

## 加減補陽還五湯의 N2a 뇌신경세포에 대한 보호효과

박용기<sup>✉</sup>, 임규

동국대학교 한의과대학 본초학교실

Neuroprotective effects of modified Bo-Yang-Hwan-Oh-Tang  
in N2a neuroblastoma cells

Yong-Ki Park<sup>#\*</sup>, Kyu Lim,

Department of Herbology, College of Oriental Medicine, Dongguk University, Gyeongju, 780-714 Korea.

### ABSTRACT

**Objectives :** To evaluate the neuroprotective effects of modified Bo-Yang-Hwan-O-Tang (BHT), we investigated the neuronal death protection effects to oxidative damages in N2a neuroblastoma cells.

**Methods :** To study the cytotoxic effect of BHT on N2a neuronal cells, the cell viability was determined by MTT assay. To investigate the neuronal death protection of BHT, N2a neuronal cells were induced oxidative damages by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, and assayed the cell viability and DNA fragmentation. We also investigated DPPH free radical scavenging effects of BHT by tube test.

**Results :** In MTT assay, 500 μg/ml of BHT was not showed cytotoxic effect on N2a neuronal cells. BHT protected N2a neuronal cells from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced cell death in a dose-dependent manner. BHT also protected N2a neuronal cells from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced DNA fragmentation. BHT scavenged DPPH free radicals in a dose-dependent manner.

**Conclusion :** These data suggest that BHT may have strong anti-oxidant effects through the free radical scavenging and neuroprotective effects in neuronal cells.

---

**Key words :** Bo-Yang-Hwan-O-Tang extract, anti-oxidant effect, N2a neuroblastoma, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced cell death, neuroprotective effect

---

<sup>#\*</sup>제1저자, 교신저자: 박용기, 경주시 석장동 707번지 동국대학교 한의과대학 본초학교실

· Tel: 054-770-2661 · E-mail: yongki@dongguk.ac.kr  
· 접수 : 2006년 11월 1일 · 수정 : 2006년 11월 19일 · 채택 : 2006년 12월 20일

## 서 론

최근 생활수준의 향상과 더불어 노령화사회로 접어들면서 노인인구가 급증하고 있어서 노화와 함께 수반되는 질환을 어떻게 치료하고 예방하는 가에 대한 관심이 고조되고 있다. 특히 우리나라에서 각종 암에 의한 사망이외에 사망률 2위를 차지하는 것이 뇌졸중이다.<sup>1,2)</sup> 뇌졸중 중에서 대부분이 혀혈성 뇌졸중으로 뇌에 피를 공급하는 혈관이 막혀 산소와 포도당 등의 영양물질을 공급이 중단되고 아울러 이산화탄소 등의 노폐물을 제거하기 위한 혈류가 유지되지 않아서 뇌조직이 손상하게 된다<sup>3)</sup>. 따라서 뇌졸중 발병 수 시간 내에 재판류를 시키지 못하면 뇌조직이 손상되므로 현재 양방에서는 혈전용해제를 투여하고 있으며 손상된 뇌조직의 신경을 보호하기 위한 신경보호제의 개발이 진행되고 있다.

