

## 구속 스트레스 및 수면장애를 유도한 흰쥐에서 허브 복합추출물에 의한 개선 효과

정안나<sup>1</sup> · 이보경<sup>1</sup> · 이두이<sup>2</sup> · 이지인<sup>2</sup> · 정이숙<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>아주대학교 약학대학 병태생리학교실

<sup>2</sup>평창 허브나라 농원

<sup>3</sup>아주대학교 약과학연구소

### Attenuation Effects of Herbal Mixture Extract on Stress and Sleep Disturbance in Rats

An Na Jung<sup>1</sup>, Bo Kyung Lee<sup>1</sup>, Doo Yi Lee<sup>2</sup>, Ji In Lee<sup>2</sup>, and Yi-Sook Jung<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Department of Pathophysiology, College of Pharmacy, and

<sup>3</sup>Research Institute of Pharmaceutical Sciences and Technology, Ajou University

<sup>2</sup>Farm Herbnara, Pyeongchang

**ABSTRACT** In the present study, we examined whether or not an herbal mixture extract (HME) has attenuation effects on immobilization stress and sleep disturbance in rats. Immobilization stress was induced by restricting movement using a constraint box for 2 h, and sleep disturbance was induced by exposure to 300 lx of constant light for 24 h and injection of caffeine (1 mg/kg, i.p.). Rats were orally treated with distilled water (vehicle) or HME for 3 weeks at different doses of 10, 30, and 100 mg/kg/d (HME I, II, and III, respectively). In the immobilization model, HME III treatment significantly decreased adrenal gland weight, whereas HME II and III treatment reduced plasma levels of cortisol. HME II and III also reduced the level of IL-6. In the sleep disturbance model, HME II and III meaningfully reduced the plasma level of cortisol, and the increased plasma level of melatonin. HME III significantly increased body weight. HME reduced immobilization stress and ameliorated disturbance in rats. These findings suggest that HME may have beneficial potential for attenuation of sleep disturbance and stress.

**Key words:** stress, sleep, herb, anti-stress, relaxation

## 서 론

현대사회는 도시화와 정보화로 인해 다양하고 긴장된 생활의 연속이며, 복잡한 대인관계, 과중한 업무 부담, 조직사회에 대한 피로 등으로 인해 과중한 스트레스를 유발하고 있다. 과중한 스트레스는 심리적으로 불안정을 초래하고 신체의 평형상태를 유지하는 자율신경계의 균형을 깨뜨려 심·뇌혈관 질환과 함께 호르몬의 불균형 및 수면장애 등을 초래하게 된다(1-3).

수면은 인체 내 생리작용을 조절하는 데 있어서 필수적인 과정이며, 수면이 부족하게 되면 위장관계 질환, 근육통, 피로 등의 신체적 문제뿐만 아니라 불안 및 우울 등의 정신적인 문제를 초래하게 된다. 이러한 수면장애의 원인으로는 스트레스, 긴장, 불안 등 다양하고 이 중에서도 현대인들은 스트레스로 인한 수면장애를 겪는 빈도가 높은 편이다(4-

6). 이처럼 현대인들에게 스트레스 및 수면장애는 아주 흔히 발생하는 질환인데 반해 대부분의 환자는 처방을 통해 전문 의약품 치료를 받는 대신 음주 또는 비처방 일반의약품으로 극복하려는 경향이 있다(7). 물론 처방약에 의존하는 사람들도 있는데 흔히 벤조디아제핀(benzodiazepines) 계열의 약물과 졸피뎀(zolpidem)이나 조피클론(zopiclone)과 같은 약물을 사용한다(8). 그러나 이러한 처방약은 약물 의존성을 유발하기도 하며 장기복용 시 두통, 악몽, 낮 시간의 피로, 메스꺼움, 어지러움, 넘어짐 등의 부작용이 있다는 보고가 있다(9,10). 따라서 부작용이 적으면서 불면증에 효과를 지닌 천연물 유래 대체 식·의약품을 개발하는 것이 절실히 필요하다(11).

허브란 라틴어의 'herba'에서 유래된 '풀'이라는 뜻이지만 현대에 와서는 줄기, 잎, 꽃, 뿌리 등의 부위가 인간에게 유용한 식물을 총칭한다(12). 허브는 예로부터 서양 요리에서 맛과 향을 증진하고 불쾌한 냄새를 없애기 위한 향신료로 많이 이용되었으며(13), 미용이나 방향요법으로 사용되거나 다양한 생리활성 기능을 지니고 있어 민간요법에서 약초로 이용되었다. 구절초, 목향, 로즈메리, 라벤더, 유칼립투스 등 많은 허브가 항균 효과와 항산화 기능을 지니고 있으며

Received 17 October 2015; Accepted 4 January 2016

Corresponding author: Yi-Sook Jung, Department of Pathophysiology, College of Pharmacy, Ajou University, Suwon, Gyeonggi 16499, Korea

E-mail: yisjung@ajou.ac.kr, Phone: +82-31-219-3444

(14-16), 알레르기, 진통, 고지혈증, 암, 당뇨, 심혈관계 질환, 비만 등에 허브가 많은 효과를 나타낸다(17-21). 인간 삶의 질을 떨어뜨리는 수면장애에 대해서도 허브를 이용한 민간요법이 전해져 왔으며, 라벤더와 캐모마일 등이 대표적인 예이다(22-24). 그러나 정확한 용량-효능 관계 및 용법 등에 대한 보고가 미비한 실정이므로 동물모델 등을 이용한 검증실험 및 기전연구가 필요하다.

