호장근 물추출물의 내피세포 의존성 혈관이완효과

김동조 · 김호현[1] · 고 흥*

세명대학교 한의과대학 내과학교실, 1 : 생리학교실

Endothelium Dependent Vasorelaxant Effect of Aqueous Extract of Polygoni Cuspidatae Radix on Arterial Contraction in Rabbit

Dong Jo Kim, Ho Hyun Kim[1], Heung Ko*

Department of Internal Medicine, 1 : Department of Physiology, College of Oriental Medicine, Semyung University

This study was undertaken to define the effect of Polygoni cuspidatae Radix on contracted rabbit common carotid artery and its mechanism. In order to investigate the effect of Polygoni cuspidatae Radix on rabbit's contracted vascular ring detached from common carotid artery, vascular ring with intact or damaged endothelium was used for the experiment using organ bath. To analyze the mechanism of Polygoni cuspidatae Radix-induced relaxation, Polygoni cuspidatae Radix extract was infused into contracted vascular ring which had been pretreated by N^{G}-nitro-L-arginine($_{L}$-NNA), Methylene blue(MB), and Ca^{2+} was infused into contracted vascular ring induced by NE or KCl after treatment of Polygoni cuspidatae Radix extract in Ca^{2+}-free solution. The results were as follows : Polygini cuspidatae Radix had an effective relaxation to the contracted vascular ring by NE in 0.1 mg/ml and 0.3 mg/ml level. Polygini cuspidatae Radix had an effective relaxation to the intact endothelium vascular ring, but when endothelium was removed, vascular ring did not relax. Polygini cuspidatae Radix-induced relaxation was inhibited by the pretreatment of $_{L}$-NNA and MB. Pretreatment of Polygini cuspidatae Radix extract inhibit the contraction by influx of extra-Ca^{2+} in contracted vascular ring induced by NE or KCl in Ca^{2+}-free solution. As mentioned above, we suggest that Polygini cuspidatae Radix relaxes vascular ring through suppress influx of extra-cellular Ca^{2+} by the action of nitric oxide from endothelium.

Key words : Polygini cuspidatae Radix, endothelium, nitric oxide, Vasorelaxant

서 론

虎杖根(Polygoni cuspidatae Radix)은 蓼科에 속한 多年生 草本인 虎杖의 根莖과 根을 건조한 것으로 <名醫別錄>에 "主通利月水, 破留血癥結"한다고 수록된 이래, 臨床的으로 風濕痺痛, 黃疸, 膽石症, 肺熱咳嗽, 淋濁帶下와[1-4] 淋證의 要藥으로 사용되어 왔다[5,6].

虎杖根은 약리학적으로 抗菌, 鎭咳作用이 있으며, 緩和劑, 通經劑, 利尿劑 등으로 이용될 수 있다[4,7]. 또한 혈장 cholesterol를 저하시키고 심근수축력과 관상동맥혈류량을 증가 시키는 효능이 있는 것으로 알려져 있다[8]. 虎杖根에 대한 연구로 虎杖根에서 추출한 Emodin이 혈관신생을 억제한다는 보고가 있으며[9], 치아우식증에 관련된 Streptococcus mutans에서 抗細菌 효과가 보고되었다[10]. 또한, Gardneralla vaginalis균에 대한 生育抑制[11]와 百日咳 유발균에 대한 生育抑制[12]에 효과가 있는 것으로 보고되었다.

고혈압 환자 중 대부분을 차지하고 있는 본태성 고혈압의 경우 말초저항의 증가가 가장 중요한 요인으로 밝혀지고 있어 말초혈관의 수축을 억제하여 저항을 낮추는 것이 혈압 조절에 중요한 것으로 알려져 있으며[13,14], 보편적으로 혈관 평활근내의 Ca^{2+}을 조절함으로써 혈관이완을 유발하여 혈압을 조절하고 있다[15]. 최근 고혈압 및 각종 성인질환에 대한 관심이 높아지면서 한약제 및 복합처방의 실험적 연구가 이루어지는 실정으로, 仙鶴草[16], 山査[17], 烏藥順氣散[18] 등이 혈관 평활근내의 내피세포에 작용하여 Ca^{2+}의 조절을 통한 혈관이완 효과를 가진다고 보고되었다.

虎杖根은 민간에서 혈압 조절에 사용되고 있으나, 문헌상 破

* 교신저자 : 고 흥, 충북 제천시 신월동 산21-1, 세명대학교 한의과대학
· E-mail : yurie99@hanmail.net, · Tel : 043-649-1813
· 접수 : 2007/10/23 · 채택 : 2007/11/19

留血癥結과 利尿 등의 효과만이 기재되어 있어, 이에 저자는 각종 한약재의 혈관 평활근 이완 효능을 실험적으로 확인하기 위한 체계적인 연구의 일환으로 家兎의 혈관을 이용한 organ bath study를 통하여 虎杖根이 수축혈관에 미치는 영향과 혈관내피세포의 존재여부에 따른 수축 혈관에 미치는 이완효과를 연구하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 한약 추출물의 제조

虎杖根(Polygoni cuspidatae Radix) 200 g을 round flask에 넣고, 증류수 2000 ㎖을 가하여 2 시간 동안 가열 추출하였다. 추출액을 여과한 후 rotary evaporator로 감압 농축한 다음 동결 건조하여 14.1 g(회수율 7.1%)의 분말을 얻었다.

