

신우황청심원액의 심혈관계에 관한 약효연구

조태순* · 이선미 · 김낙두¹ · 허인회² · 안형수³ · 권광일⁴ · 박석기⁵ · 심상호⁵ · 신대회⁵ · 박대규⁵

성균관대학교 약학대학, ¹서울대학교 약학대학, ²중앙대학교 약학대학,
³동덕여자대학교 약학대학, ⁴충남대학교 약학대학, ⁵조선무약(자) 생명과학연구소

Pharmacological Actions of New Woohwangchungsimwon Liquid on Cardiovascular System

Tai-Soon CHO*, Sun-Mee LEE, Nak-Doo KIM¹, In-Hoi HUH², Hyung-Soo ANN³,
Kwang-Il KWON⁴, Seok-Ki PARK⁵, Sang-Ho SHIM⁵, Dae-Hee SHIN⁵ and Dai-Kyu PARK⁵

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

¹College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea,

²College of Pharmacy, Chungang University, 221, Dongjak-ku, Seoul 156-756, Korea,

³College of Pharmacy, Dongduk Women's University, Seoul 136-714, Korea,

⁴College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea,

⁵Institute of Life Science Research, Cho Seon Pharm. & Trading Co., Ltd., Ansan, Kyunggi-Do 425-120, Korea

(Received October 20, 1997; accepted November 6, 1997)

Abstract - In order to investigate the pharmacological properties of New Woohwangchungsimwon Liquid (NCL), effects of Woohwangchungsimwon Liquid (CL) and NCL were compared. In isolated rat aorta, NCL and CL showed the relaxation of blood vessels in maximum contractile response to phenylephrine (10^{-6} M) without regard to intact endothelium or denuded rings of the rat aorta. Furthermore, the presences of the inhibitor of NO synthase and guanylate cyclase did not affect the relaxation of NCL and CL. NCL and CL inhibited the vascular contractions induced by acetylcholine, prostaglandin endoperoxide or peroxide in a dose-dependent manner. In conscious spontaneously hypertensive rats (SHRs), NCL and CL significantly decreased heart rate. NCL and CL, at high doses, had a negative inotropic effect that was a decrease of LVDP and $(-dp/dt)/(+dp/dt)$ in the isolated perfused rat hearts, and also decreased the contractile force and heart rate in the isolated rat right atria. In excised guinea-pig papillary muscle, NCL and CL had no effects on parameters of action potential at low doses, whereas inhibited the cardiac contractility at high doses. These results suggested that NCL and CL have weak cardiovascular effects with relaxation of blood vessels and decrease of heart rate, and that this effect is no significant differences between two preparations.

Keywords □ New Woohwangchungsimwon Liquid, Woohwangchungsimwon Liquid, cardiovascular system, SHR, negative inotropic effect, action potential

고래로부터 현재까지 수백년동안 사용되어 온 우황청심원은 1107년경 태평혜민화제국방에 최초로 수재되었던(진, 1987) 처방으로 제풍, 환중불수, 언어전삽, 심중건망, 황홀거래, 두목현모, 홍중번을, 담연용색, 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, 은

진, 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,

* To whom correspondence should be addressed.

소아경간, 신혼섬, 심복강통, 심장쇠약, 신경쇠약, 월경곤란, 혈전, 질타손상 등의 치료에 사용되어 오고 있다(김, 1984).

또한, 상기의 효능효과를 발현하는 사향의 심혈관계에 대한 연구에서는 사향의 심혈관계에 미치는 영향(Kimura 등, 1966; Kimura, 1980; Matsubara, 1990)이 보고되었으며, 그 밖의 약리작용으로는 남성호르몬양 작용(Sano, 1936; Sano, 1937), 항염증작용(Mishra 등, 1962; Taneja 등, 1973) 등이 보고되어 있다.

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

l-Muscone의 효능효과에 대하여 조 등(1997)은 심혈관계에 대한 약리연구에서 *l*-muscone이 사향과 유사한 혈관이완작용, 혈압강하 및 심박동수의 감소작용, 심계항진 억제 효과 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 또는 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, 대두황권 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 μ g)]을 개발하게 되었다.

본 연구는 신우황청심원액과 시판품인 우황청심원액의 혈관에 미치는 영향, 혈압, 적출심장 기능 및 심계항진에 대한 영향 등에 대하여 비교효력시험을 실시한 것이다.

실험방법

실험동물

실험동물로 음성 흰쥐(Sprague-Dawley)와 guinea pig(300~500 g)는 삼육실험동물센터에서, 13~16주령의 체중 300~350 g 정도의 선천성 고혈압 쥐(spontaneously hypertensive rat; SHR)는 Harlan Sprague Dawley Co.(U.S.A.)로부터 공급받아 항온, 항습이 유지되는 동물 사육실에서 일주

일이상 적응시킨 후, 일반상태를 관찰하여 외관상 건강한 동물을 선별하여 실험에 사용하였으며 동물 사육환경은 12시간 간격의 인공조명(오전 8시부터 오후 8시까지), 조도 300-500 Lux, 23 \pm 1 $^{\circ}$ C, 배기 10-18회/hr, 습도 55 \pm 15%의 조건하에서 polycarbonate 사육상자(W280 \times L400 \times H170 mm)에 3마리씩 넣어 사육하였다. 고형 사료(삼양사)와 상수는 자유롭게 섭취케 하여 실험에 사용하였다.

사용시료 및 시약

신우황청심원액과 우황청심원액은 조선무약(자)에서 제공된 것을 실험방법에 따라 전처리하여 사용하였으며, prostaglandin endoperoxide는 미국 Cayman Chemical 사에서 구입하였고, 그외 phenylephrine, acetylcholine, indomethacin, xanthine, xanthine oxidase, tetraethylammonium, glibenclamide, atropine sulfate, epinephrine bitartrate, heparin 및 sod. pentobarbital 등의 실험에 사용한 모든 시약들은 Sigma Chemical Co.(U.S.A)의 시약을 사용하였다.

실험방법

흰쥐 흉부 대동맥에서의 이완반응

흰쥐의 체중을 측정된 뒤 후두부를 강타하여 실험치사시킨 후 개흉하여 신속하게 하행 흉부 대동맥을 적출하고, 95% 산소와 5% 이산화탄소의 혼합기체로 포화된 ice-cold Krebs(in mM: NaCl 118.3, KCl 4.7, MgSO₄ 1.2, KH₂PO₄ 1.2, CaCl₂ 2.5, NaHCO₃ 25.0, EDTA-Ca 0.016 and glucose 11.1) 완충액에 옮겼다. 혈관 내부의 혈액과 주변의 결합조직 및 지방 등을 제거하고 신선한 Krebs 완충액 내에서 길이 2~3 mm의 혈관 ring 표본을 만들었다. 내피가 있는 혈관 표본은 혈관 내면에 있는 내피세포의 보존을 위하여 혈관 내면에 자극이 가해지지 않도록 주의하였다. 내피가 없는 혈관 표본은 안과용 핀셋 끝을 혈관 내에 집어넣어 Krebs 완충액으로 적신 거름종이 위에서 3초씩 10~15회 정도 회전시켜 내피를 제거시켰다. 만들어진 ring 표본은 혈관 내면에 자극이 가해지지 않도록 주의하면서 Krebs 완충액 10 ml가 채워진 organ chamber에 현수하고 organ chamber 내의 Krebs 완충액은 heat/circulator(Model 73, Poly Science)를 이용하여 37 $^{\circ}$ C를 유지시키고 지속적으로 95% 산소와 5% 이산화탄소의 혼합기체를 공급하였다(pH 7.4). 혈관 ring은 평행한 두개의 stirrup을 이용하여 고정하는데 하부의 stirrup은 organ chamber 내의 holder에 부착되었고, 상부의 stirrup은 10 cm 내외의 일자형으로 holder와 평행하게 장치한 뒤, 고리에 의해 isometric force transducer(Myograph F-60, Narco bio-system)의 감지기에 연결되어 혈관의 장력변화가 transducer coupler(Type 7173, Narco bio-system)를 통해 physiograph(Trace 80, Narco bio-system)의 기록지에 기록되도록 하였다. 본 실험에 앞서 60분 이상 방치하여 평형 상태에 도달하도록 하고 초기 30분간 점진적으로 혈관 ring에 인위적으로 장력을 주어 resting tension이 2 g에 도달하도록

록 하였다.

신우황청심원액과 우황청심원액은 동결건조시켜서 총량의 10%가 되도록 한 후 9ml의 Krebs 용액을 가하여 총량이 14 ml가 되게 현탁한 후, 10 ml organ bath에 400 μ l를 가했을 경우에는 bath내 농도가 10^2 g/ml, 40 μ l를 가했을 경우에는 10^3 g/ml이 되게 제조하였다. 저농도의 경우에는 stock 용액을 희석하여 제조하였다.

실험약물군들의 혈관이완 효과는 내피가 있거나 혹은 제거된 혈관 ring 표본을 phenylephrine(PE) 10^{-6} M로 수축시킨 후 Krebs 완충액에 녹인 두 제제를 각각 누적농도로 가하여 얻은 농도반응곡선을 통하여 살펴보았다.

