

원저

玄胡索藥鍼液의 acetylcholinesterase 억제효과와 항산화에 미치는 影響

강미경 · 남상수 · 이윤호

경희대학교 한의과대학 침구학교실

Abstract

Effect of Corydalis tuber Acua-acupuncture Solution on Antiacetylcholinesterase and Antioxidants

Kang Mi-kyeong, Nam Sang-soo and Lee Yun-ho

Dept. of Acupuncture & Moxibustion,
College of Oriental Medicine, Kyung Hee University

It has been investigated about aging theory. However, aging mechanism still remains to be unknown. Aging and aging related diseases might be due to oxidative damage and these were modifiable by genetic and environmental factors. For designing an optimal medical treatment and countermeasure against aging and aging related disease, it is necessary to understand the aging mechanism.

Acetylcholine(Ach) plays an important role in memory. If someone doesn't have enough Ach, he has a tendency to catch a Alzheimer's disease. Corydalis tuber has been clinically used to treat heart disease, gastrointestinal disease and other diseases including endocrine disease in Oriental medicine.

-
- 접수 : 2004년 5월 12일 · 수정 : 2004년 5월 15일 · 채택 : 2004년 5월 15일
 - 교신저자 : 이윤호, 서울 동대문구 회기동 경희대학교 한방병원 침구과
Tel. 02-958-9204 E-mail : yunholee@unitel.net

The purpose of this article is to investigate the inhibitory effect on Acetylcholinesterase and scavenging effects on NO, DPPH of Corydalis tuber Acua-acupuncture solution(CTAS).

The results are summerised as follows:

1. There is a significant inhibitory effect of 0.01mg/ml CTAS group at 20, 30, 60 minutes and 0.1 mg/ml CTAS group at 10, 20, 30, 60 minutes on AchE.
2. There is no significant scavenging effect of CTAS on NO.
3. There is a significant scavenging effect of 0.1mg/ml and 0.01mg/ml CTAS group at 10 minutes but there is no significant scavenging effect at 20, 30, 60 minutes on DPPH.

There is a significant scavenging effect of 1mg/ml CTAS group at 10, 20, 30, 60 minutes on DPPH.

Key words : Corydalis tuber Acua- acupuncture solution(CTAS), Aging, Acetylcholinesterase (AchE), NO, DPPH

I. 緒 論

生活環境과 食生活 改善, 健康에 대한 관심 증가, 醫學의 發達 등으로 인간의 평균수명이 연장되므로 전체 인구 중 노인인구가 차지하는 비율이 과거에 비해 현저히 높아지면서 노인성 질환도 이에 비례하여 급증하는 추세를 보이고 있다. 현재 65세 이상 노인인구의 비율은 일년에 약 1%씩 증가추세에 있어 2005년에는 우리나라도 인구의 12%가 노인인구에 해당하는 노령화 사회에 접어들고 있다¹⁾.

대표적인 노인성 질환의 하나인 치매는 뇌의 질환으로 인해 생기는 하나의 증후군으로 대개 만성적이고 진행성으로 나타나며 기억력, 사고력, 지남력, 이해력, 계산능력, 학습능력, 언어 및 판단력 등을 포함하는 뇌기능의 다발성 장애로 점점 그 중요성이 강조되고 있다²⁾.

한의학에서는 치매를 呆病이라 하여 원인에 따라 痰鬱과 神志抑鬱으로 분류하여 逐痰開鬱하는 治法으로 치료하고 있다³⁾. 韓醫學에서 痴呆에 대한 研究는 遺傳子에 대한 연구와 老化和 관련된 抗酸化作用에 대한 연구 등이 행해지고 있다⁴⁾.

알츠하이머병은 치매를 일으키는 대표적인 질환의 하나로 이상단백질들이 뇌 속에 쌓이면서 신경세포가 회복할 수 없는 손상을 입어 발병한다. 아직까지 알츠하이머병이나 다른 퇴행성 뇌질환에 의해 생기는 노인성 치매를 근본적으로 치료할 수는 없으나 acetylcholinesterase (AchE) 억제제와 항산화제 등이 처방되고 있다. Acetylcholine은 기억력과 학습활동에 있어서 중요한 역할을 하므로 AchE 억제제는 뇌의 아세틸콜린 농도를 증가시켜 인지기능을 향상시키기 위하여 사용된다. 항산화제는 활성산소로 인하여 뇌세포가 산화되고 손상되는 것을 막아주는 역할을 한다고 생각되고 있다⁵⁾.

玄胡索은 性味가 辛苦溫하고 肝脾心經에 들어 行散止痛하고 活血하는 효과가 있어 진통, 진정작용, 관상동맥 혈류량 증가, 심근괴사에 대한 보호작용 및 위궤양억제 작용이 있는 것으로 보고되고 있으나 세포보호 효과에 대한 보고는 아직까지 보고된 바 없다⁶⁻⁸⁾. 이에 저자는 玄胡索藥鍼液의 세포보호 효과를 알아보기 위하여 AchE 억제효과와 Nitric Oxide (NO) 농도 및 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 소거율을 측정하여 抗酸化효과를 관찰한 결과 유의한 성적을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實 驗

1. 材料

1) 藥材

玄胡索(生藥名: *Corydalis turtschaninovii* Bess, 學名: *Corydalis Tuber*)은 慶熙大學校 附屬 韓方病院 藥劑科에서 구입하여 엄선한 것을 사용하였다.

