약학회지 제 45 권 제 1 호 93~100(2001)
Yakhak Hoeji Vol. 45, No. 1

SHR에 있어 Enalapril의 ACE 억제효과에 대한 Ginkgo biloba Extract(EGb 761)의 영향

이영미 · 염윤기* · 신완균** · 손의동*** · 안형수#
동덕여자대학교 약학대학, *순천향대학교 의과대학, **한영제약 중앙연구소,
***중앙대학교 약학대학
(Received January 3, 2001; Revised February 5, 2001)

Effects of Ginkgo biloba Extract (EGb 761) on the Enalapril-induced ACE Inhibition in SHRs

Young Mi Lee, Yoon Ki Yom*, Wan Kyun Shin**,
Uy Dong Sohn*** and Hyung Soo Ann#
#College of Pharmacy, Dongduk Women's University, Seoul 136-714, Korea
**College of Medicine, SoonChunHyang University, ChunAn 330-090, Korea*
***Research Center, Hanyoung Pharmaceutical Co. Seoul 151-080, korea*
****College of Pharmacy, Chung Ang University, Seoul 156-756, Korea*

Abstract — Drug inetraction between of enalapril-induced angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory effect and *Ginkgo biloba* Ext.-induced antioxidant action was evaluated in spontaneously hypertensive rats. Combination treatment of enalapril (20 mg/kg/day, p.o.) and *Ginkgo biloba* Ext. (60 mg/kg/day, p.o.) for 6 weeks in drinking water to SHRs resulted the inhibition of ACE activity in lung tissue, angiotensin I-induced pressure response and plasma angiotensin II concentration as similar to enalapril alone treatment. But these effects were sustained after 1 week withdrawal of enalapril and *Ginkgo biloba* Ext. co-administeration. Also, coadministered group did not increase the concentration of bradykinin in lung tissue, which were different from enalapril alone treated group. Co-administration of enalapril and *Ginkgo biloba* Ext. inhibited the hemolysis induced by UV B type, even *Ginkgo biloba* Ext. alone treated group did not. These results suggested that *Ginkgo biloba* Ext. sustained ACE inhibitory effect and reduced the inhibitory effect of bradykinin inactivation induced by enalapril, meanwhile, enalapril increased the antioxidant effect of *Ginkgo biloba* Ext.

Keywords □ *Ginkgo biloba* extract (EGb 761), enalapril, angiotensin converting enzyme(ACE), SHR

Enalapril의 작용기전은 angiotensin converting enzyme(ACE) 억제작용에 의해 angiotensin II(AII)의 생성억제 및 bradykinin의 증가를 초래하므로서 심박수에는 영향이 없이 혈관확장과 체액감소를 가져와 혈압강하를 초래한다.[1] 반면에 enalapril의 장기간 연용시 폐에 bradykinin의 축적에 의해 부작용으로 마른기침, 혈관부종, 발열 등을 초래한다.[2,3,4] ACE억제제의 혈압강하 효과는 혈액중의 ACE 억제작용 보다 말초혈관조직 내에서의 ACE 억제작용에 더 밀접한 상관성이 있다.[5] 그러나, ACE 억제제를 3주이상 연속적으로 SHR에게 처치시 혈압강하는 유도되지만, 흰쥐의 혈청 및 폐조직에서 ACE 활성이 오히려 증가된다는 효소유도의 결과가 보고되었다.[6,7] 이러한 ACE 활성의 증가에도 불구하고 외인성 angiotensin I에 의한 승압반응은 여전히 억제된다고 하였다.[8] 따라서 활성을 나타내는 폐혈관 내피세포에 존재하는 ACE 분자수가 감소되며, 이 때문에 강압효과가 초래된다고 제

본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 02-940-4524 (팩스) 02-940-4195

시되었다.[9]

한편, *Ginkgo biloba* extract의 주성분은 24%의 flavonoids(ginkgo-flavone glycosides)와 6%의 terpenoids(ginkgolides, bilobalide)이다.[10] 즉, ginkgo-flavone glycosides는 주로 free radical scavenger로서 작용하며, ginkgolide B는 platelet activating factor(PAF) 길항작용을 지녀 PAF-acether에 의한 기관지 수축을 억제하는 것으로 보고되었으며, 또한 백혈구 감소증을 감소시키는 것으로 보고되었다.[11,12] 또한, *Ginkgo biloba* Ext.를 임상적으로 1일 240 mg씩 12주간 연용시 혈액의 점도를 저하시켜 고혈압에 유익한 효과를 나타내었다고 보고되었다.[13] 따라서, *Ginkgo biloba* Ext.는 이러한 여러 가지 주성분들의 복합적인 작용에 의해 임상적으로 말초동맥 순환장애 및 어지러움, 이명, 두통, 기억력감퇴, 집중력장애, 우울감 등의 치매성 증상을 수반하는 기질성 뇌기능장애의 치료에 응용되고 있다. 그런데 이러한 증상들은 고혈압 환자에게서도 수반되는 일반증상이므로 *Ginkgo biloba* Ext.를 투여시 고혈압의 일반적 증상을 완화시키고, enalapril의 마른 기침 독성을 경감시킬 것으로 기대되어 혈압강하제인 enalapril과 *Ginkgo biloba* Ext.의 복합제제를 고혈압 치료약으로 개발하고자 한다. 또한 저자들은 SHR에게 enalapril과 *Ginkgo biloba* Ext.를 병용하여 연용시 혈압강하효과가 enalapril 단독투여시에 비해 약간 증가되는 경향을 초래하고, 또한 초회투여시의 갑작스러운 강압효과가 억제되며, 투여중지시 혈압강하 효과가 보다 지속되는 결과를 얻었다.

