

산삼 배양근 추출물의 혈압강하 및 혈관이완 효과

홍민희¹ · 임희경² · 박지은² · 전능재³ · 이영재⁴ · 조문제^{2,5} · 김소미^{3,6,*}

¹제주대학교 원예산업연구소, ²제주대학교 의과대학 의학과, ³제주대학교 생명자원과학대학 생명공학부, ⁴제주대학교 수의과대학, ⁵제주대학교 의과학연구소, ⁶아열대농업생명과학연구소

The Antihypertensive and Vasodilating Effects of Adventitious Root Extracts of Wild Ginseng

Min Hee Hong¹, Hee Kyoung Lim², Ji-Eun Park², Neung Jae Jun³, Young Jae Lee⁴, Moonjae Cho^{2,5}, and Somi Kim Cho^{3,6,*}

¹Subtropical Horticulture Research Institute, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea

²College of Medicine, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea

³Faculty of Biotechnology, College of Applied Life Sciences, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea

⁴College of Veterinary, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea

⁵Institute of Medical Science, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea

⁶The Research Institute for Subtropical Agriculture and Biotechnology, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea

Received May 29, 2008; Accepted June 6, 2008

Nitric oxide (NO) is a potent antihypertensive and vasodilator which plays an important role in regulating vascular tones. In this study, we investigated the effects of adventitious root extracts of wild ginseng on NO production and NO linked physiological activities. When human endothelial cell line (ECV304) was incubated with either water extracts of wild ginseng adventitious root (WE) or aqueous fraction of butanol extracts of wild ginseng adventitious root (ABE), considerable amounts of NO were released by the cells. The level of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) expression was unchanged and about 6% of the angiotensin converting enzyme (ACE) was inhibited with treatment of ABE. The vasodilating activities of pulmonary artery rings in response to different doses of extracts were shown as 44.8% and 91.3% in 2.5 mg/ml WE and 0.1 mg/ml ABE, respectively. The blood pressure lowering effect was observed from the oral administered spontaneously hypertensive rat (SHR) with the lowest blood pressure (154.5±8.6 mmHg) after 8 h. The blood pressure was recovered to the initial level after 24 h.

Key words: hypertension, nitric oxide (NO), nitric oxide synthase (NOS), vasodilation, wild ginseng adventitious root

서 론

인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 오갈피나무과(*Araliaceae*) 인삼속(*Panax*)에 속하는 다년생 초본으로 한방에서 사용되는 한약재 중의 하나로 달면서 쓴맛이 있고, 따뜻한 기운을 가지고 있으며, 원기를 보하고 비장을 보호하며, 폐를 튼튼하게 하고, 진액을 생겨나게 하여 구갈을 멈추게 하고 심장을 편안하게 해주는 본초학적 효능을 가지고 있다.¹⁾ 인삼의 주요 생리활성 물질은 진세노사이드(ginsenoside)라고도 불리는 사포닌과 정유성분, 폴리아세틸렌(polyacetylene), 페놀성분, 배당체 및 산성

펩티드 등이 있으며, 그 밖에도 비타민, 당류, 무기질과 같은 다양한 성분들이 함유되어 있다.²⁾ 인삼의 생리활성 효능은 중추신경계의 작용, 면역기능강화작용, 항암작용, 항당뇨작용, 간기능 강화작용, 심혈관 개선작용, 항스트레스 작용, 항피로 작용, 항산화 작용 등이 보고되고 있다.³⁻⁸⁾ 현재 일반 시장에서 거래되고 있는 삼(ginseng)은 생육환경이나 배양 방법에 따라 재배인삼(Cultivated Ginseng), 재배산삼(mountain Cultivated Ginseng) 그리고 야생산삼(Mountain Wild Ginseng) 등의 세 가지로 분류할 수 있다.⁹⁾

예로부터 신비의 영약으로 알려진 산삼은 당뇨, 암, 혈압, 간, 심장 질환 등 각종 성인병 예방과 신진대사 촉진 작용을 하며, 인체의 저항력을 높임과 동시에 면역기능을 향상시켜 준다고 알려져 왔으나, 약리효과에 대한 보고는 면역활성 증강 효과 정도 밖에 없다.¹⁰⁾ 최근 산삼근의 배양이 실험실에서 가능해짐에

*Corresponding author

Phone: +82-64-754-3348; Fax: +82-64-756-3351

E-mail: somikim@cheju.ac.kr

따라 산삼에 대한 더 많은 연구가 이루어지고 있다. 산삼 배양근은 천연 야생산삼으로부터 조직을 분리하여 세포괴(callus)와 부정근을 단계별로 유도하고, 이들 뿌리 중에서 건실한 것을 선별한 후, 생물반응기를 이용하여 45일 가량 배양하여 생산되고 있다.¹¹⁾ 이렇게 생산한 산삼 배양근은 야생 산삼과 매우 유사한 성분을 함유하고, 대체로 인삼보다 사포닌 함량이 높고 인삼에서는 볼 수 없는 다양한 약리성분을 함유하고 있는 것으로 알려지고 있으며, 또한 이를 이용한 다양한 제품개발이 시도되고 있다.¹²⁾ 최근에는 산삼 배양근의 원료에 대한 안정성¹³⁾뿐만 아니라 산삼 배양근을 이용한 생리활성 효과로는 콜레스테롤 저하 효과¹⁴⁾와 미백 효과¹⁵⁾가 보고되었다.

산화질소(nitric oxide: NO)는 인체 내 신경계, 면역계 뿐만 아니라 심혈관계 등에 관여하는 매우 중요한 전령분자로서 L-arginine으로부터 nitric oxide synthase(NOS)에 의해 생성된다.^{16,17)} NOS는 내피세포에서 확인된 endothelial NOS(eNOS), 신경세포의 neuronal NOS(nNOS), 그리고 대식세포에서 확인된 inducible NOS(iNOS) 등 3종류의 isoforms이 알려져 있다. eNOS와 nNOS는 calcium 농도에 의존하여 NO를 생성하며 주로 세포 내 신호전달에 관여하며, iNOS는 cytokine, 발육인자, 그리고 내독소 등에 의해 유도되어 유전자의 전사와 번역 수준에서 발현이 조절된다.¹⁸⁾ 일단 iNOS가 합성되면 오랜 기간 지속적으로 다량의 NO를 생성하기 때문에, iNOS에 의한 과도한 NO의 생성은 내피 세포층 손상의 원인이 되어 혈관벽에 많은 손상을 유발하게 된다.¹⁹⁾

본 연구에서는, 예로부터 신비의 영약이라고 알려져 있고, 부작용이 거의 없는 생약으로 인정되는 산삼 배양근의 NO 생성과 고혈압 억제 효과를 알아보았다.

