

포공영 기원식물의 mouse 기억력 개선효과 비교

손문기, 신용욱*

경남과학기술대학교 농학·한약자원학부

A Comparative Study of Memory Improving Effects of *Taraxaci herba* on Scopolamine-induced Amnesia in Mouse

Moon-Ki Sohn and Yong-Wook Shin*

Department of Agronomy & Medicinal Plant Resources, Gyeongnam national University of Science and Technology, Jinju 660-758, Republic of Korea

ABSTRACT

Objectives : The purpose of this study was to characterize the effect of the fraction of *Taraxacum officinale* and *T.coreanum* on the learning and memory impairments induced by scopolamine.

Methods : The cognition-enhancing effect of *Taraxacum officinale* and *T.coreanum* was investigated using a passive avoidance test, the Morris water maze test and Y-maze test in mice. Drug-induced amnesia was induced by treating animals with scopolamine (1 mg/kg, i.p.).

Results : The results showed that the Aug harvested *T.officinale* extract-treated group (200 mg/kg, p.o.) and the tacrine-treated group (10 mg/kg, p.o.) significantly ameliorated scopolamine-induced amnesia based on the Passive avoidance Y-maze test and Watermaze test. And these results are same manner in DPPH radical scavenger effect and Acetylcholinesterase inhibition effect.

Conclusions : These results suggest that *Taraxacum officinale* extract maybe a useful cognitive impairment treatment, and its beneficial effects are depending on the collecting time and origin plants. As a result, *Taraxacum officinale* harvested in August improve memory most.

Key words : *Taraxacum officinale*, Collecting time, Memory enhancing, scopolamine

서론

사람은 나이가 들어감에 따라 신체적 노화현상이 일어나게 된다. 특히 대뇌의 뇌세포수가 점차적으로 줄어들고 기능도 떨어지면서 대뇌가 위축되며 노인성 질환인 치매가 발병할 수 있다¹⁾. 치매는 여러 가지 원인질환에 의해 야기되는 지능저하를 특징으로 하는 중후군으로 기억력, 사고력, 지남력, 이해력, 계산능력, 학습능력, 언어 및 판단력 등을 포함하는 고도의 대뇌기능 장애를 나타낸다²⁾. 치매의 유형으로는 Alzheimer형 치매와 뇌혈관성 치매, 그리고 이들 증상이 혼재하는 혼합형 치매가 대부분이다³⁾. 이 중 가장 많은 비율을 차지하는 Alzheimer's disease(AD)는 뇌의 전반적 위축과 특유의 조직학적 소견을 나타내며⁴⁾ AD는 뇌 안에서 뉴론

(neuron)의 점차적인 퇴화와 손실이 특징인 연령과 관계된 신경퇴화 질병이다⁵⁾. AD의 주증상인 기억력 감퇴는 choline성 신경계와 밀접한 관계가 있다고 알려져 있는데, 특히 choline성 신경세포의 퇴화에 의한 Acetylcholine의 부족 때문으로 생각되며, 이러한 현상은 Acetylcholine의 분해효소인 Acetylcholinesterase(AChE)의 증가로 더욱 심화된다⁶⁾. 또 대다수의 치매환자는 각종 증상이 수반되는 복합병변으로 인해 심적 부담을 느껴 우울증에 시달리기도 한다. 우울증은 자율 신경계의 교감신경 전달물질인 Catecholamine의 체내 함량의 감소와 밀접한 관련이 있다고 알려져 있다⁷⁾. Monoamine oxidase는 신경전달물질인 Catecholamine을 분해하여 Catecholamine의 체내 농도를 조절하는 기능을 한다⁸⁾. 최근에는 치매 치료제로 수용체 특이성이 높고 반감기가

*교신저자 : 신용욱, 경남 진주시 동진로 33번지 경남과학기술대학교 농학·한약자원학부 한약리학교실
· Tel: 055-751-3226 · Fax: 055-751-3229 · E-mail : ywsynn@gntech.ac.kr
· 접수 : 2012년 08월 16일 · 수정 : 2012년 08월 31일 · 채택 : 2012년 09월 06일

길며 투여방법이 간단한 도네페질(donepezil)이 개발되어 유럽과 미국에서 사용되고 있으며 그 외에도 tacrine, rivastigmine, metrifonate, eptastigmine, physostigmine 등이 acetylcholine esterase의 활성을 저해하는 약물로 사용되고 있다⁹⁾. 그러나 이들 약품은 acetylcholine 분해 효소의 활성을 억제시킴으로써 acetylcholine의 농도를 유지시켜 저하된 인지기능을 개선시키는 효과가 있으나, 간 독성 등 부작용이 있다.

한의학의 기미론에 의해 한성(寒性)약물로 분류된 식물들이 동물의 체내에서와 시험관 내에서 Monoamine Oxidase(MAO) 활성을 저해하는 사실이 확인되어 보고된 바 있다¹⁰⁾. 이 사실을 근거로 중추신경계에 작용하는 것을 목적으로 사용되어 온 식물을 대상으로 기미론에 의해 한성(寒性)과 평성(平性), 양성(涼性)으로 분류된 식물 약 300여 종을 수집하여 MAO 저해활성을 검색한 결과 포공영이 강한 MAO 저해활성을 나타내는 것으로 확인되었다¹¹⁾.

포공영의 기원식물인 민들레(*Taraxacum mongolicum* H.)는 국화과의 다년생 초본으로 전 세계에 약 400종이 있으며, 우리나라에서 야생하는 민들레의 종류는 7여 종으로서 민들레(*Taraxacum Pltycarpum* Dahlst.), 흰민들레(*Taraxacum coreanum* Nakai), 흰노랑민들레(*Taraxacum coreanum* Nakai var. *flavescens* Kitamura), 산민들레(*Taraxacum manshuricum* Nakai et Koidzumi ; *Taraxacum ohwianum* Kitamura), 한라민들레(*Taraxacum hallaisanense* Nakai), 서양민들레(*Taraxacum officinale* Weber et Wiggers ; *Leontodon taraxacum* L.), 붉은씨 서양민들레(*Taraxacum laevigatum* 'Willd' DC. ; *Leontodon erythrospermum* 'Andrz.' Britton ; *Taraxacum erythrospermum* Andrz.) 등이 있다. 서양민들레 및 붉은씨 서양민들레와 같은 귀화종은 단위생식에 의해 화분 분산자가 없는 불리한 환경 하에서도 전략적 번식적응도가 매우 높아 오늘날 전 세계적으로 널리 분포되어 있는 식물 종이 되었다. 특히 비휴면성인 서양민들레는 자생종 민들레에 비해 종번식이 상대적으로 유리한 것으로 보고되어 있다¹²⁾. 현재 우리나라 대부분의 지역에서는 귀화식물인 서양민들레 및 붉은씨 서양민들레가 차지하고 있으며 자생종 민들레류는 급격히 사라져 가고 있다¹³⁾. 특히 토종 민들레로 분류되는 종들은 성장 후 꽃이 피기까지 수년이 걸리며 꽃도 1년 중 봄 한철에만 피고 자가수정이 되지 않는 등 여러 가지 문제로 인하여 번식력이 떨어지기 때문에 최근에는 토종민들레를 찾아보기가 어려운 실정이다. 반면 서양민들레는 우리나라 토질에 적응하여 연중 꽃이 피고 자가수정을 하므로 왕성한 번식력을 나타내고 있다. 국내에서 생육하는 4종의 자생민들레와 2종의 귀화민들레 종간의 유전적 유연관계를 RAPD로 분석한 결과 귀화종인 서양민들레 자생종 군 내에서도 흰민들레가 유전적 거리가 가장 먼 것으로 보고되어 진다¹⁴⁾.