2. 혈관의 등장성 수축 측정

1) 실험절편의 제작

체중 1.5 kg 내외의 Newzealand white 토끼를 chloral hydrate(0.6 g/㎏, 정맥주사)로 마취한 후 경부를 절개하여 총경동맥을 적출하였다. 적출한 총경동맥을 modified Krebs-Ringer bicarbonate solution(NaCl 125.4, KCl 4.9, $CaCl_2$ 2.8, $MgSO_4$ 1.2, $NaHCO_3$ 15.8, KH_2PO_4 1.2, glucose 12.2 mM, pH 7.4)에 넣고 실온에서 혈관주위의 연조직과 지방을 제거한 다음 2 ㎜ 크기의 고리형태 혈관절편을 제작하였다. 실험절편은 내피세포가 존재하는 절편과 내피세포가 제거된 절편으로 구분하여 제작하였으며, 내피세포의 제거는 가는 솜 막대로 문질러 제거하였다.

2) 등장성 수축 측정

실험절편은 95%의 O_2와 5%의 CO_2 혼합가스로 포화된 37 ℃의 modified Krebs-Ringer bicarbonate solution이 peristaltic pump를 통하여 3 ㎖/min의 속도로 흐르고 있는 organ bath(용량 1.5 ㎖)에 현수하여 한쪽 끝은 organ bath의 저부에 고정시키고 다른 쪽 끝은 근 수축변환기에 연결하여 등장성 수축의 변화를 기록하였다. 실험절편은 organ bath에서 1시간 회복시킨 후 micromanipulator(Narishige N_2, Japan)를 이용하여 피동장력 1 g을 부하하고 다시 1시간 회복시킨 다음 실험에 사용하였다. 연속되는 실험에는 실험 종료 후 1시간 회복시킨 다음 실험을 시행하였으며, 수축의 변화는 physiograph(PowerLab, Australia)로 연속 기록하였다.

(1) 虎杖根이 norepinephrine(NE)으로 수축된 혈관에 미치는 영향

실험절편에 NE 5 ㎛M을 투여하여 수축을 유발시킨 후 虎杖根을 농도별로 투여하여 수축의 변화를 기록하였다.

(2) 혈관내피세포가 虎杖根의 혈관이완효과에 미치는 영향

혈관내피세포가 존재하는 실험절편과 혈관내피세포가 제거된 실험절편에 NE 5 ㎛M을 투여하여 수축을 유발시킨 후 虎杖根 0.3 ㎎/㎖을 투여하여 수축의 변화를 비교하였다.

(3) N_G-nitro-L-arginine($_L$-NNA)의 전처치가 虎杖根의 혈관이완효과에 미치는 영향

혈관내피세포가 존재하는 실험절편에 $_L$-NNA 100 ㎛M을 15 분간 전처치하고 NE 5 ㎛M을 투여하여 수축을 유발시킨 후 虎杖根 0.3 ㎎/㎖을 투여하여 $_L$-NNA을 전처치하지 않은 경우와 수축의 변화를 비교하였다.

(4) Methylene blue(MB)의 전처치가 虎杖根의 혈관이완효과에 미치는 영향

혈관내피세포가 존재하는 실험절편에 MB 10 ㎛M을 15 분간 전처치하고 NE 5 ㎛M을 투여하여 수축을 유발시킨 후 虎杖根 0.3 ㎎/㎖을 투여하여 MB를 전처치하지 않은 경우와 수축의 변화를 비교하였다.

(5) 虎杖根의 전처치가 세포외 Ca^{2+}의 유입에 미치는 영향

혈관내피세포가 존재하는 실험절편을 Ca^{2+}-free solution에서 虎杖根 0.3 ㎎/㎖으로 10 분간 전처치하고 NE 5 ㎛M을 투여하여 수축을 유발시킨 후 Ca^{2+} 1 mM을 투여하여 虎杖根을 전처치하지 않은 경우와 수축의 변화를 비교하였으며, 동일한 조건에서 KCl 60 mM을 투여하여 수축을 유발시킨 후 Ca^{2+} 1 mM을 투여하여 虎杖根을 전처치하지 않은 경우와 수축의 변화를 비교하였다.

3. 통계처리

실험결과는 평균과 표준편차로 나타내었으며, 혈관의 수축에 대해서는 실제 수축의 크기와 최고 수축에 대한 백분율을 함께 나타내었다. 실험군 사이의 비교는 sigma plot 4.1을 이용하여 student's t-test를 시행하였고, 유의성은 $P<0.05$로 판정하였다.

