

加味歸脾湯이 알콜 중독된 흰쥐의 학습능력에 미치는 영향

이상룡 · 최 훈¹ · 임종필^{1*}

우석대학교 한의과대학, 1: 한약학과

Effects of Kamiguibi-tang on Learning Ability of Ehtanol-induced Rats

Sang Ryong Lee, Xun Cui¹, Jong Pil Lim^{1*}

College of Oriental Medicine, 1: Department of Oriental Pharmacy, Woosuk University

This study was carried out to investigate effects of Kamiguibi-tang extract on learning ability of ethanol-treated rats. The rats were divided into 3 groups; normal, control and sample group. Control group administered ethanol at a dose of 3g/kg bw.(25 v/v %), while sample group administered the Kamiguibi-tang extract(200mg/kg) 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 or T-maze of the 2nd and 3rd trials was significantly shorter than that of the 1st, while the control group showed no significance. But in the straight channel or multiple T-maze trials, the sample group showed significant decrease in the time required against the control group and also showed significant decrease in the number of selecting errors.

Key words : Kamiguibi-tang(加味歸脾湯), Learning, Ability, T-maze, Ethanol

서 론

歸脾湯은宋代嚴¹⁾의『濟生方』에思慮過度로心脾를傷하여健忘怔忡을치료할목적으로처음수재된후,薛己²⁾등에의하여용도에따라다양하게약물을加減하여사용하는加減方이생기게되었는데주로心神過勞,脫營失志로心虛하여不眠,怔忡,氣困,不食등에활용해왔다.歸脾湯의연구報文으로는유 등³⁾의婦人科질환에활용된歸脾湯에관한문헌적고찰,이 등⁴⁾의歸脾湯전탕액이수면시간및진통작용에미치는영향에관한실험적연구,박 등⁵⁾의歸脾湯및그구성약물군이항산화효과에미치는영향,임 등⁶⁾의加味歸脾湯이면역조절작용에미치는영향등이있다.중추신경계는알콜독성에민감한곳으로⁷⁾에탄올은뇌신경세포의死滅性神經退行(apoptotic neurodegeneration)을유발시킨다고한다⁸⁾.이처럼손상된신경세포는기억퇴화를유발하여생활에막대한지장을초래한다.따라서수많은알콜중독환자의기억손실로인한사회부적응은엄청난사회적문제로대두되고있다.이러한상태의환자의기억능력을회복시키는약물을

찾아낸다는것은대단히중요하다고생각된다.기억능력을실험하는水迷路(water filled multiple T-maze)실험⁹⁾은실험약물이학습활동에미치는영향을조사하기위해널리실시되고있으며의학,약리학의분야에서도광범위하게활용되고있다¹⁰⁾.

이에歸脾湯이怔忡,氣困등에활용된다는원전에근거하여알콜중독에의한기억퇴화에는어떠한영향을미치는가에대하여알아보고자에탄올에중독된흰쥐에歸脾湯엑스를투여하여水迷路학습실험을하여몇가지知見을얻었기에그결과를보고한다.

재료 및 방법

1. 시료

본 실험에 사용한 약재는 시중에서 구입하여 정선한 것을 Table 1과 같이 晴崗醫鑑¹¹⁾의 처방에 준하여 사용하였다.

2. 검역의 조제

상기처방의40첩분량을세질하여물로3시간씩3회가열추출한여액을감압농축한후냉동건조하여귀비탕엑스437g(수득율21%)을얻어본실험에필요한농도로희석하여사용하였다.

