

황기와 원지분획의 뇌허혈에 관한 약효연구

한석희 · 박진혁 · 김진숙* · 이선미#

성균관대학교 약학대학, *한국한의학연구원 연구부

(Received June 9, 2000)

Effects of Astragali Radix and Polygalae Radix on Cerebral Ischemic and Reperfused Injury

Suk-Hee Han, Jin-Hyuk Park, Jin Sook Kim* and Sun-Mee Lee#

College of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746

*Korea Institute of Oriental Medicine, Seoul, 135-100, Korea

Abstract — In order to investigate the pharmacological properties of fractions of Astragali Radix and Polygalae Radix, the effects of the fractions on cerebral ischemia and subsequent reperfusion were studied. Brain ischemia was induced by bilateral common carotid artery occlusion in mongolian gerbil. Brains were recirculated for 30 mins after the 20 min occlusion. Methanol and butanol fractions of Astragali Radix and Polygalae Radix were administered orally 2 hrs before common carotid artery occlusion. Histological observations showed that brain ischemia induced severe brain damage evidenced by the presence of necrotic foci, edema and hemorrhage. This injury was prevented by the methanol fraction and butanol fraction of Polygalae Radix. The level of ATP in brain tissue significantly decreased in ischemic gerbils. This decrease was prevented by the pretreatment with butanol fraction of Polygalae Radix. In contrast, the levels of lactate and lipid peroxide were both elevated in ischemic gerbils. This elevation was inhibited by the pretreatments with methanol fraction and butanol fraction of Polygalae Radix. Our findings suggest that the Polygalae Radix improves ischemia-induced brain damage.

Keywords □ Astragali radix, Polygalae radix, cerebral ischemia, energy metabolism, lipid peroxidation.

현대인들에게 관심이 높은 성인병 중 고혈압, 동맥경화, 심장병, 뇌졸중등은 대표적인 순환기계 질환으로 지금까지 예방과 치료에 관한 약제가 다수 개발되어 있음에도 불구하고 개선되지 않고 있어 의학적으로 많은 관심과 함께 이에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 뇌혈관 질환은 선진국의 경우 심장질환, 암 다음으로 높은 사망원인을 차지하며 이환율은 상당히 높다. 이러한 뇌혈관 질환은 뇌혈관을 침범하는 여러 병리학 적 이상에 의해 유발되는데 이중 대부분이 허혈성 뇌졸중이다. 뇌졸중의 증상은 다양하지만 의식장애와 편

마비 그리고 언어장애가 주증상이다.

황기(Astragali Radix)는 콩과(Leguminosae)에 속하는 다년생 초본으로, 우리나라의 중북부 지역에 자생하며, 약용을 목적으로 널리 재배되고 있다.¹⁾ 한방에서는 그 뿌리를 약재로 사용하고 있으며, 補中益氣, 托毒 등의 효능이 있고 內傷勞倦 및 모든 氣衰血虛症에 치료효과가 있는 것으로 알려져 있다.²⁾ 이에 관한 약리효능연구로는 간장보호작용, 면역촉진작용, 강심작용, 이뇨작용등이 보고되었으며²⁾ 특히 황기의 알콜 및 에테르 추출물은 생체 내 실험에서 혈압강하, 혈관확장을 나타내며, 토끼 적출 심장의 수축력, 박동수도 함께 억제한다고 한다.³⁾ 또한 황기내 다당체는 항체생성촉진, 비장과 간장내 RNA의 합성을 촉진하는 등 면역계

본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 031-290-7712 (팩스) 031-290-7732

에 관련된 작용을 나타낸다.⁴⁾

원지(Polygalae Radix)는 원지과(Polygalaceae)에 속한 다년생 초본⁵⁾으로서 뿌리를 채취하여 목심부위를 제거하고 건조한 것으로 한방에서는 심장을 진정시켜 가슴이 두근거리는 것을 멎게 하고 건망증을 치료하며 정신을 맑게한다고하여 이에 응용되고 있다.⁶⁾ 원지의 주요 활성물질은 saponin이며, 이는 위점막을 자극하며 반사적으로 기관지분비를 유도한다. 또한 진정작용이 있고, 자궁을 수축하는 작용을 나타낸다⁷⁾고한다.

따라서 이같은 황기와 원지의 순환기계 작용을 바탕으로 본 실험에서는 황기와 원지의분획에 대한 뇌허혈 및 재관류 손상시 이들의 효과를 알아보려고 하였다.

