

加味四物湯이 고혈압 병태 모델과 활성산소에 미치는 영향

송낙근 · 구영선¹ · 김동희*

대전대학교 한의과대학 병리학교실, 1: 대전대학교 한의과대학 청주해화의원

Effect of Kamisamul-tang on Hypertension and Free Radical

Nak Kun Song, Young Sun Koo¹, Dong Hee Kim*

Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Daejeon University, 1: College of Oriental Medicine, Daejeon University

Various kinds of related parameters on hypertension such as anti-oxygen effect, ACE, weight of body, hwart and kidney, blood pressure, heartbeat rates, contents of aldosterone, catecholamine, change rates of plasma constituents, uric acid, BUN, creatinine were determined to verify the effects on hypertension by Kamisamul-tang (KSMT). And the results are concluded as follows. KSMT did not show any cytotoxicity at the range of concentration (1-250 $\mu\text{g}/\text{ml}$) on the human fibroblast cell (hFCs). KSMT decreased the production of reactive oxygen species (ROS) and DPPH generation depending on the concentration. KSMT significantly inhibited angiotensin converting enzyme(ACE) activity depending on the concentration compared with control. KSMT maintained body weight of body, heat and kidney nearly normal group in hypertensive rat induced by DOCA-salt. KSMT significantly decreased blood pressure and heart beat rate compared with control in hypertensive rat induced by DOCA-salt. KSMT significantly decreased aldosterone, dopamine, norepinephrine, epinephrine compared with control in hypertensive rat induced by DOCA-salt. KSMT significantly decreased the level of potassium and chloride compared with control whereas increased that of calcium significantly in hypertensive rat induced by DOCA-salt. KSMT significantly decreased the level of uric acid and BUN compared with control in hypertensive rat induced by DOCA-salt. It is verified experimentally that Kamisamultang (KMST) which has been used broadly as a clinical therapeutics in oriental medicine is effective for anti-hypertension mechanism. And it could be applied to develop the reliable prescriptions for anti-hypertension in the future.

Key words : Kamisamul-tang (加味四物湯, KSMT), Free Radical, DOCA-salt, blood pressure, aldosterone

서론

고혈압은 뇌졸중이나 심장, 신장병 등의 합병증을 일으켜 사망율을 높이는 질환으로, 그 자체에 의한 문제 보다는 높은 혈압이 계속 유지되면서 서서히 혈관 장애가 진행되어 치명적인 합병증을 유발한다.

현재 고혈압 치료약으로는 α , β -차단제, 칼슘길항제, ACE 저해제, angiotensin II 수용체 길항제 및 이뇨제 등 작용 기전이 다른 여러 가지 약제들이 사용되고 있으나¹⁻³⁾ 장기적인 약물 치료에 의한 두통, 성기능 장애, 무기력증, 어지럼증, 우울증 등의 부작용⁴⁾이 많아 최근 천연물 유래 치료제에 관한 연구에 관심이 모아지고 있다⁵⁾.

한의학에서 고혈압은 肝陽上亢, 肝風, 眩暈, 頭痛, 中風 등의 범주에 속하며⁶⁻¹⁰⁾, 氣鬱, 風, 火, 陰虛 등이 주 병인이며, 이로 인한 痰飲, 瘀血 등이 이차적 병인으로 인식되고 있다⁶⁻¹⁰⁾. 주로 간, 심, 신계 병증에서 관련 병기와 병증을 찾을 수 있다.

특히 한의학에서 전문 분야로 특화되어 있는 '중풍'을 유발시키는 원인중의 하나가 고혈압이라는 점에서 이에 대한 연구가 다양하게 이루어져왔다. 국립도서관에 비치된 고혈압에 관한 한의학 논문이 125건으로, 뇌손상, 뇌허혈 등의 관련 논문 등과 합치면, 단일 증상 논문으로는 가장 많은 수를 차지하고 있다.

최근 3년간 보고된 단일 약물에 대한 연구로 조¹¹⁾는 "고지혈증과 고혈압에 대한 枸杞子와 地骨皮의 효능"을, 박¹²⁾은 "玄參의 유전자 분석 및 자발성 고혈압환쥐의 혈압에 미치는 영향"을, 조¹³⁾는 "貝母 전탕액의 고혈압 백서 혈압에 미치는 영향"을, 배¹⁴⁾는 "山査의 내피세포 의존성 혈관이완효과 기전"을, 황¹⁵⁾은 "竹瀝이 자발성 고혈압 백서에 미치는 영향"을, 김¹⁶⁾은 "柿根과 柿葉이

* 교신저자 : 김동희, 대전시 동구 용운동 96-3 대전대학교 한의과대학

· E-mail : dhkim@dju.ac.kr, · Tel : 042-280-2623

· 접수 : 2006/09/26 · 수정 : 2006/10/30 · 채택 : 2006/11/27

phenylephrine으로 유발된 백서의 수축 혈관에 미치는 영향"을 각각 보고한 바가 있다.

본 실험과 같은 처방에 대한 연구로는 消風湯¹⁷⁾을 비롯하여 총 20여종 처방의 항고혈압 작용에 대한 연구가 보고되었다. 특히 최근에는 기존의 기본 처방에 대한 검색보다는 임상에서 실제 활용되고 있는 처방에 대한 검색이 활발하게 이루어지고 있다. 이러한 연구 결과는 고혈압에 대한 신규 처방 개발과 한의학의 객관화 작업에 중요한 EBM (Evidence based medicine) 구축에 중요한 기초적 자료를 제공하고 있다.

본 연구의 시료인 加味四物湯 역시 현재 임상에서 사용되고 있는 처방으로, 사물탕에 活血化痰, 重鎮安神劑가 가미되어 고혈압을 비롯한 순환기 질환에 다용되고 있다. 이미 조¹⁸⁾는 본 시료와 유사한 “加味四物湯이 高血壓에 미치는 影響”을 보고한 바가 있다.

결국 한의학에서 고혈압의 최종 병태는 다양한 원인으로 인하여 이차적 산물인 瘀血과 痰飲이 經脈을 저체함으로써 발생하고, 이로 인한 약순환이 지속되면서 神形이 실조되어 중풍 등의 뇌질환이 발생한다고 인식하고 있다. 특히 한의원과 한방 병원에 내원하는 고혈압 환자의 대부분이 수년 이상의 병력을 지닌 환자로, 상기 병태를 지니고 있어 四物湯에 다양한 瘀血劑와 重鎮安神劑를 가미한 처방이 빈용되고 있다.

이에 저자는 임상 활용 처방인 加味四物湯의 항고혈압 효능을 객관적으로 증명하기 위하여 deoxycorticosterone acetate (DOCA)-salt에 의한 고혈압 병태 모델¹⁹⁻²¹⁾을 통하여 다양한 혈압 관련 인자들의 변화를 살펴보고, 고혈압의 혈관 병리 기전과 유관한 활성산소 활성에 미치는 영향 등을 측정하였다.

실 험

1. 재료

1) 약재

본 실험에 사용한 加味四物湯 (Kamisamul-tang 이하 KSMT로 지칭함)의 구성 약물은 대전대학교 부속한방병원에서 구입 후 정선하여 사용하였다.

Table 1. The Composition of Kamisamul-tang (KSMT)

韓藥名	學名	用量 (g)
熟地黃(九蒸)	<i>Rehmanniae Radix Preparat</i>	4
當歸	<i>Angelicae Gigantis Radix</i>	4
川芎	<i>Cnidii Rhizoma</i>	4
白芍藥	<i>Paeoniae Radix Alba</i>	4
丹參	<i>Salviae Miltiorrhizae Radix</i>	6
牛膝	<i>Achyranthis Bidentatae Radix</i>	6
山查肉	<i>Crataegi Fructus</i>	6
龍骨	<i>Fossiliae Ossid Mastodi</i>	4
牡蠣	<i>Ostreae Concha</i>	4
鈎鈎藤	<i>Uncariae Ramulus et Uncus</i>	6
稀筴(酒蒸)	<i>Siegesbeckiae Herba</i>	8
Total amount		56

2) 시약

Dulbecco's phosphate buffered saline (DPBS-A; Sigma Co., U.S.A.), Normal saline (중외제약, Korea), RPMI 1640 (Sigma

Co., U.S.A.), Collagenase A (BM, U.S.A.), DNase type I (Sigma Co., U.S.A.), Penicillin (Sigma Co., U.S.A.), Streptomycin (Sigma Co., U.S.A.), Deoxycorticosterone Acetate (DOCA; Sigma, U.S.A.), Amphotericin B (Sigma Co., U.S.A.), Trypsin (invitrogen, U.S.A.), Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA; Sigma, U.S.A.), 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT; Sigma, U.S.A.), Dimethyl sulfoxide (DMSO; Sowa chemical, Japan), 3.8% Sodium citrate (Sigma Co., U.S.A.), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH; Sigma Co., U.S.A.), Angiotensin converting enzyme (ACE, Sigma Co., U.S.A.), Hippuryl-his-leu acetate (Sigma Co., U.S.A.), 5-(and-6)-chloromethyl-2',7'-dichloro dihydrofluorescein diacetate acetyler (CM-H₂DCFDA; invitrogen Co., U.S.A.), H₂O₂ (Dongyang Chem., Korea), Ethylactate (Junsei, Japan), [1-14C] oleoyl-CoA (invitrogen, U.S.A.), Potassium Phosphate Monobasic (KH₂PO₄; Yakuri, Japan), Bovine serum albumin (BSA; Sigma, U.S.A.), 등을 사용하였고, 이 밖에 일반 시약은 특급 시약을 사용하였다.

3) 동물

본 실험에 사용된 실험용 쥐는 7주령, 체중 200-220 g의 雌性 SD (Sprague-Dawley Rat, 대한바이오파크, 충주, Korea)은 실험 당일까지 고품사료 (슈퍼피드, 강원도, Korea)를 자유 식이 하면서 물을 충분히 공급하였다. 실온 22 ± 2°C, 상대습도 50 ± 10%, 조명시간 12시간 (07:00 ~ 19:00), 조도 150 ~ 300 Lux로 설정하여 2주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 체중 변화가 일정하고 건강한 쥐만을 선별하여 실험에 사용하였다. 사료 조성 내용과 분량은 다음과 같다.

