

후박의 항우울 효과에 대한 실험적 연구

유주연¹, 우 찬¹, 정혜련¹, 최정훈², 이언정¹
¹원광대학교 한의과대학 내과학교실, ²함소아 한의원

Experimental Study on the Antidepressant Effects of *Magnolia Officinalis* Extracts

Ju-yeon You¹, Chan Woo¹, Hye-ryon Jeong¹, Jung-hoon Choi², Un-jung Lee¹

¹Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Won-Kwang University, ²Hamsosa Oriental Medical Clinic

ABSTRACT

Objectives : The purpose of this study was to investigate the protective effects of *Magnolia Officinalis* extracts on the animal model of depression induced by immobilization stress.

Methods : The subjects were divided into 4 groups : normal, saline solution-administered during immobilization stress, 200 mg/kg of magnolia extracts-administered (magnolia extract 200), and 400 mg/kg of magnolia extracts-administered (magnolia extract 400). During 2 days of immobilization stress treatment, they underwent forced swimming test (FST) and tail suspension test (TST). The number of serotonin (5-HT) immunostained nuclei in the dorsal raphe nucleus regions was measured by immunohistochemistry. Superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPX) in blood were measured.

Results : In FST, magnolia-administered groups showed significantly decreased immobilization. In TST, the magnolia extract 400 group showed decreased immobilization. The stress group showed significantly decreased number of 5-HT immunostained nuclei in the dorsal raphe nucleus regions, while magnolia extract 400 group showed increased number of 5-HT immunostained nuclei. Stress group showed decrease in serum level of SOD and GPX, while the magnolia extract 200 group showed increase in serum level of SOD and GPX.

Conclusions : These results suggest potent effectiveness of magnolia extracts in the treatment of depression.

Key words : antidepressant, *Magnolia Officinalis*, forced swimming test, tail suspension test

1. 서 론

우울증은 침체된 기분이 널리 퍼져 일상생활에서의 흥미나 기쁨을 상실한 상태로 자포자기, 절망, 무가치감, 자해 생각 등의 증상이 나타나는 정신질환이다. 또 주의 집중 장애, 사고와 행동의 이상,

불면, 식욕부진 혹은 두통, 다른 형태의 국소 통증까지 현저한 신체 증상을 동반하기도 한다.

우울증의 평생유병률은 남성 5~12%, 여성 10~25% 정도로 높으며, World Health Organization(WHO) 보고에 따르면 2020년에는 우울증이 허혈성 심장 질환에 이어 전 세계 유병률 2위의 질환이 될 것으로 예측되고 있어 우울증 치료의 필요성은 점차 커지고 있다¹.

우울증의 원인으로 가장 널리 인정되고 있는 가설은 monoamine계의 불균형이며, 특히 serotonin과 norepinephrine의 부족이 그 원인으로 생각되고 있다².

· 교신저자: 이언정 전북 전주시 덕진구 덕진동 2가 142-1번지
원광대학교 전주한방병원 신계내과학교실
TEL: 063-270-1065 FAX: 063-270-1199
E-mail: only-one0721@hanmail.net

· 본 논문은 2012년도 원광대학교 일반대학원 한의학 석사학위
논문임.

우울증은 약물치료를 주로 하게 되는데, 약물 치료는 기립성 저혈압, 변비, 입마름, 지연뇨, 성기능 장애 등의 부작용 및 투여량을 급히 줄일 경우, 오심, 구토, 근육통과 같은 금단 증상을 야기할 수 있고, 우울증 치료를 받은 환자 중 29~46% 정도가 효과를 보이지 않았다는 Papakostas 등의 보고³와 같이 약물치료를 받은 환자들이 균일하지 못한 반응을 보이고 있어 새로운 약물의 필요성은 점점 대두되고 있다.

항우울 효과에 대한 복합방제 연구로는 삼정환⁴, 귀비탕⁵, 반하후박탕^{6,7}, 시박탕⁸ 등이 있어 왔는데 특히 Kuribara 등은 반하후박탕과 시박탕에서 후박을 제외했을 경우 유의성 있는 항우울 효과가 보이지 않았다⁹고 보고하여 후박이 항우울 효과가 있을 것이라 암시하였다.

후박은 木蘭科과 속한 낙엽교목으로, 성미는 苦辛, 溫하고 燥濕, 導積, 行氣, 溫中, 下氣 등의 효능이 있다¹⁰. 후박은 최소 255개의 성분(alkaloids, coumarins, flavonoids, lignans, neolignans, phenylpropanoids, terpenoids 등)으로 구성되어 있는데¹¹, Li 등은 후박의 magnolol이 rat brain에서 세로토닌계 활성증가에 기인한 항우울 작용을 한다⁸고 하였고, Xu 등은 honokiol과 magnolol 복합제가 만성 스트레스 rat의 뇌내 serotonin(5-HT) 증가에 관여하여 항우울 작용을 나타낸다¹²고 보고하였다. 또 후박의 magnolol과 dihydroxydihydromagnolol 성분이 FST로 급성 스트레스를 유발시킨 실험쥐의 부동시간을 감소시켰고¹³, Honokiol과 magnolol 복합제가 FST 및 TST에서 실험쥐의 부동시간을 감소시켰다는 보고¹⁴도 있었다.

