당귀수산과 삼황사심탕의 혈관이완효과

고 흥 · 신선미 · 박선영[1*]

세명대학교 제천한방병원 한방내과, 1 : 세명대학교 한의과대학 생리학교실

Endothelium-Dependent Vasorelaxation Effects of DangGuiSu-San, SamHwangSaSim-Tang extract on Rabbit Carotid Artery

Heung Ko, Seon Mi Shin, Sun Young Park[1]*

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

This study was conducted to evaluate the vasorelaxant effect of DangGuiSu-San and SamHwangSaSim-Tang extract on contracted rabbit carotid artery. To study the effect of DangGuiSu-San and SamHwangSaSim-Tang extract on contracted rabbit carotid arterial strips, arterial strips with intact or damaged endothelium were used for experiment using organ bath. The pre-contracted arterial strips with Phenylephrine(PE) was treated with various concentrations of DangGuiSu-San and SamHwangSaSim-Tang extract(0.01, 0.03, 0.1, 0.3 and 1.0 ㎎/㎖). To determine the mechanisms of DangGuiSu-San and SamHwangSaSim-Tang-induced vasorelaxant, DangGuiSu-San and SamHwangSaSim-Tang extract were infused into contracted arterial rings which had been pretreated by indomethacin(IM), tetraethylammonium chloride(TEA), Nω-nitro-L-arginine ($_L$-NNA), methylene blue(MB). And calcium chloride(Ca) 1 mM was infused into precontracted arterial ring induced by PE after treatment of DangGuiSu-San and SamHwangSaSim-Tang extract in Ca^{2+}-free krebs solution. DangGuiSu-San and SamHwangSaSim-Tang extract revealed significant relaxation on PE-induced arterial contraction. DangGuiSu-San and SamHwangSaSim-Tang extract also had an effective relaxation to the intact endothelium arterial ring. SamHwangSaSim-Tang extract on contracted rabbit carotid artery is related with NO-cGMP pathway. Pretreatment of DangGuiSu-San and SamHwangSaSim-Tang extract inhibited the contraction by influx of extracellular Ca^{2+} in contracted arterial ring induced by NE. This study indicated that the relaxation effect of SamHwangSaSim-Tang extract on contracted rabbit carotid artery is related with NO-cGMP pathway. Pretreatment of DangGuiSu-San and SamHwangSaSim-Tang extract inhibited the contraction by influx of extracellular Ca^{2+} in contracted arterial ring induced by NE

keywords : DangGuiSu-San, SamHwangSaSim-Tang, vasorelaxation effect, NO, Ca^{2+}

서 론

당귀수산(當歸鬚散)은 1575년 명대 의학입문(醫學入門)에서 "治打撲 以致氣凝血結 胸腹脇痛. 或寒熱" 하는 처방으로 처음 제시되었다[1]. 동의보감(東醫寶鑑)에서는 杖傷, 顚撲墮落壓倒傷에서 당귀수산(當歸鬚散)을 언급하고, "治打撲損傷 致氣凝血結 胸腹脇痛" "免血攻心"[2]이라 하여 타박상과 타박손상에서 발생하는 혈전과 연관된 질환을 예방하는 것으로 언급되었다. 당귀수산(當歸鬚散)은 타박손상을 유발시킨 어혈 동물모델에서 유영 운동능력을 향상시키고[3], 외상성 창상 병태모델에서 항염증과 창상면적을 감소시키고[4], 임상보고에서는 흉부타박상에서 발생하는 염증반응을 억제하여 회복기간을 단축시키고[5] 교통사고에서 발생하는 통증을 호전시키는 것으로 보고되었다. 삼황사심탕(三黃瀉心湯)은 금궤요략(金匱要略)에서 처음으로 "心氣不足 吐血衄血 瀉心湯主之"[6]라 하여 출혈성 질환에 사용되는 처방으로 언급되었고, 동의보감에서도 嘔血, 吐血에 사용하여 지혈을 목적으로 사용하였다[2]. 실험보고에서는 간세포의 지방축적 억제[7], 항염증[8], 발모효과[9], 항고혈압[10]이 보고되었고, 임상보고에서는 지혈과 관련된 것으로 소화성 궤양환자에서 지혈효과[11]가 보고되었다.

혈관이 수축하면 혈액흐름이 제한되고 감소되며 혈관저항이 증가되는데, 출혈에서 혈액손실을 막는데 중요하다. 반대로 혈관이 이완되면 혈관저항의 감소와 혈액의 흐름이 증가한다. 출혈성질환

* Corresponding author
Sun-Young Park, Department of Physiology, College of Korean Medicine, Semyung University 65, Semyung-ro, Jecheon-si, Chungcheongbuk-do, Korea
·E-mail : blbee@semyung.ac.kr ·Tel : +82-43-649-1345

·Received : 2019/05/22 ·Revised : 2019/07/18 ·Accepted : 2019/07/31

ⓒ The Society of Pathology in Korean Medicine, The Physiological Society of Korean Medicine

pISSN 1738-7698 eISSN 2288-2529 http://dx.doi.org/10.15188/kjopp.2019.08.33.4.198
Available online at https://kmpath.jams.or.kr

에서는 손상된 혈관의 수축반응이 있고, 혈전이 형성되게 되면 혈류감소가 유발된다[12]. 어혈에 사용되는 처방은 혈전이 있는 경우에 혈관을 확장시켜 혈류감소를 개선하는 기전과 같이 혈관을 이완시키고, 지혈에 사용되는 처방은 출혈에서 혈관을 수축하는 기전과 같이 혈관을 수축시키는 작용이 강할 것으로 사료된다. 당귀수산(當歸鬚散)은 어혈(瘀血)에 사용하는 처방으로, 삼황사심탕(三黃瀉心湯)은 지혈(止血)에 사용되는 처방으로 어혈과 지혈의 목적에서 사용되는 처방이 혈관 수축과 이완에 미치는 영향을 살펴보고자 하였다.

이에 본 연구는 수컷 토끼의 경동맥을 이용하여 혈관절편을 만들고, 혈관내피세포가 보존된 혈관절편과 혈관내피세포가 제거된 혈관절편에 Phenylephrine(PE)로 수축을 유발하여 혈관이완 효과를 확인하였다. 혈관내피세포가 보존된 혈관절편을 이용하여 Indomethacin, Tetraethylammonium chloride, Nω-nitro-L-arginine, Methylene blue을 전처치하고 PE로 수축시켜 약물의 이완 기전을 탐색하고, Ca^{2+}-free solution에서 혈관절편을 수축시켜 칼슘으로 인한 혈관 수축에 대한 이완효과를 확인하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

본 실험에는 체중 2 kg 정도의 New zealand white 수컷 토끼(샘타코, 한국)를 사용하였다. 실험동물은 사료와 물을 충분히 섭취하게 하면서 1주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 사용하였다. 본 동물실험은 세명대학교 동물실험윤리위원회의 승인(smecac 19-01-01)을 거쳐 실시하였다.

