

Fursulthiamine이 흰쥐의 식이성 고혈압에 대한 예방효과

이은방[#] · 이영순 · 김옥경*

서울대학교 천연물과학연구소, *대전대학교 이공대학

(Received November 29, 1998)

The Preventive Effect of Fursulthiamine on Dietary Hypertension in Rats

Eun Bang Lee[#], Young Soon Lee and Ok Kyung Kim*

Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460

*College of Science and Technology, Daejin University, Kyeonggi-Do, 487-711, Korea

Abstract—Dietary hypertension induced by feeding cholesterol and vitamin D₃ in rats for 7 weeks was prevented by the addition of fursulthiamine and diallyl disulfide in the diet. In the isolated aorta preparation of the hypertensive rats, the contractile forces were potentiated by norepinephrine, serotonin and potassium chloride, as compared to that of the normotensive rats. However, the increased contractile forces of the hypertensive rats were inhibited in the aorta of the rats fed with fursulthiamine. Decreases in triglyceride contents were observed in the sera of the hypertensive rats fed with fursulthiamine. Therefore, it is suggested that dietary hypertension in rats may be prevented by supplement of fursulthiamine in the diet.

Keywords □ Dietary hypertension, fursulthiamine, isolated rat aorta, cholesterol, triglyceride.

Thiamine의 유도체인 fursulthiamine은 thiamine보다 체내 흡수성이 좋고 지질 친화성에 의한 막 투과성이 우수하여 thiamine의 대량 요법에 응용되고 있다. Fursulthiamine에 대한 연구로서, Sasaki¹⁾는 흰쥐의 항부종효과가 있음을 보고하였고, Masahiro 등²⁾은 토끼와 원숭이의 태아기관 형성시 기형의 예방효과가 있음을 보고하였다. Fukawa 등³⁾은 토끼 귀에 정맥주사시 발생하는 혈전성 정맥염이 fursulthiamine의 주사에 의해 없어짐을 보고하였으며, 적출한 guinea pig의 심방 실험에서 Nagata 등,⁴⁾ Shinozaki 등⁵⁾은 K⁺농도가 낮은 영양액에서 자발적인 수축작용이 억제되지만, fursulthiamine의 첨가에 의해 억제작용이 완화되었고, 또한 전기적 자극에 의한 부정맥성 수축도 억제되었음을

보고하였다. Ogawa⁶⁾는 같은 10⁻⁴M 농도에서 thiamine보다 fursulthiamine이 acetylcholinesterase (AChE) 활성이 증가하였음을 보고하였으며, Nishikubo 등⁷⁾은 fursulthiamine 첨가가 적출된 흰쥐 심장 근육의 무반응성 기간의 연장이 감소됨을 보고하였다. Ikeda 등⁸⁾은 alloxan 유발당뇨쥐에게 fursulthiamine을 투여시 좌골신경 기능의 개선을 보고하였으며, Kazuki 등⁹⁾은 fursulthiamine이 arachidonic acid와 prostacyclin에 의한 개의 관상동맥혈압의 증가를 억제시키는 효과가 있음을 보고하였고, Berndt 등¹⁰⁾은 fursulthiamine이 alcohol대사에 영향이 있음을 보고하였다. 상기의 몇가지 순환기계의 작용이 보고되어 있으나 고혈압에의 작용에 대한 연구는 찾아 볼 수 없으므로, 저자는 식이성 고혈압에서의 fursulthiamine의 영향을 검토코저 시도하였다. 그것은 diallyl disulfide가 식이성 고혈압을 예방한다는 결과¹¹⁾와 연관하여 fursulthia-

[#] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 02-740-8917 (팩스) 02-764-7497

mine이 thiamine의 disulfide 화합물이므로 본 연구를 착수한 것이다.