한방에서 민들레는 포공영이라고 하며 청열해독(淸熱解毒), 소염, 이뇨의 목적으로 이용하여 왔으며¹⁵⁾, 어린잎은 나물로 뿌리는 약용으로 쓰기도 하였다¹⁶⁾. 이 밖에도, 항암효과¹⁷⁾, 위장관의 화생(metaplasia)와 비정형증식증(atypical hyperplasia)의 치료효과¹⁸⁾, 만성 B형간염의 치료효과¹⁹⁾, 만성대장염²⁰⁾, 아토피성 피부염²¹⁾, 항 바이러스작용²²⁾, 요로결석²³⁾ 등에도 효능이 있는 것으로 알려져 있다.

본 연구에서는 민들레의 지상부(잎, 줄기) 및 뿌리를 5월과 8월에 채취한 후 시료를 조제하여 항산화효과, 아세틸콜린 분해효소 활성측정, 수동회피 실험 등을 통하여 기억력 개선에 대한 민들레의 기원식물과 그의 채취시기에 따른 약리작용의 차이를 규명하였기에 다음과 같이 결론을 얻어 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 약재

본 실험에 사용된 민들레 전초는 경남 사천시 곤양면 목곡리 일대 야산에서 자생하는 흰민들레(*Taraxacum coreanum*)를 이식하여 같은 마을의 포장에서 격리재배한 것과 야산에서 자생하는 서양민들레(*Taraxacum officinale*)를 각각 2009년 5월과 8월에 채취한 뒤 경남과학기술대학교 유전공학실험실에서 동정한 후, 서양민들레(*Taraxacum officinale*) 5월 채취분(TO5), 8월 채취분(TO8), 흰민들레(*Taraxacum coreanum*) 5월 채취분(TC5), 8월 채취분(TC8)은 각각 한약리학교실 표본실에 보관하고 있다 (No. JNUHMP-09-001, 002, 003, 004).

2) 동물

실험동물은 수컷의 ICR mouse 5주령을 주식회사 코아텍(경기도, 한국)에서 공급받아 사용하였다. 실험동물은 경남과학기술대학교 동물실에서 7일간 적응시킨 후 사용하였다. 실험동물은 각 군당 10마리로 구성하였고, 온도 $23 \pm 3^\circ\text{C}$, 습도 $50 \pm 10\%$ 내외, 명암주기 12시간 주기로 일정하게 유지된 사육실에서 다섯 마리씩 polycarbonate mice cage에 수용하여 사육하였으며 적응 기간 동안 사료와 물을 제한 없이 공급하였다.

3) 시약 및 기기

본 실험에 사용한 시약 tacrine (9-amino-1, 2, 3, 4-tetra- hydroacridine hydrochloride), (-) scopolamine hydrobromide, acetylthiocholine iodide, DTNB (5, 5' -dithiobis [2-nitrobenzoic acid]), 는 시그마(Sigma, USA)의 제품을 사용하였으며 기타 시약은 시중에서 구입할 수 있는 최상급을 사용하였다. 본 실험에 사용되어진 기기로는 Rotary Evaporator (Eyela, Japan),

수동회피상자(GEMINI™ Avoidance System, San Diego Instruments, San Diego, CA, USA)

행동관찰은 Ethovision program (Noldus, Netherlands) 을 이용하여 기록 및 측정하였다.

2. 방법

1) 포공영 에탄올 추출물 제조

포공영 추출물은 증류수로 2회 세척한 뒤 원재료의 10배의 80% 에탄올을 가하여 2시간 가열 추출하였다. 추출이 완료된 다음 Whatman (No. 1) filter paper로 감압여과하고, 이를 rotary evaporator로 감압 농축하여 얻은 점조상의 추출물을

동결 건조기(FD 5508, Ilshin Lab, Korea)에서 건조한 뒤 얻어진 분말(수율 15.2%)을 밀폐하여 4°C 냉장고에 보관하면서 실험에 사용하였다.

2) RAPD PCR 분석

(1) Genomic DNA 분리

PCR에 적합한 genomic DNA를 추출하기 위하여 DNA extraction kit(gene All, plant SV mini, korea)를 사용하였다. 먼저 민들레 생잎을 액체질소를 이용하여 유발과 유봉으로 마쇄한 다음 분말상태의 잎 100mg을 2ml tube에 넣고 PL buffer 800ul와 RNase Solution을 4ul 첨가한 후 마쇄한 가루와 vortexing 해 준 다음 65°C의 항온수조에서 30분간 반응시킨다. 시간 경과 후 PD buffer 280ul를 넣고 vortexing 한 다음 얼음에서 5분 동안 반응시킨 후 2ml 속에 있는 시료를 EasySep Filter Column으로 옮겨 13,000rpm으로 2분간 원심분리하고 EasySep Filter Column에 걸리진 시료를 BD buffer를 1.5배의 양으로 넣어 주고 가볍게 흔들어 involuting한다. 혼합된 시료는 Gene All SV Column에 넣고 13,000rpm으로 30초 동안 원심분리한 후 빠져나온 용액은 버리고 CW buffer 700ul를 Gene All SV Column에 넣고 13,000rpm으로 30초 동안 원심분리 후 빠져 나온 용액은 버리고 다시 CW buffer 300ul를 Gene All SV Column에 넣고 13,000rpm으로 2분 동안 원심분리 후 Column을 새 1.5ul의 tube로 옮겨준다. DNA 회수를 위하여 DNA elution buffer 50ul를 Column에 넣어 5분간 상온에서 반응시킨 후 13,000rpm에서 1분간 원심분리하고 회수된 DNA는 보관하여 PCR을 위한 주형 DNA로서 사용하였다.

