大韓本草學會誌 제22권 제4호 (2007년 12월)
Kor. J. Herbology 2007 ; 22(4) : 51-58

한약복합물 HT008-1의 인지기능 및 기억력 향상효과

서주희[#1], 우소영[2], 김윤태[3], 김미연[3], 김진화[3], 박영미[3], 부영민[3], 김호철[*3]

1: 국립의료원 한방신경정신과, 2: 경희대학교 동서의학대학원 동서의학과, 3: 경희대학교 한의과대학 본초학교실

Enhancing effect of Multiherb extracts HT008-1 on Memory and Cognitive Function

Joohee Seo[#1], So Young Woo[2], Yun Tai Kim[3], Mi-Yeon Kim[3], Young Mi Park[3], Zhen Hua Jin[3], Youngmin Bu[3], Hocheol Kim[*3]

1:Dept. of Oriental Neuropsychiatry, National Medical Center, Seoul 100-799, Korea.
2:Dept. of East-West Medical Science, Graduate School of East-West Medical Science, Kyung Hee University, Yongin 446-701, Korea.
3:Dept. of Herbal Pharmacology, College of Oriental Medicine, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea.

ABSTRACT

Objectives : Investigation of the memory and cognitive enhancing effect of HT008-1 in scopolamine induced amnesia mice.

Methods : At 60 min before acquisition trials, HT008-1 (30, 100, 300 mg/kg p.o.) was administered, and 30 min later, mice were injected with scopolamin (1.0 mg/kg, i.p.). In the passive avoidance test, acquisition trials were carried out 30 min after a single scopolamine treatment. Retention trials were carried out 24h after acquisition trials. Y-maze test was carried out 30 min after a single scopolamine treatment. Spontaneous alternation behavior during an 8-min session was recorded. Inhibitory effects of HT008-1 (0.01, 0.1, 1.0 mg/ml) on AChE activity was measured.

Results : HT008-1 ameliorated scopolamine-induced learning impairments and spatial cognitive function in passive avoidance and Y-maze test, respectively. Moreover HT008-1 showed a significant inhibitory effect on AChE activity.

Discussion : This study presented that eMultiherb mixture HT008-1 enhanced learning memory and spatial cognitive function in scopolamine-induced amnesia mice. These results suggest that the effect of HT008-1 may be dependent on the inhibition of AChE activity.

Key Words : HT008-1, memory and cognitive function, passive avoidance test, Y-maze test, AChE activity

* 교신저자 : 김호철, 경희대학교 한의과대학 본초학교실
· Tel : 02-961-0419 · E-mail : hckim@khu.ac.kr
제1저자 : 서주희, 국립의료원 한방신경정신과
· Tel : 02-2260-7454 · E-mail : bijou80@hanmail.net
· 접수 : 2007년 11월 1일 · 수정 : 2007년 12월 11일 · 채택 : 2007년 12월 21일

서 론

인지기능과 기억력은 고차원적인 현대 생활에서 그 중요성이 증대되고 있으며, 사회적으로는 학습량이 큰 청소년에서부터 노년에 이르기 까지 주요 관심 대상이 되고 있다. 이러한 기능이 저하는 사회적으로 문제가 되고 있으며, 치매와 같은 퇴행성 질병에 이환된 환자에 있어서는 사회 생활 가능 여부에 있어서 기억력 저하가 매우 중요한 요소이며 또한 초기 진단의 중요한 요소이기도 하다. 치매는 인지기능과 고등 정신기능이 감퇴되는 대표적인 기질성 정신 장애로서 기억장애, 행동장애 및 성격변화 등을 수반하는 복합적인 임상 증후군이다. 국내에서는 그 유병률이 6.26~11.3%이고 그 중 알츠하이머형 치매는 4.17~5.3%, 혈관성 치매는 1.05~2.5%라는 보고가 있다[1]. 현재 전세계적으로는 2,400만 명 이상의 알츠하이머병 환자가 있고, 65세 이상 인구에서는 4-5세가 증가할 때마다 환자수가 2배씩 늘어나 85세 이상 노인의 경우 30%가 알츠하이머 치매에 이환되는 것으로 알려져 있다[2].