내피가 존재하는 혈관에서의 이완반응이 내피의존성 이완인자인 nitric oxide(NO)의 유리에 의한 것인지를 확인하기 위하여 soluble guanylate cyclase 억제제인 methylene blue (MB) 10^{-6} M이나 nitric oxide synthase 억제제인 N^G-nitro-L-arginine(L-NNA) 10^{-5} M로 혈관을 각각 30분간 전처리한 후 두 제제의 용량군들에 의한 이완반응의 변화를 관찰하였다.

신우황청심원액과 우황청심원액의 혈관이완반응이 K⁺ channel의 개구에 의한 것인지를 확인하기 위한 실험에서 25 mM KCl 및 60 mM KCl 용액은 Krebs 완충액의 조성에서 KCl의 농도를 증가시켜 해당하는 potassium 농도가 되도록 한 뒤 osmolarity를 맞추기 위해 증가된 potassium 농도만큼 NaCl 염의 농도를 감소시켜 제조하였다. 제조된 25 mM 혹은 60 mM의 KCl 용액을 37°C에서 95% 산소와 5% 이산화탄소 혼합가스로 충분히 포화시켜(pH 7.4) 혈관 평활근이 현수되어 있는 organ chamber 내의 완충액과 교환함으로써 KCl에 의한 수축을 유도하였다. KCl로 수축된 혈관 평활근에 두 제제를 누적농도로 가하여 혈관의 이완반응을 관찰하고 K⁺ channel 차단제인 tetraethylammonium (TEA) 및 glibenclamide로 혈관을 전처리한 뒤 이완반응의 변화를 관찰하였다.

신우황청심원액과 우황청심원액의 혈관이완반응이 Ca²⁺ channel의 개구에 의한 것인지를 확인하기 위한 실험은 내피를 제거한 혈관에서 KCl 60 mM로 혈관을 수축시킨 후 두 제제의 이완반응을 관찰하여 voltage-dependent Ca²⁺ channel 활성의 억제 효과가 있는 지를 관찰하였다. 또한, 분리한 혈관 평활근에서 Ca²⁺-free KR 완충액상에서의 60 mM KCl과 CaCl₂ 0.1, 0.5, 1, 2.5 및 5 mM로 유도한 농도 의존적인 수축반응에 미치는 두 제제의 억제효과를 관찰하였다.

선천성 고혈압 쥐의 대동맥에서 endothelium-derived contracting factor(EDCF)에 의한 혈관수축에 미치는 영향

300~350 g 정도의 SHR을 사용하여 흉부대동맥 혈관표본을 만들어 신우황청심원액과 우황청심원액의 영향을 관찰하였다. Acetylcholine의 내피의존성 수축반응에 대한 실험에서는 SHR의 대동맥 ring 표본이 들어있는 organ cham-

ber에 L-NNA 10^{-5} M과 각 약물군들을 전처리하고, 30분 후 acetylcholine에 대한 누적 용량-수축 반응곡선을 얻어 각 약물군들의 혈관수축 억제효과를 농도의존적으로 관찰하였다.

Prostaglandin endoperoxide(PGH₂)의 수축반응에 대해서는 내피를 제거한 SHR의 대동맥 ring 표본이 들어있는 organ chamber에 각 약물군들을 가하고 30분 후 PGH₂(10^{-6} M)의 수축 반응 곡선을 얻어 두 제제의 억제효과를 관찰하였다.

Oxygen-derived free radical의 수축 반응에 대해서는 내피를 제거한 SHR의 대동맥 ring 표본이 들어있는 organ chamber에 각 약물군들을 가하고 xanthine(10^{-4} M)을 가하고 15분 후 xanthine oxidase($10^3 \sim 10^4$ IU/ml)를 누적 용량으로 가하여 생성되는 oxygen-derived free radical에 의한 수축반응 곡선을 얻어 두 제제의 억제효과를 관찰하였다. 이상의 수축반응의 data 처리는 KCl 60 mM로 최고수축을 일으킨 후 이 수축에 대한 %로 표시하였다.

선천성 고혈압 쥐의 혈압과 심박동수에 미치는 영향

체중 300~350 g 내외의 선천성 고혈압 쥐를 sodium pentobarbital(40 mg/kg, i.p.)로 마취시킨 후 왼쪽 대퇴동맥을 통해 하행 대동맥혈관까지 SP28 catheter(Natume, Japan)를 삽입하고 그 반대편 끝에서 SP56 catheter를 피하를 통해 mid scapular region에서 몸 밖으로 끄집어 내었다. 이때 catheter는 heparin 용액(100 IU/ml)으로 채워 넣었다. 수술효과에서 완전히 회복된 다음 24시간 경과후 혈압을 모니터링하기 위해 대퇴동맥에 접속된 catheter를 polygraph(GRASS Model No. 79E, U.S.A.)에 연결된 pressure transducer (Statham, U.S.A.)에 접속하여 평균혈압(mean arterial pressure; MAP)과 심박동수를 측정하였다. 동물을 약 2시간 동안 안정화 및 적응시킨후 약물을 경구투여한 다음 10, 30, 60, 90, 120, 150, 180분 간격으로 평균혈압 및 심박동수를 측정하였다(Wong 등, 1990a; 1990b).

두 제제는 동결건조 후, 0.25% CMC-Na액에 현탁하여 각각 0.5, 1, 2, 4 g/kg를 경구투여하였으며, 양성대조군으로 propranolol 100 mg/kg을 동일경로로 투여하였다. 평균 혈압 측정은 평균혈압(mmHg)=확장기 혈압+(수축기 혈압-확장기 혈압)/3에 준하여 측정하였고, 심박동수 측정은 분당 박동수(beats/min)에 준하여 측정하였다.

심근수축력과 심혈류량에 대한 영향

흰쥐를 sodium pentobarbital(30 mg/kg i.p.)로 마취시킨 후 heparin(1000 IU/kg i.v.)을 투여하고 Grover 등(1995)의 방법에 따라 심장을 적출하였다. 즉, 기관에 cannula(PE 240)를 삽입하고 rodent ventilator를 이용해 인공호흡을 시키며 *in situ* 상태에서 대동맥 cannula를 대동맥에 삽입하고 역행성 관류하여 심장을 적출해 Langendorff apparatus에 재빨리 매달고 심장에 붙어있는 불필요한 조직을 제거하고

정압 관류(75 mmHg)하에서 산소로 포화된 37°C의 생리액으로 관류하였다. 에탄올과 증류수 혼합액(1:1 v/v)으로 채운 고무풍선(latex balloon)을 매달은 금속 cannula를 폐정맥을 통해 좌심실에 삽입시키고 풍선에 전달되는 좌심실압을 isovolumetric하게 측정하기 위해 pressure transducer에 연결하였다. 심장을 15분간 안정화 되도록 한 후 이완기말 좌심실압(left ventricular end diastolic pressure; LVEDP)을 5 mmHg로 주고 이 풍선 부피를 전 실험기간 동안 유지시켰다. 생리액은 modified Krebs-Henseleit bicarbonate buffer (KH; in mM: NaCl 116, KCl 4.7, MgSO₄ 11.1, KH₂PO₄ 1.17, NaHCO₃ 24.9, CaCl₂ 2.52, glucose 8.32, pyruvate 2.0)를 사용하였으며, 온도는 37°C를 유지시켜 주고 실험을 진행하는 동안 계속 95% O₂와 5% CO₂의 혼합 gas를 통해 주어 pH를 7.4로 하였다.

심장 수축 기능과 심박동수(heart rate; HR) 및 관상혈류(coronary flow; CF)를 측정하여 심장기능 및 관상 혈관 기능을 평가하였다(Grover 등, 1990; 1995). 심장 수축기능을 평가하는 parameter인 좌심실 발생압(left ventricular developed pressure; LVDP)은 좌심실 최대 수축기압(left ventricular peak systolic pressure; LVP)과 LVEDP의 차이로부터 산출하였고 이의 미분치인 dp/dt도 산출하였다. 총 관상 혈류량은 aortic cannula 위에 고정된 coronary flow probe (직경: 1.0 mm)를 이용하여 electromagnetic flowmeter로 측정하였다. Plugsys bridge amplifier를 통해 처리된 모든 신호를 Linearrecorder로 기록하였다. 심장의 온도는 실험 전 기간에 걸쳐 심장을 37°C의 생리액에 담금으로서 일정하게 유지하였으며 검체에 의한 관상 혈관의 폐색을 막기 위해 셀룰로오스 여과지로 여과한 후 생리액으로 순차적으로 희석하여 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴배의 검액을 제조한 후 저농도에 서 고농도로 0.5 ml씩 bolus injection 하였다.

적출우심방의 심박수 및 수축력에 미치는 영향

흰쥐를 ether로 흡입마취시킨 후 복부를 절개하고 신속히 심장을 적출한 다음, 95% O₂와 5% CO₂ gas로 포화시킨 37°C KH(in mM: NaCl 120.3, KCl 4.0, CaCl₂ 1.2, MgSO₄ 1.3, NaH₂PO₄ 1.2, NaHCO₃ 24.2, glucose 5.5) 생리용액(pH 7.4) 내에서 우심방을 절개하여 20 ml 용적의 organ bath 내에 현수하였다. 우심방을 매단 다른쪽은 force displacement transducer에 연결하여 우심방의 자동적인 수축반응을 physiograph(Grass Co. U.S.A.)상에 기록하여 심박수 및 수축력 변화를 측정하였고, 심박수의 기록은 맥파로부터 tachometer를 이용하여 physiograph상에 기록하였다. 2 g의 resting tension을 주면서 15분간 안정화시킨 후 약물의 반응을 측정하였다.

