

Original Article / 원저

# Caffeine 및 광자극 유발 스트레스 동물모델에서 구기자 복합물이 스트레스 완화 및 혈중 멜라토닌에 미치는 영향

김이화<sup>1</sup> · 황동석<sup>2</sup> · 김희택<sup>3</sup> · 김용민<sup>4</sup>

세명대학교 한의과대학 경락경혈학교실(교수<sup>1</sup>)

로빈한의원(대표원장<sup>2</sup>)

세명대학교 한의과대학 한방안ibi인후피부과학교실(교수<sup>3</sup>)

세명대학교 화장품 · 뷰티생명공학부(교수<sup>4</sup>)

## Effect of Herbal Mixture including Lycii Fructus (HML) on Stress Relief and Melatonin in Caffeine and Light induced Stress Animal Model

*Ee-Hwa Kim<sup>1</sup> · Dong-Suk Hwang<sup>2</sup> · Hee-Taek Kim<sup>3</sup> · Yong-Min Kim<sup>4</sup>*

<sup>1</sup>Dept. of Meridian and Acupoint, College of Korean Medicine, Semyung University

<sup>2</sup>Robin Korean Medical Clinic

<sup>3</sup>Dept. of Ophthalmology, Otolaryngology & Dermatology, College of Korean Medicine, Semyung University

<sup>4</sup>Dept. of Cosmetic Science & Beauty Biotechnology, Semyung University

### Abstract

**Objectives** : In the present study, we investigated whether or not an herb mixture including Lycii fructus(HML) has attenuation effects on light stress in rats.

**Methods** : Light stress was induced by exposure to 300 lx of constant light for 24 h and 1mg/kg of caffeine was injected into the rat. Rats were orally treated with distilled water of HML for 21 days at 100mg/kg/d. The changes of mortality rate, clinical signs, body, blood chemistry, melatonin and IL-2 expression were analyzed after experiment.

**Results** : Normal weight changes were observed in all treatment groups. In addition, no changes were observed in dead animals and general symptoms. At the time of autopsy, the appearance of all groups and gross examination of major organs were observed, and no gross findings were observed. Blood biochemical tests showed that total cholesterol and HDL cholesterol levels were statistically significantly decreased in the group treated with HML compared to the stress-induced group. Melatonin was measured in the blood, but there was no significant difference in the group treated with HML compared to the group with stress-induced group, but it tended to increase. IL-2 was measured in the blood, no significant change was observed in the group treated with HML compared to the stress-induced group.

© 2020 the Society of Korean Medicine Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology

This is an Open Access journal 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.

**Conclusions** : According to the above results, HML maybe help with hematological changes expressed by caffeine and light-induced stress.

**Key words** : Stress; Relaxation; Caffeine; Lycii Fructus

## I. 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 신체의 평형상태를 유지하는 자율신경계의 균형을 깨뜨려 심리적으로 불안정을 초래하고 호르몬의 불균형 및 수면장애 등을 초래하게 된다<sup>1-3)</sup>.

Caffeine의 복용은 인체에서 수면장애 스트레스를 유발할 수 있으며, 수면이 부족하게 되면 위장관계 질환, 근육통, 피로 등의 신체적 문제뿐만 아니라 불안 및 우울 등의 정신적인 문제를 초래하게 된다<sup>4-6)</sup>. 이처럼 현대인들에게 수면장애로 인한 불면증, 불안 및 우울증 등은 아주 흔히 발생하는 증상인데 반해 대부분의 환자는 진료를 통해 전문의약품 치료를 받는 대신 음주 또는 비처방 일반의약품으로 극복하려는 경향이 있다<sup>7)</sup>. 처방약에 의존하는 사람들도 있는데 흔히 benzodiazepines 계열의 약물과 zolpidem이나 zopiclone 과 같은 약물을 사용한다<sup>8)</sup>. 그러나 이러한 처방약은 약물 의존성을 유발하고 악몽, 메스꺼움, 두통, 어지러움, 넘어짐 등의 부작용이 있다<sup>9-11)</sup>. 따라서 부작용이 적으면서 스트레스 완화에 효과를 지닌 천연물 유래 대체의약품을 개발하는 것이 절실히 필요하다.

본 연구에 사용되어질 대표적 한약재인 枸杞子는 가지과에 속하는 낙엽성 활엽 관목으로 성질은 차고 성미는 쓰고 달며 간과 신장에 작용하여 시력을 개선하고 몸이 허약하여 생기는 병을 다스린다. 주요 성분으로는

betaine, zeaxanthin 등이 함유되어 있으며, 이에 관한 연구로는 항산화효과<sup>12)</sup>, 혈당강하작용<sup>13,14)</sup>이 보고되었고, 유해 산소 및 알코올의 해독<sup>15)</sup>, zeaxanthin 성분의 간 보호 효과<sup>16)</sup>에 대해 보고되었다. 또한 《東醫治療經驗集成》에 枸杞子로 만성 스트레스성 위염 환자 20례를 치료한 증례가 있을 정도로, 임상에서 스트레스성 질환에 대응되는 단미약물이다<sup>17)</sup>. 따라서 본 연구진은 이러한 연구에 착안하여 枸杞子를 포함한 복합처방을 구성하여 한의원에 내원한 환자를 대상으로 수면장애 및 스트레스 완화를 목적으로 사용하여왔다.

