

기허가 한약제제를 대상으로 한 인지장애 치료 유효 약물 탐색 - 인지장애 임상연구를 위한 예비연구

서영경 · 이지윤 · 오유창¹ · 이정진¹ · 이 위¹ · 정윤희¹ · 이선주² · 고영훈^{1*} · 정인철*

대전대학교 한의과대학 한방신경정신과학교실, 1 : 한국한의학연구원 한의기술응용센터,
2 : 대구경북첨단의료산업진흥재단 신약개발지원센터

Exploring the Effective Herbal Prescription for Cognitive Disorder Treatment among Licensed Herbal Medicines in Korea - A Preliminary Study for Clinical Trial of Cognitive Disorders

Young Kyung Seo, Ji yoon Lee, You Chang Oh¹, Jung Jin Lee¹, Wei Li¹, Yun Hee Jeong¹, Sun Joo Lee²,
Young Hoon Go^{1*}, In Chul Jung*

Department of Oriental Neuropsychiatry, College of Korean Medicine, Daejeon University,
1 : Korean Medicine Application Center, Korea Institute of Oriental Medicine,
2 : New Drug Development Center, Daegu-Gyeongbuk Medical Innovation Foundation

It is necessary to investigate the efficacy of commercial Korean herbal medicine for cognitive disorder. The purpose of this study is to select candidates among licensed herbal medicines that are expected to be effective in the treatment of cognitive disorders and can be used in future clinical trial. From laboratory experiments, we first found individual single herbal drugs that could be effective for cognitive disorder, and then through experts recommendation, selected five priorities of single herbal drug and obtained the information of the best herb as a combination of each herbal drug. To derive the final herbal prescriptions, we searched the KFDA drug information system for licensed herbal medicines containing each drug and its combination. As a result of laboratory experiments and experts recommendation, we found that the five effective single herbal drugs for cognitive disorders. They are Ginseng Radix, Acori Graminei Rhizoma, Cyperi Rhizoma, Coptidis Rhizoma, Pinelliae Rhizoma, Hoelen cum Pini Radix, and Rehmanniae Radix Preparata(Pinelliae Rhizoma, Hoelen cum Pini Radix, and Rehmanniae Radix Preparata were tied for 5th). And licensed herbal prescriptions derived from the planned search are Palbohoichoon-tang, Taehwa-hwan, Bosim-hwan, and so on. Among these, in consideration of the feasibility of research and possibility of success in development, Yukgunja-tang, Samhwangjichul-hwan can be selected as future study subjects. Through experimental studies and expert recommendations, we have derived herbal prescriptions that can be effective in treating cognitive disorders from licensed herbal medicines.

keywords : Cognitive disorder, Licensed herbal medicine, Single herbal drug, Laboratory experiment, Experts recommendation

서 론

노인 인구의 지속적인 증가에 따라 치매 환자 수도 증가하고 있다. 보건복지부에 따르면 2017년 우리나라 치매 환자 수는 약

69만 명으로 추산되고 2024년에는 100만명, 2041년에는 200만 명까지 증가할 것으로 전망된다¹⁾. 건강보험심사평가원의 진료경향 분석에 따르면 치매질환에 대한 진료비는 2007년 대비 2017년 7.3배 증가하여 전체 진료비 증가폭인 3.4배보다 2배 이상 높은 것으로

* Corresponding author

In Chul Jung, Daejeon University, College of Oriental Medicine, 62 Daehak-ro, Dong-gu, Daejeon, Republic of Korea

·E-mail : npjeong@dju.kr ·Tel : +82-42-470-9129

Younghoon Go, Korean Medicine (KM) Application Center, Korea Institute of Oriental Medicine (KIOM), 70 Chumdang-ro, Dong-Gu, Daegu, Republic of Korea

·E-mail : gotra827@kiom.re.kr ·Tel : +82-53-940-3838

·Received : 2019/07/08 ·Revised : 2019/08/20 ·Accepted : 2019/08/28

© The Society of Pathology in Korean Medicine, The Physiological Society of Korean Medicine

pISSN 1738-7698 eISSN 2288-2529 <http://dx.doi.org/10.15188/kjopp.2019.08.33.4.207>

Available online at <https://kmpath.jams.or.kr>

나타났다. 특히 치매 유형 중 가장 많은 비중을 차지하는 알츠하이머형 치매(Alzheimer's Dementia)는 2017년 전체 요양급여비용 중 가장 많은 부분을 차지했다²⁾.

경도인지장애 (Mild Cognitive Impairment: MCI)는 동일 연령대에 비해 인지기능이 떨어져 있지만 일상생활을 수행하는 능력은 보존되어 있는 상태이다. 2017년 65세 이상 노인인구 중 22.5%가 경도인지장애일 것으로 추산되었다³⁾. 경도인지장애는 정상에서 치매로 이행되는 중간단계라는 점에서 중요한 질환으로 다루어지고 있는데, 전체 알츠하이머형 치매 발병에서 경도인지장애에서 진행되는 경우가 정상에서 직접 발병하는 것에 비해 6-12배 높다는 연구가 있다⁴⁾.

현재까지 밝혀진 치매 발병기전은 염증 (inflammation), 세포 손상, 산화적 스트레스 (oxidative stress), 미토콘드리아 기능장애, 대뇌 글루코스 (glucose) 대사 관련 등⁵⁾으로 복잡적이다. 그러나 현재 사용되고 있는 약물들은 특정 경로를 목표로 하여 개발된 것이기에 복합적인 치매의 발병 기전에 효과적으로 대응하지 못하여 증상 완화 또는 지연 등 제한적인 약효만을 보이고 있다⁶⁾.

한약은 추출물 복합체로서, 단일 처방이라 하더라도 여러 경로에 동시에 작용하여 복합적인 효능을 나타낼 수 있으므로 새로운 치매 치료제의 가능성을 가지고 있다⁷⁾. 국내에서도 치매 관련 한의약 연구들이 다양하게 수행되고 있으며^{8,9)}, 한약을 사용한 치매에 대한 실험연구들에 대한 분석¹⁰⁾도 이루어졌다.

한약제제는 한약을 한방원리에 따라 배합하여 제조한 의약품¹¹⁾ 또는 한약의 분말 또는 엑스를 제제화한 한방제제 혹은 생약제제¹²⁾를 말한다. 복용과 휴대가 간편하며 특히 엑스과립제는 품질의 재현성이 있고 안전성이 높으며 안정성 및 용출성이 우수하다는 장점이 있다¹³⁾. 한약제제를 대상으로 한 연구는 시판 한약제제 제품들의 성분 함량이나 효능에 대한 비교 실험^{14,15)}, 전탕액과 시판 한약제제의 성분 및 효능 비교^{14,16)}가 수행되었고 특히 치매와 관련해서는 국민 건강보험 급여 처방 56종을 대상으로 주요 생리지표 및 신경세포 변화에 대한 효능을 비교한 연구¹⁷⁾가 수행된 바 있다.

한약제제가 기존 전탕액 형태에서 벗어나 한약 처방의 현대화, 대중화를 위한 결과물인 만금¹⁸⁾, 한약제제에 대한 연구와 활용이 한의학의 위상과 발전에 도움이 될 것이다. 그렇기에 새로운 약물의 개발만큼 기존 한약제제를 대상으로 인지장애 치료에 대한 효능을 확인하는 연구가 필요하다고 할 수 있다.

이에 저자들은 기허가 한약제제를 대상으로 치매와 경도인지장애를 포함한 인지장애 치료에 대한 유효성과 안전성을 확인하는 실험 및 임상연구를 계획 중이다. 본 연구는 그에 대한 선행연구로서, 항신경염증, 뇌세포 증식, ATP 생산 활성화 효능을 확인하는 세포실험과 전문가 추천방식을 통해 인지장애 치료에 효능을 보일 것으로 기대되는 후보 한약제제를 선정하는 과정을 수행하였기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

인지장애 관련 세포실험을 통해 유효성을 보이는 단미(單味)를 우선 선별하였다. 전문가 자문을 통해 우선 선정된 단미 중 임상예

서도 유효성이 높은 단미와 각 단미별 배합약의 조합을 선정하였고 검색을 통해 각 조합이 포함된 한약제제를 검색하여 인지장애 유효 가능성이 높은 후보 한약제제를 최종 도출하였다. 전체 연구 방법의 개요는 Fig. 1과 같다.

