

선향초 부탄올 추출물의 혈관 이완 효과의 기전에 대한 연구

조려화¹ · 이준경¹ · 조국현¹ · 강대길^{1,2*} · 권태오^{2,3} · 권지웅^{2,3} · 김진숙⁴ · 손은진⁴ · 이호섭^{1,2}
¹한의학전문대학원 한약자원개발학과, ²의약자원연구센터, ³원광대학교 생명자원과학대학, ⁴한국한의학연구원

Mechanism for the Vascular Relaxation Induced by Butanol Extract of *Agrimonia pilosa*

Cao Li Hua¹, Jun Kyoung Lee¹, Kuk Hyun Cho¹, Dae Gill Kang^{1,2*}, Tae Oh Kwon^{2,3},
Ji Woong Kwon^{2,3}, Jin Sook Kim⁴, Eun Jin Sohn⁴, and Ho Sub Lee^{1,2}

¹Professional Graduate School of Oriental Medicine, ²Medicinal Resources Research Institute (MeRRI),
³College of Life Science and Natural Resources, Wonkwang University, Iksan, Jeonbuk 570-749, Korea
⁴Korea Institute of Oriental Medicine (KIOM), Daejeon 305-811, Korea

Abstract – The butanol extracts of *Agrimonia pilosa* (BAP) induced dose-dependent vascular relaxation of phenylephrine-precontracted aorta, which was abolished by removal of functional endothelium. Pretreatment of the endothelium-intact aortic tissues with N^G-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) and 1H-[1,2,4]-oxadiazole-[4,3- α]-quinoxalin-1-one (ODQ) inhibited the relaxation induced by BAP. BAP-induced vascular relaxation was also markedly attenuated by addition of verapamil, while the relaxant effect of BAP was not blocked by indomethacine, glibenclamide, tetraethylammonium (TEA), atropine, or propranolol. In addition, incubation of endothelium-intact aortic rings with BAP increased the vascular production of cGMP. These results suggest that BAP relaxes vascular smooth muscle via endothelium-dependent nitric oxide/cGMP signaling pathway, which may be causally related with L-type Ca²⁺ channels.

Key words – butanol extracts of *Agrimonia pilosa*, vasodilation, NO/cGMP

혈관 평활근 (vascular smooth muscle)에서 수축과 이완을 조절하는 기전은 매우 다양하다. 이러한 기전 중에서 가장 중요한 기전 중 하나는 혈관 내피 세포 유래 이완인자 (endothelium-derived relaxing factor)로서 본체는 산화질소 (NO)이다. 혈관에서의 산화질소는 L-arginine을 기질로 해서 산화질소 합성효소(nitric oxide synthase)에 의해 혈관 내피 세포에서 생성된다. 이러한 혈관 이완 인자는 정상 상태에서도 내피세포에서 합성 및 분비가 이루어지고 acetylcholine (ACh), histamine, substance P 및 isoproterenol 등의 효능제에 의해서 합성 및 분비가 증가된다.^{1,2} 천연물에서도 혈관 내피 세포에서 산화질소의 생성을 증가시켜 혈관을 이완시키는 물질이 다양하게 보고된 바 있다. Kuramochi 등³은 조구등 전탕액이 산화질소 의존적으로 혈관이완 효과를 증가시킨다는 보고를 한 바 있고, Chen 등⁴은 산사의 ethanol 추출물이 장간막 동맥을 산화질소 의존적으로 이완시킨다고

보고하였고 Kang 등⁵ 또한 황련으로부터 분리한 alkaloid 화합물인 berberine이 NO/cGMP계 의존적으로 혈관을 이완시킨다고 보고하였다. 또한 겨우살이, 은행잎, 방풍, 당귀, 익모초, 등의 한약재 추출물도 혈관 내피세포 의존적 또는 비의존적으로 혈관 이완 효과를 보이고, 이들의 유효성분으로는 glycoside, procyanidine, flavonoid, polyphenyl 성 화합물 alkaloid, sesquiterpene lactone 화합물들이 밝혀졌다.⁶⁻¹⁰ 이러한 혈관 이완 효과의 약리적인 의의는 고혈압, 동맥경화증, 뇌-혈관 질환, 심장 질환을 완화시켜 주는 효과가 있을 뿐만 아니라 신장 질환과 발기부전 등을 치료하는 효과 등이 있다.

