

Anxiolytic-like Effects of the Methanol Extract of Sophorae Fructus

Han Saem Oh, Gil Yong Lee, Ji Wook Jung[†]

Department of Herbal Medicinal Pharmacology, Daegu Haany University, Gyeongsan 712-715, Korea

괴각(Sophorae Fructus) 메탄올 추출물의 항불안 효과

오한샘 · 이길용 · 정지욱[†]

대구한의대학교 한약재약리학과

Abstract

The purpose of this study was to investigate the anxiolytic-like effect of the methanol extract of Sophorae fructus (MESF) using elevated plus-maze (EPM), open field test, and horizontal wire test in mice. MESF was orally administered at doses of 50, 100, 200, or 400 mg/kg to ICR mice 1 h before behavioral evaluation. The control group was given an equal volume of 10% Tween 80, and the positive control group was given diazepam (1 mg/kg, i.p.). The administration of MESF significantly increased the percentage of time spent in open arms and the entries into the open arms of the EPM compared with the 10% Tween 80-treated control group ($p < 0.05$). In addition, the anxiolytic-like activities of MESF were antagonized by flumazenil (a GABA_A antagonist, 10 mg/kg) but not by WAY-100635 (a 5-HT_{1A} antagonist, 0.3 mg/kg). Furthermore, there were no changes in the locomotor activity and myorelaxant effects of the experimental group, as opposed to the 10% Tween 80-treated control group. Therefore, these findings suggest that MESF promotes the anxiolytic-like activity mediated by the GABAergic nervous system in mice.

Key words : Anxiety, Sophorae fructus, Elevated plus-maze, GABA, WAY-100635, Flumazenil

서 론

현대에는 사회변화의 속도가 빠르고, 치열한 경쟁사회에서 생활함에 따라 스트레스성 장애가 증가하고 있는 추세이다. 스트레스로 인한 질병은 다양하지만 정신과적 영역에서 볼 때 쉽게 나타날 수 있는 질병이 불안장애와 우울증이라고 볼 수 있으며, 그 중에서 불안장애는 우울증과 더불어 최근 사회적 문제를 일으키는 장애 중 하나로서 문제의 심각성이 점차 대두되고 있다(1). 현대인은 평생 동안 한번 이상의 불안장애를 앓는 것으로 보고되고 있으며, 발병 후 적절한 치료를 받지 못할 경우 삶의 질을 심각하게 떨어뜨리고 약물남용이나 우울증과 같은 합병증이 나타난다(2).

불안(anxiety)이란 즉각적으로 피하기 어려운 상황 또는 장소에 처해 있을 때 위협과 위협에 대한 심계항진, 발한, 오심, 흉통, 오한, 안면홍조 등의 자율신경계통의 과민 증상

들이 동반되는 심리적 반응을 말한다(3). 불안장애는 다양한 원인으로 구성된 뇌 질환으로서 서로 다른 유전자들의 변이들이 불안 증상을 유발할 수도 있으며, 여러 유전자가 연관된 복합적인 유전질환일 수도 있다. 또한 불안감을 일으키는 대상이 상상 혹은 실제이든지 관계없이, 이를 감소시키려는 노력의 과정으로 공포라는 정신병리적 증상을 동반한 행동반응이 유발되며, 스트레스에 대한 유전적 취약성을 가진 개인에서 내적 스트레스(internal stress) 또는 외적 스트레스(external stress)의 상호작용으로 인해 발생하는 비유전적 요인들도 중요한 발병인자로 생각되고 있다(3,4).

1960년대 후반부터 불안 및 우울증에 대한 생물학적 또는 화학적 연구가 진행되어 불안 및 우울증을 감소시킬 수 있는 많은 약물과 치료법이 개발되어 왔으며, 대표적인 신경안정제인 benzodiazepine계 약물은 항불안, 항경련, 진정, 근이완 등의 약리작용으로 임상에서 널리 사용되고 있으나 장기간 사용시, 그 부작용뿐만 아니라 내성 및 의존성 발현 등의 문제점이 있어 사용이 제한되어 있다(5,6).

[†]Corresponding author. E-mail : jwjung@dhu.ac.kr
Phone : 82-53-819-1337, Fax : 82-53-819-1339

현재 불안 장애에 널리 사용되는 약물은 선택적 세로토닌 재흡수 억제제(serotonin-selective reuptake inhibitor, SSRIs)와 benzodiazepine계 약물이 대표적이다(7). 벤조디아제핀(benzodiazepine)계 약물은 GABA_A 수용체(γ -aminobutyric acid type A receptor)에 GABA (γ -aminobutyric acid)가 결합하는 부위 이외에 channel의 기능을 강력하게 조절하는 다른 물질들이 결합하는 부위 중 한곳에 결합하여, GABA가 더욱 효과적으로 억제 작용할 수 있도록 도와주는 작용을 한다(8). 이외에도 선택적 세로토닌 재흡수 억제제는 불안장애와 강박장애에서 자주 사용되지만, benzodiazepine과는 달리 즉각적인 항불안 효과는 나타내지 못한다고 알려져 있다(9-11).

