加味順氣活血湯이 DOCA-salt로 유발된 高血壓 흰 쥐에 미치는 작용기전

이영헌 · 전상윤 · 홍 석 · 조국령 · 김남욱 · 정종안* · 강성인[1]

동신대학교 한의과대학 내과학교실, 1 : 방사선학교실

Studies on The Action of Kamisungihwalhyul-tang on DOCA-salt Hypertensive Rat

Young Hun Lee, Sang Yun Jun, Seok Hong, Gook Ryung Cho, Nam Uk Kim, Jong An Jung*, Seong In Kang[1]

Department of Internal Medicine, 1 : Department of Radiology, College of Oriental Medicine, Dongshin University

Kamisungihwalhyul-tang(KSHT) has been used for many years as a therapeutic agent for cerebrovascular disease and hypertension in Oriental Medicine. But the effect of KSHT on hypertension and reactive oxygen is not well-known. This study was examined to investigate the effect of KSHT on hypertension and reactive oxygen. After administering KSHT extract to Sprague- Dawley Rat forinjected subcutaneous with deoxycorticosterone acetate(DOCA) 8 weeks, changes in blood pressure, pulse rate, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, reactive oxygen species, angiotensin converting enzyme, aldosterone, catecholamine levels, electrolyte, uric acid, BUN, creatinine in plasma were examined, and immunohistochemical changes and scanning electron microscopic changes were observed. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) scavenging activity was increased, reactive oxygen species(ROS) was decreased in a KSHT concentration-dependent. Angiotensin converting enzyme(ACE) inhibitory activity was increased in a concentration-dependent by KSHT. KSHT significantly decreased the blood pressure and heart rate in DOCA-salt hypertensive rat. KSHT significantly decreased the levels of aldosterone in DOCA-salt hypertensive rat. KSHT significantly decreased the level of dopamine, norepinephrine, epinephrine in DOCA-salt hypertensive rat. Na^+, K^+ and Cl^- were decreased significantly, Ca^{2+} was increased significantly by KSHT. KSHT significantly decreased uric acid, BUN, creatinine.

Key words : Kamisungihwalhyul-tang(加味順氣活血湯), hypertension, DOCA-salt, antioxidant effect, catecholamine, electrocytes, plasma hormone

서 론

고혈압은 성인병 중에서 가장 기본이 되는 원인 질환으로 우리나라 성인의 약 15% 이상이 이환율을 보이고 있는 만성 순환기 질환의 하나이다[1]. 수축기 동맥압이 120 mmHg 이하, 이완기 동맥압이 80 mmHg 이하가 혈압의 정상 범위로, 그 이상 상승된 상태를 고혈압이고 한다[2]. 고혈압은 자각증상이 거의 없어 혈압을 측정하지 않으면 진단되지 않고, 증상이 없더라도 지속적으로 혈관을 손상시켜 뇌졸중, 심근경색 등의 심혈관계 질환뿐만 아니라 신장질환, 말초혈관질환, 안저병변 등의 다양한 합병증을 유발할 수 있기 때문에 적극적인 관리 및 치료가 요구 된다[3].

한의학에서는 고혈압이란 병명은 없으나 頭痛, 眩暈, 項强, 耳鳴, 心悸, 動悸, 胸悶, 呼吸困難, 疲勞, 面紅, 煩燥, 視力混濁, 四肢痲痺, 手足痹感 등의 증상으로 미루어 보아 中風, 頭痛, 眩暈, 心火亢炎, 肝陽上亢의 범주에 해당된다고 볼 수 있으며 그 원인으로 心火暴盛, 肝風內動, 陰陽兩虛, 痰濕壅盛 등을 들 수 있다[4,5].

본 실험에 사용된 加味順氣活血湯은 ≪晴崗醫鑑≫[6]에 順氣 · 活血 · 導痰의 效能으로 中風治療에 多用된 順氣活血湯에 고혈압과 관상동맥경화로 인한 심장질환을 치료한다고 보고되어진 防風[7], 石菖蒲[8], 竹茹[9,10], 丹蔘[11], 牛膝[12,13], 山査肉[14], 龍骨, 牡蠣

* 교신저자 : 정종안, 광주시 남구 월산동 377-12 동신대 광주한방병원

· E-mail : y8428@naver.com, · Tel : 062-350-7282, 016-649-8428

· 접수 : 2007/11/19 · 채택 : 2007/12/03

[15-17], 釣鉤藤[18], 豨簽[19](酒蒸)을 加味한 처방이다.

최근 고혈압에 대한 실험적 연구로는 한[20]의 肝陽上亢方, 신[21]의 加味導赤散, 유[22]의 加味鷄血藤湯, 김[23]의 地黃飮子, 이[24]의 瀉心湯, 남[25]의 凉膈散火湯, 임[26]의 滲濕湯 등이 있으며, 임상에서 다용되는 고혈압 처방에 대한 기전적 연구와 더불어 이를 바탕으로 새로운 치료처방을 개발하려는 노력이 이루어지고 있다.

현재 보고되어진 順氣活血湯에 대한 실험적 연구로는 박[27] 瘀血病態模型에 미치는 영향을, 손[28] 骨折癒合에 미치는 영향을, 이[29] 高脂血症 病態 모델에 미치는 영향을, 정[30] 腦虛血 抑制效果에 대한 효과를 보고하였으나 고혈압에 대한 연구는 아직 보고가 없었다.

이에 저자는 加味順氣活血湯(Kamisungihwalhyul-tang, KSHT)이 고혈압에 미치는 효과를 실험적으로 규명하고자 DOCA-salt를 투여하여 고혈압을 유발시킨 흰 쥐에게 加味順氣活血湯 추출물을 경구투여하여 세포독성 및 간에 대한 독성 검사를 통한 안정성을 검증한 뒤 항산화 활성에 미치는 영향과 ACE(Angiotensin Converting Enzyme) 저해능에 미치는 영향, 혈압 및 심박수의 변화, Aldosterone, Catecholamine, 전해질 변화에 미치는 영향 및 Uric acid, BUN, Creatinine 등 신장에 미치는 영향 등을 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 약 재

본 실험에 사용한 加味順氣活血湯 (Kamisungihwalhyul-tang, 이하 KSHT)의 구성 약물은 동신대학교 부속한방병원에서 구입 후 정선하여 사용하였다. 약물 구성은 다음과 같다(Table 1).

