

知柏地黃丸加味が monocrotaline으로 유발된 흰쥐의 고혈압 병태모델에 미치는 영향

김종원, 안정조, 조현경, 유호룡, 설인찬, 김윤식
대전대학교 한의과대학 심계내과학교실

The Effects of *Jibeakjihwanghwangami* (JJHG) on Monocrotaline-induced Hypertensive Rats

Jong-won Kim, Joung-jo An, Hyun-kyung Jo, Ho-ryong Yoo, In-chan Seol, Yoon-sik Kim
Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Daejeon University

ABSTRACT

This experiment was performed to determine the effect of *Jibeakjihwanghwangami* (JJHG) on hypertension in monocrotaline-induced hypertensive rats.

The results obtained were as follows :

1. JJHG showed a safety in cytotoxicity and toxicity of liver.
 2. JJHG showed scavenging activity on DPPH free radicals and SOD-like activity.
 3. JJHG showed an inhibitory effect on ACE.
 4. JJHG significantly decreased blood pressure and pulse in monocrotaline-induced hypertensive rats.
 5. JJHG significantly decreased the levels of plasma aldosterone in monocrotaline-induced hypertensive rats.
 6. JJHG significantly decreased the levels of potassium in monocrotaline-induced hypertensive rats.
 7. JJHG significantly decreased the levels of uric acid, BUN, and creatinine in monocrotaline-induced hypertensive rats.
- These results suggest that JJHG might be effective in treatment and prevention of hypertension.

Key words : *Jibeakjihwanghwangami* (JJHG), hypertension, monocrotaline-induced hypertensive rats

1. 서론

미국 고혈압합동위원회는 2003년 5월 7차 보고서를 통해 정상 혈압을 120/80 mmHg로 하향조정하고 기존의 정상혈압 범위였던 120-139/80-89 mmHg를 전단계 고혈압으로 분류하여 고혈압에 대한 기준을 강화하였다.

고혈압은 임상에서 가장 흔히 접할 수 있는 만성 질환의 하나로 약 25%의 유병률을 보이며 최근 고령자의 증가, 식생활의 변화, 정신적 긴장도의 증가 등으로 인해 각종 성인병과 더불어 증가 추세에 있다. 특히, 고혈압의 경우는 자각 증상이 거의 없으므로 혈압을 측정하지 않으면 진단되지 않고, 진단되더라도 환자 자신이 치료의 필요성을 느끼지 않는 경우가 대부분이다. 하지만 고혈압은 지금 증세를 일으키지 않더라도 지속적으로 혈관을 손상시키며, 뇌졸중, 일과성 허혈성 발작, 심장질환, 신장질환, 말초혈관질환, 안저병변 등의 합병증

· 교신저자: 김윤식 대전광역시 중구 대흥동 22-5번지
대전대학교부속한방병원 순환신경내과
TEL: 042-229-6806 FAX: 042-254-3403
E-mail: yoonsik@dju.ac.kr

을 유발할 수 있기 때문에 적극적인 교육, 예방 및 치료가 필요하다²⁻⁴.

고혈압은 頭痛, 眩暈, 項強, 耳鳴, 面赤, 煩燥, 視力混濁 등의 증상으로 미루어 頭痛, 眩暈, 中風前兆症 등의 범주로 볼 수 있으며, 그 원인으로 心火暴盛, 肝風內動, 肝陽上亢, 肝陰不足, 血虛生風, 陰陽兩虛, 痰濕壅盛, 氣血虧耗 등이며, 주로 淸熱瀉火, 消痰除濕, 補氣血 등의 辨證治法으로 접근하여 왔다^{2,5,6}. 그러나 그동안 한의학에서는 항고혈압 효과에 대하여 수많은 연구논문⁷⁻¹⁷들이 발표되어 실험적으로 입증하였지만 陰虛火旺, 骨蒸潮熱, 多夢遺精을 治하는 처방으로 알려진 知柏地黃丸加味가 고혈압과 관련하여 보고된 연구는 접하지 못하였다.

이에 저자는 폐고혈압 유발물질로 알려져 있으며, crotalaria spectabilis를 섭취한 흰 쥐에서 동맥염과 혈관 증막의 두께가 증가되고, 우심실 비대가 유발된다고 보고^{18,19}된 monocrotaline으로 흰쥐에 고혈압을 유발하였다. 그리고 고혈압이 유발된 흰쥐의 고혈압 병태모델에서 혈압인자에 미치는 영향을 실험적으로 규명하기 위하여 知柏地黃丸에

鱉甲, 豨薺, 牛膝, 鈞鉤藤 등의 약물이 加味된 知柏地黃丸加味로 세포 독성 및 간독성 검사를 통해 안전성을 검증한 후 知柏地黃丸加味の 농도별 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) 소거능과 superoxide dismutase(SOD) 활성도 및 angiotensin converting enzyme(ACE) 저해능을 측정하고 monocrotaline으로 유발된 고혈압 쥐의 혈압 및 심박수, 혈중 aldosterone, Na⁺, K⁺, Cl⁻, uric acid, BUN, creatinine의 함량을 측정하고, 표적장기인 폐, 심장 및 신장의 조직화학적 관찰을 통하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험

1. 재 료

1) 약 재

본 실험에 사용한 知柏地黃丸加味(*Jibeakjihwanghwangami* : JJHG)의 구성 약물은 대전대학교 부속한방병원에서 구입 후 정선하여 사용하였다. 1침의 구성은 다음과 같다(Table 1).

Table 1. The Prescription of *Jibeakjihwanghwangami*(JJHG)

Herbs	Scientific name	Amount(g)
熟地黃	<i>Rehmanniae Radix Preparat</i>	15
山茱萸	<i>Corni Fructus</i>	12
山藥	<i>Dioscoreae Rhizoma</i>	10
茯苓	<i>Poria Cocos</i>	10
澤瀉	<i>Alismatis Rhizoma</i>	10
牡丹皮	<i>Paeonia Suffruticosa Cortex</i>	10
知母	<i>Anemarrhena Asphodeloides</i>	6
黃柏	<i>Phellodendron Amurense</i>	6
鱉甲	<i>Trionycis Carapax</i>	6
酒蒸豨薺	<i>Siegesbeckiae Herba</i>	10
牛膝	<i>Achyranthis Bidentatae Radix</i>	10
鈞鉤藤	<i>Uncariae Ramulus Et Uncus</i>	6
Total amount		111

2) 동물 및 사료 조성

본 실험에 사용된 실험용 쥐는 7주령, 체중 200-220 g의 雄性 Sprague-Dawley Rat(SDR, 대한 바이오링크, 충주, Korea)로 실험 당일까지 고형사료(슈퍼피드, 강원도, Korea)를 자유 식이하면서 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).

Table 2. Composition of Basal Diet

Composition	Content
crude protein	above 22.1%
crude fat	above 3.5%
crude fiber	below 5.0%
crude ash	below 8.0%
calcium	above 0.6%
phosphorus	above 0.4%

2. 방법

1) 약물 추출

시료 추출 방법은 JJHG 2침을 한약 약탕기에 넣고, 정제수 1500 ml와 같이 혼합하여 3시간 열탕하여 추출한 후 흡입 여과하였다. 이를 rotary vacuum evaporator에서 감압 농축하여 JJHG를 분리한 후, 다시 동결건조기에서 24시간 동결 건조하여 분말 43 g을 얻었다. 얻어진 분말은 초저온냉동고에서 -80°C로 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 원심분리하였다. 이 tube에 RPMI 1640[containing collagenase A(5 mg/ml)와 DNase type I (0.15 mg/ml), antibiotics(penicillin

10⁴ U/ml, streptomycin 10 mg/ml, amphotericin B 25 µg/ml)]를 넣고 37°C CO₂ 배양기에서 hFCs를 2 시간 동안 배양하였다. 여기에 0.5% trypsin-0.2% EDTA를 첨가하여 30분간 배양하고, 인산완충생리 식염수(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 hFCs를 96 well plate에 2×10⁵ cell씩 분주한 후 배양하고, 24시간 후 JJHG를 500, 250, 125, 62.5, 31.25 µg/ml 농도로 투여하였다. 다시 48시간 배양 후 부유액을 제거하고, 각 well에 MTT solution(0.5 mg/ml) 100 µl씩 첨가하여 4시간 동안 배양하였다. 배양 후 부유액을 제거하고 각 well에 100 µl의 DMSO를 첨가하여 37°C CO₂ 배양기에서 30분 동안 반응시킨 후 ELISA reader를 사용하여 wave length 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

(3) 항산화 활성 측정

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

150 µl에 JJHG를 1000, 500, 250, 125, 62.5 µg/ml 농도로 희석하여 100 µl씩 첨가한 후 37°C에서 30분간 반응시켰다. 이를 흡광도 517 nm에서 측정하여 아래의 방법으로 계산하였다.

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

② Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 측정

JJHG 0.2 ml에 tris-HCl buffer(pH 8.5) 2.6 ml 과 7.2 mM pyrogallol 0.2 ml를 가하여 25°C에서 10분 반응 후 1N HCl 0.1 ml로 반응 정지시켰다. 반응액을 420 nm에서 흡광도를 측정하고 buffer를 첨

가한 것을 대조군으로 하여 아래와 같이 저해율을 측정하였다.

$$\text{SOD 유사활성 (\%)} = 100 - \left[\left(\frac{\text{JJHG 투여군의 흡광도}}{\text{buffer 첨가군의 흡광도}} \right) \times 100 \right]$$

(4) Angiotensin converting enzyme(ACE) 저해능 측정

Cushman & Cheung의 방법²⁰으로 측정하였다. 각 농도(1000, 500, 250, 125, 62.5 $\mu\text{g/ml}$)의 JJHG 10 μl , 기질 Hip-His-Leu 110 μl , 그리고 ACE 용액 30 μl 을 혼합하여 37°C에서 60분 동안 반응시킨 후 1N HCl 110 μl 를 넣어 반응을 정지시켰다. 이 반응액에 1 ml의 ethylacetate를 넣고 교반 후 3,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 얻은 상층액 750 μl 를 95°C에서 10분 동안 건조하여 용매를 완전히 제거하고, 1 ml의 증류수로 용해시켜 228 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 시료 대신 증류수를 혼합시켰다.

