

## 牛黃清心元이 腦虛血을 誘發시킨 흰쥐의 神經傳達物質에 미치는 影響

박치상, 이은주, 박원미<sup>1)</sup>, 김미려<sup>1)</sup>, 조정숙<sup>2)</sup>, 김영호<sup>3)</sup>, 양재하<sup>1)</sup>, 박창국

경산대학교 한의과 대학 심계내과학교실, 경산대학교 한의과 대학 약리학 교실<sup>1)</sup>, 동국대학교 의과대학 약리학 교실<sup>2)</sup>,  
충남대학교 약학대학 생약학 교실<sup>3)</sup>

### The Protective Effects of *Woowhangcheongshim-won(WCW)* on Middle Cerebral Artery Occlusion

Chi-Sang Park, Eun-Ju Lee, Won-Mee Park<sup>1)</sup>, Mi-Ryeo Kim<sup>1)</sup>, Jung-Sook Cho<sup>2)</sup>,  
Young-Ho Kim<sup>3)</sup>, Chae-Ha Yang<sup>1)</sup>, Chang-Gook Park

Department of Circulatory Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Kyungsan University,  
Department of Pharmacology, College of Oriental Medicine, Kyungsan University<sup>1)</sup>,  
Department of Pharmacology, College of Medicine, Dongguk University<sup>2)</sup>,  
Department of Pharmacognosy, College of Pharmacy, Chungnam National University<sup>3)</sup>

The present study was carried out to investigate the effects of *Woowhangcheongshim-won(WCW)* on the extracellular concentrations of amino acid neurotransmitters (glutamate, aspartate, GABA, glycine, taurine, alanine, and tyrosine) and organic acid (lactate and pyruvate) in striatum and cerebral infarction volume in rats subjected to permanent focal cerebral ischemia induced by 2 hours of middle cerebral artery occlusion (MCAO), using intracerebral microdialysis as the sampling technique. Microdialysis probes were inserted into the lateral part of the caudate-putamen 2 hours before the experiment and microdialyzates were collected at 20min intervals and analyzed by high performance liquid chromatography. *WCW* significantly decreased the infarction volume with reducing focal cerebral ischemia-induced increase of extracellular glutamate, aspartate, and tyrosine. On the other hand, the increase of GABA and taurine was enhanced after treatment of *WCW* in the ischemia-induced rats.

These results suggest that *WCW* can produce a neuroprotective effect against cerebral ischemia by regulating extracellular excitatory and inhibitory amino acid levels in relation to the concept of excitotoxicity in brain ischemia. (J Korean Oriental Med 2000;21(1):11-19)

**Key Words:** *Woowhangcheongshim-won*(牛黃清心元), Cerebral ischemia, Neurotransmitters, Amino acid, Microdialysis

### 緒 論

腦血管疾患의 하나인 虛血性 腦卒中은 腦血管의 狹窄, 內徑의 變化, 血液의 粘度異常 등으로 因해 神經學的 損傷을 일으키는 疾患으로, 老齡人口의 增加와 精神의 stress 그리고 食生活의 變化 등으로 그 發生率이 漸次 增加하는 趨勢이다<sup>1,2)</sup>.

血行障碼로 因해 腦虛血이 發生하는 部位의 細胞는 수 초내에 機能障碼가 오고, 수 분이 經過한 後에는 非可逆性 損傷을 입게 된다. 그러나 腦虛血 周邊(penumbra

region)의 細胞는 약간의 代謝障碼가 있다가 일정시간이 經過한 後에는 遲延性 神經細胞壞死(delayed neuronal death, DND)가 發生하므로 빠른 시기에 治療를 하여야 한다<sup>3,4)</sup>. 現在 全世界의 虛血性 腦組織細胞 損傷 機轉에 關하여 활발하게 研究가 進行되고 있으며, 神經傳達物質들에 對한 많은 部分이 糾明되고 있다. 이러한 研究結果를 土臺로 神經細胞 損傷을 抑制하는 새로운 藥物 開發을 爲해 多角的인 治療方法을 摸索하고 있다.

腦血管疾患은 그 症狀의 特徵으로 보아 中風의 範疇에 屬하며<sup>5)</sup>, 中風의 急性期 治療에는 多樣한 治法이 있으나 急卽治其標의 原則에 따라 平肝熄風, 清熱滌痰, 化痰通腑, 活血通絡 등의 治法을 多用하며, 이 때에는 邪氣가 盛하고 症候가 實하기 때문에 빨리 病邪를 除去하기 爲한 治療로 牛黃清心元을 많이 使用하고 있다<sup>6)</sup>.

牛黃清心元은 宋代(A.D. 1107年頃) 陳<sup>6)</sup>의 太平惠民和

· 접수 : 2000년 3월 15일 · 수정 : 5월 8일 · 채택 : 5월 10일  
· 교신저자 : 이은주, 대구시 수성구 상동165 경산대학교 대구한방병원  
심계내과 (Tel. 053-770-2105, Fax. 053-770-2103)  
\* 본 연구는 보건복지부의 보건 의료기술연구개발사업(HMP-98-M-6-0061)의 지원으로 수행됨.

劑局方에 最初로 收載된 處方이며, 淸心開竅 蘇醒神志 涼解熱毒의 效能이 있어 卒中風으로 因한 人事不省 痰涎壅盛 言語蹇澁 口眼喎斜 手足不遂 등의 症狀에 使用하는 救急藥이다<sup>7-9)</sup>.

牛黃淸心元에 關한 實驗的 研究로는 高<sup>9)</sup>의 平滑筋에 미치는 影響, 李<sup>10)</sup> 등의 劑形別 臨床에 關한 研究, 南<sup>11)</sup>의 蘇合香元과의 效能에 關한 比較 研究, 洪<sup>12)</sup>의 KCN, 頸動脈 結紮, 無酸素와 減壓 등의 方法을 利用한 腦損傷 및 生存時間에 미치는 影響 등의 研究는 報告되었으나 中大腦動脈을 閉塞시킨 動物 model을 利用한 神經傳達物質의 機轉에 關한 研究는 없었다.

이에 著者는 牛黃淸心元이 腦虛血 誘發時 神經傳達物質에 影響을 주어 腦組織細胞 保護效果에 따른 腦卒中 治療機轉을 實驗的으로 立證하기 爲해 흰쥐에게 牛黃淸心元을 經口投與한 後, 人爲的으로 中大腦動脈 閉塞術을 施行하여 腦虛血을 誘發시킨 다음, 微細透析法 및 HPLC를 利用하여 神經傳達物質인 amino acid系列과 腦細胞內 糖代謝產物인 pyruvate, lactate 등의 含量 變化 및 腦硬塞部位 面積과 容積을 測定하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

## 實 驗

### 1. 動物과 材料

#### 1) 動物

實驗動物은 體重 240~270g의 Sprague-Dawley系 雄性 흰쥐(大韓實驗動物센터)를 使用하였으며, 24마리를 各各 8마리씩 3個群으로 나누었다.