2. 方法

1) 玄胡索藥鍼液의 製造

玄胡索藥鍼液은 玄胡索 350g을 取해 粗末하여 圓底 flask에 넣고 蒸溜水 2,000ml를 加한後 3時間 煎湯하여 抽出하고 濾過하였다. 濾液은 rotary evaporator로 減壓濃縮하고 濃縮液에 蒸溜水를 加하여 全量을 200ml이 되도록 한 다음, 室溫까지 冷却하고 ethanol을 加하여 75% ethanol 溶液으로 되게 한 다음, 攪拌하고 低溫에서 放置하여 生成된 沈澱物을 濾別하였다. 濾液을 다시 rotary evaporator로 減壓濃縮한

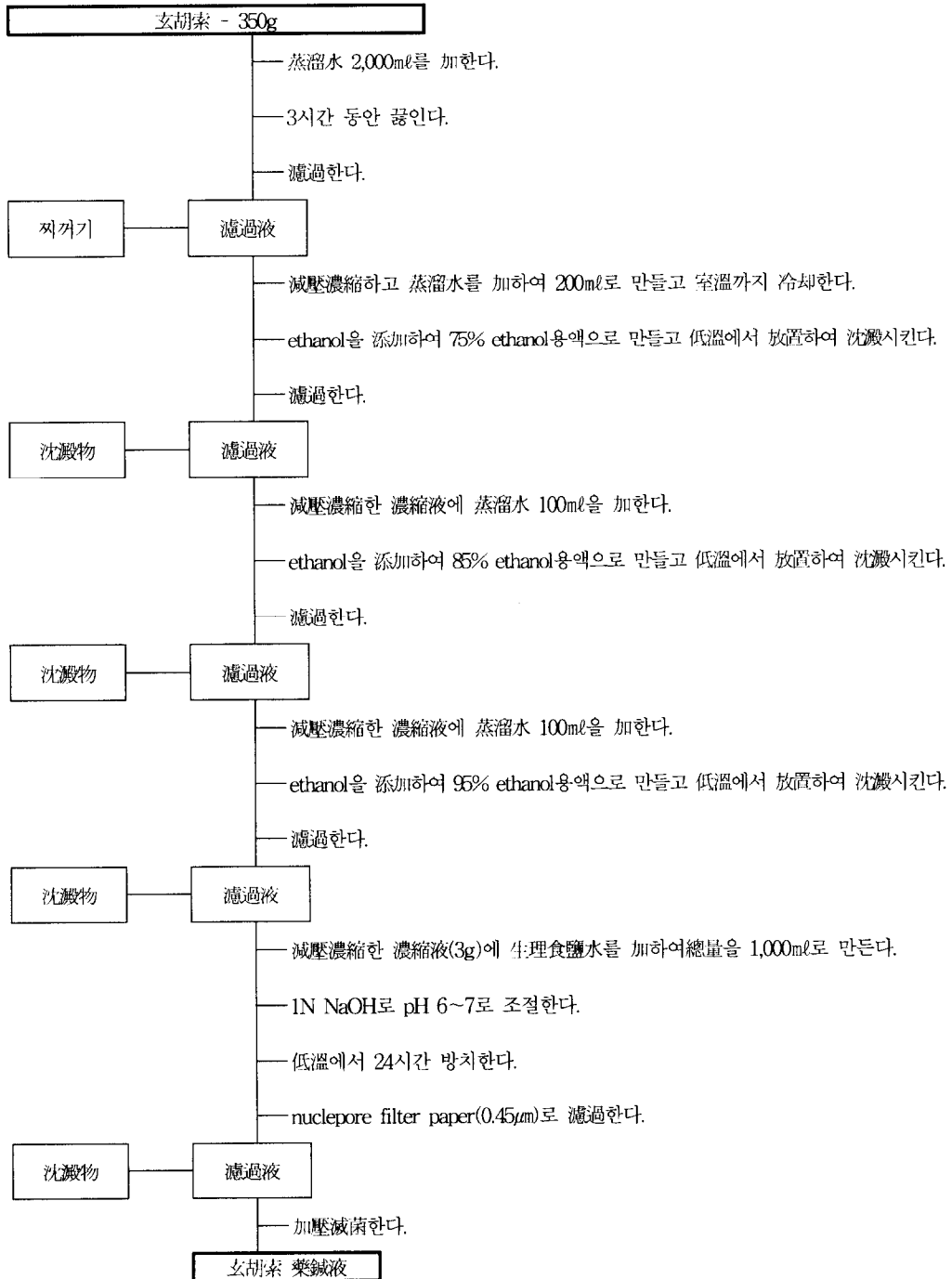
濃縮液에 蒸溜水 100ml를 加하고 溶解시킨後 ethanol을 加하여 85% ethanol 溶液으로 되게 한 다음 攪拌하고 低溫에서 放置하여 生成된 沈澱物을 濾別하였다. 濾液을 다시 rotary evaporator로 減壓濃縮한 濃縮液에 蒸溜水 100ml를 加하고 溶解시킨後 ethanol을 加하여 95% ethanol 溶液으로 되게 한 다음 攪拌하고 低溫에서 放置하여 生成된 沈澱物을 濾別하였다. 濾液을 다시 rotary evaporator로 減壓濃縮하여 生成된 濃縮液(3g)에 生理食鹽水를 加하고 3% NaOH로 pH 6~7로 調節하여 全量이 1,000ml가 되게 한 다음, 低溫에서 24時間 放置한後 nuclepore filter (0.45 μ m, 직경 25mm, U.S.A.)로 濾過하고 加壓滅菌하여 試料의 原액으로 使用하였으며 각각의 실험에 따라 10mg/ml, 1mg/ml, 0.1mg/ml, 0.01mg/ml, 0.001mg/ml 등으로 희석하여 使用하였다(Table 1).

2) AchE 억제 효과 측정

(1) 세포주 및 효소

AchE는 배양된 PC12 세포주(rat의 신경세포 암종의 일종으로 Korean Cell Line Bank로부터 구입)에서 추출하였다. 추출방법은 1 M NaCl, 50mM MgCl₂와 1% Triton X-100이 포함되어 있는 10mM Tris-HCl (pH 7.2)를 PC12 세포양의 5배를 넣고 균질하게 homogenation한 후에 10,000 g에서 30분간 원심분리하고 상층액을 분리하여 준비하였다. 완충액은 50mM 인산완충액(phosphate buffer, pH 8.0)을 제조하여 사용하였다. 기질액은 0.5mM acetylthiocholine과 1mM5,5'-dithio-bis(2-nitro benzoic acid)가 함유되어 있는 50mM 인산완충액을 실험전에 만들어 사용하였다.

