

# NeuBo153<sup>®</sup>의 중풍동물 모델에 대한 뇌신경 보호효과

부영민<sup>1#</sup>, 오세남, 황만기, 정진희<sup>2</sup>, 이대희, 박영미, 김미연<sup>2</sup>, 김진화, 김호철\*

경희대학교 한의과대학 본초학교실, 1: 우석대학교 한약학과 본초학교실, 2: 뉴메드 한의과학기술연구소

## Neuroprotective Effect of NeuBo153<sup>®</sup> on Transient Focal Cerebral Ischemia in Rats

Youngmin Bu<sup>1</sup>, Senam Oh, Manki Hwang, Jinhee chung<sup>2</sup>, Daehee Lee, Youngmee Park,  
Miyon Kim<sup>2</sup>, Zhenhwa Jin, Hocheol Kim.

Dept. of Herbal Pharmacology, College of Oriental Medicine, Kyung Hee University, Seoul, 130-701

1: Dept of Herbal Pharmacology, College of pharmacy, Woosuk University, Chonbuk, 565-701

2: Korea Institutue of Science and Technology of East Medicine, NeuMed Co. Ltd, Seoul, 130-701

### ABSTRACT

**Objectives** : The purpose of the present study is to observe the neuroprotective effect of the NeuBo153<sup>®</sup> on transient focal cerebral ischemia in rats.

**Methods** : NeuBo153<sup>®</sup> was made by mixing the herbs, mainly the root of *Panax ginseng*, the root of *Rehmannia glutinosa* and *Poria cocos*, the stem bark of *Acanthopanax senticosus*, the root of *Scutellaria baicalensis* and Mel, and heating for 96 hours. Transient Focal cerebral ischemia (2 h of ischemia, 22 h of reperfusion) was induced by intraluminal suture method with SD rats. Sensory motor function was tested by rotarod test, prehensile traction test, beam balance test and foot fault test at 24 h after ischemia. The brain slices were stained by 2 % 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride and the infarct volume was measured by graphic analyzer at 24 h after ischemia.

**Results** : NeuBo153<sup>®</sup> treated group did not show significant differences compared with vehicle treated group in body temperature. Oral administration of NeuBo153<sup>®</sup> reduced brain infarct volume by 29.7% compared with vehicle treated group. NeuBo153<sup>®</sup> also showed protective effects on sensory motor functional deficits.

**Conclusion** : NeuBo153<sup>®</sup> treatment reduced brain damage and improved functional deficits induced by MCAo. It showed neuroprotective effects even when treatment was delayed 2 h after injury. Further research is required to evaluating long term functional recovery and accurate therapeutic range and mechanisms.

**Key words** : *Cuacuta japonica* Choisy, Cosmeceutical activity

\* 교신 저자 : 김호철, 경희대학교 한의과대학 본초학교실

· Tel : 02-961-0419 · e-mail : hckim@khu.ac.kr

# 제 1저자 : 부영민, 우석대학교 한약학과 본초학 교실 Tel : 063-290-1573

· 접수 : 2006년 5월 6일 · 수정 : 2006년 5월 25일 · 채택 : 2006년 6월 25일

## 서론

갑작스런 意識障礙(暴仆, 卒暴僵仆, 不知人, 不省人事, 昏倒, 昏不知人, 精神夢寐), 運動障礙(偏枯, 四肢不舉, 手足癱瘓, 半身不遂, 口眼喎斜) 및 言語障礙(舌強不語, 暴瘖, 言語塞澁) 등의 症狀가 나타나는 病證을 ‘中風’ 또는 ‘腦卒中’이라고 定義하며<sup>1)</sup>, 서양의학의 뇌졸중에 해당되는데, 현재 세계적으로 단일질환으로는 사망원인 1위의 질병이다<sup>2)</sup>. 중풍은 대체로 크게 2가지로 나눌 수 있는데 하나는 腦梗塞이고 다른 하나는 腦出血이다. 전자는 약 80%를 차지하고 있어서 중풍 관련 연구 및 치료劑 개발에 있어서 초점이 되고 있는 실정이다. 이러한 腦梗塞을 치료하기 위해서는 발병 초기, 즉 3시간 이내에는 혈전용해제 등을 사용하여 혈류를 다시 회복시키는 방법을 사용하는 동시에 신경세포의 손상을 최소화하기 위한 신경 보호제를 사용하여 신경세포의 손상을 최소화하는 방법을 사용하고 있다<sup>3)</sup>. 그러나 수많은 연구에도 불구하고 아직까지 신경보호 효능을 가진 효과적인 치료제를 개발하지 못하고 있다. 따라서 임상적으로 경험이 풍부한 한의학에 초점을 맞추고 이를 이용한 연구들이 다양하게 시도되고 있다<sup>4)</sup>.

