

實驗的 腦虛血 및 低酸素症에 대한 Flunarizine의 藥效

뇌장해에 대한 Flunarizine 효능

김은미 · 김영진 · 신경희 · 윤재순

이화여자대학교 약학대학

(Received September 1, 1988)

Effect of Flunarizine on Experimental Ischemia and Hypoxia in Rats and Mice

Eun Mi Kim, Young Jin Kim, Jeoung Hee Shin and Jae soon Yun

College of Pharmacy, Ewha Woman's University, Seoul 120-170 Korea.

Abstract—Recent hypothesis suggested that intracellular accumulation of calcium is a common denominator of ischemic cellular damage.

Flunarizine, a calcium entry blocker, posses vasodilating properties in cerebral vascular beds and clinically used in circulatory disorders. The present study was designed to evaluate the effect of flunarizine on ischemic and hypoxic brain damage. An ischemic model was made by bilateral carotid artery ligation (BCAL) in Wistar strain rat. Hypoxic model was made by intravenous injection(i.v.) of KCN to rats and mice. In mice, flunarizine not only reduced the mortality of KCN, but also delayed the onset time of convulsion. The contents of ATP, creatine phosphate and glucose, cerebral energy metabolite, decreased 30 minutes after BCAL and KCN i, v, while that of lactate increased. But these variations were suppressed by flunarizine. Furthermore, increase in the dosage of flunarizine generally promoted the recovery of cerebral energy metabolites in hypoxic animals.

The results suggest that flunarizine had a protective effect against ischemic and hypoxic brain damage due to its ameliorating action on the cerebral energy metabolism.

뇌출혈, 뇌경색, 동맥경화증 등 혈관 장애로 혈액 공급이 불충분하면 뇌에서는 부분적인 순환장애가 일어나 뇌혈액이 그 기능을 유지할 수 없을 정도로 뇌혈류량이 감소 또는 차단되어, 갑작스러운 신경장애가 나타난다.¹⁻³⁾

Shintomi⁴⁾ 등은 마우스의 양측 총경동맥을 결찰한 뇌허혈증 모델에서 에너지대사관련물질을 측정하여 glucose 이용율의 저하를 보고하였다. mongolian gerbil⁵⁾ 이나 자연발생적 고혈압쥐^{6,7)} (Spontaneous hypertensive rat: S.H.R)를 사용한 실험에서는 정상쥐의 경우보다 더욱 변화가 뚜렷하다고 하였다. 또한 cyanide로 저산소증을 유발시킨 흰쥐의 조직은 수초내에 산소부족으로 혐기성 대사산물을 생성하는 일련의 유해한 과정을 거쳐 ATP가 고갈되고 모든 에너지의존반응이 정지된다.^{2,8-10)}

순환장애로 신경세포는 손상되며 그 원인은 세포내 이온항상성이 상실되어 Ca²⁺의 과잉축적 때문이며 조직학적 실험으로도 저산소증 및 뇌허혈 시에 세포내 Ca²⁺이 과잉축적되고 있음이 증명되었다.^{3,11-13)}

Flunarizine은 Cinnarizine의 difluoro 유도체로 선택적인 Ca²⁺유입차단제이다.¹⁴⁾ 그러나 심근의 수축력에는 거의 영향을 미치지 않고 혈관 평활근에만 선택적으로 작용하여 지속적인 혈관 평활근 수축억제작용을 나타낸다고 한다.¹⁴⁻¹⁶⁾ Flunarizine은 Ca²⁺의 축적으로 일어날 수 있는 적혈구의 유연성 감소를 방지하여 뇌혈류 증가, 미소 순환개선 및 저산소증 흰쥐의 생존시간 연장작용 등이 있다고 알려져 있다.¹⁷⁻²⁰⁾

본 실험은 flunarizine의 뇌보호효과를 구명하기 위하여 KCN을 투여한 저산소증 마우스 모

델의 사망율 및 생존시간을 측정하고 양측 총경동맥을 결찰한 흰쥐의 뇌허혈 모델과 KCN처리한 저산소증 흰쥐 모델의 대뇌피질내 에너지 대사관련물질인 ATP, creatine phosphate, glucose 및 lactate를 정량하여 flunarizine의 전처치가 에너지 대사 및 동물 사망율에 미치는 개선효과를 관찰하였다.

