

동의신경정신과 학회지
J. of Oriental Neuropsychiatry
Vol. 15. No. 1, 2004

人蔘과 香附子の 抗憂鬱效果에 관한 실험적 연구

김인재, 이동원
동신대학교 한의과대학 신경정신과학교실

Experimental Study on the Antidepressant Effect of Ginseng Radix Alba and Cyperi Rhizoma

In-Jae Kim, Dong-Won Lee

Department of Oriental Neuropsychiatry, College of Oriental Medicine, Dongshin University, Naju Korea

Ginseng Radix Alba and Cyperi Rhizoma were investigated for their anti-depressant effects. For this purpose, forced-swimming test, tail suspension test, hot plate test, reserpine-induced hypothermia, aggressive behavior test were performed. In addition, the brain content of 5-hydroxyindoleacetic acid(a metabolite of serotonin), the monoamine oxidase activity, anticonvulsant effect, sleep enhancement effect were determined. The results are as follows:

In the forced swimming test, Ginseng Radix diminished the duration of immobility by 45.5% compared to the control group, while Cyperi Rhizoma showed weaker effect (12.4% reduction) at 2g/kg.

In the tail suspension test, the effect of Ginseng Radix(43.7% reduction) are also better than that of Cyperi Rhizoma(15.6% reduction) at 2g/kg.

In the hot plate test, Ginseng Radix showed no difference as compared to control, while Cyperi Rhizoma increased the jump latency time by about 25% after administration for 10 days.

In the reserpine-induced hypothermia test, both drugs slowly dropped the body temperature compared to the control group, especially the rate of hypothermia of Ginseng Radix was 24.0% at 1g/kg.

In the aggressive behavior test, both drugs delayed the onset time, decreased the duration and frequency, of which effects were better in Cyperi Rhizoma.

The content of 5-hydroxyindoleacetic acid in mice brain was slightly increased in Ginseng Radix, while Cyperi Rhizoma increased its level almost to the control group.

Both drugs inhibited the monoamine oxidase activity in a dose-dependent manner, but the effect(51.2%) of Cyperi Rhizoma was more potent than the effect(11.8%) of Ginseng Radix.

In the pentobarbital-induced sleep test, Cyperi Rhizoma exhibited no significant difference against the control group, while Ginseng Radix showed about two-fold enhancement at 2g/kg.

The anticonvulsant effect of both drugs delayed the onset time, shortened the duration of convulsion and diminished the lethality, but Ginseng Radix were better than Cyperi Rhizoma.

Key word : Ginseng Radix Alba, Cyperi Rhizoma, Depression, Mouse

교신저자 : 김인재, 전남 순천시 조례동 1722-9 동신대학교 순천한방병원 신경정신과학교실

Tel. 061-729-7166, E-mail : leedww1@kornet.net

◆ 접수: 2004/5/13 수정: 2004/6/16 채택: 2004/6/18교

I. 서론

우울증은 우울한 기분, 흥미상실, 피로감의 증가 등을 초기 증상으로 하여 체중감소, 식욕감퇴, 활동성저하, 성욕상실 등 전반적인 의기소침을 나타내는 情動性 질환이다. 특히 성인 10명중 적어도 한 명은 일생동안 한 번 이상의 우울증을 경험할 정도로 흔한 질환이어서 심각한 개인적·사회적 문제를 야기하고 있다¹⁾.

이러한 우울증을 일으키는 원인은 아직 확실하게 밝혀져 있지 않으나 생물학적, 유전적, 사회심리학적 요인이 상호 영향을 미치는 것으로 생각되며 특히 adrenaline 수용체에서 noradrenaline이나 serotonin 등의 腦內 신경전달물질의 감소 또는 결핍이 가장 중요한 요인으로 알려져 있다¹⁻³⁾.

우울증의 증상들을 韓醫學의 측면에서 보면 鬱症, 癩症, 脫營失精, 虛勞, 不眠, 嗜眠 등에서 찾을 수 있으며 七情鬱結이나 氣血의 鬱滯로 발생한다고 보았다. 초기에는 氣滯, 食積, 痰鬱, 血瘀 등의 實證 病態를 나타내고 만성화되면 心脾의 氣血이 虛損되는 등 虛證 양상을 보이게 된다⁴⁾. 따라서 治療로는 實證일 경우 疏肝理氣解鬱, 消食祛痰, 活血祛瘀 등의 방법을 쓰고 虛證인 경우에는 補氣血하며 補益心脾, 安神益智하는 방법을 주로 사용하게 되는데 香附子와 人蔘은 그 대표적인 약물로서 임상에서 빈번히 응용되고 있다^{5,6)}.

韓藥材의 항우울효과에 대한 실험적 연구로는 吳茱萸 분획물의 항우울효과⁷⁾에 대하여 보고된 바 있고, 複合處方으로 歸脾湯⁸⁾, 歸脾溫膽湯^{9,10)}, 分心氣飲^{11,12)}, 補血安神湯^{13,14)} 등의 항우울효과에 대한 연구가 있어 왔으나 임상에서 흔히 사용되는 人蔘과 香附子에 대한 실험적 연구는 없었다.

이에 저자는 우울증에 대한 人蔘과 香附子の 효과를 검증하고자 mouse를 대상으로 강제수영법, 꼬리현수법, hot plate test, reserpine-유도 저체온증 억제효과, 마우스의 공격행동 억제효과 등을 측정하였고 뇌내 serotonin의 변화를 알아보기 위하여 5-hydroxyindoleacetic acid(5-HIAA)의 함량과 monoamine oxidase(MAO) 억제활성을 측정하였으며 또한 항경련효과, 수면연장효과

를 검사한 바 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 약재

실험에 사용된 人蔘(Ginseng Radix Alba)과 香附子(Cyperus Rhizoma)는 동신대학교 한방병원에서 정선된 것을 구입하여 사용하였다.

2) 동물

한국실험동물개발로부터 구입한 외관상 건강한 ICR계 웅성 mouse (30±1g)를 동물사육사에서 일정한 조건으로 사육하여 사용하였다. 동물사육은 온도 21±2℃, 습도 50-60%, 명암 12시간 light/dark cycle의 조건하에서 사육하였다. 실험 동물을 1주일간 적응시킨 후, 실험개시 전 24시간 동안 물만 먹이고 절식시켰다. 동물처치는 효소활성의 일중변동을 고려하여 오전 10-12시 사이에 실시하였다.

대조군은 약재를 투여하지 않고 각 실험별로 효과를 확인하고자 하는 증상을 유발시킨 군이며 실험군은 약재를 용량별 또는 시간별로 투여한 군, 양성대조군은 잘 알려진 우수한 약물을 투여한 군으로서 효과의 정도를 상호 비교하기 위해 실시하였다.

3) 시약

Reserpine, serotonin, pentylenetetrazole (PTZ), tyramine hydrochloride, Trizma hydrochloride buffer, benzylamine hydrochloride, o-phthaldehyde, n-heptane, 5-hydroxyindoleacetic acid, chlorpromazine hydrochloride, vigabatrin, valproic acid, Bradford reagent, bovine serum albumin, carboxymethyl cellulose(CMC) 등은 Sigma(St. Louis, MO, USA)사 제품을 사용하였으며 수면

제인 sodium pentobarbital은 한림제약(주)에서 구입하여 사용하였다.

Sodium tunstate dihydrate, sodium nitroprusside, sodium hypochlorite, ammonium sulfate 등의 무기시약은 Aldrich Co.에서 구입하였으며 HPLC(high performance liquid chromatography) 분석용 용매는 HPLC grade를 사용하였고 용매를 비롯한 기타 시약은 모두 국산 특급을 사용하였다.

4) 기기

원심분리기는 Beckman 제품을, ultracentrifuge는 Kontron T-2080(Swiss)을 사용하였으며 활성 측정을 위한 흡광도는 UV-2001S spectrophotometer(Shimadzu, Japan)로 측정하였고 조직마쇄를 위한 homogenator는 Heidolph RZR 2021(Germany)을, Rotary vacuum evaporator는 Eyela NE(Japan) 제품을, 그리고 Freeze dryer는 일신엔지니어링 (type SK-100, 한국) 제품을 사용하였다. 정량을 위한 HPLC는 Shimadzu LC-10AD(Japan)를 사용하여 자외선 검출기로 분석하였다.

Vortex mixer는 G-50(Scientific Industries, USA)을, 항온수조는 MWB-20R(Mono Tech., 한국)를, 그리고 Hot plate는 SH 30D(Jeio Tech., 한국)를 사용하였다. 체온계는 mouse 전용의 직장체온계(Medical Systems Corp., USA. Model: TC-202)를 사용하였다.

2. 방법

1) 약물의 추출

人蔘(*Panax ginseng* C.A. Meyer; Ginseng Radix Alba) 및 香附子 (*Cyperus rotundus* L.; Cyperi Rhizoma)의 추출물은 다음과 같은 방법으로 제조하였다. 즉, 약재 각 600g을 분쇄하여 분말상태로 한 다음, 80% methanol로 3시간 동안 수욕상에서 1회 가열, 추출하였다. 각 추출물을 온시여과한 다음, 용매를 완전 제거하고 얻어진 액상의 추출물을 동결건조기(freeze dryer)로 완전 건조시켜 고체상태로 만들어 실험의 시료로 사용하였는데, 人蔘은 30.4g, 香附子は 45.3g을 얻

었다.