인지기억 저하는 콜린성 신경세포 퇴화에 의한 acetylcholine의 부족이 중요한 원인 중 하나이며, 이러한 현상은 기억 중추와 밀접한 관련이 있는 것으로 판단되는 대뇌 변연계내 acetylcholine 분해효소인 acetylcholinesterase (AChE)의 증가로 더욱 심화된다[3]. 그래서 현재 AChE 억제제인 Tacrine, Donepezil, Rivastigmine, Galatamine 등이 알츠하이머 치료제로 사용되고 있다[4-7]. 그러나 AChE억제제의 경우에는 신경세포 사멸을 직접 억제하는 것이 아니라 아세틸콜린의 양을 일시적으로 높이는 방법이므로 초기에만 효과가 나타난다는 단점이 있다. 이 외에도 알츠하이머 치매 치료제로 NMDA glutamate 수용체 억제제인 Memantine[8]과 AMPA-glutamate 수용체 자극제[9], 그리고 somatostatin의 분비를 촉진시키는 약물 등이 있으나 간독성과 오심, 구토등의 부작용으로 만족할 만한 결과는 얻지 못하고 있다. 따라서 아직 직접 뇌세포를 재생시키거나 뇌세포 손상을 억제하기가 어렵기 때문에, 효과적인 인지기억 개선제를 개발하는 것은 치매 환자의 증상 호전 뿐 아니라 정상인의 기억력 증진제로도 의미가 있다.

기억력 장애는 한의학에서 '健忘'에 해당되며, '善忘', '喜忘', '多忘', '好忘', '遺忘', '遂忘' 등으로 불리어 왔다[10,11]. 健忘은 자기가 행한 前事와 前言을 忘却하기를 잘하므로 사물을 처리할 때 有始無終하며, 對話를 하여도 首尾를 알지 못하는 것을 말한다. 건망은 七情損傷, 蓄血, 痰, 心腎不交, 脾虛, 腦空虛 및 氣鬱不舒 등의 원인으로 발생하며, 大補氣血, 安神, 化痰, 活血, 淸心, 理脾, 疏肝解鬱 등의 치법으로 치료한다[12].

HT008-1은 한의학에서 뇌질환치료에 사용된 한약들의 신경보호효과 검색을 통하여 개발된 한약복합물이다. 이 복합물은 補氣藥인 人參, 刺五加와 養血安神藥인 當歸, 그리고 淸心火하는 黃芩 등 네가지 약물을 일정비로 배합하여 표준화한 것이다[13]. HT008-1은 이미 동물 뇌허혈 모델에서 신경보호작용이 있는 것으로 보고되어 있으며, 무작위 이중맹검 임상시험에서 인지 기억 향상에 효과가 있다고 보고하였다[14].

또 구성약물들 역시 각각 신경보호와 인지기억 향상 작용이 있다는 보고들이 있다. 人參은 항산화, 글루타메이트 독성 억제 등을 통한 신경보호 작용[15,16]과 인지기억 향상 작용 등이 보고되어 있으며[17], 黃芩은 신경보호 작용[18]과 실험동물에서 기억증진효과가 보고되어 있다[19]. 刺五加 역시 신경보호작용[20]과 건강한 성인에서의 단기기억력 증진효과가 보고되어 있고[21], 中國當歸도 기억력을 증진시키다는 보고가 있다[22].

본 연구에서는 HT008-1의 스코폴라민으로 유도한 건망증 생쥐 모델에서 인지기능과 기억력 향상 효과를 관찰하고자 하였다. 생쥐에 스코폴라민을 투여하여 건망증을 유도한 후 Y-미로실험 및 수동회피실험을 통하여 기억력을 관찰하였고, 생쥐의 뇌조직을 이용하여 아세틸콜린분해효소 활성억제능을 측정하였다.

재료 및 방법

1. 시료의 제조

이 실험에 사용된 한약재는 인삼 Panax ginseng C. A. MEYER, 황금 Scutellaria baicalensis GEORGI, 중국당귀 Angelica sinensis (OLIV.) DIELS, 가시오가피 Acanthopanax senticosus (RUPR. et MAX.) HARMS. 등의 각 건조한 뿌리를 사용하였다. 이 약재들은 경동시장에서 구입하여 경희대학교 한의과대학 본초학교실에서 검증을 받아 사용하였다. 이들을 배합한 표준시료로서 (주)뉴메드 (Neumed Inc., Seoul, Korea)에서 제조된 HT008-1 (Lot No. 001)을 사용하였다.

HT008-1의 제조는 개별원료의 혼합비는 인삼 : 가시오가피 : 당귀 : 황금을 41.3 : 33.0 : 3.7 의 일정한 배합비로 칭량한 후 이들 중 인삼을 제외한 3종의 약재를 혼합하고, 10배수의 70% 알콜 (주정)로 82℃에서 6시간 가온환류추출한 후 고형 분 농도가 60◦Bx이 되도록 감압 농축하여 제조한 농축액과 인삼은 단독으로 추출조에 넣고 10배수의 70%알콜 (주정)을 가하여 동일한 조건에서 추출한 후 60◦Bx로 감압 농축한 농축액을 혼합하여 60◦Bx의 혼합 농축액으로 제조하였다. 이때 수율은 人參 (PGI) 25.5%, 3종 약재의 수율은 22.3% 였다.

