

## 에탄올에 중독된 흰쥐의 학습능력에 미치는 지구자의 효과

임종필\*† · 최 훈\* · 송정모\*\*

\*우석대학교 한약학과, \*\*우석대학교 한의과대학

## Effect of Fruits of *Hovenia dulcis* Thunb. on Learning Ability of Ethanol-induced Rats

Jong Pil Lim\*†, Xun Cui\*, and Jeong Mo Song\*\*

\*Department of Oriental Pharmacy, Woosuk University, Jeonju 565-701, Korea.

\*\*College of Oriental Medicine, Woosuk University, Jeonju 565-701, Korea.

**ABSTRACT :** To investigate effect of fruits of *Hovenia dulcis* Thunb. on learning ability of ethanol-induced rats, we divided rats into 3 groups: normal, control and sample groups. Control group administered ethanol at a dose 3 g/kg bw. (25 v/v %), while sample group administered the water extract of fruits of *Hovenia dulcis* Thunb. 30 min. before treating same dose of ethanol as control group orally. All groups were subjected to trials of straight channel on the 1st day and to those of multiple T-maze during the following 3 days. The time required in normal group for the straight channel of the 2nd and the 3rd trials was significantly shorter than that of the 1st, while control group showed no significance. In the time required for the multiple T-maze trials of control group, there were no significance. But in the straight channel or multiple T-maze trials, the sample group showed significant decrease in the time required against control group, and also showed significant decrease in the number of selecting errors.

**Key words :** *Hovenia dulcis*, learning ability, T-maze, ethanol

### 서 언

지구나무 (*Hovenia dulcis* Thunb.)는 갈매나무과 (Rhamnaceae) 식물로서 우리말로 헛개나무라고 하며, 과실 꼭지가 달린 육질이 있는 열매를 가지고 있는데 이를 지구자 (枳椇子)라고 하여 성분으로는 포도당, calcium malate 등이 보고되어 있고 목부는 hovenic acid 등을 함유한다(金, 1995). 맛은 달(甘)고 성은 평(平)하며 지갈제번(止渴除煩), 청습열(淸濕熱), 해주독(解酒毒)의 효능이 있다고 하였다(吳, 1982). 약용으로 사용하는 것은 10~11월에 열매가 성숙되었을 때 열매꼭지와 열매를 함께 따서 햇볕에 말리거나 열매 껍질을 벗기고 씨앗을 털어

내어 햇볕에 말린 것이다(熊, 1994).

지구자의 생리활성에 대해서는 그 동안 상당한 보문이 있는데 Yoshikawa *et al.* (1997)은 에탄올에 의해 유발된 근육이완 억제 효과와 간 보호작용에 대해 보고하였으며, 안 등(1999)은 알콜 분해능이 있다고 보고하였으며 심 등(1999)은 헛개나무의 잎과 과병의 화학성분에 관하여 보고한 바 있다.

중추신경계는 알콜 독성에 민감한 곳으로(Pierce *et al.*, 1989) 에탄올 중독은 뇌 신경세포의 사멸성 신경퇴행(apoptotic neurodegeneration)을 유발시킨다고 한다(Ikonomidou *et al.*, 2000). 이처럼 손상된 신경세포는 기억퇴락을 가져와 생활에 막대한 지장을 초래한다. 따라서

† Corresponding author : (Phone) +82-63-290-1571 (E-mail) limjp@woosuk.ac.kr  
Received July 8, 2003 / Accepted July 31, 2003

수많은 알콜 중독환자의 기억손실로 인한 사회부적응은 엄청난 사회적 문제로 대두되고 있다. 이러한 상태에 있는 환자의 기억능력을 회복시키는 약물을 찾아낸다는 것은 대단히 중요하다고 생각된다.

기억능력을 시험하는 수미로(水迷路; water filled multiple T-maze) 실험(Hasegawa *et al.*, 1988)은 실험 약물이 학습활동에 미치는 영향을 조사하기 위해 널리 실시되고 있으며 의학, 약리학의 분야에서도 광범위하게 사용되고 있다(Ishizaki, 1978; Hasegawa *et al.*, 1987).

그 동안 지구자가 알콜 중독의 해독에 유익하다는 실험 결과의 연장선상에서 알콜 중독에 의한 기억퇴폐에는 어떠한 영향을 미치는가에 대하여 알아보고자 에탄올에 중독된 흰쥐에 지구자 물 추출물을 투여하여 수미로 학습실험을 하여 몇 가지 지견을 얻었기에 그 결과를 보고한다.

## 재료 및 방법

### 물추출물의 조제

본 실험에 사용한 지구자는 전남 보성군에서 구입한 것으로 음건하여 세절한 후 5배수의 정제수를 가한 후 100℃에서 3시간씩 2회 추출하여 감압 여과하여 농축한 후 동결 건조하여 시료로 사용하였다(수득율: 9.8%).

