

## 수화기제탕 약침액이 노화 흰쥐의 간세포 및 비장세포의 항산화능에 미치는 영향

전종익, 이현진, 김일구, 임윤경\*

대전대학교 한의과대학 경락경혈학교실



### [Abstract]

#### The Anti-Oxidative Effect of *Suhwagije*-decoction on the Liver and Spleen Cells of Aged Rats

Jong Ik Jeon, Hyun Jin Lee, Il Gu Kim and Yun Kyoung Yim\*

Department of Meridian & Acupoint, College of Korean Medicine, Daejeon University

**Objectives :** The purpose of this study was to investigate the anti-oxidative effect of *Suhwagije*-decoction (SGT) pharmacopuncture solution on the liver and spleen cells of aged rats.

**Methods :** The liver and spleen cells of 10, 52, and 72 week old Sprague Dawley (SD) rats were divided into three groups: distilled water (DW), Vit.C, and SGT groups, which were treated with DW, Vit.C and SGT pharmacopuncture solution respectively. The levels of superoxide dismutase (SOD), glutathione (GSH) and nitric oxide (NO) were then measured.

**Results :**

1. Treatment of SGT pharmacopuncture solution significantly decreased NO concentration in spleen cells of 52 week old rats as compared with that of other groups.
2. Treatment of SGT pharmacopuncture solution significantly increased SOD activity in spleen cells of 72 week old rats as compared with that of other groups.

**Conclusions :** *Suhwagije*-decoction (SGT) pharmacopuncture solution may have an anti-oxidative effect in the spleen cells of aged rats.

**Key words :**

*Suhwagije*-decoction ;  
Anti-oxidative effect ;  
Spleen cells ;  
Aged rats

Received : 2015. 11. 26.  
Revised : 2015. 12. 11.  
Accepted : 2015. 12. 14.  
On-line : 2015. 12. 18.

\* Corresponding author : Department of Meridian and Acupoint, College of Korean Medicine, Daejeon University, #12407, 62 Daehak-ro, Dong-gu, Daejeon 300-716, Republic of Korea  
Tel : +82-42-280-2610 E-mail : docwindy@dju.kr

## I. 서론

노화는 생체의 생리적 재생 기능의 점진적인 약화에 의한 생체 장기조직 세포 수 감소와 이로 인해 발생하는 기능 저하로 정의된다<sup>1)</sup>. 현재 우리나라는 고령화 사회를 넘어 고령 사회로의 진입을 눈앞에 두고 있다. 인구 비율 예측 자료에서 2026년 65세 이상 노인 인구 비율이 20.8%가 되어 초고령 사회로 진입할 것으로 예측되고 있다<sup>2)</sup>. 따라서 최근 노화의 예방법, 노화의 양상과 기전에 대한 연구가 지속적으로 진행 중이다.

한의학계 역시 노화에 대한 지속적인 연구를 진행하고 있다. 특히, 기존 연구를 통해 항산화 효과를 가지고 있는 것으로 알려진 한약처방은 共振黑元丹<sup>3)</sup>, 清心蓮子湯<sup>4)</sup>, 鹿茸大補湯<sup>5)</sup>, 香砂養胃湯<sup>6)</sup>, 升陽益氣湯<sup>7)</sup> 등이 있다. 본 연구에서는 추가적인 항산화 효과를 지닌 한약 처방 탐색을 위해 水火既濟湯을 사용하여 실험 연구를 진행했다.

水火既濟湯은 《東醫壽世保元四象草本卷》에 처음 등장한 처방으로 少陽人 陰虛午熱證을 치료하는 처방이다<sup>10)</sup>. 구성약물인 乾地黃, 山茱萸, 覆盆子, 肉蓯蓉으로 腎精을 補하며, 生地黃, 知母, 黃柏, 柴胡, 茯苓, 澤瀉, 苦參으로 清熱을 겸하여 체액 고갈을 특징으로 하는 소모성 질환에 매우 적합한 구성을 갖추고 있다. 이 등<sup>11)</sup>은 수화기제당이 성장기의 성장 촉진 효과와 노화기 남성호르몬 저하를 억제시키는 효과가 있다고 보고하였고, 최 등<sup>12)</sup>은 수화기제당이 노화 흰쥐의 비장세포에서 면역 활성화 및 면역 조절 능력을 증가시키는 효과가 있다고 보고하였다.

이에 본 연구에서는 동물실험 및 임상연구를 위한 기초

연구로서 水火既濟湯 약침액이 노화 쥐의 간세포 및 비장 세포의 항산화능에 미치는 영향을 알아보기 위해 10주령, 52주령, 및 72주령 sprague dawley(SD) rat의 간조직 및 비장조직의 실질세포를 분리하여 水火既濟湯 약침액을 처리한 후 SOD(superoxide dismutase), GSH(glutathione), NO(nitric oxide)의 농도를 측정하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하고자 한다.

## II. 실험

### 1. 재료

#### 1) 동물

동물은 10주령, 52주령, 72주령의 SD rat을 사용하였다. 실험에 사용된 동물은 (주)중앙실험동물(경기도, 한국)에서 공급받아 실험 당일까지 고형사료(삼양사료, 한국)와 물을 충분히 공급하였고, 실험실은 실온(22±2 °C)을 유지하였다. 본 실험은 대전대학교 동물실험윤리규정을 준수하여 시행하였다.

#### 2) 약재

본 실험에 사용된 약재들은 대전대학교 한방병원 약제실의 검수를 받아 구입하여 이용하였다. 수화기제탕(SGT)의 약재들은 정량하여, 사용하기 전에 증류수에 세척하였다. 수화기제탕의 구성은 다음과 같다(Table 1).