(2) RAPD PCR (Random Amplified Polymorphic DNA Polymerase Chain Reaction) 분석

유연관계를 확인하기 위해 10-mer random primer를 이용하여 PCR을 수행하였다. Template DNA 3ul 와 10-mer random prime 2ul, 그 외 반응 혼합액(PCR premix 10ul ; 2X reaction buffer, 2mM dNTP, 4mM MgCl₂, Taq polymerase), 멸균수 5ul를 혼합하여 총 20ul로 맞춘 후 94°C에서 5분간 pre-denature 한 후 94°C에서 denature 30ch, 32°C에서 annealing 1분, 72°C에서 extension 1분을 1cycle로 하여 35cycle 반복 후 72°C에서 10분간 post-extension, 4°C에서 반응을 종료한다.

(3) DNA 전기영동(Electrophoresis)

전기영동을 위해 130ml의 0.5X TBE 용액에 0.5g의 agarose를 첨가하여 1%의 agarose gel을 만든다. 증폭된 PCR product 5ul와 6 X Loading buffer 동량의 5ul를 섞은 시료를 agarose gel에 분주한 후 110V의 전압으로 30분 동안 전기영동을 실시하여 DNA를 분리시키고 EtBr(Amresco, USA)이 희석되어 있는 용액에 Gel을 15분 동안 염색한 후 UV transilluminator를 이용하여 사진을 촬영하였다. Molecular standard marker로는 100bp DNA ladder marker(Bioneer)를 10ul 사용하였다.

3) 항산화력 측정

포공영 추출물의 항산화력을 측정기 위해 DPPH를 이용하였다. 즉, 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 자유기 소거능 측정 Blois법²⁴⁾에 따라 Test sample을 메탄올에 희석시킨 희석용액 0.2 mL에 4×10^{-4} M 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH : Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)용액 0.8 mL를 가하여 10초간 혼합하고, 상온에서 10분간 방치 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 메탄올 0.2 mL에 DPPH용액 0.8 mL를 가한 후 상온에서 10분간 방치한 후 517 nm에서 흡광도를 측정하는 것으로 하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity(\%)} = \left(1 - \frac{\text{Sample absorbance}}{\text{Control absorbance}}\right) \times 100$$

4) Acetylcholinesterase 저해력 측정

Acetylcholinesterase 활성은 Ellman's coupled enzyme assay²⁵⁾ 법을 적용하여 측정하였다. 즉, 125ul의 3mM DTNB 와 25ul의 15mM AchE 그리고 50ul의 50mM Tris-HCl (pH 8.0) 와 검액25ul를 microplate 에 넣은 뒤, 10분간 방치 후 25ul의 AChE (0.226U/ml)를 넣은 뒤 405nm에서 10분동안 흡광도를 측정하였다.(Model Anthos 2020, Asys hitech GmbH, Austria) 효소활성은 1분동안 흡광도 변화율에 대한 평균값을 계산하여 저해율을 측정하였다²⁶⁾.

5) 수동회피시험(passive avoidance test)

수동회피시험은 설치류의 working memory ability를 측정하는 방법으로 학습 및 기억력 측정을 위하여 널리 이용되고 있는 LeDoux²⁷⁾의 방법을 응용하여 시행하였다. 실험 시작 1시간 전에 실험동물을 행동관찰실로 옮기고 약물을 투여한 후 안정시켰다. 약물투여는 민들레추출물 및 tacrine은 10% Tween 80에 녹인 후 경구 투여하였고 (5 ml/kg), 대조군에는 10% Tween 80을 같은 용량으로 경구 투여하였다. 경구 투여 30분 후에 증류수에 녹인 스코폴라민을 1mg/kg의 용량으로 복강 투여하였고, 스코폴라민 투여 30분 후에 mouse 를 조명을 비춘 밝은 쪽 구획에 놓고 10초간 탐색시킨 후 길로틴문(gillotin door)을 열어 어두운 구획으로 들어갈 수 있게 하였다(Gemini Avoidance System, San Diego, USA). 각 구획은 20 × 20 × 20 cm 의 공간이다. 이 때 길로틴문이 열린 후 40초 이내에 어두운 쪽으로 들어가지 않는 생쥐는 실험에서 제외시켰으며 일단 생쥐가 어두운 쪽으로 들어가면 길로틴문(gillotin door)이 닫히고 0.5 mA의 전기 충격이 3초 동안 grid 바닥을 통해 흐르게 되고 생쥐는 이를 기억하게 되는데 이 때 길로틴문(gillotin door)이 열린 후 생쥐가 어두운 쪽으로 들어갈 때까지의 시간을 측정하였다(학습시험; training trial). 학습시험(training trial)이 끝난 후, 24시간 후에 장기기억에 미치는 민들레 80% 에탄올 추출물의 효과를 확인하고자 실시하였다(기억시험; test trial). 실험동물을 왕복상자에 넣고 10초 동안 탐색시간 후 길로틴문(gillotin door)이 열리고 어두운 쪽으로 생쥐의 네 발이 다 들어가는데 걸리는 시간(latency time; 머무름 시간)을 180초까지 측정하였다. 어두운 쪽으로 가는데 걸리는 시

간이 길수록 수동회피의 학습과 기억이 좋음을 나타낸다. 각 실험이 끝난 후에는 전 실험동물의 흔적을 지우기 위해 70% alcohol로 깨끗이 닦아 다음 실험에 영향을 주지 않도록 하였다.

6) Y-미로시험(Y-maze test)

약물 투여는 수동회피시험(passive avoidance test)에서와 같은 방법으로 실시하였다. Y-미로시험에 이용되는 기구는 3개의 가지로 구성되어 있으며 각 가지(arm)의 길이는 42 cm, 넓이는 3 cm, 높이는 12 cm이고 세 팔이 접하는 각도는 120°이다. 모든 실험 장치는 검정색의 polyvinyl plastic으로 구성되어 있다. 각 가지를 A, B, C로 정한 후 한쪽 가지에 mouse를 조심스럽게 놓고 8분 동안 자유롭게 움직이게 한 다음 mouse가 들어간 가지를 기록하였다. 이 때 꼬리가지 완전히 들어갔을 경우에 한하며, 갔던 가지에 다시 들어간 경우에도 기록하였다. 세 개의 서로 다른 가지에 차례로 들어간 경우 1점(실제변경, actual alternation)씩 부여하였다. 변경 행동력(alternation behavior)은 3가지 모두에 차례로 들어가는 것으로 정의되며, 다음의 수확식에 의해 계산된다(28).

