

육미지황탕가미방이 노화된 Senescence Accelerated Mouse (SAM) P8의 간에 미치는 영향

김정상*, 신영일, 김희철, 박민희, 나창수
동신대학교 한의과대학 한의학과

Effects of Yukmijihwangtang, Herbal Formula, on the Liver of Aged Senescence Accelerated Mouse (SAM) P8

Jeong-Sang Kim*, Yeong-II Sheen, Hee-Chul Kim,
Min-Hee Park and Chang-Su Na
College of Oriental Medicine, Dongshin University, Naju, Korea
(Received August 28, 2000)

ABSTRACT

The aim of this study was to discover whether Yukmijihwangtang which was added *Plygalae Radix*, *Acori graminei Rhizoma*, has antioxidant effects on aged senescence-accelerated mouse (SAM) P8. The control group used 12 months old SAM P8 and the experimental group was treated with Yukmijihwangtang extracts from 8 to 12 months old.

In the liver, the MnSOD of the control group were approximately 11% higher than that of the experimental group treated with herbal extracts, but CuZnSOD activities of the experimental group were approximately 20% higher than that of the control group. The catalase activities of the experimental group was approximately 67% higher than that of the control group.

The hepatocytes, in the control group compared with the experimental group, contained the dilated cisternae of rough endoplasmic reticulum and the abnormal mitochondria which had electron-dense matrix and indistinguishable cristae. The inner cavity of the smooth endoplasmic reticulum were slightly dilated, and a number of vacuoles and transitional vesicles occurred in of the hepatocytes of the control group.

These results suggest that the herbal extract has an antioxidant effects on the liver of SAM P8.

Key words : Catalase, Hepatocytes, Senescence accelerated mouse (SAM), Superoxide dismutase (SOD), Yukmijihwangtang

본 연구는 보건복지부 한방치료기술연구개발사업의 지원(HMP-99-O-11-0010-B)에 의하여 이루어진 것임.

* Correspondenc and reprint request should be addressed to Dr. Jeong-Sang Kim, Department of Anatomy, College of Oriental Medicine, Dongshin University, Naju, 520-714 Korea. Ph.: 061-330-3512, FAX: 061-330-2900, E-mail: jskim@red.dongshinu.ac.kr

Copyright © 2000 Korean Society of Electron Microscopy

서 론

산소라디칼은 세포내 거대분자나 세포소기관을 손상시킨다. 이러한 독성은 결과적으로 생체 세포의 유전자 손상을 가져온다(Collins, 1999). 따라서 돌연변이(Storz et al., 1987)나 잠재적으로 종양형성(Holzinger et al., 1999)의 원인이 되며 세포를 노화과정으로 이끌어 간다(Ashok & Ali, 1999). 그러나 항산화제는 이러한 손상을 최소화하거나 억제할 수 있을 것이다. 항산화제로서의 작용은 superoxide dismutase (SOD) (McCord & Fridovich, 1969), catalase (Claiborne & Fridovich, 1979)와 같은 효소뿐만 아니라 glutathione (Bast & Haenen, 1984), ascorbic acid (Frei & Ames, 1989), tocopherol (Aruoma et al., 1990)같이 분자량이 작은 물질들이 작용한다.

생물체에서 천연물 항산화제는 산화제의 환원을 촉매 하거나(Stocker & Frei, 1991), 산소 라디칼의 형성을 억제한다(Grootveld & Halliwell, 1987). 그러므로 천연물 항산화제로서 한약에 대한 관심이 고조되고 있는데 그 중에서 육미지황탕은 간과 신장의 생체활성을 위한 한약제로 사용되어 왔다. 뿐만 아니라 단미제로서 원지와 석창포 또한 생체활성 물질로써 쓰인다.

六味地黃湯은 張仲景(1987)의 『金匱要略』에 “虛勞腰痛, 少腹拘急, 小便不利者, 八味腎氣丸主之”라 설명되어 있으나 宋代 錢乙(1985)의 『小兒藥證直訣』에 이르러 地黃圓으로 처음 수록되면서 “腎怯失音, 開不合, 目中白睛多 등을 치료한다.”하였기 때문에 역대 醫家들은 眩暈, 健忘, 失眠, 記憶力減退 등을 비롯한 不寐, 耳鳴耳聾, 腰膝痿軟, 盜汗遺精, 骨蒸潮熱, 消渴病症에 활용하여 왔다.

