

Berberine이 백서의 6-hydroxydopamine-유도 파킨슨병 모델에 미치는 영향

권익현 · 최현숙 · 신건성 · 황방연 · 이명구*
충북대학교 약학대학

Effects of Berberine on 6-hydroxydopamine-induced Parkinsonism in Rats

Ik Hyun Kwon, Hyun Sook Choi, Kun Seong Shin, Bang Yeon Hwang and Myung Koo Lee*

College of Pharmacy, Chungbuk National University, 410, Sungbong-ro, Heungduk-gu, Cheongju 361-763, Korea

Abstract – Many isoquinoline alkaloids including berberine lower dopamine content by reducing tyrosine hydroxylase (TH) activity and aggravate L-DOPA-induced cytotoxicity in PC12 cells. In this study, the effects of berberine on 6-hydroxydopamine (6-OHDA)-induced cytotoxicity in PC12 cells and on unilateral 6-OHDA-lesioned rat models were investigated. Berberine at 10-30 μM did not affect cell viability in PC12 cells. However, berberine at concentrations higher than 50 μM caused cytotoxicity at 24 h. Berberine (10-50 μM) also enhanced 6-OHDA (10-50 μM)-induced cytotoxicity at 24 h compared to 6-OHDA alone with an apoptotic process. In addition, treatment with berberine (5 and 30 mg/kg, i.p.) for three weeks showed a dopaminergic cell loss in substantia nigra of 6-OHDA-lesioned rats: 30 mg/kg berberine was more intensive cytotoxic. The levels of dopamine were also decreased by berberine (5 and 30 mg/kg) in the ipsilateral substantia nigra of 6-OHDA-lesioned rats. These results suggest that berberine aggravated 6-OHDA-induced cytotoxicity in PC12 cells and treatment with berberine (5 and 30 mg/kg) in 6-OHDA-lesioned rats also enhanced the degeneration of dopaminergic cell death and the decrease in dopamine levels in substantia nigra. Therefore, the long-term L-DOPA therapeutic patients with isoquinoline compounds including berberine may need to be checked for the adverse symptoms.

Key words – Berberine, 6-Hydroxydopamine-induced cytotoxicity, Dopamine, PC12 cells, 6-Hydroxydopamine-lesioned rats

파킨슨병(Parkinson's disease)은 기저핵-흑질-선조체의 dopamine 신경세포의 퇴행에 의하여 발생하며, 주요 증상으로는 진전(tremor), 서동(bradykinesia), 경직(rigidity) 등의 추체외로 경로의 운동 장애를 일으킨다. Dopamine 신경세포의 퇴행의 주요 원인으로는 유전인자, 신경독성 물질 및 산화 스트레스(oxidative stress)에 의한 dopamine 신경세포사 등이 보고되고 있다.¹⁾ 파킨슨병의 증상완화/치료에는 L-3,4-dihydroxyphenylalanine(L-DOPA) 요법이 가장 많이 선택되고 있으며, 투여된 L-DOPA는 뇌중으로 이행하여 방향족 L-아미노산 탈탄산효소(aromatic L-amino acid decarboxylase, EC 4.1.1.28)에 의하여 dopamine으로 변환되어 약리작용을 나타내고 있다. 그러나 장기적인 L-DOPA 요법 파킨슨병 환자는 dopamine 함량이 증가하며, L-DOPA/dopamine 또는 대사체 상호간의 축합반응에 의한 tetrahydropapaveroline 및

salsolinol과 같은 isoquinoline 유도체가 생성되고 있음이 보고되고 있으며,²⁾ L-DOPA/dopamine 및 그의 대사체는 산화 스트레스에 의한 신경독성을 나타낸다.³⁾

Isoquinoline 화합물은 화학구조에 따라 분류하며 다양한 생리 활성을 나타내고 있으며, 특히 dopamine 생합성 및 대사, L-DOPA-유도 세포독성과 관련한 연구 진행되어 왔다. Protoberberine 계열 화합물인 berberine, palmatine, coralyne 및 coptisine, phthalide-isoquinoline 화합물인 hydrastine, aporphine 계열 화합물인 bulbocapnine, liriodenine, anonaine, asimilobine, benzylisoquinoline 계열 화합물인 ethaverine, higenamine, tetrahydropapaverine 및 tetrahydropapaveoline, bisbenzylisoquinoline 계열 화합물인 tetrandrine 및 fangchinoline 등은 PC12 세포중의 dopamine 함량을 감소시키고 있음이 보고되었다.^{4,13)} 이는 상기의 isoquinoline 화합물이 dopamine 생합성 효소인 tyrosine 수산화 효소(tyrosine hydroxylase, TH, EC 1.14.16.2)의 활성 저해작용에 의한 것으로 나타났다. 또한, isoquinoline 모핵을 포함하

