

원저

交藤圓이 白鼠의 酸化誘發을 防禦하는 作用에 關한 研究

이송실, 이상재, 김광호

경희대학교 한의과대학 예방의학교실, 경희대 한의학연구소

Effect of *JiaoTeng-Yuan* (交藤圓) on Oxidation Stress Caused by D-galactose in Sprague-Dawley Rats

Song-Shil Lee, Sang-Jae Lee, Kwang-Ho Kim

Dept. of Preventive Oriental Medicine, College of Oriental Medicine, KyungHee University.
Institute of Korean Oriental Medicine, KyungHee University.

Objectives : *JiaoTeng-Yuan*(交藤圓) is said to be a prescription for preservation of health in 「HuaTuo • ZhongZangJing (華陀 • 中藏經)」. It is known to have the effect of Bu-Shen (補腎: strengthening kidney) and Yi-Shou (益壽: prolonging the span of one's life). This study investigates whether *JTY* is effective on inhibition of oxidation stress.

Methods : Sprague-Dawley rats (12-week-old, weight $300 \pm 20g$) were divided into 3 groups. The normal group (n=8) was injected with PBS (1ml/body, s.c) subcutaneously behind the neck. The control group (n=8) was injected with D-galactose (50mg/kg, 1ml PBS/body, s.c) to induce pathological animals. The *JTY* group was injected with the same treatment as the control group, and fed containing *JTY* (10%). All groups were treated 1 time per day for 6 weeks. After the rats were sacrificed anti-oxidant enzyme (SOD, CAT, G-px) activity, GSH quantity of RBC and tissue (heart, liver and kidney), and plasma Vit-C quantity were examined. Also, the MDA levels of liver and kidney, lipofuscin of heart and endurance of erythrocyte membrane were measured.

Results : In the *JTY* group, RBC's SOD activity decline was halted by 21% of the normal level, compared to the control group, G-px activity (unit/g of Hb) increased significantly, compared to the normal group, and the level of Vit-C in plasma increased by 16%. Heart's SOD activity was kept at the same level as that of the normal group; and CAT activity decline was halted by 26%. Kidney's CAT and G-px activities were kept at the same level as that shown in the normal group, implying the existence of a halting effect. Liver also showed a slight halting effect against the decline of anti-oxidant ability, but the effect was not significant ($\alpha=0.05$).

A comparison between the levels of peroxide in SD rats showed that the level of TBARS in plasma increased significantly in the control group and that it was normal in the *JTY* group. The livers in the *JTY* group, compared to those in the control group, showed 36% halting effect of the normal level while their kidney's indicated the level significantly lower than the normal level. Heart's lipofuscin increased significantly in the control group, but was alike in both the *JTY* and the normal groups. Endurance of erythrocyte membrane (%) decreased significantly in the control group while it was kept at the similar level in both the *JTY* and the normal groups, indicating the halting effect.

Conclusions : This study suggests that *JTY* is effective to defend oxidation stress caused by D-galactose in the animals. It showed that the anti-oxidant ability was maintained and strengthened. On the other hand, it reduced the level of peroxide in animals. In sum, *JTY* appeared to have the equilibrium normal physiological function in SD rat.

Key Words: anti-oxidant ability, *JiaoTeng-Yuan* (交藤圓), D-galactose, oxidation stress.

· 접수 : 2004년 5월 10일 · 논문심사 : 2004년 5월 13일

· 채택 : 2004년 5월 21일

· 교신저자 : 김광호, 서울시 동대문구 회기동1 경희대학교 한의
과대학 예방의학교실
(Tel: 02-961-0329, Fax: 02-959-5189, E-mail:
kkho@khu.ac.kr)

서론

생체의 산화반응은 산소를 필요로 하는 생물이 생명활동을 영위하는 과정에서 세포수준의 물질대사 및 에너지대사와 같은 유기대사를 진행하는데 있어서 필수불가결한 현상이라고 할 수 있으며, 진화과정 중에서 생체는 가장 효율적인 항산화계를 발달시켜 산화반응의 손상을 최소화 하는 방어체계를 구축해 왔다¹⁾.

산화반응에서 생성되는 극히 微量의 free radical이라도 그 활발한 성질로 인하여 체내에서 축적되면 노화 및 각종 질병을 초래하는 것으로 알려져 항산화 연구에 그 중요성이 크게 부각되고 있다^{2,3)}. Free radical 중에서도 활성산소를 중심으로 하는 O²⁻, H²O², OH⁻ 등이 세포 및 조직내에서 독성반응을 일으켜 문 제시되고 있는데, 대표적인 활성산소 소거 물질로는 SOD(Superoxide dismutase), G-px(Glutathione peroxidase), CAT(Catalase) 등의 효소계와 세포의 탈독 성에 깊이 관여하는 GSH(Glutathione)이 주로 거론되고 있다⁴⁾.

동양의학에서는 生·老·病·死 과정을 全一의인 시각에서 파악하여 精·氣·血의 盛衰와 臟腑의 虛實로 노화현상을 究明하려는 사상이 근간을 이루고 있으며 특히 養生學의 측면에서 腎(腎元 혹은 腎精)이 노화와 가장 밀접한 관련이 있음을 강조하여 補腎劑를 중심으로 考案된 각종 不老長生의 약물 및 처방이 주류를 이루고 있다⁵⁻⁷⁾.

交藤圓은 華陀의 《中藏經》⁸⁾에 기록된 養生方으로서, 補腎益壽의 효능¹⁰⁾이 있는 赤何首烏(*Polygonum multiflorum* Thunb.)를 君藥으로 하고, 茯苓(*Poria cocos* (SCHW.) Wolf.)과 牛膝(*Achvranthes bidentatae* Radix.)을 配伍하였다. 최근에 임²³⁾은 적하수오 약침에 관한 항산화 작용을 보고하였고, 국외에서 苗 등³⁴⁾과 Chan 등³⁸⁾은 mouse에서 적하수오의 항산화 효과를 밝혔다. 茯苓과 牛膝에 관하여 주 등²⁹⁾은 복령 추출물이 신장기능 개선에 효과가 있음을 보고한 바 있고, 談 등³²⁾과 馬 등³³⁾은 우슬의 多糖 성분이 항산화 작용이 있어 노화방지에 기여하는 것으로

보고한 바 있다. 이와 같이 交藤圓의 각 구성약물에 대한 항산화 및 腎과 관련된 연구는 다양하게 진행되었지만 交藤圓이 항산화능에 미치는 영향을 보고한 연구는 찾아볼 수 없었다.

저자는 養生方 중 交藤圓이 건강증진적 측면에서 생체의 유기적 조절을 통하여 항산화능의 향상에 기여할 것으로 기대하고, 백서에 D-galactose로 산화반응을 촉진시킴과 동시에 交藤圓을 투여하여 백서의 혈액 및 장기조직 항산화능(SOD, CAT, G-px, GSH)과 지질과산화 정도를 나타내는 MDA(malondialdehyde), 적혈구막의 내성, 심근의 LF(lipofuscin) 수준 등에 미치는 영향을 탐색한 결과 유의한 결론을 얻어 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 檢體의 조제 및 투여

交藤圓(*JiaoTeng-Yuan, JTY*)의 구성인 하수오, 복령, 우슬은 시중에서 유통판매되는 약재를 구입하여 사용하였다. 그 중 하수오는 陳 등³⁶⁾의 방법을 참고하여 黑豆汁蒸 수처리과정을 거쳐 분말로 가공하고, 복령과 우슬도 각각 분말로 만든 다음 16:5:2의 비율로 일반사료(퓨리나[주])에 첨가하여 交藤圓이 10% 함유되도록 혼합한 후 다시 고형사료로 건조시켜 白鼠에게 자유롭게 공급하였고, 희생시키기 전까지 매주 2회 체중과 사료섭취량을 일정시간에 측정하였다.

