

# 牛黃清心元이 NOS inhibitor에 의한 흰쥐의 學習 및 記憶障礙에 미치는 影響

경희대학교 한의과대학 신경정신과학교실

백 지 성 · 김 종 우 · 황 의 완

## I. 緒 論

학습은 연습이나 경험에 의해 이루어지는 비교적 영속적인 행동상의 변화라고 정의되며<sup>4,5,7,14</sup>, 기억이란 개체가 정신활동에 필요한 정보를 받아들여 뇌 속에 저장했다가 필요한 때에 의식세계로 꺼내어 사용하는 능력을 말하며,<sup>18,19</sup> 또한 한 개인이 그의 경험을 획득, 파지, 재생하는 것<sup>6</sup>이라고 정의할 수도 있다.

韓醫學에서는 認知過程중의 하나인 神의 일부로서 기억에 대해서 언급하였다<sup>26</sup>. 《黃帝內經 靈樞·本神編》<sup>44</sup>에서는 “所以任物者謂之心 心有所憶者謂之意 意之所存者謂之志”라 하였으며, 王<sup>40</sup>은 “憶”을 識記事物의 保持, 回憶, 再生過程으로서 記憶이라고 하였다. 또한 陳<sup>48</sup>은 記憶을 “記所往事”라 정의하였다.

韓醫學에서는 記憶에 대한 獨自의인 認識을 가지고 있으며 記憶障礙의 대표적 疾患인 健忘證에 대해 《黃帝內經 素問·五常政大論》<sup>44</sup>과 《黃帝內經 靈樞·大惑論》<sup>44</sup>에서 “善忘”으로 표현된 이래 健忘<sup>21,23,34,39</sup>, 多忘<sup>37</sup>, 好忘<sup>38</sup>, 喜忘<sup>45</sup> 등으로 언급되어졌으며, 그 증상에 대해서는 《濟生方》<sup>39</sup>에서는 “夫健忘者 常常喜忘是也”라 하였으며, 그 원인으로는 黃<sup>24</sup>은 心脾兩虛, 痰飲, 腎虛, 瘀血, 心腎不交, 心虛, 氣血相亂, 七情內傷, 脾虛 등을 제시하고 있다.

牛黃清心元은 1107년경 陳師文의 《太平惠民和劑局方》<sup>43</sup>에 최초로 수록되었으며, 適應症으로는 治諸風 癱瘓不隨 言語蹇澀 心忪健忘 恍惚去來 頭目眩冒 胸中煩鬱 痰涎壅塞 精神昏憤 又治心氣不足 神志不定 驚恐怕怖 悲憂慘慙 虛煩少睡 喜怒無時 或發狂癲 精神昏亂을 治療한다고 하였다.

그 후 牛黃清心元은 여러 醫家들에 의해 가감되었는데 그 主治證에 있어서는 같았다<sup>2</sup>.

최근의 기억장애에 대한 한의학적 연구로는 문헌고찰과 손상 腦에 대한 한약의 학습과 기억력 증진의 효능에 관한 실험연구가 시도되고 있다. 이 중 실험연구로는 李<sup>28</sup>의 調胃升清湯을 투여한 실험과 조<sup>32</sup>의 荊防地黃湯을 투여한 실험이 있었다. 그러나, 뇌혈류가 감소된 상태에서 한약물이 기억과 학습에 미치는 영향을 보고한 실험은 접하지 못하였다.

이에 저자는 中風初期에 사용되고 있는 牛黃清心元이 腦血流 순환 개선에 미치는 영향을 알아보고자, nitric oxide synthase(NOS) inhibitor 중의 하나로서 腦血流 순환과 당대사, synaptic plasticity와 long term potentiation (LTP)에 영향을 미쳐 기억과 학습을 저해하는 nitro-L-arginine methyl ester(L-NAME)<sup>51,52</sup>을 투여한 흰쥐에 牛黃清心元을 투여하여 Morris 수중미로를 이용한 학습 및 기억 실험을 시행한 즉, 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 材料 및 方法

### 1. 動物 및 藥材

#### 1) 動物

실험동물은 대한실험동물센터에서 구입한 체중 200g 전후의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 사용하였다. 물과 펠릿사료(제일사료 주식회사, 대전)를 자유롭게 먹도록 하

였으며, 사육실 환경(온도 : 21~24°C, 습도 : 40~60%, 12시간 명기, 12시간 암기)에 2주간 적응시킨 후 사용하였다. 2주간 적응 후 실험동물의 체중은 250~300g이었다.

2) 藥材

(1) 藥材의 構成

본 실험에 사용한 藥材는 경희대학교 한의과대학 부속 한방병원 약제과에서 정선하였고, 실험에 사용한 牛黃淸心元은 慶熙醫院에서 사용하는 《韓方製劑解說集》<sup>1)</sup>에 수록된 것에서 石雄黃과 鏡面朱砂를 除한 것으로 1丸의 처방내용 및 용량은 다음과 같다(Table I).

Table I. Contents of Woohwangchungsimwon

	Ingredient	Dose
山藥	Dioscoreae Rhizoma	0.32g
甘草(炙)	Glycyrrhiza Uralensis Fisch	0.23g
人蔘	Ginseng Radix	0.11g
蒲黃(炒)	Typhae Pollen	0.11g
神曲(炒)	Massa Medicata Fermentata	0.11g
烏犀角	Rhinoceri Cornu	0.08g
大豆黃卷(炒)	Glycine Semen Germinatum	0.08g
肉桂	Cinnamomi Cortex	0.08g
阿膠珠	Asini Gelatinum	0.08g
白芍藥	Paeoniae Radix Alba	0.07g
麥門冬	Liriopsis Tuber	0.07g
黃芩	Scutellariae Radix	0.07g
當歸	Angelicae Gigantis Radix	0.07g
防風	Ledebouriellae Radix	0.07g
白朮	Atractylodis Macrocephalae Rhizoma	0.07g
柴胡	Bupleuri Radix	0.06g
桔梗	Platycodi Radix	0.06g
杏仁	Armeniaca Amarum Semen	0.06g
白茯苓	Poria	0.06g
川芎	Cnidii Rhizoma	0.06g
牛黃	Bovis Calculus	0.05g
羚羊角	Saigae Tataricae Cornu	0.05g
龍腦	Borneolum	0.05g
麝香	Moschus	0.04g
白薇	Ampelopsis	0.03g
乾薑(炒)	Zingiberis Rhizoma	0.03g
金箔	Gold	0.01g

大囊	Juiubae Fructus	0.64g
	Total amount	2.82g

(2) 검역의 조제 및 투여

상기의 처방 1丸 분량 2.82g을 유발에 담아 막자로 세말한 후, 실험동물 체중 100g 당 우황청심원 0.04g을 2ml 증류수에 녹여 maze test 1시간 전에 1회 경구 투여하였다.

