

산조인 추출물의 니코틴 민감화에 미치는 효과

지규용* · 김영만¹ · 양재하²

동의대학교 한의과대학, 1: 동의대학교 생활과학대학, 2: 대구한의대학교 한의과대학

Effect of *Zizyphus jujuba* Extract on Nicotine Sensitization

Gyoo Yong Chi*, Young Man Kim¹, Chae Ha Yang²

College of Oriental Medicine, Dongeui University, 1: College of Life Sciences, Dongeui University,
2: Department of Physiology, College of Oriental Medicine, Daegu Haany University

Repeated administration of all addictive drugs, including nicotine, can produce sensitization of extracellular dopamine levels in the nucleus accumbens and behavioral sensitization in rat, as evidenced by an enhanced locomotor response and increased dopamine release in brain to a subsequent injection of the drug. In order to investigate the effect of *Zizyphus jujuba* extract on repeated nicotine-induced sensitization, rats were given repeated injection of saline or nicotine (0.4 mg/kg s.c., twice a day for 7 d), followed by one challenge injection on the 4th day after the last daily injection. Systemic challenge with nicotine (0.4 mg/kg s.c.) and a direct local challenge of 3 mM a larger increase in locomotor activity and extracellular dopamine release in the nucleus accumbens in nicotine-pretreated rats than in saline-pretreated rats, respectively. *Zizyphus jujuba* extract significantly decreases locomotor activity and dopamine release in the nucleus accumbens induced by a nicotine challenge. These results suggest that *Zizyphus jujuba* extract may attenuate nicotine-induced neurochemical and behavioral sensitization and may be effective in suppressing compulsive nicotine-seeking behavior.

Key words : nicotine, behavioral sensitization, dopamine, nucleus accumbens

서 론

세계보건기구는 세계적으로 약 10억 명 정도가 담배를 피우며, 흡연으로 인해 1년에 300만 명 이상, 즉 10초에 1명 꼴로 사망하는 것으로 추정하고 있다. 더 심각한 문제는 현재의 흡연인구의 증가율로 보아 향후 30년 이내에 흡연으로 인한 사망은 한 해 천만 명을 넘어설 전망이다. 니코틴이 흡연으로 인한 사망의 직접적인 원인은 아니며 그 중독성이 흡연으로 인한 손실의 주요인이다. 그러나 니코틴중독의 신경생물학적 기전에 대한 이해는 아직 미미한 수준이며 단편적, 지엽적인 이해에 의존하고 있는 실정이다.

중추신경계의 주요 도파민계인 중뇌변연계(mesolimbic system)와 흑질선조체로(nigrostriatal pathway)는 코카인, 암페타민, 모르핀 등 중독성 약물의 강화작용(reinforcing property)에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 이러한 중독성 약물들은

도파민계의 표적 영역인 측핵(nucleus accumbens)과 선조체(striatum)에서 도파민의 유리를 자극한다¹⁾. 또한 도파민 신경회로를 실험적으로 손상시키면 중독성 약물의 강화능력이 사라진다²⁾.

여러 실험적 증거는 니코틴이 다른 중독성 약물과 공통적인 신경생물학적 특성을 지니고 있으며 도파민계에 의해 그 중독작용이 매개됨을 시사하고 있다. 니코틴 투여 후 유발되는 신경활성의 변화는 니코틴 mRNA 발현의 변화, 도파민 농도의 변화와 활동성(hyperactivity)과 같은 비교적 지속적인 분자적, 세포적, 행동적 변화를 일으킨다. 중뇌변연계가 니코틴중독의 주요 표적 영역일 가능성이 제기되었으며, 이러한 견해는 직접적인 또는 간접적인 실험증거에 의해 지지되고 있다. 자가방사기록법(autoradiography)을 이용한 연구에서 니코틴 수용체가 복측피개부위(ventral tegmental area, VTA)의 세포체와 측핵의 말단부위에 많이 분포해 있음이 밝혀졌으며^{3,4)} 니코틴 투여는 VTA 신경세포를 흥분시킨다고 알려져 있다⁵⁾.

