

신우황청심원액의 뇌허혈 및 중추신경계에 관한 약효연구

조태순* · 이선미 · 이은방¹ · 조성익¹ · 김용기² · 신대희² · 박대규²

성균관대학교 약학대학, ¹서울대학교 천연물과학연구소, ²조선무약(자) 생명과학연구소

Pharmacological Actions of New Woohwangchungsimwon Liquid on Cerebral Ischemia and Central Nervous System

Tai-Soon Cho*, Sun-Mee Lee, Eun-Bang Lee¹, Sung-Ig Cho¹,
Yong-Kee Kim², Dae-Hee Shin² and Dai-kyu Park²

College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University, Suwon 440-746, Korea,

¹Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea,

²Institute of Life Science Research, Cho Seon Pharm. & Trading Co., Ltd., Ansan, Kyunggi-Do 425-120, Korea

(Received October 20, 1997; accepted November 7, 1997)

Abstract – In order to investigate pharmacological properties of New Woohwangchungsimwon Liquid (NCL) and Woohwangchungsimwon Liquid (CL), effects of NCL and CL on cerebral ischemia and central nervous system were compared. Cerebral ischemia insult was performed using unilateral carotid artery occlusion in Mongolian gerbils. The histological observations showed a preventive effect of NCL and CL treatments with ischemia-induced brain damage. The ATP in brain tissue was decreased in vehicle-treated ischemic gerbils. This decrease was prevented by CL treatment. In contrast to what was seen with ATP, the lactate and lipid peroxide were both elevated in vehicle-treated ischemic gerbils. This elevation was inhibited by NCL and CL treatments. While NCL and CL had no effects on the hexobarbital-induced sleeping time, they prevented the seizures induced by electric shock and pentetrazol. NCL and CL showed sedative effect in rotarod and spontaneous activity test. Respiration rate and depth were increased at the high dose of NCL and CL. Furthermore, NCL and CL showed anti-stress effect. Our findings suggest that the pharmacological profile of NCL on cerebral ischemia and central nervous system are similar to that of CL.

Keywords □ New Woohwangchungsimwon Liquid, Woohwangchungsimwon Liquid, cerebral ischemia, central nervous system

고래로부터 현재까지 수백년동안 사용되어 온 우황청심원은 1107년경 태평혜민화제국방에 최초로 수재되었던(진, 1987) 처방으로 제풍, 환종불수, 언어건삽, 심중건망, 황홀거래, 두목현모, 흥중번울, 담연응색, 정신혼쾌, 심기부족, 신지부족, 경공파포, 비우참위, 허번소수, 회로무시, 흑발광전, 정신혼란 등을 치료한다고 하였으며, 허(1987)는 졸중풍의 구급약으로, 이(1981)는 통관, 투기골지제로 제풍완종, 전광, 소아경간 등에, 황(1977)은 척심열, 몽정, 노학, 은진, 소아조민, 항배강직 등에 응용된다고 하였으며, 염(1975)은 고혈압, 동맥경화증, 자율신경실조증, 정신불안증, 히스테리, 불면 등에 진정작용 등이 있다고 과학적으로 연구하여 보고하였다.

이러한 우황청심원환을 약효가 신속하고 복용이 간편한 제형인 액제로 개발하여 시중에 공급되고 있는 우황청심원액의 주약으로 사용되어 온 사향은 사향사슴(*Moschus moschiferus* L.) 또는 그 밖의 근연동물[우제목(*Artiodactyla*) 사슴과(*Cervidae*)]의 수컷의 사향 선분비물로서 강심, 흥분, 개규, 통경, 진정, 진경, 배농, 해독, 구어혈 작용이 있어 중풍, 소아경간, 신혼섬, 심복강통, 심장쇠약, 신경쇠약, 월경곤란, 혈전, 질타손상 등의 치료에 사용되어 오고 있다(김, 1984).

상기의 효능효과를 발현하는 사향은 hexobarbitone에 의한 수면시간을 감소시킴으로써 중추 흥분효과(*Mukhopadhyay* 등, 1973)가 있는 반면, 자발 운동량을 감소시키는 것으로 보아 진정작용(Tokunaga 등, 1987) 등이 있다고 보고하였다. 그밖의 약리작용으로는 남성호르몬양 작용(Sano, 1936; Sano, 1937), 항염증작용(Mishra 등, 1962; Taneja 등,

* To whom correspondence should be addressed.

1973) 등이 보고되어 있다.

그러나, 다양한 약리작용을 발현하고 있는 중요한 고가의 생약재인 사향은 전량 외국으로부터 수입에 의존하고 있으며 최근들어 "멸종 위기에 처한 야생 동식물의 국제 거래에 관한 협약(CITES 협약)"이 발효됨에 따라 사향의 수급이 더욱 어려움에 처해 있는 실정에서 사향의 대체약물의 개발이 절실히 요구되어 최근에 사향의 대체약물인 *l*-muscone을 개발하기에 이르렀다.

l-Muscone의 효능효과에 대하여 조 등(1997)은 뇌허혈 및 중추신경계에 대하여 *l*-muscone은 사향과 유사한 뇌허혈에 대한 개선작용, 중추신경계에 대해 진정작용, 호흡흥분작용 및 항스트레스작용 등을 관찰하여 *l*-muscone이 사향의 대체약물이 될 수 있음을 확인하였다.

이러한 결과를 근거로 하여 조선무약(자) 생명과학연구소에서는 *l*-muscone을 사용하여 각종 성인병(예를 들면, 중풍성질환인 뇌졸중 등 심순환계 질환인 고혈압, 심계항진, 호흡곤란, 뇌질환인 급·만성경풍 등, 스트레스에서 유발되는 각종 질환, 신경성질환인 정신불안, 자율신경불안증 등)의 제증상을 치료 내지 개선의 목적으로 *l*-muscone을 함유하는 새로운 제제인 신우황청심원액[1병(50 ml) 중 원료약품의 조성: 감초 202 mg, 계피 70 mg, 작약 60 mg, 황금 60 mg, 방풍 60 mg, 백출 60 mg, 길경 50 mg, 복령 50 mg, 우황 14 mg, 산약 282 mg, 인삼 97 mg, 포황 100 mg, 신곡 100 mg, 대두황련 70 mg, 아교 70 mg, 맥문동 60 mg, 백련 30 mg, 당귀 60 mg, 시호 50 mg, 행인 50 mg, 천궁 50 mg, 용뇌 41 mg, 영양각 35 mg, 건강 30 mg 및 *l*-muscone 1.5% 과립 5 mg(*l*-muscone으로써 75 µg)]을 개발하게 되었다.

본 연구는 신우황청심원액과 시판품인 우황청심원액의 뇌허혈과 중추신경계에 미치는 영향 등에 대하여 비교효력 시험을 실시한 것이다.