현대의학에서 말하는 불안(anxiety) 및 우울증(depression)은 한방에서 장조(臟躁), 울증(鬱證) 등의 용어로 표현되고 있으며, 이러한 질환을 안신약(安神藥) 및 청열약(淸熱藥)이라고 하는 약물로 치료하는데, 공통적으로 신경 안정의 효능을 갖는다고 알려져 있다(12). 안신 약물군은 불안과 불면을 차단하며, 그 효능은 현대 의학에서 사용되는 신경 안정 및 항불안 효과와 유사하며 항경련 효과도 갖고 있다고 보고 있다(13).

괴각(*Sophorae fructus*)은 콩과의 식물인 회화나무(*Sophora japonica* L)의 열매를 지칭하는 것으로서 주성분은 9개의 flavonoid와 isoflavonoid화합물이 함유되어 있는데, 여기에는 sophoraflavonoliosidegenistein, sophorabioside, sophoricoside, kaempferol, rutin 및 glucoside-C 등이 있으며 어린열매속의 rutin의 함량이 46%에 달하며, 자궁출혈, 소변출혈, 대변출혈 등의 지혈효과가 있으며 포도상구균과 대장균 생장억제작용 그리고 골아세포(osteoblast)의 IL-1 β 와 IL-6 저해작용과 같은 약리효능이 있다고 알려져 있다(14-16).

그러나 괴각의 항불안 효과에 대해서는 아직까지 알려져 있지 않으며, 이에 본 연구에서는 괴각의 메탄올 추출물이 신경계질환 중에서 불안증에 미치는 효과를 elevated plus-maze, open field test, horizontal wire test 등 동물행동실험을 통하여 관찰하였고, 이러한 효과가 어떤 기전을 통하여 작용하는지를 확인하고자 하였다. 항불안 약물로 세인트존스 워트(St John's Wort)와 발레리안(Vallerian)가 사용되기 시작하면서 부작용이 보다 적은 천연물의 사용 및 개발에 대한 관심이 증가하고 있어 국내에서 오랫동안 사용되어 온 한약재 및 활성성분의 과학적 해석을 통한 한약제제 및 천연물 제제의 동등성 연구 기반의 구축에 본 연구의 필요성이 있다고 생각된다.

재료 및 방법

실험동물

실험동물은 웅성의 ICR (SPF/VAF CrljBgi: CD-1) 5주령

을 (주)오리엔트(경기도, 한국)에서 공급받아 명암주기는 12시간 주기로 자동적으로 조절되는 사육실에서 온도 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 $50 \pm 10\%$ 내외로 유지되었고, polycarbonate mice cage에 수용하여 사육하였으며 환경적응 기간 동안 물과 사료는 자유롭게 섭취하도록 하였다. 실험동물의 처치 및 유지는 실험동물 관리 원칙 (NIH publication No. 85-23, revised 1985)과 대구한의대학교의 동물의 관리 및 사용 규정에 입각하여 진행하였다.

실험 재료

괴각(*Sophorae fructus*) 추출물은 괴각(*Sophorae fructus*)을 증류수로 세척한 뒤 80% 메탄올을 원생약의 10배 부피만큼 가한 후 3회 초음파 추출하였다. 이를 환류 냉각장치(rotary evaporator)로 감압 농축하여 얻은 침조상의 추출물을 동결건조 (Eyela, model FDU-2000, Tokyo, Japan)하여 실험에 사용하였다(수득율: 32.92%). Diazepam, WAY-100635, Tween 80 (polyethylene glycol sorbitan monooleate), sodium chloride, flumazenil은 시그마 알드리치 (St Louis, Mo, USA)의 제품을 사용하였으며, 기타 시약은 시중에서 구입할 수 있는 최상급을 사용하였다.

약물처리

괴각 추출물은 10% Tween 80 수용액으로 현탁시켜 50, 100, 200 및 400 mg/kg 용량으로 실험 시작 1 시간 전에 경구 투여하였고, 대조군은 괴각 추출물 투여군과 동일 부피로 10% Tween 80 수용액을 경구 투여하였다. 양성대조군에는 생리식염수에 녹인 Diazepam (1 mg/kg)을 실험 30분 전에 복강 투여하였다. 길항실험에 사용한 WAY-100635 (0.3 mg/kg)은 생리식염수에, flumazenil (10 mg/kg)은 10% Tween 80 수용액에 녹여 실험 30분 전에 복강 투여하였다.

