

연근의 열수 추출물이 흰쥐의 국소 뇌혈류량과 혈압에 미치는 영향

박성혜^{1†} · 신언환² · 구재근³ · 이태현⁴ · 한종현¹

¹원광대학교 한의학전문대학원 한약자원개발학과, ²울산과학기술대학 호텔조리과
³군산대학교 해양응용공학부 식품공학전공, ⁴동원 F & B (주) 식품연구소

Effects of *Nelumbo nucifera* on the Regional Cerebral Blood Flow and Blood Pressure in Rats

Sung-Hye Park^{1†}, Eon-Hwan Sih², Jae-Geun Koo³, Tae-Hun Lee⁴ and Jong-Hyun Han¹

¹Dept. of Herbal Resources, Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

²Dept. of Hotel Culinary Arts, Ulsan College, Ulsan 682-090, Korea

³Faculty of Applied Ocean Science and Technology, Kunsan National University, Kunsan 573-701, Korea

⁴R & D Center, Dongwon F & B Co., Sunghnam, 462-701, Korea

Abstract

The purpose of this study was to measure the changes of regional cerebral blood flow(rCBF) and blood pressure(BP) in rats, following the intravenous injection of *Nelumbo nucifera* water extract. The measurement was continually monitored by laser-doppler flowmeter and pressure transducer in anesthetized adult Sprague-Dawley rats for about 2 to 2 and half hours through the data acquisition system composed of MacLab and Macintosh computer. The results of this experiment were as follows. *Nelumbo nucifera* significantly increased the changes of rCBF in rats. The rCBF of *Nelumbo nucifera* was not changed by pretreated propranolol, atropine, L-NNA and indomethacin. But the rCBF of *Nelumbo nucifera* was decreased by pretreated methylene blue. *Nelumbo nucifera* decreased the BP significantly. The BP of *Nelumbo nucifera* was not changed by pretreated propranolol, atropine, L-NNA and indomethacin. But the BP of *Nelumbo nucifera* was decreased by pretreated methylene blue. These results indicated that *Nelumbo nucifera* might increase the rCBF and decrease the BP which related to guanylyl cyclase activity.

Key words : Regional cerebral blood flow, blood pressure, *Nelumbo nucifera*, food material, functional food.

서 론

경제성장과 의학의 발달로 평균수명은 증가하고 있지만 서구화된 식생활, 운동부족 및 정신적 스트레스 등으로 현대 인들은 건강의 균형을 잃고 있어 건강을 지키려는 경제적 투자와 노력이 점점 증대되고 있다. 이에 따라 최근에는 식품이 지닌 영양소뿐 아니라 생리활성물질에 대한 관심이 높아지는 가운데 건강식품이나 기능성 식품의 섭취가 증가하고 있는 추세이며 이에 관련된 한약자원에 관한 연구도 활발히 이루어지고 있다(Chung & Ji 1996, Kim et al 2003).

연근(*Nelumbo nucifera* G.)은 연못이나 깊은 논에서 재배하는 수련과 연속의 다년생 초본 식물로 연뿌리가 식용으로 사용되거나 연잎, 연자육도 식용 및 약용으로 쓰여지고 있다(Yang et al 1985). 연근의 주성분은 탄수화물로 식이섬유소가

풍부하여 장내의 활동을 촉진시키고 체내 콜레스테롤 수치를 저하시키는 작용이 있다(Han & Koo 1993, Kim et al 2002). 또한 연근은 맛이 달고 뽀얗고 질이 차지도 뜨겁지도 않아 상처부위를 수렴시켜 지혈하는데 도움이 되며(Kim et al 2002) 연근 속의 레시틴은 혈관벽에 콜레스테롤이 침착되는 것을 예방하여 혈관벽을 강화시키고(Han & Koo 1993, Kim et al 2002, 황안국 1998) 신경전달물질인 아세틸콜린을 생성하여 기억력 감퇴 억제작용에 의한 치매 예방효과도 크다고 알려져 있다(Han & Koo 1993). 또한 혈압이 높은 사람에게 필요한 칼륨의 함량이 높고 복합단백질인 뮤신을 함유하고 있어 콜레스테롤 저하작용과 위벽보호, 해독작용 등을 한다고 보고되었다(Moon et al 2003).

국소 뇌혈류량과 혈압에 관한 연구는 주로 한방의 영역에서 여러 약재를 단방으로 또는 복방 처방을 대상으로 연구되고 있으나(Kang DS 2001, Na KS 2001, Lim IK 2002, Hwang KT 2002) 식품으로의 활용을 목적으로한 접근은 거의 없는 실정이다.

[†]Corresponding author : Sung-Hye Park, Tel: +82-63-850-6939, Fax: +82-63-852-0011, E-mail: psh0528@hanmail.net

이에 본 연구자들은 한약자원을 기능성 식품이나 건강식품으로 활용하기 위한 연구의 일환으로 우리 나라 식품공전(한국식품공업협회 2002)에 식품의 재료로 사용이 허가되고 있고, 문헌상(황도연 1978, 중약대사전 편찬위원회 2002)국소 뇌혈류량과 혈압에 영향을 미칠 수 있음이 보고된 연근을 선택하여 국소 뇌혈류량이나 혈압에 미치는 효과를 알아보고자 계획되었다.

