

## 五子地黃飲子が 老化白鼠의 血液 變化와 血清 · 腦組織의 抗酸化活性에 미치는 影響

대전대학교 한의과대학 신경정신과 교실

서경석 · 이상룡

### I. 緒 論

五子地黃飲子は 劉完素가 著述한 <宣明方論><sup>1)</sup>에 記載된 地黃陰子에 益腎補肝하는 覆盆子<sup>2)</sup>, 滋肝益腎하는 枸杞子<sup>2)</sup>, 強陰益精하는 菟絲子<sup>2)</sup>, 清肺肝風熱하는 車前子<sup>2)</sup>를 가한 處方으로, 大田大學校 附屬韓方病院 痴呆크리닉에서 腎陰虛衰로 인한 老人性 痴呆나 中風後遺症에 活用하고 있는 處方<sup>3)</sup>이다.

老化란 한 個體에서 時間의 進行에 比例하여 일어나는 漸進的이고 內的인 退行性 變化로서, 構造的, 機能的 變化가 招來되어 外部環境에 대해 反應하는 能力이 떨어지는 現象이다<sup>4)</sup>.

老化的 原因은 遺傳學說, error破滅說, 體細胞突然變異說, 代謝產物蓄積說, 自由遊離基說, 生體防禦機構障礙說, 스트레스說 등으로 多樣하지만<sup>5)</sup>, 最近에는 細胞內的 酸化酵素가 觸媒로 作用하는 O<sub>2</sub>의 還元反應에서 遊離基 hydroxyl radical(OH·), hydrogen peroxide(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 등이 생기며 이것이 細胞成分과 任意로 反應하여 酸化體 혹은 過酸化體를 만들게 되면 蛋白質, 酵素, DNA 등 각 細胞成分 本來의 機能을 喪失하게 되는데, 年齡의 增加에 따라 이 遊離基의 作用이 增大하여 老化的 原因이 된다는 自由遊離基說(free radical theory)<sup>5)</sup>에 關聯된 研究가 多樣하게 進行되고 있다.

韓醫學에서는 <靈樞·衛氣失常篇><sup>6)</sup>에서 “人年五十以上爲老”, <素問·陰陽應象大論><sup>7)</sup>에서 “年五十體重 耳目不聰明의 年六十陰痿氣衰 九竅不利...”, <天年篇><sup>8)</sup>에서 “五十歲 肝氣始衰 肝葉始薄 目始不明... 六十歲 心氣始

衰... 七十歲 脾氣虛... 八十歲 肺氣虛... 九十歲 腎氣焦... 百歲五臟皆虛 腎氣皆怯...”이라하여 노화의 연령과 五臟의 老化순서를 말하였으며, <靈樞·營衛生會篇><sup>9)</sup>에서 “老子之氣血衰 其肌肉故 氣道澁...”, “天壽過度 氣脈相通 而腎氣有餘也”라고 하여 老化를 腎氣와 氣血盛衰에 關聯시켰다.

最近의 抗酸化作用에 대한 研究를 살펴보면, 백 등<sup>10)</sup>은 綠茶로부터 分離된 epicatechin 3-O-gallate의 抗酸化作用기전에 觀하여, 李 등<sup>11)</sup>은 浮萍草의 化學成分 및 抗酸化效果에 關한 研究를 하였다. 蘇<sup>12)</sup>는 鹿麥地黃湯을, 禹 등<sup>13)</sup>은 血府逐瘀湯의 抗酸化作用에 關한 報告를 하였으며, 左歸飲과 右歸飲을 이용하여 鄭<sup>14)</sup>은 活性 酸素類의 消去作用과 抗酸化 酵素系의 活性增加 效果에 대한 研究를, 尹 등<sup>15)</sup>은 老化 rat의 肝 過酸化脂質 生成 및 活性酸素 生成系 酵素活性에 미치는 影響을, 尹 등<sup>16)</sup>은 老化 rat의 腦 過酸化脂質 生成 및 活性 酸素 生成系 酵素活性에 미치는 影響을 研究하였고 徐<sup>17)</sup>는 聰明湯이 老化白鼠 腦細胞의 生化學的 變化와 神經細胞의 損傷에 미치는 影響을 研究한 바 있다.

이와 같이 抗酸化 作用에 關한 研究는 老化的 原因이 주로 腎虛라는 觀點에서 腎의 機能을 補完하는 藥物들을 爲主로 이루어졌으나, 腎陰陽虛로 因한 老人性 疾患에 活用될 수 있는 五子地黃飲子에 대한 研究는 接하지 못하였다.

이에 著者는 五子地黃飲子의 效能을 實驗的으로 입증하고자 血球細胞와 血清成分, 血清中 赤血球膜의 活性酸素에 대한 耐性, cholinesterase 活性度, 脂質過酸化度(TBA)를 測定하고, 腦組織에서의 catalase 活性度, superoxide dismutase(以下

SOD)活性도를測定하여 有意性 있는 結果를 얻었기에 報告 하는 바이다.

## II. 實 驗

### 1. 材 料

#### 1) 藥材

本 實驗에 使用한 五子地黃飲子의 處方構成은 大田大學校 附屬韓方病院 處方集<sup>3)</sup>에 準하였으며 使用한 藥劑는 大田大學校 附屬韓方病院에서 購入한 後 精選하여 使用하였고, 處方 1貼의 內容과 用量은 다음과 같다.

Prescription of OJAJIWHANGEUMJA (OJWEJ)

韓 藥	生 藥 名	用 量(g)
熟 地 黃	Rehmanniae Radix preparat	12
巴 戟 (去心酒)	Morindae Radix	12
肉 從 容 (酒)	Boshniakiae Herba	12
山 茱 萸	Corni Fructus	6
石 斛	Dendrobii Herba	4
遠志(甘草水去心)	Polygalae Radix	4
五 味 子	Maximowicziae Fructus	4
白 茯 苓	poria	4
麥 門 冬(去心)	Liriois Tuber	4
附 子 (炮)	Aconiti Tuber	2
肉 桂	Ciniamomi Cortex	2
石 菖 蒲	Acori Rhizoma	2
枸 杞 子	Lycii Fructus	4
覆 盆 子	Rubi Fructus	8
菟 絲 子	Cuscutae Semen	4
車 前 子	Planteginis Semen	4
Total amount		88

#### 2) 動物

##### (1) 動物

實驗動物은 韓國 化學 研究所에서 購入한 雌性 450±

16g의 Sprague-Dawley系(韓國化學研究所) 雄性 흰쥐를 購入하여, 2週日 동안 實驗室 環境에 適應시킨 後 實驗에 使用하였다. 動物飼育室의 條件은 conventional system으로 22±2 °C, 1日中 12時間은 200-300 Lux로 照明하고 12時間은 모든 빛을 遮斷하였다. 飼料는 固形飼料(조단백질 22.1%이상, 조지방8.0%이하, 조섬유5.0%이하, 조회분8.0%이하, 칼슘0.6%이상, 인 0.4%이상, 삼양사, 항생제 무첨가)와 물을 充分히 供給하였다.

#### 3) 試藥 및 기기

##### (1) 試藥

Cholinesterase kit, Thiobarbituric acid(TBA), Malonaldehyde bis(diethyl acetatal), Ascorbic acid, reductase glutathione(GSH), N-acetylcysteine(NAC), 5,5'-dithiobis-(2-nironenzoic acid) (DTNB), Trichloroacetic aci(TCA), ortho-phosphoric acid, ferric chloride, HEPES, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, Sodium tartrate, Folin reagent, Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>(Sodium Hyrosulfite), Cytochrome C, NADPH, Potassium ferricyamide, 7-ethoxycoumarin, Chloroform, Magnesium chloride(MgCl<sub>2</sub>), Benzphetamine, ZnSO<sub>4</sub>, Ba(OH)<sub>2</sub>, Ammonium acetate, Acetyl acetone, 1-chloro-2,4-dinitroben-zen(cDNB), epinephrine, Hydrogen peroxide(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), Catalase, Acetic acid, EDTA, Xanthine, Potassium cyanide, Sodium deoxycholate, Xanthine oxidase, Glutathione peroxidase(GSSG), Sodium azide, Glutathione reductase, Cumene hydroperoxide등은 Sigma社 製品을 使用하였고, 그의 試藥들은 特級 및 一級을 使用하였다.

