

# 石菖蒲가 腦虛血을 誘發시킨 白鼠에서의 腦神經保護效果

강승준, 금현수, 전연이, 이은주, 박치상, 박창국, 허진화\*, 양재하\*, 조정숙\*\*

경산대학교 한의과대학 심계내과학교실, 경산대학교 한의과대학 약리학교실\*, 동국대학교 의과대학 약리학교실\*\*

## The neuroprotective effect of *Acori graminei rhizoma* extract against cerebral ischemia in rats

Seoung-Jun Kang, Hyeon-Su Keum, Yeon-Yi Jeon, Eun-Ju Lee, Chi-Sang Park  
Chang-Gook Park, Jin-Hwa Heo\*, Chae-Ha Yang\*, Jung-sook Cho\*\*

Department of Circulatory Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Kyungsan University  
Department of Pharmacology, College of Oriental Medicine, Kyungsan University\*  
Department of Pharmacology, College of Medicine, Dongguk University\*\*

**Object** : *Acori graminei rhizoma*(AGR) extract is clinically used to treat the cerebral ischemia in Korea. The present study was undertaken to study the neuroprotective effect of AGR extract in middle cerebral artery occlusion(MCAO) rats.

**Methods** : Changes of extracellular levels of glutamate, aspartate, GABA, glycine, taurine, tyrosine, alanine in striatum were collected at 20 minutes interval by in vivo microdialysis and then analyzed by HPLC(high performance liquid chromatography) in rats subjected to permanent focal cerebral ischemia induced by 2 hours of MCAO. AGR extract was orally administrated before MCAO. Different animals were used for measurement of cerebral infarction volume induced by 24 hours of MCAO with TTC staining and image analysis.

**Result** : The infarction volume was decreased and focal cerebral ischemia - induced increase of extracellular glutamate, aspartate, and tyrosine were inhibited after the treatment of AGR extract. On the other hand, the increase of glycine and alanine not but GABA and taurine were enhanced after the treatment of AGR extract.

**Conclusion** : These results suggest that AGR extract can play a role in protecting against cerebral ischemia by regulating extracellular levels of excitatory and inhibitory amino acid neurotransmitters.

**Key Word** : *Acori graminei rhizoma*, cerebral ischemia, amino acid, neurotransmitter

## 1. 緒 論

腦卒中이란 腦血管에서 생기는 질환으로, 혈행장애로 인해 지속적인 산소 및 포도당 공급이 필요한 국소 뇌조직에 대사이상을 일으켜, 그에 따른 국소 뇌조직의 기능장애가 임상증상으로 나타나는 질환이다.<sup>1</sup>

혈행장애로 인해 뇌혈류가 줄어들면, 산소를 공급받지 못한 신경세포는 흥분성 신경전달물질인 glutamate를 방출하여 세포내 Ca<sup>2+</sup>의 유입을 증가시키며,

많은 세포내 효소들이 활성화되어 세포 괴사를 일으켜 뇌신경세포는 비가역성 손상을 입게 된다.<sup>2</sup> 그러나 腦虛血 周邊(penumbra region)의 세포는 빠른 시간내에 뇌혈류가 다시 공급되면 뇌기능을 회복할 수 있다. 때문에 현재 뇌신경세포의 손상을 최소화하기 위하여 여러 종류의 glutamate 受容體 遮斷劑 및 Ca<sup>2+</sup>拮抗劑가 개발연구중이다.<sup>1,3</sup>

腦卒中은 意識障礙, 運動障礙, 感覺障礙, 言語障礙 등의 증상적 특징으로 보아 중풍의 범주에 속하는 데, 초기에는

開竅, 豁痰, 順氣, 活血, 疏風 등의 치법이 많이 사용되고 있다.<sup>4,5</sup>

뇌허혈과 관련된 신경전달물질에 대한 실험적 연구로는 차<sup>6</sup>이 牛黃清心元이 腦虛血을 誘發시킨 白鼠의 神經傳達物質에 미치는 影響, 芮<sup>7</sup>가 星香正氣散이 腦虛血을 誘發시킨 白鼠의 神經傳達物質에 미치는 影響 등의 보고가 있었다.

한편 石菖蒲(Rhizoma *Acori Gramine*)는 《神農本草經》<sup>8</sup>에 최초로 수록된 약물로서 性은 溫無毒하고 味는 辛苦하다. 歸經은 心, 胃 二經이며, 開竅豁痰, 醒神益智, 化濕開胃 효능으로 神昏癡癎, 健忘耳聾, 噤口下痢, 脘痞不飢 등

접수: 2001년 9월 4일 채택: 2001년 10월 24일  
교신저자: 강승준 (대구시 수성구 상동 165 경산대학교 한의과대학 심계내과학교실, 전화: 051-770-2082, E-mail: speedwing@hanmail.net)

증을 치료하는데<sup>11</sup>, 특히 開竅醒神作用은 心氣를 宣透하여 痰을 去하고 神氣를 暢舒하여 心竅를 通利하여 腦機能을 活發하게하고 意識장애를 개선시키기 위해 많이 활용되고 있다.<sup>11,2</sup>

이에 저자는 석창포가 뇌허혈시 신경 전달물질에 미치는 영향을 조사하여 뇌 신경세포 괴사의 감소에 대한 효과를 알아보고자 白鼠에게 石菖蒲를 經口投與하고, 인위적으로 中大腦動脈 閉塞術을 시행하여 뇌허혈을 유발시킨 후, 微細透析法 및 HPLC를 利用하여 신경전달물질인 amino acid 계열의 함량변화 및 뇌경색부위 면적과 용적을 측정하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 實 驗

### 1. 동물 및 재료

#### 1) 동물

동물은 체중 240~260g의 Sprague-Dawley계 雄性 흰쥐(대한실험동물센터)를 사용하였고, 물과 고형사료(제일사료 Co., 대전)는 자유롭게 먹도록 하였으며, 사육실내의 온도는  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ , 습도는 50%로 유지하였고, 낮과 밤의 주기는 각각 12시간으로 하였다.

#### 2) 재료

약재는 石菖蒲(Acorus Gramineus SOLAND)의 根莖으로 경산대학교 부속대구한방병원 약재과에서 구입한 것을 엄선해서 사용하였다.

### 2. 방법

#### 1) 검액의 조제

석창포 300.0g을 round flask에 넣고 70% methanol을 가하여 24시간동안 방치하여 추출한 다음 여과하여 감압농축하여 methanol을 날려보낸다음 동결

건조하여 14.0g의 추출물을 얻었다.

#### 2) 검액투여

동물 8마리를 1개군으로 하여 대조군(control group), 실험군 A(sample A group), 실험군 B(sample B group)등의 3개군으로 나누었다. 검액의 투여는 MCAO수술전에 이루어졌으며, 실험군 A에는 석창포 검액을 체중 kg당 500mg씩, 실험군 B에는 석창포 검액을 체중 kg당 100mg씩 경구투여하였으며 대조군에는 0.9% 생리식염수를 체중 kg당 10ml씩 경구투여하였다.

#### 3) 微細透析法<sup>13</sup>

백서에 sodium pentobarbital(50mg/kg)을 복강주사하여 마취를 시킨 후 stereotaxic 수술대에 고정시켜 두피를 절개하였다. 현미경상으로 小泉門部位(lambda)와 賞頂部位(bregma)를 利用하여 線條體(striatum)의 좌표(coordinate) 위치(Ap +0.5, L 3.5, DV-4.5)에 microdialysis probe의 설치를 위해 guide cannula를 이용하였다.

상기의 stereotaxic 방법으로 수술을 마친 실험군 A와 실험군 B는 7일간의 회복기를 보낸 후 microdialysis system에 연결시켰다. Guide cannula에 미세투석법을 위한 microdialysis probe(CMA/11, shaft length:14mm, dimension:0.24×3mm, Sweden)를 삽입하였다.

Microdialysis injection pump(CMA/100, Sweden)를 이용하여 1.5μl/min의 유속으로 인공뇌척수액(CSF)을 probe에 관류하였으며, 인공뇌척수액은 NaCl 8.66g, KCl 0.224g, CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.206g, MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.163g의 500ml 용액과 NaHPO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 0.214g, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 0.0054g의 500ml 용액을 합하여 만들었다.

