

豨薟이 家兔의 血管內皮細胞性 弛緩因子에 미치는 影響

김 호 현 · 김 길 현*

ABSTRACT

The Effects of Siegesbeckiae Herba on EDRF in the Carotid Artery of the Rabbit.

Kim Ho-Hyun · Kim Gil-Whon*

*Dept. of Physiology, College of Oriental Medicine, Dong-Guk Univ

This study was undertaken to define the mechanism of Siegesbeckiae Herba-induced relaxation in rabbit common carotid artery contracted by agonists.

In order to investigate the effect of Siegesbeckiae Herba on contracted rabbit carotid arterial strips, transverse strips with intact or damaged endothelium were used for the experiment using organ bath. To analyze the mechanism of Siegesbeckiae Herba-induced relaxation, Siegesbeckiae Herba extract infused into contracted arterial strips induced by agonists after treatment of lanthanum chloride, indomethacin, atropine, N ω -nitro-L-arginine, cobalt chloride or methylene blue.

* 동국대학교 한의과대학 생리학교실

The relaxation effect of Siegesbeckiae Herba was dependent on the presence of endothelium, showing that Siegesbeckiae Herba-induced relaxation was not observed in the strips without endothelium.

The endothelium-dependent relaxation induced by Siegesbeckiae Herba was suppressed by the pretreatment of lanthanum chloride, N ω -nitro-L-arginine, cobalt chloride or methylene blue, but it was not observed in the strips pretreated with indomethacin or atropine.

These results demonstrated that Siegesbeckiae Herba may inhibit agonist-induced contraction through an increase in the cyclic GMP by the production of nitric oxide in the vascular endothelial cells.

KeyWords : Siegesbeckiae Herba, endothelium-derived relaxation, nitric oxide, cyclic GMP

I. 서 론

혈액의 운행은 肝藏血, 心主血脈, 脾統血, 肺朝百脈·宣發 등 五臟의 생리적 조화를 바탕으로 이루어지며, 특히 肝의 疏泄과 藏血기능은 혈액의 저장과 혈류량의 조절에 일정한 영향을 미친다¹⁾.

따라서 심혈관계의 질환 역시 肝의 병태생리와 연계하여 파악할 수 있으며, 肝腎陰虛로 인한 肝陽上亢, 肝陽의 偏盛으로 인한 肝風內動의 주요 증상인 頭痛, 眩暈, 耳鳴, 卒然昏倒, 面紅, 目赤, 肢體麻木, 易怒, 精神昏迷, 言語不利 및 腰膝無力 등은 고혈압에서 수반되는 諸症狀과 많은 상관성^{2,3,4)}을 찾아볼 수 있다.

고혈압의 대부분을 차지하는 본태성 고혈압환자는 심박출량의 증가나 말초혈관의 수축으로 동맥혈압이 상승하고, 두개내압의 상승에 의한 두통이나 뇌실질의 출혈^{5,6)} 등을 야기하므로써 뇌졸중의 중요한 요인이 되고 있다.

이러한 고혈압의 치료에 涼肝, 清熱, 熄風, 滋陰의 치법과 이에 상응하는 약물을 응용하는데²⁾, 豨薟은 苦辛하고 寒한 性味를 가지고 있으며 肝腎으로 歸經하여 肝腎의 風濕을 제거하고 清熱解毒하며 通絡하는 효능^{7,8,9,10)}이 있어 四肢痲痺, 腰膝無力, 風濕諸瘡, 口眼喎斜, 半身不遂 등에 적용되며, 고혈압의 치료에 降壓작용^{8,11)}을 하는 것으로 알려져 있다.

豨薟에 관한 실험연구로는 고혈압 흰쥐에 대한 혈압강하효과^{11,12)}와 혈청중 지질함량의 감소^{13,14)} 및 수축된 혈관에 대하여 내피세포 의존성 이완효과¹⁵⁾를 나타내는 것으로 보고된 바 있으나, 이의 작용기전에 대한 연구는 보이지 않는다.

이에 저자는 혈관이완효과에 대한 豨薟의 작용기전을 규명하고자 家兔의 혈관을 적출하여 제작한 실험절편을 이용하여 豨薟이 혈관의 내피세포 의존성 이완인자(endothelium-derived relaxing factor, EDRF)와 prostacyclin의 분비 및 작용에 미치는 영향을 관찰하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 이를 보고하는 바이다.

이에 저자는 혈관이완효과에 대한 豨薟의 작용기전을 규명하고자 家兔의 혈관을 적출하여 제작한 실험절편을 이용하여 豨薟이 혈관의 내피세포 의존성 이완인자(endothelium-derived relaxing factor, EDRF)와 prostacyclin의 분비 및 작용에 미치는 영향을 관찰하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 이를 보고하는 바이다.

II. 방 법

1. 檢液 製造

酒蒸한 豨薟(Siegesbeckiae Herba) 100 g을 round flask에 넣고 증류수 1000 ml을 가하여 heating mantle에서 냉각기를 부착하고 2시간동

안 가열 추출한 다음, 여과한 餘液을 rotary evaporator로 감압 농축하여 100 ml이 되게 한 후 검액으로 사용하였다.

2. 實驗切片 製作

체중 2 kg 내외의 토끼를 chloral hydrate(2g/kg)로 마취한 다음 頸部를 절개하여 총경동맥(common carotid artery)을 노출시켜 손상이 가지 않도록 적출한 후, modified Krebs-Ringer Bicarbonate용액(NaCl 125.4, KCl 4.9, CaCl₂ 2.8, MgSO₄ 1.2, KH₂PO₄ 1.2, NaHCO₃ 15.8, Glucose 12.2 mM, pH 7.3)내에서 혈관주위조직을 박리하여 길이 2 mm 정도의 環形절편을 만들어 사용하였으며, 내피세포(endothelial cell)가 존재하는 혈관과 슝뭉치로 문질러 내피세포를 제거한 혈관으로 구분하였다.

3. 組織標本 製作

실험절편을 10% NBF용액에 실온에서 24 시간 동안 고정한 후, 통상적인 방법으로 paraffin에 포매하고 5 μm 두께로 연속절편을 만들었다. 연속절편은 hematoxylin과 eosin으로 염색하고 표본을 제작하여 광학현미경하에서 내피세포의 존재여부를 관찰하였다(Figure 1).

4. 實驗群 分類

실험군은 내피세포가 존재하는 군과 내피세포를 제거한 군으로 나누어 비교하였고, 내피세포가 존재하는 군은 lanthanum chloride(La³⁺), indomethacin(IM), atropine(ATR), N^ω-nitro-L-arginine(L-NA), cobalt chloride(Co²⁺), 및 methylene blue(MB)를 처치한 군과 처치하지 않은 군으로 나누어 비교하였다.

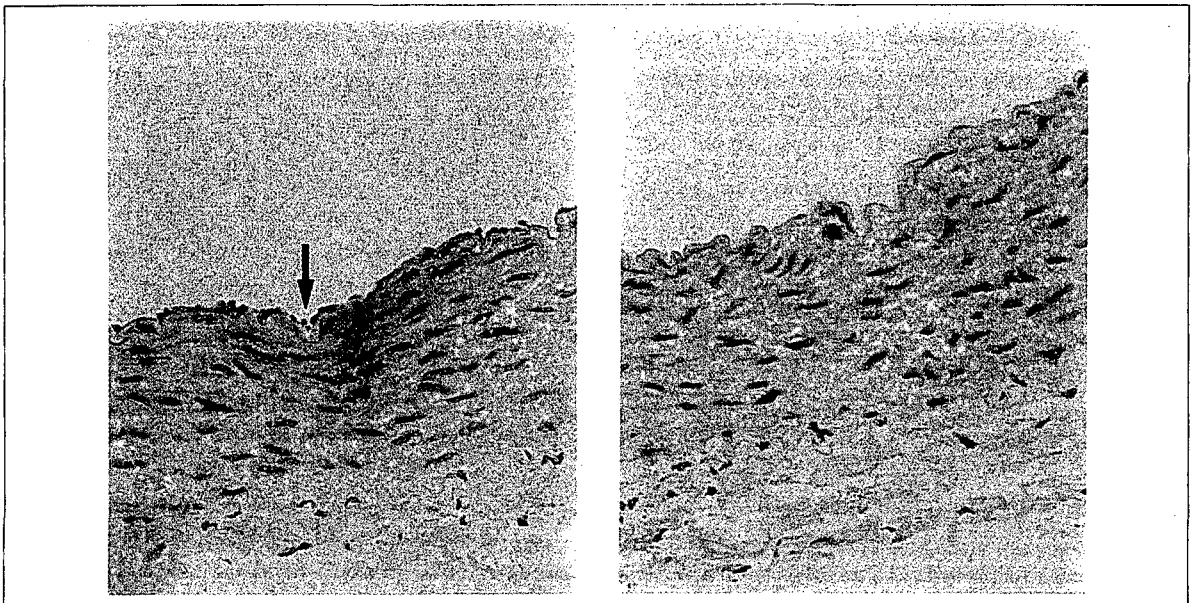


Figure 1. Histologic section of rabbit carotid arterial strip with intact endothelium(left) or damaged endothelium(right).

An arterial strip with intact endothelium was observed in tunica intima endothelial cell(arrow).