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

3) *In vivo*

(1) Monocrotaline에 의한 고혈압 유발

SDR을 무작위로 6마리씩 나누어 정상군(Normal), 대조군(Control) 그리고 JJHG 투여군(JJHG)으로 설정하였다. 대조군과 JJHG 투여군은 monocrotaline 40 mg/kg을 피하주사하였고, JJHG 투여군은 monocrotaline 투여 후 JJHG를 성인 기준 하루 두 칩 분량(250 mg/kg)으로 4주 동안 매일 투여하였다.

(2) 체중 및 장기 무게 측정

① 체중 측정

몸무게는 실험 종료 하루 전에 전자저울을 이용하여 측정하였다.

② 폐, 심장, 신장 무게 측정

폐, 심장, 신장은 ether로 마취 후 채혈한 다음에

적출하여 지방과 다른 조직들과 수분을 제거한 후 무게를 측정하여 몸무게에 대한 무게를 나타내었다.

(3) 혈압 및 심박수 측정

혈압과 심박수는 혈압측정기를 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

JJHG의 투여 종료 후 12시간 절식 후 ether로 마취시킨 다음 심장에서 12 ml 이상의 혈액을 취하여 5 ml를 15 ml conical tube에 넣어 6,500 rpm에 15분간 원심 분리시켜 혈청을 분리하였다. 나머지 6 ml의 혈액을 EDTA 첨가 튜브에 넣어 혈장을 분리하였다.

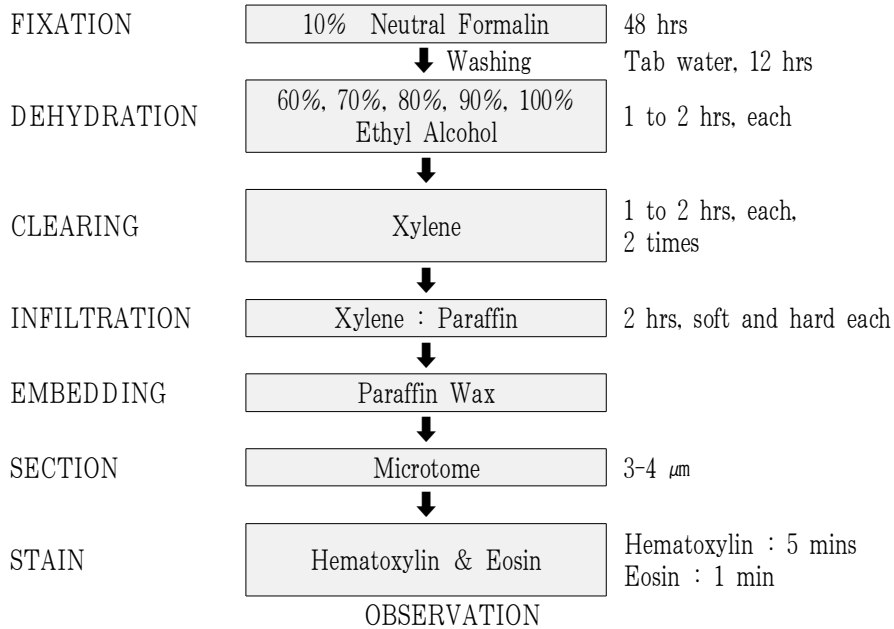
(5) 혈청 및 혈장 성분의 측정

생화학기기를 이용하여 aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), BUN, creatinine, uric acid를 측정하였고, Na^+ , K^+ , Cl^- 의 측정은 전해질 측정기를 이용하였다. Aldosterone은 감마 카운터기를 이용하여 핵의학적인 방법으로 측정하였다.

(6) Hematoxyline & Eosin 염색에 의한 조직 화학적 관찰

각 실험군 별로 적출한 폐, 심장, 신장을 10% 중성 포르말린에 48시간 고정하여 고정이 완료된 각 조직들은 흐르는 수돗물에서 12시간 수세하여 조직내 고정액을 완전 제거하였다. 조직의 탈수를 위해 60%에서부터 100% 알코올에 이르기까지 농도 상승순으로 통상의 방법에 따라 탈수하고, xylene에 투명과정을 거친 다음 파라핀 블럭을 제작하였다. 제작된 블럭은 박절기(microtome)를 이용하여 3~4 μm 두께로 절편을 만들어 탈 파라핀 및 함수 과정을 거친 다음 hematoxyline과 eosin (H&E) 일반 염색을 실시하여 광학현미경상에서 관찰 및 사진 촬영하였다(Scheme 1).

Scheme 1. Tissue Preparation Processing



4) 통계 처리

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

III. 결 과

1. 독성 검사

1) 세포독성 평가

hFCs에 대한 세포독성을 관찰한 결과, 대조군의 세포생존율이 $100 \pm 0.6(\%)$ 인데 비하여, JJHG 투여군 500, 250, 125, 62.5, 31.25(μ g/ml)의 농도에서는 각각 82.5 ± 0.73 , 88.2 ± 0.8 , 89.8 ± 0.5 , 94.2 ± 0.8 , $100.2 \pm 0.7(\%)$ 로 나타났다(Fig. 1).

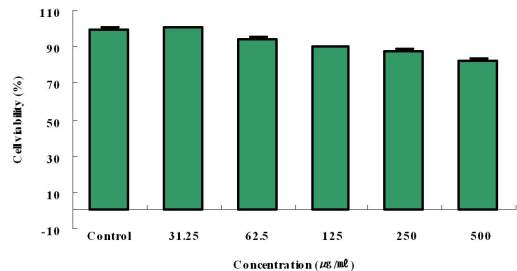


Fig. 1. Cytotoxicity of JJHG on Human Fibroblast Cells(hFCs).

Human fibroblast cells(hFCs) were treated with various concentration(500, 250, 125, 62.5, 31.25 μ g/ml) of the JJHG extract.

2) 간독성 평가

간 기능 측정의 지표 성분인 AST는 대조군이 $228.4 \pm 62.4(I.U./\ell)$, 정상군이 $116.0 \pm 33.8(I.U./\ell)$ 로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는($P < 0.05$) 증가를 나타냈다. 반면, JJHG 투여군에서는 $154.3 \pm 26.4(I.U./\ell)$ 로 감소하였으나 유의성은 없었다. ALT 측정에서는 정상군, 대조군,

JJHG 투여군에서 각각 $58.3 \pm 18.0(I.U./\ell)$, $65.0 \pm 15.7(I.U./\ell)$, $54.2 \pm 9.9(I.U./\ell)$ 로 큰 차이가 없었다. 결과적으로 JJHG 투여군은 약물에 의한 간독성은 발견되지 않았다(Fig. 2).

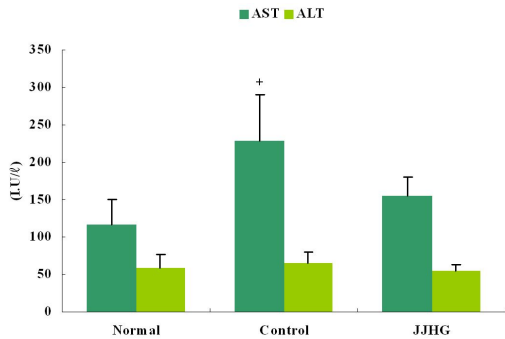


Fig. 2. Effect of JJHG on the AST and ALT in Monocrotaline-induced hypertensive rats.

Normal : Normal SDR
 Control : Monocrotaline(40 mg/kg) treated group
 JJHG : Monocrotaline(40 mg/kg) and JJHG (once a day, 250 mg/kg/500 μ l) treated group
 Values represent the means \pm SD of 6 rats.
 + : $P < 0.05$ compared with normal group

2. *In vitro*

1) 항산화 활성에 미치는 영향

(1) DPPH 소거능에 미치는 영향

DPPH의 소거 활성은 62.5, 125, 250, 500, 1000 (μ g/ml) 농도에서 각각 47.4 ± 0.7 , 60.3 ± 0.9 , 76.1 ± 0.1 , 82.8 ± 5.1 , $84.4 \pm 1.9(\%)$ 의 소거 활성 효과를 나타내었다(Fig. 3).

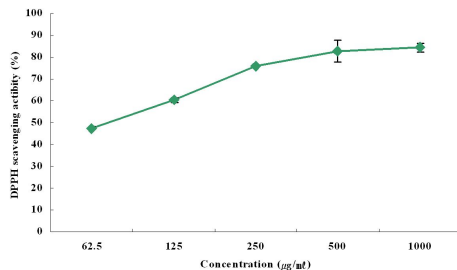


Fig. 3. Scavenging activity of JJHG on DPPH free radical.

JJHG were reacted with DPPH for 30 minutes

at 37°C, and the absorbance at 517 nm due to DPPH radical was determined. The results are the mean \pm SD of three independent experiments.

(2) SOD 유사활성에 미치는 영향

SOD나 SOD 유사 물질에 의해서만 항산화 활성을 나타내는 pyrogallol을 이용하여 JJHG의 항산화 활성을 측정된 결과 62.5, 125, 250, 500, 1000 (μ g/ml)의 농도에서 각각 14.4 ± 2.3 , 20.8 ± 3.6 , 34.3 ± 1.4 , 39.7 ± 2.8 , $45.8 \pm 0.6(\%)$ 의 유사활성을 나타내었다(Fig. 4).