本 研究에 使用된 機器는 UV-vis spectrophotometer (shimazue. japan), high centrifuge (centrikon,sweden), ultracentrifuge (centikon,sweden), Bio-freezer(sanyo, japan), Ice-maker(vision科學) 및 homogenizer (OMNI, U.S.A) 등의 것을 使用하였다.

## 2. 方 法

#### 1) 檢液調製

五子地黃飲子 3貼 分量(264g)에 蒸溜水 2000ml을 添加

하여 熱湯 抽出器에서 3時間 동안 抽出하여 抽出液을 얻고, 이를 吸入 濾過하여 濾液을 減壓 蒸溜裝置(Rotary evaporator, Buchi 461, Switzerland)로 減壓 濃縮하고, 濃縮液을 다시 凍結 乾燥機(Freeze dryer, FDU-540, Eylea, USA)를 利用하여 完全 乾燥(36.4g)하여 冷凍 保管하였으며, 實驗에 適當 濃도로 溶液을 製造하여 使用하였다.

## 2) 檢液 投與 및 scopolamine 투여

흰쥐 5마리를 1群으로 하여 正常群, 對照群, 實驗群(五子地黃飲子 投與:938mg/kg)으로 3個群으로 나누고, 對照群과 實驗群은 10日 동안 검액투여하고, scopolamine (1mg/kg)을 5일간 1일1회 靜脈 注射 後, 血球細胞, 血清成分(glucose, creatinin, BUN, uric acid)은 自動生化學分析機(Express 550, Ciba-Corning co.)을 使用하여 測定하였다.

## 3) 赤血球膜의 活性 酸素에 對한 耐性 比較

NIKI 등의 方法<sup>27)</sup>에 따라 흰쥐의 血液을 CBC bottle로 항응고 시킨 후 hematology를 測定하였다. 그리고 이 血液을 시험관에 다시 넣고 10mM potassium phosphate buffered saline(pH7.4, PBS)용액을 添加하여 원심 분리(3,000 r.p.m, 10分)하였다. 3회 반복하여 血液을 洗滌한 다음 20% RBC용액 1ml를 넣고 50mM AAPH용액 1ml를 添加하여 37 °C에서 3時間 incubation하였다. 이 溶液을 50ul을 取하여 2ml saline 溶液에 넣은 것을 A溶液이라 하고, 또 50ul을 取하여 2ml 蒸溜水에 넣은 것을 B溶液이라 하였다. 各各의 두 溶液을 잘 混合한 다음 540nm에서 吸光度를 測定하였다. 그리고 A溶液의 吸光度/ B溶液의 吸光度 × 100을 %hemolysis value로 計算하였다.

## 4) 혈청에서 cholinesterase activity 측정

혈청중 cholinesterase activity 측정하기 위하여 Test tube와 Blank tube를 label하고, test tube에 sodium chloride solution (cat. No. 150-3) 0.2ml과 serum 0.2ml을 넣고 혼합하였다. blank와 test tube에 3.0ml water, Nitrophenol solution(cat. No.420-2) 2ml, acetylcholine chloride solution 0.2ml을 첨가한다. Acetylcholine Chloride solution을 첨가함 후 시간을 정확히 기록하여 25 °C water bath에서 정확히

30분간 incubation시킨 후 ELISA LEADER(molecular devices,USA)에서 420nm에서 absorbance를 측정한다. 그 결과는  $\Delta A = A_{BLANK} - A_{TEST}$  공식에 의하여 검장선에서 활성도를 측정한다.

## 5) 脂質過酸化度 (TBA測定)

TBA測定은 Suematsu 등의 方法<sup>56)</sup>에 따라 clean test tube에 血清 200ul를 넣고, 8.1% Sodium dodesyl sulfate (SDS) solution 225ul를 가하고 5sec.동안 vortex mixer로 mixing한다. 20% acetic acid 1.5ml을 가하고 그리고 75ul 蒸溜水를 넣고 5sec.동안 vortex mixer로 mixing한다. 1.2% Thiobarbituric acid solu.을 各各의 1ml씩 tube에 더하고, clean dry marblle(유리구슬)로 cover한 후, 30분간 water bath에서 끓인다. 그리고 室溫에서 30분간 cooling한 後에 3000rpm에서 20分間 遠心 分離하여 上層液을 實驗에 使用한다. 532nm에서 吸光度를 測定한다.

## 6) 흰쥐 뇌 抗酸化活性에 對한 影響

### 6-1) 뇌 組織의 各 分割調製

Bansal 등의 方法<sup>32)</sup>에 따라 摘出한 흰쥐의 뇌를 잘게 썰고 4배의 150mM KCl을 含有한 30mM HEPES緩衝液(pH 7.4)으로 稀釋하여 均質化한 다음 高速遠心分離(11,000xg, 30分)하여 1차 상등액을 얻었으며 그 11,000xg pellet은 除去하였다. 또 1차 상등액을 取하여 다시 2차 超高速遠心分離(105,000xg, 60分)하고 그 2차 상등액으로 細胞質 分割을 얻었다. 그리고 105,000xg pellet은 130mM KCl 含有 HEPES緩衝液으로 씻어낸 다음, 다시 超高速遠心分離(105,000xg, 60分)하고 얻은 pellet을 같은 緩衝液으로 재 均質化하여 마이크로솜 分割을 얻었다. 마이크로솜과 細胞質 分割을 分離하는 全 過程은 0-4 °C 低溫室에서 遂行하였으며 -70°C에 保管 하면서 各種 實驗에 使用하였다.

### 6-2) 蛋白質 定量

Bovine serum albumin(BSA)을 標準 物質로 使用하여 Lowry 등의 方法<sup>53)</sup>에 따라 蛋白質 濃도를 決定하였다.

### 6-3) 肝의 抗酸化 活性 測定

6-3-1) SOD의 活性度 測定

이 酵素의 活性度 測定은 McCord 등의 방법<sup>54)</sup>에 따라 xanthine과 xanthine oxidase의 存在 下에 生成되는 superoxide anion이 cytochrome c의 還元을 抑制시키는 反應 原理를 利用하였다. 卽 3.0ml 용량의 cuvette에 0.1nm EDTA를 含有하는 50 ml 인산염 완충액(pH 7.8) 2.1ml와 0.5nm xanthine 0.3ml 및 0.1 nm cytochrome c 0.3ml을 加한 다음 cytochrome oxidase에 의한 還元形의 cytochrome의 再酸化를 막기 위해 反應液에 50μ M potassium cyanide 0.1ml을 加하였다. 反應液의 微粒자를 分解시키기 위해서 sodium deoxycholate(0.1 mg/ml) 를 0.1ml 넣어 0.033% 되도록 하였다. 混合液을 잘 섞는 다음 xanthine oxidase 0.1ml 와 細胞質 分割 20μ l을 添加 한 후 550nm에서 吸光度의 增加率을 決定하였다. 吸光度 增加에 對한 基準은 xanthine oxidase의 濃度를 調節하여 吸光度 增加를 分당 0.021이 되도록 하였다.

6-3-2) catalase 活性度 測定

Aebi의 방법<sup>55)</sup>에 따라 3.0ml cuvette에 130nm 磷酸鹽 緩衝液(pH 7.0) 500μ l, 細胞質 分割 40μ l, 蒸溜水 660μ l와 基質인 15mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>濃度에 依한 吸光度의 減少率을 測定 하였다. 酵素의 活性度는 1分 동안에 1 μ mole의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 分解시키는 酵素의 量을 1 unit로 表示하였다.