Table 1. Prescription of *JiaoTeng-Yuan*

한약명	생약명	용량(g)
赤何首烏(黑豆汁蒸)	<i>Polygonum multiflorum</i> Thunb.	32
白茯苓	<i>Poria cocos</i> (SCHW.) Wolf.	10
牛膝	<i>Achvranthes bidentatae</i> Radix.	4
합계:		46g

2. 動物

실험에 사용된 동물(샘타코 바이오 코리아[주])은 SD계 雄性 白鼠(체중 300±20g)를 공급 받아 동물실 환경(24±2℃, 습도40~60%, 晝夜 12시간 교대로

150~300Lux 照射)에서 淨化 멸균된 증류수와 고풍 사료(퓨리나[주], 한국)를 충분히 공급하고, 2주간 적응시킨 12주령의 백서를 실험에 사용하였다.

3. 白鼠에 酸化誘發

張 등⁷⁾이 제시한 방법을 근거로 백서의 頸背部 皮下에 D-galactose(Sigma, U.S.A)를 50mg/kg · d 기준으로 1ml씩 1일1회 연속 6주간 주사하여 산화반응을 촉진시켰다.

4. 효소원의 준비

백서의 심장에서 채취한 혈액은 ice bath에 20분간 방치한 후 polystyrene 원심분리관에 담고 3,000rpm으로 4℃에서 30분간 원심분리하고, 혈장은 지질과산화수준 측정전까지 -75℃의 deep freezer에 보관하여 사용하였다. 침전층은 3,000rpm으로 4℃에서 10분씩 원심분리하였고, 3회 반복 세척한 후 50%의 RBC 현탁액을 만들고, 효소원을 제조하기 전까지 -75℃의 deep freezer에 보관하였다.

적출된 臟器는 주위의 조직들을 조심스럽게 깨끗이 제거하고, 혈액을 반복하여 세척한 다음 여지모물기를 충분히 제거한 뒤 total 무게를 측정하였고, 지질과산화물 및 효소 측정전까지 -75℃의 deep freezer에 보관하고, 모든 측정과정은 15일내에 진행하였다.

5. 赤血球 및 臟器組織의 抗酸化能

(1) SOD 活性

Flohe L. & Otting F.의 방법(Methods Enzymol 1984;105:93)에 준한 변형된 측정법으로 진행하였다. 적혈구 현탁액 0.10ml를 취하여 10mM Tris-1mM EDTA(Sigma, U.S.A) buffer 10배 용혈시킨 다음 chloroform과 ethanol(v:v=5:3) 혼합액 0.40ml를 첨가하고 hemoglobin을 침전시켰다. 이 용액에 0.14ml의 증류수를 가하고 15,000g×4℃로 30분 동안 초고속 원심분리하여 얻은 상층액을 적혈구의 SOD 활성측정을 위한 효소원으로 사용하였다. 조직은 0.5g에 50mM phosphate-0.5mM EDTA buffer(pH7.4) 5ml를 첨가하고 ice bath에 넣어 9,500rpm에서 1분간 균질화시

킨 다음 10%의 조직 균질액을 10,000g×4℃로 20분 동안 원심분리하여 상층액을 얻었다. 상층액 1ml를 취하여 chloroform과 ethanol(v:v=5:3) 혼합액 0.40ml를 첨가하고 15,000g×4℃로 30분 동안 초고속 원심분리하여 얻은 상층액을 조직의 SOD 활성측정을 위한 효소원으로 사용하였다.

50mM phosphate-0.1mM EDTA buffer(pH7.8) 90ml에 10ml의 xanthine solution(Sigma, U.S.A)을 혼합하고, 2μM cytochrom c(Sigma, U.S.A)가 함유되도록 용액을 만든다. 효소측정 직전에 xanthine oxidase 용액 B(Sigma, U.S.A)를 제조하고 실온(25℃)에서 용액A 0.90ml에 효소원 0.05ml를 넣고 1분간 안정시킨 다음 용액B 0.05ml를 첨가하여 550nm에서 흡광도 변화를 3분 동안 UV/Vis spectrophotometer(BECKMAN)로 측정하였다. SOD 활성은 1분 동안 cytochrome c의 환원속도를 50% 방해하는 SOD 함량을 1unit로 정하였다.

(2) CAT의 活性

적혈구는 Johansson LH. & Borg LA. 방법(Anal Biochem 1988;174(1):331)을 참고하여 50% RBC 현탁액을 10mM Tris-1mM EDTA buffer(pH7.4) 10배로 용혈시킨 다음 3,000rpm에서 10분 동안 원심분리하여 상층액을 효소액으로 사용하였다. 250mM KH₂PO₄-NaOH(pH 7.0) 0.3ml, 100%의 methanol 0.3ml, 0.27%의 H₂O₂(Junsei chemical, Japan) 0.06ml를 효소원 0.6ml와 혼합하여 20℃에서 20분간 shaking시켜 반응을 일으킨 다음 7.8M KOH 0.3ml를 첨가하여 반응을 종결시켰다. 이에 0.6ml의 34.2mM Purpald(Sigma, U.S.A) 용액을 넣고 20℃에서 10분간 shaking시킨 뒤 65.2mM potassium periodate(Sigma, U.S.A) 0.3ml를 가하여 발색시키고, 10,000×g 4℃에서 10분 원심분리한 뒤 상층액을 spectrophotometer로 550nm에서 흡광도를 측정하였고 표준액은 120μM의 formaldehyde를 사용하여 비색정량하였으며, 단위는 μM/mg of Hb.로 표시하였다.

조직은 張 등⁷⁾의 실험방법을 보완하여 진행하였는데, 10%의 균질액은 만들어 13,000×g 4℃에서 20분 동안 원심분리하여 상층액을 효소액으로 사용하였다. 37℃의 water bath에서 효소액 0.1ml에 65mM H₂O₂ 용액 0.5ml를 첨가한 후 정확히 1분간 incubation시킨

다음 즉시 32.4mM ammonium molybdate(Sigma, U.S.A) 용액 0.5ml를 넣어 발색시키고, 동량의 효소액에 65mM H₂O₂용액 0.5ml와 32.4mM ammonium molybdate용액 0.5ml를 동시에 첨가하여 같은 조건으로 1분간 발색시켜 vortex하고, 모든 반응액을 실온에서 10분 이상 안정시킨 후 405nm에서 比色法으로 CAT 활성을 측정하였다. 대조 용액은 50mM PBS(pH7.4) 0.1ml를 이용하여 같은 조건으로 진행하였으며, CAT의 활성도는 1분 동안 1 μ M의 H₂O₂를 분해시키는 효소량을 1unit로 정하였다.

(3) G-px의 活性

Del Maestro와 McDonald 등의 방법(RA Greenwald 1985;291)에 준한 박 등(한국노화학회지 1996;6(1):1)의 측정과정을 참고하여 실험하였다. 50%의 RBC suspension 0.1ml에 0.9ml의 증류수를 가하여 용혈시키고, 용혈액에 Drabkin 용액을 1:1(v:v)로 혼합하여 Hb를 cyanomethemoglobin으로 전환시킨 다음 상층액을 효소원으로 사용하였다. 조직은 SOD와 같은 과정으로 10%의 조직 균질액을 만들어 13,000g \times 4 $^{\circ}$ C에서 20분간 원심분리하여 상층액을 효소원으로 사용하였다. 1mM의 EDTA를 함유하는 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.0) 0.5ml에 1mM sodium azide를 첨가하여 CAT의 활성을 억제하고, 이에 10mM GSH(Calbiochem, U.S & Canada) 용액, 2.4U의 GR(Roche, U.S.A) 용액, 효소원 각 0.1ml를 첨가하여 37 $^{\circ}$ C에서 10분 정도 incubation시켰다. 여기에 37 $^{\circ}$ C로 유지된 1.5mM의 NADPH(Calbiochem, U.S & Canada) 용액 0.1ml를 첨가하여 다시 37 $^{\circ}$ C에서 3분간 incubation시키고 나서 적혈구 sample은 37 $^{\circ}$ C로 유지된 12mM의 TBH(t-butyl hydroperoxide, Sigma, U.S.A) 0.1ml를 첨가하여 반응을 개시하였고, 조직 sample은 1.5mM의 H₂O₂ 용액 0.1ml를 가하여 반응을 개시한 다음 340nm에서 흡광도 변화를 3분간 측정하였다. G-px의 활성도는 NADPH의 분자흡광계수 6.22mM⁻¹cm⁻¹을 이용하여 계산하였고, 1분 동안 1 μ M의 NADPH 형광성을 변화시키는 효소의 양을 1 unit로 하였다.

