

# 청열도담탕이 고혈압에 미치는 영향

박경호 · 최학주 · 노성수<sup>1</sup> · 구영선<sup>2</sup> · 김동희\*

대전대학교 한의과대학 병리학교실, 1: 본초학교실, 2: 내과학교실

## Effect of Chungyeoldodam-tang on Hypertension

Kyung Ho Park, Hak Joo Choi, Seong Soo Roh<sup>1</sup>, Young Sun Koo<sup>2</sup>, Dong Hee Kim\*

Department of Pathology, 1: Laboratory of Herbology,  
2: Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Daejeon University

To access the safety and efficacy of Chungyeoldodam-tang(CDT), a traditional herbal medicine prescription, on hypertension we examined various parameters involved in the pathogenesis of hypertension. CDT seems to be safe because CDT at the concentrations lower than 250 ug/ml showed no toxic effects in cultured human fibroblast and no toxic effects on liver function. The production of reactive oxygen species (ROS) were greatly decreased in CDT treated group compared with control, and angiotensin converting enzyme activities were reduced by CDT in a dose dependent manner. There was no differences in weight of hearts between control and CDT treated group. The blood pressure and pulse rate were significantly decreased. CDT greatly reduced the levels of plasma hormones including aldosterone, dopamine, and norepinephrine, but not epinephrine, and serum electrolytes including Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup>, but not K<sup>+</sup>. were also decreased. The levels of uric acid, BUN and creatinine were significantly decreased compared with control. These results suggested that CDT has suppressive effects on various pathologic factors in hypertension, and CDT has potential as a safe and effective therapeutics for hypertension.

Key words : Chungyeoldodam-tang, hypertension, DOCA-salt, oxidative stress, ACE, electrolytes, plasma hormones

### 서론

고혈압은 원인이 규명된 속발성 고혈압과 원인을 알 수 없는 본태성 고혈압으로 나눌 수 있다. 속발성 고혈압은 신체 기관의 이상에서 비롯된 것으로 신장계통, 호르몬성, 신경계통의 질병, 임신 중독증 및 기타 약물 중독 등에 의하여 비롯된다<sup>1)</sup>. 본태성 고혈압은 90% 이상을 차지하고 있으며 유전적 요인과 환경적 요인이 관계하고 있다. 유전적 요인으로는 가족력 등을 들 수 있으며, 환경적 요인으로는 식염섭취, 비만 음주, 흡연, 운동부족 등이 지적되고 있다. 특히 환경적 요인 중에 과도한 식염섭취가 혈압을 상승시키는 것으로 알려져 있으며 Intersalt<sup>2)</sup>나 Cardiac<sup>3)</sup> 등의 역학적 연구를 통해서 보고되어 왔다. 이는 식염 섭취량이 많은 한국인이 주목할 부분이며, 고혈압 환자가 많은 우리나라의 실정과 무관하지 않다<sup>4)</sup>. 이처럼 생활 습관에 의해 발병 빈도가 매우 높은 고혈압은 뇌졸중, 허혈성신장질환, 만성신부전 등의

발병 인자로 작용하기 때문에 고혈압의 병태해명과 예방 치료법 개발은 의학적으로나 사회적으로 중요한 연구 과제가 되고 있다.

현재 고혈압 치료제는 발병 기전에 따라 다각적인 측면에서 개발되고 있으며, 대표적인 고혈압 치료제로는 미네랄 코르티코이드 수용체 (MR) 길항제를 비롯하여 ACE 저해제, AT1 수용체 길항제, 그 밖에 교감신경 수용체인 a.b수용체 차단제, 칼슘 길항제 등이 개발되어 사용되고 있다<sup>5,6)</sup>. 하지만 고혈압 치료는 다양한 작용기전에 의해 발병 정도, 시기, 경과 등에 따른 투여 약물의 종류와 투여량을 조절해야 하는 등 치료 과정에 어려움과 이에 따른 부작용이 많아 지속적인 강압효과의 유지와 부작용이 없는 치료 약물의 개발이 요구되고 있다<sup>7)</sup>.

한의학에서는 타 질환에 비해 중풍에 대한 치료법이 임상에서 특화된 분야로 발달되어 왔으며, 특히 고혈압이 중풍의 주요 원인 중에 하나라는 점에서 이에 대한 실험 및 임상 연구가 다각적으로 이루어져 왔다<sup>8-12)</sup>. 고혈압에 대한 치료법과 치료제는 상기한 바와 같이 다양하게 발달되어 왔으나, 현재까지는 완치 수준이 아닌 조절 수준에 미치고 있다. 이러한 점에서 장기 복용해야 한다는 문제점과 이로 인한 부작용이 문제시 되고 있어, 천연

\* 교신저자 : 김동희, 대전시 동구 용운동 96-3 대전대학교 한의과대학

· E-mail : djkim@dju.ac.kr, · Tel : 042-280-2623

· 접수 : 2007/05/11 · 채택 : 2007/06/11

물로 구성된 한방 처방의 연구는 기존 치료의 보완적인 면과 신규 치료제 개발 면에서 의미 있는 분야로 대두되고 있다.

이에 본 실험에서는 EBM(Evidence Based Medicine) 구축과 신규 처방 개발을 위하여 현재 임상 활용 처방인 청열도담탕을 시료로 고혈압 병태 모델<sup>13,14)</sup>을 통하여 다양한 혈압 관여 인자들의 변화를 살펴보고, 고혈압의 발병 기전과 유관한 활성산소 활성에 미치는 영향 등을 측정하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 약재

본 실험에 사용한 청열도담탕 (Chungyeoldodam-tang 이하 CDT로 지칭함)의 구성 약물은 대전대학교 부속한방병원에서 구입 후 정선하여 사용하였다. 약물 구성은 다음과 같다(Table. 1).

