

중추도파민신경활성에 미치는 뇌기능개선 후보약물의 행동약리학적 연구

이순철 · 유관희¹ · 山本經之²

충남대학교 약학대학 약학과, ¹충남대학교 자연과학대학 생물학과

²일본 구주대학 약학부 약리학교실

(1995년 9월 6일 접수)

Behavioral Pharmacological Studies of Nootropic Candidates on the Central Dopaminergic Activity in Rats

Soon-Chul Lee, Kwan-Hee You¹ and Tsuneyuki Yamamoto²

*Department of Pharmacy, College of Pharmacy, ¹Department of Biology, College of Natural Science,
Chungnam National University, Taejeon, Korea, ²College of Pharmacy, Kyushu University, Fukuoka, Korea
(Received September 6, 1995)*

Abstract□The present study was undertaken to elucidate the behavioral characteristics of nootropic candidates, centrophenoxine, N-methyl-D-glucamine, piracetam and red ginseng saponin components on stereotyped sniffing behavior induced by apomorphine in rats. Apomorphine, a direct dopaminergic receptor agonist, induced stereotyped behaviors including sniffing, licking, gnawing and biting in a dose-dependent manner, and that behaviors were completely inhibited when measured at 1 week after 6-hydroxydopamine(6-OHDA) treatment. Centrophenoxine, N-methyl-D-glucamine, red ginseng total saponin (TS), panaxatriol (PT), and Rg₁ enhanced but panaxadiol (PD) inhibited, whereas piracetam and Rb1 were not effective of the stereotyped sniffing behavior induced by apomorphine (1 mg/kg). The enhanced stereotyped behavior by centrophenoxine, N-methyl-D-glucamine, red ginseng total saponin, panaxatriol (PT), and Rg₁ was blocked by pretreatment of 6-OHDA. These results suggest that dopaminergic neuronal activity plays an important role in the action of some nootropic candidates. Red ginseng total saponin, panaxatriol and Rg₁ seems to have a similarity to centrophenoxine, N-methyl-D-glucamine in modulating of dopaminergic neuronal activity and also may be useful for the nootropic candidates.

Key words□Apomorphine, nootropic drugs, red ginseng saponins, 6-hydroxydopamine.

서 론

Nootropics란 일종의 향정신약물로 Kulkarni¹⁾가 amphetamine이 학습의 습득을 촉진시키는 작용이 있음을 보고한 이래 piracetam을 중심으로 기억과 학습에 관한 검색 연구가 많이 보고되고 있으며^{2, 4)} 현재는 뇌 혈관 확장약 또는 뇌대사 촉진약 등이 향정신약으로 많이 이용되고 있으나 이들 약물이 약리학적으로 어떤 작용기전을 가지고 있는지에 관하여는 일치된 보고가 없는 실정이다. 그러나 인구의 고령

화와 더불어 노인성치매(Alzheimer's disease) 및 Parkinson's disease 같은 중추신경계의 퇴행성 신경질환의 발병율이 증가됨에 따라 이들 약물의 작용기전에 관한 연구 및 새로운 뇌기능개선 약물의 검색이 주목받게 되었다.^{5, 6)}

한편, 노인성치매 등 퇴행성질환에 관한 연구는 학습, 기억에만 국한된 연구에 치우친 경향이 있으나 인격의 상실 또는 이상행동, 감정의 불균형 등의 특징⁷⁾을 나타내므로 정동행동의 조절에 근간이 되는 뇌중 신경전달물질에 대한 검토는 필수적일 것으로 사료

된다.