*교신저자 (E-mail): myklee@chungbuk.ac.kr
(Tel): +82-43-261-2822

여, quinone, quinine 및 quinoline 계열 화합물은 dopamine 대사효소인 모노아민산화효소(monoamine oxidase, MAO, EC 1.4.3.4)의 저해작용이 있음이 보고되었다.¹⁴⁻¹⁶ 특히, protoberberine 계열 화합물 및 tetrahydropapaveroline 등은 PC12 세포중의 L-DOPA-유도 세포독성 작용에 대한 증가 작용(apoptosis 유도 증가작용)이 있음이 보고되고 있으며, 이는 isoquinoline 계열 화합물의 산화 스트레스 유도 작용에 기인한 것으로 밝혀지고 있다.¹⁷ 또한 isoquinoline을 장기간 복용하는 경우 신경독성에 대한 in vivo 연구들이 있으며,^{16,18,19} 이는 신경퇴행성 질환 증상을 나타내는 환자 및 노약자 정상인에게 isoquinoline 계열 화합물을 장기간 복용(1-2 주간 이상)하는 경우 신경독성의 가능성이 있음을 나타내고 있다. Berberine은 황련(*Copis japonica* M., Ranunculaceae)의 근경에 함유된 주성분이며, 항균, 항고혈압, 항폐양, 중추억제 작용 등이 알려져 있으며,²⁰⁻²³ 시판중인 정장제, 안신약 제제에 함유되어있다.

6-Hydroxydopamine(6-OHDA)은 산화제(Fe^{2+} , H_2O_2)의 존재하에 비효소학적(non enzymatic)으로 dopamine에서 생합성되며 선택적으로 dopamine 신경세포사를 유도하는 신경독성물질이며, 뇌실투여에 의하여 파킨슨병-유도 동물모델의 작성에 사용되고 있다.²⁴ 또한 6-OHDA는 PC12 세포중에 투여하는 경우 세포독성 작용을 나타내고 있다.²⁵ 따라서 본 연구에서는 상기의 isoquinoline 계열 화합물 중에서 임상에서 변용되고 있는 berberine을 선택하고 세포모델(PC12 세포주) 및 신경퇴행성 질환(파킨슨병)의 동물모델을 이용하여 신경세포 독성에 미치는 영향을 검토하고자 한다. 이는 노령화 및 신경퇴행질환을 가진 노약자의 약물요법과 관련하여 노약자에게 isoquinoline 화합물을 포함한 dopamine 생합성 및 대사에 영향을 주는 물질, 산화 스트레스-유도 물질 등의 천연물을 장기간 투여하는 경우, 질환의 진행 및 약물상호작용의 면에서의 영향을 고찰하기 위한 것이다.

실험재료 및 방법

실험재료 - L-DOPA, dopamine, berberine sulfate, 6-OHDA, apomorphine hydrochloride, bovine serum albumin, thiobarbituric acid, EDTA, ascorbic acid, 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-³H-tetrazolium bromide (MTT), 세포배양용 배지 및 serum 등은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo, USA)에서 구입하였다. 실험동물은 백서(Sprague-Dawley, male, 250-280 g)를 사용하였으며, 주야 주기 12 시간, 온도 $23 \pm 2^\circ C$ 의 조건하에서 사육하였다. 그 밖의 시약은 특급 및 HPLC 용 등급을 사용하였다.

PC12 세포 배양 - PC12 cells세포의 배양은 10% heat-inactivated horse serum, 5% heat-inactivated fetal bovine serum이 포함된 RPMI medium 1640을 사용하였으며, CO_2

배양기(5%, $37^\circ C$)에서 배양하였다.²⁶

6-OHDA-유도 세포독성 측정 - 세포독성은 MTT 시약을 사용하여 세포생존율을 측정하여 계산하였다. PC12 세포(약 1×10^5 cells)를 96 well microplate에 분주하고 48 시간 배양한 다음, 이 세포에 berberine 또는 6-OHDA를 단독/병용 처리한 다음 24 시간 배양하였다. 세포 배양후 MTT 시약을 가한 후 용출된 formazan을 570 nm에서 측정하였다 (Bauty Diagnostic Microplate Reader, Molecular Devices, CA, USA).

유세포분석(Flow cytometry analysis) - PC12 세포를 수집한 후 고정액[staining solution: 50 $\mu g/ml$ propidium iodide, 0.05 mg/ml RNase A, 0.1 mM EDTA(pH 7.4) 용해 PBS]에서 실온, 30 분간 반응시킨 후 FACScan flow cytometer(Bekton Dickinson, San Jose, CA, USA)로 측정하였다.

