

# 蟾螬가 초산납으로 유발한 흰쥐의 뇌독성에 미치는 영향

윤종영, 박종혁, 민진우, 신정인, 윤철호, 서운교, 정지천, 신억섭\*

동국대학교 한의과대학 내과학교실, 동국대학교 의료원 약제과\*

## Effect of *Holotrichia* in Brain of Lead Acetate-treated Rats

Jong-Young Yoon, Jong-Hyuck Park, Gun-Woo Min, Jeong-In Shin, Cheol-Ho Yoon,  
Un-Kyo Seo, Ji-Cheon Jeong, Uk-Seob Shin\*

Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dongguk University  
Dept. of Pharmacy Dongguk Medical Center\*

**Objectives** : This study was undertaken to investigate the action mechanism of *Holotrichia* (HT) at parameter related to dementia.

**Methods** : HT was tested for the effects on acetylcholine esterase and monoamine oxidase activities, lipid peroxidation, antioxidation in brain of lead acetate-treated rats. Lead acetate were treated firstly into samples for 10 days, and then lead acetate and HT were set with them for 20 days.

**Results** : The level of lipid peroxide, acetylcholine esterase and monoamine oxidase activities, enzyme activities and ratio of type conversion of xanthine oxidase increased in lead acetate-treated rats were decreased as highly as normal group by HT. Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities, the level of acetylcholine decreased in lead acetate-treated rats were increased as lowly as normal group by HT.

**Conclusions** : These results suggest that HT might have an effect on treatment of dementia according to decreasing the activities of acetylcholine esterase, monoamine oxidase and level of lipid peroxide in brain.

**Key Word** : *Holotrichia*, Acetylcholine esterase, Monoamine oxidase, Lead acetate, Antioxidant effect, Dementia

## 1. 緒 論

뇌세포 손상으로 인한 기능장애는 운동, 인지기능, 정서 등 다양한 방면의 신체이상으로 나타날 수 있다. 나이가 들면서 뇌세포의 기능이 쇠약해지고 위축되면서 나타나는 가장 대표적인 질환중의 하나가 치매이다. 치매는 뇌의 기질적 장애에 의하여 후천적인 인지능력의 다발성 장애를 나타내는 증후군이다. 원인 질환은 뇌의 위축성 변화, 뇌혈관 장애, 뇌의 염증성 장애, 내분비 질환, 증양, 외상, 중독 등이다.

뇌에는 다양한 신경전달 물질이 존재하며, 이들이 정상적인 뇌기능을 조절하고 있다. 교감신경 전달물질로는 epinephrine, norepinephrine 및 dopamine 등이 있고 부교감신경 전달물질로는 acetylcholine이 있다. 치매의 증상으로 우울증이 많이 나타나는데, epinephrine이나 norepinephrine은 교감신경계통에 작용하여 정서적인 면을 활발하게 하는 신경전달 물질로서 monoamine oxidase에 의해 대사되어 그 작용이 소실된다.

치매 환자에서 나타나는 생화학적 변

화로 뇌의 측두엽에서 acetylcholine의 함량이 정상 수준보다 훨씬 감소되고 있음이 보고되었다<sup>1</sup>. Acetylcholine은 choline acetyltransferase에 의해서 acetyl Co-A와 choline으로부터 생합성되며, acetylcholine esterase에 의해 분해되어 생리활성이 소실된다<sup>2</sup>. 이에 근거하여 monoamine oxidase와 acetylcholine esterase의 활성 저하가 치매와 밀접한 관계가 있다고 여겨진다.

활성산소류 (oxygen free radicals)는 기질과산화 반응으로 세포 손상을 초래하는 강한 활성물질로서<sup>3</sup> 치매, 중추 신경계 질환, 당뇨병, 신부전 등의 질병에서 중요한 병인으로 인정되고 있으며 노화 및 암 유발에 관계한다고 알려져

있다<sup>67</sup>.

韓醫學에서 치매는 呆病, 癡證 등의 범주에 속하는데<sup>8</sup> 景岳全書에 “言辭顛倒, 舉動不經, 或多汗, 或善愁, 其證則千奇萬怪, 無所不至” 등의 증상이 나타난다고 하였다<sup>9</sup>. 病因은 氣滯血瘀·稟賦不足·痰濁阻竅·肝腎不足 등이 있으며, 活血行氣·滋補肝腎·益氣健脾·化痰宣竅 등의 治法이 활용되고 있다<sup>8</sup>. 실험 연구에 의하면 三和散<sup>10</sup>과 補陽還五湯<sup>11</sup>이 acetylcholine esterase와 monoamine oxidase 활성을 억제한다는 보고가 있다.

蠐螬(*Holotrichia*)는 풍뎡이의 幼蟲인 굼벵이를 건조한 것으로 惡血, 瘀血 瘧氣를 제거하는데 사용되어 왔으며<sup>12</sup>, 活血化瘀의 효능이 강하여 뇌기능을 개선시켜 치매의 치료에 활용될 수 있을 것으로 생각된다. 실험 연구에 의하면 항혈전 효과<sup>13-15</sup>, 허혈/재관류로 인한 뇌 조직 손상에 대한 항산화 효과<sup>16</sup>, natural killer 세포 활성 증가 효과<sup>17</sup> 등의 보고가 있다.

이에 著者는 蠐螬가 치매의 치료에 활용될 수 있는 지를 살펴보고자 초산납으로 유도한 뇌독성 흰쥐의 뇌신경전달 물질에 관련된 효소 활성과 항산화 작용을 검토하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하고자 한다.

## II. 材料 및 方法

### 1. 材料

#### 1) 약재

蠐螬(*Holotrichia*)는 시중에서 상등품을 구입한 후 정선하여 사용하였다.

#### 2) 시약 및 기기

Acetylcholine, bovine serum albumin, calmodulin, dithiothreitol,

dexamethasone, ethylene diamine tetra sodium, glutathione, lead acetate, nicotineamide adenine dinucleotide phosphate reduced, sodium bicarbonate, sodium nitrite, thiobarbituric acid sodium salt, tyramine는 Sigma사로부터, potassium phosphate mono and dibasic은 Wako pure Chemical, xanthine sodium salt, trichloroacetic acid는 Nakarai사로부터, malondialdehyde는 Aldrich사로부터 구입한 제품을 사용하였고 기타 모든 시약은 특급품을 사용하였다. 실험에 사용한 기기로는 HPLC (Hitachi model, Japan), refrigerated centrifuge (Hanil supra-22K, Korea), spectrophotometer (Shimadzu UV-2101, Japan) 등이었으며 HPLC 작동에 관련된 기구로는 pump system (EP-10), guard column (AC-ODS, 5x4 mm I.D.), separation column (AC-Gel, styrene polymer, 10 μm particle size), amine trap column (CA-trap, strong cation-exchange column, 5x4 mm I.D.), immobilized enzyme column (AC-enzypak, 5x4 mm I.D.), electrochemical detector (ECD-100) 등은 Eicom사의 제품을 사용하였다.

