

내피세포 Nitric Oxide 유리를 통한 山楂의 혈관이완 작용

채종구 · 김길현 · 신흥묵*

동국대학교 한의과대학 생리학교실

Crataegi Fructus-Induced Vascular Relaxation through Release of Endothelial Nitric Oxide

Jong Koo Chae, Gil-Whon Kim, Heung Mook Shin*

Department of Physiology, College of Oriental Medicine, Dongguk University

It had been known for a while that Crataegi Fructus(CF; Crataegus pinnatifida Bunge) had only a digestive effect. Recently, it has been demonstrated that CF also has an anti-hypertensive effect. However, its mechanism of relaxant effect has not been investigated yet. This study was examined to investigate the mechanism of vascular relaxation effect of CF in isolated rat thoracic aorta. CF revealed significant relaxation to phenylephrine(PE)-induced arterial contraction but much less to KCl-induced one. When CF was pretreated, it inhibited PE-induced contraction non-competitively. Methylene blue(10^{-6} M) completely blocked the relaxant effect of CF whereas L-NAME(10^{-5} M) did almost completely. However, atropine(10^{-6} M) did not have any influence on vascular relaxation effect of CF. Regarding cNOS activity, CF significantly increased its activity from rat whole brain homogenate in a dose dependent manner which was inhibited by L-NAME(10^{-5} M). On the other hand, CF did not affect on expression of TNF- α mRNA in RAW 264.7 cells, suggesting that CF is not related to iNOS activity. These results indicate that CF would be effective in relaxing vascular contraction through release of endothelial nitric oxide.

Key words : Crataegi Fructus, vascular relaxation, nitric oxide

서 론

山楂는 消食化積의 효능으로 식체를 소화시키고, 비위의 기능을 촉진하여 소화를 돕는 약제로 알려졌을 뿐만 아니라, 최근에는 그 혈압 강하작용이 알려지면서 고혈압, 관상동맥경화성 심장병과 같은 심혈관계 질환에 사용되고 있다.^{1,4)} 이러한山楂의 심혈관계에 질환에 대한 효능은 한의학적으로 혈류의 개선과 어혈을 제거하는 活血散瘀의 작용에 기인할 것으로 생각하여, 저자 등⁵⁾은 이미 토끼의 총경동맥을 사용하여 phenylephrine 유도 수축혈관에 대한 이완효과가 내피세포 의존성임을 확인한 바 있다. 또한 심혈관계 질환에 활성산소에 의한 지질과산화가 중요한 역할을 하는 바⁶⁾, 항산화작용으로서 free radical의 소거효과 및 지질과산화반응의 유의한 억제효과를 보고한 바 있다.⁵⁾ 그러나 그 혈관이완 효능에 대한 보다 자세한 기전은 알려지지 않고 있다.

이에 저자는 山楂의 혈관이완 효능에 대한 기전을 연구하기 위하여 혈관 수축성 조절에 중요한 역할을 하는 α -adrenaline 수용체, 칼슘통로 및 NO synthase에 미치는 영향을 관찰한 바 유의한 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

실험동물은 체중 300-350g의 雌性 Sprague-Dawley계 흰쥐를 恒溫恒濕 장치가 부착된 사육장에서 고형사료를 충분히 공급하면서 2주일 이상 실험실 환경에 적응시킨 후 사용하였다. 본 실험에 사용한山楂는 동국대학교 부속한방병원에서 구입하여 사용하였다.

2. 방법

1) 한약 추출물의 제조

山楂(Crataegus pinnatifida Bunge; Crataegi Fructus) 200g

* 교신저자 : 신흥묵, 경북 경주시 석장동 707, 동국대학교 한의과대학

E-mail : heungmuk@dongguk.ac.kr Tel : 054-770-2372

· 접수 : 2002/11/18 · 수정 : 2002/12/23 · 채택 : 2003/01/25

을 round flask에 넣고, 증류수 1000ml을 가하여 4시간 가열 추출한 후 추출액을 여과지로 여과하고, rotary evaporator로 감압 농축한 후 동결 건조하여 32.95g의 분말을 얻었다.