### 실험동물

본 실험에 사용된 동물은 Sprague-Dawley계 숫컷 흰쥐를 대한바이오링크에서 구입하여 체중 200±20 g인 것을 실험실 환경에 충분한 사료와 물을 공급하면서 적응시킨 뒤 정상군(normal), 에탄올 투여군(control) 및 지구자 물 추출물과 에탄올을 함께 투여한 검액투여군(sample)으로 10마리씩 나누어 실험하였다.

Control군은 Fujii *et al.*(1985)의 방법에 준하여 25 v/v% 에탄올을 3 g/kg을, sample군은 상용량을 고려하여 지구자 물 추출물을 10 mg/kg 투여하고 30분 후에 에탄올을 control군과 같은 양으로 매일 같은 시간에 1회씩 각 기 경구로 투여하였다.

### 장치

실험에 사용한 multiple T-maze 기구는 Ishizaki (1978)의 방법에 따라 두께가 10 mm의 흑색 염화비닐제품으로 가로, 세로 각각 130 cm, 깊이 30 cm, 수로 폭 13 cm로 제작하였으며 목표점에는 철망을 설치하여 흰쥐가 자력으로 위에 올라갈 수 있게 하였다. 직선수로 실험은 미로의 일부에 있는 130 cm의 직선수로를 이용하여 실시하였다(Fig. 1).

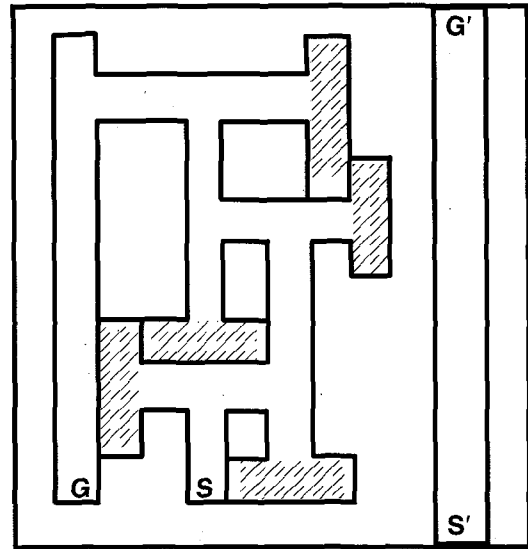


Fig. 1. Schematic representation of the water filled multiple T-maze.

S(S): starting point. G(G): goal.

### 실험조건

수로에는 흰쥐가 수영할 수 있도록 20 cm 만큼 물을 채웠다. 직선수로 및 T-미로 학습 실험에서 출발점(S', S)으로부터 목표점(G', G)에 도달하기까지의 소요시간을 기록하였다. 실험약물 투약 11일 째 되는 날에, 직선수로 실험은 1일간 3시간 간격으로 3회 시행하였고, 다음날부터 3일 동안 T-미로 학습 실험을 3시간 간격으로 1일 3회씩 시행하였다. 또한 T-미로 학습 실험의 경우에는 목표지점이 아닌 T-자형 말단(빗금부분)에 들어가는 selecting error도 측정하였다.

### 통계처리

실험성적의 통계처리는 student's t-test로 하였으며 유의수준은 0.05이하로 하였다

## 결 과

### 급성독성

지구자 물 추출물을 체중 kg당 1,000 mg으로부터 시작하여 투여량을 등차적으로 3,000 mg까지 증량한 후 72시간 관찰하였으나 별다른 병변을 관찰할 수 없었다.

### 에탄올 중독관찰

25% 에탄올을 체중 kg당 3 g씩 10일 간 경구 투여한 흰쥐에서 대부분 만성 알콜 중독증세인 떨림, 공포에 의한 공격적 행동 등을 보였다.

**직선수로 실험**

Normal군에서 2회 및 3회 째 소요시간은 1회 째 소요시간에 비하여 유의성 있게(p<0.05) 감소하였다. 그러나 에탄올에 중독된 군(control)에서는 소요시간이 약간 감소하는 경향을 보였으나 유의성은 없었다. 그러나 지구자 물 추출물을 투여한 검액투여군(sample)에서는 2회 및 3회 째에 1회 째 소요시간에 비하여서 유의성 있게 감소하였고(p<0.05), control군에 비하여서도 2회 및 3회 째에 유의성 있는(p<0.05) 시간 감소를 보였다(Table 1).