이에 따라 본 연구는 연근을 이용한 기능성 식품을 개발하기 위한 기초적 연구로 연근 열수 추출물을 흰쥐에게 투여한 후 흰쥐의 국소 뇌혈류량과 혈압의 변화를 관찰하고 또한 그 변화 기전을 조사하여 건강식품 및 기능성 식품의 원재료로 사용이 가능한지의 여부를 판단하여 보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 연근 추출물의 준비 및 실험동물

1) 연근 추출물 제조

실험에 사용한 연근은 원광대학교 익산 한방병원에서 구입하여 사용하였다. 연근 100 g을 증류수 2,000 mL와 함께 삼각 플라스크에 넣은 다음 100~120°C에서 120분간 가열하여 얻은 추출액을 면포로 여과한 후 3,000 rpm으로 15분간 원심 분리하고 감압농축(CCA-1100, EYELA, Tokyo, Japan)하여 동결 건조(PVTFD 10AT, ILSIN, Korea) 과정을 거쳐 갈색분말로 만들어 시료로 사용하였다. 만들어진 연근 열수 추출물 가루를 생리식염수를 이용하여 체중 kg당 0.01 mg, 0.1 mg, 1.0 mg 및 10.0 mg 농도로 만든 후 대퇴부 정맥에 주사하였다.

2) 실험동물

실험동물은 체중 250 g 내외(250.0 g \pm 12.5 g)의 Sprague-Dawley 계(♂) 백서를 항온항습 장치가 설치된 실험실(Temperature 22.5°C~24.0°C, Humidity 57.0~59.0%)내에서 일반 고형사료(Sam # 31, Samtako, Osan, Korea)와 물을 충분히 공급하면서 2주 이상 환경에 적응시킨 후 사용하였다.

2. 국소 뇌혈류량 및 혈압에 대한 실험

1) 국소 뇌혈류량의 변화 측정

국소 뇌혈류량의 측정은 Laser-Doppler flowmeter system(Transonic Instrument, Chicago, USA)을 이용하여 실험하였다(Na KS 2001).

백서를 urethane(750 mg/kg, i.p.)으로 마취시키고 체온을 37~38°C로 유지할 수 있도록 양와위(仰臥位)로 하여 stere-

otactic frame에 고정시키고 정중선을 따라 두피를 절개하여 두정골을 노출시킨 후 brema의 4~6 mm 측방, -2~1 mm 전방에 직경 5~6 mm의 craniotomy를 실행하였다. 이때 두정골의 두께를 최대한 얇게 남겨 경막 출혈을 방지토록 하였다. Laser-Doppler flowmeter용 needle probe(직경 0.8 mm)를 대뇌(두정엽)피질 표면에 수직이 되도록 stereotactic micromanipulator를 사용하여 좌연막동맥에 조심스럽게 근접시켜 일정시간 동안 안정시킨 후 네가지 농도로 조제된 시료를 주입하여 국소 뇌혈류량(regional cerebral blood flow, rCBF)을 측정하였다. 흰쥐 1마리에 대해 1회 측정하였고 한 농도에 대해 총 10마리를 대상으로 10회 반복 실험하여 그 평균값을 그 농도의 평균 국소 뇌혈류량으로 하였다.

2) 혈압의 변화 측정

백서를 urethane(750 mg/kg, ip)으로 마취시키고 체온을 37~38°C로 유지할 수 있도록 heat pad 위에 양와위(仰臥位)로 고정시킨다. 전신 혈압 변동을 관찰하기 위하여 실험동물의 대퇴동맥에 삽입된 polyethylene tube에 연결된 pressure transducer(Grass model 7E polygraph, Rhode Island, USA)를 통하여 혈압을 측정하여 Macintosh computer(Power Macintosh 6100/66, Berkinkum, England)로 구성된 data acquisition system에 기록하였다(Na KS 2001). 흰쥐 1마리에 대해 1회 측정하였고 한 농도에 대해 총 10마리를 대상으로 10회 반복 실험하여 그 평균값을 그 농도의 평균 혈압으로 하였다.

3) 작용기전의 조사

연근 추출액의 투여에 의해 국소 뇌혈류량과 혈압의 변화가 어떤 과정을 통해 이루어지는지를 확인하기 위해 혈류량과 혈압에 관여하는 각종 약물을 전처리하고 연근 추출액을 투여한 후 국소 뇌혈류량과 혈압의 변화가 어떤 기전을 통해 일어나는지를 확인하였다. 따라서 교감신경 β 수용체 차단제인 propranolol(3 mg/kg), 부교감신경 차단제인 atropine(10 mg/kg), NOS(nitric oxide synthetase)억제제인 L-NNA(1.0 mg/kg), cyclic GMP(guanylyl-3',5'-monophosphate) 억제제인 methylene blue(10 mg/kg) 및 iNOS와 관계되는 기전 중 prostaglandin의 생성 효소인 cyclooxygenase 억제제인 indomethacin(3 mg/kg) 등을 정맥주사로 투여 후 연근 추출액을 투여하여 국소 뇌혈류량과 혈압의 변화를 관찰하였다.

3. 통계처리

모든 자료의 통계분석은 SAS(statistical analysis system)PC package를 사용하였고 분석수치는 mean \pm S.E.로 제시하였다.

연근을 투여하지 않은 control 군과 각 농도와의 유의적인 차이의 검정은 $p < 0.05$ 수준에서 paired t-test를 실시하였다.

