원 저

대한신경과학회지 17(5):688~693, 1999 ISSN 1225-7044

# B103 세포에서 베타아밀로이드(25-35) 독성에 대한 Ginsenoside $Rb_1$과 $Rg_1$의 보호효과

아주대학교 의과대학 신경과학교실

이은아 주인수* 허 균 묵인희

# Protective Effect of Ginsenoside $Rb_1$ and $Rg_1$ Against β Amyloid(25-35)-Induced Neurotoxicity on B103 cells

**Eun Ah Lee, M.D., In Soo Joo, M.D., Kyoon Huh, M.D., Inhee Mook, M.D.**

*Department of Neurology, School of Medicine, Ajou University*

**Background** : Ginseng extracts, known to enhance bodily functions including learning and memory, were reported to have in vitro neuroprotective activity in vitro. Here We demonstrate the possible therapeutic effects of ginsenosides on the cell culture model of Alzheimer's Disease (AD). We tested whether $Rb_1$ or $Rg_1$, major components of ginseng saphonins, protects neuronal cells from the toxic effect of ß-amyloid (Aß), which is regarded to be the main neurotoxic substrate in the AD. **Methods** : B103 cells, rat brain-derived neuronal cells, were cultured and the extent of neuroprotective effects of ginsenosides on the cytotoxicity induced by exogenous $Aß_{25-35}$ was were measured by MTT assay. **Results** : Treatment of $Rb_1$ and $Rg_1$ at various concentrations (l0nM, 50nM, and 1μM, respectively) in B103 cells did not show any dose-dependent neurotoxic effects. $Rg_1$ (1μM) significantly blocked the neurotoxic effect of $Aß_{25-35}$ (50μM)($P<0.05$). $Rb_1$ at concentration of 1μM also had some neuroprotective effects, but not as effective as $Rg_1$. These neuroprotective effects are comparable to the one of estrogen (1.8nM). **Conclusions** : This experiment suggests the potential beneficial effects of ginseng in the treatment of AD.

J Kor Neurol Ass 17(5):688~693, 1999

**Key Words** : Alzheimer's disease, ß-amyloid toxicity, Saphonin($Rb_1$, $Rg_1$) Protective effect

## 서 론

알츠하이머성 치매는 연령이 증가함에 따라 발생율과 유병율이 증가하며 전체 치매의 약 50%정도를 차지하고, 여성에서 1.5배 내지 3배정도 더 많은 것으로 알려져 있다.[1,2] 의학의 발달로 평균 수명이 연장되면서 알츠하이머성 치매의 유병율도 증가하고 있으며, 96년 통계청자료에 의하면, 전체 치매환자가 97년에는 24만명 정도이고 고령화 사회로 접어드는 2020년에는 약 62만명 정도로 급증할 것으로 보고하였다. 따라서 우리나라에서도 치매가 점차 심각한 사회문제로 대두될 것으로 생각된다.

알츠하이머성 치매를 일으키는 원인으로는 알츠하이머성 치매환자의 뇌 조직에서 특징적으로 관찰되는 노인반(senile plaque)의 주요 구성성분인, β아밀로이드 펩티드가 가장 관련 깊은 것으로 받아들여지고 있다.[3] 가족적으로 발생하는 알츠하이머 치매의 경우에서도, 환자의 APP (amyloid precursor protein)나 PS1 (presenilin 1), PS2의 유전자 이상에 의해 비정상적으로 β아밀로이드 생성이 과다한 것으로 밝혀졌다.[3]

여성에게서 폐경기 이후에 치매의 발생빈도가 높고, 에스트로젠 (estrogen) 치료를 받은 여성에서 치매의 발병율이 40%정도 감소하는 것으로 보아 에스트로젠이 알츠하이머성 치매와 관련이 있다는 사실은 잘 알려져 있고,[4-6] 실험적으로 에스트로젠 (estrogen) 이 β아밀로이드 펩티드의 독성에 대해 보호기능이 있다는 사실도 보고되어[7] 알츠하이머성 치매에 대한 에스트로젠의 긍정적인 효과가 더욱 명백하게 인정되었다.[2,5,8-10,11-13]

그러나 에스트로젠은 오심, 구토, 식욕부진, 편두통 및 발암과 같은 심각한 부작용이 있으므로, 치매 예방을 위해 오랫동안 투여하는데는 어려운 점이 있다. 반면 동양에서 오랫동안 대중적인 건강증진제로 알려져온 인삼의 사포닌

