

가토 대동맥 평활근에서 인삼 알콜 추출물에 의한 Calcium 동원에 관한 연구

연세대학교 의과대학 생리학교실

김용배 · 이영호 · 강복순 · 강두희

= Abstract =

A Study on the Mobilization of Calcium by Ginseng Alcohol Extract in Rabbit Vascular Smooth Muscle

Yong Bae Kim, Young Ho Lee, Bok Soon Kang and Doo Hee Kang

Department of Physiology, Yonsei University College of Medicine

There have been conflicting reports concerning the effect of Panax ginseng on the contractility of vascular smooth muscle, i.e., Panax ginseng extract has been reported to cause relaxation, contraction or to have no effect on the tension of vascular smooth muscle.

A further investigation of Ca^{++} stores which supply Ca^{++} for contraction of vascular smooth muscle is needed to understand the underlying mechanisms of this conflicting effect of ginseng alcohol extract (GAE).

The present study was intended to examine the sources of calcium mobilized for contraction of vascular smooth muscle by GAE.

Aortic ring preparations were made from the rabbit thoracic aorta and endothelial cells were removed from the ring.

The contractility of the aortic ring was measured under various experimental conditions and Ca^{++} flux across the membrane of aortic ring and the sarcoplasmic reticulum and mitochondria were measured with a calcium selective electrode.

The results were summarized as follows;

1) At low concentration of extracellular Ca^{++} , GAE increased the contractility of vascular smooth muscle in dose-dependent fashion except high concentration Ca^{++} (1 mM).

2) In the presence of ryanodine, GAE still increased contractility of vascular smooth muscle as much as control group, but in the presence of caffeine, GAE increased it significantly. i.e. Their effects seemed to be additive.

3) In the presence of verapamil+lanthanum, and verapamil+lanthanum+ryanodine, the contractility of the vascular smooth muscle was decreased, but a dose dependent increase in vascular tension was still demonstrated by GAE although total tension was low.

4) GAE increased Ca^{++} efflux from vascular smooth muscle cells, but have no effect on Ca^{++} influx.

5) GAE increased Ca^{++} efflux from sarcoplasmic reticulum and mitochondria vesicles.

From the above results, it may be concluded that GAE increased the release of Ca^{++} from sarcoplasmic reticulum, mitochondria or other intracellular Ca^{++} stores of vascular smooth muscle, but it does not increase Ca^{++} influx across the plasma membrane.

Key Words: Ginseng-alcohol extracts, Vascular smooth muscle contractility, Ca^{++} mobilization.

서 론

인삼이 혈관 평활근의 수축에 미치는 영향에 대해서는 많은 연구가 보고되었으나 그 실험성적은 연구자에 따라 일치되지 않거나 상반되는 점이 많다. 이는 아마도 사용된 실험 동물의 종류, 동물의 성, 인삼의 투여량, 인삼의 종류, 인삼 추출물의 종류(알콜추출물, 지용성 분획 또는 수용성 분획)의 차이 때문에 다르게 나타나고(Lim, 1963) 또 같은 혈관 평활근에서도 용액의 조성에 따라서 혈관 평활근의 수축력이 다르게 나타날 수 있다고 보고되었다. 즉 인삼의 투여는 관상동맥혈류(Kim, 1960; Lee, 1978), 대퇴혈류(Wood등, 1964) 및 신동맥혈류(Kim, 1961)를 증가시켜 혈관확장제로 작용한다고 보고되었으나, Kim(1960)은 인삼투여는 대퇴혈류량을 감소시켜 혈관 수축을 일으킨다는 반론을 제시한 반면 Nabata(1973)는 인삼사포닌인 ginseng neutral saponin을 투여시 관상동맥혈류나 대퇴혈류량에 아무 영향을 미치지 않는다고 보고하였다. 한편 적출된 대동맥절편에서도 Hah등(1978)과 Ryu 및 Kang(1981)은 norepinephrine으로 유도된 혈관 평활근 수축이 인삼 알콜추출물에 의해 이완된다고 하였다. 특히 Ryu 및 Kang(1981)은 용액내에 Ca^{++} 이 없을때는 인삼에 의해 가토대동맥 혈관 평활근의 수축력이 감소된다고 하였으며, Oh등(1987)은 용액내에 Ca^{++} 이 존재시에는 인삼 알콜추출물이 혈관 평활근의 수축을 증가시킨다고 보고하였다. 그러므로 이와같은 인삼에 의한 혈관 평활근 수축력의 상반된 효과는 연구자들간에 대단한 혼동을 초래한 것이 사실이고 여기에 관련된 기전을 알기 위하여서는 세포내 Ca^{++} 농도에 영향을 주는 Ca^{++} 의 근원을 조사할 필요가 있다. 즉 인삼 알콜추출물이 세포내 Ca^{++} 저장소로부터 Ca^{++} 을 유리시키는지의 여부 또는 세포외액으로부터 세포내로의 Ca^{++} 유입의 증가 또는 감소여부에 대한 연구가 필연적으로 수행되어야 할 시점에 도달하였다.

한편 적출된 대동맥 절편이나 대동맥환의 내피세포에서는 여러가지 혈관수축제에 의해 유도된 혈관 수축이 acetylcholine을 위시한 여러 약물에 의해 혈관을 이완시키는 요소(endothelium derived relax-

ing factor, EDRF)가 유리되고(Furchgott 및 Zawadzki, 1980a, b; Furchgott, 1981; Furchgott등, 1981), 또 endothelin을 위시한 여러 조건에 의해 혈관을 수축시키는 요소(endothelium derived contracting factor, EDCF)가 유리됨으로서(Rosenblum, 1982; Miler 및 Vanhoutte, 1985; Pinto 등 1985; Luscher 및 Vanhoutte, 1986a, b; Pinto 등, 1986; Rubanyi 및 vanhoutte, 1986) 혈관의 긴장도가 결정된다는 것이 보고되었다.

따라서 저자는 여러가지 약물이나 자극에 의해 혈관 내피세포에서 유리되는 EDRF 및 EDCF의 혈관에 미치는 효과를 제거하기 위하여 적출된 가토 대동맥에서 혈관 내피세포를 제거한 혈관 평활근만의 대동맥환 표본을 만들어 인삼 알콜추출물이 혈관 평활근의 수축력에 동원되는 Ca^{++} 의 근원을 밝히고자 본 실험을 시행하였다.

실 험 방 법

1. 실험재료

1) 실험 동물 : 1.5 내지 2.0 kg 내외의 가토를 암수 구별없이 사용하였다.

2) 인삼 알콜추출물의 제조 : 본 실험에 사용된 인삼 알콜추출물(ginseng alcohol extract, GAE)의 제조는 금산산 인삼(4년근 백삼) 분말 100g에 absolute ethanol 500 ml를 가하고 역류장치를 이용하여 80°C에서 4시간 동안 중탕하였으며 이러한 과정을 3회 반복한 후, 유효성분을 추출하여 상층액을 모아 여과하고, 이 여과액을 다시 증류하여 알콜을 증발시켜 gel 상태의 GAE로 농축시키고, -20°C에서 동결한 후 이를 4°C에서 lyophilize시켜 갈색의 분말을 얻어 냉암소에 보관하였다. 실험시에는 이 갈색 인삼분말을 0.9% NaCl에 용해시켜 GAE로 사용하였다.

2. 실험 방법

1) 대동맥환의 제조 : 가토를 두부 강타하여 희생시킨 후 흉곽을 열어 빨리 하행성 흉부 대동맥(약 15~20 cm 길이)을 적출하여 이를 실온에서 혼합기체(95% O_2 + 5% CO_2)로 포화된 Krebs-Henseleit 용액(KH 용액; mM: NaCl, 118; KH_2PO_4 , 1; KCl 3;

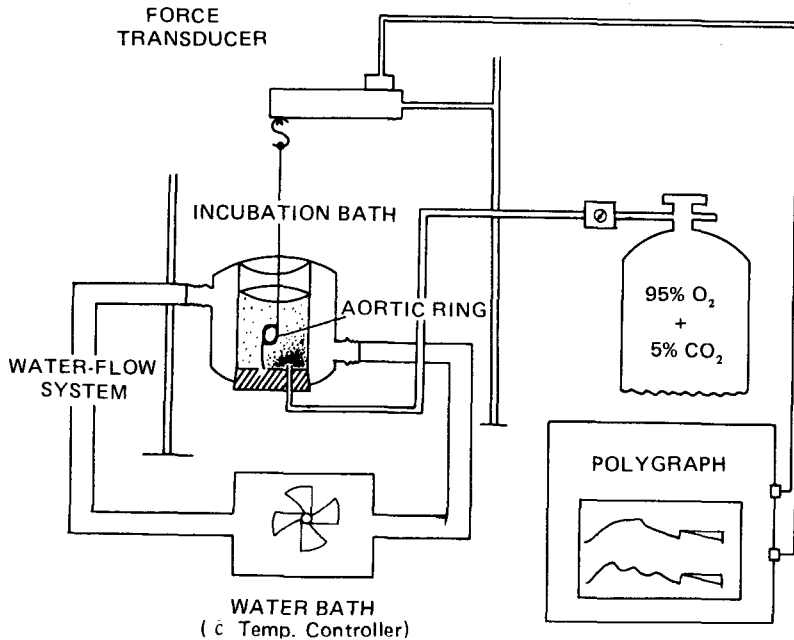


Fig. 1. Schematic diagram of experimental setup for measurements of tension of vascular smooth muscle.