실험방법

실험동물 및 처치 - 중앙실험동물 및 제일상사로부터 70~80 g의 응성 gerbil을 공급받아 항온 항습이 유지되는 본교 동물실에서 일주일 이상 적응시켜 사용하였고 사료 및 물은 자유로이 섭취하도록 하였으며 실험 하루 전에 절식시켰다. 시험약물은 0.5% sodium carboxymethylcellulose(CMC-Na)-saline 액에 현탁시켜 허혈 유발 2 시간 전에 체중 kg당 300 mg 용량으로 경구투여하였다. 대조군은 0.5%(CMC-Na)-saline 만을 약물투여군과 동일한 방법으로 경구투여하였다.

원지와 황기의 추출 및 분리 - 건조된 원지뿌리(50 kg)를 분말화한 후 70% ethanol(EtOH)로 상온에서 일주일간 추출, 여과, 농축건조하였다. 이러한 과정을 4번 반복하여 총 1.65 kg을 얻었다. 이 추출물을 butanol(n-BuOH)로 계통분리하였다. 또한 황기도 80% EtOH로 상온에서 추출한 후 원지와 같은 과정을 반복하여 ethylacetate(EtoAc)로 계통분리하였다.

뇌허혈 유발 - Gerbil을 ether 마취 하에 수술판에 고정시키고 목의 중앙선을 절개한 후 양측 경동맥을 미주신경으로부터 분리하여 동맥 clamp로 결찰하였다. 허혈 20분 후 clamp를 빼내어 30분간 재관류시키고 단두치사하여 뇌를 적출한 후 재빨리 평량하여 뇌시료를 얻은 다음, 이를 균질화하여 측정항목을 측정하였다. 신경학적 검사는 허혈 20분 후 clamp를 빼내고 절개부위를 봉합하여 24 시간동안 재관류시켰다. 24 시간 후 gerbil의 신경손상정도에 따라 4등급으로 나누고 조직 검사를 위하여 단두치사하여 뇌를 10% formalin neutral buffer 용액(Sigma Chem. Co., U.S.A.)에 10일

간 담가둔 후 조직처리 및 염색과정을 수행하였다. Sham 군은 gerbil의 경동맥을 clamp로 결찰시키지 않고 모든 수술과정을 위와 동일하게 실시하였다.

신경학적검사 및 병리조직검사 - 신경학적 검사는 수술 후 24 시간이 경과한 다음 Bederson 등⁸⁾의 방법에 따라 그 결손정도를 4등급으로 점수화하였다. 즉, 꼬리를 잡고 있는 동안 자세의 균형과 앞발의 굴곡성에 중점을 두어 앞발의 뒤뚱거림이 전혀 없고 대칭운동에 전혀 지장이 없는 것을 0으로 하고, 앞발의 운동성이 느리고 굴곡운동에 다소 제한이 따르는 것은 1로 하였으며, 앞발의 굴곡운동에 많은 제한이 따르고 꼬리 잡고 있는 동안 몸의 균형을 잃어 빙글빙글 도는 것을 2로 하였으며, 앞발의 굴곡운동성이 전혀없고 밀면 쓰러져 일어나지 못하는 상태를 3으로 하여 4등급으로 나누었다. 병리조직검사는 조직을 충분히 formalin으로 고정시킨 후 4 mm두께의 coronal brain slice를 만든 후 조직내에 남아있는 고정액은 흐르는 수돗물에 충분히 수세하였다. 각 군의 조직을 Autotechicon (Shandon Citad의 2000)을 사용하여 투명(clearing) 및 침투과정을 실시하였다. 일정모양의 paraffin block을 만들기 위해 embedding center를 사용하였다. Paraffin 침투과정이 끝난 조직을 paraffin warming chamber에 넣고 base mold에 paraffin을 채운 후 조직을 base mold에 안착시키고 cytoplate에 올려놓고 굳은 후 base mold를 떼어놓았다. Paraffin block을 microtome에서 2 μm 두께로 자른 후 슬라이드 글라스 위에 올려 60°C hot plate에서 건조부착시켰다. 절편이 부착된 슬라이드 글라스를 60°C의 oven에 넣어 조직이외의 paraffin을 녹이고 xylene에서 10분씩 3회 처리한 후 100%, 95%, 80% 및 70% ethanol 순으로 2회씩 2분간 처리하여 함수시켰다. Hematoxylin 및 eosin(H&E) 염색은⁹⁾ 함수과정후 탈이온수에서 10분간 처리한 후 Harris's hematoxylin으로 염색하였다. 현미경 검정은 카메라가 부착된 현미경(Nikon Diaphot 300, Japan 2000)에서 40배율로 하였다.

