

# BHT-C의 허혈성 뇌졸중 동물에서의 뇌부종 억제효과

김성윤<sup>1</sup>, 박용기<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>동국대학교 한의과대학 본초학교실, <sup>2</sup>동국대학교 한방신약개발센터

## Effect of BHT-C extract on the infarction in cerebral ischemic rats

Sung Yoon Kim<sup>1</sup>, Yong Ki Park<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Herbology, and <sup>2</sup>Oriental Medicine Drug R&D Center, College of Oriental Medicine, Dongguk University, Gyeongju 780-714, South Korea.

### ABSTRACT

**Objectives** : BHT has been commonly used to treatment of brain disorders in Oriental clinic in Korea. The purpose of this study was to determine the inhibitory effect of modified BHT-C extract on the transient focal cerebral ischemia in rats.

**Method** : We prepared ischemic rats by the transient middle cerebral artery occlusion(MCAO; 90 min occlusion and 144 h reperfusion) in rat brains. BHT-C extract (100 and 200 mg/kg, i.p.) was administered every day after the onset of MCAO until 6 day.

**Result** : BHT-C extract increased survival rate of ischemic rats compared with vehicle-treated rats. BHT-C extract treated rats (100 and 200 mg/kg) were shown a significant reduction in infarct volume compared with vehicle-treated rats.

**Conclusions** : These results suggest that BHT-C extract may contribute to its protective effects in brain ischemia through the reduction of brain infarction.

**Key word** : Brain ischemia; BHT; MCAO rats; infarction

### I. 序 論

최근 생활수준의 향상과 식생활 환경의 변화로 사회가 노령화 되면서 다양한 뇌질환 환자의 증가로 이에 대한 치료와 예방에 관심이 고조되고 있다<sup>1,2)</sup>. 뇌질환은 크게 허혈성(ischemic) 또는 출혈성(hemorrhagic) 뇌질환, 신경독성, 외상

장애에 의한 뇌손상, 알츠하이머병이나 파킨슨병 등 신경학적 장애로 나눌 수 있다. 이들 중 발병율과 치사율이 높아 임상적으로 중요하거나 사회적으로 이슈가 되고 있는 대표적인 질환으로 뇌졸중, 간질, 치매(알츠하이머병) 등이 있다<sup>2)</sup>. 뇌졸중(stroke)은 뇌혈관질환과 같은 말로 흔히 중풍이라고도 불르는데 뇌에 혈액을 공급

하고 있는 혈관이 막히거나 터져서 손상을 받은 부위의 뇌세포가 죽게 됨으로써 그에 따른 신체적 장애가 나타나는 신경학적 증상을 의미한다. 우리나라에서 뇌졸중은 단일질환으로서는 사망 원인 1위인 질환이며, 대부분 뇌에 혈액을 공급하는 혈관이 막혀 허혈상태가 되는 부위의 신경세포가 손상 받은 경우인 허혈성 뇌졸중으로 출혈성 뇌졸중에 비해 많은 것으로 보고되고 있다<sup>2,3)</sup>.

뇌졸중의 증상은 손상 받은 부위에 따라 다르나 어지러움, 갑작스런 구토와 두통 등 경증상 외에 반신운동 및 감각 마비, 시야장애, 언어장애, 의식장애 등 영구적인 장애가 남게되므로 근본적인 병인의 이해 및 치료기술개발을 통한 향후 뇌졸중 관리기술의 향상이 절실하게 요구된다<sup>2-4)</sup>. 뇌졸중의 치료제로서 주로 혈류를 개선시키기 위한 약물들을 주로 사용하는데 혈전을 분해하기 위하여 유로키나제와 같은 혈전용해제나 헤파린과 같은 혈소판제도 사용하고 있다. 최근 뇌졸중 치료제로 조직플라스미노겐 활성제(t-PA; tissue plasminogen activator)<sup>5)</sup>, NMDA glycine site antagonist<sup>6)</sup>, 항산화제, 항염증제<sup>7)</sup> 등의 개발 연구가 진행되고 있다.