중풍연구에서 동물연구를 이용한 실험방법이 많이 이용되고 있다. 일반적으로 국소뇌허혈 모형과 전뇌허혈 모형 2가지로 구분되는데, 본 실험에서 사용된 국소뇌허혈 모형은 사람의 중풍 모델로서 많이 사용되고 있다<sup>5)</sup>. 국소뇌허혈에서의 뇌손상은 크게 뇌경색 중심부와 주변부로 나누는데, 뇌경색 중심부는 괴사성 세포사멸이고, 주변부는 지연성 세포사멸로 알려져 있다<sup>6,7)</sup>. 중풍 모델에서의 뇌손상은 손상된 뇌부위의 지배 신체 영역의 기능부전이 유발되는데, 중풍에 대한 신경보호효과가 있는 약제의 약효를 평가할 때 뇌손상과 더불어 감각 운동 기능의 실조에 대한 보호효과를 확인하는 것이 중요하다<sup>8)</sup>.

본 연구에서는 중추신경계에 대한 효과 특히 중풍 모델에 대한 효과<sup>9,10)</sup>가 있다고 알려진 약재인 人參, 刺五加, 黃芩, 茯苓 및 地黃 등을 사용하여 각각 유효물질의 추출량의 극대화되도록 추출한 다음, 전통적인 膏劑로 방법으로 NeuBo153<sup>®</sup>을 제조하여 중풍동물 모델에 대한 신경보호효과를 관찰하고자 하였다. 이를 위하여 intraluminal suture method로 유발한 일시적 국소뇌허혈 모델을 이용하였고, 뇌손상으로 야기되는 감각운동 기능 실조에 대한 보호작용을 관찰하기 위하여 rotarod test, prehensile traction test, beam balance test 및 foot fault test를 실시하여 유

의한 결과를 보였기에 보고 하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 시료의 제조

人參 (the root of *Panax ginseng* C. A. Meyer) 135.0 g, 茯苓 (*Poria cocos* Wolf) 90.0 g, 刺五加 줄기껍질 (the stem bark of *Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim.) Harns) 270.0 g 을 生地黃즙 (the juice of fresh *R. glutinosa* (Gaertn.) Liboschitz var. *purpurea* Makino) 300.0 g과 蜂蜜 (Mel) 300.0 g 을 각각 고유의 방법으로 추출하여 잘 섞은 후 100°C 에서 72 시간동안 물 증탕한 후 4°C에서 24시간동안 냉각하였다. 냉각 후 黃芩 (Roots of *Scutellaria baicalensis* Georgi) 6.3 g을 첨가하여 재차 100°C에서 24시간동안 물 증탕하여 시료 317.2 g을 얻었다.

### 2. 중대뇌동맥 폐쇄 모델 (MCAo) 제조 및 시료의 투여

MCAo 모델은 *Zea Longa*의 방법<sup>21)</sup>을 응용하였다. 체중 240-260 g의 웅성 Sprague-Dawley 흰쥐 (Samtaco, Korea)를 사용하였다. 물과 사료를 충분히 공급하면서, 280-320 g이 될 때까지 사육하고 수술 전날은 물만 공급하여 실험에 사용하였다. 25 mm의 4-0 나일론 봉합사 (Dafilon<sup>®</sup>, Malaysia)의 끝 부분에서 약 5-10 mm 길이를 실리콘 (Xantopren, Bayer Dental, Germany)과 경화유 (Xantopren activator, Bayer Dental, Germany)를 혼합하여 지름이 0.28-0.30 mm가 되도록 코팅하여 실험에 사용하였다.

흰쥐를 70 % N<sub>2</sub>O와 30% O<sub>2</sub>가 섞인 혼합가스에 5%의 isoflourane으로 전 마취를 한 후, 목 전방 부위 중앙을 피부 절개하여, probe를 외경동맥에서 내경동맥으로, 총경동맥분지에서 약 18-20 mm정도 삽입한 후 실로 고정하였다. 피부절개부위를 다시 봉합한 후 마취에서 자연 회복시켰다. 수술 90분 후 같은 방법으로 재마취하고 probe를 제거하여 재관류 시켰다. 모든 수술과정은 isoflourane을 2%로 유지하면서 수술 현미경하에서 시행하였으며, 허혈을 유발시키는 동안과 재관류 및 회복기 동안 체온이 37.5±0.5°C이하로 떨어지지 않도록 체온 유지 장치 (Harvard apparatus, USA)를 사용하였다. 체온측정은 직장 속으로 최소한 6 cm 들어가게 탐침을 삽입하여 뇌내 온도를 반영하는 직장 체온을 측정하였다.

대조군은 뇌허혈 유발 후 0분 및 120분에 각각 3차 증류수를 3 ml/kg의 볼륨으로 경구투여 하였다. 시료 투여군은 NeuBo153®을 80, 400 및 2000 mg/kg의 용량으로 경구 투여하였다. 대뇌동맥에 prove가 삽입된 상태에서 혈관이완효과로 인하여 혈류가 통하게 되어 뇌손상이 보호되는지 여부를 확인하기 위하여 NeuBo153®을 prove를 뺀 후 0분 및 120분에 (유발 후 120분 및 240분)에 투여하였다. 양성대조군으로 minocycline (45 mg/kg p.o.)을 이용하였다.