이에 본 연구에서는 그 작용기전을 규명하고자, SHR에게 enalapril과 *Ginkgo biloba* Ext.를 단독 또는 병용하여 연용시 ACE activity 및 항산화작용의 상호작용을 비교 검토하였다.

실험방법

실험동물 - 숫컷의 생후 6주된 SHR(young SHR, 100±20 g) 또는 생후 4개월된 SHR(adult SHR, 250±50 g)을 실험에 사용하였다. 이들은 실험 중 사료 및 식수를 자유롭게 섭취토록하였다.

약물투여군 - SHR을 정상군, enalapril 투여군, *Ginkgo biloba* Ext. 투여군, enalapril+*Ginkgo biloba* Ext. 병용투여군의 각각 4군으로 나누어 약물을 6주간 연속투여 하였다. 약물은 각각 식수중에 용해하여 섭취토록 하였다. Enalapril 투여군의 경우 200 mg/*l*의 농도로 식수중에 용해하여 투여하였으며, 이 경우 투여량은 약 20 mg/kg/day, p.o.이었다. *Ginkgo biloba* Ext. 투여군의 경우 600 mg/*l*의 농도로 식수중에 용해하여 투여하였으며, 이 경우 투여량은 약 60 mg/kg/day, p.o.이었다. Enalapril과 *Ginkgo biloba* Ext.. 병용투여군의 경우는 이들 각각의 농도를 동일한 식수에 용해하여 병용투여하므로서 enalapril 20 mg/kg/day, p.o.+*Ginkgo biloba* Ext. 60 mg/kg/day, p.o.의 용량으로 투여하였다.

ACE 활성 억제작용에 대한 영향

폐조직 중 ACE 활성 변화 - 6주간 약물을 연속투여 후 및 1주일 휴약 후 폐조직 중 ACE 활성을 측정하였다. 즉, ether 마취하 폐를 적출하여 homogenizer에서 4°C로 유지된 pH 7.4 phosphate 완충액을 1 : 10의 비율로 가한 다음, 1분간씩 3회 균질화하였다. 원심분리 후 상등액 50 μ*l*를 취해 cushman & cheung 방법[14]에 따라 ACE 활성을 측정하였다. 즉, Ice bath 내에 두개씩의 시험관을 준비하여, 첫번째 시험관에는 L-hippuryl-hystidyl-leucine 57.7 mg을 pH 8.3 phosphatesaline 완충액 10 m*l*에 용해하여 조제한 기질 150 μ*l*씩을 가하고, 시료를 100 μ*l*씩 가하였다. 두번째 시험관에는 기질에 시료를 가하기 전에 1 N HCl 250 μ*l*를 가하여 반응을 정지시켰다. 모두 37°C에서 1시간동안 배양시킨 후, 꺼내어 첫번째 시험관에도 1 N HCl 250 μ*l*를 가하여 반응을 정지시켰다. Ice bath에서 5분간 방치하여 냉각시킨 후, ethyl acetate 1.5 m*l*를 가하고 진탕 혼합 하였다. 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후, 상등액 1 m*l*를 취해 100°C 수욕상에서 건조시키고 냉각하였다. 1 M NaCl 1 m*l*를 가하고 30분 방치한 후 진탕 혼합하고, 228 nm에서 흡광도를 측정하였다. Hippuric acid를 표준품으로하여 각 시료의 ACE activity를 산출하였다. Lowry 방법[15]으로 protein 양을 측정하여 base로 사용하였다.

Angiotensin I 및 angiotensin II 정맥주사시 승압반응 - 6주간 약물투여 후 및 1주간 휴약 후 angiotensin I 및 angiotensin II의 승압반응을 측정하였다. 즉, SHR을 urethane(900 mg/kg, i.p.) 및 ketamine(5 mg/kg, s.c)으로 마취시킨 후 기도에 Y connecter를 삽입하고, ventilator에 연결하여 인공호흡 시켰다. 총경동맥에 heparin(40 U/m*l*)-생리식염수용액을

채운 polyethylene(PE 50) cannula를 삽입 결찰한 후, strain gage transducer와 연결하여 physiograph 상에 혈압반응을 나타내었다. 약 30 분간 안정시킨 후 angiotensin I은 0.03, 0.3, 1 μg/kg의 용량으로, angiotensin II는 10, 30, 300 ng/kg을 각각 1회씩 대퇴정맥에 정맥주사한 후, 평균혈압의 최대 변화를 측정하였다.

