

鹿茸大補湯이 AAPH로 유발된 酸化病態모델 흰 쥐의 抗酸化 作用에 미치는 영향

배나영 · 안택원

대전대학교 한의과대학 사상체질과

Abstract

The Anti-oxidative Effect of Oral Administration of NYD (*Nocyongdaebo-tang*) in Oxidized Rats induced by AAPH

Bae Na Young, Ahn Taek Won

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

1. Objectives

This study aimed to investigate the anti-oxidative effect of *Nocyongdaebo-tang* (NYD) decoction in oxidized rats induced by AAPH.

2. Methods

AAPH (2,2-azobis-2 aminodinopropane-hydrochloride) was injected intraperitoneally to induce oxidization and NYD was orally administered to the rats. To observe the anti-oxidative effect of NYD, we performed blood chemistry analysis, histological analysis, and evaluated the levels of SOD, catalase, glutathione, NO and MDA in liver.

3. Results & Conclusions

- 1) Serum Albumin level was increased significantly in the NYD group as compared with the control group and the saline group.
 - 2) Serum LDL-cholesterol level was reduced significantly in the NYD group as compared with the control group.
 - 3) GPT level in liver was reduced significantly in the NYD group as compared with the control group.
 - 4) SOD, catalase activity and glutathione levels were increased significantly in the NYD group as compared with the control group and the saline group.
 - 5) The levels of NO and MDA were reduced significantly in the NYD group as compared with the control group.
 - 6) The degenerative change of liver tissue of NYD group was decreased in comparison with the control group.
- In conclusion, NYD decoction is considered to have an anti-oxidative effect in rats.

Key Words: *Nocyongdaebo-tang*(NYD), Anti-oxidative Effect, SOD and Catalase Activity, Glutathione Level

I. 緒 論

자연계에 존재하는 생물이나 무생물은 모두 산화되어 소멸되어 간다. 우리 인간도 이 법칙에서 제외될 수 없으며, 산소에 의해 산화되어 기능을 소실함으로써 늙고 병들고 죽어간다고

• 접수일 2007년 6월 28일 승인일 2007년 7월 26일
• 교신저자 : 배나영
충남 천안시 두정동 대전대학교 부속천안한방병원
사상체질의학과
Tel : +82-41-521-7370 FAX : +82-41-521-7601
E-mail : nariza011@hanmail.net

생각할 수 있다¹. 생체 내에서의 산화 반응은 활성산소에 의해 일어나게 되며 그 결과 생체는 산화적 손상을 입게 되어 직접 또는 간접적으로 장애를 유발하게 된다².

활성산소란 짝을 이루지 못한 독신전자(free radical)를 가진 불안정한 산소화합물 혹은 반응성이 큰 산소화합물(1O_2 , H_2O_2)로서 생체조직을 공격하여 세포를 산화 손상시키는 주된 성분들을 말한다³.

각종 연구보고에 따르면 활성산소가 암⁴, 뇌졸중⁵, 심근경색⁵, 동맥경화⁶, 관절질환⁶, 당뇨병⁷ 등 현대인의 질병 중 90%에 관련되어 있을 뿐 아니라, 이러한 세포의 손상이 축적됨으로써 노화현상을 일으킨다는 소위 ‘노화의 활성산소설’⁸이 관심을 얻고 있다.

노화의 원인으로 주목받고 있는 산화 스트레스에 대응하여, 다양한 원인에 의해 발생된 활성산소를 제거할 수 있는 인체의 능력을 항산화력이라 하는데, 體內 효소계 항산화 물질과 비효소 항산화 물질인 vitamin C, vitamin E, glutathione 등은 항산화력을 높이는 매우 중요한 구성성분이다^{9,10}. 이러한 효소들은 성인이 되면서 효소들의 유도능이 저하되게 되고¹¹ 그 결과 활성 산소가 세포 기능을 저하시켜 노화 과정을 유발하는 것으로 알려지고 있다¹².

한의학에서는 노화의 원인을 先天不足과 後天失調로 설명하는데¹³ 『素問·上古天真論』¹⁴에서 “天壽過度 氣脈相通, 而腎氣有餘”라 하여 선천적으로 타고난 腎氣의 성쇠와 수명이 밀접한 상관관계를 가진다 하였다.

『東醫壽世保元 廣濟說』¹⁵에서 이제마(1837-1900)는 인생의 단계를 16세터울로 幼年과 少年, 壯年, 老年으로 나누고 四象人의 건강을 유지하고 壽命의 長短을 결정하는 술어로 命脈實數의 개념을 설정하였는데, 命脈實數란 偏소한 臟의 기운이 쏠리는 것으로 절반이 되지 못하면 죽는다¹⁶. 보통사람(平人)은 대개 장년기인 40세에 血氣가 命脈을 보충하는 바가 유년기의 절반으로 줄어 노화가 온다고 설명한다. 命脈의 회복은 調養과 病變을 통해서 이루

어지고, 壽命도 길어질 수 있으므로, 調養과 적절한 服藥으로 40세에 이르러 命脈이 회복되어야 오래 살 수 있다는 양생론을 말하고 있다¹⁶.

최근, 활성산소를 처리하는 인체의 항산화력에 관한 관심이 날로 높아지고 있으며, 이에 따라 각종 單味 藥物¹⁷⁻¹⁹과 複合 處方²⁰⁻²³ 및 藥鍼^{24,25}의 항산화 효능에 관한 다양한 연구가 활발히 진행되고 있다.

鹿茸大補湯은 『辛丑新本』에 기재된 이래, 虛弱人 表證汗多者, 眞氣의 稟賦素弱, 陰血耗竭로 인한 耳聾, 目暗, 脚弱, 腰痛, 虛勞의 重症으로 인한 夢泄病 또는 食後痞滿, 腰脚無力病 등에 사용되는 太陰人 처방²⁶으로 최근 고지혈증 치료효과²⁷ 및 지질과산화 억제효과²⁸가 있다는 연구가 보고되고 있으나 鹿茸大補湯의 항산화 효과에 관한 연구는 부족하였다.

이에 저자는 鹿茸大補湯의 항산화 효과를 입증하고자 실험군에 2.2-azobis-2 aminodinopropane-hydrochloride(AAPH) 50mg/kg를 복강에 매일 투여하여 산화 스트레스를 유발하고, 鹿茸大補湯 전당액(200 μ l/day)를 경구투여한 뒤(NYD 실험군), 산화 스트레스로 인한 몸무게의 변화 및 liver index와 혈액학적, 조직학적 변화를 관찰하고, 간조직에서 항산화 효소인 Superoxide Dismutase(SOD)와 catalase의 activity, 항산화 물질인 glutathione의 함량과 산화물질인 Nitric Oxide(NO)와 Malondialdehyde(MDA)의 함량변화를 측정된 결과, 鹿茸大補湯의 항산화 작용에 관한 유의성 있는 성적을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實 驗

1. 재료

1) 동물

동물은 6주령의 수컷 SD Rat을 (주)대한 바이오링크로부터 공급받아 실험당일까지 고형사료(抗生劑 無添加, 삼양사료)와 물을 충분히 공급하고, 실온 22±2℃를 유지하여 1주일 간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

Table 1. The Compositions of *Nocyongdaebo-tang*

Herbal Name	Scientific Name	Weight (g)
鹿茸	<i>Cervi Corru</i>	7.5g
麥門冬	<i>Liriojis Tuber</i>	
薏苡仁	<i>Coicis Semen</i>	5.625g
山藥	<i>Dioscoreae Radix</i>	
天門冬	<i>Asparagi Radix</i>	
五味子	<i>Schizandrae Fructus</i>	
杏仁	<i>Armeniacae Amarum Semen</i>	3.75g
麻黃	<i>Ephedrae Herba</i>	
Total Weight		46.7g

2) 약재

실험에 사용된 鹿茸大補湯(*Nocyongdaebo-tang*, NYD)의 약재의 구성은 『東醫壽世保元』²⁶을 기준으로 하였고 사용한 약재는 大田大學校 附屬 韓方病院에서 구입한 것을 精選하여 使用하였다 (Table 1).

