

拱淸丸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

채종길 · 이상용

I. 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, 構造的, 機能的 變化가 招來되어 外部環境에 對해 反應하는 能力이 떨어지는 現象이다¹⁾. 個體는 老化하면서 解剖學的, 生化學的, 行動的, 神經學的인 變化가 發生하여 血管의 老化和 硬化, 老人斑 沈着, 酵素的 活性和 機能減少, lipofuscin과 같은 代謝物質의 蓄積 등이 나타나며 生理的으로 血球細胞의 減少와 함께 血清의 變化도 일어난다²⁻⁶⁾.

老化的 原因으로는 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(free radical theory), 生體防禦機構障礙說, 스트레스說 등이 거론되고 있다. 그 중 自由遊離基說은 代謝過程에서 發生하는 superoxide anion(O₂⁻), hydrogen peroxide(H₂O₂) 및 hydroxy radical(OH) 등의 自由遊離基가 체내에 蓄積된 結果가 老化和 慢性 退行性 疾病의 根本的인 原因이라고 보는 것으로^{3,6)}, 自由遊離基가 蓄積되는 것을 防止하기 위하여 正常細胞는 O₂를 分解하는 superoxide dismutase (SOD), H₂O₂을 分解하는 catalase와 같은 酵素들을 가지고 있다는 이론이다^{3,7-10)}.

韓醫學에서는 老化에 對하여 <素問·陰陽應象大論>¹¹⁾에 “年五十體重 耳目不總明 年六十陰痿氣大衰 九竅不利…”로 老化에 따른 身體의 變化를 말하였고, <靈樞·天年篇>에 “五十歲 肝氣始衰 肝葉始薄 目始不明 ……百歲 五臟皆虛 胃氣皆怯…”이라하여 年齡의 增加에 따른 五臟

의 老化를 言及하였으며, <靈樞·營衛生會篇>¹¹⁾에 “老子之氣血衰 其肌肉故 氣道澁…”이라하여 老化가 氣血盛衰와 關聯있음을 示唆하고 있으나 具體的인 說明은 不足한 편이다.

最近 韓醫學에서는 老化에 關한 研究가 多樣하게 進行되고 있는데, 當歸藥針 등¹²⁻¹⁸⁾의 抗酸化 作用과, 聰明湯¹⁹⁾, 左歸飲 右歸飲²⁰⁻²¹⁾, 鹿藜地黃湯²²⁾이 活性酸素의 消去作用과 肝이나 腦의 過酸化脂質 生成에 미치는 研究와, 金²³⁻²⁷⁾ 등의 腦組織의 酸化作用에 對한 研究 등에서 韓藥劑가 老化나 痴呆등에 有效함을 報告한 바 있다.

拱淸丸은 拱辰丹²⁸⁻³⁰⁾과 牛黃淸心元^{30,31)}을 合方한 것으로 拱辰丹은 <世醫得效方>²⁸⁾에 처음 記載된 稟賦虛弱한 사람의 先天의 氣를 補하고 水昇火降을 순조롭게하여 元氣를 더해주는 處方이며, 牛黃淸心元은 <太平惠民和劑局方>³¹⁾에 “治諸風癱瘓不隨 言語蹇澁 心忪健忘 … 精神昏憤 … 或發狂癲 神情昏亂”이라 記載되어 卒中風, 人事不省 痰涎壅盛 精神昏憤 等症에 活用되고 있다²⁹⁻⁴⁵⁾.

拱辰丹과 牛黃淸心丸에 對한 報告로는 拱辰丹은 強精補氣作用⁴⁶⁾, 免疫反應 抗疲勞 및 內分泌에 미치는 影響⁴⁷⁾이 있고, 牛黃淸心丸은 平滑筋에 미치는 影響⁴⁸⁾, 蘇合香元과의 比較研究⁴⁹⁾, 劑型別 臨床에 關한 研究⁵⁰⁾, 腦損傷에 미치는 影響⁵¹⁾ 등이 있으나 拱淸丸과 關聯된 研究는 아직 接하지 못하였다.

이에 著者는 拱淸丸이 稟賦虛弱한 사람에서 發生하는 老化現象이나 卒中風, 人事不省 痰涎壅盛 精神昏憤 等症의 豫防 및 治療에 活用할 수 있는 處方으로 생각되어 拱

淸丸의 效能을 實驗으로 立證하고자 老化 白鼠를 正常群, 對照群, 實驗群으로 나누고, 對照群은 蒸溜水를, 實驗群은 拱淸丸을 10일간 投與한 후, 對照群과 實驗群에 各各 scopolamine을 5日間 1日 1回 靜脈注射하고 血球細胞와 血清成分, 血清中 赤血球膜의 活性酸素에 대한 耐性, cholinesterase 活性度, 脂質過酸化度(TBA)를 測定하고, 腦組織에서의 catalase 活性度, SOD 活性度を 測定하여 有意性 있는 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實 驗

1. 動物 및 材料

1) 動物

實驗動物은 韓國 化學 研究所에서 購入한 32週齡(體重 450±16g)의 Sprague-Dawley系(韓國化學研究所) 雄性 흰 쥐를 購入하여, 2週日 동안 實驗室 環境에 適應시킨 後 實驗에 使用하였다. 동물사육실의 조건은 conventional system으로 22±2 °C, 1일중 12시간은 200-300 Lux로 조명하고 12시간은 모든 빛을 차단하였다. 飼料는 固形飼料(조단백질 22.1%이상, 조지방 8.0%이하, 조섬유 5.0%이하, 조회분 8.0%이하, 칼슘0.6%이상, 인 0.4%이상, 삼양사, 항생제 무첨가)와 물을 充分히 供給하였다.

2) 藥材

拱淸丸의 處方構成은 《方藥合編》³⁰⁾에 記載된 拱辰丹과 牛黃淸心元을 참조하였으며 藥劑는 大田大學校 附屬韓方病院에서 購入한 後 精選하여 使用하였고, 1丸의 內容과 分量은 다음과 같다.

