

孔子大聖智枕中方의 記憶增進 效果에 關한 實驗的 研究

강연숙, 장미경, 김근우, 구병수*
동국대학교 한의과대학 신경정신과학교실

ABSTRACT

Study on the Memory Enhancement of the Extract of Gongjadaesungjichimjung-bang(GDJB)

Yeon-Sug Kang, Mi-Kyung Chang, Geun-Woo Kim, Byung-Soo Koo

Dept. of Neuropsychiatry, College of Oriental Medicine Dong Guk University, Seoul, Korea

Object : The present experiments were designed to study on the memory enhancement of the extract of Gongjadaesungjichimjung-bang(GDJB).

Methods : The water extract of GCJB has been tested for its activities on memory enhancement by passive avoidance task in vivo and for its inhibitory effect on the acetylcholine esterase activity.

Results : GDJB water extract significantly enhanced the memory at a concentration of 50mg/kg, but this effect did not proportionally increased at a dose of 100mg/kg and significantly inhibited the acetylcholine esterase activity in a dose-dependent manner in in vitro assay with IC50 value of 1.57mg/ml and also in in vivo assay.

Conclusion : The extract of GDJB showed a memory enhancement as well as the inhibitory effect on acetylcholine esterase activity, which suggest that this prescription may be applied for the treatment of memory impairment.

Key Words : Gongjadaesungjichimjung-bang, dementia, memory enhancement, acetylcholine esterase

I. 緒論

痴呆란 여러 원인에 의해 의식장애 없이 자기 유지 및 사회생활이나 직업 생활에 심한 장애를 초래할 정도로 기억력, 사고력, 지남력, 이해력, 계산능력, 학습능력, 언어 및 판단력 등 전체적이고 복합적인 지적 기능의 저하가 후천적으로 일어난 '기질성 뇌중후군'을 통틀어 말한다^{1,2)}. 이중 대표적인 증상은 기억력장애인데, 기억력이란, 개체가 정신활동에 필요한 정보를 받아들여 뇌 속에 저장하였다가 필요한 때에 의식 세계로 꺼내어 사용하는 능력을 말하는 것이다.

이와같이痴呆는 기억과 인지능력의 진행성 퇴화와 관련된 질환으로 오늘날 인간의 수명이 연장됨에 따라 가장 중요한 노인 건강문제의 하나로 대두되고 있다.

1907년 Alois Alzheimer에 의해 최초로 언급된³⁾ Alzheimer's disease(이하AD)는 초기에는 65세 이전에 발병한痴呆환자에 국한하였으나, 최근 65세 이후에 발병하는痴呆에서도 임상적, 병리조직학적, 미세구조적 및 신경생화학적으로 유사한 소견이 점점 밝혀짐에 따라 알츠하이머형 노인성痴呆(senile dementia of Alzheimer type : SDAT)로 부른다³⁻⁵⁾.

韓醫學에서痴呆에 대한 최초의 언급은 明代의 張介賓의 《景岳全書·雜證謨》⁶⁾의 癲狂篇에痴呆와 유사한 '痴獸'라 병명이 설정된 이래, 淸代의 陳士澤⁷⁾, 錢鏡湖⁸⁾ 등에 의해痴獸와 呆病의 病因, 病機, 證候에 관한 비교적 자세한 인식이 있었으나, 나이와의 연관성이 없어 AD와 꼭 부합되는지는 확인할 수 없지만, 정신병적 행동장애에 있어서는 많은 유사점이 발견된다. 또한痴呆의 주증상중의 하나가 기억력 장애이므로, 健忘등에서도痴呆와의 증상적 유사성을 발견할 수 있다⁹⁾.

孔子大聖智枕中方은 《備急千金要方》¹⁰⁾에 “鱉甲, 龍骨, 遠志, 石菖蒲 上四味等分, 治下篩, 酒服方寸匕, 日三, 常服令人大聰” 이라 기재되어있다. 이후 東醫寶鑑¹¹⁾에서 구성약물중 鱉甲만이 龜版으로 바뀌어 기재되었으나 두 약물이 모두 滋陰 淸熱의 효능으로, 바뀌었다하더라도 큰 차이가 없을 것으로 보고 동의보감의 내용을 따랐다.