신우황청심원액과 우황청심원액은 원액을 그대로(또는 동결건조하여) 고농도 용액으로 사용하였으며, 이 용액을 Krebs-Henseleit 완충액으로 희석하여 10배, 100배 저농도

용액으로 사용하였다.

적출 우심방의 자동적인 수축력 및 심박수에 대한 직접적인 영향을 검토하고자, 이들 시료를 각각 10⁻⁴, 3×10⁻⁴, 10⁻³, 3×10⁻³ g/ml의 농도로 누적법으로 organ bath 내에 가한 후 수축력 및 심박수 변화를 측정하여, 투여전에 비해 %로 나타내었다.

적출 유두근의 활동전위에 미치는 영향

Guinea pig(300-500 g)의 경동맥을 절단하여 방혈 치사후 빠르게 우심실의 유두근을 적출하여 3 ml의 tissue bath에 고정시킨다. Tissue bath는 pH 7.4 Tyrode(in mM: NaCl 120, KCl 4.0, CaCl₂ 2.0, MgCl₂ 1.0, NaH₂PO₄ 1.2, NaHCO₃ 20.0, glucose 10.0)용액을 3 ml/min의 일정한 속도로 관류시키고, 34±0.5°C를 유지시켰다. 전기가극은 platinum plate electrode를 통하여 threshold voltage의 1.5배로 2 ms 동안 1 Hz의 조건으로 자극하였다. Transmembrane action potential은 3 M KCl로 채워진 glass microelectrode(20~30 MΩ)를 사용하여 microelectrode amplifier(Nihon-Kohden, Japan)로 측정하고, phase O depolarization의 maximal upstroke velocity(V_{max})는 differentiator를 통해 기록하였다. 이러한 action potential 및 V_{max}값은 CANOPUS DSS IN software(DSS98 type 32, Japan) 및 NEC computer를 이용하여 계산하였다.

심계항진에 대한 효과

심계항진에 대한 신우황청심원액과 우황청심원액의 효과는 SD계 흰쥐와 SHR을 별도로 사용하여 관찰하였다. 체중 330-380 g의 SD계 흰쥐를 sodium pentobarbital(40 mg/kg i.p.)로 마취시킨 후 왼쪽 대퇴동맥을 통해 하행 대동맥 혈관까지 catheter(SP28, SP56)를 삽입하여 심박동수 측정에 이용하였으며, 오른쪽 대퇴정맥을 통해 상행대정맥까지 catheter를 삽입하여 약물을 투여하였다. 이때 각 catheter는 heparin용액(100 IU/ml)으로 채워넣었다.

왼쪽 대퇴동맥에 접속된 catheter를 2-channel recorder "GEMINI"(UGO BASILE, Italy)의 strain gauge preamplifier에 연결된 blood pressure transducer(Life Science, U.S.A.)에 접속하였다. 대조군은 마취된 흰쥐를 약 10분간 안정화시키고 정상상태에서의 심박동수를 분당 박동수(beats/min)로 계수하여 측정하였으며, atropine(1 mg/kg, i.v.) 투여 5분후에 epinephrine(5 µg/kg i.v.)을 투여하고 심박동수를 기록하였다. 실험군은 atropine 투여 직전에 0.25% CMC-Na 액에 현탁된 두 제제를 용량별로 정맥투여하고 이하는 대조군과 같게 하여 심박동수를 측정하였다. 심박동수 증가율은 atropine 처치 후 epinephrine만을 투여하여 증가된 심박동수에 대한 약물 처치시의 심박동수의 증가를 백분율로 비교 환산하였다(Matsubara, 1990). 모든 실험결과는 평균±S.E.M.로 표시하였으며 유의성 검정은 Student's unpaired t-test를 사용하여 P값이 0.05 미만일 때 통계학적으로

로 유의성이 있다고 판정하였다.

SHR에서의 심박동수의 측정은 SD계 환쥐와 동일한 방법으로 실험하여 동물을 약 2시간동안 안정화 및 적응시킨 후 두 제제를 경구투여한 다음 10, 30, 60분 간격으로 심박동수를 측정하였다(Wong 등, 1990a; 1990b). 심박동수 변화율은 투여전 심박동수(beats/min)에 대한 측정시간대의 심박동 증가횟수 및 감소횟수를 백분율로 나타내었다.

실험결과

흰쥐 흉부 대동맥에서의 이완반응

Phenylephrine 10^{-6} M로 수축된 혈관 평활근에 대하여 신우황청심원액과 우황청심원액의 직접적인 효과를 내피세포의 존재여부 또는 L-NNA 10^{-5} M나 MB 10^{-6} M 전처리로 NO 생성을 억제한 상태에서 관찰하였다. 신우황청심원액과 우황청심원액은 실험에 이용한 최고농도인 10^{-3} g/ml에서 PE에 의한 혈관수축에 대하여 내피의 유무에 따라 $22.7 \pm 3.7\%$ 와 $24.1 \pm 1.4\%$ 또는 $45.0 \pm 1.7\%$ 와 $33.0 \pm 3.2\%$ 를 각각 억제하였다. L-NNA와 MB의 전처리는 두 제제 모두 혈관 이완반응에 유의적인 영향을 주지 못했다(Fig. 1, 2). 즉, 혈관 평활근에서 신우황청심원액과 우황청심원액은 내피세포의 유무나 NO와 관련없이 혈관이완작용을 나타냈다.

이러한 혈관이완 효과가 K^+ channel을 개구시켜 발현되는지를 확인하기 위해서 세포외액의 K^+ 농도를 25 mM과 60 mM로 증가시켜 혈관을 수축시킨 후, 신우황청심원액과 우황청심원액의 이완반응을 확인하고 K^+ channel 차단제를 사용하여 이완반응이 억제되는 정도를 관찰하였다(Cavero 등, 1989). K^+ channel 차단제로는 ATP-sensitive K^+ channel 차단제인 glibenclamide와 Ca^{2+} -sensitive K^+ channel 차

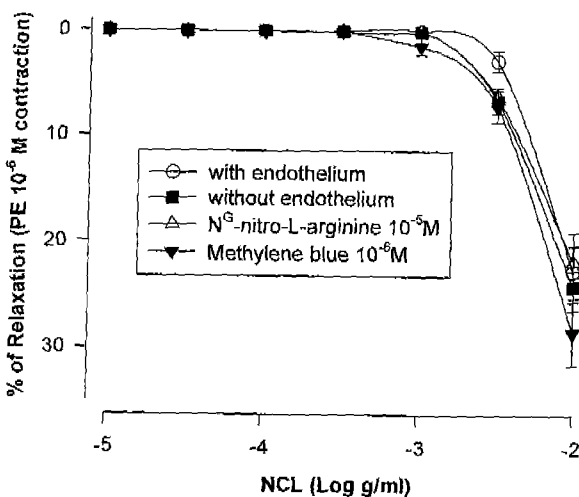


Fig. 1. Relaxing effects of New Woohwangchungsimwon Liquid (NCL) on phenylephrine-induced contraction in isolated aortas of rat. Each value represents mean \pm S.E.M. of 4 rats.

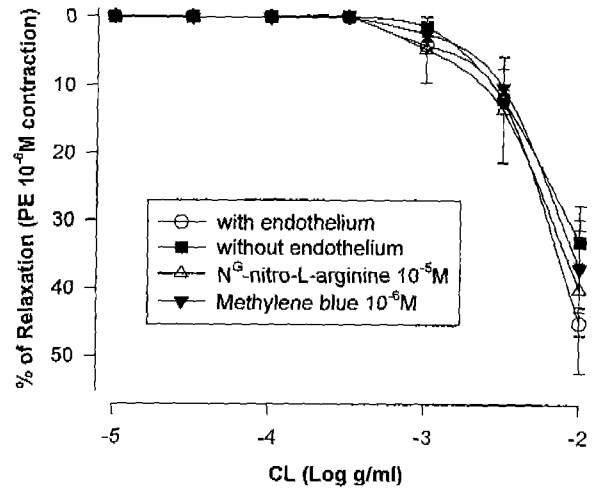


Fig. 2. Relaxing effect of Woohwangchungsimwon Liquid (CL) on phenylephrine-induced contraction in isolated aortas of rat. Each value represents mean \pm S.E.M. of 4 rats.

단제인 TEA를 사용하였다. 두 제제는 모두 세포외액의 KCl 농도에는 관계없이 10^{-3} g/ml 이상에서 이완효과를 나타냈고, 최고 이완효과는 10^{-2} g/ml에서 60 mM KCl 로 유도된 혈관수축을 $70.2 \pm 3.4\%$ 와 $72.5 \pm 2.7\%$ 억제하였으며 이러한 혈관이완반응은 TEA나 glibenclamide에 의해 영향을 받지 않았다(Fig. 3, 4).