장미과에 속하는 짙신나물의 전초를 선향초 (*Agrimonia pilosa* Ledeb)라고 칭하는데 선향초는 예로부터 설사약 지혈제로 응용되어 왔으며 최근에는 암세포 선택적인 항암효과가 밝혀져 있다. [임상분초학]에서 선향초는 수렴의 기운이 강하여 지혈과 지사 모두에 뛰어난 효과가 있음을 설명하고 있다.¹¹ 주요 성분으로는 전초에는 agrimonin, agrimonolide, tormentic acid, ellagic acid 등이 함유되어 있고, 잎과 줄기

*교신저자(E-mail) : dgkang@wonkwang.ac.kr
(FAX) : 063-850-7260

에는 luteolin-7-glucoside가 함유되어 있다.^{11,12)} 한약재로 사용되는 다양한 약재의 용매 추출물을 이용하여 혈관 이완 효과를 탐색한 결과 선학초의 부탄을 추출물이 혈관 이완 효과가 뛰어난 것을 확인하였다. 그러므로 본 연구에서는 선학초 부탄을 추출물의 혈관 이완 효과에 대한 기전을 규명하고자 한다.

재료 및 방법

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

추출물의 제조 - 선학초 (*Agrimonia pilosa* Ledeb)는 2002년 3월 전북 익산의 원광대학교 식물원에서 채취하였으며 공동 저자인 원광대학교 생명자원과학대학 권태오 교수가 확증하였다. 확증 시료 (voucher specimen No. TO-109)는 원광대학교 생명자원과학대학 식물자원표본집에 보관하였다. 선학초 1 kg을 건조시킨 후 분쇄기를 이용하여 분말로 하였으며 3리터의 methanol (MeOH)로 1주일간 추출한 후 회전식 감압농축기를 사용하였고 농축하였다. 이를 다시 물에 녹인 후 hexane, ethylacetate, butanol, 물을 용매로 이용하여 차례로 분획하여 추출하였으며, 탐색 결과 혈관 이완효과가 가장 뛰어난 butanol층 추출물 (BAP, 4.1 g)은 25% dimethylsulfoxide (DMSO)에 녹여서 사용하였고 0.25%의 DMSO가 혈관이완에 영향을 미치지 않음을 확인하였다.

백서 흉부 대동맥의 분리 - 실험 동물은 체중이 약 250-300 g인 웅성 Sprague-Dawley 백서를 샴타코 (오산, 한국)를 물과 고형 사료를 충분히 공급하면서 23°C 항온 장치에서 사육하였고 실험 당일 날 단두한 후 흉부 대동맥을 분리하였다. 분리된 흉부 대동맥을 118 mM NaCl, 4.7 mM KCl, 1.1 mM MgSO₄, KH₂PO₄, 1.5 mM CaCl₂, 25 mM NaHCO₃, 10 mM glucose가 들어 있는 차가운 Krebs 용액 (pH 7.4)에 넣고 연결 조직과 지방을 제거한 후 약 3 mm의 길이의 절편으로 만들었다.

혈관 장력의 측정 - 백서로부터 분리한 흉부 대동맥 절편에 95% O₂-5% CO₂ 기체로 포화시킨 37°C의 Krebs 용액에서 고정시킨 후 isometric tension을 force-displacement transducer (Grass FT 03, Grass Instrument, MA, USA)가 장착된 생리 기록계 (Grass Model 7E, Grass Instrument, MA, USA)를 이용하여 측정하였다. 먼저 1×10⁻⁶ M의 phenylephrine으로 수축시키고 10분후 1×10⁻⁶ M의 ACh으로 이완 반응을 시켜 혈관 내피 세포의 안정성을 측정후 Krebs 용액

으로 3회 세척하고 실험을 수행하였다. 여러 가지 차단제들에 의한 선학초 부탄을 추출물의 혈관 이완 효과 변화 측정 은 먼저 약물을 20분간 전처리하고 phenylephrine으로 수축시켰고 이어서 선학초 부탄을 추출물에 의한 이완반응을 농도 의존적으로 관찰하였다. 혈관 내피세포 비의존형 실험을 수행할 때에는 혈관 내피 세포를 작은 면봉으로 제거한 후 phenylephrine 수축과 ACh 이완 반응으로 혈관 내피 세포의 제거를 확인 후 실험을 수행하였다.

cGMP의 측정 - 흉부 대동맥 절편을 95% O₂-5% CO₂ 가스를 공급해 주면서 Krebs 용액에서 30분간 평형을 시킨 후 1×10⁻⁴ M의 3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX) 넣어 주었다. 1×10⁻⁶ M의 phenylephrine을 넣어 10분간 더 평형을 시킨 후 농도별로 선학초 부탄을 추출물 (3×10⁻⁵, 1×10⁻⁴, 3×10⁻⁴ g/ml)와 함께 3분간 반응을 시켰다. 혈관 조직은 바로 액체 질소에 넣어 반응을 정지시킨 후 -76°C에 보관한 후 cGMP 농도를 측정하였다. 무게 (wet weight)를 측정된 혈관 조직을 6% trichloroacetic acid 존재하에서 균질화 시킨 후 13,000 g에서 15분간 원심 분리하여 얻은 침전물은 20 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4)에 녹여 Bradford법¹³⁾으로 단백량을 정량하였고, 상층액을 물이 포화된 diethylether를 이용하여 4회 추출하였고 추출액은 Speed-vac 농축기를 이용하여 농축하고 cGMP 측정은 방사면역 분석법을 이용하여 분석하였다.¹⁴⁾ 간단히 설명하면, 시료와 표준물질 을 50 mM sodium acetate 완충용액 (pH 4.8)에 최종 용적이 100 μ l가 되게 첨가한 후 100 μ l의 희석된 cGMP 항체 (Calbiochem-Novabiochem, Co., San Diego, CA, USA)와 ¹²⁵I가 결합된 cGMP (10,000 cpm per 100 μ l, specific activity 2200 Ci/mM, Dupont-New England Nuclear, Wilmington, DE, USA)를 함께 넣은 후 4°C에서 24시간 반응시켰다. 결합형과 비 결합형은 charcoal을 이용하여 분리하였으며 γ -counter를 이용하여 방사능을 측정하였다.