六味地黃湯에 대한 연구로서 安 등(1999)은 六味地黃湯과 君藥인 숙지황의 항산화효과에 대하여, 李(1997)는 腦組織의 過酸化脂質 감소와 free radical의 생성억제에 대하여, 尹(1998)은 過酸化脂質 含量 및 superoxide 生成能에 미치는 영향에 대하여 소수 보고되어 있다.

본 연구에서는 육미지황탕에 원지와 석창포를 가미한 六味地黃湯加味方을 노화된 노화촉진생쥐(senes-

cence-accelerated mouse, SAM)에 4개월간 투여한 후 간조직의 SOD와 catalase의 활성도 및 세포소기관의 미세구조적인 특징을 통하여 항산화효능을 구명하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험동물

실험동물은 한국화학연구소로부터 3개월령의 암컷 SAM P8(노화촉진 생쥐: 수명 14개월)를 구입하여 동신대학교 한의과대학 동물사육실(23±1°C, 60±10% 습도)에서 12개월령까지 사육하였다.

2. 재료 및 방법

실험에 사용한 약제는 동신대학교 부속 한방병원에서 구입하여 사용하였다. 六味地黃湯 및 그 加味方の 구성약물은 方藥合編(申, 1988)에 준하였으며, 그 분량 및 생약명은 다음과 같다.

方劑名	構成藥物	生藥名	分量(g)
六味地黃湯	熟地黃	Rehmanniae Radix Preparat	15.000
	山藥	Dioscoreae Rhizoma	7.500
	山茱萸	Corni Fructus	7.500
	白朮	Poria	5.625
	牡丹皮	Moutan Cortex	5.625
	澤瀉	Alismatis Rhizoma	5.625
加味方	遠志	Plygalae Radix	3.750
	石菖蒲	Acori graminei Rhizoma	3.750
總分量			54.375

3. 약물추출, 투여 및 실험군 분류

육미지황탕에 원지와 석창포를 가미한 1첩의 한약재를 증류수 1,000 ml과 함께 약탕기에 넣고 3시간 동안 전탕하였다. 전탕액만을 취하여 고속원심분리기(Centricon T-42K, Kontron)로 원심분리(5,000 rpm)하여 침전물을 여별한 후 rotatory evaporator (Buchi, Netheland)를 사용하여 240 ml로 농축하였다. 대조군은 약물을 처치하지 않은 12개월령 SAM P8을 사용

하였고, 실험군은 육미지황탕가미방 추출액을 매일 0.4 ml/kg씩 8개월령부터 12개월령에 이르기 까지 4개월간 자연식이 토록 하였다.

4. SOD 추출 및 활성도분석

12개월령의 SAM P8을 경추 탈골하여 도살시킨 후 간조직 만을 신속히 분리하였다. 채취된 간조직을 증류수로 3회 세척한 후 0.1 mM EDTA와 50 mM phosphate buffer (pH 7.8)를 채취한 조직의 4배 첨가하여 세척한 다음 균질액을 얻기 위하여 homogenizer (IKA, ultra-turrax 25)를 이용하여 4°C에서 균질화하였다. 이 균질액으로부터 핵 분획을 제거하기 위하여 4°C를 유지하면서 2,000×g로 5분 동안 원심분리하였다. 다시 4°C를 유지하면서 22,000×g로 30분간 원심분리하여 세포질 분획과 미토콘드리아 분획으로 분리하였다. 분리된 분획중 상층액만을 조심스럽게 제거 한 후 16,000×g에서 10분 동안 원심분리하여 CuZnSOD를 얻었으며, 이 조효소액을 단백질 분석에 이용하였다. 미토콘드리아에 분포하는 MnSOD를 얻기 위해 전단계에서의 pellet에 50 mM phosphate buffer (pH 7.8), 0.25 M sucrose, 0.1 mM EDTA 용액 1 ml를 첨가하여 부유시킨 다음 4°C에서 22,000×g로 30분간 원심분리하여 상층액만을 분리한 후 다시 80,000×g로 30분간 원심분리하여 MnSOD를 얻었다. 단백질의 정량은 Bio-Rad assay를 이용하였으며, -70°C의 deep freezer에 보관하면서 실험에 사용하였다.