補陽還五湯은 清代 王清任의 醫林改錯에 처음 수록된 처방으로 補氣하는 黃芪와 活血祛瘀作用이 있는 當歸尾, 赤芍藥, 川芎, 桃仁, 紅花와 通經活血하는 地龍으로 구성되어 있으며, 補氣, 活血化瘀, 通絡하는 效能으로 氣虛로 인한 瘀血證을 치료하는 處方으로 活用 되어 있다<sup>8-11)</sup>. 또한 보양환오탕은 簡明方劑辭典에 此方 治半身不遂 口眼喎斜 言語蹇澀 口角流涎 大便乾燥 小便頻數 遺尿不禁라고 記載<sup>12)</sup>된 이후 주로 氣虛血瘀로 인한 中風 半身不遂의 治療에 활용되어 왔다. 近來에는 虛血性 腦血管 疾患, 腦動脈 硬化 뿐만 아니라 冠狀動脈硬化, 心筋梗塞, 狹心症, 多發性神經炎, 血栓性靜脈炎 等の 疾患에도 應用

되고 있다<sup>13)</sup>. 그러나 현재까지 虛血性 腦卒中에 대한 效果 및 藥理的 기전에 대한 연구는 없었다.

현재 한방에서는 補陽還五湯의 기본처방에 瘀血을 순환시키는 丹蔘, 牛膝, 桂枝와 뇌신경을 보호하는 것으로 알려진 遠志, 石菖蒲를 첨가한 加味補陽還五湯으로 처방하고 있다. 따라서, 본 연구에서는 실제 임상에서 사용하는 加味補陽還五湯(BHT-C)이 허혈성 뇌졸중이 유발된 흰쥐에서 뇌부종을 줄임으로써 뇌신경보호효과가 있는지 조사하였다.

## II. 材料 및 方法

### 1. 材料

#### 1) 藥材

본 실험에 사용된 처방은 BHT로써 표 1의 처방내용으로 구성하였다. 실험에 사용된 한약재는 (주)광명당제약(울산, 한국)으로부터 구입하여 동국대학교 한의과대학 본초학교실에서 검정하고 정선한 것을 사용하였다.

Table 1. Prescription of BHT extract

韓藥名	生藥名	配合比
黃芪	Astragali Radix	10
當歸尾	Angelicae gigantis Radix	2
赤芍藥	Paeoniae Radix Rubra	1.5
川芎	Cnidii Rhizoma	1
蚯蚓	Lumbricus	1
桃仁	Percicae Semen	1
紅花	Carthami Flos	1
牛膝	Achyranthis Radix	1.5
丹蔘	Salviae Miltiorrhizae Radix	4
桂枝	Cinnamomi Ramulus	1
遠志	Polygalae Radix	1
石菖蒲	Acori Gramineri Rhizoma	1

## 2) 實驗動物

증대뇌동맥 폐색에 의한 국소 뇌허혈 실험모델에 사용된 동물은 7-8주 사이의 체중 240~260 g되는 수컷 흰쥐(Sprague-Dawley; SD)를 (주)샘타코(부산, 한국)로부터 구입하여 사용하였다. 실험기간 동안 일반 고형사료(삼양사료주식회사, 서울, 한국)와 물을 충분히 공급하였으며 실내온도  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ , 습도는  $55\pm 5\%$ , 명암은 12시간(Day light 06:00~18:00)을 주기로 실험종료 시까지 일정한 사육조건을 유지시켰다. 동물의 관리, 사용 및 취급은 미국 NIH 기준과 대한의학회 제정 동물실험지침(2000년)에 준하여 시행하였다.

## 2. 方法

### 1) BHT 완제 제조

실험에 사용된 BHT 엑스는 표1에서 기재한 바와 같이 구성된 한약재를 (주)광명당제약(울산, 한국)으로부터 원료시험성적서에서 합격한 표준품을 구입하였고, 일정한 규격품의 한방제제를 제작하기 위하여 의약품완제 제조를 의약품 GMP 시설업체인 (주)한풍제약(전주, 한국)에 Pilot 제작을 의뢰하여 각 50kg씩 3 Batch의 완제의약품을 만들었다. 3 Batch에서 추출한 평균 수득율은 각 315.5 g로 32.4%였다. 완제의약품으로 제조한 BHT-C는 실험 직전에 3차 증류수에 완전히 녹여서 동물에 투여하였다.