Table 1. The Composition of Chungyeoldodam-tang(CDT)

韓藥名	生藥名	用量 (g)
반하(강제)	<i>Pinelliae Rhizoma</i>	6
소 자	<i>Perillae Semen</i>	6
산사육	<i>Crataegi Fructus</i>	6
나복자	<i>Raphanus sativus L</i>	6
황 금	<i>Scutellariae Radix</i>	6
길 경	<i>Platycodi Radix</i>	4
지 각	<i>Aurantii Fructus</i>	4
강 활	<i>Osterici Koreani Radix</i>	4
방 풍	<i>Ledebourielae Radix</i>	4
죽 여	<i>Caulis In Taeni Phyllostachyos</i>	4
대황(주증)	<i>Rhei Rhizoma</i>	4
석창포	<i>Acori Graminei Rhizoma</i>	4
황련	<i>Coptidis Rhizoma</i>	2
치 자	<i>Gardeniae Fructus</i>	2
감 초	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	2
Total amount		64

#### 2) 동물

본 실험에 사용된 실험용 쥐는 7주령, 체중 200-220 g의 雌性 SD (Sprague-Dawley Rat, 대한바이오파마, 충주, Korea)은 실험 당일까지 고형사료 (슈퍼피드, 강원도, Korea)를 자유 식이 하면서 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.

### 2. 방법

#### 1) 시료 추출

시료 추출 방법은 CDT 5첩을 한약 약탕기 (DWP-1800T, 대웅)에 넣고, 정제수 1500 ml와 같이 혼합하여 3시간 열탕하여 추출한 후 여과하였다. 이를 rotary vacuum evaporator (Büchi 461, EYELA)에서 감압 농축하여 CDT를 분리한 후, 다시 동결건조기 (EYELA, FDU-540, Japan)에서 24시간 동결 건조하여 분말 35 g을 얻었으며, 얻어진 분말은 초저온냉동고 (-80°C)에서 보관 하면서, 실험에 따라 필요한 농도로 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 원심분리 하였다. 이 tube에 RPMI 1640 {containing collagenase A (5 mg/ml, BM, Indianapolis, IN, USA)와 DNase type I (0.15 mg/ml, Sigma. Co., U.S.A.), antibiotics (penicillinm 104 U/ml, streptomycin 10 mg/ml, amphotericin B 25 µg/ml)}를 넣고 37°C CO<sub>2</sub> 배양기에서 hFCs를 2 시간 동안 배양하였다. 여기에 0.5% trypsin-0.2% EDTA를 첨가하여 30 분간 배양하고, 인산완충생리식염수 (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 MIT assay로 하였다. 배양한 human fibroblast cells를 96 well plate에 2×10<sup>4</sup> cell 씩 분주한 후 배양하고, 24시간 후 CDT를 500, 250, 125, 62.5, 31.25 µg/ml 농도로 투여 하였다. 다시 48시간 배양 후 부유액을 제거하고, 각 well에 MTT solution (0.5mg/ml) 100 µl 씩 첨가하여 4시간 동안 배양하였다. 배양 후 부유액을 제거하고 각 well에 100 µl의 DMSO를 첨가하여 37°C CO<sub>2</sub> 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

150mM DPPH/EtOH 450 에 CDT를 1000, 500, 250, 125, 62.5 µg/ml 농도로 희석하여 50 µl씩 첨가한 후 37°C에서 30분간 반응시켰다. 이를 흡광도 517 nm에서 측정하여 아래의 방법으로 계산하였다.

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

###### ② SOD 유사활성 측정

CDT 0.2 mL에 tris-HCl buffer(pH 8.5) 2.6 mL과 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 가하여 25°C에서 10분 반응 후 1 N HCl 0.1 mL로 반응 정지시켰다. 반응액을 420nm에서 흡광도를 측정하고 buffer를 첨가한 것을 대조군으로 하여 아래와 같이 저해율을 측정하였다.

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

##### (4) Angiotensin converting enzyme (ACE) 저해능 측정

Cushman & Cheung 의 방법<sup>15)</sup>으로 측정하였다. 각 농도 (1000, 500, 250, 125, 62.5 µg/ml)의 CDT 10 µl, 기질 Hip-His-Leu 110 µl, 그리고 ACE 용액 30 µl을 혼합하여 37°C에서 60분 동안 반응시킨 후 1N HCl 110 µl를 넣어 반응을 정지시켰다. 이 반응액에

1 ml의 ethyl acetate를 넣고 교반 후 3,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 얻은 상층액 750  $\mu$ l를 95°C에서 10분 동안 건조하여 용매를 완전히 제거하고, 1 ml의 증류수로 용해시켜 228 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 시료 대신 증류수를 혼합시켰다.

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

3) *In vivo*

(1) DOCA-salt에 의한 고혈압 유발

Sprague-Dawley (SD) rat 을 무작위로 6마리씩 나누어 정상군 (Normal), 대조군(Control) 그리고 실험군 (CDT)으로 설정하였다. 대조군과 CDT 투여군은 deoxycorticosterone acetate (DOCA) 25 mg/kg을 주 3회씩 8주간 피하 주사와 함께 1% NaCl을 식수로 제공 하였고, 실험군은 CDT를 성인 기준 하루 두 첩 분량 (77 mg/kg)으로 매일 투여하였다.

(2) 체중 및 장기 무게 측정

① 체중 측정

몸무게는 실험 종료 하루 전에 전자저울 (CAS, Korea)을 이용하여 측정하였다.

② 심장과 신장 무게 측정

심장과 신장은 ether로 마취 후 채혈한 다음에 적출하여 지방과 다른 조직들을 제거 하였다. 그리고 10% 포르말린에 넣어서 3시간 정도 방치 후 무게를 측정하여 몸무게에 대한 무게를 나타내었다.

(3) 혈압 및 심박수 측정

혈압과 심박수는 혈압측정기 (CODA6, Kent, U.S.A)를 사용하여 측정하였다. 동물들의 안정을 위해 측정 전에 3회 이상 홀더에 적응을 시켰고, 혈압과 심박수는 10회 이상 측정하여 평균을 결과로 사용하였다.

(4) 혈청 및 혈장 성분의 측정

CDT의 투여 종료 후 12시간 절식 후 ether로 마취시킨 다음 심장에서 12 ml이상의 혈액을 취하여 5 ml을 15 ml conical tube 에 넣어 6,500 rpm에 15분간 원심 분리시켜 혈청을 분리하였다. 나머지 6 ml의 혈액을 EDTA 첨가 튜브에 넣어 혈장을 분리하였다. 분리한 혈청은 생화학 기기 (AU400, Olympus, U.S.A)를 이용하여 GOT, GPT, BUN, creatinine, uric acid를 측정하였고, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>의 측정은 전해질 측정기 (NOVA5, Japan)를 이용하였다. 혈장 성분은 감마 카운터기 (WIZARD 1470, Finland)를 이용하여 핵의학적인 방법으로 aldosterone, dopamine, norepinephrine, epinephrine을 측정하였다.

