

牛黃 및 Pear Phenolic compound가 白鼠의 血壓 變化, 血漿 Renin, ANP에 미치는 影響

윤대환^{##}

동신대학교 한의과대학

The Effect of Woohwang with Pear Phenolic compound on Blood Pressure,
Plasma Renin, ANP in Hypertensive Rat Induced by 2K1C

Dae-Hwan Youn^{##}

College of Oriental Medicine, Dongshin University

ABSTRACT

Oriental pear was used as treatment of asthma, control of blood pressure tonic medicine diabetes in oriental medicine, Pear Pectin was effective on control of blood pressure in previous report. In this study, it was investigated that Woohwang with pear extractions effects on cardiovascular system as blood pressure and renin and Atrial natriuretic peptide(ANP) in plasma. The 2K1C hypertension model was prepared by constricting the left renal artery with a sliver clip. Animals were then divided into three groups, control, Woohwang:Pear Phenolic compound(1:1), Woohwang:Pear Phenolic compound(2:1),Woohwang:Pear Phenolic compound(1:2) were supplied with them. Direct-blood pressure was measured at femoral vein, Indirect-blood pressure was measured at rodent tail. The results are as follows. The blood pressure was more significantly decreased at 1:2(woohwang:pear phenolic compound)group than other groups. On 6,9,12,15days, the blood pressure was significantly decreased in 1:2(woohwang:pear phenolic compound)group. The plasma ANP was significantly increased in 1:2(woohwang:pear phenolic compound)group. It tends to decrease in 1:2(woohwang:pear phenolic compound)group on plasma renin. Based on the above results it is assumed that oral administration fo Woohwang with Pear Phenolic compound(1:2) can help the treatment of hypertension.

Key words : Pear pectin, Woohwang, Blood Pressure, Plasma Renin, ANP, 2K1C

서 론

牛黃은 淸熱解毒, 化痰鎮驚, 淸心開竅하는 효능과 抗炎, 鎮驚, 利膽促進 등의 약리작용¹⁻²⁾이 있는 약물로서 이를 단일 및 牛黃淸心元등의 복합 제제로 심혈관계 질병에 이용되고 있다. 牛黃에 대한 최근 연구로는 朴 등³⁾은 응담과 우황이 급성간염에 대한 간기능 개선에 유효한 효과를 보고하였고, 최 등⁴⁾과 조 등⁵⁾은 우황이 포함된 침심원액이 심혈관계에 대한 심장박동수 감소 및 혈압강화작용 효과를 보고하였다.

배는 한의학적으로 快果, 果宗, 玉乳, 蜜父하여, 性寒하여 傷寒發熱, 客熱, 胸中痞塞熱結, 潤肺涼心, 消痰降火등의 효능을 지니고 있어 열병으로 진액을 손상되거나, 특히 心熱로 인한 번조감과 갈증이 있는 경우에 응용하고 있으며⁶⁾, Fernandez ML 등⁷⁾은 배가 hypercholesterolemic diet한 동물에 대하여 plasma LDL concentration을 낮춤과 동시에 hepatic cholesterol의 homeostasis에도 영향을 미침을 보고하였다.

배에서 추출한 phenolic compound가 심혈관계에 미치는 영향에 대해서는 선행 연구⁸⁾에서 혈압강하를 보고 하였으나 우황과의 상호 작용은 아직 보고된 바가 없어서 한약제제와 기능성 과일 추출물에 대한 검증과 그 효과 규명 연구가 필요시 되고 있다. 이에 배에서 추출한 phenolic compound과 우황의 혼합 투여에 대한 혈압강화작용과 그 기전을 알아보기 위하여 혼합제제의 용량별 투여가 2K1C 고혈압 흰쥐의 Direct 및 Indirect 혈압, 혈장 renin, 혈장 ANP 등에 미치는 영향을 관찰한 결과 다음과 같은 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 동물

체중이 약 180~200g의 Sprague Dawley계의 흰쥐를 사육장 (실내온도, 24~26°C)내에서 물과 사료를 충분히 섭취하게 하면서 사육하였다가 실험에 사용하였다.

2. kidney, 1 clip 고혈압 유발

고혈압을 유발시키기 위하여 흰쥐를 대상으로 EntobarTM (pentobarbital sodium, 50mg/kg)를 복강내 주사하여 마취시킨 후 복부를 절개하여 왼쪽 신동

맥을 노출시켜 주위 조직들을 깨끗이 제거한 다음 간격이 0.2mm되는 silver clip을 신동맥에 끼워 넣고 봉합하였다. 수술 4주 후에 혈압을 측정하여 수축기 혈압이 170mmHg 이상된 흰쥐를 위주로 선택하여 사용하였다.

