

十二味寬中湯의 老化 억제 효과에 대한 實驗的 研究

손덕칭·안택원*

Anti-aging and Anti-Oxidative Effect of SYG (SipYiMiGwanJungTang) in aged Rats

Teh-Cheng Sun, Taek-Won Anh

Dept. of Sasang Constitutional Medicine, College of Oriental Medicine, Daejeon
University.

The purpose of this study is to investigate the anti-aging and anti-oxidative effects of oral administration with SYG (SipYiMiGwanJungTang) decoction in early aged rats. The results were as follows :

1. At the 52 week of the SYG group, the body weight gain was decreased.
2. At the 52 week of the SYG group, the activity of the SOD in the liver was significantly increased than the 10, 22 and 40 week.
3. At the 52 week of the SYG group, the level of the glutathione in the liver was significantly increased than the normal group.
4. At the 68 week of the SYG group, the activity of the catalase in the liver was significantly increased than the normal and control group.
5. At the 52 week of the normal group, the level of the NO in the liver was significantly increased than the 22 and 40 weeks. But, the level of the NO of the SYG group was not changed by the aging.
6. At the 52 and 68 weeks of the SYG group, the level of the MDA in the liver was significantly decreased than the normal and control groups.

These results suggest that oral administration of SYG (SipYiMiGwanJungTang) decoction has anti-oxidative and anti-aging effects in early aged rats.

Key word : Anti-aging, Anti-Oxidative Effect, SipYiMiGwanJungTang

I. 緒 論

우리나라는 21세기에 이르러 급속도로 고령화 사회로 접근하고 있다. 1960년도에는 65세 이상

노인인구가 전 인구의 2.9%에 불과했으나, 2000년에는 7.1%를 넘어 고령화 시대로 접어들었으며 2022년에는 14.0%를 넘어 고령화 사회가 될 것으로 전망된다. 이러한 시대적 흐름에 따라서 老化에 대한 연구도 점차 활발해지고 있다^{1,2)}.

한의학에서는 老化에 대하여 명확하게 정의 내리지는 않았지만³⁾ 『靈樞 榮衛生會篇』⁴⁾에서 “老

* 대전대학교 한의과대학 사상체질의학교실
· 교신저자 : 안택원 · E-mail : twahn@dju.ac.kr
· 채택일 : 2007년 12월 14일

者之氣血衰 其肌肉枯 氣道澁 五臟之氣相搏 其營氣衰少而 衛氣內伐”이라 하여 氣血의 衰退로 肌肉이 점차 약해지는 것을 老化로 보았고, 老化로 인한 신체변화에 대해서는 『素問陰陽應象大論』⁵⁾에는 “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”라 하여 신체 기능과 생식능력의 저하가 나타난다고 하였다.

李濟馬(1838-1900)는 『東醫壽世保元廣濟說』⁶⁾에서 “四十九歲至六十四歲曰老”라 하여 50대에 들어 노인의 단계로 접어든다고 하였으며, 壽命의 長短을 결정짓는 요인은 각 체질에 따른 臟腑大小偏差를 극복하는 保命之主로 無病상태를 유지하며 心慾과 知行, 恭敬과 怠慢, 調養과 病變, 調病 등을 통한 체질적 양생을 의미한다고 하였다^{7,8)}.

西洋醫學에서 老化의 원인은 自由基(free radical)에 의해서 유도되는 脂質의 過酸化 반응이 老化와 밀접한 관계가 있는 것으로 보고되고 있다^{9,10)}. 活性酸素는 蛋白質과 DNA의 손상 및 細胞膜 脂質의 過酸化를 촉진하여 生體組織을 손상시킴으로서 老化를 유발할 뿐만 아니라 糖尿病 心臟病 腎不全 癌 등의 急慢性 疾患의 病因으로 認定되고 있다¹¹⁻¹³⁾. 생체내의 활성산소를 해독하기 위한 방어체계로는 glutathione, selenium, Vt C, Vt E 등의 非酵素系와 superoxide dismutase(SOD), catalase, glutathione peroxidase(GSHpx)등과 같은 酵素系가 過酸化 작용을 억제하는데 관여하는 것으로 알려져 있으며, 이러한 인자들이 抗酸化 效能에 대한 객관적인 치료로 활용되고 있다¹⁴⁻¹⁶⁾.

老化現象에 의한 變化로는 頭髮 皮膚 등의 外觀上 變化, 身體 臟器重量 減少 등의 형태적 變化와 機能의 變化 및 知的機能 低下, 人格의 機能 低下 및 心理的 變化 등이 나타나는 것이 일반적인 특징이다¹⁷⁻¹⁹⁾. 老化現象을 遲延 緩和시키기 위한 方法으로는 導引, 按摩, 經絡療法, 氣功療法, 運動療法, 食餌療法 및 藥物療法 등의 養生法이 제시되었다¹⁹⁻²¹⁾.

현재까지 활성 산소의 독성을 억제하기 위해서

체내의 항산화 방어 체계를 강화시키는 방법이고 안되어지고 있으나 소화기관에서의 흡수, 조직으로의 분배 등의 문제로 인한 난점을 완전히 극복하지 못하고 있는 실정이다. 이러한 시도중 특히, 체내의 항산화 방어계의 근간을 이루는 SOD를 이용하는 방법이 응용되고 있으나 경구 복용시 위장관에서 파괴되거나 소화관에서 흡수가 난해해 큰 이득을 보지 못하고 있으며, liposome에 포집하여 혈관 주사하는 방법이 개발되어 몇몇 증상에 대해서 효과를 보고 있으나 아직까지 미비한 실정이다. 따라서 SOD와 유사하게 높은 항산화 활성을 가지면서 소화관에 흡수가 쉬운 SOD 유사 물질(SOD-like substance)의 개발이 절실한 실정이다²²⁻²⁴⁾.

현재 사용하고 있는 十二味寬中湯은 赤白何烏寬中湯의 변방이다. 赤白何烏寬中湯은 醫方類聚의 寬中湯을 기원으로 舊本에서는 薑朮破積湯을 사용하였는데 여기에서 蒼朮 白朮 獨頭蒜 厚朴 枳實 木香 大腹皮 各一錢, 白芍藥 炙甘草를 빼고 赤何首烏 香附子 益智仁 各1錢을 추가하여 만든 처방이다. 주로 少陰人 裏病 太陰症의 四體倦怠 小便不快 陽道不興 將有浮腫之漸者를 치료하며, 薑朮破積湯에서 사용되었던 厚朴 枳實 木香 大腹皮 各1錢을 赤白何烏寬中湯에 추가하면 十二味寬中湯이 된다²⁵⁻²⁸⁾. 十二味寬中湯의 내용을 분석해 보면 補脾和脾肺, 壯脾 등으로 脾를 補하고 和하는 藥物과 溫中시키는 藥物로 構成되어 少陰人의 裏病의 四體倦怠 小便不快 陽道不興 장차 浮腫으로 진행될 수 있는 사람에 활용된 處方으로²⁵⁾ 정²⁸⁾은 老化와 관련된 腦와 肝 조직의 抗酸化 기전에 少陰人의 表證藥보다 우수한 효과가 있음을 실험적으로 증명하였고 宋²⁹⁾은 太·少陰人의 처방이 스트레스유발 백서의 自律神經機能에 미치는 영향을 文³⁰⁾은 少陽人, 少陰人 처방과 약제가 脂肪細胞의 증식·분화억제에 미치는 영향, 催³¹⁾는 十二味寬中湯이 Wistar rat의 老化에 따른 혈액학적 변화에 미치는 영향 등을 보고하였으나 十二味寬中湯의 抗老化에 대한 각 조직별 항산화 활성을 통한 실험적 연구는 아직 접하지 못하였다.