따라서 본 연구팀은 라벤더 및 캐모마일과 더불어 민간요법으로 긴장완화 효능이 알려진 수종의 허브에 대하여 동물모델에서 예비실험을 하였을 때 라벤더, 캐모마일, 레몬버베나, 타임을 1:1:1(w/w), 2:2:1:1(w/w), 3:3:1:1(w/w), 4:4:1:1(w/w)의 다양한 비율로 혼합하여 제조한 물 추출물 중에서 3:3:1:1(w/w)로 혼합한 물 추출물이 스트레스 완화 효과가 잘 나타난 결과를 얻었다. 그리고 이 혼합물 추출물을 차(tea)로 마셨을 때 풍미를 더하고 조화로운 맛을 위해서 바질을 추가하였고 결과적으로 라벤더, 캐모마일, 레몬버베나, 타임, 바질을 3:3:1:1:2(w/w)의 비율로 제조하게 되었다. 따라서 본 연구에서는 이들 5가지 허브 혼합물 추출물에 대하여 보다 정확한 용량-효능 관계를 검증하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 시료 제조

본 실험에 사용한 모든 허브는 (주)허브나라농원(Pyeongchang, Korea)에서 꽃과 잎 부분을 완전히 건조한 상태로 공급받았다. 이용된 시료는 라벤더, 캐모마일, 레몬버베나, 타임, 바질을 각각 3:3:1:1:2(w/w)의 비율로 혼합하고 분쇄하여 사용하였다. 혼합한 시료 5 g을 증류수 100 mL로 80°C에서 1시간씩 3회 추출하여 여과한 다음 회전식 감압농축기(EYELA Rotary evaporator N-1000, Tokyo Rikakikai Co., Ltd., Tokyo, Japan)로 40°C에서 10 mL로 감압 농축한 후 15 mL의 증류수를 더하여 총 25 mL의 물 추출물[이하 HME(herbal mixture extract)로 표기]을 제조하고 -20°C에 보관하면서 사용하였다.

### 실험동물

실험에 사용된 동물은 280~300 g의 Sprague Dawley (SD) 랫트를 샴타코(Gyeonggi, Korea)로부터 구입하여 일주일간 사육실 환경(습도 50%, 온도 22±1°C, 12시간 간격 조명)에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 각 실험모델에서 한 그룹당 6마리씩 평균 체중이 유사하도록 배치하였다. 실험기간 동안 실험에 사용된 모든 랫트가 고품사료와 물을 자유롭게 섭취하도록 하였다. 실험동물 사육의 전 과정은 아주대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받고 시행되었으며, 실험 동물관리원칙(Care and Use of Laboratory Animals US National Institute of Health publication No. 85-23, revised 1996)을 준수하였다.

### 구속 스트레스 유도

스트레스 유도 모델은 총 3주간의 실험기간 동안 매일 10시~12시까지 2시간 동안 구속케이지(6×6×19 cm, W×L×H)에 넣었다. 실험동물은 5군으로 분류하여 실험하였으며 정상군은 구속 스트레스를 유도하지 않으면서 매일 증류수를 경구투여 하였고, 대조군은 구속 스트레스를 유도하면서 매일 증류수를 경구투여 하였다. HME I 군은 구속 스트레스를 유도하면서 HME를 10 mg/kg 농도로 경구투여 하였고, HME II 군은 구속 스트레스를 유도하면서 HME를 30 mg/kg 농도로 경구투여 하였으며, HME III 군은 구속 스트레스를 유도하면서 HME를 100 mg/kg 농도로 경구투여 하였다.

### 수면장애 유도

수면장애 유도 모델은 24시간 빛이 랫트에게 일주기 리듬을 방해한다고 보고한 Park 등(25)의 연구에 기초하여 총 3주간의 실험기간 동안 매일 24시간 300 lx의 빛 자극을 주었고 더하여 카페인(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)을 1 mg/kg/d의 농도로 매일 복강투여 하였다. 실험동물은 5군으로 분류하여 실험하였다. 정상군은 식염수를 복강투여 하고 정상적인 12시간 간격으로 빛 자극을 가하여 수면장애를 유도하지 않으면서 매일 증류수를 경구투여 하였고, 대조군은 수면장애를 유도하면서 매일 증류수를 경구투여 하였다. HME I 군은 수면장애를 유도하면서 HME를 10 mg/kg 농도로 경구투여 하였고, HME II 군은 수면장애를 유도하면서 HME를 30 mg/kg 농도로 경구투여 하였으며, HME III 군은 수면장애를 유도하면서 HME를 100 mg/kg 농도로 경구투여 하였다.

### 경구투여 및 체중 측정

3주간의 실험기간 동안 수면장애 모델과 구속 스트레스 모델의 HME I, II, III에 HME를 각각 10 mg/kg, 30 mg/kg, 100 mg/kg의 용량으로 매일 오전 9시에 경구투여 하였고, 정상군과 대조군은 같은 시간에 같은 양의 증류수를 경구투여 하였다. 수면장애 모델의 체중은 실험 첫째 날과 21일째 날에 동일 시간에 측정하였다.

### 부신 무게 측정

3주간의 실험이 끝난 마지막 날에 구속 스트레스 모델의 랫트를 희생시킨 후, 양쪽 부신을 적출하여 지방조직을 깨끗이 제거하고 생리식염수에 행구어 각각의 무게를 측정하였다. 양쪽 부신 무게를 측정 후 평균값을 구하고 그 값을 이용하였다.

### 혈액 채취 및 혈장 내 코티졸, IL-6, 멜라토닌 농도 측정

실험 21일째 날에 구속 스트레스 모델 및 수면장애 모델의 랫트를 ethyl ether(Daejung Chemicals & Metals Co., Siheung, Korea)로 마취시킨 후 1 mL 용량의 일회용 주사기에 3.8% sodium citrate(Sigma-Aldrich Co.)를 60 µL

넣어두고 꼬리정맥에서 혈액을 600 µL씩 채취하여 부드럽게 섞어주었다. 그 후 20°C, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 하여 상층액인 혈장(plasma)을 분리하고 실험 전까지 -80°C에서 냉동보관 하였다. 구속 스트레스 모델과 수면장애 모델의 혈장 내 코티졸(cortisol) 농도는 Cortisol ELISA kit(Mybiosource, San Diego, CA, USA)을 이용하였고, 구속 스트레스 모델의 IL-6 농도는 Rat IL-6 ELISA kit(Invitrogen, Frederick, MA, USA)을 이용하였으며, 수면장애 모델의 혈장 내 멜라토닌(melatonin) 농도는 Melatonin ELISA kit(Mybiosource)를 이용한 후 microplate reader(Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 사용하여 모두 450 nm 흡광도에서 값을 측정하였다.

