

薔薇根 메탄올 추출물의 혈관이완 기전에 대한 연구

김대중 · 조남근 · 이준경 · 조려화 · 이 혁 · 안준석 · 엄재연¹ · 조규원¹ · 나한일¹ · 경은호¹ · 강대길 · 이호섭*

원광대학교 한의학전문대학원, 1: 원광대학교 한의과대학 한의학과

Study on the Mechanism of Vascular Relaxation of Methanol Extract of *Rosae multiflora* Radix

Dae Joong Kim, Nangeun Cho, Jun Kyoung Lee, Li Hua Cao, Hyuck Lee, Jun Seok An, Jae Yeon Um¹, Gue One Joe¹, Eun Ho Kyung¹, Han Il Na¹, Dae Gill Kang, Ho Sub Lee*

Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University,

1: Department of Oriental Medicine, College of Oriental Medicine, Wonkwang University

Vascular tone plays an important role in the regulation of blood pressure. In the present study, the methanol extract of *Rosae multiflora* Radix (MRM) induced dose-dependent relaxation of phenylephrine-precontracted aorta, which was abolished by removal of functional endothelium. Pretreatment of the endothelium-intact aortic tissues with N^G-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) or 1H-[1,2,4]-oxadiazole-[4,3- α]-quinoxalin-1-one (ODQ) inhibited the relaxation induced by MRM, respectively. But, the relaxation effect of MRM was not blocked by indomethacine, glibenclamide, tetraethylammonium (TEA), verapamil, diltiazem, atropine, and propranolol, respectively. Moreover, incubation of endothelium-intact aortic rings with MRM increased the production of cGMP. Taken together, the present results suggest that MRM relaxes vascular smooth muscle via endothelium-dependent nitric oxide/cGMP signaling. These results would be useful for further study to MRM on animal models with cardiovascular diseases.

Key words : methanol extract of *Rosae multiflora* Radix (MRM), aortic tissues, endothelium, nitric oxide/cGMP, relaxation

서 론

혈압은 혈액이 혈관내벽에 미치는 압력으로 일반적으로 동맥압을 말하며, 혈압의 조절에는 여러 인자가 관여한다. 특히 심박출량 및 심박동수, 말초혈관의 저항등은 혈관 평활근의 긴장도를 조절함으로써 동맥압 유지에 결정적인 역할을 한다¹⁾. 혈관 평활근 긴장도를 조절하는 인자로는 신경전달물질, 혈관 내피인자, 근육성 영향, 체액성 물질 등이 있다²⁾. 이 중 혈관 내피세포는 혈관이완 인자와 수축인자를 방출하여 혈압조절에 중요한 역할을 한다고 알려져 있으며, 산화질소(NO)는 내피세포 유래 혈관이완 인자 중 가장 대표적인 것이다. 혈관에서 산화질소는 L-arginine으로부터 생성되고, 혈관 평활근에 작용하여 평활근을 이완시킨다. 순환기계 대표적인 질환인 고혈압은 심박출량의 증

가나 말초혈관의 수축으로 인해 동맥압이 상승하는 것으로 혈관 평활근의 긴장도와 밀접한 연관을 맺고 있다. 최근 산사^{3,4)}, 단삼⁵⁾, 조구등⁶⁾, 황련⁷⁾, 덩굴차⁸⁾, 정공피⁹⁾의 추출물이 내피세포의 존적인 혈관 이완효과와 NO/cGMP의 직접적인 방출을 통한 항고혈압 효과가 있음이 밝혀졌다.

찔레나무 (*Rosa multiflora*)는 장미과에 속하는 낙엽 소관목으로 그 뿌리는 장미근(薔薇根)이라 하여 약용으로 사용한다. 性味는 苦澁寒涼하며, 熱을 내리고 濕을 거두며 風을 제거하고 혈액순환을 촉진시키며 해독하는 효능이 있어 肺癰, 糖尿病, 痢疾, 關節炎, 四肢麻痺, 吐血, 鼻出血, 便血, 頻尿, 遺尿, 月經不順, 打撲傷, 瘡癤疥癬 등을 치료한다. 주요 약리 성분으로는 lignans, tormentic acid (2a, 19a-dihydroxyursolic acid), tannin 등이 밝혀져 있고¹⁰⁾ 약리작용에 대한 연구로는 通便, 항고지혈에 대한 보고가 있으나 혈관이완에 대한 연구는 아직 보고되지 않았다.

따라서 본 연구에서는 장미근 메탄올 추출물의 혈관이완효과와 그 이완 기전을 규명하고자 한다.

* 교신저자 : 이호섭, 전북 익산시 신동동 344-2 원광대학교 한의학전문대학원

· E-mail : host@wonkwang.ac.kr, · Tel : 063-850-6841

· 접수 : 2007/01/22 · 채택 : 2007/03/30

재료 및 방법

1. 추출물의 제조

건조된 장미근 1 kg을 분쇄하여 3 ℓ의 methanol (MeOH)로 상온에서 1주일간 추출하였다. 추출액은 Whatman No. 3 여과지로 여과 후 회전식 감압농축기를 사용하여 농축시켰고, 동결건조하여 최종 시료 18.5g 얻어 실험에 이용하였다. 시료는 25% dimethylsulfoxide (DMSO)에 녹였으며, 최종 DMSO 농도인 0.25%는 혈관이완에 영향을 미치지 않음을 확인하였다.