뇌시료의 추출 - 뇌시료를 평량한 후 0.25% EDTA가 들어있는 0.1M HClO₄를 가하여 homogenizer로 30초간 균질화시킨 후 10분간 고정시켜 단백질을 제거한 후 10000×g, 4°C에서 10분간 원심분리한 다음 상층액을 ATP, malondialdehyde(MDA) 및 lactate 정량용 시료로 사용하였다.

분석항목 - 뇌조직내 ATP함량은 다음과 같은 방법

에 따라 Sigma사의 Kit(# 366)를 사용하여 측정하였다. 우선 0.3 mg의 NADH가 함유된 바이알에 3-phosphoglyceric acid(PGA) buffered solution 1.0 ml, 3차 증류수 1.5 ml, 검체 0.5 ml을 순서대로 가한 후 온화하여 cuvet에 옮기고 340 nm에서 흡광도를 측정한다(Initial A) 계속해서 glyceraldehyde phosphate dehydrogenase(GAPD)/phosphoglycerate phosphokinase(PGK) enzyme mixture 0.04 ml를 가하여 잘 섞어주고 340 nm에서 최저 흡광도를 측정하여(Final A)이 두 흡광도의 차이로 검체중의 ATP 함량을 계산하였다. 뇌조직내 lactate의 측정은 Gutmann와 Wahlefeld의 방법¹⁰⁾에 따라 NAD⁺ 존재하에서 lactate와 lactate dehydrogenase(LDH)에 의해 생성되는

NADH의 양을 340 nm에서 흡광도를 측정하여 nmol/mg protein의 단위로 나타내었다. 뇌조직내 지질과산화는 Masugi와 Nakamura의 방법¹¹⁾에 준하여 thiobarbituric acid(TBA) assay를 사용하여 535 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 표준액으로는 1,1,3,3-tetraethoxypropane(malondialdehyde [MDA] tetraethyl acetal)을 사용하였다. Protein 함량은 Bradford 등¹²⁾의 방법에 따라 bovine serum albumin을 표준용액으로 사용하여 측정하였다.

통계처리 - 모든 실험결과는 $\text{means} \pm \text{S.E.M.}$ 으로 표시하였으며 유의성 검정은 Student's unpaired *t*-test를 사용하여 P값이 0.05미만일 때 통계학적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