韓醫學의으로 혀혈성 뇌졸중은 中風의 範疇에 속한다<sup>7,8)</sup>. 中風은 腦의 급격한 循環장애로 인한 意識障礙, 言語障碍, 手足의 運動, 感覺麻痺가 갑자기 일어나는 腦卒中을 말하는 것으로 半身不遂, 人事不省, 口眼喚斜, 語鈍, 頭痛, 眩暈, 突倒 등의 특징적인 證候를 主訴로 하는 疾患이다<sup>9)</sup>. 西洋醫學의 腦硬塞, 腦出血, 一過性 腦虛血, 高血壓性 腦症 等을 포함한다. 中風의 原因에 대해 內經<sup>10)</sup>에서부터 唐宋대 이전까지는 中風의 原因을 주로 “外風”으로 인식하여 인체의 氣血이 虛損하고 脈絡이 空虛하여 外圍가 不固할 때 風邪가 侵犯하여 發病한다고 하였다<sup>11~13)</sup>. 그러나 金元時代 이후부터는 理論研究의 發展과 痘因病理 學說의 發達로 인해 外因보다는 內風의 概念으로 火, 氣, 濕痰, 瘀血 等의 原因으로 인식하게 되었다<sup>14~16)</sup>. 王清任은 <醫林改錯><sup>3,4)</sup>에서 中風, 半身不遂, 瘫瘓偏枯, 抽搐筋攣 等의 原因이 元氣虧虛에 의한 瘀血에 있다고 주장하여 補氣, 活血祛瘀를 目의로 처음 补陽還五湯을 立方하였는데, 补氣하는 黃芪와 活血祛瘀作用이 있는 當歸尾, 赤芍藥, 川芎, 桃仁, 紅花와 通經活血하는 地龍으로 구성되어 있으며<sup>17~20)</sup>, 补氣, 活血化瘀, 通絡하는 效能으로 氣虛로 인한 瘀血證을 치료하는 處方으로 활용 되어 있다. 즉 이 處方은 “治半身不遂 口眼喚斜 言語蹇澁 口角流涎 大便乾燥 小便頻數 遺尿不禁”<sup>21)</sup> 라고 記載된 이후 주로 氣虛血瘀로 인한 中風 半身不遂의 治療에 활용되어 왔으며, 近來에는 虛血性 腦血管 疾患, 腦動脈 硬化 뿐만 아니라 冠狀動脈 硬化, 心筋梗塞, 狹心症, 多發性神經炎, 血栓性靜脈炎 等의 疾患에도 應用되고 있다<sup>18)</sup>. 本 處方에 대한 實驗的研究로는 주<sup>20)</sup>은 腦血栓과 血中脂質에 대한 改善

作用이 있다고 하며, 金 等<sup>23,24)</sup>은 局所腦血流量의 增加效果가 있다고 하고, 文<sup>25)</sup>은 血壓降低作用이 있다고 하였고, 卓 等<sup>26,27)</sup>은 血栓生成抑制效果가 있다고 하였으며, 鄭 等<sup>28)</sup>은 高血壓 및 高脂血症에 대한 抑制效果를 研究하였으며, 姜 等<sup>29)</sup>은 學習과 記憶의 減退 및 치매억제에 대한 效果를 研究하였다. 崔<sup>30)</sup>는 可逆性 前腦虛血로 인한 腦細胞 損傷을 減少시킨다고 하였고, 金 等<sup>31)</sup>은 本 處方의 抗瘀血 作用의 우수함과 免役調節作用, 抗炎症 작용에 대해 보고하였으며, 鄭<sup>32)</sup>은 神經膠細胞의 apoptosis를 抑制한다고 報告하였다.

따라서 본 연구에서는 加減補陽還五湯의 항산화 효과 및 뇌신경 보호효과를 뇌신경세포 실험을 통해 규명하고자 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 약재

본 실험에 사용한 加減補陽還五湯(modified Bo-Yang-Hwan-Oh-Tang; BHT)은 표 1에 나타낸 바와 같이 10첩의 분량으로 제조하여 물과 함께 3시간 동안 전기약탕기로 2회 추출하여 그 여액을 2겹 여과지로 여과하고 rotary evaporator로 감압농축한 후 -20°C에서 동결건조 하였다. 추출된 BHT(114.5g; yields of 18.5%)은 냉동 보관하며, 실험 직전 DMSO로 100mg/ml 농도로 녹인 후 0.22μm filter로 여과하여 사용하였다.

Table 1. The amount and composition of BHT extract.