Bowl cage속의 백서가 자유로이 움직이는 상태에서 brain의 striatum내의 분석물질을 probe끝의 半透過性膜의 擴散原理에 依하여 세포외액을 취하였다. 뇌허혈 유발전에 20분간격으로 3회 미세투석액을 취하여 그 평균치를 baseline으로 하였으며, 뇌허혈 유발후 역시 20분간격으로 6회 미세투석액을 취하여 중대뇌동맥 폐색(middle cerebral artery occlusion, MCAO)전과 후의 미세투석액을 HPLC(High Performance Liquid Chromatography)를 이용하여 분석하였다.

4) 中大腦動脈閉塞(middlecerebral artery occlusion, MCAO)에 의한 백서의 뇌허혈 유발<sup>13-4</sup>

N<sub>2</sub>O(70%)/O<sub>2</sub>(30%)와 3% isoflurane을 혼합하여 백서에게 흡입 전신마취시킨 후, 경부를 절개하여 우측 총경동맥과 외경동맥을 절찰하였다. 15분동안 백서를 안정시킨 후, 외경동맥을 자르고 0.25mm직경의 nylon monofilament를 내경동맥쪽으로 약 17mm정도 밀어 넣어 중대뇌동맥을 폐색시켰다. 절개된 부위를 suture한 후, 마취에서 회복시켰고, microdialysis system에 연결하였다. 수술 및 마취 회복기간동안 온도조절장치를 이용하여 직장내 온도를 37℃로 유지하였다.

#### 5) HPLC를 이용한 생화학적 분석

##### (1) Amino acids 定量法<sup>15-6</sup>

분석하고자 하는 amino acid계의 glutamate, aspartate, GABA(gamma-aminobutyric acid), glycine, taurine, tyrosine, alanine의 표준용액을 만들기 위해 각각의 시약(Sigma Co., USA)을 CSF에 용해시켜서 각각 10μM씩 채취하여 같은 용량으로 섞어서 각각 1.43μM의 외부 표준용액을 만들었다. 각각의

amino acid를 HPLC로 분석하기전 2분간 螢光誘導化 過程을 거쳤다. 형광유도체를 만들기 위해서는 OPA(O-phthaldehyde) 27mg을 1ml의 methanol에 용해시키고 5 $\mu$ l의  $\beta$ -mercaptan과 0.1M의 sodium tetraborate 9ml을 혼합하여 HCl과 NaOH로 pH 9.3으로 맞추고, 차광하여 서늘한 장소에 보관해 두었다.

HPLC로 정량분석하기 24시간 전에 준비하여 놓은 OPA/ $\beta$ ME용액 1ml와 0.1M sodium tetraborate 3ml을 섞어서 working solution을 만들었다. 정량하기 위한 amino acids 15 $\mu$ l와 working solution 5 $\mu$ l를 혼합한 후, 15 $\mu$ l를 HPLC(Waters 474 Scanning Fluorescence Detector, Waters Model 510 Pump, Waters Model U6K, USA)를 이용하여 분석하였다. Mobile phase의 조성은 0.1M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 700ml와 methanol 30ml를 혼합하여 H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 용액으로 pH 6.0으로 맞추었다. Waters Spherisorb Column(4.6 $\times$ 150mm, 5 $\mu$ m, USA)을 사용하여 이동상을 1.2ml/min 유속으로 흘렸다. Pump의 압력조절과 retention time 및 이상적인 분리를 위해 온도조절기(Waters TCM, USA)를 이용하여 column의 온도를 30 $^{\circ}$ C로 맞추어서 분석하였다.

6) 조직검사

(1) Probe 위치확인을 위한 조직검사<sup>17)</sup>

Microdialysis 분석을 마친 백서를 sodium pentobarbital 80mg/kg으로 복강마취하여 수술대에 고정하여 흉곽을 열고 하행 대동맥을 결찰하였다. 심첨부위에 穿刺하여 0.9% saline 100ml를 흘려서 혈액을 씻어낸 뒤, 800ml 고정액을 충분히 관류한 후 두개골로부터 뇌를 분리하여 다시 고정액에 17시간동안

저장하여 postfixation하였다. 고정액은 H<sub>2</sub>O 1800ml, 37% formalin 200ml, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 80mg, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 200mg을 혼합하여 만들었으며, 0.9% saline은 NaCl 90mg을 H<sub>2</sub>O 1000ml에 용해시켜 만들었다.

Vibratome(Campden Instruments 752M vibroslice tissue cutter, England)을 이용하여 100 $\mu$ m씩, 전정부위(bregma) 1mm부터 bregma -0.5mm까지 coronal section하여 뇌절편을 만들었다. 조직염색을 위해 100% xylene, 100% ethanol, 95% ethanol, 70% ethanol, 25% ethanol, 증류수, differentiation solution(mixture of 70% ethanol 225ml, ether 25ml, glacial acetic acid 2drops), cresyl violet stain solution(mixture of cresyl violet 20mg, 1M acetic acid 185ml, 1M sodium acetate 15ml, H<sub>2</sub>O 600ml)을 준비하였다. 완전히 건조된 뇌조직을 염색하기 전에 100% xylene(1hr), 100% ethanol(10mins), 95% ethanol(10mins),

70% ethanol(10mins), 증류수(1dip)를 순서로 하여 脫脂脫水の 과정을 거쳤다.

염색을 위해 cresyl violet stain solution(25mins), 증류수(10dips), 25% ethanol(10mins), differentiation solution(12mins), 95% ethanol(10min), 100% ethanol(10mins), xylene(10mins)을 순서대로 거친 후, permount를 이용하여 slide glass를 완성하고 Probe 위치를 Paxinos의 atlas와 비교확인하여 얻었다.

(2) 腦梗塞 面積 및 容積 測定

중풍유발 24시간 후 대조군과 실험군의 대뇌를 2mm간격으로 잘라 200ml의 saline에 TTC(2, 3, 5 - triphenyltetrazolium chloride) 4g을 녹여 미리 제조해둔 2% TTC용액에 담겨 37 $^{\circ}$ C water bath에서 30분간 염색한다. 염색된 절편은 4% formaline용액으로 조직을 고정시켰다. 고정된 조직의 뇌경색부위 면적 및 용적은 Image analyzer system (OPTIMAS, Edmonds, WA, USA)을 이용

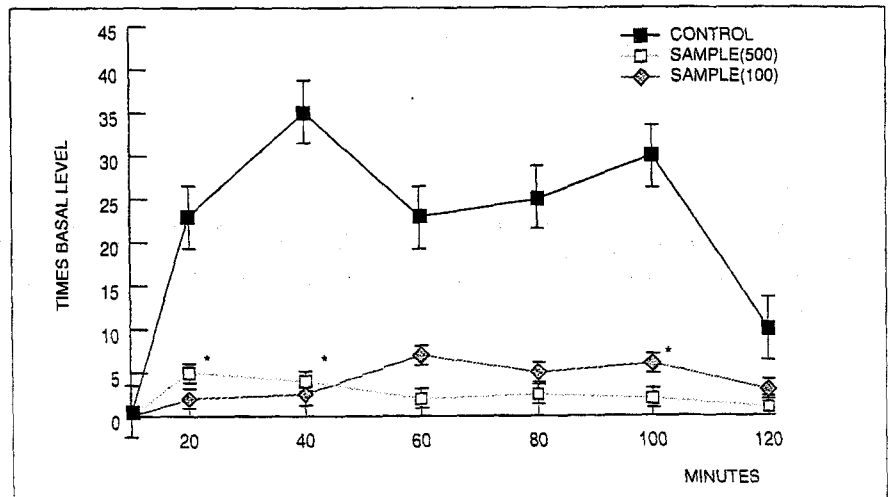


Fig. 1. Effect of Acori graminei rhizoma (AGR) extract on levels of glutamate in microdialysates from right striatum of eight rats subjected to MCAO expressed as times basal level. Microdialysates were collected in three 20 min fractions(basal level) before and six after MCAO and analyzed by HPLC. AGR extract(100mg/kg, 500mg/kg, P.O. respectively) were administered before MCAO.