In vitro 연구로는 니코틴 처치 후 측핵과 VTA에서 도파민의 증가를 발견하였으며^{6,7)}, in vivo 연구에서도 니코틴 투여는 다른 중독성 약물의 효과와 비슷하게 측핵의 도파민 유리를 자

* 교신저자 : 지규용, 부산시 부산진구 양정2동 45-1, 동의대학교 한의과대학

· E-mail : cgyu@deu.ac.kr, · Tel : 051-850-8659

· 접수 : 2006/08/31 · 수정 : 2006/09/24 · 채택 : 2006/10/09

극하였고 니코틴 효능물질인 isoarecolone은 측핵에서 도파민의 유리를 증가시켰다⁸⁾. 현재까지 밝혀진 바에 따르면, 니코틴은 도파민 뉴런의 세포체에 분포하고 있는 니코틴성 아세틸콜린 수용체를 자극하여 뇌의 주요 신경전달물질인 도파민의 유리를 증가시키고 행동적 변화(sensitization)를 일으키는 것으로 알려져 있다⁹⁾.

최근 침술과 일부 한약이 니코틴 중독의 치료제로써 검토되어져 왔으며, 임상적으로 침술이 니코틴 금단증후를 완화시키는 데 치료효과를 갖는 것으로 알려져 있는데, 현재까지 침술과 한약이 뇌에서 어떻게 작용하는지에 대해 거의 알려져 있지 않다. 최근 연구에 의하면 인삼의 활성 성분인 saponin이 약물 중독에 의한 행동의 변화에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 왔다. 예를 들면, 홍삼의 ginseng total saponin(GTS)은 메트암페타민 투여 후에 나타나는 행동적 민감화의 발달을 차단시킨다^{10,11)}. 또한 코카인이나 모르핀 투여 후에 나타나는 행동적 변화도 억제됨이 밝혀졌다^{12,13)}. 한편, 반복적 니코틴 처치 역시 행동적 민감화를 일으키는 것으로 알려져 있으며, 이 때 보행성 활동량의 증가와 측핵의 도파민 농도는 밀접한 상관관계를 보인다. 최근 연구에서 GTS의 사전처치는 니코틴 투여 후에 나타나는 도파민의 증가를 차단시켰는데¹⁴⁾, 이는 GTS를 비롯한 여러 한방 치료가 니코틴에 의한 행동변화에 영향을 미침을 시사한다.

니코틴에 의한 보행성 활동 변화에 한약들이 어떤 역할을 하고 있는지에 대해서는 현재까지 거의 알려져 있지 않다. 따라서 본 연구에서는 니코틴의 반복투여로 유도된 니코틴 약물중독 모델에서 한약이 행동적으로 보행성 활동량에 미치는 효과와 중추신경화학적 변화에 미치는 효과를 검토한다. 이로써 니코틴 중독의 초기 및 확립 단계에 적합한 새로운 한방치료약물 또는 예방제로서의 효능을 살펴보고자 한다.

재료 및 방법

1. Locomotor Activity

1) 실험동물

체중 250-260 g의 수컷 Sprague-Dawley Rat을 (주)효창 사이언스에서 구입하여 대구한의대학교 동물사육실에서 일정한 조건(온도 : 21±2, 명암 : 12시간 light/dark cycle)으로 사육하여 이용하였으며, 실험동물은 먹이와 물의 자유스런 접근이 가능하고, 실험시작 전까지 물과 먹이를 충분히 제공하며 실험시작 전에 동물을 10분 동안 사전취급(handling)한다.

2) 한약소재의 제조

酸棗仁 중국산 표준품을 부산시내 건재상에서 구입하고 엄선하여 사용하였으며 니코틴(Sigma)은 표준품을 사용하였다. 각 약재 600g을 정확히 쟀 다음 대용약탕기로 3시간 전탕하고 그 여액을 감압농축한 후 동결건조(-66℃, 10mmHg)시켜 試料粉末을 획득하였다. 건조 수율은 23%였다.

3) 보행성 활동의 측정

(1) 행동측정 장치

실험동물의 활동량을 정량화하기 위하여, 본 연구에서는 Ethovision(Noldus, Netherland)을 이용하여 보행성 활동량을 측

정하였다. 크기가 가로·세로·높이가 각각 43×43×45 인 검은색 무광택 아크릴 상자에서 실험동물의 움직임을 추적하였다. 8개의 상자에 약 2.5 meter 위에 설치된 디지털 카메라에서 얻어진 화상을 컴퓨터에 전달하여, 검은 배경에 흰색 피사체의 대조 원리를 이용하여 흰색 실험동물 상(image)의 중심점을 초당 수 번을 인식하는 방식으로 실험동물의 움직임을 따라 추적하여 궤적을 데이터화하고 그 거리를 정량하였다.