실 험 방 법

투여약물 및 측정용시약—Flunarizine dihydrochloride(Janssen Pharm. injection, 50mg/amp)을 필요에 따라 생리식 염수로 희석하여 사용하였다.

KCN(Hayashi Pure Ind Ltd)은 증류수에 녹여서 사용하였다.

Lactic dehydrogenase(from rabbit muscle, 9.4 mg pr./ml), Hexokinase/Glucose-6-phosphate dehydrogenase (mixed enzymes from bakers yeast, HK : 225U/mg pr., G-6-PDH : 85U/mg pr.), Creatine phosphokinase (from rabbit muscle, 125U/mg pr.). 이상의 효소시약 및 NADP, ATP, ADP, NAD는 Sigma Chem. Co.에서 구입하였으며 Bovine serum albumine (22%, 녹십자제약)과 HClO₄ (Junsei Chem. Co.)를 사용하였다.

실험동물—체중 220±50g의 Wistar계 및 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐와 체중 20~30g의 ICR계 웅성 마우스를 실험에 사용하였다.

모든 실험군은 고형사료(삼양유지) 및 물을 자유롭게 공급하였다. 단 흰쥐는 실험전 24시간 동안 물을 제외하고 절식시켰다.

뇌허혈증 모델—Shintomi¹⁴⁾ 등의 방법에 따라 체중 220±50g의 웅성 흰쥐를 ether 경마취하에 등부위를 고정시키고 목의 중앙선을 절개한 후 경동맥을 분리하였다. 봉합사로 거의 동시에 양측 경동맥을 결찰하고 절개부위를 봉합하였다.

정상대조군도 같은 방법으로 실시하였으며 결찰은 행하지 않고 봉합하였다.

저산소증 모델—체중 20~30g의 웅성 마우스

피리정맥에 KCN치사량 3.0mg/kg을 투여하여²¹⁾ 생존시험에 사용할 저산소증 마우스 모델로 하였다.

저산소증 흰쥐 모델은 체중 220±50g의 웅성 흰쥐 피리정맥에 KCN 중독량 1.8mg/kg을 투여하여²¹⁾ 저산소증을 유발시켰다. 이때 정상대조군은 KCN 대신 생리식염수를 피리정맥에 투여하였다.

저산소증 마우스의 생존실험—저산소증 모델 작성 30분전에 생리식염수 및 flunarizine 10, 20 및 40mg/kg을 각 용량별로 복강내에 투여하여 마우스의 생존실험을 시행하였다.

Flunarizine 전처치후 저산소증을 유발시킨 후 경련발현시간 및 생존시간을 관찰하였다. 생존시간은 KCN 치사량 3.0mg/kg을 처치후부터 호흡정지로 인한 사망까지의 시간을 측정하였으며 KCN 투여 후 30분까지 사망하지 않은 동물은 생존으로 간주하였다.

실험에 사용된 동물수는 대조군, flunarizine 10, 20 및 40mg/kg 투여군에서 각각 30, 30, 32 및 37마리를 사용하였다.

동물구분 및 뇌시료 추출—저산소증 모델 및 뇌허혈증 모델 작성 1시간전에 flunarizine 10, 20, 40mg/kg을 복강내 전처치하였고 정상대조군과 저산소증 및 뇌허혈증 대조군은 1시간 전에 flunarizine을 제외한 생리식염수만을 투여하였다.

KCN처리 저산소증 실험군은 정상대조군, 저산소증대조군, flunarizine 10, 20, 40mg/kg 전처치군의 5군으로 하였고 총경동맥결찰한 뇌허혈증 실험군은 정상대조군, 뇌허혈증대조군, flunarizine 10, 20, 40mg/kg 전처치군의 5군으로 하였으며, 한 군에 5마리의 흰쥐를 사용하였다.

뇌허혈증 및 저산소증 모델 작성 30분후에 흰쥐를 단두하여 10분간 냉동실 보관하였다가 Glowinski 등²²⁾의 방법에 따라 대뇌피질을 분리하여 즉시 평량하였다. 뇌시료를 1ml의 빙빙한 3M HClO₄ 수용액에서 10분간 고정시켜 단백질을 제거한 후 빙냉 증류수 3ml를 가하여 homogenizer로 30초간 균질화시키고 30,000×g, 4°C(Dupont Sorvall RC-5B)에서 10분간 원심분리하였다.