Table 2. Composition of Basal Diet

조단백질	22.1% 이상
조지방	3.5% 이상
조섬유	5.0% 이하
조회분	8.0% 이하
칼슘	0.6% 이상
인	0.4% 이상

2. 기기

본 연구에 사용된 기기는 Ice-maker (Vision, Korea), Serum separator (녹십자, Korea), Minos-ST (Cobas Co., France), Centrifuge (Beckman Co., U.S.A.), Rotary vacuum evaporator (Büchi 461, Switzerland), Deep freezer (Sanyo Co., Japan), Freeze dryer (Eyela Co., Japan), Autoclave (Hirayama, Japan), Ultrasonic cleaner (Branson Ultrasonics Co., U.S.A.), ELISA reader (Molecular Device, U.S.A.), Roller Mixer (Gowon scientific technology Co., Korea), 한약유출기 (DWP-1800T, 대웅, Korea), Spectrophotometer (UV-2450, Shimazu, Japan), Fluorescence activated cell sorter (FACS, Beckman Co., U.S.A.), Non invasive blood pressure system (CODA6, Kent, U.S.A.), Balance (Cass, Korea), 생화학기기 (AU400, Olympus, U.S.A.), 전해질 측정기 (NOVA5, Japan), 감마 카운터기 (WIZARD 1470,

Finland) 등을 사용하였다.

3. 방법

1) 약물 추출

시료 추출 방법은 KSMT 5점을 한약 약탕기 (DWP-1800T, 대웅)에 넣고, 정제수 (동원샘물) 1500 ml와 같이 혼합하여 3시간 열탕하여 추출한 후 흡입 여과하였다. 이를 rotary vacuum evaporator (Büchi 461, EYELA)에서 감압 농축하여 KSMT를 분리한 후, 다시 동결건조기 (EYELA, FDU-540, Japan)에서 24시간 동결 건조하여 분말 35 g을 얻었으며, 얻어진 분말은 초저온냉동고 (-80℃)에서 보관하면서, 실험에 따라 필요한 농도로 증류수에 희석하여 사용하였다.

2) *In vitro*

(1) Human fibroblast cells (hFCs) 배양

피부 조직을 cool D-PBS로 3회 세척한 후 작은 조각으로 절단한 다음, conical tube (15 ml)에 넣어 1,400 rpm에서 5분간 원심분리 하였다. 이 tube에 RPMI 1640 (containing collagenase A (5 mg/ml, BM, Indianapolis, IN, USA)와 DNase type I (0.15 mg/ml, Sigma. Co., U.S.A.), antibiotics (penicillinm 104 U/ml, streptomycin 10 mg/ml, amphotericin B 25 µg/ml))를 넣고 37℃ CO₂ 배양기에서 hFCs를 2 시간 동안 배양하였다. 여기에 0.5% trypsin-0.2% EDTA를 첨가하여 30 분간 배양하고, 인산완충생리식염수 (PBS)로 약 2회 1,500 rpm에서 원심분리한 후 RPMI 1640-10% FBS로 1주일 동안 배양하였다. 이를 다시 0.5% trypsin-0.2% EDTA로 분리하였으며, 이를 연속으로 1주일씩 3회 반복한 후 살아있는 부착세포를 RPMI 1640-10% FBS 배양액에서 배양하였다.

(2) Cell viability 측정

세포독성 측정은 MTT assay로 하였다. 배양한 human fibroblast cells를 96 well plate에 2×10⁴ cell 씩 분주한 후 배양하고, 24시간 후 KSMT를 500, 250, 125, 62.5, 31.25 µg/ml 농도를 투여하였다. 다시 48시간 배양 후 부유액을 제거하고, 각 well에 MTT solution 100 µl 씩 첨가하여 4시간 동안 배양하였다. 배양 후 부유액을 제거하고 각 well에 100 µl의 DMSO를 첨가하여 37℃ CO₂ 배양기에서 30분 동안 반응 시킨 후 ELISA reader를 사용하여 wave length 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

(3) 항산화 활성 측정

① 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 소거능 측정

150mM DPPH/EtOH 450 µl에 KSMT 1000, 500, 250, 125, 62.5 µg/ml 농도로 희석한 후, 50µl 첨가하여 37℃에서 30분간 반응시켰다. 이를 흡광도 517 nm에서 측정하여 아래의 방법으로 계산하였다.

$$\text{DPPH 소거능(\%)} = \left(\frac{\text{대조군의 흡광도} - \text{KSMT 투여군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \right) \times 100$$

② Reactive Oxygen Species (ROS) 측정

Bovine endothelial cells (CPEA) 내에서 생성된 ROS를 측정하기 위하여 24 well plate의 각 well에 5 × 10⁵ cells씩을 분주하고, 50 uM의 H₂O₂를 처리한 후 KSMT 100, 50 µg/ml을 처리하

고, 37℃, CO₂ 배양기에서 48시간 동안 배양하였다. 배양 종료 후 5-(and-6)-chloromethyl-2',7'-dichloro dihydrofluorescein diacetate, acetyler (CM- H₂DCFDA) 50 mM을 처리하여 5 분간 배양한 후, 2회 수세하였다. 이를 유세포형광분석기로 세포내 형광 ROS를 측정하였으며, 대조군은 H₂O₂만 처리하였다.

(4) Angiotensin converting enzyme (ACE) 저해능 측정

Cushman & Cheung의 방법²²⁾으로 측정하였다. 각 농도 (1000, 500, 250, 125, 62.5 µg/ml)의 KSMT 10 µl, 기질 Hip-His-Leu 110 µl, 그리고 ACE 용액 30 µl을 혼합하여 37℃에서 60분 동안 반응시킨 후 1N HCl 110 µl를 넣어 반응을 정지시켰다. 이 반응액에 1 ml의 ethylacetate를 넣고 교반 후 3,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 얻은 상층액 750 µl를 95℃에서 10분 동안 건조하여 용매를 완전히 제거하고, 1 ml의 증류수로 용해시켜 228 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 시료 대신 증류수를 혼합시켰다.

$$\text{ACE inhibition activity (\%)} = \left(1 - \frac{\text{KSMT 투여군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \right) \times 100$$

3) *In vivo*

(1) DOCA-salt에 의한 고혈압 유발

Sprague-Dawley (SD) rat 을 무작위로 6마리씩 나누어 정상군 (Normal), 대조군 (Control) 그리고 실험군 (KSMT)으로 설정하였다. 대조군과 KSMT 투여군은 deoxycorticosterone acetate (DOCA) 25 mg/kg을 주 3회씩 8주간 피하 주사와 함께 1% NaCl을 식수로 제공 하였고, 실험군은 KSMT를 성인 기준 하루 두 점 분량 (117 mg/kg)으로 매일 투여하였다.

(2) 체중 및 장기 무게 측정

① 체중 측정

몸무게는 실험 종료 하루 전에 전자저울 (CAS, Korea)을 이용하여 측정하였다.

② 심장과 신장 무게 측정

심장과 신장은 ether로 마취 후 채혈한 다음에 적출하여 지방과 다른 조직들을 제거 하였다. 그리고 10% 포르말린에 넣어서 3시간 정도 방치 후 무게를 측정하여 몸무게에 대한 무게를 나타내었다.

(3) 혈압 및 심박수 측정

혈압과 심박수는 혈압측정기 (CODA6, Kent, U.S.A)를 사용하여 측정하였다. 동물들의 안정을 위해 측정 전에 3회 이상 홀더에 적응을 시켰고, 혈압과 심박수는 10회 이상 측정하여 평균을 결과로 사용하였다.

(4) 채혈 및 혈장 분리

KSMT의 투여 종료 후 12시간 절식 후 ether로 마취시킨 다음 심장에서 12ml이상의 혈액을 취하여 5 ml을 tube에 넣어 6,500rpm에 15분간 원심분리 시켜 혈청을 분리하였고, 나머지 6 ml의 혈액을 EDTA 첨가 튜브에 넣어 혈장을 분리하였다.

(5) 혈청 및 혈장 성분의 측정

분리한 혈청은 생화학 기기 (AU400, Olimpus, U.S.A)를 이용하여 GOT, GPT, BUN, creatinine, uric acid를 측정하였고, Na⁺, Ca²⁺, K⁺, Cl⁻의 측정은 전해질 측정기 (NOVA5, Japan)를

이용하였다. 혈장 성분은 감마 카운터기 (WIZARD 1470, Finland)를 이용하여 핵의학적 방법으로 aldosterone, dopamine, norepinephrine, epinephrine을 측정하였다.

4) 통계 처리

본 실험에서 얻은 결과를 ANOVA multi t-test (JAVA, Bonferroni Ver 1.1)로 분석하여 p값을 구하였다. 각 대조군을 정상군과 실험군을 대조군과 비교하여 p<0.05 일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

1. 독성 검사

1) Human Fibroblast Cells (hFCs)에 대한 세포독성

hFCs에 대한 세포독성을 관찰한 결과, 대조군의 세포생존율이 100±2.4 (%)인데 비하여, KSMT 투여군 500, 250, 125, 62.5, 31.25 µg/ml의 농도에서는 각각 86.2±9.7, 91.1±9.1, 93.4±1.8, 97.1±8.9, 97.0±2.81 (%)로 나타났다(Fig. 1).

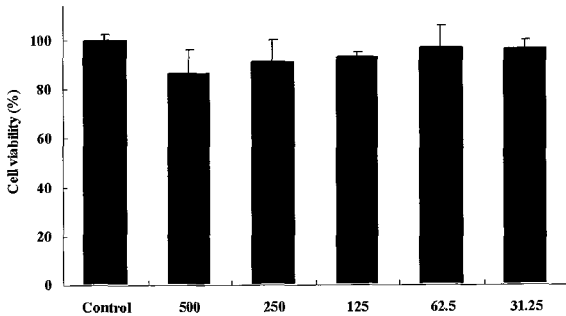


Fig. 1. Cytotoxicity of KSMT on Human Fibroblast Cells (hFCs) Human lung fibroblast cells (hFCs) were treated with various concentration(31.25, 62.5, 125, 250, 500 µg/ml) of the KSMT extract.