2) 뇌조직 균질액 및 효소원의 제조

실험동물에서 뇌조직을 적출한 다음, 일부를 취하여 조직 1g당 4배량의 0.15M K.P buffer(pH 8.0)를 가한 후, 약 4℃에서 homogenizer로 마쇄하여 균질액(homogenate)을 만들어 항산화시험에 사용하였다. Monoamine oxidase(MAO)의 효소원 제조를 위하여 적출한 뇌조직을 소량의 0.32M의 ice-cold sucrose 용액으로 한 번 세척하였다.

이 sucrose 용액으로 10%(w/v) homogenate를 만든 다음 1,000×g에서 10분간 원심분리하여 상정액을 얻었다.

Pellet을 소량의 sucrose 용액으로 2회 세척한 다음, 상정액과 세척액을 합쳐 12,000×g에서 20분간 원심분리하였다. 얻어진 pellet(mitochondria fraction)을 sucrose 용액으로 한 번 세척한 다음, MAO의 효소원으로 사용하였다. 이상의 조작은 0~4℃에서 실시하였다.

3) 강제수영법(Forced swimming test)

강제수영법에 의한 항우울 활성은 Porsolt 등의 방법¹⁵⁾에 의해 측정하였다. 먼저 실험동물을 훈련시키는 예비실험을 실시하였는데, 25±1℃의 물을 10cm 수위로 채운 유리원통(직경 15cm, 높이 25cm) 속에 각 group당 10마리씩의 mouse를 넣어 15분간 수영시켰다.

수영하는 쥐를 관찰하면서 최초로 정지상태(immobility)에 도달하는 시간을 기록하며 매일 쥐에게 같은 방법으로 수영연습을 3일간 반복한다. 최초의 정지시간이 대체로 일정한 쥐를 선택하여 한약추출물 각 2g/kg을 7일 동안 경구 투여한 다음, 마지막 투여 1시간 후 한 마리씩 5분간 강제수영을 시킨다.

이 때 mouse는 활동과 부동자세를 교대로 취하게 되는데 수영하지 않고 좌절을 보이는 부동시간이 어느 정도 감소하는지를 측정하여 항우울 활성여부를 확인하였으며 양성대조약물로는 amitriptyline (1mg/kg)을 사용하여 그 효과를 상호 비교하였다.

4) 꼬리현수법(Tail suspension test)

꼬리현수법에 의한 항우울활성의 측정은 Steru 등의 방법¹⁶⁾으로 실시하였다. 꼬리가 매달린 쥐는 활동과 부동자세를 교대로 보이는데 항우울 약물은 용량의존적으로 부동자세를 보이는 시간(부동시간; duration of immobility)을 감소시키므로 이 시간을 측정하여 항우울 활성을 확인하였다. 한 약 시료를 용량별로 7일 동안 경구 투여한 다음, 마지막 투여 1시간 후 흰쥐의 꼬리 끝 1cm 정도를 tape으로 실험대에 부착시키고 적색 조명하에 소음이 차단된 상태에서 6분 동안 꼬리현수법을 시행하여 부동자세를 보이는 시간을 측정하였다. 양성대조약물로는 amitriptyline (1mg/kg)을 사용하여 그 효과를 상호 비교하였다.

5) Hot plate test

Hot plate test는 Suh 등의 방법¹⁷⁾에 따라 실시하였다. 즉, 50-55℃의 뜨거운 hot plate에 실험동물을 올려놓고 동물이 jump하는 시간을 측정하여 항우울 효과를 조사하였다. 이 검사법은 척수상부(supraspinal)의 동통회로에 대한 약물의 효과를 검사하는 방법이다. 측정시간은 실험동물의 화상을 방지하기 위하여 40초를 cut-off time으로 하였다. 한약추출물 각 2g/kg을 7일과 10일 동안 경구 투여한 다음, 마지막 투여 1시간 후 한 마리씩 진통효과를 측정하여 그 시간이 증가하는지를 확인함으로써 항우울 활성을 판정하였다.

6) Reserpine-유도 저체온증 억제효과 측정

실험동물은 각군을 5마리로 하여 약제 투여군에는 人蔘과 香附子 각 0.5g/kg과 1g/kg을 투여하였으며 투여 직전 체온을 측정하고 약제투여 2시간 후부터 시간별로 체온을 측정하였다.

체온측정 후 즉시 reserpine 2.5mg/kg을 피하 주사하였으며, 주사 후 1h, 2h, 4h, 6h에 걸쳐 체온을 측정하여 시간변화에 따른 체온의 변화를 기록하였다. 실험결과는 대조군과 비교하여 약제투여 후의 시간경과에 따른 체온변화를 관찰하였다.

7) Mouse 공격행동 억제효과 측정

Mouse의 공격행동 억제효과 측정은 mouse 살해효과시험(muricide test)을 변형하여 실시하였다. 일반적으로 mouse 살해효과시험은 우울증에 걸린 rat(Male Long-Evans black-hooded rat, 300~500g)가 작은 mouse(25~30g)를 물어 죽이는 정도를 측정하는 방법¹⁸⁾이나 본 시험에서는 장기간 고립되어 우울증에 걸려 공격적으로 변한 mouse가 자신의 cage에 들어온 다른 mouse를 공격하는 정도를 관찰하여 약제의 공격행동 억제 효과를 측정하였다. 실험군에는 人蔘과 香附子 각 1g/kg을 7일간 경구 투여하면서 1마리씩 격리 사육하였으며 대조군에는 약제투여 없이 1마리씩 따로 7일간 격리 사육시켜 공격적인 우울증세를 가지도록 하였다.

사육 7일 후 실험군과 대조군의 cage에 정상쥐를 1마리씩 넣었을 때 격리 사육된 mouse의 최초공격시간(onset time), 공격기간(duration) 및 공격횟수(frequency)를 관찰하였다. 공격시간은 20분 동안 관찰하여 이 시간까지만 공격여부를 측정하였다.

8) HPLC에 의한 5-HIAA의 함량 정량

우울증과 관련된 신경전달물질인 serotonin의 대사산물인 5-HIAA가 人蔘 및 香附子 추출물을 투여한 mouse의 뇌중에서 어떠한 농도변화를 보이는지를 확인하기 위하여 뇌중 5-HIAA의 함량을 HPLC법으로 정량하였다.

Curzon의 방법¹⁹⁾에 따라 실험동물의 뇌를 냉산성 n-butanol 용액(n-butanol 1ℓ에 진한 염산 0.85ml를 첨가한 용액)으로 10배 희석하여 homogenate한 후 3,000rpm에서 10분간 원심분리하였다. 상징액 2.5ml를 시험관에 옮긴 후 n-heptane 5ml와 0.1N HCl(0.1% cystein 함유) 0.4ml를 넣고 강열히 교반한 다음 다시 원심분리하였다. 원심분리한 상징액 0.2ml에 0.004% o-phthaldehyde 용액 1.2ml를 넣고 5분간 교반하였다. 가온수조내에서 15분간 끓인 후 찬물로 냉각시킨 다음 역상 HPLC(reverse phase high performance liquid chromatography)로 serotonin의 함량을 정량하였다. HPLC의 분석조건은 다음과 같다(Table I).

Table 1 . Conditions of HPLC measurement for the determination of brain serotonin contents in mice

Column	Eclipse XDB-C18(4.6mm x 25cm)
Mobile phase	sodium acetate buffer(50mM, pH 3.5)-acetonitrile-methanol 90:6:4, v/v)
Injection volume	10 μ l/min
Flow rate	1ml/min
Detector	UV(254nm)

9) Monoamine oxidase(MAO) 억제효과 측정
Serotonin과 같은 monoamine류 신경전달물질을 산화시키는 효소인 MAO의 활성은 Tabor의 방법^{20,21)}을 준용하여 측정하였다.

이 방법은 기질인 염산 benzylamine이 MAO에 의해 benzaldehyde로 산화된 것을 UV로 측정하는 방법이다.

약 1mg pellet(mitochondria fraction), 50mM Trizma-HCl buffer(pH 8.2) 3ml, 1mM 염산 benzylamine 0.5ml의 반응액에 추출물 1mg/ml, 2mg/ml, 5mg/ml를 각각 DMSO(dimethylsulfoxide)에 용해하여 첨가하였다. 이 혼액을 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 incubation한 다음 reaction tube를 즉시 냉수로 냉각하였다. 여기에 3% ZnSO₄ 1ml를 가하고 vortex로 mixing한 후 약 30분 방치하였다. 생성된 침전을 제거한 상정액을 5분간 centrifuge하고 250nm에서 흡광도 측정하였다. Blank는 반응액을 100 $^{\circ}$ C에서 5분간 가열하여 효소반응을 정지시킨 다음 측정에 사용하였다.

10) 수면증강효과 측정

수면시간 연장효과를 측정하기 위하여 추출물을 용량별(1g/kg, 2g/kg)로 각각 경구 투여한 다음 1시간 뒤 pentobarbital 나트륨 50mg/kg을

saline에 녹여 복강주사하고 그 수면시간을 측정하였다. 수면시간은 동물의 코끝에 손을 대어보아 정향반사(righting reflex)가 소실되는 시점을 기준으로 다시 정향반사가 회복될 때까지의 시간을 측정하여 비교하였다.

대조군에는 추출물대신 1% CMC만을 투여하였으며 양성대조물질(positive control)로는 진정제인 chlorpromazine hydrochloride 10mg / kg을 사용하였다.