Prescription of GONGCHENGWHAN(GCW)

韓 藥 名	生 藥 名	用 量(g)
鹿 茸	Cervi Pantiorichum Cornu	0.75
當 歸	Angelicae Radix	0.778
山 菜 萹	Corni Fructus	0.75
麝 香	Moschus	0.113
山 藥	Discoreae Radix	0.131

韓 藥 名	生 藥 名	用 量(g)
甘 草	Glycyrrhizae Radix	0.094
人 蔘	Ginseng Radix	0.047
蒲 黃	Typhae Pollen	0.047
神 曲	Massa Medicata Fermentata	0.047
犀 角	Rhinoceri Cornu	0.038
大 豆 黃 卷	Lathyrus maritimus Bigel	0.033
官 桂	Cassiae Cortex	0.033
阿 膠	Gelatina Nigra	0.033
白 芍 藥	Paeoniae Radix	0.028
麥 門 冬	Liriodis Tuber	0.028
黃 芩	Angelicae gigantis Radix	0.028
防 風	Sileris Radix	0.028
朱 砂	Cinnabaris	0.028
白 朮	Atractylis Rhizoma	0.028
柴 胡	Bupleuri radix	0.023
桔 梗	Platycodi Radix	0.023
杏 仁	Ansu Semen	0.023
白 茯 苓	Hoelen	0.023
川 芎	Cnidii Radix	0.023
牛 黃	Bezoar	0.023
羚 羊 角	Capricornidis Corn	0.019
龍 腦	Borneolmn	0.019
石 雄 黃	Realgar	0.015
白 薇	Amplelopidis radix	0.014
乾 薑	Zingiberi Radix	0.014
金 箔	Gold	0.009
大 棗	Zyzyphi Semen	0.375
蜂 蜜	Mel	1.335
Total amount		5

3) 試藥 및 機器

(1) 試藥

cholinesterase kit, thiobarbituric acid(TBA), malonaldehyde 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 ferricya-

mide, 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, xanthine, potassium cyanide, sodium deoxycholate, xanthine oxidase, glutathione peroxidase (GSSG), sodium azide, glutathione reductase, cumene hydroperoxide등은 Sigma社(U.S.A) 製品을 使用하였고, 그의 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 (Shimadzu, Japan), high centrifuge (Centikon, Sweden), ultracentrifuge (Centikon, Sweden), Bio-freezer(Sanyo, Japan), Ice-maker(Vision科學, Korea) 및 homogenizer (Omni, U.S.A) 등의 것을 使用하였다.

2. 方法

1) 檢液調製

拱淸丸 1丸(5g)을 蒸溜水에 녹인 懸濁液을 實驗에 必要한 濃度(110mg/kg)로 溶液을 製造하여 使用하였다.

2) 檢液과 scopolamine 投與 및 血液과 血清 變化 測定

흰쥐 5마리를 1군으로 하여 正常群, 對照群, 實驗群(拱淸丸投與:110mg/kg)으로 나누고, 對照群은 증류수를, 實驗群은 검액을 10일간 투여하고, 對照群과 實驗群에 각각 scopolamine(1mg/kg)을 5일간 1일 1회 靜脈注射 후 혈구 세포(WBC, RBC, platelet), 血清(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⁵²⁾에 따라 흰쥐의 血液을 CBC bottle로 항응고 시킨 후 hematology를 測定하였다. 그리고 이 血液을 시험관에 다시 넣고 10mM potassium phosphate buffered saline(pH7.4, PBS)용액을 첨가하여 원심 분리(3000 rpm, 10분)하였다. 3회 반복하여 血液을 洗滌한 다음 20% RBC용액 1ml를 넣고 50mM AAPH용액 1ml을

添加하여 37 °C에서 3時間 incubation하였다. 이 溶液을 50μ를 취하여 2ml saline 溶液에 넣은 것을 A溶液이라 하고, 또 50μ를 취하여 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 × 100(%)을 hemolysis value로 計算하였다.

4) 血清에서 cholinesterase 活性 측정

血清中 cholinesterase 活性을 측정하기 위하여 test tube와 blank tube를 label하고, test tube에 sodium chloride solution(cat. No. 150-3) 0.2ml과 serum 0.2ml을 넣고 혼합하였다. blank와 test tube에 3.0ml water, nitrophenol solution(cat. No.420-2) 2ml, acetylcholine chloride solution 0.2ml을 첨가한다. acetylcholine chloride solution을 첨가함 후 시간을 정확히 기록하여 25 °C water bath에서 정확히 30분간 incubation시킨 후 Elisa leader(Molecular devices, U.S.A.)에서 420nm에서 absorbance를 측정한다. 그 結果는 $\Delta A = A_{BLANK} - A_{TEST}$ 공식에 의하여 검장선에서 活性度를 측정한다.

5) 血清에서 脂質過酸化度 測定(TBA測定)

TBA 測定은 Suematsu 등의 方法⁵³⁾에 따라 clean test tube에 血清 200μ를 넣고, 8.1% sodium dodesyl sulfate solution(SDS) 225μ를 가하고 5초 동안 vortex mixer로 mixing한다. 20% acetic acid 1.5ml을 가하고 그리고 75μ 蒸溜水를 넣고 5초 동안 vortex mixer로 mixing한다. 1.2% thiobarbituric acid solution을 各各의 1ml씩 tube에 더하고, clean dry marble(유리구슬)로 cover한 후, 30분간 water bath에서 끓인다. 그리고 室溫에서 30분간 cooling한 後에 3000rpm에서 20時間 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의 抗酸化物活性에 對한 影響

(1) 腦組織의 各 分割調製

Bansal 등의 方法⁵⁴⁾에 따라 摘出した 흰쥐의 뇌를 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,

30분)하여 1차 上層液을 얻었으며 그 11,000xg pellet은 除去하였다. 또 1차 上層液을 取하여 다시 2차 超高速遠心分離(105,000xg, 60分)하고 그 2차 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 재均質化하여 마이크로솜 分割을 얻었다. 마이크로솜과 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⁵⁶⁾에 따라 蛋白質 濃도를 決定하였다.

(3) 腦의 抗酸化 活性 測定

① catalase 活性度 測定

Aebi의 方法⁵⁶⁾에 따라 3.0ml cuvette에 130nm 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 l 와 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 SOD의 活性度 測定

이 酵素의 活性度 測定은 McCord등의 方法⁵⁷⁾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 50 ml 인산염 완충액(pH 7.8) 2.1ml와 0.5nm xanthine 0.3ml 및 0.1 nm cytochrome c 0.3ml을 加한 다음 cytochrome oxidase에 의한 還元形의 cytochrome 의 再酸化를 막기 위해 反應液에 50 μ M potassium cyanide 0.1ml을 加하였다. 反應液의 微粒자를 分解시키기 위해서 sodium deoxycholate(0.1 mg/ml) 를 0.1ml 넣어 0.033% 되도록 하였다. 混合液을 잘 섞는 다음 xanthine oxidase 0.1ml 와 細胞質 分割 20ml 을 添加 한 후 550nm 에서 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도를 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 Student's T test⁵⁸⁾에 依해 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

scopolamine을 靜脈注射한 後 白血球數에 미치는 影響을 살펴 본 結果 正常群의 白血球數는 14.4 \pm 1.18(10³/mm³)이었고, 對照群은 8.2 \pm 0.49(10³/mm³), 實驗群은 13.7 \pm 0.18(10³/mm³)으로 對照群에 比하여 有意性(P<0.001)인 증가를 보였다(Table I).