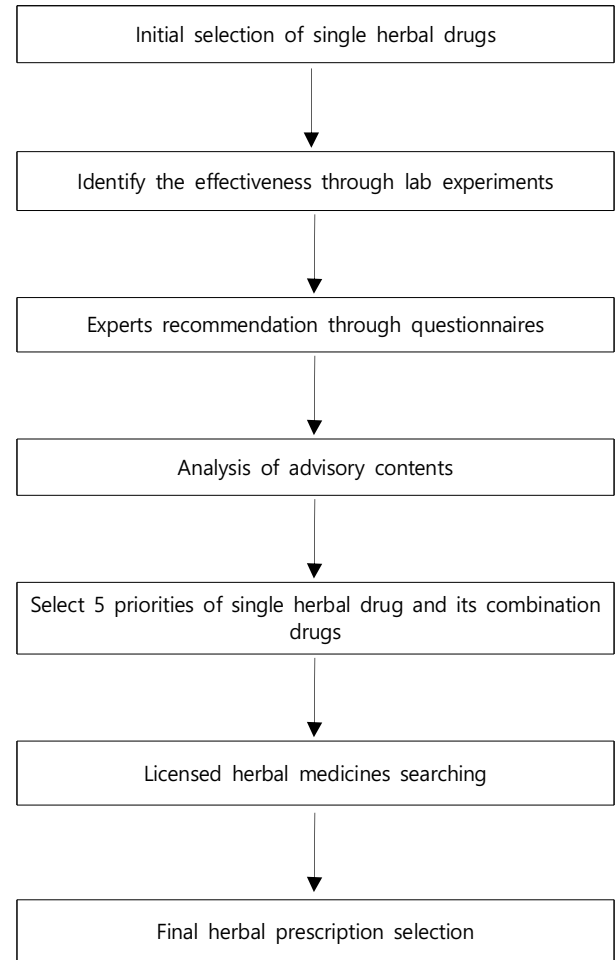


Fig. 1. Flow chart of the research process.

1. 분석 대상 단미 확보

한국식물추출물은행 (KPEB, Ochang, Korea)에서 분석에 사용할 단미 326종을 분양받았다. 한약처방을 사용한 치매 관련 실험은 문¹⁹⁾을 통하여 추가로 단미를 선정하였다. 추가로 선정한 감초, 단삼, 당귀, 맥문동, 반하, 백복신, 백출, 복령, 산수유, 산약, 산조인, 석창포, 숙지황, 원지, 인삼, 진피, 택사, 황기, 황련은 옴니허브 (Yeongchen, Korea)에서 구입하였다.

2. 세포실험을 통한 효능 확인

1) 항신경염증 효능 확인

(1) 재료 및 시약

세포 배양 배지 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), 우태아혈청 및 항생제는 HyClone (Logan, UT, USA)에서 구입하였다. 신경염증반응의 자극원 lipopolysaccharide (LPS, E.coli O55:B5)는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구

입하였고, 세포배양 dish 및 plate는 Sarstedt (Nümbrecht, Germany) 제품을 사용하였다. Cell counting kit은 Dojindo Molecular Technologies (Kumamoto, Japan) 제품을 사용하였다. 단미 추출물은 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 용해시켜 실험에 사용하였다.

(2) 단미 추출

단미 각 50 g에 70% 에탄올 200 mL를 넣고 heating mantle에서 환류 냉각하여 2시간 동안 3회에 걸쳐 추출하였다. 부흐너 깔때기에 filter paper를 깔고 감압하여 여과하고 감압농축기를 사용해 농축하였다.

(3) 세포 배양

마우스 유래의 소교세포 BV2는 경북대학교 (Daegu, Korea)에서 분양받았으며, 1%의 항생제 (100 U/mL 페니실린, 100 µg/mL 스트렙토마이신) 및 10%의 우태아혈청이 포함된 DMEM 배지를 사용해 5% CO₂, 37 °C의 세포 배양기에서 배양하였다.

(4) 세포 생존율 측정

세포 생존율은 CCK assay를 이용하여 측정하였다. BV2 세포를 5×10^5 cells/mL의 농도로 DMEM 배지에 고르게 부유시켜 96-well 배양판에 100 µL/well씩 분주하고 18시간동안 배양하여 부착시켰다. 배양 중인 BV2 세포에 각각의 단미 추출물을 100 µg/mL의 농도로 배지에 섞어 처리하였다. 24시간 배양 후, CCK 용액을 각 well당 10 µL씩 첨가하고, 추가로 1시간을 배양하였다. 450 nm 파장에서 분광광도계 (SpectraMax i3, Molecular Devices, San Jose, USA)로 흡광도를 측정하였다. 각각의 세포 생존율은 비처리 정상 세포의 흡광도 값과 비교하여 백분율 (%)로 표시하였다.

(5) 산화질소 (NO) 분비 분석

신경염증 반응의 유도 및 각 단미 추출물의 억제 활성을 평가하기 위해 griess assay를 진행하였다. BV2 세포를 5×10^5 cells/mL의 농도로 DMEM 배지에 고르게 부유시켜 96-well plate에 100 µL/well씩 분주하고 18시간동안 배양하여 부착시켰다. 배양 중인 BV2 세포에 각각의 단미 추출물을 100 µg/mL의 농도로 배지에 섞어 처리하고, 1시간 후 100 ng/mL LPS를 처리하여 신경염증 반응을 유도하였다. 24시간을 추가로 배양한 후 세포 배양판의 각 well에 세포 배양액과 동량 (100 µL)의 griess reagent를 첨가하였다. 상온에서 5분간 배양하고, 발색이 완료되면 분광광도계를 사용해 570 nm 파장에서 흡광도를 측정하여 산화질소 (NO)의 발현 혹은 억제 정도를 분석하였다.

(6) 통계 처리

기술통계량은 Mean±SEM으로 표기하였고 군간 유의성 검정은 One-way ANOVA로, 사후검정은 Dunnett's test로 수행하였다. $p < 0.001$ 인 경우 유의하다고 판단하였다.

2) 뇌세포 증식 효능 확인

(1) 재료 및 시약

세포 배양 배지 Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM), 우태아혈청 및 항생제는 HyClone (Logan, USA)에서 구입하였다. 세포배양 dish 및 plate는 Sarstedt (Nümbrecht, Germany) 제품을 사용하였다. Cell counting kit은 Dojindo Molecular Technologies (Kumamoto, Japan) 제품을 사용하였

다. 단미 추출물은 DMSO에 용해시켜 실험에 사용하였다.

(2) 단미 추출

단미 각 50 g에 70% 에탄올 200 mL를 넣고 heating mantle에서 환류 냉각하여 2시간 동안 3회에 걸쳐 추출하였다. 부흐너 깔때기에 filter paper를 깔고 감압하여 여과하고 감압농축기를 사용해 농축하였다.

(3) 세포 배양

마우스 유래의 신경줄기세포인 NE-4C는 American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, USA)로부터 구입하여 10% FBS, 1%의 항생제 (100 U/mL 페니실린, 100 µg/mL 스트렙토마이신) 및 2mM glutamine을 첨가한 EMEM을 배지를 사용해 35% CO₂, 37°C의 세포 배양기에서 배양하였다.

(4) 세포 생존율 측정

신경 생성을 확인하기 위해 CCK assay를 실시하였다. 96 well plate에 배양된 NE4C 세포에 각 단미를 50 µg/mL을 처리하여 18시간 배양한 후, CCK 용액을 각 well당 10 µL씩 첨가하여 37°C에서 반응시켰다. 1시간 후, 분광광도계 (SpectraMax i3, Molecular Devices, San Jose, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하고 대조군과의 비교를 통해 상대적인 세포 생존율을 계산하였다.

(5) 통계 처리

기술통계량은 Mean±SEM으로 표기하였고 군간 유의성 검정은 One-way ANOVA로, 사후검정은 Dunnett's test로 수행하였다. $p < 0.05$ 인 경우 유의하다고 판단하였다.

3) 피루브산 탈수소효소 (pyruvate dehydrogenase: PDH) 활성화 측정을 통한 ATP 생산 활성화 효능 확인

(1) 재료 및 시약

세포 배양 배지 DMEM 및 항생제는 HyClone (Logan, UT, USA)에서 구입하였다. 형광물질은 Alexa Fluor 488, Hoechst 33258 (Invitrogen, USA)을, 항체는 goat anti-rabbit Ab (Invitrogen, USA)를 사용하여 형광염색법을 이용하여 PDH 인산화를 측정하였다. 단미 추출물은 DMSO에 용해시켜 실험에 사용하였다.

(2) 단미 추출

단미 각 50 g에 70% 에탄올 200 mL를 넣고 heating mantle에서 환류 냉각하여 2시간 동안 3회에 걸쳐 추출하였다. 부흐너 깔때기에 filter paper를 깔고 감압하여 여과하고 감압농축기를 사용해 농축하였다.

(3) 세포 배양

AD293 세포는 Stratagene (USA)에서 구입하였고 1%의 항생제 (100 U/mL 페니실린, 100 µg/mL 스트렙토마이신)가 포함된 DMEM 배지를 사용해 5% CO₂, 37°C의 세포 배양기에서 배양하였다.

(4) PDH 활성 측정

PDH 활성을 측정하기 위하여 PDHE1a Ser300의 인산화 정도를 형광염색법으로 측정하였다. AD293 세포를 black 96-well plate에 24시간 배양한 후, 100 mg/ml 농도로 각각의 단미 추출물을 24시간 처리하였다. 세포들을 2% paraformaldehyde로 고정하였으며, Anti-PDHE1a (pSer300, Merck Millipore, AP1064)를

overnight으로 첨가하여 반응시켰다. PBS로 3회 수세한 후 Alexa Fluor 488, goat anti-rabbit Ab (Invitrogen, USA, A11008), Hoechst 33258 (Invitrogen, USA, H3569)으로 2시간 반응하였으며 PBS로 3번 수세한 후 형광현미경 Operetta (PerkinElmer, USA)기기를 사용하여 측정하였다. 양성대조군으로 5 mM dichloroacetate (DCA)를 사용하였으며, software package Harmony High-Content Imaging and Analysis Software 3.1 프로그램을 이용하여 정량화하였다.