2. 한약제제 구입 및 추출물 제조

1) 당귀수산(當歸鬚散) 제제 구입 및 추출물 제조

當歸鬚散에 들어가는 한약제제는 모두 ㈜동의보감에서 구입하여 사용하였다. 추출물은 當歸鬚散(DangGuiSu-San, D) 330 g을 증류수 2000 ㎖과 함께 round flask에 넣고 2시간 동안 가열 추출하였다. 추출액은 rotary evaporator(Eyela, Japan)로 감압 농축한 후 동결건조기로 건조하여, 분말 50.38 g(15.3%)을 제조하였다.

Table 1. Prescription of DangGuiSu-San per pack

Name of Herbs	Pharmacognostic Name	Weight(g)
當歸尾	Angelicae Gigantis Radix	6
赤芍藥	Paeonia Lactiflora Pallas	4
烏 藥	Linderae Radix	4
香附子	Cyperus rotundus L.	4
蘇 木	Caesalpinia Sappan	4
紅 花	Carthamus tinctorius L.	3
桃 仁	Persicae Semen	3
桂 心	Cassiae Cortex Interior	3
甘 草	Glycyrrhiza uralensis	2
	Total	33

2) 삼황사심탕(三黃瀉心湯) 제제 구입 및 추출물 제조

三黃瀉心湯에 들어가는 한약제제는 모두 ㈜동의보감에서 구입하여 사용하였다. 추출물은 三黃瀉心湯(SamHwangSaSim-Tang, S) 200 g을 증류수 2000 ㎖과 함께 round flask에 넣고 2시간 동안 가열 추출하였다. 추출액은 rotary evaporator(Eyela, Japan)로 감압 농축한 후 동결건조기로 건조하여, 분말 30.38 g(15.2%)을 제조하였다.

Table 2. Prescription of SamHwangSaSim-Tang per pack

Name of Herbs	Pharmacognostic Name	Weight(g)
大 黃	Rheum tanguricum	8
黃 連	Coptis japonica Makino	8
黃 芩	Scutellariae Radix	4
	Total	20

3. 혈관이완효과 측정

1) 혈관절편의 제작

토끼를 urethane(0.6 g/㎏, 정맥주사)으로 마취한 후 경부를 절개하고 경동맥을 적출하였다. 적출된 경동맥은 4℃의 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 담가 혈관 주위의 지방조직을 제거하고 폭 2 ㎜가 되도록 횡으로 절단하여 고리 모양의 혈관절편을 제작하였다.

2) 등장성 수축 측정

혼합가스(95%의 O_2와 5%의 CO_2)로 포화된 37 ℃의 modified krebs-ringer bicarbonate solution을 peristaltic pump를 이용하여 3 ㎖/min의 용량으로 organ bath(용량 1.5 ㎖)에 주입하였다. 혈관절편의 한쪽 끝은 organ bath의 바닥에 고정시키고 다른 쪽은 force transducer에 연결한 다음 physiograph(PowerLab, Australia)를 이용하여 장력의 변화를 기록하였다.

실험 전 혈관절편을 1시간 동안 안정시킨 후 micromanipulator(Narishige N2, Japan)로 피동장력 1 g을 가하였다. 다시 1시간 동안 안정시킨 후 실험을 진행하였고, 연속되는 실험인 경우 다른 처치 전에 다시 1시간 안정시킨 후 실험을 시행하였다.

3) 혈관이완효과와 작용기전 검증

(1) Phenylephrine(PE)으로 수축된 혈관에서의 수축변화 측정

혈관내피세포가 존재하는 혈관절편과 혈관내피세포가 제거된 혈관절편에 PE 5 μM을 투여하여 수축을 유발시킨 후, 當歸鬚散과 三黃瀉心湯 추출물을 농도별(0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1 ㎎/㎖)로 투여하여 수축의 변화를 기록하였다.

(2) Indomethacin(IM)이 혈관이완효과에 미치는 영향

혈관절편을 먼저 IM 10 μM로 15분간 전처치한 후 PE 5 μM을 투여하여 수축을 유발시킨 다음, 當歸鬚散과 三黃瀉心湯 추출물(1.0 ㎎/㎖)을 각각 투여하여 IM을 전처치하지 않은 경우와 수축의 변화를 비교하였다.

(3) Tetraethylammonium chloride(TEA)가 혈관이완효과에 미치는 영향

혈관절편을 TEA 10 μM로 15분간 전처치한 후 PE 5 μM을 투여하여 수축을 유발시킨 다음, 當歸鬚散과 三黃瀉心湯 추출물(1.0 ㎎/㎖)을 각각 투여하여 TEA를 전처치하지 않은 경우와 수축의 변화를 비교하였다.

(4) Nω-nitro-L-arginine($_L$-NNA)이 혈관이완효과에 미치는 영향

혈관절편을 L-NNA 10 μM로 15분간 전처치한 후 PE 5 μM을 투여하여 수축을 유발시킨 다음, 當歸鬚散과 三黃瀉心湯 추출물(1.0 ㎎/㎖)을 각각 투여하여 L-NNA을 전처치하지 않은 경우와 수축의 변화를 비교하였다.

(5) Methylene blue(MB)가 혈관이완효과에 미치는 영향

혈관절편을 MB 1 μM로 15분간 전처치한 후 PE 5 μM을 투여하여 수축을 유발시킨 다음, 當歸鬚散과 三黃瀉心湯 추출물(1.0 ㎎/㎖)을 각각 투여하여 MB를 전처치하지 않은 경우와 수축의 변화를 비교하였다.

(6) 當歸鬚散과 三黃瀉心湯의 전처치에 따른 Ca^{2+} 의존성 수축변화 측정

혈관절편을 Ca^{2+}-free solution에서 當歸鬚散과 三黃瀉心湯 추출물(1.0 ㎎/㎖)을 각각 전처치한 후 PE 5 μM을 투여하여 수축을 유발시킨 다음, Ca^{2+} 1 mM을 투여하여 當歸鬚散과 三黃瀉心湯을 전처치하지 않은 경우와 수축의 변화를 비교하였다.

4. 통계처리

모든 실험결과는 평균과 표준편차(means ± SD)로 나타내었고, 혈관수축의 변화는 실제 수축의 크기와 PE를 투여하여 유발된 최고 수축에 대한 백분율로 표현하였으며, 실험결과는 student's t-test로 유의성을 검증하였다.

결 과

1. 당귀수산(當歸鬚散)의 혈관이완효과 및 기전 연구

1) 당귀수산(當歸鬚散)의 혈관이완효과

내피세포가 존재하는 혈관조직과 내피세포가 제거된 혈관조직에 각각 PE를 투여하여 최대로 수축시킨 후 당귀수산(當歸鬚散) 추출물을 농도별로 투여하여 수축의 변화를 관찰하였다.

내피세포가 존재하는 경우 당귀수산(當歸鬚散) 추출물 1 ㎎/㎖에서 유의한 이완효과를 나타냈으나, 내피세포가 제거된 경우 혈관이완효과가 유의하게 감소되었다(Table 3, Fig. 1).

