

원저

熊膽合牛黃 藥鍼液의 Nitric Oxide에 대한 抑制效果

우창훈 · 이경민 · 이봉효 · 임성철 · 정태영 · 서정철

대구한의대학교 한의과대학 침구경혈학교실

Abstract

The Scavenging Effect on Nitric Oxide in Ursi Fel · Bovis Calculus Herbal-acupuncture Solution

Woo Chang-hoon, Lee Kyung-min, Lee Bong-hyo, Lim Seong-chul, Jung Tae-young and Seo Jung-chul

Department of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Daegu Haany University

Oxidative damage to DNA, proteins, lipids and other molecules may contribute to the development of neurodegenerative disease.

This study was designed to find out whether Ursi Fel · Bovis Calculus Herbal-Acupuncture Solution(UBHAS) can scavenge nitric oxide(NO) or not. NO concentration was estimated after treatment with Vit. C or 1, 10, 100 μ g/ml of UBHAS.

There was no significant scavenging effect of UBHAS on NO in 1, 100 μ g/ml group. while significant scavenging in 10 μ g/ml group after 2hrs. UBHAS showed significant scavenging effects on NO in 1, 10, 100 μ g/ml group after 6hrs. There was a significant scavenging effect in 10, 100 μ g/ml group. even though no significant in 1 μ g/ml group after 12, 24 hrs.

This study showed that UBHAS might be used for aging related disease. These results suggest that UBHAS has scavenging effect on NO. however, further studies are required to investigate the antioxidative effects of it.

Key words : Ursi Fel · Bovis Calculus, Herbal-Acupuncture Solution, Nitric oxide

· 접수 : 2007년 3월 10일 · 수정 : 2007년 3월 22일 · 채택 : 2007년 3월 22일
· 교신저자 : 서정철, 대구시 수성구 상동 165번지 대구한의대학교 한의과대학 침구경혈학교실
Tel. 054-450-7707 E-mail : acumox@hanmail.net

I. 序 論

최근 여러 가지 老化와 관련된 문제들은 개인의 문제만이 아닌 사회적인 문제로 부각되고 있으며 이에 대한 많은 연구가 이루어지고 있다¹⁾.

西洋醫學에서 老化에 관한 學說로는 크게 소모설(wear and tear theory)과 유전자설(genome-based theory)의 개념으로 나누어지며 이 중 소모설의 대표적인 학설인 free radical설에 많은 연구가 이루어지고 있다²⁾. Free radical설은 1956년 Harman³⁾이 세포에 의한 산소 이용 기전에 중점을 두고 제안한 것으로 free radical이란 떨어져 나간 분자의 조각들이거나 그 구조로부터 떨어져 나간 전자를 가지고 있는 분자들이다. 떨어져 나간 조각들은 다른 분자에 달라붙어 원래의 구조나 기능을 손상시키거나 변화시킨다. 즉 free radical이 세포막의 구조와 기능을 손상시켜 노화를 일으키게 한다는 이론이다⁴⁾.

Free radical 중 하나인 NO(nitric oxide)는 생체 내에서 다양한 생리학적 작용, 즉 평활근의 이완⁵⁾, 혈소판의 작용억제, 면역조절⁶⁾, 신경 전달 물질 등의 중요한 역할을 담당할 뿐 아니라 단백질 생성 및 DNA의 형성에도 영향을 미친다⁷⁾. 그러나 過量의 NO는 조직을 손상시키고 염증을 유발하므로 NO의 생성은 조절될 필요가 있다고 여겨지며, NO의 억제제가 고혈압, 패혈증성 쇼크(septic shock), 뇌졸중, 癌, 성교 불능과 같은 병들을 치료하는 데 유용할 것으로 연구되고 있다^{8,9)}.

熊膽(Ursi Fel)은 熊科에 속한 곰의 膽囊을 절취하여 건조한 膽汁으로, 苦寒한 性味로 肝, 膽, 心, 胃經에 들어가 清熱止癍, 清心平肝, 清熱解毒, 明目祛翳, 殺蟲 등의 효능이 있으며, 牛黃(Bovis Calculus)

은 牛科에 속한 黃牛, 水牛의 膽囊結石으로 味苦甘, 性涼하여 心, 肝經에 들어가 清熱解毒, 熄風正癍, 利膽涼膈 등의 효능이 있다^{10,11)}.

熊膽과 牛黃은 주로 임상에서 亞急性 重症 肝炎, 炎症으로 인한 浮腫, 疼痛 등의 治療에 응용되어 온 藥對로^{12,13)} 熊膽과 牛黃의 配合과 관련한 研究로는 나 등¹⁴⁾이 熊膽, 牛黃의 抗微生物 活性에 대한 研究를 하였고, 위 등¹⁵⁾이 熊膽·牛黃 藥鍼이 흰쥐의 관절염에 미치는 효과를 報告하였고, 차 등¹⁶⁾은 熊膽·牛黃 藥鍼이 생쥐 피부암의 면역기능에 미치는 영향을 연구하였다.

