

腦梗塞誘發 흰쥐의 局所腦血流量과 腦浮腫에 대한 二陳湯의 水 및 메탄올추출액스의 效果

윤상협* · 민병일** · 류재환***

ABSTRACT

Effect of Ijintang - hot water & methanol extracts - on the regional cerebral blood flow and cerebral edema in MCA occlusioned rats.

For the purpose of developing a new drug against cerebral infarction, we chose Ijintang which is frequently applied in the field of Jung Pung of traditional medicine. From this formula, water extract and methanol extract were prepared respectively. Animals were divided into three groups; control group, water extract medicated group, methanol extract treated group. water extract was given 195mg/kg orally and methanol extract, 165mg/kg for 2 weeks in case of cerebral edema and 1 month in regional cerebral blood flow. On the regional cerebral blood flow, the

* 경희대학교 분당한방병원 내과

** 경희대학교 의과대학 생리학교실

*** 경희대학교 동서의학연구소

※ 본 논문은 1995년 보건복지부 보건의료기술 연구개발 연구비에 의하여 수행되었음.

the drug medicated groups showed no significant changes as compared with control group. There was no significant difference on the cerebral edema among the groups.

According to the results above, it is suggested that oral medication of water extract and methanol extract from Ijintang have no effect on the change of rCBF and edema after acutely induced cerebral infarction. However, it is thought that modification of administration method and development of new animal model for traditional medicine are needed.

I. 서론

二陳湯은 太平惠民和劑局方⁵⁾에 기록된 처방으로 白茯苓, 陳皮, 半夏, 甘草의 4味로 구성되어 있으며, 한의학적 병인론에서 볼 때 담음(痰飲)이 원인이 되는 제질환을 치료하는 대표적 처방이다.

역학적 측면에서, 痰飲이 원인이 되는 질환이 매우 많다는 사실을 한의학에서는 十病九痰이라 표현하였다. 이 담음이 원인이 되어 발생하는 대표적 질환중의 하나가 바로 현대의학의 뇌졸중에 해당되는 中風이다. 東醫寶鑑에 의하면 中風의 원인을 濕生痰, 痰生熱, 熱生風으로 설명하고 있다. 따라서 痰으로 인한 中風證의 치료에는 이진탕이 우선적으로 활용되고 있고, 이것의 변방인 燥痰湯, 滌痰湯 역시 중풍환자에 활용되고 있다.

그러나 이진탕은 張⁴⁾, 柳¹⁾등에 의하여 소화기 및 일반 약리학적 효능이 보고된 바 있으나 아직 뇌졸중과 관련된 실험적, 임상적 연구보고는 없는 것으로 사려된다.

그래서 본 연구자는 뇌졸중에 대한 이진탕의 효능 규명하고자, 흰쥐를 이용하여 이진탕의 水추출액스와 methanol 추출액스가 실험적 뇌경색후의 뇌혈류량 및 뇌부중에 미치는 영향을 조사하였다.

II. 실험

1. 실험동물의 준비

실험에 사용한 동물은 체중 280-400g의 Sprague-Dawley계 흰쥐 84마리를 실험실 환경(온도 25±2℃, 습도 60%, 12시간 명기 12시간 암기)에 2주간 적응

시킨 다음 사용하였다. 실험 8시간전까지는 사료와 물을 충분히 공급하였다.

실험동물에 Urethane 80mg/kg로 복강내 주사하여 마취시켰다. 실험동물을 heating lamp 하에 spine position으로 고정시키고, 경부에 midline incision을 가하였다. 주위조직으로부터 좌측 경동맥을 분리한 상태로 준비하였다.

2. 엑스제조

가. 한약재료

엑스제조에 사용된 개별약재는 경원대학교 한의과대학 본초학교실에서 엄선하였으며 용량은 다음과 같다.

白茯苓(Poria)	240kg
半夏(Pinelliae Rhizoma)	120kg
陳皮(Citrus Pericarpium)	120kg
甘草(Glycyrrhizae Radix)	120kg
白礬(Alumen)	17.4kg
生薑(Zingiberis Rhizoma)	60kg

나. 이진탕엑스의 추출

水엑스는 시료를 적당한 부피의 증류수로 12시간 상온에서 추출하고 4시간동안 끓여서 얻었다. 이 엑스를 여과후 냉동건조기를 이용하여 완전히 건조시켰다.