3. phenolic compound 추출 및 약물 투여

나주산 배로부터 Pear Phenolic compound 추출은 다음과 같이 하였는데, 배 껍질에 껍질무게의 1.5배(w/v)되는 methanol을 첨가하여 blender에서 1분간 갈고 여과한 다음 그 잔사를 이용하여 같은 방법으로 재차 추출하였으며, 이 추출액을 혼합하여 갑압 농축을 하였으며 농축액에 대하여 용매분획을 실시하며, 농축액과 등량인 ethylacetate와 buthanol로 각각 분획을 하고 ethylacetate와 buthanol 층을 취하여 농축하였고, 이 농축물을 다시 소량의 methanol에 녹여 50°C의 오븐에서 건조하였다. 각 시료들은 우황과 Pear Phenolic compound를 각각 1:1(5mg/kg:5mg/kg), 1:2(5mg/kg:10mg/kg)와 2:1(10mg/kg:5mg/kg)비율로 배합하여 Direct method에서는 PBS에 희석하여, 항속주입기 syringe pump(WPI, U.S.A.)를 사용하여 0.5ml/kg용량을 투여하였으며, Indirect method에서는 우황과 phenolic compound를 각각 1:1(3mg/kg:3mg/kg), 1:2(3mg/kg:6mg/kg)와 2:1(6mg/kg:3mg/kg)비율로 배합하여 0.5ml 증류수에 희석하여, oral zonde needle(Natsume, Japan)를 이용하여 경구투여하였다.

4. BP 측정 : Direct method

정상 흰쥐 및 고혈압이 유발된 흰쥐를 EntobarTM(pentobarbital sodium, 50mg/kg, i.p)로 초기마취를 유도한 후 실험대에 동물을 고정한 뒤 우측 대퇴부 내측의 대퇴정맥(femoral vein)을 노출시켜 주입용 튜브(PE-50)를 위치시켰다. 좌측 대퇴동맥(femoral artery)에 혈압측정 센서(BLPR, WPI)를 연결하여 4-channel transducer amplifier(TBM4, WPI)에 연결하였다. 100배 증폭된 아날로그 신호는 data acquisition system (Biopac, U.S.A)으로 초당 200 spike/sec로 200배 증폭하여 기록 및 저장되도록 하였다. 항속주입기 syringe pump(WPI, U.S.A.)를 사용하여 EntobarTM(pentobarbital sodium, 5mg/kg/hr, i.v)를 전 실험시간동안 주입하여 마취상태를 유지하도록 하였으며, 또한 temperature controller(TR100, FST, USA)로 체온을 유지하였다.

평균 동맥혈압과 심박수를 측정은 약물투여전 (befor administration, con)에 대하여, 2:1약물의 1차

투여(after first administration of solution, 2:1first), 2:1약물의 2차투여(after second administration of solution, 2:1second), 1:2 약물의 1차투여(after first administration of solution, 1:2first), 1:2약물의 2차투여(after second administration of solution, 1:2second)하여 상태를 비교하였다.

5. BP 측정 : Indirect method

흰쥐의 혈압 변동 관찰은 non-invasive blood pressure 측정기인 rat tail blood pressure system(RTBP2003, WPI, U.S.A.)을 활용하여 관찰하였다. 흰쥐를 animal warming restrainer에 넣고, 흰쥐의 tail에 piezoelectric pulse sensor와 occlusion cuff를 위치시킨 다음 컴퓨터에 연결된 pulse signal의 size가 적당한 정도로 관찰되면, 이때 기기를 작동시켜 수축기 혈압을 관찰하였다. 실험군은 우황:phenolic compound이 1:1, 2:1, 1:2군으로 나누어 saline을 투여한 control군과 비교하여, 시료 투여가 시작된 시점인 0일째부터 3일, 6일, 9일, 12일, 15일째까지 각 군별로 혈압측정을 시행하였다.

6. Plasma renin, ANP 측정

Indirect method에 의해 실험된 1:1, 2:1, 1:2군 및 control군의 각 흰 쥐는 투여 3주째에 단두하여 혈액 5ml를 얻었으며, 혈액 채취시 tube에 anticoagulant & converting inhibitor(EDTA 50mg/ml)100 μ l, proteolytic enzyme inhibitor mixture(Soybean trypsin inhibitor:SBTI 50units/ml, Aprotinin 200KIU/ml, Phenylmethylsulfonylfluoride:PMSF 600M/ml)100 μ l를 넣고 4 $^{\circ}$ C상태를 유지한다. Blood는 4 $^{\circ}$ C에서 3500RPM으로 20분간 원심 분리후 상층액을 분리한다. Renin 측정위해 50 μ l Plasma와 ANP 측정위해 1 ml Plasma를 준비한다.

