

신우황청심원의 심혈관계에 대한 약효

조태순[#] · 이선미 · 김낙두* · 허인회** · 안형수*** · 권광일**** ·

박석기***** · 심상호***** · 신대희***** · 박대규*****

성균관대학교 약학대학, *서울대학교 약학대학, **중앙대학교 약학대학, ***동덕여자대학교 약학대학,

****충남대학교 약학대학, *****조선무약(자) 생명과학연구소

(Received October 22, 1997)

Pharmacological Actions of New Woohwangchungsimwon Pill on Cardiovascular System

Tai-Soon Cho[#], Sun-Mee Lee, Nak-Doo Kim*, In-Hoi Huh**,
Hyung-Soo Ann***, Kwang-Il Kwon****, Seok-Ki Park*****,
Sang-Ho Shim*****, Dae-Hee Shin***** and Dai-Kyu Park*****

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

**College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742*

***College of Pharmacy, Chung Ang University, Seoul 156-756*

****College of Pharmacy, Dongduck Women's University, Seoul 136-714*

*****College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 305-764*

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

Abstract—In order to investigate the pharmacological properties of New Woohwangchungsimwon Pill (NWCH), effects of Woohwangchungsimwon Pill (WCH) and NWCH were compared using various experimental models. In isolated rat aorta, NWCH and WCH showed the relaxation of blood vessels in maximum contractile response to phenylephrine (10^{-6} M) without regard to endothelium containing or denuded rings of the rat aorta. Furthermore, the presence of the inhibitors of NO synthase and guanylate cyclase did not affect significantly the relaxative effects of NWCH and WCH. NWCH and WCH inhibited the vascular contractions induced by acetylcholine, prostaglandin endoperoxide or peroxide in a dose-dependent manner. In conscious spontaneously hypertensive rats (SHRs), NWCH and WCH decreased significantly heart rate. These, 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, these had no effects on parameters of action potential at low doses, whereas inhibited the cardiac contractility at high doses. Furthermore, these had a significant inhibitory effects on heart acceleration in normotensive rats and SHRs. These results suggested that NWCH and WCH have weak cardiovascular effects, and that there is no significant differences between two preparations.

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

고래로 부터 현재까지 수백년동안 사용되어 온 우황청심원은 1107년경 태평혜민화제국방에 최초로 수제되

었던¹⁾ 처방으로 제풍, 환중불수, 언어건삽, 심중건망, 황홀거래, 두목현모, 흉중번울, 담연응색, 정신혼케, 심기부족, 신지부족, 경공파포, 비우참위, 허번소수, 회로 무시, 흑발광전, 정신혼란 등을 치료한다고 하였으며, 허²⁾는 졸중풍의 구급약으로, 이³⁾는 통관, 투기골지제로

[#] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

(전화) 0331-290-7701 (팩스) 0331-292-8800

제풍완중, 전광, 소아경간 등에, 황⁴⁾은 척심열, 몽정, 노학, 은진, 소아조민, 항배강직 등에 응용된다고 하였으며, 엄⁵⁾은 고혈압, 동맥경화증, 자율신경실조증, 정신불안증, 히스테리, 불면 등에 진정작용 등이 있다고 보고하였다.

이러한 우황청심원의 주약으로 사용되어 온 사향은 사향사슴(*Moschus moschiferus*) 또는 그 밖의 근연동물(우제목(*Artiodactyla*) 사슴과(*Cervidae*))의 수컷의 사향 선분비물로서 강심, 흥분, 개규, 통경, 진정, 진경, 배농, 해독, 구어혈 작용이 있어 중풍, 소아경간, 신혼섬, 심복강통, 심장쇠약, 신경쇠약, 월경곤란, 혈전, 질타손상 등의 치료에 사용되어 오고 있다.⁶⁾

또한, 상기의 효능효과를 발현하는 사향의 심혈관계에 대한 연구에서는 사향의 심혈관계에 미치는 영향⁷⁻⁹⁾이 보고되었으며, 그 밖의 약리작용으로는 남성호르몬양 작용,^{10, 11)} 항염증작용^{12, 13)} 등이 보고되어 있다.

그러나, 사향은 다양한 약리작용을 발현하고 있는 중요한 고가의 생약재로 전량 외국으로부터 수입에 의존하고 있는 실정에서 최근에 "멸종 위기에 처한 야생 동식물종의 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 등¹⁴⁾은 심혈관계에 대한 약리연구에서 *l*-muscone이 사향과 유사한 혈관이완작용, 혈압강하 및 심박동수의 감소작용, 심계항진 억제효과 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 신우황청심원1환(3.75 g)중 원료약품의 조성 : 감초 202 mg, 계피 70 mg, 작약 60 mg, 황금 60 mg, 방풍 60 mg, 백출 60 mg, 길경 50 mg, 복령 50 mg, 우황 14 mg, 산약 282 mg, 인삼 97 mg, 포황 100 mg, 신곡 100 mg, 대두황련 70 mg, 아교 70 mg, 맥문동 60 mg, 백련 30 mg, 당귀 60 mg, 시호 50 mg, 행인 50 mg, 천궁 50 mg, 용뇌 41 mg, 영양각 35 mg, 건강 30

mg 및 *l*-muscone 1.5% 과립 5 mg(*l*-muscone으로 써 75 µg)]을 개발하게 되었다.

따라서 본 연구에서는 이 신우황청심원과 시판품인 우황청심원의 혈관에 미치는 영향, 혈압, 적출심장 기능 및 심계항진에 대한 영향 등에 대하여 비교효력시험을 실시하였다.

실험방법

실험동물

실험동물로 웅성 흰쥐(Sprague-Dawley)와 guinea pig(300~500 g)는 삼육실험동물센터에서, 13~16주령의 체중 300~350 g 정도의 선천성 고혈압 흰쥐(spontaneously hypertensive rat: SHR)는 Harlan Sprague Dawley Co.(U.S.A.)로 부터 공급받아 항온, 항습이 유지되는 동물 사육실에서 일주일이상 적응시킨 후, 일반상태를 관찰하여 외관상 건강한 동물을 선별하여 실험에 사용하였으며 동물 사육환경은 12시간 간격의 인공조명(오전 8시부터 오후 8시까지), 조도 300~500 Lux, 23±1°C, 배기 10~18회/hr, 습도 55±15%의 조건하에서 polycarbonate 사육상자(W 280×L400×H170 mm)에 3마리씩 넣어 사육하였다. 고형 사료(삼양사)와 상수는 자유롭게 섭취케 하여 실험에 사용하였다.

사용시료 및 시약

신우황청심원과 우황청심원은 조선무약(자)에서 제공된 것을 각 실험방법에 따라 전처리하여 사용하였으며, prostaglandin endoperoxide는 미국 Cayman Chemical 사에서 구입하였고, 그의 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.

흰쥐 흉부 대동맥에서의 이완반응

흰쥐의 체중을 측정된 뒤 후두부를 강타하여 실험치사 시킨후 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°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 10cm 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 2g에 도달하도록 하였다.

신우황청심원과 우황청심원 2.5×10^{-1} g/ml stock solution을 제조하기 위해 3.75 g(1환)을 세절한 후 14 ml의 Krebs액에 유발, 유봉을 사용하여 갈아서 현탁시킨 다음 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.