5. 實驗方法

실험절편은 95%의 O₂와 5%의 CO₂로 포화된 37 °C의 modified Krebs-Ringer Bicarbonate 용액이 4 ml/min의 속도로 흐르고 있는 organ bath(용량 1.5 ml)에 옮겨 L자형 stainless steel 을 이용하여 수축고정기와 근수축변환기를 연결 하고, 1 시간 회복시킨 다음 0.5 g(La³⁺, IM, ATR, L-NA, Co²⁺ 및 MB를 처치한 군과 처치 하지 않은 군은 0.75 g)의 피동장력을 가하여 절편의 길이를 늘려 주고, 다시 1 시간 회복시킨 다음 실험을 시행하였으며, 실험사이에는 1 시간의 회복시간을 두었다(Figure 2).

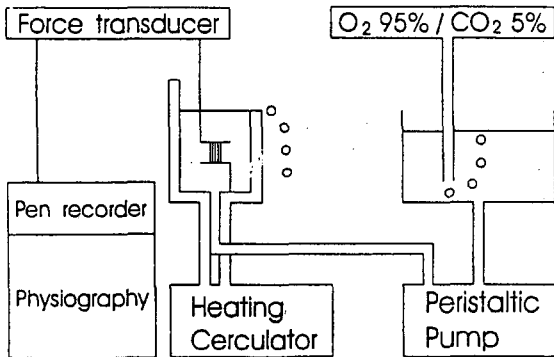


Figure 2. A schematic representation of the 1.5 ml organ bath and isometric contraction recording system.

6. 等張性 收縮 測定

제작된 실험용 절편을 NE 3×10⁻⁸ M로 수축을 유발시킨 후 豨薟 검액을 농도별로 투여하여 수축혈관에 미치는 영향을 측정하고, 이완효과의 기전을 밝히기 위하여 La³⁺ 10⁻⁵ M, IM 10⁻⁵ M, ATR 3×10⁻⁶ M, L-NA 10⁻⁴ M, Co²⁺ 10⁻⁵ M 및 MB 10⁻⁵ M의 전처치로 내피세포성 이완을 억제시킨 후 NE 10⁻⁵ M과 PE 3×10⁻⁶ M로 수축시킨 혈관에 豨薟 검액 10 μl/ml을 투여하여

수축의 변화를 physiograph(Grass, USA)에서 측정하였다.

7. 統 計

성적은 실제 수축의 크기와 최대수축에 대한 백분율을 평균과 표준편차로 나타내었다. Group 간의 비교는 Sigma Plot을 이용하여 unpaired t-test를 실시하였고, 유의성은 P < 0.05로 판정하였다.

III. 성 적

1. 豨薟이 NE-수축혈관에 미치는 영향

豨薟이 수축혈관에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 내피세포가 존재하는 실험절편과 내피세포가 제거된 실험절편에 NE 3×10⁻⁸ M을 투여하여 수축을 유발시킨 후 豨薟 검액을 농도별로 투여하였다.

豨薟은 내피세포가 존재하는 경우 검액의 농도 3μl/ml와 10μl/ml에서 유의성 있는 이완효과를 나타내었으나, 내피세포가 제거된 경우 이완효과를 관찰할 수 없었다(Table I, Figure 3).

Table I. Effects of Siegesbeckiae Herba extract in NE-induced contraction of rabbit common carotid arterial smooth muscle with intact endothelium or damaged endothelium. Values are mean ± SD (n=6). Percentages are referred to NE levels. *** P<0.001, as compared with NE. NE, norepinephrine(3×10⁻⁸ M); SH, Siegesbeckiae Herba extract(SH 1, 1 μl/ml; SH 2, 3 μl/ml; SH 3, 10 μl/ml).

| Treatment (μl/ml) | With endothelium | | Without endothelium | |
|-------------------|------------------|-----------|---------------------|----------|
| | Contraction (g) | % | Contraction (g) | % |
| NE | 0.80±0.06 | 100 | 1.84±0.05 | 100 |
| NE+SH 1 | 0.83±0.07 | 103.2±4.4 | 1.82±0.10 | 98.7±3.6 |

| Treatment ($\mu\text{l}/\text{ml}$) | With endothelium | | Without endothelium | |
|--|-----------------------|-----------------|---------------------|-----------------|
| | Contraction (g) | % | Contraction (g) | % |
| NE+SH 2 | $0.41 \pm 0.11^{***}$ | 51.0 ± 11.1 | 1.82 ± 0.16 | 98.8 ± 7.1 |
| NE+SH 3 | $0.13 \pm 0.05^{***}$ | 16.4 ± 4.9 | 1.72 ± 0.22 | 93.2 ± 10.0 |

La^{3+} 를 전처리한 경우 NE-수축혈관에 대하여 13.8%의 이완효과를 나타내었고 PE-수축혈관에 대하여 7.1%의 수축증가를 나타내어, La^{3+} 의 전처리로 豨薟의 이완효과가 유의성 있게 억제되었다(Table II, Figure 4).

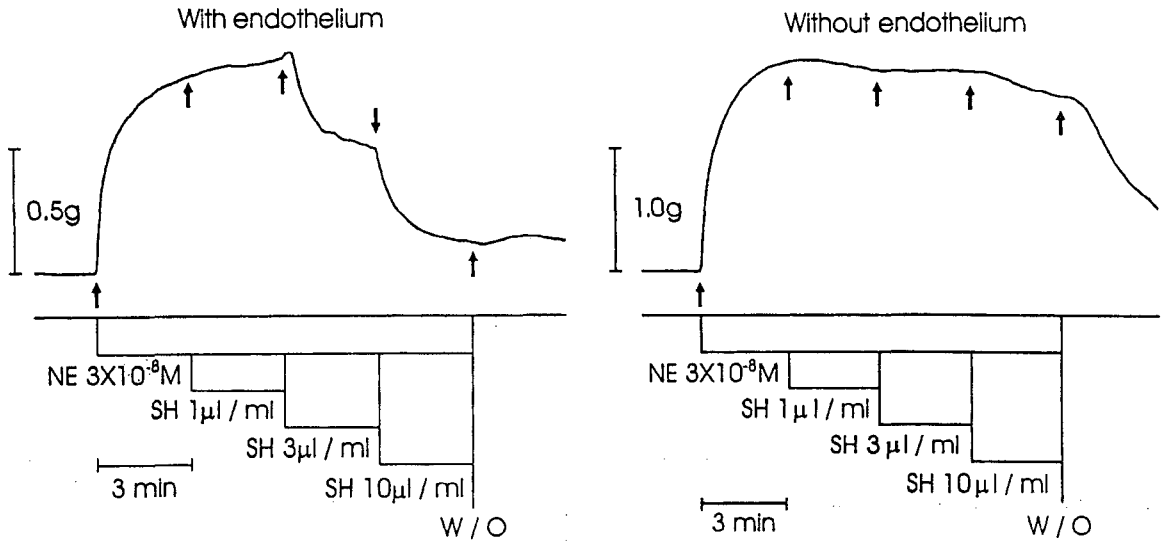


Figure 3. Representative recordings of effect of Siegesbeckiae Herba extract(SH) on NE- induced contraction of rabbit common carotid arterial smooth muscle with intact endothelium or damaged endothelium. NE, norepinephrine; W/O, wash out, change of bath medium with a solution to which no drug is applied.

2. 豨薟이 La^{3+} 처치후 수축된 혈관에 미치는 영향

豨薟의 혈관이완효과에 미치는 Ca^{2+} 의 영향을 관찰하기 위하여 내피세포가 존재하는 실험절편에 10 분간 La^{3+} 10^{-5} M을 전처리하여 세포의 Ca^{2+} 의 유입을 차단시켰다. 그리고 NE 10^{-5} M과 PE 3×10^{-6} M을 각각 투여하여 수축을 유발시킨 후 豨薟 검액 $10 \mu\text{l}/\text{ml}$ 을 투여하여 수축의 변화를 관찰하였다.

豨薟은 La^{3+} 를 처리하지 않은 경우 NE 및 PE-수축혈관에 대하여 각각 34.2%, 36.7%의 유의성 있는 이완효과를 나타내었다.

3. 豨薟이 IM 처치후 수축된 혈관에 미치는 영향

豨薟의 혈관이완효과에 미치는 prostacyclin의 영향을 관찰하기 위하여 내피세포가 존재하는 실험절편에 15 분간 IM 10^{-5} M을 전처리하여 내피세포에서 prostacyclin의 생성을 차단시켰다. 그리고 NE 10^{-5} M과 PE 3×10^{-6} M을 각각 투여하여 수축을 유발시킨 후 豨薟 검액 $10 \mu\text{l}/\text{ml}$ 을 투여하여 수축의 변화를 관찰하였다.

豨薟은 IM을 처리하지 않은 경우 NE 및 PE-수축혈관에 대하여 각각 37.9%, 38.5%의 유의성 있는 이완효과를 나타내었다.