물과 飼料(제일사료 Co.)는 자유롭게 먹도록 하였으며, 飼育室內의 溫度는 21~24℃, 濕度는 40~60%로 유지하

였고, 낮과 밤의 週期는 各各 12時間으로 하였으며, 實驗室 環境에 2週間 適應시킨 後 實驗에 使用하였다.

#### 2) 材料

本 實驗에서 使用한 牛黃淸心元은 東醫寶鑑<sup>8)</sup>에 準하였으나, 그 中 犀角, 石雄黃, 朱砂 등의 3가지 藥劑는 제외하였다. 藥材는 慶山大學校 附屬大邱韓方病院 藥材料에서 調劑하여 實驗에 使用하였으며, 處方內容 및 1丸의 用量은 다음과 같다(Table 1).

### 2. 方法

#### 1) 檢液의 調製

牛黃淸心元 10丸 分量의 生藥을 粉碎하여 微細粉末로 한 後 蜂蜜과 함께 製丸하였으며, 檢液은 丸劑를 粉碎하여 細末로 만든 後 蒸溜水 100ml에 懸濁시켜 使用하였다.

#### 2) 檢液의 投與

實驗動物 8마리를 1個群으로 하여 正常群(sham group), 對照群(control group), 藥物投與群(sample group) 등의 3個群으로 나누었다. 正常群과 對照群에는 生理食鹽水를, 藥物投與群에는 牛黃淸心元 懸濁液을 10ml/kg씩 經口投與하였다.

#### 3) 微細透析法<sup>13)</sup>

흰쥐에 sodium pentobarbital(50mg/kg)을 腹腔注射하여 麻醉를 시킨 後 stereotaxic 手術臺에 固定시켜 microdialysis probe를 挿入할 部位의 頭皮를 切開하였다. 顯微鏡上으로 小泉門 部位(lambda)와 巔頂部位(bregma)를 利用하여 線條體(striatum)의 座標(coordinate) 位置(Ap +0.5, L 3.5, DV-4.5)에 microdialysis probe設置를 爲해 guide cannula를 利用하였다.

Stereotaxic方法으로 手術을 마친 實驗群은 7日間の 回復期를 보낸 後 microdialysis system에 連結시켰다.

Table 1. The Prescription of Woowhangcheongshim-won

構成藥物	生藥名	用量(mg)	構成藥物	生藥名	用量(mg)
山藥	Discoreae Radix	283.0	白朮	Atractylis Rhizoma	56.0
甘草(炒)	Glycyrrizae Radix	188.0	柴胡	Bupleuri Radix	47.0
人蔘	Ginseng Radix	94.0	桔梗	Platycodi Radix	47.0
蒲黃(炒)	Typhae Pollen	94.0	杏仁	Ansu Semen	47.0
神曲(炒)	Massa Medicata Fermentata	94.0	白茯苓	Hoelen	47.0
大豆黃卷	Lathyrus maritimus Bigel	66.0	川芎	Cnidii Radix	47.0
肉桂	Cassiae Cortex	66.0	龍腦	Borenolnm	38.0
阿膠(炒)	Gelatina Nigra	66.0	羚羊角	Capricomidis Corn	38.0
白芍藥	Paeoniae Radix	56.0	白蘞	Ampeloidis Radix	28.0
麥門冬	Liriopsis Tuber	56.0	乾薑(炮)	Zingiberis Radix	28.0
黃芩	Scutellariae Radix	56.0	牛黃	Bezoar	45.0
當歸	Angelicae gigantis Radix	56.0	麝香	Moschus	38.0
防風	Sileris Radix	56.0	蜂蜜	Mel	1,000
計			計		2,891.0

Guide cannula에 微細透析法을 위한 CMA/11, 14/02 microdialysis probe (shaft length:14mm, dimension:0.24×2mm, Sweden)를 挿入하였다.

Microdialysis injection pump(CMA/ 100, Sweden)를 利用하여 1.5  $\mu$ /min의 流速으로 人工腦脊液(CSF)을 probe에 灌流하였으며, 人工腦脊液은 NaCl 8.66g, KCl 0.224g, CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0.206g, MgCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O 0.163g의 500ml 溶液과 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O 0.214g, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O 0.0054g의 500ml 溶液을 混合하여 만들었다. Microdialysis system을 통해 MCAO 前과 後 20分 間隔으로 微細透析液들을 使用하여 HPLC(highperformance liquid chromatography)를 통해 分析하였다.

#### 4) 中大腦動脈 閉塞에 의한 흰쥐의 腦虛血 誘發<sup>13-14)</sup>

N<sub>2</sub>O(70%)/O<sub>2</sub>(30%)와 3% isoflurane을 混合하여 흰쥐에게 吸入 全身麻酔시킨 後, 頸部를 切開하여 右側 總頸動脈과 外頸動脈을 結紮하였다. 15分동안 흰쥐를 安定시킨 後, 外頸動脈을 자르고 0.25mm直徑의 nylon monofilament를 內頸動脈쪽으로 약 17mm정도 밀어 넣어 中大腦動脈을 閉塞시켰다. 切開된 部位를 suture한 後, 麻酔에서 回復시켰고, microdialysis system에 連結하였다. 手術 및 麻酔 回復期間동안 溫度調節裝置를 利用하여 直腸內 溫度를 37℃로 維持하였다.

#### 5) HPLC를 利用한 生化學的 分析

##### (1) Amino acids 定量法<sup>15)</sup>

分析하고자 하는 amino acid(glutamate, aspartate, glycine, GABA, taurine, alanine, tyrosine)의 標準溶液을 만들기 위해 各各의 試藥(Sigma Co., USA)을 CSF에 溶解시켜서 各各 10 $\mu$ M씩 採取하여 같은 用量으로 섞어서 各各 1.43 $\mu$ M의 外部 標準溶液을 만들었다. 各各의 amino acid를 HPLC로 分析하기전 2分間 螢光誘導化 過程을 거쳤다. 螢光誘導體를 만들기 위해서는 OPA(O-phthaldehyde) 27mg을 1ml의 methanol에 溶解시키고 5 $\mu$ l의  $\beta$ -mercaptan과 0.1M의 sodium tetraborate 9ml을 混合하여 HCl과 NaOH를 pH 9.3으로 맞춘 後, 遮光하여 서늘한 장소에 보관해 두었다.

HPLC로 定量分析하기 24時間 前에 準備하여 놓은 OPA/ $\beta$ ME溶液 1ml와 0.1M sodium tetraborate 3ml을 섞어서 working solution을 만들었다. 定量하기 위한 amino acids 15 $\mu$ l와 working solution 5 $\mu$ l를 混合한 後, 15 $\mu$ l를 HPLC(Waters 474 Scanning Fluorescence Detector, Waters Model 510 Pump, Waters Model U6K, USA)를 利用하여 分析하였다. Mobile phase의 組成은 0.1M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 700ml와 methanol 30ml를 混合하여 H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>溶液으로 pH 6.0으로 맞추었다. Waters Spherisorb Column(4.6×150mm, 5 $\mu$ m, USA)을 사용하여 이동상을

1.2ml/min 流速으로 흘렸다. Pump의 壓力調節과 retention time 및 理想的인 分離를 위해 溫度調節器(Waters TCM, USA)를 利用하여 column의 溫度를 30℃로 맞추어서 分析하였다.