2. 방법

1) 전당 추출

鹿茸大補湯 1첩을 100g 기준으로 환산하여 약탕기(웅진약탕기, 한국)에 넣고 1ℓ의 증류수를 가하여 3시간 동안 끓인 다음 여과지로 여과하여 식힌 후 4℃에서 보관하였다.

2) 산화동물 모델에의 抗酸化 효과 측정

(1) AAPH에 의한 산화적 스트레스 유발 및 약물 투여

실험은 정상군(AAPH에 의한 산화적 스트레스를 유발하지 않은 군), 대조군AAPH에 의한 산화적 스트레스 유발한 후 별무 처치한 군), saline 군, 실험군의 4그룹으로 나누고 각 군당 실험동물을 10마리씩 배정하여 시행하였다. 정상군을 제외한 모든 실험군에 AAPH 50mg/kg를 복강에 매일 투여하여 산화적 스트레스를 유발하였다. saline군에는 saline(1%, 200 μl/day)을, 실험군에는 鹿茸大補湯 전당액(200 μl/day)를 각각 경구투여

하였다.

(2) 몸무게 및 liver index 측정

실험 기간 동안, 몸무게를 매일 측정하여, 산화적 스트레스로 인한 몸무게의 변화를 확인하였으며, 실험 종료 시의 몸무게와 간 무게를 측정하여 Liver index를 계산하였다.

(3) 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.

(4) 간장에서의 抗酸化 효과 측정

① 간 조직 분획

생리 식염수로 관류하여 혈액을 제거한 후 간조직의 일부를 적출하여 여지로 혈액 및 이물질을 제거하고 Bansal등의 방법²⁹에 의해 간조직 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 원심분리 하여 mitochondrial fraction을 얻었다. 이 상등액을 105,000×g에서 1시간 원심분리 하여 cytosolic fraction을 얻었다. 그 침전물에 동일한 양의 0.1M potassium phosphate buffer를 가하여 현탁시켜 microsomal fraction을 얻었다. microsomal fraction에서 glutathione의 함량과 MDA의 함량을 측정하였고, cytosolic fraction을 이용하여 SOD 활성도와 NO 함량을 측정하였으며, mitochondrial fraction에서 catalase의 활성을 측정하였다.

② SOD activity

SOD 활성도는 SOD assay kit(Dojindo, Japan)을 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정 후 SOD 활성도를 계산하였다.

③ Glutathione

조직 내 glutathione함량은 kit(Dojindo, Japan)를 이용하여 405nm에서 흡광도를 측정해서 결과를 얻었다.

④ Catalase activity

Catalase assay kit(Oxford Biomedical Research. USA)를 이용하여 측정하였으며, 520nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다.

⑤ NO assay

조직 내 NO함량은 kit(Oxford, USA)을 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정해서 결과를 얻었다.

⑥ Lipid peroxidation

Lipid peroxidation assay kit(Oxford Biomedical Research. USA)을 이용하여 측정하였고 586nm에서 흡광도를 측정한 후 MDA를 계산하였다.

(5) 조직학적 분석

Cryotome을 이용하여 간 조직을 절편한 후, hematoxylin and eosin 염색(scheme 2)을 하고, 400배율로 현미경에서 관찰을 하였으며, 사진 촬영을 실시하였다.

3) 통계처리

본 실험에서 얻은 결과에 대해서는 t-test와 Anova multi t-test를 실시하여, p 값이 0.05이하일 경우에 유의성을 인정하였다.

Ⅲ. 成 績

1. 몸무게 변화

실험동물에게 1주일간 산화적 스트레스를 가하면서 실험 시작일부터 실험기간동안 몸무게를 측정하였다. 모든 군에서 전반적으로 시간의 경과에 따라 몸무게가 증가하는 경향을 나타내었으나, 실험군에서는 다른 군에 비하여 몸무게의 증가가 완만하게 나타났다(Fig. 1)²).

2. Liver index

실험 종료 후 몸무게에 대한 간 무게의 비율(간비중)을 측정하였다. 대조군의 간비중은 정

2) 논문 진행의 편의를 위하여 실험 동물군의 분류에 다음과 같이 약어를 사용하였다. 정상군은 'Normal'로, SD rat treated AAPH한 대조군은 'Control'으로, SD rat treated AAPH and orally administered with saline한 실험군을 'Saline'으로, SD rat treated AAPH and orally administered with 1% 녹용대보탕을 처치한 실험군을 'NYD'로 표기하였다.

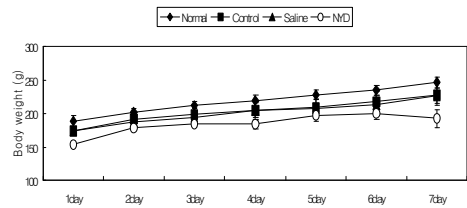


Fig. 1. Effect of Treatment with *Nocyongdaebo-tang*(NYD) on Body Weight of Oxidized Rats. Values Represent the Means ± SEM of 10 Mice.

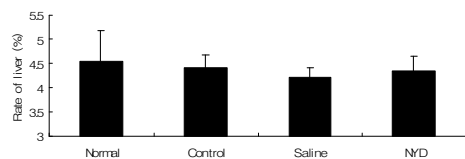


Fig. 2. Effect of Treatment with *Nocyongdaebo-tang*(NYD) on Liver Index of Oxidized Rats. Values Represent the Means ± SEM of 10 Mice.

상군에 비하여 약간 감소하였으나 통계적 유의성은 없었으며, 실험군에서도 정상군이나 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성은 없었다(Fig. 2).

3. Blood chemistry 분석

각 실험군의 혈청으로부터 혈청 성분을 분석하였다(Table 2).

1) Albumin

혈청 albumin은 정상군에 비하여 대조군에서 유의하게 감소하였으며, saline군에서도 정상군에 비해 유의적으로 감소하였다. 실험군은 정상군에 비하여는 혈청 albumin이 감소하였으나, 대조군과 saline군에 비하여는 유의적으로 증가하였다(Fig. 3)³).

3) 본 실험에서 각 샘플값의 측정법은 다음과 같다. The animals were anesthetized with ethyl ether and the blood samples were taken from the heart and the level of albumin(Fig. 3), Total bilirubin(Fig. 4), LDL-cholesterol(Fig. 5), LDH(Fig. 6), glucose(Fig. 7.), GOT(Fig. 8.), GPT(Fig. 9.)in serum was measured.

Table 2. Effect of Treatment with *Nocyongdaebo-tang*(NYD) on Serum Level. The Animals were Anesthetized with Ethyl Ether and the Blood Samples were Taken from the Heart and the Level in Serum was Measured. Values Represent the Means \pm SEM of 5 Mice

Parameter	Normal	Control	Saline	NYD
Albumin(g/ dl)	2.733 \pm 0.062	2.452 \pm 0.099**	2.438 \pm 0.12**	2.656 \pm 0.118 [#]
Total bilirubin(mg/ dl)	0.323 \pm 0.031	0.16 \pm 0.037**	0.228 \pm 0.084	0.26 \pm 0.041
LDL-cholesterol(mg/ dl)	19.5 \pm 3.109	25.8 \pm 3.114	19.8 \pm 3.768	18.6 \pm 2.702 ^{##}
LDH(IU/ ℓ)	2636.75 \pm 263.766	2605.8 \pm 126.595	2619 \pm 286.076	26204.2 \pm 230.294
Glucose(mg/ dl)	68 \pm 1.633	84.8 \pm 3.271**	78.6 \pm 6.229	75.8 \pm 7.791
GOT(IU/ ℓ)	225.5 \pm 22.942	262.6 \pm 26.321	227.8 \pm 53.27	222.4 \pm 25.987
GPT(IU/ ℓ)	39.75 \pm 4.787	69.6 \pm 16.257**	35.2 \pm 4.658 ^{##}	33.4 \pm 1.673 ^{##}

** : P<0.01 vs normal group by ANOVA test.

^{##} : P<0.01, [#] : P<0.05 vs control group by ANOVA test.

