

## Effect of an Ethanol Extract of *Cassia obtusifolia* Seeds on Alcohol-induced Memory Impairment

Huiyoung Kwon<sup>1</sup>, Eunbi Cho<sup>1</sup>, Jieun Jeon<sup>1</sup>, Young Choon Lee<sup>1,2</sup> and Dong Hyun Kim<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Medicinal Biotechnology, College of Health Sciences, Dong-A University, Busan 49315, Korea

<sup>2</sup>Institute of Convergence Bio-Health, Dong-A University, Busan 49315, Korea

Received February 26, 2019 / Revised April 22, 2019 / Accepted May 15, 2019

Heavy drinking disrupts the nervous system by activation of GABA receptors and inhibition of glutamate receptors, thereby preventing short-term memory formation. Degradation of cognition by alcohol induces blackouts, and it can lead to alcoholic dementia if repeated. Therefore, drugs need to be developed to prevent alcohol-induced blackout. In this study, we confirmed the effect of an ethanol extract of *Cassia obtusifolia* seeds (COE) on alcohol-induced memory impairment. The effects of COE and ethanol on cognitive functions mice were examined using the passive avoidance and Y-maze tests. The manner in which alcohol affects long-term potentiation (LTP) in relation to the learning and memory was confirmed by electrophysiology performed on mouse hippocampal slices. We also measured N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor-mediated field excitatory synapses (fEPSPs), which have a known association with cognitive impairment caused by ethanol. Ethanol caused memory impairments in passive avoidance and Y-maze tests. COE prevented these ethanol-induced memory impairments in these tests. Ethanol also blocked LTP induction in the mouse hippocampus, and COE prevented this ethanol-induced LTP deficit. Ethanol decreased NMDA receptor-mediated fEPSPs in the mouse hippocampus, and this decrease was prevented by COE. These results suggest that COE might be useful in preventing alcohol-induced neurological dysfunctions, including blackouts.

**Key words :** *Cassia obtusifolia*, ethanol, long-term potentiation, NMDA receptor, synaptic plasticity

### 서 론

알코올은 접근이 용이하고 남용하기 쉬운 약물 중 하나로 최근 소비량의 증가와 더불어 음주와 관련한 문제 발생률 또한 증가하는 추세를 보이고 있다[8]. 알코올은 뇌에 전반적으로 작용하여 감정, 인지, 기억 등의 조절을 어렵게 만들고[5, 22] 체내의 혈중 알코올 농도에 따라 다양한 반응을 일으킨다고 알려져 있다[19]. 과량을 섭취했을 경우, 기억의 형성을 방해하고 이것은 알코올성 기억장애라고도 불리는 블랙아웃(blackout)으로 이어질 수 있다[7]. 지속적인 음주로 인해 이러한 현상이 반복적으로 발생하게 되면 뇌 백질 용적의 감소, 뇌유래 신경 성장 인자(brain-derived neurotrophic factor; BDNF)의 합성을 저하시켜 심한 경우 알코올성 치매로 이어질 수 있다[9, 12, 21]. 그러므로 알코올에 의한 신경 변성을 감소시키는 약물의 필요성이 제기되고 있으나 현재로서는 acamprosate나 altrexone과 같은 알코올 의존 환자를 위한 항갈망

제만이 주로 사용되고 있으며 알코올 유도 인지기능 저하를 위한 약물에 대한 연구는 아직 미비한 실정이다[11].

시냅스 가소성은 다양한 뇌기능에 관련되어있는 현상으로 다양한 뇌질환에서 변화가 나타난다[4]. 특히 시냅스 장기강화(long-term potentiation, LTP)는 세포수준의 기억의 기전이라고 알려져 있어 기억력이 감퇴되는 다양한 질환에서 손상이 나타난다[3, 18]. 특히 N-Methyl-D-aspartate (NMDA) 수용체의 의존성 LTP가 기억력과 관련이 있음이 보고되어 있어 다양한 뇌질환에서 NMDA 수용체의 의존성 LTP의 변화기전이 연구되고 있다[1, 17]. 기억의 형성과 밀접한 관련이 있는 해마에서의 LTP는 치매, 우울증 등 인지력 감퇴와 관련된 질환에서 억제되어있음이 보고되어 있어 이들 뇌질환 치료제의 표적이 되고 있다[24, 25].

