏寬中湯 증류액은 filtering을 실시하고, 멸균된 용기에 넣어 냉장보관하였다.

2) 세포 분리 및 분획

(1) 비장 세포 분리

비장 조직을 rat으로부터 적출하여 차갑게 준비한 RPMI 1640 media에 보관하였다. 비장 조직을 으개어 RPMI 1640 media에 넣고 모아진 cell들을 원심분리기를 사용하여 침전시켰다. 침전된 cell pellet은 complete media (RPMI1640 + 5% FBS + antibiotics)를 이용하여 2회 세척하였다. 세척이 끝난 cell pellet은 lysis buffer를 이용하여 적혈구를 파쇄하고, 원심분리하여 비장 조직의 실질 세포를 분리하였다. 분리된 세포는 complete media를 이용하여 배양하였다.

(2) 세포 분획

배양한 세포들을 모아 sonicate를 이용하여 균질화하였다. 균질화한 세포는 600×g에서 10분간 원심분리하여 균질화되지 않은 조직 등을 제거한 후 상등액을 10,000×g에서 20분간 원심분리하여 mitochondrial fraction을 얻었다. 이 상등액을 105,000×g에서 1시간 원심분리하여 cytosolic fraction을 얻었다. 그 침전물에 동일한 양의 0.1M potassium phosphate buffer를 가하여 현탁시켜 microsomal fraction을 얻었다. Microsomal fraction에서 GSH (glutathione)의 함량과 MDA (lipid peroxidation)의 함량을 측정하고, cytosolic fraction을 이용하여 SOD (superoxide dismutase) 활성도와 NO (nitric oxide) 함량을 측정하였다.

3) 실험군 분류

10주령, 52주령, 72주령 SD rat의 비장으로 부터 얻은 실질세포를 안정화한 후, 각 주령별로 다시 DW군, Vit.C군, JGT군으로 나누었다. DW군은 증류수(distilled water)를, Vit.C군은 1% vitamin C (1mg/ml)를, JGT군은 赤白何烏寬中湯 증류액(*Jeokbaekhaogwanjung-tang* distillate; JGT distillate)(1mg/ml)을 모든 주령에 동일하게 처리하였다. 이후, 각 세포는 48시간동안 배양하였다.

4) 항산화능 측정

(1) SOD (superoxide dismutase)

SOD assay kit(Dojindo, *Japan*)을 이용하여 SOD 활성도를 측정하였다. 세포분획으로 얻은 sample 중 20000 rpm으로 얻은 sample을 사용하여, 20분 동안 37°C에서 incubation을 실시하고 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 활성도는 다음의 공식에 의하여 환산하였다.

$$\text{SOD activity (\%)} = \frac{\{(A_{\text{blank1}} - A_{\text{blank3}}) - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank2}})\}}{(A_{\text{blank1}} - A_{\text{blank3}})} \times 100$$

(2) GSH (glutathione)

Glutathione assay kit(Dojindo, *Japan*)를 이용하여 glutathione 함량을 측정하였다. 세포분획으로 얻은 sample 중 12000 rpm으로 얻은 sample을 사용하였다. ELISA reader를 이용하여 405 nm에서 흡광도 값을 측정하여 GSH 농도를 환산하였다.

(3) NO (nitric oxide)

NO함량은 kit(Oxford, *USA*)을 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정해서 NO농도를 얻었다.

(4) MDA (lipid peroxidation)

Lipid peroxidation assay kit(Oxford Biomedical Research, *USA*)을 이용하여 586 nm에서 흡광도를 측정한 후 MDA 농도를 계산하였다.

5) 통계분석

통계분석은 SPSS 통계프로그램(ver 18.0 KO)을 이용하였다. 결과값은 평균 ± 표준편차로 나타내었다. 각 군의 데이터는 Kruskal-wallis test를 이용하여 분석한 후 Mann Whitney U test를 이용하여 군간 차이를 확인하였다. 신뢰도 95% 이상 (p<0.05) 일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

III. 결 과

1. SOD

10주령에서는, Vit.C군과 JGT군 모두 DW군에 비하여 SOD 활성도가 유의하게 높았다. 52주령에서는 약물 처리에 따른 SOD 활성 변화가 없었다. 72주령에서는 JGT군이 DW군 및 Vit.C군에 비하여 SOD 활성이 유의하게 높았다(Fig. 1).