이에 저자는 十二味寬中湯의 항산화와 관련된 항노화 효과를 입증하고자 6주령, 18주령, 36주령, 48주령 및 64주령 백서를 성장기말, 성숙기, 초기노화기, 후기노화기 및 노화말기로 설정하고 4주간 매일 1%의 十二味寬中湯 200 μ l를 경구 투여한 후, 실험이 종료된 10주령, 22주령, 40주령, 52주령 및 68주령 백서의 몸무게의 변화 및 간조직을 분획한 후 조직 내의 항산화 효소인 SOD 및 catalase 활성도, 항산화 물질인 glutathione의 함량, 자유라디칼인 NO의 농도 및 산화적 손상물질인 MDA 변화를 측정한 결과 유의한 성적을 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

II. 實 驗

1. 재료

1) 동물

동물은 6주령, 18주령, 36주령의 웅성 SD rat을 (주)중앙실험동물(경기도, 한국)에서 공급받아, 6주령과 18주령 및 36주령의 일부는 1주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였으며, 36주령의 나머지는 52주령과 68주령이 될 때까지 실험실에서 사육하여 실험에 사용하였다. 실험에 사용된 동물은 실험 당일까지 고형사료(삼양사료, 한국)와 물을 충분히 공급하고, 실험실은 실온 (22 \pm 2 $^{\circ}$ C)을 유지하였다.

2) 약재

본 실험에 사용된 十二味寬中湯(SYG)은 대전대학교 한방병원에서 구입하여 이용하였다. 十二味寬中湯의 구성은 다음과 같다.

진피	Aurantii nobilis Pericarpium	4.0
청피	Aurantii Pericarpium	4.0
행부자	Cyperi Rhizoma	4.0
익지인	Amomi Amari Fructus	4.0
후박	Magnoliae	2.0
지실	Ponciri Fructus	2.0
목향	H Pericarpium	2.0
대복피	A Pericarpium	2.0
대조	Z Fructus	2.0
Total amount		44.0

3) 시약 및 기기

(1) 시약

시 약 명	제조사	제조국	
RBC lysis solution	Sigma	U.S.A	
Phosphate buffer saline(PBS)			
RPMI-1640 medium			
HBSS			
Collagenase IV gum-acadia			
Sucrose formalin absolute EtOH			
Harris Hematoxlin Eosin B			
Xylene percoll			
Cocktail solution			
Fetal bovine serum(FBS)			Hyclone
Antibiotics			
methyl 3H (Thymidine)			Amersham
SOD(Super Oxide Dismutase) assay kit			Dojindo
GSH (Glutathione) assay kit			
Catalase assay kit	Oxford	U.S.A	
MDA(Lipid peroxidation) assay kit			
NO(Nitric Oxide) assay kit(NB 98)			

(2) 기기

기 기 명	제조사	제조국
Specrophotometer	Shimazu	Japan
Bio-freezer	Sanyo	
Rotary evaporator	Eyela	
digital camera microscope	Nicon	

Table 1. The Compositions of SipYiMiGuan junTang(SYG)

韓藥名	生藥名	用 量(g)
백하수오	Cynanchi Wilfordii Radix	4.0
적하수오	Polgoni Multiflori Radix	4.0
양강	Galangae Rhizoma	4.0
건강	Zingiberis Rhizoma	4.0

β -counter	BECMAN	U.S.A
ELISA reader	TARAN	Canada
Ice maker	Vision science	Korea
Cytological centrifuge	Hanil	
micro centrifuge		
Cryotome	Shandon	U.K

2. 실험 방법

1) 세포 독성 측정

(1) 간세포 분리

본 실험모델과 동일한 6주령 수컷 SD rat의 간 조직을 사용하였다. Rat을 ethyl ether를 이용하여 마취 시킨 후, 대동맥 혈관에 HBSS(Ca²⁺, Mg²⁺ free)를 투여하며 복부쪽 혈관을 절단시켜 동물의 혈액을 모두 배출시킨다. 조직을 잘게 잘라서 RPMI 1640 media(with 10% FBS)와 collagenase typeIV(300 u/ml)를 넣고 실온에서 90 분간 incubation 한다. 이때 20 분에 한 번씩 흔들며 줌으로써 간세포가 분리가 잘 되도록 한다. 간 조직을 HBSS(Ca²⁺, Mg²⁺ free)를 사용하여 mesh에서 갈아준다. 이렇게 얻어진 시료를 원심분리하여 획득한 세포는 63%와 36%의 percoll을 이용하여 간세포들 중에서 lymphocyte 만을 분리하였다.

(2) 간세포 배양 및 분획별 독성 측정

분리한 간세포는 RPMI 1640 media에 10%의 FBS와 antibiotic를 첨가하고 세포를 하루 동안 안정화 시킨다. 10%, 5%, 1%, 0.5%, 0.1%의 농도로 희석한 十二味寬中湯(SYG)을 각각 첨가하여 72 시간 동안 36°C에서 배양한다. 배양된 세포를 harvest하기 12~18 시간 전에 [3H]-thymidine 1 μ Ci를 처리한다. 세포를 beta-counter (BECMAN, USA)에 사용하는 safe cuvette에 500 μ l씩 분주한다. 다음 cocktail solution을 2 ml첨가 한 후, thymidine의 uptake를 beta-counter로 확인하였다.

2) 실험군 설정

실험동물은 각각 10주령, 22주령, 40주령, 52주령, 68주령의 SD rat으로, 각 주령마다 정상군

(normal group), saline 대조군(saline group), 十二味寬中湯 투여군(SYG group)으로 나누어 모두 15군으로 분류하였고, 각 실험군에는 실험 동물을 6마리씩 배정하였다. 각 실험군에 대한 처치는 다음과 같다.

(1) 10주령, 22주령, 40주령, 52주령 및 68주령 정상군(Normal group): 6주령, 18주령, 36주령, 48주령 및 64주령의 정상 SD rat을 4주간 아무 처치하지 않은 군.

(2) 10주령, 22주령, 40주령, 52주령 및 68주령 saline 대조군(Saline group): 6주령, 18주령, 36주령, 48주령 및 64주령의 SD rat에 매일 200 μ l의 Saline을 4주간 경구투여한 군

(3) 10주령, 22주령, 40주령, 52주령 및 68주령 十二味寬中湯 투여군(SYG group): 6주령, 18주령, 36주령, 48주령 및 64주령의 SD rat에 매일 1%의 十二味寬中湯 200 μ l를 4주간 경구투여한 군.

3) 체중 측정

실험 기간 동안, 몸무게를 주 1 회 측정하여 기록하였으며, 실험 시작 전과 실험 종료시의 체중으로부터 체중 변화율을 계산하였다

4) 장기내 항산화 효과 측정

(1) 조직 적출 및 분획

생리 식염수로 관류하여 혈액을 제거한 후 간 조직의 일부를 적출하여 여지로 혈액 및 이물질을 제거하고 Bansal 등의 방법(32)에 의해 조직 1g에 4배의 150 mM의 KCl을 가하여 homogenizer를 이용하여 균질화하였다. 균질화한 조직을 600 \times g에서 10 분간 원심분리하여 균질화되지 않은 조직 등을 제거한 후 상등액을 10,000 \times g에서 20 분간 원심분리하여 mitochondrial fraction을 얻었다. 이 상등액을 105,000 \times g에서 1 시간 원심분리 하여 cytosolic fraction을 얻었다. 그 침전물에 동일한 양의 0.1 M potassium phosphate buffer를 가하여 현탁시켜 microsomal fraction을 얻었다. microsomal fraction에서 glutathione의 함량과 MDA의 함량을 측정하였고, cytosolic fraction

을 이용하여 SOD 활성도와 NO 함량을 측정하였으며, mitochondrial fraction에서 catalase의 활성을 측정하였다.

(2) SOD activity

간조직의 SOD 활성도는 cytosolic fraction을 sample로 하여 SOD assay kit(Dojindo, Japan)을 이용하여 측정하였다. Sample solution을 96 well plate에 각 well과 blank 2에 20 μ l씩 분주한다. Blank 1과 blank 3에 D.W.를 분주한 뒤, WST working solution을 200 μ l/well으로 모든 well에 첨가한다. Blank 2과 blank 3 well에 dilution buffer를 20 μ l씩 분주하고, enzyme working solution을 각 sample well과 blank 1에 20 μ l/well으로 분주한다. 20 분 동안 37°C에서 incubating을 실시하고 450 nm에서 흡광도를 측정 하고 SOD 활성도를 환산하였다.