Table 1. The Composition of Kamisungihwalhyul-tang (KSHT)

韓藥名	學名	用量 (g)
蒼朮	Atractylodes japonica	8
香附子	Cyperus rotundus	8
陳皮	Citrus unshiu	6
半夏	Pinellia ternata	6
赤茯苓	Poria	6
枳殼	Aurantii Fructus	4
烏藥	Lindera strychnifolia	4
桔梗	Platycodi Radix	4
防風	Saposhnikovia divaricata	4
白芷	Angelica dahurica	2.8
木香	Aucklandiae Radix	2.8
甘草	Glycyrrhizae Radix	2
石菖蒲	Acori Framinei Rhizoma	4
竹茹	Bambusae Caulis in Liqamen	4
丹蔘	Salviae miltiorrhizae Radix	6
牛膝	Achyranthis Bidentatae Radix	6
山査肉	Crataegii Fructus	6
龍骨	Fossilia Ossis Mastodi	4
牡蠣	Ostreae Concha	4
釣鉤藤	Uncariae ramulus et Uncus	6
豨簽(酒蒸)	Siegesbeckiae Herba	8
總量		105.6

2) 시약

Dulbecco's phosphate buffered saline (DPBS-A; Sigma Co., U.S.A.), Normal saline (중외제약, Korea), RPMI 1640 (Sigma Co., U.S.A), Penicillin (Sigma. Co., U.S.A.), Streptomycin (Sigma. Co., U.S.A.), Deoxycorticosterone Acetate (DOCA; Sigma., U.S.A), Amphotericin B (Sigma. Co., U.S.A.), Trypsin (invitrogen., U.S.A), Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA; Sigma., U.S.A), 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT; Sigma., U.S.A), Dimethyl sulfoxide (DMSO; Sowa chemical., Japan), 3.8% Sodium citrate (Sigma Co., U.S.A), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH; Sigma Co., U.S.A), Angiotensin converting enzyme (ACE, Sigma Co., U.S.A), Hippuryl-his-leu acetate (Sigma Co., U.S.A), 5-(and-6)-choromethyl-2′,7′-dichloro dihydrofluorescein diacetate acetylester (CM- H2DCFDA; invitrogen Co., U.S.A), H_2O_2 (Dongyang Chem., Korea), Ethylacrtate (Junsei., Japan), [1-14C] oleoyl-CoA (invitrogen., U.S.A), Potassium Phosphate Monobasic (KH_2PO_4; Yakuri., Japan), Bovine serum albumin (BSA; Sigma, U.S.A), 등을 사용하였고, 이 밖에 일반 시약은 특급 시약을 사용하였다.

3) 동물

본 실험에 사용된 실험용 쥐는 7주령, 체중 200-220 g의 雄性 SD (Sprague- Dawley Rat, 대한바이오링크, 충주, Korea)은 실험 당일까지 고형사료 (슈퍼피드, 강원도, Korea)를 자유 식이하면서 물을 충분히 공급하였다. 실온 22 ± 2℃, 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. 사료 조성 내용과 분량은 다음과 같다(Table 2).

Table 2. Composition of Basal Diet

조단백질	22.1% 이상
조지방	3.5% 이상
조섬유	5.0% 이하
조회분	8.0% 이하
칼 슘	0.6% 이상
인	0.4% 이상

2. 기기

본 연구에 사용된 기기는 Accoutered GC (Roche, Germany), Ice-maker (Vision, Korea), Serum separator (녹십자, Korea), Minos-ST (Cobas Co., France), Centrifuge (Beckman Co., U.S.A.), Rotary vaccum evaporator (Büchi 461, Switzerland), Deep freezer (Sanyo Co., Japan), Freeze dryer (Eyela Co., Japan), Autoclave (Hirayama, Japan), Ultrasonic cleaner (Branson Ultrasonics Co., U.S.A.), ELISA reader (Molecular Divice., U.S.A), Roller Mixer (Gowon scientific technology Co., Korea), 한약유출기 (DWP-1800T, 웅진, Korea), Spectrophotometer (UV-2450, Shimazu, Japan), Fluorescence activated cell sorter (FACS, Beckman Co., U.S.A.), Non invasive blood pressure system (CODA6, Kent, U.S.A), Balance

(Cass, korea), 생화학기기 (AU400, Olimpus, U.S.A), 전해질 측정기 (NOVA5, Japan), 감마 카운터기 (WIZARD 1470, Finland) 등을 사용하였다.

3. 방법

1) 약물 추출

시료 추출 방법은 KSHT 5첩을 한약 약탕기 (DWP-1800T, 대웅)에 넣고, 정제수 (동원샘물) 1500 ml와 같이 혼합하여 3시간 열탕하여 추출한 후 흡입 여과하였다. 이를 rotary vacuum evaporator (Büchi 461, EYELA)에서 감압 농축하여 KSHT를 분리한 후, 다시 동결건조기 (EYELA, FDU-540, Japan)에서 24시간 동결 건조하여 분말 35 g을 얻었으며, 얻어진 분말은 초저온냉동고 (-80℃)에서 보관하면서, 실험에 따라 필요한 농도로 증류수에 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, Indianapoilis, IN, USA)와 DNase type Ⅰ (0.15 mg/ml, Sigma. Co., U.S.A.), antibiotics (penicillinm 10^4 U/ml, streptomycin 10 mg/ml, amphotericin B 25 ㎍/ml)}를 넣고 37℃ CO_2 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 MTT assay로 하였다. 배양한 human fibroblast cells를 96 well plate에 2×10^4 cell 씩 분주한 후 배양하고, 24시간 후 KSHT를 500, 250, 125, 62.5, 31.25 ㎍/ml 농도로 투여하였다. 다시 48시간 배양 후 부유액을 제거하고, 각 well에 MTT solution (0.5 mg/ml) 100 ㎕ 씩 첨가하여 4시간 동안 배양하였다. 배양 후 부유액을 제거하고 각 well에 100 ㎕의 DMSO를 첨가하여 37℃ CO_2 배양기에서 30분 동안 반응 시킨 후 ELISA reader를 사용하여 wave length 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

(3) 항산화 활성 측정

① 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)[31] 소거능 측정

150 mM DPPH/EtOH 450 에 KSHT를 1000, 500, 250, 125, 62.5 ㎍/ml 농도로 희석하여 50 ㎕씩 첨가한 후 37℃에서 30분간 반응시켰다. 이를 흡광도 517 nm에서 측정하여 아래의 방법으로 계산하였다.

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

② Reactive Oxygen Species (ROS)[32] 측정

Bovine endothelial cells (CPEA) 내에서 생성된 ROS를 측정하기 위하여 24 well plate의 각 well에 5 x 10^5 cells씩을 분주하고, 50 uM의 H_2O_2를 처리한 후 KSHT 100, 50 ㎍/ml을 처리하고, 37℃, CO_2 배양기에서 48시간 동안 배양하였다. 배양 종료 후 5-(and-6)-choromethyl-2′,7′-dichloro dihydrofluorescein diacetate, acetylester (CM- H2DCFDA) 50 mM을 처리하여 5 분간 배양한 후, 2회 수세하였다. 이를 유세포형광분석기로 세포내 형광 ROS를 측정하였으며, 대조군은 H_2O_2만 처리하였다.