신우황청심원과 우황청심원의 혈관이완반응이 K^+ channel의 개구에 의한 것인지를 확인하기 위한 실험에서 25 mM KCl 및 60 mM KCl 용액은 정상 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.

신우황청심원과 우황청심원의 혈관이완반응이 Ca^{2+} channel의 개구에 의한 것인지를 확인하기 위한 실험은 내피를 제거한 혈관에서 KCl 60mM로 혈관을 수축시킨 후 두 제제의 이완반응을 관찰하여 voltage-dependent Ca^{2+} channel 활성의 억제 효과가 있는 지를 관찰하였다. 또한, 분리한 혈관 평활근에서 Ca^{2+} -free KR 완충액상에서의 60 mM KCl과 $CaCl_2$ 0.1, 0.5, 1, 2.5 및 5 mM로 유도한 농도의존적인 수축반응에 미치는 두 제제의 억제효과를 관찰하였다.

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

300~350 g 정도의 SHR을 사용하여 흉부대동맥 혈관표본을 만들어 신우황청심원과 우황청심원의 영향을 관찰하였다. Acetylcholine의 내피의존성 수축반응에 대한 실험에서는 SHR의 대동맥 ring 표본이 들어있는 organ chamber에 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(10⁻⁶M)의 수축반응 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(10⁻⁴M)을 가하고 15분 후 xanthine oxidase (10⁻³~10⁻¹ 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 흰쥐의 혈압과 심박동수에 미치는 영향

체중 300~350 g 내외의 선천성 고혈압 흰쥐를 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. 수술 효과에서 완전히 회복된 다음 24시간 경과후 혈압을 모니터하기 위해 대퇴동맥에 접속된 catheter를 polygraph(GRASS Model No. 79E, U.S.A.)에 연결된 Gould pressure transducer(Statham, U.S.A.)에 접속하여 평균혈압(mean arterial pressure: MAP)과 심박동수를 측정하였다. 동물을 약 2시간동안 안정화 및 적응시킨후 약물을 경구투여한 다음 10, 30, 60, 90, 120, 150, 180분 간격으로 평균혈압 및 심박동수를 측정하였다.^{15, 16)}

두 제제는 0.25% sod. carboxymethyl cellulose (CMC-Na)액에 현탁하여 각각 0.5, 1, 2, 4 g/kg를 경구투여하였으며, 양성대조군으로 propranolol 100 mg/kg를 동일경도로 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 등¹⁷⁾의 방법에 따라 심장을 적출하였다. 즉, 기

관에 cannula(PE240)를 삽입하고 rodent ventilator를 이용해 인공호흡을 시키며 *in situ* 상태에서 대동맥 cannula를 대동맥에 삽입하고 역행성 관류하에 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(in mM : 116 NaCl, 4.7 KCl, 1.1 MgSO₄, 1.17 KH₂PO₄, 24.9 NaHCO₃, 2.52 CaCl₂, 8.32 glucose, 2.0 pyruvate)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.^{17, 8)} 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.

검체는 잘게 부순 후 미세말로 한 다음 50 ml의 생리액에 넣고 stirring한 다음 고루 분산시킨 후 고형물에 의해 관상혈관이 막히는 것을 막기 위해 셀룰로오스 여과지로 여과하였으며, 생리액으로 3×10⁻¹, 10⁻¹, 3×10⁻², 10⁻², 3×10⁻³, 10⁻³배 희석하여 검액을 제조한 후 저농도에서 고농도로 0.5 ml씩 bolus injection하였다. Plugsys bridge amplifier를 통해 처리된 모든 신호를 Linearrecorder로 기록하였다. 심장의 온도는 실험 전 기간에 걸쳐 심장을 37°C의 생리액에 담금으로써 일정하게 유지하였다.

적출우심방의 심박수 및 수축력에 미치는 영향

흰쥐를 ether로 흡입마취시킨 후 복부를 절개하고 신속히 심장을 적출한 다음, 95% O₂와 5% CO₂ gas로 포화시킨 37°C Krebs-Henseleit(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. 2g의 resting tension을 주면서 15분간 안정화시킨 후 약물의 반응을 측정하였다.

신우황청심원 및 우황청심원을 가루로 분쇄한 후 Krebs-Henseleit(KH) 완충액 50 ml 중에 현탁하여 제조하였다. 적출 우심방의 자동적인 수축력 및 심박수에 대한 직접적인 영향을 검토하고자, 이들 시료를 각각 10⁻⁴, 3×10⁻⁴, 10⁻³, 3×10⁻³g/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 고정시켰다. 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. 전기자극은 platinum plate electrode를 통하여 threshold voltage의 1.5배로 2ms동안 1Hz의 조건으로 자극하였다. Transmembrane action potential은 3M KCl로 채워진 glass microelectrode(20~30MΩ)를 사용하여 microelectrode amplifier(Nihon-Kohden, Japan)로 측정하고, phase 0 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 계산하였으며, 실험결과는 mean±S.E.M.로 나타내었다.

심계항진에 대한 효과

심계항진에 대한 신우황청심원과 우황청심원의 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, SP 56)를 삽입하여 심박동수 측정에 이용하였으며, 오른쪽 대퇴정맥을 통해 상행대정맥까지 catheter를 삽입하여 약물을 투여하였다. 이때 각 catheter는 heparin 용액(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.*)을 투여 5분 후에 epinephrine(5 µg/kg *i.v.*)을 투여하고 심박동수를 기록하였다. 실험군은 atropine 투여 직전에 0.25% CMC-Na 액에 현탁하여 만든 두 제제를 5, 10, 20 mg/kg으로 정맥투여하고 이하는 대조군과 같게 하여 심박동수를 측정하였다. 심박동수 증가는 atropine 처치 후 epinephrine만을 투여하여 증가된 심박동수에 대한 약물 처치시의 심박동수의 증가를 백분율로 비교 환산하였다.⁹⁾ 모든 실험결과는 평균±S.E.M.로 표시하였으며 유의성 검정은 Student's unpaired *t*-test를 사용하여 P값이 0.05 미만일 때 통계학적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

SHR에서의 심박동수의 측정은 SD계 흰쥐와 동일한 방법으로 실험하여 동물을 약 2시간동안 안정화 및 적응시킨후 두 제제를 각각 0.5, 1, 2, 4 g/kg을 경구투여한 다음 10, 30, 60분 간격으로 심박동수를 측정하였다.^{15, 16)} 심박동수 변화율은 투여전 심박동수(beats/min)에 대한 측정시간대의 심박동 증가횟수 및 감소횟수를 백분율로 나타내었다.

실험결과

흰쥐 흉부 대동맥에서의 이완반응

PE 10⁻⁶M로 수축된 혈관 평활근에 대하여 신우황청심원과 우황청심원의 직접적인 효과를 내피세포의 존재 여부 또는 L-NNA 10⁻⁵M이나 MB 10⁻⁶M 전처리로

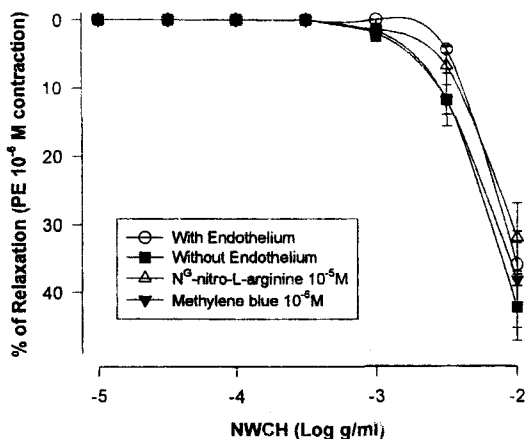


Fig. 1 — Relaxing effects of New Woohwangchungsimwon Pill (NWCH) on phenylephrine-induced contraction in isolated aortas of rat. Results are expressed as percent inhibition of the contraction to phenylephrine and are plotted as a function of dose in the presence of N^G-nitro-L-arginine, methyleneblue with and without endothelium. Each value represents mean ± S.E.M. of 4 rats.