11) 항경련효과 측정

항경련효과는 실험동물에 7일간 人蔘과 香附子 추출물을 용량별 (0.5g/kg, 1.0g/kg)로 경구 투여한 다음 최종투여 1시간 후 경련유발물질인 PTZ 70mg/kg을 피하주사하고 최초경련발현시간(onset time), 경련지속시간(duration) 및 사망률(lethality)을 측정하였다. 양성대조물질로는 잘 알려진 항경련제인 vigabatrin을 양성대조약물로 사용하여 추출물의 효과를 서로 비교하였다.

12) 통계처리

모든 실험결과는 통계프로그램인 Origin (Version 3.78)으로 처리하였으며 data는 mean \pm S.E.로 표시하였고 통계적 유의성은 Student's t-test로 검정하여 유의수준을 P value로 나타내었다.

III. 결과

1. 강제수영법(Forced swimming test)

실험동물을 강제로 수영을 시키면 활발히 움직이다가 때로 부동자세를 취하게 되는데, 대조군의 경우 부동시간이 127초인데 비해 人蔘의 경우 2g/kg 투여시 69.2초로 대조군에 비해 45.5% 감소되었고 香附子是 같은 용량에서 111.2초로 대조군에 비해 12.4% 감소되었으며 양성대조약물인 amitriptyline 1mg/kg 투여시에는 정상쥐에 비해 3.7% 감소되었다(Table II, Fig. 1).

Table II. Inhibitory effect of Ginseng Radix and Cyperi Rhizoma on the duration of immobility by forced swimming test.

Treatment	Dose	Duration of immobility (sec)	Inhibition rate (%)
Control	-	127.0±4.63	
Amitriptyline	1mg/kg	122.3±7.57*	3.7
Ginseng Radix	2g/kg	69.2±19.27*	45.5
Cyperi Rhizoma	2g/kg	111.2±11.33*	12.4

Values represent mean±S.E. for 7 animals. Amitriptyline was used as a positive control. *: Significantly different from the control group (p<0.05).

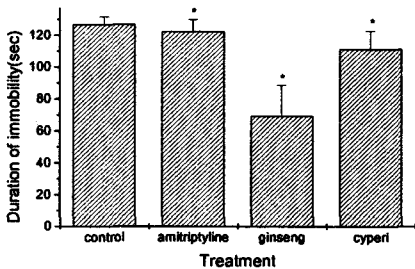


Fig. 1 Antidepressant effect of the extracts of Ginseng Radix and Cyperi Rhizoma, and amitriptyline as a positive control by forced swimming test.

Values represent mean±S.E. for 7 animals. The duration of immobility was recorded for 5 min. Amitriptyline was used as a positive control. *: Significantly different from the control group (p<0.05).

2. 꼬리현수법(Tail suspension test)

실험동물의 꼬리를 매달면 활발히 움직이다가 때로 부동자세를 취하게 되는데, 대조군의 경우 부동시간이 96.7초인데 비해 人蔘의 경우 2g/kg 투여시 부동시간이 54.4초로 대조군에 비해 43.7%정도 감소되었고 香附子는 같은 용량에서

부동시간이 81.6초로 대조군에 비해 15.6% 감소되었으며 양성대조 약물인 amitriptyline 1mg/kg 투여시에는 대조군에 비해 11.4% 감소되었다 (Table III, Fig. 2).

Table III. Inhibitory effect of Ginseng Radix and Cyperi Rhizoma on the duration of immobility by tail suspension test.

Treatment	Dose	Duration of immobility(sec)	Inhibition rate (%)
Control	-	96.7±6.19	0
Amitriptyline	1mg/kg	85.7±5.06*	11.4
Ginseng Radix	2g/kg	54.4±9.21*	43.7
Cyperi Rhizoma	2g/kg	81.6±6.68	15.6

Values represent mean±S.E. for 7 animals. Amitriptyline was used as a positive control. *: Significantly different from the control group (p<0.05)

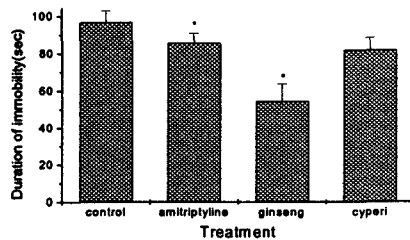


Fig. 2 Antidepressant effect of the extracts of Ginseng Radix and Cyperi Rhizoma, and amitriptyline by tail suspension test. Values represent mean±S.E. for 7 animals.

The duration of immobility was recorded for 6 min. Amitriptyline was used as a positive control. *: Significantly different from the control group (p<0.05).

3. Hot plate test

실험동물을 뜨거운 hot plate 위에 올려놓으면

척수상부(supraspinal)의 동통회로에 영향을 미쳐 jump를 하게 되는데, 우울증이 억제되면 jump 시간이 늘어나게 된다. 먼저 人蔘과 香附子 추출물 각 2g/kg을 7일 동안 경구 투여한 다음 hot plate test를 실시한 결과, 人蔘은 대조군에 비해 jump 시간이 오히려 감소하여 효과가 없었으며 香附子는 대조군에 비해 3.4% jump 시간이 증가하였다. 그러나 추출물을 10일 동안 경구투여하여 실험해 본 결과, 역시 人蔘은 효과가 없었으나 香附子는 대조군보다 25% jump시간이 증가하여 항우울효과가 있음을 알 수 있었다 (Table IV, Fig. 3).

Table IV. Inhibitory effect of Ginseng Radix and Cyperi Rhizoma on the jump latency by hot plate test

Treatment	Dose	Jump latency(sec)	
		7 days	10 days
Control	-	29.3±2.47	22.4±2.52
Ginseng Radix	2g/kg	27.7±0.52	21.4±1.67
Cyperi Rhizoma	2g/kg	30.3±3.29	28.0±2.14

Values represent mean±S.E. for 7 animals. Each animal was administered for 7 and 10 days per os.

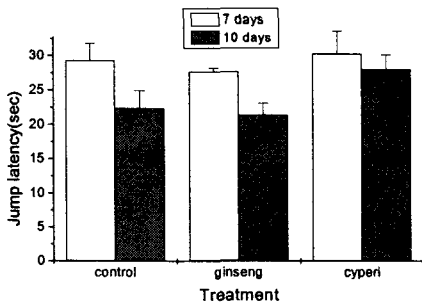


Fig. 3 Antidepressant effect of the extracts of Ginseng Radix and Cyperi Rhizoma administered for 7 and 10 days by hot plate test. Values represent mean±S.E. for 7 animals.

4. Reserpine-유도 저체온증 억제효과

香附子와 人蔘의 추출물이 reserpine에 의해 유도되는 저체온증을 어느 정도 억제하는지를 관찰한 결과, 대조군이나 약제투여군 모두 2시간까지는 체온이 36℃에서 37.7℃사이에 있었으나 reserpine을 주사한 이후부터 시간이 경과함에 따라 체온저하가 관찰되었다.

Reserpine 투여 후 2시간까지는 각 군간에 별다른 차이를 보이지 않았으나 4시간 이후부터는 각 군간의 효과차이가 나타났다. 대조군은 2시간 이후부터 급격한 체온저하가 관찰되었으나 약제투여군은 비교적 완만한 체온변화를 나타내었다. 그러나 체온저하율은 각 군이 서로 다른 경향을 보여 주었는데 대조군의 저하율이 가장 높아 초기의 37.7℃에서 6시간 경과후는 22.6℃까지 체온이 저하되었다. 가장 체온저하율이 낮은 군은 人蔘 1g/kg 투여군으로서 4시간 이후부터 다른 투여군에 비해 체온저하율이 낮게 나타났다. 그러나 나머지 군들간의 차이는 그리 크지 않았다 (Table V, Fig. 4).

Table V. Effect of the extracts of Ginseng Radix and Cyperi Rhizoma on the onset of reserpine-induced hypothermia

Treatment	Dose	Body Temperature (°C)				
		0h	1h	2h	4h	6h
Control	-	37.7	36.5	33.8	27.8	22.6
Ginseng Radix	0.5g/kg	37.3	36.8	34.6	30.1	26.4
	1g/kg	37.1	36.8	34.0	32.9	28.2
Cyperi Rhizoma	0.5g/kg	36.0	34.7	33.9	31.5	27.2
	1.0g/kg	36.6	36.1	34.5	31.5	27.5

1) Temperature was detected 2 hours after oral administration without reserpine injection.

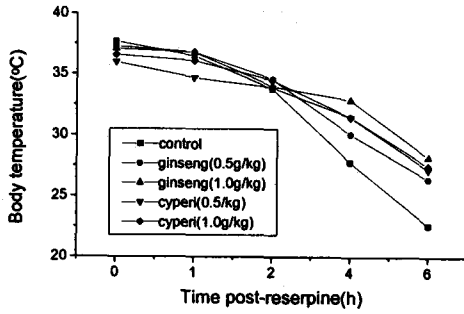


Fig. 4. Effect of acute treatment with Cyperi Rhizoma extract and Ginseng Radix extract on the onset of reserpine-induced hypothermia. Mice(n=5 per treatment) were dosed orally with either vehicle (■), or drugs at doses of 0.5g/kg or 1.0g/kg, respectively. Reserpine(2.5mg/kg) was injected subcutaneously.