龜版, 龍骨, 遠志, 石菖蒲가 同量으로 구성된 이 처방은 기존의 실험적 연구는 없었으나, 石菖蒲와 遠志로 구성된 遠志石菖蒲散의 鬱症과 학습능력에 관한 연구¹²⁾가 있었다. 하지만 용골과 모려의 경우는 단방약물로서 연구한 바가 없고 기본처방에 가미되는 형태로 연구가 되어 있어 용골, 모려의 효능을 알기에 어려움이 있다. 본 처방은 약물구성이 단순하여 그 효능을 연구하기에 특점이 있으며 기억력증진을 위한 처방들에 가미된 예가 많아 치매 및 건망의 치료에 효과가 있을 것으로 사료된다.

본 연구에서는 학습과 기억증진효과 검색 시스템으로 passive avoidance task(수동회피시험)를 사용하여 실험동물을 대상으로 한 *in vivo* test로 효과를 먼저 검색한 다음, 실험동물의 뇌중 acetylcholine esterase 활성을 측정함으로써 한약재 추출물의 기억증진 효과와 효소활성과의 상관성을 확인하여 보았다. 그리고 약재 추출물(물 및 메탄올 추출물) 자체가 *in vitro*에서도 acetylcholine esterase 효소억제효과가 있는지를 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實驗

1. 材料

1) 試藥

기억상실제인 scopolamine hydrobromide (muscarinic receptor antagonist), 기억증진제로서 양성대조약물로 사용한 DHA (docosahexaenoic acid), 효소활성 측정용 시약인 DTNB (5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoic acid)) 및 acetylthiocholine iodide 등은 Sigma((St. Louis, MO, USA)사 제품을 사용하였으며 기타 완충액 제조시약은 모두 국산 특급을 사용하였다.

2) 器機

Passive avoidance(수동회피시험)의 측정기기는 Gemini Avoidance System (San Diego

Instruments, USA), 흡광도는 Ultrospec 2000 spectrophotometer (Pharmacia)로 측정하였고 ultracentrifuge는 Kontron T-2080을, 원심분리기는 Beckman제품을 사용하였으며 homogenator는 Heidolph RZR 2021을, 그리고 Rotary vacuum evaporator는 Eyela NE제품을 사용하였다. 동결건조기는 일신엔지니어링의 type SK-100을 사용하였다.

3) 動物

한국실험동물개발로부터 구입한 외관상 건강한 ICR계 웅성 mouse (30±1g)를 일정한 조건으로 사육하여 사용하였다. 사육조건은 다음과 같다.

온도 : 21±2℃, 습도 : 50-60%, 명암 : 12시간 light/dark cycle

실험동물을 1주일간에서 적응시켰으며 실험개시전 24시간 동안 물만 먹고 절식시켰다. 동물 처치는 효소활성의 일중변동을 고려하여 오전 10-12사이에 실시하였다.

실험동물은 각 군당 7마리로 하여 대조군과 실험군으로 나누었으며 대조군은 물과 사료만으로 정상적으로 사육시킨 다음, 1주일 후에 scopolamine을 1mg/kg을 복강주사한 군이며 실험군은 1주일간 孔子大聖智枕中方 추출물을 용량별로 경구투여한 후에 scopolamine을 복강주사한 군이다.

4) 藥材

실험에 사용한 약재는 동국대학교 강남한방병원에서 구입하여 정선한 것을 사용하였고, 孔子大聖智枕中方의 처방은 《東醫寶鑑》¹¹⁾에 준하였으며 그 내용과 분량은 다음과 같다(Table 1).

Table 1.
Composition of
Gongjadaesungjichimjung-bang prescription.

學名(또는 生藥名)	重量(g)
Chinery Reevesii(龜版)	50
Fossilia Ossis Mastodi(龍骨)	50
Polygalae Radix(遠志)	50
Acori graminei Rhizoma(石菖蒲)	50
Total amount	200

2. 추출물의 제조

본 처방의 물추출물은 다음과 같은 방법으로 제조하였다. 즉, 건조된 약재 200g을 분쇄하여 분말상태로 하여 증류수로 각각 1회 가열하여 추출하였으며, 최종단계에서 얻어진 액상의 추출물을 동결건조기로 완전 건조시켜 고체상태로 만들어 실험의 시료로 사용하였다. 추출물의 수율은 약 7.9g이었다.

3. 酵素源의 製造

실험동물에서 뇌조직을 적출한 다음, 10배량의 ice-cold homogenation buffer(12.5mM sodium phosphate(pH 7.2) + 0.4M NaCl)를 가하여 약 4℃에서 homogenizer로 마쇄하였다. 이 마쇄균질액을 10,000×g에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄부분을 제거한 다음, 상정액을 얻고 이 상정액에 9배량의 homogenation buffer와 0.5% Triton 100을 가하고 30분간 교반한 다음, 10,000×g에서 10분간 원심분리하여 얻어진 상정액을 acetylcholine esterase의 효소원으로 하였다. 상기의 모든 조작은 0~4℃에서 실시하였다.