SOD activity (inhibition rate %)

$$= \frac{(\text{Ablank1} - \text{Ablank3}) - (\text{Asample} - \text{Ablank2})}{\text{Ablank1} - \text{Ablank3}} \times 100$$

(3) Glutathione assay

간조직의 glutathione 함량은 glutathione assay kit(Dojindo, Japan)를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정해서 결과를 얻었다.

(4) Catalase activity

간조직의 catalase 활성은 catalase assay kit(Oxford Biomedical Research, USA)를 이용하여 측정하였으며, 520 nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다.

(5) NO assay

간조직의 nitric oxide(NO) 함량은 kit(Oxford Biomedical Research, USA)을 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정해서 결과를 얻었다.

(6) Lipid peroxidation assay

간조직의 lipid peroxidation 함량은 lipid peroxidation assay kit(Oxford Biomedical

Research, USA)을 이용하여 측정하였고 586 nm에서 흡광도를 측정한 후 MDA를 계산하였다.

6) 통계처리

실험 결과는 평균 \pm 표준편차로 표시하였으며, SPSS 통계프로그램(14.0 KO)의 일원분산배치(ANOVA)통계법을 사용하여 유의성을 검증하였다. 각 실험군의 결과값을 비교하여 신뢰도 95% 이상($p \leq 0.05$)일 때 유의한 것으로 판정하였다.

III. 成績

1. 세포 독성

정상 rat의 간세포에 十二味寬中湯 전탕액을 여러 가지 농도로 처리한 결과, 十二味寬中湯 전탕액의 농도가 높을수록 높은 세포독성을 나타내었다(Fig. 1).

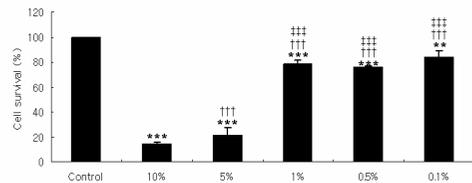


Figure 1. Cell survival rate with various concentrations of SYG decoction.

Liver cells from normal male rat were prepared and cultured with various concentration of SYG decoction, and the cell survival rates were measured. Values represent the means \pm SEM of 3 independent experiments.

** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$ compared to control by ANOVA test

††† : $p < 0.001$ compared to 10% SYG decoction by ANOVA test

‡‡‡ : $p < 0.001$ compared to 5% SYG decoction by ANOVA test

2. 체중

1) 체중 변화

실험 개시부터 1주일 간격으로 실험 동물의 체중을 측정하였다. 모든 주령에서 정상군, 대조군, SYG군간에 유의한 차이가 나타나지 않았다(Fig. 2).

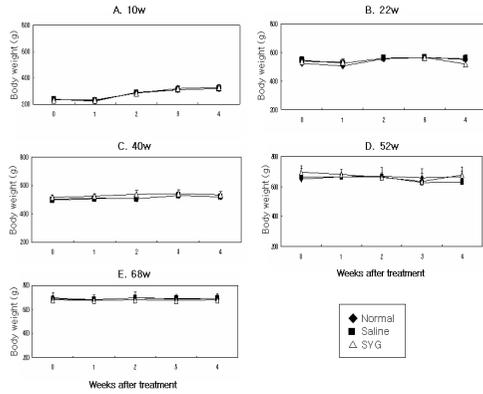


Figure 2. Effect of SYG decoction on body weight in rats.

Rats in the saline group and SYG group were treated with saline and SYG decoction respectively, once a day for 4 weeks. The weight of experimental animals was monitored weekly. Values represent mean \pm SEM (n=6).

Normal : normal SD rat

Saline : SD rat treated with saline daily for 4 weeks

SYG : SD rat orally administered with SYG decoction daily for 4 weeks

2) 체중 변화율

실험 시작 전에 측정한 체중과 실험종료시의 체중으로부터 체중 변화율을 계산하였다. 모든 실험군에서 주령이 증가함에 따라 체중 증가율이 감소되었다. Saline군과 SYG군에서 52주에 체중이 감소되었다. 각 주령에서의 SYG 투여에 따른 체중증가율을 비교한 결과, 6주령에서는 SYG 투

여에 의해 체중증가율이 약간 증가되었고, 52주 이후부터는 SYG 투여에 의해 체중증가율이 감소되는 경향을 나타내었으나, 통계적 유의성은 없었다(Fig. 3).

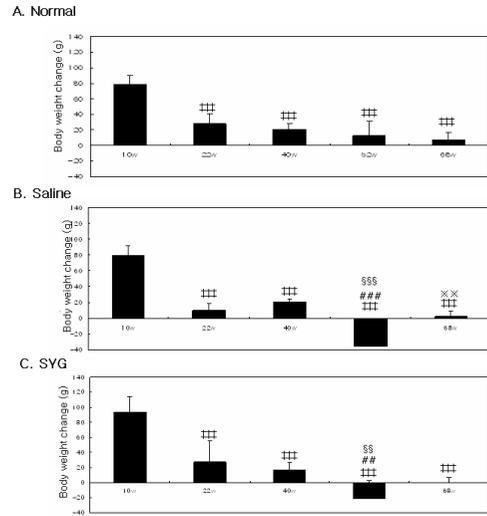


Figure 3. Effect of SYG on body weight increasing rate in rat.

Rats in the saline group and SYG group were treated with saline and SYG decoction respectively, once a day for 4 weeks. The weight of experimental animals was monitored weekly. Values represent mean \pm SEM (n=6).

Normal : normal SD rat

Saline : SD rat treated with saline daily for 4 weeks

SYG : SD rat orally administered with SYG decoction daily for 4 weeks

††† : p<0.001 compared to 10w group by ANOVA test

: p<0.001, # : p<0.05 compared to 22w group by ANOVA test

§§§ : p<0.001, §§ : p<0.01 compared to 40w group by ANOVA test

※※ : p<0.01 compared to 52w group by ANOVA test

3. 장기에서의 항산화 효과

(1) SOD activity

실험동물의 간조직에서 SOD 활성을 측정하였다. 주령의 증가에 따른 간 내 SOD 활성 변화를 관찰한 결과, normal군과 saline군에서는 주령 증가에 따른 SOD 활성의 유의적인 차이가 없었다. SYG군은 52주령에서 10주령, 22주령 및 40주령에 비하여 SOD활성이 유의적으로 증가되었고, 68주령에서는 52주령에 비하여 SOD 활성이 유의적으로 감소되었다.

각 주령에서의 SYG 투여에 따른 간 내 SOD 활성 변화는 유의적인 차이는 없었다(Table 2).

(2) Glutathione concentration

실험동물의 간 조직에서 glutathione의 농도를 측정하였다. 주령의 증가에 따른 간 내 glutathione 농도 변화를 관찰한 결과, normal, saline군, SYG군 모두 주령이 증가함에 따라 간 내 glutathione 농도가 감소되는 경향을 나타내었다. 특히 모든 실험군에서 52주령에서 glutathione 농도가 현저히 감소되었으며, 68주령에는 52주령에 비하여 증가되는 경향을 보였다.

각 주령에서의 SYG 투여에 따른 간 내 glutathione 농도 변화를 관찰한 결과, 10주령에서는 SYG군에서 saline군에 비하여 간 내 glutathione 농도가 유의하게 증가되었으며, 40주령에서는 SYG군에서 normal군에 비하여 간 내 glutathione 농도가 유의하게 증가되었다. 22주령, 52주령 및 68주령에서는 SYG 투여에 의한 glutathione 농도의 유의적인 변화는 없었다 (Table 2).

(3) Catalase activity 실험동물의 간 조직에서 catalase의 활성을 측정하였다. 주령의 증가에 따른 간 내 catalase 활성 변화를 관찰한 결과, normal군에서는 68주령에서 10주령, 22주령 및 40주령에 비하여 간 내 catalase 활성이 유의하게 감소되었고, saline군에서는 68주령에서 10주령, 22주령, 40주령 및 52주령에 비하여 간 내 catalase 활성이 유의하게 감소되었다. SYG군에서는 이러한 catalase 활성의 감소가 나타나지 않았다.