### 3. TTC 염색에 의한 뇌경색 부피 측정

재관류 후 24시간 뒤에 흰쥐를 희생시켜 뇌를 적출한 후, brain dissection guide (Harvard Instruments Large Rat Brain Matrix, Coronal, #52-4512c, USA)를 이용하여 bregma로부터 -1 mm의 부위에서부터 2 mm 두께로 잘라서 총 6개의 절편으로 나누었다. 이 절편들을 2% 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) 용액에 충분히 담그고 37°C에서 30분동안 방치하였다. 고정된 7개의 조직을 디지털 카메라로 하나씩 촬영한 후 컴퓨터에서 옮겼고, 이 이미지 분석프로그램 (Optimas 6.5 Media cybernetics, USA)을 이용하여 TTC 염색상 뇌경색 부위인 흰색 부위의 부피를 계산하였다. 뇌경색 부위의 측정은 각 슬라이스별 뇌경색과 전체의 뇌경색 부피를 측정하여 약효를 평가하였다.

### 4. Rotarod test

뇌허혈 유발 후 24시간에 감각운동기능에 미치는 효과를 평가하기 위하여 rotarod test를 실시하였다. Rotarod (Ugo basile, Italy)를 2분에 RPM이 25까지 오르는 가속회전방식으로 실험을 실시하였다. 흰쥐는 봉의 가운데에 균형을 잡게 놓은 후 로드에 회전을 시작한 시간부터 흰쥐가 떨어질 때까지의 시간을 측정하여 평가하였다. 각 흰쥐마다 5회 실시하여 최고 값과 최저 값을 제외한 중간 3개의 값의 평균을 데이터로 하였다.

### 5. Prehensile traction test

뇌허혈 유발 후 24시간에 근육의 근력에 미치는 영향을 평가하기 위하여 웰리스의 방법<sup>30)</sup>을 변형하여 실시하였다. 흰쥐를 3 cm의 사각 봉에 매달리게 하여 떨어질 때까지의 시간을 측정하며, 매번 5회 실시하여 중간의 3개 값을 평균 내어 데이터로 사용하였다.

### 6. Beam balance test

뇌허혈 유발 후 24시간에 균형감각에 미치는 효과를 측정하기 위하여 푸루넨 등의 방법<sup>31)</sup>을 약간 변형하여 실시하였다. 먼저, 너비 3 cm, 길이 150 cm의 나무로 된 봉을 바닥에서 약 50 cm 높이에 걸쳐 놓고, 흰쥐를 중심에 균형을 잡게 놓은 후 30초간 흰쥐의 행동을 보고 3명의 관찰자가 그 점수를 매기는데 점수의 평가기준은 다음과 같다. 0점; 봉에 균형을 잡을 수 없는 상태, 1점; 30 초간 균형을 잡기만 하고 다른 움직임이 없는 상태, 2점; 30 초간 균형을 잡고 봉의 길이 방향으로 몸을 트는 상태, 3점; 2점에 몸을 트 상태에서 봉의 길이 방향으로 걸되 스텝의 50 % 이상이 미끄러지는 상태, 4점; 3점에서 50 %이하로 미끄러지는 상태, 5점; 4점에서 1스텝정도 미끄러지는 상태, 6점; 5점에서 미끄러지는 스텝이 없이 자유롭게 걷는 상태로 정하여 실시하였다. 흰쥐마다 매 3회 실시하여 평균값을 데이터로 사용하였다.

### 7. Foot fault test

뇌허혈 유발 후 24시간에 운동기능에 미치는 효과를 측정하기 위하여 Markgraf의 방법<sup>19)</sup>을 약간 변형하여 하기와 같이 실시하였다. 먼저, 간격이 4 cm의 철사로 된 너비 50 cm, 길이 150 cm의 격자를 바닥에서 약 50 cm위에 걸쳐놓고 흰쥐를 중앙에 놓은 다음, 앞발의 전체의 스텝에서 환측 스텝으로 미끄러져 격자 사이로 빠지는 수의 비율로 3회 실시하여 평균값을 데이터로 사용하였다.

### 8. 통계

실험성적은 평균±표준오차 (mean±SEM)로 나타내었으며, 대조군과 약물투여군과의 평균의 차이를 검정하기 위해서 Student's t-test로 검정하여, p값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

## 결 과

### 1. NeuBo153®의 국소뇌허혈 흰쥐모델에서 체온에 미치는 영향

체온 저하는 신경손상에 대한 보호작용을 보이는 요인이므로 NeuBo153®의 체온저하에 따른 신경보호

효과를 배제하기 위하여 유발 후 6시간 까지 30분 간격으로 체온을 측정하였다. 일반적으로 뇌허혈을 유발할 시 체온이 39℃정도 상승하다가 재관류시키면 하강하기 시작하여 6시간 때 까지 38±0.5℃으로 유지된다. NeuBo153<sup>®</sup>를 투여한 군은 대조군에 비하여 별 다른 차이가 없었다 (Fig. 1).