최근 熊膽에 대한 NO에 관한 研究로 주 등¹⁷⁾은 응답추출 활성성분이 NO에 의한 세포손상 유도억제 효과가 있다고 하였고, 牛黃에 대한 NO에 관한 研究로 손 등¹⁸⁾은 牛黃이 생쥐의 NO 분비에 영향을 미친다는 報告를 하였으나, 熊膽合牛黃 藥鍼液의 NO 억제를 통한 抗酸化 效果에 대한 報告는 미미한 상황이다.

이에 著者는 熊膽合牛黃 藥鍼液의 free radical 抑制效果를 살피기 위해 NO 抑制 실험을 한 結果를 다음과 같이 보고하는 바이다.

II. 實 驗

1. 材料

1) 藥材

本 實驗에서 사용한 熊膽, 牛黃은 대구한의대학교 附屬大邱韓方病院 藥劑科에서 엄선한 것을 사용하였으며 試料의 生藥名과 學名은 다음과 같다.

Table 1. The Botanical Name of Ursi Fel and Bovis Calculus

藥物名	生藥名	學名
熊膽	Ursi Fel	<i>Ursus arctos</i> Linne
牛黃	Bovis Calculus	<i>Bos taurus</i> var. <i>domesticus</i> Gmelin

2. 方法

1) 熊膽合牛黃藥鍼液의 製造

실험에 사용한 熊膽合牛黃藥鍼液은 熊膽과 牛黃 각 175g을 취해 粗末하여 圓底 flask에 넣고, 증류수 2,000ml를 가한 後, 3시간 煎湯하여 추출하고 여과하

였다. 濾液은 rotary evaporator로 감압농축하고 농축액에 증류수를 가하여 全量을 200ml가 되도록 한 다음, 실온까지 냉각하고 ethanol을 가하여 75% ethanol 용액으로 되게 한 다음, 교반하고 저온에서 방치하여 생성된 침전물을 여별하였다. 濾液을 다시 rotary evaporator로 감압농축한 농축액에 증류수 100ml를 가하고 용해시킨 후, ethanol을 가하여 85% ethanol 용액으로 되게 한 다음 교반하고 저온에서 방치하여 생성된 침전물을 여별하였다. 濾液을 다시 rotary evaporator로 감압농축한 농축액에 증류수 100ml를 가하고 용해시킨 후, ethanol을 가하여 95% ethanol 용액으로 되게 한 다음 교반하고 저온에서 방치하여 생성된 침전물을 여별하였다. 여액을 다시 rotary evaporator로 감압농축하여 생성된 농축액에 생리식염수를 가하고 3% NaOH로 pH 6~7로 조절하여 전량이 1,000ml가 되게 한 다음, 저온에서 24시간 방치한 후 nuclepore filter(0.45 μ m, 직경 25mm, Millipore Corp, Pleasanton, California, U.S.A.)로 여과하고 가압멸균하여 시료의 원액으로 사용하였다.

2) NO 抑制效果 測定

(1) NO 생성화합물

NO generator로는 S-nitroso-N-acetylpenicillamine (SNAP)를 사용하였다. 먼저 NaNO₂ 1.63g을 증류수 20ml에 녹였다. 20ml의 methanol과 20ml의 HCl을 섞어 1.91g의 N-acetylpenicillamine을 녹였다. 후드 안에서 NaNO₂ 용액을 N-acetylpenicillamine 용액에 2-3ml씩 첨가하면서 dull green이 나타나는지를 확인하면서 천천히 반응시켰다. 반응이 다 끝나면 여과를 하여 여과지에 2-3일 동안 호일을 덮어 공기 중에서 건조시켰다. 여과지에 남아 있는 분말을 수거하여 다음 실험에 사용하였다. 일반 시약은 Sigma(USA) 제품을 사용하였다.

(2) NO 측정

Phosphate-buffered saline(PBS) 1ml에 표준 프로토콜에 따라 SNAP 500uM을 첨가한 후 Vitamin C(ascorbic acid 100ug/ml, Vit. C)와 熊膽合牛黃藥鍼液을 농도별로 첨가한 후 CO₂ incubator 37°C, 5% CO₂, 95% O₂ 조건 하에서 24시간동안 배양하였다. 각 조건별로 100 μ l씩 3개씩 96-well plate를 사용하여 분주한 후 100 μ l의 Griess 용액을 첨가하여 540nm 파장에서 흡광도를 측정하였다¹⁹⁾. 이 때

NaNO₂ 용액을 표준으로 하여 농도를 계산하였다. 일반 시약은 Sigma(USA) 제품을 사용하였다.