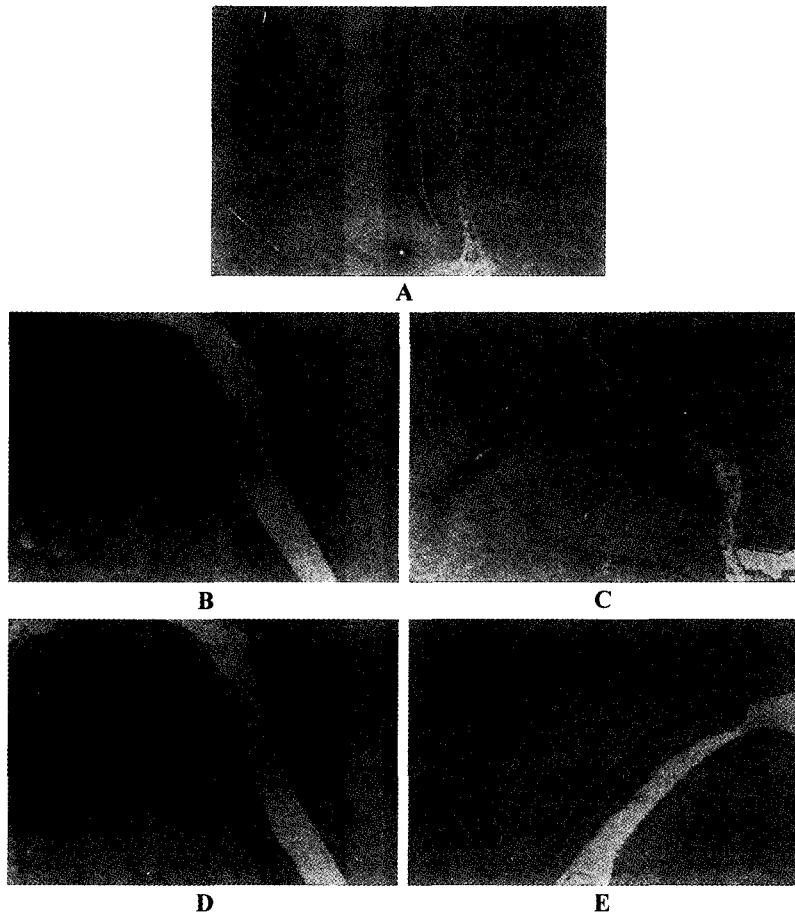


Fig. 1 - Representative photomicrographs of neuronal change in 2- μ m H & E-stained sections from ischemia/reperfusion control group (A), EtOH fraction of Astragali Radix-treated group (B), EtoAc fraction of Astragali Radix-treated group (C), MeOH fraction of Polygalae Radix-treated group (D), BuOH fraction of Polygalae Radix-treated group (E) brain 24 hrs after 20 mins bilateral carotid artery occlusion. This photo also shows hippocampal field at 40 magnification.

실험결과

허혈 및 재관류로 인한 뇌조직 손상에 대한 황기분획과 원지분획의 효과 - Fig. 1에서 보는 바와 같이 허혈 및 재관류 대조군은 뇌신경세포괴사와 세포부종 및 출혈이 현저하였다. 황기 EtOH분획 및 황기 EtoAc분획 처치군은 허혈 및 재관류 대조군과 차이가 없었으나 원지 BuOH분획처치군은 허혈 및 재관류로 인한 세포 손상을 다소 억제하였고 원지 MeOH분획처치군은 허혈 및 재관류 대조군에 비해 뇌신경세포괴사, 부종 및 출혈등을 현저히 억제하였다.

허혈 및 재관류 후 신경학적 변화에 따른 황기분획과 원지분획의 효과 - Table I에서 보는 바와 같이 허혈후 24 시간이 경과한 다음 신경 결손은 황기 및 원지 분획 처치군 모두에서 대조군과 차이를 나타내지 않았다.

허혈 및 재관류 후 뇌내 ATP 변동에 대한 황기분획과 원지분획의 효과 - Fig. 2에서 보는 바와 같이 정상 gerbil의 뇌내 ATP함량은 0.63 ± 0.02 nmol/mg protein이었으나, 허혈 및 재관류 대조군은 0.54 ± 0.02 nmol/mg protein으로 유의성있게 감소하였다. 황기분획처치군과 원지 MeOH분획 처치군의 ATP함량은 허혈 및 재관류 대조군과 차이가 없었지만 원지의 BuOH 분획 처치군은 허혈 및 재관류로 인한 ATP 함량저하를 유의성있게 억제시켰다.

허혈 및 재관류 후 뇌내 젖산 변동에 대한 황기분획과 원지분획의 효과 - Fig. 3에서 보는 바와 같이 정상 gerbil의 뇌내 젖산함량은 64.7 ± 3.6 nmol/mg protein이었으나, 허혈 및 재관류 대조군은 104.7 ± 7.6 nmol/mg protein으로 유의성있게 증가를 하였다. 또한 약물처

Table I - Effects of the fractions of Astragali Radix and Polygalae Radix on neurological change by brain ischemia

Treatment	n	Neurological grade
Control	5	1.58 ± 0.26
Astragali Radix fractions		
EtOH	4	1.40 ± 0.40
EtoAc	4	1.60 ± 0.41
Polygalae Radix fractions		
MeOH	4	1.00 ± 0.00
BuOH	4	1.00 ± 0.00

Values are means \pm S.E.M. n=number of animals in each group.

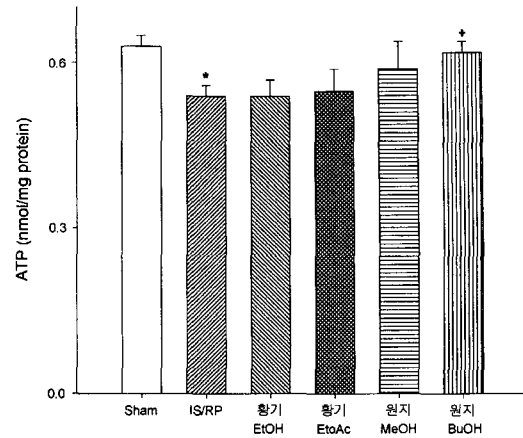


Fig. 2 - Effects of the fractions of Astragali Radix and Polygalae Radix on levels of ATP in brain following ischemia and reperfusion. Values are means \pm S.E.M. for 6 to 10 gerbils per group. *Significantly different from the sham group ($P < 0.05$ in Student's *t* test). **Significantly different from the Is/Rp control group ($P < 0.05$ in Students' *t* test). Is, ischemia; Rp, reperfusion.