Manuscript received April 14, 1999.
Accepted in final form June 29, 1999.
* Address for correspondence
In Soo Joo, M.D.
Department of Neurology, School of medicine,
Ajou University, Woncheon-dong San 5, Paldal-ku,
Suwon, Kyungki-do, 442-749, Korea
Tel : +82-331-219-5175, Fax : +82-331-219-5178
E-mail : ISJOO@HOTMAIL.COM

성분은 에스트로젠과 기본적인 구조의 유사성이 있으며, 동물실험에서 기억력과 학습능력을 증진시킬뿐만 아니라, 노화와 허혈성 신경손상에 의한 신경보호효과가 있는 것으로 알려졌다.[10,14-17]

그러나 인삼이 특정 퇴행성 신경질환의 모델에서 그 효과가 검증된 연구는 부재하여 저자들은 인삼의 주된 구성 성분인 $Rb_1$과 $Rg_1$ 사포닌이 β아밀로이드 펩티드의 독성에 대해 보호기능이 있는 지 여부를 알아보고자 쥐 (rat) 의 뇌에서 유래한 신경세포인 B103 세포를 이용해 연구하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 시약 및 재료

쥐의 신경모세포종 cell line인 B103세포를 연구재료로 이용하였다. 이 세포는 막의 흥분성이 있고, 아세틸콜린과 글루타메이트 수용체가 존재하며, 신경원세포에만 존재하는 단백질이 있는 등, 신경원세포의 특징을 보일 뿐만 아니라, 세포 자체로는 극히 소량의 APP (amyloid precursor protein) 만을 발현하기 때문에 외부에서 투여한 $A\beta_{25-35}$의 영향이 세포 자체에서 생산되는 베타아밀로이드의 효과에 의한 혼란을 일으킬 변수가 없다는 장점이 있다.[18]

사포닌 Rb1 (분자량;1,108) 과 $Rg_1$ (분자량,800) 은 6년근 홍삼 (Korean red ginseng) 으로부터 순수 분리한 것으로 한국인삼연초연구소로부터 제공받았다. $Rb_1$과 $Rg_1$은 물에 잘 녹기 때문에 멸균된 증류수를 이용하여 stock농도가 10mM이 되도록 하였다. 농도에 따른 $Rb_1$과 $Rg_1$의 독성 및 신경보호 효과의 차이를 보기 위해 멸균된 증류수로 희석하여 1㎛, 50nM, 10nM 농도를 만들었다. $A\beta_{25-35}$ (K Biology. U.S.A.) 는 물에 잘 녹지 않아 DMSO용액을 사용하여 10mM 농도의 stock을 만들어 -20℃에 보관하였고,$A\beta_{25-35}$의 응집력을 높이기 위하여 인삼염 완충용액 (PBS) 으로 희석하여 사용하였다.

B103세포 배지 (Dulbecco's modified Eagle's medium에 10% fetal bovine serum을 첨가) 는 4℃에 보관하였고, 사용직전에 37℃ water bath에 두었다가 사용하였다. 혈청 (serum) 은 $A\beta_{25-35}$의 독성을 차단하는 효과가 있으므로, 혈청이 없는 N2 배지를 사용하였다.

세포활성의 측정을 위해서는 MTT 검사법을 이용하기로 하였으며 그 원리는 다음과 같다. MTT<3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide> 는 수용액 속에서는 무색인데 살아있는 세포의 미토콘드리아 안의 효소에 의해서 물에 녹지 않는 보라색 색소로 변환한다. 10% SDS/50% dimethylformamide 로 이것을 용해시킨 후 이 색소의 강도를 Spectrophotometer에서 파장 570㎚~630㎚로 OD를 측정하여 세포활성 정도를 아는 방법이다. MTT 용액은 5㎍/㎖ in PBS 의 농도로 만들어 냉장보관 하였다.

배양에 사용된 plates은 96 well (Falcon) 을 사용하였으며 모든 작업은 무균벤취에서 시행하였다.