위 내용을 종합해보면 후박은 항우울 효과가 있을 것이라 사료되나 항우울과 관련된 단일 약재로는 인삼¹⁵, 영신초¹⁶, 연자육¹⁷, 울금¹⁸, 향부자¹⁹ 등에 대한 연구만 있었을 뿐, 후박 단일 약물만을 가지고 항우울 작용을 연구한 결과는 아직 없었다. 이에 후박 단일 약물로서의 항우울 효과를 알아보기 위하여 동물모델에게 후박 에탄올 추출물을 투여한 후

강제수영검사 및 꼬리현수법에서 부동시간이 어떻게 변화하는지 관찰하고 행동실험이 끝난 후 채혈하여 우울증 maker인^{20,21} 항산화 효소 superoxide dismutase(SOD) 및 glutathione peroxidase(GPX)의 발현을 분석했으며 뇌 내 serotonin의 변화를 관찰하였다. 그 결과 매우 유의성 있고, 의미 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 한약제조

건조된 사천성 후박(*Magnolia Officinalis*) 3 kg을 분쇄하여 90% 에탄올 12 l를 첨가한 후 60℃의 수욕에서 2시간 동안 추출하였다. 추출 완료 후, 1차 여과를 수행하고 여과지로 한 번 더 2차 여과한 후 감압 농축하여 270 g(수율 9%)을 얻었다. 농축된 후박추출물을 증류수에 섞어 수용액으로 만든 후 실험에 이용하였다.

2) 실험동물

모든 실험동물은 원광대학교에서 정해놓은 동물관리규정에 따라 관리되었다.

실험에 사용된 동물은 체중 220~250 g의 Sprague Dawley계 암컷 흰쥐(샘타코, 경기도, 한국)로 일주일간 사육실 환경에 적응시킨 후 사용하였다. 사육실 온도는 22±2℃, 습도는 55~60%로 유지하였고, 사육실 내 환풍기와 공기정화기를 항시 가동시켰다. Light-dark cycle이 12시간 단위로 조절되게 한 후, 흰쥐용 고형사료와 물을 제한 없이 공급 하였다.

2. 방법

1) 실험군의 구분

실험에 사용된 실험동물은 아래와 같이 4군으로 나누었다.

(1) Normal : immobilization stress를 부과하지 않고, 약물을 투여하지 않은 군으로 n=5마리였다.

(2) Control : immobilization stress(acute)를

부과하고, saline을 1 ml/kg로 경구 투여한 군으로 n=5마리였다.

(3) Magnolia extracts 200 : Immobilization stress(acute)를 부과하고, 제조한 후박을 200 mg/kg로 경구 투여하였으며 n=5마리였다.

(4) Magnolia extracts 400 : Immobilization stress(acute)를 부과하고, 제조한 후박을 400 mg/kg로 경구 투여하였으며 n=5마리였다.

2) 강제수영검사(Forced swimming test, FST)

절망행동검사(behavioral despair test)중의 하나인 강제수영검사는 약물개발시의 항우울 효과를 검증하는 기본적인 실험으로 알려져 있다. 본 테스트의 24시간 전에, 지름 20 cm의 투명한 아크릴 원통형 수조에 쥐의 꼬리가 바닥에 닿지 않을 정도(45 cm)로 22°C의 물을 채우고 쥐를 강제로 빠뜨린 다음 15분간 있게 하였다. 처음 수분간은 이를 벗어나기 위해 쥐가 심한 저항을 보이나, 시간이 흐를수록 점점 부동자세를 보이는 시간이 늘어난다. 15분간의 강제 수영이 끝나면 첫 번째 약 투여를 하고, 테스트 5시간, 1시간 전에 약물을 투여한다. 24시간 후에는 5분간 같은 환경에서 강제수영을 시키고, 여기서 climbing, swimming, immobility 세 가지 행동의 시간을 측정한다. 전형적인 immobility란 쥐가 얼굴을 포함한 상체의 일부만 수면 위로 드러낸 채 몸의 균형을 유지하면서 사지의 움직임이 전혀 없는 상태이다. 한편, swimming은 쥐가 수면 위를 돌면서 움직이고, 간혹 물밑으로 잠수하기도 하는 상태이다. climbing은 가장 격렬한 운동 상태인데, 앞발을 적극적으로 사용하여 아크릴 원통 위로 올라가려고 사지를 다 쓰는 상태이다. 실수와 사물에 의한 오차를 줄이기 위해 비디오 카메라로 측정하여 자료를 확보하였다²².

3) 꼬리현수법(Tail suspension test, TST)

절망행동검사(behavioral despair test)중의 하나인 꼬리현수법은 약물개발시의 항우울 효과를 검증하는 기본적인 실험으로 알려져 있다. 테이프를 이용해 꼬리의 절반쯤 되는 곳으로부터 테이프를

감아 꼬리 끝부분을 30 cm의 box(H: 54 cm, W: 30 cm, D: 47 cm)에 고정시켜 거꾸로 매달아 놓는다. 총 6분간 매달아 놓으며, 2분간은 측정을 하지 않고, 4분 동안은 부동행동을 측정하여 우울행동을 평가하게 된다²³.

