

기아를 일으킨 흰쥐의 생명연장에 미치는 천연약물의 효과

박시원* · 이현아
상명여자대학교 화학과

(Received October 20, 1994)

Effect of Natural Drugs on the Life Support of Starving Rats

Sie Won Park* and Hyun Ah Lee

Department of Chemistry, Sangmyung Women's University, Seoul 110-743

Abstract—The current study was undertaken to select the crude drug showing life prolonging effect on the starved rats(Sprague-Dawley) and elucidate the reaction mechanism there of. As distilled water extracts prepared from twenty kinds of natural drugs were administered orally to female starved rats, Bupleuri Radix demonstrated the most prominent effect with 34.6% increment in the survival time. To investigate underlying mechanism of life prolonging effect of Bupleuri Radix, the concentrations of adrenocorticosteroids(corticosterone, testosterone and aldosterone) and enzyme activities of superoxide dismutase(SOD), glutamate oxaloacetate transaminase(GOT), glutamate pyruvate transaminase(GPT) were assayed in the serums of rats starved for, 2, 4 and 6 days respectively. The results manifested much elevated values of corticosterone, aldosterone(2 days) and rather decreasing tendency afterwards, specially in the late periods of starvation(6 days). With respect to such a considerable changes according to starvation periods, Bupleuri Radix restored these values much near to normal suggesting that Bupleurum Radix may play a life prolonging action during starvation probably through reinforcing the homeostatic properties of corticosteroids and some enzyme activities.

Keywords □ Starved rats, Natural drugs, Bupleuri Radix, Life prolonging effect. Adrenocorticosteroids, SOD, GOT, GPT

기아(starvation)라 함은 음식물을 계속 섭취하지 않은 상태로 결국 사망에 이르게 되는데 음식물의 공급이 중단되었을 때 야기되는 생리변화는 다음과 같은 세단계를 거치는 것으로 알려져 있다.^{1,2)} 첫단계는 긴급용도를 위하여 저장되었던 글리코겐(glycogen)이 분해되어 포도당으로 사용되며 두번째 단계에서는 지질(lipid)이 이용되면서 oxaloacetate에 비해 acetyl CoA의 과잉공급이 일어나게 되어 인체는 산중독증(acidosis)에 걸리게 되고 세번째 단계에서는 단백질(protein)이 고갈되면서 인체는 극심한 이상상태에 빠지게 되는데 특히 세포기능에 필수적인 단백질류가 소모되면 약 하루만에 사망에 이르게 된다.

이와 같이 기아가 진행되어 감에 따라 당류, 지질류, 단백질류, 기타 필수 영양소들이 급감되어 결과적으로

면역계, 순환계, 내분비계 등 생리체계의 총체적인 이상상태가 일어나 사망으로 이어질 것이다. 최근의 연구결과에 따르면 기아시 혈청내 corticosterone의 증가,^{3,4)} triiodothyronine(T₃)의 감소,⁵⁾ pituitary hormone의 변화,⁶⁾ growth hormone(GH)의 감소^{7,8)} 등 주로 뇌하수체 호르몬(pituitary hormones)류와 부신피질 호르몬(adrenocorticosteroids)류의 농도, 합성 및 분해에 현저한 변화가 있음이 밝혀지고 있다.

본 연구에서는 기아시 필수적으로 야기되는 사망 시기를 지연시킴으로서 생명연장효과를 나타내는 약물을 천연계 약물 중에서 검토, 선별하고 나아가 이 효과가 어떠한 기전에 의한 것인지 밝히기 위하여 생명유지에 필수적인 혈청내 adrenocorticosteroids 농도를 측정하고 세포이상이나 대사이상에 상응하여 변화하는 항산화 효소인 superoxide dismutase(sod) 및

*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

간(liver) 손상의 지표효소로서의 glutamate pyruvate transaminase(GPT)와 glutamate oxaloacetate transaminase(GOT) 활성을 분석하였다.

실험방법

시약 및 시기

Xanthine oxidase, ferricytochrome C, xanthine은 Sigma사의 제품을 구입하였으며 glutamate oxaloacetate transaminase(GOT), glutamate pyruvate transaminase(GPT) 시약은 서울의 영동제약의 Kit제품이었다. Corticosteroid류의 분석을 위한 방사면역(RIA)시약은 Diagnostic Products Corporation(DPC)의 Kit제품이었으며 그 밖의 무기, 유기시약은 analytical grade의 정제품이었다. 실험에 사용한 생약제는 서울 경동시장의 산지약국에서 검정품을 수득하였으며 동물 및 동물공급용 사료는 서울의 대종상사에서 구입하였다. 혈청 중의 효소활성 분석을 위해서는 Milton Roy사의 Spectronic 1201을 사용하였고 RIA분석을 위한 방사능 측정기는 Packard사의 Cobra model을 사용하였다.

실험동물 및 채혈

실험동물은 Sprague-Dawley계의 체중 200 ± 20 g의 자성 흰쥐를 사용하였다. 실험쥐는 실험실($15 \pm 20^\circ\text{C}$, 12 hrs light/day)에서 최소 2주간의 적응기간을 거친 후 실험에 사용하였으며 기아 실험직전까지 사료와 식수를 충분히 공급하였다. 동물은 cage당 평균 3마리가 분포되게끔 배치하였으며 실험기간 중 계속 주의해야 할 사항으로 일단 사망한 쥐는 3~4시간 후에는 생존해 있는 쥐가 먹이로 훼손할 수 있으므로 주의있게 관찰하여 사망한 쥐를 즉시 제거하였다. 혈청에서의 corticosteroids와 SOD, GPT, GOT 효소 분석을 위한 채혈은 tail-cutting방법으로 시행하였다.