* 교신저자 : 임종필, 전북 완주군 삼례읍 후정리 490, 우석대학교 한약학과
· E-mail : limjp@woosuk.ac.kr · Tel : 063-290-1571
· 접수 : 2003/04/25 · 수정 : 2003/05/31 · 채택 : 2003/07/25

Table 1. Prescription of Kamiguibi-tang

韓藥	生藥名	用量(g)
龍眼肉	Longanae Arillus	8.0
酸棗仁(炒)	Zizyphi spinosi Semen(processed)	8.0
當歸	Angelicae gigantis Radix	6.0
白茯苓	Hoeien	6.0
白朮	Atractylodis Rhizoma alba	6.0
白芍藥(炒)	Paeoniae Radix(processed)	6.0
橘紅	Citri unshiu Fructus	4.0
遠志	Polygalae Radix	3.0
甘草	Glycyrrhizae Radix	2.0
生薑	Zingiberis Rhizoma	1.0
大棗	Zizyphi Fructus	2.0
總 量		52.0

3. 실험 동물

본 실험에 사용된 동물은 Sprague-Dawley계 숫컷 흰쥐를 대 한바이오링크에서 구입하여 체중 200±20 g인 것을 실험실 환경에 적응시킨 뒤 정상군(normal), 에탄올 투여군(control), 약물 및 에탄올 병용투여군(sample)으로 10마리씩 나누어 실험하였다. Control군은 Fujii 등¹²⁾의 방법에 준하여 25v/v% 에탄올을 3g/kg, sample군은 사람의 1회 투여량을 고려하여 귀비탕엑스를 200mg/kg 투여하고 30분 후에 에탄올을 control군과 같은 양으로 매일 같은 시간에 1회씩 각기 경구로 투여하였다.

4. 장치

실험에 사용한 multiple T-maze 기구는 Ishizaki¹³⁾의 방법에 따라 두께가 10mm의 흑색 염화비닐제품으로 가로, 세로 각각 130cm, 깊이 30cm, 수로 폭 13cm로 제작하였으며 목표점(G, G')에는 철망을 설치하여 흰쥐가 자력으로 위에 올라갈 수 있게 하였다. 직선수로 실험은 미로의 일부에 있는 130cm의 직선수로틀 이용하여 실시하였다(Fig. 1).

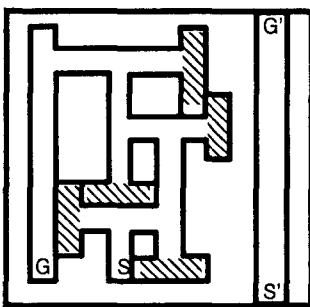


Fig. 1. Schematic representation of the water filled multiple T-maze. S(S'): starting point, G(G'): goal.

5. 실험조건

수로에는 흰쥐가 수영할 수 있도록 20cm 만큼 물을 채웠다. 직선수로 및 T-미로학습 실험에서 출발점(S, S')으로부터 목표점(G, G')에 도달하기까지의 소요시간을 기록하였다. 실험약물 투약 11일째 되는 날에 직선수로 실험은 1일간 3시간 간격으로 3회 시행하였고, 다음날부터 3일 동안 T-미로학습 실험을 3시간 간격으로 1일 3회씩 시행하였다.

또한 T-미로학습 실험의 경우에는 목표지점이 아닌 T-자형

말단(빗금부분)에 들어가는 selecting error도 측정하였다.

6. 통계처리

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

결 과

1. 급성독성

귀비탕엑스를 체중 kg당 1,000mg으로부터 시작하여 투여량을 등차적으로 5,000mg까지 증량한 후 72시간 관찰하였으나 별다른 병변을 관찰할 수 없었다.

2. 에탄올 중독관찰

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

3. 직선수로 실험

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

Table 2. Learning ability of rats on water filled straight channel for 3 times.

Group	time	1	2	3
Normal		13.2±5.9	5.7±0.6*	4.7±0.9*
Control		38.2±12.8	31.4±8.2	32.4±11.9
Sample		22.3±7.9	15.1±1.7*	10.8±2.9*

Each value represents the mean±SE of 10 rats in the time required(seconds). Significantly different from 1st time (*p<0.05), and from control group (*p<0.05).

