

加味歸脾聰明湯이 老化 白鼠의 血液變化 및 血清과 腦組織의 抗酸化物 活性에 미치는 影響

대전대학교 한의과대학 신경정신과학교실

김인재 · 이상용

I. 緒 論

加味歸脾聰明湯은 憂思過度로 因하여 心脾二臟을 勞傷 함으로써 健忘이 甚하고 怔忡하는 것을 다스리는데 活用 되어 온 歸脾湯¹⁾과 記憶力 減退, 健忘 등의 病症을 治療 하는 데 活用되어 온 聰明湯¹⁾을 合方한 方劑에 久服不老의 效能²⁾이 있는 鹿茸을 加하고, 寧心安神의 效能³⁾이 있는 龍眼肉과 酸棗仁을 增量한 處方이다.

一般的으로 老化란 動物의 發育, 成長, 成熟과 老化的 生物學的 過程에서 形體的 機能的 退縮, 豫備力과 適應力의 低下로 死亡에 歸着되는 普遍的인 生理的 現象^{4,5)}으로 老化色素의 沈着, 小脂肪球의 蓄積, 細胞實質의 減少, 核의 萎縮, Nissl's body의 減少, Golgi's body의 破壞, 酵素의 活性 및 機能低下, 血球細胞의 減少, 血清成分의 變化 등 身體의 退化的 變化를 나타낸다⁶⁾.

韓醫學에서는 老化를 陰陽五行의 規律에 따른 生長, 化, 收, 藏의 變化 過程으로 認識하였으며, 陰陽의 不調和^{7,8)}, 精神感動의 惡影響^{7,8)}, 氣血의 不調和^{7,8,9)}, 臟腑의 變化^{7,8,9)} 및 飲食의 不節制⁷⁾ 등과 聯關시켜서 人間의 老化에 대해서 說明하고 있다.

老化 原因은 遺傳學說, error破滅說, 體細胞突然變異說, 代謝產物蓄積說, 自由遊離基說, 生體防禦機構障礙說, stress說 등으로 多樣하지만, 最近에는 年齡의 增加에 따라 細胞內의 遊離基들의 作用이 增大하여 老化의 原因이 된다는 自由遊離基說에 關聯된 研究가 多樣하게 進行되고 있다¹⁰⁾.

抗酸化 作用에 關한 最近의 研究를 살펴보면, 浮萍草¹¹⁾,

綠茶¹²⁾ 등의 單味材와 當歸¹³⁾, 胡桃¹⁴⁾, 白何首烏¹⁵⁾, 杜沖葉¹⁶⁾ 등 藥鍼의 抗酸化 作用에 關한 實驗的 研究, 老化的 原因을 腎虛의 觀點에서 본 鹿蓼地黃湯¹⁷⁾, 左歸飲^{18,19)}, 右歸飲^{18,19)}, 參茸地黃湯²⁰⁾, 七福飲²¹⁾, 還少丹²²⁾ 등의 處方과 痰飲의 觀點에서 본 洗心湯²³⁾, 溫膽湯¹⁰⁾ 등의 處方이 腦組織의 抗酸化 活性에 미치는 影響에 대하여 報告된 바 있다.

이와 같이 抗酸化 作用에 關한 研究는 主로 老化的 原因이 腎虛, 痰飲이라는 觀點에서 腎의 機能을 補完하거나 祛痰하는 藥物들을 爲主로 이루어졌으나 憂思 心脾勞傷으로 因한 痴呆, 健忘 등에 使用하는 藥物들이 老化現象에 미치는 影響에 對한 研究는 未備한 實情이다.

이에 著者는 加味歸脾聰明湯의 效能을 實驗的으로 立證하고자 老化 白鼠에 對照群은 蒸溜水를, 實驗群은 加味歸脾聰明湯을 10日間 投與한 後, 各各 scopolamine을 5日間 1日 1回 靜脈注射하고 血球細胞, 血清成分, 赤血球膜의 活性酵素에 대한 耐性, cholinesterase 活性度, 脂質過酸化度(TBA反應)를 測定하고, catalase 活性度, SOD 活性度を 測定하여 有意性 있는 知見을 얻어 그 結果를 報告하는 바이다.

II. 實 驗

1. 材 料

1) 藥 物

本 實驗에 使用한 藥材는 大田大學校 附屬韓方病院에 서 購入한 後 精選하여 使用하였으며, 處方은 《東醫寶

鑑) 1) 에記載된 歸脾湯과 聰明湯에 鹿茸을 加하고, 龍眼肉과 酸棗仁을 增量하여 使用한 것으로, 1貼의 處方內容과 分量은 다음과 같다.

Prescription of GAMIKWYBICHONGMUNGTANG(GKCT)

| 藥 名 | 生 藥 名 | 重 量(g) |
|-----------------|------------------------------------|--------|
| 白茯苓 | Hoelen | 12 |
| 遠志 (去心, 甘草水) | Radix Polygalae | 12 |
| 石菖蒲 | Acori Rhizoma | 12 |
| 龍眼肉 | Longamae Arillus | 8 |
| 酸棗仁(炒) | Zizyphi Semen | 8 |
| 當歸 | Radix Angelicae Gigantis | 4 |
| 人參 | Ginseng Radix | 4 |
| 黃芪 | Astragali Radix | 4 |
| 白朮 | Rhizoma Atractylodis Macrocephalae | 4 |
| 木香 | Helenii Radix | 2 |
| 甘草 | Glycyrrhizae Radix | 2 |
| 生薑 | Zingiberis Rhizoma Recens | 6 |
| 大棗 | Jujubae Fructus | 4 |
| 鹿茸 | Cervi Pantiorichum Cornu | 4 |
| Total amount | | 8586 |

2) 動物

動物은 32週齡(體重 450±16g)의 Sprague-Dawley系(韓國化學研究所) 雄性 白鼠를 使用하였고, 2週日 동안 實驗室 環境에 適應시킨 後 實驗에 使用하였다. 動物飼育室의 條件은 conventional system으로 22±2°C, 1日中 12時間은 200~300Lux로 照明하고 12時間은 모든 빛을 遮斷하였다. 飼料는 固形飼料(조단백질 22.1%以上, 조지방 8.0%以下, 조섬유 5.0%以下, 조회분 8.0%以下, 칼슘 0.6%以上, 인 0.4%以上, 삼양사, 항생제 無添加)와 물을 充分히 供給하였다.

3) 一般 試藥 및 機器

Cholinesterase kit, thiobarbituric acid(TBA), malon-

aldehyde bis(diethyl acetatal), ascorbic acid, reductase glutathione(GSH), N-acetylcysteine(NAC), 5,5'-dithiobis-(2-nironenzoic acid) (DTNB), trichloroacetic acid(TCA), ortho-phosphoric acid, ferric chloride, HEPES, CuSO₄-5H₂O, sodium tartrate, folin reagent, Na₂S₂O₄(sodium hyrosulfite), cytochrome C, NADPH, potassium ferricyanide, 7-ethoxycoumarin, chloroform, magnesium chloride(MgCl₂), Benzphetamine, ZnSO₄, Ba(OH)₂, ammonium acetate, acetyl acetone, 1-chloro-2,4-dinitrobenzen(cDNB), epinephrine, hydrogen peroxide(H₂O₂), catalase, acetic acid, EDTA(ethylenediaminetetraacetic acid), xanthine, potassium cyanide, sodium deoxycholate, xanthine oxidase, glutathione peroxidase(GSSG), sodium azide, glutathione reductase, cumene hydroperoxide 등은 Sigma社 製品을 使用하였고, 그 외 試藥들은 特級 및 一級을 使用하였다.

本 研究에 使用된 機器는 UV-vis spectrophotometer (Shimazue, Japan), high centrifuge (Centrikon, Sweden), ultra-centrifuge (Centikon, Sweden), bio-freezer(Sanyo, Japan), ice-maker(Vision 科學) 및 homogenizer (OMNI, U.S.A.) 등의 것을 使用하였다.

2. 方法

1) 檢液의 調製

加味歸脾聰明湯 3貼 分量(258g)에 蒸溜水 2,000ml를 添加하여 熱湯 抽出器에서 3時間 동안 抽出하여 抽出液을 얻고, 이를 吸入 濾過하여 濾液을 rotary vacuum evaporator(Buchi 461, Switzzland)로 減壓 濃縮하고, 濃縮液을 다시 freeze dryer(FDU-540, Eyela, U.S.A.)를 利用하여 完全 乾燥(36.4g)하여 冷凍 保管하였으며, 實驗에 適當 濃度로 溶液을 製造하여 使用하였다.

