

원저

柿根과 柿葉이 Phenylephrine으로 유발된 家兔의 수축혈관에 미치는 影響

김희철, 남창규, 김호현¹⁾, 성현재

세명대학교 한의과대학 내과학교실, 세명대학교 한의과대학 생리학교실¹⁾

Effects of *Diospyros kaki L. Radix* or *Diospyros kaki L. Folium* on Arterial Contraction Induced by Phenylephrine in Rabbit

Hee-Chul Kim, Chang-Gyu Nam, Ho-Hyun Kim¹⁾, Hyun-Jea Sung

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Semyung University
Department of Physiology, College of Oriental Medicine, Semyung University¹⁾

Objectives : This study was undertaken to define the effect of *Diospyros kaki L. Radix* or *Diospyros kaki L. Folium* on phenylephrine-induced arterial contraction and the mechanism of *Diospyros kaki L. Radix* or *Diospyros kaki L. Folium*-induced relaxation.

Methods : In order to investigate the effect of *Diospyros kaki L. Radix* or *Diospyros kaki L. Folium* on contracted rabbit carotid arterial strips, transverse strips with intact or damaged endothelium were used for the experiment using organ bath. *Diospyros kaki L. Radix* or *Diospyros kaki L. Folium* extract was infused into contracted arterial strips induced by phenylephrine.

To analyze the mechanism of *Diospyros kaki L. Radix* or *Diospyros kaki L. Folium*-induced relaxation, *Diospyros kaki L. Radix* or *Diospyros kaki L. Folium* extract was infused into contracted arterial strips induced by phenylephrine after treatment with indomethacin, N ω -nitro-L-arginine, methylene blue or tetraethylammonium chloride, and Ca²⁺ was infused into contracted arterial strips induced by phenylephrine after treatment of *Diospyros kaki L. Radix* or *Diospyros kaki L. Folium* in a Ca²⁺-free solution.

Results :

Diospyros kaki L. Radix or *Diospyros kaki L. Folium* showed relaxation effect on arterial strip with endothelium contracted by phenylephrine, but in the strips without endothelium, *Diospyros kaki L. Radix* or *Diospyros kaki L. Folium*-induced relaxation was significantly inhibited.

The endothelium-dependent relaxation induced by *Diospyros kaki L. Radix* or *Diospyros kaki L. Folium* was decreased by pretreatment with N ω -nitro-L-arginine or methylene blue but it was not observed in the strips pretreated with indomethacin or tetraethylammonium chloride.

When Ca²⁺ was applied to the strips which were contracted by phenylephrine in a Ca²⁺-free solution, arterial contraction was increased. However, pretreatment with *Diospyros kaki L. Radix* or *Diospyros kaki L. Folium* inhibited contractile response to Ca²⁺.

Conclusions : *Diospyros kaki L. Radix* or *Diospyros kaki L. Folium* may suppress influx of extra-cellular Ca²⁺ through the formation of nitric oxide in the vascular endothelial cells. (J Korean Oriental Med 2003;24(1):141-154)

Key Words: *Diospyros kaki L. Radix*, *Diospyros kaki L. Folium*, phenylephrine

· 접수 : 2003년 1월 6일 · 채택 : 2003년 2월 10일
· 교신저자 : 남창규, 충북 제천시 신월동 산 21-11 세명대학교 부속한방병원 2내과
(Tel : 043-649-1815, Fax : 043-645-1382, E-mail : doctor@semyung.ac.kr)

서론

高血壓은 순환기계통의 퇴행을 일으키는 근원적 원인이 되는 질환으로서 우리 인체의 중요 장기인 腦·心臟·腎臟 등에 심각한 합병증을 유발시킨다^{1,2)}.

혈압의 조절에는 심박출량, 심박동수 및 말초혈관의 저항이 관여하며^{3,4)} 현재 高血壓의 대부분을 차지하는 本態性 高血壓의 발병기전에 대하여서는 말초혈관 저항의 증가가 가장 중요한 요인으로 지적되고 있으므로⁵⁾ 그 치료에 있어서 긴장성 조절, 즉 말초혈관의 이완이 혈압을 강하시키는데 중요한 역할을 한다^{5,6)}.

한의학에서는 고혈압을 症狀과 體質을 고려하여 辨證하는데 肝陽上亢·陰虛陽亢·中風·中風前兆症 등의 범주에서 설명하며, 주로 肝風·火熱·濕痰·陰虛·瘀血 등을 病因으로 파악하여, 涼肝·熄風·清熱·祛痰·滋陰·祛瘀 등의 治法과 이에 상응하는 약물들을 치료에 활용하고 있으며⁷⁻¹³⁾ 複合處方¹⁴⁻¹⁹⁾과 單味製劑²⁰⁻²⁷⁾에 대한 실험연구가 많이 이루어지고 있다.

민간에서 다양하게 食用과 藥用으로 활용되고 있는 감나무는 柿根·柿子·柿葉·柿皮·柿花·柿餅·柿蒂·柿漆·柿霜·柿木皮 등^{28,29)}이 모두 약재로 이용되고 있으며 특히 柿根은 涼血·止血시키는 약리작용이 있어 血崩·血痢·痔瘡에, 柿葉은 味가 苦하고 性寒無毒하여 咳嗽·喘息·肺氣腫 및 각종 內出血性 疾患에 치료효과가 있는 것으로 알려져 있다^{28,29)}.

민간에서는 고혈압 치료를 위한 식이요법의 일환으로 柿根과 柿葉의 煎湯液을 飲用水로 활용하고 있기도 하지만 치료효능에 대한 객관적인 연구는 국내외적으로 微微한 실정이다.

이에 著者는 감나무에서 생산되는 藥材의 高血壓에 대한 治療效能을 규명하기 위하여 柿根과 柿葉이 phenylephrine(PE)으로 유발된 家兔의 수축혈관에 미치는 영향에 대한 연구를 통하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 이를 보고하는 바이다.

실험재료 및 방법

1. 한약 추출물의 제조

경북 성주 일원의 감나무의 뿌리와 잎을 2002년 6월 초순경에 채취하여 세척하여 건조시켰다.

감나무의 건조한 뿌리(*Diospyros kaki L. Radix*)와 잎(*Diospyros kaki L. Folium*) 200 g을 각각 round flask에 넣고, 증류수를 가하여 2시간 가열 추출하였다. 추출액을 여과한 후 여액을 rotary evaporator로 감압 농축한 다음 동결 건조하여 柿根 분말 22.5 g과 柿葉 분말 30 g을 얻었다.

2. 실험절편의 제작

체중 2 kg 내외의 토끼를 Chloral Hydrate(0.6 g/kg, 정맥주사)로 마취하여 실험시키고 희생시킨 다음, 즉시 경부를 절개하여 총경동맥을 적출하였다.

적출한 총경동맥을 Modified Krebs-Ringer bicarbonate solution(NaCl 125.4, KCl 4.9, CaCl₂ 2.8, MgSO₄ 1.2, NaHCO₃ 15.8, KH₂PO₄ 1.2, glucose 12.2 mM, pH 7.4)에 넣고 실온에서 혈관주위의 연조직과 지방을 제거한 다음 2 mm 크기의 고리형태 혈관절편을 제작하였다.

실험절편은 내피세포가 존재하는 절편과 내피세포가 제거된 절편으로 구분하여 제작하였으며, 내피세포는 가는 솜 막대로 문질러 제거하였다.

3. 등장성 수축 측정

실험절편은 95%의 O₂와 5%의 CO₂ 혼합가스로 포화된 37℃의 Modified Krebs-Ringer bicarbonate solution이 peristaltic pump를 통하여 3 ml/min로 흐르고 있는 organ bath(용량 1.5 ml)에 현수하여 한쪽 끝은 organ bath의 저부에 고정시키고 다른 쪽 끝은 근 수축변환기에 연결하여 등장성 수축의 변화를 기록하였다.