MgSO₄ 1.2; NaHCO₃ 27.2; CaCl₂ 1.2; glucose 11; ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) 0.03; pH 7.4)에 담그어 현미경하에서 혈관 주위의 지방과 결체조직을 제거한 후, 이를 2~3 mm 폭으로 잘라 대동맥환을 만들어 실험에 사용하였다. 혈관 내벽의 내피세포[endothelial cell(EC)]는 혈관경자를 혈관강에 삽입하여 내면을 문질러 제거하여 혈관 평활근만의 대동맥환을 만들었다. 혈관의 내피세포 존재 유무는 Furchgott 및 Zawadzki(1980a)의 방법으로 확인하였다. 즉 10⁻⁷ M의 norepinephrine(NE)으로 혈관 수축을 유도하고 NE 존재하에 10⁻⁶ M의 acetylcholine(ACh)을 첨가하여 수축된 혈관이 이완하면 EC이 존재하는 것으로 간주하고, 수축된 혈관이 이완되지 않거나 오히려 더 수축이 되는 경우는 내피세포가 제거된 것으로 간주하였으며, 일부 혈관은 silver 염색으로 EC 존재 유무를 확인하였다 (Poole등, 1958).

2) 장력의 측정 : 대동맥 환은 20 ml의 muscle chamber에 담그어 L자로 된 2개의 stainless hook(직경, 0.6 mm)을 혈관강에 삽입하고, 하나의 hook의 일단은 muscle chamber의 하단에 고정하고, 다른

hook의 일단은 force transducer(Grass Model FTO3)에 연결하고 혈관의 등척성 장력을 Polygraph(Grass Model 7P)에 기록하였다(Fig. 1). 대동맥환은 혼합기체가 충분히 공급되고, 온도가 37°C로 유지되는 KH 용액의 muscle chamber에 고정시킨 후 2g의 안정장력을 가하여 120분간 온도 및 흥분성이 일정해질 때까지 평형을 유지시켰다. 이 2시간의 평형 기간에 10⁻⁷ M의 NE으로 혈관수축을 유도후 세척과정을 2 내지 3회 반복하였으며, 혈관평활근의 수축고가 일정해졌을 때 본 실험을 시행하였다.

3) 인삼 알콜추출물이 세포외액의 Ca⁺⁺ 농도에 따른 혈관 평활근의 수축력에 미치는 영향 : GAE 그 자체가 혈관 평활근의 수축력에 미치는 영향과 세포외액의 Ca⁺⁺ 농도와와의 상관관계를 관찰하기 위하여 혈관을 Ca⁺⁺이 제거되고 0.1 mM ethylene glycol-bis-(β-aminoethyl ether) N,N'-tetraacetic acid (EGTA)가 함유된 KH 용액에서 10분간 incubation 하여 세포외액의 Ca⁺⁺을 고갈시킨 후 혈관을 EGTA와 Ca⁺⁺이 제거된 KH 용액으로 EGTA를 제거할 목적으로 세척한다. 이 용액에 다시 혈관을 20

본간 incubation하고 여기에 GAE를 10, 20, 50 및 100 mg%되게 점진적으로 첨가하여 혈관 평활근 수축의 변화를 관찰하였다. 그후 EGTA를 이용한 상기의 방법으로 혈관 평활근을 세척하고 장력이 처음 상태로 돌아오면 세포외액의 Ca^{++} 농도를 0.25, 0.5 및 1.0 mM로 하여, 여기에 GAE를 10, 20, 50 및 100 mg%되게 점진적으로 첨가하여 혈관 평활근 수축의 변화를 관찰하였다.

4) 인삼 알콜추출물이 세포내 Ca^{++} 저장소로부터 Ca^{++} 유리에 미치는 영향 : GAE에 의한 혈관 평활근 수축력의 변화가 세포내 Ca^{++} 저장소로부터의 Ca^{++} 유리의 촉진에 기인한 것인지를 관찰하기 위하여 혈관평활근의 sarcoplasmic reticulum(SR)으로부터 Ca^{++} 유리를 차단하는 ryanodine ($10 \mu M$)을 1.2 mM Ca^{++} 이 함유된 KH 용액에 첨가하고 이 용액에서 혈관을 20분간 incubation하고, GAE를 10, 20, 50 및 100 mg%되게 점진적으로 첨가하여 혈관 평활근 수축의 변화를 관찰하였다. 또한 세포내 Ca^{++} 저장소인 SR 내로의 Ca^{++} uptake를 차단하는 caffeine (10 mM)을 1.2 mM Ca^{++} 이 함유된 KH 용액에 첨가하여 이 용액에서 혈관을 20분간 incubation하고 GAE를 10, 20, 50 및 100 mg%되게 점진적으로 첨가하여 혈관 평활근 수축의 변화를 관찰하였다. 이때 수축력의 크기는 각 실험대조군의 최대 수축력에 대한 백분율(%)로 표시하였다.

5) 인삼 알콜추출물이 혈관평활근 세포막을 통한 Ca^{++} 유입에 미치는 영향 : GAE에 의한 혈관 평활근 수축의 변화가 세포외액으로부터 세포내로의 Ca^{++} 유입의 증가에 기인한 것인지를 관찰하기 위하여 다음과 같은 실험을 시행하였다.

첫째, slow Ca^{++} channel을 통하여 Ca^{++} 유입을 차단하는 verapamil ($10 \mu M$)과 Ca^{++} 의 non-specific blocker인 lanthanum (1.5 mM)이 함유된 KH 용액에서 혈관을 20분간 incubation하고 GAE를 10, 20, 50 및 100 mg%되게 첨가하여 혈관 평활근 수축의 변화를 관찰하였다.

둘째, 세포내-외의 대부분의 Ca^{++} 근원을 차단시킨상태 즉, verapamil ($10 \mu M$), lanthanum (1.5 mM)과 ryanodine ($10 \mu M$)이 모두 함유된 KH 용액에서 혈관을 20분간 incubation하고, GAE를 10, 20, 50 및 100 mg%되게 첨가하였을 때 혈관 평활근 수축

의 변화를 관찰하였다.

6) 인삼 알콜추출물이 혈관 평활근의 $Na^{+}-Ca^{++}$ exchange에 미치는 영향 : GAE가 혈관 평활근의 $Na^{+}-Ca^{++}$ exchange에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 ryanodine ($1 \mu M$), verapamil ($10 \mu M$), lanthanum (1.5 mM) 및 phentolamine (α -adrenergic blocker, $10 \mu M$)이 포함된 정상 KH 용액에서 혈관 평활근을 평형시킨 후, 0 Na^{+} KH 용액(Na^{+} 대신 동량의 tetramethylammonium chloride를 첨가시킴)으로 교환하여 혈관 평활근 경축을 유도하고 여기에 GAE를 10, 20, 50 및 100 mg% 첨가하였을 때 혈관 평활근 수축에 미치는 영향을 관찰한 후 다시 GAE 100 mg%가 함유된 정상 KH 용액으로 바꾸었을 때 혈관 평활근 수축의 변화를 관찰하였다.

7) 혈관평활근에서 Ca^{++} flux의 측정

(1) Ca^{++} selective electrode의 제작 : 대동맥 평활근의 세포막을 통한 Ca^{++} flux는 표면적이 약 0.7 cm^2 되는 Ca^{++} -selective electrode(CSE)로 측정하였다. 이때 사용된 CSE는 Ca^{++} exchange resin[10%

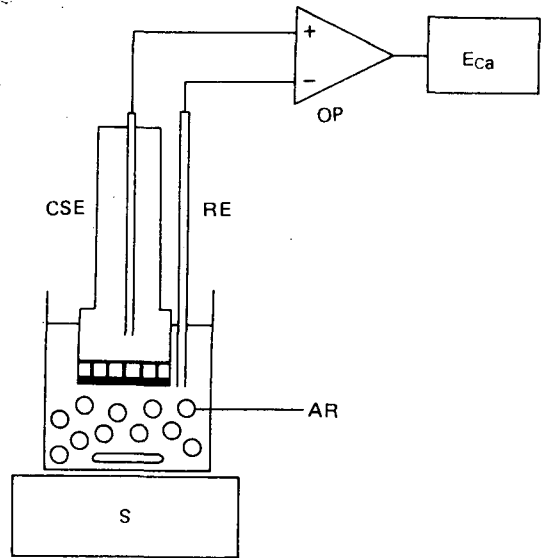


Fig. 2. Schematic diagram of experimental setup for measurements of Ca^{++} flux.

