

水火既濟湯이 주령별 흰쥐의 혈청과 테스토스테론에 미치는 영향

이정환 · 구덕모* · 안택원

대전대학교 한의과대학 사상체질과
*대구 한의대학교 한의과대학 사상체질과

Abstract

Effects of Suhwagije-tang Distillate on Serum and Testosterone in Aging Rats

Jung-Hwan Lee, Deok-Mo Goo*, Taek-Won Ahn

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

*Dept. of Sasang Constitutional Medicine, College of Oriental Medicine, Daegu Haany Univ.

1. Objectives

The purpose of this study is to investigate the effects of oral administration of distilled Suhwagije-tang in aging rats.

2. Methods

The SD rats used in this experiment were 6, 48 and 68 weeks old. These groups were treated with distilled water(DW), 1% Vitamin C(Vit. C) and 50% Suhwagije-tang(SGT) distillate respectively, once a day for 4 weeks. Blood samples were taken from heart and the levels of various parameters in serum were analysed.

3. Results and Conclusions

- (1) At all concentration of SGT, survival rates of liver cells were higher than the control group.
- (2) The rate of which the 10W-SGT group gained weight was significantly higher than that of the control groups.
- (3) The levels of albumin in serum of 10W-SGT group were significantly increased in comparison to those of the DW group. The levels of ALP, total cholesterol and HDL-cholesterol in serum of 52W-SGT group were significantly decreased in comparison to those of the DW group.
- (4) The levels of testosterone in serum of SGT groups showed no significantly changes in comparison to those of the control groups. Testosterone levels were naturally decreased with advancing years, so 72W-DW group's testosterone level was significantly decreased in comparison to those of 10W-DW group's. In contrast, 72W-SGT group's level was the highest in comparison to those of the control groups and those of deviation from 10W, 52W and 72W in SGT groups was also smaller than control groups'.
- (5) The levels of glucose, total-bilirubin, ALT, AST, BUN, CRP, hs-CRP, homocystein, Na, K, Na/K ratio, Cl and Ca in serum of SGT groups showed no significantly changes in comparison to those of the control groups.

These results suggest that oral administration of Suhwagije-tang distillate should be effective in promoting growth and preventing rapid decline of testosterone in aging rats does not cause any imbalance in liver, kidney and electrolyte.

Key Words : Suhwagije-tang, Growth promoting, Anti-aging, Serum, Testosterone

• 접수일 2010년 09월 27일; 심사일 2010년 10월 13일;

승인일 2010년 10월 25일

• 교신저자 : 안택원

충남 천안시 두정동 621번지 대전대천안한방병원 사상체질과

Tel : +82-41-521-7538 Fax : +82-41-521-7377

E-mail : twahn@du.ackr

I. 緒 論

노인인구의 증가는 전 세계적인 추세로 우리나라의 경우, 2000년 65세 이상의 노인인구는 전체인구의 약 7.2%로 이미 고령화 사회(aging society)로 접어들¹ 이래 노인인구의 증가와 노화에 따른 건강문제에 대한 관심이 고조되고 있다.

일반적으로 노화란 동물의 발육, 성장, 성숙과 노화의 생물학적 과정에서 형태적 기능적 퇴축, 예비력과 적응력의 저하로 결국 사망에 이르는 보편적인 생리적 현상을 말한다².

李濟馬는 『東醫壽世保元』³에서 50대에 들어 노인의 단계로 접어들었다고 하였으며, 『東醫壽世保元四象草本卷』⁴에서 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 상태 뿐 아니라 수명까지도 命脈實數에 따라 달라질 수 있다고 설명하였다.

水火既濟湯은 『東醫壽世保元·甲午本』⁵에서 少陽人の 裏之裏病에 사용하는 처방으로, 少陽人の 陰虛午熱證을 치료하는 처방이다. 少陽人の 陰虛午熱證은 飲水背寒而嘔한 증상으로 表裏陰陽이 모두 虛損된 水火不濟의 상태를 말한다. 따라서 水火既濟湯은 이러한 少陽人の 만성 소모성질환이나 노인성질환에 응용할 수 있는 처방이다.

최근 노화에 대한 관심의 증대와 더불어 성공적인 노화모델에 관한 연구^{6,8}나 식품과 약물의 항노화 효과⁹⁻¹⁵에 대한 다양한 연구들이 보고되고 있다. 이러한 연구들은 노화의 원인이 되는 활성산소에 대한 연구⁹⁻¹⁴가 주를 이루고 있으며 그 외에도 혈액이나 면역에 관련된 연구들¹²⁻¹⁴도 이루어지고 있다.

그러나 지금까지 노화와 관련된 많은 연구들은 노화가 급속히 진행되도록 유전적으로 조작한 실험동물을 사용한 경우가 많아 정상적인 노화과정을 대변할 수 없는 경우가 많았으며, 水火既濟湯의 항노화 효과에 대한 연구는 아직 접하지 못하였다.

이에 저자는 자연적 노화과정 중 백서의 혈청성분과 테스토스테론의 변화를 살펴보고, 水火既濟湯이 이러한 노화과정에 미치는 영향에 대해 연구하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 材料 및 方法

1. 재료

1) 동물

동물은 (주)중앙실험동물(경기도, 한국)에서 5주령과 24주령의 웅성 SD rat을 공급받아 사용하였다. 5주령 동물은 구입 후 1주일간 실험실 환경에 적응시켜 6주령이 된 후 실험에 사용하였다. 24주령 동물은 두 군으로 나누어, 한 군은 48주령, 나머지는 68주령이 될 때까지 실험실에서 사육한 후 실험에 사용하였다. 실험에 사용된 동물은 실험 당일까지 고품사료(삼양사료, 한국)와 물을 충분히 공급하고, 실험실은 실온(22±2℃)을 유지하였다. 본 실험은 대전대학교 동물실험 윤리규정을 준수하여 시행하였다.

2) 약재

본 실험에 사용된 水火既濟湯의 약재들은 대전대학교 한방병원 약제실의 검수를 받아 구입하여 이용하였다. 水火既濟湯의 약재들은 정량하여, 사용하기 전에 증류수에 세척하였다. 水火既濟湯(Suhwagije-tang; SGT)의 구성은 다음과 같다(Table 1).