에탄올은 해마에서의 LTP를 억제한다고 보고되어 있다[16]. 이는 에탄올이 시냅스상에 존재하는 NMDA 수용체의 세포내로의 함입을 증가시키는 기전에 기인한다[16]. NMDA 수용체의 세포내로의 함입에 따라 NMDA 수용체를 경유한 신호전달이 감소하게 되고 이것이 NMDA 수용체 의존성 LTP의 형성을 방해한다는 것이다[20]. 따라서 이러한 NMDA 수용체의 변화를 차단할 수 있는 물질은 알코올성 건망증 즉 블랙아웃을 억제할 수 있는 후보물질이 될 수 있을 것이다. 기존 연구에 따르면 수국(*Hydrangea Dulcis Folium*)과 단삼(*Salvia miltiorrhiza* root) 추출물이 이러한 효과가 있음이 보고

#### \*Corresponding author

Tel : +82-10-200-7583, Fax : +82-10-200-7583

E-mail : mose79@dau.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

되어있다[10, 15].

눈을 밝게 해준다는 뜻에서 유래된 결명자(*Cassia obtusifolia* seeds)는 쌍떡잎식물 장미목과의 식물로 예로부터 동아시아에서 차의 형태로 음용되어왔다. 결명자의 유효 성분으로는 emodin, obtusifolin, obtusin 등이 있으며 간보호, 항산화, 항돌연변이 효과 등이 보고되었다[13]. 신경계 관련 작용으로는 베타 아밀로이드에 의한 기억력 저하 개선과 BDNF 생성 촉진 효과 등이 알려져 있으며 알코올과 관련된 연구는 보고된 바 없다[13].

본 연구는 결명자 에탄올 추출물이 알코올에 의한 기억력 손상 및 fEPSP의 감소를 억제한다는 사실을 확인하였고, 이는 알코올성 기억 장애와 뇌 손상 보호 약물 개발을 위한 기초연구로서의 의미를 가진다.

## 재료 및 방법

### 약물 및 시약

알코올(99.9% EtOH)과 NBQX는 각각 Sigma-Aldrich Chemistry Co. (St.Louis, MO, USA)와 Tocris Bioscience (Ellisville, MO, USA)에서 구입하였다.

### 추출물의 제조

본 연구에 사용한 결명자 씨는 경동약령시장(서울, 대한민국)에서 구입하여, 경희대학교 약학대학 육창수 교수에게 감정 받은 후 사용하였다. 그 기준표본은 경희대학교 약학대학 식물표본실에 보관하였다(*Cassiae semen* KHUOPS-04-31). 결명자 씨에 70% 에탄올(EtOH 수용액을 가하여 3회 추출한 다음 여과하였다. 여과액은 감압농축 하였고, 동결건조기(model FD-5N; Eyela, Tokyo)로 건조하여 실험에 사용하였다. 이 추출물을 COE라 명명하였다(수득률: 10.3%).

### 실험동물

6주령의 수컷 ICR 마우스(26~28 g)를 (주)샘타코(오산, 대한민국)로부터 공급받았다. 마우스는 온도(23±2°C), 습도(55±10%), 명암주기(12시간, 오전 7:30부터 오후 7:30까지)가 자동으로 조절되는 동아대학교 생명자원과학대학 동물실험실의 clean cage 내에서 사육되었고, 물과 사료는 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였다. 모든 동물은 실험에 앞서 약 5일 간의 적응 기간을 가졌다. 실험동물의 취급 및 관리는 실험동물윤리위원회 동물실험 취급 규정을 따랐으며, 동아대학교 동물실험 윤리심의 위원회의 승인을 받아 진행하였다(DIACUC-승인-17-20).

