

신원방우황청심원액의 뇌허혈 및 중추신경계에 대한 약효

조태순* · 이선미 · 이은방¹ · 조성익¹ · 김용기² · 신대희² · 박대규²

성균관대학교 약학대학, ¹서울대학교 천연물과학연구소,

²조선무약(자) 생명과학연구소

Pharmacological Actions of New Wonbang Woohwangchungsimwon Liquid on Cerebral Ischemia and Central Nervous System

Tai-Soon CHO*, Sun-Mee LEE, Eun-Bang LEE¹, Sung-Ig CHO¹,

Yong-Kee KIM², Dae-Hee SHIN² and Dai-Kyu PARK²

College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University, Suwon, Kyunggi 440-746

¹Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460

²Institute of Life Science Research, Cho Seon Pharmaceutical & Trading Co., Ansan, Kyunggi 425-120, Korea

(Received February 2, 1999; accepted March 18, 1999)

Abstract – In order to investigate pharmacological properties of New Wonbang Woohwangchungsimwon Liquid(NSCL) and Wonbang Woohwangchungsimwon Liquid(SCL), the effects of NSCL and SCL on cerebral ischemia and central nervous system were compared. Cerebral ischemia insult was performed using unilateral carotid artery occlusion in mongolian gerbils. The histological observations showed a preventive effect of NSCL and SCL treatments with ischemia-induced brain damage. The ATP in brain tissue was decreased in vehicle-treated ischemic gerbils. This decrease was prevented by NSCL and SCL treatment. In contrast to what was seen with ATP, lipid peroxide were elevated in vehicle-treated ischemic gerbils. This elevation was inhibited by NSCL and SCL treatments. While NSCL and SCL had no effects on the hexobarbital-induced sleeping time, they showed sedative effect in rotarod and spontaneous activity test. NSCL and SCL prevented the seizures induced by electric shock and strychnine, but the effect of NSCL was less than that of SCL. Furthermore, NSCL and SCL showed anti-stress effect. Our findings suggest that the pharmacological profiles of NSCL on cerebral ischemia and central nervous system are similar to those of SCL.

Keywords □ New Wonbang Woohwangchungsimwon Liquid, Wonbang Woohwangchungsimwon Liquid, cerebral ischemia, central nervous system

우황청심원은 1107년경 태평혜민화제국방(진, 1975)에 최초로 수재되었으며, 동의보감(허, 1987), 의학입문(이, 1981), 방약합편(황, 1977) 등의 기성한의서에 수재되어 있으며, 사향, 우황 등 25종의 생약으로 구성된 처방으로 졸중풍 등의 구급약으로 현재까지 널리 사용되어 오고 있다. 현재 유통되는 처방은 크게 나누어 동의보감의 처방을 그대로 따르는 원방우황청심원과 각 구성생약의 구성비율을 조금씩 변화를 준 변방우황청심원 두 종류로 나누어지며, 또 제형에 따라 환제와 액제로 나누어져 4 종류가 유통되고 있다.

우황청심원의 주약으로 사용되어 온 사향은 사향시슴(*Moschus moschiferus* L.) 또는 그 밖의 근연동물[우제목

(Artiodactyla) 사슴과(Cervidae)]의 수컷의 사향 선분비물로서 강심, 흥분, 개규, 통경, 진정, 진경, 배농, 해독, 구어혈 작용이 있어 중풍, 소아경간, 신혼섬, 심복강통, 심장쇠약, 신경쇠약, 월경곤란, 혈전, 질타손상 등의 치료에 사용된다(김, 1984). 또한 사향은 hexobarbitone에 의한 수면시간을 감소시킴으로써 중추 흥분효과(Mukhopadhyay 등, 1973)가 있는 반면, 자발 운동량을 감소시키는 것으로 보아 진정작용(Tokunaga 등, 1987) 등이 있다고 보고되었다. 그밖의 약리작용으로는 남성호르몬양 작용(Sano, 1936; Sano, 1937), 항염증작용(Mishra 등, 1962; Taneja 등, 1973) 등이 보고되어 있다.

그러나, 사향은 전량 외국으로부터 수입에 의존하고 있으며 최근들어 “멸종 위기에 처한 야생 동식물의 국제 거

* To whom correspondence should be addressed.

래에 관한 협약(CITES 협약)이 발효됨에 따라 사향의 수급이 더욱 어려움에 처해 있는 실정에서 사향의 대체약물의 개발이 절실히 요구되어 최근에 사향의 대체약물인 *l*-muscone을 개발하기에 이르렀다.

l-Muscone의 효능효과에 대하여 조 등(1997c)은 뇌허혈 및 중추신경계에 대하여 *l*-muscone은 사향과 유사한 뇌허혈에 대한 개선작용, 중추신경계에 대해 진정작용, 호흡흥분작용 및 항스트레스작용 등을 관찰하여 *l*-muscone이 사향의 대체약물이 될 수 있음을 확인하였다. 또한, 사향 대체약물로 *l*-muscone을 사용하여 제조한 신우황청심원과 기존의 우황청심원에 대한 약효약리를 검토한 결과 뇌허혈, 중추신경계 및 심혈관계에 대하여 서로 유사한 작용이 인정되어 사향 대체약물이 될 수 있음을 재확인하였다(조 등, 1997a; 조 등, 1997b; 조 등, 1997d; 조 등, 1997e).

본 연구는 사향 대체약물로 *l*-muscone을 사용하여 제조한 신원방우황청심원액과 기존의 원방우황청심원액의 뇌허혈 및 중추신경계에 미치는 약리작용을 비교연구하여 약효의 유사성을 입증하고자 하였다.

실험방법

실험동물

수컷 Mongolian gerbil은 미국의 Harlan사에서 체중 60 g 내외를 구입하였고, 마우스는 체중 20-30 g의 ICR계 수컷을, 흰쥐는 체중 200-350 g의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 제일상사 및 대한실험동물센터(주)로부터 공급받아 동물실 환경에서 1주 이상 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 동물실의 온도는 22-25℃로, 습도는 50±5%로 유지되었고, 명암은 12시간 간격으로 자동조절 하였으며, 실험동물에게는 삼양사(주)의 사료를 급식하였고, 상수를 자유로이 섭취하도록 하였다.

시료

신원방우황청심원액 및 원방우황청심원액은 조선무약(자)으로부터 제공받아 동결건조한 다음, 환제(3.75 g/환)의 투여용량과 동일한 용량이 되도록 환산하여 0.5% sodium carboxymethyl cellulose(CMC-Na) saline액에 현탁시켜 사용하였으며, 체중 kg당 10 ml가 투여 되도록 제조하여 경구투여하였다. 본 연구에 사용된 신원방우황청심원액[1병(50 ml)]은 감초 188 mg, 계피 66 mg, 작약 56 mg, 황금 56 mg, 방풍 56 mg, 백출 56 mg, 길경 47 mg, 복령 47 mg, 우황 45 mg, 산약 263 mg, 인삼 94 mg, 포황 94 mg, 신곡 94 mg, 대두황권 66 mg, 아교 66 mg, 맥문동 56 mg, 백렴 28 mg, 당귀 56 mg, 시호 47 mg, 행인 47 mg, 천궁 47 mg, 용뇌 38 mg, 영양각 38 mg, 건강 28 mg 및 *l*-muscone 1.5% 과립 38 mg(*l*-muscone으로 570 µg)으로 구성되어 있으며, 원방우황청심원액은 *l*-muscone 1.5% 과립 38 mg 대신

사향 38 mg이 처방되어있다.