2. 방법

1) 약물

본 실험에서 수행한 증류법은 대한약침학회를 통하여 얻은 수행방법을 이용하였다. SGT 약재를 세척 후 분쇄기로 분쇄하여 1ℓ의 증류수를 가하고 shaker를 이용하여 3시간동안 전탕을 실시한 다음 여과지로 여과하였다. 증류는 impellar(heating)에 반응조 하부와 반응조 상부조를 설치하고 그 위에 냉각관(환류, 증류)과 분액 여두를 설치한 후 SGT 전탕액을 반응조 하부에 넣고 105℃에서 예열하였다. 탕약이 끓기 시작하면 추출온도 107℃에 맞춘 뒤, 3시간동안 전탕을 실시하고, 이때 냉각수(4℃)가 환류냉각관에서 흐르는지 확인하였다. 시간의 경과에 따라 설정온도 범위(전탕 온도 105℃)에서 전탕되고, 충분히 끓은 약재의 온도가 높아지고(추출온도 107℃), 냉각수 순환위치가 바뀔에 따라 반응조 내부에서만 순환하던 기체가 냉각수에 의해 액체화되어 증류액이 분액여두로 한 방울씩

Table 1. The Compositions of Suhwagije-tang(SGT)

Herbs	Country of origin	Pharmacognostic name	Dose(g)
生地黃	Korea(Chunyang)	<i>Rehmannia glutinosa</i>	4
乾地黃	Korea(Omniherb)	<i>Rehmannia glutinosa</i>	4
知母	China	<i>Anemarrhena asphodeloides</i>	4
黃柏	China	<i>Phellodendron amurense</i>	4
山茱萸	Korea(Gurye)	<i>Cornus officinalis</i>	4
覆盆子	Korea(Jirisan)	<i>Rubus chingii</i>	4
柴胡	China	<i>Bupleurum chinense</i>	4
苦參	China	<i>Sophora flavescens</i>	4
白茯苓	Korea(Taebaek)	<i>Poria cocos</i>	4
澤瀉	Korea(Yeongju)	<i>Alisma canaliculatum</i>	4
肉蓯蓉	China	<i>Cistanche deserticola</i>	4
Total			44

받아지는 것을 모아 Table 1의 한 첩 기준으로 SGT 증류액 400ml을 얻었다. 추출이 끝나고 1 l battle에 받아진 약침액은 무기염류를 침강시키기 위해서 하루 동안 냉장 보관하였다. 하루 동안 냉장 보관된 SGT 증류 추출액(샘플번호: "2007-sy-001")은 filtering을 실시하였고, 멸균된 battle에 넣어 냉장 보관하였다.

2) 세포독성 측정

(1) 간세포 분리

본 실험모델과 동일한 52주령 수컷 SD rat의 간 조직을 사용하였다. Rat을 ethyl ether를 이용하여 마취 시킨 후, 대동맥 혈관에 HBSS(Ca²⁺, Mg²⁺ free)를 투여하며 복부쪽 혈관을 절단시켜 동물의 혈액을 모두 배출시켰다. 조직을 잘게 잘라서 RPMI 1640 media(with 10% FBS)와 collagenase typeIV(300u/ml)를 넣고 37°C에서 90 분간 incubation 하고, 이때 20분에 한 번씩 흔들며 줌으로써 간세포가 분리가 잘 되도록 하였다. 간 조직을 HBSS(Ca²⁺, Mg²⁺ free)를 사용하여 mesh에서 갈아준 후 이렇게 얻어진 시료를 원심 분리하고, 획득한 세포는 RBC를 완전히 제거하여 실질세포를 이용한 실험을 수행하였다.

(2) 간세포의 배양 및 세포독성 측정

분리된 간세포의 viability를 trypan blue를 이용하여 확인한 뒤, 24 well plate에 5×10⁵ cells/well로 세포를 분주하고, RPMI-1640 배양액에 10% FBS와 항생제

penicillin(100 U/ml)과 streptomSjin(100 μg/ml)과 SGT 증류액을 농도별(100%, 50%, 25%, 10%)로 처리하고, 72 시간 동안 세포를 배양하였다. 배양 과정은 68시간 세포를 배양한 후 MTT solution (1 mg/ml, Cat No. 135038, Sigma, USA)을 각 well에 20μl씩 분주하고 4시간 동안 37°C에서 배양하였다. 그리고 각 well에 있는 medium을 100 μl씩 버리고, solubilizing solution을 100 μl씩 분주한 뒤 pipetting을 강하게 하여 고루 섞어주었다. 총 72시간의 처리가 끝난 후, well에 dark blue crystals가 침전하는 정도를 ELISA reader를 이용하여 570 nm에서 optical densities로 확인하였다.

$$Cell\ Viability(\%) = \frac{O.D.\ sample}{O.D.\ control} \times 100$$

3) 실험군 설정

실험동물은 각각 10주령, 52주령, 72주령의 SD rat으로, 각 주령마다 증류수 대조군(Distilled Water; DW), vitamin C 대조군(Vit. C), 水火既濟湯 투여군(SGT)으로 나누어 모두 9군으로 분류하였고, 각 실험군에는 실험동물을 9마리씩 배정하였다. 각 실험군에 대한 처치는 다음과 같다(Scheme I).

- (1) 10주령, 52주령 및 72주령 증류수 대조군(DW): 6주령, 48주령 및 68주령의 SD rat에 매일 1ml의 증류수를 4주간 경구투여한 군
- (2) 10주령, 52주령 및 72주령 vitamin C 대조군(Vit. C):

Table 2. Cell Survival Rate with Various Concentrations of SGT Distillate

Parameter	Control	10% SGT	25% SGT	50% SGT	100% SGT
Cell viability (%)	100	248.21±124.50	371.98±237.45	1846.3±517.19 ^{**‡}	1035.9±583.73

Liver cells from normal male rat were prepared and cultured with various concentrations of SGT distillate, and the cell survival rates were measured. Values represent mean \pm SD of 3 independent experiments.

* : p<0.01 compared to control by ANOVA test.

† : p<0.01 compared to 10% SGT distillate by ANOVA test.

‡ : p<0.05 compared to 25% SGT distillate by ANOVA test.

6주령, 48주령 및 68주령의 SD rat에 매일 1% vitamin C를 1ml씩 4주간 경구투여한 군

(3) 10주령, 52주령 및 72주령 水火既濟湯 투여군 (SGT): 6주령, 48주령 및 68주령의 SD rat에 매일 50% 水火既濟湯 증류액을 1ml씩 4주간 경구투여한 군

4) 체중 측정

실험 개시부터 1주일 간격으로 실험동물의 체중을 측정하였으며, 실험시작 전과 실험종료시의 체중으로부터 체중 변화율을 계산하였다.

5) 혈액 분석

본 실험 종료 후, ethyl ether를 이용하여 실험동물을 마취하고, 심장 채혈 법으로 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액을 (주) ALKOREA(한국, 경기도)에 의뢰하여 albumin, glucose, total-bilirubin, ALT, AST, ALP, total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, BUN, CRP 및 hs-CRP, homocystein, testosterone, sodium(Na), potassium(K), Na/K ratio, chloride(Cl), calcium(Ca)의 혈액 분석 데이터를 얻었다.

6) 통계 분석

본 실험에서 얻은 결과 값은 평균 \pm 표준편차로 나타내었다. SPSS 통계프로그램(14.0 KO)의 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)을 사용하여 군간 비교를 하였으며, 사후검정은 Scheffe's test를 이용하였다. 각 실험군의 결과 값을 비교하여 p<0.05 일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

III. 結 果

1. 약물의 세포 독성

정상 rat의 간세포에 SGT 증류액을 농도별(10%, 25%, 50%, 100%)로 처리한 결과 모든 농도에서 control에 비하여 세포생존율이 증가하였으며, 50% SGT 증류액을 처리한 경우 가장 높은 세포생존율을 나타내었다(Table 2).