2. GSH

10 주령에서는 약물 처리에 따른 GSH 활성 변화가 없었다. 52 주령 JGT군에서 DW군에 비하여 GSH 활성이 유의하게 높았다. 72 주령에서는 약물 처리에 따른 GSH 활성 변화가 없었다.(Fig. 2)

3. NO

10 주령에서는 약물 처리에 따른 NO 농도 변화가 없었다.

52주령에서 DW군 및 Vit.C군에 비하여 JGT군의 NO 농도가 유의하게 감소하였다. 72 주령에서는 약물 처리에 따른 NO 농도 변화가 없었다(Fig. 3).

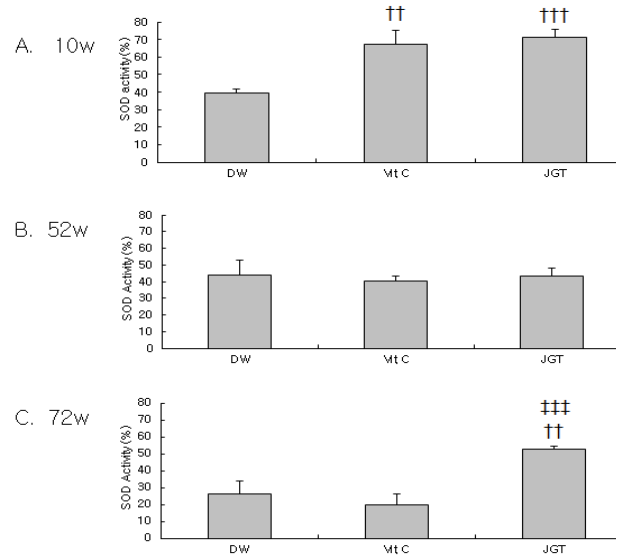


Figure 1. Effect of JGT distillate on SOD activity in spleen cells of aged rats

Spleen cells from 10, 52 and 72 weeks old rats were treated with DW, 1% Vitamin C, JGT distillate for 48 hours, and SOD activity was estimated by ELISA. Values represent mean ± SD of 3 independent experiments.

DW : Cells treated with DW for 48 hours.

Vit.C : Cells treated with vitamin C for 48 hours.

JGT : Cells treated with JGT for 48 hours.

† † † : p<0.001, † † : p<0.01 compared to DW group.

‡ ‡ ‡ : p<0.001 compared to Vit.C group.

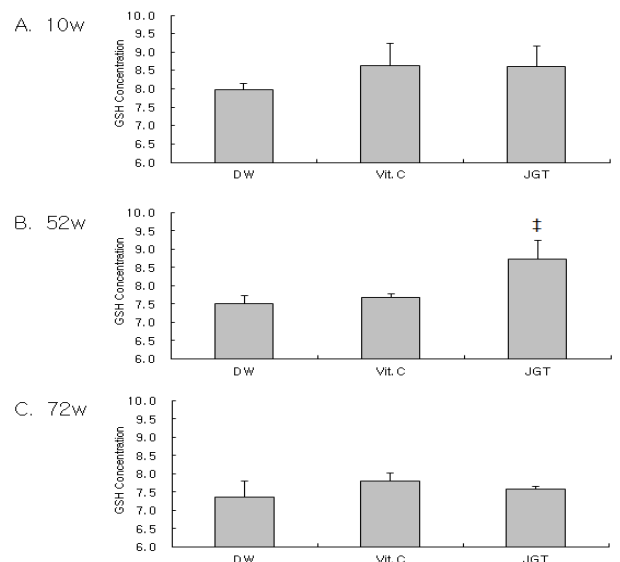


Figure 2. Effect of JGT distillate on GSH concentration in spleen cells of aged rats

Spleen cells from 10, 52 and 72 weeks old rats were treated with DW, 1% Vitamin C, JGT distillate for 48 hours, and GSH concentration was estimated by ELISA. Values represent mean ± SD of 3 independent experiments.

DW : Cells treated with DW for 48 hours.

Vit.C : Cells treated with vitamin C for 48 hours.

JGT : Cells treated with JGT distillate for 48 hours.

‡ : p<0.05 compared to Vit.C group.

