

麝香·牛黃·三七根 複合方이 高脂血症 및 腦損傷에 미치는 影響

朴重陽·金炳卓*

ABSTRACT

The Effects of SWS(Sahyang · Woohwang · Samchilkeun) on Hyperlipidemia and Brain Damage

Park Jung-yang, Kim Byeong-tak

For the evaluation of the effect on SWS, experiments were made on hyperlipidemia induced by hypercholesterol diet, inhibitory reaction to human platelet aggregation, pulmonary thrombosis induced by collagen and epinephrine, global cerebral ischemia induced by KCN, brain ischemia induced by MCA occlusion, cytotoxicity of PC12 cells induced by amyloid β protein(25-35), and NO production in RAW cells stimulated by lipopolysaccharide.

The results were obtained as follows :

1. In the experiment on hyperlipidemia, the level of serum total cholesterol, phospholipid, and LDL-cholesterol were significantly decreased while the level of triglyceride, VLDL-cholesterol, and HDL-cholesterol had no significant change.

2. In the experiment on inhibitory reaction to platelet aggregation, SWS inhibited platelet aggregation induced by ADP(36.05%), by collagen (20.4%), and by thrombin(0.6%).

3. In the experiment on pulmonary thrombosis induced by collagen and epinephrine, the protective effect was found(37%).

4. In the experiment on global cerebral ischemia, coma duration induced by KCN changed insignificantly.

5. In the experiment on MCA occlusion, the change of neurologic grades on hind limb was significant only after the operation. Besides brain ischemic area and edema ratio were significantly decreased.

6. In the experiment on cytotoxicity of PC 12 cells induced by amyloid β protein, the significant protective effect was found as concentration increases.

7. In the experiment on NO production in RAW cells stimulated by lipopolysaccharide, NO was significantly decreased.

According to the results, it is expected that SWS might be effective on hyperlipidemia and brain damage

* 大田大學校 韓醫科大學 肺系內科學教室

I. 緒 論

最近 우리나라에서는 食生活의 變化와 老齡人口의 增加에 따라 高血壓, 腦卒中 등의 發病率이 增加하고 있어 深刻한 社會問題가 되고 있는데^{1,2,3)}, 高脂血症은 高血壓, 吸煙, 遺傳因子 등과 함께 腦卒中을 誘發하는 要因이라는 점에서 重要하게 認識되고 있다⁴⁻⁷⁾.

高脂血症이란 血清脂質이 正常보다 增加된 것을 말하는 것으로⁸⁻¹⁰⁾, 血清脂質의 主要成分은 cholesterol, phospholipid, triglyceride, free fatty acid 등으로 이루어져 있으며⁸⁻¹¹⁾, 冠狀動脈이나 腦血管 등에 動脈硬化의 進行을 促進시켜 狹心症, 心筋梗塞 및 腦卒中을 誘發하는 主要原因이 된다⁸⁻¹¹⁾.

血栓은 心血管系에서 活動中인 血液이 凝固塊를 形成한 것으로 心臟 등에서는 狹心症, 心血栓 및 動脈硬化를 發生시키며, 腦에서는 腦血栓 등의 腦血管疾患을 誘發하는 것으로 알려져 있다^{6,12-14)}.

腦血管疾患은 腦血管의 循環障導로 腦의 神經學的 損傷이 惹起되어 감각스런 意識障導와 運動, 感覺, 反射機能의 障導를 일으키는 것^{6,12,15-17)}으로 韓醫學에서는 中風의 範疇에 屬하며^{3,12,16,17)}, 그 原因은 風^{18,19)}, 火²⁰⁾, 氣虛²¹⁾, 濕痰²²⁾, 瘀血^{23,24)} 등으로 要約되는데, 中風初期에는 化痰開竅, 回陽固脫法이, 恢復期에는 平肝化痰, 益氣活血, 清肝瀉火, 滋陰潛陽, 息風開竅, 開竅醒神法 등이 活用되고 있다^{3,4,15,25)}.

牛黃과 麝香은 代表的인 開竅藥物로 中風昏倒, 人事不省 등에 救急蘇生の 目的으로 活用하고 있으며²⁶⁻²⁸⁾, 三七根은 活血祛瘀止痛 및 止血作用이 있어^{26,28-30)} 腦出血初期의 意識障導, 言語障導에도 應用하고 있다²⁶⁾. 또한 牛黃과 麝香의 混合投與는 腦損傷의 昏睡, 呼吸, 生存時間에 有效하다³¹⁾는 점에서 이들 藥物에 活血祛瘀의 作用을 가지고 있는 三七根을 加한 處方은 中風治療에 活用價値가 있을 것으로 思料된다.

最近 中風에 關聯된 韓醫學의 研究로 裴 등³²⁻³⁸⁾은 高血壓 및 高脂血症에 대하여, 安 등³⁹⁻⁴²⁾은 血

栓에 관하여, 李 등⁴³⁻⁴⁹⁾은 腦損傷에 대하여 實驗的으로 有效함을 報告한 바 있으나 麝香·牛黃·三七根 複合方이 高脂血症 및 腦損傷에 미치는 影響에 對한 報告는 아직 接하지 못하였다.

이에 著者는 高cholesterol食餌로 誘發한 家兔의 高脂血症 모델에서 血清脂質을 測定하여 抗脂血效果를, *in vitro*에서 血小板凝集 抑制效果와 *in vivo*에서 肺塞栓 誘發 白鼠의 抗血栓作用을, KCN을 利用한 白鼠의 全腦虛血 모델에서 昏睡時間의 短縮效果를, 中大腦動脈의 血流을 遮斷한 白鼠의 局所 腦虛血 모델에서 神經學的 缺損程度, 局所의 虛血面積 및 浮腫率을 測定하여 腦循環代謝의 改善效果를 살펴보고, amyloid β protein으로 誘導된 細胞毒性 保護效果와 lipopolysaccharide로 誘發한 RAW 細胞의 NO production에 대한 抑制效果를 觀察하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實 驗

1. 材料 및 動物

1) 材料

本 實驗에 使用한 麝香, 牛黃, 三七根은 大田大學校 附屬韓方病院에서 購入하여 精選한 것을 使用하였으며, 複合方 4g을 基本으로 한 用量比는 다음과 같다.

The Composition of Sahyang, Woohwang, Samchilkeun(SWS)

韓藥名	生藥名	用量比
麝香	Moschus	2
牛黃	Bobis Calculus	3
三七根	Pseudoginseng Radix	4
Total amount		4g

2) 動物

本 實驗은 韓國化學研究所(대전, 한국)에서 供給 받은 體重 180~220g의 Sprague-Dawley系 雌性 白鼠를 局所腦虛血 誘發 實驗에, 20~25g의 ICR (International Cancer Research)系 생쥐를 KCN 誘發 全腦虛血과 肺塞栓 實驗에 使用하였으며, 大

韓實驗動物센터에서 體重 1.5~1.8Kg의 Neuzeland white系 家兔를 購入하여 高脂血症 誘發實驗에 使用하였다. 實驗 當日까지 飼料는 固形飼料(抗生劑 無添加, 三養飼料(株))와 물을 充分히 供給하였고 溫度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 相對濕度 $50 \pm 10\%$, 照明時間 12時間(07:00~19:00), 照度 150~300 Lux로 設定하여 2週日間 實驗室 環境에 適應시켜 體重變化가 一定하고 健康한 動物만을 選別하여 實驗에 使用하였다.

3) 檢液의 調製

麝香 : 牛黃 : 三七根 = 2 : 3 : 4의 比率로 섞어 1貼 分量 4g을 乳鉢에 넣고 乳棒을 使用하여 곱게 研磨한 다음 實驗에 必要한 濃度로 生理食鹽水에 稀釋하여 使用하였다.

4) 試藥 및 機器

實驗에 使用한 試藥은 cholesterol(Sigma Co., U.S.A.), KCN (potassium cyanide, Sigma Co., U.S.A.), RPMI 1640(Hyclone Inc., U.S.A.), 10% fetal bovine serum (FBS, Sigma Co., U.S.A.), dulbecco's phosphate buffered saline (DPBS-A, Sigma Co., U.S.A.), 5% horse serum(Gibco-BRL, U.S.A.), antibiotics(Sigma Co., U.S.A.), amyloid β protein(25-35, Pepton, 한국), trypsin-EDTA (Gibco-BRL, U.S.A.), sulforhodamine-B(SRB, Sigma Co., U.S.A.), penicillin- streptomycin (Sigma Co., U.S.A.), normal saline(중외제약, 한국), 0.1% N-ethylene diamine dihydrochloride (Sigma Co., U.S.A.), 1% sulfanilamide(Sigma Co., U.S.A.), phosphoric acid(Sigma Co., U.S.A.) 등을 使用하였다.

機器는 express 550(Ciba-corning Co., U.S.A.), serum separator(녹십자, 한국), mino-ST(Cobas Co., France), CO₂ incubator(VS-9108 MS, vision scientific Co., Korea), clean bench (KMC-14001, vision scientific Co., Korea), centrifuge(Beckman Co., U.S.A.), inverted microscope(Nikon Co., Japan), bright microscope(UFX-DX, Nikon Co., Japan), elisa-reader (Emax, U.S.A.), rotary vacuum evaporator (Büchi 461, Swiss), deep

freezer(Sanyo Co., Japan), freeze dryer (Eyela Co., Japan), autoclave (Hirayama, Japan), micropipet (Gilson, U.S.A.), autostill WG25 (Yamata, Japan), titer plate shaker(Labline Ins., U.S.A.), culture flask(Falcon 3024, U.S.A.), multiwell plate (96-well, Falcon, U.S.A.), conical tube(Falcon, U.S.A.), disposable pipet(5ml, 10ml, 25ml, Falcon, U.S.A.), syringe filter (0.25 μm , Falcon, U.S.A.) 등을 使用하였다.

2. 方法

1) 高cholesterol食餌에 의한 高脂血症 誘發 實驗

(1) 高脂血症 誘發 方法

高脂血症 모델은 Naito 등의 方法⁵⁰⁾을 修正하여 만들었다. 즉 3% cholesterol을 包含한 高脂肪性 飼料를 實驗動物에게 2週日間 自由롭게 攝取하도록 하였다.

實驗動物은 2週日間 食餌한 후 耳靜脈에서 採血하여 3000rpm에서 15分間 遠心分離하였으며 total cholesterol을 測定하여 300mg/dl 以上の 家兔만 實驗에 使用하였다.

(2) 投與方法 및 投與量

正常群은 高脂肪性 飼料가 包含되지 않은 一般 飼料로 飼育되었으며, 檢液 대신 生理食鹽水를 經口投與하였고, 對照群은 高脂肪性 飼料(2% cholesterol)로 飼育되었으며 檢液 대신 同量의 生理食鹽水를 經口投與 하였으며, 實驗群은 檢液 0.24g/1.5kg/day을 生理食鹽水 3ml에 溶解시켜 1日 1回 14日間 經口投與하였다.

(3) 採血 및 血清分離方法

採血은 最終 檢液 投與 후 家兔를 ether로 麻酔하고 心臟穿刺를 實施하여 6~8ml의 血液을 1回用 注射器 23gauge(Samwoo Co., 한국)로 取하였다. 採血한 血液을 3000rpm에서 15分間 遠心分離하여 血清을 分離하였다.

(4) 血清成分의 測定

血清中 total cholesterol, triglyceride, phospholipid, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, VLDL-cholesterol의 測定은 自動生化學分析機

(Express 550, Ciba-corning Co., U.S.A.)를 사용하여測定하였으며, 計算式⁵¹⁾은 다음과 같다.

LDL-cholesterol=

total cholesterol-(HDL-cholesterol+triglyceride/5)

VLDL-cholesterol=

total cholesterol-(HDL-cholesterol+LDL-cholesterol)

2) 血小板凝集抑制 및 血栓에 對한 實驗

(1) 血小板凝集抑制에 對한 實驗(*in vitro*)

血小板凝集抑制能은 platelet aggregometer를 利用한 Born 등의 濁度測定法⁵²⁾으로 測定하였다. 血小板濃縮液(Rh' O type)은 大田赤十字血液院에서 供給받아 使用하였다. 血小板濃縮液을 冷蔵遠心分離器(Beckmann Co., U.S.A.)에서 1000rpm, 10分間 遠心分離하여 赤血球를 沈降시키고 上層液을 취해 自動血球計算機, Minos-ST(Cobas Co., France)를 利用하여 3×10^8 cells/ml 血小板數를 맞추어 PRP(platelet rich plasma)로 使用하였고, 上層液의 一部를 다시 2500rpm, 20分間 遠心分離하여 上層液을 PPP(platelet poor plasma)로 使用하였다.

血小板凝集效果는 Whole Blood Lumi-Aggregometer(Chrono-Log Co., U.S.A)를 사용하여 platelet aggregation을 測定하였다. cuvette에 PRP 400 μ l, agonist(thrombin 0.4U/ml) 50 μ l, sample 50 μ l를 조심스럽게 넣고 1mg/ml의 高濃度에서 始作하여 낮은 濃度로 抗血栓作用을 評價하였다.

