

首烏延壽丹이 노화유발 흰쥐의 항산화능에 미치는 영향

곽병훈 · 이송실 · 이상재 · 김광호

경희대학교 한의과대학 예방의학교실, 경희대학교 한의학연구소

Effect of *Suoyounsoodan* (首烏延壽丹) on Antioxidant Capacity in G-galactose induced Aging Rats

Byeong-Hoon Kwak, Song-Shil Lee, Sang-Jae Lee & Kwang-Ho Kim

Dept. of Preventive Medicine, College of Oriental Medicine, Kyung-Hee University
Institute of Oriental Medicine & Kyung-Hee University

Abstract

Objectives : *Suoyounsoodan*(首烏延壽丹) composed of *Polygonum multiflorum* THUNB. and some medical herbs is known as formula of senescence delay effect. The purpose of this study is to investigate the effect of *Suoyounsoodan*(首烏延壽丹) on antioxidant enzyme activity such as Thiobarbituric acid reactive substance(TBARS), Superoxide dismutase(SOD), Catalase(CAT), Glutathione peroxidase(GSH-px) in rat plasma and liver.

Methods : Sprague-Dawley rats divided into 4 groups, Young group(8 weeks old, N=8), Aging group(18 weeks old, N=18), pathologically induced aging group(injected D-galactose 50mg/kg, 1time/day for 6 weeks, CON) and *Suoyounsoodan*(首烏延壽丹) administered group(D-galactose 50mg/kg and *Suoyounsoodan* extracts 840.0mg/kg 1time/day for 6 weeks, SOY). Rats were sacrificed and TBARS, SOD, CAT, and GSH-px were measured in rat plasma and liver.

Results : Plasma and liver TBARS concentrations of SOY group was significantly lower than that of control. Red blood cell(RBC) SOD activities of SOY group was increased($F=3.405$, $p=0.034$, ANOVA test), and RBC catalase activities of all experimental groups were not significantly different. RBC GSH-px activities of SOY group was increased($F=9.261$, $p=0.0001$, ANOVA test). Liver SOD activities of SOY group was higher than that of control($F=3.806$, $p=0.023$, ANOVA test). Liver catalase activities of all experimental groups were not significantly different, and liver GSH-px activity of SOY group was significantly higher than that of control($F=3.572$, $p=0.029$, ANOVA test).

Conclusions : According to the above results, It is considered *Suoyounsoodan* is effective in inhibiting

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

lipid peroxidation and increasing antioxidative enzyme activities in D-galactose induced aging rat.

Key words : Suoyounsoodan(首烏延壽丹), aging, TBARS, SOD, CAT, GSH-px

1. 緒 論

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, 모든 臟器의 構造가 變하고 機能이 退化된다. 그 結果로 解剖學的, 生化學的, 生理的, 行動的인 面을 包含한 모든 側面에서의 變化가 招來되어 外部環境에 對해 反應하는 能力이 떨어져 死亡에 歸着되는 生理的인 現象을 意味한다.¹⁻⁴⁾

《黃帝內經》〈素問·上古天真論〉⁵⁾에서는 “女子七歲腎氣盛 齒更髮長… 七七任脈虛 太衝脈衰少 天癸竭 地道不通 故形壞而無子也”, “丈夫八歲腎氣實 髮長齒更… 七八肝氣衰 筋不能動 天癸竭 精少 腎臟衰 形體皆極; 八八則齒髮去”라 하였고, 〈靈樞·天年篇〉⁶⁾에는 “五十歲, 肝氣始衰, 肝葉始薄, 膽汁始減, 目視不明. 六十歲, 心氣始衰, 苦憂悲, 血氣懈惰, 故好臥. 七十歲, 脾氣虛, 皮膚枯. 八十歲, 肺氣衰, 魄離, 故言善誤. 九十歲, 腎氣焦, 四臟經脈空虛. 百歲, 五臟皆虛, 腎氣皆去, 形骸獨居而終矣”라 하여, 男女의 年齡에 따른 身體와 臟腑의 變化, 年齡增加에 따른 五臟의 衰弱에 의해 惹起되는 老化現象에 對하여 記述하고 있다.

老化는 正常的인 段階이며 過程으로서 그 自體가 疾病을 誘發하는 것은 아니지만 사실상 老化는 모든 疾病에 의한 死亡率을 增加시키며 老化됨에 따른 外部 環境에 對한 適應力을 減少시킨다. 이에 最近 壽命延長으로 因한 老年層의 增加로 老化는 成人病 또는 老人性 疾患의 主原因이 되며 이를 극복하는 것이 老人病을 輕減시키는 方法 中 하나로 浮刻되고 있다.⁷⁾

老化의 原因이 되는 老化學說로는 生體物質

論(Vital Substance Theory), 遺傳因子 突然變異說(Gene Mutation Theory), 豫定說(Programmed Theory), 遺傳因子說(Gene Theory), 交叉聯關說(Cross-Linkage Theory), 自由遊離基說(Free radical Theory), 誤謬蓄積理論(Accumulation of Errors Theory), 消耗理論(Wear and Tear Theory), 自家免疫理論(Autoimmune Theory), 細胞의 汚物理論(Cellular Gavage Theory), 神經內分泌 理論(Neuroendocrine Theory), 스트레스說 등이 舉論되고 있다.⁸⁻¹⁰⁾

그 中 自由遊離基說(Free radical theory)은 生體內 正常代謝 過程에서 生긴 Free radical이 生분자(Biomolecule)와 反應하여 細胞에 損傷을 주는데 이러한 Free radical의 生成은 나이가 增加함에 따라 增加하고 따라서 細胞機能이 점차 減退되어, 細胞膜의 破壞, 細胞의 老化, 細胞의 壞死 그리고 DNA에 對한 細胞損傷 등을 誘發시켜 生體의 機能을 弱화시킴으로써 老化를 進行한다는 假說로 代表的인 老化學說 中 하나 이다.¹¹⁻¹⁷⁾

人體 內에는 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSH-px), catalase, glutathione, glutathione reductase, glutathione S-transferase, protein bound-SH, nonprotein bound-SH 및 비타민 E 등이 있어 自由遊離基 除去에 關與하고 있고, 이러한 因子들이 抗酸化 效能에 對한 客觀的인 指標로 活用되고 있다.¹⁸⁻²⁰⁾

最近의 老化와 關聯된 研究를 살펴보면 金 등²¹⁻²⁶⁾이 宣鬱通經湯, 靑娥丸, 六味地黃湯, 醒心地黃湯, 十全大補湯 등의 處方을, 韓 等^{27,28)}이 白何首烏, 兔絲子 등으로 實驗한 結果 代謝酸素 系에 미치는 影響 및 抗酸化物活性에 미치는 影響을 研究한 바가 있다.

《世補齋醫書》에 기재된 首烏延壽丹은 赤何首烏를 君藥으로 桑椹子, 菟絲子, 金櫻子 등의 補陽藥을 중심으로 이루어진 方劑로서 補肝腎, 強筋骨, 益精血의 효능이 있어 老人의 肝腎不足에 의한 頭暈耳鳴, 腰膝無力, 尿意頻數, 須髮早白등에 應用되므로 抗酸化能에 有意性이 있을 것으로 思料되나 이 處方에 관한 實驗的 研究는 없었다.

이에 本 研究에서는 8주령의 無處置群(N-8 group)과 12주령의 無處置群(N-18 group), D-galactose 투여군(Control group), 首烏延壽丹 투여군(SOY group)을 選定하여 각 個體郡의 肝과 腎臟의 重量變化, 血漿과 肝의 脂質過酸化物 含量의 變化, 赤血球와 肝의 superoxide dismutase(SOD) 活性, 赤血球와 肝의 glutathione peroxidase(GSH-px) 活性, 赤血球와 肝의 Catalase 活性 등을 觀察한 結果 有意性 있는 成績을 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實驗方法

1. 材料

1) 動物

생후 6주와 10주된 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐를 구입하여 실험 시작 전 2주일간 고행배합사료(구성성분 : 조단백질 21.1%·조지방 3.5%·조섬유 5.0%·조회분 8.0%·칼슘 0.6%·인 0.6%)로 적응시켰다. 적응기간 후 체중이 180±20g(8주령) 400±20g(12주령)인 쥐들을 실험에 사용하였다. 실험동물은 한 마리씩 분리하여 stainless steel cage에서 사육하였고, 사료와 물은 자유롭게 먹도록 하였다.