결 과

1. 연근 추출물이 국소 뇌혈류량에 미치는 영향

연근이 백서의 국소 뇌혈류량에 미치는 효과를 관찰하기 위하여 연근 열수 추출액을 정맥 투여 후 국소 뇌혈류량의 변동을 측정하였고 그 결과는 Table 1과 같다.

연근 추출액의 투여전에 안정된 상태에서 백서의 국소 뇌혈류량은 3.52 AU 로써 이를 100.00%(control)로 하였다. 연근을 0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg 및 10.0 mg/kg의 농도로 투여한 결과 뇌혈류량은 각각 3.58 AU, 3.72 AU, 3.92 AU 및 4.10 AU로 나타났고 이는 연근 투여 전보다 점점 증가하는 경향이었고 특히 연근 투여농도가 1.0 mg/kg 및 10.0 mg/kg 일 때는 그 증가 비율이 control에 비해 각각 108.70%, 115.30% 나타나 국소 뇌혈류량의 유의한 증가를 나타내었다.

2. 연근 추출물의 국소 뇌혈류량 증가 기전의 확인

연근 열수 추출액이 어떤 기전을 통해 뇌혈류량을 증가시키는지를 확인하기 위해 여러 가지 약물을 전처리한 후 연근

추출액을 투여한 결과를 Table 2에 정리하였다. 이 때 각 군에서 약물만을 투여하고 연근을 투여하지 않았을 때의 뇌혈류량을 100.00%(control)로 하였다.

1) Propranolol 전처리에 의한 영향

연근의 투여가 국소 뇌혈류량을 증가시키는 것에 대한 기전을 알아보기 위하여 교감신경 β 수용체 차단제인 propranolol(3 mg/kg, iv)을 먼저 투여한 후 연근을 0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg 및 10.0 mg/kg의 농도별로 투여하였다.

Propranolol을 전처리한 후의 뇌혈류량을 100.00%로 환산했을 때 연근을 0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg 및 10.0 mg/kg 농도별로 투여 시에는 국소 뇌혈류량이 각각 101.81%, 105.62%, 110.90% 및 116.87%로 나타나 뇌혈류량이 연근의 투여 농도가 높을수록 증가되었으나 그 증가가 유의적인 차이는 아니었다(Table 2).

2) Atropine 전처리에 의한 영향

국소 뇌혈류량 증가가 부교감 신경계의 작용에 의한 기전을 알아보기 위하여 부교감신경 수용체 차단제인 atropine을 10 mg/kg의 농도로 정맥내에 투여한 후 연근을 0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg 및 10.0 mg/kg 농도별로 투여하여 국소 뇌혈류량을 관찰하였다.

Atropine을 전처리한 후에 연근을 투여한 경우 연근 투여 농도가 0.01 mg/kg 일 때는 뇌혈류량이 control의 103.07%, 0.1 mg/kg 투여 시에는 control의 107.21%, 1.0 mg/kg 투여 시에는 control의 110.41% 및 10.0 mg/kg 투여 시에는 control의 116.70%로 국소 뇌혈류량이 증가되기는 하였으나 유의적인 차이는 아니었다(Table 2).

3) L-NNA 전처리에 의한 영향

국소 뇌혈류량 증가에 대한 기전이 nitric oxide 생성과 관

Table 1. Effects of *Nelumbo nucifera* extract on regional cerebral flow(rCBF) in rats

<i>Nelumbo nucifera</i> (mg/kg)	rCBF (AU)	Change in rCBF (%)
Control	3.52±0.05 ¹⁾	100.00±0.02
0.01	3.58±0.10	101.52±0.02
0.1	3.72±0.16	105.37±0.03
1.0	3.92±0.18 ²⁾	108.79±0.05*
10.0	4.10±0.20*	115.38±0.06*

¹⁾ Values are mean±S.E. (n=10).

²⁾ *: Statistically significance compared with control group (p<0.05).

Table 2. Effects of *Nelumbo nucifera* extract on regional cerebral blood flow in rats

mg/kg \ Drug	Propranolol	Atropine	L-NNA	Methylene blue	Indomethacin
	+ <i>Nelumbo nucifera</i>	+ <i>Nelumbo nucifera</i>	+ <i>Nelumbo nucifera</i>	+ <i>Nelumbo nucifera</i>	+ <i>Nelumbo nucifera</i>
Control	100.00±0.03 ¹⁾	100.00±0.02	100.00±0.02	100.00±0.02 ²⁾	100.00±0.02
0.01	101.81±0.03	103.07±0.03	102.05±0.03	101.55±0.02	102.19±0.02
0.1	105.62±0.05	107.21±0.05	105.85±0.03	104.52±0.03	104.00±0.05
1.0	110.90±0.07	110.41±0.05	109.19±0.06	106.17±0.04*	109.57±0.06
10.0	116.87±0.07	116.70±0.07	115.07±0.05	107.28±0.05*	110.82±0.06

¹⁾ Values are mean±S.E. (n=10).

²⁾ *: Statistically significance compared with control group (p<0.05).

련이 있는지를 알아보기 위하여 nitric oxide synthetase inhibitor인 L-NNA를 1.0 mg/kg의 농도로 정맥 주사하여 국소 뇌혈류량을 관찰하였다.

L-NNA를 전처리한 후 연근을 투여했을 때 연근 투여 농도가 0.01 mg/kg 일 때는 국소 뇌혈류량이 control의 102.05%, 0.1 mg/kg 투여 시에는 control의 105.85%, 1.0 mg/kg 및 10.0 mg/kg 을 투여했을 때는 각각 control의 109.19% 및 115.07%로 나타나 뇌혈류량이 증가되는 경향이었으나 유의한 국소 뇌혈류량의 변화는 관찰할 수 없었다(Table 2).