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

Group	No. of animals	W B C (10 ³ /mm ³)	P-value*
Normal	5	14.4 \pm 1.18a)	
Control	5	8.2 \pm 0.49	
GCW	5	13.7 \pm 0.18	< 0.001

a): Mean \pm Standard Error.

Normal : Non-treated group

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

GCW : GONGCHENGWHAN extract(110mg/kg) was oral injected for 10day before administated with scopolamine(1mg/kg)

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

2) 赤血球數에 미치는 影響

scopolamine을 靜脈注射한 後 赤血球數에 미치는 影響을 살펴 본 結果 正常群의 赤血球數는 8.43 \pm 0.07(10⁶/mm³)이었고, 對照群은 8.17 \pm 0.17(10⁶/mm³)로 減少한 반

면, 實驗群은 $8.73 \pm 0.27(10^6/\text{mm}^3)$ 로 增加하였으나 有意性은 없었다. (Table II).

Table II. Effect of GONGCHENGWHAN 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	
GCW	5	8.73 ± 0.27	

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)

GCW : GONGCHENGWHAN extract(110mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg)

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

3) 血小板數에 미치는 影響

scopolamine을 靜脈注射한 후 血小板數에 미치는 影響을 살펴 본 結果 正常群의 血小板數는 $774 \pm 12.1(10^6/\text{mm}^3)$ 이었고, 對照群은 $805 \pm 22.8(10^6/\text{mm}^3)$, 實驗群은 $835 \pm 19.5(10^6/\text{mm}^3)$ 으로 增加하였으나 有意性은 없었다 (Table III).

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

Group	No. of animals	platelet (106/mm ³)	P-value*
Normal	5	774 ± 12.1a)	
Control	5	805 ± 22.8	
GCW	5	835 ± 19.5	

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)

GCW : GONGCHENGWHAN extract(110mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg)

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

2. 血清成分 變化에 미치는 影響

(1). BUN에 미치는 影響

血清 BUN에 미치는 影響을 살펴 본 結果 正常群은 $20.1 \pm 1.12(\text{mg}/\text{dl})$ 이었고, 對照群은 $28.1 \pm 2.37(\text{mg}/\text{dl})$, 實驗群은 $20.3 \pm 2.32(\text{mg}/\text{dl})$ 으로 對照群에 비하여 有意性 ($P < 0.05$) 있는 減少를 보였다(table IV).

Table IV. Effect of GONGCHENGWHAN extract on the serum BUN in rats induced by scopolamine (1mg/kg)

Group	No. of animals	B U N (mg/dl)	P-value*
Normal	5	20.1 ± 1.12a)	
Control	5	28.1 ± 2.37	
GCW	5	20.3 ± 2.32	< 0.05

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)

GCW : GONGCHENGWHAN extract(110mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg)

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

(2). creatinine에 미치는 影響

血清에서의 creatinine은 正常群에서 0.62 ± 0.010 (mg/dl) 이었고, 對照群은 0.73 ± 0.017 (mg/dl), 實驗群은 0.61 ± 0.014 (mg/dl)으로 對照群에 比하여 有意性 ($P < 0.001$) 있는 減少를 보였다(table V).

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

Group	No. of animals	creatinine (mg/dl)	P-value*
Normal	5	0.62 ± 0.010 a)	
Control	5	0.73 ± 0.017	
GCW	5	0.61 ± 0.014	< 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)

GCW : GONGCHENGWHAN extract(110mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg)

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

(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)으로 上昇하였으나 實驗群은 85.4 ± 4.51 (mg/dl)으로 對照群에 比하여 有意性 ($P < 0.01$) 있는 減少를 보였다(table VI).

Table VI. Effect of GONGCHENGWHAN 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 ± 3.25 ^{a)}	
Control	5	100.1 ± 2.57	
GCW	5	85.4 ± 4.51	< 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)

GCW : GONGCHENGWHAN extract(110mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg)

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

(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 2.66 ± 0.059 (mg/dl)으로 對照群에 比하여 有意性 ($P < 0.001$) 있는 減少를 보였다(table VII).

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

Group	No. of animals	uric acid (mg/dl)	P-value*
Normal	5	2.79 ± 0.222 a)	
Control	5	3.29 ± 0.126	
GCW	5	2.66 ± 0.059	< 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)

GCW : GONGCHENGWHAN extract(110mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg)

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

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(%, 實驗群은 411±5.0(%)으로 對照群에 比하여 有意性(P<0.01)있는 減少를 보였다(Table VIII).

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 ± 16.4a)	
Control	5	448 ± 8.2	
GCW	5	411 ± 5.0	< 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)

GCW : GONGCHENGWHAN extract(110mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg)

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

4. 血清에서의 cholinesterase 活性에 미치는 影響

血清에서의 cholinesterase 活性度는 正常群은 17.5±0.77(unit/ml)이었고, 對照群은 2.0±0.91(unit/ml), 實驗群은 15.5±1.21(unit/ml)으로 對照群에 比하여 有意性(P<0.001)있는 減少를 보였다(table IX).

Table IX. Effect of GONGCHENGWHAN 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 ± 0.77 ^{a)}	
Control	5	2.0 ± 0.91	
GCW	5	15.5 ± 1.21	< 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)

GCW : GONGCHENGWHAN extract(110mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg)

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

5. 血清에서의 脂質過酸化物 含量에 미치는 影響

血清에서의 malondialdehyde 含量은 正常群에서 0.289±0.037(μg/ml ml)이었고, 對照群은 0.341±0.012(μg/ml), 實驗群은 0.299±0.007(μg/ml)으로 對照群에 比하여 有意性(P<0.01)있는 減少를 보였다(table X).