이에 본 연구에서는 caffeine 및 빛 스트레스 유발 동물모델에서 구기자복합물이 혈액학적 변화 및 스트레스 완화에 미치는 영향을 규명하고자 하였다. Caffeine 및 빛 스트레스 유발 동물모델에서 구기자복합물을 경구투여 한 후, 체중변화, 혈액생화학적 검사, melatonin 측정 및 interleukin-2(IL-2) 측정 분석 등을 통하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험 재료

#### 1) 동물

동물은 체중 150±10.0g의 Sprague Dawley 웅성 rat을 실내습도 40-60%와 실내온도 24-26℃가 유지되는 항온항습 환경이 준비된 사육장 안에서 물과 사료(Pellet, GMO, 한국)를 충분히 공급하고 1주일 이상 환경에 적응시킨다. 그리고 실험에 사용하였으며, 실험 기간에는 물과 고형사료를 자유롭게 섭취하게 하였다. 본 실험은 동물실험에 대한 과학적, 윤리적 타당성을 검토하고, 효율적인 관리를 위하여 동물실험윤리위원회의 승인(승인번호 : IAC2017-1400)을 받았다.

Corresponding author : Yong-Min Kim, Dept. of Cosmetic Science & Beauty Biotechnology, Semyung University, Jecheon Chungbuk 27136, South Korea.

(Tel : 062-350-7217, E-mail : dragonroom@hanmail.net)

•Received 2020/10/7 •Revised 2020/10/24 •Accepted 2020/10/31

2) 약재

본 실험에 사용된 약재는 (주)HMAX에서 구입하였으며, 용량은 다음과 같다 (Table. 1).

Table 1. Contents of Herbal Mixture

| Name  | Botanical Name                                    | Weight(g) |
|-------|---|-----------|
| 枸杞子   | <i>Lycium chinesis</i> Miller                     | 40g       |
| 木天蓼   | <i>Actinidia polygama</i> Miquel                  | 32g       |
| 木瓜    | <i>Chaenomeles sinensis</i> Koehne                | 12g       |
| 蘆根    | <i>Phragmites communis</i> Trinius                | 12g       |
| 五加皮   | <i>Acanthopanax sessiliflorum</i> Seeman          | 12g       |
| 葛根    | <i>Pueraria lobata</i> Ohwi                       | 12g       |
| 吉草根   | <i>Valeriana fauriei</i> Briquet                  | 12g       |
| 山茱萸   | <i>Cornus officinalis</i> Siebold et Zuccarini    | 12g       |
| 大棗    | <i>Zizyphou jujuba</i> Miller var. <i>inermis</i> | 8g        |
| 人參    | <i>Panax ginseng</i> C.A. Meyer                   | 8g        |
| total |   | 160g      |

3) 시료조제

본 연구에 사용된 한약재들을 3차 증류수 1,000ml와 함께 넣은 뒤 heating mantle를 이용하여 4시간동안 가열하고 6시간 냉각시켜 구기자복합 추출물을 제조하였다. 추출물을 얻은 후 거즈로 1차 여과 한 후 여과지로 2차 여과를 진행하였다. 여과를 마친 후 여과액을 감압 농축하여 100ml 농축액을 얻었다. 농축액을 -80℃ 냉동고에 얼린 후 동결건조 한 뒤 분말을 얻어 시료로 사용하였다. 동결건조 추출물은 30g을 얻었고 수율은 약 19%이다.

2. 실험방법

1) 실험동물군 분리

순화 후 건강한 개체를 선별하여, 각 군간 평균체중 및 표준편차가 균일하도록 무작위법으로 군 분리를 실

시하였다. 실험군은 정상대조군, 스트레스 유발군 그리고 구기자복합물 투여군으로 구별하여 한 군에 6마리씩 배정하였다.

2) 검액 투여

구기자복합물은 1일 1회 총 21일간 투여하였다. 투여량은 100mg/kg, 투여액량은 10ml/kg로 산정하여 경구투여 하였다.

3) 스트레스 유발

실험기간동안 매일 24시간 300lx의 빛 자극을 주었고, caffeine을 1mg/kg 농도로 매일 복강주사 하였다.

4) 일반증상 관찰

실험기간 중, 모든 동물에 대하여 매일 1회 일반증상의 변화, 독성증상 및 사망유무의 관찰을 실시하였다.

5) 체중의 측정

실험동물의 체중은 실험개시 0일, 7일, 14일 그리고 21일에 측정하였다.

6) 부검

혈액 채취 전 전체 실험군은 18시간 이상 절식시켰다. 부검 시 생존동물은 동물마취제(zoletil)로 마취하여 심장채혈 및 안락사(경추탈골) 시킨 다음 체표 및 모든 체공(external surface & all orifices), 두개강(cranial cavity), 흉강 및 복강의 모든 장기(thoracic and abdominal cavities & their contents)에 대하여 육안적 검사를 실시하였다.