2) 檢液 投與 및 scopolamine 投與

白鼠 5마리를 1群으로 하여 正常群, 對照群, 實驗群으로 나누고, 對照群은 蒸溜水(0.2ml/day)를, 實驗群은 加味歸脾聰明湯(938mg/kg)을 10日間 投與하고, 對照群과 實驗

群에 各各 scopolamine(1mg/kg)을 5日間 1日1回 靜脈注射 後 血球細胞(WBC, RBC, platelet), 血清成分(glucose, creatinine, BUN, uric acid)은 自動生化學分析機(Express 550, Ciba-Corning Co.)을 使用하여 測定하였다.

3) 赤血球膜의 活性 酸素에 對한 耐性 比較

NIKI 등의 方法²⁴⁾에 따라 白鼠의 血液을 CBC bottle 로 抗凝固 시킨 後 hematology를 測定하였다. 그리고 이 血液을 試驗管에 다시 넣고 10mM potassium phosphate buffered saline(pH7.4, PBS)溶液을 添加하여 遠心分離 (3,000r.p.m., 10分)하였다. 3回 반복하여 血液을 洗滌한 다음, 20% RBC溶液 1ml를 넣고 50mM AAPH溶液 1ml을 添加하여 37°C에서 3時間 incubation하였다. 이 溶液을 50 μ 를 取하여 2ml saline 溶液에 넣은 것을 A溶液이라 하고, 또 50 μ 를 取하여 2ml 蒸溜水에 넣은 것을 B溶液이라 하였다. 各各의 두 溶液을 잘 混合한 다음 540nm에서 吸光度를 測定하였다. 그리고 A溶液의 吸光度/ B溶液의 吸光度에 $\times 100(\%)$ 을 hemolysis value로 計算하였다.

4) 血清에서 cholinesterase 活性度 測定

血清中 cholinesterase activity 測定하기 위하여 test tube와 blank tube를 label하고, test tube에 sodium chloride solution(cat. No. 150-3) 0.2ml과 serum 0.2ml을 넣고 混合하였다. blank와 test tube에 3.0ml water, nitrophenol solution(cat. No.420-2) 2ml, acetylcholine chloride solution 0.2ml을 添加한다. acetylcholine chloride solution을 添加한 後 時間을 正確히 記錄하여 25°C water bath에서 正確히 30分間 incubation시킨 後 ELISA LEADER(Molecular Devices, U.S.A.)에서 420nm에서 absorbance를 測定한다. 그 結果는 $\Delta A = ABLANK - ATEST$ 公式에 依하여 檢量선에서 活性度を 測定한다.

5) 脂質過酸化度 測定(TBA反應 測定)

TBA反應 測定은 Yu 등의 方法²⁵⁾에 따라 clean test tube에 血清 200 μ 를 넣고, 8.1% sodium dodesyl sulfate (SDS) solution 225 μ 를 가하고 5秒 동안 vortex mixer로 混合한다. 20% acetic acid 1.5ml을 가하고 그리고 75 μ

蒸溜水를 넣고 5秒 동안 vortex mixer로 混合한다. 1.2% thiobarbituric acid solution을 各各의 1ml씩 tube에 더하고, clean dry marble(유리구슬)로 cover한 後, 30分間 water bath에서 끓인다. 그리고 室溫에서 30分間 冷却한 後에 3,000r.p.m.에서 20分間 遠心分離하여 上層液을 實驗에 使用한다. 532nm에서 吸光度를 測定한다.

6) 腦組織의 抗酸化活性에 對한 影響

(1) 腦組織의 各 分割調製

Bansal 등의 方法²⁶⁾에 따라 摘出した 白鼠의 腦를 잘게 썰고 4배의 150mM KCl을 含有한 30mM Hepes緩衝液 (pH 7.4)으로 稀釋하여 均質化한 다음 高速遠心分離 (11,000xg, 30分)하여 1次 上層液을 얻었으며 그 11,000xg pellet은 除去하였다. 또 1次 上層液을 取하여 다시 2次 超高速遠心分離(105,000xg, 60分)하고 그 2次 上層液으로 細胞質 分割을 얻었다. 그리고 105,000xg pellet은 130mM KCl 含有 hepes緩衝液으로 씻어낸 다음, 다시 超高速遠心分離(105,000xg, 60分)하고 얻은 pellet을 같은 緩衝液으로 再 均質化하여 microsome 分割을 얻었다. microsome과 細胞質 分割을 分離하는 全 過程은 0~4 °C 低溫室에서 遂行하였으며 -70°C에 保管하면서 各種 實驗에 使用하였다.

(2) 蛋白質 定量

Bovine serum albumin(BSA)을 標準 物質로 使用하여 Lowry 등의 方法²⁷⁾에 따라 蛋白質 濃度を 決定하였다.

(3) 腦의 抗酸化 活性 測定

① catalase 活性度 測定

Aebi의 方法²⁸⁾에 따라 3.0ml cuvette에 130mM 磷酸鹽 緩衝液(pH 7.0) 500 μ l, 細胞質分割 40 μ l, 蒸溜水 660 μ l와 基質인 15mM H₂O₂濃도에 依한 吸光度의 減少率을 測定하였다. 酵素의 活性도는 1分 동안에 1 μ mole의 H₂O₂를 分解시키는 酵素의 量을 1 unit로 表示하였다.

② SOD 活性度 測定

이 酵素의 活性度 測定은 McCord 등의 方法²⁹⁾에 따라

xanthine과 xanthine oxidase의 存在 下에 生成되는 superoxide anion이 cytochrome C의 還元을 抑制시키는 反應原理를 利用하였다. 卽 3.0ml용량의 cuvette에 0.1nm EDTA를 含有하는 50ml 磷酸鹽 緩衝液(pH 7.8) 2.1ml와 0.5nm xanthine 0.3ml 및 0.1nm cytochrome C 0.3ml을 加한 다음 cytochrome oxidase에 의한 還元形의 cytochrome C의 再酸化를 막기 위해 反應液에 50μ M potassium cyanide 0.1ml을 加하였다. 反應液의 微粒子를 分解시키기 위해서 sodium deoxycholate(0.1mg/ml)를 0.1ml 넣어 0.033% 되도록 하였다. 混合液을 잘 섞는 다음 xanthine oxidase 0.1ml와 細胞質 分割 20μ을 添加 한 후 550nm에서 吸光度의 增加率을 決定하였다. 吸光度 增加에 對한 基準은 xanthine oxidase의 濃度를 調節하여 吸光度 增加를 分堂 0.021이 되도록 하였다.

7) 統計處理

統計 處理는 mean과 standard error로 나타내고, Student's T test³⁰⁾에 의해 判定하였다.

III. 成 績

1. 血液學的 變化에 미치는 影響

1) 白血球數에 미치는 影響

血液學的인 變化를 測定하기 위하여 白血球數에 미치는 影響을 살펴본 結果, 正常群의 白血球數는 14.4 ± 1.18(103/mm³)이었고, 對照群은 8.2 ± 0.49(103/mm³), 實驗群은 10.8 ± 0.11(103/mm³)로 對照群에 比하여 有意性 있는 增加가 있었다(Table I, Fig. 1).

Table I. Effect of GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract on the white blood cell in rats induced by scopolamine(1mg/kg)

| Group | No. of animals | W B C (103/mm ³) | P-value* |
|---------|----------------|------------------------------|----------|
| Normal | 5 | 14.4 ± 1.18a) | |
| Control | 5 | 8.2 ± 0.49 | |
| GKCT | 5 | 10.8 ± 0.11 | < 0.001 |

a) : Mean ± standard error.

Normal : Non-treated group.

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

GKCT : GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract(938 mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg).

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

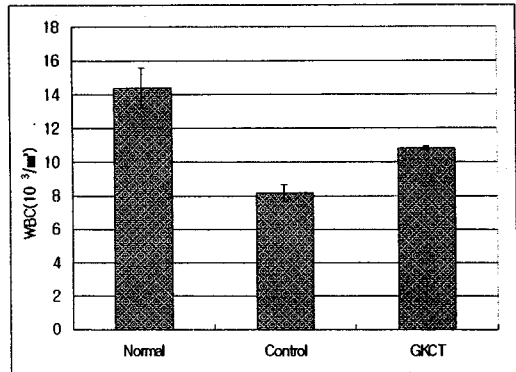


Fig. 1. Effect of GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract on the white blood cell in rats induced by scopolamine(1mg/kg)

Normal : Non-treated group.