Table 1. Preparation of Corydalis tuber Aqua-Acupuncture Solution



(2) 효소반응

玄胡索藥鍼液(시료)의 AchE억제효과를 측정하기 위하여 玄胡索藥鍼液은 0.1, 0.01, 및 0.001 mg/ml의 농도로 구분하여 실험하였다. 시료반응은 96 well plate에 완충액 30 μ l, 시료 또는 타크린 10 μ l와 효소 10 μ l를 넣은 후 기질액을 50 μ l를 넣어 100 μ l로 만들어 37 $^{\circ}$ C 항온기에 넣어 60분간 배양하였다(SR). 그리고 시료대조군으로 효소대신 완충액 10 μ l를 넣어 함께 배양하였다(SC).

효소반응으로는 시료 대신 완충액 10 μ l를 넣어 함께 배양하였다(ER). 그리고 효소에 대한 대조군으로 효소대신 완충액 10 μ l를 넣어 함께 배양하였다(EC). 60분간 배양한 후 ELIZA reader를 이용하여 405nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 효소활성저해도 측정은 각각의 효소활성저해도(%)는 아래와 같은 식을 이용하여 측정하였다.

$$\text{효소활성저해도(\%)} = \{1 - [(SR - SC) / (ER - EC)]\} \times 100$$

3) NO 측정

(1) NO 생성화합물

NO generator로는 S-nitroso-N-acetylpenicillamine (SNAP)를 사용하였다. 먼저 NaNO₂ 1.63g을 20ml에 녹였다. 20ml의 methanol과 20ml의 HCl을 섞어 1.91g의 N-acetylpenicillamine를 녹였다. 후드 안에서 NaNO₂ 용액을 N-acetylpenicillamine용액에 2-3ml씩 첨가하면서 dull green이 나타나는지를 확인하면서 천천히 반응시켰다. 반응이 다 끝나면 濾過를 하여 濾過紙에 2-3일 동안 호일을 덮어 공기 중에서 건조시켰다. 濾過紙에 남아 있는 분말을 수거하여 다음 實驗에 사용하였다.

(2) NO 측정

Phosphate-buffered saline (PBS) 1ml 에 SNAP 500 μ M를 첨가 한 후 玄胡索藥鍼液을 농도별로 添加한 후 CO₂ incubator 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂, 95% O₂ 조건하에서 24시간 동안 培養하였다. 각 조건별로 100 μ l씩 3개씩 96-well plate를 사용하여 분주한 후 100 μ l의 Griess용액을 添加하여 550 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다⁹⁻¹¹). 이때 NaNO₂용액을 표준으로 하여 농도를 계산하였다. 다양한 농도 (0.25, 0.125, 0.063, 0.031 μ M) NaNO₂용액을 540nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 그 결과 NO²의 농도(y)는 흡광도(x)에 비례하며 다음과 같은 식으로 나타났다

$$y = 290.72x - 12.557$$

玄胡索藥鍼液을 각각 10, 1, 0.1mg/ml의 농도로 나누어 24시간 동안 관찰하였으며 24시간 후 대조군의 농도를 100% 기준으로 하여 각각의 농도를 %로 환산하여 구하였다.

4) DPPH 소거율 측정

玄胡索藥鍼液과 對照藥物群으로는 대표적인 항산화물질인 Vit. C를 선택하여 3차 증류수에 100 mM로 녹여 보관하였다. DPPH 용액은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)을 무수 ethanol에 녹여 540nm에서 흡광도가 0.96-0.97이 되는 농도로 희석하였다. 玄胡索藥鍼液과 Vit. C를 ethanol에 10mM과 100 μ M로 희석하였다. 반응은 96well plate에 ethanol 40 μ l, 試藥 10 μ l를 넣은 후 위에 조성한 DPPH 용액을 50 μ l를 넣어 100 μ l로 만들어(최종농도가 1, 0.1 mg/ml가 되도록 함) Vortex로 균일하게 혼합한 다음, 室溫에서 1시간 放置한 후, ELIZA

reader를 이용하여 540nm 파장에서 흡광도를 측정하였다¹²⁻¹³). 玄胡索藥鍼液은 각각 1, 0.1, 0.01mg/ml의 농도로 나누어 1시간 동안 소거울을 측정하였으며 處置전 대조군과 실험군의 흡광도와 處置후 각각의 흡광도를 측정하여 변화율을 %로 표시하여 소거울로 나타냈다.

5) 統計處理

統計分析은 Statistical Package for Social Science Software SAS(version 6.1.2)를 사용하였으며 DATA 분석은 Student's t-test를 이용하였고 통계적인 유의성은 $p < 0.05$ 로 하였다. 모든 실험은 독립적으로 3번 이상 반복하였고 $mean \pm standard\ errors\ of\ means(SEM)$ 로 나타내었다.

III. 結果

1. 玄胡索藥鍼液이 AChE 억제에 미치는 영향

玄胡索藥鍼液을 0.1mg/ml, 0.01mg/ml, 0.001mg/ml의 농도로 구분하여 60분 동안 AchE 억제

효과를 측정한 결과 10분 경과 후 AchE 억제 효과는 Tacrin群이 $43.8 \pm 1.6\%$ 로 對照群의 $0.0 \pm 1.1\%$ 에 비하여 유의한 차이($p < 0.05$)를 나타내었고, 玄胡索藥鍼液群에서는 0.1mg/ml 群에서만 $12.3 \pm 0.9\%$ 로 대조군에 비하여 유의한 차이($p < 0.05$)를 나타내었다. 20분 경과 후 AchE 억제 효과는, Tacrin群이 $56.5 \pm 1.1\%$ 로 對照群의 $0.0 \pm 0.8\%$ 에 비하여 유의한 차이($p < 0.05$)를 나타내었고, 玄胡索藥鍼液群에서는 0.1mg/ml 處置群은 $23.7 \pm 0.8\%$, 0.01mg/ml 處置群은 $3.8 \pm 1.2\%$ 로 對照群에 비하여 유의한 차이($p < 0.05$)를 나타내었다. 30분 경과 후 AchE 억제 효과는 Tacrin 處置群이 $60.9 \pm 1.3\%$ 로 對照群의 $0.0 \pm 0.7\%$ 에 비하여 유의한 차이($p < 0.05$)를 나타내었고 玄胡索藥鍼液群에서는 0.1mg/ml 處置群이 $26.5 \pm 0.2\%$, 0.01mg/ml 處置群은 $2.9 \pm 1.1\%$ 로 對照群에 비하여 유의한 차이($p < 0.05$)를 나타내었다. 1시간 경과 후 AchE 억제 효과는 Tacrin 處置群이 $67.1 \pm 1.0\%$ 로 對照群의 $0.0 \pm 0.6\%$ 에 비하여 유의한 차이($p < 0.05$)를 나타내었고 玄胡索藥鍼液群에서는 0.1mg/ml 處置群이 $32.3 \pm 0.4\%$, 0.01mg/ml 處置群이 $5.0 \pm 0.9\%$ 로 對照群에 비하여 유의한 차이($p < 0.05$)를 나타내었다(Table 2, Fig. 1).