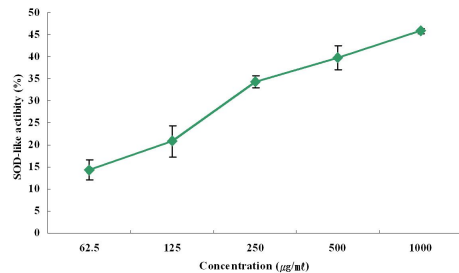


Fig. 4. SOD-like activity of JJHG.

SOD-like activity of JJHG at final concentration 62.5, 125, 250, 500, 1000 μ g/ml. The results are the mean \pm SD of three independent experiments.

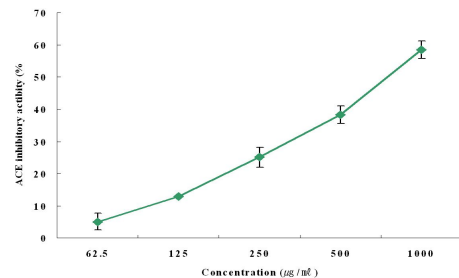


Fig. 5. The inhibitory effect of JJHG on ACE.

Inhibitory activity on angiotensin converting enzyme of JJHG at final concentration 62.5, 125, 250, 500, 1000 μ g/ml. The results are the mean \pm SD of three independent experiments.

(3) ACE 저해능에 미치는 영향

ACE 저해능을 측정된 결과, 62.5, 125, 250, 500, 1000(μ g/ml) 농도에서 각각 5.1 ± 2.6 , 12.9 ± 0.3 ,

25.1 ± 3.1, 38.5 ± 2.7, 58.5 ± 2.7(%)의 저해 효과를 나타내었다(Fig. 5).

3. In vivo

1) 체중 및 장기 무게에 미치는 영향

(1) 체중에 미치는 영향

대조군은 446.0 ± 22.5(g), 정상군은 481.0 ± 21.0(g)으로 나타나, 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는(P<0.05) 감소를 나타내었다. JJHG 투여군은 475.7 ± 23.9(g)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게(P<0.05) 증가하였다(Fig. 6).

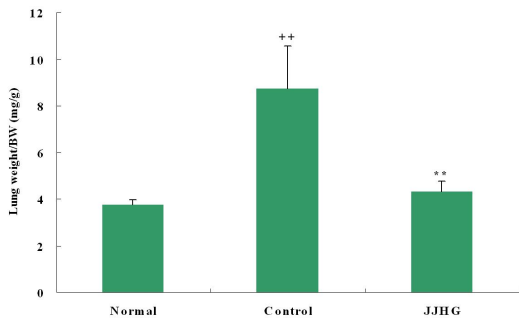


Fig. 6. Effect of JJHG on the body weight in Monocrotaline-induced hypertensive rats.

Normal : Normal SDR

Control : Monocrotaline(40 mg/kg) treated group
 JJHG : Monocrotaline(40 mg/kg) and JJHG (once a day, 250 mg/kg/500 μl) treated group
 Values represent the means ± SD of 6 rats.

+ : P<0.05 compared with normal group

* : P<0.05 compared with control group

(2) 폐 무게에 미치는 영향

대조군은 8.7 ± 1.8 /body weight(BW)(mg/g), 정상군이 3.7 ± 0.2/BW(mg/g)으로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는(P<0.01) 증가를 나타내었다. 반면 JJHG 투여군은 4.3 ± 0.5/BW(mg/g)으로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게(P<0.01) 감소하여, 정상군에 가까운 폐 무게를 유지하였다(Fig. 7).

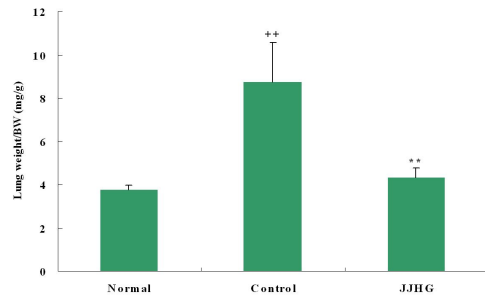


Fig. 7. Effect of JJHG on the lung weight in Monocrotaline-induced hypertensive rats.

Normal : Normal SDR

Control : Monocrotaline(40 mg/kg) treated group
 JJHG : Monocrotaline(40 mg/kg) and JJHG (once a day, 250 mg/kg/500 μl) treated group
 Values represent the means ± SD of 6 rats.

++ : P<0.01 compared with normal group

** : P<0.01 compared with control group

(3) 심장 무게에 미치는 영향

대조군은 3.5 ± 0.2/BW(mg/g), 정상군이 2.6 ± 0.1/BW(mg/g)으로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는(P<0.01) 증가를 나타내었다. 반면 JJHG 투여군은 2.8 ± 0.2/BW(mg/g)으로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게(P<0.01) 감소하여, 정상군에 가까운 심장 무게를 유지하였다(Fig. 8).

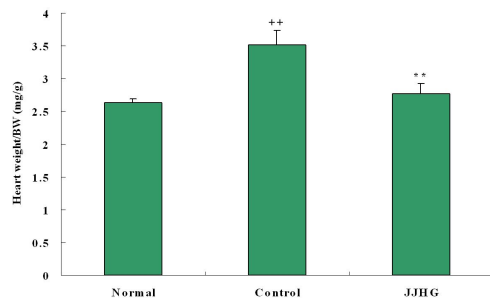


Fig. 8. Effect of JJHG on the heart weight in Monocrotaline-induced hypertensive rats.

Normal : Normal SDR

Control : Monocrotaline(40 mg/kg) treated group
 JJHG : Monocrotaline(40 mg/kg) and JJHG (once a day, 250 mg/kg/500 μl) treated group
 Values represent the means ± SD of 6 rats.

++ : P<0.01 compared with normal group

** : P<0.01 compared with control group

(4) 신장 무게에 미치는 영향

대조군은 $7.1 \pm 0.3/BW(mg/g)$, 정상군이 $5.4 \pm 0.5/BW(mg/g)$ 으로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는($P<0.05$) 증가를 나타내었다. 반면 JJHG 투여군은 $5.9 \pm 0.3/BW(mg/g)$ 으로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게($P<0.05$) 감소하여, 정상군에 가까운 신장 무게를 유지하였다(Fig. 9).

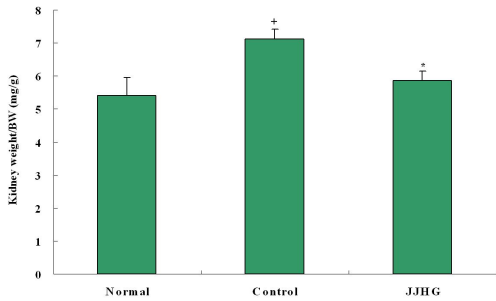


Fig. 9. Effect of JJHG on the kidney weight in Monocrotaline-induced hypertensive rats.

Normal : Normal SDR
 Control : Monocrotaline(40 mg/kg) treated group
 JJHG : Monocrotaline(40 mg/kg) and JJHG (once a day, 250 mg/kg/500 μ l) treated group
 Values represent the means \pm SD of 6 rats.
 + : $P<0.05$ compared with normal group
 * : $P<0.05$ compared with control group

2) 혈압에 미치는 영향

대조군은 $180.1 \pm 11.9(mmHg)$, 정상군은 $123.5 \pm 10.7(mmHg)$ 로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는($P<0.01$) 증가를 나타내었다. JJHG 투여군은 $146.9 \pm 8.2(mmHg)$ 로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는($P<0.01$) 강압 효과를 나타내었다(Fig. 10).

3) 심박수에 미치는 영향

대조군은 $436.6 \pm 57.6(times/min)$, 정상군은 $334.3 \pm 27.8(times/min)$ 로 나타나 정상군에 비하여 대조군이 유의성 있는($P<0.05$) 증가를 나타내었다. JJHG 투여군은 $362.0 \pm 42.1(times/min)$ 로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는($P<0.05$) 감소 효과를 나타내었다(Fig. 11).

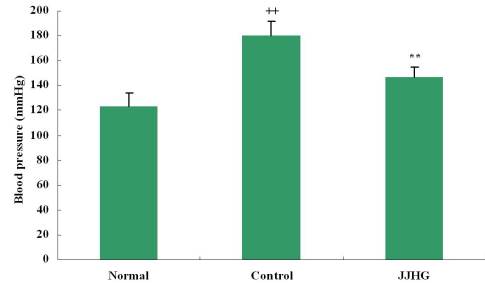


Fig. 10. Effect of JJHG on the blood pressure in Monocrotaline-induced hypertensive rats.

Normal : Normal SDR
 Control : Monocrotaline(40 mg/kg) treated group
 JJHG : Monocrotaline(40 mg/kg) and JJHG (once a day, 250 mg/kg/500 μ l) treated group
 Values represent the means \pm SD of 6 rats.
 ++ : $P<0.01$ compared with normal group
 ** : $P<0.01$ compared with control group

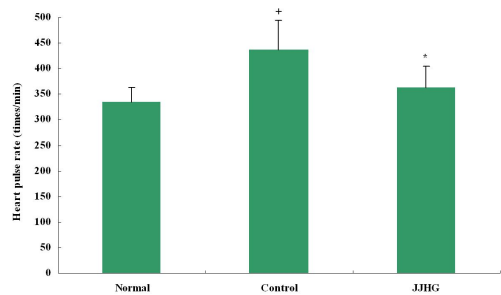


Fig. 11. Effect of JJHG on the heart pulse rate in Monocrotaline-induced hypertensive rats.