약물의 증류수 추출액의 조제

약성이 완화하고 비교적 저렴한 건조 생약의 증류수 추출액을 조제하였다. 건조생약 10 g에 대하여 증류수 1 l의 비율로 비이커에 넣고 2시간 30여분 정도 전열기로 가열하면 액량이 반정도로 감소된 증류수 추출액이 된다. 이 추출액을 7겹의 가아지에 통과시켜 여과한 다음 여기에 증류수를 가하여 전체액량이 정

확히 1 l가 되도록 하여 사용하였다. 이 용액은 특별한 언급이 없는 한 10 g/l로 농도표시를 하였으며 농도 실험의 경우에는 생약을 5 g과 20 g을 사용하여 조제한 증류수 추출액의 농도는 5 g/l, 그리고 20 g/l으로 표시하였다.

기아를 일으킨 흰쥐의 생명연장에 미치는 약물의 효과

2주간 이상의 실험실 적응기간이 끝나면 사료공급을 중단하고 식수만 투여하면서 기아실험을 시작하였다. 아울러 기아 실험 첫날부터 매일 2시간씩 식수병에 약물의 증류수 추출액을 넣어 공급하며 이때에는 식수공급도 중단하고 약물추출액만을 경구투여한다. 이와 같이 기아시약의 생명연장 효과실험을 경구투여로 하는 이유는 만일 장기적인 면에서 생명연장제의 개발을 하게 되는 경우 가장 용이하게 투여할 수 있는 제제의 형태로 유용하기 때문이었다. 약물의 섭취량은 기아 대부분 첫날은 약 0.5 ml/rat 이었고 다음날부터는 약 1.2 ml/rat의 비율로 매일 고르게 섭취하였고 기아 마지막날엔 거의 섭취하지 않으므로 사망을 예측할 수 있었다. 약물투여군에 대하여 대조군에는 식염수(saline)를 약물 투여시간과 동일시간 동안 투여하였고 아울러 약물의 효과가 생약 추출액에 함유될 수도 있는 당류와 같은 에너지원에 의한 가상효과(artefact)의 가능성을 배제키 위하여 상응하는 그룹에는 0.1% glucose 용액을 약물추출액의 섭취량과 동일하게 양을 경구로 투여 하였다. 생명연장 효과의 판단은 기아시부터 사망시기까지의 기간을 비교 측정하여서 대조군(saline)보다 더 생존할 일수(days)로 결정하였다.

혈청에서의 superoxide dismutase(SOD), glutamate oxaloacetate transaminase(GOT), glutamate pyruvate transaminase(GPT) 및 adrenocorticosteroids 분석

Superoxide dismutase(SOD) activity assay—이 효소의 활성에 대한 측정은 기본적으로 McCord and Fridovich^{9,10}의 방법에 준하였다. 반응액 3 ml 에는 10^{-4} EDTA를 함유하는 0.05M potassium phosphate buffer(pH 7.8), 10^{-5} M ferricytochrome C, 5×10^{-5} M xanthine 및 550 nm에서 0.025정도의 흡광도 감소를 일으킬 수 있는 충분한 양의 xanthine oxidase($6 \times$

$10^{-9}M$)가 함유되어 있다. 이 반응액에 superoxide dismutase(SOD) 효소원인 혈청액을 첨가하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였을 때 그 흡수를 50% 억제시키는 SOD의 양을 1 unit로 규정하여 계산하였다. 이 효소활성의 측정시 유의사항은 xanthine의 용해도가 매우 낮기 때문에 xanthine이 함유된 반응액을 2~3분간 강하게 진탕하여 완전히 용해시킨 다음 분석하는 것이 반응의 관건이다.

Glutamate oxaloacetate transaminase(GOT) 및 glutamate pyruvate transaminase(GPT)분석 - 이 실험은 Reitman-Frankel법¹¹⁾을 적용한 Kit제품을 사용하여 시행하였다. 각각의 시험관에 GOT기질액을 1.0 ml씩 넣고 37°C 항온조에서 2~3분간 가온한 다음 0.2 ml의 혈청을 가하여 60분간 반응시킨다. 다음으로 발색액인 2, 4-dinitrophenylhydrazine을 첨가하여 실온에서 20분간 방치후 0.4N NaOH를 10 ml 가하여 혼합한 다음 505 nm에서 흡광도를 측정하여 효소활성의 단위를 계산하였다. GPT의 경우 GOT의 분석 방법과 같으나 GPT기질액을 사용하였으며 반응시간은 30분이었다.

Adrenocorticosteroids 분석 - Glucocorticosteroids 중에서 흰쥐의 경우에는 사람과 달리 corticosterone이 가장 대표적인 물질이므로 corticosterone의 혈청내 농도를 측정하였다. Corticosterone의 측정은 Munck¹²⁾의 방법에 준하여 DPC사의 Kit분석 제품을 사용하였다. 방법의 개요는 다음과 같다. Corticosterone에 대한 항체가 피복된 polypropylene tube에 25 μ l의 혈청을 첨가하고 이어서 1.0 ml의 [¹²⁵I] corticosterone을 가하여 세계 진탕한 다음 37°C에서 45분간 부치하고 나서 상등액을 완전히 따라 버리고 Gamma Counter에서 1분간 방사능을 측정하였다. 다음으로 mineralcorticoid의 대표물질로서 aldosterone을 측정하는 방법은 Marver Ton¹³⁾과 Irony Walsch¹⁴⁾의 방법에 준하여 역시 DPC사의 Kit를 사용하였다. 방법은 역시 aldosterone에 대한 항체가 피복된 polypropylene 튜브에 200 μ l의 혈청을 넣고 1.0 ml의 [¹²⁵I] aldosterone을 첨가하여 진탕한 다음 37°C에서 3시간 동안 부치시킨다. 다음으로 이 튜브 중의 상등액을 완전히 따라 버린 다음 Gamma Counter에서 1분간 방사능을 측정하여 aldosterone의 농도를 계산하였다.

Table I—Life prolonging effect of natural drugs on starved rats. Each value represents the Means \pm S.E. n=7. Significantly different from control *: p<0.01, **p<0.05.