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

GKCT : GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract(938 mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg).

2) 赤血球數에 미치는 影響

赤血球數에 미치는 影響을 살펴본 結果, 正常群은 8.43 ± 0.07(106/mm³)이었고, 對照群은 8.17 ± 0.17(106/mm³), 實驗群은 8.15 ± 0.12(106/mm³)로 減少하여 對照群에 比하여 有意性 이 없었다(Table II, Fig. 2).

Table II. Effect of GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract on the red blood cell in rats induced by scopolamine(1mg/kg)

| Group | No. of animals | R B C (106/mm ³) | P-value [*]) |
|---------|----------------|------------------------------|------------------------|
| Normal | 5 | 8.43 ± 0.07a) | |
| Control | 5 | 8.17 ± 0.17 | |
| GKCT | 5 | 8.15 ± 0.12 | |

a) : Mean ± standard error.

Normal : Non-treated group.

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

GKCT : GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract(938 mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg).

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

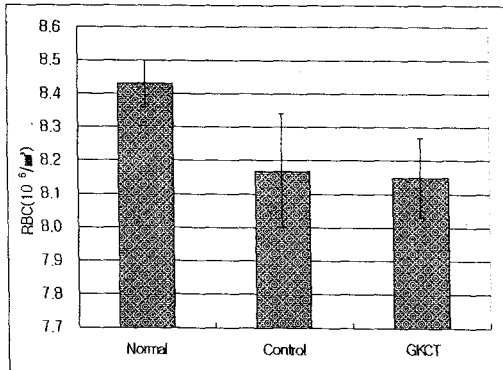


Fig. 2. Effect of GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract on the red blood cell in rats induced by scopolamine(1mg/kg)

Normal : Non-treated group.

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

GKCT : GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract(938 mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg).

3) 血小板數에 미치는 影響

血小板에 미치는 影響을 살펴본 結果, 正常群은 774 ± 12.1(106/ml)이었고, 對照群은 805 ± 22.8(106/ml), 實驗群은 837 ± 17.3(106/ml)으로 增加하였으나 有意性은 없었다 (Table III, Fig. 3).

Table III. Effect of GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract on the platelet in rats induced by scopolamine(1mg/kg)

| Group | No. of animals | Platelet (106/ml) | P-value [*]) |
|---------|----------------|-------------------|------------------------|
| Normal | 5 | 774 ± 12.1a) | |
| Control | 5 | 805 ± 22.8 | |
| GKCT | 5 | 837 ± 17.3 | |

a) : Mean ± standard error.

Normal I: Non-treated group.

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

GKCT : GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract(938 mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg).

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

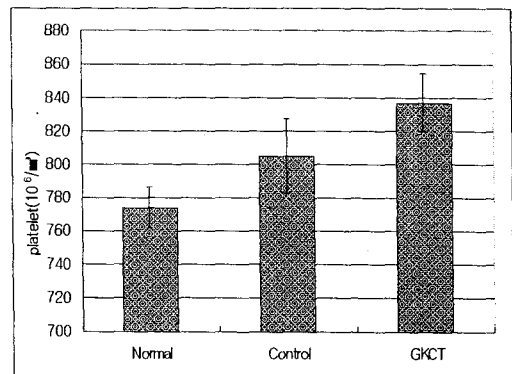


Fig. 3. Effect of GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract on the platelet in rats induced by scopolamine(1mg/kg)

Normal : Non-treated group.

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

GKCT : GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract(938 mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg).

2. 血清成分 變化에 미치는 影響

1) BUN에 미치는 影響

BUN에 미치는 影響을 살펴본 結果, 正常群은 $20.1 \pm 1.12(\text{mg/dl})$ 이었고, 對照群은 $28.1 \pm 2.37(\text{mg/dl})$ 로, 實驗群은 $23.1 \pm 1.05(\text{mg/dl})$ 로 上昇하였으나 對照群에 比하여 有意性($p < 0.05$)있는 減少를 보였다(Table IV, Fig. 4).

Table IV. Effect of GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract on the BUN in rats induced by scopolamine(1mg/dl)

| Group | No. of animals | BUN (mg/dl) | P-value* |
|---------|----------------|-------------------|----------|
| Normal | 5 | $20.1 \pm 1.12a)$ | |
| Control | 5 | 28.1 ± 2.37 | |
| GKCT | 5 | 23.1 ± 1.05 | < 0.05 |

a) : Mean \pm standard error.

Normal : Non-treated group.

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

GKCT : GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract(938 mg/dl) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/dl).

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

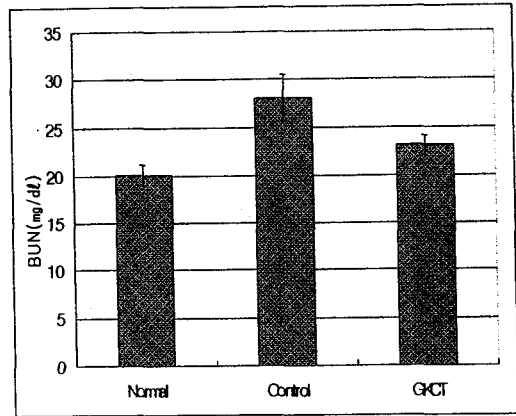


Fig. 4. Effect of GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract on the BUN in rats induced by scopolamine(1mg/dl)

Normal : Non-treated group.

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

GKCT : GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract(938 mg/dl) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/dl).

2) creatinine에 미치는 影響

血清에서의 creatinine은 正常群에서 $0.62 \pm 0.010(\text{mg/dl})$ 이었고, 對照群은 $0.73 \pm 0.017(\text{mg/dl})$ 로 上昇하였으며, 實驗群은 $0.65 \pm 0.013(\text{mg/dl})$ 으로 減少하여 對照群에 比하여 有意性($p < 0.01$)있는 減少를 보였다(Table V, Fig. 5).

Table V. Effect of GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract on the serum creatinine in rats induced by scopolamine(1mg/dl)

| Group | No. of animals | Creatinine (mg/dl) | P-value* |
|---------|----------------|---------------------|----------|
| Normal | 5 | $0.62 \pm 0.010^a)$ | |
| Control | 5 | 0.73 ± 0.017 | |
| GKCT | 5 | 0.65 ± 0.013 | < 0.01 |

a) : Mean \pm standard error.

Normal : Non-treated group.

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

GKCT : GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract(938 mg/dl) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/dl).

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

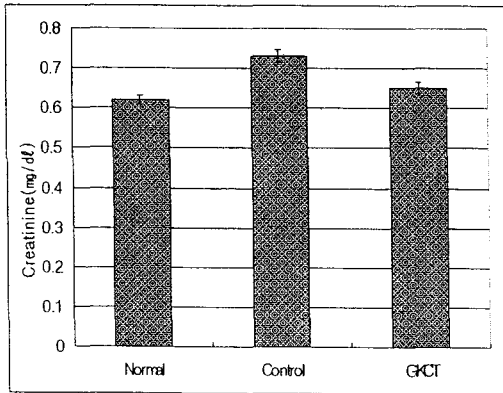


Fig. 5. Effect of GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract on the serum creatinine in rats induced by scopolamine(1mg/dl)

Normal : Non-treated group.

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

GKCT : GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract(938 mg/dl) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/dl).

3) glucose에 미치는 影響

血清에서의 glucose는 正常群에서 74.5 ± 3.25 (mg/dl)이었고, 對照群은 100.1 ± 2.57 (mg/dl)로 增加하였고, 實驗群은 83.9 ± 3.29 (mg/dl)로 對照群에 比하여 減少하였으나 有意性($p < 0.001$)있는 減少를 보였다(Table VI, Fig. 6).

Table VI. Effect of GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract on the serum glucose in rats induced by scopolamine(1mg/kg)

| Group | No. of animals | Glucose (mg/dl) | P-value* |
|---------|----------------|------------------|-----------|
| Normal | 5 | $74.5 \pm 3.25a$ | |
| Control | 5 | 100.1 ± 2.57 | |
| GKCT | 5 | 83.9 ± 3.29 | < 0.001 |

a) : Mean \pm standard error.

Normal : Non-treated group.

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

GKCT : GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract(938 mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg).