(4) GSH 含量

Ellman GL의 방법 (Arch Biochem Biophys 1959;82(1):70)과 Sedlak J. 등의 방법(Anal Biochem. 1968;25(1):192)에 따라 환원형 GSH(γ -glutamyl과 thiol[SH]기를 포함)이 DTNB(5,5'-dithiobis-nitrobenzoic acid)와 일정한 농도 또는 시간내에 서로 반응하여 안정적인 황색 생성물이 형성되는 원리를 이용하여 412nm에서 흡광도를 측정함으로써 그 함량을 구하였다.

RBC suspension를 10배 DW로 용혈시킨 다음 침전액(1.67g metaphosphoric acid, 0.20g Na-EDTA, 30.00g NaCl를 100ml의 DW에 녹임) 3.0ml를 첨가하여 실온에서 5분간 방치하고 나서 3,000rpm에서 15분간 원심분리하여 상층액을 얻었다. 조직은 10%의 균질액을 1,000rpm에서 5분간 원심분리한 후 상층액 0.2ml에 8%의 sulfosalicylic acid(Sigma, U.S.A) 0.5ml를 가하여 혼합하고 실온에서 5분간 방치한 다음 3,000rpm에서 15분간 원심분리하여 상층액은 얻었다. 혈액 및 조직으로부터 얻은 상층액 0.05ml에 0.1M의 PBS 0.05ml를 가하고, DTNB(Sigma, U.S.A) 용액 0.9ml 혼합한 뒤 실온에서 20분 동안 방치한 다음 412nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다. 표준용액은 GSH(mg/ml)를 이용하였고, RBC 중의 함량은 mg/Hb(g), 조직 중 함량은 mg/g으로 각각 나타냈다.

(5) AsA의 含量

산화형 AsA는 DNP(2,4-dinitrophenyl-hydrazine)과 작용하여 적색의 오사존을 형성하고, 이 오사존에 황산을 가하여 탈수시키면 안정된 적색의 무수물인 bis-2,4-DNP로 전환되어 이를 520nm에서 흡광도를 측정함으로써 AsA를 정량하였다.

윤 등(한국노화학회지. 1994;4(2):112)의 방법을 참고하여 혈장 1ml에 10% metaphosphoric acid 2ml를 넣고 vortex mixing하여 단백질을 침전시킨 다음 3,000rpm에서 20분간 원심분리하여 상층액을 얻었다. 상층액 1.2ml를 0.027M copper sulfate용액 5ml, 0.66M thiourea(Sigma, U.S.A) 5ml, 0.01M DNP(Sigma, U.S.A) 0.4ml와 혼합하여 vortex mixing한 후 3시간 동안 37 $^{\circ}$ C에서 incubation시켰다. Incubation시킨 반응액

을 ice bath에서 10분간 방치하였다가 냉각된 12M H₂SO₄ 2ml를 넣고 조심스레 천천히 혼합시켜 ice bath에서 냉각한 후 520nm에서 흡광도를 측정하였고, 표준액은 1mg/dl ascorbic acid(Junsei chemical, Japan)를 사용하였으며, blank는 10%의 metaphosphoric acid(Duksan, Korea)를 사용하였다.

6. 血液 및 臟器組織의 脂質過酸化物

지질과산화 수준은 Ohkawa 등(Anal Biochem. 1979;95(2):351)의 방법에 준한 李 등(中藥藥理實驗方法學. 上海科學技術出版社. 1991)의 실험방법을 수정하여 진행하였다. 즉 혈장 50 μ l에 1/12N H₂SO₄ 4ml와 10%의 phosphotungstic acid 500 μ l를 넣고 실온에서 5분간 방치한 후 3,000rpm에서 10분 원심분리하여 상층액을 버리고, 얻은 침전물에 다시 1/12N H₂SO₄ 2ml와 10%의 phosphotungstic acid 300 μ l를 넣고 상기 과정을 반복한다. 최종 얻은 침전물에 TBA(Lancaster, England) reagent 1ml와 증류수 1ml를 첨가하고 잘 섞은 뒤 뚜껑을 견고하게 밀봉하고 95 $^{\circ}$ C water bath에서 1시간 정도 incubation 시킨다. incubation 처리된 용액을 실온에서 냉각시킨 다음 n-butanol 2ml를 넣고 1분간 vortexing 한 후 3,000rpm에서 20분간 원심분리하여 상층액을 얻고 MDA의 흡광계수 1.56 $\times 10^4$ M⁻¹cm⁻¹를 이용하여 정량하였다. 조직은 0.5g을 취하여 ice both에서 1.15%의 KCl용액으로 9,500rpm에서 30초 동안 homogenize하여 10%의 균질액을 만들고 3,000rpm $\times 4^{\circ}$ C에서 10분 원심분리하여 상층액을 얻는다. 상층액 100 μ l에 8.1%의 SDS(sodium dodecyl sulfate, Sigma, U.S.A) 200 μ l, TBA reagent(20% acetate acid-10N NaOH, pH 3.5 용액과 0.8%의 TBA 수용액을 1:1로 혼합함) 3ml, 증류수 700 μ l를 넣고 강하게 vortex한 다음 밀봉하여 95 $^{\circ}$ C의 water bath에서 1시간 동안 incubation시킨 후 실온에서 냉각시킨다. 냉각된 반응액에 n-butanol 4ml를 첨가하여 3,000rpm에서 20분 원심분리한 다음 상층을 취하여 혈장과 동일한 과정으로 정량하였다.

심근조직의 LF(lipofuscin)은 Fletcher법(Anal Biochem. 1973;52(1):1)에 준한 陳 등(中藥藥理研究方

法學. 北京人民衛生出版社. 1993)의 실험과정을 참고하여 조직 200mg에 1:2(v:v)로 혼합한 methanol : chloroform 4ml을 첨가하여 균질액(9,500rpm, 30초)을 얻은 다음 동량의 증류수를 가하여 강하게 3분간 vortexing한 후 3000rpm에서 10분간 원심분리하고, 아래 부분 chloroform 용매층을 취하여 자외선으로 30초 조사하고 나서 450nm에서 정량하였다. 표준용액은 0.05M H₂SO₄ 1ml에 quinine sulfate(Sigma, U.S.A) 0.1 μ g을 첨가한 solution의 형광강도를 10unit로 정하였고, LF의 함량은 1mg 조직이 1ml chloroform 용매의 농도 중에서 발현하는 형광강도(U)로 나타났다.

7. 赤血球膜의 耐性

적혈구막의 내성은 삼투압에 의하여 적혈구가 용해된 후 hemoglobin이 유리되고, 540nm에서 용혈액의 흡광도를 측정하는 원리를 이용하여 상대적인 용혈값(%)으로 적혈구막의 耐性을 나타냈다.

8. 효소원의 Hemoglobin 및 Protein

(1) 血液 효소원의 Hemoglobin

李 등(中藥藥理實驗方法學. 上海科學技術出版社. 1991)의 방법을 참고하여 적혈구 현탁액 50 μ l에 증류수를 가하여 2.5ml가 되도록 채운 다음 vortex하고 실온에서 10min 방치하고 나서 Drabkin용액 2.5ml를 첨가하여 1:100의 용혈액을 얻었다. 이 용혈액 1ml를 취하여 증류수 0.75ml와 Drabkin용액 0.75ml를 차례로 첨가하고 잘 혼합한 뒤 540nm에서 흡광도를 측정 한 후 1ml 적혈구 현탁액의 Hb함량(mg)은 다음과 같은 공식으로 구하였다.

$$\text{Hb. 함량} = 367.7 \times \text{OD}_{540\text{nm}}$$

(2) 臟器組織 효소원의 protein

조직 효소원의 단백질 함량은 Lowry 등(J Biol Cham 1951;193:265)의 방법에 따라 BSA(bovine serum albumin, 1mg/ml, Sigma, U.S.A)를 표준용액으로 660nm에서 spectrophotometer로 정량하였다. 즉 2.0% Na₂CO₃, 0.4% NaOH, 0.16% sodium potassium tartrate,

1.0% SDS를 포함하는 solution A와 4.0% CuSO₄인 solution B를 100:1(v:v)로 혼합하여 solution C를 만들고, 효소원 50 μ l에 solution C를 첨가하여 실온에서 10분간 방치한 후 동량의 증류수로 희석한 phenol reagent 300 μ l를 첨가하고 45분간 실온에 방치한 다음 측정하였다.