치군중 원지의 MeOH분획 처치군과 BuOH분획 처치군의 젖산함량은 각각 65.02 ± 2.7 nmol/mg protein, 62.0 ± 4.7 nmol/mg protein으로 허혈 및 재관류로 인한 젖산의 증가를 현저히 억제시켰다.

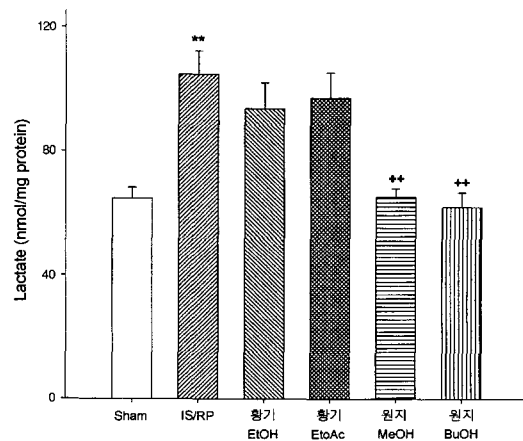


Fig 3 - Effects of the fractions of Astragali Radix and Polygalae Radix on levels of lactate in brain following ischemia and reperfusion. Values are means \pm S.E.M. for 6 to 10 gerbils per group. **Significantly different from the sham group ($P < 0.01$ in Student's *t* test). **Significantly different from the Is/Rp control group ($P < 0.01$ in Students' *t* test). Is, ischemia; Rp, reperfusion.

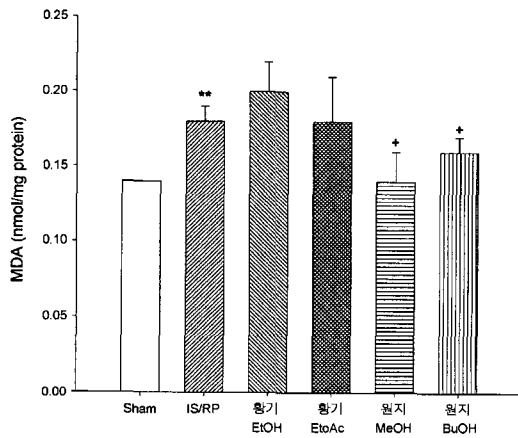


Fig. 4 - Effects of the fractions of *Astragali Radix* and *Polygalae Radix* on levels of lipid peroxide in brain following ischemia and reperfusion. Values are means \pm S.E.M. for 6 to 10 gerbils per group. **Significantly different from the sham group ($P < 0.01$ in Student's *t* test). †Significantly different from the Is/Rp control group ($P < 0.05$ in Student's *t* test). Is, ischemia; Rp, reperfusion.

허혈 및 재관류 후 뇌내 지질과산화에 대한 황기분획과 원지분획의 효과 - Fig. 4에서 보는 바와 같이 정상 gerbil의 뇌내 지질과산화양은 0.14 ± 0.0 nmol/mg protein이었으나, 허혈 및 재관류 대조군은 0.18 ± 0.01 nmol/mg protein으로 유의성있게 증가하였다. 또한 황기분획 처치 후 뇌내 지질과산화양은 허혈 및 재관류군과 차이가 없었으나 원지의 MeOH분획 처치군과 BuOH분획 처치군의 지질과산화양은 각각 0.14 ± 0.02 nmol/mg protein, 0.16 ± 0.01 nmol/mg protein으로 허혈 및 재관류로 인한 지질과산화의 증가를 유의성있게 억제시켰다.

고 찰

뇌출혈, 뇌경색, 동맥경화증 등 뇌혈관 장애로 인한 뇌로의 혈액공급이 불충분하면 뇌에서는 부분적인 순환장애가 일어나 갑작스러운 신경장애가 나타난다. 뇌혈관 장애의 80%는 동맥혈관의 폐쇄가 원인으로 지적되고 있으며 순수한 저산소증과는 달리 허혈성 질환은 근본적인 순환계 장애로 특히 뇌허혈은 뇌조직이 그 기능을 유지할수 없을 정도로 뇌혈류량이 감소한 상태라고 정의된다.

