

鹿茸 藥針 製劑가 힌쥐 腎臟 組織의 抗酸化 作用에 미치는 影響

윤 철호* · 정 지천* · 신 억섭**

Effects of *Cervus elaphus* for herb-acupuncture solution on Antioxidation in Rat's kidney

Yoon Cheol-Ho* · Jeong Ji-Cheon*

Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dongguk Univ.

Shin Uk-Seob**

Dept. of Pharmacy, Dongguk Medical Center

Cervus elaphus for herb-acupuncture solution (CEHAS) was tested for the effects of free radical generating enzyme and lipid peroxidation in rat's kidney. *In vitro*, levels of lipid peroxide in tissues of kidney were proportionally decreased to concentration of extracts prepared from CEHAS. They were much more decreased, when lipid peroxidation was induced with ferrous iron (FeII). Also, enzyme activities of xanthine oxidase were decreased. The ratio of type conversion of xanthine oxidase was lowered, too. But, it was not seen changes on enzyme activities of aldehyde oxidase.

These results suggest that CEHAS decrease the activities of free radical generating enzymes such as xanthine oxidase which form lipid peroxide.

【Key words】 *Cervus elaphus*, herb-acupuncture solution, lipid peroxide, xanthine oxidase, aldehyde oxidase

1. 緒 論

鹿茸(*Cervus elaphus*)은 補陽劑로서 味甘鹹 性溫하고 肝·腎經에 入하여 溫腎補陽, 生精補血¹⁾, 補命門²⁾, 強筋健骨³⁾ 등의 效能이 있어 元氣不足, 虛勞羸瘦, 陰冷痿 等に 活用되고 있다.¹⁾⁴⁾⁵⁾

또한, 生殖機能을 興奮시키고 發育·成長을 促進하며 造血機能과 強心作用 等이 밝혀져,¹⁾ 虛弱證, 婦人諸病⁶⁾, 神經衰弱, 失眠, 心臟衰弱 等に 많이 應用⁷⁾⁸⁾되고 있을 뿐만 아니라, “久服耐老”⁴⁾⁹⁾, “不老”⁴⁾의 效能이 있어 抗老化 作用도 있을 것으로 여겨진다.

* 東國大學校 韓醫科大學 內科學教室

** 東國大學校 醫療院 藥劑科

이와 같이 優秀한 補腎 藥物인 鹿茸을 藥針으로 活用할 경우 藥效가 빠르고 葯量이 正確하며 藥物이 胃腸管에서 破壞되는 것을 防止하는 效果가 있으므로¹⁰⁾, 胃腸管内 吸收 面積의 減少로 因하여 藥物의 吸收 障礙가 있는 老人 患者¹¹⁾의 治療에 더욱 效果的 이라 여겨진다.

鹿茸 藥針에 對한 實驗 研究로는 急性 毒性,¹²⁾ 貧血,¹³⁾ 鎮痛 作用,¹⁴⁾ 糖尿病,¹⁵⁾ 肝 損傷,¹⁶⁾ 陽痿證,¹⁷⁾ 副腎皮質 機能,¹⁸⁾¹⁹⁾ 免疫 機能²⁰⁾²¹⁾²²⁾²³⁾²⁴⁾ 등에 關한 報告가 있다.

抗酸化 作用에 對한 韓藥物의 研究는 補腎 藥物을 中心으로 이루어지고 있는데, 熟地黃, 山茱萸,²⁵⁾ 枸杞子,²⁶⁾ 山藥²⁷⁾ 및 胡桃 藥針液²⁸⁾ 등이 過酸化脂質의 生成을 減少시킨다고 報告되고 있다.

이에 著者는 鹿茸 藥針 製劑의 抗酸化 效能에 미치는 影響을 살펴보기 爲한 一環으로 腎 組織에서 過酸化脂質의 含量 및 活性酸素 生成系 酵素인 xanthine oxidase 活性과 型轉換率 및 aldehyde oxidase 活性 變化를 測定하였던 바 有意性 있는 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 材料 및 方法

1. 材料

1-1. 藥材

本 實驗에 使用한 鹿茸은 東國大學校 附屬 韓方病院에서 購入한 後 精選하여 使用하였다.

1-2. 試藥 및 機器

Hypoxanthine, potassium phosphate mono and dibasic은 Wako pure Chemical社로부터, bovine serum albumin(BSA), ferrous chloride(Fe II), nicotineamide adenine dinucleotide, thiobarbituric acid sodium salt, xanthine oxidase는 Sigma社로부터, xanthine sodium salt, trichloroacetic acid는 Nakarai社로부터, malondialdehyde는 Aldrich社로부터, N-1-methyl-nicotinamide는 Tokyo Chemical社로부터 購入한 製品을 使用하였고 其他 모든 試藥은 市中에서 購入한 特級品을 使用하였다.

實驗에 使用한 機器는 UV spectrophotometer (Shimazu UV-1201), refrigerated centrifuge (Hitachi 20 PR-52D), ultra centrifuge (Hitachi 70P-72), deep freezer (Revco) 등이었다.

1-3. 動物 및 試料의 投與

實驗에 使用한 動物은 一定한 溫度와 濕度가 維持되는 條件으로 飼育한 外觀上 健康하고 體重이 約 250±20g 内外이며 生後 約 10±2 週齡의 雄性 Sprague-Dawley系 흰 쥐이며, 實驗前 16時間 동안 물만 주고 絶食시켜 使用하였다.