(4) Angiotensin converting enzyme (ACE) 저해능 측정

Cushman & Cheung 의 방법[33]으로 측정하였다. 각 농도 (1000, 500, 250, 125, 62.5 ㎍/ml)의 KSHT 10 ㎕, 기질 Hip-His-Leu 110 ㎕, 그리고 ACE 용액 30 ㎕을 혼합하여 37℃에서 60분 동안 반응시킨 후 1N HCl 110 ㎕를 넣어 반응을 정지시켰다. 이 반응액에 1 ml의 ethyl acetate를 넣고 교반 후 3,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 얻은 상층액 750 ㎕를 95℃에서 10분 동안 건조하여 용매를 완전히 제거하고, 1 ml의 증류수로 용해시켜 228 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 시료 대신 증류수를 혼합시켰다.

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

3) In vivo

(1) DOCA-salt에 의한 고혈압 유발

Sprague-Dawley (SD) rat 을 무작위로 6마리씩 나누어 정상군 (Normal), 대조군(Control) 그리고 실험군 (KSHT)으로 설정하였다. 대조군과 KSHT 투여군은 deoxycorticosterone acetate (DOCA) 25 mg/kg을 주 3회씩 8주간 피하 주사와 함께 1% NaCl을 식수로 제공 하였고, 실험군은 KSHT를 성인 기준 하루 두 첩 분량 (145 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) 채혈 및 혈장 분리

KSHT의 투여 종료 후 12시간 절식 후 ether로 마취시킨 다음 심장에서 12 ml이상의 혈액을 취하여 5 ml을 15 ml conical

tube에 넣어 6,500 rpm에 15분간 원심 분리시켜 혈청을 분리하였다. 나머지 6 ml의 혈액을 EDTA 첨가 튜브에 넣어 혈장을 분리하였다.

(5) 혈청 및 혈장 성분의 측정

분리한 혈청은 생화학 기기 (AU400, Olimpus, U.S.A)를 이용하여 GOT, GPT, BUN, creatinine, uric acid를 측정하였고, Na^+, Ca^{2+}, K^+, Cl^-의 측정은 전해질 측정기 (NOVA5, Japan)를 이용하였다. 혈장 성분은 감마 카운터기 (WIZARD 1470, Finland)를 이용하여 핵의학적 방법으로 aldosterone, dopamine, norepinephrine, epinephrine을 측정하였다.

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. Cell viability에 미치는 영향

hFCs에 대한 세포독성을 관찰한 결과, 대조군의 세포생존율이 100±2.4%인데 비하여, KSHT 투여군 500, 250, 125, 62.5, 31.25 ㎍/ml의 농도에서는 각각 88.5±9.2, 95.3±8.2, 95.4±11.8, 93.5±5.8, 97.7±4.4%로 나타났다(Table 3).

Table 3. Cytotoxicity of KSHT on Human Fibroblast Cells (hFCs)

KSHT Dose(㎍/㎖)	0	500	250	125	62.5	31.25
Cell viability	100±2.4	88.5±9.2	95.3±8.2	95.4±11.8	93.5±5.8,	97.7±4.4

Human fibroblast cells (hFCs) were treated with various concentration (31.25, 62.5, 125, 250, 500 ㎍/ml) of the KSHT extract.

2. 간 기능에 미치는 영향

간 기능 측정의 지표 성분인 GOT는 대조군이 101.8±6.95 I.U/l, 정상군이 88.2± 1.92 I.U/l로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (* : P <0.05) 증가를 나타냈다. KSHT 투여군에서는 94.3±5.5 I.U/l로 감소하였으나 유의성은 없었다. GPT 측정에서는, 정상군, 대조군, KSHT 투여군에서 각각 48.0±6.2 I.U/l, 57.0±12.8 I.U/l, 51.2±8.9 I.U/l로 큰 차이가 없었다. 결과적으로 KSHT 투여군은 GOT와 GPT의 수치가 정상 범위로 나타나 약물에 의한 간 독성은 발견되지 않았다(Table 4).

Table 4. Effect of KSHT on the GOT and GPT in DOCA-salt hypertensive rat.

Group	Normal	Control	KSHT
GOT(I.U/l)	101.8±6.95	88.2± 1.92*	94.3±5.5
GPT(I.U/l)	48.0±6.2	57.0±12.8	51.2±8.9

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

3. DPPH 소거능에 미치는 영향

DPPH의 소거 활성은 1000, 500, 250, 125, 62.5 ㎍/ml 농도에서 각각 70.7±1.7, 64.1±1.5, 59.4±1.0, 50.9±1.3, 43.9±1.9%의 소거 활성 효과를 나타내었다(Table 5).

Table 5. Scavenging activity of KSHT on DPPH free radical

KSHT Dose(㎍/㎖)	1000	500	250	125	62.5
DPPH 소거능(%)	70.7±1.7,	64.1±1.5,	59.4±1.0,	50.9±1.3,	43.9±1.9

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

4. ROS에 미치는 영향

Bovine 혈관 내피 세포에서 KSHT에 의한 ROS의 감소 효과를 측정한 결과, 대조군에 비하여 KSHT 투여군에서 ROS의 생성량이 감소하는 효과를 나타내었다(Fig. 1).

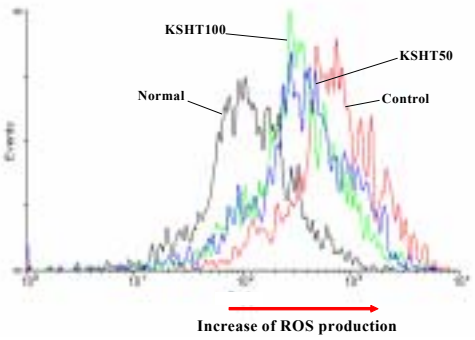

Fig. 1. The inhibitory effect of KSHT on Reactive Oxygen Species. Normal: CPEA cells, Control: CPEA cells and H_2O_2, KSHT100: CPEA cells and H_2O_2 and KSHT 100 ㎍/ml, KSHT50: CPEA cells and H_2O_2 and KSHT 50 ㎍/ml.

5. ACE 저해능에 미치는 영향

ACE 저해능을 측정한 결과, 1000, 500, 250, 125, 62.5 ㎍/ml 농도에서 각각 65.2±3.6, 55.0±0.9, 34.6±6.4, 26.3±3.8, -2.2±1.7%의 저해 효과를 나타내었다(Table 6).

Table 6. The inhibitory effect of KSHT on ACE

KSHT Dose(㎍/㎖)	1000	500	250	125	62.5
Inhibitory effect (%)	65.2±3.6,	55.0±0.9,	34.6±6.4,	26.3±3.8,	−2.2±1.7

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

6. 체중 및 장기 무게에 미치는 영향

DOCA-salt 고혈압 쥐의 몸무게에 미치는 영향을 측정한 결과, 대조군은 420.8±27.9 g, 정상군은 488.3±12.1 g으로 나타나, 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (*** : P <0.001) 감소를 나타내었다. KSHT 투여군은 476.0±25.2 g으로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게 (++ : P <0.01) 증가하여 정상군에 가까운 몸무게를 유지하였다. DOCA-salt 고혈압 쥐의 심장과 신장의 무게에 미치는 영향을 측정한 결과, 심장은 대조군이 4.1±0.2/Body Weight (mg/g), 정상군은 3.5±0.2/BW (mg/g)으로 나타났으나 유의성은 없었고, KSHT 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 KSHT 투여군은 3.7±0.2/BW (mg/g)으로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게 (++ : P <0.01)

감소하여, 정상군에 가까운 신장 무게를 유지하였다(Table 7).