제조된 HT008-1의 지표성분 함량으로 ginsenoside Rb1이 0.10% baicalin이 0.85%, eleuthroside E가 0.06 %, ligustilde가 0.28 %를 함유되도록 제조된 것을 사용하였다. HT008-1의 주요 성분을 HPLC로 분석한 결과는 Fig. 1과 같다.

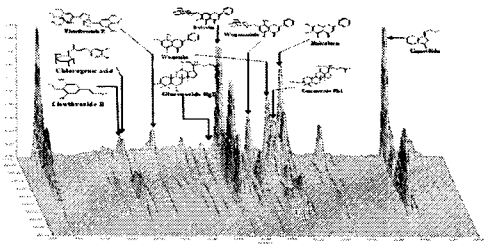

Fig. 1. 3-D HPLC chromatogram of HT008-1. Marker compounds are as follows: ginsenoside Rb1 and Rg1 of P. ginseng; baicalin, wogonoside, baicalein and wogonin of S. baicalensis; eleuthroside B, E, and chlorogenic acid of A. senticosus; ligustilide of A. sinensis.

2. 실험동물 및 약물 투여

실험동물은 샘타코에서 구입한 체중 20 g 내외의 ICR계 수컷 생쥐를 고형사료 (삼양유지사료, 한국)와 물을 충분히 공급하면서 일주일간 실험환경에 적응시킨 후 사용하였다. 사육실 내의 온도는 22.0 ± 2.0℃, 습도는 55 ± 5%로 유지하였고, 낮과 밤의 주기는 각각 12시간으로 하였다. HT008-1을 증류수에 녹인 후 30, 100 및 300 mg/kg의 용량으로 첫 번째 실험 한시간 전에 각각 1회씩 경구투여하였다.

3. 수동회피실험 (Passive avoidance test)

수동회피실험은 Gemini Avoidance System (SD instruments, CA, USA)을 이용하여 진행하였다. 가로 25 cm, 세로 20 cm, 높이 20 cm 크기의 바닥에 5 mm 간격의 그리드가 깔린 밝은 방과 어두운 방의 두 개의 방으로 구성된 shuttle box를 사용하였다. 두 방은 길로틴 문(10 x 10 cm)으로 출입을 할 수 있게 하였고, 밝은 방은 100 W 전구가 설치되어 있으며, 어두운 방은 그리드를 따라 전기가 흐를 수 있도록 전기 자극기와 연결되었다. 실험 1일째에 실험대상 약물을 실험 실시 1시간 전에 경구투여 하였고, 실험실시 30분전에 스코폴라민을 1.0 mg/kg의 용량으로 복강 투여하였다. 생쥐를 밝은 방에 넣고 10초의 탐색시간 후 전구가 켜지고 길로틴 문이 열리면 생쥐가 어두운 방 쪽으로 이동하게 되고, 길로틴 문이 열린 후 생쥐가 어두운 쪽으로 들어갈 때까지의 시간 (Latency time in aquisition trial)을 측정하였으며, 생쥐가 어두운 방으로 들어가면 길로틴 문을 닫고 0.4 mA의 전기 충격을 3초 동안 가하였다.

24시간 후 다시 생쥐를 밝은 쪽 구획에 넣고 10초의 탐색시간 후 전구를 켜고 길로틴 문을 열어 어두운 구획으로 들어갈 수 있게 하였다. 흰쥐가 싫어하는 밝은 곳에서 어두운 곳으로 들어갔을 때 전기충격을 경험한 기억을 잘 형성하면 기억 검사시행에서는 어두운 곳으로 들어가지 않고 밝은 곳에서 오래 머물게 되므로 어두운 쪽으로 4발이 다 들어가는데 걸리는 시간 (Latency time in Retention trial)을 300초까지 측정하여 기억력 개선 효과를 확인 하였다.

4. Y-미로실험 (Y-maze test)

HT008-1이 공간인지력에 미치는 영향을 확인하기 위하여, Y-미로실험을 이용하여 측정하였다[23]. Y-미로실험 1시간 전에 시료들을 각각 경구투여 하였으며 스코폴라민을 1.0 mg/kg의 용량으로 실험실시 30분전에 복강 투여 하였다. 검은 아크릴판으로 규격 (길이 20 cm, 넓이 5 cm, 높이 10 cm)에 맞추어 제작한 Y자 모양의 사방이 막힌 미로에서 세 개의 가지를 각각 A, B, C로 정한 후 한쪽 가지에 생쥐를 조심스럽게 놓고 8분 동안 자유롭게 움직이게 한 다음 생쥐가 들어간 가지를 기록하였다. 꼬리까지 완전히 들어갔을 경우에 계속 하였으며, 한번 들어갔던 가지에 다시 들어간 경우에도 기록하였다. 세 개의 다른 가지에 차례로 들어간 경우 1점씩 부여하였고, 연속으로 들어가지 않으면 점수를 부여하지 않았다. 교차행동력 (spontaneous alternation)은

위의 측정된 점수를 총 교차한 횟수에서 2를 뺀 수로 나누어 확률로 환산한 값으로 나타내었다.