(2) 肺塞栓에 對한 實驗(*in vivo*)

實驗的 血栓의 誘導는 Kimura 등의 方法⁵³⁾에 準하여 實施하였다. 實驗動物은 몸무게 20g-23g 정도의 雄性 ICR mouse를 使用했고, 血栓의 誘發은 血小板凝集試藥(11.3 μ g의 collagen과 1.32 μ g의 epinephrine)이 Hank's balanced salt solution(HBSS) 200 μ l에 含有되도록 調製하고 mouse 體重 20g당 200 μ l의 用量으로 꼬리정맥에 注射했다. 抗血栓效果를 알아보기 위하여 實驗動物을 24時間 絶食시킨 후 血小板凝集試藥의 靜脈注射 2時間 전에 3.2mg/20g의 藥物을 ICR mouse에 經口投與하였으며, 陽性 對照群으로는 aspirin

2mg/20g을 經口投與하였다. 抗血栓效果는 血小板凝集試藥의 投與로 因하여 發生하는 mouse 뒷다리의 痲痺나 죽음으로 부터 保護된 實驗動物의 숫자의 百分率로 計算하며, 여기서 痲痺는 15分以上 뒷다리의 機能을 喪失하거나 떨림상태가 持續될 때를 基準으로 하였다.

3) 腦損傷 誘發 實驗

(1) 全腦虛血 誘發 實驗

① 方法 및 測定

全腦虛血 모델은 Schubert 등의 方法⁵⁴⁾에 準하여 만들었다. KCN 誘發 昏睡時間 測定方法은 經口投與 30分 후에 非致死量인 1.4mg/kg KCN을 尾靜脈注射하고 正向反射를 消失한 후부터 正向反射를 回復할때 까지의 時間을 測定하였다.

② 投與方法 및 投與量

對照群에는 檢液을 녹일 때 使用한 同量의 生理食鹽水를 經口投與 하였고, 實驗群에서는 檢液 3.2mg/20g/day을 生理食鹽水 3ml에 溶解시켜 oral zonde(대중기기, 한국)를 利用하여 1회 經口投與하였다.

(2) 局所 腦虛血 誘發 實驗(MCA occlusion)

① 實驗群 設定 및 檢液投與

흰쥐 4마리를 1群으로 하여 對照群(control)과 實驗群으로 區分하였다. 中大腦動脈 閉鎖 2시간 전에 흰쥐의 體重을 測定하고 麝香, 牛黃, 三七根을 2:3:4의 比率로 總量 400mg/250g/day을 經口投與하고 神經學的 檢査를 하였다. 局所 腦虛血 誘發 24時間 후 sacrifice하고 腦切片 8개를 만들어 浮腫率과 虛血面積을 計算하였다.

② Probe 製作

나일론 縫合絲(4-0, Deknatel Inc., Japan)를 適當한 길이로 잘라 熱을 가해 한 쪽 끝에 매듭을 만들었다. 總 길이를 18mm로 만든 후 硬化劑를 섞은 실리콘을 약 0.3mm 두께로 매듭 반대편에 얇게 5mm 덧씌워 probe를 만들었다.

③ 局所 腦虛血 誘發

흰쥐를 手術臺에 固定시키고 enflurane으로 Royal Multi-Plus(Royal Medical Co., Korea)를 使用하여 窒素와 酸素의 比率를 7:3으로 調整하여 吸入痲醉하였다. Nagasawa 등의 方法¹²⁵⁾에

따라 목 中央을 切開하고 迷走神經에 損傷을 주지 않도록 注意하면서 오른쪽 總頸動脈, 內頸動脈 및 外頸動脈을 分離한 뒤 總頸動脈과 外頸動脈을 結紮하고 곧바로 外頸動脈과 內頸動脈의 分枝點에 매듭을 除外한 probe 全體를 挿入한 뒤 挿入部位 바로 위쪽을 結紮함으로써 同側 中大腦動脈을 閉鎖하였다. 總 手術 時間은 30分 以內로 하였으며, 直腸溫度計를 使用하여 體溫 下降을 判定하였고 赤外線을 비추면서 保溫하였으며, 中大腦動脈을 閉鎖하고 60分 동안 N₂O와 O₂를 90%와 10% 比率로 하여 低酸素狀態를 誘發하였으며 閉鎖 120分 후 probe를 0.5cm 정도 당겨 再灌流을 行하였다.

④ 神經學的 檢査

中大腦動脈 閉鎖 후, 低酸素症 誘發 후, 再灌流 시킨 후 神經學的 檢査를 行하여 中大腦動脈 閉鎖에 따른 神經學的 缺損程度를 測定하였다. 神經學的 缺損정도는 Bederson 등의 方法⁵⁰⁾에 의하여 그 程度를 4等級으로 나누어 點數化 하였다 (Table 1).

Table 1. The Neurologic Examination Grading System

Fore-limb	0	No deficit
	1	Forelimb flexion when suspended by the tail
	2	Reduced forepaw resistance to lateral push
Hind-limb	3	Circulating behaviour during suspension (body twisting?)
	0	Immediate placement of the behind back on to the table (normal)
	1	No limb placement / movement

⑤ 虛血面積 및 浮腫測定

手術 24時間 후에 흰쥐에서 腦를 꺼내어 brain matrix(Asi Ins. Warren MI., U.S.A.)를 利用하여 2mm두께의 coronal brain slice를 얻은 후 이 중 8 slice만을 選擇하여 2% triphenyltetrazolium chloride(TTC) 溶液을 加하고 37℃에서 50分間 培養하였다. TTC에 의해 正常 組織은 갈은 빨강색으로 染色되나, 虛血이 일어난 組織은 染色되지 않음으로써 正常 組織과의 區分이 可能하였다. 培

養 終了 후 染色된 組織을 10% formalin neutral buffer 溶液으로 固定시키고, 2-3日內에 칼라 寫眞用 필름으로 寫眞을 찍어 現像한 뒤 coronal slice에서의 虛血 面積을 測定하였다. 虛血面積 및 浮腫率은 아래의 計算式에 의해 算出하였다⁵⁰⁾.

$$\text{虛血面積(\%)} = \frac{C}{A+B} \times 100$$

$$\text{浮腫率(\%)} = \frac{A-B}{2 \times B} \times 100$$

A : 각 coronal slice에서의 虛血이 誘發된 大腦半球 面積(mm²)

B : 각 coronal slice에서의 對側 大腦半球 面積(mm²)

C : 각 coronal slice에서의 虛血 面積(mm²)

(3) Amyloid β protein으로 誘導된 PC12 細胞의 細胞毒性에 對한 保護 作用

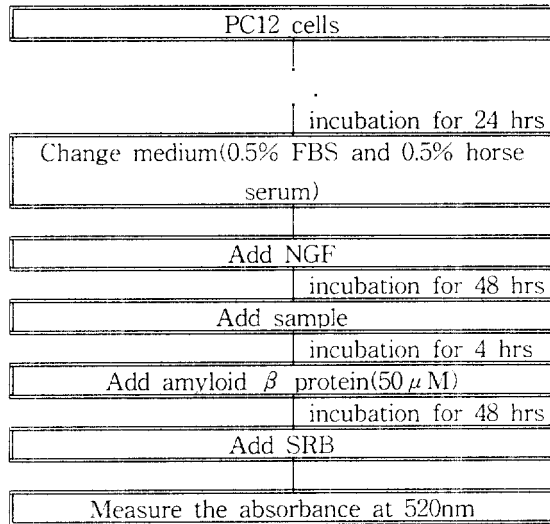
① 細胞 및 細胞培養

PC12 cell(ATCC CRL 1721)은 rat의 adrenal pheochromocytoma⁵⁷⁾에서 由來된 細胞며 최근 Alzheimer's disease의 實驗에 使用되는 細胞로서 韓國人蔘煙草研究院(대전, 한국)에서 分讓받았다. 培地로는 RPMI 1640 培地에 10% fetal bovine serum, 5% horse serum과 antibiotic 10ml(100,000 units penicillin, 100mg streptomycin, 250μg amphotericin)을 添加한 培養液으로 37℃, 5% CO₂ 狀態의 培養器에서 培養하였다.

② 細胞毒性 評價分析

PC12 cell에 대한 amyloid β protein(25-35, Peptron, 한국)의 細胞毒性은 SRB assay⁵¹⁾를 實施하였다. 즉, PC12 cell을 1回用 滅菌 注射器 (26gauge, Boin Medica Co., Korea)를 利用하여 單一細胞 狀態의 細胞 懸濁液을 만들어 96 well plate의 각 well에 100μl(2×10⁴ cells/well)씩 加한 뒤 24時間 培養 후 NGF(nerve growth factor, 50ng/ml)를 넣고 48時間 培養하였다. 檢液은 細胞毒性을 나타내지 않는 0.25mg/ml, 0.50mg/ml 및 1mg/ml 濃度로 稀釋한 뒤, 96 well plate의 각 well plate에 10μl씩 넣었다. 4時間 후에 다시 각 well plate에 50μM의 amyloid β protein을 加한 다음

48時間 培養한 후 SRB法에 의하여 細胞毒성을 觀察하였다(Scheme. 1).



Scheme. 1. The Experimental Scheme for Protective Effects of SWS on The Cytotoxicity Induced by Amyloid β Protein

(4) Lipopolysaccharide로 誘發한 RAW細胞의 NO production에 對한 抑制作用

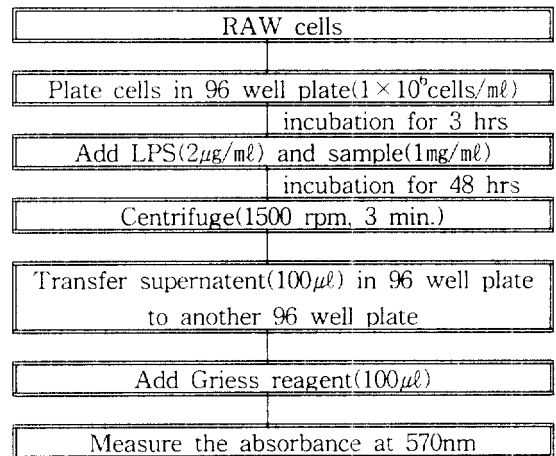
① 細胞 및 細胞培養

RAW cell(ATCC TIB 71)은 abelson leukemia virus를 생쥐에 靜脈注射하여 intraperitonium에 생긴 腫瘍細胞이며 最近 腦卒中의 實驗에 使用되는 細胞로서 ATCC(American type culture collection)에서 分讓받았다. 培地로는 DMEM 培地에 10% fetal bovine serum을 添加한 培養液으로 37℃, 5% CO₂ 狀態의 培養器에서 培養하였다.

② NO assay³⁸⁾

Macrophage를 活性化시키는 物質인 lipopolysaccharide는 Sigma Co. (U.S.A.)에서 주문 購入하였다. 細胞毒성을 보이지 않는 濃度인 0.25mg/ml, 0.50mg/ml, 1mg/ml의 麝香·牛黃·三七根 複合물로 NO assay를 實施하였다. 즉, RAW cell을 1回用 滅菌 注射器(26gauge, Boin Medica Co., 한국)를 利用하여 單一細胞 狀態의 細胞 懸濁液을 만들어 96 well plate의 각 well에 1×10⁶ cells/ml의 細胞 懸濁液 100μl씩 加한 뒤 3時間 培養하였다. 檢液은 0.25mg/ml, 0.50mg/ml, 1mg/ml 濃度로 稀釋한 뒤

에 96 well plate의 각 well plate에 20μl씩 넣었고 同時에 각 well plate에 2μg/ml의 lipopolysaccharide를 加하였으며, 48時間 培養한 후 1500rpm에서 3分동안 遠心分離하여 細胞 浮遊物만을 100μl 取한 다음 새로운 96 well plate에 옮겨 놓고 griess reagent를 100μl씩 添加하였다. 10分 후 elisa reader를 통하여 570nm에서 吸光度를 測定하였다(Scheme 2).



Scheme 2. The Experimental Scheme for Effects of SWS on NO Production in RAW Cells Stimulated by Lipopolysaccharide

4) 統計 處理

實驗 結果는 student's t-test를 使用하여 統計 處理하였으며, P<0.05 水準에서 有意性을 檢定하였다.

Ⅲ. 成 績

1. 高脂血症에 對한 效果

1) 血清 total cholesterol에 미치는 效果

高cholesterol食餌로 誘發된 高脂血症에서 total cholesterol의 含量은 正常群이 98.87±2.49mg/dl인데 比하여 對照群은 909.5±52.8mg/dl로 增加하였다. 實驗群은 對照群에 比하여 460.05±74.32mg/dl로 나타나 有意性 있는(p<0.01) 抑制效果가 나타났다(Table 2, Fig. 1).