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

Group	No. of animals	malondialdehyde (μg/ml)	P-value*
Normal	5	0.289±0.037a)	
Control	5	0.341±0.012	
GCW	5	0.299±0.007	< 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)

GCW : GONGCHENGWHAN extract(110mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg)

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

6. 腦組織內 catalase 活性에 미치는 影響

腦組織에서의 catalase 活性은 正常群에서 207±42.4 (unit/mg protein)이었고, 對照群은 168±11.7(unit/mg protein), 實驗群은 188±5.9(unit/mg protein)으로 對照群에 비하여 上昇하였으나 有意性은 없었다(table XI).

Table XI. Effect of GONGCHENGWHAN 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 ± 42.4a)	
Control	5	168 ± 11.7	
GCW	5	188 ± 5.9	

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)

GCW : GONGCHENGWHAN extract(110mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg)

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

7. 腦組織內 SOD 活性에 미치는 影響

腦組織 內的 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), 實驗群은 16.9±0.65(unit/mg protein)으로 對照群에 비하여 有意性(P<0.01)있는 活性을 보였다 (table XII).

Table XII. Effect of GONGCHENGWHAN 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	
GCW	5	16.9 ± 0.65	< 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)

GCW : GONGCHENGWHAN extract(110mg/kg) was oral injected for 10day before administrated with scopolamine(1mg/kg)

* : Statistically administrated value compared with control data by T test

IV. 總括 및 考察

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 形態의 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을 말한다²⁾. 個體는 時間의 進行에 比例하여 漸進的이고 內的인 退行性 變化를 일으켜, 構造的, 機能的 變化가 招來되어 外部環境에 대해 反應하는 能力이 떨어지게 되고 解剖學的으로는 核의 크기 변화 골지체의 區劃과 같은 細胞 微細構造的 變化, 生化學的으로는 酵素의 活性和 機能的 減少 lipofuscin과 같은 物質의 蓄積, 行動的으로는 記憶力の 減退 및 精神機能的 低下 感覺 運動機能的 低下 등을 들 수 있다. 神經系統에는 動脈內膜의 細胞增殖과 肥厚와 內膜下層과 內彈力膜의 纖維化和 退行性變成 등의 腦血管의 老化, lipofuscin含量的 增加, Alzheimer型 原纖維變化, 老人斑, 顆粒空胞變成, 神經軸索의 萎縮, 細胞內봉입체의 形成 등 沈着物의 形成 등을 나타낸다^{3,5,9-12)}. 生理學的으로 머리카락의 손실 血管壁의 硬化 腎血流量的 減少와 사구체 濾過率의 減少로 인한 BUN creatinine値는 增加하고 glucose에 대한 세뇨관의 最大 吸收 能力도 減少되어 耐糖能力이 低下되고 血清 尿酸濃度는 老化가 加速化되면서

점차 增加하는 傾向을 나타내며, 骨髓 造血面積과 機能의 減少로 赤血球과 白血球數는 減少하며 血小板數는 增加하는 傾向을 보인다^{1,6)}.

西洋醫學에서 老化의 發生原因은 아직 充分히 糾明되지는 못하고 있으나 細胞·細胞下單位 老化說과, 生體의 防禦, 調節機構에 대한 老化의 影響이 本質的인 것이라고 보는 個體單位에서의 老化學說로 크게 나누어 볼 수 있다²⁾. 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 確率的 過程으로 突然變異가 發生하고 이것이 쌓여서 細胞의 機能障礙가 發生한다는 體細胞突然變異說, 老化色素(lipofuscin) 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(free radical theory) 등이 前者에 屬하고, 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 障礙說, 老化는 過去에 받은 스트레스 혹은 疾病의 總合이라는 스트레스說 등은 後者에 屬한다²⁾.

最近에 주목받는 自由遊離基說은, 代謝過程에서 發生하는 superoxide anion(O₂⁻), hydrogen peroxide(H₂O₂) 및 hydroxy radical(OH⁻) 등의 自由遊離基가 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 보는 것으로, 自由遊離基가 蓄積되는 것을 防止하기 위하여 正常細胞는 O₂⁻를 分解하는 SOD, H₂O₂을 分解하는 catalase 같은 酵素들을 가지고 있다^{3,6)}.

韓醫學에서는 <靈樞·衛氣失常篇>¹¹⁾에서 “人年五十以上爲老”, <素問·陰陽應象大論>¹¹⁾에서 “年五十體重 耳目不總明 年六十陰痿氣大衰 九竅不利...”, <天年篇>에서 “五十歲 肝氣始衰 肝葉始薄 目始不明... 六十歲 心氣始衰... 七十歲 脾氣虛... 八十歲 肺氣虛... 九十歲 腎氣焦... 百歲 五臟皆虛 腎氣皆怯...”이라하여 老化의 年齡과 五臟의 老化를 말하였으며, <靈樞·營衛生會篇>¹¹⁾에서 “老子之氣血衰 其肌肉故 氣道澁...”, “天壽過度 氣脈相通 而腎氣有餘也”라고 하여 老化가 氣血盛衰와 聯關있음을 示唆하고 있으나 具體的인 說明은 不足한 편이다.

韓醫學에서는 근래 老化에 대한 關心이 높아지면서 抗酸化에 관한 研究가 多樣하게 進行되고 있다.

백 등⁶²⁾은 녹차로부터 분리된 epicatechin 3-O-gallate의 抗酸化作用 기전에 관하여, 李 등⁶³⁾은 浮萍草의 化學成分 및 抗酸化效果에 관한 研究를 하였다. 安 등¹²⁾은 當歸藥針, 金 등¹³⁾은 榭桃藥針, 李¹⁴⁾는 白何首烏藥針, 李¹⁵⁾는 巴戟藥針, 禹¹⁶⁾는 益智仁藥針, 朴¹⁷⁾은 淫羊藿藥針, 成¹⁸⁾은 杜仲藥藥針을 이용하여 抗酸化作用에 관한 實驗的 研究를 하였고, 蘇²²⁾는 鹿蔘地黃湯을, 禹 등⁶⁴⁾은 血府逐瘀湯의 抗酸化 作用에 관한 報告를 하였으며, 左歸飲과 右歸飲을 이용하여 尹²⁰⁾ 朴²¹⁾ 등의 肝, 腦의 過酸化脂質 生成과 抗酸化酵素系의 活性에 미치는 影響 등을 보고하였으며, 徐¹⁹⁾는 聰明湯이 腦細胞의 生化學的 變化와 神經細胞의 損傷에 미치는 影響을, 金²⁶⁾은 洗心湯, 金²³⁾은 蔘茸地黃湯, 鄭²⁷⁾은 溫膽湯, 徐²⁴⁾는 環少丹으로 腦組織의 酸化作用에 미치는 影響을 연구하였으며, 孫²⁵⁾은 七福飲이 腦組織의 生化學的 變化에 미치는 影響을, 宋⁶⁵⁾은 老人痴呆의 治療에 관한 韓醫學的 研究를 한 바 있다.