Species	Latin name	Weight(g)
黃芪	Radix Astragali	37.5
當歸尾	Radix Angelicae Gigantis	7.5
赤芍藥	Radix Paeoniae Rubra	5.625
川芎	Rhizoma Cnidii	3.75
桃仁	Semen Persicae	3.75
紅花	Flos Carthami	3.75
Total(BHT extract)		61.875

### 2. 세포배양

쥐의 신경세포주인 N2a 세포(neuroblastoma cell line)를 10% fetal bovine serum(FBS, Hyclone), 100U/ml penicillin(GibcoBRL) 및 streptomycin(GibcoBRL)이 포함된 DMEM(GibcoBRL) 배지를 배양액으로 하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 배양하였다.

### 3. Free radical 제거효과 검정

BHT의 free radical에 대한 소거능을 측정하기 위해서 Yoshida 등<sup>[10]</sup>에 의한 DPPH 방법을 수행하였다. 즉, 0.1M acetic acid (pH 5.5) 2ml에 다양한 농도(50~500 $\mu$ g/ml)의 JP탕 2ml 및  $1.5 \times 10^{-4}$ M DPPH/MeOH 용액 1ml을 섞여 실온에 30분간 정치한 후 520nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정결과는 distilled water 대조군(control)을 기준으로 자유기 소거능(radical scavenging activity; %)으로 표시하였다.

### 4. MTT assay

BHT의 신경보호효능을 검증하기 위하여 N2a 세포(mouse neuroblastoma cell line)를 사용하였다. 먼저 BHT의 신경세포독성정도를 조사하기 위하여 N2a 세포를 96-well culture plate에  $5 \times 10^4$ 개씩 10% FBS 및 1% penicillin-streptomycin이 첨가된 DMEM 배지를 배양액으로 하여 하룻밤 배양한 다음 다양한 농도(20~2000  $\mu$ g/ml)의 BHT를 처리하고 24시간 배양하였다. 여기에 MTT용액 10 $\mu$ l를 각 well에 첨가하여 4시간 동안 배양하면서 환원반응을 유도한 후 formazan 결정을 용해하기 위해 배양액을 제거하고 100 $\mu$ l의 DMSO 용액 첨가하였다. 이를 microplate reader(Molecular Devices)를 이용하여 550nm에서 흡광도를 측정하였으며, 세포만 배양한 대조군을 기준으로 처리구의 세포생존도(%)를 계산하였다.

### 5. 신경세포의 oxidative damage 유발

N2a 세포에 손상(oxidative damage)을 유발하기 위하여 N2a 세포를 96-well culture plate에  $5 \times 10^4$ 개씩 10% FBS 및 1% penicillin-streptomycin이 첨가된 DMEM 배지를 배양액으로 하여 하룻밤 배양한 다음 다양한 농도(50~500 $\mu$ M/ml)의 H2O2를 처리한 후 24시간 배양하여 MTT assay를 통해 세포생존율을 측정하였다. 세포만 배양한 대조군을 기준으로 처리구의 신경세포손상을(%)을 계산하였다.

### 6. 신경세포 보호효과

BHT의 신경세포 보호효과를 확인하기 위하여 N2a 세포를 96-well culture plate에  $5 \times 10^4$ 개씩 10% FBS 및 1% penicillin-streptomycin이 첨가된

DMEM 배지를 배양액으로 하여 하룻밤 배양한 다음 세포독성이 나타나지 않는 범위의 다양한 농도의 BHT를 세포에 처리하였다. 2시간 배양 후 적정 H2O2 농도를 처리하여 세포사멸을 유도한 후 24시간 배양하고 MTT assay를 통해 세포생존율을 측정하였다.