4. Passive avoidance task 시험

1) Passive avoidance task(수동회피시험) 장치 측정기기는 내부가 두 개의 방으로 구성된 상자(shuttle box, 53cmW × 44cmH × 33cmD)의 가운데에 guillotine door가 있으며 한쪽 방에는 바닥(grid floor)전체에 전기쇼크(scrambled foot-shock)를 가할 수 있는 장치가 되어 있다. 전체 실험은 컴퓨터로 제어할 수 있도록 되어 있으며 실험동물이 전기쇼크실에 들어가는 시간을 자동 측정하여 data화 하였다.

2) Training trial

추출물 50mg/kg, 100mg/kg 및 양성대조약물인 DHA 10mg/kg을 7일간 먼저 경구투여한 다음, 마지막 투여 1시간 후, 기억상실약물인 scopolamine 1.0mg/kg을 복강주사하고 그 30분 후에 test를 실시하였다. Test는 실험군 또는 대

조군 각 1마리씩 한쪽 방에 넣고 15초간의 탐색 시간을 준 뒤, 위에서 조명과 소음을 가하면 가운데의 guillotine door를 통과하여 조용하고 어두운 다른 방(쇼크실)에 도달한다. 쥐가 쇼크실에 들어가면 자동적으로 guillotine door가 닫히면서 전기쇼크가 가해진다. 쇼크는 0.3mA의 전류를 3초간 통하게 하였으며 쥐가 foot-shock를 받은 후에 꺼내어 home cage에 다시 넣어둔다. 이러한 방법으로 각각 7마리의 실험군과 대조군에 대하여 전기쇼크를 가하였다. 120초 동안에 쇼크실로 들어가지 않는 쥐는 실험대상에서 제외시켰다.

3) Retention trial

24시간 후, 위의 training을 받은 쥐에 대해 전기쇼크를 실시했을 때, 약물의 기억증진효과가 있으면 쥐가 전날의 쇼크를 기억하여 쇼크실로 잘 들어가지 않게 된다. 따라서 도달시간이 길수록 수동회피의 학습과 기억효과가 좋음을 나타낸다. 이 때, 쇼크실 도달시간(step-through latency time)은 300초(cut-off time)까지 측정하였다.

5. Acetylcholine esterase 활성 측정

Ellman등¹³⁾에 의해 개발된 spectrophotometric assay법에 의해 실시하였다. 방법은 Na₂HPO₄ buffer(pH 8.0) 3ml, 75mM acetylthiocholine iodide 0.02ml 및 Ellman시약 (DTNB 10mM + NaHCO₃ 17.85mM) 0.1ml, 추출물 0.1mg(0.1ml)을 혼합한 다음, 25℃에서 10분간 incubation하였다. 여기에 제조한 효소원 20μl를 넣고 섞은 다음, 412nm에서 1분 간격으로 5분간 absorbance를 측정하였다. 흡광도의 증가율로부터 acetylcholine esterase의 활성을 환산하였다. Blank는 Na₂HPO₄ buffer(pH 8.0)를 넣고 측정하였다.

효소활성(activity)은 흡광도의 변화율을 control에 대한 % activity로 표시하였다.

6. Data 분석 및 통계처리

모든 실험결과는 통계프로그램인 Origin (Version 3.78)으로 처리하였으며 IC₅₀ 값은

Graphpad Prism으로 계산하였다. 실험결과는 mean±S.E.로 표시하였고 통계적 유의성은 Student's *t*-test로 검정하였다.

III. 實驗結果

1. 기억증진효과

추출물을 투여하지 않은 정상군의 도달시간(latency time)이 280.5초로 전기쇼크를 기억하고 있는 것을 알 수 있으며 scopolamine을 투여한 대조군은 25.3초로 쇼크의 기억이 상실되어 있음을 알 수 있다. 그러나 추출물 50mg/kg 투여시는 55.9초(p<0.05)로 대조군에 비해 약 2.2배 기억력이 증가하였으며 100mg/kg 투여시는 60.2초(p<0.05)로 약 2.4배 정도 증가하였다(Table 2, Fig. 1). 기억증진효과가 강한 것으로 알려진 천연 DHA의 경우, 10mg/kg 투여시 latency time이 228.3초로 나타났다.