Natural Drugs	Survival Days
Saline(control)	8.3 \pm 1.7
Glucose(0.1%)	9.2 \pm 1.4
Cinnamomi Rhizoma	8.1 \pm 1.8
Zingiberis Rhizoma	8.1 \pm 1.8
Angelicae Radix	8.2 \pm 1.7
Corni Fructus	8.4 \pm 2.1
Atractylodes Rhizoma	8.4 \pm 1.9
Glycyrrhizae Radix	8.6 \pm 2.3
Rehmanniae Radix	8.9 \pm 1.6
Liriopsis Tuber	9.0 \pm 1.9
Ginseng Radix rubra	9.1 \pm 1.7
Astragali Radix	9.4 \pm 2.0
Eucommiae Cortex	9.5 \pm 1.8
Zizyphi Fructus	9.5 \pm 1.7
Dioscorea Rhizoma	9.6 \pm 2.0
Hoelen	9.6 \pm 2.0
Rehmanniae Radix	9.69 \pm 2.1
Lycii Fructus	9.7 \pm 1.4
Ginseng Radix alba	10.3 \pm 2.1
Puerariae Radix	10.5 \pm 1.8
Scutellariae Radix	10.8 \pm 2.1
Bupleuri Radix	11.6 \pm 1.8

결과 및 고찰

기아쥐에 대하여 생명연장 효과를 나타내는 약물의 선택

생약 중에서 온화한 약성을 가지며 비교적 저렴하여 실제 응용시 부담이 적은 20여가지의 생약의 증류수 추출액을 조제하여 이들이 나타내는 생명연장 효과실험을 시행하였다. Table I에 제시된 결과로부터 생리식염수만을 투여한 대조군의 기아쥐는 8일과 9일 사이에 사망하게 되며 대부분의 약물투여군에서도 역시 8~10일 사이에 사망하는 것으로 보아 사망시기의 지연효과가 거의 없거나 미약한 것으로 간주되었다. 그러나 몇가지의 생약에서는 상당히 뚜렷한 생명연장 효과가 나타났는데 대조군에 비하여 시호의 경우 34.6%로 가장 우수하였고 연이어 황금, 갈근, 인삼에서는 각각 28.3%, 24.2%, 21.7%의 효과를 나타내었다.

Table II—Life prolonging effect of Bupleuri Radix on starved rats according to age. Age is described as follows, neonate: 2 weeks, young: 2 months, adult: 4 months, aged: 8 months old after birth, respectively. All animals were female except young(male). Each value represents the Mean± S.E. n=7. Significantly different from control *: p<0.01, **: p<0.05.

Animal	Drug	
	Saline(Control)	Bupleu. Rad.
neonate	6.7± 0.8	8.5± 1.4
young	8.4± 1.3	11.4± 1.7
adult	10.6± 1.7	13.8± 2.3
aged	12.7± 2.8	14.9± 2.2
young(male)	6.7± 1.9	8.9± 1.7

한편 이들의 생명연장 효과가 건조생약제로 부터 용출되어 나온 당류나 그 유도체가 에너지원으로 작용하여 생명연장을 시켰을 가능성도 있으므로 이에 상응하는 대조군으로 0.1% glucose 용액을 약물부여량 만큼씩 경구투여용 주사기로 투여하여 그 효과를 비교검색하였다. Table I에서 보듯이 이 그룹에 있어서의 생명연장은 약 하루정도 즉 10%내외 밖에 이루어지지 않았으므로 약물의 생명연장 효과는 단순히 약물추출액중에 용출되어 나올 수 있는 소량의 당류 등에 의한 에너지 조달 효과라기 보다는 약물의 고유성분에 의한 결과일 것으로 판단할 수 있었다.

이상의 Table I의 결과로부터 제시됐듯이 시호(Bupleuri Radix)의 생명연장효과가 가장 우수하였으므로 시호를 생명연장제의 대상 약물로 선정하여 차후 제반실험은 시호에 대하여 실행하였다. 시호는 미나리과(Umbelliferae)에 속하는 다년생 초본으로서 뿌리를 이용하는 중요한 전통생약이며 유효성분으로는 oleanane saponin류인 saikosaponin a, c, d 등이 밝혀져 있고 약리작용으로는 소염, 해열, 진통, 항균, 항바이러스, 방사선장해방호 작용 등이 보고되어 왔다.¹⁵⁻¹⁸⁾ 아울러 시호는 여타 생약제와 달리 거의 독성이 없는 것으로 밝혀져¹⁹⁾ 기아중 체력이 상당히 떨어진 상태에서 섭취해도 그 부작용은 우려할 정도는 아닐 것으로 유추되었다.

기아쥐의 성별 및 성장시기에 따른 시호의 생명연장효과

Table II에 기아쥐의 암, 수 및 성장기에 따라서

나타나는 시호추출액의 생명연장 효과 실험의 결과가 제시되어 있다. 성장기를 시기별로 비교적 크게 나누어서 유아기(neonatal), 청년기(young), 성인기(adult) 및 노화기(aged)로 분류하여 이들에 대한 시호의 효과를 보면 유아기에 24.5%, 청년기에 28.7%, 성인기에 32.8%, 노화기에 22.1%로서 전체적으로 22.1%~32.8%의 사망시기를 지연하는 효과를 나타내었다. 따라서 성인기에 있어서 32.8%로 가장 현저한 연장효과를 나타내었지만 기타 시기에서도 22.1% 이상의 효과를 보인 것으로 보아 시호의 추출액은 해당 동물의 연령층에서 상당한 생명연장을 시키며 이러한 현상을 응용하면 음식물 섭취가 어려운 경우 예를 들어 기아중인 경우나 중질환인 환자의 경우에서 상태개선의 효과를 나타낼 수도 있을 것으로 사료되었다.