신우황청심원액과 우황청심원액이 Ca^{2+} channel을 차단하여 혈관이완 효과를 나타낼 가능성을 확인하기 위해서 Ca^{2+} -free KR용액에 KCl 60 mM을 전처리한 후, 세포외액의 Ca^{2+} 를 0.1에서 5 mM까지 점진적으로 증가시킬 때 나타나는 혈관 수축에 미치는 두 제제의 영향을 농도별로 살펴

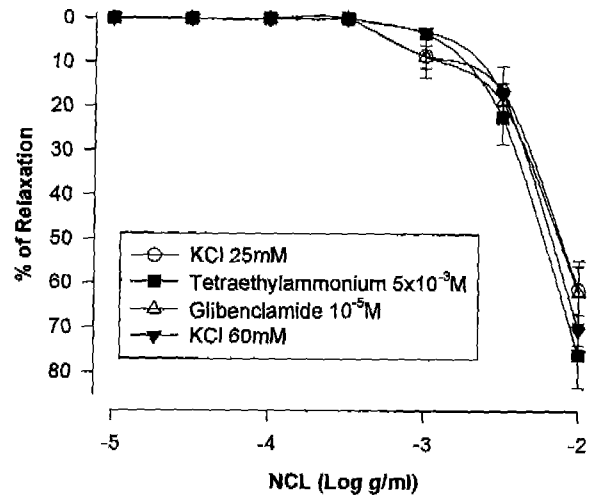


Fig. 3. Effects of New Woohwangchungsimwon Liquid (NCL) on contractile responses evoked by 25 mM and 60 mM KCl in rat aortic rings. Effects of tetraethylammonium and glibenclamide are expressed as percent of the maximal response to 60 mM KCl . Each value represents mean \pm S.E.M. of 3 rats.

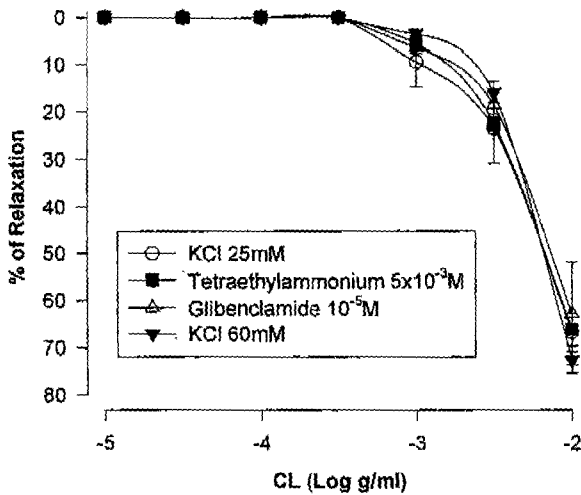


Fig. 4. Effects of Woochwangchungsimwon Liquid (CL) on contractile responses evoked by 25 mM and 60 mM KCl in rat aortic rings. Other legends are the same as in Fig. 3.

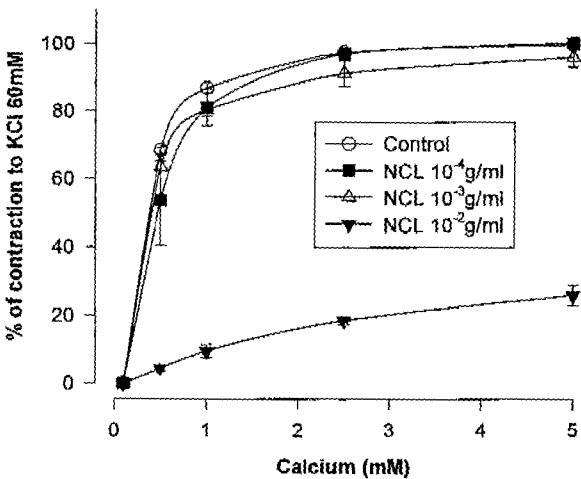


Fig. 5. Inhibitory effect of New Woochwangchungsimwon Liquid (NCL) on CaCl₂-induced contraction under KCl 60 mM in isolated aortas of rat. CaCl₂ was added cumulatively from 1 mM to 5 mM in Ca²⁺-free Krebs solution. Results are expressed as percent of the maximal response to the 60 mM KCl. Each value represents mean ± S.E.M. of 3~5 rats.

보았다. 두 제제 모두 10⁻⁴, 10⁻³, 10⁻² g/ml의 전처리는 대조군에 비하여 Ca²⁺으로 유도한 수축을 농도의존적으로 억제하였다. 특히 10⁻² g/ml의 전처리는 KCl 60 mM의 수축치로 나타내는 최고 수축의 99.7%에 해당하는 5 mM Ca²⁺의 수축을 각각 25.8%와 21.4%로 감소시켰다(Fig. 5, 6).

선천성 고혈압 쥐의 대동맥에서 endothelium-derived contracting factor(EDCF)에 의한 혈관수축에 미치는 영향

SHR의 경우에는 EDCF를 유리하여 내피의 조절능력이 감소되어 혈관의 반응성이 비정상적으로 나타나는데(Lüscher 등, 1986), 신우황청심원액과 우황청심원액이 이러한 EDCF

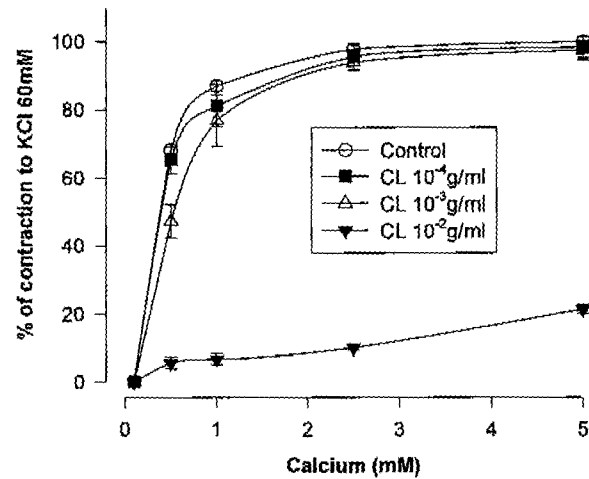


Fig. 6. Inhibitory effect of Woochwangchungsimwon Liquid (CL) on CaCl₂-induced contraction under KCl 60 mM in isolated aortas of rat. Other legends are the same as in Fig. 5.

유리에 미치는 영향을 SHR 흉부 대동맥에서 살펴보았다. 두 제제를 10⁻⁴, 10⁻³, 10⁻² g/ml로 전처리하여 농도에 따른 혈관이완 반응을 관찰하였을 때, 내피가 있는 대동맥의 경우 acetylcholine에 의한 내피의존성 수축에 대하여 농도의존적으로 길항작용을 나타내었다. 즉, 10⁻⁴ M acetylcholine으로 유도한 수축반응에 대하여 36.1%가 억제된 대조군에 비하여, 두 제제는 10⁻⁴, 10⁻³, 10⁻² g/ml에서 각각 21.5, 17.4 및 0%와 24.8, 19.3 및 0%로 농도의존적인 억제효과를 나타냈다(Fig. 7, 8).

EDCF의 하나로 생각되는 PGH₂와 superoxide에 의한 혈관수축반응에 대하여 두 제제의 작용양상을 살펴보기 위하여 SHR 대동맥의 내피를 제거하여 PGH₂ 혹은 xanthine 및 xanthine oxidase(superoxide generating system)를 가하여 수축을 유도한 후 두 제제의 전처리가 어떤 영향을 주는지를 알아보았다. 두 제제 모두 10⁻² g/ml의 전처리는 내피를 제거한 경우 PGH₂에 의한 수축을 유의성있게 억제하였다. PGH₂ 10⁻⁶ M에서 대조군은 53.6%의 수축반응을 나타내었는데 신우황청심원액과 우황청심원액 전처리는 PGH₂에 의한 수축을 각각 3.7%와 4.7%로 감소시켰다(Fig. 9). 또한, 내피를 제거한 SHR의 대동맥에서 superoxide에 의한 혈관수축반응에 대하여 두 제제 모두 10⁻² g/ml에서 유의성있는 억제효과를 나타내었다. Xanthine oxidase 10⁻¹ IU/ml에서 대조군은 102.6%의 수축반응을 나타내었는데 두 제제는 superoxide에 의한 수축을 5.6%와 6.3%로 각각 차단하였다(Fig. 10).

선천성 고혈압 쥐의 혈압 및 심박동수에 미치는 영향

본 실험에서 사용한 선천성 고혈압 쥐의 혈압은 174.8 ± 5.9 mmHg로 정상 흰쥐(103.5 ± 3.0 mmHg)에 비해 현저히 높아 이를 통해 본 실험의 실험동물이 SHR임을 확인하였다. 신우황청심원액은 SHR의 혈압을 용량의존적으로 낮추

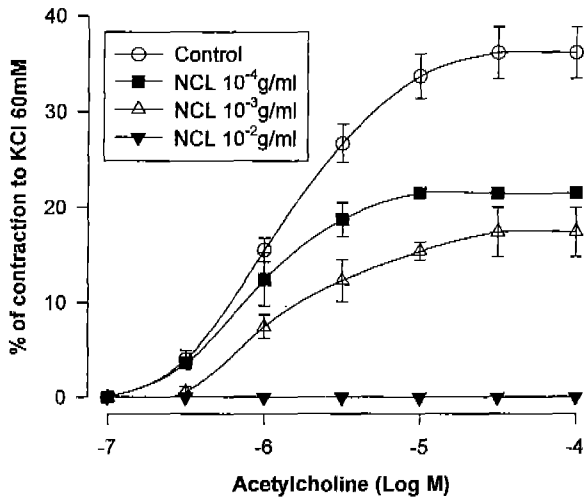


Fig. 7. Inhibitory effect of New Woohwangchungsimwon Liquid (NCL) on acetylcholine-induced contraction in isolated aorta of SHR. Acetylcholine was added cumulatively from 10^{-7} M to 10^{-4} M. Results are expressed as percent inhibition of the contraction to 60 mM KCl. Each value represents mean \pm S.E.M. of 3~10 rats.