4) Methylene blue 전처리에 의한 영향

뇌혈류에 미치는 연근의 효과를 규명하기 위해 cyclic GMP의 생성효소인 guanylyl cyclase inhibitor인 methylene blue를 10 mg/kg의 농도로 하여 정맥내에 투여한 후 연근을 농도별로 투여하여 국소 뇌혈류량의 변화를 관찰하였다.

Methylene blue를 투여한 후 다시 연근을 0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg 및 10.0 mg/kg 농도로 투여했을 때에는 뇌혈류량이 control에 비해 각각 101.55%, 104.52%, 106.17% 및 107.28%로 증가하였고 특히 1.0 mg/kg 및 10.0 mg/kg 농도로 투여했을 때 국소 뇌혈류량이 유의적으로 증가되었다 (Table 2).

5) Indomethacin 전처리에 의한 영향

국소 뇌혈류량이 또 다른 기전인 cyclooxygenase 생성과 관련이 있는지를 알아보기 위하여 cyclooxygenase inhibitor인 indomethacin 3 mg/kg 을 정맥내에 전처리한 후 연근을 농도별로 투여하여 국소 뇌혈류량을 관찰하였다. Indomethacin을 전처리한 후 다시 연근을 주사하였을 때에는 국소 뇌혈류량이 control에 비해 각각 102.19%, 104.00%, 109.57% 및 110.82%로 증가하였으나 유의한 국소 뇌혈류량의 증가는 아니었다(Table 2).

3. 연근 추출물이 혈압에 미치는 영향

연근이 백서의 혈압에 미치는 효과를 관찰하기 위하여 연근 열수 추출액을 정맥 투여하여 혈압을 관찰하였고 그 결과를 Table 3에 정리하였다. 연근 투여 전의 혈압은 92.84 mmHg이었으며 연근의 농도를 0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg 및 10.0 mg/kg으로 하여 투여한 결과 각각 92.07 mmHg, 89.47 mmHg, 86.55 mmHg, 80.53 mmHg로 나타나 연근 투여에 의해 혈압이 감소하는 경향이었고 특히 연근의 투여 농도가 10.0 mg/kg일 때는 혈압이 유의적으로 낮았다.

4. 연근 추출물의 혈압 강하 기전의 확인

연근 열수 추출액이 어떤 기전을 통해 혈압을 강하시키는지를 확인하기 위해 여러 가지 약물을 전처리한 후 연근 추출액을 투여한 결과를 Table 4에 정리하였다. 이 때 각 군에서 약물만을 투여하고 연근을 투여하지 않았을 때의 혈압을 100.00%(control)로 하였다.

Table 3. Effects of *Nelumbo nucifera* extract on the mean arterial blood pressure(MABP) in rats

<i>Nelumbo nucifera</i> (mg/kg, iv)	MABP (mmHg)	Change in BP (%)
Control	92.84±4.2 ¹⁾	100.00±0.06
0.01	92.07±5.7	99.60±0.05
0.1	89.47±6.4	96.27±0.07
1.0	86.55±4.8	93.27±0.07
10.0	80.53±5.3 ^{2)*}	88.74±0.06*

¹⁾ Values are mean±S.E. (n=10).

^{2)*}: Statistically significance compared with control group (p<0.05).

Table 4. Effects of *Nelumbo nucifera* extract on mean arterial blood pressure rats

Drug mg/kg	Propranolol + <i>Nelumbo nucifera</i>	Atropine + <i>Nelumbo nucifera</i>	L-NNA + <i>Nelumbo nucifera</i>	Methylene blue + <i>Nelumbo nucifera</i>	Indomethacin + <i>Nelumbo nucifera</i>
Control	100.00±0.05	100.00±0.05	100.00±0.04	100.00±0.04 ²⁾	100.00±0.05
0.01	99.69±0.06	97.80±0.06	98.09±0.04	99.37±0.04	98.00±0.06
0.1	97.08±0.06	96.35±0.06	96.53±0.05	97.28±0.04	96.38±0.07
1.0	95.20±0.06	90.56±0.07	92.41±0.06	94.55±0.04*	90.47±0.07
10.0	91.34±0.07	83.77±0.07	86.43±0.07	91.63±0.05*	83.36±0.07

¹⁾ Values are mean±S.E. (n=10).

^{2)*}: Statistically significance compared with control group (p<0.05).

1) Propranolol 전처리에 대한 영향

백서의 혈압에 대한 연근의 혈압 강하 기전을 알아보기 위하여 교감신경 β 수용체 차단제인 propranolol(3 mg/kg, iv)을 전처리하고 연근을 0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg 및 10.0 mg/kg 농도로 투여하였다.

억제제인 propranolol 주사 후 이를 control(100.00%)로 하였을 때 연근을 투여 시에는 control에 비해 혈압이 99.69%(0.01 mg/kg), 97.08%(0.1 mg/kg), 95.20%(1.0 mg/kg) 및 91.34%(10.0 mg/kg)로 나타나 연근의 투여 농도가 높을수록 혈압이 저하되었으나 유의한 혈압의 하강은 관찰할 수 없었다(Table 4).