(5) 통계 처리

기술통계량은 Mean±SEM으로 표기하였고 군간 유의성 검정은 One-way ANOVA로, 사후검정은 Dunnett's test로 수행하였다. $p < 0.05$ 인 경우 유의하다고 판단하였다.

3. 전문가 자문

세포실험을 통해 효능을 보인 단미를 우선 선별한 후, 전문가 자문을 실시하였다.

1) 설문지 작성

항신경염증 효능이 있는 단미 상위 25가지, 뇌세포 증식 효능이 있는 단미 상위 10가지, ATP 생산 활성화 효능이 있는 단미 상위 25가지를 제시하였다. 개별 단미의 구체적인 실험결과는 기술하지 않았고 효과크기 순서와는 무관하게 단미명의 가나다순으로 나열하였다. 이 중 임상에서 인지장애에 효과적인 단미(치료약)를 3가지 선택하도록 하였고, 선택한 각 단미별로 배합할 경우 효과를 배가할 수 있는 단미(배합약)를 제시된 전체 단미(중복을 제외하고 총 51가지) 중 1~2가지를 방제의 칠정배오(七情配伍) 이론 및 임상 경험에 근거하여 선택하도록 하였다.

2) 전문가 선정 및 설문지 배포

전국 한의과대학 한방신경정신과 교수 15인을 전문가로 선정하고 이메일을 통해 설문지를 배포하였다.

3) 자문내용 취합

설문지를 배포한 15인의 응답을 모두 확보하였다.

4) 자문내용 분석

각 단미별로 치료약의 추천 빈도를 파악하여 최종 추천 단미를 5순위까지 선정하였다. 각 치료약별로 배합약 추천 빈도를 파악하여 배합약을 1순위까지 선정하였다. 추천 빈도가 같을 때는 모두 선정하였다.

4. 최종약물 선정

기허가 한약제제를 대상으로 인지장애 치료에 효과적인 처방을 찾기 위해 식품의약품안전처 의약품통합정보시스템의 '의약품등 정보검색' (<https://nedrug.mfds.go.kr/searchDrug>)을 활용하였다. 선별된 치료약 1개와 배합약 1종의 조합을 포함하고 있는 한약제제를 모두 검색하고 치료약과 배합약 조합별로 검색된 한약제제를 정리하였다.

결 과

1. 세포실험에서의 인지장애 개선 효능 단미

1) 항신경염증 효능 단미

전체 단미를 대상으로 BV2 세포에 대한 독성을 평가하여 50 µg/mL에서 세포독성이 없는 것을 확인하였고 일부 결과를 표 2에 나타내었다(Fig. 2). 갈화, 고량강, 구맥, 권백, 당귀, 두충, 목향, 박하, 반하, 방풍, 백출, 산조인, 석창포, 어성초, 오약, 육계, 위릉채, 음양곽, 인삼, 조각자, 택란, 택사, 합환피, 향부자, 현지초가 BV2 세포에서 NO 농도를 유의하게 감소시켰고 특히 산조인, 택사, 오약, 합환피, 육계, 두충, 고량강 순으로 효과가 큰 것으로 나타났다(Fig. 3).

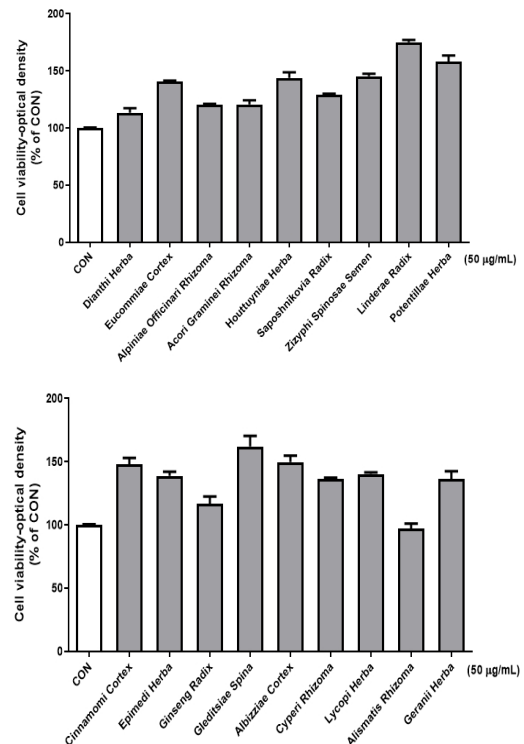
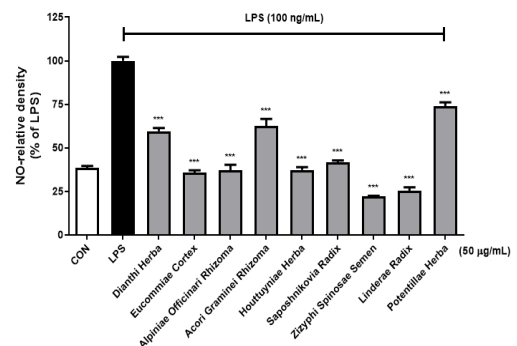


Fig. 2. Effect of single herbal drugs on BV2 cell viability. BV2 cells were evenly distributed in DMEM culture media at a concentration of 5×10^5 cells/mL. Then, put 100 µL/well each on a 96-well culture plate and incubated it for 18 hours to be attached. Each single herbal drug at a concentration of 100 µg/mL was mixed with it. After incubating for 24 hours, added 10 µL of CCK solution per well and incubated for an additional 1 hour. The absorbance was measured at 450 nm wavelength with a spectrophotometer. Data are mean ± SEM values. CON ; untreated cells.



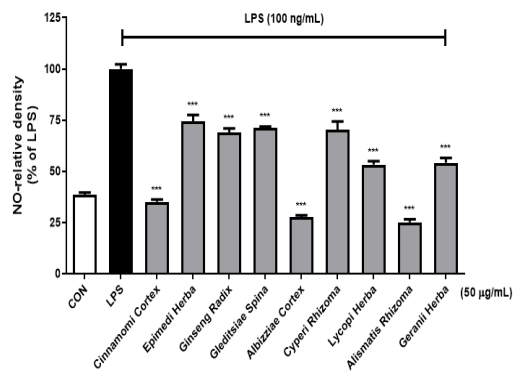


Fig. 3. Effect of single herbal drugs on level of nitric oxide (NO) secretion in BV2 cell. BV2 cells were evenly distributed in DMEM culture media at a concentration of 5×10^5 cells/mL. Then, put 100 µl/well each on a 96-well culture plate and incubated it for 18 hours to be attached. Each single herbal drug at a concentration of 100 µg/mL was mixed with it. After 1 hour, 100 ng/mL LPS was treated to induce neuroinflammatory reactions. After incubating for an additional 24 hours, added 100 µl of the griess reagent to each well. After incubating at room temperature for 5 minutes, the absorbance was measured at a wavelength of 570 nm using a spectrophotometer when the coloration was completed. Data are mean \pm SEM values. CON ; untreated cells. *** $p < 0.001$ vs LPS.

2) 뇌세포 증식 효능 단미

맥문동, 반하, 백복신, 산수유, 산약, 숙지황, 진피(陳皮), 인삼, 황기, 황련이 NE-4C 세포에서 상대적 세포 생존율을 유의하게 증가시킨 것으로 나타났다. 특히 산약, 황기, 인삼에서 효과가 큰 것으로 나타났다(Fig. 4).

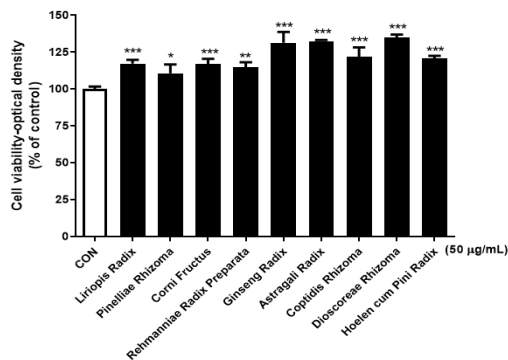


Fig. 4. Effect of single herbal drugs on NE-4C cell viability. 50 µg/mL of each single herbal drug was treated in NE-4C cells (neural stem cell) and incubated for 18 hours on a 96 well plate. Then, a CCK solution was added 10 µl per well to react at 37°C. After 1 hour, absorbance was measured at 450 nm using a spectrophotometer. Data are mean \pm SEM values. CON ; untreated cells. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs CON.

3) ATP 생산 활성화 효능 단미

귀견우, 대황, 목별자, 백작약, 복분자, 비파엽, 산사, 상지, 석곡, 선학초, 영릉향, 오약, 위릉채, 육계, 음양곽, 인진, 저근백피, 전호, 죽여, 진피(秦皮), 청호, 텍사, 향부자, 황련, 호장근이 AD293 세포에서 PDH 인산화 정도를 유의하게 감소시킴으로서 PDH 활성이 증가되어 있음을 확인할 수 있었으며 특히 죽여, 황련, 텍사에서 효과가 큰 것으로 나타났다(Fig. 5).