Table 2. Inhibitory Effect of Corydalis Tuber Aqua-Acupuncture Solution on AchE

	minute (%)			
	10	20	30	60
control	0.0 ± 1.1	0.0 ± 0.8	0.0 ± 0.7	0.0 ± 0.6
tacrine	$43.8 \pm 1.6^*$	$56.5 \pm 1.1^*$	$60.9 \pm 1.3^*$	$67.1 \pm 1.0^*$
0.1mg/ml	$12.3 \pm 0.9^*$	$23.7 \pm 0.8^*$	$26.5 \pm 0.2^*$	$32.3 \pm 0.4^*$
0.01mg/ml	1.4 ± 1.2	$3.8 \pm 1.2^*$	$2.9 \pm 1.1^*$	$5.0 \pm 0.9^*$
0.001mg/ml	-3.4 ± 3.3	-3.0 ± 1.6	-4.6 ± 1.6	-3.5 ± 0.6

*: significantly different from control group ($p < 0.05$)

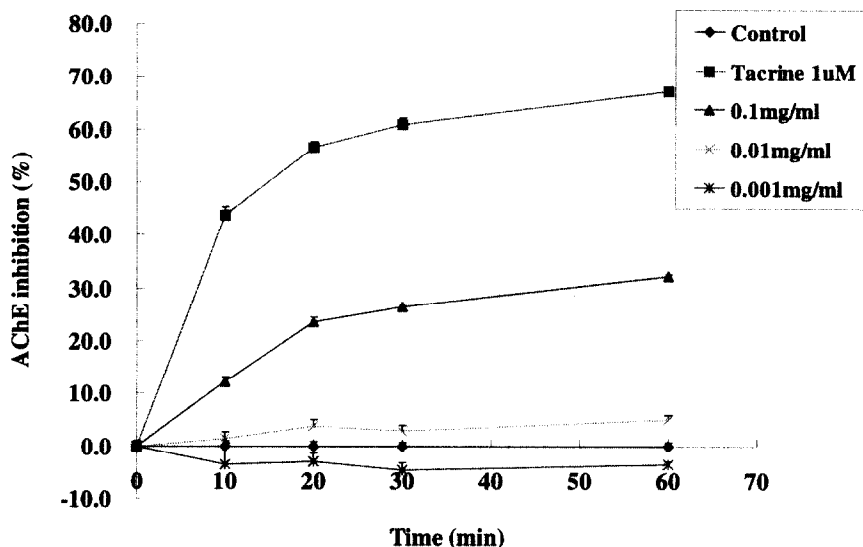


Fig. 1. Inhibitory effect of Corydalis tuber aqua-acupuncture solution on AChE

2. 玄胡索藥鍼液이 NO 농도에 미치는 영향

玄胡索藥鍼液이 NO 농도에 미치는 영향을 알아본 결과 1시간 경과 후 NO 농도는 Vit. C 處置群이 4.9±0.9%로 對照群이 7.9±0.2%에 비하여 유의한 차이(p<0.05)를 나타내었으며 玄胡索藥鍼液群에서는 유의한 차이가 나타나지 않았다. 2시간 경과 후 NO 농도는 Vit. C 處置群이 17.2±0.4%로 對照群의 16.7±0.3%에 비하여 유의한 차이(p<0.05)를 나타내었으며 玄胡索藥鍼液群에서는 유의한 차이가 나타나지 않았다. 3시간 경과 후 NO 농도는 Vit. C 處置群이 6.1±0.8%로 對照群의 23.1±0.7%에 비하여 유의한 차이(p<0.05)를 나타내었으며 玄胡索藥

鍼液群에서는 유의한 차이가 나타나지 않았다. 6시간 경과 후 NO 농도는 Vit. C 處置群이 7.2±0.7%로 對照群의 47.4±1.5%에 비하여 유의한 차이(p<0.05)를 나타내었으며 玄胡索藥鍼液群에서는 유의한 차이가 나타나지 않았다. 17시간 경과 후 NO 농도는 Vit. C 處置群이 2.3±0.2%로 對照群이 96.4±3.1%에 비하여 유의한 차이(p<0.05)를 나타내었으며 玄胡索藥鍼液群에서는 유의한 차이가 나타나지 않았다. 24시간 경과 후 NO 농도는 Vit. C 處置群이 1.5±0.2%로 對照群의 100.0±3.8%에 비하여 유의한 차이(p<0.05)를 나타내었으며 玄胡索藥鍼液群에서는 유의한 차이가 나타나지 않았다 (Table 3, Fig. 2).