**Table 1. Learning ability of rats on water filled straight channel for 3 times.**

Group\time	1st	2nd	3rd
Normal	11.8±6.3	4.1±0.2 <sup>#</sup>	3.1±0.5 <sup>#</sup>
Control <sup>†</sup>	31.4±17.1	29.6±7.9	27.8±19.2
Sample <sup>‡</sup>	19.2±9.1	11.4±5.9 <sup>**</sup>	9.8±5.2 <sup>**</sup>

Each value represents the mean±SE of 10 rats in the time (seconds) required for arriving at goal. <sup>†</sup>Administered ethanol at a dose 3 g/kg bw. (25 v/v %) for 10 days orally. <sup>‡</sup>Administered the water extract of fruit of *Hovenia dulcis* Thunb. 30 min. before treating same dose of ethanol as control group for 10 days orally. Significantly different from 1st time (<sup>#</sup>p<0.05), and from control group (<sup>\*\*</sup>p<0.05).

**T-미로실험**

Normal군의 2일째와 3일째의 소요시간은 첫날의 소요시간에 비하여 유의성 있는(p<0.05) 감소를 나타냈다. 그러나 control군에서는 약간 감소하는 경향이 있었으나 직선수로 실험에서와 마찬가지로 유의성은 없었다. Sample군에서는 첫날에 비하여 2일째 감소하기는 하였으나 유의성은 없었고 3일째는 유의성 있는(p<0.05) 감소를 나타냈다. 또한 control군에 비하여서도 2일째는 유의성이 없었으나

**Table 2. Learning ability of rats on water filled multiple T-maze for 3 days.**

Group\time	1st	2nd	3rd
Normal	49.3±14.2	26.1±11.4 <sup>#</sup>	29.1±15.1
Control <sup>†</sup>	95.2±25.1	73.4±18.6	78.8±27.4
Sample <sup>‡</sup>	72.6±18.2	49.9±13.5	42.1±12.0 <sup>**</sup>

Each value represents the mean±SE of 10 rats in the time (seconds) required for arriving at goal. <sup>†</sup>Administered ethanol at a dose 3 g/kg bw. (25 v/v %) for 10 days orally. <sup>‡</sup>Administered the water extract of fruit of *Hovenia dulcis* Thunb. 30 min. before treating same dose of ethanol as control group for 10 days orally. Significantly different from 1st time (<sup>#</sup>p<0.05), and from control group (<sup>\*\*</sup>p<0.05).

3일째는 유의성 있는(p<0.05) 감소를 보였다(Table 2).

**Selecting errors**

Normal군의 경우 2일째 및 3일째에 첫날 selecting error 횟수에 비하여 유의성 있게(p<0.05) 감소하였다. 그러나 control군의 경우에는 유의차가 인정되지 않았다. Sample군의 경우 첫날에 비하여 2일째 및 3일째 selecting error 횟수가 유의성 있게(p<0.05) 감소함을 보였다. 또한 sample군의 경우 control군에 비하여서 2일째 및 3일째 selecting error 횟수가 유의성 있게(p<0.05) 감소하였다(Table 3).

**Table 3. Selecting error numbers for learning performance of rats on water filled T-maze for 3 days.**

Group\day	1	2	3
Normal	3.1±0.2	1.4±0.3 <sup>#</sup>	1.2±0.2 <sup>#</sup>
Control <sup>†</sup>	5.2±1.8	4.5±0.4	4.1±0.7
Sample <sup>‡</sup>	4.2±0.4	3.0±0.7 <sup>**</sup>	1.9±0.3 <sup>**</sup>

Each value represents the mean±SE of 10 rats in selecting error numbers. <sup>†</sup>Administered ethanol at a dose 3 g/kg bw. (25 v/v %) for 10 days orally. <sup>‡</sup>Administered the water extract of fruit of *Hovenia dulcis* Thunb. 30 min. before treating same dose of ethanol as control group for 10 days orally. Significantly different from 1st day (<sup>#</sup>p<0.05), and from control group (<sup>\*\*</sup>p<0.05).

**고 찰**

수미로 실험의 장점은 먼저 실험에 사용된 동물의 냄새에 의한 영향이 배제되는데 있다. 직선수로 실험에서 normal군의 경우 2회 및 3회 째 소요시간이 1회 째에 비해 유의성 있는 감소를 나타낸 것은 흰쥐에게 학습능력이 있음을 시사해주고 있다. T-미로 실험에서도 직선수로에서와 같이 출발시점에서부터 목표지점까지의 소요시간이 단축되는 것으로 미루어보아 동물도 학습에 의하여 기억능력이 향상됨을 알 수 있다.