2. 實驗 方法

2-1. 抽出液의 調製

水提 alcohol法⁸⁾으로 製造하였다. 鹿茸 300g을 粗末로 하여 圓底 flask에 넣고, 蒸溜水 2000ml를 加하여 3時間 동안 水浴에서 抽出하고 濾過한 다음, 濾液을 rotary evaporator로 減壓 濃縮하여 全量을 200ml로 하였다. 室溫까지 冷却하고, 95% ethyl alcohol 100ml를 加하여 室溫에서 攪拌 後 放置하여 生成된 沈澱物을 濾別하였다. 濾液에 다시 85% ethyl alcohol 100ml를 加하여 잠시 reflux하고, 放置하여 生成된 沈澱物을 濾別하고, 다시 濾液에 75% ethyl alcohol 100ml를 加한 後, 같은 操作을 2回 反復하였다. 그 다음, 濾液中 ethyl alcohol을 減壓 溜去하여 殘渣全量을 100ml가 되게 한 後, 여기에 全體 分量이 1000ml되게 生理食鹽水를 加하고, 3% 鹽酸으로 pH. 6~7로 調節하여 低溫(5℃以下)에서 12時間을 放置한 다음, 微量의 浮遊物을 濾別하고 加壓滅菌하여 nucleopore filter paper (25mm, 0.45 μ m)로 filtration시켜 試料로 使用하였다.

2-2. 酵素源의 調製

動物을 ether로 麻酔시킨 다음 腹部 正中線을 따라 開腹한 後 腹部大動脈으로 부터 血液을 採取하고 0.9% 生理食鹽水로 貫流시킨 腎臟을 摘出하였다. 摘出된 腎臟을 生理食鹽水에 씻은 다음 濾紙로 가볍게 壓迫하여 異物質 또는 生理食鹽水를 除去하였다. 組織 1g當 4 培量의 0.1M potassium phosphate buffer (pH 7.5, 以下 K.P. buffer로 略稱)를 加하여 氷冷下에서 glass teflon homogenizer로 磨碎하였다. 이 磨碎 均質液을 600×g에서 10分間 遠心分離하여 核 및 未磨碎部分을 除去한 上澄液을 얻고 이것을 다시 10,000×g에서 20分間 遠心分離하여 mitochondrial fraction을 除去하였다. 한편, mitochondrial fraction을 除去시킨 上澄液을 105,000×g에서 1時間 동안 超遠心分離하여 cytosolic fraction을 分離한 後 aldehyde oxidase와 xanthine oxidase 活性 測定의 酵素源으로 使用하였다. 以上の 모든 操作은 0-4℃에서 行하였다.

2-3. 酵素 活性의 測定

2-3-1. Aldehyde oxidase 活性 測定

Aldehyde oxidase 活性 測定은 Rajagopalan 等³⁰⁾의 方法에 依해 0.1M K.P. buffer (pH 7.5) 一定量에 基質인 N-1-methylnicotinamide 1.5mM와 酵素液 0.4ml을 添加해 反應液의 最終 부피가 3ml가 되게 하여 37℃에서 20分間 反應시킨 다음 20% trichloroacetic acid (TCA), 0.5ml를 加해 反應을 終了시켰다. 反應 終了後 生成된 pyridone을 波長 300nm에서 吸光度의 變化를 測定하여 酵素의 活性度를 算定하였다. 酵素의 活性度는 1分當 1mg의 蛋白質이 生成시킨 pyridone의 量을 nmole로 나타내었다.

2-3-2. Xanthine oxidase 活性 測定

Xanthine oxidase (type O) 活性 測定은 Stirpe 等³¹⁾의 方法에 準해 0.1M K.P. buffer (pH 7.5) 一定量에 基質인 xanthine 60 μ M, 0.1ml 및 0.2ml를 添加하여 최종 反應液의 부피가 3.0ml되게 한 후 37℃에서 5分間 反應시킨 다음 20% TCA, 0.5ml를 加하

여 制蛋白시키고 遠心分離하였다. 이때 生成되어진 uric acid를 波長 292nm에서 吸光度의 變化를 測定하여 酵素의 活性도를 算定하였다. 한편, xanthine dehydrogenase(type D)의 活性는 type O의 活性 測定 反應液에 coenzyme인 NAD^+ 100mM, 0.1ml를 첨가해 同一하게 反應시킨 다음 測定하여 나온 活性度 (total type: type D+O)에서 type O의 活性를 減한 값으로 算定하였다. 酵素의 活性도는 1分當 1mg의 蛋白質이 生成시킨 uric acid 量을 nmole로 나타내었다. 한편, xanthine oxidase의 型轉換比 產出은 xanthine dehydrogenase 및 xanthine oxidase 反應에서 얻어진 酵素의 活性도를 利用하여 xanthine dehydrogenase (type D)에서 xanthine oxidase (type O)로의 型轉換 比率를 O/O+D의 比로 產出하였다.