### 해마 조직절편의 제작

마우스를 흡입 마취제인 이소플루란을 사용하여 마취하였고, 경추탈골하여 안락사 시켰다. 마우스의 뇌는 적출 즉시 차가운 인공 뇌척수액(95% O<sub>2</sub>/5%CO<sub>2</sub>; NaCl 124 mM; KCl

3 mM; NaHCO<sub>3</sub> 26 mM; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.25 mM; CaCl<sub>2</sub> 1 mM; MgSO<sub>4</sub> 1 mM; D-glucose 10 mM)에 담구어 손상을 최소화하였다. 해마는 McILWAIN tissue chopper 를 이용하여 400 μm 두께로 절단하였고, hippocampal slice는 인공 뇌척수액(20-25°C)에서 1시간 이상 배양한 다음 실험에 사용하였다.

### 세포외 전기생리학적 측정

Hippocampal slice를 약 1시간가량 배양한 다음 recording chamber로 이동하였다. Chamber는 95% O<sub>2</sub>/5% CO<sub>2</sub>가 환기되는 28~30°C의 인공 뇌척수액이 분당 3 ml의 속도로 공급되도록 유지하였다. 해마의 CA1 영역 피라미드층의 신호를 측정하였고, 자극 전극은 schaffer-colleteral pathway에 위치시켰다. LTP를 유도하기 위한 방법으로는 세타 버스트 자극(theta-burst stimulation; TBS, 5 pulses at 100 Hz with 200 ms inter-burst intervals)을 사용하였으며, LTP 유도 전 20분간 baseline을 측정하였다. 또한 NMDA 수용체 매개 field 흥분성 시냅스후전위(field excitatory postsynaptic potential; fEPSP)를 확인하기 위하여 AMPA 수용체 길항제인 NBQX (50 μM)을 관류하였다.

### 수동회피실험

해당 실험은 어두운 곳을 선호하는 마우스의 습성을 이용하여 기억력을 측정하는 방법이다. 마우스를 밝은 방에 위치시키고, 10초간 적응시킨 후 어두운 방과 연결된 quillotine 문을 열어 어두운 방으로 이동하기까지의 시간을 측정하였다. 어두운 방으로 이동한 마우스에게는 3초간 0.5 mA의 전류를 가하였다. 24시간 후, 동일한 방법으로 마우스가 어두운 방으로 이동하기까지의 시간을 측정하였다. Olfactory cues를 제거하기 위하여 70% EtOH를 사용하여 실험 장비를 닦아주었다.

COE는 acquisition trial 1시간 전에 경구 투여 하였고, EtOH (1 g/kg)는 COE 투여 30분 후에 복강으로 투여하였다. 마우스는 각 군당 10마리씩 사용하였다.

### Y자 미로실험

측정 장비는 가로 5 cm, 세로 36.5 cm, 높이 15 cm 크기의 가지 3개로 이루어진 Y자 미로를 사용하였다. 가지 간의 기울기는 120°이며, 각각 A, B, C라 명명하였다. 마우스를 Y자 미로의 중심에 위치시킨 후, 7분 간 이동 방향을 측정하였다. 세 개의 다른 가지에 순차적으로 들어간 경우를 변경 행동력(alternation behavior)이라 정의하고, 1점을 부여하였다. 변경 행동력을 구하기 위한 수학적식은 다음과 같다.

$$\text{변경 행동력(\%)} = \frac{\text{실제 변경(actual alternation)}}{\text{최고 변경(maximum alternation)} \times 100} \\ (\text{최고 변경 : 총 입장 횟수} - 2)$$

실험에 사용한 동물 수와 EtOH와 COE의 투여 방법 및 농

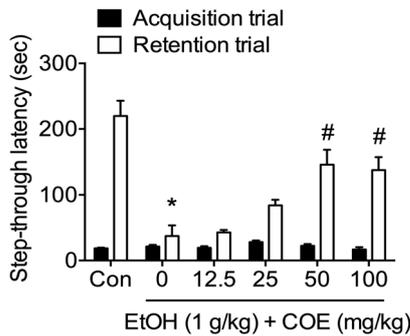


Fig. 1. COE ameliorates EtOH-induced memory deficit in the passive avoidance test. COE (0-100 mg/kg) was orally administrated 1 hr before acquisition trial. EtOH (1 g/kg) was intraperitoneally injected 30 min after COE treatment. Retention trial was performed 24 hr after the acquisition trial (n=10/group). EtOH (1 g/kg) decreased step-through latency in retention trial and COE (50, 100 mg/kg) reduced EtOH-induced decrease of step-through latency at dose-dependent manner. Data represent mean  $\pm$  S.E.M. \* $p$ <0.05 vs control, #  $p$ <0.05 vs EtOH only group.