##### (2) Pyruvate와 Lactate 定量法<sup>16)</sup>

Pyruvate와 lactate 分析을 爲한 標準溶液은 pyruvic acid와 lactic acid試藥을 CSF에 溶解시켜 各各 20 $\mu$ M과 200 $\mu$ M을 準備하였다. Lambda-Max Model 481 UV detector(Waters Co, USA)의 波長을 214nm로 맞추고, 3.7×150mm, 5 $\mu$ m Nova-pak(Spherical C18) Column을 分析에 利用하였으며, 0.01M K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>(pH 2.4)의 mobile phase를 0.8ml/min 流速으로 하여 pyruvate와 lactate 含量을 分析하였다.

#### 6) 腦損傷 部位의 面積 및 容積 測定

##### (1) 組織染色法<sup>17)</sup>

MCAO microdialysis 實驗을 마친 後, 組織學的 檢證을 確認하기 爲해 흰쥐의 虛血性 腦損傷 部位 面積 및 容積을 測定하였다.

組織染色前 灌流를 爲해 여러 개의 buffer를 準備하였다. 固定液은 H<sub>2</sub>O 1800ml, 37% formalin 200ml, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 80mg, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 200mg을 混合하여 만들었으며, 0.9% saline은 NaCl 90mg을 H<sub>2</sub>O 1000ml에 溶解시켜 準備하였다. Microdialysis 分析을 마친 흰쥐를 sodium pentobarbital 80mg/kg으로 腹腔麻酔하여 手術臺에 固定하여 胸廓을 열고 下行 大動脈을 結紮하였다. 心尖部位에 穿刺하여 0.9% saline 100ml를 흘려서 血液을 씻어낸 後, 800ml 固定液을 충분히 灌流한 後 頭蓋骨로부터 腦를 分離하여 다시 固定液에 17時間동안 貯藏하여 postfixation 하였다.

Vibratome(Campden Instruments 752M vibroslice tissue cutter, England)을 利用하여 100 $\mu$ m씩, 頂部位(bregma) 1mm부터 bregma -0.5mm까지 coronal section하여 腦切片을 만들었다. 組織染色을 爲해 100% xylene, 100% ethanol, 95% ethanol, 70% ethanol, 25% ethanol, 증류수, differentiation solution(mixture of 70% ethanol 225ml, ether 25ml, glacial acetic acid 2drops), cresyl violet stain solution(mixture of cresyl violet 20mg, 1M acetic acid 185ml, 1M sodium acetate 15ml, H<sub>2</sub>O 600ml)을 準備하였다. 완전히 乾燥된 腦組織을 染色하기 前에 脫脂 脫水를 爲해 100% xylene(1hr), 100% ethanol (10mins), 95% ethanol(10mins), 70% ethanol (10mins), 증류수(1dip)를 順序로 하여 過程을 거쳤다.

染色을 爲해 cresyl violet stain solution(25mins), 증류수(10dips), 25% ethanol(10mins), differentiation solution(12mins), 95% ethanol(10 min), 100%

ethanol(10mins), xylene (10mins)을 順序대로 거친 후, permount를 利用하여 slide glass를 完成하였다.

(2) 面積 및 容積 測定

흰쥐의 腦損傷部位 面積 및 容積 測定은 Image analyzer system (OPTIMAS, Edmonds, WA, USA)을 利用하였다.

3. 統計處理

各 結果의 統計의 有意性은 Student's T-test<sup>18)</sup>로 檢證하였으며, P<0.05水準인 것을 有意하다고 認定하였다.

實驗前 正常群, 對照群, 藥物投與群의 glutamate, aspartate, GABA, glycine, taurine, alanine, tyrosine, pyruvate, lactate 등의 含量을 1.00으로 基準하였고, 相對的 比較값을 算出하여 table parenthesis에 記入하였다.

實驗成績

1. MCAO 흰쥐의 Glutamate 含量 變化 (Fig. 1)
2. MCAO 흰쥐의 Aspartate 含量 變化 (Fig. 2)
3. MCAO 흰쥐의 GABA 含量 變化 (Fig. 3)
4. MCAO 흰쥐의 Glycine 含量 變化 (Fig. 4)
5. MCAO 흰쥐의 Taurine 含量 變化 (Fig. 5)
6. MCAO 흰쥐의 Alanine 含量 變化 (Fig. 6)

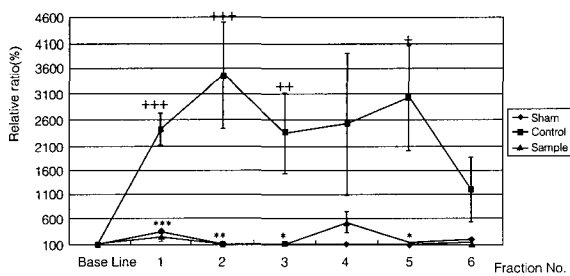


Fig. 1. Effect of Woowhangcheongshim-won on extracellular levels of glutamate at the right striatum of MCAO rats.

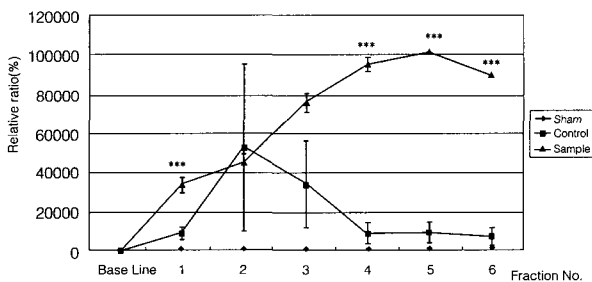


Fig. 3. Effect of Woowhangcheongshim-won on extracellular levels of GABA at the right striatum of MCAO rats.

7. MCAO 흰쥐의 Tyrosine 含量 變化 (Fig. 7)
8. MCAO 흰쥐의 Pyruvate 含量 變化 (Fig. 8)
9. MCAO 흰쥐의 Lactate 含量 變化 (Fig. 9)
10. MCAO 흰쥐의 腦損傷 部位 面積 및 容積 測定 (Fig. 10)

MCAO手術 30分前에 牛黃清心元 懸濁液 10ml/kg를 經口投與한 實驗群의 腦損傷 部位의 面積 및 容積은 各各 27.24±1.31mm<sup>2</sup>, 54.49±2.63mm<sup>3</sup>으로 對照群에 比해 매우 有意性(P<0.001)있는 腦組織 損傷의 減少가 觀察되었다 (Table 2).

考 察

中風은 卒中昏倒 半身不遂 口舌歪斜 神志昏迷 舌強言蹇 或不語 遍體麻木 등의 症候를 일컫으며, 이는 腦의 神經學的인 損傷에 依한 意識障礙, 諸般運動 및 感覺障礙 등을 隨伴하는 腦血管障礙와 類似하다<sup>2)</sup>.