**통계처리**

본 실험 결과는 각 항목에 따라 평균±표준오차를 구한 것과 평균, 최댓값, 최솟값으로 나타낸 것으로 이루어져 있다. 평균치 간의 유의성은 Student's *t*-test를 이용한 후 *P* 값이 0.05 미만일 때 유의한 것으로 판정하였다.

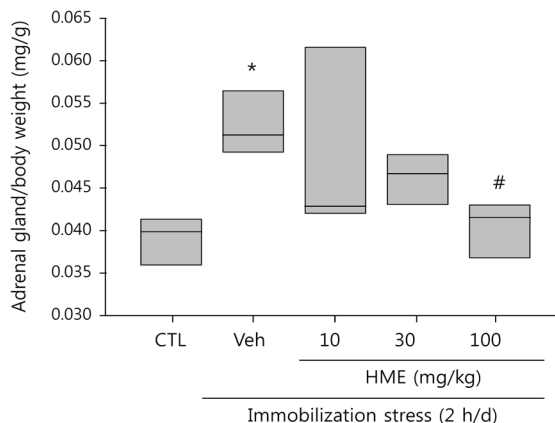
**결 과**

**구속 스트레스 모델의 부신 무게**

실험 종결 후 군별 부신의 무게를 측정하여 체중 대비 부신의 무게로 계산하였다. 정상군과 비교했을 때 대조군의 체중 대비 부신 무게는 유의적인 증가를 하였고 대조군과 비교하여 HMEIII군의 체중 대비 부신 무게는 유의적으로 감소하였다(Fig. 1).

**구속 스트레스 모델의 혈장 내 코티졸 함량**

구속 스트레스를 가했을 때 스트레스 호르몬인 코티졸의

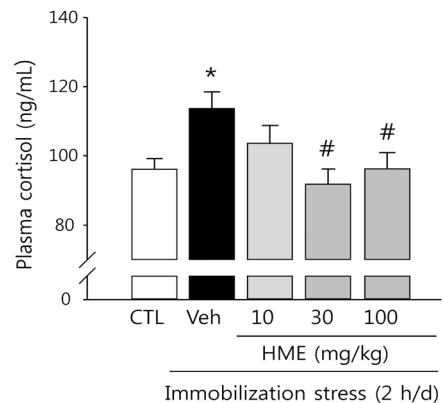


**Fig. 1.** Effects of herbal mixture extract (HME) on adrenal gland weight in immobilized rats. Rats were immobilized for 2 h after pre-administered with herbal mixture extract (10, 30, 100 mg/kg, p.o.) before 30 min. Results were expressed as box representing that upper edge is maximum value, lower edge is minimum value and line (-) is mean. \**P*<0.05 vs. control (CTL) and #*P*<0.05 vs. vehicle (Veh). n=5~6.

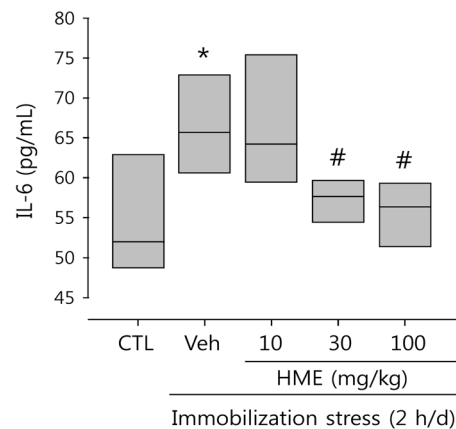
혈장 내 함량 변화에 미치는 HME의 효과를 보기 위하여 3주간 HME를 각각 10, 30, 100 mg/kg의 농도로 매일 경구 투여 하고 혈장을 채취해 얻은 결과를 나타내었다. 정상군과 비교하여 대조군의 코티졸 수치가 유의적으로 증가하였고, 대조군과 비교했을 때 HME I 군은 유의적이지는 않지만 감소하는 경향이 보였으며, HME II, III군의 코티졸 수치는 유의적인 감소를 하였다(Fig. 2).

**구속 스트레스 모델의 혈장 내 IL-6 함량**

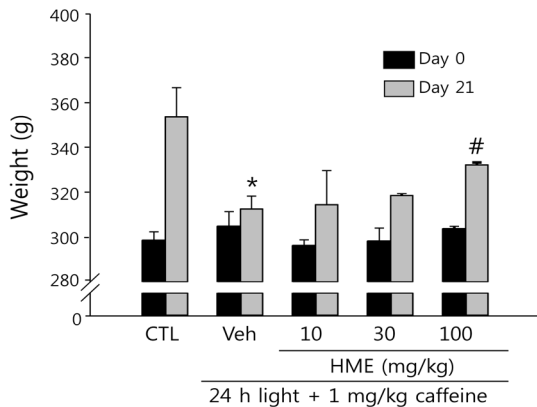
스트레스 상황에서 증가한다고 알려진 사이토카인 IL-6의 함량 변화에 HME가 미치는 효과를 보기 위하여 3주간 구속 스트레스를 유발한 후 혈장을 채취하여 측정, 비교하였다. 정상군과 비교했을 때 대조군에서 IL-6 함량이 유의한 차이를 보였으며, 대조군과 비교하여 HME I 군은 유의성 있는 차이를 보이지 않았으나 HME II, III에서는 유의적인 감



**Fig. 2.** Effects of the HME on plasma cortisol in immobilized rats. Rats were immobilized for 2 h after pre-administered with HME (10, 30, 100 mg/kg, p.o.) before 30 min. Data represent mean±SEM. \**P*<0.05 vs. control (CTL) and #*P*<0.05 vs. vehicle (Veh). n=5~6.