[#] : P<0.01, # : P<0.05 vs saline group by ANOVA test.

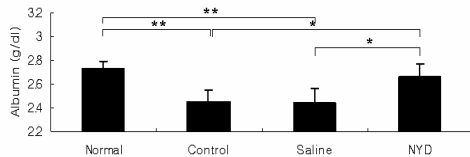


Fig. 3. Effect of Treatment with *Nocyongdaebo-tang*(NYD) Decoction on Serum Albumin Level of Oxidized Rat. Values Represent the Means \pm SEM of 5 Mice. **:p<0.01, *: p<0.05 by ANOVA test.

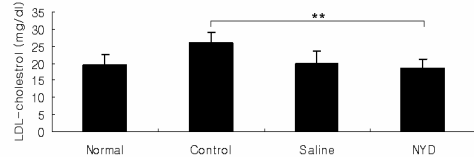


Fig. 5. Effect of Treatment with *Nocyongdaebo-tang*(NYD) Decoction on Serum LDL-cholesterol of Oxidized Rat. Values Represent the Means \pm SEM of 5 Mice. **:p<0.01 by ANOVA test.

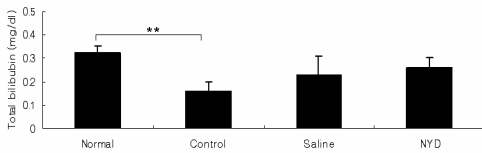


Fig. 4. Effect of Treatment with *Nocyongdaebo-tang*(NYD) Decoction on Serum Total Bilirubin Level of Oxidized Rat. Values Represent the Means \pm SEM of 5 Mice. **:p<0.01 by ANOVA test.

2) Total bilirubin

Total bilirubin은 정상군에 비하여 대조군에서 유의적으로 감소하였고 saline군과 실험군도 정상군에 비하여 감소하였으나, 실험군은 대조군에 비하여 증가하였다(Fig. 4).

3) LDL-Cholesterol

LDL-cholesterol은 정상군에 비하여 대조군에서 유의적이지는 않았으나 증가하였으며, 실험군은 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였을 뿐 아니라 정상군에 비하여도 감소한 것으로 나타났다(Fig. 5).

4) LDH

정상군에 비하여 대조군의 혈청 LDH의 농도 차이는 거의 없었고, saline군과 실험군에서도 LDH의 농도는 거의 변화가 없었으며, 통계적 유의성을 갖지 못하였다(Fig. 6).

5) Glucose

혈중 glucose는 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있게 증가하였고, 실험군에서는 대조군

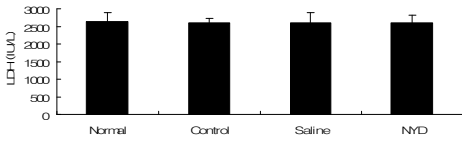


Fig. 6. Effect of Treatment with *Nocyongdaebo-tang*(NYD) Decoction on Serum LDH Level of Oxidized Rat. Values Represent the Means \pm SEM of 5 Mice.

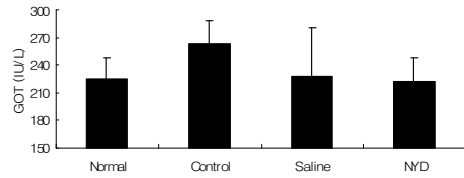


Fig. 8. Effect of Treatment with *Nocyongdaebo-tang*(NYD) Decoction on GOT in Serum of Oxidized Rat. Values Represent the Means \pm SEM of 5 Mice.

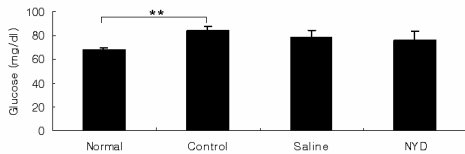


Fig. 7. Effect of Treatment with *Nocyongdaebo-tang*(NYD) Decoction on Serum Glucose Level of Oxidized Rat. Values Represent the Means \pm SEM of 5 Mice. **: $p < 0.01$ by ANOVA test.

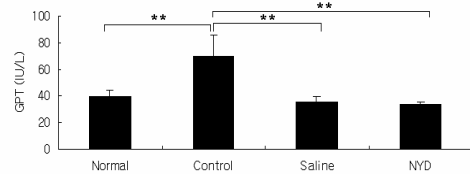


Fig. 9. Effect of Treatment with *Nocyongdaebo-tang*(NYD) Decoction on GPT in Serum of Oxidized Rat. Values Represent the Means \pm SEM of 5 Mice. **: $p < 0.01$ by ANOVA test.

과 saline군에 비하여 감소하였으나 유의성은 없었다(Fig. 7).

6) GOT

정상군에 비하여 대조군에서 GOT의 농도가 증가하였고, 실험군은 대조군에 비하여 GOT 농도가 감소하였으나 유의적이지는 않았다(Fig. 8).

7) GPT

정상군에 비하여 대조군에서 GPT 농도가 유의적으로 증가하였고, 실험군과 saline군은 대조군에 비하여 GPT 농도가 유의적으로 감소하였다(Fig. 9).

4. 간에서의 抗酸化 효과 측정

분획한 간 조직으로부터 抗酸化 효과를 측정하였다(Table 3).

1) SOD activity

抗酸化 효소인 SOD의 활성도를 관찰한 결

과, SOD activity는 정상군에 비해서 대조군에서 유의적으로 감소하였다. 실험군은 대조군과 saline군에 비하여 유의성 있게 증가하였다.(Fig. 10)⁴⁾.

2) Catalase

抗酸化 효소인 catalase의 함량을 확인한 결과, 정상군에 비하여 대조군과 saline군에서 유의성 있게 감소하였으며, 실험군에서는 대조군과 saline군에 비하여 유의성 있게 증가하였다.(Fig. 11).

3) Glutathione

抗酸化 물질인 glutathione의 함량을 확인한 결과, 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있

4) 본 실험에서 각 샘플값의 측정법은 다음과 같다. The body weight was monitored every other day during the experiment. After the animals were sacrificed, the liver was taken out and SOD activity was estimated at 450nm by ELISA.

Table 3. Effect of Treatment with *Nocyongdaebo-tang*(NYD) on Antioxidant in Rat Liver.

Parameter	Normal	Control	Saline	NYD
SOD activity(%)	72.513±4.164	46.018±2.85**	62.991±1.417* ^{PP}	77.894±2.351 ^{PPP###}
GSH Conc.(umol/ ℓ)	123.433±5.183	62.017±10.536**	105.11±7.983 ^{PP}	141.313±10.741 ^{PPP###}
NO Conc.(umol/ ℓ)	15.353±4.179	41.947±4.348***	25.345±3.803** ^{PP}	10.075±4.614 ^{PPP###}
MDA Conc.(umol/ml)	0.353±0.015	0.48±0.02***	0.39±0.01 ^{PP}	0.377±0.015 ^{PP}
Catalase activity(U/ml)	167.977±0.234	111.087±5.562***	139.633±0.155*** ^{PPP}	162.27±0.93 ^{PPP###}

The animals in saline, NYD groups were orally administered with saline, 1% *Noc-Yong Daebotang* decoction respectively for 7 days (200 μl/day). After the animals were sacrificed, the liver was taken out and estimated at 450nm by ELISA. Values represent the means ± SEM of 5 mice.