2) 혈관절편의 제작

흰쥐를 마취하여 희생시킨 다음, 즉시 복강을 열고 흉부 대동맥을 적출하였다. 이들 조직을 혼합기체(95%O₂+5%CO₂)로 포화시킨 Krebs-Ringer bicarbonate 용액(NaCl 119.8, KCl 4.6, CaCl₂ 2.5, MgCl₂ 1.2, NaHCO₃ 25, KH₂PO₄ 1.2, glucose 10, mM, pH 7.4)에 넣고 실온에서 혈관주위의 결합조직과 지방을 제거하고 약 2mm 정도로 잘라 고리형태의 대동맥환(aortic ring)을 제작하였다. 이렇게 만든 표본을 physiograph 장치에 연결하여 실험에 사용하였다.

3) 혈관수축의 측정

95%의 O₂와 5%의 CO₂를 혼합한 가스가 연속적으로 공급되고 37±0.5°C로 유지되는 Krebs-Ringer bicarbonate 용액이 peristaltic pump를 통하여 4 ml/min의 속도로 흐르고 있는 organ bath(용량 1.5 ml)에 혈관절편을 현수하여 한쪽 끝은 organ bath의 저부에 고정시키고 다른쪽 끝은 근 수축변환기에 연결하여 등척성 장력을 기록하였다. 미세장력 조절장치(Grass FT-03)를 이용하여 초기 장력을 1g 부하하고 1시간 이상 회복시킨 후 실험에 이용하였다. 혈관절편을 1μM의 phenylephrine을 사용하여 최고 수축기에 이르렀을 때, 시료약물을 용량별로 투여하였을 때 나타나는 반응을 physiograph(Grass 7, USA)로 연속 기록하였다. 또한 1μM의 phenylephrine 대신 0.01μM부터 3μM까지 phenylephrine의 농도를 증가시켰을 때 나타나는 수축반응에 대하여 山楂(0.5mg/ml, 1.0mg/ml, 2.0mg/ml)을 phenylephrine 투여 10분전에 전 처리하여 수축억제 효과를 관찰하였다. 고농도 KCl이 일으키는 세포막 탈분극에 의한 수축에 대한 이완효과는 65.4mM의 KCl로 수축시킨 후 그 크기가 일정하여졌을 때 山楂를 농도별로 첨가하여 나타난 반응을 physiograph에 연속 기록하였다.

4) NOS 활성 측정

뇌 샘플은 pentobarbital sodium(50mg/kg, i.p.)으로 마취한 쥐들로부터 획득하였다. 샘플들은 무게를 잰 후, 2mM EDTA를 포함하는 5×20mM Tris-HCl buffer (pH 7.4)에서 균질화 하였다. 그 후, 균질물을 4°C에서 10분 동안 원심분리(10,000×g)시킨 후, 상층액을 NOS 활성을 위해 사용 하였다. NOS의 활성은 약간의 변형을 가한 3H-L-citrulline의 변환에 기초한 방법을 이용하여 결정하였다. 즉 10μl의 샘플은 37°C에서, 50mM HEPES, 1mM DTT, 1mM NADPH, 0.1mM tetrahydrobiopterin, 1mM CaCl₂, 10μg/ml CalM, 10μM FAD와 12μM L-[2,3,4,5-3H] arginine (118mCi/mmol)을 포함하는 총 1000μl의 완충액 (pH7.8)과 함께 반응되어 졌다. 반응은 똑같은 완충액에 1ml의 Dowex 50W를 더함으로써 멈추어졌다. L-[3H] citrulline의 농도는 샘플을 원심분리 한 후 상층액을 이용하여 liquid scintillation counting에 의해 결정하였다. 단백질의 농도는 Bradford 방법에 의해 결정되어 졌다.