**Fig. 3.** Effects of the HME on plasma IL-6 in immobilized rats. Rats were immobilized for 2 h after pre-administered with HME (10, 30, 100 mg/kg, p.o.) before 30 min. Results were expressed as box representing that upper edge is maximum value, lower edge is minimum value and line (-) is mean. \**P*<0.05 vs. control (CTL) and #*P*<0.05 vs. vehicle (Veh). n=5~6.



**Fig. 4.** Effects of the HME on body weight in sleep disturbed rats. Caffeine (1 mg/kg) was injected to intra-peritoneal after pre-administered with HME (10, 30, 100 mg/kg, p.o.). Data represent mean±SEM. \* $P$ <0.05 vs. control (CTL) and # $P$ <0.05 vs. vehicle (Veh).  $n$ =5~6.

소를 나타내었다(Fig. 3).

#### 수면장애 모델의 체중에 미치는 영향

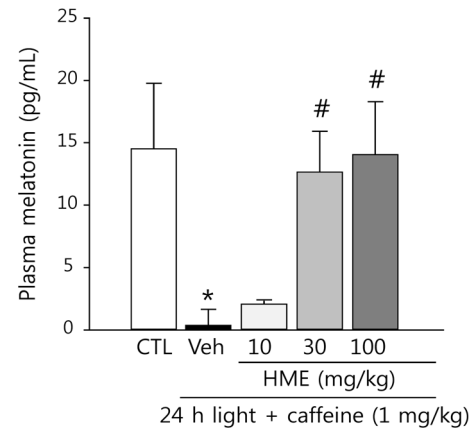
수면장애 모델에서 체중 변화에 미치는 HME의 효과를 확인하기 위해서 실험 첫 번째 날과 마지막 날에 체중을 측정하여 비교한 결과이다. 정상군의 증체량과 비교하여 대조군의 증체량은 상대적으로 굉장히 낮게 나타났으며, 21일째 날의 정상군 체중보다 대조군 체중은 유의적인 감소를 하였다. 대조군의 증체량에 비하여 HME I, II군의 증체량은 증가한 경향을 보이나 유의성 있는 결과를 나타내지 않았으며, HME III군의 21일째 날의 체중은 대조군에 비하여 유의적인 증가를 하였다(Fig. 4). 수면장애를 유발했을 때의 스트레스는 체중 증가를 억제하지만 HME가 체중 증가를 회복시킴으로써 항스트레스 효과가 있다고 판단된다.

#### 수면장애 모델의 혈장 내 멜라토닌 함량

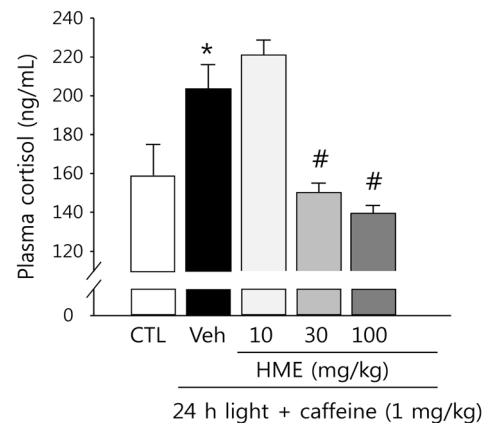
수면장애를 개선하는 데 HME가 미치는 효과를 알아보기 위해서 3주간 수면장애를 유발한 후 혈장을 채취하여 수면 촉진 호르몬인 멜라토닌의 수치를 비교하였다. 정상군과 비교했을 때 대조군의 멜라토닌 함량은 유의적인 감소를 하였고, HME I 군은 대조군과 비교했을 때 유의성 있는 변화를 보이지 않았다. 대조군과 비교하여 HME II, III군은 유의적인 증가를 나타냈으며 HME의 농도 의존적으로 멜라토닌 수치가 정상군만큼 회복되는 것을 보였다(Fig. 5).

#### 수면장애 모델의 혈장 내 코티졸 함량

수면장애로 인한 스트레스에 대해 HME의 완화 효과를 알아보기 위하여 3주간 수면장애를 유도한 후 혈장 내 코티졸의 함량 변화를 관찰하였다. 정상군과 비교하여 대조군의 코티졸 함량은 유의적인 증가를 하였고, 대조군과 비교하여 혈중 코티졸 수치가 HME II, III군에서 유의적으로 감소하였다(Fig. 6).



**Fig. 5.** Effects of the HME on plasma melatonin in sleep disturbed rats. Caffeine (1 mg/kg) was injected to intra-peritoneal after pre-administered with HME (10, 30, 100 mg/kg, p.o.) in sleep disturbed rats. Data represent mean±SEM. \* $P$ <0.05 vs. control (CTL) and # $P$ <0.05 vs. vehicle (Veh).  $n$ =5~6.



**Fig. 6.** Effects of the HME on plasma cortisol in sleep disturbed rats. Caffeine (1 mg/kg) was injected to intra-peritoneal after pre-administered with HME (10, 30, 100 mg/kg, p.o.) in sleep disturbed rats. Data represent mean±SEM. \* $P$ <0.05 vs. control (CTL) and # $P$ <0.05 vs. vehicle (Veh).  $n$ =5~6.

## 고찰

스트레스에 노출되면 생체 내에서는 신경계와 내분비계를 활성화하고 이는 면역기능에도 영향을 미친다(26). 스트레스를 방지할 경우 두통, 불면증, 불안장애, 스트레스성 고혈압, 과민성 대장증후군, 심부정맥, 기관지 천식, 만성 통증 등이 발병하거나(27) 기저질환이 더욱 악화할 수 있고, 더하여 만성 스트레스는 암세포의 전이를 촉진하는 등 조기사망 위험률을 증가시킨다(28,29).

또한 수면장애는 집중력 및 반응속도, 판단력 저하 등을 일으키고, 졸음으로 인해 일을 끝까지 수행하지 못하거나 직업관련 사고 또는 교통사고를 겪는 등 삶의 질을 직접적으로 저해한다. 스트레스로 인한 심리적으로 불안한 상태는 수면장애를 일으키고 수면장애 자체가 또 다른 스트레스를 일으켜 악순환이 반복된다(2). 따라서 스트레스와 수면장애

는 밀접한 관계가 있으며 이를 완화하는 것은 인간의 삶의 질을 높이고 정신적·신체적 건강을 위해서 필수적이다.