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

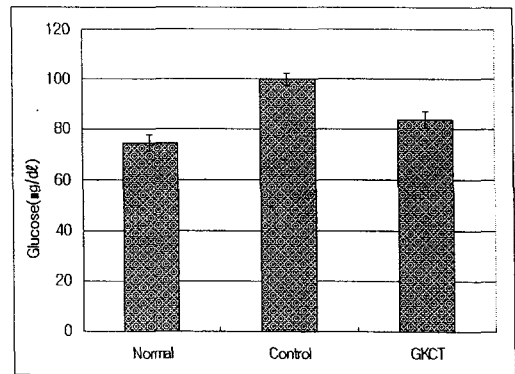


Fig. 6. Effect of GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract on the serum glucose in rats induced by scopolamine(1mg/kg)

Normal : Non-treated group.

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

GKCT : GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract(938 mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg).

4) uric acid에 미치는 影響

血清에서의 uric acid는 正常群에서 2.79 ± 0.222 (mg/dl)

이었고, 對照群은 3.29 ± 0.126 (mg/dl)으로 上昇하였으나, 實驗群은 2.78 ± 0.160 (mg/dl)으로 對照群에 比하여 有意性($p < 0.05$)있는 減少를 보였다(Table VII, Fig. 7).

Table VII. Effect of GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract on the serum uric acid in rats induced by scopolamine(1mg/kg)

| Group | No. of animals | Uric acid (mg/dl) | P-val ue*) |
|---------|----------------|-------------------|------------|
| Normal | 5 | $2.79 \pm 0.222a$ | |
| Control | 5 | 3.29 ± 0.126 | |
| GKCT | 5 | 2.78 ± 0.160 | < 0.05 |

a) : Mean \pm standard error.

Normal : Non-treated group.

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

GKCT : GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract(938 mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg).

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

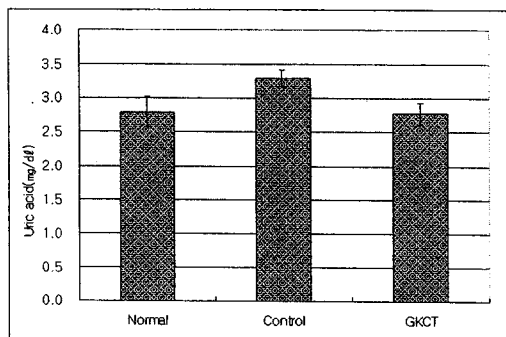


Fig. 7. Effect of GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract on the serum uric acid in rats induced by scopolamine(1mg/kg)

Normal : Non-treated group.

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

GKCT : GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract(938

mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg).

3. 赤血球膜의 活性 酵素의 變化에 미치는 影響

赤血球膜의 活性 酵素의 變化에 미치는 影響을 살펴본 結果, 正常群은 405 ± 16.4 (%)이었고, 對照群은 448 ± 8.2 (%)로, 實驗群은 414 ± 7.1 (%)로 對照群에 比하여 有意性($p < 0.01$)있는 減少를 보였다(Table VIII, Fig. 8).

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

| Group | No. of animals | Erythrocytes hemolysis value(%) | P-value*) |
|---------|----------------|---------------------------------|-----------|
| Normal | 5 | $405 \pm 16.4a$ | |
| Control | 5 | 448 ± 8.2 | |
| GKCT | 5 | 414 ± 7.1 | < 0.01 |

a) : Mean \pm standard error.

Normal : Non-treated group.

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

GKCT : GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract(938 mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg).

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

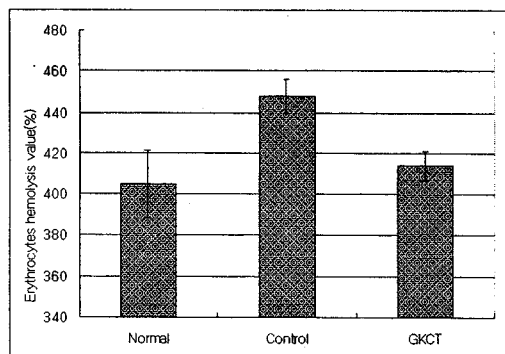


Fig. 8. Change of erythrocyte hemolysis in red blood cells treated with AAPH for 3 hours incubation at 37°C.

Normal : Non-treated group.

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

GKCT : GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract(938 mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg).

4. 血清에서의 cholinesterase 活性에 미치는 影響

血清에서의 cholinesterase 活性度에 미치는 影響을 살펴본 結果, 正常群은 17.5 ± 0.77 (unit/ml)이었고, 對照群은 2.0 ± 0.91 (unit/ml)로, 實驗群은 3.4 ± 0.41 (unit/ml)로 減少하여 有意性이 없었다(Table IX, Fig. 9).

Table IX. Effect of GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract on the cholinesterase activity in rats induced by scopolamine(1mg/kg)

| Group | No. of animals | Cholinesterase (unit/ml) | P-value* |
|---------|----------------|--------------------------|----------|
| Normal | 5 | $17.5 \pm 0.77a$ | |
| Control | 5 | 2.0 ± 0.91 | |
| GKCT | 5 | 3.4 ± 0.41 | |

a) : Mean \pm standard error.

Normal : Non-treated group.

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

GKCT : GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract(938 mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg).

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

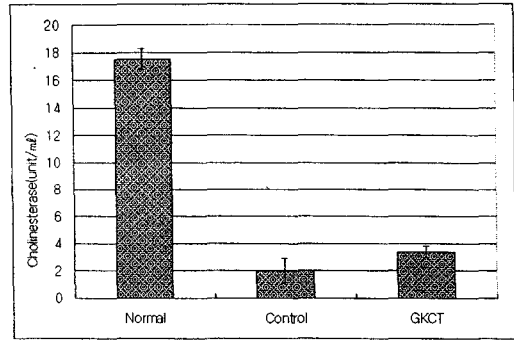


Fig. 9. Effect of GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract on the cholinesterase activity in rats induced by scopolamine(1mg/kg)

Normal : Non-treated group.

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

GKCT : GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract(938 mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg).

5. 血清에서의 脂質過酸化物 含量에 미치는 影響

血清에서의 malondialdehyde(MDA) 含量에 미치는 影響을 살펴본 結果, 正常群은 0.289 ± 0.037 (μ g/ml)이었고, 對照群은 0.341 ± 0.012 (μ g/ml)로, 實驗群은 0.315 ± 0.007 (μ g/ml)로 對照群에 比하여 有意性($p < 0.05$)있는 增加의 抑制를 나타내었다(Table X, Fig. 10).

Table X. Effect of GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract on the lipidperoxidation contents (LPO) in the serum in rats induced by scopolamine(1mg/kg)

| Group | No. of animals | Malondialdehyde (μ g/ml) | P-value* |
|---------|----------------|-------------------------------|----------|
| Normal | 5 | $0.289 \pm 0.037a$ | |
| Control | 5 | 0.341 ± 0.012 | |
| GKCT | 5 | 0.315 ± 0.007 | < 0.05 |

a) : Mean \pm standard error.

Normal : Non-treated group.

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

GKCT : GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract(938 mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg).

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

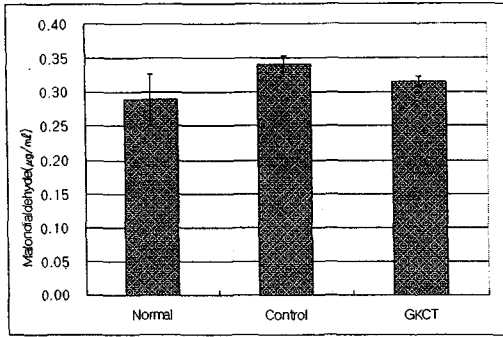


Fig. 10. Effect of GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract on the lipidperoxidation contents(LPO) in the serum in rats induced by scopolamine(1mg/kg)

Normal : Non-treated group.

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

GKCT : GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract(938 mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg).

6. 腦組織內 catalase 活性에 미치는 影響

腦組織의 H₂O₂를 分解하는 catalase 活性은 正常群에서 207 \pm 42.4(unit/mg protein)이었고, 對照群은 168 \pm 11.7(unit/mg protein)로, 實驗群은 182 \pm 7.1(unit/mg protein)로 對照群에 比하여 增加하였으나 有意性은 認定되지 않았다(Table XI, Fig. 11).

Table XI. Effect of GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract on the catalase activity in the microsome of rat brain induced by scopolamine(1mg/kg)

| Group | No. of animals | Catalase activities (unit/mg protein) | P-value* |
|---------|----------------|---------------------------------------|----------|
| Normal | 5 | 207 \pm 42.4a) | |
| Control | 5 | 168 \pm 11.7 | |
| GKCT | 5 | 182 \pm 7.1 | |

a) : Mean \pm standard error.