### 2) 일시적 국소 뇌허혈 동물모델제작

SD 랫드를 80%  $\text{N}_2\text{O}$ 와 20%  $\text{O}_2$ 에 혼합한 1.5~5% isoflurane으로 흡입하여 마취시키고, 보온패드와 보온램프를 사용하여 체온을 약  $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 로 유지하면서 증대뇌동맥을 폐색하였다. 즉, 마취 하에서 목의 정중선을 따라 경부를 절개하고 미주신경에 손상을 주지 않도록 주

의하면서 우측 총경동맥(common right carotid artery; CCA), 내경동맥(internal carotid artery; ICA), 외경동맥(external carotid artery; ECA)을 분리한 다음, 총경동맥과 외경동맥을 결찰하고 내외경동맥의 분지점으로부터 내경동맥 내로 probe를 삽입하고 그 바로 위쪽을 결찰하였다. Probe는 4~0 nylon surgical thread의 한쪽 끝을 열에 의해 구형으로 만든 다음, 17 mm 길이로 자르고, 다른 한 쪽의 약 7~9 mm 정도를 실리콘과 경화제 혼합액을 사용하여 약 0.3~0.4 mm 두께로 피복하여 사용하였다. 90분간 결찰(occlusion)한 후 probe를 제거하여 다시 관류(reperfusion) 시켰다. 동물이 마취에서 회복된 다음, 꼬리를 중심으로 들었을 때, 몸의 불균형, 앞발의 좌우모양, 왼쪽 선회 등으로 신경증상을 확인하였다.

### 3) 검액의 투여

실험동물을 대조군(vehicle)과 실험군(sample group)으로 나누고 실험군을 다시 BHT 100 mg/kg을 투여한 군과 200 mg/kg을 투여한 군으로 나누었다. 대조군은 생리식염수를 경구투여 하였으며, 실험군은 생리식염수에 BHT를 현탁시켜 증대뇌동맥 폐색 24시간 뒤에 1회 복강주사한 뒤, 하루에 한번 일주일간(144 h) 투여하였다.

### 4) 허혈성 뇌손상 부위의 면적 측정

증대뇌동맥 폐색 6일 경과 후 흰쥐를 1.5% isoflurane으로 흡입마취 시킨 다음 신속하게 뇌를 적출하고, 뇌주형을 이용하여 frontal pole에서 1 mm 되는 지점부터 2 mm 두께로 잘라 7개의 뇌 관측 절편을 만든 다음, 0.9% 생리식염수로 제조한 2% TTC 용액으로 실온에서 1시간 염색하였다. 염색한 뇌 절편을 4% paraformaldehyde 용액으로 고정시킨 후 각 절

편의 뒤편 영상을 CCD 비디오 카메라를 이용하여 컴퓨터에 저장한 다음 대뇌피질(cortex) 및 선조체(striatum)의 경색면적(mm<sup>2</sup>)을 영상분석용 소프트웨어로 측정하였다. 이때 수술로 인한 부종의 영향을 보완하기 위하여 허혈 반대측(좌측) 대뇌반구의 대뇌피질 면적과 허혈 동측(우측) 대뇌반구에서 경색이 일어나지 않은 정상조직의 면적과의 차이를 대뇌피질의 경색면적으로 하였으며, 선조체의 경색면적도 동일한 방법으로 측정하였다.

### III. 結 果

#### 1. 생존율

BHT의 허혈성 뇌손상에 대한 효과를 조사하기 위하여 국소 뇌허혈(MCAO) 후 144 h 시간이 지난 뒤 생존율을 측정하였다(표 2).

실험결과, 중대뇌동맥 폐색 후 0.9% PBS를 복강주사한 대조군( $n=4$ )의 생존율은 40%인 반면, 중대뇌동맥 폐쇄 후 BHT 100 mg/kg( $n=1$ )과 200 mg/kg( $n=1$ )을 투여한 실험군의 생존율은 각각 63%, 71%로 증간하였음을 확인하였다.