- OP: operational amplifier
- CSE: Ca^{++} selective electrode
- RE: reference electrode
- S: stirrer
- AR: aortic ring

ETH 1001 (Fluka, Switzerland), 1% sodium tetraphenyl borate, 89% 0-nitrophenyl-octyl-ether]를 polyvinyl chloride에 녹여서 millipore filter adaptor (SX0001300 Millipore Cor. USA) 표면에 부착시켜 만들었다.

(2) 대동맥 평활근의 세포막을 통한 Ca^{++} flux의 측정 ; 대동맥환에서 calcium 유입의 측정은 1.0 mM Ca^{++} 이 함유된 KH 용액 (3 ml)에서 Ca^{++} -selective electrode를 평형시킨 후 혈관 평활근 (236 mg, wt tissue)과 norepinephrine (NE: 10^{-7} M) 또는 GAE를 첨가하여 대동맥 세포내로의 Ca^{++} 유입으로 나타나는 Ca^{++} 농도의 감소를, 즉 이때의 Ca^{++} 전압 (E_{Ca}) 감소를 high input impedance amplifier (AD515, Analog Device)로 측정하여 이를 chart recorder (Gould, 220)에 지속적으로 기록하였다 (Fig. 2). Calcium 유출의 측정은 1.0 mM Ca^{++} 이 함유된 KH 용액에서 대동맥환을 10분간 평형시키고 (Ca^{++} loading)이 대동맥환을 Ca^{++} 이 존재하지 않는 KH 용액에 (3 ml) 옮겨 대동맥에서 유출되는 Ca^{++} 의 양에 의한 전압 (E_{Ca})의 증가를 상기한 방법으로 측정하였다.

(3) Sarcoplasmic reticulum에서 Ca^{++} flux의 측정 ; 혈관평활근에서의 SR 및 mitochondria 분리는 양적으로 대단히 적으므로 가토의 골격근에서 SR을, 간에서 mitochondria를 분리하여 이들 SR 및 mitochondria에서 GAE의 효과를 간접적으로 보고 하였다.

Peter 및 Worsfold (1969)의 방법에 따라 가토의 골격근에서 SR를 분리하여 상기한 CSE를 이용하여 Ca^{++} 의 유입과 유리를 측정하였다. 즉 CSE를 incubation 용액 (100 mM K-propionate, 3 mM $MgCl_2$, 25 mM Tris, pH 7.4)에 담그어 평형시킨 후, 에너지원 (ATP 4 mM, CP 6 mM, CPK 18.75 unit)을 첨가한 후 SR을 단백질 농도가 1 mg/ml되게 가하여 SR에서의 Ca^{++} flux의 변화를 측정하였다. 이때 상기와 동일한 energy원을 첨가한 incubation 용액에 ① ryanodine (10 μ M)을 첨가하였을 때, ② GAE (50 mg%)를 첨가하였을 때, ③ ryanodine (10 μ M)과 GAE (50 mg%)를 동시에 첨가하였을 때 SR에서 Ca^{++} flux의 변화를 관찰하였다.

(4) Mitochondria에서 Ca^{++} flux의 측정 ;

Chance 및 Williams (1955)의 방법에 따라 가토의 간에서 mitochondria를 분리하여 Ca^{++} 의 유입과 유리를 상기한 CSE를 이용하여 측정하였다. 즉 CSE를 incubation 용액 (mM: KCl, 125; glutamate, 5; maleate, 5; KH_2PO_4 , 8.5; Tris-HCl, 10; pH 7.4)에 담그어 평형시키고, phosphate acceptor인 5 mM의 adenosine diphosphate (ADP)를 첨가한 후 mitochondria (1 mg/ml protein)를 첨가하여 Ca^{++} flux의 변화를 관찰하였다. 또한 incubation 용액에 ADP를 첨가하지 않고 mitochondria만을 첨가한 상태에서 mitochondria를 통한 Ca^{++} flux의 변화도 측정하였다.

실험 결과

1. 인삼 알콜추출물이 세포외액의 Ca^{++} 농도에 따른 혈관평활근의 수축에 미치는 영향

세포외액의 Ca^{++} 농도를 변화시켰을 때 GAE가 혈관 평활근 수축에 미치는 영향은 Fig. 3에 나타난

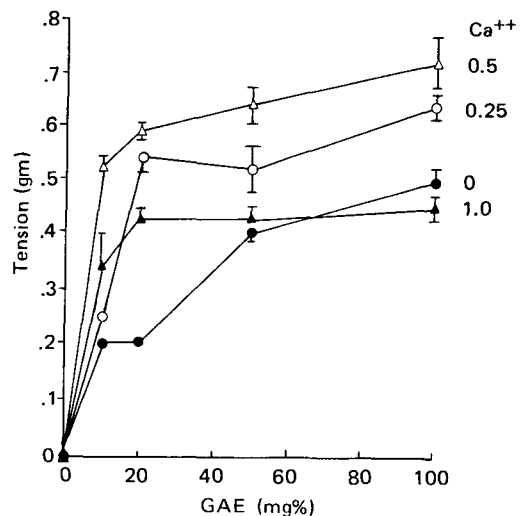


Fig. 3. Effect of ginseng alcohol extract (GAE) on the Ca^{++} -dependent contractility of vascular smooth muscle.

At a 0 mM Ca^{++} , GAE increased the contractility of vascular smooth muscle in a dose-dependent fashion but at a 1 mM Ca^{++} , tension was increased without any dose dependency.

Data represent the mean \pm SE of 4 experiments.

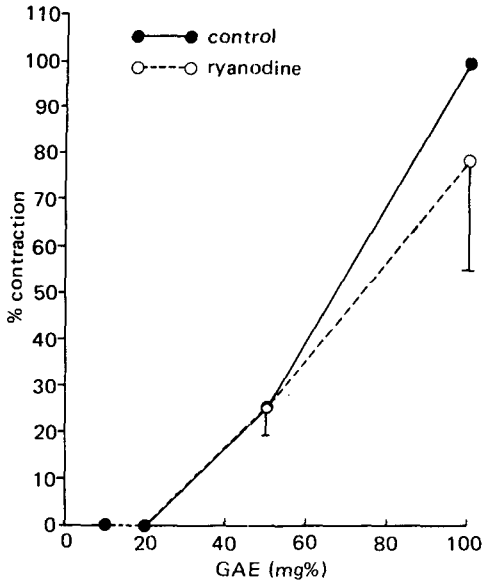


Fig. 4. Effect of ginseng alcohol extract (GAE) on the contractility of vascular smooth muscle pretreated with ryanodine.

In the presence of ryanodine (10 μ M), GAE still increased the contractility of vascular smooth muscle as much as control group.

Data represent the mean \pm SE of 4 experiments.

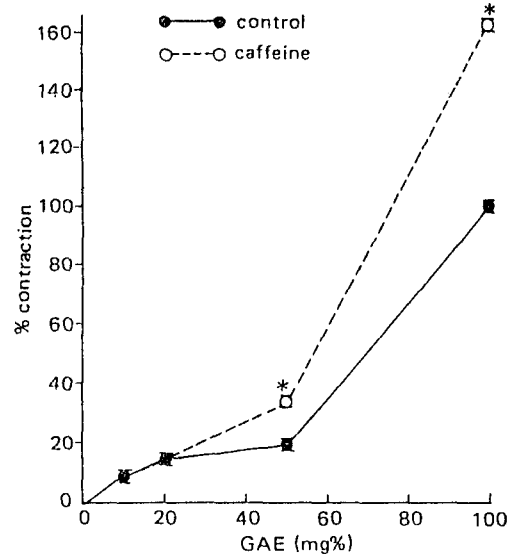


Fig. 5. Effect of ginseng alcohol extract (GAE) on the contractility of vascular smooth muscle pretreated with caffeine.

In the presence of caffeine (10 mM), GAE increased the contractility of vascular smooth muscle compared to control value.

Data represent the mean \pm SE of 4 experiments.

*; $p < 0.05$, significantly different from control value.