6-OHDA-유도 파킨슨병 동물 모델 - 파킨슨병 모델의 작성은 뇌부위에 6-OHDA를 투여하여 작성하였다. 실험동물(웅성, Sprague-Dawley rat, 250-300 g)을 마취한 다음(Zoletil 50 사용, 100 mg/kg, i.p.; Vibac, Carros, 프랑스), 뇌정위 수술기구(Stereotaxic apparatus, KOPF instrument, USA)를 사용하여 동물을 고정한 후, 한쪽 부위의 흑질 치밀부위에 6-OHDA(Sigma, 8 $\mu g/2 \mu l$, 1 $\mu l/min$)를 투여하였다(위치: bregma에서 앞 -5.3 mm, 중앙선에서 +1.9 mm 옆, 경막에서 -7.5 mm 깊이).²⁷ 모델작성의 확인(hemi-parkinsonism)은 6-OHDA 투여 2 주후에 apomorphine(0.5 mg/kg, s.c.)을 투여하여 회전운동을 평가하였다(300 회/시간 이상의 회전운동). 6-OHDA 투여 동물에 대한 berberine(5 및 30 mg/kg, i.p.)의 투여는 3 주간(1일 1회) 시행하였다.

Dopamine 신경세포의 면역염색 - 6-OHDA 주입한 다음 4 주 후에 좌심실을 통한 관류고정(4% paraformaldehyde/50 mM phosphate 완충용액)을 시행한 다음 뇌를 적출하여 4% paraformaldehyde 용액에서 24 시간 고정 하였다. 고정된 뇌 조직을 30% sucrose/PBS 용액/isobutane을 이용하여 동결박편을 제조하여 저온 보관하였다(두께 35 μm ; Cryostat, Leica, Nuolch, Germany). 조직에 대한 cresyl violet 염색은 0.5% cresyl violet 용액에 약 15-30 분간 반응시키고 3-5 분간 증류수에서 색분화(differentiation)를 시킨 다음 탈수시킨 후(alcohol 사용) xylene으로 투명화하여 polymount에 봉입하였다. 흑질의 치밀부위의 염색성 측정은 광학현미경(x 100 배, Zeiss Axiolab, Jena, Germany)을 사용하여 흑질에서 일정면적 내의 염색세포수를 계수하여 시행하였다.²⁷

Dopamine 함량 측정 - 뇌시료 중의 dopamine 함량은 Mitsui 등²⁸ 및 Lee 등¹⁷의 방법에 준하여 사용하였다. 시료에 trichloroacetic acid(3.0 M, 100 μl) 및 isoproterenol(1 nmol/ml, 100 μl , 내부표준)을 가한 다음 원심 분리하였다. 상등액을 Toyopak SP 카트리지(Toso, Tokyo, Japan)를 사

용하여 전처리한 후, 흡착된 아민화합물은 0.6 M KCl-acetonitrile(1:1, v/v) 혼합액 2 ml을 사용하여 용출시킨다. 용출액에 DPE 시약을 가하여 형광 유도체화한 다음 최종 반응액을 HPLC를 사용하여 dopamine 함량을 측정하였다. HPLC의 조건: column, TSK gel ODS 120T(5 μ m, 0.45 \times 15 cm, Tosco, Tokyo); 이동상, acetonitrile-methanol-0.1 M NaOAc 완충액(pH 5.0) (50:5:45, v/v); 유속, 1 ml/min; 검출기, F1000 형광검출기(Ex. 350 nm, Em. 475 nm, Hitachi, Tokyo).

결과정리 - 단백질 함량은 소혈청 albumin을 사용하여 측정하였으며,²⁹⁾ 실험결과는 means \pm S.E.M.으로 표시하였으며 유의성 검정은 Tukey's test에 의한 ANOVA 및 Student's *t*-test에 의하여 계산하였다.

결과 및 고찰

Berberine 10-30 μ M의 전처치는 PC12 세포에서 세포독성을 나타내지 않았으나(Fig. 1), 50 μ M 이상에서는 세포독성을 나타내었다(대조군의 약 18% 세포사 유도). 또한, 6-OHDA는 PC12 세포중에 24 시간 전처치하는 경우 10-20 μ M 범위에서는 세포독성을 나타내지 않았으나(Fig. 1), 50 μ M에서는 세포독성을 나타내었다.³⁰⁾ 그러나 비독성 농도범위인 berberine(10-30 μ M)과 6-OHDA(20 μ M)을 병용 처치하는 경우 PC12 세포는 세포독성을 나타내었으며, berberine(10-30 μ M)과 6-OHDA(50 μ M)을 병용하는 경우 세포독성 작용은 6-OHDA 단독 처치에 의한 독성작용 보