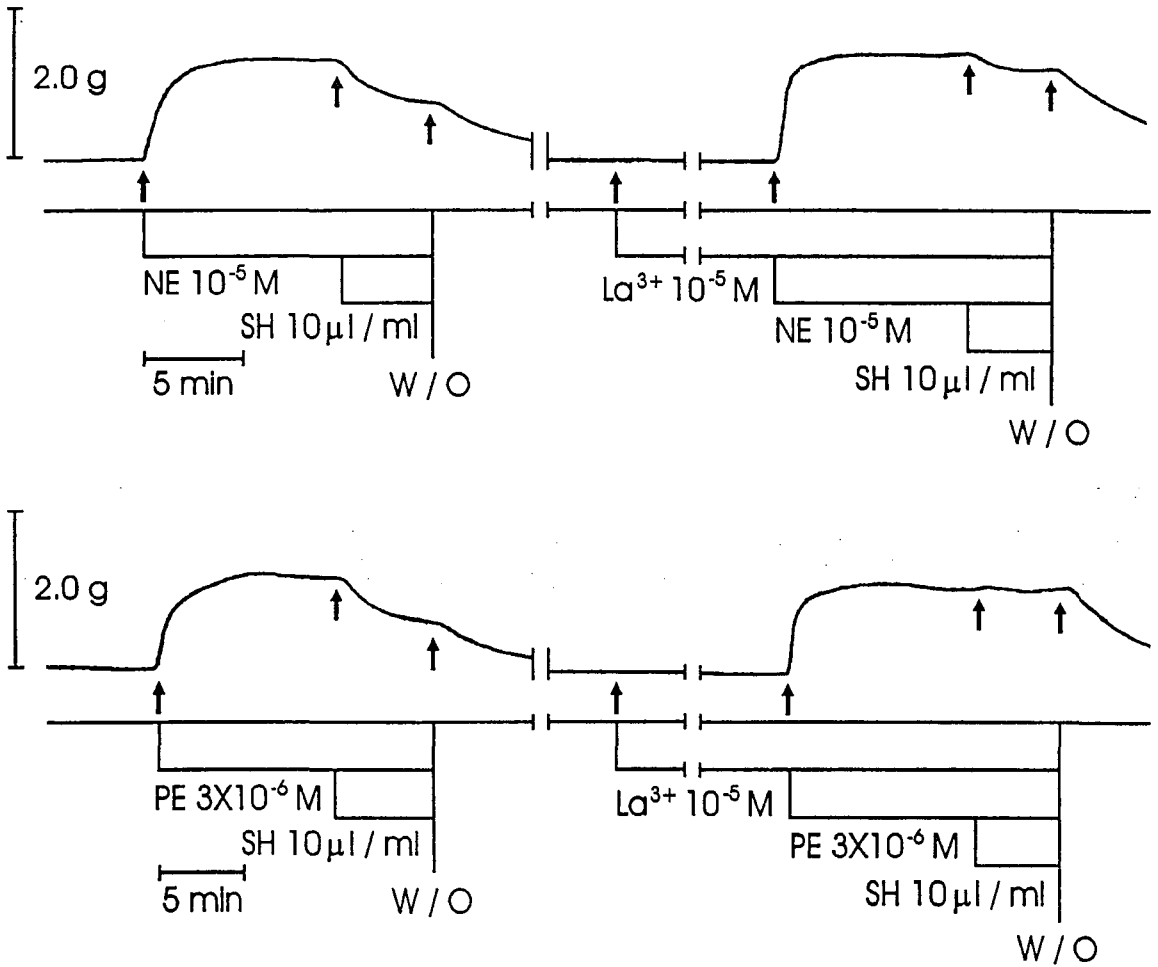


Figure 4. Representative recordings of effect of Siegesbeckiae Herba extract on agonist-induced contraction of rabbit common carotid arterial smooth muscle with intact endothelium after treatment of La³⁺. NE, norepinephrine; PE, phenylephrine; La³⁺, lanthanum chloride; SH; Siegesbeckiae Herba extract; W/O, wash out, change of bath medium with a solution to which no drug is applied.

Table III. Effects of Siegesbeckiae Herba extract on agonist-induced contraction of rabbit common carotid arterial smooth muscle with intact endothelium after treatment of IM. Values are mean \pm SD(n=4). Percentages are referred to NE or PE levels. # P<0.05, ### P<0.001, as compared with NE or PE. NE, norepinephrine(10^{-5} M); PE, phenylephrine(3×10^{-6} M); SH, Siegesbeckiae Herba extract($10 \mu\text{l/ml}$); IM, indomethacin(10^{-5} M).

| Treatment | Non-treatment of IM | | Treatment of IM | |
|-----------|---------------------|-----------------|--------------------|-----------------|
| | Contraction(g) | % | Contraction(g) | % |
| NE | 1.99 \pm 0.12 | 100 | 2.12 \pm 0.18 | 100 |
| NE+SH | 1.24 \pm 0.17### | 62.1 \pm 5.4 | 1.33 \pm 0.14### | 62.6 \pm 5.4 |
| PE | 1.06 \pm 0.26 | 100 | 1.15 \pm 0.27 | 100 |
| PE+SH | 0.62 \pm 0.06# | 61.5 \pm 17.9 | 0.80 \pm 0.03# | 71.4 \pm 12.9 |

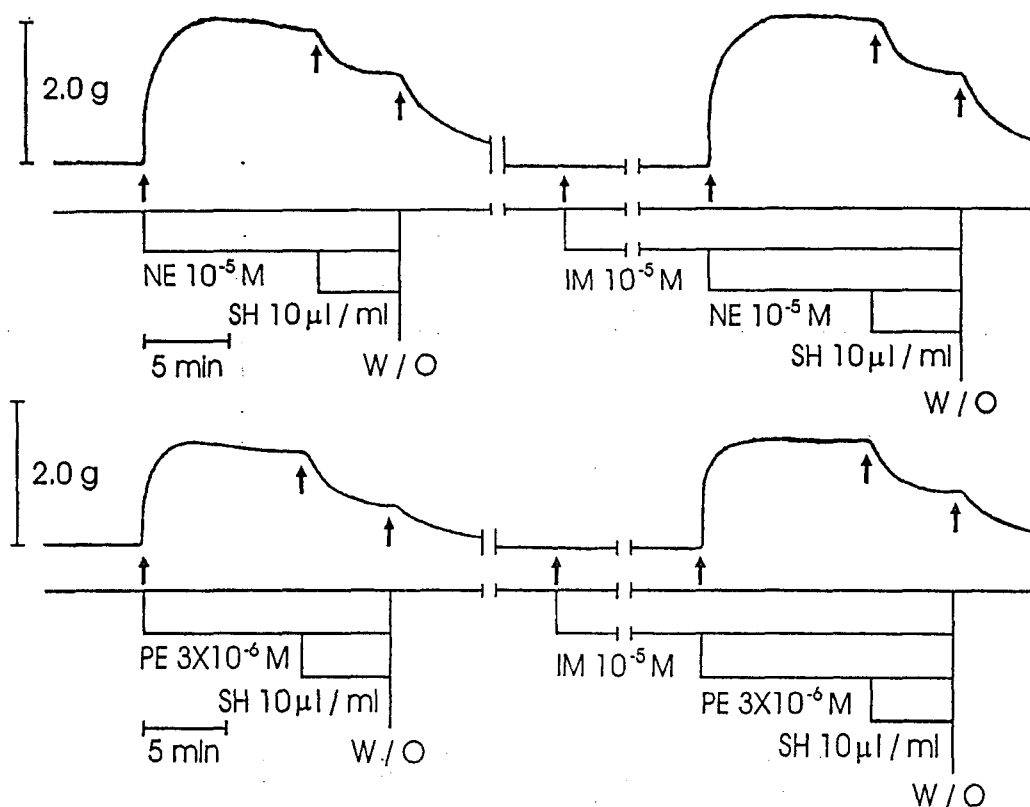


Figure 5. Representative recordings of effect of Siegesbeckiae Herba extract on agonist-induced contraction of rabbit common carotid arterial smooth muscle with intact endothelium after treatment of IM. NE, norepinephrine; PE, phenylephrine; IM, indomethacin; SH, Siegesbeckiae Herba extract; W/O, wash out, change of bath medium with a solution to which no drug is applied.

AIM을 전처치한 경우 NE 및 PE-수축혈관에 대하여 각각 37.4%, 29.7%의 유의성 있는 이완효과를 나타내어, IM의 전처치가 豨薟의 이완효과에 영향을 미치지 않았다(Table III, Figure 5).

4. 豨薟이 ATR 처치후 수축된 혈관에 미치는 영향

豨薟의 혈관이완효과에 미치는 muscarinic receptor의 영향을 관찰하기 위하여 내피세포가 존재하는 실험절편에 15 분간 ATR 3×10^{-6} M을 전처치하여 내피세포에서 muscarinic receptor의 활성화를 차단시켰다. 그리고 NE 10^{-5} M과 PE 3×10^{-6} M을 각각 투여하여 수축을 유발시킨 후 豨薟 검액 $10 \mu\text{l/ml}$ 을 투여하여 수축의 변화를 관찰하였다.

豨薟은 ATR을 처치하지 않은 경우 NE 및 PE-수축혈관에 대하여 각각 46.3%, 41.8%의 유의성 있는 이완효과를 나타내었다.

ATR을 전처치한 경우 NE 및 PE-수축혈관에 대하여 각각 45.9%, 45.1%의 유의성 있는 이완효과를 나타내어, ATR의 전처치가 豨薟의 이완효과에 영향을 미치지 않았다(Table IV, Figure 6).

豨薟의 혈관이완효과에 미치는 nitric oxide의 영향을 관찰하기 위하여 내피세포가 존재하는 실험절편에 15 분간 L-NA 10^{-4} M을 전처치하여 내피세포에서 nitric oxide의 생성을 차단시켰다. 그리고 NE 10^{-5} M과 PE 3×10^{-6} M을 각각 투여하여 수축을 유발시킨 후 豨薟 검액 $10 \mu\text{l/ml}$ 을 투여하여 수축의 변화를 관찰하였다.