실제변경

$$\text{변경 행동력(\%)} = \frac{\text{(actual alternation)}}{\text{최고변경(maximum alternation: 총입장회수-2)}} \times 100$$

7) 수중미로 시험 (Morris water maze task)

약물 투여는 수동회피 시험, Y-미로시험에서와 같은 방법으로 실시하였다. 포공영 에탄올추출물이 공간기억에 미치는 영향을 조사하기 위해 4일 동안 시험하였고 시험 30분전에 스키펴라민(1 mg/kg body weight)을 투여한 후에 수중미로 시험을 하였다. 수중미로시험은 Morris²⁹⁾가 제시한 방법에 따라 다음과 같이 실시하였다. 실험장비는 원형의 수조(stainless steel, 지름 90 cm, 높이 45 cm), 도피대(지름 10 cm, 높이 30 cm, 수면아래 1cm 위치에 위치하고 검은 색 식용색소를 풀어 보이지 않게 함) 및 도피대의 위치를 기억할 수 있는 4개의 표지물로 구성하였다. 수조는 물(온도 22±2℃)로 채웠고, 도피대는 전체 수조를 4등분한 것 중 하나의 부채꼴 중앙에 놓았으며 도피대 상단이 수면 0.5 cm 밑에 위치하도록 하였다. 수중미로시험은 실험동물이 수조 주변의 표지물을 기억하여 도피대를 찾아가기 때문에 주변 환경의 변화가 없도록 표지물을 실험기간 동안 일정하게 유지하였다. 실험동물이 도피대를 찾아가 10초 이상 머무는 경우 도피대를 찾아가갈 때까지 소요되는 시간을 탈출잠복기(escape latency)로 하였으며, 이를 하루 2번 실시하여 나온 평균값을 평균 탈출잠복기(mean escape latency)로 하였다. 실험은 1일 2회씩 4일간 연속적으로 실시하였고, 실험동물이 도피대를 180초 이내에 찾지 못하면 동물을 도피대에 10초간 두었다가 실험을 끝내고 탈출잠복기를 180초로 하였다.

8) 통계처리

실험결과는 mean±SD로 표시하였다. Control 값과 시료 처치군과의 유의성은 Student-Newman-Keuls test 와

ANOVA를 적용하여 p 값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

결 과

1. RAPD 유연관계 분석

포공영 기원식물별, 민들레의 유연관계 분석을 위해 실시한 RAPD 결과를 통해 나타난 밴드의 다형성 비율을 확인한 결과를 Table 1에 제시하였다.

Table 1. Number of PCR products in *Taraxacum coreanum* and *T. officinale*

	No. of amplified DNA bands	No. of polymorphic bands	No. of monomorphic bands		Polymorphism (%)
			1	2	
Primer 1	11	9	5	4	81.8
Primer 2	4	3	3	1	75.0

Fig. 1에서 볼 수 있듯이 증폭된 PCR products 는 0.2Kb에서 2Kb 까지 다양한 위치에서 밴드를 나타냈다. Random primer HD1(5'CCAGATGCAC3') 번과 Random primer HD2 (5'CCGAATCCCC3')번에서 각각 총 11개와 4개의 증폭된 DNA 밴드를 얻었다. Random primer HD1번에서는 다형밴드가 9개를 보였으며 81.8%의 다형성을 나타내어 흰민들레와 서양 민들레는 쉽게 구분이 가능하였다. Random primer HD2번에서는 다형성 연구를 위한 프라이머로는 부적합 하였다. 하지만 흰 민들레와 서양 민들레에 각각 한 개씩 특이하면서 진한 밴드들이 생산되어 이를 클론 한 후 염기서열 분석을 하여 각각의 특이 판별 마커를 개발하기에는 적합한 것으로 사료된다. 종합하여 볼 때 본 실험에 사용한 민들레 전초 2가지는 다양성이 비교적 높은 특성을 나타내어 토종민들레와 서양민들레는 꽃의 색상, 잎의 모양 등의 외형적인 특성 뿐 만이 아니라 식물유전적으로 상이함을 확인할 수 있었다.

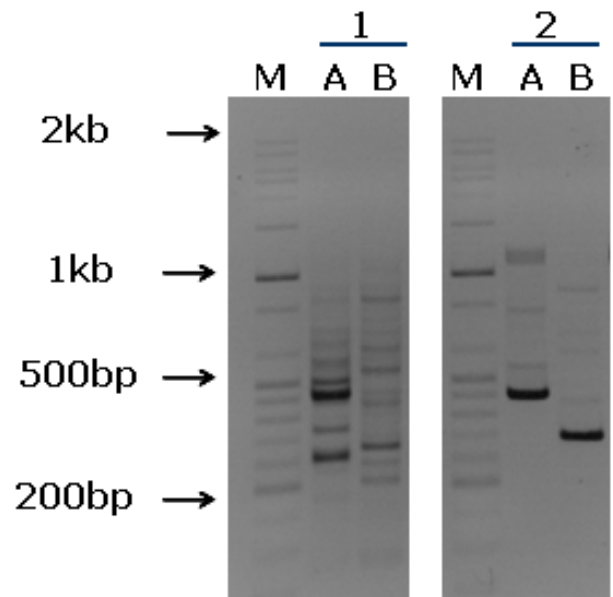


Fig. 1. DNA amplication patterns obtained by Random primer 1 and 2. A, *Taraxacum coreanum*; B, *T. officinale*

2. 항산화실험

흰민들레와 서양민들레 80% EtOH 추출물의 항산화력을 평가하기 위해 실시한 DPPH 실험결과를 Table 2에 제시하였다. 5월과 8월에 채취한 흰민들레 지상부 추출물의 DPPH IC₅₀가 각각 149±8.1 와 187±9.7 로 나타나 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 서양민들레의 경우 지상부 추출물의 DPPH IC₅₀가 각각 193±11.3 와 123±6.4 로 나타나 채취시기에 따른 항산화력에 유의적인 차이가 있었다.

Table 2. IC₅₀ value of Free radical scavenging activity and Acetylcholine Esterase inhibitory effects on *Taraxacum coreanum* and *T. officinale* Extracts

Sample	IC ₅₀ (ug/ml)	
	DPPH assay	Acetylcholinesterase
TC5	149±8.1	26.8±8.3
TC8	187±9.7	36.2±6.4
TO5	193±11.3	57.3±12.6
TO8	123±6.4*	14.5±5.4
Ascorbic acid	<20	-
Tacrine	-	3.99

TC5, TC8; *T. coreanum* collected on May and Aug respectively
 TO5, TO8; *T. officinale* collected on May and Aug respectively
 Each value is means ± S.D of three separated experiments (*P<0.05)

3. AchE 저해능 실험

Acetylcholinesterase 저해능 실험을 실시한 결과를 Table 2의 오른쪽에 제시하였는데 이 실험법은 뇌 속의 신경전달물질 중의 하나인 아세틸콜린의 분해를 가역적으로 억제하는 작용을 측정하여 치매예방약 개발에서 자주 이용되고 있다. 5월과 8월에 채취한 흰민들레 지상부 추출물의 AchE IC₅₀가 각각 26.8±8.3 와 36.2±6.4 로 나타나 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 서양민들레의 경우 지상부 추출물의 AchE IC₅₀가 각각 57.3±12.6.3 와 14.5±5.4 로 나타나 채취시기에 따른 유의적인 차이가 있었다. 특히 8월에 채취한 서양민들레 지상부 추출물에서 AchE 저해효과가 가장 두드러지게 나타난 것을 확인 할 수 있었다.