시약

ATP assay kit(No. 366), lactate dehydrogenase(from rabbit muscle), NAD, Tris-HCl, glycine, hydrazin, glucose, thio-barbituric acid, pentetrazol, strychnine nitrate, phenobarbital · Na, chlorpromazine · HCl, *l*-ascorbic acid 등의 시약은 Sigma Chemical Co.(USA)에서 구입하였고, 기타 시험에 필요한 시약은 국내특급시약을 사용하였다.

뇌허혈에 미치는 작용

뇌허혈 유발

Gerbil을 ether 마취하에 수술판에 고정시키고 목의 중앙선을 절개한 후 좌측 경동맥을 미주신경으로부터 분리하여 동맥 clamp로 결찰하였다. 허혈 20분 후 clamp를 빼내어 30분간 재관류시키고 단두치사하여 제팔리 뇌를 적출한 다음 무게를 달아 뇌시료를 얻었으며, 이를 균질화하여 각 측정항목을 측정하였다. 신경학적 검사는 허혈 20분 후 clamp를 빼내고 절개부위를 봉합하여 24시간동안 재관류시켰다. 24시간 후 gerbil의 신경손상정도에 따라 4등급으로 나누고 조직검사를 위하여 단두치사하여 뇌를 10% formalin neutral buffer 용액(Sigma Chemical Co., USA)에 10일간 담가둔 후 실험에 이용하였다. 약물은 수술 30분 전에 1회 경구투여하였다.

신경학적검사 및 병리조직검사

신경학적 검사는 수술 후 24시간이 경과한 다음 Bederson 등(1986)의 방법에 따라 그 결손정도를 4등급으로 점수화 하였다. 병리조직검사는 조직을 충분히 formalin으로 고정시킨 후 4 mm 두께의 coronal brain slice를 만든 후 조직 내에 남아있는 고정액은 흐르는 수돗물에 충분히 수세하였다. 각 균의 조직을 Autotechnicon(Citadel 2000, Shandon, USA)을 사용하여 투명(clearing) 및 침투과정을 실시하였다. 일정모양의 paraffin block을 만들기 위해 embedding center를 사용하였다. Paraffin 침투과정이 끝난 조직을 paraffin warming chamber에 넣고 base mold에 paraffin을 채운 후 조직을 base mold에 안착시키고 cyto-plate에 올려 놓고 굳은 후 base mold를 떼어놓았다. Paraffin block을 microtome에서 2 µm 두께로 자른 후 슬라이드 글라스위에 올려 60℃ hot plate에서 건조부착시켰다. 절편이 부착된 슬라이드 글라스를 60℃의 oven에 넣어 조직이외의 paraffin을 녹이고 xylene에서 10분씩 3회 처리한 후 100%, 95%, 80% 및 70% ethanol 순으로 2회씩 2분간 처리하여 흡수시켰다. H & E(hematoxylin 및 eosin)염색은 흡수과정후 탈이온수에서 10분간 처리한 후 Harris's hematoxylin으로 염색하였다. 현미경 검경은 카메라가 부착된 현미경(Nikon Diaphot 300, Japan)으로 하였다.

뇌시료의 추출

뇌시료를 평량한 후 0.25% EDTA가 들어있는 0.1M HClO₄를 가하여 homogenizer로 30초간 균질화 시킨 다음

10분간 고정시켜 단백질을 변성시킨 후 4℃에서 10000×g로 10분간 원심분리한 다음 상층액을 ATP, lactate, malondialdehyde(MDA) 정량용 시료로 사용하였다.

ATP함량 측정

ATP의 측정은 ATP assay kit를 사용하였으며, 그 값을 μmole/g brain tissue로 나타내었다.

Lactate함량 측정

Lactate의 측정은 Gutmann과 Wahlefeld의 방법(1974)에 따라 lactate dehydrogenase와 NAD에 의해 생성된 NADH를 340 nm에서 그의 흡광도를 측정하였으며, 그 값을 μmole/g brain tissue로 나타내었다.

Lipid Peroxidation

지질과산화는 Masugi와 Nagamura의 방법(1976)에 준하여 thiobarbituric acid(TBA) assay를 사용하여 535 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 표준액으로는 1,1,3,3-tetraethoxypropane을 사용하였다.

Protein 함량은 Bradford의 방법(1976)에 따라 bovine serum albumin을 표준용액으로 사용하여 정량하였다.

중추신경계에 미치는 작용

Hexobarbital 유도 수면시간에 대한 작용

수컷 마우스에 hexobarbital · Na 50 mg/kg을 복강주사한 후, 정향반사가 상실되기 시작한 시각과 회복될 때까지의 시간을 측정하였다. 10마리를 1군으로 하였으며, 약물은 hexobarbital · Na 투여 30분전에 경구로 투여하였고, 대조약물은 chlorpromazine · HCl을 사용하였다.

최대전기자극에 대한작용

최대전기자극은 Woodbury와 Davenport의 방법(1952)에 준하여 실시하였다. 수컷 마우스 13마리를 1군으로 하여 양눈에 50 mA의 전류를 0.1초 동안 통하였다. 이에 따른 강직성 경련에 의한 사망수를 계수하고, 생존하는 마우스는 경련 발현 후 정상으로 회복될 때까지의 시간을 측정하였다. 약물은 전기자극을 하기 30분전에 경구로 투여하였고 대조약물은 phenobarbital · Na을 사용하였다.

Strychnine 유발경련 처사에 대한 작용

Araki와 Ueki의 방법(1972)에 준하여 실시하였다. 수컷 마우스 15마리를 1군으로 하여 strychnine nitrate 1.5 mg/kg을 피하주사하고 강직성경련 및 사망에 걸리는 시간을 측정하였다. 약물은 strychnine nitrate를 투여하기 30분전에 경구로 투여하였고 대조약물은 phenobarbital · Na을 사용하였다.

Pentetrazol 유발경련에 대한 작용

Swinyard 등의 방법(1952)에 준하여 실시하였다. 수컷 마우스 15마리를 1군으로 하여 pentetrazol 85 mg/kg을 마우스에 피하주사하고 간대성경련이 일어날 때까지의 시간을 측정하였다. 약물은 pentetrazol을 투여하기 30분전에 경구로 투여하였고 대조약물은 phenobarbital · Na을 사용하였다.

Rotarod 시험

Dunham 등의 방법(1957)을 응용하여 직경 3 cm, 8 rpm으로 회전하는 회전봉에 3분 이상 걸리는 마우스 12마리를 1군으로 선별하여, 2회 반복 훈련시키고, 1시간 후에 본 실험을 실시하여 3분내 떨어지는 마우스를 계수하였다. 약물은 30분전 경구로 투여하였으며, 대조약물은 chlorpromazine · HCl을 사용하였다.