Renin 측정을 위하여 흰쥐의 한쪽 kidney는 절단하고 다른 한쪽 kidney는 artery를 묶어준 후 48시간 후에 혈액을 채취한다. 혈액 채취시 tube에 EDTA(50mg/ml)100 μ l를 넣고 원심 분리해 Plasma를 분리한다. Angiotensinogen(renin substrate)은 Maleate buffer(1.5M, pH5.88)50 μ l, 8-Hydroxyquinoline(3.4mM)10 μ l, Neomycin sulfate(20%)10 μ l, Phenylmethylsulfonylfluoride(PMSF 305mM)10 μ l, Plasma 200 μ l, D·W 170 μ l 로 만든다. Renin의 radioimmuno assay는 plasma 50 μ l에 450 μ l substrate(angiotensinogen)를 넣은 후 37 $^{\circ}$ C에서 3시간정도 incubation한다. Incubation된 sample은

4 $^{\circ}$ C에 보관한다. Sample 50 μ l에 renin buffer 50 μ l, AI*tracer 100 μ l, AI·Ab 100 μ l를 넣고 4 $^{\circ}$ C에서 24시간 incubation후, Charcoal 1ml을 넣고 3000 rpm 15분간 원심분리 후 assay한다.

ANP 측정은 SEP-PAK C18 Cartridge에 100% acetonitrile 5ml를 Syringe로 통과시킨 후 0.1% TFA(Trifluoroacetic acid)5ml로 통과시키고 plasma 1ml을 천천히 통과시킨 후, 0.1% TFA(Trifluoroacetic acid) 5ml를 통과시키고 60% acetonitrile 2ml을 천천히 통과시켜 tube에 sample을 받아 Speed Vacuum으로 완전히 건조시킨다. 건조된 tube에 ANP buffer 150 μ l를 넣고 4 $^{\circ}$ C에서 10분 정도 incubation후, 4 $^{\circ}$ C에서 10,000 rpm 5분간 원심분리해서 상층액 100 μ l를 tube에 분리해 ANP Ab 100 μ l를 넣고 4 $^{\circ}$ C에서 24시간 incubation 후, ANP tracer 100 μ l를 넣고 4 $^{\circ}$ C에서 24시간 incubation후 Charcoal 1ml을 넣고 3000 rpm 15분간 원심 분리후 assay한다.

7. 통계처리

혈압 평가를 위하여 각 군별로 초기 값을 100%로 기준을 설정하고 5일, 8일, 12일, 15일, 19일째의 값을 0일째 값에 대한 백분율로 환산하여 나타내었다. Plasma renin, ANP concentration는 대조군과 각 시료 투여군의 측정값을 그대로 사용하였다. 각 군별 실험 성적은 mean \pm standard error로 나타내었다. 각 측정치의 통계처리는 대조군에 대비한 각 시료군의 값을 unpaired t-test를 이용하여 검정하였으며 P 값이 0.05이하인 경우 유의한 차이가 있는 것으로 간주하였으며, 단 P 값이 0.05이상, 0.1이하인 경우 한계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 간주하였다.

성 적

1. BP 변화 : Indirect method

2K1C 고혈압 흰쥐에게 아무런 처치를 하지 않은 대조군과 비교하여 일간 혈압변화를 상대적으로 관찰하였다. 2K1C 고혈압 흰쥐에게 牛黃: Pear Phenolic compound가 1:1 비율로 혼합된 제제를 투여하고 일간 평균혈압변화를 관찰한 결과 0일, 3일 6일, 9일, 12일, 15일째에 대조군에 비하여 96.1 \pm 7.51%, 102.7 \pm 8.14%, 98.4 \pm 5.59%, 100.5 \pm 6.33%, 89.4 \pm 2.90%, 85.6 \pm 5.20%를 나타내었고, 牛黃: Pear Phenolic compound가 2:1 비율로 혼합된 제제를 투여하고 일간 혈압변화를 관찰한 결과 0일, 3일 6일, 9일, 12일, 15일째에 대조군에 비하여 96.7 \pm 3.06%, 100.3 \pm 7.53%, 110.5 \pm 5.33%, 119.1 \pm 4.74%, 119.9 \pm 6.67%, 122.8 \pm 5.17%을 나타내었으며, 牛

黃: Pear Phenolic compound가 1:2 비율로 혼합된 제제를 투여하고 일간 혈압변화를 관찰한 결과 0일, 3일 6일, 9일, 12일, 15일째에 대조군에 비하여 160.6±7.68%, 95.6±5.79%, 87.0±2.67%, 82.4±2.28%, 89.4±5.89%, 89.7±5.14%를 나타내었다. 즉 대조군에 비하여 牛黃: Pear Phenolic compound가 1:1 비율로 혼합된 제제를 투여된 1:1군의 12일, 15일에 유의한 감소(P<0.05)를 보였고, 牛黃: Pear Phenolic compound가 1:1 비율로 혼합된 제제를 투여된 1:2군에서는 6일, 9일째에 유의한 감소(P<0.01)를 나타내었다.