Table 2.
Comparison of the step-through latency of control, water extract and DHA

Treatment	Dose (mg/kg)	Step-through latency time (sec) ¹⁾
Normal		280.5±25.8
Scopolamine control	1	25.3±7.43
Extract	50	55.9±11.38*
	100	60.2±15.36*
DHA ²⁾	10	228.3±45.2

¹⁾ Values represent the mean±S.E (n=7).

²⁾ DHA: Docosahexaenoic acid

*: Significantly different from control (p<0.05).

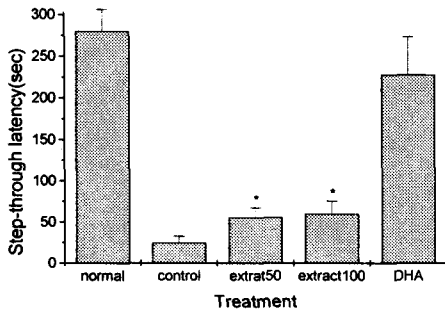


Fig. 1. Effects of water extract (each 50mg/kg and 100mg/kg) of Gongjadaesungjichimjung-bang and DHA on scopolamine-induced amnesia on step-through latency of the passive avoidance task in mice. Data represent the mean±S.E. with seven animals in each group. *: Significantly different from control ($p<0.05$).

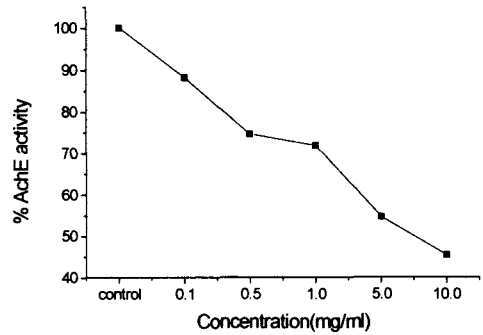


Fig. 2. Dose-dependent inhibitory effect of the water extract on acetylcholine esterase activity in vitro.

2. In vitro 에서의 acetylcholine esterase 활성저해 효과

추출물의 용량을 0.1mg/ml에서 10mg/ml까지 증가시키면서 acetylcholine esterase와 반응시킨 결과, 효소활성이 용량의존적으로 감소됨으로서 추출물이 효소활성을 억제하는 효과가 있음을 확인하였다(Table 3, Fig. 2). 특히, 추출물 10mg/ml 투여시는 효소활성이 50% 이상 억제되는 효과를 나타내었다. 효소활성을 50% 억제하는 용량인 IC_{50} 값은 1.57mg/ml로 산출되었다.

Table 3. Inhibitory effect of the water extract on acetylcholine esterase activity in vitro.

Dose(mg/ml)	% Activity
control	100
0.1	88.2
0.5	74.6
1.0	71.8
5.0	54.6
10.0	45.4
IC_{50} ¹⁾	1.57mg/ml

¹⁾ IC_{50} value represents the concentration for 50% inhibition of acetylcholine esterase activity.

3. In vivo에서의 acetylcholine esterase 활성저해 효과

추출물의 용량을 각각 50mg/kg과 100mg/kg을 경구투여한 다음, 뇌중의 acetylcholine esterase 효소활성을 측정한 결과, 효소활성이 억제된 것으로 나타났다(Table 4, Fig. 3). 즉, 50mg/kg에서는 78.2%의 효소활성을 보여 21.8% 정도 활성이 억제되었으며 100mg/kg에서는 68.8%의 효소활성으로 31.2% 정도의 억제효과를 나타내었다.

Table 4. Inhibitory effect of the water extract on acetylcholine esterase activity in vivo.

Treatment	Dose (mg/kg)	AchE activity (%)
control		100
extract	50	78.2
	100	68.8

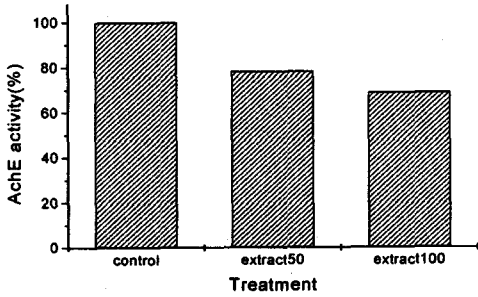


Fig. 3. Dose-dependent inhibitory effect of the water extract on acetylcholine esterase activity in vivo.

IV. 考 察

1990년 현재 우리나라의 65세 이상 노인 인구는 약 5.0%이며, 2000년대에는 약 6.8%, 2020년에는 거의 12% 수준에 이를 것으로 추산된다¹⁴⁾. 이러한 노인 인구의 증가는 뇌의 기질적 변화로 인한 痴呆의 발병률과 유병률을 필연적으로 증가시키리라 사료된다¹⁴⁾.