5) Northern에 의한 iNOS mRNA발현

배양 접시에 5×10⁶cells/60mm dish의 농도로 대식세포

(RAW 264.7 cells)을 심은 뒤, 부착을 위하여 하룻밤 동안 배양하였다. 새 배지로 갈아 준 뒤, 세포들을 다양한 농도의 山楂와 LPS(100ng/ml)+IFN γ (10units/ml)로 자극하였다. 37°C에서 4시간동안 배양한 후, 총 RNA를 1×10⁷ 대식세포로부터 Trizol 용액을 이용하여 추출하였다. 추출된 RNA(10μg)는 1.2% agarose 2.2M formaldehyde gel에 의해 분리된 후, 막으로 옮겨졌다. 그리고, 막은 68°C에서 1시간 동안 quick hybridization solution에서 random-primed 32P-labeled TNF-α cDNA probe와 혼합되어 졌다. 그 후, 막을 room temperature에서 15분 동안 2×SSC, 0.1% SDS로, 42°C에서 15분 동안 0.2×SSC, 0.1% SDS로 각각 두 번씩 씻은 후, 막을 X-ray film에 노출시켜 iNOS mRNA 발현 정도를 비교하였다. 표준 혼합은 32P-labeled GADPH cDNA Probe를 사용하여 수행되어 졌다.

실험결과

1. PE 유도 수축혈관에 대한 山楂의 이완효과

산사가 내피세포 의존 혈관이완에 미치는 미치는 영향을 규명하기 위하여 내피세포 존재하에서 1μM의 PE에 의한 수축혈관에 대하여 山楂의 농도별 이완효과를 측정하였다. 山楂는 0.1 mg/ml에서 59.35±21.33%, 0.3mg/ml에서 82.59±15.01%, 0.5mg/ml에서 94.61±7.52%의 이완효과를 나타내었다(Fig. 1).

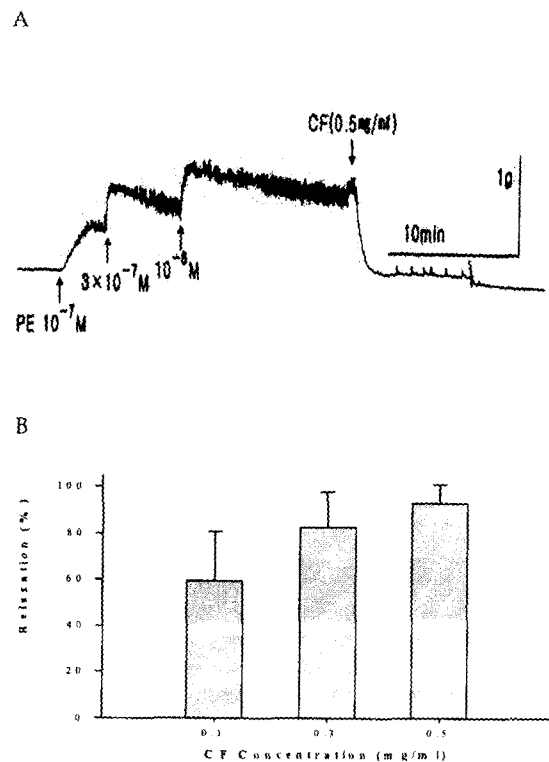


Fig. 1. A: A representative tracing of the effect of Crataegi Fructus extracts on PE-induced contraction in rat thoracic aorta. B: Relaxation effect of CF on PE-induced contraction in rat thoracic aorta. Percentages are referred to PE levels(B). Values are mean ± S.D.(n=4). CF, Crataegi Fructus.

2. 고농도 KCl 유도 수축혈관에 대한 山楂의 이완효과

山楂는 KCl이 일으키는 세포막 탈분극에 의한 수축을 농도 의존적으로 이완시켰으며 KCl(65.4mM)의 최대 수축에 대하여 0.1mg/ml에서 0.46±0.90%, 0.3mg/ml에서 7.74±1.95%, 0.5mg/ml에서 20.47±2.40%, 0.8mg/ml에서 42.86±3.69%, 1.0mg/ml에서 56.54±5.04%의 이완을 나타내었다(Fig. 2)

