

導痰湯이 腦損傷 및 高血壓에 미치는 影響

조현경, 임승민, 안정조, 최 영, 김용진, 유호룡, 박양춘, 설인찬, 황치원

대전대학교 한의과대학 심계내과학교실

The Effect of Dodamtang(DDT) on Brain damage and Hypertension

Hyun-Kyung Cho, Seong-Min Lim, Joung-Jo An, Young Choi, Yong-Jin Kim, Ho-Ryoung Yoo, Yang-Chun Park, In-Chan Seol, Chi-Won Hwang

Department of Circulatory Internal Medicine, Collage of Oriental Medicine, Dae-jeon University

Objective : This study was carried out to investigate the effects of DDT on the brain damage and hypertension.

Methods : We observed the effect of Dodamtang(DDT) extract on KCN-induced coma, focal brain ischemia by MCA occlusion, cytotoxicity and protection of PC12 cells and B103 cells induced by amyloid β protein(25-35). To prove the effect of DDT as a blood pressure depressant, we measured aldosterone, renin activity, catecholamine, sodium and NO density using the seperated blood plasma.

Results : DDT showed a protective effect on cytotoxicity of PC12 cells and B103 cells induced by amyloid β protein(25-35) in a dose dependent manner and proved the significant abridgement of brain ischemic area and edema induced by MCA occlusion, a critical decrease of neurologic deficitic grade in the fore-limbs. DDT didn't reduce the duration of KCN(1.87mg/kg iv.)-induced coma and prolonged the survival rate in the case of KCN(3.0mg/kg iv.)-induced coma by the ratio of 20%. While DDT increased the value of NO in SHR, it significantly decreased the blood pressure of SHR and the value of aldosterone & epinephrine in SHR.

Conclusions : These results suggested that DDT might be usefully applied for treatment of hypertension, cerebral infarction, and brain damage.

Key Word : Dodamtang(DDT), Brain damage, Hypertension

1. 緒 論

導痰湯은 《濟生方》에 “治一切痰厥, 頭目旋運”이라고 기재된 以來, 一切의 痰飲 및 痰迷心竅, 痰涎壅盛으로 인한 中風 閉證을 開竅, 豁痰, 熄風시킬 목적으로 사용되어 왔다.^{2,8}

痰飲은 中風의 원인 중 하나로 朱⁹는 “濕土生痰, 痰生熱, 熱生風”이라 하였고, 劉¹⁰는 “肥人多中風”이라 하였으며, 張¹¹은 “肥甘太過, 釀痰蘊濕 積熱生風”이라 하여 濕痰生熱이 中風 발생의 주요 원 인임을 강조하였다.

痰飲이 최근 中風의 주요 원인으로 대두된 것은 食생활의 서구화와 복잡한 현대 생활로 성인병의 발생 및 사망율이 점차 증가 추세에 있기 때문이다. 이러한 성인병의 요인 중 하나인 肥滿은 고혈압, 당뇨, 뇌졸중, 관상동맥질환 등의 중요한 所因이 되는데, 한의학에서는 기름진 음식, 痰濁, 水濕을 肥滿의 病因으로 보았다.^{12,13}

痰飲은 인체의 수액이 체내에서 運化 輸送의 기능이 실조되어 인체 여러 부위에 貯留되어 나타나는 일종의 병리산물로서, 瘀血과 더불어 虛血性 中風의

중요한 인자가 되며, 현대의학적으로 체내 수액대사의 실조로 체내에 저류된 異常水液에 해당되고, 동맥내벽에 이러한 병리적 산물이 형성되면 지질과 혈소판이 침착되어 국소적 비후, 섬유화, 괴사를 일으켜 혈전증, 고지혈증, 심혈관질환, 뇌혈관질환, 뇌손상 등을 유발한다.^{12,14}

導痰湯에 대한 최근의 연구로는 導痰湯이 家兔의 高脂血症 및 血栓症에 미치는 影響¹⁵, 當歸鬚散 및 導痰湯이 Endotoxin으로 誘發된 血栓症에 미치는 影響¹⁶등이 있었으나, 뇌손상 및 고혈압에 미치는 영향에 대한 실험적 연구는 아직 접하지 못하였다.

이에 저자는 痰飲 치료를 목표로 구

성된 導痰湯의 뇌손상 보호작용 및 抗 高血壓 작용을 규명하기 위해 PC12 세포와 B103 세포의 세포독성 보호효과를, KCN을 이용한 白鼠의 全腦損傷 모델에서 혼수시간과 생존율을, 중대뇌동맥의 혈류를 차단한 白鼠의 국소 뇌허혈 모델에서 신경학적 결손정도, 뇌허혈 면적, 부종율을, 혈장 분리와 NO 농도 측정을 통한 혈압 강하효과를 관찰하였던 바 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實驗

1. 材料

1) 動物

본 실험에 사용된 실험용 쥐는 체중 180~250g의 Sprague-Dawley계(SD: 대한실험동물센터, 충청북도 음성) 雄性 rat와, 18~20g의 International Cancer Research계(ICR: 한국화학연구소, 대전) mouse와 체중 180~220g의 Spontaneous Hypertensive Rat(SHR, 자발성 고혈압 白鼠)로, 실험 당일까지 고형 사료(粗蛋白質 22.1% 이상, 粗脂肪 8.0% 이하, 粗纖維 5.0% 이하, 粗灰分 8.0% 이하, 칼슘 0.6% 이상, 인 0.4% 이상 삼양사 배합 사료 Co.)와 물을 충분히 공급하고, 실온 22 ± 2℃, 상대 습도 50 ± 10%, 조명 시간 12시간(07:00~19:00), 조도 150~300 Lux로 설정하여 2주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 체중 변화가 일정하고 건강한 동물만을 선별하여 실험에 사용하였다.

2) 藥材

본 실험에 사용한 약재는 大田大學校 附屬韓方病院에서 구입·정선하여 사용하였으며, 처방은《方藥合編》에 기재

된 導痰湯으로 처방의 내용과 1貼 분량은 다음과 같다.

3) 試藥 및 機器

실험에 사용한 시약은 KCN(Potassium cyanide; Sigma Co., U.S.A.), dulbecco's phosphate buffered saline(DPBS-A; Sigma Co., U.S.A.), normal saline(중외제약, Korea), collagen(Sigma Co., U.S.A.) ephineprine(Sigma Co., U.S.A.), dextran(Sigma Co., U.S.A.), 3.8% sodium citrate(Sigma Co., U.S.A.), 2,3,5-triphenyl-2H-tetrazolium chloride(Sigma Co., U.S.A.), gerane(enflurane제제, 중외제약, Korea), collagen reagent(ChronoLog Corp., U.S.A.), xantopren VL(Bayer Dental, Japan), optosil-xantopren activator(Bayer Dental, Japan), IL test™ PT-fibrinogen HS(Instrumentation Laboratory, U.S.A.), IL Test™ APTT lyophilized silica(Instrumentation Laboratory, U.S.A.) 등을 사용하였다.