痴呆란 여러 원인에 의해 의식장애 없이 자기 유지 및 사회생활이나 직업 생활에 심한 장애를 초래할 정도로 기억력, 사고력, 지남력, 이해력, 계산능력, 학습능력, 언어 및 판단력 등 전체적이고 복합적인 지적 기능의 저하가 후천적으로 일어난 ‘기질성 뇌중후군’을 통틀어 말한다^{1,2)}. 이중 대표적인 증상은 기억력장애인데, 기억력이란, 개체가 정신활동에 필요한 정보를 받아들여 뇌 속에 저장하였다가 필요한 때에 의식 세계로 꺼내어 사용하는 능력을 말하는 것이다.

기억과 관련된 뇌의 해부학적 구조물은 해마, 뇌궁, 유두체, 특정 부위의 시상핵 등 변연계와 상행 망상체 등이며, 단기 기억은 편도핵과 해마가 관여한다. 장기 기억은 측두간을 통과하는 하위 측두피질 및 미상핵과 시상침을 연결하는 신경섬유가 관계하고 있다. 그러나 기억은 뇌의 어느 한 부위의 독립적인 활동이 아니며, 뇌 안의 많은 신경 회로들이 서로 교신하여 새로운 학습

의 자극에 따라 여러 변화를 일으키는 현상이다¹⁵⁾.

그러므로 痴呆는 임상중후군으로 핵심적인 표현은 추상적 사고, 판단, 고위피질기능, 충동 제어장애, 인격의 손상이 동반되는 단기·장기 기억의 손상이다.

현재 서구 및 국내의 통계에 의하면, 보고에 따라 다소의 차이는 있지만 痴呆는 전체 인구의 약 0.3~1% 정도를 차지하며, 65세 이상 연령층의 약 2.2~14%가 기질성 痴呆로 인한 무능력자이고, 약 10%는 진행성 정신장애를 가지면서 어느 정도 사회생활을 하고 있다. 80세 이상에서는 15% 이상이 어떤 원인에 의하든 간에 痴呆를 보인다고 알려졌으며, 이들 기질성 痴呆 환자의 60~70%는 Alzheimer’s disease(AD)로 판명되었다¹⁶⁾.

이러한 AD의 병인론에 대해서는 아직 확실히 밝혀진 바는 없으나, 이전의 많은 동물실험 및 임상연구의 결과를 토대로 최근에는 slow virus의 침범, 뇌중 acetylcholine량의 결핍, 면역계의 이상, aluminum 및 기타 금속물질을 포함한 독성물질의 영향과 유전적, 환경적 영향, 그 외 β -amyloid 단백질에 의한 독성등의 가설들이 주로 받아들여지고 있으며, 이러한 다양한 요인으로 인하여 임상적으로나 병리학적으로 특징적인 양상을 나타낸다¹⁷⁾.

또한 위험요인으로는 나이, AD의 가족력, 두부 손상의 과거력, Down중후군의 가족력, 진통제의 남용(phenacetin 등), 식수의 aluminum의 양, 기질성 용매에 노출된 작업경력, 칼슘의 결핍정도 등이 보고되고 있다²⁾.

AD를 가지고 있는 환자의 증상 경과를 확일적으로 설명하기는 어렵지만, 대개 1기, 2기, 3기로 진행되어간다. 지적 손실이 항상 운동성 결함보다 앞서서 나타나며, 자세나 보행은 정신적 퇴행이 심해질 때까지 보존된다¹⁸⁾.

韓醫學에 있어서는 정신적인 변화를 노화와 함께 나타나는 것으로 이해하였다¹⁹⁾. 明代 張介賓⁶⁾의 《景岳全書·雜證謨》에 “痴默증은 대저 평소에痰이 없는데 或은鬱結, 或은不遂, 或은思慮, 或은疑心, 或은驚恐하여서 점차적으로痴默에 이르게 된다. 말이 전도되고 거동이 비정상이고 或은 땀을 흘리거나 或은 자주 우울해 하는데

그 증상은 千變萬化하여 오지 않는 것이 없다. 단지 살피서 형체가 건강하고 음식을 먹는 것이 감소하지 않으며 별다른 허탈한 증상이 없으면 모두다 服蠻煎을 복용하는 것이 가장 좋다. 그러나 이러한 증은 나올 수 있는 경우도 있고 나올 수 없는 경우도 있는 것은 역시 胃氣, 元氣의 強弱에 있으니 시간이 지나면 회복되니 급하지 않다. 대저 이러한 제증이 만약 크게 놀라 갑자기 두려움을 느껴 일시에 心膽을 상하여 失神昏亂하면 마땅히 급히 正氣를 扶養하는 것을 爲主로 하는 것이 마땅하다.” 하였다.