재료 및 방법

산삼 배양근 시료 및 조제. 본 실험에 사용한 산삼 배양근은 (주)바이오벨류에서 구입한 후 두 종류의 수용성 시료 산삼 배양근 열수추출물(Water Extracts of wild ginseng adventitious root; WE)과 산삼 배양근 부탄올 추출물의 물 분획물(Aqueous fraction of Butanol Extracts of wild ginseng adventitious root; ABE)을 준비하였다. WE는 120°C에서 6시간 열탕 추출 후 감압 농축 과정을 거쳐 동결 건조하여 얻었다. ABE는 건조한 산삼 배양근에 5배의 부탄올을 첨가한 후 환류냉각 장치를 이용하여 부탄올 추출물을 만들고, 여기에 동량의 물을 가한 후 분별깔때기를 이용하여 물 층만을 분리하고 이를 열수추출물과 동일한 방법으로 감압 농축과정을 거쳐 동결 건조하여 얻었다.

내피세포 배양. 본 연구에 사용된 세포는 사람의 배꼽정맥 내피세포(HUVEC)의 자연돌연변이 세포주인 ECV304 세포를 이용하였다. ECV304 세포는 American Type Culture Collection(ATCC)로부터 분양 받아 10% fetal bovine serum(FBS)와 항생제(100 units/ml penicillin-streptomycin)가 첨가된 DMEM 배지로 5% CO₂, 37°C에서 배양하였다.

NO 측정. 배양 산삼근 추출물(WE, ABE)을 시간 간격(1-24 h)으로 처리하여 ECV304 세포를 배양하였다. 생성된 NO의 양은 NO Detection Kit(iNtRon biotech. Korea)을 이용하여 세포

배양액 중에 존재하는 nitrite(NO₂⁻)를 측정하였다. 세포배양 상등액 100 ml와 술폰아미드(sulfanilamide) 용액 50 ml, 나피레틸렌디아민(naphylethylenediamine) 용액 50 ml를 혼합하여 96 well plate에서 10분 동안 반응시킨 후, SUNRISE absorbance reader(TECAN, Austria)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준농도 곡선은 1 mM의 nitrite를 연속희석(serial dilution)하여 얻었다.

Western blot analysis. ECV304 세포를 10% FBS가 포함된 DMEM 배지로 2×10⁵ cells/6 well로 분주한 후, 24시간 동안 배양 시키고 FBS가 없는 DMEM 배지로 교환한 후 media control, 산삼 배양근 추출물(WE, ABE)을 1-24 h 간격으로 처리하였다. 배양액을 제거하고 PMSF(1 mM)가 포함된 TNN lysis buffer(100 mM Tris pH 8.0, 250 mM NaCl, 0.5% NP-40)를 이용하여 세포를 용해시키고, BCA(PIERCE, USA) 방법으로 단백질을 정량하여, 각 시료 별로 50 µg을 western blot에 사용하였다. 이 시료를 10% polyacrylamide SDS gel 전기영동을 후, PVDF membrane(Millipore, USA)으로 gel을 transfer 하고, 1:1,000배로 희석한 mouse polyclonal anti-eNOS를 결합시키고 1:5,000배로 희석한 anti-mouse IgG HRP conjugate (Invitrogen, USA)로 2차 항체를 결합시킨 후, WEST-ZOL[®] Plus Western Blot Detection System(iNtRon biotech., Korea)으로 eNOS 단백질 발현 정도를 관찰하였다.

Angiotensin-I-converting enzyme 저해 작용. ACE 저해활성 측정은 Cushman 등²⁰⁾의 방법에 따라 측정하였다. 즉, ACE 저해활성은 0.3 M NaCl을 함유한 50 mM sodium borate buffer (pH 8.3)에 rabbit lung acetone powder(Sigma, USA)를 1 g/10 ml(w/v)로 현탁하고 sonication 후, 4°C, 40,000×g에서 40분간 원심 분리하여 ACE 조효소액을 얻었다. ACE 저해활성은 시료 50 ml를 가한 다음 37°C에서 5분간 예비반응 시킨 후, 0.3 M NaCl 이 함유된 50 mM sodium borate buffer(pH 8.3)에 3 mM HHL(hippuryl-histidyl-leucine)이 되도록 녹여 만든 기질 150 ml를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시켰다. 이에 1 N HCl 250 ml를 가하여 반응을 정지시킨 후, ethyl acetate 1 ml를 가하여 15초간 균질화 한 후 2,000×g에서 10분간 원심 분리하여 상정액을 얻었다. 이 상정액을 감압농축 한 후, 50 mM sodium borate buffer 1 ml로 용해시켜 228 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구로서는 추출물 대신 추출용매 50 ml를 첨가하였으며, ACE 저해활성 효과는 다음 계산식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{저해율(\%)} = \frac{C-T}{C-B} \times 100$$

C: enzyme control (ACE+HLL)

T: sample (ACE+HLL+sample)

B: enzyme blank (ACE)

혈관이완 효과 검색. SD rats(11~13 주령)를 CO₂ gas로 치사 후 가슴 부분을 절개하여 즉시 흉대동맥을 적출하였다. Krebs solution(in mM, NaCl 120, KCl 4.75, Glucose 6.4, NaHCO₃ 25, KH₂PO₄ 1.2, MgSO₄ 1.2, CaCl₂ 1.7)하에서 결합조직과 지방 등 혈관 주변 조직을 제거하고 3~5 mm의 흉대동맥 환상 절편(aortic ring)을 만들었다. 산소로 포화시킨 Krebs 용액으로 채운 organ bath 내에 특수 제작된 stainless tissue holder로 현