(5) 조직화학적 검사

실험 종료 후 적출한 심장, 심장, 부신을 10% 포르말린 용액에 48시간 고정된 다음 12시간 수세하여 조직 내 고정액을 제거 하였다. 조직은 알코올 농도를 60%에서 100%로 상승시키며 탈수하고 xylene에 투명과정을 거친 후 파라핀 블록을 제작하여 microtome을 이용하여 절편을 제작하였다 절편은 탈 파라핀 과정을 거친 후 H&E 염색을 실시하고 광학현미경을 이용하여 분

석 촬영을 하였다.

4) 통계 처리

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

결 과

1. 독성 검사

1) hFCs에 대한 세포독성

hFCs에 대한 세포독성을 관찰한 결과, 대조군의 세포생존율이 100±2.4 (%)인데 비하여, CDT 투여군 500, 250, 125, 62.5, 31.25 ( $\mu$ g/ml)의 농도에서는 각각 86.2±9.7, 91.1±9.1, 93.4±1.8, 97.1±8.9, 97.0±2.8 (%)로 나타났다(Table 2).

Table 2. Cytotoxicity of CDT on Human Fibroblast Cells(hFCs)

CDT Dose ( $\mu$ g/ml)	0	500	250	125	62.5	31.25
Cell viability(%)	100.0±2.4	86.2±9.7	91.1±9.1	93.4±1.8	97.1±8.9	97.0±2.8

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

2) 간기능에 미치는 영향

간 기능 측정의 지표 성분인 GOT는 대조군이 101.8±6.9 (I.U/I), 정상군이 88.2± 1.9 (I.U/I)로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (\* : P <0.05) 증가를 나타냈다. CDT 투여군에서는 94.3±5.5 (I.U/I)로 감소하였으나 유의성은 없었다. GPT 측정에서는 정상군, 대조군, CDT 투여군에서 각각 48.0±6.2 (I.U/I), 57.0±12.8 (I.U/I), 51.2±8.9 (I.U/I)로 큰 차이가 없었다. 결과적으로 CDT 투여군은 GOT와 GPT의 수치가 정상 범위로 나타나 약물에 의한 간 독성은 발견되지 않았다(Table 3).

Table 3. Effect of CDT on the GOT and GPT in DOCA-salt Hypertensive Rat.

\Group	Normal	Control	CDT
GOT (I.U/I)	88.2 ± 1.92	101.8 ± 6.9*	94.3 ± 5.5
GPT (I.U/I)	48.0 ± 6.2	57.0 ± 12.8	51.2 ± 8.9

Values represent the means ± SD of 6 rats. \* : P <0.05 compared with normal group.

2. 항산화 활성에 미치는 영향

DPPH의 소거활성은 1000, 500, 250, 125, 62.5  $\mu$ g/ml 농도에서 각각 80.3±1.6, 77.6±1.2, 65.1±0.8, 61.1±3.0, 52.4±1.8 (%)의 소거활성효과를 나타내었다. SOD 유사활성은 36.2±2.5, 29.8±1.8, 22.3±1.1, 15.4±3.1, 10.7±1.6 (%)로 저해활성을 나타내었다(Table 4).

Table 4. Scavenging Activity of CDT on DPPH Free Radical and SOD-like Activity

\Concentration	1000	500	250	125	62.5
DPPH 소거능 (%)	80.3±1.6	77.6±1.2	65.1±0.8	61.1±3.0	52.4±1.8
SOD 유사활성 (%)	36.2±2.5	29.8±1.8	22.3±1.1	15.4±3.1	10.7±1.6

The results are the mean ± SD of three independent experiments.

3. ACE 저해능에 미치는 영향

ACE 저해능을 측정 한 결과, 1000, 500, 250, 125, 62.5 (µg/ml) 농도에서 각각 62±0.9, 52.1±1.0, 41.5±0.6, 14.8±4.0, 5.0±1.7 (%)의 저해효과를 나타내었다(Table 5).

Table 5. The inhibitory Effect of CDT on ACE

Concentration	1000	500	250	125	62.5
Inhibitory activity(%)	62.0±0.9	52.1±1.0	41.5±0.6	14.8±4.0	5.0±1.7

Inhibitory activity on angiotensin converting enzyme of CDT at final concentration 1000, 500, 250, 125, 62.5 µg/ml. The results are the mean ± SD of three independent experiments.

4. 체중 및 장기 무게에 미치는 영향

DOCA-salt 고혈압 쥐의 몸무게에 미치는 영향을 측정 한 결과, 대조군은 420.8±27.9 (g), 정상군은 488.3±12.1 (g)으로 나타나, 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (\*\*\*) : P <0.001) 감소 를 나타내었다. CDT 투여군은 470.0±12.9 (g)으로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게 (+ : P <0.05) 증가하여 정상군에 가까운 몸무게를 유지하였다. DOCA-salt 고혈압 쥐의 심장과 신장의 무게 변화는 심장에서 대조군이 4.1±0.2/Body Weight (mg/g), 정상군이 3.5±0.2/BW (mg/g)으로 나타나 유의성이 없었고, CDT 투여군은 3.7±0.2/BW (mg/g)으로 나타나 이 역시 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다. 신장의 무게는 대조군이 4.7±0.3/BW (mg/g), 정상군이 3.2±0.1/BW (mg/g)으로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (\*\*\*) : P <0.001) 증가를 나타내었다. 반면 CDT 투여군은 3.8±0.1/BW (mg/g)으로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게 (+ : P <0.05) 감소하여, 정상군에 가까운 신장 무게를 유지하였다(Table 6).