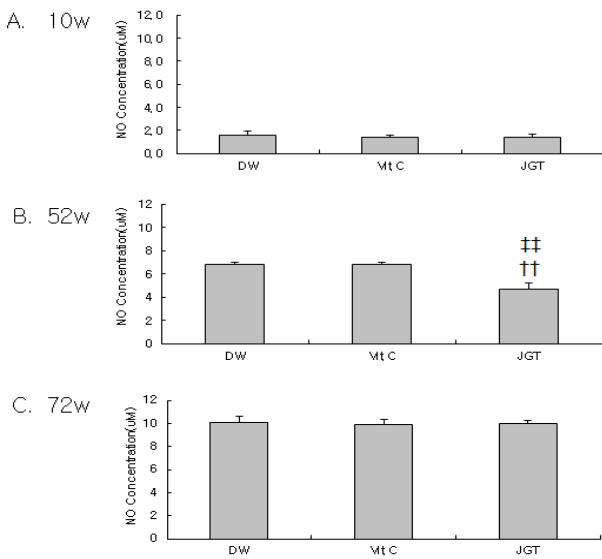


Figure 3. Effect of JGT distillate on NO concentration in spleen cells of aged rats
Spleen cells from 10, 52 and 72 weeks old rats were treated with DW, 1% Vitamin C, JGT distillate for 48 hours, and nitric oxide (NO) concentration was estimated by ELISA. Values represent mean \pm SD of 3 independent experiments.
DW : Cells treated with DW for 48 hours.
Vit.C : Cells treated with vitamin C for 48 hours.
JGT : Cells treated with JGT distillate for 48 hours.
† † : p<0.01 compared to DW group.
‡ ‡ : p<0.01 compared to Vit.C group.

4. MDA

모든 주령에서 약물처리에 의한 MDA 농도 변화는 나타나지 않았다(Fig. 4).

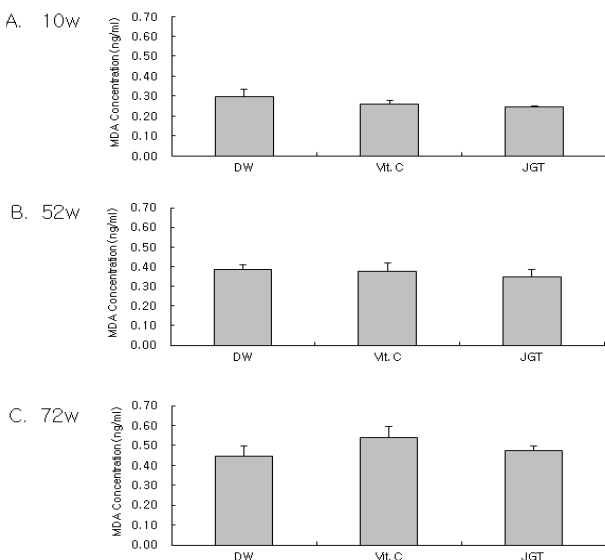


Figure 4. Effect of JGT distillate on MDA concentration in spleen cells of aged rats
Spleen cells from 10, 52 and 72 weeks old rats were treated with DW, 1% Vitamin C, JGT distillate for 48 hours, and malondialdehyde (MDA) concentration was estimated by ELISA. Values represent mean \pm SD of 3 independent experiments.
DW : Cells treated with DW for 48 hours.
Vit.C : Cells treated with vitamin C for 48 hours.
JGT : Cells treated with JGT distillate for 48 hours.

IV. 고찰

초고령 사회를 향해 가는 우리 사회에서 “노화”라는 키워드는 매우 중요시 되고 있다. UN (United Nation)의 정의에 따르면, ‘고령화 사회’는 65세 이상 고령인구가 전체 인구의 7%를 넘어선 경우, ‘고령 사회’는 전체 인구의 14% 이상이 고령인구일 경우, 더 고령화가 심해져 20%를 넘어설 경우 ‘초고령 사회’에 해당한다¹⁸⁾. 현재 우리 사회는 곧 고령 사회로 진입할 것으로 생각된다.

인체는 자유유리로 대표되는 산화촉진물과 산화억제물 (antioxidants)이 균형을 이루어 항상성을 유지하는데, 노화가 진행되는 비정상 상태에서는 활성산소가 과도하게 축적되어 세포 손상이 발생하고, 이것을 산화 스트레스 (oxidative stress)라고 부른다¹⁹⁾. 이러한 산화스트레스가 노화를 만들어 낸다는 가설이 바로 자유유리가설이다. 이른바 항산화 효소들은 이 산화스트레스에 대해서 인체를 보호하는 역할을 한다²⁰⁻²⁴⁾.