실험방법

실험동물 및 시약 - 실험동물은 Sprague Dawley계 숫컷 흰쥐로 체중 90 g 내외의 것을 사용하였으며, 시약인 cholesterol, vitamin D₂ 및 norepinephrine hydrochloride 는 Sigma Chem. Co.(St. Louis, U.S. A.) 제품이었고, fursulthiamine은 일동제약(주)의 제공품 즉, thiamine tetrahydrofurfuryl disulfide (TTFD)를, diallyl disulfide 및 serotonin creatinine sulfate는 Fluka Chemica AG(Buchs, Switzerland) 제품을 사용하였다. Total cholesterol 및 triglyceride의 측정 kit는 Wako Pure Chemical Ind. (Tokyo, Japan) 제품을 사용하였고 기타 시약은 시판품 1급을 사용하였다.

식이의 제조 및 공급 - Bajawa 등¹²⁾의 방법에 따라 표준식이군(정상식이군I), 표준식이군에 cholesterol (1.5%) 및 vitamin D₂(1.25 million IU/kg diet) 첨가 식이군(II), fursulthiamine(FST)을 II군 식이에 1 kg당 1 g 첨가한 식이군(III), fursulthiamine을 II군 식이에 1 kg당 3 g 첨가 식이군(IV) 및 diallyl disulfide(DD)를 II군 식이에 1 kg당 1 g 첨가 식이군(V)으로 제조하였으며, 이들 식이 및 물은 동물이 자유롭게 섭취하도록 하였다. 표준식이군의 조성은 Table A와 같이 sucrose 61%, casein 24%, soybean oil 10%, salt mixture 5% 및 vitamin mixture로 구성되어 있다.

체중 및 각종 장기의 무게측정 - 매주 1회 일정한 시간에 체중을 측정하였고, 적출한 장기는 즉시 생리식염수로 씻어내고 부착된 지방층을 제거한 후 측정하였다.

혈액의 채취 - 흰쥐 두부에 충격을 주어 기절시킨 후, 심장에서 직접 혈액을 채취하고, 3000 rpm으로 30분간 원심분리시켜 혈청을 분리시킨 후 -20°C의 냉동실에 보관하여 분석에 사용하였다.

혈청중 총 콜레스테롤 양 - 총 콜레스테롤 양은 Wako의 kit를 사용하여 다음과 같이 측정하였다.¹³⁾ 즉, 혈청 0.02 ml에 cholesterol ester hydrolase, cholesterol oxidase, 4-amino antipyrine을 함유한 발색시약 3 ml를 잘 혼합한 후 37°C 수조에서 15분간 반응시킨 다음, 1시간 이내에 UV 분광 광도계로 505 nm에

서 비색정량하였다.

혈청중 중성지방 양 - 중성지방 양은 Wako의 kit를 사용하여 다음과 같이 측정하였다.¹⁴⁾ 즉, 혈청 0.02 ml에 lipoprotein lipase, glycerol-3-phosphate oxide peroxidase, 4-antipyrine을 함유한 발색시약 2 ml를 넣고 잘 혼합한 후 37°C 수조에서 20분간 반응시킨 다음, 1시간 이내에 UV 분광 광도계로 505 nm에서 비색정량하였다.

혈압의 측정 - 혈압은 Pfeiffer 등¹⁵⁾의 간접 tail-cuff 방법에 따라서 Narco Biosystem Physiograph를 이용하여 상기의 식이 섭취 이전과 섭취후 10일마다 흰쥐의 꼬리 동맥압을 측정하여 수축기 혈압으로 하였다. 실험동물을 온도 조절장치가 부착된 holder에 고정시켜 약 10분간 가온하고 꼬리동맥이 완전히 확장되게 한 후 programmed electrophysiomonometer에 연결된 occlusion cuff를 통해 일정 압력이 유지되도록 한다. 이때 쥐꼬리 부분에 부착시켜 놓은 pneumatic pulse transducer를 통해 나타나는 맥박을 physiograph recorder에 기록하였다.

