

Effects of *Polygala tenuipolia* on Expression of Fos-protein and Ethanol Amnesia in Rat

Soon-Chul Lee^{1,†}, Kwang-Kyu Kim², Jin-Hee Jang² and Kwan-Hee You²

^{1,†}Department of Pharmacy, ²Department of Biology Chungnam National University, Daejeon, 305-764

Effect of single administration of *Polygala tenuipolia* was examined on short-term memory in step through test and the intensity of the immunoreactive c-Fos protein induced by oral administration of ethanol. The acquisition of memory was significantly reduced by ethanol, and ethanol amnesia was remarkably reversed following oral administration of *Polygala tenuipolia*. c-Fos protein in normal rat brain was highly expressed in order of thalamus, parietal cortex, hippocampus, hypothalamus, amygdaloid and cingulate cortex. The expression of Fos protein was remarkably suppressed by single administration of ethanol. The inhibitory effect of ethanol on expression of Fos protein was reversed by single administration of *Polygala tenuipolia*, especially tissues of limbic areas such as amygdala, parietal cortex and CA3 of hippocampus. These results suggested that the amelioration process of *Polygala tenuipolia* on ethanol amnesia seems to be involve the expression of c-Fos protein in partly.

Key Words: Ethanol, Acquisition, Fos-protein, Limbic area, *Polygala tenuipolia*, Immunofluorescence

서 론

에탄올은 중추신경계에 작용하여 정서 및 정신적 장애를 유발하며 특히 만성적 알코올 남용의 경우 치매, 기억상실, 경련, 환각, 말초신경 이상 등의 신경장애를 일으킨다¹⁾. 에탄올의 학습과 기억 저해 작용기전²⁾은 명확하게 알려져 있지 않으나 중추 콜린신경계를 비롯한 뇌 내의 신경계의 활성화에 영향을 주는 것으로 보고되어 있다³⁾. 원지 (*Polygala tenuifolia*)는 중국 동부와 동북부, 우리나라 중부 이북에서 자라는 다년생 초본으로 한방에서 거담제 (祛痰劑), 강장제 (強壯劑)로 사용되고 있다. 성분으로는 saponins, sapogenins, sugars, xanthone 유도체 등이 보고되고, cAMP phosphodiesterase 억제 효과, 울혈성 부종에 대한 이뇨작용, 기도분비 항진작용 등의 약리작용이 알려져 있다.

인삼의 사포닌 성분이 실험동물 뇌의 단백질 합성 증가 및 choline uptake 증가를 통해 scopolamine amnesia를 억제하는 것이 보고되어 있으나⁴⁾ 원지의 기억에 관한 생리활성 연구는 현재 매우 미미한 실정이다. Fos 단백질은 immediately early genes (IEGs)의 일종인 *c-fos* gene으로부터 growth factor, 신경

전달물질, 뇌 손상, 약물, 소리 및 허혈 등 광범위한 자극에 의하여 순간적으로 신속히 형성되어⁵⁾ 세포의 성장과 분화를 조절한다^{2,7,14)}. 다양한 자극 후 Fos 단백질은 뉴론에서 선명도 높게 발현되어 많은 조직에서 신경활성의 marker로 알려져 있고^{3,12,16)} 기억과 학습에 관한 연구 등이 보고되고 있으나^{9,18)} 정확한 생리학적 기능에 관해서는 잘 알려져 있지 않다.

따라서 본 연구에서는 에탄올 투여 흰쥐의 단기기억을 수동회피 실험을 통하여 조사하고, 뇌의 국소 부위에서 Fos 단백질의 발현 양상을 면역형광법을 이용하여 분석한 후 이에 미치는 원지 메탄올 추출물의 영향을 비교 검토하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

시료로 사용된 원지는 건재상 (대전)에서 구입하여 확인 후 사용하였으며, 실험동물은 150~180 g의 웅성 Sprague-Dawley 흰쥐를 물과 사료를 충분히 주고 온도 22±1℃, 습도 55±3%의 및 통풍 장치가 되어 있는 동물실에서 사육하였고 12시간 주기로 명암을 조절하였다 (07:00~19:00, light).