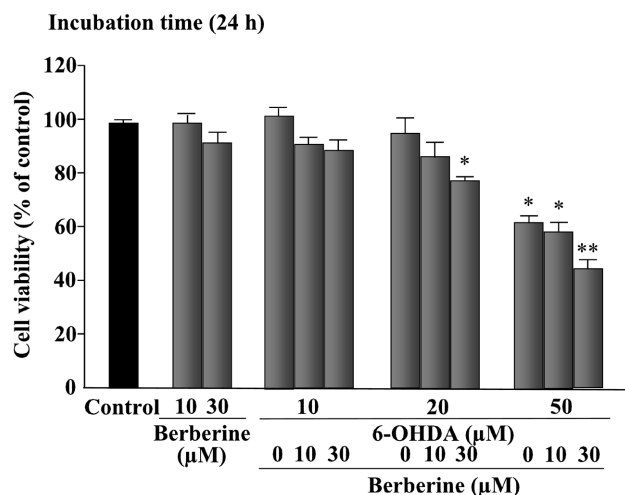


Fig. 1. Effects of berberine on 6-OHDA-induced cytotoxicity in PC12 cells. PC12 cells were exposed to 6-OHDA (10, 20 and 50 μ M) in the absence or presence of berberine (10 and 30 μ M) for 24 h. The cell viability was assessed by the MTT method. Results represent means \pm S.E.M. of four experiments. **p*<0.05 compared to control levels (Student's *t*-test)

다 증가하였다(Fig. 1).

6-OHDA는 PC12 세포에 처치하는 경우 세포사(apoptosis)를 나타낸다.²⁵⁾ 따라서 berberine과 6-OHDA의 병용 처치에 의한 세포사(apoptosis)를 검토하였다. PC12 세포 중에 berberine과 6-OHDA의 병용 처치는 세포사(apoptosis)를 나타내었다(Fig. 2). PC12 세포내 berberine(30 μ M)은 24 시간 전처치하는 경우 12.4%의 세포사(apoptosis)를 나타내었으며, 6-OHDA(20 μ M)의 경우 에는 11.4%의 세포사(apoptosis)를 나타내었다. 또한, berberine(30 μ M) 및 6-OHDA(20 μ M)을 병용 처치하는 경우 세포사(apoptosis)는 23.4%을 나타내어 단독 처치군에 비하여 현저히 증가하였다(Fig. 2). 이는 berberine의 비독성 범위 전처치에서 6-OHDA의 독성 작용을 증가하여 세포사(apoptosis)를 유도하고 있음을 나타내고 있으며(Fig. 2), berberine의 독성 농도 범위(50 μ M)에서

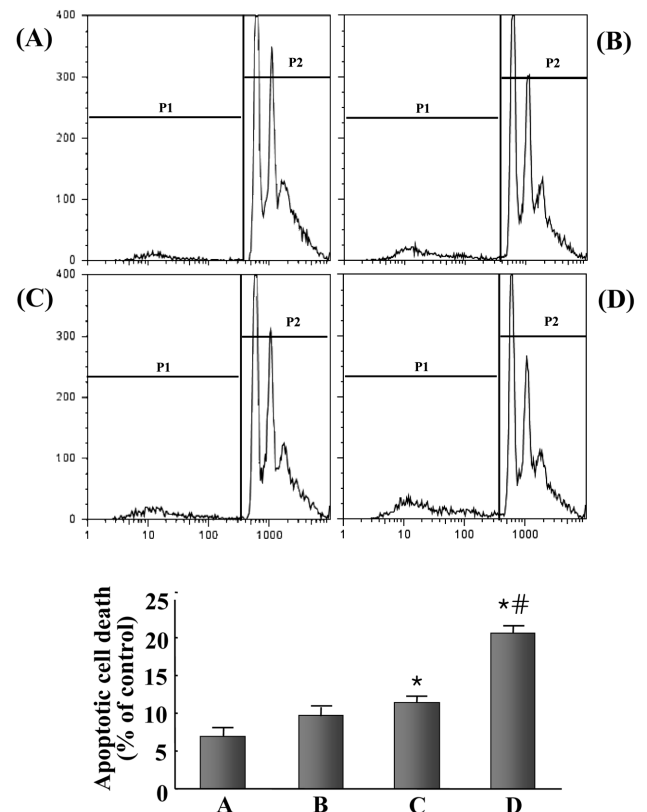


Fig. 2. Flow cytometry histograms of control PC12 cells and PC12 cells after 24 h exposure to berberine, 6-OHDA and 6-OHDA associated with berberine. (A) control, (B) berberine (30 μ M), (C) 6-OHDA (20 μ M), (D) 6-OHDA (20 μ M) + berberine (30 μ M). After incubation, the cells were harvested and stained with propidium iodide. DNA relative content was analyzed by flow cytometry (X-axis, DNA content; Y-axis, number of cells). The percentages of apoptotic cells after 24 h exposure were determined by flow cytometry. Results represent means \pm S.E.M. of four experiments. **p*<0.05 compared to control levels (Student's *t*-test)

도 6-OHDA-유도 세포독성에 대하여 현저한 세포독성 증가 작용을 나타내고 있는 것으로 나타났다(자료 미제시).