실험방법

실험동물

수컷 Mongolian gerbil은 미국의 Harlan사(Harlan Co., U.S.A.)에서 체중 60 g 내외를 구입하였고, 생쥐는 체중 20~30 g의 ICR계 수컷을, 흰쥐는 체중 200~350 g의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 제일상사로부터 공급받아 동물실 환경에서 1주 이상 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 동물실의 온도는 22~25℃로, 습도는 50±15%로 유지되었고, 명암은 12시간 간격으로 자동조절시켰으며, 실험동물에게는 삼양사(주)의 사료를 급식하였고, 상수를 자유로이 섭취토록 하였다.

시료

신우황청심원액(50 ml) 및 우황청심원액(50 ml)은 조선무약(자)으로부터 제공받아 동결건조 한 다음, 환제(3.75 g)

의 투여 용량과 동일한 용량이 되도록 환산하여 0.5% sodium carboxymethyl cellulose(CMC-Na)-saline액에 현탁시켜 사용하였으며, 체중 kg당 10 ml가 투여 되도록 제조하여 경구투여하였다.

시약

Lactic dehydrogenase(from rabbit muscle), NAD, NADP, Tris-HCl, glycine, hydrazin, hexokinase(Bakers yeast), glucose-6-phosphate dehydrogenase(Bakers yeast), glucose, thio-barbituric acid, chlorpromazine · HCl, *l*-ascorbic acid 등의 시약은 Sigma Chemical Co.(U.S.A)에서 구입하였고, doxapram · HCl은 도프람주사(명문제약)를, 이외에 *n*-butanol, HClO₄ 등은 국내특급시약을 사용하였다.

뇌허혈에 미치는 작용

뇌허혈 유발

Gerbil을 ether 마취하에 수술판에 고정시키고 목의 중앙선을 절개한 후 좌측 경동맥을 미주신경으로부터 분리하여 동맥 clamp로 결찰시켰다. 허혈 20분후 clamp를 빼내어 30분간 재관류시키고 단두치사하여 재빨리 평량하여 뇌시료를 얻었으며, 이를 균질화하여 측정항목을 측정하였다. 신경학적 검사는 허혈 20분후 clamp를 빼내고 절개부위를 봉합하여 24시간동안 재관류시켰다. 24시간 후 gerbil의 신경손상 정도에 따라 4등급으로 나누고 조직검사를 위하여 단두치사하여 뇌를 10% formalin neutral buffer 용액(Sigma Chemical Co., USA)에 10일간 담가둔 후 실험에 이용하였다. 신우황청심원 및 우황청심원은 수술 30분 전에 1회 경구투여하였다.

신경학적검사 및 병리조직검사

신경학적 검사는 수술후 24시간이 경과한 다음 Bederson 등(1986)의 방법에 따라 그 결손정도를 4등급으로 점수화 하였다. 병리조직검사는 조직을 충분히 formalin으로 고정시킨 후 4 mm 두께의 coronal brain slice를 만든 후 조직 내에 남아있는 고정액은 흐르는 수돗물에 충분히 수세하였다. 각 군의 조직을 Autotechnicon(Citadel 2000, Shandon, USA)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 cyto-plate에 올려놓고 굳은 후 base mold를 떼어놓았다. Paraffin block을 microtome에서 2 µm 두께로 자른 후 슬라이드 글라스위에 올려 60℃ hot plate에서 건조부착시켰다. 절편이 부착된 슬라이드 글라스를 60℃의 oven에 넣어 조직 이외의 paraffin을 녹이고 xylene에서 10분씩 3회 처리한 후 100%, 95%, 80% 및 70% ethanol 순으로 2회씩 2분간 처리하여 함수시켰다. H & E(hematoxylin 및 eosin)염색은 함수과정후 탈이온수에서 10분간 처리한 후 Harris's hematoxylin으로 염색하였

다. 현미경 검경은 카메라가 부착된 현미경(Nikon Diaphot 300, Japan)에서 40배율 및 200배율로 하였다.

뇌시료의 추출

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

ATP함량 측정

ATP의 측정은 Lamprecht와 Trautschold(1974)의 방법에 따라 hexokinase와 glucose 6-phosphate dehydrogenase에 의해 생성되는 NADPH를 spectrophotometer를 사용하여 340 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 물질의 양은 흡광도의 차이에 희석배율을 곱하여 NADPH의 분자흡광계수로 나눈 것으로 그 값을 $\mu\text{mole/g brain tissue}$ 로 나타내었다.

Lactate함량 측정

Lactate의 측정은 Gutmann과 Wahlefeld(1974)의 방법에 따라 lactate dehydrogenase와 NAD에 의해 생성된 NADH를 ATP 측정항에서와 동일하게 340 nm에서 그의 흡광도를 측정하였으며 그 값을 $\mu\text{mole/g brain tissue}$ 로 나타내었다.

Lipid peroxidation 측정

지질과산화는 Masugi와 Nagamura(1976)의 방법에 준하여 thiobarbituric acid(TBA) assay를 사용하여 535 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 표준액으로는 1,1,3,3-tetraethoxypropane을 사용하였다.

Protein 함량은 Bradford(1976)의 방법에 따라 bovine serum albumin을 표준용액으로 사용하여 정량하였다.

중추신경계에 미치는 작용

Hexobarbital 유도 수면시간에 대한 작용

웅성 생쥐에 hexobarbital · Na 50 mg/kg을 복강주사한 후, 정향반사가 상실되기 시작한 시각과 회복될 때까지의 시간을 측정하였다. 1군을 10마리로 하여 검체를 hexobarbital · Na 투여 30분 전에 경구투여하였고, 대조약물은 chlorpromazine · HCl을 사용하였다.

최대 전기 자극에 대한 작용

최대 전기 자극은 Woodbury 등(1952)의 방법을 참고로 하여 실시하였다. 생쥐 10마리를 1군으로 하여, 양눈에 50 mA의 전류를 0.1초간 통전하였다. 이에 따른 강직성 경련에 의한 생쥐의 사망수를 계수하고, 생존하는 생쥐는 경련 발현 후, 정상으로 회복될 때까지의 시간을 측정하였다. 검체는 전기 자극을 가하기 30분 전에 경구로 투여하였고, 대조약물로는 phenobarbital · Na을 사용하였다.

Pentetrazol 유발 경련에 대한 작용

Swinyard 등(1952)의 방법에 준하여 실시하였다. 즉, pentetrazol 85 mg/kg을 생쥐에 피하주사하고, 간대성 경련이 유발될 때까지의 시간을 측정하였다. 검체는 경련 유발 30

분 전에 경구투여하였고, 대조약물로는 phenobarbital · Na을 사용하였으며, 1군당 10마리의 생쥐를 사용하였다.

Rotarod 시험

Dunham 등(1957)의 방법을 응용하여 직경 3 cm, 8 rpm으로 회전하는 회전봉에 3분 이상 견디는 생쥐 12마리를 1군으로 선별하여, 2회 반복 훈련시키고, 1시간 후에 본 실험을 실시하여 3분내 떨어지는 생쥐를 계수하였다. 검체는 30분전 경구투여하였으며, 양성대조약물은 chlorpromazine · HCl을 사용하였다.