2) L-NNA 전처치에 의한 혈관이완효과 변화

PE 투여로 수축된 혈관조직에 당귀수산(當歸鬚散) 추출물 1 ㎎/㎖을 투여한 경우와 동일한 조직에 L-NNA를 전처치한 후 PE 투여로 수축된 혈관조직에 당귀수산(當歸鬚散) 추출물 1 ㎎/㎖을 투여한 경우를 비교한 결과, L-NNA를 전처치한 경우 혈관이완효과가 유의하게 억제되었다(Table 4, Fig. 2).

3) IM 전처치에 의한 혈관이완효과 변화

PE 투여로 수축된 혈관조직에 당귀수산(當歸鬚散) 추출물 1 ㎎/㎖을 투여한 경우와 동일한 조직에 IM을 전처치한 후 PE 투여로 수축된 혈관조직에 당귀수산(當歸鬚散) 추출물 1 ㎎/㎖을 투여한 경우를 비교한 결과, IM의 전처치가 혈관이완효과에 유의한 영향을 미치지 않았다(Table 5, Fig. 3).

4) TEA 전처치에 의한 혈관이완효과 변화

PE 투여로 수축된 혈관조직에 당귀수산(當歸鬚散) 추출물 1 ㎎/㎖을 투여한 경우와 동일한 조직에 TEA를 전처치한 후 PE 투여로 수축된 혈관조직에 당귀수산(當歸鬚散) 추출물 1 ㎎/㎖을 투여한 경우를 비교한 결과, TEA의 전처치가 혈관이완효과에 유의한 영향을 미치지 않았다(Table 6, Fig. 4).

5) MB 전처치에 의한 혈관이완효과 변화

PE 투여로 수축된 혈관조직에 당귀수산(當歸鬚散) 추출물 1 ㎎/㎖을 투여한 경우와 동일한 조직에 MB를 전처치한 후 PE 투여로 수축된 혈관조직에 당귀수산(當歸鬚散) 추출물 1 ㎎/㎖을 투여한 경우를 비교한 결과, MB의 전처치가 혈관이완효과에 유의한 영향을 미치지 않았다(Table 7, Fig. 5).

6) 당귀수산(當歸鬚散) 전처치에 따른 Ca^{2+} 의존성 수축의 변화

Ca^{2+} 이 제거된 krebs-ringer solution에서 PE를 투여하여 수축을 유발한 혈관조직에 Ca^{2+} 1 mM을 투여한 경우와 동일한 조직에 당귀수산(當歸鬚散) 추출물을 전처치한 다음 PE를 투여한 경우를 비교한 결과, 당귀수산(當歸鬚散)의 전처치로 PE와 Ca^{2+}에 의한 수축이 유의하게 감소되었다(Table 8, Fig. 6).

Table 3. The Relaxation Effects of DangGuiSu-San extract on the arterial contraction

Treatment	With Endothelium		Without Endothelium	
	Contraction(g)	Relaxation(%)	Contraction(g)	Relaxation(%)
PE	1.91±0.24	0	1.25±0.22	0
PE+D 0.01	1.91±0.23	-0.2± 3.1	1.23±0.19	1.2±3.7
PE+D 0.03	1.94±0.24	-1.9± 3.0	1.25±0.18	-0.1±4.8
PE+D 0.10	1.93±0.26	-1.2± 5.5	1.26±0.20	-0.8±5.0
PE+D 0.30	1.69±0.30	11.2±11.6	1.22±0.19	1.9±5.7
PE+D 1.00	0.88±0.34***	53.4±18.7	1.07±0.13	13.6±7.6###

Values are mean±standard deviation(n=8). Relaxation was expressed as percentage of PE-contraction. PE, phenylephrine 5 μM; D, DangGuiSu-San extract (㎎/㎖); *** p<0.001 compared with PE; ### p<0.001 compared with PE+D in with endothelium.

Table 4. Comparison of relaxation effect induced by DangGuiSu-San extract due to pretreatment of L-NNA

Treatment	Non treatment of L-NNA		Treatment of L-NNA	
	Contraction(g)	Relaxation(%)	Contraction(g)	Relaxation(%)
PE	1.57±0.36	0	2.20±0.39	0
PE + D 1.0	0.99±0.26***	36.9±15.0	1.64±0.28***	24.8±10.5#

Values are mean±standard deviation(n=15). Relaxation was expressed as percentage of PE-contraction. PE, phenylephrine 5 μM; D, DangGuiSu-San extract(㎎/㎖); *** p<0.001 compared with PE; # p<0.05 compared with PE+D in non treatment of L-NNA.

Table 5. Comparison of relaxation effect induced by DangGuiSu-San extract due to pretreatment of IM

Treatment	Non treatment of IM		Treatment of IM	
	Contraction(g)	Relaxation(%)	Contraction(g)	Relaxation(%)
PE	1.55±0.58	0	1.65±0.47	0
PE + D 1.0	1.19±0.43	22.4±8.6	1.11±0.35*	33.1±9.4

Values are mean±standard deviation(n=6). Relaxation was expressed as percentage of PE-contraction. PE, phenylephrine 5 μM; D, DangGuiSu-San extract (㎎/㎖); * p<0.05 compared with PE.

Table 6. Comparison of relaxation effect induced by DangGuiSu-San extract due to pretreatment of TEA

Treatment	Non treatment of TEA		Treatment of TEA	
	Contraction(g)	Relaxation(%)	Contraction(g)	Relaxation(%)
PE	1.76±0.41	0	1.95±0.47	0
PE + D 1.0	1.23±0.44	31.0±15.9	1.25±0.47*	36.1±17.8

Values are mean±standard deviation(n=15). Relaxation was expressed as percentage of PE-contraction. PE, phenylephrine 5 μM; D, DangGuiSu-San extract (㎎/㎖); * p<0.05 compared with PE.

Table 7. Comparison of relaxation effect induced by DangGuiSu-San extract due to pretreatment of MB

Treatment	Non treatment of MB		Treatment of MB	
	Contraction(g)	Relaxation(%)	Contraction(g)	Relaxation(%)
PE	1.57±0.34	0	2.19±0.38	0
PE + D 1.0	0.98±0.29**	36.5±19.0	1.64±0.30*	24.7±8.4

Values are mean±standard deviation(n=6). Relaxation was expressed as percentage of PE-contraction. PE, phenylephrine 5 μM; D, DangGuiSu-San extract (㎎/㎖); * p<0.05, ** p<0.01 compared with PE.

Table 8. Changes of Ca^{2+}-dependent contraction by pretreatment of DangGuiSu-San extract in the Ca^{2+}-free media

Treatment	Non treatment of D	Treatment of D
	Contraction(g)	Contraction(g)
PE	1.22±0.24	0.38±0.17###
PE + Ca	1.44±0.19	0.50±0.23###

Values are mean±standard deviation(n=7). D, DangGuiSu-San extract 1 ㎎/㎖; Ca, calcium chloride 1 mM; ### p<0.001 compared with PE+Ca in non treatment of D.