6-OHDA 및 L-DOPA는 PC12 세포 중에서 자가산화(auto-oxidation)에 의하여 quinone, semiquinone 등의 화합물을 생성하고 자유기(free radicals)를 생성하여 산화 스트레스에 의한 세포독성 작용을 나타낸다.³¹⁾ Isoquinoline 화합물은 MPTP와의 구조적 유사성으로 dopamine 생합성, 생합성 및 대사효소(TH 및 MAO) 저해작용, dopamine과 관련한 세포독성과 관련한 연구가 진행되어 왔다. 이 중에서 berberine을 포함한 protoberberine 알칼로이드(palmatine, coptisine)는 dopamine 생합성 저해작용, TH 및 MAO 활성 저해작용을 나타내며,^{4,13,14)} tetrahydropapaveroline은 dopamine 생합성 저해작용 이외에 L-DOPA-유도 세포독성 증가작용을 나타내며, 세포독성 작용은 산화 스트레스에 의한 것으로 밝혀졌다.^{9,17)} 그러므로 berberine의 세포독성 작용은 tetrahydropapaveroline 등에서 나타난 것처럼 세포내 산화 스트레스와 관련한 세포사(apoptosis) 유도 작용에 의한 것이며, 이러한 세포독성 작용은 6-OHDA-유도 세포독성 작용에 대한 증가작용을 유도하고 있는 것으로 사료된다.

다음으로 berberine에 의한 PC12 세포중의 6-OHDA-유도 세포독성 증가작용이 berberine의 장기간 투여에 의한 파킨슨병의 진행과정에 미치는 영향을 검토하였다. 파킨슨병 모델은 6-OHDA(8 µg/2 µl, 2 주간)을 뇌질내 흑질부위 투여에 의하여 작성하였고, berberine(5 mg/kg 및 30 mg/kg, 3 주간)은 파킨슨병 모델 동물(2 주간 6-OHDA 투여 동물)에 투여하였다. 파킨슨병 발현은 6-OHDA 투여 2 주후에 apomorphine(0.5 mg/kg, s.c.) 투여에 의한 회전운동으로 확인하였으며, 조직내(흑색 치밀부위)의 신경세포사는 cresyl violet 염색법으로 검사하였다.

Berberine(5 mg/kg)의 단독투여군은 정상군(6-OHDA 미투여군)의 흑질 치밀부위에서 유의적인 신경세포군의 감소를 나타내지 않았으나, berberine(30 mg/kg)의 단독 투여군은 신경세포 감소를 나타내었다(Fig. 3B, C). 또한, 6-OHDA 투여군에서도 정상군에 비하여 현저히 신경세포군이 감소하였으며(Fig. 3D), 6-OHDA 투여군에 대하여 berberine을 병용 투여 하는 경우, berberine(5 mg/kg) 병용투여군은 6-OHDA 단독투여군에 비하여 신경세포군이 감소하는 경향을 나타내었으며(Fig. 3E), berberine(30 mg/kg) 병용투여는 6-OHDA 단독투여군 및 정상군과 비교하는 경우 신경세포군이 현저히 감소하였다(Fig. 3F). 이 결과로부터 berberine의 단독투여에 의하여 흑질부위의 신경세포는 감소되며, berberine의 신경세포 감소작용은 투여농도에 비례하여 발생하고 있음을 나타내고 있다.

Cresyl violet 염색결과에 의하여 정상군은 흑질 치밀부위(substantia nigra compacta)과 흑질 외측부위(substantia nigra reticulata)에서 염색된 신경섬유가 그물처럼 엉켜있었

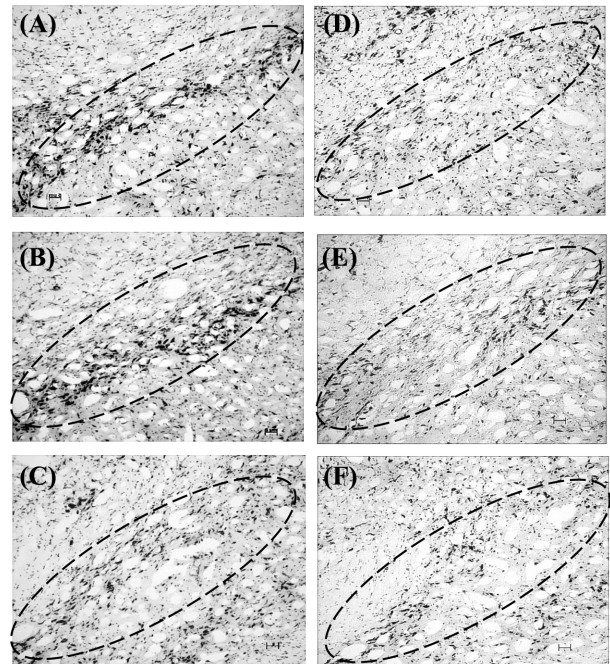


Fig. 3. Representative microphotographs of cresyl violet staining in the left side of substantia nigra. (A) normal group, (B) 5 mg/kg berberine-treated group, (C) 30 mg/kg berberine-treated group, (D) 6-OHDA-lesioned group, (E) 5 mg/kg berberine-treated group in 6-OHDA-lesioned animals, (F) 30 mg/kg berberine-treated group in 6-OHDA-lesioned animals. After 3 weeks, the brains were removed and the coronal sections (35 µm) were cut using a sliding microtome. Every sixth serial section was selected and processed for cresyl violet staining. These data were representative of seven to ten animals per group. Dotted lines indicate substantia nigra pars compacta. The pictures were visualized under the light microscope with a magnification of 100×.