NO 생성을 억제한 상태에서 관찰하였다. 신우황청심원과 우황청심원은 실험에 이용한 최고농도인 10⁻² g/ml에서 PE에 의한 혈관수축에 대하여 내피의 유무에 따라 35.9 ± 3.2%와 43.3 ± 2.7% 또는 42.3 ± 4.9%와 44.7 ± 2.3%를 각각 억제하였다. L-NNA와 MB의 전처리하는 두 제제 모두 혈관 이완반응에 유의적인 영향을 주지 못했다(Fig. 1, 2). 즉, 혈관 평활근에서 신우황청

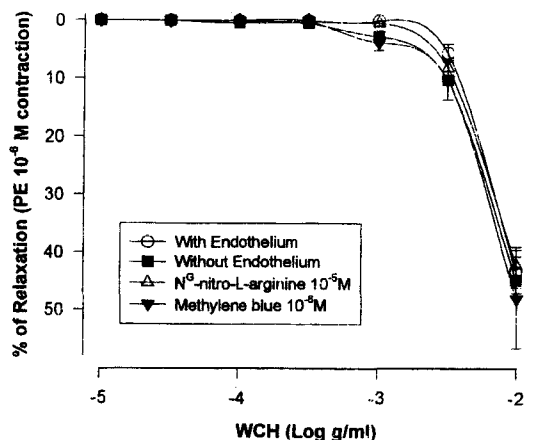


Fig. 2 — Relaxing effect of Woohwangchungsimwon Pill (WCH) on phenylephrine-induced contraction in isolated aortas of rat. Other legends are the same as Fig. 1.

심원과 우황청심원은 내피세포의 유무나 NO와 관련없이 혈관이완작용을 나타냈다.

이러한 혈관이완 효과와 K⁺ channel과의 관련성을 확인하기 위해서 세포외액의 K⁺ 농도를 25 mM과 60 mM로 증가시켜 혈관을 수축시킨 후, 신우황청심원과 우황청심원의 이완반응을 확인하고 K⁺ channel 차단제를 사용하여 이완반응이 억제되는 정도를 관찰하였다.¹⁹⁾ K⁺ channel 차단제로는 ATP-sensitive K⁺ channel 차단제인 glibenclamide와 Ca²⁺-sensitive K⁺ channel 차단제인 TEA를 사용하였다. 두 제제는 모두 세포외액의 KCl 농도에는 관계없이 10⁻⁴ g/ml 이상에서 이완효과를 나타냈고, 최고 이완효과는 10⁻² g/ml에서 60 mM KCl로 유도된 혈관수축을 89.4 ± 3.9%와 92.4 ± 2.9% 각각 억제하였으며 이러한 혈관이완 반응은 TEA나 glibenclamide에 의해 영향을 받지 않았다(Fig. 3, 4).

신우황청심원과 우황청심원이 Ca²⁺ channel을 차단하여 혈관이완 효과를 나타낼 가능성을 확인하기 위해서 Ca²⁺-free KR 용액에 KCl 60 mM을 전처리한 후, 세포외액의 Ca²⁺를 0.1에서 5 mM까지 점진적으로 증가시킬 때 나타나는 혈관수축에 미치는 두 제제의 영향을 농도별로 살펴보았다. 두 제제 모두 10⁻⁴, 10⁻³, 10⁻²

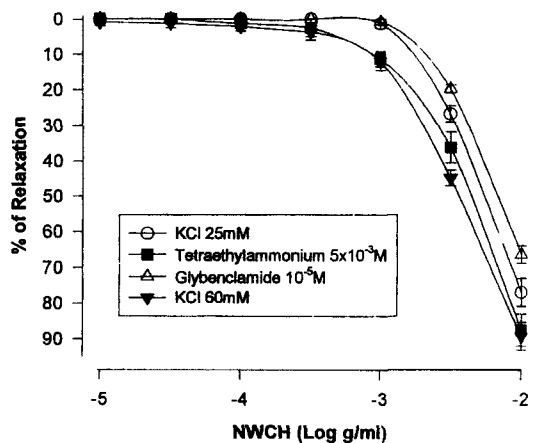


Fig. 3 — Effects of New Woohwangchungsimwon Pill (NWCH) on contractile responses evoked by 25 mM and 60 mM KCl in rat aortic rings. The percent of relaxation is plotted as a function of dose in the presence of tetraethylammonium or glibenclamide. Effects of tetraethylammonium and glibenclamide are expressed as percent of the maximal response to 60 mM KCl. Each value represents mean ± S.E.M. of 4 rats.

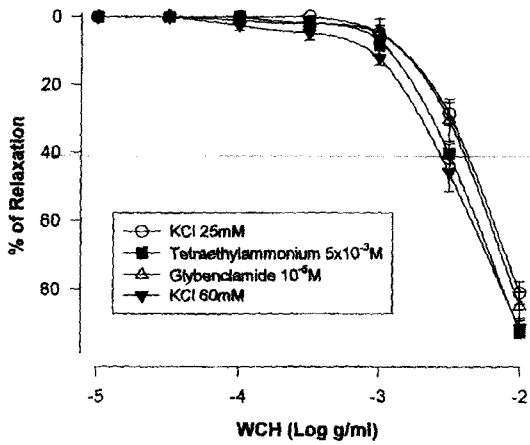


Fig. 4—Effects of Woohwangchungsimwon Pill (WCH) on contractile responses evoked by 25 mM and 60 mM KCl in rat aortic rings. The percent of relaxation is plotted as a function of dose in the presence of tetraethylammonium or glibenclamide. Other legends are the same as in Fig. 3.

g/ml의 전처리는 대조군에 비하여 Ca^{2+} 으로 유도한 수축을 농도의존적으로 억제하였다. 특히 $10^{-2} g/ml$ 의 전처리에는 KCl 60 mM의 수축치로 나타내는 최고 수축의 99.7%에 해당하는 5 mM Ca^{2+} 의 수축을 각각 18.4%와 16.3%로 감소시켰다(Fig. 5, 6).

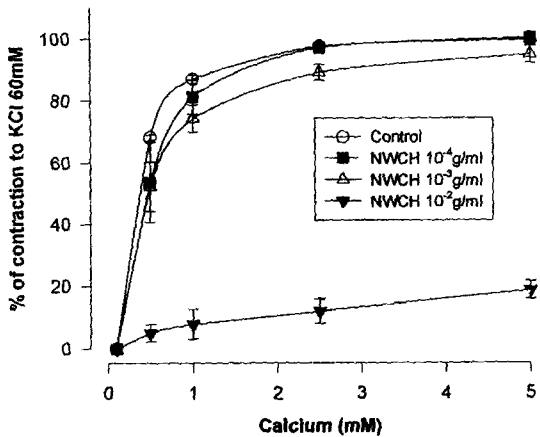


Fig. 5—Inhibitory effect of New Woohwangchungsimwon Pill (NWCH) on $CaCl_2$ -induced contraction under KCl 60 mM in isolated aortas of rat. $CaCl_2$ was added cumulatively from 1 mM to 5 mM in Ca^{2+} -free Krebs solution. Results are expressed as percent of the maximal response to the 60 mM KCl. Each value represents mean \pm S.E.M. of 3 to 5 rats.