### 7. DNA fragmentation 분석

N2a 세포를 1×105cells/well로 계수하여 6-well culture plate의 각 well에 2ml 배지와 함께 하룻밤 배양한 다음, BHT를 처리하여 1시간 배양하였다. 여기에 H2O2를 처리하여 세포사멸을 유도하였다. 이를 24시간 배양한 후 세포를 수거하고 lysis buffer (10mM Tris-HCl, pH 7.5, 1mM EDTA, 0.2% Triton X-100) 200 $\mu$ l를 첨가하여 세포를 lysis시킨 다음, 30분간 얼음에 유지하고 proteinase K (200 $\mu$ g/ml)를 첨가하여 50oC에서 3시간 동안 정치하였다. 여기에 phenol:chloroform (1:1) 용액의 동량을 넣고 잘 혼합하여 14,000rpm에서 20분간 원심분리하였다. 상층액을 수거하여 100% ethanol로 침전시킨 다음 DNA pellet을 건조시키고 RNase 10 $\mu$ g/ml이 첨가된 TE buffer 30 $\mu$ l로 녹였다. 이를 2% agarose gel에서 전기영동을 실시하여 DNA fragmentation 유무를 확인하였다.

### 8. 통계학적 검정

결과는 3회 반복실험에 대한 평균±평균표준오차 (standard deviation; SD)로 나타내었으며 통계학적 분석은 ABI prism의 Student t-test로 검정하여 p값이 0.05 이하인 경우 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

## 결과

### 1. DPPH free radical 소거효과

가감보양환오탕(BHT)의 DPPH법에 의한 free radical 소거효과를 조사한 결과, 그림 14에서 와 같이 BHT 농도 50, 100, 200 및 500 $\mu$ g/ml에서 free radical scavenging activity(%)는 각각  $13.51 \pm 0.35\%$ ,  $17.35 \pm 0.54\%$ ,  $24.94 \pm 2.17\%$ ,  $29.51 \pm 2.23\%$ 로 측정되어 BHT의 free radical 소거효과가 있음을 확인하였다 (Fig. 1).



적인 절편이 만들어지게 된다. 따라서 BHT에 의한 세포사의 일차과정인 세포핵의 변화에 미치는 영향을 조사하기 위해서 BHT을 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도를 24시간 처리한 다음 배양한 세포의 세포사가 억제되는 정도를 DNA를 분리하여 DNA fragmentation을 조사하였다. 그 결과, 그림 5에서 보이는 것과 같이 세포만 배양한 대조군에서는 DNA ladder가 보이지 않는 반면, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리할 경우 부분적으로 1Kbp 이하에서 불연속적인 ladder가 관찰되었다. 또한 여기에 BHT을 전처리 할 경우 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의해 유도된 세포사멸에 의한 DNA fragmentation이 관찰되지 않는 것을 확인하였다.

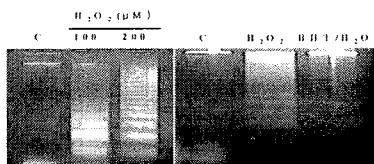


Fig. 5. Effect of BIUT on DNA fragmentation of N2a cells. After the cells were incubated with 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$  of BIUT extract for 24 h, DNA extracted by lysis buffer. DNA fragments were analyzed by 2% agarose-gel electrophoresis. C, control; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> alone; and BIUT/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, BIUT- pretreatment.

## 고 칠

뇌졸중은 뇌에 공급되는 혈관이 막히거나 터져서 뇌조직에 허혈성 손상이 발생하는 질병으로 우리나라 사망원인 2위를 차지하는 질병이다<sup>[1,2]</sup>. 뇌졸중은 혈전으로 인한 허혈성 뇌졸중이 80%이며 혈관파열로 인한 출혈성이 20%를 차지한다. 현재 허혈성 뇌졸중의 치료에는 혈관이완이나 혈전용해제 등을 이용한 재관류 방법과 뇌졸중 발생 후 나타나는 뇌손상을 보호하는 신경보호 방법을 사용하고 있다<sup>[3]</sup>. 양방에서는 지난 10년 동안 세계 각국의 연구자들이 뇌졸중 후 신경손상의 확산을 제한하는데 필요한 신경보호제를 개발하는 연구를 진행해 왔으며 뇌졸중 동물모델을 이용한 전임상 실험을 통해 그 효과를 검증하였으나 아직 그 효과가 증명된 약은 없는 실정이다. 따라서 최근에는 임상적으로 경험이 풍부한 한의학에 초점을 두고 한방치료제를 이용한 연구들이 다양하게 시도되고 있다<sup>[2,3]</sup>. 동의보감에 수록된 뇌졸중 치료제는 상용약 중 100여 가지 이상이며 이들은 대부분 중추신경억제효과, 항산화작용 및 항염작용 등이 있는 것으로 알려지고 있다<sup>[3]</sup>. 따라서 다양한 한방제제에 대한 임상자료 및 문헌을 근거한 한약을 토대로 뇌졸중 한