拱辰丹은 元代의 <世醫得效方>²⁸⁾에 처음 기록한 處方이며 肝虛하여 面目乾黑 目視不清하고 빈번히 눈물을 흘릴 때 가장 적합하다고 하였고 許 등^{29,30)}은 稟賦虛弱者의 先天의 氣를 補하고 水昇火降을 순조롭게 하는 補益強壯劑로 臨床에서 活用하였다.

牛黃淸心元은 宋代의 <太平惠民和劑局方>³¹⁾에 “治諸風癱瘓不隨 言語蹇澁 心忪健忘 恍惚去來 頭目眩冒 胸中煩鬱 痰涎壅塞 精神昏憤... 喜怒無時 或發狂癲 神情昏亂”이라고 最初로 記載된 處方으로, 歷代 醫家들^{29,32-34)}은 腦卒中으로 인한 人事不省 痰涎壅城 精神 蹇澁 手足不隨 등의 症에 使用하였고 現在^{35-45,66,67)}는 高血壓 動脈硬化症 心臟性 喘息 自律神經失調症 精神不安症 急慢性 驚風 히스테리 不眠 등에 應用되고 있다.

拱淸丸은 拱辰丹^{28,30)}과 牛黃淸心元^{30,31)}을 合方하여 命名한 것으로, 構成하는 藥物의 效能^{68,69)}을 살펴보면 溫腎補陽 있는 鹿茸, 補氣作用의 人蔘 山藥 白朮 白茯苓, 補血補陰하는 當歸 川芎 白芍藥 阿膠 麥門冬 山茱萸, 清熱涼血解毒作用의 犀角 牛黃 黃金, 安神作用의 硃砂 金箔, 芳香開竅醒腦作用의 麝香 龍腦, 辛溫解表하는 防風과 辛涼

解表하는 大豆黃卷과 柴胡, 平肝息風하는 羚羊角, 溫熱作用的 乾薑 肉桂 高良薑, 解毒殺蟲하는 石雄黃, 理氣消滯하는 桔梗 神曲 白朮, 理血止血하는 蒲黃, 潤下作用的 杏仁, 調榮衛, 解藥毒하는 大棗, 蜂蜜, 甘草 等이다. 淸熱涼血解毒하면서 芳香開竅 安神作用이 있는 藥物들과 補益藥 등으로 이루어진 拱淸丸은 稟賦虛弱한 人에서 發生하는 老化現象이나 卒中風, 人事不省, 痰涎壅盛, 精神昏愊 症의 豫防 및 治療에 活用可能한 處方이라 생각된다.

拱辰丹에 대한 實驗的 研究로 張⁴⁶⁾의 强精補氣作用에 미치는 影響, 金⁴⁷⁾의 免疫反應 抗疲勞 및 內分泌에 미치는 影響에 관한 연구가 있으며, 牛黃淸心丸에 대한 實驗的 研究로, 高⁴⁸⁾의 平滑筋에 미치는 影響, 南⁴⁹⁾의 蘇合香元의 效能과의 比較 研究, 李 등⁵⁰⁾의 劑形別 臨床에 關한 研究, 洪⁵¹⁾의 腦損傷에 미치는 影響 等에 관한 研究가 있으나, 拱淸丸의 效果에 대한 實驗的 研究는 아직 接하지 못하였다.

이에 著者는 拱淸丸의 效能을 實驗的으로 立證하고자 450±16g의 老化 白鼠를 正常群, 對照群, 實驗群(拱淸丸 投與 :110mg/kg)으로 나누고, 對照群은 蒸溜水를, 實驗群은 檢液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, PLT)와 血清(BUN, creatinine, glucose, uric acid)을, 血清中 赤血球膜의 活性酸素에 대한 耐性, cholinesterase 活性度, 脂質過酸化度(TBA)를 測定하고, 腦組織에서의 catalase 活性度, SOD 活性度を 測定하였다.

scopolamine은 cholinesterase의 役割을 妨害하는 muscarinic receptor antagonist로, 生體에 投與되면 中樞神經을 抑制 痲痺시키고 部分腦血流 消化器의 作用 記憶力과 學習能力 視覺的 選擇能力을 減少시키며 졸림 疲勞感 등을 일으키는 물질인데⁷⁰⁻⁷⁴⁾, scopolamine을 靜脈注射한 後 白血球數에 미치는 影響을 살펴 본 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 13.7±0.18(10³/mm³)으로 減少하였으나 對照群에 比하여 有意性(P<0.001)이 있었다(Table I).

赤血球數에 미치는 影響을 살펴 본 結果 正常群의 赤血球數는 8.43±0.07(10⁶/mm³)이었고, 對照群은 8.17±

0.17(10⁶/mm³)로 減少한 반면, 實驗群은 8.73±0.27(10⁶/mm³)로 增加하였으나 有意性은 없었다.(Table II).

血小板數에 미치는 影響을 살펴 본 結果 正常群의 血小板數는 774±12.1(10⁶/mm³)이었고, 對照群은 805±22.8(10⁶/mm³), 實驗群은 835±19.5(10⁶/mm³)으로 增加하였으나 有意性은 없었다(Table III).

血清 BUN에 미치는 影響을 살펴 본 結果 正常群은 20.1±1.12(mg/dl)이었고, 對照群은 28.1±2.37(mg/dl)으로 上昇하였으나 實驗群은 20.3±2.32(mg/dl)으로 對照群에 比하여 有意性(P<0.05)있는 減少를 보였다(table IV).

血清에서의 creatinine은 正常群에서 0.62±0.010(mg/dl)이었고, 對照群은 0.73±0.017(mg/dl)으로 上昇하였고 實驗群은 0.61±0.014(mg/dl)으로 減少하여 有意性(P<0.001)을 보였다(table V).

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)으로 上昇하였으나 實驗群은 85.4±4.51(mg/dl)으로 對照群에 比하여 有意性(P<0.01)있는 減少를 보였다(table VI).

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 2.66±0.059(mg/dl)으로 減少하여 有意性(P<0.001)이 있었다(table VII).