### 3) 동물

동물사에서 일정한 조건으로 사육한 체중 220 g 내외의 雄性 Sprague-Dawley계 흰쥐를 사용하였다.

## 2. 方法

### 1) 검액의 조제

蠐螬 200 g을 유리 플라스크에 3배량의 methanol과 함께 넣은 뒤 60℃가 유지되는 증탕 항온수조에서 냉각기를 부착하고 24시간씩 3회 반복 추출하여

추출액을 만든 다음 실온으로 냉각하여 여과하였다. 이 여과한 추출액을 rotary evaporator로 농축한 뒤 건조시켜 추출물 19.6 g (수율 : 9.8%)을 얻었다.

### 2) 뇌독성 유도 및 검액의 투여

뇌독성은 5% lead acetate 용액을 30일간 물 대신 경구로 섭취케 하여 뇌독성을 유발시켰다. 蠐螬 추출물은 5% lead acetate 용액 투여 10일 후부터 실험 동물의 체중 kg당 200 mg을 1일 1회 20일간 경구 투여하였으며, 대조군은 동량의 생리식염수를 투여하였다.

### 3) 효소원의 조제

실험동물을 단두도살하여 뇌조직을 분리하였다. 뇌조직 분리는 예리한 수술용 가위를 이용하여 두개골을 절단한 후 조심스럽게 적출하였으며 생리식염수에 씻은 다음 여지로 가볍게 압박하여 이물질 또는 생리식염수를 제거하였다. 뇌조직은 1 g당 4배량의 homogenation buffer (12.5 mM sodium phosphate buffer pH 7.0, 0.4 M NaCl 함유)를 가하여 방냉하에서 glass teflon homogenizer로 마쇄하였다. 이 마쇄 균질액을 이용하여 acetylcholine 함량과 과산화지질의 함량을 측정하였다. 마쇄 균질액을 600×g에서 10분간 원심분리하여 미마쇄 부분을 제거한 상정액을 얻고 이것을 다시 8,000×g에서 20분간 원심분리하여 상정액과 mitochondria 분획인 침전물을 분리하였다. 침전분획인 mitochondria 분획은 catalase 및 monoamine oxidase 활성 측정원으로 상정액인 postmitochondria 분획은 acetylcholine esterase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase 및 xanthine oxidase 활성 측정의 효소원으로 사용하였다. 이

상의 모든 조작은 0-4℃에서 행하였다.

4) 과산화지질 함량 측정

과산화지질 함량 측정은 Ohkawa 등의 방법<sup>18</sup>에 준해 뇌조직 마쇄균질액 일정량에 8.1% sodium dodesyl sulfate, 20% acetate buffer (pH 3.5) 및 0.8% thiobarbituric acid (TBA) 용액을 가해 95℃에서 1시간동안 반응시키고 실온으로 냉각한 다음 생성된 홍색의 TBA reactive substance를 n-Butanol : Pyridine (15 : 1) 혼액으로 이행시켜 파장 532 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 정량하였다. 과산화지질의 함량은 조직 1 g당 MDA의 양을 nmoles로 나타내었다.

5) Acetylcholine 함량 측정

뇌조직중의 acetylcholine의 함량 측정은 Matsumoto 등의 방법<sup>19</sup>를 약간 변경하여 실시하였다. 뇌조직을 적출한 다음 마쇄균질액을 얻고 이것으로부터 시료 조제를 실시하였다. 균질액을 8,000×g에서 10분간 냉장원심분리하여 상정액을 얻고 이것을 millipore 여과하여 시료액을 만든 다음 HPLC를 사용하여 acetylcholine을 정량하였다. 내부 표준 용액으로 ethylene hemocholine을 포함하는 10 mM의 eserine을 첨가시킨 시료액 50 μl를 HPLC에 주입하였으며 mobile phase로는 tetraammonium chloride와 sodium decanesulfonate를 함유하는 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 8.0)을 분당 1 ml의 유속으로 이행하여 정량하였다. Acetylcholine의 retention time은 12.23분이었으며 standard로서 일정량의 acetylcholine을 HPLC 주입한 후 주입량과 검출된 피크 면적을 비교하여 함량을 산정하였다.

6) 효소 활성의 측정

① Acetylcholine esterase 활성 측정

뇌조직 중의 acetylcholine esterase 활성 측정은 Ellman 등의 방법<sup>20</sup>에 의해 Ringer-bicarbonate buffer 일정량에 효소액 0.5 ml와 기질인 10 mM acetylcholine 0.5 ml를 가하여 37℃에서 30분간 반응시킨 다음 hydroxylamine과 NaOH 1.0 ml를 각각 가하여 반응을 종료시키고 강하게 mixing한 후 3분 이상 방치시키고 여기에 다시 3N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1.0 ml를 가하여 混化한 후 370 mM FeCl<sub>3</sub>를 가하여 여과시켰다. 이 여액을 실온에서 10분 정도 방치시킨 후 파장 550 nm에서 흡광도의 변화를 읽고 효소 활성을 산정하였다. 효소 활성도 대조군을 기준으로 하여 백분율로 비교 환산하였다.

② Monoamine oxidase 활성 측정

Monoamine oxidase 활성 측정은 Nagatsu 등의 방법<sup>21</sup>에 의해 0.1 M K.P. buffer (pH 7.5) 일정량에 기질인 0.9 mM tyramine 0.25 ml와 뇌조직 효소액 0.2 ml를 첨가해 37℃에서 20분간 반응시킨 다음 0.767 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.6 ml와 2% sodium tungstate 용액 1.5 ml를 가하여 반응을 종료시켰다. 반응액을 원심분리하여 상정액 1.0 ml를 취하고 여기에 페놀 시액과 alkaline hypochlorite 용액 1.0 ml를 가하여 37℃에서 15분간 가온하여 발색시킨 다음 파장 625 nm에서 흡광도의 변화를 읽고 효소의 활성도를 산정하였다. 효소의 활성도는 1 mg의 단백질이 1분간 생성시킨 NH<sub>3</sub>의 양을 nmoles로 나타내었다.