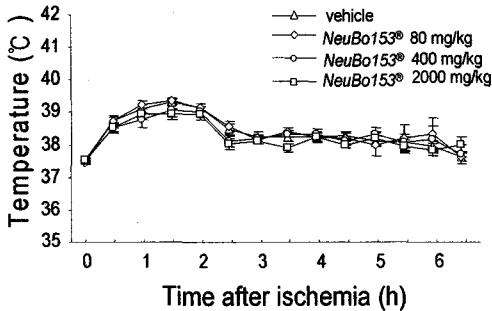


Figure 1. Time course of the rectal temperature of rats receiving either vehicle or NeuBo<sup>®</sup> after ischemia. The data are expressed as mean±SEM.

## 2. NeuBo153<sup>®</sup>의 일시적 국소뇌허혈의 뇌손상에 대한 보호효과

중대뇌동맥 일정시간 폐쇄후 24시간에 TTC로 염색 하면 뇌경색 부위와 정상부위는 각각 백색과 선홍색으로 염색된다. 이 모델에서의 뇌손상 조직학적인 결과는 뇌경색 중심부와 주변부로 나누는데 뇌경색 중심부는 temporal/parietal cortex 및 striatum 부위이며 괴사 형태로 세포가 사멸한다. 주변부는 괴사의 형태보다 천천히 세포가 사멸하는 것으로 알려져 있다 (Fig. 2A) NeuBo153<sup>®</sup>을 80, 400 and 2000 mg/kg의 용량으로 유발 후 0분 및 120분에 투여한 결과 각각 34.7±4.19%, 25.6±1.86% 및 23.4±2.40%의 뇌손상을 보여 용량 의존적으로 뇌손상이 감소하는 것을 확인할 수 있다 (p<0.01, Fig. 1B). 반면 양성대조군인 minocycline 45 mg/kg 투여군은 40%의 효과를 보였다 (Fig. 2B).

NeuBo153<sup>®</sup>을 유발 후 120분 및 240분 (재관류 후 0분 120분)에 투여한 결과 21.4±4.7%의 뇌손상을 보여 대조군에 비해 뇌손상을 보호하는 효과를 보였으며, 동시 투여군에 비해서는 차이가 없었다 (p<0.05, Fig. 3).

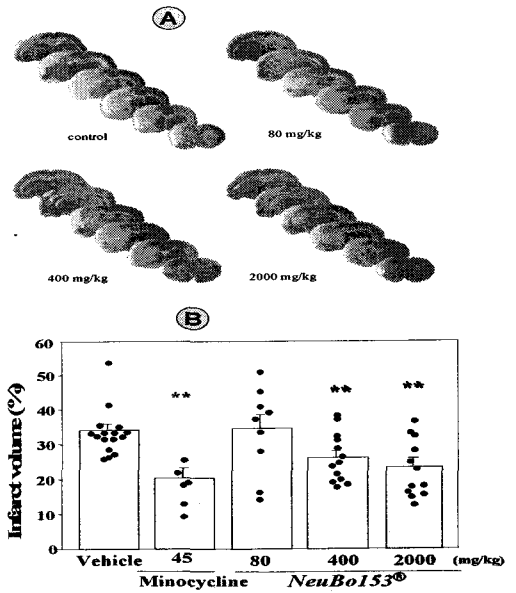


Fig. 2. Representative coronal brain sections (2-mm thick) stained with 2% 2,3,5 triphenyl tetrazolium chloride (TTC) after 2 h of MCAO and 24 h of reperfusion (A). White area indicates infarct area and red area indicated the intact area. The brain was cut into 2-mm-thick coronal sections from -3 mm from bregma. B shows The neuroprotective effects of NeuBo153<sup>®</sup> on MCAO in rats. It shows dose-dependent effect of NeuBo153<sup>®</sup> on brain infarct in rats. Each Black dot represents individual value for each rat. Bars are mean ± SEM \* represents statistically differences from control (\* p<0.05, \*\* p<0.01).

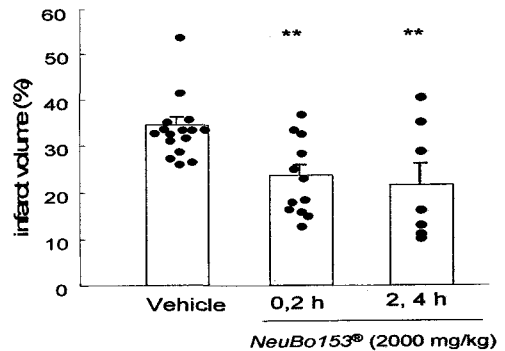


Fig. 3. The neuroprotective effect of 0 & 120 min or 120 & 240 min post MCAO treatment with NeuBo153<sup>®</sup>. Black dot represent individual values for each rat. Bars are mean ± SEM (\* P<0.05, \*\*P < 0.01).

### 3. NeuBo153<sup>®</sup>의 일시적 국소뇌허혈 후 감각 운동신경기능에 대한 영향

NeuBo153<sup>®</sup>의 뇌손상 보호작용과 함께 뇌손상으로 인한 감각 운동 기능 중 균형과 운동조합에 대한 기능을 확인하기 위하여 rotarod test를 수행하였다. 가수술군이 92.4±15.9 초를 보인 반면, 대조군은 24.8±6.3 초를 보여 뇌손상 후 유의한 균형과 운동조합기능 상실을 보였다 (p<0.001, Fig. 4A). NeuBo153<sup>®</sup> 80, 400 및 2000 mg/kg 투여군에서는 각각 15±7.14, 74.1±12.59 (p<0.01) 및 63.1±10.08 초 (p<0.01)를 보여, 400 및 2000 mg/kg의 투여용량에서 대조군에 비하여 유의성 있게 감각 운동기능 실조에 대한 보호효과를 나타내었다 (Fig. 4. A).