4) 면역조직화학법(Immunohistochemistry)

행동실험이 끝난 쥐를 sodium pentobarbital(80 mg/kg, i.p.)로 마취 시킨 후, 0.9% saline 200 ml에 이어 phosphate buffer로 준비한 4% formalin 용액 800 ml로 심장을 통해 관류하였다. 고정이 끝난 쥐는 뇌를 꺼내 같은 고정액으로 2시간 후 고정 시키고, 20% sucrose가 함유된 phosphate buffered saline (PBS)에 넣어 4°C에서 하루 동안 보관하였다. 다음날 뇌를 급속 냉동한 후 뇌 조직을 30 um의 크기로 잘랐다. PBS로 조직을 몇 차례 씻고, serotonin primary antibody(5-HT (1:200), rabbit monoclonal antibody, Abcam, Cambridge, USA)는 0.3% triton-X100(PBST)에서 2% bovine serum(Sigma, St. Louis, MO)에 희석하여 준비하였다. 뇌 조직은 primary antiserum에 4°C에서 72시간 동안 배양하였다. 그 후 뇌 조직을 PBST로 씻은 다음, 2시간 동안 실온에서 2% bovine serum을 함유한 PBST에서 200배로 희석한 biotinylated goat anti-rabbit serum(Vector Laboratories, Burlingame, CA)에서 반응시켰다. 다시 PBST로 씻은 다음, 뇌 조직은 실온에서 1시간 동안 Elite standard vectastain avidin biotin complex(ABC) reagent(Vector Laboratories, Burlingame, CA)에 담구어 반응시켰다. PBST로 몇 차례 헹군 다음, 뇌 조직을 발색시키기 위해 착색제 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride(DAB; Sigma, St. Louis, MO)을 사용하였다. 발색이 끝난 조직은 slide glass에 얹어서 실온에서 건조시킨 후, xylene으로 투명화 시켜 polymount로 봉입하였다. 뇌 조직의 각 부위 발색 정도는 광학현미경으로 관찰하고 사진을 촬영하였다. 뇌의 각 부위의 명칭은 Paxinos 와 Watson의 부도를 참고하였다. 현상된 사진에서 격자(200×200 um)를 이용하여 동일한

지역에서 일정한 영역에 반응되어 나타난 염색성 정도를 counting 하였으며 counting은 각 개체당 3개의 조직 샘플을 평균 내어 단위 면적당 세포 개수를 계산하였다²⁴.

5) ELISA

행동실험이 끝난 쥐를 sodium pentobarbital(80 mg/kg, i.p.)로 마취 시킨 후, 심장에서 혈액을 채취해 1000 g에서 10분간 centrifuge 해서 -70°C에 보관하였다. 우울행동과 관련이 있는 항산화 효소인 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GPX)의 발현을 commercial ELISA kit(USCN life science, Huston, Tx, U.S.A)를 이용하여 분석하였다.

6) 통계 처리

모든 측정값은 평균값±표준오차(mean±S.E.M)로 표시하였고, 각 실험군 간의 통계학적 분석은 window용 SPSS(ver. 11.0)를 이용하였다. 조직분석법의 측정값은 One-way ANOVA test를 시행하였으며, 사후검증은 Tukey's test를 이용하였다. 통계적 유의성은 신뢰구간 $p < 0.05$ 에서 의미를 부여하였다.

III. 결 과

1. 후박추출물이 FST 수행 시 부동시간에 미치는 영향

후박추출물의 항우울 효과를 확인하기 위해 FST를 수행하였다. 실험쥐를 물이 담긴 원통에 빠

뜨리면 처음에는 원통 밖으로 나가려고 활발히 움직이지만 나중에는 특징적인 부동자세를 취하게 되는데, 이 특징적인 부동자세를 절망행동으로 보고 부동자세의 시간을 측정해 항우울 효과의 여부를 판단한다(Table 1).

Saline을 투여한 control군, 후박 200 mg/kg 투여군, 후박 400 mg/kg 투여군의 부동시간은 각각 18.4±6.86초, 6.33±3.54초, 7.00±4.86초였다. 이로써 Saline을 투여한 control군에 비해 후박을 투여한 군에서 부동행동 시간이 약 50% 이상 감소하는 것을 알 수 있었으나 통계적으로 유의한 차이는 아니었다(Fig. 1).

또한 본 실험에서는 부동시간 뿐만 아니라 active behavior인 climbing과 swimming 행동이 나타나는 시간도 측정해보았다. 측정 결과, control군은 swimming 시간이 234.33±6.84초였고, climbing시간이 49.83±8.36초였다. 후박 200 mg/kg 투여군은 swimming시간이 195.67±17.07초, climbing시간이 135.67±13.64초였다. 후박 400 mg/kg 투여군은 swimming시간이 200.00±14.81초, climbing시간이 77.17±13.26 초였다. 이를 통해 control군에 비해 후박을 투여한 군에서 swimming 시간은 줄고 더 적극적인 climbing시간이 증가했음을 알 수 있었다(Fig. 2).

위의 결과를 종합해봤을 때 control군에 비해 후박을 투여한 군에서 “절망행동”이 감소한 것을 확인할 수 있었다.

Table 1. Immobility Time, Climbing and Swimming Time of the Forced Swimming Test in the Rats.