\*P<0.05 compared with control group administered with saline.

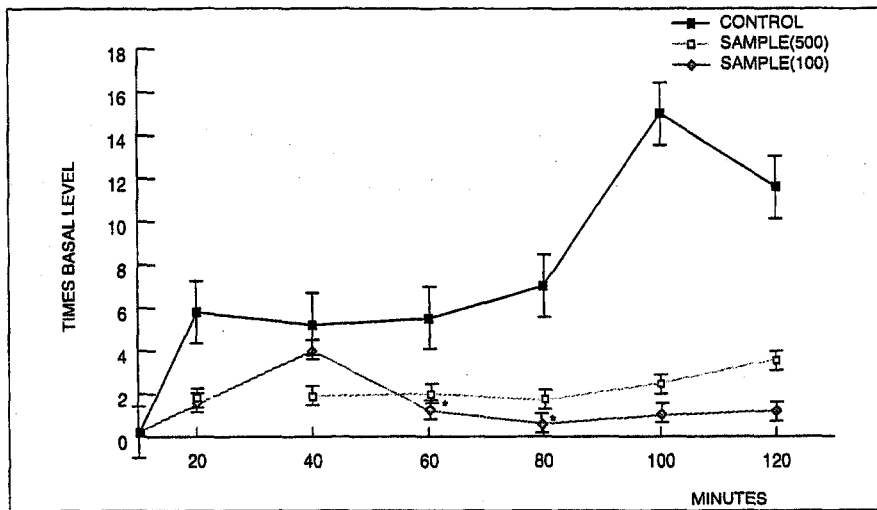


Fig. 2. Effect of *Acori graminei rhizoma*(AGR) extract on levels of Aspartate in microdialysates from right striatum of eight rats subjected to MCAO expressed as times basal level. Microdialysates were collected in three 20 min fractions(basal level) before and six after MCAO and analyzed by HPLC. AGR extract(100mg/kg, 500mg/kg, P.O. respectively) were administered before MCAO.  
\*P<0.05 compared with control group administered with saline.

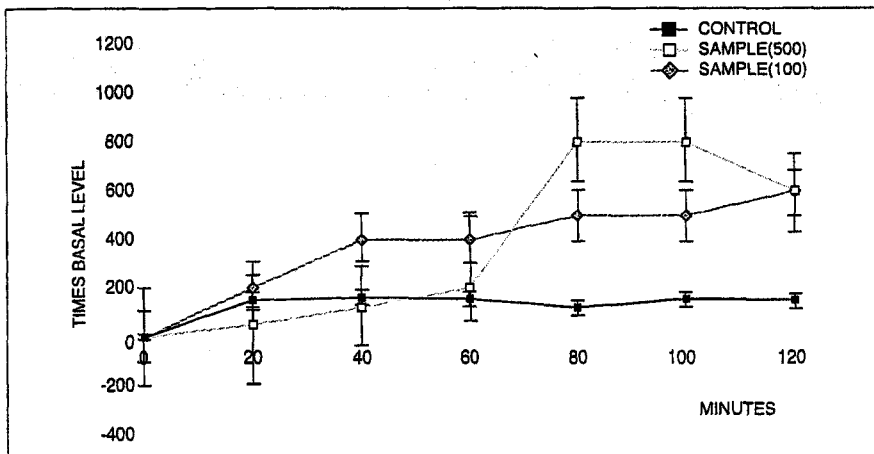


Fig. 3. Effect of *Acori graminei rhizoma*(AGR) extract on levels of GABA in microdialysates from right striatum of eight rats subjected to MCAO expressed as times basal level. Microdialysates were collected in three 20 min fractions(basal level) before and six after MCAO and analyzed by HPLC. AGR extract(100mg/kg, 500mg/kg, P.O. respectively) were administered before MCAO.  
\*P<0.05 compared with control group administered with saline.

하여 측정하였다.

### 3. 통계처리

각 결과의 통계적 유의성은 EXCEL 2000 분석도구를 이용하여 Student's t-test로 검증하였으며, P<0.05수준

인 것을 유의하다고 인정하였다.

MCAO전의 glutamate, aspartate, GABA, glycine, taurine, tyrosine, alanine의 기준함량을 1.00으로 하여 상대적 비교값을 산출표현하였다.

## III. 實驗成績

### 1. Amino acid계열의 함량변화

#### 1) Glutamate의 함량변화

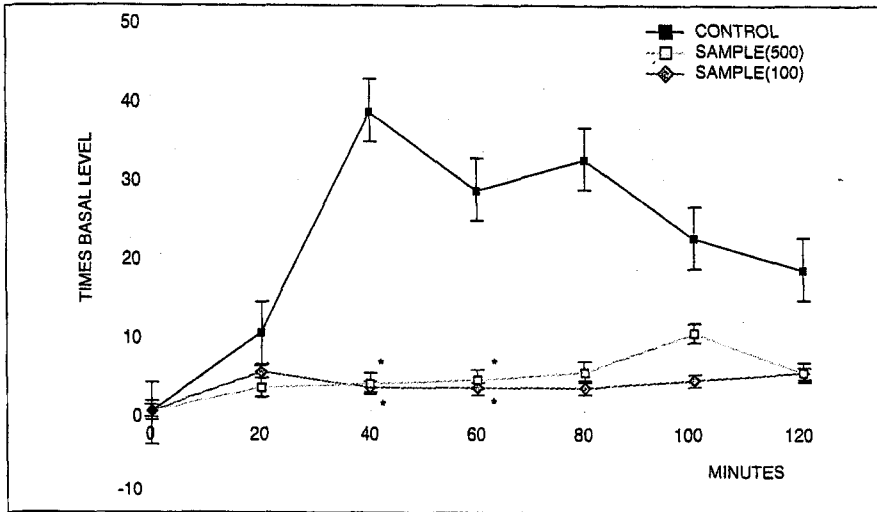
대조군에서 MCAO전 glutamate의 함량은  $2.08 \pm 1.14(1)\mu\text{M}$ 이었는데, MCAO후 20분, 40분, 60분, 80분, 100분, 120분에 각각  $12.99 \pm 4.66(23.89 \pm 3.20)$ ,  $14.51 \pm 6.05(34.59 \pm 10.50)$ ,  $8.61 \pm 3.28(23.19 \pm 8.10)$ ,  $7.37 \pm 2.88(24.99 \pm 14.20)$ ,  $6.94 \pm 2.66(30.12 \pm 10.40)$ ,  $6.20 \pm 2.48(11.78 \pm 6.52)$ 이었다.

실험군 A에서 MCAO전 glutamate의 함량은  $5.08 \pm 2.20(1)\mu\text{M}$ 이었는데, MCAO후 20분, 40분, 60분, 80분, 100분, 120분에는  $5.85 \pm 2.70(2.63 \pm 1.44)$ ,  $5.05 \pm 1.52(3.07 \pm 2.45)$ ,  $11.77 \pm 6.22(7.74 \pm 5.29)$ ,  $6.20 \pm 2.07(4.43 \pm 3.05)$ ,  $9.61 \pm 5.60(5.99 \pm 2.43)$ ,  $3.26 \pm 0.50(2.28 \pm 2.35)$ 로 대조군에 비해 감소하였으나 100분에서만 유의성 ( $p<0.05$ )이 나타났다.

실험군 B에서 MCAO전 glutamate의 함량은  $7.86 \pm 4.38(1)\mu\text{M}$ 이었는데, 20분, 40분, 60분, 80분, 100분, 120분에는  $31.28 \pm 13.86(5.53 \pm 2.10)$ ,  $32.10 \pm 18.49(5.00 \pm 2.09)$ ,  $10.02 \pm 5.04(1.50 \pm 1.28)$ ,  $10.14 \pm 4.68(1.93 \pm 1.42)$ ,  $14.22 \pm 9.08(1.71 \pm 1.18)$ ,  $3.99 \pm 1.16(1.49 \pm 1.06)$ 로 대조군에 비해 감소하였으나 20분, 40분에서만 유의성 ( $p<0.01$ ,  $p<0.05$ )이 나타났다(Fig. 1).