Table 1. The Compositions of *Suhwagije*-decoction(SGT)

Herbs	Pharmacognostic name	Scientific name	Dose(g)
SaengJiHwang	<i>Rehmanniae Radix</i>	<i>Rehmannia glutinosa (Gaertner) Libosch.</i>	4
GeonJiHwang	<i>Rehmanniae Radix Siccus</i>	<i>Rehmannia glutinosa (Gaertner) Libosch.</i>	4
JiMo	<i>Anemarrhenae Rhizoma</i>	<i>Anemarrhena asphodeloides Bunge</i>	4
HwangBaek	<i>Phellodendri Cortex</i>	<i>Phellodendron wilsonii Hayata et Kanehira</i>	4
SanSuYu	<i>Corni Fructus</i>	<i>Cornus officinalis Sieb. et Zucc.</i>	4
BokBunja	<i>Rubi Fructus</i>	<i>Rubus coreanus Miq.</i>	4
SiHo	<i>Bupleuri Radix</i>	<i>Bupleurum falcatum Linne</i>	4
KoSam	<i>Sophorae Radix</i>	<i>Sophora flavescens Ait.</i>	4
BokRyeong	<i>Poria(Hoelen)</i>	<i>Poria cocos (Schw.) Wolf</i>	4
Taeksa	<i>Alismatis Rhizoma</i>	<i>Alisma orientalis (Sam) Juzep</i>	4
YukJongyong	<i>Cistanches Herba</i>	<i>Cistanche salsa (C. A. Mey) G. Beck</i>	4
Total			44

## 2. 방법

### 1) 수화기제탕 약침액 제조

본 실험에서 수행한 증류법은 대한약침학회의 방법을 이용하였다. 수화기제탕 약재를 세척 후 분쇄기로 분쇄하여 1ℓ의 증류수를 가하고 shaker를 이용하여 3시간 동안 진탕을 실시한 다음 여과지로 여과한다. 증류는 impellar에 반응조 하부와 반응조 상부조를 설치하고 그 위에 냉각관(환류, 증류)과 분액 여두를 설치한다. 수화기제탕 진탕액을 반응조 하부에 넣고, 105℃에서 예열한다. 탕약이 끓기 시작하면 추출온도 107℃에 맞춘 뒤, 3시간 동안 전탕을 실시한다. 이때 냉각수(4℃)가 환류냉각관에서 흐르는지 확인한다. 시간의 경과에 따라 설정온도 범위(전탕온도 105℃)에서 전탕되고, 충분히 끓은 약재의 온도가 높아지고(추출온도 107℃), 냉각수 순환 위치가 바뀔 때 따라 반응조 내부에서만 순환하던 기체가 냉각수에 의해 액체화되어, 약침액이 분액여두로 한 방울씩 받아진다. Table 1의 한 칩 기준으로 수화기제탕 약침액 400 ml을 얻었다. 추출이 끝나고 1ℓ 용기에 받아들인 약침액은 무기염류를 침강시키기 위해서 하루 동안 냉장 보관하였다. 하루 동안 냉장 보관된 수화기제탕 약침액은 filtering을 실시하고, 멸균된 용기에 넣어 냉장 보관한다.

### 2) 세포 분리 및 배양

#### (1) 간세포 분리 및 배양

간 조직을 rat으로부터 적출하여, 차갑게 준비한 RPMI 1,640 media에 보관한다. 100 mm dish에서 간을 잘게 잘라 준비한 뒤, RPMI 1,640 media와 collagenase type IV (300 u/ml)를 넣고 실온에서 90분간 incubation한다. 이때 20분에 한 번씩 흔들어서 줌으로써 간세포가 잘 분리되도록 한다. 간 조직을 complete media(RPMI 1,640+5% FBS+antibiotics)를 사용하여 mesh에서 갈아준다. 모아진 cell들은 원심분리기(Hanil, Korea)를 사용하여 침전시키고, 침전된 cell pellet은 complete media(RPMI1640+5% FBS+antibiotics)를 이용하여 2회 세척한다. 세척이 끝난 cell pellet은 lysis buffer를 이용하여 적혈구를 파쇄하고, 원심분리를 실시하여 간 조직의 실질세포를 분리한다. 분리된 세포는 complete media를 이용하여 세포배양을 실시한다.

#### (2) 비장세포 분리 및 배양

비장 조직을 rat으로부터 적출하여 차갑게 준비한 RPMI 1,640 media에 보관한다. 비장 조직을 으개어 준비한 뒤

RPMI 1,640 media를 넣고 세포를 모아준다. 모아진 cell들은 원심분리기를 사용하여 침전시키고, 침전된 cell pellet은 complete media(RPMI 1,640+5% FBS+antibiotics)를 이용하여 2회 세척한다. 세척이 끝난 cell pellet은 lysis buffer를 이용하여 적혈구를 파쇄하고, 원심분리하여 비장 조직의 실질세포를 분리한다. 분리된 세포는 complete media를 이용하여 배양한다.

#### (3) 세포 분획

배양한 세포들을 모아 sonicate(model 100, Fisher Scientific, USA)를 이용하여 균질화한다. 균질화한 세포는 600×g에서 10분간 원심분리하여 균질화되지 않은 조직 등을 제거한 후 상등액을 10,000×g에서 20분간 원심분리하여 mitochondrial fraction을 얻는다. 이 상등액을 105,000×g에서 1시간 원심분리하여 cytosolic fraction을 얻는다. 그 침전물에 동일한 양의 0.1M potassium phosphate buffer를 가하여 현탁시켜 microsomal fraction을 얻는다. Microsomal fraction에서 GSH의 함량을 측정하고, cytosolic fraction을 이용하여 SOD 활성도와 NO 함량을 측정한다.