2. 方法

1) 實驗裝置<sup>57)</sup>

본 실험의 학습 및 기억 검사는 Morris 수중미로에 의하여 수행되었다. 이 장치는 원형 수조와 도피대로 구성된다. 수조의 재질은 스테인레스 스틸이고 직경 1.32m, 높이 50cm이며, 도피대는 높이 42cm, 직경 9cm인 백색 아크릴로 만들어져 있다. 수조의 중심을 지나는 가상적인 두 개의 직교되는 선을 그어 수조를 4등분하고, 그 중 하나의 사분면 중앙 지점에 도피대를 설치하고, 도피대 상 2cm로 물을 채우고 1kg의 탈지분유(skimmed milk)를 풀어 도피대가 보이지 않게 하며, 수조대의 수온은 22±2°C를 유지하였다.

동물의 행동양상은 수조 위 2.4m에 설치된 CCD camera와 computer program에 의하여 실험동물의 몸에 부착된 tracker의 이동을 측정함으로써 평가되었다. 이 때 실험실 조도에 따라 카메라와 tracker의 level은 적절하게 조절되었다.

그 외, 수조 주변의 카메라, 실험대, 컴퓨터, 의자등의 공간단서들을 일정하게 유지하여, 실험기간동안 실험자의 위치가 변하지 않도록 하였다 (Figure 1)<sup>58)</sup>.

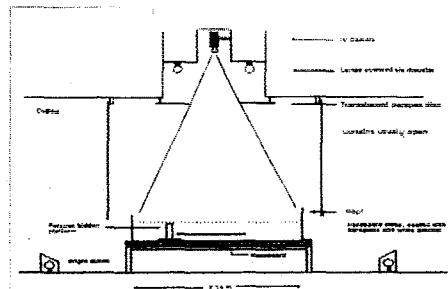


Figure 1. Cross-sectional diagram of pool and its position in the laboratory. Note supports frame to ensure water level is at roughly waist height, and perspex disc attached to laboratory ceiling to limit field of view of TV camera.

2) 實驗節次

(1) 學習檢査<sup>31,58)</sup>

학습검사는 2일 동안 진행하며 하루 8회의 시행을 실시하였다. 실험 시작 1시간 전에 실험동물을 행동관찰실로 옮기고 안정시켰다. 하나의 시행은 동물을 출발점에 놓는 순간부터, 그 동물이 수영을 하여 도피대를 찾아 올라가는 것으로 구성되었다.

동물을 출발지점에 놓는 순간부터 도피대를 찾아 올라갈 때까지 소요되는 시간(반응잠재기)을 측정하고 이를 학습성적의 지표로 삼는다. 각 동물은 사분면의 중앙으로부터 N방향으로 약 10cm 유영을 유도하며 stopwatch로 유영시간을 측정하였다. 모든 군이 N방향의 시행을 거치면 E → S → W → N → E → S → W의 8회 시행을 거친다. 이때 도피대의 위치는 변경하지 않으며, 도피대를 찾는 시간은 최대 60초로 제한하고, 만일 60초를 경과하여도 도피대를 찾지 못하는 경우 실험자가 도피대로 유도하여 도피대의 위치를 알려준다. 도피대를 찾아 올라가면 15초의 휴식기를 갖는다. 1일의 학습성적은 1회 시행에 따른 각 군의 latency의 평균을 자료로 하였다.

(2) 記憶檢査<sup>31,58)</sup>

2일간의 학습이 모두 끝난 후 3일째에 기억검사를 실시하였다. 기억검사에서 수조에서 도피대를 제거한 후 유영직전 동물의 두정부에 인식 스티커를 부착하고 동물을 각각 N방향을 향하여 60초동안 자유유영을 시키며, 60초동안의 유영상태를 컴퓨터로 추적한다. 기억성적은 추적된 유영데이터를 프린트하여 수조에 가상으로 그려진 영역별 점수에 근거하여 target area에 들어간 횟수, 최초 시간, 각 영역별 머문 시간 등으로 결정하였다(Figure 2).

$$\text{Memory Score} = [(\text{time in zone A}) \times 10] + [(\text{time in zone B}) \times 8] + [(\text{time in zone C}) \times 6]$$

$$+ [(\text{time in zone F}) \times 2] + [(\text{time in zone D}) / (\text{time in zone G} \times 15)]$$

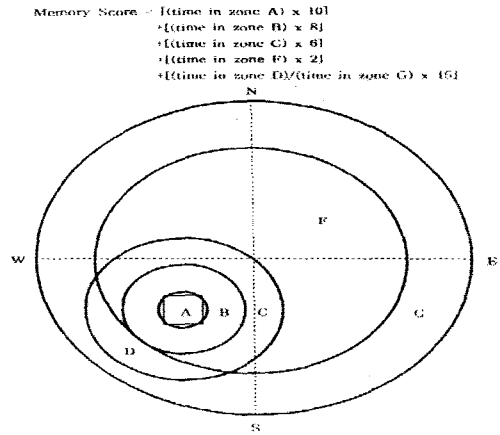


Figure 2. Computerized grid superimposed over the Morris water maze during 60 seconds memory test. Discrete zones are labeled with letters. zone A representing the platform site.

3) 實驗群의 分類

실험동물 36마리를 Normal group, Control group, WHCS group으로 나누고 각 군당 12마리를 배당하였다.

① Normal group : 정상상태의 흰쥐에 3일간 매일 1ml의 생리식염수를 복강주사하고, 2ml의 생리식염수를 경구투여한 한 시간 후에, 위의 실험방법에 따라 시행하였다.

② Control group : 정상상태의 흰쥐에 3일간 매일 L-NAME 75 mg/kg을 복강주사하고, 2ml의 생리식염수를 경구투여한 한 시간 후에, 위의 실험방법에 따라 시행하였다.

③ WHCS group : 정상상태의 흰쥐에 3일간 매일 L-NAME 75 mg/kg을 복강주사하고, 우황청심원 용액 2ml를 경구투여한 한 시간 후에, 위의 실험방법에 따라 시행하였다.

4) 統計處理

모든 자료는 Mean ± S.E로 나타내었고, 실험결과와 분석은 Student's t-test를 이용하였으며, p < 0.05이하면 경우를 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

### Ⅲ. 成 績

#### 1. 學 習 檢 査

牛黃淸心元이 L-NAME을 투여한 흰쥐의 Morris 수중 미로 학습에 미치는 영향을 알아보기로 2일 동안 하루 8회의 시행을 실시하여 모두 16회를 실시하였으며, 12마리로 구성된 각 군의 흰쥐가 도피대를 찾아 올라가는 시간을 측정하였다.

그 결과 세 집단 모두 시행이 반복됨에 따라 학습이 향상되었으며, 4, 5, 6회에서는 각각  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.01$  수준으로 대조군에 비해 약물투여군의 학습향상이 유의성이 있었으나, 나머지 시행에서는 통계적으로 유의성이 있는 차이를 보이지는 않았다(Table II, Figure 3).