2) 藥材

본 실험에서 사용된 약재는 경희의료원 약제과에서 엄선한 것을 사용하였으며 처방은 首烏

延壽丹으로 내용과 분량은 다음과 같다.

2. 實驗方法

1) 실험군 설정

실험실 환경에서 2주간 적응시킨 SD계 rat를 체중별로 고르게 분포시켜 8주령의 無處置群(N-8 group)과 12주령의 無處置群(N-18 group), D-galactose 투여군(Control group), 首烏延壽丹 투여군(SOY group)으로 나누어 각 群에 6 마리씩 배정하였다.

首烏延壽丹			
韓藥名	生藥名		用量
적하수오	Polygoni Multiflori Radix		216.0g
회령초	Siegesbeckiae Herba		48.0g
토사자	Cuscutae Semen		48.0g
두충	Eucommiae Cortex		24.0g
여정자	Ligustri Fructus		24.0g
상엽	Mori Folium		24.0g
인동등	Caulis Lonicerae		12.0g
생지황	Rehmanniae Radix		12.0g
상심자	Mori fructus		48.0g
흑지마	Sesami Semen		48.0g
금앵자	Rosae Laevigatae Fructus		48.0g
한련초	Ecliptae Herba		48.0g
總量			600.0g

N-8군과 N-12군은 어떤 처치도 하지 않고 고행사료와 물만을 6주간 充分히 供給하였다. Control군은 12주령 rat에 D-galactose를 6주간 피하주사하여 노화를 유발하였다. SOY군은 D-galactose를 피하주사 함과 동시에 首烏延壽丹을 경구 투여하였다.

2) 노화 유발

노화촉진유발은 D-galactose를 피하주사하는 방법을 사용하였다. D-galactose(SIGMA, USA)

를 50mg/kg의 비율로 1회/1일 6주간 연속으로 rat 背部에 피하주사하였다.

3) 검액의 준비

首烏延壽丹 600g을 5,000cc의 등근 플라스크에 3,000cc의 증류수와 함께 넣은 다음 냉각기를 부착하고 3시간 동안 煎湯하여 0.2 μ m filter로 여과한 여액을 rotary vacuum evaporator(EYELA, Japan)에서 감압 농축하였다. 이 농축액을 -80 $^{\circ}$ C deep freezer(SANYO, Japan)에서 한 시간 방치한 후 freezer dryer(EYELA, Japan)로 24시간 동안 동결건조하여 首烏延壽丹 액기스 76.0g을 얻어 이를 실험에 필요한 농도로 증류수에 녹여 조정하여 50ml conical tube(Falcon, USA)에 넣어 2~4 $^{\circ}$ C의 냉장고에 보관하였으며, 사용할 때 water bath에 넣어 gel상태를 완전히 녹여 사용하였다.

4) 검액 투여

首烏延壽丹 추출물은 168.0mg/200g의 비율로 검액을 증류수로 희석하여 SOY균 흰쥐에 1일 1회 6주간 경구 투여하였다.

5) 혈액과 장기의 채취

실험기간이 종료된 실험동물은 12시간 절식시킨 후 diethyl ether로 마취시켜 개복한 후 10ml 주사기를 이용하여 심장에서 혈액을 채취하였다. 이때 주사기는 혈액응고를 방지하기 위해 3.8% sodium citrate 용액 0.1ml로 내부를 coating하여 사용하였다. 채취된 혈액은 응고되는 것을 방지하기 위해 EDTA(Ethylene Diamine Tetra Acetate)가 들어 있는 polystyrene 원심분리관에 담아 ice bath에 20분간 방치한 후 원심분리기로 2,800rpm, 4 $^{\circ}$ C에서 30분간 원심분리하여 아래층의 red blood cell(RBC)과 혈장을 분리하고, 혈장은 혈장내 지질과 산화물양과 지방수준을 측정하기 위해 -70 $^{\circ}$ C deep freezer(SANYO, JAPAN)에 보관하였다.

아래층의 RBC는 ice cold saline을 첨가하여 원심분리기로 2,800rpm, 4 $^{\circ}$ C에서 10분간 원심분리하는 세척과정을 세 차례 반복하여 washed RBC를 얻었다. 이 RBC를 cell과 0.9% NaCl 용액의 부피비가 1:1이 되도록 희석하여 50% hematocrit suspension(RBC suspension)을 만든 후 항산화효소의 활성을 측정하기 전까지 -70 $^{\circ}$ C deep freezer에 보관하였다.

혈액을 채취한 후 ice bath 위에서 즉시 간과 신장을 떼어 ice cold saline에 넣어 세척한 다음 여지로 물기를 제거한 후 무게를 측정하고 바로 -70 $^{\circ}$ C deep freezer에 보관하여 과산화물양과 효소활성 측정에 사용하였다.

6) 혈장과 간의 Thiobarbituric Acid Reactive Substance 함량

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

간의 TBARS 함량은 간 1g에 0.1M phosphate buffer(pH 7.4) 3ml를 가하여 균질화시킨 후 1.5ml씩 duplicate로 취하여 33mM FeSO₄ 용액 50 μ l, 0.33mM butylated hydroxytoluen(BHT) 50 μ l, 33mM L-ascorbic acid 용액 50 μ l를 가하여 잘 섞은 후 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 incubation시켰다. 여

기에 10% trichloroacetic acid(TCA) 용액 1.5ml를 가하고 12,000×g에서 10분간 원심분리하여 얻은 상층액 2ml에 1% thiobarbituric acid(TBA) reagent 0.5ml를 가하여 10분간 끓이고 실온에서 냉각시켜 3,000rpm에서 5분간 원심분리한 다음 상층액을 취하여 spectrophotometer(Spectronic 301, Milton Roy)로 532nm에서 비색정량하였다.

7) 적혈구와 간의 superoxide dismutase 활성

적혈구의 superoxide dismutase(SOD) 활성은 적혈구 현탁액 200 μ l를 10mM Tris-1mM EDTA buffer(pH 7.4) 1.8ml로 용혈시킨 후, 이 hemolysate에 chloroform과 ethanol을 부피비가 5:3이 되도록 만든 용액을 hemolysate 부피의 0.4배 가하고 vortex로 강하게 2분간 잘 섞어 hemoglobin을 침전시켰다. 여기에 280 μ l의 증류수를 가하여 원심분리기로 20,000×g, 4°C에서 30분간 원심분리하여 얻은 상층액을 SOD 활성을 측정하기 위한 효소원으로 이용하였다. SOD 활성은 xanthine이 xanthine oxidase에 의해 superoxide를 생성하고, 이 superoxide가 ferricytochrome c(Fe⁺⁺⁺)를 ferrouscytochrome c(Fe⁺⁺)로 환원시키는데 이때 SOD가 존재하면 SOD가 superoxide에 대해 경쟁하여 cytochrome c의 환원속도가 감소된다는 원리를 이용하여 측정하는 방법을 사용하였다. 0.1mM EDTA를 함유한 50mM phosphate buffer(pH 7.8)에 xanthine과 cytochrome c(Fe⁺⁺⁺)를 넣고 혼합한 후 25°C로 유지시킨 용액 2ml에 효소시료 50 μ l를 가하고, 사용 직전에 xanthine oxidase 용액을 제조하여 50 μ l를 첨가시켜 ferricytochrome c의 환원이 방해되는 정도를 550nm(HP 8453, Hewlett Packard)에서 30초 간격으로 3분간 비색정량하였다. 이때 SOD의 분당 활성 정도는 ferricytochrome c의 환원을 50% 방해하는 SOD의 양을 1 unit으로 하여 나타내었고, 1

unit을 흔히 'MaCord and Fridovich unit'라고 한다.