中風의 主要 原因을 살펴보면 內經을 비롯한 隨唐 및 宋代에는 正虛邪中을 重要한 原因으로 하였고, 金元時代의 劉<sup>19)</sup>는 主火說을, 朱<sup>20)</sup>는 濕痰을, 李<sup>21)</sup>는 正氣自虛를 主張하였고, 清代以後 葉<sup>22)</sup>은 肝風內動을, 王<sup>23)</sup>은 氣虛瘀血을 主張하였으며, 近代에 이르러서는 肝風內動, 五志化火, 痰阻脈絡, 氣機失調, 氣滯血瘀 등을 重要한 原因으로 들고

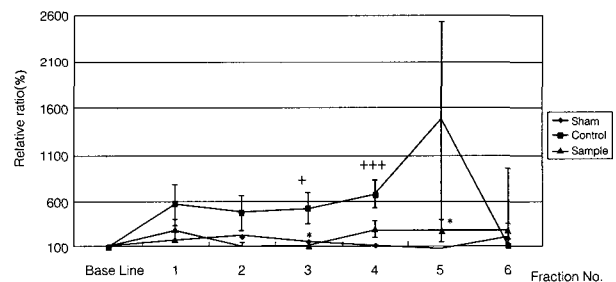


Fig. 2. Effect of Woowhangcheongshim-won on extracellular levels of aspartate at the right striatum of MCAO rats.

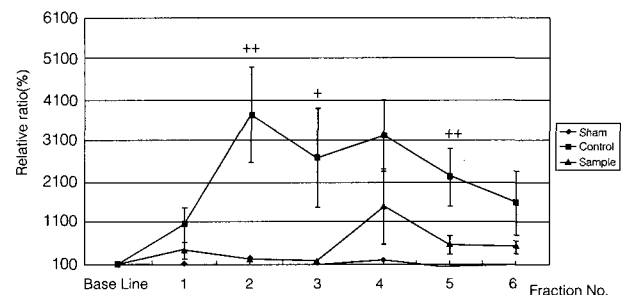


Fig. 4. Effect of Woowhangcheongshim-won on extracellular levels of glycine at the right striatum of MCAO rats.

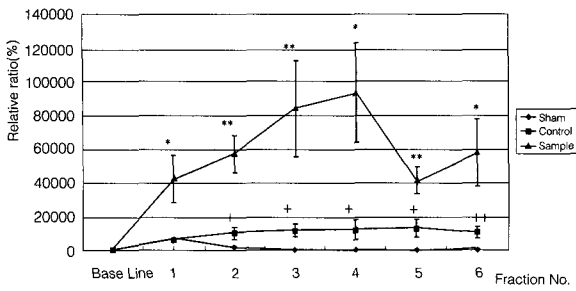


Fig. 5. Effect of Woowhangcheongshim-won on extracellular levels of taurine at the right striatum of MCAO rats.

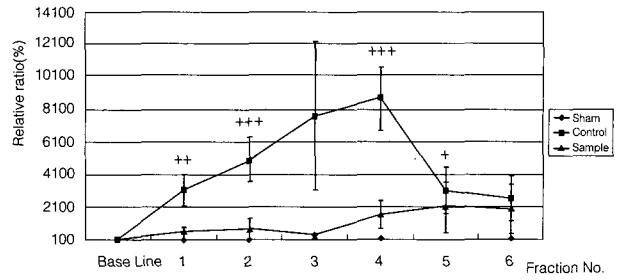


Fig. 6. Effect of Woowhangcheongshim-won on extracellular levels of alanine at the right striatum of MCAO rats.

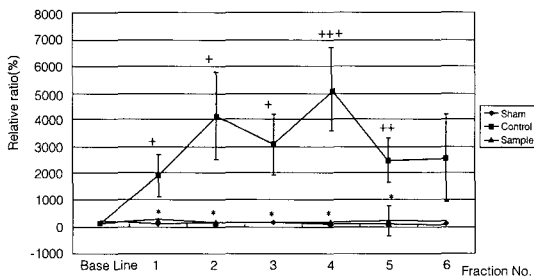


Fig. 7. Effect of Woowhangcheongshim-won on extracellular levels of tyrosine at the right striatum of MCAO rats.

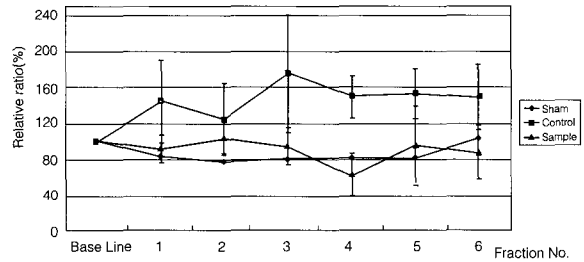


Fig. 8. Effect of Woowhangcheongshim-won on extracellular levels of pyruvate at the right striatum of MCAO rats.

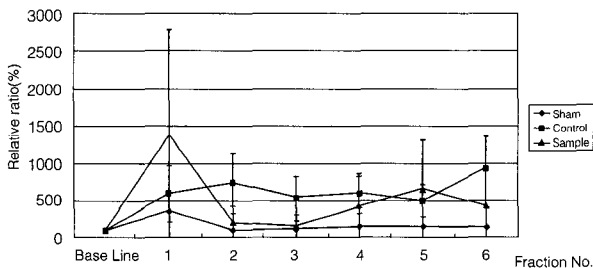


Fig. 9. Effect of Woowhangcheongshim-won on extracellular levels of lactate at the right striatum of MCAO rats.

Table 2. Effect of Woowhangcheongshim-won on Infarcted Dimension in Rats Brain after MCAO

Experimental Group	No. of Animals	Infarcted Area(mm <sup>2</sup> )	Infarcted Volume(mm <sup>3</sup> )
Sham	5	7.38 ± 1.16 <sup>a)</sup>	14.52 ± 2.31
Control	5	42.58 ± 1.36 <sup>***</sup>	85.18 ± 2.70 <sup>***</sup>
WCW Group	5	27.24 ± 1.31 <sup>***</sup>	54.49 ± 2.63 <sup>***</sup>

a) : Mean ± Standard Error

Sham : Sham-operated and physiological saline(10ml/kg)-administrated group  
Control : MCAO-operated and physiological saline(10ml/kg)-administrated group

Sample : MCAO-operated and *Woowhangcheongshim-won*(10ml/kg)-administrated group

(+++ : P<0.001) compared with sham group.

(\*\*\* : P<0.001) compared with control group.

있다<sup>2,5)</sup>.