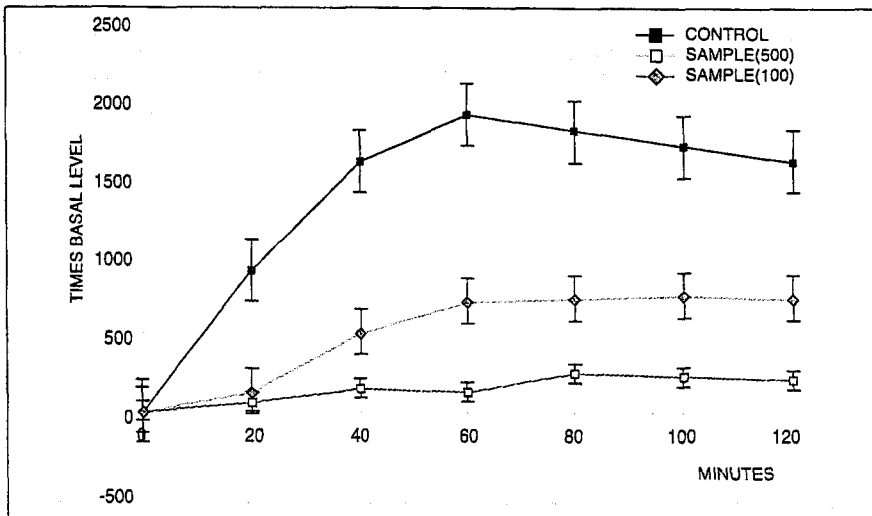
#### 2) Aspartate의 함량변화

대조군에서 MCAO전 aspartate의 함량은  $0.86 \pm 0.15(1)\mu\text{M}$ 이었는데, MCAO후 20분, 40분, 60분, 80분, 100분, 120분에 각각  $3.94 \pm 0.94(5.67$



**Fig. 4.** Effect of *Acori graminei* rhizoma(AGR) extract on levels of Glycine in microdialysates from right striatum of eight rats subjected to MCAO expressed as times basal level. Microdialysates were collected in three 20 min fractions(basal level) before and six after MCAO and analyzed by HPLC. AGR extract(100mg/kg, 500mg/kg, P.O. respectively) were administered before MCAO.

\*P<0.05 compared with control group administered with saline.



**Fig. 5.** Effect of *Acori graminei* rhizoma(AGR) extract on levels of Taurine in microdialysates from right striatum of eight rats subjected to MCAO expressed as times basal level. Microdialysates were collected in three 20 min fractions(basal level) before and six after MCAO and analyzed by HPLC. AGR extract(100mg/kg, 500mg/kg, P.O. respectively) were administered before MCAO.

\*P<0.05 compared with control group administered with saline.

±2.21), 3.69±1.32(4.72±1.91), 3.87±1.43(5.21±1.71), 2.10±0.39(6.72±1.47), 1.88±0.36(14.61±10.70), 1.49±0.26(10.80±8.41)이었다.

실험군 A에서 MCAO전 aspartate의

함량은 5.26±4.24(1)μM이었는데, MCAO후 20분, 40분, 60분, 80분, 100분, 120분에는 14.13±12.13(1.80±0.72), 9.19±6.57(1.98±1.11), 6.11±2.87(2.30±1.34), 5.78±3.61(1.55±

0.78), 6.52±3.13(2.79±1.83), 5.93±3.82(4.02±3.46)로 대조군에 비해 감소하였으나 유의성은 나타나지 않았다.

실험군 B에서 MCAO전 aspartate의 함량은 3.35±1.06(1)μM이었는데, 20분, 40분, 60분, 80분, 100분, 120분에는 5.22±1.36(1.46±0.21), 9.35±2.60(4.23±3.21), 8.02±4.56(1.11±0.43), 9.69±7.18(0.78±0.32), 10.02±2.94(1.26±0.92), 13.11±7.04(1.83±0.87)로 대조군에 비해 감소하였으나 60분, 80분에서만 유의성(p<0.05)이 나타났다(Fig. 2).

### 3) GABA의 함량변화

대조군에서 MCAO전 GABA의 함량은 0.98±0.49(1)μM이었는데, MCAO후 20분, 40분, 60분, 80분, 100분, 120분에 각각 0.42±0.10(6.02±4.54), 0.38±0.10(4.33±3.28), 0.46±0.11(6.66±5.08), 0.45±0.09(6.04±4.39), 0.41±0.09(5.30±3.81), 0.41±0.08(5.05±3.74)이었다.

실험군 A에서 MCAO전 GABA의 함량은 9.50±5.86(1)μM이었는데, MCAO후 20분, 40분, 60분, 80분, 100분, 120분에는 217.88±80.61(35.95±23.07), 1715.22±80.61(124.13±43.11), 2107.23±1783.36(259.61±100.56), 1000.31±540.18(782.30±669.16), 1736.02±1318.33(787.13±631.00), 1074.58±899.92(593.32±505.70)로 대조군에 비해 증가하였으나 유의성은 나타나지 않았다.

실험군 B에서 MCAO전 GABA의 함량은 5.24±3.14(1)μM이었는데, MCAO후 20분, 40분, 60분, 80분, 100분, 120분에는 143.03±56.33(208.01±110.71), 195.74±71.70(411.89±322.71), 210.31±71.58(399.14±

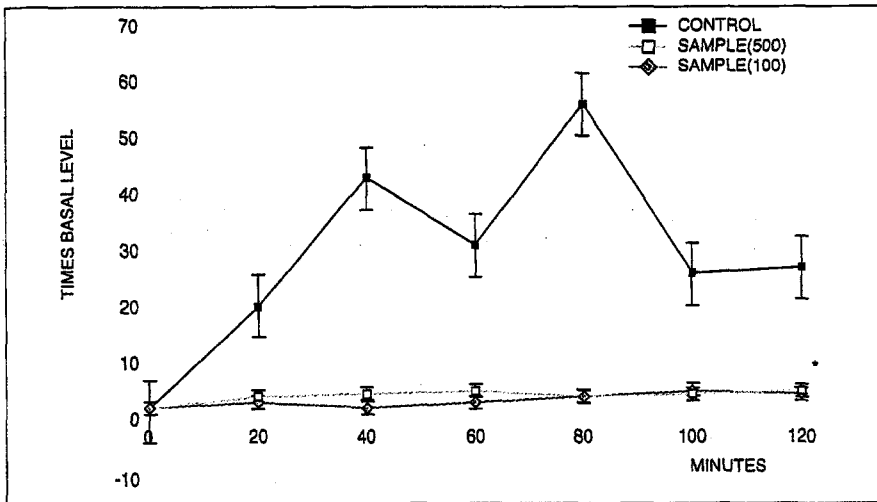


Fig. 6. Effect of *Acori graminei* rhizoma(AGR) extract on levels of Tyrosine in microdialysates from right striatum of eight rats subjected to MCAO expressed as times basal level. Microdialysates were collected in three 20 min fractions(basal level) before and six after MCAO and analyzed by HPLC. AGR extract(100mg/kg, 500mg/kg, P.O. respectively) were administered before MCAO.  
\*P<0.05 compared with control group administered with saline.