拱淸丸의 血清成分에 미치는 影響에서 對照群의 BUN, creatinine, glucose, uric acid는 모두 上昇하였으나 實驗群에서는 有意性있게 減少하였다. 이러한 結果는 拱淸丸이 生體의 血清成分을 正常範圍로 維持시켜 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±16.4(%)이었고, 對照群은 448±8.2(%) , 實驗群은 411±5.0(%)로 增加하였으나 對照群에 比하여 有意性(P<0.01)이 있었다(Table VIII).

血清에서의 cholinesterase 活性度는 正常群은 17.5±0.77(unit/ml)이었고, 對照群은 2.0±0.91(unit/ml)으로 현저하게 減少하였고, 實驗群은 15.5±1.21(unit/ml)로 약간 減少하여 對照群에 比하여 有意性(P<0.001)이 있었다(table IX).

cholinesterase는 nerve synapse와 neuromuscular jun-

ction에서 acetylcholin을 포함한 cholin ester를 加水分解하여 神經 衝擊 傳達를 調節해 주는 物質로 老化와 함께 減少되는 傾向이 있다^{70,73,81)}. scopolamine⁷⁰⁻⁸²⁾은 生體에 投與되면 cholinesterase와 拮抗하여 正常的인 神經傳達物質을 遮斷하는 效果가 발생한다. 이 실험에서 현저한 減少를 보인 對照群에 비교하여 實驗群은 有意性있는 變化를 보여줌으로 拱清丸은 cholinesterase의 活性을 增加시키는 效果가 있는 것으로 보인다.

血清에서의 malondialdehyde 含量은 正常群에서 $0.289 \pm 0.037(\mu\text{g/ml})$ 이었고, 對照群은 $0.341 \pm 0.012(\mu\text{g/ml})$ 으로 上昇하였으나, 實驗群은 $0.299 \pm 0.007(\mu\text{g/ml})$ 으로 減少하여 有意性($P < 0.01$)이 있었다(table X). 이는 赤血球膜의 活性酸素의 變化에 미치는 影響에 관한 實驗과 함께 拱清丸 投與群에서 活性酸素의 發生과 老化物質의 蓄積을 減少시키는 效果가 있음을 보여준다.

腦組織의 H_2O_2 을 分解하는 catalase 活性은 正常群에서 $207 \pm 42.4(\text{unit/mg protein})$ 이었고, 對照群은 $168 \pm 11.7(\text{unit/mg protein})$, 實驗群은 $188 \pm 5.9(\text{unit/mg protein})$ 으로 對照群에 비하여 上昇하였으나 有意性은 없었다(table XI).

腦組織내의 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 $13.4 \pm 1.01(\text{unit/mg protein})$ 으로 減少하였으며, 實驗群은 $16.9 \pm 0.65(\text{unit/mg protein})$ 으로 對照群에 비하여 有意性($P < 0.01$)이 있었다(table XII).

以上的 實驗을 總括 考察한 結果, 拱清丸 投與群은 血清成分에서 白血球를 除外하면 有意性 있는 變化를 보이지 않았으나 血清成分은 正常範圍를 維持시켜주는 效果가 있었고 赤血球膜과 血清에서 活性酸素의 發生을 抑制하고 老化物質의 蓄積을 막아주며 cholinesterase의 活性을 增加시키는 效果를 보여주었다. 腦組織에서의 catalase, SOD와 같은 抗酸化酵素는 正常群과 유사한 回復增加를 보였으나 catalase에서만 有意성이 認定 되었다. 그러므로 拱清丸은 血清成分의 cholinesterase의 活性을 增加시키고 活性酸素의 生成과 老化物質의 蓄積을 막아 抗老化의 效果가 있는 것으로 判斷되며, 추후 이에 대한 深度있는 研究가 뒤따라야 할 것으로 思料된다.

V. 結 論

拱清丸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 후 血球細胞(WBC, RBC, platelet)와 血清成分(BUN, creatinine, glucose, uric acid)을, 血清中 赤血球膜의 活性酸素에 대한 耐性, cholinesterase 活性度, 脂質過酸化度(TBA)를 測定하고, 腦組織에서의 catalase 活性度, SOD 活性度を 測定하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 血液學的 變化를 測定한 結果 白血球數에서 拱清丸 投與群은 對照群에 비하여 有意性 있는 增加를 보였고 赤血球數와 血小板數는 有意성이 없었다.
2. 血清成分 變化를 測定한 結果 拱清丸 投與群은 對照群에 비하여 BUN, creatinine, glucose, uric acid 數에서 有意性 있는 減少를 보였다.
3. 赤血球膜의 活性酸素는 拱清丸 投與群이 對照群에 비하여 有意性 있는 抑制을 나타내었다.
4. 血清에서의 cholinesterase 活性度는 拱清丸 投與群이 對照群에 비하여 현저한 活性을 보였다.
5. 血清에서의 malondialdehyde 含量은 拱清丸 投與群이 對照群에 비하여 有意性 있는 減少를 나타내었다.
6. 腦組織內 catalase의 活性度を 測定한 結果 拱清丸 投與群은 對照群에 비하여 有意성이 認定되지 않았다.
7. 腦組織內 SOD 活性度を 測定한 結果 拱清丸 投與群은 對照群에 비하여 有意性있는 活性을 보였다.

以上的 實驗의 결과로 보아, 拱清丸은 血清成分의 cholinesterase의 活性을 增加시키고 活性酸素의 生成과 老化物質의 蓄積을 막아 抗老化의 效果가 있는 것으로 判斷되며 앞으로 더욱 자세하고 광범위한 研究가 進行되어야 할 것으로 思料된다.