FST	Control		Magnolia extracts 200		Magnolia extracts 400	
	Average	S.E.M	Average	S.E.M	Average	S.E.M
Immobility	18.40	6.86	6.33	3.54	7.00	4.86
Climbing	49.83	8.36	135.67	13.64	77.17	13.26
Swimming	234.33	6.84	195.67	17.07	200.00	14.81

Each value represents the mean±S.E.M. of time (seconds).

*S.E.M : standard error of measurement

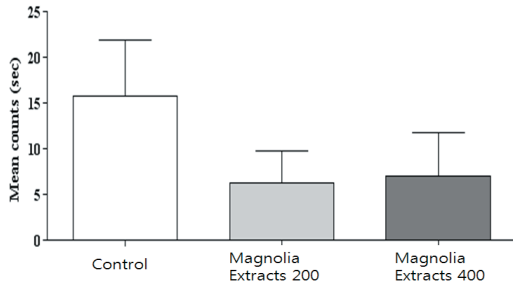


Fig. 1. Immobility time of the forced swimming test in the rats.

Each value represents the mean±S.E.M.

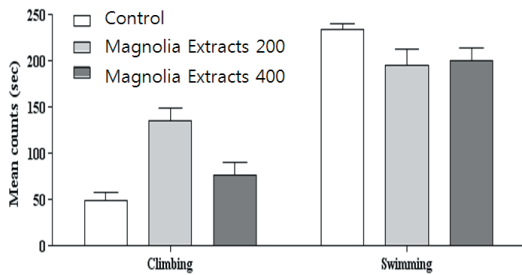


Fig. 2. Climbing and swimming time of the forced swimming test in the rats.

Each value represents the mean±S.E.M.

2. 후박추출물이 TST 수행 시 부동시간에 미치는 영향

후박추출물의 항우울 효과를 확인하기 위해 TST 를 수행하였다(Table 2).

Saline을 투여한 control군, 후박 200 mg/kg 투여군, 후박 400 mg/kg 투여군의 부동시간은 각각 134.67 ±13.07초, 135.67±13.64초, 77.17±7.75초였다. Saline을 투여한 control군에 비해 후박 400 mg/kg를 투여한 군에서 부동행동 시간이 약 40% 이상 감소하였다 ($p<0.05$). 이는 고농도의 후박을 투여한 군에서 “절망행동”이 감소한 것을 나타낸다(Fig. 3).

Table 2. Immobility Time of the Tail Suspension Test in the Rats.

TST	Control	Magnolia extracts 200	*Magnolia extracts 400
Average	134.67	135.67	77.17
S.E.M	13.07	13.64	7.75

The result of TST was analyzed by one-way ANOVA. Each value represents the mean±S.E.M of time (seconds). * $p<0.05$ compared to the control group.

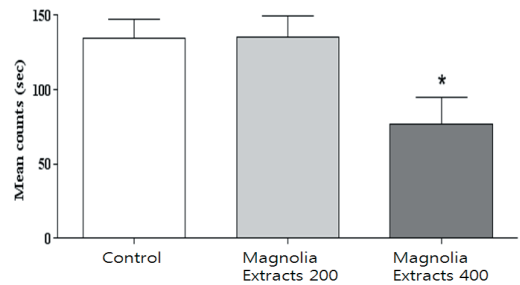


Fig. 3. Immobility time of the tail suspension test in the rats.

3. 후박추출물이 뇌조직 내 5-HT 발현에 미치는 영향
 행동실험 후 serotonin(5-HT) 면역조직화학법 (immunohistochemistry)을 통해 dorsal raphe nucleus 내에 5-HT의 발현을 관찰하였다. 아무 자극 및 처치가 없었던 normal군, 스트레스 자극을 주고 saline을 투여한 control군, 후박 200 mg/kg 투여군, 후박 400 mg/kg 투여군으로 나누어 5-HT 발현을 분석하였다($p<0.001$, Table 3).

Control군에서는 normal군에 비해 dorsal raphe nucleus 내에 5-HT의 발현이 약 50% 정도 감소하였지만, 후박 400 mg/kg 투여군에서는 control군에 비해 5-HT의 발현이 유의하게 증가하는 것을 알 수 있었다(Fig. 4).

Table 3. The Number of 5-HT Immunostained Nuclei in the Dorsal Raphe Nucleus Regions.

5-HT	Normal*		Control		Magnolia extracts 200		Magnolia extracts 400*	
	Average	S.E.M	Average	S.E.M	Average	S.E.M	Average	S.E.M
	7.7	0.5	4.5	0.6	4.7	0.5	6.7	0.6

The results of 5-HT-reactivity were analyzed by one-way ANOVA on the number of the 5-HT immunostained neurons among the groups. Each value represents the mean±S.E.M.

* $p < 0.05$, $p < 0.01$ compared to the control group.