7) 統計處理

統計處理는 Student's T test<sup>57)</sup>에 依해 判定하였다.

Ⅲ. 成 績

1. 血液學的 變化에 미치는 影響

(1) 白血球數에 미치는 影響

Scopolamine을 靜脈注射한 後 白血球數에 미치는 影響을 살펴본 結果 正常群은 14.4±1.18(10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>) 이었고, 對照群은 8.2±0.49(10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>)로 減少 하였으나, 實驗群은 13.5±0.30(10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>)로, 對照群에 比하여 有意性(P<0.001) 있는 增加를 나타내었다(Table 1).

Table 1. Effect of OJAJIWHANGEUMJA extract on the White blood cell in Rats Induced by scopolamine (1mg/kg)

Group	No. of Animals	W B C (103/mm3)	P-valuea)
Normal	5	14.4 ± 1.18a)	
Control	5	8.2 ± 0.49	
OJWEJ	5	13.5 ± 0.30	< 0.001

a): Mean ± Standard Error.

Normal : Non-treated group

Control : Distilled water(0.2ml/day) was oral injected for 10days before administrated with scopolamine (1mg/kg)

OJWEJ : OJAJIWHANGEUMJA extract(1.20g/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg)

\* : Statistically significant value compared with control data by T test

(2) 赤血球數에 미치는 影響

scopolamine을 靜脈注射한 後 赤血球數에 미치는 影響을 살펴본 結果 正常群은 8.43±0.07(10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>) 이었고, 對照群은 8.17±0.17(10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>)로, 實驗群은 8.40±0.11(10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>)으로 對照群에 比하여 增加하였으나 有意性이 없었다 (Table 2).

Table 2. Effect of OJAJIWHANGEUMJA extract on the red blood cell in Rats Induced by scopolamine (1mg/kg)

Group	No. of Animals	R B C (106/mm3)	P-valuea)
Normal	5	8.43 ± 0.07a)	
Control	5	8.17 ± 0.17	
OJWEJ	5	8.40 ± 0.11	-

a): Mean ± Standard Error.

Normal : Non-treated group

Control : Distilled water(0.2ml/day) was oral injected for

10days before administrated with scopolamine(1mg/kg)

OJWEJ : OJAJIWHANGEUMJA extract(1.20g/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg)

\* : Statistically significant value compared with control data by T test

### (3) 血素板數에 미치는 影響

Scopolamine을 靜脈注射한 後 血小板數에 미치는 影響을 살펴본 結果 正常群은  $774 \pm 12.1(10^6/\text{mm}^3)$ 이었고, 對照群은  $805 \pm 22.8(10^6/\text{mm}^3)$ , 實驗群은  $889 \pm 19.1(10^3/\text{mm}^3)$ 로 對照群에 비하여 有意性( $P < 0.05$ ) 있는 增加를 나타내었다 (Table 3).

Table 3. Effect of OJAJIWHANGEUMJA extract on the platelet in Rats Induced by scopolamine (1mg/kg)

Group	No. of Animals	Platelet (106/mm <sup>3</sup> )	P-valuea)
Normal	5	774 ± 12.1a)	
Control	5	805 ± 22.8	
OJWEJ	5	889 ± 19.1	< 0.05

a): Mean ± Standard Error.

Normal : Non-treated group

Control : Distilled water(0.2ml/day) was oral injected for 10days before administrated with scopolamine (1mg/kg)

OJWEJ : OJAJIWHANGEUMJA extract(1.20g/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg)

\* : Statistically significant value compared with control data by T test

## 2. 血清成分 變化에 미치는 影響

### 1) 血清 BUN에 미치는 影響

血清 BUN에 미치는 影響을 살펴본 結果 正常群은

$20.1 \pm 1.12(\text{mg/dL})$ 이었고, 對照群은  $28.1 \pm 2.37(\text{mg/dL})$ 로, 實驗群은  $22.0 \pm 1.19(\text{mg/dL})$ 로 對照群에 비하여 有意性 ( $P < 0.05$ ) 있는 減少를 나타내었다 (Table 4).

Table 4. Effect of OJAJIWHANGEUMJA extract on the serum BUN in Rats Induced by scopolamine (1mg/kg)

Group	No. of Animals	BUN (mg/dL)	P-valuea)
Normal	5	20.1 ± 1.12a)	
Control	5	28.1 ± 2.37	
OJWEJ	5	22.0 ± 1.19	< 0.05

a): Mean ± Standard Error.

Normal : Non-treated group

Control : Distilled water(0.2ml/day) was oral injected for 10days before administrated with scopolamine (1mg/kg)

OJWEJ : OJAJIWHANGEUMJA extract(1.20g/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg)

\* : Statistically significant value compared with control data by T test

### 2) 血清 creatinin에 미치는 影響

血清 creatinin에 미치는 影響을 살펴본 結果 正常群은  $0.62 \pm 0.010(\text{mg/dL})$ 이었고, 對照群은  $0.73 \pm 0.017(\text{mg/dL})$ , 實驗群은  $0.64 \pm 0.003(\text{mg/dL})$ 으로 對照群에 비하여 有意性( $P < 0.001$ ) 있는 減少를 나타내었다 (Table 5).

Table 5. Effect of OJAJIWHANGEUMJA extract on the serum creatinin in Rats Induced by scopolamine (1mg/kg)

Group	No. of Animals	Creatinin (mg/dL)	P-valuea)
Normal	5	0.62 ± 0.010a)	
Control	5	0.73 ± 0.017	
OJWEJ	5	0.64 ± 0.003	< 0.001

a): Mean ± Standard Error.

Normal : Non-treated group

Control : Distilled water(0.2ml/day) was oral injected for 10days before administrated with scopolamine (1mg/kg)

OJWEJ : OJAJIWHANGEUMJA extract(1.20g/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg)

\* : Statistically significant value compared with control data by T test

### 3) 혈청 glucose에 미치는 影響

血清 glucose에 미치는 影響을 살펴본 結果 正常群은  $74.5 \pm 3.25$ (mg/dL)이었고, 對照群은  $100.1 \pm 2.57$ (mg/dL)로 上昇 하였으나, 實驗群은  $90.6 \pm 2.89$ (mg/dL)로 減少하여 對照群에 비하여 有意性( $P < 0.05$ )있는 低下를 나타내었다 (Table 6).

Table 6. Effect of OJAJIWHANGEUMJA extract on the serum glucose in Rats Induced by scopolamine (1mg/kg)

Group	No. of Animals	Glucose (mg/dL)	P-value <sup>a</sup>
Normal	5	$74.5 \pm 3.25$ a)	
Control	5	$100.1 \pm 2.57$	
OJWEJ	5	$90.6 \pm 2.89$	< 0.05

a): Mean  $\pm$  Standard Error.

Normal : Non-treated group

Control : Distilled water(0.2ml/day) was oral injected for 10days before administrated with scopolamine (1mg/kg)

OJWEJ : OJAJIWHANGEUMJA extract(1.20g/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg)

\* : Statistically significant value compared with control data by T test

### 4) 血清 uric acid에 미치는 影響

血清 uric acid에 미치는 影響을 살펴본 結果 正常群은  $2.79 \pm 0.222$ (mg/dL)이었고, 對照群은  $3.29 \pm 0.126$ (mg/dL)

로 增加 하였으나, 實驗群은  $3.06 \pm 0.120$ (mg/dL)으로 對照群에 비하여 有意性이 없었다(Table 7).

Table 7. Effect of OJAJIWHANGEUMJA extract on the serum uric acid in Rats Induced by scopolamine (1mg/kg)

Group	No. of Animals	Uric acid (mg/dL)	P-value <sup>a</sup>
Normal	5	$2.79 \pm 0.222$ a)	
Control	5	$3.29 \pm 0.126$	
OJWEJ	5	$3.06 \pm 0.120$	

a): Mean  $\pm$  Standard Error.