상층액 3.5ml를 취하여 2M KHCO₃ 1.5ml로 과잉의 HClO₄를 중화시킨 후 30,000×g, 4°C에서 15분간 원심분리하여 얻은 상층액을 ATP, creatine-phosphate(Creatine-P), glucose 및 lactate 정량용 시료로 사용하였다.

뇌에너지대사 관련물질의 정량—효소법에 의하여 lactate²³⁾는 NADH의 생성을, glucose²⁴⁾, ATP²⁵⁾ 및 creatine-P²⁶⁾는 NADPH의 생성을 지표로 UV-Spectrophotometer(Shimadzu, UV 240)로 340nm에서 흡광도를 측정하였다.

각 물질의 양은 흡광도의 차 값에 회석배율을 곱하여 NAD(P)H의 분자흡광계수(6.22)로 나눈 것으로²⁴⁾ 그 값을 μmol/g brain tissue로 표시하였으며 각각의 정량법은 다음과 같다.

ATP와 Creatine phosphate—Buffer용액 (Tris-HCl 0.2M, pH7.6)에 H₂O 570μl, 0.016M NADP 50μl, 0.6M glucose 50μl와 뇌시료 10μl를 가하여 흡광도 E₁을 측정한다. 여기에 Hexokinase(140U/ml H₂O)/Glucose-6-phosphate dehydrogenase(53U/ml H₂O) 20μl를 가하여 10분간 방치한 후 흡광도 E₂를 측정할 후 그 차를 ATP의 흡광도로 한다.

$$(E_2 - E_1 = \Delta_{ATP})$$

이 혼합액에 0.03M ADP 50μl를 가하여 E₃를 읽은 후 Creatine kinase(600U/ml H₂O) 50μl를 가지고 10분후 E₄를 측정하여 그 차를 creatine phosphate의 흡광도로 한다.

$$(E_4 - E_3 = \Delta E_{Creatine-phosphate})$$

Glucose—Buffer용액 (Tris-HCl 0.5M, pH7.6)에 0.016M NADP 20μl, 0.016M ATP 50μl와 뇌시료 100μl를 가하여 흡광도 E₁을 측정할 후 Hexokinase(140U/ml H₂O)/Glucose-6-phosphate dehydrogenase(53U/ml H₂O) 20μl를 가하여 10분후 E₂를 측정하여 그 차를 glucose의 흡광도로 한다.

$$(E_2 - E_1 = \Delta E_{glucose})$$

Lactate—Buffer용액 (glycine-hydrazine 0.4M, pH9.0)에 뇌시료 100μl, 0.027M NAD 100μl와 lactic dehydrogenase(2mgpr./ml H₂O) 10μl를 가하여 37°C 수욕상에서 60분 방치후 흡광도를 측정한다. 대조액은 뇌시료 대신 H₂O 100μl를

가한 후 동일한 조건에서 흡광도를 측정하여 흡광도의 차를 lactate의 흡광도로 한다.

$$(E_{sample} - E_{blank} = \Delta E_{lactate})$$

개개의 분석은 0.01% bovine serum albumin을 사용하여 실온에서 행하였다.

통계분석—모든 실험값은 평균±표준편차로 표시하였으며 student's *t*-test, 1-tailed방법으로 유의성 검정을 하여 p<0.01일 때 유의성이 있다고 판정하였다.

결과 및 고찰

저산소증 마우스 생존실험—뇌 저산소증에 대한 flunarizine의 효과를 조사해보고저 KCN의 치사량 3.0mg/kg를 마우스 꼬리정맥에 주사하였을 때 저산소증 대조군의 경련 발현시간은 6.7초였으나 flunarizine 10, 20, 40mg/kg 전처리는 각각 7.9, 8.7, 9.7초로 저산소증 대조군에 비하여 그 발현시간이 매우 유의적이며 또 용량의 존적으로 지연되었다(Table 1)