뇌손상 후 근력을 측정하기 위하여 prehensile traction test를 수행하였다. 대조군이 6.6 ± 0.90 초를 버틴 반면, NeuBo153<sup>®</sup> 80, 400 및 2000 mg/kg 투여군은 각각 7.2 ± 2.08, 11.0 ± 1.58 및 7.0 ± 2.31을 보여 400 mg/kg의 투여용량에서 대조군에 비하여 유의성 있게 운동기능 실조에 대한 보호효과를 나타내었다 (P<0.05, Fig. 4B).

뇌손상 후 자발 운동과 전정운동을 측정하기 위하여 beam balance test를 수행하였다. 가수술군은 3.4±0.39 점을 받은 반면, 대조군은 1.5 ± 0.19 점을 받아 뇌손상 후 상기한 감각운동기능의 실조를 보였다 (p<0.001, Fig. 4C). NeuBo153<sup>®</sup> 80, 400 및 2000 mg/kg을 투여한 군은 각각 1.6 ± 0.25, 2.7 ± 0.18 및 2.1 ± 0.23 을 보여 400 및 2000 mg/kg의 투여용량에서 대조군에 비하여 유의성있게 운동기능 실조에 대한 보호효과를 나타내었다 (P<0.001, P<0.05, Fig. 4C).

감각운동 조합 및 시각에 따른 운동 반응을 확인하기 위하여 foot fault test를 수행하였다. 가수술군은 1.6±0.14%의 forelimb foot faults를 보인 반면 대조군은 16.6 ± 2.87%을 보여 뇌손상 후 상기한 감각 운동기능의 실조를 보였다 (p<0.01, Fig. 4. D). NeuBo153<sup>®</sup> 80, 400 및 2000 mg/kg투여군에서 각각 20.5 ± 6.25, 10.7 ± 2.25 및 15.4 ± 2.12 %으로 400 및 2000 mg/kg의 투여용량에서 대조군에 비하여 운동기능 실조에 대한 보호효과를 보였다 (p<0.01, Fig. 4D).

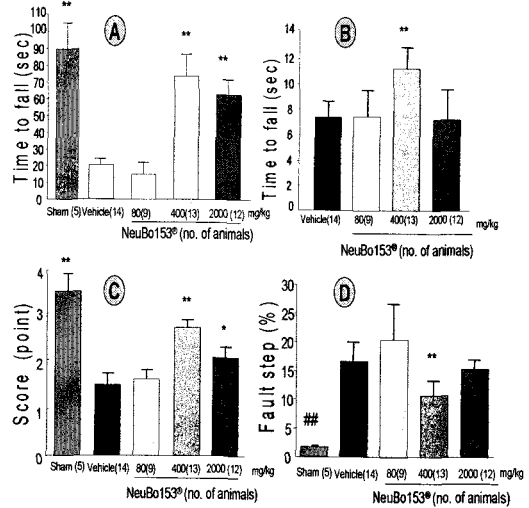


Fig. 4. Effect of NeuBo153<sup>®</sup> on sensory motor functional tests in transient focal cerebral ischemia rat model. The number of parenthesis is the number of animals. A, rotarod test; B, prehensile traction test; C, beam balance test; D, foot fault test, The values are mean ± SEM. \* represents statistically differences from vehicle treated group (\* p<0.05, \*\* p<0.01),

## 고 찰

본 실험의 결과 NeuBo153<sup>®</sup>은 일시적 국소뇌허혈 흰쥐모델에 80, 400 and 2000 mg/kg의 용량으로 유발 후 0분 및 120분에 투여한 결과 체온변화 없는 용량 의존적인 뇌신경보호효과를 보였다. 최고 효과를 보인 NeuBo153<sup>®</sup> 2000 mg/kg 투여군은 양성대조군인 minocycline 45 mg/kg 투여군에 비해 76%의 효과를 보였다. 뇌손상 보호에서 혈관이완요인을 제거하기 위한 목적과 후처리 효과를 확인하는 목적으로 유발 후 120분 및 240분에 투여하여 관찰 한 결과에서도 신경보호효과를 보였다. 양성대조군으로 minocycline (45 mg/kg p.o.)을 사용하였는데, Yrjanheikki등은 본 실험과 같은 모델에서 대뇌 피질에서 65%, striatum에서 42%의 뇌손상에 대한 보호효과를 보여 선정하게 되었다(20). 그러나 본 실험에서는 40%의 보호효과를 보였는데, 이는 뇌허혈 유발시간, 재판류 시간 및 투여경로의 차이로 인한 것으로 생각된다. 최고 효능을 보인 NeuBo153<sup>®</sup> 2000 mg/kg의 용량에서 minocycline에 비하여 76%의 신경보호효과를 보인 것이다. 뇌손상과 동시에 투여한 결과와 더불어 뇌손상 이후에 투여 했을 때의 신경보호효능을 관찰하기 위함과 동시에, 손상 유발시 사용되는 probe 두께는

일정한데, 혈관이완효과로 혈류의 증가가 발생하여 보일 수 있는 보호작용의 요인을 배제하기 위하여 probe를 뺀 후 즉 재관류 이후에 투여한 경우에서도 동시투여한 군과 차이를 보이지 않은 것은 혈관이완 효과가 아니라 신경보호효과라는 증거이다.