### 3) 약물 처리

10주령, 52주령, 72주령 SD rat의 간과 비장으로 부터 얻은 실질세포를 안정화한 후 각 주령별로 다시 DW(distilled water)군, Vit.C군, SGT(Suhwagije-decoction)군으로 나누었다. DW군은 증류수를 처리하였고, Vit.C군은 1% vitamin C(1 mg/ml)를 처리하였고, SGT군은 50% 수화기제탕 약침액을 처리하였다. 이후 각 세포는 48시간 동안 배양하였다.

### 4) 항산화능 측정

#### (1) SOD(superoxide dismutase)

SOD assay kit(Dojindo, Japan)을 이용하여 SOD 활성도를 측정하였다. 세포분획으로 얻은 sample 중 20,000 rpm으로 얻은 sample을 사용하여, 20분 동안 37℃에서 incubation을 실시하고 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 활성도는 다음의 공식에 의하여 환산하였다.

$$\text{SOD activity (\%)} = \frac{[(A_{\text{blank1}} - A_{\text{blank3}}) - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank2}})]}{(A_{\text{blank1}} - A_{\text{blank3}})} \times 100$$

#### (2) Glutathione

Glutathione assay kit(Dojindo, Japan)를 이용하여

glutathione 함량을 측정하였다. 세포분획으로 얻은 sample 중 12,000 rpm으로 얻은 sample을 사용하였다. ELISA reader(Sunrise™, Tecan, Switzerland)를 이용하여 405 nm에서 흡광도값 측정하고, GSH 농도를 환산하였다.

(3) NO(nitric oxide)

NO 함량은 kit(Oxford, USA)을 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정해서 NO 농도를 얻었다.

5) 통계분석

통계분석은 SPSS 통계프로그램(ver. 18.0 KO)을 이용하였다. 결과값은 평균±표준편차로 나타내었다. 각 군의 데이터는 Kruskal-wallis test를 이용하여 분석한 후 Mann Whitney U test를 이용하여 군 간 차이를 확인하였다. 신뢰도 95 % 이상( $p < 0.05$ )일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

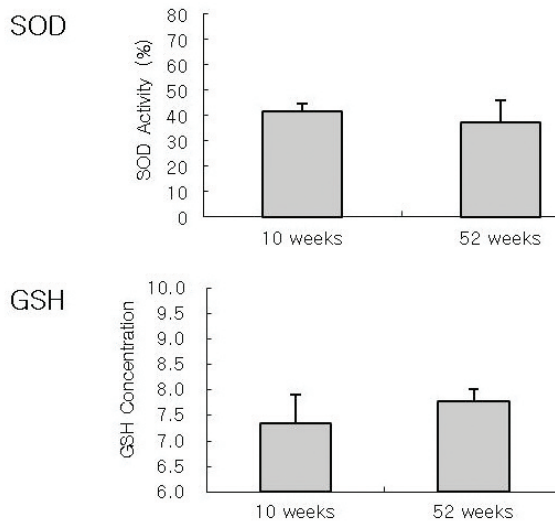


Fig. 1. Effect of aging on the levels of SOD, GSH, and NO in rat liver cells

The levels of SOD, GSH, NO were estimated in liver cells of 10, 52 and 72 weeks old rats. Values represent means±SD of 3 independent experiments.

\* :  $p < 0.001$  compared to 10w group by Kruskal-wallis test.  
 † :  $p < 0.001$  compared to 52w group by Kruskal-wallis test.

III. 결과

1. 주령에 따른 간세포에서의 항산화능 변화

흰쥐의 간세포에서 주령에 따른 SOD, GSH, NO 농도를 비교 분석하였다. SOD, GSH 농도는 주령에 따라 유의한 차이가 없었으나, NO 농도는 주령의 증가에 따라 유의하게 증가하였다(Fig. 1).

2. 수화기제탕 약침액 처리에 따른 간세포에서의 항산화능 변화

1) SOD in liver

처리 약물에 따른 간세포의 SOD 활성도를 비교한 결과, 10주령 SGT군에서 DW군에 비하여 유의하게 높은 SOD 활성도를 나타내었다(Fig. 2).

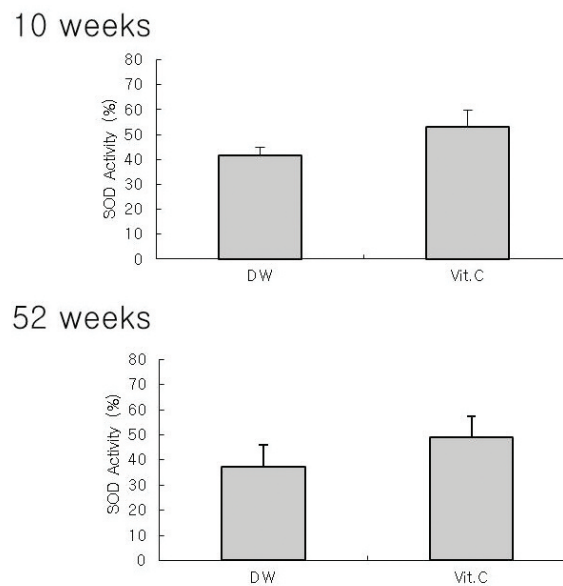


Fig. 2. Effect of SGT on SOD activity in liver cells of aged rat

Values represent mean±SD of 3 independent experiments.

DW : Cells treated with DW for 48 hours.

Vit.C : Cells treated with vitamin C for 48 hours.

SGT : Cells treated with SGT for 48 hours.

\* :  $p < 0.05$  compared to DW group by Kruskal-wallis test.

## 2) GSH in liver

약물 처리에 따른 간세포의 GSH 활성을 비교한 결과, 10주령 SGT군에서 DW군에 비하여 GSH 농도가 유의하게 높았다(Fig. 3).