③ Xanthine oxidase 활성 측정

Xanthine oxidase (type O) 활성 측정은 Stirpe 등의 방법<sup>22</sup>에 준해 0.1 M

K.P. buffer (pH 7.5) 일정량에 기질인 xanthine 60 μM 및 효소원을 첨가하여 37℃에서 5분간 반응시킨 다음 20% TCA를 가하여 제단백시키고 원심분리하였다. 이때 생성되어진 uric acid를 파장 292 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 효소의 활성도를 산정하였다. 한편 xanthine dehydrogenase (type D)의 활성은 type O의 활성 측정 반응액에 coenzyme인 NAD<sup>+</sup> 100 mM을 첨가해 동일하게 반응시킨 다음 측정하여 나온 활성도 (total type: type D+O)에서 type O의 활성을 감한 값으로 산정하였다. 효소의 활성도는 1분당 1 mg의 단백질이 생성시킨 uric acid 양을 nmoles로 나타내었다. 한편 xanthine 산화 효소의 형전환비 산출은 xanthine dehydrogenase 및 xanthine oxidase 반응에서 얻어진 효소의 활성도를 이용하여 xanthine dehydrogenase (type D)에서 xanthine oxidase (type O)로의 형전환 비율을 O/O+D의 비로 산출하였다.

④ Superoxide dismutase 활성 측정

Superoxide dismutase 활성 측정은 Martin 등의 방법<sup>23</sup>에 준해 실시하였다. 효소원 조제 방법에 따라 분리된 cytosolic fraction에 EtOH : CHCl<sub>3</sub> (5 : 3) 혼액 0.4배량을 가하여 잘 혼합한 다음 10,000×g에서 20분간 원심분리하여 상정액을 얻고 이것을 superoxide dismutase 활성 측정 효소원으로 사용하였다. 반응액은 50 mM K.P. buffer (pH 7.5, EDTA 0.1 mM 함유) 일정량에 5 mM hematoxylin 효소액의 용량을 달리하여 첨가하고 최종 반응액이 3.0 ml가 되게 하였다. 이 반응액을 25℃에서 5분간 반응시킨 다음 560 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여

효소 활성을 산정하였다. 효소 활성의 unit는 효소를 넣지 않고 반응시킨 5 mM hematoxylin액의 흡광도 증가를 50% 억제하는 단백질의 양으로 산정하였다.

⑤ Catalase 활성 측정

Catalase 활성 측정은 Aebi의 방법<sup>24</sup>에 준해 50 mM K.P. buffer (pH 6.8)에 기질인 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10.5 mM 및 mitochondria 효소액을 첨가하여 최종 반응액이 3.0 ml가 되게 하였다. 이 반응액을 25℃에서 30초간 반응시키면서 240 nm에서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 분해 정도를 측정하여 분자 흡광계수 (E<sub>240</sub>=0.041 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>)를 이용하여 효소의 활성도를 산정하였다. 효소의 활성도는 1분당 1 mg의 단백질이 분해시킨 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 양을 μmole로 나타내었다.

⑥ Glutathione peroxidase 활성 측정

Glutathione peroxidase 활성 측정은 Paglia 등의 방법<sup>25</sup>에 준해 일정량의 0.1 M Tris · HCl buffer (pH 7.2) 용액에 기질인 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 1 mM glutathione, glutathione reductase (2 IU.), 0.2 mM NADPH 및 효소원을 첨가하여 25℃에서 5분간 반응시키는 동안에 생성되는 GSSG를 환원시키는데 소비된 NADPH의 함량을 340 nm에서 측정하여 그 활성을 산정하였다. 효소의 활성은 1분당 1 mg의 단백질이 산화시킨 NADPH의 양을 nmoles로 나타내었다.

7) 단백질의 정량 및 통계처리

단백질의 정량은 Lowry 등의 방법<sup>26</sup>에 준해 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 행하였다. 한편 실험 결과의 유의성 검증은 Student's t-test를 이용하여 상호 비교하였다.

III. 實驗 成績

1. 과산화지질 함량에 미치는 영향

정상군의 과산화지질 함량은 22.27

±2.28 nmoles인데 비하여 5% lead acetate를 투여한 뇌독성 유발군은 34.20±2.89 nmoles로 50% 정도 유의성 있게 증가되었다. 그러나 蠶繭 추출

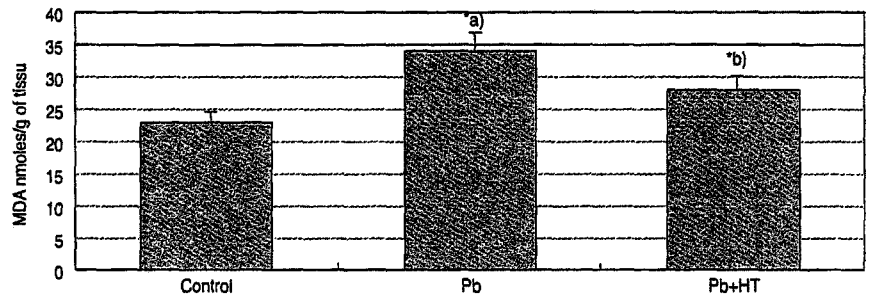


Fig. 1. Effect of *Holotrichia* methanol extract on the brain lipid peroxide level in lead acetate-treated rats. The assay procedure was described in the experimental methods.

Values are mean ± SE for 10 animals. a) Significantly different from control, b) Significantly different from lead acetate-treated group (\* : p<0.05). Pb : lead acetate treated group, HT : *Holotrichia* methanol extract-treated group.