기기는 serum separator(녹십자, Korea), Minos-ST(Cobas Co., France), centrifuge(Beckman Co., U.S.A.), rotary vaccum evaporator(B chi 461, Swiss), deep freezer(Sanyo Co., Japan), freeze dryer(Eyela Co., Japan), autoclave(Hirayama, Japan), ultrasonic

cleaner(Branson Ultrasonics Corp., U.S.A.), roller mixer(Gowon scientific technology Co., Korea), vortex(Vision Co., Korea), brain matrix(ASI Instrument, Warren, MI., U.S.A.), royal multi-plus(Royal Medical Co., Korea), camera(Nikon, Japan), ACL-100(Instrumentation Laboratory, U.S.A.) 등을 사용하였다.

4) 檢液의 調製

導痰湯 10貼 분량 480g을 3,000ml round flask에 넣고 증류수 2,000ml을 넣은 후, 3시간 가열 추출, 침전물을 3회 濾別(3M filter paper)하고, 이 여과액을 rotary vaccum evaporator에서 감압 농축하였다. 농축된 용액을 -70℃ deep freezer에서 4시간 동안 방치하고, 24시간 동안 freeze dryer로 동결 건조하여 1첩당 4.48g의 분말을 얻어서 실험에 필요한 농도로 생리식염수에 희석하여 사용하였다.

2. 方法

1) 腦損傷 實驗

(1) PC12, B103 뇌세포 배양 및 세포독성 평가

PC12 cell(ATCC CRL 1721)은 rat의 adrenal pheochromocytoma에서 유래된 세포이며, 최근 Alzheimer's disease의 실험에 사용되는 세포로서 韓國人蔘煙草研究院에서 분양받았다.

The Prescription of Dodamtang(DDT:導痰湯)

韓藥名	生藥名	用量(g)
半夏	Pinelliae Tuber	8.0
南星	Arisaematis Rhizoma	4.0
陳皮	Aurantii nobilis Pericarpium	4.0
枳殼	Ponciri Fructus	4.0
赤茯苓	Hoelen	4.0
甘草	Glycyrrhizae Radix	4.0
生薑	Zingiberis Rhizoma	20.0
Total amount		48.0

RPMI 1640 배지에 10% 불활성화시킨 fetal bovine serum(FBS)에, 불활성화한 5% horse serum과 50ng nerve growth factor(NGF)를 2일간 加하고 antibiotic 10ml (100,000 units penicillin, 100mg streptomycin, 250µg amphotericin)을 첨가한 후 collagen 코팅된 dish에 의해 분화유도하여 37℃, 5% CO₂ 상태의 배양기에서 배양하였다.

B103 세포는 rat brain 세포로써 dulbecco's minimal essential medium (DMEM)과 10% FBS로 배양하였다.

Amyloid β protein(25-35)은 Peptron(대전, Korea)에서 주문 구입하였으며, PC12 cell에 대한 amyloid β protein(25-35)의 세포독성은 SRB assay¹⁷를 실시하여 평가하였다. PC12 cell을 1회용 멸균 주사기(25gauge, Boin Medica Co., Korea)를 이용하여 단일세포(single cell) 상태의 세포 현탁액을 만들어 96 well plate의 각 well에 100µl(2×10⁴ cells/well)씩 加한 뒤 24시간 배양 후 NGF(nerve growth factor, 50ng/ml)를 넣고 48시간 배양하였다. 檢液은 세포독성을 나타내지 않는 10µg/ml, 100µg/ml 및 1000µg/ml 농도로 희석한 뒤, 96 well plate의 각 well plate에 10µl씩 넣었다. 4시간 후에 다시 각 well plate에 50µM의 amyloid β protein(25-35)를 加한 다음 48시간 배양한 후 SRB법¹⁷에 의하여 세포독성을 관찰하였다.

zonde(대중기기, Korea)를 이용하여 1회 경구 투여하였다. 대조군은 검액을 녹일 때 사용한 동량의 생리식염수를 경구투여 하였다.

경구투여 30분 후에 非致死量인 1.87 mg/kg KCN을 ICR계 mouse 尾靜脈에 주사한 후 정향 반사를 소실시킨 후, 정향 반사를 회복할 때까지의 시간을 측정하여 KCN 유발 혼수시간으로 하였다.

KCN 유발 생존율의 측정은 경구 투여 30분 후에 치사량인 3.0mg/kg KCN을 尾靜脈 주사하여 생존율을 보았다.

② 국소 뇌허혈 유발 실험 (Middle Cerebral Artery occlusion: MCA)

SD계 rat 8마리를 1군으로 하여 대조군과 DDT 투여군으로 구분하였다. 중대뇌동맥(MCA) 폐쇄 2시간 전에 실험 白鼠의 체중을 측정하고 DDT 63.62mg/250g/day을 생리식염수 2ml에 용해시켜 oral zonde(대중기기, Korea)를 이용하여 경구투여한 후 중대뇌동맥 폐쇄 실험을 하였다.

SD계 rat을 수술대에 고정시키고 royal multi-plus(Royal Medical Co, Korea)를 사용하여 N₂O(아산화질소)와 O₂(산소)의 비율을 7:3으로 조정하여 enflurane로 흡입 마취하였다. Nagasawa의 방법¹⁹에 따라 목 중앙을 절개하고 미주신경에 손상을 주지 않도록 주의하면서 우측 총경동맥, 내경동맥

및 외경동맥을 분리한 뒤 총경동맥과 외경동맥을 결찰하고 곧바로 외경동맥과 내경동맥의 분지에 매듭을 제외한 프로브 전체를 삽입한 뒤 삽입부위 바로 위쪽을 결찰함으로써 동측 중대뇌동맥을 폐쇄하였다. 총 수술 시간은 30분 이내로 하였으며, 직상온도계를 사용하여 체온 하강을 판정하였고 적외선을 비추면서 보온하였으며, 중대뇌동맥을 폐쇄하고 60분 동안 N₂O와 O₂를 90%와 10% 비율로 하여 저산소상태를 유발하였으며 폐쇄 120분 후에 프로브를 1cm정도 당겨 재관류를 행하였다.