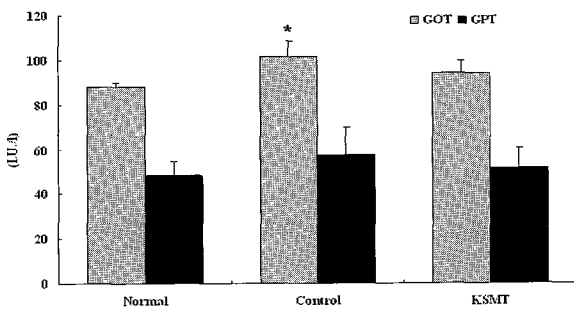


Fig. 2. Effect of KSMT on the GOT and GPT in DOCA-salt hypertensive rat. The control group were injected subcutaneous with DOCA for 8 weeks (three times a week, 25 mg/kg). The treatment group were injected subcutaneous with DOCA and orally administered with KSMT extract for 8 weeks (once a day, 117 mg/kg/ 200 µl). Normal : Normal SD rat, Control : DOCA-Salt, KSMT : DOCA-Salt and KSMT. Values represent the means ± SD of 6 rats. * : P <0.05 compared to normal group.

2) 간기능에 미치는 영향

간 기능 측정의 지표 성분인 GOT는 대조군이 101.8±6.9 (I.U/I), 정상군이 88.2±1.9 (I.U/I)로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (* : P <0.05)증가를 나타냈다. KSMT 투여군에서는 94.3±5.5 (I.U/I)로 감소하였으나 유의성은 없었다.

GPT 측정에서는, 정상군, 대조군, KSMT 투여군에서 각각 48.0±6.2 (I.U/I), 57.0±12.8 (I.U/I), 51.2±8.9 (I.U/I)로 큰 차이가 없었다. 결과적으로 KSMT 투여군은 GOT와 GPT의 수치가 정상 범위로 나타나 약물에 의한 간 독성은 발견되지 않았다(Fig. 2).

2. In vitro

1) 항산화 활성에 미치는 영향

(1) DPPH 소거능에 미치는 영향

DPPH의 소거 활성은 1000 µg, 500 µg, 250 µg, 125 µg, 62.5 µg/ml 농도에서 각각 80.3±1.6, 77.6±1.2, 65.1±0.8, 61.1±3.0, 52.4±1.8 (%)의 소거 활성 효과를 나타내었다(Fig. 3).

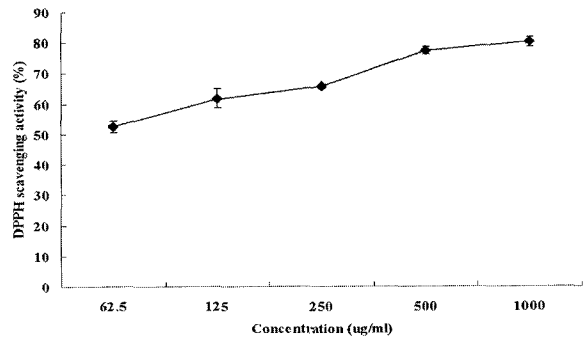


Fig. 3. Scavenging activity of KSMT on DPPH free radical. KSMT were reacted with DPPH for 30 minutes at 37°C, and the absorbance at 517nm due to DPPH radical was determined. The results are the mean ± SD of three independent experiments.

(2) ROS에 미치는 영향

Bovine 혈관 내피 세포에서 KSMT에 의한 ROS의 감소 효과를 측정 한 결과, 대조군에 비하여 KSMT투여군에서 ROS의 생성량이 감소하는 효과가 있었다(Fig. 4).

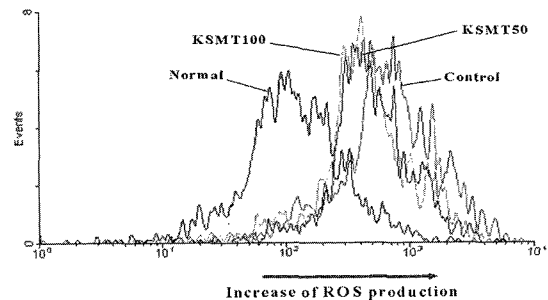


Fig. 4. The inhibitory effect of KSMT on radical oxidative species. CPEA cells were incubated with KSMT for 24hr at 37°C. The cells were stressed with hydrogen peroxide (H₂O₂) for 30min and were labeled with DCF-DA for 5min. Normal: CPEA cells, Control: CPEA cells and H₂O₂, KSMT100: CPEA cells and H₂O₂ and KSMT 100µg/ml, KSMT50: CPEA cells and H₂O₂ and KSMT 50µg/ml.

2) ACE 저해능에 미치는 영향

ACE 저해능을 측정 한 결과, 1000 µg, 500 µg, 250 µg, 125 µg, 62.5 µg/ml 농도에서 각각 62±0.9, 52.1±1.0, 41.5±0.6, 14.8±4.0, 5.0±1.7 (%)의 저해 효과를 나타내었다(Fig. 5).

3. In vivo

1) 체중 및 장기 무게에 미치는 영향

(1) 체중에 미치는 영향

DOCA-salt 고혈압 쥐의 몸무게에 미치는 영향을 측정한 결과, 대조군은 420.8±27.9 (g), 정상군은 488.3±12.1 (g)으로 나타나, 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (***) : P <0.001) 감소를 나타내었다. KSMT 투여군은 470.0±12.9 (g)으로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게 (++) : P <0.01) 증가하여 정상군에 가까운 몸무게를 유지하였다(Fig. 6).

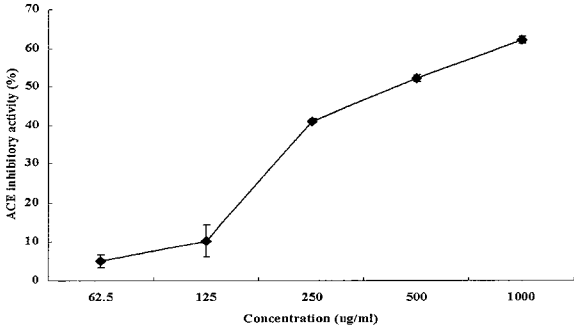


Fig. 5. The inhibitory effect of KSMT on ACE. Inhibitory activity on angiotensin converting enzyme of KSMT at final concentration 62.5, 125, 250, 500, 1000 ug/ml. The results are the mean ± SD of three independent experiments.

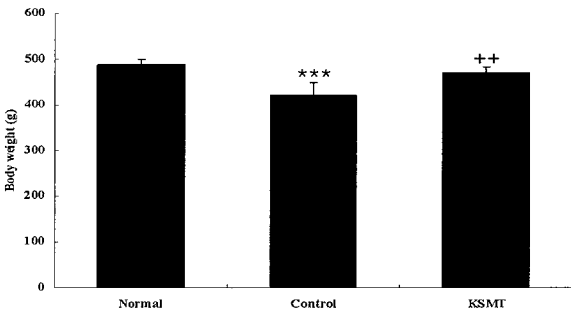


Fig. 6. Effect of KSMT on the body weight in DOCA-salt hypertensive rat. The control group were injected subcutaneous with DOCA for 8 weeks (three times a week, 25 mg/kg). The treatment group were injected subcutaneous with DOCA and orally administered with KSMT extract for 8 weeks (once a day, 117 mg/kg/ 200 μl). Normal : Normal SD rat. Control : DOCA-Salt, KSMT : DOCA-Salt and KSMT. Values represent the means ± SD of 6 rats. *** : P <0.001 compared to normal group. ++ : P <0.01 compared to control group.

(2) 심장과 신장 무게에 미치는 영향

DOCA-salt 고혈압 쥐의 심장과 신장의 무게에 미치는 영향을 측정한 결과, 심장은 대조군이 4.1±0.2/Body Weight (mg/g), 정상군은 3.5±0.2/BW (mg/g)으로 나타나 유의성이 없었고, KSMT 투여군은 3.7±0.2/BW (mg/g)으로 나타나 이 역시 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다.

신장의 무게는 대조군이 4.7±0.3/BW (mg/g), 정상군이 3.2±0.1/BW (mg/g)으로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (***) : P <0.001) 증가를 나타내었다. 반면 KSMT 투여군은 3.8±0.1/BW (mg/g)으로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게 (++) : P <0.01) 증가하여, 정상군에 가까운 신장 무게를 유지하였다(Fig. 7).

2) 혈압에 미치는 영향

DOCA-salt 고혈압 쥐의 혈압에 미치는 영향을 측정한 결과,

대조군은 175.2±5.4 (mmHg), 정상군은 129.1±1.2 (mmHg)로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (***) : P <0.001) 증가를 나타내었다. KSMT 투여군은 142.6±4.5 (mmHg)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (+++) : P <0.001) 감압 효과를 나타내었다(Fig. 8).

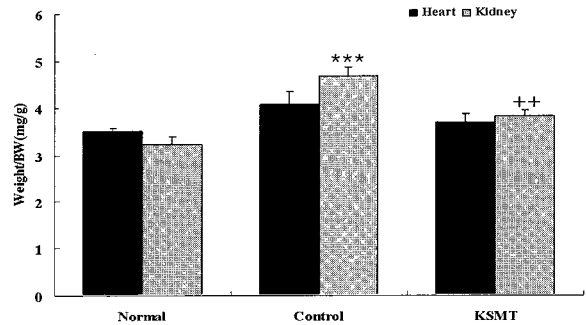


Fig. 7. Effect of KSMT on the heart and kidney weight in DOCA-salt hypertensive rat. The control group were injected subcutaneous with DOCA for 8 weeks (three times a week, 25 mg/kg). The treatment group were injected subcutaneous with DOCA and orally administered with KSMT extract for 8 weeks (once a day, 117 mg/kg/ 200 μl). Normal : Normal SD rat. Control : DOCA-Salt, KSMT : DOCA-Salt and KSMT. Values represent the means ± SD of 6 rats. *** : P <0.001 compared to normal group. ++ : P <0.01 compared to control group.