Normal : Non-treated group

Control : Distilled water(0.2ml/day) was oral injected for 10days before administrated with scopolamine (1mg/kg)

OJWEJ : OJAJIWHANGEUMJA extract(1.20g/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg)

\* : Statistically significant value compared with control data by T test

### 3. 赤血球膜의 活性酸素의 變化에 미치는 影響

赤血球膜의 活性酸素의 變化에 미치는 影響을 살펴본 結果 正常群은  $405 \pm 16.4$  %이었고, 對照群은  $448 \pm 8.2$  %로 增加 하였으나, 實驗群은  $407 \pm 7.3$ %로 減少하여 對照群에 비하여 有意性( $P < 0.01$ ) 있는 抑制을 나타내었다 (Table 8).

Table 8. Change of erythrocyte hemolysis in red blood cells treated with AAPH for 3 hours incubation at 37 °C

Group	No. of Animals	Erythrocytes hemolysis value(%)	P-value <sup>a</sup>
Normal	5	$405 \pm 16.4$ a)	
Control	5	$448 \pm 8.2$	
OJWEJ	5	$407 \pm 7.3$	< 0.01

a): Mean ± Standard Error.

Normal : Non-treated group

Control : Distilled water(0.2ml/day) was oral injected for 10days before administrated with scopolamine (1mg/kg)

OJWEJ : OJAJIWHANGEUMJA extract(1.20g/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg)

\* : Statistically significant value compared with control data by T test

#### 4. 血清에서의 cholinesterase activity에 미치는 影響

血清에서의 cholinesterase 活性도에 미치는 影響을 살펴본 結果 正常群은 17.5±0.77(unit/ml)이었고, 對照群은 2.0±0.91(unit/ml)로 減少 하였으나, 實驗群은 9.4±2.75(unit/ml)로 對照群에 비하여 有意性(P<0.05)있는 增加를 나타내었다(Table 9).

Table 9. Effect of OJAJIWHANGEUMJA extract on the cholinesterase activity in Rats Induced by scopolamine (1mg/kg)

Group	No. of Animals	Cholinesterase (unit/ml)	P-valuea)
Normal	5	17.5 ± 0.77a)	
Control	5	2.0 ± 0.91	
OJWEJ	5	9.4 ± 2.75	< 0.05

a): Mean ± Standard Error.

Normal : Non-treated group

Control : Distilled water(0.2ml/day) was oral injected for 10days before administrated with scopolamine (1mg/kg)

OJWEJ : OJAJIWHANGEUMJA extract(1.20g/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg)

\* : Statistically significant value compared with control

data by T test

#### 5. 血清에서의 脂質過酸化物 含量에 미치는 影響

血清에서의 脂質過酸化物 含量에 미치는 影響을 살펴본 結果 正常群은 0.289±0.037(ug/ml)이었고, 對照群은 0.341±0.012(ug/ml)로 增加 하였으나, 實驗群은 0.301±0.011(ug/ml)로 對照群에 비하여 有意性(P<0.05) 있는 減少를 나타내었다(Table 10).

Table 10. Effect of OJAJIWHANGEUMJA extract on the lipidperoxidation contents(LPO) in the serum in Rats Induced by scopolamine (1mg/ kg)

Group	No. of Animals	Malondialdehyde (μg/ml)	P-valuea)
Normal	5	0.289±0.037a)	
Control	5	0.341±0.012	
OJWEJ	5	0.301±0.011	< 0.05

a): Mean ± Standard Error.

Normal : Non-treated group

Control : Distilled water(0.2ml/day) was oral injected for 10days before administrated with scopolamine (1mg/kg)

OJWEJ : OJAJIWHANGEUMJA extract(1.20g/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg)

\* : Statistically significant value compared with control data by T test

#### 6. 腦組織內 catalase 活性에 미치는 影響

腦組織內 catalase 活性에 미치는 影響을 살펴본 結果 正常群은 207±42.4(unit/mg protein)이었고, 對照群은 168±11.7(unit/mg protein)로 低下되었으나, 實驗群은 197±10.1(unit/mg protein)으로 增加하여, 對照群에 비하여 有意性(P<0.05)있는 活性을 나타내었다(Table 11).

Table 11. Effect of OJAJIWHANGEUMJA extract on the catalase activity in the microsome of rat brain Induced by scopolamine(1mg/kg)

Group	No. of Animals	Catalase activities (unit/mg protein)	P-value <sup>a</sup>
Normal	5	207 ± 42.4a)	
Control	5	168 ± 11.7	
OJWEJ	5	197 ± 10.1	< 0.05

a): Mean ± Standard Error.

Normal : Non-treated group

Control : Distilled water(0.2ml/day) was oral injected for 10days before administrated with scopolamine (1mg/kg)

OJWEJ : OJAJIWHANGEUMJA extract(1.20g/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg)

\* : Statistically significant value compared with control data by T test

### 7. 腦組織內 SOD 活性에 미치는 影響

腦組織內 SOD 活性에 미치는 影響을 살펴본 結果 正常群은 17.5±1.66(unit/mg protein)이었고, 對照群은 13.4 ±1.01(unit/mg protein)로 減少 하였으나, 實驗群은 17.0 ±0.74(unit/mg protein)으로 增加하여 對照群에 비하여 有意性(P<0.01)있는 活性을 나타내었다(Table 12).

Table 12. Effect of OJAJIWHANGEUMJA extract on the superoxide dismutase(SOD) activity in the microsome of rat brain Induced by scopolamine (1mg/kg)

Group	No. of Animals	Superoxide Dismutase (unit/mg protein)	P-value <sup>a</sup>
Normal	5	17.5 ± 1.66a)	
Control	5	13.4 ± 1.01	
OJWEJ	5	17.0 ± 0.74	< 0.01

a): Mean ± Standard Error.

Normal : Non-treated group

Control : Distilled water(0.2ml/day) was oral injected for 10days before administrated with scopolamine (1mg/kg)

OJWEJ : OJAJIWHANGEUMJA extract(1.20g/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg)

\* : Statistically significant value compared with control data by T test

### III. 總括 및 考察

老化란 動物의 發育, 成長, 成熟과 老化的 生物學的 過程에서 形態的 機能的 退縮, 豫備力과 適應力의 低下로 死亡에 歸着되는 普遍的인 生理的 現象을 말한다<sup>5)</sup>.

西洋醫學에서 老化的 發生原因은 아직 充分히 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 老化的 影響이 本質的인 것이라고 보는 個體單位에서의 老化學說로 크게 나누어 볼 수 있다<sup>5)</sup>. 老化가 遺傳的으로 豫定되어 不可逆的으로 經過한다는 遺傳學說, 體內 蛋白質 合成에 異常이 생겨 老化가 發生한다는 error破滅說, 體細胞 遺傳子의 確率的 過程으로 突然變異가 發生하고 이것이 쌓여서 細胞의 機能障病가 發生한다는 體細胞突然變異說, 老化色素(lipofuscin) 등의 細胞 體內蓄積에 老化가 나타난다는 代謝產物蓄積說, 物質과 機能이 時間이 지남에 따라 磨耗된다는 磨耗說, 自由遊離基들에 의해 老化가 發生한다는 自由遊離基說(free radical theory) 등이 前者에 屬하고, 免疫機能이나 中樞神經系의 低下로 인한 生體防禦機構 혹은 調節機構의 障病說, 老化는 過去에 받은 스트레스 혹은 疾病의 總合이라는 스트레스說 등은 後者에 屬한다<sup>5)</sup>.

最近에 주목받는 理論은 自由遊離基說로, 1956년, 自由遊離基가 細胞나 結體組織에 作用하여 害로운 物質을 生成하게 되고 이것이 蓄積된 結果가 老化와 慢性 退行性 疾病의 根本的인 原因이라고 主張했던 Harman에 의해 提倡되었고<sup>39)</sup>, 國內에서도 많은 研究가 進行되고 있다.