豨薟은 L-NA을 처치하지 않은 경우 NE 및 PE-수축혈관에 대하여 각각 32.6%, 47.8%의 유의성 있는 이완효과를 나타내었다.

L-NA을 전처치한 경우 NE 및 PE-수축혈관에 대하여 각각 4.3%, 17.4%의 이완효과를 나타내어, L-NA의 전처치로 豨薟의 이완효과가 유의성있게 억제되었다(Table V, Figure 7).

6. 豨薟이 cobalt chloride 처치후 수축된 혈관에 미치는 영향

豨薟의 혈관이완효과에 미치는 nitric oxide의 영향을 관찰하기 위하여 내피세포가 존재하는 실험절편에 10 분간 Co^{2+} 10^{-5} M을 전처치하여 nitric oxide가 혈관평활근에 작용하는 것을 차단시켰다. 그리고 NE 10^{-5} M과 PE 3×10^{-6} M을 각각 투여하여 수축을 유발시킨 후 豨薟 검

Table IV. Effects of Siegesbeckiae Herba extract on agonist-induced contraction of rabbit common carotid arterial smooth muscle with intact endothelium after treatment of ATR. Values are mean \pm SD(n=4). Percentages are referred to NE or PE levels. # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, as compared with NE or PE. NE, norepinephrine(10^{-5} M); PE, phenylephrine(3×10^{-6} M); SH, Siegesbeckiae Herba extract($10 \mu\text{l/ml}$); ATR, atropine(3×10^{-6} M).

| Treatment | Non-treatment of ATR | | Treatment of ATR | |
|-----------|----------------------|-----------------|------------------|-----------------|
| | Contraction(g) | % | Contraction(g) | % |
| NE | 1.82 ± 0.27 | 100 | 1.37 ± 0.40 | 100 |
| NE+SH | $0.96 \pm 0.16##$ | 53.7 ± 4.9 | $0.71 \pm 0.14#$ | 54.1 ± 11.6 |
| PE | 1.45 ± 0.35 | 100 | 0.98 ± 0.20 | 100 |
| PE+SH | $0.81 \pm 0.10#$ | 58.2 ± 15.9 | $0.53 \pm 0.03#$ | 54.9 ± 9.5 |

5. 豨薟이 L-NA 처치후 수축된 혈관에 미치는 영향

액 $10 \mu\text{l/ml}$ 을 투여하여 수축의 변화를 관찰하였다.

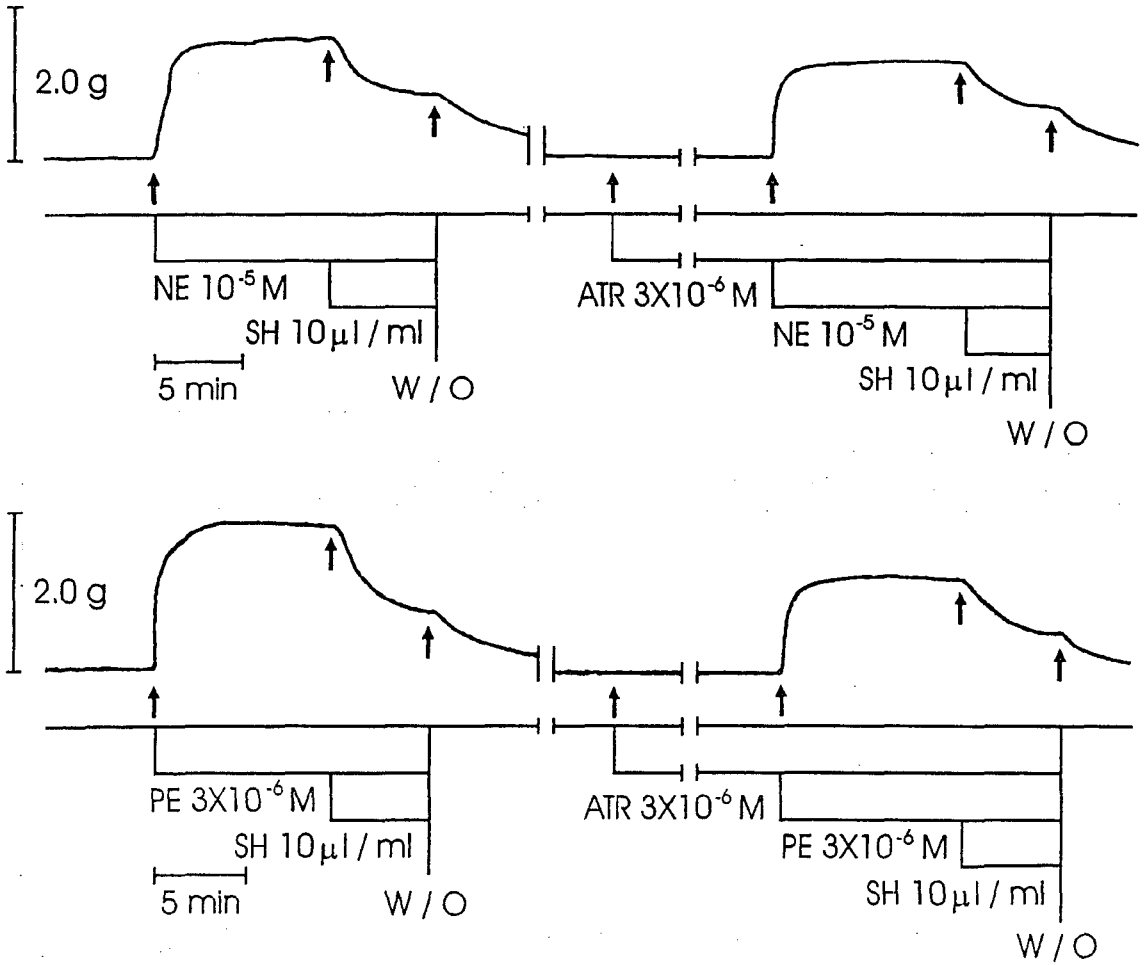


Figure 6. Representative recordings of effect of Siegesbeckiae Herba extract on agonist-induced contraction of rabbit common carotid arterial smooth muscle with intact endothelium after treatment of ATR. NE, norepinephrine; PE, phenylephrine; ATR, atropine; SH, Siegesbeckiae Herba extract; W/O, wash out, change of bath medium with a solution to which no drug is applied.

Table V. Effects of Siegesbeckiae Herba extract on agonist-induced contraction of rabbit common carotid arterial smooth muscle with intact endothelium after treatment of L-NA. Values are mean \pm SD(n=4). Percentages are referred to NE or PE levels. # P<0.05, ## P<0.01, as compared with NE or PE. * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001, as compared with non-treatment of L-NA. NE, norepinephrine(10^{-5} M); PE, phenylephrine(3×10^{-6} M); SH, Siegesbeckiae Herba extract($10 \mu\text{l/ml}$); L-NA, N ω -nitro-L-arginine(10^{-4} M).

| Treatment | Non-treatment of L-NA | | Treatment of L-NA | |
|-----------|-----------------------|-----------------|--------------------|------------------|
| | Contraction(g) | % | Contraction(g) | % |
| NE | 1.85 \pm 0.14 | 100 | 2.49 \pm 0.11*** | 100 |
| NE+SH | 1.24 \pm 0.18## | 67.4 \pm 10.3 | 2.38 \pm 0.20 | 95.7 \pm 5.1** |
| PE | 1.21 \pm 0.32 | 100 | 1.88 \pm 0.18* | 100 |
| PE+SH | 0.61 \pm 0.15# | 52.2 \pm 13.5 | 1.56 \pm 0.39 | 82.6 \pm 14.8* |

Table VI. Effects of Siegesbeckiae Herba extract on agonist-induced contraction of rabbit common carotid arterial smooth muscle with intact endothelium after treatment of Co²⁺. Values are mean \pm SD(n=4). Percentages are referred to NE or PE levels. ## P<0.01, ### P<0.001, as compared with NE or PE. * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001, as compared with non-treatment of Co²⁺. NE, norepinephrine(10^{-5} M); PE, phenylephrine(3×10^{-6} M); SH, Siegesbeckiae Herba extract($10 \mu\text{l/ml}$); Co²⁺, cobalt chloride(10^{-5} M).

| Treatment | Non-treatment of Co ²⁺ | | Treatment of Co ²⁺ | |
|-----------|-----------------------------------|-----------------|-------------------------------|-------------------|
| | Contraction(g) | % | Contraction(g) | % |
| NE | 1.73 \pm 0.28 | 100 | 2.16 \pm 0.31 | 100 |
| NE+SH | 1.21 \pm 0.23## | 69.5 \pm 2.4 | 2.03 \pm 0.25 | 94.4 \pm 2.2*** |
| PE | 1.33 \pm 0.06 | 100 | 1.84 \pm 0.18** | 100 |
| PE+SH | 0.70 \pm 0.12### | 53.0 \pm 10.8 | 1.55 \pm 0.24 | 84.8 \pm 14.3* |