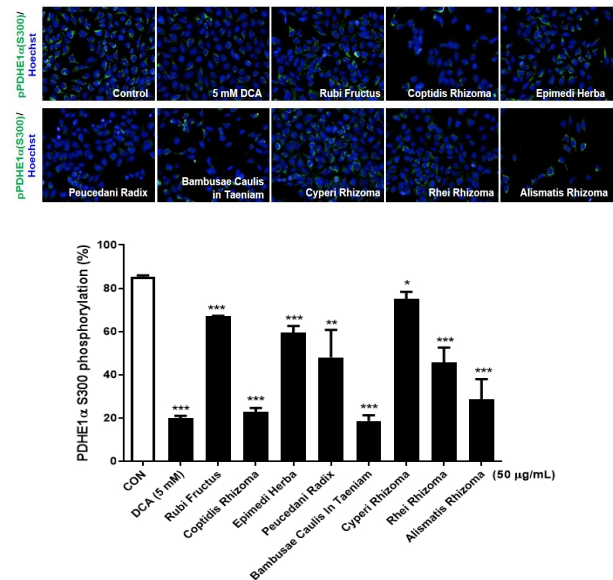


Fig. 5. Effect of single herbal drugs on PDH activity in AD293 cell. AD293 cells were incubated on the black 96-well plate for 24 hours and each single herbal drug at a concentration of 100 mg/ml was treated for 24 hours. Cells were fixed using 2% paraformaldehyde and the anti-PDHE1α (S300) was added to react overnight. After three washings with PBS, it was tested with Alexa Fluor 488, goat anti-rabbit Ab, and Hoechst 33258 for two hours. After three washings with PBS, it was measured using fluoroscopy. Blue represent nucleus and green represent phosphorylation of Ser300 residue of PDHE1α. Data are mean \pm SEM values. CON ; untreated cells. DCA ; dichloroacetate. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs CON.

2. 자문내용 분석

1) 단미별 치료약 추천

각 단미별로 치료약으로 추천된 빈도를 파악한 결과 인삼, 석창포, 향부자, 황련, 반하, 백복신, 숙지황이 가장 많이 추천되었으며 전체 치료약 추천 응답 133회 중 인삼은 16회 (12.0%), 석창포는 12회 (9.0%), 향부자는 11회 (8.3%), 황련은 10회 (7.5%), 반하, 백복신, 숙지황은 9회 (6.8%)로 나타났다(Table 1).

2) 추천 단미별 배합약 추천

추천된 치료약에 대한 배합약을 파악한 결과 인삼은 백복신과 진피(15.8%), 석창포는 백복신(25.0%), 향부자는 백복신(28.6%), 황련은 대황과 진피(18.2%), 반하는 진피(33.3%), 백복신은 석창포(40.0%), 숙지황은 산수유(20.0%)를 선택한 경우가 가장 많았다(Table 2).

3. 한약제제 선정

식물의약품안전처 의약품통합정보시스템의 '의약품등 정보검색' 결과, 선정된 7가지 단미와 각각의 배합약 1종의 조합을 가장 많이 포함하고 있는 한약제제는 팔보회춘탕(4조합)이었다. 다음은 안중조기환, 주자독서환, 태화환(각 3조합), 가미온담탕, 반하백출천마탕, 보심환, 보화환, 복령보심탕, 삼소음, 삼황지출환, 육군자탕, 인삼안중단, 자보양영환, 청심보혈탕, 향사육군자탕(각 2조합) 순이었다. 이외 가감위령탕, 건비환, 공진단, 광황정기산, 궁하탕, 내소산, 도담탕, 백출탕, 보생탕, 보중익기탕, 보허탕, 복령음, 불환금정기산, 삼황사심탕, 역간산가진피반하, 오적산, 육미지황탕, 이진탕, 팔미환, 행소탕(각 1조합) 등이 검색되었다(Table 3).

Table 1. Single Herbal Drugs that Showed Effectiveness in the Lab Experiments and Recommended Frequency by Experts as a Treatment Drug

Ginseng Radix (人蔘)	16
Acori Graminei Rhizoma (石菖蒲)	12
Cyperi Rhizoma (香附子)	11
Coptidis Rhizoma (黃連)	10
Pinelliae Rhizoma (半夏)	9
Hoelen cum Pini Radix (白茯苓)	9
Rehmanniae Radix Preparata (熟地黃)	9
Angelicae Gigantis Radix (當歸)	6
Bambusae Caulis In Taeniam (竹茹)	5
Rhei Rhizoma (大黃)	4
Paeoniae Radix Alba (白芍藥)	4
Epimedi Herba (淫羊藿)	4
Rubi Fructus (覆盆子)	3
Corni Fructus (山茱萸)	3
Dendrobii Herba (石斛)	3
Astragali Radix (黃耆)	3
Liriopsis Radix (麥門冬)	2
Helenii Radix (木香)	2
Crataegii Fructus (山楂)	2
Dioscoreae Rhizoma (山藥)	2
Linderae Radix (烏藥)	2
Fraxini Cortex (桑皮)	2
Eucommiae Cortex (杜仲)	1
Atractylodis Rhizoma Alba (白朮)	1
Eriobotryae Folium (枇杷葉)	1
Agrimoniae Herba (仙鶴草)	1
Gleditsiae Spina (皂角子)	1
Citri Pericarpium (陳皮)	1
Artemisiae Apiaceae Herba (青蒿)	1
Alismatis Rhizoma (澤瀉)	1
Albiziae Cortex (合歡皮)	1
Geranii Herba (玄之草)	1
Puerariae Flos (葛花)	0
Alpiniae Officinarum Rhizoma (高良薑)	0
Dianthi Herba (瞿麥)	0
Selaginellae Herba (卷柏)	0
Euonymi Caulis Suberatum (鬼箭羽)	0
Momordicae Semen (木鱉子)	0
Menthae Herba (薄荷)	0
Saposhnikovia Radix (防風)	0
Zizyphi Spinosae Semen (酸棗仁)	0
Mori Ramulus (桑枝)	0
Houttuyniae Herba (魚腥草)	0
Lysimachiae Foeni-graeci Herba (寧陵香)	0
Potentillae Chinensis Herba (萎陵菜)	0
Cinnamomi Cortex Spissus (肉桂)	0
Artemisiae Capillaris Herba (茵陳)	0
Ailanthi Radicis Cortex (樺根白皮)	0
Peucedani Radix (前胡)	0
Lycopi Herba (澤蘭)	0
Polygoni Cuspidati Radix (虎杖根)	0
Frequency sum	133

Table 2. Recommended Frequency of Combination Drug for Each Recommended Drug

Recommended drug	Combination drugs	Frequency	Frequency sum
Ginseng Radix (人蔘)	Hoelen cum Pini Radix (白茯苓)	3	19
	Citri Pericarpium (陳皮)	3	
	Liriopsis Radix (麥門冬)	2	
	Atractylodis Rhizoma Alba (白朮)	2	
	Rehmanniae Radix Preparata (熟地黃)	2	
	Astragali Radix (黃耆)	2	
	Menthae Herba (薄荷)	1	
	Pinelliae Rhizoma (半夏)	1	
	Saposhnikovia Radix (防風)	1	
	Epimedi Herba (淫羊藿)	1	
	Bambusae Caulis In Taeniam (竹茹)	1	
Acori Graminei Rhizoma (石菖蒲)	Hoelen cum Pini Radix (白茯苓)	4	16
	Zizyphi Spinosae Semen (酸棗仁)	2	
	Ginseng Radix (人蔘)	2	
	Angelicae Gigantis Radix (當歸)	1	
	Helenii Radix (木香)	1	
	Menthae Herba (薄荷)	1	
	Pinelliae Rhizoma (半夏)	1	
	Houttuyniae Herba (魚腥草)	1	
	Epimedi Herba (淫羊藿)	1	
	Cyperi Rhizoma (香附子)	1	
	Geranii Herba (玄之草)	1	
Cyperi Rhizoma (香附子)	Hoelen cum Pini Radix (白茯苓)	4	14
	Citri Pericarpium (陳皮)	2	
	Coptidis Rhizoma (黃連)	2	
	Paeoniae Radix Alba (白芍藥)	1	
	Zizyphi Spinosae Semen (酸棗仁)	1	
	Rehmanniae Radix Preparata (熟地黃)	1	
	Epimedi Herba (淫羊藿)	1	
	Bambusae Caulis In Taeniam (竹茹)	1	
	Alismatis Rhizoma (澤瀉)	1	
	Rhei Rhizoma (大黃)	2	
	Citri Pericarpium (陳皮)	2	
Coptidis Rhizoma (黃連)	Angelicae Gigantis Radix (當歸)	1	11
	Pinelliae Rhizoma (半夏)	1	
	Hoelen cum Pini Radix (白茯苓)	1	
	Rehmanniae Radix Preparata (熟地黃)	1	
	Acori Graminei Rhizoma (石菖蒲)	1	
	Bambusae Caulis In Taeniam (竹茹)	1	
	Cyperi Rhizoma (香附子)	1	
	Citri Pericarpium (陳皮)	4	
	Atractylodis Rhizoma Alba (白朮)	3	
	Angelicae Gigantis Radix (當歸)	2	
	Acori Graminei Rhizoma (石菖蒲)	2	
Pinelliae Rhizoma (半夏)	Hoelen cum Pini Radix (白茯苓)	1	12
	Acori Graminei Rhizoma (石菖蒲)	4	
	Zizyphi Spinosae Semen (酸棗仁)	2	
	Helenii Radix (木香)	1	
	Rehmanniae Radix Preparata (熟地黃)	1	
	Ginseng Radix (人蔘)	1	
	Astragali Radix (黃耆)	1	
	Corni Fructus (山茱萸)	3	
	Hoelen cum Pini Radix (白茯苓)	2	
	Dioscoreae Rhizoma (山藥)	2	
	Angelicae Gigantis Radix (當歸)	1	
Hoelen cum Pini Radix (白茯苓)	Liriopsis Radix (麥門冬)	1	10
	Helenii Radix (木香)	1	
	Rehmanniae Radix Preparata (熟地黃)	1	
	Ginseng Radix (人蔘)	1	
	Astragali Radix (黃耆)	1	
	Corni Fructus (山茱萸)	3	
	Hoelen cum Pini Radix (白茯苓)	2	
	Dioscoreae Rhizoma (山藥)	2	
	Angelicae Gigantis Radix (當歸)	1	
	Liriopsis Radix (麥門冬)	1	
	Helenii Radix (木香)	1	
Rehmanniae Radix Preparata (熟地黃)	Paeoniae Radix Alba (白芍藥)	1	15
	Acori Graminei Rhizoma (石菖蒲)	1	
	Ginseng Radix (人蔘)	1	
	Citri Pericarpium (陳皮)	1	
	Alismatis Rhizoma (澤瀉)	1	
	Corni Fructus (山茱萸)	3	
	Hoelen cum Pini Radix (白茯苓)	2	
	Dioscoreae Rhizoma (山藥)	2	
	Angelicae Gigantis Radix (當歸)	1	
	Liriopsis Radix (麥門冬)	1	
	Helenii Radix (木香)	1	