2) Atropine 전처리에 대한 영향

연근의 혈압 강하에 대한 기전이 부교감 신경계와 관련이 있는지를 알아보기 위하여 부교감신경 수용체의 차단제인 atropine 10 mg/kg 농도로 정맥 주사한 후 연근을 0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg 및 10.0 mg/kg 농도로 하여 투여하였다.

Atropin을 주사한 후 연근을 투여한 경우에는 그 농도가 각각 0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg 및 10.0 mg/kg일 때 혈압은 control에 비해 유의적인 차이는 없었지만 각각 97.80%, 96.35%, 90.56% 및 83.77%로서 감소하였다. 그러나 유의한 혈압의 하강의 변화를 관찰할 수는 없었다(Table 4).

3) L-NNA 전처리에 대한 영향

연근의 혈압에 대한 기전이 nitric oxide 생성과 관련이 있는지를 알아보기 위하여 nitric oxide synthetase inhibitor인 L-NNA 1.0mg/kg을 전처리하고 연근 0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg 및 10.0 mg/kg을 투여하였다.

L-NNA로 전처리한 후 연근을 주사한 경우 연근 농도가 0.01 mg/kg 일 때는 혈압이 control에 비해 98.09%, 연근 농도가 0.1 mg/kg 일 때는 96.53%, 연근 농도가 각각 1.0 mg/kg 및 10.0 mg/kg 일 때는 혈압이 각각 92.41%, 86.43%로 나타나서 연근 투여로 혈압의 감소는 나타났으나 유의적인 변화는 아니었다(Table 4).

4) Methylene blue 전처리에 대한 영향

연근의 혈압에 대한 기전이 혈관근의 guanylyl cyclase 활성화와 관련이 있는지를 알아보기 위하여 guanylyl cyclase inhibitor인 methylene blue 10 mg/kg을 정맥내에 전처리한 후 연근 0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg 및 10.0 mg/kg을 투여하였다. Methylene blue를 주사한 후 연근 추출물을 주사 시에는 연근 투여 농도가 0.01 mg/kg 일 때 혈압이 control의 99.37%, 0.1 mg/kg 일 때는 control의 97.28%, 1.0 mg/kg 일 때는 control의 94.55%, 10.0 mg/kg 일 때는 control의 91.63%로

나타나 연근 투여에 의해 혈압은 감소되는 경향이었고 특히 연근 투여 농도가 1.0 mg/kg 및 10.0mg/kg일 때는 유의적인 혈압의 저하를 관찰할 수 있었다(Table 4).

5) Indomethacin 전처리에 의한 영향

연근의 혈압에 대한 기전이 cyclooxygenase 생성과 관련이 있는지를 알아보기 위하여 cyclooxygenase inhibitor인 indomethacin 3mg/kg을 정맥내에 전처리한 후 연근 0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg 및 10.0 mg/kg을 투여하였다.

Indomethacin을 투여 후 연근을 주사했을 시에도 혈압은 control에 비해 감소하는 경향이었다(Table 4).

고찰

연근 열수 추출물이 뇌혈류량과 혈압에 미치는 영향을 조사한 결과 연근의 투여에 의해 국소 뇌혈류량은 증가하는 경향이었고 혈압은 감소하는 추세였으며 특히 cNOS와 관계되는 기전 중 cGMP에 작용하는 guanylyl cyclase의 억제제인 methylene blue를 전처리한 후 연근을 1.0 mg/kg 이상의 농도로 투여시 뇌혈류량은 control에 비해 유의적인 증가, 혈압은 control에 비해 유의적으로 감소된 결과로 나타났다. 즉 뇌혈류량의 농도 의존적인 증가, 혈압의 농도 의존적인 감소는 연근 열수 추출물이 cGMP의 생성 효소인 guanylyl cyclase의 활성을 억제하여 나타난 결과임을 알 수 있었다.

뇌에 대해 「本草綱目」에서는 “腦爲元神之府”라 하였고(이시진 1982), 「本草備要」에서는 “人之記性 皆在腦中”이라 하였으며(주인묘 1977), 醫林改錯(왕제림 1975)에서도 “靈機記性在干腦”라 하였듯이 인체생명유지의 중추인 뇌는 원활한 뇌혈류 유지를 통해 산소와 포도당 등의 영양물질을 공급받고 이산화탄소 등의 노폐물을 제거함으로써 그 기능을 담당하는 곳이지만 만약 심장으로부터 박출되는 혈액공급에 장애가 발생하면 산소결핍과 포도당의 부족을 초래하고 이로써 급속히 뇌기능장애 및 뇌조직의 손상을 일으킨다(김기석 1989, 김상호 1995, 이중달 1990, 옥치령 1995). 이러한 뇌혈관질환(cerebro-vascular disease)은 뇌를 관통하는 혈관 병변에 의해 무엇인가 장애를 초래하는 것으로 혈관의 이상, 혈전 또는 색전에 의한 혈관폐색, 혈관의 파열, 혈압강하로 인한 뇌순환 부전, 혈관내경의 변화, 혈관벽 투과성의 변화, 혈액 점도의 증가 또는 혈액성상의 변화 등을 의미한다(대한신경외과학회 1988).