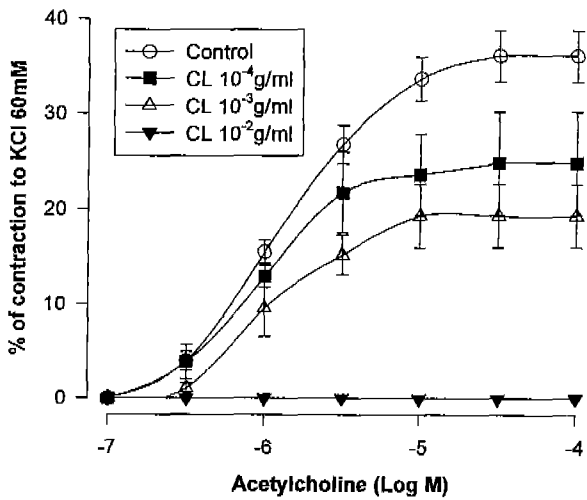


Fig. 8. Inhibitory effect of Woohwangchungsimwon Liquid (CL) on acetylcholine-induced contraction in isolated aorta of SHR. Other legends are the same as in Fig. 7.

는 작용을 나타내지는 않았으나, 4,000 mg/kg 투여군에서 투여 후 120분에 대조군에 비해 유의성 있게 혈압을 저하시켰고, 투여 후 180분에 모든 투여군에서 대조군에 비해 유의성은 없었으나 혈압이 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 11). 그러나 심박동수에 있어서 투여 후 10분부터 2,000 mg/kg 투여군을 제외한 모든 투여군에서 대조군에 비해 유의성 있는 심박동수 감소를 보였으나 용량 의존성은 없었다(Fig. 12). 우황청심원액은 2,000 mg/kg 투여군에서 대조군에 비해 투여 후 30분부터 유의성 있는 혈압감소를 나타내었고, 그외의 다른 투여용량군에서도 대조군에 비해 통계적으로 유의는

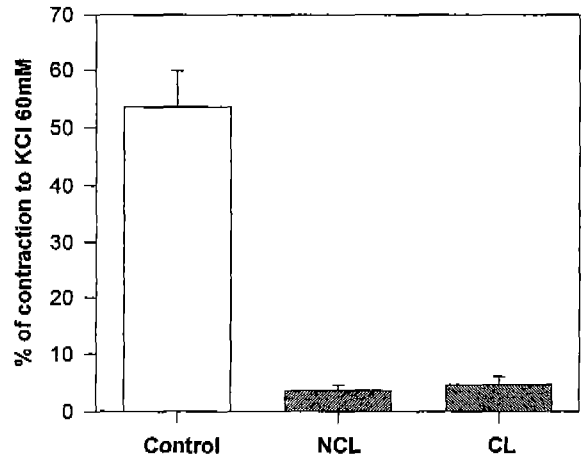


Fig. 9. Inhibitory effects of New Woohwangchungsimwon Liquid (NCL) and Woohwangchungsimwon Liquid (CL) on prostaglandin endoperoxide (10^{-6} M)-induced contraction in endothelium-denuded aortas of SHR. Results are expressed as percent of inhibition of the contraction to 60 mM KCl and shown as mean \pm S.E.M. from 3~6 rings of different rats.

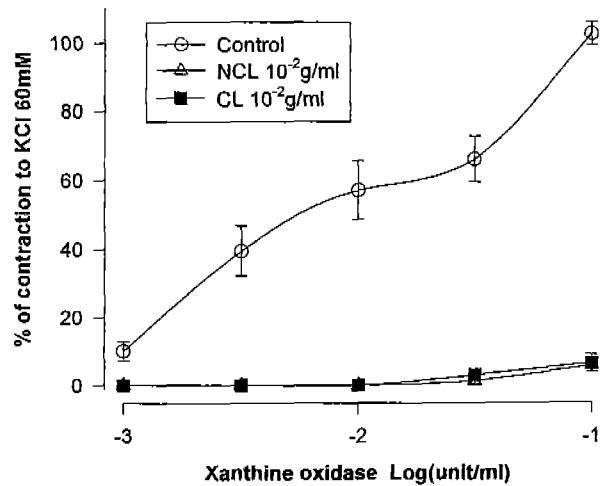


Fig. 10. Effect of New Woohwangchungsimwon Liquid (NCL) and Woohwangchungsimwon Liquid (CL) on contractions induced by oxygen-derived free radical in aortic rings without endothelium from SHR. Contractions caused by xanthine oxidase in the presence of xanthine (10^{-4} M) were inhibited significantly by NCL and CL. Results are expressed as percent of maximal contraction to 60 mM KCl and shown as mean \pm S.E.M. from 4~6 rings of different rats (* $p < 0.05$ vs control group).

없었으나 약한 혈압감소 경향을 나타내었다(Fig. 13). 심박동수에 있어서는 우황청심원액 2,000 mg/kg 투여군에서 가장 유의성 있는 감소효과를 나타내었고, 500 mg/kg 투여군에서도 대조군에 비해 유의성 있게 심박동수를 저하시켰다(Fig. 14). 이러한 결과는 신우황청심원액이 우황청심액과 유사한 심박동수 감소작용이 있는 것으로 여겨진다.

심근수축력과 심혈류량에 대한 영향

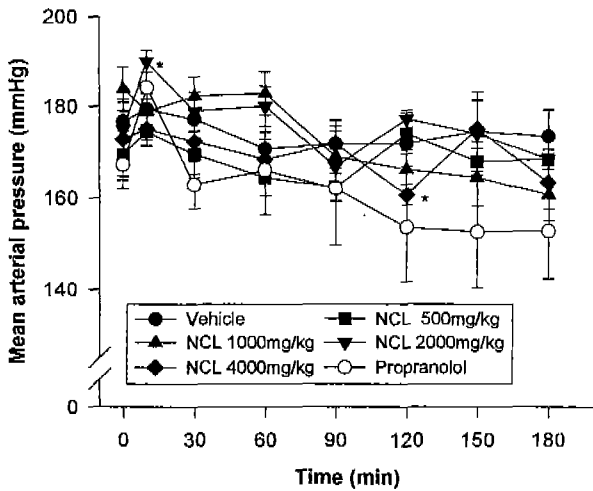


Fig. 11. Effects of New Woohwangchungsimwon Liquid (NCL) and propranolol on mean arterial pressure in conscious SHR. Each value represents mean \pm S.E.M. of 5 rats (* p <0.05, ** p <0.01 vs vehicle group).

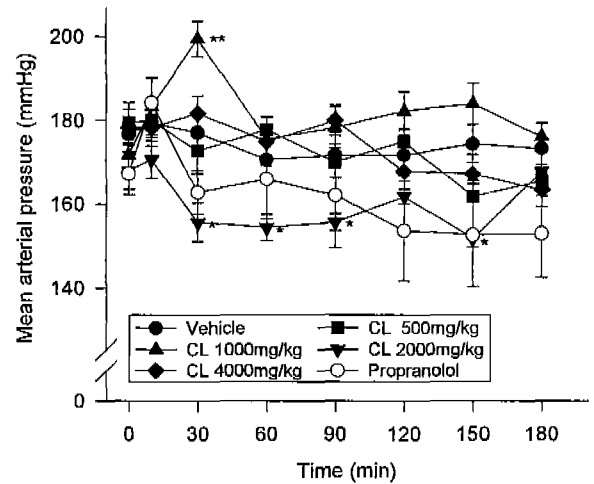


Fig. 13. Effects of Woohwangchungsimwon Liquid (CL) and propranolol on mean arterial pressure in conscious SHR. Each value represents mean \pm S.E.M. of 5 rats (* p <0.05, ** p <0.01 vs vehicle group).

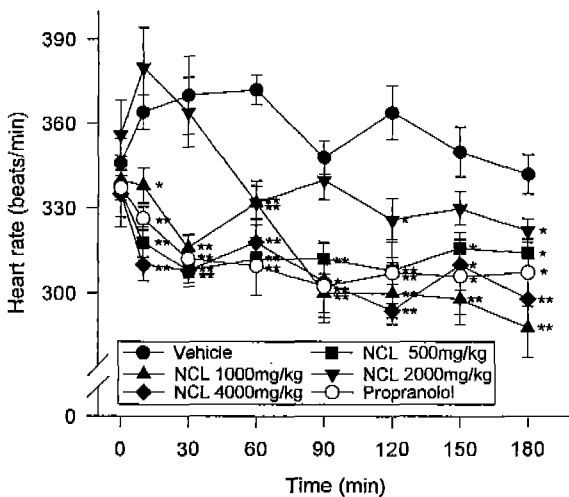


Fig. 12. Effects of New Woohwangchungsimwon Liquid (NCL) and propranolol on heart rate in conscious SHR. Each value represents mean \pm S.E.M. of 5 rats (* p <0.05, ** p <0.01 vs vehicle group).