5. Mouse 공격행동 억제 효과 측정

7일간 격리된 mouse의 cage에 정상쥐를 넣었을 때 공격행동을 관찰한 결과, 대조군의 최초 공격시간(onset time)이 7.07분인데 비해 香附子 투여군은 16.07분으로 공격시간이 약 2.3배 지연되었으며 人蔘투여군은 8.50분으로 대조군보다 1.43분 공격시간이 지연되었다. 이 때, 대조군은 모두 공격행동을 보인 반면, 香附子 투여군은 5마리중에서 3마리가 측정시간인 20분 이내에 공격을 하지 않았으며, 人蔘 투여군은 1마리가 공격을 하지 않았다.

한편, 공격지속기간(duration)의 경우, 대조군이 19초 이상 계속 공격한데 비하여 香附子 투여군은 4초, 人蔘 투여군은 11.5초로 공격기간이 감소하여 효과가 인정되었다. 공격횟수(frequency)에서도 대조군이 평균 4회 공격하였으나 香附子와 人蔘 투여군들은 이 보다 공격횟수가 감소하였다 (Table VI, Fig. 5).

Table VI. Inhibitory effects of Ginseng Radix and Cyperi Rhizoma against aggressive behavior in mice

Treatment	Onset time (min)	Duration (sec)	Frequency
Control	7.07±2.54	19.3±8.24	4
Ginseng Radix	8.50±2.12*	11.5±4.78	2
Cyperi Rhizoma	16.07±5.45*	4.0±1.42	1.75

Each individually housed mouse was dosed orally for 7 days with Ginseng Radix and Cyperi Rhizoma(1.0g/kg). Values represent mean±S.E. for 5 animals. Aggressive behavior was measured for 20 minute. *: Significantly different from the control group (p<0.05).

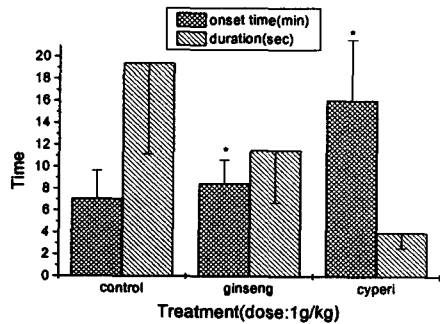


Fig. 5. Inhibitory effects of Ginseng Radix and Cyperi Rhizoma against aggressive behavior in mice. Values represent mean±S.E. for 5 animals. *: Significantly different from the control group (p<0.05).

6. HPLC에 의한 5-hydroxyindoleacetic acid(5-HIAA)의 함량

1) 5-HIAA의 용량별 HPLC chromatogram 및 표준 검량선

人蔘과 香附子 추출물을 투여한 실험동물의 뇌 중 5-HIAA의 함량을 정량하기 위하여 먼저 표준 검량선을 작성하였다. 5-HIAA 10µM, 20µM, 50µM의 표준용액을 조제한 다음, HPLC를 실시하여 얻은 chromatogram(Fig. 6)으로부터 피크면적을 구한 후, 이들 면적과 표준용액의 농도를

변수로 하여 검량선을 작성하였다(Fig. 7). 이때의 회귀 직선 방정식은 $y=1526.458x+1081.462$ (결정계수 $r^2=0.9969$)이었다.

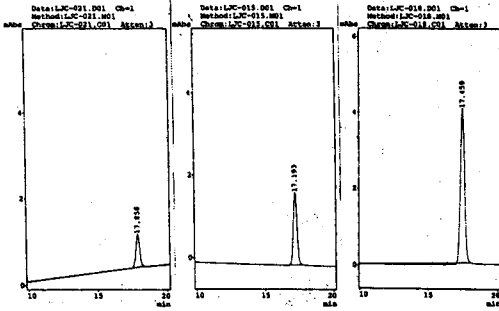


Fig. 6. Chromatogram of 5-hydroxyindoleacetic acid (10 μM, 20 μM, 50 μM) by reverse phase high performance liquid chromatography. Conditions for measurement were described in the experimental part.

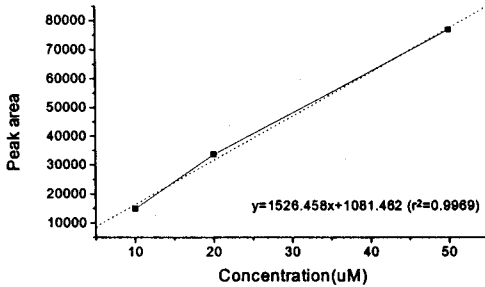


Fig. 7. Calibration curve depending on 5-hydroxyindoleacetic acid concentration (10 μM, 20 μM, 50 μM) measured by HPLC. The dot line represents the linear regression (equation: $y=1526.458x+1081.462$, $r^2=0.9969$).

2) Hot plate test시의 뇌내 5-HIAA 함량 변화

실험동물에 열자극으로 우울증을 유발시킨 다음, 人蔘 및 香附子 추출물을 투여하여 뇌중 5-HIAA의 함량변화를 분석한 결과, 정상쥐의 뇌중 5-HIAA 함량(HPLC chromatogram: Fig. 8a)은 11.13 μM이었으며 열자극으로 우울증을 유발시킨 대조군은 10.20 μM(HPLC chromatogram: Fig. 8b)로 감소하여 우울증상 발생으로 5-HIAA

가 크게 감소되었음을 확인하였다(Table VII). 人蔘 추출물 투여군에서는 5-HIAA의 함량이 10.74 μM로서 대조군보다 약간 증가하여 人蔘에 의한 serotonin 함량의 증가는 미약한 것으로 조사되었으나 香附子 추출물 투여군은 11.09 μM의 함량을 나타내어 거의 정상군 수준으로 회복되고 있음을 볼 수 있었다(HPLC chromatogram: Fig. 9a and Fig. 9b).

Table VII. Effects of the Ginseng Radix and Cyperi Rhizoma extracts on brain 5-hydroxyindoleacetic acid content in the hot plate test after intraperitoneal administration

Treatment	Peak area	Content (μM)
normal	18071	11.13
control	16654	10.20
Ginseng Radix	17477	10.74
Cyperi Rhizoma	18015	11.09

The methods of HPLC measurements were described in the experimental part.

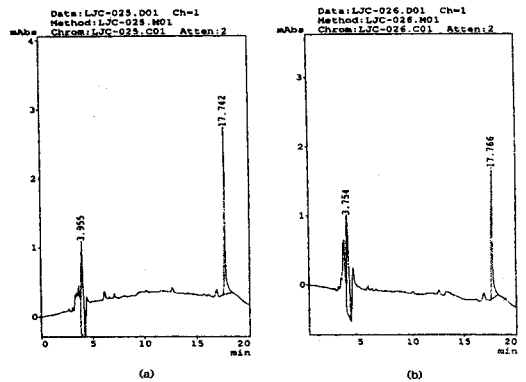


Fig. 8. (a) HPLC Chromatogram of the normal mouse brain homogenate(retention time: 17.742 min., peak area: 18071). (b) HPLC Chromatogram of the brain homogenate of the control group(retention time: 17.776 min., peak area: 16654).

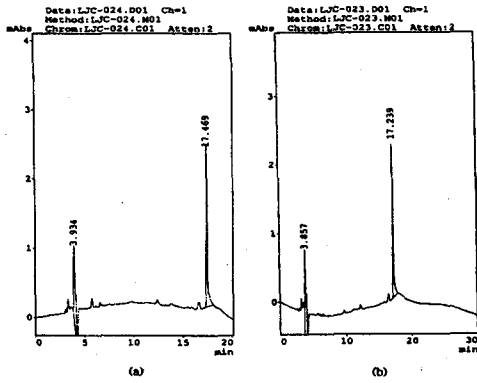


Fig. 9. (a) HPLC Chromatograms of the Ginseng Radix-treated group(retention time: 17.469 min., peak area: 17477). (b) HPLC Chromatograms of the Cyperi Rhizoma-treated group(retention time: 17.239 min., peak area: 18015).

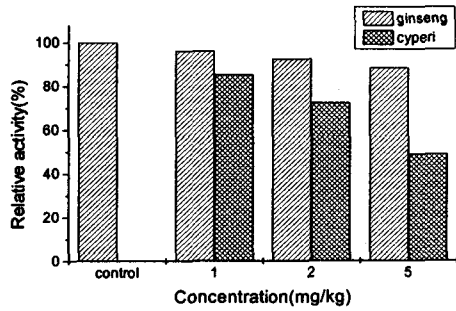


Fig. 10. Inhibitory activity of the Ginseng Radix and Cyperi Rhizoma extracts on the mouse brain monoamine oxidase. The activity is expressed as a relative activity (%) against the control group.

7. Monoamine oxidase(MAO) 억제 활성

세포내의 mitochondria 외막에 존재하여 serotonin 등의 신경전달물질을 분해하는 MAO의 활성을 人蔘 및 香附子 추출물이 어느 정도 억제 시키는지를 측정 한 결과, 추출물들은 모두 용량의존적으로 효소의 활성을 억제하였는데, 人蔘의 경우 최대 용량인 5.0mg/ml에서 효소활성이 88.2%로 나타나 효소활성 억제 효과가 그리 강하지 못하였으나(Table VIII, Fig. 10) 香附子는 같은 용량에서 효소활성이 48.8%로 측정되어 人蔘보다는 효과가 강하였다.