9. 統計分析

실험결과에 대한 모든 분석은 Win PC-SPSS(VER. 8.5) 프로그램으로 실시하였고, 기술통계학적 분석은 각 group의 측정값을 Mean(평균) \pm S.D(표준편차)로 요약하였으며, ANOVA test의 Duncan's method로 분석하여 $\alpha=0.05$ level에서 유의성을 인정하였다.

결 과

1. 動物의 體重 變化

백서의 주령에 따른 체중변화를 측정한 결과 평균 체중 증가는 Normal군 18.4 \pm 3.8g/w, Control군 21.0 \pm 3.8g/w, JTY군 18.9 \pm 4.2g/w으로 각각 나타나 군간의 유의성은 없었다(Fig.1).

2. 赤血球 및 臟器組織의 抗酸化能

(1) SOD 活性

백서의 적혈구 SOD 활성(unit/g of Hb.)은 Normal군 18.17 \pm 2.86, Control군 10.29 \pm 3.07, JTY군 14.15 \pm 2.85로 각 군의 유의성이 있었고, JTY군이 Control군에 비해 유의하게 저하 억제효과를 보였다. 조직 SOD 활성(unit/mg of protein)은 심장의 경우 Normal군 186.97 \pm 11.17, Control군 167.78 \pm 16.25, JTY군 190.94 \pm 7.75로 각 군의 유의성이 있으며, JTY군은 Control군에 비해 유의한 저하 억제효과를 보여 Normal군과 유사한 수준을 유지하였다. 간에서는 Normal군 89.75 \pm 11.48, Control군 76.37 \pm 19.55, JTY군 85.70 \pm 14.12, 신장에서는 Normal군 99.18 \pm 6.13, Control군 94.72 \pm 7.15, JTY군 98.90 \pm 4.86로 각각 나타나 유의한 차이가 없었다(Table 1).

(2) CAT 活性

적혈구의 CAT(μ mol/mg of Hb.)는 Normal군 24.78 \pm

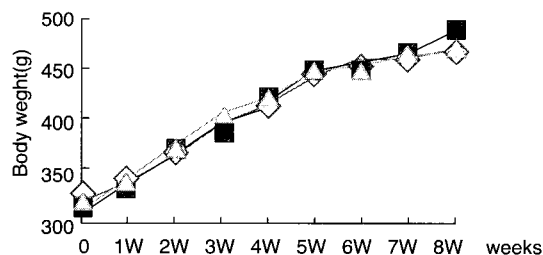


Fig. 1. Comparison with Body Weight Gain in a Week

- △ Normal: PBS(1cc/body) was injected S.C for 6 weeks.
- ◇ Control: D-galactose(50mg/kg • body) was injected S.C for 6 weeks.
- JTY: Treated with *JiaoTeng-Yuan* and D-galactose(50mg/kg • body) was injected S.C for 6 weeks.

4.88, Control군 29.74 \pm 2.75, JTY군 29.95 \pm 4.36로 Control군과 JTY군에서 모두 증가하는 경향을 보였다. 조직 중 CAT 활성($\times 105$ unit/mg of protein)은 심장의 경우 Normal군 5.94 \pm 0.48, Control군 3.30 \pm 0.66, JTY군 4.85 \pm 0.70로 Control군과 JTY군은 유의한 차이를 보였다. 간에서는 Normal군 12.48 \pm 0.98, Control군 12.78 \pm 1.35, JTY군 12.56 \pm 1.37로 각 군의 유의성은 없었다. 신장에서는 Normal군 9.63 \pm 0.96, Control군 6.94 \pm 0.63, JTY군 8.89 \pm 0.74로 JTY군은 Control군에 비해 유의한 저하 억제효과를 보여 Normal군과 비슷한 수준을 유지하였다(Table 1).

(3) G-px 活性

적혈구의 G-px 활성(unit/g of Hb.)은 Normal군 76.02 \pm 4.75, Control군 83.68 \pm 2.08, JTY군 108.01 \pm 7.78로 Control군은 유의한 변화가 없었으나 JTY군은 유의한 증가를 보였다. 조직의 G-px 활성(unit/mg of protein)은 심장의 경우 Normal군 364.23 \pm 17.94, Control군 418.35 \pm 20.70, JTY군 415.46 \pm 54.62로 각 군의 유의성은 없었다. 간의 경우는 Normal군 306.18 \pm 8.99, Control군 167.42 \pm 15.14, JTY군 209.63 \pm 17.82로 JTY군은 Control군에 비해 저하억제 경향은 있으나 유의성은 없었다. 신장의 경우는 Normal군 1.83 \pm 0.07($\times 10^3$), Control군 1.58 \pm 0.04($\times 10^3$), JTY군 1.76 \pm 0.06($\times 10^3$)로 JTY군은 Control군에 비해 유의한 저하

Table 2. RBC Suspension and Tissue Homogenate Anti-Oxidize Activities

Animal group(n=8)	RBC	Heart	Liver	Kidney
	SOD (unit/g of Hb.)	SOD (unit/mg of protein)		
Normal	18.17±2.86 ^{a)}	186.97±11.17	89.75±11.48	99.18±6.13
Control	10.29±3.07**	167.78±16.25 *	76.37±19.55	94.72±7.15
JTY	14.15±2.85 *	190.94±7.75	85.70±14.12	98.90±4.86
	CAT (μmol/mg of Hb.)	CAT (×10 ³ unit/mg of protein)		
Normal	24.78±4.88 ^{a)}	5.94±0.48	12.48±0.98	9.63±0.96
Control	29.74±2.75 *	3.30±0.66 **	12.78±1.35	6.94±0.63 *
JTY	29.95±4.36 *	4.85±0.70 *	12.56±1.37	8.89±0.74
	G-px (unit/g of Hb.)	G-px (unit/mg of protein)		
Normal	76.02±4.75 ^{a)}	364.23±17.94	306.18±8.99	1.83±0.07(×10 ³)
Control	83.68±2.08	418.35±20.70	167.42±15.14 *	1.58±0.04(×10 ³) *
JTY	108.01±7.78 *	415.46±54.62	209.63±17.82 *	1.76±0.06(×10 ³)
	GSH (μmol/g of Hb.)	GSH (μmol/mg of protein)		
Normal	18.38±1.13a)	257.45±4.29	246.40±6.26	260.09±7.07
Control	14.47±0.29 *	238.07±6.16 *	231.16±5.85	228.42±4.57 *
JTY	15.79±0.42 *	240.70±3.74 *	232.77±4.77	247.71±8.37 (*)

억제효과를 보여 Normal군과 비슷한 수준을 유지하였다(Table 1).

(4) GSH 함량

적혈구의 GSH 함량(μmol/g of Hb.)은 Normal군 18.38±1.13, Control군 14.47±0.29, JTY군 15.79±0.42로 JTY군은 Control군에 비해 유의한 감소 억제 효과는 없었다. 조직 중 GSH 함량(μmol/mg of protein)은 심장의 경우 Normal군 257.45±4.29, Control군 238.07±6.16, JTY군 240.70±3.74로 나타났고, 간의 경우는 Normal군 246.40±6.26, Control군 231.16±5.85, JTY군 232.77±4.77로 나타나 심장과 간에서는 JTY군의 감소 억제효과를 확인할 수 없었다. 그러나 신장의 경우는 Normal군 260.09±7.07, Control군 228.42±4.57, JTY군 247.71±8.37로 JTY군은 Control군에 비해 유의한 감소 억제효과가 있었다(Table 1).