뇌혈류(Cerebral Blood Flow, CBF)는 뇌조직 100 mg당 50~60 mL/min 즉, 분당 전체적으로 700~840 mL이며, 이를 결정하는 요인으로는 동맥관류압(arterial perfusion pressure) 즉 혈압으로서 이는 심장 박출량(cardiac output)과 말초

혈관 저항(peripheral vascular resistance)에 의해 결정되며 그 외 죽종성반 또는 동맥경화증으로 혈관이 좁아지면 CBF의 변화를 초래하게 되고 또한 이산화탄소가 뇌혈관을 확장시키면 CBF를 증가시킬 수도 있다(Snedecor & Cachom 1967). 그 외에도 NOS에 의해서도 CBF가 변화하게 되는데 NOS에는 신경성 NOS와 혈관 내피세포성 NOS와 같은 두 가지의 cNOS isoform과 macrophage에서 처음 분리된 iNOS isoform 등이 있으며 이중 cNOS는 calmodulin-의존성으로 세포내 Ca^{2+} 농도에 의해서 활성화 되어 NO를 단계적으로 생산하지만 iNOS는 cNOS와는 달리 세포내 Ca^{2+} 농도에 의존하지 않고 안정시에는 소량으로 존재하다가 endotoxin이나 cytokines, 즉 lipopolysaccharide(LPS)나 interferon- γ 에 의해서 유도되면 NO를 지속적으로도 폭발적으로 생산함으로써 세포 독작용을 나타낸다(Nathan 1992). 그리하여 아세틸콜린으로 인하여 세포내 유리 칼슘농도가 증가됨으로써 활성화되는 cNOS는 생리적으로 혈관이완 작용과 혈소판에 의한 혈전증의 억제작용이 있기 때문에 만약 이 cNOS가 합성되지 못하면 혈관이 수축하게 되어 결국 혈압이 상승하게 되고 또한 사망으로 확산되면서 주위의 혈소판에 작용하고 그럼으로써 guanylyl cyclase의 활성화를 피하기 때문에 혈소판내 cGMP량을 증가시켜 혈관의 내피세포나 혈소판끼리의 부착 및 응집을 억제시키는 작용을 한다(Palmer et al 1990, Shibuki & Okada 1991, Kubes et al 1993)고 알려져 있으며 iNOS는 허혈기간동안 혹은 재관류 후의 중추신경계내에 호중구의 축적이 일어남으로써 유도되는 허혈재관류나 경련 발작에 의한 뇌손상시 뇌조직 내에 iNOS mRNA와 cyclooxygenase-2(COX-2)mRNA의 발현이 급속히 증가되고 이와 함께 prostaglandin에 의하여 뇌손상 반응이 더욱 진행되기 때문에 체내 호중구를 걸핍시키거나 호중구 항혈청을 투여함으로써 뇌허혈 손상이 억제되었다는 보고가 나오고 있다(Harbrecht et al 1992).

한약재를 이용한 국소 뇌혈류량 및 혈압에 관한 연구보고를 살펴보면 박과 김(1998)은 鯀角大黃湯이 혈압에는 영향을 미치지 않았지만 국소 뇌혈류량은 증가시켰고 또한 구성 약물 중 대황과 갈근의 경우 鯀角大黃湯보다 국소 뇌혈류량을 더욱 증가시켜 약물에 대한 효능검토가 필요하다고 하였고 강 등(1998)은 백질려가 혈압에는 별 영향을 나타내지 않았지만 국소 뇌혈류량을 증가시켰는데 이는 prostaglandin과 cGMP의 생성과 이온 통로 중에서 K^+ 통로에, 뇌연막동맥의 직경 변화는 ATP-의존성 K^+ 통로에 관여하여 나타난 것이라고 보고하였으며 정 등(1999)과 신 등(1999)은 석창포나 만형자가 혈압에는 별 영향을 나타내지 않았지만 국소 뇌혈류량은 농도에 의존하여 증가되었는데 이는 교감신경 β 수용체와 cGMP의 생성효소인 guanylyl cyclase의 억제, 그리고 NO의 합성효소 억제에 의한 것이라고 보고하였다. 최와 정

(2000)은 중풍에 있어 혈압이 높을 경우 導痰湯을, 혈압에 변화가 없었을 때에는 祛風導痰湯 및 濟熱導痰湯을, 혈압이 저하될 때는 順氣導痰湯이 유의할 것이라고 하면서 이와 동시에 중풍이 나타나기 전이나 뇌허혈로 인한 眩暈이 발생하면 祛風導痰湯이 유의할 것이라고 하였고 더불어 병태모델에 대한 효과가 아닌 정상동물내에의 효과이기 때문에 앞으로 병태모델에 대한 연구와 함께 기전연구가 필요하다고 제안하였다. 또한 생맥산의 혈관이완작용과 국소 뇌혈류량의 증가기전은 prostaglandin과 cGMP의 생성 및 이온 통로 중에서 K^+ 통로에 관여하며 蘇合香元 투여가 뇌경색 치료에 뚜렷한 효과가 있는데 이는 뇌혈류량을 증가시켜 나타난 현상이며 熱多寒少湯이 혈압 및 국소 뇌혈류량에 미치는 영향은 교감신경계, cyclooxygenase 및 guanylyl cyclase 생합성과 유관하게 때문에 뇌혈류 개선에 응용할 수 있을 것이라 보고하였다(Jeong et al 2000). 그리고 六味地黃湯이 NOS 및 cNOS와 관계되는 기전 중 cGMP에 작용하여 guanylyl cyclase와 관련이 있고 고지혈증에 이용할 수 있음을 제안하였다(Jeong et al 2000).