『東醫壽世保元』과 『黃帝內經』에도 노화와 관련된 논의가 존재한다. 『素問·上古天真論』에서는 남녀의 연령증가에 따른 腎氣와 생식능력 盛衰에 따라 노화가 진행되며, 각 연령별로 특징적인 증상과 외모 변화가 동반됨을 서술한 바 있다²⁵⁾. 더 나아가 養生을 통해 至人, 真人, 賢人, 聖人으로 살아갈 수 있다는 내용을 제시하여 노화극복과 수명 연장을 위한 노력을 지속적으로 시행해왔음을 보이기도 했다²⁵⁾. 『東醫壽世保元』에서도 구체적인 노화 극복과 그에 따른 수명 연장 노력을 살펴볼 수 있는데, “四十九歲至六十四歲曰老”라고 하여 50대부터 노인의 단계라고 정의했으며, 이런 노화에 대해 각 체질별 偏小之臟을 파악하여 질병과 건강 상태, 그리고 수명까지도 관리해야함을 주장했다. 또한 노화 관리를 위해 “存其心, 修其身, 立其命”이라는 구체적 지침을 제공하기도 했다²⁶⁾.

항노화 및 항산화에 관한 한의학적 연구도 지속적으로 보고되고 있는데²⁷⁻²⁹⁾, 특히 『東醫壽世保元』에 등장하는 四象醫學 관련 처방의 항산화능 관련 연구가 많이 보고되고 있다. 太陰人 처방에 대한 연구로, 이 등⁶⁾은 초기 노화 흰쥐에 대한 共振黑元丹의 항노화 및 항산화 효과를 보고하였고, 임 등⁷⁾은 淸心蓮子湯의 항산화 효과와 면역조절효과에 대해 보고하였고, 이 등⁸⁾은 鹿茸大補湯의 항노화 효과에 대해 보고하였다. 少陰人 처방 중에도 香砂養胃湯⁹⁾과 升陽益氣湯¹⁰⁾이 노화 쥐의 비장, 췌장, 위장 세포에 대해 항산화 효과가 있다고 보고되었으며, 이 등¹¹⁾은 赤白何烏寬中湯이 노화 흰쥐의 비장세포에서 노화에 의한 사이토카인의 변화를 억제함으로써 면역계에 대한 항노화 효과가 있다고 보고한 바 있다.

赤白何烏寬中湯은 『東醫壽世保元』에 등장하는 少陰人 경험방으로 白何首烏, 赤何首烏, 良薑, 乾薑, 陳皮, 青皮, 香附子, 薏苡仁, 大棗로 구성된다. 이 처방은 少陰人의 四肢倦怠, 小便不快, 陽道不興, 將有浮腫之漸者를 치료하기 위한 만들어진 처방이다¹⁹⁾. 赤白何烏寬中湯에 대한 연구보고로는 少陰人 瘡癩 환자 2례³⁰⁾, 중증 성인형 아토피³¹⁾에 대한 증례보고가 있으며, 임 등^{c)}은 赤白何烏寬中湯이 남성보다는 여성에서 많이 사용되었고, 주로 가슴통증, 어깨통증, 부종, 두통, 생리불순, 소화불량, 피로, 불면, 폐경기질병, 요통, 배변불량, 소화불량 순으로 많이 사용된 것으로 보고했다. 현재까지 赤白何烏寬中湯의 항산화능에 관련된 연구보고는 없으나, 위에서 언급한

赤白何鳥寬中湯의 주치증은 少陰人 老化증상과 관련이 있다고 생각되며, 또한, 이 등¹¹⁾의 연구에 따르면 赤白何鳥寬中湯이 노화 쥐의 비장세포에서 노화에 의한 사이토카인의 변화를 억제한다고 하였으므로, 저자들은 赤白何鳥寬中湯이 비장세포에서 항산화 및 그에 따른 항노화 효과를 가질 것으로 추정하였다.

이에 저자는 赤白何鳥寬中湯으로 증류액을 제조하여 노화 흰쥐의 비장세포에 처리한 후 항산화능에 미치는 영향을 분석하였다. 본 연구에서 사용한 실험 동물은 10주령, 52주령, 72주령의 SD rat으로, 기존 연구보고들¹²⁻¹⁶⁾을 근거로 SD rat의 주령에 따라 10주령을 성장기, 52주령을 초기노화기, 72주령을 말기노화기로 설정하여 실험에 사용하였다.

