

# 疎風補心湯이 高血壓, 血栓 및 腦損傷에 미치는 영향

배경일 · 김동희<sup>1</sup> · 이용구 · 김윤식 · 설인찬\*

대전대학교 한의과대학 내과학교실, 1: 대전대학교 한의과대학 병리학교실

## Study on the Effect of Sopungbosim-tang on Hypertension, Thrombosis and Brain damage

Kyung IL Bae, Dong Hee Kim<sup>1</sup>, Yong Gu Lee, Yoon Sik Kim, In Chan Seol\*

Department of Oriental internal medicine, 1: Department of Oriental Pathology, College of Oriental Medicine, Taejeon University

This study was investigated to prove the effect of SPBST on the hypertension, the thrombosis and the brain damage. The results were as follows; 1. SPBST affected the hypertension as a depressant, but insignificant. 2. SPBST decreased significantly dopamine, aldosterone but ineffective on the epinephrine, norepinephrine and renin activity. 3. SPBST increased the NO product but insignificant. 4. SPBST had a death suppression effect by 50% in pulmonary thrombosis inducement experiment and activated slightly on the fibrinolytic activity. 5. SPBST suppressed significantly platelet diminution and prolonged insignificantly PT and APTT. 6. On the measure of the blood flow rate induced by the thrombus, in vivo SPBST accelerated the blood flow rate, in vitro insignificant. 7. SPBST had no toxicity on the PC12 cell and B103 cell induced by amyloid  $\beta$  protein(-35) and a protective effect, in proportion to the density. 8. SPBST decreased significantly coma duration time in a lethal dose of KCN and showed 50% of survival rate in a fatal dose. 9. SPBST decreased significantly ischemic area and edema incited by the MCA blood flow block. These results indicate that SPBST can be used in hypertension, the thrombosis, the brain damage, the ischemic cerebral infarction and the acute stage of the brain damage. Further study will be needed about the functional mechanism and etc.

Key words : Hypertension, Thrombosis, Brain damage.

### 서 론

疎風補心湯<sup>1)</sup>은 疎風, 理氣, 祛痰, 滲濕, 補心, 安神, 止痛, 活血, 養血 등의 效能으로 中風, 高血壓, 高脂血症, 心臟疾患 患者에게 多用되어 온 處方이다. 中風은 現代醫學의 腦血管疾患에 該當되며, 頭蓋內外 血管에 狹窄이나 閉塞 또는 出血로 인하여 意識障礙, 言語障礙, 運動 및 感覺障礙 등의 腦神經 症候群이다. 이러한 中風의 原因說로서는 風, 火, 氣虛, 濕痰 및 瘀血 등이 있으며, 특히 最近에는 濕痰과 瘀血에 대한 文獻的 研究<sup>2,3)</sup>와 實驗的 研究<sup>4)</sup>가 多樣하게 行해지고 있다. 腦血管 疾患 및 心臟疾患을 誘發시키는 原因이 되는 高血壓은 循環器 疾患 중에 發生頻도가 가장 높은 疾患으로, 韓醫學에서는 眩暈, 肝陽上亢, 頭痛 등의 範疇<sup>7)</sup>에 속한다. 最近 高血壓의 處方에 대한 實驗的 研究로는 金<sup>8)</sup>의 地黃飲子, 林<sup>9)</sup>의 滲濕湯, 등이 있으며, 最近에는 臨床에서

多用되는 高血壓 處方에 대한 機轉的 研究와 더불어 이를 바탕으로 새로운 治療處方을 開發하려는 勞力이 이루어지고 있다. 이에 著者は 大田大學校 附屬韓方病院에서 中風, 高血壓에 사용되고 있는 疎風補心湯을 試料로 血壓降下 機轉을 밝히기 위해 catecholamine 含量, renin activity, aldosterone 含量, nitric oxide(NO) 濃度を 測定하였고, 抗血栓 作用을 評價하기 위해 肺塞栓, fibrinolytic activity, dextran 瘀血 모델에서의 血小板數, prothrombin time(PT), activated partial thromboplastin time(APTT) 및 血流速度를 測定하였으며, 腦損傷 및 腦虛血에 대한 保護效果 등을 實驗하였던 바, 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

### 재료 및 방법

#### 1. 동물 및 약재

血壓降下實驗에는 體重 180-220g의 spontaneous hypertensive rat (SHR, 自發性 高血壓 白鼠)을, dextran 血栓 實驗과 局所 腦

\* 교신저자 : 설인찬, 대전광역시 중구 대흥동 22-5, 대전대학교 부속한방병원 E-mail : seolinch@dju.ac.kr Tel : 042-229-6700 · 접수: 2002/01/21 · 수정: 2002/02/27 · 채택: 2002/03/21

虛血 實驗에는 4週齡의 180-250g의 sprague dawley(SD)系 雄性白鼠를 大韓實驗動物센터로부터 供給받아 使用하였고, KCN 誘發 全腦損傷 實驗과 肺塞栓 誘發 實驗에는 6週齡의 180-200g international cancer research(ICR)系 생쥐를 韓國化學研究所(大田, 韓國)에서 供給받아 使用하였다. 動物은 實驗室 環境(溫度 23±2℃, 相對濕度 50±10%, 照明時間 12時間(07:00-19:00), 照度 150-300 Lux)에 2週日間 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. 飼料는 固形飼料(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, 三養社(株))를, 食水는 精製水를 自由로 攝取케 하였다. 본 實驗에 사용한 疎風補心湯의 構成 藥物은 大田大學校 附屬韓方病院에서 購入하였으며, 處方은 《大田大學校 韓方病院處方集》<sup>1)</sup>에 記載된 疎風補心湯으로 처방의 내용과 용량은 다음과 같다(Table 1).

Table 1. The Compositions of Sopungbosim-tang

韓藥名	生藥名	用量(g)
香附子	Cyperi Rhizoma	10
半夏	Pinelliae Tuber	6
白朮	Atractylodis Macrocephalae Rhizoma	6
陳皮	Citri Nobilis Pericarpium	6
麥芽	Hordei Germinatus Fructus	6
牡蠣粉	Ostreae Concha	6
人參	Ginseng Radix	4
當歸	Angelicae Gigantis Radix	4
川芎	Cnidii Rhizoma	4
白芍藥	Paeoniae Lactiflorae Radix	4
龍眼肉	Longanae Arillus	4
萊菔子	Raphani Semen	4
桔梗	Platycodi Radix	4
枳殼	Ponciri Fructus	4
酸棗仁	Zizyphi Spinosae Semen	4
神麩	Medicata Fermentata Massa	4
石菖蒲	Acori Graminei Rhizoma	4
豬苓	Umbellatus Polyporus	4
澤瀉	Alismatis Rhizoma	4
白茯苓	Poria	3
木香	Saussurea Radix	3
益智仁	Alpiniae Oxyphyllae Fructus	3
貢砂仁	Amomi Fructus	3
紅花	Carthami Flos	2
梔子	Gardeniae Fructus	2
肉桂	Cinnamomi Cortex	2
附子	Aconiti Radix	2
甘草	Glycyrrhizae Radix	2
Total amount		114

2. 시약 및 기기

실험에 사용한 시약은 potassium cyanide(KCN; 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.), epinephrine(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.), gerorane(enflurane제제; 중외제약, Korea), collagen reagent (Chrono-Log Co., U.S.A.), xantopren VL(Bayer Dental, Japan),

optosil-xantopren activator(Bayer Dental, Japan), IL Testtm PT-fibrinogen HS(Instrumentation Laboratory, U.S.A.), IL Testtm APTT lyophilized silica(Instrumentation Laboratory, U.S.A.) 등을 使用하였다. 機器는 serum separator(녹십자, Korea), 自動血球計算機(Minos-ST; Cobas Co., France), centrifuge(Beckman Co., U.S.A.), rotary vacuum evaporator(Büchi 461, Switzerland), deep freezer(Sanyo Co., Japan), freeze dryer(Eyela Co., Japan), autoclave(Hirayama, Japan), ultrasonic cleaner (Branson Ultrasonics Co., 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 使用하였다.

3. 검액의 제조

疎風補心湯의 2貼 分量 228g을 깨끗이 씻어 3,000ml round flask에 넣고 蒸溜水 2,000ml을 넣고, 3時間 동안 加熱한 후 抽出한 沈澱物을 3회 濾別(3M filter paper)하고, 이 濾過液을 rotary vacuum evaporator에서 減壓 濃縮하였다. 濃縮된 溶液을 -70℃ deep freezer에서 4時間 동안 放置하고, 24時間 동안 freeze dryer로 凍結 乾燥하여 16.8 g의 粉末을 얻어서 實驗에 必要한 濃도로 生理食鹽水에 稀釋하여 使用하였다.

4. 혈압강하 실험

1) 혈압 측정

血壓降下 作用을 評價하기 위하여 SHR 白鼠를 對照群과 疎風補心湯 投與群으로 나누어 對照群에는 1일 1회 14일 동안 體重 1kg당 5ml씩 生理食鹽水를 經口投與 하였으며, 각 疎風補心湯 投與群(n=5)에는 體重 1kg당 5ml씩 檢液을 經口 投與하였다. 最終日 까지 藥材를 投與한 후 cage에서 2時間 동안 安定시키고, SHR의 꼬리를 alcohol로 잘 닦은 후 37.5℃ 豫備 保溫器에 10분간 넣어 두었다가 physiograph Model 7(GRASS Instrument Co. Quincy, Mass., U.S.A.) 7P8 channel로 麻醉하지 않은 狀態에서 chart paper 1cm에 血壓은 50mmHg(baseline ; 0)으로 補正하였다.

2) 採血 및 血漿 成分 測定

最終日까지 試料를 投與한 SHR 白鼠를 ether로 致死한 후, 鎖骨下靜脈에서 血漿 1ml을 採血하여 3mg/ml EDTA 溶液을 0.5 ml로 채운 容器에 加한 후, 4℃에서 3,000rpm으로 15分間 遠心分離시킨 다음 血漿內 catecholamine과 renin activity 및 aldosterone의 含量 測定을 위하여 -80℃에 保管하였다.