Table 3. Ranking of Recommended Drug, Each Combination Drug with it, and Herbal Prescriptions Including a Combination of Both

Ranking	Recommended drug (A)	Combination drug with A (B)	Herbal Prescriptions including A and B
1	Ginseng Radix (人蔘)	Hoelen cum Pini Radix (白茯苓)	Gwangdongjangwon-jeong Boshim-hwan (Buxin-wan) (補心丸) Jujadokseo-hwan (Zhuzidushu-wan) (朱子讀書丸) Cheongsimbohyeol-tang (Qingxinbuxue-tang) (清心補血湯) Palbohoichoon-tang (Babaohuichun-tang) (八寶迴春湯)

			Gamiondam-tang (Jiaweiwendan-tang) (加味溫膽湯) Gest-hwan Banhabaekchulcheonma-tang (Banxiabaizhutianma-tang) (半夏白朮天麻湯) Bosaeng-tang (Baosheng-tang) (保生湯) Bojungikgi-tang (Buzhongyiqi-tang) (補中益氣湯) Boheo-tang (Buxu-tang) (補虛湯) Bongnyeongbosim-tang (Fulingbuxin-tang) (茯苓補心湯) Bongnyeong-eum (Fuling-yin) (茯苓飲) Samgi-tang (Shenqi-tang) (參耆湯) Samso-eum (Shensu-yin) (參蘇飲) Samchulgeonbi-tang (Shenshujianpi-tang) (參朮健脾湯) Sopung-san (Xiaofeng-san) (消風散) Anche-hwan Yukgunja-tang (Liu junzi-tang) (六君子湯) Igwiseungyang-tang (Yiweishengyang-tang) (益胃升陽湯) Insamanjung-dan Insamnyangyeong-tang (Renshenyangrong-tang) (人參養榮湯) Jaboyangyeong-hwan (Zibuyangrong-wan) (滋補養榮丸) Jujadokseo-hwan (Zhuzidushu-wan) (朱子讀書丸) Cheongseoikgi-tang (Qingshuyiqi-tang) (清暑益氣湯) Cheongsimbohyeol-tang (Qingxinbuxue-tang) (清心補血湯) Tangnisodog-eum (Toulxiaodu-yin) (托裡消毒飲) Taehwa-hwan (Taihe-wan) (太和丸) Palmulgunja-tang (Bawujunzi-tang) (八物君子湯) Palbohoichoon-tang (Babaohuichun-tang) (八寶迴春湯) Hyangsayukgunja-tang (Xiangshaliujunzi-tang) (香砂六君子湯)
2	Acori Graminei Rhizoma (石菖蒲)	Hoelen cum Pini Radix (白茯苓)	Gwangdongjiangwon-jeong Boshim-hwan (Buxin-wan) (補心丸) Jujadokseo-hwan (Zhuzidushu-wan) (朱子讀書丸)
3	Cyperi Rhizoma (香附子)	Hoelen cum Pini Radix (白茯苓)	Anjungjogi-hwan (Anzhongtiaqi-wan) (安中調氣丸) Palbohoichoon-tang (Babaohuichun-tang) (八寶迴春湯)
		Rhei Rhizoma (大黃)	Geopungjibo-dan (Qufengzhibao-dan) (祛風至寶丹) Samhwangsasim-tang (Sanhuangxiexin-tang) (三黃瀉心湯) Samhwangjichul-hwan (Sanhuangzhishu-wan) (三黃枳朮丸) Sunheung-hwan
4	Coptidis Rhizoma (黃連)	Citri Pericarpium (陳皮)	Gamiyeongsin-hwan (加味寧神丸) Gest-hwan Bohwa-hwan (Baohewan) (保和丸) Samhwangjichul-hwan (Sanhuangzhishu-wan) (三黃枳朮丸) Anjungjogi-hwan (Anzhongtiaqi-wan) (安中調氣丸) Anjung-hwan Anche-hwan Insamanjung-dan Jangjeongso Q-hwan Jeonglo-hwan Taehwa-hwan (Taihe-wan) (太和丸) Hanbo-hwan
5	Pinelliae Rhizoma (半夏)	Citri Pericarpium (陳皮)	Gamiondam-tang (Jiaweiwendan-tang) (加味溫膽湯) Gagamwiryong-tang (Jiajianweiling-tang) (加減胃苓湯) Geonbi-hwan (Jianpi-wan) (健脾丸) Gwakyangjeonggi-san (Huoxiangzhengqi-san) (藿香正氣散) Gunggha-tang (Qiongxia-tang) (芎夏湯) Naeso-san (Neixiao-san) (內消散) Dodam-tang (Daotan-tang) (導痰湯) Dipenko S-soft extract Banhabaekchulcheonma-tang (Banxiabaizhutianma-tang) (半夏白朮天麻湯) Baekchul-tang (Baishu-tang) (白朮湯) Bohwa-hwan (Baohewan) (保和丸) Bongnyeongbosim-tang (Fulingbuxin-tang) (茯苓補心湯) Bunsimgi-eum (Fenxingqi-yin) (分心氣飲) Bulhwangeumjeonggi-san (Buhuanjinzhengqi-san) (不換金正氣散) Samduhaejeong-tang Samso-eum (Shensu-yin) (參蘇飲) Ssangkung-tang (Shuangjin-tang) (雙金湯) Sogam-soft extract Sinbikol Anjungjogi-hwan (安中調氣丸) Ekgan-sangajinpihanha (Yigan-sanjiachenpibanxia) (抑肝散加陳皮半夏) Oyaksungisangadodam-tang (Wuyaoshunqisanjiadaotan-tang) (烏藥順氣散加導痰湯) Ojeok-san (Wuji-san) (五積散) Yukgunja-tang (Liu junzi-tang) (六君子湯) Ijin-tang (Erchen-tang) (二陳湯) Chejeung-hwan Taehwa-hwan (Taihe-wan) (太和丸) Palbohoichoon-tang (Babaohuichun-tang) (八寶迴春湯) Haengso-tang (Xingsu-tang) (杏蘇湯) Hyangsayukgunja-tang (Xiangshaliujunzi-tang) (香砂六君子湯)
	Hoelen cum Pini Radix (白茯苓)	Acori Graminei Rhizoma (石菖蒲)	Gwangdongjiangwon-jeong Boshim-hwan (Buxin-wan) (補心丸) Jujadokseo-hwan (Zhuzidushu-wan) (朱子讀書丸)

Rehmanniae Radix Preparata (熟地黄)

Corni Fructus (山茱萸)

Gagapalmi-hwan (Jiajianbawei-wan) (加減八味丸)
 Gamisingi-hwan (shenqi-wan) (加味腎氣丸)
 Gongjin-dan (Gongchen-dan) (拱辰丹)
 Dokwaljihwang-tang (Duhuodihuang-tang) (獨活地黃湯)
 Buikjihwang-hwan (Fuyidihuang-wan) (附翼地黃丸)
 Sukjiwhanggosam-tang (Shudihuangkushen-tang) (熟地黃苦蔘湯)
 Sibimijihwang-tang (Shierweidihuang-tang) (十二味地黃湯)
 Yeollyeonggobon-dan (Yanlingguben-dan) (延齡固本丹)
 Yungmijihwang-tang (Liuweidihuang-tang) (六味地黃湯)
 Jaboyangyeong-hwan (Zibuyangrong-wan) (滋補養榮丸)
 Jeungikgiwiyong-hwan (Zengyiguirong-wan) (增益歸茸丸)
 Cheongsangboha-hwan (Qingshangbuxia-wan) (清上補下丸)
 Palmijihwang-hwan (Baweidihuang-wan) (八味地黃丸)
 Palmi-hwan (Bawei-wan) (八味丸)
 Hyeongbangjihwang-tang (Jingfangdihuang-tang) (荊防地黃湯)
 Hwanso-dan (haishao-dan) (還少丹)