7) 혈액생화학적 검사(Table 2)

채혈한 혈액 중 혈액검사에 사용된 혈액을 제외한 나머지 혈액을 실온에서 응고시킨 다음 냉장원심분리(3000rpm, 4℃, 10분)하여 혈청을 취한 후 생화학분석기(TBA-120FR, TOSHIBA, Japan)를 이용하여 다음과 같이 측정하였다.

Table 2. Contents of Blood Chemistry

| Category                         | Unit   |
|----------------------------------|--------|
| Total Protein (TP)               | g/dl   |
| Albumin (ALB)                    | g/dl   |
| A/G ratio (A/G)                  | -      |
| Total bilirubin (T-BIL)          | mg/dl  |
| Alkaline phosphatase(ALP)        | U/L    |
| Aspartate aminotransferase (AST) | U/L    |
| Alanine aminotransferase (ALT)   | U/L    |
| Gamma glutamyl-transferase (GGT) | IU/L   |
| Creatinine (CREA)                | mg/dl  |
| Blood urea nitrogen(BUN)         | mg/dl  |
| Total cholesterol (T-CHO)        | mg/dl  |
| Low density lipoprotein (LDL)    | mg/dl  |
| High density lipoprotein (HDL)   | mg/dl  |
| Triglycerides (TG)               | mg/dl  |
| Glucose (GLU)                    | mg/dl  |
| Calcium (CA)                     | mg/dl  |
| Inorganic phosphorus(IP)         | mg/dl  |
| Sodium (Na+)                     | mmol/L |
| Potassium (K+)                   | mmol/L |
| Chloride (Cl-)                   | mmol/L |

8) 혈액 내 melatonin 및 IL-2 발현 측정

혈액 내 melatonin 측정을 위해 Melatonin (ab213978, Abcam, USA)를 사용하였으며, IL-2측정을 위해 IL-2(R2000, R&D SYSTEM, USA)를 사용하였다. Microplate에 100 $\mu$ l standard, control, serum.을 첨가하고 plate cover로 tapping하고 mixing한 후 실온에 2시간 30분간 배양하였다. 300 $\mu$ l washing solution으로 5회 세척 후 100 $\mu$ l 1X biotinylated antibody를 첨가하고 plate cover로 tapping하고 실온에 1시간 배양하였다. 300 $\mu$ l washing solution으로 5회 세척 후 100 $\mu$ l TMB one-step substrate reagent를 첨가한 후 암실상태로 실온에 30분간 배양하였다. 100 $\mu$ l stop solution을 plate에 놓고 반응을 중지시키고, enzyme linked immunosorbent assay(ELISA) kit를 이용하여 흡광

도 변화를 측정하였다.

3. 통계분석

본 시험에서는 체중, 혈액생화학적 검사 및 Melatonin 및 IL-2 발현 측정 결과에 대해서 SPSS 통계 프로그램(Ver. 19.0)을 이용하여 통계분석을 수행하였다. 먼저, 분산의 동질성을 평가하기 위해 Levene's test를 수행한 후, one way ANOVA test를 실시하여 각 시험군간 유의성을 확인하였다. One way ANOVA test 수행한 결과, 시험군간 유의성이 확인되지 않으면, 추가적인 통계처리를 수행하지 않았다. 시험군 간의 유의성이 확인될 경우, 분산의 동질성 유무에 따라 사후검정 (분산이 동질한 경우 Scheffe 다중검정, 분산이 이질한 경우, Dunnett's T3)을 실시하였다. 유의수준은 p<0.05로 설정하여 확인하였다.

III. 결 과

1. 사망률 및 임상조건

실험기간 중, 모든 동물에 대하여 매일 1회 일반증상의 변화, 독성증상 및 사망유무의 관찰을 실시하였다. 일반증상의 변화를 관찰한 결과 특이한 반응을 나타내지 않았으며 물과 사료의 섭취에 대한 변화도 특이한 반응을 나타내지 않았다. 독성증상은 이상행동반응과 대소변의 상태변화를 관찰하였으나 특이한 변화가 관찰되지 않았다. 관찰투여기간 동안 사망동물의 발생은 관찰되지 않았다(Table 3).

2. 체중변화 측정

체중변화의 측정은 실험개시 0일, 7일, 14일 그리고 21일에 시행하였다. 투여기간 동안, 모든 투여군에서 정상적인 체중변화가 관찰되었으며 군 간의 통계학적인 유의한 차이는 나타나지 않았다 (Table 4).