Table 6. Effect of CDT on the Body, Heart and Kidney Weight in DOCA-salt Hypertensive Rat

\Group	Normal	Control	CDT
Body weight (g)	488.2±12.1	420.8±27.9***	470.0±12.9 <sup>+</sup>
Heart weight/ B.W. (mg/g)	3.5±0.2	4.1±0.2	3.7±0.2
Kidney weight/ B.W. (mg/g)	3.2±0.1	4.7±0.3***	3.8±0.1 <sup>+</sup>

The control group were injected subcutaneous with DOCA for 8 weeks (three times a week, 25 mg/kg). The treatment group were injected subcutaneous with DOCA and orally administered with CDT extract for 8 weeks (once a day, 77 mg/kg/ 200 µl). Normal : Normal SD rat, Control : DOCA-Salt, CDT : DOCA-Salt and CDT Values represent the means ± SD of 6 rats. \*\*\* : P <0.001 compared with normal group. + : P <0.05 compared with control group.

5. 혈압에 미치는 영향

DOCA-salt 고혈압 쥐의 혈압에 미치는 영향을 측정 한 결과, 대조군은 175.2±5.4 (mmHg), 정상군은 129.1±1.2 (mmHg)로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (\*\*\*) : P <0.001) 증가를 나타내었다. CDT 투여군은 142.6±4.5 (mmHg)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (+++ : P <0.001) 강압 효과를 나타내었다(Table 7). DOCA-salt 고혈압 쥐의 심박수에 미치는 영향에서는 대조군이 419±36.3 (times/min), 정상군이 336.1±7.1 (times/min)로 나타나, 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (\*\*\*) : P <0.001) 증가를 나타내었다. 이에 비해 CDT 투여군은 344.1±28.9 (times/min)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (+ : P <0.05) 감소 효과를 나타내었다(Table 7).

Table 7. Effect of CDT on the Blood Pressure and Pulse Rate in DOCA-salt Hypertensive Rat

\Group	Normal	Control	CDT
Blood pressure (mmHg)	129.1±1.2	175.2±5.4***	142.6±4.5 <sup>++</sup>
Pulse rate (times/min)	336.1±7.1	419±36.3***	344.1±28.9 <sup>+</sup>

Values represent the means ± SD of 6 rats. \*\*\* : P <0.001 compared with normal group. +++ : P <0.001, + : P <0.05 compared with control group.

6. Aldosterone과 Catecholamine 농도 변화에 미치는 영향

DOCA-salt 고혈압 쥐의 plasma aldosterone에 미치는 영향을 측정 한 결과, 대조군은 117.2±24.2 (pg/ml), 정상군은 44.1±9.9 (pg/ml)로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (\*\*\*) : P <0.001) 증가를 나타내었다. 반면 CDT 투여군은 71.9±32.7 (pg/ml)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (+ : P <0.05) 감소 효과를 나타내었다. DOCA-salt 고혈압 쥐의 plasma dopamine 변화에서는 대조군이 165.2±29.2 (pg/ml), 정상군이 102.5±0.9 (pg/ml)로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (\* : P <0.05) 증가를 나타내었으며, CDT 투여군은 110.1±6.5 (pg/ml)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (+ : P <0.05) 감소 효과를 나타내었다. DOCA-salt 고혈압 쥐의 plasma norepinephrine에 미치는 영향에서는 대조군이 511.2±32.9 (pg/ml), 정상군이 415.8±2.5 (pg/ml)로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (\*\*\*) : P <0.001) 증가를 나타내었으며, CDT 투여군은 435.2±8.9 (pg/ml)으로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (+ : P <0.05) 감소를 나타내었다.

DOCA-salt 고혈압 쥐의 plasma epinephrine에 미치는 영향에서는 대조군이 4772.2±267.5 (pg/ml), 정상군이 2640.5±159.5 (pg/ml)로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (\*\* : P <0.01) 증가를 나타내었으며, CDT 투여군은 3199.2±566.2 (pg/ml)로 나타나 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성은 나타나지 않았다(Table 8).

Table 8. Effect of CDT on the plasma Aldosterone, Dopamine, Epinephrine, and Norepinephrine in DOCA-salt Hypertensive rat.

\Group	Normal	Control	CDT
Aldosterone (pg/ml)	44.1±9.9	117.2±24.2***	71.9±32.7 <sup>+</sup>
Dopamine (pg/ml)	102.5±0.9	165.2±29.2*	110.1±6.5 <sup>+</sup>
Epinephrine (pg/ml)	2640.5±159.5	4772.2±267.5**	3199.2±566.2
Norepinephrine (pg/ml)	415.8±2.5	511.2±32.9***	435.2±8.9 <sup>+</sup>

Values represent the means ± SD of 6 rats. \*\*\* : P <0.001, \*\* : P <0.01, \* : P <0.05 compared with normal group. + : P <0.05 compared with control group.

7. 전해질 변화에 미치는 영향

DOCA-salt 고혈압 쥐의 혈청 중의 sodium (Na)의 농도에 미치는 영향을 측정 한 결과, 대조군은 150.1±1.0 (mEq/l), 정상군은 140.1±0.8 (mEq/l)로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 증가하였으나 유의성은 나타나지 않았고, CDT 투여군은 144.4±2.0 (mEq/l)로 나타나 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성은 없었다. 혈청 중의 potassium (K) 농도는 대조군이 5.8±0.2 (mEq/l), 정상군이 4.9±0.3 (mEq/l)로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (\* : P <0.05) 증가를 나타내었으며, CDT 투여군은 5.4±0.3 (mEq/l)로 나타나 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성은 나타나지 않았다. 혈청 중의 Chloride (Cl) 농도를 측정 한 결과, 대조군은 104.3±0.5 (mEq/l), 정상군은 95.6±1.1 (mEq/l)로

나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (\*\*\*) : P <0.001) 증가가 나타난 반면, CDT 투여군은 101.1±2.6 (mEq/l)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (+ : P<0.05) 감소 효과를 나타내었다(Table 9).

Table 9. Effect of CDT on the Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> in DOCA-salt Hypertensive rat.

Group	Normal	Control	CDT
Sodium (Na <sup>+</sup> )	140.1±0.8	150.1±1.0**	144.4±2.0 <sup>+</sup>
Potassium (K <sup>+</sup> )	4.9±0.3	5.8±0.2*	5.4±0.3
Chloride (Cl <sup>-</sup> )	95.6±1.1	104.3±0.5***	101.1±2.6 <sup>+</sup>

Values represent the means ± SD of 6 rats. \*\*\* : P <0.001, \*\* : P <0.01, \* : P <0.05 compared with normal group. + : P <0.05 compared with control group.