적출 대동맥 표본 및 동맥 혈관 반응에 미치는 효과 측정 - Cohen등¹⁶⁾의 방법에 따라서, 흰쥐 두부에 충격을 주어 기절시킨 후 경동맥을 절단하여 방혈시키고, 대동맥을 신속히 적출하여 혈관주위의 지방층을 제거한 다음, 폭 2 mm, 길이 25 mm 정도의 표본을 만들었다. 이 표본을 미리 95% O₂ 및 5% CO₂ 혼합가스를 충분히 공급하고 37°C로 유지시킨 10 ml의 Krebs bicarbonate용액(NaCl: 118.2, KCl: 4.6, CaCl₂ · 2H₂O: 2.5, KH₂PO₄: 1.2, MgSO₄ · 7H₂O: 1.2, Dextrose: 10.0, NaHCO₃: 24.8 mM)이 들어있는 magnus관에 넣은 다음, 한쪽끝은 밑에 고정시키고, 다른 한끝은 isometric transducer에 연결하여 혈관수축 작용을 physiograph에 기록하였다. 이때 휴지장력을 1 g로 하였으며 평형상태에 도달한 후 본 실험을 실시하였다.

통계처리 - 모든 실험치는 평균치와 표준오차로 표시하였고, 통계적 유의성 검토에 있어서 I군과 II군은 Student's *t*-test를 실시하였고, II군과 III, IV, V군은 Dunnett's *t*-test를 실시하여 평가하였다.

결과 및 고찰

체중 증가량 및 각 장기의 무게측정 - 상기의 5개 실험군에서의 체중 및 각 장기의 무게는 Table I과 같다.

Table A — Composition of experimental basal diet

Ingredient	Weight(%)
Sucrose	61
Casein	24
Soybean oil	10
Salt mixture ^{a)}	5
Vitamin mixture ^{b)}	add

^{a)} Salt mixture, CaCO₃: 30.00, K₂HPO₄: 32.25, MgSO₄: 10.20, CaHPO₄: 7.50, NaCl: 16.75 FeC₆H₇O₇ · 6H₂O: 2.75, KI: 0.08, CuSO₄: 0.03, ZnCl₂: 0.025, MnSO₄ · H₂O: 0.50

^{b)} Vitamin mixture (mg/kg diet), Thiamine hydrochloride: 10, Riboflavin: 10, Pyridoxine hydrochloride: 10, Folic acid: 10, Calcium panthotenate: 60, Inositol: 400, Nicotinic acid: 100, Biotin: 1, p-Aminobenzoic acid: 200, Vitamin A: 0.588, 2-Methyl-1,4-naphthoquinone: 5, Choline chloride: 2000, α-Tocopherol: 100, Ascorbic acid: 200, Vitamin B₁₂: 0.15, Vitamin D₂: 0.058

체중 증가량은 정상식이군(I)에 비해 나머지군에서 감소경향을 나타내었으며, 특히 고혈압 유발식이에 fursulthiamine을 1 g/kg을 첨가한 III군에서는 II군에 비해서 유의성있는 체중감소를 나타내었다. 이와같은 결과는 vitamin D₂를 첨가하면 흰쥐의 체중을 감소시킨다는 Bajawa 등의 보고¹²⁾와 비슷한 경향을 나타내었다. 각 장기의 무게는 간과 신장에서 정상군(I)에 비해

고혈압 유발식이만을 공급한 II군에서 유의적인 증가를 나타내었다. 이는 Chi 등¹⁷⁾이 1% 콜레스테롤을 첨가한 군에서 간의 무게가 증가하였다는 보고와 Kunitomo 등¹⁸⁾이 식이에 콜레스테롤과 비타민 D₂를 함께 투여하면 간과 신장의 무게가 증가한다는 보고와 똑같은 경향을 나타내었다. Soltis 등¹⁹⁾도 식이에 8% NaCl을 첨가하여 3주간 사육시에 정상식이군에 비하여 체중의 감소와 심장의 무게 증가를 보고하였는데 본 실험에서는 심장의 중량에는 영향이 없었다. 본 실험에서 증가된 간장과 신장의 무게에 대한 fursulthiamine 및 diallyl disulfide의 영향은 관찰할 수 없었다.