Table 2. Effects of SWS on The Serum Total Cholesterol Levels in Rabbits with Hypercholesterolemia Induced by Cholesterol Diet

Group	No. of Animals	Cholesterol(mg/dl)
Normal	3	98.87±2.49 ^{a)}
Control	3	909.50±52.80
Sample	3	460.05±74.32 ^{**}

a) : Mean ± Standard Error

Normal : 3ml normal saline treated group

Control : Group fed with 2% cholesterol diet for 14 days and was treated with 3ml normal saline once a day for 14 days

Sample : Group fed with 2% cholesterol diet for 14 days and was treated with 0.24g/1.5kg of SWS solved in 3ml normal saline once a day for 14 days

* : Statistically significant value compared with control data

(* : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001)

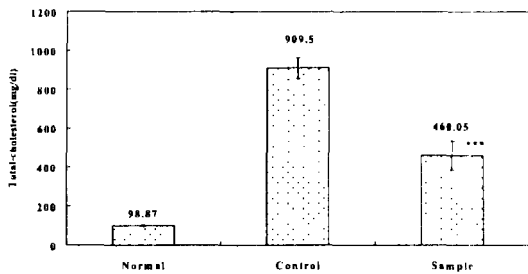


Fig. 1. Effects of SWS on the serum total cholesterol levels in rabbits with hypercholesterolemia induced by cholesterol diet

Normal : 3ml normal saline treated group

Control : Group fed with 2% cholesterol diet for 14 days and was treated with 3ml normal saline once a day for 14 days

Sample : Group fed with 2% cholesterol diet for 14 days and was treated with 0.24g/1.5kg of SWS solved in 3ml normal saline once a day for 14 days

* : Statistically significant value compared with control data

(* : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001)

2) 血清 triglyceride에 미치는 效果

Triglyceride 含量은 正常群이 167.03±11.35mg/dl인데 比하여 對照群은 203.42±9.73mg/dl로 增加하였다. 實驗群은 對照群에 比하여 189.43±17.43 mg/dl으로 減少하였으나 有意性은 없었다(Table 3, Fig. 2).

Table 3. Effects of SWS on The Serum Triglyceride Levels in Rabbits with Hypercholesterolemia Induced by Cholesterol Diet

Group	No. of Animals	Triglyceride(mg/dl)
Normal	3	167.03±11.35 ^{a)}
Control	3	203.42±9.73
Sample	3	189.43±17.43

a) : Mean ± Standard Error

Normal : 3ml normal saline treated group

Control : Group fed with 2% cholesterol diet for 14 days and was treated with 3ml normal saline once a day for 14 days

Sample : Group fed with 2% cholesterol diet for 14 days and was treated with 0.24g/1.5kg of SWS solved in 3ml normal saline once a day for 14 days

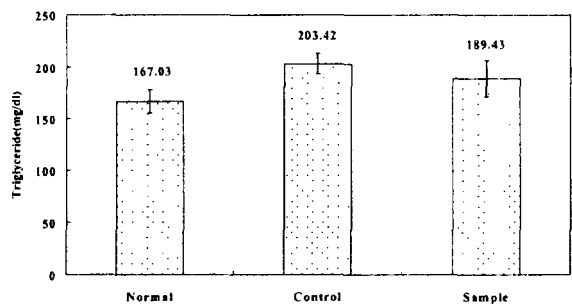


Fig. 2. Effects of SWS on the serum triglyceride levels in rabbits with hypercholesterolemia induced by cholesterol diet.

Normal : 3ml normal saline treated group

Control : Group fed with 2% cholesterol diet for 14 days and was treated with 3ml normal saline once a day for 14 days

Sample : Group fed with 2% cholesterol diet for 14 days and was treated with 0.24g/1.5kg of SWS solved in 3ml normal saline once a day for 14 days

3) 血清 phospholipid에 미치는 效果

Phospholipid 含量은 正常群이 169.33±0.88mg/dl인데 比하여 對照群은 317.84±10.37mg/dl로 增加하였다. 實驗群은 對照群에 比하여 247.00±18.54mg/dl로 나타나 有意性 있는(p<0.05) 抑制效果가 나타났다(Table 4, Fig. 3).

Table 4. Effects of SWS on The Serum Phospholipid Levels in Rabbits with Hypercholesterolemia Induced by Cholesterol Diet

Group	No. of Animals	Phospholipid(mg/dl)
Normal	3	169.33±0.88 ^{a)}
Control	3	317.84±10.37
Sample	3	247.00±18.54*

a) : Mean ± Standard Error

Normal : 3ml normal saline treated group

Control : Group fed with 2% cholesterol diet for 14 days and was treated with 3ml normal saline once a day for 14 days

Sample : Group fed with 2% cholesterol diet for 14 days and was treated with 0.24g/1.5kg of SWS solved in 3ml normal saline once a day for 14 days

* : Statistically significant value compared with control data

(* : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001)

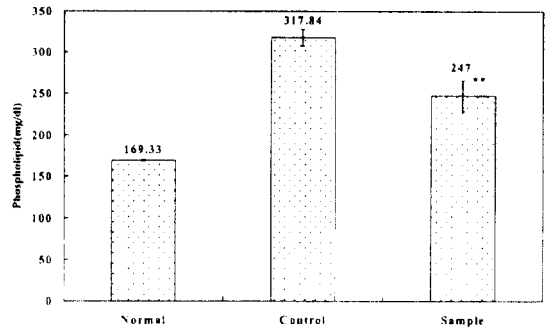


Fig. 3. Effects of SWS on the serum phospholipid levels in rabbits with hypercholesterolemia induced by cholesterol diet.

Normal : 3ml normal saline treated group

Control : Group fed with 2% cholesterol diet for 14 days and was treated with 3ml normal saline once a day for 14 days

Sample : Group fed with 2% cholesterol diet for 14 days and was treated with 0.24g/1.5kg of SWS solved in 3ml normal saline once a day for 14 days

* : Statistically significant value compared with control data

(* : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001)

4) 血清 HDL-cholesterol에 미치는 效果

HDL-cholesterol 含量은 正常群이 28.40±0.75mg/dl인데 比하여 對照群은 26.05±2.43mg/dl로 變化하였다. 實驗群은 對照群에 比하여 28.60±2.37mg/dl로 나타나 增加效果가 나타났으나 有意性은 없었다(Table 5, Fig. 4).

Table 5. Effects of SWS on The Serum HDL-Cholestsrol Levels in Rabbits with Hypercholesterolemia Induced by Cholesterol Diet

Group	No. of Animals	HDL(mg/dl)
Normal	3	28.40±0.75 ^{a)}
Control	3	26.05±2.43
Sample	3	28.60±2.37

a) : Mean ± Standard Error

Normal : 3ml normal saline treated group

Control : Group fed with 2% cholesterol diet for 14 days and was treated with 3ml normal saline once a day for 14 days

Sample : Group fed with 2% cholesterol diet for 14 days and was treated with 0.24g/1.5kg of SWS solved in 3ml normal saline once a day for 14 days

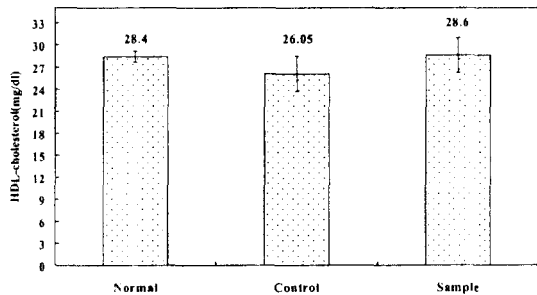


Fig. 4. Effects of SWS on the serum HDL-cholesterol levels in rabbits with hypercholesterolemia induced by cholesterol diet.

Normal : 3ml normal saline treated group

Control : Group fed with 2% cholesterol diet for 14 days and was treated with 3ml normal saline once a day for 14 days

Sample : Group fed with 2% cholesterol diet for 14 days and was treated with 0.24g/1.5kg of SWS solved in 3ml normal saline once a day for 14 days

5) 血清 LDL-cholesterol에 미치는 效果

LDL-cholesterol 含量은 正常群이 37.06 ± 4.25mg/dl인데 比하여 對照群은 842.76 ± 47.23mg/dl로 增加하였다. 實驗群은 對照群에 比하여 393.52 ± 54.96mg/dl로 나타나 有意性 있는(p < 0.01) 抑制效果가 나타났다(Table 6, Fig. 5).

Table 6. Effects of SWS on The Serum LDL-Cholesterol Levels in Rabbits with Hypercholesterolemia Induced by Cholesterol Diet

Group	No. of Animals	LDL(mg/dl)
Normal	3	37.06 ± 4.25 ^{a)}
Control	3	842.76 ± 47.23
Sample	3	393.52 ± 54.96 ^{**}

a) : Mean ± Standard Error

Normal : 3ml normal saline treated group

Control : Group fed with 2% cholesterol diet for 14 days and was treated with 3ml normal saline once a day for 14 days

Sample : Group fed with 2% cholesterol diet for 14 days and was treated with 0.24g/1.5kg of SWS solved in 3ml normal saline once a day for 14 days

* : Statistically significant value compared with control data (* : P < 0.05, ** : P < 0.01, *** : P < 0.001)

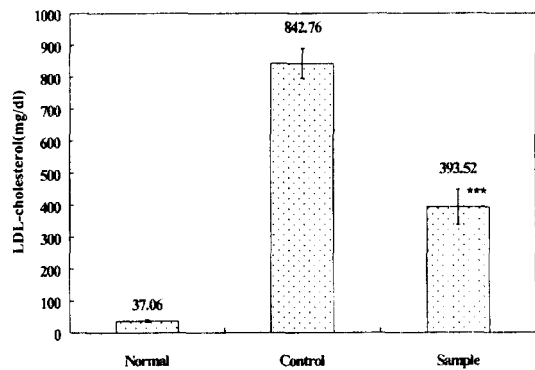


Fig. 5. Effects of SWS on the serum LDL-cholesterol levels in rabbits with hypercholesterolemia induced by cholesterol diet.

Normal : 3ml normal saline treated group

Control : Group fed with 2% cholesterol diet for 14 days and was treated with 3ml normal saline once a day for 14 days

Sample : Group fed with 2% cholesterol diet for 14 days and was treated with 0.24g/1.5kg of SWS solved in 3ml normal saline once a day for 14 days

* : Statistically significant value compared with control data

(* : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001)

6) 血清 VLDL-cholesterol에 미치는 效果

VLDL-cholesterol 含量은 正常群이 33.41±2.27 mg/dl인데 比하여 對照群은 40.69±3.28mg/dl로 增加하였다. 實驗群은 對照群에 比하여 37.93±3.74 mg/dl으로 減少하였으나 有意性은 없었다(Table 7, Fig. 6).

Table 7. Effects of SWS on The Serum VLDL-Cholesterol Levels in Rabbits with Hypercholesterolemia Induced by Cholesterol Diet

Group	No. of Animals	VLDL(mg/dl)
Normal	3	33.41 ± 2.27 ^{a)}
Control	3	40.69 ± 3.28
Sample	3	37.93 ± 3.74

a) : Mean ± Standard Error

Normal : 3ml normal saline treated group

Control : Group fed with 2% cholesterol diet for 14 days and was treated with 3ml normal saline once a day for 14 days

Sample : Group fed with 2% cholesterol diet for 14 days and was treated with 0.24g/1.5kg of SWS solved in 3ml normal saline once a day for 14 days

2. 血小板 凝集抑制 및 血栓에 對한 效果

1) 血小板凝集抑制에 對한 效果(in vitro)

ADP에 의한 血小板 凝集抑制效果에서는 36.05%, collagen에 의한 血小板 凝集反應에서는 20.4%, thrombin에 의한 血小板 凝集反應에서는 0.6%의 抑制效果를 나타냈다(Table 8, Fig. 7).

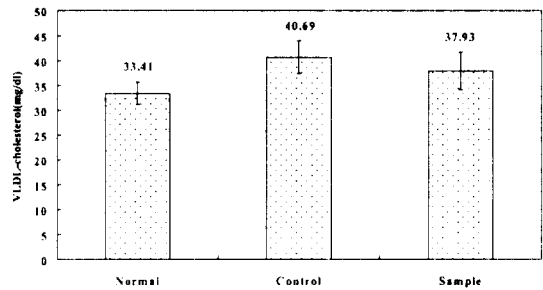


Fig. 6. Effects of SWS on the serum VLDL-cholesterol levels in rabbits with hypercholesterolemia induced by cholesterol diet.