고 찰

치매는 후천적 뇌질환에 의해 기억력, 언어능력, 지남력, 판단력 및 수행능력 등의 기능이 저하됨으로써 일상생활에 지장을 초래하는 질환이다²⁰⁾. 최근 급속한 노인 인구의 증가와 함께 노화 관련 질환도 증가하고 있으며 그 중 치매 노인 외래환자 연평균 증가율이 가장 높은 것으로 나타났다²¹⁾. 이에 따라 치매 치료에 대한 수요가 점차 증가하고 있는 추세이나 아직까지 치매의 원인에 대해서 명확히 밝혀지지 않았기에 증상 완화 또는 지연 효과가 있는 약물만 있을 뿐 완치시키는 약은 개발되지 못하였다⁶⁾. 치매의 발병기전은 염증, 세포손상, 산화적 스트레스, 미토콘드리아 기능장애, 대뇌 글루코스 대사 등⁵⁾으로 복합적이나 현재 알츠하이머형 치매에 사용되는 약물의 대부분은 아세틸콜린 분해효소 억제제 (Acetylcholinesterase Inhibitors)로서²²⁾ 아세틸콜린 분해효소라는 한 가지 표적에 대해 작용한다. 그렇기 때문에 복합적인 치매의 기전에 효과적으로 대응하기에 그것의 역할은 제한적이며, 이러한 점이 단일성분을 이용한 다른 새로운 치매치료제 개발에 있어서도 어려운 점으로 꼽히고 있다²³⁾.

한의학에서는 치매에서 나타나는 기억력 저하, 인지력 감퇴, 정서 및 행동 문제, 인격 변화 등의 임상증상을 치매(痴呆), 매병(呆病), 건망(健忘), 전광(癲狂), 허로(虛勞) 등의 범주에서 다루고 있으며²⁴⁾, 한의 임상에서는 치매와 경도인지장애의 치료를 위해 침 치료와 함께 한약 처방을 주된 치료방법으로 삼고 있다²⁵⁾.

한약은 추출물 복합체이고 한약치료의 기본 원리는 생체 기능의 조절이기 때문에 단일 처방 안에서도 복합적인 효능을 이끌어낼 수 있다²⁶⁾. 기존의 단일 화합물로 단일 표적에 작용하는 원리로는 치매의 복합적인 기전에 효율적으로 대응하기 어렵다. 그러나 한약은 개별 단미의 효과 뿐 아니라 여러 단미의 상승효과를 통해 다양한 표적에 동시 작용할 수 있으므로⁷⁾ 치매의 복합적인 기전에 대해 효과적으로 대응하는 새로운 치매 치료제로의 대안이 될 수 있다고 판단된다.

본 연구팀은 한약의 치매 치료제로서의 가능성에 주목하고 치매와 경도인지장애를 포함한 인지장애 치료에 유효한 한약을 탐색하는 실험연구와 임상연구를 계획 중이다. 본 연구는 그에 대한 선행연구로서 인지장애 치료에 효능을 보일 것으로 기대되는 후보한약을 선정하는 과정을 수행하였다. 특히 한약 처방의 현대화, 대중화를 위한 결과물인¹⁸⁾ 한약제제를 대상으로 해당 연구를 수행한다

면 한의학의 위상을 높이고 발전에 기여하며 신약 개발 대비 비용과 시간을 절감할 수 있을 것이라 판단하고 기허가 한약제제 중에서 탐색하고자 하였다.

개별 단미로부터 인지장애 치료에 효과가 있는 것을 선별하고 자 약 345종의 단미를 대상으로 세포실험을 수행하였다. 각 단미 중 항신경염증 효능, 뇌세포 증식 효능, ATP 생산 활성화 효능이 있는 것을 선별하고, 그것을 대상으로 전문가 자문을 통해 임상적으로도 유효성이 높은 단미와 각 단미별 배합약을 파악하였다. 이후 선정된 치료약과 배합약의 조합을 포함하는 기허가 한약제제를 검색하여 인지장애에 유효할 가능성이 높은 후보 한약제제를 최종 도출하였다.

치매를 포함한 퇴행성 뇌질환에서의 뇌 손상은 염증반응을 유도하며, 이 과정에서 미세아교세포(microglia)의 활성화가 나타난다. 활성화된 미세아교세포는 NO를 비롯한 염증 매개 물질의 분비를 촉진하게 된다²⁷⁾. BV2 미세아교세포에서 각 약재의 세포독성을 평가하여 50 µg/mL에서 독성이 나타나지 않는다는 것을 확인하였다(Fig. 2). 50 µg/mL로 약재 추출물을 처리하고 신경염증반응을 유발하는 LPS (100 ng/mL)를 처리하여 NO 생성량을 비교 측정하였다. 그 결과 구맥, 두충, 고량강, 석창포, 어청초, 방풍, 산조인, 오약, 위릉채, 육계, 음양곽, 인삼, 조각자, 합환피, 향부자, 택란, 택사, 현지초가 NO의 생성을 유의하게 감소시킨 것으로 나타났으며 특히 산조인, 택사, 오약, 합환피, 육계, 두충, 고량강이 효과적이었(Fig. 3).

나이가 들어감에 따라 노화가 발생하면서 대뇌의 신경세포 수는 점차 감소하고 기능도 떨어지게 된다. 특히 시냅스와 해마에서 신경세포의 사멸(apoptosis)과 시냅스의 손실(loss of synapse)로 인해 치매가 발생한다고 알려져 있다²⁸⁾. 그러나 신경세포의 재생능력은 극히 낮다는 사실로 인해 파괴된 신경세포를 재생시키고 보호하여 뇌세포의 활동을 촉진시키고 인지기능을 회복시키는 물질의 개발이 요구되어 왔다²⁹⁾. 저자들은 신경줄기세포를 이용하여 신경세포 증식에 효과가 있는 단미를 찾고자 하였다. NE-4C 신경줄기세포에 50 µg/mL 약재 추출물을 처리하고 세포생존율을 측정한 결과 맥문동, 반하, 산수유, 숙지황, 인삼, 황기, 황련, 산약, 백복신에서 유의한 증가를 보였다(Fig. 4).

최근 보고들에 의하면 산화적 스트레스, 저산소증, 염증 및 인슐린 저항성 (insulin resistance) 등으로 인한 ATP 생산 저하가 신경세포의 기능장애를 유발하고 베타 아밀로이드의 생산을 증가시

커 신경세포 사멸 및 알츠하이머형 치매를 일으킨다고 알려져 있다³⁰⁾. 특히 ATP 생산에 중요한 효소인 PDH의 경우 알츠하이머 동물 모델에서 활성이 억제되어 있음이 확인되었으며³¹⁾ 알츠하이머 치료 표적인 GSK3 β 에 의해 PDH가 인산화되어 활성이 억제되는 것이 보고된 바 있다³²⁾. 따라서 본 연구에서는 형광염색법을 통해 각 단미의 PDH 인산화 억제 여부를 확인하였다. 그 결과 복분자, 황련, 음양곽, 전호, 죽여, 향부자, 대황, 택사에서 PDH 인산화 정도가 유의하게 감소하여 PDH의 활성을 증가시키는 것으로 나타났으며 특히 죽여, 황련, 택사에서 매우 효과적이었다(Fig. 5).

이상의 결과를 통해 우선 선별된 단미를 대상으로 실험적 의미 뿐 아니라 실제 임상에서의 활용 정도에 대해 확인하고자 15인의 한방신경정신과 교수를 대상으로 자문을 실시하였다. 응답을 분석한 결과 인지장애 치료에 추천되는 상위 단미는 인삼, 석창포, 향부자, 황련, 반하, 백복신, 숙지황 순인 것으로 나타났다(Table 1).

인삼(人蔘)은 대보원기(大補元氣) 고탈생진(固脫生津), 안신익지(安神益智)하는 효능이 있어 당귀(當歸), 원지(遠志) 등과 함께 배합하여 건망정충(健忘怔忡)을 치료한다³³⁾. 실험적으로는 신경세포의 사멸 및 시냅스 손상과 같은 퇴행성 신경 손상에 대해 가소성을 증가시키고 산화스트레스의 경로를 억제하여 미토콘드리아의 손상으로부터 보호하는 효과에 대한 연구가 보고되었다³⁴⁾.

석창포(石菖蒲)는 화담개규(化痰開竅)하는 효능이 있어 담(痰)이 성하여 정신이 혼미해질 때 담을 제거하고 개규(開竅)시키는 작용을 하여 건망이롱(健忘耳聾), 신훈전간(神昏癲癇) 등에 사용한다. 해마의 콜린성 신경계 보호 작용이 있으며, 주요활성 물질인 아사론(asarone)이 산화 스트레스로부터 신경세포를 보호하는 효과가 있음이 관찰되었다^{35,36)}.