(1) Catecholamine 含量 測定

Hjemdahl 변법<sup>10)</sup>에 따라 血漿中の catecholamine을 4℃에서 抽出하였다. 血漿에 0.1M HClO<sub>4</sub>를 가하여 除蛋白하고 acid washed alumina에 吸着시킨 다음, 蒸溜器로 水洗하고 0.1M HClO<sub>4</sub>에 湧出시켜 湧出液 20μl를 HPLC(High Performance Liquid Chromatography; Waters Model U6K Injector, 510 pump)에 注入하여 norepinephrine(NE), epinephrine(EPI)의 含量을 測定하였다. HPLC에서 分離된 物質들은 이를 定量(Data

Module : Waters model 745)하였다. C18 stainless steel column(5 $\mu$ , 150mm $\times$ 4.6mm Waters model 460 : KCl reference electrode)에 가해진 電壓은 +0.63V였다. 測定에 必要한 試藥은 norepinephrine(Sigma) · epinephrine (Sigma) 등으로 特級品을 使用하였으며, 蒸溜水는 Milli-QTM waters system(Millipore)을 通過시킨 超純水를 使用하였다.

(2) Renin activity 測定

RIA法<sup>11)</sup>에 따라 市販用 kit(Renin Riabead, Abbott)를 使用하여 定量하였다.

(3) Aldosterone 含量 測定

RIA法<sup>11)</sup>에 따라 市販用 kit(Aldosterone RIA Diagnostic kit, Abbott)를 使用하여 定量하였다.

3) Nitric oxide(NO) 濃度 測定

(1) 細胞柱 및 培地

RAW264.7 細胞<sup>12)</sup>를 Dulbecco's modified Eagle Medium (DMEM)에 3.7g/L sodium bicarbonate, 10% Fetal bovine serum(FBS) 그리고 Antibiotic-Antimycotic(GibcoBRL, 15240-062)을 1%가 되게 添加하여 bottle top filter를 使用하여 滅菌한 培地를 利用하여 培養하였다. RAW264.7 細胞는 100mm dish와 T-75 flask에 seeding하여 5% CO<sub>2</sub>가 포함된 混合가스로 채워진 培養器에서 培養하였다. 培養된 細胞는 1주에 2회씩 繼代培養을 하였다. 試料 處理는 細胞가 培養 容器에 완전히 附着된 후 培地를 交換하였으며, 이 時期에 試料를 100 $\mu$ g/ml 濃度로 添加하여 24時間 동안 培養 후 實驗에 使用하였다.

(2) NO 濃度 測定

疎風補心湯을 處理한 RAW264.7 細胞의 培養液에서 NO의 濃度는 griess reagent를 使用하여 測定하였다. 測定前 solution A(0.2% naphthyl ethylene diamine dihydrochloride in H<sub>2</sub>O)와 solution B(2% sulfonilamide in 5% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)를 同量으로 섞어 griess reagent를 準備하였다. 測定은 檢液試料 100 $\mu$ l와 griess reagent 100 $\mu$ l를 96 well plate에 분주하고 氣泡가 생기지 않도록 注意하며 混合하였다. 이 混合液은 540nm에서 ELISA reader를 利用하여 吸光度를 測定하였다. NO의 定量은 NaNO<sub>3</sub>를 使用하여 標準 曲線을 구하여 試料內 NO의 濃度를 計算하였다.

5. 항혈전 실험

1) 폐색전 유발

실험적 혈전의 유도는 Kimura의 實驗 方法<sup>13)</sup>에 준하여 實施하였다. 實驗 動物은 몸무게 약 18-20g 程度의 ICR계 mouse를 使用하였고, 疎風補心湯 投與群은 20g ICR계 Mouse를 基準으로 檢液 11.3mg/20g/day을 生理食鹽水 0.2ml에 溶解시켜 oral zonde를 使用하여 2회 經口 投與하였다. 血栓의 誘發은 血小板凝集試藥(11.3 $\mu$ g의 collagen과 1.32 $\mu$ g의 epinephrine)을 hank's balanced salt solution(HBSS) 200 $\mu$ l에 含有되도록 調製하였고, ICR계 mouse의 몸무게 20g당 200 $\mu$ l의 用量으로 尾靜脈에 注射하였다. 實驗 24時間 전에 1회 經口 投與하고, 이후 絶食시킨 후 血小板凝集 誘發 試藥의 靜脈 注射 2時間 전에 다시 上記한 濃度의 疎風補心湯을 mouse에 經口 投與하였다. 陽性 對照群으로

는 aspirin 100mg/kg을 經口 投與하였다. 抗血栓效果는 血小板凝集 試藥의 投與로 인하여 發生하는 mouse 뒷다리의 麻痺나 죽음으로부터 保護된 實驗 動物 數字의 百分率로 計算하며, 여기서 麻痺는 20분 이상 뒷다리의 機能을 喪失하거나 떨림 狀態가 持續될 때를 基準으로 하였다.

2) Fibrinolytic activity 測定

最終 0.7%가 되도록 fibrinogen(plasminogen-containing, Sigma)을 0.05M babilat buffer, pH 7.8에 녹인 뒤 5ml의 溶液을 0.1ml의 thrombin (100NIH/ml)에 넣어 수초내에 petridish(85 $\times$ 15 mm)에서 混合한다. 이것을 37 $^{\circ}$ C에서 30時間 放置하여 fibrin plate가 形成됨을 確認하고 形成된 fibrin plate 상에 disk를 利用하여 陽性 對照群 urokinase 0.1ml(100iu/ml)를 點適하고 試料를 濃度別로 點適한 다음 37 $^{\circ}$ C incubation 에 24時間 동안 放置하여 溶解되는 whole well의 크기를 測定하여 對照群과 實驗群을 比較하였다.

3) Dextran 瘵血 病態 誘發 및 약물 투여

白鼠 8마리를 1군으로 하여 正常群(Normal), 對照群(Control) 및 實驗群(SPBST)으로 각각 나누었다. 正常群은 生理食鹽水를 供給하고, 對照群은 生理食鹽水를 投與한 지 1時間 후 에 dextran 瘵血 病態를 誘發하였으며, 疎風補心湯 投與群은<sup>1)</sup> 2 mg/200g을 生理食鹽水 2ml에 溶解하여 oral zonde로 實驗 하루 전에 1회 經口 投與하고, 絶食시킨 후 實驗하기 1시간 전에 다시 1회 經口 投與한 후 對照群과 동일한 방법으로 Dextran 瘵血 病態를 誘發하였다. Dextran 瘵血 病態 誘發 : Dextran(分子量 21 만)을 生理食鹽水에 넣고 加熱하면서 完全히 溶解시켜 10% 濃度의 溶液을 만들어 1.1ml/200g(rat)씩 白鼠의 尾靜脈에 3분 以內에 全量 注射하고, 4時間 經過 후 心臟 穿刺로 採血하여 各種 檢査를 實施하였다. 正常群 및 對照群은 實驗 藥物 대신 生理食鹽水를 投與하여 實驗群과 同一한 時刻에 各種 指標을 檢査하였다.

(1) 혈소판수 측정

血小板數 測定은 自動血球計算機, Minos-ST(Cobas Co., France)를 使用하여 測定하였다.

(2) Prothrombin time(PT) 측정

PT는 Simplastin kit(General Diagnostics, U.S.A.)를 使用하여 ACL-100(Instrumentation Laboratory, U.S.A.)으로 측정하였다.

(3) Activated partial thromboplastin time(APTT) 측정

APTT는 simplastin kit(General Diagnostics, U.S.A.)를 使用하여 ACL-100(Instrumentation Laboratory, U.S.A.)으로 測定하였다.

4) 혈류 속도 측정

試料를 10日間 SD에 經口 投與하고 Dextran 瘵血病態를 誘發한 다음 heparin (1000unit/ml) 처리한 syringe를 이용하여 採血하였다. 血液을 acid citrate dextrous(ACD) 溶液으로 5배 稀釋한 다음 一定한 크기의 유리관을 通過하게 하여 血流 速度에 미치는 影響을 測定하였다. 5ml의 稀釋 血液을 基準으로 直徑 2mm의 크기를 가진 유리관을 通過하는데 걸리는 時間을 測定하여 決定하였다. 實驗에 使用한 稀釋 血液은 37 $^{\circ}$ C가 維持되도록 하였으며 in vitro 實驗인 境遇 試料를 넣고 5時間 preincubation시킨 후 測定하였다.

6. 뇌손상 보호 실험

1) PC12, B103 뇌세포 배양 및 세포독성 측정

(1) 세포배양

PC12 cell(ATCC CRL 1721)은 rat의 adrenal pheochromocytoma에서 유래된 세포이며, 最近 Alzheimer's disease의 實驗<sup>15-18)</sup>에 사용되는 세포로서 韓國人蔘煙草研究院에서 分讓 받았다. RPMI 1640 培地에 10% 不活性化시킨 fetal bovine serum(FBS)에, 不活性化한 5% horse serum과 50ng Nerve growth factor(NGF)를 2日間 가하고 antibiotic 10ml(100,000units penicillin, 100mg streptomycin, 250μg amphotericin)을 添加한 후 collagen 코팅된 容器에 의해 分化誘導하여 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 狀態의 培養器에서 培養하였다. B103 細胞는 rat brain 細胞로서 DMEM과 10% FBS로 培養하였다.

(2) 細胞毒性 및 保護 效果 測定

Amyloid β protein(25-35)은 Pepton(大田, Korea)에서 購入 하였으며, PC12 cell에 대한 amyloid β protein(25-35)의 細胞 毒性은 SRB assay를 實施하여 評價하였다. PC12 cell을 1회용 滅菌 注射器(25gauge, Boin Medica Co., Korea)를 利用하여 單一細胞 (single cell) 狀態의 細胞 懸濁液을 만들어 96well plate의 각 well에 100μl(2×10<sup>4</sup> cells/well)씩 가한 뒤 24時間 培養 후 50mg/ml의 NGF를 넣고 48時間 培養하였다. 檢液은 細胞 毒性을 나타 내지 않는 10μg/ml, 100μg/ml 및 1,000μg/ml 濃度로 稀釋한 뒤, 96well plate의 각 well plate에 10μl씩 넣었다. 4時間 후에 다시 각 well plate에 50μM의 amyloid β protein(25-35)을 가한 다음 48時間 培養한 후 SRB법에 의하여 細胞毒性을 觀察하였다.