Table 3. Scavenging Effect of Corydalis Tuber Aqua-Acupuncture Solution on NO

	hour (%)					
	1	2	3	6	17	24
control	7.9±0.2	16.7±0.3	23.1±0.7	47.4±1.5	96.4±3.1	100.0±3.8
Vit. C	4.9±0.9*	17.2±0.4*	6.1±0.8*	7.2±0.7*	2.3±0.2*	1.5±0.2*
10mg/ml	14.5±0.1	17.9±0.6	33.2±1.0	57.5±1.6	109.7±0.6	111.3±1.8
1mg/ml	8.4±0.4	17.6±0.4	25.7±1.0	54.0±1.6	111.1±1.2	116.6±0.8
0.1mg/ml	8.4±0.4	18.3±0.4	25.9±1.0	53.2±1.1	110.4±1.1	110.6±1.2

*: significantly different from control group (p<0.05)

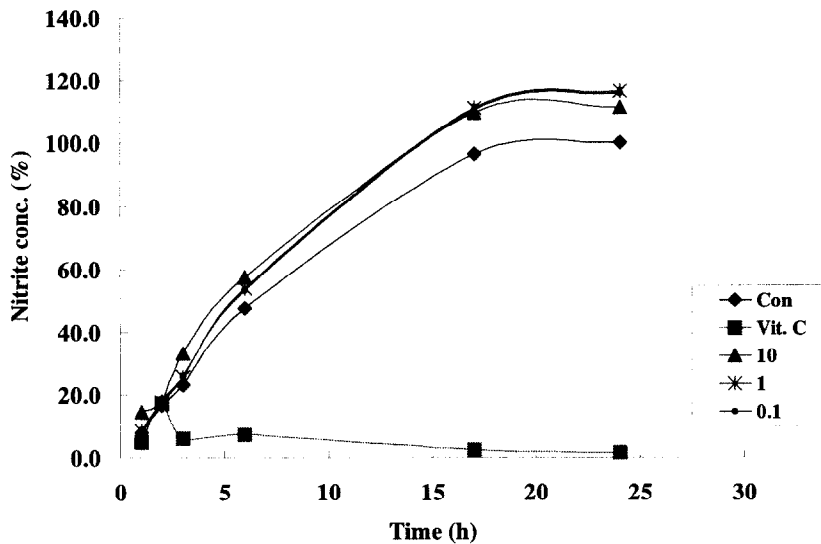


Fig. 2. Scavenging effect of Corydalis tuber aqua-acupuncture solution on NO

3. 玄胡索藥鍼液이 DPPH 소거율에 미치는 影響

玄胡索藥鍼液을 1, 0.1, 0.01mg/ml의 농도로 구분하여 1시간 동안 DPPH 소거율을 측정 한 결과 10분 후 Vit. C에서는 57.5±3.5%로 對照群의 0.0±3.0%에 비하여 유의한 차이(p<0.05)를 나타내었고 玄胡索藥鍼液群에서는 1mg/ml 處置群에서 48.6±1.1%, 0.1mg/ml 處置群에서 12.3±4.1%, 0.01mg/ml 處置群에서 6.5±2.0%로

모두 對照群에 비해 유의한 차이(p<0.05)를 나타내었다. 20분 후 Vit. C에서는 51.7±2.5%로 對照群의 -1.9±3.0%에 비하여 유의한 차이(p<0.05)를 나타내었고 玄胡索藥鍼液群에서는 1mg/ml 處置群에서만 49.8±1.9%로 對照群에 비해 유의한 차이(p<0.05)를 나타내었다. 30분 후 Vit. C에서는 50.5±1.6%로 對照群의 -3.1±4.6%에 비하여 유의한 차이(p<0.05)를 나타내었고 玄胡索藥鍼液群에서는 1mg/ml 處置群에서만

51.6±1.6%로 對照群에 비해 유의한 차이 (p<0.05)를 나타내었다. 60분 후 Vit. C에서는 49.9±1.8%로 對照群의 -3.2±4.8%에 비하여 유의한 차이(p<0.05)를 나타내었고 玄胡索藥鍼液

群에서는 1mg/ml 處置群에서만 47.4±3.7%로 對照群에 비해 유의한 차이(p<0.05)를 나타내었다(Table 4, Fig. 3).

Table 4. Scavenging Effect of Corydalis Tuber Aqua-Acupuncture Solution on DPPH

	minute (%)			
	10	20	30	60
control	0.0±3.0	-1.9±3.0	-3.1±4.6	-3.2±4.8
Vit.C	57.5±3.5*	51.7±2.5*	50.5±1.6*	49.9±1.8*
1mg/ml	48.6±1.1*	49.8±1.9*	51.6±1.6*	47.4±3.7*
0.1mg/ml	12.3±4.1*	7.1±6.9	3.2±5.7	1.9±7.7
0.01mg/ml	6.5±2.0*	-1.0±3.3	-2.2±3.4	-4.1±4.4

*: significantly different from control group (p<0.05)

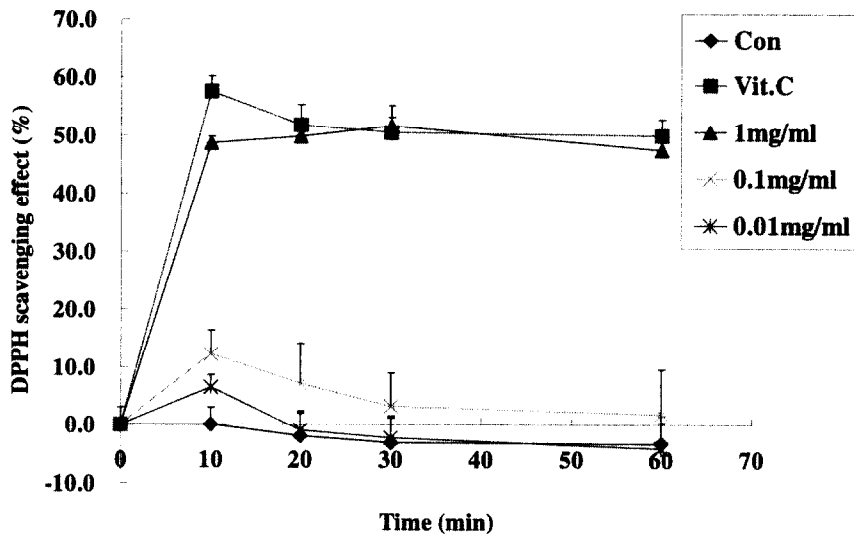


Fig. 3. Scavenging effect of Corydalis tuber aqua-acupuncture solution on DPPH

IV. 考 察

老化는 모든 生命體에서 진행되는 불가피한 과정으로 生命體 內의 모든 臟器의 기능을 점진적으로 저하시키는 自然的인 現狀이다. 老化로 인하여 초래되는 生理的인 변화는 주위 환경에 적응하는 능력과 각종 疾病에 대한 抵抗力을 減退시켜 다양한 急性 및 慢性 疾患에 罹患될 가능성을 높여주게 되며 궁극적으로는 死亡의 원인이 된다¹²⁾.