간의 SOD 활성을 측정하기 위해 간 1g을 10ml의 50mM phosphate- 0.25M sucrose- 0.5mM EDTA buffer(pH 7.4)로 균질화시킨 후 10,000×g, 4°C에서 20분간 원심분리하여 얻은 상층액 중 3ml는 glutathione peroxidase의 효소원으로 이용하였고, 5ml는 SOD의 효소원으로 사용하였다. 즉, 3ml의 상층액은 4°C, 105,000×g에서 50분간 원심분리한 후 그 상층액을 -70°C deep freezer에 냉동보관하여 glutathione peroxidase (GSH-px)의 효소원으로 사용하였고, 5ml의 상층액은 30초씩 2회 ultrasonication(Heat System-Ultrasonics, Inc, Ultrasonic processor W-385)시키고 다시 2ml를 취해 chloroform과 ethanol의 부피비가 5:3이 되도록 만든 용액 800 μ l를 가하여 2분간 강하게 혼합한 후 20,000×g, 4°C에서 20분간 원심분리시켜 얻은 상층액을 SOD 효소원으로 하였다. 간의 SOD 활성은 적혈구에서와 동일한 방법으로 측정하였다.

8) 적혈구와 간의 catalase 활성

적혈구의 catalase 활성은 적혈구 현탁액을 10배의 10mM Tris-1mM EDTA buffer(pH 7.4)로 용혈시킨 후 0.01M phosphate buffer(pH 7.0)로 희석하여 효소원으로 사용하였다. 250mM KH₂PO₄-NaOH(pH 7.0) 300 μ l, 100% methanol 300 μ l, 0.27% H₂O₂ 60 μ l를 polystyrene tube에 넣고 여기에 효소원을 600 μ l 가하여 20°C에서 20분간 shaking시키면서 반응이 일어나게 한 후 7.8M KOH 300 μ l를 가하여 반응을 종결시키고, 34.2mM Purpald 용액을 600 μ l를 가하여 20°C에서 10분간 shaking시킨 후 65.2mM potassium periodate를 300 μ l를 가하여 발색시켰다. 이를 9,500×g에서 10분간 원심분리시켜 spectrophotometer(Spectronic 301, Milton Roy)로 550nm에서 흡광도를 측정한 후 formaldehyde를 표준용액으로 하여 얻은 표준곡선으로부터 활성을 계

산하였다.

간의 catalase 활성을 측정하기 위하여 먼저 간 0.2g을 20배의 25mM KH_2PO_4 -NaOH buffer(pH 7.0)에 넣고 균질화시키고 이 homogenate를 같은 buffer로 60배 희석한 후 ice bath에서 ultrasonicator(Heat System-Ultrasonics, Inc., Ultrasonic Propessor W-385)로 15초씩 2회 반복하여 sonication한 후 적혈구에서와 같은 방법으로 catalase 활성을 측정하였다.

9) 적혈구와 간의 glutathione peroxidase 활성

적혈구의 glutathione peroxidase(GSH-px) 활성은 적혈구 현탁액에 10배의 증류수를 가하여 적혈구를 용혈시키고 다시 증류수로 이 hemolysate를 희석한 후 Drabkin 용액을 hemolysate와 1:1의 비율로 혼합하여 hemoglobin(Hb)을 cyanomet-hemoglobin으로 전환시킨 후 효소원으로 사용하였다.

Glutathione peroxidase의 활성측정은 GSH-px가 환원형 glutathione(GSH)과 H_2O_2 의 반응을 촉진시켜 환원형 GSH를 산화형 glutathione(GSSG)으로 전환시키고, GSSG는 glutathione reductase의 작용으로 NADPH의 H를 받아 다시 환원형인 GSH로 되는데, 이때 형광을 띠는 NADPH는 H를 빼앗겨 형광을 띠지 않는 산화형 NADP가 된다는 원리를 이용하였다. Tube에 0.1M phosphate buffer 500 μl , 10mM GSH 100 μl , glutathione reductase 100 μl 를 넣고, 효소원 100 μl 를 첨가하여 37 $^\circ\text{C}$ 에서 10분간 incubation시킨 후 1.5mM NADPH 100 μl 를 넣어 다시 3분간 incubation시켰다. 여기에 미리 37 $^\circ\text{C}$ 로 데워진 12mM t-butyl hydroperoxide를 가하여 반응을 개시시킨 후 spectrophotometer로 365nm에서 30초 간격으로 3분간 GSH-px의 활성을 측정하여 unit 단위로 나타내었다. 여기에서 1unit은 1분 동안 1.0 μM 의 GSH가 H_2O_2 의 작용으로 GSSG로 산화되는 것을 촉매한다.

간의 GSH-px 활성 측정은 간의 SOD 활성

측정시 제조하여 보관한 효소원을 이용하여 적혈구와 동일한 방법으로 측정하였는데, 간의 경우는 적혈구와 달리 t-butyl hydroperoxide 대신 H_2O_2 를 사용하였고, catalase의 작용을 억제하기 위하여 1mM sodium azide를 첨가하였다.

10) 효소원의 단백질 함량

각 효소들의 활성측정을 위해 사용된 적혈구와 간의 단백질 함량은 bovine serum albumin(Sigma)을 표준용액으로 하여 측정하였다. 먼저 2.0% Na_2CO_3 , 0.4% NaOH, 0.16% sodium potassium tartrate, 1.0% sodium laurylsulfate(SDS)를 포함하는 solution A와 4.0% CuSO_4 인 solution B를 100 : 1(v : v)로 혼합하여 solution C를 만들었다. 효소원 50 μl 에 solution C 3ml를 첨가하여 실온에서 10분간 방치한 후 여기에 동량의 증류수로 희석된 phenol reagent 300 μl 를 넣어 실온에서 45분간 방치하였다가 파장 660nm에서 spectrophotometer로 비색정량하였다.

3. 통계분석

모든 통계분석은 윈도우용 SPSS(ver. 8.0)를 이용하여 실시하였다. 기술통계학적 분석을 통해 각 집단에서의 측정값을 평균 \pm 표준편차로 요약하였으며, 각 집단간의 유의성은 ANOVA test with multiple comparisons(Duncan's method)으로 분석하였고, 유의수준은 0.05로 하였다.

III. 成績

1. 간과 신장의 중량변화

실험에 사용된 쥐의 간중량은 N-8군이 $13.86 \pm 0.19\text{g}$, N-18군이 $18.93 \pm 1.06\text{g}$, Control군이 $15.35 \pm 0.37\text{g}$, SOY군이 $15.58 \pm 0.53\text{g}$ 으로 나타나 집단 간 간중량의 차이는 통계적으로 有意한 차

이가 있었으며(F=15.651, p=0.0001, ANOVA test), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意性を 검정한 결과 N-18군에서 Control군에 비하여 유의한 증가를 나타내었으나 SOY군은 Control군과 유의한 차이가 없었다(Table I).

실험에 사용된 쥐의 신장중량은 N-8군이 2.28±0.07g, N-18군이 3.47±0.12g, Control군이 2.70±0.05g, SOY군이 3.40±0.11g으로 나타나 집단간 신장중량의 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며(F=46.210, p=0.0001, ANOVA test), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意性を 검정한 결과 N-18군과 SOY군에서 Control군에 비하여 유의한 증가를 나타내었다(Table I).

Table I. Comparison of Liver & Kidney Weight

Group	No. of animal	Liver Weight(g)	Kidney Weight(g)
N-8	10	13.86±0.19 ¹⁾ A ²⁾	2.28±0.07 ¹⁾ A
N-18	6	18.93±1.06 C	3.47±0.12 C
Control	6	15.35±0.37 AB	2.70±0.05 B
SOY	6	15.58±0.53 B	3.40±0.11 C
F-value :		15.651*	46.210

1) Mean±Std. Error

2) Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test

* calculated by ANOVA test

N-8 : not specially treated in 8 week-old rat.

N-18 : not specially treated in 18 week-old rat.

Control : G-galactose(50mg/kg/rat) was injected for 6 weeks before sacrifice.

SOY : treated with Suoyensoodan(SOY) and G-galactose(50mg/kg/rat) for 6 weeks before sacrifice.