뇌허혈이 초래된 후 나타나는 신경변성은 해마, 대

뇌피질, 선조체 및 소뇌등의 지역에 선택적으로 일어난다.¹³⁾ 특히 해마부위는 coronu ammonis(CA)1, CA2, CA3의 세가지 지역으로 나뉘는데 CA1은 subiculum에, CA3는 dentate gyrus에 근접하며 모두 해마 피질부위에 존재하며 이중 CA1 지역내의 거대한 pyramidal cell은 산소부족에 매우 민감하여, 혈액의 공급없이는 수분내에 사망한다.¹⁴⁻¹⁷⁾ 따라서 이 지역은 허혈성 신경변성의 기전 연구에 중요한 대상이 되고 있다. 이와 같이 최근 허혈성 장애에 대한 병태생리학적 기전연구가 진전됨에 따라 허혈성 뇌손상의 약리학적 예방 및 치료제 개발이 활발해지고 있다. 따라서 이들의 약효를 검색하기 위해서는 무엇보다 적절한 동물모델 확립이 필수적이며 이제까지의 허혈성 뇌장애의 실험적 검토에는 흰쥐나 gerbil이 주로 이용되어왔다. 즉, 전반적 뇌허혈(global brain ischemia)의 경우 개와 같은 대동물 또는 본 실험에 이용한 mongolian gerbil(*Meriones unguiculatus*)이 재현성 있고 유용한 동물모델로 확립되어 있으나^{18,19)} 국소적 뇌허혈(focal brain ischemia) 동물모델에 대해서는 여전히 많은 논란이 있다.^{20,21)} 또한 최근에는 분자생물학적 수법이 진보됨에 따라 유전자 변이 마우스가 뇌허혈 발병기전의 연구에 응용되나 이 역시 아직도 선택적 뇌신경세포괴사가 불분명하여 이에 대한 연구가 더 진행되어야 한다.

본 실험의 결과로 제시하지는 않았지만 뇌허혈 손상 유발모델을 설정함에 있어 기존 일부 연구에서는 gerbil의 편측(unilateral) 경동맥 결찰로 focal ischemia를 유발하였으나 뇌허혈 및 재관류 손상이 매우 적게 나타났으므로 gerbil의 양측(bilateral) 경동맥 결찰로 global ischemia를 유도하였다. 또한 여러 허혈 기간(10, 15, 20분)과 재관류 기간(15, 20, 30분) 실험을 통하여 뇌내 여러 생화학적 지표변동을 측정, 고려함으로써 허혈 20분후 재관류 30분으로 기간을 설정하였다. Table I에서와 같이 뇌내 허혈 및 재관류로 인한 뇌세포의 손상은 재관류기간이 24시간 정도 경과한 다음 뚜렷하였으므로 이에서 약물의 효과를 관찰하였다. 즉 뇌내 허혈 20분후 재관류 24시간에는 자세균형을 잃어 넘어지는등 중등도의 신경학적 변화를 일으켰으며 이에서 황기분획 처치군은 허혈 및 재관류 대조군과 차이를 보이지 않았으나 원지분획처치로 허혈 및 재관류로 인한 신경학적 변화를 감소시키는 경향을 나타내었다. 또한 이때에는 뇌조직학적으로도 허혈 및

재관류 대조군에서 해마부위의 뇌신경세포괴사, 세포 부종 및 출혈등 뇌조직 손상을 일으켰으나 원지 분획 처치로 이의 손상을 현저히 억제함을 알 수 있었다.

뇌허혈에 대한 정확한 발생기전은 아직 알려져 있지 않으나, Mies 등²²⁾은 허혈성 뇌에서 에너지 대사 관련물질(ATP와 그의 대사체)을 측정하여 glucose이용률의 저하를 보고하였으며, Sokoloff 등²³⁾도 유사한 결과를 보여주었으나, 이와는 달리 Munekata와 Hossmann²⁴⁾에 따르면 허혈후 재관류 초기의 영양분의 공급감소와 저산소가 에너지 대사의 손상을 야기시키지는 않는다고 한다. 과혈당(hyperglycemia)은 일시적인 뇌허혈에 의해 야기되는 뇌손상을 증폭시킨다.²⁵⁾ 이와 같은 현상에 대해 정확한 작용기전은 알 수 없으나 뇌허혈중 과혈당은 뇌내 젖산 증가²⁶⁾와 산증(acidosis)을 가속화시키므로²⁷⁾ 많은 연구자들은 이 두 가지 현상이 뇌허혈손상의 잠재적인 매개체라 여기고 있다. 실제로 Combs 등²⁸⁾의 연구에 따르면 해당작용(glycolysis)을 차단하면 과혈당으로 인한 뇌허혈 사망률을 줄일 수 있다고 한다. 본 연구결과에서 뇌허혈 및 재관류로 인한 ATP 감소를 원지의 BuOH분획처치로 유의성있게 억제하였고, 황기분획처치군에서는 대조군과 차이가 없었다. 젖산의 함량은 원지의 MeOH분획처치군과 BuOH분획처치군에서 대조군에 비해 유의성있는 젖산 생성억제효과를 보여주었다.