도는 수동회피실험과 동일하다.

**통계처리**

모든 실험의 결과는 mean  $\pm$  S.E.M으로 표현하였다. 결과간의 유의성은 일원배치분산분석(one-way ANOVA)으로  $p$ <0.05 수준에서 Student-Newman-Keuls test를 사용하여 검정하였다.

**결과 및 고찰**

**COE의 에탄올로 유도된 건망증 개선효과**

COE가 에탄올에 의한 기억력 손상에 어떠한 영향을 미치는지 확인하기 위하여 수동회피실험과 Y자 미로 실험을 수행하였다(Fig. 1, Fig. 2). 수동회피실험의 acquisition trial에서는 대조군과 실험군 간의 별다른 차이가 없었다( $F_{5,42}=1.392$ ,  $p$ >0.05,  $n=8$ /group, Fig. 1). 수동회피실험의 retention trial에서 대조군에 비하여 EtOH를 처리한 군에서 latency time이 감소하였고( $p$ <0.05), 이것이 COE에 의해 농도의존적으로 개

선되었다. 특히 COE 50 mg/kg와 100 mg/kg 농도에서는 EtOH 군에 비해 유의적인 증가가 나타났다( $F_{5,42}=16.40$ ,  $p$ <0.05,  $n=8$ /group, Fig. 1). Y자 미로 실험에서도 전체 이동 횟수는 모든 군에서 비슷한 수준을 유지하였다( $F_{5,42}=0.768$ ,  $p$ >0.05,  $n=8$ /group, Fig. 2A). COE 100 mg/kg은 EtOH에 의해 감소한 자발적 변경률(spontaneous alternation)을 대조군과 비슷한 수준까지 증가시켰다( $F_{5,42}=2.565$ ,  $p$ <0.05,  $n=8$ /group, Fig. 2B).

**COE의 에탄올로 유도된 시냅스 가소성 감퇴 개선효과**

알코올이 해마에서의 LTP 형성을 억제하여 블랙아웃을 유발한다는 것은 이미 많은 연구들을 통해 밝혀진 바 있다[15, 16, 20]. 앞선 실험에서 우리는 COE가 에탄올에 의해 유도된 기억력 손상을 개선시킨다는 것을 확인하였다. 따라서 이러한 결과가 에탄올에 의한 LTP 손상과도 관련이 있는지 알아보기 위하여 전기생리학을 통한 fEPSP를 측정하였다. 그 결과 우리는 COE (30  $\mu$ g/ml)가 에탄올에 의해 억제된 LTP를 정상 수준까지 회복시킨다는 것을 확인할 수 있었다( $F_{2,15}=17.26$ ,  $p$ <0.05,  $n=6$ /group, Fig. 3A, Fig. 3B).

**COE의 에탄올에 의한 NMDA 수용체 활성 저하 개선효과**

이전 연구를 통해 에탄올에 의한 NMDA 수용체 매개 흥분성 시냅스 후 전위의 감소가 알코올성 블랙아웃을 유발하는 메커니즘이라는 것이 밝혀졌다[15, 20]. 따라서 본 연구에서는 NMDA 수용체 매개 fEPSP만을 측정하기 위하여 해마 조직편에 AMPA 수용체 길항제인 NBQX (50  $\mu$ M)를 처리하였다. 아무런 약물도 처리하지 않은 대조군에서는 NMDA 매개 fEPSP의 변화가 관찰되지 않았으나(Fig. 4A), 에탄올(80 mM)처리에 의해 fEPSP가 감소하였다( $p$ <0.05, Fig. 4B). 에탄올에 의한 NMDA 매개 fEPSP의 감소는 COE (30  $\mu$ g/ml)처리에 의해 확연하게 개선되었다( $F_{2,15}=20.96$ ,  $p$ <0.05,  $n=6$ /group,  $p$ <0.05, Fig. 4C, Fig. 4D). 이러한 결과는 COE가 에탄올에 의해 감소된 NMDA 매개 fEPSP 증가를 통해 알코올성 블랙아웃 억제 효과를 가짐을 시사한다.