고, 세포체가 다각형 또는 난원형 모양이었다. 그러나 berberine(30 mg/kg) 투여군은 정상군에 비하여 신경세포의 염색성(신경세포체)이 감소하였으며, 6-OHDA와 berberine(5 및 30 mg/kg)을 병용 투여한 경우, 6-OHDA 단독 투여군과 비교하여 신경세포의 염색성이 현저히 감소하였다. 이는 isoquinoline 화합물인 berberine은 6-OHDA 뇌질 투여에 의한 파킨슨병 유도 과정(발병 및 진행과정)에서 농도 의존적으로 흑질부위의 dopamine 신경세포 독성작용(신경세포사)에 대한 증가작용을 나타내고 있음을 제시하고 있다.

파킨슨병은 흑질에서 dopamine 신경세포가 선택적으로 퇴행되어 나타나는 운동질환이다. 6-OHDA 투여 및 berberine 투여에 의한 흑질의 신경세포의 감소에 따른 뇌중의 dopamine 함량을 검토하였다. 뇌중의 dopamine 함량은 berberine(5 mg/kg) 투여군은 정상군에 비하여 변화가 없었으며, 6-OHDA 투여군은 치밀부위(외측부위)에서 dopamine 함량이 감소하였다(대조군의 47% 감소)(Fig. 4). 6-OHDA

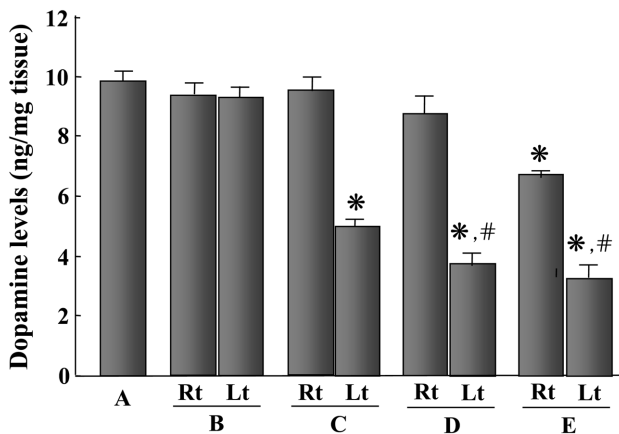


Fig. 4. Effects of berberine on dopamine levels in the right (Rt) and left (Lt) striatum of 6-OHDA-lesioned animals. (A) normal group, (B) 5 mg/kg berberine-treated group, (C) 6-OHDA-lesioned group, (D) 5 mg/kg and (E) 30 mg/kg berberine-treated group in 6-OHDA-lesioned animals. After 3 weeks, the brains were removed and dopamine levels were determined by an HPLC method. Results represent means \pm S.E.M. for seven to ten animals per group. * p <0.05 compared to control levels (ANOVA followed by Tukey's test)

은 흑질에 투여되면 dopamine 흑질-선조체 경로만 선택적으로 파괴시키므로 dopamine 신경세포사(cell death)를 유도하고 이로 인하여 선조체 dopamine 함량이 감소된다.^{31,32} 6-OHDA 투여한 다음 berberine을 병용 투여한 경우, dopamine 함량은 berberine 5 mg/kg 투여군에서는 미약한 감소를 나타내었으며, 30 mg/kg 투여군에서는 현저히 감소하였다(75.4% 감소)(Fig. 4). 이는 berberine의 투여농도의 증가에 따라 6-OHDA-유도 신경세포사의 유도가 증가함으로서 dopamine 신경세포에서의 dopamine 생합성이 감소되고 있음을 나타내고 있다.

파킨슨병 환자에게 장기간 L-DOPA 요법을 실시할 경우 혈액 중의 dopamine 함량의 증가 및 isoquinoline 유도체인 tetrahydropapaveroline과 salsolinol 등이 생성되며,^{17,33,34} tetrahydroisoquinoline 및 isoquinoline 화합물들은 L-DOPA-유도 신경독성 작용의 증가 작용을 나타내고 있음이 보고되고 있다.¹⁷⁻¹⁹

현재 시판중인 berberine 제제의 용법은 100-300 mg/day (성인 기준)이며, 증상에 따라 1 주간 이상 복용할 가능성이 있다. 또한 isoquinoline 화합물 이외에 산화 스트레스-유도 물질인 중금속(Fe, Mn, Sn)은 L-DOPA-유도 dopamine 생합성 저해작용 및 L-DOPA-유도 세포독성 증가작용을 나타내고 있다.³⁵ 그러므로 산화 스트레스-유도 isoquinoline 화합물 및 중금속 화합물이 노약자 및 신경퇴행질환 환자에게 장기간(최소 1 주간 이상) 복용/노출되는 경우 유해작용의 가능성을 제시할 수 있다.