(2) 실험절차

실험은 하루에 두 번씩 7일 동안 연속적으로 nicotine hydrogen tartrate(0.4mg/kg, s.c.; Sigam, St. Louis, MO)를 처치하는 민감화 발달단계(sensitization phase)와 3일 동안 니코틴을 철회하는 약물철회단계(withdrawal phase), 그리고 약물철회기간이 끝난 다음날 다시 동일 용량의 니코틴을 한번 처치하는 검사단계(testing phase)로 구성되었다. 한편 니코틴의 반복적인 처치에 의한 활동량의 점진적인 증가로 표현되는 행동적 민감화 현상이 일어나는지 확인하기 위하여 통제군은 생리식염수(1ml/kg, s.c.)만을 반복적으로 투여하였다.

(3) 발달단계

동물을 사육장에서 외부 소음이 차단된 실험실로 옮겨 각각 무게를 측정 한 후 8개의 활동량 측정상자에 개별적으로 넣었다. 상자 내에서 60분간의 적응기간(adaptation)을 거친 후, 다시 60분간의 기저활동량(baseline)을 측정하였다. 측정이 끝난 후 試料(100mg/kg)를 경구투여하고 60분 후 니코틴(0.4mg/kg, s.c.)을 투여한 다음 60분간의 처치 후 활동량(after treatment; ATM)을 측정하였다.

4) 실험 절차

실험 1에서는 실험동물에게 하루에 두번씩 7일 동안 연속적으로 saline을 투여하고, 실험 2에서는 니코틴(0.4 mg/kg, s.c.)을 투여한다. 3일 동안의 약물 중단기간을 거쳐 Day 11에 약물 challenge한 후 활동량 변화를 측정하여 평가한다. 약물 투여 전 60분 동안 기저 수준의 자발적 활동량을 측정하며, 약물투여 후 120분 동안 활동량 변화를 측정한다. 실험 3에서는 challenge 60분전에 산조인(100mg/kg)을 경구투여하고 니코틴을 투여한 후 행동변화 정도를 측정하였다.

Table 1. Classification of experimental groups and test procedure

Experiment	Pretreatment (Day 1-7)	Withdrawal (Day 8-10)	Nicotine Challenge (Day 11)	Measurement
Experiment 1	Saline	0	Nicotine	Locomotor Activity
Experiment 2	Nicotine	0	Nicotine	Locomotor Activity
Experiment 3	Nicotine	0	Zizyphus jujuba Extract + Nicotine	Locomotor Activity

2. 신경화학적 변동

1) Stereotaxic 방법

실험동물은 Sprague-Dawley 웅성 rat(250~260g)를 사용하여 12시간 조명주기 조건하에서 먹이와 식수는 자유롭게 섭취토

록 하였으며, 실험 시작 전 2~3일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 50mg/kg의 sodium pentobarbital을 복강 주사하여 마취시킨 다음에 stereotaxic 수술대에 고정시키고, microdialysis probe를 삽입할 부위의 두피를 절개한 뒤 현미경을 이용하여 lamda와 bregma를 찾고, coordinate는 nucleus accumbens shell(AP 1.7, ML 0.8, DL -6.0)의 위치에 guide cannula를 설치한 후 미세나사와 치과용 시멘트를 이용하여 guide cannula를 고정시킨다. 수술을 마친 실험군은 일주일간의 회복시기를 거친 후 microdialysis system에 연결시켰다.

2) Microdialysis 방법

일주일간의 회복시기가 지난 후, microdialysis probe용 guide cannula가 설치된 rat를 microdialysis system에 연결하고, 미세투석법을 위해 CMA/11, 14/02 microdialysis probe (shaft length : 14mm, dimension : 0.24×2mm)를 guide cannula를 통하여 삽입한다. Microdialysis injection pump(Harvard Apparatus 22와 11)를 이용하여 flow rate 1.5µl/min 로 artificial CSF(인공 뇌척수액)를 probe에 관류한다. CSF의 조성은 NaCl 8.66g, KCl 0.224g, CaCl₂ · H₂O 0.0206g, MgCl₂ · 6H₂O 0.163g의 수용액 500 ml와 Na₂HPO₄ · H₂O 0.214g, NaH₂PO₄ · H₂O 0.0054g의 수용액 500 ml가 혼합용액으로 이루어져 있다.