Table II. Latency of Each Trial in Morris Water Maze

	Normal	Control	WHCS	p value
1(N)	52.4±3.4a)	59.4±0.6	54.3±4.1	0.2370
2(E)	42.3±5.4	50.3±4.3	49.0±5.8	0.8695
3(S)	16.0±5.3	40.7±6.3	45.5±6.2	0.5889
4(W)	12.4±3.0	43.6±4.4	25.7±6.4	0.0315
5(N)	12.1±3.5	42.3±6.8	20.4±2.1	0.0057
6(E)	8.7±1.6	42.4±6.1	16.6±5.0	0.0032
7(S)	10.6±2.4	31.2±5.9	18.9±4.9	0.1242
8(W)	8.3±1.4	23.8±4.0	14.3±2.2	0.0518
9(N)	45.2±4.2	53.5±3.6	49.2±5.2	0.5045
10(E)	17.3±4.7	36.9±6.2	33.5±4.6	0.6603
11(S)	9.6±1.3	31.6±5.9	25.6±4.9	0.4387
12(W)	12.6±3.8	33.0±6.5	26.3±4.4	0.4003
13(N)	10.3±1.7	30.3±6.4	21.5±4.5	0.2734
14(E)	10.3±1.6	23.8±3.8	21.3±5.1	0.6962
15(S)	11.5±3.3	23.3±5.5	23.7±3.9	0.9624
16(W)	6.3±1.7	20.6±3.1	18.8±3.7	0.7096

a) : Mean ± Standard Error

Normal : Group of the normal celline injected rats

(N=12).

Control : Group of the L-NAME injected rats(N=12).

WHCS : Group of the Woohangchungsimwon administered rats after L-NAME injection(N=12).

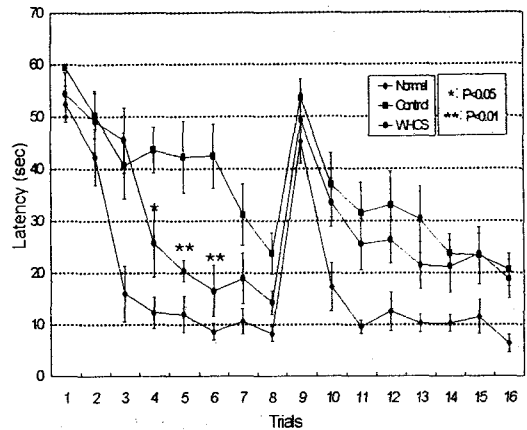


Figure 3. Latency of each trial in Morris water maze.

#### 2. 記 憶 檢 査

우황청심원이 L-NAME을 투여한 흰쥐의 Morris 수중 미로에서의 기억에 미치는 영향을 알아보기로 2일간의 학습검사가 끝난 흰쥐를 대상으로 3일째 기억검사를 실시하였다.

target area에 들어간 최초시간(1st latency)은 대조군이  $46.8 \pm 2.4$ 초와 약물투여군이  $34.7 \pm 3.7$ 초로 나타나 약물투여군이 대조군에 비해 유의성이 있게 짧은 시간내에 들어갔으며, target area에 들어간 횟수(entry number)는 대조군이  $0.7 \pm 0.2$ 회와 약물투여군이  $1.0 \pm 0.3$ 회로 대조군에 비해 약물투여군이 많았으나 통계적 유의성은 없었다. 기억점수(memory score)는 대조군이  $74.3 \pm 5.9$ 와 약물투여군이  $85.4 \pm 6.6$ 으로 대조군에 비해 약물투여군이 높은 성적을 거두었지만 통계적 유의성은 없었다(Table III, Figure 4,5,6,7).

Table III. The Memory Test in Morris Water Maze

	Total Distance(m)	Entry number	First Latency(sec)	Memory Score
Normal	17.9±1.0 <sup>a)</sup>	1.8±0.2	26.8±3.5	121.3±8.3
Control	17.4±1.2	0.7±0.2	46.8±2.4	74.3±5.9
WHCS	17.0±0.5	1.0±0.3	34.7±3.7	85.4±6.6
P value	0.7582	0.3584	0.0113	0.2228

a) : Mean ± Standard Error

Normal : Group of the normal celine injected rats.

Control : Group of the L-NAME injected rats.

WHCS : Group of the Woohangchungsimwon administered rats after L-NAME injection.

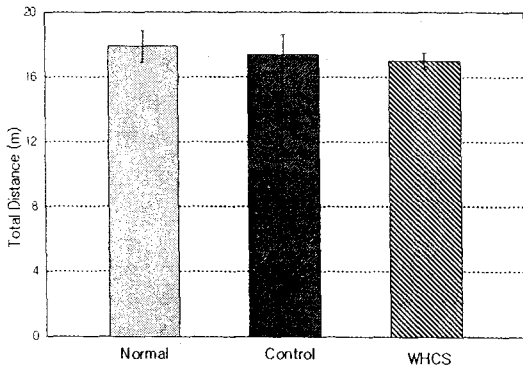


Figure 4. Total swimming distance of rats in Morris water maze.

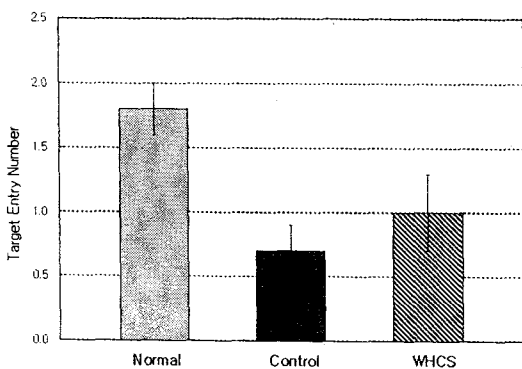


Figure 5. Entry number of rats on a zone where was the escape platform in Morris water maze.

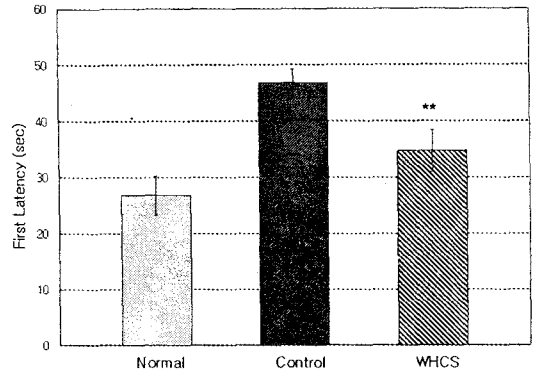


Figure 6. First latency of rats in Morris water maze.