바와 같다. 이 그림에서 보는 바와 같이 혈관 평활근은 GAE 만으로도 수축이 유도되었으며, GAE를 10, 20, 50 및 100 mg%되게 첨가함에 따라 그 수축력은 각각 0.2, 0.2, 0.4 및 0.5 gm으로 증가되었다. 또한 같은 GAE 농도에서도 세포외액의 Ca^{++} 농도를 0, 0.25 및 0.5 mM로 증가시키기에 따라 혈관의 수축고는 그 농도에 비례하여 증가되었으나 1.0 mM Ca^{++} 농도에서는 0.5 mM Ca^{++} 에서보다 수축력이 오히려 감소하였다. 그러나 GAE 농도에 대한 혈관 평활근 수축의 의존도는 세포외액의 Ca^{++} 농도가 0 mM인 경우에 가장 현저하였다.

2. 인삼 알콜추출물이 세포내 Ca^{++} 저장소로부터 Ca^{++} 유리에 미치는 영향

세포외액에 Ca^{++} 이 첨가되지 않은(0 mM) 상태에서 GAE는 혈관 평활근의 수축을 증가시켰는데

이는 GAE가 세포내 Ca^{++} 저장소로부터 Ca^{++} 유리를 촉진한다는 것을 암시하는 결과라고 생각된다. 이를 규명하기 위하여 혈관 평활근을 ryanodine으로 전처리한 후 여기에 GAE를 첨가하여 혈관 수축의 변화를 관찰하였으며 그 성적은 Fig. 4에 나타난 바와 같다. 이 그림에서 보는 바와 같이 ryanodine을 처리하여 SR에서 Ca^{++} 유리를 차단한 상태에서도 GAE를 10, 20, 50 및 100 mg% 첨가시 혈관의 수축력은 GAE의 농도가 증가됨에 따라 증가되었다.

또한 caffeine을 처리한 후 GAE를 10, 20, 50 및 100 mg%되게 첨가하였을 때 혈관 수축고의 변화는 Fig. 5에 나타난 바와 같다. 이 그림에서 보는 바와 같이 GAE 만으로 유도된 혈관의 수축고는 GAE 각 농도에서 각각 8.6 ± 2.8 , 14.4 ± 2.7 , 18.8 ± 1.2 및

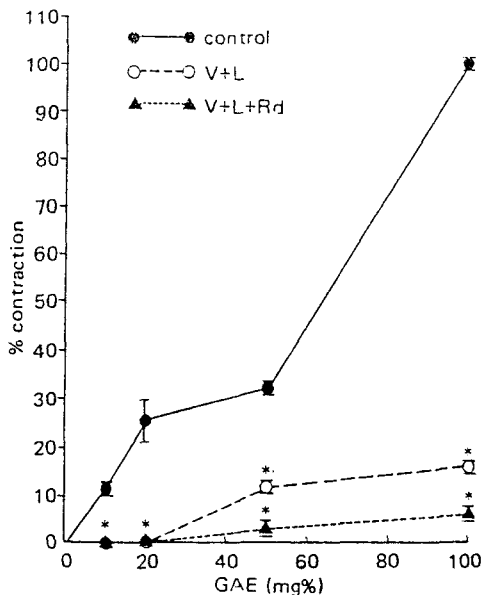


Fig. 6. Effect of ginseng alcohol extract (GAE) on the contractility of vascular smooth muscle pretreated with verapamil, lanthanum and ryanodine.

In the presence of verapamil (V, 10 μ M) + lanthanum (L, 1.5 mM) and verapamil+lanthanum+ryanodine (Rd, 10 μ M), the contraction of vascular smooth muscle were decreased, but a dose-dependent fashion was still demonstrated.

The other legend are the same as in Fig. 5.

100%이었으나 caffeine을 처치하고 GAE를 첨가시 그 수축고는 각기 8.6 ± 2.8 , 14.4 ± 2.7 , 33.3 ± 3.9 및 $162.5 \pm 2.5\%$ 로서 50 및 100 mg%의 GAE 농도에서 대조군에 비하여 유의있게 증가되었다 ($p < 0.05$).

3. 인삼 알콜추출물이 혈관평활근 세포막을 통한 Ca^{++} 유입에 미치는 영향

GAE에 의한 혈관 평활근 수축에 동원되는 Ca^{++} 이 혈관 평활근을 통한 Ca^{++} 의 유입에 기인하는 것 인지를 알기 위하여 GAE가 세포외에서 세포내로의 calcium 유입에는 어떻게 영향을 미치는지를 관찰하였으며 그 실험성적은 Fig. 6에 나타낸 바와 같다. 이 그림에서 보는 바와 같이 GAE(10, 20, 50 및 100 mg%)만을 첨가시의 혈관의 수축고는 각기 11.4 ± 1.9 , 25.2 ± 4.3 , 31.7 ± 0.8 및 100%인데 비하여 verapamil과 lanthanum을 동시에 처치하고 GAE(10,

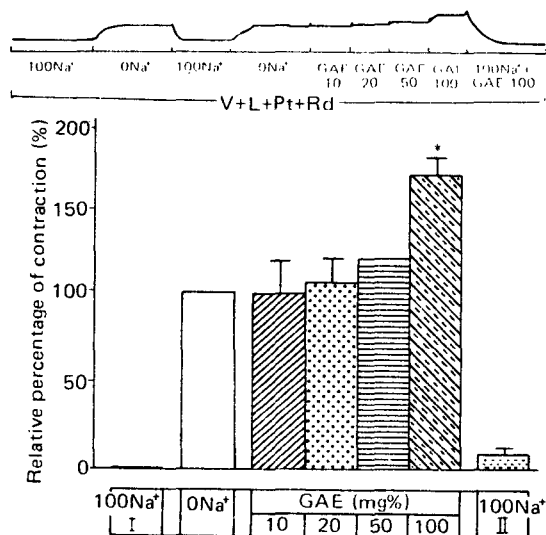


Fig. 7. Effect of ginseng alcohol extract (GAE) on the Na^{+} -dependent contractility of vascular smooth muscle.

The contracture of the vascular smooth muscle was produced with Na^{+} -deficient KH solutions. When the contracture reached the steady state, GAE was added to measure the changes of contractility. For details, see Method section.

The other legend are the same as in Fig. 5 and 6.

Pt: phentolamine

20, 50 및 100 mg%) 첨가시 혈관의 수축고는 각기 0, 0, 11.9 ± 0 및 $15.9 \pm 1.7\%$ 로서 대조군에 비해 전체적인 장력은 현저히 감소되었으나 GAE 첨가로 나타나는 혈관 수축증가의 의존도는 그대로 유지되었다. 또한 verapamil, lanthanum 그리고 ryanodine을 동시에 첨가하여 세포외에서 세포내로의 Ca^{++} 유입과 SR으로부터 Ca^{++} 유리를 차단시키고 GAE를 첨가시도 혈관 수축은 대조군에 비해 전체적인 혈관 평활근의 장력은 현저히 감소되었으나 GAE 첨가로 유도되는 혈관 수축증가의 의존도는 그대로 유지되었다.