2-4. 過酸化脂質 含量 測定

過酸化脂質 含量 測定은 Ohkawa 等³²⁾의 方法에 準해 磨碎均質液 一定量에 8.1% sodium dodesyl sulfate 0.2ml, 20% acetate buffer (pH 3.5) 1.5ml 및 0.8% thiobarbituric acid(TBA) 溶液 1.5ml을 加해 95°C에서 1時間동안 反應시키고 室溫으로 冷却한 다음 生成된 紅色의 TBA reactive substance를 n-Butanol : Pyridine (15:1) 混液 5.0ml로 移行시켜 波長 532nm에서 吸光度의 變化를 測定하여 定量하였다. 한편, *in vitro* 實驗에서는 Haber-Weiss 反應³³⁾을 利用하여 300 μM 의 Fe(II)과 xanthine-xanthine oxidase system을 添加시킨 反應液에 濃度を 달리한 鹿茸 製劑를 添加시켜 反應시킨 後 生成된 malondialdehyde (MDA)의 含量을 測定하였다. 過酸化脂質의 含量은 蛋白 1mg당 MDA의 量을 nmole로 나타내었다.

2-5. 蛋白質의 定量

蛋白質의 定量은 Lowry 等³⁴⁾의 方法에 準해 bovine serum albumin을 標準品으로 하여 行하였다. 한편, 實驗 結果의 有意性 檢證은 Student's *t*-test를 利用하여 相互 比較 하였다.

III. 實驗 成績

1. 試驗管內에서 過酸化脂質 生成 變化

過酸化脂質의 生成反應을 測定하는 試驗管內에 鹿茸 製劑의 濃度を 달리하면서 添加시키고 37°C에서 一定시간 反應시킨 後 腎臟 組織中의 過酸化脂質의 含量을 觀察하여 그림 1에 나타내었다.

鹿茸 製劑를 添加하지 않은 對照群의 過酸化脂質 含量이 11.35 nmoles/g of tissue 였으나 反應液中에 濃度を 달리하면서 鹿茸 製劑를 添加시켰을 때는 過酸化脂質의 含量이 鹿茸 製劑의 添加濃도에 比例하여 抑制되는 現狀을 나타내었다. 鹿茸 製劑의 添加量이 50 μl 되게 하였을때는 過酸化脂質의 含量이 10.43 nmoles/g of tissue, 100 μl 인 경우는 10.02 nmoles/g of tissue, 200 μl 인 경우는 9.07 nmoles/g of tissue, 300 μl 인 경우

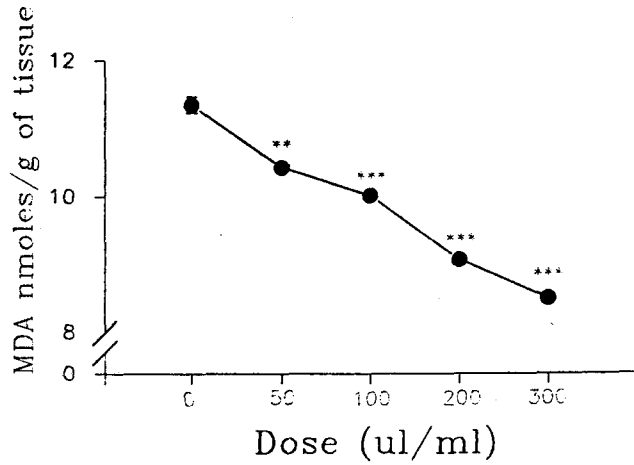


Table 1. Effect of the extract of *Cervus elaphus* for herb-acupuncture solution on the renal lipid peroxidation *in vitro*. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean \pm S.E. for 4 separate experiments. Significantly different from control (**:P<0.01, ***:P<0.001).

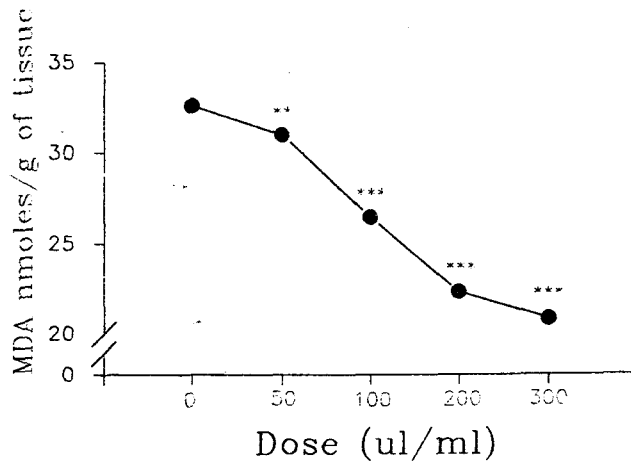


Table 2. Effect of the extract of *Cervus elaphus* for herb-acupuncture solution on the Fe(II)-induced renal lipid peroxidation *in vitro*. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean \pm S.E. for 4 separate experiments. Significantly different from control(**:P<0.01, ***:P<0.001)

는 8.50 nmoles/g of tissue로 減少하여 對照群에 비해 顯著한 過酸化脂質 生成 抑制 現狀이 觀察되었다.

2. 試驗管内에서 Fe(II)에 의해 誘導된 過酸化脂質 生成 變化

Haber-Weiss 反應을 利用하여 脂質의 過酸化反應을 顯著히 誘導시킨 다음 鹿茸 製劑의 濃度를 달리하면서 添加시키고 37°C에서 一定시간 反應시킨 後 腎臟 組織中の 過酸化脂質의 含量을 觀察하여 그림 2에 나타내었다.