Table II의 결과로부터 기아에 의한 사망시기가 연령에 따라 점차적으로 길어진 것을 알 수 있었다. 다시 말하면 신생기에는 6, 7일 청년기에는 8.4일, 성인기에는 10.6일, 노화기에는 12.7일로서 성장시기에 비례하여 점진적으로 증가하였으며 이와 같이 성장시기에 상관적으로 비례하여 변화하는 생리적 사항은 심장출력,^{20,21)} 성장호르몬 분비,²²⁾ 신장기능,^{23,24)} 대사율,^{25,26)} 적혈구증식,²⁷⁾ 심장기능^{28,29)} 등이 대표적이라 할 수 있겠다. 시호의 생명연장효과가 약간의 차이는 있지만 모든 연령층에서 나타난다는 Table II의 결과는 언급한 제반의 생리작용이 전반적으로 개선되거나 또는 하나의 가능성에 불과하지만 만일에 “생명”이라는 현상자체를 주관하는 특수 생리계가 있다면 시호에 의해서 이 특수생리계가 강화됨으로써 생명연장효과가 나타날 수도 있다고 간주되었다.

다음으로 시호의 생명연장 효과를 본 연구에서 주로 사용한 청년기의 흰쥐를 대상으로 암·수의 성별로 살펴보면 Table II에 표시했듯이 32.4%와 28.8%로서 약간의 차이는 있었으나 큰 차이는 없었으며 암, 수 사이에 약 1.3일의 생존능력에 차이가 있음이 상기할 만 하였다.

시호추출액의 농도 및 경구투여 시기에 따른 생명연장 효과

시호추출액의 경구투여는 연령이나 성별에 크게 구애받지 않고 기아쥐에 대하여 전반적인 생명연장효과를 나타내었으므로 다음으로는 시호추출액의 농

Table III—Life prolonging effect of Bupleuri Radix on starved rats according to drug concentration. Each value represents the Mean \pm S.E. n=7. Significantly different from control *: p<0.05, **: p<0.001.

Concentration	Effect	Survival days
0(Saline)		8.7 \pm 1.8
5 g/l		9.4 \pm 1.3
10 g/l		11.3 \pm 2.1
20 g/l		12.1 \pm 1.9

도 및 투여시기의 차이에 따라서 나타나는 영향을 검색하였다. 실험의 결과는 Table III에 표시되어 있는데 시호추출액의 농도는 기본으로 추출액 1l당 첨가하였던 건조생약체의 무게 10g을 기준으로 10 g/l로 표시하였으며, 각각 상응하는 방법으로 5 g/l, 20 g/l로 표시하였다.

실험결과로부터 알 수 있듯이 대조군에 비하여 가장 효과가 높은 농도는 20 g/l로서 그 효과가 34.2%임에 비하여 10 g/l인 경우에는 31.7%, 그리고 5 g/l인 경우에는 11.7%로 현저히 감소하였다. 따라서 투여하기에 적합한 농도는 10 g/l~20 g/l로 간주되는데 그 이유는 이 농도가 20 g/l의 반이면서도 효과는 근소한 차이밖에 없으므로 생명연장효과를 기대하기에 충분하다고 사료되었기 때문이다. 지금까지 시행해 온 실험의 기본적인 방법은 시호추출액의 경구투여를 기아첫날부터 시작하여 사망할 때까지 계속하면서 사망시기의 지연을 측정해왔는데 다음으로는 기아가 어느정도 진행된 다음에 비로서 약물을 투여했을 때에도 시호추출액의 유의성있는 효과가 나타나는지 관찰코저 시도하였다.

그 결과가 Table IV에 제시되어 있는데 기아 3일과 5일째부터 시호추출액을 매일 2시간씩 투여하였을 때 기아 3일째엔 21.4%의 효과를 나타내었고 기아가 상당기간 진행되어 기아취의 운동성이 격감하고 털이 빠지며 윤기가 없고 눈동자의 붉은색이 퇴색하는 기아 5일째의 경우에는 12.3%의 미진한 효과를 보였다. 이 결과로부터 기아첫날부터 시호추출액을 경구투여했을 경우에는 대조군보다 생존기간이 약 3일간 연장되어 32.3%의 연장효과를 보인 반면 기아중에 시호추출액을 투여하면 기아에 의해 손상된 생리체계의 회복정도가 기아의 기간에 비례하여 현저하게 감소

Table IV—Life prolonging effect of Bupleuri Radix on starved rats according to the beginning days of drug administration during starvation. Each value represents the Mean \pm S.E. n=7. Significantly different from control *: p<0.01, **: p<0.05.

Administ. Days of Drug	Survival days
0(Food)	11.4 \pm 2.4
0(Saline)	8.3 \pm 1.9
3	10.1 \pm 1.8
5	9.3 \pm 2.1

됨으로 시호의 생명연장 효과도 상응하여 감소함을 시사하고 있다고 볼 수 있다.

기아에 따른 혈청내 corticosterone, aldosterone, testosterone 농도변화

포유동물의 생존과 긴밀히 관계되어 있다는 의미에서 “생명호르몬”³⁰⁾이라고 조차 불리워지고 있는 corticosteroids는 절식이나 단식과 같은 영양결핍시에 골격근으로부터 아미노산을 방출시켜 간에서 glucose로 전환시켜서 에너지원으로 사용케 하며³¹⁾ 혈중내의 농도는 뇌하수체(pituitary)의 adrenocorticotrophin의 영향을 받는 것으로 알려져 왔다.³¹⁾ 한 예로서 성인 남·녀의 경우 모두 3일간의 비교적 짧은 단식기간 동안 adrenocorticotrophin과 cortisol이 모두 증가하는 것이 보고되어 있으며 그 기전으로서는 이들 corticosteroids가 간에서 분해되는데 이 분해능력이 음식물의 소모 정도와 유관하여 단식기간중에는 음식물 섭취의 단절로 간에서의 corticosteroids 분해능력이 감소되어서 자연히 혈청내 corticosteroids 농도가 증가하는 것으로 해석되고 있다.³²⁾