中風 治療는 原因 및 病邪 性質에 따라 先後緩急과 輕重 등의 治療方法이 있는데, 大部分의 中風은 本虛標實과 上盛下虛의 症이라 할 수 있으므로, 急性期에는 비록 本虛證이 있어도 標實證을 爲主로 治療한다. 急即治其標의 原則에 따라 平肝熄風, 清熱滌痰, 化痰通腑, 活血通絡 등의 治法을 多用하고 있다<sup>3)</sup>. 이 時期에는 邪氣가 盛하고 症候가 實하기 때문에 빨리 病邪를 除去하기 爲해서 藥物療法 以外에도 捏法, 鍼法, 開噤法, 취제法, 吐法, 薰法<sup>8)</sup> 등의 多様な 救急法을 使用할 수 있다.

韓醫學에서 急性期 中風 分類는 大概 閉證과 脫證으로 二分되며, 閉證은 다시 熱閉와 寒閉로 나누어진다. 熱閉는 溫邪나 熱毒이 內含心包하여 心竅를 阻閉시켜 發生되고

間或 肝風內動이나 風邪內閉 등으로도 發生되어지며, 面赤 身熱 譫語 抽搐 舌紅絳 苔黃 脈浮數 尿黃赤 便秘結 煩渴 甚即驚厥 등의 症狀이 나타난다. 熱閉證時에는 大部分 辛涼開竅法으로 治療하여야 하는데<sup>5)</sup> 清心開竅 蘇醒神志 涼解熱毒의 效能<sup>7,8)</sup>이 있는 牛黃清心元을 一般의으로 急用한다.

牛黃清心元은 宋代(A.D. 1107年頃) 陳<sup>6)</sup>의 太平惠民和劑局方에 最初로 記載된 處方으로, 心胸熱毒을 治療하는 九味清心元과 虛勞羸瘦 脾胃虛弱 飲食減少 或大病後 氣不復常 漸成勞損 등을 다스리는 大山芋丸을 合方한 것에서 熟地黃을 去한 處方이다<sup>7)</sup>. 우리 나라에서는 光海君 5

年(A.D. 1613年)에 發刊된 東醫寶鑑<sup>23)</sup>에서 처음 收錄되었는데, 腦卒中으로 因한 人事不省 痰涎壅盛 言語蹇澀 口眼斜 手足不遂 등의 症狀에 使用한다고 하였다.

東醫寶鑑<sup>23)</sup>에 收錄된 牛黃清心元의 藥物內容은 牛黃 麝香을 비롯한 總 28種의 藥材로 構成되어 있는데, 主要 藥物效能<sup>24)</sup>을 살펴보면 牛黃과 麝香은 氣清之品으로 清心解毒 開竅하며, 鬱金은 通心氣하고, 龍腦는 通關시키고, 朱砂는 重鎮心神하며, 黃芩 黃蓮 山梔子는 瀉心火하고, 犀角 羚羊角은 清逆上之痰火하는 등, 主로 清心開竅 蘇醒神志 涼解熱毒<sup>25)</sup>의 效能을 갖고 있다. 이는 和劑局方<sup>6)</sup>의 牛黃清心元에 鎮心安神作用이 있는 朱砂<sup>24)</sup>를 加한 것으로, 以後에 著述된 韓國의 書冊에는 東醫寶鑑과 같이 朱砂를 添加하여 記載하고 있다.

本 研究에 使用된 牛黃清心元은 懸濁液 劑型으로 하였는데, 이는 흰쥐의 咀嚼機能과 迅速한 消化吸收 및 經口 投與의 便利함 등을 勘案하여 使用하였다. 그리고 本 實驗에 使用된 藥劑는 總 26個의 藥劑로 構成되어 있는데, 犀角<sup>24)</sup>은 滅種危機에 處한 野生動物의 保護를 爲해 現在 全面 輸入禁止 및 使用禁止를 하고 있으며, 石雄黃과 朱砂<sup>24)</sup>는 砒素와 水銀鑛物의 天然辰砂鑛石으로, 水銀은 極少量의 血中濃度에서도 感覺異狀 및 各種 神經系疾患을 일으킬 程度로 猛毒性 重金屬이므로, 本 實驗에 影響을 미칠 可能性이 있기 때문에 實驗藥劑에서 제외하였다. 以前에 劑型別 臨床研究 報告<sup>10)</sup>가 있었지만 劑型別 實驗研究가 없어서, 앞으로 原方에 對한 實驗 및 丸劑 散劑 懸濁液 등의 劑型에 對한 比較 實驗研究가 있어야 할 것으로 思慮된다.

腦는 生命現狀을 調節하고, 感覺 및 運動機能을 制御할 뿐만 아니라 思考 記憶 感情 言語 등의 高等機能을 總括的으로 管掌한다. 腦神經系의 構造와 機能의 單位는 神經細胞이며, 神經細胞들은 電氣化學의 信號에 依해서 서로 情報를 交換한다. 神經細胞와 神經細胞 사이를 시냅스라고 하며, 이 시냅스 末端에서 分泌되는 化學物質이 바로 神經傳達物質이다<sup>26)</sup>.

非可逆的 腦神經細胞의 損傷機轉을 살펴보면, 腦血管의 閉鎖로 虛血狀態가 되면 細胞膜의 安全性이 消失되어 細胞內에  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ 이 流入되고, 細胞外에  $K^+$ 이 增加되는 脫分極現狀이 일어난다. 大腦血流量 6-8mL/100g/min로 되면 ATP가 顯著히 消盡되고, 細胞가 酸化되어 數時間 後에는 組織學的 壞死로 빠진다. 特히 Krebs cycle의 解糖產物인 glutamate, aspartate와 같은 興奮性 神經傳達物質은 腦虛血時 神經細胞를 興奮시켜  $Na^+$ 과  $Ca^{2+}$ 을 細胞內로 流入하게 하여 非可逆的인 細胞損傷을 일으킨다. 細胞內로  $Ca^{2+}$ 이 增加되면 細胞膜의 磷脂質을 破壞하는 phospholipase가 活性化된다. 膜의 磷脂質의 減少로 膜의

$Ca^{2+}$  透過性이 亢進되어 mitochondria는 非可逆的 損傷을 받는다. 이 代謝過程에서 毒性인 free radical이 活性化되어 細胞膜 損傷, 酵素活動 抑制, prostacyclin合成 沮害 등을 일으킨다. 現在 腦硬塞의 範圍를 줄여 보려는 試圖은 大部分이 NMDA(N-methyl-D- aspartate) channel과 關聯된 glutamate 受容體 遮斷劑를 利用하는데 아직까지 完全하게 細胞內로  $Ca^{2+}$  流入을 遮斷하는 藥이 나오지 않고 있으며, 심각한 腦虛血로 細胞膜이 갑자기 破壞되는 경우와 오랜시간동안 腦虛血狀態가 계속 되어진 경우 神經細胞를 救할 수 없게 된다.<sup>25-26)</sup>

腦虛血은 두 가지 病態生理學的 過程으로 發生하는데, 첫째는 血管閉鎖로 因하여 酸素와 血糖 供給이 消失된다는 점이고, 둘째는 細胞膜 崩壞와 energy 生産過程의 왜해로 細胞代謝의 變化를 招來한다는 것이다. 最近 觀察에 따르면 神經細胞에 죽음을 招來하는 細胞內 過程은 治療할 수 없는 것이 아니고, 血流을 恢復시키거나 細胞內로의  $Ca^{2+}$  流入을 遮斷하거나 아니면 興奮性 神經傳達物質을 妨害함으로써 神經細胞를 죽음으로부터 피하게 할 수 있고, 治療의 可能性<sup>1,27-28)</sup>도 있다는 報告가 많아 本 實驗을 하게 되었다.