분리된 단백질에서 SOD의 활성도를 측정하기 위해 정량한 단백질 100 µg/µl를 non-denaturing polyacrylamide gel electrophoresis를 이용하여 4°C의 저온실에서 150 V로 전기영동하였다. Gel을 0.05 M KH₂PO₄ (pH 7.8), 1 × 10⁻⁴M EDTA, 0.028 M TEMED, 2.8 × 10⁻⁵ M riboflavin 용액에서 15분 동안 2차 염색한 후 15 W 형광램프 하에서 단백질 band를 확인하였으며, 그 결과는 densitometer (Image Master VDS, Pharmacia)를 이용하여 분석하였다.

5. Catalase 추출 및 활성도 분석

SAM P8의 간으로부터 catalase를 분리하기 위하여 먼저 제거한 간 조직에 6배의 0.25 M sucrose와 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.4) 용액을 첨가하여

균질화하였다. 이 균질액을 4°C를 유지하면서 1,000×g로 10분간 원심분리한 후 상층액을 제거하였고 이를 다시 20,000×g에서 20분간 원심분리하여 상층액만을 분리하였다. 단백질의 정량을 위해서는 Bio-Rad assay를 실시하였으며, 시료는 -70°C deep freezer에 보관하면서 사용하였다.

Non-denaturing PAGE를 이용해 50 µg/µl의 단백질을 loading하여 전기영동하였으며, catalase의 활성도를 측정하기 위하여 50 mM potassium phosphate (pH 7.0), 2 mM EDTA, 40 mg/100 ml NBT의 혼합 용액에 상기된 동일한 조건으로 30분 동안 교반하면서 1차 염색을 하였다. 1차 염색액을 제거한 후 다시 50 mM potassium phosphate (pH 7.0), 2 mM EDTA, 50 µl H₂O₂, 180 mg ascorbic acid의 혼합 용액에서 catalase 염색이 완료될 때까지 gel을 담궈 두었으며, 그 결과를 densitometer (Image Master VDS, Pharmacia)로 분석하였다.

6. 전자현미경 관찰

간조직의 전자현미경 관찰을 위하여 pentobarbital를 과량 투여하여 치사시킨 후 phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4)을 관류한 다음 4% paraformaldehyde (in PBS)를 투여하여 고정하였다. 전자현미경 시료를 위하여 추출된 조직을 ringer씨 용액 (pH 7.4)속에서 적출한 후 2.5% paraformaldehyde, 2.5% glutaraldehyde (4°C, Sorensen씨 phosphate 완충액, pH 7.4)로 1시간 동안 고정시킨 후 Sorensen씨 phosphate 완충액으로 10분 간격 3회 세척하여 1% OsO₄ (4°C Sorensen씨 phosphate 완충액, pH 7.4)로 2시간 동안 후 고정한 다음 동일한 완충액으로 3회 세척하였다. 세척후 시료들을 에탄올 상승농도순으로 탈수하여 propylene oxide로 치환한 후 Epon-Araldite 혼합액에 포매한 다음 60°C vacuum drying oven에서 36시간동안 중합반응 시켰다. 초박절편기 (LKB)로 먼저 semi-thin section하여 1% toluidine blue로 hot plate (60°C)에서 염색한 후 광학현미경으로 관찰하여 조직을 확인한 다음 초박절편을 제작하여 copper grid에 부착시켜 uranyl acetate와 lead citrate에서 각각 10분간 이중염색을 하였다. 염색된 표본은 JEM 100CX-II 투과형 전자현미경 (80 KV)으로 관찰하였다.