통계 처리 - 실험 결과의 유의성은 실험 결과를 Students t-test나 one-way ANOVA test를 통하여 P가 0.05 이하인 경우 유의한 차이로 판정하였다.

실험 결과

혈관내피 의존성 이완효과 - Phenylephrine (1×10⁻⁶ M)으로 수축한 후 선학초 부탄을 추출물의 농도 의존적인 혈관 이완효과를 측정된 결과, 농도 의존적으로 이완하였으며 1×10⁻⁴ g/ml의 선학초 부탄을 추출물 농도에서는 95.8±1.03% 이완효과를 관찰할 수 있었다. 선학초 부탄을 추출물의 혈관 이완 효과가 혈관 내피세포 의존적인지를 밝히기 위하여 혈관 내피세포를 제거한 후 혈관 이완효과를 측정 한 결과 거의 완벽하게 혈관 이완 효과가 억제되었다 (Fig. 1).

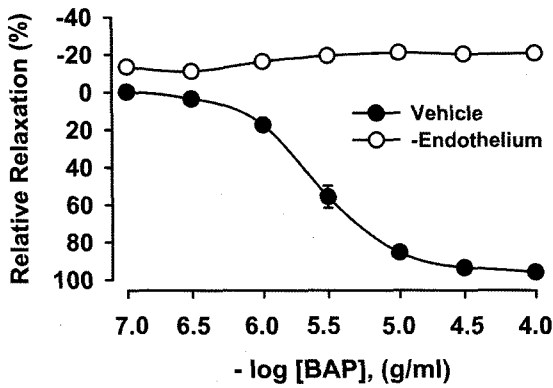


Fig. 1. Dose-response curves for the vascular relaxant effect of BAP in the phenylephrine-precontracted endothelium-intact aortic ring (vehicle), or endothelium-deduced aortic ring (-endothelium). Each value shows mean±SEM of four experiment.

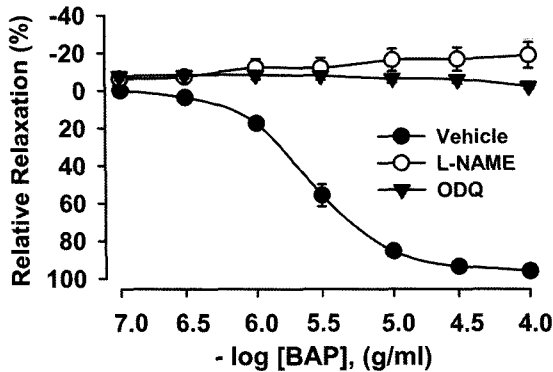


Fig. 2. Dose-response curves for the vascular relaxant effect of BAP in the phenylephrine-precontracted endothelium-intact aortic ring (Vehicle) in the presence of L-NAME (1×10^{-5} M) or ODQ (1×10^{-6} M). Each value shows mean±SEM of four experiments.

산화질소 합성 효소 억제 효과 - 선학초 부탄을 추출물의 혈관 이완효과가 산화 질소계와 관련이 있는지를 알아보기 위하여 비 특이적인 산화질소 억제제인 1×10^{-5} M의 L-NAME를 전 처리하고 선학초 부탄을 추출물의 혈관 이완효과를 측정된 결과, 혈관 이완 효과가 완전히 억제되었다 (Fig. 2).

가용성 구아닐산 고리화효소 억제 효과 - 선학초 부탄을 추출물의 혈관 이완 효과가 cGMP와 관련이 있는지를 알아보기 위하여 가용성 구아닐산 고리화효소 억제제인 1×10^{-6} M의 ODQ를 전처리 한 후 혈관 이완 효과를 측정하였다. 그 결과 선학초 부탄을 추출물의 혈관 이완 효과가 완전히 억제되었다 (Fig. 2).