실험절편은 organ bath에서 1시간 회복시킨 후 Micromanipulator(Narishige N2, Japan)를 이용하여 피동장력 1 g을 부하하고 다시 1시간 회복시킨 다음 실험에 사용하였다.

연속되는 실험에는 실험 종료 후 1시간 회복시킨 다음 실험을 시행하였으며, 수축의 변화는 physiograph(PowerLab, Australia)로 연속 기록하였다.

4. 조직표본의 제작

실험 절편을 10% NBF용액에 실온에서 24시간 동안 고정하여 통상적인 방법으로 paraffin에 포매하고 5 μm 두께로 연속절편을 만들었다.

연속절편은 hematoxylin과 eosin으로 염색하고 표본을 제작하여 광학현미경하에서 내피세포의 유무를 관찰하였다.

5. 통계처리

실험결과를 실제 수축의 크기와 PE로 유발된 최고 수축에 대한 백분율을 평균과 표준편차로 나타내었다.

실험군 사이의 비교는 sigma plot 4.1을 이용하여 paired/unpaired t-test를 시행하였고, 유의성은 P<0.001로 판정하였다.

실험결과

1. 柿根과 柿葉이 PE로 수축된 혈관에 미치는 영향

柿根과 柿葉이 수축된 혈관에 미치는 영향을 측정하고자 PE 1 μM을 투여하여 수축을 유발시킨 후 柿根과 柿葉을 농도별로 투여하여 수축의 변화를 기록하였다.

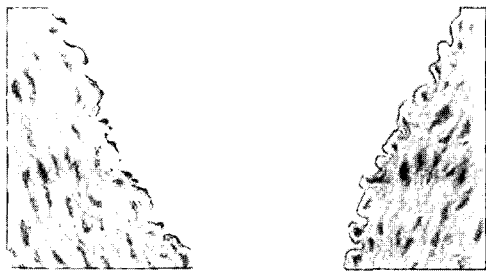


Fig. 1. Histologic section of rabbit common carotid arterial strip intact endothelium(left) or damaged endothelium(right). An arterial strip with endothelium was observed endothelial cell in tunica intima.

柿根은 PE에 의한 수축 1.08±0.18 g에 비하여 1 mg/ml에서 1.15±0.12 g, 3 mg/ml에서 0.79±0.16 g, 10 mg/ml에서 0.31±0.09 g의 수축을 나타내어 3 mg/ml과 10 mg/ml에서 각각 24.9%, 71.3%의 유의성 있는 이완 효과가 있었다(Table 1, Fig. 2).

柿葉은 PE에 의한 수축 1.14±0.16 g에 비하여 0.01 mg/ml에서 1.13±0.11 g, 0.03 mg/ml에서 1.13±0.11 g, 0.10 mg/ml에서 0.12±0.05 g의 수축을 나타내어 0.1 mg/ml에서 89.5%의 유의성 있는 이완효과를 보였다(Table 2, Fig. 3).

2. 柿根과 柿葉의 전처치가 세포의 Ca²⁺의 유입에 미치는 영향

柿根과 柿葉의 혈관이완효과에 있어서 柿根과 柿葉이 세포의 Ca²⁺의 유입에 미치는 영향을 규명하고자 Ca²⁺-free solution에서 柿根 10 mg/ml과 柿葉 0.1 mg/ml을 5분간 전처치하고 PE 1 μM을 투여하여

Table 1. Effects of Diospyros kaki L. Radix Extract on the Contraction of Arterial Smooth Muscle Induced by PE

Treatment	Contraction(g)	%
PE	1.08±0.18	100
PE + DR 1mg/ml	1.15±0.12	108.1±9.1
PE + DR 3mg/ml	0.79±0.16	75.1±17.4
PE + DR 10mg/ml	0.31±0.09 *	29.7±9.6 *

Values are mean±standard deviation(n=8). Percentage was calculated for PE precontraction. * P<0.001, significantly different from the value with PE. PE, phenylephrine 1 μM ; DR, Diospyros kaki L. Radix extract.

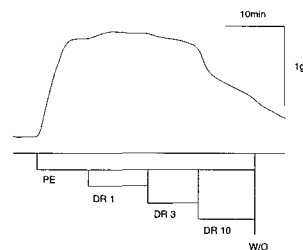


Fig. 2. Representative recordings showing the effects of Diospyros kaki L. Radix extract on the contraction of arterial smooth muscle induced by PE. PE, phenylephrine 1 μM ; DR, Diospyros kaki L. Radix extract(mg/ml) ; W/O, wash out, change of bath medium with a solution to which no drug is applied.

Table 2. Effects of *Diospyros kaki L. Folium* Extract on the Contraction of Arterial Smooth Muscle Induced by PE

Treatment	Contraction(g)	%
PE	1.08±0.18	100
PE	1.14±0.16	100
PE + DF 0.01mg/ml	1.13±0.11	99.8±6.7
PE + DF 0.03mg/ml	1.13±0.11	100.1± 6.6
PE + DF 0.10mg/ml	0.12±0.05 *	10.5±3.7 *

Values are mean±standard deviation(n=7). Percentage was calculated for PE precontraction. * P<0.001, significantly different from the value with PE. PE, phenylephrine 1 μM; DF, *Diospyros kaki L. Folium* extract.

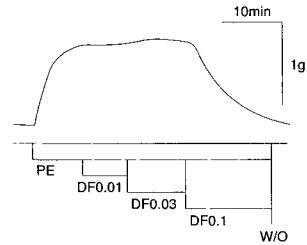


Fig. 3. Representative recordings showing the effects of *Diospyros kaki L. Folium* extract on the contraction of arterial smooth muscle induced by PE. PE, phenylephrine 1 μM; DF, *Diospyros kaki L. Folium* extract(mg/ml); W/O, wash out, change of bath medium with a solution to which no drug is applied.

Table 3. Effects of Pretreatment of *Diospyros kaki L. Radix* Extract on Contractile Response to Additive Application of Ca²⁺ in the Strips Which Were Contracted by PE in Ca²⁺-Free Solution

Treatment	Non treatment of DR		Treatment of DR	
	Contraction(g)	%	Contraction(g)	%
PE	0.37±0.05	100	0.26±0.02	100
PE + Ca	0.84±0.11 *	226.1±10.0 *	0.33±0.05	125.4±11.9 *

Values are mean±standard deviation(n=8). Percentage was calculated for PE precontraction. * P<0.001, significantly different from the value with PE. DR, *Diospyros kaki L. Radix* extract 10 mg/ml; PE, phenylephrine 1 μM; Ca, calcium chloride 1mM.

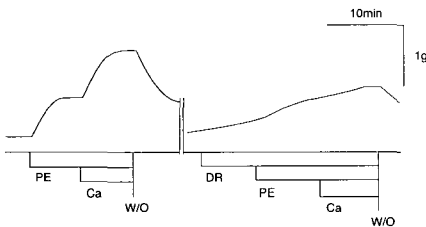


Fig. 4. Representative recordings of the effects of pretreatment of *Diospyros kaki L. Radix* extract on contractile response to additive application of Ca²⁺ in the strips which were contracted by PE in Ca²⁺-free solution. DR, *Diospyros kaki L. Radix* extract 10 mg/ml; PE, phenylephrine 1 μM; Ca, calcium chloride 1 mM; W/O, wash out, change of bath medium with a solution to which no drug is applied.

수축을 유발시킨 후 Ca²⁺ 1 mM을 투여하여 柿根과 柿葉을 전처치하지 않은 경우와 수축의 변화를 비교하였다.

柿根을 전처치하지 않은 경우 PE에 의한 수축 0.37±0.05 g에 비하여 Ca²⁺을 투여하였을 때 0.84±0.11 g의 수축을 나타내어 126.1% 수축이 증가하였고, 柿根을 전처치한 경우 PE에 의한 수축 0.26±

0.02 g에 비하여 Ca²⁺을 투여하였을 때 0.33±0.05 g의 수축을 나타내어 25.4% 수축이 증가하였으나 柿根을 전처치한 경우 전반적인 혈관의 수축이 감소하였다(Table 3, Fig. 4).