한편, 뇌허혈이 지속되는 시간이 길고 그 정도가 심하다면 뇌허혈만으로도 뇌손상을 입을 수 있지만 대부분의 경우 뇌허혈 당시보다는 재관류시에 산소가 조직으로 다시 공급될 때 손상이 일어난다.²⁹⁾ 재관류시 일어나는 손상에 대한 기전에 대해서 활성산소(free radicals)의 역할에 많은 관심이 쏠리고 있다. 뇌허혈 기간동안 칼슘이 증가된 상태에서 산소가 재공급되면 xanthine oxidase, 혹은 NADPH에 의해 산소분자는 superoxide anion으로 변화되어 항산화방어기전이 미약하게 작용하는 세포외 공간으로 이동하게 된다. 또한 Fe²⁺의 존재하에서 독성이 매우 강력한 hydroxyl radical로 쉽게 전환되어 여러 효소의 기능을 변동시키거나, 지질과산화(lipid peroxidation)를 일으켜 막의 유동성과 막을 통한 이온의 농도차(ionic gradient)를 변동시켜 세포손상을 일으킨다.³⁰⁾ 본 연구에서도 뇌허혈 및 재관류시 뇌지질과산화량이 현저히 증가하였으며, 원지의 MeOH분획군과 BuOH분획군은 이의 증가를 유의성있게 억제시켰다. 이는 원지분획처치가

oxygen radicals의 작용과 관련성이 있는 것으로 여겨지며 앞으로 이와 관련 실험을 더 수행하면 흥미로운 결과가 나올것으로 생각된다.

이상의 결과로 보아 뇌허혈 및 재관류는 뇌내 에너지 변동 및 지질과산화를 일으켜 뇌조직 손상을 유발하며 이에 원지의 MeOH분획과 BuOH분획군이 허혈 및 재관류로 인한 뇌조직 손상을 완화시킴을 알 수 있었다.

감사의 말씀

본 연구는 1998년도 보건료연구개발사업(HMP-97-M-6-0062)의 지원으로 이루어졌으므로 이에 감사드립니다.

문 헌

- 1) 정보섭, 신민교 : 도해향약(생약) 대사전(식물편), 영림사, 서울, p. 662 (1985).
- 2) 相賀徹夫 : 中藥大辭典, 上海科學技術出版社, 小學館, 東京, p. 121 (1985).
- 3) 임동윤 : 황기의 혈압강하 작용에 관한 연구. 약학회지 23, p. 68 (1979).
- 4) 김정훈, 박정숙, 채병숙, 강태욱, 박찬봉, 안영근 : 황기의 매탄올 추출물의 용량에 따른 면역생물학적 연구. 약학회지 40, 326 (1996).
- 5) 육창수 : 아세아 생약도감 p. 273 & p. 316 (1997).
- 6) Huang KeeChang : The Pharmacology of Chinese Herbs p. 224 (1993).
- 7) 허 준 : 동의보감, 남산당, 서울 (1986).
- 8) Bederson, J. B., Pitts, L. H., Germano, S. M., Nishimura, M. C., Davis, R. L. and Bartkowski, H. M. : Evaluation of 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride as a stain for detection and quantification of experimental cerebral infarction in rats. *Stroke* 17, 1304 (1996).
- 9) Giuseppe, A. and Massimo, C. : Myocardial reperfusion injury: Mechanism and Management. *Am. J. Med.* 91(suppl 3C), 86S (1991).
- 10) Gutmann, I. and Wahfeld, A. W. : Determination with lactate dehydrogenase and NAD. *Methods of Enzymatic Analysis* Verlag Chemic Academic press p. 1464 (1974).
- 11) Masugi, F. and Nakamura, T. : Effect of vitamin E