혈압에 미치는 영향 - 40일간 사육하는 동안 10일 간격으로 측정된 혈압의 변화는 Table II과 같다. 즉 정상군(I) 8마리의 평균혈압은 최초에 79.1 mmHg이었고 성장함에 따라서 약간씩 상승하여 40일 후에는 93.1 mmHg인데 반하여 고혈압 유발식이만을 공급한 II군은 80.0 mmHg에서 40일만에 109.0 mmHg로서 유의성있는 혈압의 상승을 나타내었다. 그 반면에 고혈압 유발식이에 fursulthiamine을 1 g/kg나 3 g/kg씩을 각각 첨가한 III군과 IV군은 고혈압 유발식이군(II)군에 비하여 20일 후 부터 유의성있는 혈압강하작용을 관찰하였다. 또한 diallyl disulfide 1 g/kg을 첨가한 V군에

Table I— The Effects of fursulthiamine and diallyl disulfide on body weight gains and organ weights of rats fed basal diet with cholesterol and vitamin D₂ for 40 days

Treatment	Concentration in diet (g/kg)	No. of animals	Body weight gain (g)	Weight of organs (g/100 g b.w. M.±S.E.)			
				Liver	Kidney	Heart	Spleen
Negative control (I)	-	8	233.1±7.0	2.84±0.16	0.68±0.03	0.34±0.04	0.19±0.02
Positive control (II)	-	8	219.1±12.6	3.59±0.19 [*]	0.90±0.03 ^{**}	0.32±0.01	0.19±0.01
FST (III)	1.0	7	179.5±8.5 [*]	3.54±0.25	0.90±0.46	0.31±0.01	0.20±0.03
FST (IV)	3.0	6	196.9±10.2	3.99±0.06	0.83±0.07	0.28±0.01	0.19±0.02
DD (V)	1.0	5	193.0±10.0	3.46±0.49	0.83±0.04	0.29±0.01	0.15±0.01

FST: fursulthiamine, DD: diallyl disulfide

Significantly different from the negative control group (I) (*: p>0.05, **: p>0.01)

Significantly different from the positive control group (II) (*: p>0.05).

Table II— The antihypertensive effect of fursulthiamine and diallyl disulfide in diet-induced hypertension of rats

Treatment	Concentration in diet (g/Kg)	No. of animals	Blood pressure (mmHg. M.±S.E.)				
			Initial	10	20	30	40 (days)
Negative control (I)	-	8	79.1±3.7	89.9±5.6	91.4±3.4	92.3±4.0	93.1±3.8
Positive control (II)	-	8	80.0±4.2	96.9±2.4	105.4±1.9 [*]	109.0±1.1 [*]	109.0±2.0 ^{**}
FST (III)	1.0	8	89.8±3.4	87.5±6.2	86.7±2.2 ^{**}	82.4±3.6 ^{**}	89.7±3.9 ^{**} (n=7)
FST (IV)	3.0	8	84.5±3.4	91.5±3.2	86.7±2.2 ^{**}	90.2±2.0 ^{**}	90.2±2.9 ^{**} (n=6)
DD (V)	1.0	8	84.4±3.1	94.7±4.6	89.6±1.2 ^{**}	94.9±3.0 [*]	95.6±3.4 ^{**} (n=5)

Significantly different from the negative control group (I) (*: p<0.05, **: p<0.01)

Significantly different from the positive control group (II) (*: p<0.05, **: p<0.01)

Table III—The Effects of fursulthiamine and diallyl disulfide on total cholesterol and triglyceride concentration in serum of rats fed with cholesterol and vitamin D₂ for 40 days

Treatment	Concentration in diet (g/kg)	No. of animals	Concentration (mg/serum 100 ml, M.±S.E.)	
			Total Cholesterol	Triglyceride
Negative control (I)	—	8	78.6±3.9	114.8±25.6
Positive control (II)	—	8	81.9±8.4	146.8±30.9
FST (III)	1.0	7	75.3±5.7	116.1±4.1
FST (IV)	3.0	6	72.7±3.9	73.6±6.5*
DD (V)	1.0	5	70.1±4.9	88.4±11.6

Significantly different from positive control group (II) (*: p<0.05).

서도 20, 30 및 40일에 유의성있는 혈압강화작용을 나타내었다. 이상의 결과로서 fursulthiamine이 식이성 고혈압의 예방에 유효함을 인정할 수 있었다.