Cyanide는 세포내 전자전달계 산화성 효소 cytochrome oxidase를 저해하여 순식간에 조직세포의 호흡을 억제하여 저산소증을 유발하고 경련발작을 일으킨다. 이때 flunarizine은 KCN에 대한 경련발작반응 역치를 상승시켜 경련 발현시간이 지연되었다고 사료된다. 생존시간도 flunarizine 전처리로 용량 의존적으로 연장되었으며 flunarizine 20mg/kg 투여시는 58.5초로 저산소증 대조군에 비하여 2.2배의 생존시간연장이 나타났다. flunarizine 40mg/kg 전처리는 300초 이상 생존하였다. 이것은 flunarizine이 저산소증 흰쥐에서 에너지 생성이 중단되어 세포내 유해물질이 축적되는 것을 방지하고 또 조직내 혈류 증가작용으로 산소 공급이 원활하게 되었기 때문이라는 Wauquier²⁸⁾의 보고가 타당하다고 생각된다.

이 외에도 flunarizine은 순수한 질소가스에 의한 저산소증, 단두에 의한 완전허혈 및 bicuculline에 의한 경련발작을 억제하는 데도 모두 유효하였다.²⁹⁾

KCN 치사량 3mg/kg 정맥주사 후 30분까지

Table I—Effect of flunarizine on the onset time of convulsion and the survival time after KCN treatment (3.0mg/kg, i.v.) to mice.

Drug	Dose (mg/kg, i.p.)	No. of Mice	Onset time of Convulsion (sec)	Survival time after treatment (sec)
Control	—	30	6.7±1.2	26.9±4.2
Flunarizine	10	30	7.9±1.4*	41.0±7.8*
	20	32	8.7±1.5*	58.5±13.5*
	40	37	9.7±2.4*	>300*

• Flunarizine was administered 30 minutes before KCN treatment.

• The onset time of convulsion and the survival time are expressed as the mean±S.D.

* : Significantly different from control group, at $p < 0.01$

Table II—Effect of flunarizine on the mortality induced by KCN(3.0mg/kg i.v.) in mice.

Drug	Dose (mg/kg, i.p.)	No. of mice	No. of survivals	Mortality (%)
Control	—	30	0	100
Flunarizine	10	30	2	93
	20	32	9	72
	40	37	27	27

사망하지 않는 마우스를 생존으로 간주하였을 때 저산소증 대조군은 30마리 모두 사망하였으며 flunarizine 10, 20, 40mg/kg 전처치시는 2, 9, 27 마리 생존하였다. 이때 flunarizine의 사망율은 저산소증 대조군의 사망률 100에 대한 백분율로 환산하였을 때 flunarizine 10, 20, 40mg/kg 투여량의 증가에 따라 사망률은 93, 72, 27%로 감소하였다(Table II)

KCN투여로 유발한 저산소성뇌장애는 조직으로의 혈류는 보존되어 있다는 점에서 허혈성뇌

장애와는 본질적으로 다르나 뇌순환대사개선약 flunarizine은 KCN에 의한 마우스의 사망을 방지하였다. 따라서 flunarizine은 KCN에 의한 세포내 사립체의 cytochrome oxidase 활성을 저하하여 에너지 인산화물의 고갈, 혐기성해당체 대사항진으로 산성대사물 축적,^{2,8-10)} 순환소크에 의한 뇌허혈증 유발등²¹⁾을 개선하여 사망률을 저하시켰다고 사료된다.

저산소증 흰쥐의 뇌에너지대사에 미치는 영향—KCN 1.8mg/kg을 꼬리정맥에 투여한 저산소증 뇌조직중 ATP, creatine-P, glucose량은 정상 대조군에 비하여 각각 32, 41, 63% 감소하였고 lactate량은 58% 증가하였으며(Table III) 이는 Shintomi등²¹⁾의 KCN 저산소증에서 뇌에너지대사 관련물질이 저하하였다는 보고와 일치하였다.

저산소증 대조군의 뇌조직중 ATP량은 뇌조직 g당 0.97 μ ml이었으나 flunarizine 20, 40mg/kg 전처치시는 뇌조직 g당 각각 1.11, 1.15 μ mol

Table III—Effect of intraperitoneal injection of flunarizine on disturbance of cerebral energy metabolism under KCN (1.8mg/kg i.v.)-induced histotoxic anoxia in rats.