** : P<0.01 vs normal group by ANOVA test.
^{PP} : P<0.01, ^P : P<0.05 vs control group by ANOVA test.
^{##} : P<0.01, # : P<0.05 vs saline group by ANOVA test.

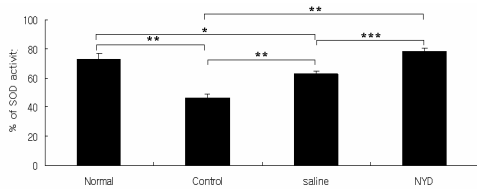


Fig. 10. Effect of Treatment with *Nocyongdaebo-tang*(NYD) Decoction on SOD Activity in Oxidized Rat Liver. Values Represent the Means ± SEM of 5 Mice. ***: p<0.001, **: p<0.01, *: p<0.05 by ANOVA test.

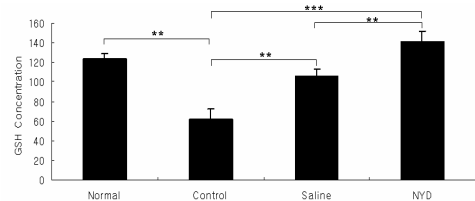


Fig. 12. Effect of Treatment with *Nocyongdaebo-tang*(NYD) Decoction on Glutathione Level in Oxidized Rat Liver. Values Represent the Means ± SEM of 5 Mice. ***: p<0.001, **: p<0.01 by ANOVA test.

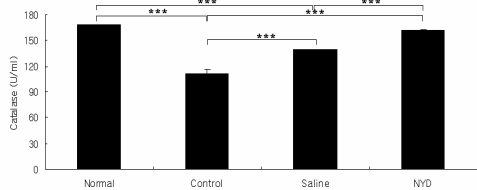


Fig. 11. Effect of Treatment with *Nocyongdaebo-tang*(NYD) Decoction on Catalase Activity in Oxidized Rat Liver. Values Represent the Means ± SEM of 5 Mice. ***: p<0.001 Compared to Normal by ANOVA test.

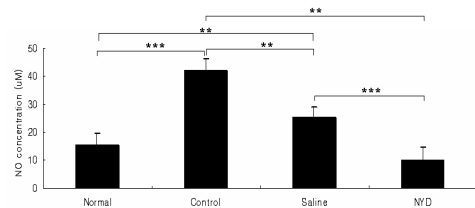


Fig. 13. Effect of Treatment with *Nocyongdaebo-tang*(NYD) Decoction on NO Concentration in Oxidized Rat Liver. Values Represent the Means ± SEM of 5 Mice. ***: p<0.001, **: p<0.01 by ANOVA test.

게 감소하였으며, 실험군에서는 대조군과 saline군에 비하여 유의성 있게 증가하였다(Fig. 12).

4) NO assay

산화물질인 NO의 함량은 대조군에서 정상군에 비하여 유의성 있게 증가하였으며, 실험군은 대조군과 saline군에 비하여 유의성 있게 감소하였다(Fig. 13).

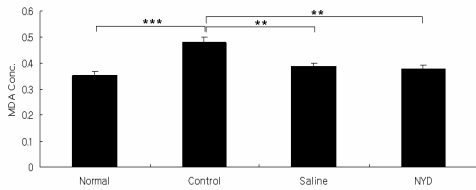


Fig. 14. Effect of Treatment with *Nocyongdaebo-tang*(NYD) Decoction on MDA Concentration in Oxidized Rat Liver. Values Represent the Means ± SEM of 5 Mice. ***: $p < 0.001$, **: $P < 0.01$ by ANOVA test.

5) Lipid peroxidation

산화물질인 MDA의 함량은 정상군에 비하여 대조군에서 유의적으로 증가하였으며, 실험군은 대조군과 saline군에 비하여 유의성 있게 감소하였다(Fig. 14).

5. 조직학적 분석

抗酸化에 의한 간 조직의 변화를 확인하기 위하여 간 조직을 적출하여 H&E 염색법을 이용하여 얻은 결과이다. 정상군(A)에 비해 대조군(B)의 간 조직의 세포 조밀도가 저하되었으며, 실험군(D)에서는 세포 조밀도가 정상군과 유사한 것을 확인하였다(Fig. 15).

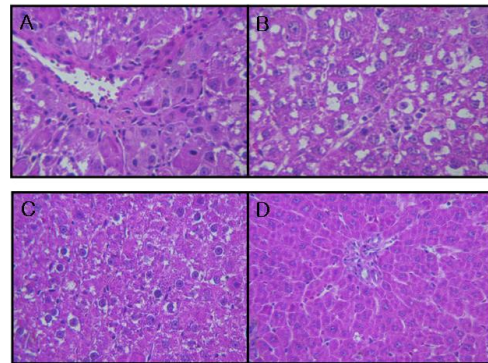


Fig. 15. Histological Analysis of Oxidized Rat Liver. The Rats were Injected Intraperitoneally (i.p) with AAPH for 7days (once a day, 50mg/kg). Those in the Saline and NYD Groups Were Treated As Described in the Experimental Methods. Rat Liver was Removed, and the Tissue was Sliced and Embedded in Paraffin, and 6Uμs Sections were Stained with Hematoxylin and Eosin. A: Normal (×400) B: Control(×400) C: Saline(×400) D: NYD(×400)

합물 혹은 반응성이 큰 산소화합물(1O_2 , H_2O_2)로서 생체조직을 공격하여 세포를 산화 손상시키는 주된 성분들을 말한다³.

활성산소의 종류에는 대표적으로 Superoxide Radical(O_2^-), Hydrogen Peroxide(H_2O_2), Hydroxyl Radical($HO^·$), Singlet Oxygen(1O_2) 등 4가지가 있다. 활성산소를 제거하는 抗酸化 효소로는 O_2^- 를 제거하는 SOD(Superoxide Dismutase)효소, H_2O_2 를 제거하는 CAT(Catalase), GPX(Glutathione Peroxidase)가 있고, 抗酸化물질로는 효소계의 작용을 받지 않는 $HO^·$, 1O_2 등을 제거하는 vitamin C, vitamin E, uric acid, bilirubin 등이 있다^{31,32}.

생체에서는 끊임없이 활성산소가 생성되는데 어떤 원인에 의하여 활성산소의 생성이 증가하거나 이들을 제거하는 抗酸化 기능이 저하되었을 경우, 생성과 제거의 균형이 깨져, 활성산소의 독성이 발생하는 산화 스트레스 상태가 된다³².

활성산소 이론은 노화의 기전을 설명하기 위한 여러 학설 중 최근 주목 받고 있는 이론

IV. 考 察

산화란 산소가 다른 원소나 화합물과 결합하는 것³⁰으로 우리 주위에서 흔히 일어나는 반응 중의 하나이다. 자연계에 존재하는 생물이나 무생물은 모두 산화되어 소멸되어 간다. 우리 인간도 이 법칙에서 제외될 수 없으며, 산소에 의해 산화되어 기능을 소실함으로써 늙고 병들고 죽어간다고 생각할 수 있다¹.

생체 내에서의 산화 반응은 활성산소에 의해 일어나게 되며 그 결과 생체는 산화적 손상을 입게 되어 직접 또는 간접적으로 장애를 유발하게 된다². 활성산소란 짝을 이루지 못한 독신전자(free radical)를 가진 불안정한 산소화

으로, ‘노화의 활성산소설’⁸이라 하여 활성산소에 의한 산화 스트레스를 노화와 수명결정에 중요한 요인으로 보고 있다.