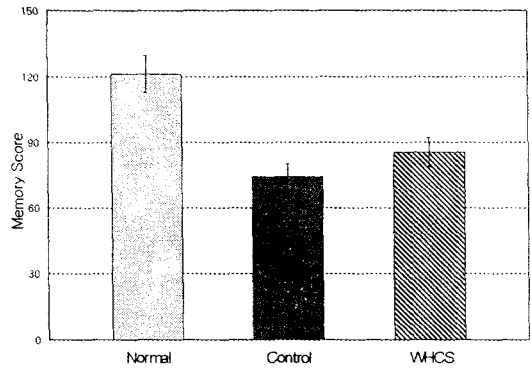
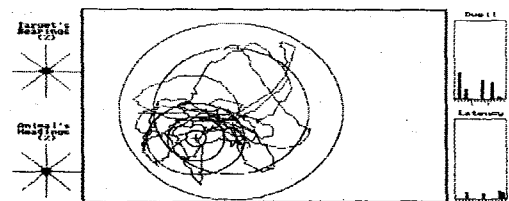


Figure 7. Memory score of rats in Morris water maze.

또한, Morris 수중미로에서 정상군과 약물투여군, 그리고 대조군의 수중 유영상태를 촬영하여 기록한 유영 데이터를 비교하여보면 대조군은 수조의 벽면을따라 유영하는 모습을 보이고 있으며, 약물 투여군은 비교적 정상군에 가까운 유영의 형태를 보이고 있어 상당한 차이를 보이고 있음을 확인할 수 있었다(Figure 8).

A.



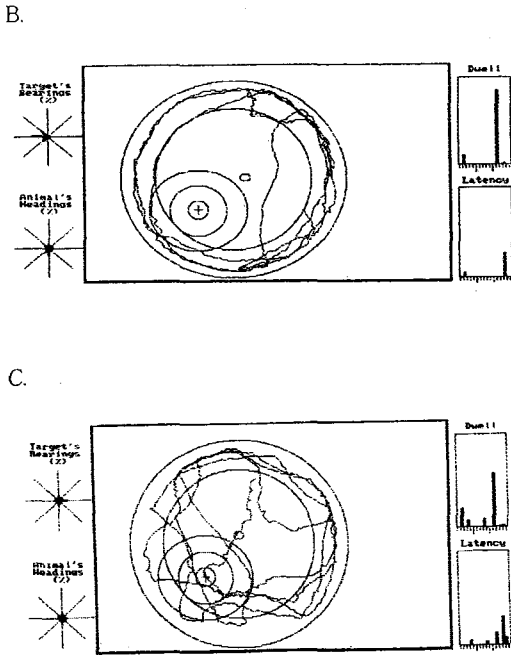


Figure 8. Representative activity (swimming) patterns of rats in Morris water maze (A: normal group, B: control group, C: WHCS administered group).

#### IV. 考 察

학습은 경험 또는 훈련의 결과로 생긴 행동가능성의 비교적 영속적인 변화가 일어나는 과정이며<sup>45,7,14)</sup>, 기억이란 과거 경험을 기록해 두었다가 필요할 때 그 기록내용을 참조하여 현재의 경험에 영향을 주는 과정으로<sup>41)</sup>, 학습과 기억은 서로 분리할 수 없는 분야이다.

학습에 대한 연구로는 학습의 원리를 설명하는 이론으로 행동주의 학습이론과 인지주의 학습이론으로 나누어지며<sup>12)</sup>, 행동주의 학습이론은 환경 속에 있는 여러 자극들이 단순히 연합함으로써 학습이 이루어진다고 보았으며, 인지주의 학습이론은 인간이 경험해보지 않은 것들을 학습할 수 있고 연습이나 강화없이도 복잡한 반응들을 장기간 저장할 수 있다고 보았다<sup>12)</sup>. 기억에 대한 연구는 기억과정과 기억구조에 관한 것으로 크게 나눌 수 있다<sup>11,12)</sup>. 기억 과정은 기억에 정보를 넣기 위해 행하는 정신활동들과 나

중에 그 정보를 사용하는 활동들이 주요 영역이며, 기억하는 행위는 獲得, 把持, 引出들에 의존하는데, 이 세 가지 기억 과정들은 略號化, 貯藏, 回想 이라고 부르기도 한다<sup>4,7,11,12)</sup>. 또한 기억이 지속되는 시간에 따라서 감각기억 (sensory memory), 단기기억(short-term memory), 장기기억(long-term memory)의 세 가지 종류로 나눌 수 있다<sup>4,11,12)</sup>.

韓醫學에서 記憶이라는 單語나 項目은 찾아볼 수 없으나 《黃帝內經 靈樞·本神編》<sup>44)</sup>에서 “所以任物者謂之心 心有所憶者謂之意 意之所存者謂之志 因志而存變謂之思 因思而遠慕謂之慮 因慮而處物謂之智”라고 하여 認知課程인 七神중의 일부로서 記憶의 概念을 언급하고 있다. ‘心’은 物을 ‘任’한다고 하였는데 ‘任’은 ‘負擔’, ‘支配’ 등의 의미<sup>29)</sup>로 외부자극을 접수, 분석하는 장소가 된다. ‘意’는 心이 ‘憶’한 바를 하였는데 ‘憶’은 ‘追憶’, ‘回憶’이라고 하여 記憶을 뜻하며 사물에 대한 保持, 回憶, 再生과정을 말한다.<sup>30)</sup> ‘志’는 意가 ‘存’한 바를 하였는데 ‘存’은 ‘專意而不移’, ‘久存’ 등의 의미로 意의 상태가 오래 지속되는 것이라 하였다. 이를 심리학의 기억과정과 비교해보면 ‘心’은 외부자극을 받아들이는 감각기억으로, ‘意’는 의식에서 활동하는 단기기억으로, ‘志’는 현재 의식 속에는 없지만 상기 가능한 장기기억으로 볼 수 있다<sup>26)</sup>. 또한 陳<sup>48)</sup>은 記憶을 “意者 記所往事”라 정의하였고, 《東醫寶鑑》<sup>21)</sup>에서는 “意者 記而不忘者 志者 專意而不移者也”라고 하여 ‘意’와 ‘志’를 기억의 개념으로 기록하였다. 《醫學心悟》<sup>46)</sup>에서는 “腎主智 腎虛則智不足 故喜忘其前言”이라고 하여 ‘智’가 기억과 동일한 의미로 사용되었다.

韓醫學에서는 記憶力이 低下되는 대표적인 病症으로 健忘證을 드는데, 健忘證은 《黃帝內經 素問·五常政大論》<sup>44)</sup>과 《黃帝內經 靈樞·大惑論》<sup>44)</sup>에서 “善忘”으로 표현된 이래 역대 의가들에 의해 자주 언급 되어왔고, 그 증상에 대해서는 《濟生方》<sup>38)</sup>에서는 “夫健忘者 常常喜忘是也”라 하였다.

