

拱辰黑元丹이 初期老化 흰 쥐의 抗老化 및 抗酸化에 미치는 영향

이화섭 · 안택원

대전대학교 한의과대학 사상체질과

Abstract

Anti-aging and Anti-oxidative Effect of Gongjinhugwon-dan in Early Stages of Aging Rats

Lee Hwa-Seop, Ahn Taek-Won

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

1. Objectives

Purpose of this study is to prove anti-aging and anti-oxidative effects of Gongjinhugwon-dan decoction.

2. Methods

The SD rats used in this experiment were 6, 18, and 36 weeks old. Each age group was again divided into three groups. These nine groups consisted of 8 rats each. One group was given no treatment, another group was dosed 200 μ l of normal saline daily, and the last group was dosed 200 μ l of 1% Gongjinhugwon-dan and saline mixture. At the conclusion of the experiment, the age groups were relabelled accordingly (10 weeks, 22 weeks, and 40 weeks).

After 4 weeks, change of weight and liver markers were measured. Serum LDL cholesterol, total bilirubin, albumin, glucose, GOT and GPT levels were observed in order to check the hematological modification. Also, each organ tissue was biopsied in order to measure the SOD activity and the glutathione content change.

3. Results & Conclusions

Aging did not cause any significant change in GOT and LDH, but GPT and albumin levels showed increase after GHD intake. Serum GPT was lower in the experimental group.

Serum total bilirubin of the 40 w GHD group was significantly increased.

The populations of dendritic cells in the spleens of the GHD groups were significantly increased.

The levels of GSH in the liver of the 40 w GHD group and in the kidney of 22w-GSD were significantly increased in comparison with those of the normal groups.

The degenerative change of brain tissue was decreased in the 40 w GHD group compared with those of the 40w normal group and the 40 w saline group.

These results suggest that anti-oxidative GSH concentration of liver and kidney in rats treated with GHD showed significant increase in the 40 w GHD group.

GHD was effective on increasing anti-oxidative substance in liver and dendritic cells in spleen, thus helping immune system and preventing cell mutation and degenerative change of brain tissues. Further studies and clinical investigation with GHD is needed.

Key Words : Sasang Constitutional Medicine, Free Radical, Anti-aging Effects, Anti-oxidative Effects, Gongjinhugwon-dan, SOD, Glutathione

I. 緒 論

모든 생물의 세포에는 증식할 수 있는 제한된 능력을 가지고 있으며 이런 세포의 老化가 곧 생명체의 老化에 영향을 미친다^{1,2}. 인간에 있어서도 가장 활력이 넘치는 20~30세 사이에 노화가 시작 되는 것으로 알려져 있다³.

老化의 기전을 설명하기 위한 여러 학설 중 최근에는 활성산소에 의한 손상이 老化와 수명결정에 중요하다고 생각하는 활성산소설^{4,6}이 주목을 받고 있다.

활성산소설은 인체의 대사과정 중에 발생하는 활성산소에 의한 인체 조직 및 세포의 손상이 개체의 손상을 유발하여 老化에 이르게 되므로 항산화 작용이 老化의 방지에 결정적인 영향을 미칠 수 있는 것이다⁷.

老化에 대하여 李濟馬(1838-1900)는 『東醫壽世保元』 『廣濟說』⁸에서 “四十九歲至六十四歲曰老”라 하여 50대에 들어 노인의 단계로 접어든다고 하였으며, 壽命의 長短을 결정짓는 요인은 각 체질에 따른 臟腑大小偏差를 극복하는 保命之主로 無病상태를 유지하며 心慾과 知行, 恭敬과 怠慢, 調養과 病變, 調病 등을 통한 체질적 양생을 의미한다고 하였다^{9,10}.

拱辰黑元丹은 『得效方』의 黑元丹과 拱辰丹에서 기원하여 『東醫壽世保元』에서 太陰人의 虛弱人 裏病多者에 과다한 肝氣(血)을 肺氣(神)로 전화하여 裏熱病證을 치료하며 또한 稟賦한 眞氣의 不足을 補하여 太陰人 裏病證을 개선시키는 처방으로¹¹ 노화에 대한 억제 효과가 기대되었다.

이에 저자는 拱辰黑元丹의 항산화와 관련된 항노화 효과를 입증하고자 6주령, 18주령, 36주령 백서를 성장기말, 성숙기, 초기노화기로 설정하고 4주간 매일 1%의 拱辰黑元丹 200 μ 를 경구투여한 후, 실험이 종료된 10주령, 22주령, 40주령 백서의 몸무게의 변화 및 liver index, 혈청내 LDL cholesterol, total bilirubin, albumin, glucose, GOT, GPT를 측정하고, 각 장기조직을 분획한 후 조직 내의 SOD(Super Oxide Dismutase) activity, GSH(glutathione) concentration의 함량 변화를 측정한 결과

유의한 성적을 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

II. 研究方法

1. 재료

1) 동물

동물은 6, 18, 36주령의 웅성 SD rat을 대한바이오린트(주)에서 공급받아 실험 당일까지 고탄사료(항생제 무첨가, 삼양사료)와 물을 충분히 공급하고, 실온(22 \pm 2 $^{\circ}$ C)을 유지하여 1주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

2) 약재

본 실험에 사용된 拱辰黑元丹(Gongjinhugwon-dan)의 약재의 구성은 『東醫壽世保元』⁸을 기준으로 대전대학교 한방병원에서 구입하여 사용하였다.

2. 실험 방법

1) 실험군 설정

실험동물은 각각 6주령, 18주령, 36주령의 SD rat으로, 각 주령마다 정상군(normal group), 대조군(saline group), 실험군(GHD group)으로 나누어 모두 9군으로 분류하였고, 4주간 saline 또는 saline에 희석한 1%의 拱辰黑元丹을 투여한 후 10주, 22주, 40주로 표시하여 결과를 나타내었다. 각 실험군은 8마리씩으로 하였다.

- (1) 10주령, 22주령, 40주령 정상군(Normal group): 6주령, 18주령, 36주령의 정상 SD rat 군을 4주간 아무 처치하지 않은 정상 대조군.
- (2) 10주령, 22주령, 40주령 대조군(Saline group): 6주령, 18주령, 36주령의 SD rat에 매일 200 μ 의 saline을 4주간 경구투여한 군
- (3) 10주령, 22주령, 40주령 실험군(GHD group): 6주령, 18주령, 36주령의 SD rat에 매일 saline에 1%로 희석한 拱辰黑元丹 200 μ 를 4주간 경구투여한 군.

2) Blood chemistry 분석

실험 종료 후, ethyl ether를 이용해 rat를 마취시키고 심장 채혈법으로 채혈하였다. 채혈한 혈액으로 (주)이원 임상검사센터(대전. 한국)에 의뢰하여 LDL cholesterol, total bilirubin, albumin, glucose, GOT, GPT를 측정하였다.

3) 수지상세포 측정

(1) 면역세포 분리

비장을 적출하여 4°C에 보관했던 PBS로 3회 세척한 후 갈아서 비장세포를 얻었다. 비장세포를 5% fetal bovine serum과 antibiotics(penicillin 100U/ml, streptomycin 100µg/ml)가 포함된 RPMI 1640 medium (Sigma, USA)에 넣어서 100π plate에 각각 분주하여 37°C의 CO₂ 배양기에서 2시간동안 배양하였다. 상층액은 버린 후, plate의 바닥에 침강한 세포들을 취하였다.

(2) 수지상세포의 분포도 측정

Flow cytometry를 이용하였으며, 수지상세포는 FACS 표식항체 anti-mouse MHC class I 과 anti-mouse CD11c를 동시에 인지하는 세포의 분포를 측정하여 분석하였다.