2. 체중 변화

실험 개시부터 1주일 간격으로 실험동물의 체중을 측정한 결과 모든 주령에서 실험군간 체중에는 유의한 차이가 나타나지 않았다(Figure. 1).

실험 시작 전과 실험종료시의 체중으로부터 체중 변화율을 계산한 결과 10주령에서 SGT군이 대조군들에 비하여 체중이 유의하게 증가하였으며, 52주령과 72주령에서는 SGT군과 대조군들 간의 유의한 차이가 없었다. Vit. C군은 72주령에서 DW군에 비하여 체중이 유의하게 증가하였다(Figure. 2).

3. 혈액 분석

심장 채혈을 통해 얻어진 실험동물의 혈청으로부터 albumin, glucose, total-bilirubin, ALT, AST, ALP, total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, BUN, CRP 및 hs-CRP, homocystein, testosterone, Na, K, Na/K ratio, Cl, Ca의 농도를 측정하였다(Table 3, 4).

IV. 考 察

노화란 생명체의 성장과 동시에 시간경과에 따른 연속적인 현상으로 점진적이고 내적인 퇴행성 변화로

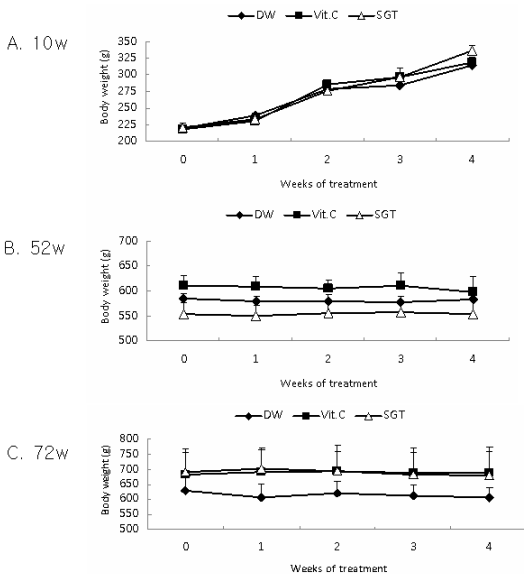


Figure 1. Effect of SGT distillate on body weight in rats.

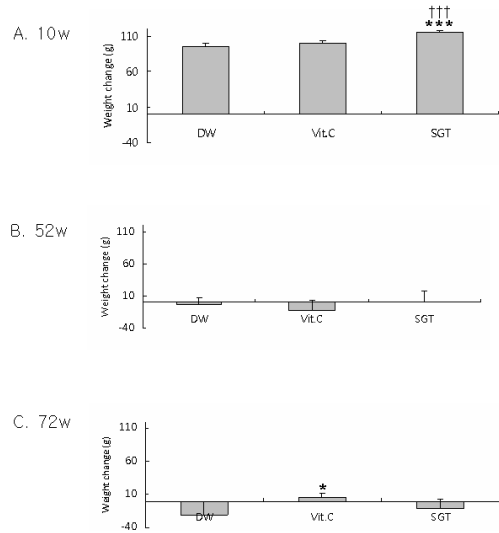


Figure 2. Effect of SGT on body weight increasing rate in rat. *** : p<0.001 * : p<0.05 compared to DW group by ANOVA test. † † † : p<0.001 compared to Vit.C group by ANOVA test.

구조적, 기능적 변화가 초래되어 외부환경에 대해 반응하는 적응력과 예비력이 저하되어 생명력이 감퇴되는 현상을 의미 한다¹⁶.

이러한 노화의 결과로 개체는 죽음에 이르게 된다는 점 외에도 그 진행과정에서 암이나 심혈관계 질환 그리고 퇴행성 신경질환 등의 각종 노화관련 질환들을 유발하며¹⁷, 남성과 여성에서 갱년기와 같은 내분비계 변화가 초래되어 삶의 질을 저하 시킨다¹⁸.

한의학에서는 이러한 노화의 原因에 대하여 陰陽의 不調和, 形身衰弱, 氣血 및 腎氣衰弱 등으로 설명하고 生體의 老衰를 陰陽의 變化, 臟腑의 變化, 氣血의 變化, 經絡의 變化 및 精神의 變化로 보았다¹⁹.

四象醫學의 창시자 東武公은 『濟衆新編』 『五福論』에서 長壽를 으뜸의 福으로 꼽고 있으며²⁰, 『東醫壽世保元』 『廣濟論』³에서는 50대에 들어 노인의 단계로 접어든다고 하면서 인생의 단계를 16세로 구분하여 保命의 방법이 달라짐을 설명하고 酒色財權도 體質에 따라 偏小之臟에 영향을 주어 壽命에 영향을 준다고 하였다. 또한 『東醫壽世保元四象草本卷』⁴에서는 이러한 노화의 과정에서 四象人의 健康을 유지하고 壽命의 長短을 점치는 술어로 命脈

實數의 개념을 설정하고, 本常之氣 및 生息充補之道의 변화를 壽命을 결정하는 직접적인 요인으로 보았으며, 命脈은 비록 간간이 손상 받을 수 있으나 64세 전에는 모두 손상된 命脈을 보충할 수 있는 자연회복력인 ‘生息充補之道’가 있다고 하였다.

水火既濟湯은 『草本卷』에서 처음 언급되었으며 이때는 乾地黃이 사용되지 않았으나, 『甲午本』으로 오면서 乾地黃이 추가되었다. 본 연구에 사용된 水火既濟湯은 『甲午本』에서 少陽人의 裏之裏病에 사용하는 처방으로, 少陽人의 陰虛午熱證을 치료하는 처방이다²¹. 『辛丑本』³에는 陰虛午熱證에 대해 飲水背寒而嘔한 증상으로 表裏陰陽이 모두 虛損되어 그 병된 험하여 下消證과 비슷하며, 陰血耗竭하여 오는 소모성 질환으로 마음을 깨끗이 하여 경계하고 몸을 잘 공경하면서 좋은 약을 써야 살 수 있다고 설명하고 있다.