중풍연구에 사용된 Zea Longa가 개발한 intraluminal suture method<sup>21</sup>)로 유발된 국소뇌허혈 모델에서는 뇌혈류에 따라 뇌경색 중심부 (ischemic core)와 뇌경색 주변부 (penumbra)의 차이가 결정되는데 중심부는 15%미만이고 주변부인 경우에는 40% 미만이다<sup>22</sup>). 중대뇌동맥 폐쇄시 중심부는 선조체의 중앙, 두정피질과 체성감각 피질이고, 뇌 주변부는 신피질, 내비강피질, 선조체의 측부이다<sup>23</sup>). 10~20분간 허혈을 유발시키면 중심부에서 신경세포들이 산발적으로 죽으며, 1시간 유발시 중심부에 경색이 형성된다.

뇌경색 중심부는 대체적으로 괴사성 세포사멸 (necrosis)이고 주변부는 지연성 세포사멸 (apoptosis)로 알려져 있다. 따라서 괴사성 세포사멸은 뇌허혈 직후로부터 급격하게 발생하는 세포손상이며, 이에 대한 방어는 3시간 이내에 재관류 시키는 방법밖에 없으나 이후에는 거의 불가능하다. 따라서 뇌허혈 치료의 관심은 주변부의 지연성 세포사멸에 초점을 맞추고 있는데 뇌허혈로 인한 주변부의 세포사멸을 막는 것이 주된 치료목표라고 할 수 있다.

NeuBo153<sup>®</sup>의 신경보호효과는 각 구성 약물들의 효과에서부터 기인되는 것으로 판단된다. 人參의 in vivo 및 in vitro에서의 뇌손상 보호효과<sup>9-13</sup>), 生地黃의 기억력 증진효과 및 성상세포 활성화 억제 효과<sup>14,15</sup>), 黃芩의 전뇌허혈에서의 신경보호효과 및 黃芩 성분인 wogonin의 신경보호효과<sup>16,17</sup>) 및 가시오가피의 항염증 작용의 기전에 의한 국소뇌허혈 모델에서의 신경보호효과<sup>18</sup>) 등이다.

국소뇌허혈 모델에서는 다양한 요인에 의하여 뇌손상이 발생한다. 에너지 고갈, 흥분성 신경독성<sup>24</sup>), 산화적 손상<sup>25</sup>) 그리고 백혈구 유주<sup>26</sup>), 염증 사이토카인의 증가<sup>27</sup>)와 뇌교세포 활성화 같은 염증반응<sup>28</sup>) 등이 이에 해당한다. 뇌보 153의 주요 구성 약재는 黃芩, 人參, 刺五加 및 地黃이다. 이들 약재들은 모두 중추신경계에 대한 작용<sup>9-17</sup>)이 있으며, 항산화 작용<sup>9,13</sup>)과 항염증 작용<sup>15-18,30</sup>) 등이 보고되고 있다. 비록 뇌보 153의 신경보호효과에 대한 기전연구를 실시하지 않았으나, 아마도 주요 구성약재들의 이러한 기전들이 작용하였을 것으로 판단된다.

뇌손상에 대한 보호효과가 뇌손상으로 인한 감각운동 기능 실조에 대한 영향을 확인하기 위하여 중대

뇌동맥 폐쇄 후 24시간에 운동통합, 감각 운동 조합 및 자발 운동의 기능을 측정하는 Rotarod 테스트<sup>29</sup>), 근력의 이상을 측정하는 Prehensile traction test<sup>30</sup>), 근력, 균형감과 자발운동 기능을 Balance beam test<sup>31</sup>), 그리고, 감각운동 조합, 시각에 대한 앞발의 운동 반응 기능을 측정하는 방법인 Foot fault test<sup>32</sup>)를 수행하였다. 중풍 유발 후 24시간에 rotarod test, prehensile traction test, beam balance test 및 foot fault test 실행하였는데, NeuBo153<sup>®</sup>은 400 및 2000 mg/kg의 투여용량에서 모든 테스트에서 감각운동기능 실조에 대한 보호작용을 보였다.

국소뇌허혈 모델은 뇌손상으로 인한 인지기능 부전과 감각운동 기능의 부전의 형태로 신체 기능에 대한 손상이 발생하는데, 본 모델의 뇌손상의 특성상 중대뇌동맥 지배영역인 대뇌피질과 caudoputamen의 손상으로 인하여 감각 운동기능 실조가 뚜렷하다. 대뇌피질은 감각운동의 중추이고, caudoputamen은 대뇌피질에서의 신경신호를 받아 전달하는 전달의 중추로서, 이 부위들이 손상을 받으면 사지의 감각 기능 및 운동기능의 실조가 발생하는 것으로 알려져 있다<sup>33,34</sup>).