Group	Dose (mg/kg, i.p.)	No. of animal	Contents: μ mol/g brain (mean±S.D.)			
			ATP	Creatine-P	Glucose	Lactate
Sham operated control	—	5	1.42±0.06	1.74±0.09	0.75±0.05	8.40±0.14
Hypoxia control	—	5	0.97±0.09*	1.02±0.09*	0.28±0.02*	13.30±0.55*
Flunarizine	10	5	0.99±0.14	1.06±0.08	0.40±0.03*	11.44±0.17*
	20	5	1.11±0.04*	1.38±0.02*	0.44±0.05*	10.36±0.34*
	40	5	1.15±0.07*	1.46±0.11*	0.55±0.03*	10.15±0.29*

* : Significantly different from the sham operated control values, at $p < 0.01$

* : Significantly different from the hypoxia control values at $p < 0.01$

로 유의적인 증가를 보였다. Creatin-P량은 뇌조직 g당 1.02 μ mol이었으나 flunarizine 20, 40 mg/kg 전처치로 뇌조직 g당 1.38, 1.46 μ mol로 유의적인 증가를 하였다. Glucose량은 뇌조직 g당 0.28 μ mol이었으나 flunarizine 10, 20, 40mg/kg 전처치시 뇌조직 g당 0.40, 0.44, 0.55 μ mol로 유의적인 증가를 하였다. Lactate량은 뇌조직 g당 13.3 μ mol이었으나 flunarizine 10, 20, 40mg/kg 전처치시 뇌조직 g당 각각 11.44, 10.36, 10.15 μ mol로 유의적인 감소를 보였다(Table 3).

Dubinsky등²⁷⁾은 KCN으로 유발된 저산소증 흰쥐에 대한 flunarizine의 방어효과의 작용기전은 Ca⁺의 세포내 유입을 차단하기 때문이며 그 결과 세포내 Ca⁺이 감소함으로 ATP는 절약되고 사립체에서 KCN에 의한 ATP생산저지를 flunarizine이 상쇄하기 때문이라 하였다. 그러므 cyanide로 유도된 세포괴사에 대한 flunarizine의 보호작용은 flunarizine 투여시 혈장 농도보다 뇌조직내 농도가 4~5배 높은 것³⁰⁾으로 미루어 볼 때 중추신경계에 대한 선택적 활성화에 의한 것이라 추정할 수 있다.

본실험에서도 flunarizine 40mg/kg 전처치 후 저산소증을 유발시킨 흰쥐의 대뇌피질내 에너지 대사 관련물질 ATP, creatin-P 및 glucose량은 저산소증 대조군 뇌에 비하여 각각 19, 43 및 96%의 증가를, lactate는 24% 감소하였다. 따라서 flunarizine은 KCN에 의한 저산소증 모델에서 뇌에너지대사를 증진시켰음을 알 수 있다.

뇌허혈성 흰쥐의 뇌에너지 대사에 미치는 영

향—정동맥 결찰 30분 후 흰쥐의 뇌에너지대사 관련물질의 대사장애에 대하여 flunarizine 복강내 투여시의 효능을 검토하여 그 결과를 Table 4에 나타내었다.

정상뇌에서의 ATP, creatin-P, glucose 및 lactate량은 뇌조직 g당 평균 1.02, 1.16, 0.74 및 6.97 μ mol이었다. 허혈성 뇌에서는 ATP, creatin-P 및 glucose량은 정상뇌에 비해서 각각 32, 31 및 68% 감소하였고 lactate량은 71% 증가하였다.

Flunarizine 10mg/kg 투여군 뇌에서 glucose량은 뇌조직 g당 0.58 μ mol로 허혈성 대조군뇌에 비해서 142% 증가하였으며 lactate량은 26% 감소하였다. ATP 및 creatine-P도 증가하였으나 유의성은 없었다.

flunarizine 20mg/kg 투여군 뇌에서 ATP 및 glucose량은 32% 및 175% 증가하였고 lactate량은 25% 감소하였다.

Flunarizine 40mg/kg 투여군 뇌에서 ATP, creatin-P 및 glucose량은 각각 38, 26 및 183% 증가하였고 lactate량은 32% 감소하였다.

이러한 결과는 flunarizine 전처치로 뇌에너지대사 장애가 비교적 용량의존적으로 회복하였다고 볼 수 있다.