자발운동능에 대한 시험

마우스의 운동에 따라 활동횟수가 기록되는 activity cage를 이용하여 Nahorski의 방법(1975)에 준하여 실시하였다. 체중 23~30 g 수컷 마우스 8마리를 1군으로 하여, 2마리씩 한 cage에 넣어 30분간 적응시키고 약물을 경구로 투여하여 45분 후 15분 동안의 자발운동성을 측정하였다. 대조약물은 chlorpromazine · HCl을 사용하였다.

KCN으로 유도된 혼수시간에 미치는 영향

Goto 등의 방법(1987)에 따라 수컷 마우스 10마리를 1군으로 하여 0.9% 생리식염수에 녹여 차광하에서 보관한 KCN을 2.0 mg/kg의 용량으로 체중 10 g당 0.1 ml씩 꼬리 정맥내에 투여한 후, 정향반사가 소실되기 시작한 시점으로부터 회복될 때까지 지속된 혼수시간을 측정하였다.

스트레스에 미치는 작용

스트레스부과

스트레스 부과 24시간 전에 절식시킨 수컷 흰쥐를 metal tube restrainer(Natume, Japan)에 구속시켜, 20±2℃가 유지되는 수욕내에 수침시켜 24시간 동안 수침 구속스트레스를 부과하였다. 약물은 스트레스 부과 2시간 전, 부과 4, 19시간 후에 각각 투여하였다. 스트레스 부과 24시간 후 ether 마취하에 개복하여 장기를 적출하여 실험에 사용하였다.

장기무게의 측정

흰쥐의 복부를 절개하여 비장을 적출하고 장기 주위를 둘러싸고 있는 지방조직을 제거한 후 무게를 측정하였다. 부신도 적출한 후 피막을 완전히 제거하였으며 양쪽 부신을 합하여 무게를 측정하였다.

부신내 ascorbic acid 함량 측정

무게가 측정된 부신을 5% trichloroacetic acid(TCA)용액 1 ml에 넣고 약 30초간 균질화 시킨 다음, 13000 rpm에서 10분간 원심분리 한 후 상등액을 취하였다. 정량반응을 위하여 5% TCA 용액에 상등액 0.5 ml를 혼합하고 0.1 ml H₃PO₄(85%), 0.8 ml dipyritydyl(1 w/v%), 0.1 ml ferric chloride(3 w/v%)를 차례로 첨가하였다. 시약을 완전히 섞고 상온에서 15분간 방치한 후 525 nm에서 흡광도를 측정하여 부신중의 ascorbic acid 함량을 측정하였다(Zannoni 등, 1974).

통계처리

모든 실험결과는 평균치와 표준오차를 사용하여 나타내었고, 각 군간의 비교는 Student's t-test 및 χ²-test를 사용하

Table I. Histological evidences for neuroprotective effects of NSCL and SCL from ischemia-induced brain damage

Treatment	n	Dose (mg/kg, <i>p.o.</i>)	Neuronal necrosis	Edema	Hemorrhage
Isch/Rep	5	-	+++	+++	+++
NSCL	5	500	+	++	++
	5	1,000	+	++	+
	5	2,000	++	+	++
	5	4,000	+	+	++
SCL	5	500	++	++	++
	5	1,000	++	++	++
	5	2,000	+	+	+++
	5	4,000	+	++	++

—; none, +; mild, ++; moderate, +++; severe, n=number of animals in each group. NSCL; New Wonbang Woohwangchungsimwon Liquid, SCL; Wonbang Woohwangchungsimwon Liquid, Isch/Rep; Ischemia/Reperfusion.

였으며, 대조군과 비교하여 P 값이 0.05 미만일 때를 통계학적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

실험결과

뇌허혈에 미치는 영향 병리조직검사

Table I 및 Fig. 1에서 보는 바와 같이 허혈/재관류군은 뇌신경세포괴사와 세포부종 및 출혈이 극심하였으나, 신원방우황청심원액 투여군에서는 허혈에 따른 신경세포괴사를 허혈/재관류군에 비하여 현저하게 억제하였으며, 부종 및 출혈 또한 억제하였다. 원방우황청심원액 또한 모든 투여군에서 신경세포괴사 및 부종을 억제하였으나, 출혈에 대한 작용은 비교적 약하였다.

신경학적검사

Table II에서 보는 바와 같이 허혈 후 24시간이 지난 다음 신경 결손정도는 신원방우황청심원액군 및 원방우황청심원액군 모두에서 허혈/재관류군과 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다.

ATP 함량

Table III에서 보는 바와 같이 대조군에서의 ATP 함량은 0.90 $\mu\text{mole/g}$ brain tissue였으나, 허혈/재관류군은 0.22 $\mu\text{mole/g}$ brain tissue까지 급격히 감소하였다. 신원방우황청심원액 1,000 mg/kg, 2,000 mg/kg, 4,000 mg/kg 투여군에서 ATP 함량은 허혈/재관류군에 비하여 유의성있게 증가되었으며, 또한 원방우황청심원액 2,000 mg/kg, 4,000 mg/kg 투여군에서도 허혈/재관류군에 비하여 유의성있게 증가되었다.

Lactate 함량

Table III에서 보는 바와 같이 대조군에서의 lactate 함량은 6.33 $\mu\text{mole/g}$ brain tissue였으나, 허혈/재관류군에서는

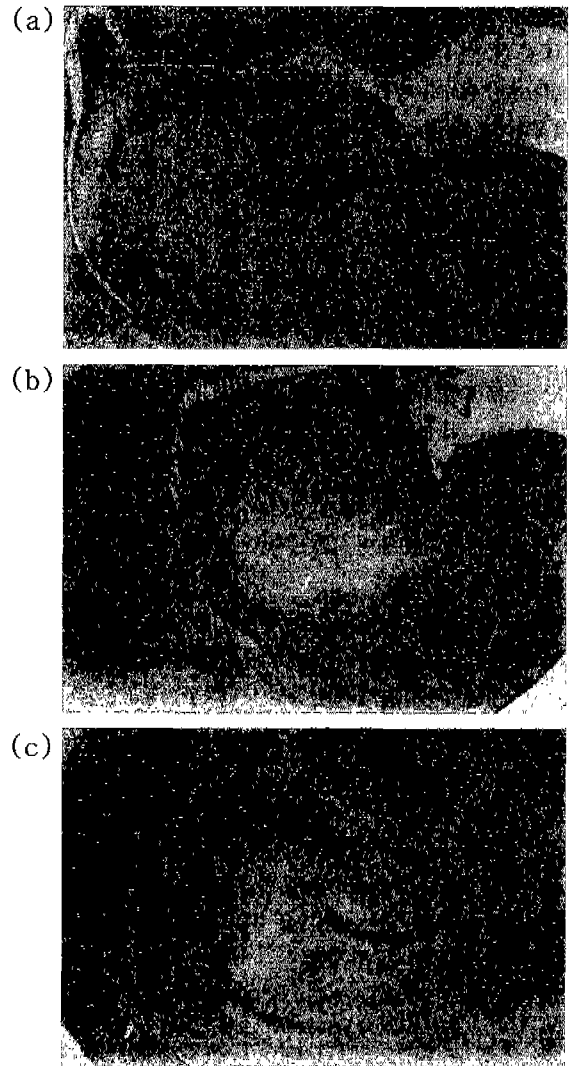


Fig. 1. Representative photomicrographs of neuronal preservation in 2- μm H & E-stained sections from vehicle-treated (a), 2,000 mg/kg NSCL-treated (b) and 2,000 mg/kg SCL-treated (c) gerbil brain 24 hrs after 20 min unilateral carotid artery occlusion ($\times 40$). This photo also shows hippocampal field.