그림에서 알 수 있듯이 正常狀態의 腎組織 磨碎液에 Haber-Weiss反應을 利用하여 人爲的으로 脂質의 過酸化反應을 誘導한 경우는 過酸化脂質의 含量이 32.63 nmoles/g of tissue이었다. 그러나, 反應液中에 50 μ l, 100 μ l, 200 μ l, 300 μ l의 濃度로 鹿茸 製劑를 添加시킨 경우 添加量에 比例하여 過酸化脂質의 含量이 31.02 nmoles, 26.48 nmole, 22.33 nmole, 20.84 nmole로 減少하여 對照值에 比하여 有意性 있는 過酸化脂質 生成 抑制現狀을 볼 수 있었다.

3. 試驗管内에서 xanthine oxidase 活性 變化

試驗管内에서 鹿茸 製劑의 添加 用量에 따른 xanthine oxidase의 活性變化를 觀察한 것이 그림 3이다. 試驗管内에 鹿茸 製劑의 添加 用量을 달리하면서 xanthine oxidase의 活性을 觀察하였을 때 type O의 경우 對照值의 活性이 0.240 nmoles 인데 比해, 鹿茸 製劑의 添加用量이 50 μ l/ml 以上の 濃度에서부터 酵素活性이 有意性있게 抑制되어, 50 μ l/ml에서는 0.101 nmoles로 對照值에 比해 約 58% 정도 抑制되었으며, 100 μ l/ml에서는 0.079 nmoles, 200 μ l/ml의 濃度에서는 活性이 0.055 nmoles로 나타나 對照值에 比해

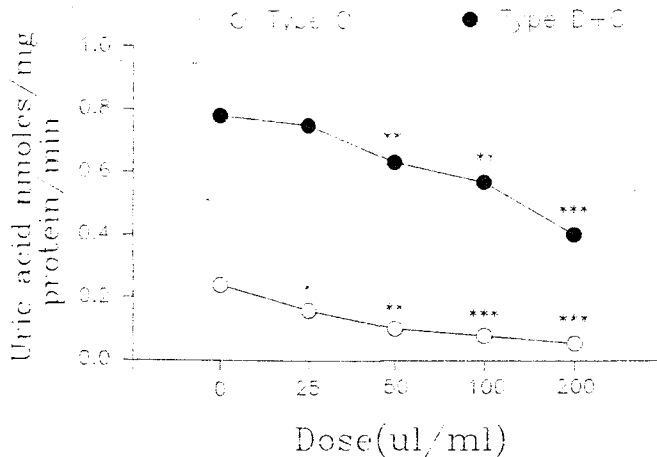


Table 3. Effect of the extract of *Cervus elaphus* for herb-acupuncture solution on the renal xanthine oxidase activity *in vitro*. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean \pm S.E. for 4 separate experiments. Significantly different from control (*:P<0.05, **:P<0.01, ***:P<0.001). Type O : xanthine oxidase, Type D+O : xanthine oxidase + xanthine dehydrogenase.

各各 67%, 77% 정도 有意性 있게 抑制됨을 알 수 있었다. 한편, 總 活性值(total type, type D+O)의 경우 鹿茸 製劑의 添加濃도에 依存的으로 酵素活性이 抑制되었으며 添加量 50 μ l/ml에서부터 顯著한 抑制現狀을 觀察할 수 있었다.

4. 試驗管內에서 xanthine oxidase 型轉換 變化

試驗管內에 xanthine oxidase의 型轉換比를 測定하는 反應液 中에 濃度を 달리하면서 鹿茸 製劑를 添加시키고 腎臟 組織中의 xanthine oxidase의 型轉換比를 檢討하여 그림 4에 나타내었다. Xanthine oxidase의 型轉換比를 觀察하였을 때 對照值의 경우가 30.8%인데 比하여 鹿茸 製劑를 25 μ l/ml를 添加시켰을 때는 21.3%, 50 μ l/ml를 添加시킨 경우는 16.0%, 100 μ l/ml를 添加시킨 경우는 13.9%, 200 μ l/ml를 添加시킨 경우는 13.6%로 鹿茸 製劑의 添加濃도에 依存的으로 腎臟 中의 xanthine oxidase의 型轉換을 有意性 있게 抑制시킴을 觀察할 수 있었다.

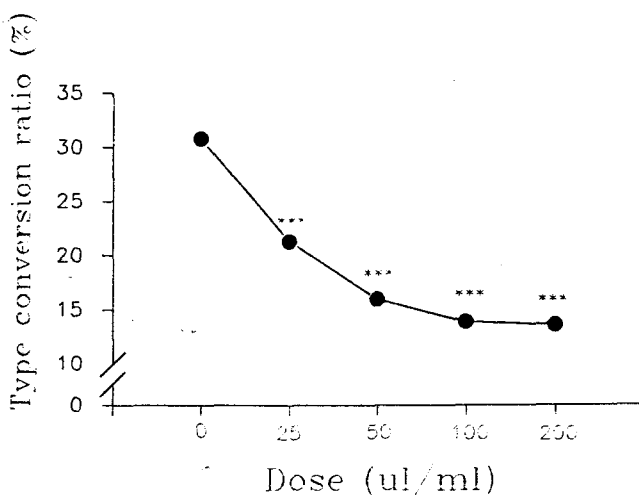


Table 4. Effect of the extract of *Cervus elaphus* for herb-acupuncture solution on the type conversion of renal xanthine oxidase *in vitro*. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean \pm S.E. for 4 separate experiments. Significantly different from control(***:P<0.001)

5. 試驗管內에서 aldehyde oxidase 活性 變化

鹿茸 製劑가 試驗管內에서 腎臟 組織중에서 aldehyde oxidase 活性에 어떠한 影響을 미치는 지를 觀察하여 그림 5에 나타내었다.