수하였다. Organ bath 내의 온도는 37°C로 유지하였으며, 실험이 진행되는 동안 계속 carbogen(95% O₂, 5% CO₂)을 공급하여 용액의 pH를 7.4로 유지시켰다. 적출대동맥에 1g의 resting tension을 가한 후 15분 마다 bath 용액을 바꾸어 주면서 1시간 동안 안정시켰다. 혈관의 수축이완반응은 고정된 aortic ring의 다른 한쪽을 isometric force-displacement transducer(FT03, Grass, AD instruments, USA)에 연결시켜, physiograph recorder (PowerLab/400, AD instruments, USA)로 기록하고 Chart4 for Windows program(AD instruments, USA)로 분석하였다.²¹⁾

내피세포가 건재한 혈관과 제거한 혈관 모두에서 norepinephrine (NE) 10⁻⁷ M로 혈관을 전 수축시킨 후 배양근 추출물과 분획을 투여하여 이완반응을 관찰하였다. 흉대동맥 환상절편 내부에 18G 척추 천자침을 삽입하여 몇 차례 회전시킴으로써 내피세포를 제거하였다. 내피세포의 유무 확인은 NE 10⁻⁷ M로 혈관을 전 수축시킨 후 Ach 10⁻⁵ M을 투여하여 혈관이완 유무로써 확인하였다.

선천성 고혈압 흰쥐(SHR)에서 혈압 강하 효과. 혈압은 간접법(tail cuff method)을 사용하여 선천성 고혈압쥐(spontaneously hypertensive rat, SHR)의 꼬리 동맥에서 수축기 혈압(systolic blood pressure)을 측정하였다. Tail cuff와 pulse transducer (MLT1050, AD instruments, USA)를 꼬리에 위치시키고, pulse transducer는 physiograph recorder에 연결하여 혈압을 측정하였다. 혈압측정 전에 실험동물을 36°C로 조절된 warming box 내에서 15-20분간 안정화를 취한 후 수축기 혈압을 측정하였다. 심박동수는 맥박에서 나온 신호를 Chart4 for windows program(AD instruments, USA)으로 분석하였다. 비마취 상태의 SHR에 산삼 배양근 추출물을 0.5 g/kg의 용량을 1회 경구 투여하고 24시간 동안 수축기 혈압을 측정하였다.

통계처리. 모든 실험결과는 student-t 검정을 하여 유의도를 검정하였으며 p값이 0.05이하일 때 유의도가 있다고 판정하였다.

결과 및 고찰

산삼 배양근 추출물의 NO 발생 효과. 고혈압은 내피세포의 장애로 NO의 유리가 감소하거나 또는 내피의존성 수축인자인 prostaglandin endoperoxide(PGH₂) 및 superoxide anion의 합성 또는 유리의 증가와 관련이 있는 것으로 보고되고 있어, 사람의 탯줄내피세포(HUVEC)의 자연돌연변이 세포주인 ECV304 세포에서 산삼 배양근 추출물이 NO 발생에 미치는 효과를 관찰한 결과는 Fig. 1과 같다. 산삼 배양근 추출물을 처리하지 않은 세포에서는 극히 미량의 NO(2 μM)가 발생하였고, 산삼 배양근 추출물을 처리한 세포에서는, 추출 방법과 상관없이 많은 양의 NO 생성을 보였는데, 추출물의 농도에 따라 NO 생성에 있어 큰 차이를 보였다. WE를 24시간 처리한 경우에는, 농도 50 μg/ml 처리시 26±2.4 μM NO가 발생한 반면, 100 μg/ml 처리시에는 NO 발생량이 약 3.7배(96.1±3.7 μM) 증가함을 보였다. ABE의 경우에는 50 μg/ml 처리시 58.9±1.4 μM NO가 발생한 반면, 100 μg/ml 처리시에는 133.9±6.6 μM의 NO가 생성되어 WE와 비교하여 높은 NO 발생을 보였다(Fig. 1A). 또한 NO 발생량은 추출물의 처리 시간에 따라 증가하여, 8h에 최