8. 신장 기능 인자 변화에 미치는 영향

혈청 중의 uric acid의 농도를 측정 한 결과, 대조군은 3.5±0.7 (mg/dl), 정상군은 1.5±0.3 (mg/dl)로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (\*\*\*) : P <0.001) 증가를 나타내었다. CDT 투여군은 1.9±0.3 (mg/dl)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (++) : P <0.01) 감소 효과를 나타내었다. 혈청 중의 BUN 농도는 대조군이 31.4±2.4 (mg/dl), 정상군이 17.9±4.1 (mg/dl)로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (\*\*\*) : P <0.001) 증가를 나타내었다. CDT 투여군은 20.1±2.7 (mg/dl)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (++) : P <0.01) 감소 효과를 나타내었다. 혈청 중의 creatinine 농도는 대조군이 0.76±0.05 (mg/dl), 정상군이 0.62±0.04 (mg/dl)로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (\*\*\*) : P <0.001) 증가를 나타내었으며, CDT 투여군은 0.68±0.04 (mg/dl)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (+ : P <0.05) 감소 효과를 나타내었다(Table 10).

Table 10. Effect of CDT on the Uric acid, BUN and Creatine in DOCA-salt Hypertensive rat.

Group	Normal	Control	CDT
Uric acid (mg/dl)	1.5±0.3	3.5±0.7***	1.9±0.3 <sup>++</sup>
BUN (mg/dl)	17.9±4.1	31.4±2.4***	20.1±2.7 <sup>++</sup>
Creatinine (mg/dl)	0.62±0.04	0.76±0.05***	0.68±0.04 <sup>+</sup>

Values represent the means ± SD of 6 rats. \*\*\* : P <0.001 compared with normal group. ++ : P <0.01, + : P <0.05 compared with control group.

9. 조직화학적 변화에 미치는 영향

정상군의 신장은 사구체, 근위세뇨관, 원위세뇨관의 조직학적 배열 상태는 모두 정상이고, 신세동맥(RA)벽의 비후가 보이지 않았으나(Fig. 1A), 대조군(Fig. 1B)에서는 비후에 의한 혈관 협착이 발생하였다. 반면 CDT 투여군(Fig. 1C)에서는 정상군에 가깝게 협착이 완화된 것으로 나타났다. 부신에서 실험 대조군(Fig. 1E)의 토리층(Z.G)은 피막 바로 아래 위치하는 세포들은 무리를 이루고 있고, 그 사이에는 확장된 모세혈관들이 관찰되었다. 아울러 전해질 코르티코이드를 분비하는 세포들의 수가 정상과 비교하여 상대적으로 적게 관찰 되었다. CDT 투여군(Fig. 1F)에서는 토리층을 이루는 세포들의 배열 형태는 뚜렷하지는 않지만 정상군(Fig. 1D)과 유사한 배열을 하였고, 실험 대조군에 비해서는 세포의 배열이 다소 뚜렷하였으며, 세포들 사이 모세혈관의 뚜렷한 확장은 관찰할 수 없었다. 심장은 정상군(Fig. 1G)에

서 보이지 않는 Eosinophilic band (E.P)가 대조군(Fig. 1H)에서는 뚜렷하게 나타나 있고, CDT 투여군 (Fig. 1I)에서는 거의 관찰할 수 없었다(Fig. 1).

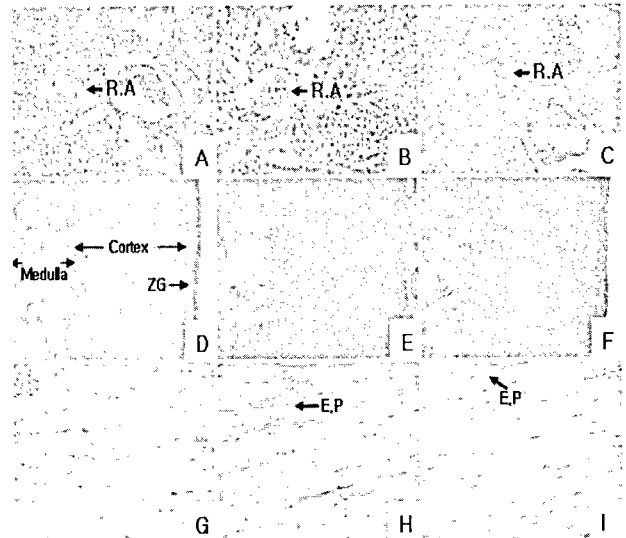


Fig. 1. Histological analysis of kidney, adrenal gland and heart (x100). Kidney (R.A: renal arteriole, A: Normal, B: Control, C: CDT), adrenal gland (Z.G : zona glomerulosa, D: Normal, E: Control, F: CDT), Heart (E.P: eosinophilic band, G: Normal, H: Control, I: CDT).

고찰

과거 고혈압은 성인들에게서 발병했다고 해서 성인병이라고 일컬어 졌으나 지금은 연령대를 불문하고 고혈압이 증가하고 있는 실정이다. 이는 과거와 달리 식생활 등의 통제가 어려워진 현대 생활습관을 반영하는 것이라 하겠다<sup>16)</sup>. 현재 고혈압에는 기전에 따라 많은 치료제가 개발되어 왔으며 고혈압에 따른 각종 장기장애에 대한 치료제도 개발되어 왔다<sup>6)</sup>. 대표적인 고혈압 치료제로는 미네랄 발란스의 붕괴에 의해 체액량 조절에 장애를 일으키는 기전에 의한 것으로 미네랄 코르티코이드 수용체 (MR) 길항제를 들 수 있다. 이는 신원위세뇨관 또는 집합관상피세포에 존재하는 K<sup>+</sup>의 유지와 Na<sup>+</sup>의 배출을 촉진하여 체액량을 조절하는 메커니즘을 가지고 있다. Connell 등<sup>17)</sup>에 의해 밝혀진 기전에 의하면 알도스테론이 세포질에 존재하는 미네랄 코르티코이드 수용체에 결합한 후 핵내로 이동하여 serum and glucocorticoid-regulated kinase (Sgk-1)이라고 하는 유전자의 발현을 촉진 시키며, 그 결과 세포내에 존재하는 상피형 Na<sup>+</sup> 채널 (ENaC) 과 Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup> ATPase의 세포막 이동을 향진시켜, Na<sup>+</sup> 채널에 의한 세뇨관측으로부터 상피세포내의 Na<sup>+</sup> 유입과 Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup> ATPase에 의한 상피세포로부터 혈관측의 Na<sup>+</sup> 배출을 활성화시켜 체액량이 증가하여 혈압이 상승하는 것으로 보고하고 있다. 또한 미네랄 코르티코이드 수용체를 자극하는 호르몬인 알도스테론은 과거에는 전해질 조절 호르몬으로만 알려져 왔으나 Rocha 등<sup>18)</sup>의 최근 연구에서 혈중이나 조직 중에서 심혈관계의 염증과 깊은 관련이 있는 것으로 보고하고 있다.