2. 생리 영양액의 제조

혈관 평활근의 정상적인 생리활성 유지를 위해 Krebs 용액 (Krebs-Henseleit Solution)을 사용하였으며, 그 조성은 118 mM NaCl, 4.7 mM KCl, 1.1 mM MgSO₄, 1.2 mM KH₂PO₄, 1.5 mM CaCl₂, 25 mM NaHCO₃, 10 mM glucose이고, pH는 7.4로 보정하였다.

3. 혈관조직 절편의 제작

무무게 약 250-300 g의 건강한 수컷 Sprague-Dawley계 백서를 사용하였다. 경추를 탈골시켜 희생시킨 후, 즉시 복강을 열고 흉부 대동맥을 분리하였다. 분리된 흉부 대동맥을 4-6 °C의 Krebs 용액에 넣고 연결 조직과 지방을 제거한 후 약 3 mm정도 길이의 고리형태의 절편으로 만들었다.

4. 혈관 장력의 측정

흉부 대동맥 절편을 95% O₂:5% CO₂ 기체로 포화시킨 37°C의 Krebs 용액이 들어있는 organ bath의 저부에 한쪽 끝을 고정시키고, 다른 쪽 끝은 force-displacement transducer (Grass FT 03, GRASS Instrument, MA, USA)에 연결하여 고정시킨 후 isometric tension을 생리 기록계 (Grass Model 7E, Grass Instrument, MA, USA)를 이용하여 측정하였다. 이완물은 phenylephrine에 의한 수축에 대해 백분율로 계산하였다. 약물 실험을 하기전 흉부 대동맥 절편에 1 g의 기저 긴장도를 부하하고, 10분 간격으로 Krebs 용액을 갈아주면서 90분간 평형을 유지시켰다. 일정한 기저선이 유지되면 1 x 10⁻⁶ M의 phenylephrine으로 수축시키고 5분후 1 x 10⁻⁶ M의 acetylcholine (ACh) 로 이완시켜 이완률이 90%이상이었을 경우 혈관 내피세포가 손상받지 않은 것으로 판정하였다. 그 후 Krebs 용액으로 3회 세척하고 실험을 수행하였다. 여러 가지 약물들에 의한 장미근 메탄올 추출물의 혈관 이완 효과의 변화 측정은 약물을 20분간 전처리하고 phenylephrine으로 수축시킨 후, 장미근 메탄올 추출물에 의한 이완반응을 농도 의존적으로 관찰하는 방법으로 측정하였다. 혈관 내피세포 비의존형 실험을 시행할 때에는 혈관 내피세포를 작은 면봉을 사용하여 제거한 후, phenylephrine으로 수축시키고 ACh으로 이완시켜 혈관 내피세포의 제거를 확인 후 실험을 수행하였다.

5. cyclic guanosin-3',5'-monophosphate (cGMP)의 측정

흉부 대동맥 절편을 95% O₂:5% CO₂ 가스를 공급해 주면서 Krebs 용액에서 30분간 평형을 유지시킨 후 1 x 10⁻⁴ M

3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX)을 넣어 주었다. 1 x 10⁻⁶ M의 phenylephrine을 넣어 10분간 더 평형을 유지시킨 후 농도별로 장미근 메탄올 추출물 (3 x 10⁻⁵, 1 x 10⁻⁴, 3 x 10⁻⁴ g/ml)과 함께 3분간 반응시켰다. 혈관 조직은 바로 액체질소에 넣어 반응을 정지시킨 후 -76°C에 보관한 후 cGMP의 농도를 측정하였다. 무게 (wet weight)를 측정된 혈관 조직을 6% trichloroacetic acid 존재하에서 균질화시킨 후 13,000 g에서 15분간 원심분리하여 얻은 상층액을 불이 포화된 diethylether를 이용하여 4회 추출하였다. 추출액은 Speed-vac 농축기를 이용하여 농축하고 cGMP의 측정은 방사면역 분석법을 이용하여 분석하였다. 간단히설명하면, 시료와 표준물질을 50 mM sodium acetate 완충용액 (pH 4.8)에 최종 용적이 100 µl가 되게 첨가한 후 100 µl의 희석된 cGMP 항체(Calbiochem-Novabiochem, Co., San Diego, CA, USA)와 125I 가 결합된 cGMP (10000 cpm per 100 µl, specific activity 2200 ci Mm, Dupont-New England Nuclear, Wilmington, DE, USA)를 함께 넣은 후 4°C에서 24시간 반응시켰다. 결합형과 비결합형은 charcoal을 이용하여 분리하였으며 γ-counter를 이용하여 방사능을 측정하였다.