향부자(香附子)는 간위불화(肝胃不和), 기울불서(氣鬱不舒), 담음비만(痰飲肥滿) 등을 치료하여 치매의 다양한 원인 중 담음과 칠정상(七情傷)을 능히 다스릴 수 있다³⁷⁾. 또한 항콜린작용과 APP(amyloid precursor protein), PS(presenilin)-1, PS-2 발현에 대한 억제능력을 보였다는 보고가 있다³⁷⁾.

황련(黃連)은 청열조습(淸熱燥濕), 사화해독(瀉火解毒), 청심제번(淸心除煩)의 효능이 있으며 주요성분인 berberine은 항균, 항염증, 혈압강하 등의 작용이 우수하다³⁸⁾. 또한 LPS 처리 복강대식세포에서 iNOS, COX-2 및 TNF- α 의 생성저해³⁸⁾, 기억장애 개선효과³⁹⁾ 등이 보고되었다.

반하(半夏)는 화담지구(化痰止嘔), 소비산결(消痞散結)의 효능이 있어 담다천해(痰多喘咳), 담음현계(痰飲眩暈), 구토반위(嘔吐反胃), 흉완비민(胸脘痞悶) 등을 치료하며, 물 추출물에서 아세틸콜린 분해 효소 활성 억제⁴⁰⁾ 및 MAO-B 활성 억제⁴¹⁾ 효능이 있는 것으로 보고된 바 있다.

백복신(白茯神)은 영심(寧心), 이습(利濕), 건비(健脾), 익지(益智) 등의 효능이 있어 건망(健忘), 경간(驚癇), 소변불리(小便不利), 실면(失眠), 심허경계(心虛驚悸) 등의 병증에 사용된다. 아세틸콜린 분해효소의 억제 등을 통해 신경세포의 신호 전달을 촉진시키고 해마의 기능을 촉진시키는 것으로 보고되었다^{42,43)}.

숙지황(熟地黃)은 보혈자음(補血滋陰), 보정익수(補精益髓) 등의 효능이 있다⁴⁴⁾. 신경세포에 손상을 유발한 쥐에서 항산화 작용

및 해마의 신경세포 활성화와 신경성장인자(NGF) 발현 증가를 통해 학습능력과 기억능력을 향상시켰다는 보고가 있다^{45,46)}.

추천된 치료약에 대한 배합약은 치료약이 인삼인 경우 백복신과 진피가 가장 많았고, 석창포인 경우 백복신, 향부자인 경우에도 백복신, 황련인 경우 대황과 진피, 반하인 경우 진피, 백복신인 경우 석창포, 숙지황인 경우 산수유가 가장 많았다(Table 2).

다음으로 선정된 치료약과 각각의 배합약 1종의 조합이 하나라도 포함된 한약제제를 검색하기 위해 식품의약품안전처 의약품통합정보시스템 검색을 활용하였다. 가장 많은 치료약과 배합약 1종 조합을 포함하고 있는 한약제제는 팔보회춘탕으로 반하-진피, 인삼-백복신, 인삼-진피, 향부자-백복신 조합을 구성 단미로 가지고 있다. 두번째는 안중조기환, 주자독서환, 태화환이었고 다음으로 가미온담탕, 반하백출천마탕, 보심환, 보화환, 복령보심탕, 삼소음, 삼황지출환, 육군자탕, 인삼안중단, 자보양영환, 청심보혈탕, 향사육군자탕 등이 있었다. 그 외 가감위령탕, 건비환, 공진단, 곽향정기산, 궁하탕, 내소산, 도담탕, 반하백출천마탕, 백출탕, 보생탕, 보중익기탕, 보허탕, 복령음, 분심기음, 불환금정기산, 삼황사심탕, 역간산가진피반하, 오적산, 육미지황탕, 이진탕, 청서익기탕, 팔미환, 행소탕 등도 추천 치료약과 배합약 조합을 포함하고 있었다(Table 3).

이전에 수행된 건강보험 급여 한약 처방 56종 및 다빈도 한약 처방 50종을 대상으로 치매의 주요 생리지표 및 신경세포 변화에 대한 효능을 비교한 연구^{17,47)}에서는 유효한 처방으로 각각 황련해독탕, 천왕보심단, 맥문동탕, 가미소요산, 소시호탕, 삼소음, 청심연자음, 분심기음의 8종 및 당귀육향탕, 반하사심탕, 청위산, 황련해독탕, 반하백출천마탕, 자음강화탕, 청서익기탕, 회춘양격산, 도인승기탕, 삼황사심탕의 10종 처방을 제시한 바 있다. 이 중 삼소음, 분심기음, 반하백출천마탕, 청서익기탕, 삼황사심탕은 본 연구 결과에서 도출된 한약제제와 동일한 것으로, 일부 처방은 기존 연구와 일치하는 결과를 나타내었다.

이들 한약제제 중 질병관리본부 임상연구정보서비스 (Clinical Research Information Service, CRIS)에 이미 등록된 임상연구의 처방과 단미 개수가 많아 개별 단미의 특성이나 효능이 충분히 반영되기 어려운 처방을 제외하면 육군자탕, 삼황지출환 등이 향후 인지장애 대상 비임상, 임상연구에 활용 가능한 한약제제로 제시될 수 있다.

본 연구는 다음과 같은 제한점을 가지고 있다. 첫째, 인지장애 치료에 효과적인 후보 한약제제를 도출하는 방법으로서 실험연구의 결과를 바탕으로 한 전문가 추천방식을 사용하였는데, 이 방법의 과학성에 대한 검토가 이루어지지 못했다. 다만 새로운 후보 한약제제 도출방법의 초기 형태라는 데 의의가 있다고 할 수 있다. 둘째, 최종 전문가 추천과정에서 델파이방법, 명목집단기법 등 객관적 방법론을 따르지 못했다. 이는 본 연구가 전문가 추천을 통해 최종적인 한약제제를 선정하려는 것이 아니라 향후 연구의 기초자료를 얻기 위한 의도로 수행되었기 때문이다.

본 연구팀은 이상의 결과를 토대로 최종 선정된 한약제제를 이용하여 유효성 평가 동물실험 및 기전연구를 수행할 예정이다. 이를 통해 해당 제제의 유효성이 확인된다면 한약제제 적응증 추가 임상시험의 선행 자료로 활용할 수 있을 것이다. 또한 추후 인지장

에 치료에 있어 한약 처방 선택의 폭이 확대되고 나아가 인지장애 치료에 대한 비용 부담을 경감하는 데에도 도움이 될 것으로 기대된다.

결 론

기허가 한약제제를 대상으로 세포실험과 전문가 추천방식을 통해 치매와 경도인지장애를 포함한 인지장애 치료에 유효할 것으로 기대되는 후보 한약제제를 선정할 결과는 다음과 같다.

항신경염증 효능 세포실험을 통해 구맥, 두충, 고량강, 석창포, 어성초, 방풍, 산조인, 오약, 위릉채, 육계, 음양곽, 인삼, 조각자, 합환피, 향부자, 택란, 택사, 현지초의 BV2 미세아교세포에서의 NO 생성억제 효과를 확인하였다.

뇌세포 증식 효능 세포실험에서 맥문동, 반하, 산수유, 숙지황, 인삼, 황기, 황련, 산약, 백복신이 NE-4C 신경줄기세포의 생존률을 유의하게 증가시켰다.

PDH 활성화 측정 세포실험에서 복분자, 황련, 음양곽, 전호, 죽여, 향부자, 대황, 택사가 AD293 세포의 PDH 인산화 정도를 유의하게 억제함으로 PDH 활성화를 유의하게 증가시켰다.

인지장애 관련 세포실험에서 도출된 단미 중 전문가 자문을 통해 임상적 유효성이 있다고 추천된 단미는 인삼, 석창포, 향부자, 황련, 반하, 백복신, 숙지황 등이었다.

각각의 추천 단미에 대한 배합약은 인삼에서는 백복신과 진피, 석창포에서는 백복신, 향부자에서는 백복신, 황련에서는 대황과 진피, 반하에서는 진피, 백복신에서는 석창포, 숙지황에서는 산수유가 가장 많았다.

식품의약품안전처 의약품통합정보시스템 검색 결과 치료약과 배합약 1종의 조합을 포함한 한약제제는 팔보회춘탕, 안중조기환, 주자독서환, 태화환 등이었다.

이미 수행 중인 연구의 처방과 단미 개수로 인해 연구 제한이 있는 처방을 제외하면 향후 유효성 평가 및 기전연구와 임상연구에서 활용할 수 있는 한약제제는 육군자탕, 삼황지출환 등이다.

Acknowledgement

This work was supported by grants from the Traditional Korean Medicine R&D Project, Ministry of Health & Welfare, Republic of Korea (HB16C0044) and the Korea Institute of Oriental Medicine (KIOM), provided by the Ministry of Science and ICT, Republic of Korea (KSN1812160).

References

1. Ministry of Health and Welfare central dementia center, Status of dementia in Korea, 2016.
2. Jung MH. Analysis of trends in dementia medical care. Health Insurance Review & Assessment Service.

2018;12(4):78-85.