3) 統計處理

통계분석은 Statistical Package for Social Science Software SAS(version 8.2)를 사용하였으며 데이터의 분석은 Student's t-test를 이용하였고 통계적인 유의성은 p<0.05로 하였다. 모든 실험은 독립적으로 3번 이상 반복하였고 mean \pm standard errors of means (SEM)로 나타내었다.

III. 結果

1. NO 농도의 표준곡선

NO 농도의 표준곡선을 도출하기 위하여 다양한 농도의 NaNO₂용액을 540nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 그 결과 NO₂의 농도(y)는 흡광도(x)에 비례하며 $y = 169.3x - 0.08$ 과 같은 식으로 나타났 다(Fig. 1).

2. 2시간 경과 후 NO 抑制效果

熊膽合牛黃藥鍼液에 대하여 2시간 경과 후 NO 농도는 無處置群이 100.0 \pm 2.80%, Vit. C 處置群은 65.7 \pm 4.20%로 無處置群에 비하여 유의성있게 감소하였다(p<0.01). 熊膽合牛黃藥鍼液 10 μ g/ml 處置群은 83.3 \pm 5.20%로 無處置群에 비하여 유의성있게 감소하였다(p<0.05). 그러나 熊膽合牛黃藥鍼液 1, 100 μ g/ml 處置群은 각각 88.0 \pm 3.67, 74.7 \pm 10.35%로 나타나 無處置群에 비하여 유의성은 없었다(Fig. 2).

3. 6시간 경과 후 NO 抑制效果

熊膽合牛黃藥鍼液에 대하여 6시간 경과 후 NO 농도는 無處置群이 100.0 \pm 7.10%, Vit. C 處置群은 51.8 \pm 3.30%로 無處置群에 비하여 유의성있게 감소하였다(p<0.01). 熊膽合牛黃藥鍼液 1, 10, 100 μ g/ml 處置群은 각각 68.8 \pm 2.10, 64.7 \pm 2.98, 55.2 \pm 5.94%로 나타나 無處置群에 비하여 유의성 있게 감소하였다. (각각 p<0.05, p<0.05, p<0.01)(Fig. 3).

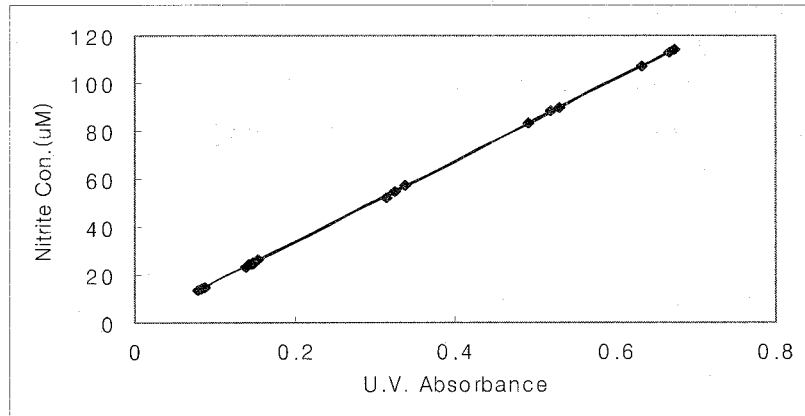


Fig. 1. Standard curve for nitrite concentration

The formula shown in the graph was derived and was subsequently used to estimate nitrite concentration from U.V. absorbance (540nm).

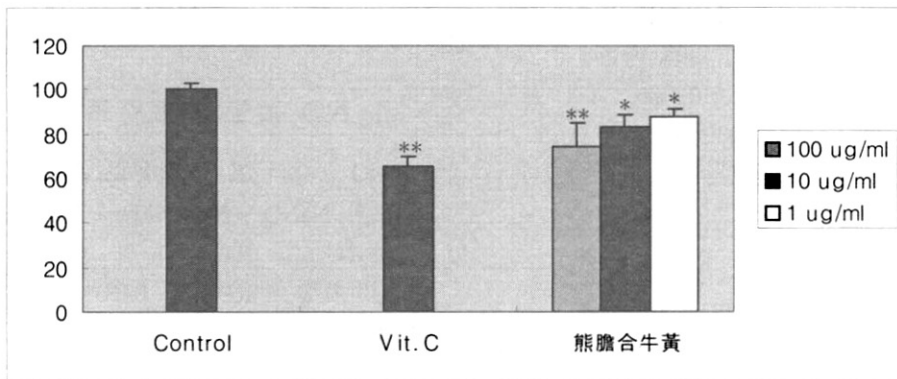


Fig. 2. Nitrite ratio at 2 hours after 1mM SNAP and Herbal acupuncture solution treatment

Ursi Fel·Bovis Calculus Herbal acupuncture solution was treated at 100, 10 and 1 μ g/ml of concentration. Each bar represents the mean(\pm SEM)(n=3). These data were obtained from at least 3 time repetition. Significant differences calculated via Student's t-test are marked with asterisks. *p<0.05; **p<0.01 vs. control group. Y axis means nitrite ratio(%).