혈장 중 angiotensin II 농도 측정 – 6주간 약물투여 후 또한 1주일 휴약한 후 혈장 중 angiotensin II 농도를 측정하였다. Ether 마취하 복부대정맥에서 채혈하여 heparin을 첨가한 시험관에 넣고, 3,000 rpm으로 15분간 원심분리하여 혈장을 분리하였다. Angiotensin II 측정용 radioimmuno assay kit 시약(Peninsula Lab, USA)을 사용하여 혈장 중 농도를 측정하였다.

폐조직 중 bradykinin 농도 측정 – 약물을 6주간 연속투여 한 후 ether 마취하 폐를 적출하여 여지로 압착한 후, homogenizer에서 4°C로 유지된 pH 7.4 phosphate 완충액을 1 : 10의 비율로 가한 다음 균질화하였다. 원심분리 후 상등액 50 μl을 취해 bradykinin 측정용 radioimmuno assay kit 시약(Peninsula Lab. RIK-7051, USA)을 사용하여 측정하였다. Lowry 법[15]으로 protein양을 측정하여 base로 환산하였다.

항산화작용에 대한 영향

약물을 6주간 연속투여 직후 및 1주일 휴약한 후 자외선에 의한 적혈구 용혈에 대한 억제효과를 측정하였다. 즉, ether 마취하 복부대정맥에서 채혈하여 heparin을 처리한 시험관에 넣고 1,000 rpm으로 5분간 원심분리하여 적혈구를 얻었다. 이를 생리식염수로 2회 세척하고, 적혈구를 pH 7.4 phosphate 완충액에 hematocrit치가 5%가 되도록 균질화시켰다. Petri dish에 10 ml씩 균일하게 분주하고, UV B파를 580 J/m^2/min의 에너지량으로 1시간 동안 조사하였다. 자외선 조사후, CO_2 incubator 내에서 37°C로 4시간 동안 배양시켰다. 각 시료를 원심분리한 후, 상등액을 취해 540 nm에서 흡광도를 측정하여 자외선에 의해 용혈된 정도를 비교, 측정하였다.

또한 *in vitro* 실험으로 정상 SHR의 적혈구를 위와 같은 방법으로 hematocrit치가 5%가 되도록 조제하여 petri dish 상에 균질하게 10 ml씩 분주한 후, 정상군과 대조군을 제외한 나머지 petri dish에 enalapril 10^{-5}M, *Ginkgo biloba* Ext. 10^{-5} g/ml, enalapril 10^{-5} M+*Ginkgo biloba* Ext. 10^{-5} g/ml을 0.5 ml씩 각각 가하였으며, 대조약물로는 ascorbic acid를 0.5 ml 가하여 그 농도가 10^{-5} M이 되게 하였다. 정상군과 대조군에는 pH 7.4 phosphate 완충액을 각각 0.5 ml씩 가하였다. 정상군을 제외한 나머지를 위와 동일하게 배양하여 흡광도를 측정하였다. 정상군과 대조군의 흡광도 차이를 100%로 하여 각 약물의 농도별 자외선에 의한 용혈 억제율(%)로 산출하였다.

통계처리 – 실험 결과는 mean±S.E.M.로 나타내었으며, 통계적 유의성은 unpaired student's *t*-test로 검정하였다.

실험결과 및 고찰

ACE 활성 억제작용에 대한 영향

폐조직 중 ACE 활성 변화 – 고혈압이 아직 유발되지 않은 생후 6주령된 SHR과 고혈압이 이미 유발된 생후 4개월된 SHR에게 enalapril과 *Ginkgo biloba* Ext.를 각각 단독 또는 병용하여 6주간 경구투여한 후, 폐조직 중의 ACE 활성을 측정한 바 Fig. 1과 같다. Enalapril 단독투여군의 경우 정상군에 비해 young

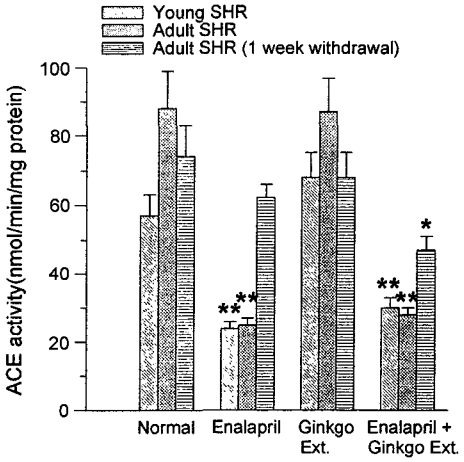

Fig. 1 – Effects of enalapril (20 mg/kg/day, p.o.), *Ginkgo biloba* Ext. (60 mg/kg/day, p.o.) alone or in combination on the angiotensin converting enzyme (ACE) activity of lung tissue in young and adult SHR after 6 weeks drug treatment and 1 week withdrawal after 6 weeks drug treatment. Each bar represents mean ± SEM (n=6-8).
*p<0.05; Significantly different from the normal SHR group, **p<0.01; Significantly different from the normal SHR group.