본 연구에서는 다양한 생리활성을 지닌 5가지 허브를 혼합한 추출물을 이용했다. 라벤더(*Lavandula angustifolia* Mill.)는 꿀풀과(Labiatae)의 여러해살이풀로 지중해 연안이 원산지이다. 라벤더는 신경을 안정시켜 두통, 우울, 불면증에 도움이 된다고 민간요법에 알려졌으며 살균, 소독작용, 외상 치료, 방충, 진정 및 이완 작용에 효과가 있다(30). 케모마일(*Chamaemelum nobile*(L.) All)은 국화과(Asteraceae)의 여러해살이풀에 속하는 다년생 약용식물이고 항염증, 방부, 구충약, 경련을 가라앉히는 데 좋으며, 감기에방과 불면증 해소, 진정작용 등의 효과가 있는 것으로 알려졌다(31). 또한 염증성 질환, 발열, 설사를 치료하기 위한 약용차로도 이용되어 왔다(32). 레몬버베나(*Aloysia triphylla* BRITT.)는 마편초과(Verbenaceae)의 소고목으로 강한 레몬향이 나며 허브차, 향신료, 약용으로 쓰인다. 또한 살균 효과로 인해 여드름 치료에 쓰이며, 소화 촉진, 이뇨작용, 감기에방에 뛰어나다고 민간요법에 알려져 있다. 타임(*Thymus vulgaris* L.)은 꿀풀과(Labiatae) 티무스속의 여러해살이풀로 우울증과 피로 회복에 도움이 되고 소화 촉진과 식욕증진, 그리고 항균작용에 탁월하다(33). 바질(*Ocimum basilicum* L.)은 꿀풀과(Labiatae)의 한해살이풀로 약효로는 신경과민에 대한 진정작용과 항산화 작용, 살균 효과, 진통, 항경련 효능을 나타낸다(34).

*In vivo*에서 구속 스트레스는 다른 스트레스 유발 방법보다 직접적인 통증을 유발하지 않아 인간에서의 정신적 스트레스와 유사하여 흔하게 사용되는 정서적 스트레스 모델이다(35-37). 따라서 본 연구에서는 랫트에게 구속 스트레스를 가하였고 이에 따른 생체 내 반응과 HME의 효과를 관찰하였다. 스트레스에 노출되면 신체 내에서는 시상하부-뇌하수체-부신 축(hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA axis)을 통하여 여러 반응이 일어나게 되는데(2), 중추신경계가 외부자극을 감지하여 시상하부의 코르티코트로픽 방출호르몬(corticotropin-releasing factor, CRF)의 분비를 자극한다. 분비된 코르티코트로픽방출호르몬은 뇌하수체에서 부신피질자극호르몬(adrenocorticotropic hormone, ACTH)을 분비하도록 자극하고, 부신피질자극호르몬이 부신피질을 자극하여 코티졸이 분비되는 기전을 갖는다. 또한 교감신경이 흥분하여 부신수질과 말초신경에서 에피네프린(epinephrine)과 노르에피네프린(norepinephrine)이 분비되어 혈압과 심박동 수가 증가하여 스트레스에 대한 방어 작용이 나타난다(38). 스트레스 상황에서 생체 내 항상성을 유지하기 위해 활성화되는 시상하부-뇌하수체-부신계와 교감신경-부신수질계 모두에서 부신은 중요한 기관이며 호르몬을 분비하도록 계속해서 자극받는다(39). 이에 따라 스트레스를 받은 생체 내에서는 부신피대 현상이 일어나게 된다(39,40).

본 연구 결과에서도 구속 스트레스를 가하지 않은 정상군

에 비하여 대조군의 체중 대비 부신 무게가 유의적으로 증가하였고 이는 HMEⅢ군에서 유의적으로 억제되었다(Fig. 1). 부신피대 현상은 부신피질자극호르몬에 반응하여 코티졸을 최대로 분비하려는 것뿐만 아니라 부신수질에서 분비되는 카테콜아민(catecholamine)을 증가시키는 것과 관련이 있다(39). 따라서 HMEⅢ군은 스트레스 상황에 부신에서 여러 가지 호르몬을 분비하도록 조절시키는 상위단계를 억제하는 작용과 밀접한 관련이 있다고 생각한다. 스트레스 상황에서는 부신피질에서 코티졸이 분비되는데, 코티졸은 신체에 필요한 에너지를 공급하기 위해 단백질과 지방을 분해해 혈당을 높이고 이를 통해 스트레스에 대처한다. 또한 지속적인 스트레스로 인해 코티졸이 과도하게 분비될 때는 단백질과 다분해, 질소균형 저해, 면역기능 상실 등의 문제를 일으킨다(41). 구속 스트레스로 인한 혈장 내 코티졸 함량 변화에 관한 결과에서도 정상군보다 대조군에서 코티졸 수치가 증가했고 대조군과 비교하여 HME Ⅱ, Ⅲ군은 코티졸 수치를 현저히 감소시켰다(Fig. 2). HME Ⅱ, Ⅲ군의 코티졸 수치는 유의적인 차이가 없었고, HMEⅡ군에서 코티졸 수치를 감소시키는 데에 최대 효과가 나타난 것으로 보인다. 이를 통하여 HMEⅡ군이 부신피질에서 코티졸 분비 억제에 가장 효과적으로 작용하는 농도일 것이라고 판단된다. 스트레스를 받으면 면역세포에서 사이토카인이 분비되어 행동과 감정을 조절하는 등 중추신경계에 영향을 미치게 된다. 임상 보고와 랫트를 통한 연구에서 스트레스로 인해 신체 내 IL-6 수치가 증가한다고 알려졌으며(42-45), 이처럼 스트레스로 인해 증가한 IL-6는 인간에게서 당뇨병, 동맥경화, 지방간, 암 발병과 연관이 있다(45). 본 연구에서도 구속 스트레스로 인해 혈장 내 IL-6 수치가 유의적으로 증가하였고 이에 대한 HME의 효과를 보기 위해 구속 스트레스를 가하면서 매일 HME를 경구투여 한 결과 HME를 30 mg/kg, 100 mg/kg의 농도로 투여한 HME Ⅱ, Ⅲ군에서 유의성 있게 감소하였다(Fig. 3). HME가 스트레스로 인한 면역계 활성화에도 긍정적인 영향을 미친다는 것을 알 수 있다.