이상의 연구결과에 의하면 protoberberine 알카로이드인 berberine은 PC12 세포 및 파킨슨병 동물모델에서 6-OHDA-유도 세포독성의 증가작용을 나타내고 있다. 그러므로 L-DOPA 요법 중인 파킨슨병 환자 및 노약자는 berberine을 포함한 isoquinoline 화합물, dopamine 생합성 저해작용 및 산화 스트레스를 유도하는 물질(예 중금속) 등에 장기간 동안 투여/노출되는 경우 독성작용이 증가될 수 있음을 제시하였으며, 복용 용량과 기간에 따라 신경독성이 상승될 수 있다. 따라서 본 연구는 신경퇴행성 질환 환자 및 노약자에 대하여 천연물과의 약물상호작용, 품질관리 등에 대한 체계적인 연구가 진행되어야 할 것임을 제시하고 있다.

사 사

본 논문은 2008년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

인용문헌

- Fearnley, M. and Lees, A. J. (1991) Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity. *Brain*. **114**: 2283-2301.
- McNaught, K. S., Carrupt, P. A., Altomare, C., Cellamare, S., Carotti, A., Testa, B., Jenner, P. and Marsden, C. D. (1998) Isoquinoline derivatives as endogenous neurotoxins in the aetiology of Parkinson's disease. *Biochem. Pharmacol.* **56**: 921-933.
- Jung, Y. J. and Surh, Y. J. (2001) Oxidative DNA damage and cytotoxicity induced by copper-stimulated redox cycling of salsolinol, a neurotoxic tetrahydroisoquinoline alkaloid. *Free Rad. Biol. Med.* **30**: 1407-1417.
- Shin, J. S., Kim, E. I., Kai, M. and Lee, M. K. (2000) Inhibition of dopamine biosynthesis by protoberberine alkaloids in PC12 cells. *Neurochem. Res.* **25**: 363-368.
- Shin, J. S., Kim, K. T. and Lee, M. K. (1998) Inhibitory effects of bulbocapnine on dopamine biosynthesis in PC12 cells. *Neurosci. Lett.* **244**: 161-164.
- Shin, J. S., Lee, J. J., Kim, Y., Lee, C. K., Yun, Y. P. and Lee, M. K. (2001) Inhibitory effects of ethaverine, a homologue of papaverine, on dopamine content in PC12 cells. *Biol. Pharm. Bull.* **24**: 103-105.
- Shin, J. S., Yun-Choi, H. S., Kim, E. I. and Lee, M. K. (1999) Inhibitory effects of higenamine on dopamine content in PC12 cells. *Planta Med.* **65**: 452-455.
- Yin, S. Y., Kim Y. M., Lee, J. J., Jin, C. M., Yang, Y. J., Ma, J. J., Kang, M. H., Kai, M. and Lee, M. K. (2004) Enantioselective inhibition of (1R,9S)- and (1S,9R)- β -hydrastines on dopamine biosynthesis in PC12 cells. *Neuropharmacol.* **47**: 1045-1052.
- Kim, Y. M., Kim, M. N., Lee, J. J. and Lee, M. K. (2005)