水火既濟湯 처방명의 水火既濟란 心腎相交와 같은 말로, 水火不濟 즉 心腎不交의 상태를 치료하는 처방이란 뜻이다. 心腎不交란 腎陰이 不足해 지거나 心火가 몹시 旺盛해져서 둘 사이의 정상적인 협조 관계가 장애된 상태로 骨蒸潮熱, 五心煩熱,

Table 3. Effect of SGT on Various Components in Serum of Rats

Parameter	Age	DW	Vit. C	SGT
Albumin (g/dl)	10w	4.38±0.15	4.45±0.11	4.58±0.08
	52w	4.75±0.14	4.67±0.14	4.65±0.08
	72w	4.33±0.10	4.33±0.10	4.17±0.33
Glucose (U/l)	10w	135.00±54.63	142.17±23.58	134.83±13.91
	52w	69.17±41.61	79.83±44.21	62.33±44.66
	72w	148.33±11.22	111.17±19.34	155.50±23.42
Total bilirubin (mg/dl)	10w	0.05±0.05	0.03±0.02	0.04±0.04
	52w	0.08±0.08	0.20±0.13	0.06±0.04
	72w	0.06±0.05	0.08±0.04	0.08±0.05
ALT (mg/dl)	10w	61.50± 8.96	48.83± 3.43	54.33± 7.50
	52w	144.17±47.55	109.67±25.07	108.67±21.51
	72w	99.00±47.75	108.17±64.74	112.50±30.79
AST (mg/dl)	10w	281.50± 32.70	211.00±39.92	263.00± 41.76
	52w	404.83±150.02	306.50±155.32	333.33±122.89
	72w	154.33±106.20	221.00± 90.22	204.00± 58.69
ALP (mg/dl)	10w	663.00± 87.47	803.50±104.15	684.00± 31.50
	52w	498.17± 93.96	313.17± 97.29	289.33± 64.57
	72w	606.17±276.89	448.33±238.41	453.50±187.94
Total cholesterol (mg/dl)	10w	70.83±13.96	73.00± 7.62	64.83± 6.31
	52w	107.50±12.91	85.50±13.85	85.50± 9.79
	72w	109.33± 8.78	156.67±33.35	144.33±53.17
HDL-cholesterol (mg/dl)	10w	57.67±9.91	64.83± 5.12	59.83± 5.35
	52w	91.00±7.64	76.50± 9.07	77.67± 7.61
	72w	83.33±7.71	119.00±23.27	98.17±18.25
LDL-cholesterol (mg/dl)	10w	8.67±3.01	8.50±1.38	7.83± 0.98
	52w	13.50±2.26	9.83±2.48	10.83± 1.60
	72w	18.83±8.04	28.33±8.21	31.17±22.60
BUN (mg/dl)	10w	20.57±1.90	18.73±1.03	19.80± 3.06
	52w	27.67±2.91	22.13±4.93	25.63± 4.32
	72w	13.05±0.79	16.85±1.08	20.22±13.10
CRP (ng/ml)	10w	103.64±12.48	102.95±17.78	116.93±42.33
	52w	114.09±22.08	120.10±21.18	108.43±13.51
	72w	90.78± 8.12	110.27± 4.74	91.12±16.49
hs-CRP (ng/ml)	10w	145.80± 8.67	132.97±17.66	135.66±51.70
	52w	166.67±19.51	145.99±24.96	158.52±36.02
	72w	173.38±10.97	138.08±14.35	170.27±18.82
Homocystein (ng/ml)	10w	1.93±0.43	1.87±0.33	1.91±0.37
	52w	1.24±0.09	1.20±0.10	1.23±0.08
	72w	1.97±0.50	2.18±0.28	2.73±0.87
Testosterone (ng/ml)	10w	2.59±1.47	1.44±0.49	1.17±0.32
	52w	1.81±0.69	1.52±0.79	1.59±1.05
	72w	0.64±0.70	0.82±0.46	1.18±1.04

Rats in the DW, Vit.C and SGT groups were treated with DW, 1% Vitamin C and 50% Suhwagijetang(SGT) distillate respectively, once a day for 4 weeks. Blood samples were taken from heart and the levels of various parameters in serum were analysed.

Table 4. Effect of SGT on Various Minerals in Serum of Rats

Parameter	Age	DW	Vit. C	SGT
Na(mEq/ ℓ)	10w	130.47± 4.11	129.17± 3.72	131.92±5.94
	52w	134.35±12.69	133.65±13.25	138.93±8.21
	72w	132.17± 0.91	134.03± 2.20	132.17±2.36
K(mEq/ ℓ)	10w	18.37± 1.02	17.35± 4.39	13.97± 6.01
	52w	16.45±13.15	12.23±10.90	14.33±12.15
	72w	12.52± 0.83	12.75± 1.85	16.12± 5.12
Na/K Ratio	10w	10.20±7.55	7.92± 2.30	8.93± 3.78
	52w	13.47±8.14	16.78±10.36	16.47±10.30
	72w	10.65±0.68	10.70± 1.59	8.72± 2.00
Cl(mEq/ ℓ)	10w	95.87±1.10	97.10±1.13	96.28±0.96
	52w	93.75±3.45	93.85±5.29	93.62±3.67
	72w	99.38±1.16	98.37±0.56	100.80±3.56
Ca(mEq/ ℓ)	10w	10.80±0.73	11.33±0.40	11.47±0.27
	52w	10.57±1.43	10.23±1.49	10.43±1.04
	72w	10.18±0.99	11.05±0.27	11.00±0.20

Rats in the DW, Vit.C and SGT groups were treated with DW, 1% Vitamin C and 50% Suhwagijetang(SGT) distillate respectively, once a day for 4 weeks. Blood samples were taken from heart and the levels of various minerals in serum were analysed.

胸悶不安, 身瘦自汗, 咽乾舌紅 등의 증상을 보이는 陰虛午熱證과 같은 상태이다²². 구성을 살펴보면 少陽人의 危弱한 臟腑인 腎精을 補하는 乾地黃, 山茱萸, 覆盆子, 肉蓯蓉과 함께 生地黃, 知母, 黃柏, 柴胡, 茯苓, 澤瀉, 苦參으로 清熱하면서도 陰의 消耗을 최소화하는 약재를 선택하여 清熱生津하도록 하였다. 이는 膀胱의 眞陰을 補하면서도 胸膈의 熱을 효과적으로 내리도록 하여 少陽人의 保命之主인 陰清之氣를 유지하여 陰虛午熱상태를 개선하고 偏急된 臟腑기능을 조절하도록 구성된 처방이다. 따라서 水火既濟湯은 表裏陰陽이 모두 虛損된 水火不濟의 상태 즉 만성 소모성질환이나 노인성 질환에 응용될 수 있는 처방이다.

따라서 본 연구에서는 자연적 노화과정 중 백서의 혈청성분과 테스토스테론의 변화를 살펴보고, SGT가 이러한 노화과정에 미치는 영향에 대해 연구하였다.