6. 시약

이 연구에 사용된 ACh, phenylephrine, HCl, N^G-nitroarginine methyl ester (L-NAME), 1H-[1,2,4]-oxadiazole-[4,3-a]-quinoxalin-1-one (ODQ), indomethacin, glibenclamide, tetraethylammonium (TEA), verapamil, diltiazem, atropine, propranolol 등은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)으로부터 구입하여 사용하였다.

7. 통계 처리

실험 결과의 유의성 검증은 Sigma Plot 2000 프로그램을 이용하여 처리하였으며, 실험 결과를 Students t-test나 one-way ANOVA test를 통하여 p가 0.05 이하인 경우 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

결 과

1. 혈관 내피세포 의존성 혈관 이완효과

내피세포가 온전한 혈관 절편을 phenylephrine (1 x 10⁻⁶ M)으로 수축시킨 후 장미근 메탄올 추출물의 농도를 달리하여 혈관 이완효과를 측정된 결과, 농도 의존적으로 이완되었으며 1 x 10⁻⁴ g/ml의 장미근 메탄올 추출물 농도에서는 87.26 ± 0.27% 이완효과를 관찰할 수 있었다. 장미근 메탄올 추출물의 혈관 이완 효과가 혈관 내피세포 의존적인지를 밝히기 위하여 혈관 내피세포를 제거한 후 혈관 이완효과를 측정한 결과, 거의 완벽하게 혈관 이완효과가 억제되었다(Fig. 1).

2. 산화질소 합성 효소 (Nitric Oxide Synthase, NOS) 억제시 혈관 이완효과

장미근 메탄올 추출물의 혈관 이완효과가 NO의 생성과 관련이 있는지를 알아보기 위하여 비 특이적인 NOS 억제제인 L-NAME

1×10^5 M을 전 처리하고 장미근 메탄을 추출물의 혈관 이완효과를 측정 한 결과, 혈관 이완효과가 완전히 억제되었다(Fig. 2).

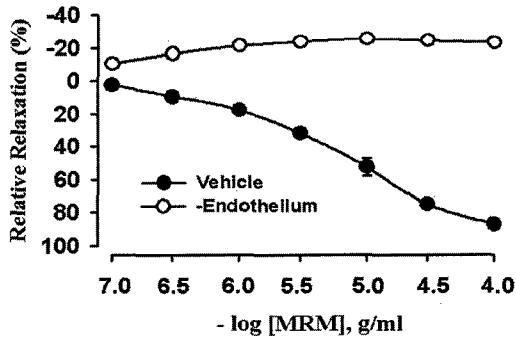


Fig. 1. Dose-response curves for the vascular relaxant effect of MRM in the phenylephrine-precontracted endothelium-intact aortic ring (Vehicle), or endothelium-deducted aortic ring (-endothelium). Each value shows mean \pm SEM of four experiment

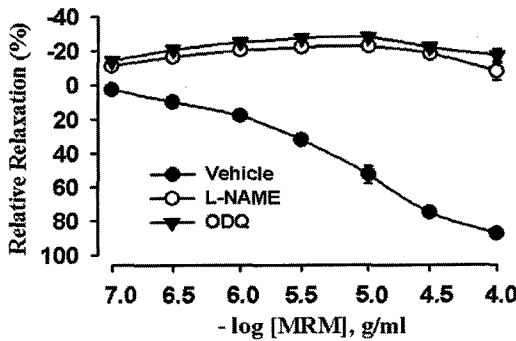


Fig. 2. Dose-response curves for the vascular relaxant effect of MRM in the phenylephrine-precontracted endothelium-intact aortic ring (Vehicle), in the presence of L-NAME (1×10^5 M) or ODQ (1×10^6 M). Each value shows mean \pm SEM of four experiments.

3. Soluble Guanylate Cyclase (sGC) 억제시 혈관 이완효과

장미근 메탄을 추출물의 혈관 이완효과가 sGC의 활성화와 관련이 있는지를 알아보기 위하여 세포질 sGC 억제제인 ODQ 1×10^6 M을 전처리한 후 혈관 이완효과를 측정하였다. 그 결과, 장미근 메탄을 추출물의 혈관 이완효과가 완전히 억제되었다(Fig. 2).

4. Cyclooxygenase (COX) 차단시 혈관 이완효과

Prostacyclin이 장미근 메탄을 추출물의 혈관 이완효과에 영향을 미치는지를 판단하기 위하여 비 선택성 COX 활성 억제제인 indomethacin을 1×10^5 M로 전처리 하에서 장미근 메탄을 추출물의 혈관 이완효과를 측정 한 결과, indomethacin을 전처리 하지 않은 군과 유의한 차이가 없었다(Fig. 3).

5. 자율신경계 수용체 차단시 혈관 이완효과

장미근 메탄을 추출물에 의한 혈관 이완효과와 자율신경계와의 연관성을 알아보기 위하여 비선택성 β -아드레날린성 수용체 차단제인 propranolol을 1×10^6 M, 항 무스카린성 약물인 atropine을 1×10^6 M로 각각 전 처리한 후 장미근 메탄을 추출물의 혈관 이완효과를 측정 한 결과, 약물을 처리하지 않은 군과

비교하여 혈관 이완효과 유의한 차이가 없었다(Fig. 4).