4. 인삼 알콜추출물이 혈관 평활근의 Na^{+} - Ca^{++} exchange에 미치는 영향

GAE에 의한 혈관 평활근 수축의 증가가 세포내 Ca^{++} 농도를 증가시킬 수 있는 혈관 평활근의

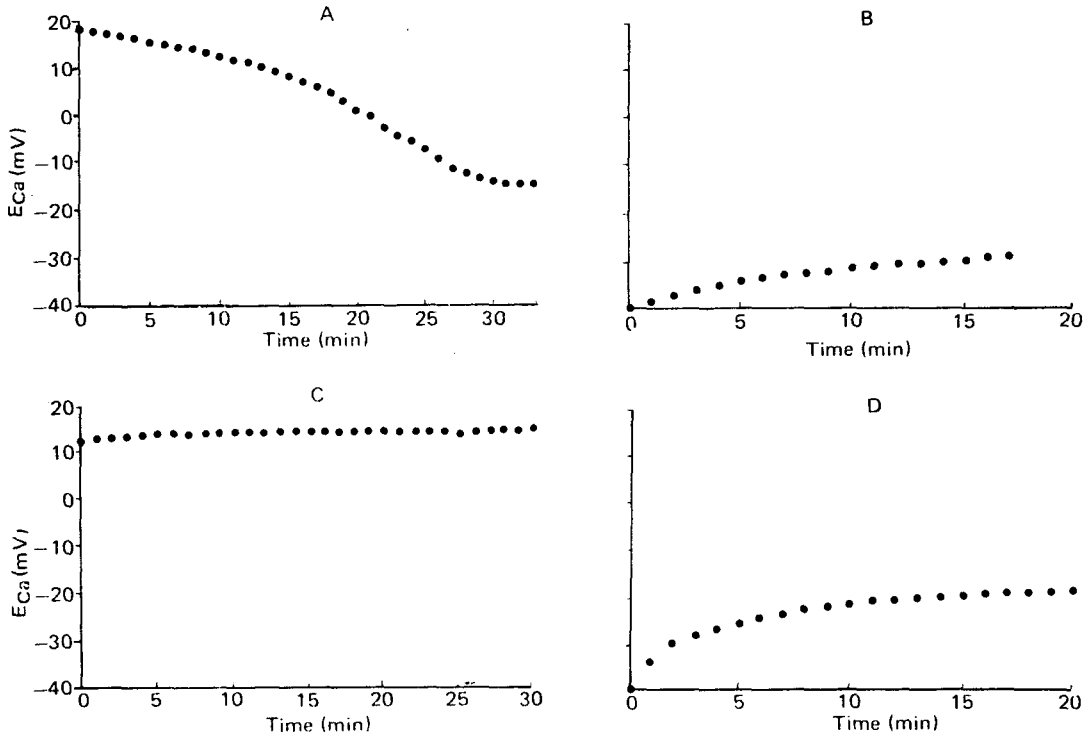


Fig. 8. Effect of ginseng alcohol extract (GAE) on the Ca^{++} flux across the membrane of vascular smooth muscle. Ca^{++} flux was measured with Ca^{++} -selective electrode. For details, see Method section.
 A: The tissue was preincubated in the Ca^{++} -depleted KH solution and the changes in Ca^{++} influx due to norepinephrine (10^{-7} mM) was measured in KH solution with 1.0 mM Ca^{++} .
 B: Ca^{++} efflux was measured in aortic ring of A in KH solution without Ca^{++} .
 C: The tissue was preincubated in the Ca^{++} -depleted KH solution and the changes in Ca^{++} influx due to GAE (50 mg%) was measured in KH solution with 1.0 mM Ca^{++} .
 D: Ca^{++} efflux was measured by aortic ring of C in KH solution without Ca^{++} .

$Na^{+}-Ca^{++}$ exchange를 통한 Ca^{++} 유입의 증가에 기인한 것인지를 규명하기 위해 시행된 실험성적은 Fig. 7에 나타낸 바와 같다. 이 그림에서 보는 바와 같이 verapamil ($10 \mu M$), lanthanum ($1.5 mM$), phentolamine ($10 \mu M$) 및 ryanodine ($10 \mu M$)이 함유된 정상 KH 용액으로 혈관 평활근을 평형시키고, $0 Na^{+}$ KH 용액으로 교환하여 혈관 평활근의 경축을 유도하여 이를 대조군으로 하고, 동일한 방법으로 경축을 유도한 다음 GAE를 10, 20, 50 및 100 mg%로 되게 점진적으로 첨가하였을 때 혈관 평활근의 수축고는 GAE의 농도가 증가됨에 따라 증가되었으며 GAE를 100 mg% 첨가시는 유의있게 증가됨을 알 수 있었다 ($p < 0.05$). 이를 다시 GAE가 100 mg% 첨가된 정상 KH 용액으로 세척시는

혈관 평활근의 수축이 기초 상태로 돌아왔다. 이 결과는 GAE가 적어도 이 $Na^{+}-Ca^{++}$ 교환을 억제하지는 않는다는 것을 시사하며, 또 GAE에 의한 혈관 평활근 수축고의 증가는 $Na^{+}-Ca^{++}$ exchange가 평형상태에 도달하였을때 이므로 오히려 GAE가 혈관 평활근막을 통한 $Na^{+}-Ca^{++}$ exchange의 exchange ratio를 변동시키거나 또는 Ca^{++} 이 세포내 Ca^{++} 저장소로부터 Ca^{++} 를 유리시키기 때문인 것으로 생각된다.

5. 인삼 알콜추출물이 혈관평활근 세포막의 Ca^{++} flux에 미치는 영향

GAE가 대동맥 평활근을 통한 Ca^{++} 의 유입 및 유출에 미치는 영향을 측정 한 성적은 Fig. 8에 나타낸

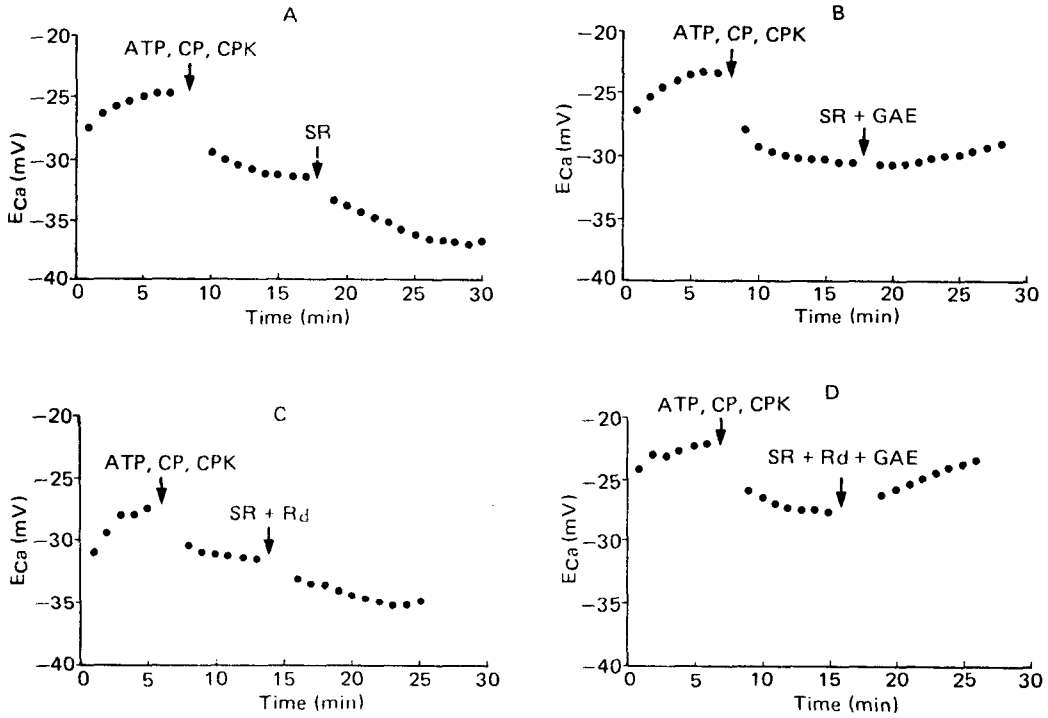


Fig. 9. Effect of ginseng alcohol extract (GAE) on the Ca^{++} flux from sarcoplasmic reticulum vesicle (SR).

- A: SR vesicle alone
- B: SR vesicle + GAE (50 mg%)
- C: SR vesicle + ryanodine (10 μ M)
- D: SR vesicle + ryanodine + GAE

바와 같다. 이 그림에서 보는 바와 같이 1.0 mM Ca^{++} 을 함유한 KH 용액에 혈관 평활근과 혈관막을 통해 Ca^{++} 유입을 증가시키는 것으로 알려진 NE (10^{-7} M)을 첨가하였을 때 세포외의 Ca^{++} 농도가 3.18 μ moles/30 min/gm, wet tissue로 감소되어 혈관 평활근내로 Ca^{++} 의 유입이 증가됨을 알 수 있었다(Fig. 8A). 그러나 이와같은 실험에서 GAE(50 mg%)를 첨가시 Ca^{++} 유입의 변화는 관찰할 수 없었다(Fig. 8C). 한편 혈관 평활근을 1.0 mM Ca^{++} 을 함유한 KH 용액에서 Ca^{++} 을 loading 시키고 이 혈관을 Ca^{++} 이 존재하지 않는 KH 용액에 옮겨, 혈관 평활근에서 세포외로의 Ca^{++} 의 유출을 측정할 결과 GAE(50 mg%)를 첨가한 군의 Ca^{++} 유출이 2.12 μ moles/30 min/gm, wet tissue으로 대조군(1.004 μ moles/30 min/gm, wet tissue)보다 크게 나타

났는데 이는 세포내 Ca^{++} 저장소에서 Ca^{++} 유리의 증가로 혈관평활근 세포막을 통한 Ca^{++} 유출이 증가되었음을 시사하는 결과이다. 이 결과로 미루어 GAE는 혈관 평활근에서 세포외에서 세포내로의 Ca^{++} 유입에는 영향을 미치지 않으나 세포내 Ca^{++} 저장소로부터 Ca^{++} 유리를 증가시키므로써 혈관 평활근의 수축을 일으킨다는 것을 알 수 있다.