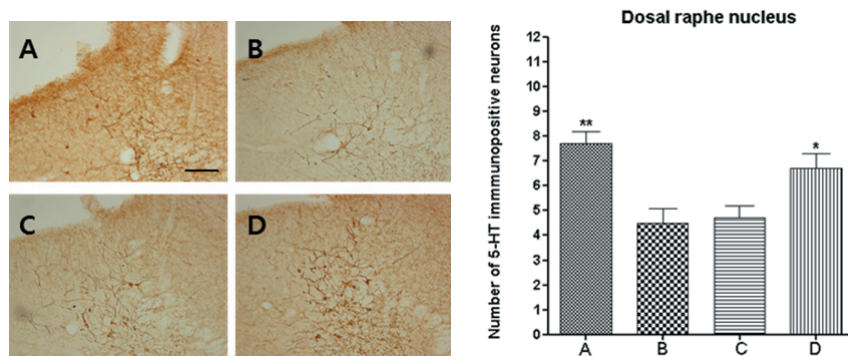


Fig. 4. The number of 5-HT immunostained nuclei in the dorsal raphe nucleus regions.

Photographs showing the distribution of CRF-immunoreactive cells in the brain of normal group (A), control (B), magnolia extracts 200 (C) and magnolia extracts 400 (D). Sections were cut coronally at 30 μ m and the scale bar represents 200 μ m.

4. 후박추출물이 혈액 내 항산화효소 발현에 미치는 영향

행동실험 후 ELISA kit 분석을 통해 serum 내 항산화효소인 SOD와 GPX의 발현을 알아보았다. 아무 자극 및 처치가 없었던 normal군, 스트레스 자극을 주고 Saline을 투여한 control군, 후박 200 mg/kg 투여군, 후박 400 mg/kg 투여군으로 나누어 발현을 분석하였다(Table 4).

Control군에서는 normal군에 비해 혈액 내 GPX의 발현이 약 20% 정도 감소하였지만 후박 200 mg/kg 투여군에서는 감소하지 않고 normal군과 비슷한 수치를 기록했다.

SOD의 발현 역시 control군은 normal군에 비해 약 60% 이상 큰 폭으로 감소했으나 후박투여군은 control군에 비해 증가하였다(Fig. 5).

Table 4. The Level of GPX and SOD in the Serum.

	Normal		Control		Magnolia extracts 200		Magnolia extracts 400	
	Average	S.E.M	Average	S.E.M	Average	S.E.M	Average	S.E.M
SOD	23.6	6.9	8.9	3.3	17.6	6.7	18.2	7.0
GPX	4877.9	1457.2	3845.4	1940.7	5000.0	1313.9	2621.7	382.1

The results of ELISA were analyzed by one-way ANOVA on the level of the GPX and SOD among groups. Each value represents the mean±S.E.M (pg/ml).

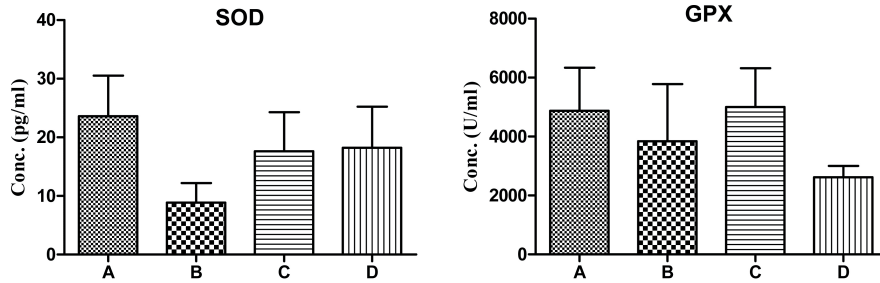


Fig. 5. The level of GPX and SOD in the serum.

The level of GPX and SOD in the serum of normal group (A), control (B), magnolia extracts 200 (C) and magnolia extracts 400 (D).

IV. 고찰

우울증은 일반적으로 알려져 있는 것 이상으로 흔하며 임상에서 흔히 접하게 된다. 우울증은 발병 기전이 분명하지 않지만 다른 정신질환과 같이 생화학적, 유전적, 환경적 요인과 다양한 스트레스 요인으로 인해 생긴다. 그 중 가장 널리 인정되고 있는 가설은 epinephrine이나 serotonin 등의 腦內 amine성 신경전달물질의 감소 또는 결핍으로 인한 발생설이다.

세로토닌은 중추신경계에 광범위하게 존재하고 있는 신경전달물질로서 raphe nucleus에서 근원하며 감정조절, 각성, 수면작용, 스트레스 반응과 같은 정신기능 조절에 많은 관여를 한다.

최근에는 신경전달물질 외에, 우울증의 maker로서 항산화 효소의 변화 또한 많이 보고되고 있는데, 우울증 환자는 혈액 및 뇌 내에서 pro-inflammatory cytokine이 증가하고 이는 산화효소를 증가시켜, 결과적으로 antioxidant 및 antioxidant enzyme을 감소시킨다²⁵.

우울증은 전기경련요법(electroconvulsive therapy, ECT)과 약물치료가 주가 되는데, 최근 임상에서는 비용, 부작용 등의 이유로 ECT보다는 약물 치료를 선호한다. 약물치료에 있어서 일반적으로 사용되는 것은 삼환계 항우울제(tricyclic antidepressants,

TCA)와 모노아민 산화효소 억제제(MAO억제제, MAOI), 선택적 세로토닌 재흡수 억제제(selective serotonin reuptake inhibitor, SSRI)로, 신경 연결부의 신경전달물질의 농도를 높여줌으로써 항우울 작용을 한다^{26,27}.