혈청내 총 콜레스테롤 및 중성지방양에 미치는 영향

— 상기의 5개 실험군에서의 총 콜레스테롤 및 중성지방의 함량은 Table III과 같다. 총 콜레스테롤 함량은 고혈압 유발식을 공급한 II군이 정상식이군(I)에 비하여 다소 높은 경향을 나타내었다. 흰쥐에게 고콜레스테롤식이^{20,21)}와 고탄수화물식이²²⁾를 섭취시킨 군에서 혈장내의 콜레스테롤양이 증가한다는 보고가 있으나 본 실험에서는 유의성있는 차이는 아니었다. Fursulthiamine과 diallyl disulfide를 첨가한 III, IV 및 V군에서는 감소하는 경향이 나타났다. 이는 Lee,¹¹⁾ Kamanna 등²³⁾이 마늘분말, 마늘정유, 탈지마늘을 고콜레스테롤 식이에 첨가시켰을 때 혈장내의 콜레스테롤양이 유의적으로 감소한다는 보고와 유사하였다. 중성지방의 함량은 정상식이군(I)에 비하여 고혈압 유발식을 공급한 II군이 다소 높았으며 fursulthiamine

ne을 3 g/kg첨가한 IV군에서 유의적인 감소를 나타내었다.

흰쥐 동맥 혈관 수축에 미치는 영향

Norepinephrine에 의한 동맥혈관 수축작용 - Norepinephrine의 농도를 1×10⁻⁸M부터 3×10⁻⁴M까지 변화시켰을 때의 수축반응 곡선은 Fig. 1과 같다. 고혈압 유발식이만을 공급한 II군의 혈관의 수축력은 정상군(I)에 비하여 강력하였으나 유의성있는 차이는 아니었다. 그러나 Soltis등¹⁹⁾이 8% NaCl을 3주간 투여하였을 때, 고혈압과 함께 norepinephrine에 의하여 유의성있는 수축반응의 증가를 나타냈으며 그 수축력의 증가의 기전은 β수용체의 반응성 감소에 기인하고 α수용체 반응성 증가와는 관련성이 적다고 지적하였다. fursulthiamine을 1 g/kg 첨가한 III군은 수축력이 감소되었고, 3 g/kg을 투여한 IV군은 고혈압 유발식을 공급한 II군 보다는 수축력이 유의성 있게 감소되었다. 이러한 수축반응의 감소에 관한 원인은 본 결과로서는 알 수 없으나 Soltis등¹⁹⁾의 보고를 참고하면 β수용체의 반응성 증가와 관련이 있는지의 검토가 필요하다고 본다. 한편 diallyl disulfide를 1 g/kg첨가한 V군은 수축력이 감소되었으나 유의성 있는 차이는 아니었다.

Serotonin에 의한 동맥혈관 수축작용 - Serotonin의 농도를 1×10⁻⁷M 부터 3×10⁻⁴M까지 변화시켰을 때의 수축반응 곡선은 Fig. 2와 같다. 고혈압 유발식이만을 공급한 II군이 정상식이만을 공급한 I군보다도 유의적으로 수축력이 강력하였으며 fursulthiamine을 3 g/kg첨가한 IV는 II군보다 유의성있는 수축력 감소를 나타내었고 diallyl disulfide를 1 g/kg첨가한 V군은 수축력이 감소 되었으나 유의성은 없었다.

Potassium chloride에 의한 동맥혈관 수축작용 - Potassium chloride의 농도를 1×10⁻⁴M부터 1×10⁻¹M까지 변화시켰을 때의 동맥 혈관의 수축반응 곡선은

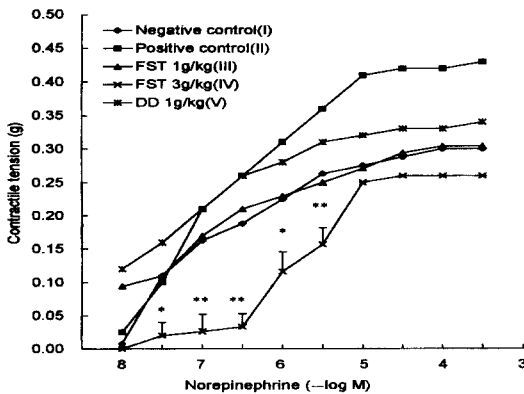


Fig. 1—The effects of fursulthiamine and diallyl disulfide on dose-response curves of norepinephrine in aortic strips of rats. Significantly different from the positive control (II) (*: p<0.05, **: p<0.01).