성 적

1. 虎杖根이 NE로 수축된 혈관에 미치는 영향

NE 5 ㎛M에 의한 수축 1.39±0.19 g에 비하여 虎杖根의 농도 0.1 ㎎/㎖에서 0.84±0.53 g, 0.3 ㎎/㎖에서 0.54±0.23 g의 수축을 나타내어 각각 39.6%, 62.2%의 유의성 있는 혈관이완효과를 나타내었으나, 虎杖根의 농도 3.0 ㎎/㎖에서는 1.70±0.37 g의 수축을 나타내어 22.1%의 유의성 있는 혈관수축효과를 나타내었다 (Table 1, Fig. 1).

Table 1. Effects of Polygoni Cuspidatae Radix Extract on the Contraction of Arterial Smooth Muscle Induced by NE.

Treatment	Contraction(g)	Relaxation(%)
NE	1.39 ± 0.19	0
NE + PR 0.1 ㎎/㎖	0.84 ± 0.53 **	39.6 ± 35.9 **
NE + PR 0.3 ㎎/㎖	0.54 ± 0.23 ***	62.2 ± 14.3 ***
NE + PR 1.0 ㎎/㎖	1.35 ± 0.38	4.2 ± 17.3
NE + PR 3.0 ㎎/㎖	1.70 ± 0.37 *	− 22.1 ± 16.3 ***

Values are mean±standard deviation(n=11). Percentage was calculated for NE precontraction. * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001, significantly different from the value with NE. NE, norepinephrine 5 ㎛M. PR, Polygoni cuspidatae Radix extract.

2. 혈관내피세포가 虎杖根의 혈관이완효과에 미치는 영향

내피세포가 존재하는 경우 NE에 의한 수축 1.41±0.23 g에 비하여 虎杖根을 투여하였을 때 0.45±0.13 g의 수축을 나타내어 68.0%의 혈관이완효과가 있었으나, 내피세포가 제거된 경우 NE에 의한 수축 1.26±0.41 g에 비하여 虎杖根을 투여하였을 때 1.34±0.47 g의 수축으로 5.5%의 수축이 증가되어 혈관내피세포를 제거하였을 때 虎杖根의 혈관이완효과가 유의성 있게 억제되

었다(Table 2, Fig. 2).

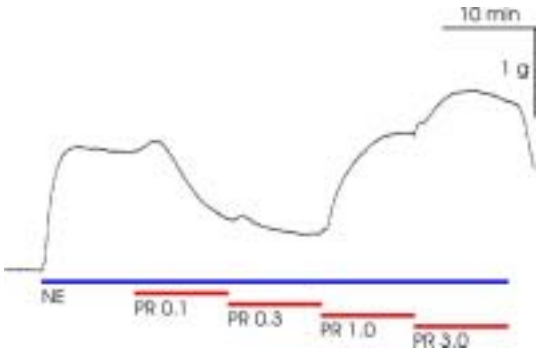

Fig. 1. Representative recordings showing the effects of Polygoni cuspidatae Radix extract on the contraction of arterial smooth muscle induced by NE. NE, norepinephrine 5 μM. PR, Polygoni cuspidatae Radix extract(㎎/㎖).

Table 2. Effects of Polygoni Cuspidatae Radix Extract on the Contraction of Arterial Smooth Muscle with Intact Endothelium or Damaged Endothelium Induced by NE.

Treatment	Intact endothelium		Damaged endothelium	
	Contraction(g)	Relaxation(%)	Contraction(g)	Relaxation(%)
NE	1.41±0.23	0	1.26±0.41	0
NE + PR	0.45±0.13***	68.0±7.5	1.34±0.47	- 5.5±4.9 ###

Values are mean±standard deviation(n=11). Percentage was calculated for NE precontraction. *** P<0.001, significantly different from the value with NE in intact endothelium. ### P<0.001, significantlv different from the value with NE+PR in intact endothelium. NE, norepinephrine 5 μM. PR, Polygoni Cuspidatae Radix extract 0.3 ㎎/㎖.

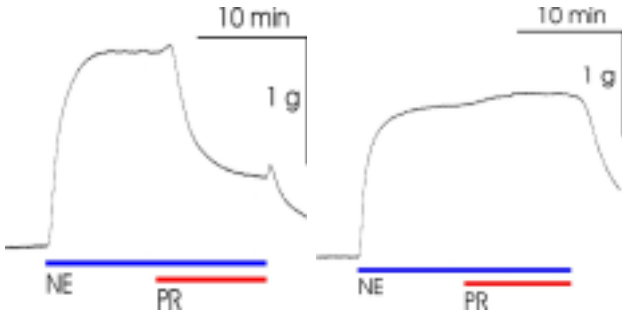

Fig. 2. Representative recordings of the effects of Polygoni cuspidatae Radix extract on the contraction of arterial smooth muscle with intact endothelium(left) or damaged endothelium(right) induced by NE. NE, norepinephrine 5 μM. PR, Polygoni cuspidatae Radix extract 0.3 ㎎/㎖.