4) 장기 조직에서의 산화 억제 효과 측정

(1) 조직의 적출 및 분획

생리 식염수로 관류하여 혈액을 제거한 후 간, 심장, 신장, 비장, 폐, 뇌 조직의 일부를 적출하여 여지로 혈액 및 이물질을 제거하고 Bansal등의 방법에 의해 조직 1g에 4배의 150mM의 KCl을 가하여 homogenizer를 이용하여 균질화하였다. 균질화한 조직을 600×g에서 10분간 원심분리하여 균질화되지 않은 조직 등을 제거한 후 상등액을 10,000×g에서 20분간 원심분리하여 mitochondrial fraction을 얻었다. 이 상등액을 105,000×g에서 1시간 원심분리하여 cytosolic fraction을 얻었다. 그 침전물에 동일한 양의 0.1M potassium phosphate buffer를 가하여 현탁시켜 microsomal fraction을 얻었다. microsomal fraction에서 Glutathione concentration의 함량을 측정하였고, cytosolic fraction을 이용하여 SOD 활성도

를 측정하였다.

(2) SOD activity

간장, 심장, 신장, 비장, 폐, 뇌 조직의 SOD 활성도는 SOD assay kit을 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정 후 SOD 활성도를 계산하였다.

(3) Glutathione concentration

간장, 심장, 신장, 비장, 폐, 뇌 조직 내 glutathione 함량은 kit를 이용하여 405nm에서 흡광도를 측정해서 결과를 얻었다.

3) Histology 분석

뇌 조직을 취하여 cryotome을 이용하여 절편한 후, hematoxylin and eosin염색(scheme 2)을 하고, 200배율로 현미경에서 관찰을 하였으며, 사진 촬영을 실시하였다.

5) 통계처리

본 실험에서 얻은 결과에 대해서는 ANOVA and bonferroni-type multiple t-test(parametric), Ver 1.1 로 분석하여 p값을 구하였다.

Ⅲ. 研究結果

1. Blood chemistry 분석

각 실험동물의 혈청으로부터 albumin, total bilirubin, GOT, GPT, LDH, LDL-cholesterol, glucose의 농도를 측정하였다(Table 1).

(1) Albumin

각 실험동물로부터 취한 혈청에서 albumin 농도를 측정하였다. 주령이 증가하면서 혈청 albumin 농도가 증가하여, 40주령에서는 정상군, 대조군, 실험군 모두 10주령이나 22주령에 비하여 유의하게 높은 혈청 albumin 농도를 나타내었다. 주령별로 약물처치에 따른 혈청 albumin 농도 변화를 비교한 결과, 10주와 40주에서는 약물처치에 따른 변화가 없었으나, 22주령에서는 실험군에서 정상군에 비하여 유의하게 낮은 혈청 albumin 농도를 나타내었다.

Table 1. Biochemical Analysis

Parameter	Age	Normal	Saline	GHD
Albumin (g/dl)	10w	2.79±0.11	2.82±0.10	2.85±0.21
	22w	2.95±0.13	2.86±0.16	2.67±0.13§
	40w	3.42±0.15*** ^{††}	3.26±0.09** ^{††}	3.18±0.19* ^{††}
Total bilirubin (mg/dl)	10w	0.38±0.07	0.36±0.03	0.35±0.05
	22w	0.60±0.21	0.59±0.19	0.36±0.05
	40w	0.15±0.04* ^{††}	0.16±0.04* ^{††}	0.32±0.03 ^{§§§###}
GOT (IU/ℓ)	10w	386.20±37.26	314.60±35.30	228.0±77.34
	22w	198.80±26.92**	236.0±29.61**	141.60±22.17* ^{†##}
	40w	217.20±16.78**	179.80±0.04*** ^{†§}	144.60±16.82 ^{§§#}
GPT (IU/ℓ)	10w	38.4±3.65	37.2±5.17	32.8±9.12
	22w	43.6±12.90	46.4±6.54	37.0±7.04
	40w	59.6±26.71	49.6±11.80	43.6±6.27
LDH (mg/dl)	10w	2937.2±58.32	2979.6±64.81	2474.2±342.32 ^{§##}
	22w	2754.3±67.84	3035.0±51.54 [§]	2366.2±199.39 ^{§§###}
	40w	2990.8±889.26	3168.6±784.94	2517.2±720.03
LDL-cholesterol (mg/dl)	10w	13.6±3.13	14.2±3.701	9.2±1.483
	22w	12.3±1.89	14.8±4.86	9.0±3.61
	40w	14.7±4.31	19.2±7.95	16.3±3.40* [†]
Glucose (mg/dl)	10w	63.2±4.55	60.4±0.89	72.0±5.72 ^{§##}
	22w	68.8±17.02	76.6±12.01	124.4±27.79* ^{§§##}
	40w	136.2±31.07* ^{††}	158.4±22.68*** ^{†††}	138.4±17.59**

Rats in the saline group and GHD group were treated with saline and GHD decoction orally once a day for 4 weeks. The animals were decapitated 24 hr after the last administration of saline or GHD decoction. Blood samples were taken from rat heart for biochemical analysis.

Normal : normal SD rat

Saline : SD rat treated with saline daily for 4 weeks

GHD : SD rat orally administered with GHD decoction daily for 4 weeks.

Values represent mean±SEM(n=5)

(2) GOT

정상군, 대조군, 실험군 모두 22주령과 40주령에서 10주령에 비하여 낮은 GOT 농도를 나타내었다. 주령별로 약물 처치에 따른 혈청 GOT의 변화를 비교한 결과, 모든 주령에서 실험군이 정상군이나 대조군에 비하여 낮은 혈청 GOT 농도가 나타났으며, 특히 22주령과 40주령에서 실험군의 혈청 GOT 농도가 정상군과 대조군에 비하여 유의하게 낮았다.

(3) LDH

정상군, 대조군, 실험군에서 주령의 증가에 따른 LDH 농도 변화는 나타나지 않았다.

주령별로 약물 처치에 따른 혈청 LDH의 변화를 비교한 결과, 모든 주령의 실험군에서 혈청 LDH 농도가 감소하는 경향을 보였으며, 10주령과 22주령에서는 통계적으로 유의성이 있었다.

2. 수지상세포의 분포정도 분석

실험 종료 후, 실험동물의 비장 조직으로부터老化에 따른 수지상세포(dendritic cell)의 분포 정도의 변화를 FACs를 이용하여 측정하였다. 주령이 증가함에 따라 수지상세포의 분포가 감소하였으나, 실험군에서는 정상군이나 대조군에 비하여 수지상세포의 분포가 높았다(Fig. 1).

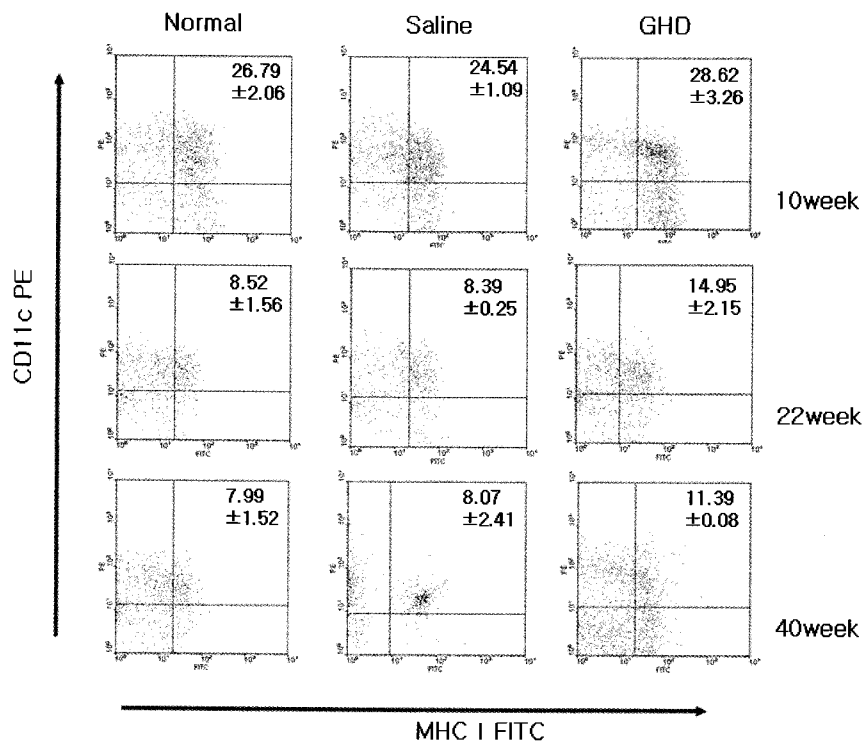


Fig. 1. Effects of GHD on MHC I+CD11c Cell Population in Rat Spleen

Rats in the saline group and GHD group were treated with saline and GHD decoction orally once a day for 4 weeks. The animals were decapitated 24 hr after the last administration of saline or GHD decoction. The population of MHC I+CD11c cells in rat spleen was measured by flowcytometer.

