

## 네트워크 약리학을 기반으로 한 총명공진단(聰明供辰丹) 구성성분과 알츠하이머 타겟 유전자의 효능 및 작용기전 예측

권빛나<sup>1,2,a</sup>, 유수민<sup>1,2,a</sup>, 김동욱<sup>1,2</sup>, 오진영<sup>1,2</sup>, 장미경<sup>1</sup>, 박성주<sup>2,3</sup>, 배기상<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>원광대학교 한의과대학 약리학교실, <sup>2</sup>원광대학교 한방심신증후군연구센터, <sup>3</sup>원광대학교 한의과대학 본초학교실

### Network pharmacology-based prediction of efficacy and mechanism of Chongmyungongjin-dan acting on Alzheimer's disease

Bitna Kweon<sup>1,2,a</sup>, Sumin Ryu<sup>1,a</sup>, Dong-Uk Kim<sup>1,2</sup>, Jin-Young Oh<sup>1,2</sup>, Mi-Kyung Jang<sup>1</sup>  
Sung-Joo Park<sup>2,3</sup>, Gi-Sang Bae<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmacology, School of Korean Medicine, Wonkwang University

<sup>2</sup>Hanbang Cardio-Renal Syndrome Research Center, Wonkwang University

<sup>3</sup>Department of Herbology, School of Korean Medicine, Wonkwang University

**Objectives:** Network pharmacology is a method of constructing and analyzing a drug-compound-target network to predict potential efficacy and mechanisms related to drug targets. In that large-scale analysis can be performed in a short time, it is considered a suitable tool to explore the function and role of herbal medicine. Thus, we investigated the potential functions and pathways of Chongmyungongjin-dan (CMGJD) on Alzheimer's disease (AD) via network pharmacology analysis.

**Methods:** Using public databases and PubChem database, compounds of CMGJD and their target genes were collected. The putative target genes of CMGJD and known target genes of AD were compared and found the correlation. Then, the network was constructed using Cytoscape 3.9.1. and functional enrichment analysis was conducted based on the Gene Ontology (GO) Biological process and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) Pathways to predict the mechanisms.

**Results:** The result showed that total 104 compounds and 1157 related genes were gathered from CMGJD. The network consisted of 1157 nodes and 10034 edges. 859 genes were interacted with AD gene set, suggesting that the effects of CMGJD are closely related to AD. Target genes of CMGJD are considerably associated with various pathways including 'Positive regulation of chemokine production', 'Cellular response to toxic substance', 'Arachidonic acid metabolic process', 'PI3K-Akt signaling pathway', 'Metabolic pathways', 'IL-17 signaling pathway' and 'Neuroactive ligand-receptor interaction'.

**Conclusion:** Through a network pharmacological method, CMGJD was predicted to have high relevance with AD by regulating inflammation. This study could be used as a basis for effects of CMGJD on AD.

**Key Words** : Chongmyungongjin-dan (CMGJD), Alzheimer's disease (AD), network pharmacology, neuroinflammation

• Received : 12 April 2023      • Revised : 9 May 2023      • Accepted : 10 May 2023

• Correspondence to : Gi-Sang Bae

Department of Pharmacology, School of Korean Medicine, Wonkwang University,

460 Iksandae-ro, Iksan, 54538 Jeonbuk, South Korea

Tel : +82-63-850-6842, E-mail : baegs888@wku.ac.kr

<sup>a</sup> Equally contributed

## 서론

전통적으로 신약 개발은 one-compound, one-target 을 바탕으로 단일 타겟과 구체적으로 상호작용하는 약제를 식별하거나 설계하는 방향으로 진행되었다<sup>1)</sup>. 단일 타겟 치료법은 강력한 효능을 가지며 표적 외 부작용이 없기 때문에 안전하다고 여겨졌지만 비임상 단계에서 in vitro와 in vivo에서 나타나는 효능이 일관성이 없거나, 임상에서 그 치료 효과가 만족스럽지 못하고 때로는 부작용이 나타난다<sup>2)</sup>. 약물 개발에서 이러한 병목현상을 감안해 새롭게 주목받는 개념이 multi-compound, multi-target 이다<sup>3)</sup>. 다양한 성분들로 구성되어 있는 한약은 새로운 약물 개발 접근법과 핵심 개념을 같이 하며 주목받고 있다<sup>1)</sup>. 하지만 한약은 수천 년 동안 임상적 효능과 적은 독성을 증명했음에도 불구하고 다양한 활성 성분, 복잡한 분자 메커니즘 등으로 인해 기존의 연구 방식으로는 한약의 전체적인 효능을 이해하고 기전을 규명하기에 어려움이 있어 단일 약물과 달리 연구가 미흡하다<sup>1,4)</sup>. 따라서 분자 수준과 시스템적 관점에서 한약의 기능과 역할을 과학적으로 이해하는 것은 약물 개발에서 중요한 과제다<sup>3)</sup>.

이를 극복하기 위해 최근에는 기 구축 데이터베이스를 이용하여 구성성분과 타겟 유전자들 간의 네트워크를 구축해 한약의 효능과 기전을 예측하는 방법이 주목받고 있다<sup>5)</sup>. 네트워크 약리학(Network pharmacology)은 시스템 생물학을 기반으로 약물-성분-타겟 네트워크를 구성하여 분석해 약물의 타겟과 관련된 새로운 효능 및 기전을 분석하는 방식으로 신약 개발에서 효과적으로 활용된다<sup>6,7)</sup>. 특히 대단위 분석을 단시간에 수행할 수 있다는 점에서 복합성분으로 구성되어 다양한 타겟에 작용하는 한약의 기능 및 역할을 탐색하기에 적합한 도구로 여겨진다<sup>6,8)</sup>.

공진단(供辰丹)은 녹용(鹿茸), 당귀(當歸), 산수유(山茱萸), 사향(麝香)이 기본약물로 구성된 補陽補精, 補陽潤燥, 收澁開竅하는 효능을 가진 처방이지만 《方

藥合編》에 따르면 증세에 따라 약물을 가감하여 그 활용범위를 넓힐 수 있다고 하였다<sup>9,11)</sup>. 총명공진단(聰明供辰丹)은 공진단의 기본 구성에 기억력을 증진시키는 대표적 처방인 총명탕(聰明湯)계열의 약재인 석창포(石菖蒲), 복신(茯神), 원지(遠志)가 추가로 들어간 처방으로 임상에서는 수험생들의 집중력 향상 및 기력회복에 주로 쓰인다<sup>9,12)</sup>. 최근 공진단 및 총명탕 구성 약재들의 알츠하이머병(Alzheimer's disease) 개선 효능에 대한 연구가 증가하고 있다. 공진단이 알츠하이머형 치매 환자의 인지기능의 상승을 유발하였으며<sup>13)</sup>, 총명탕과 구성 약재인 원지, 석창포가 베타아밀로이드(beta-amyloid, A $\beta$ )로 인한 해마 신경세포의 세포사멸을 억제하여 알츠하이머형 치매를 감소시키고, 기억력을 개선시킨다는 것을 확인하였다<sup>12)</sup>. 이와 같이, 총명공진단을 이루는 약재들에 대한 효능, 성분 연구는 활발히 이루어지고 있는 반면, 약재들의 어떤 성분들이 복합적인 상호작용을 이루는지, 그 상호작용으로 인해서 총명공진단의 어떤 효능을 가지는지에 대한 활성연구는 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 네트워크 약리학을 이용하여 총명공진단을 이루는 약재들의 구성성분 - 타겟 유전자 네트워크를 형성하고, 총명단의 알츠하이머 증상 개선 효능과 잠재적인 작용기전을 예측하고자 하였다.