2. 방 법

1) 약물의 조제 및 투여

에탄올은 3차 증류수로 희석 (30% w/v)하여 3 g/kg의 용량으로 경구투여 하였으며 대조군은 생리식염수를 투여하였다. 원지 (*Polygala tenuipolia*) 메탄올 추출물 (500 mg/kg)은 10%

*논문 접수: 2002년 8월 19일
수정재접수: 2002년 9월 16일

†별책 요청 저자: 이순철, (우) 305-764 대전광역시 유성구 궁동 220, 충남대학교 약학대학 약학과
Tel: 042-821-5498, Fax: 042-822-9690
e-mail: leesc@cuvic.cnu.ac.kr

tween 80에 용해하여 에탄올 투여 30분 전에 경구 투여 하였다.

2) 수동회피 실험 (Passive avoidance performance test)

PACS-30 (Columbus Co. Ohio, USA; 54.6 cm×33 cm×48.3 cm, Passive/Active avoidance computerized system)을 이용하여 수동회피 실험을 행하였으며, 이 장치는 중간에 guillotine door가 있는 칸막이로 두 구획으로 나뉘어 두 구획 중 한쪽은 강도 10으로 조명을 하고 다른 한쪽은 차광하여 어둡게 하였다. 바닥은 전기 쇼크를 주기 위해 grid로 구성되어 있다. 실험은 24시간 간격으로 2일 연속 동일시간에 행하였다. 약물 투여 30분 후에 에탄올을 투여하고 에탄올 투여 1시간 후 흰쥐를 조명이 된 밝은 쪽 구획에 놓고 30초간 탐색 후 guillotine door가 열려 어두운 구획으로 들어갈 수 있게 하여 어두운 곳을 선호하는 흰쥐가 어두운 쪽으로 이동하게 되면 이 시간이 자동적으로 측정되어 learning trial time으로 기록된다. 일단 흰쥐가 어두운 쪽으로 이동하면 문이 닫히고 바닥으로부터 0.6 mA의 scrambled shock을 5초 동안 받게 된다. 24시간 후 동일방법으로 30초의 탐색시간 후 5분 동안 어두운 구획에 흰쥐를 놓아 24시간 전에 받은 scrambled shock을 기억하여 어두운 구획으로 들어갈 때까지의 시간을 testing trial time으로 자동 기록하여 testing trial time이 길수록 수동회피 학습과 기억이 우수한 것으로 판정한다.

3) 뇌 조직의 동결 조직절편 제작

에탄올 투여 1시간 후 흰쥐의 귀 뒷부분을 단두한 후 뇌 전체를 적출하고 차가운 생리식염수에 담겨 혈액을 제거하였다. -70°C isopentane에 1분간 급냉시켜 -21°C의 microtome chamber 내에서 고정시키고 10 μm 두께로 잘라 slide glass에 붙여 60°C에서 30분 동안 조직을 고정시켰다. 4% PFA에 20분간 조직을 고정시킨 후 3X DEPC-PBS과 1X DEPC-PBS에 각각 5분 동안 조직절편을 세척한 후 30%, 60%, 80%, 95% 및 100% 에탄올에서 각각 2분씩 탈수시켜 공기 건조하고 사용 전까지 -70°C에 보관하였다.

4) 면역형광법

-70°C에 보관되어 있는 흰쥐 뇌 조직을 꺼내서 공기 건조 후 차가운 acetone으로 12분간 고정시키고 PBS (pH 7.4)로 2분

씩 2회 세척하였다. c-Fos 단백질에 대한 rabbit polyclonal antibody (Oncogene Research Products, Cambridge, MA, U.S.A.)를 PBS로 30배 희석하여 뇌 조직에 40~50 μl씩 분주하여 실온에서 1시간 동안 반응시킨 다음 PBS로 2분씩 3회 세척하였다. FITC가 결합되어 있는 goat anti-rabbit IgG (Zymed Laboratory Inc., San Francisco, CA, U.S.A.)를 PBS에 150배 희석하여 40~50 μl씩 분주하여 37°C에서 30분 동안 반응시키고 PBS로 2분씩 3회 세척 후 공기 건조시켜 80% glycerol로 mounting한 후 coverslip으로 덮고 공초점 현미경으로 관찰하였다.

3. 통계처리

수동회피 실험에 대한 유의성 검정은 student's t-test를 적용하였다.