결 과

1. SOD와 catalase의 활성

SOD와 catalase 활성도 조사는 간조직에서 실시하

였다. 간조직에서 MnSOD의 활성도는 노화된 12개월령의 대조군 SAM P8이 육미지황탕가미방을 4개월간 식이시킨 12개월령의 실험군 SAM P8보다 약 11% 정도 높게 나타났으나, CuZnSOD의 활성도는 실험군이 대조군보다 약 20% 정도 높게 나타났다(Figs. 1a

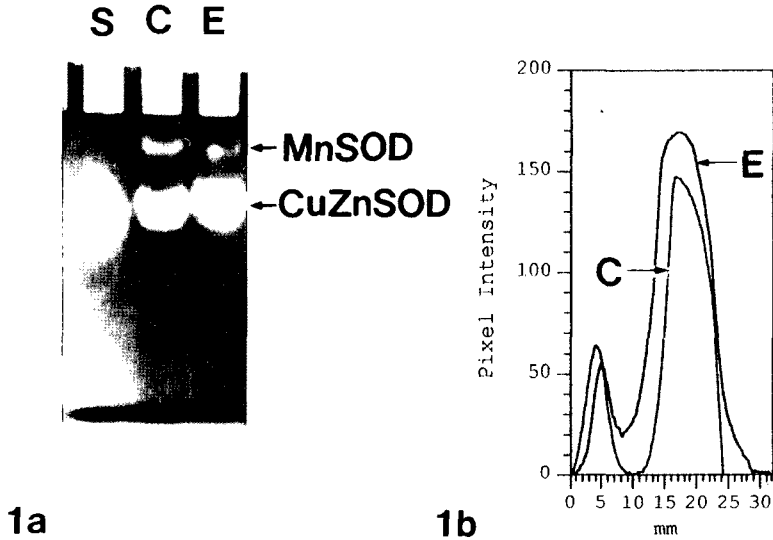


Fig. 1. The SOD activity (1a) and pixel intensity (1b) assayed in the liver of SAM P8 on non-denaturing polyacrylamide gel. Each lane received 100 µg total protein. S, bovine CuZnSOD was used as a standard (Sigma); C, control group; E, experimental group treated with Yukmijihwangtang from 8 to 12 months old.

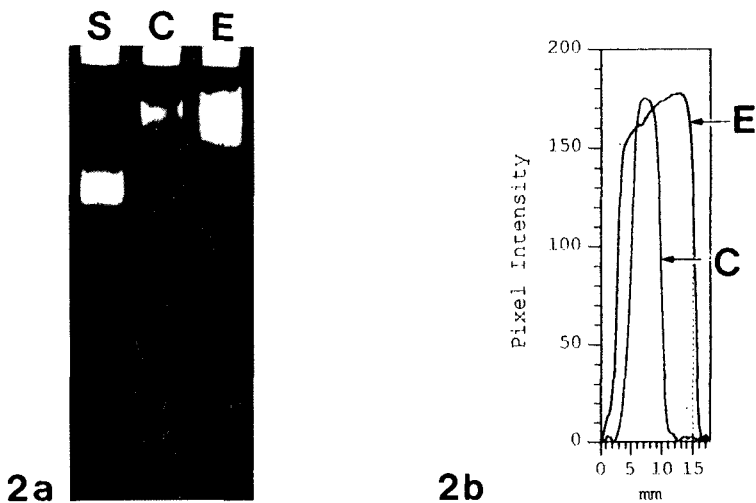


Fig. 2. The catalase activity (2a) and pixel intensity (2b) assayed in the liver of SAM P8 on non-denaturing polyacrylamide gel. Each lane received 50 µg total protein. S, standard from bovine liver (Sigma); C, control group; E, experimental group treated with Yukmijihwangtang from 8 to 12 months old.

Table 1. Influence of Yukmijihwangtang to the SOD & Catalase activities on Liver of SAM P8.

	SOD		Catalase
	CuZnSOD	MnSOD	
control group	52,188	337,889	134.729
experimental group	47,026	405,641	225.313

* Numerals indicate pixel intensity

& 1b, Table 1). Catalase 활성도 역시 동일한 간조직에서 실시하였는데, 원지와 석창포를 가미한 육미지황탕가미방을 식이시킨 실험군이 약물을 식이하지 않은 대조군과 비하여 약 67% 높게 나타났다(Figs. 2a & 2b, Table 1).