3. Central dementia center of Ministry of Health and Welfare, Korean Dementia Observatory, 2018.
4. Petersen RC et al, Mild Cognitive Impairment - Clinical Characterization and Outcome, *Neurology*, 1999;56(3):303-8.
5. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993;90:7915-22.
6. Raina P, Santaguida P, Ismaila A, Patterson C, Cowan D, Levine M, et al. Effectiveness of cholinesterase inhibitors and memantine for treating dementia: evidence review for a clinical practice guideline. *Ann Intern Med*. 2008;148(5):379-97.
7. Kim HG, Oh MS. Herbal medicines for the prevention and treatment of Alzheimer's diseases. *Current Pharm. Disign*. 2012;18(1):57-75.
8. Kwon YJ, Cho HY, Whang WW, Cho SH. A Systematic Review of Clinical Studies for Herbal Medicines of Dementia. *J. of Oriental Neuropsychiatry*. 2010;21(4):151-61.
9. Kim WY, Jeon WK, Heo EJ, Park SY, Han CH. Literature Review and suggestions: dementia clinical studies in Korean Oriental Medicine. *Korea J of Oriental Medicine*. 2011;17(2):39-46.
10. Jo HG, Kang HJ, Go YJ, et al., Tendency of Korean Herbal Medicine Prescriptions Used for Dementia in Korean Experimental Researches -Mainly about Domestic Dissertations for a Degree- *J Korean Med Rehab*. 2014;24(4):29-40.
11. Article 2 (6) of the pharmaceutical affairs law.
12. Korea Pharmaceutical Association. Herbal medicine KGMP training. Seoul: Seoul Corporation Korea Pharmaceutical Association. 1996.
13. Lee SI. Studies on the research and development of new dosage form of oriental medicine - Studies on preparation and evaluation of Lonicerae Caulis tablet. Research Report from Korea Institute of Oriental Medicine. 1998:42-95.
14. Jee EH, Kim HJ, Jeong SH, et al. Assessment of quality variance among commercial Hwang-Ryun-Hae-Dok-Tang by simultaneous analysis of characterizing compounds. *Kor. J. Pharmacogn*. 2010;41:161-5.
15. Kim DR, Kwak GS, Jeong SM, et al. Comparison of the antioxidative abilities of commercial gal geuntang. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr*. 2003;32:728-32.
16. Kim OS, Seo CS, Kim Y, et al. Comparative Study on Chemical Composition and Biological Activities of Samchulkunbi-tang Decoction and Commercial Herbal Medicine. *HERBAL FORMULA SCIENCE*. 2012;20(2):1-11.

17. Lim HS, Kim YJ, Kim YJ, Kim BY, Jeong SJ. Screening of 56 Herbal formulas covered by the National Health Insurance Service on Dementia-related Factors. *J Korean Med*. 2018;39(3):1-16.
18. Kim Y, Kim OS, Seo CS, et al. Comparison of the Ingredient Quantities and Biological Activities of Hwangryunhaedok-tang (Hwanglianjiedu-tang) Decoction and Commercial Extractive Granules. *Kor. J. Pharmacogn*. 2013;44(1):22-9.
19. Jo HG, Kang HJ, Go YJ, et al. Tendency of Korean Herbal Medicine Prescriptions Used for Dementia in Korean Experimental Researches - Mainly about Domestic Dissertations for a Degree -. *J Korean Med Rehab*. 2014;24(4):29-40.
20. Burns A1, Iliffe S. Dementia. *BMJ*. 2009;338:b75.
21. Prince M, Ali GC, Guerchet M, Prina AM, Albanese E, Wu YT. Recent global trends in the prevalence and incidence of dementia, and survival with dementia. *Alzheimers Res Ther*. 2016;8(1):23.
22. Cavalli A, Bolognesi ML, Minarini A. Multi-target-directed ligands to combat neurodegenerative diseases. *J Med Chem*. 2008;51:347-72.
23. Han SH. Novel pharmacotherapies for Alzheimer's disease. *J Korean Med Assoc*. 2009;52(11):1059-68.
24. The Korean Society of Oriental Neuropsychiatry Textbook Compilation Committee. *Oriental Neuropsychiatry* (3rd ed). Gyeonggi : Jipmoondang. 2016.
25. Seo YK, You DK, Kim H, et al. A Survey of the Recognition on the Practice Pattern, Diagnosis, and Treatment of Korean medicine of Dementia and Mild Cognitive Impairment. - Focusing on the Differences between Neuropsychiatrists of Korean Medicine and General Physicians - *J of Oriental Neuropsychiatry*. 2017;28(3):263-74.
26. Heo EJ, Kang JS, Kang HW, Jeon WK. Evaluation on the Quality of Research Field with Traditional Herbal Prescriptions for Dementia Therapy. *J of Oriental Neuropsychiatry*. 2012;23(1):93-114.
27. Liu B, Hong JS. Role of microglia in inflammation-mediated neurodegenerative diseases: mechanisms and strategies for therapeutic intervention. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003;304:1-7.
28. R Katzman and T Saitoh. Advances in Alzheimer's disease. *The FASEB Journal*. 1991;5(3):278-86.
29. Ryu BH, Kim SO. Effects of Methanol Extract of *Stachys sieoldii* MIQ on Acetylcholine Esterase and Monoamine Oxidase in Rat Brain. *Korean J. Food & Nutr*. 2004;17(4):347-55.
30. Uday Saxena. Bioenergetics breakdown in Alzheimer's disease: targets for new therapies. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol*. 2011;3(2):133-9.
31. Jia Yao, Ronald W. Irwin, Liqin Zhao, et al. Mitochondrial bioenergetic deficit precedes Alzheimer's pathology in female mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009;106(34):14670-5.
32. Minako H, Akihiko T, Kaori N, et al. Regulation of mitochondrial pyruvate dehydrogenase activity by tau protein kinase I/glycogen synthase kinase 3 β in brain. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996;93:2719-23.
33. The Textbook Compilation Committee of Herbalogy of Oriental Medical Schools in Nation. *Herbalogy*. Seoul:Younglim Publisher. 2016.
34. Zhao HF, Li Q, Li Y. Long-term ginsenoside administration prevents memory loss in aged female C57BL/6J mice by modulating the redox status and up-regulating the plasticity-related proteins in hippocampus. *Neuroscience* 2009;201(2):311-7.
35. Zhang H, Han T, Zhang L, Yu CH, Wan DG, Rahman K, et al. Effects of tenuifolin extracted from *radix polygalae* on learning and memory: a behavioral and biochemical study on aged and amnesic mice. *Phytomed* 2008;15(8):587-94.
36. Limón ID, Mendieta L, Díaz A, Chamorro G, Espinosa B, Zenteno E, et al. Neuroprotective effect of alpha-asarone on spatial memory and nitric oxide levels in rats injected with amyloid-beta. *Neurosci Lett* 2009;453(2):98-103.
37. Yun S, Jung I, Lee S. Effects of *Cyperus rotundus* (CPRT) on inhibition of impairment of learning and memory, and acetylcholinesterase in amnesia mice. *J. of oriental neuropsychiatry*. 2003;14(1):59-74.
38. Lee DU, Kang YJ, Park MK, Lee YS, Seo HG, Kim TS, et al. Effects of 13-alkyl-substituted berberine alkaloids on the expression of COX-II, TNF-alpha, iNOS, and IL-12 production in LPS-stimulated macrophages. *Life Science*. 2003;73:1401-12.
39. Wang X, Xing D, Wang W, Su H, Tao J, Du L. Pharmacokinetics of berberine in rat thalamus after intravenous administration of *Coptidis rhizoma* extract. *Am J Chin Med*. 2005;33:935-43.
40. Lee HC, Hwang SG, Lee YC, et al. Screening of the Acetylcholinesterase Inhibitors from Water Extracts of the Medicinal Plants. *J of Physiology & Pathology in Korean Medicine*. 2002;16(2):215-9.
41. Lee HC, Hwang SG, Kim DG, et al. Screening on Monoamine Oxidase B Inhibitor and Antioxidant Activity

- from the Water Extracts of Medicinal Plants. J of Physiology & Pathology in Korean Medicine. 2002;16(3):458-63.
42. Oh MH, Houghton PJ, Whang WK, Cho JH. Screening of Korean herbal medicines used to improve cognitive function for anti-cholinesterase activity. Phytomed 2004;11(6):544-8.
43. Chen W, An W, Chu J. Effect of water extract of Poria on cytosolic free calcium concentration in brain nerve cells of neonatal rats. Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi. 1998;18(5):293-5.
44. Shin MK, Clinical Herbalogy, Seoul:Younglim Publisher. 2000.
45. Cui Y, Yan ZH, Hou SL, Chang ZF. Intelligence enhancement of radix Rehmanniae praeparata and some comments on its research. Zhongguo Zhong Yao ZaZhi. 2002;27:404-6, 456.
46. Cui Y, Yan ZH, Hou SL, Chang ZF. Effect of radix Rehmanniae preparata on the expression of c-fos and NGF in hippocampi and learning and memory in rats with damaged thalamic arcuate nucleus. Zhong Yao Cai. 2004;27:589-92.
47. Lim HS, Kim Y, Kim OS, Jeong SJ. Screening of 50 Korean Herbal formulas with Inhibitory Effects on Acetylcholinesterase Activity and Amyloid- β Aggregation. Kor. J. Pharmacogn. 2016;47(3):287-94.