결 과

1. 수동회피 실험 결과

1) 흰쥐의 단기기억에 미치는 급성 에탄올 투여 효과
수동회피 실험에서 saline 투여 대조군의 learning trial의 평균지체시간은 22±6.1 sec를 나타내었고, 3 g/kg 에탄올 급성 투여군의 평균지체시간은 11±8.3 sec로 현저한 차이를 나타내지 않았다. 그러나 testing trial의 경우 saline 투여 대조군은 300초 동안의 지체기간 동안 모두 조명이 된 learning trial의 saline 투여 대조군의 흰쥐는 300초 동안의 탐색기간 중 어두운 쪽으로 이동하지 않은 반면, 에탄올 투여군은 현저한 학습 결손을 나타내어 투여 흰쥐 모두 어두운 쪽으로 이동하였으며 평균지체시간은 29.8±31.2 sec로 대조군과 비교하여 평균지체시간의 유의성 있는 감소를 보였다 (Table 1).

2) 급성 투여가 에탄올 투여 흰쥐의 기억 손상에 미치는 효과

흰쥐의 수동회피 실험에서 원지 (*Polygala tenuipolia*) 500 mg/kg을 단독 급성 투여는 별다른 영향을 나타내지 않았으나 에탄올 투여 30분 전에 병용 투여한 실험군의 경우 227.5±145 sec의 testing trial 결과를 나타내어 에탄올 급성 투여군의 testing trial 결과와 비교할 때 현저한 평균지체시간의 증가를 나타내었다 (Table 1).

Table 1. Effect of single dose of *Polygala tenuipolia* on acquisition of ethanol-tgreated rats in step through test

Group	Drug	Learning (sec.)	Acquisition (sec.)	Success (%)
Control	Saline	22.0±6.1	>300	0/6
Ethanol	Vehicle	11.0±8.3	29.8±31.2*	6/6
Ethanol	<i>Polygala tenuipolia</i>	24±7.9	227.5±145 [#]	3/6

Ethanol (3 g/kg, p.o.) was given 1 hr before the learning trial. *Polygala tenuipolia* (500 mg/kg, p.o.) or saline (1 ml/kg, p.o.) were administered 30 mins before ethanol injection in individual groups. Values represent the mean ± S.E.M. of six rats. *P<0.01 when compared with saline-treated control group. [#]P<0.05 when compared with vehicle-treated ethanol group

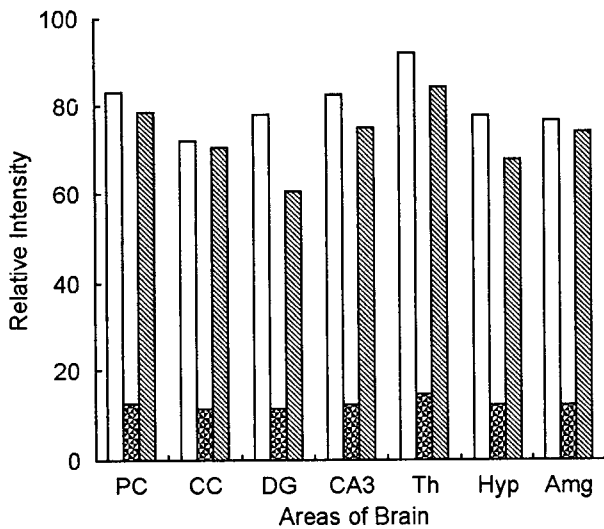


Fig. 1. Effect of a single dose of *Polygala tenuipolia* methanol extract on inhibited expression of Fos protein of ethanol-treated rats in the immunofluorescence test. Ethanol (3 g/kg, p.o.) was given 1 hr before decapitation. *Polygala tenuipolia* (500 mg/kg, p.o.) or saline (0.1 ml/100 g, p.o.) were administered 30 mins before ethanol injection in individual groups. The intensity of the immunoreactive signals of ethanol-treated rats was compared with saline-treated vehicle using the image analysis tool of the LSM 510 program (ZWISS). PC, parietal cortex, CC, cingulate cortex, DG, dentate gyrus, CA3, pyramidal layer of hippocampus, Th, thalamus, Hyp, hypothalamus, Amg, amygdaloid. Values represent the mean \pm S.E.M. of six rats. * $P < 0.01$ when compared with vehicle-treated saline group. # $P < 0.05$ when compared with vehicle-treated ethanol group. Keys: (□) control, (▨) ethanol and (▩) *Polygala tenuipolia*.