Table II. Effects of NSCL and SCL on neurological change after ischemia in gerbils

Treatment	Dose (mg/kg, <i>p.o.</i>)	Neurological grade
Isch/Rep		1.38 \pm 0.26
NSCL	500	1.40 \pm 0.24
	1,000	1.20 \pm 0.20
	2,000	1.40 \pm 0.24
	4,000	1.20 \pm 0.20
SCL	500	1.20 \pm 0.20
	1,000	1.00 \pm 0.00
	2,000	1.40 \pm 0.24
	4,000	1.40 \pm 0.24

Values are means \pm S.E. for 5 to 8 gerbils per group. NSCL; New Wonbang Woohwangchungsimwon Liquid, SCL; Wonbang Woohwangchungsimwon Liquid, Isch/Rep; Ischemia/Reperfusion.

Table III. Effects of NSCL and SCL on levels of ATP, lactate, and lipid peroxide in gerbil brain following ischemia and reperfusion

Treatment	Dose (mg/kg, <i>p.o.</i>)	ATP ($\mu\text{mole/g}$ brain)	Lactate ($\mu\text{mole/g}$ brain)	MDA (nmole/mg protein)
Control		0.90±0.11	6.33±0.16	2.69±0.13
Isch/Rep		0.22±0.02 ^{###}	9.72±1.35 [#]	4.32±0.30 ^{##}
NSCL	500	0.29±0.01	8.48±1.53	3.13±0.10*
	1,000	0.35±0.01**	7.60±0.31	2.98±0.04**
	2,000	0.30±0.02*	8.31±0.78	2.94±0.09**
	4,000	0.35±0.01**	6.81±0.28	3.46±0.45
SCL	500	0.24±0.01	6.77±0.44	2.14±0.05**
	1,000	0.27±0.01	6.34±0.16	2.53±0.15**
	2,000	0.30±0.02*	7.77±0.90	2.06±0.10**
	4,000	0.30±0.01*	7.76±0.90	2.46±0.11**

Values are means±S.E. for 5 to 10 gerbils per group. Significantly different from the Isch/Rep group (*; $p<0.05$, **; $p<0.01$ in Student's *t*-test). Significantly different from the control group ([#]; $p<0.05$, ^{##}; $p<0.01$ in Student's *t*-test). NSCL; New Wonbang Woohwangchungsimwon Liquid, SCL; Wonbang Woohwangchungsimwon Liquid, Isch/Rep; Ischemia/Reperfusion.

Table IV. Effects of NSCL and SCL on hexobarbital-induced sleeping time

Treatment	Dose (mg/kg, <i>p.o.</i>)	No. of mice	Onset of sleeping (sec)	Sleeping time (sec)	Increment (%)
Control	-	10	147.8± 8.0	481.5±67.0	-
NSCL	2,000	10	172.8±10.7	496.9±83.6	3.2
	4,000	10	203.8±28.8	490.7±149.2	1.9
SCL	2,000	10	172.0±14.3	635.7±150.1	32.0
	4,000	10	155.6±16.4	638.6±152.5	32.6
Chlorpromazine · HCl	4	10	101.2±10.5*	904.4±83.9*	87.8

Significantly different from the control group (*; $p<0.05$, **; $p<0.01$ in Student's *t*-test). NSCL; New Wonbang Woohwangchungsimwon Liquid, SCL; Wonbang Woohwangchungsimwon Liquid.

9.72 $\mu\text{mole/g}$ brain tissue로 유의성 있게 증가하였다. 신원방우황청심원액과 원방우황청심원액 모든 투여군에서 대조군과 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다.

Lipid peroxidation 측정

Table III에서 보는 바와 같이 대조군에서 지질과산화의 지표인 MDA는 2.69 nmole/mg protein 이었으나, 허혈/재관류군은 4.32 nmole/mg protein으로 유의성있게 증가하였다. 원방우황청심원액 모든 투여군에서 허혈/재관류에 의한 지질과산화를 유의성있게 억제하였으며, 신원방우황청심원액은 500 mg/kg, 1,000 mg/kg, 2,000 mg/kg 투여군에서 지

질과산화를 유의성있게 억제하였다.

중추신경계에 미치는 영향

Hexobarbital 유도 수면시간에 대한 작용

신원방우황청심원액 및 원방우황청심원액의 수면시간에 미치는 작용을 Table IV에 표시하였다. 신원방우황청심원액 및 원방우황청심원액 투여군에서는 수면도달 및 수면지속시간이 대조군에 비하여 유의성 있는 차이를 나타내지 않았으나, chlorpromazine · HCl 4 mg/kg을 투여시에 마우스의 수면에 도달하는 시간을 유의성있게 단축시켰으며, 수면지속시간은 유의성있게 연장시켰다.

Table V. Effects of NSCL and SCL on maximal electric shock-induced seizures

Treatment	Dose (mg/kg, <i>p.o.</i>)	No. of tested mice	No. of survived mice	Convulsion time (sec)	Inhibition (%)
Control	-	13	6	109.5±10.5	-
NSCL	2,000	13	8	74.6±10.4*	31.9
	4,000	13	9	65.7±11.6*	40.0
SCL	2,000	13	8	74.5±8.4*	32.0
	4,000	13	9	47.0±6.4**	57.1
Phenobarbital · Na	50	13	13 [#]	19.7±5.7**	82.0

Significantly different from the control group (*; $p<0.05$, **; $p<0.01$ in Student's *t*-test). Significantly different from the control group ([#]; $p<0.01$ in χ^2 -test). NSCL; New Wonbang Woohwangchungsimwon Liquid, SCL; Wonbang Woohwangchungsimwon Liquid.

Table VI. Effects of NSCL and SCL on strychnine-induced seizures

Treatment	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of tested mice	No. of dead mice	Onset of convulsion (sec)	Death Time (sec)
Control	-	15	15	268.4±14.0	289.6±14.2
NSCL	2,000	15	15	292.1±15.2	323.9±16.9
	4,000	15	15	300.5±9.4	333.6±12.7*
SCL	2,000	15	15	325.1±20.7*	350.7±20.5*
	4,000	15	15	351.3±19.9**	380.1±21.6**
Phenobarbital · Na	100	15	2 [#]	458.3±41.7**	788.0±68.0**

Significantly different from the control group (*; $p < 0.05$, **; $p < 0.01$ in Student's *t*-test). Significantly different from the control group ([#]; $p < 0.05$ in χ^2 -test). NSCL; New Wonbang Woohwangchungsimwon Liquid, SCL; Wonbang Woohwangchungsimwon Liquid.