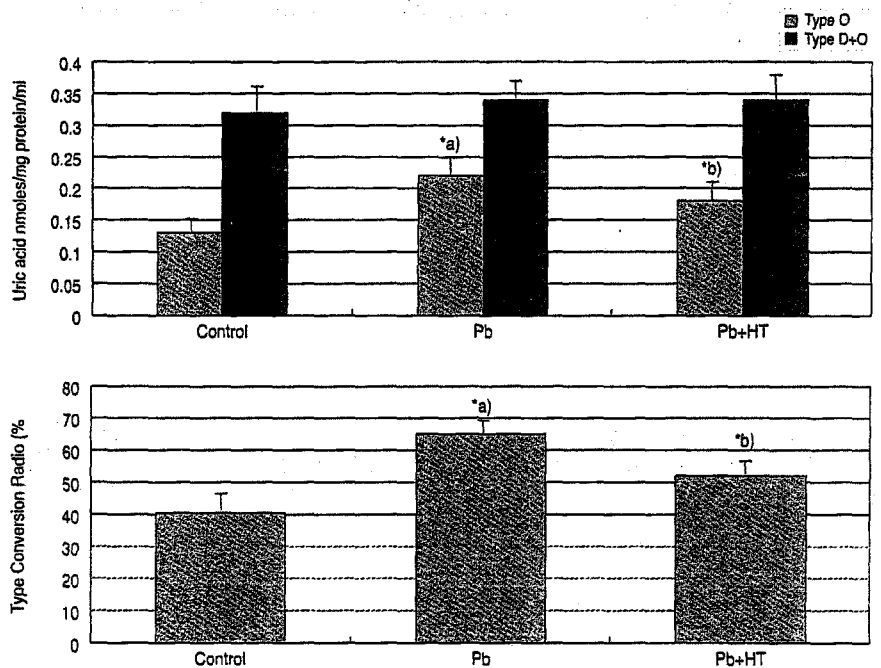
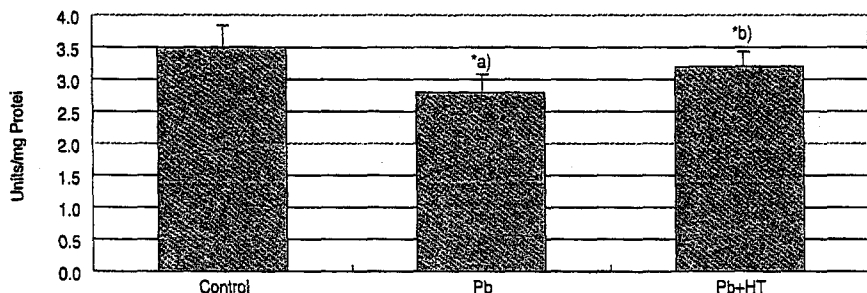
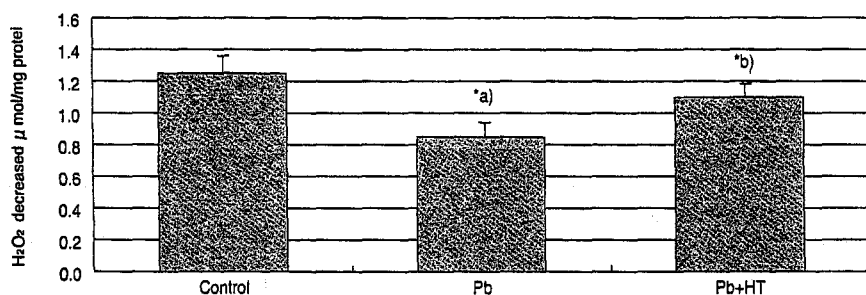


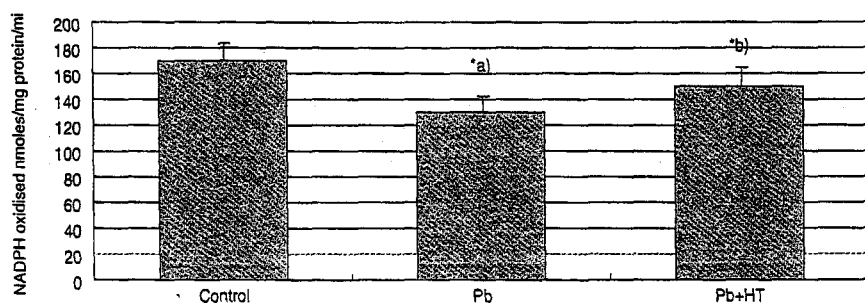
Fig. 2. Effect of *Holotrichia* methanol extract on the brain xanthine oxidase activity and type conversion in lead acetate-treated rats. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± SE for 10 animals. a) Significantly different from control, b) Significantly different from lead acetate-treated group (\* : p<0.05). Pb : lead acetate treated group, HT : *Holotrichia* methanol extract-treated group.



**Fig. 3.** Effect of *Holotrichia* methanol extract on the brain superoxide dismutase activity in lead acetate-treated rats. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean  $\pm$  SE for 10 animals. a) Significantly different from control, b) Significantly different from lead acetate-treated group (\* :  $p < 0.05$ ). Pb : lead acetate treated group, HT : *Holotrichia* methanol extract-treated group.



**Fig. 4.** Effect of *Holotrichia* methanol extract on the brain catalase activity in lead acetate-treated rats. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean  $\pm$  SE for 10 animals. a) Significantly different from control, b) Significantly different from lead acetate-treated group (\* :  $p < 0.05$ ). Pb : lead acetate treated group, HT : *Holotrichia* methanol extract-treated group.



**Fig. 5.** Effect of *Holotrichia* methanol extract on the brain glutathione peroxidase activity in lead acetate-treated rats. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean  $\pm$  SE for 10 animals. a) Significantly different from control, b) Significantly different from lead acetate-treated group (\* :  $p < 0.05$ ). Pb : lead acetate treated group, HT : *Holotrichia* methanol extract-treated group.

플 병용 투여군의 경우는  $28.11 \pm 2.02$  nmoles로서 정상군의 과산화지질 함량과 비슷한 수준으로 감소되었다(Fig. 1).

## 2. Xanthine oxidase 활성 및 형 전환에 미치는 영향

정상군에서 type O의 활성이  $0.13 \pm 0.02$  nmoles였으나 뇌독성 유발군은  $0.22 \pm 0.02$  nmoles로 유의성 있게 증가되었다. 그러나 蟻螬 추출물 병용 투여군은  $0.17 \pm 0.02$  nmoles로 비하여 현저하게 감소되었다. Type D+O의 활성은 정상군과 실험군 사이에 별다른 유의성이 없었다. Xanthine oxidase 형 전환비는 뇌독성 유발군이 정상군에 비하여 현저하게 증가되었으나 蟻螬 추출물 병용 투여군에서는 정상 수준으로 감소되었다(Fig. 2).