Table 3. Mortality Rate and Clinical Signs

| Group | No. of animal | Mortality (dead/total) <sup>a</sup> | Abnormal behavior | Change of feces and urine |
|-------|---------------|-------------------------------------|-------------------|---------------------------|
| I     | 6             | 0% (0 / 6)                          | N                 | N                         |
| II    | 6             | 0% (0 / 6)                          | N                 | N                         |
| III   | 6             | 0% (0 / 6)                          | N                 | N                         |

N : Normal

<sup>a</sup> : Number of dead animals / Number of tested animals

I : untreated group; II : treated with caffeine ; III : treated with caffeine and herb mixture

Table 4. Body Weight

| Group | Body weight (g) on weeks |              |              |              |
|-------|--------------------------|--------------|--------------|--------------|
|       | 0                        | 1            | 2            | 3            |
| I     | 205.52±3.07              | 258.67±12.09 | 313.20±21.97 | 337.80±22.27 |
| II    | 205.86±3.50              | 266.50±9.57  | 329.10±14.58 | 352.67±15.74 |
| III   | 205.96±7.10              | 269.13±15.27 | 325.77±23.59 | 350.73±24.82 |

Data were represented as mean ± standard deviation

I : untreated group; II : treated with caffeine ; III : treated with caffeine and herb mixture

Table 5-1. Biochemistry Parameters

| Group | TP      | ALB     | A/G     | T-BIL     | ALP     | AST   | ALT  | CREA      | BUN      | T-CHO | TG    |
|-------|---------|---------|---------|-----------|---------|-------|------|-----------|----------|-------|-------|
| I     | 5.3±0.1 | 3.6±0.0 | 2.1±0.1 | 0.01± 0.1 | 738± 57 | 68±10 | 28±6 | 0.45±0.02 | 15.4±1.6 | 74±3  | 20±5  |
| II    | 5.5±0.1 | 3.7±0.0 | 2.1±0.1 | 0.01±0.01 | 776±131 | 72±9  | 25±2 | 0.39±0.02 | 12.7±0.8 | 65±6# | 13±3# |
| III   | 5.5±0.1 | 3.7±0.1 | 2.1±0.2 | 0.01±0.02 | 664±123 | 71±4  | 29±4 | 0.41±0.05 | 12.9±2.3 | 94±4* | 26±4* |

Data were represented as mean ± standard deviation

# : Signification difference as compared with control group (I) (*P*<0.05)

\* : Signification difference as compared with control group (II) (*P*<0.05)

TP : total protein; ALB : albumin; A/G : albumin/globulin; T-BIL : total bilirubin; ALP : alkaline phosphatase; AST : aspartate aminotransferase; ALT : alanine aminotransferase; CREA : creatinine; BUN : blood urea nitrogen; T-CHO : total cholesterol; TG : triglycerides; I : untreated group; II : treated with caffeine ; III : treated with caffeine and herb mixture

Table 5-2. Biochemistry parameters

| Group | GLU    | CA      | IP      | GGT       | HDL   | LDL  | Na+       | K+        | Cl-       |
|-------|--------|---------|---------|-----------|-------|------|-----------|-----------|-----------|
| I     | 210±35 | 9.8±0.1 | 7.6±0.4 | 0.00±0.00 | 64±8  | 20±5 | 142.6±1.3 | 4.16±0.08 | 103.6±1.1 |
| II    | 161±13 | 9.9±0.2 | 7.4±0.3 | 0.49±0.24 | 51±4# | 16±3 | 143.0±0.8 | 4.08±0.11 | 104.3±1.3 |
| III   | 171±20 | 9.9±0.3 | 7.6±0.3 | 0.12±0.21 | 68±3* | 26±4 | 143.9±0.3 | 4.13±0.19 | 104.0±1.3 |

Data were represented as mean ± standard deviation

\* : Signification difference as compared with control group (II) (*P*<0.05)

TP : total protein; ALB : albumin; A/G : albumin/globulin; T-BIL : total bilirubin; ALP : alkaline phosphatase; AST : aspartate aminotransferase; ALT : alanine aminotransferase; CREA : creatinine; BUN : blood urea nitrogen; T-CHO : total cholesterol; TG : triglycerides; I : untreated group; II : treated with caffeine ; III : treated with caffeine and herb mixture

### 3. 혈액생화학적 검사

혈액생화학적 검사 결과, Total cholesterol, TG, HDL cholesterol 수치의 경우, 스트레스 유발군에 비교하여 구기자복합물 치료군에서 통계학적으로 유의하게 감소하였다( $p < 0.05$ ) (Table 5).

### 4. Melatonin 측정(Table 6)

혈액 내에서 Melatonin을 측정한 결과, 스트레스 유발군과 비교하여 구기자복합물 치료군에서 통계학적으로 유의한 증가를 보였다.

Table 6. Melatonin expression

| Group | Melatonin (ng/ml)        |
|-------|--------------------------|
| I     | 1.55 ± 0.11              |
| II    | 1.05 ± 0.08 <sup>#</sup> |
| III   | 1.27 ± 0.08 <sup>*</sup> |

Data were represented as mean ± standard deviation  
 # : Signification difference as compared with untreated group (I) ( $P < 0.05$ )  
 \* : Signification difference as compared with control group (II) ( $P < 0.05$ )  
 I : untreated group; II : treated with caffeine ; III : treated with caffeine and herb mixture

Table 7. IL-2 expression

| Group | Melatonin (ng/mg)           |
|-------|-----------------------------|
| I     | 212.49 ± 11.50              |
| II    | 297.60 ± 10.48 <sup>#</sup> |
| III   | 290.04 ± 4.02               |

Data were represented as mean ± standard deviation  
 # : Signification difference as compared with untreated group (I) ( $P < 0.05$ )  
 I : untreated group; II : treated with caffeine ; III : treated with caffeine and herb mixture

### 5. IL-2 측정(Table 7)

혈액 내에서 IL-2를 측정한 결과, 수면장애 및 스트레스 유발군과 비교하여 구기자복합물 치료군에서 유의한 변화가 관찰되지 않았다.