4. 수동회피실험(Passive Avoidance Test)

상기의 AchE 저해능 실험 결과가 시험관내에서의 기억력 개선효과의 평가실험이었다면 동물실험상의 기억력 개선효과를 평가하기 위해서 muscarinic 수용체의 길항제인 scopolamine을 투여하여 만든 기억력 감퇴 동물모델을 이용하여 passive avoidance test 및 Y-maze test를 실시하였다. 기억력 개선 및 인지능력 향상에 사용되고 있는 모델에는 미로찾기, 수동회피실험 등 다양한 방법이 수행되고 있는데 이 중 수동회피실험인 passive avoidance test는 흔히 단순 기억에 대한 효과를 입증할 때 쓰이는 모델로, 어두운 곳을 선호하는 흰쥐의 특성을 이용한 것이다. 실험동물에 전기충격을 가하여 전기 자극을 기억하는 시간을 측정하는 방법으로 학습 및 기억능력을 측정하는 대표적인 행동 실험 방법인 수동회피실험(Passive avoidance test)에서 민들레추출물의 단회투여에서 latency time이 scopolamine 투여군에 비해 유의성 있게 증가함을 확인할 수 있었다. 따라서 scopolamine

으로 유도한 건망증 생쥐의 수동회피실험에서 latency time이 길어졌다는 것은 민들레추출물이 콜린성 신경계에 작용하여 학습 및 기억력을 회복시켰다는 것을 의미하고, 정상인의 기억력과 인지기능감퇴 증상뿐 만 아니라 치매질환에서도 유효한 효과가 있을 것으로 여겨진다. Fig.2에 제시한 바와 같이 서양민들레와 8월 채취분 에탄올 추출물 200mg/kg로 투여한 군에서 양성대조약물로 사용중인 Tacrine의 retention time의 91%에 해당하는 결과를 나타내고 있다. Tacrine 10mg/kg 복강투여군의 Retention time이 280초를 나타내고 있는 것을 볼때 토종민들레 5월과 8월 채취분은 각각 240초와 252초를 나타내어 상호간의 유의성없이 고르게 효과를 나타내는 것으로 나타난다. 하지만 서양민들레 200mg/kg 경구투여군의 경우 5월 채취분은 185초를 나타내고 8월 채취분은 255초를 나타내어 서양민들레는 채취시기에 따른 기억력 개선효과의 차이가 유의적으로 나는 것으로 여겨진다. 이러한 결과는 상기의 AchE 저해능 실험결과와 같은 양상을 나타냈다.

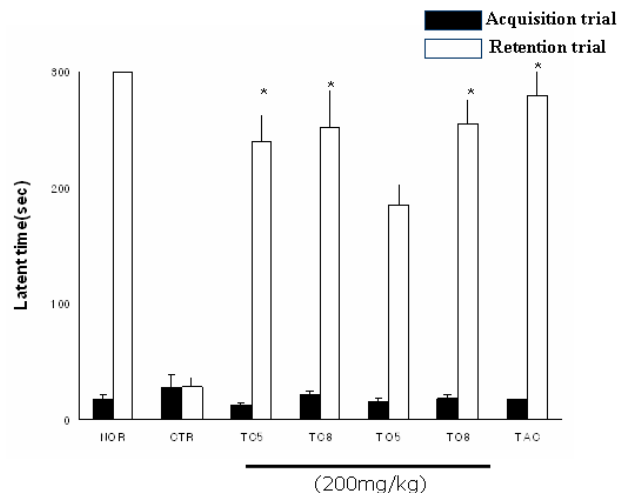


Fig. 2. Inhibitory effects of TE on scopolamine-induced memory impairment in mice in the Passive avoidance test. Mice were orally administrated TE 200mg/kg(TC5,TC8,TO5,TO8) TC5, *T. coreanum* Herba harvested on May; TC8, *T. coreanum* Herba harvested on Aug;TO5, *T. officinale* Herba harvested on May; TO8, *T. officinale* Herba harvested on Aug; TAC, tacrine (10mg/kg) All values are means ± S.D. (n=6) *Significantly different from the control group(* P<0.05)

5. Y-미로시험

Y-maze test에서는 포공영의 에탄올 추출물 200mg/kg 경구투여군에서 각 실험군별로 유의미한 차이를 나타내지 못하여 추출물 500mg/kg 투여군의 결과를 제시하였다(Fig. 3). 서양민들레 8월 채취분(TO8)의 에탄올 추출물 500mg/kg 경구투여군에서 55.9±3.6%로 대조약물인 Tacrine 10mg/kg 복강투여군이 63.5±3.3%를 나타낸 것과 함께 spontaneous alternation 이 scopolamine 투여군에 비해 유의성 있게 증가하여 학습 및 기억력이 회복되었다는 것을 알 수 있었다.

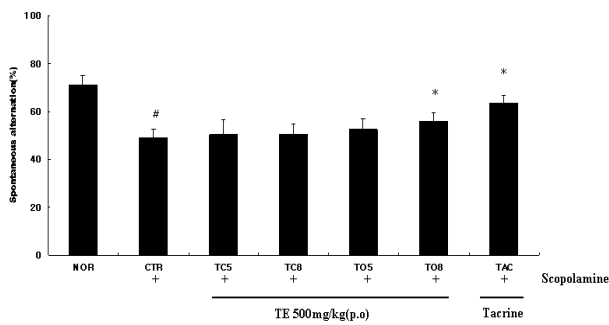


Fig.3. Inhibitory effects of TE on scopolamine-induced memory impairment in mice in the Y-maze test. Mice were orally administrated TE 500mg/kg(TC5,TC8,TO5,TO8) TC5, *T. coreanum* Herba harvested on May; TC8, *T. coreanum* Herba harvested on Aug; TO5, *T. officinale* Herba harvested on May; TO8, *T. officinale* Herba harvested on Aug; TAC, tacrine (10mg/kg) All values are means \pm S.D. (n=6) *Significantly different from the control group(* P<0.05)