신경학적 기능의 증진은 허혈성 뇌손상 조직에 대한 보호작용 이외에도 새로운 신경보호제의 효과에서 임상적으로 유용하며, 이들의 실험은 동물실험에서의 부족한 면을 채우는 중요한 역할을 한다. 그러므로 이러한 감각운동기능 테스트는 조직 병리학적인 신경보호의 측면에 그 외형적인 기능에 대한 증진효과는 중풍 방편의 신약개발의 중요한 역할을 할 것으로 생각 되어진다<sup>34</sup>).

## 결론

NeuBo153<sup>®</sup>의 일시적 국소뇌허혈 흰쥐모델의 뇌손상에 대한 신경보호효과와 감각운동 기능 실조에 대한 보호효과를 살펴보기 위하여, 120분간 중대뇌동맥을 폐쇄하고 24시간 후에 rotarod test, prehensile traction test, beam balance test 그리고 foot fault test를 수행하고, 뇌조직을 관찰한 결과는 다음과 같다.

1. NeuBo153<sup>®</sup>은 80, 400 and 2000 mg/kg의 용량으로 유발 후 0분 및 120분에 투여한 결과 각각 34.7±4.19%, 25.6±1.86% 및 23.4±2.40%를 보여 용량 의존적인 뇌신경보호효과를 보였다.

2. NeuBo153<sup>®</sup>은 유발 후 120분 및 240분에 투여한 후처리군에서도 유의한 보호효과를 보였으며, 동시 투여군과 비교해서도 신경보호효과에서는 큰 차이가 없었다.

3. NeuBo153<sup>®</sup>의 뇌손상 보호작용과 함께 뇌손상으로 인한 감각 운동 기능 중 균형과 운동조함에 대한 기능을 확인한 결과 rotarod test, prehensile traction test, beam balance test 및 foot fault test에서 모두 유의한 감각 운동 기능 실조에 대한 보호효과를 보였다.

人參, 刺五加, 茯苓, 黃芩 및 地黃 등으로 구성된 NeuBo153<sup>®</sup>은 일시적 국소뇌허혈에 대한 뇌손상에 대한 신경보호작용이 있었으며, 뇌손상으로 야기되는 감각 운동 기능 실조에 대해서도 보호작용을 보였다.

### 감사의 글

본 연구는 21세기 프론티어 연구개발사업인 자생식물이용 기술개발사업단의 연구비지원 (PF0320201-00)에 의해 수행되었습니다.

### 참고문헌

- 1) 김영석: 中風의 病因 病理에 관한 文獻的 考察, 東洋醫學, 7(1), 1981.
- 2) American Heart Association. Heart and stroke statistical update. Dallas (TX): American Heart Association. 1999.
- 3) The National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group. Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. N Engl J Med. 1995;333:1581-1587.
- 4) Kim H. Neuroprotective herbs for stroke therapy in traditional eastern medicine. Neurol Res 2005;27(3):287-301.
- 5) Lipton P. Ischemic cell death in brain neurons. Physiol Rev. 1999;79(4):1431-568.
- 6) Bolander H. G, Persson L, Hillered L, Dargy R, Ponten U, Olsson Y. Regional cerebral blood flow and histopathologic changes after middle cerebral artery occlusion in rats. Stroke. 1989;20:930-937.
- 7) Nagasawa H, And Kogure K. Correlation

between cerebral blood flow and histological change in a new rat model of cerebral artery occlusion. Stroke. 1989;20:1037-1043.

- 8) Zhang L, Chen J, Li Y, Zhang ZG, Chopp M. Quantitative measurement of motor and somatosensory impairments after mild (30 min) and severe (2 h) transient middle cerebral artery occlusion in rats. J Neurol Sci. 2000;174:141-146.
- 9) Xuejiang W, Magara T, Konishi T. Prevention and repair of cerebral ischemia-reperfusion injury by Chinese herbal medicine, shengmai san, in rats. Free Radic Res. 1999;31:449-55.
- 10) Lim JH, Wen TC, Matsuda S, Tanaka J, Maeda N, Peng H, Aburaya J, Ishihara K, Sakanaka M. Protection of ischemic hippocampal neurons by ginsenoside Rb1, a main ingredient of ginseng root. Neurosci Res. 1997;28:191-200.
- 11) Choi SR, Saji H, Iida Y, Magata Y, Yokoyama A. Ginseng pretreatment protects against transient global cerebral ischemia in the rat: measurement of local cerebral glucose utilization by [14C]deoxyglucose autoradiography. Biol Pharm Bull. 1996;19:644-6.
- 12) Wen TC, Yoshimura H, Matsuda S, Lim JH, Sakanaka M. Ginseng root prevents learning disability and neuronal loss in gerbils with 5-minute forebrain ischemia. Acta Neuropathol (Berl). 1996;91:15-22.
- 13) Chu GX, Chen X. Anti-lipid peroxidation and protection of ginsenosides against cerebral ischemia-reperfusion injuries in rats. Zhongguo Yao Li Xue Bao. 1990;11:119-23.
- 14) Cui Y, Yan ZH, Hou SL, Chang ZF. Intelligence enhancement of radix Rehmanniae praeparata and some comments on its research Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 2002;27:404-6, 456.
- 15) Kim HM, An CS, Jung KY, Choo YK, Park JK, Nam SY. Rehmannia glutinosa inhibits tumour necrosis factor-alpha and interleukin-1 secretion from mouse astrocytes. Pharmacol Res. 1999;40:171-6.
- 16) Lee H, Kim YO, Kim H, Kim SY, Noh HS,