## 3. Superoxide dismutase 활성에 미치는 영향

정상군의 superoxide dismutase 활성은  $3.48 \pm 0.22$  units인데 뇌독성 유발군은  $2.84 \pm 0.13$  units로 현저하게 활성이 감소되었다. 그러나, 蟻螬 추출물 병용 투여군은  $3.20 \pm 0.15$  units로서 정상군 수준으로 회복되었다(Fig. 3).

## 4. Catalase 활성에 미치는 영향

정상군의 catalase 활성은  $1.26 \pm 0.08$  μmoles인데 비하여 뇌독성 유발군은  $0.85 \pm 0.09$  μmoles로 정상군에 비하여 33% 정도 유의성 있게 활성이 억제되었다. 그러나, 蟻螬 추출물 병용 투여군은  $1.10 \pm 0.08$  μmoles로서 뇌독성 유발군에 비하여 현저하게 활성이 증가되었다(Fig. 4).

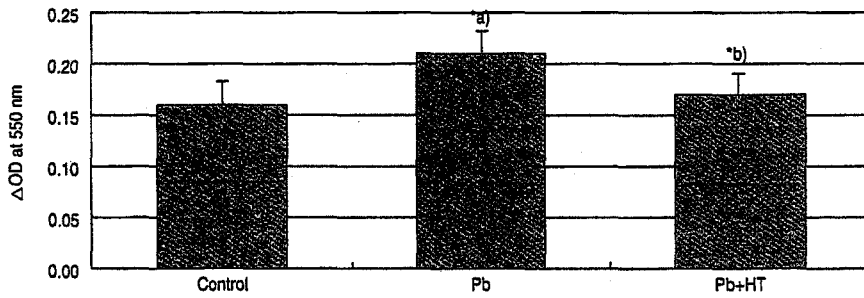


Fig. 6. Effect of *Holotrichia* methanol extract on the brain acetylcholine esterase activity in lead acetate-treated rats. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± SE for 10 animals. a) Significantly different from control, b) Significantly different from lead acetate-treated group (\* : p<0.05). Pb : lead acetate treated group, HT : *Holotrichia* methanol extract-treated group.

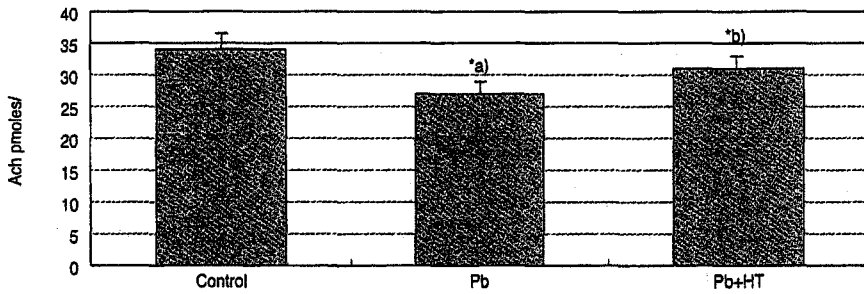


Fig. 7. Effect of *Holotrichia* methanol extract on the brain acetylcholine level in lead acetate-treated rats. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± SE for 10 animals. a) Significantly different from control, b) Significantly different from lead acetate-treated group (\* : p<0.05). Pb : lead acetate treated group, HT : *Holotrichia* methanol extract-treated group.

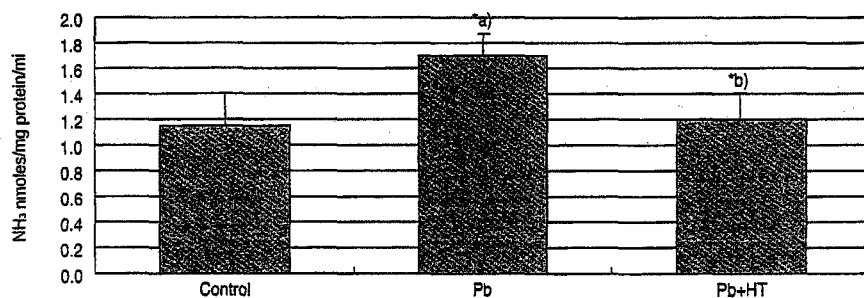


Fig. 8. Effect of *Holotrichia* methanol extract on the brain monoamine oxidase activity in lead acetate-treated rats. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± SE for 10 animals. a) Significantly different from control, b) Significantly different from lead acetate-treated group (\* : p<0.05). Pb : lead acetate treated group, HT : *Holotrichia* methanol extract-treated group.

### 5. Glutathione peroxidase 활성에 미치는 영향

정상군의 glutathione peroxidase 활성은 172.4±10.88 nmoles인데 비하여 뇌독성 유발군의 활성은 130.7±9.24 nmoles로 정상군에 비하여 25% 정도 유의성 있게 감소되었다. 그러나, 추출물 병용 투여군은 150.9±10.15 nmoles로서 뇌독성 유발군에 비하여 현저하게 증가되었다(Fig. 5).

### 6. Acetylcholine esterase 활성에 미치는 영향

정상군의 acetylcholine esterase 활성이 0.157±0.016 ΔOD at 550 nm인데 비하여 뇌독성 유발군은 0.205±0.017 ΔOD at 550 nm으로 정상군에 비하여 유의성 있게 증가되었다. 그러나, 蟾蜍 추출물 병용 투여군은 0.169±0.016 ΔOD at 550 nm으로서 뇌독성 유발군에 비하여 유의성 있게 억제되었다(Fig. 6).

### 7. Acetylcholine 함량에 미치는 영향

정상군의 acetylcholine 함량은 34.3±1.52 pmoles이었으나 뇌독성 유발군은 26.7±1.34 pmoles로 정상군에 비하여 23% 정도 유의성 있게 감소되었다. 그러나, 蟾蜍 추출물 병용 투여군은 31.4±1.44 pmoles로서 뇌독성 유발군에 비하여 현저하게 증가되었다(Fig. 7).

### 8. Monoamine oxidase 활성에 미치는 영향

정상군의 monoamine oxidase 활성은 1.149±0.17 nmoles인데 비하여 뇌독성 유발군은 1.682±0.19 nmoles로 정상군에 비하여 현저하게 증가되었다. 반면

蟾蜍 추출물 병용 투여군은  $1.208 \pm 0.18$  nmoles로서 뇌독성 유발군에 비하여 현저하게 억제되었다(Fig. 8).