노인성치매의 기억에 신경전달물질로써 cholinergic nervous system의 중요성이 인식된 이래 수많은 보고 및 연구가 진행되고 있다.^{8,9)} Cholinergic system은 뇌중에서 dopaminergic system과 상호조절기구를 가지고 있으며¹⁰⁾ dopamine 함유량이 선조체에 있어서 연령과 함께 감소하고¹¹⁾ catecholamine 합성 관련대사효소의 활성도가 연령의 증가와 더불어 감소되는 점¹²⁾, 반대로 catecholamine 대사효소인 monoamine oxidase와 catechol-O-methyl transferase의 활성도는 연령의 증가와 더불어 상승하고^{13,14)} 특히 고주령의 랫트의 시상하부와 선조체에서 dopamine uptake가 억제되는 점¹⁵⁾, 고주령 마우스에서 catecholamine 신경축색이 퇴행되어 팽화되는 점¹⁶⁾ 등은 노인성치매에 있어서 중추도파민 신경계의 역할을 강하게 시사하고 있다.

Apomorphine은 dopamine 수용체에 직접 작용하는 dopamine agonist로써 자발운동 및 sniffing, grooming, licking, gnawing, biting 등 투여 용량에 따라 특유의 stereotyped behavior(상동행동)을 유발하며^{17,18)} apomorphine에 의한 stereotyped behavior는 nootropics에 의하여 영향을 받으며¹⁹⁾ dopamine receptor blocker인 haloperidol과 같은 약물에 의해 길항됨이 보고되었다.²⁰⁾ 한편 인삼사포닌 성분은 단독으로는 중추 monoamine 신경계에 영향을 미치지 않으나 apomorphine과 병용투여시 frontal cortex내의 dopamine²¹⁾과 5-hydroxytryptamine(5-HT) 함량^{22,23)}을 유의성 있게 증가시키는 보고되었다. 따라서 중추 monoamine 신경계에 작용하는 인삼사포닌 성분은 중추 catecholamine 신경을 경유하여 기억에 간접적으로 관여할 가능성이 있을 것으로 추측되나 이러한 관점에서 인삼성분을 연구한 것은 거의 없는 실정이다.

따라서 본 연구는 현재 사용되고 있는 piracetam, centrophenoxine 및 N-methyl-D-glucamine 등의 nootropic 약물의 작용과 중추 catecholamine 신경계의 연계성에 관하여 행동약리학적으로 검토하고 아울러 홍삼사포닌성분의 작용과 비교 검토하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 실험재료

실험 동물로는 10주령의 male Sprague-Dawley계

웅성 흰쥐를 사용하였으며 $22 \pm 1^\circ\text{C}$, 50~60%의 습도 조절이 되고 통풍 장치가 되어 있는 동물실에서 사육하였다. 먹이와 물은 충분히 주고 cage당 4마리씩 사육하였으며 12시간을 주기로 명암을 주었다(07:00~19:00). 사용한 약물은 piracetam, centrophenoxine, N-methyl-D-glucamine, apomorphine HCl 등은 Sigma Chemical Co.에서 수입하여 사용하였고, 홍삼 조추출물(red ginseng total saponin, TS), panaxatriol (PT), panaxadiol(PD), Rg₁ 및 Rb₁ 등은 한국인삼연 초연구원에서 제공받아 사용하였다. 유기용매류는 국내외의 특급시약을 사용하였고 증류수는 2차 증류수를 사용하였다. 홍삼사포닌성분은 0.9% 생리식염수로 용해하여 사용하였고 apomorphine은 0.1% citric acid에 녹여 사용하였다. 투여 방법은 홍삼사포닌 성분은 경구 투여하였으며 다른 약물은 복강 및 피하 투여하였고 약물을 1회 투여한 흰쥐는 1주일 이내에 다시 투여하지 않았으며 마리당 총 투여 횟수가 2회를 초과하지 않게 조정하였다. 약물의 병용효과를 검토할 경우에는 약물 투여 30분 전에 apomorphine 1mg/kg을 투여하였다.

2. 실험방법

(1) Stereotyped behavior(상동행동)의 측정

Open-field 장치내에서 실험하며 행동 관찰 시간은 약물투여 직후부터 1시간까지 10분 간격으로 매 3분 간씩 관찰하고 관찰 항목은 sniffing(냄새맡는 듯한 행위)을 주 증상으로써 licking(혀로 벽이나 바닥을 핥는 행위), gnawing 및 biting(벽이나 바닥을 갉거나 물어 뜯는 행위) 등으로 하였다. Stereotyped behavior는 동일 동작을 5초 이상 지속했을 때를 1회로 하며 5초마다 1회씩 추가하는 방법으로 산출하였다.