자발운동능에 대한 시험

생쥐의 운동에 따라 활동횟수가 기록되는 activity cage를 이용하여 Nahorski (1975)의 방법에 준하여 실시하였다. 체중 23~30 g 웅성 생쥐 8마리를 1군으로 하여, 2마리씩 한 cage에 넣어 30분간 적응시키고 검체를 경구투여하여 45분 후 15분 동안의 자발운동성을 측정하였다. 양성대조약물은 chlorpromazine · HCl을 사용하였다.

호흡근란에 미치는 작용

Matsubara(1990)의 방법을 참고로 하여, urethane으로 마취하여 호흡을 억제한 상태에서 검체의 호흡에 미치는 영향을 검토하였다. Urethane 2.0 g/kg을 피하주사하여 마취시킨 흰쥐를 고정판 위에 고정하고, pneumatic pulse transducer를 횡경막 부근의 복부에 두른 뒤, physiograph의 universal coupler에 연결하여 호흡을 측정하였다. 꼬리부는 실험중 계속 37°C로 일정하게 유지되는 온도조절판 위에 위치하도록 하였고, 항온 항습 상태에서 호흡이 안정되고 난후, 검체를 꼬리정맥내에 주사하였다. 검체 투여전 및 투여후 3분 및 10분후의 대분당 호흡수와 호흡심도를 측정하여, 투여전의 측정치에 대한 투여 후의 측정치의 증감 변화율을 %로서 환산하여, 0.5% CMC-saline 투여군과 검체투여군에서의 차이를 비교하였다.

스트레스에 미치는 작용

스트레스부과

스트레스 부과 24시간 전에 절식시킨 웅성 흰쥐를 metal tube restrainer(Natume, Japan)에 구속시켜, 20±2°C가 유지되는 water bath내에 수침시켜 24시간 동안 수침 구속스트레스를 부과하였다. 약물은 스트레스 부과 2시간전, 부과 4, 19시간 후에 각각 투여하였다. 스트레스 부과 24시간후 ether 마취하에 개복하여, 장기를 적출하여 실험에 사용하였다.

장기무게의 측정

흰쥐의 복부를 절개하여 비장을 적출하고 장기 주위를 둘러싸고 있는 지방조직을 제거한 후 무게를 측정하였다. 부신도 적출한 후 피막을 완전히 제거하였으며 양쪽 부신을 합하여 무게를 측정하였다.

부신내 ascorbic acid 함량 측정

무게가 측정된 부신을 5% trichloroacetic acid(TCA)용액 1 ml에 넣고 약 30초간 균질화시킨 다음, 13000 rpm에서

10분간 원심분리 한후 상등액을 취하였다. 정량반응을 위하여 5% TCA 용액에 상등액 0.5 ml를 혼합하고 0.1 ml H₃PO₄(85%), 0.8 ml dipyrityl(1 w/v%), 0.1 ml ferric chloride(3 w/v%)를 차례로 첨가하였다. 시약을 완전히 섞고 상온에서 15분간 방치한 후 525 nm에서 흡광도를 측정하여 부신중의 ascorbic acid 함량을 측정하였다(Zannoni 등, 1974).

통계처리

모든 실험결과는 평균치와 표준오차를 사용하여 나타내었고, 각 군간의 비교는 Student's *t*-test 및 χ^2 -test를 사용하였으며, 대조군과 비교하여 P값이 5% 미만일 때를 통계학적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

실험결과

뇌허혈에 미치는 영향

병리조직검사

Table I 및 Fig. 1에서 보는 바와 같이 뇌허혈 및 재관류 대조군은 뇌신경세포괴사와 세포부종 및 출혈이 극심하였다. 신우황청심원액 1,000 mg/kg, 2,000 mg/kg, 4,000 mg/kg 투여군에서는 허혈에 의한 뇌신경세포손상을 억제하여 거의 정상 소견을 나타내었으며, 우황청심원액 또한 2,000 mg/kg 및 4,000 mg/kg 투여군에서 거의 정상 소견을 보였다.

신경학적검사

Table II에서 보는 바와 같이 허혈후 24시간이 지난 다음 신경 결손정도는 신우황청심원액 및 우황청심원액군 모두에서 대조군과 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다.

ATP 함량

Table III에서 보는 바와 같이 정상 gerbil brain에서의 ATP 함량은 0.90 μ mole/g brain tissue였으나, 허혈 20분후 재관류 30분에 0.22 μ mole/g brain tissue까지 급격히 감소하였

다. 신우황청심원액군에서는 대조군과 차이를 나타내지 않았으나, 우황청심원액은 1,000 mg/kg 투여군에서 대조군에 비해 유의성있는 ATP 증가를 나타내었다.

Lactate 함량

Table III에서 보는 바와 같이 정상 gerbil brain에서의 lactate 함량은 6.33 μ mole/g brain tissue였으나, 허혈 및 재

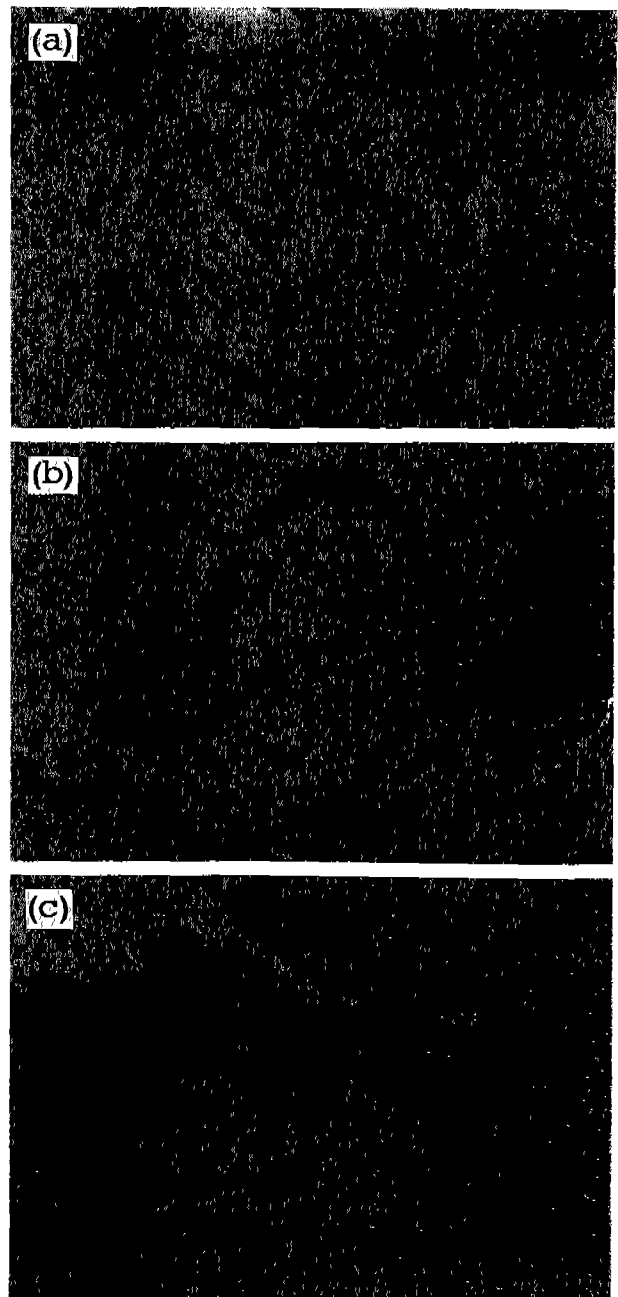


Fig. 1. Representative photomicrographs of neuronal preservation in 2- μ m H & E-stained sections from vehicle-treated (A), and 2,000 mg/kg NCL-treated (B) 2,000 mg/kg CL-treated (C) gerbil brain 24 hrs after 20 min unilateral carotid artery occlusion ($\times 40$). This photo also shows hippocampal field.