Table VII. Effects of NSCL and SCL on pentetrazol-induced seizures

Treatment	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of tested mice	No. of convulsed mice	Onset of convulsion (sec)	Increment (%)
Control	-	15	15	500.9±31.0	-
NSCL	2,000	15	15	553.5±33.3	10.5
	4,000	15	13	538.2±33.1	7.4
SCL	2,000	15	15	535.3±26.3	6.9
	4,000	15	14	571.8±45.7	14.2
Phenobarbital · Na	100	15	0 [#]	-	-

Significantly different from the control group ([#]; $p < 0.01$ in χ^2 -test). NSCL; New Wonbang Woohwangchungsimwon Liquid, SCL; Wonbang Woohwangchungsimwon Liquid.

최대전기자극에 대한작용

최대전기자극 경련에 대한 신원방우황청심원액의 작용을 Table V에 나타내었다. 마우스의 양측눈에 50 mA의 전류를 통하였을 때 대조군에서는 경련지속시간이 109.5±10.5초이였으며, 사망률은 53.8%이였다. 원방우황청심원액 2,000 및 4,000 mg/kg의 용량 투여에 의해 경련시간을 각각 74.5와 47.0초로 유의성있게 단축시켜 32.0과 57.1%의 경련억제율을 보였다. 신원방우황청심원액을 2,000 및 4,000 mg/kg의 용량으로 투여한 군에서는 경련시간을 각각 74.6와 65.7초로 유의성있게 단축시켜 31.9과 40.0%의 경련억제율을 보였으나, 이 작용은 원방우황청심원액의 작용에 비해 약간 약하였다. 양성대조군인 phenobarbital은 사망률을 100% 억제하였으며, 경련지속시간 또한 19.7±5.7초로 단축시켜 82.0%의 경련억제율을 나타내었다.

Strychnine 유발경련 치사에 대한 작용

Strychnine 유발 경련에 대한 신원방우황청심원액의 작용을 Table VI에 나타내었다. 대조군에서 strychnine 투여에 의해 강직성경련이 유발되는 시간은 268.4초였으며 사망에 도달하는 시간은 289.6초였다. 원방우황청심원액 2,000 및 4,000 mg/kg 투여는 경련 도달시간을 각각 325.1, 351.3초로 유의성있게 연장시켰으며, 사망도달시간을 각각 350.7, 380.1초로 유의성있게 연장시켰으나, 사망률에는 별영향이 없었다. 신원방우황청심원액 4,000 mg/kg 투여군에서는 경련 도달시간 및 사망률에는 영향이 없었으나 사망도달시간

은 333.6초로 유의성있게 연장시키는 결과를 보였고, 이는 원방우황청심원액의 작용과 비교할 때 약하였다. 양성대조군인 phenobarbital은 사망률을 13.3%로 유의성있게 감소시켰고, 경련 및 사망도달시간을 각각 458.3, 788.0초로 유의성있게 연장시켰다.

Pentetrazol 유발 경련에 대한 작용

Pentetrazol 유발 경련에 대한 신원방우황청심원액의 작용을 Table VII에 나타내었다. 대조군에서 pentetrazol 투여에 의해 간대성경련이 유발되는 시간은 500.9초였다. 신원방우황청심원액 및 원방우황청심원액은 pentetrazol 유발경련에 별다른 영향이 없었다. 반면에 양성대조군인 phenobarbital은 pentetrazol에 의한 경련유발을 100% 억제하였다.

Rotarod 시험

Table VIII에서 보는바와 같이 rotarod 시험에서는 정상군은 낙하 마우스가 한 마리도 없는 반면, 양성 대조군인 chlorpromazine · HCl을 투여한 경우 10마리가 낙하하였다. 신원방우황청심원액의 경우 500 mg/kg, 1,000 mg/kg 및 2,000 mg/kg 투여군에서 낙하생쥐가 각각 8마리, 4마리, 4마리로 유의성있는 진정작용을 나타내었으며, 원방우황청심원액 1,000 mg/kg과 2,000 mg/kg 투여군에서는 낙하생쥐수가 각각 6마리로 유의성있게 낙하하였다.

자발운동능에 대한 작용

Table IX에서 보는바와 같이 정상군의 자발운동능은 1087.8이였으나, 양성대조물질인 chlorpromazine · HCl을

Table VIII. Effects of NSCL and SCL on rotarod test in mice

Treatment	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of tested mice	No. of fallen mice
Control		12	0
NSCL	500	12	8**
	1,000	12	4*
	2,000	12	4*
	4,000	12	2
SCL	500	12	3
	1,000	12	6**
	2,000	12	6**
	4,000	12	1
Chlorpromazine · HCl	10	12	10**

Significantly different from the control group (*; p<0.05, **; p<0.01 in χ^2 -test). NSCL; New Wonbang Woohwangchungsimwon Liquid, SCL; Wonbang Woohwangchungsimwon Liquid.

투여한 경우 312.8로 감소되었다. 신원방우황청심원액은 500 mg/kg, 2,000 mg/kg, 4,000 mg/kg 투여군에서 각각 691.8, 773.3, 684.8로 자발운동능 감소를 보였으며, 원방우황청심원액 500 mg/kg, 1,000 mg/kg, 2,000 mg/kg 투여군에서 각각 900.8, 812.5, 760.5로 감소시켰다.

KCN으로 유도된 혼수시간에 미치는 영향

KCN으로 유발된 혼수시간에 미치는 영향을 Table X에 나타내었다. 신원방우황청심원액과 원방우황청심원액 투여군은 KCN으로 유발된 혼수시간에 있어서 유의성있는 차이를 보이지 않았으며, 두 제제간에도 작용상의 차이를 거의 나타내지 않았다.

스트레스에 미치는 영향

신원방우황청심원액과 원방우황청심원액의 효과를 살펴 보면, Table XI에서 보는 바와 같이 스트레스 24시간 부과

Table IX. Effects of NSCL and SCL on spontaneous activities in mice

Treatment	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of mice	Spontaneous activity
Control	-	8	1087.8±38.8
NSCL	500	8	691.8±134.4*
	1,000	8	1016.8± 64.8
	2,000	8	773.3±108.6*
	4,000	8	684.8±89.8**
SCL	500	8	900.8± 45.1*
	1,000	8	812.5±102.4*
	2,000	8	760.5±125.6*
	4,000	8	821.8±139.6
Chlorpromazine · HCl	5	10	312.8±78.9**

Significantly different from the control group (*; p<0.05, **; p<0.01 in Student's t-test). NSCL; New Wonbang Woohwangchungsimwon Liquid, SCL; Wonbang Woohwangchungsimwon Liquid.

Table X. Effects of NSCL and SCL on the respiration suppressed by KCN in mice

Treatment	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of mice	Duration of coma (sec)	Increment (%)
Control	-	10	108.4±16.9	-
NSCL	2,000	10	115.4±16.4	6.5
	4,000	10	89.5±14.1	-17.4
SCL	2,000	10	110.6±11.8	2.0
	4,000	10	74.9±5.7	-30.9

NSCL; New Wonbang Woohwangchungsimwon Liquid, SCL; Wonbang Woohwangchungsimwon Liquid.