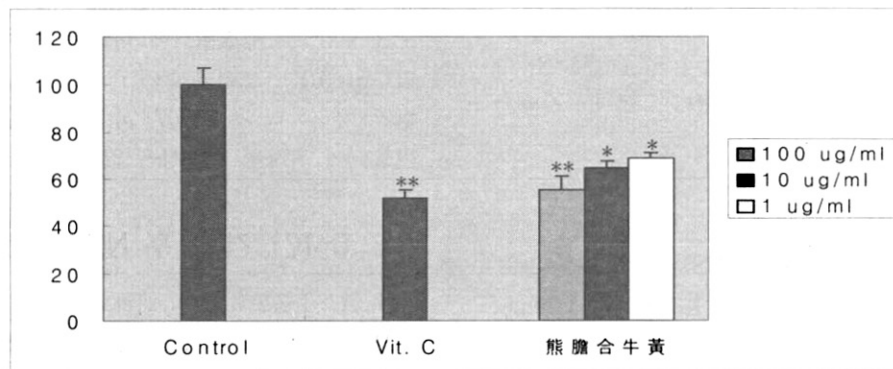


Fig. 3. Nitrite ratio at 6 hours after 1mM SNAP and Herbal acupuncture solution treatment

Ursi Fel·Bovis Calculus Herbal acupuncture solution was treated at 100, 10 and 1 μ g/ml of concentration. Each bar represents the mean(\pm SEM)(n=3). These data were obtained from at least 3 time repetition. Significant differences calculated via Student's t-test are marked with asterisks. *p<0.05; **p<0.01 vs. control group. Y axis means nitrite ratio(%).

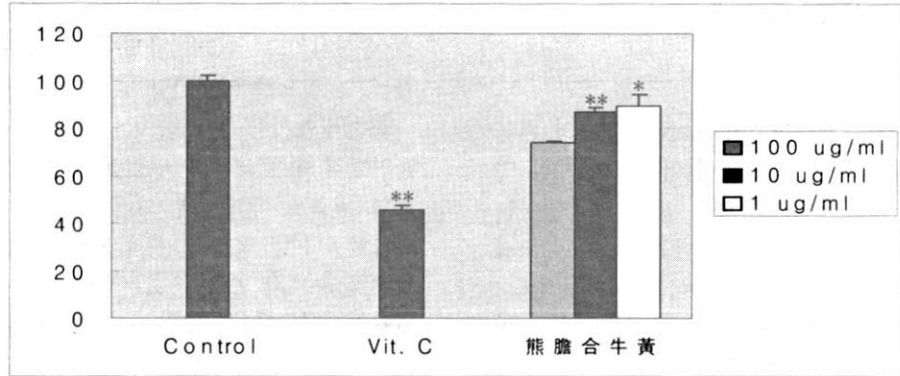


Fig. 4. Nitrite ratio at 12hours after 1mM SNAP and Herbal acupuncture solution treatment Ursi Fel · Bovis Calculus Herbal acupuncture solution was treated at 100, 10 and 1 μ g/ml of concentration. Each bar represents the mean(\pm SEM)(n=3). These data were obtained from at least 3 time repetition. Significant differences calculated via Student's t-test are marked with asterisks. *p<0.05; **p<0.01 vs. control group. Y axis means nitrite ratio(%).

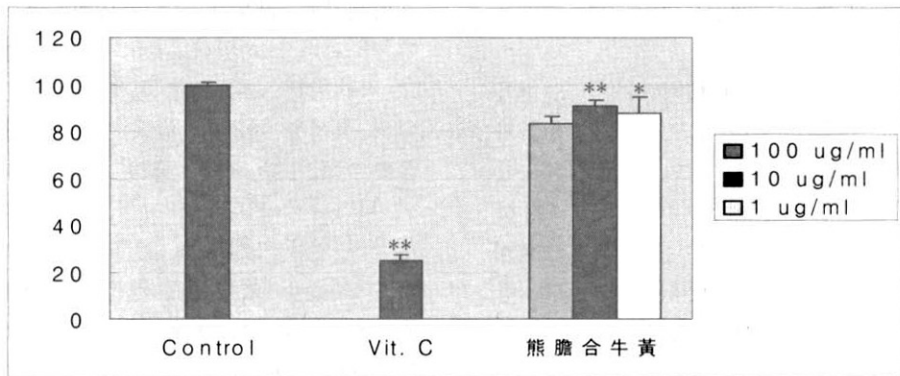


Fig. 5. Nitrite ratio at 24hours after 1mM SNAP and Herbal acupuncture solution treatment Ursi Fel · Bovis Calculus Herbal acupuncture solution was treated at 100, 10 and 1 μ g/ml of concentration. Each bar represents the mean(\pm SEM)(n=3). These data were obtained from at least 3 time repetition. Significant differences calculated via Student's t-test are marked with asterisks. *p<0.05; **p<0.01 vs. control group. Y axis means nitrite ratio(%).