Cyclooxygenase 차단 효과 - 혈관 이완 효과가 있는 prostacyclin이 선학초 부탄을 추출물의 혈관이완 효과에 영

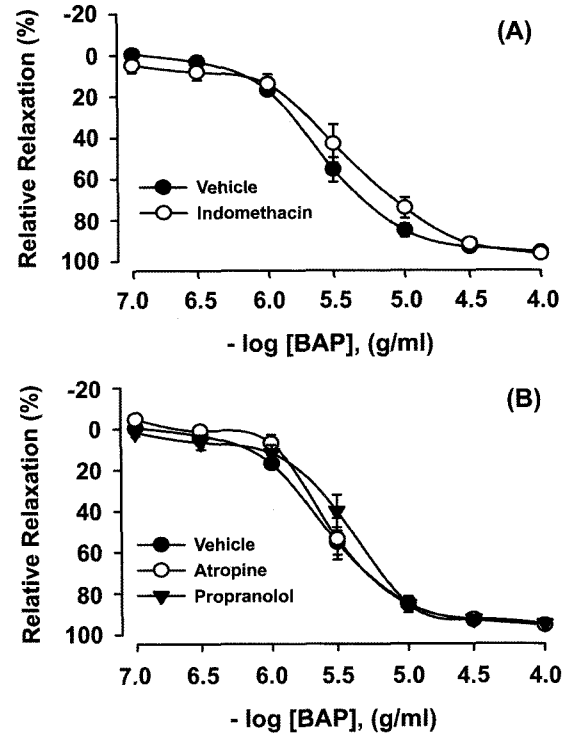


Fig. 3. Concentration-response curves for the relaxant effect of BAP in the endothelial intact aortic rings in the presence of indomethacin (1×10^{-5} M) (A), and atropine (1×10^{-6} M) or propranolol (1×10^{-6} M) (B). Each value shows mean±SEM of four experiments.

향을 미치는 지를 관찰하기 위하여 비 선택적 cyclooxygenase 억제제인 1×10^{-5} M의 indomethacin 전 처리 하에서 선학초 부탄을 추출물의 혈관 이완효과를 측정된 결과, indomethacin 전 처리 않은 군과 유의한 차이가 없었다 (Fig. 3A).

교감 및 부교감 신경계 수용체 차단 효과 - 선학초 부탄을 추출물에 의한 혈관 이완효과와 신경계와의 연관성을 알아보기 위하여 비선택성 β -아드레날린성 길항제인 propranolol, 항 무스카린성 약물인 atropine을 1×10^{-6} M로 각각 전 처리한 후 선학초 부탄을 추출물의 혈관 이완효과를 측정된 결과, 약물을 주지 않은 군과 비교하여 선학초 부탄을 추출물의 혈관 이완효과가 차이가 없었다 (Fig. 3B).

Ca²⁺ 통로 차단 효과 - Ca²⁺ 통로 차단이 선학초 부탄을 추출물에 의한 혈관 이완효과에 미치는 영향을 측정하기 위하여 L-형 Ca²⁺ 통로 차단제인 1×10^{-6} M의 verapamil을 전 처리한 후 선학초 부탄을 추출물에 의한 이완정도를 측정된 결과 낮은 농도에서는 전처리하지 않은 군과 차이가 없었지만 3×10^{-5} g/ml 이상의 농도에서는 이완효과가 유의하게 억제되었다 (Fig. 4A).

K⁺ 통로 차단 효과 - K⁺ 통로 차단이 선학초 부탄을 추출물의 혈관 이완효과에 영향을 주는지를 측정하기 위하여

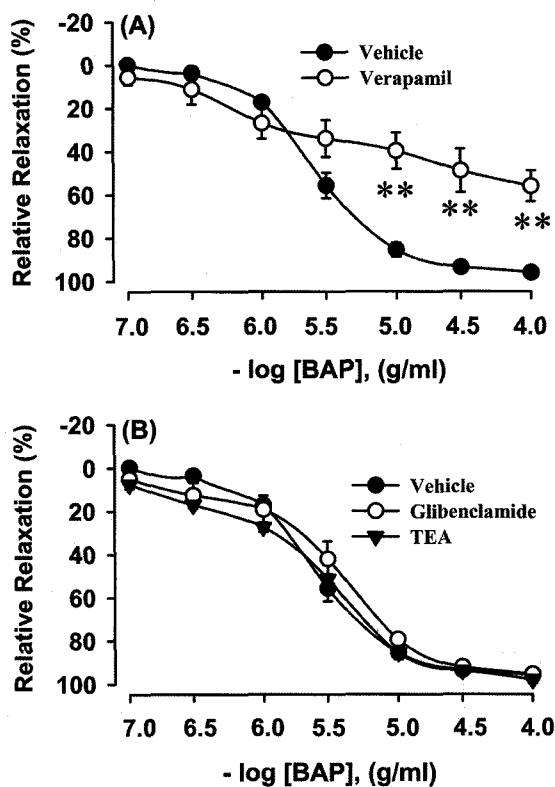


Fig. 4. Concentration-response curves for the relaxant activity of BAP in the endothelial intact aortic rings in the presence of verapamil (1×10^{-6} M) (A), and glibenclamide (1×10^{-6} M) or tetraethylammonium (1×10^{-4} M) (TEA) (B). Each value shows mean \pm SEM of four experiments. ** $P < 0.01$ vs. vehicle group.