Table I. Histological evidences for neuroprotective effects of NCL and CL from ischemia-induced brain damage

Treatment	n	Dose (mg/kg, p.o.)	Neuronal necrosis	Edema	Hemorrhage
Control	5	-	+++	+++	+++
NCL	5	500	++	++	++
	5	1,000	+	+	+
	5	2,000	+	-	-
	5	4,000	+	-	-
	5	500	+++	++	++
CL	5	1,000	++	+	+
	5	2,000	+	+	+
	5	4,000	+	-	+

-; none, +; mild, ++; moderate, +++; severe. n=number of animals in each group. NCL; New Woohwangchungsimwon Liquid, CL; Woohwangchungsimwon Liquid.

Table II. Effects of NCL and CL on neurological change after ischemia in gerbils

Treatment	Dose (mg/kg, p.o.)	Neurological grade
Control		1.38±0.26
NCL	500	1.60±0.40
	1,000	1.40±0.40
	2,000	2.00±0.45
	4,000	1.00±0.00
CL	500	1.00±0.00
	1,000	1.40±0.40
	2,000	1.40±0.40
	4,000	1.00±0.00

Values are means±S.E. for 5 to 8 gerbils per group.

NCL; New Woohwangchungsimwon Liquid, CL; Woohwangchungsimwon Liquid.

관류를 실행한 대조군에서는 9.72 μ mole/g brain tissue로 유의성 있게 증가하였다. 우황청심원액과 신우황청심원액 투여군에서 대조군과 유의성 있는 차이를 나타내었으며, 특히 신우황청심원액은 4,000 mg/kg 투여군과 우황청심원액 2,000 mg/kg 투여군은 정상군에서와 비슷한 lactate 함량을 나타내었으며, 우황청심원액 1,000 mg/kg 투여군에서도 대조군에 비하여 유의성 있는 감소를 나타내었다.

Lipid peroxidation 측정

Table III에서 보는 바와 같이 정상 gerbil brain에서 lipid peroxidation의 지표인 MDA는 2.69 nmole/mg protein 이었으나, 허혈 및 재관류 후 4.32 nmole/mg protein으로 유의성 있게 증가하였다. 신우황청심원액은 2,000 mg/kg 및 4,000 mg/kg 투여군에서 대조군에 비해 MDA량이 유의성 있게 감소하였으며, 우황청심원액은 1,000 mg/kg, 2,000 mg/kg 및 4,000 mg/kg 투여군에서 대조군에 비해 유의성 있게 감소하였다.

중추신경계에 미치는 영향

Hexobarbital 유도 수면시간에 대한 작용

신우황청심원액 및 우황청심원액의 수면시간에 미치는 작용을 Table IV에 표시하였다. Chlorpromazine · HCl 4 mg/kg을 투여시에 생쥐의 수면에 이르는 시간이 대조군에

Table III. Effects of NCL and CL on levels of ATP, lactate, and lipid peroxide in gerbil brain following ischemia and reperfusion

Treatment	Dose (mg/kg, p.o.)	ATP (μ mole/g brain)	Lactate (μ mole/g brain)	MDA (nmole/mg protein)	
Normal		0.90±0.16	6.33±0.16	2.69±0.13	
Control		0.22±0.03 ^{###}	9.72±1.35 [#]	4.32±0.30 ^{###}	
	NCL	500	0.22±0.02 [#]	7.42±0.57 [#]	3.81±0.06 ^{###}
		1,000	0.25±0.03 [#]	6.58±0.33	4.19±0.12 ^{###}
		2,000	0.24±0.02 [#]	6.72±0.06	2.96±0.08 ^{**}
CL	4,000	0.29±0.03 [#]	6.41±0.08 [*]	3.33±0.12 ^{**#}	
	500	0.35±0.09 [#]	7.12±0.45	3.56±0.16 ^{###}	
	1,000	0.40±0.10 ^{**}	5.44±0.09 ^{**##}	3.46±0.11 ^{###}	
	2,000	0.18±0.03 ^{###}	6.17±0.31 [*]	3.16±0.14 ^{**#}	
	4,000	0.22±0.02 [#]	6.70±0.66	3.44±0.05 ^{###}	

Values are means±S.E. for 5 to 10 gerbils per group. Significantly different from the control group (*p<0.05, **p<0.01 in Student's *t*-test). Significantly different from the normal group ([#]p<0.05, ^{##}p<0.01 in Student's *t*-test). NCL; New Woohwangchungsimwon Liquid, CL; Woohwangchungsimwon Liquid.

비하여 유의성 있는 단축을 보였으며, 수면시간은 유의성 있는 연장을 나타내었으나, 신우황청심원액 및 우황청심원액 투여군에서는 수면도달 및 수면지속시간이 대조군에 비하여 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다.

최대 전기 자극에 대한 작용

신우황청심원액 및 우황청심원액의 전기자극 경련에 대한 길항성에 대하여 실험한 결과를 Table V에 표시하였다. 대조군에서 70%의 사망율을 나타내었는데, phenobarbital · Na 50 mg/kg의 용량 투여로 사망이 완전히 길항되었다. 신우황청심원액은 2,000 mg/kg 및 4,000 mg/kg의 용량으로 투여하였을 때 사망율을 각각 60 및 40%로 억제하였고, 경련시간 또한 대조군에 비하여 유의성있게 단축시켰다. 우황청심원액의 경우도 2,000 mg/kg 및 4,000 mg/kg의 용량에서 사망율을 각각 40 및 30%로 저하시켰으며, 경련시간 또한 대조군에 비하여 유의성있게 단축시켰다.

Pentetrazol 유발 경련에 대한 작용

Table IV. Effects of NCL and CL on hexobarbital-induced sleeping time

Treatment	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of mice	Onset of sleeping (sec)	Sleeping time (sec)	Increment (%)
Control		10	208.6±24.1	370.7±56.2	-
NCL	2,000	10	224.8±8.6	302.2±43.3	-18.5
	4,000	10	230.0±29.6	308.8±33.4	-16.7
CL	2,000	10	226.7±34.1	342.1±47.7	-7.7
	4,000	10	211.6±19.3	334.4±46.6	-9.8
Chlorpromazine · HCl	50	10	137.6±13.1 [*]	1022.5±161.6 ^{**}	175.8

Significantly different from the control group (*p<0.05, **p<0.01 in Student's *t*-test). NCL; New Woohwangchungsimwon Liquid, CL; Woohwangchungsimwon Liquid.