### 2. 세포배양 및 준비

B103세포는 8% $CO_2$ incubator에서 배양을 시켜 세포수가 페트리 접시의 80% 정도가 되면 배양된 세포를 incubator에서 꺼내어 B103세포 배지를 제거한 후, CMF-PBS 5㎖로 한 번 씻어준 후, 다시 CMF-PBS 5㎖를 넣고 3-5분을 기다려 페트리 접시에 붙어 있는 세포들이 분리되도록 하였다. CMF-PBS를 제거하고 세포들이 좀 더 잘 분리될 수 있도록 페트리 접시를 가위 등으로 1분 정도 가볍게 친 후, 현미경으로 세포들의 분리된 모습을 확인하였다. 다시 B103세포 배지 10㎖를 넣고 세포들이 고르게 분리되도록 피펫으로 여러 번 흡입과 배출을 반복하여 혈구 계산판 (hemocytometer) 으로 배지 1㎖안에 존재하는 세포 수를 현미경으로 세었다. 96 well plate에 well당 세포수가 5K (5,000/㎟) 가 되도록 분주한 후 총 배지의 용량이 100㎕ 되도록 B103세포 배지를 첨가하였다. 이 세포를 8% $CO_2$ incubator에서 1시간 동안 배양하여 세포들이 well에 잘 붙었는지 현미경으로 확인하였다. 1시간 후, 마이크로 피펫을 이용하여 well에서 세포가 빨려나오지 않게 조심해서 B103세포 배지를 완전히 제거한 후, 총 배지 량이 50㎕되도록 N2 배지와 여러 가지 시약을 첨가하였다.

### 3. 시약의 투여 및 MTT 검사법

대조군과 $A\beta_{25-35}$ (50㎛) 신경독성을 검사할 곳을 제외한 well에 Rb1과 Rg1을 10nM, 50nM, 1㎛ 농도로, 그리고 positive control 대조군으로 에스트로젠 (E2, 17-βestradiol, Sigma) 농도가 1.8nM 되도록 각각 두 열 (column) 의 well에 시약을 투여하고 다시 1시간 동안 8% $CO_2$ incubator에서 배양하였다. 1시간 배양 후, 마지막 농도가 50㎛이 되도록 $A\beta_{25-35}$ (1mM) 를 넣어 전체 배지의 양이 50㎕되게 하고, 다시 24시간 동안 배양하였다. 배양 후, MTT 용액을 각 well당 15㎕씩 넣고, 3~4시간 동안 배양한 후, solubilization buffer 용액 (50% Dimethylformamide, 10% SDS) 을 각 well당 100㎕씩 넣고 하룻밤 동안 둔 후 세포 활성도를 측정하였다.

### 4. 세포활성도의 측정

MTT분석법을 이용하여 Spectrophotometer에서 파장 570㎚와 630㎚로 OD를 측정하여 그 차이값을 구하였다.

### 5. 통계처리

MTT분석법을 이용하여 얻은 결과의 통계처리는 TKCT (Turkey-Kramer Multiple Comparisons Test) 를 이용하여 분석하였으며 통계적 유의성은 p값이 0.05 미만으로 하였다.

## 결 과

Sample수는 각 농도별로 4개로, 10회 반복실험을 하였고, 10회 모두 유의한 다음의 결과를 보였다.

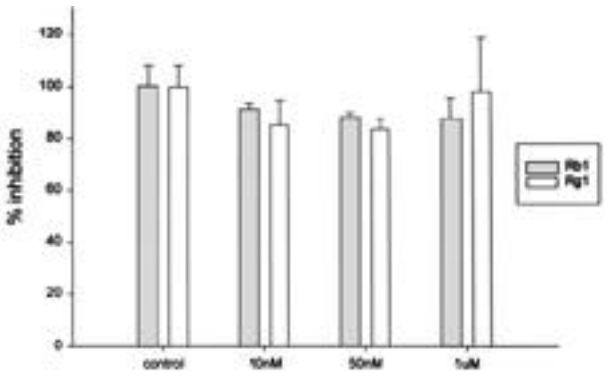


***Figure 1.*** *There is no dose-dependent neurotoxic effect.*

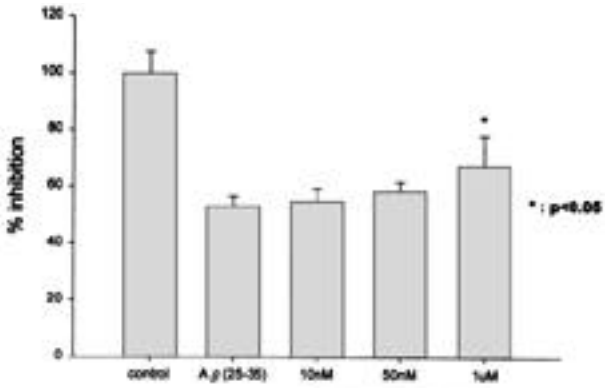


***Figure 2.*** *Rg1 (1 μM) significantly blocked the neurotoxic effect against A $\beta_{25-35}$ (50 μM) neurotoxicity (p<0.05).*

1. $Rb_1$이나 $Rg_1$이 그 자체의 신경독성이나 신경친화성이 있는 지 여부를 알아보기 위하여 A $\beta_{25-35}$ (50 μM) 와 $Rb_1$과 $Rg_1$을 각각 10nM, 50nM, 1 μM 농도에서 비교해 본 결과, A $\beta_{25-35}$ (50 μM) 은 53%의 세포사를 유도한 반면, $Rb_1$과 $Rg_1$은 각 농도에서 9% 미만의 세포사가 일어나, $Rb_1$이나 $Rg_1$ 자체에 의한 의미있는 신경독성 및 신경친화성은 관찰되지 않았다 (Fig. 1).