각 주령에서의 SYG 투여에 따른 간 내 catalase 활성 변화를 관찰한 결과, 10주령, 22주령, 40주령 및 52주령에서는 간 내 catalase 활성에 유의한 변화가 없었으나, 68주령에서는 SYG군에서 normal군 및 saline군에 비하여 간 내 catalase 활성이 유의하게 증가되었다(Table 2).

(4) NO concentration

실험동물의 간 조직에서 nitric oxide(NO)의 농도를 측정하였다. 주령의 증가에 따른 간 내 NO 농도 변화를 관찰한 결과, normal군에서는 52주령에서 10주령, 22주령 및 40주령에 비하여 간 내 NO 농도가 유의하게 증가되었으나, 68주령에는 52주령에 비하여 유의하게 감소되었다. Saline군에서는 22주령에서 10주령에 비하여 NO 농도가 유의하게 감소되었으며, 40주령은 22주령에 비하여 NO 농도가 유의하게 증가되었다. SYG군에서는 연령의 증가에 따른 NO농도에 유의한 변화가 없었다.

각 주령에서의 SYG 투여에 따른 간 내 NO농도의 변화를 관찰한 결과, 22주령에서 SYG군의 NO농도가 saline군에 비하여 유의하게 높았다. 40주령과 52주령에서는 SYG 투여에 의하여 간 내 NO 농도가 감소되는 경향을 보였으나 통계적 유의성은 없었다(Table 2).

(5) MDA concentration

실험동물의 간 조직에서 MDA 농도를 측정하였다. 주령의 증가에 따른 간 내 MDA 농도 변화를 관찰한 결과, 모든 군에서 52주령과 68주령에서 MDA 농도가 유의하게 증가되었으나, SYG군에서는 증가의 정도가 normal군 및 saline군에 비하여 완만하였다.

각 주령에서의 SYG 투여에 따른 간 내 MDA 농도 변화를 살펴본 결과, 52주령 및 68주령에서 SYG군의 MDA농도가 normal군 및 saline군에 비하여 유의하게 감소되었다(Table 2).

Table 2. Effect of SYG on various antioxidants and oxidants in rat liver

Parameter	Age	Normal	Saline	SYG
SOD	10w	91.65±8.	88.34±6.	85.61±11

activity (%)		85	57	.39
	22w	95.59±5.99	102.8±4.58	87.68±2.01
	40w	100.24±9.47	88.01±8.58	84.46±9.68
	52w	105.72±7.49	110.10±12.42	116.82±6.61
	68w	98.19±6.22	92.22±4.70	93.72±1.25
GSH Conc. (umol/l)	10w	141.89±10.73	133.43±3.11	152.68±0.55
	22w	128.79±6.88	124.31±14.21	150.05±9.73
	40w	102.57±4.24	125.10±4.70	123.66±10.61
	52w	60.10±14.87	34.71±1.92	39.91±4.04
	68w	67.21±11.00	70.72±7.10	80.53±30.05
Catalase activity (%)	10w	164.77±0.08	164.87±0.15	164.81±0.31
	22w	164.81±0.23	164.81±0.35	164.61±0.53
	40w	164.71±0.70	164.40±0.70	164.00±0.96
	52w	165.54±2.62	166.32±1.05	168.36±1.01
	68w	158.53±1.39	145.23±2.62	168.01±3.00
NO Conc. (umol/l)	10w	36.82±13.68	39.88±8.89	39.91±12.88
	22w	24.16±7.68	13.70±2.60	32.80±10.41
	40w	23.36±2.04	36.58±20.17	27.77±12.59
	52w	58.09±17.61	31.78±4.11	34.91±5.89
	68w	18.19±0.98	18.26±0.45	17.84±0.17
MDA Conc. (umol/l)	10w	0.37±0.01	0.37±0.01	0.38±0.01
	22w	0.36±0.01	0.39±0.01	0.38±0.01
	40w	0.37±0.01	0.39±0.01	0.38±0.01
	52w	0.90±0.18	0.95±0.11	0.27±0.01
	68w	1.90±0.24	1.63±0.12	0.58±0.09

IV. 考 察

최근 우리나라는 급격한 경제성장과 함께 의료 및 보건기술의 발전으로 국민영양상태가 크게 개선되어 인간의 평균수명이 계속 증가되고 있는 추세이다³³⁾. UN에 따르면 총 인구에서 65세 이상 고령 인구 비율이 7%를 넘으면 고령화사회(aging society), 14%를 넘으면 고령사회(aged society)로 분리된다. 우리나라는 고령인구 비율이 2000년에 7.2%에 이르러 이미 고령화사회가 되었고, 2019년이면 14.4%로 고령사회에 진입할 것으로 예상되며, 2020년이 되면 전 세계 국가 절반이상이 고령사회가 된다고 한다. 고령사회로 접어들면 필연적으로 여러 가지 만성 퇴행성 질환과 난치성 질환자가 급증하므로³⁴⁾ 老化나 이들 질환의 예방과 치료에 대한 대책이 필요하다.

老化는 시간이 경과함에 따라 생체내 여러 가지 생리적 기능이 저하되는 현상을 말하며 아울러 외부로부터 오는 stress를 감당하지 못하게 되는 상태를 의미한다³⁵⁾. 老化의 기전은 아직 확실히 밝혀지지는 않았지만, 포유동물에서 발생하는 老化와 연관된 퇴행적 변화과정들을 설명하려는 많은 이론들이 대두되고 있다. 첫째는 老化가 중추신경계의 신경내분비적 변화 또는 면역계통의 변화로 인한 기관 기능(organ function)의 점진적 상실에 기인한다는 이론(organ-based theory)³⁶⁾, 둘째는 산소-자유라디칼에 의해 촉매된 산화성 대사가 효소들을 손상시켜 합성능력을 감소시키고, 변화된 생물학적 환경에 반응하려는 老化된 개체의 능력을 방해한다는 이론(free radical theory)^{36,37)}, 셋째는 老化에 따른 성장요소(trophic factor)들의 변화가 일부 老化에 관련된 뇌의 변화에 기여할 수 있다는 이론^{38,39)}, 마지막으로 老化가 다양한 유전적 오류와 돌연변이의 결과로 진행된다는 제놈이론(genomic theory) 등이 제기되고 있으며, 예정사(programmed cell death)의 개념이 여기에 포함된다³⁶⁾. 이 중 free radical과 관련된 학설이 최근 많은 지지를 받고 있다^{36,37)}. Free radical설에 의하면, free radical은 정상적인 대사과정에서 부수적으로 여

러 가지 형태로 생성되어 생체구성 성분들에 산화적 손상을 주게 된다. 뿐만 아니라 free radical은 효소활성의 저해, 핵산 정보의 오류, 막 기능 손상 및 老化색소의 축적 등 老化와 관련된 기능의 쇠퇴를 초래하는 것으로 알려져 있다⁴⁰⁾.

한의학에서는 오래전부터 체질의학에 따른 인간의 老化를 이해하고 극복하여 수명을 연장시키는 방법에 대하여 연구하여 왔다. 韓醫學에서 老化에 대한 정확한 정의를 내리지는 않았지만³⁾ 『素問·上古天真論』⁴¹⁾에 남녀의 나이를 먹음에 따라 腎氣와 生殖能力의 盛衰에 따라 老化가 진행되고 사람의 외모 및 動態가 바뀌는 것을 설명하였고, 『靈樞·榮衛生會篇』⁴⁾에서는 “老者之氣血衰其肌肉枯 氣道澁 五臟之氣相搏 其營氣衰少而衛氣內伐”이라 하여 老化로 인하여 氣血의 衰退로 肌肉이 점차 약해진다고 하였다. 이는 사람이 성장하면서 절로 腎氣가 盛하고 天癸가 至하였다가 늙으면서 腎氣가 衰하고 天癸가 竭하여 누구나 일정 나이가 되면 老化되어 죽는다는 것과 연령이 증가하면서 氣血이 衰하고 任衝脈이 虛해져 퇴행적인 쇠퇴가 일어난다는 老化의 두 가지 측면을 설명한 것이라 할 수 있다. 또한 『素問·上古天真論』⁴¹⁾에 養生에 따라 至人, 真人, 賢人, 聖人으로 구별하여 生生不息하는 이상향을論하기도 하여 老化를 극복하고 수명을 연장하려는 노력을 보이기도 하였다.