2. 혈장과 간의 지질과산화물

혈장 지질의 과산화 정도를 알아보기 위해 지질과산화물 함량(Thiobarbituric Acid Reactive

Substances : TBARS values)을 측정된 결과 N-8군이 36.30±2.47 nmol/100ml, N-18군이 39.17±3.25nmol/100ml, Control군이 54.00±3.68nmol/100 ml, SOY군이 43.83±2.04nmol/100ml으로 나타나 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며(F=1.189, p=0.001, ANOVA test), 다중비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意性を 검정한 결과 N-18군과 SOY군에서 Control군에 비하여 유의한 감소를 나타내었다(Table II).

간의 지질과산화물 함량(Thiobarbituric Acid Reactive Substances : TBARS values)을 측정된 결과 N-8군이 5.32±0.32 nmol/g, N-18군이 6.75±0.64nmol/g, Control군이 8.98±0.89nmol/g, SOY군이 7.75±1.00nmol/g으로 나타나 집단간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며(F=5.887, p=0.004, ANOVA test), 다중비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意性を 검정한 결과 N-18군은 Control군에 비하여 유의한 감소를 나타내었으나 SOY군은 유의한 차이가 없었다(Table II).

Table II. Plasma and liver TBARS levels

Group	No. of animal	Plasma TBARS (nmol/100ml)	Liver TBARS (nmol/g)
N-8	10	36.30±2.47 ¹⁾ A ²⁾	5.32±0.32 ¹⁾ A ²⁾
N-18	6	39.17±3.25 A	6.75±0.64 AB
Control	6	54.00±3.68 B	8.98±0.89 C
SOY	6	45.17±2.39 A	7.75±0.78 BC
F-value :		7.189*	5.887

1) Mean±Std. Error

2) Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test

* calculated by ANOVA test

N-8 : not specially treated in 8 week-old rat.

N-18 : not specially treated in 18 week-old rat.

Control : G-galactose(50mg/kg/rat) was injected for 6 weeks

SOY : treated with Suoyensoodan(SOY) and G-galactose(50mg/kg/rat) for 6 weeks

3. 적혈구의 superoxide dismutase(SOD) 활성

적혈구에서의 항산화 효소들의 활성을 알아보기 위해 항산화 효소인 superoxide dismutase (SOD)의 활성을 측정된 결과 N-8군이 23.00±1.60, N-18군이 20.33±1.65, Control군이 16.00±1.53, SOY군이 21.40±1.44으로 나타나 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며(F=3.405, p=0.034, ANOVA test), 다중비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意성을 검정한 결과 SOY군이 Control군에 비하여 有意한 증가를 나타내었다(Table III).

Table III. Erythrocyte antioxidative enzyme activities (SOD)

Group	No. of animal	RBC SOD	Duncan Grouping
N-8	10	23.00±1.60 ¹⁾	A ²⁾
N-18	6	20.33±1.65	AB
Control	6	16.00±1.53	B
SOY	6	21.40±1.44	A

F-value : 3.405*

1) Mean±Std. Error

2) Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test

* calculated by ANOVA test

Superoxide dismutase(SOD) activities are expressed as Units per minute per mg protein(1 unit will inhibit the rate of reduced of cytochrome c by 50% in a coupled system with xanthine oxidase at pH 7.8 and 25°C in a 3.0ml reaction volume).

4. 적혈구의 glutathione peroxidase (GSH-px) 활성

적혈구에서의 항산화 효소들의 활성을 알아

보기 위해 항산화 효소인 glutathione peroxidase (GSH-px)의 활성을 측정된 결과 N-8군이 0.209±0.015, N-18군이 0.157±0.021, Control군이 0.108±0.018, SOY군이 0.183±0.012로 나타나 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며(F=9.261, p=0.0001, ANOVA test), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意성을 검정한 결과 SOY군이 Control군에 비하여 有意한 증가를 나타내었다(Table IV).

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

Group	No. of animal	RBC GSH-px	Duncan Grouping
N-8	10	0.209±0.015 ¹⁾	B ²⁾
N-18	6	0.157±0.021	AB
Control	6	0.108±0.018	A
SOY	6	0.183±0.012	C

F-value : 9.261*

1) Mean±Std. Error

2) Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test

* calculated by ANOVA test

Glutathione peroxidase(GSH-px) activities are expressed as unit per mg protein(1 unit will catalyze the oxidation by H₂O₂ of 1.0μmol of reduced glutathione to oxidized glutathione per min at pH 7.0 and 25°C).

5. 적혈구의 Catalase 활성

적혈구에서의 항산화 효소들의 활성을 알아보기 위해 항산화 효소인 Catalase의 활성을 측정된 결과 N-8군이 2942.1±152.7, N-18군이 2976.8±107.2, Control군이 2749.2±175.2 SOY군이 2895.5±149.1으로 나타나 집단간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 없었다(F=0.376, p=0.771, ANOVA test)(Table V).

6. 간의 superoxide dismutase (SOD) 활성

간의 항산화 효소인 superoxide dismutase (SOD)의 활성을 측정한 결과 N-8군이 39.52±

1.53, N-18군이 37.83±2.38, Control군이 39.80±1.86, SOY군이 46.88±2.17으로 나타나 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며(F=3.806, p=0.023, ANOVA test), 다중비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意성을 검정한 결과 SOY군이 Control군에 비하여 유의한 증가를 나타내었다(Table VI).

Table V. Erythrocyte antioxidative enzyme activities (Catalase)

Group	No. of animal	RBC Catalase	Duncan Grouping
N-8	10	2942.1±152.7 ¹⁾	A ²⁾
N-18	6	2976.8±107.2	A
Control	6	2749.2±175.2	A
SOY	6	2895.5±149.1	A

F-value : 0.376*

1) Mean±Std. Error

2) Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test

* calculated by ANOVA test

Catalase activities are expressed as nmole formaldehyde utilized as standard per mg protein.

Table VI. Liver antioxidative enzyme activities(SOD)

Group	No. of animal	Liver SOD	Duncan Grouping
N-8	10	39.52±1.53 ¹⁾	A ²⁾
N-18	6	37.83±2.38	A
Control	6	39.80±1.86	A
SOY	6	46.88±2.17	B

F-value : 3.806*

1) Mean±Std. Error

2) Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test

* calculated by ANOVA test

Superoxide dismutase(SOD) activities are expressed as Units per minute per mg protein(1 unit will inhibit the rate of reduced of cytochrome c by 50% in a coupled system with xanthine oxidase at pH 7.8 and 25°C in a 3.0ml reaction volume).

7. 간의 glutathione peroxidase (GSH-px) 활성

간의 항산화 효소인 glutathione peroxidase (GSH-px)의 활성을 측정한 결과 N-8군이 1.355±0.012, N-18군이 1.264±0.014, Control군이 1.138±0.026, SOY군이 1.548±0.198로 나타나 집단간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며(F=3.572, p=0.029, ANOVA test), 다중비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意성을 검정한 결과 SOY군이 Control군에 비하여 유의한 증가를 나타내었다(Table VII).

Table VII. Liver antioxidative enzyme activities (GSH-px)

Group	No. of animal	Liver GSH-px	Duncan Grouping
N-8	10	1.355±0.012 ¹⁾	AB ²⁾
N-18	6	1.264±0.014	A
Control	6	1.138±0.026	A
SOY	6	1.548±0.198	B

F-value : 3.572*

1) Mean±Std. Error

2) Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test

* calculated by ANOVA test

Glutathione peroxidase(GSH-px) activities are expressed as unit per mg protein(1 unit will catalyze the oxidation by H₂O₂ of 1.0 μ mol of reduced glutathione to oxidized glutathione per min at pH 7.0 and 25°C).

8. 간의 Catalase 활성

간의 항산화 효소인 Catalase의 활성을 측정 한 결과 N-8군이 1840.6±298.3, N-18군이 2002.3±583.3, Control군이 1380.8±27.4, SOY군이 2113.0±340.9로 나타나 집단간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 없었다(F=0.618, p=0.610, ANOVA test)(Table VIII).

Table VIII. Liver antioxidative enzyme activities (Catalase)

Group	No. of animal	Liver Catalase	Duncan Grouping
N-8	10	1840.6±298.3 ¹⁾	A ²⁾
N-18	6	2002.3±583.3	A
Control	6	1380.8±287.4	A
SOY	6	2113.0±340.9	A

F-value : 0.618*

1) Mean±Std. Error

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

* calculated by ANOVA test

Catalase activities are expressed as nmole formaldehyde utilized as standard per mg protein.