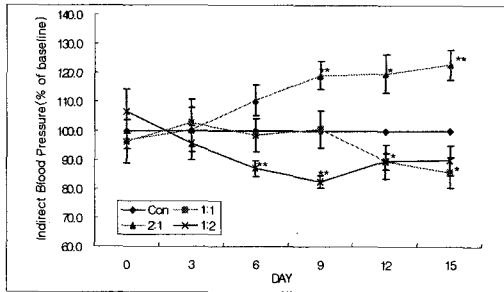


Fig. 1. Effect of administration according to the woohwang and pear phenolic compound on indirect blood pressure in rats. The blood pressure change daily are an comparison values about control group 100%. con, control group, con:control, 1:1(woohwang : pear phenolic), 2:1 (woohwang : pear phenolic), 1:2(woohwang : pear phenolic), Solutions are administrated 3ml per kg for 3weeks on rat, a day's interval. *, **, Statistically different compared with before administration(*:P<0.05, **P<0.01).

2. BP 변화 : Direct method

2K1C 고혈압 흰쥐에게 혼합제제를 투여하기 전을 대조군으로 비교하여 투여후의 1차, 2차 투여후 평균 혈압변화를 관찰한 결과, 牛黃: Pear Phenolic compound가 1:1 비율로 혼합된 제제를 1차 투여하였을 때, 대조군은 158.4±8.06mmHg을 나타내었을 때 1차 투여는 127.3±9.82mmHg를, 2차 투여는 124.4±5.99mmHg를 나타내었다. 牛黃: Pear Phenolic compound가 2:1 비율로 혼합된 제제를 1차, 2차 투여하였을 때, 대조군은 158.4±8.06mmHg을 나타내었을 때 1차 투여는 135.6±10.62mmHg를, 2차 투여는 129.0±8.66mmHg를 나타내었다. 牛黃: Pear Phenolic compound가 1:2 비율로 혼합된 제제를 1차, 2차 투여하였을 때, 대조군은 158.4±8.06mmHg을 나타내었을 때 1차 투여는 119.1±14.67mmHg를, 2차 투여는 124.4±8.74mmHg를 나타내었다.

즉, 대조군에 비하여 牛黃: Pear Phenolic compound가 1:1 비율로 혼합된 제제를 투여하였을 때 1차 투여(P<0.05)와 2차 투여(P<0.01)에서 유의하게 감소하였으며, 牛黃: Pear Phenolic compound가 2:1 비율로 혼합된 제제를 투여하였을 때, 2차 투여에서 유의하게 감소(P<0.05)하였으며, 牛黃: Pear Phenolic compound가 1:2비율로 혼합된 제제를 투여하였을 때, 1차, 2차 투여에서 유의하게 감소(P<0.05)하였다.

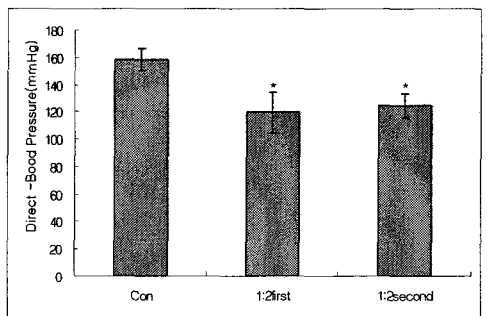
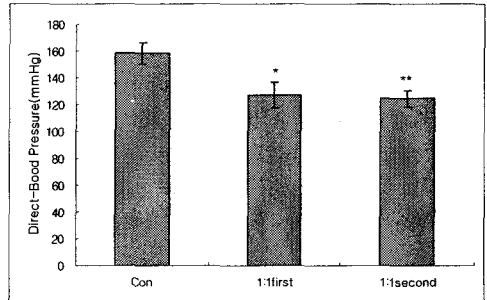
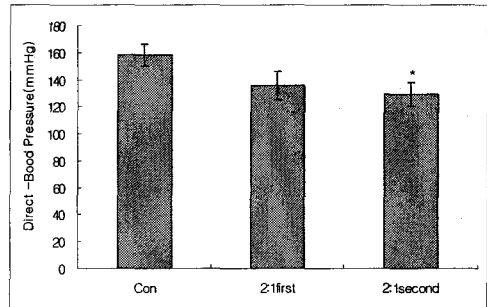


Fig. 2. Effect of administration according to the woohwang and pear phenolic compound on direct blood pressure in rats. Upper, middle and lower figure present the administration of 1:1(woohwang : pear phenolic)solutions, 2:1 (woohwang : pear phenolic)solutions, 1:2(woohwang : pear phenolic)solutions in femoral vein respectively. The blood pressure change daily are an comparison values about before administration(con). *, **, Statistically different compared with before administration(*:P<0.05, **P<0.01).

3. Plasma renin 변화

2K1C 고혈압 흰쥐에게 牛黃: Pear Phenolic compound가 각각 1:1, 2:1, 1:2 비율로 혼합된 제제를 2일에 1회씩 3주간 투여가 혈장 renin 변화에 미치는 영향을 각각 알아보았다.

대조군이 $0.23 \pm 0.0149 \text{ pg/ml}$ 인 것에 비하여 1:1군은 $0.22 \pm 0.0101 \text{ pg/ml}$ 을 나타내었고, 2:1군에서는 $0.20 \pm 0.0031 \text{ pg/ml}$ 을 나타내었다. 즉 대조군에 비하여 牛黃: Pear Phenolic compound의 혼합제제가 투여된 모든 군에서는 모두 유의한 변화가 없었으나, 감소하는 경향을 보였다.