Normal : 3ml normal saline treated group

Control : Group fed with 2% cholesterol diet for 14 days and was treated with 3ml normal saline once a day for 14 days

Sample : Group fed with 2% cholesterol diet for 14 days and was treated with 0.24g/1.5kg of SWS solved in 3ml normal saline once a day for 14 days

Table 8. Inhibitory Effects of SWS on Human Platelet Aggregation

Aggregation agent	% of Inhibition
Collagen(50µg/ml)	20.4
Thrombin(0.5U/ml)	0.6
ADP(20 µ M/ml)	36.05

Sample concentration ; collagen, ADP : 2mg/ml, thrombin : 4mg/ml

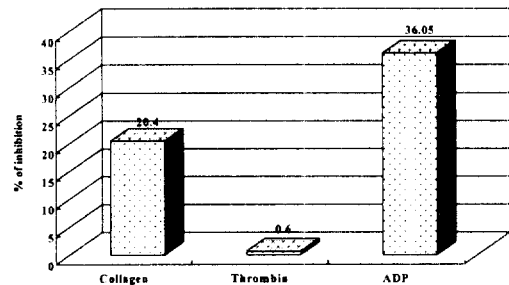


Fig. 7. Inhibitory effects of SWS on human platelet aggregation.

2) 肺塞栓에 對한 效果(*in vivo*)

對照群은 collagen과 epinephrine에 의해서 肺塞栓이 誘導되어 8마리 중 8마리가 죽거나 15分以上 麻痺가 持續이 되었는데, 陽性對照群으로 使用한 aspirin에서는 8마리 중 3마리 만이 죽거나 15分以上 麻痺가 持續이 되었고, 實驗群은 8마리 중 5마리가 죽거나 15分以上 麻痺가 지속되어 37%의 抑制效果를 나타내었다(Table 9, Fig. 8).

Table 9. Effects of SWS on Pulmonary Thrombosis in Mice

	Dose (mg/20g)	No. of killed or paralyzed / No. tested	% Protection
Control	HBSS	8/8	
Aspirin	2	3/8	62.5
Sample	3.2	5/8	37

Control : Collagen(11.3 μ g) and epinephrine(1.32 μ g) treated group

Aspirin : Aspirin(2mg/20g) treated group

Sample : SWS(3.2mg/20g) treated group

HBSS : Hank's balanced salt solution

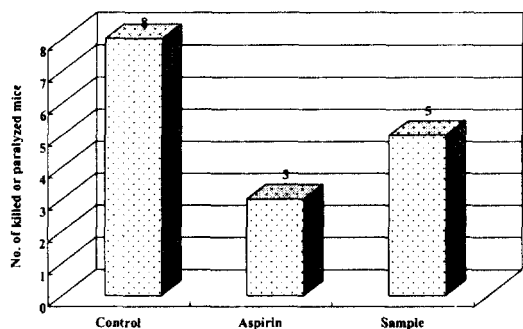


Fig. 8. Effects of SWS on pulmonary thrombosis in mice.

Control : Collagen(11.3 μ g) and epinephrine(1.32 μ g) treated group

Aspirin : Aspirin(2mg/20g) treated group

Sample : SWS(3.2mg/20g) treated group

3. 腦損傷에 對한 效果

1) 全腦虛血에 對한 效果

(1) KCN 誘發 昏睡時間에 미치는 效果

非致死量의 KCN에 의해 誘發시킨 생쥐의 昏睡時間은 對照群이 128.53 \pm 28.39sec로 나타났다. 實驗群은 對照群에 比하여 82.44 \pm 16.49sec로 나타나 昏睡時間 短縮效果(36.9%)가 認定되었으나 有意性은 없었다(Table 10, Fig. 9).

Table 10. The Duration of KCN-Induced Coma after Oral Administration of SWS in ICR Mice

Group	No. of Animals	Duration of coma(sec)
Control	10	128.53 \pm 28.39 ^{a)}
Sample	10	82.44 \pm 16.49

a) : Mean \pm Standard Error

Control : 1.4mg/kg KCN i.v. injected group after oral administration of normal saline

Sample : 1.4mg/kg KCN i.v. injected group after oral administration of 3.2 mg/20g of SWS

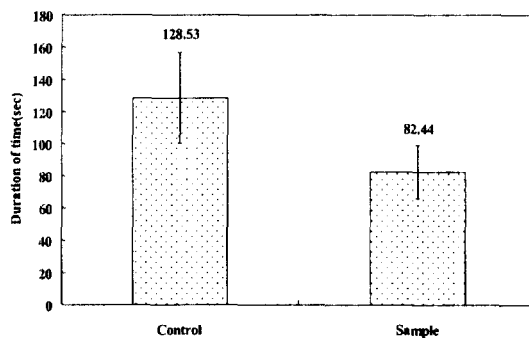


Fig. 9. The duration of KCN-induced coma after oral administration of SWS in ICR mice.

Control : 1.4mg/kg KCN i.v. injected group after oral administration of normal saline

Sample : 1.4mg/kg KCN i.v. injected group after oral administration of 3.2mg/20g of SWS

2) 局所 腦虛血에 對한 效果

(1) 中入腦動脈 閉鎖에 따른 神經學的 缺損 程度의 變化

① Fore limb

Fore limb에서 神經學的 缺損 程度의 變化는 對照群의 경우 operation, hypoxia, recirculation 후의 等級이 各各 2.78±0.15, 2.89±0.11과 2.57±0.20이었는데 比하여 實驗群의 경우는 各各 3.0±0.00, 2.67±0.33과 2.33±0.33으로 等級의 變化가 없었다(Table 11, Fig. 10).

Table 11. Effects of SWS on Variation of Neurologic Grades in MCA Occluded SD Rats(Fore limb)

	Operation	Hypoxia	Recirculation
Control	2.78±0.15 ^{a)}	2.89±0.11	2.57±0.20
Sample	3.0±0.00	2.67±0.33	2.33±0.33

a) : Mean ± Standard Error

Control : Normal saline treated group

Sample : 400mg/250g/day SWS treated group

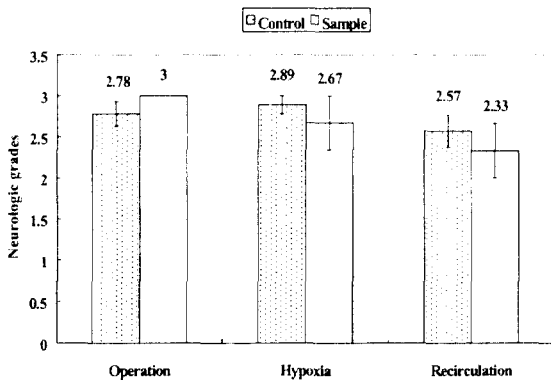


Fig. 10. Effects of SWS on Variation of Neurologic Grades in MCA Occluded SD Rats(Fore limb)

② Hind limb

Hind limb에서 神經學的 缺損 程度의 變化는 對照群의 경우 operation, hypoxia, recirculation 후의 等級이 各各 0.44±0.18, 0.33±0.33, 0.14±0.14이었는데 比하여, 實驗群의 경우는 各各 0.0±0.0, 0.11±0.11, 0.0±0.0으로 operation에서는 有意性이 認定되었으나, hypoxia, recirculation에서는 有意性이 認定되지 않았다(Table 12, Fig. 11).

0.0, 0.11±0.11, 0.0±0.0으로 operation에서는 有意性이 認定되었으나, hypoxia, recirculation에서는 有意性이 認定되지 않았다(Table 12, Fig. 11).

Table 12. Effects of SWS on Variation of Neurologic Grades in MCA Occluded SD Rats(Hind limb)

	Operation	Hypoxia	Recirculation
Control	0.44±0.18 ^{a)}	0.33±0.33	0.14±0.14
Sample	0.0±0.00*	0.11±0.11	0.0±0.00

a) : Mean ± Standard Error

Control : Normal saline treated group

Sample : 400mg/250g/day SWS treated group

* : Statistically significant as compared with data of control group

(* : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001)

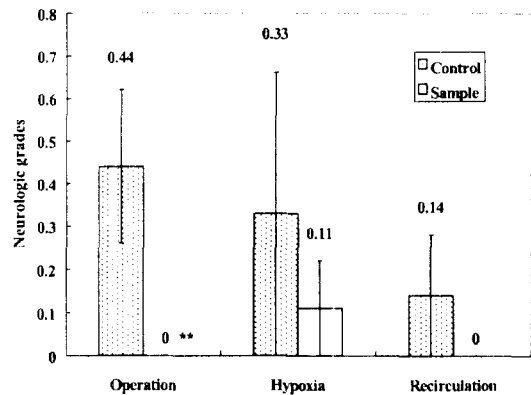


Fig. 11. The effects of SWS on variation of neurologic grades in MCA occluded SD rats(Hind limb).

Control : Normal saline treated group

Sample : 400mg/250g/day SWS treated group

* : Statistically significant as compared with data of control group

(* : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001)

(2) 中大腦動脈 閉鎖에 따른 虛血 面積 및 浮腫 率에 미치는 效果

中大腦動脈 閉鎖에 따른 虛血 面積率은 對照群에 比하여 實驗群은 虛血面積이 觀察되지 않았으며(Table 13, Fig. 12, 14), 浮腫率도 有意性있게 好轉되었다(Table 14, Fig. 13, 14).

Table 13. Effects of SWS on The Ischemic Ratio in MCA Occluded SD Rats

No. of slices control (n=3)	The mean area of infarction (%)	No. of slice SWS (n=3)	The mean area of infarction (%)
1	9.3±3.36 ^{a)}	1	ND*
2	25.70±3.04	2	ND***
3	28.04±2.31	3	ND***
4	22.25±7.26	4	ND*
5	16.00±7.08	5	ND*
6	4.41±2.91	6	ND
7	0.80±0.80	7	ND
8	ND	8	ND

a) : Mean ± Standard Error

Control : Normal saline treated group

Sample : 400mg/250g/day SWS treated group

ND : Not detectable

* : Statistically significant as compared with data of control group

(* : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001)

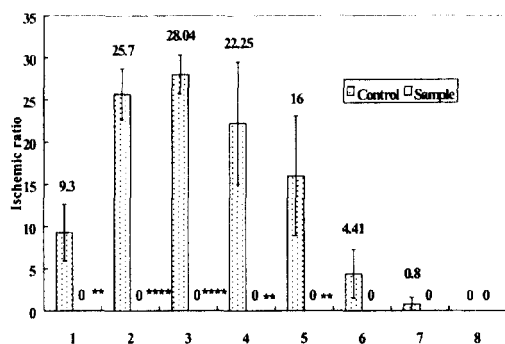


Fig. 12. Effects of SWS on the ischemic ratio in MCA occluded SD rats.

Control : Normal saline treated group

Sample : 400mg/250g/day SWS treated group

* : Statistically significant as compared with data of control group

(* : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001)

Table 14. The Effects of SWS on Edema Ratio in MCA Occluded SD Rats

No. of slices control (n=3)	The mean extent of edema(%)	No. of slice SWS (n=3)	The mean extent of edema(%)
1	14.30±3.78 ^{a)}	1	2.83±1.88*
2	12.99±1.32	2	5.19±1.55**
3	10.58±1.74	3	2.55±2.31*
4	10.02±0.06	4	4.17±0.88**
5	8.61±1.68	5	1.30±0.69**
6	3.66±0.23	6	4.22±1.70
7	2.56±0.64	7	1.71±0.22
8	4.52±0.00	8	4.21±0.00

a) : Mean ± Standard Error

Control : Normal saline treated group

Sample : 400mg/250g/day SWS treated group

* : Statistically significant as compared with data of control group

(* : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001)

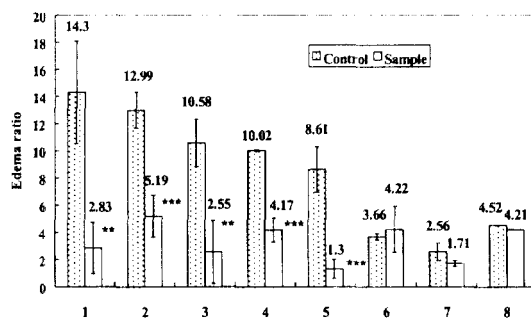


Fig. 13. Effects of SWS on edema ratio in MCA occluded SD rats.a) : Mean ± Standard Error

Control : Normal saline treated group

Sample : 400mg/250g/day SWS treated group

* : Statistically significant as compared with data of control group

(* : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001)

(* : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001)

Fig 14. Ischemic area in 8 slices of brain in control and SWS groups.

3) Amyloid β protein으로 誘導된 PC12 細胞의 細胞毒性에 對한 保護 效果

(1) PC12 細胞에 對한 細胞毒性

PC12 細胞에 對한 實驗群의 毒性을 觀察한 結果, 實驗에 使用한 0.25mg/ml, 0.50mg/ml 및 1mg/ml의 濃度에서 전혀 細胞毒性을 보이지 않았다 (Table 15, Fig. 15).