2) 뇌허혈 유발 실험

(1) 전뇌허혈 유발 실험

全腦虛血 모델은 Schubert 등의 방법<sup>19)</sup>에 준하였다. 疎風補心湯 投與群(SPBST)은 하루에 20g ICR 생쥐를 基準으로 檢液 11.2mg/20g/day을 生理食鹽水 0.2ml에 溶解시켜 oral zonde(대 중기기, Korea)를 使用하여 1회 經口 投與하였다. 對照群은 檢液 을 녹일 때 使用한 同量의 生理食鹽水를 經口 投與하였다. 經口 投與 30분 후에 非致死量인 1.87mg/kg KCN을 ICR계 mouse 尾 靜脈에 注射한 후 正向反射를 消失한 후, 正向反射를 回復할 때 까지의 時間을 測定하였다. KCN 誘發 生存時間 測定은 經口 投與 30분 후에 致死量인 3.0mg/kg KCN을 尾靜脈 注射하여 致死 率을 보았다.

(2) 局所 腦虛血 誘發 實驗(Middle Cerebral Artery occlusion: MCA)

白鼠 8마리를 1군으로 하여 對照群과 疎風補心湯 投與群으로 區分하였다. 中大腦動脈(MCA) 閉鎖 2時間 전에 實驗 白鼠의 體重 을 測定하고 疎風補心湯 投與群은 檢液 140.2mg/250g/day을 生理 食鹽水 2ml에 溶解시켜 oral zonde(대중기기, Korea)를 使用하여 經口 投與한 후 中大腦動脈 閉鎖 實驗을 하고 麻醉에서 깨면 神經 學的 檢査를 하였다. 局所 腦虛血 誘發 24時間 후 犧牲하고 腦切片 8개를 만들어 浮腫率과 虛血 面積을 計算하였다.

① Silicon rubber cylinder 製作

Silicon rubber cylinder 製作는 Nagasawa 등의 방법<sup>20)</sup>에 따

라 4.0 規格의 나일론 縫合絲(Deknatel Inc., Japan)를 適當한 길이 로 잘라 열을 가해 한 쪽 끝에 매듭을 만들었다. 총 길이를 18mm로 만든 후 硬化劑를 섞은 silicon을 약 0.3mm 두께로 매듭 반대편에 얇게 8mm 두께로 덧씌워 silicon rubber cylinder를 만들었다.

② 국소 뇌허혈 유발

白鼠를 手術臺에 固定시키고 Royal multi-plus(Royal Medical Co, Korea)를 使用하여 N<sub>2</sub>O와 O<sub>2</sub>의 比率을 7:3으로 調整하여 enflurane로 吸入 麻醉하였다. Nagasawa의 방법<sup>20)</sup>에 따 라 목 中央을 切開하고 迷走神經에 損傷을 주지 않도록 注意하 면서 右側 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 盆地 에 매듭을 除外한 프로브 全體를 插入한 뒤 插入部位 바로 위쪽 을 結紮함으로써 同側 中大腦動脈을 閉鎖하였다. 총 手術 時間은 30분 以內로 하였으며, 直腸溫度計을 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하 고 60분 동안 N<sub>2</sub>O와 O<sub>2</sub>를 90%와 10% 比率로 하여 低酸素狀態 를 誘發하였고 閉鎖 120분 후에 프로브를 1cm 정도 당겨 再灌流 를 행하였다(Fig. 1, 2 생략).

③ 허혈 면적 및 부종률 측정

手術 24時間 후에 白鼠에서 腦를 꺼내어 brain matrix(ASI Instruments, Warren, MI., U.S.A.)를 使用하여 2mm 두께의 coronal brain slice를 얻은 후 이 중 8 조각을 選擇하여 2% triphenyltetrazolium chloride(TTC) 溶液을 가하고 37℃에서 20 分間 培養하였다. TTC에 의해 正常 組織은 짙은 赤色으로 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 바로 寫眞을 찍어 現狀하고, 染色된 組織을 10% formalin neutral buffer로 固定시켰다. coronal slice에서 虛血 面積을 測定하였고, 虛血 面積 및 浮腫率은 아래 의 식<sup>21)</sup>에 의해 產出하였다.

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

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

A : 각 coronal slice에서의 虛血이 誘發된 大腦半球 面積(mm<sup>2</sup>), B : 각 coronal slice에서 의 對側 大腦半球 面積(mm<sup>2</sup>), C : 각 coronal slice에서의 虛血 面積(mm<sup>2</sup>)

④ 신경학적 검사

中大腦動脈 閉鎖 후, 低酸素症 誘發 후 및 再灌流 후에 대한 各各의 神經學的 檢査를 施行하여 中大腦動脈 閉鎖에 따른 神經 학적 결손정도를 測定하였다. 神經學的 缺損程度는 Bederson 등 의 방법<sup>22)</sup>에 의하여 그 程度를 forelimb은 4等級으로, hindlimb 은 2等級으로 나누어 點數化하였으며 症狀에 따른 等級 分類는 아래 Table 2와 같다.

⑤ 조직학적 관찰

正常群, 生理食鹽水를 投與한 對照群과 疎風補心湯을 投與 한 實驗群으로부터 摘出した 腦組織은 前頭葉으로부터 2mm 間隔으 로 切開한 다음 虛血性 損傷의 肉眼的 程度를 把握하기 위해 각 部分들은 TTC 染色 후 즉시 4% paraformaldehyde 固定液에 24 時間 동안 固定하였다. 固定이 完了된 각 組織들은 흐르는 수돗 물에서 12時間 水洗 후 通常의 方法에 따라 알코올 濃度 上昇順

으로 脫水 및 xylene에 透明過程을 거친 다음 파라핀 블럭을 製作하였다. 虛血性 損傷에 의한 神經細胞의 損傷 程度는 Nissl 소체에 대한 特殊 染色으로, 파라핀 블럭을 利用하여 4 $\mu$ m 두께로 파라핀 切片을 만들어 탈파라핀 및 含水過程을 거친 다음 0.1% cresyl fast violet 染色液에 室溫에서 30分間 染色 후 95% alcohol로 脫色하고 脫水 및 透明過程을 마친 다음 封入하여 光學顯微鏡(Olympus-BH2, Japan)하에서 檢鏡 및 寫眞 撮影하였다.

Table 2. The Neurologic Examination Grading System

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

7. 통계처리

실험 결과는 unpaired student's T-test를 使用하여 統計處理 하였으며 P<0.05, P<0.01 및 P<0.001 水準에서 有意성을 檢定하였다.

실험성적

1. 血壓에 미치는 影響

血壓에 미치는 影響을 알아보기 위해 SHR 白鼠의 血壓 變化 測定에서는 對照群이 168.0 $\pm$ 5.4(mmHg)인데 비하여, 疎風補心湯 投與群은 149.2 $\pm$ 6.5(mmHg)으로 對照群에 비하여 減少하였으나 有意성은 나타나지 않았다(Table 3).

Table 3. The Effect of SPBST Extract on Blood Pressure

	Control	SPBST
BP (mmHg)	168.0 $\pm$ 5.4 <sup>a)</sup>	149.2 $\pm$ 6.5

a) : Mean  $\pm$  Standard error. Control : Saline(5ml/kg/rat) treated group during 14 days. SPBST : SPBST(5ml/kg/rat) extract treated group during 14 days.

2. Catecholamine 含量 變化에 미치는 影響

Catecholamine 含量 중 dopamine 含量 變化에서 對照群은 532.1 $\pm$ 9.5(pg/ml), 疎風補心湯 投與群은 459.6 $\pm$ 8.5(pg/ml)로 나타나 有意性있는 減少(P<0.001)를 나타내었고, epinephrine, norepinephrine은 對照群에 비해서 有意성이 나타나지 않았다(Table 4).

Table 4. The Effect of SPBST Extract on the Plasma Levels of Catecholamine in SHR

	Catecholamine level(pg/ml)		
	Dopamine	Epinephrine	Norepinephrine
Control	532.1 $\pm$ 9.5a)	590.2 $\pm$ 15.4	211.5 $\pm$ 11.2
SPBST	459.6 $\pm$ 8.5***	509.5 $\pm$ 18.5	221.2 $\pm$ 1.4

3. Renin activity에 미치는 影響

Renin activity에 미치는 影響에서 對照群은 9.04 $\pm$ 0.14(ng/ml/hr), 疎風補心湯 投與群은 9.43 $\pm$ 0.25(ng/ml/hr)로 有意성은 나타나지 않았다(Table 5).

Table 5. The Effect of SPBST Extract on the Plasma Renin Activity in SHR

Prescription	Control	SPBST
Plasma Renin activity (ng/ml/hr)	9.04 $\pm$ 0.14 <sup>a)</sup>	9.43 $\pm$ 0.25

4. Aldosterone 含量 變化에 미치는 影響

Aldosterone 含量 變化에서 對照群은 461.98 $\pm$ 0.14(pg/ml), 疎風補心湯 投與群은 315.40 $\pm$ 15.40(pg/ml)으로 有意性있는 減少(P<0.001)를 나타내었다(Table 6).

Table 6. The Effect of SPBST Extract on the Plasma Levels of Aldosterone in SHR

	Control	SPBST
Plasma Aldosteron (ng/ml/hr)	461.98 $\pm$ 0.14 <sup>a)</sup>	315.40 $\pm$ 15.40***

5. NO 生成量에 미치는 影響

NO 生成量에 미치는 影響에서 對照群은 5.44 $\pm$ 0.20( $\mu$ M), 疎風補心湯 投與群은 6.43 $\pm$ 0.20( $\mu$ M)으로 有意성은 나타나지 않았다(Table 7).