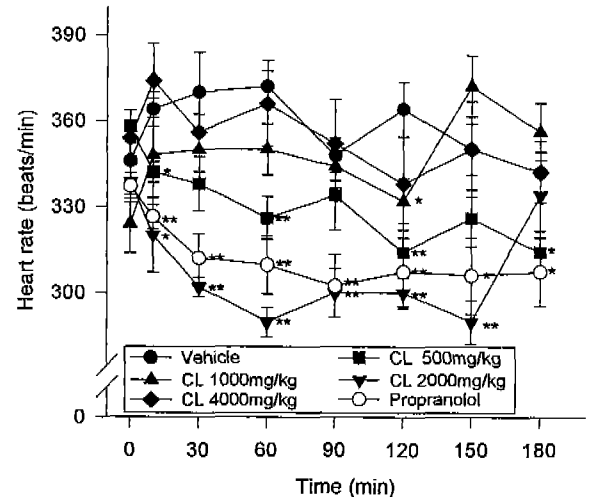


Fig. 14. Effects of Woohwangchungsimwon Liquid (CL) and propranolol on heart rate in conscious SHR. Each value represents mean \pm S.E.M. of 5 rats (* p <0.05, ** p <0.01 vs vehicle group).

신우황청심원액과 우황청심원액의 심장기능 및 관상동맥 혈류량에 미치는 영향을 알아보기 위하여 LVDP, HR, CF 및 $(-dp/dt)/(+dp/dt)$ 등을 기록하여 LVDP와 $(-dp/dt)/(+dp/dt)$ 의 변화를 Table I에 나타내었다. 두 제제 모두 고농도에서 심근의 수축력을 저하시키는 작용을 나타내었고, 작용시간은 15~24초로 짧은 시간 동안 빠른 작용을 보인 후 wash out되어 원상태로 회복되었다. 평균 HR은 270~280 beats/min 였으며, CF는 16~13 ml/min로 측정되었으나 약물 투여 직후 효과가 나타나는 동안의 HR와 CF의 변화는 작용 시간이 빠른 관계로 측정하기는 어려웠으며 큰 변화를 보이지 않았다. 두 제제 모두 1,000배 희석 농도에

서 각각 8.22%, 8.8% 심근 수축력의 저하를 보였으며 100배, 10배 희석농도에서는 각각 13.98~36.5%, 17.7~31.35%의 현저한 저하를 보였다. 심장의 이완 상태를 나타내는 $(-dp/dt)/(+dp/dt)$ 는 1,000배 희석 농도에서 각각 22.7%, 10.9%가 감소되었으며, 100배 희석 농도에서 42.4%, 41.8%, 10배 희석 농도에서 66.7%, 50.9% 각각 감소하는 경향을 보여 심근의 이완 상태가 감소하는 것으로 나타났다.

적출우심방의 심박수 및 수축력에 미치는 영향

신우황청심원액과 우황청심원액이 흰쥐의 적출 우심방에 미치는 직접적인 영향을 검토하였다. Fig. 15, 16에서 보는 바와 같이 신우황청심원액은 자동적으로 뛰고 있는 적

Table I. Effects of NCL and CL on cardiac contractility of rat in Langendorff preparations

Dose	LVDP decreasing %		(-dp/dt)/(+dp/dt)	
	NCL	CL	NCL	CL
Before	0	0	0.66±0.14	0.55±0.07
Vehicle	4.2±1.7	4.3 ±1.5	0.65±0.09	0.54±0.13
10 ⁻⁴	4.6±2.56	4.8 ±1.6	0.62±0.11	0.53±0.08
10 ⁻³	8.22±2.16	8.8 ±4.3	0.51±0.07	0.49±0.12
10 ⁻²	13.98±2.26	17.7 ±7.7	0.38±0.11	0.32±0.10
10 ⁻¹	36.5±9.7	31.35±11.11	0.22±0.17	0.27±0.09

Data are mean±S.E.M (n=6), LVDP; Left ventricular developed pressure. NCL; New Woohwangchungsimwon Liquid, CL; Woohwangchungsimwon Liquid.

출 우심방에 대해 10⁻³ g/ml의 농도까지 수축력 및 심박수에 영향이 없었으나, 그 이상의 농도에서는 수축력 감소를 초래하여 3×10⁻³ g/ml의 농도에서는 25.0%의 수축력 감소를 초래하였으며, 심박수도 18.0%로 감소되었다. 우황청심원액의 경우에 있어서도 10⁻³ g/ml의 농도까지 적출 우심방에 대해 수축력 및 심박수에 영향이 없었으나, 3×10⁻³ g/ml의 농도에서는 31.0%의 수축력 감소를 초래하였으며, 심박수도 14.5%로 감소되었다. 즉, 신우황청심원액 및 우황청심원액 모두 고농도 투여시(3×10⁻³ g/ml) 음의 변력성 효과와 음의 변시성 효과를 나타내었다.

적출 유두근의 활동전위에 미치는 영향

신우황청심원액 및 우황청심원액 두 제제 모두 10⁻⁴ g/ml에서 10⁻² g/ml까지는 활동전위의 각 parameter에 커다란 영향을 주지 못하였으나, 실험적 고농도인 3×10⁻² g/ml에서 신우황청심원액 투여군은 resting membrane potential(RMP)

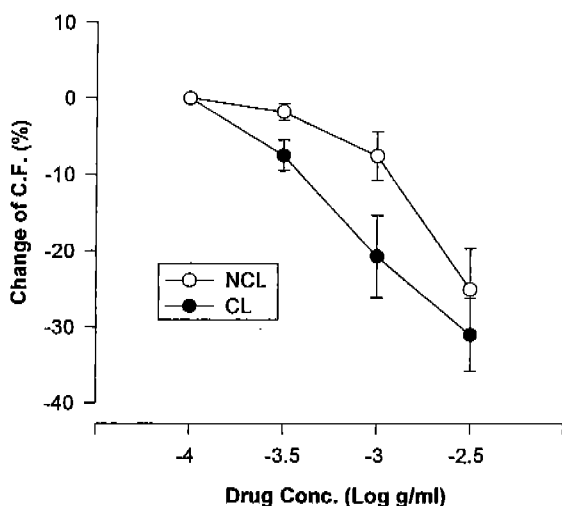


Fig. 15. Effects of New Woohwangchungsimwon Liquid (NCL) and Woohwangchungsimwon Liquid (CL) on contractile force in isolated atrium of rats. Each value represents mean±S.E.M. of percent change from predose values.

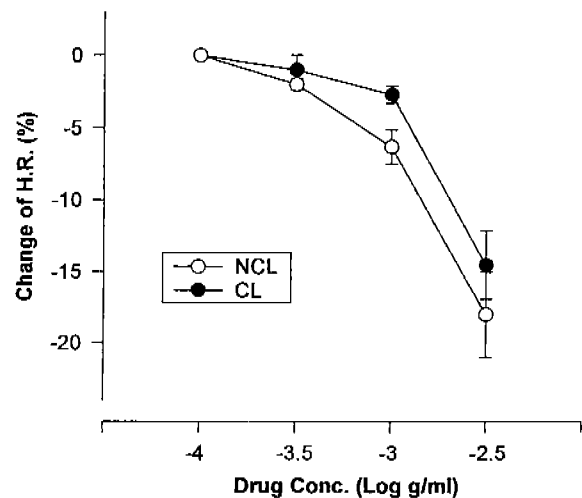


Fig. 16. Effects of New Woohwangchungsimwon Liquid (NCL) and Woohwangchungsimwon Liquid (CL) on heart rate in isolated atrium of rats. Each value represents mean±S.E.M. of percent change from predose values.

와 action potential amplitude(APA) 및 활동전위 0 phase의 upstroke velocity(V_{max})가 3.3%, 5.4% 및 14.9%로 다소 감소하였고, 활동전위 기간인 APD_{90} 은 11.4% 증가하였으며, 특히 10⁻¹ g/ml의 매우 높은 농도에서는 RMP와 APA 및 V_{max} 가 각각 18.4%, 16.8%, 26.5%로 더욱 현저하게 감소하였고 APD_{90} 도 12.2%가 줄어들었다(Table II). 우황청심원액 투여군에서도 같은 농도인 3×10⁻² g/ml(RMP: -5.5%, APA: -7.5%, V_{max} : -5.6%)와 10⁻¹ g/ml(RMP: -8.9%, APA: -20.0%, V_{max} : -31.3%)에서 신우황청심원액과 동등한 효과를 나타내었으며 두 제제간의 유의적인 차이는 발견할 수 없었다.

심계항진에 대한 효과

Atropine 처치 후 ephinephrine 투여로 심박동수를 증가시킨 흰쥐에서는 Fig. 17에서 보는 바와 같이 신우황청심원액 5 mg/kg, 10 mg/kg 및 20 mg/kg 전용량투여군에서 각각 심박동수 증가율 20.0%, 21.2% 및 15.3%로 대조군과 비교하여 유의성 있는 심계항진 억제효과를 나타내었다. 우황청심원액도 10 mg/kg 투여군에서는 78.8%의 심박동수 증가율로 미약한 심계항진 억제 경향을 나타내었으며, 5 mg/kg 및 20 mg/kg 투여군에서 각각 심박동수 증가율 49.4%, 18.8%로서 대조군에 비해 유의성 있는 심계항진 억제 효과를 나타내었다.