一定 濃度の 基質과 cytosol 酵素液을 包含하는 反應液 中에 用量을 달리하면서 鹿茸 製劑를 添加시키고 aldehyde oxidase 酵素活性을 測定하였을 때, 對照值의 aldehyde

oxidase 活性이 0.97 nmoles이었으나 鹿茸 製劑의 添加濃度를 200 μ l/ml까지 添加濃度를 增加시켜도 酵素活性에는 아무런 影響을 주지 못하였다.

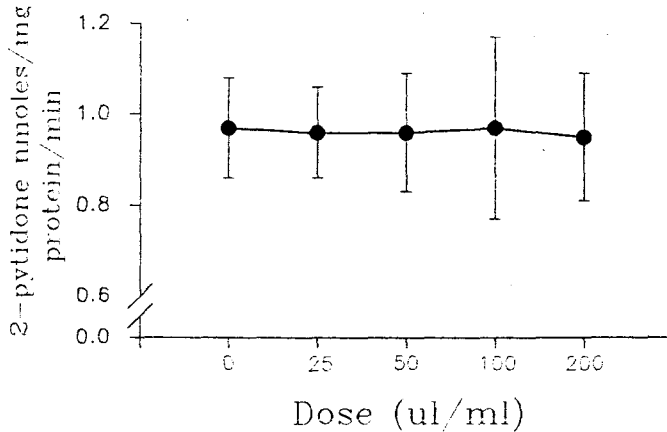


Table 5. Effect of the extract of *Cervus elaphus* for herb-acupuncture solution on the renal aldehyde oxidase activity *in vitro*. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean \pm S.E. for 4 separate experiments.

IV. 考 察

生命體들이 生命現狀을 持續하기 爲하여 酸素를 利用한 呼吸反應이 이루어지는 동안 體內에서는 酸化 反應의 副産物로 oxygen free radical (活性酸素)이 生成되어지는데³⁵⁾³⁶⁾, superoxide anion radical, hydroxyl radical, hydrogen peroxide 等³⁷⁾이 알려져 있다.

이들은 脂質과 蛋白質로 構成된 細胞膜에 作用하여 不飽和脂肪酸을 過酸化시켜 細胞損傷을 招來하는 강한 活性 物質로서³³⁾³⁸⁾ xanthine oxidase와 aldehyde oxidase 等の 酵素 作用에 依한 酸化 反應에 依해서 生成이 促進되어진다.³⁹⁾ 또한, 活性 酸素는 細胞膜에서 脂質의 過酸化反應에 關與하므로서 過酸化脂質의 生成을 誘導하여 糖尿病, 心臟病, 腎不全, 癌 等の 疾病을 誘發하거나 老化를 促進한다고 알려져 있다.³⁷⁾³⁸⁾⁴⁰⁾⁴¹⁾⁴²⁾

이러한 活性酸素類들은 매우 不安定한 狀態로 存在하므로 生體內的 다른 組織 細胞들과 쉽게 反應을 하여 組織 細胞의 損傷을 招來하는 것으로 알려져 있다.⁴³⁾ 活性酸素類들에 依한 細胞損傷 作用은 組織損傷으로 이어지고 窮極의으로는 生體 全般的인 老化反應을 促進하는 生化學的 反應으로 報告되어지고 있다.⁴⁴⁾

그러므로, 이들을 除去하거나 體內的 이들에 對한 防禦 機轉을 增強시키는 抗酸化 效能이 있는 藥物을 밝히는 것은 대단히 重要하고 意味있는 것으로 여겨진다.

이에 著者는 鹿茸의 補腎 效能이 抗酸化 作用을 나타내는 지와 藥針 療法으로의 活用을 摸索하고자 本 實驗을 試圖하였다.

鹿茸 藥針에 對한 實驗 研究에 依하면, 臨床 投與 用量的 200배에서도 急性 毒性이 誘發되지 않아 安靜性이 있었고¹²⁾, 1.0%의 濃度에서 가장 鎮痛 效果가 顯著하였으며¹⁴⁾, 糖尿病으로 減少된 insulin의 分泌를 增加시키고¹⁵⁾, hemoglobin 濃度와 赤血球 數를 增加시켜 貧血治療에 效果가 있었다.¹³⁾ 또한, 肝 損傷으로 增加된 GOT, GPT의 活性을 減少시켜 肝機能 回復에 效果가 있었으며¹⁶⁾, 減少된 FSH와 LH의 分泌를 促進시켜 陽痿證에 有效하며¹⁷⁾, 副腎皮質 機能不全으로 低下된 血中 cortisol 含量을 增加시키고¹⁸⁾¹⁹⁾, 生體 防禦 機轉을 增強시켜 免疫 缺乏性 疾患에 活用할 수 있다고 報告되고 있다.²⁰⁾²¹⁾²²⁾²³⁾²⁴⁾

過酸化脂質은 細胞膜에 多量 存在하고 있는 磷脂質의 多價 不飽和脂肪酸이 活性酸素 類들의 攻撃을 받아 酸化反應이 連鎖的으로 이루어지므로서 細胞膜이 損傷을 입게되어 生成되는 一種의 生體毒性 反應으로서⁴⁴⁾, 이때 細胞膜의 破壞로 因한 細胞損傷이 나타나 老化의 進行을 促進시키거나 疾病의 誘發과 密接한 關聯性을 지니고 있는 것으로 알려져 있다.³³⁾⁴⁵⁾ 그러므로, 細胞膜 損傷 卽 細胞毒性을 測定하는 一般의 方法으로 脂質의 過酸化反應을 利用할 수 있다.