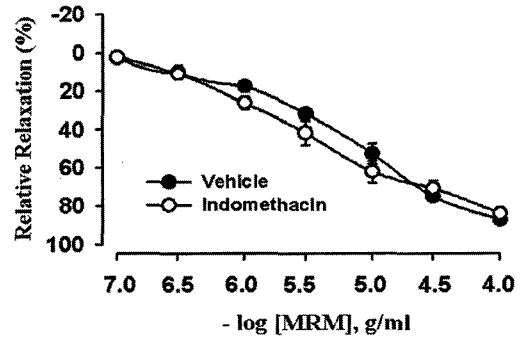


Fig. 3. Dose-response curves for the relaxant effect of MRM in the endothelial intact aortic rings in the presence of indomethacin (1×10^5 M). Each value shows mean \pm SEM of four experiments.

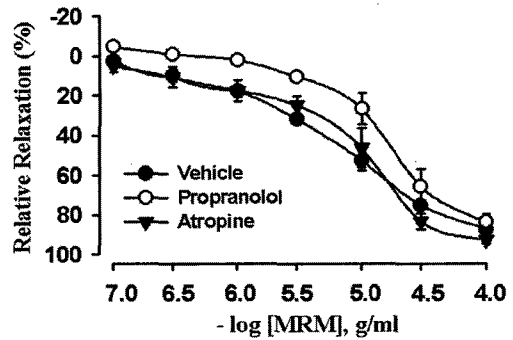


Fig. 4. Dose-response curves for the relaxant effect of MRM in the endothelial intact aortic rings in the presence of atropine (1×10^6 M) or propranolol (1×10^6 M). Each value shows mean \pm SEM of four experiments.

6. Ca²⁺ 통로 차단시 혈관 이완효과

Ca²⁺ 통로 차단이 장미근 메탄을 추출물에 의한 혈관 이완효과에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 L-type Ca²⁺ 통로 차단제인 1×10^6 M verapamil과 1×10^5 M diltiazem을 각각 전 처리한 후 장미근 메탄을 추출물에 의한 이완정도를 측정 한 결과, 전 처리하지 않은 군과 유의한 차이가 없었다(Fig. 5).

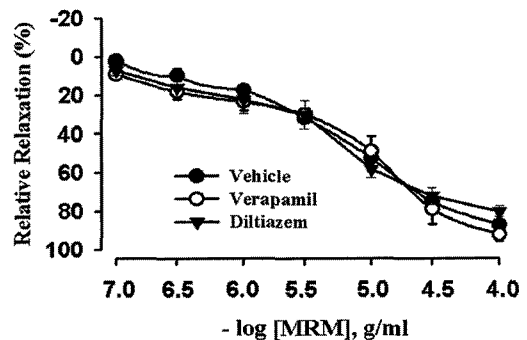


Fig. 5. Dose-response curves for the relaxant activity of MRM in the endothelial intact aortic rings in the presence of verapamil (1×10^6 M) or diltiazem (1×10^5 M). Each value shows mean \pm SEM of four experiments.

7. K⁺ 통로 차단시 혈관 이완효과

K⁺ 통로 차단이 장미근 메탄을 추출물의 혈관 이완효과에

영향을 주는지를 알아보기 위하여 ATP-sensitive K⁺통로 (KATP) 억제제인 1 x 10⁻⁶ M glibenclamide 와 비 선택적 K⁺ 통로 억제제인 1 x 10⁻⁴ M TEA를 전처리한 결과, 장미근 메탄을 추출물의 혈관 이완효과에 영향을 주지 않았다(Fig. 6).

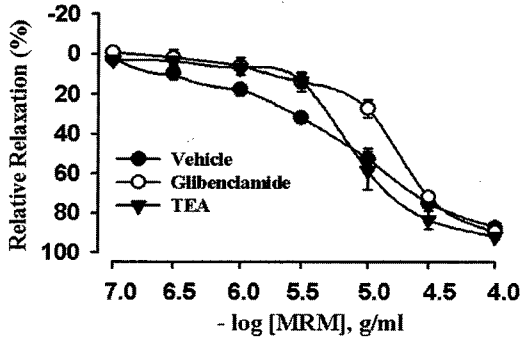


Fig. 6. Dose-response curves for the relaxant activity of MRM in the endothelial intact aortic rings in the presence of glibenclamide (1 x 10⁻⁶ M) or tetraethylammonium (1 x 10⁻⁴ M) (TEA). Each value shows mean ± SEM of four experiments.