방치료제를 개발하는 것은 매우 중요하며 나아가 뇌졸중 한약제제의 치료효능 및 작용기전을 체계적이고 과학적으로 검증함으로써 임상 사용에서의 부작용을 줄이고 향후 양방 치료법과의 병용 및 상승효과가 우수한 치료제로 개발하는 것이 중요하다.

補陽還五湯은 清代 王清任의 <醫林改錯>에 처음 수록된處方으로 补氣하는 黃芪와 活血祛瘀作用이 있는 當歸尾, 赤芍藥, 川芎, 桃仁, 紅花와 通經活血하는 地龍으로 구성되어 있으며<sup>[17,20]</sup>, 补氣, 活血化瘀, 通絡하는 效能으로 氣虛로 인한 癥瘕證을 치료하는處方으로 活用 되어 있다. 또한 이 처방은 “治半身不遂 口眼喎斜 言語蹇澁 口角流涎 大便乾燥 小便頻數 遺尿不禁”<sup>[21]</sup>라고 記載된 이후 주로 氣虛血瘀로 인한 中風 半身不遂의 治療에 활용되어 왔으며, 近來에는 虛血性 腦血管 疾患, 腦動脈 硬化 뿐만 아니라 冠狀動脈硬化, 心筋梗塞, 狹心症, 多發性神經炎, 血栓性靜脈炎 等의 疾患에도 應用되고 있다<sup>[18]</sup>. 本處方에 대한 實驗的 研究로는 주<sup>[20]</sup>은 腦血栓과 血中脂質에 대한 改善作用이 있다고 하며, 金 等<sup>[23,24]</sup>은 局所腦血流量의 增加效果가 있다고 하고, 文<sup>[25]</sup>은 血壓降下作用이 있다고 하였고, 卓 等<sup>[26,27]</sup>은 血栓生成抑制效果가 있다고 하였으며, 鄭 等<sup>[28]</sup>은 高血壓 및 高脂血症에 대한 抑制效果를 研究하였으며, 姜 等<sup>[29]</sup>은 學習과 記憶의 減退 및 치매억제에 대한 效果를 研究하였다. 崔<sup>[30]</sup>는 可逆性 前腦虛血로 인한 腦細胞 損傷을 減少시킨다고 하였고, 金 等<sup>[31]</sup>은 本處方의 抗瘀血作用의 우수함과 免疫調節作用, 抗炎症 작용에 대해 보고하였으며, 鄭<sup>[32]</sup>은 神經膠細胞의 apoptosis를 抑制한다고 報告하였다. 이에 본 연구에서 加減補陽還五湯의 뇌신경보호효과를 조사하였다.

한편, 세포사멸(apoptosis)은 세포가 분해됨으로써 죽음으로 가게 되는 능동적인 기작으로서 특히 외부자극에 대한 세포내부에 이미 존재하는 일련의 프로그램에 의해 사멸하는 과정(programmed cell death)이다. 세포사멸과정을 통해 세포는 형태학적으로 세포비중의 감소, 세포막 파괴, 염색체 응축과 함께 세포내부 물질들이 apoptotic body라는 포낭을 형성하면서 식세포 작용을 통해 죽음에 이르게 된다<sup>[34]</sup>. 뇌허혈은 혈류량 감소와 이로 인해 조직에 충분한 산소나 영양이 공급되지 않는 상태가 되면 신경손상기전에 의한 신경세포사멸에 의해 일어나게 된다. 즉, 신경세포손상 초기에는 뇌허혈에 의해 혈류량이 제한을 받아 조직의 산소와 포도당 고갈에 의한 에너지 대사 이상이 유발되고 신경연접부위로 방출된 glutamate의 재흡수가 방해를 받아 세포사이 공간에