Normal : Normal SDR
 Control : Monocrotaline(40 mg/kg) treated group
 JJHG : Monocrotaline(40 mg/kg) and JJHG (once a day, 250 mg/kg/500 μ l) treated group
 Values represent the means \pm SD of 6 rats.
 + : $P<0.05$ compared with normal group
 * : $P<0.05$ compared with control group

4) Aldosterone 농도 변화에 미치는 영향

대조군은 $200.6 \pm 37.3(pg/ml)$, 정상군은 $131.8 \pm 25.8(pg/ml)$ 로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는($P<0.05$) 증가를 나타내었다. JJHG 투여군은 $160.9 \pm 32.2(pg/ml)$ 로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는($P<0.05$) 감소 효과를 나타내었다(Fig. 12).

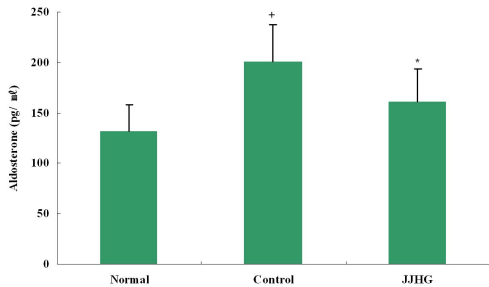


Fig. 12. Effect of JJHG on the plasma aldosterone in Monocrotaline-induced hypertensive rats.

Normal : Normal SDR
 Control : Monocrotaline(40 mg/kg) treated group
 JJHG : Monocrotaline(40 mg/kg) and JJHG (once a day, 250 mg/kg/500 μ l) treated group
 Values represent the means \pm SD of 6 rats.
 + : P<0.05 compared with normal group
 * : P<0.05 compared with control group

5) 전해질 변화에 미치는 영향

(1) Sodium(Na^+) 변화에 미치는 영향

대조군은 $146.0 \pm 2.9(\text{mEq}/\ell)$, 정상군은 $144.0 \pm 0.0(\text{mEq}/\ell)$ 로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 증가하였으나 유의성은 없었고, JJHG 투여군은 $143.0 \pm 0.6(\text{mEq}/\ell)$ 로 나타나 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성은 없었다(Fig. 13).

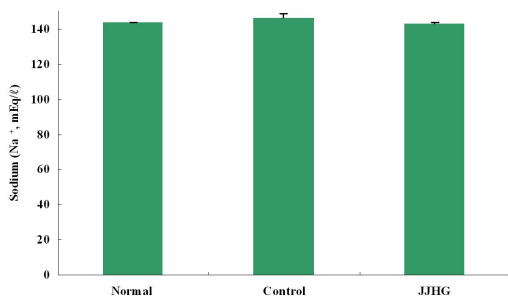


Fig. 13. Effect of JJHG on the sodium(Na^+) in Monocrotaline-induced hypertensive rats.

Normal : Normal SDR
 Control : Monocrotaline(40 mg/kg) treated group
 JJHG : Monocrotaline(40 mg/kg) and JJHG (once a day, 250 mg/kg/500 μ l) treated group
 Values represent the means \pm SD of 6 rats.

(2) Potassium(K^+) 변화에 미치는 영향

대조군은 $5.6 \pm 0.9(\text{mEq}/\ell)$, 정상군은 $4.7 \pm 0.3(\text{mEq}/\ell)$ 로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는(P<0.05) 증가를 나타내었다. JJHG 투여군은 $4.9 \pm 0.5(\text{mEq}/\ell)$ 로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는(P<0.05) 감소를 나타내었다(Fig. 14).

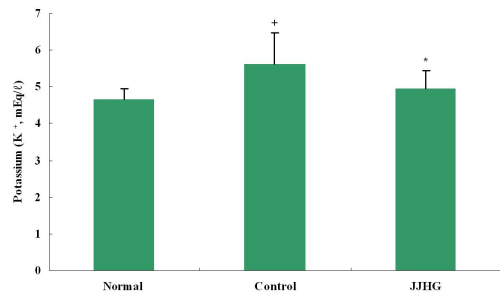


Fig. 14. Effect of JJHG on the potassium(K^+) in Monocrotaline-induced hypertensive rats.

Normal : Normal SDR
 Control : Monocrotaline(40 mg/kg) treated group
 JJHG : Monocrotaline(40 mg/kg) and JJHG (once a day, 250 mg/kg/500 μ l) treated group
 Values represent the means \pm SD of 6 rats.
 + : P<0.05 compared with normal group
 * : P<0.05 compared with control group

(3) Chloride(Cl^-) 변화에 미치는 영향

대조군은 $112.0 \pm 3.0(\text{mEq}/\ell)$, 정상군은 $109.3 \pm 0.6(\text{mEq}/\ell)$ 로 나타나 정상군에 비하여 증가하였으나 유의성은 없었다. JJHG 투여군은 $110.0 \pm 1.7(\text{mEq}/\ell)$ 로 나타나 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성은 없었다(Fig. 15).

6) 신장에 미치는 영향

(1) Uric acid의 농도 변화에 미치는 영향

대조군은 $2.9 \pm 0.3(\text{mg}/\text{dl})$, 정상군은 $1.6 \pm 0.3(\text{mg}/\text{dl})$ 로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는(P<0.01) 증가를 나타내었다. JJHG 투여군은 $1.7 \pm 0.6(\text{mg}/\text{dl})$ 로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는(P<0.05) 감소 효과를 나타내었다(Fig. 16).

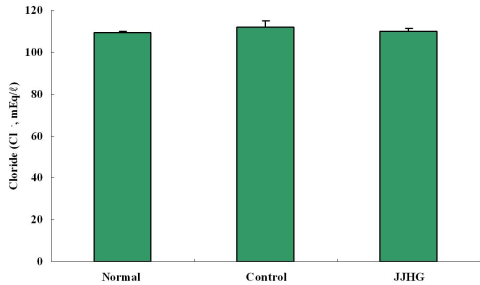


Fig. 15. Effect of JJHG on the chloride(Cl⁻) in Monocrotaline-induced hypertensive rats.

Normal : Normal SDR
 Control : Monocrotaline(40 mg/kg) treated group
 JJHG : Monocrotaline(40 mg/kg) and JJHG (once a day, 250 mg/kg/500 μl) treated group
 Values represent the means ± SD of 6 rats.

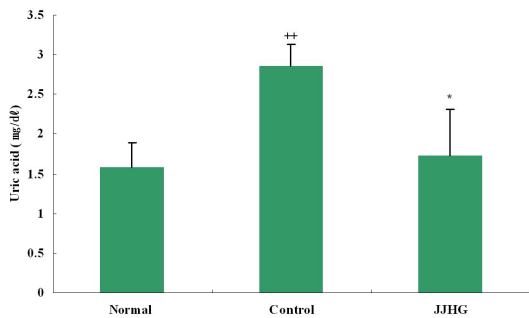


Fig. 16. Effect of JJHG on the uric acid in Monocrotaline-induced hypertensive rats.

Normal : Normal SDR
 Control : Monocrotaline(40 mg/kg) treated group
 JJHG : Monocrotaline(40 mg/kg) and JJHG (once a day, 250 mg/kg/500 μl) treated group
 Values represent the means ± SD of 6 rats.
⁺⁺ : P<0.01 compared with normal group
^{*} : P<0.05 compared with control group

(2) BUN의 농도 변화에 미치는 영향

대조군은 23.7 ± 2.0(mg/dl), 정상군은 19.8 ± 2.7(mg/dl)로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는(P<0.05) 증가를 나타내었다. JJHG 투여군은 20.6 ± 1.3(mg/dl)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는(P<0.05) 감소 효과를 나타내었다 (Fig. 17).

(3) Creatinine의 농도 변화에 미치는 영향

대조군은 0.62 ± 0.04(mg/dl), 정상군은 0.53 ± 0.05(mg/dl)로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는(P<0.05) 증가를 나타내었다. JJHG 투여군은 0.53 ± 0.05(mg/dl)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는(P<0.05) 감소를 나타내었다(Fig. 18).

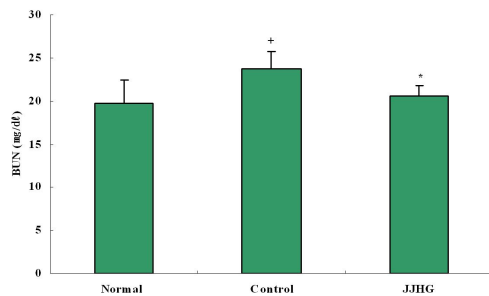


Fig. 17. Effect of JJHG on the BUN in Monocrotaline-induced hypertensive rats.

Normal : Normal SDR
 Control : Monocrotaline(40 mg/kg) treated group
 JJHG : Monocrotaline(40 mg/kg) and JJHG (once a day, 250 mg/kg/500 μl) treated group
 Values represent the means ± SD of 6 rats.
⁺ : P<0.05 compared with normal group
^{*} : P<0.05 compared with control group

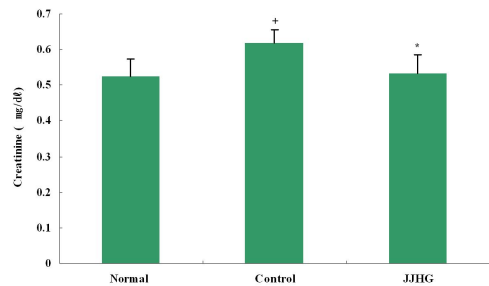


Fig. 18. Effect of JJHG on the creatinine in Monocrotaline-induced hypertensive rats.