Values represent mean±SEM(n=5)

Table 2. Effect of GHD on the SOD Activity and GSH Concentration in the Rat Liver

Parameter	Age	Normal	Saline	GHD
SOD activity (%)	10w	31.986±8.858	28.68±6.574	23.474±7.069
	22w	38.928±5.998	43.143±4.58	32.647±9.663
	40w	40.581±9.47	28.35±8.59	26.573±0.175
GSH Conc. (umol/ℓ)	10w	141.893±10.738	133.43±3.117	147.16±0.295
	22w	128.797±6.887	124.317±14.212	147.88±6.273
	40w	102.577±4.242**†	125.1±4.707	133.213±15.842‡

Rats in the saline group and GHD group were treated with saline and GHD decoction orally once a day for 4 weeks. The animals were decapitated 24 hr after the last administration of saline or GHD decoction. Liver was removed and the levels of the SOD activity and GSH concentration in liver tissue were analysed by ELISA.

Normal : normal SD rat

Saline : SD rat treated with saline daily for 4 weeks

GHD : SD rat orally administered with GHD decoction daily for 4 weeks.

Values represent mean±SEM(n=3)

** : p<0.01, compared to 10w group by ANOVA test.

† : p<0.05, compared to 22w group by ANOVA test.

‡ : p<0.05 compared to normal group by ANOVA test.

Glutathione 농도는 정상군에서 주령의 증가에 따라 유의하게 감소하였으나 대조군과 실험군에서는 주령별 차이가 없었다. 그러나 실험군의 40 주령에서는 肝臟 내 GSH 농도가 정상군보다 유의하게 높게 나타났다.

3. 장기에서의 산화반응 억제 효과

1) 간

실험동물의 간 조직을 분획하여 SOD 활성도, GSH 농도를 측정하였다(Table 2).

2) 비장

실험동물의 脾臟 조직을 분획하여 SOD 활성도와 GSH 농도를 측정하였다(Table 3.)

3) 폐

실험동물의 폐 조직을 분획하여 SOD 활성도와 GSH 농도를 측정하였다(Table 4).

4) 신장

실험동물의 腎臟 조직을 분획하여 SOD 활성도와

Table 3. Effect of GHD on the SOD activity and GSH Concentration in Rat Spleen

Parameter	Age	Normal	Saline	GHD
SOD Activity (%)	10w	25.044±8.763	32.069±7.667	26.201±11.231
	22w	48.143±4.032	50.333±4.195	30.995±12.323
	40w	54.383±6.636*	43.97±12.333	52.565±5.952
GSH Conc. (umol/ ℓ)	10w	138.303±32.071	118.557±21.237	109.89±6.501
	22w	117.53±22.14	90.55±16.644	87.367±6.988*
	40w	84.133±11.504	77.307±6.913	57.043±11.296**†

Rats in the saline group and GHD group were treated with saline and GHD decoction orally once a day for 4 weeks. The animals were decapitated 24 hr after the last administration of saline or GHD decoction. Rat spleen was removed, and SOD activity and GSH concentration in spleen tissue was measured.

Normal : normal SD rat

Saline : SD rat treated with saline daily for 4 weeks

GHD : SD rat orally administered with GHD decoction daily for 4 weeks.

Values represent mean±SEM(n=3)

*: p<0.05, **: p<0.01, compared to 10w group by ANOVA test, †: p<0.05, compared to 22w group by ANOVA test.

Table 4. Effect of GHD on the SOD Activity and GSH Concentration in Rat Lung

Parameter	Age	Normal	Saline	GHD
SOD activity (%)	10w	76.121±6.184	88.9±2.822	84.383±3.422
	22w	77.26±15.478	75.958±3.002	79.784±5.75
	40w	88.819±4.725	79.01±8.891	81.819±5.746
GSH Conc. (umol/ ℓ)	10w	117.467±15.082	89.633±7.235	97.387±11.7
	22w	86.963±23.782	121.81±9.457*	110.15±7.344
	40w	68.38±8.028*	97.457±13.438	94.743±23.577

Rats in the saline group and GHD group were treated with saline and GHD decoction orally once a day for 4 weeks. The animals were decapitated 24 hr after the last administration of saline or GHD decoction. Rat lung was removed, and SOD activity and GSH concentration in lung tissue was measured.

Normal : normal SD rat

Saline : SD rat treated with saline daily for 4 weeks

GHD : SD rat orally administered with GHD decoction daily for 4 weeks.

Values represent mean±SEM(n=3)

*: p<0.05 compared to 10w group by ANOVA test.

Table 5. Effect of GHD on the SOD Activity and GSH Concentration in Rat Kidney

Parameter	Age	Normal	Saline	GHD
SOD activity (%)	10w	90.04±1.345	87.232±1.762	86.336±2.253
	22w	78.685±0.775	85.644±2.982	85.604±2.608
	40w	83.08±2.83	77.138±4.925	76.487±4.423
GSH Conc. ($\mu\text{mol}/\ell$)	10w	84.52±0.976	102.837±5.206 [§]	99.367±5.078
	22w	138.683±5.536**	115.787±8.827 [§]	120.143±2.669* [§]
	40w	91.037±15.659 ^{††}	127.97±15.965	131.993±8.943** [§]

Rats in the saline group and GHD group were treated with saline and GHD decoction orally once a day for 4 weeks. The animals were decapitated 24 hr after the last administration of saline or GHD decoction. Rat kidney was removed, and SOD and GSH concentration in kidney tissue was measured.

Normal : normal SD rat

Saline : SD rat treated with saline daily for 4 weeks

GHD : SD rat orally administered with GHD decoction daily for 4 weeks.

Values represent mean±SEM(n=3)

*: p<0.05, **: p<0.01 compared to 10w group by ANOVA test, ^{††}: p<0.01 compared to 22w group by ANOVA test.

[§]: p<0.05 compared to normal group by ANOVA test.

Table 6. Effect of GHD on the SOD Activity and GSH Concentration in Rat Heart

Parameter	Age	Normal	Saline	GHD
SOD activity (%)	10w	79.641±4.921	75.123±4.231	78.97±5.871
	22w	76.283±0.345	59.739±5.612	70.178±4.144
	40w	77.342±9.972	65.986±8.38	65.92±6.003
GSH Conc. ($\mu\text{mol}/\ell$)	10w	158.98±3.734	183.54±9.772	248.18±0 ^{§§##}
	22w	169.235±5.056	165.525±4.971	178.645±8.309*
	40w	118.03±30.499	162.597±21.156	144.033±21.241**

Rats in the saline group and GHD group were treated with saline and GHD decoction orally once a day for 4 weeks. The animals were decapitated 24 hr after the last administration of saline or GHD decoction. Rat heart was removed, and SOD activity and GSH concentration in heart tissue was measured.

Normal : normal SD rat

Saline : SD rat treated with saline daily for 4 weeks

GHD : SD rat orally administered with GHD decoction daily for 4 weeks.

Values represent mean±SEM(n=3)

*: p<0.05, **: p<0.01 compared to 10w group by ANOVA test, ^{§§}: p<0.01 compared to normal group by ANOVA test.

^{##}: p<0.01 compared to saline group by ANOVA test.

GSH 농도를 측정하였다(Table 5.)