ATP-감수성 K^+ 통로 억제제인 1×10^{-6} M glibenclamide와 비 선택적 K^+ 통로 억제제인 1×10^{-5} M TEA를 각각 전 처리한 결과 선택초 부탄을 추출물의 혈관 이완효과에 영향을 주지 않았다 (Fig. 4B).

cGMP 생성 효과 - 선택초 부탄을 추출물이 혈관 조직에서 cGMP의 생성에 영향을 미치는 지를 관찰하기 위하여 선택초 부탄을 추출물을 흉부대동맥에 직접 투여한 후 흉부대동맥에서 cGMP 생성량을 측정된 결과, 선택초 부탄을 추출물을 투여하지 않은 군에 비해 선택초 부탄을 추출물을 투여한 군이 선택초 부탄을 추출물 농도 의존적으로 cGMP의 생성량을 증가시킴을 관찰할 수 있었다 (Fig. 5).

고 찰

선택초 부탄을 추출물이 혈관 평활근을 이완시키는 기전을 알아보고자 먼저 혈관 내피 세포를 제거한 후 혈관 이완 효과를 측정된 결과 선택초에 의한 혈관 이완효과가 관찰

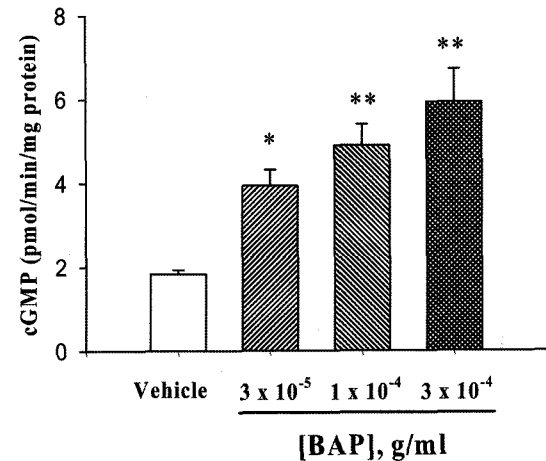


Fig. 5. Effect of BAP on cGMP production in the endothelial intact aortic rings. Each value shows mean \pm SEM of six experiments. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs. vehicle group.

되지 않았다. 이 결과는 선택초에 의한 혈관 이완효과는 혈관 내피세포 (endothelium) 의존적임을 시사한다. 따라서 혈관 내피세포 유래 혈관 이완 인자의 본체인 산화질소가 선택초에 의한 혈관 이완 효과에 관여하는지를 알아보기 위하여 비 특이적 산화질소 합성효소 억제제인 L-NAME를 전 처리 한 후 이완효과를 측정된 결과, 선택초에 의한 혈관 이완 효과가 억제되었다.

생체 내에서 생성되는 작은 분자인 산화질소는 내피세포 의존 혈관 이완 인자로서 혈압 강하 효과가 큰 것으로 밝혀졌다. 산화질소는 L-arginine으로부터 산화질소 합성 효소 (NOS)에 의하여 합성되고 혈관에는 산화질소 합성 효소인 3가지의 동위 효소가 존재한다.¹⁵⁾ 첫 번째 유형은 뇌형 산화질소 합성 효소 (bNOS, nNOS, NOS I)로 뇌 조직에서 처음 발견되었고 주로 신경 전달 물질로서의 산화질소를 합성하는 역할을 하고 있다. 두번째 동위 효소는 유도형 산화질소 합성 효소 (iNOS, NOS II)로서 주로 면역계에 작용하는 산화질소를 합성하고 있다. 세 번째 동위 효소는 혈관 내피세포에 주로 분포하면서 혈관을 이완시키는데 작용하는 혈관 내피세포형 산화질소 합성효소 (eNOS, eNOS, NOS III)로서 ACh에 의하여 활성화되어 혈관을 이완시킨다.¹⁶⁾ 이러한 산화질소는 세포질의 가용성 구아닐산 고리화효소를 활성화시켜 cGMP의 생성을 증가시켜 신호 전달체계를 통해 혈관 평활근을 이완시킨다.¹⁷⁾ 본 연구에서 L-NAME의 전 처리에 의해 선택초의 이완효과가 억제되는 것으로 보아 선택초에 의한 혈관 이완 효과는 산화질소계를 경유하여 일어나는 것으로 사료된다. 산화질소계가 선택초에 의한 혈관 이완 효과에 관여한다면 산화질소에 의하여 활성화되는 가용성 구아닐산 고리화효소 또한 선택초에 의한 혈관 이완 효과에 관여할 것으로 사료되어 가용성 구아닐산 고