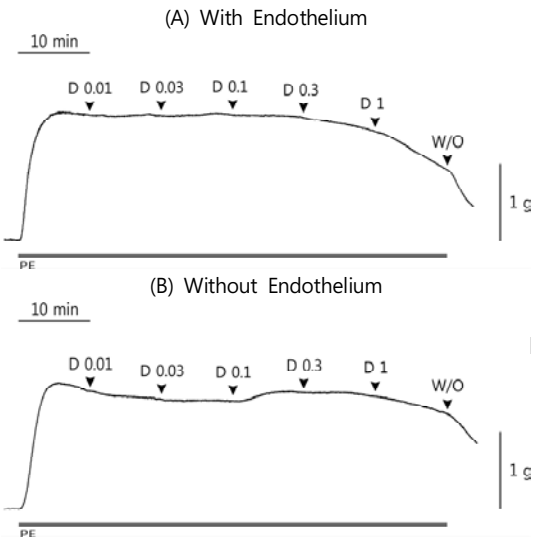

Fig. 1. The contraction curve of DangGuiSu-San extract on carotid artery precontracted with PE. W/O, wash out or change of bath medium with a solution to which no drug is applied.

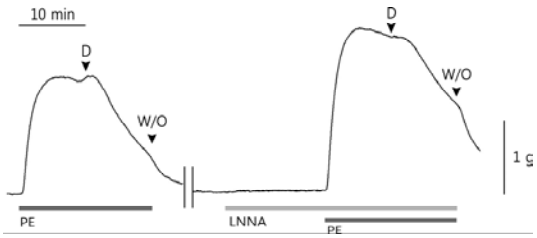

Fig. 2. Changes in the contraction curve of DangGuiSu-San extract due to pre-treatment of $_L$-NNA.

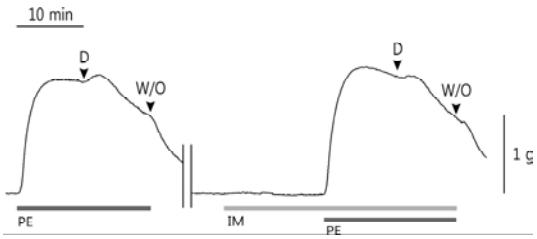

Fig. 3. Changes in the contraction curve of DangGuiSu-San extract due to pre-treatment of IM.

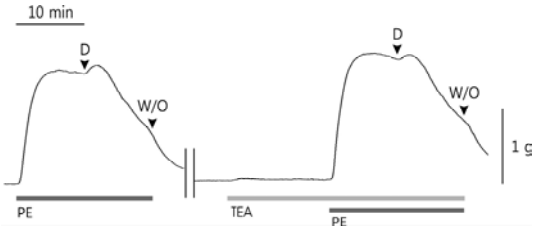

Fig. 4. Changes in the contraction curve of DangGuiSu-San extract due to pre-treatment of TEA.

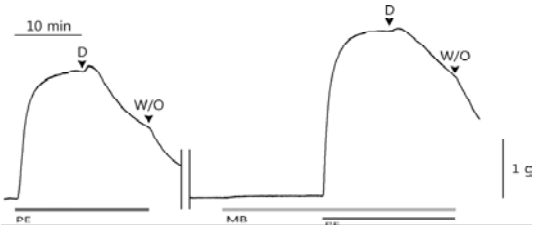

Fig. 5. Changes in the contraction curve of DangGuiSu-San extract due to pre-treatment of MB.

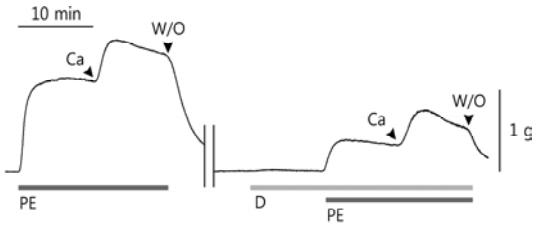

Fig. 6. Changes in calcium-induced contraction curve due to pre-treatment of DangGuiSu-San extract on carotid artery in calcium free media.

2. 삼황사심탕(三黃瀉心湯)의 혈관이완효과 및 기전 연구

1) 삼황사심탕(三黃瀉心湯)의 혈관이완효과

내피세포가 존재하는 혈관조직과 내피세포가 제거된 혈관조직에 각각 PE를 투여하여 최대로 수축시킨 후 삼황사심탕(三黃瀉心湯) 추출물을 농도별로 투여하여 수축의 변화를 관찰하였다.

내피세포가 존재하는 경우 삼황사심탕(三黃瀉心湯) 추출물 0.3, 1 ㎎/㎖에서 유의한 이완효과를 나타냈으나, 내피세포가 제거된 경우 혈관이완효과가 유의하게 감소되었다(Table 9, Fig. 7).

2) $_L$-NNA 전처치에 의한 혈관이완효과 변화

PE 투여로 수축된 혈관조직에 삼황사심탕(三黃瀉心湯) 추출물 1 ㎎/㎖을 투여한 경우와 동일한 조직에 $_L$-NNA를 전처치한 후 PE 투여로 수축된 혈관조직에 삼황사심탕(三黃瀉心湯) 추출물 1 ㎎/㎖을 투여한 경우를 비교한 결과, L-NNA를 전처치한 경우 혈관이완효과가 유의하게 억제되었다(Table 10, Fig. 8).

3) IM 전처치에 의한 혈관이완효과 변화

PE 투여로 수축된 혈관조직에 삼황사심탕(三黃瀉心湯) 추출물 1 ㎎/㎖을 투여한 경우와 동일한 조직에 IM을 전처치한 후 PE 투여로 수축된 혈관조직에 삼황사심탕(三黃瀉心湯) 추출물 1 ㎎/㎖을 투여한 경우를 비교한 결과, IM의 전처치가 혈관이완효과에 유의한 영향을 미치지 않았다(Table 11, Fig. 9).

4) TEA 전처치에 의한 혈관이완효과 변화

PE 투여로 수축된 혈관조직에 삼황사심탕(三黃瀉心湯) 추출물

1 ㎎/㎖을 투여한 경우와 동일한 조직에 TEA를 전처치한 후 PE 투여로 수축된 혈관조직에 삼황사심탕(三黃瀉心湯) 추출물 1 ㎎/㎖을 투여한 경우를 비교한 결과, TEA의 전처치가 혈관이완효과에 유의한 영향을 미치지 않았다(Table 12, Fig. 10).

5) MB 전처치에 의한 혈관이완효과 변화

PE 투여로 수축된 혈관조직에 삼황사심탕(三黃瀉心湯) 추출물 1 ㎎/㎖을 투여한 경우와 동일한 조직에 MB를 전처치한 후 PE 투여로 수축된 혈관조직에 삼황사심탕(三黃瀉心湯) 추출물 1 ㎎/㎖을 투여한 경우를 비교한 결과, MB를 전처치한 경우 혈관이완효과가 유의하게 억제되었다(Table 13, Fig. 11).