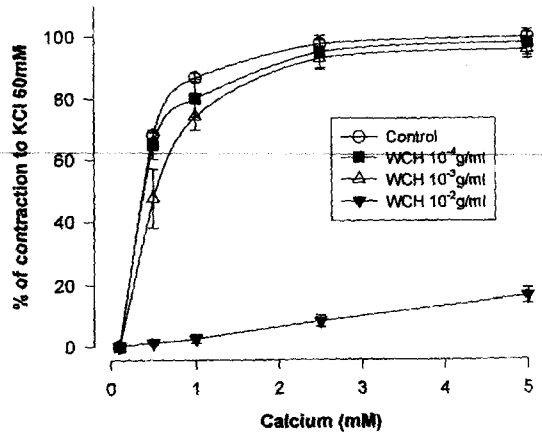


Fig. 6—Inhibitory effect of Woohwangchungsimwon Pill (WCH) on $CaCl_2$ -induced contraction under KCl 60 mM in isolated aortas of rat. Other legends are the same as in Fig. 5.

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

SHR의 경우에는 EDCF를 유리하여 내피의 조절능력이 감소되어 혈관의 반응성을 비정상적으로 나타내는데,²⁰⁾ 신우황청심원과 우황청심원이 이러한 EDCF 유리에 미치는 영향을 SHR 흉부 대동맥에서 살펴보았다. 두 제제를 10^{-4} , 10^{-3} , $10^{-2} g/ml$ 으로 전처리하여

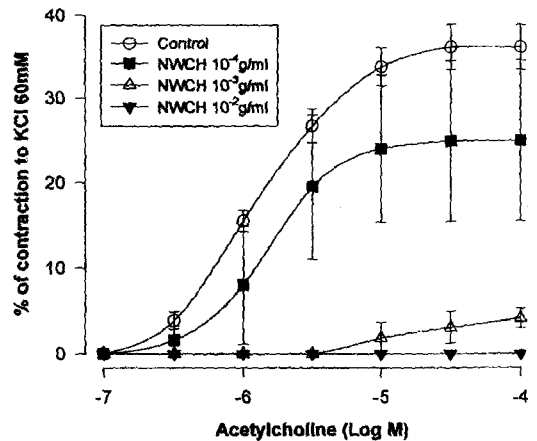


Fig. 7—Inhibitory effect of New Woohwangchungsimwon Pill (NWCH) on acetylcholine-induced contraction in isolated aorta of SHR. Acetylcholine was added cumulatively from $10^{-7} M$ to $10^{-4} M$. Results are expressed as percent inhibition of the contraction to 60 mM KCl. Each value represents mean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

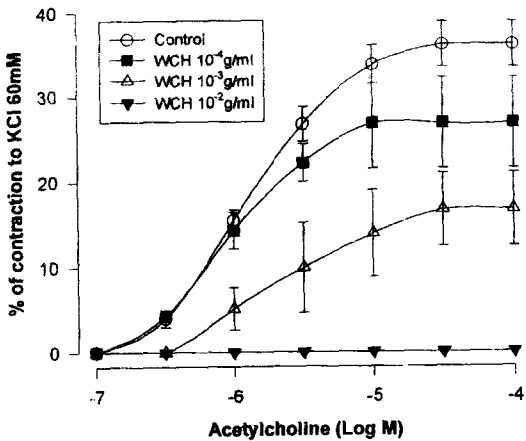


Fig. 8 — Inhibitory effect of Woohwangchungsimwon Pill (WCH) on acetylcholine-induced contraction in isolated aorta of SHR. Other legends are the same as in Fig. 7.

농도에 따른 혈관이완 반응을 관찰하였을 때, 내피가 있는 대동맥에서 acetylcholine에 의한 내피의존성 수축에 대하여 농도의존적으로 길항작용을 나타내었다. 즉, 10⁻⁴M acetylcholine으로 유도한 수축반응에 대하여 36.1%가 억제된 대조군에 비하여, 두 제제는 10⁻⁴, 10⁻³, 10⁻² g/ml에서 각각 28.5, 7.1 및 0%와 26.8, 16.7 및 0%로 농도의존적인 억제효과를 나타냈다 (Fig. 7, 8).

EDCF의 하나로 생각되는 PGH₂와 superoxide에 의한 혈관수축반응에 대하여 두 제제의 작용양상을 살펴보기 위하여 흉부 대동맥의 내피를 제거하여 PGH₂ 혹은 xanthine 및 xanthine oxidase (superoxide generating system)를 가하여 수축을 유도한 후 두 제제의 전처리가 어떤 영향을 주는 지를 알아보았다. 두 제제 모두 10⁻² g/ml의 전처리는 내피를 제거한 SHR의 대동맥에서 PGH₂에 의한 수축을 유의성있게 억제하였다. PGH₂ 10⁻⁶M에서 대조군은 53.6%의 수축반응을 나타내었는데 신우황청심원과 우황청심원 전처리는 PGH₂에 의한 수축을 각각 2.8%와 2.3%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 완벽하게 차단하였다 (Fig. 10).

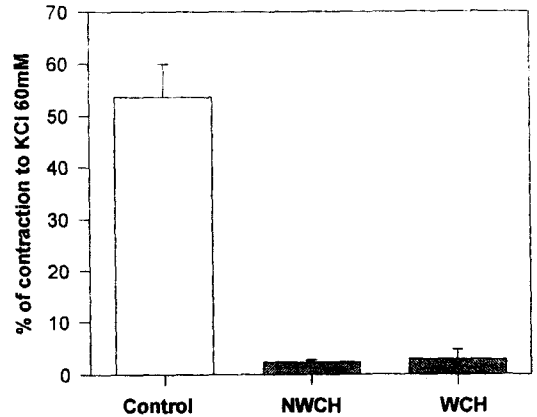


Fig. 9 — Inhibitory effects of New Woohwangchungsimwon Pill (NWCH) 10⁻² g/ml (▨) and Woohwangchungsimwon Pill (WCH) 10⁻² g/ml (▩) on prostaglandin endoperoxide (10⁻⁶M)-induced contraction in endothelium-denuded aortas of SHR. Results are expressed as percent of inhibition of the contraction to 60 mM KCl and shown as mean ± S.E.M. from 3 to 6 rings of different rats.