Table VIII. Effect of the Ginseng Radix and Cyperi Rhizoma extracts on the mouse brain monoamine oxidase in vitro

Dose (mg/kg)	Relative activity (%)	
	Ginseng	Cyperi
Control	100	100
1.0	96.1	85.2
2.0	92.4	72.3
5.0	88.2	48.8

The activity is expressed as % relative activity.

8. 수면증강효과

人蔘과 香附子 추출물이 진정효과를 측정하는 지표중의 하나인 수면시간 연장효과가 있는지를 확인하기 위하여 각 추출물을 7일간 경구투여한 다음, 실험동물에 pentobarbital을 주사한 후의 수면시간을 대조군 및 시판 진정제인 염산 클로로프로마진과 그 효과를 비교한 결과, 人蔘의 경우 투여량이 증가할수록 수면시간도 연장되었는데 1g/kg 투여시는 수면시간이 92.9분으로서 대조군에 비해 73.6% 증가하였으며 2g/kg 투여시는 101.6분으로서 대조군보다 약 1.9배 증가하였다. 香附子 1g/kg과 2g/kg을 투여했을 때는 58.8분, 68.2분으로 대조군에 비해 각각 2.8%, 25.2% 증가한 것으로 나타났으며(Table IX, Fig. 11), 양성 대조약물인 염산 chlorpromazine 10mg/kg을 투여했을 때의 수면연장 효과는 120분 이상으로 나타났다.

Table IX. Effects of the extract of Ginseng Radix and Cyperi Rhizoma on the pentobarbital-induced sleeping time.

Treatment	Dose	Sleeping time(min)
Control		53.5±5.71
Ginseng Radix	1g/kg	92.9±12.85
	2g/kg	101.6±8.10*
Cyperi Rhizoma	1g/kg	58.8±4.20
	2g/kg	68.2±6.83*
Chlorpromazine	10mg/kg	>120

Chlorpromazine was used as a positive control. Each animal was administered for 7 days per os. *: Significantly different from the control group (p<0.05).

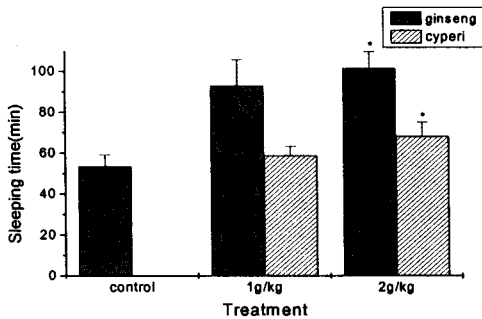


Fig. 11. Effects of the extract of Ginseng Radix and Cyperi Rhizoma on the pentobarbital-induced sleeping time in mice. Chlorpromazine hydrochloride, a positive control, showed a sleeping time with over 120 minute at a dose of 10mg/kg. Values represent mean±S.E. for 6 animals. *: Significantly different from the control group (p<0.05).

9. 항경련효과

1) 최초경련 발현시간 지연효과

人蔘과 香附子 추출물 0.5g/kg, 1.0g/kg을 7일간 흰쥐에 각각 경구투여한 다음 마지막 투여일에 경련물질인 pentylenetetrazole로 경련을 유발시켜 경련정도를 관찰한 결과, 두가지 약제 모두 투여용량이 증가함에 따라 최초경련발현시간(onset time)도 크게 지연되었는데 人蔘은 0.5g/kg에서 14.36분, 1.0g/kg에서 22.06분으로 대조군에 비해 각각 4.2배 및 6.4배로 경련발현 시간이 지연된 것으로 나타났고, 香附子는 같은 용

량에서 8.34분 및 12.56분을 나타내어 대조군에 비해 경련발현시간이 각각 2.4배, 3.7배 지연되었다.

양성대조약물인 vigabatrin 10mg/kg 투여시에는 20.54분으로 나타났다(Table X, Fig. 12).

Table X. Effect of the extracts of Ginseng Radix and Cyperi Rhizoma on PTZ-induced convulsion and lethality in mice

Treatment	Dose	Onset time (min)	Duration (sec)	Lethality (%)
control		3.42±1.04	11.5±2.24	57.1
Ginseng Radix	0.5g/kg	14.36±5.40	10.7±2.07	14.3
	1.0g/kg	22.06±8.20	10.0±3.26	14.3
Cyperi Rhizoma	0.5g/kg	8.34±4.30	10.2±2.58	14.3
	1.0g/kg	12.56±5.20	9.8±3.45	14.3
Vigabatrin	10mg/kg	20.54±3.28	3.2±0.78	0

Each animal was administered for 7 and 10 days per os. Vigabatrin was used as a positive control. Values represent mean±S.E. for 7 animals.

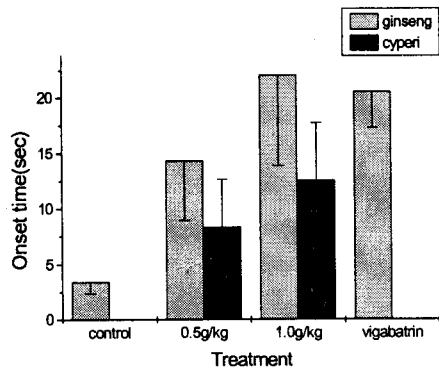


Fig. 12. Anticonvulsive effects(onset time) of the extract of Ginseng Radix, Cyperi Rhizoma and vigabatrin as a positive control. Values represent mean±S.E. for 7 animals. Dose of vigabatrin : 10mg/kg

2) 경련지속시간 단축효과

人蔘과 香附子 추출물이 경련 발현 후의 경련지속시간을 어느 정도 감소시키는지 알아보기 위하여 용량별로 경구투여한 다음 경련지속시간을 측정 한 결과, 香附子和 人蔘 0.5g/kg 투여시 각각 10.7초와 10.2초로 대조군의 11.5초 보다 다소 감소하였고 1.0g/kg의 용량에서는 각각 10.0초와 9.8초로 좀 더 감소하였다. 양성대조약물인 vigabatrin의 경우 10mg/kg 투여시 3.2초로서 대조군에 비해 72.2% 감소하였다(Table X, Fig. 13).

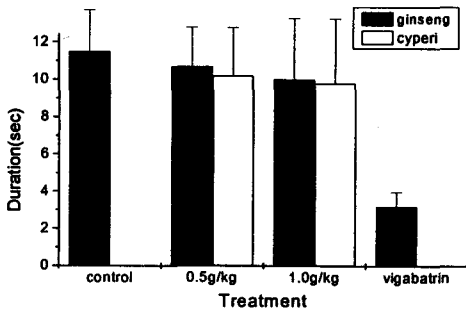


Fig. 13. Anticonvulsive effects(duration) of the extract of Ginseng Radix, Cyperi Rhizoma and vigabatrin as a positive control. Values represent mean±S.E. for 7 animals. Dose of vigabatrin : 10mg/kg

3) 사망률 감소효과

人蔘과 香附子 추출물을 투여 후 인위적 경련 유발물질인 pentylene-tetrazole(PTZ)로 유도된 경련에 의한 사망률을 조사한 결과, 약물을 투여하지 않은 대조군은 7마리 중에서 4마리가 사망하여 57.1%의 사망률을 보인데 비해, 人蔘 및 香附子를 각각 0.5g/kg 투여시와 1.0g/kg 투여시는 모두 한 마리 씩 사망하였고 양성대조약물인 vigabatrin 투여시에는 같은 조건에서 한 마리도 사망하지 않았다.(Table X, Fig. 14)

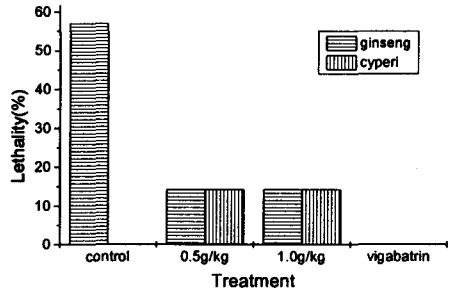


Fig. 14. Anticonvulsive effects(lethality) of the Ginseng Radix extract and the Cyperi Rhizoma extract. Vigabatrin(10mg/kg), a positive control did not showed lethality.

VI. 고찰

스트레스에 대한 심리반응으로는 불안, 공포, 공황, 해리 등으로 다양하지만 특히 우울감은 스트레스에 대한 보편적인 반응으로 여겨진다. 따라서 수없이 많은 스트레스에 노출되는 오늘날의 사회환경에서는 우울증이 증가할 수밖에 없으며 슬픔, 절망, 무희망, 일상생활에서 기쁨을 느낄 수 없는 감정을 강하게 일으켜 개인적으로나 사회적으로 심각한 문제를 야기하고 있다²⁾.

우울증의 원인으로는 생물학적인 요인, 유전적 요인, 사회심리학적 요인들이 상호 작용하는 것으로 생각되며 특히 뇌내 생체 amine인 norepinephrine과 serotonin의 감소 또는 결핍이 가장 중요한 병태생리학적 요인으로 생각되어지고 있다.

동물 실험에서 우울증의 치료에 효과적인 항우울제를 장기간 투약 후 여러 가지 변화가 보고되고 있지만 결국 postsynaptic β-adrenergic receptor와 5-hydroxytryptamine type2(5-HT₂) receptor의 민감도가 감소하므로 항우울효과가 이들 생체 amine계의 변화와 관계가 있다는 것을 알 수 있다^{1,2)}.