Rat가 bowl cage 속에서 자유로이 움직이는 상태에서 microdialysis system을 통해 20분 간격으로 probe 끝의 반투과성막의 확산원리에 의한 세포 외액을 취하여 -70℃의 deep freezer에 저장한 뒤 분석하였다.

3) HPLC를 이용한 microdialysate 정량(DOPAC, Dopamine, HVA)

HPLC조건 : Mobile phase - 75mM sodium phosphate monobasic, 1.7mM sodium octanesulfonate, 25µM EDTA, 0.714mM triethylamine , 10% acetonitrile (pH 3.0)로 하였으며 mobile phase는 Sykam 7121 pump를 이용하여 flow rate 1.0 ml/min로 흘린다.

Column : HR-80, 80×4.6mm, 3µm particle size : ESA coulometric detector - ESA, Coulochem II, Model 5011 with analytic cell, Guard cell Model 5020A.

4) Probe 위치확인을 위한 조직학적 검증

Microdialysis 실험이 끝난 후에는 nucleus accumbens내의 microdialysis probe의 위치확인을 위한 조직학적 검증을 위하여 우선 formalin buffer를 100ml formalin(37%), 900ml증류수, 6.5g Na₂HPO₄(dibasic), 4g NaH₂PO₄·H₂O(monobasic)을 혼합하여 만들었다. 생리식염수는 8.7g의 NaCl을 증류수 1 l에 녹여서 만들었으며 생리식염수와 formalin buffer를 각각 4 l 짜리 증류수 통에 넣어 높은 위치에 설치한 뒤 tube를 통해 관류할 수 있도록 하였다.

Microdialysis분석을 마친 흰쥐의 복부에 sodium pentobarbital을 80mg/kg을 복강주사하여 마취시킨 뒤 수술대에 고정하여 흉곽을 열고 descending aorta를 결찰하고, 심첨부위에 천자하여 먼저 생리식염수를 흘려서 혈액을 씻어낸다. 그리고 formalin buffer를 충분히 관류한 후 두개골로부터 뇌를 분리하여 formalin buffer에 저장하여 냉장 보관하였다. Vibratome을

이용하여 100µm의 뇌절편을 만들고 Atlas의 coordinate(Paxinos and Watson)를 참고하여 probe가 측핵 부위에서 벗어난 data는 제외하였다.

6) 자료처리

모든 실험성적은 니코틴 처리전 세 개의 기저치의 평균값에 대한 백분율로 표시하였고 통계적 유의성은 SPSS program(version 11.01)의 one-way ANOVA로 검정하여 p값이 0.05이하인 경우에 유의한 것으로 인정하였다.

결 과

1. Locomotor activity

7일 동안 saline을 주고 3일 동안의 철회기간을 거쳐 11일째 니코틴에 의한 민감화 발현 단계(통제군)에서의 활동량은 1012.5±215.1이고, 7일 동안 니코틴을 주고 3일 동안 철회후 11일째 니코틴에 의한 민감화 발현 단계(대조군)에서의 활동량은 4014±135.3으로서 반복적인 니코틴투여는 보행성 활동량을 증가시켰다. 동일한 방법으로 발달단계에서 니코틴처리 60분전에 산조인(100mg/kg, p.o)을 투여한 산조인군은 발현단계에서 보행성 활동량이 3265.8±99.4로 감소하였다(Fig. 1).

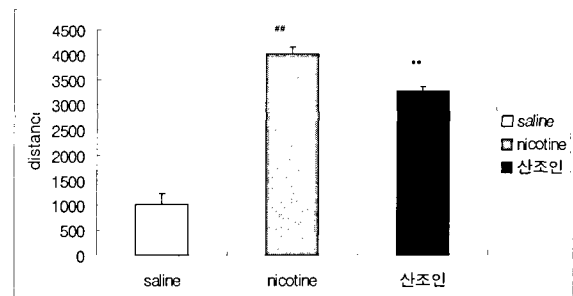


Fig. 1. Effect of *Z. jujuba* (systemic nicotine) on the locomotor activity in nicotine or saline-pretreated rats. Rats were pretreated with saline(Acute nicotine n=6) or nicotine(repeated nicotine n=6) or (repeated *Zizyphus jujuba* n=10) twice daily for seven consecutive days and tested with nicotine challenge on day 11. Data were analyzed by repeated ANOVA and followed by post hoc Tukey test. #P<0.01, as compared with corresponding data of saline group. n**P<0.01, as compared with corresponding data of nicotine group.