현대인의 질병 중 90%가 활성산소와 관련이 있다고 알려져 있는데, 이처럼 인체가 산화 스트레스 상태가 되면 각종 암, 뇌졸중, 동맥경화, 심근경색, 당뇨병, 간염, 신장염, 관절 류머티즘, 각종 고원병, 전신성 홍반성 낭창, 폐경화증, 아토피성 피부, 피부궤양 등의 발병률이 높아진다^{4,7,33-35}.

한편 이러한 산화스트레스에 대응하여 인체를 방어할 수 있는 항산화력에 대한 연구 또한 활발한데, 항산화력이란 다양한 원인에 의해 발생된 활성산소를 제거할 수 있는 인체의 능력, 즉 인체를 산화시키는 물질을 방어할 수 있는 體內 항산화 시스템의 기능을 말한다. 體內 효소계 항산화 물질과 비효소 항산화 물질인 vitamin C, vitamin E, uric acid, albumin, glutathione 등은 항산화력을 높이는 매우 중요한 구성성분이다^{9,10}. 이러한 효소들은 성인이 되면서 효소들의 유도능이 저하되고¹¹ 그 결과 활성 산소가 세포 기능을 저하시켜 노화 과정을 유발하는 것으로 알려지고 있다¹².

한의학에서는 노화의 원인을 先天不足과 後天失調로 설명하는데¹³ 『素問·上古天真論』¹⁴에서 “天壽過度 氣脈相通, 而腎氣有餘”라 하여 선천적으로 타고난 腎氣의 성쇠와 수명이 밀접한 상관관계를 가진다 하였다.

四象醫學에서는 노화의 개념과 장수하는 방법에 관하여 다음과 같이 설명한다.

『東醫壽世保元』 「廣濟說」¹⁵에서 이제마(1838-1900)는 인생의 단계를 16세 터울로 幼年과 少年, 壯年, 老年으로 나누었다. 또한 四象人의 건강을 유지하고 길흉을 점치며 壽命의 長短을 결정하는 술어로 命脈實數의 개념을 설정하고, 이를 여덟 단계로 나누었다. 命脈實數란 偏小한 臟의 기운이 半이 되는 것으로 절반이 되지 못하면 죽는 것이다¹⁶. 보통사람(平人)은 대개 장년기인 40세에 血氣가 命脈을 보충하는 바가 유년기의 절반으로 줄어 노화가

온다고 설명한다. 命脈의 회복은 調養과 病變을 통해서 이루어지고, 壽命도 길어질 수 있다. 보통 사람들은 40세에 존재하는 命脈에 따라 壽命이 결정되는데, 調養과 적절한 服藥으로 40세에 이르러 命脈이 회복되면 오래 살 수 있다¹⁶.

한편, 命脈은 비록 간간히 손상받을 수 있으나 64세 전에는 모두 生息補充之道가 있다고 하여, 인체의 자연회복력으로서의 生息補充之道를 설명하고 있다. 즉 生息補充之道란 손상된 命脈을 보충할 수 있는 능력으로 생명을 유지시키는 근원이 된다¹⁶.

이상에서 살펴보면, 산화는 四象醫學에서 말하는 命脈의 失調로 볼 수 있고 신체 내의 항산화 능력은 生息補充之道의 개념으로 생각할 수 있다. 이와 더불어 命脈을 유지시킬 수 있는 양생법에 관한 연구도 필요할 것으로 보인다.

四象醫學의 양생관에 관한 연구를 살펴보면, 김³⁶의 ‘東醫壽世保元 四象本草에서의 養生에 관한 考察’, 한³⁷의 ‘東醫壽世保元과 濟衆新編의 養生長壽論에 관한 考察’, 유³⁸의 ‘노화와 수명에 관한 四象醫學的 養生觀에 관한 考察’ 등이 있는데, 수명을 늘리고 젊음을 유지하기 위해서는, 체질에 따른 偏小之臟에 작용하여 수명에 영향을 주는 酒色財權을 경계하고, 각 체질에 따른 臟腑大小偏差를 극복하는 保命之主를 길러 無病상태를 유지해야 한다고 말하고 있다.

臟腑形局이 肝大而肺小한 太陰人의 병증은 크게 胃腕受寒表寒病과 肝受熱裏熱病으로 구분되고²⁶, 다시 胃腕受寒表寒病은 太陽寒厥證과 胃腕寒證으로, 肝受熱裏熱病은 肝燥熱證과 燥澀便閉證으로 분류된다³⁹.

송^{40,41}은 太陰人의 병리를 “太陰人은 肝大肺小하기 때문에 肝陰이 過旺하고 肝陽이 부족하여 肝에는 鬱熱이 생기기 쉽고, 肺는 虛寒하기 쉽다.” 등으로 설명하고 있다.

肝大肺小한 太陰人의 특성 때문에 太陰人은 肝之黨에 속하는 두뇌 역시 肝大肺小한 영향

을 받고 있어서 다른 체질보다도 뇌경색이나 뇌출혈 등 중풍 발병률이 높다는 연구보고^{42,43}가 있으며 呼散之氣보다 吸取之氣가 강하고 타 체질에 비해 활동량이 적어 고혈압이나 고지혈증 등의 현대 성인병질환에 이환될 가능성이 높다는 연구들^{44,45}도 보고되고 있다.

한편 활성산소는 뇌경색, 뇌출혈 및 심근경색, 협심증 등 심혈관계 질환의 원인이 되는 동맥경화를 유발하는 것으로 알려져 있는데⁶, 활성산소가 유발하는 동맥경화와 체질별 특성을 고찰한 배의 연구⁴⁶에서 산화스트레스를 받은 太陰人 환자가 산화스트레스를 받지 않은 太陰人에 비하여 total cholesterol 및 triglyceride 수치가 유의성이 있게 높은 것으로 나타나 太陰人이 산화스트레스를 받을 경우, 동맥경화가 유발될 가능성이 높은 것으로 보여진다.

따라서 太陰人은 산화스트레스에 의한 동맥경화와 이로 인해 유발되는 뇌, 심혈관계 질환에 대한 이환율이 높을 것으로 추정되며, 이와 관련한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

현재 사용하고 있는 鹿茸大補湯은 『甲午舊本』에 수록된 鹿茸大造湯을 기원으로 하는데, 鹿茸大助湯은 鹿茸이 君藥이고 天門冬, 麥門冬, 升麻, 葛根, 杏仁, 酸棗仁, 黃芩, 五味자로 구성되어 있다. 『辛丑新本』에서는 鹿茸大造湯에서 升麻, 葛根, 酸棗仁, 黃芩을 빼고, 薏苡仁, 山藥, 麻黃을 추가하여 太陰人, 虛弱人의 表證寒證이 많은 자를 治하는 鹿茸大補湯이 수록되어 있다²⁶.

鹿茸大補湯의 처방을 분석해보면, 鹿茸大補湯은 虛弱人 表證汗多者, 眞氣의 稟賦素弱, 陰血耗竭로 인한 耳聾, 目暗, 脚弱, 腰痛, 虛勞의 重症으로 인한 夢泄病 또는 食後痞滿, 腰脚無力病 등에 사용되는 처방으로 眞氣의 손상을 극도로 억제하면서 腎에 작용하여 肺氣를 근본적으로 보충하는 山藥에 淸金強火 滋陰潤燥하는 天門冬과 더불어 부족한 精血을 보충하고 끌어올려주는 힘이 강력한 鹿茸이 합세하여 구성된다⁴⁷.