- Kang SS, Cho GJ, Choi WS, Suk K. Flavonoid wogonin from medicinal herb is neuroprotective by inhibiting inflammatory activation of microglia. *FASEB J.* 2003;17:1943-4.
- 17) Kim YO, Leem K, Park J, Lee P, Ahn DK, Lee BC, Park HK, Suk K, Kim SY, Kim H. Cytoprotective effect of *Scutellaria baicalensis* in CA1 hippocampal neurons of rats after global cerebral ischemia. *J Ethnopharmacol.* 2001;77:183-8.
  - 18) Bu Y, Jin ZH, Park SY, Beak SK, Rho SJ, Ha N, Park SK, Kim SY, Kim H, Siberian ginseng reduced infarct volume in transient focal cerebral ischemia in sprague dawley rats. *phytother Res.* 2005;19:167-169.
  - 19) Markgraf C, Green EJ, Hurwitz BE, Morikawa E, Dietrich WD, McCabe PM, Ginsberg MD, Schneiderman N. Sensorimotor and cognitive consequences of middle cerebral artery occlusion in rats. *Brain Res.* 1992;575:238 - 246.
  - 20) Yrjanheikki J, Tikka T, Keinanen R, Goldstein G, Chan PH and Koistinaho J. A tetracycline derivative, minocycline, reduces inflammation and protects against cerebral ischemia with a wide therapeutic window, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1999;96:13496 - 13500.
  - 21) Zea Longa Z, Weinstein PR, Carlson S, Cummin R: Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke.* 1989;20:84-91.
  - 22) Hossmann KA. Viability thresholds and the penumbra of focal ischemia. *Ann. Neurol.* 1994;36:557-565.
  - 23) Memezawa H, Minamisawa H, Smith ML, And Siesjo BK. Ischemic penumbra in a model of reversible middle cerebral artery occlusion. *Exp. Brain Res.* 1992;89: 67-78.
  - 24) Choi DW. Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system. *Neuron.* 1988;1: 623-634.
  - 25) Dawson TM, Dawson VL, Snyder SH. A novel neuronal messenger in brain: the free radical, nitric oxide, *Ann. Neurol.* 1992;32:297-311.
  - 26) Barone, FC, Schmidt, DB, Hillegass, LM, Price, WJ, White, RF, Feuerstein, GZ, Clark, RK, Lee, EV, Griswold, DE. and Sarau, HM. Reperfusion increases neutrophils and leukotriene B4 receptor binding in rat focal ischemia. *Stroke.* 1992;23(9):1337-1347.
  - 27) Feuerstein GZ, Wang X, Barone FC. Inflammatory gene expression in cerebral ischemia and trauma. Potential new therapeutic targets *Ann N Y Acad Sci.* 1997;825:179-93
  - 28) Gehrman J, Bonnekoh P, Miyazawa T, Hossmann KA, Kreutzberg GW. Immunocytochemical study of an early microglial activation in ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1992;12(2):257-69.
  - 29) Rogers DC, Campbell CA, and Stretton JL. Correlation between motor impairment and infarct volume after permanent and transient middle cerebral artery occlusion in the rat. *Stroke.* 1997;28:2060-2066.
  - 30) Aronowski J, Samways E, Strong R, Rhoades HM, Grotta JC. An alternative method for the quantification of neuronal damage after experimental middle cerebral artery occlusion in rats: analysis of behavioral deficit. *J Cereb. Blood Flow Metab.* 1996;16:705-713.
  - 31) Puurunen K, Jolkkonen J, Sirvio J, Haapalinna A, Sivenius J. An  $\alpha$ 2-adrenergic antagonist, atipamezole, facilitates behavioral recovery after focal cerebral ischemia in rats *Neuropharmacology.* 2001;40:597-606.
  - 32) Soblosky JS, Matthew MA, Davidson JF, Tabor SL, Carey ME, Traumatic brain injury of the forelimb and hindlimb sensorymotor areas in the rat: Physiological histological and behavioral correlates. *Behavioral Brain Research.* 1996;79:79-92.
  - 33) Tamura A, Graham, DI, McCulloch J. Teasdale GM, Focal cerebral ischemia in the rat: Description of technique and early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1981;1:53-60.
  - 34) DeVriesa AC, Nelsona RJ, Traystmanb RJ, Hum PD. Cognitive and behavioral assessment in experimental stroke research: will it prove useful? *Neuroscience and Biobehavioral Reviews.* 2001;25:325-342.