신장 조직의 GSH 농도는 정상군의 22주령에서 10주령에 비하여 유의하게 증가하였다가 40주령에서 22주령에 비하여 유의하게 감소하였다. 대조군과 실험군에서는 주령의 증가에 따라 신장내 GSH 농도가 점차 증가하였다. 40주령에서는 실험군에서 정상군에 비하여 신장내 Glutathione 농도가 유의하게 증가하였다.

5) 심장

실험동물의 심장 조직을 분획하여 SOD 활성도와 GSH 농도를 측정하였다(Table 6.)

6) 뇌

실험동물의 뇌 조직을 분획하여 SOD 활성도와 GSH 농도를 측정하였다(Table 7.)

Table 7. Effect of GHD on the SOD Activity and GSH Concentration in Rat Brain

Parameter	Age	Normal	Saline	GHD
SOD activity (%)	10w	54.135±0.871	51.16±3.474	56.945±3.873
	22w	68.102±2.516	62.565±3.474	59.342±3.08
	40w	61.49±2.303	56.284±1.223	61.325±3.579
GSH Conc. ($\mu\text{mol}/\ell$)	10w	69.57±7.592	70.017±8.033	65.32±2.652
	22w	94.56±8.909*	112.597±13.745**	115.66±17.156**
	40w	60.807±8.011 ^{††}	69.113±3.311 ^{††}	70.003±7.621 ^{††}

Rats in the saline group and GHD group were treated with saline and GHD decoction orally once a day for 4 weeks. The animals were decapitated 24 hr after the last administration of saline or GHD decoction. Rat brain was removed, and SOD and GSH concentration in brain tissue was measured.

Normal : normal SD rat

Saline : SD rat treated with saline daily for 4 weeks

GHD : SD rat orally administered with GHD decoction daily for 4 weeks.

Values represent mean±SEM(n=3)

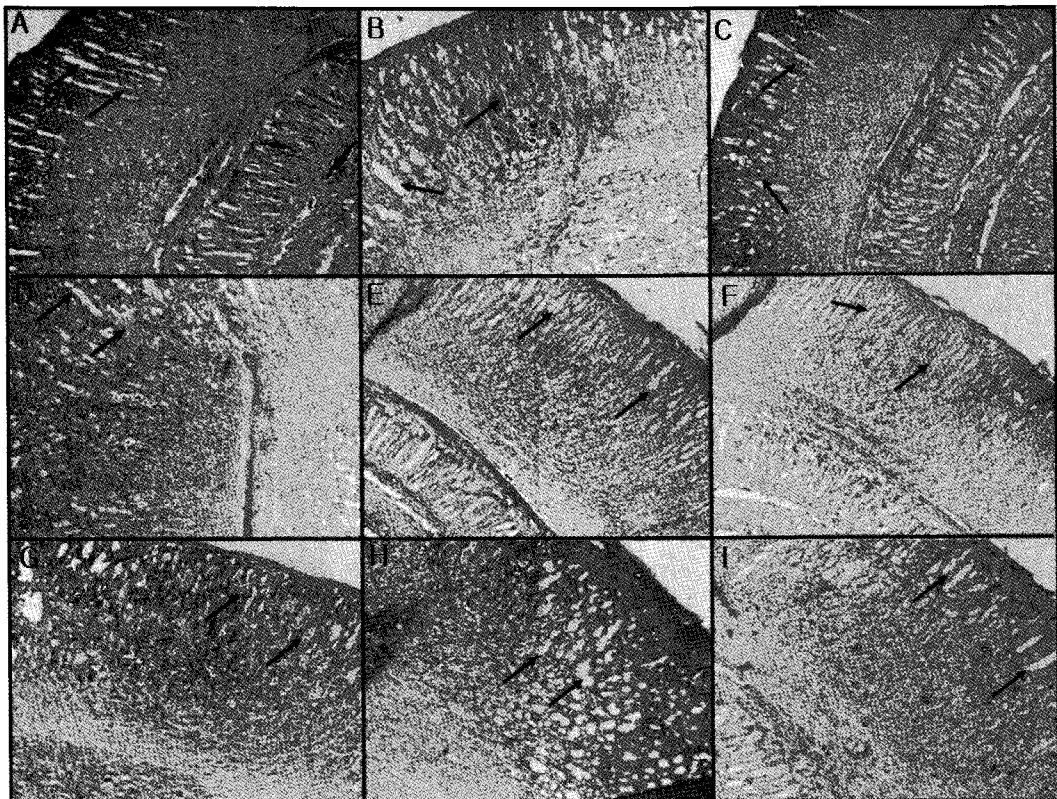


Fig. 2. Effect of GHD on Rat Brain Histology

Rats in the saline group and GHD group were treated with saline and GHD decoction orally once a day for 4 weeks. The animals were decapitated 24 hr after the last administration of saline or GHD decoction. Rat brain was removed and the tissue was stained as described in the experimental methods.

A, D, G: 10w, 22w, 40w normal rat, B, E, H: 10w, 22w, 40w rat treated with saline, C, F, I: 10w, 22w, 40w rat treated with GHD decoction

3. 조직학적 분석

실험 종료 후, 실험동물의 腦 조직을 취하여 老化和 拱辰黑元丹 투여에 따른 조직의 변화를 뇌의 회백질 부분에서 측정하였다. 10주령에 비하여 40주령의 대뇌에서는, 피질의 아래쪽 과립층이 거칠고 성긴 조직의 상태를 나타내었으나, 40주령 실험군은 40주령 정상군이나 40주령 대조군에 비하여 과립층의 조직 상태가 조밀하였다(Fig. 2).

IV. 考 察

UN의 보고서에 의하면 2000년에는 65세 이상의 인구가 4억 명 이상으로 추계하고 있으며, 선진국에서는 2025년 인구의 17% 이상을 차지할 것으로 예상하고 있다¹².

인간의 수명이 연장되기는 하였지만 이 결과가 전적으로 노화의 방지 혹은 예방에 의한 결과라고 보기는 힘들다. 아직도 노인의 기능 소실을 유발하는 결정적 요인은 질병자체라고 생각하고 있으며 자연스런 노화의 결과로 불명확한 기능 감소들에 대해서는 회복의 가능성이 없다고 생각한다. 하지만 건강한 노인은 같은 연령대의 다른 사람보다 활동적인 생활이 가능하며 현시대의 65세 노인들은 과거 조상들 보다 훨씬 건강한 상태에 있다¹³.

노화는 예정된 노화(programmed aging)와 퇴행성 노화(degenerative aging)의 두 가지 형태가 있으며, 이 두 형태의 노화에 대해 현재 관심을 받고 있는 이론은 ‘텔로머어설(Telomere hypothesis of cell aging)’과 ‘유해인자손상설(Theories of aging related to primary damage)’이다¹⁴.

老화에 따라 생체에는 노폐물과 같은 물질들이 쌓이게 되어 각종 질환과 세포의 老화가 촉진되는데, 그 중 산화물질인 활성산소(O₂·, OH·), 산화질소(NO), 과산화수소(H₂O₂) 등의 혈액 내 농도가 올라가게 된다. 이러한 산화물질을 효과적으로 제거하기 위해서는 항산화물질(SOD, catalase)이 증가되어 인체의 항산화력이 증진되어야 한다¹⁵.

韓醫學에서 老화에 대한 정확한 정의를 내리지는 않았지만¹⁶ 『素問』 『上古天真論』¹⁷에 남녀의

나이를 먹음에 따라 腎氣와 生殖能力의 盛衰에 따라 老화가 진행되고 사람의 외모 및 動態가 바뀌는 것을 설명하였고, 『靈樞』 『榮衛生會篇』¹⁸에서는 “老者之氣血衰 其肌肉枯 氣道澁 五臟之氣相搏 其營氣衰少而 衛氣內伐”이라 하여 老화로 인하여 氣血의 衰退로 肌肉이 점차 약해진다고 하였다. 이는 사람이 성장하면서 질로 腎氣가 盛하고 天癸가 至하였다가 늙으면서 腎氣가 衰하고 天癸가 竭하여 누구나 일정 나이가 되면 老화되어 죽는다는 것과 연령이 증가하면서 氣血이 衰하고 任衝脈이 虛해져 퇴행적인 쇠퇴가 일어난다는 老化的 두 가지 측면을 설명한 것이라 할 수 있다. 또한 『素問』 『上古天真論』¹⁷에 養生에 따라 至人, 真人, 賢人, 聖人으로 구별하여 生生不息하는 이상향을 論하기도 하여 老화를 극복하고 수명을 연장하려는 노력을 보이기도 하였다.