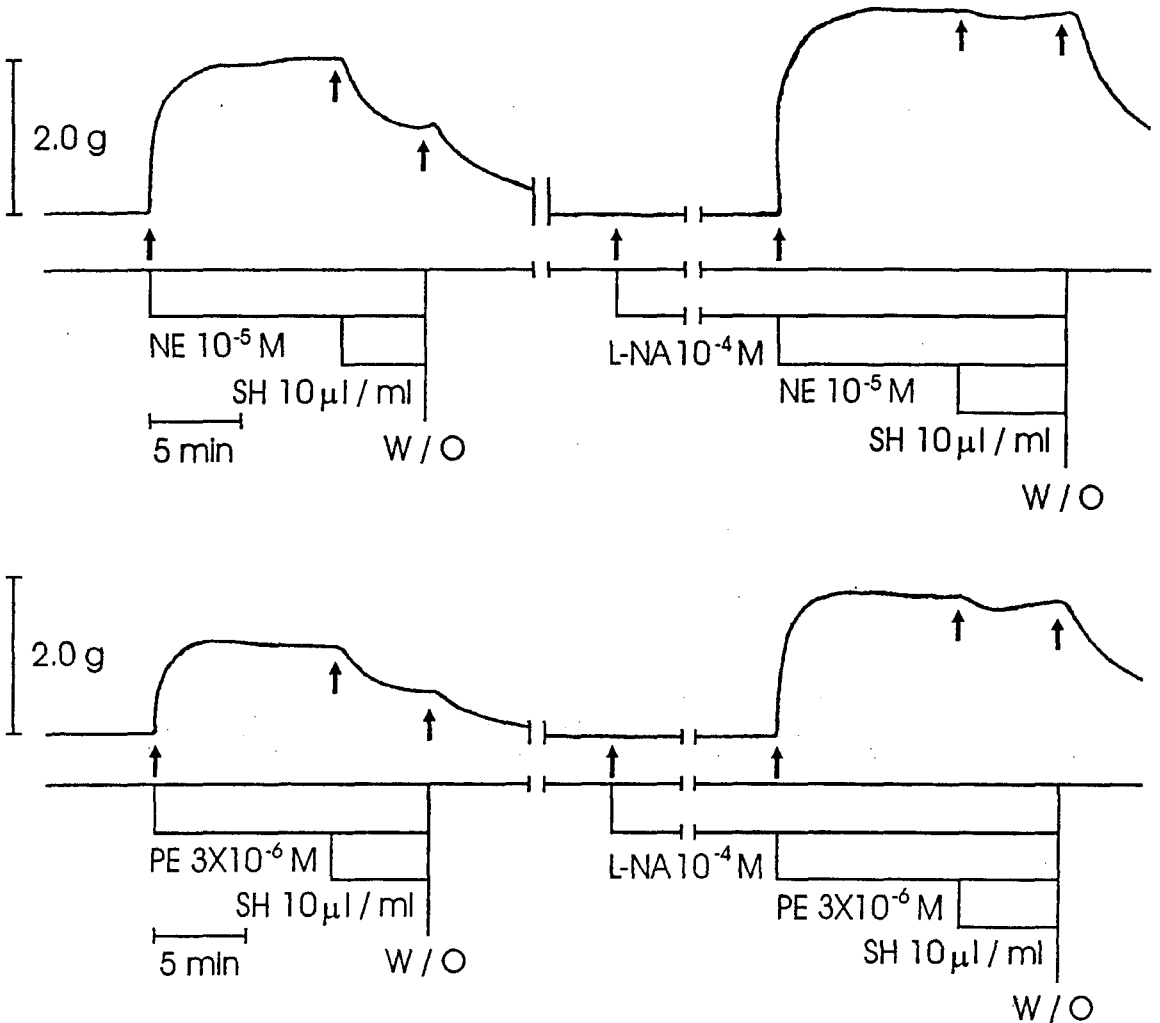


Figure 7. Representative recordings of effect of Siegesbeckiae Herba extract on agonist-induced contraction of rabbit common carotid arterial smooth muscle with intact endothelium after treatment of L-NA. NE, norepinephrine; PE, phenylephrine; L-NA, *N* ω -nitro-L-arginine; SH, Siegesbeckiae Herba extract; W/O, wash out, change of bath medium with a solution to which no drug is applied.

豨薟은 Co^{2+} 를 처치하지 않은 경우 NE 및 PE-수축혈관에 대하여 각각 30.5%, 47.0%의 유의성 있는 이완효과를 나타내었다.

Co^{2+} 를 전처치한 경우 NE 및 PE-수축혈관에 대하여 각각 5.6%, 15.2%의 이완효과를 나타내어, Co^{2+} 의 전처치로豨薟의 이완효과가 유의성

있게 억제되었다(Table VI, Figure 8).

7. 豨薟이 methylene blue 처치후 수축된 혈관에 미치는 영향

豨薟의 혈관이완효과에 미치는 cyclic GMP의 영향을 관찰하기 위하여 내피세포가 존재하는

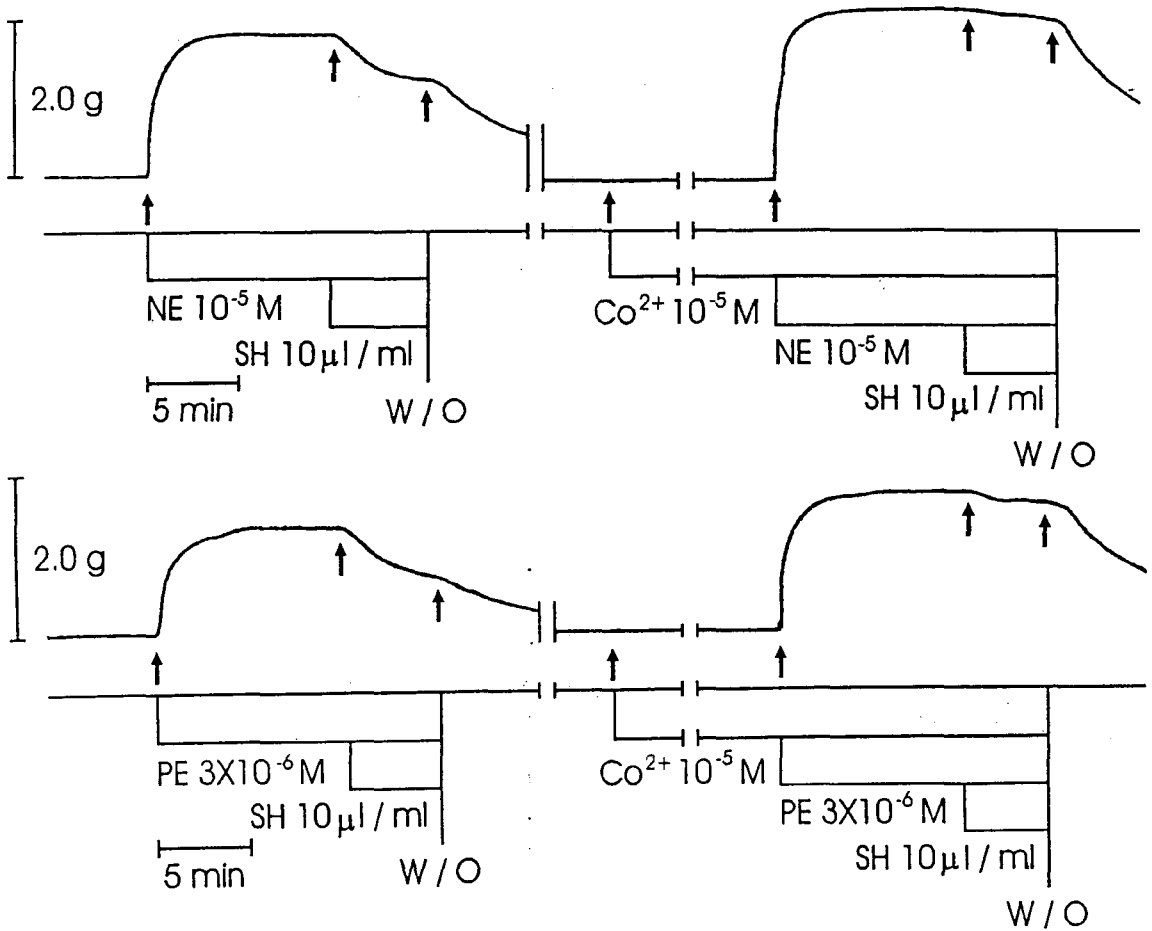


Figure 8. Representative recordings of effect of Siegesbeckiae Herba extract on agonist-induced contraction of rabbit common carotid arterial smooth muscle with intact endothelium after treatment of Co^{2+} . NE, norepinephrine; PE, phenylephrine; Co^{2+} , cobalt chloride; SH, Siegesbeckiae Herba extract; W/O, wash out, change of bath medium with a solution to which no drug is applied.

실험절편에 15 분간 MB 10^{-5} M을 전처치하여 혈관평활근에서 cyclic GMP의 생성을 차단시켰다. 그리고 NE 10^{-5} M과 PE 3×10^{-6} M을 각각 투여하여 수축을 유발시킨 후 豨薊 10 μ l/ml을 투여하여 수축의 변화를 관찰하였다.

豨薊은 MB를 처치하지 않은 경우 NE 및 PE-수축혈관에 대하여 각각 25.2%, 44.2%의 유의성 있는 이완효과를 나타내었다.