수술 24시간 후에 rat의 뇌를 꺼내어 brain matrix(ASI Instruments, Warren, MI., U.S.A)를 이용하여 2mm 두께의 coronal brain slice를 얻은 후 이 중 8 slice만을 선택하여 2% triphenyltetrazolium chloride(TTC) 용액을 加하고 37℃에서 20분간 배양하였다. TTC에 의해 정상 조직은 짙은 빨간색으로 염색되나, 허혈이 일어난 조직은 염색되지 않음으로써 정상 조직과의 구분이 가능하였다. 배양 종료 후 바로 사진을 찍어 현상하고, 염색된 조직을 10% formalin neutral buffer로 고정시켰다. coronal slice에서 허혈면적을 측정하였고, 허혈면적 및 부종율은 아래의 식에 의해 산출하였다.²⁰

Table 1. The Neurologic Examination Grading System

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

(2) 뇌허혈 유발 실험

① 全腦虛血 유발 실험

全腦虛血 모델은 Schubert의 방법¹⁸에 준하였다. ICR계 mouse 10마리를 1군으로 하여 DDT 5.09mg/20g/day을 생리식염수 0.2ml에 용해시켜 oral

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

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

A : 각 coronal slice에서의 허혈이 유발된 대뇌 반구 면적(mm²)

B : 각 coronal slice에서의 對側 대뇌 반구 면적(mm²)

C : 각 coronal slice에서의 허혈 면적 (mm²)

중대뇌동맥 폐쇄 후, 저산소증 유발 후 및 재관류 후에 대한 각각의 신경학적 검사를 실행하여 중대뇌동맥 폐쇄에 따른 신경학적 결손정도를 측정하였다. 신경학적 결손정도는 Bederson의 방법²¹⁾에 의하여 그 정도를 fore limb은 4등급으로, hind limb은 2등급으로 나누어 점수화하였으며 증상에 따른 등급 분류는 Table 1과 같다.

2) 抗高血壓作用 實驗

(1) SHR을 이용한 혈압 측정

10일간 DDT 63.62mg/250g/day를 투여한 후, 혈압을 측정하였다. 혈압 측정은 약제 투여 후 cage에서 2시간 동안 안정시키고, SHR의 꼬리를 alcohol로 잘 닦은 후 37.5℃ 예비 보온기에 10분간 넣어 두었다가 physiograph model 7 (GRASS Instrument Co. Quincy, Mass., U.S.A.) 7P8 channel로 마취하지 않은 상태에서 각 군(n = 8)의 혈압을 측정하였다. chart paper 1 cm에 혈압은 50mmHg(baseline ; 0)으로 보정하였다.

(2) 채혈 및 혈장 분리

白鼠를 ether로 치사한 후 쇄골하정맥에서 혈장 1ml을 채혈하여 3mg/ml EDTA 용액을 0.5ml로 채운 용기에 加

한 후 4℃에서 3,000 rpm으로 15 분간 원심 분리시킨 다음 혈장 catecholamine과 aldosterone의 정량 및 renin 활성도 측정을 위하여 -80℃에 보관하였다.

(3) 혈장성분의 측정

aldosterone은 RIA법²²⁾에 따라 동위원소 I-125 추적자를 이용한 시판용 aldosterone RIA diagnostic kit(DPC Co., U.S.A.)를 사용하였고, gamma counting은 gamma count cobra II (Packard사) 분석 장비를 이용하여 정량하였다. Renin 활성도 측정은 RIA법에 따라 동위원소 I-125 추적자를 이용한 시판용 renin RIA diagnostic kit(Abbott Co., U.S.A.)를 사용하였고, gamma counting은 gamma count cobra II (Packard사) 분석 장비를 이용하여 정량하였다. Hjemdahl 변법²³⁾에 따라 혈장중의 catecholamine을 4℃에서 추출하였다. 혈장 0.1 M HClO₄를 가하여 除蛋白하고 acid washed alumina에 흡착시킨 다음 증류기로 수세하고 0.1 M HClO₄에 용출시켜 용출액 20μl를 HPLC(High Performance Liquid Chromatography; Waters Model U6K Injector, 510 pump)에 주입하여 norepinephrine, epinephrine, dopamine의 함량을 측정하였다. HPLC에서 분리된 물질들은 이를 정량(Data Module: Waters model 745)하였다. column은 C18 stainless steel column (5μ, 150mm × 4.6mm Waters model 460: KCl reference electrode)에 가해진 전압은 +0.63V였다. 측정에 필요한 시약은 norepinephrine(Sigma), epinephrine(Sigma), dopamine(Sigma) 등으로 특급품을 사용하였으며, 증류수는 Milli-Q™ waters system (Millipore)을 통과시킨 超純粹를 사용하였다.

Sodium 함량은 atomic asorption spectrophotometer (Pyeunicom, SP 1900)를 사용하여 정량하였는데, 5mA의 lamp current를 가해 얻어진 빛에너지 (Na:58.98 nm)를 slit(0.18 mm)에 통과시킨 다음, 원자화된 시료용액의 흡광도로써 정량하였다. 이 때, chemical gas burner의 연료는 air/acetylene(air: 5.0l/min, C₂H₂: 0.9 l/min)를 혼합하여 사용하였다

(4) Nitric oxide(NO) 농도 측정

DDT를 처리한 세포 RAW264.7의 배양액에서 NO의 농도 측정은 griess reagent를 사용하여 측정하였다. 측정 전 solution A(0.2 % naphthyl ethylene diamine dihydrochloride in H₂O)와 solution B(2 % sulfonileamide in 5 % H₃PO₄)를 동량으로 섞어 griess reagent를 준비하였다. 측정은 검액 시료 100μl와 griess reagent 100μl를 96 plate에 분주하고 기포가 생기지 않도록 주의하며 혼합하였다. 이 혼합액은 540 nm에서 ELISA reader를 이용하여 흡광도를 측정하였다. NO의 정량은 NaNO₂를 사용하여 표준 곡선을 구하여 시료내 NO의 농도를 계산하였다.

3) 統計處理

실험 결과는 unpaired student's T-test를 사용하여 통계처리하였으며 P<0.05, P<0.01 및 P<0.001 수준에서 유의성을 검정하였다.

III. 成 績

1. 腦損傷 保護效果

1) PC12, B103 세포의 세포독성 및 amyloid β protein(25-35)에 대한 보호 효과

Table 2. The Protective Effect of DDT Extract on Cytotoxicity of PC12 Cells induced by Amyloid β Protein(25-35)

Group	Concentration	Viability(% of Control)
Normal		100±2.97 ^{ab}
Control	50 μ mol	53.78±1.84 ^{***}
DDT	0.01mg/ml	55.29±0.95
	0.1mg/ml	63.51±2.54 [*]

^{ab}: Mean \pm Standard error

Control : PC12 cells(4 \times 104cells/well) and amyloid β protein(25-35)(50 μ M) treated group

DDT : PC12 cells(4 \times 104cells/well) and amyloid β protein(25-35)(50 μ M) after DDT treated group

^{*}: Statistically significant value compared with normal data

(^{*}: P<0.05, ^{**}: P<0.01, ^{***}: P<0.001)

^{*}: Statistically significant value compared with control data

(^{*}: P<0.05, ^{**}: P<0.01, ^{***}: P<0.001)

Table 3. The Protective Effect of DDT Extract on Cytotoxicity of B103 Cells induced by Amyloid β Protein(25-35)

Group	Concentration	Viability(% of Control)
Normal		100±3.67 ^{ab}
Control	50 μ mol	53.61±2.64 ^{***}
DDT	0.01mg/ml	55.31±1.02
	0.1mg/ml	60.20±2.89 [*]