Table 15. The Cytotoxicity of SWS Against PC12 Cells

Concentration	Viability(% of Control)
Control	100.00 ± 9.37 ^{a)}
Sample A	101.50 ± 7.42
Sample B	104.70 ± 6.38
Sample C	105.30 ± 9.54

a) : Mean ± Standard Error

Control : PC12 cell(2×10^4 cells/well)

Sample A : PC12 cell(2×10^4 cells/well) and SWS treated group(0.25mg/ml)

Sample B : PC12 cell(2×10^4 cells/well) and SWS treated group(0.50mg/ml)

Sample C : PC12 cell(2×10^4 cells/well) and SWS treated group(1mg/ml)

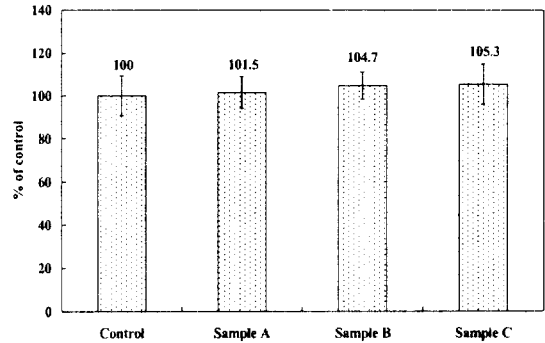


Fig. 15. The cytotoxicity of SWS against PC12 cells.

Control : PC12 cell(2×10^4 cells/well)

Sample A : PC12 cell(2×10^4 cells/well) and SWS treated group(0.25mg/ml)

Sample B : PC12 cell(2×10^4 cells/well) and SWS treated group(0.50mg/ml)

Sample C : PC12 cell(2×10^4 cells/well) and SWS treated group(1mg/ml)

(2) 細胞毒性에 對한 保護 效果

Amyloid β protein에 의해 誘導된 PC12 細胞의 細胞毒性에 대하여 0.25mg/ml, 0.50mg/ml 및 1mg/ml 實驗群을 前處置한 후 細胞毒性 保護 效果를 觀察한 結果, 각각 48.25 ± 3.76 , 64.37 ± 4.2 과 $92.53 \pm 5.32\%$ 으로 0.25mg/ml의 濃度에서는 保護 效果를 보이지 않았으나, 0.50mg/ml 및 1mg/ml의 濃度에서는 각각 有意性 있는($P < 0.05$, $P < 0.001$) 保護 效果를 나타냈다(Table 16, Fig. 16).

Table 16. The Protective Effects of SWS on Cytotoxicity of PC12 Cells Induced Amyloid β Protein

Control (%)	β - amyloid	Sample A	Sample B	Sample C
100.00 ± 4.90	47.05 ± 1.96 ^{a)}	48.25 ± 3.76	64.37 ± 4.2*	92.53 ± 5.32***

a) Mean ± Standard Error

Control : PC12 cells(4×10^4 cells/well)

β -amyloid : PC12 cells(4×10^4 cells/well)+Amyloid β protein($50 \mu\text{M}$)

Sample A : PC12 cells(4×10^4 cells/well) + Amyloid β protein($50 \mu\text{M}$) + SWS 0.25mg/ml

Sample B : PC12 cells(4×10^4 cells/well) + Amyloid β protein($50 \mu\text{M}$) + SWS 0.50mg/ml

Sample C : PC12 cells(4×10^4 cells/well) + Amyloid β protein($50 \mu\text{M}$) + SWS 1mg/ml

* : Statistically significant as compared with data of β -amyloid

(* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$)

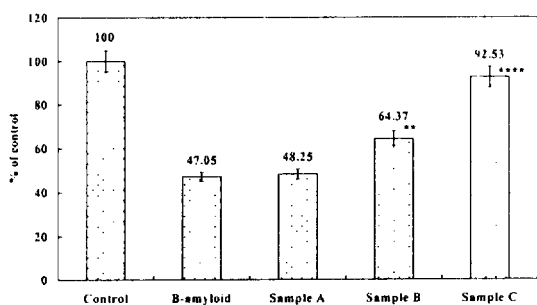


Fig. 16. The protective effects of SWS on cytotoxicity of PC12 cells induced amyloid β protein.

4) Lipopolysaccharide로 誘發한 RAW 細胞의 NO production에 對한 抑制 效果

Lipopolysaccharide로 誘發한 RAW 細胞의 NO production은 正常群에서는 $36.6 \pm 4.80 \mu\text{M/L}$ 이었고, 對照群에서는 $63.95 \pm 1.71 \mu\text{M/L}$ 이었다. 實驗群에서는 0.25mg/ml 에서 $9.13 \pm 0.43 \mu\text{M/L}$, 0.50mg/ml 에서 $8.54 \pm 0.21 \mu\text{M/L}$, 1mg/ml 에서 $7.70 \pm 0.43 \mu\text{M/L}$ 으로 나타나 對照群에 比하여 濃度依存的으로 有意性 있는 減少를 보였다(Table 17, Fig. 17).

Table 17. The Effects of SWS on NO Production in RAW Cells Stimulated by Lipopolysaccharide

Group	NO production($\mu\text{M/L}$)
Normal	$36.60 \pm 4.80^{\text{a}}$
Control	63.95 ± 1.71
Sample A	$9.13 \pm 0.43^{\text{***}}$
Sample B	$8.54 \pm 0.21^{\text{***}}$
Sample C	$7.70 \pm 0.43^{\text{***}}$

a) : Mean ± Standard Error

Normal : Non-treated group

Control : Group was treated with $2\mu\text{g/ml}$ of lipopolysaccharide

Sample A : Group was treated with $2\mu\text{g/ml}$ of lipopolysaccharide and 0.25mg/ml of SWS

Sample B : Group was treated with $2\mu\text{g/ml}$ of lipopolysaccharide and 0.50mg/ml of SWS

Sample C : Group was treated with $2\mu\text{g/ml}$ of lipopolysaccharide and 1mg/ml of SWS

* : Statistically significant as compared with data of control data

(* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$)

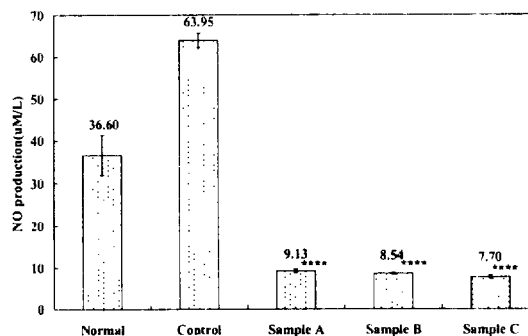


Fig. 17. Effects of SWS on NO production in RAW cells stimulated by lipopolysaccharide. Normal : Non-treated group

Control : Group was treated with $2\mu\text{g/ml}$ of lipopolysaccharide

Sample A : Group was treated with $2\mu\text{g/ml}$ of lipopolysaccharide and 0.25mg/ml of SWS

Sample B : Group was treated with $2\mu\text{g/ml}$ of

lipopolysaccharide and 0.50mg/ml of SWS

Sample C : Group was treated with 2 μ g/ml of lipopolysaccharide and 1mg/ml of SWS

* : Statistically significant as compared with data of control data

(* : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001)

IV. 考 察

高脂血症이란 血清脂質이 正常보다 增加된 것으로^{3,8-10)}, 그 原因은 高血壓, 吸煙, 肥滿, 飲酒, 遺傳, 心理的 因子 등^{2,12,16,39)}이며, 冠狀動脈이나 腦血管 등에 粥狀動脈硬化的 發症 및 進行을 促進시켜 狹心症, 心筋梗塞 및 腦梗塞 등을 誘發하는 主要原因이 되고⁸⁻¹¹⁾ 血管內壁의 損傷, 血流 및 血液性分의 變化 등을 招來하여 血栓을 形成하는 危險要因의 하나이다^{5,60)}.

血清脂質의 主要成分은 cholesterol, phospholipid, triglyceride, free fatty acid 등으로 이루어지고 있고⁸⁻¹¹⁾, 그 중에서도 cholesterol과 triglyceride의 增加는 冠狀動脈과 腦動脈의 粥狀硬化的 誘發하므로 動脈硬化와 密接한 關係가 있다^{6,9,10,12-14)}. 食物에 의해 腸管에서 吸收되거나, 肝에서 遊離된 脂質은 蛋白質과 結合하여 脂蛋白(lipoprotein)의 形態로 存在하는데, 血中 脂蛋白은 比重(密度)에 따라 乳糜脂粒(chylomicron), 超底比重脂蛋白(very low density lipoprotein : VLDL), 底比重脂蛋白(low density lipoprotein : LDL), 高比重脂蛋白(high density lipoprotein : HDL)으로 分類할 수 있으며, 含有하고 있는 triglyceride의 含量이 적거나 蛋白質의 含量이 적을수록 比重은 增加한다^{9,13,61)}. 動脈硬化의 原因에 있어 脂質과 脂蛋白質의 役割은 完全히 밝혀지지 않은 狀이나 脂蛋白質이 正常 혹은 損傷 입은 血管內皮를 통해서 動脈壁으로 들어가서 粥狀硬化症(atherosclerosis)을 惹起시키는 것으로 보고 있다⁶²⁾.

血栓은 心血管系에서 活動中인 血液이 凝固塊를 形成한 것으로 心臟 등에서는 狹心症, 心血栓 및 動脈硬化를 發生시키며, 腦에서는 腦血栓 등의 腦

血管疾患을 誘發하는 것으로 알려져 있다^{2,12-14,63)}.

血栓의 形成은 血小板과 血漿에 存在하는 溶解性 凝固蛋白質들로 形成되는데, 그 중 血小板은 가장 重要的 要因^{2,13,14,63)}으로 認識되고 있다. 血栓症을 일으키는 要因으로는 血流速度 減少로 血管壁에 血小板이 附着하는 境遇, 血管壁의 奇形 등으로 因한 血流速度 變化, 血管壁의 變成과 血管의 局所壓迫 등으로 因한 血管內皮의 損傷, 血液의 構成成分의 變化 등이 있다^{6,13,14)}.

血小板은 膜에 含有된 多量의 phospholipids(磷脂質)를 中心으로 한 血液의 凝固作用, 細胞構成因子와 代謝物質(prostaglandins, serotonin, 細胞成長因子 및 cAMP 등)에 依한 血管運動, 炎症反應 및 動脈硬化現狀이 알려짐과 同時에 生體內 反應에 의해서 血栓形成의 過程에 決定的으로 關與하는 것으로 밝혀짐으로써 血小板의 測定은 凝血 및 血栓形成與否의 代表的인 指標가 되고 있으며¹⁴⁻¹⁶⁾, 凝集能檢査에 充進을 보이는 疾患에는 高脂血症, 虛血性心疾患, 腎症候群, 腦梗塞 등이 있다^{8,64)}.

腦血管疾患이란 腦血管의 循環障壁로 腦의 神經學的 損傷이 惹起되어 감각스런 意識障壁와 運動, 感覺, 反射機能의 障壁를 일으키는 것으로^{3,6,12,15,16,17)} 가장 흔한 原因은 粥狀動脈硬化와 高血壓 등^{2,13,14,16)}이며, 一過性腦虛血發作, 可逆性虛血性腦損傷, 動脈硬化性腦梗塞, 裂孔性腦梗塞, 高血壓性腦症 등을 包含한다^{3,6,12,13)}. 最近에는 腦出血의 頻도가 낮아지고 虛血性 腦卒中의 發病率이 높아지는 趨勢에 있는데^{65,66)}, 이에 대하여 조 등⁶⁷⁾은 高齡者의 增加와 社會經濟的 與件의 變化 등으로 宋 등⁶⁸⁾은 高血壓 외에 平均壽命의 延長, 生活條件의 變化 그리고 糖尿病 등의 動脈硬化를 일으키는 要因들이 複合的으로 關與된 結果라 하였다.

腦血管疾患은 韓醫學에서 中風의 範疇에 屬하는데^{3,12,16,17)} 中風은 卒然昏仆, 不省人事하면서 口眼喎斜, 半身不遂, 言語不利한 症을 主要症狀으로 하는 疾患^{3,17,19)}으로, 그 原因은 風^{18,19)}, 火²⁰⁾, 氣虛²¹⁾, 濕痰²²⁾, 瘀血^{23,24)} 등으로 要約되며, 臨床上 治療에 있어서는 中風初期에 化痰開竅, 回陽固脫法이, 恢復期에는 平肝化痰, 益氣活血, 清肝瀉火, 滋陰潛陽, 息風開竅, 開竅醒神法 등이 活用되고 있다^{3,4,15,25)}.

牛黃(Bezoar Bobis)은 牛科에 屬한 黃牛(*Bos taurus domesticus* Gmelin) 或은 水牛(*Bubalus bubalis* Linne)의 膽囊 或은 膽道·肝 등에서 病的으로 생기는 結石을 乾燥한 것^{26-28,30)}으로, 性은 涼하고 味는 甘苦하며 心·肝 二經에 入하여 開竅化痰, 清熱解毒, 熄風定痙, 強心作用이 있어 熱病神昏, 譫語, 壯熱驚癇, 抽搐實熱, 口舌生瘡, 癰疽疔瘡, 咽喉腫痛, 口噤, 小兒胎毒, 痰熱諸病, 發痘墮胎 등에 使用되어 왔고^{26-28,30)} 近來에 感染性疾患의 高熱, 意識障礙, 煩燥, 癲癇發作 등과 慢性肝炎으로 인한 肝機能 低下, 腦卒中에 의한 意識障礙로 痰이 많은 症狀에 投與하여 有效한 效果를 얻고 있는 것으로 報告되고 있으며^{26,27,29)}, 牛黃에 대한 實驗的 研究로는 白鼠의 腦損傷^{31,68)} 및 各種 癌細胞株에 미치는 影響^{69,70)} 등이 있다.