自由遊離基들은 分子狀態의 酸素가 生體內 酸化還元 反應의 電子受容體로 利用되므로서 持續的으로 還元되어



가는 중에 生成되는 不完全한 酸素의 還元 形態로 superoxide anion( $O_2^-$ ) 및 hydroxyl radical(OH), hydrogen peroxide( $H_2O_2$ ) 등이 있으며, 이중 hydroxyl radical (OH)이 가장 強力한 活性을 지니는 것으로 알려져 있다<sup>5,38,45)</sup>.

生命現象을 營爲하는 過程에서 內的, 外的으로 生成되어진 各種 妨害因子에 의해 生體에 吸入되어진 酸素의 一部分이 分子  $O_2$ 의 還元反應에서 superoxide anion( $O_2^-$ ), hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) 및 hydroxy radical(OH) 등과 같은 自由遊離基로 轉換되면 脂質이나 蛋白質같은 生體高分子 등과 反應, 酸化를 誘發시키는 過酸化反應이 進行되고<sup>5,38)</sup> 이로 인한 過酸化物은 各種 遊離基와 反應하여 多様な 2次生成物을 만들게 되며 그 중에는 많은 細胞毒性物質이 包含되어 있다. 이러한 脂質過酸化反應은 일단 開始되면 連續적으로 進行되며 주위의 磷脂質도 關與하게 되어 膜磷脂質의 過酸化反應은 細胞膜 全體에 影響을 미쳐 膜의 透過性 亢進이나 膜의 流動性을 低下시켜 barrier로서의 機能이 消失되면 生體膜에 損傷을 입히고 細胞機能을 低下시키며 組織의 壞死를 惹起한다<sup>4,5,38,41-43)</sup>. 또한 DNA合成중에 생기는 酵素作用을 障礙하고 血管에 作用하여 細動脈과 毛細血管의 纖維化를 일으키며, 이와 함께 結合組織의 變化, 酸化分解에 의한 多糖體의 破壞, 不飽和脂肪과 蛋白質의 酸化重合反應으로 생기는 代謝不活性物蓄積에 自由遊離基가 作用한다.<sup>24,38,44)</sup>

脂質過酸化反應은 生體膜의 不飽和脂肪酸으로부터 hydroperoxide, MDA가 生成되는 自動觸媒反應으로 生體의 酸化的 損傷에 대한 指標로 酸化劑 혹은 抗酸化劑들에 대한 相對的 潛在力 測定을 위해서 使用되어 진다<sup>43)</sup>. 酸化的 損傷의 指標로 使用되는 MDA 生成 抑制 活性에서 Lim 등<sup>46)</sup>은 AAPH를 投與하여 酸化的 損傷을 誘發시킨 후 尿酸(uric acid), ascorbic acid 그리고 GSH를 投與하여 脂質過酸化反應의 反應性物質의 含量을 測定한 結果에서 酸化的 損傷을 效果적으로 抑制되었다고 報告한 바 있다.

正常細胞속에는 酸素遊離基들을 分解하는 酵素들을 가지고 있는데 이들 酵素에는  $O_2$ 를 分解하는 SOD,  $H_2O_2$ 을 分解하는 catalase 등이 있으며 이 以外에도 體內에 存在하는 抗酸化劑 役割을 하는 物質로는 tocopherol, ascorbic acid 및 glutathione 등이 있어  $O_2$ ,  $H_2O_2$ , OH를 除去하

게 된다<sup>24,25,43,46,47)</sup>. 外部刺戟에 의해 細胞內에서 酸素遊離基들이 過量으로 發生하거나 有害酸素에 대한 防禦機轉들의 機能이 低下되게 되면 細胞는 損傷을 받게 되므로 細胞內의 이들 抗酸化劑의 濃度を 一定하게 維持하는 것이 重要하다<sup>38)</sup>.

나이를 먹어감에 감에 따라서 老化로 인한 여러 가지 身體의인 變化를 보게 되는데 이 중 腦神經系統에는 腦室의 擴大, 腦회전의 萎縮과 神經細胞數의 減少와 함께 나타나는 腦質量의 減少<sup>24,25)</sup>, 動脈內膜의 細胞增殖과 肥厚와 內膜下層과 內彈力膜의 纖維化와 退行性變成 등의 腦血管의 老化, lipofuscin 含量의 增加, Alzheimer型 原纖維變化, 老人斑, 顆粒空砲變成, 神經축삭의 萎縮, 細胞內봉입체의 形成 등의 沈着物의 形成을 나타내며<sup>24,44,50)</sup>, 腦의 重量은 年齡增加에 따라 점차 減少하여 60歲 以上에서는 平均 100g이 減少하며 腦의 病理的 老化現象이라 할 수 있는<sup>28)</sup> 老年痴呆의 경우는 다시 100g以上的 減少를 招來한다<sup>28,50)</sup>.

老齡人口가 增加하면서 65세 이상 2%, 85세 이상 人口의 50%를 차지하는 痴呆를 비롯한 老人性 疾患의 增加와 함께, 근래 抗酸化를 包含한 抗老化에 관한 研究가 多樣하게 進行되고 있다.

最近의 抗酸化作用에 대한 研究를 살펴보면, 백 등<sup>10)</sup>은 綠茶로부터 分離된 epicatechin 3-O-gallate의 抗酸化作用기전에 觀하여, 李 등<sup>11)</sup>은 浮萍草의 化學成分 및 抗酸化效果에 關한 研究를 하였다. 蘇<sup>12)</sup>는 鹿蔘地黃湯을, 禹 등<sup>13)</sup>은 血府逐瘀湯의 抗酸化作用에 關한 報告를 하였으며, 左歸飲과 右歸飲을 이용하여 鄭<sup>14)</sup>은 活性 酸素類의 消去作用과 抗酸化 酵素系의 活性增加 效果에 대한 研究를, 尹 등<sup>15)</sup>은 老化 rat의 肝 過酸化脂質 生成 및 活性酸素 生成系 酵素活性에 미치는 影響을, 尹 등<sup>16)</sup>은 老化 rat의 腦 過酸化脂質 生成 및 活性 酸素 生成系 酵素活性에 미치는 影響을 研究하였고 徐<sup>17)</sup>는 聰明湯이 老化白鼠 腦細胞의 生化學的 變化와 神經細胞의 損傷에 미치는 影響을, 金<sup>18)</sup>은 洗心湯, 金<sup>19)</sup>은 蔘茸地黃湯, 鄭<sup>20)</sup>은 溫膽湯, 徐<sup>21)</sup>는 環少丹으로 腦組織의 酸化作用에 미치는 影響을 연구하였으며, 孫<sup>22)</sup>은 七福飲이 腦組織의 生化學的 變化에 미치는 影響을, 宋<sup>23)</sup>은 老人癡呆의 治療에 關한 韓醫學的 研究를 한 바 있다.

韓醫學에서는 老化에 대하여 <素門·陰陽應象大論><sup>7)</sup>에 “年五十體重 耳目不總明의 年六十陰痿氣大衰 九竅不利…”로 老化에 따른 身體的 變化를 말하였고, <靈樞·天年篇><sup>8)</sup>에 “五十歲 肝氣始衰 肝葉始薄 目始不明 ……百歲 五臟皆虛 腎氣皆怯…”이라하여 年齡의 增加에 따른 五臟의 老化를 言及하였으며, <靈樞·營衛生會篇><sup>9)</sup>에 “老子之氣血衰 其肌肉故 氣道溢…”이라하여 老化가 氣血盛衰와 聯關있음을 示唆하고 있으나 具體的인 說明은 不足한 편이다.

이와 같이 抗酸化 作用에 관한 研究는 老化의 原因이 주로 腎虛라는 觀點에서 腎의 機能을 補完하는 藥物들을 爲主로 이루어졌으나, 腎陰陽虛로 인한 老人性 疾患에 活用될 수 있는 五子地黃飲子에 대한 研究는 接하지 못하였다.