본 연구를 통해 에탄올이 기억 장애를 유발하고 LTP와 NMDA 수용체 매개 fEPSP를 억제하였으나 COE가 그것을 개선시킨다는 것을 확인하였다. 이러한 결과는 COE가 에탄올

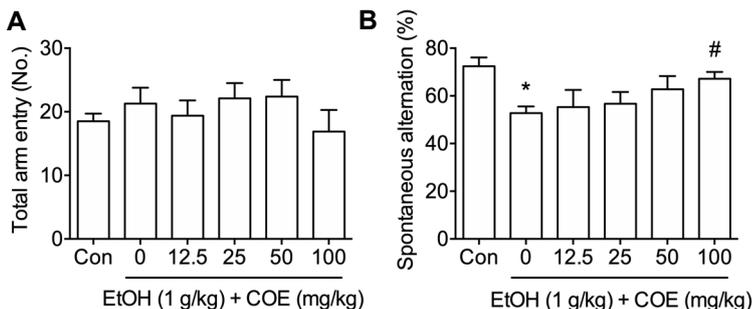


Fig. 2. COE ameliorates EtOH-induced memory deficit in the Y-maze test. To identify the effect of COE on EtOH-induced memory impairment, Y-maze test was performed (n=10/group). (A) There was no significance at total arm entry. (B) Spontaneous alternation was reduced by EtOH (1 g/kg), but improved by a combination of EtOH and COE (100 mg/kg). Data represent mean  $\pm$  S.E.M. \* $p$ <0.05 vs control, # $p$ <0.05 vs EtOH only group.

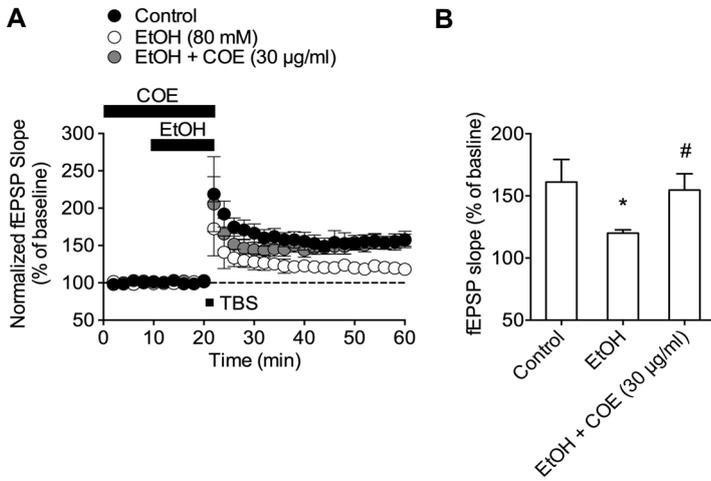


Fig. 3. COE reduces ethanol-induced LTP impairment. Hippocampal slices were incubated in EtOH (80 mM) and COE (30µg/ml) for 10 min and 20 min before TBS induction, respectively (n=7). After measuring the baseline for 20 min, TBS was introduced to induce LTP. (A) EtOH reduced the fEPSP slope, and COE recovered it. (B) Bar chart of data from 60 min time point of A. Data represent mean ± S.E.M. \**p*<0.05 vs control, # *p*<0.05 vs EtOH only group.