AAPH는 수용성의 azo 화합물의 일종으로

복강 내로 투여될 경우 수분 내에 혈류를 타고 전신으로 순환되면서 혈액에 있는 고분자 물질 또는 세포의 원형질막과 반응하여 모든 장기에 손상을 줄 가능성이 크며⁴⁸ 그 중에서도 간과 뇌에 현저한 산화적 손상을 초래한다고 보고되었다⁴⁹.

최근 鹿茸大補湯의 연구로는 이²⁷의 ‘고지혈증 흰쥐에 대한 鹿茸大補湯의 예방효과’에서 鹿茸大補湯이 TG, TC, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, free fatty acid 등의 수치에 영향을 주어 고지혈증 치료효과가 있다는 연구가 있었고, 이²⁸의 ‘전통 한약 당제인 鹿茸大補湯의 생리활성 효과’에서는 鹿茸大補湯이 지질과산화억제효과와 아질산염 소거효과가 있다는 연구 등이 있었으나 鹿茸大補湯의 抗酸化에 관한 연구는 부족하였다.

이에 저자는 鹿茸大補湯의 抗酸化 효과를 입증하고자 실험군에 AAPH 50mg/kg를 복강에 매일 투여하여 산화 스트레스를 유발하고, 鹿茸大補湯 전탕액(200 μ l/day)을 경구투여한 뒤(실험군), 산화 스트레스로 인한 몸무게의 변화 및 liver index와 혈액학적, 조직학적 변화를 관찰하고, 간조직에서 抗酸化효소인 SOD와 catalase의 activity, 抗酸化물질인 glutathione의 함량과 산화물질인 NO와 MDA의 함량변화를 확인하여 鹿茸大補湯의 抗酸化 작용을 검증해 보고자 하였다.

실험동물에게 1주일간 산화적 스트레스를 가하면서 실험 시작일부터 실험기간동안 산화 스트레스로 인한 체중의 증가를 확인하기 위해 몸무게를 측정된 결과, 모든 군에서 전반적으로 시간의 경과에 따라 몸무게가 증가하는 경향을 나타내었으나, 鹿茸大補湯을 투여한 실험군에서는 다른 군에 비하여 몸무게의 증가가 완만하게 나타났다(Fig. 1).

생체의 老化나 산화가 진행되면, 肝肥大, 肝浮腫 등이 나타나기도 하는데 이를 확인하기 위해 실험 종료 후 실험동물의 몸무게에 대한 간 무게의 비율(간비중)을 측정하였다. 대조군의 간비중은 정상군에 비하여 약간 감소하였

으나 통계적 유의성은 없었으며, 실험군에서는 정상군이나 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성을 나타내지는 않았다(Fig. 2). 鹿茸大補湯은 太陰人 偏小之臟인 肺와 偏大之臟인 肝의 불균형을 조절하는 약⁴⁷으로서 간손상을 억제하는데 관여하고 있다고 생각되나 이번 실험 결과는 유의성이 없는 것으로 나와 향후 추가 연구가 필요할 것으로 사료된다.

산화가 진행되면 일반적으로 간 기능 수치는 증가되는 경향으로 지방간 및 기타 간질환과 관련이 높다. 간에는 효소함량이 많을 뿐만 아니라 해부학적으로도 효소의 혈중 유출이 용이하게 때문에 혈청 GOT, GPT는 간장해의 예민한 검사라 할 수 있다⁵⁰. 간에 존재하는 효소인 GOT, GPT수치는 대조군에서 정상군에 비하여 모두 증가하였고 GPT에서는 정상군에 비하여 대조군이 유의성 있게 증가하였다. 실험군은 대조군에 비하여 GOT, GPT 모두 감소했는데 특히 GPT에서 실험군이 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였다(Fig. 8-Fig. 9). GPT의 활성치는 간 특이성이 높아서 간세포괴사에 의해 상승하는 것으로, 이는 鹿茸大補湯이 간세포 손상을 억제하는 효과가 있는 것으로 사료된다.

Albumin은 혈액 중에 유리지방산과 결합하고 있는 상태에서 산소유리기로써의 유리지방산의 유해 작용에 대한 방어 작용을 한다⁵¹. 혈청 albumin 농도는 정상군에 비하여 대조군에서 유의하게 감소하였고, saline군에서도 정상군에 비해 유의적으로 감소하였다. 실험군은 정상군에 비하여는 혈청 albumin이 감소하였으나, 대조군과 saline군에 비하여는 유의적으로 증가하였다(Fig. 3).

Bilirubin은 적혈구 중 hemoglobin에서 유래하여 간 또는 비장의 망계내 세포에서 효소에 의해 산화, 환원 반응으로 생기는 화합물로서 체내 抗酸化물질의 하나로 알려져 있다⁵⁰. 빌리루빈의 抗酸化 작용은 비타민 C의 12분의 1, 요산의 3배의 활성이 있다고 한다⁵². 이번 실험에서 total bilirubin은 정상군에 비하여 대조군에

서 유의적으로 감소하였고 saline군과 실험군도 정상군에 비하여 감소하였으나, 실험군은 대조군에 비하여 증가(Fig. 4)한 것으로 나타나 鹿茸大補湯이 抗酸化물질인 total bilirubin을 증가시켜 체내 抗酸化力 증진에 효과가 있다고 보여진다.

혈중 cholesterol은 혈중 농도가 기준치를 초과하면 고지혈증 등의 대사이상 질환 및 심혈관계 질환을 유발하게 되는 것으로 알려져 있다. 특히 LDL-cholesterol은 동맥벽에 침착되어 혈관내피세포의 손상을 초래한다. 혈관벽에 침착된 LDL-cholesterol이 산화되면 내피세포 독성 물질로 변하여 내피세포 손상이 증폭되면서 죽상 동맥경화증의 원인이 되는 것이다⁵⁰. 이번 실험에서 LDL-cholesterol은 정상군에 비하여 대조군에서 유의적이지는 않았으나 증가하였으며, 실험군은 대조군에 비해 유의성 있게 감소하였을 뿐 아니라 정상군에 비하여도 감소한 것으로 나타났다(Fig. 5). 이는 鹿茸大補湯이 신체내의 산화작용을 억제하면서 대사이상 질환 및 심혈관계 질환의 발생 위험을 낮추는 효과가 있는 것으로 기대된다.

혈청 LDH를 측정된 결과, 정상군과 비교하여 대조군에서 혈청 LDH의 농도의 차이는 거의 없었으며, saline군과 실험군에서도 LDH의 농도는 거의 변화가 없었으며, 통계적 유의성을 갖지 못하였다(Fig. 6).

혈당은 당대사에 중요한 요인으로 생체에 에너지원으로 쓰이지만 혈중에 과다하게 증가하면 여러 생체 내 분자들과 반응하여 교차결합을 형성하여 세포활성을 저하시킨다고 알려져 있다⁵³. 이번 실험에서 혈중 glucose는 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있게 증가하였고, 실험군에서는 대조군과 saline군에 비하여 감소하여 鹿茸大補湯이 세포 활성 저하를 억제한다고 추정할 수는 있으나 통계적 유의성이 없어(Fig. 7) 향후 추가 연구가 필요할 것이다.

인체가 받는 산화스트레스에 관여하는 요인으로 활성산소와 함께 주목 받는 것이 抗酸化

力이다. 인체의 抗酸化力에 관여하는 요소는 크게 두 가지로 나눌 수 있는데, 체내 抗酸化 효소계와 비효소 抗酸化 물질이다^{9,10}. 활성산소의 종류에는 대표적으로 Superoxide Radical (O_2^-), Hydrogen Peroxide(H_2O_2), Hydroxyl Radical (HO^\cdot), Singlet Oxygen(1O_2) 등 4가지가 있다. 활성산소를 제거하는 抗酸化 효소로는 O_2^- 를 제거하는 SOD효소, H_2O_2 를 제거하는 CAT (Catalase), GPX(Glutathione Peroxidase)가 있고, 抗酸化물질로는 효소계의 작용을 받지 않는 HO^\cdot , 1O_2 등을 제거하는 vitamin C, vitamin E, uric acid, bilirubin 등이 있다³².