健忘은 善忘²⁰⁾, 好忘²¹⁾, 多忘²²⁾, 喜忘²³⁾이라하여 지나친 思索이나 여러 질병으로 말미암아 腎, 脾를 傷하게 되고 精, 血, 津液이 부족으로 心이나 髓液이 자양받지 못하여 발생하거나 痰이나 瘀血에 의하여 발생한다고 하였다.

孔子大聖智枕中方은 龜版, 龍骨, 遠志, 石菖蒲를 각각 등분으로 하여 구성된 처방으로 心虛로 인한 驚悸, 失眠, 健忘 등의 증상을 치료한다하였는데, 遠志는 “安神益智, 祛痰, 解鬱”하여 “益智慧”, “強志”, “療健忘”하는 효능이 있고, 安神, 祛痰作用이 있어, 특히 장년으로 신경쇠약에 걸려 安眠하지 못하고 健忘, 주의력산만, 頭昏脹, 遺精 등에 사용하고, 또한 소아의 지능저하를 치료하는데 사용되며 병리적인 원인에 의해 우둔해진 자에게도 적합하다²⁴⁾.

石菖蒲는 “開竅, 豁痰, 理氣, 活血, 散風, 去濕”하여 “治多忘壯志”하는 효능이 있고 약리학적으로는 진정작용, 소화액분비의 초진을 통한 健胃作用, 진통작용, 이뇨작용, 항진균작용등이 있어 癲癩의 活動력을 감소시키기도 하고 癲癩의 기억력을 촉진시키기도 하였다^{24,25)}.

龍骨은 “養精神, 定魂魄, 安五臟, 逐邪氣, 安心神”의 효능이 있어 정신을 안정시키고 健忘症, 수면장애, 癲癩 등에 쓴다고 하였다^{11,24)}.

龜版은 “滋陰清熱, 逐瘀血, 食積發熱”의 효능이 있으나, 이는 健忘症과 같은 정신질환에 직접적으로 효과가 있는 것으로 보기는 곤란한 점이 많다²⁴⁾.

그러나 김¹²⁾ 등의 遠志石菖散의 연구에 의하면 理氣, 解鬱, 祛痰 작용을 하는 방제들의 투여가 우울감정이나 이와 관련된 학습능력의 저하에

대한 개선효과가 초기에는 있었으나 시간이 경과함에 따라 그 효과가 떨어지게 되었다는 결과가 있었다.

孔子大聖智枕中方 처방이 健忘 등의 증상치료에도 유효하다고 하였으므로 그 효능을 실험적으로 확인하기 위하여 물추출물과 메탄올추출물을 대상으로 기억증진효과를 검색하였으며 아울러 기억과 관련된 신경전달물질인 acetylcholine을 분해하는 효소활성에 미치는 영향을 검토해 보았다.

학습과 기억증진효과 검색법에는 passive avoidance task²⁶⁾, active avoidance task²⁷⁾, water maze task²⁸⁾, Y-maze task(spontaneous alternation behavior test)²⁹⁾ 등이 있으며 이들 방법은 일반적으로 교감신경억제제로서 muscarinic receptor antagonist인 scopolamine으로 기억을 상실시킨 다음, 약물의 기억증진효과를 보는 방법들이다. 본 실험에서는 실험의 정확도를 높이기 위하여 실험과정과 data를 컴퓨터로 control할 수 있는 avoidance test 기기를 사용하여 passive avoidance task(수동회피시험)를 실시하였다.

孔子大聖智枕中方의 물추출물의 기억증진효과를 보면, 추출물을 용량별로 7일간 경구투여하여 수동회피시험을 실시하였을 때, 대조군에 비해 모두 기억증진효과가 증가된 것으로 나타났다. 전기쇼크후의 정상군의 도달시간(latency time)에 비해 scopolamine을 투여한 대조군의 도달시간은 크게 짧아져 기억이 상실되어 있음을 알 수 있었으며 추출물 50mg/kg 투여시는 대조군에 비해 약 2.2배 기억력이 유의적으로 증가하였고 100mg/kg 투여시는 약 2.4배 정도 유의적으로 증가하였다(Table 2, Fig. 1). 추출물의 용량을 2배로 증가시켜도 효과는 비례하여 증가하지 않는 것으로 보아 과량을 투여해도 기억증진에는 큰 효과가 없는 것으로 분석된다. 한편, 기억증진효과가 강한 것으로 알려진 천연 DHA(docosahexaenoic acid)의 경우, 10mg/kg 투여시 도달시간이 물 추출물보다 훨씬 우수한 것으로 나타났다.