#### IV. 考 察

치매는 기억, 사고, 지남력, 이해, 계산, 학습, 언어, 판단 등 다수의 고위대 뇌기능에 장애가 나타나는 증후군으로 보통 만성 또는 진행성 뇌질환에 의해서 발생된다. 치료법으로 약물치료와 사회 심리학적 치료가 있으며, 약물치료는 원발적 인지장애의 치료와 이차적인 정신장애에 대한 치료로 나눌 수 있다. 그러나, 아직 치매의 일차적인 인지장애에 대하여 뚜렷한 효능이 인정된 약물은 없다<sup>27,28</sup>. 다만, 인지장애의 치료제로 ergoloid mesylate (hydergine)가 일부 환자에서 도움을 주는데, 이는 기분이나 각성에 대한 비특이적 효과에 기인되는 것으로 보이며 단기간의 기억에 대한 것은 호전되나 다른 인지능력의 호전은 없었다고 보고되고 있다<sup>27</sup>.

최근 뇌의 cholinergic 활성도를 향진시키는 약물이 주목되고 있는데, 정상적인 젊은 성인에서는 cholinesterase 억제제인 physostigmine이 학습능력을 증대시키고 scopolamine은 인지력의 저하를 경감시킬 수 있으나, 임상연구에 의하면 단지 일부 치매 환자에서 경도 수준의 노인성 치매 상태로 유지시키는 효과만 있는 것으로 보고되고 있다<sup>27,28</sup>. 우울, 환각, 망상, 불안, 방향, 부적절한 행동 등의 이차적인 정신장애 증상은 항정신성 (psychotropic) 약물 치료가 중요하며 때로는 매우 효과적이다<sup>27</sup>. 우울증이 심한 치매 환자는 항우울제를 사용하며, 노인에게 있어 항콜린성 효과 (인지장애 악화, 새로운 학습의 저해)나 저혈압의 부작용이 있지만 혈중치료 능

도가 높기 때문에 nortriptyline이나 fluoxetine이 흔히 선택 사용된다<sup>27</sup>. 특히 monoamine oxidase (MAO) 억제제가 선호되는데, 삼환계 항우울제에서 볼 수 있는 항콜린성 효과가 없기 때문에 doxepin 혹은 desipramine 등이 MAO 억제제로서 자주 사용된다<sup>28</sup>.

활성산소류 (oxygen free radicals)는 지질과 단백질로 구성된 세포막에서 불포화지방산을 과산화시켜 세포 손상을 초래하는 강한 활성물질로서<sup>5</sup> 癡呆의 유발에 관계한다고 알려져 있다<sup>6,7</sup>. 이러한 활성산소류들은 xanthine oxidase와 aldehyde oxidase 등에 의한 산화 반응으로 생성이 촉진되며<sup>29</sup>, superoxide dismutase (SOD)<sup>30</sup>나 catalase<sup>31</sup> 등에 의해서 분해되는데, 활성산소에 의한 과산화지질의 생성도 질병의 진행 및 노화와 밀접한 관련이 있다고 알려져 있다<sup>6</sup>.

韓醫學에서는 치매를 景岳全書<sup>32</sup>에서 癡瘖라고 한 것이 최초이며 이전 문헌에는 內經素問奇病論<sup>33</sup> 등에서 표현된 “癡疾”이 치매와 유사한 증상을 나타내고 있다. 明代 이전에는 정신질환을 癡狂으로 분류하였는데 치매는 그 중 癡과 유사하다. 정신병에서 분리되어 독립적으로 분류된 것은 清代 이후로 石室秘錄<sup>34</sup>에 처음으로 증상과 病因 病理를 체계화하였으며, 辨證奇聞<sup>34</sup>에 치매를 세가지로 분류하고 각각의 辨證施治를 제시하였다.

原因과 治療에 관해 살펴보면, 《素問·脈要精微論》<sup>32</sup>에서 치매와 유사한 증상에 대해 언급하면서, “言而微 終日乃復言者 此奪氣也”라 하여 奪氣가 원인이므로 益氣하여야 한다고 하였고, 中醫臨床手冊<sup>35</sup>에서는 “少氣懶言 納氣倦怠 등의 陽虛證에 扶陽益氣하는 治法을 사용한다고 하였다. 實用中醫內科學에서 는 치매의 原因이 血瘀氣滯일 경우에 活

血行氣 宜竅健腦의 治法을 사용하였다.

蟾蜍는 性溫 味鹹하고 肝經에 入하며 한의서에 의하면 主治는 主惡血, 血瘀痞氣, 破折血, 在脇下滿痛, 月閉, 目中淫膚, 清醫白膜, 金瘡內塞, 赤白游疹 등으로 주로 瘀血을 치료하는 약물로 사용되어 왔다<sup>2</sup>. 실험연구에 의하면 허혈/재관류로 인한 뇌 조직 손상에 대하여 강한 항산화 작용으로 회복 효과를 나타내었기에<sup>16</sup> 活血化瘀 효능이 뇌기능을 개선시킬 수 있을 것으로 기대된다.

이에 저자는 蟾蜍의 뇌기능 개선 효과를 검토하고자 초산남으로 뇌독성을 유발시킨 모델 동물의 뇌조직에서 acetylcholine esterase 활성, monoamine oxidase 활성, xanthine oxidase 활성과 형질환비 등에 미치는 영향을 관찰하였다.

과산화지질은 세포막의 구성 성분중의 하나인 불포화지방산이 oxygen free radical과 반응하여 생성되어 지고 이때 생성된 과산화물에 의해서 연쇄적으로 반응이 촉진되어진다<sup>36</sup>. 세포의 정상적인 구성성분을 파괴하여 고유 기능을 저하시키거나 직접적으로 세포를 파괴하기도 하므로 조직중의 과산화지질의 함량을 측정하므로써 세포 손상 혹은 조직 손상의 정도를 예측할 수 있다<sup>37</sup>. 뇌독성 유발군의 뇌조직중에서 현저하게 증가하던 과산화지질의 함량이 추출물 투여에 의해서 정상군 수준으로 회복되었다. 뇌조직중에서 과산화반응이 진행되면 뇌기능 저하에 의해서 치매나 노인성 질환이 쉽게 나타날 수 있다. 따라서, 蟾蜍 추출물에 의한 뇌조직중의 지질 과산화반응의 억제는 뇌손상으로 인한 노인성 질환이나 치매의 발현을 충분히 감소시킬 수 있을 것으로 예측할 수 있다.