SHR 및 adult SHR 모두 ACE activity가 유의성있게 억제되었으나, 약물투여를 1주간 중지시에는 정상군에 비해 유의성있는 차이가 없이 다시 회복되었다. *Ginkgo biloba* Ext.를 단독 투여한 군에 있어서는 모두 정상군에 비해 차이가 없었다. 반면에, enalapril과 *Ginkgo biloba* Ext.를 병용투여한 군에 있어서는 enalapril 단독투여군과 유사하게 6주간 약물투여시 young SHR과 adult SHR 모두 ACE 활성의 억제효과를 나타내었으며, 나아가 약물투여를 1주간 휴약한 후에도 폐조직 중에 ACE 활성의 억제효과가 지속되었다.

SHR에게 enalapril을 연용시 혈액 중 ACE 농도는 2배정도 증가되나, 혈압은 여전히 억제된다고 하였으며, 따라서 혈액 중 ACE 농도 변화보다는 혈관내피세포 및 평활근에 존재하는 ACE 농도가 보다 중요한 역할을 한다고 하였다.[5] 한편, *Ginkgo biloba* Ext.중 함유된 flavonoids가 cyclic nucleotide phosphodiesterase, Na^+/K^+ ATPase 및 다른 효소를 억제한다고 하였으며,[16] 내피세포에서 EDRF 및 PGI_2의 작용을 회복시킨다고 하였다.[17] 또한, 내피세포에서 PAF에 의한 세포내 Ca^{++} 농도의 증가를 억제하고, 혈관 평활근 세포에서 glucose의 흡수를 증가시켜 세포손상을 억제한다고 하였다.[18]

따라서 enalapril 단독투여시 보다 *Ginkgo biloba* Ext.와 병용투여시 1주간 휴약시까지 ACE 억제효과가 지속된 것은 *Ginkgo biloba* Ext.의 혈관내피세포 보호작용에 의해 폐동맥 내피세포에 주로 존재하는 활성형 ACE 효소가 보다 지속적으로 억제되었음을 제시해 준다.

Angiotensin I 및 angiotensin II 정맥주사시 승압반응 - SHR에게 enalapril과 *Ginkgo biloba* Ext.를 각각 단독 또는 병용으로 식수중에 용해하여 6주간 경구투여한 후, 마취하 angiotensin I을 대퇴정맥으로 정맥주사시 초래된 승압반응의 변화는 Fig. 2와 같다. Enalapril 단독투여군의 경우 angiotensin I의 승압반응이 정상군에 비해 유의성 있게 억제되었다. 그러나 1주간 휴약시에는 정상군과 유사하게 회복되었다. 이러한 결과는 앞의 실험에서 enalapril 투여시 폐조직 중 ACE 활성이 억제되었던 결과와 일치된다. 정상군과 유사하여 *Ginkgo biloba* Ext. 투여군은 angiotensin I의 승압반응에 영향을 미치지 않았다. 그러나 enalapril과 *Ginkgo biloba* Ext. 병용투여군에서는

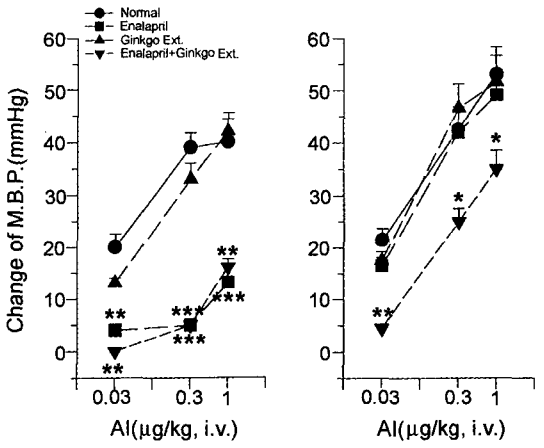

Fig. 2 – Effects of enalapril (20 mg/kg/day, p.o.), *Ginkgo biloba* Ext. (60 mg/kg/day, p.o.) alone or in combination on the maximum increase of mean blood pressure induced by angiotensin I (AI) in SHR after 6 weeks drug treatment (left) and 1 week withdrawal after 6 weeks drug treatment (right). Each points represents mean ± SEM (n=6-8).
*p<0.05; Significantly different from the normal SHR group, **p<0.01; Significantly different from the normal SHR group, ***p<0.001; Significantly different from the normal SHR group.