4. 12시간 경과 후 NO 抑制效果

熊膽合牛黃藥鍼液에 대하여 12시간 경과 후 NO 농도는 無處置群이 100.0 \pm 2.30%, Vit. C 處置群은 45.3 \pm 2.20%로 無處置群에 비하여 유의성있게 감소하였다(p<0.01). 熊膽合牛黃藥鍼液 10, 100 μ g/ml 處置群은 각각 86.8 \pm 2.03, 73.7 \pm 0.44%로 無處置群에 비하여 유의성있게 감소하였다(각각 p<0.05, p<0.01). 그러나 熊膽合牛黃藥鍼液 1 μ g/ml 處置群은 89.3 \pm 5.07%로 나타나 無處置群에 비하여 유의성은 없었다(Fig. 4).

5. 24시간 경과 후 NO 抑制效果

熊膽合牛黃藥鍼液에 대하여 24시간 경과 후 NO 농도는 無處置群이 100.0 \pm 1.09%, Vit. C 處置群은 24.8 \pm 2.27%로 無處置群에 비하여 유의성있게 감소하였다(p<0.01). 熊膽合牛黃藥鍼液 10, 100 μ g/ml 處置群은 각각 90.9 \pm 2.16, 83.4 \pm 2.71%로 無處置群에 비하여 유의성있게 감소하였다(각각 p<0.05, p<0.01). 그러나, 1 μ g/ml 處置群은 87.9 \pm 6.91%로 유의성은 없었다(Fig. 5).

IV. 考 察

老化란 노년기를 규정하면서 Stahley Hall이 처음으로 규정한 용어로 수정 이후 일어나는 개체의 전반적인 변화, 즉 구조 및 기능의 변화를 총칭하는 것으로 시간의 경과에 따라 일어나는 기능형태학적 변화와 생물학적 과정을 말한다. 이는 불가역적, 퇴행성의 성질을 가진 것이라고 말할 수 있으며,老化가 일어나면서 인체는 세포 및 체액, 심혈관계, 호흡기계, 소화기계, 비뇨기계, 신경계, 근골격계 등에 전체적인 변화를 겪게 된다²⁰⁾. 현대사회는 의료기술의 발달과 생활향상에 의해 사망률의 저하, 평균수명의 연장, 질병양상의 변화 등으로 노인층의 인구가 증가되고 있으며, 앞으로 이러한 현상은 급속하게 진행될 추세로 노화에 대한 현대인들의 관심이 증가되고 있다.

西洋醫學에서 老化의 기전에 대해 다양한 연구가 진행되고 있으며, 많은 이론이 있으나 모든 노화과정이나 왜 인간의 노화율이 각 개인마다 다른가에 대하여 모든 것을 수용하는 핵심적 이론은 없다. 하지만, 이 중 가장 인정되고 있는 이론은 free radical 설로 체내 효소계, 환원대사, 화학약품, 공해물질, 광화학반응 등의 각종 물리적, 화학적, 환경적 요인 등에 의하여 산소가 반응성 활성산소(reactive oxygen, 예컨대 O₂, HO, H₂O₂, O₂, NO 등)로 전환되어 생체에 독성을 일으키게 된다는 것으로, 老化와 癌, 뇌졸중, 파킨슨병 등의 뇌질환과 심장질환, 허혈, 동맥경화, 피부질환, 소화기질환, 염증, 류머티스, 자기면역질환 등의 각종 疾病의 원인이 된다는 것으로 알려져 있다²¹⁻²³⁾. 이러한 활성산소 중 하나인 NO는 다

양한 생리학적 작용을 가지나⁵⁻⁷⁾, 過量의 NO는 조직을 손상시키고 염증을 유발할 수 있어, 억제될 필요가 있는 것으로 여겨진다⁸⁻⁹⁾.