리화효소 억제제인 ODQ를 전처리한 후 혈관 이완 효과를 측정된 결과, 선행초에 의한 혈관 이완 효과가 억제되었다. 따라서 이 연구 결과 선행초에 의한 혈관 이완 효과는 NO/cGMP 계를 경유하여 일어나는 것을 시사한다. 선행초에 의한 혈관 평활근의 이완 효과가 NO/cGMP 계를 경유하여 일어난다면, 선행초를 반응시키면 혈관 평활근에서 cGMP의 생성을 변화시킬 것으로 사료되어, 혈관 평활근과 선행초를 반응시킨 결과 혈관의 cGMP의 생성량이 증가하였다. 이러한 결과로 볼 때, 선행초는 혈관 내피세포에서 산화질소의 합성을 증가시키고 가용성 구아닐산 고리화효소를 활성화시켜 cGMP의 생성을 증가시켜 혈관을 이완시키는 것으로 사료된다.¹⁸⁾

혈관 평활근의 긴장도를 조절하는 또 다른 내인성 인자로는 prostacyclin (PGI₂)이 있다. Prostacyclin은 arachidonic acid로부터 cyclooxygenase에 의하여 생성되고, 이때 생성된 prostacyclin은 혈관 이완 작용을 갖는다. 선행초의 혈관 이완 효과가 prostacyclin의 생성과 관련이 있는지를 알아보기 위하여 cyclooxygenase 억제제인 indomethacin을 전 처리하고 선행초의 이완 효과를 측정된 결과 indomethacin을 전 처리하지 않은 군과 비교하여 차이가 없었다. 이와 같은 결과로 볼 때 prostacyclin계는 선행초의 혈관 이완 작용과는 무관한 것으로 사료된다.¹⁹⁾ 혈관 평활근에서 K⁺ 통로로는 Ca²⁺-activated K 통로 (K_{Ca}), ATP-sensitive K (K_{ATP}) 통로 등이 있는데, 내피세포 의존 과분극 인자 (endothelium-dependent hyperpolarizing factor, EDHF)는 K⁺ 통로를 활성화 시키고 막 과분극 (hyperpolarization)을 유발하게 된다. K⁺ 통로의 활성화에 의한 K⁺의 세포 내 유출은 세포막의 과분극을 일으켜, voltage-sensitive Ca²⁺ 통로의 불활성화로 이어져 세포내 Ca²⁺ 농도 감소를 초래하게 되고 결국은 혈관 이완을 유발하게 된다. K⁺ 통로에 대한 억제제로는 K_{Ca}를 차단하는 TEA와 sulfonylurea계 약물인 glibenclamide로 후자는 혈관 평활근에서 K_{Ca} 통로에는 영향을 미치지 않고 K_{ATP}만을 차단한다. 선행초의 혈관 이완효과가 K_{Ca} 또는 K_{ATP}를 경유하여 일어나는지 알아보기 위하여 K_{Ca} 차단제인 TEA와 K_{ATP} 차단제인 glibenclamide를 전처리한 후 혈관 이완효과를 측정된 결과, TEA와 glibenclamide를 전 처리하지 않은 대조군과 비교하여 이완 정도가 차이가 없었다. 이러한 결과로 볼 때 선행초에 의한 혈관 이완효과는 K⁺ 통로와는 무관한 것으로 사료된다.²⁰⁾

혈관 세포내 Ca²⁺ 농도는 혈관의 수축과 이완에서 가장 중요한 인자이다. 세포내 Ca²⁺ 농도가 증가하면 calmodulin과 결합하여 myosine light chain (MLC)의 인산화를 촉진시켜 평활근을 수축시킨다. 선행초의 혈관 이완 효과가 Ca²⁺ 통로와 연관이 있는지 알아보기 위하여 차단제인 verapamil을 전 처리 한 후 혈관 이완 효과를 측정된 결과, 높은 농도에서 부분적으로 혈관 이완 효과를 차단하였다. 이와 같

은 결과로 볼 때, 선행초에 의한 혈관 이완 효과에서 Ca²⁺ 통로가 어느 정도 중요한 역할을 하고 있는 것으로 사료된다.