2. $Rg_1$은 10nM, 50nM 농도에서 A $\beta_{25-35}$ (50 μM) 의 신경독성을 50~60% 차단하는 효과가 관찰되었으나, 평균값은 각각 54.9%, 58.5%로 통계적인 유의성은 없었고 (P>0.05), 1 μM 농도에서는 55~70%의 차단효과를 보이고 평균값은 67.5%로 통계적인 유의성이 있었다 (p<0.05) (Fig. 2).

3. $Rb_1$은 10nM, 50nM 농도에서 A $\beta_{25-35}$ (50 μM) 의 신경독성을 50~58% 차단하는 효과를 보였으나 통계적인 유의성이 없었고 (P>0.05),1 μM 농도에서는 50~70%의 차단효과를 보이고 평균값은 64.3%로 역시 통계적인 유의성이 없었다 (Fig. 3).

4. estrogen은 1.8nM에서 A $\beta_{25-35}$ (50 μM) 의 신경독성을 유의하게 차단하였다 (66.8%). 이는 이미 문헌에 보고된 바와 같이 estrogen이 Aβ에 대한 보호효과가 있다는 사실과 일치되는 것이다. $Rb_1$과 $Rg_1$의 효과를 estrogen과 비교하여 본 결과, $Rg_1$ (1 μM) 이 A $\beta_{25-35}$ (50 μM) 에 의한 신경독성을 유의하게 차단하는 효과 (67.6%) 는 estrogen (1.8nM) 이 A $\beta_{25-35}$ (50 μM) 에 대한 신경독성을 차단하는 효과 (66.8%) 에 뒤지지 않았다. 반면 Rb1 (1 μM) 의 차단효과 (64.3%) 는 통계적인 유의성이 없었다 (Fig. 4).

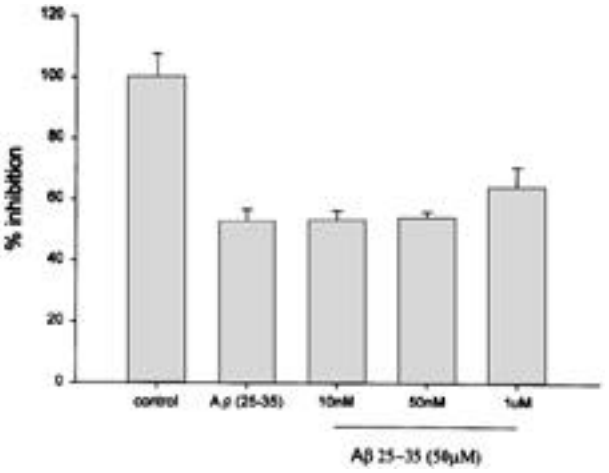


***Figure 3.*** *Rb1 (1 μM) showed some, but not significant neuro - protective effect against A $\beta_{25-35}$ (50 μM) neurotoxicity.*