(2) 6-OHDA 투여에 의한 중추 catecholamine 신경의 손상

흰쥐의 체중 100g당 0.1ml의 nembutal을 복강주사 후 stereotaxic 장치를 이용하여 흰쥐를 고정하고 치과용 drill을 이용하여 guide cannule를 삽입하기 위하여 skull에 홈을 낸 후에 brain atlas에 의하여 guide cannule로 6-OHDA를 직접 양측 ventricle로 200 μl /8 μl 씩 주입하고 절개된 피부를 봉합한 후 procaine penicillin G를 300,000 unit 근육 주사하였다. 흰쥐는 수술이 끝나고 1주일 후부터 실험에 사용하였다.

3. 통계처리

행동실험 결과는 t-test를 적용하여 유의성을 검토

하였다.

결과 및 고찰

1. Apomorphine 투여에 의한 상동행동(stereotyped behavior)의 특성

도파민수용체에 직접 작용하는 도파민 신경효능약(direct dopamine receptor agonist)인 apomorphine을 1 mg/kg 투여하면 약물 투여 후 10분에서 30분까지 sniffing behavior가 발현되었다(Fig. 1). Apomorphine의 용량을 2 mg/kg으로 증가시키면 약물 투여 직후부터 약 40분에 걸쳐 매우 강한 sniffing, licking behavior가 발현되었으며 좀더 증량하여 5 mg/kg을 투여하면 sniffing, licking, gnawing behavior가 혼재되어 나타났고 10 mg/kg 투여군에서는 극심한 biting 및 gnawing이 약물투여 후 약 1시간까지 지속되었다. 대체적으로 apomorphine의 작용은 말초투여임에도

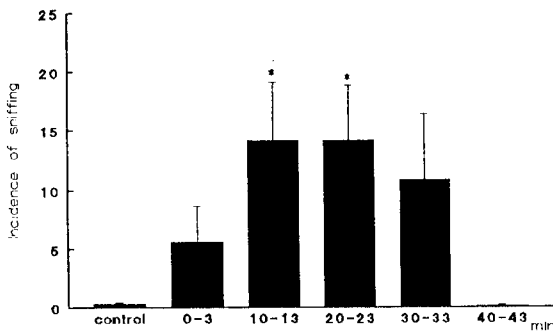


Fig. 1. Incidence of sniffing behavior induced by apomorphine (1 mg/kg). All values represents mean±S.E. *p<0.05 Significantly different from control.

불구하고 약효의 발현이 매우 빨라 10분부터 발현되어 30~40분간 지속되었다. 본 연구에서는 dopamine agonist 투여에 의한 dopamine 신경계의 흥분성 영향을 검토하기 위해서 stereotyped sniffing behavior만을 나타내는 최소 약물 농도로써 apomorphine 1 mg/kg을 투여하여 연구를 수행하였다.

2. Apomorphine에 의해 발현된 stereotyped sniffing behavior에 미치는 nootropic drugs의 작용

Apomorphine(1 mg/kg) 투여 30분 전에 centrophe-noxine(50, 100 mg/kg) 및 N-methyl-D-glucamine (250, 500 mg/kg)을 투여하면 10분 및 20분 후의 측정에서 apomorphine에 의해 유발된 stereotyped-sniffing behavior를 현저하게 증가시켰으나 piracetam (250 mg/kg)은 거의 영향을 미치지 않았다(Table 1).