고혈압 자연발병 rat (SHR), Dahl-salt rat, 식염무하고혈압

rat 등 동물 모델에서 고혈압을 동반한 심장, 신장, 혈관 등에 조직 장애를 보였으며 심혈관계 장기에서는 염증과 함께 세포증식에 관한 유전자인 COX-2, IL-1b, IL-6, MCP-1 등과 관련 인자 등의 발현이 확인 되었다(Fig. 2)<sup>19,20</sup>.

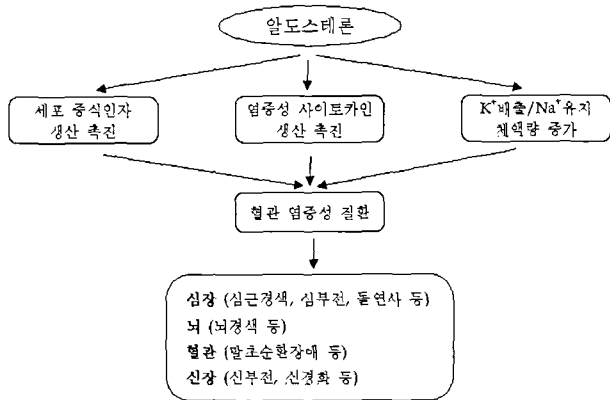


Fig. 2. 알도스테론에 의한 조직 장애의 기전

이 밖에 치료제로는 엔지오펜시노겐의 엔지오펜신 I에의 분해를 유도하는 기전에 관여하는 레닌의 저해제, 엔지오펜신 I이 엔지오펜신 II로의 전환을 돕는 효소를 저해하는 ACE 저해제, 엔지오펜신 II의 수용체를 차단하는 AT1 수용체 길항제, 그 밖에 교감신경 수용체인 a수용체와 b수용체의 차단제, 칼슘 길항제 등이 있다<sup>21</sup>.

본 실험에서는 실험에 앞서 현재 문제시되고 있는 약물의 안전성을 확보하기 위하여 CDT의 독성검사를 *in vitro*, *in vivo*에서 실시하였다. 먼저 세포독성검사에서 250 ug 이하에서 90% 이상의 세포생존율을 보였으며(Table 2), *in vivo* 실험 종료 후에 측정간 기능 검사 수치에서도 독성이 없음이 입증되었다(Table 3).

고혈압은 위에 서술한 바와 같이 혈관 염증이 중요한 발병 원인으로 지목되고 있다. 혈관의 염증은 혈관의 손상이나 혈관내피세포의 증식 등이 원인이 되는데, 이는 활성산소와 밀접한 관계를 맺고 있다. 활성산소는 직접적으로 혈관을 손상시키거나, 혈액 중에 유리 중인 LDL 콜레스테롤 등을 공격하여 산화시킨다. 그 결과 산화 LDL 콜레스테롤은 혈관에 침착하거나 혈소판을 응집시켜 혈전을 일으키는 등 고혈압의 직. 간접적인 원인을 제공한다<sup>22</sup>. 따라서 유효한 항산화 물질은 고혈압뿐만 아니라 순환기계 질병의 치료에 효과적이라 하겠다. 본 실험에서는 CDT의 항산화 작용을 측정하기 위하여 DPPH 소거능과 SOD 유사활성을 측정하였는데, 모두 농도 의존적으로 활성 억제 효과가 관찰됨으로써(Table 4), 본 시료가 고혈압으로 인한 혈관 장애에도 일정한 효과가 있음을 시사하였다.

ACE는 엔지오펜신 I이 엔지오펜신 II로의 전환을 돕는 효소로 이를 저해하는 물질이 고혈압 치료제로써 사용되고 있으며, ACE 저해활성 실험은 고혈압 연구에 자주 이용되고 있어<sup>23,24</sup>, 본 연구에서도 이를 검색하였는데 이 역시 농도 의존적으로 저해활성을 나타내었다(Table 5).

Carretero 등<sup>25</sup>의 연구에 의하면 DOCA-salt의 투여는 신장

기능의 약화와 미네랄 대사의 이상으로 몸무게가 감소하는 것으로 보고하고 있는데, 본 연구에서 정상군에 비해 대조군에서 일정한 결과가 나타났다. 반면 CDT의 투여군에서는 정상군과 유사한 몸무게의 유지를 보임으로써 신체 상태를 통한 간접적인 효과를 증명하였다. 또한 몸무게에 대한 심장과 신장의 무게는 정상군에 비하여 대조군에서 증가하였으며, CDT의 투여를 통해 정상군에 가깝게 유지하는 것으로 나타났다(Table 6).

혈압은 DOCA-salt를 지속적으로 투여한 대조군에서 175.2±5.4(mmHg)으로, 정상군의 129.1±1.2(mmHg)에 비하여 유의하게 증가하였으며, DOCA-salt의 투여와 CDT를 함께 투여한 투여군에서는 142.6±4.5(mmHg)로 나타나 유의성있는 강압 효과를 나타내었다. 또한 대조군에 비하여 CDT 투여군에서 심박수도 낮추는 효과를 나타내었다(Table 7).

체내의 미네랄 대사 조절과 전해질 조절 기능을 하는 호르몬인 알도스테론은 주로 부신에서 분비되어 신장의 원위뇨세관에 발현하는 미네랄 코르티코이드 수용체에 작용하여 나트륨의 재흡수를 유도한다<sup>26</sup>. 알도스테론의 분비를 자극하는 인자로서는 부신피질호르몬, 칼륨, 엔지오펜신II 등이 있는데<sup>27</sup> 레닌-엔지오펜신계가 활성화되면 알도스테론의 혈중 농도가 상승하여 체내에 나트륨 농도가 증가하여 전해질 농도의 균형을 깨뜨리게 되며 혈압 상승의 원인이 되기도 한다<sup>28,29</sup>. 본 연구에서 plasma 내 알도스테론 농도는 CDT 투여군에서 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하는 효과를 나타내었다(Table 8). 이는 CDT가 알도스테론을 감소시켜 미네랄 대사 조절과 전해질 밸런스 유지에 효과가 있음을 입증하는 결과라 하겠다.