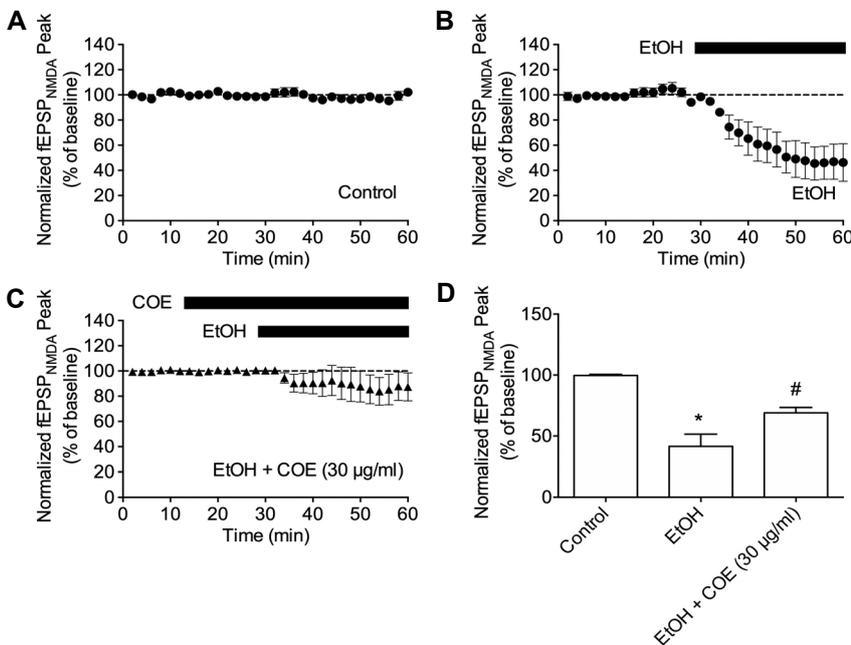


Fig. 4. COE improves ethanol-induced NMDA-mediated fEPSP. Hippocampal slices were incubated in NBQX (50 µM), AMPA receptor antagonist, to identify the NMDA-mediated fEPSP (n=7). (A) Control group. (B) EtOH treatment decreased the NMDA receptor-mediated fEPSP. (C) COE treatment blocked EtOH-induced NMDA receptor-mediated fEPSP deficit. Data represent mean ± S.E.M. \* *p*<0.05 vs control, # *p*<0.05 vs EtOH only group.

에 의한 신경학적 손상 치료에 효과적인 후보 물질이 될 수 있음을 의미한다.

해마에서의 LTP 형성은 학습과 기억에 중요한 역할을 한다고 여겨져 왔다[23]. LTP가 형성되기 위해서는 NMDA 수용체를 통한 Ca<sup>2+</sup>의 유입이 필수적이다[2]. Ca<sup>2+</sup>의 유입은 cyclic adenosine monophosphate의 생성을 촉진시키고, cAMP response element binding를 비롯한 하위 기전들을 활성화시켜 LTP를 형성한다[2, 6, 23]. 이에 따라 NMDA 수용체 길항제로 작용하는 에탄올에 의한 제한적 cAMP의 생성이 NMDA 수용체 의존적 LTP의 형성을 억제하였다고 사료된다. 결정자 성분 중 하나인 obtusin과 aurantio-obtusin은 강력한 cAMP phosphodiesterase 억제제로 알려져 있다[14]. 그렇기 때문에 COE가 에탄올에 의해 감소된 cAMP의 생성을 증가시켜 NMDA 수용체 의존형 fEPSP를 회복시킨 것이라 추측된다.

본 연구 결과는 COE의 에탄올에 의한 blackout 치료 및 신경 보호제로서의 가능성을 시사하고 있으나 정확한 작용 기전에 대해서는 나타내지 못 하였기 때문에 작용 기전과 활성 성분에 대한 추가적인 연구가 동반되어야 한다고 사료된다. 뿐만 아니라 인간의 경우는 에탄올에 자주 노출되어 있었지만 실험동물의 경우 본 실험 이전에 전혀 에탄올에 노출된 적이 없다. 이러한 상황에서 나온 결과를 일반 인간에게 적용하기 위해서는 많은 추가 연구가 필요할 것이라 생각된다.

### 감사의 글

이 논문은 동아대학교의 지원을 받아 연구되었음.