2. 니코틴 반복 투여에 의한 측핵 내 DA 함량변화와 한약의 효과

니코틴의 반복투여가 DA 유리에 미치는 한약의 효과를 알아보기 위하여 실험동물을 7일간 하루에 두 번씩 nicotine hydrogen tartrate (0.4 mg/kg, s.c., free base)를 투여한 다음 3일 동안의 철회기간을 두고 약물강화효과를 유도하기 위하여 산조인 100mg/kg을 1일1회 경구투여 하였다. 니코틴 민감화 발달현상에 대한 대조군으로서 saline(1mg/kg, s.c.) 처치군을 두어 동일한 방법으로 투여하였다. 3일 철회기간 다음날 산조인 100mg/kg을 경구투여하고 5시간이 지난 다음 니코틴(3mM)을 국소투여 하였을 때 실험동물의 측핵 내 DA 유리의 함량 변화를 관찰하였다. Saline 처치군(n=7)에서는 basal DA 농도(19.4±4.2 nM)에 비해 최고 392.8±45.5% 증가하였고, 니코틴을 처치한 대조군(n=8)에서는 최고 704.1±134.4%까지 증가하였다. 산조인군

(n=6)은 280.0±44.4% 증가하여 대조군에 비하여 DA 유리가 유의하게 억제되었다.

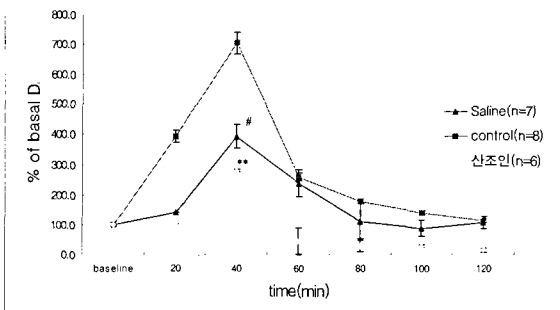


Fig. 2. The time course effect of *Ziziphus jujuba* on changes of extracellular DA levels in nucleus accumbens of rats preinjected locally with 3mM nicotine. Rats were pretreated with saline (▲, Saline-pretreated) or nicotine (■, nicotine-pretreated) or (●, *Ziziphus jujuba*-pretreated) and tested with a local challenge of nicotine. Results are means ±SEM of the amount of DA in each sample expressed as percent of basal values. Data were analyzed by repeated ANOVA and followed by post hoc Tukey test. #, P<0.05, as compared with corresponding data of saline group. n**, P<0.01, as compared with corresponding data of nicotine group.

3. 니코틴 반복 투여에 의한 측핵 내 DOPAC 함량변화와 한약의 효과

Saline 처치군(n=7)과 control군(n=8)에서는 basal dihydroxyphenyl acetic acid(DOPAC)의 농도가 시종 미세한 정도의 변화만을 보이고 있으나 산조인 투여군(n=6)에서는 최고 716.6±298.2%까지 증가하였다.

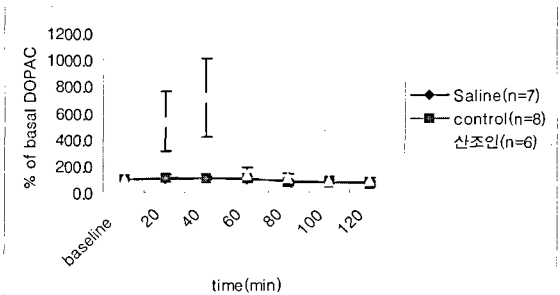


Fig. 3. Effect of herbal medicine on changes of extracellular DOPAC levels in nucleus accumbens shell of rats challenged with nicotine.

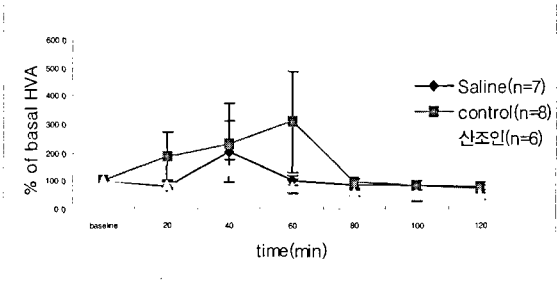


Fig. 4. Effect of herbal medicine on changes of extracellular HVA levels in nucleus accumbens shell of rats challenged with nicotine.