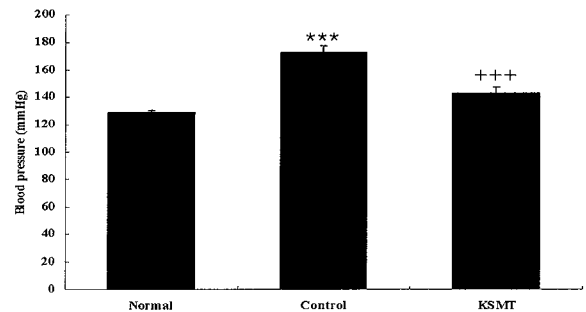


Fig. 8. Effect of KSMT on the blood pressure in DOCA-salt hypertensive rat. The control group were injected subcutaneous with DOCA for 8 weeks (three times a week, 25 mg/kg). The treatment group were injected subcutaneous with DOCA and orally administered with KSMT extract for 8 weeks (once a day, 117 mg/kg/ 200 μl). Normal : Normal SD rat. Control : DOCA-Salt, KSMT : DOCA-Salt and KSMT. Values represent the means ± SD of 6 rats. *** : P <0.001 compared to normal group. +++ : P <0.001 compared to control group.

3) 심박수에 미치는 영향

DOCA-salt 고혈압 쥐의 심박수에 미치는 영향을 측정한 결과, 대조군은 419±36.3 (times/min), 정상군은 336.1±7.1 (times/min)로 나타나 정상군에 비하여 대조군이 유의성 있는 (** : P <0.01) 증가를 나타내었다. KSMT 투여군은 344.1±28.9 (times/min)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (+ : P <0.05) 감소 효과를 나타내었다(Fig. 9).

4) Aldosterone 농도 변화에 미치는 영향

DOCA-salt 고혈압 쥐의 plasma aldosterone에 미치는 영향을 측정한 결과, 대조군은 117.2±24.2 (pg/ml), 정상군은 44.1±9.9 (pg/ml)로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (** : P <0.01) 증가를 나타내었다. KSMT 투여군은 71.9±32.7 (pg/ml)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (+ : P <0.05) 감소 효과를 나타내었다(Fig. 10).

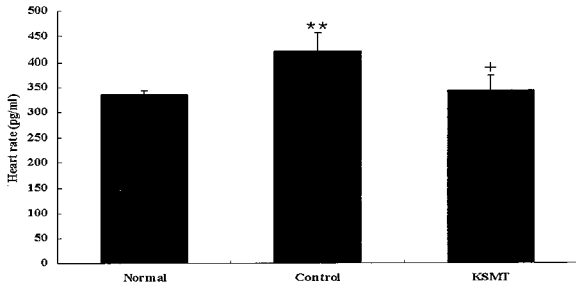


Fig. 9. Effect of KSMT on the heart rate in DOCA-salt hypertensive rat. The control group were injected subcutaneous with DOCA for 8 weeks (three times a week, 25mg/kg). The treatment group were injected subcutaneous with DOCA and orally administered with KSMT extract for 8 weeks (once a day, 117 mg/kg/ 200 μ l). Normal : Normal SD rat, Control : DOCA-Salt, KSMT : DOCA-Salt and KSMT. Values represent the means \pm SD of 6 rats. ** : P <0.01 compared to normal group, + : P <0.05 compared to control group.

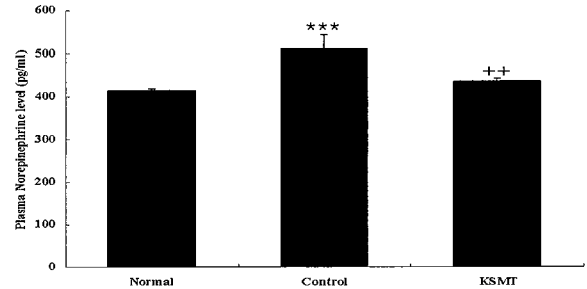


Fig. 12. Effect of KSMT on the plasma norepinephrine in DOCA-salt hypertensive rat. The control group were injected subcutaneous with DOCA for 8 weeks (three times a week, 25mg/kg). The treatment group were injected subcutaneous with DOCA and orally administered with KSMT extract for 8 weeks (once a day, 117 mg/kg/ 200 μ l). Normal : Normal SD rat, Control : DOCA-Salt, KSMT : DOCA-Salt and KSMT. Values represent the means \pm SD of 6 rats. *** : P <0.001 compared to normal group, ++ : P <0.01 compared to control group.

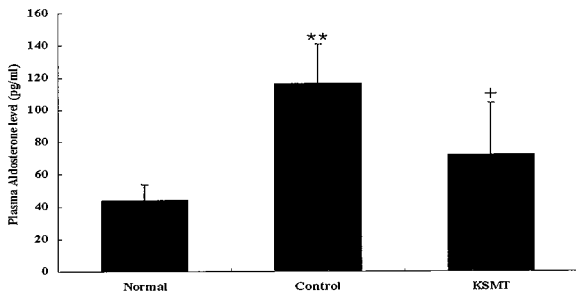


Fig. 10. Effect of KSMT on the plasma aldosterone in DOCA-salt hypertensive rat. The control group were injected subcutaneous with DOCA for 8 weeks (three times a week, 25mg/kg). The treatment group were injected subcutaneous with DOCA and orally administered with KSMT extract for 8 weeks (once a day, 117 mg/kg/ 200 μ l). Normal : Normal SD rat, Control : DOCA-Salt, KSMT : DOCA-Salt and KSMT. Values represent the means \pm SD of 6 rats. ** : P <0.01 compared to normal group, + : P <0.05 compared to control group.

5) Catecholamine 함량 변화에 미치는 영향

(1) Dopamine 농도에 미치는 영향

DOCA-salt 고혈압 쥐의 plasma dopamine에 미치는 영향을 측정된 결과, 대조군은 165.2 \pm 29.2 (pg/ml), 정상군은 102.5 \pm 0.9 (pg/ml)로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (** : P <0.01) 증가를 나타내었다. KSMT 투여군은 110.1 \pm 6.5 (pg/ml)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (++ : P <0.01) 감소 효과를 나타내었다(Fig. 11).

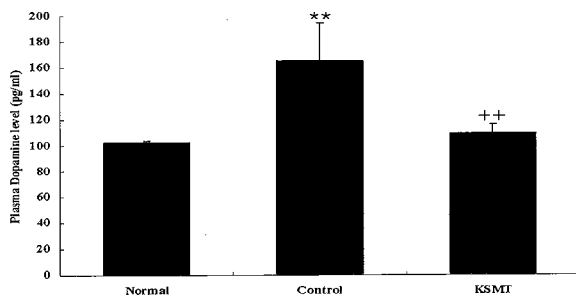


Fig. 11. Effect of KSMT on the plasma dopamine in DOCA-salt hypertensive rat. The control group were injected subcutaneous with DOCA for 8 weeks (three times a week, 25mg/kg). The treatment group were injected subcutaneous with DOCA and orally administered with KSMT extract for 8 weeks (once a day, 117 mg/kg/ 200 μ l). Normal : Normal SD rat, Control : DOCA-Salt, KSMT : DOCA-Salt and KSMT. Values represent the means \pm SD of 6 rats. ** : P <0.01 compared to normal group, ++ : P <0.01 compared to control group.

(3) Epinephrine 농도에 미치는 영향

DOCA-salt 고혈압 쥐의 plasma epinephrine 에 미치는 영향을 측정된 결과, 대조군은 4772.2 \pm 267.5 (pg/ml), 정상군은 2640.5 \pm 159.5 (pg/ml)로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (** : P <0.01) 증가를 나타내었다. KSMT 투여군은 3199.2 \pm 566.2 (pg/ml)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (++ : P <0.01) 감소 효과를 나타내었다(Fig. 13).

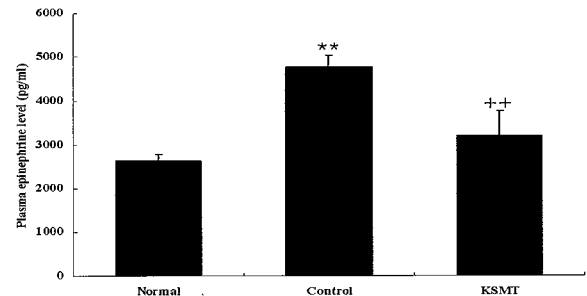


Fig. 13. Effect of KSMT on the plasma epinephrine in DOCA-salt hypertensive rat. The control group were injected subcutaneous with DOCA for 8 weeks (three times a week, 25mg/kg). The treatment group were injected subcutaneous with DOCA and orally administered with KSMT extract for 8 weeks (once a day, 117 mg/kg/ 200 μ l). Normal : Normal SD rat, Control : DOCA-Salt, KSMT : DOCA-Salt and KSMT. Values represent the means \pm SD of 6 rats. ** : P <0.01 compared to normal group, ++ : P <0.01 compared to control group.

6) 전해질 변화에 미치는 영향

(1) Sodium (Na) 변화에 미치는 영향

DOCA-salt 고혈압 쥐의 혈청 중의 sodium (Na)의 농도에 미치는 영향을 측정된 결과, 대조군은 150.1 \pm 1.0 (mEq/L), 정상군은 140.1 \pm 0.8 (mEq/L)로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (* : P <0.05) 증가를 나타내었다. KSMT 투여군은 144.4 \pm 2.0 (mEq/L)로 나타나 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성은 없었다(Fig. 14).

(2) Potassium (K) 변화에 미치는 영향

혈청 중의 potassium (K) 농도를 측정된 결과, 대조군은 5.8 \pm 0.2 (mEq/L), 정상군은 4.9 \pm 0.3 (mEq/L)로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (*** : P <0.001) 증가를 나타내었다. KSMT 투여군은 5.4 \pm 0.3 (mEq/L)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (+ : P <0.05) 감소 효과를 나타내었다(Fig. 15).