Elevated Plus Maze (EPM)을 이용한 괴각 추출물의 항불안 작용 확인

항불안 효과는 웅성 ICR mice를 이용하여 elevated plus-maze에서 측정하였다. 양성대조군으로는 Diazepam (1 mg/kg)을 실험 30분 전에 복강 투여하였고, 괴각 추출물은 50, 100, 200 및 400 mg/kg 용량으로 경구 투여하였다. 약물 투여는 실험 시작 1 시간 전에 투여가 종료되도록 하였으며 대조군은 괴각 추출물 투여군과 동일 부피로 10% Tween 80 수용액을 경구 투여하였다. 각 군은 8-10마리로 하였다.

검정색의 아크릴로 제작된 elevated plus-maze은 항불안 효과의 측정에 사용되었으며, 바닥에서 50 cm 높이에 설치된 십자형(+) 미로로서, 4개의 통로 가운데 크기가 동일한 2개의 통로는 높이 20 cm의 벽으로 구성되어 있고, 다른 2개의 통로 (길이 30 cm, 폭 5 cm)는 개방되어있다. 중심 platform은 가로 5 cm 및 세로 5 cm로 하였고, maze의 중앙부 천장에 비디오카메라를 설치하여 동물의 행동을 기록하

였다. 실험을 시작할 때 마우스는 maze의 open arm에 머리를 밖으로 향하게 놓은 다음 maze를 자유롭게 탐색하도록 하였다.

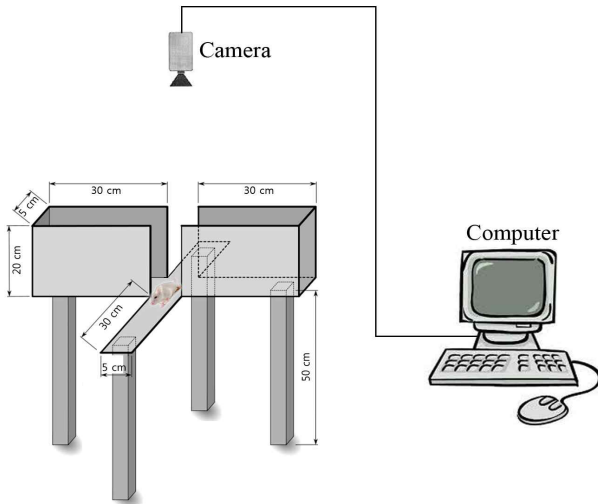


Fig. 1. Elevated Plus-maze.

실험결과는 EthoVision program (Noldus Information Technology, Wageningen, Netherlands)으로 마우스가 open arm과 closed arm에 머문 시간, 각 arm의 출입 횟수 및 총 이동거리 등을 5분 간 측정하여 항불안 효과를 측정하였다(17). 각 arm의 출입 횟수는 open arm 이나 closed arm의 교차점을 기준으로 할 때 어느 쪽으로나 네 발이 완전하게 진입되었을 때를 1회로 하고 open arm과 closed arm에 대하여 각각 측정하였다. 각 arm에 머문 시간의 측정은 각 arm에 진입된 후 머물러 있던 시간의 총합을 측정하였다. 각 실험이 끝난 후에는 전 실험동물의 흔적을 70% EtOH로 세척하여 다음 실험에 영향을 주지 않도록 하였다.

WAY-100635와 flumazenil의 길항작용

괴각 추출물의 항불안 효과의 작용 기전을 관찰하기 위해 5-HT_{1A} 수용체의 antagonist인 WAY-100635와 GABA_A 수용체의 antagonist인 flumazenil을 사용하여 elevated plus-maze에서 측정하였다(18,19). 괴각 추출물은 400 mg/kg 용량으로 경구 투여하였으며 실험 시작 30분 전에 각각 WAY-100635 (0.3 mg/kg, ip) 또는 flumazenil (10 mg/kg, ip)을 병용 투여하였다. 대조군은 괴각 추출물 투여군과 동일 부피로 10% Tween 80 수용액을 경구 투여하였다. 각 군은 8-10 마리로 하였다.

Locomotor activity 측정

Locomotor activity는 실험동물의 활동성을 측정하는 장치로 약물의 항불안 작용이 동물의 활동성에 어떠한 영향을 미치는지 확인하는 실험방법이다. Locomotor activity는 자

가 제조된 open field test용 box를 이용하여 측정하였다(20). Open field test용 box는 가로 25 cm, 세로 25 cm, 높이 30.5 cm가 되도록 제조하고, 하나의 box에서 한 마리씩 측정하였다. 괴각 추출물은 50, 100, 200 및 400 mg/kg 용량으로 경구 투여하였으며 약물 투여는 실험 시작 1 시간 전에 종료되도록 하였다. 대조군은 괴각 추출물 투여군과 동일 부피로 10% Tween 80 수용액을 경구 투여하였다. 총 이동 거리를 5분 간격으로 총 20분 동안 측정하였다.