IV. 考 察

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, 모든 臟器의 構造가 變하고 機能이 退化된다. 그 結果로 解剖學的, 生化學的, 生理的, 行動的인 面을 包含한 모든 側面에서의 變化가 招來되어 外部環境에 대해 反應하는 能力이 떨어져 死亡에 歸着되는 生理的인 現象을 意味한다.¹⁻⁴⁾

老化現象으로는 毛髮, 皮膚 등의 外觀上 變化와 身體 및 臟器重量 減少 등의 形態의 變化와 知的, 人格의 機能低下, 心理的 變化 등이 나타

나는 것이 一般의 特徵이다.

韓醫學에서는 老化和 關係있는 다양한 記錄을 接할 수 있는데 《黃帝內經》〈素問·上古天眞論〉⁵⁾에서는 “女子 … 五七 陽明脈衰, 面始焦, 髮始墮, 六七 三陽脈衰于上, 面皆焦, 髮始白, 七七 任脈虛, 太衝脈衰少 天癸竭 地道不通 故形壞而無子也”, “丈夫 … 五八 腎氣衰, 髮墮齒槁, 六八 陽氣衰竭于上, 面焦, 髮鬢頰白, 七八 肝氣衰 筋不能動 天癸竭 精少 腎臟衰 形體皆極; 八八 則齒髮去”라 하여 老化的인 身體的인 變化를 男女로 區分하여 說明하였고, 〈素問·陰陽應象大論〉⁵⁾에 “年四十, 而陰氣自半也, 起居衰矣. 年五十, 體重, 耳目不聰明矣. 年六十, 陰痿, 氣大衰, 九竅不利, 下虛上實, 涕泣俱出矣”라 하였고, 〈靈樞·天年篇〉⁶⁾에는 “五十歲, 肝氣始衰, 肝葉始薄, 膽汁始減, 目視不明. 六十歲, 心氣始衰, 苦憂悲, 血氣懈惰, 故好臥. 七十歲, 脾氣虛, 皮膚枯. 八十歲, 肺氣衰, 魄離, 故言善誤. 九十歲, 腎氣焦, 四臟經脈空虛. 百歲, 五臟皆虛, 腎氣皆去, 形骸獨居而終矣”라 하여 加齡에 따른 身體 各 部位의 老化現象에 대하여 記述하고 있다.

또한 〈素問·上古天眞論〉⁵⁾에 “腎者主水, 受五臟六腑之精而藏之”, “天壽過度, 氣脈常通, 而腎氣有餘也”라 하였고, 虞는 “腎元盛則壽延, 腎元衰則壽夭”라 하여 腎氣와 壽命의 聯關性을 言及하고 있고, 以後의 文獻들에서는 老化的인 防止 및 壽命延長의 原理로 補腎益元, 補脾腎, 調心補腎, 補氣虛, 補益化痰, 補益扶正 등의 治療原則을 提示하고 있다.

首烏延壽丹은 《世補齋醫書》에 기재된 赤何首烏를 君藥으로 桑椹子, 兔絲子, 金櫻子 등의 補陽藥을 중심으로 이루어진 方劑로서 補肝腎, 強筋骨, 益精血 등의 效能이 있어 老人의 肝腎不足에 의한 頭暈耳鳴, 腰膝無力, 尿意頻數, 須髮早白등에 應用된다.²⁹⁾

首烏延壽丹의 構成 및 藥物의 效能에 대하여 살펴보면, 赤何首烏는 補肝腎益陰, 收斂精氣, 烏鬢髮, 強筋益髓하고, 豨薟은 去風除濕, 治四肢麻

痺, 筋骨冷痛, 明目補腎하고, 兔絲子是 補髓添精, 煖腰溫膝, 明目祛風, 肥健人하며, 杜冲은 補腰脊, 潤肝燥, 補肝虛, 堅筋骨하고, 女貞子是 益肝腎, 安五臟, 烏鬢髮, 健腰膝하고, 桑葉은 涼血燥濕, 祛風明目, 清肺瀉胃, 通關節하고, 忍冬藤은 散熱解毒, 長服輕身長年益壽하며, 生地黄은 清熱瀉火, 涼血消瘀, 補腎水眞陰, 主男子五勞七傷, 女子傷中胞漏下血하고, 桑椹子是 補腎水, 利五臟, 治關節痛, 生津止渴, 養陰止瀉, 烏鬢髮하고, 黑芝麻은 填精益髓, 補血煖脾內氣, 益肝腎, 堅筋骨, 烏鬢髮하고, 金櫻子是 補血益精, 澁精固腸, 久服令人耐寒輕身하며, 旱蓮草은 益腎陰, 止血排膿, 涼血補陰, 烏鬢髮한다.³⁰⁻³²⁾

이 중 君藥인 赤何首烏는 蓼科(Polygonaceae)에 屬한 多年生 慢性草本인 何首烏의 塊根으로, 蘿藦科(Asclepidaceae)에 屬한 白何首烏와는 科自體가 다르다. 《本草綱目》, 《東醫寶鑑》의 〈湯液編〉에서 보면 “有赤白二種, 赤者雄, 白者雌”라 하여 赤何首烏와 白何首烏를 區分하였다. 赤何首烏는 性味가 苦甘澁하고 약간 溫하며, 주로 肝腎經에 들어간다.^{31,33-40)} 그 主治와 效能은 治五痔, 止心痛, 益血氣, 黑鬢髮, 悅顔色하며 오랫동안 服用하면 長筋骨, 益精髓, 延年益壽한다고 하였다. 何首烏는 일찍부터 延年益壽의 作用을 하는 養生藥으로 널리 알려져 많은 處方에 活用되어 왔다. 《東醫寶鑑》⁴⁰⁾의 〈內經篇一〉에는 何首烏에 關하여 久服 黑鬢髮 益精髓 延年不老..., 何首烏丸 延年 益壽라고 하였고, 또한 延年益壽不老丹에 赤何首烏 4兩과 白何首烏 4兩을 君藥으로 使用하여 千益百補의 效能을 한다고 하였다. 《醫方集解》⁴¹⁾의 七寶美髯丹에도 何首烏를 君藥으로 使用하였고, 《和劑局方》의 何首烏丸도 역시 何首烏를 使用하여 補肝腎의 作用을 지닌다고 하였다.

西洋醫學에서 보는 老化的 原因 및 老化理論은 老化는 遺傳的으로 計劃되고 豫定된 대로 進行되는 能動的 過程이라고 보는 豫定說(Programmed Theory),⁴²⁾ 特定 生體物質의 限

定된 量 만큼 살 수 있다는 生體物質論(Vital Substance Theory), 突然變異에 의해 變形된 構造나 機能의 蓄積된 産物을 지닌 細胞에 의해서 점차 機能障碍를 일으켜 細胞가 죽게 된다는 遺傳因子 突然變異說(Gene Mutation Theory), 遺傳因子說(Gene Theory), 老化와 함께 새롭게 形成된 交叉聯關의 形成을 細胞內蛋白質이 逆으로 變形시킬 수 없다는데 基礎를 둔 交叉聯關說(Cross-Linkage Theory), 自由遊離基說(Free radical Theory), Orgel에 의하여 提案된 假說로 老化는 情報傳達 過程의 誤謬로 因하여 잘못 만들어진 體蛋白質이 蓄積된 結果라고 說明한 誤謬說(Accumulation of Errors Theory),^{43,44)} 消耗理論(Wear and Tear Theory), 自家免疫理論(Autoimmune Theory), 細胞의 汚物理論(Cellular Gavage Theory), 神經內分泌理論(Neuroendocrine Theory), 스트레스說 등이 舉論되고 있다.¹⁰⁾

最近에는 free radical 學說이 注目을 받고 있는데, 이 說은 1956년 Harman이 free radical이 細胞나 結體組織에 作用하여 해로운 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하여 濟唱되었다.