6) 삼황사심탕(三黃瀉心湯) 전처치에 따른 Ca^{2+} 의존성 수축의 변화

Ca^{2+} 이 제거된 krebs-ringer solution에서 PE를 투여하여 수축을 유발한 혈관조직에 Ca^{2+} 1 mM을 투여한 경우와 동일한 조직에 삼황사심탕(三黃瀉心湯) 추출물을 전처치한 다음 PE를 투여한 경우를 비교한 결과, 삼황사심탕(三黃瀉心湯) 전처치로 PE와 Ca^{2+}에 의한 수축이 유의하게 감소되었다(Table 14, Fig. 12).

Table 9. The Relaxation Effects of SamHwangSaSim-Tang extract on the arterial contraction.

Treatment	With Endothelium		Without Endothelium	
	Contraction(g)	Relaxation(%)	Contraction(g)	Relaxation(%)
PE	1.91±0.29	0	1.16±0.23	0
PE+S 0.01	1.91±0.28	-0.4± 3.5	1.14±0.24	1.9±3.0
PE+S 0.03	1.93±0.30	-1.4± 5.3	1.15±0.24	1.1±4.2
PE+S 0.10	1.73±0.30	9.1± 9.0	1.12±0.24	3.6±4.6
PE+S 0.30	0.98±0.42***	47.6±22.2	1.02±0.22	12.2±4.9###
PE+S 1.00	0.30±0.17***	84.0± 8.8	0.84±0.19**	27.4±7.7###

Values are mean±standard deviation(n=8). Relaxation was expressed as percentage of PE-contraction. PE, phenylephrine 5 μM; S, SamHwangSaSim-Tang extract(㎎/㎖); ** p<0.01, *** p<0.001 compared with PE; ### p<0.001 compared with PE+D in with endothelium.

Table 10. Comparison of relaxation effect induced by SamHwangSaSim-Tang extract due to pretreatment of L-NNA

Treatment	Non treatment of L-NNA		Treatment of L-NNA	
	Contraction(g)	Relaxation(%)	Contraction(g)	Relaxation(%)
PE	1.32±0.23	0	1.65±0.23	0
PE + S 1.0	0.24±0.08***	82.1±5.8	0.47±0.17***	70.7±11.6#

Values are mean±standard deviation(n=8). Relaxation was expressed as percentage of PE-contraction. PE, phenylephrine 5 μM; S, SamHwangSaSim-Tang extract(㎎/㎖); *** p<0.001 compared with PE; # p<0.05 compared with PE+S in non treatment of L-NNA.

Table 11. Comparison of relaxation effect induced by SamHwangSaSim-Tang extract due to pretreatment of IM

Treatment	Non treatment of IM		Treatment of IM	
	Contraction(g)	Relaxation(%)	Contraction(g)	Relaxation(%)
PE	1.73±0.25	0	1.41±0.25	0
PE + S 1.0	0.54±0.21***	68.7±12.9	0.30±0.12***	78.7±8.0

Values are mean±standard deviation(n=8). Relaxation was expressed as percentage of PE-contraction. PE, phenylephrine 5 μM; S, SamHwangSaSim-Tang extract(㎎/㎖); *** p<0.001 compared with PE.

Table 12. Comparison of relaxation effect induced by SamHwangSaSim-Tang extract due to pretreatment of TEA

Treatment	Non treatment of TEA		Treatment of TEA	
	Contraction(g)	Relaxation(%)	Contraction(g)	Relaxation(%)
PE	1.63±0.36	0	1.83±0.34	0
PE + S 1.0	0.53±0.23***	67.1±14.8	0.64±0.23***	63.9±15.5

Values are mean±standard deviation(n=8). Relaxation was expressed as percentage of PE-contraction. PE, phenylephrine 5 μM; S, SamHwangSaSim-Tang extract(㎎/㎖); *** p<0.001 compared with PE.

Table 13. Comparison of relaxation effect induced by SamHwangSaSim-Tang extract due to pretreatment of MB

Treatment	Non treatment of MB		Treatment of MB	
	Contraction(g)	Relaxation(%)	Contraction(g)	Relaxation(%)
PE	1.59±0.16	0	1.73±0.22	0
PE + S 1.0	0.32±0.14***	79.0±9.8	0.58±0.15***	63.7±9.4#

Values are mean±standard deviation(n=8). Relaxation was expressed as percentage of PE-contraction. PE, phenylephrine 5 μM; S, SamHwangSaSim-Tang extract(㎎/㎖); *** p<0.001 compared with PE; # p<0.05 compared with PE+S in non treatment of MB.

Table 14. Changes of Ca^{2+}-dependent contraction by pretreatment of SamHwangSaSim-Tang extract in the Ca^{2+}-free media

Treatment	Non treatment of S	Treatment of S
	Contraction(g)	Contraction(g)
PE	0.79±0.54	0.35±0.15
PE + Ca	1.07±0.47	0.47±0.26#

Values are mean±standard deviation(n=6). S, SamHwangSaSim-Tang extract 1 ㎎/㎖; Ca, calcium chloride 1 mM; # p<0.05 compared with PE+Ca in non treatment of S.

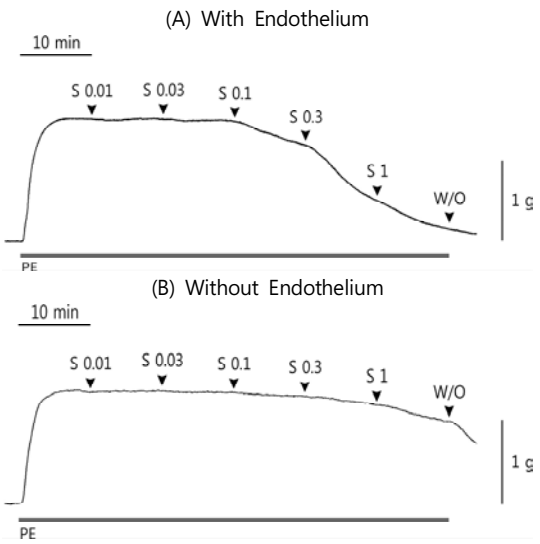

Fig. 7. The contraction curve of SamHwangSaSim-Tang extract on carotid artery precontracted with PE. W/O, wash out or change of bath medium with a solution to which no drug is applied.

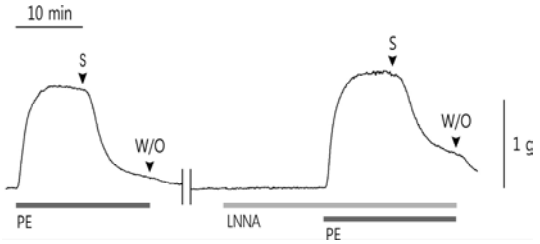

Fig. 8. Changes in the contraction curve of SamHwangSaSim-Tang extract due to pre-treatment of L-NNA.