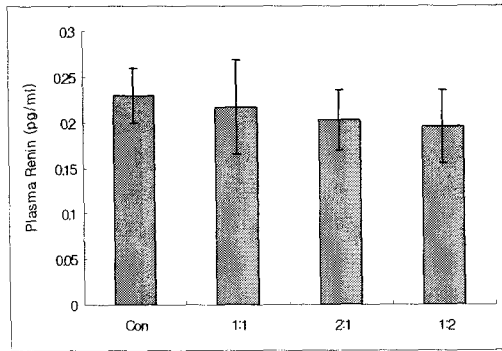


Fig. 3. Effect of administration according to the woohwang and pear phenolic compound on plasma renin in rats. Figure present the administration of 1:1(woohwang : pear phenolic)solutions, 2:1 (woohwang : pear phenolic)solutions, 1:2(woohwang : pear phenolic)solutions, saline(control, con) on rat respectively.

4. Plasma ANP 변화

2K1C 고혈압 흰쥐에게 牛黃: Pear Phenolic compound가 각각 1:1, 2:1, 1:2 비율로 혼합된 제제를 2일에 1회씩 3주간 투여가 혈장 ANP 변화에 미치는 영향을 각각 알아보았다.

대조군이 $0.07 \pm 0.0085 \text{ pg/ml}$ 인 것에 비하여 1:1군은 $0.09 \pm 0.0119 \text{ pg/ml}$ 을 나타내었고, 2:1군에서는 $0.12 \pm 0.017 \text{ pg/ml}$ 을 나타내었다. 즉 대조군에 비하여 牛黃: Pear Phenolic compound의 혼합제제가 투여된 2:1군($P < 0.01$), 1:2군($P < 0.05$)에서 혈장 ANP가 모두 유의하게 증가하였다.

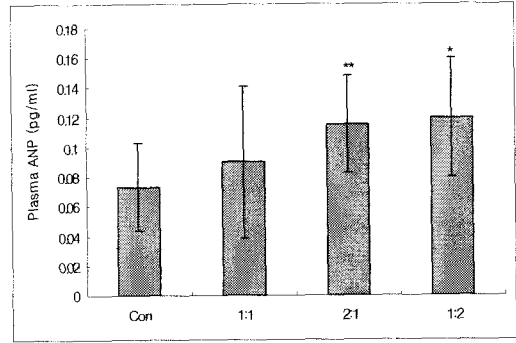


Fig. 4. Effect of administration according to the woohwang and pear phenolic compound on plasma ANP in rats. Figure present the administration of 1:1(woohwang : pear phenolic)solutions, 2:1 (woohwang : pear phenolic)solutions, 1:2(woohwang : pear phenolic)solutions, saline(control, con) on rat respectively. *, **, Statistically different compared with before administration (*: $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)

고찰

고혈압은 심장의 혈액박출량과 말초혈관저항의 증가에 의해 혈압이 정상보다 높은 경우로, 그 원인과 발생기전이 불명확한 본태성 고혈압은 전체 고혈압 환자의 90%이상을 차지하며, 고혈압을 야기하는 원발 병소나 병변이 존재하는 이차성고혈압은 주로 신혈관 병변, 신실질병변, 내분비질환, 중추신경계질환, 약제, 대사질환, 임신, 폐질환으로 인하여 발생된다. 그 중 신혈관 병변과 관련이 있는 신성고혈압은 신동맥 및 그 주요 분지의 협착증에 의해 이차적으로 발생하는 고혈압으로 이완기 혈압이 10mmHg이상인 환자의 경우 약 2%에서 해당한다. 이 질환의 진단으로는 혈장 레닌 활성도 등의 반복측정이 응용되고 있다⁹⁻¹⁰.

한의학적으로 고혈압은 心火暴盛과 肝腎陰虛로 인한 肝陽偏亢으로 일어나는 것으로¹¹⁻¹², 肝風內動, 肝陽上亢, 心肝火盛에 대하여 平肝潛陽시키는 처방을 사용한다¹⁴⁻¹⁶.

본 연구에 사용된 牛黃은 味苦甘, 性涼하여 心, 肝經에 歸經하여 清心涼肝, 割痰開竅, 清熱解毒의 효능이 있어 熱病으로 인한, 神昏, 中風開竅, 驚癇抽澀, 小兒急驚, 咽喉腫爛, 口舌生瘡과 癰疽腫毒등을 치료하는데 사용되고 있다¹⁷. 또 배에 추출된 Pear Phenolic compound는 하나 또는 두 개 이상의 수산기로 치환된 방향족환을 가지고 있는 식물 성분의 총칭으로, 1,000가지 이상이 밝혀졌으며 그중 대표적인 화합물은 tanin등이 있다¹⁸. Tannin는 항 virus작용¹⁹, 효소

활성의 저해작용²⁰, 혈압강하작용²¹, 혈중노질소저하작용²², 항ACE(angiotensin converting enzyme)활성 저해작용²³, 항 HIV작용²⁴ 등의 생리활성이 보고되고 있다. 다양한 생리활성이 보고 되어 있는 등 새로운 천연의약자원으로 활발히 연구되고 있다.