선천성 고혈압 흰쥐의 혈압 및 심박동수에 미치는 영향

본 실험에서 사용한 선천성 고혈압 흰쥐의 혈압은 173.3 ± 5.8 mmHg로 정상 흰쥐 (103.5 ± 3.0 mmHg)

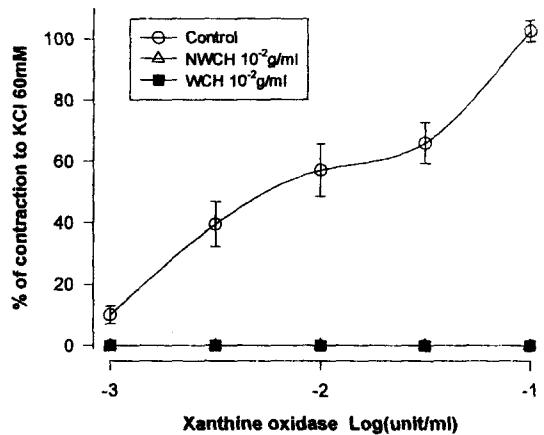


Fig. 10 — Effect of New Woohwangchungsimwon Pill (NWCH) and Woohwangchungsimwon Pill (WCH) on contractions induced by oxygen-derived free radical in aortic rings without endothelium from SHR. Contractions caused by xanthine oxidase in the presence of xanthine (10⁻⁴M) were inhibited by significantly by NWCH and WCH. Results are expressed as percent of maximal contraction to 60 mM KCl and shown as mean ± S.E.M. from 4 to 6 rings of different rats.

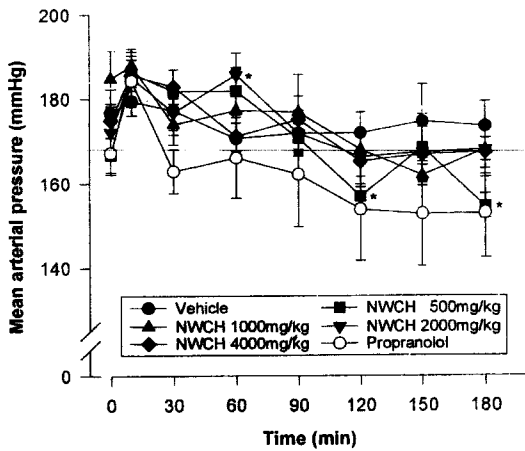


Fig. 11—Effects of New Woohwangchungsimwon Pill (NWCH) and propranolol on mean arterial pressure in conscious SHR. Each value represents mean±S.E.M. of 5 rats. (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs vehicle group)

에 비해 현저히 높아 이를 통해 본 실험의 실험동물이 SHR임을 확인하였다. 신우황청심원 500 mg/kg 투여군은 투여후 120분, 180분에서 대조군에 비해 유의성 있게 혈압을 감소시켰으며, 그 외의 군도 유의성은 나타내지 않았으나 대조군에 비해 혈압을 감소시키는 경향을 나타내었다(Fig. 11). 심박동수에 있어서 4000 mg/kg 투여군에서 대조군에 비해 유의성 있는 심박동수 감소가 투여후 10분부터 나타나기 시작하여 180분까지 지속되었으며 다른 용량군에서도 대조군에 비해 심박동

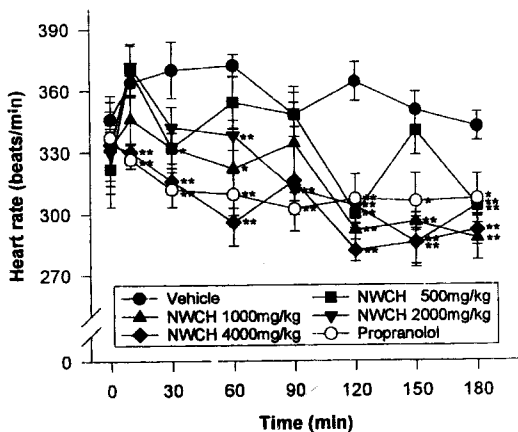


Fig. 12—Effects of New Woohwangchungsimwon Pill (NWCH) and propranolol on heart rate in conscious SHR. Each value represents mean±S.E.M. of 5 rats. (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs vehicle group)

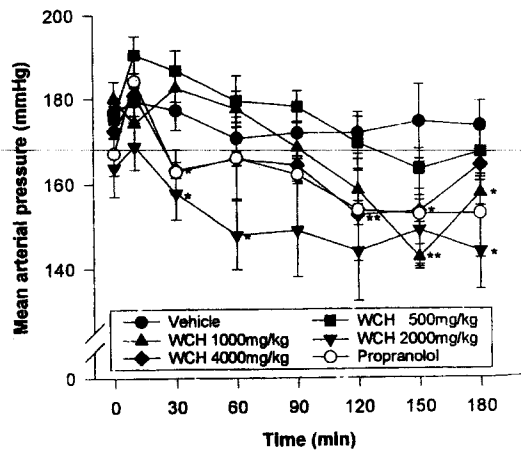


Fig. 13—Effects of Woohwangchungsimwon Pill (WCH) and propranolol on mean arterial pressure in conscious SHR. Each value represents mean±S.E.M. of 5 rats. (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs vehicle group)

수가 감소하였다(Fig. 12). 우황청심원은 4000 mg/kg 투여군은 투여후 30분에 대조군에 비해 유의성 있게 혈압이 감소하였으며 이는 150분까지 유의성 있는 감소를 나타내었다. 또한 이보다 저용량인 1000, 2000 mg/kg 투여군에서도 대조군에 비해 유의성 있는 혈압감소를 나타내었다(Fig. 13). 심박동수에 있어서는 우황청심원 1000 mg/kg 투여군에서 투여후 120분부터 150분까지 대조군에 비해 유의성 있는 감소를 나타내었으며, 그 외의 군도 120분부터 대조군에 비해 심박동수

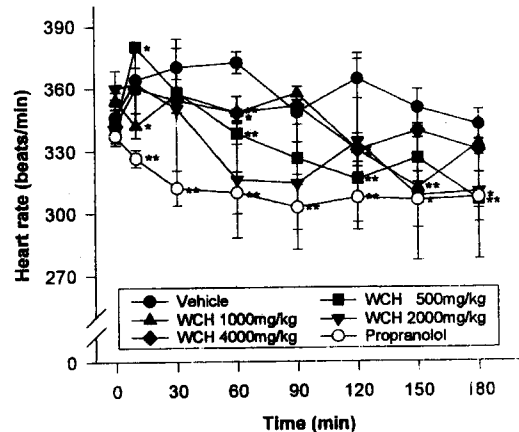


Fig. 14—Effects of Woohwangchungsimwon Pill (WCH) and propranolol on heart rate in conscious SHR. Each value represents mean±S.E.M. of 5 rats. (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs vehicle group)

Table 1— Effects of NWCH and WCH on cardiac contractility of rat in Langendorff preparations

Dose	LVDP decreasing %		(-dp/dt)/(+dp/dt)	
	NWCH	WCH	NWCH	WCH
Before	0	0	0.68±0.13	0.48±0.09
Vehicle	3.70±1.99	2.68±0.88	0.66±0.12	0.47±0.07
10 ⁻³	3.92±1.17	2.93±0.90	0.64±0.11	0.45±0.07
3×10 ⁻³	4.33±1.99	3.68±0.97	0.62±0.12	0.43±0.08
10 ⁻²	6.28±1.96	4.28±1.18	0.65±0.13	0.44±0.10
3×10 ⁻²	35.80±5.51	20.40±8.08	0.36±0.09	0.34±0.11
10 ⁻¹	41.80±7.50	32.60±4.36	0.32±0.08	0.31±0.10
3×10 ⁻¹	54.57±12.01	50.72±5.74	0.23±0.07	0.26±0.09

Data are mean±S.E.M. (n=5)
 LVDP: Left ventricular developed pressure.
 NWCH: New Woohwangchungsimwon Pill
 WCH: Woohwangchungsimwon Pill

감소를 나타내었다(Fig. 14). 따라서 전체적으로 볼 때 신우황청심원과 우황청심원은 용량의존적이지는 않았으나 유사한 혈압감소 및 심박동수 감소 효과를 나타내는 것으로 보인다.