麝香은 芳香性藥物로 鹿科(사슴과; Cervidae)에 屬한 脊椎動物인 수컷 麝香노루(*Moschus moschiferus* Linne)의 臍部와 陰莖사이 에 있는 腺囊, 即 香囊에서 分泌하는 分泌物를 乾燥한 것^{26-28,30)}으로, 性은 溫無毒하고 味는 辛하며 心·脾·肝經에 歸經하여 開竅醒神, 活血散結, 消腫止痛, 催產下胎의 作用이 있어 熱閉神昏, 癲厥, 中風痰厥, 卒然神昏, 口噤, 中風, 癰瘡腫毒, 經閉, 癥瘕, 心腹暴痛, 跌打損傷, 痺痛, 死胎不下, 胞衣不下 등의 治療에 活用되어 왔고²⁶⁻²⁹⁾ 近來에는 주로 各種 熱病神昏, 中風神昏 등의 危急性 疾患에 救急蘇生의 目的으로 使用하고 있으며^{26,29)} 麝香에 대한 實驗的 研究로는 李^{31,43)} 등이 白鼠의 腦損傷에 미치는 影響에 대하여 報告한 바 있다.

三七根은 五加科(오갈피나무과; Araliaceae)에 屬한 多年生本草인 三七의 根을 乾燥한 것^{26-28,30)}으로 性은 溫無毒하고 味는 甘微苦하며 肝·胃 二經에 入하여 止血作用과 活血祛瘀止痛의 作用이 있어 胸痛, 腹痛, 脇痛, 咳血, 吐血, 衄血, 血痢, 血崩, 目赤癰腫, 金瘡杖瘡 등^{26-28,29,30)}과 腦出血初期의 意識障礙, 言語障礙, 冠不全에도 使用되고 있다²⁶⁾.

最近 中風에 關聯된 韓醫學的 研究로 襄 등³²⁻³⁸⁾은 高血壓 및 高脂血症에 대하여, 安 등³⁹⁻⁴²⁾은 血栓에 관하여, 李 등⁴³⁻⁴⁹⁾은 腦損傷에 대하여 實驗的으로 有效함을 報告하였다.

이에 著者는 牛黃과 麝香의 混合投與가 腦損傷의 昏睡, 呼吸, 生存時間에 有效하다는 研究³¹⁾에 着眼하여 이들 藥物에 活血祛瘀의 作用을 가지고 있는 三七根을 加한 複合方이 中風治療에 活用價値가 있을 것으로 思料되어 그 效能을 살펴보고자 高脂血症, 血小板凝集抑制反應, 肺塞栓, 全腦虛血, MCA occlusion, amyloid β protein(25-35)으로 誘導된 細胞毒性 및 lipopolysaccharide로 誘發된 RAW 細胞의 NO production에 미치는 影響 등에 關한 實驗을 施行하여 그 效能을 比較 檢討하였다.

生體內的 total cholesterol은 磷脂質과 함께 細胞膜의 構成成分을 이루고 있는 重要한 脂質로, 血中 cholesterol 濃度는 주로 肝 및 小腸에서 cholesterol의 生成과 吸收, 異化作用에 의해 調節되며, 그 測定은 體內 脂質代謝異常의 指標로서 重要한 것인데¹¹⁾, 高cholesterol食餌로 誘發된 高脂血症 家兔의 total cholesterol의 含量에서 實驗群은 對照群에 比하여 total cholesterol 含量에서 有意性 있는($P<0.01$) 抑制效果가 나타났다(Table 2, Fig. 1).

血中 triglyceride의 測定은 cholesterol 測定과 함께 脂質代謝異常의 解明에 매우 重要한 指標가 되는데¹¹⁾, triglyceride는 HDL-cholesterol의 豫測因子로서 triglyceride가 增加함에 따라 HDL-cholesterol이 高比重 中性脂肪(HDL-TG)으로 바뀌면서 HDL-cholesterol이 減少하여 動脈硬化를 일으키는 것으로 說明되고 있다^{71,72)}. 本 實驗에서 cholesterol 負荷로 誘發된 高脂血症 家兔의 triglyceride 含量에서 實驗群은 對照群에 比하여 減少하였으나 有意性이 認定되지 않았다(Table 3, Fig. 2).

血清 phospholipid는 各種 脂質代謝 異常에 의해 增減되지만 cholesterol과 平行하여 變動하는 境遇가 많으며, 脂質의 安定化와 代謝에 重要한 役割을 하고 있는데¹¹⁾, cholesterol 負荷로 誘發된 高脂血症 家兔의 phospholipid 含量에서 實驗群은 對照群에 比하여 有意性 있는($P<0.05$) 抑制效果가 認定되었다(Table 4, Fig. 3).

HDL-cholesterol은 細胞內 蓄積된 cholesterol의

除去作用에 關與하고, 一部는 LDL-cholesterol 受容體와 競合的으로 結合하여 LDL-cholesterol의 受容을 抑制한다^{11,73)}. HDL-cholesterol의 血中濃度는 動脈硬化性 疾患의 發症 豫告에 有用한 指標가 되고 그 數値의 減少는 高血壓, 糖尿病, 虛血性 心臟疾患, 心筋梗塞, 腦卒中의 危險因子로 作用하는데^{74,75)}, cholesterol 負荷로 誘發된 高脂血症 家兔의 HDL-cholesterol 含量에서 實驗群은 對照群에 比하여 有意性이 認定되지 않았다(Table 5, Fig. 4).

LDL-cholesterol은 粥狀硬化證의 危險要因이며 血中 cholesterol의 主要 構成成分으로 phospholipid가 正常인 境遇에 total cholesterol의 增加는 바로 LDL-cholesterol의 增加를 반영한다⁷⁶⁾. cholesterol 負荷로 誘發된 高脂血症 家兔의 LDL-cholesterol 含量에서 實驗群은 對照群에 比하여 有意性 있는($P < 0.05$) 抑制效果가 認定되었다(Table 6, Fig. 5).

VLDL-cholesterol은 肝에서 糖質로 合成되는 脂肪酸이나 脂肪組織으로부터의 동원지방산에 由來되며, LDL-cholesterol과 HDL-cholesterol의 一部는 血中の VLDL-cholesterol의 lipoprotein lipase(LPL), lecithin cholesterol acyl transferase(LCAT)에 의한 分解에 의해 生成되는 것이다¹¹⁾. cholesterol 負荷로 誘發된 高脂血症 家兔의 VLDL-cholesterol 含量에서 實驗群은 有意性이 認定되지 않았다(Table 7, Fig. 6).

以上の 結果를 綜合하면 高cholesterol食餌로 誘發된 高脂血症에서 實驗群은 對照群에 比하여 total cholesterol 含量, phospholipid 含量, LDL-cholesterol 含量은 各各 有意性 있는 抑制效果가 認定되었으나 triglyceride, HDL-cholesterol, VLDL-cholesterol 含量에서 有意性이 나타나지 않은 것으로 보아 檢液의 投與 期間, 投與量 및 投與 方法에 대한 深度있는 研究가 必要할 것으로 생각된다.

Platelet aggregation은 一次的인 止血性塞栓을 만드는데 血小板의 能力을 評價하는 法⁷⁷⁾으로 알려져 있는데, *in vitro* 實驗에서 血小板 磷脂質을 活性化시키는 agonist로 알려진 thrombin 및

collagen과 血小板凝集에 關與하는 adenosine diphosphate(ADP)를 利用하여 血小板을 完全히 凝集시킨 후 麝香·牛黃·三七根 複合方을 並行投與하여 血小板凝集 抑制效果를 觀察하였다. 本 實驗 結果 ADP에 依해서는 36.05%, collagen에서는 20.4%, thrombin에서는 0.6%의 抑制效果를 나타냈다(Table 8, Fig. 7).

Collagen은 血小板에서 ADP를 放出시켜 凝集을 일으키고, epineprine은 血小板凝集段階에서 血小板膜에 있는 α 및 β epineprine type의 receptor에 作用하여 凝集시킨다⁸⁾. 이와 같이 血栓을 誘發시켜 血栓生成程度를 測定함으로써 檢體試料의 血栓抑制作用을 判定할 수 있는데 *in vivo* 實驗에서 對照群은 collagen과 epineprine에 依해서 肺塞栓이 誘導되어 8마리 중 8마리가 죽거나 15分以上 麻痺가 持續이 되었고, 比較物質로 使用한 aspirin에서는 8마리 중 3마리만이 죽거나 15分以上 麻痺가 持續이 되었고, 實驗群은 8마리 중 5마리가 죽거나 15分以上 麻痺가 持續되어 37%의 血栓 抑制效果를 나타내었다(Table 9, Fig. 8).

以上の 實驗 結果는 麝香·牛黃·三七根 複合方이 血小板 凝集反應에서 ADP, collagen에 의한 凝集程度를 低下시키고, collagen과 epineprine에 依해서 誘導된 塞栓에서 生存率을 增加시키는 것으로 보아 血栓症을 일으키는 因子 중 血液構成成分 특히 血漿凝固因子들의 機能을 抑制하는 것으로 推定된다.

腦細胞가 虛血狀態에 빠지는 境遇는 全腦虛血과 局所腦虛血로 나눌 수 있다. 全腦虛血은 腦血流가 中斷되면 組織이 甚한 低酸素症 狀態가 되고 이로 인하여 細胞內 ATP가 枯渴되어 解糖作用(glycolysis)이 일어나게 되며 젖산증에 빠지게 되는데 이 無酸素性 酸症이 腦橋細胞와 腦細胞를 죽게 한다⁷⁸⁾. 이에 反해 局所 腦虛血은 甚한 虛血狀態의 中心部와 이를 둘러싸는 不完全한 虛血狀態의 周邊部로 나누어진다. 虛血 中心部에서는 全腦虛血과 비슷한 일이 일어나나 周邊部에서는 側部循環이 部分的으로 腦血流을 供給하고 있어 細胞의 ion 傾斜는 維持되나 電氣의 活性度가 없는 狀態가 된다⁷⁹⁾.

KCN은 細胞內 mitochondria의 cytochrome oxidase의 活性을 抑制하고 電子傳達系에서의 酵素利用을 制限하여 高energy 磷酸化合物을 枯渴시킴으로써 細胞 毒性을 發現한다⁸⁰⁾. KCN으로 誘發된 低酸素時 腦機能障碍을 促進하는 要因으로는 嫌氣的 解糖系의 亢進에 起因된 lactate 등의 酸性代謝物의 蓄積(組織 acidosis), 循環 shock에 의한 中毒性的 腦虛血 등을 들 수 있으며^{81,82)}, rat에서는 KCN 低酸素 時에 腦 mitochondria의 膨化도 惹起된다는 報告도 있다⁸³⁾.

本 實驗에서는 非致死量의 KCN으로 全腦虛血을 誘發시킨 mouse의 昏睡時間에 대한 作用을 經時的으로 檢討한 結果, 麝香·牛黃·三七根 複合方이 對照群에 比하여 昏睡時間을 短縮시켰으나 有意性은 없었다(Table 10, Fig. 9).

局所 腦虛血을 일으키는 方法으로 本 實驗에서는 probe를 利用한 中大腦動脈 閉鎖-再灌流(2時間後) 모델을 選擇하였으며, 이 方法⁵⁵⁾은 最近에 開發된 方法으로서 虛血後 再灌流에 依한 影響을 研究할 수 있는 長點을 가지고 있다.

TTC溶液을 使用한 組織 損傷의 檢證은 心筋閉塞에 利用된 以後⁸⁴⁾, 腦梗塞에 널리 使用되고 있다^{85,86)}. 正常 腦組織에서는 mitochondria 內에 存在하는 脫水素 酵素와 TTC溶液이 反應하여 formazan이 形成되어 赤色으로 나타나고, 腦梗塞發生部位는 細胞內 mitochondria의 非可逆的 損傷으로 脫水素 酵素가 消失되어 白色으로 남게 되어 病變 部位를 區分할 수 있다⁸⁷⁾. 그러므로 時間 經過에 따른 腦梗塞의 變化에 對한 TTC溶液을 利用한 觀察은 動脈 閉鎖後 脫水素 酵素의 減少 정도에 左右되며 病變의 進行에 따라 減少速度가 比例된다고 알려져 있어⁸⁸⁾, TTC溶液의 染色 樣相은 組織의 非可逆的 損傷 정도와 比例되므로 腦梗塞의 時間變化에 따른 發生 位置 및 크기를 알 수 있다.