이와 같이 배에서 추출된 Pear Phenolic compound와 牛黃 모두 高血壓 및 熱病 등 순환기계통에 일정한 효과를 나타내는 主治가 있음을 考慮할 때, 배에서 추출된 Pear Phenolic compound와 牛黃의 구강투여가 2K1C로 유발된 신성고혈압을 개선시킬 수 있을 것으로 기대되어 흰쥐에 誘發된 신성 고혈압모델을 통한 혈압강하효과를 觀察하고자 本 實驗을 實行하게 되었다.

본 실험에 응용한 고혈압 모델은 임상적인 고혈압과 많은 유사점을 가지고 있는 RAS(renin-angiotensin system)이론에 근거하여 적용하였다. RAS은 renin의 유리로부터 시작되는데 renin은 신장의 수입세동맥(afferent arteriole)에 있는 사구체옆세포(juxtaglomerular cells)에 의해 생산, 저장, 유리되는 효소(aspartyl protease)이다. Renin은 신장관류량(renal perfusion)의 감소, 순환 혈류량 감소, 신장으로의 나트륨부하 감소, 교감신경계 활성화 등 증가 등의 생리적 요인에 반응하여 유리된다. Renin은 간에서 합성되는 angiotensinogen으로부터 4개의 amino acids를 떼어내어 decapeptide인 angiotensin I을 생성시킨다. Angiotensin I은 주로 폐의 작은 혈관의 내피세포와 혈장에 존재하는 angiotensin 전환효소(angiotensin-converting enzyme, ACE)의 작용에 의해 amino acids 2개가 잘려지고 octapeptide인 angiotensin II로 전환된다. Angiotensin II의 수용체는 심장, 혈관, 뇌, 중추신경계, 자율신경계, 뇌하수체, 부신, 신장, 간, 장, 자궁 등 다양한 조직에 분포하고 있어, 직접적인 혈관 수축과 부신피질에서 aldosterone 유리를 통해 sodium 재흡수 증가와 원위부에서의 potassium의 배설 증가시키는 등의 말초저항, 신장기능의 변화를 일으키는 feedback system이다²⁵. 따라서 실험적 모델로 silver clip을 왼쪽 신동맥에 끼워서 RAS를 활성화시켜 고혈압을 유발시켜 심혈관계의 개선효과가 기대되는 배의 추출물인 phenolic compound를 투여하고 일간 혈압변화와 혈장 renin, 혈장 plasma, 심장비대지수를 관찰하였다.

혈압은 혈액이 맥관벽에 미치는 압력을 말하며 심장의 박동과 수축력, 말초혈관, 평활근의 긴장도, 체액의 양과 조성, 자율신경의 활성 및 renin, angiotensin을 포함한 각종 Hormone과 생체내 내인성 활성물질 등에 의해 조절된다²⁶⁻²⁷.

본 실험에서는 2K1C 고혈압 흰쥐에게 우황:phenolic compound가 1:1 비율로 혼합된 제제를 투여하고 일간 평균혈압변화를 관찰한 결과, 대조군에 비하여 우황: Pear Phenolic compound가 1:1 비율로 혼합된 제제를 투여된 1:1군의 12일, 15일에 유의한 감소를 보였고 (P<0.05), 牛黃: Pear Phenolic compound가 1:1 비율로 혼합된 제제를 투여된 1:2군에서는 6일, 9일째에 유의한 감소(P<0.01)를 나타내었다.

또한 2K1C 고혈압 흰쥐에게 혼합제제를 투여하기 전을 대조군으로 비교하여 투여후의 1차, 2차 투여후 평균혈압변화를 관찰한 결과, 대조군에 비하여 牛黃: Pear Phenolic compound가 1:1 비율로 혼합된 제제를 투여하였을 때 1차 투여(P<0.05)와 2차 투여(P<0.01)에서 유의하게 감소하였으며, 牛黃: Pear Phenolic compound가 2:1 비율로 혼합된 제제를 투여하였을 때, 2차 투여에서 유의하게 감소(P<0.05)하였으며, 牛黃: Pear Phenolic compound가 1:2비율로 혼합된 제제를 투여하였을 때, 1차, 2차 투여에서 유의하게 감소(P<0.05)하였다.

이는 牛黃: Pear Phenolic compound의 투여가 혈압 강하에 일정한 효과가 있었으며, 각각 牛黃의 배합비에 따라서도 혈압강하효과에 일정한 영향을 준다는 것을 알 수 있었다. 특히 牛黃: Pear Phenolic compound의 1:2 비율이 6일째와 9일째에 그 효과가 양호함을 나타내었다.