본 실험에서는 분획한 간 조직으로부터 抗酸化 효과를 측정하기 위하여, 抗酸化 효소인 SOD와 catalase activity 및 抗酸化물질인 glutathione (GSH)의 농도를 측정하고, 산화의 최종 산물인 MDA와 산화물질 NO의 함량을 측정하였다.

SOD는 산소의 대사과정에서 가장 먼저 생성되는 O_2^- 를 제거하는 효소로 2분자의 O_2^- 를 반응시켜 O_2 와 H_2O_2 로 변화시킨다($2O_2^- + 2H^+ \rightarrow O_2 + 2H_2O_2$). SOD에 의해 생성된 H_2O_2 는 peroxidase나 catalase에 의하여 무해한 물분자와 산소분자로 전환된다⁵⁵. 본 실험에서 SOD activity는 정상군에 비해서 대조군에서 유의적으로 감소하였고, 실험군은 대조군과 saline군에 비하여 유의성 있게 증가하였다(Fig. 10).

Catalase는 세포내에서 대사 산물인 H_2O_2 를 인체에 무해한 H_2O 와 O_2 로 분해하는 세포 방어 제 2抗酸化효소로($2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$) SOD가 O_2^- 를 H_2O_2 와 O_2 로 전환시키면 catalase가 전환된 H_2O_2 를 O_2 와 H_2O 로 분해함으로써 생체에 유해한 활성 산소를 보다 효율적으로 제거하게 된다⁵⁵. 본 실험에서는 catalase의 활성이 정상군에 비하여 대조군과 saline군에서 유의성 있게 감소하였으며, 실험군에서는 대조군과 saline군에 비하여 유의성 있게 증가하였다(Fig. 11).

鹿茸大補湯을 투여하여 SOD 활성과 catalase 활성이 모두 유의하게 증가한 것은 鹿茸大補湯이 활성 산소의 생성을 방지하는 작용과

superoxide 등을 포착하여 제거하는 작용 모두에 유효한 것을 의미하며, 抗酸化의 전 과정에 고르게 작용한다고 볼 수 있다⁹.

抗酸化물질인 산화형 glutathione(GSH)은 모든 조직에 분포하여 세포의 유지 및 생존에 필수적인 방어기구를 수행한다. 특히 세포내에서 반응성이 강한 과산화물을 제거하여 세포를 보호한다⁵⁶. 또한 비타민 E와 더불어 불포화지방산의 과산화를 방지하는 작용을 하여 체내 抗酸化力 증진에 중요한 抗酸化물질이다⁵². 본 실험에서 glutathione의 함량을 확인한 결과, 정상군에 비해 대조군에서 유의성 있게 감소하였고, 실험군에서는 대조군과 saline군에 비해 유의성 있게 증가하였다(Fig. 12). 이는 鹿茸大補湯이 효소계의 작용을 받지 않는 활성산소인 HO^\cdot , 1O_2 등을 제거하는 기능에도 효과가 있음을 보여준다.

산화물질인 NO는 다양한 세포에서 발생되어 생체 방어와 활성 산소에 의해 유발된 조직 손상에 기여한다. NO에 의해 유발된 산화제들은 Mn SOD, ascorbate, glutathione과 urate 등과 같은 抗酸化 방어 기전을 소모시킬 수 있으며 주요한 지질과 단백질을 구조적으로 변화시킬 수 있다⁴⁸. 본 실험에서 NO의 함량은 대조군에서 정상군에 비하여 유의성 있게 증가하였으며, 실험군은 대조군과 saline군에 비하여 유의성 있게 감소하였다(Fig. 13).

MDA는 혈관벽 내막에서 저밀도지단백(LDL-cholesterol)을 화학적으로 변형시키며, 변형된 LDL-cholesterol은 세포의 산화적 손상을 일으켜 세포의 생리적 기능을 저하시킨다³¹. 본 실험에서 산화물질인 MDA의 함량은 정상군에 비하여 대조군에서 유의적으로 증가하였으며, 실험군은 대조군과 saline군에 비하여 유의성 있게 감소하였다(Fig. 14).

이는 세포막 지질의 불포화지방산의 산화적 분해가 감소한다는 것을 의미하며 鹿茸大補湯이 抗酸化 작용에 기여한다고 볼 수 있다.

Harris hematoxylin & Eosin staining은 조직의 구조를 관찰하기 위한 염색법으로 이를 이용

하여 간 조직의 변화를 관찰한 결과, 정상군에 비하여 대조군에서 간 조직의 세포조밀도가 저하되었으나 실험군에서는 간 조직의 세포 조밀도가 정상군과 유사한 것을 확인 하였다(Fig. 15). 이는 鹿茸大補湯이 산화로 인한 간 조직의 손상을 억제하는 효과가 있는 것으로 사료된다.

이상의 실험 결과에서, AAPH 50mg/kg를 복강에 매일 투여하여 산화적 스트레스를 유발한 백서에게 鹿茸大補湯 전탕액(200 μ l/day)을 경구 투여한 후, 산화 스트레스로 인한 몸무게의 변화 및 liver index와 혈액학적, 조직학적 변화를 관찰하고, 간에서의 항산화효과를 분석한 결과, 혈청 GPT수치는 감소하고 조직학적으로 간조직의 손상을 억제하여 鹿茸大補湯의 간기능 개선 효과를 확인할 수 있었고, 혈청 albumin 농도는 증가하고, LDL-cholesterol은 감소하였으며, 혈청 total bilirubin은 증가하여 鹿茸大補湯이 대사이상을 개선하고 항산화력을 증진시키는 효과가 있음을 확인하였다.

또한 항산화력 검사에서는 항산화효소인 SOD와 catalase의 activity가 증가하고, 항산화물질인 glutathione의 함량 또한 증가한 반면 산화물질인 NO와 MDA의 함량은 감소하여 鹿茸大補湯이 체내의 항산화 과정에 전반적으로 유의한 효과가 있는 것으로 판단된다.

따라서 향후 항산화작용에 관한 鹿茸大補湯의 임상에서의 활용과 그 기전에 대한 연구가 더욱 필요할 것으로 보이며, 지속적인 연구를 통하여 太陰人의 산화 및 노화 관련 질환의 예방과 치료에 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다.

V. 結 論

鹿茸大補湯의 항산화 효과를 입증하고자 실험군에 AAPH 50mg/kg를 복강에 매일 투여하여 산화 스트레스를 유발하고, 鹿茸大補湯 전탕액(200 μ l/day)을 경구투여한 뒤(NYD 실험군), 산화 스트레스로 인한 몸무게의 변화 및 liver index와 혈액학적, 조직학적 변화를 관찰하고, 간에서의 항산화 효과를 분석한 결과, 다음과 같은 결론

을 얻었다.

1. 혈액학적 분석 결과, 鹿茸大補湯은 혈청 단백질인 albumin 농도를 유의성 있게 증가시켰고, 혈청 LDL-cholesterol과 간효소인 GPT수치를 유의성 있게 감소시켰다.
2. 간에서의 항산화 효과를 분석한 결과, 鹿茸大補湯은 항산화 효소인 SOD와 catalase의 활성도 및 항산화 물질인 glutathione(GSH)의 함량을 유의성 있게 증가시켰고, 산화물질인 NO와 MDA의 함량은 유의적으로 감소시켰다.
3. 간 조직을 적출하여 관찰한 조직학적 분석결과, 鹿茸大補湯은 간조직의 세포 조밀도를 정상화하였다.