健忘의 病因病機側面에서 《黃帝內經 靈樞·大惑論》<sup>44)</sup>에서는 上氣不足 下氣有餘를, 《黃帝內經 素問·調經論》<sup>44)</sup>에서는 “血并於下 氣并於上 亂而善忘”이라하여 血氣紊亂을, 《濟生方》<sup>38)</sup>에서는 思慮過度를, 《丹溪心法》<sup>47)</sup>에서

는 憂思過度를, 賈<sup>34)</sup> 등은 心脾의 不足으로 腎精이 虛衰하기 때문이라고 보아 心,脾,腎이 內因에 有關하다고 보았다. 또한, 李<sup>42)</sup>는 心腎不交를 病理로 論하여 健忘의 外候로 把握하였고, 董<sup>36)</sup>은 健忘을 虛·實症으로 구분하고, 病因病機에 의한 症狀을 心脾兩虛症, 心腎不交症, 年老神衰症, 痰瘀痺阻症으로 四大分하여 주로 虛症이 健忘의 大部分이라고 보았다. 治法으로는 許<sup>21)</sup>는 먼저 養血하고 理脾를 하여야하니 凝神定志之劑로써 調理하여야 한다고 하였고, 李<sup>42)</sup>는 心腎의 交通을, 李<sup>43)</sup>는 氣血의 大補를 주장하였다<sup>25,39)</sup>.

健忘證에 대한 한의학적 연구로는 金<sup>25)</sup>, 崔<sup>33)</sup> 등이 건망의 原因, 辨證, 治法, 治方에 대한 文獻을 고찰하였다.

이 실험에 사용된 Morris 수중미로(Morris water maze) 과제는 동물의 공간학습과 그에 대한 기억을 검사하기 위해 사용되며<sup>38)</sup>, 주로 장기기억 능력을 측정하는 과제로서 유기체가 주변에 있는 여러 단서를 사용하고 기억하는 능력, 즉 공간준거기억(spatial reference memory)을 측정하는 도구로서<sup>28,29)</sup>,공간 이외의 단서들을 통제하기 쉬운 장점이 있다. 이 과제에서 동물들은 물로 채워진 커다란 수조(water maze)내에 숨겨진 도피대(escape platform)를 찾는 것을 학습한다<sup>38)</sup>. 동물들은 어떤 근접단서(proximal cue)도 이용할 수 없고, 냄새를 추적단서로 사용하는 것도 불가능하다. 따라서 검사환경에서 이용할 수 있는 단서들의 외형(configuration)내에서 자신의 위치를 학습하여 숨겨진 도피대를 찾아야한다<sup>28,29)</sup>. 수중미로내의 도피대가 시행에 무관하게 일정한 위치에 설정되었으므로 이 과제의 해결에는 공간준거기억이 필요하다.<sup>28)</sup>

Morris 수중미로를 통한 기존의 기억평가 실험으로는, Sprick<sup>61)</sup>은 해마체가 손상된 실험동물에 있어서 neurokinin substance P가 학습과 기억에 미치는 영향을 보고하였다. Clark<sup>33)</sup>등은 androgen양 합성 물질인 AAS가 해마체의 변형에 미치는 영향을 평가함에 있어서 공간 기억력의 변화를 측정, 보고하였으며, Hickey<sup>54)</sup> 등은 Morris 수중미로가 신경손상에 의한 공간 기억력 측정에 유용한 실험방법이라고 논하였다.

Nitric oxide (NO)는 주로 뇌의 해마부위에 영향을 미치며, long term potentiation (LTP)과 synaptic plasticity(시냅

스의 재조합, 재구성)에 중요한 역할을 하여 기억과 학습에 영향을 미친다<sup>51)</sup>. Chapman<sup>32)</sup>등은 NO는 synaptic plasticity의 형성에 중요한 역할을 하고 척추동물에서의 중추신경계통에서 세포내 매개자(messenger)로서 작용하며, LTP의 유발(induction)은 세포내매개자인 NO의 합성을 저해하는 약물에 의해 실험실에서 차단되었다고 하였다. 또한 hippocampus에서의 LTP에 대한 NO의 역할과 NO가 학습에 미치는 영향을 알아보기 위하여 수중미로와 L-NAME을 사용한 연구에서 NOS inhibitor는 hippocampus에서의 LTP의 유발을 차단하지만 한 번 형성된 LTP의 크기나 기간에는 영향을 주지 못함을 밝혔다. 이 실험에서 Chapman은 NOS inhibitor인 L-NAME이 수중미로에서 공간학습의 획득을 악화시키며, 이는 L-NAME의 투여량과도 유관하여 75mg/kg-1의 투여가 가장 현저하게 악화시킨다고 보고하였다.

Böhme<sup>51)</sup> 등은 NO는 매개분자(messenger molecule)로서, 뇌내에서 L-arginine이 L-citrulline으로 가는 대사와 정에서 생성된다고 하였으며, NO가 LTP와 synaptic plasticity에 영향을 미치므로 학습과 기억에 관여한다고 보았으며, arginine의 유사체인 Arg(NO<sub>2</sub>)를 투여하여 hippocampus에서의 LTP를 차단시킴으로써 기억형성을 악화시켰다는 보고를 하였다.

약물이 Morris 수중미로 학습과 기억에 미치는 영향에 대해 Chapman<sup>32)</sup> 등은 NOS inhibitor를 사용하여 두가지 다른 형태의 학습이 악화됨을 보고하였고, Höschler<sup>55)</sup> 등은 PLA2와 NOS inhibitor가 공동으로 공간 과제의 기억 장애를 발생시킨다는 보고를 하였고, Smith<sup>60)</sup> 등은 실험적 뇌 손상후의 흥분된 아미노산 수용체에 대한 길항제인 kynurenate와 indole-2-carboxylic acid가 행동과 신경화학적 결과에 미치는 영향을 보고하였다.

이러한 연구들은 Morris 수중미로와 뇌내의 혈류순환과 당대사 등을 감소시키는 물질인 NOS inhibitor를 이용하여 학습과 기억을 향상시키는 약물들을 검증함으로써 현재 기억과 학습에 장애를 일으키는 치매 등의 여러 질환의 치료제 개발에 도움을 주리라 사료된다.

牛黃清心元은 1107년경 陳師文의 《太平惠民和劑局方》<sup>49)</sup>에 최초로 수록되었으며, 적응증으로는 治諸風 癱瘓不隨 言語蹇澁 心忪健忘 恍惚去來 頭目眩冒 胸中煩鬱 痰涎壅塞

精神昏憤 又治心氣不足 神志不定 驚恐怕怖 悲憂慘感 虛煩少睡 喜怒無時 或發狂癲 精神昏亂을 治療한다고 하였다. 그후 李<sup>43)</sup>는 麝香의 용량을 높인 반면 阿膠珠의 용량을 줄였으며, 許<sup>21)</sup>는 朱砂를 가미하였으나 主治證에 있어서는 같았다. 최근에는 등맥경화, 고혈압, 자율신경실조증, 히스테리, 불면 등에도 활용되며, 중풍의 구급약으로서 뿐만 아니라 뇌혈관계 및 신경계 질환에 널리 응용되고 있다<sup>3)</sup>.