신장에서 생성되는 단백질분해효소인 Renin은 Tigerstedt등에 의하여 신장에 내재하는 renin이 발견된 이후, 고혈압 발생 및 그 유지에 있어 중요한 요소로 작용한다고 알려져있다. 혈장 renin의 분자량은 약 39,000~40,000 daltons 정도 되며, 간장에서 생성되어 혈중의 angiotensinogen을 분해하여 angiotensin I을 만들고 혈중의 converting enzyme는 이를 angiotensin II로 만드는데 angiotensin II는 모세혈관을 수축시켜 혈압을 상승시켜 혈압을 조절하는 작용을 한다^{10,28-29}. 본 실험에서는 2K1C 고혈압 흰쥐에게 牛黃: Pear Phenolic compound가 각각 1:1, 2:1, 1:2 비율로 혼합된 제제를 2일에 1회씩 3주간 투여가 혈장 renin 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 대조군에 비하여 牛黃: Pear Phenolic compound의 혼합제제가 투여된 모든 군에서는 모두 유의한 변화가 없었으나, 감소하는 경향을 보였다.

혈장 ANP 또한 1981년 처음 발견된 호르몬의 하나로, 체액 및 전해질 대사와 혈압조절에 중요한 역할을 한다. ANP는 심근세포에서 고분자의 preprohormone으로 합성되고 prohormone으로서 과립에 저장되어 있다가 혈액으로 분비되는데 환상 구조의 저분자 펩타이드가

생리기능을 갖는 것으로 알려져 있으며, 이러한 분비는 나트륨노의 항진, 이뇨, 동맥압 저하, 그리고 renin-angiotensin-aldosterone계 억제 등을 일으키게 된다³⁰⁻³¹). 본 실험에서 2K1C 고혈압 흰쥐에게 牛黃: Pear Phenolic compound가 각각 1:1, 2:1, 1:2 비율로 혼합된 제제를 2일에 1회씩 3주간 투여가 혈장 ANP 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 대조군에 비하여 牛黃: Pear Phenolic compound의 혼합제제가 투여된 2:1군($P<0.01$), 1:2군($P<0.05$)에서 혈장 ANP가 모두 유의하게 증가하였다. 이는 배 추출 Pear Phenolic compound의 투여가 RAS이론과 혈장 ANP와 혈장 renin과 연관되어 혈압조절에 관여한다는 선행연구와 비슷한 결과를 보였으며, 牛黃: Pear Phenolic compound의 배합비가 2:1, 1:2 비율인 혼합된 제제가 RAS와 관련된 고혈압조절기전에 일정한 효과가 있음을 알 수가 있었다.

위의 결과를 종합해 볼 때 우황과 배에서 추출된 Pear Phenolic compound의 혼합 투여는 혈압강화 조절에 유의한 효과가 있었으며, 이는 혈압관련자인 혈장 renin과 혈장 ANP에 영향을 미치는 것으로 관찰되었다.

결 론

우황 및 배에서 추출된 Pear Phenolic compound의 혼합투여가 평균혈압변화 및 일간 혈압 변화, 혈장 renin 및 ANP 변화를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 일간 평균혈압변화에서는 牛黃: Pear Phenolic compound가 1:1 비율로 혼합된 제제를 투여된 1:1군의 12일, 15일에 유의한 감소를 보였고, 우황: Pear Phenolic compound가 1:1 비율로 혼합된 제제를 투여된 1:2군에서는 6일, 9일째에 유의한 감소를 나타내었다.
2. 평균혈압변화에서는 牛黃: Pear Phenolic compound가 1:1 비율로 혼합된 제제를 투여하였을 때 1차 투여와 2차 투여에서 유의하게 감소하였으며, 우황: phenolic compound가 2:1 비율로 혼합된 제제를 투여하였을 때, 2차 투여에서 유의하게 감소($P<0.05$)하였으며, 우황: phenolic compound가 1:2 비율로 혼합된 제제를 투여하였을 때, 1차, 2차 투여에서 유의하게 감소하였다.
3. 혈장 renin 변화에서는 牛黃: Pear Phenolic compound의 혼합제제가 투여된 모든 군에서는 모두 유의한 변화가 없었으나, 감소하는 경향을 보였다.
4. 혈장 ANP 변화에서는 牛黃: Pear Phenolic compound의 혼합제제가 투여된 2:1군, 1:2군에서 혈장 ANP가 모두 유의하게 증가하였다.

감사의 글

이 연구는 과학기술부 시행 지역기술개발사업(chonnam-0102)의 지원에 의하여 수행되었음.