**Table 2.** The effect of BHT on survival ratio after MCAO rats.

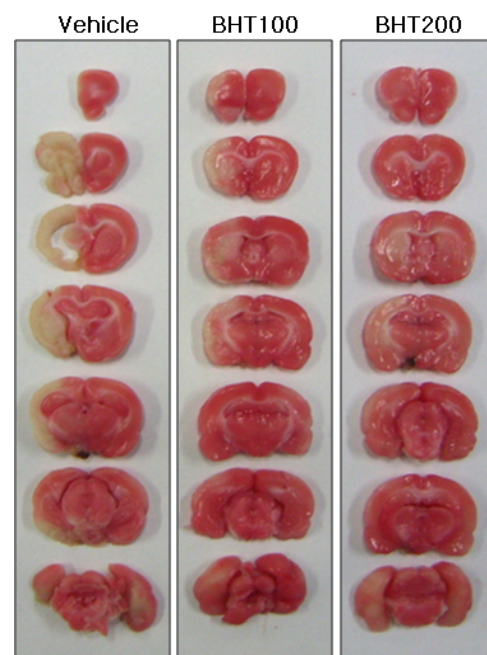
	Vehicle group total n=10	BHT-c 100mg.kg group total n=8	BHT-c 200mg.kg group total n=7
Death 24h	3	1	1
Death 48h	3	1	1
Death 72h	0	1	0
Death 96h	0	0	0
Death 120h	0	0	0
Death 144h	0	0	0
Survival 144h	4	5	5
Survival ratio	40%	63%	71%

#### 2. BHT의 허혈성 뇌손상 억제효과

정상 뇌조직을 TTC로 염색하면 짙은 붉은색

으로 염색되는 반면, 허혈성 손상을 받은 뇌조직은 염색되지 않게 된다. BHT의 허혈성 뇌손상에 대한 효과를 조사하기 위해서 일시적인 국소 뇌허혈(MCAO)을 유발시킨 쥐로부터 뇌를 적출하여 TTC 염색을 수행하였다(그림. 1).

TTC 염색결과, 중대뇌동맥 폐색 후 생리식 염수를 복강주사한 대조군( $n=4$ )의 뇌절편은 상당부분 TTC에 염색되지 않은 반면, 중대뇌동맥 폐쇄 후 BHT 100 mg/kg과 200 mg/kg을 투여한 실험군의 뇌절편은 모두 육안적으로 염색이 관찰하였을 때 대조군에 비해 경색면적이 상당히 감소하였다.



**Fig. 1.** The effect of BHT extract on the infarction in rats administered every 24 h after onset(144 h).

한편, 뇌경색부위를 측정하여 그래프로 표현한 결과에서도 대조군의 평균 27.80%에 비해 BHT 100 mg/kg은 12.55%, BHT 200 mg/kg은

3.2%로 각각 약15%, 24% 정도 경색면적이 감소하였음을 확인하였다(그림. 2).

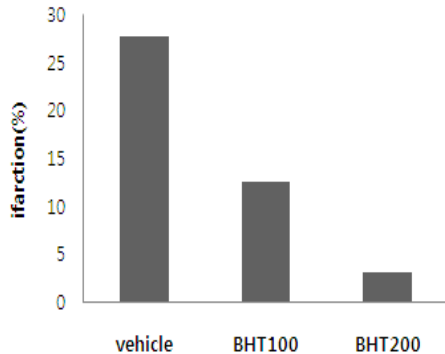


Fig. 2. The effect of BHT extract on the infarct volume in rats administered every 24 h after onset(144 h).