腦梗塞에 隨伴되는 腦浮腫은 腦動脈을 閉鎖시킨 직후 數分부터 約 4時間까지 持續되는 細胞毒性性浮腫(cytotoxic edema)과 그 후 進行되는 혈관인성浮腫(vasogenic edema)으로 나눌 수 있다. 腦動脈의 閉鎖後 곧 發生하는 輕한 腦浮腫의 原因은

뚜렷치 않으나 血腦關門(blood brain barrier)이 正常인 점으로 보아 細胞毒性性浮腫으로 생각되고 있다. 腦梗塞으로 因한 腦浮腫을 豫測하기는 不可能하나 腦動脈의 閉鎖持續期間 또는 組織의 壞死程度에 따라 變化를 보이며 動脈閉鎖後 3-4時間부터 始作되고 12-13時間後에 뚜렷해지며, 3-4日에 頂點에 이르고 1週末-2週 후에 消失된다⁸⁹⁾.

腦虛血性 病變에 起因한 腦損傷 程度의 測定은 顯微鏡의 所見을 基礎로 하여 腦細胞 微細 構造物의 變化 或은 腦組織의 破壞 程度와 같은 病理學的 所見으로 損傷 程度를 가능하거나^{90,91)}, 또는 腦梗塞 或은 腦虛血性 病變 範圍의 廣範性을 基準하여 그 損傷 程度를 測定하는 方法으로 大別할 수 있다⁹²⁾.

本 研究의 目的은 中大腦動脈 閉鎖에 따른 神經學的 缺損 程度의 回復率과 腦梗塞의 虛血面積 및 浮腫率을 測定하여 麝香·牛黃·三七根 複合方의 腦損傷 輕減效果를 評價하는데 있다.

實驗 結果 神經學的 缺損 程度의 回復率은 麝香·牛黃·三七根 複合方이 對照群에 比하여 fore limb의 境遇 等級의 變化가 없었고(Table 11, Fig. 10), hind limb의 境遇 operation에서는 有意性(p<0.05)이 認定되었으나, hypoxia·recirculation 後에서는 有意性이 認定되지 않았다(Table 12, Fig. 11). 局所 腦虛血 面積은 麝香·牛黃·三七根 複合方이 對照群에 比하여 虛血面積이 나타나지 않았으며(Table 13, Fig. 12, 14), 浮腫率 또한 麝香·牛黃·三七根 複合方이 對照群에 比하여 有意性있게 好轉되었다(Table 14, Fig. 13, 14).

以上の 實驗結果로 볼 때 麝香·牛黃·三七根 複合方이 局所血流的 遮斷으로 惹起된 白鼠의 腦損傷에 있어 虛血面積의 縮小, 浮腫率의 減少와 神經學的 缺損程度의 回復에 有效한 것으로 認定되므로 急性期의 腦梗塞 및 中樞神經系統에 對하여 保護作用이 있는 것으로 思料된다.

Alzheimer's disease는 老化와 더불어 나타나는 代表的인 退行性 神經疾患으로 그 發生 原因은 正確하게 밝혀지지 않았지만 特徵的으로 腦에 senile plaque가 지나치게 많이 蓄積되는데 senile plaque는 amyloid β protein으로 構成되어 있다는 것이

밝혀졌다⁹⁴⁾. 즉 Alzheimer's disease는 amyloid precursor protein(APP)으로부터 蛋白分解된 代謝物인 amyloid β protein이 神經細胞에 蓄積되어 神經細胞를 죽이기 때문에 일어나는 것으로 解釋되고 있다^{94,95)}. 따라서 *in vitro*^{96,97)}와 *in vivo*^{98,99)}에서 神經細胞에 대한 amyloid β protein의 毒性을 報告하고 있으며, 이러한 實驗에 주로 使用되는 腦細胞는 rat pheochromocytoma 山來의 PC12 cell과 human glioblastoma 山來의 U251 cell 등^{100,101)}이 있다.

本 實驗에서는 PC12 cell에 對한 amyloid β protein(25-35)의 細胞毒性和 麴香·牛黃·三七根 複合方을 加했을 때 어느 정도 腦細胞가 保護되는지 살펴보고 Alzheimer's disease 治療劑로서 麴香·牛黃·三七根 複合方의 價値를 評價하고자 하였다. 實驗에서 麴香·牛黃·三七根 複合方의 細胞毒성을 觀察한 缺課 0.25mg/ml, 0.50mg/ml, 1mg/ml의 濃度에서는 細胞毒성을 보이지 않았다(Table 15, Fig. 15). 또한 amyloid β protein으로 誘導된 PC12 細胞의 細胞毒성에 對해서는 0.25mg/ml, 0.50mg/ml, 1mg/ml의 麴香·牛黃·三七根 複合方을 前處置한 후 細胞毒性 保護 效果를 觀察한 結果 0.50mg/ml 및 1mg/ml의 濃度에서 각각 有意性 있는 ($P < 0.05$, $P < 0.001$) 保護效果를 나타냈다(Table 16, Fig. 16).

以上의 實驗結果는 麴香·牛黃·三七根 複合方이 amyloid β protein의 細胞毒성을 抑制하여 腦細胞를 保護하는 效果가 있는 것으로 보여져 退行性腦疾患의 豫防과 治療에 活用될 可能性이 있다고 思慮된다.

NO는 細胞間 또는 細胞內 messenger로서 뿐만 아니라 免疫學的으로도 매우 重要하지만 superoxide와 反應하여 反應성이 가장 큰 活性酸素인 hydroxyl radical을 生成하기 때문에 腦의 老化에 主要한 原因으로 注目받고 있으며¹⁰²⁾, lipopolysaccharide는 cytokine 中の 하나로서 endotoxin이라고 하는데 macrophage에 作用하면 tumor necrosis factor(TNF α)가 仲介되어 一酸化窒素(nitric oxide, NO)를 生成하는 것으로 알려져 있다¹⁰³⁾.

本 實驗에서는 RAW cell에 lipopolysaccharide를 처리하여 麴香·牛黃·三七根 複合方을 加했을 때 어느 정도 NO production을 抑制하는지 살펴보고 腦損傷 治療劑로서의 價値를 評價하고자 하였다. Lipopolysaccharide로 誘發한 RAW 細胞의 NO production에 對한 抑制效果를 觀察한 結果, 實驗群(0.25mg/ml, 0.50mg/ml, 1mg/ml)에서는 對照群에 比하여 濃度依存的으로 각각 有意性 있는 ($P < 0.001$) 抑制效果를 나타냈다(Table 17, Fig. 17).

이것은 NO가 neuronal cells에 作用하였을 때 free radical을 生成하여 腦損傷을 일으키고¹⁰²⁾, free radical은 腦虛血의 再灌流時 腦組織의 損傷을 增幅시키며 腦浮腫을 惹起할 수 있다¹⁰⁴⁾는 것을 考慮한다면 麴香·牛黃·三七根 複合方이 NO production을 抑制하는 效果가 있어 腦損傷의 豫防과 治療에 活用될 可能性이 있다고 思料된다.

以上 高脂血症 및 數種의 腦損傷모델을 利用하여 實驗한 結果를 綜合하면 麴香·牛黃·三七根 複合方은 高cholesterol食餌로 誘發된 血中脂質, LDL-cholesterol 및 脂蛋白質의 增加를 抑制하였고, 血小板凝集 및 肺塞栓을 抑制하였으며, MCA occlusion에 의한 局所腦虛血에 有效하였고, amyloid β protein에 의한 細胞毒성에 保護效果가 있었으며, NO production을 抑制하였다. 따라서 麴香·牛黃·三七根 複合方은 高脂血症 및 腦損傷에 活用價値가 있을 것으로 보여지며, 그 機轉에 對하여는 尙後 繼續的인 研究가 必要할 것으로 思料된다.

V. 結 論

麴香·牛黃·三七根 複合方이 高脂血症 및 腦損傷에 미치는 效果를 보기 위하여 高脂血症 誘發 實驗, 血栓症 誘發 實驗, 全腦虛血과 局所腦虛血 誘發 實驗, amyloid β protein으로 誘導된 細胞毒性 및 lipopolysaccharide로 誘發한 RAW 細胞의 NO production에 미치는 影響에 關한 實驗을 施行한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 高脂血症 實驗 結果 血清 total cholesterol, phospholipid, LDL-cholesterol의 含量은 有意性이 있었으나, triglyceride, HDL-cholesterol, VLDL-cholesterol에서는 有意性이 없었다.

2. 血小板凝集 測定 結果 ADP에서는 36.05%, collagen에서는 20.4%, thrombin에서는 0.6%의 抑制效果를 나타냈다.

3. 肺塞栓 實驗에서 37%의 抑制效果를 나타내었다.

4. KCN 誘發 昏睡時間에서는 有意性이 없었다.

5. 局所腦虛血 實驗 結果 神經學的 缺損程度의 變化는 hind limb의 operation에서만 有意性이 있었으며, 虛血面積과 浮腫率은 모두 有意性있게 나타났다.

6. PC12 細胞의 細胞毒性에 對한 實驗에서 濃度依存的으로 有意性 있는 腦細胞 保護效果를 나타냈다.

7. NO production에 對한 實驗 結果 有意性 있는 抑制 效果가 나타났다.

以上的 實驗結果로 보아 麝香·牛黃·三七根 複合方은 高脂血症 및 腦損傷에 活用價値가 있을 것으로 思料된다.

參 考 文 獻

1. 統計廳 : 사망원인통계연보(1995), 서울, 웃고문화사, pp.21-57, 1997.
2. 의학교육연수원 : 가정의학, 서울, 서울대학교출판부, pp.294-319, 343-348, 1996.
3. 金鍾石 譯 : 腦卒中的 豫防과 治療, 大邱, 裕盛出版社, p.1, pp.15-142, 1996.
4. 黃文東 외 : 實用中醫內科學, 上海, 上海科學技術出版社, pp. 332-345, 378-381, 414-423, 439-450, 1986.
5. 徐舜圭 : 成人病·老人病學, 서울, 고려의학, pp.37-49, 77-83, 107-122, 137-139, 142-149, p.151, pp.155-158, p.186, pp. 189-193, 196-201, 1992.
6. 李文鎬 외 : 內科學, 서울, 金剛出版社, pp.1495-1503, 1588-1591, 1825-1830, 1856-1859, 1979.
7. 朴忠緒 : 神經學, 서울, 高文社, pp.70-80, 1983.
8. 李貴寧 외 : 임상병리과일, 서울, 의학문화사, pp.107-109, 124-129, 635-637, p.765, 860, pp.919-922, 931-934, 1990.
9. 이혜리 : 高脂血症, 家庭醫, 8(7):14-17, 1987.
10. 蔡錫範 : 脂肪質攝取와 리포蛋白質代謝, 大韓醫學協會誌, 31(9):925-930, 1988.
11. 金井泉 외 : 臨床檢査法提要(29th ed), 서울, 高文社, pp.311-455, 711-713, 1984.
12. 全國韓醫科大學 心系內科學敎室 編 : 東醫心系內科學, 서울, 書苑堂, (上)p.200, pp.202-237, 400-407, 448-462, p.485, (下)pp.89-93, 97-107, p.113, 163, pp.336-338, 346-353, 1995.
13. 해리슨번역편찬위원회 역 : Harrison 내과학, 서울, 정담, pp. 341-346, 1145-1165, 1189-1119, 1944-1958, 2409-2435, 1997.
14. 홍사석 : 이우주의 약리학강의, 서울, 선일문화사, pp.378-379, p.397, 401, 1990.
15. 陳 輝 외 : 實用中醫腦病學, 北京, 學苑出版社, pp.242-243, 791-797, 1993.
16. 屈松柏·李家庚 : 實用中醫心血管病學, 北京, 科學技術文獻出版社, p.88, pp.128-129, 143-144, 179-184, 290-327, 347-353, 423-445, 1993.
17. 具本泓 외 : 東醫內科學, 서울, 書苑堂, pp.493-503, 1985.
18. 張隱庵 외 : 黃帝內經素問靈樞合編, 臺北, 臺聯國風出版社, (素問) p.20, 66, 89, 91, 198, 204, 218, 286, 291, 294, 408, 412, 422, 629. (靈樞) p.180, 199, 306, 388, 405, 435, 445, 468, 1972.
19. 孫思邈 : 備急千金要方, 北京, 人民衛生出版社, pp.153-154, 1982.
20. 劉完素 : 劉河間三六書, 서울, 成輔社, pp.37-41, 281-282, 341-342, 1976.
21. 李 杲 : 東垣十種醫書, 서울, 大星文化社, pp.635-636, 1983.
22. 方 廣 : 丹溪心法附餘, 서울, 大星文化社,