赤白何鳥寬中湯 증류액이 항산화능에 미치는 영향을 비교하기 위한 대조군으로 DW (distilled water)를 사용한 DW군, Vitamin C를 사용한 Vit.C군을 설정하였으며, 항산화능 평가도구로는 SOD (superoxide dismutase), GSH (glutathione), NO (nitric oxide), MDA (lipid peroxidation)를 사용했다.

SOD는 산소에 노출되는 대부분의 세포에서 항산화 방어작용을 하는 효소로 초과산화이온을 산소와 과산화수소로 바꾸주는 불균등화 반응을 촉매한다³³⁻³⁴⁾. GSH도 중요한 항산화제인데, 동물, 식물, 박테리아, 진균 등에서 자유유리기에 의해 발생하는 세포 구조물 손상을 막는 것으로 알려져 있다³⁵⁾. NO는 자유유리기의 하나로서 세포손상을 일으키고³⁶⁾, MDA (lipid peroxidation)는 산화반응으로 지질이 자동산화, 활성산소에 의해 과산화반응을 받아 생성된다³⁷⁾. 따라서, 항산화능이 향상될수록 NO, MDA는 감소, SOD, GSH는 증가한다.

본 실험에서 赤白何鳥寬中湯 증류액이 흰쥐의 비장세포의 항산화능에 미치는 영향을 분석한 결과, 성장기로 설정한 10주령에서는 SOD를 유의하게 증가시켰고(Fig. 1), 초기노화기로 설정한 52주령에서는 GSH를 유의하게 증가시키고 NO를 유의하게 감소시켰다(Fig. 2, Fig. 3). 또한, 말기노화기로 설정한 72주령에서는 SOD를 유의하게 증가시켰으며 그 효과는 Vit.C보다 우수하였다(Fig. 1).

실험 결과를 종합해보면, 赤白何鳥寬中湯 증류액은 성장기 rat의 비장세포로부터 말기노화기 rat의 비장세포에 이르기까지 항산화능이 있는 SOD와 GSH의 활성을 증가시켜 항산화능을 증가시키는 효과가 있었으며, 초기노화기에서는 산화작용에 의해 분비되어 세포손상을 일으키는 NO의 분비를 감소시켜 산화에 의한 손상을 감소시켜 주는 것으로 밝혀졌다. 특히 말기노화기에서는 SOD의 활성이 크게 상승하여 말기노화기로 갈수록 赤白何鳥寬中湯의 항산화 효과가 우수한 것으로 밝혀졌다.

赤白何鳥寬中湯의 구성약물 중 赤何首烏, 陳皮, 靑皮, 大棗는 이미 기존 연구에서 항산화 효과가 있는 것으로 보고된 바 있다. 임 등³⁸⁾은 赤何首烏 증류액이 실험적 급만성산화증 유발 상태에서 항산화작용을 가진다고 보고하였고, 박 등³⁹⁾은 陳皮와 靑皮의 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical 소거능과 靑皮의 ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) radical cation decolorization에 대한 억제 효과를 보고하였으며, 곽 등⁴⁰⁾, 김 등⁴¹⁾은 大棗의 항산화 효능을 보고하였다. 본 연구에서 赤白何鳥寬中湯 증류액이 노화 흰쥐의 비장세포에서 항산화능

을 증가시킨 것은, 이와 같은 赤白何鳥寬中湯의 구성 약물들의 항산화능이 복합적으로 작용한 결과로 추정된다.

본 연구는 세포 수준에서의 실험 연구로, 향후 赤白何鳥寬中湯의 장기적인 복용이 rat의 항산화능에 미치는 영향에 대한 연구가 기대되며, 추후 임상에서의 다양한 활용을 위한 추가연구가 필요하리라 사료된다.

V. 결 론

赤白何鳥寬中湯 증류액이 노화 흰쥐 비장세포의 항산화능에 미치는 영향을 알아보기 위해 노화 흰쥐의 비장세포에 赤白何鳥寬中湯 증류액을 처리한 후, 항산화 관련 효소들의 농도를 측정하여 비교 분석한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 赤白何鳥寬中湯 증류액은 72주령 노화 흰쥐의 비장세포에서 SOD를 유의하게 증가시켰다.
2. 赤白何鳥寬中湯 증류액은 52주령 노화 흰쥐의 비장세포에서 GSH를 유의하게 증가시켰다.
3. 赤白何鳥寬中湯 증류액은 52주령 노화 흰쥐의 비장세포에서 NO를 유의하게 감소시켰다.