## 방법

### 1. 총명공진단 구성 약재의 성분 검색

총명공진단 네트워크를 구성하기 위하여, 총명공진단을 구성하는 약재들의 성분을 공공 데이터베이스를 통하여 수집하였다. 약재들의 성분은 전통의학 정보포털 OASIS(<https://oasis.kiom.re.kr/>)에 약재명을 검색한 후, 이화학 특성에 들어가 성분의 PubChem ID 수집하였다.

### 2. 총명공진단 구성 성분의 타겟 유전자 수집

수집된 복신(*Poria cocos* Wolf), 사향(*Moschus*), 원지(*Polygala tenuifolia* Willdenow), 석창포(*Acorus gramineus* Solander), 녹용(*Cervi Parvum Cornu*), 산수유(*Cornus officinalis* Siebold et Zuccarini), 당귀(*Angelica gigas* Nakai)의 성분 중, PubChem ID가 연동되어 있지 않은 것과, PubChem(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)에서 “Chemical-Genes Co-Occurrences in Literature”가 제공되지 않은 것들을 제외하고 성분별 타겟 유전자를 수집하였다. 총 수집된 타겟 유전자 중 중복을 제거하고 최종적으로 복신 163개, 사향 137개, 원지 306개, 석창포 200개, 녹용 204개, 산수유 488개, 당귀 551개로 정리하였다.

### 3. 네트워크 구성

총명공진단 구성 약재 네트워크는 각 약재들의 성분으로부터 유래되어 최종적으로 수집된 타겟 유전자를 기반으로 구성되었다. Cytoscape 3.9.1의 STRING 데이터베이스(<https://string-db.org/>)를 통하여 combination score 0.7 이상의 score (high confidence)로 네트워크를 생성하였다.

### 4. 알츠하이머 관련 유전자 네트워크 구축 및 총명공진단 네트워크와의 비교 분석

알츠하이머 관련 유전자 GeneCards(<https://www.genecards.org/>)데이터베이스로부터 수집하였다. 최종적으로 수집된 알츠하이머 관련 유전자는 12,828개였다. 총명공진단에 속하는 약재들과 알츠하이머와의 연관성을 확인하기 위하여 총명공진단 약재 네트워크 내 타겟 유전자와 알츠하이머 관련 유전자를 비교하여 중복되는 유전자를 확인하고 일치율을 계산하였다.

### 5. Functional enrichment 분석

총명공진단 약재들의 유래 구성성분과 그와 관련된 타겟 유전자들의 기능 확인 및 작용기전을 예측하기 위하여 functional enrichment analysis를 수행

하였다. Cytoscape 프로그램을 이용하여 ‘Homo sapiens’, ‘Highest confidence score > 0.7’로 설정하여 분석을 진행하였다. 사용된 데이터베이스는 the Gene Ontology (GO) biological process와 Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG)총 2가지를 사용하였다. 이 2가지를 활용한 분석은 False Discovery Rate (FDR) 값을 기준으로 유효 pathway를 설정하였다.

## 결과

### 1. 총명공진단 구성약재의 활성성분 및 타겟 유전자 검색 결과

OASIS 데이터베이스에서 총명공진단을 구성하는 약재들의 성분을 총 273개 수집하였다. PubChem ID가 없고 중복된 성분 그리고 타겟 유전자가 밝혀지지 않은 성분을 제거하고 성분-타겟 검색 결과 타겟 유전자와 연결되는 성분은 복신 13개, 사향 8개, 원지 18개, 석창포 3개, 녹용 8개, 산수유 24개, 당귀 29개로 총 103개로 나타났다(Table 1). 총명공진단 활성성분과 연관된 타겟 유전자는 1423개로 최종적으로 1157개가 검색되었다. 생성된 네트워크는 1157nodes와 10034edges를 포함하였다(Figure 1A).

### 2. 총명공진단 네트워크와 알츠하이머 타겟 유전자와의 연관성

GeneCards database에서 검색해 알츠하이머 관련 유전자 총 12,828개를 수집하였다. 총명공진단 구성 성분과 연관된 타겟 유전자와의 비교 분석을 통해 알츠하이머병과의 연관성을 확인하였다. 분석결과 총명공진단 활성성분 타겟 유전자 1157개와 알츠하이머 관련 유전자 12,828개와 교차되는 유전자는 총 859개였으며 총명공진단 네트워크와 알츠하이머 네트워크는 74.24%의 일치율을 나타냈고 일치하는 859개의 교차 유전자를 바탕으로 네트워크를 재구축하였다(Table 2, Figure 1B, C).

**Table 1.** List of the compounds from Chongmyunggongjin-dan with the Pubchem ID

Compound	Pubchem ID	Origin
Poricoic acid A	5471851	<i>P.cocos</i> Wolf
Poricoic acid B	5471852	<i>P.cocos</i> Wolf
Pachymic acid	5484385	<i>P.cocos</i> Wolf
Polyporenic acid C	9805290	<i>P.cocos</i> Wolf
Eburicoic acid	10004946	<i>P.cocos</i> Wolf
Tumulolic acid	12314446	<i>P.cocos</i> Wolf
Dehydrotumulolic acid	15225964	<i>P.cocos</i> Wolf
Dehydropachymic acid	15226717	<i>P.cocos</i> Wolf
Dehydroeburicoic acid	15250826	<i>P.cocos</i> Wolf
15R-hydroxydehydrotumulolic acid	16736459	<i>P.cocos</i> Wolf
Dehydrotrametenonic acid	44424826	<i>P.cocos</i> Wolf
Poricoic acid D	44424827	<i>P.cocos</i> Wolf
Poricoic acid C	56668247	<i>P.cocos</i> Wolf
Androsterone	5879	Moschus
Cholesterol	5997	Moschus
Cholestanol	6665	Moschus
5 $\beta$ -androstane-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol	134494	Moschus
Androstanedione	222865	Moschus
5 $\beta$ -androstane-3,17-dione	440114	Moschus
5 $\alpha$ -androstane-3 $\beta$ ,17 $\alpha$ -diol	446934	Moschus
5 $\alpha$ -cholestane	2723895	Moschus
2-methoxy-4-vinylphenol	332	<i>P.tenuifolia</i>
2-hydroxybenzoic acid	338	<i>P.tenuifolia</i>
Sucrose	5988	<i>P.tenuifolia</i> <i>A.gigas</i>
1-(3,4-dimethoxyphenyl)ethan-1-one	14328	<i>P.tenuifolia</i>
Propyl benzoate	16846	<i>P.tenuifolia</i>
Phenyl acetate	31229	<i>P.tenuifolia</i>
3,4-dimethoxycinnamic acid	717531	<i>P.tenuifolia</i>
3,4,5-trimethoxycinnamic acid	735755	<i>P.tenuifolia</i>
Gentisin	5281636	<i>P.tenuifolia</i>
Mangiferin	5281647	<i>P.tenuifolia</i>
Sibiricose A6	6326021	<i>P.tenuifolia</i>
Tenuifoliside B	10055215	<i>P.tenuifolia</i>
Onjisaponin F	10701737	<i>P.tenuifolia</i>
Polygalaxanthone III	11169063	<i>P.tenuifolia</i>
3,6'-di-O-sinapoyl sucrose	11968389	<i>P.tenuifolia</i>
Tenuifoliside C	11968391	<i>P.tenuifolia</i>
Senegin III	21669942	<i>P.tenuifolia</i>
Tenuifoliside A	46933844	<i>P.tenuifolia</i>
$\beta$ -asarone	5281758	<i>A.gramineus</i>
$\alpha$ -asarone	636822	<i>A.gramineus</i>
Eugenol	3314	<i>A.gramineus</i>
p-hydroxybenzaldehyde	126	Cervi Parvum cornu
Uracil	1174	Cervi Parvum cornu
Progesterone	5994	Cervi Parvum cornu
Testosterone	6013	Cervi Parvum cornu
Uridine	6029	Cervi Parvum cornu
3'-cytidine monophosphate	66535	Cervi Parvum cornu
3'-uridine monophosphate	101543	Cervi Parvum cornu
2'-cytidine monophosphate	101544	Cervi Parvum cornu