메탄올엑스는 시료를 적당한 부피의 메탄올로 상온에서 침적하여 3일동안 방치한 후 추출하였다. 이 추출액을 40℃이하의 진공에서 농축하여 사용하였다.

3. 뇌경색 유발

뇌경색 유발은 Tamura²¹⁾, Bederson⁸⁾, Chen⁹⁾ 등의 방법을 다소 혼합수정하여 사용하였다. 좌측안 와와 귀사이를 2cm정도 절개하고 측두근을 절개한 후 Infratemporal fossa가 노출되게 하였다. saline 으로 계속 irrigation 하면서 dental drill을 사용하여 subtemporal craniectomy함으로써 rhinal fissure와 olfactory tract사이를 노출시켰다. 25-gauge needle로 경막을 제거하여 중뇌동맥을 부분적으로 노출시킨후, rhinal fissure와 olfactory tract 사이의 동맥을 전기소작시켜서 폐색시켰다. 이 다음 즉시 좌측 경동맥을 5-0 suture silk로 결찰하였다.

4. 뇌혈류 측정

실험동물을 stereotaxic apparatus에 고정시키고, 수술현미경하에 두피를 절개하여 Paxinos and Watson Atlas¹⁹⁾에 따라 bregma L4 H-1, A-2, L3.5, H-5 떨어진 부위를 saline으로 연속적으로 irrigation하면서 직경 1mm의 두개 천공을 만들었다. 각각 직경 125 μ m 길이 7.0mm, 2.0mm인 teflon-coated platinum (90%)-irridium (10%) wire의 끝을 0.5mm 벗긴 백금전극을 만들어 수술현미경하에 경막을 제거하고 두개 천공부위를 통하여 수직으로 대뇌피질에 삽입한 후 dental cement로 두개골에 완전하게 고정시켰다. 이 전극을 뇌혈류 측정 증폭장치에 연결하여 multipen recorder (Rikadenki R-69, Tokyo, Japan)에 기록되게 하였다. 기준전극은 침전극으로 하였으며 실험동물의 꼬리에 삽입하였다. 뇌혈류 측정방법은 Aukland⁷⁾, Pasztor¹⁸⁾ 등의 수소가스 정화기법을 사용하였으며, 수소가스 흡입시 실험동물의 자발호흡에 장애를 주지 않게 하였다. 간기하면 0.11/min 수소가스를 20-30초간 비강으로 흡입시킨후 multi-pen recorder에 그려지는 탈포화곡선에 조기경사곡선계측법을 적용하여, 처음 45초 경과후부터 2분간에 그려지는 정화치만을 선택하였다. 여기서 반감기 T_{1/2}를 산출하고 아래의 공식에 의하여 국소뇌혈류량을 산출하였다.

국소뇌혈류량(Local cerebral blood flow)

$$= \frac{0.693 \times 100}{T_{1/2}} \text{ ml/100g/min}$$

혈류량 측정은 뇌경색유발전(마취전), 유발직후, 1주, 2주, 3주, 4주에 실시하였다.

5. 뇌부종 측정

뇌부종측정은 Elliott¹¹⁾의 wet-dry weight법을 이용하여 water content(%)로 나타내었다. 실험동물의 대뇌를 제거한 즉시, balance(Ohaus, 편차 0.01mg)로 wet weight를 잰 다음, 100 $^{\circ}$ C dry oven (제일과학주식회사)안에 넣고 2주간 건조시킨후 다시 dry weight를 측정하여 아래의 공식에 의하여 water content를 구하였다.

$$\text{Water content(\%)} = \frac{\text{wet weight} - \text{dry weight}}{\text{wet weight}} \times 100$$

뇌부종 측정은 각 group을 24마리로 하고, 무작위로 4마리씩을, 유발직후, 3일, 5일, 7일, 10일, 14일에 취하여 실시하였다.

6. 실험군 설정방법 및 투약 요법

실험군을 유발시킨후 사료와 물만을 공급한 대조군, 그리고 수엑스를 투여한 군, methanol엑스만 투여한 군으로 나누었다. 각 엑기스투여량은 이진탕 2貼分量을 체중 60kg인 성인 1일량으로하여 성인 체중대비의 3배량을 사용하였다. 그리하여 수엑스는 195mg/kg, 메탄올 엑스는 165mg/kg이 투여되었다.