실험에 앞서 SGT의 세포독성 측정을 위해 실험모델과 동일한 52주령 수컷 SD rat 간세포에 SGT 증류액을 10%, 25%, 50%, 100%의 농도로 처리하여 세포생존율을 측정하였다. 측정결과 모든 농도의 SGT군에서 대조군에 비하여 세포생존율이 증가하는 것으로 나타났다. 또한 SGT 증류액의 농도가 높을수록 생존율이 높은 경향을 나타내었으며, 50% SGT 증류액을

처리한 경우에는 세포생존율이 1846.3%(18.4배)로 나타났다(Table 2). 이는 지금까지 처방을 이용한 다수의 실험적 연구에서 전탕액의 농도가 증가함에 따라 농도 의존적으로 세포독성이 증가했던 경우들^{10, 13, 14}과 대조적으로 水火既濟湯 증류액은 간세포의 세포생존율을 크게 높인다는 것을 보여준다. 그러나 전자의 경우에는 전탕액을 농축한 후 희석하여 실험에 사용하는 방식을 취하였고, 본 실험에서는 전탕액을 증류하여 얻은 증류액을 사용하였기 때문에 실험방법에 차이가 있으므로 세포생존율을 단편적으로 비교하기는 힘들다고 하겠다. 이러한 부분은 향후 한방처방의 효과적인 실험을 위해서 검액의 제조방법에 대한 추가 연구가 필요할 것으로 사료된다.

SGT가 백서의 노화에 따른 혈청생화학적 변화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 6주령, 48주령 및 68주령의 SD rat에 대조군에는 증류수(DW)와 항산화제로 알려진 vitamin C(Vit. C)^{11, 12}를, 실험군에는 50% 水火既濟湯 증류액(SGT)을 4주간 경구투여 한 후 심장체혈을 통하여 얻어진 혈청으로부터 albumin, glucose, total-bilirubin, ALT, AST, ALP, total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, BUN, CRP 및 hs-CRP, homocystein, testosterone, Na, K, Na/K ratio, Cl, Ca의 농도를 각각 측정하였다.

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 장²³은 평균 7주령까지를 성장기군으로 나누고 28주까지를 성숙기로 분류하였으며, 박²⁴은 쥐의 연령이 12개월(약 54주) 이상이 되면서 여러 감각운동 기능이 저하된다는 Murphy²⁵ 등의 연구를 기초로 이 시기가 SD rat의 노화에 해당한다고 판단하였다. 이를 바탕으로 이 등¹³와 손 등¹⁴은 6주령, 18주령, 36주령, 48주령 및 64주령의 백서를 각각 성장기, 성숙기, 초기노화기, 노화기, 말기노화기로 설정하고 1주일 간격으로 체중을 측정 한 결과 10주령에서 체중이 증가하다 22주령부터 증가율이 경미하였고 52주령부터 체중이 감소한 것으로 나타났다. 이는 엄 등^{26, 27}의 실험결과와도 대체로 일치하는 결과이며, 이들 연구를 종합하면 SD rat의 체중은 대체로 10주령에서 빠르게 성장하다 52주령부터 감소하기 시작하며, 24개월이 되면 폐렴 등이 관찰²⁷되면서 생존기간이 다하는 것으로 나타났다.

따라서 본 연구에서는 실험용 SD rat을 6주령, 48주령 및 68주령으로 구분하여 성장기, 노화기, 말기노화기로 설정하고 연구를 진행하였다. 실험 개시부터 1주일 간격으로 백서의 체중을 측정한 결과 실험종료 후 10주령에서는 모든 군에서 체중이 증가하였으며 52주령과 72주령에서는 체중이 대체로 완만하게 감소하거나 유지되었다. 모든 주령에서 실험군 간의 체중의 유의한 차이는 없었다(Fig. 1). 약물투여에 따른 체중변화율은 10주령에서 SGT군이 대조군들에 비하여 체중이 유의하게 증가하였고, 52주령과 72주령에서는 SGT군과 대조군들 간의 유의한 차이는 없었다(Fig. 2). 이러한 결과는 10주령에서 水火既濟湯이 백서의 체중증가를 촉진하는 효과가 있음을 의미한다.

정상적인 노화에 따른 SD rat의 혈청화학적 변화는 albumin, total-bilirubin, ALT, AST, BUN, CRP, Na/K ratio의 경우는 10주령에서 50주령까지는 증가하다 72주령에서는 감소하는 경향을 보였고, total-cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, hs-CRP는 10주령에서 72주령까지 꾸준히 증가하는 경향을 보였으며, glucose, ALP, homocystein은 10주령에서 50주령까지 감소하다 72주령에서 다시 증가하는 경향을 보였고, testos-

terone과 potassium(K)은 10주령부터 72주령까지 꾸준히 감소하는 경향을 보였으며, 나머지 Na, Cl, Ca의 농도는 10주령부터 72주령까지 일정한 경향을 보였다. 주령에 따른 이상의 경향은 50주령까지의 변화를 연구한 이 등¹³의 연구내용과도 일치하며, 72주령이 되면서 일정한 패턴이 아닌 증가에서 감소로 감소에서 증가로 바뀌는 지표가 다수 관찰되었다.

Albumin은 총 단백질의 약 60%를 차지하며 전적으로 간세포에서만 생성된다²⁸. 암모늄이온, 간독성약품, 에스트로겐, 경구피임약 혹은 질환 등이 간세포에 영향을 줄 때 알부민의 합성능력을 상실하여 혈청 알부민 수치가 상당히 감소하게 되며, 이외에 anabolic steroids, androgen, corticosteroids, 성장호르몬, 인슐린, 프로게스테론 등은 수치를 높일 수 있다²⁹. 혈중 albumin 농도 변화를 관찰한 결과 10주령 SGT군에서 DW군에 비하여 혈중 albumin 농도가 유의하게 증가하였다(Table 3). 이러한 결과는 10주령에서 水火既濟湯이 간의 알부민 합성능력을 향상시킨다는 것을 의미한다.

혈액 중 glucose의 주령에 따른 농도 변화를 관찰한 결과 10주령에 비하여 52주령에서 glucose의 농도가 유의하게 감소하였으며, 52주령에 비하여 72주령의 glucose의 농도가 유의하게 증가하였다. 약물 투여에 따른 glucose 농도는 72주령에서 DW군에 비하여 Vit. C군에서 glucose의 농도가 유의하게 감소하였고, Vit. C군에 비하여 SGT군에서 glucose의 농도가 유의하게 증가하였다. SGT군과 DW군 사이에는 유의한 차이가 없었다(Table 3). 혈당수치는 하루 중에도 다양하게 변화하며, 혈당이 증가하게 되는 원인은 인슐린 분비의 감소, 포도당 이용저하 및 포도당 생산증가의 복합적인 작용에 의하기 때문에²⁸ 72주령에서 glucose 농도가 다시 증가하는 원인이 무엇인지는 명확하지 않다. 본 실험에서 Vit. C는 72주령에서 혈당을 내리는 작용을 하는 것으로 나타났으나 그 기전은 추후 연구가 필요할 것으로 사료되며, 水火既濟湯은 DW군과 비교하여 혈당에 특별한 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

Bilirubin은 노쇠한 적혈구의 파괴로 생산되고 간으로 운반되어 담즙색소가 되어서 배설 된다²⁹. 이번 실험에서 약물 투여에 따른 혈중 total-bilirubin 농도에 유의한 변화는 나타나지 않았다(Table 3).