**Table 1.** List of the compounds from Chongmyunggongjin-dan with the Pubchem ID (Ccontinue)

Compound	Pubchem ID	Origin
Gallic acid	370	<i>C.officinalis</i>
Oleanolic acid	10494	<i>C.officinalis</i>
Ursolic acid	64945	<i>C.officinalis</i>
(-)-epicatechin-3-O-gallate	65056	<i>C.officinalis</i>
Loganic acid	89640	<i>C.officinalis</i>
Cornuside	131348	<i>C.officinalis</i>
Sweroside	161036	<i>C.officinalis</i>
Secoxyloganin	162868	<i>C.officinalis</i>
$\beta$ -sitosterol	222284	<i>C.officinalis</i>
5-hydroxymethylfurfural	237332	<i>C.officinalis</i>
Tellimagrandin II	442679	<i>C.officinalis</i>
p-coumaric acid	637542	<i>C.officinalis</i>
Caffeic acid	689043	<i>C.officinalis</i>
Quercetin 3-O- $\beta$ -D-glucuronide	5274585	<i>C.officinalis</i>
Quercetin	5280343	<i>C.officinalis</i>
Kaempferol	5280863	<i>C.officinalis</i>
Hyperoside	5281643	<i>C.officinalis</i>
Kaempferide	5281666	<i>C.officinalis</i>
Caftaric acid	6440397	<i>C.officinalis</i>
Morroniside	11304302	<i>C.officinalis</i>
Tachioside	11962143	<i>C.officinalis</i>
Quercetin-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside	15959354	<i>C.officinalis</i>
7-O-Galloyl-D-sedoheptulose	42636959	<i>C.officinalis</i>
Butoxysuccinic acid	71722049	<i>C.officinalis</i>
Acetate	176	<i>A.gigas</i>
Formate	284	<i>A.gigas</i>
Choline	305	<i>A.gigas</i>
Citrate	311	<i>A.gigas</i>
Malate	525	<i>A.gigas</i>
Histamine	774	<i>A.gigas</i>
Succinate	1110	<i>A.gigas</i>
Xanthotoxin	4114	<i>A.gigas</i>
Glucose	5793	<i>A.gigas</i>
Alanine	5950	<i>A.gigas</i>
Histidine	6274	<i>A.gigas</i>
Valine	6287	<i>A.gigas</i>
Arginine	6322	<i>A.gigas</i>
Nodakenin	26305	<i>A.gigas</i>
Isoimperatorin	68081	<i>A.gigas</i>
N-acetylglutamate	70914	<i>A.gigas</i>
Lactose	84571	<i>A.gigas</i>
Marmesin	334704	<i>A.gigas</i>
Decursin	442126	<i>A.gigas</i>
Decursinol	442127	<i>A.gigas</i>
Fumarate	444972	<i>A.gigas</i>
Ferulic acid	445858	<i>A.gigas</i>
Decursinol angelate	776123	<i>A.gigas</i>
Chlorogenic acid	1794427	<i>A.gigas</i>
Demethylsuberosin	5316525	<i>A.gigas</i>
Peucedanone	5324562	<i>A.gigas</i>
Coniferylferulate	6441913	<i>A.gigas</i>
Columbianetin O- $\beta$ -D-glucopyranoside	6453269	<i>A.gigas</i>

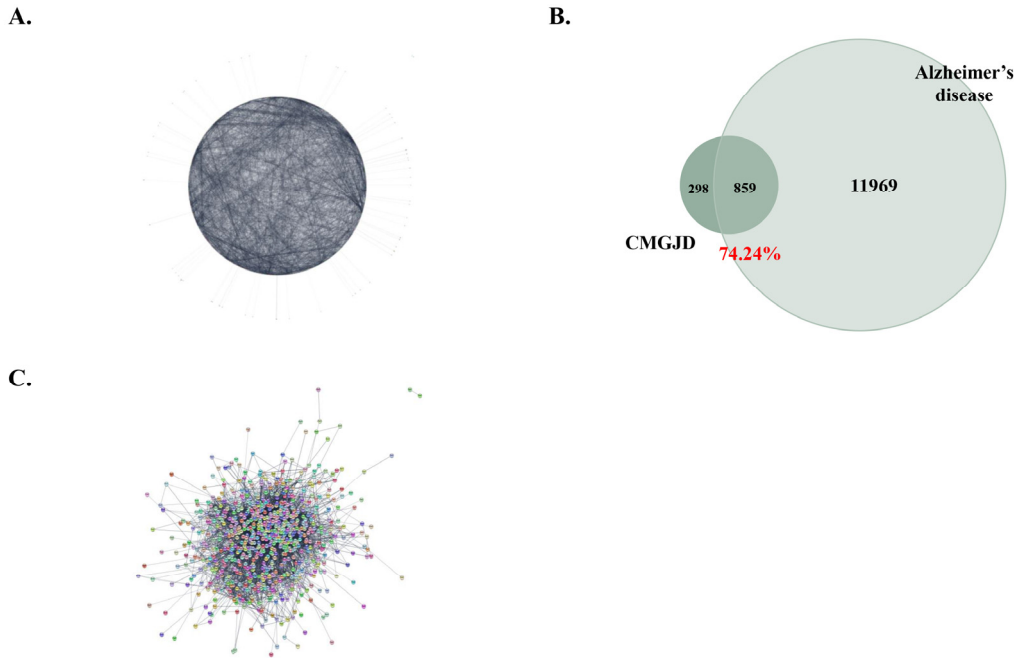


Fig. 1. (A) Network of CMGJD with 1157nodes and 10034edges. (B) Venn diagram of intersection targets between CMGJD and the gene sets of Alzheimer's disease. (C) Network of common genes of CMGJD and Alzheimer's disease.

### 3. GO Biological process 데이터베이스를 통한 총명공진단 작용기전 분석

STRING을 이용하여 총명공진단의 타겟 유전자 단백질-단백질 상호작용 분석으로 GO Biological Process 데이터베이스를 분석 수행하였다. 총명공진단이 알츠하이머에 영향을 주는 기전은 FDR value가 유의한 것을 기준으로 'Positive regulation of chemokine production', 'Cellular response to toxic substance', 'Arachidonic acid metabolic process', 'Neuron differentiation', 'Regulation of nervous system process', 'Regulation of neurotransmitter levels', 'Microglial cell activation', 'Neuron apoptotic process' 등의 순으로 정리되었다. 각 기전의 일치율은 36.07%, 25.69%, 36.84%, 9.52%, 20.83%, 16.45%, 46.88%, 39.96%의 일치율을 나타냈다(Figure 2).