Horizontal Wire Test

Horizontal wire test는 실험동물의 근육이완 상태를 확인하는 실험방법이다. 일반적으로 항불안 약물들은 졸음, 근육이완 등의 부작용을 야기하므로 괴각 추출물이 이러한 부작용이 발생하는지를 horizontal wire test를 통해 확인하였다(21). Horizontal wire test는 양쪽에 기둥을 설치하고 바닥으로부터 30 cm의 높이로 하여 직경 1 mm, 길이 40 cm의 wire를 수평으로 설치하여 측정하였다. 먼저 마우스의 앞발이 wire를 쥐게 한 다음, 꼬리를 아래쪽으로 향하게 놓은 후 한 쪽 뒷발이 wire를 쥐거나, 앞발이 10초 이상 wire에 매달려 있으면 통과로 인정하였다.

괴각 추출물은 50, 100, 200 및 400 mg/kg 용량으로 경구 투여하였으며 약물 투여는 실험 시작 1 시간 전에 종료되도록 하였다. 대조군은 괴각 추출물 투여군과 동일 부피로 10% Tween 80 수용액을 경구 투여하였으며, 5분 간격으로 wire test를 실시하여 그 평균값을 이용하였다.

통계처리

모든 실험 결과는 one way analysis of variance(ANOVA)를 이용하여 통계처리 하였고, 유의성이 인정될 경우 Student-Newman-Keuls Method를 이용하여 $p < 0.05$ 수준 이하에서 유의성 검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

Elevated Plus-maze에서 괴각 추출물의 항불안 효과 및 작용 기전

Elevated plus-maze를 이용한 괴각 추출물의 항불안 효과를 Fig. 2에 나타내었다. Fig. 2에서 알 수 있는 바와 같이, 100, 200 및 400 mg/kg 용량의 괴각 추출물 투여군에서 open arm에 머무는 시간의 백분율이 대조군의 비율과 비교하여 용량 의존적으로 유의성 있게 증가됨이 관찰되었다(각각 $46.17 \pm 3.74\%$, $48.8 \pm 2.39\%$, $49.06 \pm 0.99\%$ versus $32.93 \pm 2.4\%$, $p < 0.05$).

양성대조군인 diazepam 투여군에서는 $58.68 \pm 3.34\%$ 로 대조군보다 유의성 있게 증가함을 알 수 있었다($p < 0.05$). 또한 open arm에 출입한 횟수의 백분율에서도 100, 200

및 400 mg/kg 용량의 괴각 추출물 투여군의 비율이 대조군의 비율과 비교하여 용량 의존적으로 유의성 있게 증가하였음을 관찰할 수 있었다 (각각 $49.81 \pm 2.19\%$, $51.33 \pm 1.5\%$, $51.44 \pm 1.81\%$ versus $42.29 \pm 1.52\%$, $p < 0.05$, Fig. 2). 양성대조군인 diazepam 투여군에서는 $56.04 \pm 2.7\%$ 로 대조군의 비율보다 유의성 있게 증가함을 알 수 있었다 ($p < 0.05$).

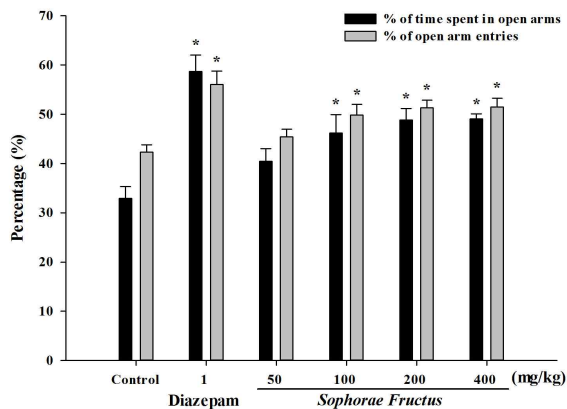


Fig. 2. Effect of a single treatment of the methanol extract of *Sophorae fructus* on the percentage of the time spent in open arms and the number of entries into open arms of the elevated plus-maze over a 5 min test period in the mice.

Each bar represents mean \pm S.E.M. of 8-10 mice. P values for the group comparisons were obtained by one way ANOVA followed by Student-Newman-Keuls test ($p < 0.05$ as compared with 10% Tween 80-treated control group).