에탄올 중독된 control군은 정상군에 비하여 목적지 도달에 모두 오랜 소요시간을 필요로 하는데 이는 기억의 감퇴로 학습능력이 떨어지는데 기인된 것으로 생각되며 실험 결과 에탄올 중독된 control 군의 경우에는 미로학습은 큰 도움을 주지 못했다. 또한 수미로 실험에서 출발점으로부터 목표지점까지의 수영에서 Table 3과 같은 selecting error를 기록했는데 normal군에서는 1일째에 비하여 2일

제 및 3일째 유의한 감소를 나타내어 반복시행에 의하여 error가 감소되는 것을 확인할 수 있었으나, 역시 control군에서는 반복학습에 의해서도 계속 error가 발생하였는데 이는 학습지능저하에 기인한 것으로 판단된다. 그러나 sample군의 경우는 유의성 있는 소요시간 감소를 보여 약물에 의한 기억력의 회복을 시사한다.

이상의 결과로 종합하여 볼 때 직선수로 실험과 T-미로 실험에서 에탄올 중독된 흰쥐의 경우는 상당한 학습능력의 저하를 보이나, 계속되는 회복약물의 투여로 유의성 있게 학습능력의 회복을 나타내는 것으로 보아 지구자는 에탄올에 의한 간손상을 치료할 뿐만 아니라 학습능력의 회복에도 도움을 주는 약물로 생각된다. 그러나 지구자의 학습능력의 회복에 따른 기전이나 유효성분에 대해서는 추후 더 깊은 연구가 필요하다고 생각된다.

### 적 요

지구자 물 추출물이 에탄올 중독된 흰쥐의 학습능력에 미치는 영향을 실험하기 위하여 정상군(normal), 25% 에탄올 투여군(control) 및 지구자 물 추출물과 에탄올을 함께 투여한 검액투여군(sample)으로 나누어 10일간 각 약물을 투여한 후 11일째 1일 3회 직선수로 실험을 시행하고, 다음날부터 3일간 1일 3회씩 실험한 T-미로실험을 시행한 결과, normal군은 직선 수로실험과 T-미로실험에서 학습에 의하여 목표점 도달 소요시간이 유의성 있게 단축되고, control군은 기억력쇠퇴로 인하여 학습능력이 현저히 감소하나, 지구자의 물 추출물을 계속적으로 투여한 sample군의 경우 에탄올 중독으로 저하된 학습 능력에 유의성 있는 회복을 나타냈다.

### 사 사

이 논문은 우석대학교 교내 학술연구비 지원에 의하여 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

### LITERATURE CITED

- Fujii M, Ohmachi T, Sagami L, Watanabe M (1985) Liver microsomal drug metabolism in ethanol-treated hamsters. *Biochem. Pharmacol.* 34 : 3881-3884.
- Hasegawa N, Shimamura K, Suzuki K, Imamichi T (1987) The development of water maze-learning ability in rats(2) : Effect of pretraining with the water filled straight channel. *Exp. Anim.* 36(2) : 163-168.
- Hasegawa N, Shimamura K, Suzuki K (1988) Studies on the development of water maze-learning ability in rats(3) : Effect of the learning schedule of learning acquisition. *Exp. Anim.* 37(3) : 297-301.
- Ikonomidou C, Bittigau P, Ishimaru MJ, Wozniak DF, Koch C, Genz K, Price MT, Strfovaska V, Horster F (2000) Ethanol-induced apoptotic neurodegeneration and fetal alcohol syndrome. *Science* 287 : 1056-1060.
- Ishizaki O (1978) Learning behavior of rats on the water maze. *Exp. anim.* 27(1) : 9-12.
- Pierce DR, Goodlet CR, West JR (1989) Differential neuronal loss following early postnatal alcohol exposure. *Tetatology* 40 : 113-126.
- Yoshikawa M, Murakami T, Ueda T, Yoshizumi S, Ninomiya K, Murakami N (1997) Bioactive constituents of Chinese natural medicines III. Absolute stereostructures of new dihydroflavonoids, hoventins I, II, and III, isolated from *Hovenia Semen seu Fructus*, the seed and fruit of *Hovenia dulcis* Thunb. (Rhamnaceae): Inhibitory effect on alcohol-induced muscular relaxation and hepatoprotective activity. *Yakugaku Zasshi* 117 : 108-118.
- 金在佶. (1995) 동양천연약물원색도감, 영림사, 서울. p.289.
- 熊輔新. (1994) 임상한약사전, 의성당, 서울. p.105.
- 심기환, 정창호. (1999) 헛개나무 잎과 과병의 화학성분. *농산물저장유통학회지* 6(4) : 467-471.
- 안상욱, 김영길, 김민희, 이병익, 이상호, 권혁일, 황백, 이현용. (1999) 헛개나무와 오리나무 추출물의 간 해독작용 및 체내 알콜 분해능 비교. *한국약용작물학회지* 7(4) : 263-268.
- 吳儀洛. (1982) 본초종신, 상해과학기술출판사, 상해. p.166.