## VI. 考 察

중풍은 暴仆, 卒暴僵仆, 不省人事, 暈倒, 昏不知人, 精神蒙昧 등의 意識障礙와 偏枯, 四肢不舉, 手足癱瘓, 半身不遂, 口眼臥斜 등의 運動障礙, 舌強不語, 暴瘖, 言語蹇澁 등의 言語障礙 등의 증상이 나타나는 病症으로 정의되는데<sup>15-17)</sup>, 『金匱要略·中風歷節病脈證病治<sup>18)</sup>』에서 “夫風之爲病 但半身不遂 惑但臂不遂者 此爲痺 脈微而數者 中風使然”이라 하며 오늘날의 中風에 해당하는 개념이 文獻上에 처음 기록된 이래 歷代 醫家들이 中風의 原因, 分類, 治法 등에 대해 다양하게 論하였다. 中風의 原因으로는 『內經<sup>19)</sup>』에서 唐代까지는 內風說, 그 이후로는 火熱說<sup>20)</sup>, 氣虛說<sup>21)</sup>, 濕痰說<sup>22)</sup>, 瘀血說<sup>23)</sup> 등이 정립되었고, 그 분류는 病位에 따라서 中絡·中經·中腑·中臟으로 나누고, 病因에 따라서는 眞中風과 類中風으로 분류하며<sup>24)</sup>, 證候에 따라서는 偏枯·風痲·風懿·風痺로 분류하고<sup>25)</sup>, 病態에 따라서는 中經絡과 中臟腑로 분류하였다.

中風의 治法에 대해서는 『內經』 이후 唐代까지는 外感風邪에 대한 治法으로 疎風祛邪, 發汗, 扶助精氣法을 주로 따랐고, 金元時代 이후로는 疎風祛邪, 順氣割痰, 清熱瀉火, 通利開竅, 平肝熄風, 活血通絡, 益氣補血 등으로 다양하게 응용하여, 후대에 와서는 中風 초기에는 주로 疎風, 順氣, 和血, 瀉火, 割痰, 開竅시키고, 후기에는 초기의 방법에 補氣, 補血 등의 治法을 복합하여 응용하고 있다<sup>15-17,26,27)</sup>. 中風은 자연계의 風邪와 같이 病態가 善行數變하여 다양한 변화를 일으키기 때문에 발병 후 약 2주간의 초기에 집중적인 치료를 하는 것이 중요하다<sup>28)</sup>.

보양환오탕에 대한 실험적 연구로는 腦血栓과 血中脂質에 대한 改善作用<sup>29)</sup>, 局所腦血流量의 增加效果<sup>30,31)</sup>, 血壓降下 作用<sup>32)</sup>, 血栓生成 抑制效果<sup>33)</sup>가 보고되었다. 또한 보양환오탕의 高血壓 및 高脂血症에 대한 抑制 效果<sup>34)</sup>, 學習과 記憶의 減退 및 치매억제에 대한 增加 效果<sup>35)</sup>, 可逆性 前腦虛血로 인한 腦細胞 損傷을 減少效果<sup>36)</sup>, 抗瘀血 作用, 免役調節 作用, 抗炎症 作用<sup>37)</sup>, 神經膠細胞의 apoptosis 抑制 效果<sup>38,39)</sup> 등의 보고가 있다. 그러나 현재까지 虛血性 腦卒中에 대한 效果 및 藥理的 기전에 대한 연구는 없었다. 보양환오탕은 실제 동국대학교 한방병원 임상에서 補陽還五湯의 기본처방에 瘀血을 순환시키는 丹蔘, 牛膝, 桂枝와 뇌신경을 보호하는 것으로 알려진 遠志, 石菖蒲를 첨가하여 처방하고 있다. 따라서, 본 연구에서는 실제 임상에서 사용하는 加味補陽還五湯(BHT)이 중풍실험 동물 모델인 국소 뇌허혈(forcal cerebral ischemia) 흰쥐모델에서 보호효과가 있는지를 조사하고자 한다.

본 연구에서 사용된 국소 뇌허혈 흰쥐모델로 흰쥐의 중뇌동맥폐쇄모델(middle cerebral artery occlusion; MCAO)이다<sup>40)</sup>. 이 모델은 흰쥐에 나일론 봉합사를 삽입하여 중뇌동맥의