이와 같이 혈중내 corticosteroids 농도가 음식물의 섭취 유·무와 관계되는데 이에 시호추출액의 생명연장효과가 상관관계를 나타내는지 파악하기 위하여 기아취의 혈청내 adrenocorticotrophin 중에서 glucocorticoid로서 corticosterone, mineralcorticoid로서 aldosterone, sex steroid으로 testosterone을 각각 측정하였다. 이들중 corticosterone은 쥐에 있어서의 주 glucocorticoid로서 사람의 경우 cortisol이 이에 상응하는 화합물이다.³³⁾

Table V에 이들 세가지 corticosteroids에 대하여 기아기간에 따른 농도변화와 시호추출액의 투여 영

Table V—Effect of Bupleuri Radix on the concentrations of corticosterone, aldosterone and testosterone in the serums of 2,4 and 6 days starved rats. The serums of six rats in each case were pooled and exposed to assay.

Steroid	Animal Food	Saline						Bup. Rad.		
		(Days of Starvation)								
		2		4		6		2		4
Corticosterone (µg/dl)	21.2	26.8	20.3	16.7	24.1	23.1	22.7			
Aldosterone (ng/dl)	26.7	101.4	84.6	42.7	41.6	38.7	36.1			
Testosterone (ng/dl)	1.2	0.74	0.64	0.55	0.84	0.69	0.60			

향을 제시하였는데 이들의 농도분석을 위한 채혈은 circadian rhythm을 고려하여 정확히 오전 10~11시 사이에 행하였다. 우선 testosterone의 경우 기아를 시킨 쥐에 있어서 기아초기, 중기, 후기를 통하여 모두 정상치인 1.2 ng/dl에 비하여 감소경향을 나타냈으며 그 감소정도는 초기에 38.4%, 중기에 46.7%, 후기에 54.3%로서 기아의 기간이 길어짐에 따라서 농도감소의 폭이 증가하였다. 이에 대한 시호추출액의 투여영향을 검색한 결과 기아의 시기에 큰 관계없이 초기로부터 29.8%, 42.6%, 49.8%로 정상치로의 회복 효과가 거의 나타나지 않았다. 이로써 기아시 시호추출액이 나타내는 생명연장 효과와 testosterone과는 직접적인 관계가 별로 없을 것으로 판단되었다.

다음으로 corticosterone의 혈중농도의 변화를 살펴보면 기아초기인 2일째에 26.8 µl/dl로서 정상치보다 26.4%의 증가를 보였으며 기아 중기인 4일째에 20.3 ml/dl로서 정상치인 21.2 µl/dl와 비슷하게 초기에 비해 농도가 감소하였으며 기아 후기인 6일째에는 오히려 그 수치가 16.7 µl/dl로서 정상치에 비해 21.0%의 격감을 보였다. 이와 같은 corticosterone의 변화양상으로 부터 시사되는 것은 스트레스 호르몬¹²⁾이라는 명칭에 걸맞게 생명에 위협을 줄 수도 있는 큰 스트레스인 기아에 대하여 초기에는 신속하게 대응하여 농도가 증가하여 골격근으로부터 아미노산을 유리시키고 지방조직으로부터 지방산을 용출시켜 기아에 의해서 유발된 영양소의 결핍을 보완하여 기아쥐로 하여금 생명유지를 하계끔 해주다가 기아기간이 증가되면 이러한 대응능력도 소실되어 기아 후

기에는 그 농도가 크게 감소됨으로써 통상적인 정상치의 농도로 유지되어온 corticosterone의 고유한 기능조차 퇴행되어 곧 사망과 이어지게 되는 것이 아닌가 사료된다.

보고된 혈중내 corticosterone의 농도변화는 당신생합성(gluconeogenesis)을 주관하는 장기인 간과 깊게 연계되어 있을 것으로 추론되는데 최근의 연구결과³⁴⁾에 의하면 영양결핍시 간의 somatomedin과 somatomedin inhibitor 분비 역시 크게 영향을 받고 있음이 밝혀지고 있음이 밝혀지고 있어서 간(liver)이 기아와 같은 영양결핍시에 일어나는 내분비 화합물의 변화에 대한 상응기관(organ)이 될 수 있을 것으로 간주된다. 추론컨대 기아초기와 중기를 거치는 동안 기아동물의 각종 장기에 필수적인 단백질들이 corticosterone의 직접·간접 작용으로 소모되면서 장기의 생리작용은 위해를 받을 것이며 기아후기에 이르러서는 더욱 감소된 corticosterone의 농도로 인하여 여러장기 기능은 더욱 악화되어 결국 사망에 이르게 될 것이다. 보고된 예³⁵⁾에 의하면 스트레스가 존재하는데 glucocorticoid가 저농도이거나 존재치 않을 때는 혈관계(vascular system)의 허탈을 야기하여 사망에 이르게 하는 사실이 알려져 있는 것으로 보아 본 실험에서 제시되다 시피 기아후기에 corticosterone의 농도가 매우 저하되는 현상을 기아라고 하는 극도의 스트레스 중에 corticosterone마저 태부족하게 되어 혈관계는 물론 여타 생리계가 모두 심히 손상되어 곧 사망에 이르러라는 생리적 전조로 보아진다.

이상과 같은 corticosterone의 농도변화에 대하여 경구투여한 시호추출액의 영향을 검색해보면 대조군의 농도에 비하여 초기에는 약 14.0%, 기아중기에는 9.1%, 기아후기에는 7.0%로 증가시킨 것을 알 수 있었다. 이 결과는 시호에 의한 기아쥐의 생명연장효과가 corticosterone 농도에 최소한 부분적으로라도 의존하며 아마도 기아의 진행에 따라 corticosterone의 농도를 가능한 정상치로 유지시켜 corticosterone의 여러 생리작용을 통하여 음식물의 단절에 대응함으로써 기아쥐의 생존력을 향진시키는 것이 아닐까 판단된다.