Normal : Non-treated group.

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

GKCT : GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract(938 mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg).

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

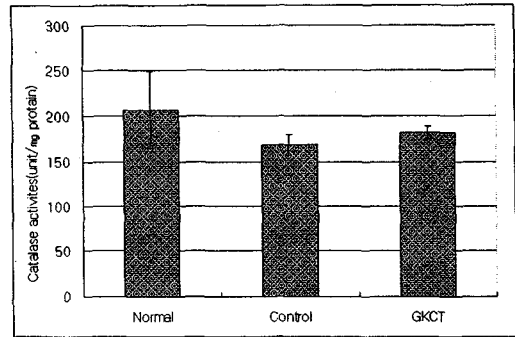


Fig. 11. Effect of GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract on the catalase activity in the microsome of rat brain induced by scopolamine(1mg/kg)

Normal : Non-treated group.

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

GKCT : GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract(938 mg/kg) was oral injected for 10day before admini-

strated with scopolamine(1mg/kg).

7. 腦組織內 SOD 活性도에 미치는 影響

腦組織內의 -O₂를 分解하는 SOD 活性에 미치는 影響에서 正常群은 17.5±1.66(unit/mg protein)이었고, 對照群은 13.4±1.01(unit/mg protein)로, 實驗群은 17.0±0.91(unit/mg protein)로 對照群에 比하여 有意性(p<0.01) 있는 增加를 보았다(Table XII, Fig. 12).

Table XII. Effect of GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract on the superoxide dismutase(SOD) activity in the microsome of rat brain induced by scopolamine(1mg/kg)

| Group | No. of animals | Superoxide Dismutase (unit/mg protein) | P-value (*) |
|---------|----------------|--|-------------|
| Normal | 5 | 17.5 ± 1.66a) | |
| Control | 5 | 13.4 ± 1.01 | |
| GKCT | 5 | 17.0 ± 0.91 | < 0.01 |

a) : Mean ± standard error.

Normal : Non-treated group.

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

GKCT : GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract(938 mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg).

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

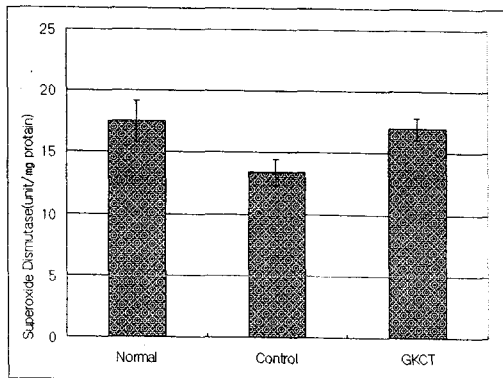


Fig. 12. Effect of GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract on the superoxide dismutase(SOD) activity in the microsome of rat brain induced by scopolamine(1mg/kg)

Normal : Non-treated group.

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

GKCT : GAMIKWYBICHONGMUNGTANG extract(938 mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg).

IV. 考 察

加味歸脾聰明湯은 《東醫寶鑑》¹⁾에 記載된 歸脾湯과 聰明湯을 合方한 方劑에 久服不老의 效能²⁾이 있는 鹿茸을 加하고, 寧心安神의 效能³⁾이 있는 龍眼肉과 酸棗仁을 增量한 處方이다.

歸脾湯은 宋代 嚴用和의 《濟生方》⁴⁾에 처음으로 收錄된 以後로, 許 등^{1,2,44-49)}은 憂思過度로 因하여 心脾二臟을 勞傷함으로써 健忘이 甚하고 怔忡하는 것을 다스리는 데 活用하였다.

聰明湯은 《東醫寶鑑》¹⁾에 “治多忘 久服能日誦千言”이라 記載되어 있으며, 歷代醫家들에 依해 記憶力 減退, 健忘 등의 病症을 治療하는 데 活用되어 왔다.^{1,2,7,36,44,49)}

加味歸脾聰明湯을 構成하는 藥物의 效能을 살펴보면, 白茯神^{3,41-42)}은 利水滲濕, 健脾和中, 寧心安神하고, 遠志^{3,41-42)}는 祛痰利竅, 安神益智하며, 石菖蒲^{3,41-42)}는 開發安神, 化痰濕, 和中辟濁하고, 龍眼肉^{3,41-42)}은 補心安神, 養血益脾하며, 酸棗仁^{3,41-42)}은 補肝膽, 寧心安神하고, 甘草^{3,41-42)}는 和中緩急, 潤肺, 解毒, 調和諸藥하며, 生薑^{3,41-42)}은 解表散寒, 溫中止嘔하고, 大棗^{3,41-42)}는 補脾和胃, 益氣生津, 調榮衛, 解藥毒하며, 當歸^{3,41-42)}는 補血和血, 養血活血, 調經止痛, 潤腸通便하고, 人蔘^{3,41-42)}은 大補元氣, 補脾益氣, 生津, 寧神益智하며, 黃芪^{3,41-42)}는 補氣升陽, 固表止汗, 托毒排膿, 利水退腫하고, 白朮^{3,41-42)}은 補脾益氣, 燥濕利水, 固表止汗하며, 木香^{3,41-42)}은 行氣止痛, 止痢하고, 鹿茸^{3,41-42)}은 壯元陽, 生精補血, 強筋骨하는 效能이 있다.

老化란 生命體의 成長과 同時에 進行되는 一連의 反應⁴⁰⁾으로 한 個體에서 時間의 進行에 比例하여 일어나는 漸進의이고 內的인 退行性 變化로 外部環境에 대한 反應能力이 低下되는 現象이다²³⁾.

사람은 나이가 들어감에 따라서 老化色素의 沈着, 小脂肪球의 蓄積, 細胞實質의 減少, 核의 萎縮, Nissl's body의 減少, Golgi's body의 破壞, 酵素의 活性 및 機能低下, 血球細胞의 減少, 血清成分의 變化 및 腦神經系統(腦室의 擴大, 腦質量的 減少, 腦血管의 老化, 神經細胞內的 老化色素沈着, Alzheimer 原纖維의 變化), 循環器系統(心臟機能의 低下, 心筋의 變性, 心電圖 異常, 血壓의 變化, 循環機能 調節力 低下), 泌尿器系統(腎臟의 老化, nephron의 老化, 腎臟의 代償性肥大), 呼吸器系統(肺機能의 變化, 肺活量의 低下), 消化器系統(胃粘膜의 老化, 小腸·大腸의 粘膜 萎縮, 肝機能 低下, 脾臟의 老化), 造血機能系統(造血機能의 萎縮·形成不全으로 인한 造血機能의 低下, 動脈硬化, erythropoietin 活性의 低下), 內分泌系統(副腎皮質刺戟호르몬, 成長호르몬, 甲狀腺刺戟호르몬, 黃體호르몬, 卵胞刺戟호르몬, 抗利尿호르몬, melanin刺戟호르몬, oxytocin 등의 腦下垂體호르몬 分泌異常, 甲狀腺의 纖維化, insulin, glucogen 등의 糖代謝호르몬 分泌異常, androgen, testosterone 등의 性호르몬 分泌異常) 등에 老化로 인한 身體의 退化의 變化가 나타난다³⁹⁾.

西洋醫學은 老化에 關한 數的인 測定基準인 肺活量, 腎臟의 PSP (phenolsulfonphtalein)排泄率, 보는 거리의 調節幅, 振動感覺 閾值, 收縮期 血壓, 擴張期 血壓, 體重, 身長 등에 對한 生理的 變化 指標를 提示하였고, 또 老化로 인한 身體 機能의 變化에 對해 20代를 100%으로 基準했을 때, 75~80代 老人의 基礎代謝率은 80%, 安定時 心搏出量은 85%, 腦重量은 85%, 肝重量은 63%, 肝血流量은 50%, 肺活量은 55%, 腎臟의 크기는 65%, 神經纖維의 傳達速度는 85%로 全體의인 身體機能 效率이 低下된다¹⁷⁾고 說明하고 있으나 아직도 滿足할 만한 老化 指標를 設定하지는 못하고 있다³⁹⁾.