牛黃清心元 구성약물의 본초학적 효능을 살펴보면, 當歸는 溫無毒 甘辛하고 心肝脾經에 입하여 補血和血 調經止痛 潤燥滑腸하며, 川芎은 溫無毒 辛하여 肝膽心包經에 입하고 活血行氣 祛風止痛하며, 白芍藥은 微寒無毒 苦酸하고 肝脾經에 입하여 養血柔肝 緩中止痛 斂陰收汗하며, 阿膠는 平無毒 甘하고 肺肝腎經에 입하여 補血滋陰 潤燥止血하므로 이들 藥物은 養血과 補血, 活血作用이 있다. 山藥은 溫無毒 甘하고 脾肺腎經에 입하여 健脾 補肺 固腎 益精하며, 人蔘은 微溫無毒 甘微固하고 脾肺心經에 입하여 大補元氣 固脫生津 安神하며, 白朮은 溫無毒 苦甘하고 脾胃經에 입하여 補脾 益胃 燥濕 和中和, 甘草는 平無毒 微甘하고 心肺脾胃經에 입하여 和緩急 潤肺 解毒 調和諸藥하며, 大棗는 溫無毒 甘하고 脾胃經에 입하여 補脾和胃 益氣生津 調營衛 解藥毒하고, 蜂蜜는 平無毒 甘하고 肺胃大腸에 입하여 補中 潤燥 止痛 解毒하므로 이들 藥物은 補脾와 補氣作用이 있다. 柴胡는 微寒無毒 苦하고 肝膽經에 입하여 和解退熱 疏肝解鬱 升舉陽氣하고, 黃芩은 寒無毒 苦하고 肺膽胃大腸經에 입하여 瀉實火 除濕熱 止血 安胎하며, 牛黃은 涼無毒 苦하고 心肝經에 입하여 清熱解毒 熄風定驚 化痰開竅하며, 白礪은 微寒無毒 苦하고 心胃肝經에 입하여 清熱解毒 斂瘡生肌하며, 大豆黃卷은 平無毒 甘하고 脾胃經에 입하여 清熱表邪 分利濕熱하며, 羚羊角은 寒無毒 鹹하고 肝心經에 입하여 平肝熄風 清肝明目 清熱解毒하고 烏犀角은 寒無毒 苦鹹하고 心肝胃經에 입하여 涼血止血 瀉火解毒 安神定驚하므로 이들 약물들은 清熱解毒作用이 있다. 金箔은 安神鎮靜作用이 있고, 麝香은 溫無毒 辛하고 心脾經에 입하여 開竅醒神 活血通經 消腫止痛하며, 龍腦는 涼無毒 辛苦하고 心脾肺經에 입하여 開竅醒神 清熱止痛하므로 이들 藥物은 開竅醒神 活血通絡 作用이 있다. 桔梗은 平無毒 苦辛하고 肺

經에 입하여 宣肺利咽 祛痰排膿하며, 杏仁은 微溫小毒 苦微辛하고 肺大腸에 입하여 降氣止咳平喘 潤腸通便하고, 麥門冬은 微寒無毒 甘微苦하고 肺胃心經에 입하여 養陰潤肺 清心除煩 益胃生津하므로 이들 藥物은 潤肺祛痰의 作用이 있다. 蒲黃은 平無毒 甘하고 肝心包經에 입하여 收澀止血 行血祛瘀하므로 止血作用이 있으며, 神曲은 溫無毒 甘辛하고 脾胃經에 입하여 健脾和胃 消食調中하므로 消導作用이 있으며, 防風은 溫無毒 辛甘하고 膀胱肝脾經에 입하여 解表祛風 勝濕 止痛하므로 解表作用이 있으며, 白茯苓은 平無毒 甘淡하고 心脾肺經에 입하여 利水滲濕 健脾寧心하므로 利水作用이 있고, 肉桂는 熱無毒 辛甘하고 腎脾膀胱經에 입하여 補元陽 暖脾胃 諸積冷 通血脈하며, 乾薑은 熱無毒 辛하고 脾胃經에 입하여 溫中 逐寒 回陽通脈함으로서 이들 藥物은 溫中作用이 있다<sup>16,22)</sup>.

牛黃清心元은 전체적인 藥性이 涼하여 五臟六腑에 모두 歸經하며 開竅化痰, 清熱瀉火 解毒 養血生津 鎮靜定驚 補氣補血 등의 方義가 있어 특히 痰濁과 熱結로 인한 心臟疾患에 응용할 수 있을 것으로 사료된다.<sup>3)</sup> 이 方劑에 대한 연구로는 高<sup>2)</sup>의 平滑筋에 미치는 影響과, 高<sup>3)</sup>의 冠狀의 摘出心臟에 미치는 影響, 南<sup>3)</sup>의 牛黃清心元과 麝香 蘇合元의 效能에 대한 研究, 李<sup>17)</sup>의 高血壓에 牛黃清心元과 Hydralazine, Atenolol, Captopril 및 Furosemide의 併用 投與에 관한 實驗的 研究 등이 보고 되었다.

본 실험에서는 흰쥐에게 생리 식염수를 투여한 Normal group과 NOS inhibitor인 L-NAME을 투여하여 학습과 기억장애를 일으킨 상태에서 牛黃清心元을 투여한 WHCS group과 그렇지 않은 Control group으로 나누어 Morris 수중미로를 이용한 학습과 기억 능력을 지표로 삼아 우황청심원이 학습과 기억에 미치는 영향에 대하여 살펴보았다.

본 실험의 결과를 분석해보면, 학습검사 실험은 Morris 수중미로에서의 학습이 진행됨에 따라 도피대에 도달한 시간이 모두 짧아졌다. 이는 세 집단 모두 반복되는 시행의 결과로서 학습이 이루어지는 경향성이 있음을 의미한다. 그리고, 대조군에 비하여 약물투여군의 학습 향상이 총 16회의 실험중 유의성이 있는 경우는 3회(4,5,6회)이며 나머지는 통계적으로 유의하지는 않았다.



기억검사 실험은 수조에 가상으로 그려진 영역별 점수에 근거하여 세가지 항목으로 나누어 분석하였다. 첫째, target area에 들어간 횡수를 측정한 결과, 정상군은  $1.8 \pm 0.2$ 회, 대조군은  $0.7 \pm 0.2$ 회, 약물투여군은  $1.0 \pm 0.3$ 으로 약물투여군이 약간 많았으나 통계적으로 유의하지는 않았다. 둘째, 처음으로 target area에 들어간 시간을 측정한 결과, 정상군은  $26.8 \pm 3.5$ 초, 대조군은  $46.8 \pm 2.4$ 초, 약물투여군은  $34.7 \pm 3.7$ 초로 약물투여군이 대조군에 비해 통계적으로 유의한 향상을 보였다. 셋째, 기억 점수는 정상군이  $121.3 \pm 8.3$ 점, 대조군은  $74.3 \pm 5.9$ 점, 약물투여군은  $85.4 \pm 6.6$ 점으로 약물투여군이 대조군에 비해 점수는 높았으나 통계적으로 유의하지는 않았다.