老化는 각 조직의 기능저하에 기인하며 조직의 기능은 그를 구성하는 세포의 신진대사 기능과 생리활성의 변화에 의해서 영향을 받을 것이다. 최근 제기되고 있는 노화에 따른 기능저하의 원인은 주로 산화적 손상으로 설명된다. 산화적 손상이란 산소 대사과정에서 발생하는 free radical로부터 시작한다¹³⁾. Free radical은 적어도 한 쌍의 짝을 짓지 않은 전자를 포함하는 것이며 전자 및 분자는 기본적으로 어떤 물질과 전자를 공유하여 안정화되려고 한다. 이러한 결합은 항구적이지 못하며 외부의 힘에 의하여 서로 분리되어 생체 내에 수많은 free radical을 생성하게 한다. 이들 free radical은 세포구성 성분들인 지질, 단백질, 당, DNA 등에 대하여 비선택적, 비가역적인 파괴작용을 함으로써 老化는 물론 癌을 비롯하여 뇌졸중, 파킨슨병 등의 뇌질환과 심장질환, 허혈, 동맥경화, 피부질환, 소화기질환, 염증, 류마티스, 자가면역질환 등의 각종 疾病을 일으키는 것으로 알려져 있다¹⁴⁻¹⁵⁾.

항산화제를 통하여 이러한 疾病을 치료하려는 시도가 이루어지면서 항산화제의 연구개발은 식품 및 발효공업 및 의약품 분야, 농업

분야 등 多方面에서 이용되고 있다¹⁶⁻¹⁹⁾.

韓醫學에서의 老化의 觀點은 모든 萬物이 生長化收藏의 陰陽五行의 規律에 의해 變化하는 과정으로 認識함으로써 人間의 出生, 發育, 成長, 成熟, 老化의 과정을 腎氣의 盛衰로 보고 있다²⁰⁻²¹⁾.

치매는 대표적인 신경정신계질환으로 의식의 장애가 없이 후천적으로 나타나는 현상으로, 통상적인 사회생활이나 대인관계에 장애를 초래할 정도로 기억을 비롯한 여러 인지능의 장애가 있는 상태로 정의된다. 치매의 원인 질병은 여러 가지가 알려져 있으나 노년기에 가장 흔한 것은 알츠하이머병과 다발성 경색 치매이다²⁾.

한의학에서는 치매를 呆病이라 하여 마치 바보와 같이 멍멍히 말이 없으며, 몇 끼를 굶고도 태연하게 지내기도 하는 것으로 설명하고 있다. 모든 의욕이 癡症보다는 能하지 못하며 心性이 狂症같이 난폭하지 못한 것이 呆病이라 하였다. 원인은 크게 痰鬱과 神志抑鬱로 보고 있다. 또한 치매의 주요 증상들로는 기억, 추상적 사고, 판단 장애와 더불어 성격 변화, 불면, 행동장애 등도 흔히 동반되는데 한의학에서는 이러한 증상의 원인을 瘀血로 보고 있다⁵⁾. 최근 韓醫學영역에서 痴呆研究를 살펴보면 遺傳子에 대한 연구와 老化와 연계하여 老化를 誘發하는 항산화작용에 대한 연구 등이 행해지고 있다²²⁾.

玄胡索은 性味가 辛苦溫하고 肝脾心經에 들어가 작용하는 藥으로서 혈액순환을 활발하게 하고 氣의 순행을 도와서 통증을 제거하는 약물이다. 또한 심박동 이상에 유효성을 나타내고 국부 마취작용이 있으며 관상동맥 질환에 玄胡索藥鍼으로 心絞痛이 완화되고 심전도상에서 개선 반응을 보였다는 임상 보고가 있

다⁶⁻⁷⁾.

이에 저자는 玄胡索이 老化和 痴呆에 효과가 있을 것으로 사료되며 玄胡索藥鍼液을 이용하여 AchE 억제효과와 free radical 消去에 의한 항산화활성을 통하여 직접 實驗管内에서 일차적으로 세포보호제로서 역할을 할 수 있는 기능을 확인하고자 하였다.

ACh은 콜린과 아세트산의 에스테르로 수많은 신경계 또는 시냅스와 골격근의 운동신경 종판에서 충격을 전달하는데 신경충격이 신경 종판에 다다르면 시냅스 주머니 안에 저장되어 있던 아세틸콜린이 방출되고, 시냅스 후세포의 막 또는 근섬유의 종판막에서 수용체와 결합하여 막의 투과성을 변화시키고 발생기(發生器) 전위를 일으킨다. 만약 신경충격이 계속 도달하게 되면 그 효과가 축적된다. ACh은 AchE라는 효소에 의해 분해되므로 ACh의 수명은 이 효소의 抑制劑에 의해 연장된다. ACh은 기억력과 학습활동에 있어서 중요한 역할을 하며, 腦에 ACh이 정상인보다 적게 공급되면 Alzheimer's disease에 걸린다고 알려져 있다. Alzheimer型 老人性 痴呆에서는 前腦基底部の ACh작동성 神經이 甚하게 變性萎縮하고 있어서, choline이나 phosphatidyl choline과 같은 ACh의 원료를 투여하여 증상을 개선하려는 시도가 이루어지고 있다²²⁾.