證候의 측면에서 鬱症, 癲症, 脫營失精, 虛勞,

不眠, 嗜眠, 不思食 등 다양한 경우에서 우울증과 유사한 부분을 찾을 수 있으나 이 가운데에서도 특히 氣鬱症과 脫營失精症, 癩症이 중요하며⁴⁾ 최근에는 鬱症으로 통합하여 기술하는 경향을 보이고 있다²³⁻²⁵⁾.

《素問·至眞要大論》²⁶⁾에 “諸氣臑鬱 皆屬於肺”라 하여 鬱에 대해 언급되었고, 《素問·六元正紀大論》²⁶⁾에서는 木火土金水の 五鬱과 이에 대한 각각의 治法을 설명하였으며, 《靈樞·本神》²⁷⁾에서는 愁憂 恚怒 思慮 등 情志의 變化로부터 鬱에 이르는 病理에 대해 언급하고 있다. 朱²⁸⁾는 “氣血沖和 萬病不生 一有沸鬱 諸病生焉 故人身之病 多生於鬱”이라 하여 모든 질병의 生成이 氣血의 鬱滯로 말미암는다 하고 氣鬱, 濕鬱, 熱鬱, 痰鬱, 血鬱, 食鬱의 六鬱說을 제창하였다²⁹⁾. 徐³⁰⁾는 鬱症에 있어 七情이 가장 주된 요인임을 강조하였고, 張³¹⁾은 “至苦情志之鬱則總由乎心 此因鬱而病也”라 하여 情志의 鬱이 모두 心에서부터 病이 됨을 설명하면서 肝心脾肺腎의 五鬱을 언급하였다.

近代에 이르러 金⁵⁾은 “鬱이란 抑鬱되고 침울한 정신 상태로 인하여 모든 生理機能이 沈滯되는 현상이니 發散시킬수 없는 慾求不滿이나 지속되는 憂愁, 지나친 思慮나 悲嘆이 原因이 되는 수가 많다”라 하였고, 王³²⁾은 “氣가 한 곳에 맺혀 머물러 있으며 흩어지지 못하는 것이며 흔히 七情이 鬱結되어 오는 것이다”라고 하여 鬱症에 있어 七情之鬱을 가장 강조하고 있다.

鬱症의 經過에 대하여 張³³⁾은 鬱症의 初期에는 氣滯와 痰滯, 食積, 血瘀 등이 함께 發病하여 대부분이 實證을 보이나, 시간이 경과하면 心脾가 傷하고 血氣가 耗損되어 虛證으로 변하게 된다고 하였다. 또한 呂³⁴⁾와 何²⁵⁾, 李 등³⁵⁾은 鬱症을 크게 氣鬱型과 血虛型으로 나누어 辨證施治하였는데, 氣鬱型은 肝氣鬱結하여 腦神이 손상된 것으로 精神抑鬱, 胸脇脹痛, 心煩意亂 등이 나타나며 疏肝理氣解鬱, 清肝瀉火, 和胃化痰하여 치료하고 血虛型은 病期가 길어져서 發하는 경우로 心脾兩虛, 陰虛火旺하여 不安, 失眠, 多思하므로 養心安神, 健脾補氣補血, 滋陰清熱하여 치료한다 하였다.

한약재의 항우울효과에 대한 실험적 연구로는 吳茱萸 에탄올 추출물이 yohimbine 투여 후 생쥐

의 사망률을 감소시켰음이 보고된 바 있고⁷⁾ 다양한 형태의 우울증 동물 모델에 대하여 歸脾湯⁸⁾, 歸脾溫膽湯^{9,10)}, 分心氣飲^{11,12)}, 補血安神湯^{13,14)} 등을 투여한 바 자당 섭취량 증가, 학습능력 향상, 개방장에서의 활동 증가 등의 효능을 보였다고 하였다. 그 외에도 安心溫膽湯, 加味溫膽湯, 歸脾湯 및 二神交濟丹이 스트레스 모델의 뇌내 monoamine 함량을 전반적으로 상승시켰다고 보고^{36,37)}된 바 있고, 항우울과 관련된 효소인 MAO의 활성을 165종의 본초에 대하여 고찰³⁸⁾한 바 있으나 이 보고에서도 人蔘과 香附子是 포함되어 있지 않다. 또한 人蔘의 항스트레스 효과와 serotonin의 뇌내 함량과의 상관관계가 보고^{39,40)}된 바 있고 GABA성 신경전달물질에 대한 香附子の 작용이 보고⁴¹⁾된 바는 있었으나 직접적인 항우울 효과에 관한 연구는 아직 발견하지 못하였다.

본 실험에 사용된 人蔘은 오갈피나무과 다년생 초본으로 甘·微苦하고 溫 無毒하여 大補元氣·補脾益氣·生津·寧神益智하는 효능이 있어 氣脫痿證이나 脾胃虛弱, 肺虛氣喘症, 消渴에 사용되고 精神不安으로 인한 怔忡·不眠·自汗 등에 빈번히 사용된다. 또한 香附子是 방동사니과의 다년생 초본인 莎草의 근경으로 辛·微苦·甘하고 平 無毒하여 理氣解鬱·調經止痛하는 효능이 있으므로 肝氣의 鬱滯로 인한 精神不快, 情志의 抑鬱로 인하여 생기는 消化不良·胸脇脹痛·胃脘痛·胸膈痞悶·嘔吐吞酸 등의 증에 적용하고 肝氣鬱結로 인한 月經不調와 月經痛에서 乳脹脇痛·腹痛 등에 이르기까지 광범위하게 응용된다^{42,43)}. 따라서 人蔘과 香附子是 정신신경계통 질환에 多用되어온 藥材임을 알 수 있는데 이와 같은 人蔘과 香附子が 憂鬱症 동물모델에 어떠한 영향을 미치는지 알아보고자 하였다.

본 연구에서는 다양한 항우울효능 측정실험 가운데 강제수영법, 꼬리현수법, hot plate test, reserpine-유도 저체온증 억제효과, 마우스의 공격행동 억제효과 등을 측정하였고 뇌내 serotonin의 변화를 알아보기 위하여 serotonin의 대사산물인 5-HIAA의 함량과 MAO 억제활성을 측정하였으며 또한 진정효과를 알아보기 위하여 항경련 효과, 수면연장효과를 검사하였다.

강제수영법¹⁵⁾은 약물의 항우울작용을 예측할 수 있는 타당도가 큰 방법으로 실험동물을 물이 담긴 원통에 빠뜨리면 처음에는 원통밖으로 나가려 애를 쓰다가 결국 포기하고 후반부에 부동자세를 취하는 일종의 행동좌절(behavioral despair) 양상을 보이게 된다. 시험대상 약물이 효과가 있으면 부동자세를 취하는 시간이 감소하기 때문에 이를 토대로 약물의 효능을 검정한다. 부동시간을 측정된 결과, 人蔘투여군은 대조군에 비해 45.5% 감소되었고 香附子 투여군은 12.4% 감소되어 역시 효과를 나타내었으며 두가지 한약재 모두 양성대조약물인 amitriptyline 1mg/kg 투여시(3.7%) 보다 효과가 좋은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 香附子가 대표 약물로 구성되는 安心溫膽湯 및 加味溫膽湯이 한랭·유영 스트레스 생쥐의 腦內 monoamine 함량을 전반적으로 증가시켜 항스트레스 효과를 보였다는 김 등³⁶⁾의 결과와 유사하다.

약물의 항우울효능을 확인하기 위한 다른 방법으로 Steru 등¹⁶⁾이 개발한 꼬리현수법을 실시하였다. 꼬리가 매달린 쥐는 활동과 부동자세를 교대로 보이는데 이 부동자세를 보이는 시간의 감소 여부를 측정하여 항우울활성을 검색할 수 있다. 꼬리현수법으로 부동시간을 측정된 결과, 人蔘투여군은 대조군에 비해 43.7%정도 감소되었고 香附子는 15.6% 감소되어 역시 효과를 나타내었으며 두가지 한약재 모두 양성대조약물인 amitriptyline 1mg/kg 투여시(11.4%) 보다 효과가 좋은 것으로 나타났다.

Hot plate test는 척수상부의 동통회로에 대한 약물의 효과를 검사하는 방법으로 열자극에 반응하는 정도를 측정하여 진통효과의 지표로 삼은 것이다. Serotonin은 우울증, 수면, 식욕조절, 체온조절, 통증민감도 등 여러 생리변화와 관련된 것으로 알려져 있으므로⁴⁴⁾ 통증민감도 측정은 항우울활성지표의 하나로 사용될 수 있다. 추출물을 7일과 10일간 각각 경구 투여한 후 쥐의 jump 시간을 측정된 결과 人蔘은 큰 효과가 없었으나 香附子는 대조군에 비해 각각 3.4%, 25% jump 시간이 증가하여 항우울 효과가 있는 것으로 나타났다.