교차행동력(%) = (A, B, C 연속 교차 횟수 / 총 교차횟수 -2) x 100

5. 아세틸콜린분해효소 활성억제능 측정

AChE 활성억제능 측정은 아세틸티오콜린 (acetyl thiocholine)을 기질로 이용하여 측정하였다[24]. 먼저 96 well plate에 50 mM phosphate buffered saline 수용액에 녹인 1 mM 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB) 25 μl와 0.5 mM 아세틸티오콜린 25 μl를 섞은 혼합액을 37 ℃에서 10분간 대기시켰다. 생쥐를 희생하여 얻은 뇌 조직을 homogenizer (Ultra-TURRAX T8, IKA-WERKE, Staufen, Germany)를 이용하여 균질화된 조직액으로부터 아세틸콜린분해효소를 얻었다. 균질화된 조직액 10 μl를 위의 혼합액에 섞고, 시료들을 각각 40 μl를 넣어 섞은 후, 37 ℃에서 10분간 대기시켰다. AChE 활성억제능 측정은 96-well plate에 각각 200 μl의 혼합액을 이용하여 측정하였다. 흡광도는 405 nm 파장으로 분광광도계 (Spectrophotometer; Spectramax plus 384, Molecular Devices, CA, USA)를 이용하여 측정하였고, 각 시료의 측정값은 정상군의 측정값을 100 %로 하였을 때의 상대값으로 환산하여 나타내었다. 양성대조군인 Tacrine과 HT008-1 모두 0.01, 0.1 및 1.0 mg/ml의 농도로 AChE 활성억제능을 측정하였다.

6. 통계처리

모든 실험결과는 평균 ± 표준오차로 나타내었다. 약물의 효과를 판정하기 위하여 각 실험군을 paired Student's t-test를 사용하여 대조군과 비교하였다. 비교한 결과, p값이 0.05 이하일 경우에 통계적으로 유의성을 보인다고 간주하였다.

결 과

1. HT008-1의 인지기능 및 기억력 향상효과

1) 수동회피실험에서 인지기능 향상 효과

스코폴라민 유발 건망증 생쥐를 이용한 수동회피 실험 결과, 스코폴라민을 투여한 실험군은 latency time이 44.8±11.3초로 정상군의 158.6±30.5초에 비해 71.7% 감소하였다. 또한, 양성대조군으로 Tacrine 10 mg/kg을 처리하였을 경우 latency time이 142.8±68.0초로 스코폴라민 투여군에 비해 통계적으로 유의한 증가를 보였다. 30 mg/kg HT008-1의 투여시 통계적으로 유의한 증가를 보이지 않았으나, 100, 300 mg/kg의 경우 latency time이 각각 113.3±31.7초, 109.4±34.8초로 스코폴라민 투여군에 비해 60.2%, 56.7%의 통계적으로 유의한 기억증진효과를 보였다 (*p<0.05, ##p<0.01, Fig. 2).

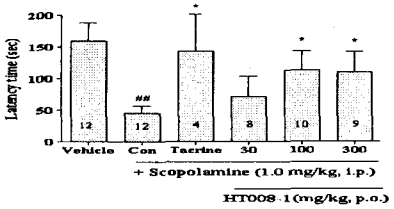

Fig. 2. Memory enhancing effect of HT008-1 on passive avoidance test in scopolamine-induced amnesia mice. The values are mean ± SEM. Data were analyzed by Students t-test compared between control and each group (##p<0.01 compared with the vehicle group, *p<0.05 compared with the scopolamine treated control group).

2) Y-maze test에서 인지기능 향상 효과

Y-maze 실험 결과를 평가 점수 측정방법에 따라 정상군, 스코폴라민 투여군과 HT008-1 투여군 및 구성약재의 최종적인 신경행동학적 점수를 그래프에 나타내었다. 총 교차횟수는 정상군과 대조군, 실험군 사이에 유의한 차이가 없는 것으로 확인되었고, 자발적 교차행동력을 판단한 실험에서는 유의한 차이를 보였다. 정상군에서는 60.5±3.4%의 교차행동력을 보인 반면 대조군에서는 46.2±2.0%로 나타나 정상군과 뚜렷한 차이를 나타내었고, HT008-1 100 mg/kg을 경구 투여한 실험군에서는 56.1±3.1%, 300 mg/kg의 경우에는 61.1±1.9%의 교차행동력을 보여 유의성 있는 공간 인지력의 향상을 보였다 (##p<0.01, *p<0.05, ***p<0.001, Fig. 3).