3. L-NNA의 전처치가 虎杖根의 혈관이완효과에 미치는 영향

L-NNA를 전처치하지 않은 경우 NE에 의한 수축 1.29±0.25 g에 비하여 虎杖根을 투여하였을 때 0.48±0.16 g의 수축을 나타내어 62.3%의 이완효과가 있었으나, L-NNA를 전처치한 경우 NE에 의한 수축 1.82±0.32 g에 비하여 虎杖根을 투여하였을 때 1.68±0.35 g의 수축으로 7.3%의 이완효과를 보여 L-NNA를 전처치 하였을 때 虎杖根의 혈관이완효과가 유의성 있게 억제되었다(Table 3, Fig. 3).

4. MB의 전처치가 虎杖根의 혈관이완효과에 미치는 영향

MB를 전처치하지 않은 경우 NE에 의한 수축 1.26±0.27 g에 비하여 虎杖根을 투여하였을 때 0.42±0.15 g의 수축을 나타내어 64.5%의 이완효과가 있었으나, MB를 전처치한 경우 NE에 의한 수축 1.41±0.27 g에 비하여 虎杖根을 투여하였을 때 1.52±0.32 g의 수축으로 8.2%의 수축이 증가되어 MB를 전처치하였을 때 虎杖根의 혈관이완효과가 유의성 있게 억제되었다(Table 4, Fig. 4).

Tabl 3. Effects of Pretreatment of L-NNA on the Endothelium-Dependent Relaxation Induced by Polygoni Cuspidatae Radix Extract.

Treatment	Non treatment of L-NNA		Treatment of L-NNA	
	Contraction(g)	Relaxation(%)	Contraction(g)	Relaxation(%)
NE	1.29±0.25	0	1.82±0.32	0
NE + PR	0.48±0.16***	62.3±12.2	1.68±0.35	7.3±10.1 ###

Values are mean±standard deviation(n=10). Percentage was calculated for NE precontraction. *** P<0.001, significantly different from the value with NE in non treatment of L-NNA. ### P<0.01. significantly different from the value with NE+PR in non treatment of L-NNA. L-NNA, Nω-nitro-L-arginine 100 μM. NE, norepinephrine 5 μM. PR, Polygoni cuspidatae Radix extract 0.3 ㎎/㎖.

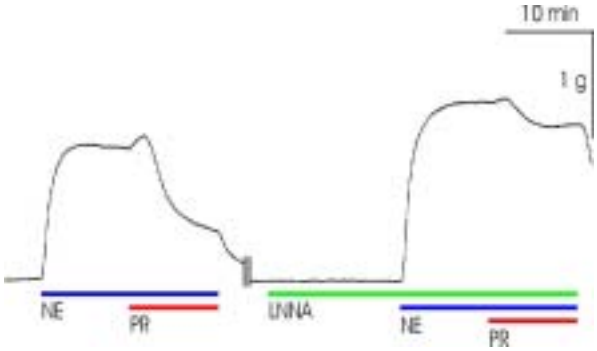

Fig. 3. Representative recordings of the effects of pretreatment of L-NNA on the endothelium-dependent relaxation induced by Polygoni cuspidatae Radix extract. LNNA, Nω-nitro-L-arginine 100 μM. NE, norepinephrine 5 μM. PR, Polygoni cuspidatae Radix extract 0.3 ㎎/㎖

Table 4. Effects of Pretreatment of MB on the Endothelium-Dependent Relaxation Induced by Polygoni Cuspidatae Radix Extract.

Treatment	Non treatment of MB		Treatment of MB	
	Contraction(g)	Relaxation(%)	Contraction(g)	Relaxation(%)
NE	1.26±0.27	0	1.41±0.27	0
NE + PR	0.42±0.15***	64.5±17.4	1.52±0.32	- 8.2±10.1 ###

Values are mean±standard deviation(n=8). Percentage was calculated for NE precontraction. *** P<0.001, significantly different from the value with NE in non treatment of MB. ### P<0.001, significantly different from the value with NE+PR in non treatment of MB. MB, methylene blue 10 μM. NE, norepinephrine 5 μM. PR, Polygoni cuspidatae Radix extract 0.3 ㎎/㎖.

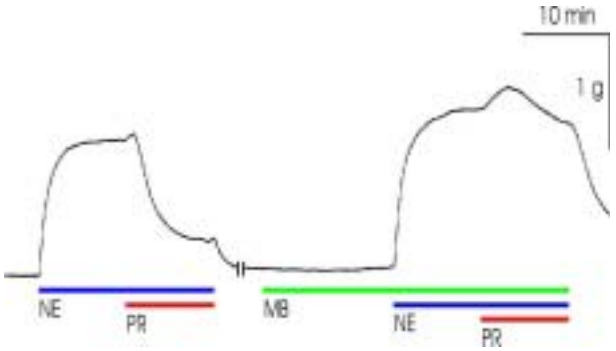

Fig. 4. Representative recordings of the effects of pretreatment of MB on the endothelium-dependent relaxation induced by Polygoni cuspidatae Radix extract. MB, methylene blue 10 μM. NE, norepinephrine 5 μM. PR, Polygoni cuspidatae Radix extract 0.3 ㎎/㎖.