기시부를 폐쇄하는 방법으로 허혈을 유발시키면 중심부에서 신경세포들이 산발적으로 죽으며, 1 시간 유발 시 중심부에 괴사가 일어나는 것으로 알려져 있다. 폐쇄 후 3시간이 지나면 경색이 시작되고, 24시간이 되면 뇌경색이 일단 마무리 되어 3일이 되면 최대에 이르게 된다. 뇌경색 중심부(core)에서는 대체적으로 괴사성 세포사멸(necrosis)이 일어나고 주변부(penumbra)는 지역에서는 지연성 세포사멸이 유발되는 것으로 알려져 있다. 본 연구에 사용한 MCAO 흰쥐 모델은 지연성 세포사멸이 특징인 전뇌허혈과는 달리 허혈 중심부의 괴사가 주변부로 퍼지는 지연성 세포괴사가 모두 공존하는 모델로 임상적인 중풍환자의 병태와 유사하고, 행동양상이 비슷한 특징이 있어 사람의 중풍 실험모델로 널리 사용되고 있는 추세이다. 괴사성 세포사멸은 뇌 허혈 직후로부터 급격하게 발생하는 세포손상에 의해 일어나는데, 이를 막는 방법은 발병 3시간 이내에 재관류를 하는 것으로 임상적으로는 거의 불가능한 것으로 알려져 있다. 따라서 뇌허혈 치료의 목표는 주변부의 지연성 세포사멸을 막는 것을 목표로 신경보호제 개발에 더 중점을 두고 있으며, 신경세포사멸에 대한 방어효과라고 할 수 있다<sup>41)</sup>.

본 연구를 통해 BHT는 뇌졸중에서 뇌경색을 경감시키며, 생존율을 증가시킨다는 결과를 얻을 수 있었다. BHT는 뇌허혈 144 h 모델에서 보호 효과를 나타내는 기전으로는 antiinflammation, antiapoptosis, antioxidant 등이 생각되어진다. 앞으로 이러한 보호효과의 기전을 연구 할 필요가 있겠다. 이상과 같이 加味補陽還五湯(BHT)은 사람의 뇌졸중을 개선하기 위한 한의약제제로 개발할 수 있을 것으로 생각된다.

## 감사의 글

이 논문은 보건복지가족부의 한의학연구개발사업 (B080027) 연구비 지원에 의한 것으로 이에 감사드립니다.

## VI. 參考文獻

1. 서무규, 成人病 老人病學, 서울, 고려의학, 1992;37-49, 77-83, 107-122, 137-139, 142-149.
2. 김은선, 박동운, 이종은. 뇌질환 치료제 (I), 산업시장분석. 한국과학기술 정보연구원. 2006. pp. 25-55.
3. Wang Q, Tang XN, Yenari MA. The inflammatory response in stroke. J Neuroimmunol. 2007;184(1-2):53-68.
4. Cucchiara B, Ross M. Transient ischemic attack: risk stratification and treatment. Ann Emerg Med. 2008;52(2):S27-39.
5. Adibhatla RM, Hatcher JF. Tissue plasminogen activator (tPA) and matrix metalloproteinases in the pathogenesis of stroke: therapeutic strategies. CNS Neurol Disord Drug Targets. 2008;7(3):243-53.
6. Catarzi D, Colotta V, Varano F. Competitive Gly/NMDA receptor antagonists. Curr Top Med Chem. 2006;6(8):809-21.
7. Shinohara Y. Clinical guidelines for stroke. Nippon Naika Gakkai Zasshi. 2004 ;93(11) :2449-55.
8. 南京中醫學院, 中醫方劑大辭典, 北京, 人民衛生出版社, 1995. 5. p891.
9. 신민교, 臨床本草學, 서울, 영림사, 1986. pp. 169-171, 221-223, 249-250, 300-301, 464-468, 662- 663.