老화에 대하여 체질의학의 효시인 李濟馬는 인간의 老화를 이해하고 극복하여 수명을 연장시키는 방법에 대하여 보다 구체적으로 기술하였다. 『東醫壽世保元』¹⁶에서 “四十九歲至六十四歲曰老”라 하여 50대에 들어 노인의 단계로 접어든다고 하였으며 『東醫壽世保元四象草本卷』¹⁹ 『病變·第二統』에서 “太陽人財權酒色 凡百內傷外觸皆損肝 故太陽人以肝臟剝削爲命脈長短…”라 하여 命脈의 長短이 偏小之臟의 剝削에 따라 결정된다고 하였다. 또한 “太陽人 肝臟十分圖全 而與肺相敵者 極完境人也, 一半虧缺而與肺讓倍者 極壞境人也 過此則死, 以此推之 太陽人 肝臟部一半爲命脈實數 他臟倣此”라 하여 생명을 유지하는 偏小之臟의 기운의 정도를 命脈實數라 정의하고 이 命脈實數가 반 이하가 되면 죽는다고 하여 질병과 건강의 상태뿐 아니라 수명까지도 命脈實數에 따라 달라질 수 있다고 설명하였다고 생각할 수 있으며 이러한 命脈實數를 결정짓는 요인으로 ‘存其心 養其性 修其身 立其命’하는 治心 정신을 강조하고 있다¹⁶.

이처럼 四象醫學的인 壽命과 老化的 개념은 인생과정에서 命脈과 本常之氣 및 生息充補之力의 변화를 의미하며 壽命의 長短을 결정짓는 요인은 각 체질에 따른 臟腑大小偏差를 극복하는

保命之主로 無病상태를 유지하며 心慾과 知行, 恭敬과 怠慢, 調養과 病變, 調病 등을 통한 체질적 양생을 의미한다^{9,10}.

太陰人은 肝大肺小하기 때문에 肝陰이 過旺하고 肺陽이 부족하여 肝에는 鬱熱이 생기기 쉽고, 肺는 虛寒하기 쉬운 체질적 특성을 가지고 있으며²⁰ 病證은 크게 胃脘受寒表寒病과 肝受熱裏熱病으로 구분된다¹¹.

拱辰黑元丹은 鹿茸, 山藥, 天門冬, 鱉螯, 麝香으로 구성되었고 『得效方』의 黑元丹과 拱辰丹에서 기원한 處方으로 方解는 東醫寶鑑의 雜病編 虛勞門의 拱辰丹에서 인용하고 있다. 약물의 구성은 拱辰丹에서 鹿茸과 麝香은 그대로 차용했으나 當歸, 山茱萸를 빼고 山藥, 天門冬, 鱉螯를 추가하였다¹¹.

拱辰黑元丹의 麝香, 山藥등은 肺의 藥으로 通力이 有餘하며 鹿茸, 鱉螯등도 동물성의 약물로 방향성을 가지고 있어 藥材에 氣를 含藏하지 않고 疏通시키는 藥材로 發散開竅의 효능이 있으므로 과다한 肝氣(血)을 肺氣(神)로 전화하여 裏熱病證을 치료하며 또한 稟賦한 眞氣의 不足을 補하여 太陰人 裏熱病證을 개선시키는 처방으로¹¹ 노화에 대한 억제 효과가 기대되었다.

이에 저자는 拱辰黑元丹의 항노화 효과를 활성산소의 산화능을 억제하는 항산화 효과를 통하여 간접적으로 입증하고자 6주령, 18주령, 36주령 백서에 4주간 매일 1%의 拱辰黑元丹 200 μ l를 경구투여한 후, 실험이 종료된 10주령, 22주령, 40주령 백서의 각 장기 조직을 분획, 항산화 효소인 SOD 활성도, 항산화 물질인 Glutathine의 함량 변화를 측정하였다. 또한 몸무게의 변화 및 liver index를 측정하고, 혈청 내 LDL Cholesterol, total bilirubin, albumin, glucose, GOT, GPT 등의 수치 변화를 측정하여 拱辰黑元丹 투여로 인한 혈액학적 변화를 관찰하였다.

SD rat은 출생 후 약 8주까지는 체중이 급속도로 증가하고 약 16주령까지는 체중 증가 정도가 급속도로 둔화되며 그 이후 32주까지는 미미한 정도의 체중 증가만이 나타난다는 관찰을 토대로 장²¹ 등은 평균 7주령까지를 성장기군으로 나누고 28주

까지를 성숙기로 분류하여 흰 쥐에서 연령이 골격근의 당대사에 미치는 영향에 대한 연구를 수행하였으며, 박²² 등의 한약물의 치매치료에 관한 실험적 연구에서도 쥐의 연령이 12개월(약 54주) 이상이 되면서 여러 감각운동 기능이 저하된다는 1995년 Murphy등의 연구를 기초로 이 시기가 SD rat의 노화에 해당한다고 판단하였다. 또한 강²³ 등의 노화된 흰 쥐의 장내 균총 구성에 대한 식이섬유질의 영향에 대한 연구에서도 12개월된 SD rat을 사용하였고 이 시기 SD rat의 체중이 감소하는 것을 노화의 증거로 생각하였다.

또한 SAM(Senscence-Accelerated Mause)의 가령에 변화를 실험군인 SAMP와 대조군인 SAMR과 비교하여 그 노화도를 측정한 조²⁴ 등의 연구에서 노화에 저항성을 지닌 SAMR군은 9개월 이후의 쥐에서 노화가 급속히 진행되는 것으로 나타났다.

그 밖에 조²⁵ 등의 노화과정의 흰쥐에서 보간환이 간장의 대사효소계에 미치는 영향을 실험한 연구에서도 8개월된 SD rat을 이용하였고, 서²⁶와 김²⁷의 연구에서도 노화된 쥐로 각각 32주령된 SD rat을 이용하였다.

본 연구에서는 실험용 SD rat을 6, 18, 36주령으로 구분하여 성장기말, 성숙기, 초기노화기로 설정하고 연구를 진행하였다.

간조직은 감염과정과 약제 및 기초대사작용에 의하여 oxidant stress에 지속적으로 노출되어²⁸ 산화 및 老化에 따른 간 기능 수치는 증가될 것이라 예상되며 이는 지방간 그리고 간 질환과 관련이 높을 것이다.

간 기능 검사는 GOT, GPT, total protein, albumin, LDH 등을 측정하게 되는데, 본 실험에서는 혈청으로부터 GOT, GPT, albumin, LDH 등의 농도를 측정하여 拱辰黑元丹의 간기능 개선 효과를 살펴보았다.

간에는 효소함량이 많을 뿐만 아니라 해부학적으로도 효소의 혈중 유출이 용이하기 때문에 혈청 GOT, GPT는 간 장애의 예민한 검사라 할 수 있다²⁹.

본 실험에서 혈청 GOT는 정상군, 대조군, 실험군 모두, 22주령과 40주령에서 10주령에 비하여 낮은 GOT 농도를 나타내었다. 주령별로 약물 처

치에 따른 혈청 GOT의 변화를 비교한 결과, 실험군이 모든 주령에서 정상군이나 대조군에 비하여 낮은 혈청 GOT 농도를 나타내었으며, 22주령에서 실험군의 혈청 GOT 농도가 특이하게 낮았다.