Table V. Effects of NCL and CL on maximal electric shock-induced seizures

Treatment	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of tested mice	No. of survived mice	Death rate (%)	Convulsion time (sec)	Death time (sec)
Control		10	3	70	133.0±12.7	28.9±3.4
NCL	2,000	10	4	60	67.8± 8.7**	34.8±4.4
	4,000	10	6	40	69.5±12.7*	35.3±4.2
CL	2,000	10	6	40	67.8±11.9*	31.0±5.2
	4,000	10	7	30	58.1± 5.7**	25.5±1.2
Phenobarbital · Na	50	10	10 [#]	0	14.6± 1.5**	-

Significantly different from the control group (#; p<0.05 in χ^2 -test, *, p<0.05, **, p<0.01 in Student's *t*-test).

NCL; New Woohwangchungsimwon Liquid, CL; Woohwangchungsimwon Liquid.

Table VI. Effects of NCL and CL on pentetrazol-induced seizures

Treatment	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of used mice	No. of convulsed mice	Onset of convulsion (sec)	Increment (%)
Control		10	10	120.6± 10.0	-
NCL	2,000	10	10	200.7± 49.0	66.4
	4,000	10	10	252.0± 94.3	109.0
CL	2,000	10	10	160.1± 31.9	32.8
	4,000	10	10	271.5±102.1	125.1
Phenobarbital · Na	100	10	0*	-	-

Significantly different from the control group (*p<0.01 in χ^2 -test). NCL; New Woohwangchungsimwon Liquid, CL; Woohwangchung-

신우황청심원액과 우황청심원액 투여에 따른 pentetrazol 유발 경련에 대한 영향을 Table VI에 표시하였다. Phenobarbital · Na 100 mg/kg 투여시에 생쥐 10마리가 모두 경련을 억제하였다. 신우황청심원액 2,000 mg/kg 및 4,000 mg/kg을 투여한 경우 사망률에는 영향이 없었으나, 경련도달시간을 각각 66.4% 및 109.0%로 지연시켰다. 우황청심원액 2,000 mg/kg 및 4,000 mg/kg 투여한 경우 역시 사망률에는 영향이 없었으나, 경련도달시간을 각각 32.8% 및 125.1% 지연시켰다.

Rotarod 시험

Table VII에서 보는 바와 같이 rotarod 시험에서는 정상군

은 낙하생쥐가 한 마리도 없는 반면 신우황청심원액의 경우 500 mg/kg, 1,000 mg/kg 및 4,000 mg/kg 투여군에서 낙하생쥐가 각각 4마리, 5마리 및 4마리로 유의성있는 진정작용을 나타내었다. 우황청심원액의 경우 2,000 mg/kg 및 4,000 mg/kg 투여군에서는 낙하생쥐수가 각각 4마리로 유의성있는 진정작용을 나타내었다.

자발운동능에 대한 작용

Table VIII에서 보는 바와 같이 자발운동능 정상군은 1087.8이었으나, 신우황청심원액 500 mg/kg, 1,000 mg/kg 및 2,000 mg/kg 투여군에서 각각 689.8, 552.5, 718.5로 유

Table VII. Effects of NCL and CL on rotarod test in mice

Treatment	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of tested mice	No. of fallen mice
Control		12	0
NCL	500	12	4*
	1,000	12	5*
	2,000	12	1
	4,000	12	4*
CL	500	12	0
	1,000	12	1
	2,000	12	4*
	4,000	12	4*
Chlorpromazine · HCl	10	12	10**

Significantly different from the control group (*p<0.05, **p<0.01 in χ^2 -test). NCL; New Woohwangchungsimwon Liquid, CL; Woohwangchungsimwon Liquid.

Table VIII. Effects of NCL and CL on spontaneous activities in mice

Treatment	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of mice	Spontaneous activity (M.±S.E.)
Control	-	8	1087.8±38.8
NCL	500	8	689.8±116.0*
	1,000	8	552.5±136.3**
	2,000	8	718.5±107.0*
	4,000	8	930.8±122.1
CL	500	8	621.3±67.2**
	1,000	8	751.8±83.3*
	2,000	8	998.5±51.0
	4,000	8	1025.3±89.1
Chlorpromazine · HCl	5	10	312.8±78.9**

Significantly different from the control group (*p<0.05, **p<0.01 in Student's *t*-test). NCL; New Woohwangchungsimwon liquid, CL; Woohwangchungsimwon liquid

Table IX. Effects of NCL on the respiration suppressed by urethane in rats

Treatment	Dose (mg/kg, <i>i.v.</i>)	No. of rats	Respiration rate (% change)		Respiration depth (% change)	
			3 min ¹	10 min	3 min	10 min
Control		7	3.8±3.7	2.1±2.9	1.1±1.2	-2.1±2.2
NCL	20	4	13.2±13.2	5.9±5.4	35.9±39.8	19.9±24.6
	50	3	6.2±4.1	6.1±3.4	0.5±6.4	-6.8±5.1
	100	3	3.9±2.2	2.7±3.4	-6.3±5.0	-5.3±5.8
	250	3	13.0±5.5	5.9±6.9	3.3±7.1	20.6±3.4**
Doxapram · HCl	20	5	32.0±13.1*	-2.9±8.1	58.3±28.2**	40.3±16.1*

Significantly different from the control group (**p*<0.05, ***p*<20.01 in Student's *t*-test). ¹time after drug dose. NCL; New Woohwangchungsimwon Liquid.

Table X. Effects of CL on the respiration suppressed by urethane in rats

Treatment	Dose (mg/kg, <i>i.v.</i>)	No. of rats	Respiration rate (% change)		Respiration depth (% change)	
			3 min ¹	10 min	3 min	10 min
Control		6	7.8±3.9	5.6±2.6	-1.7±1.3	-4.0±3.9
CL	20	3	-2.3±1.8	-4.1±4.4	-3.7±2.7	-7.8±4.9
	50	4	3.3±4.2	7.0±4.2	2.9±4.0	0.2±3.9
	100	4	7.4±1.5	9.6±4.7	6.0±7.7	3.8±5.5
	250	4	12.1±3.5	1.9±3.6	14.9±10.9	5.1±10.4
Doxapram · HCl	20	5	34.3±10.4*	-5.0±8.8	59.7±20.9*	38.8±14.5*

Significantly different from the control group (**p*<0.05 in Student's *t*-test). ¹time after drug dose. CL; Woohwangchungsimwon Liquid.

의성있는 감소를 나타내었고, 우황청심원액 500 mg/kg 및 1,000 mg/kg 투여군에서 각각 621.3, 751.8로 유의적으로 감소하였다.