鹿茸 製劑의 抗酸化 作用을 살펴보기 爲하여 脂質의 過酸化反應을 測定하는 反應液에 鹿茸 製劑의 添加濃度를 變化시켜 가면서 一定時間 동안 反應시켰을 때 鹿茸 製劑의 濃度에 比例하여 腎臟 組織에서 過酸化脂質의 生成을 有意性 있게 抑制시키는 것을 觀察할 수 있었다. 한편, Haber-Weiss反應을 利用하여 人爲的으로 脂質의 過酸化反應을 促進시킨 實驗에서는 正常 狀態에서 나타나는 過酸化脂質 生成 抑制 作用보다 더욱 강한 抑制作用을 觀察할 수 있었는데 이는 鹿茸 製劑가 正常 狀態보다는 生體內의 病態生理 條件이 附與된 疾病 誘發 狀態에서 더욱 敏感하게 作用을 나타내고 있음을 나타내주고 있다. 過酸化脂質의 含量이 年齡 增加에 比例하여 增加되며⁴⁶⁾⁴⁷⁾⁴⁸⁾, 老年의 境遇 青年에 比해 約 1.5배 增加되었다는 報告⁴⁹⁾를 考慮할 때 이러한 鹿茸 藥針 製劑의 過酸化脂質 生成 抑制作用은 老化 防止에 有效할 것으로 여겨진다.

이와 같이 나타난 鹿茸 藥針 製劑의 過酸化脂質 生成 抑制 作用의 機轉을 檢討하기 爲하여 代表的인 活性酸素 生成系 酵素인 xanthine oxidase 및 aldehyde oxidase⁵⁰⁾의 活性에 미치는 影響을 檢討하였다.

Xanthine oxidase나 aldehyde oxidase는 生體 대부분의 組織 細胞에 分布하고 있으며 細胞의 可溶性 分劃에 주로 存在한다. 이 酵素는 分子量이나 性狀이 대단히 類似하며 生體內에서는 주로 酸化反應을 觸媒하는 것으로 알려져 있다.³⁰⁾⁵¹⁾ 이 酵素들에 依해서 酸化反應이 進行되는 동안 分子上의 酸素로부터 superoxide anion이나 hydroxyl radical같은 活性酸素類들이 生成되어진다고 報告되어 있다.⁵⁰⁾ 이러한 活性酸素類들은 細胞膜의 不飽和脂肪酸과 쉽게 反應하여 膜의 過酸化를 誘發시켜 毒性을 招來하는 것으로 알려져 있다.⁴³⁾

鹿茸 製劑를 試驗管內에 濃度別로 添加하고 xanthine oxidase의 活性 變化를 觀察하였을 때 xanthine oxidase의 活性을 有意性 있게 抑制하였으며 type O의 活性이 total type (D+O) 活性 抑制 程度보다 強하였다. 또한, type D로부터 type O로의 型轉換比도 鹿茸 製劑의 添加 濃度에 比例하여 抑制되었다. Xanthine oxidase는 正常的인 生體內에 存在할 때 type D(dehydrogenase型)로 存在하다가 蛋白 分解 酵素의 作用이나 虛血 狀態 또는 病的 狀態가 되면 type O(oxidase型)로 型轉換이 이루어지며 이때 活性酸素가 生成되어 진다고 報告되고 있다.³⁷⁾ 따라서, 鹿茸 製劑에 依한 xanthine oxidase 活性 抑制現狀과 型轉換의 抑制는 鹿茸 製劑가 活性酸素類의 生成을 어느 정도 遮斷하는 것을 나타내는 實驗 成績이라고 생각되며 이러한 作用 때문에 過酸化脂質의 生成이 抑制되었던 것으로 여겨진다.

Xanthine oxidase와 機能이나 性狀面에서 대단히 類似한 酵素³⁰⁾⁵¹⁾인 aldehyde oxidase의 活性에 미치는 鹿茸 製劑의 影響을 觀察하였을 때는 xanthine oxidase의 경우와는 다르게 鹿茸 製劑의 添加 濃度에 特別한 變化가 없어 이 酵素 活性에는 鹿茸이 거의 反應하지 않음을 알 수 있었다. Xanthine oxidase는 腎臟 組織에서 鹿茸 製劑에 依해서 매우 敏感하게 作用하였지만 aldehyde oxidase 活性에는 아무런 影響을 미치지 않는 것으로 보아 鹿茸 製劑는 xanthine oxidase에 選擇적으로 作用하여 活性酸素類의 生成을 抑制시킨 것으로 思料되어진다.

以上の 結果들을 綜合하여 보면, 鹿茸 藥針 製劑는 腎臟 組織에서 抗酸化作用을 나타내고 있음을 알 수 있었으며 그 作用機轉은 活性酸素 生成系 酵素인 xanthine oxidase의 活性과 型轉換을 顯著하게 抑制시키므로써 oxygen free radicals의 生成을 阻害함으로써 過酸化脂質의 生成을 抑制한 것으로 생각되어지나, 分解系 酵素 活性에 對한 實驗이 뒤따라야 할 것으로 여겨진다.