Table 7. Effect of KSHT on the body weight and the heart and kidney weight in DOCA-salt hypertensive rat.

Group	Normal	Control	KSHT
Body weight(g)	420.8±27.9	488.3±12.1***	476.0±25.2++
Heart weight/BW(mg/g)	3.5±0.2	4.1±0.2	3.7±0.2
Kidney weight/BW(mg/g)	3.2±0.1	4.7±0.3***	3.7±0.2++

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 KSHT extract for 8 weeks (once a day. 145 mg/kg/ 200 ㎕). Normal : Normal SD rat. Control : DOCA-Salt, KSHT : DOCA-Salt and KSHT. Values represent the means ± SD of 6 rats. *** : P <0.001 compared to normal group. ++ : P <0.01 compared to control group.

7. 혈압과 심박수에 미치는 영향

DOCA-salt 고혈압 쥐의 혈압에 미치는 영향을 측정한 결과, 대조군은 175.2±5.4 mmHg, 정상군은 129.1±1.2 mmHg로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (*** : P <0.001) 증가를 나타내었다. KSHT 투여군은 147.0±7.0 mmHg로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (+++ : P <0.001) 강압 효과를 나타내었다. DOCA-salt 고혈압 쥐의 심박수에 미치는 영향을 측정한 결과, 대조군은 419.8±36.3 times/min, 정상군은 336.1±7.1 times/min로 나타나 정상군에 비하여 대조군이 유의성 있는 (* : P <0.05) 증가를 나타내었다. KSHT 투여군은 354.6±40.2 times/min로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (+ : P <0.05) 감소 효과를 나타내었다(Table 8).

Table 8. Effect of KSHT on the blood pressure and heart rate in DOCA-salt hypertensive rat.

Group	Normal	Control	KSHT
Blood pressure(mmHg)	129.1±1.2	175.2±5.4***	147.0±7.0+++
Heart rate(times/min)	336.1±7.1	419.8±36.3*	354.6±40.2+

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

8. Aldosterone과 Catecholamine 농도 변화에 미치는 영향

DOCA-salt 고혈압 쥐의 plasma aldosterone에 미치는 영향을 측정한 결과, 대조군은 117.2±24.2 pg/ml, 정상군은 44.1±9.9 pg/ml로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (*** : P <0.001) 증가를 나타내었다. KSHT 투여군은 71.9±15.7 (pg/ml)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (+ : P <0.05) 감소 효과를 나타내었다. DOCA-salt 고혈압 쥐의 plasma dopamine에 미치는 영향을 측정한 결과, 대조군은 165.2±29.2 pg/ml, 정상군은 102.5±0.9 pg/ml로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (* : P <0.05) 증가를 나타내었다. KSHT 투여군은 116.9±20.2 pg/ml로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (+ : P <0.05) 감소 효과를 나타내었다.

DOCA-salt 고혈압 쥐의 plasma norepinephrine에 미치는 영향을 측정한 결과, 대조군은 511.2±32.9 pg/ml, 정상군은 415.8±2.5 pg/ml로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (** : P <0.01) 증가를 나타내었다. KSHT 투여군은 433.4±21.1 pg/ml으로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (++ : P <0.01) 감소를 나타내었다. DOCA-salt 고혈압 쥐의 plasma epinephrine에 미치는 영향을 측정한 결과, 대조군은 4772.2±267.5 pg/ml, 정상군은 2640.5±159.5 pg/ml로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (** : P <0.01) 증가를 나타내었다. KSHT 투여군은 3464.9±746.5 pg/ml로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (+ : P <0.05) 감소 효과를 나타내었다(Table 9).

Table 9. Effect of KSHT on the plasma aldosterone, dopamine, norepinephrine, epinephrine in DOCA-salt hypertensive rat.

Group	Normal	Control	KSHT
Aldosterone(pg/ml)	44.1±9.9	117.2±24.2***	71.9±15.7+
Dopamine(pg/ml)	102.5±0.9	165.2±29.2*	116.9±20.2+
Norepinephrine(pg/ml)	415.8±2.5	511.2±32.9**	433.4±21.1++
Epinephrine(pg/ml)	2640.5±159.5	4772.2±267.5**	3464.9±746.5+

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

9. 전해질 변화에 미치는 영향

DOCA-salt 고혈압 쥐의 혈청 중의 sodium (Na^+)의 농도에 미치는 영향을 측정한 결과, 대조군은 150.1±1.0 mEq/l, 정상군은 140.1±0.8 mEq/l로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (* : P <0.05) 증가를 나타내었다. KSHT 투여군은 144.5±3.0 mEq/l로 나타나 대조군에 유의성 있게 (+ : P <0.05) 감소하였다. 혈청 중의 potassium (K^+) 농도를 측정한 결과, 대조군은 5.8±0.2 mEq/l, 정상군은 4.9±0.3 mEq/l로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (** : P <0.01) 증가를 나타내었다. KSHT 투여군은 5.3±0.3 mEq/l로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (+ : P <0.05) 감소 효과를 나타내었다. 혈청 중의 Chloride (Cl^-) 농도를 측정한 결과, 대조군은 104.3±0.5 mEq/l, 정상군은 95.6±1.1 mEq/l로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (** : P <0.01) 증가를 나타내었다. KSHT 투여군은 101.1±0.9 mEq/l로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (+ : P<0.05) 감소 효과를 나타내었다. 혈청 중의 Calcium (Ca^{2+}) 농도를 측정한 결과, 대조군은 0.99±0.11 mEq/l, 정상군은 1.33±0.02 mEq/l로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (** : P <0.01) 감소를 나타내었다. KSHT 투여군은 1.29±0.03 mEq/l로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (++ : P <0.01) 증가 효과를 나타내었다(Table 10).

Table 10. Effect of KSHT on the sodium (Na^+), potassium(K^+), chloride (Cl^-) in DOCA-salt hypertensive rat.

Group	Normal	Control	KSHT
Sodium(mEq/l)	140.1±0.8	150.1±1.0*	144.5±3.0+
Potassium(mEq/l)	4.9±0.3	5.8±0.2**	5.3±0.3+
Chloride(mEq/l)	95.6±1.1	104.3±0.5**	101.1±0.9+
Calcium	1.33±0.02	0.99±0.11**	1.29±0.03++

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

10. 신장 기능 인자 변화에 미치는 영향

혈청 중의 uric acid의 농도를 측정한 결과, 대조군은 3.5±0.7 mg/dl, 정상군은 1.5±0.3 mg/dl로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (** : P <0.01) 증가를 나타내었다. KSHT 투

여군은 1.5±0.6 mg/dl로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (++ : P <0.01) 감소 효과를 나타내었다. 혈청 중의 BUN 농도를 측정한 결과, 대조군은 31.4±2.4 mg/dl, 정상군은 17.9±4.1 mg/dl로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (** : P <0.01) 증가를 나타내었다. KSHT 투여군은 25.8±4.5 mg/dl로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (+ : P <0.05) 감소 효과를 나타내었다. 혈청 중의 creatinine 농도를 측정한 결과, 대조군은 0.76±0.05 mg/dl, 정상군은 0.62±0.04 mg/dl로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있는 (** : P <0.01) 증가를 나타내었다. KSHT 투여군은 0.68±0.04 mg/dl로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게 (* : P <0.05) 감소하였다(Table 11).