심근수축력과 심혈류량에 대한 영향

신우황청심원과 우황청심원의 심장기능 및 관상동맥 혈류량에 미치는 영향을 알아보기 위하여 LVDP, HR, CF와 (-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 시간동안 빠른 작용을 보인 후 wash out되어 원상태로 회복되었다. 평균적인 HR는 285~275 beats/min였고 CF는 18~15 ml/min로 측정되었으나, 약물 투여 직후 효과가 나타나는 동안의 HR와 CF의 변화는 작용시간이 빠른 관계로 측정하기는 어려웠으며 큰 변화를 보이지 않았다. 두 제제 모두 300배 희석 농도에서 각각 35.8%, 20.4% 심근 수축력의 저하를 보였으며 10배, 30배 희석농도에서는 각각 41.8~54.6%, 32.6~50.7%의 현저한 저하를 보였다. 심장의 이완 상태를 나타내는 (-dp/dt)/(+dp/dt)는 300배 희석 농도에서 각각 47.1%, 29.2%가 감소되었으며, 10배 희석 농도에서 52.9%, 35.4%, 30배 희석 농도에서 66.2%, 45.8% 각각 감소하는 경향을 보여 심근의 이완 상태가 감소하는 것으로 나타났다.

적출우심방의 심박수 및 수축력에 미치는 영향

신우황청심원과 우황청심원이 흰쥐의 적출 우심방

에 미치는 직접적인 영향을 검토하였다. Fig. 15, 16에서 보는 바와 같이 신우황청심원은 자동적으로 뛰고 있는 적출 우심방에 대해 10⁻³g/ml의 농도까지 수축력 및 심박수에 영향이 없었으나, 그 이상의 농도에서는 수축력 감소를 초래하여 3×10⁻³g/ml의 농도에서는 44.0±10.0%의 수축력 증가를 초래하였으며, 이때 반사적으로 심박수는 7.0±1.0% 감소되었다. 우황청심원의 경우에 있어서도 10⁻³g/ml의 농도까지 적출심장에 대해 수축력 및 심박수에 영향이 없었으나, 3×10⁻³g/ml의 농도에서는 30.0±8.4%의 수축력 증가를 초래하였으며, 반사적으로 심박수는 4.5±0.4% 감소되었다. 즉, 신우황청심원 및 우황청심원 모두

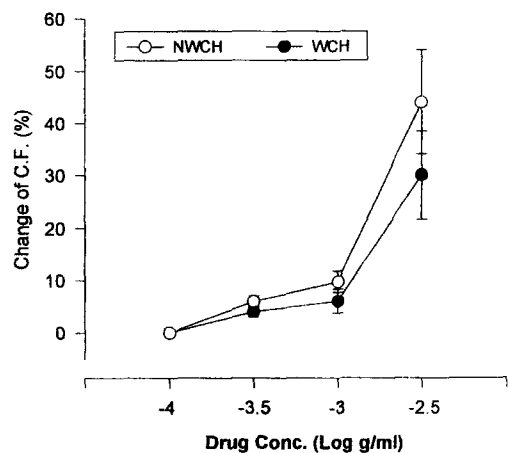


Fig. 15— Effects of New Woohwangchungsimwon Pill (NWCH) and Woohwangchungsimwon Pill (WCH) on contractile force in isolated atrium of rats. Each value represents mean±S.E.M. of percent change from predose values.

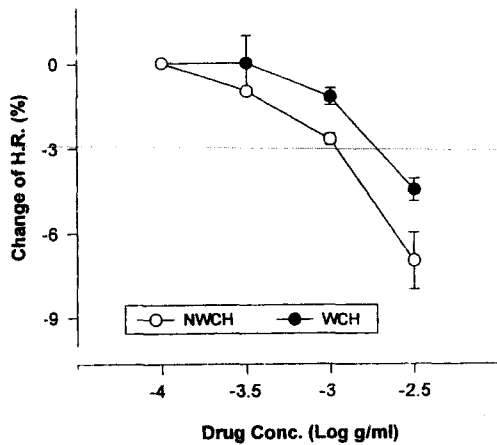


Fig. 16—Effects of New Woohwangchungsimwon Pill (NWCH) and Woohwangchungsimwon Pill (WCH) on heart rate in isolated atrium of rats. Each value represents mean±S.E.M. of percent change from predose values.

10³ g/ml 농도까지는 적출 우심방의 심박수에 영향이 없었다. 다만 가장 고농도 투여시(3×10⁻³ g/ml) 일시적인 양의 변력성 효과와 음의 변시성 효과를 나타내었다.

적출 유두근의 활동전위에 미치는 영향

신우황청심원 및 우황청심원 두 제제 모두 10⁻⁴ g/ml에서 10³ g/ml까지는 활동전위의 각 parameter에 커다란 영향을 주지 못하였으나, 실험적 고농도인 10⁻² g/ml에서 신우황청심원 투여군은 resting membrane potential(RMP)와 action potential amp-

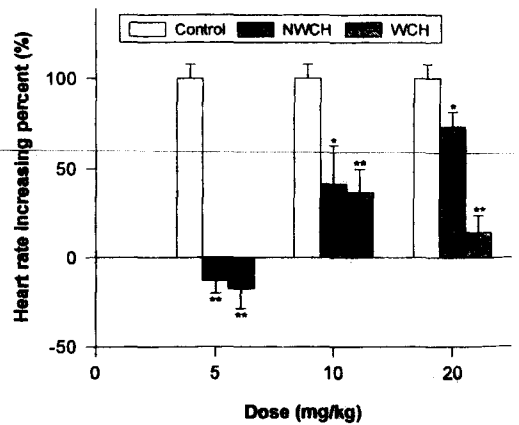


Fig. 17—Inhibitory effects of New Woohwangchungsimwon Pill (NWCH) and Woohwangchungsimwon Pill (WCH) on heart acceleration. Data are shown as mean±S.E.M. Significant difference from control group (*p<0.05, **p<0.01).

litude(APA) 및 활동전위 0 phase의 upstroke velocity(V_{max})가 8.8%, 8.9% 및 9.3%로 다소 감소하였고, 활동전위 기간인 APD₉₀은 6.6% 증가하였다. 우황청심원 투여군에서도 같은 농도인 10⁻² g/ml에서 RMP와 APA 및 V_{max}가 9.8%, 7.8% 및 14.4%로 약간 감소하였고 APD₉₀은 11.7%가 증가(Table II)하는 양상을 띄어 신우황청심원과 동등한 효과를 나타낸 것으로 볼 수 있으며 두 제제간의 유의적인 차이는 발견할 수 없었다.