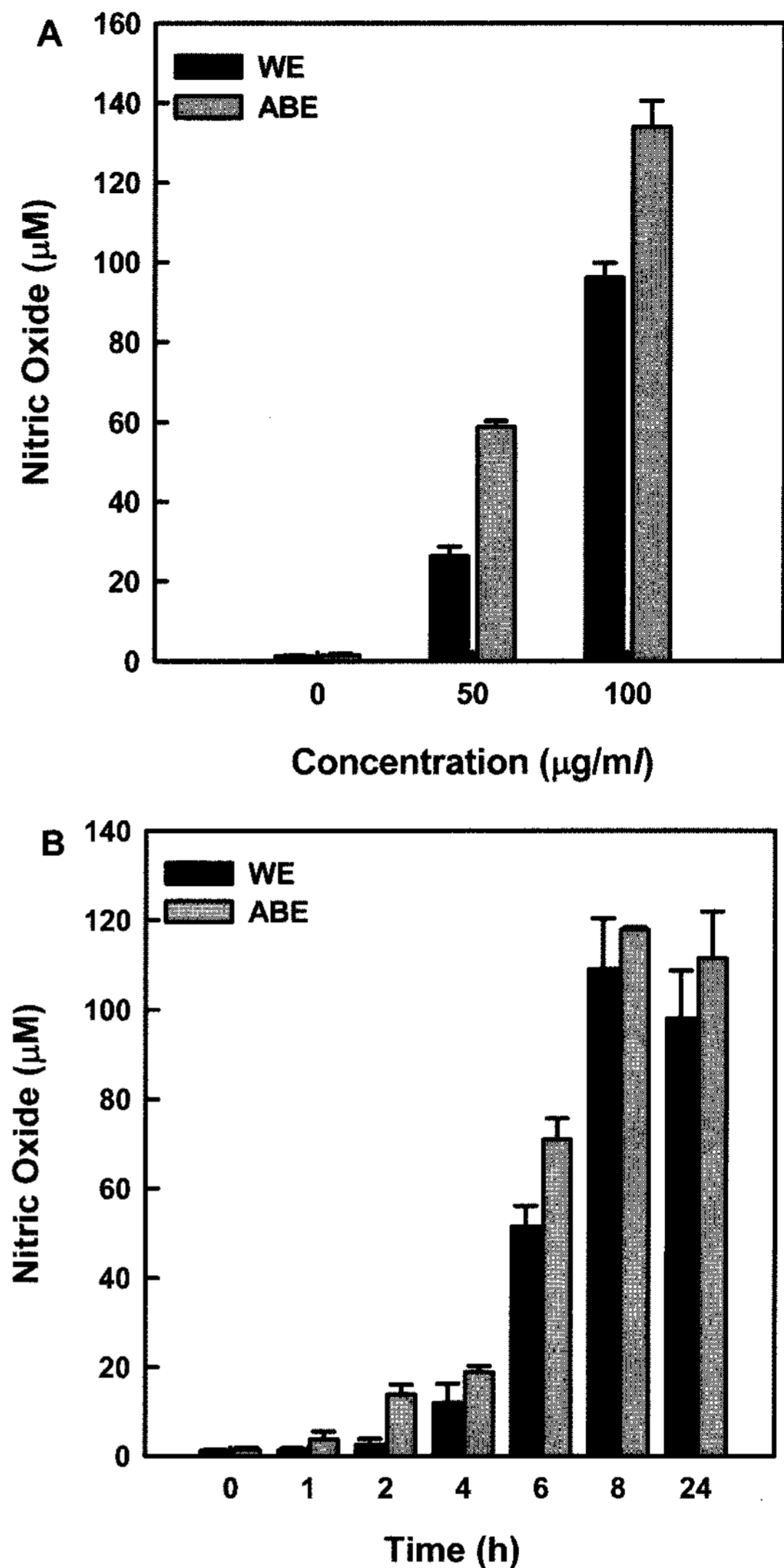


Fig. 1. Effects of wild ginseng adventitious root extracts on NO production in ECV304 cells. A; The ECV304 cells were treated with 50 or 100 μg/ml of water extracts of wild ginseng adventitious root (WE) or aqueous fraction of butanol extracts of wild ginseng adventitious root (ABE) for 24 h. B; The ECV304 cells were incubated with 100 μg/ml of WE or ABE for 1-24 h. After the incubation period, culture media were collected and aliquots were used for the determination of nitric oxide levels.

고의 NO 발생량을 보이다가 이후에는 점차 감소하였다(Fig. 1B). 이러한 결과는 홍삼 사포닌이 정상 흰쥐 혈관 내피세포에서 NO 유리에 의해 혈압을 떨어뜨리는 결과와 일치한다.⁷⁾ 추출방법에 따라 WE와 ABE의 NO 유리 효과가 다르긴 하나 산삼 배양근에서도 홍삼과 유사한 혈압저하 작용이 있을 것으로 사료된다.

산삼 배양근 추출물의 eNOS 발현 효과. 내피 세포는 자극을 받지 않은 상태에서도 계속적으로 NO를 분비하고 있으나, 내피에 존재하는 수용체에 의존하는 작동제인 acetylcholine, adenosine triphosphate, dradykinin과 수용체에 의존하지 않는 작동제인 calcium ionophore A231387은 내피 세포 내 calcium을 증가시켜서 eNOS를 활성화시켜 NO를 생산하게 한다.²²⁾ 산

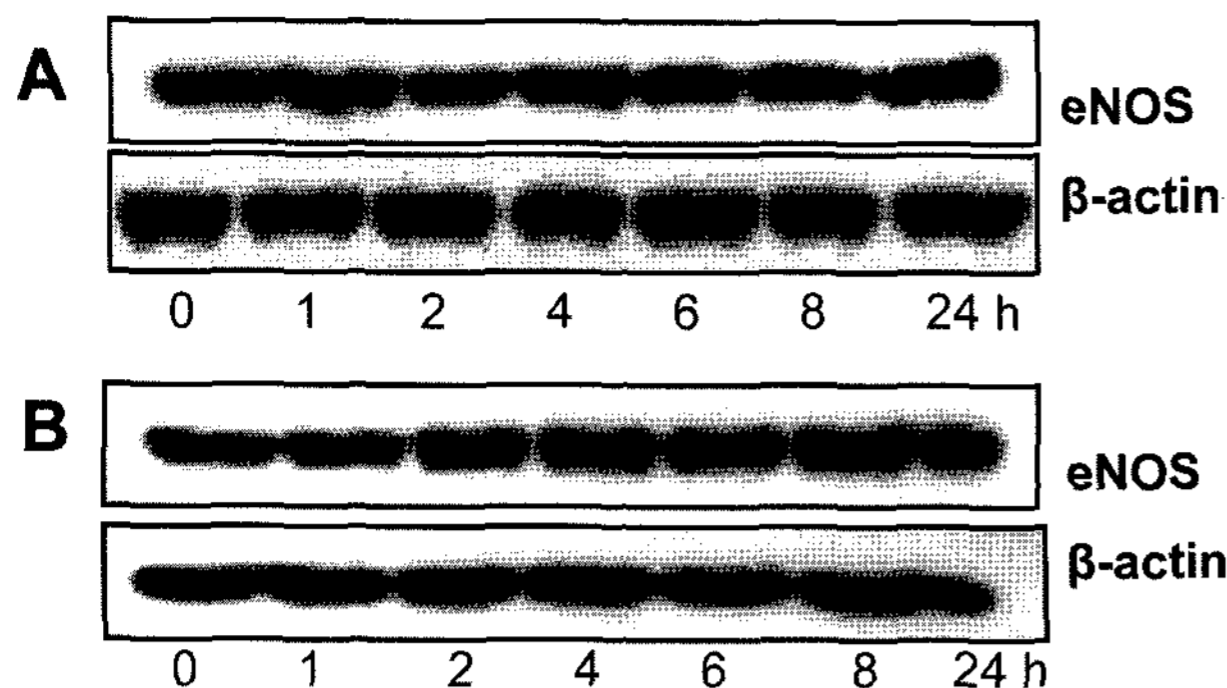


Fig. 2. Effects of wild ginseng adventitious root extracts on the eNOS expression in ECV304 cells. A; The ECV304 cells were treated with 100 μg/ml WE for 1-24 h. B; The ECV304 cells were treated with 100 μg/ml ABE for 1-24 h. Both cell lysates were determined for eNOS and β-actin.