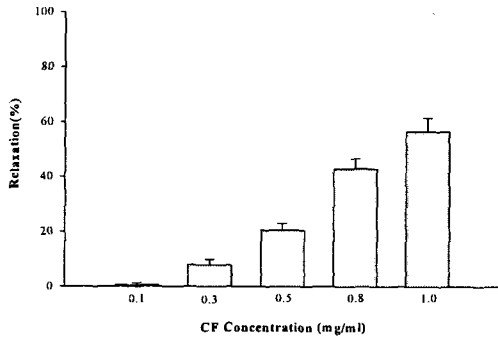


Fig. 2. Relaxation effect of CF on KCl-induced contraction in rat thoracic aorta. Percentages are referred to KCl levels. Values are mean ± S.D.(n=6). CF: Crataegi Fructus.

3. PE의 농도변화에 따른 山楂의 수축억제

山楂의 혈관이완 효과와 혈관 평활근 α-adrenaline 수용체와의 관련성을 조사하기 위하여 山楂의 농도를 달리하여 PE의 농도에 따른 수축의 억제 효과를 관찰하였다. 山楂는 농도 의존적으로 PE의 수축을 억제하였다. 3×10⁻⁶M의 PE 수축에 대하여 山楂는 0.5mg/ml에서 85.51±10.17%, 1.0mg/ml에서 65.0±9.1%, 2.0mg/ml에서 62.10±10.2%의 수축을 나타내었으며, 그 수축억제 양상은 비상경적 반응을 보였다(Fig.3).

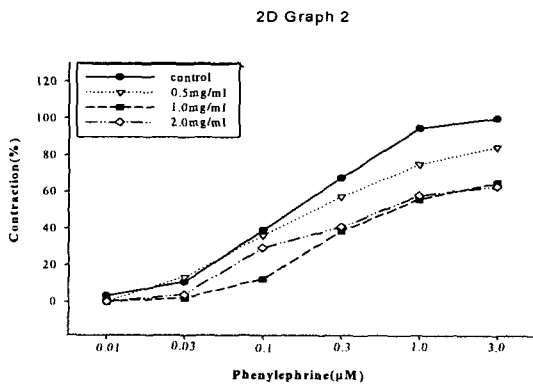


Fig. 3. Concentration response curves of PE-induced contraction in the various concentration of Crataegi Fructus in rat thoracic aorta. Data are expressed as relative percentage of the 3×10⁻⁶M PE-induced contraction. Each point represents mean ± S.D.(n=5).

4. L-NAME, methylene blue(MB) 및 atropine이 山楂의 혈관이완 작용에 미치는 영향

山楂의 혈관 이완효과가 내피세포에 의존하여 나타나므로 내피세포 의존성 이완인자인 nitric oxide(NO)의 관련성을 조사하기 위하여 L-NAME와 methylene blue(MB)를 전 처리한 후

PE에 의한 수축반응을 관찰하였다. 山楂는 0.1mg/ml에서 59.35±21.33%, 0.3mg/ml에서 82.59±15.01%, 0.5mg/ml에서 94.61±7.52%의 이완을 나타내었으나, NO 저해제인 L-NAME의 전처리에 의하여 각각 0%, 9.18±1.95%, 13.47±2.40%로 수축혈관에 대한 이완효과를 유의하게(p<0.01) 억제하였다(Fig. 4). 또 cGMP의 차단제인 methylene blue의 전처리는 山楂의 수축혈관에 대한 이완효과를 완전히 차단하였다(Fig. 5). 또한 무스카린성 수용체에 대한 영향을 확인하기 위하여 항 콜린성 대표적 약물인 atropine (muscarine blocker)의 전 처리에 의한 산사의 혈관이완 효능을 관찰하였다. Atropine은 PE의 수축혈관에 대한 山楂의 이완효과를 억제하지 못하였다(Fig. 6).