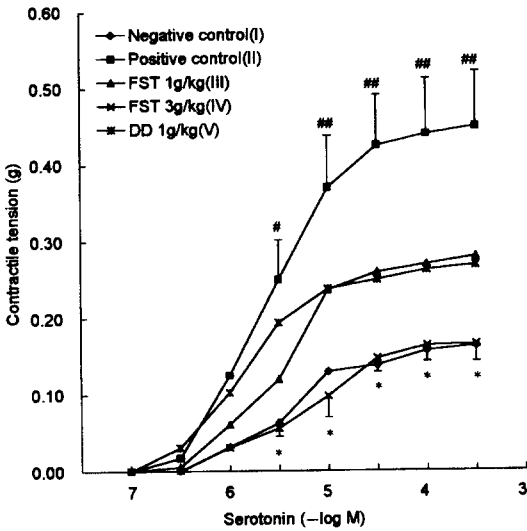


Fig. 2 — The effects of fursulthiamine and diallyl disulfide feeding on dose-response curves of serotonin in aortic strips of rats. Significantly different from the negative control(I) (#: $p < 0.05$, ##: $p < 0.01$), significantly different from the positive control(II) (*: $p < 0.01$)

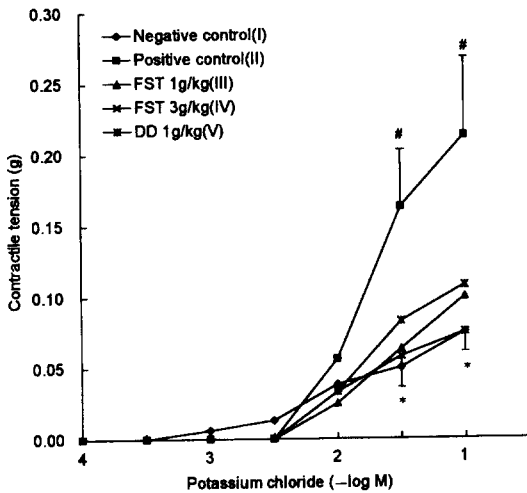


Fig. 3 — The effects of fursulthiamine and diallyl disulfide feeding on dose-response curves of potassium chloride in aortic strips of rats. Significantly different from the negative control (I) (#: $p < 0.05$), significantly different from the positive control(II) (*: $p < 0.05$).

Fig. 3과 같다. Potassium chloride에 대한 수축반응도 norepinephrine, serotonin과 같이 고혈압 유발식이 만을 공급한 II군의 수축력이 강력하였으며 fursulthiamine을 첨가한 군에서는 potassium chloride 농도가

증가할수록 3 g/kg첨가군(IV)에서 유의적인 수축력의 감소가 나타났으며, diallyl disulfide 1 g/kg을 첨가한 군(V)에서는 수축력이 감소되었으나 유의성은 없었다. 이와같은 결과는 혈관 α -수용체 및 serotonin 수용체에 각각 작용하여 혈관을 수축시키는 norepinephrine과 serotonin뿐만 아니라, 수용체와 관계없이 비특이적으로 혈관을 수축시키는 potassium chloride에서도 고혈압 유발 II군에서의 수축이 크게 증가하였으며, fursulthiamine을 3 g/kg첨가한 IV군에서 수축 증가를 억제시켰다. Cohen 등,¹⁶⁾ Hayashi 등,²⁴⁾ Murphy 등²⁵⁾은 나이가 들고 성숙하는 동안은 수축제에 의한 혈관 수축 반응이 점차 증가한다고 보고하였는데, 그 원인은 혈관벽이 두꺼워지기 때문이라고 하였으며, 혈관벽이 두꺼워지고 경직 현상의 유인이 고혈압 발생의 원인이 된다고 보고하였다. 식이성 고혈압을 유발시켰을 때 fursulthiamine을 투여하면 혈압이 강하하였으며 혈청내 triglyceride의 농도가 저하되었으며 혈관의 수축력이 감소되는 것을 확인 할 수 있었다.