韓醫學에서는 生, 長, 壯, 老, 死라는 인류생명의 자연법칙 속에 老化를 인식해 왔으며 老化를 생체쇠퇴의 변화로 정체관에 의거한 유기적 관련 하에서 파악하였다²⁴⁾. 老化를 생체에서의 쇠퇴현상으로 파악한 논술로서 잘 인용되는 《素問·上古天真論》²⁵⁾에서 女子는 “六七三陽脈衰於上 面皆焦 髮始白”하고, 男子는 “六八陽氣衰於上 面焦 髮鬢頰白形體皆極”한다 하여, 老化는 男女의 차가 있으리라는 것, 쇠퇴현상으로 신체적으로 표출된 증상과 내부기관 사이에 일정한 상관관계가 고찰된다는 것 등을 나타내었으며, 사람이 50세 이상 되면 인체의 陰陽이俱虛해지므로 老衰證이 나타나 나이가 더할수록 臟腑가 더욱 쇠약해지고 최후에는 精氣皆竭하여 “形骸獨居而終矣”가 된다고 하였다. 老化는 氣血虛損, 隱襲起病하고 多病相兼, 陰陽失調, 易生突變, 易受外邪, 虛實挾雜의 특성을 가지며, 癡呆, 健忘, 失眠, 目眩, 心悸, 耳鳴, 小便不禁, 癱木, 痺證, 腰痛 등의 다양한 증상이 나타나게 된다^{26,27)}. 고²⁴⁾는 韓醫學에서의 老化발생의 원인을 七情太過, 憂鬱內傷, 六淫所傷, 勞傷過度, 房勞過度, 飲食不節, 飢飽失常, 吸煙嗜酒, 先天因素, 環境失宜, 睡眠失常 등으로 정리하였으며, 老化病理說로 腎虛, 瘀血, 痰飲 등의 관점에서 研究가 이루어지고 있는데, 윤 등²⁸⁾은 左歸飲, 右歸飲의 활성산소 생성억제를 報告하였고, 우 등²⁹⁾은 血府逐瘀湯의 지질에 대한 과산화 반응 억제 효과에 대해, 김 등³⁰⁾은 加味歸脾聰明湯의 항산화 효과에 대해 報告하였다.

熊膽은 《藥性論》³¹⁾에 “主小兒五疳, 殺蟲, 治惡

Table 2. Nitrite ratio at 2, 6, 12, 24hours after 1mM SNAP and Herbal acupuncture solution treatment

Treatment	2hours after(%)	6hours after(%)	12hours after(%)	24hours after(%)
Control	100.0±2.30	100.0±7.10	100.0±2.30	100.0±1.09
Vit. C	65.7±4.20**	51.8±3.30**	45.3±2.20**	24.8±2.27**
熊膽合牛黃 1μg/ml	88.0±3.67	68.8±2.10*	89.3±5.07	87.9±6.91
熊膽合牛黃 10μg/ml	83.3±5.20*	64.7±2.98*	86.8±2.03*	90.9±2.16*
熊膽合牛黃 100μg/ml	74.7±10.35	55.2±5.94**	73.7±0.44**	83.4±2.71**

Ursi Fel·Bovis Calculus Herbal acupuncture solution were treated at 100, 10 and 1μg/ml of concentration. Each data represents the mean(±SEM). (n=3). These data were obtained from at least 3 time repetition. Significant differences calculated via Student's t-test are marked with asterisks. *p<0.05; **p<0.01 vs. control group.

瘡”이라고 최초로 기재된 이후 현대에는 淸熱解毒藥類에 분류되어 사용된다. 苦寒한 性味로 肝, 膽, 心, 胃經에 들어가 淸熱止癍, 淸心平肝, 淸熱解毒, 明目祛翳, 殺蟲 등의 효능과 抗炎, 膽汁分泌 促進, 血壓降下, 抗痙攣, 鎮痛, 殺菌, 抗過敏祛痰 등의 작용이 있다^{10,11)}. 牛黃은 《神農本草經》³²⁾에 “牛黃, 味苦平, 主驚癇, 寒熱, 熱盛狂癍, 除邪逐鬼”라고 처음 기재된 이후 현대에서는 淸熱解毒藥類에 분류되어 사용된다. 味는 苦甘하고, 性은 涼하여 心, 肝經에 들어가 淸熱解毒, 熄風正癍, 利膽涼膈 등의 효능과 抗炎, 殺菌, 鎮痙, 降壓, 強心, 中樞神經系 抑制作用 등이 있다^{10,11)}.

熊膽과 牛黃은 주로 임상에서 亞急性 重症 肝炎, 炎症으로 인한 浮腫, 疼痛 등의 治療에 응용되어 온 藥對로¹²⁻³⁾ 熊膽合牛黃 藥鍼에 대한 研究로는, 나 등¹⁴⁾이 熊膽, 牛黃의 微生物 活性에 대한 研究를 하였고 위 등¹⁵⁾이 熊膽·牛黃 藥鍼이 흰쥐의 관절염에서 염증을 억제시키고, 유허세포 및 섬유아세포의 형성에 유의하게 작용한다고 報告하였고, 차 등¹⁶⁾은 熊膽·牛黃 藥鍼이 생쥐 피부암에서 면역기능을 항진시킬 수 있다고 報告하였다.

최근 熊膽의 NO에 관한 研究로 주 등¹⁷⁾은 응답 추출 활성성분이 NO에 의한 세포손상 유도억제효과가 있다고 報告하였고, 牛黃의 NO에 관한 研究로 손 등¹⁸⁾은 牛黃이 생쥐의 NO분비에 투여기간에 따라 증가, 감소의 영향을 미친다는 報告를 하였다. 그러나, 熊膽合牛黃 藥鍼液의 NO 억제를 통한 抗酸化 효과에 대한 報告는 미비한 상황이다. 이에 著者는 熊膽合牛黃 藥鍼液의 free radical 抑制效果를 살피기 위해 NO 抑制 실험을 하였다.