^{ab}: Mean \pm Standard error

Control : B103 cells(4 \times 104cells/well) and Amyloid β Protein(25-35)(50 μ M) treated group

DDT : B103 cells(4 \times 104cells/well) and Amyloid β Protein(25-35)(50 μ M) after DDT treated group

^{*}: Statistically significant value compared with normal data

(^{*}: P<0.05, ^{**}: P<0.01, ^{***}: P<0.001)

^{*}: Statistically significant value compared with control data

(^{*}: P<0.05, ^{**}: P<0.01, ^{***}: P<0.001)

Table 4. The Survival Rate of KCN-induced(3.0mg/kg iv.) Coma after Oral Administration of DDT Extract in ICR Mice

Group	No. of animals	Survival No. of coma animals	Survival rate(%)
Control	10	0	0
DDT	10	2	20

Control : 3.0mg/kg KCN i.v. injected group after oral administration of normal saline

DDT : 3.0mg/kg KCN i.v. injected group after oral administration of 5.09mg/20g of DDT extract

Table 5. The Effect of DDT Extract on Ischemic Ratio in MCA occluded SD Rats

No. of slices (n=4)	The mean area of infarction(%)	
	Control	DDT
1	18.14 \pm 1.28 ^{ab}	15.21 \pm 1.32
2	30.41 \pm 2.37	28.72 \pm 0.50
3	45.22 \pm 1.36	40.13 \pm 1.04
4	40.64 \pm 4.19	35.07 \pm 1.15
5	25.48 \pm 5.52	14.20 \pm 1.77
6	18.31 \pm 3.33	8.27 \pm 2.89 [*]
7	10.75 \pm 1.97	ND
8	5.37 \pm 2.61	ND

^{ab}: Mean \pm Standard Error

Control : Oral administration of normal saline

DDT : Oral administration of 63.62mg/250g of DDT extract

ND : Not detectable

^{*}: Statistically significant value compared with control data

(^{*}: P<0.05, ^{**}: P<0.01, ^{***}: P<0.001)

PC12 세포에 대한 DDT 투여군의 세포독성을 관찰한 결과, 대조군은 100 \pm 3.29%, DDT의 투여군은 0.01mg/ml, 0.1mg/ml, 1mg/ml의 농도에서 각각 112.04 \pm 3.04, 101.6 \pm 1.45, 90.12 \pm 1.24(%)로 나타나, 0.01mg/ml, 0.1mg/ml의 농도에서 세포독성을 보이지 않았다.

세포독성이 없는 농도인 0.01mg/ml, 0.1mg/ml DDT를 前處置한 후 amyloid β protein(25-35)를 처리하여 세포독성 보호 효과를 관찰한 결과, 대조군은 53.78 \pm 1.84%이었고, DDT 투여군은 0.01mg/ml, 0.1mg/ml의 농도에서 각각 55.29 \pm 0.95, 63.51 \pm 2.54(%)로 나타나 0.1mg/ml의 농도에서 PC12 세포의 세포독성에 대한 보호 효과가 유의성 있게 나타났다(Table 2).

B103 세포에 대한 DDT 투여군의 세포독성을 관찰한 결과, 대조군은 100.31 \pm 1.85%, DDT의 투여군은 0.01mg/ml, 0.1mg/ml, 1mg/ml의 농도에서 각각 113.5 \pm 2.34, 96.37 \pm 1.27, 78.61 \pm 0.93(%)로 나타나, 0.01mg/ml, 0.1mg/ml의 농도에서 세포독성을 보이지 않았다.

세포독성이 없는 농도인 0.01mg/ml, 0.1mg/ml DDT를 前處置한 후 amyloid β protein(25-35)를 처리하여 세포독성 보호효과를 관찰한 결과, 대조군은 53.61 \pm 2.64%이었고, DDT 투여군은 0.01mg/ml, 0.1mg/ml의 농도에서 각각 55.31 \pm 2.01, 60.20 \pm 2.89(%)로 나타나 0.1mg/ml의 농도에서 PC12 세포의 세포독성에 대한 보호효과가 유의성 있게 나타났다(Table 3).

2) 뇌허혈 병태 모델에 대한 효과

(1) 全腦虛血에 대한 효과

非致死量의 KCN(1.87mg/kg/20g i.v.)에 의해 유발시킨 ICR계 mouse의 혼수시간은 대조군이 18.71 \pm 3.13 sec,

Table 6. The Effect of DDT Extract on Edema Ratio in MCA occluded SD Rats

No. of slices (n=4)	The mean extent of edema(%)	
	Control	DDT
1	15.24±3.24 ^{ab}	8.61 ± 1.17
2	18.95 ± 1.53	9.57 ± 1.44
3	19.19 ± 3.19	10.29 ± 1.48
4	17.55 ± 2.10	12.25 ± 1.97 [*]
5	11.08 ± 3.89	7.14 ± 0.9
6	7.81 ± 1.08	ND
7	3.09 ± 5.61	ND
8	0.89 ± 2.26	ND

^{ab}: Mean ± Standard Error
 Control : Oral administration of normal saline
 DDT : Oral administration of 63.62mg/250g of DDT extract
 ND : Not detectable
^{*}: Statistically significant value compared with control data
 (: P<0.05, ^{**}: P<0.01, ^{***}: P<0.001)

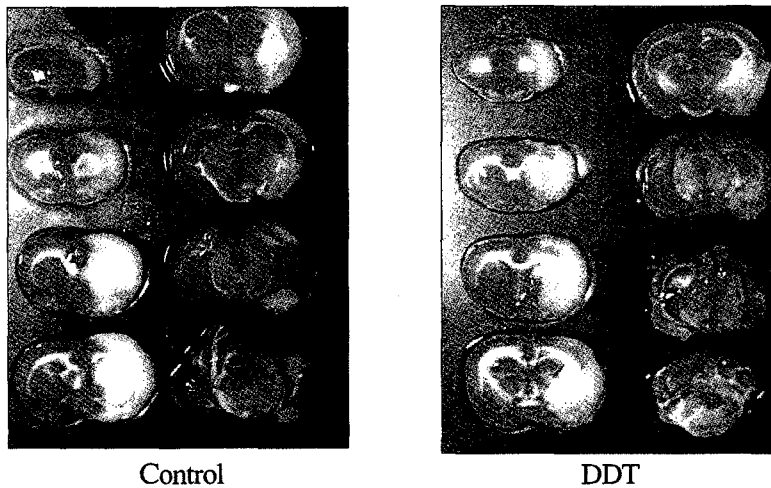


Fig. 1. Photography of 8 slices of brain in control and DDT extract treated group.
 Control : Oral administration of normal saline
 DDT : Oral administration of 63.62mg/250g of DDT extract

Table 7. The Effect of DDT Extract on Variation of Neurologic Grades in MCA occluded SD Rats(Fore Limb)