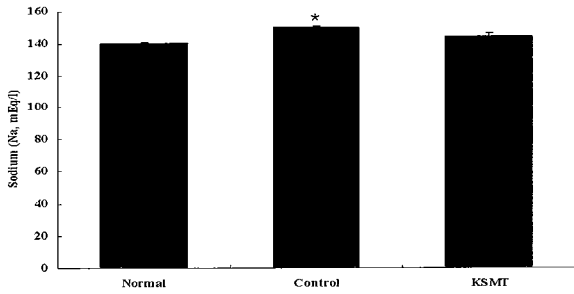


Fig. 14. Effect of KSMT on the sodium (Na) in DOCA-salt hypertensive rat. The control group were injected subcutaneous with DOCA for 8 weeks (three times a week, 25 mg/kg). The treatment group were injected subcutaneous with DOCA and orally administered with KSMT extract for 8 weeks (once a day, 117 mg/kg/ 200 μ l). Normal : Normal SD rat. Control : DOCA-Salt, KSMT : DOCA-Salt and KSMT. Values represent the means \pm SD of 6 rats. * : P <0.05 compared to normal group.

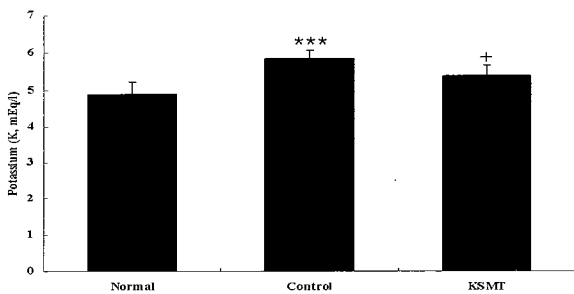


Fig. 15. Effect of KSMT on the potassium(K) in DOCA-salt hypertensive rat. The control group were injected subcutaneous with DOCA for 8 weeks (three times a week, 25 mg/kg). The treatment group were injected subcutaneous with DOCA and orally administered with KSMT extract for 8 weeks (once a day, 117 mg/kg/ 200 μ l). Normal : Normal SD rat. Control : DOCA-Salt, KSMT : DOCA-Salt and KSMT. Values represent the means \pm SD of 6 rats. *** : P <0.001 compared to normal group. † : P <0.05 compared to control group.

(3) Chloride (Cl) 변화에 미치는 영향

혈청 중의 Chloride (Cl) 농도를 측정된 결과, 대조군은 104.3 \pm 0.5 (mEq/L), 정상군은 95.6 \pm 1.1 (mEq/l)로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (***) : P <0.001) 증가를 나타내었다. KSMT 투여군은 101.1 \pm 2.6 (mEq/l)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (+ : P <0.05) 감소 효과를 나타내었다(Fig. 16).

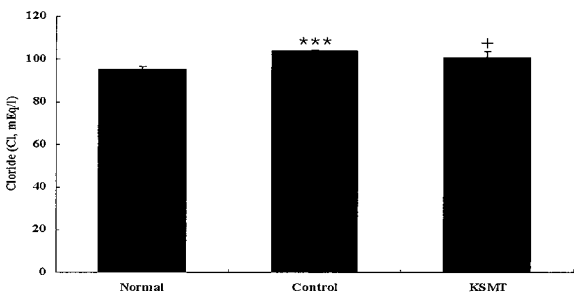


Fig. 16. Effect of KSMT on the chloride in DOCA-salt hypertensive rat. The control group were injected subcutaneous with DOCA for 8 weeks (three times a week, 25 mg/kg). The treatment group were injected subcutaneous with DOCA and orally administered with KSMT extract for 8 weeks (once a day, 117 mg/kg/ 200 μ l). Normal : Normal SD rat. Control : DOCA-Salt, KSMT : DOCA-Salt and KSMT. Values represent the means \pm SD of 6 rats. *** : P <0.001 compared to normal group. † : P <0.05 compared to control group.

(4) Calcium (Ca) 변화에 미치는 영향

혈청 중의 calcium (Ca) 농도를 측정된 결과, 대조군은

0.99 \pm 0.11 (mEq/l), 정상군은 1.33 \pm 0.02 (mEq/l)로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (***) : P <0.001) 감소를 나타내었다. KSMT 투여군은 1.29 \pm 0.06 (mEq/l)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (+++ : P <0.001) 증가 효과를 나타내었다(Fig. 17).

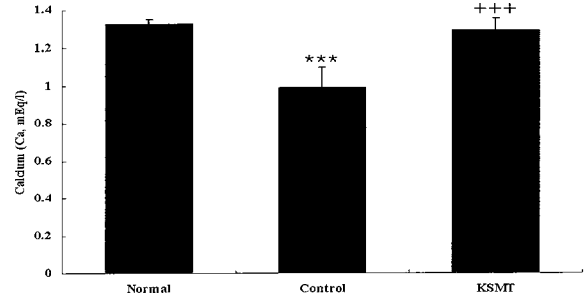


Fig. 17. Effect of KSMT on the calcium in DOCA-salt hypertensive rat. The control group were injected subcutaneous with DOCA for 8 weeks (three times a week, 25 mg/kg). The treatment group were injected subcutaneous with DOCA and orally administered with KSMT extract for 8 weeks (once a day, 117 mg/kg/ 200 μ l). Normal : Normal SD rat. Control : DOCA-Salt, KSMT : DOCA-Salt and KSMT. Values represent the means \pm SD of 6 rats. *** : P <0.001 compared to normal group. +++ : P <0.001 compared to control group.

7) Uric acid 변화에 미치는 영향

혈청 중의 uric acid의 농도를 측정된 결과, 대조군은 3.5 \pm 0.7 (mg/dl), 정상군은 1.5 \pm 0.3 (mg/dl)로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (***) : P <0.001) 증가를 나타내었다. KSMT 투여군은 1.9 \pm 0.3 (mg/dl)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (++) : P <0.01) 감소 효과를 나타내었다(Fig. 18).

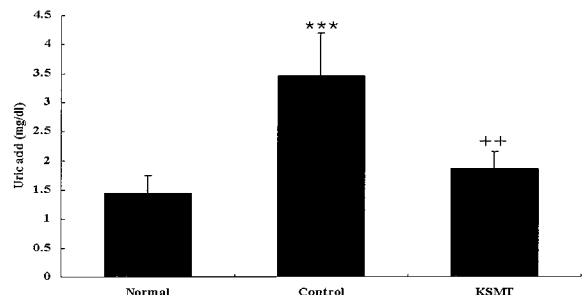


Fig. 18. Effect of KSMT on the uric acid in DOCA-salt hypertensive rat. The control group were injected subcutaneous with DOCA for 8 weeks (three times a week, 25 mg/kg). The treatment group were injected subcutaneous with DOCA and orally administered with KSMT extract for 8 weeks (once a day, 117 mg/kg/ 200 μ l). Normal : Normal SD rat. Control : DOCA-Salt, KSMT : DOCA-Salt and KSMT. Values represent the means \pm SD of 6 rats. *** : P <0.001 compared to normal group. ++ : P <0.01 compared to control group.

8) BUN 변화에 미치는 영향

혈청 중의 BUN 농도를 측정된 결과, 대조군은 31.4 \pm 2.4 (mg/dl), 정상군은 17.9 \pm 4.1 (mg/dl)로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (***) : P <0.001) 증가를 나타내었다. KSMT 투여군은 20.1 \pm 2.7 (mg/dl)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (++) : P <0.01) 감소 효과를 나타내었다(Fig. 19).

9) Creatinine 변화에 미치는 영향

혈청 중의 creatinine 농도를 측정된 결과, 대조군은 0.76 \pm 0.05 (mg/dl), 정상군은 0.62 \pm 0.04 (mg/dl)로 나타나 정상군

에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (** : P <0.01) 증가를 나타내었다. KSMT 투여군은 0.68±0.04 (mg/dl)로 나타나 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성은 없었다(Fig. 20).

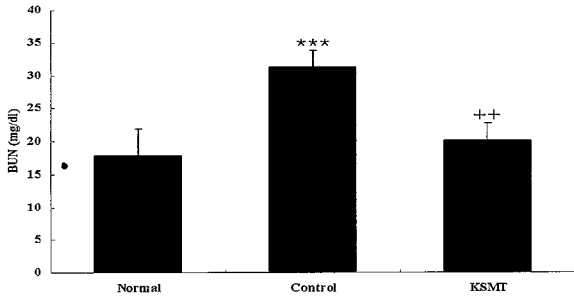


Fig. 19. Effect of KSMT on the BUN in DOCA-salt hypertensive rat. The control group were injected subcutaneous with DOCA for 8 weeks (three times a week, 25 mg/kg). The treatment group were injected subcutaneous with DOCA and orally administered with KSMT extract for 8 weeks (Once a day, 117 mg/kg/ 200 μ l). Normal : Normal SD rat, Control : DOCA-Salt, KSMT : DOCA-Salt and KSMT. Values represent the means \pm SD of 6 rats. *** : P <0.001 compared to normal group. ++ : P <0.01 compared to control group.

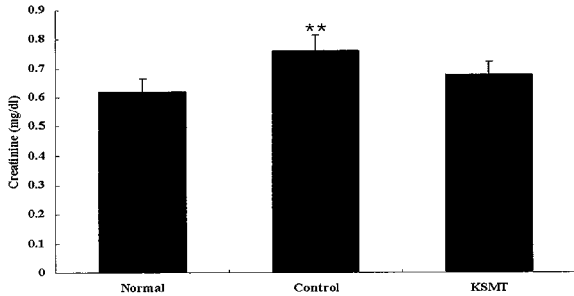


Fig. 20. Effect of KSMT on the creatinine in DOCA-salt hypertensive rat. The control group were injected subcutaneous with DOCA for 8 weeks (three times a week, 25 mg/kg). The treatment group were injected subcutaneous with DOCA and orally administered with KSMT extract for 8 weeks (once a day, 117 mg/kg/ 200 μ l). Normal : Normal SD rat, Control : DOCA-Salt, KSMT : DOCA-Salt and KSMT. Values represent the means \pm SD of 6 rats. ** : P <0.01 compared to normal group.