Normal : Normal SDR
 Control : Monocrotaline(40 mg/kg) treated group
 JJHG : Monocrotaline(40 mg/kg) and JJHG (once a day, 250 mg/kg/500 μl) treated group
 Values represent the means ± SD of 6 rats.
⁺ : P<0.05 compared with normal group
^{*} : P<0.05 compared with control group

7) 조직화학적 변화에 미치는 영향

(1) 폐

폐의 세기관지와 연결한 동맥의 관찰에서 실험 대조군은 정상군에 비하여 고혈압의 유발로 인해

동맥근의 비대와 평활근 세포의 증식이 관찰되었다. 반면, JJHG 투여군에서는 대조군에 비하여 동맥근의 두께가 완화된 것을 볼 수 있으며 평활근 세포의 증식도 적은 것으로 관찰되었다(Fig. 19).

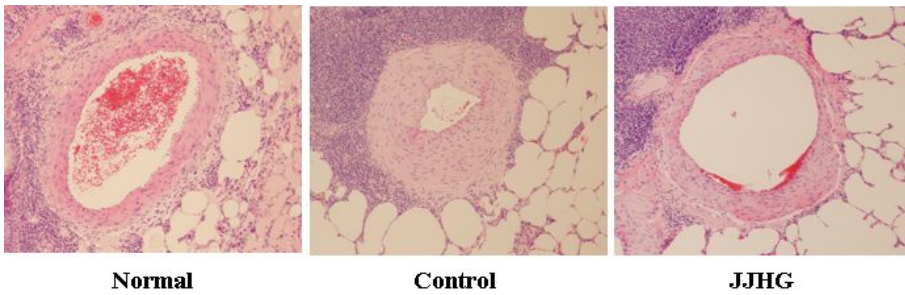


Fig. 19. Light-micrographic appearance of the pulmonary artery, ×100.

Normal : Normal SDR
 Control : Monocrotaline(40 mg/kg) treated group
 JJHG : Monocrotaline(40 mg/kg) and JJHG(once a day, 250 mg/kg/500 μl) treated group

(2) 심장

심장은 좌심실의 가로로 배열된 심근 세포들을 중심으로 관찰한 결과 대조군에서 윤반을 단위로 세포질에 강한 호산성 염색 소견인 eosinophilic

band(E.P)가 특징적으로 나타났다. 반면, JJHG 투여군에서는 세포질이 호산성으로 염색되는 심근세포의 수가 정상군에 가깝게 줄어들었다(Fig. 20).

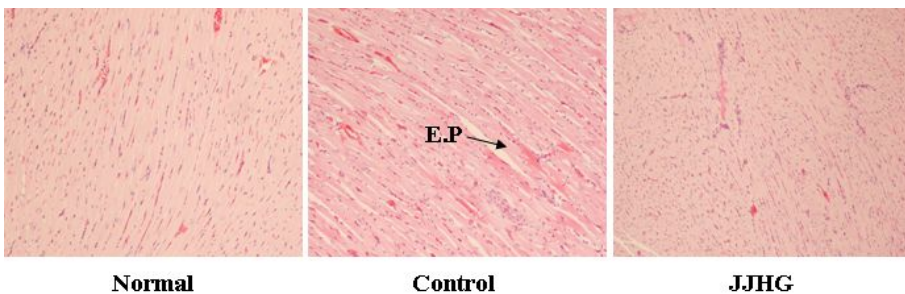


Fig. 20. Light micrographic appearance of the cardiac muscle, ×200. Eosinophilic band were observed in cardiac muscle fiber in control group(E.P: Eosinophilic band).

Normal : Normal SDR
 Control : Monocrotaline(40 mg/kg) treated group
 JJHG : Monocrotaline(40 mg/kg) and JJHG(once a day, 250 mg/kg/500 μl) treated group

(3) 신 장

신장은 사구체, 근위세뇨관, 원위세뇨관의 조직학적 배열 상태는 모두 정상이고, 정상군에서는 신세동맥 벽의 비후가 보이지 않으나 대조군에서는

비후에 의한 혈관 협착이 많이 일어나 있으며, JHG 투여군에서는 정상군에 가깝게 협착이 완화된 것으로 나타났다(Fig. 21).

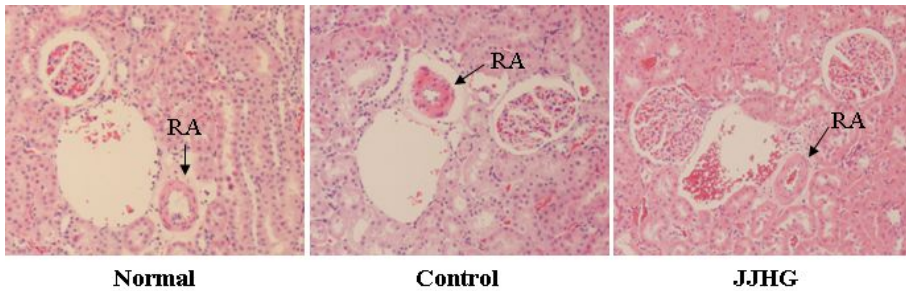


Fig. 21. Light micrographic appearance of the cortex of kidney, ×200. The lumen of renal arteriole was narrowed(R.A : renal arteriole).

IV. 고 찰

고혈압은 성인병 중에서 가장 기본이 되는 원인 질환으로서, 우리나라의 주요 사망원인인 뇌졸중, 심근경색 등과 밀접한 관계가 있으며, 최근 생활수준의 향상과 주변 환경의 변화 등으로 인해 동맥경화, 고지혈증, 당뇨병, 비만 등의 성인병 관련 질환과 더불어 증가 추세에 있다. 특히 고혈압은 기존의 연구를 통하여 뇌졸중의 가장 주요한 독립적인 위험요인으로서 일관되게 보고되고 있다²¹⁻²⁴. 또한, 심혈관계 질환의 위험이 115/75 mmHg일 때부터 발생되며 수축기/이완기 혈압이 20/10 mmHg 증가할 때마다 위험이 배로 증가한다는 연구결과도 있다²⁵.

폐성 고혈압은 백만 명 중 1-2명의 빈도로 나타나는 질환으로 남성보다 여성에서 약 4-5배 가량 흔하게 나타나며 호발연령은 주로 젊은 층에서 많이 발생하는 것으로 알려져 있다. 고도에 따라서 달라질 수 있으나 일반적으로 폐동맥압이 정상 상한값인 30/15 mmHg 이상 증가한 것을 말한다^{2,26}.

폐동맥 고혈압은 원인미상으로 폐동맥 수축에

의해 폐동맥 고혈압이 생기는 원발성 폐동맥 고혈압과 일반적으로 폐질환이나 심장질환에 의해 발생되어진 속발성 폐동맥 고혈압으로 분류된다. 원발성 폐동맥 고혈압은 원인 미상이며, 속발성 폐동맥 고혈압의 원인은 승모판협착, 좌심실부전, 폐정맥폐색, 심실중격결손, 저산소성 폐성심, 고도, Eisenmenger 증후군, 폐혈관의 폐색, 폐색성 기도 질환, 폐실질 질환, 교원질 혈관질환 등이 있다².

혈압의 조절은 심박출량이나 말초 혈관저항, 또는 이 두가지 인자 모두에 의해 결정되며 심박출량에 말초저항을 곱한 값으로 나타난다. 고혈압을 유발하는 위험 인자로 연령, 비만, 염분, stress, 유전, 혈청지질, 흡연, alcohol 등을 들 수 있으며, 혈압의 상승과 하강을 조절하는 요인들은 매우 복잡하며 다양하므로 고혈압의 발생기전은 아직 명확히 규명되어 있지 않으나 renin-angiotensin계의 활성화에 의한 혈관수축과 혈장량의 증가, 교감신경 활성화 증가에 의한 심박동수 및 심박출량 증가, 세포내 sodium, calcium 증가로 인한 말초혈관 평활근의 긴장도 증가, 산화스트레스에 의한 혈관 내피 세포 손상으로 동맥경화 촉진 등이 그 기전으로

제시되고 있고, 이는 액체성 조절과 신경성 조절의 두가지로 나누어 설명할 수 있다.^{21,27-29}.

Renin-angiotensin계에서 angiotensin I은 renin이란 효소에 의해 간에서 angiotensinogen으로부터 제한된 비율로 생산되며, angiotensin I은 angiotensin 전환효소(ACE)에 의해 angiotensin II로 전환된다. 이 angiotensin II는 강력한 혈관 수축제이며, 말초 혈관 저항을 증가시켜 혈압을 상승시키며, 중추신경계를 자극하여 갈증 및 염분 섭취를 자극시켜 혈관내 수분을 증가시키고, 부신피질에서 sodium 보존 호르몬인 aldosterone을 분비하는 중요인자이므로 이는 체액 저류를 유발하여 혈장량 증가로 인한 혈압상승으로 이어진다. 또, 혈관 angiotensin II receptor를 활성화시켜 sarcoplasmic reticulum (SR)에서 calcium 방출을 증가시키므로 최종적으로 혈관 긴장도를 증가시킨다. 또한 aldosterone은 세뇨관에 작용하여 나트륨의 재흡수를 촉진시키고, 나트륨의 재흡수는 물의 재흡수를 동반하기 때문에 혈액량이 증가되어 혈압상승에 관여한다.^{30,31}.

혈압조절을 위한 자율신경계의 가장 중요한 부분은 교감신경계로서 직접적으로 혈관을 자극하여 말초저항을 증가시키고 renin-angiotensin계를 활성화하여 심근수축력을 증강시키고 정맥환류를 증가시켜 심박출량을 증가하게 한다. 운동, 스트레스, 화상, 체온변화 등과 같은 각종 신체 내외환경의 구심성 자극이 연수의 혈관운동중추를 자극하여 교감신경을 통해 뇌와 부신수질에서 catecholamine을 분비시키고 교감신경의 adrenergic β -receptor를 통한 자극으로 긴장성 혈관수축이 일어난다. Catecholamine은 모든 중추신경계의 신경전달 물질로 작용하여 중요한 장기에 영향을 미치는데, 주로 심맥관계에 작용하여 혈관수축을 촉진하고 신진대사를 촉진시키며 체액량과 전해질, 내장기에 직접적 작용을 하며, renin 등의 분비에 간접적 영향을 미친다.^{29,32,33}.