Group	Operation	Hypoxia	Recirculation
Control	3.00±0.00 ^{ab}	2.66±0.33	2.66±0.33
DDT	2.5±0.28	1.75±0.25 [*]	1.75±0.25 [*]

^{ab}: Mean ± Standard Error
 Control : Oral administration of normal saline
 DDT : Oral administration of 63.62mg/250g of DDT extract
^{*}: Statistically significant value compared with control data
 (: P<0.05, ^{**}: P<0.01, ^{***}: P<0.001)

Table 8. The Effect of DDT Extract on Blood Pressure in SHR

Prescription	Control	DDT
Blood Pressure(mmHg)	156.5±3.9 ^{ab}	146.3±2.8 [*]

^{ab}: Mean ± Standard Error
 Control : Normal saline treated group
 DDT : 63.62mg/250g DDT treated group
^{*}: Statistically significant value compared with control data
 (: P<0.05, ^{**}: P<0.01, ^{***}: P<0.001)

DDT 투여군이 19.84±0.52sec로 나타나 혼수시간 단축효과에는 유의성 있는 효과가 나타나지 않았다.

致死量の KCN(3.0mg/kg/20g i.v.)에 의해 유발시킨 ICR계 mouse의 생존율은 0%로 나타났고, DDT 투여군의 생존율은 20%로 나타났다(Table 4).

(2) 국소뇌허혈에 미치는 효과

중대뇌동맥 폐쇄에 따른 허혈면적들과 부종율은 대조군에 비하여 DDT 투여군이 대조군에 비하여 유의성있게 감소하였다(Table 5, 6, fig. 1).

Fore limb test의 결과는 대조군이 operation, hypoxia, recirculation에서 각각 3.00±0.00, 2.66±0.33, 2.66±0.33으로 결과가 나온데 비하여 DDT 투여군은 2.5±0.28, 1.75±0.25, 1.75±0.25로 나타나 유의성 있는 호전 현상을 보였다(Table 7).

Hind limb test에서는 대조군이 operation, hypoxia, recirculation에서 각각 1.00±0.00, 1.00±0.00, 1.00±0.00으로 결과가 나온데 비하여 DDT 투여군은 0.75±0.5, 0.5±0.57, 1.00±0.00으로 나타나 호전현상을 보이지 않았다.

2. 抗高血壓 效果

1) 혈압에 미치는 효과

SHR을 이용하여 혈압 강하 작용을 측정 한 결과 대조군은 156.5±3.9 mmHg, DDT 투여군은 146.3±2.8 mmHg로 유의성 있는 강하효과가 나타났다(Table 8).

2) 혈장 성분에 미치는 영향

DDT을 SHR에 투여한 후 실시한 혈장 성분 검색 결과 aldosterone 농도는 대조군이 43.9±6.9 pg/ml, DDT 투여

Table 9. The Effect of DDT Extract on the Plasma Levels in SHR

Prescription	Control	DDT
Plasma aldosterone levels (pg/ml)	43.9±6.9 ^{ab}	19.1±3.1*
Plasma renin activity (ng/ml/hr)	12.01±0.28 ^{ab}	14.05±3.33
Plasma dopamin levels (pg/ml)	33.9±6.0 ^{ab}	40.4±5.1
Plasma norepinephrine levels (pg/ml)	1120.0±175.4 ^{ab}	839.5±98.4
Plasma epinephrine levels (pg/ml)	1769.1±82.5 ^{ab}	1020.2±101.3 ^{***}
Plasma sodium levels (mEq/l)	145.5±2.1 ^{ab}	143.5±0.7

^a: Mean ± Standard Error
 Control : Normal saline treated group
 DDT : 63.62mg/250g DDT treated group
^{*}: Statistically significant value compared with control data
 (: P <0.05, **: P <0.01, ***: P <0.001)

Table 10. The Effect of DDT Extract on the NO Production

Prescription	Control	DDT
NO(μM)	5.823±0.084 ^{ab}	6.554±0.103*

^a: Mean ± Standard Error
 Control : Normal saline treated group
 DDT : 63.62mg/250g DDT treated group
^{*}: Statistically significant value compared with control data
 (: P <0.05, **: P <0.01, ***: P <0.001)

군이 19.1±3.1 pg/ml로 나타나 유의성 있는 감소를 보였다(Table 9).

혈장 중 renin 활성도 검색 결과는 대조군이 12.01±0.28 ng/ml/hr, DDT 투여군이 14.05±3.33 ng/ml/hr으로 나타나 유의성이 나타나지 않았다(Table 9).

Dopamine 함량은 대조군이 35.9±69.3 pg/ml, DDT 투여군이 40.4±5.1 pg/ml로 나타나 유의성이 없었다(Table 9). Norepinephrine 함량은 대조군이 1120.0±175.4 pg/ml, DDT 투여군이 839.5±98.4 pg/ml로 나타나 유의성이 없었다(Table 9). Epinephrine 함량은 대조군이 1769.1±82.5 pg/ml, DDT 투여군이 1020.2±101.3 pg/ml로 나타나 유의성 있는 감소를 보였다(Table 9).

Sodium의 함량은 대조군이 145.5±2.1 mEq/l, DDT 투여군이 143.5±0.7 mEq/l로 유의성이 없었다(Table 9).

3) NO 농도에 미치는 효과

NO 농도는 대조군이 5.823±0.084μM, DDT 투여군이 6.554±0.103μM로 나타나 유의성있는 증가를 보였다(Table 10).

IV. 考 察

최근 사회 경제적 수준의 향상은 고칼로리 및 지방의 과다섭취와 운동량의 부족을 가져왔고 이에 따른 비만이 증가 추세에 있으며, 비만은 각종 성인병의 원인이 되고 만성 질환의 이환율을 높이고 있다.^{24,25}

비만의 원인에 대해서는 《素問·通評虛失論》²⁶에 “肥貴人 則膏粱之疾”이라 하여 비만과 膏粱厚味の 관계를 기술한 이후, 朱⁹는 “肥人氣虛生痰 寒生濕 濕生痰 故肥多寒濕”이라 하였고, 李⁸는 “人肥必氣結而肺盛 肺金克肝木 故痰盛”이라 하여 肥인과 痰과의 관계를 언급하

였다. 즉 肥甘厚味한 음식은 脾胃의 기능을 無力하게 하여 그 병리적 산물로 濕痰을 나타내어, 濕痰이 水分代謝失調의 산물임과 동시에 체내의 運化機能을 無力케하는 병인으로 작용하는데²⁵, 《素問·通評虛實論》²⁶에 “凡治消瘴 什擊 偏枯 痰厥 氣滿發逆 肥貴人 則膏粱之疾”이라 하고, 《東醫寶鑑》⁷에 “肥則腠理 緻密而 多鬱滯氣血 難易通利故 多卒中 也”라 하여 肥인에게 卒中風이 발병한다고 하였다.