본 실험의 방법 중 완전하지 못했던 점은 memory score 계산법이 임의적인 표본에서 추출한 값이므로 편차가 있을 수도 있다. 이는 L-NAME을 투여한 후 우황청심원을 투여한 약물투여군과 그렇지 않은 대조군의 유영상태가 상당한 차이가 있는데도 불구하고 기억점수의 차이는 유의성이 없었다.

비록, 이상의 실험에서 우황청심원이 학습과 기억을 회복 시키는 것이 완전히 유의성 있게 규명되지는 못하였지만, 游泳 데이터와 first latency, 학습실험의 4,5,6회 등은 우황청심원을 투여한 약물투여군의 실험 성적이 유의하게 향상되었다.

## V. 結 論

NOS inhibitor인 L-NAME 투여로 학습과 기억 장애를 일으킨 흰쥐를 대상으로 Morris 수중미로 장치를 이용하여 우황청심원의 학습 및 기억 증진 효능을 규명한 결과, 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Morris 수중미로의 학습 성적에서 세 집단 모두는 시행이 반복될수록 학습능력이 향상되는 경향성을 보였다. 우황청심원을 투여한 약물투여군은 총 16회의 시행 중 5회( $p < 0.01$ )와 4,6회( $p < 0.05$ )에서 대조군과 비교하여 통계적으로 유의하게 학습이 향상되었다.

2. Morris 수중미로를 이용한 기억 실험 중, target area에 처음 들어간 시간은 우황청심원을 투여한 약물투여군이 대조군에 비해 유의성있게 단축되었다( $p < 0.05$ ).

3. Target area를 통과한 횡수와 기억점수(memory score)는 우황청심원을 투여한 약물투여군과 대조군간에 유의성이 없었다.

이상의 실험결과는 우황청심원이 L-NAME 투여로 학습과 기억장애가 있는 흰쥐에 대하여 일시적인 학습 및 기억력 증진 효과가 있음을 보여주고 있고, 아울러 혈관 성치매를 개선시키는데 활용할 수 있음을 시사한다.

## 參 考 文 獻

1. 慶熙醫療院 韓方病院 : 韓方製劑解說集(2집), 서울, 경희의료원, p.75, 1992.
2. 高康頤 : 牛黃清心元이 平滑筋에 미치는 影響, 경희대학교 대학원, 1976.
3. 高昌男 : 牛黃清心元이 흰쥐의 摘出心臟에 미치는 영향, 경희대학교 대학원, 1997.
4. 權錫萬 外 : 心理學概論, 서울, 博英社, p.58, pp. 106-155, 1996.
5. 김유진, 임성문, 이봉조 : 심리학 개론, 서울, 영운출판사, pp.119-124, 1991
6. 김정택 역 : 인간행동의 심리학, 서울, 사상사, pp.299-326, 1993.
7. 김영채 역 : 학습심리학, 서울, 박영사, pp.3-18, 518-521. 1991.
8. 남상경 : 牛黃清心元과 蘇合香元의 效能에 관한 研究, 경희대학교 대학원, 1990.
9. 大韓東醫生理學會篇 : 東醫生理學, 서울, 경희대출판국, pp.389-409, 1993.
10. 민성길 : 최신정신의학, 서울, 일조각, p.39, 40, 1992.
11. 서봉연 외 : 심리학개론, 서울, 박영사, pp.211-272, 1984.
12. 송인섭 外 : 인간이해를 위한 심리학, 서울, 상조사.

- p.152, 153, 180, 183, 185, pp.18-190, 195, 198, 210, 211, 1997.
13. 신용일 외 : 심리학개론, 서울, 동문사, p.148, pp.161-165, p.167, 177, pp.182~184, p.203, 214, 436, 1997.
  14. 申應燮 외 : 心理學, 서울, 傳英社, p.122, 1990.
  15. 윤진 : 성인·노인심리학, 서울, 중앙적성출판사, p.143, 144, 154, 155, 1985.
  16. 이수원 외 : 심리학, 서울, 정민사, p.200, 201, 1990.
  17. 李英彬 : 고혈압에 우황청심원과 Hydralazine, Atenolol, Captopril 및 Furosemide의 작용여부에 대한 실험적 고찰, 경희대학교 대학원, 1992.
  18. 張東煥, 金滌琛, 孫正洛 譯 : 심리학입문(제6판), 서울, 博英社, pp.214-265, 272-314, 1991.
  19. 장현갑 외 : 심리학, 서울, 교육과학사, pp.241-243, p.247, pp.278-281, 1994.
  20. 全國韓醫科大學 本草學教授 共編 : 本草學, 서울, 영림사, p. 131, 132, 149, 150, 178, 179, pp.187-190, 207-209, p. 226, 227, pp. 302-304, 334-337, p. 370, 371, 401, 402, 409, 410, 460, 461, 478, 479, 501, 502, pp.520-523, 531-533, 536-538, 540-543, 578-582, p.584, 585, 1991.
  21. 許俊 : 東醫寶鑑, 서울, 남산당, p.95, 147, 1966.
  22. 홍대식 : 심리학개론. 서울 박영사. pp.291-376, 1991.
  23. 黃度淵 : 方藥合編, 서울, 南山堂, p.124, 1978.
  24. 黃義完, 金知赫 編著 : 東醫精神醫學, 서울, 現代醫學書籍社, p.605, 606, 1987.
  25. 김세길, 문병순, 김연두: 健忘의 原因, 治法, 治方에 對한 文獻的 考察, 대한한의학회지, 13(1):216-221, 1992.
  26. 류영수, 최공환 : 기억장애에 관한 동·서의학적 비교·연구, 동의신경정신과학회지, 7(1):155-166, 1996.
  27. 우주영, 김종우, 황의완, 김현택, 박순권 : 調胃升清湯이 昏厥의 방사형 미로 學習과 記憶에 미치는 영향, 동의신경정신과 학회지 Vol. 8, No 1, pp.69-78, 1997.
  28. 李雄錫 : 調胃升清湯이 Alzheimer's disease 모델 白鼠의 學習과 記憶에 미치는 영향, 경희한의대 논문집 제 21권 1호, pp.479-501, 1998.
  29. 李在燦 : 荊防地黃湯이 昏厥의 Morris 水中 迷路 學習과 記憶에 미치는 영향, 경희한의대 논문집 제 20권 2호, pp.194-205, 1997.
  30. 李忠烈, 洪茂昌 : 東醫學에서의 認知過程에 對한 考察, 동의생리학회지, 5(1):pp163-169, 1990.
  31. 정봉교의 2인 : 昏厥의 내측 증격핵손상이 Morris 수 중미로과제의 학습에 미치는 효과, 한국심리학회지, 5:29-44, 1993.
  32. 조윤숙, 황의완, 김현택, 박순권 : 荊防地黃湯이 Alzheimer's disease 모델 白鼠의 學習과 記憶에 미치는 영향, 동의신경정신과학회지, 9(1):1-24, 1988.
  33. 崔龍俊, 成彊慶, 文炳淳 : 健忘의 辨證分型에 對한 研究, 대한한의학회지 17(1): 374-405, 1996.
  34. 賈河先 : 百病良方(第一集), 中慶, 科學技術文獻出版社 中慶分社, pp.333-334, 1970.
  35. 唐宗海 : 血證論, 上海, 上海人民出版社, p120, 1976.
  36. 董黎明 : 實用中醫內科學, 上海, 上海科學技術出版社, pp.352-355, 1986.
  37. 巢元方 : 巢氏諸病源候總論, 臺中, 昭人出版社, p534, 1975.
  38. 孫思邈 : 千金要方, 서울, 大星文化史, p265, 266, 1984.
  39. 嚴用和 : 濟生方(中國醫學大系 11), 서울, 麗江出版社, p487.
  40. 王九思: 難經集註, 臺灣, 中華書局, p187, 1985.
  41. 王米渠 : 中醫心理學, 香港, 天津科學技術出版社, p150, 1985.
  42. 李中梓 : 醫宗必讀, 上海. 上海科學技術出版社. p375, 376, 1987.
  43. 李梴 : 醫學入門, 서울, 大星文化社, p514, 1980.
  44. 張隱菴, 馬元臺 : 黃帝內經素問靈樞合編, 臺聯, 國風出版社, 素問:p532, 靈樞:p57, 58, 464, 1986.
  45. 張仲景 : 仲景全書, 서울, 醫道韓國社, p172, 173, 228, 229, 1975.
  46. 程國彭 : 醫學心悟, 香港, 族風出版社, p209, 210, 1961.
  47. 朱震亨 : 丹溪心法附餘(上), 서울, 大星文化社, pp.358-359, 1993.
  48. 陳無擇 : 三因極一病證方論, 서울, 成輔社, pp.310-312, 1977.
  49. 陳師文 等 編 : 太平惠民和劑局方, 臺北, 旋風出版社,