Table 7. The Effect of SPBST Extract on the NO Production

Prescription	Control	SPBST
NO( $\mu$ M)	5.44 $\pm$ 0.20 <sup>a)</sup>	6.43 $\pm$ 0.20

7. 肺塞栓에 대한 효과

Collagen과 epinephrine에 의해 誘導된 肺塞栓 實驗에서 對照群은 10마리 중 8마리가 죽거나 15분 이상 麻痺가 持續되었으며, aspirin 投與群은 10마리중 2마리가 죽거나 15분 이상 麻痺가 持續되어 生存率이 80%인 반면에 疎風補心湯 投與群은 5마리가 죽거나 15분이상 麻痺가 持續되어50%의 生存率을 나타내었다 (Table 8).

Table 8. The Effect of SPBST Extract on Pulmonary Embolism in ICR Mice

	Dose (mg/20g)	No. of killed orparalyzed / No. tested	Protection (%)
Control	HBSS	8/10	20
Aspirin	2	2/10	80
SPBST	10.3	5/10	50

8. Fibrinolytic activity에 대한 效果

Fibrin Plate 상에 whole well의 크기를 測定한 結果 陽性對照群인 urokinase에서는 8mm 정도로 血栓을 溶解시켰고, 疎風補心湯 投與群은 10mg/disk에서 0.7mm, 5mg/disk에서 0.1mm로 나타나 陽性對照群보다는 微弱하지만 高濃度에서 血栓을 溶解시켜 whole well을 形成하였다(Table 9)

Table 9. The Effect of SPBST Extract on the Fibrinolytic Activity by Fibrin Plate

Group	Concentration	Fibrinolysis size per Dilutions(mm)
Urokinase	10iu/disk	8
Sam A	10mg/disk	0.7
Sam B	5mg/disk	0.1

9. Dextran 瘵血 病態에 미치는 效果

1) 血小板數에 미치는 效果

血小板數 變化에서 正常群은  $974.00 \pm 16.70 (\times 10^3 / \text{mm}^3)$ , 對照群은  $751.41 \pm 34.58 (\times 10^3 / \text{mm}^3)$ , 疎風補心湯 投與群은  $834.67 \pm 16.80 (\times 10^3 / \text{mm}^3)$ 으로 나타나 對照群에 비하여 有意性( $P < 0.05$ )있는 血小板 凝集 減少效果를 나타내었다(Table 10).

Table 10. The Effect of SPBST Extract on Platelet in Dextran Treated SD Rats

Group	NO. of rats	Platelet( $\times 10^3 / \text{mm}^3$ )
Normal	8	$974.00 \pm 16.70^{\text{a}}$
Control	8	$751.41 \pm 34.58^{***}$
SPBST	8	$834.67 \pm 16.80^*$

2) Prothrombin time(PT)에 미치는 效果

PT에 대한 效果에서 正常群은  $15.25 \pm 0.32(\text{sec})$ , 對照群은  $19.45 \pm 1.71(\text{sec})$ , 疎風補心湯 投與群은  $17.43 \pm 2.94(\text{sec})$ 로 나타나 對照群에 비하여 延長되었으나 有意性은 나타나지 않았다(Table 11).

Table 11. The Effect of SPBST Extract on PT in Dextran Treated SD Rats

Group	NO. of rats	Prothrombin time(sec)
Normal	8	$15.25 \pm 0.32^{\text{a}}$
Control	8	$19.45 \pm 1.71^*$
SPBST	8	$17.43 \pm 2.94$

3) Activated partial thromboplastin time(APTT)에 미치는 效果

APTT에 대한 效果에서 正常群은  $23.94 \pm 0.89(\text{sec})$ , 對照群은  $32.74 \pm 2.07(\text{sec})$ , 疎風補心湯 投與群은  $27.56 \pm 4.97(\text{sec})$ 로 나타나 對照群에 비해 減少하였으나 有意性은 없었다(Table 12).

Table 12. Effect of SPBST Extract on APTT in Dextran Treated SD Rats

Group	NO. of rats	APTT(sec)
Normal	8	$23.94 \pm 0.89^{\text{a}}$
Control	8	$32.74 \pm 2.07^{**}$
SPBST	8	$27.56 \pm 4.97$

10. 血流 速度에 미치는 影響

急性血栓을 誘發시켜 血流 速度를 測定한 in vivo 實驗의 結果 正常群은  $33.75 \pm 1.88(\text{sec})$ , 對照群은  $24.33 \pm 1.85(\text{sec})$ , 疎風補心湯 投與群은  $29.31 \pm 3.45(\text{sec})$ 로 有意性( $P < 0.05$ )이 있었고(Table 13), 正常群의 血液에 直接 藥物을 投與시킨 in vitro 實驗에서 正常群은  $30.08 \pm 0.89(\text{sec})$ , 對照群은  $27.66 \pm 2.45(\text{sec})$ , 疎風補心湯 投與群은  $30.56 \pm 3.30(\text{sec})$ 으로 나타나 有意性은 없었다(Table 14).

Table 13. The Effect of SPBST Extract on Blood Flow Rate in vivo

Sample	Flow Rate(sec)
Normal	$33.75 \pm 1.88^{\text{a}}$
Control	$24.33 \pm 1.85^{**}$
SPBST	$29.31 \pm 3.45^*$

Table 14. The Effect of SPBST Extract on Blood Flow Rate in vitro

Sample	Flow Rate(sec)
Normal	$30.08 \pm 0.89^{\text{a}}$
Control	$27.66 \pm 2.45$
SPBST	$30.56 \pm 3.30$

11. Amyloid  $\beta$  protein(25-35)에 대한 보호 效果

1) PC12細胞에 대한 細胞毒性

PC12細胞에 대한 疎風補心湯 投與群의 細胞毒性을 觀察한 結果, 疎風補心湯 投與群은  $0.01(\text{mg}/\text{ml})$ ,  $0.1(\text{mg}/\text{ml})$ ,  $1(\text{mg}/\text{ml})$ 의 濃度에서 各各  $99.45 \pm 0.89\%$ ,  $101.50 \pm 3.11\%$ ,  $94.26 \pm 1.38\%$ 로 나타나,  $0.01(\text{mg}/\text{ml})$ ,  $0.1(\text{mg}/\text{ml})$  濃度에서 細胞毒性을 보이지 않았다(Table 15).

Table 15. The Cytotoxicity of SPBST Extract Against PC12 Cell Line

Sample	Concentration	Viability(% of Control)
Control		$100.00 \pm 3.29^{\text{a}}$
Sam A	$0.01 \text{ mg/ml}$	$99.45 \pm 0.89$
Sam B	$0.1 \text{ mg/ml}$	$101.50 \pm 3.11$
Sam C	$1 \text{ mg/ml}$	$94.26 \pm 1.38$

2) Amyloid  $\beta$  protein(25-35)에 대한 PC12細胞에서의 保護 效果

細胞毒性이 없는 濃度인  $0.01(\text{mg}/\text{ml})$ ,  $0.1(\text{mg}/\text{ml})$  疎風補心湯을 前處置한 후 Amyloid  $\beta$  protein(25-35)을 處理하여 細胞毒性 保護 效果를 觀察한 結果, 對照群은  $53.78 \pm 1.84\%$ , 疎風補心湯 投與群은  $0.01(\text{mg}/\text{ml})$ ,  $0.1(\text{mg}/\text{ml})$ 의 濃度에서 各各  $55.12 \pm 1.54\%$ ,  $60.84 \pm 3.19\%$ 로 나타나  $0.1(\text{mg}/\text{ml})$ 에서 有意性( $P < 0.05$ )있는 保護 效果가 나타났다(Table 16).

Table 16. The Protective Effect of SPBST Extract on Cytotoxicity of PC12 Cells Induced by Amyloid  $\beta$  Protein(25-35)

Sample	Concentration	Viability(% of Control)
Normal		$100.00 \pm 2.97^{\text{a}}$
Control	$50 \mu\text{M}$	$53.78 \pm 1.84^{***}$
Sam A	$0.01 \text{ mg/ml}$	$55.12 \pm 1.54$
Sam B	$0.1 \text{ mg/ml}$	$60.84 \pm 3.19^*$

3) B103細胞에 대한 細胞毒性

B103 細胞에 대한 疎風補心湯 投與群의 細胞毒性을 觀察한 結果, 疎風補心湯 投與群은  $0.01(\text{mg}/\text{ml})$ ,  $0.1(\text{mg}/\text{ml})$ ,  $1(\text{mg}/\text{ml})$ 의 濃度에서 各各  $98.74 \pm 3.56\%$ ,  $99.16 \pm 2.41\%$ ,  $92.47 \pm 2.64\%$ 로 나타나,  $0.01(\text{mg}/\text{ml})$ ,  $0.1(\text{mg}/\text{ml})$ 의 濃度에서 細胞毒性을 보이지 않았다(Table 17).

Table 17. The Cytotoxicity of SPBST Extract Against B103 Cell Line

Sample	Concentration	Viability(% of Control)
Control		$100.31 \pm 1.85^{\text{a}}$
Sam A	$0.01 \text{ mg/ml}$	$98.74 \pm 3.56$
Sam B	$0.1 \text{ mg/ml}$	$99.16 \pm 2.41$
Sam C	$1 \text{ mg/ml}$	$92.47 \pm 2.64$

4) Amyloid  $\beta$  protein(25-35)에 대한 B103細胞에서의 保護 效果

細胞毒性이 없는 濃度인  $0.01(\text{mg}/\text{ml})$ ,  $0.1(\text{mg}/\text{ml})$  疎風補心湯을 前處置한 후 Amyloid  $\beta$  protein(25-35)을 處理하여 細胞毒性 保護 效果를 觀察한 結果, 對照群은  $53.61 \pm 2.64\%$ 였고, 疎風補心湯 投與群은  $0.01(\text{mg}/\text{ml})$ ,  $0.1(\text{mg}/\text{ml})$ 의 濃度에서 各各  $51.49 \pm 2.03\%$ ,  $65.11 \pm 2.51\%$ 로 나타나  $0.1(\text{mg}/\text{ml})$ 에서 有意性( $P < 0.05$ )있는 保護效果가 나타났다(Table 18).