6. 인삼 알콜추출물이 sarcoplasmic reticulum에서 Ca^{++} flux에 미치는 영향

GAE에 의한 혈관 평활근 수축의 증가에 동원되는 Ca^{++} 의 공급원이 세포내 Ca^{++} 저장소로부터 Ca^{++} 유리에 기인된다는 사실을 확인하였으므로 세포내 Ca^{++} 저장소의 하나인 SR에서 Ca^{++} flux에 미치는 GAE의 효과를 측정하였으며 그 결과는 Fig. 9

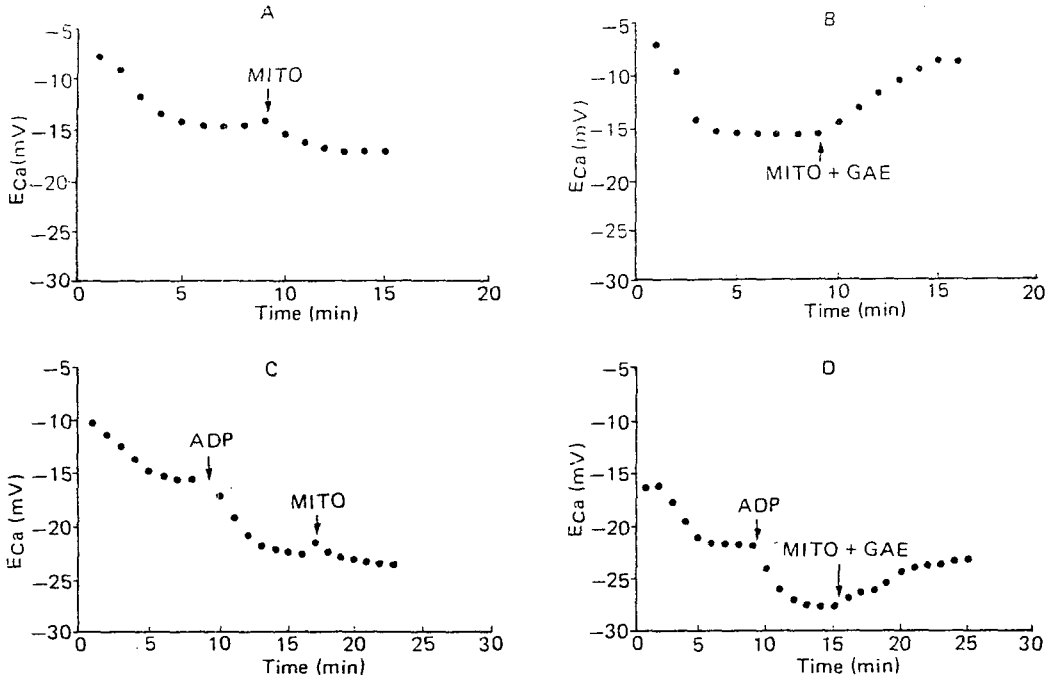


Fig. 10. Effect of ginseng alcohol extract (GAE) on the Ca^{++} flux from mitochondria (MITO).

- A: Mitochondria alone, without ADP in the KH solution.
- B: Mitochondria + GAE (50 mg%), without ADP in the KH solution.
- C: Mitochondria alone, with ADP in the KH solution.
- D: Mitochondria + GAE (50 mg%), with ADP in the KH solution.

에 나타낸 바와 같다. 이 그림에서 보는 바와 같이 incubation 용액에 energy 원으로 ATP, CP, CPK를 첨가하였을 때 이들 energy 원의 phosphate와 Ca^{++} 의 결합에 의해 용액의 Ca^{++} 농도가 감소되었으며 여기에 SR를 첨가시 Ca^{++} 이 $1.03 \mu\text{moles/mg protein}$ 만큼 유입되었으나 SR과 GAE(50 mg%)를 첨가시는(Fig. 9B) 용액내로 Ca^{++} 의 유리($1.03 \mu\text{moles/mg protein}$)가 증가되었다. 또한 ryanodine ($10 \mu\text{M}$)과 SR를 동시에 첨가시는 Ca^{++} 이 $0.69 \mu\text{moles/mg protein}$ 만큼 유입되었다(Fig. 9C). 그러나 ryanodine, GAE와 SR을 동시에 첨가시는 용액내로의 Ca^{++} 유리($1.7 \mu\text{moles/mg protein}$)가 증가되었다. 이는 GAE가 SR에 작용하여 이로부터 Ca^{++} 의 유리를 증가시키므로서 혈관 평활근 수축을 증가시키는 한 원인이 될 수 있음을 시사하는 바이다.

7. 인삼 알콜 추출물이 mitochondria에서 Ca^{++} flux에 미치는 영향

세포내 Ca^{++} 저장소의 하나인 mitochondria에서 GAE가 Ca^{++} flux에 미치는 영향을 관찰한 성적은 Fig. 10에 나타낸 바와 같다. 이 그림에서 보는 바와 같이 ADP가 존재하지 않는 incubation 용액에 mitochondria만 첨가하였을 때(Fig. 10A) Ca^{++} 의 유입($0.26 \mu\text{moles/mg protein}$)이 증가되었으나 mitochondria에 GAE를 첨가시는(Fig. 10B) Ca^{++} 의 유리($0.57 \mu\text{moles/mg protein}$)가 증가되었다. 또한 ADP가 incubation 용액에 존재할 때 mitochondria를 첨가시는 Ca^{++} 의 유입($0.08 \mu\text{moles/mg protein}$)이 증가되었고 mitochondria에 GAE를 첨가시(Fig. 10D) Ca^{++} 의 유리($0.11 \mu\text{moles/mg protein}$)가 증가되었다.

고 찰

인삼은 혈관계에 작용하여 혈관을 확장(Kim, 1961; Wood등, 1964; Lim, 1967; Hah등, 1978; Lee, 1978; Ryu 및 Kang, 1981) 수축(Oh등, 1987) 혹은 영향을 미치지 않는 등(Nabata등, 1973) 그 작용이 일정하지가 않다. 이와 같이 인삼이 혈관 평활근의 수축력을 증가, 감소 또는 영향을 나타내지 않는 등의 작용기전은 아직 확실히 규명되지 않았으나 이는 아마도 사용한 실험동물의 종류, 인삼의 종류, 인삼 추출물의 종류(수용성추출물, 알콜추출물, 또는 분말 등), 사용한 용량, 투여방법, 실험용액조성 등의 차이가 그 원인인 것으로 지적되었다. 본 실험에서는 알콜로 추출한 인삼(인삼알콜추출물, ginseng alcohol extract, GAE)을 사용하였으며 이 GAE는 가토 대동맥 평활근의 수축력을 증가시켜 혈관 수축제로 작용함을 알 수 있었다. 혈관 평활근에서 그 수축력과 긴장도의 크기는 수축단백질을 활성화 시키는데 필요한 세포내 Ca^{++} 농도에 의해 결정된다. 그런데 평활근은 골격근과는 달리 Ca^{++} -pool이라고 할 수 있는 SR이 잘 발달되어 있지 않기 때문에 평활근 수축에 필요한 Ca^{++} 을 대부분 ① 세포외액으로 부터 slow Ca^{++} channel을 통하여 또는 Na^{+} - Ca^{++} exchange의 reverse mode를 통하여 Ca^{++} 을 유입시키며, ② 세포내 Ca^{++} 저장소(SR, membrane bound calcium)로부터 혹은 SR 아닌 다른 Ca^{++} pool로부터 공급을 받게된다. 따라서 혈관 평활근의 수축력은 세포외액으로 부터의 Ca^{++} 유입과 세포내 Ca^{++} 저장소로부터 Ca^{++} 유리를 촉진시키는 약물이나 자극은 바로 평활근의 수축력을 증가시키게 된다.