4. 니코틴 반복 투여에 의한 측핵 내 HVA 함량변화와 한약의 효과

Control군과 Saline 처치군에서 basal homovanillic acid(HVA)의 농도에 비해 약간 올라가고 시료는 basal 농도를 유지하는 경향이 있으나 유의성은 없었다.

고찰

모든 인간의 행동은 본능적으로 쾌감(pleasure)에 의한 동기의 성취와 관련되어 있으며 쾌감을 일으키는 인자는 성장환경이나 가치관, 학습 등에 따라 달라질 수 있다. 이 쾌감은 성욕이나 식욕과 같이 본능적인 생명활동일 수도 있고 예술적 승화나 종교적 신념과 같이 형이상적일 수도 있으며 경우에 따라서는 sadism이나 massacre와 같은 비정상적인 것일 수도 있다.

그렇지만 어떤 종류이든 과도한 쾌감의 추구는 곧 탐닉(addiction)으로 이어질 수 있고 때로는 자극적인 쾌감을 맛보기 위해 특별한 약물의 힘을 빌기도 한다. 이러한 예가 곧 마약이나 각성제, 환각제 같은 것들이다. 문제는 이들이 곧 신체와 정신의 황폐화를 일으켜 종국에는 폐인에 이르게 한다는 점이다.

최근의 사회적 흡연퇴치 운동의 확산에도 불구하고 금연하기 어려운 이유는 이러한 본질적인 쾌감의 성취를 가능케 하는 니코틴 때문이다. 니코틴은 중독성이 강하여 60mg에도 치명적이며 흡입 후 15초 안에 뇌에 도달한다. 더구나 최근에는 담배가 기관지염, 폐기종, 관상동맥질환, 말초혈관질환, 기타 각종 암을 유발하여 건강에 해로움을 잘 알고 있으면서도 금연을 못한다는 점에 착안하여 담배의존을 하나의 정신과적 병명으로 다루고 있다. 또한 니코틴은 코카인과 같이 작용력이 강하여 주의, 학습, 문제해결능력을 개선시키고 기분을 고양시키며 우울증을 경감시킨다는 점에서 신경화학적, 행동학적 특성도 흡사하다¹⁵⁾.

코카인과 같은 중독성 약물은 보행성 활동량을 증가시키는데 니코틴도 반복적으로 주사하면 '행동적 민감화' 현상이 나타난다¹⁵⁾. '행동적 민감화'란 적은 양의 중독성 약물을 반복적, 간헐적으로 처치하면 설치류의 보행성 활동(locomotor activity)과 상투적 행동(stereotypic activity)이 점진적으로 증가하는 현상으로, 약물중독의 발달과 약물로 유도된 정신신경증의 지표로 이용되어지고 있다¹⁶⁾.

살아있는 동물과 사람의 뇌에서 반복적으로 특정 행동의 진행 과정 동안 일어나는 신경전달물질의 변화를 측정하는 것은 오래 전부터 신경과학자들의 염원 중의 하나였으며 미세투석법의 출현으로 이러한 이상의 실현이 가능해졌다. 약물중독의 주요 표적인 도파민계와 니코틴의 상호작용에 관한 이해를 넓히기 위해서는 in vitro 방법보다 신경전달이 직접적으로 이루어지는 세포외액에서 신경전달물질을 측정할 수 있는 이러한 in vivo 방법들이 이용되어야 한다. 이 연구에서는 이 연구에 가장 적합하고 유력한 방법인 미세투석법을 이용하여 살아있는 동물의 뇌에서 니코틴중독의 신경 화학적 기전을 규명하고자 한다. 또한 중추신경계에서 한약이 어떤 방식으로 니코틴 작용을 매개하는지 밝혀냄으로써, 니코틴 중독의 차단과 치료약물 또는 금연(보조)약물로서 한방치료의 효용가치를 높이는데 기여 할 것이다.

니코틴의 작용기전은 nicotinic receptor(nAChRs)의 agonist로서 ventral tegmental area에서 대뇌피질과 변연계로 투사되는 dopamine계를 자극하며 NE, vasopressin, endorphine, ACTH, cortisol 등을 증가시켜 뇌를 자극한다¹⁷⁾. DOPAC과 HVA는 모두 dopamine의 대사체인데 일반적으로 DOPAC/dopamine 및 HVA/dopamine의 비율이 dopamine turnover의 지표로서 사용된다¹⁸⁾.