AST, ALT 수치는 간세포 손상의 표식자로 가장 유용하며 거의 모든 간질환에서 어느 정도 증가하게 된다²⁹. 본 연구에서 10주령의 Vit. C군이 DW군에 비하여 혈중 ALT, AST의 농도가 유의하게 감소하였으며, SGT군에서는 유의한 차이가 없었다(Table 3). 이러한 결과는 Vit. C와 水火既濟湯의 투여는 모두 간 기능에 유해한 영향을 미치지 않는 것으로 해석된다.

ALP는 간에서 주로 담즙 수집체계의 일부인 Kupffer 세포에 존재하며 담즙내로 배출되는데, 특히 폐쇄성 담도질환과 간경화증에서 높이가 증가된다²⁹. 이번 실험에서 ALP의 농도는 52주령 Vit. C군과 SGT군에서 DW군에 비하여 혈중 ALP의 농도가 유의하게 감소하였다(Table 3). 52주령에서 Vit. C와 SGT가 ALP 농도를 감소시키는 원인은 명확하지 않으며, 이러한 결과는 Vit. C와 水火既濟湯의 투여가 모두 간 기능에 유해한 영향을 미치지 않는 것으로 해석될 수 있다.

간과 연관된 지표인 상기의 albumin, total-bilirubin, ALT, AST, ALP의 결과를 종합해 보면 Vit. C와 水火既濟湯의 투여는 모두 간 기능에 유해한 영향을 끼치지 않는 것으로 나타났다. 또한 水火既濟湯은 10주령에서 간의 알부민 합성능력을 향상시키는 것으로 나타나 이에 대한 추가연구가 필요할 것으로 사료된다.

혈액 중 cholesterol은 당질대사와 전해질을 조절하고 생체내의 필수 호르몬의 원료가 되기도 하지만 그 혈중 농도가 기준치를 초과하면 고지혈증 등을 유발하게 되는 것으로 알려져 있다. 특히 LDL-cholesterol은 관상동맥 심질환(CHD)의 위험증가와 직접적으로 연관이 있다²⁹. 이번 실험에서 혈중 total cholesterol과 HDL-cholesterol 의 경우 52주령의 Vit. C군과 SGT군에서 DW군에 비하여 혈중 농도가 유의하게 감소하였다. 혈중 LDL-cholesterol은 52주령에서 DW군에 비하여 Vit. C군에서 유의하게 감소하였고, SGT군에서도 DW군에 비하여 감소시키는 하였으나 유의성은 없었다(Table 3). 이러한 결과는 Vit. C와 水火既濟湯이 모두 혈중 콜레스테롤을 감량 효과가 있는 것으로 판단되나, 水火既濟湯의 경우 LDL-cholesterol에 대한 효과가 명확치 않으므로 향후 이에 대한 추가적 연구가 필요하다.

신장 기능의 지표로 이용되는 BUN은 신장의 기능 저하에 의하여 혈중 농도가 상승하는 경향을 가지고

있다²⁹. 약물 투여에 따른 혈중 BUN 농도 변화는 실험군간 유의한 차이가 나타나지 않았다(Table 3). 이러한 결과는 水火既濟湯의 투여가 신장 기능에 유해한 영향을 미치지 않는 것으로 해석된다.

염증이나 감염의 지표가 되는 CRP²⁹ 및 hs-CRP의 약물투여에 따른 농도 변화를 관찰한 결과, 실험군간 유의한 차이는 없었다(Table 3).

Homocystein은 내피세포의 손상을 일으키고, LDL 침전물을 증가시키며, 혈관 평활근의 성장을 촉진시켜 죽상경화증의 진행을 촉진 시킨다²⁹. 약물 투여에 따른 혈중 homocystein 농도 변화를 관찰한 결과, 실험군간 유의한 차이는 없었다(Table 3).

Testosterone은 남성적 특징을 발달시키고 정자가 생산되도록 자극하는 남성호르몬으로, 에스트로겐의 전구체이기도 하며, 주로 고환에서 만들어 진다²⁹. Testosterone은 생명유지에 필수적인 호르몬은 아니지만 남성 표현형으로의 성적분화와 남성화, 성기능 유지에 중요하며, 근육, 피부, 뼈, 신장, 골수, 간, 골단, 중추신경계 등 전신에 걸쳐 다양한 작용을 한다¹⁸. 혈중 testosterone의 정상치는 사춘기 이전 소년은 0.05-0.2ng/ml이고, 성인의 경우에는 3-10ng/ml이며²⁹, 50세 이상에서 1년에 1%씩 감소하고, 60세 이상에서 7% 감소하며, 60세 이상에서 20%의 성선기능저하증(hypogonadism)이 나타난다³⁰.

이러한 중·노년기에서의 남성호르몬의 결핍은 무력증, 근육양 감소, 골양 감소와 골다공증, 뼈의 통증, 성욕의 감소와 발기부전, 안면홍조, 여성화 현상과 초조감, 우울증, 기억력과 집중력 감소, 피로 등과 같은 정신적인 증상으로 다양하게 나타날 수 있다³¹. 이러한 남성호르몬의 결핍 상태는 한의학적으로 腎陰이나 腎陽이 不足하여 생기는 神疲乏力, 腰膝酸軟, 下肢痿弱, 小便不利 或 頻數, 陽萎遺精, 早漏, 五心煩熱 등의 腎虛證과 일치하며 대표적인 노화의 증상이라 할 수 있다.

반대로 성장기에 testosterone은 성장호르몬의 합성을 증가시켜 성장을 촉진하고, 뼈 성장을 촉진하면서 아울러 성장이 일어나는 골단간이 닫히게 함으로써 궁극적으로는 더 이상 성장이 일어나지 못하게 한다. 따라서 아동기 초기에 부신남성호르몬이나 testosterone의 과도한 분비는 성인신장의 감소를 가져올 수

있다^{32, 33}. 한의학에서는 이러한 소아 성장장애의 원인 중 선천성 발육이상, 내분비질환에 의한 성장장애 등은 先天之本인 腎의 문제로 보며, 비기질성의 영양 장애에 의한 성장장애는 後天之本인 脾의 문제로 보고 있다³⁴.

본 실험에서 사용된 水火既濟湯은 少陽人の 脆弱한 臟腑인 腎臟, 膀胱의 眞陰을 補하는 處方이므로 腎陰이나 腎陽의 不足으로 인한 갱년기 증상이나 선천의 부족으로 인한 성장장애에 효과를 기대할 수 있다.

이번 실험에서 혈중 testosterone의 농도는 자연적인 경과에서 나이가 증가함에 따라 꾸준히 감소하여, DW군에서 10주령에 비하여 72주령에서 혈중 testosterone이 유의하게 감소한 것으로 나타났다. 약물 투여에 따른 testosterone 농도 변화는 유의한 차이를 나타내지 않았지만, 72주령에서 SGT군은 대조군들에 비해 가장 높은 혈중 testosterone 농도를 유지한 것으로 나타났으며, 10주령에서는 오히려 대조군들에 비하여 가장 낮은 농도를 나타내면서 전반적으로 주령에 따른 호르몬 농도의 편차가 적은 것으로 나타났다 (Table 3). 이러한 결과는 水火既濟湯이 성장기에는 testosterone의 수치를 낮추면서 노화기에는 노화에 따른 남성호르몬의 급격한 저하를 막아 비교적 일정한 농도를 유지하는데 기여할 수 있음을 의미한다.