柿葉을 전처치하지 않은 경우 PE에 의한 수축 0.57±0.14 g에 비하여 Ca²⁺을 투여하였을 때 1.20±0.07 g의 수축을 나타내어 122.0% 수축이 증가하였고, 柿葉을 전처치한 경우 PE에 의한 수축 0.03±0.01 g에 비하여 Ca²⁺을 투여하였을 때 0.06±0.02 g의 수축을 나타내어 136.1% 수축이 증가하였으나 柿葉을 전처치한 경우 전반적인 혈관의 수축이 감소하였다(Table 4, Fig. 5).

3. 혈관내피세포가 柿根과 柿葉의 혈관이완에 미치는 영향

柿根과 柿葉의 혈관이완효과에 있어서 혈관내피세포의 역할을 규명하고자 내피세포가 존재하는 실험절편과 내피세포가 제거된 실험절편에 PE 1 μM을

Table 4. Effects of Pretreatment of *Diospyros kaki L. Folium* Extract on Contractile Response to Additive Application of Ca²⁺ in the Strips Which Were Contracted by PE in Ca²⁺-Free Solution

Treatment	Non treatment of DF		Treatment of DF	
	Contraction(g)	%	Contraction(g)	%
PE	0.57±0.14	100	0.03±0.01	100
PE + Ca	1.20±0.07 *	222.0±52.0	0.06±0.02	236.1±77.0

Values are mean±standard deviation(n=8). Percentage was calculated for PE precontraction. * P<0.001, significantly different from the value with PE. DF, *Diospyros kaki L. Folium* extract 0.1 mg/ml; PE, phenylephrine 1 μM; Ca, calcium chloride 1mM.

Table 5. Effects of *Diospyros kaki L. Radix* Extract on the Contraction of Arterial Smooth Muscle with Intact Endothelium or Damaged Endothelium Induced by PE

Treatment	intact endothelium		damaged endothelium	
	Contraction(g)	%	Contraction(g)	%
PE	1.03±0.06	100	0.94±0.26	100
PE + DR	0.24±0.04 *	23.3±3.8 *	0.74±0.20	78.5±5.8 * #

Values are mean±standard deviation(n=8). Percentage was calculated for PE precontraction. * P<0.001, significantly different from the value with PE. # P<0.001, significantly different from the value with intact endothelium. PE, phenylephrine 1 μM; DR, *Diospyros kaki L. Radix* extract 10 mg/ml.

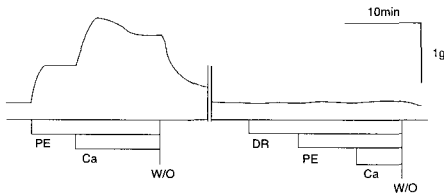


Fig. 5. Representative recordings of the effects of pretreatment of *Diospyros kaki L. Folium* extract on contractile response to additive application of Ca²⁺ in the strips which were contracted by PE in Ca²⁺-free solution. DF, *Diospyros kaki L. Folium* extract 0.1 mg/ml; PE, phenylephrine 1 μM; Ca, calcium chloride 1mM; W/O, wash out, change of bath medium with a solution to which no drug is applied.

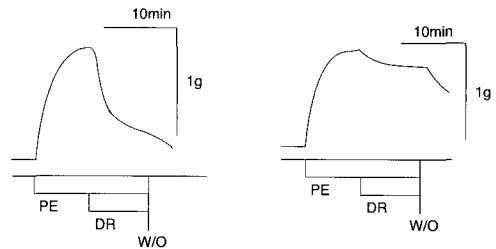


Fig. 6. Representative recordings of the effects of *Diospyros kaki L. Radix* extract on the contraction of arterial smooth muscle with intact endothelium(left) or damaged endothelium(right) induced by PE. PE, phenylephrine 1 μM; DR, *Diospyros kaki L. Radix* extract 10 mg/ml; W/O, wash out, change of bath medium with a solution to which no drug is applied.

투여하여 수축을 유발시킨 후 柿根 10 mg/ml과 柿葉 0.1 mg/ml을 투여하여 수축의 변화를 비교하였다.

柿根은 내피세포가 존재하는 경우 PE에 의한 수축 1.03±0.06 g에 비하여 0.24±0.04 g의 수축을 나타내어 76.7%의 이완효과가 있었으나, 내피세포가 제거된 경우 PE에 의한 수축 0.94±0.26 g에 비하여 0.74±0.20 g의 수축을 나타내어 21.5%의 이완효과를 보여 내피세포가 제거된 경우 이완효과가 유의성 있게 감소하였다(Table 5, Fig. 6).

柿葉은 내피세포가 존재하는 경우 PE에 의한 수축 0.94±0.12 g에 비하여 0.10±0.04 g의 수축을 나

타내어 89.0%의 이완효과가 있었으나, 내피세포가 제거된 경우 PE에 의한 수축 1.30±0.24 g에 비하여 1.44±0.31 g의 수축을 나타내어 10.2%의 수축증가를 보여 내피세포의 제거로 柿葉의 혈관이완효과가 유의성 있게 억제되었다(Table 6, Fig. 7).

4. Indomethacin(IM)의 전처치가 柿根과 柿葉의 혈관이완에 미치는 영향

柿根과 柿葉의 혈관이완효과에 있어서 prostacyclin의 영향을 규명하고자 내피세포가 존재하는 실험 절편에 IM 10 μM을 15분간 전처치하고 PE 1 μM을

Table 6. Effects of *Diospyros kaki L. Folium* Extract on the Contraction of Arterial Smooth Muscle with Intact Endothelium or Damaged Endothelium Induced by PE

Treatment	intact endothelium		damaged endothelium	
	Contraction(g)	%	Contraction(g)	%
PE	0.94±0.12	100	1.30±0.24	100
PE + DF	0.10±0.04 *	11.0±4.2 *	1.44±0.31	110.2±5.2 * #

Values are mean±standard deviation(n=8). Percentage was calculated for PE precontraction. * P<0.001, significantly different from the value with PE. # P<0.001, significantly different from the value with intact endothelium. PE, phenylephrine 1 μM ; DF, *Diospyros kaki L. Folium* extract 0.1 mg/ml.

Table 7. Effects of Pretreatment of IM on the Endothelium-Dependent Relaxation Induced by *Diospyros kaki L. Radix* Extract

Treatment	Non treatment of IM		Treatment of IM	
	Contraction(g)	%	Contraction(g)	%
PE	1.00±0.20	100	0.50±0.24	100
PE + DR	0.27±0.05 *	27.8±4.5 *	0.15±0.05	32.7±7.2 *

Values are mean±standard deviation(n=8). Percentage was calculated for PE precontraction. * P<0.001, significantly different from the value with PE. IM, indomethacin 10 μM ; PE, phenylephrine 1 μM ; DR, *Diospyros kaki L. Radix* extract 10 mg/ml.

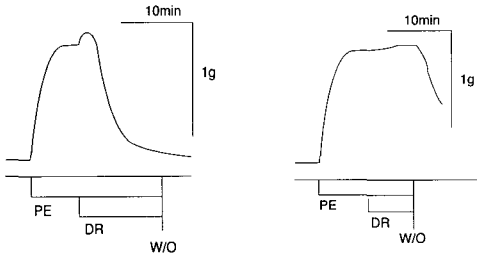


Fig. 7. Representative recordings of the effects of *Diospyros kaki L. Folium* extract on the contraction of arterial smooth muscle with intact endothelium(left) or damaged endothelium(right) induced by PE. PE, phenylephrine 1 μM ; DF, *Diospyros kaki L. Folium* extract 0.1 mg/ml ; W/O, wash out, change of bath medium with a solution to which no drug is applied.