호흡곤란에 미치는 영향

Urethane 투여로 인하여 억제된 호흡에 미치는 신우황청심원액 및 우황청심원액의 영향을 Table IX와 X에 나타내었다. 신우황청심원액은 20, 50 및 100 mg/kg을 정맥내 투여시, 호흡에 거의 영향이 없었다. 그러나 250 mg/kg 용량 투여시 약간의 호흡수 증가 경향과, 유의적인 호흡심도의 증가가 있었다. 우황청심원액은 20, 50, 100 mg/kg을 정맥내 투여시 호흡에 거의 영향이 없었다. 그러나 250 mg/kg 용량 투여시 초반에 약간의 호흡수의 증가와 호흡심도의 증가 경향이 있었으나, 유의적이 아니었고 미약하였으며, 양성대조군으로 사용된 doxapram · HCl은 유의적인 호흡수의 급증(약 34%)과 호흡심도의 현저한 증가(약 39~60%)를 나타냈다. 이상의 결과는 두 검체가 미약하나 고용량에서 호흡속도 증가와 호흡심도 증가 경향을 갖는다는 점에서 유사한 작용을 보였다.

KCN으로 유발된 혼수시간에 미치는 영향을 Table XI에 나타내었다. 신우황청심원액 및 우황청심원액 투여군은 KCN으로 유발된 혼수시간에 있어서 대조군에 대하여 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 두 검체간에도 별다른 차이를 나타내지 않았다.

스트레스에 미치는 영향

신우황청심원액과 우황청심원액의 효과를 살펴보면

Table XII에서 보는 바와 같이 스트레스 24시간 부과시 부신비대에 있어 신우황청심원액 500 mg/kg 및 1,000 mg/kg 투여군에서, 우황청심원액 500 mg/kg 및 4,000 mg/kg에서 대조군에 비해 유의적으로 감소되었으나 용량 의존적이지는 않았다. 비장의 무게는 스트레스 부과에 의해 현저한 감소를 보였으며 이러한 감소는 신우황청심원액과 우황청심원액 투여군 모두에서 억제되지 않았다. 부신내 ascorbic acid 함량은 24시간 스트레스 유도에 의해 현저히 감소되었으며 이러한 감소는 신우황청심원액 500 mg/kg, 1,000 mg/kg 및 4,000 mg/kg 투여군에서 대조군에 비해 유의적으로 억제되었으며, 우황청심원액 모든 투여용량에서 대조군에 비해 유의적으로 억제되었다. 신우황청심원액 1,000 mg/kg 투여군 및 우황청심원액 500 mg/kg, 1,000 mg/kg 투여군에서는 정상적인 흰쥐의 부신내 ascorbic acid 함량치까지

Table XI. Effects of NCL and CL on the respiration suppressed by KCN in mice

Treatment	Dose (mg/kg, <i>p.o.</i>)	No. of mice	Duration of coma (sec, M.±S.E.)	Increment (%)
Control	-	10	107.7±12.5	-
NCL	2,000	10	127.8±26.3	18.7
	4,000	10	124.7±20.7	15.8
CL	2,000	10	135.6±19.2	25.9
	4,000	10	137.4±18.3	27.6

NCL; New Woohwangchungsimwon Liquid, CL; Woohwangchungsimwon Liquid.

Table XII. Effects of NCL and CL on adrenal weight, spleen weight and adrenal ascorbate in restraint stress-induced rats

Treatment	Dose (mg/kg, p.o.)	Adrenal wt. (mg/100 g b.wt.)	Spleen wt. (mg/100 g b.wt.)	Adrenal ascorbate (mg/100 g ad. wt.)
Normal		16.5±0.3	342.4±22.2	698.3±39.2
Control		20.8±0.8 ^{###}	178.9±15.1 ^{###}	443.8±45.0 ^{###}
NCL	500	18.0±0.5 ^{**}	151.2±8.5 ^{###}	859.8±21.2 ^{**###}
	1,000	18.6±0.5 ^{**###}	168.6±8.9 ^{###}	790.3±26.5 ^{**}
	2,000	19.3±0.8 ^{###}	195.1±11.0 ^{###}	542.0±39.8 [#]
	4,000	18.6±0.7 [#]	179.5±9.6 ^{###}	571.4±17.0 ^{**}
CL	500	17.9±0.5 ^{**}	159.4±9.4 ^{###}	638.8±13.1 ^{**}
	1,000	21.2±0.6 ^{###}	184.6±7.2 ^{###}	600.0±24.2 ^{**}
	2,000	21.0±0.6 ^{###}	210.1±17.5 ^{###}	564.0±22.9 ^{**}
	4,000	18.1±0.4 ^{**###}	183.8±9.8 ^{###}	599.8±17.6 ^{**}

Values are means±S.E.M. for 7 rats per group. Significantly different from the control group (*p<0.05, **p<0.01 in Student's *t*-test). Significantly different from the normal group (#p<0.05, ###p<0.01 in Student's *t*-test). NCL; New Woohwangchung-simwon Liquid, CL; Woohwangchungsimwon Liquid.

회복시켰다.

고 찰

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

뇌허혈이 초래된 후 나타나는 신경변성은 해마, 대뇌피질, 선조체 및 소뇌 등의 지역에 선택적으로 일어난다 (Fagg 등, 1983 ; Fonnum, 1984). 특히 해마의 CA1 부위 피라미드형 세포는 허혈에 매우 민감하여 (Ito 등, 1975; Diemer와 Siemkowitz, 1981; Kirino, 1982; Pulsinelli, 1982) 허혈성 신경 변성의 기전 연구에 중요한 대상이 되고 있다.

이와같이 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 이용되어져 왔다. 즉, global brain ischemia의 경우 개와 같은 대동물 또는 본 실험에 이용한 Mongolian gerbil(*Meriones unguiculatus*)이 재현성 있고 유용한 동물모델로 확립되어 있으나(Lysko 등, 1992; Hofer 등, 1993) focal brain ischemia 동물모델에 대해서는 여전히 많은 논란이 있다(Agnati 등, 1991; Tamura 등, 1984).

또한, 최근에는 분자생물학적 방법이 진보됨에 따라 유전자 변이 마우스가 뇌허혈 병태 해명에 응용되나 이 역시 아직도 선택적 뇌신경세포괴사가 불분명하여 이에 대한 연구가 더 진행되어야 한다(寺島豊秋 등, 1995).

본 연구에서 신우황청심원액과 우황청심원액은 병리조직검사에서 해마부위의 뇌신경세포괴사, 부종 및 충혈을 용량의존적으로 억제하여 뇌신경세포 손상을 억제하였다.

뇌허혈에 대한 정확한 발생기전은 아직 알려져 있지 않으나, Mies 등(1990)은 허혈성 뇌에서 에너지대사 관련물질(ATP와 그의 대사체)을 측정하여 glucose 이용률의 저하를 보고하였으며, Sokoloff 등(1977)도 같은 결과를 보여 주었으나, 이와는 달리 Munekata와 Hossmann(1987)은 허혈후 재판류 초기의 영양분의 공급감소와 저산소가 에너지 대사의 손상을 야기시키지는 않는다고 한다. 과혈당(hyperglycemia)은 일시적인 뇌허혈에 의해 야기되는 뇌손상을 증가시킨다(Kalimo 등, 1981). 이와 같은 현상에 대해 정확한 작용기전은 알 수 없으나, 뇌허혈중 과혈당은 뇌내 젖산증가(Combs 등, 1990)와 산증(acidosis)을 가속화시키므로(Smith 등, 1986) 많은 연구자들은 이 두가지 현상이 뇌허혈 손상의 잠재적인 매개체라 여기고 있다. 실제로 Combs 등(1986)의 연구에 따르면 해당작용(glycolysis)을 차단하면 과혈당으로 인한 뇌허혈 사망률을 줄일 수 있다고 한다.