삼 배양근 추출물에 의한 NO 발생이 eNOS에 기인한 것인지를 여부를 확인하기 위하여 western blotting을 수행한 결과는 Fig. 2에 나타낸 바와 같다. 산삼 배양근 추출물을 처리한 내피 세포 뿐만 아니라, 추출물을 처리하지 않은 세포에서도 상당량의 eNOS 발현이 관찰되었고, 시료 간의 차이는 거의 보이지 않았다. 전²³⁾ 등은 신성고혈압백서(renovascular hypertensive rats)의 대동맥에서 고려인삼 사포닌과 비사포닌 성분 모두 혈압강하 효과가 있었고, 혈중 NO 양이 증가하였으나, eNOS의 단백질 발현 양을 비교하였을 때 유의한 변화를 관찰할 수 없었다고 보고한 바 있다. eNOS의 활성은 인산화에 의해서 조절되어지는데, 주로 ser¹¹⁷⁷ 부위가 인산화되어 있을 때 활성화되고, Thr⁴⁹⁵ 부위가 인산화되어 있으면 활성이 억제된다.²⁴⁾ 이는 산삼 배양근 추출물이 내피 세포의 eNOS 단백질 발현 양을 증가시키는 효과는 없지만, eNOS의 인산화 정도와 인산화 부위에 변화를 유발함으로써 NO 발생이 증가될 수도 있음을 시사한다.²⁵⁾

산삼 배양근 추출물의 angiotensin-I-converting enzyme 활성 억제 효과. Angiotensin-I-converting enzyme(ACE)은 불활성형인 angiotensin의 C 말단 His-Leu를 절단하여 혈관벽 평활근을 수축시키는 작용을 하는 angiotensin을 생성시킬 뿐만 아니라, 혈관이완효과를 가지는 nanopeptide인 bardenkinin을 불활성화시키는 효소로 알려져 있다.²⁶⁾ 인삼 추출물에서 이미 ACE 저해 효과가 보고된 바 있어,²⁷⁾ 산삼 배양근 추출물에서의 ACE 저해 효과를 확인하고자 rabbit lung acetone powder에 산삼 추출물을 100 μg씩 처리하였고, 양성 대조군으로 captopril을 50 μg 되도록 처리하였다. 양성 대조군인 captopril의 58%에 비해 100 μg ABE 처리 시에 약 6% 정도의 ACE 억제 효과를 보였다(Fig. 3). 이러한 결과는 100 μg 인삼 추출물 처리 시에 ACE 억제 효과가 거의 없다는 Lee의 보고²⁷⁾와 유사한 것이며, 산삼 배양근 추출물의 경우 저농도 처리 시에 이미 다량의 NO사 발생하여 혈관이완 효과를 나타내므로, ACE 억제에 의한 혈압감소 효과는 미미할 것으로 사료된다.

산삼 배양근 추출물의 혈관이완 효과. SD rats(11~13 주령) 혈관을 적출하여 내피세포가 있는 것과 없는 것으로 나눈 후 혈관을 전 수축시켰다. 수축이 된 혈관에 WE 2.5 mg/ml, ABE 0.1 mg/ml을 각각 처리한 결과, 혈관내피세포가 존재하는 혈관

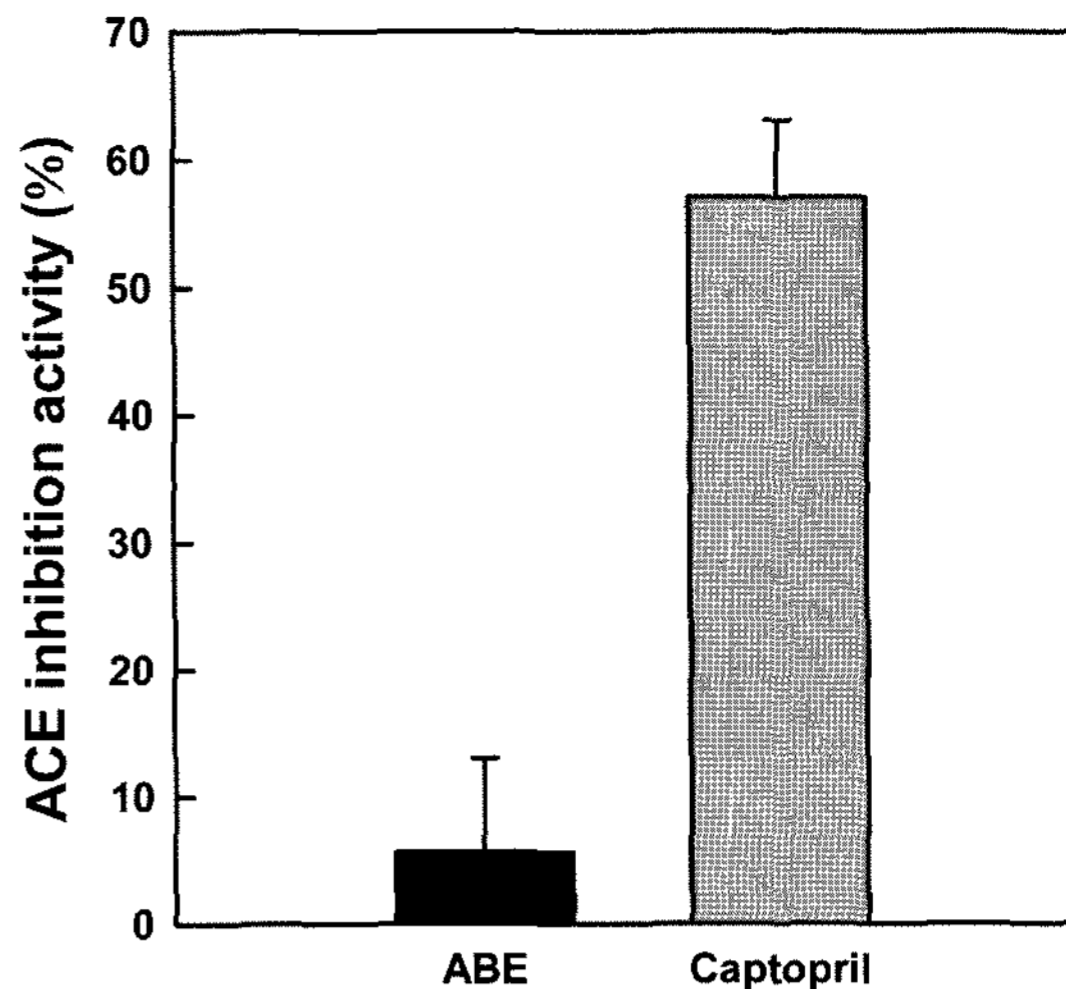


Fig. 3. Angiotensin-I-converting enzyme inhibitory effect of butanol extracts of wild ginseng adventitious root. The rabbit lung acetone powder was treated with 100 μg of ABE, and 50 μg of captopril treated as a positive control.