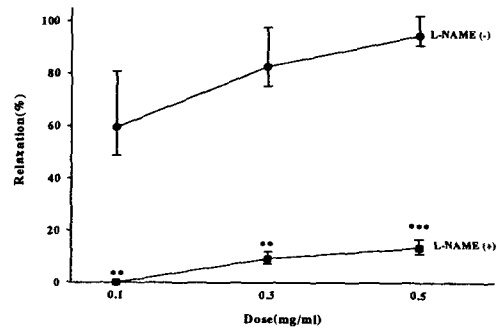


Fig. 4. Effect of L-NAME(10⁻⁵M) on relaxation effect of Crataegi Fructus in PE-induced concentration. Each point represents M±S.D.(n=4). ** p<0.01, *** p<0.001.

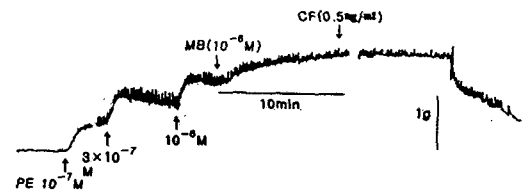


Fig. 5. Effect of methylene blue(10⁻⁶M) on relaxation of Crataegi Fructus in PE-induced rat thoracic aortic contraction.

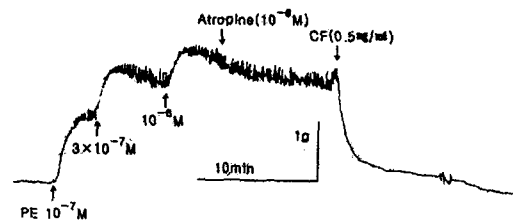


Fig. 6. Effect of atropine(10⁻⁶M) on relaxation of Crataegi Fructus(0.5 mg/ml) in PE-induced rat thoracic aortic contraction.

5. 山楂가 NOS 활성에 미치는 영향

Rat의 whole brain homogenate를 사용한 cNOS에 대한 활성도에서 대조군의 59620±9750dpm에 비해 山楂를 각각

1mg/ml, 2mg/ml 및 3mg/ml을 투여하였을 때 cNOS는 각각 87403 ± 5934 dpm, 105734 ± 375 dpm, 109510 ± 207 dpm으로 활성도가 증가되어 2mg/ml 및 3mg/ml에서 유의성이($p < 0.05$) 인정되었다(Fig. 7).

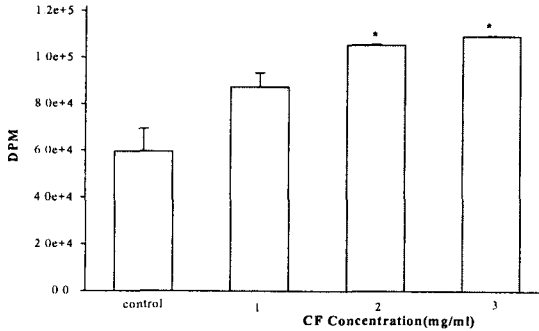


Fig. 7. The effect of Crataegi Fructus on cNOS activity in rat whole brain homogenate(A). The effect of L-NAME on cNOS activity of Crataegi Fructus in rat whole brain homogenate(B). * $p < 0.05$. CF: Crataegi Fructus.

6. LPS에 의한 TNF- α mRNA 발현에 대한 山槿의 효과

山槿가 cNOS 활성에 영향을 미치므로 iNOS의 발현에도 영향을 주는지를 확인하기 위하여 Northern blot을 시행하여, RAW 264.7 대식세포에서의 TNF- α mRNA의 발현을 관찰하였다. 결과에서 보는바와 같이 山槿는 TNF- α mRNA의 발현에 영향 미치지 않았다(Fig. 8).

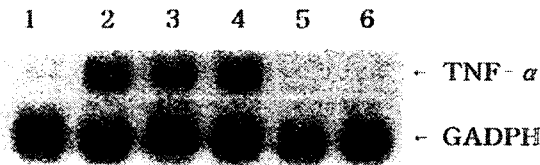


Fig. 8. Northern blot analysis of TNF- α mRNA expression on RAW 264.7 cells stimulated by LPS(100ng/ml). Lane 1, CONTROL; lane 2, LPS(100ng/ml); lane 3, LPS(100ng/ml)+Crataegi Fructus(0.25mg/ml); lane 4, LPS(100ng/ml)+Crataegi Fructus(0.3mg/ml); lane 5, Crataegi Fructus(0.25mg/ml); lane 6, Crataegi Fructus(0.3mg/ml). GADPH, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase.