Table 11. Effect of KSHT on the uric acid, BUN and creatinine in DOCA-salt hypertensive rat.

Group	Normal	Control	KSHT
Uric acid(mg/dl)	1.5±0.3	3.5±0.7**	1.5±0.6++
BUN(mg/dl)	17.9±4.1	31.4±2.4**	25.8±4.5+
Creatine(mg/dl)	0.62±0.04	0.76±0.05**	0.68±0.04+

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

고 찰

고혈압이란 18세 이상의 성인에게서 수축기 혈압이 135 mmHg 이상이거나 이완기 혈압이 85 mmHg 이상인 상태로[2], 원인에 따라 크게 본태성 고혈압과 속발성 고혈압으로 구분할 수 있다. 본태성 고혈압은 전체 고혈압의 90% 이상을 차지하고 있으나 아직 그 발생기전이 완전히 규명되지 않은 실정이며, 속발성 고혈압은 신장질환, 내분비 이상, 각종 약제 및 임신 등으로 인해 이차적으로 발생되며, 전체 고혈압의 10% 이내를 차지하고 있다[5,34]. 대부분의 고혈압은 증상이 없으나 합병증에 따라 두통, 두중, 이명, 현기증, 피로감, 심계항진 등이 있으며, 고혈압으로 가장 흔히 침범되는 장기로는 뇌혈관, 심장, 신장, 안저, 말초혈관 등이 있다[34].

고혈압을 유발하는 위험 인자로 연령, 비만, 염분, 스트레스, 유전, 혈청지질, 흡연, 알콜 등을 들 수 있으며, renin-angiotensin 계의 활성에 의한 혈관 수축과 이에 따른 aldosterone 분비에 의한 혈장량 증가, 교감신경계 활성도 증가에 의한 심박수 및 심박출량 증가 등이 발병 기전으로 밝혀져 있다[35].

혈압 조절은 각각 특정한 작용을 하는 신경성 조절기전과 체액성 조절기전이 서로 연관되어 이루어진다. 신경성 혈압 조절기전은 매우 강력하고, 신체의 상황에 따라 신속하게 전신에 분포되어 있는 혈관을 축소 또는 확장시켜 혈관의 저항을 변화시키고, 심장의 박출량에도 영향을 미쳐 혈압을 조절한다. 혈압을 조절하는 중추는 연수에 있는 심장 중추와 혈관운동중추이다. 심장조절중추의 원심 신경에는 교감신경과 부교감신경이 있고, 이들은 서로 길항 작용에 의해 심장 기능을 조절한다. 혈관운동중추에 들어오는 자극은 대동맥궁과 경동맥궁에 있는 압력수용기(baroreceptor)에서 시작되는데 혈압이 높아지면 경동맥동 및 대동맥의 혈관벽이 늘어남으로써 압력수용기가 자극받고, 이는 혈관운동중추에 전달되어 다시 심장과 혈관에 작용하여 혈압을 떨어트린다[36].

신장 또는 부신피질에서 분비되는 호르몬에 의하여 혈압이 조절되는 것을 체액성 조절이라고 한다. 신장의 혈류량이 감소되면 신장의 세뇨관 부분에서 renin이라는 호르몬이 혈관내로 분비된다. renin은 혈장내의 angiotensinogen과 결합하여 angiotensin Ⅰ을 형성하고, 이는 다시 angiotensin converting enzyme(ACE)에 의하여 angiotensin Ⅱ로 전환된다. Angiotensin Ⅱ는 혈관수축 작용이 있어 혈압을 상승시키며 부신피질에도 작용하여 aldosterone의 분비를 촉진한다. Aldosterone은 신장의 원위세뇨관에서 Na^+의 재흡수와 K^+의 분비를 촉진한다. 그 결과 Na^+의 축적으로 삼투 농도가 높아져 소변의 양은 감소하고 혈액량은 증가하여 혈압을 상승시킨다[37,38].

현재 사용되고 있는 고혈압 치료제에는 교감신경 수용체 차단제, 혈관확장제, 전환효소 억제제, 칼슘통로 차단제 및 이뇨제 등이 있으나 혈압을 높이는 제반요인들을 개선하는 비 약물요법 즉 규칙적인 운동, 금연, 저염식, 식이요법에 의한 체중감소, 과다한 음주의 제한, 명상 등을 이용한 이완요법이 강조되고 있다[5].

한의학에서는 고혈압이란 명칭은 없으나 이에 준하는 증후로 中風, 頭痛, 眩暈, 心火亢炎, 肝風內動 등을 들 수 있으며, 특히 中風의 原因은 고혈압과 밀접한 관계가 있다[39].

본 실험에서 사용한 加味順氣活血湯은 中風의 前兆證, 卒中證, 後遺症에 사용되는 順氣活血湯에 고혈압과 관상동맥경화로 인한 심장질환을 치료한다고 보고되어진 防風[7], 石菖蒲[8], 竹茹[9,10], 丹蔘[11], 牛膝[12,13], 山査肉[14], 龍骨, 牡蠣[15-17], 釣鉤藤[18], 稀簽[19](酒蒸)을 加味하였다. 順氣活血湯[6] 처방의 構成 藥物에 대한 效能을 살펴보면, 香附子는 理氣解鬱, 止痛調經하고, 烏藥은 順氣開鬱, 散寒止痛하며, 橘皮는 理氣調中, 燥濕化痰하고, 半夏는 燥濕化痰, 降逆止嘔, 消痞散結하며, 赤茯苓은 行水, 泄利濕熱하고, 蒼朮은 燥濕健脾, 祛風散寒하며, 桔梗은 宣肺利咽, 祛痰排膿하며, 枳殼은 理氣行痰, 消積하고, 白芷는 祛風除濕, 通竅止痛, 消腫排膿하며, 木香은 行氣止痛, 溫中和胃하며, 生薑은 解表散寒, 溫中止嘔, 化痰止咳하고, 甘草는 諸藥을 調和하는 작용이 있다[40].