이상의 결과, 赤白何鳥寬中湯 증류액은 노화 흰쥐 비장세포의 항산화능을 유의하게 증가시켰다.

참고문헌

1. Son JR. Free radical & Antioxidant, Seoul : Biomedical, 2004 : 130.
2. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. J gerontol, 1957 ; 2 : 298-300.
3. Yu BP. Aging and oxidative stress: modulation by dietary restriction. Free Rad Biol Med, 1996 ; 21 : 651-68.
4. Mehlhorn RJ, Cole G. The free radical theory of aging : A critical review. Adv Free Radical Biol Med, 1985 ; 1 : 165-223.
5. Choi BG. Free radical & Disease. Seoul : Shin-il, 2004 : 213-81.
6. Lee HS, Ahn TW. Anti-aging and Anti-oxidative Effect of Gongjinhugwon-dan in Early Stages of Aging Rats. J. of Sasang Const. Med, 2007 ; 19 : 242-56.
7. Lim JP, Ahn TW. The Anti-oxidative and Immune-regulatory Effect of Chungsimyeonja-tang in Aged Rat. J. of Sasang Const. Med. 2007 ; 19 : 227-41.
8. Lee SY, Ahn TW. Anti-aging Effect of Tae-Eumin's Nocyongdaebo-tang (NYD) in Aged Rats. J. of Sasang Const. Med, 2008 ; 20 : 58-71.