韓醫學에서는 老化를 陰陽五行의 規律에 따른 生, 長, 化, 收, 藏의 變化 過程으로 認識하였으며, 陰陽의 不調和^{7,8)}, 精神感動의 惡影響^{7,8)}, 氣血의 不調和^{7,8)}, 臟腑의 變化

^{7,8,9)} 및 飲食의 不節制⁷⁾ 등과 關聯시켜서 人間의 老化에 對해서 說明하고 있다. 《靈樞·衛氣失常篇》⁹⁾에서는 “人年五十以上爲老”라 하여 五十歲를 老化가 이루어지는 時期로 보았으며, 《素問·陰陽應象大論》⁸⁾에서는 “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 老化에 따른 各 臟器의 機能的, 構造的 變化를, 《靈樞·營衛生會篇》¹⁶⁾에서는 “老子之氣血衰 其肌肉故 氣道澁....”이라 하여 氣血變化에 依한 身體의 變化를, 《靈樞·天年篇》⁹⁾에서는 “五十歲 肝氣始衰 肝葉始薄 目始不明.... 六十年 心氣始衰.... 七十年 脾氣虛.... 八十歲 肺氣虛.... 九十歲 腎氣焦.... 百歲五臟皆虛 腎氣皆性.... ”이라고 하여 五臟의 老化順序에 대하여 言及하고 있다.

西洋醫學에서는 老化의 發生原因을 老化가 遺傳的으로 豫定되어 不可逆的으로 經過한다는 遺傳學說, 體內 蛋白質 合成에 異常이 생겨 老化가 發生한다는 error破滅說, 體細胞 遺傳子의 確率의 過程으로 突然變異가 發生하고 이것이 쌓여서 細胞의 機能障病가 發生한다는 體細胞突然變異說, 老化色素 등의 細胞 體內蓄積에 老化가 나타난다는 代謝產物蓄積說, 物質과 機能이 時間이 지남에 따라 磨耗된다는 磨耗說, 自由遊離基들에 의해 老化가 發生한다는 自由遊離基說, 免疫機能이나 中樞神經系의 低下로 인한 生體防禦機構 혹은 調節機構의 障病說, 老化는 過去에 받은 stress 或은 疾病의 總合이라는 stress說 등으로 보고 있다^{4,10)}.

그 중 自由遊離基說은 代謝科程에서 發生하는 自由遊離基가 體內的 細胞나 結締組織에 作用하여 해로운 物質을 生成·蓄積한 結果가 老化의 根本的인 原因이라고 보는 理論이다. 自由遊離基란 分子狀態의 酸素가 生體內 酸化還元 反應의 電子受容體로 利用됨으로써 持續的으로 還元되어 가는 중에 生成되는 不完全한 酸素의 還元形態로 $-O_2$ (superoxide anion), $-OH$ (radical hydroxyl), H_2O_2 (hydrogen peroxide) 등이 있는데³¹⁾ 生命現象을 營爲하는 過程에서 酸素의 一部가 分子 O_2 還元反應을 通하여 自由遊離基로 轉換되면 脂質이나 蛋白質같은 生體高分子 등과 反應하여 酸化를 誘發시키는 過酸化反應이 일어나게 된다^{1,47)}. 일단 脂質過酸化反應이 始作되면 連續的으로 進行되며 細胞膜의 透過性, 流動性에 影響을 끼쳐서 生體膜에

損傷을 입히고 細胞機能을 低下시키며 組織의 壞死를 誘發시킨다^{4,10,32-34}.

自由遊離基가 蓄積되는 것을 防止하기 위하여 正常細胞속에는 $-O_2$ 을 分解하는 SOD, H_2O_2 을 分解하는 catalase 등이 있으며^{24,35,39}, 外部刺戟에 의해 細胞內에서 酸素遊離基들이 過量으로 發生하거나 有害酸素에 對한 防禦機轉들의 機能이 低下되게 되면 細胞는 損傷을 받게 된다^{10,34}.

自由遊離基가 細胞나 結體組織에 作用하여 해로운 物質을 生成·蓄積한 結果가 老化의 根本的인 原因이라고 主張한 D. Harman에 依해 提倡된 自由遊離基說³⁴은 最近에 注目받고 있는 理論으로, 이 理論을 證明하기 위해 D. Harman과 R.R. Kohn이 抗酸化劑를 投與하여 老化를 遲延시키는 研究를 始作한 以後로 浮萍草¹¹, 綠茶¹² 등의 單味材와 當歸¹³, 胡桃¹⁴, 白何首烏¹⁵, 杜冲葉¹⁶ 등 藥鍼의 抗酸化 作用에 關한 實驗的 研究, 老化의 原因을 腎虛의 觀點에서 본 鹿藜地黃湯¹⁷, 左歸飲^{18,19}, 右歸飲^{18,19}, 麥茸地黃湯²⁰, 七福飲²¹, 還少丹²² 등의 處方과 痰飲의 觀點에서 본 洗心湯²³, 溫膽湯¹⁰ 등의 處方이 腦組織의 抗酸化 活性에 미치는 影響에 대하여 報告된 바 있다.

이와 같이 抗酸化 作用에 關한 研究는 主로 老化의 原因이 腎虛, 痰飲이라는 觀點에서 腎의 機能을 補完하거나 祛痰하는 藥物들을 爲主로 이루어졌으나 憂思 心脾勞傷으로 因한 痴呆, 健忘 등에 使用하는 藥物들이 老化現象에 미치는 影響에 對한 研究는 未備한 實情이다

이에 著者는 加味歸脾聰明湯의 效能을 實驗的으로 立證하기 위하여 體重 $450 \pm 16g$ 의 老化 白鼠를 正常群(Normal), 對照群(Control), 實驗群(GKCT)으로 나누고, 對照群은 蒸溜水(0.2ml/day)를, 實驗群은 加味歸脾聰明湯(938mg/kg)을 10日間 投與하고, 對照群과 實驗群에 各各 scopolamine(1mg/kg)을 5日間 1日 1回 靜脈注射한 後 血球細胞(WBC, RBC, platelet), 血清成分(glucose, creatinine, BUN, uric acid)을, 血清中 赤血球膜의 活性酸素에 對한 耐性, cholinesterase 活性度, 脂質過酸化度(TBA反應)를 測定하고, 腦組織에서의 catalase 活性度, SOD 活性度を 測定하였다.

scopolamine은 莨菪根(미치광이 뿌리)에 들어 있는 tropane族 alkaloid로 cholinesterase의 役割을 妨害하는 muscarinic receptor antagonist인데, 生體에 投與되면 中樞神經을 抑制·痲痺시키고 散腫, 催眠, 部分腦血流, 消化器의 作用, 記憶力, 學習能力, 視覺의 選擇能力을 減少시키며 졸림, 疲勞感 등을 惹起시키는 毒性物質이다⁵¹⁻⁵³. scopolamine을 靜脈注射한 後 血液變化 및 血清의 抗酸化物 活性을 測定하기 위하여 白血球數에 미치는 影響을 살펴본 結果, 正常群은 $14.4 \pm 1.18(103/mm^3)$ 이었고, 對照群은 $8.2 \pm 0.49(103/mm^3)$, 實驗群은 $10.8 \pm 0.11(103/mm^3)$ 로 對照群에 比하여 有意性($p < 0.001$) 있는 增加가 있었다(Table I, Fig. 1).

赤血球數에 미치는 影響을 살펴본 結果, 正常群은 $8.43 \pm 0.07(106/mm^3)$ 이었고, 對照群은 $8.17 \pm 0.17(106/mm^3)$ 로 減少하였고, 實驗群은 $8.15 \pm 0.12(106/mm^3)$ 로 減少하였으며 對照群에 比하여 有意性은 없었다(Table II, Fig. 2).

血素板에 미치는 影響을 살펴본 結果, 正常群은 $774 \pm 12.1(106/mm^3)$ 이었고, 對照群은 $805 \pm 22.8(106/mm^3)$, 實驗群은 $837 \pm 17.3(106/mm^3)$ 으로 增加하였으나 有意性은 없었다(Table III, Fig. 3).

BUN에 미치는 影響을 살펴본 結果, 正常群은 $20.1 \pm 1.12(mg/dl)$ 이었고, 對照群은 $28.1 \pm 2.37(mg/dl)$ 로, 實驗群은 $23.1 \pm 1.05(mg/dl)$ 로 上昇하였으나 對照群에 比하여 有意性($p < 0.05$) 있는 減少를 보였다(Table IV, Fig. 4).

血清에서의 creatinine은 正常群에서 $0.62 \pm 0.010(mg/dl)$ 이었고, 對照群은 $0.73 \pm 0.017(mg/dl)$ 로 上昇하였으며, 實驗群은 $0.65 \pm 0.013(mg/dl)$ 으로 減少하여 對照群에 比하여 有意性($p < 0.01$) 있는 減少를 보였다(Table V, Fig. 5).