이는 生體內에 生成되는 free radical에 依한 連續的인 有害反應이 老化過程을 進行시킨다는 것으로, 그 根據는 放射線에 依한 生命短縮, 물의 放射線 分解에 依한 radical의 形成과 生體內 酸化反應에 對한 radical의 關與 等に 起因된다. 또한 superoxide(O₂⁻) dismutase(SOD)의 發見以來 代謝過程에서 O₂⁻ 等 radical의 連鎖反應인 過酸化脂質이 老化에 關與한다는 事實이 補強되었다.

Free radical이란 짝지워지지 않은 전자(unpaired electron)를 가진 원자나 분자를 말한다. Free radical은 正常的인 細胞代謝過程에서 生成되는데 放射線, 藥物, 오존 등 環境的인 要因에 依하여 그 生成이 增加될 수 있다. Free

radical과 反應하는 生體內의 高分子 物質로는 不飽和脂肪酸, 蛋白質, DNA 등이 있는데, free radical이 不飽和脂肪酸과 作用하여 脂質過酸化物(lipid peroxide)을 만들고 이것이 蛋白質, 核酸 등의 아미노기와 反應하면 그 反應物質로 螢光物質인 리포푸신이 形成된다. 不飽和脂肪酸은 細胞膜에 많이 包含되어 있으므로 이러한 free radical의 作用은 細胞膜의 損傷을 招來하여 free radical이 蓄積되면 細胞膜, 혹은 미토콘드리아나 리소좀 등 微細構造膜의 構造를 變形시켜 物質移動이나 機能 등에 損傷을 가져와 細胞의 老衰를 招來하게 된다.⁴⁵⁾

결과적으로 free radical은 結體 組織의 交叉 結合을 增加시키고, 細胞膜을 損傷시키며, DNA의 突然變異를 誘發하고, 體蛋白質의 機能을 減退시킨다. 이러한 free radical에 의한 反應의 結果가 나이가 增加함에 따라 體內에 蓄積됨으로써 老化가 進行되는 것으로 본다. free radical에 의한 損傷을 最小化하기 위해서는 O₂-와 H₂O₂를 代謝過程에서 形成되는 대로 除去해야 한다.⁴⁶⁾

이러한 生體內의 活性酸素의 防禦機轉으로는 活性酸素 radical의 發生을 未然에 막는 system과 生成된 radical을 捕捉, 除去하는 system이 있다.

肝臟은 一種의 外分泌腺으로서 人體內 代謝를 總括하는 臟器로 모든 生理物質을 合成 또는 分解하여 에너지를 供給해 주고 貯藏하며, 또한 外因性 및 內因性 毒性物質을 酸化, 還元, 메틸화, 아세틸화 또는 包含시켜 解毒하는 機能을 갖고 있다. 近來에 와서 各種 stress 및 化學物質에 의한 肝損傷은 社會的으로 至大한 關心의 對象이 되고 있는데, 이러한 化學物質에 의한 肝損傷의 機轉은 一般的으로 生體 組織細胞의 生體膜 構成成分인 多價不飽和脂肪酸의 過酸化가 그 한 가지 原因으로 指摘되고 있다.

脂質의 過酸化는 生化學的인 要因, 則 free radical의 生成系로 알려져 있는 cytosolic

xanthine oxidase, aldehyde oxidase, microsomal mixed function oxidase, mitochondrial respiratory chain 및 catecholamine 類와 thiol 類, hemoprotein 등의 自動酸化에 의해 生成된 free radical인 活性酸素 및 親電子性 物質들의 攻撃으로 惹起되어지며, 이와 같은 物質들은 여러 가지 毒作用 뿐만 아니라 食菌作用에도 關與하고 있어 兩面性을 지니고 있다. 다행히 生體內에는 이에 對處할 수 있는 抗酸化系 酵素인 glutathione, superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, nonprotein bound-SH 및 protein bound-SH 등이 存在하여 活性酸素를 除去함으로써 恒常性을 維持하고 있으며, free radical 生成系와 解毒系사이의 不均衡 때문에 毒作用이 誘發된다고 한다. 따라서 抗酸化物質의 發見 및 抗酸化系 酵素의 活性化에 對한 內容은 老化研究에서는 매우 重要한 課題 중 하나로 되어 있다.

한편, 韓醫學에서도 老化에 對한 研究가 活發히 進行되고 있는데, 金 등²¹⁻²⁶⁾이 宣鬱通經湯, 靑娥丸, 六味地黃湯, 醒心地黃湯, 十全大補湯 등의 處方을, 韓 등^{27,28)}이 白何首烏, 兔絲子 등으로 實驗한 결과 代謝酸素系에 미치는 影響 및 抗酸化物活性에 미치는 影響을 研究한 바가 있다. 現在까지는 大部分 單味 및 處方의 抗酸化效能에 重點을 두어 進行되어 왔고, 그 檢證方法도 여러 形態로 이루어져 效能에 對한 客觀的 檢證이 이루어지지 않고 있다. 특히 實驗動物 選定과 檢査項目에 差異가 많아 相對的인 評價가 어려운 實情이다.

이에 著者는 首烏延壽丹이 老化에 미치는 影響 및 機轉을 實驗的으로 糾明하기 위하여 실험실 환경에서 2주간 적응시킨 SD계 rat를 體重別로 고르게 分布시켜 8주령의 無處置群(N-8 group)과 12주령의 無處置群(N-18 group), 12주령 rat에 D-galactose(SigMA, USA)를 50mg/kg의 비율로 1회/1일 6주간 연속으로 rat 背部에 피하주사한 D-galactose 投與群(Control group),

D-galactose를 피하주사함과 동시에 首烏延壽丹을 經口 投與한 首烏延壽丹 投與群(SOY group)으로 나누어 각 群에 6마리씩 配定하여 抗酸化 效能을 觀察하였다.

또한 活性酸素 生成能의 變化와 이에 대한 生體內 防禦機轉을 檢討하고자 肝과 腎臟의 重量變化와, 血漿과 肝의 脂質過酸化物的 含量과 赤血球의 Superoxide dismutase(SOD) 活性, 赤血球의 Glutathione peroxidase(GSH-px) 活性, 赤血球의 Catalase 活性, 肝의 Superoxide dismutase(SOD) 活性, 肝의 Glutathione peroxidase(GSH-px) 活性, 肝의 Catalase 活性 變化를 N-8群, N-18群, G-galactose 投與群, SOY群으로 나누어 測定하였다.

實驗에 사용된 쥐의 肝重量은 N-8群이 $13.86 \pm 0.19g$, N-18群이 $18.93 \pm 1.06g$, Control群이 $15.35 \pm 0.37g$, SOY群이 $15.58 \pm 0.53g$ 으로 나타나 集團間 肝重量의 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며($F=15.651$, $p=0.0001$, ANOVA test), 다중비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意성을 검정한 결과 N-18군에서 Control군에 비하여 有意한 증가를 나타내었으나 SOY군은 Control군과 有意한 차이가 없었다. 실험에 사용된 쥐의 腎臟重量은 N-8군이 $2.28 \pm 0.07g$, N-18군이 $3.47 \pm 0.12g$, Control군이 $2.70 \pm 0.05g$, SOY군이 $3.40 \pm 0.11g$ 으로 나타나 집단 간 腎臟重量의 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며($F=46.210$, $p=0.0001$, ANOVA test), 다중비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意성을 검정한 결과 N-18군과 SOY군에서 Control군에 비하여 有意한 增加를 나타내었다(Table I).

活性酸素의 反應物인 脂質過酸化물은 自動酸化反應에 의한 多價不飽和脂肪酸에 O^2 가 附加된 生成物의 總稱인데 脂質過酸化물은 生體膜 등에 損傷을 입히고, 細胞機能을 低下시키며 壞死에 關係하며 여러 가지 疾病, 즉 alcohol性 脂肪肝, 急性 肝炎, 慢性 活動性肝炎, 非對象期의

肝硬變, 動脈硬化症 等과 密接한 關聯이 있다.