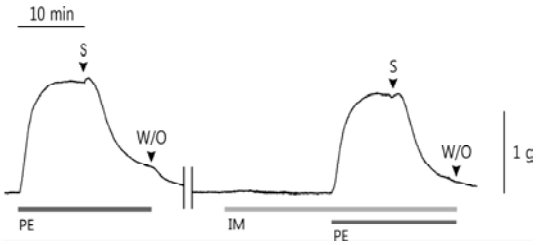

Fig. 9. Changes in the contraction curve of SamHwangSaSim-Tang extract due to pre-treatment of IM.

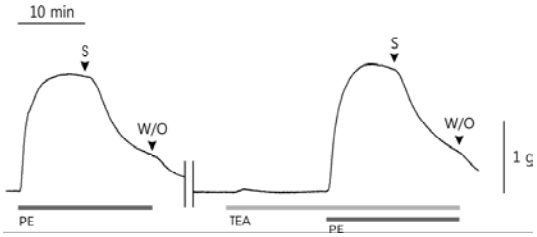

Fig. 10. Changes in the contraction curve of SamHwangSaSim-Tang extract due to pre-treatment of TEA.

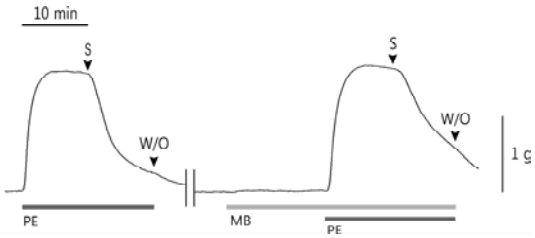

Fig. 11. Changes in the contraction curve of SamHwangSaSim-Tang extract due to pre-treatment of MB.

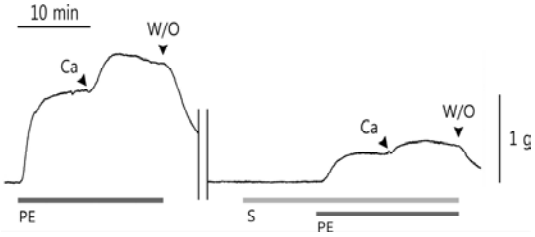

Fig. 12. Changes in calcium-induced contraction curve due to pre-treatment of SamHwangSaSim-Tang extract on carotid artery in calcium free media.

고 찰

당귀수산(當歸鬚散)은 의학입문에서 처음 제시된 처방으로 동의보감에서는 杖傷, 擲撲墮落壓倒傷에서 당귀수산(當歸鬚散)을 언급하고, "治打撲損傷 致氣凝血結 胸腹脇痛" "免血攻心" 이라고 하여 타박손상과 타박손상에서 발생하는 어혈 그리고 어혈의 이차적인 전이로 발생하는 질환을 예방하는 것으로 언급되었다[1,2]. 동물실험에서 당귀수산(當歸鬚散)은 흰쥐에 타박으로 손상을 입힌 타박손상 병태모델에서 유영 운동능력을 향상시키고 젖산탈수소효소를 초기에 빨리 감소시키는 효과가 있음을 보고하였다[3]. 외상성 창상 병태모델에서는 염증과 연관된 IL-1β, IL-6, TNF-α를 감소시키고 창상면적을 감소시키며 콜라겐의 증착, 만성염증 감소, 피부의 재상피화가 감소하였다[4]. 임상보고에서는 흉부 타박상에서 염증관련 인자로 TNF-α , interleukin-6, C-reactive protein를 감소시키고 회복기간을 단축시키며[5], 교통사고 환자에서 발생한 경항통과 요통을 호전시키는 효과가 보고되었다[13].

삼황사심탕(三黃瀉心湯)은 金匱要略에서 처음으로 출혈성 질환에 사용되는 것으로 언급되었으며, 동의보감에서도 嘔血, 吐血에 사용한 처방으로[2] 삼황사심탕(三黃瀉心湯)의 실험보고에서는 HepG2 세포에서 간세포의 지방축적을 억제하는 효과가 있으나 간세포 독성이 문제가 될 수 있음이 보고되었고[7], lipopolysaccharide로 유발시킨 염증 모델에서 TNF-α 발현에 중요한 NF-κ B, p38 , JNK 활성을 저해하여 TNF-α를 감소시키는 항염증효과가 있으며[8], 항산화 작용과 모발 성장인자의 활성화 촉진, 모발억제인자의 발현 감소를 통해 모낭의 성장기를 원활하게 유지하는 효과가 있었다[9]. 이외에도 U46619로 유발된 폐동맥의 혈압을 저하시켜 항고혈압 효과의 가능성이 보고되었다[10]. 임상보고에서는 소화성 궤양환자에서 대조군에 비하여 치료 후 비정맥과 문맥의 혈류량이 떨어뜨리고 출혈의 재발율, 환자의 생활의 질이 대조군에 비하여 높은 것으로 보고되었으며[11], 항혈전약물 사용으로 발생하는 소화기 출혈에서 오메프라졸과 병용 치료 후 비장정맥, 문맥의 혈류량이 저하되고 출혈시간을 단축시키는 효과가 보고되었다[14].

출혈에서는 손상된 혈관이 수축되면서 지혈을 유도하고, 혈전이 형성되는 경우는 혈류의 흐름이 방해된다. 혈전으로 인한 혈액흐름의 저하는 어혈의 범주에 속하는 것으로 생각될 수 있다. 본 실험은 지혈의 목적으로 사용되는 처방과 어혈에 사용되는 처방이 혈관의 수축과 이완에서 서로 상반되는 작용을 하는지를 확인하고자 하였다. 이에 어혈질환에 상용하는 당귀수산(當歸鬚散)과 지혈의 처방으로 삼황사심탕(三黃瀉心湯)을 선정하여 혈관의 수축과 이완에 미치는 영향과 기전을 확인하였다. 혈관의 수축 이완효과는 수컷 토끼의 경동맥에서 혈관절편을 만들고, 혈관내피세포를 제거한 경우와 혈관내피세포가 존재하는 혈관절편에 phenylephrine(PE)로 수축을 유발시켜 혈관 이완 효과를 확인하였다. 혈관 이완효과 기전은 Indomethacin (IM), Tetraethylammonium chloride (TEA), Nω-nitro-L-arginine ($_L$-NNA), Methylene blue(MB)을 이용하여 조사하였다. 그리고 혈관절편을 Ca^{2+}-free solution을 이용하여 칼슘의 유입차단에 의한 이완효과를 조사하였다.

Indomethacin은 Prostacyclin의 생성을 차단하는데, prostacyclin은 혈관내피세포 내에서 arachidonic acid로부터 cyclooxygenase에 의해 합성되는 것으로 혈관 평활근으로 분비되어 혈관이완 작용한다[15]. IM을 전처치하여 수축시킨 혈관의 이완억제효과를 통하여 prostacyclin을 통한 혈관이완효과를 확인할 수 있다.