### 4. KEGG Pathway데이터베이스를 통한 총명공진단 작용기전 분석

STRING을 이용하여 총명공진단의 타겟 유전자 단백질-단백질 상호작용 분석으로 KEGG Pathways 데이터베이스를 분석 수행하였다. 총명공진단이 알츠하이머에 영향을 주는 기전은 FDR value가 유의한 것을 기준으로 'PI3K-Akt signaling pathway', 'Metabolic pathways', 'IL-17 signaling pathway', 'HIF-1 signaling pathway', 'Neuroactive ligand-receptor interaction', 'Apoptosis', 'FOXO signaling pathway' 등의 순으로 정리되었다. 각 기전의 일치율은 23.14%, 11.54%, 45.65%, 41.51%, 21.52%, 35.61%, 35.43%, 39.60%의 일치율을 나타냈다(Figure 3).

**Table 2.** List of the common genes of Chongmyunggongjin-dan and Alzheimer's disease gene sets.

859 Common Genes of CMGJD and Alzheimer's disease
ABAT, ABCA1, ABCB1, ABCC2, ABCD2, ABCG1, ABCG2, ABCG5, ABCG8, ABI1, ABL1, ACACB, ACAT1, ACE, ACE2, ACHE, ACLY, ACO2, ACSBG1, ADA, ADAM8, ADH1A, ADH5, ADH6, ADIPOQ, ADORA2A, ADRB3, AGER, AGPAT4, AGT, AGTR1, AHR, AICDA, AIF1, AIMP2, AK8, AKR1B1, AKR1B10, AKT1, ALB, ALDH2, ALDH5A1, ALDOA, ALOX12, ALOX15, ALOXS, ALPK2, ALPL, AMBP, ANG, ANO2, ANXA5, APAF1, APMAP, APOA1, APOA2, APOA5, APOB, APOBEC3A, APOBEC3F, APOBEC3G, APOBEC3H, APOC2, APOC3, APOD, APOE, AR, ARC, ARG1, ARG2, ARRB2, ARTN, ASL, ASS1, ATF1, ATF2, ATF4, ATF6, ATG13, ATG16L1, ATG5, ATG7, ATP12A, ATP1B1, ATP2B1, AVP, AVPI1, AXL, AZIN2, BACE1, BAK1, BAX, BCHE, BCL2, BCL2A1, BCL2L1, BDNF, BECN1, BGLAP, BIRC5, BMF, BMI1, BMP2, BMP3, BNIP3, BRCA1, BTK, C3, C5, C5AR1, CA1, CA2, CACNA1E, CAD, CALCA, CALCR, CALCRL, CALR, CAMK2G, CAMKK2, CAPN1, CARM1, CASP1, CASP14, CASP3, CASP7, CASP8, CASP9, CAT, CAV1, CBR1, CCK, CCL11, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCNB1, CCND1, CCR2, CCR3, CCS, CD14, CD19, CD1A, CD248, CD28, CD36, CD4, CD40LG, CD44, CD46, CD55, CD63, CD68, CD79A, CD80, CDC20, CDC25A, CDC25C, CDH1, CDH2, CDK1, CDK13, CDK16, CDK2, CDK2AP1, CDK4, CDK6, CDKN1A, CDKN1B, CDKN2A, CEBPA, CEP1, CGA, CGB5, CHAT, CHEK1, CHEK2, CHL1, CHMP2B, CHUK, CKMT1B, CLDN2, CLDN5, CLYBL, CNP, CNTF, COG2, COL1A1, COMT, COX4I1, COX7A1, CP, CPS1, CPT1A, CPVL, CREBBP, CRH, CRP, CRTCI1, CS, CSF1, CSF2, CSF3, CSTB, CTNBN1, CTRL, CTSB, CTSN, CTSK, CXCL10, CXCL12, CXCL8, CXCR4, CYBB, CYP17A1, CYP19A1, CYP11A1, CYP11A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C19, CYP2C8, CYP2C9, CYP2D6, CYP2E1, CYP2J2, CYP3A4, CYP51A1, CYSLTR2, DAG1, DAPK1, DAPK2, DBH, DCLRE1A, DCTN4, DDAH1, DDAH2, DDC, DEGS1, DES, DHCR7, DHFR, DHRS9, DIABLO, DKK1, DLL, DLG4, DLL1, DMD, DNAJB6, DNAJB9, DNASE1, DNNT, DPP4, DPP4, DPYD, DPYS, DRD2, DUT, DYNC1H1, ECHDC2, EDN1, EEF1A2, EGF, EGFR, EIF2AK1, EIF2AK2, EIF2AK3, EIF4A1, ELANE, ELAVL1, ENO2, EPHA2, EPHB2, EPO, ERBB2, ERCC4, ERN1, ERVW-1, ESR1, ESR2, F2, F2R, F3, F7, FAAH, FAM20C, FASLG, FASN, FCGR2A, FDFT1, FDPS, FEN1, FGF21, FGFRI1, FGFRI3, FH, FHIT, FIS1, FKBP2, FLNB, FLNC, FMRI1, FNDC5, FOS, FOSB, FOXO1, FOXO3, FPR1, FSHR, FST, FURIN, FXN, FZD10, G6PD, GAA, GABPA, GAD1, GAD2, GALNT12, GAP43, GAPDH, GARI, GAS6, GAST, GATA3, GATM, GCG, GCK, GCLC, GCLM, GDF5, GDNF, GFAP, GGPS1, GHI, GHRH, GHRL, GJA1, GLB1, GLIPR1, GLO1, GLP1R, GLS, GLUD1, GLUL, GNAS, GNPAT1, GNRH1, GNRHR, GOT1L1, GPBAR1, GPER1, GPIHBP1, GPT, GPX1, GPX4, GRB2, GRIA1, GRIA2, GRIK4, GRIN2A, GRIN2B, GRIN2D, GRM1, GRM2, GRM6, GSDMD, GSR, GSTM1, GSTO1, GSTP1, GUSB, HAS2, HAVCR2, HBA1, HCRT, HDC, HGF, HIF1A, HK1, HLA-B, HLA-DRB1, HMGB1, HMGCR, HMGCS1, HMOX1, HNRNP2B1, HNRNP1, HP, HPRT1, HPSE, HRG, HRH1, HRH2, HRH3, HRH4, HSD3B1, HSP90AA1, HSP90B1, HSPA5, HSPA8, HSPB1, HTR2A, HTR2C, HTR3A, HTT, HYAL1, HYAL2, IAH1, IAPP, IBSP, ICAM1, ICAM5, IFNA1, IFNG, IFNLR1, IGF1, IGF2, IGFBP1, IGFBP3, IL10, IL13, IL17A, IL18, IL1B, IL2, IL23A, IL3, IL4, IL6, IL9, ILK, INS, INSR, IRS1, ISG20, ISYNA1, ITGAM, ITPR3, IVNS1ABP, JAK2, JPH3, JUN, JUND, KAT8, KCNA3, KCNMA1, KDM1A, KDR, KEAP1, KISS1, KISS1R, KL, KLK3, KNG1, LATS1, LCAT, LCK, LCMT1, LDHA, LDHB, LDLR, LDLRAP1, LEF1, LEP, LGALS3, LGALS4, LHCGR, LIN28B, LIPA, LIPC, LIPE, LMNA, LMNB1, LPA, LPL, LPO, LRRC7, LY96, LYZ, MAOA, MAOB, MAP1A, MAP1LC3A, MAP2K1, MAP2K4, MAP2K7, MAP3K5, MAP3K7, MAP4K4, MAPK1, MAPK10, MAPK11, MAPK14, MAPK3, MAPK8, MAPK9, MAPT, MARK2, MB, MBP, MC1R, MCL1, MDH1, MDH2, MDM2, ME2, MEF2D, MIPEP, MITF, MKI67, MLN, MME, MMP1, MMP13, MMP2, MMP3, MMP7, MMP9, MPO, MRC1, MST1, MSTN, MT-CYB, MTHFR, MT-ND2, MTOR, MTR, MTRNR2L8, MX1, MYC, MYD88, MYLK, MYO9A, NAALADL1, NFATC1, NFATC2, NFE2L2, NFKB1, NFKBIA, NFKBIB, NGB, NGF, NIMIK, NIT2, NLRP1, NLRP3, NME1, NOLC1, NOS1, NOS2, NOS3, NOTCH1, NOX4, NPC1, NPC1L1, NPC2, NPM1, NPPA, NPPB, NPY, NQO1, NRIH2, NRIH3, NRIH4, NRI12, NR3C1, NR3C2, NT5C2, NT5C3A, NTRK2, NTS, OAT, OCLN, ODC1, OGG1, OPRD1, OPRM1, OTC, OXSRI, OXTR, P2RY2, P2RY4, P2RY6, P4HB, PADI3, PADI4, PAEP, PAPSS1, PARP1, PAX6, PCK1, PCNA, PCSK9, PDE3B, PDK1, PDK2, PDK4, PDPK1, PDX1, PDYN, PFKFB3, PFKL, PGR, PGRMC1, PIK3AP1, PIK3C3, PIK3CA, PIKFYVE, PIN1, PINK1, PKD1, PKM, PKN1, PLA2G12A, PLA2G1B, PLA2G7, PLAT, PLAU, PLBD2, PLD1, PLD2, PLD5, PLG, PLTP, PMEL, PNLIP, POLB, POLR3C, POMC, PONI, PON2, PON3, POR, POU2F1, POU5F1, PPARA, PPARC, PPARG, PPARGC1A, PPIB, PPIF, PPME1, PPP1R12A, PPP1R13B, PPP2CA, PREP, PRG2, PRKAA2, PRKACA, PRKCE, PRKCQ, PRL, PRMT5, PRNP, PROKR1, PRPF19, PRPF4B, PRPF6, PRTN3, PSEN1, PTEN, PTGER2, PTGES, PTGS1, PTGS2, PTH, PTK2, PTPN1, PTPRF, PYCARD, PYGB, RAC2, RAD1, RAD18, RB1, RBMS3, RELA, REN, RETN, RGN, RGS1, RHOA, RNASE2, ROCK1, ROCK2, RPAIN, RPP38, RPS2, RPS6KB1, RUNX2, RYR2, S100B, SAMHD1, SCARB1, SCD5, SCGB1A1, SCN2A, SCT, SELE, SELP, SERPINA6, SERPINB1, SERPINF1, SETD2, SGMS1, SHBG, SIRT1, SIRT3, SLC12A2, SLC12A5, SLC12A9, SLC13A3, SLC18A3, SLC1A1, SLC1A2, SLC1A5, SLC22A1, SLC22A2, SLC22A5, SLC22A6, SLC22A8, SLC25A11, SLC25A13, SLC28A1, SLC29A1, SLC29A2, SLC2A1, SLC2A2, SLC2A4, SLC38A5, SLC3A2, SLC5A1, SLC5A2, SLC6A3, SLC6A4, SLC7A1, SLC7A11, SLCO2B1, SMAD2, SMAD3, SMAD5, SMAD7, SNAI1, SNCA, SOAT1, SOAT2, SOD1, SOD2, SORD, SPI, SPANXC, SPG7, SPP1, SREBF1, SREBF2, SRM, SRPK1, SRSF1, SST, STAR, STAT1, STAT3, STK11, STK24, STK3, STK39, STT3A, STX8, SUCNR1, SUGT, SUGT1, SYK, SYN1, SYP, SYT1, TAC1, TBC1D9, TCF4, TDG, TET1, TF, TFEB, TGFB1, TGFBRI1, TGFI1, TGM1, TH, THBS1, TIMP1, TIMP2, TIPARP, TJP1, TJP2, TK1, TLR2, TLR4, TLR7, TLR8, TMC1, TMPPRS15, TNF, TNFRSF10B, TNFRSF11A, TNFRSF11B, TNFSF11, TNK1, TOP1, TOP2B, TP53, TPH1, TPM3, TRAF2, TREM1, TRH, TRPM1, TSC1, TSLP, TTBK1, TUFM, TXN, TXNIP, TXNRD3, TYR, TYRP1, U2AF2, UBAC1, UCPI1, UGT1A1, UGT1A8, UGT1A9, UMPS, UPPI1, USP9X, VCAM1, VEGFA, VIM, VIP, VPS4A, VWF, WEE1, WNK1, WNT1, WNT10B, WNT3A, WNT7A, XAF1, XBP1, XDH, XIAP, XRCC1, YAP1, YARS2, ZFP36, ZMYND8, ZNF346