혈관 평활근의 긴장도는 또한 자율 신경계의 조절에 의해 조절된다. 이 연구에서는 선행초가 자율 신경계의 수용체를 경유하여 혈관을 이완시키는지 여부를 알아보기 위하여 먼저 콜린성 수용체 중에서 무스카린성 수용체를 선택적으로 차단하는 atropine을 전 처리 한 후 혈관 이완 정도를 측정하였다. 그 결과, 선행초에 의한 혈관 이완 효과는 atropine을 전 처리 한 군과 전 처리하지 않은 군 사이에 아무런 차이가 없었다. 다음으로 수용체를 선택적으로 차단하는 항아드레날린성 약물인 propranolol을 전 처리한 결과 마찬가지로 전 처리하지 않은 군과 비교하여 차이가 없었다. 따라서 선행초에 의한 혈관 이완효과는 교감 신경계에 의한 혈관 이완 효과와는 무관한 것으로 사료된다.²¹⁾

NO/cGMP계는 혈관 평활근의 이완뿐만 아니라, 혈관평활근 세포의 증식과 혈소판, 백혈구 유착을 억제시키며, 내피세포의 삼투성을 낮추고 세포 외 간질단백의 합성을 억제하는 역할을 하고 있다. 혈관 내피세포에서 산화질소 생성의 감소는 혈관 내피세포의 기능장애나 손상에 의한 것이며, 이는 동맥경화증과 고혈압의 주요한 병리적인 요인이 된다.²²⁾ 또한 동물의 실험 모델에서 산화질소 합성효소의 만성적인 억제는 고혈압과 같은 혈관염을 유발한다. 그러므로 NO/cGMP계의 회복을 통한 혈관이완인자 활성의 증가는 혈관계의 있어서 이러한 심혈관계 질환을 치료하는데 있어서 중요한 의미를 지닌다. 최근에 많은 연구에서 고혈압과 동맥경화에 적절한 치료 약물을 천연물에서 찾는 연구가 행해지고 있고, 최근 우리 연구에 의하면 자목,²³⁾ 패모,²⁴⁾ 정공피²⁵⁾ 또한 혈관 NO/cGMP계를 활성화시킴으로써 항고혈압 효과가 있음이 밝혀졌다.

본 연구에서도 선행초 부탄을 추출물이 NO/cGMP계를 통한 혈관 내피세포 의존적인 이완효과를 가지고 있음을 나타내며 이 과정에서 L-형 Ca²⁺이 부분적으로 관여할 것으로 사료된다.

결 론

선행초는 내피세포 의존적으로 혈관 평활근을 이완시켰고, 이와 같은 효과는 NO/cGMP계를 차단하면 완전히 사라졌다. 더욱이 혈관 조직을 선행초와 반응시키면 cGMP의 생성이 증가하였고, 이러한 증가는 혈관 내피세포의 제거나 산화질소 합성효소나 가용성 구아닐산 고리화효소 차단에 의하여 없어졌다. 또한 선행초의 이완 효과는 prostacyclin 생성 차단이나 ATP-감수성 K⁺ 통로차단, TEA-sensitive 비선택성 K⁺ 통로차단, 그리고 무스카린성 수용체 차단 및 항아드레날린성 약물 등에 의해서는 영향을 받지 않았지만, Ca²⁺ 통로의 차단 등에 의해서는 부분적으로 억제되었다. 이

와 같은 결과로 볼 때, 선학초의 혈관 평활근 이완 기전은 NO/cGMP 경로를 활성화시켜 이완시키는 것으로 사료되고 이 과정에서 L-형 Ca^{2+} 통로가 부분적으로 관련되어 있을 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 보건복지부의 뇌질환 한방연구센터의 연구비 (03-PJ9-PG6-SO02-0001)와 한국한의학연구원의 연구사업 [L06010]에 의해서 수행되었으며 이에 진심으로 감사드립니다.