血清에서의 glucose는 正常群에서 $74.5 \pm 3.25(mg/dl)$ 이었고, 對照群은 $100.1 \pm 2.57(mg/dl)$ 로 增加하였고, 實驗群은 $83.9 \pm 3.29(mg/dl)$ 로 對照群에 比하여 減少하였으나 有意性($p < 0.001$) 있는 減少를 보였다(Table VI, Fig. 6).

血清에서의 uric acid는 正常群에서 $2.79 \pm 0.222(mg/dl)$ 이었고, 對照群은 $3.29 \pm 0.126(mg/dl)$ 으로 上昇하였으나, 實驗群은 $2.78 \pm 0.160(mg/dl)$ 으로 對照群에 比하여 有意性($p < 0.05$) 있는 減少를 보였다(Table VII, Fig. 7).

加味歸脾聰明湯의 血清成分에 미치는 影響에 있어서

對照群의 BUN, creatinine, glucose, uric acid値는 모두上昇하였으나 實驗群에서는 正常群과 비슷할 정도로 有意性 있게 減少하여 加味歸脾聰明湯은 生體의 血清成分을 正常範圍로 維持하여 抗老化 效果가 있을 것으로 思料된다.

赤血球膜의 活性 酵素의 變化에 미치는 影響을 살펴본 結果, 正常群은 $405 \pm 16.4(\%)$ 이었고, 對照群은 $448 \pm 8.2(\%)$ 로, 實驗群은 $414 \pm 7.1(\%)$ 로 對照群에 比하여 有意性($p < 0.01$)있는 減少를 보였다(Table VIII, Fig. 8).

血清에서의 cholinesterase 活性도에 미치는 影響을 살펴본 結果, 正常群은 $17.5 \pm 0.77(\text{unit/ml})$ 이었고, 對照群은 $2.0 \pm 0.91(\text{unit/ml})$ 로, 實驗群은 $3.4 \pm 0.41(\text{unit/ml})$ 로 減少하여 有意性이 없었다(Table IX, Fig. 9).

血清에서의 malondialdehyde(MDA) 含量에 미치는 影響을 살펴본 結果, 正常群은 $0.289 \pm 0.037(\mu\text{g/ml})$ 이었고, 對照群은 $0.341 \pm 0.012(\mu\text{g/ml})$ 로, 實驗群은 $0.315 \pm 0.007(\mu\text{g/ml})$ 로 對照群에 比하여 有意性($p < 0.05$)있는 增加의 抑制을 나타내었다(Table X, Fig. 10). 이는 赤血球膜의 活性 酵素의 變化에 미치는 影響에 關한 實驗과 함께 加味歸脾聰明湯 投與群에서 活性 酵素의 發生과 老化物質의 蓄積을 減少시키는 效果가 있음을 示唆하여 준다.

腦組織의 H_2O_2 를 分解하는 catalase 活性은 正常群에서 $207 \pm 42.4(\text{unit/mg protein})$ 이었고, 對照群은 $168 \pm 11.7(\text{unit/mg protein})$ 로, 實驗群은 $182 \pm 7.1(\text{unit/mg protein})$ 로 對照群에 比하여 增加하였으나 有意性은 認定되지 않았다(Table XI, Fig. 11).

腦組織內의 $-\text{O}_2$ 를 分解하는 SOD 活性에 미치는 影響에서 正常群은 $17.5 \pm 1.66(\text{unit/mg protein})$ 이었고, 對照群은 $13.4 \pm 1.01(\text{unit/mg protein})$ 로, 實驗群은 $17.0 \pm 0.91(\text{unit/mg protein})$ 로 對照群에 比하여 有意性($p < 0.01$)있는 增加를 보였다(Table XII, Fig. 12).

以上の 結果를 綜合해 보면 加味歸脾聰明湯 投與群은 血球成分에서 白血球 外에는 有意性 있는 變化를 보이지 않았고 血清成分에서는 有意性 있는 效果가 認定되었으며 赤血球膜과 血清에서는 活性 酵素의 發生을 抑制하였다. 또한 自由遊離基의 蓄積을 防止하여 抗酸化 活性에 關與하는 SOD 活性도 및 酸化的 損傷의 指標로 使用되는

MDA 生成抑制에는 有意性 있는 抗酸化 效果가 認定되었으나, 血清에서의 cholinesterase 活性도 및 腦組織에서의 catalase 活性에는 有意性이 없었다. 그러므로 加味歸脾聰明湯은 血清에서의 酸化的 損傷이나 老化促進을 막아주는 活性 酵素의 生成과 老化物質의 蓄積을 막아 抗老化의 效果가 있는 것으로 判斷되나, 向後 더 많은 研究가 必要할 것으로 思料된다.

V. 結 論

加味歸脾聰明湯이 老化作用에 미치는 影響을 實驗적으로 立證하고자, 對照群과 實驗群에 各各 scopolamine (1mg/kg)을 靜脈注射한 後 血球細胞(WBC, RBC, platelet), 血清成分(glucose, creatinine, BUN, uric acid)을, 血清中 赤血球膜의 活性 酵素에 대한 耐性, cholinesterase 活性도, 脂質過酸化度(TBA反應)를 測定하고, 腦組織에서의 catalase 活性도, SOD 活性도를 測定하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 白血球數는 加味歸脾聰明湯 投與群이 對照群에 比하여 有意性 있는 增加를 보였고, 赤血球數와 血小板數는 有意性 있는 變化가 없었다.

2. 血清 BUN, creatinine, glucose, uric acid値는 加味歸脾聰明湯 投與群이 對照群에 比하여 有意性 있는 變化를 보였다.

3. 赤血球膜의 活性 酵素의 變化는 加味歸脾聰明湯 投與群이 對照群에 比하여 有意性 있는 抑制을 나타내었다.

4. 血清에서의 cholinesterase 活性도는 加味歸脾聰明湯 投與群은 對照群에 比하여 有意性이 認定되지 않았다.

5. 血清에서의 MDA 含量은 加味歸脾聰明湯 投與群이 對照群에 比하여 有意性 있는 抑制을 나타내었다.

6. 腦組織內 catalase의 活性도를 測定한 結果, 加味歸

脾聰明湯 投與群은 對照群에 比하여 有意性이 認定되지 않았다.

7. 腦組織內 SOD 活性도를 測定한 結果, 加味歸脾聰明湯 投與群은 對照群에 比하여 有意性 있는 活性을 보였다.

以上の 實驗을 考察한 結果, 加味歸脾聰明湯은 血液變化 및 血清과 腦組織의 抗酸化 活性에 關與하여 酸化의 損傷의 指標로 使用되는 MDA 生成을 抑制시키고 老化促進을 막아주는 活性酵素의 生成과 老化物質의 蓄積을 막아 抗老化 效果가 있는 것으로 判斷되나, 向後 더 많은 研究가 必要할 것으로 思料된다.