(5) AsA의 함량

백서의 혈장 중 AsA 함량(mg/L)은 Normal군 13.42±2.72, Control군 14.29±1.98, JTY군 16.47±3.30으로 JTY군과 Control군 모두 증가하는 경향이 보였으나 두 군의 유의성은 인정되지 않았다(Table 2).

3. 血液 및 臟器組織의 脂質過酸化 정도

(1) 血液 중 MDA(malonaldehyde) 함량

백서의 혈장 지질과산화 정도를 측정 한 결과 MDA 수준(nmol/ml)은 Normal군 4.17±1.39, Control군 6.19±1.49, JTY군 3.20±1.52로 JTY군은 Control군에 비해 유의한 증가 억제효과를 나타내 Normal군과 비슷한 수준을 보였다(Table 3).

(2) 肝臟과 腎臟 조직의 MDA 함량

간과 신장 조직의 MDA 수준(nmol/mg of protein)은 간의 경우 Normal군 5.39±1.35, Control군 8.91±1.73, JTY군 6.95±1.30으로 JTY군은 Control군에 비해 유의한 증가 억제효과를 나타냈다. 신장의 경우는 Normal군 6.51±1.47, Control군 7.39±1.59, JTY군 3.69±1.86으로 Control군은 유의한 변화가 없는 반면 JTY군은 유의하게 저하되는 경향을 보였다(Table 3).

(3) 心筋組織의 LF(lipofuscin) 함량

백서의 심장 지질과산화 정도를 나타내는 심근조직의 LF 함량(unit/g of tissue)은 Normal군 346.0±24.7, Control군 386.9±10.1, JTY군 360.7±34.3로 JTY군은 Control군에 비해 유의한 증가 억제효과가 있어 Normal군과 비슷한 수준을 보였다(Table 3).

(4) 赤血球膜의 耐性

백서의 적혈구막 내성.은 Normal군 92.08±2.15%, Control군 88.76±4.90%, JTY군 92.83±3.29%로 JTY군은 Control군에 비해 저하억제 경향을 보였다(Table 4).

Table 3. Plasma AsA Quantity

Animal group(number)	AsA quantity(mg/L)
Normal(n=8)	13.42 ± 2.72 ^{a)}
Control(n=8)	14.29 ± 1.98 ^(*)
JTY(n=8)	16.47 ± 3.30 [*]

Table 5. Endurance of Erythrocyte Membrane Test

Animal group(n=8)	RBC membrane endurance(%)
Normal	92.08 ± 2.15 ^{a)}
Control	88.76 ± 4.90 ^(*)
JTY	92.83 ± 3.29

Table 4. Plasma and Tissue Homogenate MDA(or LF) Quantities

Animal group(n=8)	MDA			LF
	Plasma (nmol/ml)	Liver (nmol/mg of protein)	Kidney (nmol/mg of protein)	heart (unit/g tissue)
Normal	4.17 ± 1.39 ^{a)}	5.39 ± 1.35 ^{a)}	6.51 ± 1.47	346.0 ± 24.7 ^{a)}
Control	6.19 ± 1.49 [*]	8.91 ± 1.73 ^{**}	7.39 ± 1.56	386.9 ± 10.1 [*]
JTY	3.20 ± 1.52	6.95 ± 1.30 [*]	3.69 ± 1.86 [*]	360.7 ± 34.3

[Table 2-5]

a) Means ± S.D.

* Means are significantly different at $\alpha=0.05$ level within 3 groups by ANOVA test in Duncan's range.

Normal: PBS(1cc/body) was injected S.C for 6 weeks.

Control: D-galactose(50mg/kg • body) was injected S.C for 6 weeks.

JTY: Treated with *JiaoTeng-Yuan* and D-galactose(50mg/kg/body) was injected S.C for 6 weeks.

고찰

산소를 이용하고 있는 모든 생물체의 세포내 정상적인 대사과정에는 약 5%의 활성산소가 잔존하여 매우 유독한 물질로 작용하는데, 대표적인 활성산소는 O₂·, H₂O₂, OH· 등이 포함되며, 이에 대응하는 항산화 효소계는 SOD, G-px, CAT 등과 비단백질 시스템인 환원형으로 존재하는 GSH이 중요한 역할을 담당하는 것으로 알려져 있다¹⁾. 항산화 효소들은 membrane의 lipid peroxidative damage, sulfhydryl-containing enzymes의 inactivation, integral protein의 cross-linking 등을 일으켜 oxygen species를 불활성화시키거나 제거함으로써 항산화 작용을 유지한다. Cytosol과 mitochondria에 각각 존재하는 Cu, Zn-SOD와 Mn-SOD는 superoxide radical anion을 hydrogen peroxide로 전환시키고, 다시 fenton reaction을 통하여 반응성이 더욱 큰 hydroxyl radical로 전환된다. 이에 peroxisome에 존재하는 CAT가 hydrogen peroxide를 산소와 물로 전환시키고, 세포질과 mitochondria에 존재하는 G-px에 의하여 물로 무독화 된다. 또한 glutathione, ascorbate 등과 같은 분자량이 작은 항산화제들은 free oxygen radicals와 직접 결합하여 활성산소

제거에 가담하는 것으로 알려져 있다²⁾.

건강상태에서는 생체의 항산화체계가 균형적으로 조절되지만 어떤 요인에 의하여 균형을 잃게 되면 과산화반응을 일으켜 조직이나 세포를 손상시켜 각종 질병과 노화의 원인이 된다. 그러나 염증 발생시 활성산소는 오히려 적극적인 방어력을 동원하여 생체에 positive적인 영향을 미치기도 하므로 활성산소는 흔히 이중적 성향을 지니는 활성물질로 간주되고 있다^{2,3)}.

인류의 평균수명이 점차 연장되어 삶의 질적 향상이 요구되면서 노화나 각종 암의 발생에 free radical이 깊이 관여하는 사실이 익히 알려져 항산화 연구는 다양한 영역의 관심 대상이 되고 있으며⁴⁾ 영양학적 측면과 건강증진이란 개념에서 천연 항산화제의 개발은 노화연구의 핵심적 과제로 부각되고 있다^{19,22)}. 산화적 손상을 감소시키는 방법으로 식이제한이나 천연 항산화제의 보충이 권장되고 있지만 식이제한으로 쥐에서 스트레스 호르몬이 증가한다는 주장이 제기되면서 그 실효성에 의문이 제기되었고, 각종 비타민 등 항산화 물질의 효능도 아직까지는 논란의 여지가 남아 있어 생체의 산화적 손상을 방어하는 항산화물질의 탐색은 포괄적 접근이 요구되고 있다¹⁾.

이에 한의학의 有機的 臟腑理論을 근거로 생체의 기능적 균형을 개선시키는 養生方의 항산화능 조절작용을 탐색함으로써 향후 건강증진적 측면에서 養生方이 인체의 과산화 반응을 억제하는데 유용할 것으로 기대한다.

한의학에서는 氣의 昇降出入에 肺가 司呼吸하고, 腎은 主納氣하여 산소의 흡입에서 체내 대사과정까지 腎이 주도적인 작용을 하는 것으로 설명되고 있다. 腎은 또한 生·老·病·死의 과정을 관장하는 핵심적 장기로서 陰陽·臟腑·氣血의 盛衰에 근원이 되고 있다. 따라서 노화 및 각종 질병의 발생에 중요한 요인으로 작용하는 생체의 활성산소 생성과 제거에 한약의 조절작용을 탐색하는 연구는 氣의 出入, 運化, 消長, 盛衰로 전개되는 腎의 생리적 기능에서 접근해 볼 수 있다.