과도하게 축적되게 됨으로써 세포막 투과성에 변화가 생기게 되어  $\text{Ca}^{2+}$  등 양이온의 세포내 다량 유입이 일어나게 된다. 이로서 세포부종, 산과다증(acidosis) 및 단백질 변성 등이 일어나 신경세포는 결국 죽게 된다<sup>[35,36]</sup>. 또한 신경세포의 후기에는 허혈발생 3-4일 후부터 해마 및 기저핵 등의 부위에서 생기는 흥분성 독성(excitotoxicity)의 축적, 단백질 합성장애, 열충격 단백질(heat shock protein) 유전자 발현장애가 일어나고 결국 세포사멸이 일어나게 된다. 따라서 신경세포 손상을 최소화하기 위해 혈류량을 회복시키고 허혈성 신경세포손상을 차단하여 신경세포를 보호하거나 재생시킴으로서 세포사멸을 방지하는 것이 매우 중요하다<sup>[37-40]</sup>. 이에 저자는 加減補陽還五湯이 뇌허혈 후 발생되는 신경세포의 손상을 줄여줌으로써 신경세포보호효과를 가지는지 확인하기 위해  $\text{H}_2\text{O}_2$ 에 의해 세포사멸을 유도한 N2a 신경세포에 加減補陽還五湯을 처리한 후 세포생존율을 측정하였다(Fig. 4). 그 결과, 加減補陽還五湯을 처리할 경우 처리하지 않은 대조군에 비해 신경세포손상이 줄어들며 세포생존율이 높아지는 것을 확인하였다. 세포의 죽음은 엄밀하게 괴사(necrosis)와 사멸(apoptosis)이라는 두 가지 중요한 기전에 의해 일어나는데, 전형적인 괴사는 유해한 상해나 사고에 의해 일어나는 반면, 세포사멸은 정상적인 세포발달에 있어서 세포분화와 수를 조절하기 위해 일어난다. 즉, 괴사에 의한 세포의 죽음은 세포의 붕괴과정인데 반해 세포사멸은 세포의 위축, 핵의 농축, 염색질의 응축, 원형질의 팽대 등 특징적인 형태적 변화를 동반한다. DNA 시술에서 oligonucleosomal DNA fragments를 살펴보는 것은 세포사멸을 확인하기 위한 가장 잘 알려진 방법으로 세포사멸이 일어날 경우 자가효소에 의해 세포내 염색체가 잘려지게 되므로 불연속적인 작은 절편이 생겨나게 되는데 이는 세포사멸의 일차적 과정인 세포핵의 변화를 관찰할 수 있는 방법이다<sup>[40,41]</sup>. 따라서 저자도 加減補陽還五湯의 신경세포보호효과를 확인하기 위해 DNA fragmentation을 수행하였으며 그 결과,  $\text{H}_2\text{O}_2$  처리 후 N2a 신경세포는 뚜렷하게 ladder를 형성하였으며, 加減補陽還五湯 처리 후 강하게 소멸되는 경향을 보였다(Fig. 5). 일반적으로  $\text{H}_2\text{O}_2$ 와 같은 oxidative stress는 세포질내 free radical을 다량 만들고 protein kinase C(PKC)와 같은 이차전달자를 변성시켜 단백질 및 DNA 합성억제를 촉진함으로써 신경세포사멸을 초래하지만<sup>[42,43]</sup>, 加減補陽還五湯이 세포내 산소유리기를 소거하여 세포사멸로부터 신경세포를 보호할 수 있는 것으로 사료된다. 본 연구에서 加減

補陽還五湯은 농도의존적으로 DPPH free radical 소거효과가 있는 것으로 나타났다(Fig. 1). 따라서 加減補陽還五湯은 과도하게 생성되어 조직손상을 유발하는 free radical을 효과적으로 제거함으로써 신경조직을 보호하고,  $\text{H}_2\text{O}_2$ 와 같은 외부스트레스로부터 세포사멸을 방지함으로서 신경조직을 보호할 수 있는 것으로 보인다.