五子地黃飲子是 劉完素가 著述한 <宣明方論><sup>1)</sup>에 記載된 地黃陰子(治中風, 舌瘻, 足癱, 腎虛, 氣闕不至舌下)<sup>5)</sup>에 益腎補肝하는 覆盆子<sup>2)</sup>, 滋肝益腎하는 枸杞子<sup>2)</sup>, 強陰益精하는 菟絲子<sup>2)</sup>, 清肺肝風熱하는 車前子<sup>2)</sup>를 加한 處方으로, 大田大學校 附屬韓方病院 痴呆科리닉에서 腎陰虛衰로 인한 老人性 痴呆나 中風後遺症에 活用하고 있는 處方<sup>3)</sup>이다.

五子地黃飲子を 構成하는 藥物에 對한 各各의 效能을 살펴보면 다음과 같다.

熟地黃은 滋腎水 補益眞陰 하고, 巴戟은 強陰益精 補助元陽 하며, 肉從容은 滋潤五臟 益髓強筋 하고, 山茱萸는 固精秘氣 補腎溫肝 하며, 石斛은 平胃氣 除虛熱 하고, 遠志는 強志益智 聰耳明目 하며, 五味子는 益氣生津 補虛明目 하고, 白茯苓은 開心益智 益腎強筋 하고, 麥門冬은 潤肺清心 瀉熱除煩 하며, 附子는 補命門相火 通行十二經 하고, 肉桂는 溫中平肝 益肺助陽 하며, 石菖蒲는 開心孔 利九竅<sup>5)</sup> 하고, 覆盆子는 益腎補肝 하며, 枸杞子는 滋肝益腎 하고, 菟絲子는 強陰益精 하며, 車前子는 清肺肝風熱<sup>2)</sup> 하는 效能이 있다. 그러므로 五子地黃飲子是 中風 舌瘻 腎陰虛衰<sup>2)</sup>의 症狀 등을 治療한다고 할 수 있다. 이에 著者는 五子地黃飲子の 效能을 實驗的으로 입증하고자 450±16g의 老化 白鼠를 正常群, 對照群, 實驗群(五子地黃飲子 投與 :938mg/kg)으로 나누고, 對照群은 蒸溜水를, 實驗群은 檢液을 10일간 投與하고, 對照群과 實驗群에 各各

scopolamine(1mg/kg)을 5日間 1日 1回 靜脈注射 後 血球細胞(WBC, RBC, Platelet)와 血清成分(creatinin, BUN, glucose, uric acid), 血清中 赤血球膜의 活性酸素에 대한 耐性, cholinesterase 活性度, 脂質過酸化度(TBA)를 測定하고, 腦組織에서의 catalase 活性度, SOD 活性度を 測定하였다.

Scopolamine은 cholinesterase의 役割을 妨害하는 muscarinic receptor antagonist로 生體에 投與되면 中樞神經을 抑制 痲痺시키고 部分 腦血流 소화기의 作用 記憶力과 學習能力, 視覺的, 選擇能力을 減少시키며 졸림, 疲勞感, 등을 일으키는 물질인데<sup>29-33)</sup>, scopolamine을 靜脈注射한 후 白血球數에 미치는 影響을 살펴본 結果 正常群은 14.4±1.18(10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>) 이었고, 對照群은 8.2±0.49(10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>)로 減少하였으나, 實驗群은 13.5±0.30(10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>)로, 對照群에 비하여 有意性(P<0.001)있는 增加를 나타내었다(Table 1).

Scopolamine을 靜脈注射한 후 赤血球數에 미치는 影響을 살펴본 結果 正常群은 8.43±0.07(10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>) 이었고, 對照群은 8.17±0.17(10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>)로, 實驗群은 8.40±0.11(10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>)으로 對照群에 비하여 增加하였으나 有意성이 없었다 (Table 2).

Scopolamine을 靜脈注射한 후 血小板數에 미치는 影響을 살펴본 結果 正常群은 774±12.1(10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup>)이었고, 對照群은 805±22.8(10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup>), 實驗群은 889±19.1(10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup>)로 對照群에 비하여 有意性(P<0.05)있는 增加를 나타내었다 (Table 3).

血清 BUN에 미치는 影響을 살펴본 結果 正常群은 20.1±1.12(mg/dL)이었고, 對照群은 28.1±2.37(mg/dL)로, 實驗群은 22.0±1.19(mg/dL)로 對照群에 비하여 有意性(P<0.05) 있는 減少를 나타내었다 (Table 4).

血清 creatinin에 미치는 影響을 살펴본 結果 正常群은 0.62±0.010(mg/dL)이었고, 對照群은 0.73±0.017(mg/dL), 實驗群은 0.64±0.003(mg/dL)으로 對照群에 비하여 有意性(P<0.001) 있는 減少를 나타내었다 (Table 5).

血清 glucose에 미치는 影響을 살펴본 結果 正常群은 74.5±3.25(mg/dL)이었고, 對照群은 100.1±2.57(mg/dL)로 上昇하였으나, 實驗群은 90.6±2.89(mg/dL)로 減少하여 對

照群에 비하여 有意性( $P < 0.05$ ) 있는 低下를 나타내었다 (Table 6).

血清 uric acid에 미치는 影響을 살펴본 結果 正常群은  $2.79 \pm 0.222$ (mg/dL)이었고, 對照群은  $3.29 \pm 0.126$ (mg/dL)로 增加하였으나, 實驗群은  $3.06 \pm 0.120$ (mg/dL)으로 對照群에 비하여 有意성이 없었다(Table 7).

五子地黃飲子の 血清成分에 미치는 影響에서 對照群의 BUN, creatinin, glucose,는 上昇하였으나 實驗群에서는 正常群과 비슷할 정도로 有意性있게 減少하여 五子地黃飲子は 生體의 血清成分을 正常範圍로 維持하여 抗老化 效果가 있을 것으로 思料된다.

赤血球膜의 活性酸素의 變化에 미치는 影響을 살펴본 結果 正常群은  $405 \pm 16.4$  %이었고, 對照群은  $448 \pm 8.2$  %로 增加하였으나, 實驗群은  $407 \pm 7.3$ %로 減少하여 對照群에 비하여 有意性( $P < 0.01$ ) 있는 抑制을 나타내었다 (Table 8).

血清에서의 cholinesterase 活性도에 미치는 影響을 살펴본 結果 正常群은  $17.5 \pm 0.77$ (unit/ml)이었고, 對照群은  $2.0 \pm 0.91$ (unit/ml)로 減少하였으나, 實驗群은  $9.4 \pm 2.75$ (unit/ml)로 對照群에 비하여 有意性( $P < 0.05$ ) 있는 增加를 나타내었다(Table 9).

Cholinesterase는 nerve synapse와 neuromuscular junction에서 acetylcholin을 포함한 cholin ester를 加水分解하여 神經 衝擊 傳達를 調節해 주는 物質로 老化와 함께 減少되는 傾向이 있다<sup>(29), (32, 34)</sup>. scopolamine<sup>(29-37, 48, 49)</sup>은 生體에 投與되면 cholinesterase와 拮抗하여 正常的인 神經 傳達物質을 遮斷하는 效果가 發生한다. 이 實驗에서 顯著的 減少를 보인 對照群에 比較하여 實驗群은 有意性 있는 變化를 보여줌으로 五子地黃飲子は cholinesterase의 活性을 增加시키는 效果가 있는 것으로 보인다.

血清에서의 脂質過酸化物 含量에 미치는 影響을 살펴본 結果 正常群은  $0.289 \pm 0.037$ (ug/ml)이었고, 對照群은  $0.341 \pm 0.012$ (ug/ml)로 增加하였으나, 實驗群은  $0.301 \pm 0.011$ (ug/ml)로 對照群에 비하여 有意性( $P < 0.05$ ) 있는 減少를 나타내었다(Table 10).