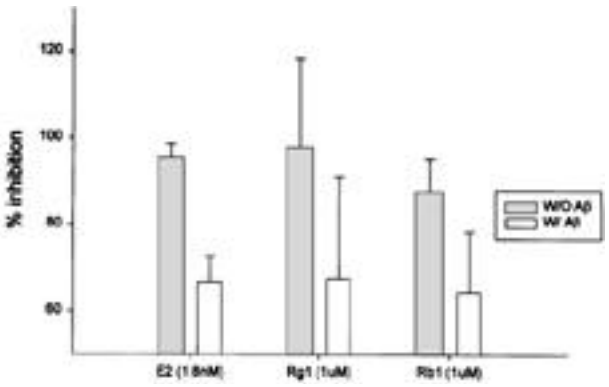


***Figure 4.*** *These neuroprotective effects are comparable to the one of estrogen (1.8nM).*

## 고 찰

알츠하이머성 치매의 병리학적인 변화는 amyloid가 축적되어지는 neuritic plaque (senile plaque), neurofibrillary tangle, 그리고 granulovacuolar degeneration등이 특징적으로 나타난다. 이러한 변화 중 1차적인 원인으로 생각되어지고 있는 것은 senile plaque의 발생이며, 이 성분을 분석한 결과 plaque의 25% 정도가 단백질로 이루어져있고, 그 중 70~80%가 βamyloid (Aβ) 라는 단백질이라는 사실이 밝혀졌다.[3,19] 이러한 사실들로 보아 Aβ가 진행성 퇴행성질환인 알츠하이머성 치매를 일으키는 원인 물질로 작용하리라고 생각되며, 실제 몇몇 연구에 의해 Aβ를 주입한 후 세포의 변성과 neurite의 이형 (dystrophy) 이 발생된 사실이 보고되었다.[3,19] Aβ는 아밀로이드 전구단백질 (Amyloid precursor protein; APP) 이 단백 분해되어 생기는 부산물로서 이것의 신경독성은 응집력의 여부에 달려있다. 즉 정상적인 단백질로서 용해되는 형은 오히려 세포성장과 neurite의 성장을 촉진시키는 반면 병적인 단백질로서 응집하는 형만이 신경독성

을 갖고있다. Aβ의 독성이 발현되는 기전은 아직 확실하게 밝혀지지는 않았지만 칼슘의 항상성을 차단하여 세포손상을 입히거나, 또는 신경세포의 apoptosis를 유발하는 것으로 생각하고 있다.[3]

APP의 유전자는 염색체 21번의 장완에 위치하며 이 유전자의 돌연변이가 발생하게되면 APP가 비정상적으로 많이 생산되고, 또한 단백 분해되는 위치도 변화가 되어 신경독성을 갖는 Aβ가 많이 생성되게 된다.[20,21] 실제로 전체 알츠하이머성 치매의 약 5~10%를 차지하고 있는 가족성 알츠하이머성 치매의 일부에서 염색체 21번의 돌연변이가 발견되고, 21번 염색체가 하나 더 있는 몽고리즘 (Down syndrome) 환자에서 알츠하이머성 치매의 발생율이 높아지는 사실 등이 이러한 이론을 뒷받침해주고 있다.[20,21] 그 이외에 가족성 알츠하이머성 치매를 나타내는 염색체 1번과 14번에 위치한 presenilin 1과 presenilin 2의 돌연변이도 궁극적으로 Aβ의 생성을 증가시키는 것으로 밝혀졌다.[3]

이러한 사실들을 볼 때 알츠하이머성 치매의 예방이나 치료로서 가장 이상적인 방법은 Aβ의 독성을 차단하여 퇴행성 신경질환의 시작을 봉쇄하거나, 또는 세포손상을 막아 병의 진행을 멈추게 하는 것이다. 현재 알츠하이머성 치매의 치료제로 보편적으로 사용되는 약물은 choline esterase inhibitor로서 알츠하이머성 치매에서 아세틸콜린이 감소되는 것에 대한 치료로 이용되나 근본적인 병의 진행은 막을 수 없다는 결정적인 한계를 가지고 있다.

역학적인 연구에서 알츠하이머성 치매의 발병율을 감소시키는 것으로 알려진 에스트로젠은 신경성장인자 (nerve growth factor) 와 신경영양인자 (neurotrophin) 들과 상호 작용을 하여 성장단계의 신경원 뿐 아니라 성숙된 신경원의 조직화에 영향을 미치고 축삭 (neurite) 의 성장과 시납스 형성에도 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.[22] 그 외 아세틸콜린이나 다른 신경전달물질과도 상호작용을 하며 Aβ형성을 억제하며,[12] apolipoprotein E (Apo E) 를 낮게 하고, 항산화 효과 (antioxidant effect) 도 있으며, 뇌혈류를 증가시키고 뇌에서 당 이용율을 높이기도 한다.[8,12,22] 이러한 효과 중 어느 것이 정확하게 알츠하이머 치매의 진행과 발병에 효과가 있는 지는 논란이 많았으나 1997년 Mook등은 estrogen이 $A\beta_{1-42}$에 의한 신경세포의 축삭을 확장시키며 신경독성을 차단하는 효과가 있음을 증명하였다.[7] 그러나 에스트로젠도 위장기능장애, 피부발진, 암형성 등 부작용이 있어 아직 증상이 없는 환자에게서 예방 적으로 투여하는 것에 대한 논란이 많다.