8. cGMP 생성 효과

장미근 메탄을 추출물이 혈관 조직에서 cGMP의 생성에 영향을 미치는지를 관찰하기 위하여 장미근 메탄을 추출물을 흉부 대동맥 절편에 직접 투여한 후 cGMP의 생성량을 측정된 결과, 장미근 메탄을 추출물을 투여하지 않은 군에 비해 장미근 메탄을 추출물을 투여한 군이 농도 의존적으로 cGMP의 생성량을 증가시킴을 관찰할 수 있었다(Fig. 7).

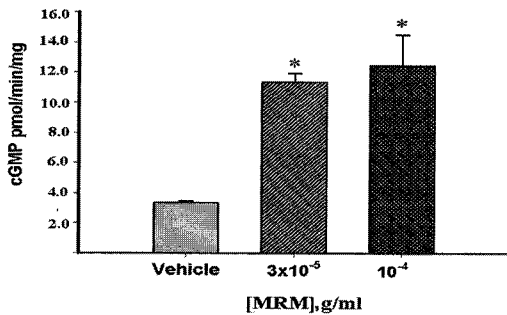


Fig. 7. Effect of MRM on cGMP production in the thoracic aorta with functional endothelium. Each value shows mean ± SEM of six experiments. *p<0.05 vs. vehicle group.

고 찰

본 연구에서는 장미근 메탄을 추출물의 혈관 이완효과를 검증하기 위하여 내과가 온전한 혈관에 phenylephrine으로 수축을 유도한 후 농도를 달리하여 장미근 메탄을 추출물을 첨가하여 혈관 이완작용을 관찰하였다. 그 결과, 장미근 메탄을 추출물은 농도 의존적으로 혈관 평활근을 이완시켰다. 또한, 장미근 메탄을 추출물에 의한 혈관 이완효과의 내피세포 의존성을 확인하기 위해 혈관 내피세포를 제거한 후 혈관 이완효과를 측정하였으나 장미근 메탄을 추출물에 의한 혈관 이완효과는 전혀 관찰되지 않았다. 이러한 결과들은 장미근 메탄을 추출물에 의한 혈관 이

완효과는 혈관 내피세포 의존적임을 시사한다.

혈관 내피세포는 혈관의 정상 생리를 유지하는 중요한 역할을 하며 혈관 주위의 화학적, 물리적 환경의 변화에 의해 혈관 활성물질을 분비하여 긴장도를 변화시킨다. 이러한 혈관 활성물질에는 혈관 평활근을 이완시키는 물질인 EDRF, prostacyclin, EDHF가 있으며¹¹⁾, 수축시키는 물질로는 endothelin, 내피세포유래 수축인자(endothelium-derived contracting factor, EDCF)가 있다. 이러한 연구보고와 선행된 결과를 근거로 장미근 메탄을 추출물의 내피세포 의존적 혈관 이완효과에 어떤 내피세포 유래 혈관 이완인자가 작용하는지를 조사하였다.

혈관 EDRF의 본체인 NO는 내피세포의 L-arginine으로부터 NOS에 의하여 합성·분비되어 혈관 평활근으로 확산 된다¹²⁾. NOS는 3가지의 유형이 있는데, 첫 번째 유형은 뇌형 산화질소 합성 효소 (bNOS, nNOS, NOS I)로 뇌 조직에서 처음 발견되었고 주로 신경 전달 물질로서의 NO를 합성하는 역할을 하고 있다. 두 번째 동위 효소는 유도형 산화질소 합성 효소 (iNOS, NOS II)로써 주로 면역계에 작용하는 NO를 합성하고 있다. 세 번째 동위 효소는 혈관 내피세포에 주로 분포하면서 혈관을 이완시키는데 작용하는 혈관 내피세포형 산화질소 합성효소 (ecNOS, eNOS, NOS III)로써 ACh에 의하여 활성화되어 혈관을 이완시킨다¹³⁾. 이렇게 생성된 NO는 평활근 세포내에서 세포질의 구아닐산고리화 효소(sGC)를 활성화시켜 cGMP의 생성을 증가시키고, 증가된 cGMP는 cGMP dependent protein kinase (G-kinase)를 활성화시켜 myosin light chain kinase (MLCK)를 불활성화시키고, MLC phosphatase를 활성화시킨다. 또한, 평활근 세포내 Ca²⁺ 농도를 증가시키는 여러 경로들을 억제시켜 Ca²⁺ 농도가 저하되면 혈관 평활근이 이완하게 된다¹⁴⁾. NO가 장미근 메탄을 추출물에 의한 혈관 이완효과에 관여하는지를 알아보기 위하여 eNOS 억제제인 L-NAME를 전 처리한 후 이완효과를 측정된 결과, 혈관 이완효과가 억제되었다. 이는 장미근 메탄을 추출물에 의한 혈관 이완작용에 내피세포 유래 NO가 관여함을 시사하는 것이다.