이는 赤血球膜의 活性酸素의 變化에 미치는 影響에 관한 實驗과 함께 五子地黃飲子 投與群에서 活性酸素의 發

生과 老化物質의 蓄積을 減少시키는 效果가 있음을 보여 준다.

腦組織內 catalase 活性에 미치는 影響을 살펴본 結果 正常群은  $207 \pm 42.4$ (unit/mg protein)이었고, 對照群은  $168 \pm 11.7$ (unit/mg protein)로 低下되었으나, 實驗群은  $197 \pm 10.1$ (unit/mg protein)으로 增加하여, 對照群에 비하여 有意性( $P < 0.05$ ) 있는 活性을 나타내었다(Table 11).

腦組織內 SOD 活性에 미치는 影響을 살펴본 結果 正常群은  $17.5 \pm 1.66$ (unit/mg protein)이었고, 對照群은  $13.4 \pm 1.01$ (unit/mg protein)로 減少하였으나, 實驗群은  $17.0 \pm 0.74$ (unit/mg protein)으로 增加하여 對照群에 비하여 有意性( $P < 0.01$ ) 있는 活性을 나타내었다(Table 12).

以上の 實驗을 結果로 보아, 五子地黃飲子 投與群은 血球成分에서 赤血球를 除外하고, 白血球와 血小板數에서 有意性 있는 變化를 보였고, 血清成分은 正常範圍를 維持시켜주는 效果가 있었고 赤血球膜과 血清에서 活性酸素의 發生을 抑制하고 老化物質의 蓄積을 막아주며 cholinesterase의 活性을 增加시키는 效果를 보여주었다. 腦組織에서의 catalase, SOD와 같은 抗酸化酵素는 正常群과 유사한 回復增加를 보였으며 SOD, catalase에서 有意성이 있었다. 그러므로 五子地黃飲子は 血清成分의 cholinesterase의 活性을 增加시키고 活性酸素의 生成과 老化物質의 蓄積을 막아 抗老化的 效果가 있는 것으로 判斷되나, 앞으로 더욱 많은 研究가 進行되어야 할 것으로 思料된다.

#### IV. 結 論

五子地黃飲子が 老化作用에 미치는 影響을 實驗적으로 立證하고자 對照群과 實驗群에 各各 scopolamine(1mg/kg)을 靜脈注射 後 血球細胞, 血清成分, 血清中 赤血球膜의 活性 酸素에 대한 耐性, 血清에서의 cholinesterase 活性度, 脂質過酸化度(TBA)를 測定하고, 腦組織에서의 catalase活性度, SOD 活性度を 測定하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 血液學的 變化를 測定한 結果 五子地黃飲子 投與群은 對照群에 비하여 白血球數, 血小板數에서 有意性 있는 增加를 나타내었다.

2. 血清成分 變化를 測定한 結果 五子地黃飲子 投與群은 對照群에 比하여 BUN, creatinin, glucose 數値에서 有意性 있는 減少를 보였다.

3. 赤血球膜의 活性 酸素의 變化에 미치는 影響은 五子地黃飲子 投與群이 對照群에 比하여 有意性 있는 抑制를 나타내었다.

4. 血清中 cholinesterase 活性度는 五子地黃飲子 投與群에서 對照群에 比하여 有意性 있는 活性을 나타내었다.

5. 血清에서의 malondialdehyde 含量은 五子地黃飲子 投與群이 對照群에 比하여 有意性 있는 감소를 나타내었다.

6. 腦組織內 catalase 活性度에 미치는 影響은 五子地黃飲子 投與群에서 對照群에 比하여 有意性 있는 活性을 나타내었다.

7. 腦組織內 SOD 活性度에 미치는 影響은 五子地黃飲子 投與群에서 對照群에 比하여 有意性 있는 活性을 나타내었다.

以上の 實驗 結果로 보아, 五子地黃飲子는 血清成分의 cholinesterase의 活性을 增加시키고 活性酸素의 生成과 老化物質의 蓄積을 막아 抗老化的 效果가 있는 것으로 判斷되나, 앞으로 더욱 많은 研究가 進行되어야 할 것으로 思料된다.

### 參 考 文 獻

1. 劉完素 : 宣明論方, <中國醫學大系> 圖書出版冊談 p. 745,750. 1990.
2. 李尙仁 : 本草學, 서울, 學林社, p.117,118,119,276. 1981.
3. 大田大學校 韓方病院 處方集: 大田大學校 韓方病院, 韓國 出版社, p120, 1992.
4. 大韓皮膚科學會刊行委員會 : 皮膚科學, 서울, 麗文閣, p.23, 1994.
5. 徐舜圭 : 成人病 老人病學, 서울, 고려의학, pp.10-13, 225-228, 1992.
6. 洪元植 : 黃帝內經解釋(靈樞) 衛氣失常篇 高文社 p.245-248. 1986.
7. 朴一洪 의 : 黃帝內經素問 陰陽應象大論 大成文化社 p.61-94. 1988.
8. 洪元植 : 黃帝內經解釋(靈樞) 天年篇 高文社 p. 233- 235. 1986.
9. 洪元植 : 黃帝內經解釋(靈樞) 營衛生會篇 高文社 p. 108-112. 1986.
10. 백봉숙 의 : 녹차로부터 분리된 Epicatechin 3-O-Gallate의 항산화작용 기전에 관한 연구,釜山大學校藥學研究誌, 29(2):49-56, 1995.
11. 이효은 의 : 浮萍草의 化學成分 및 抗酸化效果에 關한 研究, 釜山大學校藥學研究誌, 29(2):29-39, 1995.
12. 蘇敬順 의 : 鹿蔘地黃湯이 抗老화에 미치는 影響, 서울, 慶熙韓醫大論文集, 18(2):127-148, 1995.
13. 禹大潤 의 : 人工膜과 Rat의 肝細胞를 利用한 血府逐瘀湯의 抗酸化 作用에 關한 研究, 大韓韓醫學會誌, 17(1):465-477, 1996.
14. 鄭智天 : 左歸飲과 右歸飲에 依한 活性 酸素類의 消去 作用과 抗酸化 酵素系의 活性 增加 效果에 對한 研究, 大韓韓醫學會誌, 17(1):21-36, 1996.
15. 尹哲浩 의 : 左歸飲과 右歸飲이 老化 Rat의 肝 過酸化 脂質 生成 및 活性酸素 生成系 酵素 活性에 미치는 影響, 大韓韓方內科學會誌, 16(1):62-79, 1995.
16. 尹哲浩 의 : 左歸飲과 右歸飲이 老化 Rat의 腦 過酸化 脂質 生成 및 活性酸素 生成系 酵素 活性에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌, 16(2):348-364, 1995.
17. 徐敏華 : 聰明湯이 老化白鼠 腦組織의 生化學的 變化와 神經細胞의 損傷에 미치는 影響, 圓光大學校大學院, 1996.
18. 金聖鉉 : 洗心湯이 腦組織의 酸化作用에 미치는 影響, 大田大學校 大學院. 1988.
19. 金保岡 : 參朮地黃湯이 腦組織의 酸化作用에 미치는 影響, 大田大學校 大學院.1988.
20. 鄭仁哲 : 溫膽湯이 腦組織의 酸化作用에 미치는 影響,