## 3) NO in liver

약물 처리에 따른 간세포의 NO 활성을 분석한 결과, 모든 주령에서 약물 처리에 의한 NO 농도의 변화는 나타나지 않았다(Fig. 4).

## 3. 주령에 따른 비장세포에서의 항산화능 변화

흰쥐의 비장세포에서 주령에 따른 SOD, GSH, NO 농도를 비교 분석하였다. SOD, GSH 농도는 주령에 감소하는 경향을 보였으나 통계적 유의성은 없었다. NO 농도는 주령의 증가에 따라 유의하게 증가하였다(Fig. 5).

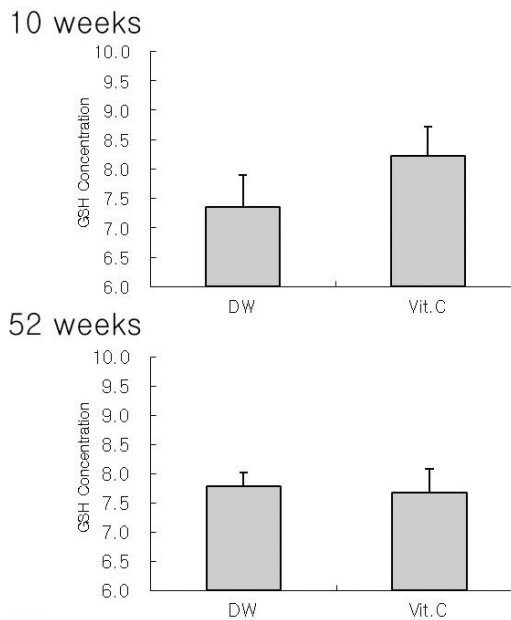
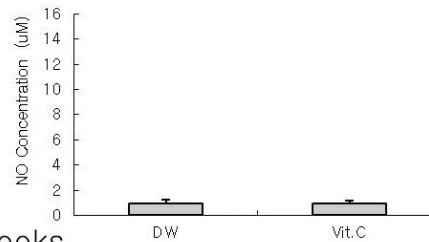


Fig. 3. Effect of SGT on GSH concentration in liver cells of aged rat

Values represent mean±SD of 3 independent experiments. DW : Cells treated with DW for 48 hours. Vit.C : Cells treated with vitamin C for 48 hours. SGT : Cells treated with SGT distillate for 48 hours. \* :  $p < 0.05$  compared to DW group by Kruskal-wallis test.

## 10 weeks



## 52 weeks

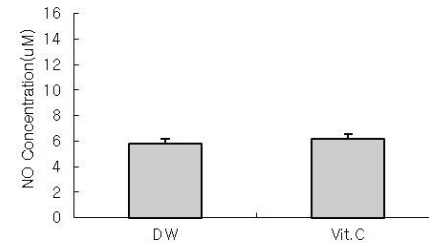


Fig. 4. Effect of SGT on NO concentration in liver cells of aged rat

Values represent mean±SD of 3 independent experiments. DW : Cells treated with DW for 48 hours. Vit.C : Cells treated with vitamin C for 48 hours. SGT : Cells treated with SGT distillate for 48 hours.

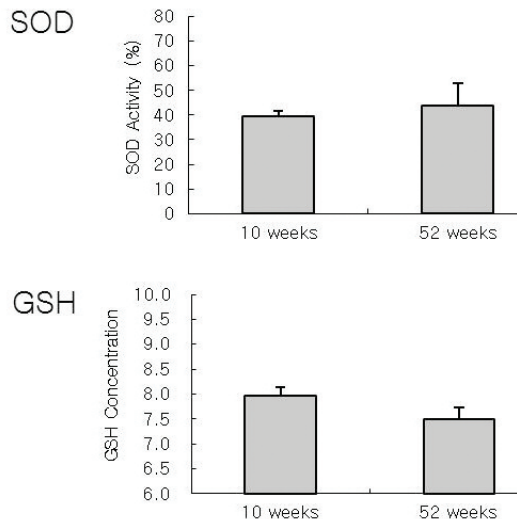


Fig. 5. Effect of aging on the levels of SOD, GSH, and NO in rat spleen cells

The levels of SOD, GSH, and NO were estimated in spleen cells of 10, 52 and 72 weeks old rats. Values represent mean±SD of 3 independent experiments. \* :  $p < 0.001$  compared to 10w group by Kruskal-wallis test. † :  $p < 0.001$  compared to 52w group by Kruskal-wallis test.



#### 4. 수화기제탕 약침액 처리에 따른 비장세포에서의 항산화능 변화

##### 1) SOD in spleen

10주령에서는 Vit.C군과 SGT군 모두 DW군에 비하여 SOD 활성도가 유의하게 높았다. 52주령에서는 약물 처리에 따른 SOD 활성 변화가 없었다. 72주령에서는 SGT군이 DW군 및 Vit.C군에 비하여 SOD 활성이 유의하게 높았다(Fig. 6).

##### 2) GSH in spleen

약물 처리에 따른 비장세포의 GSH 활성 변화를 분석한 결과 모든 주령에서 약물에 의한 GSH 활성 변화는 나타나지 않았다(Fig. 7).

##### 3) NO in spleen

약물 처리에 따른 비장세포의 NO 활성 변화를 관찰한 결과 52주령에서 DW군 및 Vit.C군에 비하여 SGT군의 NO 농도가 유의하게 감소하였다(Fig. 8).