Table 18. The Protective Effect of SPBST Extract on Cytotoxicity of B103 Cells Induced by Amyloid  $\beta$  Protein(25-35)

Sample	Concentration	Viability(% of Control)
Normal		100.00 $\pm$ 3.67 <sup>ab</sup>
Control	50 $\mu$ mol	53.61 $\pm$ 2.64 <sup>+++</sup>
Sam A	0.01mg/ml	51.49 $\pm$ 2.03
Sam B	0.1mg/ml	65.11 $\pm$ 2.51*

12. 腦虛血 病態 모델에 대한 效果

1) 全腦虛血에 대한 效果

(1) KCN 誘發 昏睡 時間에 미치는 效果

非致死量의 KCN(1.87mg/kg i.v.)에 의해 誘發시킨 ICR계 mouse의 昏睡 時間은 對照群이 18.71 $\pm$ 3.(sec)인데 비하여 疎風補心湯 投與群은 9.20 $\pm$ 0.66(sec)으로 나타나 有意性(P<0.01)있는 昏睡 時間 短縮效果를 나타내었다(Table 19)

Table 19. The Effect of SPBST Extract on the Duration of KCN-induced(1.87mg/kg i.v.) Coma

Group	No. of mice	Duration of coma(sec)
Control	10	18.71 $\pm$ 3.a)
SPBST	10	9.20 $\pm$ 0.66**

(2) KCN 誘發 生存率에 미치는 效果

致死量의 KCN(3.0mg/kg i.v.)에 의해 誘發시킨 對照群의 生存率은 0%인데 비하여, 疎風補心湯 投與群은 50%의 生存率을 나타내었다(Table 20).

Table 20. The Effect of SPBST Extract on the Survival Rate of KCN-induced(3.0mg/kg i.v.) Coma

Group	No. of mice	Survival No. of coma mice	Survival ratio (%)
Control	10	0	0
SPBST	10	5	50

2) 局所 腦虛血에 대한 效果

(1) 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과 浮腫率은 對照群에 비하여 全般的으로 疎風補心湯 投與群이 對照群에 비하여 有意性(P<0.05)있는 減少를 보였었다(Table 21, 22 생략, Fig 3).

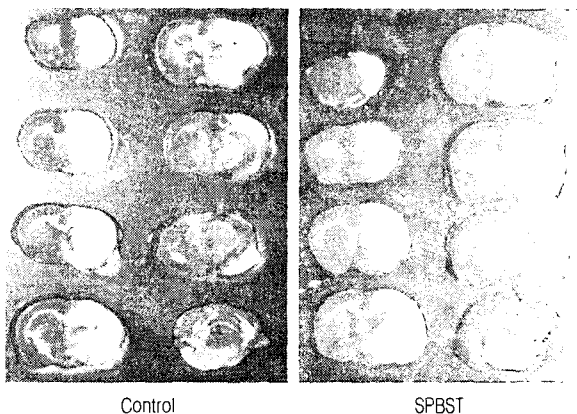


Fig. 3. Photography of 8 slices of brain in control and SPBST extract treated group. Control : Normal saline treated group. SPBST : 1402/250g of SPBST extract treated group.

(2) 神經學的 變化에 미치는 影響

① Fore limb test

Fore limb test의 結果는 對照群은 3.00 $\pm$ 0.00, 2.66 $\pm$ 0.33, 2.66 $\pm$ 0.33인데 비하여 疎風補心湯 投與群은 2.75 $\pm$ 0.25, 2.75 $\pm$ 0.25, 2.75 $\pm$ 0.25로 好轉現狀은 보이지 않았다(Table 23).

Table 23. Effect of SPBST Extract on Variation of Neurologic Grades in MCA Occluded SD Rat(Fore Limb)

Sample	Operation	Hypoxia	Recirculation
Control	3.00 $\pm$ 0.00 <sup>ab</sup>	2.66 $\pm$ 0.33	2.66 $\pm$ 0.33
SPBST	2.75 $\pm$ 0.25	2.75 $\pm$ 0.25	2.75 $\pm$ 0.25

② Hind limb test

Hind limb test의 結果는 對照群은 1.00 $\pm$ 0.00, 1.00 $\pm$ 0.00, 1.00 $\pm$ 0.00인데 비하여 疎風補心湯 投與群은 0.75 $\pm$ 0.50, 0.75 $\pm$ 0.50, 0.5 $\pm$ 0.57로 好轉現狀은 보이지 않았다(Table 24).

Table 24. Effect of SPBST Extract on Variation of Neurologic Grades in MCA Occluded SD Rat(Hind Limb)

Sample	Operation	Hypoxia	Recirculation
Control	1.00 $\pm$ 0.00 <sup>ab</sup>	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00
SPBST	0.75 $\pm$ 0.50	0.75 $\pm$ 0.50	0.5 $\pm$ 0.57

(3) 組織學的 變化에 미치는 影響

① 正常群

Cresyl fast violet(CFV) 染色 結果 正常群의 大腦皮質에서는 神經細胞들로 構成된 6층의 大腦皮質層(cortex layer)과 각 층에 存在하는 細胞들이 잘 觀察되었다. 특히 제 3층과 5층에 걸쳐 나타나는 큰 피라미드 세포(large pyramidal neuron)들이 강한 染色性을 보였다. 周邊에는 크고 작은 血管들도 잘 觀察되었다(Fig. 4). 海馬 CA1-3 領域 部分에서의 觀察 所見은 兩側 모두에서 피라미드 모양의 CFV染色에 강한 染色性을 보이는 細胞들과 다소 染色性이 약하고 둥근 핵을 가진 細胞들이 함께 觀察되었다(Fig. 4).

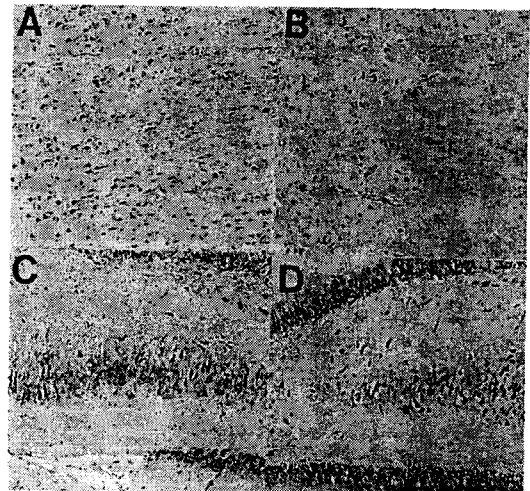


Fig. 4. Light micrographic appearance of the cerebral cortex and hippocampus, the normal group and Cresyl fast violet stain,  $\times$ 100. A. Normal cerebral cortex portion. B. Ischemic cerebral cortex portion. C. Normal hippocampal formation portion. D. Ischemic hippocampal formation portion.



② 對照群

對照群에서는 正常 大腦皮質의 觀察 所見으로 最上層의 分子層(molecular layer)을 비롯한 6층의 大腦皮質層(cortex layer)의 區分이 잘되고 各層에 存在하는 細胞들도 잘 觀察되었다. 특히 제 3층과 5층에 걸쳐 나타나는 큰 피라미드 세포들이 강한 染色性を 보였다(Fig. 5). 반면 虛血性 損傷部位의 大腦皮質에서는 제 1층의 分子層에서 제 2-5층의 속피라미드층(internal pyramidal layer)까지 심한 壞死性 所見으로서 층의 區分이 어렵고 大部分의 細胞核들은 萎縮되고 진한 染色性を 보이고, 周邊에는 크고 작은 空胞(vacuole)들이 觀察되었다. 正常 大腦半球쪽의 海馬形成體 觀察 所見으로 CA1-4 領域 部分과 치아이랑(dentate gyrus) 附近에서 觀察되는 피라미드 細胞들과 顆粒細胞들이 강한 染色性を 보였다. 반면 虛血性 損傷을 받은 大腦半球의 海馬形成體 周邊 領域에서 觀察되는 피라미드 細胞들과 顆粒細胞들은 染色성이 약하였고 細胞間의 區別도 어려웠다(Fig. 5).

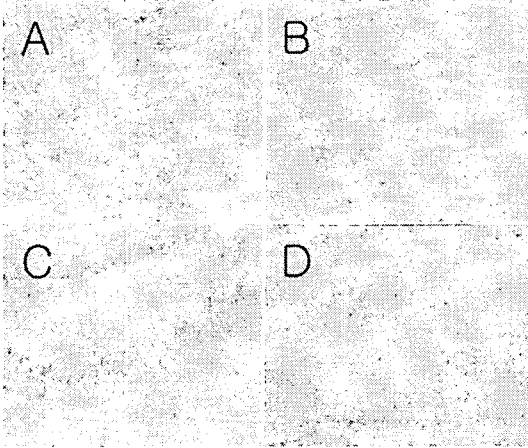


Fig. 5. Light micrographic appearance of the cerebral cortex and hippocampus, the control group and Cresyl fast violet stain,  $\times 100$ . A. Normal cerebral cortex portion. B. Ischemic cerebral cortex portion. C. Normal hippocampal formation portion. D. Ischemic hippocampal formation portion.

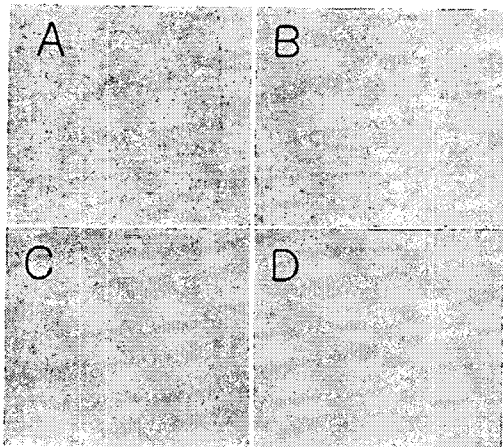


Fig. 6. Light micrographic appearance of the cerebral cortex and hippocampus, the SPBST extract treated group and Cresyl fast violet stain,  $\times 100$ . A. Normal cerebral cortex portion. B. Ischemic cerebral cortex portion. C. Normal hippocampal formation portion. D. Ischemic hippocampal formation portion.