작용기능을 나타내는 활성물질이 *in vitro* 실험을 통해 밝혀졌더라도 *in vivo*에서는 뇌혈관장벽(blood-brain barrier, BBB)을 통과하지 못하여 실제 수면 효과를 나타내지 못할 수도 있기 때문에(46) 수면증진을 위한 기능성 식품 연구에서 동물실험은 특히 중요하다. 본 연구에서는 HME가 수면장애를 유발한 랫트에 어떤 영향을 미치는지 알아보았다. 수면장애를 유도하지 않은 정상군의 3주 후 증체량과 실험기간 동안 끊임없이 빛을 가하면서 1 mg/kg의 농도로 카페인을 투여하여 수면장애를 유도했던 대조군의 증체량을 비교했을 때 실험 마지막 날의 평균적인 체중이 정상군보다 유의적으로 낮게 관찰되었다. 이에 대해 HME의 효과를 보면 HME를 100 mg/kg 농도로 경구투여 한 HMEⅢ군에서 유의적으로 체중이 회복된 것을 알 수 있었다(Fig. 4). 수면 유도에 관련되는 호르몬인 멜라토닌의 혈장 내 수치를 비교하여 수면장애 완화 효과를 보고자 하였다. 멜라토닌은 송과

선(pineal gland)에서 분비되며 멜라토닌합성효소(NAT)의 활성이 광(light) 정보에 의해 저해되므로 어두울 때 합성이 촉진되고 밝은 상태에서는 억제되며(47), 또한 멜라토닌이 수면을 안정화하는 데에 이바지한다고 밝혀졌다(48). 실제로 Kim 등(49)의 연구에서 동물실험을 통해 혈액 내 멜라토닌 생성량 증가가 수면을 유도한다고 보고하였다. 본 연구에서도 수면장애 모델에서 멜라토닌의 수치를 비교해봤을 때 수면장애를 유발하지 않은 정상군에 비하여 대조군은 멜라토닌 함량이 유의적인 감소를 하였으며 HME를 30 mg/kg, 100 mg/kg의 농도로 경구투여 한 HME II, III군에서는 대조군보다 멜라토닌 수치가 유의적으로 증가함을 알 수 있었다(Fig. 5). 이를 통하여 HME가 수면장애를 완화하는 효과가 있다고 판단된다. 더하여 수면장애를 유도했을 때 스트레스 호르몬인 코티졸의 분비 변화를 관찰하고 이에 대한 HME의 효과를 확인하였다. 시상하부는 수면을 조절하는 데 중요한 역할을 하는 것으로 알려졌으며 수면장애는 시상하부-뇌하수체-부신 축을 활성화한다(50). 수면장애를 유도하지 않은 정상군과 비교하여 대조군의 혈장 내 코티졸 수치는 유의적으로 증가하였고, HME II, III군에서는 대조군보다 코티졸 수치가 유의적으로 증가하였다(Fig. 6). 이는 수면장애로 인하여 스트레스 호르몬이 증가한다는 Oh와 Shim(50)의 보고와 일치하며 HME가 수면장애로 인한 스트레스에도 효과적임을 확인할 수 있었다.

라벤더의 주요 성분인 리날릴 아세트산(linalyl acetate)과 리날로올(linalool)은 향기를 내도록 하며, 불안함을 완화해주는 효과를 지닌다(51). 또한 라벤더를 마우스에 반복투여 한 경우 입면시간이 빨라지고 수면 지속시간이 길어진다는 보고가 있으며(52) 라벤더 오일이 중추신경계에 영향을 주어 불안함과 스트레스를 완화한다는 연구 결과가 있다(53). 캐모마일의 주요성분인 아피제닌(apigenin)이 뇌에서 벤조디아제핀 수용체에 결합하여 진정 효과와 수면촉진 효과를 나타낸다는 보고가 있다(54). 본 연구에 사용한 혼합물 중 큰 비율을 차지하고 있는 라벤더와 캐모마일 모두 중추신경계에 작용하여 진정, 항불안, 수면촉진 효과를 지니며, 이외에도 혼합물을 구성하는 레몬버베나, 타임, 바질의 효능 중에도 진정 효과가 제시되어 있다. HME는 각 혼합물의 구성 비율 중에서 가장 효과적이라고 판단되는 비율을 적용하여 제조한 것이므로 단일 추출물 투여보다 상승한 효과를 지닐 것이라고 기대되지만, 추후 단일 추출물과 복합 추출물의 효능 차이를 규명하는 연구가 필요하다고 생각된다.

이상의 결과로부터 5종의 허브를 일정 비율로 혼합하여 제조한 HME의 섭취가 구속 스트레스를 유도한 동물모델에서 코티졸과 IL-6 분비량을 감소시키고 코티졸을 분비하는 부신의 무게에 영향을 준다는 것과 수면장애를 유발한 동물 모델에서 멜라토닌, 코티졸과 같은 호르몬과 체중에 영향을 미친다는 것을 확인하였다. HME 100 mg/kg 농도를 투여한 HMEIII군에서 호르몬 수치와 IL-6 변화뿐만 아니라 체중과 부신 무게에도 영향을 미쳤지만 HME 30 mg/kg 농도를 투

여한 HMEII군에서는 IL-6와 호르몬 수치만 유의적으로 변화시켰다. 결과적으로 수면장애와 스트레스에 대해 HME의 정확한 용량에 따른 효능을 확인할 수 있었다. 그러므로 향후 스트레스 및 수면장애를 완화하기 위한 보조식품 또는 기능성 식품으로 이용될 수 있을 것으로 생각한다.