혈청 GPT는 정상군, 대조군, 실험군 모두, 주령의 증가에 따라 GPT의 농도가 증가되었으나 통계적 유의성은 없었다. 주령별로 약물 처치에 따른 혈청 GPT의 변화를 비교한 결과, 실험군에서 정상군이나 대조군에 비하여 낮은 혈청 GPT 농도를 보였다

혈청 albumin은 주령이 증가하면서 농도가 증가하여, 40주령에서는 정상군, 대조군, 실험군 모두 10주령이나 22주령에 비하여 유의하게 높은 혈청 albumin 농도를 나타내었다. 주령별로 약물처치에 따른 혈청 albumin 농도 변화를 비교한 결과, 22주령에서 실험군이 정상군과 대조군에 비하여 유의하게 낮은 혈청 albumin 농도를 나타내었다.

LDH 농도는 정상군, 대조군, 실험군에서 주령의 증가에 따른 LDH 농도 변화는 나타나지 않았으며, 주령별로 약물 처치에 따른 혈청 LDH의 변화를 비교한 결과, 실험군에서 정상군이나 대조군에 비하여 혈청 LDH 농도가 감소하는 경향을 보였으나 통계적 유의성은 없었다.

쥐의 노화에 따른 blood chemistry 수치의 변화는 조²⁴의 SAM에 있어서의 가령에 따른 혈액학 및 혈액생화학적 변화에 대한 분석 중 SAMP와 SAMR에서 모두 가령에 따라 유의한 혈액학적 변화가 없었다는 것을 보아 본 실험에서도 SD rat의 10주령, 22주령, 40주령간의 혈액학적 변화는 정상치에 기준을 두었을 때 특별한 의미를 갖기 어려운 것으로 보인다. 그러나 쥐의 Blood chemistry 상의 정상치 분석은 쥐의 종, 교배상태, 사육환경 등에 따른 차이가 커 정확한 정상치에 대한 기준이 모호하다. 따라서 같은 환경에서 사육되고 실험된 개체들끼리의 수치변화를 비교하여 실험의 유의성 여부를 판단하는 것이 옳다고 생각 된다.

그러므로 조²⁴의 실험 해석과는 달리 조작된 조건하에서 유의한 변화를 보였다는 것에 주목하였을 때 이번 실험의 결과에 拱辰黑元丹의 Blood chemistry 중 GOT, albumin 등의 유의한 수치 변화와

각 주령에서 정상군이나 대조군에 비하여 실험군의 GOT, GPT, LDH등의 농도가 낮았다는 것은 拱辰黑元丹의 간세포 보호 효과에 대한 가능성을 보여주는 결과로 사료된다.

Bilirubin은 적혈구 중 hemoglobin에서 유래하여 간 또는 비장의 망체내 세포에서 효소에 의해 산화, 환원 반응으로 생기는 화합물로서 체내 항산화물질의 하나로 알려져 있다²⁹. 빌리루빈의 항산화 작용은 비타민 C의 12분의 1, 요산의 3배의 활성이 있다³⁰.

본 실험에서 혈청 total bilirubin의 농도는 정상군과 대조군에서는 22주령에서 10주령에 비하여 증가하였다가 노화가 진행되는 40주령에서는 크게 감소하는 경향을 나타내었으나, 실험군에서는 주령에 따른 변화를 나타내지 않았고 40주령에서 정상군과 대조군이 각각 0.154±0.043mg/dl, 0.158±0.041mg/dl로 낮게 나옴에 비하여 실험군에서는 0.324±0.026mg/dl로 높게 나와 拱辰黑元丹이 항산화물질인 total bilirubin을 증가시켜 체내 항산화력 증진에 효과가 있는 것으로 사료된다.

수지상세포(dendritic cell)는 사람의 혈액에 아주 조금 들어있는 나뭇가지 모양의 백혈구로, 외부에서 침입하는 암, 바이러스, 박테리아 등을 체내 면역계에 알리고 암세포를 공격하게 하는 것으로 알려져 있다³¹.

실험동물의 비장 조직으로부터 老化에 따른 수지상세포의 분포 정도의 변화를 FACs를 이용하여 측정한 결과, 주령이 증가함에 따라 수지상세포의 분포가 감소하였으나, 실험군에서는 정상군이나 대조군에 비하여 수지상세포의 분포가 높다는 것을 확인할 수 있었다.

수지상세포에 관한 연구는 현재 각종 종양에 대한 치료와 면역계의 기능들에 대한 실험적인 연구들은 활발하게 이루어지고 있으나^{32,33} 노화와 관련하여 행하여지는 수지상세포에 관한 연구는 아직 활발하지 않다.

본 실험의 결과는 拱辰黑元丹이 면역능 저하와 세포변이를 통한 질병의 발현 등에 억제적 작용으로 노인의 질병발생의 감소와 수명의 단축을 막을 수 있는 가능성을 보여주는 것이라 사료된다.

인체의 抗酸化力에 관여하는 요소는 크게 두 가지로 나눌 수 있는데, 체내 항산화 효소계와 비효소 항산화 물질이다^{34,35}.

체내 항산화 효소계에는 구리, 아연, 망간으로부터 생성되어 O₂를 제거하는 SOD효소가 대표적이고, 철을 조효소로 하여 구성된 CAT(Catalase)와 셀레늄을 조효소로 하는 GPX(Glutathion Peroxidase)는 H₂O₂를 제거하는데, GPX는 손상된 세포를 원래상태로 수리, 복구하는 기능도 한다고 알려져 있다^{34,35}.

비효소 항산화 물질은 체내에서 만들어 지는 것과 체외에서 공급받아야 할 것으로 나뉜다. 체내 항산화 물질로는 금속결합 단백질인 albumin, ferritin, transferrin과 glutathione(GSH), uric acid, bilirubin, 멜라토닌 등이 있다^{34,35}.

본 실험에서는 분획한 간, 심, 비, 폐, 신의 조직으로부터 항산화 효과를 측정하기 위하여, 항산화 효소인 SOD 활성도와 항산화 물질인 GSH 농도를 측정하였다.

간 조직 내 SOD 활성도는 정상군에서는 주령이 증가함에 따라 증가하였고, 대조군과 실험군은 22주령에서는 SOD 활성도가 증가하였다가, 40주령에서는 다시 SOD 활성도가 감소하였다. 拱辰黑元丹의 투여에 따른 간장내 SOD 활성도는 통계적으로 유의한 변화를 보이지 않았다.

Glutathione peroxidase는 Se가 주원소로 되어 있으며 free radical을 H₂O로 변환시켜 생성된 활성 산소를 체외로 배설시키는 해독계 효소이며 항산화 물질인 산화형 GSH는 비타민 E와 더불어 불포화 지방산의 과산화를 방지하는 작용을 하여 체내 항산화력 증진에 중요한 항산화물질이다³⁶.

본 실험에서 항산화 물질인 산화형 GSH 농도는 정상군, 대조군, 실험군 모두 10주령에 비해 22주령, 40주령으로 갈수록 활성이 감소하였다. 拱辰黑元丹의 투여에 따른 肝臟 내 GSH 농도는 모든 주령에서 정상군, 대조군에 비하여 증가하였으며, 22주령 실험군(147.88±6.273umol/ℓ)에서는 정상군(128.797±6.887umol/ℓ)이나 대조군(124.317±14.212umol/ℓ)에 비하여 증가 되었으며, 초기노화상태로 설정한 40주령의 실험군(133.213±15.842umol/ℓ)

에서는 정상군(102.577±4.242umol/ℓ)에 비하여 통계적으로 유의하게 높은 농도를 나타내었다.

脾臟의 경우, 전반적으로 주령이 증가함에 따라 비장내 SOD 활성도가 증가하였으며, 拱辰黑元丹 투여에 따른 脾臟 내 SOD 활성도 변화는 나타나지 않았다.

정상군, 대조군, 실험군 모두 주령이 증가함에 따라 비장 내 GSH 농도가 감소하였으며, 拱辰黑元丹 투여에 따른 비장 내 GSH 농도 변화는 나타나지 않았다.

주령의 증가나 拱辰黑元丹의 투여에 따른 폐 조직 내 SOD 농도는 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았다. 폐내 GSH 농도는 주령의 증가에 따라 감소하였으며, 拱辰黑元丹의 투여에 따른 폐내 GSH 농도는 22주령과 40주령에서 정상군에 비하여 증가되었으나 대조군과 비교하여 유의성을 보이지 않았다.