參 考 文 獻

1. 大韓皮膚科學會刊行委員會 : 皮膚科學, 서울, 麗文閣, p.23, 1994.
2. 徐舜圭 : 成人病·老人病學, 서울, 고려의학, pp.10-14, 1992.
3. 리정복 : 장수학, 서울, 醫聖堂, pp.11-99, 492-576, 1987.
4. 郭隆璨 : 圖解腦神經外科學, 서울, 제일의학, pp.30-31, 1992.
5. 이귀녕·이중순 : 임상병리과일, 서울, 醫學文化社, pp.12-14, 138-139, 241-242, 756-757, 1990.
6. 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.
7. 김주섭 : 노화촉진 생쥐의 각종장기에서 산화성 변성과 산소라디칼 제거효소계의 활성화에 관한 연구, 서울대학교 대학원 의학박사학위논문, 1991.
8. 양재수 : 노화촉진 생쥐에서 산소라디칼 관련물질의 검색에 관한 연구, 서울대학교 대학원 의학박사학위논문, 1986.
9. 최중환 : Paraquat에 의한 산소라디칼 생성 및 지질과 산화 작용의 mouse 간 submitochondrial particle과 microsome에서의 비교, 서울대학교 박사학위논문, 1986.
10. 이효은 외 : 浮萍草의 化學成分 및 抗酸化效果에 관한 연구, 釜山大學校藥學研究誌, 29(2):29-39, 1995.
11. 洪元植 : 精校黃帝內經素問靈樞, 서울, 東洋醫學研究所, pp.119-123, 174-176, 241-244, 1985.
12. 安竣撤 外 : 當歸 藥針液의 抗酸化 效能에 관한 研究, 대한한의학회지 13(2):254-262, 1996.
13. 金永海·金甲成 : 胡桃藥針液의 抗酸化 效果에 대한 研究, 大韓韓醫學會誌, 17(1):9-20, 1996.
14. 李鍾賢 : 白何首烏 藥針의 抗酸化作用에 관한 實驗的 研究, 大田大學校, 博士學位論文, 1997.
15. 李鍾武 : 巴戟藥針의 抗酸化作用에 관한 實驗的 研究, 大田大學校 大學院, 1998.
16. 禹相旭 : 益智仁藥針의 抗酸化作用에 관한 實驗的 研究, 大田大學校 大學院, 1998.
17. 朴겨울 : 淫羊藿藥針의 抗酸化作用에 관한 實驗的 研究, 大田大學校 大學院, 1998.
18. 成日煥 : 抗酸化作用에 대한 杜沖葉藥針의 實驗的 研究, 大田, 大田大學校 大學院, 1997.
19. 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.
20. 尹哲浩·鄭智天 : 左歸飲과 右歸飲이 老化 Rat의 肝 過酸化 脂質生成 및 活性酸素 生成系 酵素 活性에 미치는 影響, 서울, 大韓韓方內科學會誌, 16(1):62-67, 1995.
21. 尹哲浩·鄭智天·朴直東 : 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):349-364, 1995.
22. 蘇敬順 외 : 鹿蔘地黃湯이 抗老化에 미치는 影響, 서울, 慶熙韓醫大論文集, 18(2):127-148, 1995.
23. 金保罔 : 蔘茸地黃湯이 腦組織의 酸化作用에 미치는 影響, 大田大學校 大學院, 1998.
24. 徐元熙 : 還少丹이 腦組織의 酸化作用에 미치는 影響, 大田大學校 大學院, 1998.
25. 손정석 : 七福飲이 老化 白鼠 腦組織의 生化學的 變化에 미치는 影響, 東醫神經精神科學會誌, 8(2):25-38, 1997.
26. 金聖鉉 : 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.
27. 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.
28. 驪江出版社編 : 中國醫學大系, 서울, 驪江出版社, 14권, p.746, 1987.
29. 許浚 : 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, p.362, 448, 449, 1989.
30. 申載鏞 : 方藥合編解說, 서울, 成輔社, p.43, 44, 100, 101, 1998.
31. 陳師文 : 太平惠民和劑局方, 臺北, 旋風出版社, p.25, 26, 1975.

32. 李挺 : 懸吐醫學入門, 서울, 翰成社, p.525, 526, 1983.
33. 李中梓 : 醫宗必讀, 台南, 綜合出版社, p.214, 215, 1976.
34. 方賢 : 奇效良方, 香港, 商務印書館, p.6, 7, 1977.
35. 上海中醫學院編 : 方劑學, 香港, 商務印書館, p.130, 1983.
36. 尹吉榮 : 東醫臨床方劑學, 서울, 名寶出版社, p.367, 368, 412, 1986.
37. 金定濟·金賢濟 : 東醫臨床要覽, 서울, 書苑堂, p.353, 1977.
38. 謝觀 : 中國醫學大辭典, 臺灣, 商務印書館, p.632, 634, 1976.
39. 黃度淵 : 對譯證脈方藥合編, 서울, 南山堂, pp.127-130, 1989.
40. 吳得泳 : 惠庵醫方, 서울, 醫藥社, p.144, 1978.
41. 金賢濟 : 東醫臨床要覽, 서울, 書苑堂, p.353, 1977.
42. 丁民聲 : 方藥原理(上)<東醫學叢書3>, 서울, 京城文化史, p.181, 456, 1982.
43. 蔡仁植 : 韓方臨床學(辨證施治), 서울, 大星文化史, pp.157-161, 1987.
44. 李載熙 : 圖說韓方診療要方, 서울, 醫學研究所, p.544, 545, 1991.
45. 金在佶 : 臨床韓方藥物療法, 서울, 南山堂, pp.460-462, 1987.
46. 張鎔勳 : 拱辰丹이 强精補氣作用에 미치는 實驗的 研究, 大邱韓醫科大學 大學院, 1989.
47. 金璋顯 : 拱辰丹이 免疫反應, 抗疲勞 및 內分泌 機能에 미치는 影響, 慶熙大學校 大學院, 1990.
48. 高庸錫 : 牛黃清心元이 平滑筋에 미치는 影響, 慶熙大學校 大學院, 1982.
49. 南相景 : 牛黃清心元과 蘇合香元의 效能에 관한 研究, 慶熙大學校 大學院, 1990.
50. 李源哲 外 : 牛黃清心元의 劑型別 臨床에 관한 研究, 大韓韓醫學會誌 11(2):102-105, 1990.
51. 洪頌 : 牛黃清心元이 白鼠의 腦損傷에 미치는 影響, 大田大學校 大學院, 1993.
52. Niki, E., Komuro, E., Takahashi, M., Urano, S., Ito, E. and Terao, K., : Oxidative hemolysis of erythrocytes and its inhibition by free radical scavengers. J. Biol. Chem. 263:19809-19814, 1988.
53. Suematsu, T., Kamada, T., Abe, H., Kikuchi, S. and Yagi, K. : Serum lipoperoxide levels in patients suffering from liver disease. Clin. Chem. Acta. 79:267-770, 1977.
54. 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.
55. 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.
56. McCord, J.R., Colby, M.D. and Fridovich, I. : Superoxide dismutase, Enzymatic function for erythrocyte protein (hemocuprein). J. Biol. Chem., 231: 6049-6055, 1972.
57. Aebi, H. : Catalase erythrocytaire in ; Exposes Annuels de Biochimie Medicale, 29ieme serie. Masson & Cie(eds), Paris, pp.139-164, 1969.
58. Daniel, W.W. : Biostatistics ; A foundation for analysis in the health science, third edition. pp.136-146, 1983.
59. 김숙희·김화영 : 노화, 서울, 민음사, pp.77-85, 1991.
60. Benedetti, A., Comporti, M. and Esterbauer, M. : Biochim. Biophys. Acta., 620:281, 1980.
61. 朴一洪 : 黃帝內經素問, 서울, 宋山出版社, pp.6-11, p.81, 1982.
62. 백봉숙 외 : 녹차로부터 분리된 Epicatechin 3-O-Gallate의 항산화 작용 기전에 관한 연구, 부산대학교 약학연구지, 29(2):49-56, 1995.
63. 이효은 외 : 부평초의 화학성분 및 항산화효과에 관한 연구, 부산대학교 약학연구지, 29(2):29-39, 1995.
64. 禹大潤 外 : 人工膜과 Rat의 肝細胞를 利用한 血府逐瘀湯의 抗酸化 作用에 관한 研究, 서울, 大韓韓醫學會誌 17(1): 465-477, 1996.