VI. 參考文獻

1. 정혜영 외. 활성산소와 노화조절. 화학세계. 1998;38(8):51-55.
2. Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.* 1984;219:1-4.
3. Gutteridge, J.M.C. and Halliwell, B. Antioxidants in nutrition, health and disease. Oxford University Press, 1994:1-62.
4. Cohen G. The generation of hydroxyl radicals in biological system. *Photobiol.* 1978;28:669-675.
5. Halliwell B. Reactive oxygen species and the central nervous system. *J Neurochem.* 1992;59:1609-1623.
6. Vusse GJ, Bilsen M. Oxidative stress, glutamate, and degenerativedisorders. *Science.* 1993;262:689-695.
7. Jamieson D. Oxygen toxicity and reactive oxygen metabolites in mammals. *Free radic biol med.* 1989;7:87-108.
8. 최진호. 노화의 메카니즘과 연구방향. 한국과학재단, 서울, 1990:134-187.
9. 김영근. 항산화劑 Antioxidant. 여문각, 서울, 2004:14-140.

10. 니와 유끼에. 활성산소가 죽음을 부른다. 글이랑, 서울, 1995:57-68.
11. 丹羽勸負. 활성산소를 다스리면 무병장수 할 수 있다. 문예출판사, 서울, 2002:79-132.
12. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., randall R.J. Protein measurement with folin phenol reagent, J. Biol. Chem. 1951:265-275.
13. 전국한외과대학 간계내과학교수공저. 간계내과학. 동양의학연구원, 서울, 1989:504.
14. 왕기. 황제내경소문금석. 성보사, 서울, 1983:8.
15. 이제마. 동의수세보원. 행림서원, 서울, 1985: 12-80.
16. 송일병 외 편저. 四象醫學 文獻集. 경희대학교 한외과대학 사상체질과, 서울, 2005: 12-21.
17. 박용기. 양제근의 분획별 抗酸化 작용에 대한 연구. 대한본초학회지. 2003;18(4):269-277.
18. 박용기. 노봉방의 抗酸化 작용에 대한 연구. 대한본초학회지. 2003;17(2):203-212.
19. 장은희 외. 오미자 추출물의 抗酸化 효과. Korea J.SOC. FOOD SCI. 1996;12(3): 372-376.
20. 김만우. 태음조위탕의 항산화 효능에 의한 간세포보호에 관한 연구. 사상체질의학회지. 2001;13(1):51-60.
21. 한병삼. 청심연자탕의 항산화효과와 기전에 관한 연구. 사상체질의학회지. 2004; 16(1):41-55.
22. 정봉연. 소음인 십이미관중탕, 오수유부자 이증탕이 흰쥐의 뇌와 간조직의 항산화기전에 미치는 영향. 사상체질의학회지. 1999;11(2):32-45.
23. 박성민 외. 보중익기탕과 육미지황탕이 노화촉진생쥐의 간장내 抗酸化 작용에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2003;18(4):75-191.
24. 임창수. 작약 약침의 抗酸化 효능에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1999;16(3):269-286.
25. 이종무. 택사 약침의 抗酸化 작용에 관한 실험적 연구. 대한침구학회지. 2003;20(1): 159-176.
26. 전국 한외과대학 사상의학교실. 사상의학. 집문당, 서울, 2004:342-353,423,538.
27. 이상운. 고지혈증 흰 쥐에 대한 鹿茸大補湯의 예방효과. 사상체질의학회지. 2004;16(1): 56-67.
28. 이경애, 정혜영. 전통 한약 탕제인 鹿茸大補湯의 생리활성효과. 한국식품영양과학지. 2004;33(1):28-33.
29. Bansal. Synthetic aproches in organic chemistry. 2001:436.
30. 생활과 화학 교재연구회. 최신 생활과 화학, 자유아카데미, 파주, 2004:371.
31. Mehlhon R.J. and G. Cole. The free radical theory of aging. Free radical biol. Med. 1985; 1:165-223.
32. Blois, M, S. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*. 1969; 4617:1198.
33. Harman D. Free radical theory of aging. *Age*, 1978;1:143-150.
34. Pryor W.A. ed. Free radicals in biology. The involvement of radicalreactions in aging and carcinolensis. Elsevier, Amsterdam, 1977: 331-359.
35. 손장락. 활성산소와 抗酸化劑. 바이오메디칼, 서울, 2004:79-128.
36. 김선민 외. 東醫壽世保元 四象本草에서의 養生에 관한 考察. 사상체질의학회지. 2000; 12(1):101-102.
37. 한주석 외. 東醫壽世保元과 濟衆新編의 養生長壽論에 관한 考察. 사상체질의학회지. 1991;3(1):141-149.
38. 유정희 외. 노화와 수명에 관한 四象醫學의 養生觀에 관한 考察. 사상체질의학회지. 2002;14(3):7-16.
39. 이수현. 동의수세보원의 문헌적 자료에 근거한 태음인병증에 관한 고찰. 사상체질의학회지. 1995;7(1):103-115.
40. 송일병. 사상인 병증약리의 성립과정과 그 운영정신에 대한 고찰. 사상체질의학회지.

- 1996;8(1):6-8.
41. 송일병. 사상인의 체질병증약리에 관한 고찰. 사상체질의학회지. 1998;10(2):9-12.
 42. 송일병. 사상의학적 증풍관리의 임상적 연구. 사상체질의학회지. 1996;8(2):117-130.
 43. 황민우 외. 뇌졸중환자의 사상체질별 특성에 관한 연구. 사상체질의학회지. 2005; 17(1):103-119.
 44. 김달래 외. 사상체질과 비만의 상관성에 대한 임상적 연구. 사상체질의학회지. 1996; 8(1):319-335.
 45. 이준희. 증풍 입원환자의 소양인 태음인 체질병증 유형에 관한 임상적 고찰. 사상체질의학회지. 2004;16(3):44-57.
 46. 배나영 외. 활성산소에 의한 산화스트레스의 사상체질별 영향에 관한연구. 사상체질의학회 하계학술대회 논문집. 2006:11-123.
 47. 조황성. 사상의학의 원리와 방제. 집문당, 서울, 2005:411.
 48. Terao K, Niki E. Damage to biological tissue induced by radical initiator 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride and its inhibition by chain-breaking antioxidants. *J Free Radicals in Biol Med.* 1986;2:193-201.
 49. 홍성길, 강봉주, 강상모, 조동욱. Antioxidative Effects of Traditional Korean Herbal Medicines on AAPH - induced Oxidative damage, *Food Science and Biotechnology.* 2001;10(2):183-187.
 50. 이귀녕, 권오현. 제3편 임상병리과일. 의학문화사, 서울, 2003:125, 274, 335, 498.
 51. Stacey E, Korkia P, Hukkanen MV, Polak J, Rutherford OM. Decreased nitric oxide levels and bone turnover in amenorrheic athletes with spinal osteopenia. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:3056-3061.
 52. 김승엽. 불로장수의 科學. 삶과꿈, 서울, 2005:68-76, 90-98.
 53. 최예원. 十二味寬中湯이 Wister rat의 노화에 따른 변화에 미치는 실험적 연구, 대전대학교한의학연구소 논문집. 2004;13(2): 327-335.
 54. Sumida, S. Tanka, K., Kitao, H., and Nakadomo, H. Exercise induced lipid peroxidation. *Int. J. Biochem.* 1989;21:835-838.
 55. Forman HJ and I Fridovich. Superoxide dismutase. A comparison of rate constant. *Arch. Biochem. Biophys.* 1973;158:396.
 56. Sakamoto Y, Kinoshita S. *Glutathione*(3rd Ed). Scientific. 1989:5.