Xanthine oxidase는 oxygen free

radical의 대표적인 생성 효소로 알려져 있다<sup>29</sup>. Oxygen free radical은 xanthine oxidase의 형전환 과정에서 생성되어지므로<sup>38</sup> xanthine oxidase 활성화와 형전환을 억제시키면 활성산소의 생성을 차단시켜 뇌조직의 손상을 부분적으로 억제시킬 수 있을 것이다. 뇌독성 유발군에서 유의성 있게 증가하던 xanthine oxidase 활성화와 형전환비가 蟻螞추출물의 투여에 의하여 현저하게 억제되었다. 이러한 결과는 蟻螞추출물이 체내에서 oxygen free radical의 생성인자를 저해하여 독성공격인자로부터 조직세포를 보호하며 이와 관련된 질병의 발현을 억제시킬 수 있을 것으로 사료되어진다.

Xanthine oxidase에 의해서 생성된 활성산소는 superoxide dismutase, catalase 및 glutathione peroxidase 같은 분해 효소들의 대사작용에 의하여 무독화된다<sup>30,31,39</sup>. 뇌독성 유발군에서 현저하게 감소하던 superoxide dismutase, catalase 및 glutathione peroxidase 활성이 蟻螞추출물의 병용 투여에 의해서 정상 수준에 가깝게 회복되었다. 이는 蟻螞추출물이 생체내에서 생성된 독성인자들을 분해시켜 독성물질로부터 조직세포를 보호하는 기능을 가지고 있음을 의미한다.

치매의 발병원인으로 현재까지는 정확히 알려진 바가 없지만 일반적으로 대뇌피질에서 amyloid 단백질의 생성 증가와 뇌조직중의 acetylcholine 함량과 상관관계가 있다고 알려져 있다<sup>40</sup>. 치매환자의 뇌조직중 acetylcholine 함량은 정상인에 비해 많이 저하되므로 acetylcholine 함량과 치매 증상의 발현은 밀접한 관계가 있을 것으로 사료된다. 체내에서 acetylcholine은 acetylcholine easterase의 효소 반응에 의해서

대사되어지며 이때 acetylcholine의 고유 기능은 상실하게 된다<sup>41</sup>. 그러므로, 생체내에서 acetylcholine 대사 효소인 acetylcholine esterase 활성을 억제시키면 조직중의 acetylcholine 농도를 증가시켜 치매의 진행을 억제시킬 수 있을 것으로 사료된다. 뇌독성 유발군에서 현저하게 증가하던 acetylcholine esterase 활성이 蟻螞추출물 투여에 의해서 정상군 수준으로 감소되었다. 이에 근거하여 직접적으로 뇌조직중 acetylcholine 함량을 정량하였을 때 뇌독성 유발군에서 현저하게 감소하던 acetylcholine 함량이 蟻螞추출물의 투여에 의해서 정상 수준으로 개선되었다. 이러한 실험 결과는 蟻螞추출물이 acetylcholine esterase의 대사를 저해하여 뇌조직 중의 acetylcholine 농도를 증가시켜 치매의 발현을 억제할 것으로 사료된다.

인체내에는 수많은 신경전달 물질이 존재하며 신경계를 통하여 신체전반으로 신속 이동하여 그 기능을 발휘하고 있다. 특히, 뇌에도 많은 신경전달 물질이 존재하여 정상적인 뇌기능을 조절하고 있다. 신경계 중에서 자율신경계에는 교감신경계와 부교감신경계가 존재하고 있으며 교감신경전달 물질로는 epinephrine, norepinephrine 및 dopamin 등이 있고 부교감신경전달 물질로는 acetylcholine이 있다. Epinephrine이나 norepinephrine은 교감신경계통에 작용하여 정서적인 면을 활발하게 하는 신경전달 물질로 체내에서 monoamine oxidase에 의해 대사되어 그 작용을 소실하게 된다. 치매환자들은 말이 없고 무기력하며 우울증에 시달리기도 하는데 이는 교감신경계통의 기능이 저하되기 때문일 수 있으므로, 교감신경 전달물질에 관련된 대사 효소

를 저해하여 epinephrine이나 norepinephrine의 체내농도를 증가시켜 기능을 활성화시키면 치매에 의해서 나타나는 정신적인 기능저하 현상을 개선할 수 있을 것이다. 뇌독성 유발군에서 monoamine oxidase 활성이 현저하게 증가되었으나 蟻螞추출물의 투여에 의해서 유의성 있게 억제되었다. 이러한 결과로 보아 蟻螞추출물은 뇌조직중 교감신경 전달물질인 nore-pinephrine 및 epinephrine 대사 효소 활성을 억제하여 뇌조직중의 신경전달 물질의 함량을 증가시켜 치매에 의해 나타나는 정서적인 기능 저하 현상을 회복시킬 수 있을 것으로 사료된다.

이상의 모든 결과들을 종합하여 볼 때 蟻螞추출물은 생체내에서 활성산소의 생성을 억제시키고 활성산소 분해효소들의 활성을 촉진시켜며 뇌조직중 과산화지질의 생성을 감소시켜 외부 공격인자로부터 뇌세포를 보호하는 기능이 있는 것으로 사료된다. 또한 acetylcholine의 뇌조직 중 농도를 증가시키고 교감신경 전달물질의 대사를 억제하여 치매에 의해서 나타나는 증상의 개선에 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다. 향후 계속적으로 관련된 실험을 행하여 그 작용양상과 기전을 구체적으로 확인할 계획이다.

## V. 結 論

蟻螞가 치매의 치료에 활용될 수 있는 지를 살펴보고자 초산납으로 유도한 뇌독성 흰쥐의 뇌신경전달 물질과 관련된 효소 활성과 항산화 작용에 대한 효과를 검토하였다.

5% 초산납 용액을 투여한 뇌조직에서 증가하던 과산화지질 함량, xanthine oxidase 활성화와 형전환비가 蟻螞투여



에 의하여 유의성 있게 감소되었으며, 감소하던 superoxide dismutase, catalase 및 glutathione peroxidase 활성이 유의성 있게 증가되었다. 또한 5% 초산납 용액 투여에 의해 증가하던 acetylcholine esterase 및 monoamine oxidase 활성이 蟻螯 투여에 의하여 유의성 있게 감소되었으며, 감소하던 acetylcholine의 함량이 유의성 있게 증가되었다.

이러한 실험 결과는 蟻螯가 acetylcholine esterase와 monoamine oxidase 활성을 억제하고 항산화 작용을 통해 치매 증상의 개선에 크게 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다.