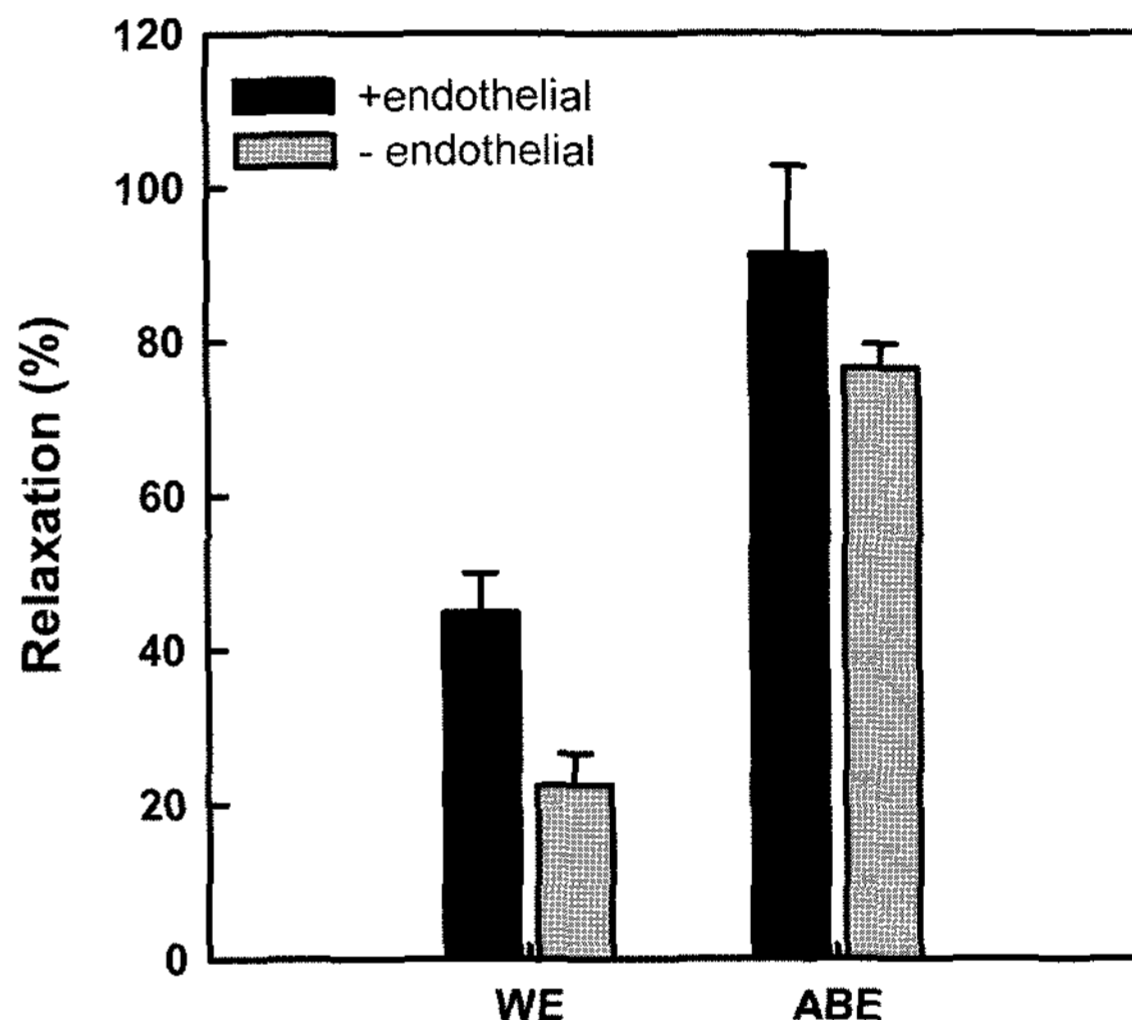


Fig. 4. Vasodilating effects of water extracts and aqueous fraction of butanol extracts of wild ginseng adventitious root in isolated rat aorta. The isolated rat aorta was treated with 2.5 mg/ml of WE and 0.1 mg/ml of ABE in the presence of or in the absence of section of endothelial cells and the vasodilating activity was determined.

에서의 혈관이완율은 WE는 2.5 mg/ml일 때 44.8%, ABE는 0.1 mg/ml일 때 91.3%의 높은 이완율을 보였다. 그리고 혈관내피세포가 제거된 혈관에서는 내피세포가 존재할 때보다는 약간 감소하긴 하였으나, WE는 22.4%, ABE는 76.5%의 이완율을 보였다(Fig 4). NO의 유리는 혈관 이완에 중요한 역할을 하는데, 혈관 이완제의 일종인 Sodium nitroprusside(SNP)는 혈관 평활근에서 외인성 NO 제공 물질이거나 관련 물질을 유리시키는 것으로 알려져 있다.²⁸⁾ 유리된 NO에 의하여 평활근 세포 내의 guanylate cyclase(GC)가 활성화되고 guanosine 3',5' cyclic-monophosphate(cGMP)를 증가시킴으로써 내피 비의존적인 혈관이완을 야기한다고 알려져 있다.²⁹⁾ ABE 처리에 의해 ECV304 세포에서 NO 발생이 증가하지만 eNOS의 발현변화가