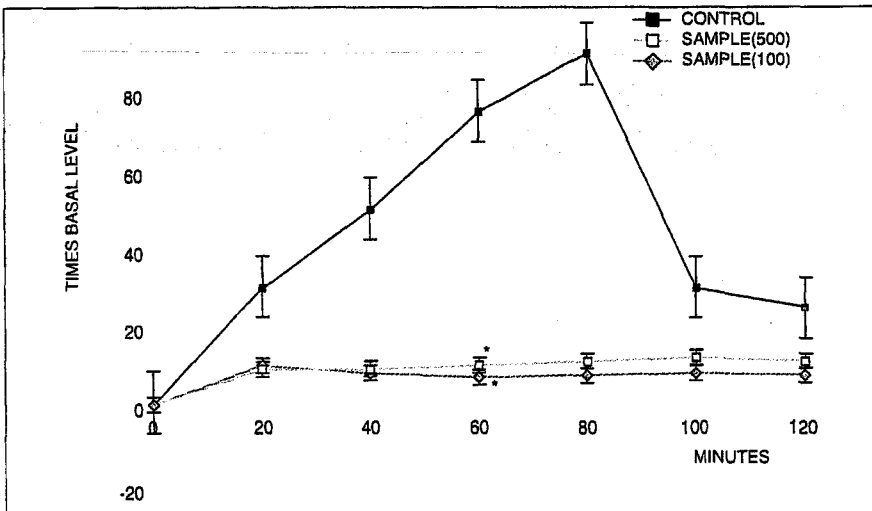


Fig. 7. Effect of *Acori graminei* rhizoma(AGR) extract on levels of Alanine in microdialysates from right striatum of eight rats subjected to MCAO expressed as times basal level. Microdialysates were collected in three 20 min fractions(basal level) before and six after MCAO and analyzed by HPLC. AGR extract(100mg/kg, 500mg/kg, P.O. respectively) were administered before MCAO.  
\*P<0.05 compared with control group administered with saline.

308.40), 308.96±110.47(482.19±307.55), 355.87±145.10(489.01±319.68), 222.79±77.76(559.83±429.55)로 대조군에 비해 증가하였으나

유의성은 나타나지 않았다(Fig. 3).

4) Glycine의 함량변화

대조군에서 MCAO전 glycine의 함

량은 6.02±2.65(1)μM이었는데, MCAO후 20분, 40분, 60분, 80분, 100분, 120분에 각각 28.82±7.66(10.73±4.10), 31.76±9.12(37.70±11.79), 23.69±6.66(27.22±12.30), 20.50±6.04(32.54±8.44), 20.87±2.66(22.34±7.10), 19.04±6.82(15.99±8.00)이었다.

실험군 A에서 MCAO전 glycine의 함량은 20.66±15.50(1)μM이었는데, MCAO후 20분, 40분, 60분, 80분, 100분, 120분에는 34.71±5.02(3.27±1.15), 55.99±6.40(3.75±0.86), 56.21±10.35(4.21±1.02), 56.21±11.61(7.18±2.25), 46.54±11.61(10.15±3.83), 52.56±11.45(0.53±2.53)로 대조군에 비해 감소하였으나 40분, 60분에서만 유의성(p<0.05)이 나타났다.

실험군 B에서 MCAO전 glycine의 함량은 6.34±4.22(1)μM이었는데, MCAO후 20분, 40분, 60분, 80분, 100분, 120분에는 9.66±2.44(6.74±3.03), 12.72±6.21(2.68±0.83), 8.62±6.54(2.68±0.65), 8.62±3.63(3.18±1.69), 9.80±3.55(3.83±1.55), 10.97±3.90(5.48±1.89)로 대조군에 비해 감소하였으나 40분, 60분에서만 유의성(p<0.05)이 나타났다.(Fig. 4).

5) Taurine의 함량변화

대조군에서 MCAO전 taurine의 함량은 1.35±1.22(1)μM이었는데, MCAO후 20분, 40분, 60분, 80분, 100분, 120분에 각각 154.11±23.50(952.86±346.32), 786.01±575.89(1665.39±454.62), 259.28±35.75(1925.83±584.07), 296.82±82.72(1832.78±575.02), 284.13±134.53(1068.30±339.80), 151.38±

**Table 1.** Effect of *acori graminei rhizoma*(AGR) extract on the infarcted dimension in rat brains after MCAO

Experimental Group	The infarcted area(mm <sup>2</sup> )	The infarcted volume(mm <sup>3</sup> )
Control	45.83±3.36 <sup>a)</sup>	91.66±6.70
AGR(500mg/kg)	30.20±5.17*	60.39±10.33*
AGR(100mg/kg)	32.47±3.50*	64.93±7.00*

Infarction dimensions were measured on TTC-stained sections in rats subjected to 24hours of MCAO and orally administered with AGR extract

a) : Values are the mean ± SEM of 5rats for each group

\* ; P<0.05, compared with control group

64.46(1621.32±89.48)이었다.

실험군 A에서 MCAO전 taurine의 함량은 12.65±3.70(1)μM이었는데, MCAO후 20분, 40분, 60분, 80분, 100분, 120분에는 228.34±44.29(115.81±19.04), 440.70±47.84(248.03±31.82), 396.74±68.38(223.51±35.45), 468.41±81.95(345.57±35.97), 518.35±86.18(343.40±39.70), 422.20±90.19(302.84±40.43)로 대조군에 비해 감소하였으나 유의성은 나타나지 않았다.

실험군 B에서 MCAO전 taurine의 함량은 14.44±5.82(1)μM이었는데, MCAO후 20분, 40분, 60분, 80분, 100분, 120분에는 296.03±100.29(186.62±31.42), 296.03±100.29(502.68±40.22), 362.76±58.86(708.94±34.23), 381.03±70.21(745.68±34.23), 397.08±79.68(771.88±30.06), 304.56±49.12(746.36±30.14)로 대조군에 비해 감소하였으나 유의성은 나타나지 않았다(Fig. 5).

6) Tyrosine의 함량변화

대조군에서 MCAO전 tyrosine의 함량은 1.23±0.42(1)μM이었는데, MCAO후 20분, 40분, 60분, 80분, 100분, 120분에 각각 7.23±2.19(19.11±8.03), 19.43±8.39(41.80±16.30), 13.78±4.89(31.16±11.50), 28.40±

13.68(51.99±15.60), 4.85±1.64(25.32±8.36), 12.98±7.92(26.10±16.50)이었다.

실험군 A에서 MCAO전 tyrosine의 함량은 1.44±0.80(1)μM이었는데, MCAO후 20분, 40분, 60분, 80분, 100분, 120분에는 4.26±2.44(2.81±1.80), 5.63±2.72(3.54±1.69), 6.62±3.85(2.49±0.89), 4.73±1.97(1.55±0.17), 5.74±2.66(2.31±0.82), 5.05±2.48(1.79±0.90)로 대조군에 비해 감소하였으나 80분에서만 유의성(p<0.05)이 나타났다.

실험군 B에서 MCAO전 tyrosine의 함량은 3.08±1.60(1)μM이었는데, MCAO후 20분, 40분, 60분, 80분, 100분, 120분에는 3.28±1.37(2.21±0.57), 3.54±1.74(2.00±0.54), 4.77±2.05(2.27±0.77), 7.18±2.41(2.37±0.78), 9.81±3.55(2.95±0.95), 6.71±2.08(2.35±0.47)로 대조군에 비해 감소하였으나 120분에서만 유의성(p<0.05)이 나타났다(Fig. 6).

7) Alanine의 함량변화

대조군에서 MCAO전 alanine의 함량은 2.79±1.05(1)μM이었는데, MCAO후 20분, 40분, 60분, 80분, 100분, 120분에 각각 45.52±14.87(31.53±9.50), 59.01±19.38(49.80±13.90), 36.04±12.59(76.60±45.20), 31.88±12.10(87.67±

19.20), 34.54±13.33(31.12±14.30), 25.70±12.24(26.10±13.90)이었다.

실험군 A에서 MCAO전 alanine의 함량은 3.03±1.42(1)μM이었는데, MCAO후 20분, 40분, 60분, 80분, 100분, 120분에는 17.73±8.05(7.51±2.69), 18.72±8.91(7.55±3.11), 18.72±8.74(7.82±3.08), 20.67±9.32(9.15±3.08), 22.63±8.47(10.32±3.22), 17.42±7.72(8.23±2.84)로 대조군에 비해 감소하였으나 60분에서만 유의성(p<0.05)이 나타났다.

실험군 B에서 MCAO전 alanine의 함량은 7.02±2.40(1)μM이었는데, MCAO후 20분, 40분, 60분, 80분, 100분, 120분에는 25.37±6.58(8.71±5.75), 34.58±10.75(6.70±3.19), 24.96±8.84(5.24±2.36), 24.99±8.66(5.61±2.98), 24.41±9.62(5.88±2.04), 20.64±6.70(6.57±1.49)로 대조군에 비해 감소하였으나 60분에서만 유의성(p<0.05)이 나타났다(Fig. 7).