2. 면역형광 실험 결과

1) 흰쥐 뇌의 Fos 단백질의 분포에 미치는 에탄올 투여의 영향

에탄올 투여 1시간 후 흰쥐의 뇌를 적출하여 동결 조직절편을 만들고 면역형광 반응 결과를 공초점 현미경 하에서 관찰하고 saline을 투여한 대조군과 비교하였다. 대조군의 Fos 단백질 면역반응은 뇌 전체에서 광범위하게 관찰되었으며, 특히 thalamus, parietal cortex, CA3, dentate gyrus, hypothalamus, amygdaloid, cingulate cortex 순으로 높게 발현되었으며, 각각의 relative intensity는 92%, 83%, 82.7%, 78.2%, 78%, 76.8%, 72%로 측정되었다. 에탄올 급성 투여 결과 Fos 단백질의 면역반응은 thalamus, parietal cortex, CA3, dentate gyrus, hypothalamus, amygdaloid, cingulate cortex 순으로 각각의 relative intensity는 15%, 13.1%, 12.8%, 11.5%, 12.2%, 12.2%, 11.4%로 대조군에 비해 현저한 감소를 나타내었다 (Fig. 1).

2) 에탄올 투여 흰쥐 뇌의 Fos 단백질 발현에 미치는 원지의 급성 투여 영향

에탄올 투여 30분 전에 원지 메탄올 추출물 500 mg/kg을

1회 경구 투여한 결과 에탄올 투여에 의한 Fos 단백질 면역반응은 thalamus, parietal cortex, CA3, amygdaloid, cingulate cortex, hypothalamus, dentate gyrus 순으로 각각의 relative intensity는 84.2%, 78.7%, 75.3%, 74%, 70.7%, 68%, 60.7%로 측정되어 에탄올 투여군과 비교할 때 Fos 단백질의 발현이 현저하게 높게 관찰되었다 (Fig. 1, 2).

고찰

에탄올은 중추신경계에 작용하여 정서 및 정신적 장애를 유발하며, 에탄올의 많은 약리작용은 비 특이적으로 나타내는 것이 많이 보고되어 있다. 본 연구에서 사용한 에탄올의 용량은 에탄올에 의해 자발운동은 증가되나 근 이완작용은 충분히 억제되는 즉 운동기능 저하 등의 비 특이적 용량을 투여하는 대신 억제 중추의 충분한 억제를 나타내는 농도로 조절하여 시행하였으며, 이러한 에탄올의 용량에 대한 고찰은 자발운동 및 GABA 신경활성 길항제인 picrotoxin과 DZP 등 약물학적으로 검토하였다^{21,22}). 따라서 본 연구의 결과 에탄올의 급성 투여로 유발된 수동회피 실험의 현저한 억제작용은 적어도 운동장애로 인하여 실험장치의 두 경계를 자발적으로 이동할 수 없는 비 특이적 결과에 의한 것은 아니다. 이런 관점에서 scopolamine에 의한 콜린신경계에 의한 기억 억제 모델과 달리, 에탄올 투여에 의한 단기 기억의 억제^{21,23})는 생리활성 기능이 밝혀져 있지 않은 물질의 1차적 작용 검색방법으로 매우 유용하게 사용할 수 있다.

기억은 지속시간에 따라 단기 기억 (short-term memory, working memory)과 장기 기억 (long-term memory)으로 분류된다. 단기 기억은 그대로 소멸될 수도 있고 장기 기억으로 고정될 수도 있는데 기억의 고정에는 집중력, 동기, 신경전달물질, 호르몬 등이 관련된 것으로 보고되고 있다²⁰). 단기 기억의 형성에는 도파민이 가장 중요한 신경전달물질로 작용되며, 단기 기억의 형성은 주로 전 피질에서 일어난다. 원숭이를 대상으로 한 인식능력을 요구하는 실험에서 전 피질의 도파민 신경의 축색돌기가 증가하고 도파민 자체의 분비가 증가하며⁴), 또한 dopamine D₁ receptor 길항제를 전 피질에 투여하면 단기 기억 실험에서 수행결손을 나타내고 과도한 dopamine D₁ receptor의 흥분은 오히려 단기 기억을 억제한다는 등 dopamine D₁ receptor의 적당한 흥분이 단기 기억에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되어 있다¹¹). 또한 에탄올은 중추 모노아민 신경계에서 도파민의 합성, 유리, 대사에 영향을 나타내며¹⁹), 특히 에탄올을 남용으로 유발되는 신체적, 정신적 증후는 중추 도파민 신경의 활성변화에 기인하는 것으로 알려져 있다.