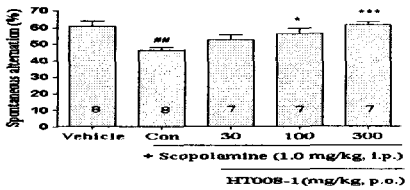

Fig. 3. Memory enhancing effect of HT008-1 on Y-maze test

in scopolamine-induced amnesia mice. The values are mean ± SEM. Data obtained for group were analyzed by Students t-test compared between control and each group (##p<0.01 compared with the vehicle group, *p<0.05, ***p<0.001 compared with the scopolamine treated control group)

3) 아세틸콜린 가수분해효소(AChE)의 활성도에 미치는 영향

AChE의 활성억제능을 기질-효소반응을 이용하여 분광광도계를 통해 측정하였으며, 각 실험 약물을 0.01, 0.1 및 1.0 mg/kg 용량으로 처리하여 결과를 분석하였다. AChE 억제제로 알려진 Tacrine을 처리한 양성대조군에서는 대조군에 비해 AChE의 활성도가 농도 의존적으로 감소되는 것을 확인하였다. AChE의 활성도에 HT008-1이 미치는 영향을 확인한 결과, 1.0 mg/mL의 HT008-1 처리시, 대조군과 비교하였을 때 49.2%의 AChE의 활성도 억제 현상을 확인하였다 (**p<0.01, ***p<0.001, Fig. 4).

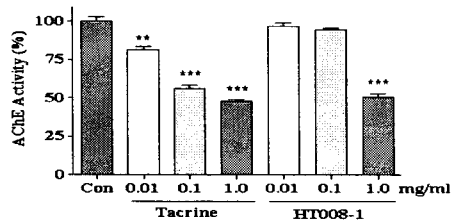

Fig. 4. Inhibitory effect of Tacrine and HT008-1 (each 0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml) on AChE activity. The values are mean ± SEM. Data obtained for group were analyzed by Students t-test compared between control and each group (**p<0.01, ***p<0.001 compared with the control group, n=6).

고 찰

HT008-1의 인지기능 및 기억력 향상효과를 관찰하기 위하여 스코폴라민으로 유도한 건망증 생쥐에 HT008-1을 투여하였을 때 100 mg/kg과 300 mg/kg의 농도에서 수동회피 latency time을 증가시켰으며, Y-maze test에서도 유의한 교차행동력의 증가를 보였다. 또한 유의한 AChE 활성을 유의하게 억제하였다.

수동회피실험에서 스코폴라민 1.0 mg/kg을 복강투여 하였을 때 대조군의 경우 latency time이 정상군에 비하여 유의성 있게 71.7% 감소하였으나 HT008-1 100 mg/kg과 300 mg/kg을 경구투여한 군에서는 latency time의 증가를 보였다. 수동회피실험은 설치류의 working memory ability를 측정하는 방법[25]으로 해마에서의 조건화된 기억과 변연계와 연관있는 기억에 관한 영향을 측정하기 위해 주로 사용된다[26]. HT008-1 투여군은 Tacrine 10 mg/kg을 처리한 양성대조군에 비해서는 작지만 대조군에 비해서는 각각 60.2%, 56.7%씩 통계적으로 유의한 효과를 나타내었다.

학습과 기억은 뇌의 해마를 중심으로 한 연관부위에서 관여하며, 중추의 콜린성 신경전달계가 중요한 역할을 한다[27]. 콜린성 신경계 postsynapse에 있는 무스카린성 (muscarinic) 수용체 길항제인 스코폴라민은 presynapse에서 유리되는 신경전달물질인 아세틸콜린과 무스카린성 수용체의 결합을 저해하여 정보전달을 일시적으로 차단함으로써 학습과 기억력을 손상시키게 되므로 학습과 기억력 증진효과를 검증하고자 하는 기억력감퇴 동물모델에 통상적으로 이용되고 있다[28]. 정상인에 무스카린성 수용체 길항제 (muscarinic receptor antagonist)인 스코폴라민을 투여하였을 때 최근의 기억력에 장애가 생기며, 알츠하이머 환자에게 투여하면 기억력 장애가 더 심각해지는 것이 확인되었다[29].