불안 유발약물이나 불안 완화제의 효과를 검증할 때 쓰이는 모델로는 social interaction test, hole-board test, anticonflict test 그리고 elevated plus-maze 등이 있는데 이중 좁고 어두운 곳을 선호하는 흰쥐의 행동습성을 이용한 elevated plus-maze를 가장 많이 이용한다(22-24). 벽이 설치된 closed arm 보다는 벽이 없는 open arm에서 더 많은 불안을 느끼기 때문에 불안이 많은 동물일수록 open arm에 머무는 시간이 짧다. 항불안 약물의 검색은 open arm에서 머문 시간의 연장 및 open arm으로의 진입횟수의 증가로서 평가되는데 이는 closed arm의 진입 횟수 및 머문 시간의 감소로 표현된다. 불안에 대한 괴각의 효능을 확인한 결과, elevated plus-maze를 이용한 본 연구에서 괴각 추출물의 100 mg/kg, 200 mg/kg 및 400 mg/kg 투여군에서 대조군에 비하여 open arm에서 머문 시간에 대한 백분율이 증가하였으며, 또한 open arm으로의 출입횟수에 대한 백분율도 증가하였다.

WAY-100635 및 flumazenil의 길항작용

괴각추출물의 항불안 작용이 어떤 신경계를 경유하여 발생하는지를 확인하기 위하여 antagonism study를 elevated plus-maze를 통하여 확인하였다. 실험 시작 1 시간 전에 괴각 추출물은 400 mg/kg을 투여하고 계속해서 실험 시작

30분 전에 각각 세로토닌 수용체의 길항제 (5-HT_{1A} receptor antagonist)인 Way 100635 (0.3 mg/kg, i.p.)와 GABA 수용체의 길항제 (GABA_A receptor antagonist)인 flumazenil (10 mg/kg, i.p.)을 병용 투여하여 elevated plus-maze를 실시하였다. Fig. 3에서 알 수 있는 바와 같이 open arm에 머무는 시간의 백분율이 대조군에서 $20.3 \pm 2.77\%$ 였으며, open arm에 출입한 횟수의 백분율은 $36.25 \pm 4.06\%$ 로 나타났다. Flumazenil 또는 WAY-100635 투여군에서의 open arm에 머무는 시간의 백분율이 각각 $22.34 \pm 3.72\%$, $20.93 \pm 2.98\%$ 로 대조군과 비교하여 유의성 있는 변화가 없었다. 또한 flumazenil 또는 WAY-100635 투여군에서의 open arm에 출입한 횟수의 백분율은 각각 $35.78 \pm 2.63\%$, $31.57 \pm 2.03\%$ 로 나타났으며, open arm에 머무는 시간의 백분율과 마찬가지로 대조군과 비교하여 유의성 있는 차이가 관찰되지 않았다. 그러나 괴각 추출물과 WAY-100635의 병용 투여군의 open arm에 머무는 시간의 백분율 및 open arm에 출입한 횟수의 백분율은 각각 $34.56 \pm 2.93\%$, $41.01 \pm 2.34\%$ 로 괴각 추출물 투여군과 비교하여 유의성 있는 차이가 관찰되지 않았으나, 괴각 추출물과 flumazenil의 병용 투여군의 open arm에 머무는 시간의 백분율 및 open arm에 출입한 횟수의 백분율은 각각 $23.7 \pm 1.38\%$, $31.57 \pm 2.03\%$ 로 괴각 추출물 투여군과 비교하여 유의성 있게 감소되었음을 확인할 수 있었다 ($p < 0.05$, Fig. 3). 이 결과를 통해서, 괴각 추출물의 항불안 작용이 GABA complex의 benzodiazepine 수용체의 antagonist인 flumazenil에 의해 완전히 차단되어지는 것으로 보아 괴각 추출물이 GABA 신경계를 경유하여 항불안 작용을 나타냄을 확인할 수 있었다(25).

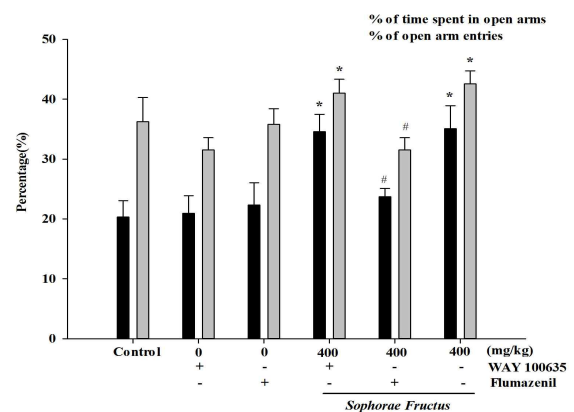


Fig. 3. Anxiolytic-like effects of the methanol extract of *Sophorae fructus* were blocked by flumazenil but not by WAY-100635.