## References

- Bauer, E. P., Schafe, G. E. and LeDoux, J. E. 2002. NMDA receptors and L-type voltage-gated calcium channels contribute to long-term potentiation and different components of fear memory formation in the lateral amygdala. *J. Neurosci.* **22**, 5239-5249.
- Bito, H., Deisseroth, K. and Tsien, R. W. 1996. CREB phosphorylation and dephosphorylation: a Ca<sup>2+</sup>-and stimulus duration - dependent switch for hippocampal gene expression. *Cell* **87**, 1203-1214.
- Chen, C. and Tonegawa, S. 1997. Molecular genetic analysis of synaptic plasticity, activity-dependent neural development, learning, and memory in the mammalian brain. *Annu. Rev. Neurosci.* **20**, 157-184.
- Citri, A. and Malenka, R. C. 2008. Synaptic plasticity: multiple forms, functions, and mechanisms. *Neuropsychopharmacology* **33**, 18-41.
- Curtin, J. J., Patrick, C. J., Lang, A. R., Cacioppo, J. T. and Birbaume, N. 2001. Alcohol affects emotion through cognition. *Psychol. Sci.* **6**, 527-531.
- Deisseroth, K., Bito, H. and Tsien, R. W. 1996. Signaling from synapse to nucleus: postsynaptic CREB phosphorylation during multiple forms of hippocampal synaptic plasticity. *Neuron* **16**, 89-101.
- Dodd, P. R., Beckmann, A. M., Davidson, M. S. and Wilce, P. A. 2000. Glutamate-mediated transmission, alcohol, and alcoholism. *Neurochem. Int.* **37**, 509-533.
- Gerson, L. W. and Donald, A. P. 1979. Alcohol consumption and the incidence of violent crime. *J. Stud. Alcohol.* **3**, 307-312.
- Joe, K. H., Kim, Y. K., Kim, T. S., Roh, S. W., Choi, S. W., Kim, Y. B., Lee, H. J. and Kim, D. J. 2007. Decreased plasma brain-derived neurotrophic factor levels in patients with alcohol dependence. *Alcohol Clin. Exp. Res.* **31**, 1833-1838.
- Kim, D. H., Park, H. J., Jung, J. W. and Lee, S. 2017. Effect of the extract of *Hydrangea Ducis Folium* on alcohol-induced psychiatric deficits. *J. Life Sci.* **27**, 355-360.
- Kranzler, H. R. and Jeffrey, V. K. 2001. Efficacy of naltrexone and acamprosate for alcoholism treatment: a meta-analysis. *Alcohol Clin. Exp. Res.* **25**, 1335-1341.
- Kril, J. J. and Glenda, M. H. 1999. Brain shrinkage in alcoholics: a decade on and what have we learned? *Prog. Neurobiol.* **58**, 381-387.
- Malenka, R. C. 1994. Synaptic plasticity in the hippocampus: LTP and LTD. *Cell* **78**, 535-538.
- Nikaido, T., Ohmoto, T., Sankawa, U., Kitanaka, S. and Takido, M. 1984. Inhibitors of adenosine 3', 5'-cyclic monophosphate phosphodiesterase in Cassia seed. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **32**, 3075-3078.
- Park, H. J., Lee, S., Jung, J. W., Lee, Y. C., Choi, S. M. and Kim, D. H. 2016. *Salvia miltiorrhiza* Bunge blocks ethanol-induced synaptic dysfunction through regulation of NMDA receptor-dependent synaptic transmission. *Biomol. Ther. (Seoul)*. **24**, 433-437.
- Ramachandran, B., Ahmed, S., Zafar, N. and Dean, C. 2015. Ethanol inhibits long-term potentiation in hippocampal CA1 neurons, irrespective of lamina and stimulus strength, through neurosteroidogenesis. *Hippocampus* **25**, 106-118.
- Rodríguez-Durán, L. F. and Escobar, M. L. 2014. NMDA receptor activation and PKC but not PKA lead to the modification of the long-term potentiation in the insular cortex induced by conditioned taste aversion: differential role of kinases in metaplasticity. *Behav. Brain Res.* **266**, 58-62.
- Stuchlik, A. 2014. Dynamic learning and memory, synaptic plasticity and neurogenesis: an update. *Front. Behav. Neurosci.* **8**, 106.
- Tizabi, Y., Getachew, B., Ferguson, C. L., Csoka, A. B., Thompson, K. M., Gomez-Paz, A., Ruda-Kucerova, J. and Taylor, R. E. 2018. Low vs. high alcohol: central benefits vs. detriments. *Neurotox. Res.* **34**, 860-869
- Tokuda, K., Izumi, Y. and Zorumski, C. F. 2011. Ethanol enhances neurosteroidogenesis in hippocampal pyramidal neurons by paradoxical NMDA receptor activation. *J. Neurosci.* **31**, 9905-9909.
- Tsai, G., Gastfriend, D. R. and Coyle, J. T. 1995. The glutamatergic basis of human alcoholism. *Am. J. Psychiatry* **152**, 332-340.
- White, A. M. 2003. What happened? Alcohol, memory blackouts, and the brain. *Alcohol Res. Health* **2**, 186-196.
- Wong, S. T., Athos, J., Figueroa, X. A., Pineda, V. V., Schaefer, M. L., Chavkin, C. C., Muglia, L. J. and Storm, D. R. Calcium-stimulated adenylyl cyclase activity is critical for hippocampus-dependent long-term memory and late phase LTP. *Neuron* **23**, 787-798.
- Yamin, G. 2009. NMDA receptor-dependent signaling pathways that underlie amyloid beta-protein disruption of LTP in the hippocampus. *J. Neurosci. Res.* **87**, 1729-1736.
- Zhang, J., Li, Y., Xu, J. and Yang, Z. 2014. The role of N-methyl-D-aspartate receptor in Alzheimer's disease. *J. Neurol. Sci.* **339**, 123-129.