뇌혈류 장애로 인한 조직내 허혈 발현시 2가지의 생화학적 변화가 일어난는데³¹⁾ 첫째, 뇌혈류량의 감소로 조직은 산소의 부족을 일으켜 glucose 및 glycogen의 감소와 혐기성 해당 반응으로 인한 lactate의 축적으로 산증을 일으키

Table IV—Effect of intraperitoneal injection of flunarizine on the disturbance of cerebral energy metabolism under ischemia by bilateral carotid artery ligation in rats.

Group	Dose (mg/kg, i.p)	No. of animal	Contents : μ mol/g brain (mean \pm S.D)			
			ATP	Creatine-P	Glucose	Lactate
Sham operated control	—	5	1.02 \pm 0.06	1.16 \pm 0.07	0.74 \pm 0.07	6.97 \pm 0.24
Ischemic control	—	5	0.69 \pm 0.06*	0.80 \pm 0.13*	0.24 \pm 0.01*	11.89 \pm 0.41*
Flunarizine	10	5	0.76 \pm 0.08	0.85 \pm 0.04	0.58 \pm 0.06*	8.82 \pm 0.37*
	20	5	0.91 \pm 0.07*	0.87 \pm 0.06	0.66 \pm 0.06*	8.93 \pm 0.15*
	40	5	0.95 \pm 0.12*	1.01 \pm 0.12*	0.68 \pm 0.09*	8.03 \pm 0.45*

* : Significantly different from the sham operated control values, at p<0.01

* : Significantly different from the ischemic control values, at p<0.01

며 둘째, 고에너지화합물인 ATP와 creatin-P의 고갈로 심한 에너지불균형상태에 이르게 된다. 이러한 에너지의 불균형은 세포내 이온항상성의 파괴를 일으켜 외부로부터 Ca^{2+} 의 과량유입으로 세포내 Ca^{2+} 이 축적되면서 결국 조직세포는 괴사에 이른다.¹³⁾

세포손상에 미치는 Ca^{2+} 의 역할은 많이 논의되었던 바, Wauquier 등²⁵⁾은 허혈시 세포손상에 Ca^{2+} 의 세포내 축적이 그 원인이며 과량의 Ca^{2+} 유입을 차단하는 것이 뇌를 보호할 수 있다고 하였다.

선택적인 Ca^{2+} 길항제인 flunarizine은 뇌보호 작용이 있어 그 가능한 기전으로, 손상된 적혈구의 변형능저하방지작용, 내피세포의 손상방지 뇌혈관 및 기타 혈관수축 억제작용, 뇌혈류 증진작용, 세포내 Ca^{2+} 유입 차단작용 등이 보고되어 있다.^{17-20, 31)} Silverstein 등³²⁾은 flunarizine의 difluoropiperazine 구조가 혈액뇌관문을 쉽게 통과하여 뇌내에 높은 농도로 비교적 오래 머물기 때문에 다른 Ca^{2+} 길항제와는 달리 뇌보호작용을 갖는다고 하였다.

본실험에서도 flunarizine 10, 20, 40mg/kg 전처치 후 뇌허혈을 유발시킨 흰쥐의 대뇌피질내 에너지대사관련물질의 대사이상은 비교적 용량의존적으로 회복되어 flunarizine 40mg/kg 투여군 뇌에서는 허혈성 대조군 뇌에 비해 glucose, ATP 및 creatin-P는 각각 38%, 26% 및 183 ($p < 0.01$)의 증가를 보였으며, lactate는 32% 감소하였다($p < 0.01$).

이상의 결과로부터 flunarizine은 흰쥐의 뇌허혈 모델에서 뇌에너지대사 개선작용이 있으며 이러한 개선작용이 뇌보호효과를 가질것이라 사료된다.

결 론

Flunarizine이 KCN 저산소증 모델의 생존실험 및 뇌에너지 대사에 미치는 영향과 양측 총경동맥 결찰한 뇌허혈증 모델에서 뇌에너지대사에 미치는 영향을 알아보기자 마우스 및 흰쥐를 사용한 실험에서 다음과 같은 결론을 얻었다.

KCN 저산소증 마우스의 생존실험에서 KCN (3.0mg/kg)을 꼬리정맥에 투여하였을 때 대조군에 비하여 flunarizine 전처치군이 경련 발현 시간은 용량의존적으로 지연되었으며 생존시간도 용량의존적으로 증가되었다. 사망률은 flunarizine 10, 20, 40mg/kg 투여시 93, 72, 27%로 감소되었다.