65. 宋美令 : 老人痴呆의 治療에 關한 韓醫學的 研究, 大田, 大田大學校 韓醫學研究所 論文集 6(1): 37-76, 1997.
66. 金相孝 : 東醫神經精神科學, 서울, 杏林出版社, p.48, 370, pp.380-381, 1984.
67. 廉泰煥 : 東醫處方大典, 서울, 杏林書院, p.332, 396, 1975.
68. 李尙仁 外 : 漢藥의 臨床應用, 서울, 傳統醫學研究所, p.108, 151, 155, 308, 319, 331, 354, 385, 1993.
69. 辛民教 : 臨床本草學, 서울, 永林文化社, pp.166-167, 171-172, 183-185, p.219, 243, 250, 252, 254, 1989.
70. 홍사석 : 이우주의 약리학강의, 서울, 선일문화사, p.83, 154, 237, 257, 640, 1987.
71. 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.
72. 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.
73. Meltzer, H. Y., B. L. Chai, P. A. Thompson, and B. K. Yamamoto. Effect of scopolamine on the efflux of dopamine and its metabolites after clozapine, haloperidol or thioridazine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 268: 1452-1461, 1994.
74. Lines, C. R., J. H. Ambrose, A. Heald, and M. Traub. A double-blind, placebo-controlled study of the effects of eptasigmine on scopolamine-induced cognitive deficits in healthy male subjects. *Hum. Psychopharmacol. Clin. Exp.* 8: 271-278, 1993.
75. Lukaszewska, I. Scopolamine impairs object exploration but not habituation in rats. *Acta Neurobiol. Exp.* 53: 243-250, 1993.
76. Velazquez-Moctezuma, J., A. Aguilar-Garcia, and O. Diaz-Ruiz. Behavioral effects of neonatal treatment with clomipramine, scopolamine, and idazoxan in male rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 46: 215-217, 1993.
78. Ons, S., K. Kitamura, M. Maekawa, K. Hirata, M. Ano, W. Ukai, T. Yamafuji, and H. Narita. Protective effects of R(-)-1-(benzo[b]thiophen-5-yl)-2-[2-(N, N-diethylamino)ethoxy]-ethanol hydrochloride (T-588), a novel cerebral activator, against experimental cerebral anoxia. *Jap. Pharmacol.* 62: 81-86, 1993.
79. Chakraborti, T. K., J. D. Farrar, and C. N. Pope. Comparative neurochemical and neurobehavioral effects of repeated chlorpyrifos exposures in young and adult rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 46: 219-224, 1993.
80. Dawson, G. R., S. D. Inversen. The effects of novel cholinesterase inhibitors and selective muscarinic receptor agonists in tests of reference and working memory. *Behav. Brain Res.* 57: 143-153, 1993.
81. Dennes, R. P., J. C. Barnes. Attenuation of scopolamine-induced spatial memory deficits in the rat by cholinomimetic and non-cholinomimetic drugs using a novel task in the 12-arm radial maze. *Psychopharmacology.* 111: 435-441, 1993.
82. Sok, D. E., S. H. Cha, T. S. Ko, and Y. Cho. Effects of Nonionic Surfactants on Solubilization and Stability of Mouse Brain Acetylcholinesterase. *Korean Biochem. J.* 27: 308-312, 1994.

=ABSTRACT=

The Effects of GONGCHENGWHAN on the Blood Cell, Serum and Antioxidant Effects on Serum, Brain Tissue of Mouse

Jong Gul Chae, O.M.D.
Sang Ryong Lee, O.M.D.

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

This study was to investigate the effects of GONGCHENGWHAN(GCW) on the blood and brain tissues of aged rats. For the experiment, the aged rats were divided into three groups : Non treated group (NC), distilled water feeding group(PC), GCW feeding group(GCW).

Each group was treated as the procedure for ten days before administration of scopolamine. After this treating, we injected scopolamine to PC and GCW group for 5 days. We made observations of the changes on their blood cell(WBC, RBC, platelet), blood serum (BUN, creatinine, glucose, uric acid), erythrocyte hemolysis, and the activities of cholinesterase as well as measured the amounts of malondialdehyde in the blood serum, catalase, and SOD in the brain tissue.

The main results of this investigation are as follows.

1. In respect of the number of WBC, GCW group exhibited the administrated increase in comparison with PC. In respect of the number of RBC and

platelet, however, the changes was not administrated.

2. In respect of the number of BUN, creatinine, glucose and uric acid in the blood serum, GCW group exhibited the administrated decrease in comparison with PC.
3. In respect of erythrocyte hemolysis, GCW group exhibited the administrated repression in comparison with PC.
4. In respect of the activity of cholinesterase in the blood serum, GCW group exhibited the administrated improvement in comparison with PC.
5. In respect of the amounts of malondialdehyde in the blood serum, GCW group exhibited the administrated decrease in comparison with PC.
6. In respect of the activity of catalase in brain tissue, GCW group didn't exhibit the administrated change in comparison with PC.
7. In respect of the activity of SOD in brain tissue, GCW group exhibited the administrated improvement in comparison with PC.

Results of this study indicates that GCW improves the activities of cholinesterase and SOD, but represses the formation of the free radical and the accumulation of the antioxidant materials such as MDA. It implies that GCW has some effects on antiaging.