결론

흰쥐에 정상식이군(I), 고혈압 유발식이군(II), 그리고 II군에 fursulthiamine 1 g/kg 첨가식이군(III), 3 g/kg첨가 식이군(IV) 및 diallyl disulfide 1 g/kg첨가 식이군(V)에서 40일 후의 혈압변화, 체중 및 장기중량 변화 그리고 동맥혈관의 수축반응을 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 40일간의 체중 증가는 고혈압 식이군에 비하여 fursulthiamine투여군에서 억제되었으며, 간장과 신장의 중량은 고혈압 식이군이 정상식이군에 비하여 증가되었고 diallyl disulfide투여군에서 감소되었다.
2. 체중이 증가함에 따라 투여 기일이 길어질수록 고혈압 유발 식이군에서 유의성있는 혈압상승을 나타내었고 fursulthiamine 및 diallyl disulfide투여군에서 유의성 있는 혈압강하를 나타내었다.
3. 고혈압 유발군은 정상군에 비하여 혈청 콜레스테롤 및 triglyceride농도가 증가하는 경향을 나타내었고 fursulthiamine 및 diallyl disulfide투여군에서 감소 경향을 보였으며 fursulthiamine 고용량군에서 triglyceride의 함량만이 유의성 있는 억제를 나타내었다.
4. 적출 흰쥐 대동맥에 있어서 norepinephrine, serotonin 및 KCl의 수축력은 고혈압 식이군에서 유의성

있게 강력하였고, 고용량의 fursulthiamine투여군에서 유의성 있는 수축반응의 감소를 나타내었다.

이상의 결과를 요약하면, 흰쥐의 식이성 고혈압에 있어서 fursulthiamine 또는 diallyl disulfide의 식이 첨가는 고혈압 유발을 억제시키었으며, 이 고혈압 쥐의 대동맥 표본은 norepinephrine, serotonin 및 KCl에 의하여 수축력이 정상군에 비하여 강력하였으며 fursulthiamine이나 diallyl disulfide의 투여로 그 수축력이 약화 되었고 또 혈청내 triglyceride농도가 감소되었는데, 이것이 고혈압 억제 기전의 일부로서 사료되는 바이다.