선천성 고혈압쥐에서는 vehicle인 0.25% CMC-Na 액의 투여로 심박동수 변화율이 투여전과 비교하여 투여 10, 30, 60분후에 각각 5.4±2.2, 6.9±2.1, 7.7±1.5% 증가로 나타났다. 이를 대조군으로 하여 심박동수의 변화율을 비교하였다. 신우황청심원액은 1,000 mg/kg 투여군에 있어서 투여후 30분 및 60분에 심박동수의 변화율이 대조군에 비해 유의적으로 감소하였으며, 2,000 mg/kg 투여군은 투여후 60분에, 4,000 mg/kg 투여군은 투여후 10분과 30분에 심박

Table II. Effects of NCL and CL on action potential in isolated papillary muscles of guinea pig

Groups		RMP (%)	APA (%)	APD ₉₀ (%)	V _{max} (%)
Normal (n=8)		0.7±0.30	0.4±0.46	-0.5±0.58	-0.4±0.35
Vehicle(0.2%PEG) (n=4)		-0.3±0.28	-0.3±0.33	-0.1±0.24	-0.7±0.73
NCL (n=3)	10 ⁻³ g/ml	0.6±1.65	0.65±0.05	-1.75±0.95	0.9±0.85
	10 ⁻² g/ml	-2.2±0.64	-1.3±0.75	-2.9±2.82	-1.8±3.46
	3×10 ⁻² g/ml	-3.3	-5.4	11.4	-14.9
	10 ⁻¹ g/ml	-18.4±0.75	-16.8±1.80	-12.2±0.30	-26.5±2.60
CL (n=3)	10 ⁻³ g/ml	0.6±0.55	0	-0.6±0.20	0.7±0.70
	10 ⁻² g/ml	0.0±1.10	-0.7±1.05	-3.2±1.73	-1.9±2.20
	3×10 ⁻² g/ml	-5.5	-7.5	3.9	-5.6
	10 ⁻¹ g/ml	-8.9	-20.0	-11.2	-31.3

*RMP: resting membrane potential, APA : action potential amplitude. APD₉₀: action potential duration at 90% repolarization. V_{max}: maximum upstroke velocity at phase 0. NCL; New Woohwangchungsimwon Liquid, CL; Woohwangchungsimwon Liquid.

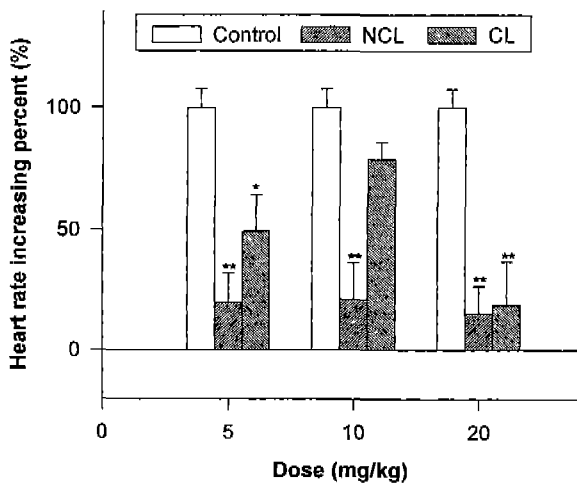


Fig. 17. Inhibitory effects of New Woohwangchungsimwon Liquid (NCL) and Woohwangchungsimwon Liquid (CL) on heart acceleration. Data are shown as mean±S.E.M. Significant difference from control group (*p<0.05, **p<0.01).

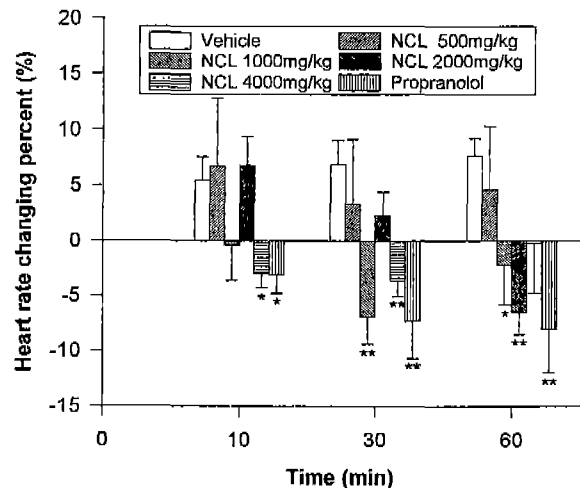


Fig. 18. Effects of New Woohwangchungsimwon Liquid (NCL) and propranolol on heart rate in conscious SHR. Significant difference from vehicle group (*p<0.05, **p<0.01).

동수의 변화율이 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다 (Fig. 18). 우황청심원액 500 mg/kg 투여군에 있어서 투여후 10분부터 60분까지 심박동수의 변화율이 대조군에 비하여 유의적으로 감소하였으며, 시간이 경과할수록 더욱 감소하였다. 또한 2,000 및 4,000 mg/kg 투여군에서도 유의성은 없었으나, 투여후 30분 및 60분에 대조군에 비해 심박동수 변화율이 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 19).

고 찰

고래로부터 사용되어 온 우황청심원의 심순환계에 대한 작용으로는 고혈압, 심계항진, 동맥경화 및 허혈성 질환 등에 효과를 가진다고 알려져 있으나 지금까지 알려진 우황청심원의 약리효과에 대한 연구는 매우 미비하며, 특히 심

순환계 작용에 대해서는 거의 보고된 바가 없다. 최근의 심순환계에 대한 우황청심원의 연구로는 남(1992)의 혈압강하작용과 심수축력 억제 등의 효과, 이 등(1990)의 평활근에 대한 작용, 홍 등(1988)의 순환계에 미치는 영향 등에 대한 소수의 보고가 있었으나 그 내용이 빈약하고 명확하지 못하였다.

한편, 우황청심원의 새로운 제형인 우황청심원액에 대한 연구는 거의 전무한 실정이므로 본 연구에서는 혈관이완 작용, SHR에서의 혈압강하작용, 흰쥐의 적출심장과 적출우심방 및 guinea pig의 적출 유두근 기능에 미치는 영향, 심계항진에 대한 효과 등으로 나누어 신우황청심원액과 우황청심원액의 심혈관계에 대한 약리학적 효과를 다각적으로 검토하고 두 제제를 비교하는 실험을 수행하였다.

먼저, 신우황청심원액과 기존의 우황청심원액의 혈관평활근에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 *in vitro* 실험으로

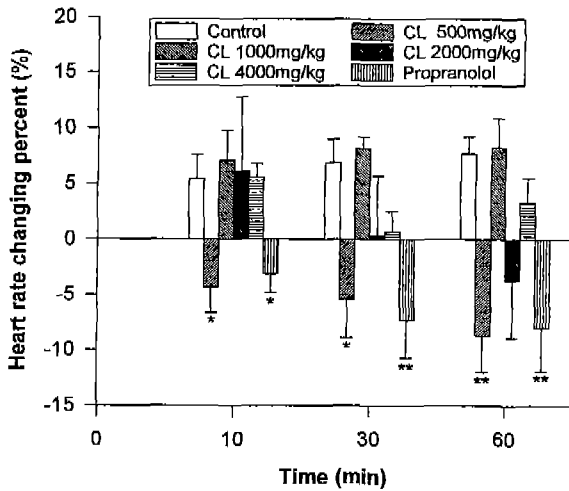


Fig. 19. Effects of Woohwangchungsimwon Liquid (CL) and propranolol on heart rate in conscious SHRs. Significant difference from vehicle group (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

흰쥐의 하행대동맥을 적출하여 직접적인 혈관이완효과를 검색하였다. 혈관의 이완은 혈관내피로부터 분비되어 이웃에 있는 혈관 평활근내의 guanylate cyclase를 활성화 시킴으로써 혈관이완을 자극하고 EDRF와 같은 활성을 갖고 있는 NO의 유리나(Palmer 등, 1987) K^+ channel이 열려 세포막이 과분극되면서 voltage-dependent Ca^{2+} channel의 활성의 억제 또는 Ca^{2+} channel 등이 차단되어 세포내 Ca^{2+} 이 일정 농도 이하로 떨어져 myosin light chain kinase의 활성이 억제되거나 phosphatase가 작용하여 myosin light chain이 탈인산화될 경우 등의 기전으로 발생한다. $PE 10^{-6} M$ 로 유도된 혈관수축반응에 대하여 혈관내피의 유무나 NO synthase 억제제인 L-NNA와 guanylate cyclase 억제제인 MB로 전처리했을 경우에 관계없이 신우황청심원액과 우황청심원액은 혈관이완 작용을 나타냈다. 즉, 두 제제의 직접적인 혈관평활근 이완작용은 혈관내피 의존적인 NO와의 관련성이 없음을 시사한다. 혈관이완의 기전을 좀더 명확히 하기 위하여 K^+ channel 차단제로 K^+ channel의 활성을 차단하거나 고칼륨성 생리액을 처리하여 신우황청심원액과 우황청심원액의 작용을 검토했을 때, TEA나 glibenclamide로 K^+ channel의 활성을 차단했을 경우에는 혈관이완 효과가 나타나고 세포의 Ca^{2+} 이 제거된 생리액내에서는 혈관이완 효과가 차단됨으로 보아 이 반응은 voltage-dependent Ca^{2+} channel의 차단에 기인함을 시사하고 있다. 또한 흰쥐 대동맥에서의 각 약물군들의 작용으로 보아 두 제제는 혈관 평활근을 직접 이완시키는 동등한 효과가 있음을 확인할 수 있었다. 신우황청심원액과 우황청심원액의 구성 성분 또는 구성생약인 l-muscone과 사향의 혈관이완효과가 NO를 경유해서 나타난다는 보고(조 등, 1997)와 상이한 것은 신우황청심원액과 우황청심원액이 생약복합제제이기

때문에 l-muscone 또는 사향의 NO를 통한 혈관이완 작용을 상쇄하고 voltage-dependent Ca^{2+} channel 봉쇄에 의한 혈관이완이 주로 나타나기 때문인 것으로 사료된다.