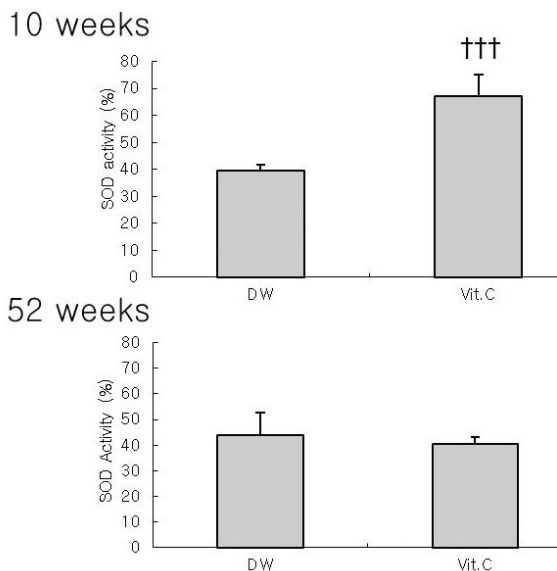


Fig. 6. Effect of SGT on SOD activity in spleen cells of aged rat

Values represent mean±SD of 3 independent experiments.  
 DW : Cells treated with DW for 48 hours.  
 Vit.C : Cells treated with vitamin C for 48 hours.  
 SGT : Cells treated with SGT distillate for 48 hours.  
 \* :  $p < 0.01$  compared to DW group by Kruskal–wallis test.  
 † :  $p < 0.01$  compared to Vit. C group by Kruskal–wallis test.

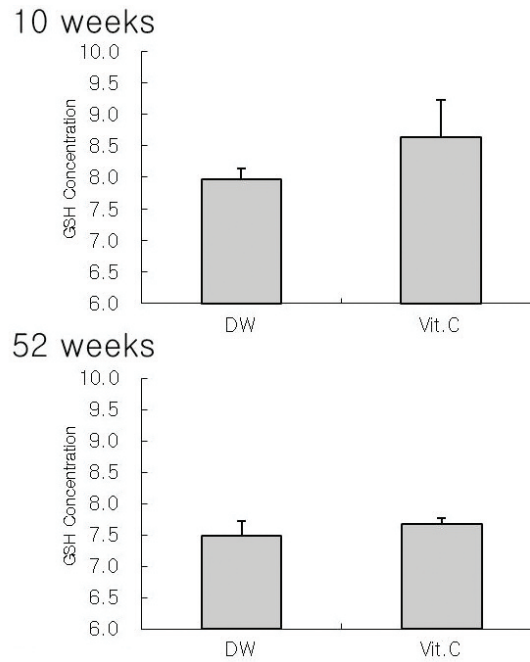


Fig. 7. Effect of SGT on GSH concentration in spleen cells of aged rat

Values represent mean±SD of 3 independent experiments.  
 DW : Cells treated with DW for 48 hours.  
 Vit.C : Cells treated with vitamin C for 48 hours.  
 SGT : Cells treated with SGT distillate for 48 hours.

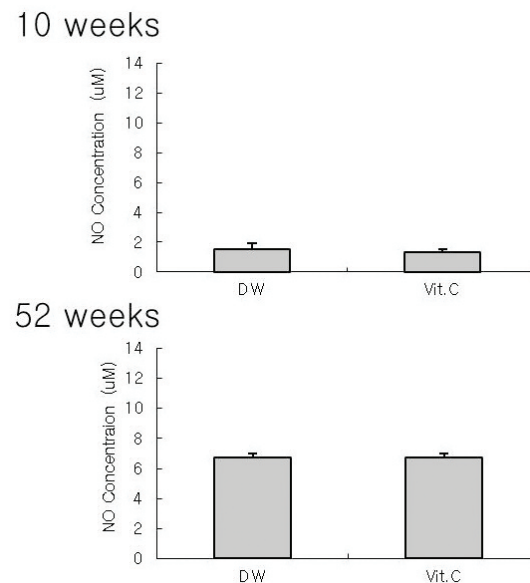


Fig. 8. Effect of SGT on NO concentration in spleen cells of aged rat

Values represent mean±SD of 3 independent experiments.  
 DW : Cells treated with DW for 48 hours.  
 Vit.C : Cells treated with vitamin C for 48 hours.  
 SGT : Cells treated with SGT distillate for 48 hours.  
 \* :  $p < 0.01$  compared to DW group by Kruskal–wallis test.  
 † :  $p < 0.01$  compared to Vit. C group by Kruskal–wallis test.

## IV. 고찰

UN(United Nation)의 정의에 따르면, 65세 이상 고령 인구가 전체 인구의 7%를 넘어서면 '고령화 사회', 전체 인구의 14% 이상이 고령인구이면 '고령 사회', 여기서 더 나아가 20%를 넘어설 경우 '초고령 사회'에 해당한다<sup>13)</sup>. 2015년 현재 우리나라는 고령화 사회를 넘어 고령 사회로의 진입을 눈앞에 두고 있다. 이러한 고령화 사회 속에서 노화에 대한 대처는 우리 사회의 가장 큰 이슈 중 하나이다. 대다수의 인구를 차지하는 고령자 삶의 질을 결정하는 문제가 될 것이기 때문이다.

자유유리(自由基)는 노화를 설명하는 가설 중 하나이다. 산소를 통해 에너지를 얻는 생명체는 결국 산화 과정에서 발생한 자유유리(free radical)로 인해 질병에 걸리게 되고, 죽음에 이른다는 내용이다. 자유유리(自由基)를 설명할 때 핵심이 되는 용어는 산화촉진물(pro-oxidants)이다. 인체는 산화촉진물과 산화억제물(antioxidants)이 균형을 이루고 있는데, 정상 상태에서는 활성산소를 제거하는 기전이 효율적으로 작동하지만, 노화가 진행되는 비정상 상태에서는 활성산소의 축적으로 인해 세포 손상이 발생한다. 이것이 바로 산화적 스트레스(oxidative stress)이다<sup>14)</sup>. 항산화 효소는 바로 이 산화적 스트레스에서 인체를 보호하는 역할을 한다.