參 考 文 獻

1. 許 浚 : 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, p.98, 1981.
2. 朴炳昆 : 增補漢方臨床四十年, 서울, 大光印刷公社, p.296, 736, 1981.
3. 辛民教 : 本草維新, 서울, 慶苑文化社, p.55, 57, 65, 82, 91, 93, 135, 142, pp.59~61, 132~133, 1979.
4. 徐舜圭 : 成人病 老人病學, 서울, 고려의학, pp.10~13, 225~228, 1992.
5. 노인규 : 건강유지와 질병관리, 서울, 여문각, pp.17~18, 1989.
6. 高仁錫 譯 : 노화는 왜 일어나는가, 서울, 電波科學社, pp.143~144, 1991.
7. 柳熙英 : 東醫精神科學, 서울, 慶苑文化社, p.103, pp.116~119, 1983.
8. 洪元植 譯 : 黃帝內經素問解釋, 서울, 高文社, p.37, pp.41~42, 1980.
9. 洪元植 譯 : 黃帝內經靈樞解釋, 서울, 高文社, p.109, pp.234~235, 1982.
10. 鄭仁哲 : 溫膽湯이 腦組織의 酸化作用에 미치는 影響, 大田大學校 大學院, 1998.
11. 이효은 외 : 浮萍草의 化學成分 및 抗酸化效果에 關한 研究, 釜山大學校 藥學研究誌, 29(2):29~39, 1995.
12. 백봉숙 외 : 녹차로부터 분리된 Epicatechin 3-O-Gallate의 항산화작용 기전에 관한 연구, 부산대학교 약학연구지, 29(2):49~56, 1995.
13. 安垞徹 외 : 當歸 藥針液의 抗酸化 效果에 關한 研究, 大韓鍼灸學會誌, 13(2):254~262, 1996.
14. 金永海·金甲成 : 胡桃藥針液의 抗酸化 效果에 對한 研究 (I. 胡桃藥針液이 腎臟細胞에서 oxidant에 依한 損傷에 미치는 影響), 大韓韓醫學會誌, 17(1):9~20, 1996.
15. 李鍾賢 : 白何首烏 藥針의 抗酸化作用에 關한 實驗的 研究, 大田大學校 大學院, 1997.
16. 成日煥 : 抗酸化作用에 對한 杜沖葉藥針의 實驗的 研究, 大田大學校 大學院, 1997.
17. 蘇敬順 외 : 鹿蓼地黃湯이 抗老化에 미치는 影響, 서울, 慶熙韓醫大論文集, 18(2):127~148, 1995.
18. 鄭智天 : 左歸飲과 右歸飲에 依한 活性 酸素類의 消去 作用과 抗酸化 酵素系의 活性 增加 效果에 對한 研究, 大韓韓醫學會誌, 17(1):21~36, 1996.
19. 尹哲浩 외 : 左歸飲과 右歸飲이 老化 Rat의 腦 過酸化 脂質 生成 및 活性酸素 生成系 酵素 活性에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌, 16(2):348~364, 1995.
20. 金保岡 : 蓼地黃湯이 腦組織의 酸化作用에 미치는 影響, 大田大學校 大學院, 1998.
21. 손정석·유영수 : 七福飲이 老化 白鼠 腦組織의 生化學的 變化에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지, 8(2):25~37, 1997.
22. 徐元熙 : 環少丹이 腦組織의 酸化作用에 미치는 影響, 大田大學校 大學院, 1998.
23. 金聖賢 : 洗心湯이 腦組織의 酸化作用에 미치는 影響, 大田大學校 大學院, 1998.
24. Lim, H. B., Lee, D. W and Cho, S.H : Effect of AAPH on plasma antioxidants in rat. Kor. J. Gerontol., 2:68~74, 1993.
25. Yu, B.P., LEE, D.W., Marler, C.G. and Choi, J. H. : Mechanism of feed restriction ; protection of cellular homeostasis. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 193:13~15, 1990.

26. Bansal, S.K., Love, J. and Gurtoo, H.L. : High pressure liquid chromatographic separation of multiple form of cytochrome P-450. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 117:268~274, 1983.
27. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R. J. : Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193:265~275, 1951.
28. Aebi, H. : Catalase erythrocytaire in blood serum. *Expos. Annuels de Biochimie Medicale*, 29ieme serie. Masson & Cie(eds), Paris, pp.139~164, 1969.
29. McCord, J.R., Colby, M.D. and Fridovich, I. : Super-oxide dismutase, enzymatic function for erythrocytein (hemocuprein). *J. Biol. Chem.*, 231:6049~6055, 1972.
30. Daniel, W.W. : Biostatistics ; A foundation for analysis in the health science, third edition. pp.136~146, 1983.
31. Barry, H. : Oxidants and human disease ; Some new concept. *FASEB J.*, 1:358~364, 1987.
32. Benedetti, A., Comporti, M. and Esterbauer, M. : *Biochim. Biophys. Acta.*, 620:281, 1980.
33. Kunimoto, M., Inoue, K. and Nojima, S. : *Biochem. biophys. Acta.*, 646:169, 1981.
34. 김숙희 · 김화영 : 노화, 서울, 믿음사, pp.77~85, 1991.
35. 이귀녕 · 이종순 : 임상병리과일, 서울,醫學文化社, pp. 138~139, 241~242, 1990.
36. 徐敏華 : 聰明湯이 老化白鼠 腦組織의 生化學的 變化와 神經細胞의 損傷에 미치는 影響, 圓光大學校 大學院, 1996.
37. 김주섭 : 노화촉진 생쥐의 각종장기에서 산화성 변성과 산소라디칼 제거효소계의 활성화에 관한 연구, 서울대학교 대학원, 1991.
38. 양재수 : 노화촉진 생쥐에서 산소라디칼 관련물질의 검색에 관한 연구, 서울대학교 대학원, 1986.
39. 이정복 : 장수학, 평양, 과학백과사전출판사, p.18, 41, 89, pp.64~87, 1987.
40. 민순실 : 동의내과증상의 감별과 치료, 평양, 평양의학 출판사, pp.125~127, 1991.
41. 申信求 : 申氏本草學, 서울, 壽文社, p.1, 9, 13, 16, 29, 55, 68, 80, 100, 242, 514, 592, 719, 1982.
42. 李尙仁 · 安德均 · 辛民教 : 漢藥臨床應用, 서울, 成輔社, p.56, 171, 261, 345, 353, 359, 360, 361, 370, 399, 1982.
43. 嚴用和 : 嚴氏濟生方, 北京, 人民衛生出版社, p.117, 1980.
44. 古今圖書集成博物彙編 : 醫部全書 第十冊(影印本), 臺北, 藝文印書館行, p.7649, 7655.
45. 康舜洙 · 盧昇鉉 · 李尙仁 : 方劑學, 서울, 癸丑文化社, pp.119~120, 1984.
46. 黃度淵 : 對譯證脈 · 方藥合編, 서울, 南山堂, p.197, 1980.
47. 黃義完 · 金知赫 : 東醫精神醫學, 서울, 現代醫學書籍社, p.858, 1992.
48. 蔡仁植 · 孟華燮 : 國譯醫方集解, 서울, 大成文化社, pp. 263~264, 1984.
49. 金定濟 : 診療要鑑(下), 서울, 東洋醫學研究院, p.195, 1983.
50. 李 槿 : 編註 醫學入門集 卷三, 서울, 大星文化社, p. 492, 1981.
51. 홍사석 : 이우주의 약리학강의, 서울, 선일문화사, p.83 154, 237, 257, 640, 1987.
52. Saponjic, R. M., K. Mueller, D. Krug, and P. M. Kunko. The effects of haloperidol, scopolamine, and MK-801 on amphetamine-induced increases in ascorbic and uric acid as determined by voltammetry in vivo. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 48: 161-168, 1994.
53. Brambilla, A., A. Ghiorzi, N. Pitsicas, and F. Borsini. DAU 6215, a novel 5-HT sub(3)-receptor antagonist, selectively antagonizes scopolamine-induced deficit in a passive-avoidance task, but not scopolamine-induced hypermotility in rats. *Pharm. Pharmacol.* 45: 841-843, 1993.

=ABSTRACT=

The Effects of GAMIKWYBICHONG-MUNGTANG on the Blood Cell, Serum and Antioxidant Effects on Serum, Brain Tissue of Mouse

In Jae Kim, O.M.D.

Sang Ryong, Lee, O.M.D.

Dept of Oriental Neuropsychiatry, College of Oriental Medicine Taejon University, Taejon, Korea

This experiment was done to investigate the effects of GAMIKWYBICHONGTANG(GKCT) on the blood and brain tissues of aged rats. The experimental groups were divided into three groups and treated as follows for ten days before administration of scopolamine ; Non treated group(Normal), Distilled water feeding group (Control), GKCT feeding group(GKCT). After feeding them each, Control and GKCT were injected scopolamine for 5 days.

We examined the changes of blood cell(WBC, RBC, platelet), blood serum(BUN, creatinine, glucose, uric acid), erythrocyte hemolysis, the activities of cholinesterase, and measured the amounts of malondialdehyde of the blood serum and checked the activities of catalase, SOD of the brain tissues.

The results were as follows;

1. GKCT showed significant increase of the number of WBC, but those of RBC and platelet didn't significantly changed in comparison with Control.
2. GKCT showed significant decrease of BUN, creatinin, glucose, uric acid in blood serum in comparison with Control.
3. Erythrocyte hemolysis were decreased significantly in GKCT in comparison with Control.
4. About the activity of cholinesterase of blood serum, GKCT showed no significant increase in comparison with Control.
5. In TBA reaction to measure the amount of MDA, oxidant material of blood serum of rats, GKCT showed significant decrease in comparison with Control.
6. About the activity of catalase of brain tissue, GKCT showed no significant change in comparison with Control.
7. About the activity of SOD of brain tissue, GKCT showed significant increase in comparison with Control.

According to the above results, GKCT can reduce the formation of free radical and the accumulation of antioxidant materials. it is suggested that GAMIKWYBICHONGTANG(GKCT) has some effects on antiaging. It is also needed more following studies.