4. T-미로실험

Normal군의 2일째와 3일째의 소요시간은 첫날의 소요시간에 비하여 유의성 있는(p<0.05) 감소를 나타냈다. Control군에서는 별다른 유의성이 없었다. 그러나 sample군에서는 첫날에 비하여 2일째와 3일째 소요시간에 있어서 유의성 있는(p<0.05) 감소를 나타냈다. 또한 control군에 비하여서 2일째는 소요시간에 유의성이 없었으나 3일째는 유의성 있는(p<0.05) 시간 감소를 보였다(Table 3).

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

Group	day	1	2	3
Normal		51.1±11.9	32.2±9.8*	28.2±12.5*
Control		95.2±25.1	73.4±18.6	78.8±27.4
Sample		72.6±18.2	53.9±13.5*	42.1±12.0*

Each value represents the mean±SE of 10 rats in the time required(seconds). Significantly different from 1st day (*p<0.05), and from control group (*p<0.05).

5. Selecting errors

Normal군의 경우 2일째 및 3일째에 첫날의 selecting error 횟수에 비하여 유의성 있게(p<0.05) 감소하였다. 그러나 control군의 경우에는 유의차가 인정되지 않았다. Sample군에서는 첫날에 비하여 2일째 그 횟수가 감소하기는 하였으나 유의성은 없었고 3일째는 유의성 있는(p<0.05) 감소를 나타냈다. 또한 control군에 비하여서 2일째는 횟수에 있어서 유의성이 없었으나 3일째는 유의성 있는(p<0.05) 감소를 보였다(Table 4).

Table 4. Selecting error numbers for learning performance of rats on water filled T-maze for 3 days.

Group	day	1	2	3
Normal		4.1±0.9	2.4±0.4*	1.6±0.2*
Control		7.5±3.8	6.0±1.9	5.9±1.4
Sample		6.2±0.8	4.2±0.3	3.1±0.8*

Each value represents the mean±SE of 10 rats. Significantly different from 1st day (*p<0.05) Significantly different from control group (*p<0.05).

고찰

歸脾湯에 있어서 ‘歸脾’란 心腎肝肺 四臟의 神志魂魄을 조화시켜 모두 脾로 歸源시킨다는 의미로 心臟腎하여 生血하고 脾臟意하여 統血하며 思慮大通하여 心脾二經이 손상되어 血이 歸經하기 못함으로 인하여 發生하는 疾病의 치료법으로 사용되고 있다. 東醫寶鑑¹⁴⁾에 의하면 歸脾湯은 ‘治憂思勞傷心脾健忘怔忡’이라 하여 精神的 疲勞로 인한 기억력 감퇴에 활용할 수 있음을 示唆하고 있다. 알콜 중독이 되면 心脾二經이 損傷되는 것으로 이해할 수 있어서 水迷路에 의한 學習能力實驗을 하는 것은 의미 있는 일이라고 생각된다.

水迷路 실험의 장점은 먼저 실험에 사용된 동물의 냄새에 의한 영향이 배제되는데 있다. 直線水路實驗에서 normal군의 경우 2회 및 3회 제 소요시간이 1회 제에 비해 유의성 있는 감소를 나타낸 것은 흰쥐에게 학습능력이 있음을 시사해주고 있다. T-迷路實驗에서도 直線水路에서와 같이 2회 및 3회 제에 출발점에서부터 목표점까지의 소요시간이 단축되는 것으로 미루어보아 동물도 반복학습에 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 control군의 경우에는 미로학습은 큰 도움을 주지 못했다. 또한 水迷路 실험에서 出發點으로부터 목표점까지의 遊泳에서 Table 4와 같은 selecting error를 기록했는데 normal군에서는 1일째에 비하여 2일째 및 3일째 유의한 감소를 나타내어 반복시행에 의하여 error가 감소되는 것을 확인할 수 있었으나, 역시 control군에서는 반복에 의해서도 계속 error가 발생하였는데 이는 學習智能低下에 기인한 것으로 판단된다. 그러나 약물 투여군의 경우는 유의성 있는 所要時間 減少를 보여 꾸준한 약물투여에 의한 기억력의 회복을 示唆한다.