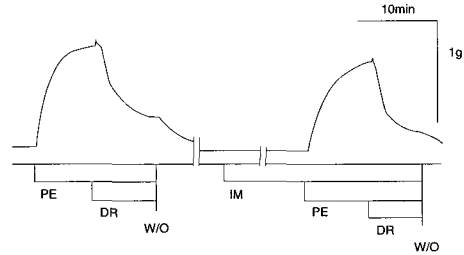


Fig. 8. Representative recordings of the effects of pretreatment of IM on the endothelium-dependent relaxation induced by *Diospyros kaki L. Radix* extract. IM, indomethacin 10 μM ; PE, phenylephrine 1 μM ; DR, *Diospyros kaki L. Radix* extract 10 mg/ml ; W/O, wash out, change of bath medium with a solution to which no drug is applied.

투여하여 수축을 유발시킨 후 柿根 10 mg/ml과 柿葉 0.1 mg/ml을 투여하여 IM을 전처치하지 않은 경우와 수축의 변화를 비교하였다.

柿根은 IM을 전처치하지 않은 경우 PE에 의한 수축 1.00±0.20 g에 비하여 0.27±0.05 g의 수축을 나타내어 72.2%의 이완효과가 있었고, IM을 전처치한 경우 PE에 의한 수축 0.50±0.24 g에 비하여 0.15±0.05 g의 수축을 나타내어 67.3%의 이완효과를 보여 IM의 전처치가 柿根의 혈관이완효과에 유의한 영향을 미치지 못하였다(Table 7, Fig. 8).

柿葉은 IM을 전처치하지 않은 경우 PE에 의한 수

축 1.02±0.03 g에 비하여 0.12±0.06 g의 수축을 나타내어 88.7%의 이완효과가 있었고, IM을 전처치한 경우 PE에 의한 수축 0.65±0.30 g에 비하여 0.01±0.06 g의 수축으로 85.0%의 이완효과를 보여 IM의 전처치는 柿葉의 혈관이완효과에 유의한 영향을 미치지 않았다(Table 8, Fig. 9).

5. Tetraethylammonium chloride(TEA)의 전처치가 柿根과 柿葉의 혈관이완에 미치는 영향
柿根과 柿葉의 혈관이완효과에 있어서 내피세포 의존성 과분극인자(endothelium derived hyperpolar-

Table 8. Effects of Pretreatment of IM on the Endothelium-Dependent Relaxation Induced by *Diospyros kaki L. Folium* Extract

Treatment	Non treatment of IM		Treatment of IM	
	Contraction(g)	%	Contraction(g)	%
PE	1.02±0.03	100	0.65±0.30	100
PE + DF	0.12±0.06 *	11.3±6.1 *	0.01±0.06 *	15.0±3.2 *

Values are mean±standard deviation(n=8). Percentage was calculated for PE precontraction. * P<0.001, significantly different from the value with PE. IM, indomethacin 10 µM; PE, phenylephrine 1 µM; DF, *Diospyros kaki L. Folium* extract 0.1 mg/ml.

Table 9. Effects of Pretreatment of TEA on the Endothelium-Dependent Relaxation Induced by *Diospyros kaki L. Radix* Extract

Treatment	Non treatment of TEA		Treatment of TEA	
	Contraction(g)	%	Contraction(g)	%
PE	1.04±0.11	100	0.87±0.20	100
PE + DR	0.26±0.03 *	24.6±3.0 *	0.36±0.11 *	40.8±8.2 * #

Values are mean±standard deviation(n=8). Percentage was calculated for PE precontraction. * P<0.001, significantly different from the value with PE. # P<0.001, significantly different from the value with non treatment of TEA. TEA, tetraethylammonium chloride 100 µM; PE, phenylephrine 1 µM; DR, *Diospyros kaki L. Radix* extract 10 mg/ml.

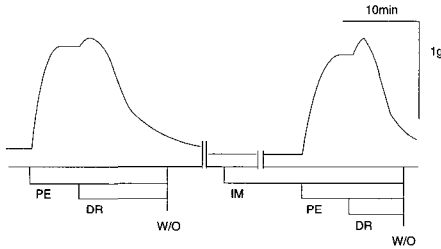


Fig. 9. Representative recordings of the effects of pretreatment of IM on the endothelium-dependent relaxation induced by *Diospyros kaki L. Folium* extract. IM, indomethacin 10 µM; PE, phenylephrine 1 µM; DF, *Diospyros kaki L. Folium* extract 0.1 mg/ml; W/O, wash out, change of bath medium with a solution to which no drug is applied.

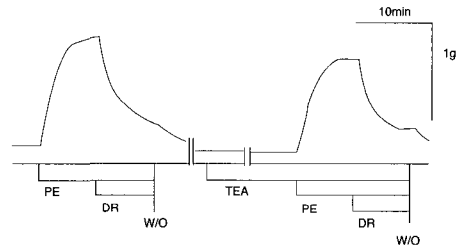


Fig. 10. Representative recordings of the effects of pretreatment of TEA on the endothelium-dependent relaxation induced by *Diospyros kaki L. Radix* extract. TEA, tetraethylammonium chloride 100 µM; PE, phenylephrine 1 µM; DR, *Diospyros kaki L. Radix* extract 10 mg/ml; W/O, wash out, change of bath medium with a solution to which no drug is applied.

izing factor, EDHF)의 영향을 규명하고자 내피세포가 존재하는 실험절편에 TEA 100 µM을 15분간 전처치하고 PE 1 µM을 투여하여 수축을 유발시킨 후 柿根 10 mg/ml과 柿葉 0.1 mg/ml을 투여하여 TEA를 전처치하지 않은 경우와 수축의 변화를 비교하였다.

柿根은 TEA를 전처치하지 않은 경우 PE에 의한 수축 1.04±0.11 g에 비하여 0.26±0.03 g의 수축을 나타내어 75.4%의 이완효과가 있었으나, TEA를 전처치한 경우 PE에 의한 수축 0.87±0.20 g에 비하여 0.36±0.11 g의 수축을 나타내어 59.2%의 이완효과를 보여 TEA의 전처치로 柿根의 혈관이완효과가 유의성 있게 억제되었다(Table 9, Fig. 10).

柿葉은 TEA를 전처치하지 않은 경우 PE에 의한 수축 1.10±0.09 g에 비하여 0.17±0.11 g의 수축을 나타내어 84.7%의 이완효과가 있었고, TEA를 전처치한 경우 PE에 의한 수축 0.95±0.28 g에 비하여 0.17±0.10 g의 수축으로 82.0%의 이완효과를 보여 TEA의 전처치는 柿葉의 혈관이완효과에 유의한 영향을 미치지 않았다(Table 10, Fig. 11).

6. Nω-nitro-L-arginine(L-NNA)의 전처치가 柿根과 柿葉의 혈관이완에 미치는 영향

柿根과 柿葉의 혈관이완효과에 있어서 nitric oxide(NO)의 영향을 규명하고자 내피세포가 존재하

Table 10. Effects of Pretreatment of TEA on the Endothelium-Dependent Relaxation Induced by *Diospyros kaki L. Folium* Extract

Treatment	Non treatment of TEA		Treatment of TEA	
	Contraction(g)	%	Contraction(g)	%
PE	1.10±0.09	100	0.95±0.28	100
PE + DF	0.17±0.11 *	15.3±10.5 *	0.17±0.10 *	18.0±8.8 *

Values are mean ± standard deviation (n=8). Percentage was calculated for PE precontraction. * P<0.001, significantly different from the value with PE. PE, phenylephrine 1 μM; DF, *Diospyros kaki L. Folium* extract 0.1 mg/ml. Fig. 11. Representative recordings of the effects of pretreatment of TEA on the endothelium-dependent relaxation induced by *Diospyros kaki L. Folium* extract. TEA, tetraethylammonium chloride 100 μM; PE, phenylephrine 1 μM; DF, *Diospyros kaki L. Folium* extract 0.1 mg/ml; W/O, wash out, change of bath medium with a solution to which no drug is applied. PE, phenylephrine 1 μM; DR, *Diospyros kaki L. Radix* extract 10 mg/ml.