본 연구결과에서 뇌허혈 및 재판류로 인한 ATP 감소의 억제를 우황청심원액 1,000 mg/kg 용량에서만 억제하였고, 신우황청심원액 투여군에서는 대조군과 차이가 없었다. Lactate 함량은 신우황청심원액 4,000 mg/kg 투여군에서, 우황청심원액 1,000 mg/kg 및 2,000 mg/kg 투여군에서 대조군에 비해 유의성있는 젖산 생성억제효과를 보여주었다.

한편, 뇌허혈이 지속되는 시간이 길고 그 정도가 심하다면 뇌허혈만으로도 뇌손상을 초래할 수 있다. 그러나, 대부분의 뇌허혈은 일시적이며 뇌허혈 당시보다는 재판류시에 산소가 조직으로 다시 공급될 때 조직손상이 일어난다(Hall 등, 1988). 재판류 손상 기전 중에서 활성산소(free radical)의 역할에 많은 관심이 모아지고 있다. 뇌허혈 기간동안 칼슘이 증가된 상태에서 산소가 재공급 되면 xanthine oxidase나 NADPH에 의해 산소분자는 superoxide anion(O₂⁻)으로 변화된다. 이렇게 생성된 O₂⁻는 정상상태에서는 효소에 의해 물과 산소분자로 변화되거나 무독화되거나 뇌허혈 상태에서는 이들 효소가 감소되고 O₂⁻ 및 과산화수소와 같은 산소대사물 생성이 오히려 많아지므로 O₂⁻와 과산화수소는 세포막을 통과하여 비교적 항산화 방어기전이 적게 작용하는 세포외 공간으로 이동하게 된다. 또한 이들은 Fe²⁺의 존재하에서 독성이 매우 강한 hydroxyl radical로 쉽게 전환되어 여러 효소의 기능을 변동시키거나 지질 과산화(lipid peroxidation)를 일으켜 막의 유동성과 막을 통한 이온의 농도차(ionic gradient)를 변동시켜 세포손상을 일으킨다

(Snelling 등, 1987).

본 연구에서 뇌허혈 및 재관류는 뇌내 지질과산화량을 증가시켰으며, 신우황청심원액은 비교적 고용량인 2,000 mg/kg 및 4,000 mg/kg 투여군에서 대조군에 비해 MDA량을 유의성있게 감소하였으며, 우황청심원액은 1,000 mg/kg, 2,000 mg/kg 및 4,000 mg/kg 투여군에서 대조군에 비해 유의성 있게 감소하였다. 이러한 결과를 통하여 신우황청심원액 및 우황청심원액은 세포내 에너지대사 개선작용 및 lipid peroxidation 등을 억제하는 항산화작용 등을 통하여 뇌신경세포손상을 억제하는 작용이 있음을 알수 있었다.

중추신경계에 미치는 영향으로는 hexobarbital 유발 수면 시간에 영향을 주지 않는 것으로 보아 중추에 대한 흥분작용은 인정할 수 없었으나, rotarod 시험에서 신우황청심원액 500 mg/kg, 1,000 mg/kg, 4,000 mg/kg 및 우황청심원액 1,000 mg/kg, 2,000 mg/kg 투여군에서 정상군에 비해 유의성있는 억제작용과 자발운동능시험에서 신우황청심원액 500 mg/kg, 1,000 mg/kg, 2,000 mg/kg 및 우황청심원액 500 mg/kg, 1,000 mg/kg 투여군에서 정상군에 비해 유의성있는 자발운동능 감소작용이 있어 진정작용이 있음을 알수 있었다.

경련에 대해서는 신우황청심원액과 우황청심원액의 모든 투여군에서 전기자극경련에 의한 사망율의 감소와 경련 시간의 단축을 보였으며, pentetazol 유발경련에 대하여 경련도달시간을 지연시키는 작용이 있어 항경련작용이 인정되었다.

호흡곤란에 미치는 영향을 알아보기 위하여 urethane 투여로 인하여 억제된 호흡에 미치는 영향을 검색한 결과 신우황청심원액 및 우황청심원액은 미약하나 고용량에서 호흡속도 증가와 호흡심도를 증가시키는 경향을 갖으며, KCN으로 유발된 혼수상태에서의 호흡부전에 대하여 영향을 검토했던 결과 두 검체 모두 별다른 영향이 없었다.

또한, 구속스트레스가 흰쥐에 부과되었을 때 부신의 비대 및 부신의 ascorbic acid의 함량 감소, 비장의 위축들을 평가지표로 하여 신우황청심원액 및 우황청심원액의 항스트레스 효과를 살펴본 결과 모두 비장 위축에는 별작용이 없었으나, 부신의 비대를 억제하는 작용 및 부신내 ascorbic acid 함량을 증가시키는 작용이 있어 항스트레스 작용이 있음을 알수 있었다.

이러한 실험결과를 통해 신우황청심원액은 뇌허혈에 대한 개선작용, 중추신경계에 대해 진정작용, 호흡흥분작용 및 항스트레스작용 등의 효과가 있음을 확인하였으며, 그 작용은 우황청심원액과 대체적으로 비슷하였다.

감사의 말씀

이 실험은 1996년도 조선무약(자)의 연구비 지원에 의하

여 수행되었으며, 본 실험을 수행하는데 도와주신 성균관대학교 약학대학원 이유범, 윤기욱, 이해리씨께 감사드립니다.