체질의학의 효시인 李濟馬는 『東醫壽世保元』⁶⁾에서 “四十九歲至六十四歲曰老”라 하여 50대에 들어 노인의 단계로 접어든다고 하였으며 『東醫壽世保元四象草本卷』⁴²⁾ 「病變·第二統」에서 “太陽人財權酒色 凡百內傷外觸皆損肝 故太陽人以肝臟剩削爲命脈長短…”라 하여 命脈의 長短이 偏小之臟의 剩削에 따라 결정된다고 하였다. 또한 “太陽人 肝臟十分圖全而與肺相敵者 極完境人也, 一半虧缺而與肺讓倍者 極壞境人也 過此則死, 以此推之 太陽人肝臟部一半爲命脈實數他臟倣此”라 하여 생명을 유지하는 偏小之臟의 기운의 정도를 命脈實數라 정의하고 이 命脈實數가 반 이하가 되면 죽는다고 하여 질병과 건강의 상태뿐 아니라 수명까지도 命脈實數에 따라

달라질 수 있다고 설명하였다고 생각할 수 있으며 이러한 命脈實數를 결정짓는 요인으로 ‘存其心 養其性 修其身 立其命’하는 治心 정신을 강조하고 있다³⁾.

이처럼 四象醫學的인 壽命과 老化의 개념은 인생과정에서 命脈과 本常之氣 및 生息充補之力의 변화를 의미하며 壽命의 長短을 결정짓는 요인은 각 체질에 따른 臟腑大小偏差를 극복하는 保命之主로 無病상태를 유지하며 心慾과 知行, 恭敬과 怠慢, 調養과 病變, 調病 등을 통한 체질적 양생을 의미한다^{7,8)}.

최근 한의학계에서도 老化에 대한 文獻 研究⁴³⁻⁴⁷⁾ 및 抗酸化 效能에 관한 實驗 研究 보고⁴⁸⁻⁵⁰⁾가 많이 있었다. 그 중 老化의 原因으로 가장 중요시되는 腎虛를 보할 목적으로 이루어진 方劑인 六味地黃湯⁴³⁾, 瓊玉膏^{44,45)}, 延年益壽不虎丹⁴⁶⁾, 鹿參地黃湯⁴⁷⁾ 등의 抗老化에 대한 연구 보고가 있었으며, 拘杞子⁴⁸⁾, 兎絲子⁴⁹⁾, 覆盆子⁵⁰⁾ 등의 抗酸化에 관한 연구보고가 있었다. 그러나 아직 간과 비장에 작용하는 十二味寬中湯의 老化된 백서의 항산화 및 항노화에 관한 구체적인 연구는 없는 실정이다.

少陰人 病症은 크게 腎受熱表熱病과 胃受寒理寒病 등으로 대별되는데 腎受熱表熱病은 腎大로 인하여 腎陰이 왕성하며 腎에 腑인 大腸이 升揚 작용을 하지 못하고 鬱滯됨으로 인하여 발생하는 데 이는 크게 鬱狂證과 亡陽證으로 구별되고, 모두 上升하지 못한 陽氣를 어떻게 상승시키는냐에 기본치료방향이 정해지며 陽氣上升을 목표로 升陽益氣法을 사용한다^{51,52)}. 少陰人 胃受寒理寒病은 少陰人이 脾少한 特徵을 지니므로 항상 脾陽이 不足하여 陰化되기 쉽고 升陽하는 기운이 부족하여 생긴 陰實之氣의 輕重에 의해 太陰證과 少陰證으로 구별된다. 鬱滯된 陰實之氣를 내려주는 것을 근본으로 하여 太陰證은 溫氣가 寒氣를 밀어내는 것으로 溫氣를 도와주면서 裡陰을 내려주는 溫胃降陰法이고, 少陰證은 深부에 영향이 미친 상태이므로 脾氣를 도와주면서 降陰시키는 健脾降陰法이다^{51,52)}.

十二味寬中湯은 積聚, 鬱證, 浮腫, 脹滿 등 肝

疾患과 有關한 症候에 應用되고 있으며, 또 藥劑의 構成上 肝疾患의 一般的인 治療原則인 疏肝理氣, 活血祛瘀, 調理脾胃³⁰⁾ 등에 비추어 理氣之劑가 그 主宗을 이루고 있음을 볼 때, 十二味寬中湯은 藥劑의 構成面이나 後世醫家들의 應用面으로 보아 충분히 肝疾患에 應用될 수 있을 것으로 사료된다⁵³⁾. 十二味寬中湯 구성약물 중 香附子는 文³⁰⁾의 보고에서 肝, 脾腫大에 탁월한 效能이 있음이 입증되었고, 良薑과 厚朴은 정⁵⁴⁾ 등의 보고에서는 혈청 GOT 活性度에 高度의 有意性이 있음이 立證되었으며, 禹⁵⁵⁾는 生藥의 殺蟲性에 관한 研究에서 厚朴이 肝吸蟲症에서 나타나는 肝肥大, 腹部膨大, 肝硬便, 黃疸 그리고 肝不全症에 殺蟲性이 현저하다고 보고하였다.

이에 저자는 十二味寬中湯의 抗老化 효과를 활성산소의 산화능을 억제하는 抗酸化 효과를 통하여 간접적으로 입증하고자 6주령, 18주령, 36주령, 48주령 및 64주령 백서에 4주간 매일 1%의 十二味寬中湯 200 μ l를 경구투여한 후, 실험이 종료된 10주령, 22주령, 40주령, 52주령 및 68주령 백서의 간조직을 분획, 항산화 효소인 SOD 및 catalase 활성도, 항산화 물질인 glutathione의 함량, 자유라디칼인 NO의 농도 및 산화적 손상물인 MDA 함량 변화를 측정하였다.

SD rat은 출생 후 약 8주까지는 체중이 급속도로 증가하고 약 16주령까지는 체중 증가 정도가 급속도로 둔화되며 그 이후 32주까지는 미미한 정도의 체중 증가만이 나타난다는 관찰을 토대로 장⁵⁶⁾ 등은 평균 7주령까지를 성장기군으로 나누고 28주까지를 성숙기로 분류하여 흰 쥐에서 연령이 골격근의 당대사에 미치는 영향에 대한 연구를 수행하였으며, 박⁵⁷⁾ 등의 한약물의 치매치료에 관한 실험적 연구에서도 쥐의 연령이 12개월(약 54주) 이상이 되면서 여러 감각운동 기능이 저하된다는 Murphy⁵⁸⁾ 등의 연구를 기초로 이 시기가 SD rat의 노화기에 해당한다고 판단하였다.

따라서 본 연구에서는 실험용 SD rat을 6주령, 18주령, 36주령, 48주령 및 64주령으로 구분하여 성장기말, 성숙기, 초기노화기, 후기노화기, 노화말기로 설정하고 연구를 진행하였다.

실험 개시부터 1주일 간격으로 6주령, 18주령, 36주령, 48주령 및 64주령 백서의 체중을 측정 한 결과, 실험종료 후 10주령에서는 모든 군에서 체중이 증가하였으나 성숙기에 접어들어 성장이 둔화된 22주령 및 초기노화기인 40주령에서는 모든 군에서 체중이 경미하게 증가하였고 실험군에서 52주령 이후부터는 체중이 감소하였으며 다른 군보다 체중의 증가도 적었다(Fig.2,3). 정상군 및 대조군과 비교하여 十二味寬中湯 투여 시 SD rat에서의 체중의 유의한 변화는 관찰되지 않았다.

老化的 발생은 체내 산화적 손상을 일으키는 활성 산소종과 관련되어 있는 것으로 밝혀지고 있는데^{36,37)} 활성 산소종은 화학물질뿐만 아니라 정상적인 신체대사과정 중에 생성된 한 개 이상의 비공유전자를 가진 불안정한 상태의 이온으로 그 종류에는 superoxide anion($\cdot O_2^-$), hydroxyl radical($\cdot OH$), lipid peroxy radical($LOO\cdot$), nitrous oxide($NO\cdot$), hydrogen peroxide(H_2O_2), singlet oxygen(1O_2) 등이 있으며, DNA의 deoxyribose 분자 또는 purine 및 pyrimidine 염기와 반응하여 염기 손실이나 strand break 등의 DNA 손상을 일으킨다⁵⁹⁾. 그 이외에도 당분자와 반응하여 당단편을 형성 (sugar fragmentation)하고 단백질과 반응하여 단백질 과산화물을 생산하거나 지질과산화 및 LDL 산화 등을 일으킨다⁵⁹⁾.