本 實驗은 中大腦動脈 閉塞 手術로 흰쥐에게 腦虛血을 誘發시킨 後, striatum과 關聯된 amino acid系의 glutamate, aspartate, GABA, glycine, taurine, alanine, tyrosine과 腦細胞內 糖代謝產物인 pyruvate, lactate 등의 濃度를 microdialysis 및 HPLC를 利用하여 定量 分析하였고, 各各 8마리씩 1個群을 實驗對象으로 하여 MCAO前 1時間동안 20分 間隔으로 3차례 microdialysis를 통해 sample을 取하였으며, MCAO後 2時間동안 20分 間隔으로 6차례 sample을 取하여 MCAO前後를 比較 分析하였다.

Microdialysis 實驗 後, 虛血部位를 組織學的으로 檢證하기 爲하여 腦를 切斷한 後, cresyl violet buffer로 染色하여 組織檢査를 施行하였으며, Image analyzer system을 利用하여 흰쥐의 腦損傷部位 面積 및 容積을 測定하였다. 本 實驗의 目的은 牛黃清心元을 MC AO手術 30分前에 投與하여 腦虛血時 神經組織細胞 損傷을 保護하고 抑制하는 藥理作用이 있는지를 알아보는데 그 目的을 두었다.

대표적인 興奮性 神經傳達物質은 glutamate와 aspartate이며, 이들은 cortex, caudate nucleus, hippocampus 部位에 가장 높은 濃度로 存在하고 있다<sup>25)</sup>. Glutamate와 aspartate는 hypoxia나 ischemia 상태에서 release가 增加하고, reuptake는 減少하는데<sup>29)</sup>, 腦虛血時 glutamate와 aspartate가 增加하므로 因해 急性期の 細胞 膨隆과 慢性期の 神經細胞 分解 등으로 神經細胞가 損傷을 입는데, 特히 NMDA receptor는 glutamate에 의한 activation의 增加로  $Ca^{2+}$ 이 細胞內로 過度하게 流入되어

急性期 細胞壞死가 일어나고, 代謝過程으로 free radical의 生産이 增加되어 慢性期 神經細胞 分解를 나타낸다<sup>27</sup>. 이러한 遲延的인 反應에 依하여 壞死가 완전히 나타나기까지는 24-72時間이 소요되는데, 腦虛血時 glutamate와 aspartate는 NMDA antagonist에 依해 release가 抑制되어 神經細胞 壞死가 減少된다는 實驗報告<sup>30</sup>가 있었다. 本實驗에서 腦虛血이 誘發된 後 glutamate와 aspartate 含量을 觀察한 結果, 牛黃清心元을 投與한 實驗群에서 매우 有意性있는 減少가 觀察되어 牛黃清心元이 glutamate와 aspartate의 遊離를 抑制시키면서 NMDA receptor의 antagonist로서의 作用 可能性이 觀察되었다.

GABA는 대표적인 抑制性 神經傳達物質로서 striatum, globus pallidus, substantia nigra 등에 가장 많이 分布되어 있다<sup>25</sup>. 腦虛血時 및 虛血後 GABA는 過分極과 脫分極을 모두 일으키지만, 細胞內로 Cl<sup>-</sup>의 膜透過性을 增加(過分極)시켜 시냅스前과 後의 興奮性 glutamate와 aspartate 傳達物質 release를 抑制하고, NO(nitric oxide)를 遮斷하여 神經細胞의 興奮性을 低下시켜 細胞障害를 抑制한다는 報告<sup>25,31</sup>가 있었다. 本實驗에서 腦虛血을 誘發시킨 後 GABA 含量을 觀察한 結果, 牛黃清心元을 投與한 實驗群에서 매우 有意性있는 增加가 觀察되어 glutamate와 aspartate의 遊離를 抑制하고, NO antagonist로서의 作用 可能性이 觀察되었다.

Glycine은 GABA와 함께 中樞神經系에서 神經興奮을 抑制하는 神經傳達物質로 알려져 있다<sup>25</sup>. 特히 glycine은 NMDA receptor를 抑制하는 antagonist의 役割로 腦組織을 保護하고<sup>32,33</sup>, 硬膜下 血腫인 狀態에서도 NMDA receptor의 antagonist 役割을 한다는 報告<sup>32</sup>가 있었다. 本實驗에서 腦虛血을 誘發시킨 後 glycine을 觀察한 結果, 牛黃清心元을 投與한 實驗群은 對照群에 비해 有意性있는 變化는 觀察되지 않았다. 이는 牛黃清心元이 glutamate와 aspartate의 release를 強力하게 抑制시키면서 NMDA receptor의 antagonist로서의 作用 可能性이 觀察되었기 때문에 glycine의 過度한 activation은 必要하지 않게 되었다고 思慮되며, 또한 腦虛血로 因한 神經細胞 損傷이 深刻하지 않다는 것을 意味한다고 볼 수 있다.

Amino sulfonic acid인 taurine은 牛膽의 抽出物로서 잘 알려져 있다. Taurine도 GABA와 함께 抑制性 傳達因子<sup>30</sup>로 役割을 하지만 精確한 機轉을 아직 잘 알려져 있지 않다. 다만 腦虛血時 細胞浮腫이나 滲透傾斜의 均衡이 破壞되었을 때 腦血流量 調節에 重要한 役割을 한다는 報告<sup>34</sup>와 虛血性 心不全時에 taurine이 Ca<sup>2+</sup> 流入을 減少시킨다는 報告<sup>35</sup> 그리고 腦虛血時 興奮性 amino acid로 因해 Ca<sup>2+</sup>이온이 細胞內로 많이 流入하여 細胞障害를 일으키는 病理機轉을 抑制한다는 報告<sup>34</sup>가 있었다. 本實驗에서

腦虛血을 誘發시킨 後 taurine 含量을 觀察한 結果, 牛黃清心元을 投與한 實驗群에서 매우 有意性있는 增加가 觀察되었다. 이는 牛黃의 taurine 成分<sup>24</sup>이 急性期 中風治療에 큰 效果가 있음을 實驗的으로 立證하였다고 볼 수 있다.