반면에 인삼은 동양에서 가장 널리 사용되어온 건강촉진 생약으로, 미국에서도 식품보조제로 연간 약 3억 달러 이상의 소비가 이루어진다고 한다.[11] 인삼은 약 20여 개 이상의 사포닌성분으로 이루어져있으며[13] 다량 복용한 경우에 신경과민, 불면증, 설사 등의 증상을 제외하고는 큰 문제가 되는 부작용은 아직 보고된 바 없어 매우 안전한 건강 증진제 라고 할 수 있다. 사포닌은 인삼에서 추출하여 정제된 성분이며 에스트로젠과 마찬가지로 탄수화물을 함유하고 있는 스테로이드성 유도체이다.[23] 그 중 중요 성분인 $Rb_1$과 $Rg_1$ 사포닌의 효과는 특히 뇌기능과 관련하여 몇몇 긍정적인 효과가 보고되어 졌다. 박등[1]은 미성숙랫드에 대한 반복적인 저산소증 유도후에 사포닌 $Rb_1$을 처리하여 저산소증으로 인한 뇌손상 및 기억장애등이 유의하게 개선된 결과를 보고하였으며, Lim 등[16]은 뇌허혈후에 $Rb_1$ 사포닌을 뇌실 안에 주입함으로써 해마의 $CA_1$ 신경원에 대한 보호효과를 입증하여 뇌혈관 질환에 사포닌이 이용될 수 있는 가능성을 제시하기도 하였다. 이외에도 뇌허혈과 관련된 사포닌에 대한 효과로 사포닌이 허혈상태에서 국소적인 당의 이용률을 낮추고,[15] 글루타메이트에 의해 유도된 세포 팽윤을 방지하고,[25] 혈관의 이완을 증가시킨다는 문헌 보고들이 있다.[21] 또한 Nah[26]에 의하면 인삼의 추출물이 전압 의존성 칼슘 통로 (voltage-dependent $Ca^{2+}$ channel) 를 차단하며, 통증을 차단하는 효과도 있다고 한다. 퇴행성질환과 관련된 인삼의 효과에 관한 몇몇 문헌 보고에 의하면 사포닌 $Rb_1$과 $Rg_1$이 세포내 칼슘의 농도를 낮게 함으로써 항 노화 효과가 있고,[17] 랫드에 인삼 추출물을 경구투여한 후 적당한 양을 투여한 랫드에서 학습 및 기억력이 증가한 사실이[27] 보고 되어지기도 하였다.

저자들은 사포닌이 중추신경계에 긍정적인 영향을 나타낸다는 문헌보고들과 에스트로젠과 유사한 구조를 갖고 있는 스테로이드 유도체임에 착안하여 B103세포에서 $A\beta_{25-35}$의 신경독성에 대한 차단효과가 있는 지 여부를 알고자, 예비적으로 주요한 구성성분인 $Rb_1$과 $Rg_1$ 사포닌을 대상으로 연구하였다. $Rb_1$과 $Rg_1$ 사포닌은 대부분 장내 세균에 의해 분해되어 약리작용을 나타내고 흡수된 양의 약 1-2%가 분해되지 않고 26시간 후에 소변으로 배설되며,[1,29] Akao[2]등은 $Rb_1$ 사포닌의 대사산물인 compound-K를 효소면역분석법 (Enzyme immunoassay) 으로 측정하는 방법을 보고하였다.

연구 결과 $Rg_1$ 사포닌은 1 μM 농도에서 신경독성 차단의 효과가 유의하게 관찰되었으며 그 차단 정도는 estrogen (1.8nM) 이 $A\beta_{25-35}$의 신경독성을 차단하는 효과와 비슷하였다. 반면 $Rb_1$ 사포닌은 1 μM 농도에서 $A\beta_{25-35}$의 신경독성을 어느 정도는 차단하는 효과를 보였지만 유의한 효과는 없었다. 이 결과로 사포닌의 종류에 따라 차단하는 효과에 차이가 있을 수 있다는 점을 알 수 있었고, 이것은 천연적인 농축액 내의 사포닌들의 농도가 모두 일정치 않아서 인삼 자체와 순수 분리된 사포닌은 동일한 효과를 보이지 않을 수도 있음을 지적한 Nah[26]의 보고와 일치하는 것이다. 따라서 좀 더 많은 종류의 사포닌을 대상으로 연구를 해야할 것으로 생각되었다. 또한 사포닌의 농도뿐 아니라 $A\beta_{25-35}$의 농도의 변화에 따라서도 $Rb_1$과 $Rg_1$ 사포닌의 차단효과에 차이가 있을 수 있다는 가정을 생각해 볼 수 있었고, 향후 다양한 농도에서 연구를 해야할 것으로 생각되었다.