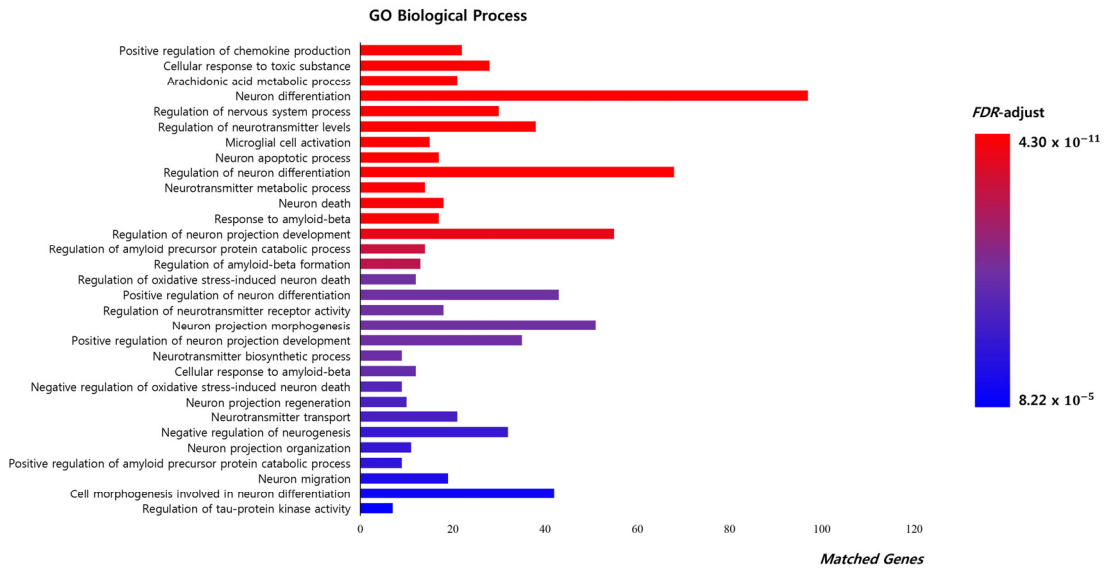


Fig. 2. Biological processes related to targets of CMGJD using GO Biological process database.