Table 11. Effects of Pretreatment of L-NNA on the Endothelium-Dependent Relaxation Induced by *Diospyros kaki L. Radix* Extract

Treatment	Non treatment of L-NNA		Treatment of L-NNA	
	Contraction(g)	%	Contraction(g)	%
PE	0.74±0.15	100	1.30±0.10	100
PE + DR	0.22±0.05 *	31.4±9.2 *	0.66±0.10 *	51.2±6.8 * #

Values are mean ± standard deviation (n=8). Percentage was calculated for PE precontraction. * P<0.001, significantly different from the value with PE. # P<0.001, significantly different from the value with non treatment of L-NNA. L-NNA, Nω-nitro-L-arginine 100 μM; PE, phenylephrine 1 μM; DR, *Diospyros kaki L. Radix* extract 10 mg/ml.

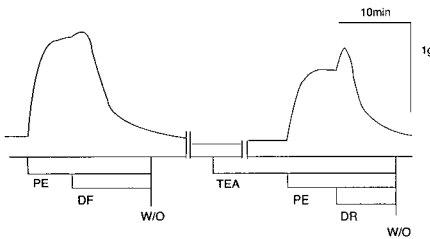


Fig. 11. Representative recordings of the effects of pretreatment of TEA on the endothelium-dependent relaxation induced by *Diospyros kaki L. Folium* extract. TEA, tetraethylammonium chloride 100 μM; PE, phenylephrine 1 μM; DF, *Diospyros kaki L. Folium* extract 0.1 mg/ml; W/O, wash out, change of bath medium with a solution to which no drug is applied.

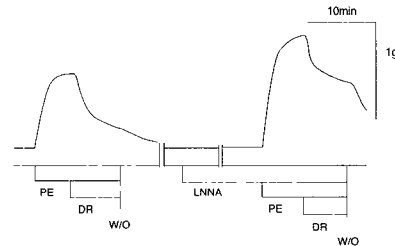


Fig. 12. Representative recordings of the effects of pretreatment of L-NNA on the endothelium-dependent relaxation induced by *Diospyros kaki L. Radix* extract. L-NNA, Nω-nitro-L-arginine 100 μM; PE, phenylephrine 1 μM; DR, *Diospyros kaki L. Radix* extract 10 mg/ml; W/O, wash out, change of bath medium with a solution to which no drug is applied.

는 실험절편에 L-NNA 100 μM을 15분간 전처리하고 PE 1 μM을 투여하여 수축을 유발시킨 후 柿根 10 mg/ml과 柿葉 0.1 mg/ml을 투여하여 L-NNA를 전처리하지 않은 경우와 수축의 변화를 비교하였다.

柿根은 L-NNA를 전처리하지 않은 경우 PE에 의한 수축 0.74±0.15 g에 비하여 0.22±0.05 g의 수축을 나타내어 68.6%의 이완효과가 있었으나, L-NNA를 전처리한 경우 PE에 의한 수축 1.30±0.10 g에 비하여 0.66±0.10 g의 수축을 나타내어 48.8%의 이완

효과를 보여 L-NNA의 전처리로 柿根의 혈관이완효과가 유의성 있게 억제되었다(Table 11, Fig. 12).

柿葉은 L-NNA를 전처리하지 않은 경우 PE에 의한 수축 0.75±0.11 g에 비하여 0.08±0.04 g의 수축을 나타내어 88.5%의 이완효과가 있었으나, L-NNA를 전처리한 경우 PE에 의한 수축 1.10±0.08 g에 비하여 0.63±0.09 g의 수축으로 43.2%의 이완효과를 보여 L-NNA의 전처리는 柿葉의 혈관이완효과를 유의성 있게 억제하였다(Table 12, Fig. 13).

7. Methylene blue(MB)의 전처치가 柿根과 柿葉의 혈관이완에 미치는 영향

柿根과 柿葉의 혈관이완효과에 있어서 cyclic GMP의 영향을 규명하고자 내피세포가 존재하는 실험절편에 MB 10 μ M을 15분간 전처치하고 PE 1 μ M을 투여하여 수축을 유발시킨 후 柿根 10 mg/ml과 柿葉 0.1 mg/ml을 투여하여 MB를 전처치하지 않은 경우와 수축의 변화를 비교하였다.

柿根은 MB를 전처치하지 않은 경우 PE에 의한 수축 1.09 \pm 0.08 g에 비하여 0.26 \pm 0.06 g의 수축을 나타내어 75.7%의 이완효과가 있었으나, MB를 전처

치한 경우 PE에 의한 수축 1.49 \pm 0.07 g에 비하여 0.57 \pm 0.09 g의 수축으로 61.6%의 수축을 나타내어 보여 MB의 전처치는 柿根의 혈관이완효과를 유의성 있게 억제하였다(Table 13, Fig. 14).

柿葉은 MB를 전처치하지 않은 경우 PE에 의한 수축 0.92 \pm 0.13 g에 비하여 0.15 \pm 0.14 g의 수축을 나타내어 85.1%의 이완효과가 있었으나, MB를 전처치한 경우 PE에 의한 수축 1.61 \pm 0.28 g에 비하여 1.71 \pm 0.33 g의 수축으로 5.9%의 수축증가를 보여 MB의 전처치는 柿葉의 혈관이완효과를 유의성 있게 억제하였다(Table 14, Fig. 15).

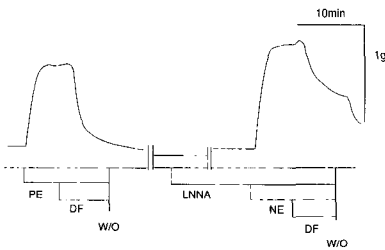


Fig. 13. Representative recordings of the effects of pretreatment of L-NNA on the endothelium-dependent relaxation induced by *Diospyros kaki L. Folium* extract. L-NNA, N ω -nitro-L-arginine 100 μ M ; PE, phenylephrine 1 μ M ; DF, *Diospyros kaki L. Folium* extract 0.1 mg/ml ; W/O, wash out, change of bath medium with a solution to which no drug is applied.

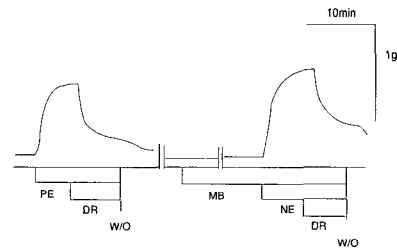


Fig. 14. Representative recordings of the effects of pretreatment of MB on the endothelium-dependent relaxation induced by *Diospyros kaki L. Radix* extract. MB, methylene blue 10 μ M ; PE, phenylephrine 1 μ M ; DR, *Diospyros kaki L. Radix* extract 10 mg/ml ; W/O, wash out, change of bath medium with a solution to which no drug is applied.

Table 12. Effects of Pretreatment of L-NNA on the Endothelium-Dependent Relaxation Induced by *Diospyros kaki L. Folium* Extract

Treatment	Non treatment of L-NNA		Treatment of L-NNA	
	Contraction(g)	%	Contraction(g)	%
PE	0.75 \pm 0.11	100	1.10 \pm 0.08	100
PE + DF	0.08 \pm 0.04 *	11.5 \pm 6.9*	0.63 \pm 0.09*	56.8 \pm 6.0 * #

Values are mean \pm standard deviation(n=8). Percentage was calculated for PE precontraction. * P<0.001, significantly different from the value with PE. # P<0.001, significantly different from the value with non treatment of L-NNA. L-NNA, N ω -nitro-L-arginine 100 μ M ; PE, phenylephrine 1 μ M ; DF, *Diospyros kaki L. Folium* extract 0.1 mg/ml.