한의학적으로는 우울증을 주로 氣鬱로 보고 있으며, 氣鬱은 鬱症의 하나로 《素問·至眞要大論》에 “鬱者 結而不舒也”라 하여 鬱은 氣機가 울체되어 發越하지 못함으로써 유발되는 것이라 하였다²⁶. 氣鬱은 칠정내상(七情內傷), 육기외감(六氣外感), 간기(肝氣)의 정체 등에 의해 발생하는데 기분이 우울하고 머리가 아프며 가슴이 답답하거나 옆구리가 아픈 증상을 주로 호소한다²⁹.

후박은 苦辛, 溫하며 行氣 작용을 함으로써 氣鬱과 관련된 처방에 종종 쓰인다. Kuribara 등은 반하후박탕과 시박탕에서 후박을 제외한 경우 유의성 있는 항우울 효과가 보이지 않았다⁹고 보고하여 후박 자체에 항우울 효과가 있음을 시사하였다.

그러나 지금까지 후박이 배오된 처방이나 후박의 유효성분에 대한 항우울 관련 보고는 있어왔지만, 후박 단일 약물의 항우울 작용에 대한 연구 보고는 없었다. 이에 저자는 이번 동물 실험을 통해 후박 단일 약제의 항우울 효과를 입증해 보고자 했으며, 현재까지 20여종이 넘는 우울증 동물 모델이 전 임상 항우울제 연구에 의해 개발되었으나, 그 중 강제수영검사와 꼬리현수법이 항우울제 후

보 물질을 민감하게 선별해내는데 잘 설계된 모델로 제시되었으므로 이 두 가지 실험을 채택하였다. 몇몇의 연구자들은 이 실험에서 얻은 긍정적인 결과가 항우울제 효과의 중요한 기전으로 알려진 모노아민 수송체 또는 산화제를 억제한다고 제안하였고, 이 실험이 삼환계 항우울제(TCA), 선택적 세로토닌 재흡수 억제제(SSRI), 모노아민 산화효소 억제제(MAOI) 등에 대한 민감도가 상당히 높은 것으로 보고된 바 있다³⁰.

강제수영검사는 1978년 Porsolt²²에 의해 고안된 방법으로 실험동물을 물이 담긴 원통에 빠뜨리면 처음에는 원통 밖으로 나가려고 활발히 움직이지만 결국은 코를 수면 위로 내놓기 위한 최소한의 동작 이외에는 특징적인 부동자세를 취하게 된다. 이 특징적인 부동자세를 스트레스로 유발된 학습된 무력감 혹은 절망행동으로 보고 부동자세의 시간을 측정해 항우울 효과의 여부를 판단하는 것이다.

본 실험에서는 후박을 투여한 군이 Saline을 투여한 control군에 비해 부동행동 시간이 약 50% 이상 감소했으며 가장 적극적인 움직임인 climbing 행동이 증가하는 경향을 나타냈다. 이는 Takahiro 등이 후박의 magnolol과 dihydroxydihydromagnolol 성분으로 FST를 시행한 결과 실험쥐의 부동시간이 감소했다¹³는 보고와 Yi 등이 honokiol과 magnolol 복합제 투여로 FST 부동행동 시간을 감소시켰다¹⁴는 보고와도 일맥상통하는 점이 있다 하겠다.

꼬리현수법은 Steru²³가 제안한 새로운 항우울제 개발 및 항우울제의 기전에 대한 연구를 위한 동물실험 모델로, 꼬리에 테이프를 붙여 실험동물을 거꾸로 매달아 놓으면 시간이 지날수록 특징적인 부동자세를 보이게 되는데, 이러한 동물의 절망 행동(behavioral despair)은 인간이 심리적으로 회피할 수 없는 상황에서 취하게 되는 우울 행동과 비슷한 것으로 인지된다. 따라서 부동자세의 감소가 항우울 효과를 정량적으로 측정하는 척도가 되며, 부동자세의 시간을 측정하여 항우울 효과 여부를 확인한다. 본 실험 결과 후박 200 mg/kg 투여군은

Saline을 투여한 control군과 비슷했으나 후박 400 mg/kg 투여군은 control군에 비해 부동행동 시간이 약 40% 이상 감소하여 용량 의존적으로 TST의 부동행동 시간을 감소시켰음을 확인하였다. 이는 Yi 등¹⁴이 honokiol과 magnolol 복합제 투여로 TST의 부동행동 시간을 감소시켰다는 보고와도 일치하는 바 이는 후박의 Honokiol과 Magnolol 성분으로 인해 항우울 작용을 하는 것으로 사료된다.

Serotonin은 raphe nucleus(봉선핵)에서 방출되는 중요한 신경전달물질 중 하나이며 그 분비량이 적어지면 우울증 등 다양한 정서행동장애를 일으킬 수 있다. 따라서 뇌조직내 serotonin의 발현을 증가시킨다면 우울상태를 조절하고 완화시킬 수 있다.