The data is expressed as the mean (S.E.M.) of the percentage of the time spent in and the number of entries into the open arms of the elevated plus-maze, 1 h after the oral administration of *Sophorae fructus* (400 mg/kg), *Sophorae fructus* (400 mg/kg) + WAY-100635 (0.3 mg/kg) or flumazenil (10 mg/kg) (30 min prior testing, i.p.), or 10% Tween 80; N = 8-10 mice per group. P values for the group comparisons were obtained by one way ANOVA followed by Student-Newman-Keuls test ($p < 0.05$ versus 10% Tween 80-treated control, $p < 0.05$ as compared with the *Sophorae fructus*-treated group).

GABA는 포유류의 뇌에서 중요한 억제성 신경전달물질 (inhibitory neurotransmitter)로 시냅스 후 GABA_A 수용체의 복합체에서 chloride 이온의 시냅스 후 세포 (postsynaptic cell)내로의 투과력을 증가시킴으로써 큰 과분극을 일으켜 시냅스전달의 억제를 일으킨다. 항불안제인 benzodiazepine 계 약물의 작용기전은 억제성 신경전달물질인 GABA의 강화라고 알려져 있으며, 중추신경계의 모든 부위에서 benzodiazepine류는 GABA에 의한 chloride ion의 투과력을 강화하여 간접적으로 GABA 신경전달을 촉진하는 것으로 알려져 있다(26). Fig. 3에서 알 수 있듯이 5-HT_{1A}의 antagonist인 WAY-100635와 피각 추출물의 병용 투여에서 WAY-100635가 피각 추출물의 항불안 효과에 길항작용이 전혀 없었지만, GABA_A의 antagonist인 flumazenil과 피각 추출물의 병용 투여에서는 flumazenil이 피각 추출물의 항불안 효과에 길항작용을 하고 있음을 알 수 있다(26,27). 이와 같은 결과는 피각 추출물이 5-HT_{1A}신경계와는 관련이 없다는 것을 나타내고, GABA_A신경계를 경유하여 항불안 작용을 나타냄을 알 수 있다.

Locomotor activity test

피각 추출물의 투여가 자발운동력에 미치는 영향을 확인 하기 위하여 open field test를 실시하였다(28). 대조군 및 피각 추출물 (50, 100, 200 and 400 mg/kg) 투여군의 총 이동거리를 5분 간격으로 총 20분 동안 측정된 결과, 통계적으로 유의적인 차이는 없었다(Tab. 1).

Table 1. Effects of the methanol extract of Sophorae fructus on exploratory behavior of mice in the open field test

Drugs	Dose (mg/kg)	Total movement distance (cm)	
		5 min	20 min
Control		1096.797 ± 25.705	5228.355 ± 133.630
Sophorae fructus	50	1126.462 ± 42.373	5405.283 ± 502.345
	100	1033.749 ± 38.400	5027.033 ± 196.347
	200	1069.095 ± 43.687	5082.821 ± 206.576
	400	1134.305 ± 40.232	5155.716 ± 146.030

Exploratory behaviors of mice in the open field test were observed for 5 min and 20 min after 1h being treated each drug or control. Each data represents the mean ± SEM from 8 - 10 mice.

피각 추출물의 투여에 의해 locomotor activity가 변화되었는지 확인하기 위해 총 이동거리를 측정된 결과 피각 추출물의 모든 용량에서 대조군과 비교 시 차이를 보이지 않았다. 결론적으로 피각 추출물은 locomotor activity 및 근이완 작용의 변화 없이 항불안 작용을 갖는 것이라고 할 수 있다.

Horizontal wire test

피각 추출물이 일반적인 항불안 약물이 가지는 근육이완이나 진정 등의 부작용을 나타내는지 확인하기 위하여

horizontal wire test를 실시하였다(29). 피각 추출물 투여군에서 대조군과 비교하여 어떠한 유의적인 차이를 관찰할 수 없었다(Fig. 4). 이러한 결과로 통하여 피각추출물은 항불안 약물들의 투여에 의해 발생하는 근육이완 등의 부작용이 나타나지 않음을 확인할 수 있었다.

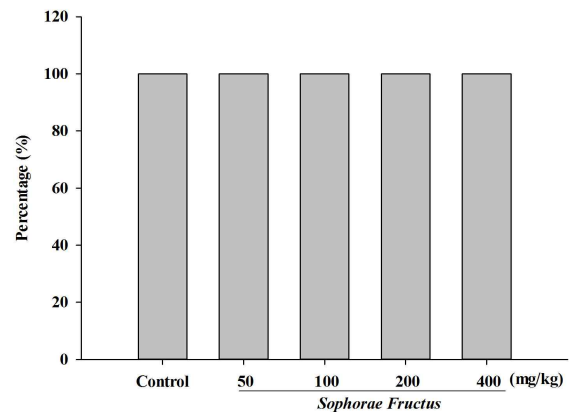


Fig. 4. Effects of the methanol extract of Sophorae fructus on horizontal wire test.