본 실험에서 Fos 단백질의 면역반응을 공초점 현미경으로 관찰한 결과, 대조군에서 thalamus, parietal cortex, hippocampus, hypothalamus, amygdaloid, cingulate cortex 등에서 고 밀

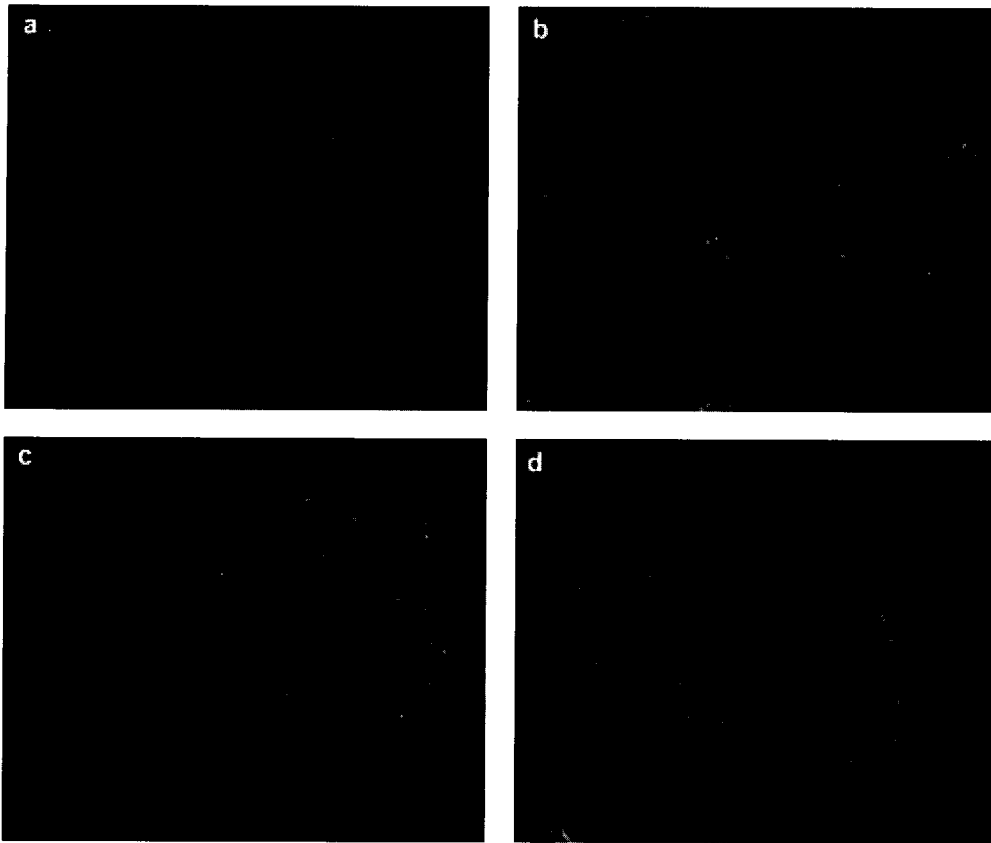


Fig. 2. Confocal microscope image ($\times 100$) of immunofluorescent staining illustrate inhibition of the expression of c-Fos protein by treatment with single ethanol (3 g/kg), using image analysis tool of the LSM 510 program (ZWISS). **a)** saline-treated cingulate cortex, **b)** *Polygala tenuipolia* methanol extract-treated cingulate cortex, **c)** saline-treated dentate gyrus, **d)** *Polygala tenuipolia* methanol extract-treated dentate gyrus.