EDHF는 혈관 평활근에서 Ca^{2+}-activated K^+-channel에 작용하여 세포막을 과분극시켜 혈관을 이완시키는 것으로 알려져 있는데[16-18],이러한 EDHF의 작용을 차단하는 약물이 TEA이다. 따라서 TEA를 전처치하고 수축시킨 혈관의 이완억제효과를 통하여 EDHF를 통한 혈관이완효과를 확인할 수 있다.

NO는 혈관내피세포에서 eNOS에 의하여 L-arginine으로부터 합성되고 합성된 NO는 혈관평활근에서 soluble guanylyl cyclase를 활성화시켜 cGMP를 증가시킴으로써 세포내 Ca^{2+} 농도를 감소시켜 혈관을 이완시킨다. L-NNA는 혈관내피세포에서 NO의 생성을 차단하는 것으로 알려져 있다[19,20]. $_L$-NNA를 전처치하고 수축시킨 혈관의 이완억제효과를 통하여 NO를 통한 세포내 칼슘농도 차단에 의한 혈관이완효과를 확인할 수 있다.

Methylene blue(MB)는 혈관내피세포에서 생성된 NO가 혈관평활근으로 확산되어 cGMP가 활성화되는 것을 차단하는 것으로 알려져 있다[21]. 따라서 MB를 전처치하고 수축시킨 혈관의 이완억제효과를 통하여 cGMP를 활성화시키는 과정을 통해 혈관이완효과

를 나타나는 것을 판단할 수 있다.

평활근의 수축은 평활근 세포내의 salcoplasmic reticulum과 미토콘드리아에서 유리되는 칼슘과 세포외에서 유입되는 칼슘에 의해서 발생하는 것으로 알려져 있다[22-24]. Ca^{2+} 이 제거된 krebs-ringer solution에서 혈관내피세포가 존재하는 혈관절편에 PE를 투여하여 수축을 유발하고 Ca^{2+} 1 mM을 투여한 경우와 동일한 조직에 당귀수산(當歸鬚散), 삼황사심탕(三黃瀉心湯) 추출물을 전처치한 다음 PE를 투여한 경우를 비교하여, 추출물이 세포내로 칼슘 유입을 차단하여 혈관이완 작용이 있는지를 확인하였다, 당귀수산(當歸鬚散)과 삼황사심탕(三黃瀉心湯)은 동일 모두 칼슘의 유입을 차단하여 혈관이완효과가 발생하는 것으로 나타났다.

당귀수산(當歸鬚散)의 구성약물 중 당귀는 당귀가 포함된 사물탕이 쥐의 흉부대동맥에서 혈관이완효과가 있으며, LPS로 유발된 NO를 농도 의존적으로 감소시키는 것으로 나타났다.

혈관 내피세포가 존재하는 경우 당귀수산(當歸鬚散) 추출물은 1 ㎎/㎖에서 유의한 이완효과를 나타냈으나, 내피세포가 제거된 경우 혈관이완효과가 유의하게 감소되었다. 당귀수산(當歸鬚散)의 혈관이완 기전을 알아보기 위하여 IM, TEA, $_L$-NNA, MB를 전처지하고 PE로 수축시킨 실험에서 당귀수산(當歸鬚散)은 모두 혈관이완 억제효과가 없었다. Ca^{2+}-free solution에서 혈관내피세포가 존재하는 혈관절편을 PE로 수축시키고 칼슘을 투여한 경우와 당귀수산(當歸鬚散)을 비교한 실험에서, 당귀수산(當歸鬚散)은 세포내로 칼슘의 유입을 억제하여 이완효과가 있는 것으로 나타났다. 따라서 당귀수산(當歸鬚散)은 혈관내피세포 의존성 혈관이완 효과가 있으며, 세포내로 칼슘 유입을 억제하여 이루어지는 것으로 나타났다.

삼황사심탕(三黃瀉心湯)은 황금, 황련, 대황으로 구성되어 있다. 혈관이완효과 보고에서 황금은 혈관이완효과가 있으며, 평활근에 대한 직접적 작용과 내피세포에서 Nitric oxide를 생성하는 경로를 통하여 Ca^{2+} 유입을 차단하는 기전을 통하여 이루지는 것이 보고되었다[25]. 황련은 내피세포가 제거된 경우에서는 혈관이완 효과가 없고, 내피세포 의존성 혈관이완 효과가 있었다. 황련의 이완효과 기전은 NO의 작용을 통하여 Ca^{2+} 유입을 차단시키는 것으로 나타났다[26]. 장엽 대황은 수컷 쥐의 흉부대동맥 절편에서 5-HT로 수축된 혈관을 이완하고 뿌리가 잎보다 효과가 높고 주요 성분은 emodin이라고 보고되었다[27,28].

본 실험에서 혈관내피세포가 존재하는 혈관절편에 PE를 투여하여 최대로 수축시킨 후 삼황사심탕(三黃瀉心湯) 추출물을 농도별로 투여한 결과, 내피세포가 존재하는 경우 0.3, 1 ㎎/㎖에서 유의한 이완효과를 나타냈으나, 내피세포가 제거된 경우는 혈관이완효과가 유의하게 감소되었다. 기전조사에서 삼황사심탕(三黃瀉心湯) 추출물 1 ㎎/㎖을 투여한 경우와 $_L$-NNA와 MB를 전 처치한 후 PE 투여로 수축된 혈관조직에서 혈관 이완 효과가 유의하게 억제되었다. 그리고 IM, TEA를 전 처치하고 PE로 수축시킨 혈관절편에서는 혈관 이완 억제효과가 없었다. Ca^{2+}-free solution에서 혈관내피세포가 존재하는 혈관절편을 PE로 수축시키고 칼슘을 투여한 경우와 당귀수산(當歸鬚散)을 비교한 실험에서, 삼황사심탕(三黃瀉心湯)은 세포내로 칼슘의 유입을 억제하여 이완효과가 있는 것으로 나타났다. 따라서 삼황사심탕(三黃瀉心湯)은 혈관내피세포가 존재하는 혈관절편에서 혈관 이완효과가 있으며, NO가 확산되고 cGMP를 증가시키는 과정과 세포내로 칼슘유입을 억제하면서 혈관이완효과가 있는 것으로 나타났다.

김[29]은 쥐의 대동맥을 이용한 혈관 이완실험에서 삼황사심탕(三黃瀉心湯)은 혈관내피세포의 유무에 상관없이 혈관이완효과 있었으며, $_L$-NNA, MB가 삼황사심탕(三黃瀉心湯)의 혈관이완에 영향을 미치지 않았다고 보고한 것과 달랐다. 다만 Ca^{2+}-free solution에 투여하고 칼슘을 투여하여 나타나는 혈관 수축이 억제된다는 것을 같은 결과가 나왔다. 본 실험에서 혈관이완효과가 혈관내피세포가 존재하고 NO, cGMP 상승을 통하여 이루어지는 것과는 달랐으며, 세포내로 칼슘유입을 차단하여 혈관이완효과가 있는 점은 동일한 것으로 나타났다. 이러한 결과는 삼황사심탕(三黃瀉心湯)을 구성하는 약물 개별의 혈관이완 효과와 개별약물을 모두 합한 경우에서 동일한 혈관이완효과가 나타나더라도, 기전은 다를 수 있으며, 같은 약물로 구성된 처방도 추출법이나 약물의 용량에 따라, 또는 같은 약물이라도 해마다 생산되는 약물의 유효 성분 농도가 다를 수 있기 때문에 약물의 생산된 년도에 따라 다른 결과가 나올 수 있을 것으로 생각된다. 또한 실험결과의 차이점이 토끼와 쥐의 혈관의 차이에서 나오는 것인지, 대동맥과 경동맥으로 부위별 동맥에 따라 혈관의 수축과 이완이 다른 것인지에 대한 추가 연구가 필요하다.