참고문헌

1. 辛民教. 臨床本草學. 서울: 南山堂. 1986:286, 291-2, 296-7.
2. 李尙仁. 本草學. 서울: 修書院. 1981:359-61, 473-4.
3. 박태호, 성낙술, 이영중. 우담, 우황 및 우황탕(熊黃湯)이 galactosamine에 의한 흰쥐의 급성 간염에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2005;20(2):127-36
4. 최은옥, 조명행, 신상덕, 마웅천. 사향함유 우황청심원액과 영묘향함유 우황청심원액의 혈압강화 작용 및 적출심장에 미치는 효과에 대한 약리효능 비교. 한국생약학회지. 2000;31(3):310-9.
5. 조태순, 이선미, 김낙두, 허인희, 안형수, 권광일, 박석기, 심상호, 신대희, 박대규. 신원방우황청심원액의 심혈관계에 관한 약효. 한국응용약물학회. 1999;7(1):66-78.
6. 陳貴廷. 本草綱目通釋. 北京: 學苑出版社. 1992:1449-50.
7. Fernandez ML, Lin EC, Trejo A, McNamara DJ. Prickly pear (*Opuntia* sp.) pectin alters hepatic cholesterol metabolism without affecting cholesterol absorption in guinea pigs fed a hypercholesterolemic diet. J Nutr. 1994;124(6):817-24.
8. 나창수, 윤대환, 최동희, 정종길, 은종방, 김정상. 배에서 추출된 Pectin과 Phenolic compound가 흰쥐의 국소뇌혈류 및 심혈관계에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2003;18(2):101-8.
9. 정석인, 최상용, 황정웅. 신혈관성 고혈압. 대한백

- 관외과학회지. 1995;11(2):277-85.
10. 심용식, 전창렬, 조경우, 김산호. 신성 고혈압 백서에서 요중 Renin활성도와 혈장 Renin활성도의 상관관계에 대하여. 전북의대논문집. 1986;10(4):329-34.
 11. 유지윤. 변증시치임상요강. 서울: 영림사. 1998:246-8.
 12. 박영배. 변증진단학. 서울: 정보사. 1995:248-52.
 13. 이호섭. 약침이 자발성 고혈압 백서의 혈압에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1996;13(1):422-8.
 14. 진공연. 실용중서의결합진단치료학 상. 中國: 中國醫藥科技出版社. 1991:366-72.
 15. 채인식. 한방임상학. 서울: 대성출판사. 1987:145-7.
 16. 김중화, 변일. 고혈압 치료에 대한 치풍활혈탕의 임상적 보고. 해화의학. 1990;1(1):39-48.
 17. 國家中醫藥管理局 中華本草編纂委. 中華本草. 上海: 上海科學技術出版社. 1999:574-6.
 18. 우원식. 천연물화학연구법. 서울: 민음사. 1984:73
 19. Konowalchuk J, Speirs JI. Virus inactivation by grapes and wines. Appl Environ Microbiol. 1976;32(6):757-63.
 20. Hatano T, Yasuhara T, Fukuda T, Noro T, Okuda T. Phenolic constituents of licorice. II. Structures of licopyranocoumarin, licoaryl coumarin and glisoflavone, and inhibitory effects of licorice phenolics on xanthine oxidase. Chem Pharm Bull (Tokyo). 1989;37(11):3005-9.
 21. Inokuchi J, Okabe H, Yamauchi T, Nagamatsu A, Nonaka G, Nishioka I. Antihypertensive substance in seeds of *Areca catechu* L. Life Sci. 1986;38(15):1375-82.
 22. Shibusaki S, Nagasawa T, Oura H, Nonaka G, Nishioka I. Mechanism of the blood urea nitrogen-decreasing activity of rhatannin from *Rhei Rhizoma* in the rat. I. Chem Pharm Bull. 1983;31(7):2378-85.
 23. Inokuchi J, Okabe H, Yamauchi T, Nagamatsu A, Nonaka G, Nishioka I. Inhibitors of angiotensin-converting enzyme in crude drugs. II. Chem Pharm Bull. 1985;33(1):264-9.
 24. Okuda T, Yoshida T, Hatano T. Ellagitannins as active constituents of medicinal plants. Planta Med. 1989;55(2):117-22.
 25. 김정진. 殷史 生理學. 서울: 고문사. 1994:225-6, 313.
 26. 김우겸. 인체의 생리. 서울: 서울대학교출판국. 1985:30-47, 107, 118.
 27. 이문호. 내과학(상). 서울: 학림사. 1986:77-81.
 28. J.B.Minson, L.F. Arnolda, I.J. Llewellyn-Smith, P.M. Pilowsky, S.Suzuki, J.P.Chalmers. Immediate early genes in blood pressure regulation, clin. and exper. Hypertension. 1996;18(3&4):279-90.
 29. Curran T, Teich NM. Identification of a 39,000 dalton protein in cells transformed by the FBJ murine osteosarcoma virus. Virology. 1982;116:221-35.
 30. 이종은. ANP는 과연 체액 불균형 보상기전의 하나인가? 대한신장학회지. 2001;20(3):349-51.
 31. 서관식,성상규,이범유,박원,김종순. 갑상선 기능 이상에 따른 혈장 ANP의 변화. 대한내분비학회지. 1987;2(2):183-7.