6. 수중미로시험

Morris 수중미로 학습에서 4일 동안 180초 이내 플랫폼에 도달하기까지의 소요시간을 측정하는 학습시험에서 제 1일째 Control 군은 174.0 \pm 2.7초, scopolamine 투여군은 180.0 \pm 0초로 각 집단간 유의성 있는 차이가 없었으나, 학습이 진행됨에 따라 마지막 4일째에는 플랫폼에 도달하는데 소요되는 시간이 Control군은 73.2 \pm 8.3초, scopolamine 투여군은 173.0 \pm 1.7초, scopolamine + 서양민들레 8월 채취분 추출물 투여군은 114.2 \pm 5.3초, scopolamine + tacrine 투여군은 110.8 \pm 5.2초로 집단간 유의성 있는 차이를 보였다(p < 0.05). 서양민들레 5월 채취분 추출물 투여군은 152.0 \pm 3.8초, 흰민들레 8월과 5월 채취분 추출물 투여군은 각각 141.0 \pm 8.4초, 129.6 \pm 5.8초를 나타내었다. 이에 특정일에 따른 그룹간의 사후검정 결과, 2일째부터 Scopolamine 투여군에서 control 군에 비해 학습능력이 저하되었다(Fig. 4.).

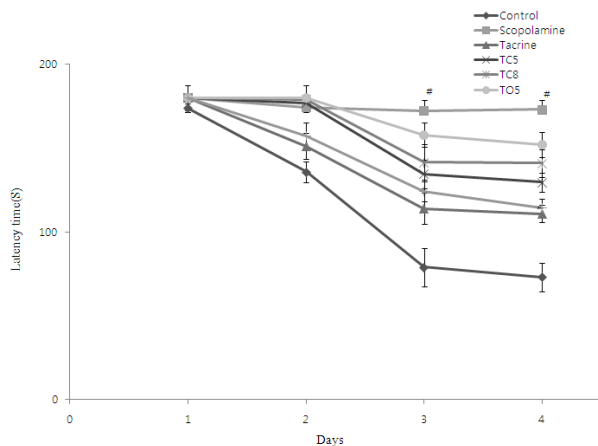


Fig. 4. Inhibitory effects of TE on scopolamine-induced memory impairment in mice in the Morris water maze task performance. The training trial session for 4 days. The EtOH extract of Taraxaci Herba were administered to mice for 4 weeks before maze test. Memory impairment was induced scopolamine (1 mg/kg body weight, i.p.) treatment. Mice were orally administrated TE 200mg/kg (TC5,TC8,TO5,TO8) TC5, *T. coreanum* Herba harvested on May; TC8, *T. coreanum* Herba harvested on Aug; TO5, *T. officinale* Herba harvested on May; TO8, *T.*

officinale Herba harvested on Aug; TAC, tacrine (10mg/kg) Results are expressed as the mean \pm SEM (n=10). *p<0.05 significantly different from control group. #p<0.05 significantly different from scopolamine-treated group.

고찰

한의학에서 기억력 장애 즉 치매는 健忘에 해당되며 善忘, 多忘, 好忘, 遺忘, 遂忘 등의 명칭으로 불려 왔다. 임상에서는 치매를 呆病이나 健忘에 근거하여 辨證施治하고 있는데 크게 腎陰虛, 心脾兩虛, 腎精虧虛, 脾腎陽虛 등의 虛症과 痰迷心竅, 瘀血, 內阻 등의 實症으로 구분하고 있다³⁰⁾.

기억력과 관련된 신경계는 cholinergic 신경계, glutamatergic신경계, GABAergic 신경계, serotonergic 신경계, adrenergic신경계 등이 알려져 있으나 특히 cholinergic 신경계가 주로 기억력과 관계가 있다고 알려져 있다^{31,32)}. 콜린 분해효소인 cholinesterase 를 억제하는 physostigmine, eptastigmine 을 투여하면 ACh의 가용성이 증가되고, physostigmine 의 경우에는 국소 뇌 빈혈(focal cerebral ischemia) 상황에서 대뇌혈류를 증가시키며, eptastigmine 은 외상성 뇌상해(traumatic brain injury)로 저하된 혈류를 증가시킨다³³⁾. 하지만 현재 사용되고 있는 기억력 개선 치료제들은 부교감신경자극을 통해 오심, 구토, 기관지 수축 등의 부작용을 나타내고 우울증, 불면증, 고혈압, 변비 등을 야기하기도 한다³⁴⁾. 실험에서는 Scopolamine 으로 cholinergic 신경의 subtype중 하나인 무스카린 수용체 (mAChR)를 차단하여 아세틸콜린의 양은 변화시키지 않고 시냅스 간극에서 아세틸콜린이 수용체에 결합하는 것을 방해하여 실험모델을 작성하였다³⁵⁾.

해마와 전두피질의 Ach 가 감소되면 일시적으로 감각운동 기능에 결함이 생기고 장기적으로는 수동적 회피학습(Passive avoidance learning)과 미로 과제 수행이 현저하게 불량해지는 행동적 변화가 수반³⁶⁾ 되므로 전기자극을 주는 수동회피 실험을 수행하였으며 미로시험은 두가지로 진행하였다. 미로 시험에서도 Y-maze 와 morris water maze 로 나눠서 실험한 것은, Y-maze 는 공간기억과제이고 주로 작업기억을 바탕으로 하는 학습능력을 알아보기 위한 것이다. 작업기억이란 정보가 처리되고 있는 동안에 그것을 유지하는 기억을 말하는 것으로서, 보통 기억을 유지하는 시간이 짧기 때문에 단기기억(Shorterm memory)이라고 한다. Morris water maze 의 경우에는 학습시행을 실시한 24시간 이후에 이루어지기 때문에 동물이 미로상황에서 전날까지 학습했던 내용을 잘 기억하고 있어야 한다. 동물을 사용하는 기억 검사에서 24시간의 파지 기간은 상당히 긴 것이고 이러한 기억을 장기기억(Long term memory)이라고 한다. 이에 본 연구에서는 추출물이 감퇴된 기억력을 개선시켜줄 수 있는지를 검색하기 위하여 muscarinic 수용체의 길항제인 scopolamine을 투여하여 만든 기억력 감퇴 동물모델을 이용하여 passive avoidance test, Morris water maze test 및 Y-maze test를 실시하였다. 치매 유도 동물모델 중 대표적인 행동 실험 방법인 수동회피실험(Passive avoidance test)에서 추출물의 단회투여에서 latency time이 scopolamine 투여군에 비해 유의성 있게 증가함을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 이는 추출물이 콜린성 신경계에 작용하여 학습 및 기억력을 회복시

켰다는 것을 의미하여, 정상인 및 인지기능감퇴자인 치매환자에서도 유효한 효과가 있을 것으로 여겨진다. 또한 공간의 학습과 기억을 검사하는 실험 장치로 사용되는 Morris 수중미로 실험에서도 4일 동안 실시되는 획득시행에서 양성대조군인 tacrine 그룹과 비슷한 양상으로 공간 기억 능력의 향상이 관찰되었으며 또한 Y-maze test에서도 spontaneous alternation 이 scopolamine 투여군에 비해 유의성 있게 증가하여 학습 및 기억력이 회복되었다는 것을 알 수 있었다 (Fig. 3).