3. Apomorphine에 의해 발현된 stereotyped sniffing behavior에 미치는 흥삼 조사포닌성분의 작용

흥삼조사포닌(TS, 50~200 mg/kg) 및 Rg₁ 투여군은 유의성은 없었으나 현저한 증가작용을 나타내었다. PT 투여군은 용량의존적은 아니지만 10분에서 20분까지 apomorphine에 의해 유발되는 stereotyped sniffing behavior를 유의성 있게 증가시켰으나(p<0.05) PD 25 mg/kg 투여군은 10분부터 30분까지 유의성 있는 억제작용(p<0.05)을 나타내었다. Rb₁ 투여군은 10분에서 20분까지 apomorphine에 의해 유발되는 stereotyped sniffing behavior를 억제시켰으나 유의성은 없었다(Table 2).

4. Apomorphine의 상동행동발현에 미치는 6-OHDA 손상의 영향

6-OHDA에 의한 뇌손상수술 1주일 후 apomorphine(1 mg/kg) 투여에 의한 stereotyped behavior가

Table 1. Effects of nootropics on sniffing behavior induced by apomorphine in rats

Drugs (mg/kg)	N	Time (min)				
		0~3	10~13	20~23	30~33	40~43
APO (1)	10	5.6± 3.05	14.1± 4.97	14.1± 4.69	10.8± 5.50	0.1± 0.10
APO (1)+CTP (50)	8	8.5± 4.37	29.3± 4.42*	23.9± 5.63	11.1± 5.01	0.3± 0.30
(100)	8	3.9± 2.68	22.3± 5.27	13.3± 5.34	2.3± 1.58	0.0± 0.00
N-MG (250)	8	0.8± 0.31	12.8± 3.37	7.0± 3.82	0.1± 0.10	0.0± 0.00
(500)	4	0.0± 0.00	24.0± 8.38	24.8± 8.52	11.5± 8.50	6.8± 6.75
PIR (250)	9	1.7± 1.21	13.9± 5.58	10.4± 5.27	0.2± 0.20	0.0± 0.00

All values represents mean±S.E. *p<0.05, Significantly different from apomorphine. APO : apomorphine, CTP : centrophe-noxine, N-MG : N-methyl-D-glucamate, PIR : piracetam.

Table 2. Effects of red ginseng saponins on sniffing behavior induced by apomorphine in rats

Drugs (mg/kg)	N	Time (min)				
		0~3	10~13	20~23	30~33	40~43
APO (1)	10	5.6±3.05	14.1±4.97	14.1±4.69	10.8±5.50	0.1±0.10
APO (1)+TS (100)	7	2.6±1.27	19.6±6.28	22.0±6.79	6.7±3.52	0.3±0.30
PT(25)	8	3.2±1.14	29.3±1.84*	29.3±0.99*	3.3±1.50	0.0±0.00
(50)	8	1.0±1.00	18.3±5.49	17.6±4.92	6.6±3.33	0.3±0.16
PD(25)	8	1.6±0.68	2.2±1.11*	0.6±0.4*	0.0±0.00*	0.0±0.00
Rg ₁ (25)	8	5.8±3.01	22.3±5.82	25.6±5.43	9.5±4.44	1.4±1.38
Rb ₁ (25)	8	6.4±3.32	10.8±5.54	7.6±3.58	3.6±2.38	2.8±2.23

All values represents mean±S.E. *p<0.05, Significantly different from apomorphine 1 mg/kg. APO : apomorphine, TS : red ginseng total saponin, PT : panaxayriol, PD : panaxadiol.

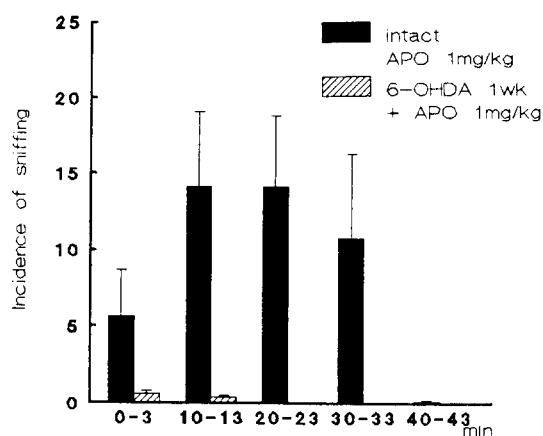


Fig. 2. Effects of 6-OHDA on sniffing behavior induced by apomorphine. All values represents mean±S.E. *p<0.05 Significantly different from control. ▨: Incidence of sniffing behavior induced by apomorphine 1 mg/kg. ■: Incidence of sniffing behavior induced by apomorphine in 6-OHDA-lesioned rats.