Mouse와 같은 설치류에서 우울증을 유발하는

reserpine에 의해 체온저하가 일어나는 이유는 중추신경계 신경전달물질인 noradrenaline과 dopamine이 reserpine에 의해 고갈되며 또한 MAO에 의해서도 계속 분해되기 때문으로 보고되고 있다^{45,46)}. 따라서 reserpine에 의한 체온저하를 억제하는 정도를 측정하여 항우울활성을 검색할 수 있는데 측정된 결과, 대조군은 2시간 이후부터 급격한 체온저하가 관찰되어 초기의 37.7℃에서 6시간 경과후는 22.6℃까지 체온이 저하되었으나 人蔘 1g/kg 투여군은 6시간 후 28.2℃로 가장 체온저하가 적었다. 이는 人蔘이 한랭자극에 대한 체온항상성을 높여준다는 김 등⁴⁷⁾, 이 등⁴⁸⁾의 연구 결과와 일치한다. 다만 人蔘의 저체온 방지효과가 어떠한 기전에 의한 것인지에 대하여는 향후의 자세한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

실험동물을 장기간 고립시키면 공격행동(aggressive behavior)이나 살해행동(muricidal behavior)을 보이게 되는데 이런 동물의 특정 뇌부위에서 serotonin성 신경전달(serotonergic neurotransmission)이 감소된다고 하며⁴⁹⁻⁵³⁾ serotonin은 억제성 신경전달물질로서 작용하여 웅성 mouse에서 성적행동과 공격행동을 조절하는 역할을 한다⁵⁴⁻⁵⁶⁾. 7일간 격리되었던 mouse의 cage에 정상쥐를 넣은 후 공격행동을 관찰한 결과, 人蔘과 香附子 모두 최초 공격시간이 지연되고 공격지속기간, 공격횟수가 감소하였다. 특히 香附子 투여군은 대조군에 비하여 최초 공격시간과 공격횟수에 있어 2.3배, 공격지속시간에서 4.8배의 현저한 감소를 나타내었다.

Serotonin의 대사산물인 5-HIAA가 人蔘 및 香附子 추출물을 투여한 mouse의 뇌중에서 어떠한 농도변화를 보이는지를 확인하기 위하여 뇌중 5-HIAA의 함량을 HPLC법으로 정량하였다. 실험동물에 열자극으로 우울증을 유발시킨 다음 人蔘 및 香附子 추출물을 투여하여 뇌중 5-HIAA의 함량변화를 분석한 결과, 정상쥐의 뇌중 5-HIAA 함량은 11.13μM이었고 열자극으로 우울증을 유발시킨 대조군은 10.20μM로 감소하였으며 人蔘 추출물 투여군에서는 10.74μM로서 대조군보다 약간 증가하였으나 香附子 추출물 투여군은 11.09μM의 함량을 나타내어 거의 정상군 수

준으로 회복되고 있음을 볼 수 있었다. 따라서 우울증과 관련된 신경전달물질인 serotonin의 함량을 실질적으로 증가시킴으로써 항우울작용을 나타내는 효과는 人蔘보다는 香附子가 우수한 것으로 보인다. 이는 人蔘이 구속 스트레스의 생쥐 뇌내 serotonin 함량을 증가시킨다는 최 등⁴⁰⁾의 연구결과와 일치하나 더욱 우수한 결과를 보인 香附子에 대하여는 앞으로의 연구가 필요할 것으로 생각된다.

세포내의 mitochondria 외막에 존재하여 serotonin 등의 신경전달물질을 분해하는 MAO의 활성을 人蔘 및 香附子 추출물이 어느 정도 억제시키는지를 측정 한 결과, 추출물들은 모두 용량의존적으로 효소의 활성을 억제하였으나 특히 香附子의 경우는 효소억제효과가 48.8%로 측정되어 人蔘보다 우수하였다. 이러한 결과는 人蔘추출물 투여군의 腦中 5-HIAA 함량증가보다는 香附子 추출물 투여군에서의 5-HIAA 함량증가가 훨씬 강하다는 앞의 실험결과와 일치하며 따라서 香附子의 serotonin에 대한 효과가 MAO를 억제하는 작용과 관련되어 있음을 시사한다. 또한 이는 香附子가 대표 약물로 구성되는 安心溫膽湯 및 加味溫膽湯이 한랭·유영 스트레스 생쥐의 腦內 monoamine 함량을 전반적으로 증가시켜 항스트레스 효과를 보였다는 김 등³⁶⁾의 연구결과와도 유사하다.

우울증과 관련된 신경전달물질인 serotonin은 수면의 생리에도 영향을 미치므로 한약재 투여시의 수면시간 변화를 관찰해 보았다. 각 추출물을 7일간 경구투여한 다음, 실험동물에 pentobarbital을 주사한 후의 수면시간을 대조군 및 시판 진정제인 염산 chlorpromazine과 그 효과를 비교한 결과, 두 약재 모두 용량의존적으로 수면 연장효과를 나타내었는데 특히 人蔘은 대조군에 비해 89.9%의 증가를 보여 우수한 수면연장효과를 나타내었다. 다만 양성대조약물인 염산 chlorpromazine 10mg/kg 투여시보다는 미약하였다.

항경련효과도 항우울효능 검색에서 전반적인 중추신경계에 대한 영향을 알기 위하여 실시하는 시험중의 하나이다. 人蔘과 香附子 추출물을 7일간 흰쥐에 경구투여한 다음, 마지막 투여일에 경

련물질인 pentylenetetrazole(PTZ)로 경련을 유발시킨 후 경련정도를 관찰한 결과, 人蔘과 香附子 모두 항경련효과를 나타내었는데 人蔘은 최초 경련발현시간(onset time)에 있어 대조군에 비하여 6.4배 지연시키는 효과가 있었고 사망률에 있어서도 7마리 중 1마리만이 사망하여 4마리가 사망한 대조군에 비해 우수한 효과를 나타내었다. 香附子는 대조군에 비해 3.7배의 경련발현시간 지연효과를 나타내었고 사망률 또한 1마리로 감소시켰다. 특히 人蔘추출물 1.0g/kg투여시의 효과는 양성대조약물인 vigabatrin 10mg/kg 투여시의 효과보다 우수하여 추출물로서는 매우 우수한 항경련효과를 가지고 있음을 알 수 있었다.

이상의 실험에서 人蔘은 강제수영법, 꼬리현수법, reserpine-유도 저체온증 억제효과, 항경련 및 수면연장시험에서 유의한 효과를 나타내어 大補元氣, 安神益智하는 효능이 항우울효과와 연관됨을 시사하였고, 香附子는 hot plate test, mouse 공격행동억제, 뇌내 5-HIAA 함량증가, MAO 억제활성시험에서 뚜렷한 효과를 나타내어 疏肝理氣, 解鬱止痛하는 작용이 항우울효과와 관련되어 있음을 보여주었으며 특히 serotonin과의 연관성을 시사하였다.

향후 人蔘과 香附子의 항우울 효과를 더욱 자세히 평가하기 위하여 다양한 실험모델의 개발이 필요할 것으로 생각되며 또한 이것이 어떠한 기전을 통하여 작용하는지에 대한 상세한 연구가 필요하리라 사료된다.

V. 결 론

우울증에 대한 人蔘과 香附子의 효과를 검증하고자 mouse를 대상으로 강제수영법, 꼬리현수법, hot plate test, reserpine-유도 저체온증 억제효과, 마우스의 공격행동 억제효과 등을 측정하였고 뇌내 serotonin의 변화를 알아보기 위하여 5-HIAA의 함량과 MAO 억제활성을 측정하였으며 동시에 항경련효과, 수면연장효과를 검사한 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 강제수영법에서 부동시간이 香附子 2g/kg 투여시에는 대조군에 비하여 12.4% 감소하였고 人蔘 2g/kg 투여시에는 대조군에 비하여 45.5% 감소하였다.
2. 꼬리현수법에서 부동시간이 香附子 2g/kg 투여시에는 대조군에 비하여 15.6% 감소하였고 人蔘 2g/kg 투여시에는 대조군에 비하여 43.7% 감소하였다.
3. Hot plate test에서 jump 시간이 人蔘 투여군에서는 대조군에 비해 차이가 없었으나 香附子 투여군에서는 10일 투여시 25% 증가하였고 이는 투여기간이 길어질수록 증가하였다.
4. Reserpine-유도 저체온증 억제효과에서는 人蔘과 香附子 모두 완만한 체온저하를 보여주었으며 人蔘 1g/kg의 용량에서 체온저하율이 24.0%로 가장 낮았다.
5. 공격행동 억제효과에서는 人蔘과 香附子 모두 대조군에 비하여 공격 발현시간이 지연되었고 공격 지속시간과 공격횟수가 감소하였으나 人蔘보다 香附子의 공격행동억제효과가 강하였다.
6. Hot plate test에서 뇌내 5-hydroxyindoleacetic acid 함량은 人蔘 투여시 대조군에 비하여 약간 증가하였으나 香附子 투여시에는 정상군 수준으로 회복되었다.
7. Monoamine oxidase 억제활성은 人蔘과 香附子 모두 용량의존적으로 증가하였으나 人蔘은 11.8%로 미약하였고 香附子는 51.2%로 나타났다.
8. Pentobarbital에 의해 유도된 수면증강시험에서 香附子는 대조군과 큰차이가 없었으나 人蔘은 용량의존적으로 수면시간을 연장시켰는데 2g/kg에서 대조군보다 약 2배 증가되었다.
9. 항경련효과에서는 人蔘과 香附子 모두 용량의존적으로 경련발현시간을 지연시키고 경련지속

시간을 단축시켰으며 사망률도 감소시켰는데 人蔘이 香附子보다 항경련작용이 강하게 나타났다.