한편 국내에서 생육하는 4종의 자생민들레와 2종의 귀화민들레 종간의 유전적 유연관계를 RAPD로 분석한 결과 자생종인 민들레, 산민들레, 쯤민들레, 흰민들레와 귀화종인 서양민들레, 붉은씨 서양민들레가 확연히 분리가 되었으며 귀화종은 자생종에 비해 개화일수가 길고 외충포편의 방향이 다르며 털의 유무 또한 다른 특성을 나타내었다고 보고되어 지며, 자생종 중에서도 흰민들레는 화색에서 확연한 차이를 나타낼 뿐만 아니라 잎의 방향과 발아의 생리적 특성 등 유전적으로 여러 다른 점이 복합적으로 작용함으로써 자생종 군 내에서도 유전적 거리가 가장 먼 것으로 보고되어 진다¹⁴⁾. 이번 실험에 사용된 포공영의 기원식물을 명확히 하기 위하여 RAPD법을 이용하여 유연관계를 확인한 결과 유전적으로 서로 상이한 식물임을 확인하였다. 포공영은 기존의 연구자들에 의해서 뇌세포 보호 작용은 다수 보고되었다. Go 등은 포공영(*T. officinale*) 전탕액이 뇌성상 세포에서 TNF- α 분비량과 염증성세포활성화물질인 IL-1의 생성을 억제하여 중추신경계의 항염증작용을 나타낸다고 하여 치매예방효과를 시사³⁷⁾한 바 있고, Li 등은 서양민들레 지상부의 에탄올 추출물이 글루타메이트로 유발한 HT22 세포주에 대하여 강력한 보호작용을 나타내었으며 이는 항산화 및 세포보호 효소인 HO-1 단백질 발현함으로써 뇌 세포보호활성을 나타내기 때문³⁸⁾이라고 보고 한 바 있다. 하지만 채취시기별, 기원식물간의 기억력 개선작용에 대해서는 보고한 적은 없었다. 선행연구와 본 연구의 결과를 종합하면 결론적으로, 본 연구의 결과에서 민들레 추출물은 scopolamine 으로 유도된 기억력 감퇴 동물모델에서 기억력 개선 및 인지능력 향상 효능을 가지는 식품소재라고 생각되며, 이러한 작용이 특히 콜린성 신경계와 관련이 있음을 시사하고 있다. 특히 이번실험에서는 약재의 채취시기에 대해 시사하는 바가 크다. 즉, 민들레는 봄에 지상부를 채취하여 약용하는 관행이나 본 실험을 통하여 여름에 채취한 서양 민들레 전초를 복용할 경우 기억력 및 공간지각능력이 개선시킬 수 있다는 결과가 약초재배농가에 보급될 경우 농가 소득 증대는 물론 목적에 따르는 민들레의 채취시기와 기원식물이 명확해 질 것으로 기대된다. 이를 위해서는 유효성분과 유효성분의 효율적인 추출을 위한 연구가 필요하며 이러한 작용에 대한 기전 연구가 더욱 상세히 진행되어야 할 필요성이 있다고 사료된다.

결 론

본 연구에서는 경남 사천시 곤양면 목곡리에서 자생하는 흰민들레와 서양민들레를 각각 봄과 여름에 지상부를 채취하여 RAPD로 동정한 다음 80% 에탄올에 추출한 추출물을 이용하여 기억력 개선효과 와 이를 수반하는 항산화효과를 측

정한 실험으로 그 수행한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 본 실험에 이용된 흰민들레와 서양민들레의 동정을 위해 RAPD로 실시한 유연관계분석결과 상호간의 75%에서 81.8%의 다형성을 나타내어 기원식물이 서로 다름을 확인할 수 있었다.
2. 채취시기와 기원식물에 따른 민들레 추출물의 항산화력을 DPPH로 측정된 결과 흰민들레와 서양민들레 각각 양호한 항산화력을 나타내었으며 그 정도를 비교하면 흰민들레 8월 채취분>서양민들레 5월 채취분>서양민들레 8월 채취분>흰민들레 5월 채취분의 순으로 나타났다.
3. 신경전달물질 분해효소인 AchE 저해능을 같은 방법으로 비교하여 민들레 추출물의 기억력개선효과를 측정한 결과 DPPH 결과와 마찬가지로 흰민들레 8월채취분>서양민들레 5월채취분>서양민들레 8월채취분>흰민들레 5월 채취분의 순으로 나타났다.
4. 각 민들레 추출물의 학습, 기억능력 측정을 위해 실시한 수동회피시험에서 8월에 채취한 서양민들레잎 에탄올 추출물 200mg/kg P.O 투여군에서 양성대조약물인 Tacrine의 91%에 해당하는 효과를 나타내었지만 같은 식물의 5월 채취분은 4가지 투여군 가운데 가장 기억력개선효과가 약한 것으로 나타나 채취시기별 기억력개선효과가 큰 것을 알 수 있었다.
5. 민들레추출물 투여군의 공간 지각력에의 영향을 관찰하기 위해 실시한 Y자형 미로 시험에서도 수동회피시험과 같은 결과를 나타내었다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 기억력개선을 위해서는 서양민들레 8월 채취분이 적합한 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부 지역연고산업육성사업(산청 동의보감촌 RIS사업)의 지원에 의하여 이루어진 것이므로 이에 사의를 표합니다.

참고문헌

1. Roth ME. Advances in Alzheimer's disease. A review for the family physician. *J Fam Pract*. 1993 ; 37(6) : 593-607.
2. Hardy J. Amyloid, the presenilines and Alzheimer's disease. *Trends Neurosci*. 1997 ; 20(4) : 154-9.
3. Henderson AS. The risk factors for Alzheimer's disease ; a review and a hypothesis. *Acta Psychiatr Scand*. 1988 ; 78(3) : 257-75.
4. Almeida OP. Treatment of Alzheimer's disease, critical evaluation of the use of anticholinesterase. *Arq Neuropsiquiatr*. 1998 ; 56(3B) : 688-96.