V. 結 論

鹿茸 藥針 製劑의 抗酸化 作用을 究明하기 爲한 一環으로 試驗管內에서 腎臟 組織의 脂質 過酸化 反應 및 活性酸素 生成系 酵素들의 活性變化에 미치는 影響을 觀察하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 脂質 過酸化反應에 미치는 影響을 觀察하였을 때 鹿茸 藥針 製劑의 添加濃度에 比例하여 有意性 있게 脂質의 過酸化反應이 抑制되었으며, 特히 Haber-Weiss 反應을 利用하여 活性酸素의 生成을 促進시킨 狀態에서는 正常 狀態에서 보다 훨씬 強力한 抑制效果가 觀察되었다.
2. Xanthine oxidase 活性 및 型轉換에 미치는 影響을 檢討하였을 때 鹿茸 藥針 製劑의 添加量에 比例하여 type O의 活性과 type D+O의 活性이 모두 有意性 있게 抑制되었으며, xanthine oxidase의 型轉換比도 鹿茸 藥針 製劑의 添加 濃度에 依存的으로 有意性 있게 抑制되었다.

3. Aldehyde oxidase 活性 變化에는 鹿茸 藥針 製劑가 別다른 影響을 나타내지 않았다.

以上の 實驗 結果들을 綜合하여 보면 鹿茸 藥針 製劑는 實驗 動物의 腎臟 組織에서 活性酸素 生成系 酵素인 xanthine oxidase의 活性과 型轉換을 顯著하게 抑制시키므로서 oxygen free radicals의 生成을 阻害할 것으로 推測되며, 아울러 이로 因하여 誘導되는 過酸化脂質의 生成을 抑制한 것으로 여겨진다.

參考文獻

- 1) 李尙仁, 安德均, 辛民教, 盧昇鉉, 李暎鍾, 金善熙. 『漢藥臨床應用』. 서울: 成輔社, 1986: p.332
- 2) 申佶求. 『申氏本草學』. 서울: 壽文社, (1981) p. 30-31
- 3) 李時珍. 『本草綱目(下)』. 香港: 商務印書館, (1991) 第25券 第26項
- 4) 唐愼微. 『重修政和經史證類備用本草』. 서울: 大星文化社, (1983) p.376
- 5) 辛民教. 『臨床本草學』. 서울: 永林社, (1991) p.184
- 6) 陶弘景. 『名醫別錄』. 上海: 人民衛生出版社, (1986) p.180
- 7) 南相千. 『經絡』. 卷4, 서울: 宇宙經絡社, (1976) p.149,151,167, pp.136-137,162-165
- 8) 錢百炎. 『中草藥注射劑』. 上海: 上海科學技術出版社, (1981) pp.70-93,150-151
- 9) 張桂寶. 『鹿茸精注射液治療老年脾腎陽虛泄瀉 11例』. 『中醫雜誌』 1984: 25(5):30
- 10) 최용태 外. 『鍼灸學(下)』, 서울: 集文堂, (1991) p. 1457
- 11) 醫學教育研修院 編. 『全訂版 家庭醫學』. 서울: 서울大學校 出版部, (1995) pp. 945-946
- 12) 曹珣鄉, 이운호, 박영배. 『鹿茸 및 靈芝 水鍼의 急性毒性에 關한 實驗的 研究』. 『대한침구학회지』 1992:9(1):71-83
- 13) 崔道永. 『鹿茸水鍼이 貧血 家兔에 미치는 影響』. 서울: 慶熙大學校 大學院 碩士學位 論文, 1985
- 14) 金榮振, 朴東錫, 姜成吉. 『鹿茸水鍼이 鎮痛效果에 미치는 影響』. 『대한침구학회지』 1987:4(1):63-74
- 15) 盧宗植. 『鹿茸, 人蔘, 鴨跖草 水鍼의 糖尿病에 對한 效果 및 免疫機能에 미치는 影響』, 慶熙大學校 大學院 博士學位 論文, 1988
- 16) 朴鍾賢. 『鹿茸水鍼이 CCl₄中毒 흰쥐 損傷肝에 미치는 影響』. 慶熙大學校 大學院 碩士學位 論文, 1986
- 17) 尹鍾和. 『鹿茸 水針 刺戟이 命門火衰型 陽萎에 미치는 影響』. 東國大學校 大學院 博士學位 論文, 1992
- 18) 金甲麗. 『鹿茸水鍼이 白鼠의 副腎皮質機能不全에 미치는 影響』. 『대한침구학회지』 1987:4(1):49-62
- 19) 朴重秀. 『鹿茸水鍼이 副腎皮質機能低下에 미치는 影響』. 부산: 동의대학교 大學院 碩士學位 論文, 1994