enalapril 단독투여군과 유사하게 억제효과를 나타내었다. 한편, enalapril과 *Ginkgo biloba* Ext. 병용투여군의 경우 enalapril 단독투여시와는 달리 1주간 휴약시 여전히 angiotensin I의 승압반응이 유의성있게 억제되었다. 이것은 앞의 폐조직 중 ACE활성 변화에 있어서도 enalapril과 *Ginkgo biloba* Ext. 병용투여군의 경우 enalapril 단독투여시와는 달리 1주간 휴약 후에도 ACE활성 억제효과가 유의성있게 지속되었던 결과와 일치된다. 즉, angiotensin I의 승압반응이 억제되었다는 결과는 폐동맥 내피세포 중에 존재하는 활성형 ACE가 여전히 억제되었음을 제시해 준다. 한편, SHR에게 약물을 6주간 투여한 후, angiotensin II를 대퇴정맥으로 정맥주사시 초래되는 승압반응의 변화는 Fig. 3과 같다. 즉, enalapril과 *Ginkgo biloba* Ext. 각각 단독 또는 병용투여군의 경우 angiotensin II에 대한 승압반응이 정상군에 비해 유의성있는 차이가 없었다. 또한 1주간 약물을 휴약한 경우에 있어서도 정상군에 비해 차이가 없었다. 이러한 결과는 enalapril 단독 또는 *Ginkgo biloba* Ext.와 병용투여군이 angiotensin I에 의한 승압반응에 대해서만 선택적으로 억제효과를

나타내며, angiotensin II에 의한 승압반응에는 영향이 없으므로 ACE에 대한 억제효과를 지니고 있음을 제시해 준다.

혈장 중 angiotensin II 농도 – SHR에게 약물을 6주간 경구투여한 직후 및 1주간 휴약시 혈장중 angiotensin II의 농도를 측정한 바 Fig. 4와 같다. 즉, enalapril 단독투여군의 경우 정상군에 비해 young SHR 및 adult SHR 모두 혈장 중 angiotensin II 농도가 유의성있게 억제되었으나, 약물투여를 1주간 중지시에는 정상군과 유사하게 회복되었다. *Ginkgo biloba* Ext. 단독투여군에 있어서는 모두 정상군에 비해 차이가 없었다. 반면에 enalapril과 *Ginkgo biloba* Ext.를 6주간 병용하여 투여한 군에 있어서는 enalapril 단독투여군과 유사하게 모두 억제효과를 나타내었다. 그리고 약물투여를 1주간 휴약한 경우에 있어서까지 혈장중에 angiotensin II 농도가 유의성 있게 지속적으로 억제되었다. 이러한 결과는 앞의 ACE 활성변화 및 angiotensin I에 의한 승압반응 억제효과와 일치되는 상관성을 나타내고 있다.

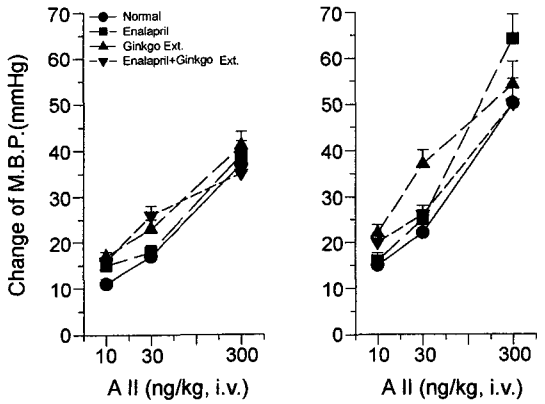

Fig. 3 – Effects of enalapril (20 mg/kg/day, p.o.), *Ginkgo biloba* Ext. (60 mg/kg/day, p.o.) alone or in combination on the increase of blood pressure induced by angiotensin II (AII) in SHR after 6 weeks drug treatment (left) and 1 week withdrawal after 6 weeks drug treatment (right). Each points represents mean ± SEM (n=6-8).

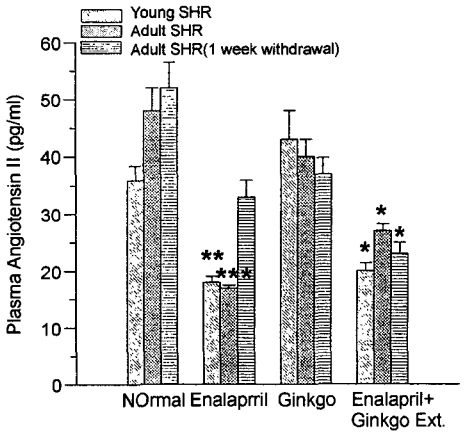

Fig. 4 – Effects of enalapril (20 mg/kg/day, p.o.), *Ginkgo biloba* Ext. (60 mg/kg/day, p.o.) alone or in combination on the pasma angiotensin II concentration in young and adult SHR after 6 weeks drug treatment and 1 week withdrawal after 6 weeks drug treatment. Each bar represents mean ± SEM (n=6-8).
*p<0.05; Significantly different from the normal SHR group, **p<0.01; Significantly different from the normal SHR group, ***p<0.001; Significantly different from the normal SHR group.