$Rb_1$과 $Rg_1$ 사포닌은 모두 10nM, 50nM 농도에서는 대조군과 유의한 차이가 없어 사포닌이 $A\beta_{25-35}$의 신경독성을 차단하는 효과는 사포닌의 양에 비례하는 것을 알 수 있었다. 실제 칼슘통로를 차단하는 효과도 양에 비례하여 나타난다는 보고가 있고[26] 또 Aβ의 독성이 칼슘의 항상성을

저해하는 것과 관련이 있을 것이라는[3] 가설 등에 의해, 이러한 사포닌의 보호 효과는 칼슘통로와 연관되었을 가능성이 있다고 생각되었다. 또 다른 가능성으로는 인삼의 항산화 효과에 의한 것으로, 인삼이 일산화질소 (NO) 의 분비를 촉진시켜 혈관의 확장과 함께 산소 유리기 (oxygen free radical) 에 의한 손상을 예방한다고 하며,[11] Zhang 등[30]은 인삼이 유리기를 제거하는 항산화제로서의 기능이 있다고 보고하였다.

이 예비적인 연구의 결과를 토대로, 이러한 물질들의 신경보호 효과가 어떤 기전에 의한 것인지 보충적인 연구를 통해 정확히 밝힘으로써 알츠하이머성 치매의 치료에 새로운 장을 열 수 있을 것으로 기대된다.

## 결 론

인삼의 주된 성분의 일종인 $Rb_1$과 $Rg_1$ 사포닌이 베타아밀로이드 펩티드의 독성에 대해 신경보호 기능이 있는 지 여부를 알아보고자 B103 세포를 이용하여 본 실험을 시행하였다. 그 결과, 인삼의 성분중 특히 $Rg_1$은 1 μM 농도에서 $A\beta_{25-35}$의 신경독성을 유의하게 차단하는 효과가 있고, 그 효과는 에스트로젠 (1.8nM) 에 의한 효과와 비슷한 정도였다. 그리고 검사한 농도에서 그 자체에 의한 신경 독성은 관찰되지 않았다. 따라서, $Rg_1$이 향후 알츠하이머 치매의 새로운 치료제로서 이용될 가능성을 보여 주었다. $Rb_1$은 $A\beta_{25-35}$에 의한 신경독성을 어느 정도 차단은 하였지만 $Rg_1$의 차단효과 보다는 적은 정도여서 각 사포닌마다 차이가 있음을 알 수 있었다.

본 연구는 전통적인 건강보조제의 개념을 넘어서, 병태생리가 실제로 재현되는 퇴행성 신경질환의 실험모델에서 구체적인 약리 효과를 검증하여 인삼 효능의 과학적 규명을 시도한 것으로서, 향후 치매치료제 개발에 있어서 인삼 제제의 응용 가능성을 제시하였다.