2. 허혈성 뇌경색 부위의 면적 및 용적에 미치는 영향

대조군에서 뇌경색 면적은 45.83±3.36mm<sup>2</sup>이었고, 뇌경색 용적은 91.66±6.70mm<sup>3</sup>이었다.

실험군 A에서 뇌경색 면적은 30.20±5.17mm<sup>2</sup>, 뇌경색 용적은 60.39±10.33mm<sup>3</sup>로 대조군에 비해 유의성(P<0.05)이 있는 감소를 보였다.

실험군 B에서 뇌경색 면적은 32.47±3.50mm<sup>2</sup>, 뇌경색 용적은 64.93±7.00mm<sup>3</sup>로 대조군에 비해 유의성(P<0.05)이 있는 감소를 보였다.

#### IV. 考 察

中風은 突然昏倒, 不省人事, 半身不遂, 口眼喎斜, 言語不利 등의 증후를 일컬으며, 이는 증상의 유사성으로 볼 때 뇌의 신경손상에 의한 意識障礙, 運動障礙, 言語障礙, 感覺障礙 등을 나타내는 뇌혈관장애와 유사하다.<sup>4</sup>

중풍의 병인에 대하여 內經이후 隨唐 및 宋代까지는 內虛邪中の 外感을 병인으로 보았고, 金元時代에는 內風理論이 提唱되어 劉<sup>19</sup>는 心火暴盛의 因火說, 李<sup>20</sup>는 正氣自虛說, 朱<sup>21</sup>는 因濕痰說, 李<sup>22</sup>는 因瘀血說을 주장하였으며, 그 후 清代 葉<sup>23</sup>은 肝風內動, 王<sup>24</sup>은 氣虛瘀血을 병인이라 하였다.

중풍의 치법은 역대의가들은 병인에 따라 唐宋代 이전에는 疏風祛邪·扶助正氣法을 따랐으며, 金元時代 이후로는 疏風祛邪, 順氣豁痰, 清熱瀉火, 通利開竅, 平肝熄風, 活血通絡, 益氣補血 등으로 다양하게 주장하였는데, 대개 중풍의 발병기간과 선후완급 및 허실경중에 따라 각기 그 치법이 다양함을 알 수 있다. 중풍초기에는 주로 疏風, 順氣, 活血, 瀉火, 豁痰, 開竅 등의 치법이 많이 응용되고 있다.<sup>4</sup>

중풍 가운데에서 意識障礙를 수반하는 重症을 中臟腑라고 하는데, 허실에 따라 脫症과 閉症으로 구분된다. 그 중 폐증에 대한 치법으로 開竅法이 사용되는데, 開竅라 함은 心竅閉塞으로 인한 氣逆을 平順케 하여 神志를 清醒케 하는 것을 의미하고, 임상에서는 清熱開竅, 化痰開竅, 逐寒開竅 등으로 나누어서 치료하고 있다.<sup>25</sup>

石菖蒲는 《神農本草經》에 “味辛溫 主風寒濕痺 咳逆上氣 開心孔 補五臟 通九竅 明耳目 出聲音 久服輕身不忘不迷”라고 최초로 수록된 약물로서 性은 溫

無毒하고 味는 辛苦하다. 歸經은 心, 胃二經이며, 開竅豁痰, 醒神益智, 化濕開胃效能으로 神昏癱瘓, 健忘耳聾, 噤口下痢, 腕瘡不飢 등 증을 치료하는데<sup>26</sup>, 특히 開竅醒神作用은 心氣를 宣透하여 痰을 去하고 神氣를 暢舒하여 心竅를 通利하여 腦機能을 活發하게하고 意識障礙를 改善시키기위해 많이 활용되고 있다.<sup>11,2</sup>

腦는 中樞神經系의 一部로 生命現狀을 調節하고, 感覺 및 運動機能을 통합하고 思考 記憶 感情 言語 등의 高等機能을 총괄적으로 관장한다. 뇌신경계의 구조와 기능의 단위는 신경세포이며, 신경세포들은 전기화학적 신호에 의해서 서로 정보를 교환한다. 신경세포와 신경세포 사이를 시냅스라고 하며, 이 시냅스 말단에서 신경전달물질이 분비된다.<sup>27</sup>

정상인의 평균 뇌혈류량은 50ml/100gm/min인데, 뇌혈관의 폐쇄, 직경의 감소 등의 이유로 뇌혈류량이 10ml/100gm/min로 감소되면 세포막의 분극상태를 유지하는 ATPase의 활동이 소실되어 세포가 산화되고, 세포내로 Na<sup>+</sup>, H<sub>2</sub>O가 축적되어 세포부종이 생기고, K<sup>+</sup>이 세포밖으로 빠져나가며 Ca<sup>2+</sup>이 세포내로 들어오는 脫分極現象이 일어나게 되어 뇌신경세포가 비가역적으로 손상을 입게된다. 또한 흥분성 신경전달물질인 glutamate, aspartate가 방출되어 뇌신경세포를 흥분시켜 Na<sup>+</sup>과 Ca<sup>2+</sup>의 세포내유입을 도와 뇌신경세포의 손상을 가중시킨다.<sup>28</sup>

이와같이 혈류량 감소, Ca<sup>2+</sup>의 유입, 흥분성 신경전달물질의 증가로 인해 뇌신경세포의 괴사가 일어나는 기전이 밝혀져, 현재 허혈성 뇌혈관질환의 치료에 혈류회복, 세포내로의 Ca<sup>2+</sup>유입차단, 흥분성 신경전달물질의 방출저해 등이 용

용되고 있다.<sup>28</sup> 이중에서 흥분성 신경전달물질인 glutamate 수용체 차단제를 이용하고 있지만 아직까지 완전하게 세포내로 Ca<sup>2+</sup> 유입을 막는 약은 나오지 않았다.<sup>29,30</sup>

이에 중풍의 초기에 개규성신의 효능으로 의식장애를 개선시키기위해 많이 활용되는 석창포가 뇌신경세포의 손상을 감소시키는 데 효과가 있는지 알아보고자 하였다.

본 실험은 중대뇌동맥폐색 수술로 백서에게 뇌허혈을 유발시킨 후, striatum과 관련된 amino acid(glutamate, aspartate, GABA, glycine, taurine, tyrosine, alanine)계의 농도를 microdialysis 및 HPLC를 이용하여 정량 분석하였고, 각각 8마리씩 1개군을 실험 대상으로하여 MCAO전 1시간동안 20분간격으로 3차례 microdialysis를 통해 sample을 취하였으며, MCAO후 2시간동안 20분 간격으로 6차례 sample을 취하여 MCAO전후를 비교 분석하였다. 석창포의 효능을 MCAO수술 후 빠른 시간 내에 관찰하기 위해 석창포의 흡수시간을 고려하여 석창포를 먼저 경구투여하고 MCAO수술을 하였다.

Microdialysis 실험 후, 허혈부위를 조직학적으로 검증하기 위하여 뇌를 절단한 후, TTC용액으로 염색하여 조직검사를 시행하였으며, image analyzer system을 이용하여 백서의 뇌경색부위 면적 및 용적을 측정하였다.