고찰

오늘날 전 세계적으로 비상한 관심을 가져온 성인병으로는 암을 비롯한 고혈압, 뇌卒中,心臟病,動脈硬化症,糖尿病,肝硬變症,慢性閉鎖性肺疾患,慢性腎臟炎 및 結核 등의 주요 성인병과 이와 부수되는呼吸器 감염, 각종 직업병, 성에 관련된 병이 있다. 특히 순환기 질환인 腦卒中,心臟病은 고혈압이 주요 인자로, 보건복지부는 전 국민을 상대로 이에 대한 예방법과 치료법에 대한 지침서를 제시하고 있을 정도이다²³⁾.

고혈압은 원인이 잘 알려져 있지 않은 일차성 고혈압과 원인이 알려져 있는 이차성 고혈압 등의 두 가지를 들 수 있다. 일차성 고혈압인 본태성 고혈압은 전체 고혈압의 85%를 차지하고 있으며, 유전적 체질을 통하여 발생한다. 반면 이차성 고혈압인 속발성 고혈압은 전체 고혈압의 약 15%를 차지하고 있으며, 신장염, 신우신염, 부신의 갈색세포종, 원발성 알도스테론증이 있어서 알도스테론의 호르몬의 분비가 많다면, 신장 동맥이 좁아져서 신동맥성 고혈압이 생겨 레닌의 분비가 증가될 때 발생한다²⁴⁾.

이러한 고혈압은 음식 중 염분의 섭취량과 밀접한 관계가 있어 하루 20g 이상 많은 양의 소금을 섭취하는 사람은 고혈압이 걸리기 쉬우며, 또 동물성 단백질과 지방질이 많은 돼지고기, 닭고기 등 육류와 당분이 많은 과자, 술 등을 섭취하거나 담배를 많이 피우면 고혈압에 걸리기 쉽다. 고혈압으로 인하여 손상되는 대표적 표적 장기는 腦,心臟,腎臟이며 여기에 추가하여眼底와大動脈을 들 수 있다. 이들 장기의 손상에 의하여 나타나는 합병증은 腦卒中,高血壓性 腦病,高血壓性 心不全,虛血性 心疾患,惡性高血壓,尿毒症,高血壓性 網膜病,剝離性 大動脈瘤 등이 있다. 고혈압이 극도로 심해지면 신장의 소동맥의 과사로 악성 고혈압과 요독증이 합병증으로 발생하며, 혈압이 잘 조절되지 않으면 뇌의 소동맥에 Charcot-Bouchard 동맥류가 생겨서 뇌출혈이 일어나기 쉽고, 혈압이 상당히 잘 조절되는 경우에는 오랜 시간의 경과에 따라 큰 동맥의 경화증이 발생되어 腦梗塞,狹心症,心筋梗塞症 등이 합병증으로 발생할 가능성이 상대적으로 커지게 된다^{25,26)}.

한의학적에서 高血壓은 情志所傷,飲食失節,內傷虛損 등의 원인이 종합적으로 작용하여 인체 내의 陰陽平衡이 失調되어 나타나는 것이며 인식하고 있으며, 임상에서는 크게 肝陽上亢,肝腎陰虛,陰虛火動 등으로 辨證한다²⁷⁾. 일반적으로 초기에는 頭痛,眩暈,面赤,易怒 등의 증세를 보이는데, 이는 肝과 腎臟의 虛損에 의하여 肝火가 上亢하여 陰虛陽盛의 증후를 일으킨 것으로 변증하고 있다. 이 후 점차 만성화되면서 虛實이 복잡하게 발현되며, 腎精이 고갈되어 오는 陰虛와 惡寒,肢冷,陽痿,夜尿 등의 陽虛 증세가 검발되어 나타나는 경우가 많다.

高血壓의 처방에 대한 실험적 연구로는 金²⁸⁾의 “地黃飲子가 腦損傷 및 高血壓에 미치는 影響”, 金²⁹⁾의 “黃連解毒湯과 溫清飲이 高血壓 및 高脂血症에 미치는 影響”, 鄭³⁰⁾의 “三黃瀉心湯이 중풍환자의 輕症 高血壓에 미치는 影響”, 裴³¹⁾의 “疎風補心湯이 高血壓, 血栓 및 腦損傷에 미치는 影響”, 尹³²⁾의 “加味絳囊湯이 高血壓 및 腦損傷에 미치는 效果”, 申³³⁾의 “烏藥順氣散이 고혈압과 동맥경화에 미치는 影響” 등이 있다.

본 시료의 기본방인 四物湯을 시료로 실시한 유관 실험으로는 曹³⁴⁾의 “加味四物湯이 高血壓에 미치는 影響”과 李³⁵⁾의 “加味四物湯 및 加味四君子湯이 高脂血症 및 高血壓에 미치는 影響” 등이 있다.

고혈압 원인으로는 산화스트레스, 식염의 과다 섭취, 비만, 음주, 운동부족 등이 지적되고 있다. 활성산소에 의한 산화스트레스는 동맥경화를 시작으로 하는 혈관장애에 중요한 인자로서 위치를 차지하고 있다. 고혈압, 당뇨병, 고지혈증, 비만, 금연 등의 위험 인자인 산화스트레스는 NADH/NADPH 옥시다제를 통해 생성을 증가시켜, 생산된 활성산소가 직접적으로 혈관확장 인자인 NO를 불활성화 시킨다. NADH/NADPH 옥시다제의 활성화 인자인 angiotensin II의 지속적인 투여에 의한 고혈압 모델 동물에 있어서 산화스트레스가 증대되는 것으로 밝혀졌다³⁶⁾. 신동맥의 협착에 의해 생기는 신혈관성고혈압증은 renin-angiotensin系의 활성화가 주요 원인인데, 신혈관성고혈압증환자에 있어서 과도한 산화스트레스가 혈관내피의존성 혈관긴장에 관여하고 있는 것으로 밝혀졌다³⁷⁾. 또한 활성산소는 혈관내피세

포를 직접 공격하거나 LDL 콜레스테롤 등 혈관 손상의 원인이 되는 인자들에 영향을 미쳐 혈관 협착 등의 고혈압 유발에 관여하고 있다. 혈관내피 기능장애는 동맥경화 발병의 원인되기 때문에 이를 개선함으로써 혈관 장애의 치료가 기대된다. 산화스트레스를 억제하는 방법 즉 항산화물질 개발은 고혈압 등 혈관장애의 예방 치료에 매우 중요하다. 본 연구에서는 화학적으로 안정화된 free radical을 가지고 있는 DPPH의 전자 공여능 측정과 牛血管 내피세포에 H₂O₂에 의해 증가된 활성산소종(ROS)의 저해능을 측정하였다. 그 결과 Fig. 3, 4에서 나타난 바와 같이 KSMT가 농도의 의존적으로 항산화 활성에 효과가 있음을 보여주고 있다.

Angiotensin II는 renin-angiotensin系에서 angiotensinogen이 레닌에 의해 분해되어 angiotensin I으로 전환되며, 이는 엔지오텐신전환효소(ACE: angiotensin converting enzyme)를 통해서 angiotensin II로 전환된다. Angiotensin II가 혈관수축, aldosterone의 분비, 세포증식 등을 통해 고혈압을 유발하는 원인이 된다³⁸⁾. 최근 고혈압을 예방하고 치료하는 약물 개발에 있어, angiotensin I을 angiotensin II로 전환시키는 효소인 ACE 저해능에 대한 검색이 활발하게 이루어지고 있다³⁹⁾. 본 연구에서도 KSMT에 의한 angiotensin II의 전환효소인 ACE가 기질과의 결합하는 것을 저해하는 활성 실험을 통해, KSMT가 농도 의존적으로 ACE를 저해하는 능력이 있음을 확인 하였다(Fig. 5).

本態性高血壓의 약 40%는 식염 섭취에 의해 혈압이 상승하는 食鹽感受性 고혈압으로 알려져 있으며, 근래에 食鹽感受性 고혈압에서 혈관계 질환으로의 轉移率이 높은 것으로 알려지고 있다⁴⁰⁻⁴²⁾. 식염감수성 고혈압은 Na⁺ 밸런스나 신장 기능의 장애에 의해 일어난다. 신장은 Na⁺ 밸런스나 체액량을 조절하는 중요한 장기로 장기적인 혈압 조절에 중심적인 역할을 하고 있다. 일반적으로 高食鹽 섭취에 의해 Na⁺가 체내에 증가하면서 체액량이 과다하게 증가하여 혈압이 상승하게 되는데, 이 때 건강한 사람은 이뇨작용에 의해 Na⁺이 배출되면서 혈압이 떨어져 정상으로 돌아오지만 고혈압 환자에게서는 상승한 혈압이 계속 유지되며 특히 식염감수성고혈압 환자가 지속적으로 高食鹽을 섭취하는 경우 혈압은 더욱 상승하게 된다⁴³⁾. 최근 Johnson 등⁴⁴⁾은 腎微細循環障害나 尿管間質障害 등의 경미한 신기능 장애도 食鹽感受性 고혈압과 공통된 기전임을 밝히고 있다. 이처럼 고혈압, 특히 식염감수성 고혈압의 발병에는 Na⁺ 밸런스나 체액량의 이상을 일으키는 신기능장애가 주된 원인으로 여겨지고 있다.

Na⁺ 밸런스는 세포막에 존재하는 Na⁺ 펌프에 의해 조절되는데, 식염의 과다 섭취나 신장 기능장애에 의해 체내에 Na⁺ 량이 증가하면, Na⁺ 펌프 억제 인자의 분비를 촉진하게 되며, 이로 인해 평활근세포의 Na⁺ 펌프에 장애가 일어나게 되고, 탈분극에 의해 전위의존성 Ca²⁺ 채널의 활성화와 세포내 Na⁺ 농도가 증가하게 된다. 이를 계기로 Na⁺/Ca²⁺ 交換體를 통해 Ca²⁺의 평활근 세포로의 유입이 유도되어 세포내 Ca²⁺ 농도가 증가하게 되며, 세포내 Ca²⁺ 침착 등에 의해 혈관긴장을 항진시켜 혈압이 상승하게 되어 고혈압이 유발된다⁴⁵⁻⁴⁷⁾(Fig. 21).