또 “平素 偏食하거나 기름진 음식을 過多하게 攝取하거나 過飲하면 濕이 모여들어 痰이 形成되는데, 鬱結된 痰이 熱로 轉化하여 中焦를 막으면 氣機가 逆亂하고 升降이 失調되며, 氣血의 運行에 影響을 미쳐 清氣가 上昇하지 못하고 濁氣가 下降하지 못하므로 清竅가 막혀 中風을 일으킨다”²⁷라고 하여, 기름진 음식, 寒濕, 痰 등이 비만을 일으키고, 비만한 자는 腠理가 치밀해지고 鬱滯되어 氣血이 원활하게 소통되기 어려우므로 中風에 이른다라고 하였다.

역대의가들의 中風 病因에 대한 인식은 漢·唐 시대에는 《內經》의 이론을 답습하여 대부분 外風이 침입하여 발병한다는 견해를 가졌고, 金元時代부터 外因보다 火, 氣, 濕痰, 虛, 瘀血 등의 內因에서 그 病因을 찾으려고 하였고, 明清時代의 의가들은 음식습관과 체질 등의 측면으로 나누어 연구함으로써 中風 病因學說의 근간을 만들었다.^{2,27}

中風 원인 중 하나인 痰飲은 체내 수분대사의 실조, 저하 혹은 혈관투과성의 증대나 염증 등을 수반하여 체내에 貯留된 異常水液으로서¹⁴, 李²⁸는 “十病九痰 百病并痰 百病皆生於痰”이라 하여 痰飲이 諸病的 誘因이 되며, 속발성 병증이 되는 것을 설명하고 있다.

導痰湯은 嚴¹의 《濟生方》에 최초로 기

제된 처방으로서 二陳湯에 南星, 枳殼을 加味한 것으로, 半夏, 陳皮, 南星, 枳殼, 茯苓, 甘草로 구성되어 頑痰이 膠固하여 二陳湯으로 제거하지 못할 때 사용되었으며, 痰迷心竅로 인한 神志錯亂, 意識不明, 言語不利에 응용되어 왔다.

導痰湯의 구성약물의 歸經, 藥理 및 主治症에 대해 살펴보면 半夏는 味辛 性溫 有毒하며 脾胃 肺經으로 入하여 和胃止嘔 燥濕祛痰 散結消腫하고, 南星은 味微辛 性溫하며 肺 肝 脾經으로 入하여 祛風解癱 燥濕化痰한다. 陳皮는 味辛苦 性溫하며 肺 脾經으로 入하여 理氣健脾 燥濕化痰하고, 枳殼은 味苦辛酸 性微寒하며 肺 脾經으로 入하여 破氣行痰 消積하고, 赤茯苓은 味甘淡 性平하며 心 小腸으로 入하여 通利濕熱 利竅行水 破結氣하고, 甘草는 味甘 性平하며 肝 脾經으로 入하여 補脾益氣 清熱解毒 潤肺止咳하고, 生薑은 味辛 性微溫하며 肺 脾胃經으로 入하여 發汗解表 溫中止嘔하는 것으로^{29,30}, 導痰湯은 주로 痰과 관련된 脾, 肺經에 작용해 健脾化痰 除濕養心 行氣豁痰하는 효력을 발휘하여 痰盛으로 오는 中風과 痰厥로 인한 昏厥不省 嘔吐涎沫, 風痰으로 인한 半身不遂 頭風 暗風 抽搐顫動, 留飲으로 인한 胸膈痞塞 脇肋脹滿 및 痰迷心竅로 인한 神志錯亂 意識不明 등을 치료한다.³⁴

이에 저자는 導痰湯의 뇌손상, 뇌허혈 및 고혈압에 대한 치료기전을 밝히고자 *in vitro*에서 amyloid β protein(25-35)으로 유도된 PC12 세포와 B103 세포의 세포독성에 대한 보호효과를 관찰하였고, KCN을 이용한 ICR계 생쥐의 全腦損傷 모델에서 혼수 시간 단축효과와 생존을 연장효과를 관찰하였으며, 중대 뇌동맥의 혈류를 차단한 白鼠의 국소 뇌허혈 모델에서 신경학적 결손 정도와

국소의 허혈면적과 부종을 살펴보고, 혈장 분리를 하여 aldosterone 정량, renin 활성도, catecholamine 정량, sodium 함량을 측정하고, nitric oxide 농도를 측정하였다.

Amyloid β protein은 amyloid precursor protein(APP)으로부터 단백질 분해적으로 유도된 대사물로서, 많은 연구실에서 *in vitro*와 *in vivo*에서 신경 세포에 대한 amyloid β protein의 독성을 보고하였다.³¹

실험에 사용된 PC12 세포(ATCC CRL 1721)는 adrenal pheochromocytoma에서 유래된 세포며, B103 세포는 neuroblastoma에서 유래된 세포로서, 최근 Alzheimer's disease의 실험에 사용되고 있다. 본 실험에서 導痰湯의 세포독성을 관찰한 결과, 0.01mg/ml, 0.1mg/ml의 농도에서 세포독성을 보이지 않았으며, 0.01mg/ml, 0.1mg/ml 농도의 導痰湯을 前處置한 후 amyloid β protein(25-35)에 의해 유도된 PC12 세포와 B103 세포의 세포독성 보호효과를 관찰한 결과 0.1mg/ml 농도에서 유의성 있는 보호효과가 있는 것으로 나타났다.

腦는 인체내에서 대사가 활발한 곳으로 만일 뇌혈류의 장애가 30초 이상 계속될 때에는 뇌조직에서 산소공급의 부족으로 유산이 생산되며 세포의 sodium-potassium pump가 정지되고 뇌조직의 glucose도 급격히 감소하는 결과 sodium과 물, calcium의 세포내 유입이 일어나 세포는 괴사하게 되고, 산소공급의 정지가 수분 이상 계속되면 비가역적인 기능장애가 일어나 全腦虛血症(global ischemia)과 국소적인 경색으로 나타난다.³² 본 실험에서 허혈성 뇌손상 모델은 KCN법 및 뇌동맥을 결찰하였다가 재관류시키는 가역적 뇌경

색 동물 실험 모델을 사용하였다. 전뇌 손상을 일으키는 방법인 KCN법^{18,33}은 세포내 mitochondria의 cytochrome oxidase의 활성을 억제하고 전자전달계에서의 효소이용을 제한하여 고에너지 인산화합물을 고갈시킴으로써 세포독성을 발현한다고 알려져 있다. KCN를 이용한 ICR계 생쥐의 혼수 시간 및 생존을 측정에서 非致死量의 KCN(1.87 mg/kg/20g, iv.)에 의해 유발시킨 ICR계 생쥐의 혼수 시간을 살펴본 결과, 실험군에서 혼수 시간의 유의성 있는 단축 효과는 없었으며, 치사량의 KCN(3.0mg/kg/20g, iv.)에 의해 유발시킨 ICR계 생쥐의 생존을 측정에서는 導痰湯 투여군이 20%의 사망 억제효과가 나타났다. 최근 연구에 의하면 全腦虛血 유발 실험에서 加味補陽還五湯과 滌痰湯은 유의성 있는 혼수시간 단축효과가 있었고^{34,35}, 加味通桂化痰湯은 미약한 단축효과가 있었으며³⁶, 加味通竅活血湯은 단축효과가 없었고³⁷, 생존을 측정에서 滌痰湯은 30%, 加味滌痰湯은 60%로 증가시켰고³⁵, 加味補陽還五湯은 30%로 증가시킨 것으로 報告되어³⁴ 導痰湯의 全腦虛血에 대한 효과는 최근까지의 실험에 비해 다소 미약한 것으로 나타났다.