MB를 전처치한 경우 NE 및 PE-수축혈관에 대하여 각각 12.5%, 23.8%의 이완효과를 나타내어, MB의 전처치로 豨薊의 이완효과가 유의성 있게 억제되었다(Table VII, Figure 9).

Table VII. Effects of Siegesbeckiae Herba extract on agonist-induced contraction of rabbit common carotid arterial smooth muscle with intact endothelium after treatment of MB. Values are mean \pm SD(n=4). Percentages are referred to NE or PE levels. # P<0.05 ## P<0.01, as compared with NE or PE. * P<0.05, ** P<0.01, as compared with non-treatment of MB. NE, norepinephrine(10^{-5} M); PE, phenylephrine(3×10^{-6} M); SH, Siegesbeckiae Herba extract($10 \mu\text{l/ml}$); MB, methylene blue(10^{-5} M).

| Treatment | Non-treatment of MB | | Treatment of MB | |
|-----------|---------------------|-----------------|------------------|------------------|
| | Contraction(g) | % | Contraction(g) | % |
| NE | 2.02 \pm 0.16 | 100 | 2.72 \pm 0.50* | 100 |
| NE+SH | 1.50 \pm 0.17## | 74.8 \pm 4.8 | 2.39 \pm 0.47 | 87.5 \pm 2.0** |
| PE | 1.50 \pm 0.42 | 100 | 2.18 \pm 0.36* | 100 |
| PE+SH | 0.80 \pm 0.13# | 55.8 \pm 14.7 | 1.66 \pm 0.32 | 76.2 \pm 6.7* |

IV. 고찰

東醫學에서 혈액순환에 대한 생리는 五臟의 조화를 바탕으로 이루어지는 바, 대표적으로 心主血脈의 기능에 의하여 혈액의 순환이 推動되고, 肝藏血의 기능에 의하여 혈액을 저장하고 혈류를 조절한다¹⁾

따라서 혈액순환의 장애를 유발하는 병태생리는 주로 肝, 心과 연계되어 나타나며, 肝風內動, 肝陽上亢, 肝腎陰虛, 心氣虛, 心陽虛, 心血虛, 心陰虛 및 心火上炎^{16,17)} 등의 증후에서 찾아볼 수 있다.

특히 肝은 條達, 疏泄하는 생리특성을 갖추고 있어 疏泄·條達기능이 실조되면 肝火上炎, 肝風內動의 병태를 유발하여 頭痛, 眩暈, 目赤, 脇肋脹滿, 胸滿, 躁急易怒, 肢體麻木, 卒然昏倒, 口眼喎斜, 半身不遂, 言語不利, 脈弦하게 된다^{2,17)}.

또한 肝과 腎의 관계에서 肝陰은 腎陰의 滋養을 받아 생리기능을 발휘하므로 腎陰의 부족은 肝陰이 부족하게 되는 결과를 초래하고 肝腎의 陰虛로 陽氣를 수렴하지 못하면 肝陽이 上亢하여 頭痛, 眩暈, 肢體麻木, 筋脈拘攣 등의 증상이 나타난다^{2,17)}.

따라서 혈액순환의 장애는 주로 肝氣의 極盛이나 陰血의 부족으로 발생하는 肝火上炎, 肝陽上亢, 肝風內動에 의하여 頭痛, 眩暈, 口眼喎斜, 卒然昏倒, 半身不遂, 精神昏迷 및 言語不利 등의 병증이

나타나고, 이러한 병증은 서양의학의 고혈압에서 수반되는 諸症狀과 많은 상관성을 갖고 있다^{3,4,16)}.

고혈압은 뇌혈관계 압력상승에 의하여 頭痛, 不安感, 眩氣症, 腦卒中을 일으키거나 心肺기능의 저하로 호흡곤란, 心悸亢進의 원인이 되고, 冠狀動脈질환에 의한 胸痛 등의 합병증을 나타낸다^{5,6)}.

이러한 증상의 치료에 清熱, 涼肝, 熄風, 滋陰의 治法과 이에 상응하는 약물들이 응용되는데²⁾, 稀薺은 苦辛하고 寒한 性味^{9,10)}를 가지고 있으며 肝腎으로 歸經하여 肝腎의 風濕을 제거하고 清熱解毒하며 通絡하는 효능^{7,8)}이 있고, 음식물 중 지질류의 흡수를 저지하여 고혈압과 관상동맥경화로 인한 심장질환의 치료에 활용되고 있으며^{7,8)}, 성분중의 diterpenoid ($\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_4$, 16,17-dihydroxy-16 β (-)-kauran-19-oic acid)가 혈압강화작용¹⁸⁾을 하는 것으로 알려져 있다.

稀薺에 관한 실험연구로는 고혈압 흰쥐에 대한 혈압강화효과^{11,12)}와 鎮痛·鎮痙작용 및 혈청 중 脂質의 함량을 저하^{13,14)}시켜 고지혈증의 예방과 치료에 유효하고, 수축된 혈관에 대하여 내피세포 의존성 이완효과¹⁵⁾를 나타내어 혈관의 긴장성 조절에도 관여하는 것으로 보고된 바 있다. 혈관의 긴장성 조절은 혈관평활근에 분포하는 자율신경계의 작용¹⁹⁾, norepinephrine, serotonin, angiotensin II를 비롯한 혈관활성물질에 의한

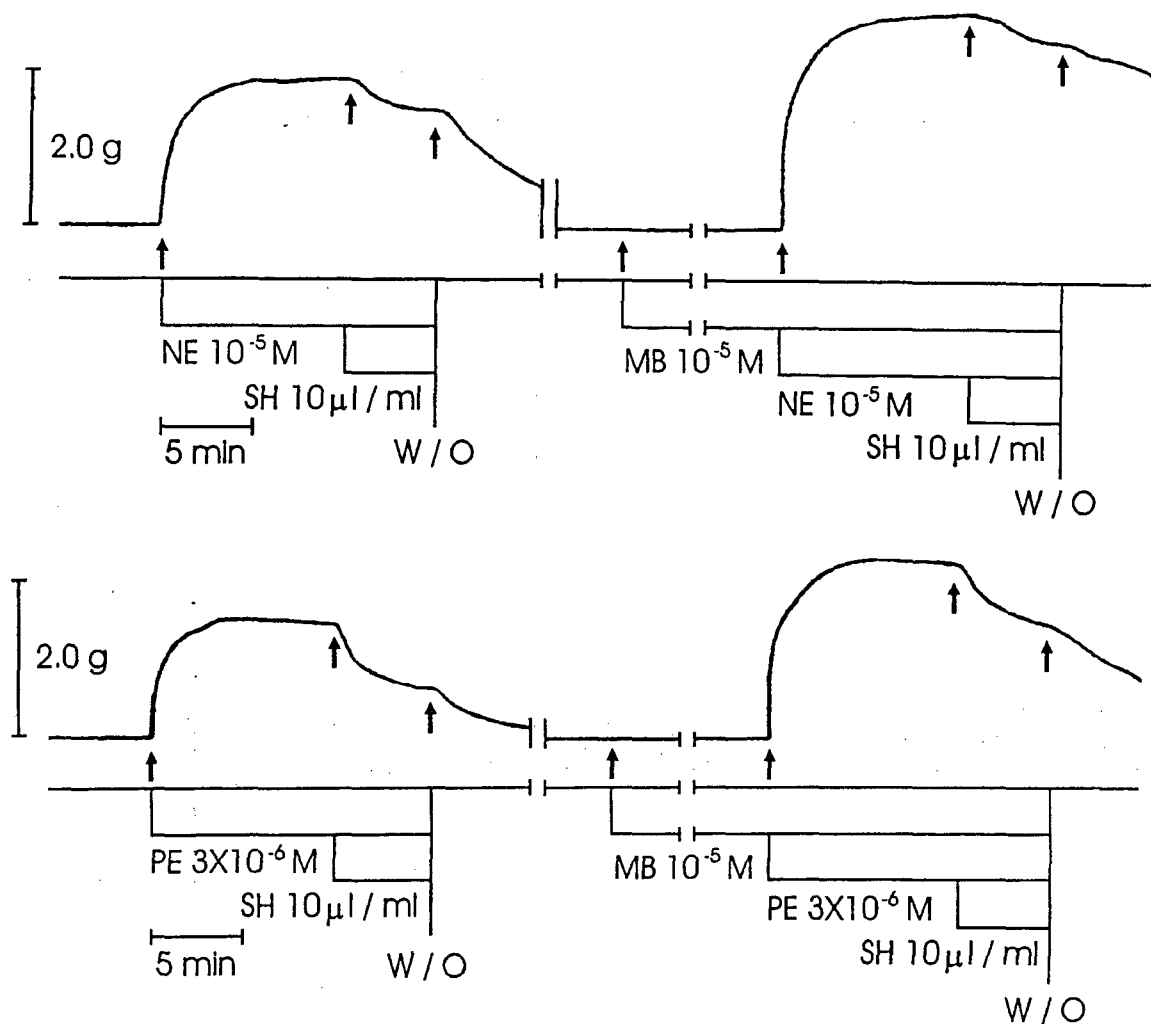


Figure 9. Representative recordings of effect of Siegesbeckiae Herba extract on agonist-induced contraction of rabbit common carotid arterial smooth muscle with intact endothelium after treatment of MB. NE, norepinephrine; PE, phenylephrine; MB, methylene blue; SH, Siegesbeckiae Herba extract; W/O, wash out, change of bath medium with a solution to which no drug is applied.