- pp.67-68, 1982.
23. 王勳臣 編 : 醫林改錯, 서울, 一中社, pp.85-86, 1992.
 24. 唐容川 : 血證論, 台北, 力行書局有限公司, pp.115-120, 1973.
 25. 中醫研究院 主編 : 中醫症狀鑑別診斷學, 北京, 人民衛生出版社, pp.73- 74, 1987.
 26. 李尙仁: 외 : 漢藥臨床應用, 서울, 成輔社, pp.470-472, 476-478, 1982.
 27. 康秉秀. 金永坂 編著 : 臨床配合本草學, 서울, 永林社, pp.337-339, 344- 345, 1994.
 28. 申佶求 : 申氏本草學, 서울, 壽文社, pp.505-508, 717-718, 1988.
 29. 上海中醫學院 編 : 中草藥學, 香港, 商務印書館, pp.125-127, 308-310, 1990.
 30. 李尙仁 외 : 本草學, 서울, 修書院, pp.359-360, 417-419, 1981.
 31. 盧鉉泰 : 牛黃과 麝香의 混合投與가 白鼠의 腦損傷에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1993.
 32. 裴京一 : 滌痰湯이 高血壓 및 高脂血症에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1996.
 33. 金熙景 : 身痛逐瘀湯이 高血壓 및 高脂血症에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院, 1993.
 34. 宋美德 : 清心降火丸이 高血壓 및 高脂血症에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院, 1995.
 35. 李龍熙 : 兩儀拱辰丹이 高血壓 및 高脂血症에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院, 1995.
 36. 姜和廷 : 大承氣湯이 高血壓 및 高脂血症에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1995.
 37. 南昌圭 : 涼膈散火湯이 高血壓 및 高脂血症에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1995.
 38. 李大植 : 高血壓 및 高脂血症에 對한 清熱導痰湯의 實驗的 研究, 慶熙大學校大學院, 1992.
 39. 金永錫 : 血栓症 및 高粘度血症에 對한 當歸飲과 四君子湯의 實驗的 研究, 大韓韓醫學會誌, 14(1):114-128, 1993.
 40. 金永錫 : 血栓症 및 高粘度血症에 對한 當歸飲과 黃連解毒湯의 實驗的 比較 研究, 慶熙醫學, 7(3):322-333, 1991.
 41. 安圭錫 : 蚯蚓, 水蛭, 蟻蟻 및 蜈蚣의 血栓症에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌, 11(2):92-101, 1990.
 42. 金聖勳 : 復元活血湯 및 補陽還五湯이 endotoxin으로 誘發된 血栓生成抑制에 미치는 影響, 東義大學校大學院, 1994.
 43. 李保英 : 麝香이 생쥐의 腦損傷에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌, 16(1): 229-310, 1995.
 44. 柳鍾三 : 星香正氣散이 白鼠의 腦損傷에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1993.
 45. 金淳信 : 蘇合香元이 白鼠의 腦損傷에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1993.
 46. 洪 碩 : 牛黃清心元이 白鼠의 腦損傷에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1993.
 47. 康永祿 : 遠志와 石菖蒲의 單獨 및 混合投與가 白鼠의 腦損傷에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1997.
 48. 盧鉉泰 : 加味清心湯이 心血管系 및 腦損傷에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1998.
 49. 薛仁燦 : 加味補陽還五湯이 高脂血症, 血栓, 高粘度血症, 高血壓 및 腦損傷에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1998.
 50. Naito, M., Yasue, M., Asai, K., Yamada, K., Hayashi, T., Kuzuya, M., Funaki, C., Yoshimine, N., Kuzuya, F. : Effects of dexamethasone on experimental atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. J. Nutr. Sci. Vitaminol. Jun., 38(3):255-264, 1992.
 51. Rubinstein, L.V., Shoemaker, R.H., Paull, K.D., Simon, R.M., Tosini, S., Skehan, P., Scudiero, D.S.A., Monks, A., and Boyd, M.R. : Comparison of in vitro anticancer-drug-screening data generate with a tetrazolin assay versus a protein assay against a devise panel of human cell lines. J. Natl. Cancer Inst., 2(13):1113~1118, 1990.
 52. Born, G.V.R. and Cross, M.J. : The aggregation of blood platelets. J. physiol., 168:178-195, 1968.
 53. Kimura, Y., Tani, T., and Watanabe, K. : Effect of cilostazol on platelet aggregation and

- experimental thrombosis. *Arzneim. Forsch./Drug Res.*, 35(II):1144-1149, 1985.
54. Schubert, J., Brill, W.A. : Antagonism of experimental cyanide toxicity in relation to the in vivo activity of cytochrome oxidase. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 162(2):352-359, 1968.
55. Nagasawa, H. and Kogure, K. : Correlation between cerebral blood flow and histologic changes in a new rat model of middle cerebral artery occlusion. *Stroke*, 20:1037-1043, 1989.
56. Benderson, J.B., Pitts, L.H., Tsuji, M., Nishimura, M.C., Davis, R.L. and Bartkowski, H. : Rat middle cerebral artery occlusion ; Evaluation of the model and development of a neurologic examination. *Stroke*, 17:472-476, 1986.
57. Hatanaka, H. : Nerve growth factor-mediated stimulation of tyrosine hydroxylase activity in a clonal rat pheochromocytoma cell line. *Brain Research*, p.222, pp.225-233, 1981.
58. 이복수: Regulation of nitric oxide synthase gene expression by cytokines in murine macrophages, 충남대학교대학원, 1994.
59. 大韓醫學協會 分科學會協議會 : 高血壓, 서울, 麗文閣, pp.1-22, 37-39, 52-62, 103-111, 264-269, 1986.
60. 醫學教育研修院 : 藥物療法, 서울, 서울大學校出版部, pp.135-152, 1988.
61. 金辰圭 : 고지혈증과 동맥경화의 발생기전, 임상약학, 9(11):51-58, 1991.
62. 남선우 외 : 고혈압 환자에서 발생한 뇌졸중 유형관련요인에 관한 연구, 대한신경과학회지, 13(2):171-176, 1995.
63. 李三悅 : 臨床病理解釋法, 서울, 연세대학교출판부, p.35, pp.144-45, 49-54, 116-117, 128-137, 1991.
64. 高文社編輯部 : 臨床檢査法提要, 서울, 高文社, p.31, 312, pp.429-450, p.813, 1984.
65. 명호진 외 : 最近 國內 腦卒中의 力學的 動向에 對한 研究, 大韓神經外科學會誌, 7:179, 1989.
66. 송일한 외 : 우리나라 腦卒中의 最近 10年間 變化樣相에 對한 研究, 大韓內科學會誌, 43(5):637-644, 1992.
67. 조헌일 외 : 腦血栓症의 血漿 遊離脂肪酸 變動 및 耐糖能에 關한 研究, 大韓內科學會誌, 29(1):80-88, 1985.
68. 金永安 : 牛黃이 白鼠의 腦損傷에 미치는 影向, 大田大學校大學院, 1994.
69. 安鐸源 : 人體 慢性骨髓性白血病細胞(K562)에 미치는 牛黃과 各 抗癌劑의 併用效果, 大田大學校大學院, 1993.
70. 殷載淳 외 : 암세포주에 대한 우황 50% MeOH엑스와 항암제의 병용효과, 全州又石大學校 論文集(自然科學篇), 1994.
71. Havel, R.J. : Role of triglyceride-rich lipoproteins in progression of atherosclerosis. *Circulation*, 81:694-696, 1990.
72. Predo-Botet, J., Senti, M., Nogues, X., Roquer, J., D'Olinaberriague, J., Olive, J. : Lipoprotein and apolipoprotein profile in men with ischemic stroke. *Stroke*, 23:1556-1562, 1992.
73. 김시영 외 : 뇌졸중과 HDL subfraction 에 관한 연구, 대한내과학잡지, 28(8):790-794, 1983.
74. Siesjo, B.K. : Acidosis and ischemic brain damage. *Neurochem. Pathol.*, 9:31-88, 1988.
75. 이근후 외 : 최신임상정신의학, 서울, 하나의 학사, pp.138-139, 1988.
76. 대한신경외과학회 : 신경외과학, 서울, 중앙문화사, p.304, 1992.
77. Gresele, P., Zoja, C., et al. : Dipyridamole inhibits platelet aggregation in whole blood, *Thrombo Hemostasis*, 50(4):852-856, 1983.
78. Plum, F. : The clinical problem ; how much anoxia-ischemia damages the brain? *Arch Neurol.*, 29:359-360, 1973.
79. Astrup, J., Sjesio, B.K., Symon, L. : Thresholds in cerebral ischemia-the ischemic penumbra. *Stroke*, 12:723-725, 1981.

80. Thomas, M., Devlin. : Textbook of Biochemistry with clinical correlations. WILEY MEDICAL PUBLICATION, pp. 311-318, 1982.
81. 後藤和宏 외 : TJ-8007(ツムラ續命湯)의藥理學的研究, 低酸素性腦障害保護作用, 日藥理誌, 89:355-363, 1987.
82. Vincent, J., Collins. : Physiologic and Pharmacologic Bases of Anesthesia. Williams & Wilkins, pp.479-491, 1996.
83. American College of Emergency Physicians ; Emergency medicine, McGraw-Hill, pp.1014-1018, 1996.
84. Fallon, J.T. : Simplified method for histochemical demonstration of experimental myocardial infarct. Circulation, 60(supple 2) :11-42, 1979.
85. Bose, L.B., Jewell, L.O., Berry, R. : A reproducible experimental model of focal cerebral ischemia in the cat. Brain Res., 311 :385-391, 1984.
86. Han D., Zervas NT., Geyer RP., et al. : Can perflurochemicals reduce cerebral ischemia? In Reivich M. Hurting HI (eds): Cerebrovascular disease. Raven Press, New York, pp. 409- 419, 1983.
87. Nachlas, M.M., Tson, K.C., Souza, E.D., et al. : Cytochemical demonstration of succinic dehydrogenase by the use of a new p-nitrophenyl substituted ditetrazole. J. Histochem. Cytochem., 5:420-436, 1963.
88. Fine, G., Morales, A., Scherpella, J. : Experimental myocardial infarction. Arch. Pathol., 82:4-8, 1966.
89. 김현집 : 국소 뇌경색 급성기에서의 재관류에 관한 실험적 연구, 서울대학교, 1990.
90. 박세혁 외 : 실험적 뇌경색후 신경학적 및 병리학적 소견에 대한 nimodipine의 효과, 대한신경과학회지, 19:5-13, 1990.
91. Garcia, J.H., Kamijyo, Y. : Cerebral infarction. Evolution of histopathological changes after occlusion of a middle cerebral artery in primates. J. Neuropathol. Exp. Neurol., 33:408-421, 1974.
92. 박춘근 외 : 실험적 중대뇌동맥 폐쇄에 의한 자연성 허혈성 뇌경색, 제1부:뇌경색의 시간경과에 따른 변화, 대한신경외과학회지, 18:505-514, 1989.
93. George, G., GLENNER, Caine W. WONG. : Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. Biochem. Biophys. Res. Commun., 120(3):885-890, 1984.
94. Kang, J., Lemaire, H.-G., Unterbeck, A., Salbaum, M.N., Masters, C.L., Grzeschik, K.-H., Multhaup, G., Beyreuther, K., and Mueller-Hill, B. : The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell surface receptor. Nature, 325:733-736, 1987.
95. Selkoe, D. J. : Alzheimer's disease ; a central role for amyloid. J. Neuropathol. Exp. Neurol., 53:438-447, 1994.
96. Busciglio, J., Lorenzo, A., and Yankner, B.A. : Methodological variables in the assessment of beta amyloid neurotoxicity. Neurobiol. Aging, 13:609-612, 1992.
97. Mattson, M.P., Tomaselli, K.J., and Rydel, R.E. : Calcium- destabilizing and neurodegenerative effects of aggregated beta-amyloid peptide are attenuated by basic FGF. Srain Res., 621:35-49, 1993.
98. Frautschy, S.A., Baird, A., and Cole, G.M. : Effects of injected Alzheimer beta-amyloid cores in rat brain. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 88:8362-8366, 1991.
99. Kowall, N.W., Beal, M.F. Busciglio, J., Duffy, L.K., and Yankner, B.A. : An in vivo model for the neurodegenerative effects of beta amyloid and protection by substance P. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 88:7247-7251, 1991.
100. Greene, L.A., and Tisvohler, A.S. : Establishment of a noradrener- gic clonal line of

rat pheochromocytoma cells which respond to nerve growth factor. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 73:2424-2428, 1976.

101. Pfreundschuh, M., Shiku, H., Takahashi, T., Ueda, R., Ransohoff, J., Oettgen, H.F., and Old, L.J. : Serological analysis of cell surface antigens of malignant human brain tumor. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 75:5122-5126, 1978.

102. Beckman, J. S. : Peroxynitrite versus hydroxy radical; the role of nitric oxide in superoxide-dependent cerebral injury. Ann. N. Y. Acad. Sci., 738:69-75, 1994

103. Ivan Roitt, Jonathan Brostoff, David Male. : Immunology, pp. 8-10, 1992.

104. Abe, K., Yuki, S., and Kogure, K. : Strong attenuation of ischemic and postischemic brain edema in rats by a novel free radical scavenger, Stroke, 19:480-485, 1988.