本 實驗에서 NO generator로는 SNAP를 사용하였다. NO generator로 SNAP를 사용한 논문은 한 등³³⁾, 서 등³⁴⁾, 김 등³⁵⁾이 각각 數種의 藥鍼液, 蜂藥鍼液, 白何首烏藥鍼液에 대해 NO 억제효과를 보고한 바 있다. 熊膽合牛黃藥鍼液의 抗酸化效能을 알아보기 위해 熊膽合牛黃藥鍼液을 1, 10, 100 μ g/ml로 나누어 2, 6, 12, 24시간 동안 NO 농도를 測定하였다. 그 결과를 도표로 정리하면 Table 2와 같다.

本 研究에서는 熊膽合牛黃藥鍼液은 농도의존적으로 NO 억제효과가 관찰되었고, 유 등³⁶⁾이 연구한 熊膽合牛黃合麝香藥鍼液의 NO 抑制效果와 비교하였을 때 藥鍼液의 농도가 1, 10 μ g/ml에서 2, 6, 12시간 처치의 경우 熊膽合牛黃藥鍼液이 우수한 효과를 나타내었고 24시간 처치 후의 경우 熊膽合牛黃藥鍼液

의 NO 抑制效果가 떨어지는 것으로 나타났으며 100 μ g/ml에서는 모든 시간 처치 후에서 熊膽合牛黃藥鍼液이 우수한 효과를 나타내었다. 다만 강력한 항산화제로 알려진 Vitamin C에 미치지 못하는 듯하였다. 그러나 여러 시간에 따른 처치 중 6시간 처치의 경우에 가장 뛰어난 NO 억제효과가 나타나 시간의존적인 NO 억제효과는 보이지 않았다.

本 研究의 한계점으로는 熊膽, 牛黃藥鍼液이 단독으로 사용되었을 때의 抗酸化作用과 熊膽合牛黃藥鍼液의 효과를 비교하지 못한 점이다. 또한 기존의 다양한 시료 항산화 효과에 대한 논문과 연구방법이 대동소이한 점이 있어 일일이 그 효과를 비교하지 못하였다. 향후 단일 약침액 처치와 복합처방의 약침액 처치에 대한 비교 실험과 더불어 熊膽合牛黃藥鍼液의 적절한 처치 시간의 선택을 위한 연구와 NO 이외에 다른 free radical을 이용한 熊膽合牛黃藥鍼液의 抗酸化作用에 대한 심도있는 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 結 論

熊膽合牛黃藥鍼液의 抗酸化效能을 알아보기 위해 NO농도를 測定한 결과 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 2시간 경과 후 측정된 NO 농도는 熊膽合牛黃藥鍼液 10 μ g/ml 處置群에서 無處置群에 비하여 有意한 감소가 있었다.
2. 6시간 경과 후 측정된 NO 농도는 熊膽合牛黃藥鍼液 1, 10, 100 μ g/ml 處置群에서 無處置群에 비하여 有意한 감소가 있었다.
3. 12시간 경과 후 측정된 NO 농도는 熊膽合牛黃藥鍼液 10, 100 μ g/ml 處置群에서 無處置群에 비하여 有意한 감소가 있었다.
4. 24시간 경과 후 측정된 NO 농도는 熊膽合牛黃藥鍼液 10, 100 μ g/ml 處置群에서 無處置群에 비하여 有意한 감소가 있었다.

이에 熊膽合牛黃藥鍼液은 NO 抑制效果를 통해 抗酸化作用을 나타낼 수 있을 것으로 사료된다.