NO가 장미근 메탄을 추출물에 의한 혈관 이완효과에 관여한다면 NO에 의하여 활성화되는 sGC 또한 장미근 메탄을 추출물에 의한 혈관 이완효과에 관여할 것으로 사료되어 sGC 억제제인 ODQ를 전처리한 후 혈관 이완효과를 측정된 결과, 혈관 이완효과는 현저히 억제되었다. 이러한 결과는 장미근 메탄을 추출물에 의한 혈관 이완효과가 NO/cGMP 신호전달계를 경유하여 일어날 수 있음을 시사한다. 또한 장미근 메탄을 추출물을 혈관 절편에 투여하고 혈관절편에서 생성된 cGMP량을 측정된 결과, 장미근 메탄을 추출물을 투여한 혈관 절편에서 cGMP 증가를 확인할 수 있었다. 이러한 결과들로 볼 때, 장미근 메탄을 추출물은 혈관 내피세포에서 NO의 합성을 증가시키고 평활근 세포내에서 세포질의 sGC를 활성화시켜 cGMP의 생성을 증가시켜 혈관을 이완시키는 것으로 사료 된다.

혈관 평활근의 긴장도를 조절하는 또 다른 내인성 인자로 prostacyclin (PGI₂)이 있다. prostacyclin은 내피세포의 arachidonic acid로부터 cyclooxygenase (COX)와 peroxidase 등의 prostacyclin

synthase에 의하여 합성·분비되어 혈관 평활근으로 확산되어 들어간다¹⁵⁾. 이 때 생성된 prostacyclin은 adenyl cyclase를 자극하고 평활근의 cAMP 농도를 증가시켜 평활근을 이완하거나 cAMP의 증가에 의한 K⁺ 통로의 활성화를 통하여 평활근을 이완시키기도 한다^{16,17)}. 장미근 메탄을 추출물의 혈관 이완효과가 prostacyclin의 생성과 관련이 있는지를 알아보기 위하여 COX 활성 억제제인 indomethacin을 전처리하고 혈관 이완효과를 측정 한 결과, indomethacin을 전처리하지 않은 군과 비교하여 차이가 없었다. 이와 같은 결과로 볼 때 장미근 메탄을 추출물의 혈관 이완효과는 prostacyclin의 작용과는 무관한 것으로 사료된다^{18,19)}.

EDHF도 내인성 혈관 이완의 중요한 역할을 맡고 있으나, NO와는 다른 경로로 합성되는 것으로 K⁺ 통로를 활성화시켜 K⁺의 세포내 유출을 초래하여 세포막의 과분극 (hyperpolarization)을 유발하게 된다. 세포막의 과분극은 voltage-operated Ca²⁺ channel (VOC)의 불활성화와 Ca²⁺의 유출로 이어져 세포내 Ca²⁺ 농도 감소를 초래하게 되고, 결국은 혈관 이완을 유발하게 된다^{16,17)}. 또한, 세포막의 과분극은 소포체에서 Ca²⁺의 유리를 억제하는데²⁰⁾, 소포체에서의 Ca²⁺의 유리는 Ca²⁺-activated K⁺ 통로 (KCa) 활성에 근본적 역할을 한다²¹⁾. 따라서, K⁺ 통로는 EDHF의 혈관 이완효과의 중요한 역할을 맡는다. 혈관 평활근에서 K⁺ 통로는 KCa, ATP-sensitive K⁺ 통로 (KATP) 등이 있고, K⁺ 통로 차단제중 TEA는 비선택적으로 K⁺ 통로를 차단하고, sulfonylurea계 약물인 glibenclamide는 KCa 통로에는 영향을 미치지 않고 KATP만을 차단한다. 장미근 메탄을 추출물의 혈관 이완효과가 EDHF와 관련이 있는지를 알아보기 위해, 즉, K⁺ 통로를 경유하여 일어나는지 알아보기 위해 비선택성 K⁺ 통로 차단제인 TEA와 KATP 차단제인 glibenclamide를 전 처리한 후 혈관 이완효과를 측정 한 결과, TEA와 glibenclamide를 전 처리하지 않은 대조군과 비교하여 이완 정도의 차이가 없었다. 이러한 결과는 장미근 메탄을 추출물의 혈관 이완효과는 K⁺ 통로, 즉 EDHF와는 무관함을 시사하는 것이다.

혈관을 포함한 평활근의 수축과 이완은 세포내 Ca²⁺ 농도의 변화와 밀접한 관련이 있다. 세포내 Ca²⁺ 농도의 증가는 세포내 Ca²⁺ 저장고로부터의 유리나 세포외액에서의 Ca²⁺ 유입에 의하여 매개되는데 세포내 가장 중요한 Ca²⁺ 저장고는 근장그물 (sarcoplasmic reticulum)로서, 이곳에서 유리되는 Ca²⁺에 의한 Ca²⁺ sparks는 여러 수축물질에 의한 수축의 초기 기전으로 중요한 역할을 한다. phenylephrine을 포함한 대개의 수축물질의 작용에는 phospholipase C의 활성화가 중요하게 관계하는 것으로 알려져 있는데, 그 결과 생성되는 2차 전령물질의 하나인 inositol 1,4,5-triphosphate(IP₃)가 근장그물로부터의 Ca²⁺의 유리를 촉진한다. 이어서 Ca²⁺ 통로가 열리고 Ca²⁺ 유입이 뒤따르게 되는데, 평활근에서의 수축은 골격근에서의 달리 상당 부분이 세포외액으로부터의 Ca²⁺ 유입에 의존하는데, 이는 크게 두가지 형태의 Ca²⁺ 통로를 통해 이루어진다. 수용체에 직접 연결되어 개폐되는 Ca²⁺ 통로인 receptor-operated Ca²⁺ channel (ROC)와 세포막전위의 변화에 의해 개폐되는 Ca²⁺ 통로인 VOC가 그것이다²²⁾. 이러한 과정을 거쳐 세포내 Ca²⁺ 농도가 증가하면 calmodulin과