시 부신은 16.5 mg/100 g b.wt.에서 20.8 mg/100 g b.wt.로 현저하게 비대되었으나, 신원방우황청심원액 500 mg/kg,

Table XI. Effects of NSCL and SCL on adrenal weight, spleen weight and adrenal ascorbate in restraint stress-induced rats

Treatment	Dose (mg/kg, p.o.)	Adrenal wt. (mg/100 g b.wt.)	Spleen wt. (mg/100 g b.wt.)	Adrenal ascorbate (mg/100 g ad. wt.)
Normal	-	16.5±0.3	342.4±22.2	698.3±39.2
Control	-	20.8±0.8 ^{##}	178.9±15.1 ^{##}	443.8±45.0 ^{##}
NSCL	500	16.9±1.0*	183.9±7.5	604.0±64.3
	1,000	17.5±1.1*	160.4±21.9	635.9±42.7*
	2,000	19.3±0.9	162.7±15.6	658.2±42.8**
	4,000	18.5±1.0	197.9±28.9	674.1±85.6*
SCL	500	19.1±1.1	182.9±13.8	497.6±35.9
	1,000	18.1±0.7*	176.3±14.9	628.9±72.0*
	2,000	20.0±1.0	218.0±15.4	732.5±60.1**
	4,000	18.6±1.6	196.6±17.0	640.4±51.4*

Values are means±S.E.M. for 6 to 7 rats per group. Significantly different from the control group (*; p<0.05, **; p<0.01 in Student's t-test). Significantly different from the normal group (^{##}; p<0.01 in Student's t-test). NSCL; New Wonbang Woohwangchungsimwon Liquid, SCL; Wonbang Woohwangchungsimwon Liquid.

1,000 mg/kg 및 원방우황청심원액 1,000 mg/kg 투여에 의해 유의성있게 억제되었다. 비장의 중량은 스트레스 부과에 의해 342.4 mg/100 g b.wt.에서 178.9 mg/100 g b.wt.로 현저한 감소를 보였으나, 두 약물 모두 별영향이 없었다. 부신내 ascorbic acid 함량은 24시간 스트레스 유도에 의해 698.3 mg/100g ad.wt.에서 443.8 mg/100 g ad.wt.로 현저히 감소되었고, 이러한 감소는 신원방우황청심원액 및 원방우황청심원액 모두 1,000 mg/kg, 2,000 mg/kg, 4,000 mg/kg 투여군에서 유의성있게 억제되었다.

고 찰

뇌출혈, 뇌경색, 동맥경화증 등 뇌혈관 장애로 뇌로의 혈액공급이 불충분하면 뇌에서는 부분적인 순환장애가 일어나 갑작스러운 신경장애가 나타난다. 뇌혈관 장애의 80%는 동맥혈관의 폐쇄가 원인으로 지적되고 있다. 순수한 저산소증과는 달리 허혈성 질환은 근본적인 순환계 장애로 특히 뇌허혈은 뇌조직이 그 기능을 유지할 수 없을 정도로 뇌혈류량이 감소된 상태라고 정의된다. 뇌허혈이 초래된 후 나타나는 신경변성은 해마, 대뇌피질, 선조체 및 소뇌 등의 지역에 선택적으로 일어난다(Fagg와 Foster, 1983; Fonnum, 1984). 특히 해마의 CA1 부위 피라미드형 세포는 허혈에 매우 민감하다(Ito 등, 1975; Diemer와 Siemkowicz, 1981; Kirino, 1982; Pulsinelli 등, 1982). 이와같이 최근 허혈성 장애에 대한 병태생리학적 기전연구가 진전됨에 따라 허혈성 뇌손상의 약리학적 예방 및 치료제 개발이 활발해지고 있다. 따라서 이들의 약효를 검색하기 위해서는 무엇보다 적절한 동물모델 확립이 필수적이며 이제까지의 허혈성 뇌장애의 실험적 검토에는 흰쥐나 gerbil이 주로 이용되어져 왔다. 즉, global brain ischemia의 경우 개와 같은 대동물 또는 본 실험에 이용한 mongolian gerbil(*Meriones unguiculatus*)이 재현성 있고 유용한 동물모델로 확립되어 있으나(Lysko 등, 1992; Hofer 등, 1993), focal brain ischemia 동물모델에 대해서는 여전히 많은 논란이 있다(Agnati 등, 1991; Tamura 등, 1984). 또한, 최근에는 분자생물학적 수법이 진보됨에 따라 유전자 변이 마우스가 뇌허혈 병태 해명에 응용되나 이 역시 아직도 선택적 뇌신경세포피사가 불분명하여 이에 대한 연구가 더 진행되어야 한다(寺島豊秋 등 1995). 따라서 본 연구에서는 gerbil의 총경동맥 결찰에 의한 뇌허혈을 유발하는 방법을 이용하였다. 총경동맥을 20분간 결찰하여 허혈을 유발한 후 재관류하여 24시간 뒤에 조직병리검사를 실시한 결과 뇌신경세포피사, 부종 및 출혈이 일어났으며, 신원방우황청심원액과 원방우황청심원액 투여에 의해 이러한 뇌신경세포손상이 억제되는 것으로 보아, 허혈에 의한 신경세포손상을 억제할 수 있음을 확인하였다.

뇌허혈에 의한 세포손상 기전은 아직 알려져 있지 않으나, Mies 등(1990)은 허혈성 뇌에서 에너지대사 관련물질(ATP와 그의 대사체)을 측정하여 glucose 이용률의 저하를 보고하였다. 또한 과혈당(hyperglycemia)은 일시적인 뇌허혈에 의해 야기되는 뇌손상을 증가시킨다(Kalimo 등, 1981). 이와 같은 현상에 대해 정확한 작용기전은 알 수 없으나, 뇌허혈중 과혈당이 뇌내 젖산증가(Combs 등, 1990)와 산증이 가속화되므로(Smith 등, 1986) 많은 연구자들은 이 두가지 현상이 뇌허혈 손상의 잠재적인 매개체라 여기고 있다. 실제로 Combs 등(1986)의 연구에 따르면 해당작용(glycolysis)을 차단하면 과혈당으로 인한 뇌허혈 사망률을 줄일 수 있다고 한다. 본 연구에서는 허혈에 의한 에너지대사장애에 대한 신원방우황청심원액 및 원방우황청심원액의 효과를 살펴보기 위하여 ATP 및 lactate 함량을 측정하였다. 허혈 및 재관류 후 뇌조직내의 ATP 함량은 유의성있게 감소되었으며, lactate 함량은 유의성있게 증가하여 허혈에 의한 에너지대사 장애를 확인할 수 있었다. 신원방우황청심원액은 ATP 함량을 유의성있게 증가시켰으나, lactate 함량에는 별다른 영향을 주지 않았으며, 원방우황청심원액 또한 ATP 함량을 유의성있게 증가시켰으나, lactate 함량에는 별다른 영향을 주지 않았다. 이러한 결과는 허혈에 의한 에너지대사 장애를 어느 정도 개선시킨다는 것을 시사하고 있다.