## 요 약

본 연구에서는 라벤더, 캐모마일, 레몬버베나, 타임, 바질의 복합 열수 추출물이 수면을 촉진하고 스트레스를 완화하는지 확인하기 위하여 농도에 따라 동물모델에 미치는 효과를 관찰하였다. 허브 복합추출물(HME)을 10, 30, 100 mg/kg의 농도로 3주간 구속 스트레스 모델과 수면장애 모델에 각각 경구투여 하였고, 실험 결과 구속 스트레스를 유도한 동물모델에서 HMEII군(30 mg/kg)과 HMEIII군(100 mg/kg)은 혈장 내 코티졸과 IL-6 함량을 감소시켰으며, HMEIII군은 체중 대비 부신 무게도 유의적으로 회복시킨 것을 확인하였다. 수면장애 모델에서는 HMEIII군이 대조군에 비해 체중이 증가하였고, HME II, III군은 혈장 내 멜라토닌 수치를 높였으며 코티졸 수치를 감소시켰다. 이러한 결과를 통해 본 실험에서 사용한 허브 복합추출물이 농도에 따라 스트레스 완화와 수면장애 개선에 효과가 있음을 확인하였다.

## 감사의 글

본 연구는 교육부의 재원으로 지원을 받아 수행된 산학협력 선도대학(LINC) 육성사업의 연구 결과입니다.

## REFERENCES

- Kim SH. 2000. The consideration of the relationship between stress and health in modern society. *Korea J Sports Science* 9: 223-232.
- Seyle H. 1982. History and present status of the stress concept. In *Handbook of Stress*. Goldberger L, Breznitz S, eds. The Free Press, New York, NY, USA. p 7-17.
- Park SO, Kim SB, Lee KS, Kang PS. 2002. Reduction effect of aromatherapy on stress and insomnia. *Korean J Rural Med* 27: 17-26.
- McKee MG. 1993. Stress of living. In *Clinical Preventive Medicine*. Mosby Publishing Inc., St. Louis, MO, USA. p 191-216.
- Levi L. 1996. Spice of life or kiss of death?. In *Handbook of Stress, Medicine, and Health*. CRC Press, New York, NY, USA. p 1-10.
- Baek Y, Yoo J, Lee SW, Jin HJ. 2013. Domestic trends of research and patent for sleep disorder. *J Korea Contents Association* 13: 309-317.
- Ohayon MM. 2002. Epidemiology of insomnia: what we know and what we still need to learn. *Sleep Med Rev* 6: 97-111.
- Woo NS, Seo YB. 2013. Stress relaxation and sleep induction effect of fermented sea tangle *Saccharina japonica* and oyster *Crassostrea gigas* powder. *Kor J Fish Aquat Sci* 46:

- 702-707.
9. Glass J, Lanctôt KL, Herrmann N, Sproule BA, Busto UE. 2005. Sedative hypnotics in older people with insomnia: meta-analysis of risks and benefits. *BMJ* 331: 1169-1173.
  10. Gunja N. 2013. The clinical and forensic toxicology of Z-drugs. *J Med Toxicol* 9: 155-162.
  11. Leach MJ, Page AT. 2015. Herbal medicine for insomnia: A systematic review and meta-analysis. *Sleep Med Rev* 24: 1-12.
  12. Lue KH, Lee SS. 1998. *The illustrated book of new vegetable*. 1st ed. Herbworld Press, Seoul, Korea. p 239-258.
  13. Bunney S. 1992. *The illustrated encyclopedia of herbs*. Chancellor Press, New York, NY, USA. p 155.
  14. Choi IY, Song YJ, Lee WH. 2010. DPPH radical scavenging effect and antimicrobial activities of some herbal extracts. *Kor J Hort Sci Technol* 28: 871-876.
  15. Chae IG, Kim HJ, Yu MH, Kim HI, Lee IS. 2010. Antioxidant and antibacterial activity of commercially available herbs in Korean markets. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 1411-1417.
  16. Choi SW, Lee MY, Hong I, Choi YS, Kim HK, Kim NS, Lee KG, Kim JM, Hwang CY. 2013. Antimicrobial activity of herbal plants extracts on *Ascosphaera apis*. *Korean J Apic* 28: 211-216.
  17. Choi JH, Kim HI, Lee IS. 2009. Effect of *Rosmarinus officinalis* L. on growth inhibition and apoptosis induction in cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1008-1015.
  18. Lee JI, Lee HS, Jun WJ, Yu KW, Shin DH, Hong BS, Cho HY, Yang HC. 2000. Screening of anticoagulant activities in extracts from edible herbs. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 335-341.
  19. Chin HS, Pack KJ, Pack SH, Kim JK. 2009. The effects of herbal extract mixture on anti-obesity. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 32-38.
  20. Tyler VE. 1994. *Herbs of choice: The therapeutic use of phytomedicines*. Haworth Press, New York, NY, USA. p 126-145.
  21. Lis-Balchin M. 1997. Essential oils and 'aromatherapy': their modern role in healing. *J R Soc Health* 117: 324-329.
  22. Jung HN, Choi HJ. 2012. Effects of *Lavandula angustifolia* aroma on electroencephalogram in male adults with good sleep quality and poor sleep quality. *Korean Journal of the Science of Emotion & Sensibility* 15: 453-468.
  23. Jung H, Choi H. 2012. Effects of *Lavandula angustifolia* aroma on electroencephalograms in female adults with sleep disorders. *J Life Sci* 22: 192-199.
  24. Han SH. 2008. Effects of aromatherapy on headache, stress and immune response of students with tension-type headache. *J Korean Acad Soc Nurs Edu* 14: 273-281.
  25. Park SY, Walker JJ, Johnson NW, Zhao Z, Lightman SL, Spiga F. 2013. Constant light disrupts the circadian rhythm of steroidogenic proteins in the rat adrenal gland. *Mol Cell Endocrinol* 371: 114-123.
  26. Koh KB. 2008. Stress and immunity. *Korean J Str Res* 16: 151-159.
  27. Woo JM, Kim GM, Kim SA. 2003. A case of mental ill health caused by job stress after job reallocation. *Korean J Occup Environ Med* 15: 205-212.
  28. Aldwin CM, Jeong YJ, Igarashi H, Choun S, Spiro A 3rd. 2014. Do hassles mediate between life events and mortality in older men? Longitudinal findings from the VA Normative Aging Study. *Exp Gerontol* 59: 74-80.
  29. Choi MJ, Cho KH, Lee S, Bae YJ, Jeong KJ, Rha SY, Choi EJ, Park JH, Kim JM, Lee JS, Mills GB, Lee HY. 2014. hTERT mediates norepinephrine-induced Slug expression and ovarian cancer aggressiveness. *Oncogene* 34: 3402-3412.
  30. Cha JH, Kim MJ, Kim HS, Kim YI. 2010. Effects of aromatherapy in blending oil of basil, lavender, rosemary, and rose on headache, anxiety and serum cortisol level in the middle-aged women. *J Korean Biol Nurs Sci* 12: 133-139.
  31. Cho YJ, Yoon SJ, Kim JH, Chun SS. 2005. Biological activity of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 446-450.
  32. Lawrence BM. 1996. Progress in essential oils. *Perfum Flavor* 21: 55-68.
  33. Clevely A, Richmond K. 1998. *The complete book of herb*. 1st ed. Smithmark Publishing Inc., New York, NY, USA. p 51-52.
  34. Kang PR, Jung KM, Min SS, Seol GH. 2012. Effect of basil essential oil-inhalation on pain, anxiety and vital sign in patients with chronic low back pain before spine surgery: A double-blind, randomized controlled trial. *Korean J Str Res* 20: 169-178.
  35. Glavin GB, Paré WP, Sandbak T, Bakke HK, Murison R. 1994. Restraint stress in biomedical research: an update. *Neurosci Biobehav Rev* 18: 223-249.
  36. Reyes TM, Walker JR, DeCino C, Hogenesch JB, Sawchenko PE. 2003. Categorically distinct acute stressors elicit dissimilar transcriptional profiles in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *J Neurosci* 23: 5607-5616.
  37. Sawchenko PE, Li HY, Ericsson A. 2000. Circuits and mechanisms governing hypothalamic responses to stress: a tale of two paradigms. *Prog Brain Res* 122: 61-78.
  38. Lee HC, Yeom MJ, Kim GH, Choi KD, Lee SH, Shim IS, Lee HJ, Hahn DH. 2003. Gene expression analyses in hypothalami of immobilization-stressed and Boshimgeonbi Tang-treated mice using cDNA microarray. *Korean J Orient Physiol Pathol* 17: 1393-1403.
  39. Ulrich-Lai YM, Figueiredo HF, Ostrander MM, Choi DC, Engeland WC, Herman JP. 2006. Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 291: E965-E973.
  40. Park I, Kim YI, Lee SM, Cho TS. 1996. Anti-stress effect of cholic acid derivatives in restraint stress induced rats. *J Appl Pharmacol* 4: 162-166.
  41. Yun SJ, Pack SH, Shin MH. 2013. The effect of the meridian massage on the change of the low back pain RPE (rating of perceived exertion) and the changes of serum cortisol as well as stress index of middle aged women. *J Kor Soc Cosm* 19: 751-756.
  42. Porterfield VM, Zimomra ZR, Caldwell EA, Camp RM, Gabella KM, Johnson JD. 2011. Rat strain differences in restraint stress-induced brain cytokines. *Neuroscience* 188: 48-54.
  43. Manikowska K, Mikołajczyk M, Mikołajczak PŁ, Bobkiewicz-Kozłowska T. 2014. The influence of mianserin on TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-10 serum levels in rats under chronic mild stress. *Pharmacol Rep* 66: 22-27.
  44. Kim YG. 2000. The role of cytokines in depression and their therapeutic implication. *Korean J Psychopharmacol* 11: 304-312.
  45. McInnis CM, Thoma MV, Gianferante D, Hanlin L, Chen X, Breines JG, Hong S, Rohleder N. 2014. Measures of adiposity predict interleukin-6 responses to repeated psychosocial stress. *Brain Behav Immun* 42: 33-40.
  46. Cho S, Han D, Kim J, Yoon M, Yang H, Kim J. 2013. Potential claims and evaluation methods for sleep-promoting effects of foods. *Food Science and Industry* 46(2): 8-22.

47. Lee JY, Moon JS, Han BG, Yang HD, Kwon JB, Lee SI, Lee SS. 2001. The influence of acute cerebral infarction on the circadian rhythm of melatonin secretion. *J Korean Neurol Assoc* 19: 359-363.
48. Klein DC. 2004. The 2004 Aschoff/Pittendrigh lecture: Theory of the origin of the pineal gland—A tale of conflict and resolution. *J Biol Rhythms* 19: 264-279.
49. Kim SS, Oh SH, Jeong MH, Cho SC, Kook MC, Lee SH, Pyun YR, Lee HY. 2010. Sleep-inductive effect of GABA on the fermentation of mono sodium glutamate (MSG). *Korean J Food Sci Technol* 42: 142-146.
50. Oh JK, Shim I. 2009. Stress and sleep. *Korean J Str Res* 17: 209-217.
51. Setzer WN. 2009. Essential oils and anxiolytic aromatherapy. *Nat Prod Commun* 4: 1305-1316.
52. Wheatley D. 2005. Medicinal plants for insomnia: a review of their pharmacology, efficacy and tolerability. *J Psychopharmacol* 19: 414-421.
53. Shaw D, Annett JM, Doherty B, Leslie JC. 2007. Anxiolytic effects of lavender oil inhalation on open-field behaviour in rats. *Phytomedicine* 14: 613-620.
54. Avallone R, Zaonli P, Corsi L, Cannazza G, Baraldi M. 1996. Benzodiazepine-like compounds and GABA in flower heads of *Matricaria chamomilla*. *Phytother Res* 10: S177-S179.