문 헌

- 1) Sasaki, A. : Antiinflammatory effect of thiamine and related substances. *Showa Igakkai zasshi* **32**, 533 (1972).
- 2) Masahiro, M., Toshio, I. and Kyo, K. : Effects of orally administered thiamine tetrahydrofurfuryl disulfide on fetal development of rabbits and monkeys. *Jpn. J. Pharmacol.* **22**, 115 (1972).
- 3) Fukawa, K., Ito, Y., Misaki, N. and Nomura, F. : Thrombophlebitis following intravenous injection. *Folia Pharmacol. Japon* **71**, 307 (1975).
- 4) Nagata, M., Sugimoto, J. and Fugono, R. : The effect of thiamine tetrahydrofurfuryl disulfide against potassium loss in isolated guinea pig atria. *Jpn. Circ. J.* **36**, 935 (1972).
- 5) Shinozaki, H. and Sugimoto, J. : Effects of low temperature and electrical (square wave) stimulation on spontaneous contractions in isolated guinea pig atria and influence of thiamine tetrahydrofurfuryl disulfide on these effects. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **22**, 35 (1976).
- 6) Ogawa, K., Hirano, H. and Shinozaki, H. : Ultracytochemical studies on the effects of thiamine and thiamine tetrahydrofurfuryl disulfide on acetylcholinesterase activity in guinea pig atria. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **22**, 71 (1976).
- 7) Nishikubo, Y., Murakami, M., Nagata, M., Sugimoto, J., Suzuki, A. and Kazimoto, N. : Effects of thiamine tetrahydrofurfuryl disulfide(TTFD) on the refractory period and maximum driving frequency of isolated rat heart muscle. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **24**, 133 (1978).
- 8) Ikeda, H., Fukuda, N., Shino, A., Iwatsuka, H. and Nagawa, Y. : Potentiating effect of vitamin B₆ and B₁₂ on the ameliorative action of vitamin B₁ on diabetic disorders of the sciatic-nerve in the rat. *Vitamin.* **53**, 523 (1979).
- 9) Kazuki, M., Hajime, N., Hiroshi, W., Hirokuni, T., Mikio, N., Yoshito, N., Hiroto, M. and Shoi-chi, I. : Inhibition by thiamine tetrahydrofurfuryl disulfide (TTFD) of the arachidonic acid line activation as evidenced in the heart lung preparation of the dog. *Jpn. J. Pharmacol.* **39**, 375 (1985).
- 10) Berndt, H. and Kutschke, I. : The influence of thiamine tetrahydrofurfuryl disulfide (TTFD) on alcohol catabolism. *Klin-Wochenschr.* **45**, 685 (1967).
- 11) Lee, E. B. and Seo, K. H. : The antihypertensive principle of *Allium sativum* Tuber. *Proc. Int. Sym. on New Drug Development from Natural products*, May 2-3, 1989, Seoul, Korea
- 12) Bajawa, G. S., Morrison, L. M. and Ershoff, B. H. : Induction of aortic and coronary atherosclerosis in rats fed a hypervitaminosis D, cholesterol containing diet. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **138**, 975 (1971).
- 13) Total-cholesterol-test. Wako, Manual (1994).
- 14) Triglyceride-test. Wako, Manual (1994).
- 15) Pfefer, J. P., Pfefer, M. A. and Frohlich, E. D. : Validity of an indirect tail cuff method for determining systolic arterial pressure in unanesthetized normotensive and spontaneously hypertensive rats. *J. Lab. Clin. Med.* **78**, 957 (1971).
- 16) Cohen, M. L. and Berkowitz, B. A. : Age related changes in vascular responsiveness to cyclic nucleotides and contractile agonists. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **191**, 147 (1974).
- 17) Chi, M. S., Koh, E. T. and Stewart, T. J. : Effects of garlic on lipid metabolism in rats fed cholesterol or lard. *J. Nutr.* **112**, 24 (1982).
- 18) Kunitomo, M., Kinoshita, K. and Bando, Y. : Experimental atherosclerosis in rats fed a vitamin D₂ cholesterol rich diet. *J. Pharmacol. Dyn.* **4**, 718 (1981).
- 19) Soltis, E. E. and Katovich, M. J. : Reduction in

- aortic smooth muscle β -adrenergic responsiveness results in enhanced norepinephrine responsiveness in the Dahl salt-sensitive rat. *Clin. Exper. Hypertens.* **A13**(1), 117 (1991).
- 20) Sodimu, O., Joseph, P. K. and Augusti, K. T. : Certain biochemical effect of garlic oil on rats maintained on high fat-high cholesterol diet. *Experientia* **40**, 275 (1984).
- 21) Shoetam, A., Augusti, K. T. and Joseph, P. K. : Hypolipidemic effects of garlic oil in rats fed ethanol and a high lipid diet. *Experientia* **40**, 261 (1984).
- 22) Adamu, T., Joseph, P. K. and Augusti, K. J. : Hypolipidemic action of onion and garlic unsaturated oils in sucrose fed rats over a two-month period. *Experientia* **38**, 899 (1982).
- 23) Kamanna, V. S. and Chandrasekhara, N. : Hypocholesteremic activity of different fraction of garlic. *Indian J. Med. Res.* **79**, 580 (1984).
- 24) Hayashi, S. and Toba, N. : Age related changes in the response of rabbit isolated aorta to vasoactive agents. *Br. J. Pharmacol.* **64**, 229 (1978).
- 25) Murphy, R. A, Jeremiah, T. H. and Megerman, J. : Force generating capacity and contractile protein content of arterial smooth muscle. *J. Gen. Physiol.* **64**, 691 (1974).