또한 치매 질환의 1차 증상인 기억력과 인지기능의 감퇴현상은 콜린성 신경계와 밀접한 관계가 있다는 증거가 다양하게 제시되고 있다. 이 콜린성신경경로는 내측중격핵 (medial septal nuclues)에 위치한 세포체에서 해마로 투사되며, 이 중 학습과 기억손상에 중요한 역할을 하는 해마의 CA1부위 추체세포 (pyramidal cell)는 흥분성의 N-methyl-D-aspartate (NMDA) 수용체를 많이 가지고 있어 대사가 매우 활발하지만 저산소증에 매우 민감하여 허혈성 손상을 쉽게 받아 기억력 저하의 원인이 된다[30]. 알츠하이머 환자에서 대뇌피질부위로의 주 콜린성 신경입력통로인 Neucleus Basalis of Meynert의 신경세포의 수가 급격히 감소되고[31] 해마 (hippocampus)와 대뇌피질 (cerebral cortex)에서 choline uptake와 아세틸콜린 합성량이 감소하며 cholineacetyltransferase (ChAT)의 활성도가 급격히 떨어지는 것이 뇌에서 확인되었으며, 또한 nicotine과 muscarinic receptor 수가 뇌에서 감소된다는 것이 확인된 바 있다[32].

따라서 스코폴라민으로 유도한 건망증 생쥐의 수동회피실험에서 latency time이 길어졌다는 것은 HT008-1이 콜린성 신경계에 작용하여 학습 및 기억

력을 회복시켰다는 것을 의미하고, 정상인의 기억력과 인지기능감퇴 증상 뿐 아니라 치매질환에서도 효과가 있을 것으로 생각된다.

스코폴라민 1.0 mg/kg을 실험실시 30분 전에 복강 투여하여 기억력 감퇴를 유도한 후 Y-maze test에서 대조군은 46.2±2.0%의 교차행동력을 나타냄으로써 정상군에 비하여 유의하게 감소한 반면, 실험실시 1시간 전에 HT008-1 100 mg/kg, 300 mg/kg을 경구투여한 군에서는 각각 56.1±3.1%, 61.1±1.9%의 유의성 있는 교차행동력의 증가를 나타내었다. 공간인지기억력을 측정하는 Y-maze test는 습관적인 학습과정을 요구하지 않고 작업 기억의 성질에 대한 특별한 정보를 제공해 단기 공간인지 반응을 연구하는데 주로 쓰인다[33]. 이 방법을 이용하여 측정된 자발적 교차행동력은 공간인지기억력의 척도로 간주된다[34]. 스코폴라민을 투여한 생쥐에서 정상군에 비하여 교차행동력이 떨어진 것은 아세틸콜린성 신경계의 전달기능의 문제 때문으로 생각된다. 반면 HT008-1에서 농도 의존적으로 교차행동력이 높아졌다는 것은 HT008-1의 구성물질이 아세틸콜린 신경계에 영향을 끼쳤을 것으로 생각된다. 따라서 이 실험에서 HT008-1투여 후에 교차행동력이 증가되었다는 것은 공간인지기억력이 회복되었다는 것을 의미한다.

AChE 활성억제능을 측정한 실험에서 HT008-1 1.0 mg/ml을 처리한 군에서 대조군에 비해 유의하게 AChE 활성도 억제 효과가 관찰되었다. 신경 세포의 정보 전달을 담당하고 학습과 기억에 깊이 관련되어 있는 아세틸콜린을 증가시키는 약물은 치매의 지연에 그 효능이 입증되고 있어, acetylcholine의 가수분해효소인 AChE 억제제는 유력한 치료 전략 중 하나가 된다. 1993년 Tacrine이라는 치매치료제 개발을 시발점으로 AChE의 억제가 AD의 인지장애 증상의 완화에 광범위하게 이용되기 시작하였다[35]. 이에 본 연구에서도 HT008-1의 AChE 활성억제능을 측정한 결과 HT008-1이 뇌내 AChE 저해작용이 있음을 확인하였다.

향후 좀더 추가적인 연구를 통하여 정확한 약효기전의 규명이 필요하지만 이상의 결과들은 HT008-1이 실제로 BBB를 통과하여 뇌에 직접 작용을 하여 AChE를 저해함으로써 신경전달물질인 아세틸콜린의 작용을 증진시켜주어 학습과 기억력 향상효과를 나타낼 수 있음을 의미한다.

결론적으로 한약복합물 HT008-1은 스코폴라민 처리 후 수동회피실험과 Y-maze 실험에서 각각 유의한 효과를 나타냄으로써 학습기억 및 공간인지기억 향상효과가 있다는 것이 확인되었으며, 이는 AChE 활성 저해효과가 중요한 기전 중 하나인 것으로 생각된다.