Aldosterone의 경우를 살펴보면 Table V에 표시됐듯이 기아의 초기부터 현저한 증가를 보였는데 초기에는 대조군의 3.8배, 중기에는 3.2배, 후기에는 1.6배로 초기에 매우 증가하였다가 중기, 후기에 걸쳐

감소하는 경향을 보였다. Aldosterone의 작용은 수분 및 무기이온대사¹⁴⁾에 대한 조절로서 본 실험에서의 기아 중에는 식수를 계속 공급하였기 때문에 수분대사만이 주요대사반응이 될 수 밖에 없는 상황에서 그에 상응하여 aldosterone의 농도가 기아 초기엔 3.8배까지 증가하는 것으로 보인다. 그러나 기아중기와 후기에 이르러서는 aldosterone의 농도가 상당히 감소한 것은 사망을 바로 앞둔 후기증상에 이르러서는 수분의 섭취마저 원활치 못한 가운데 그 조절작용은 매우 저하하여 감을 시사하고 있다고 볼 수 있었다. 이에 대한 시호의 투여효과는 기아의 기간에 큰 영향을 미치지 않고 1.5배정도 이내로 대조군 값에 더욱 가까운 aldosterone의 농도변화를 나타내었다. 따라서 이상의 결과를 총괄하여 보면 기아에 의해 adrenocorticosteroids 중 corticosterone과 aldosterone의 혈청내 농도에 상당히 큰 변화가 유발되며 시호추출액은 주로 corticosterone과 aldosterone농도에 영향을 미치는 것으로 나타났으며 이러한 변화가 시호의 생명연장효과의 한 요인일 수도 있다고 사료되었다.

기아주의 혈청내 superoxide dismutase(SOD), glutamate oxaloacetate transaminase(GOT), glutamate pyruvate transaminase(GPT) 효소활성에 미치는 시호추출액의 영향

생체 내에서는 분자산소(O₂)의 대사과정 중 매우 유독한 활성산소(active oxygen)의 한가지인 superoxide radical(O₂⁻)이 수시로 생성된다. 이 O₂⁻ 이온은 세포단위에서 세포막 지질의 손상, DNA의 변형, 단백질의 변성 등을 야기시켜 결과적으로 각종 장기의 상해 및 질환으로 이어지는 매우 해로운 산소유도체(deleterous oxygen)로서 암, 염증, 백내장, 면역손상, 신부전 등 거의 모든 중질환의 직접 또는 간접원인으로 알려져 왔다.³⁶⁾

이와 같은 유해한 O₂⁻의 중화장치로서 생물체의 각 기관이나 세포내 소기관의 여러 영역에는 O₂⁻ 분해 효소인 superoxide dismutase(SOD) 효소가 소거제(scavenger)로서 존재하여 시의 적절하게 O₂⁻를 무독화시키고 있는데 이 과정에 이상이 생기면 질환으로 나타나게 되는 것이다.³⁷⁾

본 실험은 이와 같은 SOD 활성에 기아와 같은 극도의 이상상태에서 어떠한 변화가 일어나며 아울러서 시호추출액을 투여하여 생명연장을 시키는 경우에는

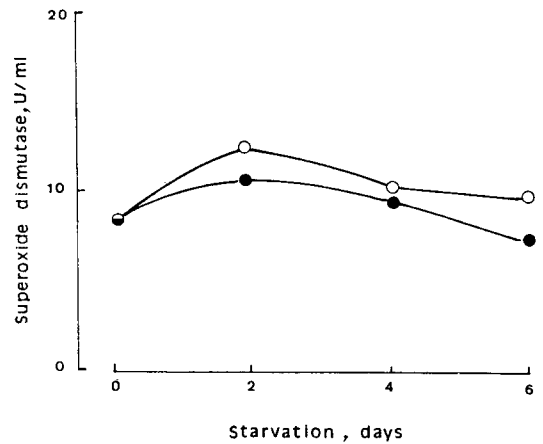


Fig. 1—Effect of Bupleuri Radix on the changes of superoxide dismutase(SOD) activities according to starvation periods. The serums of five animals were pooled and exposed to assay. ●: starved without drug. ○: starved with Bupleuri Radix.

SOD활성에도 변화가 유발될 수 있는지 규명코자 시행하였다. 그 결과가 Fig. 1에 표시되어 있는데 무엇보다도 기아초기인 2일째에 대조군에 비하여 22.3%의 증가를 보였으며 중기에는 10.4%, 그리고 후기에는 -18.6%를 나타냄으로서 기아가 초기에 있어서 실험동물의 혈청내 SOD활성에 상당한 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. 이에 대하여 시호투여군의 SOD활성을 보면 기아 초기에는 대조군에 비하여 34.7%, 기아중기에는 12.5%, 기아 후기에는 11.4%의 증가치로서 기아군과는 뚜렷이 다른 활성변화를 제기하였다. 보통 생체의 SOD활성이 증가한다는 것이 어떤 이유로든 O₂⁻의 발생이 증가했을 때 이 유해한 기질을 분해하여야 할 필요성 때문에 SOD가 유발(induced)된다는 일반적인 개념을 적용해 보면 기아과정이 진행되면서 정상대사 대신 생명유지에 필요한 에너지와 물질을 변칙적으로 조달해야 할 상황에서 상당한 양의 O₂⁻이 부산물로 파생되며 이에 따라 기아초기에 SOD활성이 자연히 유발되어진게 아닌가 생각된다. 그러나 시간이 지남에 따라 에너지원으로 이용되는 물질이 당류에서 지질로, 지질에서 생체구성 단백질로 변하면서 결국에는 SOD 효소의 합성원료마저도 부족하게 되며 SOD활성이 감소될 것으로 보아도 무리가 없을 듯하다. 여기에 대하여 시호추출액의 투여

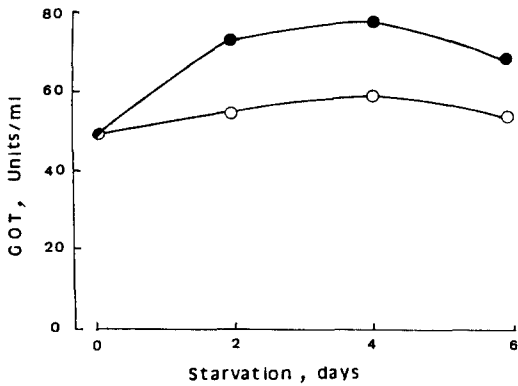


Fig. 2—Effect of Bupleuri Radix on the changes of glutamate oxaloacetate transaminase(GOT) activities. The serums of six rats were pooled and exposed to assay. ●: starved without drug. ○: starved with Bupleuri Radix.