黃帝內經¹³⁾ 靈樞의 『壽夭剛柔第六』에는 “人之生也, …, 有短有長, …”이라고 하였고, 또한 素問의 『靈蘭秘典論第八』과 『調經論第六十二』에는 五臟六腑는 “…不得相失也. …, 以此養生則壽…”라고 하여 臟腑間의 균형이 유지될 때 비로소 健康長壽 할 수 있으며, “其天壽過度…腎氣有餘也”라고 논술하여 腎氣가 왕성하여야 天壽를 누리다고 강조하였다. 이와 같은 인식은 後世에 반영되어 《中藏經(卷中)》⁹⁾에는 “腎者精神之舍, 性命之根…腎氣絕, 則不盡其天命而死也”라고 闡明하였고, 虞搏의 《醫學正傳》¹⁵⁾에서는 “腎元盛則壽延, 腎元衰則壽夭”라고 주장하여 元氣를 저장하는 腎의 盛衰는 수명과 건강에 직결되어 있음을 밝혔다. 또한 《醫宗必讀》¹⁶⁾의 “乙癸同源論”과 《石室秘錄》¹⁷⁾의 “臟治法”에서 언급된 肝腎同治, 心腎同治 등도 한의학의 臟腑學說 중 “肝腎同源”이나 “心腎相交”로 해석되는 유기적 체계의 調和를 강조하면서 腎의 중심적 역할을 명확히 究明하였다.

養生學의 섭생원칙 중 건강증진(强身, 壯筋骨, 祛百疾), 노화지연(延年益壽) 및 질병예방(治未病)에 있어서 腎元의 보존은 가장 중요시 된다^{5,8)}. 《東醫寶鑑》¹²⁾ 雜病篇의 虛勞에 “世人惟知百病生於心, 而不知百病生於腎, …(回春)”이라고 하였고, 攝養要訣에 “凡在萬形之中, 所保者, 莫先於元氣”라고 하여 腎元, 腎精, 腎

氣를 補養하는 중요성을 일관되게 주장하였다. 일본의 皇漢醫學叢書·醫餘¹⁸⁾에는 중국 周漢 시대의 의학과 관련된 儒家·佛家·道家 사상을 集成하여 養性篇을 정리하였는데, “夫人壽長短, …養失其道 長者亦可傷而短”이라 하여 壽命은 타고나는 것이지만 養生法의 적절 여부에 따라 長短은 변할 수 있으며, “盡數篇”을 인용하여 “長也者, 非短而續之也, 畢其數也, 畢數之務, 在於去害”라고 하여 단순한 수명연장보다 憂患 없이 건강하게 天壽를 누리는 것이 중요하므로 “夫善養性者 無常術 得其和而已矣”와 같이 생체의 조화로우음을 추구하는 것이 養生의 大本임을 논술하였다.

문헌에 수록된 歷代 대표적인 補腎 및 延年益壽의 養生方 중 何首烏를 君藥으로 하는 처방을 살펴보면 八仙丹(《奇效良方》), 七寶美髯丹(《本草綱目》, 《醫方集解》), 延年益壽不老丹(《東醫寶鑑》), 延齡益壽丹(《攝生衆妙方》), 首烏延壽丹(《世補齋醫書》), 何首烏丸(《太平聖惠方》), 交藤圓(《中藏經》) 등이 주로 거론되고 있다⁹⁾. 그 중 交藤圓은 하수오(交藤根)와 복령, 우슬로 구성되었으며, 駐顏長算, 祛百疾의 효능이 있고, 久服하면 延壽한다고 기록되었다⁹⁾. 하수오, 복령, 우슬의 효능은 각종 本草書에 상세히 기술되었으며, 李時珍의 《本草綱目》¹⁰⁾에 “何首烏, …茯苓爲使…長筋力, 益精髓, 壯氣駐顏, 黑髮延年…”이라 하여 복령을 使藥으로 하수오와 배합하면 益精髓, 延年的 효과가 있고, 牛膝은 “益精, 利陰氣, 填骨髓…補腎”하며, “牛膝能引諸藥下行…”, “欲下行則生用, 滋補則焙用, 或酒拌蒸過用”이라 하여 우슬이 引經藥으로 주로 활용하였음을 알 수 있다. 《東醫寶鑑·湯液篇(卷二, 卷三)》¹²⁾에도 하수오는 “益氣血, …填精髓, …駐顏延年”의 효능, 복령은 “善安心神…伐腎邪…”와 “生茯苓…因用治心腎”의 효능, 우슬은 “填骨髓, …引諸藥…”의 효능이 있음을 각각 설명하였다. 淸·汪認庵의 《醫方集解》¹⁴⁾ 중 補養之劑에 대하여 “補者, 補其所不足也. 養者, 栽培之, 護之, …人之氣稟, 罕得其平, …故必假藥以滋助之…使氣血歸於和平, 乃能形神俱茂, 而疾病不生也. 經曰, 聖人不治已病治未病…故先補養, 然補養非旦夕可效, 故以丸劑居前, 湯劑居後”라고 논술하였는데, 治未病의 원칙

에 따라 形神俱茂의 건강을 유지하려면 평소에 적절한 補養이 필요하며, 湯液보다는 丸劑가 완만하게 작용하므로 氣血平和에 유익하다고 주장하였다.

최근에 補腎劑의 항산화 작용과 관련하여 손 등²⁵⁾은 補腎丸의 효과를, 안 등²⁷⁾은 六味地黃湯의 효과를 각각 보고하는 등 다수의 연구가 있었지만 丸劑로서 장기 복용에 적합한 交藤圓의 항산화 작용은 밝혀진 바가 없었다. 交藤圓의 구성 중 적하수에 관한 항산화 연구는 임²³⁾이 적하수 약침에 관한 보고와 국외의 苗 등²⁴⁾과 Chan 등³⁸⁾이 mouse에서 항산화 효과를 밝힌 보고가 있다. 陳 등³⁶⁾에 따르면 黑豆汁蒸 하수오는 補腎 효능이 증강되어 항산화 작용이 더욱 강하다고 하였다. 그 밖에 복령의 효능에 대하여 주 등²⁹⁾은 복령이 신장기능 개선 효과가 있음을 보고한 바 있고, 談 등³²⁾과 마 등³³⁾은 우슬의 多糖 성분이 항노화 작용을 하는 것으로 보고한 바 있다.

본 연구에서 交藤圓의 항산화능에 미치는 영향을 탐색하기 위하여 12주령 백서에 D-galactose를 연속 6주간 투여하여 산화반응을 촉진하였고, 산화반응에 대한 억제작용을 관찰하기 위하여 D-galactose를 처치하는 동시에 交藤圓이 함유된 사료를 공급하였다. 일반적으로 D-galactose는 간에서 신속히 포도당으로 전환되어 가수분해 과정을 거쳐 H₂O₂를 생성하는 것으로, 그 기전에 관하여 劉 등³⁵⁾은 D-galactose가 체내의 단백질 등과 carboxylation을 일으켜 노화를 촉진하는 것으로 밝혔고, Badr MZ 등³⁷⁾은 당대사의 실조로 H₂O₂의 生成 및 消去 불균형이 노화를 초래한다고 밝혔다. 본 실험에서 12주령 백서에 D-galactose를 장기 투여한 결과 적혈구와 심장에서 SOD 효소활성이 저하되면서 지질과산화물이 증가되고, 간과 신장에서 지질과산화 수준은 증가되면서 GSH, CAT, G-px 등이 유의한 변화를 나타낸 것으로 볼 때 H₂O₂의 消去에 직접 가담하는 항산화제가 더욱 활발하게 작동될 결과로 판단되며, 이는 Badr MZ 등의 주장과 근접한 것으로 생각된다.