Table 13. Effects of Pretreatment of MB on the Endothelium-Dependent Relaxation Induced by *Diospyros kaki L. Radix* Extract

Treatment	Non treatment of MB		Treatment of MB	
	Contraction(g)	%	Contraction(g)	%
PE	1.09 \pm 0.08	100	1.49 \pm 0.07	100
PE + DR	0.26 \pm 0.06 *	24.3 \pm 6.1 *	0.57 \pm 0.09 *	38.4 \pm 4.5 * #

Values are mean \pm standard deviation(n=8). Percentage was calculated for PE precontraction. * P<0.001, significantly different from the value with PE. # P<0.001, significantly different from the value with non treatment of MB. MB, methylene blue 10 μ M ; PE, phenylephrine 1 μ M ; DR, *Diospyros kaki L. Radix* extract 10 mg/ml.

Table 14. Effects of Pretreatment of MB on the Endothelium-Dependent Relaxation Induced by *Diospyros kaki L. Folium* Extract

Treatment	Non treatment of MB		Treatment of MB	
	Contraction(g)	%	Contraction(g)	%
PE	0.92±0.13	100	1.61±0.28	100
PE + DF	0.15±0.14 *	14.9±11.4 *	1.71±0.33	105.9±3.7 *

Values are mean±standard deviation(n=8). Percentage was calculated for PE precontraction. * P<0.001, significantly different from the value with PE. # P<0.001, significantly different from the value with non treatment of MB. MB, methylene blue 10µM; PE, phenylephrine 1µM; DF, *Diospyros kaki L. Folium* extract 0.1 mg/ml.

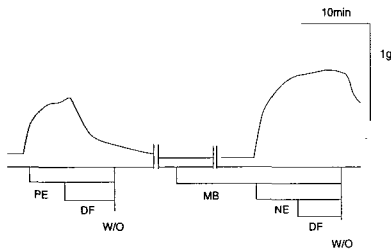


Fig. 15. Representative recordings of the effects of pretreatment of MB on the endothelium-dependent relaxation induced by *Diospyros kaki L. Folium* extract. MB, methylene blue 10 µM; PE, phenylephrine 1 µM; DF, *Diospyros kaki L. Folium* 0.1 mg/ml; W/O, wash out, change of bath medium with a solution to which no drug is applied.

고찰

심혈관질환은 국내 전체 사망의 23.3%를 차지하는 질환으로 심혈관질환에 의한 사망중 뇌혈관질환으로 인한 사망이 59.8%에 이르고 있으며³⁰⁾, 특히 뇌혈관질환의 주요한 선행질환이 고혈압으로 알려져 있다³¹⁾.

그러나 대부분의 고혈압은 그 原因과 症狀이 不明하여 소위 ‘침묵의 살인자’라고 일컬어지고 있는 만큼 고혈압의 중요성이 한층 강조되고 있다³²⁾.

高血壓이란 동맥혈압이 높은 것을 총칭하는 말로, 뇌혈관계의 압력상승에 의하여 頭痛·不安感·眩暈·腦卒中을 일으키는 原因으로 작용할 뿐만 아니라, 心肺기능 저하에 의하여 호흡곤란·心悸亢進이나 冠狀動脈疾患에 의한 胸痛 등의 합병증을 나타내기도 한다³³⁾.

韓醫學에서 高血壓은 肝陽上亢·陰虛陽亢·中

風·中風前兆症 등의 범주에 해당하며, 역대 醫家들의 學說을 바탕으로 肝·心·腎의 陰陽平衡失調에 따른 肝風·心火·濕痰·陰虛·瘀血 등으로 주요 病因을 분류하고 있다³⁴⁾.

고혈압에 관한 실험적 연구로 淸熱祛風시키는 方劑와 藥物로 消風補心湯¹⁴⁾, 黃連解毒湯¹⁵⁾, 防風通聖散¹⁶⁾, 大柴胡湯¹⁷⁾, 鈞鉤藤²⁰⁾, 豨薟²¹⁾, 天麻²²⁾, 忍冬藤²³⁾ 등이, 滋陰潛陽시키는 方劑와 藥物로는 地黃飮子¹⁸⁾, 補陽還五湯¹⁹⁾, 羌絲子²⁴⁾, 枸杞子²⁵⁾, 吳茱萸²⁶⁾, 淫羊藿²⁷⁾ 등이 抗高血壓 效능이 있는 것으로 보고되었다.

민간에서는 고혈압 치료를 위한 식이요법의 일환으로 柿根과 柿葉의 煎湯液을 飲用水로 활용하고 있기도 하지만 치료효능에 대한 객관적인 연구는 국내외적으로 微微한 실정이다.

이에 著者는 柿根과 柿葉의 고혈압치료 가능성을 탐구하기 위하여 혈압의 조절에 효과적으로 작용하는 혈관 긴장성 조절에 미치는 柿根과 柿葉의 영향에 대한 연구를 시행하였다.

혈압의 조절에 있어서 심박동수와 말초혈관저항의 두 가지 인자가 중요하게 작용하므로 혈관의 긴장성을 조절하는 것이 혈압의 조절에 효과적으로 작용하게 되는데³⁵⁾, 혈관의 긴장성 조절은 주로 혈관평활근에 분포하는 자율신경계의 작용 즉 α-receptor를 통한 수축작용과 β-receptor를 통한 이완작용^{1,31,32)}, norepinephrine(NE)·serotonin·angiotensin II를 비롯한 혈관 활성물질에 의한 혈관평활근의 반응성^{3,33)}, 혈관내피세포에서 유리되는 혈관수축인자와 혈관이완인자에 의한 작용^{2,34,36)}에 따라 조절되는데 이러한 생리적 작용이 혈압의 변화에 대응하지 못할 경우에

병적인 고혈압을 유발하는 중요한 요인이 된다.

본 실험에서는 PE로 수축된 혈관에 柿根과 柿葉 검액을 투여하여 혈관이완효과를 검증하고, 혈관내피세포, Ca^{2+} 및 내피세포성 이완인자와의 관계를 규명함으로써 柿根과 柿葉이 수축혈관에 미치는 영향과 작용기전을 중심으로 실험연구를 수행하였다.

PE의 주작용은 수축기 및 확장기 혈압을 상승시키는데, PE는 대부분의 혈관에서 α -receptor를 흥분시켜 혈관수축을 유발하므로 저혈압상태에서 혈압상승을 목적으로 사용하고 있다³⁴⁾.

柿根과 柿葉이 수축혈관에 미치는 영향을 측정하기 위하여 PE로 수축시킨 혈관에 柿根과 柿葉을 투여한 결과 모두 유의성 있는 혈관이완효과를 나타내어 혈압강하효과가 있을 것으로 보인다.

혈관평활근의 수축은 평활근 세포내의 sarcoplasmic reticulum과 mitochondria 등에서 유리되는 Ca^{2+} 과 세포외에서 유입되는 Ca^{2+} 에 의하여^{37,38)} actin과 myosin이 결합함으로써 수축된다³⁹⁾.

따라서 柿根과 柿葉이 세포의 Ca^{2+} 의 유입에 미치는 영향을 측정하고자 Ca^{2+} -free solution에서 柿根과 柿葉을 전처치 한 후 PE로 수축을 유발시키고 Ca^{2+} 을 투여하였을 때, 柿根과 柿葉을 전처치하지 않은 경우에 비하여 PE에 의한 혈관수축과 Ca^{2+} 첨가로 인한 혈관수축의 증가가 모두 억제되었다.

이는 柿根과 柿葉이 세포의 Ca^{2+} 의 유입을 차단시킴으로써 actin과 myosin의 결합에 필요한 Ca^{2+} 의 공급을 차단하여 혈관을 이완시킨 결과로 생각된다.

한편 혈관의 긴장성 조절은 주로 혈관평활근에 분포하는 자율신경계의 작용, NE · serotonin · angiotensin II를 비롯한 혈관활성물질에 의한 혈관평활근의 반응성, 혈관내피세포에서 유리되는 혈관수축인자와 혈관이완인자에 의한 작용에 따라 조절되므로, 柿根과 柿葉의 혈관이완효과가 내피세포의 작용과 관련되어 있는지의 여부를 확인하기 위하여 혈관내피세포가 존재하는 혈관과 제거된 혈관을 수축시킨 후 柿根과 柿葉을 투여하였다.