체내 항산화 체계는 이러한 활성 산소종의 공격으로부터 신체를 보호하기 위한 것으로 라디칼 연쇄반응을 정지시켜 라디칼의 반응성을 제거한다. 체내 항산화체계와 관련된 주요 효소로는 superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSHpx), catalase (CAT) 등이 있으며 주요 비효소물질로는 glutathione, tocopherols, carotenoids, ascorbic acid 등이 있다. 그러나 비효소물질만으로는 반응성 라디칼을 완벽히 제거할 수 없어 활성 산소종에 의한 DNA, RNA, 단백질 손상을 회복시키기 위해서는 효소체계와의 협력이 필요하다⁵⁹⁾.

SOD는 활성산소를 기질로하여 과산화수소와 산소를 만드는 효소이다. 반응성이 큰 활성산소는 일단 SOD에 의해 과산화수소가 된 후 catalase에 의해 물로 되어 무독화된다. 랫트의 각 장기에 있어서 SOD는 간, 신장, 심장, 뇌, 폐순으로 많으며, Cand 등⁶⁰⁾은 랫트의 주요 장기에서 SOD 활성이 가령에 따라 감소함을 보고하였다. 그러나 Matsuo 등⁶¹⁾은 랫트에서 전체적인 항산화력은 老化하는 동안에 큰 변화는 없으며 일부 항산화계 요소의 감소는 다른 요소의 증가에 의해 보상되어진다고 하였고, Carrillo 등⁶²⁾은 老化에 따른 항산화계 효소들의 변화가 없으며 성에 따른 차이가 있다고 주장하였다.

본 실험에서 간 조직 내 SOD 활성도는 정상군 및 대조군에서 주령 증가에 따른 유의성은 없었다. 실험군은 52주령에서는 SOD 활성도가 증가되었다가, 68주령에서는 다시 SOD 활성도가 감소되었다. 十二味寬中湯의 투여에 따른 간장내 SOD 활성도는 통계적으로 유의한 변화를 보이지 않았다(Table 2).

조직에서 glutathione은 자체적으로 항산화제로 이용되거나 또는 다른 항산화제의 환원 상태 유지에 관여하고 또한 GSHpx와 같은 항산화 효소의 cofactor로 작용하여, 조직내에서 수용성 항산화 방어 체계의 근간을 이루는 중요한 물질이라 할 수 있다. 항산화물질인 산화형 GSH는 비타민 E와 더불어 불포화지방산의 과산화를 방지하는 작용을 하여 체내 항산화력 증진에 중요한 항산화물질이다⁶⁴⁾. 또한 간에서는 GSH-S-transferase의 작용을 받아 외부로부터 온 화학물질과 결합하여 화학물질을 무독화 시키고 최종적으로는 mercapturic acid로 배출한다⁶⁴⁾. Liu 등⁶⁵⁾은 SAM에 있어서 뇌와 간의 GSH는 가령에 따라 감소한다고 하였다. 본 실험에서 항산화 물질인 산화형 GSH 농도는 정상군, 대조군, 실험군 모두 10주령에 비해 52주령에서 농도가 현저히 감소되었다. 十二味寬中湯의 투여에 따른 肝臟 내 GSH 농도는 초기노화상태로 설정한 40주령의 실험군(123.66±10.61 umol/l)에서 정상군(102.57±4.24 umol/l)에 비하여 유의적으로 증

가되었다(Table 2).

과산화수소 및 유기 과산화물을 물로 무독화시킴으로써 과산화적 손상을 방지하는 catalase 활성도는 정상군 및 대조군 모두 10주령, 22주령 및 40주령에 비해 68주령에서 농도가 현저히 감소되었다. 실험군에서는 주령에 따른 catalase 활성의 변화가 없었다. 十二味寬中湯의 투여에 따른 肝臟 내 catalase 활성은 노화말기로 설정한 68주령의 실험군(168.01±3.00%)에서 정상군(158.53±1.39%) 및 대조군(145.23±2.62%)에 비하여 유의적으로 증가되었다(Table 2).

Nitric oxide(NO)는 동맥이나 다른 혈관의 이완 및 신경계의 신호전달 물질로 작용하면서 외부에서 침입한 미생물에 대한 방어 분자로 알려져 있다⁶⁶⁾. 그러나 과다한 NO의 생성은 독성을 나타내는데 특히 superoxide anion과 반응하여 peroxynitrite(OONO)를 생성하여 조직에 손상을 입히기도 한다. 간조직의 주령 증가에 따른 NO 농도 변화를 관찰한 결과, normal군에서는 52주령에서 10주령, 22주령 및 40주령에 비하여 간 내 NO 농도가 유의하게 증가되었으나, 68주령에는 52주령에 비하여 유의하게 감소되었다. SYG군에서는 연령의 증가에 따른 NO농도에 유의한 변화가 없었다. SYG 투여에 따른 간 내 NO 농도의 변화는 22주령에서 SYG군의 NO농도가 saline군에 비하여 유의하게 높았다(Table 2).

생체내 지질성분 특히 세포 막성분인 불포화지방산이 과산화를 받아 생성된 물질 및 분해이차산물을 과산화지질이라 한다. 불포화지방산의 변형이 일어나면 막의 유동성이 변화되고 막결합효소가 불활성화되어 생체막기능이 소실되고 세포의 구조적, 기능적 장애를 일으켜 신체에 다양한 변화를 초래하게 된다. 간 조직 내 MDA 함량은 정상군, 대조군 및 실험군에서 후기노화기 이후인 52주령과 68주령에서 MDA 농도가 유의하게 증가되었으나, 실험군은 증가의 정도가 정상군 및 대조군에 비하여 완만하였다. 52주령 및 68주령의 실험군에서는 MDA 농도가 정상군 및 대조군에 비하여 유의적으로 감소되었다(Table 2).

十二味寬中湯의 프리라디칼소거효과와 지질과

산화 억제효과는 十二味寬中湯 원료 약제중 E-2,3,5,4'-tetrahydroxystibene-2-O-β-D-glucopyranoside, catechin, galangin, CynandioneA 등⁶⁷⁻⁷¹⁾의 성분들이 hydroxyl 및 peroxy radical들을 소거하고, Fe이온들을 빼앗아 fenton reaction을 억제하는 것으로 판단된다.

十二味寬中湯에 이용된 약제들의 노화 관련 항산화 효능에 대한 연구로 조⁶⁸⁾는 적하수오 에탄올 추출물에서 E-2,3,5,4'-tetrahydroxystibene-2-O-β-D-glucopyranoside, catechin을 분리 동정하여 DPPH free radical 소거활성이 우수함을 보고하였고, Rapta 등⁶⁹⁾은 良薑의 galangin 성분이 low oxidation potential(1.5V)를 갖고 있어 지질과산화억제 효과가 강하다고 보고하였다. 김 등⁷⁰⁾은 CCl₄-olive oil을 투여하여 간독성을 유발시킨 쥐에서 향부자의 BuOH 및 Water fraction의 유의성 있는 지질과산화 억제효과를 보고하였다. 또한, 나⁷¹⁾는 백하수오 성분 중의 하나로 보고되어진 Cynandionea(Biacetophenone)를 사염화탄소로 산화스트레스를 가한 쥐의 간세포에 처리 시 지질과산화물의 형성을 저해함으로써 사염화탄소에 의한 간손상 보호효과와 라디칼 소거능이 보고된 바 있다. 한편, 사염화탄소로 간 독성을 유발한 쥐에 백하수오 추출물과 적하수오 추출물을 각각 투여시 손상된 간 기능의 회복효과를 볼 수 있었으며 여기서 간 독성 완화 효과는 백하수오가 더 효과적이라고 보고되기도 하였다⁷²⁾. 郭⁷³⁾은 肝 과 赤血球의 抗酸化 酵素에 대한 實驗에 있어서도 首烏延壽丹 투여군은 적혈구에서의 항산화 효소인 SOD, GSH-px 활성이 대조군에 비하여 유의성 있는 증가를 나타내었으며, 간에서도 항산화 효소인 SOD, GSH 활성이 대조군에 비하여 유의성 있는 증가를 나타내었다고 보고하였다. 그러므로 首烏延壽丹과 이처방의 君藥인 赤何首烏가 활성산소의 생성과 노화물질의 축적을 막아 노화억제에 유효한 것으로 추정되어, 노화 예방을 위한 중요한 방법으로 제시될 수 있음을 확인하였다.