국소 뇌허혈을 일으키는 방법으로 본 실험에서는 silicon rubber cylinder를 이용한 중대뇌동맥 폐쇄-재관류 모델을 선택하였으며, 이 방법은 허혈후 재관류에 의한 영향을 연구할 수 있는 장점을 가지고 있다.³²

본 실험에서 중대뇌동맥 폐쇄에 따른 신경학적 결손, 허혈 면적율과 부종을 관찰한 결과, fore limb test에서 신경학적 결손 정도의 유의성 있는 감소가 있었고, 허혈 면적율, 부종율은 導痰湯 투여군에서 모두 유의성 있는 감소가 있었다. 이는 導痰湯이 두개내 혈관 폐색

으로 인한 급성기 뇌허혈 및 뇌경색을 억제하는 효과가 있음을 시사한다.

일반적으로 고혈압의 발생기전에 대해서는 완전하게 糾明되어 있지 않지만 renin-angiotension계의 활성화에 의한 혈관수축과 이에 따른 aldosterone 분비에 의한 혈장량 증가, 교감신경 활성화 증가에 의한 심박동수 및 심박출량 증가, 세포내 sodium 증가로 인한 말초혈관 평활근의 긴장도 증가 등의 기전이 제시되고 있다.^{38,39}

導痰湯이 혈압에 미치는 영향과 그 작용 기전을 실험적으로 糾明하기 위하여 SHR을 이용하여 10일간 導痰湯을 투여 후 혈압을 측정하고, 쇄골하정맥에서 혈장을 채혈하여 aldosterone 정량, renin 활성화도, catecholamine 정량, sodium 함량을 측정하였고, nitric oxide 농도를 측정하였다.

導痰湯을 SHR에 투여한 후 예비보온기에 10분간 넣어 두었다가 각 군의 혈압을 측정한 결과, 대조군 평균인 $156.5 \pm 3.9 \text{ mmHg}$ 에 비해서 $146.3 \pm 2.8 \text{ mmHg}$ 로 나타나 유의성 있는 혈압 강하 효과를 보였다.

단백 분해 효소인 renin은 angiotensin에 작용해 angiotensin I을 분비하고 이 펩티드는 angiotensin 전환효소에 작용해 angiotensin II를 형성하는데, 이는 강한 혈관수축제이며 부신선에서 aldosterone을 분비하는 중요 인자로 혈압조절에서 중요한 역할을 하고 있으며, 신질환의 병변으로 유발된 2차성 고혈압의 주요 요소이다.

aldosterone의 분비는 간접적으로 체액량 결핍에 의해 자극되어 부신피질에서 분비되는데 전형적인 고aldosterone 혈증은 고혈압의 0.7%에 해당된다.³⁹

白鼠의 혈장 중 renin 활성화도 검색 결과는 유의성 있는 변화는 보이지 않았

으며 aldosterone 농도는 유의성 있는 감소를 보였다. 이는 導痰湯이 신장의 원위세뇨관과 집합관에 작용하여 痰飲으로 인한 체액증가를 처리함으로써 혈압 강하효과가 있음을 시사한다.

교감신경계는 직접적으로 혈관을 자극하여 말초저항을 증가시키고 renin-angiotensin계를 활성화하여, 심근수축력을 증강시키고 정맥환류를 증가하게 하여 심박출량을 증가하게 한다.^{38,39}

자연적으로 생성되는 세가지 catecholamine (norepinephrine, epinephrine, dopamine)은 모든 중추신경계의 신경전달 물질로 작용한다. catecholamine은 모든 중요한 장기에 영향을 미치는데 그 효과가 수 초 내에 나타나 심맥관계에 작용하여 혈관수축을 하고, 대사속도를 증진시키고, 체액 및 전해질, 內臟器에 직접적 작용을 하며, 또한 renin 등의 분비에 간접적 영향을 미친다.^{38,39}

catecholamine 함량 변화에 대한 實驗에서 혈장 중 norepinephrine과 dopamine 함량의 변화는 대조군에 비해 큰 변화를 보이지 않았고, epinephrine의 함량은 큰 감소를 보이는 것으로 보아, 심근에 존재하는 β_1 -수용체의 흥분을 억제함으로써 심근수축과 박동수를 감소시키며, 혈관에 있어서 α -수용체의 흥분을 억제하여 혈관수축을 감소시킴으로써 혈압 강하효과가 있을 것이라고 생각된다.

세포내 sodium의 증가는 세포내 calcium 이온의 증가를 유발함으로써 혈관 평활근의 긴장도를 증가시켜 일차성 고혈압에 많은 영향을 미치나³⁹, 혈장 중 sodium 함량은 유의성 있는 변화를 보이지 않았다.

혈관내에 NO의 역할은 혈관의 확장에 기여하는 매개체로 인식되어 최근

활발한 연구가 진행되고 있다. 본 실험에서 導痰湯은 혈관을 확장시키는 NO 농도를 증가시켰다.

따라서 導痰湯은 혈장량을 증가시키는 aldosterone과 심박동수 및 심박출량을 증가시키는 epinephrine 함량을 감소시키고, 혈관 확장에 관여하는 NO 농도를 증가시켜, 심박동수와 심박출량 및 혈장량을 감소시키고 혈관을 확장시켜 혈압 강하효과를 나타내는 것으로 생각된다.

以上の 결과를 종합하면 導痰湯은 amyloid β protein(25-35)으로 유도된 PC12 세포와 B103 세포의 세포독성에 대한 보호효과와 KCN 유발 생존율의 증가효과가 있었고, 중대뇌동맥 폐쇄시 신경학적 결손과 허혈면적 및 부종율의 감소효과가 있었으며, aldosterone과 epinephrine 함량의 감소, NO 농도의 유의성 있는 증가로 혈압 강하효과가 있었다. 따라서 導痰湯이 고혈압 및 허혈로 인한 급성기 뇌손상이나 뇌경색의 치료에 활용 가치가 있을 것으로 보이며, 향후 이에 대한 지속적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 結 論

導痰湯의 세포독성 보호효과, 뇌허혈 보호효과, 혈압 강하효과를 살펴본 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 導痰湯은 amyloid β protein(25-35)에 의해 유도된 PC12 세포와 B103 세포의 세포 독성에 대한 보호효과가 유의성 있게 나타났다.