이와같은 GAE에 의한 혈관 수축의 증가효과는 GAE가 평활근 세포막을 통하여 Ca^{++} 이동을 증가시키므로서 나타난 결과라고 우선 가정하여 본다면 위에서 기술한대로 평활근 수축에 필요한 Ca^{++} 을 세포외액에서 부터 얻는다면 이는 slow Ca^{++} channel 즉 막의 탈분극에 의해 열리는 potential-dependent channel과 catecholamine의 α -receptor가 활성화되어 열리는 receptor operated channel을 통하여 유입되어 세포내 Ca^{++} 농도가 증가되면 평활근 수축이

증가될 수 있을 것이다. 이는 Ca^{++} 통로 차단제인 verapamil로 확인될 수 있다. Verapamil은 심근이나 평활근에서 slow Ca^{++} channel을 통한 Ca^{++} 유입을 강력하게 차단하는데(Ehara 및 Doufmann, 1978; Kohlhardt 및 Minch, 1978; Fleckenstein, 1983) 본 실험에서는 verapamil을 처치한 상태에서도 전체적인 수축력은 감소하더라도 GAE 농도에 따른 혈관 수축증가 즉 GAE 의존도가 그대로 유지되었다. 이는 세포외액의 Ca^{++} 농도 증가에 따른 GAE에 의한 평활근 수축의 증가는 세포외에서 세포내로의 Ca^{++} 유입의 증가에 의한 것이 아님을 시사한다. 실제로 세포외액의 Ca^{++} 농도가 0 mM인 상태에서도 혈관 평활근의 수축은 GAE에 의해 유발되었으며, GAE 농도 증가에 비례하여 그 수축고가 증가되었다. 즉 본 실험에서 GAE는 대동맥 평활근의 수축력을 incubation 용액내의 Ca^{++} 농도에 비례하여 증가시켰으며 incubation 용액에 ethylene-glycol bis-(β -amino-ethyl ether) N,N' tetraacetic acid를 가하여 용액내의 유리 Ca^{++} 농도를 10^{-6} M 이하로 낮춘 상태에서도 GAE에 의해 혈관 평활근의 수축이 유발되었으며, GAE 농도의 증가에 비례하여 수축력이 증가되었다. 세포외액의 각 일정한 Ca^{++} 농도에서 GAE는 평활근의 수축력을 그 농도에 비례하여 증가시켰으나 세포외액의 Ca^{++} 농도가 낮은 경우(0 Ca^{++})에서 수축력의 증가효과가 더 크게 나타났다. 이와 같은 실험성적은 GAE에 의하여 평활근 수축에 필요한 Ca^{++} 의 일부를 세포외가 아닌 세포내 Ca^{++} 저장소에서 동원되었음을 시사하는 것이다.

1973년 Reuter 등은 가토대동맥과 폐동맥의 혈관 평활근에서 Na^{+} - Ca^{++} exchange가 reverse mode시(Na^{+} 이 efflux되고, Ca^{++} 이 influx되는 경우) 혈관 평활근 세포막을 통해 유입되는 Ca^{++} 이 혈관 평활근의 수축에 중요한 역할을 한다고 하였다. Blaustein등(1977)은 세포외액의 Na^{+} 농도를 감소시키거나 세포내부의 Na^{+} 농도를 급격히 증가시켰을 때 혈관 평활근의 수축력이 증가된다고 하였다. 본 실험에서도 정상 KH 용액에서 0 Na^{+} KH 용액으로 대체하여 경축을 유도한 후 GAE를 첨가하였을 때 그 경축이 증가되었고 이를 다시 정상 KH 용액으로 세척시 기초상태로 돌아오는 것으로 보아 GAE가

적어도 $\text{Na}^+\text{-Ca}^{++}$ exchange를 억제하지 않는다는 것을 알 수 있었다. 그러나 정상 KH 용액에서 0 Na^+ KH 용액으로 대체하여 $\text{Na}^+\text{-Ca}^{++}$ exchange를 통한 Ca^{++} 유입에 의한 수축이 평형에 도달하였을 때 GAE를 첨가하였으므로 GAE가 $\text{Na}^+\text{-Ca}^{++}$ exchange를 증가시켜 혈관 평활근의 수축을 증가시킨 것이 아니라 $\text{Na}^+\text{-Ca}^{++}$ exchange의 exchange ratio에 변동을 초래하여 혈관의 장력을 증가시켰는지 또는 세포내의 여러 Ca^{++} pool로부터 Ca^{++} 을 동원시켰을 것으로 생각된다.

평활근의 흥분-수축 연관(excitation-contraction coupling)에 동원되는 세포내 Ca^{++} 저장소는 SR, mitochondria, cell membrane, nucleus, nuclear membrane, endoplasmic reticulum(Somlyo 등, 1969; Somlyo 및 Somlyo, 1971; Goodford 및 Wolowyk, 1972; Jonas 및 Zelck, 1974; Popescu 등, 1974; Debas 등, 1975; Popescu 및 Diculescu, 1975) 등을 들 수 있으며 이들 부위에서 Ca^{++} 유리가 촉진되면 세포내 Ca^{++} 농도가 증가되고 평활근의 수축이 일어나게 되는데 이는 세포내 Ca^{++} 저장소로부터 세포내로 Ca^{++} 유리의 차단제로 확인될 수 있을 것이다. Ryanodine은 심근과 골격근(Jenden 및 Fairhurst, 1969; Sutko 등, 1979; Sutko 및 Willerson, 1980; Fabiato, 1985; Sutko 등, 1985) 및 혈관 평활근(Ito 등, 1986; Hwng 및 Breemen, 1987)의 SR에서 Ca^{++} 유리를 차단하는데, 본 실험에서 혈관을 ryanodine으로 처치하여 SR에서 Ca^{++} 유리를 차단시킨 상태에서도 GAE에 의한 혈관 수축력의 증가는 감소되지 않았다. 이는 아마도 GAE가 ryanodine과는 다른 기전으로 SR로부터 Ca^{++} 을 유리시키는지 또는 GAE는 SR 아닌 다른 세포내 Ca^{++} 저장소에서 Ca^{++} 을 유리시켜 혈관평활근의 수축고를 증가시킬 수 있을 것으로 생각된다.

또한 세포내 Ca^{++} 저장소인 SR로의 calcium uptake를 억제하는 caffeine을 처치할 때 caffeine 단독 처리때 보다 GAE를 동시 투여시 더욱 수축고가 증가되었다. 이 결과는 GAE가 세포내 Ca^{++} 저장소로부터 Ca^{++} 유리를 촉진한다는 것을 강력히 시사하는 것이다.

또한 세포막 외부의 Ca^{++} 결합부위에 결합함으로써 결과적으로 Ca^{++} 의 유입을 차단하는 lanthanum

을 투여하더라도 GAE에 의한 수축력의 증가는 억제되지 않았으며 ① verapamil과 lanthanum, ② verapamil, lanthanum과 ryanodine을 동시에 처치한 상태 즉 세포내-외로부터의 거의 모든 Ca^{++} 이동을 차단시킨 상태에서도 GAE에 의한 혈관 평활근 수축증가의 의존도가 상존하는 것은 GAE에 의한 혈관 수축에 동원되는 Ca^{++} 의 근원이 SR 이외의 세포내 Ca^{++} 저장소에서도 동원되었음을 강력히 시사하는 바이다. 따라서 혈관 수축에 동원되는 Ca^{++} 의 근원을 명백하게 규명하기 위하여 혈관 평활근을 통한 Ca^{++} 의 유입 및 유출을 직접 측정하여 GAE 효과를 보았으며 SR과 mitochondria를 분리하여 이곳으로의 Ca^{++} 의 유입과 유리에 GAE의 효과를 직접 측정하였다. GAE는 대동맥 평활근막을 통한 Ca^{++} 의 유입에는 영향을 미치지 않았으나 Ca^{++} 의 유출은 의외있게 증가시켰다(Fig. 8). 이는 GAE가 세포내 Ca^{++} 저장소로부터 Ca^{++} 유리를 증가시킴에 따라 혈관막을 통한 Ca^{++} 의 유출이 증가된 것으로 생각된다. 또한 세포내 Ca^{++} 저장소의 하나인 SR에서도 GAE를 첨가함으로써 Ca^{++} 의 유리가 증가되었으며, ryanodine을 첨가하여 SR에서 Ca^{++} 유리를 차단시키고 GAE를 첨가시키더라도 Ca^{++} 유리가 현저히 증가되었다. 이는 아마도 GAE가 ryanodine의 작용부위는 무관하게 Ca^{++} 을 유리시키는 것으로 생각된다. 한편 세포내 Ca^{++} 농도를 조절하는 데 보조적인 역할을 하는 mitochondria에서 Ca^{++} flux를 측정한 결과 mitochondria에 GAE를 첨가시 Ca^{++} 의 유리가 시간경과에 따라 증가하였으며(Fig. 10) ADP가 공급되지 않는 상태에서도 mitochondria에 GAE를 첨가시 Ca^{++} 의 유리가 증가하였다. 이는 GAE가 SR뿐 아니라 mitochondria에도 작용하여 Ca^{++} 의 유리를 증가시킴으로서 혈관 평활근의 수축을 증가시키는 것으로 생각된다.

이상의 성적을 종합하여 볼때 GAE는 혈관 평활근에서 SR과 mitochondria 등의 Ca^{++} 저장소로부터 Ca^{++} 의 유리를 증가시킴으로서 혈관 평활근의 수축을 증가시키는 것으로 생각되는 바이며 GAE가 SR이나 mitochondria 이외의 세포내 Ca^{++} 저장소로부터 Ca^{++} 유리를 증가시킬 가능성도 배제할 수는 없으며 이에 대한 연구는 앞으로 추구되어야 할 과제라고 생각된다.