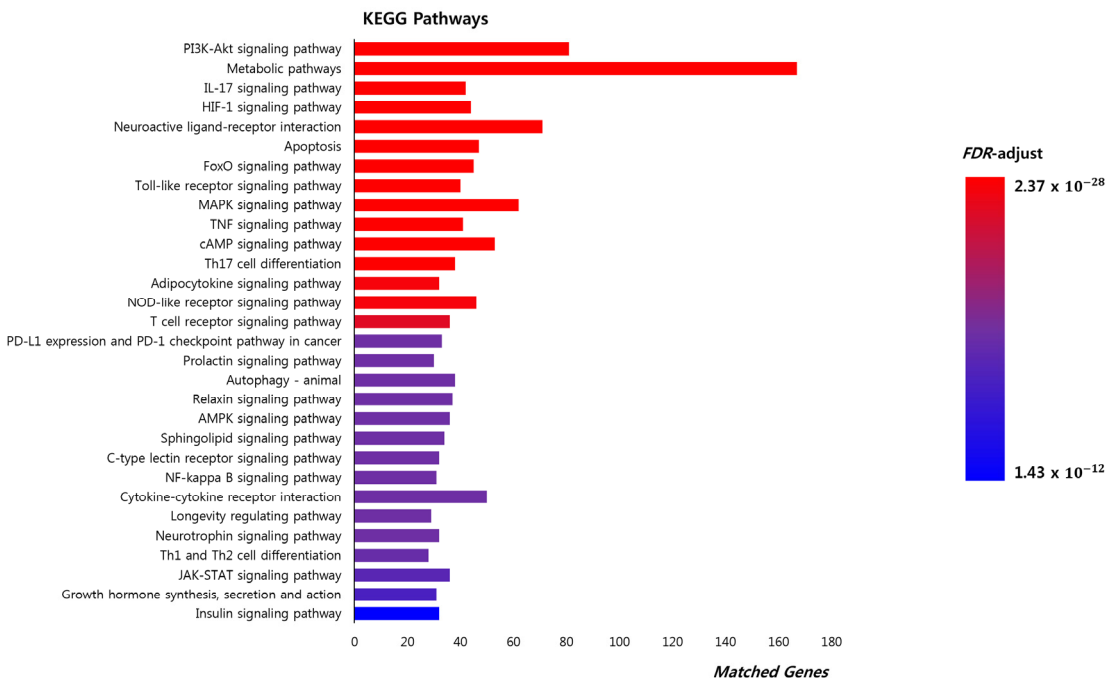


Fig. 3. Biological processes related to targets of CMGJD using KEGG Pathways database.



## 고찰

현재까지 전세계적으로 치매를 앓고 있는 환자수는 5,000만명 정도이며 이러한 수치는 2030년에는 8,200만명, 2050년 까지는 15,200 만명에 도달할 것으로 예상되고 있다<sup>14)</sup>. 알츠하이머병은 전체 치매의 60~80%에 해당될 정도로 가장 흔한 치매 유형으로 주로 기억장애, 인지장애, 실행기능장애, 성격 및 행동장애를 포함하는 종합적인 치매의 증상을 특징으로 하고 대부분의 환자에게서 무감각, 공격성 혹은 우울감과 같은 정신질환증상이 동반되어 나타나면서 환자 가족의 삶의 질을 저하시키고, 상당한 경제적 부담을 야기하는 질환이다<sup>15,16)</sup>. 알츠하이머병은 65세에서 85세 사이에서는 그 발병률이 5세 증가할 때마다 2배씩 높아질 정도로 노인에게서 흔히 발생하며 노인건강에 중요한 영향을 미친다고 알려져 있다<sup>17)</sup>. 최근 한국에서 40세 이상의 인구를 대상으로 진행된 코호트 연구 결과에서도 국내 알츠하이머의 발병률과 유병률이 증가하는 추세이며, 특히 고령일수록 이러한 현상이 더 많이 발생한다고 밝혔다<sup>14)</sup>. 전세계적으로 인구 고령화 현상이 심화되면서 알츠하이머는 급격하게 증가하는 공중보건문제로 떠오르고 있다<sup>15)</sup>. 발병원인은 명확하지는 않으나 베타아밀로이드의 비정상적 과잉생성 및 축적으로 형성된 plaque로 인한 뇌의 신경퇴행(neurodegeneration)이 영향을 미친다는 것 또는 microtubule-associated protein인 Tau가 과인산화되고 서로 뭉쳐져 신경세포 내에서 neurofibrillary tangles(NFT)를 형성해 신경세포를 손상시켜 인지저하(cognitive decline)를 야기함이 대표적 병리기전으로 여겨지고 있다<sup>18,19)</sup>. 알츠하이머의 치료제로는 아세틸콜린분해효소억제제 (Acetylcholinesterase inhibitor, ACEI)와 NMDA 수용체 길항제(NMDA receptor antagonist)를 사용하고 있으나 인지기능을 일시적으로 완화는 시키나 질병변경효과(disease-modifying effect)는 입증되지 않아 효과적이며 부작용이 적은 치료제의 개발이 시

급하다<sup>17)</sup>. 이에 본 연구에서는 최신 연구 기법인 네트워크 약리학을 이용하여 총명공진단의 효능 및 작용기전에 대한 다중성분 - 다중표적 연구를 수행하여 총명공진단의 알츠하이머 조절 가능성에 대해 탐색해보았다.

OASIS 데이터베이스를 이용하여 수집된 총명공진단을 구성하는 약재들의 성분으로 네트워크를 구축한 결과, 1157nodes와 10034edges를 나타냈다. 이를 기반으로, 알츠하이머 관련 유전자 12,828개와 교차 검증하여 알츠하이머와 총명공진단 구성 성분의 타겟 유전자가 얼마나 밀접하게 관련이 있는지를 확인하였다. 그 결과 총명공진단 구성 약재 성분 타겟 유전자 1157개 중 859개가 알츠하이머병 관련 유전자와 74.24%정도 일치함을 확인하였다. 세부적으로 총명공진단 구성 약재 중 알츠하이머 유전자와 가장 많이 교차하는 약재는 당귀로 419개가 확인이 되었고 가장 적게 교차하는 약재는 사향으로 103개가 확인이 되었다 (Supplementary Table1 and Supplementary Figure1). 이는 사향이 총명공진단을 이루는 다른 약재들에 비해 진행된 연구들이 적어서 위와 같은 결과가 도출된 것으로 보여, 사향에 관한 연구가 좀 더 활발해진다면 총명공진단과 알츠하이머의 연관성 및 기전이 더 확인될 수 있을 것으로 예측된다. 총명공진단 구성 약재들의 알츠하이머 개선 효능이 보고되고 있는 바, 위의 결과를 통해 총명공진단이 알츠하이머와 밀접한 관련이 있을 것으로 보였다. 본 결과를 토대로 총명공진단이 알츠하이머에 관여하는 생물학적 기능을 알아보려고 functional enrichment analysis를 수행하였다. GO Biological Process 데이터베이스에서 ‘Positive regulation of chemokine production’, ‘Cellular response to toxic substance’, ‘Arachidonic acid metabolic process’ 등이 도출되었고, KEGG Pathways에서는 ‘PI3K-Akt signaling pathway’, ‘Metabolic pathways’, ‘IL-17 signaling pathway’, ‘HIF-1 signaling pathway’, ‘Neuroactive ligand-receptor interaction’, ‘Apoptosis’,