Iwamoto 등⁴⁸⁾은 DOCA-salt를 이용한 食鹽感受性 rat 모델을 이용하여 Na⁺과 Ca²⁺에 의한 혈류량의 증가가 血管緊張에 의해 고혈압을 유발하는 주요 원인임을 밝히고 있다. 식염의 섭취가 WHO의 일일 권장량의 4배 이상에 달하는 우리나라의 高食鹽 섭취 습관에 의거 고혈압 食鹽感受性 고혈압의 연구는 매우 중요한 의미를 갖는다고 할 수 있다⁴⁹⁾.

본 실험에서는 Hernandez등⁵⁰⁾의 방법에 따라 SD rat에 DOCA와 salt를 장기간 투여하여 식염감수성 rat 모델의 작성과 함께 KSMT를 투여하여 KSMT의 식염감수성 고혈압에 대한 혈압 강하 효과와 고혈압 유발 인자의 조절 효과 등을 관찰하여 KSMT가 고혈압에 효과적인 처방임을 입증하였다.

먼저 DOCA-salt 고혈압 유발에 대한 몸무게와 몸무게에 대한 심장파와 신장의 무게를 비교한 결과 지속적인 DOCA-salt 투여에 의해 몸무게는 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 감소하였으나, KSMT의 투여에 의해 감소를 억제하는 것을 볼 수 있었다(Fig. 6). 몸무게에 대한 심장파와 신장의 무게는 정상군에 비하여 대조군에서 증가하였고, 심장에서보다 신장의 무게가 더 증가한 것을 볼 수 있었으며, KSMT의 투여에 의해 증가 억제 효과를 볼 수 있었다(Fig. 7). 이는 심근의 부하, 신동맥 협착 등이 무게를 증가시키는 원인으로 생각되어지며 Isabel등⁵¹⁾의 DOCA-salt에 의한 고혈압 연구에 의해서도 유사한 결과를 보고하고 있다.

고혈압의 진단과 치료에 중요한 지표가 되는 혈압과 심박수를 측정된 결과에서 대조군이 175.2±5.4 mmHg로 높은 수치를 나타냈으나, KSMT 투여군에서 142.6±4.5 mmHg로 유의성 있는 혈압 강압 효과를 보였고(Fig. 8), 심박수도 대조군의 419±36.3 (times/min)에 비해 KSMT 투여군은 344.1±28.9 (times/min)로 유의성 있는 감소를 나타내었다(Fig. 9). 혈압과 심박수에서 KSMT가 유의성 있는 강압 효과를 보임에 따라 고혈압의 내인성 요인인 renin-angiotensin系의 호르몬, 전해질 등의 변화를 관찰하였다. Aldosterone은 angiotensin II의 자극에 의해 부신에서 생산, 분비되는 것으로 腎遠位尿管에 존재하는 미네랄 코르티코이드 수용체에 작용하는 전해질 호르몬 조절에 관여하며, 신장 등의 장기에 장애 요인으로 작용하는 것으로 알려져 있다⁵²⁾. Nishiyama 등⁵³⁾에 의하면 rat에 식염수와 알도스테론을 장기간 투여하면 단백질과 사구체 비대, 세포수의 증가 등의 신기능 장애를 일으키는 것으로 밝히고 있다. 본 실험에서도 고혈압이 유발됨에 따라 대조군에서 aldosterone의 수치가 정상군에 비하여 현저하게 높게 나타난 반면, KSMT의 투여를 통해 유의성 있게

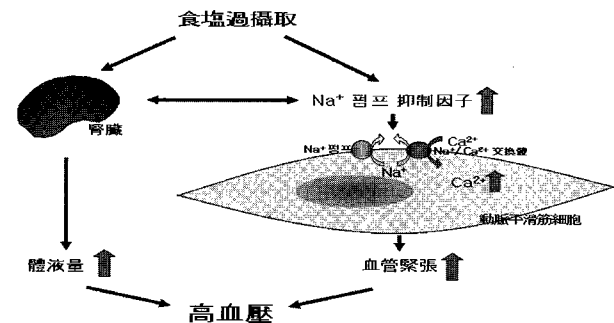


Fig. 21. 식염 부하에 의한 고혈압 기전

감소하는 것으로 나타났다(Fig. 10). 또한 catecholamine계 호르몬인 dopamine, norepinephrine, epinephrine의 혈장 내 농도를 측정된 결과에서도, 모두 정상군에 비하여 DOCA-salt에 의해 증가한 것을 볼 수 있었으나, KSMT의 투여군에서는 대조군에 비해 유의성 있게 감소하는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 11-13).

고혈압의 주요 內因性 인자 가운데 전해질의 균형을 들 수 있다. 위에서 서술한 바와 같이 Na⁺이 체내에서 과다하게 증가하게 되면, 관련 호르몬들을 통해 균형을 유지하려고 하는데, Na⁺이 계속 증가하면 Na⁺·K⁺채널의 이상, Na⁺의 세포내 축적, Ca²⁺의 세포내 침착 등을 가져와 신장장애, 고혈압 등을 유발하게 된다⁵⁴).

본 실험에서 Na⁺, K⁺, Cl⁻, Ca²⁺의 혈청 내 농도를 측정된 결과 Na⁺, K⁺, Cl⁻은 정상군에 비하여 대조군에서 증가하였으며, KSMT 투여에 의해 감소하는 것으로 나타났고, Ca²⁺의 농도는 정상군에 비하여 대조군에서 감소하는 것으로 나타났으나, KSMT의 투여에 의해 증가하는 것으로 나타났다(Fig. 14-17). 하등⁵⁵의 SHR에 의한 고혈압 실험에 의하면 모든 대조군에서 전해질이 혈청 내에 증가하는 것으로 보고하고 있으나, 본 실험에서는 Ca²⁺의 혈청 내 농도가 감소하는 것으로 나타났으며, 이는 지속적인 식염 투여로 Na⁺의 과다 증가가 세포내 Ca²⁺의 침착을 증가시켜 혈청내의 Ca²⁺ 농도가 감소한 것으로 생각되어진다. 위의 결과로 보아 KSMT는 혈청내 전해질의 균형 조절에 관여함으로써, 본 시료가 고혈압의 예방 치료에 효과적으로 사용할 수 있음을 시사해주고 있다.

마지막으로 고혈압 유발의 주요한 기능을 담당하는 신장의 장애 관련 인자인 BUN, Uric acid, Creatinine의 혈청 내 농도를 측정된 결과, 모두 정상군에 비하여 대조군에서 현저하게 높게 나타났으나, KSMT 투여에 의해 유의성 있는 감소를 나타내었다(Fig. 18-20). 이 같은 대조군의 결과는 이미 여러 논문에서 언급된 바와 같이 식염감수성 고혈압 모델인 DOCA-salt 고혈압이 신장 기능 장애를 유발함으로써, 이로 인해 고혈압이 유도되는 것으로 사료된다. 또한 KSMT 투여군의 결과는 결과적으로 본 시료가 신장 기능 장애에 의한 고혈압에 유의성이 있음을 보여주고 있다.

결 론

加味四物湯이 고혈압에 미치는 효과를 검증하기 위하여 항산화효능, ACE 저해능, 체중과 해당 장기 무게, 혈압, 심박수, aldosterone, catecholamine 함량, 전해질, 그리고 Uric acid, BUN, creatinine 변화 등을 측정된 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

加味四物湯은 Human Fibroblast Cells에 대하여 250 µg/ml 이하에서는 세포독성을 나타내지 않았다. 加味四物湯은 대조군에 비하여 활성산소 활성을 농도 의존적으로 억제하였다. 加味四物湯은 대조군에 비하여 ACE 활성을 농도 의존적으로 저해하였다. 加味四物湯은 체중, 심장, 신장 무게의 유지에 유의성 있는 효과를 나타내었다. 加味四物湯은 대조군에 비하여 혈압 및 심박수에 대하여 유의성 있는 강하 효과를 나타내었다. 加味四物湯은 대조군에 비하여 aldosterone 함량을 유의성 있게 감소시켰다. 加味四物湯은 대조군에 비하여 dopamine, norepinephrine,

epinephrine 함량을 유의성 있게 감소시켰다. 加味四物湯은 대조군에 비하여 potassium, chloride의 함량을 유의성 있게 감소시켰고, sodium의 함량은 감소시켰으나 유의성은 없었으며, calcium 함량을 유의성 있게 증가시켰다. 加味四物湯은 대조군에 비하여 uric acid, BUN의 함량을 유의성 있게 감소시켰으며, creatinine의 함량은 감소하였으나 유의성은 없었다.