결 론

인삼 알콜추출물에 의한 혈관 평활근 수축력 증가에 동원되는 Ca^{++} 의 근원을 밝히고저 실험한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 인삼 알콜추출물은 세포외액의 Ca^{++} 농도가 낮을 때는 혈관 수축을 농도 의존적으로 증가시켰으나 Ca^{++} 농도가 높아짐에 따라 농도 의존도는 감소하였다.

2) Ryanodine 처치시 인삼 알콜추출물에 의한 혈관 평활근의 수축은 대조군과 유사하게 증가하였으나 caffeine을 처치 하였을 때는 현저하게 증가하였다.

3) Verapamil+lanthanum 그리고 verapamil+lanthanum+ryanodine 처치시 인삼 알콜추출물에 의한 혈관 평활근의 전체적인 수축은 감소하였으나 인삼 알콜추출물의 농도 의존도는 존재하였다.

4) 인삼 알콜추출물은 혈관 평활근에서 Ca^{++} 의 유출은 증가시켰으나 유입에는 영향을 미치지 않았다. 또 Na^+-Ca^{++} exchange에는 별로 영향을 주지 않은 것 같았다.

5) 인삼 알콜추출물은 sarcoplasmic reticulum과 mitochondria에서 Ca^{++} 유리를 증가시켰다.

이상의 결과로 보아 GAE는 혈관 평활근에서 sarcoplasmic reticulum, mitochondria 또는 다른 Ca^{++} 저장소로부터 Ca^{++} 의 유리를 증가시키는 것으로 사료된다.

REFERENCES

- Blaustein MP (1977). *The role of Na-Ca exchange in the regulation of tone in vascular smooth muscle*. In Excitation-Contraction Coupling in Smooth muscle, ed. by R. Casteels, T. Godfraind & J.C. Ruegg. Elsevier/North-Holland Biomedical Press: Amsterdam, New York, Oxford, p101-108
- Chance B & Williams GR (1955). Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. II. Difference spectra. *J Biol Chem* 217, 395
- Debbas G, Hoffman L, Landon EJ, Hurwitz L (1975) Electron microscopic localization of calcium in vascular smooth muscle. *Anat Rec* 182, 447-472
- Ehara T & Doufmann T (1978). The voltage and time dependent effects of (-) verapamil on slow inward current in isolated cat ventricular myocardium. *J Pharmacol Exp Ther* 207, 49-55
- Fabiato A (1985). Effects of ryanodine in skinned cardiac cells. *Fed Proc* 44, 2970-2976
- Fleckenstein A (1983). History of calcium antagonists. *Cir Res (Suppl I)* 52, 3-16
- Furchgott RF (1981). The requirement for endothelial cells in the relaxation of arteries by acetylcholine and some other vasodilators. *Trends Pharmacol Sci* 2, 173-176
- Furchgott RF & Zawadzki JV (1980a). Acetylcholine relaxes arterial smooth muscle by releasing a relaxing substance from endothelial cells. (Abstr) *Fed Proc* 39, 581
- Furchgott RF & Zawadzki JV (1980b). The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288, 373-376
- Furchgott RF, Zawadzki JV & Cherry PD (1981). *Role of endothelium in the vasodilator response to acetylcholine*. In Vasodilation, ed. by Vanhoutte P and Leusen I, New York, Raven Press p49-66
- Goodford PJ & Wolowky MW (1972). Localization of cation interaction in the smooth muscle of the guinea-pig taenia coli. *J Physiol (London)* 224, 521-535
- Hah JS, Kang BS & Kang DH (1978). Effects of Panax ginseng alcohol extract on cardiovascular system. *Yonsei Med J* 19(2), 11-19
- Hwang KS & van Breeman C (1987). Ryanodine modulation of ^{45}Ca efflux and tension in rabbit aortic smooth muscle. *Plugers Arch* 408, 343-350
- Ito K, Takakana S, Sato K, Sutko JL (1986). Ryanodine inhibits the release of calcium from intracellular stores in guinea pig aortic smooth muscle. *Cir Res* 58, 730-734
- Jenden DJ & Fairhurst AS (1969). The pharmacology of ryanodine. *Pharmacol Rev* 21, 1-25
- Jonas J & Zelck U (1974). The subcellular calcium distribution in the smooth muscle cells of the pig coronary artery. *Exp Cell Res* 89, 352-358
- Kim C (1960). The similarity of Panax ginseng with 5-hydroxytryptamine in some pharmacological

- aspects. *종합의학* 5, 85-98
- Kim HD (1961). Effect of panax ginseng on the isolated perfused rat kidney. *Korean Med J* 11(6), 653-655
- Kohlhardt M & Minch J (1978). Studies on the inhibitory effect of verapamil on the slow inward current in mammalian ventricular myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 10, 1037-1052
- Lee KS (1978). The pharmacological actions of ginseng on cardiovascular system. The 20th anniversary thesis collection on Korean Ginseng. Korean Ginseng Products Co. Seoul, Korea
- Lim JK (1963). A comparative studies of panax ginseng fractions effect on histamine and serotonin liberation. *Seoul J Med* 4(1), 9-21
- Luscher TF & Vanhoutte PM (1986a). Endothelium-dependent contraction to acetylcholine in the aorta of the spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 8, 344-348
- Luscher TF & Vanhoutte PM (1986b). Endothelium-dependent response to platelet and serotonin in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 8 (Suppl II), H55-60
- Miller VM & Vanhoutte PM (1985). Endothelium-dependent contractions to arachidonic acid are mediated by products of cyclooxygenase. *Am J Physiol* 248, H432-437
- Nabata H, Saito H & Takagi K (1973). Pharmacological studies of neutral saponin (GNS) of Panax ginseng root. *Jap J Pharmacol* 23, 29-41
- Oh JH, An MR, Kang BS, Kang DH (1987). Effect of panax ginseng alcohol extract on relaxing factors from endothelial cells. *Yonsei Med J* 20(2), 358-368
- Peter JB & Worsford M (1969). Muscular dystrophy and other myopathies: Sarcotubular vesicles in early disease. *Biochem Med* 2, 364
- Pinto A, Abraham NG & Mullane KM (1986). Cytochrome P 450-dependent mono-oxygenase activity and endothelial dependent relaxation induced by arachidonic acid. *J Pharmacol Exp Ther* 236, 445-541
- Pinto A, Miller M & Mcgiff JC (1985). Endothelial-dependent contractions and relaxations of rabbit aorta following contraction-induced hypertension. *Circulation* (Suppl III) 72, 264
- Poole JCF, Sandoss AG & Florey HW (1958). The regulation of aortic endothelium. *J Path Bact* vol. XXV, 133-143
- Popescu LM, Diculescu I, Zelek U, Ionescu N (1974). Ultrastructural distribution of calcium in smooth muscle cells of guinea-pig taenia coli. A correlated electron microscopic and quantitative study. *Cell Tissue Res* 154, 357-378
- Popescu LM & Diculescu I (1975). Calcium in smooth muscle sarcoplasmic reticulum in situ. *J Cell Biol* 67, 911-918
- Reuter H, Blaustein MP & Haeusler G (1973). Na-Ca exchange and tension development in arterial smooth muscle. *Phil Trans R Soc B* 265, 87-94
- Ryu YH & Kang DH (1981). The effect of panax ginseng alcohol extract on the contractility of vascular smooth muscle. *Yonsei J Med Sci* 14, 148-156
- Rosenblum WI (1982). Unsaturated fatty acids and cyclooxygenase inhibits effects on pial arterioles. *Am J Physiol* 242, H629-H632
- Rubanyi GM & Vanhoutte PM (1986). Hypoxia releases a vasoconstrictor substance from canine vascular endothelium. *J Physiol* 364, 45-56
- Somlyo AV & Somlyo AP (1971). Strontium accumulation by sarcoplasmic reticulum and mitochondria, vascular smooth muscle. *Science* 174, 955-968
- Somlyo AV, Vinall P & Somlyo AP (1969). Excitation-contraction coupling and electrical events of two types of vascular smooth muscle. *Microvasc Res* 354-373
- Sutko JL, Ito K & Kenyon JL (1985). Ryanodine: A modifier of sarcoplasmic reticulum calcium release in striated muscle. *Fed Proc* 44, 2984-2988
- Sutko JL, Willerson JT, Templeton GH, Jones LR, Besch HR Jr (1979). Ryanodine: Its alterations of cat papillary muscle contractile state and responsiveness to inotropic interventions and a suggested mechanism of action. *J Pharmacol Exp Ther* 209, 37-42
- Sutko JL & Willerson JT (1980). Ryanodine alterations of the contractile state of rat ventricular myocardium. Comparison with dog, cat, and rabbit ventricular tissues. *Circ Res* 46, 332-343
- Wood WB, Roh BL & White RP (1964). Cardiovascular actions of Panax ginseng in dogs. *Jap J Pharmacol* 14, 284-291