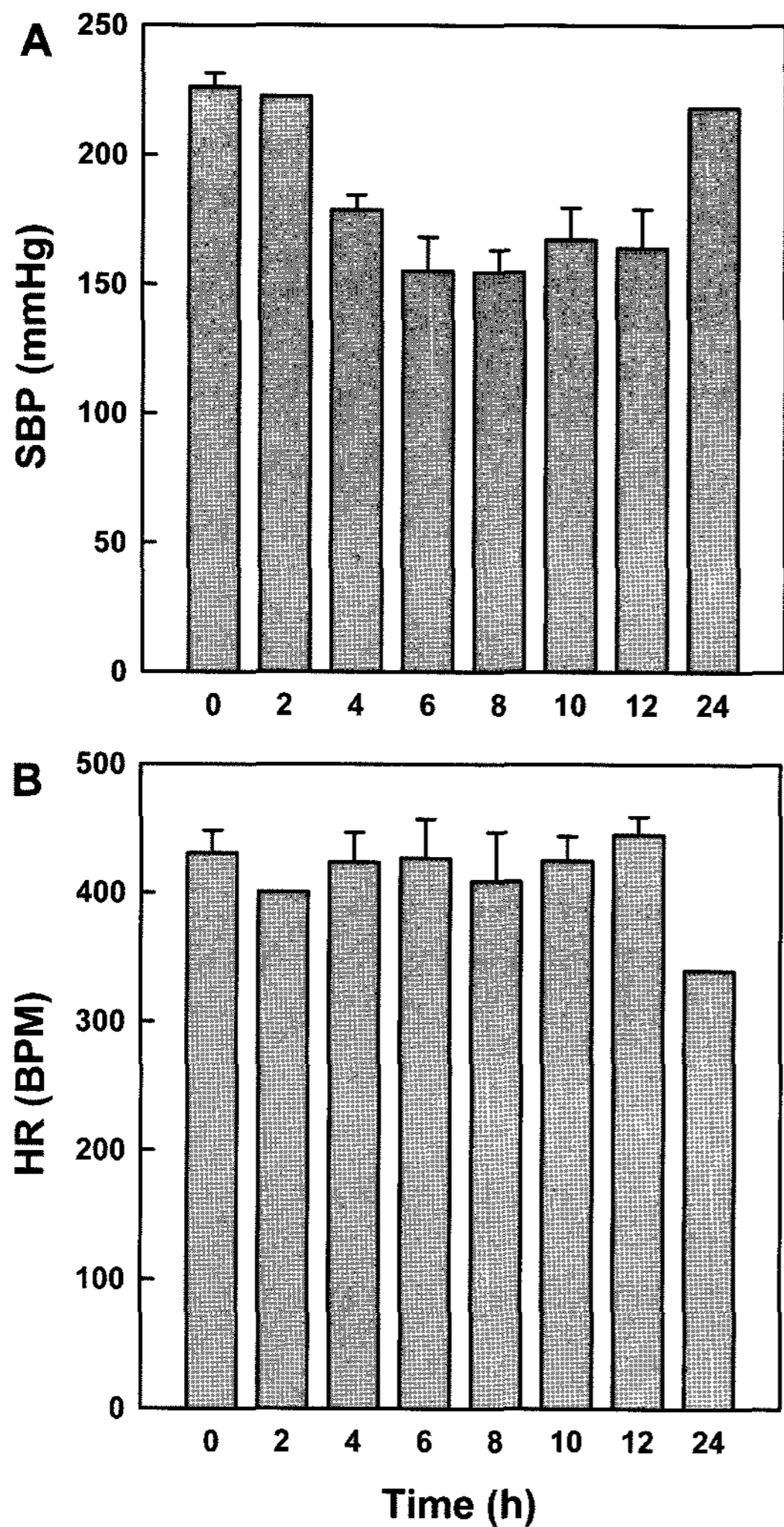


Fig. 5. Effects of water extracts of wild ginseng adventitious root on basal systolic blood pressure and the heart rate in conscious SHR. By oral route, WE (0.5 g/kg) was administered to the congenital hypertensive mouse and SBP (A) and heart rate (B) were measured.

없었고, 내피세포가 없는 상태에서도 혈관이완 효과가 탁월한 것으로 보아 내피 비의존적인 혈관 이완제의 일종인 SNP와 유사한 기작에 의해 ABE가 혈관이완 효능을 나타내는 것으로 사료된다.

선천성 고혈압 흰쥐(SHR)에서 혈압강하 효과. ABE의 경우 혈관이완 효과나 NO 발생량이 많아 독성이 강할 것으로 사료되어 열수 추출물인 WE를 사용하여 *in vivo*에서 산삼 배양근의 혈압강하 효과를 확인하였다. 비 마취 상태의 선천성 고혈압 쥐에 산삼 배양근 추출물(WE)을 0.5 g/kg을 1회 경구 투여하였더니 4시간부터 유의하게 지속적인 혈압강하 효과를 보여, 6시간 및 8시간에 최저 혈압(154.5 ± 8.6 mmHg)을 나타내었으며, 투여 24시간 후에는 다시 본래의 고혈압 상태로 돌아왔다. 그리고 심박수에는 큰 영향을 주지 않았다(Fig. 5).

전 등²³⁾은 홍삼 사포닌과 비사포닌이 혈압에 미치는 작용을 신성고혈압쥐와 정상 혈압쥐에서 연구한 결과 홍삼 사포닌뿐만 아니라 비사포닌도 정상흰쥐와 병적상태의 흰쥐에서 모두 혈압강하 작용을 나타내며, 이러한 혈압강하 작용의 일부는 NO에

의한 혈관확장 작용에 의한 것이라고 보고한 바 있어, 본 연구에 사용한 산삼 배양근의 혈관이완 효과 및 혈압강하 작용도 홍삼의 경우와 유사하다고 판단된다.

초 록

본 연구에서는 산삼 배양근이 NO 생성과 NO와 연관된 생리활성에 미치는 효과에 대해 조사하였다. ECV304 세포에 산삼 배양근 열수 추출물(WE) 혹은 부탄올 추출물의 수용액 분획물(ABE)을 처리하게 되면 상당량의 NO가 발생하는 것을 확인하였다. 추출물에 의한 ECV304 세포 내 endothelial nitric oxide synthase(eNOS)의 발현 양 변화는 거의 없었으며 100 µg의 ABE에 의해 약 6%의 ACE 억제 효과가 관찰되었다. 동맥 혈관에서의 혈관이완 효과는 WE는 2.5 mg/ml일 때 44.8%의 이완율을 나타낸 것에 비해 ABE는 0.1 mg/ml일 때 91.3%의 혈관 이완율을 보였다. 선천성 고혈압 쥐인 SHR에서의 단 회 경구투여 시 혈압강하 효과는, 8시간 경과 후 최저혈압(154.5 ± 8.6 mmHg)을 보였고, 24시간이 지나면 초기 수준으로 회복되는 것을 확인할 수 있었다.