허혈성 뇌질환이나 대사성 뇌질환에서 뇌의 손상에 주로 관여하는 뇌손상물질로 흥분성 신경전달물질을 들 수 있는데<sup>31</sup>, 대표적인 흥분성 신경전달물질은 glutamate와 aspartate이며, 이들은 cortex, caudate nucleus, hippocampus 부위에 가장 높은 농도로 존재하고 있



다.<sup>30</sup> Glutamate와 aspartate는 hypoxia나 ischemia 상태에서 release가 증가하고, reuptake는 감소하는데<sup>32</sup>, 뇌허혈시 glutamate와 aspartate가 증가함으로 인해 급성기의 세포 팽윤과 만성기의 신경 세포 분해 등으로 신경세포가 손상을 입는데, 특히 NMDA receptor는 glutamate에 의한 activation의 증가로 receptor에 의해 작동되는 calcium channel이 과도하게 열려 extracellular Ca<sup>2+</sup>이 세포내로 과도하게 유입되면 세포내 Ca<sup>2+</sup>증가에 의해 intracellular protease와 lipase의 활성화가 증가되고, free radical의 생산이 증가되어 만성기 신경세포 분해를 나타낸다.<sup>29</sup> 이러한 지연적인 반응에 의하여 과사가 완전히 나타나기까지는 24-72시간이 소요되는데, 이렇게 뇌허혈시 신경세포과사가 NMDA receptor에 대한 glutamate의 작용으로 일어난다는 것은 NMDA receptor의 antagonist에 의해 신경세포과사가 억제된다는 실험 보고로 증명된다.<sup>27</sup> 본 실험에서 뇌허혈이 유발된 후 glutamate의 함량을 관찰한 결과, 석창포를 투여한 실험군 A와 실험군 B는 대조군에 비해 모두 감소하였으나 실험군 A에서는 100분에서만 9.61±5.60(5.99±2.43)로 유의성(p<0.05)이 나타났고, 실험군 B에서는 20분, 40분에서 31.28±13.86(5.53±2.10), 32.10±18.49(5.00±2.09)로 유의성(p<0.01, p<0.05)이 나타났는데, 이는 석창포가 glutamate의 유리를 억제시키면서 NMDA receptor의 antagonist로 작용하기 때문이라고 생각된다.

Aspartate는 glutamate와 분포, 흡수, 방출, 신경생리학적 영향에 있어서 거의 유사하다.<sup>30,33</sup> 본 실험에서 뇌허혈이 유발된 후 aspartate의 함량을 관찰한 결

과, 석창포를 투여한 실험군 A와 실험군 B는 대조군에 비해 모두 감소하였으나 실험군 A에서는 유의성이 나타나지 않았고, 실험군 B에서는 60분, 80분에서 8.02±4.56(1.11±0.43), 9.69±7.18(0.78±0.32)로 유의성(p<0.05)이 나타났는데, 이는 석창포가 aspartate의 유리를 억제시키면서 NMDA receptor의 antagonist로 작용하기 때문이라고 생각된다.

GABA는 중추신경계의 대표적인 억제성 신경전달물질로서 striatum, globus pallidus, substantia nigra 등에 많이 분포되어 있다.<sup>30</sup> 뇌허혈시와 뇌허혈후 GABA는 과분극과 탈분극을 모두 일으키지만, 세포내로 Cl<sup>-</sup>의 막투과성을 증가(과분극)시켜 시냅스전과 후의 흥분성 신경전달물질인 glutamate와 aspartate의 release를 억제하고, NO(nitric oxide)를 차단하여 신경세포의 흥분성을 저하시켜 세포장해를 억제한다는 보고<sup>30,34</sup>가 있었다. 본 실험에서 뇌허혈이 유발된 후 GABA의 함량을 관찰한 결과, 석창포를 투여한 실험군 A와 실험군 B는 대조군에 비해 모두 증가하였으나 유의성이 나타나지 않았다. 그러므로 석창포가 뇌허혈 발생시 GABA의 release에는 큰 영향을 주지 않는 것으로 생각된다.

Glycine은 GABA와 함께 중추신경계에서 신경흥분을 억제하는 신경전달물질로 알려져 있으며<sup>30</sup>, NMDA receptor를 억제하는 antagonist의 역할로 뇌조직을 보호한다.<sup>35</sup> 본 실험에서 뇌허혈이 유발된 후 glycine의 함량을 관찰한 결과, 석창포를 투여한 실험군 A와 실험군 B는 대조군에 비해 모두 감소하였으나 실험군 A에서는 40분, 60분에서 55.99±6.40(3.75±0.86), 56.21±10.35(4.21±1.02)로 유의성

(p<0.05)이 나타났고, 실험군 B에서는 40분, 60분에서 12.72±6.21(2.68±0.83), 8.62±6.54(2.68±0.65)로 유의성(p<0.05)이 나타났는데, 이는 석창포가 NMDA receptor의 antagonist로서 glutamate와 aspartate의 release를 억제시켜 glycine의 과도한 activation이 필요하지 않게 되었기 때문이라고 생각된다.

Taurine은 amino sulfonic acid로 GABA와 함께 억제성 전달인자의 역할을 하지만 정확한 기전은 아직 잘 알려져 있지 않다.<sup>37</sup> 다만 뇌허혈시 세포부종이나 삼투경사의 균형이 파괴되었을 때 뇌혈류량 조절에 중요한 역할을 한다는 보고<sup>36</sup>와 허혈성 심부전시에 taurine이 Ca<sup>2+</sup> 유입을 감소시킨다는 보고<sup>37</sup> 그리고 뇌허혈시 흥분성 amino acid로 인해 Ca<sup>2+</sup>이온이 세포내로 많이 유입되어 세포장해를 일으키는 병리기전을 억제한다는 보고<sup>36</sup>가 있었다. 본 실험에서 뇌허혈이 유발된 후 taurine의 함량을 관찰한 결과, 석창포를 투여한 실험군 A와 실험군 B는 대조군에 비해 모두 감소하였으나 유의성이 나타나지 않았다. 그러므로 석창포가 뇌허혈 발생시 taurine의 release에는 큰 영향을 주지 않는 것으로 생각된다.

Tyrosine은 hippocampus 부위에 tyrosine phosphorylation으로 존재하고 있는데, 뇌허혈시 tyrosine phosphorylation이 phosphotyrosine으로 된다. 뇌의 일정 부위에 혈류를 일시적으로 차단하였다가 다시 재관류시키면 초기에는 특별한 이상이 나타나지 않다가 일정기간이 지나면서 phosphotyrosine이 증가하면서 NMDA receptor에 작용하여 해마부위에 지연성 신경세포과사가 일어난다는 보고를 통해 tyrosine은 흥분성 신경전달물질

로 작용함을 알 수 있다. 때문에 tyrosine phosphorylation의 활성화를 억제하면 해마의 CA4와 CA1의 신경조직괴사가 감소된다.<sup>38</sup> 본 실험에서 뇌허혈이 유발된 후 tyrosine의 함량을 관찰한 결과, 석창포를 투여한 실험군 A와 실험군 B는 대조군에 비해 모두 감소하였으나 실험군 A에서는 80분에서만  $4.73 \pm 1.97(1.55 \pm 0.17)$ 로 유의성( $p < 0.05$ )이 나타났고, 실험군 B에서는 120분에서만  $6.71 \pm 2.08(2.35 \pm 0.47)$ 로 유의성( $p < 0.05$ )이 나타났는데, 이는 석창포가 tyrosine phosphorylation의 활성화를 억제하여 신경세포손상을 감소시킬 수 있을 것으로 생각된다.

Alanine은 천연 amino acid로서, kynurenic acid 분해효소인 kynurenine hydroxylase의 억제제로 작용한다. Kynurenine은 tryptophan의 대사산물로서 동물의 요중에 나타나며, kynurenic acid의 전구물질이다.<sup>37</sup> 뇌허혈시 microdialysis probe를 통해 hippocampus와 parietal cortex부위에 alanine을 투여하면 투석물질중에 kynurenic acid 함량이 증가되어 glutamate receptor의 길항제로서 역할을 하고, kynurenine hydroxylase의 억제 약물을 투여했을 때 뇌신경조직의 손상이 억제되었다는 보고<sup>39</sup>를 통해 alanine은 억제성 신경전달물질로 작용함을 알 수 있다. 본 실험에서 뇌허혈이 유발된 후 alanine의 함량을 관찰한 결과, 석창포를 투여한 실험군 A와 실험군 B는 대조군에 비해 모두 감소하였으나 실험군 A에서는 60분에서만  $18.72 \pm 8.74(7.82 \pm 3.08)$ 로 유의성( $p < 0.05$ )이 나타났고, 실험군 B에서도 60분에서만  $24.96 \pm 8.84(5.24 \pm 2.36)$ 로 유의성( $p < 0.05$ )이 나타났는데 이는 석창포가 NMDA receptor의 antagonist로서

glutamate와 aspartate의 release를 억제시켜 alanine의 과도한 activation이 필요하지 않게 되었기 때문이라고 생각된다.