KCN 저산소증 흰쥐의 뇌에너지대사 관련물질 ATP, creatin-P, glucose 및 lactate량 변화는 flunarizine 10, 20, 40mg/kg 전처치로 개선됨을 보였으며 특히 flunarizine 40mg/kg 전처치시는 ATP, creatin-P 및 glucose량은 저산소증 대조군에 비하여 각각 19, 43 및 96%의 유의적인 증가를, lactate량은 24%의 유의적인 감소를 보였다.

양측 총경동맥 결찰한 허혈증 뇌에서의 ATP, creatine-P 및 glucose량은 정상뇌에 비해서 각각 32%, 31% 및 68% 감소하였고 반대로 lactate량은 71% 증가하였다. flunarizine 10, 20, 40mg/kg 전처치시 허혈성 뇌에서의 ATP, creatine-P, glucose 및 lactate량은 용량의존적인 회복을 보였으며 특히, flunarizine 40mg/kg 투여군 뇌에서 ATP, creatine-P 및 glucose량은 각각 38%, 26% 및 183%의 유의적인 증가를, lactate량은 32%의 유의적인 감소를 보였다.

이상의 결과로 flunarizine은 KCN 저산소증 모델에서 뇌에너지대사 증진작용, 생명연장 및 경련발현 지연작용이 있었고 뇌허혈증 모델에서도 뇌에너지대사 개선작용이 있었으며 이는 순환장애로 인한 뇌허혈 및 저산소증 발생시 뇌혈류를 증가시킴으로써 뇌기능 부활효과를 나타냈다.

감사의 말씀

본 연구는 1987년도 한국생활과학연구원 연구 조성비지원에 의하여 이루어졌습니다. 이에 감사드립니다.

문 헌

- 1) Garcia, J.H. and Conger, K.A.: *Pathology and pathophysiology of shock, anoxia and ischemia.*