본 연구에서는 연근의 다양한 효능 중 백서의 국소 뇌혈류량에 미치는 효과를 관찰하기 위하여 연근을 투여하여 국소 뇌혈류량의 변동을 laser-doppler flowmeter로 측정하였다. 실험의 결과에서 보면 연근 투여전의 국소 뇌혈류량을 100.00%로 볼 때 연근을 0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg 및 10.0 mg/kg의 농도로 투여한 결과 101.52%, 105.37%, 108.79% 및 115.38%로 나타나 국소 뇌혈류량의 유의한 증가를 나타내었다. 이와 같은 연근의 작용이 자율신경계와의 작용이 있는지를 알아보기 위하여 교감신경 β 수용체 차단제인 propranolol과 부교감신경 수용체 차단제인 atropine을 각각 전처리하고 연근을 투여하여 국소 뇌혈류량을 관찰하였다. 그 결과 유의한 뇌혈류량의 변화는 관찰할 수 없었는데 이는 연근의 국소 뇌혈류량의 증가는 자율신경계와 무관함을 나타내는 결과이다. 이 밖에 국소 뇌혈류량이 증가되는 또 다른 기전을 알아보려 nitric oxide 및 cyclooxygenase 생성과 관련이 있는지를 알아보기 위하여 nitric oxide synthetase inhibitor인 L-NNA와 cyclooxygenase 억제제인 indomethacin을 전처리하고 연근을 투여시 유의적인 국소 뇌혈류량의 증가가 나타나지 않았다. 이는 국소 뇌혈류량의 증가 기전이 nitric oxide와 cyclooxygenase 생합성과는 유의한 관계가 없음을 나타낸다. 한편 국소 뇌혈류량의 또 다른 기전인 guanylyl cyclase 활성화와 관련이 있는 guanylyl cyclase inhibitor인 methylene blue을 전처리하고 연근의 국소 뇌혈류량을 관찰한 바 methylene blue 만을 투여했을 때의 rCBF를 100.00%로 보았을 때 연근을 각각 농도로 투여후에는 각각 101.55%, 104.52%, 106.17% 및 107.28%로 나타나 유의하게 국소 뇌혈류량이 증가되었고

연근 투여에 의한 국소 뇌혈류량 증가는 guanylyl cyclase 활성의 억제에 의해 기인함을 알 수 있었으며 혈압에 대한 작용도 같은 기전임을 관찰할 수 있었다.

이상의 결과에서 판단할 때 정상혈압을 지닌 백서에서 연근 열수 추출물은 국소 뇌혈류량에 있어서는 농도 의존적인 증가를, 혈압에 있어서는 농도 의존적인 강하 효과를 나타냈으며 그 기전은 NOS 및 cNOS와 관계되는 기전 중 cGMP 작용하는 guanylyl cyclase와 깊은 관련성이 있다고 판단된다. 연근이 이런 효능이 있다고 하여 증풍이나 환자의 치료약으로 사용하기 위해서는 뇌질환을 지닌 병대 모델에서의 효능 연구가 더 이루어져야 할 것이다. 연근의 어떤 성분이 이런 효능을 발휘하는지에 대한 연구도 앞으로 이루어져야겠으나 기능성 식품의 원료로 사용하기 위한 동물을 통한 임상실험 결과로는 충분하다고 사료된다. 따라서 기능을 발휘할 수 있는 농도로 연근을 이용하여 식품을 만든다면 현대인들이 손쉽게 섭취하여 혈액순환촉진 및 뇌질환의 예방에 보조적인 역할을 할 수 있는 기능성 식품이 되리라 사료된다.

요약 및 결론

본 연구는 기능성 식품으로의 활용을 위한 한약자원에 관한 연구의 일환으로 계획되었고 선행연구와 문헌상의 기록을 바탕으로 한 연근의 여러 기능 중 혈류 개선 효과에 중점을 두고 그 기능을 과학적으로 확인하여 보고자 하였다. 백서를 대상으로 LDF를 이용하여 연근의 국소 뇌혈류량과 혈압에 대한 효능을 관찰한 결과는 다음과 같다.

첫째, 연근을 여러 농도로 투여시 국소 뇌혈류량은 증가되었다.

둘째, 연근이 국소 뇌혈류량을 증가시키는 기전을 확인하기 위해 propranolol, atropine, L-NNA, indomethacin을 전처리한 후 연근을 투여했을 때는 국소 뇌혈류량에 유의한 변화를 관찰할 수 없었으나 methylene blue를 전처리한 후 연근을 1.0 mg/kg 농도 이상으로 투여했을 때는 국소 뇌혈류량이 유의적으로 증가함을 관찰할 수 있었다.

셋째, 연근을 여러 농도로 투여시 혈압은 하강되었다.

넷째, 연근이 어떤 기전으로 혈압의 변화를 초래하는지를 확인하기 위해 propranolol, atropine, L-NNA, indomethacin을 전처리한 후 연근을 투여했을 때는 혈압 강하에 유의한 변화를 관찰할 수 없었으나 methylene blue를 전처리한 후 연근을 1.0 mg/kg 농도 이상으로 투여했을 때에는 혈압이 유의적으로 하강하는 변화가 나타났다.

이상의 실험에서 연근은 뇌혈류량을 증가시키고 혈압을 강하시키는 작용이 있음을 확인하였고 그 기전은 guanylyl cyclase의 활성을 변화시킴으로써 나타나는 결과로 판단된다.