交藤圓 투여는 백서의 적혈구 SOD 활성 저하를 약 21% 억제하는 것으로 나타났고, G-px의 활성은 촉진되는 한편 백서의 혈중 AsA가 약간 증가되는 경향을

나타내는데(Table 2, 3), 혈액의 항산화능은 생체 항산화제 변화의 총체적 결과를 반영한 것이라 볼 수 있다. 일반적으로 비타민 C는 낮은 농도에서 항산화 작용을 나타내고, 높은 농도에서 산화제로 작용하는 이중성이 있다. 백서는 생리 특성상 AsA를 자체 합성할 수 있어 D-galactose로 인한 산화촉진에 혈중 함량이 일시적으로 상승할 수 있으며 交藤圓 투여로 그 효과가 강화되었을 것으로 생각된다. 혈장의 지질과산화 수준은 MDA가 정상에 비해 약 1.5배 증가하는 반면에 交藤圓은 정상과 비슷한 수준을 유지하여 지질과산화 억제에 기여하고 있음을 알 수 있다(Table 4). 적혈구막 지질은 ester화되지 않은 cholestrol과 glycolipid로 구성되고, 적혈구막 cholestrol은 혈장 cholestrol과 끊임없이 교환되며, 인체의 지방 수송 변화에 의하여 막의 유동성과 투과성이 영향 받는다²⁰⁾. 본 실험에서 적혈구막 내성에 대한 유의한 결과는 확인할 수 없었지만(Table 5) 박 등²⁴⁾의 보고에서 하수오가 cholestrol 조절 및 지질과산화 억제효과가 있었다는 결과에 비추어 볼 때 交藤圓 투여시 혈중 지질의 구성에 영향을 미친 것으로 추정되며, 향후 혈중 지질분석에 대한 병행이 필요하다고 생각된다.

산화적 손상에 비교적 쉽게 노출되는 주요 장기는 심장, 간과 신장이다. 交藤圓은 심장에서 SOD 활성 저하를 강하게 억제하여 정상 수준과 비슷하게 유지하는 한편 CAT 활성 저하를 약 26% 억제하는 것으로 나타났(Table 2). 지질과산화물 lipofuscin은 흔히 심근에 침착되는 지방갈색소이며 일명 노화 색소(age pigment)라고 하며, 본태는 산화성 중합으로 된 불포화 지질의 거대분자들이 용해소체의 성분들과 응집되어 불용성 소체를 형성한 형광성 물질이로서 노화지표로 많이 활용되고 있다¹¹⁾. 交藤圓은 심장의 lipofuscin 침착을 효과적으로 방어하여 정상수준과 비슷하게 유지하였다(Table 4). 이러한 결과는 채 등³⁰⁾이 녹차의 catethin이 당노 유발 쥐의 심장 SOD활성 저하를 정상수준으로 유지하여 lipofuscin합성 주원료인 지질과산화물의 생성을 억제시켰다는 결론과 일치하였다.

간에서는 交藤圓이 항산화능에 미치는 영향에 유

의한 차이를 보이지 않았지만(Table 2) 간의 MDA 수준은 약 36% 억제되는 효과를 나타냈다(Table 4). D-galactose로 촉진된 산화반응은 간의 항산화능에 G-px를 제외하고 큰 변화를 일으키지 않은 것으로 보이며, 다만 간의 MDA는 두드러지게 증가하여 어떤 경로를 통해서든 간에서 지질과산화가 일어났음을 알 수 있다. 심 등²⁶⁾은 galactose 당쇄로 리포솜을 표면 수식하여 약물을 간으로 수송하는 擔體로 이용하는 연구에서 간실질세포 표면에는 galactose 잔기를 갖고 있는 당을 인식할 수 있는 asialoglycoprotein(AGP) 수용체가 있는데, 이 수용체의 체내 역할은 혈중에 존재하는 galactose 잔기를 갖는 당단백을 인식하여 간 내로 uptake시켜 제거한다고 하였다. 이와 같이 간에서는 대사에 관여되는 다양한 대사경로로 인하여 D-galactose가 간으로 이동된 후 일부는 AGP 수용체와 결합되면서 소거되었을 가능성을 시사한다. 그 결과 간세포의 막구조 변화로 MDA 수준을 증가시켰을 것으로 추정된다. 交藤圓은 간에서 항산화능에 미치는 영향이 크지 않았지만 지질과산화 수준에 대한 억제 효과는 유의하게 나타나 galactose 대사의 조절이나 간세포 표면의 수용체와의 결합과정에 대해서도 영향이 있었을 것으로 생각된다.

신장에서는 交藤圓이 CAT 활성저하 및 G-px 활성저하를 억제하여 정상과 비슷한 수준으로 유지하는 효과를 보였고, 한편 GSH의 감소를 완화시키는 경향이 있었다(Table 2). 신장에서 D-galactose는 지질과산화를 유발하지 않았지만 交藤圓 투여시 MDA 수준이 현저하게 감소하였다(Table 4). 최³⁰⁾는 프로스타글란딘(PG)의 생합성이 신장의 지질과산화 수준에 영향을 준다고 보고하였는데, 고도불포화지방산으로 알려진 PG는 체내에 널리 분포되어 있으며 혈관계, 내분비계 등을 비롯하여 여러 장기의 생리조절 작용에 관여하며, 흔히 체내에 유리된 아라키돈산이 cyclooxygenase의 작용으로 endoperoxide(PGH₂)가 되고, 이것이 해당 효소계에 의하여 프로스타글란딘과 트롬복산(TX)으로 생합된다. Prostacyclin(PGI₂)는 내피세포에서 합성되며 혈관이완과 혈전방지 작용을 하고, 신장의 사구체 혈류속도와 여과능과도 깊은 관

련이 있다³⁰⁾. 이 등³⁰⁾의 연구에서 혈장 TBA-MDA값에 PGI₂의 과산화 정도가 함께 반영되었음을 언급한 바 있어 신장의 지질과산화 수준에 PG의 생합에 따른 영향이 존재하였을 것으로 생각된다. 혈관계에 비교적 많이 분포되어 있는 PGI₂의 과산화 반응이 항산화능에 미치는 영향은 한의학의 心腎相交 이론에서 새롭게 조명해 볼 필요성이 있을 것이다. 交藤圓은 하수오와 복령이 君臣藥으로 配合되어 補腎과 調心의 協同的 관계로 상호 작용한다. 이러한 기전에 비추어 볼 때 交藤圓의 항산화능 조절에 心腎을 통한 기여가 상당히 클 것으로 생각된다. 본 실험에서는 이에 대한 검토를 수행하지 못하였지만 交藤圓이 신장의 지질과산화 수준을 현저하게 저하시키는 효과가 단순한 補腎 작용보다 心腎 조절의 측면에서 이루어졌을 가능성도 있어 이에 대한 추가적 연구가 필요하다고 본다.

인체와 실험동물의 생체적 특성이 서로 다른 점을 가만하면 본 동물실험을 통하여 얻은 자료는 일부의 단서를 제공하였을 뿐 항산화 기전에 대한 분자생물학적 수준에서 보다 심도 있는 검증이 필요하며, 향후 인체 적용에 필요한 보완 실험을 병행되어야 할 것으로 생각된다.

결론

交藤圓이 D-galactose로 촉진된 백서의 산화반응에 미치는 영향을 탐색하기 위하여 혈액 및 주요 장기 조직의 지질과산화물 함량 및 활성산소 중심의 free radical에 방어하는 각종 효소의 활성을 측정된 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. Normal군, Control군 및 JTY군의 주령에 따른 체중변화는 군간의 유의한 차이가 없었다.
2. Control군에서 항산화능 및 지질과산화물은 적혈구와 심장에서 SOD활성 저하, CAT함량 증가, GSH의 소모가 관찰되었으며, 간에서는 G-px활성 저하, 신장에서는 GSH의 소모, CAT활성과 G-px활성 저하가 관찰되었고, 혈장과 간의 MDA 증가, 심장의 lipofuscin 증가 등이 관찰되어 D-

galactose는 백서의 산화반응을 촉진시킨 것으로 확인되었다.