이상의 결과로 미루어 보아 현재 임상에서 활용되는 加味四物湯의 항고혈압 작용이 실험적으로 검증되어, 향후 보다 유의성 있는 항고혈압 처방 개발에 객관적 자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Koike, G. Current and future strategy for antihypertensive medication. *Folia Pharmacol, Jpn.* 127:393-398, 2006.
2. Pitt, B., Reichek, N., Willenbrock, R., Zannad, F., Phillips, R.A., Roniker, B., Kleiman, J., Krause, S., Burns, D., Williams, G.H. Effects of eplerenone, enalapril, and eplerenone/enalapril in patients with essential hypertension and left ventricular hypertrophy: the 4E-left ventricular hypertrophy study. *Circulation.* 108(15):1831-1838, 2003.
3. Chobanian, A.V., Bakris, G.L., Black, H.R., Cushman, W.C., Green, L.A., Izzo, J.L. Jr, Jones, D.W., Materson, B.J., Oparil, S., Wright, J.T. Jr, Roccella, E.J. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA.* 289(19):2560-2572, 2003.
4. Akiyama, S. Blood clinical data and drug side effects that require attention during physical therapy *Rigakuryoho kagaku,* 20(1):69-73, 2005.
5. Yoshikawa, H., 高血壓治療藥 基礎, 開發中인 高血壓治療藥. *Folia Pharmacol, Jpn.* 127: 381-386, 2006.
6. 김병운 외. *간계내과학.* 동양의학연구원출판부, p 481, 1989.
7. 김완희. 장부변증논치. 성보사, pp 59, 168-169, 1985.
8. 장원창 외. *실용중의내과학(상).* 인민위생출판사, 1981.
9. 상해중의학원 편. *중의내과학.* 상무인서관, p 150, 1977.
10. 한덕희 외. 간양상항방이 고혈압에 미치는 영향. *대한동의생리병리학회지* 20(3):663-669, 2006.
11. 조현상. 흰쥐의 고지혈증과 고혈압에 대한 구기자과 지골피의 효능 연구. *경희대학교 학위논문,* 2006.
12. 박규하. 玄參의 유전자 분석 및 자발성 고혈압흰쥐의 혈압에 미치는 영향. *경희대학교 학위논문,* 2005.
13. 趙東基. 패모 전탕액의 고혈압 백서 혈압에 미치는 영향. *원광대학교 학위논문,* 2002.
14. 배명호 외. 산사의 내피세포 의존성 혈관이완효과 기전에 대한 연구. *대한본초학회지(본초분과학회지),* 18(3):169-181, 2003.
15. 황병길. 竹瀝이 自發性 高血壓 白鼠에 미치는 影響. *동신대학교 학위논문,* 2003.

16. 김희철. 柿根과 柿葉이 Phenylephrine으로 유발된 家兔의 수축 혈관에 미치는 影響. 세명대학교 학위논문, 2003.
17. 문영희 외. 소풍탕이 흰쥐의 혈압에 미치는 영향. 생약학회지 21(2):173-178, 1990.
18. 조봉현. 加味四物湯이 高血壓에 미치는 影響. 대전대학교 학위논문, 2005.
19. Zahra, F.H., Mohammad, F., Mohsen, I.S. Endothelial dysfunction in aortic rings and mesenteric beds isolated from deoxycorticosterone acetate hypertensive rats: possible involvement of protein kinase C. *European Journal of Pharmacology* 494:199-204, 2004.
20. Khazaei, M., Nematbakhsh, M. Serum level of vascular endothelial growth factor is increased by estrogen replacement therapy in normotensive and DOCA - Salt hypertensive ovariectomized rats. *Clin Chim Acta*. 365(1-2):206-210, 2006.
21. Mercedes, L., Sonia, H.T., Noelina, H., Marisela, L., Amparo, S. Muscle arteriolar and venular reactivity in two models of hypertensive rats. *Microvascular Research*, 69:142-148, 2005.
22. Cushman, D.W., Cheung, H.S., Sabo, E.F., Ondetti, M.A. Development and design of specific inhibitors of angiotensin-converting enzyme. *Am J Cardiol*. 49(6):1390-1394, 1982.
23. 이영우. 순환기학. 서울, 일조각, pp 193-195, 205, 2001.
25. 醫學教育硏修院. 家庭醫學. 서울대학교출판부, pp 294-299, 1999.
26. 강희정 외. 심계내과학. 서원당, p 190, 2002.
27. 김영석. 고혈압에 대한 임상적 관찰. 대한한의학회지 4(2):321-331, 1984.
28. 김종인 외. 地黃飲子가 腦損傷 및 高血壓에 미치는 影響 동의생리병리학회지 15(2):246-254, 2001.
29. 金恩善 외. 黃連解毒湯과 溫清飲이 高血壓 및 高脂血症에 미치는 影響. 大韓韓醫學會誌 37:185-196, 1999.
30. 정기현 외. 삼황사심탕이 중풍 환자의 경증고혈압에 미치는 영향 ; 24시간 활동 혈압 측정기를 이용하여. 大韓韓方成人病學會誌 8(1):35-40, 2002.
31. 배경일 외. 疎風補心湯이 高血壓, 血栓 및 腦損傷에 미치는 영향. 동의생리병리학회지 16(2):245-256, 2002.
32. 유종삼 외. 加味豨薟湯이 高血壓 및 腦損傷에 미치는 效果. 大韓韓醫學會誌 24(3):72-83, 2003.
33. 신형섭 외. 烏藥順氣散이 고혈압과 동맥혈관에 미치는 영향. 대전대대학원論文集 10(2):79-92, 2004.
34. 辛吉祚 외. 加味四物湯 및 加味四君子湯이 高脂血症 및 高血壓에 미치는 影響. 慶熙醫學 32:283-295, 1993.
35. 辛吉祚 외. 加味四物湯 및 加味四君子湯이 高脂血症 및 高血壓에 미치는 影響. 慶熙醫學 9(3-4):283-29, 1993.
36. Beswick, R.A., Dorrance, A.M., Leite, R., Webb, R.C. NADH/NADPH oxidase and enhanced superoxide production in the mineralocorticoid hypertensive rat. *Hypertension*. 38(5):1107-1111, 2001..
37. Fukai, T., Siegfried, M.R., Ushio-Fukai, M., Griending, K.K., Harrison, D.G. Modulation of extracellular superoxide dismutase expression by angiotensin II and hypertension. *Circ Res*. 85(1):23-28, 1999.
38. Stefan, E., Jana, B., Kerstin, G., Jürgen, J., Petra, S., Michael, B., Friedrich, C. Luft, Arya, M. Sharma Weight Loss and the Renin-Angiotensin- Aldosterone System Hypertension, 45:356-362, 2005.
39. 도정룡 외. Effect of Antihypertensive Peptides Originated from Various Marine Proteins on ACE Inhibitory Activity and Systolic Blood Pressure in Spontaneously Hypertensive Rats. 한국식품과학회, 한국식품과학회지, 2006.
40. Elliott, P., Stamler, J., Nichols, R., Dyer, A.R., Stamler, R., Kesteloot, H., Marmot, M. Intersalt revisited: further analyses of 24 hour sodium excretion and blood pressure within and across populations. Intersalt Cooperative Research Group. *BMJ*. 312(7041):1249-1253, 1996.
41. Yamori, Y., Nara, Y., Mizushima, S., Mano, M., Sawamura, M., Kihara, M., Horie, R. International cooperative study on the relationship between dietary factors and blood pressure: a report from the Cardiovascular Diseases and Alimentary Comparison (CARDIAC) Study. *J Cardiovasc Pharmacol*. 8:543-47, 1990.
42. Morimoto, A., Uzu, T., Fujii, T., Nishimura, M., Kuroda, S., Nakamura, S., Inenaga, T., Kimura, G. Sodium sensitivity and cardiovascular events in patients with essential hypertension. *Lancet*. 350(9093):1734-1737, 1997.
43. 藤田敏郎 외. 食塩과 高血壓, 日本醫學出版, 2002.
44. Johnson, R.J., Rodriguez-Iturbe, B., Nakagawa, T., Kang, D.H., Feig, D.I., Herrera-Acosta, J. Subtle renal injury is likely a common mechanism for salt-sensitive essential hypertension. *Hypertension*. 45(3):326-330, 2005.
45. Blaustein, M.P. Sodium ions, calcium ions, blood pressure regulation, and hypertension: a reassessment and a hypothesis. *Am J Physiol*. 232(5):C165-173, 1977.
46. Blaustein, M.P. Physiological effects of endogenous ouabain: control of intracellular Ca²⁺ stores and cell responsiveness. *Am J Physiol*. 264(6 Pt 1):C1367-1387, 1993.
47. Juhaszova, M., Blaustein, M.P. Distinct distribution of different Na⁺ pump alpha subunit isoforms in plasmalemma. Physiological implications. *Ann N. Y Acad Sci*. 834: 524-536, 1997.
48. Iwamoto, T., Kita, S., Zhang, J., Blaustein, M.P., Arai, Y., Yoshida, S., Wakimoto, K., Komuro, I., Katsuragi, T. Salt-sensitive hypertension is triggered by Ca²⁺ entry via Na⁺/Ca²⁺ exchanger type-1 in vascular smooth muscle. *Nat Med*. 10(11):1193-1199, 2004.
49. 손숙미 외. 한국인의 소금섭취 현황과 영양문제. 대한지역사

- 회영양학회지 7(3):381-390, 2005.
50. Hernandez, N., Torres, S.H., Finol, H.J., Sosa, A., Cierco, M. Capillary and muscle fiber type changes in DOCA-salt hypertensive rats. *Anat Rec.* 246(2):208-216, 1996.
51. Isabel Rodriguez-Gomez, Rosemary Wangenstein, Noemi M. Atucha, Francisco O'Valle, Raimundo G. Del Moral, Joaquin Garcia-Estan, Felix Vargas, and Antonio Osuna. Effects of Omapatrilat on Blood Pressure and Renal Injury in L-NAME and L-NAME Plus DOCA-Treated Rats. 1: *Am J Hypertens.* 16(1):33-38, 2003.
52. Booth, R.E., Johnson, J.P., Stockand, J.D. Aldosterone. *Adv Physiol Educ.* 26:8-20, 2002.
53. Nishyyama, A., Yao, L., Nagai, Y., Miyata, K., Yoshizumi, M., Kagami, S., et al. Possible contributions of reactive oxygen species and mitogen activated protein kinase to renal injury in aldosterone/ salt-induced hypertensive rats. *Hypertension.* 43:841-848, 2004.
54. Dostanic, I., Paul, R.J., Lorenz, J.N., Theriault, S., Van Huysse, J.W., Lingrel, J.B. The alpha2-isoform of Na-K-ATPase mediates ouabain-induced hypertension in mice and increased vascular contractility in vitro. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 288(2):H477-485, 2005.
55. 하여태. 加味防風通聖散이 高血壓 誘發 白鼠의 血液 및 組織學的 變化에 미치는 影響. 대전대학교 학위논문, 2006.