## IV. 고찰

스트레스에 노출되면 생체 내에서는 신경계와 내분비계를 활성화하고 이는 면역기능에도 영향을 미친다<sup>18)</sup>. 스트레스를 방지할 경우 두통, 불면증, 불안장애, 스트레스성 고혈압, 과민성 대장증후군, 심부정맥, 기관지 천식, 만성 통증 등이 발병하거나<sup>19)</sup> 기저질환이 더욱 악화할 수 있고, 더하여 만성 스트레스는 암세포의 전이를 촉진하는 등 조기사망 위험률을 증가시킨다<sup>20,21)</sup>. 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<sup>22)</sup>. 따라서 스트레스와 수면장애는 밀접한 관계가 있으며 이를 완화하는 것은 인간의 삶의 질을 높이고 정신적·신체적 건강을 위해서 필수적이다<sup>23)</sup>.

본 연구에 사용되어진 복합물은 枸杞子, 木天蓼, 木瓜, 蘆根, 五加皮, 葛根, 吉草根, 山茱萸, 大棗, 人參 등으로 구성되어 있다. 이 약재 중에서 枸杞子는 가지과의 낙엽, 활엽, 관목으로 구기자나무 열매를 枸杞子라 하며 우리나라 전역에 자생하고 있다. 한방에서는 잎을 枸杞葉, 열매를 枸杞子, 뿌리를 地骨皮라 하며, 아미노산, 비타민 등이 함유되어 있어 정력 감퇴, 결막염, 피로회복, 현기증 등에 이용되고 있다. 木天蓼는 다래나무(미후리)과에 속한 낙엽 덩굴성 식물인 개다래나무의 과실로, 이에 대한 성분으로는 자당, 점액질, 전분, 단백질, 탄닌, 유기산, 비타민 C, 비타민 A 등이 함유되어 있는 것으로 알려져 있으며, 신장기능의 개선, 통풍, 신경통, 관절염 류마티스 등의 치료에 효과가 있다.

木瓜는 소화촉진, 보혈과 조혈작용, 항이노 작용 및 위장과 사지 근육을 풀어 주는 효능을 가지고 있는 것으로 알려져 있다. 蘆根은 우리나라에서 많이 자생하는 갈대의 뿌리를 말한다. 蘆根의 약리작용으로는 이노작용, 해열작용, 간 보호 작용, 조혈기능 강화작용 등이

있는 것으로 알려져 있다. 五加皮는 人蔘과 같은 두릅나 무과에 속하는 낙엽활엽관목으로, 오갈피라고도 하며 우리나라와 중국, 러시아에서도 생산된다. 《東醫寶鑑》이나 《本草綱目》에 의하면 오가피뿌리, 줄기 및 가지의 껍질 등을 장기복용하면 몸을 가볍게 한다하여 오래 전부터 사용해 왔다. 葛根은 콩과 침속에 속하는 칩의 뿌리로서 땀을 내며, 열을 내려 고열·두통을 치료하고 갈증을 멎게 한다. 소화불량, 두통, 빈혈, 이질, 복통, 설독, 감기, 구토와 부인들의 하혈에 쓰이고 소화를 돕는다. 吉草根은 동속근연식물로 좁쥐오좁풀, 넓은잎 쥐오좁풀, 광릉 쥐오좁풀 등이 있으며 모두 약재로 사용된다. 吉草根은 정신불안으로 인한 心煩, 不眠, 驚悸, 신경쇠약, 심근염, 산후 심장병, 고산병, 생리불순, 위경련, 관절염, 타박상 등에 사용한다. 약리작용으로 진정작용, 진경작용, 혈압강화, 그람양성균 억제작용, 이노작용 등이 보고되었다. 山茱萸는 신장 요로계통과 성인병, 부인병 등에 효능이 있고, 특히 성기능 회복에 도움이 되고 땀을 멎게 하며 열을 내리고 음기를 보충해 준다. 소변을 너무 자주 보는 빈뇨 현상에도 효과적이다. 大棗는 갈매나무과에 속하는 활엽교목 대추의 성숙한 과실로 당류, 비타민 C군, 칼슘, 단백질 등을 함유하고 있으며 비위를 영양하고 진액을 보충한다. 또한 세포점막에 자운을 공급하고 세포의 대사를 활성화하며 항알러지 작용을 한다. 人蔘은 사포닌 글리코사이드인 진세노사이드류, 스테로이드, 비타민 B군, 콜린 등이 함유되어 있다. 강장, 강심, 권위, 보정, 진정, 자양 등의 약으로 사용되고 위장 등의 기능 쇠약에 의한 물질대사 기능의 저하에 사용되며, 병약자의 위부정체감, 소화불량, 구토, 흉통, 이완성, 설사, 식욕부진 등에도 사용된다<sup>24)</sup>.