Alanine은 천연 amino acid로서, kynurenic acid 分解酵素인 kynurenine hydroxylase의 抑制劑로 作用한다. Kynurenine은 tryptophan의 代謝產物로서 動物의 尿에 나타나며, kynurenic acid의 前驅物質이다<sup>30</sup>. 腦虛血時 microdialysis probe를 통해 hippocampus와 parietal cortex部位에 alanine을 投與하면 透析物質中에 kynurenic acid 含量이 增加되어 glutamate receptor의 拮抗劑로서 役割을 하고, kynurenine hydroxylase의 抑制劑를 投與했을 때 腦神經組織 損傷이 抑制되었다는 報告<sup>36</sup>를 통해 alanine은 抑制性 神經傳達物質로 作用함을 알 수 있다. 本實驗에서 腦虛血을 誘發시킨 後 alanine 含量을 觀察한 結果, 牛黃清心元을 投與한 實驗群은 對照群에 비해 有意性있는 變化가 觀察되지 않았으며, 이는 牛黃清心元이 glutamate receptor의 拮抗劑 및 抑制劑로서의 作用 可能性이 觀察되었기 때문에 過度한 alanine의 activation은 必要하지 않게 되었다고 思慮된다.

Tyrosine은 hippocampus 部位에 tyrosine phosphorylation으로 存在하고 있는데, 腦虛血時 tyrosine phosphorylation이 phosphotyrosine으로 되는데, tyrosine phosphorylation의 活性化를 抑制하면 海馬의 CA4와 CA1의 神經組織 壞死가 減少되며, 特히 腦의 一定 部位에 血流量을 一時的으로 遮斷하였다가 다시 再灌流시키면 初期에는 特別한 異常이 나타나지 않다가 NMDA receptor에 依해 一定期間이 지나면서 海馬部位에 遲延性 神經細胞壞死가 일어난다는 報告<sup>37</sup>를 통해 tyrosine은 興奮性 神經傳達物質로 作用함을 알 수 있었다. 本實驗에서 腦虛血을 誘發시킨 後 tyrosine 含量을 觀察한 結果, 牛黃清心元을 投與한 實驗群에서 매우 有意性있는 減少가 觀察되어 tyrosine phosphorylation의 inhibitor로서의 作用 可能性이 觀察되었다.

糖分解作用으로 葡萄糖은 pyruvate와 lactate 등으로 轉換되면서 ATP形態로 energy가 貯藏이 되는데, pyruvate는 糖分解作用의 最終產物이며, 嫌氣的 條件下에서 lactate로 轉換된다. Pyruvate dehydrogenase complex (PDHC)는 mitochondria內에 存在하는 複合酵素들로서 pyruvate를 acetyl-CoA로 decarboxylation시켜주며, 炭水化合物로부터의 脂肪酸 生合成代謝와 TCA cycle을 통한 energy 生成代謝過程에 매우 重要한 酵素들이다<sup>30</sup>. 腦虛血時 pyruvate는 特히 striatum이나 cortex部位의 ADP를 刺戟하여 葡萄糖 生産을 增加시키고, 細胞內로 Ca<sup>2+</sup>流入으로 因한 mitochondria 損傷을 保護하는 役割을 하는데,

이 때 pyruvate는 mitochondria의 機能的 活性도를 測定하는 指標가 된다. 腦虛血時 細胞外液의 lactate 濃도는 腦硬塞部位와 虛血周邊組織에서 增加함을 觀察할 수 있는데, 이는 energy 生成代謝(glucose metabolism)의 低下와 糖分解作用의 加速化로 因한다는 報告<sup>38)</sup>가 있었으며, pyruvate dehydrogenase(PDH)는 遲延性 神經細胞壞死(DND)를 保護하는 作用이 있다는 報告<sup>39)</sup>가 있었다. 이러한 報告 등을 통해 살펴보면, 腦虛血時 pyruvate는 神經細胞를 保護하는 作用으로, lactate는 糖分解作用으로 因해 蓄積되는 方向으로 나타난다는 것을 알 수 있다. 本 實驗에서 腦虛血를 誘發시킨 後 pyruvate와 lactate 含量을 觀察한 結果, 對照群에 比해 牛黃清心元을 投與한 實驗群의 pyruvate 및 lactate 含量이 낮게 나타났다. 이는 腦虛血로 因한 神經細胞 損傷은 深刻하지 않다는 것을 意味하며 또 急性期 神經細胞 損傷보다는 遲延性 神經細胞 損傷機轉에 더 密接한 關係가 있는 것으로 思慮된다. 本 實驗은 MCAO後 2時間동안의 pyruvate와 lactate 含量만을 測定한 것으로, MCAO後 12, 24, 36, 48時間 등의 pyruvate와 lactate 含量 變化 實驗이 앞으로 있어야 할 것으로 思慮된다.

腦虛血로 因해 梗塞에 빠지면 腦組織에 廣範圍한 壞死가 일어나는데, 이는 生體가 生存하고 있는 한 一定한 過程을 거쳐 膠質性(gelatinous) 및 膠癍痕(glial scar) 現狀으로 된다. 虛血性 神經細胞 變化(ischemic neuronal change)의 肉眼的 所見은 48時間이 經過하여야 하며, 顯微鏡의 所見은 12時間이 經過하여야 虛血性 神經細胞變化和 浮腫 現狀을 볼 수 있는데<sup>40)</sup>, microdialysis 實驗이 끝난 後, 腦를 切斷하여 cresyl violet buffer로 染色하여 組織檢査를 施行하였다. Image analyzer system을 利用하여 흰쥐의 腦損傷部位 面積과 容積을 測定한 結果, 對照群에 比해 藥物投與群에서 매우 有意性있는 腦組織 損傷의 減少가 觀察되었다.

以上에서 살펴본 바와 같이 牛黃清心元은 glutamate, aspartate, GABA, taurine, tyrosine의 含量 變化 및 腦硬塞部位의 面積과 容積 등에서 有意性이 認定되어 急性期中風治療에 能히 利用할 수 있을 것으로 思慮된다.

### 結 論

牛黃清心元이 腦虛血時 神經傳達物質에 미치는 影響을 實驗的으로 糾明하기 爲하여 牛黃清心元을 投與한 後, 흰쥐에게 腦虛血를 誘發시켜 amino acid系 神經傳達物質 및 糖代謝產物인 pyruvate, lactate의 含量 變化 그리고 腦硬塞部位의 面積과 容積을 觀察한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 腦虛血時 興奮性 神經傳達物質로 作用하는 glutamate, aspartate, tyrosine 含量 變化를 觀察한 結果, 牛黃清心元은 對照群에 比해 有意性 있게 抑制하는 것으로 나타났다.
2. 腦虛血時 抑制性 神經傳達物質로 作用하는 GABA, glycine, taurine, alanine 含量 變化를 觀察한 結果, 牛黃清心元은 對照群에 比해 GABA, taurine에 對해서는 有意性이 認定되었지만, glycine, alanine에 對해서는 有意性이 認定되지 않았다.
3. 腦虛血時 細胞內 糖代謝物質로 作用을 하는 pyruvate와 lactate 含量 變化를 觀察한 結果, 牛黃清心元은 對照群에 比해 有意性이 認定되지 않았다.
4. 腦虛血 誘發後 細胞損傷에 對한 組織檢査 結果, 牛黃清心元은 對照群에 比해 有意性있는 神經細胞 保護作用을 나타냈다.