완전히 억제되었으며(Fig. 2) 6-OHDA 손상에 의해 억제된 apomorphine의 stereotypic behavior에 centrophenoxine, N-methyl-D-glucamine, piracetam 및 홍삼사포닌 성분들은 거의 영향을 나타내지 않았다.

Nootropic drugs는 학습능력, 기억을 향상시키고 저산소증이나 중독상태에서 뇌세포의 저항성을 증가시키는 일종의 항정신성 약물로⁴⁾ 고령화 사회에서 출현되는 Alzheimer's disease 등의 퇴행성질환에 언어능력, 지적능력, 사회적응의 저하에 응용될 수 있는 약물로써 주목받고 있다. 이 약물은 동물실험에서 청반핵(locus coeruleus) 신경을 흥분시키고^{23, 24)} head-twitch를 억제하고⁵⁾ 절망모델에서 immobility를 감소

시키는²⁵⁾ 등 중추 catecholamine 신경계의 관여를 시사하고 있다.

본 연구는 특정약물에 의해 중추도파민 신경활성을 변화시키고 그에 대응하는 nootropic 약물의 약리작용을 관찰함으로써 중추도파민 신경활성과의 관계를 검토하고자 하였다. 본 실험에서 사용된 대표적 뇌기능 개선약물 중 centrophenoxine과 N-methyl-D-glucamine는 apomorphine에 의해 유발된 상동행동을 용량의존적으로 현저히 증가시켰으나 piracetam은 전혀 작용이 없었다. 또한 이 작용은 catecholamine neuron system을 선택적으로 파괴시키는 neurotoxin인 6-OHDA처리 1주일 후 완전히 차단되었다. 따라서 본 연구결과는 centrophenoxine과 N-methyl-D-glucamine의 작용은 중추도파민 신경활성과 밀접한 관계가 있음을 시사하고 있다.

한편 본 실험에서 apomorphine에 의해 유발된 상동행동을 홍삼사포닌 중 PT 투여군은 유의성 있게 증가시켰고 홍삼조사포닌성분과 Rg₁ 투여군은 증가 경향을 나타내었으며 PD 및 Rb₁ 투여군은 억제를 나타냈으나 용량의존적은 아니었다. 홍삼사포닌 성분 중 PT에 의한 결과는 intact동물과 6-OHDA처리 동물에서 centrophenoxine 또는 N-methyl-D-glucamine의 결과와 매우 유사하였다.

인삼사포닌은 다양한 중추작용을 가지고 있으며 인삼조추출물은 용량에 따라 중추억제 또는 흥분작용을 나타내며²⁶⁾ Saito²⁷⁾는 PT과 PD의 중추작용이 서로 다르게 나타남을 보고한바 있다. 이 등^{20, 21)}은 인삼사포닌 성분이 행동학적 및 신경화학적 연구에서 간접적으로 중추 도파민신경계에 작용하고 있음을 보고한바 있다.

따라서 위 결과를 종합적으로 생각할때 centrophe-
noxine과 N-methyl-D-glucamine의 뇌기능 개선작용
은 중추도파민 신경말단을 손상시키는 6-OHDA에
의해 완전차단되는 것으로 미루어 간접적으로 작용
하는 dopaminergic 신경활성변화와 밀접하게 관계되
어 있는 것으로 보이며 본 연구에 사용된 홍삼사포닌
성분 중 조사포닌, PT 및 Rg₁ 등은 centrophe-
noxine과 N-methyl-D-glucamine 등의 뇌기능 개선제와
유사한 작용기전을 갖는 nootropic candidates로써
이용될 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

흰쥐에 apomorphine을 투여하면 특유의 stereoty-
ped behavior(상동행동)이 발현된다. 이 행동은 cent-
rophenoxine, N-methyl-D-glucamine, 홍삼조사포닌,
PT 및 Rg₁ 등에 의해 촉진되나 PD에 의해서는 억
제되며 piracetam 및 Rb₁은 유의성 있는 영향을 미
치지 않았다. 6-OHDA은 apomorphine에 의해 유발
되는 stereotyped behavior를 완전히 차단하였으며
이 억제작용은 nootropics 및 홍삼사포닌에 의해 회
복되지 않았다.