3. 交藤圓을 투여한 JTY군은 적혈구의 SOD활성 저하를 약 21% 억제하였고, G-px활성을 현저하게 증가시켰으며, 혈장 중 AsA수준은 증가하는 경향을 보였다. 심장에서 SOD활성은 정상 수준으로 유지되었고, CAT활성 저하를 약 26% 억제하였다. 간에서는 항산화능에 대한 조절이 유의한 차이를 보이지 않았다. 신장에서는 CAT 활성저하 및 G-px 활성저하를 억제시키는 효과가 나타났다. 이와 같은 결과는 정도의 차이는 있으나 交藤圓이 항산화 효소계에 방어 및 증강 작용이 있음을 알 수 있다.
4. 交藤圓은 혈장의 MDA와 심장의 lipofuscin을 억제하여 Normal군과 비슷한 수준을 유지하였으며, 간에서는 MDA를 약 36% 억제하였고, 신장에서는 MDA 생성을 현저하게 저하시켜 지질과산화 억제효과를 확인할 수 있었다.
5. 交藤圓은 백서의 생체내 AsA 생합능력과 적혈구막의 내성에 대한 보호작용을 강화시키는 경향이 있었으나 Control군에 비해 유의한 차이는 확인되지 않았다.
6. 交藤圓의 국소적 항산화능 저하에 대한 억제효과는 정도의 차이를 보였으며, 심장과 신장의 항산화능 저하억제 및 지질과산화 방에 더욱 효과적인 것으로 나타나 향후 약물 배합에 따른 상승효과를 탐색할 필요가 있다.

交藤圓은 D-galactose로 유발된 백서의 산화적 손상에 대하여 정도의 차이는 있으나 적혈구, 심장, 신장에서 항산화능에 대한 방어작용을 나타내며, 지질과산화물의 축적을 억제하고, 생체의 산화과정 항상성 유지에 기여하는 것으로, 향후 노화 및 각종 질병의 예방에도 유용할 것으로 기대된다. 다만 동물실험을 통하여 얻은 결과를 인체에 적용하기 위하여 보다 심도 있는 후속 연구가 따라야 할 것으로 분자생물학 및 세포수준에서 항산화능의 탐색이 뒷받침 되어야 할 것이다.

참고문헌

1. 김영곤, 김영표. 프리라디칼. 서울:麗文閣. 1997:105-107, 443-449, 455-459, 247, 273, 439, 566.
2. I.Emerit & B.Chance. *Free radicals and Aging*. Switzerland: Birkhauser Verlag. 1992: 31-46, 73-88, 359-367.
3. Biesalski HK. *Free radical theory of aging*. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2002; 5(1):5.
4. 정해영. Free radical에 의한 노화 및 발암기전. 한국노화학회지. 1992; 2(1):1.
5. Sakade Yoshinobu(坂出 祥伸). 中國古代養生思想의 總合的研究. 東京: 平河出版社. 1988: 342-378, 767-774.
6. 李廣勛, 崔景行, 從衆. 實用延年益壽學. 天津: 科技翻譯出版公司. 1994: 49-50, 254-281.
7. 張洪泉, 余文新. 中華抗衰老醫學. 北京: 科學出版社. 2000: 4-5, 82-113, 380.
8. 陳可冀, 李春生. 新編抗衰老中藥學. 北京: 人民衛生出版社. 1998: 37, 39-43, 135-136.
9. 華陀 著 / 吳昌國 校注. 中藏經. 江蘇: 科學技術出版社. 1985: 35, 72.
10. 李時珍. 本草綱目. 서울: 高文社. 1977: 600(卷十六), 746-748(卷十八), 1224-1225(卷三十七).
11. 김숙희, 김화영. 노화. 서울: 민음사. 1995: 77-80, 83-94, 253-264.
12. 許浚. 東醫寶鑑. 서울: 大星文化社. 1992: 6-24(內景篇), 230, 257, 264(湯液篇).
13. 郭霽春. 黃帝內經素問校註語釋. 서울: 醫聖堂. 1993: 1, 55, 346. 黃帝內經靈樞校註語釋. 서울: 醫聖堂. 1993: 65, 330, 375.
14. 汪認庵. 醫方集解. 臺北: 文光圖書有限公司. 1986: 1~5.
15. 虞搏. 醫學正傳. 서울: 成輔社. 1986: 9.
16. 李中梓. 醫宗必讀. 上海: 科學技術出版社. 1987: 13.
17. 陳士鐸. 石室秘錄(中清殿天師岐伯編輯). 서울: 大星文化社. 1993: 114.
18. 尾臺逸士超 著 / 陳存仁 編校. 皇漢醫學叢書13-醫餘. 上海: 中醫學院出版社. 1993: 5-15.
19. 越智 宏倫 著 / 정동효, 장형수, 장재현 共譯. 老化制御食品의開發. 서울: 東和技術. 2001: 77-93, 97-100, 174-179, 213-214.
20. Arthur C.Guyton & John E.Hall / 의학계열 교수 27인 共譯. 의학생리학. 서울: 정담. 2002: 330, 479, 915-917.
21. 김안근, 김지현. 산화적 스트레스 및 항산화제가 항산

- 화효소 활성에 미치는 영향. 응용약물학회지. 2001; 9:249-257.
22. 조경환. 항산화제의 작용과 임상적 이해. 가정의학회지. 1998; 19(5):S60-65.
23. 林樂哲. 赤何首烏 藥針의 AAPH처리된 흰쥐에 대한 항산화작용. 대전대한의학연구소논문집. 2000; 8(2): 361-374.
24. 朴元煥. 內關・足三里穴의 何首烏藥針이 高콜레스테롤血症 病態 白鼠에 미치는 영향. 대한동의병리학회지. 2000; 14(1):135-147.
25. 손민성, 오민석, 송태원. 老化過程의 흰쥐에서 補腎丸이 腎臟의 代謝酵素系에 미치는 影響. 대전대학교 한의학연구소논문집. 1999; 8(1): 659-674.
26. 심창구, 이창용, 김종국. 표면수식된 프로리포솜에 의한 표적부위 지향성 약물수송체의 개발 I -갈락토스 당쇄로 표면수식된 리포솜의 간세포 렉틴 결합성. 약학회지. 1992; 22(2):155-161.
27. 安相源, 이철완. 熟地黃과 六味地黃湯이 老化過程 흰쥐에서의 抗酸化 機轉에 미치는 영향. 대전대학교 한의학연구소논문집. 1999; 8(1): 593-623.
28. 이정원, 이태녕, 모수미, 이진호, 이대형, 박수남, 이보경. L-ascorbic Acid가 Guinea Pig에서 혈장 지질과산화값, Prostaglandin 생합성, 광용혈, Superoxide Dismutase 및 Catalase활성에 미치는 영향. 한국생화학학회지. 1987; 20(4):378-388.
29. 주재홍, 김동우, 한양희. 복령(茯苓)이 Cyclosporin A로 유발된 흰쥐의 신손상에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 1998; 19(2):317.
30. 채영미, 박모라, 이순재. 녹차 Catechin이 Streptozotocin으로 유발된 당뇨쥐 심장에서의 항산화제와 Lipofuscin 함량에 미치는 영향. 한국노화학회지. 1998; 8(3):96-103.
31. 최진호. 칼로리 제한에 의한 노화과정 조절. 한국영양식량학회지. 1991; 20(2):187-196.
32. 談鋒, 鄧君. 牛膝多糖의組分分析及抗衰老活性研究. 植物學報. 2002; 44(7):795-798.
33. 馬愛蓮, 郭煥. 牛膝抗衰老作用研究. 中藥材. 1998; 21(7):360-362.
34. 苗明三, 方曉艷. 制何首烏多糖對衰老模型小鼠抗氧化作用的研究. 中藥藥理與臨床. 2002; 18(5): 23-24.
35. 劉曉秋, 李衛東, 唐惠瓊, 連至誠. D-半乳糖衰老大鼠自由基代謝狀況分析. 中醫老年學雜誌. 2001; 21(6): 456-458.
36. 陳建斌, 薛團梅, 包國榮, 陳玉枝. 何首烏不同切製方法的質量研究. 福建中醫學院學報. 2001; 11(4): 41-(60).
37. Badr MZ., Xu L. *Enhanced potential for oxidative stress in hyperinsulinemic rats: imbalance between hepatic peroxisomal hydrogen peroxide production and decomposition due to hyperinsulinemia.* Horm Metab Res. 1999; 31(4):278-282.
38. Chan YC, Wang MF, Chang HC. *Polygonum multiflorum Extracts Improve Cognitive Performance in Senescence Accelerated Mice.* The American Journal of Chinese Medicine. 2003; 31(2):171-179.