Performance of mice in the horizontal wire test 1h after oral administration of control, or Sophorae fructus. Data represent percentage of mice grasping the wire after administration of Sophorae fructus. Each bar represents the mean ± S.E.M. of 8-10 mice. *p* values for group comparisons were obtained by one way ANOVA followed by Student-Newman-Keuls test (*p* < 0.05 versus 10% Tween 80-treated control).

locomotor activity의 활동성 실험에서는 총 이동거리의 변화가 없었으며, 또한 horizontal wire test에서도 대조군과 피각 추출물 투여군 사이에 차이를 나타내지 않았다. 이러한 결과는 피각 추출물이 근이완 및 행동과다의 부작용이 없으면서 항불안 작용을 가지고 있음을 의미하는 것이라고 할 수 있다(29,30).

요 약

피각 추출물의 항불안 효능을 탐색하기 위하여 elevated plus-maze, horizontal wire test 및 open field test와 같은 동물 행동실험을 통하여 비교한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

Elevated plus-maze를 이용한 본 연구에서 피각 추출물의 100 mg/kg, 200 mg/kg 및 400 mg/kg 투여군에서 대조군에 비하여 open arm에서 머무른 시간의 백분율이 증가하였고, open arm으로의 출입 백분율 또한 증가하였다. Elevated plus-maze를 이용한 길항실험에서는 benzodiazepine 수용체의 antagonist인 flumazenil에 의해 피각 추출물 400 mg/kg의 항불안 효능이 차단되는 것이 관찰되었다. Locomotor activity 측정에서도 피각 추출물의 모든 용량에서 총 이동거리의 변화가 없었으며, 또한 horizontal wire test에서도 대조군과 피각 추출물 투여군 사이에 차이를 나타내지 않

았다.

결론적으로, 본 연구의 결과에서 괴각의 메탄올 추출물이 elevated plus-maze test, horizontal wire test 및 open field test를 통하여 locomotor activity 및 근육이완이나 진정 등의 부작용이 없으면서 우수한 항불안 작용을 가지는 천연물이라고 생각되어지며 이러한 작용이 특히 GABA 신경계와 관련이 있음을 시사하고 있다. 향후 괴각의 항불안 작용의 평가를 위하여 다양한 실험모델의 개발이 필요할 것으로 생각되며 또한 이러한 작용에 대한 기전 연구가 포괄적이고 다각적으로 진행되어야 할 필요성이 있다고 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2007년도 대구한의대학교 기린 연구비 지원에 의하여 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Lee SH, Kang MJ, Lim JH, Seong WY (2012) A review study in treatment for anxiety disorder in traditional chinese medicine. *J Oriental Neuropsychiatry*, 1-12
- Müller KW, Ammerschläger M, Freisleder FJ, Beutel ME, Wölfling K (2012) Addictive internet use as a comorbid disorder among clients of an adolescent psychiatry-prevalence and psychopathological symptoms. *Z Kinder Jugendpsychiatr Psychother*, 40, 331-339
- Andersson G (2012) Guided internet treatment for anxiety disorders. As effective as face-to-face therapies? *Stud Health Technol Inform*, 181, 3-7
- Booth-Kewley S, Highfill-McRoy RM, Larson GE, Garland CF, Gaskin TA (2012) Anxiety and depression in marines sent to war in iraq and afghanistan. *J Nerv Ment Dis*, 200, 749-757
- Lund BC, Bernardy NC, Alexander B, Friedman MJ (2012) Declining benzodiazepine use in veterans with posttraumatic stress disorder. *J Clin Psychiatry*, 73, 292-296
- Saias T, Gallarda T (2008) Paradoxical aggressive reactions to benzodiazepine use: a review. *Encephale*, 34, 330-336
- Woolley SB, Fredman L, Goethe JW, Lincoln AK, Heeren T (2010) Hospital patients' perceptions during treatment and early discontinuation of serotonin selective reuptake inhibitor antidepressants. *J Clin Psychopharmacology*, 30, 716-719
- Koch U, Magnusson AK (2009) Unconventional GABA release: mechanisms and function. *Curr Opin Neurobiol*, 19, 305-310
- Olsen RW, Sieghart W (2009) GABAA receptors: Subtypes provide diversity of function and pharmacology. *Neuropharmacology*, 56, 141-148
- Moult PR (2009) Neuronal glutamate and GABA_A receptor function in health and disease. *Biochem Soc Trans*, 37, 1317-1322
- Scantamburlo G, Scheen AJ (2012) Role of psychosocial stress in complex diseases. *Rev Med Liege*, 67, 234-242
- Lee EK, Chung DK (2011) Studies on the behavioral pharmacology of the antidepressant effect of *Polygala japonica* Houtt. *J Oriental Neuropsychiatry*, 22, 129-146
- Choi CH, Kim SH, Chung DK (2011) Studies on the Nootropic and Anti-amnesic and anxiolytic-like effects of G.J.D-P.P.A. in mice. *J Oriental Neuropsychiatry*, 22, 85-105
- Choi YS, Shin EH, Park SJ, Kim JD (2008) Nutritional characteristics and some bioactive components contents of *sophorae fructus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 37, 1154-1161
- Park SJ, Lim ES, Choi YS, Kim JD (2008) Effects of *sophorae fructus* on Antioxidative activities and lipid levels in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 37, 1120-1125
- InJoo SS, Kang HC, Lee MW, Choi YW, Lee DI (2003) Inhibition of IL-1beta and IL-6 in osteoblast-like cell by isoflavones extracted from *sophorae fructus*. *Arch Pharm Res*, 26, 1029-1035
- Komada M, Takao K, Miyakawa T (2008) Elevated plus maze for Mice. *J Vis Exp*, 22, 1088
- Jung YH, Kwon SH, Hong SI, Lee SO, Kim SY, Lee SY, Jang CG (2012) 5-HT(1A) receptor binding in the dorsal raphe nucleus is implicated in the anxiolytic-like effects of *cinnamomum cassia*. *Pharmacol Biochem Behav*, 103, 367-372
- Karim N, Gavande N, Wellendorph P, Johnston GA, Hanrahan JR, Chebib M (2011) 3-Hydroxy-2'-methoxy-6-methylflavone: a potent anxiolytic with a unique selectivity profile at GABA (A) receptor subtypes. *Biochem Pharmacol*, 82, 1971-1983
- Montiglio PO, Garanti D, Thomas D, Réale D (2010) Individual variation in temporal activity patterns in open-field tests. *Animal Behav*, 80, 905-912
- Aitta-Aho T, Vekovischeva OY, Neuvonen PJ, Korpi ER (2009) Reduced benzodiazepine tolerance, but increased flumazenil-precipitated withdrawal in AMPA-receptor