5. 虎杖根의 전처치가 세포외 Ca^{2+}의 유입에 미치는 영향

虎杖根을 전처치하지 않은 경우 NE를 투여하였을 때 0.42±0.16 g, Ca^{2+}을 투여하였을 때 1.26±0.22 g의 수축을 나타내었으나, 虎杖根을 전처치한 경우 NE를 투여하였을 때 0.26±0.11 g, Ca^{2+}을 투여하였을 때 0.91±0.25 g으로 虎杖根을 전처치하지 않은 경우에 비하여 각각 61.4%, 72.8%의 수축을 나타내어 虎杖根의 전처치로 NE에 의한 수축과 Ca^{2+}의 첨가에 따른 수축이 모두 유의성 있게 감소하였다(Table 5, Fig. 5).

虎杖根을 전처치하지 않은 경우 KCl을 투여하였을 때 0.33±0.16 g, Ca^{2+}을 투여하였을 때 1.67±0.16 g의 수축을 나타내었으나, 虎杖根을 전처치한 경우 KCl을 투여하였을 때 0.40±0.16 g, Ca^{2+}을 투여하였을 때 1.28±0.16 g으로 虎杖根을 전처치하지 않은 경우에 비하여 각각 130.6%, 76.3%의 수축을 나타내어 虎杖根의 전처치로 Ca^{2+}의 첨가에 따른 수축이 유의성 있게 감소하였다(Table 6, Fig. 6).

Table 5. Effecs of Pretreatment of Polygoni Cuspidatae Radix Extract on Contractile Response to Additive Application of Ca^{2+} in the Strips Which Were Contracted by NE in Ca^{2+}-Free Solution.

Treatment	Non treatment of PR		Treatment of PR	
	Contraction(g)	%	Contraction(g)	%
NE	0.42±0.16	100	0.26±0.11 *	61.4±12.9
NE + Ca	1.26±0.22	100	0.91±0.25 **	72.8±18.7

Values are mean±standard deviation(n=9). Percentage was calculated for non treatment of PR. * P<0.05, ** P<0.01, significantly different from the value NE or NE+Ca in with non treatment of PR. PR, Polygoni cuspidatae Radix extract 0.3 ㎎/㎖. NE, norepinephrine 5 ㎛M. Ca, calcium chloride 1 mM.

Table 6. Effects of Pretreatment of Polygoni Cuspidatae Radix Extract on Contractile Response to Additive Application of Ca^{2+} in the Strips Which Were Contracted by KCl in Ca^{2+}-Free Solution.

Treatment	Non treatment of PR		Treatment of PR	
	Contraction(g)	%	Contraction(g)	%
NE	0.33±0.16	100	0.40±0.16	130.6±32.6
KCl + Ca	1.67±0.16	100	1.28±0.16***	76.3± 5.4

Values are mean±standard deviation(n=8). Percentage was calculated for non treatment of PR. *** P<0.001, significantly different from the value with KCl+Ca in non treatment of PR. PR, Polygoni cuspidatae Radix extract 0.3 ㎎/㎖. KCl, potassium chloride 60 mM. Ca, calcium chloride 1 mM.

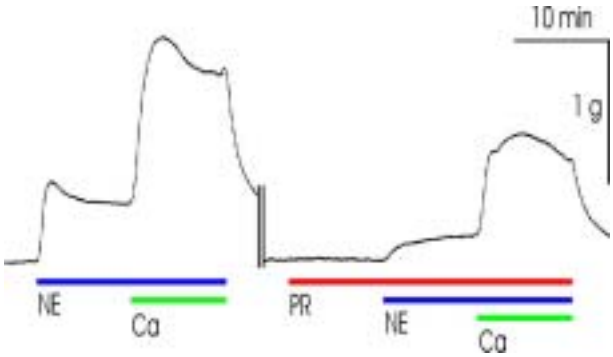

Fig. 5. Representative recordings of the effects of pretreatment of Polygoni cuspidatae Radix extract on contractile response to additive application of Ca^{2+} in the strips which were contracted by NE in Ca^{2+}-free solution. PR, Polygoni cuspidatae Radix extract 0.3 ㎎/㎖. NE, norepinephrine 5 ㎛M. Ca, calcium chloride 1 mM.