최근 이러한 항산화계에 대한 연구가 지속적으로 진행되고 있으며<sup>15-17)</sup>, 그 결과 다양한 한약처방, 특히 다양한 四象體質 처방의 항산화 효능이 보고되었다. 太陰人 共振黑元丹은 초기 노화 흰쥐에 대해 항노화 및 항산화 효과를 가지고 있는 것으로 보고되었고<sup>3)</sup>, 太陰人 清心蓮子湯은 SD rat의 항산화 및 면역조절 효과를 가지고 있는 것으로 나타났다<sup>4)</sup>, 太陰人 鹿茸大補湯 역시 흰쥐의 노화 억제에 긍정적 효과를 가지고 있는 것으로 보고되었다<sup>5)</sup>. 少陰人 처방 중에는 少陰人 香砂養胃湯이 노화 쥐의 비장, 췌장 및 위장세포의 항산화능을 높이는 것으로 보고되었고<sup>6)</sup>, 升陽益氣湯 역시 노화 쥐의 비장, 췌장 및 위장세포의 항산화능을 높이는 것으로 나타났다<sup>7)</sup>.

본 연구에서는 四象醫學의 少陽人 처방 중 하나인 水火既濟湯의 노화 흰쥐의 간장 및 비장세포의 항산화기능에 미치는 영향을 관찰하였다. 水火既濟湯은 《東醫壽世保元四象草本卷》에 처음 등장한 처방으로 少陽人 陰虛午熱證을 치료하는 처방이다<sup>8)</sup>. 少陽人 陰虛午熱證은 下消證과 비슷한 개념으로 陰血耗竭로 인해 발생하는 소모성 질환의 일종이다. 水火既濟湯은 乾地黃, 山茱萸, 覆盆子, 肉蓯蓉으로 腎精을 補하며, 生地黃, 知母, 黃柏, 柴胡, 茯苓, 澤

瀉, 苦參으로 清熱을 겸하여 체액 고갈을 특징으로 하는 소모성 질환에 매우 적합한 구성을 갖추고 있다. 체액의 소실이 특징인 이러한 소모성 질환은 인체 노화의 과정과 일맥상통하는 면이 많아 본 처방을 이번 연구의 재료로 사용하게 되었다.

기존 보고에서는 水火既濟湯이 성장기 성장 촉진 및 노화기 남성호르몬 저하를 억제시키는 효과를 가지는 것으로 보고되었으며<sup>11)</sup>, 또한, 노화 흰쥐의 비장세포에서 면역 활성 및 면역 조절 능력을 증가시켜, 노화 방지와 면역력 증강을 목적으로 사용될 수 있을 것으로 제안되었다<sup>12)</sup>.

이에 저자는 산화 스트레스에 대응하여 활성산소의 독성으로부터 조직을 보호하는 항산화능과 관련이 깊은 간장과, 면역활성과 관련이 깊은 비장에서 수화기제탕 약침액의 항산화능을 관찰하고자 하였다. 본 연구는 동물실험 시행 전 기초연구로써 노화 흰쥐의 간세포와 비장세포에 수화기제탕 약침액을 처리한 후 항산화능을 평가하였다.

항산화능 평가는 SOD(superoxide dismutase), GSH(glutathione), NO(nitric oxide) 측정을 통해 시행하였다. SOD는 초과산화이온을 산소와 과산화수소로 바꿔 주는 불균등화 반응을 촉매하는 효소이다. 산소에 노출되는 대부분 세포에서 항산화 방어작용을 하는 것으로 알려져 있다<sup>18)</sup>. Glutathione 역시 식물, 동물, 진균, 박테리아 등에서 중요한 항산화제로 자유유리(自由基)로 인해 발생하는 세포 구조물 손상을 막는데 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다<sup>19)</sup>. NO는 자유유리(自由基)의 하나로 세포손상을 일으키는 역할을 한다<sup>20)</sup>. 곧, 산화적 스트레스가 상승할수록 NO는 증가, SOD, GSH는 감소하게 된다. 반대로 항산화능이 높을수록 NO는 감소, SOD, GSH는 증가하게 된다.

또한, 水火既濟湯 약침액에 대한 대조군으로 Vitamin C를 사용한 Vit.C군을 설정하여 水火既濟湯 약침액을 사용한 SGT군과 항산화능을 비교, 분석하였다.

본 연구에서는 노화 정도에 따른 항산화능과 水火既濟湯의 영향을 알아보기 위하여 10주령, 52주령, 72주령의 SD rat을 사용하여 실험을 시행했다. SD rat은 8주령 정도까지는 체중이 급속하게 증가하며, 16주령에 이르러서는 체중 증가 속도가 급격히 낮아지고, 32주령에는 경미한 체중 증가만 있으며, 52주에 이르면 운동기능 및 감각기능이 저하된다고 알려져 있어<sup>22)</sup>, 이에 기초하여 52주령을 노화기로 판단하는 경향이 있다<sup>23)</sup>. 따라서 본 연구에서는 10주령을 성장기, 52주령을 초기노화기, 72주령을 말기노화기로 설정하여 실험을 진행하였다.

실험결과, 간세포에서는 10주령에서 수화기제탕 약침액 처리에 의하여 SOD와 GSH 활성이 증가하였다. 그러나 52주령과 72주령에서는 유의한 변화가 나타나지 않았다

(Fig. 2, 3).

비장세포에서도 10주령의 SOD 농도가 수화기제탕 약침액 처리에 의해 유의하게 증가하여 성장기 세포에 대한 항산화 효과를 나타내었다(Fig. 6).