실험결과 혈관의 내피세포를 제거한 경우 柿根의 혈관이완효과는 유의성 있게 억제되었고, 柿葉은 오

히려 수축을 증가시켜 柿根과 柿葉은 모두 내피세포 의존성 혈관이완효과를 나타내었다.

혈관내피세포에서 유리되는 주요 혈관이완인자로는 prostacyclin^{40,41)}, EDHF⁴²⁻⁴⁴⁾, NO⁴⁵⁻⁴⁹⁾가 알려져 있으므로 柿根과 柿葉의 혈관이완효과와 내피세포성 이완인자의 상관성을 검증하였다.

Prostacyclin은 혈관내피세포의 arachidonic acid로부터 cyclooxygenase와 prostacyclin synthase에 의해 생성된 후 혈관평활근에 작용하여 이완시키는 물질이고^{40,41)}, IM은 cyclooxygenase의 활성을 억제하여 prostacyclin의 생성을 차단시키지만 다른 혈관내피세포성 이완인자의 분비에 영향을 미치지 않는 것으로 알려져 있다⁵⁰⁾.

따라서 IM의 전처치에도 불구하고 柿根과 柿葉이 IM을 전처치 하지 않은 경우와 동일한 혈관이완효과를 보인 것은 柿根과 柿葉의 혈관이완효과가 prostacyclin의 작용과 無關함을 나타낸다.

EDHF는 NO와는 다른 경로로 합성되는 내피세포성 이완인자로 Na^+ - K^+ pump의 활성화를 통한 세포막 전압의 과분극을 유발하는 것으로 알려져 있고⁴²⁻⁴⁴⁾, TEA는 막전압의 과분극을 억제하는 potassium-channel blocker로 알려져 있다^{44,51,52)}.

실험결과 TEA를 전처치하였을 때 柿根의 혈관이완효과가 TEA를 전처치 하지 않았을 때보다 이완효과가 억제된 것은 EDHF가 柿根의 혈관이완에 작용한다는 것을 의미한다.

그러나 柿葉의 혈관이완효과는 TEA의 전처치에 영향을 받지 않고 동일한 이완효과를 나타내어 EDHF의 작용과는 無關한 것으로 나타났다.

가장 주요한 내피세포성 이완인자인 NO는 내피세포의 L-arginine으로부터 nitric oxide synthase에 의해 생성되어 혈관 평활근세포에 작용하는 것으로 보고되어 있고⁴⁵⁻⁴⁹⁾, L-NNA는 혈관내피세포의 nitric oxide synthase를 억제하여 NO의 생성을 차단시키는 것으로 알려져 있다^{53,54)}.

본 실험에서 柿根과 柿葉의 혈관이완효과가 L-NNA의 전처치에 의하여 유의성 있게 억제되어 柿根과 柿葉은 NO에 의존한 혈관이완효과를 나타내

는 것으로 판단된다.

한편 NO는 평활근세포에서 soluble guanylate cyclase의 활성화를 통하여 세포내 cyclic GMP 농도를 증가시키고, 증가된 cyclic GMP에 의하여 평활근 세포내 Ca²⁺ 농도 증가가 억제됨으로써 혈관평활근이 이완된다^{32,55,56}.

또한 MB는 혈관 평활근세포에서 NO가 soluble guanylate cyclase를 cyclic GMP로 전환시키는 과정에 작용하여 cyclic GMP의 형성을 차단하는 것으로 알려져 있다^{32,41,45,46}.

MB의 전처치로 cyclic GMP의 형성을 차단시켰을 때, 柿根의 혈관이완효과는 유의성 있게 억제되었고, 柿葉은 오히려 수축이 증가되어 柿根과 柿葉의 혈관이완효과는 혈관평활근에서 cyclic GMP의 활성화와 연계되어 있는 것으로 판단된다.

이상의 실험결과를 종합하여 볼 때, 柿根과 柿葉은 모두 내피세포 의존성 혈관이완효과가 있어 혈관확장을 통한 혈압강화효과를 나타낸 것으로 사료된다.

혈관이완효과의 작용 기전에 있어서 柿葉의 경우는 NO의 생성을 통하여 혈관평활근에서 cyclic GMP를 활성화함으로써 세포의 Ca²⁺의 유입이 차단되는 기전에 의한 것으로 나타났으나, 柿根은 EDHF와 NO의 두 가지 이완인자의 작용과 관계된 것으로 나타나 이에 대한 연구가 더 필요할 것으로 생각된다.

따라서 柿根과 柿葉은 혈관의 저항을 개선하여 혈압강화작용을 할 것으로 예상되므로 고혈압 치료 약물로 개발·활용할 가치가 있는 것으로 사료된다.

결론

柿根과 柿葉의 고혈압 치료약물로서의 가능성을 탐구하고자 토끼의 혈관을 적출하여 제작한 실험절편을 이용한 organ bath study를 통하여 혈관의 긴장성 조절에 미치는 영향과 작용기전을 연구하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 柿根과 柿葉은 PE로 수축된 혈관에 대하여 유의성 있는 이완효과를 나타내었다.
2. Ca²⁺-free solution에서 柿根과 柿葉을 전처치하

고 PE를 투여한 후 Ca²⁺을 첨가하였을 때 PE에 의한 수축과 Ca²⁺을 첨가하였을 때의 수축이 柿根과 柿葉을 전처치하지 않은 경우에 비하여 억제되었다.

3. 혈관내피세포가 제거된 경우에는 柿根과 柿葉의 혈관이완효과가 억제되었다.
4. 柿根과 柿葉의 혈관이완효과는 IM, TEA의 전처치에 유의한 영향을 받지 않았다.
5. 柿根과 柿葉의 혈관이완효과는 L-NNA와 MB의 전처치로 유의성 있게 억제되었다.

이상의 결과로부터 柿根과 柿葉은 혈관수축으로 인한 혈류장애와 심뇌혈관계 질환에 있어서 혈관의 저항을 개선할 목적으로 응용할 수 있으며 고혈압의 치료에 효능을 나타낼 것으로 기대된다.

참고문헌

1. 서울대학교 의과대학편. 심장학. 서울:서울대학교 출판부. 1995:277-86.
2. 대한의학협회분과학회협의회편저. 고혈압. 서울:麗文閣. 1986:3, 4, 13-6, 39-47, 54-63.
3. Levi R. Therapies for perioperative hypertension. Pharmacodynamic considerations, Acta Anaesthesiol. Scand. Suppl. 1993;37(99):16-9.
4. Gross F, Robertson JIS. Arterial Hypertension. G. K. Hall & Co. 1980:5 :1-6.
5. El-Mas MM, Carroll RG, Abdel- Rahman AA. Centrally mediated reduction in cardiac output elicits the enhanced hypotensive effect of clonidine in conscious aortic barodenervated rats. J. of Cardiovascular Pharmacology. 1994;24:184-93.
6. Young RH, Ding YA, Lee YM, Yen MH. Cilazapril reverses endothelium-dependent vasodilator response to acetylcholine mesenteric artery from spontaneously hypertensive rats. AM. J. Hypertens. 1995;8(9):928-33.
7. 裴元植. 韓方臨床學. 서울:南山堂. 1997:316-27.
8. 蔡仁植. 韓方臨床學. 서울:大星文化社. 1987:145-56.
9. 屈松柏, 李家庚 編. 北京:實用中醫心血管病學. 1993:347-54.
10. 上海中醫學院. 中醫內科學. 香港:中華商務聯合印刷有限公司. 1983:297-309.