③ 疎風補心湯 投與群

正常 大腦皮質과 海馬形成體 周邊 觀察 所見은 正常群과 동일하였다. 虛血 損傷된 大腦皮質과 海馬形成體 周邊 觀察 所見은 組織의 壞死 所見이 심하였고, 損傷程度는 正常群과 類似하였다(Fig. 6).

고찰

腦血管疾患은 腦血管의 塞栓, 血栓으로 생기는 腦梗塞과 破裂로 인한 腦出血 등으로 區分이 되며, 최근에는 腦梗塞의 發生比率이 점차 增加하는 傾向을 보이고 있다. 특히 血栓은 腦梗塞을 誘發하는 因子로 알려져 있으며, 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 인한 血流速度 變化, 血管壁의 變成과 血管의 局所壓迫 등으로 인한 血管內皮의 損傷, 血液의 構成成分의 變化 등으로 惹起된다. 瘀血은 血液의 粘度, 濃度, 凝固性 및 赤血球凝集이 增加된 狀態라고 하여 血管腔의 狹窄, 閉塞 등을 誘發시켜 腦梗塞이나 腦出血을 일으킨다고 하였으며, 血栓症, 高脂血症, 高粘度血症 등이 包含된다고 하였다. 最近에 瘀血治療에 있어서 活血化瘀하는 方劑나 藥物을 이용하여 血栓에 대한 實驗的 研究에는 薛<sup>4)</sup>의 補陽還五湯이 있으며, 臨床的 研究에는 崔<sup>23)</sup>의 中風의 瘀血論的 考察과 活血化瘀法의 治療 近況이 있다. 韓醫學에서 瘀血과 痰飲은 異名同源의 病理的인 產物로, 血栓症, 高脂血症, 高粘度血症, 心血管疾患, 腦血管疾患 등을 誘發한다고 하였다<sup>24)</sup>. 瘀血과 痰飲은 中風의 重要한 原因<sup>2)</sup>으로 認識되어 이를 治療하는 處方에 대한 實驗的 研究로 金<sup>5)</sup>의 蘇痰湯의 腦損傷에 대한 實驗, 趙<sup>25)</sup>의 導痰湯의 腦損傷에 대한 實驗이 행해졌다. 高血壓은 腦卒中, 心筋肥大, 心不全, 腎不全, 冠狀動脈疾患, 狹心症 등의 合併症을 誘發하는 重要한 因子로, 誘發要因은 遺傳, 年齡, 肥滿, stress, 鹽分, 血清脂質, alcohol, 吸煙 등으로 알려져 있으며, 原因不明의 本態性 高血壓과 腎實質疾患, 腎臟血管疾患, 內分泌 異常 등으로 인한 二次的으로 發生되는 續發性 高血壓으로 區分이 된다. 疎風補心湯은 疎風·理氣시키는 香附子, 川芎, 陳皮, 桔梗, 枳殼, 木香, 益智仁, 貢砂仁과 祛痰·滲濕시키는 半夏, 白朮, 豬苓, 澤瀉, 白茯苓, 萊菔子, 梔子와 補心·安神시키는 牡蠣粉, 人蔘, 龍眼肉, 酸棗仁, 石菖蒲와 止痛시키는 肉桂, 附子和 活血·養血시키는 紅花, 當歸, 白芍藥 등으로 構成된 處方으로<sup>26)</sup> 中風, 高血壓, 高脂血症 및 心臟疾患 등에 活用되고 있다. 이에 著者는 臨床的으로 高血壓, 血栓症 및 腦梗塞에 使用되는 疎風補心湯의 作用機轉을 檢證하고 新規處方を 開發하기 위한 基礎作業으로 catecholamine 含量, renin activity, aldosterone 含量, NO 濃度を 測定하였고, 抗血栓 作用을 評價하기 위해 肺塞栓, fibrinolytic activity, dextran 瘀血 모델에서의 血小板數, PT, APTT 및 血流速度를 測定하였으며, 腦損傷에 대한 保護效果를 알아보기 위해 PC12 細胞, B103 細胞의 細胞毒性 保護效果와 KCN을 利用한 全腦虛血과 中大腦動脈의 血流을 遮斷한 局所腦虛血에 대한 保護效果 등을 觀察하여 評價하였다. 먼저 本 實驗에서 疎風補心湯을 利用하여 血壓降下에 미치는 效果에서 SHR 白鼠를 利用한 病態 모델에서 血壓를 측정한 結果, 對照群에 비하여 減少하였으나 有意性은 없었다(Table 3). 김<sup>27)</sup>은



稀筵이 血管內皮를 弛緩시켜 血壓降下 作用한다고 하였으며, 성<sup>28)</sup> 등은 天麻가 angiotensin-converting enzyme(ACE)을 抑制하여 抗高血壓 作用이 있다고 하였는데, 이러한 藥物을 加味하면 優秀한 效果가 나타날 것으로 思料된다. 高血壓의 發生機轉에 대해서는 完全하게 究明되어 있지는 않지만 心臟의 搏動과 收縮力, 末梢血管平滑筋의 緊張度, 體液量과 造成, 自律神經系의 活性, renin-angiotensin-aldosterone을 包含한 各種 hormone과 生體內 內因性 活性物質, 環境因子 등에 의해 調整되고 있는 것으로 報告되고 있다<sup>29)</sup>. 이들은 되먹이기 支配(Feed-back control)를 받으며 서로 複雜하게 聯關된 影響들의 作用機轉들이 細胞脈의 緊張을 調節한다<sup>29)</sup>. 그 機轉은 두 境遇로 나뉘는데, 神經性으로는 各種 外部環境과 內部環境의 球心性 刺戟은 延髓의 血管運動中樞를 刺戟하여 交感神經을 통해 副腎髓質에서 catecholamine 즉 epinephrine과 norepinephrine이 分泌되고, 交感神經의 adrenergic β-受用體를 통한 刺戟으로 緊張性 血管收縮이 일어난다<sup>29)</sup>. Catecholamine은 生體에서 epinephrine, norepinephrine, dopamine으로 存在한다<sup>29)</sup>. Epinephrine은 副腎髓質에서 血中으로 分泌되어 循環하면서 여러 標的臟器에 作用하는 호르몬이고, norepinephrine은 交感神經을 刺戟하는 傳達物質로 血管系 및 消化管 收縮과 弛緩을 일으키며, 대부분이 交感神經에서 由來된 것이고, 副腎에서는 2-3% 정도 分泌된다<sup>29)</sup>. Epinephrine의 主作用은 glycogen分解를 促進하여 血糖을 增加시키는 作用과 心臟에 대한 心搏數를 增加시키고 血管收縮作用을 하며, norepinephrine은 末梢血管 收縮에 의한 血壓上升 作用이 뚜렷하고 血管收縮, 瞳孔散大, 心搏數 增加, 心搏出量 增加, 消化管의 運動抑制, 消化液의 分泌抑制 등이 있다<sup>29)</sup>. 腦 속의 catecholamine인 dopamine은 추체의외계에서 抑制 傳達物質로서 腦 속에서 覺醒이나 快感, 나아가서 運動機能에 작용하는 神經傳達物質이고, norepinephrine·epinephrine의 作用이 매우 비슷하다. Renin은 주로 腎臟의 絲球體 細胞脈壁에 있는 방사구체 細胞에서 生産되는데, 주로 肺循環系에 存在하는 angiotensin I converting enzyme (ACE)이 amino산 2개를 잘라버리고 8개 amino산으로 된 angiotensin II(A-II)를 生成한다<sup>29)</sup>. A-II는 末梢 細胞脈 收縮에 의한 血壓上升 作用과 副腎皮質 사구대를 刺戟하여 aldosterone을 增加시켜 血壓, 體液 및 電解質 均衡을 調節하는데 關與하며, 방사구체 細胞에서 細胞脈 內壓이 떨어지면 增加하고, 反對로 細胞脈 內壓이 올라가면 減少하면서 調節된다<sup>29)</sup>. Aldosterone은 副腎皮質에서 分泌되며, 主要作用은 遠位細尿管의 이온交換 部位에 作用하여 Na<sup>+</sup>, OH<sup>-</sup>를 再吸收하고 K<sup>+</sup>, H<sup>+</sup>를 分泌促進하여 細胞外液量이나 電解質 濃度を 正常으로 維持하는 役割을 한다. 正常人은 副腎皮質에서 1일 100-200μg의 速度로 分泌하여 腎細尿管 등에 作用한 후 肝·腎臟에서 代謝되어 尿中으로 排泄된다<sup>29)</sup>. 그러므로 aldosterone의 血中 濃도 또는 尿中 排泄量을 測定하면 各種 高血壓 疾患이나 體液, 電解質 異常을 隨伴하는 여러 가지 疾患을 診斷하고 鑑別할 수 있으며, 診斷的 意義를 높이기 위해서는 血漿 renin 活性를 同時에 測定하는 것이 바람직하다<sup>29)</sup>. 血壓降下를 시키는 機轉을 알아보되자 catecholamine의 含量을 測定하였다. 먼저 dopamine 含量은 有