다음으로 혈관 수축과 대사 촉진 등 주로 심맥계에 작용하는 catecholamine계 호르몬은 부신에서 분비되는 epinephrine, norepinephrine과 뇌에서 분비되는 dopamine 등으로 혈당을 증가시켜서 심박수를 증가시키며, 말초혈관 수축 등으로 혈압을 상승시키는 작용을 한다<sup>28,30</sup>. 본 연구에서 plasma catecholamine 호르몬의 농도는 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 증가를 보인 반면, CDT 투여군에서는 dopamine과 norepinephrine의 농도가 유의성 있게 감소하였다(Table 8).

전해질은 혈압을 유지하는 중요한 요소로써 알도스테론에 의해 조절되며, 체액량을 결정한다<sup>31</sup>. 전해질 밸런스의 붕괴는 고혈압, 신장기능의 장애 등에 직접적인 원인으로 작용하고 있다. 본 연구에서 혈청 중에 전해질의 농도는 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> 모두 대조군에서 정상군에 비하여 높은 농도를 보였으며, CDT 투여군에서 대조군에 비하여 Na과 Cl이 유의성 있게 감소함으로써(Table 9), CDT가 전해질의 밸런스를 유지시켜 혈압의 상승 억제함을 알 수 있었다.

신장은 체액을 조절하고 전해질의 밸런스를 유지하는 장기로서 Nishiyama 등<sup>32</sup>에 의하면 신장 기능의 이상이 고혈압의 직접적인 원인이 되고 있음을 보고하고 있다. 신장 기능 관련 인자인 uric acid, BUN, creatinine 측정에서는 대조군에서 정상군에 비하여 유의성 있게 증가함으로써 신장 손상을 입증하였고, CDT 투여군에서는 상대적인 감소를 나타냄으로써 신장 기능 조절을 통한 고혈압 억제 작용을 시사하였다(Table 10).

이 같은 결과는 조직 검사에서 증명되었는데, 신장은 대조군에서 신세동맥의 비후가 관찰 되었으나 CDT 투여군에서는 비후 정도가 완화된 것을 볼 수 있었고, 부신은 대조군에서 토리총 피막의 모세혈관 확장된 모세혈관을 관찰되었고 전해질 코르티코이드를 분비하는 세포들의 수가 정상과 비교하여 상대적으로 적게 관찰되었으나 CDT 투여군에서는 정상군과 유사하게 모세혈관의 확장이 관찰되지 않았다.

또한 심장은 정상군에서 보이지 않는 eosinophilic band (E.P)가 대조군에서 뚜렷하게 보였으나 CDT 투여군에서는 대조군에 비하여 보이지 않았다(Fig. 1).

이상의 결과로 보아 고혈압의 주요 병리 기전에 본 시료가 유의성 있게 작용함을 실험적으로 입증됨으로써 EBM 구축에 기초적 자료로 활용될 수 있을 것으로 판단된다. 또한 항산화 작용 결과는 본 시료가 혈관염 등의 다양한 질환에도 응용될 수 있음을 시사해주고 있어, 향후 개별 약물 혹은 약물간의 상호 작용에 관한 검색이 보완되어야 할 것으로 사료된다.

## 결 론

청열도담탕(CDT)이 고혈압에 미치는 효과를 검증하기 위하여 항산화효능, ACE 저해능, 체중과 해당 장기 무게, 혈압, 심박수, aldosterone, catecholamine 함량, 전해질, 그리고 uric acid, BUN, creatinine 변화 등을 측정한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

CDT는 human fibroblast cells (hFCs)에 대하여 250 µg/ml 이하에서는 세포독성을 나타내지 않았으며, 간독성도 발현되지 않았다. CDT는 대조군에 비하여 농도 의존적으로 DPPH 소거능과 SOD 유사 활성 효과를 나타내었다. CDT는 대조군에 비하여 ACE 활성을 농도 의존적으로 저해하였다. CDT는 대조군에 비하여 체중, 신장 무게를 유의성 있게 유지시켰으나, 심장 무게에서는 변화가 없었다. CDT는 대조군에 비하여 혈압 및 심박수에 대하여 유의성 있는 강하 효과를 나타내었다. CDT는 대조군에 비하여 plasma중의 aldosterone, dopamine, norepinephrine 농도를 유의성 있게 감소시켰으나, epinephrine 농도는 유의성 있는 변화가 없었다. CDT는 대조군에 비하여 혈청 중 Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>의 농도를 유의성 있게 감소시켰으나, K<sup>+</sup>의 농도는 변화가 없었다. CDT는 대조군에 비하여 혈청 중 uric acid, BUN, creatinine의 농도를 유의성 있게 감소시켰다.

이상의 결과로 미루어 보아 청열도담탕의 항고혈압 작용이 실험적으로 검증되어, 향후 다양한 가감을 통하여 보다 폭 넓은 임상에서의 활용이 기대된다.