10. 신길구, 申氏本草學, 서울, 수문사, 1988. pp. 9-12, 80-84, 448-450, 521-522, 554-556, 562-564, 600-603.
11. 김창민 外, 中藥大辭典, 서울, 정담, 1998. pp. 592-599, 1159-1168, 1353-1358, 4839-4845, 5258- 5265, 6357-6362, 6460-6471.
12. 江克明, 簡明方劑辭典, 上海, 上海科學技術出版社, 1990. p571.
13. 전영수, 補陽還五湯과 加味補陽還五湯이 endotoxin으로 유발된 白鼠의 血栓症에 미치는 影響, 동의병리학회지, 1993;8:157-176.
14. Bederson JB, Pitts LH, Germano SM, Nishi -mura MC, Davis RL, Bartkowski HM. Evaluation of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride as a stain for detection and quantification of experimental cerebral infarction in rats. Stroke. 1986; 17(6):1304-8.
15. 김영석. 임상중풍학. 서울:書苑堂. 1997:303-8.
16. 전국한의과대학 심계내과학교실, 東醫心系內科學(上, 下). 서울:書苑堂. 1995:(상)107-8,203, (하)72-3.
17. 許浚. 東醫寶鑑. 서울: 여강출판사. 1994: 1258.
18. 張仲景. 金匱要略. 서울: 翰成社. 1975:31. 133-5.
19. 王冰. 黃帝內經. 서울: 書苑堂, 1997:349-78, 599.
20. 劉完素. 傷寒六書. 서울: 成輔社. 1976:281-2.
21. 李杲. 東垣十種醫書. 서울: 大星文化史. 1983: 635-6.
22. 朱丹溪. 丹溪心法. 臺北: 吳州出版社. 1969: 67-9.
23. 王青任. 醫林改錯. 臺北: 臺聯國風出版社. 1975: 40-4.
24. 王安道. 王履溯回集. 二十六冊. 醫部全錄. 서울: 成輔社. 1976:31.
25. 孫思邈. 備急千金要方. 서울: 大星文化史. 1984:46, 205, 222.
26. 정정욱. 白鼠의 局部 腦梗塞에 대한 當歸의 神經 保護效果. 경산대학교 대학원 석사학위 논문. 2000.
27. 김용진, 황치원. 當歸가 白鼠의 腦損傷 및 心血管系에 미치는 影響. 大韓韓醫學會誌. 2002;21(4):37-46.
28. 대한노인병학회. 뇌졸중의 역학과 병리기전. 대한노인병학회지. 1993;30(3):5-17.
29. 김남용, 補陽還五湯이 血壓 및 局所腦血流量에 미치는 影響, 원광대학교 대학원, 1985.
30. 정하나, 韓藥材 經구투여에 의해 Th1/Th2 type 면역반응의 선택적인 조절에 관한 연구, 전북대학교 대학원, 2004.
31. 문병형, 補陽還五湯煎湯液이 家兔의 血壓降下에 미치는 影響, 원광대학교, 1985.
32. 탁의주, 補陽還五湯이 實驗的 血栓에 미치는 影響, 동국대학교 대학원, 1990.
33. 김성훈, 復元活血湯 및 補陽還五湯이 endotoxin으로 유발된 血栓生成抑制에 미치는 影響, 동의대학교 대학원, 1994.
34. 정우상, 高血壓 및 高脂血症에 대한 補陽還五湯의 實驗的 研究, 경희대학교대학원, 1998.
35. 설인숙, 加味補陽還五湯이 高脂血症, 血栓, 高粘度血症, 高血壓, 및 腦損傷에 미치는 影響, 대전대학교대학원, 1998.
36. 최은정, mongolian gerbil 의 reversible fore brain ischemia 모델에 미치는 補陽還五湯의 效果, 동국대학교 대학원, 1999.

37. 김영현, 抗瘀血 治療劑인 補陽還五湯의 免役 調節作用, 전주대학교대학원, 2002.
38. 정용준, 補陽還五湯이 LPS 와 PMA에 의해 損傷된 神經膠細胞에 미치는 影響, 원광대학교 대학원, 1999.
39. HS Han, JA Lee, YK Park. Protective effects of modified Bo-Yang-Hwan-Oh-Tang on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced neurotoxicity in SH-SY5Y neuronal cells. Kor J Herbology 2006;21(4):85-92.
40. Cechetto DF. Experimental cerebral ischemic lesions and autonomic and cardiac effects in cats and rats. Stroke. 1993;24(12):I6-9.
41. Rock RB, Peterson PK. Microglia as a pharmacological target in infectious and inflammatory diseases of the brain. J Neuroimmune Pharmacol. 2006;1(2):117-26.