혈장 지질의 과산화 정도를 알아보기 위해 지질과산화물 함량 (Thiobarbituric Acid Reactive Substances : TBARS values)을 측정한 결과 N-8군이 36.30 ± 2.47 nmol/100ml, N-18군이 39.17 ± 3.25 nmol/100ml, Control군이 54.00 ± 3.68 nmol/100ml, SOY군이 43.83 ± 2.04 nmol/100ml으로 나타나 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며($F=1.189$, $p=0.001$, ANOVA test), 다중비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단 간 차이의 有意성을 검정한 결과 N-18군과 SOY군에서 Control군에 비하여 有意한 감소를 나타내었다. 간의 지질과산화물 함량(Thiobarbituric Acid Reactive Substances : TBARS values)을 측정한 결과 N-8군이 5.32 ± 0.32 nmol/g, N-18군이 6.75 ± 0.64 nmol/g, Control군이 8.98 ± 0.89 nmol/g, SOY군이 7.75 ± 1.00 nmol/g으로 나타나 집단간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며($F=5.887$, $p=0.004$, ANOVA test), 다중비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意성을 검정한 결과 N-18군은 Control군에 비하여 有意한 감소를 나타내었으나 SOY군은 有意한 차이가 없었다(Table II).

Superoxide dismutase(SOD)는 人體內에서 강한 毒性으로 作用하는 O_2 -를 과산화수소로 바꾸는 作用을 한다.⁴⁷⁾

적혈구에서의 항산화 효소들의 활성을 알아보기 위해 항산화 효소인 superoxide dismutase(SOD)의 활성을 측정한 결과 N-8군이 23.00 ± 1.60 , N-18군이 20.33 ± 1.65 , Control군이 16.00 ± 1.53 , SOY군이 21.40 ± 1.44 으로 나타나 집단 간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며($F=3.405$, $p=0.034$, ANOVA test), 다중비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意성을 검정한 결과 SOY군이 Control군에 비하여 有意한 증가를 나타내었다(Table III).

Glutathione peroxidase(GSH-px)는 과산화수소와 과산화지질을 동시에 還元시킴으로써 細

胞 構成 成分을 酸化의 損傷으로부터 保護해 주는 作用을 한다.⁴⁶⁾

적혈구에서의 항산화 효소들의 활성을 알아보기 위해 항산화 효소인 glutathione peroxidase (GSH-px)의 활성을 측정한 결과 N-8군이 0.209 ± 0.015 , N-18군이 0.157 ± 0.021 , Control군이 0.108 ± 0.018 , SOY군이 0.183 ± 0.012 로 나타나 집단간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며($F=9.261$, $p=0.0001$, ANOVA test), 다중비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意성을 검정한 결과 SOY군이 Control군에 비하여 有意한 증가를 나타내었다(Table IV).

Catalase는 SOD에 의해 생성된 과산화수소와 유기과산화물을 물로 排泄함으로써 生體를 保護하는 酵素이다.⁴⁷⁾

적혈구에서의 항산화 효소들의 활성을 알아보기 위해 항산화 효소인 Catalase의 활성을 측정한 결과 N-8군이 2942.1 ± 152.7 , N-18군이 2976.8 ± 107.2 , Control군이 2749.2 ± 175.2 SOY군이 2895.5 ± 149.1 으로 나타나 집단간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 없었다($F=0.376$, $p=0.771$, ANOVA test)(Table V).

간의 항산화 효소인 superoxide dismutase (SOD)의 활성을 측정한 결과 N-8군이 39.52 ± 1.53 , N-18군이 37.83 ± 2.38 , Control군이 39.80 ± 1.86 , SOY군이 46.88 ± 2.17 으로 나타나 집단간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며($F=3.806$, $p=0.023$, ANOVA test), 다중비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意성을 검정한 결과 SOY군이 Control군에 비하여 有意한 증가를 나타내었다(Table VI).

간의 항산화 효소인 glutathione peroxidase (GSH-px)의 활성을 측정한 결과 N-8군이 1.355 ± 0.012 , N-18군이 1.264 ± 0.014 , Control군이 1.138 ± 0.026 , SOY군이 1.548 ± 0.198 로 나타나 집단간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며($F=3.572$, $p=0.029$, ANOVA test), 다

중비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意성을 검정한 결과 SOY군이 Control군에 비하여 有意한 증가를 나타내었다(Table VII).

간의 항산화 효소인 Catalase의 활성을 측정한 결과 N-8군이 1840.6 ± 298.3 , N-18군이 2002.3 ± 583.3 , Control군이 1380.8 ± 27.4 , SOY군이 2113.0 ± 340.9 로 나타나 집단간 차이는 통계적으로 有意한 차이가 없었다($F=0.618$, $p=0.610$, ANOVA test)(Table VIII).

以上の 實驗을 總括해 본 結果, 首烏延壽丹 投與群은 腎臟重量이 Control群에 比하여 有意한 增加가 있었고, 血漿 脂質過酸化 物 含量도 Control群에 比하여 有意한 減少가 있었다.

肝과 赤血球의 抗酸化 酵素에 對한 實驗에 있어서도 首烏延壽丹 投與群은 赤血球에서의 抗酸化 酵素인 Superoxide dismutase(SOD), Glutathione peroxidase(GSH-px) 活性이 Control群에 比하여 有意性 있는 增加를 나타내었으며, 肝에서도 抗酸化 酵素인 Superoxide dismutase (SOD), Glutathione peroxidase(GSH-px) 活性이 Control群에 比하여 有意性 있는 增加를 나타내었다.

그러므로 首烏延壽丹과 이 處方의 君藥인 赤何首烏가 活性酸素의 生成과 老化物質의 蓄積을 막아 老化抑制에 有效한 것으로 推定되어, 老化 豫防을 위한 重要한 方法으로 提示될 수 있음을 確認하였고, 追後 이에 對한 深度 있는 研究가 뒤따라야 할 것으로 思料된다.

V. 結 論

首烏延壽丹이 抗酸化作用에 미치는 影響을 實驗的으로 밝혀보고자, 8주령의 無處置群, 12주령의 無處置群, 12주령 rat에 D-galactose (SIGMA, USA)를 50mg/kg의 비율로 1회/1일 6주간 연속으로 rat 背部에 피하주사한 D-galac-

tose 投與群(Control group), D-galactose를 피하주사함과 동시에 首烏延壽丹을 經口 投與한 首烏延壽丹 投與群(SOY group)에서의 肝과 腎臟의 重量變化, 血漿과 肝의 脂質過酸化物的 含量變化, 肝과 赤血球의 Superoxide dismutase(SOD), Glutathione proxidase(GSH-px), Catalase 活性度를 測定하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1) 首烏延壽丹 投與群(SOY群)은 D-galactose 投與群(Control群)에 比하여 肝重量에 있어서 有意한 增加가 없었으며, 腎臟重量의 差異는 SOY群이 Control群에 比하여 有意한 增加를 나타내었다.

2) 血漿 脂質過酸化物 含量을 測定한 結果, 首烏延壽丹 投與群(SOY群)은 D-galactose 投與群(Control群)에 比하여 有意한 減少를 나타내었으며, 肝의 脂質過酸化物 含量을 測定한 結果에서는 SOY群이 Control群에 比하여 有意한 差異가 없었다.

3) 赤血球에서의 抗酸化 酵素들의 活性을 알아보기 위해 抗酸化 酵素인 superoxide dismutase(SOD)의 活性을 測定한 結果, 首烏延壽丹 投與群(SOY群)은 D-galactose 投與群(Control群)에 比하여 有意한 增加를 나타내었다.

4) 赤血球에서의 抗酸化 酵素들의 活性을 알아보기 위해 抗酸化 酵素인 glutathione peroxidase(GSH-px)의 活性을 測定한 結果, 首烏延壽丹 投與群(SOY群)은 D-galactose 投與群(Control群)에 比하여 有意한 增加를 나타내었다.

5) 赤血球에서의 抗酸化 酵素들의 活性을 알아보기 위해 抗酸化 酵素인 Catalase의 活性을 測定한 結果, 集團間 差異는 統計的으로 有意한 差異가 없었다.

6) 肝에서의 抗酸化 酵素들의 活性을 알아보기 위해 抗酸化 酵素인 superoxide dismutase(SOD)의 活性을 測定한 結果, 首烏延壽丹 投與群(SOY群)은 D-galactose 投與群(Control群)에 比하여 有意한 增加를 나타내었다.