심계항진에 대한 효과

Atropine 처치후 epinephrine 투여로 심박동수를

Table II—Effects of NWCH and WCH 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	
NWCH (n=3)	10 ⁻⁴ g/ml	-0.6±0.55	-0.4±0.35	-0.5±0.45	-0.7±0.65
	10 ⁻³ g/ml	-1.1±0.64	-0.2±0.23	0.4±1.16	0
	10 ⁻² g/ml	-8.8±1.82	-8.9±2.26	6.6±2.30	-9.3±0.49
WCH (n=3)	10 ⁻⁴ g/ml	0	0.7±1.35	-0.2±1.40	-0.7±0.65
	10 ⁻³ g/ml	-1.8±0.70	0.0±0.38	0.3±2.22	-1.5±0.93
	10 ⁻² g/ml	-9.8±1.53	-7.8±2.48	11.7±3.29	-14.4±1.63

Data are mean ± S.E.M.
 RMP: resting membrane potential
 APA: action potential amplitude
 APD₉₀: action potential duration at 90% repolarization
 V_{max}: maximum upstroke velocity at phase 0
 NWCH: New Woohwangchungsimwon Pill

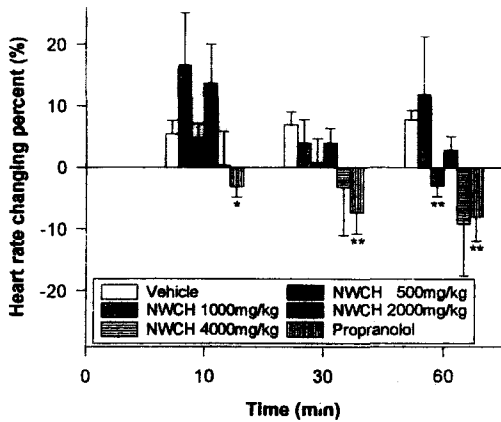


Fig. 18 — Effects of New Woohwangchungsimwon Pill (NWCH) and propranolol on heart rate in conscious SHR. Significant difference from vehicle group (*p<0.05, **p<0.01).

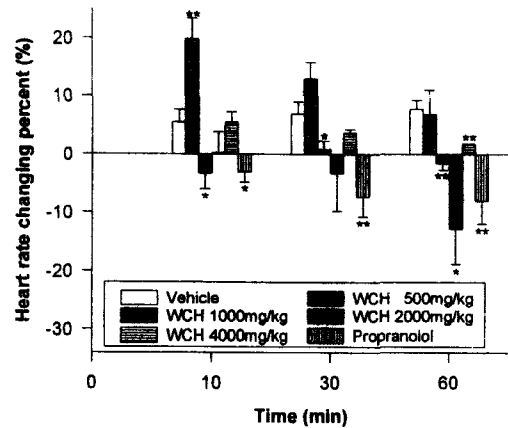


Fig. 19 — Effects of Woohwangchungsimwon Pill (WCH) and propranolol on heart rate in conscious SHR. Significant difference from vehicle group (*p<0.05, **p<0.01).

증가시킨 흰쥐에서는 Fig. 17에서 보는 바와 같이 신우황청심원 5 mg/kg 투여군에서 -12.9%의 심박동수 변화율로 현저한 심계항진 억제 효과를 나타내었고, 10 mg/kg 및 20 mg/kg 전용량투여군에서 각각 41.2%, 72.9%의 심박동수 증가율로 대조군과 비교하여 유의성 있는 심계항진 억제효과를 보였다. 우황청심원도 5 mg/kg 투여군에서 -17.6%의 심박동수 변화율을 보여 현저한 심계항진 억제 경향을 나타내었으며, 10 mg/kg 및 20 mg/kg 투여군에서도 각각 심박동수 증가율 36.5%, 14.1%의 심박동수 증가율로 대조군에 비해 유의성 있는 심계항진 억제 효과를 나타내었다.

선천성 고혈압 흰쥐에서는 vehicle인 0.25% CMC의 투여로 심박동수 변화율이 투여전과 비교하여 투여 10, 30, 60분후에 각각 5.4 ± 2.2 , 6.9 ± 2.1 , 7.7 ± 1.5 증가로 나타났고, 이를 대조군으로 하여 심박동수의 변화율을 비교하였다. 신우황청심원은 1000 mg/kg 투여군에 있어서 투여후 60분에 심박동수의 변화율이 대조군에 비해 유의적으로 감소하였으며, 2000, 4000 mg/kg 투여군에 있어서도 투여후 30분부터 유의성은 나타나지 않았으나 대조군에 비해 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 18). 우황청심원 1000 mg/kg 투여군은 투여후 10분부터 60분까지 심박동수의 변화율이 대조군에 비하여 유의적으로 감소하였으며, 시간이 경과할수록 더욱 감소하였다. 또한 2000 및 4000 mg/kg 투여군에서도 투여후 60분에 대조군에 비해 심박동수 변화율이 유의적으로 감소하였다(Fig. 19).

고찰

고래로 부터 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 심순환계 작용에 대해서는 거의 보고된 바가 없다. 최근의 심순환계에 대한 우황청심원의 연구로는 남²¹⁾의 혈압강하작용과 심수축력 억제 등의 효과, 이 등²²⁾의 평활근에 대한 작용, 홍 등²³⁾의 순환기계에 미치는 영향 등에 대한 소수의 보고가 있었으나 그 내용이 빈약하고 명확하지 못하기 때문에, 본 연구에서는 혈관이완 작용, SHR에서의 혈압강하작용, 흰쥐의 적출심장과 적출우심방 및 guinea pig의 적출 유두근 기능에 미치는 영향, 심계항진에 대한 효과 등으로 나누어 신우황청심원과 우황청심원의 심혈관계에 대한 약리학적 효과를 다각적으로 검토하고 두 제제를 비교하는 실험을 수행하였다.

먼저, 신우황청심원과 기존의 우황청심원의 혈관평활근에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 *in vitro* 실험으로 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 유리나²⁴⁾ K⁺ channel이 열려 세포막이 과분극되면서 voltage-dependent Ca²⁺

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-NNA과 guanylate cyclase 억제제인 MB로 전처리했을 경우에 관계없이 신우황청심원과 우황청심원은 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 신우황청심원과 우황청심원의 작용을 검토했을 때, TEA나 glibenclamide로 K^+ channel의 활성을 차단했을 경우에는 혈관이완 효과가 나타나고 내피의존성이완여부의 확인에 사용된 수축제인 phenylephrine의 경우보다 큰 이완효과를 나타낸 사실로 보아 두 제제는 K^+ channel의 활성을 증가시켜 혈관 평활근을 이완시키는 것이 아니라 외부로부터의 Ca^{2+} 유입을 직접 차단하는 Ca^{2+} channel 차단제로 작용할 가능성이 있음을 시사한다. 또한 흰쥐 대동맥에서의 각 약물군들의 작용으로 보아 두 제제는 혈관 평활근을 직접 이완시키는 동등한 효과가 있음을 확인할 수 있었다. 신우황청심원과 우황청심원의 구성성분 또는 구성생약인 *l*-muscone과 사향의 혈관이완효과가 NO를 경유해서 나타난다는 보고¹⁴⁾와 상이한 것은 신우황청심원과 우황청심원이 생약 복합제이기 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 나타나며²⁰⁾ superoxide dismutase나 deferoxamine 등 여러 항산화제의 전처리가 EDCF의 반응을 또한 차단한다는 사실에 기인하여 내피유래 수축인자의 하나로 superoxide가 제시되고 있다. EDCF에 의한 혈관수축을 신우황청심원 및 우황청심원이 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. 신우황청심원과 우황청심원은 superoxide에 의한 혈관수축반응에 대하여 농도의존적으로 유의적인 길항효과를 보였고, 두 제제간의 효과는 동일하였다. 이것은 두 제제가 PGH_2 의 혈관에 대한 반응성을 차단할 뿐만 아니라 superoxide의 반응성을 차단하는 것이 일부 관여한다는 사실을 시사한다.