7. 통계처리

모든 자료는 mean \pm S.D.로 나타냈으며 group간 비교는 Kurskal-Wallis test를 사용하였으며, p<0.05이하인 경우 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

III. 결과 및 고찰

이진탕으로부터 새로운 뇌경색 치료제로 개발할

목적으로, 우선 이진탕의 水엑스와 methanol엑스가 뇌경색후의 뇌혈류량 및 뇌부종에 미치는 영향을 조사하였다.

뇌혈류와 뇌부종은 뇌의 생리 및 병리변화를 설명하는 주요한 지표인데, 본 실험에서는 수소가스 정화기법으로 뇌혈류량을 측정하였고, 뇌부종은 wet-dry weight법을 사용하였다.

수소가스정화기법^{22,23)}은 가격이 저렴하고 미소국소혈류측정이 가능하며, 일정부위의 국소혈류를 오랜기간 반복측정이 가능하다는 등의 장점이 있는 반면, 전극삽입으로 인한 뇌조직의 손상, 정화곡선의 다지수형의 발생으로 인한 단일성분의 조직에 국소혈류를 정확히 반영할 수 없는 경우가 있고, 백금 자체가 산소에 민감하여 허혈이 심한 경우 오차가 발생되며, 흡입된 수소가스가 재순환 하는 경우가 있고, 백금의 두께, 대뇌피질의 삽입정도, 삽입후의 측정시기에 따라서 다소의 혈류변화가 있는 등의 단점이 있다.

한편 본실험에서 사용된 뇌경색 모형은 Tamura²¹⁾나 Bederson⁸⁾의 기법을 참조하여 rhinal fissure와 olfactory tract사이의 중뇌동맥을 소작폐쇄시킨 후, Chen⁹⁾의 방법에 의하여 동측 경동맥을 5-0 suturce silk로 영구폐쇄시켰다. 이후 형성된 뇌경색의 형태는 Chen의 모형과 비슷하였으며 (unpulihed data), 저자는 이것을 전의 논문에서 이미 발표한 바 있다²⁾.

수소가스 정화기법에 의한 정상적인 대뇌피질의 혈류량은 실험동물과 측정요령에 따라 다소 다르게 보고되고 있는데 그 범위는 대체로 40-100ml/100g/min이다^{13,15,23)}. 본 실험에서는 평균 53.4-59.0 ml/100g/min을 취하여 대체로 일치하였다(Table I). 한편 putaminal blood flow는 평균 27.4-30.0ml/100g/min으로 나타났다(Table I). 경색유발 직후 피질부의 뇌혈류량이 대조군의 경우 평균 12.8ml/100g/min으로, 水엑스투여군은 평균 11.8ml/100g/min, 메탄올엑스 투여군은 14.9ml/100g/min으로 급속하게 감소하였다. 이후 검액을 투여한 水엑

스 및 메탄올 엑스 투여군과 대조군간의 경시적 뇌혈류량을 비교하였던 바, 별다른 차이를 관찰할 수 없었다(Table I). 반면 피각부의 뇌혈류량은 유발 직후 감소되었는데 감소정도는 피질부와 비교하여 덜 하였다. 이것은 deep brain으로 삽입하는 MCA의 분지인 striatal artery의 기능 존재하기 때문인 것으로 추정된다. 피질부와 마찬가지로 별다른 유의성이 관찰되지 않았다(Table II). 뇌부종과 뇌혈류량에 대하여, 뇌혈류가 20ml/100g/min 이하로 떨어지면 뇌부종이 발생되는데^{10,20)}, 뇌내의 수분을 측정하는 기법으로는 조직의 비중¹⁶⁾을 측정하거나, wet-dry weight법¹¹⁾이 있다. Wet-dry weight법일 경우 정상 뇌의 수분함유율이 평균 78%-79.3%로 보고되고 있는데^{6,12,17,20)} 본 실험에서의 결과도 여기에 해당되었다. 영구적 중뇌동맥 폐색에 의한 실험적 뇌부종은 폐색후 1-3일에 최고에 도달하였다가 점차로 감소하며 대측반구의 경우는 별다른 변화가 없다^{12,14)}. 본 실험의 경우, 뇌경색 유발후 2주간의 뇌부종을 관찰하였던바, 대측반구인 우측 뇌내의 수분함유율은 거의 변동이 없었다(Table IV). 동측의 뇌경색이 유발된 좌측 반구는 유발직후에는 거의 정상 반구의 범위와 유사했으나 3일이후에는 대조군의 경우 평균 82.3%, 水엑스 투여군의 경우 82.1%, 메탄올엑스 투여군의 경우 82.1%로 상승하였다. 5일째는 다소 감소하여 대조군이 80.9%, 水엑스투여군이 81.0%, 메탄올 엑스 투여군은 81.4%로 나타났으며, 경시적 변화에 대한 그룹간 비교에서는 별다른 유의성을 관찰 할 수 없었다(Table III). 따라서 본 실험의 이진탕 水엑스와 methanol엑스는 실험적 뇌경색후의 뇌혈류와 뇌부종에 대하여 별다른 영향을 미치지 않는 것으로 관찰되었다. 향후 뇌경색에 대한 이진탕의 효능을 더 검토하기 위해서는 일반 약리학을 포함하는 다방면의 실험과 약재의 변형을 시도해 보는 것도 필요할 것으로 사료된다.