그러나 기존의 실험들이 노화 병태 모델에 있어 같은 환경에서 여러 주령의 실험군에 대하여

전반적인 체중이나 조직의 抗酸化 효소 활성 변화를 관찰한 것이 아니라 특정 장부에 대한 세포 수준의 연구였음을 감안하면 다른 실험들과 본 실험에 활용된 약물을 비교하여 약물의 유의성을 판단하기는 어렵다고 사료된다. 또한 본 연구에서 약물의 항산화와 관련된 항노화 효과를 입증하고자 6주령, 18주령, 36주령, 48주령 및 64주령 백서를 성장기말, 성숙기, 초기노화기, 후기노화기 및 노화말기로 설정하고 실험한 것은 일정 부분 가치가 있을 것으로 사료된다.

이상과 같이 6주령, 18주령, 36주령, 48주령 및 64주령의 백서를 성장기말, 성숙기, 초기노화기, 후기노화기 및 노화말기로 설정하여 4주간 매일 1%의 十二味寬中湯 200 μl를 경구투여 한 결과 十二味寬中湯은 52주령 초기노화 백서의 체중 증가를 지연시켰다. 또한, 十二味寬中湯 투여는 40주령 백서 간조직의 GSH 농도 및 68주령 catalase 활성을 정상군에 비해 증가시키고, 52주령 및 68주령의 지질과산화도를 정상군 및 대조군에 비해 감소시키는 등 항산화 효과가 있는 것으로 나타나 향후 임상에서의 활용과 함께 기전에 대한 연구가 더욱 필요할 것으로 사료된다.

V. 結 論

十二味寬中湯의 抗老化 및 抗酸化 작용을 실험적으로 입증하고자 6주령, 18주령, 36주령, 48주령 및 64주령 백서를 성장기말, 성숙기, 초기노화기, 후기노화기 및 노화말기로 설정하여 4주간 매일 1%의 十二味寬中湯 200 μl를 경구투여 한 후 체중증가를 측정하고, 肝조직의 항산화 효소인 SOD 및 catalase 활성도, 항산화 물질인 glutathione의 함량, 자유라디칼인 NO의 농도 및 산화적 손상물질인 MDA 함량 변화를 측정한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 十二味寬中湯은 52주령 후기노화 백서의 체중 증가를 지연시켰다.

2. 간조직의 SOD 활성은 정상군에서는 주령의 변화에 따른 유의적인 차이가 없었으나, 十二味寬中湯 투여군은 52주령에서 10, 22 및 40주령에 비하여 유의적으로 증가되었다.
3. 간조직의 glutathione 농도는 모든군에서 52주령에서 현저히 감소되었으나, 68주령에서는 증가되었다. 十二味寬中湯 투여군은 초기노화기인 40주령에서 정상군에 비해 유의적으로 증가되었다.
4. 간조직의 catalase 활성은 정상군의 경우 68주령에서 10, 22 및 44주령에 비해 유의적으로 감소되었으나, 十二味寬中湯 투여군은 주령에 따른 활성의 변화가 없었다. 68주령의 catalase 활성은 十二味寬中湯 투여군이 정상군 및 대조군에 비해 유의적으로 증가되었다.
5. 간조직의 NO 농도는 정상군의 경우 52주령에서 22 및 40주령에 비해 유의적으로 증가되었으나, 十二味寬中湯 투여군은 주령에 따른 활성의 변화가 없었다.
6. 간조직의 MDA 농도는 모든군에서 52 및 68주령에서 MDA 농도가 유의적으로 증가되었으나, 十二味寬中湯 투여군은 증가 정도가 정상 및 대조군에 비해 완만하였다. 52 및 68주령의 MDA 농도는 十二味寬中湯 투여군에서 정상 및 대조군에 비해 유의적으로 감소되었다.
5. 程士德 : 素問注釋匯粹, 人民衛生出版社, 北京, 일중사 영인, 1987, pp. 95.
6. 李濟馬 : 四象醫學原論, 행림출판, 서울, 1992, pp. 114.
7. 김선민 외 : 東醫壽世保元四象草本卷에서의 양생에 관한 고찰. 사상체질의학회지, 12(1), 2000, pp. 101~109.
8. 유정희 외 : 老化와 수명에 관한 사상의학적 양생관에 대한 고찰, 사상체질의학회지, 14(3), 2002, pp. 7~16.
9. Cutler RG : Antioxidants, aging and longevity, Free radicals in Biology, Academic Press, 6, 1988, pp. 371~424.
10. Feher J, Csomos G, Vereckei A : The free radical theory of aging, Free Radicals Reactions in Medicine, Springer-Verlag, Berlin, 1987, pp. 57-59.
11. 박진우 : 노화, 암과 라디칼에 의한 DNA 손상, 생화학뉴스, 9(4), 1990, 314-320.
12. 김안근, 김지현 : 산화적 스트레스 및 항산화제가 항산화효소 활성에 미치는 영향, 응용생물학회지, 9, 2001, pp. 249-257.
13. 조경환 : 항산화제의 작용과 임상적 이해, 가정의학회지, 19(5), 1998, pp. 60-65.
14. 김숙희, 김화영 : 노화, 서울, 민음사, 1995, pp. 77-106.
15. 최진호 : 노화의 메카니즘과 연구방향, 생화학 뉴스, 한국생화학회, 5(3), 1985, pp. 39-53.
16. Massey V, Strickland S, Mayhew SG, Howell LG, Engel PC : The production of superoxide anion radical in the reaction of reduced flavins and flavoprotein with molecular oxygen, Biochem Biophys Res Comm, 36, 1969, pp. 891-897.
17. 김광호 : 예방한의학, 서원당, 서울, 2001, pp. 435-442, 448-501.
18. 두호경 : 동의신계학, 동양의학연구원, 서울, 1993, pp. 1325-1383.

參考文獻

1. 고영완 외5인 : 노인 생리학, 도서출판 홍경, 2002, pp. 1~13.
2. 박상철 : 한국의 백세인, 서울대학교 출판부, 2002, pp. 253~254.
3. 정용재 : 동의보감과 동의수세보원사상초본권에 나타난 양생관에 대한 고찰, 사상체질의학회지, 14(2), 2002, pp. 25~34.
4. 河北醫學院 校釋 : 靈樞經校釋, 人民衛生出版社, 北京, 1982, pp. 355.