‘FOXO signaling pathway’ 등이 도출되었다. 실제로 알츠하이머병의 주 기여 요인으로 신경염증이 주로 언급되며, Chemokine과 관련 수용체는 신경계 전반에 걸쳐 발현되며 알츠하이머병의 주요 병인 중 하나인 신경염증에서 중요한 역할을 담당한다<sup>20,21</sup>). 또한, 베타아밀로이드의 응집은 미세아교세포를 자극하여 염증성 사이토카인을 생성 및 분비함을 통해 신경염증을 유발한다<sup>20</sup>). 그 외에도 신경독성물질은 알츠하이머의 병인으로 알려진 베타아밀로이드, NFT, 인지기능장애, 신경세포사멸, 신경염증 등과 연관이 있다<sup>22</sup>). Arachidonic acid는 시냅스 기능에 영향을 줘 기억력을 조절하고, 직·간접적으로 Tau 인산화를 조절하며, 알츠하이머병의 신경세포에서 과발현되는 cyclooxygenase-2(COX-2)에 의해 PGG2로 전환되고 성상세포와 미세아교세포에서 PGE2등으로 변환되어 신경 독성 분자의 생성을 촉진하거나 베타아밀로이드 제거를 야기하는 등 신경염증에서 양면적인 역할을 하며 알츠하이머병과 밀접하게 연관되어 있다<sup>23</sup>). 기존 연구에 의하면 사향, 녹용, 당귀, 산수유로 구성된 공진단 투여는 알츠하이머형 치매 환자의 인지능력을 개선시킨다고 보고되고 있다<sup>13</sup>). 총명탕 및 그 구성 약재인 원지와 석창포 추출물은 microtubule-associated protein2(MAP2)와 Tau 단백질 조절을 통한 신경세포 손상을 억제하여 학습능력 저하와 기억 유지능력의 감퇴를 방어한다고 보고되었다<sup>12</sup>). 특히 원지는 뇌 미세아교세포에서 nitric oxide(NO), nitric oxide synthase(iNOS), PGE2 및 염증성 세포활성물질 억제를 통한 항신경염증 효능을 비롯 항산화, anti-Tau, anti-A $\beta$  효능을 통해 알츠하이머 개선 약물로 주목받고 있다<sup>24,25</sup>). 석창포는 미세아교세포에서 신경염증을 억제하고 나아가 신경독성으로 인한 신경세포사를 억제하여 중추신경계 질환을 개선하는 효능이 있다고 알려져 있다<sup>26</sup>). 총명탕의 또 다른 구성 약재인 복신은 신경 세포의 생성 및 분화를 촉진하며 기억 및 인지기능을 강화하였고, 또한 RAW 264.7 macrophage에서 COX-2와 전염증성 사이토

카인의 조절을 통해 항염증 효능을 보였다<sup>27,28</sup>). 나아가 복신은 사향과 함께 신경전달물질의 저장 및 분비하는 카테콜아민 세포의 일종인 PC12 세포의 로 유발된 apoptosis를 억제하며 항알츠하이머 효능을 보였다<sup>29-31</sup>). 그 외에도 사향은 혈관 뇌 장벽 (BBB)의 투과성을 조절하거나 전염증성 사이토카인 억제를 통한 항염증 효능을 갖는다<sup>29,32</sup>). 산수유는 beta-site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1 (BACE1) 활성 억제를 통한 알츠하이머 개선뿐만 아니라 항염증 효능에 대한 연구결과가 다수 보고되고 있다<sup>33,34</sup>). 그 외에도 녹용의 대식세포에서 COX-2 억제를 통한 항염증효능, 당귀의 BV2 미세아교세포에서 신경염증 조절 효능이 보고되어 있다<sup>35,36</sup>). 비록 총명공진단 자체의 효능에 대해서는 많은 연구가 진행되어 있지 않지만 그 구성 처방, 약재의 연구결과를 비추어 보았을 때 총명공진단이 염증조절을 통해 알츠하이머병 개선에 효과가 있을 것으로 예측되었다.

본 결과는 총명공진단 약재의 알려진 성분 및 성분에 따른 타겟 유전자 정보 데이터베이스를 기반으로 네트워크를 구축하였으며, 네트워크 약리학적 방법론을 활용하여 총명공진단의 항알츠하이머 효능 및 작용기전을 예측하였다. 이에 본 연구 결과를 통해 총명공진단의 항알츠하이머 효능 연구를 위한 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

## 감사의 글

이 논문은 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(NRF-2021R111A2053285).

## 참고문헌

1. Zhang, R.Zhu, X.Bai, H. & Ning, K. (2019). Network pharmacology databases for traditional chinese medicine: Review and assessment.

- Front Pharmacol. 10(123). 10.3389/fphar.2019.00123
2. Talevi, A. (2015). Multi-target pharmacology: Possibilities and limitations of the “skeleton key approach” from a medicinal chemist perspective. *Frontiers in pharmacology*. 6(205).
  3. Shao, L. & Zhang, B. (2013). Traditional chinese medicine network pharmacology: Theory, methodology and application. *Chinese journal of natural medicines*. 11(2). 110-120.
  4. Corson, T. W. & Crews, C. M. (2007). Molecular understanding and modern application of traditional medicines: Triumphs and trials. *Cell*. 130(5). 769-774. 10.1016/j.cell.2007.08.021
  5. Kim, M. H. (2023). Prediction of functional molecular mechanism of *astragalus membranaceus* on obesity via network pharmacology analysis. *The Korea Journal of Herbology*. 38(1). 45-53.
  6. Lee, W. Y., Lee, C. Y., Kim, Y. S. & Kim, C. E. (2019). The methodological trends of traditional herbal medicine employing network pharmacology. *Biomolecules*. 9(8). 10.3390/biom9080362
  7. Hopkins, A. L. (2008). Network pharmacology: The next paradigm in drug discovery. *Nat Chem Biol*. 4(11). 682-690. 10.1038/nchembio.118
  8. Lee, W. Y., Kim, C. E. & Lee, C. Y. (2021). A novel method to investigating Korean medicine theory: Drug-centered approach employing network pharmacology. *Journal of Physiology & Pathology in Korean Medicine*. 35(5). 125-131.
  9. Hwang, G.-s. & Shin, Y.-j. (2020). Protective effects of chongmyunggongjin-dan on h2o2-induced c6 glial cell death. *The Journal of Internal Korean Medicine*. 41(1). 44-58.
  10. Lee, J.-H., Jo, D.-C., Kim, C.-G., Moon, S.-J., Park, T.-Y., Ko, Y.-S., et al. (2013). A literature review of effectiveness on the gongjin-dan (gongchen-dan). *Journal of Korean Medicine Rehabilitation*. 23(3). 69-78.
  11. Committee, O. M. T. E. (2015). *Oriental herbal medicine (version 2)*. Shinilbooks.
  12. Park, E.-k., Shim, E.-s., Jung, H.-s., Sohn, N.-w. & Sohn, Y.-j. (2008). Effects of chongmyung-tang, polygalae radix and acori graminei rhizoma on  $\alpha\beta$  toxicity and memory dysfunction in mice. *The journal of Internal Korean Medicine*. 29(3). 608-620.
  13. Jang, H.-J., Sung, W.-Y., Lee, S.-H., Son, J.-H., Han, S.-H. & Jung, H.-C. (2004). A study of gongjin-dan in patients with mild dementia of alzheimer type. *Journal of Oriental Neuropsychiatry*. 15(2). 141-148.
  14. Baek, M. S., Kim, H. K., Han, K., Kwon, H. S., Na, H. K., Lyoo, C. H., et al. (2022). Annual trends in the incidence and prevalence of alzheimer's disease in south korea: A nationwide cohort study. *Front Neurol*. 13(883549). 10.3389/fneur.2022.883549
  15. Li, X., Feng, X., Sun, X., Hou, N., Han, F. & Liu, Y. (2022). Global, regional, and national burden of alzheimer's disease and other dementias, 1990-2019. *Front Aging Neurosci*. 14(937486). 10.3389/fnagi.2022.937486
  16. Silva, M. V. F., Loures, C. M. G., Alves, L. C. V., de Souza, L. C., Borges, K. B. G. & Carvalho, M. D. G. (2019). Alzheimer's disease: Risk factors and potentially protective measures. *J Biomed Sci*. 26(1). 33. 10.1186/s12929-019-0524-y
  17. Kang, H. & Park, K. W. (2015). Recent update of clinical drug trials in alzheimer's disease.