이에 저자는 加味順氣活血湯이 고혈압에 미치는 효과를 실험적으로 규명하고자 DOCA-salt를 투여하여 고혈압을 유발시킨 흰 쥐에게 加味順氣活血湯 추출물을 경구 투여하여 세포독성 및 간에 대한 독성 검사를 통한 안정성을 검증한 뒤 체중과 혈압 및 심박수의 변화, 혈중 aldosterone과 catecholamine 함량 및 전해질 함량의 변화, 신장 기능의 변화를 측정하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

KSHT의 안전성 검증을 위하여 정상군과 대조군 및 KSHT를 투여한 실험군의 hFCs의 세포생존율과 간 기능 측정 지표인 GOT와 GPT를 측정한 결과, 세포 생존율에서 투여군의 500 ㎍/㎖ 농도에서만 88.5 ± 9.2%로 측정되고 나머지 농도에서는 90% 이상의 수치가 측정되었으며, GOT, GPT의 수치에서도 정상 범위의 수치로 나타나 약물에 의한 간 독성은 발견되지 않았다.

활성산소는 짧은 시간이나마 일정시간동안 혼자 독립적으로 존재 할 수 있는 능력이 있는 물질이며 반응성이 강한 물질이다.

특히 산소는 생명활동을 위해서 호흡을 통해 흡수되어 그 중 95%는 영양소를 산화시켜 ATP로 만들어 에너지로 사용하며 생명활동에 쓰이지만, 나머지 5%는 활성산소로서 변환되어 유전자, 효소, 세포막 등을 파손하는 유해성을 보인다. 활성산소는 생체세포를 공격하여 지질과 단백질 핵산(DNA, RNA)을 파괴하고, 여러가지 효소기능들을 저해하여 질병(암과 노화)을 촉진한다[41,42].

활성산소종(reactive oxygen spices, ROS)은 일반적으로 정상적인 호기성 대사과정 부산물로서 산소의 부분적인 환원에 의해서 생성될 뿐만 아니라 리간드-수용체에 매개되는 신호전달과정에 의해서도 생성된다고 알려져 있는데, 이것에 노출되어 나타나는 산화 스트레스는 모든 생물체에서 심각한 기능손상이나 질병을 유발시킨다[43].

DPPH는 그 자체가 매우 안정한 free radical로서 517 ㎚에서 특징적인 광 흡수성을 나타내는 보라색 화합물이다. 이 radical은 알콜 등의 유기용매에서 매우 안정하며, 특히 여러 가지 항산화 기작 중 proton-radical scavenger에 의하여 탈색되기 때문에 항산화 활성을 육안으로도 쉽게 관찰할 수 있는 장점이 있다[44]. 활성산소는 그 자체로 혈관 내피세포를 파괴하거나 LDL-콜레스테롤을 공격해서 산화시키는 등의 기전으로 혈관 협착을 야기하고, Ca^{2+}의 유입을 증가시켜 고혈압을 유발한다[41,42].

KSHT의 항산화 활성에 미치는 영향과 ACE 저해능에 대해 알아보고자 DPPH 소거능과 ROS의 감소 효과, ACE 저해 활성을 측정한 결과, DPPH의 소거 활성 효과가 농도 의존적으로 증가함을 확인하였고, ROS의 감소 효과를 측정한 결과 대조군에 비하여 KSHT 투여군에서 ROS의 생성량이 감소하는 효과를 나타내었다. 또한 ACE 저해능에서도 농도 의존적으로 저해 효과가 증가함을 확인하였다. 이는 KSHT가 활성 산소의 항산화 활성을 저해하고 활성 산소와 ACE에 의한 고혈압 유발 기전에 영향을 미칠 것으로 사료된다.

DOCA-salt 고혈압 유발 흰 쥐의 체중 및 장기에 미치는 영향을 측정한 결과, 체중은 정상군에 비하여 대조군에서 420.8±27.9 g으로 나타나 유의성 있는 감소를 보였으나 KSHT 투여군에서는 476.0±25.2 g으로 나타나 대조군에 비해 유의성 있게 증가하여 정상군에 가까운 체중을 나타내었다. 심장과 신장의 무게를 측정한 결과 심장의 무게에서는 정상군, 대조군 KSHT 투여군에서 유의성 있는 변화를 보이지 않았으나, 신장의 무게는 대조군에서 유의성 있는 증가를 보인 반면 KSHT 투여군에서는 대조군에 비해 유의성 있게 감소하여 정상군에 가까운 신장 무게를 유지하였다. 또한 정상군과 대조군, KSHT 투여군의 혈압 및 심박수를 측정하였는데 혈압은 대조군이 175.2±5.4 mmHg인데 비하여 KSHT 투여군이 147.0±7.0 mmHg으로 나타나 유의성 있는 강압효과를 보였으며, 심박수는 대조군은 419.8±36.3 times/min으로 나타난 반면 KSHT 투여군은 336.1±7.1 times/min으로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 감소효과를 나타내었다. 이처럼 KSHT 투여군이 체중과 심장과 신장의 무게를 정상군에 가깝게 유지하면서도 심박수를 저하시키고 혈압을 하강시키는 작용에 있어 대조군에 비하여 유의성 있는 효과를 보인 것으로 미루어보아 加味順氣活血湯이 부분적으로 혈압 조절 기전에 영향을 미칠 것으로 사료된다.

Aldosterone은 신의 원위세뇨관과 집합관에 작용하여 Na^+ 재흡수와 K^+ 배설을 촉진함으로서 세포 외액과 혈장량을 적절하게 유지하는 역할을 하고 있다. 따라서 aldosterone의 과잉은 Na^+ 유지, K^+ 소실, 세포 밖 액체 부피의 팽창 및 고혈압을 일으키는 원인이 된다[38,45].

Renin-aldosterone system에 관련된 혈압 상승 억제에 관련된 효과를 알아보기 위하여 plasma aldosterone에 미치는 영향을 측정한 결과, KSHT 투여군에서 대조군에 비하여 유의성 있는 감소 효과를 나타내었다. 이는 加味順氣活血湯이 신성 hormone에 의한 혈압 조절 체계에 작용하여 혈압 상승을 억제하는 것에 관련된 것으로 사료된다.

Dopamine, norepinephrine, epinephrine과 같은 catecholamine은 주로 교감신경, 부신수질, 중추신경계에 분비되어 중추신경계 및 말초신경계의 신경전달 물질로 작용한다. Catecholamine은 주로 심혈관계에 작용하여 체액량과 전해질의 조절작용을 하고 혈관수축을 촉진하고, renin 분비에 간접적으로 관여하며, 심박출량을 증가시키고 긴장성 혈관 수축을 유발하여 혈압을 상승시키는 것으로 보고되고 있다[35,36,46]. Dopamine은 뇌에서 분비되는 catecholamine으로 저혈압 상태에서 직접적으로 심근의 β-수용체에 대한 작용과 교감신경말단에서 간접적으로 norepinephrine을 유리하여 심근수축력 상승효과를 나타낸다[35]. 부신수질에서 분비되는 norepinephrine과 epinephrine은 직접적으로 아드레날린성 수용체를 자극하여 혈압을 상승하고 혈류량을 조절하여 혈액순환을 유지한다[45].