결 론

한의학에서 뇌질환치료에 사용된 한약들의 신경보호효과 검색을 통하여 개발된 한약복합물 HT008-1을 가지고 스코폴라민으로 유도한 건망증 생쥐 모델에서 인지기능과 기억력 향상효과를 관찰하고자 하였다. 생쥐에 스코폴라민을 투여하여 건망증을 유도한 후 Y-미로실험 및 수동회피실험을 통하여 기억력을 관찰하였고, 생쥐의 뇌조직을 이용하여 아세틸콜린분해효소 활성억제능을 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 스코폴라민 투여 후 수동회피실험에서 HT008-1 100 mg/kg과 300 mg/kg을 경구투여하였을 때 각각 60.2%와 56.7%의 유의성 있는 기억증진효과를 보였다.

2. Y-maze test에서 HT008-1 100 mg/kg과 300 mg/kg을 경구투여하였을 때 각각 56.1±3.1%와 61.1±1.9%의 유의성 있는 기억증진효과를 보였다.

3. AChE 활성도 측정에서 HT008-1 1.0 mg/ml을 처리하였을때 49.2%의 유의한 억제능을 보였다.

결론적으로 한약복합물 HT008-1은 스코폴라민 처리 후 수동회피실험과 Y-maze 실험에서 각각 유의한 효과를 나타냄으로써 학습기억 및 공간인지기억 향상효과가 있다는 것이 확인되었으며, 이는 AChE 활성 저해효과가 중요한 기전 중 하나인 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 21세기 프론티어 연구개발사업인 자생식물이용기술개발사업단과 (PF06203-00)과 2007년도 2단계 두뇌한국21사업에 의하여 지원되었습니다.

참고문헌

1 .조맹제. 한국 노인정신질환의 현황. 신경정신의

학. 2002;41(5):760-1.

2. Ritchie K, Lovestone S. The Dementias. Lancet 2002;360:1759-66.

3. Kuhl DE, Koeppe RA, Minoshima S, Snyder SE, Ficaro EP, Foster NL, Frey KA, Kilbourn MR. In vivo mapping of cerebral acetylcholinesterase activity in aging and Alzheimer's disease. Neurology 1999;52(4):691-9.

4. Davis KL, Thal LJ, Gamzu ER, Davis CS, Woolson RF, Gracon SI, Drachman DA, Schneider LS, Whitehouse PJ, Hoover TM. A double-blind placebo-contolled multicenter study of Tacrine for Alzheimer's disease. N Engl J Med 1992;327:1253-9.

5. Rogers SL, Farlow MR, Doody RS, Mohs R, Friedhoff LT. A 24-week, double-blind, placebo-contolled trial of donepezil in patients with Alzheimer's disease. Neurology 1998;50:136-45.

6. Rosler M, Anand R, Cicin-Sain A, Gauthier S, Agid Y, Dal-Bianco P. Efficacy and safety of rivastigmine in patients with Alzheimer's disease, international randomised controlled trial. BMJ 1999;318:633-8.

7. Tariot PN, Solomon PR, Morris JC, Kershaw P, Lilienfeld S, Ding C. A 5-month, randomized, placebo-controlled trial of galantamine in AD, The Galantamine USA-10 Study Group. Neurology 2000;54:2269-76.

8. Riedel G, Platt B, Micheau J. Glutamate receptor function in learning and memory. Behav Brain Res 2003;140:1-47.

9. Arai A, Kessler M, Rogers G, Lynch G. Effects of a Memory Enhancing Drug on AMPA Receptor Currents and Synaptic Transmission in Hippacampus. J Pharmacol Exp Ther 1996;278:627-38.

10. 朱震亨. 丹溪心法附餘, 서울, 大星文化社. 1993;358.

11. 龔廷賢. 增補萬病回春, 서울, 一中社. 1994;229-30.

12. 黃義完, 金知赫. 東醫精神醫學, 서울, 現代醫學書籍社. 1989;605.

13. 김호철. 한약약리학, 서울, 집문당. 2001;464-67.

14. 황만기. 人參복합처방(HT008-1)이 무작위 이중맹검 임상시험에서 인지 기억에 미치는 영향, 경희대학교 박사학위논문. 2006.

15. Chu GX, Chen X. Anti-lipid peroxidation and protection of ginsenosides against cerebral ischemia-reperfusion injuries in rats. Zhongguo Yao Li Xue Bao 1990;11:119-23.

16. Lim JH, Wen TC, Matsuda S, Tanaka J, Maeda N, Peng H, Aburaya J, Ishihara K, Sakanaka M. Protection of ischemic hippocampal neurons by ginsenoside Rb1, a main ingredient of ginseng root. Neurosci Res 1997;28:191-200.