2. 導痰湯은 KCN에 의해 유발된 혼수시간 단축에는 효과가 없었으며, 생존율은 20%로 나타났다.

3. 導痰湯은 중대뇌동맥 폐쇄에 따른 신경학적 결손, 허혈면적 및 부종율에

대해 유의성 있는 감소효과를 나타냈다.

4. 導痰湯은 SHR에서 유의성 있는 혈압 강하 효과를 나타냈다.

5. 導痰湯은 aldosterone 농도와 epinephrine 함량을 유의성 있게 감소시켰다.

6. 導痰湯은 NO 농도를 유의성 있게 증가시켰다.

이상의 결과들로 미루어 보아 導痰湯은 고혈압, 뇌허혈과 이들 원인으로 발생한 허혈성 뇌경색 및 뇌손상의 치료에 응용될 수 있을 것으로 보이나 그 작용기전에 대한 보충연구가 필요하다고 사료된다.

參考文獻

- 嚴用和. 重訂嚴氏濟生方. 北京: 人民衛生出版社; 1987, p.79.
- 全國韓醫科大學 心系內科學教室. 心系內科學. 서울: 서원당; 1999, p.73-4, 77, 277-9, 420-2, 427, 430, 505.
- 中國中醫研究院廣安門醫院 編. 實用中醫腦病學. 北京: 學苑出版社; 1993, p.62-74, 114.
- 李中梓. 醫宗必讀. 臺北: 文光圖書公社; 1976, p.217.
- 汪昂. 醫方集解. 서울: 成輔社; 1983, p.327.
- 吳謙. 醫宗金鑑. 北京: 人民衛生出版社; 1982, p.1036-7.
- 許浚. 東醫寶鑑. 서울: 南山堂; 1991, p.129, 366.
- 黃度淵. 方藥合編. 서울: 南山堂; 1984, p.120-1.
- 朱震亨. 丹溪心法. 臺北: 五洲出版社; 1969, p.65-105.
- 劉完素. 劉河間三六書. 서울: 成輔社; 1976, p.37-41, 281-2, 341-2.
- 張壽頤. 國譯中風論. 서울: 大星出版社; 1994, p.59-60.
- 大韓病理學會 編. 病理學. 서울: 高文社; 1990, p.125-146, 449-55, 479-85, 1259-61.
- 李秉柱, 金聖勳. 肥滿의 概念 및 辨證 施治에 관한 文獻의 考察. 대전대학교 한의학연구소 논문집 1988;7(1):533-40.
- 全國韓醫科大學韓方病理學教室. 東醫病理學. 서울: 一中社; 1999, p.137-8, 505-7.
- 김연두, 문병순, 박영순, 김세길. 導痰湯이 家兔의 高脂血症 및 血栓症에 미치는 影響. 한국전통의학지 1994;85-128.
- 김태식, 안규석. 當歸鬚散 및 導痰湯이 Endotoxin으로 誘發된 血栓症에 미치는 影響. 동의병리학회지 1988;3(1):91-8.
- Rubinstein LV, Shoemaker RH, Paull KD, Simon RM, Tosini S, Skehan P et al. 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 Inst1990;82(13):1113-8.
- Schubert J, Brill WA. Antagonism of experimental cyanide toxicity in relation to the in vivo activity of cytochrome oxidase. J. Pharmacol. Exp. Ther 1968; 162(2):352-9.
- 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.
- 정혜주, 김동섭, 김순선, 박인순, 이지선, 성기옥 외. 뇌허혈 동물모델을 이용한 뇌기능개선제의 효능에 관한 연구(I). 국립보건안전연구원보 1994;7(1):178-85.
- Benderson JB, Pitts LH, Tsuji M, Nishimura MC, Davis RL, Bartkowski H. Rat middle cerebral artery occlusion. Evaluation of the model and development of a neurologic examination. Stroke 1986;17:472-6.
- Ogihara T. A non-chromatographic non-extraction radioimmunoassay for serum aldosterone. J. Chin. Endocrinol. Metab 1977;45:726.
- Hjerdahl P. Catecholamine measurement in plasma by high performance liquid chromatography with electrochemical detection. Methods in Enzymology 1987;142:521.
- 李文鎬 외. 內科學(상). 서울: 學林社; 1986, p.338-9.
- 박형호. 五苓散이 肥滿誘導 白鼠의 肝과 副辜丸周圍의 脂肪組織, 血清脂質 및 尿中 Hormone의 變化에 관한 研究. 慶熙大學校博士學位論文; 1998.
- 程士德. 素問註釋匯粹. 北京: 人民衛生出版社; 1987, p.425-6.
- 裴秉哲, 郭東烈. 實用中風治療學. 서울: 成輔社; 1997, p.24-8, 42-3.
- 李 梈 醫學入門. 香港: 東方書局公司; 1965, p.95-7.
- 全國韓醫科大學本草學教授 共著. 本草學. 서울: 永林社; 1991, p.136-7, 302-4, 347-9, 350-1, 400-1, 419-20, 448-51, 466-7, 509-10, 523-4, 531-3, 540-1.
- 辛民教 외. 韓藥臨床應用. 서울: 傳統醫學研究所; 1993, p.47-8, 151-4, 225-31, 308-13, 323-7, 426-8, 454-5, 463-8.
- Rosenberg RN, Baskin F, Fosmire JA, Risser R, Adams P, Svetlik D et al. Altered amyloid protein processing in platelets of patients with Alzheimer disease. Arch Neurol 1997;54(2):139-44.
- 林光世 외. 神經外科學. 서울: 眞髓出版社; 1989, p.303-8.
- 서울대학교 의과대학 내과학교실. 내과학. 서울: 군자출판사; 1966, p.146-7, 176-83, 186, 212-8, 226-7.
- 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. 大田大學校博士學位論文; 1998.
- 金允植. 滌痰湯과 加味滌痰湯이 腦損傷 및 血栓에 미치는 影響. 大田大學校博士學位論文; 2000.
- 安澤源. 加味通栓化痰湯이 血栓症과 腦虛血症 및 腦損傷에 미치는 影響에 대한 實驗的 研究. 大田大學校博士學位論文; 1999.
- 許美晶. 加味通竅活血湯이 腦損傷 및 血小板凝集에 미치는 影響. 大田大學校碩士學位論文; 1999.
- 해리슨번역편찬위원회 역. Harrison 내과학. 서울: 정담; 1997, p.341-6, 451-3, 1145-65, 1189-99, 1944-58, 2409-35.
- 전국의과대학교수. 오늘의 진단 및 치료(Current Medical Diagnosis and Treatment). 서울: 도서출판 한우리; 1999, p.484, 485, 1222, 1224.