9. Choi BC, Ahn TW. Anti-Oxidant Effect of Hyangsayangyi-tang Decoction in Stomach, Spleen and Pancreas cell of SD Rats. *J. of Sasang Const. Med.* 2008 ; 20 : 72-84.
10. Lee JY, Ahn TW. Anti-Oxidative Effect of Seungyangikki-tang Decoction in Spleen, Pancreas and Stomach Cells of SD Rats. *J. of Sasang Const. Med.* 2010 ; 22 : 82-92.
11. Lee HS, Choi KM, Yim YK. The Effect of Jeokbaekhaogwanjung-tang Herbal Acupuncture Solution on the Immune Activity of Spleen Cells of Aged Rats. *J Korean Med.* 2016 ; 37(1) : 90-100.
12. Jang EC, Youn WK, Lee SK. Effect of Age on Glucose Metabolism of Skeletal Muscle in Rats. *Yeungnam Univ. J. of Med.* 2001 ; 18(1) : 94-100.
13. Park SK, Lee HJ, Kim HT, Whang WW. An experimental study of oriental medicine on cure for dementia. *Journal of Oriental Neuropsychiatry.* 1998 ; 9(2) : 19-35.
14. Murphy MP, Rick J Th, Milgram NW, Ivy GO. A simple and rapid test of sensorimotor function in the aged rat. *Neurobiology of Learning and Memory.* 1995 ; 64 : 181-186.
15. Sun TC, Ahn TW. Anti-aging Effect of Sipyimigwanjung-tang in Aged Rats. *J. of Sasang Const. Med.* 2008 ; 20(2) : 98-110.
16. Lee JH, Goo DM, Ahn TW. Effects of Suhwagije-tang distillate on serum and testosterone in aging rats. *J. of Sasang Const. Med.* 2010 ; 22(4) : 85-97.
17. Daejeon university animal experimentation ethics committee regulations. Available from: URL: http://www.dju.ac.kr/kor/html/subp.htm?page_code=01010800&categ=4.
18. United Nations. The Sex and Age Distribution of the World Populations. The 1996 Revision. New York:United Nations publications. 1997 : 49-65.
19. Joo JC, Park HS, Kim HS. A case of patient diagnosed as and treated with Hyeongbangdojeok-san. *J of Sasang Constitutional Medicine.* 2002 ; 14(2) : 147-52.
20. Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radical Biology & Medicine.* 2002 ; 33 : 337-49.
21. Bannister JV, Bannister WH, Rotilio G. Aspects of the structure, function, and applications of superoxide dismutase. *CRC Critical Reviews in Biochemistry.* 1987 ; 22 : 111-80.
22. Neumann CA, Krause DS, Carman CV, Das S, Dubey DP, Abraham JL, Bronson RT, Fujiwara Y, Orkin SH, Van Etten RA. Essential role for the peroxiredoxin Prdx1 in erythrocyte antioxidant defence and tumour suppression. *Nature.* 2003 ; 424 : 561-5.
23. Lee TH, Kim SU, Yu SL, Kim SH, Park DS, Moon HB, Dho SH, Kwon KS, Kwon HJ, Han YH, Jeong S, Kang SW, Shin HS, Lee KK, Rhee SG, Yu DY. Peroxiredoxin II is essential for sustaining life span of erythrocytes in mice. *Blood.* 2003 ; 101 : 5033-8.
24. Dietz KJ, Jacob S, Oelze ML, Laxa M, Tognetti V, de Miranda SM, Baier M, Finkemeier I. The function of peroxiredoxins in plant organelle redox metabolism. *Journal of Experimental Botany.* 2006 ; 57 : 1697-709.
25. Lin YC. Concordance to the Huang Di neijing. Seoul : Iljongs. 1992 : 7-9.
26. Jeong YJ, Lee SK, Lee EJ, Koh BH, Song IB. A study of preservation of health in the 『Dongyi Bogam』 and 『Dongyi Soose Bowon Sasang Chobongyun』. *J. of Sasang Const. Med.* 2002 ; 14(2) : 25-34.
27. Harman D. The free radical theory of aging. *Antioxid Redox Signal.* 2003 ; 5(5) : 557-61.
28. Yang MK. Effect on Superoxide Dismutase(SOD) Activity of Paraquat in the Liver of Senescence-Accelerated Mouse(SAM). *Journal of The Korean Society of cosmetology.* 2005 ; 11(3) : 191-6.
29. Lee JM, Lee BR. The Experimental Study about Antioxidant Activities of Alismatis Rhizoma herbal Acupuncture. *The Acupuncture.* 2003 ; 20(1) : 159-76.
30. Shin DY, Kim SW, Song JM. A Clinical study on Two Hoarse Patients. *J. of Sasang Const. Med.* 2005 ; 17(1) : 142-5.
31. Sun TC, Yoon YK, Jang HJ, Chou LS, Song WS. One Year Follow up for Severe Adult Atopic Dermatitis of 15 Patients After Sasang Constitutional Therapy. *Korean J. Orient. Int. Med.* 2004 ; 25(4) : 45-51.
32. Im DH, Kim DR. The Study About the Clinical Use of Gwanjung-tang. *J. of Sasang Const. Med.* 2008 ; 20(2) : 30-42.
33. Sies H. Oxidative stress, Oxidants and antioxidants. *Exp Physiol.* 1997 ; 82(2) : 291-5.
34. Borgstahl GE, Parge HE, Hickey MJ, Johnson MJ, Boissinot M, Hallewell RA, Lepock JR, Cabelli DE, Tainer JA. Human mitochondrial manganese superoxide dismutase polymorphic variant Ile58Thr reduces activity by destabilizing the tetrameric interface. *Biochemistry.* 1996 ; 35(14) : 4287-97.
35. Pompella A, Visvikis A, Paolicchi A, Tata V, Casini AF. The changing faces of glutathione, a cellular protagonist. *Biochemical Pharmacology.* 2003 ;

- 66(8) : 1499-503.
36. Lund A, Shimada S, Shiotani M. Principles and Applications of ESR Spectroscopy. New York : Springer, 2011 : 20-8.
 37. Muller FL, Lustgarten MS, Jang Y, Richardson A, Van RH. Trends in oxidative aging theories. Free Radic. Biol. Med. 2007 ; 43 : 477-503.
 38. Lim NC. Antioxidant activity of aqua-acupuncture of Polygoni Radix rubra in rats treated with AAPH. Journal of Research Institute of Korean Medicine. 2000 ; 8(2) : 361-74.
 39. Park HJ, Kang SA, Lee JY, Cho YJ. Antioxidant Activities of Extracts from Medicinal Plants. Korean J Food Preserv. 2012 ; 19(5) : 744-50.
 40. Kwak EJ, Lee YS. Effect of the extracts of various foods and medicinal herbs on the antioxidant activity and sensory characteristics of jujube-omija herbal sauce. Korean J. Soc. Food Cookery Sci, 2002 ; 18(4) : 433-9.
 41. Kim HK, Joo KJ. Antioxidative Capacity and Total Phenolic Compounds of Methanol Extract from Zizyphus jujuba. J Koeran Soc Food Sci Nutr. 2005 ; 34(6) : 750-4.