Key words: 고혈압, 산삼 배양근 추출물, 혈관이완, nitric oxide(NO), nitric oxide synthase(NOS)

감사의 글

본 연구는 제주대학교의 학술연구지원사업(아열대농업생명과학연구소) 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Huh, J. (1993) In *Donggubogam*. Mingjungseowon, Seoul.
- Han, D. S. (1988) In *Pharmacognosy*. Dongmyoungsa, Seoul.
- Anoja, S., Attele, A. W. and Yuan, C. S. (1999) Ginseng pharmacology. *Biochem. Pharmacol.* **58**, 1685-1693.
- Singh, V. K., Agarwal, S. S. and Gupta, B. M. (1984) Immunomodulatory activity of *Panax ginseng* extract. In *Proc. 4th Int'l. Ginseng Symp.* Seoul, Korea.
- Kikuchi, Y., Sasa, H., Kita, T., Hirata, J. and Tode, T. (1991) Inhibition of human ovarian cancer cell proliferation *in vitro* by ginsenoside-Rh2 and adjuvant effects of cisplatin *in vivo*. *Anti-cancer Drugs* **2**, 63-67.
- Kim, H. Y., Chen, X. and Gillis, C. N. (1992) Ginsenosides protect pulmonary vascular endothelium against free radical induced injury. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **189**, 670-676.
- Kang, S. Y. and Kim, N. D. (1992) The antihypertensive effect of red ginseng saponin and the endothelium-derived vascular relaxation. *Korean J. Ginseng Sci.* **18**, 175-182.
- Young, S. K., Kang, K. S. and Kim, S. I. (1990) Study on antitumor and immunomodulating activities of polysaccharide fractions from *Panax ginseng*: Comparison of effects of neutral and acidic polysaccharide fraction. *Arch. Pharm. Res.* **13**, 330-337.
- Liu, D., Li, Y. G., Xu, H., Sun, S. Q. and Wang, Z. T. (2008)

- Differentiation of the root of cultivated ginseng, mountain cultivated ginseng and mountain wild ginseng using FT-IR and two-dimensional correlation IR spectroscopy. *J. Mol. Struct.* Doi:10.1016/j.molstruc.2008.02.025.
10. Mizuno, M., Yamada, J., Terai, H., Kozukue, N., Lee, Y. S. and Tsuchide, H. (1994) Differences in immunomodulating effects between wild and cultured *Panax ginseng*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **200**, 1672-1678.
 11. Son, S. H., Choi, S. M., Hyung, S. J., Yun, S. R., Choi, M. S., Shin, E. M. and Hong, Y. P. (1990) Induction and culture of mountain ginseng adventitious roots and AFLP analysis for identifying mountain ginseng. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **4**, 119-123.
 12. Jeong, H. S., Kang, T. S., Woo, K. S., Paek, K. Y., Yu, K. W. and Yang, S. J. (2005) Effects of cultured wild ginseng roots on the alcoholic fermentation. *Korean J. Food Preserv.* **12**, 402-410.
 13. Song, S. W., Yanng, D. C. and Choung, S. Y. (2005) Micronucleus test of wild ginseng culture extract using the marrow cells in ICR Mice. *J. Fd Hyg. Safety* **20**, 58-63.
 14. Lee, E. J., Zhao, H. L., Li, D. W., Jeong, C. S., Kim, J. H. and Kim, Y. S. (2003) Effect of the MeOH extract of adventitious root culture of *Panax ginseng* on hyperlipidemic rat induced by high fat-rich diet. *Kor. J. Pharmacogn.* **34**, 179-184.
 15. Shin, M. H. (2001) Study of mountain ginseng adventitious culture and application. *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea* **27**, 45-56.
 16. Moncada, S., Palmer, R. M. J. and Higgs, E. A. (1991) Nitric oxide. Physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol. Rev.* **43**, 109-142.
 17. Bredt, D. S. and Snyder, S. H. (2004) Nitric oxide: A physiologic messenger molecule. *Annu. Rev. Biochem.* **63**, 175-195.
 18. Fleming, I., Bauersachs, J. and Busse, R. (1997) Calcium-dependent and calcium-independent activation of the endothelial NO synthase. *J. Vasc. Res.* **34**, 165-174.
 19. Lamas, S., Marsden, P. A., Li, G. K., Tempst, P. and Michel, T. (1992) Endothelial nitric oxide synthase: molecular cloning and characterization of a distinctive constitutive enzyme isoform. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89**, 6348-6352.
 20. Cushman, D. W. and Cheung, H. S. (1971) Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.* **20**, 1637-1648.
 21. Lo, Y. C., Wu, J. R., Wu, S. N. and Chen, I. J. (1997) Glyceryl nonivamide: a capsaicin derivative with cardiac calcitonin gene-related peptide releasing, K⁺ channel opening and vasorelaxant properties. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **281**, 253-260.
 22. Busse, R., Fleming, I. and Hecker, M. (1993) Signal transduction in endothelial-dependent vasodilation. *Eur. Heart J.* **14**, s2-9.
 23. Jeon, B. H., Kim, H. S. and Chang, S. J. (1999) Effect of saponin and Non-saponin of *Panax Ginseng* on the blood pressure in the renovascular hypertensive rats. *Korean J. Ginseng Sci.* **23**, 81-87.
 24. Chen, Z. P., Mitchelhill, K. I., Michell, B. J., Stapleton, D., Rodriguez, I., Witters, L. A., Power, D. A. and Kemp, B. E. (1999) AMP-activated protein kinase phosphorylation of endothelial NO synthase. *FEBS Lett.* **433**, 285-289.
 25. Montagnani, M., Chen, H., Barr, V. A. and Quon, M. J. (2001) Insulin-stimulated activation of eNOS is independent of Ca²⁺ but requires phosphorylation by Akt at Ser¹¹⁷⁹. *J. Biol. Chem.* **276**, 30392-30398.
 26. Gavras, I. (1992) Bradykinin-mediated effects of ACE inhibition. *Kidney Int.* **42**, 1020-1029.
 27. Lee, S. E., Seong, N. S., Bang, J. K., Kang, S. W., Lee, S. W. and Chung, T. Y. (2003) Inhibitory effect against angiotensin converting enzyme and antioxidant activity of *Panax ginseng* C.A. Meyer Extracts. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **11**, 236-245.
 28. Katsuki, S., Arnold, W., Mittal, C. and Murad, F. (1977) Stimulation of guanylate cyclases by sodium nitroprusside, nitroglycerine and nitric oxide in various tissue preparation and comparison to the effects of sodium azide and hydroxyl amine. *J. Cyclic Nucleotide Protein Phosphor. Res.* **3**, 23-35.
 29. Murad, F. (1986) Cyclic guanosine monophosphate as a mediator of vasodilation. *J. Clin. Invest.* **78**, 1-6.