2. 전자현미경 관찰

대조군인 노화된 12개월령 SAM P/8의 간세포(대조군)는 핵막이 둥글고 핵소체가 발달되어 있었으나, 실험군에 비하여 이질염색질들이 발달해 있었다. 과립형질내세망은 내강이 다소 팽대되어 있었으며 골지체가 발달해 있었다. 사립체는 형태가 다양하고 기질의 전자밀도가 실험군에 비하여 높을 뿐만 아니라 사립체능선이 뚜렷하지 않았다. 세포질 전반에 걸쳐 무과립형질내세망이 발달해 있었으며 내강은 다소 팽대해 있었다(Fig. 3). 대조군 간세포를 고배율로 관찰한 결과 일부의 사립체 막은 단일막이었으며, 사립체 내강에서 작은 액포가 관찰되기도 하였다. 간세포의 세포질에서는 크고 작은 액포와 전이소낭들이 다수 관찰되었다(Fig. 4).

실험군 간세포의 핵은 핵막이 매우 둥글고 핵질이 고루게 발달해 있을 뿐만 아니라 핵소체가 발달해 있었다. 과립형질내세망은 대조군에서 처럼 불규칙하게 관찰되었으나 내강의 팽대현상은 나타나지 않았다. 무과립형질내세망은 대조군에 비하여 발달이 미약하였으며, 내강의 팽대현상도 관찰되지 않았다. 다수의 사립체들이 핵주변 세포질에서 관찰되는데 대조군에 비하여 기질의 전자밀도는 낮게 나타났으며, 사립체 능선의 형태도 뚜렷하였다. 과산화소체들과 커다란 지방방울들은 대조군에 비하여 다수 존재하였다(Figs. 5 & 6).

고 찰

본 연구자는 앞 연구(Kim et al., 2000)에서 paraquat (PQ)로 유발된 SAM에 6 일 동안 한약재인 육미지황탕 추출액을 투여한 결과 SOD와 catalase의 활성이 증가되었으며, 또한 이 한약제는 PQ로 유발된 간조직의 malondialdehyde(MDA) 수준에 효과적으로 방어하였음을 보고한 바 있다.

세포내에서 항산화효소와 동일한 효능을 나타내는 항산화제의 기작(Halliwell & Gutteridge, 1986)이 활발히 연구되면서, SOD, catalase, glutathione peroxidase 외에도 철에 결합시킨 lactoferrin(Halliwell et al., 1985; Aruoma & Halliwell, 1987), albumin과 urate(Halliwell & Gutteridge, 1986)의 항산화효능에 대해서도 보고된 바 있다.

Rao et al.(1990)은 항산화효소의 발현과 노화의 관계를 규명하기 위하여 흰쥐의 뇌, 간, 신장, 소장 등의 장기를 조사해 본 결과 모든 조직에서 SOD는 노화에 따라 감소되며, catalase는 뇌와 간 그리고 신장에서, glutathione peroxidase는 신장과 소장의 점막에서 감소되었음을 밝혔다. 또한, 이들 항산화효소들은 일반적으로 노화에 따라 mRNA의 상대적인 수준이 감소되었다고 하였다. Nomura et al.(1989)은 11개월에서 12개월된 SAM P8의 간과 뇌에서 MDA와 monoamine oxidase B의 함량을 비교한 결과 SAM-R1보다 높게 나타났다고 하였으며, 특히 간에서는 막제와 세포질 분획에서 단백질 함량이 낮았고, SOD의 활성 또한 낮게 나타났다고 하였다. Zhao et al.(1990)은 SAM P8에서 SOD의 활성과 MDA 농도, 그리고 monoamine oxidase B 활성을 간과 뇌 그리고 신장에서 측정된 결과 SAM R1에 비하여 신장에서는 CuZnSOD의 활성이 간에서는 monoamine oxidase B 활성이 유의성있게 낮았다고 하였다. 그러나, Liu & Mori(1993)는 항산화제가 SAM의 변화를 방어하는지를 밝히기 위하여 간과 뇌조직에서 SOD의 활성과 thiobaburic acid(TBA) 반응성, 그리고 환원된 glutathione 수준을 연구한 결과 노화축진생쥐는 나이에 따라 간과 뇌조직에서 SOD의 활성과 TBA의 반응성이 증가하였으며, 환원된 glutathione의 수준은 나이에 따라 감소하