본 실험에서는 실험동물의 행동실험이 끝난 후 실험동물의 dorsal raphe nucleus내의 serotonin 발현이 어떻게 변화하는지 관찰하였다. 그 결과, control군은 normal군에 비해 dorsal raphe nucleus 내의 5-HT 발현이 약 50% 정도 감소하였으며 후박 200 mg/kg 투여군 역시 control 군과 비슷한 수치를 기록하였다. 이에 반해, 후박 400 mg/kg 투여군은 control군보다 5-HT의 발현이 유의하게 증가하여 용량 의존적으로 항우울 작용이 나타남을 확인하였다. 이는 앞서 말한 Li 등, Xu 등의 실험결과와도 부합된다.

끝으로, 행동실험이 끝난 쥐의 혈액을 채취해 우울행동과 관련이 있는 항산화 효소 SOD, GPX의 발현을 분석하였다. 인체는 스트레스에 의한 산화적 손상을 보호하기 위한 기전이 잘 발달되어 있어 항체 내 생성된 유리기에 의한 세포 내 미토콘드리아의 파괴, 단백질 및 DNA 변형, 지질과산화로부터 유발되는 세포손상을 보호할 수 있는 항산화 효소들이 존재한다^{20,21}. 우울증 역시 스트레스에 지속적으로 노출된 상태에서 발생하는데 이와 같이 스트레스로 인한 산화적 손상의 방어 기전에 작용하는 인체 내 항산화 효소는 superoxide dismutase(SOD), catalase(CAT), glutathione peroxidase(GPX) 등이

있다. SOD는 항산화 방어 시스템에서 가장 중요한 효소중의 하나로 자유유리기의 첫 번째 생성물인 과산화 음이온을 제거하는 역할을 한다. GPX는 과산화수소를 물로 환원시키는 강력한 기능을 가지고 있으며, 과산화물을 과산화산으로 환원시키는 역할을 한다. 만약 실험약물이 항우울 효과를 가지고 있다면 스트레스가 지속되는 우울상태에서 혈액 내 SOD, GPX의 발현이 증가하는 방향으로 도음을 줄 것이다. 본 실험에서는 효소결합 면역흡착 분석법(ELISA)을 이용하여 SOD, GPX의 발현을 분석하였다. SOD 발현의 경우, control군이 normal군에 비해 SOD 발현이 약 60% 이상 큰 폭으로 감소하였으나 후박을 투여한 군에서는 control군보다 약 50% 정도 높은 수치를 기록했다. GPX 발현의 경우에도, control군은 normal군에 비해 약 20% 정도 감소했으나 후박 200 mg/kg 투여군에서는 normal군과 비슷한 수치를 기록하여 후박이 항산화효소의 발현을 증진시킴을 확인했다. 그러나 후박 400 mg/kg 투여군은 오히려 control군보다도 낮은 수치를 기록했는데 이는 적정용량 초과로 인한 결과인지, 혹은 실험 개체수가 충분하지 않아(n=5마리) 개연성 없이 나온 결과인지 추후 추가연구가 필요할 것으로 사료된다.

이상의 결과를 종합하면, FST, TST, dorsal raphe nucleus 내의 5-HT발현 및 serum 내 SOD, GPX의 발현을 관찰한 실험 모두 유의성 있는 결과가 나타났다으므로 후박은 항우울 효과가 있는 것으로 사료되었다. 향후 후박의 항우울 효과를 더욱 자세히 평가하기 위해 추가적인 실험 및 인체를 대상으로 한 임상적 연구가 필요할 것으로 생각되며, 항우울 작용의 기전을 규명하기 위한 심화 연구가 추후 진행되어야 할 것으로 생각된다.

V. 결 론

우울증에 대한 후박 추출물의 효과를 검증하기 위하여 흰쥐를 대상으로 실시한 강제수영검사, 꼬

리현수법, serotonin(5-HT) 면역조직화학법, SOD, GPX ELISA 분석법을 통해 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 강제수영검사에서 후박을 투여한 군이 control군에 비해 우울 행동이 최대 50%까지 줄어 항우울 효과가 있는 것으로 나타났다.
2. 꼬리현수법에서 후박 400 mg/kg 투여군의 항우울 효과가 유의하게 나타났다.
3. 세로토닌의 발현을 분석한 결과, 후박 400 mg/kg 투여 군에서 세로토닌의 뇌 내 발현이 유의하게 증가하는 것을 알 수 있었다.
4. 항산화 효소 분석 결과, control군에서는 항산화 효소가 감소하는 경향을 나타냈으며, 후박을 200 mg/kg 투여한 군에서는 항산화 효소가 회복되는 것을 알 수 있었다.

감사의 글

이 논문은 일부 2012년도 원광대학교 교내학술연구비 지원으로 이루어졌습니다.