意性(P<0.001)있는 減少效果를 보였으나, norepinephrine과 epinephrine 含量은 有意性이 없었다(Table 4). Renin activity는 對照群에 비해 增加하였으나 有意性이 없었으며(Table 5), aldosterone 含量은 有意性(P<0.001)있는 減少 效果를 보였다(Table 6). 疎風補心湯은 腦의 catecholamine 중 하나인 dopamine 分泌를 抑制시키는데, Ladines 등의 實驗<sup>30)</sup>에 의하면 sodium 排出과 關聯이 있음을 示唆한다. 또한 腦下垂體에서 副腎皮質에 作用하는 aldosterone의 分泌를 減少시키는데, Lu<sup>31)</sup> 등의 實驗에서도 類似한 結果가 나왔다. NO는 細胞間 또는 細胞內 messenger로서 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 重要한 原因으로 認識되고 있으며<sup>32)</sup>, 最近에는 血管擴張에 關與하는 媒介體로서 認識되어 最近 活潑한 研究가 進行되고 있다<sup>12)</sup>. 高血壓에 대한 效果가 있을 것으로 思料되는 疎風補心湯을 處理한 RAW264.7 細胞의 培養液에서 濃도를 測定한 結果, 對照群에 비하여 增加하였으나 有意性은 없었다(Table 7). 血栓症 誘發에 使用된 collagen은 血小板에서 adenosin diphosphate (ADP)를 放出시키며, epinephrine은 血小板 凝集段階에서 血小板膜에 있는 α 및 β-epinephrine type의 receptor에 作用하여 血小板 凝集을 일으킨다<sup>29)</sup>. collagen과 epinephrine을 利用한 肺塞栓 誘發 實驗에서 疎風補心湯 投與群은 5마리만 죽거나 15분이상 麻痺가 지속되어 50%의 抑制效果가 있어, 康 등<sup>6)</sup>과 類似한 結果가 나타났다(Table 8). 이는 疎風補心湯이 血管壁과 血液의 有形成分, 특히 血小板과 血液凝固系를 이루고 있는 血漿凝固因子들의 相互作用에 關與하여 肺塞栓을 好轉시키는 것으로 思料된다. 또한 fibrinogen은 血液凝固 科程의 最終 段階에서 thrombin과 結合하여 fibrin을 生成하며, 血栓 急性期, 炎症, 惡性 腫瘍, 腎臟 疾患, 糖尿病 등에서 增加하는 傾向이 있는데<sup>29)</sup>, 本 實驗의 fibrinolytic activity에서는 濃도 依存의인 微弱한 效果는 있었다(Table 9). 이는 疎風補心湯이 血栓을 溶解시켜으로써 血栓 豫防 效果를 나타내는 것으로 思料된다. 血栓 試驗에 使用되고 있는 dextran은 赤血球 凝集, 微細血流的 變化, 微細한 血栓形成, 血流速度減少, 血管周圍 滲出, 出血, 微細動脈의 痙攣, 微細靜脈의 擴張, 全血粘度和 血漿粘度的 增加 및 血小板 黏着性 增加 등을 誘發시키는 物質로서, 尾靜脈 注射時 10-20분 사이에서 上記 症狀가 뚜렷하게 나타난다<sup>33)</sup>. 血小板은 正常止血과 血栓症에 中樞的 役割을 하는데<sup>29)</sup>, 本 實驗에서 血小板數는 疎風補心湯 投與群은 有意性(p<0.05)있는 減少效果가 있어(Table 10), 薛 등<sup>4,6)</sup>의 實驗과 같은 效果가 나타났는데, 이는 疎風補心湯이 血栓 抑制作用을 보여 dextran 血栓形成에 따른 血小板의 破壞亢進을 減少시킨 結果로 생각된다. PT는 血漿에 組織 thromboplastin과 calcium을 添加하여 fibrin이 檢出될 때까지의 時間을 測定하는 것으로, 이 反應은 II, V, VII, X 因子와 fibrinogen이 關與함으로 外因性 및 共通性의 凝固過程의 異常을 檢出하는 方法으로 prothrombin 活性만을 測定하는 것은 아니며, 全般的인 凝固機能을 檢討하기 위한 檢査이다<sup>29)</sup>. APTT의 檢査 目的은 PT와 마찬가지로 止血機構의 異常이 어디에 있는가를 調査하는 檢査로 이 檢査에서 異常置를 보이는 것은 內因系 凝固障礙가 있음을 意味하는 것이다

29). 本 實驗에서 PT 및 APTT가 延長되었으나 有意성은 없었다 (Table 11,12). 血栓症 誘發에 따른 血流 速度 測定은 in vivo에서 正常群보다 有意性( $P < 0.05$ )있는 速度 減少가 있었으나, in vitro에서는 正常群과 差異가 없어서 有意성이 없었다(Table 13, 14). 이는 疎風補心湯이 多樣한 機轉이 이루어지는 生體에서 보다 效果的인 것으로 思料된다. 따라서 疎風補心湯은 血小板 生成機轉 및 血液粘度에 影響을 미치는 것으로 思料되며, 그 機轉에 대한 具體的인 研究가 必要할 것으로 보인다.

痴呆는 alzheimer 痴呆와 血管性 痴呆로 區別이 되는데, 이중 alzheimer 痴呆의 病理學的 特徵은  $\beta$ -amyloid와 apolipoprotein E의 豊富한 蛋白質이 細胞 外에 沈着하고,  $\beta$ -amyloid의 前驅體는 細胞膜 蛋白質로서 蛋白分解酵素 抑制因子로 作用하여 神經細胞를 죽이는 것으로 알려져 있다<sup>34</sup>). 實驗에 사용된 PC12細胞(ATCC CRL 1721)는 adrenal pheochromocytoma에서 由來된 細胞이고<sup>14</sup>), B103細胞는 neuroblastoma에서 由來된 細胞로서, 最近 alzheimer 痴呆의 實驗에 사용되고 있다<sup>14</sup>). 本 實驗에서는 0.01mg/ml, 0.1mg/ml의 疎風補心湯 投與群에서 細胞毒性이 나타나지 않았으며(Table 15, 17), amyloid  $\beta$  protein(25-35)으로 誘發된 PC12 細胞와 B103 細胞의 細胞毒性 保護效果를 觀察한 結果, 0.1mg/ml에서만 有意性( $P < 0.05$ )이 있었다(Table 16, 18). 이는 疎風補心湯이 韓醫學的으로 腦細胞 保護效果가 있는 것으로 思料된다. 腦細胞가 虛血에 빠지는 境遇는 範圍에 따라 全腦虛血과 局所腦虛血로 區分이 된다<sup>35</sup>). 全腦虛血은 腦血流가 中斷되면 심한 低酸素症 狀態가 되고 이로 인하여 細胞內에 APT의 減少로 sodium-potassium pump에 障得가 오고 sodium의 細胞內 流入에 水分이 受動的으로 따라 들어가 3분 안에 細胞內에 浮腫이 誘發되며 5-10분 후에는 젖산(lactate)의 增加 및 葡萄糖(glucose)의 消滅이 發生하는데, 可逆性 病變이나 虛血이 계속되면 mitochondria의 損傷으로 ATP가 枯竭되고 磷脂質의 消失과 toxic oxygen radicals 등으로 인하여 細胞內 損傷 및 칼슘 濃度의 增加로 인하여 非可逆性 病變으로 進行이 된다<sup>35</sup>). 또한 局所腦虛血은 심한 虛血 狀態의 中心部와 이를 둘러싸는 不完全한 虛血 狀態의 周邊部로 나누어지는데, 이 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 電氣的 活性度는 없는 狀態가 되고 虛血 中心部에서는 全腦虛血과 비슷한 일이 일어난다. 그러나 이 周邊部에서 腦血流가 限界值 以下로 떨어지면 細胞內  $Ca^{++}$ 이 增加하여 腦細胞의 非可逆的인 損傷을 가져올 수 있다<sup>35</sup>). 本 實驗에서 全腦虛血 誘發에 사용한 KCN法<sup>19</sup>)은 細胞內 mitochondria의 cytochrome oxidase의 活性를 抑制하고 電子傳達系에서의 酵素利用을 制限하여 高에너지 磷酸化合物을 枯竭시킴으로써 細胞毒性을 發顯한다. 非致死量의 KCN(1.87mg/kg/20g i.v.)에 의해 誘發시킨 昏睡 時間을 測定한 結果, 疎風補心湯 投與群에서 昏睡時間이 有意性( $P < 0.01$ )있는 短縮效果가 있었으며(Table 19), 致死量의 KCN(3.0mg/kg/20g i.v.)에 의해 誘發시킨 生存率 測定 結果, 疎風補心湯 投與群은 50%의 死亡 抑制效果가 있었다(Table 20). 이는 金<sup>5</sup>)의 實驗과 類似한 結果를 나타낸 것으로 疎風補心湯이 急性 腦組織 損傷에 대하여 優秀한 保護效果가 있음을 示唆하는

것이라 思料된다. 本 實驗에서 局所腦虛血에 사용된 Silicon rubber cylinder 製作은 Nagasawa 등의 方法<sup>20</sup>)에 依據하였는데, 虛血 후 再貫流를 研究할 수 있는 長點을 가지고 있다. 또한 組織 損傷을 檢證하기 위한 TTC 溶液은 心筋梗塞에 사용된 以後, 腦梗塞 部位를 測定하는데도 널리 사용되고 있다<sup>4,5,36</sup>). 正常 腦組織에서는 mitochondria내에 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 남게되어 病變 部位를 區別할 수 있다. 그러므로 時間 經過에 따른 腦梗塞의 變化에 대한 TTC 溶液을 利用한 觀察은 動脈閉鎖 후 脫水素 酵素의 減少 程度에 左右되며 病變의 進行에 따라 減少 速度가 比例된다고 알려져 있어, TTC 溶液의 染色 樣相은 組織의 非可逆的 損傷 程度와 比例되므로 腦梗塞의 時間變化에 따른 發生 位置와 크기를 알 수 있다<sup>37</sup>). 腦梗塞으로 인한 腦浮腫은 腦動脈을 閉鎖시킨 直後 數分부터 약 4時間까지 持續되는 細胞毒性 浮腫(cytotoxic edema)과 그 후 進行되는 血管因性 浮腫(vasogenic edema)으로 나누기도 하고<sup>38</sup>), 發病機轉에 따라 脈管原性 浮腫, 細胞毒性 浮腫, 間質性 浮腫으로 分類하기도 한다. 腦浮腫은 血腦障壁 때문에 滲透壓의 移動이 制限받고 腦自體에 림프관이 없어 中樞神經系의 水分含量이 增加되어 發生하는데<sup>38</sup>), 頭蓋內壓의 增加를 誘發하거나 惡化시킴으로 腦疾患의 重要한 合併症이 된다<sup>15</sup>). 中大腦動脈 閉鎖에 따른 虛血 面積率과 浮腫率은 疎風補心湯 投與群이 有意性( $p < 0.05$ )있는 減少를 보여(Table 21, 22), 安 등<sup>5,6,36</sup>)과 類似한 實驗結果가 나왔으며, 이는 疎風補心湯이 頭蓋內 血管 閉塞로 인한 急性期 腦虛血 및 腦梗塞과 腦浮腫을 抑制하고 腦損傷을 保護하는 效果가 있음을 示唆한다. 本 實驗에서 中大腦動脈 閉鎖 후, 低酸素症 誘發 후 및 再灌流 후에 대한 各各의 神經學的 檢査를 施行하여 中大腦動脈 閉鎖에 따른 神經學的 缺損程度를 測定하였는데, fore limb 및 hind limb test에서는 好轉을 보이지 않았다(Table 23, 24). 上記한 結果들을 볼 때 長期的인 觀察에서는 對照群에 비하여 有意的인 結果가 導出될 것으로 思料된다. 組織學的 觀察에서 正常 大腦皮質과 海馬形成體 周邊 觀察 所見은 正常群과 동일하였으며, 虛血 損傷된 大腦皮質과 海馬形成體 周邊 觀察 所見은 組織의 壞死 所見이 심하였고, 損傷程度는 正常群과 類似하였다 (Fig. 7). 以上の 結果를 綜合하면 高血壓에 대한 效果에서 疎風補心湯은 腦에서 dopamine을 分泌시켜 血壓을 調節하는 機轉과 腦下垂體에서 副腎皮質에 作用하여 aldosterone의 分泌를 調節하는 機轉으로 血壓을 調節하는 것으로 보여지며, 抗血栓 作用에 대해서는 血小板 生成 및 血液粘度에 影響을 미치는 것으로 思料된다. 또한 細胞毒性에 의한 腦의 保護 效果와 虛血面積 및 腦浮腫의 減少 效果가 있어 高血壓, 腦血栓, 腦卒中으로 인한 腦損傷에 活用할 가치가 높을 것으로 보여지며, 向後 그 機轉에 대하여는 持續的인 研究가 必要할 것으로 思料된다.