였다고 하였다. 또한 Brown-Borg & Rakoczy (2000)에 의하면 노화된 dwarf 쥐와 수명이 짧은 유전자변이 생쥐의 간에서 SOD 활성은 노화된 보통 쥐에 비하여 유의성있게 증가하였다고 하였다.

본 연구 결과 간조직에서 MnSOD의 활성도는 노화된 12개월령의 대조군 SAM P8이 육미지황탕가미방을 4개월간 식이시킨 12개월령의 실험군 SAM P8보다 약 11% 정도 높게 나타났으며, CuZnSOD의 활성도는 실험군이 대조군보다 약 20% 정도 높게 나타났다. Catalase 활성도는 육미지황탕가미방을 식이시킨 실험군이 약물을 식이지 않은 대조군과 비하여 약 67% 높게 나타났다.

흰쥐에 신장 ischemia를 유도한 다음 SOD를 처치했을 때 ischemia로 인한 조직의 회복 뿐만 아니라 생존율이 효과적으로 증진되었으며 (Baker et al., 1985), SAM에 liposomal-encapsulated SOD (L-SOD)를 주입한 결과, 염증과 PQ 독성에 매우 효과적이었다 (Niwa, 1992)고 보고한 바 있다. 한편, SAM에 소장암을 유발시킨 후 유리 germanium-132 (Ge-132)를 주입한 결과 상당한 치료 효과가 있었을 뿐만 아니라 (Zhao et al., 1990), 초파리에 SOD와 catalase를 각각 처리한 경우 보다는 이들 두 효소를 동시에 투여시 생존률 증가를 보인 것 (Orr and Sohal, 1994)은 이들 효소들의 상호 균형적인 발현이 중요함을 제시하고 있다. Yang & Kim (1999)은 노화촉진생쥐에 PQ를 투여하여 간의 산화손상을 유발시킨 후 Ge-32의 효과를 연구한 결과, SAM P8과 SAM R1 생쥐의 간에서 DNA가닥의 손상과 MDA의 수준이 증가하였다고 하였는데, 이와 같은 결과는 Ge-132 투여가 PQ로 유발된 간의 DNA 손상과 MDA수준에 효과적으로 방어한 결과를 보여준 것이라고 하였다.

Yang & Kim (1999)은 Ge-132는 PQ로 유발된 SAM P8의 간세포에서 사립체 손상의 회복에 효과적이었다고 하였다. 본 연구자 또한 앞 연구 (Kim et al., 2000)에서, SAM P8에 PQ로 간 조직의 손상을 유발시킨 후 육미지황탕을 투여하여 간조직의 병리조직학적 변화를 전자현미경으로 관찰한 결과, PQ로 손상된 간세포의 사립체를 비롯한 세포소기관의 회복에 효능이 있었음을 보고한 바 있다.

본 연구 결과, 대조군 12개월령 SAM P8의 간세포

는 과립형질내세망의 내강이 다소 팽대되어 있었다. 사립체의 형태는 다양하고 기질의 전자밀도는 실험군에 비하여 높을 뿐만 아니라 사립체능선이 뚜렷이 구분되지 않았다. 일부의 사립체 막은 단일막으로 나타나며 사립체 내강에서 작은 액포가 관찰되기도 하였다. 그러나, 실험군 간세포의 핵은 대조군에 비하여 핵막이 매우 두껍고 핵질이 고루게 발달해 있을뿐만 아니라 핵소체가 발달해 있었다. 과립형질내세망은 대조군에서 처럼 불규칙하게 관찰되었으나 내강의 팽대현상은 나타나지 않았으며, 무과립형질내세망 또한 대조군에 비하여 미약하게 발달해 있었으나 내강의 팽대현상도 관찰되지 않았다. 다수의 사립체들이 핵주변 세포질에서 관찰되는데 대조군에 비하여 그들의 전자밀도는 낮게 나타났으며, 사립체 능선의 형태도 뚜렷이 구분되었다. 이와 같은 미세구조적인 변화 결과는 SAM P8의 12개월령 간에서 MnSOD의 활성은 대조군이 CuZnSOD 활성은 실험군이 각각 11%와 20% 높게 나타났지만, catalase의 활성은 실험군이 대조군보다 67% 높게 나타난 것과 밀접한 관계가 있을 것으로 보이며, 육미지황탕가미방이 세포노화에 대한 항산화제로써 효능이 있음을 시사하고 있다고 사료된다.