결합하여 MLCK를 조절하며 myosine light chain (MLC)의 인산화를 촉진시켜 평활근을 수축시킨다. 장미근 메탄을 추출물의 혈관 이완효과가 Ca²⁺ 통로와 연관이 있는지 알아보기 위하여 L-type Ca²⁺ 통로 차단제인 verapamil과 diltiazem을 각각 전 처리한 후 혈관 이완효과를 측정 한 결과, 전 처리하지 않은 군과 차이가 없었다. 이와 같은 결과로 볼 때, Ca²⁺ 통로는 장미근 메탄을 추출물에 의한 혈관 이완효과와 무관한 것으로 사료된다.

혈관 평활근의 긴장도는 자율신경계에 의해서도 조절된다. 혈관을 이완시키는 무스카린성 수용체는 혈관 내피세포에 존재하여 폴린성 자극에 의해 내피세포성 이완인자가 유리되어 혈관이 확장된다. 또한, 혈관 내피세포와 평활근세포 모두 β-수용체가 존재하는데, 혈관 평활근세포에서 β-수용체 효능제가 결합하면 adenylate cyclase가 활성화되어 세포내 cAMP 농도를 증가시켜 이완 작용을 나타내는 것으로 알려져 있다^{23,24)}. 장미근 메탄을 추출물이 자율신경계의 수용체를 경유하여 혈관을 이완시키는지 여부를 알아보기 위하여, 폴린성 수용체 중에서 무스카린성 수용체를 선택적으로 차단하는 atropine을 전처리한 후 혈관 이완 정도를 관찰하였다. 그 결과, 장미근 메탄을 추출물에 의한 혈관 이완효과는 atropine을 전처리한 군과 전 처리하지 않은 군 사이에 아무런 차이가 없었다. 다음으로 β-아드레날린성 수용체를 비 선택적으로 차단하는 항 아드레날린성 약물인 propranolol을 전 처리한 결과 마찬가지로 전 처리하지 않은 군과 비교하여 차이가 없었다. 그러므로, 장미근 메탄을 추출물에 의한 혈관 이완효과는 자율 신경계에 의한 혈관 이완효과와는 무관한 것으로 사료된다. 장미근은 본래 濕을 거두며 風을 제거하고 혈액순환을 촉진시키며 해독하는 효능이 있는 것으로 알려져 있다¹⁰⁾. 본 연구 결과 혈관 이완 효과가 뚜렷한 것으로 보아 장미근은 혈관 이완을 통하여 혈액 순환을 촉진하고 심혈관 질환을 억제하는 것으로 사료된다.

이상의 결과를 요약하면, 장미근 메탄을 추출물은 혈관내피세포 의존적으로 혈관 평활근을 이완시키며, NO/cGMP 신호기전이 장미근에 의한 혈관 이완에 중요한 역할을 하는 것으로 사료된다.

결 론

장미근 메탄을 추출물은 내피세포 의존적으로 혈관 평활근을 이완시켰고, 이와 같은 효과는 농도 의존적으로 나타났으며, NO/cGMP 신호전달계를 차단하면 완전히 억제되었다. 더욱이 혈관 조직을 장미근 메탄을 추출물과 반응시키면 cGMP의 생성이 증가하였고, 이러한 증가는 혈관 내피세포의 제거나 NOS나 sGC 차단에 의하여 없어졌다. 그러나, 장미근 메탄을 추출물의 혈관 이완효과는 prostacyclin 생성 차단이나 K⁺ 통로 차단, Ca²⁺ 통로 차단 등에 의해서는 영향을 받지 않았다. 또한, 무스카린성 수용체 차단 및 β-아드레날린성 수용체 차단제 등에 의해서도 영향을 받지 않았다. 이와 같은 결과로 볼 때, 장미근 메탄을 추출물의 혈관 평활근 이완 기전은 내피세포에서의 NO/cGMP 경로를 활성화 시켜 나타나는 것으로 사료된다.

감사의 글

이 연구는 보건복지부의 뇌질환 한방연구센터 (03-PJ9-PG6-SO02-0001)의 연구비 지원에 의해 수행 되었습니다.