KSHT의 신경성 혈압 조절에 대한 작용을 알아보기 위해 혈장내의 catecholamine 중 dopamine, norepinephrine, epinephrine의 농도를 측정하였다. 혈장 분석 결과 대조군에서는 각각의 catecholamine이 정상군에 비해 유의성 있는 증가를 보였고 KSHT 투여군에서는 대조군에 비하여 유의성 있는 감소를 보여주었다. 이는 加味順氣活血湯이 자율신경계를 안정시키면서 심근의 β-수용체의 흥분을 억제하여 심근 수축을 억제하고 아드레날린성 수용체를 억제하여 혈압을 하강하는 효과를 보이는 것으로 사료된다.

세포막에는 sodium 펌프 외에도, sodium/calcium 교환 기전이 존재한다. 이 교환은 세포내의 어느 방향으로도 이루어질 수 있는데, sodium pump의 억제에 의하여 세포내 sodium 농도가 증가하면, 전기화학적 경사에 의해서 sodium이 세포 외로 배출되고, calcium이 세포 내로 유입되는 교환이 활발해지면서 세포내 calcium 농도가 상승한다[46]. 이는 calcium-calmodulin 결합체를 생성하며 혈관을 수축시키고, 신경세포내의 calcium 농도가 상승하면 norepinephrine의 분비가 증가되며 분비된 catecholamine의 재흡수가 억제된다. 따라서 결과적으로 교감신경의 항진으로 나타나게 되고 혈압은 상승하게 된다.이로 인해 혈압의 상승을 억제하기 위해 항고혈압 약물(Ca 통로 차단제)을 사용하여 Ca^{2+}의 세포 내 유입을 억제하면 혈중 Ca^{2+}의 수치는 증가하지만 혈압은 하강하는 것으로 알려져 있다[47,48].

대조군과 KSHT 투여군과의 전해질 변화를 비교한 결과,

sodium의 농도는 대조군의 경우 150.1±1.0 mEq/L, KSHT 투여군 144.5±3.0 mEq/L로, potassium의 농도는 대조군 5.8±0.2 mEq/L, KSHT 투여군 5.3±0.3 mEq/L로, chloride의 경우 대조군 104.3±0.5 mEq/L, KSHT 투여군 101.1±0.9 mEq/L로 각각 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였으며 calcium의 경우 대조군 0.99±0.11 mEq/L, KSHT 투여군 1.29±0.03 mEq/L로 대조군에 비하여 유의성 있는 증가를 보였다. 이는 加味順氣活血湯이 고혈압 기전과 관련된 전해질의 작용에 반응하는 것으로 생각되며, 또한, 혈중 Ca^{2+}의 농도가 상승했다는 것은 Ca^{2+}의 세포 내 유입이 차단되어 혈압 상승이 억제되었다는 사실을 나타내는 근거가 되는 것으로 사료된다.

간에 의해 독성 purine에서 전환된 혈청 중, uric acid는 신장에서 사구체 여과와 세뇨관에서의 재흡수에 의해 조절되며, 통풍, 신장질환, 백혈병, 임신 중독증 등의 질병에 의해 증가된다[37]. Blood urea nitrogen(BUN)은 혈중에 존재하는 urea 내 질소를 표현한 것으로 신장 질환과 관계가 깊은 질소대사산물로 신장 기능의 대표적 지표이고, creatinine은 신장의 배설 기능에 관련이 있기 때문에 신 혈류량 감소, 신사구체 여과율이 감소할 경우에 증가되는데 신장질환과의 상관성이 높아 혈청 creatinine 농도는 간단한 신장 기능의 지표로서 중요시되고 있다[49,50].

본 실험에서 KSHT의 신장 기능에 미치는 영향을 알아보고자 혈청 중 uric acid, BUN 및 creatinine의 농도를 측정한 결과, KSHT 투여군에서는 모든 항목에서 대조군에 비하여 유의성 있는 감소 효과를 나타내어 지속적인 DOCA-salt의 투여로 인한 신장 기능 장애를 부분적으로 막을 수 있는 것으로 사료된다.

이상의 결과들을 종합해 보면, 加味順氣活血湯은 농도 의존적인 DPPH 소거능 증가와 ROS 감소 및 ACE 저해 효과를 나타내었고, aldosterone 및 catecholamine 함량을 유의하게 감소시켰다. 전해질 대사에 있어서도 Na^+, K^+, Cl^-를 감소시키고 Ca^{2+}를 증가시킴으로서 혈압강하 효과가 있는 것으로 파악되었고, 또한 uric acid 및 BUN, creatinine 또한 유의하게 감소시켜 신장 기능 회복에도 효과가 있는 것으로 파악되었다. 따라서 加味順氣活血湯은 고혈압의 치료 및 예방에 유용하게 활용될 수 있을 것으로 사료되며, 향후 보다 심도 있고 지속적인 연구가 필요하리라 생각된다.

결 론

加味順氣活血湯이 고혈압에 미치는 영향을 알아보기 위하여 DOCA-salt를 투여하여 고혈압을 유발시킨 흰쥐에게 加味順氣活血湯 추출물을 경구투여한 후 혈압 및 심박수의 변화, 혈장 내 aldosterone과 catecholamine 함량의 변화, 전해질 변화와 신장 기능의 변화를 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

加味順氣活血湯에 의해 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) 소거능은 농도 의존적으로 증가하였고, Reactive Oxygen Species (ROS) 생성량은 농도 의존적으로 감소하여 항산화 활성 효과를 나타내었다. 加味順氣活血湯에 의해 ACE 저해능은 농도 의존적으로 증가하였다. 加味順氣活血湯은 DOCA-salt 유발 고혈압백서에서 유의성 있는 혈압강하와 심박동수 감소 효과를 나타내었다. 加味順氣活血湯은 부신피질 hormone 중 aldosterone의 함량을 유의성 있게 감소시켰다. 加味順氣活血湯은 catecholamine 중 dopamine 및 norepinephrine, epinephrine 함량을 유의성 있게 감소시켰다. 加味順氣活血湯은 혈중 Na^+, K^+, Cl^-의 농도는 유의성 있게 감소시켰으며, Ca^{2+}는 유의성 있는 증가효과를 보였다. 加味順氣活血湯은 혈중 uric acid 및 BUN, creatinine 함량을 유의하게 감소시켰다.

이상의 결과로 미루어 보아 加味順氣活血湯은 여러 기전에 의해 혈압강하 효과가 있어 임상에서 고혈압의 예방과 치료에 응용될 수 있으리라 사료된다.