신장 조직의 항산화 물질의 측정 결과 주령의 증가나 拱辰黑元丹의 투여에 따른 신장내 SOD 농도는 별다른 차이를 나타내지 않았다. 신장내 GSH 농도는 정상군에서는 22주령에서 10주령에 비하여 유의하게 증가하였다가, 40주령에는 22주령에 비하여 유의하게 감소하였다.

대조군과 실험군에서는 주령의 증가에 따라 신장 내 GSH 농도가 점차 증가하였다. 40주령에서는 拱辰黑元丹을 투여한 실험군(131.993±8.943umol/ℓ)과 대조군(127.97±15.965umol/ℓ)의 신장내 GSH 농도가 정상군(91.037±15.659umol/ℓ)에 비하여 증가하는 경향을 나타내었으며 특히 실험군에 있어서는 정상군에 비하여 유의성 있게 증가됨을 관찰할 수 있었다.

심장 조직 검사에서 주령의 증가나 拱辰黑元丹의 투여에 따른 심장내 SOD 농도는 유의한 차이를 나타내지 않았다. 심장 내 GSH 농도는 주령에 따른 특별한 경향성은 없었으나, 정상군의 22주령에서 증가하였다 40주령에서 농도가 감소하였으며 대조군과 실험군에서는 주령에 따라 감소하는 양상을 보였다. 특히 실험군의 10주령에서 대조군과 실험군에 비하여 심장 내 GSH 농도가 유의하게 높았으며 40주령에서도 정상군보다 높은 농도를

나타내었다.

뇌 조직내 SOD 농도는 주령의 증가나 拱辰黑元丹의 투여에 따른 유의한 차이를 나타내지 않았으나, 뇌 조직내 GSH 농도는 정상군 대조군 실험군 모두 22주령에는 10주령에 비하여 농도가 유의하게 증가하였다가, 40주령에는 다시 22주령에 비하여 유의하게 감소하는 경향을 나타내었다. 拱辰黑元丹 투여에 따른 뇌 조직 내 GSH 농도는 유의한 차이가 없었다.

홍²⁸의 생쥐에서 연령의 증가에 따른 항산화 효소의 발현에 관한 연구를 보면 1주, 4주, 16주, 32주령의 쥐의 SOD와 catalase 발현에 대하여 mRNA level에서 관찰한 결과 1주에서 특이적으로 유전자 발현이 높고 4주까지 차차로 감소하였다. 32주령까지 점차로 다시 증가하였다. 이는 장²¹ 등의 분류에서 성숙기 이후 가령의 쥐를 측정된 것으로 홍²⁸ 역시 유아기에서 장년기까지를 관찰한 것이라 하였다. 이로 미루어 본 실험에서도 22주령의 장기조직 내 항산화 효소의 활성은 증가하고 노화기에 해당하는 40주령에서는 감소 추세로 나타날 것이라 예상 하였다.

그러나 실험 결과 SOD 활성도 및 GSH 농도의 주령에 따른 변화는 각 장기마다 차이가 있었으며, 정상군에서 SOD 활성도는 대체로 40주령까지 주령이 증가함에 따라 상승하였고 GSH 농도는 40주령까지 주령이 증가함에 따라 감소하였다. 다만 신장과 심장에서만 SOD 활성도가 22주령에 감소하였다 증가하였으나 통계적으로 유의하지는 않았다. GSH 농도는 22주령에서 유의하게 증가하였다 다시 감소하였다.

이상의 결과, 拱辰黑元丹을 투여한 백서의 肝 조직과 腎 조직에서 항산화물질인 GSH 농도가 40주령에서 통계적으로 유의하게 높게 나타났고 간조직에 있어서는 전 주령에 있어서 대조군과 정상군보다 실험군에서 GSH 농도가 높은 경향을 보여 拱辰黑元丹의 항산화 효과를 확인할 수 있었다.

肝 조직에서 주령의 증가에 따라 감소하는 경향을 보이는 항산화물질인 GSH 농도의 감소를 억제하는 拱辰黑元丹이 태음인의 偏大之臟인 肝臟의 燥熱로 인하여 裏熱病證의 개선은 물론 太陰人

의 老化에 있어서 간의 항산화 물질을 증가시키고, 稟賦한 眞氣의 不足을 補하여 太陰人 老化에 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

본 실험과 같이 肝臟 내 한약물의 항산화 물질 활성에 대한 실험에서 조 등^{37,38}은 SOD 활성 및 GSH 농도가 유의성 있게 증가하였음을 보고하였다.

다른 노화 관련 항산화 효능에 대한 연구로 윤³⁹은 좌귀음과 우귀음이 肝, 腎 등에서 과산화지질을 감소시키고 free radical 활성을 억제하는 효능이 있음을 보고하였고, 이⁴⁰는 귀비탕이 노화 쥐의 脾臟 내 SOD 및 glutathione의 활성을 증가시킴을 보고하였다.

기존의 실험들이 노화 병태 모델에 있어 같은 환경에서 여러 주령의 실험군에 대하여 전반적인 체중이나 혈액상태 및 각 장부 조직의 변화를 관찰한 것이 아니라 특정 장부에 대한 세포수준의 연구였음을 감안하면 다른 실험들과 본 실험에 활용된 약물을 비교하여 약물의 유의성을 판단하기는 어렵다고 사료된다. 또한 본 연구에서 약물의 항산화와 관련된 항노화 효과를 입증하고자 6주령, 18주령, 36주령 백서를 성장기말, 성숙기, 초기노화기로 설정하고 실험한 것은 일정부분 가치가 있을 것으로 사료된다.

사람의 뇌를 구성하는 신경세포의 수는 정확히 알려져 있지는 않으나 적어도 10^{10} 내지 10^{11} 개에 해당한다. 이들 세포의 퇴행성 변화 및 이에 의한 세포소실의 정도는 전노인성 및 노인성 치매의 가장 흔한 형태인 알츠하이머병이나 pick 병, 헌팅턴 무도병 등 뇌의 퇴행성 질환의 발현과 직접 관련되어 있다고 볼 수 있다. 뇌의 신경세포수가 감소되면 그 차지하는 용적도 줄어들고 해당 부위의 위축 현상을 초래하게 된다⁴¹.

신경세포 특히 대뇌피질을 구성하는 신경세포는 사람의 나이가 많아짐에 따라 점차 소실되어 80대가 되면 대뇌피질의 어느 부위에서는 약 50%가 소실되기도 한다. 대뇌피질 뿐 아니라 소뇌나 척수의 전각세포도 상당수 없어진다⁴¹.

신경세포가 모여 있는 구조는 뇌의 회백질 부분인데, 회백질은 크게 나누어 대뇌 및 소뇌의 피질에 분포하는 표재성 회백질과 기저부 신경절이나 뇌간

등에 분포하는 심부 회백질로 나눌 수 있다⁴¹.

본 실험에서는 노화에 따른 실험동물 뇌의 조직학적 구조의 변성과 拱辰黑元丹의 뇌세포에 대한 항노화 효과를 알아보기 위하여, 실험동물의 뇌 조직을 취하여 신경세포가 모여 있는 뇌의 회백질 부분을 확인하였다.

40주령 정상군에서 대뇌 피질 아래쪽 과립층의 분포는 10주령에 비교하여 조밀하지 못하고 넓어져 있음을 확인할 수 있었으나 40주령 실험군은 40주령 정상군이나 40주령 대조군에 비하여 과립층의 분포가 조밀하였다.

이상과 같이 6주령, 18주령, 36주령 백서를 성장기말, 성숙기, 초기노화기로 설정하여 4주간 매일 1%의 공진 흑원단 200 μ 를 경구투여 한 결과 拱辰黑元丹은 Liver index의 변화없이 40주령 초기노화 백서의 체중 증가를 지연시키고, Blood chemistry 분석에서는 GOT, albumin 유의한 개선 효과가 있었다. 간, 심장, 비장, 폐, 신장, 뇌조직 내의 SOD activity, GSH를 측정 한 결과 40주령 백서의 간 조직과 신장조직에서 GSH 농도 증가에 의한 항산화 효과가 있는 것으로 나타나 향후 임상에서의 활용과 함께 기전에 대한 연구가 더욱 필요할 것으로 사료된다.