혈관의 내막을 손상시키는 실험방법으로 많이 사용되는 monocrotaline은 *Crotalaria spectabilis*라

는 콩과 식물의 씨앗과 잎 등에서 추출된 분자량 325.4의 pyrrolizidine alkaloid로서 비침습적인 피하 주사로서 폐동맥의 손상을 유도할 수 있어 폐동맥의 혈관개조에 관한 연구에 많이 사용되는 약물로, 비교적 쉽게 그리고 확실하게 원발성 폐고혈압의 병리학적 변화를 유발하여 이 병변의 발생기전을 연구하는데 널리 이용되고 있다.^{34,35}.

Monocrotaline으로 유도된 폐동맥 고혈압의 발생기전은 아직 확실히 밝혀져 있지는 않지만, 현재까지 알려진 바에 의하면 먼저 혈관 내피세포가 손상을 입고 나서 폐소동맥내 혈소판 응집을 일으켜 혈관의 부분적인 폐쇄를 초래하고 비만세포들의 응집부위에서는 5-hydroxytryptamine 등이 분비되어 폐동맥 및 폐정맥의 수축성이 증가하고, 혈소판응집성 혈전의 형성 및 부분적 모세혈관의 폐쇄로 인해 폐혈관의 중막 비후가 일어나면서 결국 혈관들이 구조적인 재구성을 일으켜 후기에 비가역적인 고혈압이 일으키는 것으로 생각하고 있다.³⁶⁻³⁹.

韓醫學에서는 고혈압이란 직접적인 명칭이 없으나 증상에 근거하면 情志損傷, 飲食失節, 內傷虛損 등에 의해 項強, 頭痛, 不眠, 面赤, 頭重, 眩暈, 胸悶, 耳鳴, 眼昏, 心悸, 健忘, 手足麻木 등으로 나타나고, 文獻에 근거하면 眩暈, 頭痛, 肝風, 肝陽上逆, 項強, 中風 등의 증상과 비슷하다. 辨證類型으로는 心火亢炎, 肝陽上亢, 肝風內動, 陰陽兩虛, 痰濕壅盛 등이 제시되고 疎風, 平肝潛陽, 清熱瀉火, 順氣導痰, 清熱化痰, 補氣血, 補陰, 養血 등의 치법이 활용되고 있다.^{5,6,40,41}.

風, 火, 痰, 虛가 主因을 이루고 있으며, 고혈압의 발생은 肝, 腎, 心 등의 臟器와 관련성이 깊은데, 肝氣가 울결하여 지속되면 風을 動하게 하여 火를 化할 수 있고, 그리고 腎陰이 不足하게 되면 肝陰이 또한 不足해지므로 陰虛하여 陽을 수렴하지 못하므로 肝陽이 上亢하게 되며, 또한 肝陰이 不足할 경우 肝陽이 上亢할 뿐만 아니라 동시에 心火가 上昇하는데 心火가 지나치게 盛하면 도리

어 肝陰을 더욱 손상시켜 頭痛, 眩暈 등의 고혈압의 증상을 나타낼 수 있다. 그리고 五志 및 七情의 過極 즉 정신적 과로 및 긴장, 酒色過度, 飲食失節 등의 원인으로 먼저 腎水枯渴이 되고 腎陰이 不足하게 되면 肝陽이 上昇하여 陰損한 뒤 陽虧가 되어 결국 陰陽兩虛가 된다. 즉, 眞陰이 不足하게 되면 眞陽도 虛渴해져서 下焦가 극도로 쇠약해지므로 水升火降의 조절기능 차질로 虛火가 逆上하는 것을 고혈압으로 보았으니 다시 말해 陰虛하여 火氣가 逆上하는 것으로 요약된다⁴¹.

知柏地黃丸은 《醫宗金鑑》⁴²에 수록되어 六味地黃丸에 知母, 黃柏을 加味하여 陰虛火旺, 骨蒸潮熱, 多夢遺精을 治하는 처방으로 알려져 있다. 이에 저자는 知柏地黃丸에 滋陰潛陽하여 陰虛陽亢으로 인한 動風을 治하는 鱉甲⁴³, 祛風濕하며 降壓에 유의하다고 보고된 豨薟⁴³⁻⁴⁶, 活血祛瘀하고 引血下行시키는 牛膝⁴³, 肝熱을 淸熱시켜주며 降壓에 유의하다고 보고된 鈞藤⁴³ 등의 약물을 가미한 知柏地黃丸加味(JJHG)로 동물병태모델의 고혈압 인자에 미치는 영향을 연구하기 위해 SDR에 monocrotaline을 피하 주사하여 고혈압을 유발시켰다. 그리고 세포독성 및 간독성, 체중 및 장기 무게를 측정하였고, 정상군, 대조군, JJHG 투여군으로 분류하여 혈압, 심박수 변화, 항산화능, ACE 저해능, 혈장내 aldosterone, Na⁺, K⁺, Cl⁻ 및 uric acid, BUN, creatinine을 측정하였으며, 폐, 심장, 심장조직을 조직화학적 방법으로 관찰하였다.

Aminotransferase는 어떤 조직에도 존재하는 효소로 세포내 활성치가 혈청내 효소 활성치보다 커서 조직에 장애가 생기면 혈중으로 효소가 유출하여 혈청 효소활성은 증가한다. 간에는 효소 함량이 많을 뿐만 아니라 해부학적으로도 효소의 혈중 유출이 용이하기 때문에 혈청 AST, ALT는 간장애의 예민한 지표로 활용될 수 있다⁴⁷. 세포독성 및 간독성에 대한 평가 결과 JJHG에 의한 세포독성 및 간 독성은 관찰되지 않았다.

산화스트레스는 고혈압 유발인자일 뿐 아니라

조직 손상의 원인이 된다. 산화 스트레스는 활성산소종(ROS)/활성질소종(RNS)의 발생과 항산화 방어계간에 심각한 불균형이 초래되는 상황을 말한다. 활성산소는 그 자체로 직접 혈관내피세포를 공격하여 파괴하여 혈관기능을 저하시키고, LDL-콜레스테롤을 공격해서 과산화시키는 등의 기전으로 혈관협착을 야기하거나 동맥경화를 촉진하는 등의 고혈압 유발에 관여하며, angiotension 전환효소(ACE)에 의해 angiotension I에서 전환된 angiotensin II가 산화스트레스 인자에 영향을 미쳐 1차적인 내인성 혈관확장인자인 nitric oxide(NO)의 생성을 억제하여 고혈압을 유발하는 등의 고혈압 유발의 단계에 많은 영향을 미치고 있다^{32,48}.

DPPH는 그 자체가 매우 안정한 free radical로서 517 nm에서 특징적인 광 흡수성을 나타내는 보라색 화합물이며, 일반적으로 반응성이 강한 DPPH radical은 항산화제로부터 전자 혹은 수소 원자를 얻음으로써 안정한 형태의 생성물인 DPPH-H로 전환하는 것으로 알려져 있다⁴⁹. 또한, 이물질이나 활성산소들의 공격으로부터 세포나 조직을 보호하고 항상성 유지에 중요한 역할을 하여 직간접적으로 노화과정에 영향을 미치는 SOD, catalase 등의 활성산소 분해계 효소들은 대부분 세포질 속에 존재하는데, 이중 SOD는 산소의 대사과정에서 가장 먼저 생성되는 O₂⁻를 제거하는 효소로 2분자의 O₂⁻를 반응시켜 O₂와 H₂O₂로 변화시킨다^{50,51}. 이에 따라 JJHG에 의한 DPPH 소거능을 측정된 결과 농도 의존적으로 증가를 보였으며, SOD 유사활성도도 농도 의존적으로 증가하였다. 이를 통해 JJHG가 산화스트레스에 대해 항산화제로 작용하여 활성산소 생성에 억제력이 있다고 판단된다.

ACE는 불활성형인 angiotensin I의 말단에 존재하는 His-Leu를 절단하여 angiotensin II를 생성하고 혈관을 확장시키는 bradykinin을 불활성화시키는 효소이다. ACE의 작용을 저해하면 angiotensin II의 생성저해, aldosterone 분비감소, 혈관확장제

인 bradykinin의 증가 등의 과정을 통해 신장혈관을 확장시켜 sodium의 배설을 촉진함으로써 혈압을 감소시킬 수 있다⁵². 이러한 이유로 JJHG의 ACE 저해능을 측정된 결과, 농도 의존적으로 저해 효과의 증가를 보여 ACE의 작용을 억제해 통한 고혈압 치료에 JJHG의 활용을 기대할 수 있다.

Monocrotaline에 의해 유발된 고혈압 쥐의 몸무게에 미치는 영향을 측정된 결과, JJHG 투여군은 대조군에 비하여 유의성 있게($P<0.05$) 증가하여 정상군에 가까운 몸무게를 유지하였다. 그리고 폐, 심장의 무게에 미치는 영향을 측정된 결과, JJHG 투여군은 대조군에 비하여 유의성 있게($P<0.01$) 감소하여 정상군에 가까운 신장 무게를 유지하였다. 또한, 신장의 무게는 JJHG 투여군은 대조군에 비하여 유의성 있게($P<0.05$) 감소하여 정상군에 가까운 신장 무게를 유지하였다.