- deficiency on the level of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase and lipid peroxide in rat liver. *Intervat. J. Vit. Nutri. Res.* **46**, 187 (1976).
- 12) Bradford, M. M. : A rapid and sensitive method of the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.* **72**, 248 (1976).
 - 13) Fagg, G. E. and Foster, A. C. : Amino acid transmitters and their pathways in the mammalian central nervous system. *Neuroscience* **9**, 701 (1983).
 - 14) Diemer, N. H. and Siemkowicz, E. : Regional neuron damage after cerebral ischemia in normo- and hypoglycemic rats. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* **7**, 217 (1981).
 - 15) Ito, U., Spatz M., Walker, J. T. Jr. and Klatzo, I. : Experimental ischemia in mongolian gerbils I. light microscopic observation. *Acta Neuropathol.(Berl)* **32**, 209 (1975).
 - 16) Kirino, T. : Delayed neuronal death in gerbil hippocampus following ischemia. *Brain Res.* **239**, 57 (1982).
 - 17) Pulsinelli, W. A., Brierly, J. B. and Plum, F. : Moderate hypoglycemia augments ischemic brain damage; a neuropathologic study in the rat. *Neurology* **32**, 1239 (1982).
 - 18) Hofer, R. E., Christopherson, T. J., Scheithauer, B. W., Milde, T. H. and Lanier, W. L. : The effect of a platelet activating factor antagonist(BN52021) on neurologic outcome and histopathology in a canine model of complete cerebral ischemia. *Anesthesiol.* **79** 347 (1993).
 - 19) Lysko, P. G., Lysko, K. A., Yue, T., Webb, C. L., Gu, J. and Feurstein, G. : Neuroprotective effects of carvedilol, a new antihypertensive agent, in cultured rat cerebellar neurons and in gerbil global brain ischemia. *Stroke* **23**, 1639 (1992).
 - 20) Agnati, L. F., Zoli, M., Kurosawa, M., Benfenati, F., Biagini, G., Zini, I., Hallstrom, A., Ungerstedt, U., Toffano, G. and Fuxe, K. : A new model of focal brain ischemia based on the intracerebral injection of endothelin-1. *Ital. J. Neurol. Sci., Suppl.* **2**, 49 (1991).
 - 21) Tamura, A., Graham, D. I., McCulloch, J. and Teasdl, G. M. : Focal cerebral ischemia in the rat; description of technique early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **1**, 53 (1984).
 - 22) Mies, G., Paschen, W. and Hossmann, K. A. : Cerebral blood flow, glucose utilization, regional glucose, and ATP content during the maturation period of delayed ischemic injury in gerbil brain. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **10**, 638 (1990).
 - 23) Sokoloff, L., Reivich, M., Kenned, C., Des Rosiers, M. H. and Shinohara, M. : The [¹⁴C]deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization; theory, procedure, and normal values in the conscious and anesthetized albino rat. *J. Neurochem.* **28**, 299 (1977).
 - 24) Munekata, K. and Hossmann, K. A. : Effect of 5-minute ischemia on regional pH and energy state of the gerbil brain: relationship to selective vulnerability of the hippocampus. *Stroke* **18**, 412 (1987).
 - 25) Kalimo, H., Rehncrona, S., Soderfeldt, B., Olsson, Y. and Siesjo, B. K. : Brain lactic acidosis and ischemic cell damage: 2. Histopathology. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **1**, 313 (1981).
 - 26) Comb, D. J., Dempsey, R. J., Maley, M., Donaldson, D. and Smith, C. : Relationship between plasma glucose, brain lactate, and intracellular pH during cerebral ischemia in gerbils. *Stroke* **21**, 936 (1990).
 - 27) Smith, M. L., Von Hanwehr, R. and Siesjo, B. K. : Changes in extra- and intracellular pH in the brain during and following ischemia in hyperglycemic and in moderately hypoglycemic rats. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **6**, 574 (1986).
 - 28) Comb, D. J., Reuland, D. S., Martin, D. B., Zelenock, G. B. and D'Alecy, L. G. : Glycolytic inhibition by 2-deoxyglucose reduces hyperglycemia-associated mortality and morbidity in the ischemic rat. *Stroke* **17**, 989 (1986).
 - 29) Hall, E. D., Pazara, K. E. and Braughler, J. M. : 21-Aminosteroid lipid peroxidation inhibitor U7006F protects against cerebral ischemia in gerbils. *Stroke* **19**, 997 (1988).
 - 30) Snelling, L. K., Ackerman, A. D., Dean, J. M., North, M. C. and Traystman, R. J. : The effects of superoxide dismutase on neurological recovery (Cerebral blood flow and evoked potentials) following global cerebral ischemia(abstract). *Anesthesiology* **67**, A 153 (1987).