VI. 參考文獻

1. 박찬일 외. 병리학 5판. 서울 : 고문사. 2003 : 310.
2. 이흥민, 서정철, 김용석. 老化의 研究動向에 관한 考察. 大韓鍼灸學會誌. 2001 ; 18(1) : 146-56.
3. Harman D. Aging : a theory based on free radical and radiation chemistry. J Gerontol. 1956 ; 11(3) : 298-300.
4. Priscilla E, Patricia H. Toward Healthy Aging. St. Louis : Mosby. 1998 : 31-33.
5. Marletta MA. Nitric oxide synthase structure and mechanism. J Biological chemistry. 1993 ; 268 : 12231-4.
6. Moncana S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide : physiology, pathophysiology, and pharmacology. Pharmacological Review. 1991 ; 43 : 109-42.
7. Bredt DS, Snyder SH. Nitric oxide, a novel neuronal messenger. Neuron. 1992 ; 8 : 3-11.
8. 서울대학교 醫科大學編. 免疫學. 서울 : 서울대학교출판부. 1996 : 121-34.
9. 김세중. 免疫學 1. 서울 : 高麗醫學. 1994 : 58-9, 147-61, 260-5.
10. 辛民教. 臨床本草學. 서울 : 南山堂. 1986 : 286, 291-2, 266-7.
11. 王浴生. 中藥藥理與應用. 北京 : 人民衛生出版社. 1983 : 190-7, 1071-7, 1227-31.
12. 雷載權. 中華臨床中藥學. 北京 : 人民衛生出版社. 1983 : 397-9, 1452-9.
13. 大韓藥鍼學會. 藥鍼學. 서울 : 集文堂. 1988 : 113.
14. 나창수, 김정상, 박근형. 藥鍼에 使用되는 牛黃, 熊膽과 豬膽의 抗微生物 活性에 관한 研究. 大韓鍼灸學會誌. 1997 ; 14(1) : 420-6.
15. 위통순, 나창수, 윤여중. 刺鍼과 牛黃·熊膽藥鍼이 白鼠의 Adjuvant 關節炎에 미치는 影響. 大韓藥鍼學會誌. 2002 ; 19(2) : 164-76.
16. 차용석, 김창규, 최용태. 熊膽·牛黃 및 向日葵油 藥鍼刺戟이 생쥐 皮膚癌의 免疫機能에 미치는 影響. 大韓鍼灸學會誌. 1993 ; 10(1) : 9-19.
17. 주성수, 김성근, 유명민, 류인왕, 김정훈, 이도익. 생쥐 뇌소교세포주에서 응답추출 활성성분(우르소데옥시콜린산)의 항산화 및 세포보호효과. 한국식품과학회지. 2006 ; 38(3) : 452-5.
18. 손은화, 박재현, 김경란, 김병오, 이동권, 표석능. 우황이 생쥐의 면역반응에 미치는 영향. 생약학회지. 1998 ; 29(1) : 48-55.
19. Ratty AK, Sunamoto J, Das NP. Interaction of flavonoids with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl free radical, liposomal membranes and soybean lipoxygenase-1. Biochem Pharmacol. 1988 ; 37(6) : 989-95.
20. 이영휘. 老化의 이해. 해전대학논문집. 1990 ; 8 : 664-5.
21. Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine : some problems and concepts. Arch Biochem Biophys. 1986 ; 246 : 501-14.
22. Kehrer JP. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. Crit Rev Toxicol. 1993 ; 23 : 21-48.
23. 김영근, 김영근. 프리라디칼. 서울 : 도서출판 여문각. 1997 ; 564-79.
24. 고기완. 老化 및 老人의 病因 病機 病證에 관한 文獻의 研究. 경희대학교 대학원. 1993.
25. 南京中醫學院醫經教研組. 黃帝內經素問釋解. 上海 : 上海科學技術出版社. 1983 : 4-5.
26. 張問渠. 老年病 中醫治療學. 北京 : 科學技術出版社. 2000 : 3, 9-11.
27. 蔡禹錫. 東醫老人病學. 서울 : 醫聖堂. 2001 : 683-8.
28. 윤철호, 정지천, 박선동. 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. 1995 ; 16(2) : 348-64.
29. 우대운, 이태균, 문진영, 임종국, 박원환, 남경수. 人工膜과 Rat의 肝細胞를 이용한 血府逐瘀湯의 항산화 작용에 관한 연구. 大韓韓醫學會誌. 1996 ; 17(1) : 465-77.
30. 김인재. 加味歸脾聰明湯이 老化 白鼠의 血液 變化 및 血清과 腦組織의 抗酸化物 活性에 미치는 影響. 대전대학교 대학원. 1999.

31. 唐慎微. 大觀本草. 合肥 : 安徽科學技術出版社. 2003 : 549-51.
32. 顧觀光. 神農本草經校注. 北京 : 人民衛生出版社. 1986 : 71.
33. 한상원, 임강현, 서정철, 윤현민, 장경진, 송춘호 외. Scavenging Effect of Several Distilled Herbal Acupunctures on Nitric Oxide. 東醫生理病理學會誌. 2001 ; 15(6) : 1016-21.
34. 서정철, 임강현, 김이화, 김창주, 유영민, 정주호 외. Scavenging Effect of Bee Venom for Aqua-acupuncture against Nitric Oxide. 大韓鍼灸學會誌, 2001 ; 18(6) : 161-70.
35. 김동현, 서정철, 임성철, 정태영, 한상원. 白何首烏藥鍼液이 NO, DPPH 抑制 및 IL-4 抑制效果. 大韓鍼灸學會誌. 2003 ; 20(4) : 42-52.
36. 유은주, 김종인, 고희균. 熊膽·牛黃·麝香 藥針液이 Nitric Oxide 消去에 미치는 影響. 大韓鍼灸學會. 2005 ; 23(4) : 117-19.