## 초록 : 결명자 에탄올 추출물이 알코올로 유도된 기억 장애에 미치는 영향

권희영<sup>1</sup> · 조은비<sup>1</sup> · 전지은<sup>1</sup> · 이영춘<sup>1,2</sup> · 김동현<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>동아대학교 건강과학대학 의약생명공학과, <sup>2</sup>동아대학교 바이오헬스융합연구소)

최근 알코올 소비량이 증가함에 따라 과량의 에탄올을 섭취하는 경우 또한 늘어나고 있다. 이런 과도한 에탄올 섭취는  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) 수용체의 활성화와 glutamate 수용체의 활성 억제를 통해 신경계를 교란시켜 단기 기억 형성을 방해 한다. 알코올에 의한 인지기능의 저하는 알코올성 black out을 유도할 수 있으며, 반복될 경우 알코올성 치매로 이어질 수 있기 때문에 black out을 예방하는 치료제의 개발이 필요하다. 따라서 본 연구자는 해당 연구를 통하여 *Cassia obtusifolia* seeds 에탄올 추출물(COE)이 가진 black out 예방제로써의 가능성을 평가하였다. 본 연구에서는 에탄올에 의해 유도된 기억 장애에 대한 COE의 효과를 확인하였다. 실험 동물의 기억력을 측정하기 위하여 수동 회피 실험과 Y자 미로 실험을 수행하였고, 마우스 해마 절편을 사용하여 에탄올이 기억의 형성과 관련하여 장기 강화(long term potentiation; LTP)에 어떠한 영향을 끼치는지 전기생리학을 통해 확인하였다. 또한  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid 수용체 길항제인 NBQX (50  $\mu$ M)를 사용하여 에탄올에 의한 인지기능 장애와 관련이 있다고 알려진 N-Methyl-D-aspartate (NMDA) 매개 field 흥분성 시냅스 후 전위를 측정하였다. 결과적으로, COE는 에탄올에 의한 기억력의 손상을 방지하였고, 해마 절편에서 에탄올에 의해 감소된 LTP와 NMDA 매개 흥분성 시냅스 후 전위를 대조군과 비슷한 수준까지 회복시켰다.