도로 발현되나 striatum 등에서는 매우 낮은 것으로 나타났으며 에탄올 투여에 의해 뇌 전 조직의 Fos 단백질의 면역반응은 약 85% (relative intensity) 정도 억제되었다. 일반적으로 c-Fos 단백질 발현은 자극 후 15~90분 이내에 일어나며, 24시간 이내에 소실되는 것으로 알려져 있다⁹⁾. 따라서 급성 에탄올 투여 1시간 후에 유발되는 단기 기억의 억제는 striatum dopamine의 활성변화에 무관한 것인지 아니면 Fos 단백질 발현시간이 적절하지 않은 것인지에 관해서는 추후 더 연구해야 할 것으로 생각된다. 에탄올의 Fos 단백질 발현에 대한 강력한 억제작용은 500 mg/kg 원지 메탄올 추출액 급성 투여에 의해 현저하게 차단되었으며, 특히 cingulate cortex (62%), amygdaloid (61%), parietal cortex (60%), hippocampus의 CA3 조직 (60%) 등 limbic system 속하는 조직의 Fos 단백질의 면역반응이 현저히 감소한 것으로 나타났다. Hippocampus의 시냅스들은 고주파의 자극을 받게 되면 시냅스 강도가 증가하고 이러한 증가는 몇 시간 동안 유지되는데 이를 long-term potentiation (LTP)이라 부르며 학습과 기억의 시냅스 모델로 알려져 있으며¹⁾, glutamate의 subtype인 NMDA receptor의 활

성이 LTP의 형성과 유지에 중요하게 작용하는데 에탄올의 급성 투여가 직접적으로 NMDA receptor를 억제하여 LTP를 감소시키는 것으로 밝혀져 있다¹⁰⁾. 또한 에탄올은 뇌 전체에 걸쳐 GABA_A receptor의 발현과 발현을 조절하며 에탄올에 의한 LTP의 감소가 GABA_A 길항제에 의해서 역전되는 등, 에탄올이 GABA receptor를 통하여 LTP를 억제한다는 보고⁵⁾와 비교하여 볼 때 본 연구의 면역형광 실험 결과 에탄올 급성 투여로 유발되는 Fos 단백질 발현의 억제작용은 시상하부 등의 내분비 및 피질, hippocampus 부위 등 기억 형성 및 유지에 민감한 부위에 더 강력하게 작용하고 있음을 알 수 있으며, 특히 원지의 급성 투여 후 limbic system의 여러 핵에서의 에탄올의 Fos 단백질 발현의 현저한 차단 효과는 원지의 급성 투여 후 에탄올 투여 환경의 hippocampus 부위에서 glutamate와 GABA 함량의 증가²⁴⁾ 한다는 보고와 비교해 볼 때 중추작용 부위가 매우 선택적이고 ethanol amnesia에 대한 원지의 작용기전이 부분적으로 Fos 단백질 발현시스템을 경위하고 있음을 강력하게 시사하고 있다. 기억에 있어 Fos 단백질의 작용은 아직 확실하지 않으나 IEGs의 작용을 방해하

면 기억력에 영향을 미칠 수 있으며 학습과 기억의 모델로 알려진 LTP를 일으키는 자극 후에 IEGs의 전사가 증가된다는 최근의 연구로 미루어 볼 때 LTP의 유지에 IEGs가 관련되어 있다는 사실을 알 수 있다. 따라서 본 연구 결과는 앞으로 기억에 대한 원지의 작용기전 연구가 계속될 필요가 있을 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 충남대학교 학술진흥 장학재단의 연구비 지원으로 수행되었으며, 본 논문의 시료를 제공한 충남대학교 약학대학 강종성 교수에게 감사드립니다.