玄胡索藥鍼液의 AchE 억제 효과를 확인하고자 0.1mg/ml, 0.01mg/ml, 0.001mg/ml의 농도로 60분 동안 측정하였다. 시간별로 측정하였을 때 10분 경과 후에는 0.1mg/ml 處置群에서만 유의한 결과를 보였으며 20분, 30분, 60분 경과 후 AchE 억제 효과는 각각 20분 후 0.1mg/ml 處置群은 23.7±0.8%, 0.01mg/ml 處置群은 3.8±1.2%, 0.001mg/ml 處置群은 -3.0±1.6%, 30분 후 0.1mg/ml 處置群은 26.5±0.2%, 0.01mg/ml

處置群은 2.9±1.1%, 0.001mg/ml 處置群은 -4.6±1.6%, 60분 후 0.1mg/ml 處置群은 32.3±0.4%, 0.01mg/ml 處置群은 5.0±0.9%, 0.001mg/ml 處置群은 -3.5±0.6%로 나타나 0.1mg/ml 處置群과 0.01mg/ml 處置群 두 군에서 유의한 억제효과를 나타냈다. 그러나 Tacrin 處置群보다는 효과가 낮게 나타났는데 0.1mg/ml 이상의 고농도의 處置群에 대한 연구 등을 통해 최고의 효과를 낼 수 있는 농도를 찾아내는게 중요하다고 하겠다.

NO는 혈압조절에서 항생작용, 신경계의 정보와 기억에까지 넓은 범위에서 활성이 나타나는 생물학적 신호이다. 그러나 過量의 NO는 조직을 손상시키고 염증을 유발한다. 따라서 NO의 생성은 조절될 필요성이 있다. 과학자들은 신경전달물질의 역할을 하는 활성산소의 하나인 NO의 억제제가 고혈압, 패혈증성 쇼크(septic shock), 뇌졸중, 癌, 성교 불능과 같은 병들을 치료하는 데 유용할 것으로 생각하고 있다²³⁻²⁴⁾. 本 實驗에서는 NO generator로는 S-nitroso-N-acetylpenicillamine(SNAP)를 사용하였다. 기존에 NO에 관한 論文은 金等²⁵⁾의 인체 위상피세포에서의 NO 생성 등이 있다. 그러나 SNAP을 이용하여 NO 消去 효과를 본 論文으로는 朴等²⁶⁾이 NO를 주사시 망막에 미치는 영향, 金等²⁷⁾이 안구표피질환에서 NO의 역할 등을 보고하였고 韓等²⁸⁾이 數種藥鍼液의 NO 消去效果, 徐等²⁹⁾이 蜂藥鍼液의 NO 소거 효과를 보고하였다.

玄胡索藥鍼液에 대하여 항산화효과 중 대표적 酸化劑인 NO의 소거 효과를 확인하고자 0.1, 1, 10mg/ml의 농도로 측정하였다. NO 소거 효과는 오랜 시간 NO를 處置한 후 그 결과를 보는 것이 더 의미가 있다. 따라서 시간 경과별로 1시간, 2시간, 3시간, 6시간, 17시간,

24시간 경과 후 NO 농도를 관찰하였는데 각각의 농도에서 시간에 따른 유의한 NO 소거 효과가 나타나지 않았다.

DPPH는 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl로서 활성산소의 하나이다. 일반적으로 반응성이 강한 DPPH radical은 항산화제로부터 전자 혹은 수소원자를 얻음으로써 안정한 형태의 생성물로 전환하는 것으로 알려져 있다³⁰⁾. 기존에 DPPH 소거 효과에 관한 연구로는 李等³¹⁾이 紅蓼에 대하여, 崔等¹²⁾이 桂枝에 대하여, 朴等³²⁾이 大柴胡湯에 대하여 보고한 바가 있다.

玄胡索藥鍼液에 대하여 항산화활성 효과를 확인하고자 1, 0.1, 0.01mg/ml의 농도로 1시간 동안 DPPH 소거 효과를 측정하였다. 本實驗結果 1mg/ml의 玄胡索藥鍼液을 투여한 群에서는 항산화활성이 10분 후 48.6±1.1%, 20분 후 49.8±1.9%, 30분 후 51.6±1.6%, 60분 후 47.4±3.7%로 나타나 실험 시간대에서 모두 유의성 있는 결과를 나타냈고, 0.1mg/ml와 0.001mg/ml 玄胡索藥鍼液을 투여한 群에서는 항산화활성이 10분 후 각각 12.3±4.1%, 6.5±2.0%로 10분 경과 시에만 유의한 효과를 나타내었으며 20분, 30분, 60분 후 관찰 결과에서는 유의성이 나타나지 않았다. 강력한 항산화제인 Vit. C에서는 10분 후 57.5±3.5%, 20분 후 51.7±2.5%, 30분 후 50.5±1.6%, 60분 후 49.9±1.8%로 나타났다. 玄胡索藥鍼液에 대하여 DPPH 소거 효과는 1mg/ml에서는 시간경과에 따라 모두 有意성 있는 결과를 나타내고 있으며 0.1mg/ml 處置群과 0.001mg/ml 處置群에서는 10분 경과 시에는 유의성이 있으나 시간이 경과함에 따라 유의성 있는 결과는 나타나지 않았다. 이는 玄胡索藥鍼液이 DPPH 소거 기전을 통해 항산화활성 藥理作用이 일어

남을 알 수 있고 또한 농도에 따라 효과가 다름을 나타내고 있다.

이상의 결과를 종합해보면 玄胡索藥鍼液의 AChE 억제 효과는 유의성 있는 결과를 나타냈으며 free radical 소거 효과에 있어서 NO는 유의성 없는 결과를 보이고 있으나 DPPH는 유의성 있는 효과를 보이고 있다. 尙後 玄胡索藥鍼液의 AChE 억제 등을 통한 老人性痴呆 예방, 항산화효과를 통한 老人病 治療 등에 대하여 심도있는 연구가 진행되어야 할 것으로 思料된다.