- GluR-A subunit-deficient mice. *Pharmacol Biochem Behav*, 92, 283-290
22. Zaitone SA, El-Wakeil AF, Abou-El-Ela SH (2012) Inhibition of fatty acid amide hydrolase by URB597 attenuates the anxiolytic-like effect of acetaminophen in the mouse elevated plus-maze test. *Behav Pharmacol*, 23, 417-425
23. Pometlová M, Nohejlová-Deykun K, Slamberová R (2012) Anxiogenic effect of low-dose methamphetamine in the test of elevated plus-maze. *Prague Med Rep*, 113, 223-230
24. Gupta K, Ashok BK, Ravishankar B, Thakar AB (2011) Anti-anxiety and anti-depressant activities of *Sarasvata choorna* in experimental animals. *Ayu*, 32, 590-593
25. Smith KS, Engin E, Meloni EG, Rudolph U (2012) Benzodiazepine-induced anxiolysis and reduction of conditioned fear are mediated by distinct GABAA receptor subtypes in mice. *Neuropharmacology*, 63, 250-258
26. Hunt GE, McGregor IS, Cornish JL, Callaghan PD (2011) MDMA-induced c-Fos expression in oxytocin-containing neurons is blocked by pretreatment with the 5-HT-1A receptor antagonist WAY 100635. *Brain Res Bull*, 86, 65-73
27. Kawai N, Maeda Y, Kudomi N, Yamamoto Y, Nishiyama Y, Tamiya T (2010) Focal neuronal damage in patients with neuropsychological impairment after diffuse traumatic brain injury: evaluation using ¹¹C-flumazenil positron emission tomography with statistical image analysis. *J Neurotrauma*, 27, 2131-2138
28. Addae JI, Walkins K, Cruickshank R, Stone TW (2012) Effects of ethylenediamine in rodent models of seizure, motor coordination and anxiety. *Brain Res*, 1473, 155-160
29. Yu HS, Lee SY, Jang CG (2007) Involvement of 5-HT1A and GABAA receptors in the anxiolytic-like effects of *cinnamomum cassia* in mice. *Pharmacol Biochem Behav*, 87, 164-170
30. Hattesoehl M, Feistel B, Sievers H, Lehnfeld R, Hegger M, Winterhoff H (2008) Extracts of *valeriana officinalis* L. s.l. show anxiolytic and antidepressant effects but neither sedative nor myorelaxant properties. *Phytomedicine*, 15, 2-15

(접수 2012년 9월 20일 수정 2012년 10월 11일 채택 2012년 10월 12일)