## REFERENCES


1. Akao T., Kanaoka M., Kobashi K. Appearance of compound K, a Major Metabolic of Ginsenoside Rb1 by intestinal bacteria, in Rat Plasma after oral administration-Measurement of compound K by Enzyme immunoassay. *Biol Pharm Bull* 1998;21:245-249.
2. Beckmann CRB. Alzheimer's disease:an estrogen link?. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1997;9:295-299.
3. WC Carl., JP Christian. Alzheimer disease. New York: *Raven Press, Ltd*., 1994;305-326.
4. Henderson VW. The epidemiology of estrogen replacement therapy and Alzheimer's disease. *Neurology* 1997;48(suppl 7):S27-S35.
5. Prelevic GM., Jacobs HS. New developments in postmenopausal hormone replacement therapy. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1997;9:207-212.
6. Smalheiser NR., Swanson DR. Linking estrogen to Alzheimer's disease: An informatics approach. *Neurology* 1996;47:809-810.
7. Mook IH., Joo IS., Sohn SH., Kwon HJ., Huh K., Jung MW. Estrogen blocks neurotoxic effects of βamyloid(1-42) and induces neurite extension on B103 cells. *Neurosci Lett* 1997;235:101-104.
8. Bigre SJ. The role of estrogen in the treatment of Alzhemer's disease. *Neurology* 1997;48(Suppl 7):S36-S41.
9. Fillit H. Future therapeutic developments of estrogen use. *Clin Pharmcol* 1995;35:25S-28S.
10. Fan ZH., Isobe KI., Kiuchi K., Nakashima I. Enhancement of nitric oxide production from activated macrophages by a purified form of ginsenoside(Rg1). *Am J Chin Med* 1995; 23:279-287.
11. Gillis CN. Panax ginseng pharmacology: A nitirc oxide link?. *Biochem Pharmacol* 1997;54:1-8.
12. Henderson VW. Estrogen, cognition, and a woman's risk of Alzhemer's disease. *Am J Med* 1997;103:11S-18S.
13. Wen TC., Yoshimura H., Matsuda S., Lim JH., Sakanaka M. Ginseng root prevents learning and neuronal loss in gerbils with 5-minute forebrain ischemia. *Acta Neuropathol* 1996;91:15-22.
14. Chen X., Salwinski S., Lee TJF. Extracts of ginko biloba and ginsenosides exert cerebral vasorelaxation via a nitric oxide pathway. *Clin Exp Pharmacol Phsiol* 1997;24:958-959.
15. Choi SR., Saji H., Iida Y., Magata Y., Yokoyma A. Ginseng pretreatment protects against transient global cerebral ischemia in the rat:Measurement of local cerebral glucose utilization by [$^{14}$C] Deoxyglucose autoradiography. *Biol Pharm Bull* 1996;19:644-646.
16. Lim JH., Wen TC., Matsuda S., Tanaka J., Maeda N., Peng H., et al. Protection of ischemic hippocampal neurons by ginsenoside Rb1, a main ingredient of ginseng root. *Neurosci Res* 1997;28:191-200.
17. Min L., Juntian Z. Effects of ginsenoside $Rb_1$ and $Rg_1$ on synaptosomal free calcium level, ATPase and Calmodulin in rat hippocampus. *Chin Med J* 1995;108:544-547.
18. Schbert D., Heinemann S., Tarikas H., Klimes B., Patrick J., Steinbach JH., et al. Clonal cell lines from the rat central nervous system. *Nature* 1974;249:224-227.
19. Benzing WC., Mufson EJ., Armstrong DM. Alzheimer's disease-like dystrophic neurites characteristically associated with senile plaques are not found within other neurodegenerative diseases unless amyloid βprotein deposition is present. *Brain Research* 1993;606:10-18.
20. Cai XD., Golde TE., Younkin SG. Release of excess Amyloid ß protein from a mutan amyloid ß proteint precursor. *Science* 1993;259:514-516.
21. Citron M., Oltersdorf T., Haass C., McConlogue L., Hung AY., Seubert P., et al. Mutation of the βamyloid precursor protein in familial Alzheimer's disease increases β protein production. *Nature* 1992;360:672-674.
22. Burns A., Murphy D. Protection against Alzheimer's disease?. *Lancet* 1996;348:420-421.
23. Kimura T., Saunders PA., Kim HS., Rheu HM., OH KW.,

Ho IK. Interaction of Ginsenosides with ligand-bindings of GABAA and GABAB receptors. *Gen Pharmacol* 1994; 25:193-199.

24. **박진규, 고지훈, 진승하, 남기열, 양성칠, 이창중 등. 저산소증 유도 뇌 기능장애에 대한** ginsenoside $Rb_1$**의 효과**. *Proceedings of '97 Korea-Japan Symposium* 1997;149-165.
25. Seong YH., Shin CS., Kim HS., Baba A. Inhibitory effect of ginseng total saponins on glutamate-induced swelling of cultured astrocytes. *Biol Pharm Bull* 1995;18:1776-1778.
26. Nah SY. Ginsenosides show the evidences of synaptic regulation:From cell to behavior. *Curr Tr Neurosc(Seoul)* 1998;6:17-30.
27. Petkov VD., Mosharrof DS. Effects of standardized ginseng extract on learning,memory and physical capabilities. *Am J Chin Med* 1987;15:19-29.
28. Han BH., Park MH., Kim DH., Hong SK. Studies on the metabolic fates of ginsenosides. *Korean Biochem J* 1986;19:213-218.
29. Karikura M., Miyase T., Tanizawa H., Taniyama T., Takino Y. Studies on absorption,distribution, excretion, metabolism of ginseng saponins. Ⅶ. Comparision of the decomposition modes of ginsenoside-Rb1 and -Rb2 in the digestive tract of rats. *Chem Pharm Bull* 1991;39:2357-2361.
30. Zhang D., Yasuda T., Yu Y., Zheng P., Kawabata T.O., Ma Y., et al. Ginseng extract scavenges hydroxyl radical and protects unsaturated fatty acids from decomposition caused by iron-mediated lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med* 1996;20:145-150.