또한, 수화기제탕 약침액 처리에 의해 초기노화기에 해당하는 52주령 비장세포의 NO 농도가 유의하게 감소하였으며, 말기노화기에 해당하는 72주령 비장세포의 SOD 농도가 유의하게 증가하였다. 즉, 성장기뿐 아니라 노화기 이후의 비장세포에 대해서도 유의한 항산화 효능을 나타내었으며, 특히 노화기(52주령과 72주령)세포에서의 항산화 효능은 Vit.C보다 우수한 것으로 나타났다(Fig. 6).

실험 결과를 종합해보면, 水火既濟湯은 성장기 간세포 항산화능에는 유의한 향상 효과를 보였으나, 노화기 이후의 간세포 항산화능에는 유의한 향상 효과를 보이지 못했다. 반면, 비장세포의 항산화능에 대해서는 성장기부터 말기노화기에 이르기까지 모든 연령에서 유의한 항산화능 향상 효과를 보였다.

수화기제탕 약침액의 주요 구성 약물인 知母<sup>26)</sup>, 黃柏<sup>27)</sup>, 山茱萸<sup>28-31)</sup>, 覆盆子<sup>32,33)</sup>, 柴胡<sup>34)</sup>, 苦參<sup>35,36)</sup>, 澤瀉<sup>37-40)</sup> 등의 항산화 효과는 기존 연구를 통하여 보고된 바 있다. 본 연구를 통하여 확인된 노화 흰쥐 세포에서의 水火既濟湯의 항산화 효과는 이러한 각 구성약물의 항산화능의 복합적인 작용으로 추정된다.

본 연구는 노화 흰쥐의 간세포와 비장세포에 약침액을 처리한 결과를 분석한 세포실험 연구이다. 따라서 추후 동물실험 및 임상 연구를 통하여 水火既濟湯의 항산화능 증진 및 노화 억제 효과와 임상적 활용에 대한 탐색을 시도해야 할 것이다.

## V. 결론

노화 흰쥐의 간세포 및 비장세포를 분리하여 水火既濟湯 약침액을 처리한 후 SOD, GSH, NO 농도를 측정하여 분석한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 52주령 흰쥐의 비장세포에서 NO 활성이 유의하게 감소하였다.
2. 72주령 흰쥐의 비장세포에서 SOD 활성이 유의하게 증가하였다.

이상의 결과, 水火既濟湯 약침액은 노화 흰쥐 비장세포

의 항산화능을 증진시키는 효과가 있는 것으로 사료된다.

## VI. Reference

1. Son JR. Free radical & Antioxidant. seoul : Bio-medical, 2004 : 130.
2. Statistics Korea, 2010 Statistics on the Aged [Internet]. Daejeon : Statistics Korea. [cited 2010 August 29]. Available from : URL : [http://kostat.go.kr/portal/korea/kor\\_nw/2/1/index.board?bmode=read&aSeq=180000](http://kostat.go.kr/portal/korea/kor_nw/2/1/index.board?bmode=read&aSeq=180000).
3. Lee HS, Ahn TW. Anti-aging and Anti-oxidative Effect of Gongjinhugwon-dan in Early Stages of Aging Rats. J Sasang Constitut Med. 2007 ; 19(3) : 242-56.
4. Lim JP, Ahn TW. The Anti-oxidative and Immune-regulatory Effect of Chungsimyeonjatang in Aged Rat. J Sasang Constitut Med. 2007 ; 19(3) : 227-41.
5. Lee SY, Ahn TW. Anti-aging Effect of Tae-Eumin's Nocyongdaebo-tang(NYD) in Aged Rats. J Sasang Constitut Med. 2008 ; 20(2) : 58-71.
6. Choi BC, Ahn TW. Anti-Oxidant Effect of Hyangsayangyi-tang Decoction in Stomach, Spleen and Pancreas Cell of SD Rats. J Sasang Constitut Med. 2008 ; 20(2) : 72-84.
7. Lee JY, Ahn TW. Anti-Oxidative Effect of Seungyangikki-tang Decoction in Spleen, Pancreas and Stomach Cells of SD Rat. J Sasang Constitut Med. 2010 ; 22(2) : 82-92.
8. Ahn YS, Hong KE, Yim YK. A Study on Anti-oxidative Effect of Electroacupuncture at Pungnyung(ST40) in Rats. The Acupuncture. 2008 ; 25(1) : 73-87.
9. Lee JT, Kim YI, Yim YK. Anti-oxidative effect of electroacupuncture to Yinlingquan (SP9) in AAPH induced oxidative stress of rats. Korean J Acupunct. 2008 ; 25(1) : 139-54.
10. Han KS, Park SS. The Study on the Formative Process of Soyangin Pharmacology-Focus on