5. Hof PR, Morrison JH. The aging brain : morphomolecular senescence of cortical circuits. Trends Neurosci. 2004 ; 27(10) : 607-13.
6. Sramek JJ, Frackiewicz EJ, Cutler NR. Review of the acetylcholinesterase inhibitor galanthamine. Expert Opin Investig Drugs. 2000 ; 9(10) : 2393-402.
7. Kalaria RN, Mitchell MJ, Harik SI. Correlation of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydro-pyridine neurotoxicity with blood-brain barrier monoamine oxidase activity. Proc Natl Acad Sci U S A. 1987 ; 84(10) : 3521-5.
8. Bartus RT, Dean RL, Beer B, Lippa, AS. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. Science. 1982 ; 217(4558) : 408-14.
9. Ryu BH, Kim SO. Effects of Methanol Extract of *Stachys sieboldii* MIQ on Acetylcholine Esterase and Monoamine Oxidase in Rat Brain. Korean J Food & Nutr. 2004 ; 17(4) : 347-55.
10. Hwang KH, Kim IR Han YN. Effects of cold and hot drugs on the activity of monoamine oxidase. Kor J Pharmacogn. 1999 ; 30(2) : 145-50.
11. Hwang KH and Lim SH. Studies on Monoamine oxidase inhibitory activities of Korean medicinal plants classified to cold drugs by the theory of KIMI. Food Sci and biotech. 2003 ; 12(3) : 238-41.
12. Ahn YH, Choi KY. The Comparisons of Germination Characteristic in Native *Taraxacum* Spp. and *Taraxacum officinale* Seeds. Kor J Env Eco. 2000 ; 14(3) : 199-204.
13. Park HW, Park IK. Distribution of *Taraxacum* in the Western Area of Kyonggido, Korea. J Ecol field biol. 1997 ; 20(1) : 1-8.
14. Ahn YH, Park DS, Chung KH. Analysis of Genetic Relationship Among Native *Taraxacum* and Naturalized *Taraxacum* species using RAPD. Kor J Env Eco. 2003 ; 17(2) : 169-76.
15. Textbook Compilation Committee. Herbal Medicine, Seoul : Young Lim co. 2000
16. Tchang Bok Lee. Illustrated Plants in Korea Seoul, Hyang Mun co., 1999. 783.
17. Ko SG, Koh SH, Jun CY, Nam CG, Bae HS, Shin MK. Induction of apoptosis by *Saussurea lappa* and *Pharbitis nil* on AGS gastric cancer cells. Biol Pharm Bull. 2004 ; 27(10) : 1604-10.
18. Liu XR, Han WQ and Sun DR. Treatment of intestinal metaplasia and atypical hyperplasia of gastric mucosa with xiao-wei-yan powder. Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi. 1992 ; 12(10) : 602-3, 580.
19. Chen Z. Clinical study of 96 cases with chronic hepatitis B treated with jie du yang gan gao by a double-blind method. Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi. 1990 ; 10(2) : 71-4, 67.
20. Chakurski I., Matev M, Koichev A, Angelova L, Stefanov G. Treatment of chronic colitis with an herbal combination of *Taraxacum officinale*, *Hipericum perforatum*, *Melissa officinalis*, *Calendula officinalis* and *foeniculum vulgare*. Vutr Boles. 1981 ; 20(6) : 51-4.
21. Guin JD, Skidmore G. Compositae dermatitis in childhood. Arch Dermatol. 1987 ; 123(4) : 500-2.
22. Zheng. M. Experimental study of 472 herbs with antiviral action against the herpes simplex virus. *Chung-Hsi-I-Chieh-Ho-Tsa-Chih* Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi. 1990 ; 10(1) : 39-41.
23. Grases F, Melero G, Costa-Bauza A, Prieto R March JG. Urolithiasis and Phytotherapy. Int Urol Nephrol. 1994 ; 26(5) : 507-11.
24. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature. 1958 ; 181 : 1199-200.
25. Ellman GL, Courtney KD, Andres Jr V, Feather-Stone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem Pharmacol. 1961 ; 7 : 88-95.
26. Ingkaninan K, de Best CM, van der Heijden R, Hofte AJ, Karabatak B, Irth H, Tjaden UR, van der Greef J, Verpoorte R. High-performance liquid chromatography with on-line coupled UV, mass spectrometric and biochemical detection for identification of acetylcholinesterase inhibitors from natural products. J Chromatogr A. 2000 ; 872(1-2) : 61-73.
27. LeDoux JE. Emotional memory: in search of systems and synapses. Ann N Y Acad Sci. 1993 ; 702 : 149-57.
28. Sarter M, Bodewitz G, Stephens DN. Attenuation of scopolamine-induced impairment of spontaneous alternation behavior by antagonist but not inverse agonist and beta-carboline. Psychopharmacology. 1998 ; 94(4) : 491-5.
29. Morris R G. Development of a water maze procedure for studying spatial learning in the rat. J Neurosci Meth. 1984 ; 11 : 47-60.
30. Park SK, Lee HJ, Kim HT, Hwang WW. An experimental study of doriental medicine on cure for dementia : the effect of Jowiseungcheongtang and Hyungbangjihwangtang on cure for aged rats. J of Oriental Neuropsychiatry. 1998 ; 9(2) : 19-35.
31. Myhrer T. Neurotransmitter systems involved in learning and memory in the rat: a meta-analysis based on studies of four behavioral tasks. Brain Res Brain Res Rev. 2003 ; 41(2-3) : 268-87.
32. Blokland A. Acetylcholine: a neurotransmitter for learning and memory? Brain Res Brain Res Rev.

- 1995 ; 21(3) : 285-300.
33. Scremin OU, Jenden DJ. Cholinergic control of cerebral blood flow in stroke, trauma and aging. *Life Sci*. 1996 ; 58(22) : 2011-8.
34. Bachurin SO. Medicinal chemistry approaches for the treatment and prevention of Alzheimer's disease. *Med Res Rev*. 2003 ; 23(1) : 48-88.
35. Nobili L, Sanniata WG. Cholinergic modulation, visual function and Alzheimer's dementia. *Vision Res*. 1997 ; 37(24) : 3559-71.
36. Walsh TJ, Tilson HA, DeHaven DL, Mailman RB, Fisher A, Hanin I. A cholinergic neurotoxin, selectively depletes acetylcholine in hippocampus and cortex, and produces long-term passive avoidance and radial-arm maze deficits in the rat. *Brain Res*. 1984 ; 321(1) : 91-102.
37. GO JY, Kim TH, Kim JH, Lyu YS. Studies on the anti-inflammatory action of *Taraxacum officinale* extract in central nervous system. *J of Oriental Neuropsychiatry*. 2000 ; 11(2) : 11-21.
38. Li B, Lee DS, Choi HG, Kim KS, Ji HY, Rho JM, Kim KM, Kim YC. Neuroprotective Effect of the Aerial Parts of *Taraxacum officinale* on Glutamate-induced Oxidative Injury in Mouse Hippocampal HT22 Cells. *Yakhak Hoeji*. 2011 ; 55(4) : 314-8.