- Journal of the Korean Neurological Association. 33(4). 252-258.
18. Hardy, J. & Selkoe, D. J. (2002). The amyloid hypothesis of alzheimer's disease: Progress and problems on the road to therapeutics. *Science*. 297(5580). 353-356. 10.1126/science.1072994
  19. Binder, L. I.Guillozet-Bongaarts, A. L.Garcia-Sierra, F. & Berry, R. W. (2005). Tau, tangles, and alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta*. 1739(2-3). 216-223. 10.1016/j.bbdis.2004.08.014
  20. Princiotta Cariddi, L.Mauri, M.Cosentino, M.Versino, M. & Marino, F. (2022). Alzheimer's disease: From immune homeostasis to neuroinflammatory condition. *International Journal of Molecular Sciences*. 23(21). 13008.
  21. Zuena, A. R.Casolini, P.Lattanzi, R. & Maftei, D. (2019). Chemokines in alzheimer's disease: New insights into prokineticins, chemokine-like proteins. *Frontiers in pharmacology*. 10(622).
  22. Nisa, F. Y., Rahman, M. A., Hossen, M. A., Khan, M. F., Khan, M. A. N., Majid, M., et al. (2021). Role of neurotoxicants in the pathogenesis of alzheimer's disease: A mechanistic insight. *Ann Med*. 53(1). 1476-1501. 10.1080/07853890.2021.1966088
  23. Thomas, M. H. & Olivier, J. L. (2016). Arachidonic acid in alzheimer's disease. *Journal of Neurology & Neuromedicine*. 1(9).
  24. Deng, X., Zhao, S., Liu, X., Han, L., Wang, R., Hao, H., et al. (2020). Polygala tenuifolia: A source for anti-alzheimer's disease drugs. *Pharm Biol*. 58(1). 410-416. 10.1080/13880209.2020.1758732
  25. Cheong, M. H., Lee, S. R., Yoo, H. S., Jeong, J. W., Kim, G. Y., Kim, W. J., et al. (2011). Anti-inflammatory effects of polygala tenuifolia root through inhibition of nf-kappab activation in lipopolysaccharide-induced bv2 microglial cells. *J Ethnopharmacol*. 137(3). 1402-1408. 10.1016/j.jep.2011.08.008
  26. Jiang, J., Kim, J. J., Kim, D. Y., Kim, M. K., Oh, N. H., Koppula, S., et al. (2012). Acorus gramineus inhibits microglia mediated neuroinflammation and prevents neurotoxicity in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (mptp)-induced mouse model of parkinson's disease. *J Ethnopharmacol*. 144(3). 506-513. 10.1016/j.jep.2012.09.026
  27. Jeong, J. W., Lee, H. H., Han, M. H., Kim, G. Y., Hong, S. H., Park, C., et al. (2014). Ethanol extract of poria cocos reduces the production of inflammatory mediators by suppressing the nf-kappab signaling pathway in lipopolysaccharide-stimulated raw 264.7 macrophages. *BMC Complement Altern Med*. 14(101). 10.1186/1472-6882-14-101
  28. Choi, J. G.Sim, Y.Kim, W.Kim, S. Y. & Oh, M. S. (2015). Effect of hoelen cum radix on learning and memory enhancement via stimulation of neuronal differentiation in the hippocampus of the mouse brain. *The Korea Journal of Herbology*. 30(2). 43-48.
  29. Xie, D., Deng, T., Zhai, Z., Qin, T., Song, C., Xu, Y., et al. (2023). Moschus exerted protective activity against h2o2-induced cell injury in pc12 cells through regulating nrf-2/are signaling pathways. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 159(114290).
  30. Park, Y.-H., Son, I. H., Kim, B., Lyu, Y.-S., Moon, H.-I. & Kang, H.-W. (2009). Poria cocos water extract (pcw) protects pc1 2

- neuronal cells from beta-amyloid-induced cell death through antioxidant and antiapoptotic functions. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*. 64(11). 760-764.
31. Wiatrak, B.Kubis-Kubiak, A.Piwowar, A. & Barg, E. (2020). Pc12 cell line: Cell types, coating of culture vessels, differentiation and other culture conditions. *Cells*. 9(4). 10.3390/cells9040958
32. Almohaimeed, H. M., Batawi, A. H., Mohammedsaleh, Z. M., Al Jaouni, S., Mutlq Alsawat, S. A., Abd El Wahab, M. G., et al. (2021). Musk (*moschus moschiferus*) attenuates changes in main olfactory bulb of depressed mice: Behavioral, biochemical, and histopathological evidence. *Front Behav Neurosci*. 15(704180). 10.3389/fnbeh.2021.704180
33. Youn, K. & Jun, M. (2012). Inhibitory effects of key compounds isolated from *corni fructus* on *bace1* activity. *Phytother Res*. 26(11). 1714-1718. 10.1002/ptr.4638
34. Sung, Y. H., Chang, H. K., Kim, S. E., Kim, Y. M., Seo, J. H., Shin, M. C., et al. (2009). Anti-inflammatory and analgesic effects of the aqueous extract of *corni fructus* in murine raw 264.7 macrophage cells. *J Med Food*. 12(4). 788-795. 10.1089/jmf.2008.1011
35. Lee, S. H., Yang, H. W., Ding, Y., Wang, Y., Jeon, Y. J., Moon, S. H., et al. (2015). Anti-inflammatory effects of enzymatic hydrolysates of velvet antler in raw 264.7 cells in vitro and zebrafish model. *EXCLI J*. 14(1122-1132). 10.17179/excli2015-481
36. Oh, Y. C.Jeong, Y. H.Li, W. & Go, Y. (2019). *Angelicae gigantis radix* regulates lps-induced neuroinflammation in bv2 microglia by inhibiting nf-kappab and mapk activity and inducing nrf-2 activity. *Molecules*. 24(20). 10.3390/molecules24203755

#### ORCID

- 권빛나 <http://orcid.org/0000-0003-0252-330X>  
유수민 <http://orcid.org/0009-0005-6960-937X>  
김동욱 <http://orcid.org/0000-0002-2066-7916>  
오진영 <http://orcid.org/0000-0002-5162-7554>  
장미경 <http://orcid.org/0009-0001-1288-0004>  
박성주 <http://orcid.org/0000-0002-6227-6681>  
배기상 <http://orcid.org/0000-0002-5627-2676>