인용문헌

- Furchgott, R.F. and Zawadzki, J.V. (1980) The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* **288**: 373-376.
- Peach, M.J., Loeb, A.L., Singer, H.A., and Saye, J. (1985) Endothelium-derived vascular relaxing factor. *Hypertension* **7**: 94-100.
- Kuramochi, T., Chu, J., and Suga, T. (1994) Gou-Teng (From *Uncaria rhynchophylla* Miquel)-induced endothelium-dependent and independent relaxations in the isolated rat aorta. *Life Sci.* **54**: 2061-2069.
- Chen, Z.Y., Zhang, Z.S., Kwan, K.Y., Zhu, M., Ho, W.K., and Huang, Y. (1998) Endothelium-dependent relaxation induced by hawthorn extract in rat mesenteric artery. *Life Sci.* **63**: 1983-1991.
- Kang, D.G., Sohn, E.J., Kwon, E.K., Han, J.H., Oh, H., and Lee, H.S. (2002) Effects of berberine on angiotensin-converting enzyme and NO/cGMP system in vessels. *Vascul. Pharmacol.* **39**: 281-286.
- Rodriguez-Cruz, M.E., Perez-Ordaz, L., Serrato-Barajas, B. E., Juarez-Oropeza, M.A., Mascher, D., and Paredes-Carbajal, M.C. (2002) Endothelium-dependent effects of the ethanolic extract of the mistletoe *Psittacanthus calyculatus* on the vasomotor responses of rat aortic rings. *J. Ethnopharmacol.* **39**: 281-286.
- Nishida, S. and Satoh, H. (2003) Mechanisms for the vasodilations induced by *Ginkgo biloba* extract and its main constituent, bilobalide, in rat aorta. *Life Sci.* **72**: 2659-2667.
- Lee, J.W., Roh, T.C., Rho, M.C., Kim, Y.K., and Lee, H.S. (2002) Mechanisms of relaxant action of a pyranocoumarin from *Peucedanum japonicum* in isolated rat thoracic aorta. *Planta Med.* **68**: 891-895.
- Lee, T.H., Wang, G.J., Lee, C.K., Kuo, Y.H., and Chou, C.H. (2002) Inhibitory effects of glycosides from the leaves of *Melaleuca quinquenervia* on vascular contraction of rats. *Planta Med.* **68**: 492-496.
- Yuzurihara, M., Ikarashi, Y., Goto, K., Sakakibara, I., Hayakawa, T., and Sasaki, H. (2002) Geissoschizine methyl ether, an indole alkaloid extracted from *Uncaria Ramulus et Uncus*, is a potent vasorelaxant of isolated rat aorta. *Eur. J. Pharmacol.* **444**: 183-189.
- 신민교 (1990) 임상본초학, 영림사, 서울, p. 499.
- Pei, Y.H., Li, X., and Zhu, T.R. (1990) Studies on the structure of a new ellagic acid glycoside from the root-sprouts of *Agrimonia pilosa* Ledeb. *Yao Xue Xue Bao.* **25**: 798-800.
- Bradford M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**: 248-254.
- Kim, S.Z., Kim, S.H., Park, J.K., Koh, G.Y., and Cho, K.W. (1998) Presence and biological activity of c-type natriuretic peptide-dependent guanylate cyclase-coupled receptor in the penile corpus cavernosum. *J. Urol.* **159**: 1741-1746.
- MacNaul, K.L. and Hutchinson, N.I. (1993) Differential of iNOS and cNOS mRNA in human vascular smooth muscle cells and endothelial cells under normal and inflammatory conditions. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **196**: 1330-1334.
- Meng, W., Ma, J., Ayata, C., Hara, H., Huang, P.L., Fishman, M.C., and Moskowitz, M.A. (1996) Ach dilates pial arterioles in endothelial and neuronal NOS knockout mice by NO-dependent mechanisms. *Am. J. Physiol.* **271**: H1145-H1150.
- Arnold, W.P., Mittal, C.K., Katsuki, S., and Murad, F. (1977) Nitric oxide activates guanylate cyclase and increase guanosine 3':5'-cyclic monophosphate levels in various tissue preparations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **74**: 3203-3207.
- Lemos, V.S., Freitas, M.R., Muller, B., Lino, Y.D., Queiroga, C.E., and Cortes, S.F. (1999) Dioclein, a new nitric oxide- and endothelium-dependent vasodilator flavonoid. *Eur. J. Pharmacol.* **386**: 41-46.
- Ko, F.N., Huang, T.F., and Teng, C.M. (1991) Vasodilatory action mechanisms of apigenin isolated from *Apium graveolens* in rat thoracic aorta. *Biochim. Biophys. Acta* **1115**: 69-74.
- Nevala, R., Paukku, K., Korpela, R., and Vapaatalo, H. (2001) Calcium-sensitive potassium channel inhibitors antagonize genistein- and daidzein-induced arterial relaxation in vitro. *Life Sci.* **69**: 1407-1417.
- Mikkelsen, E.O., Thastrup, O., and Christensen, S.B. (1998) Effects of thapsigargin in isolated rat thoracic aorta. *Pharmacol. Toxicol.* **62**: 7-11.
- Busse, R. and Fleming, I. (1996) Endothelial dysfunction in atherosclerosis. *J. Vasc. Res.* **33**: 181-194.
- Kang, D.G., Hur, T.Y., Lee, G.M., Oh, H., Kwon, T.O.,

- Sohn, E.J., and Lee, H.S. (2002) Effects of *Cudrania tricuspidata* water extract on blood pressure and renal functions in NO-dependent hypertension. *Life Sci.* **70**: 2599-2609.
24. Kang, D.G., Oh, H., Cho, D.K., Kwon, E.K., Han, J.H., and Lee, H.S. (2002) Effects of bulb of *Fritillaria ussuriensis* MAXIM on angiotensin converting enzyme and vascular release of NO/cGMP in rats. *J. Ethnopharmacol.* **81**: 49-55.
25. Kang, D.G., Lee, J.K., Choi, D.H., Sohn, E.J., Moon, M.K., and Lee, H.S. (2005) Vascular relaxation by the methanol extract of *Sorbus cortex* via NO/cGMP pathway. *Biol. Pharm. Bull.* **28**: 860-864.

(2005년 11월 18일 접수)