19. 고기완 : 노화 및 노인의 병인 병기에 관한 문헌적 연구, 경희대학교 한의과대학 석사학위논문, 1993.
20. 송일병 외 : 改訂增補 四象醫學, 집문당, 서울, 2004, pp. 390-394.
21. 元德必 : 東醫四象新編, 우문사, 서울, 1929.
22. Yoshika T, Naito Y, Kondo M. Antioxidants in the therapy and preventive medicine, Plenum Press New York, USA, 1990, pp. 171.
23. Halliwell B : How to characterize a biological antioxidants, Free radical Res Commun, 9, 1990, pp. 1-32.
24. Halliwell B : Free radicals and antioxidant: A personal view, Nutr Review, 52, 1994, pp. 253-265.
25. 이태호 : 東醫四象診療醫典, 행림출판, 서울, 1978.
26. 신홍일 : 東醫壽世保元註解, 대성의학사, 서울, 2000.
27. 이정찬 : 新四象醫學論, 목과도, 서울, 2001.
28. 정봉연 : 少陰人 十二味寬中湯, 吳茱萸附子理中湯이 흰쥐의 腦와 肝조직의 抗酸化 기전에 미치는 영향, 경희대학교 대학원, 2000.
29. 송정모 : 太少陰人の 처방이 스트레스유발 백서의 自律神經機能에 미치는 영향, 경희대학교 대학원, 1995.
30. 文濬典 : 百消丸 및 加味百消丸이 四鹽化炭素로 因한 白鼠肝損傷에 미치는 영향에 관하여, 경희한의대논문집, 2, 1979, pp. 23-26.
31. 최예원, 안택원 : 十二味寬中湯이 Wister rat의 노화에 따른 변화에 미치는 實驗的 考察. 대전대학교 한의학연구소 논문집. 12(2), 2004, pp. 1-10.
32. Bansal VS, Hattori H, Orihel D, Kanfer JN : Distribution of selected phospholipid modifying enzymes in rat brain microsomal subfractions prepared by density gradient zonal rotor centrifugation, Neurochem Res, 10(4), 1985, pp. 439-451.
33. 박종순, 천성수 : 사인별 평균수명 손실량 변화에 관한 연구, 대한보건협회 학술지, 26(1), 2000, pp. 46-58.
34. 공세권, 유호신 : 한국인의 노령화에 관한 고찰, 인구문제론집, 25(12), 1984, pp. 50-59.
35. Donk-Uk Lee : Oxidative stress and age-related changes in microsomal mixed function oxidase activity, Kor J Gerontol, 1(2), 1991, pp. 187-201.
36. Hayflick L : Theories of biological aging, Exp Gerontol, 20, 1985, pp. 145-159.
37. Volicer L, Crino PB : Involvement of free radicals in dementia of the Alzheimer's type : a hypothesis, Neurobiol Aging, 11, 1990, pp. 567-571.
38. Mervis RF, Pope D, Lewis R : Exogenous nerve growth factor reverses age-related structural changes in neocortical neurons in the aging rat : a quantitative Golgi study, Ann NY Acad Sci, 640, 1991, pp. 95-103.
39. Hefti F, Mash DC : Localization of nerve growth factor receptors in the normal human brain and in Alzheimer's disease, Neurobiol Aging, 10, 1989, pp. 75-87.
40. Asbeck BSV : Role of hydrogen peroxidase and iron, Antioxi Thera Preven Med, 264, 1990, pp. 235.
41. 임응추 : 황제내경장구색인, 중사, 서울, 1992, pp. 7~9.
42. 김달래 編譯 : 東醫壽世保元四象草藁, 정담, 서울, 1999, pp. 41~46.

43. 안상원, 이철완: 熟地黃과 六味地黃湯이 노화과정 흰쥐에서의 항산화 기전에 미치는 영향, 대전대학교 한의학연구소논문집, 8(1), 1999.
44. 광병준 : 瓊玉膏가 노화유발 흰쥐의 항산화능에 미치는 영향, 경희대학교대학원 석사학위논문, 2004.
45. 김병탁, 김성훈 : 瓊玉湯의 항산화작용에 대한 실험적 연구, 대전대학교 한의학연구소 논문집, 7(1), 1998.
46. 길호식: 延年益壽不虎丹이 노화유발 흰쥐의 항산화능에 미치는 영향, 경희대학교 박사학위논문, 2003.
47. 소경순, 김광호 : 녹삼지황탕이 항노화에 미치는 영향, 경희한의대논문집, 18(2), 1995.
48. 윤상주 : 백서의 간손상에 의한 구기장의 유리자유기 소거능에 관한 연구, 동국대학교 한의과대학원 박사논문, 2002.
49. 김봉수 외 2인 : 菟絲子の 항산화작용에 대한 연구, 대한본초학회지, 12(1), 1997, pp. 67.
50. 박성준 : 覆盆子가 노화유발 흰쥐의 항산화능에 미치는 영향, 경희대학교 대학원 석사논문, 2004.
51. 李濟馬 : 東醫壽世保元, 서울,杏林出版, 1986.
52. 전국한의학과대학 사상의학교실 엮음 : 사상의학, 서울, 집문당, 1997.
53. 宋孝貞 : 十二味寬中湯이 TAA에 의한 白鼠 肝損傷에 미치는 영향, 경희대논문집, 14, 1985, pp. 295-304.
54. 정태호 외 9인 : 151종 생약제 추출물이 B형 간염 바이러스 표면 항원(HBsAg)과 항체(HBsAb)의 결합반응 그리고 HBV DNA polymerase 활성화에 미치는 효과, 경북의대지, 33(3), 1992, pp. 211-232.
55. 우기전, 생약의 간흡충에 관한 실험적 연구, 경희대 박사학위논문, 1981.
56. 장응찬 : 흰쥐에서 연령이 골격근의 당대사에 미치는 영향, 영남의대학술지, 18(1), 2001, pp. 94~100.
57. 박순권 : 한약물의 치매치료에 관한 실험적 연구, 동의신경정신과 학회지, 9(2), 1998, pp. 19~35.
58. Murphy MP, Rick J Th, Milgram NW, Ivy GO : A simple and rapid test of sensorimotor function in the aged rat, Neurobiology of Learning and Memory, 64, 1995, pp. 181-186.
59. Fu S, Gebicki S, Jessup W, Gebicki JM, Dean RT : Biological fate of amino acid, peptide and protein hydroperoxides, Biochem J, 311(Pt 3), 1995, pp. 821-827.
60. Cand F, J Verdetti : Superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase and lipid peroxidation in the major organ of the aging rats, Free Radic Biol Med, 59, 1989, pp. 7-12.
61. Matsuo M, F Gomi, MM Dolley : Age-related alteration in antioxidants capacity and lipid peroxidation on brain, liver and lung homogenates of normal and vitamin E-deficient rats, Mech Ageing Dev, 64(3), 1992, pp. 273-292.
62. Carrillo MC, S Kanai, Y Sato, K Kitani : Age-related changes in antioxidant enzyme activities are region on organ, as well as sex, selective in the rat, Mech Ageing Dev, 65, 1992, pp. 187-198.
63. Sakamoto Y. et al. : Glutathione(3rd Ed), Scientific, 1989, pp. 5.
64. Hodgson E : Glutathione transferase and mercapturic acid. In: Morden toxicology, (Hodgson E, EL Patricia eds.) Elsevier New York, 1987, pp. 78-81.
65. Liu J, Mori A : Age-associated changes in superoxide dismutase activity,

- thiobarbituric acid reactivity and reduced glutathione level in the brain and liver in senescence accelerated mice (SAM) : a comparison with ddY mice. *Mech Ageing Dev*, 71(1-2), 1993, pp. 23-30.
66. Bredt DS, Snyder SH : Nitric oxide, a novel neuronal messenger, *Neuron*, 8, 1992, pp. 3-11.
67. Hiramoto K, Ojima N, Sake K, Kikugawa K : Effect of plant phenolics on the formation of the spin-adduct of hydroxyl radical and the DNA strand breaking by hydroxyl radical, *Biol Pharm Bull*, 19, 1996, pp. 558-563.
68. 趙賢 : 천연물로부터 항산화 및 간보호 물질의 분리 및 구조 결정, 원광대학교 대학원 약학과, 2001.
69. Rapta P, Misik V, Stasko A, vrabel I : Redox intermediates of flavonoids and caffeic acid esters from propolis: an EPR spectroscopy and cyclic voltammetry study, *Free Radic Biol Med*, 18, 1995, pp. 901-908.
70. 김태희, 박지영 : 향부자 분획물의 사업화 탄소로 유도된 간 장애 및 지질과산화에 미치는 영향, *생약학회지*, 28(4), 1997. pp. 185-191.
71. 나영인 : 백하수오 추출물 투여가 쥐의 체내 지질과산화와 항산화 효소 활성화에 미치는 영향, 숙명여자대학교 대학원 식품영양학과 석사학위논문, 2001.
72. 신민교 : 백서 간조직에 미치는 적하수오와 백하수오의 효능에 관한 비교 연구, *생약학회지*, 16(2), 1985, pp. 81-92.
73. 郭炳薰 : 首烏延壽丹이 노화유발 흰쥐의 항산화능에 미치는 영향, 경희대학교 대학원 석사학위논문, 2003.