한편, 뇌허혈이 지속되는 시간이 길고 그 정도가 심하다면 뇌허혈만으로도 뇌손상을 초래할 수 있다. 그러나, 대부분의 뇌허혈은 일시적이며 뇌허혈 당시보다는 재관류시에 산소가 조직으로 다시 공급될 때 조직손상이 일어난다(Hall 등, 1988). 뇌허혈 기간동안 purine계 염기 대사가 촉진되어 hypoxanthine이 축적되고, xanthine dehydrogenase가 xanthine oxidase로 전환된다. 이때 산소가 재공급 되면 xanthine oxidase에 의해 superoxide anion(O_2^-)으로 변화된다. O_2^- 는 그 자체로는 반응성이 낮아 큰 문제를 야기하지는 않지만 Fe^{2+} 의 존재하에서 독성이 매우 강한 hydroxyl radical로 전환되어 여러 효소의 기능을 변화시키거나, 지질과산화(lipid peroxidation)를 일으켜 막의 유동성과 막을 통한 이온의 농도차(ionic gradient)를 변동시켜 세포손상을 일으킨다(Snelling 등, 1987). 본 연구에서 허혈 및 재관류 후 생성된 활성산소에 의한 세포손상을 알아보기 위하여 지질과산화의 지표인 MDA 함량을 측정하였다. MDA는 허혈 및 재관류 후 유의성있게 증가하였으나, 신원방우황청심원액 및 원방우황청심원액 투여에 의해 유의성있게 억제되었다. 이것은 허혈 및 재관류 후 생성된 활성산소의 유해작용 또는 직접적인 제거작용이 있음을 시사하는 것이다.

현재 우황청심원은 줄종풍 등의 구급약으로 사용되고 있으며(허, 1987), 호흡곤란, 급·만성경풍, 신경성질환인 정신불안, 자율신경불안증 및 스트레스에서 유발되는 각종

질환 등에 사용되고 있어 중추신경계에 미치는 영향이 클 것으로 사료된다. 따라서 본 연구에서는 신원방우황청심원액과 원방우황청심원액이 중추신경계, 호흡 및 스트레스에 미치는 영향을 비교 검토하고자 하였다.

중추신경계에 미치는 영향으로는 신원방우황청심원액 및 원방우황청심원액 모두 hexobarbital 유발 수면시간에 영향을 주지 않았다. Rotarod 시험에서 신원방우황청심원액 500 mg/kg, 1,000 mg/kg, 2,000 mg/kg 및 원방우황청심원액 1,000 mg/kg, 2,000 mg/kg 투여군에서 정상군에 비해 유의성있는 억제작용이 관찰되었으며, 자발운동능시험에서 신원방우황청심원액 500 mg/kg, 2,000 mg/kg, 4,000 mg/kg 투여군에서 정상군에 비해 유의성있는 자발운동능 감소작용이 있었으며, 원방우황청심원액 500 mg/kg, 1,000 mg/kg, 2,000 mg/kg 투여군에서 정상군에 비해 유의성있는 자발운동능 감소작용이 있었다. 이 결과에서 두 제제 모두 중추신경계에 대한 진정작용이 있음을 확인할 수 있었다. 경련에 대해서도 신원방우황청심원액 및 원방우황청심원액 투여군에서 전기자극경련에 의한 경련지속시간을 단축시켰으며, strychnine 투여에 의한 경련도달시간 및 사망시간을 연장시키는 작용이 있었으나, 원방우황청심원액의 작용이 보다 강하였다. Pentetazol 유발경련에 대해서는 두 제제 모두 별다른 작용이 없었다. 이러한 결과를 통하여 신원방우황청심원액은 중추신경계에 대한 약한 진정작용과 항경련작용이 있음을 알 수 있었으며, 항경련작용은 원방우황청심원액 보다 약간 약한 것을 알 수 있었다. KCN 유발 혼수에는 두 제제 모두 유의성있는 작용을 나타내지는 않았다.

구속스트레스가 흰쥐에 부과되었을 때 부신의 비대 및 부신의 ascorbic acid의 함량 감소, 비장의 위축 등을 평가 지표로 하여 신원방우황청심원액 및 원방우황청심원액의 항스트레스 효과를 살펴본 결과, 두 제제 모두 부신 비대를 약간 감소시키는 작용이 있었으나, 비장 위축에는 별다른 영향이 없었으며, 부신내 ascorbic acid 함량 감소를 유의성있게 억제하였다. 원방우황청심원액은 부신비대 및 비장 위축에는 별영향이 없었으나, 부신내 ascorbic acid 함량을 증가시키는 작용이 있었다.

이상의 실험결과를 종합하면 신원방우황청심원액은 뇌허혈 개선작용, 중추신경계에 대해 약한 진정작용과 항경련작용 및 약한 항스트레스작용 등의 효과가 있음을 확인하였으며, 그 작용은 원방우황청심원액의 작용과 대체적으로 비슷하였다.

감사의 말씀

이 실험은 1996년도 조선무약(자)의 연구비 지원에 의하여 수행되었으며, 본 실험을 수행하는데 도와주신 성균관대

학교 약학대학원 이유범, 윤기옥, 이해리씨께 감사드립니다.

참고문헌

- Agnati, L. F., Zoli, M., Kurosawa, M., Benfenati, F., Biagini, G., Zini, I., Hallstrom, A., Ungerstedt, U., Toffano, G. and Fuxe, K. (1991). A new model of focal brain ischemia based on the intracerebral injection of endothelin-1. *Ital. J. Neurol. Sci., Suppl.* 2, 49.
- Araki, Y. and Ueki, S. (1972). Changes in sensitivity to convulsion in mice with olfactory bulb ablation. *Jap. J. Pharmacol.* 22, 447.
- Bederson, J. B., Pitts, L. H., Germano, S. M., Nishimura, M. C., Davis, R. L. and Bartkowski, H. M. (1986). Evaluation of 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride as a stain for detection and quantification of experimental cerebral infarction in rats. *Stroke* 17, 1304.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method of the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248.
- Combs, D. J., Dempsey, R. J., Maley, M., Donaldson, D. and Smith, C. (1990). Relationship between plasma glucose, brain lactate, and intracellular pH during cerebral ischemia in gerbils. *Stroke* 21, 936.
- Combs, D. J., Reuland, D. S., Martin, D. B., Zelenock, G. B. and D'Alecy, L. G. (1986). Glycolytic inhibition by 2-deoxyglucose reduces hyperglycemia-associated mortality and morbidity in the ischemic rat. *Stroke* 17, 989.
- Diemer, N. H. and Siemkiewicz, E. (1981). Regional neuron damage after cerebral ischemia in normo- and hypoglycemic rats. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 7, 217.
- Dunham, N. W., Miya, T. S. and Edwards, C. D. (1957). Pharmacological activity of a series of basic esters mono- and dialkyl malonic acid. *J. Am. Pharm. Assoc.* 46, 208.
- Fagg, G. E. and Foster, A. C. (1983). Amino acid transmitters and their pathways in the mammalian central nervous system. *Neuroscience* 9, 701.
- Fonnum, F. (1984). A neurotransmitter in mammalian brain. *J. Neurochem.* 42, 1.
- Goto, K., Suekawa, M., Aburada, M. and Hosoya, E. (1987). Pharmacological study of TJ-8007 (Tsumura-Zokumeito) (I): Protective effects of TJ-8007 against anoxic brain damage. *Folia Pharmacol. Japan* 89, 355.
- Gutmann, I. and Wahlefeld, A. W. (1974). Determination with lactate dehydrogenase and NAD in *Methods of Enzymatic Analysis*. Verlag Chemie Academic Press.
- Hall, E. D., Pazara, K. E. and Braughler, J. M. (1988). 21-Aminosteroid lipid peroxidation inhibitor U74006F protects against cerebral ischemia in gerbils. *Stroke* 19, 997.
- Hofer, R. E., Christopherson, T. J., Scheithauer, B. W., Milde, T. H. and Lanier, W. L. (1993). The effect of a platelet activating factor antagonist(BN52021) on neurologic outcome and histopathology in a canine model of complete cerebral ischemia. *Anesthesiol.* 79, 347.
- Ito, U., Spatz, M., Walker, J. T. Jr. and Klatzo, I. (1975). Experimental ischemia in mongolian gerbils I. light micro-