폐조직 중 bradykinin 농도 – 생후 4개월된 SHR에게 enalapril과 *Ginkgo biloba* Ext.를 각각 단독 또는 병용하여 6주간 경구투여한 후, 폐조직 중 bradykinin 농도를 측정한 바 Fig. 5와 같다. 즉, enalapril 단독투여군의 경우 정상군에 비해 폐조직 중 bradykinin 농도가 유의성있게 증가였으나, *Ginkgo biloba* Ext.를 단독투여한 군에 있어서는 정상군에 비해 차이가 없었다. 또한, enalapril과 *Ginkgo biloba* Ext.를 병용투여한 군에 있어서는 *Ginkgo biloba* Ext. 단독투여군과 마찬가지로 정상군에 비해 유의성 있는

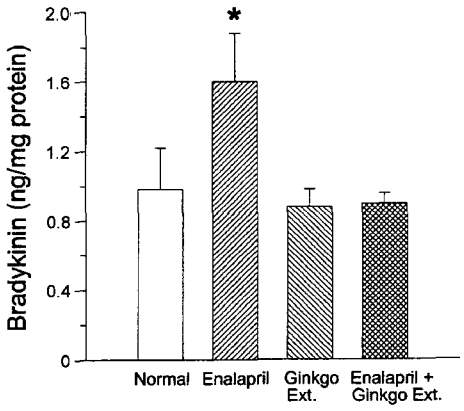

FIg. 5 – Effects of enalapril (20 mg/kg/day, p.o.), *Ginkgo biloba* Ext. (60 mg/kg/day, p.o.) alone or in combination on the bradykinin concentration in lung tissue of adult SHR after 6 weeks drug treatment. Each bar represents mean ± SEM (n=6-8).
*p<0.05; Significantly different from the normal SHR group.

차이가 없었다. 한편, ACE 억제제의 연용시 폐조직내 bradykinin의 증가에 의해 마른 기침의 독성을 초래하는 것으로 보고되었으며,[2] 이러한 독성은 비스테로이드성 항염제에 의해서는 억제되지 않는 반면에 오히려 혈압강하효과는 억제된다. 또한 최근에는 ACE 분자구조중 bradykinin과 결합하는 N-domain 부위에는 영향이 없으면서 angiotensin I과 결합하는 C-domain 부위에 대해 선택적으로 억제하는 imidapril과 같은 약물이 마른기침의 독성이 보다 적은 것으로 보고되었다.[19] 따라서 본 실험결과는 *Ginkgo biloba* Ext.가 enalapril에 의한 ACE 활성 억제효과 가운데 angiotensin I을 angiotensin II로 전환시키는 작용의 억제효과에 대해서는 영향이 없지만, bradykinin의 불활성화를 억제하는 작용에 대해서는 감소를 초래하였음을 제시해 주며, 이러한 결과는 *Ginkgo biloba* Ext.와 병용투여시 enalapril에 의해 초래되는 마른기침의 독성을 감소시킬 수 있을 것으로 제시된다.

항산화작용에 대한 영향

6주간 약물투여한 SHR 군 – SHR에게 enalapril과 *Ginkgo biloba* Ext.를 각각 단독 또는 병용하여 6주간 경구투여한 후, 채혈하여 적혈구에 자외선을 조사시 초래된 용혈반응은 Fig. 6과 같다. 즉, 정상 SHR 적혈구의 경우 흡광도치가 0.35±0.03에 비해, 자외선 B파의 조사시 0.56±0.06로 유의성 있게 증가되었다. 이것은 자외선에 의해 생성된 free radical이 세포막을 파괴하여 용혈을 초래하였음을 제시해 준다. 이때 enalapril과 *Ginkgo biloba* Ext.를 각각 단독으로 6주간 투여한 군에 있어서는 대조군에 비해 억제효과가 없었으나, enalapril과 *Ginkgo biloba* Ext.를 병용투여한 군에 있어서는 대조군에 비해 유의성 있는 억제효과를 나타내었으며, 억제율은 85%이었다. 이러한 효과는 약물투여를 1주간 휴약한 군에 있어서도 유사하게 나타났다. 이것은 *Ginkgo biloba* Ext.중 flavonoids 성분의 free radical scavenger 작용이 enalapril과 병용투여시 보다 증대되어 세포막 보호작용을 초래한 것으로 고려된다. 이러한 항산화작용에 의한 혈관 내피세포의 보호 때문에, *Ginkgo biloba* Ext.는 삼투압 변화에 의한 흰쥐 적혈구의 막손상을 보다 억제한다고 하였다.[20] 따라서 enalapril과 *Ginkgo biloba* Ext.의 병용처치시 enalapril 단독투여군에 비해 혈관 내피세포 의존성 이완반응의 증가를 초래할 것으로 제시된다.