이상의 결과로 볼 때, 加減補陽還五湯은 강한 항산화 작용이 있어 신경세포손상을 방지함으로써 신경세포 손상으로 인해 일어나는 퇴행성 뇌신경질환의 치료에 사용될 수 있음을 시사한다.

## 결 론

加減補陽還五湯의 뇌 보호효능을 알아보기 위하여 N2a 뇌신경세포를 이용하여 加減補陽還五湯의 항산화효과 및 뇌신경보호효과를 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 加減補陽還五湯은 N2a 신경세포에서  $500\mu\text{g}/\text{ml}$  농도부터 세포독성이 나타나지 않았다.
2. 加減補陽還五湯은 농도의존적이고 유의적으로 DPPH free radical 소거효과를 나타내었다.
3. 加減補陽還五湯은  $\text{H}_2\text{O}_2$ 에 의해 유발된 신경세포 손상으로부터 농도 의존적이고 유의적으로 N2a 신경세포를 보호하는 것으로 나타났다.
4. 加減補陽還五湯은 세포사멸에 의해 나타나는 DNA fragmentation으로부터 N2a 신경세포를 보호하는 것으로 나타났다.

결론적으로 加減補陽還五湯은 항산화 효과가 인정되며 뇌신경보호 효과가 있는 것으로 확인되었으며 앞으로 파킨슨병, 알츠하이머 치매 및 현팅تون병 등 다양한 퇴행성 뇌질환 치료에 이용되어질 수 있을 것으로 사료된다.

## 감사의 글

이 논문은 동국대학교 교내 연구비 지원에 의한 것으로 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

1. 서무규, 成人病 老人病學, 서울, 고려의학, 1992:37-49, 77-83, 107-122, 137-139, 142-149.
2. 대한민국통계청자료, 2004