참고문헌

- Agnati, L. F., Zoli, M., Kurosawa, M., Benfenati, F., Biagini, G., Zini, I., Hallstrom, A., Ungerstedt, U., Toffano, G. and Fuxe, K. (1991). A new model of focal brain ischemia based on the intracerebral injection of endothelin-1. *Ital. J. Neurol. Sci., Suppl.* 2, 49-53.
- Bederson, J. B., Pitts, L. H., Germano, S. M., Nishimura, M. C., Davis, R. L. and Bartkowski, H. M. (1986). Evaluation of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride as a stain for detection and quantification of experimental cerebral infarction in rats. *Stroke* 17, 1304-1308.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method of the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248.
- Combs, D. J., Dempsey, R. J., Maley, M., Donaldson, D. and Smith, C. (1990). Relationship between plasma glucose, brain lactate, and intracellular pH during cerebral ischemia in gerbils. *Stroke* 21, 936-942.
- Combs, D. J., Reuland, D. S., Martin, D. B., Zelenock, G. B. and D'Alecy, L. G. (1986). Glycolytic inhibition by 2-deoxyglucose reduces hyperglycemia-associated mortality and morbidity in the ischemic rat. *Stroke* 17, 989-994.
- Diemer, N. H. and Siemkiewicz, E. (1981). Regional neuron damage after cerebral ischemia in normo- and hypoglycemic rats. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 7, 217-227.
- Dunham, N. W., Miya, T. S. and Edwards, C. D. (1957). Pharmacological activity of a series of basic esters mono- and dialkyl malonic acid. *J. Am. Pharm. Assoc.* 46, 208-209.
- Fagg, G. E. and Foster, A. C. (1983). Amino acid transmitters and their pathways in the mammalian central nervous system. *Neuroscience* 9, 701-709.
- Fonnum, F. (1984). A neurotransmitter in mammalian brain. *J. Neurochem.* 42, 1-11.
- Gutmann, I. and Wahlefeld, A. W. (1974). Determination with lactate dehydrogenase and NAD in *Methods of Enzymatic Analysis*. Verlag Chemie Academic Press.
- Hall, E. D., Pazara, K. E. and Braughler, J. M. (1988). 21-Aminosteroid lipid peroxidation inhibitor U74006F protects against cerebral ischemia in gerbils. *Stroke* 19, 997-1002.
- Hofer, R. E., Christopherson, T. J., Scheithauer, B. W., Milde, T. H. and Lanier, W. L. (1993). The effect of a platelet activating factor antagonist (BN52021) on neurologic outcome and histopathology in a canine model of complete cerebral ischemia. *Anesthesiol.* 79, 347-353.
- Ito, U., Spatz, M., Walker, J. T. Jr. and Klatzo, I. (1975). Experimental ischemia in mongolian gerbils I. light microscopic observations. *Acta Neuropathol. (Berl)* 32, 209-223.
- Kalimo, H., Rehncrona, S., Soderfeldt, B., Olsson, Y. and Siesjo, B. K. (1981). Brain lactic acidosis and ischemic cell damage: 2. Histopathology. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1, 313-327.

- Kirino, T. (1982). Delayed neuronal death in gerbil hippocampus following ischemia. *Brain Res.* **239**, 57-59.
- Lamprecht, W. and Trautschold, I. (1974). Determination with hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase, *Methods of Enzymatic Analysis*. Verlag Chemie Academic Press.
- Lysko, P. G., Lysko, K. A., Yue, T., Webb, C. L., Gu, J. and Feurstein, G. (1992). Neuroprotective effects of carvedilol, a new antihypertensive agent, in cultured rat cerebellar neurons and in gerbil global brain ischemia. *Stroke* **23**, 1630-1636.
- Masugi, F. and Nagamura, T. (1976). Effect of vitamin E deficiency on the level of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase and lipid peroxide in rat liver. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **46**, 187-191.
- Matsubara, T. (1990). Pharmacological studies of civetone, a fragrant component, in civet. -Comparison with actions of muscone on cardiovascular and respiratory systems-. *富山薬研年報* **17**, 42-48.
- Mies, G., Paschen, W. and Hossmann, K. A. (1990). 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**, 638-645.
- Mishra, R. K., Arora, R. B. and Seth, S. D. S. (1962). Anti-inflammatory effect of musk. *J. Pharm. Pharmacol.* **14**, 830-831.
- Mukhopadhyay, A., Seth, S. D. S. and Bagchi, N. (1973). Cardiac and CNS actions of musk. *Ind. J. Pharm.* **35**, 169-170.
- Munekata, K. and Hossmann, K. A. (1987). Effect of 5-minute ischemia on regional pH and energy state of the gerbil brain; relationship to selective vulnerability of the hippocampus. *Stroke* **18**, 412-417.
- Nahorski, S. R. (1975). Behavioural supersensitivity to apomorphine following cerebral dopaminergic denervation by 6-hydroxydopamine. *Psychopharmacologia* **42**, 159-162.
- Pulsinelli, W. A., Brierly, J. B. and Plum, F. (1982). Moderate hypoglycemia augments ischemic brain damage; a neuropathologic study in the rat. *Neurology* **32**, 1239-1246.
- Sano, T. (1936). Über die maennlich sexualhormonartige Wirkung des Moschus. *J. Pharm. Soc. Japan* **56**, 913-914.
- Sano, T. (1937). Über die maennlich sexualhormonartige substanz des Moschus. *J. Pharm. Soc. Japan* **57**, 851-852.
- Smith, M. L., Von Hanwehr, R. and Siesjo, B. K. (1986). 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**, 574-583.
- Snelling, L. K., Ackerman, A. D., Dean, J. M., North, M. C. and Traystman, R. J. (1987). The effects of superoxide dismutase on neurological recovery (Cerebral blood flow and evoked potentials) following global cerebral ischemia (abstract). *Anesthesiology* **67**, A 153.
- Sokoloff, L., Reivich, M., Kennedy, C., Des Rosiers, M. H. and Shinohara, M. (1977). 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**, 299-306.
- Swinyard, E. A., Brow, W. C. and Goodman, L. S. (1952). Comparative assays of antiepileptic drugs in mice and rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **106**, 319-330.
- Tamura, A., Graham, D. I., McCulloch, J. and Teasdl, G. M. (1984). Focal cerebral ischemia in the rat; description of technique early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **1**, 53-60.
- Taneja, V., Siddiqui, H. H. and Arora, R. B. (1973). Studies on the anti-inflammatory activity of Moschus moschiferus (Musk) and its possible mode of action. *Ind. J. Physiol. Pharmac.* **17**, 241-247.
- Tokunaga, S., Kimura, M. and Kimura, I. (1987). Comparison of both sedative effects on mice and cardiotoxic effects on guinea-pig papillary muscles by musk water extract and by sheep testis MeOH extract. *J. Med. Pharm. Soc. Wakan-Yaku* **4**, 276-277.
- Woodbury, L. A. and Davenport, V. D. (1952). Design and use of a new electroshock seizure apparatus, and analysis of factors altering seizure threshold and pattern. *Arch. Int. Pharmacodyn.* **92**, 97-107.
- Zannoni, V., Lynch, M., Goldstein, S. and Sato, P. (1974). A rapid micromethod for the determination of ascorbic acid in plasma and tissues. *Biochem. Med.* **11**, 41-48.
- 김재길 (1984). 원색천연약물대사전, 남산당, 2, p. 345.
- 寺島豊秋, 上村喜彦, 名村尚彦, 菊池晴彦 (1995). C57BL/6マウスにおける一過性前脳虚血モデル. *脳循環代謝* **7**, 157.
- 염태환 (1975). 동의처방대전, 행림서원, p. 332, 196.
- 이 천 (1981). 의학입문, 대성문화사, p. 215.
- 조태순, 이선미, 이은방, 조성익, 김용기, 신대회, 박대규 (1997). l-Muscone의 뇌허혈 및 중추신경계에 관한 약효연구. *응용약물학회지* **5**, 306-315.
- 진사문 (1987). 중의증상감별진단학, 북경, 인민위생출판사, p. 62-65.
- 허 준 (1987). 원본동의보감(신증판), 남산당, p. 692.
- 황도연 (1977). 방약합편, 행림출판사, p. 102.