고찰

뇌혈관계나 심혈관계 장애에 의한 현대인의 사망률이 계속 증가추세에 있으며 기존 약제에 의한 치료 및 예방에 한계가 드러나고 있다. 이러한 시점에서 한의학의 심혈관계에 대한 생리를 바탕으로 혈관계 질환에 처방되고 있는 약제의 효능과 고유한 작용기전을 연구하는 것은 고혈압, 중풍 및 기타 뇌혈관질환의 치료와 예방에 대한 한방 치료기술개발에 단서를 제공할 것으로 기대된다. 山槿는 性이 微溫하고, 味는 酸甘하며, 脾·胃·肝經으로 歸經한다. 그 消食化積의 효능은 食滯를 소화시키고 食積으로 발생하는 복부팽만이나 소화불량, 설사의 증을 치료하며, 活血散瘀의 효능은 行血하여 瘀血을 제거하는 작용이 있어 産後의 兒枕痛과 惡露不盡을 다스린다¹⁻⁴⁾. 특히 活血散瘀의 효능은 行血하여 瘀血을 제거하는 작용이 있어 약리화적으로 심혈관계의 생리에

유익하게 작용하여 혈류장이나 심혈관계 질환의 개선과 혈압강하에 일정한 효과를 발휘할 것으로 생각된다. 혈관의 비정상적인 수축은 고혈압, 관상동맥 등의 지속적인 혈관수축과 같은 질병의 중요한 원인이 된다. 따라서 혈관의 긴장성 조절의 기전을 파악하는 것은 이들 질병에 대한 효과적인 치료 기술의 개발을 할 수 있게 한다. 저자는 이미 고혈압 및 기타혈관계 질환에 처방되는 山槿의 혈관이완의 효능을 보고한 바⁹⁾, 그 이완의 기전을 규명하여 한약의 효능을 객관적으로 규명하고자 α -adrenaline 수용체 차단작용, 칼슘통로 차단작용 및 NO synthase에 미치는 영향을 관찰하였다. 山槿는 α -adrenaline 수용체와 결합하는 phenylephrine (PE)의 수축 혈관에 대하여 0.5mg/ml의 농도에서 약 94%의 이완효과를 나타내었다. 한편 K⁺ channel 또한 평활근의 수축에 중요한 역할을 한다. 많은 생리적 혈관이완물질은 K⁺ channel을 활성화 시키는 반면 혈관 수축제는 K⁺ channel을 억제한다. 山槿는 0.5mg/ml의 농도에서 PE에 의한 수축에 대하여 94% 이상의 이완효력을 나타내었으나, 고농도 KCl이 일으키는 세포막 탈분극에 의한 K⁺ channel의 불활성에 의한 혈관의 수축에 대하여는 약 20%의 이완효력을 보이므로써, PE에 의한 수축에 대하여 상대적으로 강한 이완작용을 보였다. 이는 山槿의 혈관이완작용이 α -adrenalin 수용체의 차단에 의한 가능성을 시사하기 때문에 이를 조사하기 위하여 PE의 농도별 수축에 의한 수축억제 효과를 관찰한 결과 비정상적 길항작용을 나타내었다.