- 20) 金卿顯. 『人蔘 및 鹿茸水鍼이 免疫機能에 미치는 影響』. 慶熙大學校 大學院 碩士學位 論文, 1988
- 21) 金大洙. 『鹿茸, 人蔘 및 靈芝水鍼이 免疫反應에 미치는 影響』. 慶熙大學校 大學院 博士學位 論文, 1992
- 22) 金鍾達. 『鹿茸水鍼이 Methotrexate로 誘發된 생쥐의 免疫反應低下에 미치는 影響』. 경산: 大邱韓醫科大學 大學院 博士學位 論文, 1988
- 23) 李栽東. 『鹿茸, 黃芝, 當歸水鍼이 放射線 被曝에 의한 免疫機能 低下에 미치는 影響』. 慶熙大學校 大學院 博士學位 論文, 1993
- 24) 黃慶愛. 『人蔘 및 鹿茸水鍼의 時間經過에 따른 免疫效果 研究』. 慶熙大學校 大學院 碩士學位 論文, 1988
- 25) 舒守琴 外. 『27種中藥及SOD對體外大白鼠路均漿過氧化脂質生成的影響』. 『山東中醫學院學報』 1991: 15(3):70-72
- 26) 李 爲 外. 『口服枸杞子對老年人血中超氧化物歧化酶, 血紅蛋白和過氧化脂質含量的動態觀察』. 『中草藥』 1991: 22(6):251,268
- 27) 李獻平 外. 『四大懷藥延緩衰老作用的研究』. 『中西醫結合雜誌』 1991: 11(8):486-487
- 28) 金永海, 金甲成. 『胡桃 藥針液의 抗酸化 效果에 對한 研究』. 『大韓韓醫學會誌』. 1996: 17(1):9-20
- 30) Rajagopalan, K. V., Fridovich, I. and Handler, P. . 『Hepatic aldehyde oxidase. I. Purification and properties』. 『J. Biol. Chem.』.1962: 237:922-928
- 31) Stirpe, F. and Della Corte, E. . 『The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion *in vitro* of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O)』. 『J. Biol. Chem.』.1969: 244:3855-3863
- 32) Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yaki, K.. 『Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction』. 『Anal. Biochem.』. 1979: 95:351-358
- 33) Milan, L., Jozef, R., Vilian, K., Peter, P. and Ladislav, V.. 『Free radicals in chemistry and biology』. CRC Press, 1989: pp.29-31,283-283
- 34) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J.. 『Protein measurement with folin phenol reagent』. 『J. Biol. Chem.』. 1951: 193:265-275
- 35) 최 진호. 『노화의 메카니즘과 연구방향』. 『생화학뉴스』, 한국생화학회, 1985: 5(3):39-53
- 36) Feher, J., Csomos, G. and Vereckei, A.. 『The free radical theory of aging. Free Radicals Reactions in Medicine』, Springer-Verlag, Berlin, 1987: pp.57-59
- 37) Batteli, N. G., Lorenzoni, E. and Stirpe, F.. 『Milk xanthine oxidase type D(dehydrogenase) and type O(oxidase): Purification and interconversion and some properties』. 『Biochem. J.』, 1973: 131:191-198
- 38) 王其飛 外. 『中醫長壽學』. 遼寧科學技術出版社, 1989: pp.50,53-54

- 39) Massey, V., Strickland, S., Mayhew, S. G., Howell, L. G. and Engel, P. C.. 『The production of superoxide anion radicals in the reaction of reduced flavins and flavoprotein with molecular oxygen』. 『*Biochem. Biophys. Res. Comm.*』. 1969: 36:891-897
- 40) 張文彭 外. 『老年腎虛證血漿過氧化脂質高密度脂蛋白膽固醇及其亞組分水平變化』. 『中醫雜誌』, 1989: 30(2):43-46
- 41) 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. 1986: pp.3-49
- 42) Simon, R. H., Scogging, C. M. and Patterson, D.. 『Hydrogen peroxide cause the fatal injury to human fibroblasts exposed to oxygen radicals』. 『*J. Biol. Chem.*』. 1981: 266:7181-7186
- 43) Cutler, R. G.. 『Antioxidants, aging and longevity』 Vol. 6 『*Free Radicals in Biology*』. Academic Press, 1984: 371-424
- 44) Pryor, W. A.. 『Free radical in biology. Involvement of radical reaction in aging and carcinogenesis in medicinal chemistry』. Elsevier, Amsterdam. 1977: 331-361
- 45) Larry, W. O and Terry, B. O. 『Free radicals, aging and degenerative disease』. Alan R. Liss. Inc. 1986: 325-371
- 46) 張文彭 外. 『清宮長春丹對老年腎虛證血漿過氧化脂質高密度脂蛋白膽固醇水平影響的研究』. 『中醫雜誌』, 1989: 30(3):34-38
- 47) 蔣 莹 外. 『六味地黃湯及其配伍對過氧化脂質及脂褐質含量的影響』, 『中國中藥雜誌』, 1991: 16(3):175-176
- 48) Yagi, K. 『Lipid peroxides and diseases』, 『*Chem. and Phys. of Lipid*』, 1987: 45:337
- 49) 王學美 外. 『五子衍宗液延緩衰老的臨床觀察』. 『中國中西醫結合雜誌』, 1992: 12(1): 23-25
- 50) Kreintsky, T. A., Tuttle, J. V., Cattau, E. L. and Wang, P.. 『A comparison of the distribution and electron acceptor specificities of xanthine oxidase and aldehyde oxidase』. 『*Comp. Biochem. Physiol.*』. 1974: 49B:687-703
- 51) Parks, D. A. and Granger, D. N.. 『Xanthine oxidase. biochemistry, distribution and physiology』. 『*Acta Physiol. Scand.*』. 1986: 548, Suppl. 87-99