참고문헌

1. 김기훈, 문재우. 공중보건학. 서울, 정문각, pp 337-347, 1999.
2. A.V. chobanion, G.L. Bakris, H.R. Black, W.C. Cushman, L.A. Green, J.L. Izzo, D.W. Jones, B.J. Materson, S. Oparil, J.T. Wtight, E.J. Roccella and National High Blood Pressure Education Coordinating Committee. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Direction, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. JAMA. 289: 2560-2571, 2003.
3. 의학교육 연수원 편. 가정의학 3판. 서울, 서울대학교출판부, pp 414-425, 2001.
4. 굴송백 외. 실용중의심혈관병학. 북경, 과학기술문헌출판사, pp 347-354, 1993.
5. 전국한의과대학심계내과학교실 편. 심계내과학. 서울, 서원당, pp 189-199, 1999.
6. 김영훈. 청강의감. 서울, 성보사, pp 224-225, 2001.
7. 盧昇奎 姜成吉. 防風水鍼이 高血壓 및 高脂血症에 미치는 影響. 慶熙韓醫大論文集 8: 157-170, 1985.
8. 김재환. 石菖蒲의 心筋細胞 calcium-overload 억제에 미치는 영향. 경희대학교 대학원, 2006.
9. 강태운. 竹茹 竹葉 및 竹瀝이 高脂血症에 미치는 影響. 대전대학교 대학원, 1995.
10. 문경숙. 太白·神門 및 大敦·湧泉에 시술한 竹茹 藥鍼이 2K1C 고혈압 白鼠의 혈압에 미치는 영향. 동신대학교 대학원, 2006.
11. 유장현. 丹蔘의 高血壓 白鼠 血壓에 미치는 影響. 원광대학교 대학원, 2001.
12. 정옥미. 우슬의 특이적인 진통 작용에 관한 연구. 전남대학교 대학원, 1998.
13. 김정일. 國産 牛膝의 ecdysterone 抽出과 그 生理活性에 관한 硏究. 서울대학교 대학원, 1983.
14. 채종구. 내피세포 Nitric Oxide 유리를 통한 山사의 혈관이완 작용. 東國大學校 大學院, 2002.
15. 김태중, 임희용, 관민아, 변준석, 서정철, 한상원. 小建中湯加龍骨,牡蠣의 항산화효과, 세포활성 및 유전자 발현에 미치는 영향. 大韓本草學會誌 18(2):1-12, 2003.
16. 김상수. 桂枝加龍骨牡蠣湯의 效能에 관한 實驗的 연구. 경희

대학교 대학원, 1994.
17. 우병철. 시호가용골모려탕가감방이 고혈압 및 고지혈증에 작용하는 효과. 경희대학교 대학원, 1997.
18. 강형원, 박진성, 류영수, 이건목. 釣鉤藤이 酸素自由基에 의하여 損傷된 培量脊髓感覺神經節細胞에 미치는 影響에 關한 硏究. 동의신경정신과학회지 11(1):1-18, 2000.
19. 조현모. 豨簽이 血壓과 血糖에 미치는 影響. 대전대학교 대학원, 1998.
20. 韓德熙. 肝陽上亢方이 高血壓에 미치는 影響. 大田大學校 大學院, 2005.
21. 申皇秀. 加味導赤散이 高血壓에 미치는 影響. 大田大學校 大學院, 2004.
22. 유병찬, 오영선, 김윤식, 설인찬. 加味鷄血藤湯이 高血壓에 미치는 影響. 대한한방내과학회지 25(4):52-64, 2004.
23. 金鍾仁. 地黃飮子가 腦損傷 및 高血壓에 미치는 影響. 大田大學校 大學院, 2001.
24. 이기상 외. 瀉心湯이 白鼠의 血壓 및 局所 腦血流量에 미치는 影響. 대한한의학회지 21(3):417-424, 2001.
25. 南昌圭. 凉膈散火湯이 高血壓 및 高脂血症에 미치는 影響. 大田大學校 大學院 韓醫學科碩博論考 2: 226-228, 1999.
26. 林俊植. 滲濕湯이 高血壓 및 高脂血症에 미치는 影響. 大田大學校 大學院 韓醫學科碩博論考 21(3):417-424, 2000.
27. 박창국. 順氣活血湯 및 加味順氣活血湯이 瘀血病態模型에 미치는 영향. 東西醫學, 23(2):1-15, 1998.
28. 손원택. 順氣活血湯이 흰쥐의 骨折癒合에 미치는 影響. 大田大學校 大學院, 2002.
29. 이기서. 順氣活血湯이 高脂血症 病態 모델에 미치는 影響. 大田大學校 大學院, 2005.
30. 정영득. 順氣活血湯의 腦虛血 抑制效果에 관한 實驗的 硏究. 동신대학교 대학원, 2005.
31. The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Philip Molyneux. Songklanakarin Journal. 36(2):211-219, 2004.
32. Reactive oxygen species: role in the development of cancer and various chronic conditions. Gulam Waris and Haseeb Ahsan. Journal of Carcinogenesis. 14(5):1-8, 2006.
33. 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.
34. 이영우 외. 고혈압. 서울, 고려의학, pp 11-33, 112-115, 167-195, 2000.
35. Kurt, J. Isselbacher. 해리슨 내과학. 서울, 정담출판사, pp 446-455, 1202-1207, 1997.
36. 김종규. 생리학. 서울, 정문각, pp 46, 300-301, 1998.
37. Stuart Ira Fox. 생리학. 서울, 라이프 사이언스, p 305, 405, 2004.
38. 성호경, 김기환. 생리학. 서울, 의학문화사, pp 374-376, 1996.
39. Ignarro, L.J., Kadowitz, P.J. The pharmacological and physiological role of cyclic GMP in vascular smooth muscle relaxation. Annu Rev Pharmacol toxicol. 25: 171-191, 1985.
40. 전국한의과대학 본초학교실. 본초학. 서울, 영림사, pp 130, 193-195, 276-277, 290, 302-306, 369-370, 409, 419-420, 427-428, 491-462, 503-504, 513-514, 537-538, 580-581, 626-627, 1999.
41. Gulam Waris, Haseeb Ahsan. Reactive oxygen species: role in the development of cancer and various chronic conditions. Journal of Carcinogenesis 5(14):1-8, 2006.
42. 대한병리학회. 병리학. 서울, 고문사, p 995, 1998.
43. 장호희, 김선영, 이상열. 산화스트레스에 의존한 식물 및 진핵세포 2-시스테인 퍼록시레독신의 기능 조절. 식물생명공학회지 33(1):1-9, 2006.
44. Blois, M.S. Antioxidant determination by the use of stable free radical. Nature. 181: 1199-2000, 1958.
45. 대한내분비학회. 내분비학. 서울, 고려의학, pp 532-545, 1999.
46. GianPaolo Rossi, Alberto Rossi, Alfredo Sacchetto, Edoardo Pavan, and Achille C. Pessina. Hypertensive Cerebrovascular Disease and the Renin-Angiotensin System. Stroke 26: 1700-1706, 1995.
47. S.M. Eleff, Y. Maruki, L.H. Monsein, R.J. Traystman, R.N. Bryan, R.C. Koehler. Sodium, ATP, and intracellular pH transients during reversible complete ischemia of dog cerebrum. Stroke 22: 233-241, 1991.
48. 曺奉鉉. 加味四物湯이 高血壓에 미치는 影響. 大田大學校 大學院, 2005.
49. 이귀녕, 권오헌. 임상병리파일. 서울 의학문화사, pp 95-98, 102-105, 373-374, 2000.
50. 대한임상의학연구소. 알기쉬운 건강진단해설. 서울, 의학문화사, pp 38-39, 103-104, 1994.