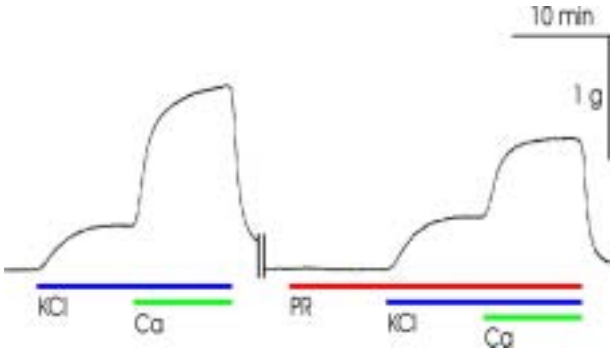

Fig. 6. Representative recordings of the effects of pretreatment of Polygoni cuspidatae Radix extract on contractile response to additive application of Ca^{2+} in the strips which were contracted by KCl in Ca^{2+}-free solution. PR, Polygoni cuspidatae Radix extract 0.3 ㎎/㎖. KCl, potassium chloride 60 mM. Ca, calcium chloride 1 mM.

고 찰

虎杖根(Polygoni cuspidatae Radix)은 蓼科에 속한 多年生 草本인 虎杖의 根莖과 根을 건조한 것으로 <名醫別錄>에 "主通利月水, 破留血癥結"한다고 수록된 이래, 臨床的으로 風濕痺痛, 黃疸, 膽石症, 肺熱咳嗽, 淋濁帶下과[1-4] 淋證의 要藥으로 사용되어 왔다[5,6].

虎杖根의 약리성분으로 anthraquinone 유도체인 polygonin, polydatin과 이를 가수분해한 emodin과 emodinmonooethylether은 抗菌, 鎭咳作用이 있으며, 緩和劑, 通經劑, 利尿劑 등으로 이용될 수 있다[4,7]. 또한 Resveratrol과 탄닌 성분은 혈장 cholesterol를 저하시키고 심근수축력과 관상동맥혈류량을 증가 시키는 효능이 있는 것으로 알려져 있다[8]. 虎杖根에 대한 연구로 虎杖根에서 추출한 Emodin이 혈관신생을 억제한다는 보고가 있으며[9], 치아우식증에 관련된 Streptococcus mutans에서 抗細菌 효과가 보고되었다[10]. 또한, Gardneralla vaginalis균에 대한 生育抑制[11]와 百日咳 유발균에 대한 生育抑制[12]에 효과가 있는 것으로 보고되었다.

고혈압은 만성 순환기계 질환 중 발생 빈도가 가장 높은 질환으로 최근 들어 증가하고 있는 추세이며, 그 자체로 증상을 나타내는 경우는 드물고 뇌졸중, 심부전, 관상동맥질환 등 치명적인 합병증을 유발할 수 있다[19,20]. 고혈압 환자 중 대부분을 차지하고 있는 본태성 고혈압의 경우 말초저항의 증가가 가장 중요한 요인으로 밝혀지고 있어 말초혈관의 수축을 억제하여 저항을 낮추는 것이 혈압 조절에 중요한 것으로 알려져 있으며[13,14], 보편적으로 혈관 평활근내의 Ca^{2+}을 조절함으로써 혈관이완을 유발하여 혈압을 조절하고 있다[15]. 최근 고혈압 및 각종 성인질환에 대한 관심이 높아지면서 한약제 및 복합처방의 실험적 연구가 이루어지는 실정으로, 仙鶴草[16], 山査[17], 烏藥順氣散[18] 등이 혈관 평활근내의 내피세포에 작용하여 Ca^{2+}의 조절을 통한 혈관이완 효과를 가진다고 보고되었다.

虎杖根은 민간에서 혈압 조절에 사용되고 있으나, 문헌상 破留血癥結의 作用과 利尿作用 등의 효과만이 기재되어 있어, 이에 저자는 虎杖根의 항고혈압 작용에 대해 보다 명확한 기전을 연구하기 위해서 본 실험을 시행하였다.

虎杖根이 수축혈관에 미치는 영향과 혈관이완효과의 기전을

연구하고자 토끼를 마취시킨 후 실혈시켜 희생시킨 다음, 경부를 절개하여 총경동맥을 적출한 후 실험 절편을 제작하여 NE로 수축시킨 후 虎杖根을 농도별로 투여하여 수축혈관에 미치는 영향을 측정하였고, 혈관 내피세포를 제거한 후 虎杖根을 투여하여 내피세포에의 영향을 측정하였으며, 내피세포성 이완인자(endothelium-derived relaxing factor, EDRF)인 nitric oxide(NO)에 대한 영향을 알아보기 위하여 N□-nitro-L-arginine(L-NNA)와 Methylene blue(MB)로 전처치한 후 혈관 이완 작용에 미치는 영향을 측정하였다. 또한 虎杖根의 전처치가 Ca^{2+}의 유입에 따른 수축의 증가에 미치는 영향을 측정하였다.

실험결과에서 虎杖根은 NE로 수축된 혈관에 대하여 0.1 mg/ml과 0.3 mg/ml의 농도에서 특징적으로 이완효과를 나타내었고, 혈관의 내피세포가 제거된 경우에 이완효과가 억제되는 것으로 보아 虎杖根의 혈관이완 작용에 혈관내피세포가 중요한 역할을 한다는 것을 알 수 있었다.