참 고 문 헌

- 1) Bliss TVP and Collingridge GL (1993): A synaptic model of memory. *Nature*, **316**: 31-39.
- 2) Bruno B and Frank RS (1997): Systemic morphine-induced Fos protein in the rat striatum and nucleus accumbens is regulated by μ opioid receptors in the substantia nigra and ventral tegmental area. *J Neurosci*, **17**: 8596-8612.
- 3) Bullitt E (1989): Induction of c-fos like protein within the lumbar spinal cord and thalamus of the rat following peripheral stimulation. *Brain Res*, **493**: 391-397.
- 4) Cai JX and Arnsten AFT (1997): Dose-dependent effects of the dopamine D₁ receptor agonists A77636 or SKF81297 on spatial working memory in aged monkeys. *J Pharmacol & Exp Therapeutics*, **283**: 165-169.
- 5) Chalton ME (1997): Chronic ethanol administration regulates the expression of GABA_A receptor alpha 5 subunits in the ventral tegmental area and hippocampus. *J Neurochem*, **68**: 121-127.
- 6) Dragunow M and Faull R (1989): The use of c-fos as a metabolic marker neuronal pathway tracing. *J Neurosci Methods*, **29**: 261-265.
- 7) Emilio MP, Pagliusi SR and Michela T (1997): Common neutral substrates for the addictive properties of nicotine and cocaine. *Science*, **275**: 83-86.
- 8) Holloway FA (1982): State-dependent effects of ethanol on active and passive avoidance learning. *Psychopharmacology*, **78**: 71-75.
- 9) Jeffrey AK, Lussnig E, Schwarz ER, Comery TA and Greenough WT (1996): Synaptogenesis and Fos expression in the motor cortex of the adult rat after motor skill learning. *The Journal of Neuroscience*, **16(14)**: 4529-4535.
- 10) Joanna P (1997): Neurochemical basis of disruption of hippocampal long term potentiation by chronic alcohol exposure. *Frontiers in Bioscience*, **2**: 309-316.
- 11) Justin Z, Jane RT, Rex GM and Amy FTA (1997): Supranormal stimulation of D₁ dopamine receptors in the rodent prefrontal cortex impairs spatial working memory performance. *J Neurosci*, **17**: 8528-8535.
- 12) Kaufman GD, Anderson JH and Beitz AJ (1992): Fos-defined activity in rat brainstem following centripetal acceleration. *J Neurosci*, **12**: 4489-4500.
- 13) Ma TC and QH (1993): Effect of 20(S)-ginsenoside-Rg2 and cyproheptadine on two-way active avoidance learning and memory in rats. *Arzneimittelforschung*, **43**: 1049-1052.
- 14) Sagar SM, Sharp FR and Curran T (1988): Expression of c-fos protein in brain: Metabolic mapping at the cellular level. *Science*, **240**: 1328-1331.
- 15) Samson HH and Harris RA (1992): Neurobiology of alcohol abuse. *Tips*, **13**: 206-211.
- 16) Sharp FR, Sagar SM, Hicks K, Lowenstein D and Hisanaga K (1991): c-fos mRNA, Fos, Fos-related antigen induction by hypertonic saline and stress. *J Neurosci*, **11**: 2321-2331.
- 17) Shen RU and Chiodo LA (1993): Acute withdrawal after repeated ethanol treatment reduces the number of spontaneously active dopaminergic neurons in the ventral tegmental area. *Brain Res*, **622**: 289-293.
- 18) Ursula SH, Lynch G and Gall CM (1995): Regional patterns of c-fos mRNA expression in rat hippocampus following exploration of a novel environment versus performance of a well-learned discrimination. *The Journal of Neuroscience*, **15(12)**: 7796-7809.
- 19) Zhang Y, Shoyama Y, Saito H and Abe K (1994): The effects of *Crocus sativus L.* on the ethanol-induced impairment of passive avoidance performances in mice. *Bio Pharm Bull*, **17**: 217-221.
- 20) 강봉균 (1994): 학습과 기억에 동반되는 신경계의 분자적 변화. *Cruent Trends in Neurosci*, **3**: 151-169.
- 21) 이순철, 김은주, 유관희, 강종성, 문양선 (1999): 에탄올 급성 투여로 유발된 학습획득 손상에 미치는 수종 뇌 기능 개선 후보 물질의 작용. *J Ginseng Res*, **23**: 115-121.
- 22) 강종성, 이순철 (1999): HPLC-ECD를 이용한 흰쥐의 뇌 중 감마아미노부티르산 및 글루탐산의 정량. *Yakhak Hoeji*, **43**: 300-305.
- 23) Lee SC, Moon YS and You KH (2000): Effects of red ginseng saponins and nootropic drugs on impaired acquisition of ethanol-treated rats in passive avoidance performance. *J Ethnopharmacology*, **69**: 1-8.

24) 린팜두안, 이순철, 김영호, 홍선표, 송창우, 강종성 (2000):
Effects of some crude extracts on the brain neurotransmitters

in the ethanol-treated rats. *Analytical Science & Technology*,
13: 630-635.