V. 結 論

玄胡索藥鍼液의 세포보호 효과를 알아보기 위하여 AchE 억제 효과와 NO 농도 및 DPPH 소거율을 측정하여 항산화효과를 관찰한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. AchE 抑制效果에 대하여 0.01mg/ml 處置群에서는 초기 10분 경과 시에는 有意한 차이가 없었으나 시간이 경과함에 따라 對照群에 비해 유의한 차이가 나타났으며, 0.1mg/ml 玄胡索藥鍼液群에서는 10분, 20분, 30분, 60분 경과 시 모두 對照群에 비해 有意한 차이를 나타내었다.
2. NO 농도에 대하여 玄胡索藥鍼液은 對照群에 비해 有意한 차이를 나타내지 않았다.
3. DPPH 소거율에 대하여 0.1mg/ml 處置群과 0.01mg/ml 處置群에서는 초기 10분 경과 시 有意한 차이가 있었으나 시간이

경과함에 따라 對照群에 비해 有意한 차이를 나타내지 않았으며, 1mg/ml 玄胡索藥鍼液群에서는 10분, 20분, 30분, 60분 경과 시 모두 對照群에 비해 有意한 차이를 나타내었다.

VI. 參考文獻

1. 金哲鎬. 노인병. 대한의사협회지. 1997 ; 40(10) : 1313-8.
2. 대한신경정신의학회. 신경정신과학. 서울 : 하나의학사. 1997 : 211-3.
3. 황의완, 김지혁. 東醫精神醫學. 서울 : 현대의학서적사. 1987 : 269-71.
4. 김현수, 정인철, 이상룡. 卍戟天이 痴呆病態모델에 미치는 영향. 동의신경정신과 학회지. 2003 ; 14(1) : 45-58.
5. 이광우, 정희원. 임상신경학. 서울 : 고려의학. 1998 : 203-4.
6. 康秉秀. 臨床配合本草學. 서울 : 永林社. 1994 : 412-4.
7. 安德均. 韓國本草圖鑑. 서울 : 敎學社. 1999 : 534.
8. 김호철. 한약약리학. 서울 : 집문당. 2001 : 324-6.
9. Uchiyama M, Suzuki Y, Fukuzawa K. Biochemical studies of the physiological function of tocopheronolactone. Yakuaku Zasshi. 1968 ; 88(6) : 678-83.
10. Choi Jae Sue 外. Alaternin, Cassiaside and Rubrofusarin gentiobioside, Radical Scavenging Principles from the Seeds of *Cassia tora* on 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) Radical. 釜山水産大生命科學研究報告. 1995 ; 5(1) : 321-5.
11. 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.
12. 한태륜. 노인 건강증진 방안. 대한의사협회지. 2001 ; 44(8) : 843-50.
13. 황은성. 노화현상은 비가역적인가. 대한의사협회지. 2001 ; 44(8) : 813-22.
14. 安竣撤, 文振榮, 林種國. 當歸藥鍼液의 抗酸化 效能에 관한 研究. 大韓鍼灸學會誌. 1996 ; 13(2) : 254-62.
15. 朴涌基, 康秉秀. 薏苡仁과 苦蔘의 抗酸化作用에 관한 研究. 大韓本草學會誌. 2000 ; 15(2) : 57-675.
16. Jeong KJ. Antibacterial and antioxidative activity of extracts from commercial teas. 강원도보건환경연구원보. 1999 ; 10 : 31-8.
17. Kim JD. Development of Anti-Oxidatant Tea for Anti-aging. Bull. Yosu Nat'l Univ. 1999 ; 14 : 401-9.
18. Sa JH. Studies on screening of biological activities from *Zanthoxylum piperitum* A.P.DC. extracts. 강원도보건환경연구원보. 2000 ; 11 : 69-83.
19. Shin DH. Separation of Antioxidant compounds from Persimmon leaves. J. of Korean Oil Chemists' Soc. 1997 ; 14 : 103-7.

20. 이충보 外. 傳統老年醫學. 湖南省 : 湖南科學技術出版社. 1986 : 173-91
21. 具本泓 外. 東醫內科學. 서울 : 書苑堂. 1982 : 313-4.
22. 정옥, 정희재, 정승기, 이형구. 행인과 길경이 Asthma model 내의 Cytokine IL-4, IL-5, IL-6에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2000 ; 21(1) : 31-8.
23. 서울大學敎 醫科大學編. 免疫學. 서울 : 서울대학교출판부. 1996 : 121-34.
24. 김세중. 免疫學. 1. 서울 : 高麗醫學. 1994 : 58-9, 147-61, 260-5.
25. 김정목 外. Helicobacter pylori 감염에 의한 인체 위상피세포로부터의 Inducible Nitric Oxide Synthase 발현 및 Nitric Oxide 생성. 대한소화기학회지. 2002 ; 39(5) : 324-34.
26. 박영진, 임충식, 권년수, 양한남. 유색가토의 유리체강내에 Nitric Oxide를 주사시 망막에 미치는 영향에 대한 연구. 대한안과학회지. 1999 ; 40(11) : 3079-87.
27. Jae Chan Kim. The role of nitric oxide in ocular surface diseases. Korean Journal of Ophthalmology. 2001 ; 15(2) : 59-66.
28. 한상원, 임강현, 서정철, 윤현민, 장경진, 송춘호, 안창범, 김이화, 지구용, 엄현섭. Scavenging Effect of Several Distilled Herbal Acupunctures on Nitric Oxide. 동의생리병리학회지. 2001 ; 15(6) : 1016-21.
29. 서정철, 임강현, 김이화, 김창주, 유영민, 정주호, 인창식, 고흥균, 한상원. Scavenging Effect of Bee Venom for Acupuncture against Nitric Oxide. 大韓鍼灸學會誌. 2001 ; 18(6) : 161-70.
30. 林鍾國, 文振榮. 柴胡藥鍼製劑의 自由基消去能 및 脂質過酸化 抑制效能에 관한 研究. 大韓鍼灸學會誌. 1998 ; 15(2) : 135-45.
31. 이종원. 홍삼으로부터 분리한 수용성 가변물질의 항산화 활성. 高麗人蔘學會誌. 1999 ; 23(3) : 176-81.
32. 朴宣東, 尹炳局. 大柴胡湯이 alloxan으로 誘發된 高血糖 白鼠에 미치는 影響. 대한방제학회지. 2001 ; 9(1) : 289-317.