- p.81, 1975.
50. 河北醫學院 : 靈樞經校釋上冊, 北京, 人民衛生出版社  
一中社影印本, p177, 1982.
51. Böhrne GA, Bon C, Lemaire M, Reibaud M, Piot O,  
Stutzmann JM, Doble A, Blanchard JC: Altered  
synaptic plasticity and memory formation in nitric  
oxide synthase inhibitor-treated rats, *Neurobiology  
Proc. Natl. Acad.Sci. USA* vol. 90. pp.9191-9194.  
October 1993.
52. Chapman PF, Atkins CM, Allen MT, Haley JE,  
Steinmetz JE : Inhibition of nitric oxide synthesis  
impairs two different forms of learning, *NeuroReport*  
3, 567-570, 1992.
53. Clark AS, Mitre MC, Brinck-Johnsen T :  
Anabolic-androgenic steroid and adrenal steroid  
effects on hippocampal plasticity, *Brain Res*, 679(1):  
64-71, 1995.
54. Hickey RW, Akino M, Srtausbaugh S, De Courtunn-  
Myers GM: Use of the Morris water maze and  
acoustic strattle chamber to evaluate neurologic injury  
after asphyxial arrest in rats, *Pediatr Res*, 39(1):77-84,  
1996.
55. Holscher C, Canevari L, Richter-Levin G :  
Inhibitors of PLA2 and NO synthase cooperate in  
producing amnesia of a spatial task, *Neuroreport*  
6,730-732, 1995.
56. Kupfermann IL : *Principles of Neural Science*, 2nd  
ed, New York, Elsevier, pp.806-815, 1986.
57. Mogensen J, Wörtwein G, Hasman A, Nielsen P,  
Qiong Wang: *Functional and Neurochemical Profile  
of Place Learning after L-Nitro-Arginine in the Rat.*  
*Neurobiology of Learning and Memory* 63, pp.54-65,  
1995.
58. Morris RGM : Developments of a water-maze  
procedure for studying spatial learning in the rat,  
*journal of Neuroscience Methods*,11:47-60, 1984.
59. Olton DS: *Mazes, Maps, Memory.* American  
*Psychologist* 34(7):583-596, 1979.
60. Smith DH, Koichi Okiyam, Thomas MJ, McIntosh  
TK: Effects of the Excitatory Amino Acid Receptor  
Antagonists Kynurenate and Indole-2-Carboxylic  
Acid on Behavioral and Neurochemical Outcome  
following Experimental Brain Injury, *The Journal of  
Neuroscience* 13(12): 6383-6392, 1993.
61. Sprick U, Hasenohrl RU, krauth J, Klapdor K,  
Huston JP: Effects of chronic substance P treatment  
and intracranial fetal grafts on learning after  
hippocampal kainic acis lesions, *Peptides*, 17(2):275-  
285, 1996.
62. Yonemori F, Yamada H, Yamaguchi T, Uemura A,  
Tamura A : Spatial memory disturbance after focal  
cerebral ischemia in rat, *J Cereb Blood Flow Metab*,  
16(5):973-980, 1996.

=Abstract=

The effect of Woohwangchungsimwon on  
the learning and memory in NOS inhibitor  
treated rats in Morris water maze.

Ji-Seong Baek · Jong-Woo Kim · Wei-Wan Whang

Dept. of Oriental Neuropsychiatry, College of Oriental  
Medicine, Kyung Hee University, Seoul, Korea

This study was conducted to find out the effects of  
Woohwangchungsimwon on learning and memory in the  
NOS inhibitor treated rats. The Morris water maze was  
used in evaluating them. The result of the study was  
summarized as follows.

1. In the learning test, three groups have showed a  
gradual improvement of learning ability by repeating

the trials in Morris water maze. WHCS group have showed statistical improvement than control group at 4,5,6 trial( $p<0.05$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ ).

2. In the memory test, the first latency of WHCH group was statistically shortened than that of control group( $p<0.05$ ).

3. In the memory test, there was no statistical difference in the entry number between WHCH group and control.

4. In the memory test, there was no statistical difference in the memory score between WHCH group and control.

The result of this experimental study presents that Woohwangchungsimwon has the improving effect on impaired learning and memory in NOS inhibitor treated rats, and implies that Woohwangchungsimwon may be one of the useful prescription for the treatment of vascular dementia after cerebral ischemia.