V. 結 論

拱辰黑元丹의 抗老化 및 항산화 작용을 실험적으로 입증하고자 6주령, 18주령, 36주령 백서를 성장기말, 성숙기, 초기노화기로 설정하여 4주간 매일 1%의 拱辰黑元丹 200 μ 를 경구투여한 후 체중증가와 Liver index를 측정하고, Blood chemistry를 분석하였으며, 간, 심, 비, 폐, 신장과 뇌 조직에서의 SOD 및 GSH 농도를 분석한 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 拱辰黑元丹은 22주령 성숙기와 40주령 초기노화 백서의 혈청 albumin과 GOT를 유의하게 낮추었다.
2. 拱辰黑元丹은 40주령 초기노화 백서에서 혈청 total bilirubin의 농도를 정상군과 대조군에

유의하게 비하여 증가시켰다.

3. 拱辰黑元丹은 40주령 초기노화 백서에서 혈청 LDL-cholesterol을 10주령, 22주령 백서에 비해 유의하게 증가시켰다.
4. 拱辰黑元丹은 10주령 성장기말, 22주령 성숙기 백서의 혈청 glucose를 유의하게 증가시켰다.
5. 拱辰黑元丹은 실험군에서 脾臟 내 수지상세포의 분포를 증가시켰다.
6. SOD 활성도는 간, 비장, 폐, 심장, 신장, 뇌조직 등에서 주령의 변화나 약물의 투여에 따른 특이성이 관찰되지 않았다.
7. 拱辰黑元丹은 40주령 초기노화 백서의 GSH 농도를 肝臟 조직과 腎臟 조직에서 정상군과 대조군에 비하여 유의하게 증가시켰다.
8. 拱辰黑元丹은 40주령 초기노화 백서에서 대뇌 과립층의 조직학적 퇴행이 억제하였다.

VI. 參 考 文 獻

1. 대한노인병학회. 노인의학. 의학출판사, 서울, 2002:18-19.
2. 이충일. 한국노년의 건강. 소화, 서울, 2001:28-34.
3. 이윤로. 인간생활과 사회환경. 창지사, 서울, 2006: 222.
4. Harman, D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. J. gerontol. 1957; 2:298-300.
5. Yu BP. Aging and oxidative stress: modulation by dietary restriction. Free Rad Biol Med. 1996;21: 651-68.
6. Mehlhorn R. J. et al. The free radical theory of aging: A critical review. Adv. Free Radical Biol. Med. 1985;1:165-223.
7. 최병기 외. 활성산소와 질환. 신일상사, 서울, 2004: 213-219, 247-262, 279-281.
8. 李濟馬. 四象醫學原論. 행림출판, 서울, 1992:114.
9. 김선민, 송일병. 東醫壽世保元四象草本卷에 서의 양생에 관한 고찰. 사상체질의학회지. 2000; 12(1):101-109.
10. 유정희, 이의주, 송일병, 고병희. 老化和 수명에

- 관한 사상의학적 양생관에 대한 고찰. 사상체질의학회지. 2002;14(3):7-16.
11. 송일병 외. 개정증보 사상의학. 집문당, 서울, 2005:201, 423, 423, 538, 342-353.
 12. 최선화 외. 사회문제와 사회복지. 양서원, 서울, 2006:419.
 13. Mark H. BEERS. 머크 매뉴얼 제17판. 한우리, 서울, 2002:2658-2660.
 14. Lehinger. Lehinger 생화학 제 2판. 서울서적, 서울, 1995:897, 940, 941.
 15. Halliwell B. Free radical, antioxidant and human disease. *Lancet*, 1994;344:721-724.
 16. 정용재, 이수경, 이의주, 고병희, 송일병. 동의보감과 동의수세보원사상초본권에 나타난 양생관에 대한 고찰. 사상체질의학회지. 2002;14(2):25-34.
 17. 임응추. 황제내경장구색인. 중사, 서울, 1992:7-9.
 18. 河北醫學院 校釋. 靈樞經校釋. 人民衛生出版社, 북경, 1982:355.
 19. 김달래 編譯. 東醫壽世保元四象草藥. 정담, 서울, 1999:41-46.
 20. 송일병. 사상인의 체질병증약리에 관한 고찰. 사상체질의학회지. 1998;10(2):9-12.
 21. 장응찬. 흰쥐에서 연령이 골격근의 당대사에 미치는 영향. 영남대학학술지. 2001;18(1):94-100.
 22. 박순권. 한약물의 치매치료에 관한 실험적 연구. 동의신경정신과 학회지. 1998;9(2):19-35.
 23. 강어진. 노화흰쥐의 장내균총에 대한 식이섬유 질원의 영향. *KOREAN J. FOOD & NUTR.* 1998; 11(4):388-393.
 24. 조규혁. 한국화학연구소 콜로니의 노화촉진 마우스(SAM)에 있어서 가령에 따른 기초연구 : 노화도, 번식성적, 혈액학, 혈액생화학 및 요생화학. *Korean J. of the Lab. Anim. Sci.* 1999; 15(3):315-324.
 25. 조한숙. 노화과정의 흰쥐에서 보간환이 간장의 대사효소계에 미치는 영향. 대전대학교 한의학연구소 논문집. 1999;8(1):711-726.
 26. 서경석. 오자지황음자가 노화백서의 혈액 변화와 혈청·뇌조직의 항산화활성에 미치는 영향. 동의신경정신과 학회지. 1999;10(1):79-93.
 27. 김인재. 가미귀비충명탕이 노화 백서의 혈액 변화 및 혈청과 뇌조직의 항산화물 활성에 미치는 영향. 동의신경정신과 학회지. 1998;9(2): 53-69.
 28. 홍진영. 생쥐에서 연령의 증가에 따른 항산화 효소의 발현에 관한 연구. 한남대학교논문집 자연과학공학편. 2003;33:59-66.
 29. 이귀녕. 제3편 임상병리과일. 의학문화사. 서울, 2003:335, 498.
 30. 김승업. 불로장수의 科學. 삶과꿈, 서울, 2005: 68-76, 90-98.
 31. Robinson, Stephen P. Dendritic cell protocol. Humana press, New Jersey, 2001.
 32. 김태규. 수지상 세포 (dendritic cell) 관련 연구의 국내 현황 : 기초 분야. 생화학 분자생물학소식. 2003;10(3):27-30.
 33. 이건국. 수지상세포(dendritic cells; DC)의 임상적 활용. 생화학 분자생물학소식. 2003;10(3):31-35.
 34. 김영근. 抗酸化劑 Antioxidant. 여문각, 서울, 2004:14-140.
 35. 니와 유키에. 활성산소가 죽음을 부른다. 글이랑, 서울, 1995:57-68.
 36. Sakamoto Y. et al. Glutathione(3rd Ed). Scientific, 1989:5.
 37. 조한숙. 노화과정의 흰쥐에서 보간환이 간장의 대사효소계에 미치는 영향. 대전대학교 한의학연구소 논문집. 1999;8:711-726.
 38. 박성민. 보중익기탕과 육미지황탕이 노화촉진 생쥐(SAM)의 간장내 항산화작용에 미치는 영향. 대한본초학회지, 2003;18:175-191.
 39. 鄭智天. 左歸飲과 右歸飲에 의한 活性酸素類의 消去作用과 抗酸化 酵素系의 活性증가 效果에 대한 研究. 大韓韓醫學學會誌. 1996; 17(1):465-477.
 40. 이동준. 노화과정의 흰쥐에서 보비탕이 비장의 대사효소계에 미치는 영향. 대전대학교한의학연구소 논문집. 1999;15:689-710.
 41. 지계근. 신경병리학. 서울대학교출판부, 서울, 1993:111-123.