Wu등³⁰⁾은 최근, 천마의 메탄올추출물이 passive avoidance task에서 기억증진효과가 있음을 보고한 바 있으나 용량은 500mg/kg과

1,000mg/kg을 사용하여 본 실험과는 직접적인 비교를 할 수는 없었다.

孔子大聖智枕中方 추출물이 passive avoidance task에서 scopolamine에 의해 유도된 기억상실을 억제함으로써 기억증진효과가 있음이 밝혀졌으므로 실제로 이들 실험동물의 뇌에서 기억과 관련된 신경전달물질인 acetylcholine의 활성이 어떻게 변화하였는지를 관찰하였다.

Alzheimer병 환자의 뇌에서 choline성 신경세포의 현저한 감소와 함께 choline성 신경전달의 장애가 보고되어 있고, Alzheimer 환자에게서 보이는 치매증상은 choline성 신경계의 선택적인 퇴행변성과 관련이 있을 것이라는 것이 현재까지의 일치된 견해이다³¹⁾. 따라서 노인성 치매의 초기치료로서 acetylcholine의 활성을 증가시키는 요법이 매우 중요할 것이라고 생각되어 왔고, 실제로 acetylcholine esterase 저해제인 physostigmine를 투여하면 치매환자의 뇌중 acetylcholine 함량이 증가되어 환자들에게서 인지기능과 학습기능이 개선되었다는 보고도 있다³²⁻³⁴⁾.

孔子大聖智枕中方의 물추출물의 acetylcholine esterase 억제활성을 *in vitro*와 *in vivo*에서 측정하였다. *In vitro* test에서는 추출물의 용량을 달리하여 acetylcholine esterase의 효소활성을 측정한 결과, 용량이 증가할수록 효소활성이 감소함으로써 추출물이 효소활성을 억제하는 효과가 있음을 확인하였다(Table 3, Fig. 2). 특히, 추출물 10mg/ml 투여시는 효소활성이 50% 이상 억제되는 효과를 나타내었으며 효소활성을 50% 억제하는 용량인 IC₅₀ 값은 1.57mg/ml로 산출되었다.

다음으로 물추출물 50mg/kg과 100mg/kg을 각각 경구투여한 쥐의 뇌를 효소원으로 하여 *in vivo*에서 효소활성을 측정한 결과, 용량이 증가할수록 효소활성 억제효과가 증가함을 볼 수 있었다(Table 4, Fig. 3). 특히, 100mg/kg의 용량에서도 효소활성이 68.8%로 나타나 31.2% 정도의 효소활성 억제효과가 관찰되었다.

이상의 결과로 보면 孔子大聖智枕中方은 실험동물에서 기억을 증진시키는 효과가 우수하며 기억과 관련된 신경전달물질인 acetylcholine를 분해하는 acetylcholine esterase의 활성을 억제하여

뇌중 acetylcholine의 함량을 유지함으로써 학습과 기억증진을 포함한 인지기능의 개선에 유효한 처방으로 사료된다.

V. 結論

孔子大聖智枕中方의 물추출물의 기억증진효과를 확인하기 위하여 수동회피시험(passive avoidance task)과 acetylcholine esterase 억제효과시험을 *in vitro*와 *in vivo*에서 실시하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 孔子大聖智枕中方의 물추출물은 50mg/kg의 용량에서 대조군에 비해 기억력이 2.2배 증가하였으나 용량을 두배로 증가시켜도 기억증진효과에는 큰 변화가 없었다.

2. 孔子大聖智枕中方의 물추출물의 *in vitro*에서의 acetylcholine esterase 저해효과는 용량이 증가할수록 증가하였으며 IC₅₀ 값은 1.57mg/ml로 산출되었다.

3. 孔子大聖智枕中方의 물추출물의 acetylcholine esterase 저해효과는 *in vivo*에서는 용량이 증가할수록 증가하였으며 100mg/kg에서는 효소활성을 31.2% 억제하였다.