정상 SHR 군 – 정상 SHR의 혈액을 채혈하여 적혈구에 시험관내에서 자외선을 조사시 초래된 용혈반응은 Fig. 7과 같다. 즉, 자외선을 조사한 대조군의 경우 정상군에 비해 흡광도치가 유의성있게 증가되어 용혈이 초래되었음을 제시해 주었다. 이때 용액중에

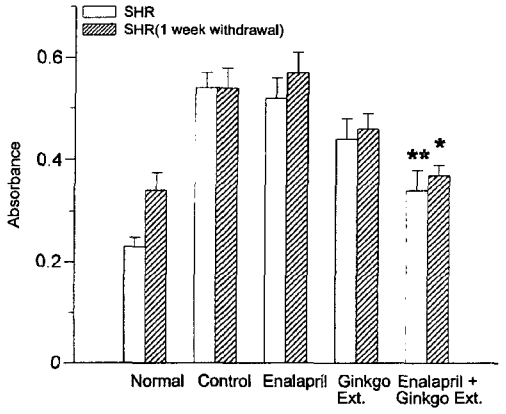

Fig. 6 – Effects of enalapril (20 mg/kg/day, p.o.), *Ginkgo biloba* Ext. (60 mg/kg/day, p.o.) alone or in combination on the hemolysis induced by UV B type in erythrocyte of SHR after 6 weeks drug treatment and 1 week withdrawal after 6 weeks drug treatment. Each bar represents mean ± SEM (n=6-8).
*p<0.05; Significantly different from the control group, **p<0.01; Significantly different from the control group.

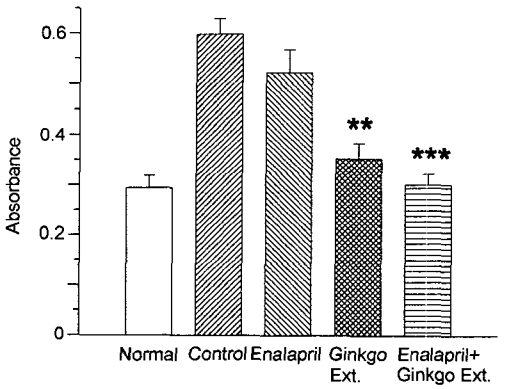

Fig. 7 – Effects of enalapril (10^{-5} M), *Ginkgo biloba* Ext. (10^{-5} *g/ml*) alone or in combination on the hemolysis induced by UV B type in erythrocyte of SHR. Each bar represents mean ± SEM (n=6-8).
**p<0.01; Significantly different from the control group, ***p<0.001; Significantly different from the control group.

enalapril을 직접적으로 10^{-5} M 전처치한 경우 유의성 있는 억제효과를 나타내지 못하였지만, *Ginkgo biloba* Ext. 10^{-5} g/ml를 전처치한 경우에는 억제율이 81%로 유의성 있는 억제효과를 나타내었다. 또한 이들 두 약물을 병용처치한 경우에는 억제율이 보다 증대되어 98%이었다. 이러한 결과는 대표적인 항산화약물인 vitamine C 10^{-5} M 전처치시와 유사한 용혈 억제효과를 나타내었다.

결 론

ACE 억제작용을 지녀 혈압강하제로 사용되고 있는 enalapril과 항산화작용을 지닌 *Ginkgo biloba* Ext.를 SHR에게 병용투여시 상호작용을 검토하였다.

SHR에게 enalapril 20 mg/kg/day과 *Ginkgo biloba* Ext. 60 mg/kg/day을 각각 단독 또는 병용하여 6주간 경구투여시 폐조직 중 ACE이 enalapril 단독처치시와 유사하게 억제효과를 나타내어 Angiotensin I에 의한 승압반응을 억제하고, 혈장 중 Angiotensin II 농도의 감소를 초래하였다. 반면에, 이러한 효과가 enalapril 단독투여시에는 1주일간 휴약시 대조군과 유사하게 회복되었으나, enalapril과 *Ginkgo biloba* Ext. 약물의 병용처치군에서는 1주간 휴약시에도 지속적으로 활성형 ACE 억제효과를 나타내었다. 또한, enalapril 단독투여시에는 ACE 억제작용에 의해 폐조직 중 bradykinin 농도가 증가되었으나, enalapril과 *Ginkgo biloba* Ext. 병용투여시에는 증가되지 않았다. 한편, enalapril과 *Ginkgo biloba* Ext.를 각각 단독으로 6주간 투여시 자외선에 의한 적혈구 용혈에 대한 억제효과가 없었으나, 연용하여 병용처치시 유의성 있게 억제하므로서 항산화작용의 증가를 나타내었다.