이 결과를 바탕으로 어느 정도의 연근 함량이 어느 정도의 효과를 발휘하는지에 관한 dose-response 실험을 통해 구체적인 연구가 이루어진다면 연근을 건강식품이나 기능성 식품으로 활용할 수 있는 방법을 모색할 수 있으리라 사료된다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부의 뇌질환환방연구센터(03-PJ9-PG6-SO02-0001)의 연구비 지원에 의해 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

문헌

- 김기석 (1989) 뇌. 성원사, 서울. p 49-50.
- 김상호 (1995) 일반병리학. 고문사, 서울. p 51-54.
- 대한신경외과학회 (1988) 신경외과학. 진수출판사, 서울. p 303-305.
- 이중달 (1990) 그림으로 설명한 병리학. 고려의학, 서울. p 740-743.
- 이시진 (1982) 본초강목. 인민위생출판사, 북경. p 119-120.
- 왕제림 (1975) 의림개비. 화련국풍출판사, 대만. p 22-25.
- 옥치령 (1995) 뇌졸중의 예방과 치료. 유성출판사, 대구. p 1-19.
- 주인묘 (1977) 본초비요. 문광서유한공사, 북경. p 119-120.
- 중앙대사전편찬위원회(2002) 중약대사전. 정담출판사, 서울. p 2124-2127.
- 한국식품공업협회(2002) 식품공전. 문영사, 서울. p 452-478.
- 황도연(1978) 방약합편. 남산당, 서울. p 8-28.
- 황안국 (1998) 한방영양학. 한울출판사, 서울. p 111-112.
- Choi JH, Jeong HW (2000) Effects of Dodamtang and its Gamypang on the regional cerebral blood flow and blood pressure in rats. *Korean J Oriental Medical Pathology* 14: 99-106.
- Chung HS, Ji GE (1996) Composition and functionality of chonma. *Korean J Food Sci Technol* 28: 53-59.
- Han SJ, Koo SJ (1993) Study on the chemical composition in bamboo shoot, lotus root and burdock. *Korean J Soc Food Sci* 9: 82-87.
- Harbrecht BG, Billiar TR, Stadler T, Demetris AJ, Ochoa JB, Curran RD, Simmons RL (1992) Nitric oxide synthesis serves to reduce hepatic damage during acute murine endotoxemia. *Critical Care Medicine* 20: 1568-1574.
- Hwang KT(2002) Effects of *Catalpa ovata* on the cerebral blood flow and blood pressure. *MS Thesis*. Wonkwang University,

- Iksan.
- Jeong HW, Back YC, Kim JS (2000) Experimental effects of Yukmijihwangtang - gamipang on the regional cerebral blood flow and mean arterial blood pressure in rats. *Korean J Oriental Medical Pathology* 14: 245-255.
- Jeong HW, Kang SY, Bak SW (1999) Effect of *Rhizoma acori graminei* extract on blood pressure and regional cerebral blood flow in rats. *Korean J Herbology* 14: 81-88.
- Kang DS(2001) Pharmacological study on the effects of *Schizandrae fructus*. *MS Thesis*. Wonkwang University, Iksan.
- Kang SY, Han JH, Kim KY (1998) Effect of *Fructus tribuli* extract on regional cerebral blood flow and pial arterial diameter. *J of Herbology* 13: 187-200.
- Kim KI, Han CK, Seong KS, Lee OH, Park JM, Lee BY (2003) Effect of whole powder and extracts of *Gastodiae rhizoma* on serum lipids and body fat in rats fed high-fat diet. *Korean J Food Sci Technol* 35: 720-725.
- Kim YS, Jeon SS, Jung ST (2002) Effect of lotus root powder on the baking quality of white bread. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 18: 413-425.
- Kubes P, Kanwar S, Niu X, Gaboury JP (1993) Nitric oxide synthesis inhibition induced leukocyte adhesion via superoxide and master cell. *FASEB* 7: 1293-1299.
- Lim IK(2002) Effects of *Herba houttuyniae* extract on the isolated ray aorta. *MS Thesis*. Wonkwang University, Iksan.
- Moon SM, Kim HJ, Han KS (2003) Purification and characterization of polyphenol oxidase from lotus root. *Korean J Food Sci Technol* 35: 791-796.
- Na KT(2001) Study on the effects of *Catalpa ovata*. *MS Thesis*. Wonkwang University, Iksan.
- Nathan C (1992) Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB* 6: 3051-3064.
- Palmer PMJ, Ferrige AG, Monacade S (1990) Nitric oxide release accounts for the biology activity of endothelium derived relaxing facture. *Nature* 327: 524-526.
- Park JH, Kim KY (1998) Effects of ChoKagDaeWhangTang water extract on blood pressure and regional cerebral blood flow. *Korean J Oriental Medical Pathology* 12: 117-124.
- Shibuki K, Okada D (1991) Endogenous nitric oxide release required for long term synaptic depression in the cerebellum. *Nature* 349: 326-328.
- Shin YI, Kang SY, Jeong HW, Kim JC, Kim SS, Han JH (1999) Effect of several herb drugs extract on regional cerebral blood flow and blood pressure in rat. *Korean J Oriental Medical Pathology* 13: 59-65.
- Snedecor GH, Cochom WG (1967) *Statistical method*, 6th-ed. Amos. Iowastate University.
- Yang HC, Kim YH, Lee TK, Cha YS (1985) Physicochemical properties of lotus root. *J Korean Agricultural Chemical Society* 28: 239-244.

(2004년 12월 30일 접수, 2005년 2월 18일 채택)