## 결 론

疎風補心湯이 高血壓, 血栓 및 腦損傷에 미치는 效果를 檢證

하기 위하여 SHR 白鼠, SD 白鼠 및 ICR계 생쥐에 실험한 결과, 疎風補心湯은 SHR 白鼠에 대한 血壓降下 效果는 있었으나 有意性은 없었고, dopamine, aldosterone의 有意性있는 減少를 보였고, epinephrine, norepinephrine, renin activity에서는 有意성이 나타나지 않았다. 또 NO 生成量은 增加시켰으나 有意性은 없었다. 肺塞栓 誘發 實驗에서 50%의 死亡抑制 效果가 있었으며, fibrinolytic activity도 微弱한 效果가 있었다. Dextran으로 誘發된 血栓實驗에서 有意性있는 血小板數 減少抑制 效果가 있었으며, PT 및 APTT는 延長되었으나 有意성이 없었다. 血栓 誘發에 따른 血流速度 測定에서 in vivo 實驗에서 有意性있는 血流速度 增加가 나타났으며, in vitro 實驗에서는 有意성이 없었다. amyloid  $\beta$  protein(25-35)에 의해 誘導된 PC12 細胞와 B103 細胞에 대해 毒性이 나타나지 않았고, 濃度依存的으로 保護效果를 나타냈다. 非致死量 的 KCN에서는 有意性있는 昏睡時間 短縮을 보였으며, 致死量에서는 50%로 生存率을 보였다. 中大腦動脈 血流遮斷에 의한 虛血面積 및 浮腫率을 有意性있게 減少시켰다.

以上の 結果로 미루어 보아 疎風補心湯은 高血壓, 血栓, 腦損傷 및 이들 原因으로 發生하는 虛血性 腦梗塞 및 腦損傷의 急性期에 活用될 수 있다고 보나 그 作用機轉에 대해 補充研究가 必要하리라고 思料된다.

### 참고문헌

1. 大田大學校 附屬韓方病院 : 韓方病院 處方集, 大田, 韓國出版社, p.75, 1997.
2. 卓宜洙·姜允皓 : 氣火濕痰으로 因한 中風內因發生說의 相關性에 對한 考察, 東國韓醫學研究所 論文集, 3(1):345-354, 1994.
3. 趙東逸·金聖勳 : 瘀血治方에 關한 文獻의 考察, 大田大學校 韓醫學研究所 論文集, 5(2):265-279, 1997.
4. 薛仁燦 : 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, 韓方成人病學會誌, 4(1):133-162, 1998.
5. 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 大學院, 2000.
6. 康永祿 : 導痰活血湯과 加味導痰活血湯이 高血壓과 血栓 및 腦損傷에 미치는 影響, 大田大學校 大學院, 2000.
7. 屈松栢·李家庚 : 實用中醫心血管病學, 北京, 科學技術文獻出版社, pp.347-350, 1993.
8. 金鍾仁 : 地黃飲子가 腦損傷 및 高血壓에 미치는 影響, 大田大學校 大學院, 2001.
9. 林俊植 : 滲濕湯이 高血壓 및 高脂血症에 미치는 影響, 大田大學校 大學院 韓醫學科碩博論考, 2:337-339, 1999.
10. Hjendahl P : Catecholamine measurement in plasma by high performance liquid chromatography with electrochemical detection, *Methods in Enzymology*, 142:521, 1987.
11. Ikeda I : Measurement of plasma renin activity by a simple solid phase radioimmunoassay, *J. Chin. Endocrinol, Metab*, 423(2):52, 1982.
12. Ueno M, Sonoda Y, Funakoshi M, Mukaida N, Nose K, Kasahara T : Differential induction of JE/MCP-1 in subclones from a murine macrophage cell line, RAW 264.7: role of kappaB-3 binding protein, *Cytokine*, 12(3):207-19, 2000.
13. Kimura Y, Tani T, Watanabe K : Effect of cilostazol on platelet aggregation and experimental thrombosis. *Arzneimittel for- schung, Drug Res*, 35(7A):1144-1149, 1985.
14. Goins WF, Lee KA, Cavalcoli JD, OMalley ME, DeKosky ST, Fink DJ, Glorioso JC : Herpes simplex virus type 1 vector-mediated expression of nerve growth factor protects dorsal root ganglion neurons from peroxide toxicity, *J Virol*, 73:1, 519-32, 1999.
15. 김진수 : Alzheimer's disease의 신경 화학적 변화에 관한 고찰, *대한신경과학회지*, 3(1):399-401, 1985.
16. Glenner GG. and Wong CW : Alzheimer's disease; initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovas- cular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun*, 120(3):885-890, 1984.
17. Kang J, Lemaire HG, Unterbeck A, Salbaum MN, Masters CL, Grze- schik KH, 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.
18. Selkoe DJ : Alzheimer's disease; a central role for amyloid. *J Neuro- pathol Exp Neurol*, 53(5):438-447, 1994.
19. Schubert J, Brill WA : Antagonism of experimental cyanide toxicity in relation to the in vivo activity of cytochrome oxidase. *J Pharmacol Exp Ther*, 162(2):352-359, 1968.
20. Nagasawa H, 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.
21. 정혜주 : 뇌허혈 동물모델을 이용한 뇌기능개선제의 효능에 관한 연구(I), *국립보건안전연구원보*, 7(1):178-185, 1994.
22. Bederson 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*, 17:472-476, 1986.
23. 崔賢 외 : 中風の 瘀血論의 考察 및 活血化瘀法에 의한 治療 近況, *大韓韓醫學會誌*, 11(1):145-150, 1991.
24. 柳彥浩·李弘揆 : 國家 高脂血症 治療指針 制定의 意義, *大韓內科學會誌*, 39(5):134, 1996.
25. 趙顯慶 : 導痰湯이 腦損傷 및 高血壓에 미치는 影響, 大田大學校 大學院, 2001.
26. 李尚仁 : 本草學, 서울, 修書院, pp.51-54, 56-60, 61-66, 80-81, 101-105, 112-113, 125-127, 182-183, 281-288, 329-330, 344-345, 348-349, 354-356, 358-359, 369-371, 381-383, 393-394, 401-403, 407-409, 424-425, 459-460, 495-496, 1981.
27. 김호현 : 穉叢이 家兔의 血管內皮細胞性 弛緩因子 미치는 影響, 東國大學校 大學院, 1996.

28. 성은진 · 김호철 : 天麻의 抗高血壓作用에 關한 研究, 本草分科學會誌, 12(2):51-62, 1997.
29. 이귀녕 · 이종순 : 임상병리파일, 서울, 의학문화사, p.138-139, 735-736, 764-769, 785-787, 812-813, 858-862, 1263-1264, p.1273, 2000.
30. Ladines CA, Zeng C, Asico LD, Sun X, Pocchiari F, Semeraro C, Pisegna J, Wank S, Yamaguchi I, Eisner GM, Jose PA : Impaired renal D(1)-like and D(2)-like dopamine receptor interaction in the spontaneously hypertensive rat. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 281(4):1071-1078, 2001.
31. Lu G, Li W, Shen K, Shi S : Effect of xueling on relating substances of renal hypertension in rats. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 23(6):369-71, 1998.
32. Gulyaeva N, Onufriev MV and Stepanichev MY : NO synthase and free radical reneration in brain region of old rats; correlations with individual behaviour. *Neuro Report*, 6:94-96, 1994.
33. 李儀奎 主編 : 中藥藥理實驗方法學(初版), 上海, 上海科學技術出版, p.89, pp.141-142, 1991.
34. Daniel Lasserson, Carolyn Gabriel, Basil Sharrack : *Mosby's crash course(Nervous System and Special Senses)*, 서울, 한우리, pp.16-17, 114, 2000.
35. 신용철 외 : 급성 국소 허혈성 뇌부종으로 인한 외조직의 생화학적 변화에 대한 실험적 연구, *대한신경외과학회지*, 18(4):525-533. 1989.
36. 安鐸源 : 加味通栓化痰湯이 血栓, 腦虛血 및 腦損傷에 미치는 影響, 大田大學校 大學院, 1999.
37. Li F, Irie k, Anwer MS, Fisher M : Delayed triphenyl tetrazolium chloride staining remains useful for evaluating cerebral infarct volume in a rat stroke model. *J Cereb Blood Flow Metab*, 17(10):1132-1135, 1997.
38. 이광우 · 정희원 편저 : *임상신경학*, 서울, 고려의학, pp.128-131, 203-204, 1997.