10주령에서 SGT군은 DW군에 비하여 testosterone 수치가 감소하고($p=0.054$), 알부민합성이 유의하게 증가하였으며, 결과적으로 체중이 유의하게 증가한 점을 미루어 볼 때 水火既濟湯이 성장에 유의한 영향을 미치는 것으로 추정되며 향후 이에 대한 추가적 연구가 필요할 것으로 사료된다.

가령에 따른 남성 호르몬 농도의 저하는 성기능, 정서, 인지기능, 신체구성, 근력, 뼈 등 정신과 신체 전반에 걸쳐 많은 영향을 미친다¹⁸. 최근에는 중·노년기 성기능저하증 남성에서 testosterone을 보충하면 성욕과 성기능에 유익하며 골절을 방지하는 골밀도의 증가, 근육의 증가와 강도 향상, 전신적인 체형의 균형, 적혈구 숫자의 증가, 행복감을 느끼게 하며, 에너지를 증진시킬 수 있다는 연구결과들^{35, 36}이 발표되고 있다. 그러나 이러한 남성호르몬 보충요법 (Androgen Replacement Therapy; ART)은 많은 장점에도

불구하고 아직 남성갱년기 진단과 치료에 대한 명확한 지침이 없고, 체내수분저류로 인한 부종, 고혈압 악화, 울혈성 심부전, 경구투여시의 간독성, 여성호르몬의 동반상승으로 인한 여성형 유방, 전립선 비대나 전립선암 등 부작용의 위험성이 적지 않다^{15, 18}.

이번 실험에서 주령증가에 따른 혈중 testosterone 농도 저하는 노화과정에서 SD rat의 혈중 testosterone이 감소한다고 보고한 Bruni 등^{37, 38}의 실험결과와 일치하며, 또한 testosterone의 감소는 노화로 인한 다양한 증상들의 주요한 원인^{39, 40}이라는 점을 감안할 때, 72주령에서 SGT는 항노화 효과가 있다고 인정된다. 따라서 水火既濟湯은 간이나 신장에 유해한 영향을 미치지 않으면서 노화에 따른 혈중 testosterone의 저하를 감소시키는 효능이 있으므로 남성갱년기 등의 치료에 도움을 줄 수 있을 것으로 사료되며, 향후 임상에서의 활용과 이에 대한 추가적 연구가 필요하다고 생각된다.

혈액내의 전해질 불균형은 신장 여과 기능의 문제 또는 각종 호르몬의 문제 때문에 발생할 수 있다. 본 연구 결과에서 약물 투여에 따른 Na, K, Na/K ratio, Cl, Ca 농도 변화를 관찰한 결과 유의한 차이를 나타내지 않았다 (Table 4).

이상의 결과를 요약해보면 水火既濟湯은 간기능과 연관된 albumin, total-bilirubin, ALT, AST, ALP 등의 지표에서 간 기능에 유해한 영향을 미치지 않는 것으로 나타났으며, total cholesterol, HDL-cholesterol 및 LDL-cholesterol 항목에서는 total cholesterol, HDL-cholesterol의 경우 감량 효과가 있으며, LDL-cholesterol에서는 유의성이 없었다. 남성호르몬인 testosterone의 경우에는 자연적인 경과에서 나이가 증가함에 따라 꾸준히 감소하는데, 성장기에는 testosterone의 수치를 낮추면서 노년기에는 급격한 감소를 막는 작용을 하는 것으로 나타났다. 그 외 BUN, CRP, hs-CRP, homocystein에서는 유의한 변화가 없었으며, 전해질인 Na, K, Na/K ratio, Cl, Ca 농도에서도 유의한 변화가 없는 것으로 나타났다.

본 연구에서 水火既濟湯은 간장, 신장 기능 및 전해질의 불균형을 유발하지 않으면서, 성장기에 성장을 돕고 노화과정에서 남성호르몬의 저하를 막는 작용이 있는 것으로 나타나 임상에서 성장이나 갱년

기증상 등의 질환에 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다. 다만 동물을 대상으로 한 실험이므로 향후 임상에서 少陽의 성장장애나 갱년기질환 등을 대상으로 한 추가적 연구가 필요할 것으로 생각된다.

V. 結 論

1. 水火既濟湯은 세포독성 실험결과 모든 농도에서 정상군에 비하여 세포생존율이 증가하였으며, 50% 水火既濟湯 증류액을 처리한 경우에는 세포생존율이 1846.3%(18.4배)로 유의하게 높았다.
2. 水火既濟湯은 10주령에서 대조군들에 비하여 체중을 유의하게 증가시켰다.
3. 水火既濟湯은 10주령에서 DW군에 비하여 혈중 albumin 농도를 유의하게 증가시켰다.
4. 水火既濟湯은 52주령에서 DW군에 비하여 혈중 ALP의 농도를 유의하게 감소시켰다.
5. 水火既濟湯은 52주령에서 DW군에 비하여 total cholesterol과 HDL-cholesterol의 농도를 유의하게 감소시켰고, LDL-cholesterol은 DW군에 비하여 감소하지는 하였으나 유의성은 없었다.
6. 水火既濟湯은 testosterone의 농도에는 유의한 변화를 일으키지 않았으나, testosterone의 경우 자연적인 경과에서 나이가 증가함에 따라 꾸준히 감소하여 DW군에서 10주령에 비하여 72주령의 혈중 testosterone이 유의하게 감소한 것과 대조적으로 水火既濟湯을 투여한 경우 10주령에서는 대조군들에 비해 가장 낮은 농도를 72주령에서는 가장 높은 농도를 유지하였으며 주령에 따른 호르몬의 편차도 적은 것으로 나타났다.
7. 水火既濟湯은 혈중 glucose, total-bilirubin, ALT, AST, BUN, CRP 및 hs-CRP, homocystein, Na, K, Na/K ratio, Cl, Ca의 농도에서는 유의한 변화를 일으키지 않는 것으로 나타났다.

이상의 결과 水火既濟湯의 투여는 간장, 신장 기능 및 전해질의 불균형을 유발하지 않으면서, 성장기에 성장을 촉진하며 노화에 남성호르몬의 저하를 감소시키는 효과가 있는 것으로 사료되며 향후 임상

에서의 활용과 함께 작용기전에 대한 추가 연구가 필요하다.