- Inhibition of dopamine biosynthesis by tetrahydropapaveroline. *Neurosci. Lett.* **386**: 1-4.
10. Kim, S. H., Shin, J. S., Lee, J. J., Yin, S. Y., Kai, M. and Lee, M. K. (2001) Effects of hydrastine derivatives on dopamine biosynthesis in PC12 cells. *Planta Med.* **67**: 609-613.
 11. Zhang, Y. H., Shin, J. S., Lee, S. S., Kim, S. H. and Lee, M. K. (1997) Inhibition of tyrosine hydroxylase by bulbocapnine. *Planta Med.* **63**: 362-363.
 12. Jin, C. M., Lee, J. J., Yang, Y. J., Kim, Y. K., Ryu, S. Y. and Lee, M. K. (2007) Liriodenine inhibits dopamine biosynthesis and L-DOPA-induced dopamine content in PC12 cells. *Arch. Pharm. Res.* **30**: 984-990.
 13. Lee, M. K. and Zhang, Y. H. (1996) Inhibition of tyrosine hydroxylase by berberine. *Med. Sci. Res.* **24**: 561-564.
 14. Lee, S. S., Kai, M. and Lee, M. K. (1996) Effects of natural isoquinoline alkaloids on monoamine oxidase activity in mouse brain: Inhibition by berberine and palmatine. *Med. Sci. Res.* **27**: 749-751.
 15. Lee, S. S., Yun-Choi, H. S., Kim, E. I. and Lee, M. K. (1996) Inhibition of monoamine oxidase by higenamine. *Med. Sci. Res.* **26**: 71-72.
 16. Naoi, M., Matsuura, S., Parvez, H., Takahashi, T., Hirata, Y., Minami, M. and Nagatsu, T. (1989) Oxidation of N-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline into the N-methyl-isoquinolinium ion by monoamine oxidase. *J. Neurochem.* **52**: 653-655.
 17. Lee, J. J., Kim, Y. M., Yin, W. Y., Park, H. D., Kang, M. H., Hong, J. T. and Lee, M. K. (2003) Aggravation of L-DOPA-induced neurotoxicity by tetrahydropapaveroline in PC12 cells. *Biochem. Pharmacol.* **66**: 1787-1795.
 18. Maruyama, W., Nakahara, D., Ota, M., Takahashi, T., Takahashi, A., Nagatsu, T. and Naoi, M. (1992) N-Methylation of dopamine-derived 6,7-dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline, (R)-salsolinol, in rat brains: In vivo microdialysis study. *J. Neurochem.* **59**: 395-400.
 19. Naoi, M., Matsuura, S., Takahashi, T. and Nagatsu, T. (1989) A N-methyltransferase in human brain catalyses N-methylation of 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline into N-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline, a precursor of a dopaminergic neurotoxin, N-methylisoquinolinium ion. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **161**: 1213-1219.
 20. Franzblau, S. G. and Cross, C. (1986) Comparative in vitro antimicrobial activity of chinese medicinal herbs. *J. Ethnopharmacol.* **15**: 279-288.
 21. Yamahara, J. (1976) Behavioral pharmacology of berberine-type alkaloids (1), Central depressive action of Coptis Rhizoma and its constituents. *Nippon Yakurigaku Zasshi.* **72**: 899-908.
 22. Chen, H. C. and Hsieh, M. T. (1986) Two-year experience with "San-Huang-Hsieh-Tang" in essential hypertension. *Am. J. Chin. Med.* **14**: 51-58.
 23. Takase, H., Imanishi, K., Miura, O. and Yumioka, E. (1989) A possible mechanism for the gastric mucosal protection by Oren-Gedoku-To (OGT), A traditional herbal medicine. *Jpn. J. Pharmacol.* **51**: 17-23.
 24. Bereese, G. and Traylor, T. (1970) Effect of 6-hydroxydopamine on brain norepinephrine and dopamine: evidence for selective degeneration of catecholamine neurons. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **175**: 413-420.
 25. Blum, D., Wu, Y., Nissou, M.-F., Arnaud, S., Benabid, A.-L. and Verna, J.-M. (1997) p53 and Bax activation in 6-hydroxydopamine-induced apoptosis in PC12 cell. *Brain Res.* **751**: 139-142.
 26. Greene, L.,A. and Tischler, A. S. (1976) Establishment of a noradrenergic clonal line of rat adrenal pheochromocytoma cells which respond to nerve growth factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **73**: 2424-2428.
 27. Paxinos, G. and Watson, C. (1986) The rat brain in stereotaxic coordinates. Australia: Academic Press.
 28. Mitsui, A., Nohta, H. and Ohkura, Y. (1985) High-performance liquid chromatography of plasma catecholamines using 1,2-diphenylethylenediamine as precolumn fluorescence derivatization reagent. *J. Chromatogr.* **344**: 61-70.
 29. Lowry, O. H., Rosenbrough, N. L., Farr, A. L. and Randall, R. L. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265-275.
 30. 이재준, 김유미, 김춘매, 양유정, 강민희, 이명구. (2003) Protoberberine 알카로이드가 PC12 세포중의 L-DOPA 유도 세포독성 작용에 미치는 영향. *약학회지* **47**: 230-233.
 31. Saito, Y., Nishio, K., Ogawa, Y., Kinumi, T., Yoshida, Y., Masuo, Y. and Niki, E. (2007) Molecular mechanisms of 6-hydroxydopamine-induced cytotoxicity in PC12 cells: Involvement of hydrogen peroxide-dependent and -independent action. *Free Rad. Biol. Med.* **42**: 675-685.
 32. Perese, D. A., Ulman, J., Viola, J., Ewing, S. E. and Bankiewicz, K. S. (1989) A 6-hydroxydopamine-induced selective parkinsonian rat model. *Brain Res.* **494**: 285-293.
 33. Jenner, P. and Olanow, C. W. (1996) Pathological evidence for oxidative stress in Parkinson's disease and related degenerative disorders. In: C.W. Olanow, P. Jenner and M. Youdim. (ed.) Neurodegeneration and Neuroprotection in Parkinson's Disease. 23-45, Academic Press, London.
 34. Fahn, S. and Cohen, G. (1992) The oxidant stress hypothesis in Parkinson's disease: Evidence supporting it. *Ann. Neurol.* **32**: 804-812.
 35. Migheli, R., Godani, C., Sciola, L., Delogu, M. R., Serra, P. A., Zangani, D., De Natale, G., Miele, E. and Desole, M. S. (1999) Enhancing effect of manganese on L-DOPA-induced apoptosis in PC12 cells: Role of oxidative stress. *J. Neurochem.* **73**: 1155-1163.