SHR은 EDCF를 유리하여 내피의 조절능력이 감소되어 혈관의 반응성이 비정상적으로 나타난다(Lüscher 등, 1986). EDCF에 의한 혈관수축을 신우황청심원액 및 우황청심원액이 억제할 수 있는지를 알아보기 위하여 혈관내피가 있는 SHR의 흉부대동맥에 acetylcholine $10^{-4} M$ 처리에 의한 내피의존성 혈관수축반응과 내피가 제거된 혈관에 EDCF의 하나로 알려진 PGH_2 의 처리 및 xanthine과 xanthine oxidase를 가하여 생성된 superoxide에 의한 혈관수축반응을 유발하였다. 신우황청심원액과 우황청심원액은 superoxide에 의한 혈관수축반응에 대하여 농도의존적으로 유의적인 길항효과를 보였고, 두 제제간의 효과는 동일하였다.

일반적으로 혈압상승은 교감신경 기능항진에 따른 말초 소동맥의 저항력 증가, 경동맥에 있는 압수용체의 기능이상, 콩팥의 혈류장애에 의한 renin 활성화 증가 등으로 나타나는데 신우황청심원액과 우황청심원액이 *in vitro*에서 혈관이완작용을 나타낸다는 사실로 미루어 *in vivo*에서도 혈압강하효과가 있을 것으로 생각되어 본태성 고혈압 실험모델인 SHR을 이용하여 신우황청심원액과 우황청심원액의 항고혈압작용을 검색하였다. 두 제제 모두 뚜렷한 혈압강하 효과는 관찰되지 않았으나, 모든 투여군에서 대조군에 비해 혈압이 감소되는 경향이 관찰된 것은 이들 제제가 약한 항고혈압작용이 있으며 장기간 투여로 혈압을 강하시킬 수 있는 가능성이 있음을 암시한다. 또한 신우황청심원액과 우황청심원액이 SHR의 심박동수를 유의적으로 감소시키는 사실은 진정 및 불안, 초조 등에 따른 심계항진에도 응용할 수 있다는 것을 시사한다.

두 제제의 심기능에 미치는 직접적인 영향을 흰쥐의 적출 심장을 통하여 관찰하였다. 두 제제는 농도의존적으로 심근의 수축력이 감소하는 negative inotropic effect를 보였고 심장의 휴식물이 감소하는 경향이 관찰되었으며 두 제제사이의 유의성 있는 차이는 없었다. 특히, 저배율 회색액(10배, 100배 희석액)에서 LVDP가 크게 감소한 것은 검액의 고장성이 일부 영향을 주었을 수도 있다. 적출 우심방 실험모델에서도 두 제제사이의 약효차이는 발견할 수 없었으며 두 제제 모두 negative inotropic effect 및 negative chronotropic effect를 나타내었다.

Guinea pig 적출 유두근에서 신우황청심원액과 우황청심원액이 RMP, APA 및 V_{max} 를 감소시키는 작용은 심근에 있어서 Na^+ current가 감소하여, V_{max} 를 억제시키고, 그에 따라 APA도 감소시킨 것으로 보인다. 또한 $3 \times 10^{-2} g/ml$ 의 농도까지는 K^+ current를 차단하여 서서히 재분극 시킴으로서 활동전위 기간(APD_{90})을 연장하여 막전위를 안정화시키는 것으로 추측되나, 그 이상의 고농도에서는 급격히 감소하

였다. 두 제제 모두 농도가 증가함에 따라 관류액의 pH가 7.4에서 점점 낮아졌으며(3×10^2 g/ml: pH 7.1, 10^{-1} g/ml: pH 6.7) 인공영양액의 이러한 pH변화가 간접적으로 다소 활동전위에 영향을 줄 수도 있다고 생각된다. 따라서 두 제제의 실제 생리적인 낮은 농도(10^{-3} g/ml이하)에서는 심근의 활동전위에 대한 직접적인 영향이 없었으나, 실험적 고농도($3 \times 10^2 \sim 10^{-1}$ g/ml) 조건하에서는 두 제제가 같은 정도로 활동전위를 억제하는 작용을 나타내었고 약효차이는 발견하기 어려웠다.

심계항진에 대한 효과를 규명하기 위하여 인공적으로 심박동수를 증가시킨 흰쥐 모델 및 SHR에서 신우황청심원액과 우황청심원액 두 제제는 모든 투여군에서 유의적으로 심박동수를 감소시켰으며 비슷한 심박동수 감소작용이 있는 것으로 판단되었다.

이상의 결과로 부터 신우황청심원액과 우황청심원액은 혈관이완에 따른 약한 혈압강화작용 및 심박동수 감소 등의 작용은 있었으나, 심기능 자체에 미치는 직접적인 영향은 미약한 것으로 판단되었고, 결론적으로 두 제제는 심순환계 작용이 유사하며 동등한 약효가 있을 것으로 사료된다.

감사의 말씀

이 실험은 1996년도 조선무약(자)의 연구비 지원에 의하여 수행되었으며, 본 실험을 수행하는데 도와주신 성균관대학교 약학대학원 이종찬, 이우용, 서울대학교 약학대학원 강건욱, 충남대학교 약학대학원 강원구씨께 감사드립니다.

참고문헌

Cavero I., Mondot S. and Mestre M. (1989). Vasorelaxant effects of cromakalim in rats are mediated by glibenclamide-sensitive potassium channels. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **248**, 1261-1268.

Grover, G. J., Dzwonczy, S., Parham, C. S. and Selph, P. (1990). Pharmacological profile of cromakalim in the treatment of myocardial ischemia in isolated rat heart and anesthetized dogs. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **16**, 853.

Grover, G., J. McCullough, J. R., D'Alozo, A. J., Sargent, C. A. and Atwal, K. S. (1995). Cardioprotective potassium channel opener BMS-180448. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **25**, 40.

Kimura, M. and Waki, I. (1966). Potentiation of β -adrenergic receptor to musk. *Jap. J. Pharmacol.* **16**, 129-130.

Kimura, M. (1980). Isoproterenol potentiation in an animal

product-musk. *Trends Pharm. Sci.* **7**, 341-343.

Lüscher T. F. and Vanhoutte P. M. (1986). Endothelium-dependent contractions to acetylcholine in the aorta of the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension* **8**, 344-348.

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.

Mishra, R. K., Arora, R. B. and Seth, S. D. S. (1962). Anti-inflammatory effect of musk. *J. Pharm. Pharmacol.* **14**, 830-831.

Palmer, R. M. J., Ferrige, A. G. and Moncada, S. (1987). Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* **327**, 524-526.

Sano, T. (1936). über die maennlich sexual hormonartige Wirkung des Moschus. *J. Pharm. Soc, Japan* **56**, 913-914.

Sano, T. (1937). Über die maennlich sexual hormonartige substanz des Moschus. *J. Pharm. Soc, Japan* **57**, 851-852.

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.

Wong, P. C., Price, W. A., Chiu, A. T., Duncia, J. V., Carini, D. J., Wexler, R. R., Johnson, A. L. and Timmermans, P. B. M. W. M. (1990a) Nonpeptide angiotensin II receptor antagonists: VIII. Characterization of functional antagonism displayed DuP753, an orally active antihypertensive agent. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **252**, 719-725.

Wong, P. C., Price, Jr. W. A., Chiu, A. T., Duncia, J. V., Carini, D. J., Wexler, R. R., Johnson, A. L. and Timmermans, P. B. M. W. M. (1990b). Hypotensive action of DuP753, an angiotensin II antagonist, in spontaneously hypertensive rats: Nonpeptide angiotensin II receptor antagonists: X. *Hypertension* **15**, 459-468.

김재길 (1984). 원색천연약물대사전, 남산당 **2**, p. 345.

남상경 (1992). 우황청심원과 소합향원의 효능에 관한 연구, 경희대학교 박사학위논문.

염태환 (1975). 동의처방대전, 행림서원, p. 332, 196.

이원철, 김영석, 배형섭, 구분홍 (1990). 우황청심원의 제형별 입상에 관한 연구, 대한한의학회지 **11**, 102-105.

이 천 (1981). 의학입문, 대성문화사, p. 215.

조태순, 김낙두, 허인회, 권광일, 박석기, 심상호, 신대회, 박대규 (1997). l-Muscone의 심혈관계에 관한 약리연구, 응용약물학회지 **5**, 299~305.

진사문 (1987). 태평혜민화제국방, 대북, 선풍출판사, p. 81.

허 준 (1987). 원본동의보감(신증판), 남산당, p. 692.

홍남두, 김남재, 김규섭 (1988). 우황청심원의 순환기계에 미치는 영향, 생약학회지 **18**, 241-248.

황도연 (1977). 방약합편, 행림출판사, p. 102.