뇌허혈로 인해 경색이 되면 뇌조직에 광범위한 괴사가 일어나는데, 이는 생체가 생존하고 있는 한 일정한 과정을 거쳐 교질성(gelatinous) 및 교반흔(glial scar) 현상으로 된다. 허혈성 신경세포 변화(ischemic neuronal change)의 육안적 소견은 48시간이 경과하여야 나타나며, 현미경적 소견은 12시간이 경과하여야 허혈성 신경세포변화와 부종 현상을 볼 수 있는데<sup>40</sup>, microdialysis 실험이 끝난 후, 뇌를 절단하여 TTC용액으로 염색하여 조직검사를 시행하였다. Image analyzer system을 이용하여 백서의 뇌경색부위 면적과 용적을 측정된 결과, 대조군에 비해 실험군에서 유의성이 있는 뇌조직손상의 감소가 관찰되었다.

이상에서 살펴본 바와 같이 석창포는 glutamate, aspartate, glycine, alanine, tyrosine의 함량변화 및 뇌경색부위의 면적과 용적 등에서 유의성이 인정되어 급성기 중풍치료에 이용할 수 있을 것으로 생각된다.

## V. 結 論

석창포가 뇌허혈시 신경전달물질에 미치는 영향을 실험적으로 규명하기 위하여 뇌허혈을 유발시킨 백서에게 석창포를 투여하여, amino acid계 신경전달물질의 함량변화 및 뇌경색부위의 면적과 용적을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 석창포 투여군은 대조군에 비해 뇌허혈시 흥분성 신경전달물질로 작용하는 glutamate, aspartate, tyrosine의 함

량이 유의성이 있게 감소하는 것으로 나타났다.

2. 석창포 투여군이 대조군에 비해 뇌허혈시 억제성 신경전달물질의 함량이 감소하였으나, glycine, alanine에서는 유의성이 인정되나, GABA, taurine에 대해서는 유의성이 인정되지 않았다.

3. 석창포 투여군이 대조군에 비해 뇌허혈 유발후 뇌경색부위의 면적 및 용적이 감소하였다.

개규성신작용이 있는 석창포가 흥분성 아미노산 신경전달물질 및 억제성 아미노산 신경전달물질을 조절함으로써 뇌세포손상을 감소시키고, 뇌신경세포보호작용을 가질 것으로 생각된다.

## 參考文獻

1. 서울대학교의과대학편. 신경학원론. 1. 서울: 서울대학교출판부; 1999, 158, 526-7.
2. Kurt J. Isselbacher. HARRISON S 내과학, 서울: 정담; 1997, 2384.
3. 의학교육연구소. 약물료법. 2. 서울: 서울대학교출판부; 1989, 399-403.
4. 전국한외과대학심계내과학교실편. 서울: 서원당; 1999, 420-30, 502, 505-6.
5. 양시주, 장수생, 부경화. 중의림상대전. 북경: 북경과학기술출판사; 1991, 193-200.
6. 박치상, 이은주, 박원미, 김미려, 조정숙, 김영호 등. 우황청심환이 뇌허혈을 유발시킨 흰쥐의 신경전달물질에 미치는 영향. 대한한의학회지. 2000;21(1):11-9.
7. 예경옥, 박치상, 이은주, 송지혜, 김미려, 조정숙 등. 성향정기산이 뇌허혈을 유발시킨 백서의 신경전달물질에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2000;21(1):116-25.
8. 오보. 신농본초경. 북경: 중의고적출판사; 1987, 29-30.
9. 이시진. 본초강목. 4. 서울: 고문사; 1987, 785-7.
10. 왕인암. 증본초비요. 3. 서울: 고문사; 1989, 10-1.

11. 전국한의과대학본초학교수공동편저. 본초학. 서울: 영림사; 1995, 523-4.
12. 강병수, 김영관. 임상배합본초학. 서울: 영림사; 1994, 339-40.
13. Hillered L, Hallstrom A, Segersvard S, Persson L, Ungerstedt U. Dynamics of extracellular metabolites in the striatum after middle cerebral artery occlusion in the rat monitored by intracerebral microdialysis. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1989; 9:607-16.
14. Warner DS, Martin H, Ludwig P, McAllister A, Keana JFW and Weber E. In vivo models of cerebral ischemia: Effects of parenterally administered NMDA receptor glycine site antagonists. *J. Cereb. Blood flow Metab.* 1995;15:188-96.
15. Tossman U, Ungerstedt U. Microdialysis in the study of extracellular levels of amino acids in the rat brain. *Acta. Phys. Scand.* 1986;128:9-14.
16. Hagberg H, Andersson P, Lacarewicz J, Jacobson I, Butcher S, Sandberg M. Extracellular adenosine, inosine, hypoxanthine, and xanthine in relation to tissue nucleotides and purines in rat striatum during transient ischemia. *J Neurochem.* 1987;49:227-31.
17. Nagasawa H, Kogure K. Correlation between cerebral blood flow and histologic changes in a new rat model of middle cerebral artery occlusion. *Stroke.* 1989;20:1037-43.
18. Dinal WW. A foundation for analysis in the health science. *Bioststistics.* 1983;3:136-46.
19. 유완소. 하간삼육서. 서울: 정보사; 1976, 37-8.
20. 이고. 동원십종의서. 서울: 대성문화사; 1983, 61-2.
21. 주진형. 역중단계의론. 서울: 대성문화사; 1996, 238-40, 281, 283.
22. 이천. 편주의학입문. 서울: 남산당; 1985, 1369-75.
23. 엽천사. 임증지남의안. 상해: 상해과학기술회사; 1993, 17-9.
24. 왕정임. 의림개착. 대북: 대연국풍출판사; 1975, 40-4.
25. 굴송백. 이가경. 실용중의심혈관병학. 북경: 과학기술문헌출판사; 1993, 454-5.
26. 김영석. 임상중풍학. 서울: 서원당; 1997, 447-8.
27. Leach MJ, Swan JH, Eisenthal D, Dopson M, Nobbs M. a glutamate release inhibitor, protects against focal cerebral ischemic damage. *Stroke.* 1993;24:1063-7.
28. Raymond D, Adams, Maurice Victor, Allan H. Ropper. 아담스신경과학. 서울: 정담; 1998, 715-28.
29. Choi DW. Glutamate neurotoxicity in cortical cell culture is calcium dependent. *Neurosci. Lett.* 1985;58:293-7.
30. 서유현. 신경전달물질. 2. 서울: 민음사; 1996, 22-3, 267-344.
31. 허인희, 안형수, 강봉수, 권광일, 권래성, 김진. 신경전달물질 기초와 임상. 1. 서울: 신일상사; 1996, 392.
32. Simpson RE, O'regan MH, Perkins LM, Phillis JW. Excitatory transmitter amino acid release from the ischemic rat cerebral cortex. *J. Neurochem.* 1992;58:1683-90.
33. Zygmunt L, Kruk · Christopher J. Pycock, 신경전달물질과 약물, 서울: 하나의학사; 1996, 213-52.
34. Kahn RA, Pananh M, Kiffel S, Weinberger J. Modulation of ischemic excitatory neurotransmitter and gamma-aminobutyric acid release during global temporary cerebral ischemia by local nitric oxide synthase inhibition. *Anesth Analg.* 1997;84(5):1004-10.
35. Tsuchida E, Bullock R. The effect of the glycine site-specific NMDA antagonist ACEA1021 on ischemic brain damage caused by acute subdural hematoma in the rat. *J Neurotrauma.* 1995;12(3):279-88.
36. Stummer W, Betz AL, Shakui P, Keep RF. Blood-brain barrier taurine transport during osmotic stress and in focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1995;15(5):852-9.
37. Kramer JH, Chovan JP, Schaffer SW. Effect of taurine on calcium paradox and ischemic heart failure. *Am J Physiol.* 1981;240(2):238-46.
38. Cozzi A, Carpenedo R, Moroni F. Kynurenine hydroxylase inhibitors reduce ischemic brain damage. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1999;19(7):771-7.
39. Kindy MS. Inhibition of tyrosine phosphorylation prevents delayed neuronal death following cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1993;13(3):327-7.
40. 지제근. 신경병리학. 서울: 서울대학교출판부; 1990, 61-3.