- scopic observations. *Acta Neuropathol. (Berl)* **32**, 209.
- Kalimo, H., Rehncrona, S., Soderfeldt, B., Olsson, Y. and Siesjo, B. K. (1981). Brain lactic acidosis and ischemic cell damage: 2. Histopathology. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **1**, 313.
- Kirino, T. (1982). Delayed neuronal death in gerbil hippocampus following ischemia. *Brain Res.* **239**, 57.
- Lysko, P. G., Lysko, K. A., Yue, T., Webb, C. L., Gu, J. and Feurstein, G. (1992). Neuroprotective effects of carvedilol, a new antihypertensive agent, in cultured rat cerebellar neurons and in gerbil global brain ischemia. *Stroke* **23**, 1630.
- Masugi, F. and Nagamura, T. (1976). Effect of vitamin E deficiency on the level of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase and lipid peroxide in rat liver. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **46**, 187.
- Mies, G., Paschen, W. and Hossmann, K. A. (1990). Cerebral blood flow, glucose utilization, regional glucose, and ATP content during the maturation period of delayed ischemic injury in gerbil brain. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **10**, 638.
- Mishra, R. K., Arora, R. B. and Seth, S. D. S. (1962). Anti-inflammatory effect of musk. *J. Pharm. Pharmacol.* **14**, 830.
- Mukhopadhyay, A., Seth, S. D. S. and Bagchi, N. (1973). Cardiac and CNS actions of musk. *Ind. J. Pharm.* **35**, 169.
- Nahorski, S. R. (1975). Behavioural supersensitivity to apomorphine following cerebral dopaminergic denervation by 6-hydroxydopamine. *Psychopharmacologia* **42**, 159.
- Pulsinelli, W. A., Briery, J. B. and Plum, F. (1982). Moderate hypoglycemia augments ischemic brain damage; a neuropathologic study in the rat. *Neurology* **32**, 1239.
- Sano, T. (1937). Über die maennlich sexualhormonartige substanz des Moschus. *J. Pharm. Soc. Japan* **57**, 851.
- Sano, T. (1936). Über die maennlich sexualhormonartige Wirkung des Moschus. *J. Pharm. Soc. Japan* **56**, 913.
- Smith, M. L., Von Hanwehr, R. and Siesjo, B. K. (1986). Changes in extra- and intracellular pH in the brain during and following ischemia in hyperglycemic and in moderately hypoglycemic rats. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **6**, 574.
- Snelling, L. K., Ackerman, A. D., Dean, J. M., North, M. C. and Traystman, R. J. (1987). The effects of superoxide dismutase on neurological recovery (Cerebral blood flow and evoked potentials) following global cerebral ischemia (abstract). *Anesthesiology* **67**, A 153.
- Sokoloff, L., Reivich, M., Kennedy, C., Des Rosiers, M. H. and Shinohara, M. (1977). The [¹⁴C] deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization; theory, procedure, and normal values in the conscious and anesthetized albino rat. *J. Neurochem.* **28**, 299.
- Swinyard, E. A., Brow, W. C. and Goodman, L. S. (1952). Comparative assays of antiepileptic drugs in mice and rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **106**, 319.
- Tamura, A., Graham, D. I., McCulloch, J. and Teasdl, G. M. (1984). Focal cerebral ischemia in the rat; description of technique early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **1**, 53.
- Taneja, V., Siddiqui, H. H. and Arora, R. B. (1973). Studies on the anti-inflammatory activity of *Moschus moschiferus* (Musk) and its possible mode of action. *Ind. J. Physiol. Pharmac.* **17**, 241.
- Tokunaga, S., Kimura, M. and Kimura, I. (1987). Comparison of both sedative effects on mice and cardiotoxic effects on guinea-pig papillary muscles by musk water extract and by sheep testis MeOH extract. *J. Med. Pharm. Soc. Wakan-Yaku* **4**, 276.
- Woodbury, L. A. and Davenport, V. D. (1952). Design and use of a new electroshock seizure apparatus, and analysis of factors altering seizure threshold and pattern. *Arch. Int. Pharmacodyn.* **92**, 97.
- Zannoni, V., Lynch, M., Goldstein, S. and Sato, P. (1974). A rapid micromethod for the determination of ascorbic acid in plasma and tissues. *Biochem. Med.* **11**, 41.
- 김재길. (1984). 원색천연약물대사전, 남산당, 2, p. 345.
- 寺島豊秋, 上村喜彦, 名村尚彦, 菊池晴彦. (1995). C57BL/6マウスにおける一過性前脳虚血モデル. 脳循環代謝 **7**, 157.
- 이 천. (1981). 의학입문, 대성문화사, p. 215.
- 조태순, 이선미, 김낙두, 허인회, 안형수, 권광일, 박석기, 심상호, 신대회, 박대규. (1997a). 신우황청심원액의 심혈관계에 관한 약효연구. 응용약물학회지 **5**, 390.
- 조태순, 이선미, 김낙두, 허인회, 안형수, 권광일, 박석기, 심상호, 신대회, 박대규. (1997b). 신우황청심원의 심혈관계에 관한 약효. 약학회지 **41**, 802.
- 조태순, 이선미, 이은방, 조성익, 김용기, 신대회, 박대규. (1997c). l-Muscione의 뇌허혈 및 중추신경계에 관한 약효연구. 응용약물학회지 **5**, 306.
- 조태순, 이선미, 이은방, 조성익, 김용기, 신대회, 박대규. (1997d). 신우황청심원액의 뇌허혈 및 중추신경계에 관한 약효연구. 응용약물학회지 **5**, 402.
- 조태순, 이선미, 이은방, 조성익, 김용기, 신대회, 박대규. (1997e). 신우황청심원의 뇌허혈 및 중추신경계에 대한 약효. 약학회지 **41**, 817.
- 진사분. (1975). 태평혜민화제국방, 선풍출판사, p. 81.
- 허 준. (1987). 원본동의보감(신증판), 남산당, p. 692.
- 황도연. (1977). 방약합편, 행림출판사, p. 102.