혈관평활근의 반응성²⁰⁾, 혈관내피세포에서 유리되는 혈관수축인자와 혈관이완인자에 의한 작용^{21,22,23)}에 따라 조절되며, 내피세포에서 유리되는 혈관이완인자는 내피세포 의존성 이완인자^{24,25)}, 내피세포 의존성 과분극인자^{26,27,28)} 및 prostacyclin²⁹⁾ 등이 알려져 있다.

혈관내피세포에서 분비되는 혈관이완인자는

내피세포의 arachidonic acid로부터 cyclooxygenase와 prostacyclin synthase에 의해 합성되는 prostacyclin^{29,30,31)}이 내피세포에서 분비되어 혈관평활근으로 확산되어 들어가며 혈관평활근을 이완시키고, 내피세포의 L-arginine으로부터 nitric oxide synthase에 의해 합성되는 nitric oxide^{32,33,34,35)}가 내피세포에서 분비되어 혈관평활근으로 확산

되어 들어가며 평활근세포내의 soluble guanylate cyclase를 활성화시켜 세포내 cyclic GMP 농도를 증가^{32,34,36})시키고, 증가된 cyclic GMP에 의하여 평활근세포내 Ca^{2+} 농도를 증가시키는 여러 경로들이 억제되어 세포내 Ca^{2+} 농도가 저하되면 혈관평활근이 이완하게 된다.

혈류량의 조절에 혈관의 수축과 이완의 조절이 효과적으로 작용하고, 肝이 혈액을 저장하고 혈류량을 조절하는 藏血의 기능이 있어 안정상태에서는 혈액의 요구량이 감소하여 肝으로 저장되고, 활동시에는 肝의 疏泄과 心의 推動작용으로 혈액을 공급하므로 肝의 藏血·疏泄기능과 心의 推動작용은 혈관의 수축과 이완에 관여할 것으로 생각된다.

따라서 본태성 고혈압의 경우 말초혈관이 수축¹⁹)되는 병태생리를 風과 火熱의 邪氣가 過亢變動^{37,38})을 유발하거나 經脈에 侵襲하여 유발되는 血行장애^{38,39})와 결부시켜 볼 때, 麝香은 내피세포 의존성 이완효과를 나타내므로 苦·寒한 氣味로 清熱·瀉火하고 辛味로 風을 발산^{8,10})시키는 약리작용은 혈관의 내피세포에서 분비되는 이완인자에 영향을 미칠 것으로 생각된다.

본 실험에서 NE으로 혈관을 수축시킨 후 麝香검액을 투여하여 麝香이 수축혈관에 미치는 영향을 관찰한 바, 내피세포가 존재하는 경우는 검액의 농도가 증가함에 따라 유의성있는 이완효과를 나타내었으나 내피세포가 제거된 경우는 이완효과를 나타내지 않아 혈관의 내피세포가 麝香의 작용기전에 중요한 역할을 한다는 것을 알 수 있었다.

내피세포에서 이완인자의 생성에는 Ca^{2+} 이 필수적으로 필요하고⁴⁰), La^{3+} 는 내피세포의 Ca^{2+} 이 내피세포로 유입되는 것을 억제하는 Ca^{2+} 길항제^{41,42,43})로 알려져 있어, La^{3+} 의 전처치로 이완효과가 억제된 것은 麝香의 이완작용에는 내피세포로의 Ca^{2+} 유입을 필요로 하고 이를 바탕으로 내피세포에서 생성되는 이완인자를 통하여 일어나는 것으로 생각된다.

IM은 내피세포성 이완인자의 분비에는 영향을 미치지 않으면서 cyclooxygenase의 활성을 억제하여 내피세포에서 생성되는 이완인자중 prostacyclin의 생성을 차단^{34,44})하므로, IM의 전처치

에도 불구하고 이완효과를 나타낸 것으로 보아 麝香은 prostacyclin의 생성을 통하여 이완효과를 나타내지는 않는 것으로 생각된다.

ATR은 내피세포에서 일어나는 이완인자의 생성에 있어서, ACh에 의하여 내피세포의 muscarinic receptor가 활성화되어 nitric oxide를 합성하는 기전중^{31,32,45}) ACh이 muscarinic receptor를 활성화시키지 못하게 차단하므로^{46,47}), ATR의 전처치로 이완효과가 변화되지 않은 것은 麝香이 muscarinic receptor의 활성화를 통하여 nitric oxide를 생성하는 기전에는 작용하지 않는다는 것을 알 수 있다.

L-NA은 L- N^G -monomethyl arginine^{48,49}), L- N^G -nitro arginine^{50,51})과 더불어 내피세포에서 nitric oxide synthase를 억제^{52,53})하여 nitric oxide의 선구물질인 L-arginine으로부터 nitric oxide가 생성되는 것을 차단시키는 작용을 하는 것으로 보고되었고, L-NA의 전처치로 이완효과가 억제된 것은 麝香이 nitric oxide의 생성을 통하여 이완효과를 나타낸다는 것을 의미한다.

Co^{2+} 는 내피세포에서 생성된 nitric oxide가 혈관평활근내로 확산되어 soluble guanylate cyclase를 cyclic GMP로 전환시키는 과정에 작용하여 nitric oxide의 평활근에 대한 작용을 억제^{54,55,56})하는 바, Co^{2+} 의 전처치로 이완효과가 억제된 것은 麝香이 내피세포에서 생성된 nitric oxide가 혈관평활근에 작용하여 cyclic GMP를 형성는 기전을 통하여 이완효과를 나타낸다는 것을 알 수 있다.

MB는 내피세포에서 생성된 nitric oxide가 혈관평활근내로 확산되어 soluble guanylate cyclase를 cyclic GMP로 전환시키는 과정에 작용하여 cyclic GMP의 형성을 차단^{31,32,46})하므로, MB의 전처치로 이완효과가 억제된 것은 麝香이 내피세포에서 nitric oxide의 생성을 통하여 혈관평활근에서의 cyclic GMP를 형성함으로써 이완효과를 나타낸다는 것을 의미한다.

이상의 실험결과로 보아 麝香은 혈관내피세포에서 L-arginine으로부터 nitric oxide를 합성하여 혈관평활근세포내 soluble guanylate cyclase를 cyclic GMP로 전환시키고, 증가된 cyclic GMP에 의하여 평활근세포내 Ca^{2+} 농도를 증가시

키는 경로들을 억제하는 기전을 통하여 혈관이 완효과를 나타내는 것으로 생각된다.

이러한 豨薟의 작용기전은 辛味로 風을 發散시키고 苦·寒한 氣味로 熱을 제거하는 藥性을 통하여 肝의 風이나 火熱의 邪氣를 제거하여 通經絡하는 약리작용이 혈관내피세포에서 이완인자를 분비하여 수축혈관을 이완시킨 것으로 보이며, 豨薟은 혈관의 수축과 관련된 고혈압, 中風 및 中風前兆症 등에 유효할 것으로 사료된다.

V. 결 론

豨薟이 수축된 혈관에 미치는 이완효과의 작용기전을 규명하고자 家兔의 혈관을 적출하여 제작한 실험절편을 이용하여 lanthanum chloride, indomethacin, atropine, Nω-nitro-L-arginine, cobalt chloride 및 methylene blue로 내피세포성 이완인자의 생성과 작용을 차단시킨 후 norepinephrine 및 phenylephrine으로 유발된 수축혈관에 豨薟 檢液을 투여하여 이완효과에 미치는 영향을 측정한다. 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 豨薟은 norepinephrine으로 유발시킨 수축혈관에 대하여 내피세포가 존재하는 경우는 유의성있는 이완효과를 나타내었으나, 내피세포를 제거한 경우는 이완효과를 나타내지 않았다.

2. 豨薟의 수축혈관에 대한 이완효과는 lanthanum chloride, Nω-nitro-L-arginine, cobalt chloride, methylene blue의 전처치로 억제되었다.

3. 豨薟의 수축혈관에 대한 이완효과에 indomethacin, atropine의 전처치는 영향을 미치지 않았다.

위의 결과로 보아 豨薟의 혈관이완효과는 내피세포에서 분비되는 nitric oxide에 의하여 혈관평활근내의 cyclic GMP를 형성함으로써 Ca²⁺의 유입이 차단되는 과정을 통하여 작용하는 것으로 사료된다.