VI. 參考文獻

1. 통계청. 65세 이상 인구구조. Available from:URL: http://www.kosis.kr/OLAP/Analysis/stat_LAP.jsp?tbl_dDT_1B35001&org_id=101&vwcd=MT_ZTITLE&path=인구.가구>추계인구.가구>장래인구추계&oper_N=Y&item=&keyword=인구&lang_mode=kor&list_id=&olapYN=N
2. 박상철. 우리 몸의 노화. 서울:서울대출판사. 2003: 1-26.
3. 전국한 의과대학 사상의학교실. 개정증보 사상의학. 서울:집문당. 2004:390-394,694,724-728.
4. 이제마 원저·박성식 역해. 東醫壽世保元四象草本卷. 서울:집문당. 2003:171-213.
5. 김달래 편역. 東醫壽世保元甲午舊本. 서울:도서출판 木과土. 2002:159-160,172.
6. Kim KH, Kim JH. A Structural Analysis of Successful Aging Factors for Korean Elderly. J. of the Korean Gerontological Society. 2009;29(1):71-87. (Korean)
7. Bowling A, Iliffe S. Which model of successful ageing should be used? Baseline findings from a British longitudinal survey of ageing. Age and Ageing. 2006;35: 607-614.
8. An JS, Kang IN, Kim YJ. Development of successful aging measurement for Korean mid to later adults. J. of Korean Association of Family Relation. 2009;13(4): 225-245. (Korean)
9. Ryu SH, Moon GS. Antioxidative and Antiaging Effects of Dietary Yellow and Black Soybean in Rats. J. of The Korean Society of Food Science and Nutrition. 2003;32(4):591-597. (Korean)
10. Lee HE, Ahn TW. Anti-Oxidant Effect of Hyeongbang-jihwang-tang Decoction in Kidney, Bladder and Spleen Cell of SD Rats. J Sasang Constitut Med. 2008;20(2): 85-97. (Korean)
11. Park SJ, Park JH, Chung DH. The Effects of Antioxidant Vitamins on Lipid Peroxidation and Antioxidative

- Enzyme Activities in Aflatoxin B1 Treated Mice. J. of The Korean Public Health Association. 2000;26(1):69-77. (Korean)
12. Kang NI, Kim WK. Effects of Antioxidant Vitamins Supplementation on Antioxidative Status and Plasma Lipid Profiles in Korean NIDDM Patients. J. of The Korean Nutrition Society. 1999;32(7):775-780. (Korean)
 13. 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. (Korean)
 14. Sun TC, Ahn TW. Anti-aging Effects of Sipyimigwan-jung-tang in Aged Rats. J Sasang Constitut Med. 2008; 20(2):98-110. (Korean)
 15. Lee CH. Special Edition : Androgen Replacement therapy. Art. J. of Kyung Hee Univ. Med. Cent. 2001;17(2): 151-157. (Korean)
 16. 이화. 노인의학에 관한 연구. 대전:대전대학교 대학원 박사학위논문. 2001.
 17. Han BG. Reactive Oxygen Species and Aging. J. of Korean Chemical Society. 1998;38(8):48-51. (Korean)
 18. Yoo SJ. Special Review : Male climacteric syndrome -Late Onset Hypogonadism (LOH) in males-. The Korean Journal of Internal Medicine. 2008;75(3):262-266. (Korean)
 19. 두호경. 동의신계학. 서울:동양의학연구원. 1991: 1093-1100,1325-1383.
 20. Yoo JH, Lee EJ, Song IB, Ko BH. study of Aging and Life Span in Sasang Constitutional Medicine. J Sasang Constitut Med. 2002;14(3):7-16. (Korean)
 21. 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. (Korean)
 22. 한의학대사전편찬위원회. 한의학대사전. 서울:도서출판 정담. 1998:868,958,1243.
 23. Jang EC. Effect of Age on Glucose Metabolism of Skeletal Muscle in Rats. Yeungnam Univ. J. of Med. 2001;18(1):94-100. (Korean)
 24. Park SK, Lee HJ, Kim HT, Whang WW. An experimental study of oriental medicine on cure for dementia : the effect of Jowiseungcheong-tang and Hyung-bangjihwang-tang on cure for aged rats. J. of Oriental Neuropsychiatry. 1998;9(2):19-35. (Korean)
 25. Murphy MP, Rick J Th, Milgram NW, Ivy GO. A simple and rapid test of sensorimotor function in the aged rat. Neurobiology of Learning and Memory. 1995;64:181-186.
 26. Um MY, Rho KA, Kim MK. Age-Related Changes of Lipid Metabolism and Thrombogenic Capacity in Rats. J. of The Korean Nutrition Society. 2004;37(3): 525-532. (Korean)
 27. Lee YG, Sohn HO, Lee DW, Lim HB. The Effect of water - extract of Epimedium koreanum Nakai on age - related changes of the xenobiotic metabolizing enzyme system in the liver of rats. Korea J. Medicinal Crop Sci. 2002;10(1):29-36. (Korean)
 28. 대한내과학회. HARRISON'S 내과학. 서울:도서출판MIP. 2003:1766,2178.
 29. 김선화, 김옥숙, 김정애, 장은정, 정미영, 정승은. Mosby's Diagnostic and Laboratory Test Reference 진단 검사 가이드북. 서울:정담미디어. 2007:51, 59, 160, 173, 259, 311, 471, 529, 737, 858, 924.
 30. Vermeulen A, Kaufman JM. Aging of the hypothal-amo-pituiary-testicular in men. Hormone Res. 1995;43: 25.
 31. Kim YC, Park JH, Lee SK, Lee YJ, Bae CY, Cho YW, Kang MS, Kim JH. Clonical Experience on Non-Scrotal Testosterone Transdermal Patch in the Middle Aged Male. J. of Korean Endocrine Society. 1999;14(1): 102-121. (Korean)
 32. 변영휘. 실전성장치료. 대전:초락당. 2007:105.
 33. Lauralee Sherwood. 생리학 제5판. 서울:라이프사이언스. 2005:631,687.
 34. Kim HJ, Lee HJ, Park EJ. A clinical study on the effect of oriental medical treatment to the growth of children using bone age as measurer. J. of Korean Oriental Pediatrics. 2006;20(3):23-32. (Korean)
 35. Morley JE. Andropause, testosterone therapy, and quality of life in aging men. Cleve Clin J Med. 2000;67: 880-882.

36. Lunenfeld B, Nieschlag E. Testosterone therapy in the aging male. *Aging Male*. 2007;10:139-153.
37. Bruni JF, Huang HH, Marshall S, Meites J. Effects of single and multiple injections of synthetic GnRH on serum LH, FSH and testosterone in young and old male rats. *Biol Reprod*. 1977;17:309 - 312.
38. Steiner RA, Bremner WJ, Clifton DK, Dorsa DM. Reduced pulsatile luteinizing hormone and testosterone secretion with aging in the male rat. *Biol Reprod*. 1984;31:251-258.
39. Matsumoto AM. Andropause: clinical implications of the decline in serum testosterone levels with aging in men. *J GerontolABiol Sci Med Sci*. 2002;57:M76-M99.
40. Vermeulen A. Andropause. *Maturitas*. 2000;34:5-15.