참 고 문 헌

1. 대한신경정신의학회편. 신경정신과학. 서울:하나의학사, 1997:351-6, 366-7, 375, 649-55.
2. 許仁會, 安炯洙. 신경전달물질-기초와 임상. 서울:신일상사. 1996:125, 130, 141, 212.
3. 한국약학대학협의회 약물학분과회. 약물학(5개정판). 서울:문성사. 1995:228.
4. 강형원, 장현호, 강인선, 문형철, 황유진, 유영수. 우울증의 韓方의 理解에 관한 문헌고찰. 동의신경정신과학회지. 2001;12(2):1-15.
5. 金相孝. 東醫神經精神科學. 서울:杏林出版社, 1980:72-5, 258-64, 277-84.
6. 이기옥, 황기명, 윤용갑. 香附子가 主藥으로 配伍된 方劑의 活用範圍, 病理, 主治, 分類 및 構成 內容 調査. 방제학회지. 2000;8(1):61-85
7. 이태희. 吳茱萸 분획물의 항우울증 효과에 대한 연구. 대한본초학회지. 1998;13(1):139-45.
8. 이정아, 김종우, 황의완, 곽소영, 김민정, 박은혜. Chronic Mild Stress로 유발된 우울증 모델 흰쥐에 대한 歸脾湯의 실험적 연구. 동의신경정신과학회지. 2001;12(1):123-136.
9. 조충훈. 歸脾溫膽湯의 Chronic Mild Stress로 유발된 우울증 모델 흰쥐에 대한 실험적 연구. 경희대학교 대학원, 2000.
10. 차윤주, 김종우, 황의완, 김현택, 곽소영, 김민정. 우울증 모델 흰쥐에 대한 歸脾溫膽湯의 실험적 연구. 동의신경정신과학회지. 2001;12(2):53-68.
11. 이승기, 김종우, 황의완, 김현택, 곽소영, 박은혜. 分心氣飲의 우울증 모델 흰쥐에 대한 실험적 연구. 대한한의학회지. 2001;22(3):129-40.
12. 이주은. Chronic Mild Stress로 유발된 우울증 모델 흰쥐에 대한 分心氣飲의 실험적 연구, 경희대학교 대학원, 2000.
13. 임승만. 흰쥐에 대한 補血安神湯의 실험적 연구. 경희대학교 대학원. 2001.
14. 지상은. 우울증 유발 흰쥐에 대한 補血安神湯의 항우울효과. 경희대학교 대학원. 2001.
15. Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. Nature. 1977;226(5604):730-2.
16. Steru L, Chermat R, Thierry B, Simon P. The tail suspension test: A new method for screening antidepressants in mice. Psychopharmacology. 1985;85(3):367-70.
17. Suh HH, Tseng LF. Intrathecal β -funaltrexamine antagonizes intracerebroventricular β -endorphin but morphine-induced analgesia in mice. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1988;245(2):587-93.
18. Mann E, Enna SJ. Neurochemical and behavioral correlates of antidepressant drug action. Life Sciences. 1982;30(19):1653-61.
19. Curzon G, Green AR. Rapid method for the determination of 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindoleacetic acid in small regions of rat brain. Brit. J. Pharmacol. 1970;39(3):653-5.
20. Tabor CW, Tabor H, Rosenthal SM. Purification of amine oxidase J. Biol. Chem. 1954;208:645-61.
21. 박희섭, 최명언. 벤질아민을 기질로 사용한 뇌 monoamine oxidase의 기초성질. 한국생화학회지 1983;16(3):189-98.
22. 박찬무, 서경란, 이민규. 정신질환자들의 역기능적 태도, 스트레스 대처방식 및 우울증상간의 관계. 정신신체의학. 1997;5(1):31-42.
23. 유영수. 鬱症에 관한 精神醫學的 考察. 韓國傳統醫學會誌. 1995;5(1):125-40.
24. 이길재, 강운호. 鬱症에 대한 문헌적 고찰. 東西醫學 1995;20(1):46-55.
25. 何裕民. 中國傳統精神病理學. 上海:上海科學普及出版社. 1995:150.
26. 楊維傑. 黃帝內經素問. 서울:成輔社. 1976:527, 623.
27. 楊維傑. 黃帝內經靈樞. 서울:成輔社. 1976:85.

28. 朱震亨. 丹溪心法附餘. 서울:大成出版社. 1982:515-8.
29. 李聰甫. 金元四大醫家學術思想之研究. 北京:人民衛生出版社. 1983:248.
30. 徐春甫. 古今醫統. 台北:新風文出版公司. 1976:2175-90.
31. 張介賓. 景岳全書. 上海:上海科學技術出版社. 1984:354-60.
32. 王顯明. 中醫內科辨證學. 北京:人民衛生出版社. 1984:460-7, 470-85.
33. 張伯臬. 中醫內科學. 北京:人民衛生出版社. 1988:5-7, 238-46.
34. 呂光榮. 中醫腦病證治. 北京:科學技術文獻出版社. 1991:72-81.
35. 李耀東, 周秀芬. 中醫精神科. 北京:中醫古籍出版社. 1998:110-3.
36. 김성호, 황선미, 정대규. 安心溫膽湯과 加味溫膽湯이 한냉·유영 스트레스 생쥐의 腦 부위별 monoamine 함량에 미치는 영향. 동의신경정신과학회지. 2001;12(1):97-110.
37. 조광훈, 김연섭, 정대규. 歸脾湯과 二神交濟丹이 구속 스트레스 생쥐의 腦 부위별 monoamine 함량에 미치는 영향. 동의신경정신과학회지. 2001;12(1):111-22.
38. 김영호, 이상선, 배기환, 김학성, 이명구. 수종의 생약추출물이 monoamine oxidase 활성에 미치는 영향 (제1보). 생약학회지 1998;29(4):271-6.
39. Bhattacharyya D, Sur TK. Effect of Panax ginseng and diazepam on brain 5-hydroxytryptamine and its modification by diclofenac in rats. *Ind J Physiol Pharmacol.* 1999;43(4):505-9.
40. 최재홍. 人蔘, 酸棗仁, 熟地黃이 생쥐 腦의 serotonin 면역반응성 세포에 미치는 영향. 동신대학교 대학원, 2001.
41. Ha JH, Lee KY, Choi HC, Cho J, Kang BS, Lim JC, Lee DU. Modulation of radioligand binding to the GABA(A)-benzodiazepine receptor complex by a new component from *Cyperus rotundus*. *Biol Pharm Bull* 2002 Jan;25(1):128-30.
42. 신민교. 臨床本草學. 서울:영림출판사. 1989:166-7, 385-7.
43. 이상인, 안덕균, 신민교, 노승현, 이영중, 김선희. 漢藥臨床應用. 서울:정보사. 1990:232, 311.
44. Zygmunt LK, Christopher JP 著. 이종범, 박형배, 하정희 共譯. 신경전달물질과 약물. 서울:하나의학사. 1996:184-94.
45. Carlsson A. Monoamine-depleting drugs. *Pharmacol Ther Bull.* 1975;1(3):393-400.
46. Sulser F, Owens ML, Strada SJ, Dingell JV. Modification by desmethylimipramine(DMI) of the availability of norepinephrine released by reserpine in the hypothalamus of the rat in vivo. *J Pharmacol Exp Ther.* 1969;168(2):272-82.
47. 김동희, 이상룡, 김성훈. 高麗人蔘과 西洋蔘의 身部와 蘆頭部가 한냉과 온열자극을 받은 흰쥐의 체온, 맥박수, 혈액학적 변화에 미치는 영향. 동의병리학회지. 1995;9(2):197-215.
48. 이용정, 김안희, 신민규. 흰쥐의 한랭환경 적응인자에 미치는 人蔘의 효과. 동의생리학회지 1992;7(1):103-17.
49. Molina V, Ciesielski L, Gobaille S, Isel F. Inhibition of mouse killing behavior by serotonin-mimetic drugs: Effects of partial alterations of serotonin neurotransmission. *Pharmacol Biochem Behav.* 1987;27(1):123-31.
50. Mandel P, Mack G, Kempf E, Ebel A, Simler S. Molecular aspects of a model of aggressive behavior: Neurotransmitter interaction. pp. 285-303, in Garattini S, Fujol SF, Samarin R.(eds.) *Interaction between putative neurotransmitters.* New York: Raven Press. 1978.
51. Mandel P, Mack G, Kempf E. Molecular basis of some models of aggressive behavior. pp. 95-110, in Sandler M (ed.) *Psychopharmacology of aggression.* New York: Raven Press. 1979.
52. Mandel P, Kempf E, Mack G, Haug M,

- Puglisi-Allegra S. Neurochemistry of experimental aggression. pp. 61-71, in I. Valzelli, L. Morgese. (eds.) Aggression and violence: a a psychobiological and clinical approach. Milano: Edizioni St. Vincent. 1980.
53. Valzelli L, Garattini S. Biochemical and behavioral changes induced by isolation in rats. *Neuropharmacol.* 1972;11(1):17-22.
54. Aprison M, Hingtgen J. Serotonin and behavior: a brief summary. *Federation Proceedings.* 1972;31(1):121-9.
55. DiChiara G, Cauba R, Spano PF. Evidence for inhibition of brain serotonin on mouse-killing behavior in rats. *Nature* 1971;233(5317): 272-3.
56. Rastegar a, Ciesielski L, Simler S, Messripour M, Mandel P. Brain monoamines following castration of aggressive muricidal rats. *Neurochem Res.* 1993;18(4):471-7.