## 참고문헌

1. Guido Grassi, Bianca M. Cattaneo, Gino Seravalle, Antonio Lanfranchi, and Giuseppe Mancina Baroreflex Control of Sympathetic Nerve Activity in Essential and Secondary Hypertension. *Hypertension* 31: 68-72, 1998.
2. Elliott, P., Stamler, J., Nichols, R., Dyer, A.R., Stamler, R.,

- Kesteloot, H., Marmot, M. Intersalt revisited: further analyses of 24 hour sodium excretion and blood pressure within and across populations. Intersalt Cooperative Research Group. *BMJ*. 312(7041):1249-1253, 1996.
3. Yamori, Y., Nara, Y., Mizushima, S., Mano, M., Sawamura, M., Kihara, M., Horie, R. International cooperative study on the relationship between dietary factors and blood pressure: a report from the Cardiovascular Diseases and Alimentary Comparison (CARDIAC) Study. *J Cardiovasc Pharmacol*. 8: S43-47, 1990.
4. 손숙미 외. 한국인의 소금섭취 현황과 영양문제, 대한지역사회영양학회지 7(3):381~390, 2005.
5. Sharuta, J.S. 高血壓治療ガイドライン 2004. 日本高血圧學會 2004.
6. George Koike. Current and strategy for antihypertensive medication. *Folica Pharmacol. Jpn*, 127: 393-398, 2006.
7. Yoshihiko, S. Risk factors of Cardiovascular disease and those managements especially for acute coronary syndrome. *J Nippon Med Sch*. 67(3):202-205, 2000.
8. 심익현 외. 목향조기산 추출물이 국소 뇌혈류량 및 평균 혈압에 미치는 영향, 대한동의생리병리학회지 20(6):1538-1542, 2006.
9. 김천중 외. 죽령과 대나무 추출액의 혼합물이 뇌혈류 및 혈압에 미치는 영향, 대한동의생리병리학회지 20(6):1612-1619, 2006.
10. 정현우 외. 오가피 50% 에탄올 추출물이 면역, 항암, 뇌혈류 및 혈압에 미치는 영향, 대한동의생리병리학회지 19(5):1213-1220, 2006.
11. 서정철 외. 한국인과 중국인에서 고려삼과 화기삼의 혈압과 맥박에 대한 이중맹검 - 무작위 임상실험, 대한동의생리병리학회지 18(2):606-611, 2006.
12. 한덕희 외. 간양상항방이 고혈압에 미치는 영향, 대한동의생리병리학회지 20(3):663-669, 2006.
13. Hernandez, N., Torres, S.H., Finol, H.J., Sosa, A., Cierco, M. Capillary and muscle fiber type changes in DOCA-salt hypertensive rats. *Anat Rec*. 246(2):208-216, 1996.
14. Booth, R.E., Johnson, J.P., Stockand, J.D. Aldosterone. *Adv Physiol Educ*. 26: 8-20, 2002.
15. Cushman, D.W., Cheung, H.S., Sabo, E.F., Ondetti, M.A. Development and design of specific inhibitors of angiotensin-converting enzyme. *Am J Cardiol*. 49(6):1390-1394, 1982.
16. Odachi, J.K. Lifestyle-related disease and dietary education. *Seikatsu eisei* 50(5):372-377, 2006.
17. Connell, J.M., Davies, E. The new biology of aldosterone. *J Endocrinol* 186(1):1-20, 2005.
18. Rocha, R., Martin-Berger, C.L., Yang, P., Scherrer, R., Delyani, J., McMahon, E. Selective aldosterone blockade prevents angiotensin II/salt-induced vascular inflammation in the rat heart. *Endocrinology* 143(12):4828-4836, 2002.
19. Bradbury, D.A., Newton, R., Zhu, Y.M., Stocks, J., Corbett, L., Holland, E.D., Pang, L.H., Knox, A.J. Effect of

- bradykinin, TGF-beta1, IL-1beta, and hypoxia on COX-2 expression in pulmonary artery smooth muscle cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 283(4):L717-725, 2002.
20. Goncalves, A.R., Fujihara, C.K., Mattar, A.L., Malheiros, D.M., Noronha Ide, L., de Nucci, G., Zatz, R. Renal expression of COX-2, ANG II, and AT1 receptor in remnant kidney: strong renoprotection by therapy with losartan and a nonsteroidal anti-inflammatory. *Am J Physiol Renal Physiol*. 286(5):F945-954, 2004.
  21. 吉川公平. 高血圧治療薬の基礎: 開発中の高血圧治療薬. *日本薬理學會誌* 127(381-386), 2006.
  22. Dhawan, V., Jain, S. Effect of garlic supplementation on oxidized low density lipoproteins and lipid peroxidation in patients of essential hypertension. *Mol Cell Biochem*. 266(1-2):109-115, 2004.
  23. McCall, K.L., Craddock, D., Edwards, K. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin II type 1 receptor blockers on the rate of new-onset diabetes mellitus: a review and pooled analysis. *Pharmacotherapy* 26(9):1297-1306, 2006.
  24. Kelly, D.J., Zhang, Y., Cox, A.J., Gilbert, R.E. Combination therapy with tranilast and angiotensin-converting enzyme inhibition provides additional renoprotection in the remnant kidney model. *Kidney Int*. 69(11):1954-1960, 2006.
  25. Rhaleb, N.E., Peng, H., Alfie, M.E., Shesely, E.G., Carretero, O.A. Effect of ACE inhibitor on DOCA-salt- and aortic coarctation-induced hypertension in mice: do kinin B2 receptors play a role? *Hypertension*. 33(1 Pt 2):329-334, 1999.
  26. Booth, R.E., Johnson, J.P., Stockand, J.D. Aldosterone. *Adv Physiol Educ*. 26(1-4):8-20, 2002.
  27. Navar, L.G., Harrison-Bernard, L.M., Nishiyama, A., Kobori, H. Regulation of intrarenal angiotensin II in hypertension. *Hypertension* 39(2 Pt 2):316-322, 2002.
  28. 고희철. KT2-962의 급성허혈성 신부전 유발 흰쥐에서의 혈중 요소질소 및 Creatinine 농도 상승에 미치는 영향. *한양대 대학원* 1992.
  29. Buss, S.J., Backs, J., Kreusser, M.M., Hardt, S.E., Maser-Gluth, C., Katus, H.A., Haass, M. Spironolactone preserves cardiac norepinephrine reuptake in salt-sensitive Dahl rats. *Endocrinology* 147(5):2526-2534, 2006.
  30. Takase, B., Akima, T., Satomura, K., Ohsuzu, F., Mastui, T., Ishihara, M., Kurita, A. Effects of chronic sleep deprivation on autonomic activity by examining heart rate variability, plasma catecholamine, and intracellular magnesium levels. *Biomed Pharmacother* 1: S35-39, 2004.
  31. Tan, L.B., Schlosshan, D., Barker, D. Fiftieth anniversary of aldosterone: from discovery to cardiovascular therapy. *Int J Cardiol*. 96(3):321-333, 2004.
  32. 西山 成, 安部 陽一 腎障害とアルドステロン. *日本薬理學會誌* 124: 101-109, 2004.