약물중독에는 4개의 circuit이 상호 관련된 것으로 알려져 있는데 관장하는 부위를 함께 들면 (a) reward[nucleus accumbens와 ventral pallidum] (b) motivation/drive[orbitofrontal cortex와 subcallosal cortex] (c) memory and learning[amygdala와 hippocampus] (d) control[prefrontal cortex와 anterior cingulate gyrus]등이다. 또한 이 circuit들은 DA neuron으로부터 직접적인 신경지배를 받으며 시간이 지날수록 약물용량이 증가되는 것은 보상기전과 관계되므로 측핵에서의 DA level을 측정하는 것은 본 실험에서 핵심적인 부분이다¹⁹⁾.

니코틴의 금단증상은 투여 90~120분에 나타나기 시작하여 24~48시간에 최고조에 달하고 수주, 수개월간 지속된다. 증상은 담배갈망, 긴장, 불안정성, 불안, 주의집중장애, 두통, 졸음, 수면장애, 소화기장애, 易怒, 맥박감소, 혈압저하, 체중증가 등이다. 한방에서는 <金匱要略·百合狐惑陰陽毒病脈證治>에 “百合病者는 百脈이 一宗으로 悉致其病也이니 意欲食이나 復不能食하고 常默默하며 欲臥나 不能臥하고 欲行이나 不能行하고 欲飲食하여는 或有美時나 或有不用聞食臭時하며 如寒無寒하고 如熱無熱하며 口苦와 小便赤하고 諸藥으로 不能治며 得藥則劇吐利하여 如有神靈者라...”라고 하였는데 이러한 기술에 착안하여 수종의 약재를 스크리닝한 결과 酸棗仁이 가장 유효하게 나타났다.

니코틴 중독을 유발하기 위해 7일간 하루에 2번씩 0.4mg/kg의 니코틴을 피하주사한 생리식염수 처치군의 한시간 보행성 활동량과 니코틴 처치군의 활동량을 비교해 보았을 때 4014±135.3까지 증가하였다. 그러나 산조인을 투여한 군은 3265.8±99.4로 보행성 활동량이 줄어들었다.

또한 3일 철회 후 니코틴군에서 challenge하여 도파민 유리를 측정된 결과 basal state에 비하여 40분에 704.1±134.4%로 현저히 증가하였다 그러나, 산조인을 투여한 결과 dopamine상승이 280.0±44.4%로 유의하게 억제되었다. 따라서 산조인이 유의성있게 도파민 억제효과를 갖는다는 것을 관찰할 수 있었다. 한편 DOPAC은 40분과 80분 시점에서 dopamine과 역전된 관계를 보이고 있어서 이를 좌증한다. 하지만 HVA는 실험군별로 유의성있는 차이를 보이지 않고 있어서 역전관계를 판단하기는 어렵다. 따라서 이상의 결과로 미루어 볼 때 산조인 추출물은 측핵에서의 dopamine 유리를 감소시킴으로써 동물의 locomotor activity를 감소시키고 민감화현상을 억제하는 효능이 있음을 알 수 있었다.

결 론

니코틴 만성 투여로 인한 약물강화와 의존성에 대한 한약의 효과를 연구하기 위하여 만성 니코틴투여 후 행동적 민감화에

의한 보행성 활동량을 측정하고 nucleus accumbens shell에서 dopamine 및 그 대사체 물질의 함량변화를 관찰함으로써 산조인이 도파민유리와 행동에 미치는 효과를 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

우선 locomotor activity에서 산조인 투여군은 유의성있게 (p<0.01) 보행성 활동량이 감소된 것으로 나타났다. 또한 dopamine의 nucleus accumbens에서의 유리정도를 측정된 결과 역시 산조인 투여군에서 유의성있게(p<0.01) 감소하였다. 이것은 니코틴에 의해 유발되었던 동물의 민감화현상과 탐닉현상이 감소된 것으로 해석되는데 dopamine의 유리량 정도와 일치함으로써 dopamine이 매개역할을 하였음을 알 수 있다.

이로써 산조인이 40분대에 측핵내 도파민 유리를 억제하여 만성 니코틴 투여에 의한 약물강화작용 민감화 효과를 억제함으로써 니코틴 금단증상과 중독의 치료방안으로 모색될 수 있으리라 생각된다.