한편 혈관의 내피세포가 있는 경우는 약물에 따라 내피세포-의존적 이완 물질 (endothelium derived relaxing factor, EDRF)을 유리하여 이완을 일으키는데, EDRF는 그 후 nitric oxide(NO)임이 밝혀짐으로써⁷⁾ 많은 연구가 진행되었으며 NO는 생리적으로 중요한 혈관 이완인자로 guanylate cyclase를 활성화시켜 cGMP를 형성하므로써 혈관이완에 관여하게 된다^{8,9)}. 이러한 연구가 가능하게 된 것은 NO를 억제하는 L-NAME과 같은 NO inhibitor가 개발되었기에 가능하였다. NO synthase(NOS)에 의한 NO의 생성은 cGMP의 농도를 증가시켜 세포내 Ca²⁺ 농도의 증가를 억제하므로써 혈관을 이완시킨다⁹⁾. 따라서 山槿가 NO의 생성에 관여하는지를 확인하기 위하여 NOS 억제제인 L-NAME을 전 처리한 후 이완 반응을 살펴보았다. 그 결과 L-NAME은 山槿의 혈관이완 효능을 유의하게($P < 0.01$) 억제하였다. NOS에는 내피세포에 존재하는 eNOS(endothelial NOS)와 뇌에서 신경전달 역할에 관여하는 nNOS(neuronal NOS)의 cNOS(constitutive NOS)와 대식세포에서 만들어지는 iNOS(inducible NOS)의 3가지 유형이 존재한다^{11,12)}. cNOS는 내피세포, 신경세포, 또는 심근세포에서 상존하며 칼슘에 의하여 활성화되고, iNOS는 혈관 평활근세포, 섬유 아세포 또는 대식세포에서 면역학적 자극이나 염증성 자극에 의하여 합성되며 Ca²⁺ 비 의존적이다. 내피세포에서 생성된 NO는 혈관 평활근으로 확산되어 들어가 guanylyl cyclase를 활성화시켜 cyclic GMP(cGMP)를 생성하고, cGMP는 G-kinasse를 활성화시켜 Ca²⁺의 배출 촉진과 myosin light chain kinase(MLCK)를 불 활성화시켜 평활근을 이완시킨다. 따라서 山槿의 경우 내피세포에 존재하는 cNOS를 선택적으로 활성화시키는지를 살펴보고자 cNOS가 풍부한 대뇌조직에 대한 山槿의

cNOS 활성도를 측정하였다. 대조군에 비하여 山槿(1, 2, 3mg/ml)를 처리한 군에서 농도 의존적으로 cNOS의 활성도가 증가하여 2mg/ml 과 3mg/ml에서 유의한 증가를 나타내었다. 그러나 cGMP 차단제인 methylen blue의 전처리는 山槿의 수축 혈관에 대한 이완효능을 차단하였다. 또 山槿의 iNOS에 의한 NO 생성의 효과를 확인하기 위한 전 단계로 RAW 264.7 대식세포에서 LPS의 자극에 의한 tumor necrosis factor- α (TNF- α)의 발현을 관찰하였다. TNF- α 는 세포내 신호전달 물질로서 iNOS의 발현에 관여하며 생리활성과 유해 세포를 제거하는 상반된 두 기능을 수행한다^{13,14}. 본 실험에서 LPS에 의한 TNF- α 의 발현을 관찰할 수 있었으나 山槿는 TNF- α mRNA의 발현에 영향을 주지 않았다. 이는 山槿가 iNOS의 발현에는 관여하지 않음을 시사한다. 이는 山槿의 혈관이완 효능이 cNOS의 활성을 통한 NO의 생성과 관련이 있음을 말한다. 또한 산사의 혈관이완작용이 콜린성 신경의 자극과 관계가 있는지를 확인하기 위하여 대표적 항무스카린성 약물인 atropine의 투여에 의한 산사의 혈관이완 효과를 관찰하였다. 혈관을 이완시키는 무스카린성 수용체는 혈관 내피세포에 존재하여 콜린성 자극에 의해 내피 세포성 이완인자가 유리되어 혈관이 확장된다¹⁵. 본 실험에서 atropine의 투여는 산사의 혈관 이완효능을 차단하지 못하였다. 이로서 산사의 혈관이완 효능은 콜린성 신경의 자극과 관계가 없음을 시사한다. 이상의 실험 결과로부터 山槿의 혈관이완 효능은 혈관 내피세포의 EDRF, 즉 NO를 유리시키는 성질로 인하여 이완작용이 발휘되는 것으로 볼 수 있다. 즉 내피세포성 이완인자의 분비는 세포내 cyclic GMP 농도를 증가시키고, cyclic GMP에 의해 세포막에 존재하는 K⁺ channel이 활성화되어 세포내 Ca²⁺ 농도를 증가시키는 여러 경로들이 억제되어 그 이완효과가 나타나는 것으로 생각된다.