Monocrotaline에 의해 유발된 고혈압 쥐의 혈압 및 심박수를 측정된 결과 혈압은, JJHG 투여군은 대조군에 비하여 유의성 있는($P<0.01$) 강압 효과를 나타내었다. 그리고 심박수는 JJHG 투여군은 대조군에 비하여 유의성 있는($P<0.05$) 감소 효과를 나타내었다. 이와 같은 결과를 보면 JJHG는 혈압을 강하시키고 심박수를 저하시키는 효과가 있었다.

Aldosterone의 주요 작용은 원위세뇨관의 ion 교환 부위에 작용하여 Na^+ , OH^- 재흡수와 K^+ , H^+ 분비를 촉진하여 세포 외액량이나 전해질 농도를 정상으로 유지하는 역할을 한다. 즉, 각종 고혈압 질환이나 체액, 전해질 이상을 수반하는 여러 가지 질환을 진단하고 감별할 수 있는데⁴⁷, Renin-angiotensin-aldosterone계에 의한 혈압상승에 대한 억제력을 알아보기 위해 monocrotaline에 의해 유발된 고혈압 쥐의 혈장 내 aldosterone 수치를 비교하였으며, JJHG 투여군에서는 대조군에 비하여 유의성 있는($P<0.05$) 감소 효과를 나타내었다. 이를 통해서 JJHG가 renin-angiotensin계에 의한 aldosterone의 분비를 억제함으로써 혈장량 증가에 의한 고혈압 치료에 효과적이라 판단된다.

Sodium의 과다섭취는 순환 혈액량(전부하)의 증가로 심박출량의 증가를 유발하고, 소변중 sodium의 배설량과 혈압 사이에는 직접적인 양의 관계가 있어 sodium 배설량이 많을수록 혈압은 더 높다³⁰. 소금섭취를 1일 약 4.5-6 g(sodium은 약 1.8-2.4 g) 정도로 줄이면 혈압의 감소를 기대할 수 있어 혈압강하제의 용량을 감소시키거나 혈압을 정상으로 되돌릴 수 있다는 연구결과⁵³와 경증 고혈압 환자를 대상으로 4주간 염분의 투여를 달리 한 전향적 교차 연구에서 다량(200 mEq, 소금으로 12 g)의 염분 섭취시에 비하여 중등도(소금 6 g)의 염분 섭취시에 혈압이 8/5 mmHg 감소하고, 소량(소금 3g)의 염분 섭취시에 혈압이 16/9 mmHg 감소한다는 연구결과가 있다⁵⁴. 또한, Potassium 섭취는 특히 소금섭취량이 많은 환자에서 혈압의 조절에 도움을 줄 수 있다. Potassium의 강압 기전에는 sodium 배설에 의한 이노 작용, renin-angiotensin계의 억제, norepinephrine의 감소, 혈관 확장 작용을 가진 prostaglandin의 증가가 관여한다. 요중 potassium 배설량이 1일 60 mEq 증가하면 수축기 혈압이 2.7 mmHg 감소한다^{27,30}. 이러한 이유로 monocrotaline에 의해 유발된 고혈압 쥐의 혈청 중 전해질 수치를 측정하였다. 먼저 potassium(K^+) 농도를 측정된 결과, JJHG 투여군이 대조군에 비하여 유의성 있는($P<0.05$) 감소를 나타냈다. 하지만 sodium(Na^+)과 chloride(Cl^-) 농도를 측정된 결과에서는 유의성이 없었다. 이와 같은 결과를 통해서 JJHG가 potassium의 변화에 유의성을 보여 potassium의 조절을 통한 고혈압 치료에 활용해 볼 수 있겠지만, 현재로서는 potassium의 보충이 고혈압의 치료에 분명한 효과가 있다는 증거는 거의 없어³⁰ 향후 전해질의 변화가 고혈압에 미치는 영향에 대해서 향후 추가 연구가 더 필요할 것으로 판단된다.

고요산혈증은 임상 연구와 동물 실험에서 고혈압의 원인 인자이자 신질환의 악화 인자로 보고되고 있다. 요산은 동물 모델에서 혈관 내피 세포 기

능 이상과 레닌 활성화를 통하여 고혈압을 유발하고 신장내 세동맥 경화와 간질의 섬유화 병변을 촉진한다고 보고되고 있다⁵⁵⁻⁵⁷. 혈청 중의 uric acid의 농도를 측정된 결과, JJHG 투여군은 대조군에 비하여 유의성 있는($P<0.05$) 감소 효과를 나타내어 JJHG가 고혈압의 발병 원인으로 거론되고 있는 uric acid의 억제에 유의한 효과가 있음을 알 수가 있었다.

BUN은 혈중에 존재하는 urea내 질소를 표현하는 것으로 생리적으로 urea와 동의어로 취급하며, 거의 모두 사구체에서 여과되어 배설되는데 사구체 여과치가 50% 이하로 감소되면 BUN은 기준치 이상으로 증가하게 된다. Creatinine은 신사구체에서 배설되고 세뇨관에서 재흡수되지 않는다. 그러므로 혈중 creatinine 농도는 신장의 순수한 배설기능과 관련이 있기 때문에 신혈류량 감소, 신사구체 여과치가 감소할 경우에 증가하게 된다⁴⁷. 혈중 BUN과 creatinine은 사구체 여과율의 지표로서 신장 기능을 잘 반영하므로 monocrotaline에 의한 신장 기능의 손상에 대해 평가하기 위해 혈중 BUN, creatinine을 측정하였으며, 그 결과 대조군에 비해 JJHG 투여군에서 유의한($P<0.05$) 감소 효과를 보였다. 이와 같은 결과를 통해서 JJHG가 monocrotaline으로 유발된 고혈압으로 인해 야기되어진 신장 기능의 장애를 어느 정도 호전시킬 수 있다는 것으로 파악된다.

폐의 세기관지와 연결한 동맥의 관찰에서 대조군은 정상군에 비하여 고혈압의 유발로 인해 동맥근의 비대와 평활근 세포의 증식이 관찰된 반면, JJHG 투여군에서는 대조군에 비하여 동맥근의 두께가 완화된 것을 볼 수 있으며 평활근 세포의 증식도 적은 것으로 관찰되었다. 그리고 심장은 좌심실의 가로로 배열된 심근 세포들을 중심으로 관찰한 결과 대조군에서 윤반을 단위로 세포질에 강한 호산성 염색 소견인 E.P가 특징적으로 나타난 반면, JJHG 투여군에서는 세포질이 호산성으로 염색되는 심근세포의 수가 정상군에 가깝게 줄어들었

다. 또한, 신장은 사구체, 근위세뇨관, 원위세뇨관의 조직학적 배열 상태는 모두 정상이고, 대조군에서는 정상군에 비해 신세동맥 벽의 비후에 의한 혈관 협착이 많이 일어나 있으나, JJHG 투여군에서는 정상군에 가깝게 협착이 완화된 것으로 나타났다.

이상의 실험 결과를 종합해보면 JJHG는 hFCs와 간에 대한 독성검사를 통해 안전성이 확인되었고, 유의성 있는 DPPH 소거능과 SOD 활성도 증가를 통해 항산화능력을 입증하여 고혈압에 예방 효과가 있을 것으로 사료된다. 또한, JJHG는 유의성 있는 혈압강하 및 심박수 감소 효과를 나타내었는데 혈중 aldosterone 농도를 감소시키고 ACE를 저해하므로써 체액성 조절을 통해 혈압 상승을 억제한 것으로 판단된다. 또한, potassium과 uric acid의 농도 감소효과가 있어 고혈압에 대한 예방 및 조절에도 도움을 줄 수 있을 것으로 판단된다. 이러한 결과로 미루어봐서 知柏地黃丸加味(JJHG)가 고혈압의 치료에 활용 가치가 높을 것으로 판단되며, 향후 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

知柏地黃丸加味(JJHG)의 항고혈압 효과를 연구하기 위하여 monocrotaline으로 유도된 흰쥐의 고혈압에서 항산화 활성도와 ACE 저해능을 측정하고, 체중과 폐, 심장, 신장의 무게를 측정하였고, 혈압 및 심박수, 혈중 aldosterone, Na^+ , K^+ , Cl^- , uric acid, BUN, creatinine을 측정하였고, 표적장기인 폐, 심장, 신장의 조직화학적 관찰을 비교 분석한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 知柏地黃丸加味는 세포독성 및 간 독성이 나타나지 않았다.
2. 知柏地黃丸加味는 농도 의존적으로 DPPH소거 및 SOD소거 활성 효과를 나타냈으며, ACE를

저해시켰다.

3. 知柏地黃丸加味는 혈압 및 심박수를 유의성 있게 감소시켰다.
4. 知柏地黃丸加味는 혈중 aldosterone를 유의성 있게 감소시켰다.
5. 知柏地黃丸加味는 전해질 중 potassium을 유의성 있게 감소시켰다.
6. 知柏地黃丸加味는 uric acid, BUN, creatinine을 유의성 있게 감소시켰다.
7. 知柏地黃丸加味는 폐, 심장, 신장의 조직화학적 관찰의 결과는 정상구조와 유사하게 관찰되었다.

이상으로 知柏地黃丸加味는 항고혈압과 항산화능에 효과가 있는 것으로 판되며, 고혈압에 대한 예방 및 치료에 응용될 수 있을 것으로 기대된다.