참고문헌

1. 민성길. 최신정신의학. 서울: 일조각; 2011, p. 275.
2. Miller AH, Maletic V, Raison CL. Inflammation and its discontents : the role of cytokines in the pathophysiology of major depression. *Biol Psychiatry* 2009;65:732-41.
3. Papakostas GI. Augmentation of standard antidepressants with atypical antipsychotic agents for treatment-resistant major depressive disorder. *Essent Psychopharmacol* 2005;6:209-20.
4. 이상택, 김근우, 구병수. 삼정환(三精丸)의 항우울 효과에 대한 실험적 연구. *동의신경정신과학*

- 회지 2008;19(3):101-15.
5. 성우용, 김종우, 황의완, 박은혜, 이정륜, 김현택. 우울증유발 흰쥐에 대한 쿠비탕의 항우울효과. 동의신경정신과학회지 2002;13(2):121-47.
 6. 임세현, 정현운, 원호영, 김형우, 최창원, 정향숙 등. 반하후박탕(半夏厚朴湯) 추출물이 생쥐에 유발된 심리적 스트레스에 미치는 영향. 대한본초학회지 2012;27(4):81-8.
 7. Wang YM, Kong LD, Chen Y. Behavioural and biochemical effects of fractions prepared from Banxia Houpu decoction in depression models in mice. *Phytother Res* 2005;19:526-9.
 8. Lu-Fan Li, Jie Lu, Xiu-Min Li, Chang-Liang Xu, Ji-Min Deng, Rong Qu, et al. Antidepressant-like Effect of Magnolol on BDNF Up-regulation and Serotonergic System Activity in Unpredictable Chronic Mild Stress Treated Rats. *Phytotherapy Res* 2012;26(8):1189-94.
 9. Kuribara H, Kishi E, Hattori N, Okada M, Maruyama Y. The Anxiolytic Effect of Two Oriental Herbal Drugs in Japan Attributed to Honokiol from Magnolia Bark. *J of Pharmacy and Pharmacology* 2000;52(11):1425-9.
 10. 신민교. 임상본초학. 서울: 영림사; 1997. p. 598-600.
 11. Tachikawa E, Takahashi M, Kashimoto T. Effects of extract and ingredients isolated from Magnolia obovata thunberg on catecholamine secretion from bovine adrenal chromaffin cells. *Biochem Pharmacol* 2000;160(3):433-40.
 12. Xu Q, Yi LT, Pan Y, Wang X, Li YC, Li JM, et al. Antidepressant-like effects of the mixture of honokiol and magnolol from the barks of Magnolia officinalis in stressed rodents. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry* 2008;32(3):715-25.
 13. Nakazawa T, Yasuda T, Ohsawa K. Metabolites of orally administered Magnolia officinalis extract in rats and man and its antidepressant-like effects in mice. *J of Pharmacy and Pharmacology* 2003;55(11):1583-91.
 14. Yi LT, Xu Q, Li YC, Yang L, Kong LD. Antidepressant-like synergism of extracts from magnolia bark and ginger rhizome alone and in combination in mice. *Prog Neuro-psychopharmacol Biol Psychiatry* 2009;33:616-24.
 15. 권선오, 최수민, 김명환, 이봄비, 박무원, 이해정 등. 산삼과 인삼 메탄올 추출물 아만성 복용의 Mice Tail Suspension Test 에서의 항우울 효과에 대한 비교연구. 대한침구의학회지 2009;26(4):99-106.
 16. 이은경, 정대규. 영신초(靈神草)의 항우울 효과에 대한 행동약리학적 연구. 동의신경정신과학회지 2011;22(2):129-46.
 17. 이규섭, 조정원, 강문규, 배현수, 김경수, 심인섭. 강제수영실험을 통한 연자육의 항우울 효과. 스트레스연구 2008;16(2):99-106.
 18. 이재열, 김용래, 황문제, 구병수, 김근우. 울금(鬱金)의 항우울 효과에 대한 실험적 연구. 동의신경정신과학회지 2007;18(2):45-55.
 19. 김인재, 이동원. 인삼(人蔘)과 향부자(香附子)의 항우울효과에 관한 실험적 연구. 동의신경정신과학회지 2004;15(1):101-19.
 20. Sayre ML, Perry G, Smith AM. Oxidative stress and neurotoxicity. *Chemical Res in Toxicology* 2008;21:172-88.
 21. 심태경, 정인철, 이상룡. 加味逍遙散의 항산화 효과와 serotonin 대사과정에 미치는 영향. 동의신경정신과학회지 2011;22(1):37-51.
 22. Porsolt RD, LE Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 1977;266:730-2.
 23. Mayorga AJ, Lucki I. Limitations on the use of the C57BL/6 mouse in the tail suspension

- test. *Psychopharmacology* 2001;155(1):110-2.
24. Paxinos G, Watson C, Pennisi M, Topple A. Bregma, lambda and the interaural midpoint in stereotaxic surgery with rats of different sex, strain and weight. *J of neuroscience methods* 1985;13(2):139-43.
 25. El-Agamy DS, Nader MA. Attenuation of oxidative stress-induced vascular endothelial dysfunction by thymoquinone. *Experimental Biol and Med* 2012;237(9):1032-8.
 26. Eby GA, III, Eby KL. Magnesium for treatment-resistant depression : a review and hypothesis. *Med Hypotheses* 2010;74:649-60.
 27. 우영섭, 박원명. 정신과적 질환에 대한 새로운 약물요법. *J Korean Med Assoc* 2011;54(10):1061-9.
 28. 王氷, 黃帝內經素問. 서울: 대성출판사; 1990, p. 306, 654-9, 720.
 29. 전국한의과대학 신경정신과 교과서편찬위원회. *한의신경정신과학*. 서울: 집문당; 2007, p. 256-65.
 30. Cryan JF, Mombereau C, Vassout A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neurosci Biobehav Rev* 2005;29(4-5):571-625.