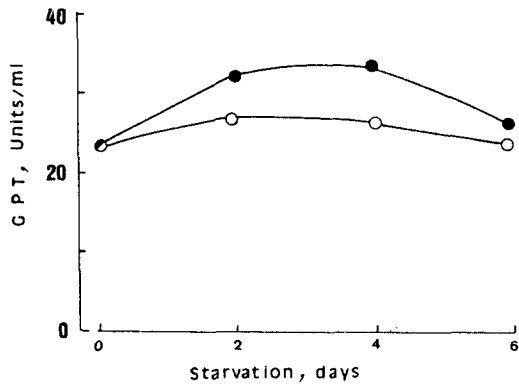


Fig. 3—Effect of Bupleuri Radix on the changes of glutamate pyruvate transaminase(GPT) activities. The serums of six rats were pooled and exposed to assay. ●: starved without drug. ○: starved with Bupleuri Radix.

시에에는 기아초기에는 비투여시보다 14.4%의 차이로 SOD활성이 더 증가했으며 기아중기와 후기에서도 역시 기아군의 SOD값보다는 높은 값을 나타냄으로서 시호추출액은 기아의 전과정에서 높은 O₂ 소거효과를 나타내어 각 조직의 O₂ 에 의한 손상을 어느정도나마 지연시키는 것이 아닌가 사료되었다.

다음으로 기아와 같은 심한 영양 결핍시 대부분의 기관(organ)이 손상을 받겠지만 그 중에서도 간(liver)은 절식 상태에서의 생존을 위한 대응반응이 이루어지는 주기관으로서 심한 조직변화가 있을 것으로 유추된다. 따라서 기아시 간의 손상을 기관손

상의 한 예로서 검색코자 혈청내의 GOT와 GPT효소활성을 간조직 손상의 지표^{31,35)}로 삼아 측정하여 보았다. 그 결과 Fig.2에서와 같이 GOT의 경우 기아초기에는 71.8 μ/ml로서 대조군에 비하여 41.3%의 증가율을 보였고 기아중기에는 52.7%, 그리고 기아후기에도 역시 28.5%의 증가율을 보였다. GPT의 경우에는 Fig.3에서 제시됐듯이 기아초기에 36.4%, 기아중기에 42.2%, 기아후기에 14.3%의 증가율을 각각 나타냈는데 이로부터 GOT나 GPT활성이 심장근육과 같은 다른 기관으로부터 유래될 수도 있지만 그 양은 매우 미량으로 알려져 있으므로 기관으로부터 유래될 수도 있지만 그 양은 매우 미량으로 알려져 있으므로 대부분 간에서 삼출되어 나온 것으로 본다면 기아에 의해 간조직의 손상이 일어나며 그 정도가 상당히 높을 것으로 간주된다. 이에 대하여 시호의 추출액을 투여했을 때 모든 경우에 있어서 효소활성이 저하됐으며 그 감소치는 시호 비투여군보다 훨씬 정상치에 접근함으로써 아마도 간조직의 세포막의 이상³⁵⁾을 어느정도 정상으로 회복시켜 주는 효과가 있는 것으로 사료되었다.

이상의 결과들을 모두 종합하여 보면 기아는 실험동물의 여러 측면에서 이상을 초래할 것으로 간주되는데, 그 중에는 혈액중의 corticosterone, aldosterone, testosterone과 같은 adrenocorticosteroids 농도와 SOD, GOT, GPT활성의 변화 등이 포함되며 이에 대해 시호추출액은 이들의 변화를 대부분 건강한 정상군의 수치에 가까워지도록 개선시켜 주는 것으로 볼 수 있었다. 이로부터 시호의 기아취에 대한 생명연장 효과를 어느 특수한 물질이나 특정생리계보다는 기아취의 전반적인 생리계에 작용하여 생체의 homeostasis를 보강하여서 생명의 연장효과를 나타낼 가능성이 높은 것으로 사료되었다.

감사의 말씀

본 연구는 한국 과학재단 연구비지원에 의하여 이루어졌기에 이에 감사드립니다.

문헌

1) Guyton, A. C.: *Textbook of Medical Physiology* 8th. ed. Wonsiewicz, M. J. and Hallowell, R. (eds), W. B. Saunders Company, Philadelphia. p. 782 (1991).