참고문헌

1. JNC. Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure, December, 2003.
2. 全國韓醫科大學心系內科學教室編. 心系內科學. 서울: 군자출판사; 2006, p. 154-61.
3. 이영우. 순환기학. 서울: 일조각; 2001, p. 193.
4. 의학교육연수원편. 가정의학. 3판. 서울: 서울대학교출판부; 2001, p. 414-25.
5. 屈松白 外. 實用中醫心血管病學. 北京: 科學技術文獻出版社; 1993, p. 301-4, 347-54.
6. 張元昌 外. 實用中醫內科學(下). 北京: 人民衛生出版社; 1981, p. 1530.
7. 김은혜, 김윤식, 설인찬. 天麻鉤藤飲加味方이 고혈압에 미치는 影響. 동의생리병리학회지. 2007;21(5):1176-84.
8. 박종광. 加味除濕順氣湯이 고지혈증을 유발시킨 고혈압 白鼠에서의 혈액학적 변화에 미치는 영향. 대전대학교 한의학연구소. 2006;15(1):19-32.
9. 조봉현, 김윤식, 설인찬. 加味四物湯이 高血壓에 미치는 影響. 동의생리병리학회지. 2006;20(1):131-7.
10. 전연이, 박창국, 박치상, 이소연, 윤현덕, 신오철. 分心氣飲이 고혈압 백서와 인간유래 혈관 내피세포주(ECV 304)에 미치는 영향에 대한 연구. 대한한방내과학회지. 2005;26(1):182-98.
11. 최석진, 김희택, 조학준, 김호현. 疎風湯이 고혈압과 동맥혈관에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2005;19(6):1622-8.
12. 백경민, 조현경, 유호룡, 김윤식, 설인찬. 加味滋陰降火湯이 SHR의 血壓에 미치는 影響. 대한한방내과학회지. 2005;27(1):1-15.
13. 신황수, 오영선, 김윤식, 설인찬. 加味導赤散이 고혈압에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2004;18(6):1710-3.
14. 유명찬, 오영선, 김윤식, 설인찬. 加味鷄血藤湯이 高血壓에 미치는 影響. 대한한방내과학회지. 2004;25(4):52-64.
15. 조현경, 임성민, 안정조, 최영, 김용진, 유호룡, 박양춘, 황치원. 導痰湯이 腦損傷 및 高血壓에 미치는 影響. 대한한방내과학회지. 2001;22(4):503-12.
16. 김종인, 김동희, 설인찬. 地黃飲子가 腦損傷 및 고혈압에 미치는 影響. 동의생리병리학회지. 2001;15(2):246-54.
17. 정현우, 백영찬, 김정상. 六味地黃湯加味方이 局所腦血流量 및 血壓에 미치는 實驗的 效果. 대한동의병리학회지. 2000;13(2):245-55.
18. Kay JM, Harris P, Heath D. Pulmonary hypertension produced in rats by ingestion of *Crotalaria spectabilis* seeds. Thorax. 1967 Mar;22(2):176-9.
19. Lalich JJ, Merkow L. Pulmonary arteritis produced in rats by feeding *Crotalaria spectabilis*. Lab. Invest. 1961;10(Jul-Aug):744-50.
20. Cushman DW, Cheung HS, Sabo EF, Ondetti MA. Development and design of specific inhibitors of angiotensin-converting enzyme.

- Am J Cardiol. 1982 Apr 21;49(6):1390-4.
21. 김기훈, 문재우. 公衆保健學. 서울: 정문각: 1999, p. 337-47.
 22. Wong KS. Risk factors for early death in acute ischemic stroke and intracerebral hemorrhage: a prospective hospital-based study in Asia: Asian Acute Stroke Advisory Panel. Stroke 1999;30:2326-30.
 23. Moon L, Moise P, Jacobzone S. Stroke care in OECD countries: a comparison of treatment, costs and outcomes in 17 countries. OECD, 2003.
 24. Heuschmann PU, Kolominsky-Rabas PL, Misselsitz B, Hermanek P, Leffmann C, Janzen RW, Rother J, Buecker-Nott HJ, Berger K. Predictors of in-hospital mortality and attributable risks of death after ischemic stroke: the German Stroke Registers Study Group. Arch Intern Med. 2004;164:1761-8.
 25. 박강서. 대사증후군의 고혈압 치료. 대한당뇨병학회지. 2006;7(1):37-44.
 26. Hislop A, Reid L. Arterial changes in *Crotalaria spectabilis*-induced pulmonary hypertension in rats. Br J Exp Pathol. 1974;55(2):155-63.
 27. 대한내과학회 해리슨 내과학 편집위원회편. 해리슨 내과학 제 1권. 서울: 도서출판 MIP: 2003, p. 1456-61.
 28. 장남섭, 김영식, 박영우, 정순희, 이한기, 백홍석. 생리학. 서울: 수문사; 2005, p. 128-34.
 29. 김종규. 생리학. 서울: 정문각; 2002, p. 46, 300-301.
 30. 김종설, 이방헌. 고혈압의 이해와 치료. 서울: 고려의학; 2002, p. 8-10, 14-30, 66-68, 141.
 31. 박정아. 고혈압인에서 renin 활성도, 호르몬 수준 그리고 나트륨과 칼슘 섭취습관과의 관련성. 계명대학교 대학원; 1998.
 32. 이영우, 오병희, 김철호. 고혈압. 서울: 고려의학; 2000, p. 11-55.
 33. 서울대학교의과대학편. 내분비학. 서울: 서울대학교출판부; 2005, p. 199, 203-4.
 34. Todorovich-Hunter L, Johnson DJ, Ranger P, Keeley FW, Ravinovitch M. Altered elastin and collagen synthesis associated with progressive pulmonary hypertension induced by monocrotaline. A biochemical and ultrastructural study. Lab Invest. 1988;58(2):184-95.
 35. Barnes JM, Magee PN, Schoental R. Lesions in the lungs and livers of rats poisoned with the pyrrolizidine alkaloid fulvine and its N-oxide. J Pathol Bacteriol. 1964;88:521-31.
 36. 명나혜, 함의근. 모노크로탈린을 투여한 백서 폐의 미세혈관구조 변화에 관한 부식주조법에 의한 주사전자현미경적 연구. 대한병리학회지. 1995;29:644-59.
 37. Kay, JM, Gillund TD, Heath D. Mast cells in the lungs of rats fed on *Crotalaria spectabilis* seeds. Am J Pathol. 1967;51(6):1031-44.
 38. 이영미, 안형수, 임세진, 안령미. Monocrotaline 에 의해 유발된 폐고혈압 흰쥐에 있어 Enalapril 및 Ginkgo biloba Extract(EGb 761)의 병용 투여시 억제효과. 약학회지. 1999; 43(4):487-93.
 39. 양우익, 조상호, 최인준, 이유복. Monocrotaline 투여 백서 폐동맥고혈압에서 폐혈관내피세포와 폐신경내분비세포의 변화에 대한 형태학적 연구. 대한병리학회지. 1992;26:582-92.
 40. 上海中醫學院編. 中醫內科學. 香蒲: 商務印書館; 1981, p.297-308.
 41. 김지웅, 김영균, 권정남, 박지은. 고혈압의 원인에 관한 문헌적 고찰. 대한한방내과학회지. 2000;21(5):739-45.
 42. 吳謙 等編. 醫宗金鑑. 北京: 人民衛生出版社: 1982, p. 32.
 43. 강병수, 고운재, 김선희, 노승현, 박용기, 서부일 등 편저. 本草學. 서울: 永林社; 1998, p. 276-7,

- 427-8, 503-4, 603.
44. 신흥목. 豨薺의 혈관이완 효능과 항산화 동태에 관한 연구. 대한한의학회지. 2000;21(1):77-83.
 45. 김호철, 안덕균, 이상인. 생희침과 주증희침 추출물이 자발성 고혈압 흰쥐의 항고혈압 작용에 미치는 영향. 대한본초학회지. 1998;13(1):53-8.
 46. 최동일, 함인혜, 박규하, 최호영. 희침류 한약재의 포제가 혈압에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2005;20(1):53-61.
 47. 이귀녕, 권오현. 임상병리과일. 서울: 의학문화사; 2003, p. 95-8, 102-5, 334-7, 587-91, 609-12.
 48. 임동건. 산화스트레스: 활성산소종과 산화질소. 대한중환자의학회지. 2004;19(2):81-5.
 49. 강순아, 오명숙, 김도림, 강지웅, 김원남, 박은화, 장문석, 박성규. 당귀와 황기의 배합 변화가 DPPH 자유기 소거에 미치는 영향 연구. 대한본초학회지. 2006;21(1):17-24.
 50. 김영근, 김영표. 프리라디칼. 서울: 여문각; 1997, p. 455, 564.
 51. Forman HJ, Fridovich I. Superoxide dismutase: a comparison of rate constants. Arch. Biochem. Biophys. 1973;158(1):396-400.
 52. 오세중, 김세현, 김상교, 백영진, 조경현. K-Casein의 Chymosin, Pepsin 및 Trypsin 가수분해물에 대한 안지오텐신 변환효소 저해효과의 탐색. 한국식품과학회지. 1997;29(6):1316-8.
 53. Cutler JA, Follmann D, Allender PS. Randomized trials of sodium reduction: an overview. Am J Clin Nutr. 1997;65(2suppl):643-51.
 54. MacGregor GA, Markandu ND, Sagenlla GA, Singer DRJ, Cappuccio FP. Double-blind study of three sodium intakes and long-term effects of sodium restriction in essential hypertension. Lancet. 1989;2:1244-7.
 55. Feig DI, Nakagawa T, Karumanchi SA, Oliver WJ, Kang DH, Finch J, Johnson RJ. Hypothesis: Uric acid, nephron number, and the pathogenesis of essential hypertension. Kidney Int. 2004;66(1):281-7.
 56. Kang DH, Nakagawa T, Feng L, Watanabe S, Han L, Mazzali M, Truong L, Harris R, Johnson RJ. A role for uric acid in the progression of renal disease. J Am Soc Nephrol. 2002;13(12):2888-97.
 57. 진호준, 나기영, 정해일, 김연수, 김성권, 채동완. 혈중 요산 농도가 IgA 신병증의 진행에 미치는 연구. 대한신장학회지. 2007;26:174-81.