### 參考文獻

1. 이근후 외. 최신심상정신의학. 서울:하나의학사; 1988, p.138, 216-28.
2. Hardman JG, Limberd LE. The pharmacological basis of therapeutics. ninth edition. Philadelphia:McGraw Hill press; 1996, p.115-37.
3. Richter JA, Perry EK, Tomlinsom BE. Acetylcholine and choline levels in postmortem human brain tissue : Preliminary observation in Alzheimer's disease. Life Sci 1980;25:1683-9.
4. 민성길. 최신정신의학. 서울:일조각; 1998, p.33.
5. Mian L, Jozef R, Vilian K, Peter P, Ladislav V. Free radicals in chemistry and biology. New York:CRC Press; 1989, p.29-31, 283.
6. Floyd RA. Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia. FASEB J 1990;4:2587-97.
7. Harman D. Role of free radicals in the organization and evolution of life, aging and disease processes. Free Radicals, Aging and Degenerative Disease. In: Johnson JE et al. ed. Free radical theory of aging. New York:Alan R. Liss, Inc; 1986, p.3-49.
8. 方藥中 主編. 實用中醫內科學. 上海:上海科學技術出版社; 1986, p.378-80.

9. 張介賓. 景岳全書(上). 서울:대성문화사; 1988, p.692.
10. 서영준, 신현철, 윤철호, 정지천, 신역섭. 三和散이 腦組織의 acetylcholine esterase 및 monoamine oxidase 활성에 미치는 影響. 한방성인병학회지 1997;3(1):78-92.
11. 강정준, 정지천. 補陽還五湯이 뇌조직의 acetylcholine esterase 및 monoamine oxidase 활성에 미치는 영향. 대한중풍학회지 2000;1(1):67-77.
12. 孫星衍 選. 神農本草經. 臺北:自由出版社; 1973, p.185-6.
13. 문성환, 고병희, 송일병. 血栓症에 미치는 蟻螯의 효능에 관한 실험적 연구. 경희의학 1992;8(2):177-81.
14. 안규석. 蚯蚓, 水蠅, 蟻螯 및 蜈蚣이 血栓症에 미치는 영향. 대한한의학회지 1990;11(2):92-101.
15. 홍시내, 정지천, 김철호. 蟻螯의 血栓溶解 酵素 分離 및 그 특성에 관한 연구. 대한한방내과학회지 1999;20(1):198-209.
16. 정지천, 박태훈, 윤철호, 서운교, 신역섭, 강정준 외. 蟻螯가 虛血/再灌流에 의한 腦損傷에 미치는 영향. 대한한방내과학회지 1999;20(2):196-209.
17. 김기열, 김종대, 정지천, 남경수. 蟻螯가 마우스 Natural Killer 세포 활성에 미치는 영향. 대한한의학회지 1998;19(2):313-25.
18. Ohkawa H, Ohishi N, Yaki K. Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal. Biochem. 1979;95:351-8.
19. Matsumoto M, Togashi H, Yoshikawa M, Hirokami M, Morii K, Saito H. Simultaneous high-performance liquid chromatographic determination of norepinephrine, serotonin, acetylcholine and their metabolites in the cerebrospinal fluid of anesthetized normotensive rats. J. Chromato. 1990;526:1-10.
20. Ellman GL, Courtney DK, Andres Jr V, Featherstone RM. Biochem. Pharmacol. 1961;7:88.
21. Nagatsu T, Yagi K. A simple of monoamine oxidase and D-amino acid oxidase by measuring ammonia. J. Biochem. 1966;60:219-21.
22. Sürpe F, Della Corte E. The regulation of rat liver xanthine oxidase : Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O). J. Biol. Chem. 1969;244:3855-63.
23. Martin JP, Dailey M, Sugarman E. Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autooxidation. Arch. Biochem. Biophys. 1987;255:329-36.
24. Aebi H. La Catalase erythrocytaire. In: Masson & Cie eds. Exposes Annuels. Paris:de Biochimie Medicale. 1969: 139-64.
25. Paglia ED, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase. J. Lab. Clin. Med. 1967; 70:158-69.
26. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 1951;193:265-75.
27. 이홍식, 김진학. 치매의 진단과 치료. 대한 의학협회지. 1992;35(9):1126-33.
28. Kotke, Lehmann. Kresin's handbook of Physical Medicine and Rehabilitation. 4th edition. Philadelphia:W. B. Saunders Co. 1992:779-80, 658-9.
29. Beauchamp C, Fridovich I. A mechanism for the production of ethylene from methional : The generation of the hydroxyl radical by xanthine oxidase. J. Biol. Chem. 1970;245:4641-6.
30. McCord JM. Free radical and inflammation : Protection of synovial fluid by superoxide dismutase. Science. 1974;185:529-31.
31. Michelson AM. Oxygen radicals. Agents Actions. 1982;11:179-210.
32. 홍원식 편. 精校黃帝內經. 서울:동양의학 연구소. 1981:37, 79, 124, 196, 269, 301.
33. 陳士澤. 石室秘錄. 中國:中國藥出版社. 1991:295-7.
34. 錢鏡湖. 辨證奇聞全書. 中國:甘地出版社. 1990:233-5.
35. 安徽中醫學院. 中醫臨床手冊. 香港:商務印書館. 1975:95-6.
36. Freemann BA, Crapo JD. Biology of disease : Free radicals and tissue injury. Lab. Invest. 1982;47:412-26.
37. Emerit I, Cerutti PA. Tumor promoter phorbol-12-myristate- 13-acetate induces chromosomal damage vis

- indirect action. *Nature*. 1981;293:144-6.
38. Battelli MG, Della Corte E, Stirpe F. Xanthine oxidase type D (dehydrogenase) in the intestine and other organs of the rat. *Biochem. J.* 1972;126:747.
39. Froh L, Gunzler WA, Schock HH. Glutathione peroxidase : A selenoenzyme. *FEBS Lett.* 1973;32:132-4.
40. Galdzicki Z, Fukuyama R, Wadhvani KC, Rapoport SI, Ehrenstein G.  $\beta$ -amyloid increases choline conductance of PC12 cells : possible mechanism of toxicity in Alzheimer's disease, *Brain Res.* 1994;646:332-6.
41. Birks SI, MacIntosh FC. Acetylcholine metabolism of sympathetic ganglion. *Can. J. Biochem. Physiol.* 1961;39:787-827.