Table I. Changes of cortical blood flow in left side infarcted hemisphere

	before infarction	after infarction (weeks)				
		0	1	2	3	4
control group	n=4 59.0±9.2a)	12.8±5.6	7.8±2.6	7.7±3.0	4.1±3.5	4.2±3.2
water group	n=4 56.5±9.5	11.8±4.1	5.2±3.8	3.5±2.5	3.4±2.8	2.9±2.5
methanol group	n=4 53.4±6.6	14.9±5.3	7.8±3.0	6.5±2.1	5.6±3.5	4.7±2.8

a) mean ± S.D.(ml/100gm/min)

0 week means "the immediate time after cerebral infarction."

Table II. Changes of putaminal blood flow in left side infarcted hemisphere

	before infarction	after infarction (weeks)				
		0	1	2	3	4
control group	n=4 30.0±2.2 ^{a)}	15.5±4.0	14.2±2.3	13.6±1.7	11.8±3.8	13.8±2.3
water group	n=4 27.8±1.7	15.6±3.0	13.3±1.2	13.0±1.8	12.6±0.9	12.5±1.3
methanol group	n=4 27.4±3.8	17.6±3.3	15.1±1.8	13.0±2.5	13.8±2.4	13.0±0.7

a) mean ± S.D.(ml/100gm/min)

Table III. Changes of water contents in left side hemisphere

group\ days	0	3	5	7	10	14
control group	n=4 77.9±0.48 ^{a)}	82.3±0.4	80.9±1.0	80.8±0.8	80.4±1.4	80.9±2.7
water group	77.6±0.50	82.1±0.8	81.0±0.7	80.2±0.3	80.6±0.7	79.6±1.4
methanol group	78.1±1.0	82.1±0.6	81.4±0.7	81.0±0.1	80.3±0.7	79.3±0.6

a) mean ± S.D.(%)

water group : water extract medicated group

methanol group : methanol extract medicated group

control group : no treated group

0 days means "the immediate time after cerebral infarction"

Table IV Changes of water contents in right side hemisphere

group\ days	0	3	5	7	10	14
control group	n=4 78.1±0.6 ^{a)}	77.7±0.5	78.5±0.9	78.8±0.2	78.5±0.7	78.9±0.4
water group	77.9±0.5	78.3±0.6	78.4±0.4	78.4±0.9	78.2±0.6	77.9±0.5
methanol group	77.9±0.5	78.3±0.9	78.1±0.9	78.6±1.0	78.3±0.8	78.5±0.6

a) mean ± S.D.(%)

IV. 결론

한약을 이용하여 새로운 뇌경색 치료제를 개발 할 목적으로, 증풍증에 활용빈도가 높은 이진탕을 선택하여, 이것의 물추출물(水엑스)와 methanol 추출물(methanol 엑스)을 급성적으로 유발된 뇌경색 흰쥐에게 각각 경구투여하였다. 뇌혈류량 변동에 대하여 대조군과 비교하여 수엑스투여군과 methanol투여군 모두에서 유의한 변화를 관찰할 수 없었고, 뇌부종 형성에 대해서도 역시 뇌혈류량 변동과 마찬가지로 유의한 차이를 확인할 수 없었다.

따라서 본 실험의 결과는 이진탕의 水엑스와 methanol 엑스의 경구투여는 뇌경색 급성기의 뇌혈류와 뇌부종에 별다른 영향을 미치지 않을 수 있음을 시사한다 하겠다. 하지만, 이진탕의 효능을 더욱 검증하기 위해서는 투여방법의 다변화와 새로운 실험모형의 개발이 필요할 것으로 사료된다.