이상의 결과는 *Ginkgo biloba* Ext.는 enalapril에 의한 ACE 활성억제효과를 보다 지속적으로 초래하므로서 angiotensin II의 생성을 보다 지속적으로 억제하지만, bradykinin 불활성화 억제효과는 감소되는 것으로 제시된다. 또한, enalapril은 *Ginkgo biloba* Ext.에 의한 항산화작용을 보다 증가시키는 것으로 제시된다.

문 헌

1) Materson, B. J. and Preston, R. A. : Angiotensin-converting enzyme inhibitors in hypertension. A dozen years experience. *Arch. Intern. Med.* **154**, 513 (1994).
2) Materson, B. J. : Adverse effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors in antihypertensive therapy with focus on quinapril. *Am. J. Cardiol.* **69**, 46C (1992).
3) Israili, Z. H. and Hall, W. D. : Cough and angioneurotic edema associated with angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy. A review of the literature and pathophysiology. *Ann. Intern. Med.* **117**, 234 (1992).
4) Kim, Y. S., Cho, H. J., Song, Y. M. and Ahn, Y. O. : Postmarketing surveillance for cough associated with angiotensin converting enzyme inhibitors. *Kor. J. Clin. Pharmacol. Ther.* **1**, 67 (1993).
5) Rotmensch, H. H., Vlasses, P. H. and Swanson, B. N. : Hemodynamic effects of enalapril maleate in hypertensive patients. *Clin Ros.* **31**, 334A (1983).
6) Unger, T., Schull, B., Rascher, W., Lang, E. and Ganten, D. : Selective activation of the converting enzyme inhibitor MK 421 and comparison of its active diacid form with captopril in different tissues of the rat. *Biochem. Pharmacol.* **31**, 3063 (1982).
7) Unger, T., Ganten, D., Lang, R. E. and Scholkens, B. A. : Persistent tissue converting enzyme inhibition following chronic treatment with Hoe 498 and MK 421 in spontaneously hypertensive rats. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **7**, 36 (1985).
8) Kokubi, T., Ueda, E., Ono, Kawabe, T., Hayshi, Y. and Kan, T. : Effects of captopril (SQ 14,225) on the renin-angiotensin-aldosterone system in normal rats. Eur. J. Pharmacol. 62, 269 (1980).
9) Ann, H. S. : Effects of captopril on the active angiotensin converting enzyme at the pulmonary endothelial cells. *Yakhak Hoeji.* **37**, 41 (1993).
10) Vanhaelen, M. and Vanhaelen-Fastre, R. : Flavonol triglycerides from Ginkgo biloba. *Planta Med.* **55**, 202 (1989).
11) Desquand, S., Touvay, C., Randon, J., Lagente, V., Vilain, B., Maridonneau, P. I., Etienne, A., Lefort, J., Braquet, P. and Vargaftig, B. B.: Interference of BN 52021 (ginkgolide B) with the bronchopulmonary effects of PAF-acether in the guinea pig. *Eur. J. Pharmacol.* **127**, 83 (1986).
12) Pons, F., Touvay, C., Lejeune, V., Carre, C., Vilain, B., Broquet, C., Mencia-Huerta, J.M. and Braquet, P. :

Action of platelet-activating factor (PAF) antagonists on the bronchopulmonary effects of PAF in the guinea pig. *J. Lipid Mediat.* **1**, 329 (1989).

13) Witte, S., Anadere, I. and Walitza, E. : Improvement of hemorheology with ginkgo biloba extract. Decreasing a cardiovascular risk factor. *Fortschr. Med.* **110**, 247 (1992).

14) Cushman, D. W. and Cheung, S. H. : Concentrations of angiotensin-converting enzyme in tissue of the rat. *Biochem. Biophys. Acta.* **250**, 261 (1971).

15) Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265 (1951).

16) Middleton, E. Jr. : The Flavonoids. *Trends Pharmacol. Sci.* **5**, 335 (1984).

17) Gryglewski, R. J., Korbut, R., Robak, J. and Swies, J. : On the mechanism of antithrombotic action of flavonoids. *Biochem. Pharmacol.* **36**, 317 (1987).

18) Bruel, A., Gardette, J., Berrou, E., Droy-Lefaix M. T. and Picard, J. : Effects of Ginkgo biloba extract on glucose transport and glycogen synthesis of cultured smooth muscle cells from pig aorta. *Pharmacol. Res.* **21**, 421 (1989).

19) Andrejak, M. T. and Osterman, G. : Enalapril, captopril, and cough. *Arch. Intern. Med.* **148**, 24 (1988).

20) Etinne, A., Hecquet, F., Clostre, F. and DeFeudis F. V. : Comparison des effets d'un extrait de Ginkgo biloba et de la chlorpromazine sur la fragilite osmotique, in vitro, d'erythrocytes de rat. *J. Pharmacol (Paris).* **13**, 291 (1982).