참고문헌

1. 洪元植, 精校黃帝內經素問, 서울, 東洋醫學研究院 出版部, 1985 : 36, 39, 57, 127, 216.
2. 金完熙, 崔達永, 臟腑辨證論治, 서울, 成輔社, 1990 : 160~165.
3. 趙光勝, 高血壓, 上海, 上海科學技術文獻出版社, 1991 : 123~125.
4. 何紹奇, 現代中醫內科學, 北京, 中國醫藥科技出版社, 1991 : 263~268.
5. 서울대학교 의과대학, 심장학, 서울, 서울대학교 출판부, 1987 : 207~211.
6. Gross, F., Robertson, J. I. S., Arterial Hypertension, G. K. Hall & Co., 1980 : 5 : 1~6.
7. 康秉秀, 金永坂, 本草學, 서울, 圖書出版 永林社, 1994 : 276~277.
8. 高學敏, 中藥學, 北京, 北京中醫學院, 1986 : 155~156.
9. 吳儀洛, 本草從新, 서울, 杏林書院, 1982 : 62.
10. 黃宮繡, 本草求真, 台北, 宏業書局有限公司, 中華民國七十年 : 129~130.
11. 王浴生, 中藥藥理與應用, 北京, 人民衛生出版社, 1983 : 1221~1222.
12. 高昌男, 高血壓에 豨薟丸과 Hydralazine, Atenolol, Nifedipine 및 Furosemide의 併用投與에 關한 實驗的 研究, 경희대학교 대학원, 1993.
13. 沈在錄, 豨薟의 藥理學的 研究, 경희대학교 대학원, 1988.
14. 장동순, 희침이 실험적 고지혈증의 예방과 치료효과에 미치는 영향, 경희대학교 대학원, 1994.
15. 金昊顯, 申興默, 金吉萱, 豨薟이 收縮된 血管에 미치는 影響, 東醫生理學會誌, 1995 : 10(1) : 25~36.
16. 金完熙, 高血壓治療의 辨證에 關한 研究, 大韓醫學會誌, 1982 : 3(2) : 3~13.
17. 盛增秀, 王琦, 臟象概說, 上海, 上海科學技術出版社, 1980 : 123~133.
18. 韓德龍, 藥品植物學各論, 서울, 韓國學習教材社, 1984 : 437~439.
19. 金祐謙, 血液·心臟·循環, 서울, 生명의 이

- 치, 1991 : 190.
20. Guyton, A. C., Medical Physiology, W. B. Saunders Company, 1986 : 20 : 230~243.
21. 李宇柱, 洪思奭, 약리학강의, 서울, 의학문화사, 1993 : 395.
22. Randall, M. D., Griffith, T. M., EDRF plays central role in collateral flow after arterial occlusion in rabbit ear, Am. J. Physiol., 1992 : 263 : H752~H760.
23. White, D. G., Drew, G. M., Gurden, J. M., Penny, D. M., Roach, A. G., Watts, I. S., The effect of NG-nitro-L-arginine methyl ester upon basal blood flow and endothelium-dependent vasodilatation in the dog hindlimb, Br. J. Pharmacol., 1993 : 108(3) : 763~768.
24. Palmer, R. M. J., Ferrige, A. G., Moncada, S., Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor, Nature, 1987 : 327 : 524~526.
25. Rapoport, R. M., Murad, F., Agonist-induced endothelium-dependent relaxation in rat thoracic aorta may be mediated through cGMP, Circ. Res., 1983 : 52(3) : 352~357.
26. Bolton, T. B., Lang, R. J., Takewaki, T., Mechanisms of action of noradrenaline and carbachol on smooth muscle of guinea-pig anterior mesenteric artery, J. Physiol., 1984 : 351 : 549~572.
27. Feletou, M., Vanhoutte, P. M., Endothelium-dependent hyperpolarization of canine coronary smooth muscle, Br. J. Pharmacol., 1988 : 93(3) : 515~524.
28. Suzuki, H., Chen, G., Yamamoto, Y., Miwa, K., Nitroarginine-sensitive and -insensitive components of the endothelium-dependent relaxation in the guinea-pig carotid artery, Jpn. J. Physiol., 1992 : 42(2) : 335~347.
29. Voet, D., Voet, J. G., Biochemistry, John Wiley & Sons, 1990 : 655~662.
30. Vanhoutte, P. M., Houston, D. S., Platelets, endothelium, and vasospasm, Circulation, 1985 : 72(4) : 728~734.
31. Vanhoutte, P. M., Rubanyi, G. M., Miller, V. M., Houston, D. S., Modulation of vascular smooth muscle contraction by the endothelium, Ann. Rev. Physiol., 1986 : 48 : 307~320.
32. Ignarro, L. J., Biological actions and properties of endothelium-derived nitric oxide formed and released from artery and vein, Circ. Res., 1989 : 65(1) : 1~21.
33. Ignarro, L. J., Gold, M. E., Buga, G. M., Byrns, R. E., Wood, K. S., Chaudhuri, G., Frank, G., Basic polyamino acids rich in arginine, lysine, or ornithine cause both enhancement of and refractoriness to formation of endothelium-derived nitric oxide in pulmonary artery and vein, Circ. Res., 1989 : 64(2) : 315~329.
34. Johns, R. A., Endothelium-derived relaxing factor ; Basic review and clinical implications, J. Cardiothorac. Vasc. Anesth., 1991 : 5(1) : 69~79.
35. Palmer, R. M., Rees, D. D., Ashton, D. S., Moncada, S., L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation, Biochem. Biophys. Res. Commun., 1988 : 153(3) : 1251~1256.
36. Furchgott, R. F., Vanhoutte, P. M., Endothelium-derived relaxing and contracting factors, FASEB J. 1989 : 3(9) : 2007~2018.
37. 黃寅秀, 風의 生理學的 認識, 大韓韓醫學會誌, 1990 : 11(2) : 170~179.
38. 楊維傑, 黃帝內經素問譯解, 서울, 成輔社, 1980 : 96, 633, 662~663.
39. 張隱庵, 黃帝內經素問集注, 上海, 上海科學技術出版社, 1991 : 45.
40. Forstermann, U., Pollock, J. S., Schmidt, H. H. W., Heller, M., Murad, F., Calmodulin-dependent endothelium-derived relaxing

- factor/nitric oxide synthase activity is present in the particulate and cytosolic fractions of bovine aortic endothelial cells, *Proc. Natl. Acad. Ssl.*, 1991 : 88(5) : 1788~1792.
41. Deth, R., Breemen, C. van, Relative contributions of Ca^{2+} influx and cellular Ca^{2+} release during drug induced activation of the rabbit aorta, *Pflügers Arch.*, 1974 : 348(1) : 13~22.
 42. Demirel, E., Laskey, R. E., Purkerson, S., Breemen, C., The passive calcium leak in cultured porcine aortic endothelial cells, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1993 : 191(3) : 1197~1203.
 43. Gordon, J. L., Martin, W., Endothelium-dependent relaxation of the pig aorta ; relationship to stimulation of 86Rb efflux from isolated endothelial cells, *Br. J. Pharmac.*, 1983 : 79 : 531~541.
 44. Thompson, L. P., Weiner, C. P., Endothelium-derived relaxing factor inhibits norepinephrine contraction of fetal guinea pig arteries, *Am. J. Physiol.*, 1993 : 264 : H1139~H1145.
 45. Furchgott, R. F., Zawadzki, J. V., The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine, *Nature*, 1980 : 288 : 373~376.
 46. Ignarro, L. J., Harbison, R. G., Wood, K. S., Kadowitz, P. J., Activation of purified soluble guanylate cyclase by endothelium-derived relaxing factor from intrapulmonary artery and vein ; stimulation by acetylcholine, bradykinin and arachidonic acid, *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1986 : 237 : 893~900.
 47. Ren, L. M., Nakane, T., Chiba, S., Muscarinic receptor subtypes mediating vasodilation and vasoconstriction in isolated, perfused simian coronary arteries, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 1993 : 22(6) : 841~846.
 48. Fukuda, N., Izumi, Y., Soma, M., Watanabe, Y., Watanabe, M., Hatano, M., Effects of L-N^G-monomethyl arginine on the cyclic GMP formations in rat mesenteric arteries, *Jpn. J. Pharmacol.*, 1992 : 58(1) : 55~60.
 49. Gibson, A., Mirzazadeh, S., Hobbs, A. J., Moore, P. K., L-N^G-monomethyl arginine and L-N^G-nitro arginine inhibit non-adrenergic, non-cholinergic relaxation of the mouse anococcygeus muscle, *Br. J. Pharmacol.*, 1990 : 99(3) : 602~606.
 50. Crack, P. Cocks, T., Thimerosal blocks stimulated but not basal release of endothelium-derived relaxing factor (EDRF) in dog isolated coronary artery, *Br. J. Pharmacol.*, 1992 : 107(2) : 566~ 572.
 51. Moore, P. K., al-Swayeh, O. A., Chong, N. W., Evans, R. A., Gibson, A., L-N^G-nitro arginine (L-NOARG), a novel, L-arginine-reversible inhibitor of endothelium-dependent vasodilatation in vitro, *Br. J. Pharmacol.*, 1990 : 99(2) : 408~412.
 52. Myers, P. R., Guerra, R. Jr., Harrison, D. G., Release of multiple endothelium derived relaxing factors from porcine coronary arteries, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 1992 : 20(3) : 392~400.
 53. Park, W. K., Lynch, C. 3d, Johns, R. A., Effects of propofol and thiopental in isolated rat aorta and pulmonary artery, *Anesthesiology*, 1992 : 77(5) : 956~963.
 54. 서석효, 세포의 Ca^{2+} 와 Ca 길항제들이 내피세포성 이완인자의 분비에 미치는 영향, *동국의학*, 1994 : 2 : 25~35.
 55. 진성훈, 서경필, 서석효, 김기환, 내피세포성 이완인자에 대한 세포의 Ca^{++} 및 Ca^{+++} 길항제의 작용기전, *대한흉부외과학회지*, 1991 : 24(3) : 229~244.
 56. Suh, S. H., Kim, S. J., Hwang, S. I., Kim, K. W., The inhibitory effect of Co^{2+} on the relaxing activity of EDRF, *JPN. J. Pharmacol.*, 1992 : 58(Suppl.2) : 324.