7) 肝에서의 抗酸化 酵素들의 活性을 알아보기

기 위해 抗酸化 酵素인 glutathione peroxidase(GSH-px)의 活性을 測定한 結果, 首烏延壽丹 投與群(SOY群)은 D-galactose 投與群(Control群)에 比하여 有意한 增加를 나타내었다.

8) 간에서의 抗酸化 酵素들의 活性을 알아보기 위해 抗酸化 酵素인 Catalase의 活性을 測定한 結果, 集團間 差異는 統計的으로 有意한 差異가 없었다.

以上の 結果로 首烏延壽丹은 活性酸素의 生成과 老化物質의 蓄積을 막아 老化 抑制에 有效한 것으로 推定되며, 앞으로 더 많은 研究가 進行되어야 할 것으로 思料된다.

參考文獻

1. 최진호 : 노화의 메커니즘과 연구방향, 생화학뉴스, 한국생화학회, 제5권 제3호 : pp.39-53, 1985.
2. 徐舜圭 : 成人病·老人醫學, 서울, 고려의학, pp.10-11, 13-19, 1992.
3. 김숙희 外 : 노화, 서울, 민음사, pp.77-106, 1995.
4. James D. Porterfield / Richard St. Pierre : 노화와 건강, 서울, 대한미디어 : pp.29-30, 1995.
5. 洪元植 : 精校 黃帝內經素問, 서울, 東洋醫學研究院 出版部, pp.11, 24, 1981.
6. _____ : 精校 黃帝內經素問, 서울, 東洋醫學研究院 出版部, pp.241, 1981.
7. 李哲浣 外 : 老人性疾患의 東西醫學의 考察, 서울, 韓方物理療法科學會誌, 제1권, pp.4-5, 1983
8. 이정복 : 장수학, 서울, 醫聖堂, pp.11-99, 492-576, 1987.
9. 金永坤·金永杓 : 프리라디칼, 서울, 麗文閣, pp.31-35, 98-101, 259-260, 278-286, 396-400,

- 425-426, 564-568, 1997.
10. 김영곤 : 인간은 어떻게 늙어갈까(노화생물학), 서울, 아카데미 서적, pp.58-81, 2000.
 11. Harman D. Aging : A theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 11 : 298, 1956.
 12. _____ : Nutritional implications of the free radical theory of ageing. *J Am College of Nutr* 1 : 27, 1982.
 13. Monti D, Troiano L, Tropea F, Grassilli E, Cossarizza A, Barozzi D, Pelloni MC, Tamassia MG, Franceschi C. Apoptosis-programmed cell death : A role in the aging process? *Am J Clin Nutr* 55 : 1208 S, 1992.
 14. Cutler, R. G. : Antioxidant aging and longevity. *Free Radicals in Biology*(ed. Pryor,W.), Academic Press, 6 : pp.371-424, 1984
 15. Feher, J., Csomos, G. and Vereckei, A. : The free radical theory of aging, *Free Radicals Reactions in Medicine*, Springer-Verlag, Berlin, pp.57-59, 1987
 16. Harman, D. : Free radical theory of aging, *J Gerontol*, 23 : pp.476-482, 1968.
 17. 오유진 : 활성산소가 질병의 원인이었다, 서울, 이화문화출판사, pp.57-67, 1997.
 18. Harman, D. : Free radical theory of aging : Role of free radicals in the organization and evolution of life, aging and disease processes. *Free radicals, Aging and degenerative Disease*(ed. Johnson, J.E. et al), New York, Alan R Liss, Inc., pp. 3-49, 1986.
 19. Lowry, O. H, Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with folin phenol reagent, *J. Biol. Chem*, pp.265-275, 1951.
 20. Forman, H. J., Boveris, A. : Superoxide radical and hydrogen peroxide in mitochondria. In *Free radicals in biology*, Vol 5, Edited by Pryor WA, Academic Press, New York, pp.65-90, 1982.
 21. 김지부 : 선울통경탕(宣鬱通經湯)이 가토(家兔)의 간조직 항산화 효과에 미치는 영향, 동의대학교 대학원, 1998
 22. 조주흠 : 선울통경탕(宣鬱通經湯)이 가토(家兔)의 간조직(肝組織)에서 항산화산소(抗酸化酸素)의 활성(活性)에 미치는 영향(影響)에 관한 연구(研究), 동의대학교 대학원, 1998.
 23. 황영근 : 청아환(靑娥丸)의 항산화作用에 관한 연구, 동국대학교대학원, 1996.
 24. 안상원 : 숙지황(熟地黃)과 육미지황탕(六味地黃湯)이 노화과정(老化過程) 흰쥐에서의 항산화기전(抗酸化機轉)에 미치는 영향, 대전대학교 대학원, 1999.
 25. 김명진 : 성심지황탕(醒心地黃湯)이 노화 백서의 혈액변화 및 혈청과 뇌 조직의 항산화물에 미치는 영향, 대전대학교 대학원, 2000.
 26. 허준영 : 십전대보탕의 항산화 작용에 관한 연구, 대전대학교 대학원, 2001.
 27. 한기선 : 백하수오의 항산화 활성과 amino acid의 분포에 관한 실험적 연구, 동국대학교 대학원, 1996.
 28. 김봉수 : 토사자류의 항산화 작용에 대한 연구, 동국대학교 대학원, 1997.
 29. 金光湖 : 예방한의학, 서울, 書苑堂, pp.504, 2001.
 30. 黃宮繡 : 本草求真, 台北, 宏業書局有限公司, pp.37, 44-47, 63, 129, 134-136, 198, 219, 226, 228, 民國七十年
 31. 李時珍 : 本草綱目, 北京, 人民衛生出版社, pp.997, 1019, 1078, 1235, 1288, 1334, 1435, 1986, 2067, 2096, 2101, 1982.
 32. 이상인 : 本草學, 서울, 學林社, pp.85, 108,

- 117, 125-127, 134-136, 141, 159, 186, 219, 235, 1975.
33. 안덕균 · 김호철 : 韓藥炮製學, 서울, 一中社, pp.200-205, 1997
 34. 지형준 · 이상인 : 한약(생약)규격집 주해서, 서울, 한국메디칼인텍스사, pp.397, 439, 1989.
 35. 전국한의대본초학교수공 편 : 본초학, 서울, 영림사, pp.583, 604, 1991.
 36. 戴新民 : 「中藥炮製法」 啓業書局 臺北, pp.87-89, 民國 66年.
 37. 謝宗萬 : 「全國中草藥匯編(下)」 人民衛生出版社, 北京, pp.469-470, 607-608, 1996.
 38. 李占永 · 胡國臣 : 「現代中藥藥理手冊」 中國中醫藥出版社, 北京, pp.575-576, 582-585, 1998.
 39. 江蘇新醫學院 : 「中藥大辭典」 上海科學技術出版社, 上海, pp.1135-1138, 2388-2390, 1993.
 40. 許浚 : 「東醫寶鑑」(內景篇 · 外形篇) 大星文化社, 서울, pp.16-21, 1999.
 41. 汪昂 : 醫方集解, 서울, 大星文化社, 1984.
 42. Strehler BL. Aging Research : DNA synthesis inhibitors in cellular senescence. J Gerontol 45 : B32, 1990.
 43. Orgel LE. The maintenance of the accuracy of protein synthesis and its relevance to aging. Proc Natl Acad Sci USA 49 : 517, 1963.
 44. _____. Ageing of clones of mammalian cells. Nature 243 : 441, 1993.
 45. Niki E, Yamamoto Y, Komuro E, Sato K. Membrane damage due to lipid oxidation. Am J Clin Nutr 53 : 201S, 1991.
 46. Diplock AT. Antioxidant nutrients and disease prevention : An overview. Am J Clin Nutr 53 : 189S, 1991.
 47. Yoon, Y. H. and Rhee, S. J. : Effects of Korean green tea, oolong tea and bleak tea beverage on the antioxidative detoxification in rat poisoned with cadmium. Kor. J. Nutr., 27, 1007-1017, 1994.
 48. Chow, C. K. : Glucose and dietary vitamin E protection against catalase inactivation in the red cells on rats. internat. J. Vit. Nutr. Res., 50, 364-371, 1980.