- (Ed. Cowley R.A. and Trump B.F.) W and W, London, p.547 (1982).
- 2) Rehncrona, S. and Siesjo, B.K.: *Brain failure and resuscitation* (Ed. Grenvik, A. and Safar, P.), Churchill Livingstone Inc. p.11 (1981).
 - 3) Nayler, W.G.: The role of calcium in the ischemic myocardium. *Am. J. Pathol.* **102**, 262 (1981).
 - 4) Shntomi, K., Itakawa, T., Yoshimoto, K., Ogawa, Y., Fukushima, T. and Matsuoka, Y.: Pharmacological study of nicergoine (II). *Folia Pharmacol. Japan.* **87**, 427 (1986).
 - 5) Kobayashi, M., Lust, W.D. and Passonneau, J.V.: Concentration of energy metabolites and cyclic nucleotides during and after bilateral ischemia in the gerbil cerebral cortex. *J. Neurochem.* **29**, 53 (1977).
 - 6) Fujishima, M. and Omae, T.: Cerebral lactate, pyruvate and ATP concentrations and arterial acid-base balance at various time intervals following bilateral carotid artery occlusion in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Acta Neurol. Scandinav.* **54**, 13 (1976).
 - 7) Fujishima, M., Ogata, J., Morotomic, Y. and Omae, T.: Effect of bilateral carotid artery ligation on brain metabolism in spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Jap. Heart J.* **16**, 316 (1975).
 - 8) Raichle, M.E.: The pathphysiology of brain ischemia. *Ann. Neurol.* **13**, 2 (1983).
 - 9) Elizabeth, A.M.: Brain preservation. *Anesthesia and analgesia.* **60**, 821 (1981).
 - 10) Levine, S.: Anoxic-ischemic encephalopathy in rats. *Am. J. Pathol.* **34**, 1 (1960).
 - 11) Dienel, G.A.: Regional accumulation of calcium in postischemic rat brain. *J. Neurochem.* **43**, 913 (1984).
 - 12) Farber, J.L.: The role of calcium in cell death. *Life Sci.* **29**, 1289 (1981).
 - 13) Schanne, F.A.X., Kane, A.B., Young, E.E. and Farber, J.L.: Calcium dependence of toxic cell death. *Sci.* **206**, 700 (1979).
 - 14) Holmes, B., Brogden, R.N., Heel, R.C., Speight, J.M. and Avery, G.S.: Flunarizine A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drug* **27**, 6 (1984).
 - 15) Nueten, J.M., Beek, J.V. and Janssen, P.A.: Effect of flunarizine on calcium induced responses of peripheral vascular smooth muscle. *Arch. Int. Pharmacodyn.* **232**, 42 (1978).
 - 16) Wakayama, K. and Kasuya, Y.: Selective abolition of Ca-dependent responses of smooth and cardiac muscle by flunarizine. *Japan. J. Pharmacol.* **30**, 731 (1980).
 - 17) Phiklis, J.W., Delong, R.E. and Towner, J.K.: The effects of lidoflazine and flunarizine on cerebral reactive hyperemia. *Eur. J. Pharmacol.* **112**, 232 (1985).
 - 18) Vanhoutte, P.M.: Cinnarizine, flunarizine, lidoflazine, in *Calcium modulators* (Ed. Godfraind, T. and Albertini, A.). Elsevier biochemical press, (1982).
 - 19) Nueten, J.M.V. and Vanhoutte, P.M.: Improvement of tissue perfusion with inhibitors of calcium ion influx. *Biochem. Pharmacol.* **29**, 479 (1980).
 - 20) Despande, J.K.: Flunarizine, a calcium entry blocker, ameliorates ischemic brain damage in the rat. *Anesthesiology* **64**, 215 (1984).
 - 21) Shintomi, K., Itakura, T., Yoshimoto, K., Egou, H., Tanaka, T., Matsumoto, M. and Matsuoka, Y.: Pharmacological study of nicergoline (I). *Folia Pharmacol. Japon.* **87**, 445 (1985).
 - 22) Glowiski, J. and Iversen, L.L.: Regional studies of catecholamines in the rat brain (I). *J. Neurochem.* **13**, 655 (1966).
 - 23) Gutmann, I. and Wahlefeld, A.W.; L-(+)-Lactate determination with lactate dehydrogenase and NAD. (Ed. Bergmeyer, H.U.) *Method of Enzymatic Analysis.* 2nd. Academic press, P. 1464(1974).
 - 24) Bergmeyer, H.U., Bernt, E., Schmidt, F. and Stork, H.; Determination with hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase. (Ed. Bergmeyer, H.U.) *Method of Enzymatic Analysis*, 2nd ed. Academic press, p.1196 (1974).

- 25) Lamprecht, W. and Trautschold. I.; Determination with hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase. (Ed. Bergmeyer, H.U.) *Method of Enzymatic Analysis*. Academic press, 2nd p. 2101 (1974).
- 26) Lamprecht, W. Stein, P. Heinz, F. and Weisser H.; Determination with creatine kinase, hexokinase, and glucose-6-phosphate dehydrogenase. (Ed. Bergmeyer, H.U.) *Method of Enzymatic Analysis*, 2nd ed. Academic press, p.1777 (1974).
- 27) Matsuoka, Y.: Personal communication.
- 28) Wauquier, A., Ashton, D., Clinckle, G. and Fransen, J.: Calcium entry blocker as cerebral protection agents. *Japan J. Pharmacol.* 38, 1 (1985).
- 29) Reempts, J.V., Borgors, M., Dael, L.V., Eyndhoven, J.V. and Ven, M.V.D.: Protection with flunarizine against hypoxic-ischemic damage of the rat cerebral cortex. *Arch. Int. Pharmacodyn.* 262, 76 (1983).
- 30) Michiels, M., Hendriks, R., Knaeps, F., Woestenborghs, R. and Heykants, J.: Absorption and tissue distribution of flunarizine in rats, pigs and dogs. *Arzneim-Forsch./Drug Res.* 33 (II), 1135 (1983).
- 31) Nueten, J.M.V., Tobia, A.J. and McGuire, J.L.: Antagonism of vascular smooth muscle contraction by flunarizine. *Federation Proceeding*, 40, 2862 (1981).
- 32) Silverstein, F.S., Buchanan, K., Hundson, C. and Johnson, M.V.: Flunarizine limits hypoxia-ischemia induced morphologic injury in immature rat brain. *Stroke* 17, 477 (1986).