- 大田大學校 大學院. 1988.
21. 徐元熙 : 還少丹이 腦組織의 酸化作用에 미치는 影響, 大田大學校 大學院. 1988.
22. 손정석 : 七福飲이 老化 白鼠 腦組織의 生化學的 變化에 미치는 影響, 東醫神經精神科學會誌, 8(2):25-33, 1997.
23. 宋美令 : 老人痴呆의 治療에 關한 韓醫學의 研究, 大田, 大田大學校 韓醫學研究所 論文集 6(1): 37-76, 1997.
24. 리정복 : 장수학, 평양, 과학백과사전출판사, p.41, pp. 64-68, p.89, 1987.
25. 이귀녕·이중순 : 임상병리과일, 서울, 醫學文化社, pp.138-139, 241-242, 1990.
26. 李定均 : 精神醫學, 서울, 一潮閣, pp.465-468, 514-518, p.597, 1996.
27. Niki, E., Komuro, E., Takahashi, M., Urano, S., Ito, E. and Terao, K.,(1988) : Oxidative hemolysis of erythrocytes and its inhibition by free radical scavengers. *J. Biol. Chem.* 263, 19809-19814.
28. 黃義完·金知赫 : 東醫精神醫學, 서울, 現代醫學書籍社, pp.255-269, 1992.
29. 홍사석 : 이우주의 약리학강의, 서울, 선일문화사, p. 83, 154, 237, 257, 640, 1987.
30. Saponjic, R. M., K. Mueller, D. Krug, and P. M. Kunko. 1994. The effects of haloperidol, scopolamine, and MK-801 on amphetamine-induced increases in ascorbic and uric acid as determined by voltammetry in vivo. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 48: 161-168.
31. Brambilla, A., A. Ghiorzi, N. Pitsicas, and F. Borsini. 1993. DAU 6215, a novel 5-HT sub(3)-receptor antagonist, selectively antagonizes scopolamine-induced deficit in a passive-avoidance task, but not scopolamine-induced hypermotility in rats. *Pharm. Pharmacol.* 45: 841-843.
32. Meltzer, H. Y., B. L. Chai, P. A. Thompson, and B. K. Yamamoto. 1994. Effect of scopolamine on the efflux of dopamine and its metabolites after clozapine, haloperidol or thioridazine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 268: 1452-1461.
33. Lines, C. R., J. H. Ambrose, A. Heald, and M. Traub. 1993. A double-blind, placebo-controlled study of the effects of eptasigmine on scopolamine-induced cognitive deficits in healthy male subjects. *Hum. Psychopharmacol. Clin. Exp.* 8: 271-278.
34. Dennes, R. P., J. C. Barnes. 1993. Attenuation of scopolamine-induced spatial memory deficits in the rat by cholinomimetic and non-cholinomimetic drugs using a novel task in the 12-arm radial maze. *Psychopharmacology.* 111: 435-441.
35. Lukaszewska, I. Scopolamine impairs object exploration but not habituation in rats. 1993. *Acta Neurobiol. Exp.* 53: 243-250.
36. Velazquez-Moctezuma, J., A. Aguilar-Garcia, and O. Diaz-Ruiz. 1993. Behavioral effects of neonatal treatment with clomipramine, scopolamine, and idazoxan in male rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 46: 215-217.
37. Ons, S., K. Kitamura, M. Maekawa, K. Hirata, M. Ano, W. Ukai, T. Yamafuji, and H. Narita. 1993. Protective effects of R(-)-1-(benzo[b]thiophen-5-yl) 2-[2-(N, N-diethylamino)ethoxy]-ethanol hydrochloride(T-588), a novel cerebral activator, against experimental cerebral anoxia. *Jap. Pharmacol.* 62: 81-86.
38. 김숙희·김화영 : 老化, 서울, 민음사, pp.77-85, 1991.
39. 김주섭 : 노화촉진 생쥐의 각종장기에서 산화성 변성과 산소라디칼 제거효소계의 활성화에 관한 연구, 서울대학교 대학원 의학박사학위논문, 1991.
40. 양재수 : 노화촉진 생쥐에서 산소라디칼 관련물질의 검출에 관한 연구, 서울대학교 대학원 의학박사학위논문, 1986.
41. Benedetti, A., Comporti, M. and Esterbauer, M. : *Biochim. Biophys. Acta.*, 620:281, 1980.
42. Kunimoto, M., Inoue, K. and Nojima, S. : *Biochim. biophys. Acta.*, 646:169, 1981.

43. Naldler, S.G. and Strobel, H.W. : Role of electrostatic interaction in the reaction of NADPH-cytochrome P-450 reductase with cytochrome P-450. Arch. Biochem. Biophys., 261:418-429, 1988.
44. 이길상 : 世界長壽村探訪, 서울, 大光文化社, pp.199-203, 1978.
45. Barry, h : Oxidants and human disease ; Some new concept. FASEB.J., 1:358-364, 1987.
46. Lim, H. B., Lee, D. W and Cho, S.H. : Effect of AAPH on plasma antioxidants in rat. Kor. J. Gerontol., 2:68-74, 1993.
47. Reiter RJ : Oxidative processes and antioxidative defense mechanisms in the aging brain. FASEB. j., 9:526-533, 1995.
48. Chakraborti, T. K., J. D. Farrar, and C. N. Pope. 1993. Comparative neurochemical and neurobehavioral effects of repeated chlorpyrifos exposures in young and adults rats. Pharmacol. Biochem. Behav. 46: 219-224.
49. Dawson, G. R., S. D. Inversen. 1993. The effects of novel cholinesterase inhibitors and selective muscarinic receptor agonists in tests of reference and working memory. Behav. Brain Res. 57: 143-153.
50. 이충달 : 그림으로 설명한 병리학, 서울, 고려의학, p.752-753, 1991.
51. 黃道淵 : 證脈 方藥合編 南山堂 pp.121,126-130,175-201,212-241. 1989.
52. Bansal, S.K., Love, J. and Gurtoo, H.L. : High pressure liquid chromatographic separation of multiple form of cytochrome P-450. Biochem. Biophys. Res. Commun., 117:268-274, 1983.
53. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R. J. : Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193:265-275, 1951.
54. McCord, J.R., Colby, M.D. and Fridovich, I. : Superoxide dismutase, Enzymatic function for erythrocyte (hemocypreïn). J. Biol. Chem., 231:6049-6055. 55. Suematsu, T., Kamda, T., Abe, H., Kikuchi, S. and Yagi, K.(1977) : Serum lipoperoxide levels in patients suffering from liver disease. Clin. Chem. Acta. 79, 267-770.
56. Aebi, H. : Catalase erythrocytaire in ; Exposes Annuels de Biochimie Medicale, 29ieme serie. Masson & Cie(eds), Paris, pp.139-164, 1969.
57. Daniel, W.W. : Biostatistics ; A foundation for analysis in the health science, third edition. pp.136-146, 1983

=Abstract=

The Antioxidant Effects of  
Ojajiwchangeumja on the Serum &  
Brain Tissues of Rats  
- including the Effects of Ojajiwchangeumja on the  
Variation of the Blood of Rat

Kyung-Suk Suh  
Sang-Ryong Lee

Dept. of Oriental Neuropsychiatry, College of Oriental  
Medicine, Tae Jon University, Taejon, Korea

This experiment was done to investigate the effects of Ojajiwchangeumja(OJWEJ) to the symptoms of senility. To prove the effects of OJWEJ we injected scopolamine (1mg/kg) to the vein of rats. And we measured the blood cells(WBC, RBC, Platelet), constituents of serum(BUN, creatinin, glucose, uric acid), endurance of films of the red blood cell to erythrocyte hemolises, the activity of cholinesterase in serum, TBA and the activity of catalase, SOD in the purified microsome of brain tissue of rats.

The results were as follows;

1. The number of white blood cells, platelet was increased significantly in the group treated by OJWEJ

in comparison with control group.

2. The number of BUN, creatinin, glucose of serum decreased significantly in the OJWEJ treated group compared with control group.

3. The erythrocyte hemolises in red blood cells restrained significantly in the group treated by OJWEJ in comparison with control group.

4. The activity of cholinesterase in OJWEJ treated group increased significantly compared with control group.

5. The amounts of malondialdehyde of serum decreased significantly in the OJWEJ treated group in comparison

with control group.

6. The catalase in the microsome of rat brain was activated significantly in the group treated by OJWEJ compared with control group.

7. The superoxide dismutase in the group treated by OJWEJ activated significantly in comparison with control group.

According to this experiment it is suggested that OJWEJ accelerates the activity of colinesterase and restrains the creation of erythrocyte hemolises and accumulation of senile substance. But I look forward to see the further research to be made.