- 2) Koerker, D. J. and Goodner, C. J.: *Textbook of Physiology* 21th ed. Patton H. D., Fuchs, A. F., Hille, B., Sche, A. M., and Sterine R.(eds) 21th, eds, W. B. Saunders Company, Philadephia (1989).
- 3) Woodward, C. T. H., Hervey, G. K., Oakey, R. E. and Whitaker, E. M.: The Effects of fasting on plasma corticosterone kinetics in rats. *British Journal of Nutrition*, **6**, 117-127 (1991).
- 4) Beer, S. F., Bircham, P. M. M., Bloom, S. R., Clark, P. M., Haleo, C. N., Hughes, C. M., Jones, C. T., March, D. R., Raggatt, P. R., and Findlay, A. L. K.: The effects of a 72-h fast on plasma levels of pituitary, adrenal, thyroid, pancreas, and gastrointestinal hormone in healthy man and women. *J. Endocrinol.* **120**, 337 (1989).
- 5) Colnson, H. E., Drenick, E. T., Chopra, I. J. and Hershman, J. M.: Alterations of TRH-stimulated level of thyrotrophin, prolactin and thyroid hormone in starved rats. *J. Clin Endocrinol.* **45**, 707 (1977).
- 6) Jung, R. T., Rosenstock, J., Wood, S. M., Birch, R. A., Chalmers, K., Mashiter, K. and Joplin, C. F.: Dopamine in the pituitary adaptation to starvation in rat. *Postgraduate Medical Journal* **37**, 781 (1985).
- 7) Tannenbaum, G., Rorstad, O. and Brazeau, P.: Effects of food deprivation on the circadian GH rhythm and immunoreactive SRIF tissue levels in the rat. *Endocrinology* **104**, 1733 (1979).
- 8) Mounier, F., Blue-Pajot, M. T., Durand, D., Kordon, C., Rasolonjanahary, R. and Epelbaum, J.: Involvement of central somatostatin in the alteration of GH secretion in starved rats. *Horm. Res* **31**, 266 (1989).
- 9) McCord, J. M. and Fridorich, I.: Superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.*, **244**, 649 (1969).
- 10) 大柳善彦: 生体における酸素活性, 中野稔. ガノ子編, 講談社サイエンスエフイック 東京 **34** (1992).
- 11) Reitman, S. and Frankel, S.: Estimation of glutamate oxaloacetate transaminase in the serum of liver disease patients. *Am. J. Clin. Path*, **28**, 56 (1957).
- 12) Munck, A., Guyre, P. M. and Holbrook, N. J.: Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocrine Reviews*, **5**, 25 (1984).
- 13) Marver, D. and Kokko, J. P.: Renal target sites and the mechanism of action of aldosterone. *Electrolyte Met.*, **9**, 1 (1983).
- 14) Irony, I., Kater C. E., and Biglieri, E. F.: Correctable aspects of primary aldosteronism, *Am. J. Hypertens.* **3**, 576 (1990).
- 15) Kimata, H., Hiyama, C., Yahara, S., Tanaka, O., Ishikawa, O. and Aiura, M.: Application of high permance liquid chromatography to analysis of crude drugs. *Chem. Pharm. Bull.* **28**, 1836 (1979).
- 16) Sato, A.: Studies on anti-tumor activity of crude drugs. *Yakugaku Zasshi*, **110**, 490 (1990).
- 17) Tani, T., Ohno, T., and Inoue, K.: Effect of Sho saiko and metcobalamine on the biological responses in methotrexate treated rats. *Yakugaku Zasshi* **107**, 199 (1987).
- 18) Ohta, S., Sakurai, N., Inoue T. and Shinoda, M.: Studies on chemical protectors against radiation. *Yakugaku Zasshi*, **107**, 70 (1987).
- 19) Tanaka, S., Takahashi, A., Onoda, K., Kawashima, K. and Tobe, M.: Toxicological studies on biological effects of the herbal drug extracts in rats and mice. *Yakugaku Zasshi*, **106**, 671 (1986).
- 20) Weisfeldt, M. L.: The aging heart. *Hosp. Prac.* **20**, 115 (1985).
- 21) Zeil, S. R. and Winkelman, L.: Cardiocirculatory dynamics in the normal and ailing heart. *Annu. Rev. Physiol.* **43**, 455 (1981).
- 22) Kudlow, J. E., Silva, A. N. L. and Goodman, N.: *Biology of Growth Factors*, Plenum Publismg Corp. New York, p. 36 (1988).
- 23) Catto, B. E.: *Chinical Aspects of Renal Biology*, W. B. Saunders Company, Pheladeplia. p. 87 (1991).
- 24) Brenner, B. M. and Rector, F. C.: The Kidney. 3rd ed., W. B. Saunders, Philadelphia. p. 127 (1986).
- 25) Crawshaw, L. I.: Temperature regulation in vertebrates. *Ann. Rev. Physiol.* **42**, 474 (1980).
- 26) Gordon, C. J. and Heath, J. E.: Integration and central processing in temperature regulation. *Am. Rev. Physiol.* **48**, 596 (1986).
- 27) Sikne, B. S.: The regulation and control of iron absorption *Laboratory Management*, p. 25 (1987).
- 28) Little, R. C.: *Physiology of the Heart and Circulation*. 3rd ed. Year Book Medical Publishers. Chicago

- (1985).
- 29) Williams, J. D. and Foster, D. W.: *Textbook of Endocrinology* 7th ed., W. B. Saunders Company, Philadelphia. p. 76 (1985).
- 30) Chandrasoma, P. and Taylor, C. R.: *Concise Pathology*. 1st. ed. Prentice Hall International Inc., East Norwalk, p.313 (1991).
- 31) Baster, J. D. and Forsham, P. H.: Tissue effects of glucocorticoides. *Am. J. Med.* **53**, 573 (1972).
- 32) Clark, W. G., Brater, D. C., and Johnson, A. R.: *Medical Pharmacology*, The C. V. Mosby Company, St. Louis, p. 171 (1988).
- 33) Mounier, F., Bleut-Pajot, M. T., Durand, D. and Epelbaum, J.: Involvement of Central Somatostatin in the Alteration of GH Secretion in starved rats. *Horm. Res.* **31**, 266 (1989).
- 34) Wyngaarden, J. B., Smith, L. H. and Bennet, J. C.: *Textbook of Medicine*, 19th ed., W. B. Saunders Co. Philadelphia, p. 1257 (1991).
- 35) Michaelson, A. M.: *Pathology of Oxygen*, Academic Press, New York (1982).
- 36) Deby, C. and Deby-Dupont, G.: *Biol. and Clin. Aspects of Superoxide and Superoxide dismutase*. Elsevier. North Hollands (1980).