참고문헌

- Levi, R. Therapies for perioperative hypertension: Pharmacodynamic considerations: Acta Anaesthesiol. Scand. Suppl. 37(99):16-19, 1993.
- Bosnjak, Z.J. Ion channels in vascular smooth muscle: Anesthesiology. 79: 1392-1401, 1993.
- Kim, S.H., Kang, K.W., Kim, K.W., Kim, N.D. Procyanidins in Crataegus extract evoke endothelium-dependent vasorelaxation in rat aorta: Life Sci. 67: 121-131, 2000.
- Guerrero, M.F., Puebla, P., Carron, R., Martin, M.L., San Roman, L. Quercetin 3,7-dimethyl ether: a vasorelaxant flavonoid isolated from Croton schiedeianus: Schlecht. J. Pharm. Pharmacol. 54: 1373-1378, 2002.
- Kamata, K., Noguchi, M., Nagai, M. Hypotensive effects of lithospermic acid B isolated from the extract of Salviae miltiorrhizae radix in the rat: Gen. Pharmacol. 25: 69-73, 1994.
- Goto, H., Shimada, Y., Tanigawa, K., Sekiya, N., Shitani, T., Terasawa, K. Effect of Uncariae ramulus et Uncus on endothelium in spontaneously hypertensive rats: Am. J. Chin. Med. 27: 339-345, 1999.
- Chiou, W.F., Chang, P.C., Chou, C.J., Chen, C.F. Protein constituent contributes to the hypotensive and vasorelaxant activities of Cordyceps sinensis: Life Sci. 66: 1369-1376, 2000.
- Tanner, M.A., Bu, X., Steimle, J.A., Myers, P.R. The direct release of nitric oxide by gypenosides derived from the herb Gynostemma pentaphyllum: Nitric Oxide 3: 359-365, 1999.
- Kang, D.G., Lee, J.K., Choi, D.H., Sohn, E.J., Moon, M.K., Lee, H.S. Vascular relaxation by the methanol extract of Sorbus cortex via NO/cGMP pathway: Biol. Pharm. Bull. 28(5):860-864, 2005.
- 김창민, 신민교, 이경순, 안덕균. 完譯中藥大辭典 (8권). 서울, 도서출판 정담: pp 3673-3674, 1998.
- Kim, S.Z., Kim, S.H., Park, J.K., Koh, G.Y., Cho, K.W. Presence and biological activity of c-type natriuretic peptide-dependent guanylate cyclase-coupled receptor in the penile corpus cavernosum: J. Urol. 159: 1741-1746, 1998.
- Palmer, R.M., Rees, D.D., Ashton, D.S., Moncada, S. L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation: Biochem. Biophys. Res. Commun. 153(3):1251-1256, 1998.
- Meng, W., Ma, J., Ayata, C., Hara, H., Huang, P.L., Fishman, M.C., Moskowitz, M.A. Ach dilates pial arterioles in endothelial and neuronal NOS knockout mice by NO-dependent mechanisms: Am. J. Physiol. 271: H1145-H1150, 1996.
- Furchgott, R.F., Vanhoutte, P.M. Endothelium-derived relaxing and contracting factors: FASEB J. 3(9):2007-2018, 1989.
- 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. Physiol. 42(2):335-347, 1992.
- Furchgott, R.F., Vanhoutte, P.M. Endothelium-derived relaxing and contracting factors: FASEB J. 3: 2007-2018, 1989.
- Busse, R., Mulsch, A., Fleming, I., Hecker, M. Mechanism of nitric oxide release from the vascular endothelium: 87: V18-V25, 1993.
- Warner, T.D., Mitchell, J.A. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic: FASEB. 18: 790-804, 2004.
- Dubois, R.N., Abramson, S.B., Crofford, L., Gupta, R.A., Simson, L.S., Van De Putte, L.B.A., Lipsky, P.E. Cyclooxygenase in biology and disease. FASEB J. 12: 1063-1073, 1998.
- Yamagishi, T., Yanagisawa, T., Taria, N. Ca²⁺ influx induced by the agonist U46619 is inhibited by hyperpolarization induced by the K⁺ channel opener cromakalim in canine coronary artery: Jpn J Pharmacol. 59: 291-299, 1992.
- Yanagisawa, T., Yamagishi, T., Okada, Y. The hyperpolarization induced by K⁺ channel openers inhibits Ca²⁺ influx and release in coronary artery: Cardiovasc Drugs Ther. Suppl 3: 565-574, 1993.
- 김영균, 고석신, 김종훈. 星香正氣散이 家兔의 頸動脈 平滑筋 緊張度 調節에 미치는 影響. 대한한의학회지 19(2):228-243, 1998.
- Mikkelsen, E.O., Thastrup, O., Christensen, S.B. Effects of thapsigargin in isolated rat thoracic aorta: Pharmacol. Toxicol. 62: 7-11, 1988.
- Delaflotte, S., Auguet, M., DeFeudis, F.V., Baranes, J., Clostre, F., Drieu, K., Braquet, P. Endothelium-dependent relaxations of rabbit isolated aorta produced by carbachol and by Ginkgo biloba extract: Biomed. Biochim. Acta. 43: S212-216, 1984.