이와 같은 결과로 보아, 육미지황탕에 원지와 석창포를 가미한 육미지황탕가미방을 노화된 SAM에 투여한 결과 항산화제로서 효능이 있음을 확인 할 수 있었으나, 주요 항산화 작용을 하는 약물의 성분분석이나 다양한 실험방법에 의한 계속적인 연구가 필요 하리라 사료된다.

참 고 문 헌

- Aruoma, OI, Halliwell B: Superoxide-dependent and ascorbate-dependent formation of hydroxyl radicals from hydrogen peroxide in the presence of iron: are lactoferrin and transferrin promoters of hydroxyl-radical generation? *Biochem J* 241 : 273-278, 1987.
- Ashok BT, Ali R: The aging paradox: free radical theory of aging. *Exp Gerontol* 34 : 293-303, 1999.
- Bast A, Haenen GRMM: Cytochrome P-450 and glutathione: what is the significance of their interrelationship in lipid peroxidation? *Trends Biochem Sci* 9 : 510-513, 1984.

- Brown-Borg HM, Rakoczy SG: Catalase expression in delayed and premature aging mouse models. *Exp Gerontol* 35(2):199-212, 2000.
- Claiborne A, Fridovich I: Purification of the orthodiansidine peroxidase from *Escherichia coli*. *J Biol Chem* 254: 4245-4252, 1979.
- Collins AR: Oxidative DNA damage, antioxidants and cancer. *Bioessays* 21: 238-246, 1999.
- Frei BL, Ames BN: Ascorbate is an outstanding antioxidant in human blood plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 6377-6381, 1989.
- Grootveld M, Halliwell B: Measurement of allantoin and uric acid in human body fluids. A potential index of free-radical reactions in vivo? *Biochem J* 243: 803-808, 1987.
- Halliwell B, Gutteridge JMC: Lipid peroxidation, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J* 19: 1-14, 1986.
- Halliwell B, Gutteridge JMC, Black D: Metal Ions and Oxygen Radical Reactions in Human Inflammatory Joint Disease. *Philos R.Soc, London*, pp. 311-671, 1985.
- Holzinger F, Zraggen K, Buchler MW: Mechanisms of biliary carcinogenesis: a pathogenetic multi-stage cascade towards cholangiocarcinoma. *Ann Oncol Suppl* 4: 122-1216, 1999.
- Kim JS, Na CS, Pak SC, Kim YG: Effects of Yukmi, and herbal formula, in liver of the senescence accelerated mouse (SAM) to oxidative stress. *American J Chinese Medicine* in press, 2000.
- McCord JM, Fridovich I: Superoxide dismutase: An enzymatic function for erythrocyte hemocuprein. *J Biol Chem* 244, 60549-60555, 1969.
- Niwa Y: 노화, 각종질환 및 신약개발에 있어서의 활성산소. 한국독성학회/한국 환경성 돌연변이. 발암원학회. 한국노화학회. 노화연구센터 91-101, 1992.
- Nomura Y, Wang BX, Qi SB, Namba T, Kaneko S: Biochemical changes related to aging in the senescence-accelerated mouse. *Exp Gerontol* 24(1): 49-55, 1989.
- Orr WC, Sohal RS: Extension of life-span by overexpression of superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster*. *Science* 63: 1128-1130, 1994.
- Rao G, Xia E, Richardson A: Effect of age on the expression of antioxidant enzymes in male fischer F344 Rats. *Mechanisms of aging and development* 53: 49-60, 1990.
- Stocker R, Frei B: Oxidants and antioxidants. Oxford, London, pp. 213-243, 1991.
- Storz GM, Christman MF, Sies H, Ames BN: Spontaneous mutagenesis and oxidative damage to DNA in *Salmonella typhimurium*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 86: 4474-4478, 1987.
- Zhao XH, Awaya A, Kobayashi H, Ohnuki T, Tokumitsu Y, Nomura Y: Effects of repeated administrations of facteur thymique serique (FTS) on biochemical changes related to aging in senescence-accelerated mouse (SAM). *Jpn J Pharmacol* 53(3): 311-9, 1990.
- Yang MK, Kim YG: Protective role of Germanium-132 against paraquat-induced oxidative stress in the livers of senescence-accelerated mice. *J of Toxicology and Environmental Health* 58: 289-297, 1999.
- 申載鏞 編著: 方藥合編解說, 서울: 成輔社, 1988: 44.
- 安相源 · 李哲浣: 熟地黃과 六味地黃湯이 老化過程 腎臟에서의 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): 593-623, 1999.
- 尹一智: 六味地黃湯이 老化 Rat의 肝內 過酸化脂質 및 代謝酵素系에 미치는 影響, 大田大學校 大學院(碩士), 1998.
- 李英九: 六味地黃湯이 腦組織의 生化學的 變化에 미치는 影響, 圓光大學校 大學院(碩士), 1997.
- 張仲景(中國中醫研究院): 正統 金匱要略, 서울, 醫學研究社, p. 148, 1987.
- 錢乙: 小兒藥證直訣, 江蘇, 江蘇技術科學出版社, pp. 5-6, 47-48, 1985.