- 『Gabobon』 and 『Sinchukbon』-. J Sasang Constitut Med. 2006 ; 18(3) : 38-48.
11. Lee JH, Goo DM, Ahn TW. Effects of *Suhwagije-tang* Distillate on Serum and Testosterone in Aging Rats. J Sasang Constitut Med. 2010 ; 22(4) : 85-97.
  12. Choi JS, Bae NY, Ahn TW. The Effect of *Suhwagije-tang* Distillate on the Immune Activity of Spleen Cells of Aged Rats. J Sasang Constitut Med. 2011 ; 23(3) : 374-90.
  13. United Nations. The Sex and Age Distribution of the World Populations. The 1996 Revision. New York : United Nations, 1997 : 49-65.
  14. Sies H. Oxidative stress, Oxidants and antioxidants. London : Academic press, 1991 : 3.
  15. Harman D. The free radical theory of aging. London : Academic, 1982 : 255-75.
  16. Yang MK. Effect on Superoxide Dismutase (SOD) Activity of Paraquat in the Liver of Senescence-Accelerated Mouse(SAM). Journal of The Korean Society of cosmetology. 2005 ; 11(3) : 191-6.
  17. Lee JM, Lee BR. The Experimental Study about Antioxidant Activities of Alismatis Rhizoma Herbal Acupuncture. The Acupuncture. 2003 ; 20(1) : 159-76.
  18. Borgstahl GE, Parge HE, Hickey MJ et al. Human mitochondrial manganese superoxide dismutase polymorphic variant Ile58Thr reduces activity by destabilizing the tetrameric interface. Biochemistry. 1996 ; 35(14) : 4287-97.
  19. Pompella A, Visvikis A, Paolicchi A, Tata V, Casini AF. The changing faces of glutathione, a cellular protagonist. Biochem Pharmacol. 2003 ; 66(8) : 1499-503.
  20. Lund A, Shiotani M, Shimada S. Principles and Applications of ESR Spectroscopy. Dordrecht : Springer Netherlands, 2011 : 20-8.
  21. Muller FL, Lustgarten MS, Jang Y, Richardson A, Van Remmen H. Trends in oxidative aging theories. Free Radic Biol Med. 2007 ; 43(4) : 477-503
  22. Park SK, Lee HJ, Kim HT, Whang WW. An experimental study of oriental medicine on cure for dementia : the effect of Jowiseungcheong-tang and Hyungbangjihwangtang on cure for aged rats. J of Oriental Neuropsychiatry. 1998 ; 9(2) : 19-35.
  23. Murphy MP, Rick J Th, Milgram NW, Ivy GO. A simple and rapid test of sensorimotor function in the aged rat. Neurobiol Learn Mem. 1995 ; 64(2) : 181-6.
  24. Sun TC, Ahn TW. Anti-aging and Anti-Oxidative Effect of SYG (SipYiMiGwanJungTang) in aged Rats. Daejeon University, Institute of korean medicine. 2007 ; 16(2) : 311-26.
  25. Lee JH, Goo DM, Ahn TW. Effects of *Suhwagije-tang* distillate on serum and testosterone in aging rats. J Sasang Constitut Med. 2010 ; 22(4) : 85-97.
  26. Kwon OJ, Lee HY, Kim TH, Kime SG. Antioxidant and pancreatic lipase inhibitory activities of Anemarrhena asphodeloides. Korean J Food Preserv. 2014 ; 21(3) : 421-6.
  27. Lee MJ, Park JW, Kim DS, Kim JK, Choi DY, Kim CH. Antioxidant and Nitrite Scavenging Activity of Water-Extract from Phellodendron amurense Rupr. J Physiol & Pathol Korean Med. 1999 ; 13(1) : 112-8.
  28. Jeon YH, Kim MH, Kim MR. Antioxidative, Antimutagenic, and Cytotoxic Activities of Ethanol Extracts from Cornus officinalis. J Korean Soc Food Sci Nutr. 2008 ; 37(1) : 1-7.
  29. Park EB, Kim HS, Shin SY et al. Antioxidative Activity of Cornus officinalis Extracts Obtained by Four Different Extraction Techniques. J. Life Sci. 2012 ; 22(11) : 1507-14.
  30. Oh MS, Kim DR, Sung EJ, Chang MS, Park SK. Antioxidant Effects of Corni Fructus in GC-1 Cells. J Physiol & Pathol Korean Med. 2005 ; 19(6) : 1541-5.
  31. Ha KT, Kim YM, Kim CH, Kim DW, Choi DY, Kim JK. Study on the Protective Effect of Corni Fructus against Free Radical Mediated Liver Damage. J Physiol & Pathol Korean Med. 2007 ; 21(6) : 1415-23.
  32. Choung MG, Lim JD. Antioxidant, Anticancer and Immune Activation of Anthocyanin Frac-

- tion from *Rubus coreanus* Miquel fruits (Bok-bunja). Korean J. Medicinal Crop Sci. 2012 ; 20(4) : 259–69.
33. Park SJ, Lee SS, Baek JW, Lee SJ, Kim KH. Effect of Rubi Fructus(Fruit of *Rubus Coreanus* Miq.) on Antioxidant Capacity in D-galactose Induced Aging Rats. spkom. 2004 ; 8(1) : 75–87.
34. Moon JY, Lim JK. Effects of Buleuri radix aqua-acupuncture on antioxidative enzymes and lipid peroxidation induced by acetaminophen in mouse. The Acupuncture. 1999 ; 16(4) : 245–55.
35. Jung HJ, Kang SS, Woo JJ, Choi JS. A New Lavandulylated Flavonoid with Free Radical and ONOO-Scavenging Activities from *Sophora flavescens*. Arch Pharm Res. 2005 ; 28(12) : 1333–6.
36. Lee YS. Neuroprotective Effect of the Water-insoluble fraction of Roots of *Sophora flavescens* 70 % Ethanolic Extract on Glutamate-Induced Oxidative Damage in Mouse Hippocampal HT22 Cells. Kor. J. Pharmacogn. 2011 ; 42(3) : 276–81.
37. Rhew KY, Choi HJ, Kim NJ, Lee JH. Hepatoprotective and Antioxidative Effects of *Alisma orientale*. Nat. Prod. Sci. 2011 ; 17(4) : 285–90.
38. Lee SN, Kim MG, Kim MH et al. Effects of *Alismatis Rhizoma* Pharmacopuncture Extracts on the Elastase Activity and DPPH and NO Scavenging Activitie. Korean J Acupunct. 2011 ; 28(1) : 15–22.
39. Kim SE, Rhyu DY, Yokozawa T, Park JC. Antioxidant Effect of *Alisma plantago-aquatica* var. *orientale* and Its Main Component. Kor. J. Pharmacogn. 2007 ; 38(4) : 372–5.
40. Yang YY, Lee MJ, Jung HJ et al. Screening of Antioxidative, Anti-atherosclerotic Effect of *Alisma* Rhizome Extracts. Korean J. Orient. Int. Med. 2008 ; 29(4) : 988–99.