결 과

山槿의 Phenylephrine 및 KCl에 의한 혈관수축의 이완효과와 그 기전에 관한 연구를 통하여 다음의 결론을 얻었다. 山槿는 phenylephrine에 의한 혈관수축에 대하여 유의한 혈관이완 효능을 나타내었다. Phenylephrine의 농도별 수축에 의한 농도별 山槿의 이완효능은 비선형적 길항작용을 보였다. 山槿의 혈관이완 효능은 L-NAME, MB의 전 처리에 의하여 유의하게 억제되었다. 그러나 Atropine의 처리에 의하여 영향을 받지 않았다. 또한 山槿는 농도 의존적으로 c-NOS의 활성을 유의하게 증가시켰다. 한편 i-NOS 활성에 대한 관찰로서 TNF- α mRNA 발현에 아무런 영향을 미치지 않았다. 이상의 결과로부터 山槿의 혈관이완 작용의 기전은 NOS의 활성에 의한 NO의 생성으로 cGMP가 증가되고 이로써 세포막에 존재하는 K⁺ channel이 활성화되어 세포내 Ca²⁺ 농도를 증가시키는 여러 경로들이 억제되어 그 이완효과가 발휘되는 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 동국대학교 논문게재연구비 지원으로 이루어졌음

참고문헌

1. 康秉秀, 金永坂, 臨床配合本草學, 서울, 永林社, 477-478, 1984.
2. 姚瀾, 本草分經, 上海, 上海科學技術出版社, 104, 1994.
3. 李時珍: 本草綱目, 서울, 고문사, 1014, 1980.
4. 仲昂庭, 本草崇原集說, 北京, 人民衛生出版社, 89-91, 1997.
5. 손창우, 채종구, 김길환, 신흥목, 山槿의 혈관이완 효능과 항산화작용. 동의생리병리학회지, 16(1): 67-71, 2002.
6. Chang K.C., Chung S.Y., Chong W.S., Suh J.S., Kim S.H., Noh B.W., Seong H.J., Chun K.W. possible superoxide-radical induced alteration of vascular reactivity in aortas from streptozotocin-treated rats. J Pharmacol Exp. Ther 266:992-1000, 1993.
7. Ignarro L.J. Endothelium-derived nitric oxide: action and properties. FASEB J 3(1): 31-36, 1989.
8. Ignarro L.J. & Kadowitz P. The pharmacological and physiological role of cyclic GMP in vascular smooth muscle relaxation. Ann Rev Pharmacol Toxicol 25:171-191, 1985.
9. Lincoln T.M., Cornwell T.L., Komalavilas P., MacMillan-Crow L.A. & Boerth N.J. The nitric oxide-cyclic GMP signaling system. In: M. Barany(ed) Biochemistry of Smooth muscle Contraction, pp 257-268. Academic Press, San Diego, CA, 1996.
10. Fleming I, Busse R. NO: the primary EDRF. J Moll Cell Cardiol 31:15-22, 1999.
11. Marletta M.A. J Biol Chem 268:12231-12234, 1993.
12. Masters B.S.S., McMillan K., Sheta E.A., Nishimura J.S. Roman L.J. & martasek P. FASEB J 10:552-558, 1996.
13. Masden, P.A., B.J. Ballermann, Tumor necrosis factor α activates a soluble guanylate cyclase in bovine glomerular mesangial cells via an L-arginine-dependent mechanism. J. Exp. Med. 172: 1843-1852, 1990.
14. Sato, S., Tominaga, T. Ohnishi, S.T. EPR spin trapping study of nitric-oxide formation during bilateral carotid occlusion and focal cerebral-ischemia in the rat. In vivo detection of oxide radial by electron-paramagnetic resonance spin trapping. Brain Res. 614: 342-346, 1993.
15. 김경환 엮음, 이우주의 약리학 강의, 서울, 의학문화사, 447-451, 1984.