11. 何紹奇. 現代中醫內科學. 北京:中國醫藥科技出版社. 1991:263-8.
12. 金完熙. 高血壓治療의 辨證에 관한 研究. 大韓韓醫學會誌. 1982;3(2):3-13.
13. 金世吉. 風의 病理的 意味糾明과 中風의 原因 및 治療에 대한 東西醫學의 比較. 大韓韓醫學會誌. 1995;16(1):96-117.
14. 배경일, 김동희, 이용구, 김윤식. 消風補心湯이 고혈압, 혈전 및 뇌손상에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2002;16(2):245-56.
15. 손은진, 강대길, 이안숙, 김복해, 이호섭. 黃連解毒湯合六味地黃湯加釣鉤藤이 자발적 고혈압 白鼠의 혈압 및 腎臟 기능에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2002;16(2):359-64.
16. 이영화, 김경철, 이용태. 防風通聖散이 L-NAME 유발 및 SHR 흰쥐의 고혈압에 미치는 영향. 동의생리학회지. 1999;14(2):43-54.
17. 박치상, 박창국, 환승동, 박순달. 대시호탕가미방이 고혈압 및 고지혈증에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 1999;19(2):159-64.
18. 김종인, 김동희, 설인찬. 地黃飮子가 뇌손상 및 고혈압에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2001;15(2):246-54.
19. 정우상, 고창남, 조기호, 김영석, 배형섭, 이경섭. 고혈압 및 고지혈증에 대한 補陽還五湯의 실험적 연구. 대한한방내과학회지. 1997;18(2):246-67.
20. 朴錫紀, 金昊顯, 金吉萱. 釣鉤藤의 혈관긴장성 조절 및 그 機轉에 관한 연구. 東醫生理學會誌. 1997;12(2):65-75.
21. 金昊顯, 金吉萱. 獐齒이 家兎의 血管內皮細胞性 弛緩因子에 미치는 影響. 大韓韓醫學會誌. 1997;18(2):15-32.
22. 양재하, 김미려, 권용준. 天麻 엑기스가 선천성 고혈압 쥐에서 혈장전해질 및 Aldosterone 함량과 혈장 Renin 활성도 변화에 미치는 영향. 동서의학. 1997;22(4):1-22.
23. 유윤조. 인동등 전탕액이 자연발증 고혈압 백서의 혈압에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2001;15(6):993-7.
24. 유윤조. 芫絲子 전탕액이 자연발증 고혈압 백서의 혈압에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2001;15(1):164-8.
25. 박종훈, 김상범, 이호섭, 류도근. 枸杞子 전탕액의 고혈압 백서 혈압 및 호르몬에 미치는 영향. 동의생리학회지. 1998;13(1):11-6.
26. 강신인. 吳茱萸가 선천성 고혈압쥐의 혈압에 미치는 영향. 대한한의학회지. 1998;19(2):50-8.
27. 최형일, 이상인, 안덕균, 김호철. 淫羊藿의 항고혈압작용에 관한 연구. 대한본초학회지. 1997;12(1):35-44.
28. 李時珍. 本草綱目. 서울:高文社. 1987:1016-8.
29. 국가중의약관리국 중화본초편위원회. 中華本草. 北京:上海科學技術出版社. 1999:134-41.
30. 통계청. 사망원인통계연보. 대전:문전사. 2001:38-52.
31. Furchgott RF, Vanhoutte PM. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. FASEB J. 1989;3(9):2007-18.
32. Ignarro LJ, Harbison RG, Wood KS, Kadowitz PJ. Activation of purified soluble guanylate cyclase by endothelium-derived relaxing factor from intrapulmonary artery and vein : Stimulation by acetylcholine, bradykinin and arachidonic acid. The J. of Pharmacology and Experimental therapeutics. 1986;237(3):893-900.
33. Guyton AC. Medical Physiology. W. B. Saunders Company. 1986;20:230-43.
34. 李宇柱, 洪思奭. 藥理學講義. 서울:의학문화사. 1993:115, 116, 395.
35. Randall MD, Griffith TM. EDRF plays central role in collateral flow after arterial occlusion in rabbit ear. Am. J. Physiol. 1992;263:H752-60.
36. White DG, Drew GM, Gurden JM, Penny DM, Roach AG, Watts IS. The effect of NG-nitro-L-arginine methyl ester upon basal blood flow and endothelium-dependent vasodilatation in the dog hindlimb. Br. J. Pharmacol. 1993;108(3):763-8.
37. Deth R, Breemen C. van. Relative contributions of Ca²⁺ influx and cellular Ca²⁺ release during drug induced activation of the rabbit aorta. Pflugers Arch. 1974;348(1):13-22.
38. Fabiato A, Fabiato F. Calcium-induced release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of skinned cells from adult human, dog, cat, rabbit, rat, and frog hearts and from fetal and new-born rat ventricles. Annuals New York Academy of Sciences. 1978:491-521.
39. 성호경, 김기환. 생리학. 서울:의학문화사. 1997:82-7.
40. Vanhoutte PM, Houston DS. Platelets and vascular occlusion, Platelets, endothelium, and vasospasm.

- Circulation. 1985;72(4):728-34.
41. Vanhoutte PM, Rubanyi GM, Miller VM, Houston DS. Modulation of vascular smooth muscle contraction by the endothelium. *Ann. Rev. Physiol.* 1986;48:307-20.
 42. Feletou M, Vanhoutte PM. Endothelium dependent hyperpolarization of canine coronary smooth muscle. *Br. J. Pharmacol.* 1988;93:515-24.
 43. Suzuki H, Chen G, Yamamoto Y, Miwa K. Nitroarginine-sensitive and-insensitive components of the endothelium-dependent relaxation in the guinea pig carotid artery. *Jpn. J. of Physiology.* 1992;42(2):335-47.
 44. Feletou M, Girard V, Canet E. Different Involvement of Nitro Oxide in Endothelium-Dependent Relaxation of Porcine Pulmonary Artery and Vein:Influence of Hypoxia. *J. of Cardiovascular Pharmacology.* 1995;25:665-73.
 45. Johns RA. Endothelium-derived relaxing factor:Basic review and clinical implications. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* 1991;5(1):69-79.
 46. Ignarro LJ. Biological actions and properties of endothelium-derived nitric oxide formed and released from artery and vein. *Circulation Research.* 1989;65(1):1-21.
 47. Ignarro LJ, Gold ME, Buga GM, Byrns RE, Wood KS, Chaudhuri G, Frank G. Basic polyamino acids rich in arginine, lysine, or ornithine cause both enhancement of and refractoriness to formation of endothelium-derived nitric oxide in pulmonary artery and vein. *Circulation Research.* 1989;64(2):315-29.
 48. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature.* 1987;327:524-6.
 49. Palmer RM, Rees DD, Ashton DS, Moncada S. L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1988;153(3):1251-6.
 50. Thompson LP, Weiner CP. Endothelium-derived relaxing factor inhibits norepinephrine contraction of fetal guinea pig arteries. *Am. J. Physiol.* 1993;264: H1139-45.
 51. Hecker M. Endothelium-derived hyperpolarizing factor or fiction, *News Physiol. Sci.* 2000;15:1-5.
 52. Yokota Y, Imaizumi Y, Ansano M, Matsuda T, Watanabe M. Endothelium-derived relaxing factor released by 5-HT:distinct from nitric oxide in basilar arteries of normotensive and hypertensive rats. *Br. J. Pharmacol.* 1994;113:24-33.
 53. Moore PK, Al-Swayeh OA, Chong NWS, Evans RA, Gibson A. L-N^G- nitro arginine(L-NOARG), a novel, L-arginine-reversible inhibitor of endothelium-dependent vasodilatation in vitro. *Br. J. Pharmacol.* 1990;99:408-12.
 54. Nandor M, Una SR, John DC. Endothelial cGMP does not regulate basal release of endothelium-derived relaxing factor in culture. *Am. J. Physiol.* 1992;263: L113-21.
 55. Noboru F, Yoichi I, Masayoshi S, Yoshiyasu W, Masashi W, Michinobu H. Effects of L-N^G- monomethyl arginine on the cyclic GMP formations in rat mesenteric arteries. *Japan J. Pharmacol.* 1992;58:55-60.
 56. Rapoport RM, Murad F. Agonist-induced endothelium-dependent relaxation in rat thoracic aorta may be mediated through cGMP. *Circulation Research.* 1983;52(3):352-7.