이상의 결과로 종합하여 볼 때 直線水路實驗과 T-迷路實驗에서 에탄올 중독된 흰쥐의 경우는 상당한 학습능력의 저하를

보이나 꾸준한 回復藥物의 投與로 유의성 있는 學習能力의 回復을 나타내므로 歸脾湯은 心脾二經의 損傷으로 야기된 學習能力 低下를 回復하는데 도움을 주는 약물로 생각된다. 그러나 歸脾湯의 학습능력 회복 기전이나 유효성분에 대해서는 추후 더 깊은 연구가 필요하다고 생각된다.

결론

歸脾湯엑스가 에탄올 중독된 흰쥐의 학습능력에 미치는 영향을 실험하기 위하여 정상군(normal), 25% 에탄올 투여군(control) 및 歸脾湯엑스와 에탄올의 병용투여군(sample)으로 나누어 10일간 각 약물을 투여한 후 11일째 1일 3회 直線水路 실험을 시행하고, 다음날부터 3일간 1일 3회씩 T-迷路實驗을 시행한 결과, normal군은 直線水路 실험과 T-迷路實驗에서 학습에 의하여 목표점 도달 소요시간이 유의성 있게 단축되고, control군은 기억력쇠퇴로 인하여 학습능력이 현저히 감소하나, 歸脾湯엑스를 계속적으로 투여한 sample군의 경우 에탄올 중독으로 저하된 學習 능력에 유의성 있는 회복을 나타냈다.

감사의 글

이 논문은 우석대학교 교내 학술연구비 지원에 의하여 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 嚴用和, 嚴氏濟生方, p177, 人民衛生出版社, 北京, 1980.
2. 薛己, 薛氏醫案, p27, 여강출판사, 서울, 1986.
3. 유동열, 임동욱, 정진홍. 부인과 질환에 활용된 歸脾湯 관한 문헌적 고찰, 대한한방부인과학회지, 11(2), 165-178, 1998.
4. 이동진, 김상호. 귀비탕 전탕액이 수면시간 및 진통작용에 미치는 영향에 관한 실험적 연구, 정보 동서의학, 4(2), 38-43, 1979.
5. 박선동, 박현준, 주왕석. 귀비탕 및 그 구성약물군이 항산화 효과에 미치는 영향, 대한본초학회지, 16(1), 11-28, 2001.
6. 임동욱, 유동열. 加味歸脾湯이 면역조절작용에 미치는 영향, 대한한방부인과학회지, 12(2), 253-281, 1999.
7. Pierce, DR., Goodlet, CR., West, JR. Differential neuronal loss following early postnatal alcohol exposure, Tetratology, 40, 113-126, 1989.
8. Ikonomidou, C., Bittigau, P., Ishimaru, MJ., Wozniak, DF., Koch, C., Genz, K., Price, MT., Strfovska, V., Horster, F. Ethanol-induced apoptotic neurodegeneration and fetal alcohol syndrome. Science, 287, 1056-1060, 2000.
9. Hasegawa, N., Shimamura, K. and Suzuki, K. 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, 1988.
10. Hasegawa, N., Shimamura, K., Suzuki, K. and Imamichi, T.

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, 1987.

11. 金水勳, 晴崗醫鑑, p242, 성보사, 서울, 1984.

12. Fujii, M., Ohmachi, T., Sagami, I. and Watanabe, M. Liver

microsomal drug metabolism in ethanol-treated hamsters.
Biochem. Pharmacol. 34, 3881-3884, 1985.

13. Ishizake, O. Learning behavior of rats on the water maze,
Exp. Anim., 27(1), 9-12, 1978.

14. 許浚, 東醫寶鑑, p96, 남산당, 서울, 1997.