일반적으로 혈압상승은 교감신경 기능항진에 따른 말초소동맥의 저항력 증가, 경동맥에 있는 압수용체의 기능이상, 콩팥의 혈류장애에 의한 renin 활성화도 증가 등으로 나타나는데 신우황청심원과 우황청심원이 *in vitro*에서 혈관이완작용을 나타낸다는 사실로 미루어 *in vivo*에서도 혈압강하효과가 있을 것으로 생각되어 본태성 고혈압 실험모델인 SHR을 이용하여 신우황청심원과 우황청심원의 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, 신우황청심원과 우황청심원은 대조군에 비해 SHR의 심박동수를 감소시키며 특히 신우황청심원의 심박수의 유의적인 감소는 이 제제가 진정 및 불안, 초조 등에 따른 심계항진에도 응용할 수 있다는 것을 시사한다.

두 제제가 심기능에 미치는 직접적인 영향을 흰쥐의 적출 심장을 통하여 관찰하였다. 두 제제의 투여로 농도의존적으로 심근의 수축력이 감소하는 negative inotropic effect를 보였고 심장의 휴식율이 감소하는 경향이 관찰되었으며 두 제제사이의 유의성 있는 차이는 없었다. 특히, 저배율 회색액(10배, 100배 회색액)에서 LVDP가 크게 감소한 것은 검액의 고장성이 일부 영향을 주었을 수도 있다. 적출 우심방 실험모델에서도 두 제제사이의 약효차이는 발견할 수 없었으며 두 제제 모두 $10^{-3}g/ml$ 농도까지는 적출 우심방의 수축력과 심박수에 영향이 없었다. 다만, 고농도($3 \times 10^{-3}g/ml$) 처치시 갑작스럽게 일시적인 양의 변역성 효과와 음의 변역성 효과를 나타내었는데 이것은 가장 고농도에서의 일시적인 반응이고 용량의존적인 변화가 아니기 때문에 약물에 의한 효과라기 보다는 organ bath내 pH의 변화 등의 물리적인 요인에 기인된 것으로 고려된다.

Guinea pig 적출 유두근에서 신우황청심원과 우황청심원이 RMP, APA 및 V_{max} 를 감소시키는 작용은 심

근에 있어서 Na^+ current가 감소하여, V_{\max} 를 억제시키고, 그에따라 APA도 감소시킨 것으로 보인다. 또한 K^+ current를 차단하여 서서히 재분극시킴으로써 활동전위 기간(APD_{90})을 연장하여 막전위를 안정화시키는 것으로 추측된다. 두 제제 모두 농도가 증가함에 따라 관류액의 pH의 감소가 간접적으로 다소 활동전위에 영향을 줄 수도 있다고 생각되나, 두 제제의 실제 생리적인 낮은 농도(10^{-3} g/ml이하)에서는 심근의 활동전위에 대한 직접적인 영향이 미약하였고 같은 정도로 활동전위를 억제하는 작용을 나타내어 약효차이는 발견하기 어려웠다.

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

이상의 결과로 부터 신우황청심원과 우황청심원은 혈관이완에 따른 혈압강하작용 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.

문헌

- 1) 진사문 : 태평혜민화제국방, 선풍출판사, 대북 p. 81 (1975).
- 2) 허 준 : 원본동의보감, 신증판, 남산당, p. 692 (1987).
- 3) 이 천 : 의학입문, 대성문화사, p. 215 (1981).
- 4) 황도연 : 방약합편, 행림출판사, p. 102 (1977).
- 5) 염태환 : 동의처방대전, 행림서원, p. 332 (1975).
- 6) 김재길 : 원색천연약물대사전, 남산당 2, p. 345 (1984).
- 7) Kimura, M., and Waki, I. : Potentiation of β -adrenergic receptor to musk. *Jap. J. Pharmacol.* **16**,

- 129 (1966).
- 8) Kimura, M. : Isoproterenol potentiation in an animal product-musk. *Trends Pharm. Sci.* **7**, 341-343 (1980).
- 9) Matsubara, T. : Pharmacological studies of civetone, a fragrant component, in civet : comparison with actions of muscone on cardiovascular and respiratory systems. *富山藥年報* **17**, 42 (1990).
- 10) Sano, T. : Über die maennlich sexual hormonartige Wirkung des Moschus. *J. Pharm. Soc, Japan* **56**, 913-914 (1936).
- 11) Sano, T. : Über die maennlich sexual hormonartige substanz des Moschus. *J. Pharm. Soc, Japan* **57**, 851-852 (1937).
- 12) Mishra, R. K., Arora, R. B. and Seth, S. D. S. : Anti-inflammatory effect of musk. *J. Pharm. Pharmacol.* **14**, 830-831 (1962).
- 13) Taneja, V., Siddiqui, H. H. and Arora, R. B. : Studies on the anti-inflammatory activity of *Moschus moschiferus*(Musk) and its possible mode of action. *Ind. J. Physiol. Pharmac.* **17**, 241-247 (1973).
- 14) 조태순, 김낙두, 허인희, 권광일, 박석기, 심상호, 신대희, 박대규 : *t*-Muscone의 심혈관계에 관한 약리연구. *응용약물학회지*, **5**, 299 (1997).
- 15) 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. : Nonpeptide angiotensin II receptor antagonists: VIII. Characterization of functional antagonism displayed DuP753, an orally active antihypertensive agent. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **252**, 719-725 (1990).
- 16) 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. : Hypotensive action of DuP753, an angiotensin II antagonist, in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* **15**, 459-468 (1990).
- 17) Grover, G. J., McCullough, J. R., D' Alozo, A. J., Sargent, C. A. and Atwal, K. S. : Cardioprotective potassium channel opener BMS-180448. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **25**, 40 (1995).
- 18) Grover, G. J., Dzwonczy, S., Parham, C. S. and Selph, P. : Pharmacological profile of cromakalim in the treatment of myocardial ischemia in iso-

- lated rat heart and anesthetized dogs. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **16**, 853 (1990).
- 19) Cavero I., Mondot, S. and Mestre, M. : Vasorelaxant effects of cromakalim in rats are mediated by glibenclamide-sensitive potassium channels. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **248**, 1261 (1989).
- 20) Lüscher T. F. and Vanhoutte P. M. : Endothelium-dependent contractions to acetylcholine in the aorta of the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension* **8**, 344 (1988).
- 21) 남상경 : 우황청심원과 소합향원의 효능에 관한 연구. 경희대학교 박사학위논문 (1992).
- 22) 이원철, 김영석, 배형섭, 구본홍 : 우황청심원의 제형별 임상에 관한 연구. *대한한의학회지* **11**, 102 (1990).
- 23) 홍남두, 김남재, 김규섭 : 우황청심원의 순환기계에 미치는 영향. *생약학회지* **18**, 241 (1988).
- 24) Palmer, R. M. J., Ferrige, A. G. and Moncada, S. : Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* **327**, 524-526 (1987).