< 국문초록 >

노화된 노화촉진생쥐 (senescence-accelerated mouse, SAM P8)에 六味地黃湯에 원지와 식창포를 가미한 六味地黃湯加味方을 4개월간 투여한 후 항산화효능을 검증하기 위하여 간조직의 superoxide dismutase (SOD)와 catalase의 활성도 및 세포소기관의 미세구조적인 특징의 변화를 관찰하였다. 대조군은 12개월령의 SAM P8을, 실험군은 8개월령부터 4개월간 약물을 투여한 12개월령을 사용하였다.

간조직에서 MnSOD의 활성도는 노화된 12개월령의 대조군 SAM P8이 육미지황탕가미방을 4개월간 식이시킨 12개월령의 실험군 SAM P8보다 약 11% 정도 높게 나타났지만, CuZnSOD의 활성도는 실험군이 대조군보다 20% 정도 높게 나타났다. Catalase 활성도는 육미지황탕가미방을 식이시킨 실험군이 대조군에 비하여 약 67%

높게 나타났다.

전자현미경 관찰 결과, 대조군 SAM P8의 간세포는 실험군에 비하여 과립형질내세망의 내강이 전반적으로 다소 팽대되어 있었고, 사립체의 형태는 비정상적이면서 기질의 전자밀도가 높을뿐만 아니라 사립체능선이 뚜렷

하지 않았다. 무과립형질내세망은 세포질 전반에 걸쳐 발달해 있었으나 그들의 내강은 다소 팽대해 있었다.

이상의 결과로 보아 六味地黃湯加味方은 노화된 SAM P8의 간조직에 대하여 항산화 효능이 있을 것으로 생각된다.

FIGURE LEGENDS

Figs. 3-4. Electron micrographs from a 12-month-old SAM of control group. A lot of abnormal mitochondria (M) and smooth endoplasmic reticulum which was dilated the cavity of cisternae were observed (Fig. 3). The abnormal mitochondrion (Fig. 4) had a single membrane (arrow head) and contained a vesicle (arrow). Go, Golgi complex; N, nucleus. Bar indicates 1 μ m.

Figs. 5-6. Electron micrographs from a 12-month-old SAM of experimental group. A lot of mitochondria (M) which contained electron-lucent materials compared with control group were observed (Fig 5). A few of peroxisome and the lipid droplets (L) were observed (Fig. 6). N, nucleus. Bar indicates 1 μ m.