17. Kennedy DO, Scholey AB, Wesnes KA. Modulation of cognition and mood following administration of single doses of Ginkgo biloba, ginseng, and a ginkgo/ginseng combination to healthy young adults. Physiol Behav 2002;75:739-51.

18. Kim YO, Leem K, Park J, Lee P, Ahn DK, Lee BC, Park HK, Suk K, Kim SY, Kim H. Cytoprotective effect of Scutellaria baicalensis in CA1 hippocampal neurons of rats after global cerebral ischemia. J Ethnopharmacol 2001;77:183-8.

19. Shang YZ, Miao H, Cheng JJ, Qi JM. Effects of amelioration of total flavonoids from stems and leaves of Scutellaria baicalensis Georgi on cognitive deficits, neuronal damage and free radicals disorder induced by cerebral ischemia in rats. Biol Pharm Bull 2006;29:805-10.

20. Bu Y, Jin ZH, Park SY, Baek S, Rho S, Ha N, Park SK, Kim H. Siberian ginseng reduces infarct volume in transient focal cerebral ischemia in Sprague-Dawley rats. Phytother Res 2005;19:167-9.

21. Arushanian EB, Baida OA, Mastiagin SS, Popova AP, Shikina IB. Effect of eleutherococcus on short-term memory and visual perception in healthy humans. Eksp Klin Farmakol 2003;66:10-13.

22. Hsieh MT, Lin YT, Lin YH, Wu CR. Radix Angelica Sinensis extracts ameliorate scopolamine and cycloheximide-induced amnesia, but not p-chloroamphetamine-induced amnesia in rats. Am. J Chin Med 2000;28:263-72.

23. Mori K, Togashi H, Ueno KI, Matsumoto M, Yoshioka M. Aminoguanidine prevented the

impairment of learning behavior and hippocampal long-te.rmpotentiation following transient cerebral ischemia. Behav Brain Res 2001;120(2):159-68.

24. Ellman GL, Callaway E. Erythrocyte cholinesterase-levels in mental patients. Nature 1961;192:1216.

25. Van der Zee EA, Biemans BA, Gerkema MP, Daan S. Habituation to a test apparatus during associative learning is sufficient to enhance muscarinic acetycholine receptor-immunoreactivity in rat suprachiasmatic nucleus. J Neurosci Res 2004;78(4):508-19.

26. Lozenzini CA, Baldi E, Bucherelli C, Sacchetti B, Tassoni G. Role of dorsal hippocampus in acquisition, consolidation and retrieval of rat's passive avoidance response: a tetrodotoxin functional inactivation study. Brain Research 1996;730(1-2):32-9.

27. McEwen BS. Stress and hippocampal plasticity. Annu Rev Neurosci 1999;22:105-22.

28. Tanabe F, Miyasaka N, Kubota T, Aso T. Estrogen and progesterone improve scopolamine-in duced impairment of spatial memory. J Med Dent Sci 2004;51:89-98.

30. Broks P, Preston GC, Traub M, Poppleton P, Ward C, Stahl SM. Modelling dementia: Effects of scopolamine on memory and attention. Neuropsychologia 1988;26(5):685-700.

31. Fayuk D, Yakel JL. Regulation of nicotinic acetylcholine receptor channel function by acetylcholinesterase inhibitors in rat hippocampal CA1 interneurons. Mol Pharmacol 2004;66:658-66.

32. Whitehouse PJ, Price DL, Struble RG, Clark AW, Coyle JT, Delon MR. Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neuron in the basal forebrain. Science 1982;215(4537):1237-9.

33. Chudasama Y, Dalley JW, Nathwani F, Bouger P, Robbins TW. Cholinergic modulation of visual attention and working memory : dissociable effects of basal forebrain 192-IgG-saponin lesions and intraprefrontal infusions of scopolamine. Learn Mem 2004;11:78-86.

34. Dellu F, Mayo W, Cherkaoui J, Le Moal M, Simon H. A two-trial memory task with automated recording: study in young and aged rats. Brain Res 1992;588(1):132-9.

35. Sarter M, Bodewitz G, Stephens DN. Attention of scopolamine-induced impairment of spontaneous alternation behavior by antagonist but not inverse agonist and beta-carbolines. Psychopharmacology 1998;94:491-5.

36. Hagan JJ, Morris RGM. The cholinergic hypothesis of memory: a review of animal experiments. In L.L. Iversen, S.D. Iversen and S.H. Snyder(Eds.), Handbook of Psychopharmachology, Plenum Press. New York 1988;20:237-323.