이상의 연구결과 孔子大聖智枕中方은 직접적인 기억증진효과 뿐만 아니라 기억과 관련된 신경전달물질의 뇌중 함량을 유지시켜줌으로써 학습과 기억증진을 위한 유효한 처방으로 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

參 考 文 獻

1. 광호순 외 2인. Alzheimer's disease의 비치매 노인군에 대한 연구. 신경정신의학,

- 29(6). 1990:1398-1405.
2. 김명호. 치매의 정의와 분류. 대한정신과학회지 3(1). 1985:1-4.
3. 서유현. 신경전달물질. 서울:민음사. 1992:515-537.
4. 황의완 김지혁. 동의정신의학. 서울:현대의학서적사. 1989:134-6, 605-6.
5. 김진수. Alzheimer's disease의 신경화학적 변화에 대한 고찰. 대한정신과학회지 3(1). 1985:10-16.
6. 張介賓. 景岳全書. 서울:一社. 1992:846.
7. 陳士澤. 石室秘錄(下). 서울:書苑堂. 1984:316-7.
8. 錢鏡湖. 辨證奇聞全書.臺北:甘地出版社. 1980:233-5.
9. 이웅석. 調胃升清湯의 Alzheimer's disease 모델백서의 학습과 기억에 미치는 영향. 서울:경희대학교, 1998.
10. 李景榮 等 校釋. 備急千金要方校釋. 北京:人民衛生出版社. 1998:320-1.
11. 許 浚. 東醫寶鑑. 서울:大星出版社, 1992:55-7, 172.
12. 金廣浩. 원지식창포산이 Chronic Mild Stress 처치한 흰쥐의 憂鬱과 학습장애에 미치는 영향. 서울:경희대학교 대학원. 2001.
13. Ellman GL, Courtney KD, Andres Jr. V, Featherstone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 7, 1961:88-95.
14. 전국대학 보건관리학 교육위원회. 보건학원론. 서울:永林社.
15. 박만상. 정신생물학. 서울:지식산업사. 1994:222-235.
16. 서울대학교 의과대학. 신경학. 서울:서울대학교 출판부. 1989:257-264.
17. 김진수. Alzheimer씨 치매-개론 및 최신경향. 대한정신약물학회지 2(1). 1991:30-42.
18. 박영춘. 정신과 영역에서의 痴呆. 대한정신과 학회지 3(1). 1985:552-7.
19. 郭霽春 編著. 《靈樞·天年篇》校注語譯. 서울:의성당. 1993:375-378.
20. 李中梓. 醫宗必讀. 上海:上海科學技術出版社. 1987:375-6.
21. 孫思邈. 千金要方. 서울:大星出版社. 1984:265-6.
22. 巢元方. 巢氏諸病源候總論. 臺中:昭人出版社. 1975:534.
23. 張仲景. 仲景全書. 서울:醫道韓國社. 1975:172-3, 228-9.
24. 陳存仁. 圖說漢方醫藥大事典 券4. 北京:圖書出版 松嶽. 1990:28-9, 44-5, 74-5.
25. 王浴生. 中藥藥理與應用. 北京:人民衛生出版社. 1998:268-270.
26. Ukai M, Kobayashi T, Shinkai N, Shan-Wu X, Kameyama T, Eur. J. Pharmacol. 1995:89-93, 274.
27. Lim DK, Oh YH, Kim HS. Impairments of learning and memory following intracerebroventricular administration of AF64A in rats. *Arch. Pharm. Res.* 24. 2001:234-239.
28. Morris RGM. Spatial localization dose not require the presence of local cues. *Learn. Mot.* 12. 1981:239-260.
29. Sarter M, Bodewitz G, Stephens DN. *Psychopharmacology* 94. 1988:491-495.
30. Wu CR, Hsieh MT, Huang SC, Peng WH, Chang YS, Chen CF. Effects of *Gastrodia elata* and its active constituents on scopolamine-induced amnesia in rats. *Planta Med.* 62. 1996:317-321.
31. Coyle JT, Price DL, DeLong MR. Alzheimer's disease: a disorder of cholinergic innervation. *Science* 219. 1983:1184-1190.
32. Jenike MA, Albeit MS, Baer L. Oral physostigmine as treatment for dementia of the Alzheimer's type: a long-term outpatient trial. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* 4. 1990:226-231.
33. Sclar DA, Skaer TL. Current concepts in

the treatment of Alzheimer's disease.
Clin. Ther. 14. 1992:2-10.

34. Sevush S, Guterman A, Villalon AV.
Improved verbal learning after
outpatient oral physostigmine therapy in
patients with dementia of the
Alzheimer's type. J. Clin. Psychiatry 52.
1991:300-303.