감사의 말씀

본 연구는 '93년도 교육부 학술연구조성비와 '95년
도 보건의료기술연구개발사업 의 지원에 의하여 이
루어졌음을 감사드립니다.

인 용 문 헌

- Kulkarni, A. S. : *Psychopharmacologia*, **13**, 418 (1968).
- Wolthuis, O. L. : *Eur. J. Pharmacol.*, **16**, 283 (1971).
- Mouravieff-Lesuisse, F. and Giurgea, C. : *Arc. Int. Pharmacodyn. Ther.*, **176**, 471 (1968).
- Giurgea, C. : *Conditioned Reflex*, **8**, 108 (1973).
- Yamamoto, T., Ohno, M., Yatsugi, S., Fujikawa, Y. and Ueki, S. : *Japan. J. Pharmacol.*, **59**, 419 (1992).
- Yamamoto, T., Ohno, M., Yatsugi, S., Kitajima, I. and Ueki, S. : *Physiology & Behavior*, **53**, 5 (1993).
- Netter, F. H. : *The CIBA Collection of Medical Illustration*, Vol. 1, Nervous System Parts II. p.145.
- Davies, P. and Maloney, A. J. F. : *Lancet*, **2**, 1403 (1976).
- Stratton L. O. and Petrinovich, L. : *Psychopharmacologia*, **5**, 47 (1963).
- Arnsten, A. F. T. and Goldman-Rakic, P. S. : *Science*, **230**, 1273 (1985).
- McEntee, W. J. and Mair, R. G. : *Ann. Neurol.*, **7**, 466 (1980).
- McGeer, E. G. and McGeer, P. L. : *Neurobiology of Aging*, Terry, R. D., Gershon, S. ed. Raven Press, New York, **8**, 386 (1986).
- Riedrer, P. and Wunketich, S. : *J. Neural. Transm.*, **38**, 277 (1976).
- Benedetti, M. S. and Keane, P. E. : *J. Neurochem.*, **35**, 1026 (1980).
- Jonec, V. and Finch, C. E. : *Brain Res.*, **91**, 197 (1975).
- Masooka, D. T., Jonsson, G. and Finch, C. E. : *Brain Res.*, **169**, 335 (1979).
- Ernst, A. M. : *Psychopharmacologia*, **10**, 316 (1967).
- Di Chiara, G. and Gessa, G. L. : *Adv. Pharmacol. Chemother.*, **15**, 87 (1978).
- Schmidt, J. : *Biomed. Biochim. Acta*, **49**, 133 (1990).
- Lee, S. C., You, K. H. and Kim, Y. H. : *Korean J. Ginseng Sci.*, **16**, 183 (1992).
- 김용호, 김신장, 김학성, 이순철 : *고려인삼학회지*, **16**, 18 (1992).
- Petkov, V. : *Drug Res.*, **5**, 387 (1978).
- Olpe, H-R. and Lynch, G. S. : *Eur. J. Pharmacol.*, **80**, 415 (1982).
- Valzelli, L., Bernasconi, S. and Sala, A. : *Int. Pharmacopsychiat.*, **15**, 150 (1980).
- Nakamura, K., Okada, N. and Kubota, N. : *Pharmacia Review*, **10**, 85 (1981).
- 오진섭, 홍사악, 박찬웅, 노기석 : *서울의대잡지*, **14**, 31 (1973).
- Saito, H., Tsuchiya, S., Naka, S. and Takaki, K. : *Japan J. Pharmacol.*, **27**, 509 (1977).