내피세포성 이완인자인 NO[21-23]에 영향을 검증하기 위해 nitric oxide synthase를 억제하여 NO의 전구물질인 L-arginine으로부터 NO가 생성되는 것을 차단시키는 L-NNA[24,25]와 평활근 세포에서 NO가 soluble guanylate cyclase를 cyclic GMP(cGMP)로 전환시키는 과정에 작용하여 cGMP의 형성을 차단하는 MB[21,22]를 전처치한 후 虎杖根을 투여한 경우 虎杖根의 혈관이완효과가 유의성 있게 억제되었는데, 이것으로 보아 虎杖根은 nitric oxide pathway에 관여함과 동시에 cGMP를 증가시키는 기전에 의하여 이완효과를 나타내는 것으로 판단된다.

평활근의 수축은 평활근 세포내의 sarcoplasmic reticulum과 mitochondria 등에서 유리되는 Ca^{2+}과 세포외에서 유입되는 Ca^{2+}에 의하여 일어나는 것이며[26,27], 이 중 세포외 Ca^{2+}유입의 경우, 수용체에 직접 연결되어 개폐되는 Ca^{2+}통로(receptor-operated Ca^{2+} channel, ROC)[28]와 세포막전위의 변화에 의해 개폐되는 Ca^{2+}통로(voltage-operated Ca^{2+} channel, VOC)[29]두 가지가 있어, 본 실험에서 虎杖根이 세포외 Ca^{2+}의 유입에 미치는 영향과 두 가지 Ca^{2+}통로에의 영향을 검증하였다. Ca^{2+} free solution에서 NE와 KCl로 수축을 유발시킨 후 Ca^{2+}을 투여하였을 때는 혈관의 수축이 크게 증가하는 것을 관찰할 수 있었다. 그러나, 虎杖根을 전처치한 후 동일한 실험을 하였을 때는 혈관수축의 증가가 억제되어 虎杖根이 세포외 Ca^{2+}의 유입을 차단시킨 것으로 판단된다.

NE에 의한 Ca^{2+}의 유입은 두 가지 형태의 Ca^{2+}통로가 모두 이용되며, KCl에 의한 Ca^{2+}의 유입은 세포의 K^{+}의 농도를 증가시킴으로써 막전압의 변동을 유발하여 세포의 Ca^{2+}을 유입시키는 것으로 VOC가 이용되는 것으로 알려져 있다[30-32]. 따라서, KCl로 수축시킨 혈관에서 호장근이 Ca^{2+}의 유입에 의한 수축 증가를 억제하는 것으로 보아 호장근이 VOC를 차단시키는 작용이 있을 것으로 판단된다.

이상의 실험결과 虎杖根은 혈관내피세포 의존성 이완효과를 가지고 있으며, 혈관이완의 기전은 내피세포에서 유리되는 NO의 생성을 통하여 혈관평활근에서 cGMP를 활성화시킴으로써 세포의 Ca^{2+}의 유입을 차단하는 기전에 의한 것으로 판단된다. 따라서 虎杖根은 혈관수축으로 인한 혈류장애에 있어서 혈관저항의 개선을 통하여 혈류량을 증가시키는 작용을 하며, 이를 이용한다면 고혈압이나 심근경색 등의 질환에도 응용할 수 있으리라 생각된다.

결 론

虎杖根이 수축혈관에 미치는 영향과 작용기전을 규명하고자 토끼의 혈관을 적출하여 제작한 실험절편을 이용한 organ bath study를 통하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

虎杖根은 NE로 수축된 혈관에 대하여 0.1 ㎎/㎖과 0.3 ㎎/㎖의 농도에서 유의성 있는 혈관이완효과를 나타내었다. 虎杖根의 혈관이완효과는 내피세포가 존재하는 혈관에 비하여 내피세포가 제거된 혈관에서 이완효과가 유의성 있게 억제되었다. 虎杖根의 혈관이완효과는 L-NNA와 MB를 전처치 하였을 때 이완효과가 유의성 있게 억제되었다. Ca^{2+}-free solution에서 虎杖根의 전처치는 NE-수축혈관에서는 NE에 의한 수축과 Ca^{2+}의 첨가에 따른 수축의 증가를 모두 유의성 있게 억제하였으며, KCl-수축혈관에서는 Ca^{2+}의 첨가에 따른 수축의 증가를 유의성 있게 억제하였다.

이상의 실험결과 虎杖根은 수축혈관에 대한 이완효과가 있었으며, 이완효과는 혈관내피세포에서 nitric oxide를 생성함으로써 세포 외 Ca^{2+} 유입을 차단하여 혈관을 이완시키는 것으로 사료된다.