本 實驗을 통해 牛黃清心元이 虛血性 腦血管疾患의 急性期 治療에 有效한 것으로 立證되었으며, 向後에는 牛黃清心元의 丸劑 散劑 懸濁液 등의 劑型에 따른 比較 實驗研究 및 腦虛血疾患의 豫防과 出血性 腦血管疾患에 對한 實驗研究가 있어야 할 것으로 思料된다.

### 參考文獻

1. Raymond D. Adams 外. 아담스 신경과학. 서울:도서출판 정담. 1998: 715-28.
2. 全國韓醫科大學 心系內科學教室. 서울:書苑堂. 1999:502, 505-6.
3. Arai H, Passonneau JV, Lust WD. Energy metabolism in delayed neuronal death of CA1 neurons of hippocampal following transient ischemia in the gerbil. Brain Dis. 1986;1:263-78.
4. Iijima K, Kogure K. Prevention of delayed neuronal death in gerbil hippocampus by iron channel blockers. Stroke. 1988;19:1003-7.
5. 沈全魚 外. 中風證治. 北京:中醫古籍出版社. 1988:1, 6; 8-10, 13-4.
6. 陳師文. 太平惠民和劑局方. 臺北:旋風出版社. 1975:81.
7. 尹吉榮. 東醫臨床方劑學. 서울:明寶出版社. 1989:234.
8. 許俊. 東醫寶鑑. 서울:南山堂. 1989:362.
9. 高庸錫. 牛黃清心元이 平滑筋에 미치는 影響. 慶熙大學校 大學院. 1982.
10. 李源哲 外. 牛黃清心元의 劑形別 臨床에 關한 研究. 大韓韓醫學會誌. 1990;11(2):102-5.
11. 南相景. 牛黃清心元和 蘇合香元の 效能에 關한 研究. 慶熙大學校 大學院. 1990.
12. 洪碩. 牛黃清心元이 白鼠의 腦損傷에 미치는 影響. 大田大學校 大學院. 1993.
13. Hillered L, Hallstrom A, Segersvard S, Persson L,



- Ungerstedt U. Dynamics of extracellular metabolites in the striatum after middle cerebral artery occlusion in the rat monitored by intercerebral microdialysis. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1989;9:607-16.
14. Warner DS, Martin H, Ludwig P, McAllister A, Keana JFW and Weber E. In vivo models of cerebral ischemia: Effects of parenterally administered NMDA receptor glycine site antagonists. *J. Cereb. Blood flow Metab.* 1995;15:188-96.
15. Hagberg H, Andersson P, Lacarewicz J, Jacobson I, Butcher S, Sandberg M. Extracellular adenosine, inosine, hypoxanthine, and xanthine in relation to tissue nucleotides and purines in rat striatum during transient ischemia. *J Neurochem.* 1987 Jul;49(1):227-31.
16. Hillered L, Hallstrom A, Segersvard S, Persson L, Ungerstedt U. Dynamics of extracellular metabolites in the striatum after middle cerebral artery occlusion in the rat monitored by intracerebral microdialysis. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1989;9: 607-16.
17. 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.
18. Dinal WW. A foundation for analysis in the health science. *Biostatistics.* 1983;3:136-46.
19. 劉完素. 河間三六書. 서울:成輔社. 1976:37-8.
20. 朱震亨. 丹溪心法附與. 서울:大星文化社. 1982:67-8.
21. 李 杲. 東垣十種醫書. 서울:大星文化社. 1983:64-5.
22. 葉 桂. 臨證指南醫案. 上海:上海科學技術出版社. 1993:17-8.
23. 王清任. 中國醫學大成(醫林改錯). 2. 上海:上海科學技術出版社. 1992:15-6.
24. 全國韓醫科大學 本草學教授. 本草學. 서울:永林社. 1991:189-90, 207-8, 489.
25. 서유현. 신경전달물질. 2. 서울:민음사. 1996:22-3, 272, 302, 314.
26. Ginsberg MD, Braham DI, Busto T. Regional glucose utilization and blood flow following graded forebrain ischemia in the rat : Correlation with neuropathology. *Ann. Neurol.* 1985;18:470-81.
27. Choi DW. Glutamate neurotoxicity in cortical cell culture is calcium dependent. *Neurosci. Lett.* 1985;58: 293-7.
28. Connor JA, Wadman WJ, Hockberger PE. Sustained dendritic gradients of Ca<sup>++</sup> induced by excitatory amino acids CA1 hippocampal neurons. *Science.* 1988;240: 649-53.
29. Simpson RE, O' regan MH, Perkins LM, Phillis JW. Excitatory transmitter amino acid release from the ischemic rat cerebral cortex. *J. Neurochem.* 1992; 58:1683-90.
30. Leach MJ, Swan JH, Eisenthal D, Dopson M, Nobbs M, BW 619C89. a glutamate release inhibitor, protects against focal cerebral ischemic damage. *Stroke.* 1993;24: 1063-7.
31. Kahn RA, Pananh M, Kiffel S, Weinberger J. Modulation of ischemic excitatory neurotransmitter and gamma-aminobutyric acid release during global temporary cerebral ischemia by local nitric oxide synthase inhibition. *Anesth Analg.* 1997 May;84(5): 1004-10.
32. Tsuchida E, Bullock R. The effect of the glycine site-specific NMDA antagonist ACEA1021 on ischemic brain damage caused by acute subdural hematoma in the rat. *J Neurotrauma.* 1995 Jun;12(3):279-88.
33. Araki T, Kato H, Fujiwara T, Kogure K, Itoyama Y. Post-ischemic changes of [3H]glycine binding in the gerbil brain after cerebral ischemia. *Eur J Pharmacol.* 1995 May;278(2):91-6.
34. Stummer W, Betz AL, Shakui P, Keep RF. Blood-brain barrier taurine transport during osmotic stress and in focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1995 Sep;15(5):852-9.
35. Kramer JH, Chovan JP, Schaffer SW. Effect of taurine on calcium paradox and ischemic heart failure. *Am J Physiol.* 1981 Feb;240(2):238-46.
36. Cozzi A, Carpenedo R, Moroni F. Kynurenine hydroxylase inhibitors reduce ischemic brain damage. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1999 Jul;19(7):771-7.
37. Kindy MS. Inhibition of tyrosine phosphorylation prevents delayed neuronal death following cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1993 May;13(3):327-37.
38. Goodman JC, Valadka AB, Gopinath SP, Uzura M, Robertson CS. Extracellular lactate and glucose alterations in the brain after head injury measured by microdialysis. *Crit Care.* 1999 Sep;27(9):1965-73.
39. Katayama Y, Muramatsu H, Kamiya T, McKee A, Terahi A. Ischemic tolerance phenomenon from an approach of energy metabolism and the mitochondrial enzyme activity of pyruvate dehydrogenase in gerbils. *Brain Res.* 1997 Jan;746:1-2.
40. 지제근. 신경병리학. 서울:서울대학교출판부. 1990:61-3.