본 연구에 사용된 처방은 《東醫壽世保元》의 獼猴藤植腸湯을 참고하였다. 獼猴藤植腸湯은 태양인 내축소장병(太陽人 內觸小腸病)에서 열격(噎膈), 반위(反胃)를 치료하는 처방이다. 식도부터 소장 에 이르는 소화기관에 두루 작용하는 처방을 선택하였다. 이는 멜라토닌은 장에서 많이 생산될 뿐만 아니라, 스트레스와 식이요인에 의해 위협받는 장-장벽 온전성 유지에도 작용하기 때문

이다<sup>25)</sup>. 따라서 본 연구진은 이러한 연구에 착안하여 獼猴藤植腸湯에 사용되어지는 木瓜, 蘆根, 五加皮, 葛根, 吉草根 약재에 枸杞子를 포함한 복합처방을 구성하여 한의원에 내원한 환자를 대상으로 하루 3번 아침 식후, 저녁 식후, 수면 전(Hs)으로 해서 평균적으로 최소 1달에서 2달 투약을 하였으며, 수면장애 및 스트레스 완화를 목적으로 사용하였으며 임상현장에서 만성 피로로 유발된 수면장애와 만성피로증후군의 증상을 보이는 환자들의 증상 개선 효과가 있었다.

In vivo에서 수면장애 스트레스는 다른 스트레스 유발 방법보다 직접적인 통증을 유발하지 않아 인간에서의 정신적 스트레스와 유사하여 흔하게 사용되는 정서적 스트레스 모델이다<sup>26,27)</sup>. 따라서 본 연구에서는 rat에게 caffeine 및 빛 스트레스를 가하였고 이에 따른 생체 내 반응과 구기자복합물의 효과를 관찰하였다. 스트레스에 노출되면 신체 내에서는 시상하부-뇌하수체-부신 축(hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA axis)을 통하여 여러 반응이 일어나게 되는데<sup>22)</sup>, 중추신경계가 외부자극을 감지하여 시상하부의 corticotropin-releasing factor(CRF)의 분비를 자극한다. 분비된 CRF는 뇌하수체에서 adrenocorticotrophic hormone(ACTH)을 분비하도록 자극하고, ACTH가 부신피질을 자극하여 cortisol이 분비되는 기전을 갖는다. 또한 교감신경이 흥분하여 부신수질과 말초신경에서 epinephrine과 norepinephrine이 분비되어 혈압과 심박동수가 증가하여 스트레스에 대한 방어 작용이 나타난다<sup>28)</sup>. 스트레스 상황에서 생체 내 항상성을 유지하기 위해 활성화되는 시상하부-뇌하수체-부신계와 교감신경-부신수질계 모두에서 부신은 중요한 기관이며 호르몬을 분비하도록 지속해서 자극받는다<sup>29)</sup>.

본 연구에서는 투여기간 동안, 사망동물 및 일반증상의 변화는 관찰되지 않았다. 투여기간 동안, 모든 투여군에서 정상적인 체중변화가 관찰되었다. 이러한 결과는 수면장애 및 스트레스 유발이 체중변화에 그다지 관여하지 않았음을 나타내는 것이다. 또한 부검 시 모든 군의 외관 및 주요장기에 대한 육안적 검사를 실시한

결과, 시험물질 투여와 관련된 육안적 소견은 관찰되지 않았다. 혈액생화학적 검사 결과, Total cholesterol, TG, HDL cholesterol 수치의 경우, 스트레스 유발군에 비교하여 구기자복합물 치료군에서 통계학적으로 유의하게 감소하였다. caffeine은 수면, 감각 작용 등의 변화를 유발하며, 위액분비의 증가, 이뇨작용 뿐 아니라 심근경색의 발병율을 높이며, 특히 lipolysis를 자극함으로써 혈청 콜레스테롤 및 유리 지방산을 자극시킨다<sup>30)</sup>. 이러한 결과는 구기자 복합물이 간 조직 내 스트레스로 인한 자극에 대해 혈관의 염증이나 혈관 보호 효과를 보이는 것으로 생각된다.