참고문헌

1. 全國韓醫科大學 本草學敎授 共編著. 本草學. 서울, 永林社, pp 420-421, 1998.
2. 신민교. 臨床本草學, 서울, 南山堂, pp 476-477, 1986.
3. 上海中醫學院. 中草藥學. 上海, 商務印書館香港分館, pp 402-403, 1983.
4. 新文豐出版公司. 中藥大辭典 第二冊, 臺北, 新文豐出版公司, pp 1107-1109, 1982.
5. 許浚. 東醫寶鑑, 서울, 법인문화사, p 1962, 1999.
6. 두호경. 東醫腎系學(上). 서울, 동양의학연구원, pp 85-97, 123-132, 1995.
7. 王溶生. 中藥藥理與應用. 北京, 人民衛生出版社, pp 652-658, 1983.
8. 최병진. 韓藥의 藥理. 서울, 고려의학, pp 117-118, 339, 2000.
9. 이태규, 김종화, 소준노. 虎杖根으로부터 분리된 emodin의 혈관신생 억제 활성, 한국농화학회지 46(1):50-54, 2003.
10. 김신규, 송주희, 김종배, 장기완, 전재규. 虎杖根의 항세균효과 및 항부착효과, 大韓口腔保健學會誌 29(1):80-90, 2005.
11. 김동일, 이태균. Gardnerella vaginalis 균의 생육을 억제하는 한약재 탐색에 관한 연구, 대한한방부인과학회지 10(2):97-115, 1997.
12. 정운석, 이주일, 서운교. 百日咳 유발균 Bordetella pertussis에 대한 虎杖根의 생육 억제 효과. 대한한방내과학회지 26(3):543-550, 2005.
13. 전국 한의과대학 심계내과학교실 편. 심계내과학. 서울, 서원

당, pp 189-196, 1999.
14. 김종설, 이방헌. 고혈압의 이해와 치료. 서울, 고려의학, pp 10-13, 2002.
15. 임동윤 역. 리핀코트의 그림으로 보는 약리학. 서울, 신일상사, pp 187-189, 2002.
16. 조려화, 이준경, 조국현, 강대길, 권태오, 권지웅, 김진숙, 손은진, 이호섭. 仙鶴草 부탄올 추출물의 혈관 이완 효과의 기전에 대한 연구. 한국생약학회지 37(2):67-73, 2006.
17. 배명효, 김호현. 山査의 내피세포 의존성 혈관이완효과 기전에 대한 연구. 大韓本草學會誌 18(3):169-180, 2003.
18. 신형섭, 고홍, 김호현. 烏藥順氣散이 고혈압과 동맥혈관에 미치는 영향. 한국한의학연구원 논문집 10(2):79-92, 2004.
19. 임준규. 동서의학협진과 임상실제. 서울, 한성사, pp 47-67, 1995.
20. 동서의학융합연구회편. 임상동서의학. 서울, 영림사, pp 202-205, 1997.
21. Johns, R.A. Endothelium-derived relaxing factor;Basic review and clinical implications, J. Cardiothorac. Vasc. Anesth. 5(1):69-79, 1991.
22. Palmer, R.M.J., Ferrige, A.G., Moncada, S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium -derived relaxing factor, Nature, 327: 524-526, 1987.
23. Palmer, R.M., Rees, D.D., Ashton, D.S., Moncada, S., L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation, Biochem. Biophys. Res. Commun. 153(3):1251-1256, 1988.
24. Moore, P.K., al-Swayeh, O.A., Chong, N.W.S., Evans, R.A., Gibson, A. L-NG-nitro arginine(L-NOARG), a novel, L-arginine-reversible inhibitor of endothelium-dependent vasodilatation in vitro, Br. J. Pharmacol. 99: 408-412, 1990.
25. Nandor, M., Una, S.R., Johns, D.C. Endothelial cGMP does not regulate basal release of endothelium-derived relaxing factor in culture, Am. J. Physiol. 263: 113-121, 1992.
26. Deth, R., Breemen, C. van, Relative contributions of Ca^{2+} influx and cellular Ca^{2+} release during drug induced activation of the rabbit aorta, Pflügers Arch. 348(1):13-22, 1974.
27. Fabiato, A., Fabiato, F. Calcium-induced release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of skinned cells from adult human, drug, cat, rabbit, rat, and frog hearts and from fetal and new-born rat ventricles, Annuals New York Academy of Sciences, pp 491-521, 1978.
28. Cynthia Cauvin, Cornelis van Breemen. Different Ca2+ channels along the arterial tree, Journal of Cardio vascular Pharmacology, New York, 7(4):4-10, 1985.
29. 성호경, 김기현. 생리학. 서울, 의학문화사, pp 103-106, 135, 1997.
30. 안재호, 유지영. 쥐 대동맥 혈관 내피세포에서 세포 외 K^{+}에 의한 혈관 수축성 조절 기전, 대한흉부외과학회지 36(12): 887-893, 2003.
31. 서석효. Effects of extracellular Ca^{2+} and Ca^{2+}-antagonists on endothelium-dependent relaxation in rabbit aorta, 대한생리학회지 24(1):91-102, 1991.
32. J.M. Farley, P.R. Miles. Role of depolarization in acetylcholine-induced contractions of dog trachealis muscle, The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 201: 199-205, 1997.