3. 王清任, 醫林改錯, 서울 醫聖堂, 1994:84-86.
4. 王懷義, 醫林改錯發揮, 山西省 山西科學技術出版社, 1999:92-94.
5. 溫長路, 醫林改錯識要, 北京, 中醫古籍出版社, 2002:113-118.
6. 全國韓醫科大學 心系內科學教室 편 :東醫心系內科學, 서울 서원당, 1995:84-86.
7. 권병덕 외, doppler ultrasound를 이용한 腦基低動脈의 血流速度 測定, 대한신경외과학회지 1989; 18:139-147.
8. 김상호 외, 一般病理學, 서울, 고문사, 1995:51-54, 348-349.
9. 金永錫, 臨床中風學, 서울, 서원당, 1997:303-344.
10. 王水 注, 黃帝內經, 서울, 고문사, 1971:31:133-135.
11. 張仲景, 金匱要略, 서울, 우성사, 1975:30-31.
12. 巢元方, 巢氏 諸病源候總論, 臺北, 초인출판사, 1958:1-18.
13. 孫思邈, 備急千金要方, 臺北, 國立中醫醫學研究所, 1976:217:153-154.
14. 劉完素, 劉河間傷寒三六書, 서울, 성보사, 1976:31, 281-282.
15. 李杲, 東垣十種醫書, 서울, 대성문화사, 1983:635-636.
16. 朱震亨, 丹溪心法附錄, 서울, 대성문화사, 1982:67-69.
17. 南京中醫學院, 中醫方劑大辭典, 北京, 人民衛生出版社, 1995:5:891.
18. 신민교, 臨床本草學, 서울, 영림사, 1986:169-171, 221-223, 249-250, 300-301, 464-468, 662- 663, 1986.
19. 신길구, 申氏本草學, 서울, 수문사, 1988:9-12, 80-84, 448-450, 521-522, 554-556, 562-564, 600-603, 1988.
20. 김창민 외, 中藥大辭典, 서울, 정담, 1998:592-599, 1159-1168, 1353-1358, 4839-4845, 5258- 5265, 6357-6362, 6460-6471.
21. 江克明, 簡明方劑辭典 上海, 上海科學技術出版社, 1990:571.
22. 전영수, 補陽還五湯과 加味補陽還五湯이 endotoxin으로 유발된 白鼠의 血栓症에 미치는 影響, 동의병리학회지, 1993:8:157-176.
23. 김남용, 補陽還五湯이 血壓 및 局所腦血流量에 미치는 影響, 원광대학교 대학원, 1985.
24. 정하나, 韓藥材 경구투여에 의해 Th1/Th2 type 면역반응의 선택적인 조절에 관한 研究, 전북대학교 대학원, 2004.
25. 문명형, 補陽還五湯煎湯液이 家兔의 血壓降下에 미치는 影響, 원광대학교, 1985.
26. 탁의수, 補陽還五湯이 實驗的 血栓에 미치는 影響, 동국대학교 대학원, 1990.
27. 김성훈, 復元活血湯 및 補陽還五湯이 endotoxin 으로 유발된 血栓生成抑制에 미치는 影響, 동의대학교 대학원, 1994.
28. 정우상, 高血壓 및 高脂血症에 대한 補陽還五湯의 實驗的 研究, 경희대학교대학원, 1998.
29. 설인숙, 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, 대전대학교대학원, 1998.
30. 최은정, mongolian gerbil 의 reversible forebrain ischemia 모델에 미치는 補陽還五湯의 效果, 동국대학교 대학원, 1999.
31. 김영현, 抗瘀血 治療劑인 補陽還五湯의 免役調節作用, 전주대학교대학원, 2002.
32. 정용준, 補陽還五湯이 LPS 와 PMA에 의해 損傷된 神經膠細胞에 미치는 影響, 원광대학교 대학원, 1999.
33. 강정준, 補陽還五湯의 치매억제 效果에 대한 研究, 동국대학교대학원, 2000.
34. Hideaki H, Takayuki S, Kyuya K. Mechanism and pathogenesis of ischemia-induced neuronal damage. Progress in Neurobiology 1993;40:645-670.
35. Nitsch RM. Immunotherapy of Alzheimer disease. Alzheimer Dis Assoc Disord. 2004; 18:185-189.
- neuronal cell death. Brain Res. 1992;587:250-256.
36. Merril JE. Tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1 and related cytokines in brain development: normal and pathological. Dev. Neurosci. 1992;14:1-10.
38. Boje KM, Arora OK. Microglial-produced nitric oxide and reactive nitrogen oxides mediate neuronal cell death. Brain Res. 1992;587:250-256.
39. Gonzalez-Scarano F, Baultuch G. Microglia as mediators of inflammatory and degenerative disease. Annual Rev Neurosci 1999;34:307-321.
40. Choi DW. Ischemia-induced neuronal apoptosis. Curr Opin Neurobiol. 1996;6:667 -672.
41. Yang Y, Wang J, Xu C, Pan H, Zhang Z.

Maltol inhibits apoptosis of human neuroblastoma cells induced by hydrogen peroxide. *J of Biochemistry and Molecular Biology* 2006;39:145-149.

42. Walter JJ, Nichael AM Emerging treatments for stroke in humans. *TIPS* 1996;17: 227-233. 43. Kim ST, Ahn SH, Kim JD, Kim Y-K Protective effect of MeOH extract of *Evodia officinalis* on cyanide-induced neurotoxicity in cultured neuroblastoma cells. *Kor J Pharmacology* 2003;34:282-287.