또한 스트레스 유발이 혈액화학적 변화에 기여하고 있음을 나타낸다. 수면 유도에 관련되는 호르몬인 melatonin의 혈장 내 수치를 비교 하여 스트레스 완화 효과를 보고자 하였다. Melatonin은 pineal gland에서 분비되며 합성효소의 활성이 광(light) 정보에 의해 저해되므로 어두울 때 합성이 촉진되고 밝은 상태에서는 억제되며<sup>30)</sup>, 또한 멜라토닌이 수면을 안정화하는 데에 이바지한다고 밝혀졌다<sup>31)</sup>. 실제로 김 등<sup>32)</sup>의 연구에서 동물실험을 통해 혈액 내 melatonin 생성량 증가가 수면을 유도한다고 보고하였다. 혈액 내에서 melatonin을 측정된 결과, 스트레스 유발군과 비교하여 구기자복합물 치료군에서 유의하게 증가하였다. 또한 김 등은 thioacetamide에 의한 간 독성 모델에서 구기자 복합물이 간세포 증식과 혈액학적 간 기능 지표를 호전시키므로써 보호 작용을 나타내고 있음을 관찰하였다<sup>33)</sup>. 실험을 통한 연구에서 스트레스로 인해 신체 내 IL-2 수치가 증가한다고 알려졌으며<sup>34-36)</sup>, 혈액 내에서 IL-2를 측정된 결과, 스트레스 유발군과 비교하여 구기자복합물 치료군에서 유의한 변화가 관찰되지 않았다.

이러한 결과들은 구기자복합물이 스트레스 동물모델에서 스트레스 완화에 도움을 줄 수 있을 것으로 생각되나, 스트레스 완화 물질의 확인 및 그 물질의 작용기전에 대해서는 밝히지 못하였기에 향후 구기자복합물의 구성성분들을 중심으로 김 등<sup>33)</sup>의 간세포 증식과 혈액

학적 간 기능 지표들을 호전시키면서 보호 작용을 기술한 선행 연구와 접목한 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

## V. 결 론

본 연구에서는 구기자복합물이 caffeine 및 빛 스트레스 유발된 동물모델에서 실험동물의 체중, 임상증상, 혈액학적인 분석, melatonin 및 IL-2 분석을 통하여 스트레스 완화효과를 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 모든 투여군에서 정상적인 체중변화가 관찰되었다. 또한, 사망동물 및 일반증상의 변화는 관찰되지 않았다.
2. 혈액생화학적 검사 결과, Total cholesterol, TG, HDL cholesterol 수치의 경우, 스트레스 유발군에 비교하여 구기자복합물 치료군에서 통계학적으로 유의하게 감소하였다.
3. 혈액 내에서 melatonin을 측정된 결과, 스트레스 유발군과 비교하여 구기자복합물 치료군에서 통계학적으로 유의한 차이가 관찰되었다.
4. 혈액 내에서 IL-2를 측정된 결과, 스트레스 유발군과 비교하여 구기자복합물 치료군에서 유의한 차이가 관찰되지 않았다.

## Acknowledgement

이 논문은 2018년도 세명대학교 교내연구비 지원을 받아 수행되었음.

## ORCID

Ee-Hwa Kim

(<https://orcid.org/0000-0003-0400-9056>)



Dong-Suk Hwang

(<https://orcid.org/0000-0002-3543-7566>)

Hee-Taek Kim

(<https://orcid.org/0000-0002-5581-3733>)

Yong-Min Kim

(<https://orcid.org/0000-0002-3064-9412>)

## References

1. Kim SH. The consideration of the relationship between stress and health in modern society. *Korea J Sports Science*. 2000;9:223-32.
2. Seyle H. History and present status of the stress concept. In *Handbook of Stress*. Goldborger L, Breznitz S, eds. New York: The Free Press, 1982;7-17.
3. Park SO, Kim SB, Lee KS, Kang PS. Reduction effect of aromatherapy on stress and insomnia. *Korean J Rural Med*. 2002;27:17-26.
4. McKee MG. Stress of living. In *Clinical Preventive Medicine*. St. Louis: Mosby Publishing Inc. 1993;191-216.
5. Levi L. Spice of life or kiss of death?. In: *Handbook of Stress, Medicine, and Health*. New York: CRC Press. 1996;1-10.
6. Baek Y, Yoo J, Lee SW, Jin HJ. Domestic trends of research and patent for sleep disorder. *J Korea Contents Association*. 2013;13:309-17.
7. Ohayon MM. Epidemiology of insomnia: what we know and what we still need to learn. *Sleep Med Rev*. 2002;6:97-111.
8. Woo NS, Seo YB. Stress relaxation and sleep induction effect of fermented sea tangle *Saccharina japonica* and oyster *Crassostrea gigas* powder. *Kor J Fish Aquat Sci*. 2013; 46:702-7.
9. Glass J, Lanctôt KL, Herrmann N, Sproule BA, Busto UE. Sedative hypnotics in older people with insomnia: meta-analysis of risks and benefits. *BMJ*. 2005;331:1169-73.
10. Gunja N. The clinical and forensic toxicology of Z- drugs. *J Med Toxicol*. 2013;9:155-62.
11. Leach MJ, Page AT. Herbal medicine for insomnia: A systematic review and meta-analysis. *Sleep Med Rev*. 2015;24:1-12.
12. Qian JY, Liu D, Huang AG. The efficiency of flavonoids in polar extracts of *Lycium chinense* Mill fruits as free radical scavenger. *Food Chem*. 2004;87(2):283-8.
13. Hwang EY, Hong JH, Choi JH, Lee EJ, Lee IS. Study on Anti-obesity and Hypoglycemic Effects of *Lycium chinense* Mill Extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2009;38(11): 1528-34.
14. Kim KS, Shim SH, Jeong GH, Cheong CS, Ko KH, Park JH, Kim BK. Anti-diabetic activity of constituents of *Lycium fructus*. *J Appl Pharmacol*. 1998;6:378-82.
15. Yoon CG, Kim HH, Chae SN, Oh MJ, Lee GH. Hepatic oxygen free radical and alcohol metabolizing enzyme activities in rats fed diets supplemented with *Lycium chinense* ethanol extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2001;30(4):668-72.
16. Kim HP, Kim SY, Lee EJ, Kim YC. Zeaxanthin dipalmitate from *Lycium chinense* has hepatoprotective activity. *Res*