감사의 글

이 논문은 2004년 동의대학교 해외교수파견지원 연구비에 의해 연구되었음. 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. G Di Chiara, A Imperato. Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. Proc Natl Acad Sci U S A. 85(14):5274-5278, 1988.
2. Corrigan, W.A., Franklin, K.B., Coen, K.M., Clarke, P.B. The mesolimbic dopaminergic system is implicated in the reinforcing effects of nicotine. Psychopharmacology, 107(2-3):285-289, 1992.
3. Marks, M.J., Pauly, J.R., Gross, S.D., Deneris, E.S., Hermans-Borgmeyer, L., Heinemann, S.F., Collins, A.C. Nicotine binding and nicotinic receptor subunit RNA after chronic nicotine treatment. J Neurosci. 12(7):2765-2784, 1992.
4. Guan, X.M., McBride, W.J. Serotonin microinfusion into the ventral tegmental area increases accumbens dopamine release. Brain Res Bull. 23(6):541-547, 1989.
5. Calabresi, P., Lacey, M.G., North, R.A. Nicotinic excitation of rat ventral tegmental neurones in vitro studied by intracellular recording. Br J Pharmacol. 98(1):135-140, 1989.
6. Calabresi, P., Lacey, M.G., North, R.A. Nicotinic excitation of rat ventral tegmental neurones in vitro studied by intracellular recording. Br J Pharmacol. 98(1):135-140, 1989.
7. Grillner, P., Svensson, T.H. Nicotine-induced excitation of midbrain dopamine neurons in vitro involves ionotropic glutamate receptor activation. Synapse. 38(1):1-9, 2000.
8. Mirza, N.R., Pei, Q., Stolerman, I.P., Zetterstrom, T.S. The

- nicotinic receptor agonists (-)-nicotine and isoarecolone differ in their effects on dopamine release in the nucleus accumbens. *Eur J Pharmacol.* 295(2-3):207-210, 1996.
9. Balfour, D.J., Benwell, M.E., Birrell, C.E., Kelly, R.J., Al-Aloul, M. Sensitization of the mesoaccumbens dopamine response to nicotine. *Pharmacol Biochem Behav.* 59(4):1021-1030, 1998.
 10. Tokuyama, S., Takahashi, M., Kaneto, H. The effect of ginseng extract on locomotor sensitization and conditioned place preference induced by methamphetamine and cocaine in mice. *Pharmacol Biochem Behav.* 54(4):671-676, 1996.
 11. Kim, H.S., Kang, J.G., Seong, Y.H., Nam, K.Y., Oh, K.W. Blockade by ginseng total saponin of the development of cocaine induced reverse tolerance and dopamine receptor supersensitivity in mice. *Pharmacol Biochem Behav.* 50(1):23-27, 1995.
 12. Bhargava, H.N., Kumar, S. Sensitization to the locomotor stimulant effect of cocaine modifies the binding of [3H]MK-801 to brain regions and spinal cord of the mouse. *Gen Pharmacol.* 32(3):359-363, 1999.
 13. Kim, J.A., Pollak, K.A., Hjelmstad, G.O., Fields, H.L. A single cocaine exposure enhances both opioid reward and aversion through a ventral tegmental area-dependent mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA.* 101(15):5664-5669, 2004.
 14. Shim, I., Javaid, J.I., Kim, S.E. Effect of ginseng total saponin on extracellular dopamine release elicited by local infusion of nicotine into the striatum of freely moving rats. *Planta Med.* 66(8):705-708, 2000.
 15. Wiechman, B.E., Wood, T.E., Spratto, G.B. Locomotor activity in morphine-treated rats: Effects and comparisons between cocaine, procaine, and lidocaine. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 15(3):425-433, 1981.
 16. 채윤병, 이봄비, 권영규, 함대현, 심인섭, 이해정. 니코틴중독에 대한 족삼리 전침자극 및 황련의 작용기전, 동의생리병리학회지 16(4):756, 2002.
 17. Kessler, D.A. Nicotine addiction in young people, *N Eng J Med* 333:186-189, 1995.
 18. Xiaoxi Zhuang, Ronald, S., Oosting, Sara, R., Jones, Raul, R., Gainetdinov, Gary, W., Miller, Marc, G. Caron, René Hen. Hyperactivity and impaired response habituation in hyperdopaminergic mice, *Proc Natl Acad Sci* 98(4):1982-1987, 2001.
 19. Nora, D., Volkow, Joanna, S., Fowler, Gene-Jack, Wang. The addicted human brain: insights from imaging studies.