V. 참고문헌

1. 柳聖圭: 二陳湯의 效能에 관한 實驗的 研究, 서울, 慶熙大學院, 1983
2. 윤상협, 류재환: intraluminal suture Technique 에 의한 실험적 뇌허혈-재관류가 혈압, 국소뇌혈류량, 뇌경색 및 뇌부종 형성에 미치는 영향. 경희의학 10:114-124, 1994.
3. 윤상협: 수구혈 전침자극이 실험적 뇌경색의 국

- 소녀혈류량에 미치는 영향. 경희의학 9:195-202, 1993.
4. 張泰水:二陳湯의 鎮痛, 鎮痙, 消炎 및 gastrin과 uropepsin의 분비에 미치는 影響, 서울, 慶熙大學院, 1982
 5. 陳師文:太平惠民和劑局方, 臺北, 旋風出版社, 卷四, p 3, 1975
 6. Abe K, Yuki S, Kogure K: Strong attenuation of ischemic and postischemic brain edema in rats by a novel free radical scavenger. Stroke 19:480-485, 1988.
 7. AuKland K, Bower BFF, Berliner RW: measurement of local blood flow with hydrogen gas. Circ Res 14:167-187, 1964.
 8. Bederson JB, et al: Rat middle cerebral artery occlusion: Evaluation of the Model and development of a neurologic Examination. Stroke 17:472-476, 1986.
 9. Chen ST, Hsu CY, Hogan EL, Maricque H, Balentine JD: A model of focal ischemic stroke in the rat: reproducible extension cortical infarction. Stroke 17:738-743, 1986.
 10. Crockard A, Iannotti F, Hunstock AT, Smith RD, Harris RJ, Symon L: Cerebral blood flow and edema following carotid occlusion in the gerbil. Stroke 11:494-498, 1980.
 11. Elliott KAC, Jasper H: measurement of experimentally induced brain swelling and shrinkage. Am J physiology 157:122-129, 1949.
 12. Gotoh O, Asano T, Koide T, Takakura K: Ischemic brain edema following occlusion of the middle cerebral artery in the rat. I. the time courses of the brain water, sodium and potassium contents and blood-brain barrier permeability to ¹²⁵I-albumin. Stroke 16:101-109, 1985.
 13. Haining JL, Turner MD, Pantall RM: measurement of local blood flow in the anesthetized rat using a hydrogen clearance method. Ciri Res 18:313-324, 1968.
 14. Hatashita S, Hoff JT: Brain edema and Cerebrovascular permeability during cerebral ischemia in rats. Stroke 21:582-588, 1990
 15. Kaneko D, Nakamura N, Ogawa T: Cerebral infarction in rats using homologous blood emboli, Development of a new experimental model. Stroke 16:76-84, 1985.
 16. Marmarou A, Tanaka K, Shulman K: An improved gravimetric measurement of cerebral edema. J Neurosurg 56:246-253, 1982.
 17. Nishi H, Watanabe T, Sakurai H, Yukis, Ischibasi A: Effect of MCI-186 on brain edema in rats. Stroke 20:1236-1240, 1989.
 18. Pasztor E, Symon L, Dorsch NWC, Branston NM: the hydrogen clearance method in assessment of blood flow in cortex, white matter and deep nuclei of baboons. Stroke 4:556-567, 1973.
 19. Paxinos G, Watson C: The rat brain in stereotaxic coordinates. 2nd ed, Academic Press, Sydney, 1986.
 20. Symon L, Branston NM, Chikovani O: Ischemic brain edema following middle cerebral artery occlusion in baboons: Relationship between regional cerebral water contents and blood flow at 1 to 2 hours. Stroke 10:184-191, 1979.
 21. Tamura A, Asano T, Sano K: Correlation between rcbf and histological change following temporary middle cerebral artery occlusion. Stroke 11:487-493, 1990.
 22. Verhaegen MJ, Todd MM, Warner DS, James B, Weedks J: The role of electrode size on

the incidence of spreading depression and on cortical cerebral blood flow as measured by H₂ clearance. J cereb Blood Flow Metab 12:230-237, 1992.

23. Young W: H₂ clearance measurement of Blood Flow: A review of technique and polarographic principles. Stroke 11:726-732, 1972.