- Commun Mol Pathol Pharmacol. 1997;97(3):301-14.
17. Donguichilyokyunghumjipsung Compilation Committee. Donguichilyokyunghumjipsung. Seoul:Yeogang publishing house. 2001.
  18. Koh KB. Stress and immunity. Korean J Str Res. 2008;16:151-9.
  19. Woo JM, Kim GM, Kim SA. A case of mental ill health caused by job stress after job reallocation. Korean J Occup Environ Med. 2003;15:205-12.
  20. Aldwin CM, Jeong YJ, Igarashi H, Choun S, Spiro A 3rd. Do hassles mediate between life events and mortality in older men? Longitudinal findings from the VA Normative Aging Study. Exp Gerontol. 2014;59:74-80.
  21. Choi MJ, Cho KH, Lee S, Bae YJ, Jeong KJ, Rha SY, et al. hTERT mediates norepinephrine-induced Slug expression and ovarian cancer aggressiveness. Oncogene. 2014;34:3402-12.
  22. Seyle H. History and present status of the stress concept. In:Handbook of Stress. Goldborger L, Breznitz S, eds. New York:The Free Press. 1982:7-17.
  23. Jung AN, Lee BK, Lee DY, Lee JI, Jung YS. Attenuation effects of herbal mixture extract on stress and sleep disturbance in rats. J Korean Soc Food Sci Nurt. 2016;45(3): 313-20.
  24. Jeong JS, Shin MK. Dictionary of Korean Traditional Medicine. Seoul:Youngrim-sa. 1990:86-388.
  25. Anderson G, Maes M. The gut-brain axis: The role of melatonin in linking psychiatric, inflammatory and neurodegenerative conditions. Adv Integr Med. 2015;2:31-7.
  26. Reyes TM, Walker JR, DeCino C, Hogenesch JB, Sawchenko PE. Categorically distinct acute stressors elicit dissimilar transcriptional profiles in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. J Neurosci. 2003; 23:5607-16.
  27. Sawchenko PE, Li HY, Ericsson A. Circuits and mechanisms governing hypothalamic responses to stress: a tale of two paradigms. Prog Brain Res. 2000;122:61-78.
  28. Lee HC, Yeom MJ, Kim GH, Choi KD, Lee SH, Shim IS, Lee HJ, Hahm DH. Gene expression analyses in hypothalami of immobilization-stressed and Boshimgeonbi Tang- treated mice using cDNA microarray. Korean J Orient Physiol Pathol. 2003;17: 1393-403.
  29. Ulrich-Lai YM, Figueiredo HF, Ostrander MM, Choi DC, Engeland WC, Herman JP. Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2006;291:965-73.
  30. Lee JY, Moon JS, Han BG, Yang HD, Kwon JB, Lee SI, Lee SS. The influence of acute cerebral infarction on the circadian rhythm of melatonin secretion. J Korean Neurol Assoc. 2001;19:359-63.
  31. Klein DC. The 2004 Aschoff/Pittendrigh lecture: Theory of the origin of the pineal gland-A tale of conflict and resolution. J Biol Rhythms. 2004;19:264-79.
  32. Kim SS, Oh SH, Jeong MH, Cho SC, Kook MC, Lee SH, Pyun YR, Lee HY.

- Sleep-inductive effect of GABA on the fermentation of mono sodium glutamate (MSG). *Korean J Food Sci Technol.* 2010; 42:142-6.
33. Kim YM, Hwang DS, Kwak BM, Kim EH. Protective effect of herbal mixture including *Lycii Fructus* on hepatotoxicity induced by thioacetamide in mice. *Korean J Acupuncture.* 2019;36(4):221-9.
34. Manikowska K, Mikołajczyk M, Mikołajczak PŁ, Bobkiewicz-Kozłowska T. The influence of mianserin on TNF- $\alpha$ , IL-2 and IL-10 serum levels in rats under chronic mild stress. *Pharmacol Rep.* 2014;66:22-7.
35. Kim YG. The role of cytokines in depression and their therapeutic implication. *Korean J Psychopharmacol.* 2000;11:304-12.
36. McInnis CM, Thoma MV, Gianferante D, Hanlin L, Chen X, Breines JG, et al. Measures of adiposity predict interleukin-2 responses to repeated psychosocial stress. *Brain Behav Immun.* 2014;42:33-40.