본 연구는 "瘀血之劑인 당귀수산은 혈관을 이완시키고, 止血之劑인 삼황사심탕은 혈관을 수축시킬 것이다"라는 가설 하에 시행되었지만 실제 실험결과는 두 개가 모두 혈관을 이완시키는 것으로 나타났다. 이는 한의학적 이론으로 해석한 것과 실제 실험결과가 다를 수 있다는 것을 나타내며, 이를 바탕으로 活血化瘀와 止血약물의 실제 약리작용은 전통적인 용어로 해석하기보다 현대 약리학적인 실험 결과를 충분히 고려한 뒤에 해석해야 할 것으로 생각된다.

지혈에 사용되는 삼황사심탕(三黃瀉心湯)과 어혈에 사용되는 당귀수산(當歸鬚散)은 모두 동일하게 혈관내피세포 의존성 혈관이완 효과가 있으며, 세포내로 칼슘유입을 억제하였다. 삼황사심탕(三黃瀉心湯)은 개별약물의 혈관이완 기전과 삼황사심탕(三黃瀉心湯)의 혈관이완기전이 동일하지 않았는데, 약물의 추출방법, 약물의 용량, 개별약물과 개별약물의 용량에 따른 처방의 차이, 쥐와 토끼라는 동물의 특성, 부위별 동맥에 따른 차이점을 규명하는 연구가 필요한 것으로 나타났다.

결 론

어혈에 사용되는 당귀수산(當歸鬚散), 지혈에 사용되는 삼황사심탕(三黃瀉心湯)의 혈관이완효과 및 기전에 대하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

당귀수산(當歸鬚散)은 혈관내피세포 의존성 혈관이완 효과가 있었으며, 기전은 세포내로 칼슘의 유입을 억제하여 이루어지는 것으로 나타났다.

삼황사심탕(三黃瀉心湯)은 혈관내피세포 의존성 혈관이완 효과가 있으며, NO가 확산되면서 cGMP 증가와 세포내로 칼슘유입을 억제하면서 혈관이완효과가 나타났다.

당귀수산(當歸鬚散)과 삼황사심탕(三黃瀉心湯)은 어혈과 지혈에 사용되는 약물이지만, 혈관내피세포에 대해서는 동일하게 세포내 칼슘유입억제를 통한 혈관이완효과가 있으며, 삼황사심탕(三黃瀉心湯)은 혈관내피세포의존성이면서 NO와 cGMP 기전을 통하여 혈관이완효과가 있는 것으로 나타났다.

감사의 글

이 논문은 2017 학년도 세명대학교 교내학술연구비 지원에 의해 수행된 연구임.

References

1. Shin HG. Standard herbal medicine formulary, Deajeon: KIOM; 2018. p. 163-71.
2. Heo J. Donguibogam, Seoul: Namsandang; 1983. p. 109, 578, 581.
3. Yeo NH, Lee HY. The Effect of Dangkwisoo-San on Blood Enzyme Activity in Brusied Rats. Korean Journal of Sport Studies. 2002;41(3):333-40.
4. Lee GH, An GS, Choi SH. Study on the Effects of Dangguixusan on Experimental Blood Stasis Model Induced by Compression. Graduate School Kyung Hee University. 1999;22(1):22-38.
5. Wei CH. Clinical Observation on 40 Cases of Acute Pulmonary Contusion Treated by Danggui Xu Powder. Modern medical and health. 2013;29(12):1768-9.
6. Jang JG, Chae IS. Geumgweyolyagjeonghae, Seoul: Hanlimwon; 1986. p. 97-8.
7. Um ES, Kim YC. Effect of Samhwangsasim-tang and Daehwanghwangryunsasim-tang on Palmitate-induced Lipogenesis in HepG2 cells. J Korean Med. 2016;37(1):62-76.
8. Kang H, Kwon HA, So HJ, Lee JM, Lew JH, Choi HY. Effect of Samhwangsashimtang Extract on Lipopolysaccharide-Stimulated Inflammatory Response and Macrophage Activity. The Korea Journal of Herbology. 2012;27(6):23-8.
9. Kim MJ, Park KH, Lee IC, Kim BH. Antioxidant Ability and Hair Growth Effect of Samhwang-Sasimtang in C57BL/6 Model. Korean J. Oriental Physiology & Pathology. 2014;28(2):154-61.
10. Tsai HH, Jun C, Lo YC. Effects of San-Huang-Xie-Xin-Tang on U46619-induced increase in pulmonary arterial blood pressure. Journal of ethnopharmacology. 2008;117(3):457-62.
11. Yan LL, Zhao J. Clinical Study of Sanhuang Xiexin Decoction Combined with Digestive Endoscopy in Treating Upper Gastrointestinal Hemorrhage. Bright Healthcare TCM. 2018;33(24):3714-6.
12. Vinay K, Abul KA, Nelson F. Robbins and Cotran pathologic basis of disease, Philadelphia: Elsevier Saunders; 2009. p. 86-7, 94-5.
13. Park JO, Jung H, Heo DS. Case Report:Clinical Study of the Effects of Gwibi-tang and Danggwisusan on Traffic Accident Patients with Acute Cervicolumbar Disorder. J of KMR. 2015;(25)3:81-90.
14. Yang T. Sanhuangxiexin in Deciction Combined with Omeprazole on Curative Effect and Hemodynamics in Patients with Uppre Digestive Tract Hemorrhage Induced by Antiplatelet Aggregation Drugs. World chinese medicine. 2017;12(4):794-6.
15. Moncada S, Gryglewski R, Bunting S, Vane JR. An enzyme isolated from arteries transform prostaglandim endoperoxides to an unstable substance that ingibits platelet aggregation. Nature. 1976;263(5579):663-5.
16. Myers PR, Minor RL Jr, Guerra R Jr, Bates JN, Harrison DG. Vasorelaxant properties of the endothelium-derived relaxing factor more closely resemble S-nitrosocysteine than nitric oxide. Nature London. 1990;345(6271):161-3.
17. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. Nature London. 1987;327(6122):524-6.
18. Furchgott RF, Vanhoutte PM. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. FASEB J. 1989;3(9):2007-18.
19. Abman SH, Chatfield BA, Hall SL, McMurtry IF. Role of endothelium- derived relaxing factor during transition of pulmonary circulation at birth. Am J Physiol. 1990;259(6 Pt 2):H1921-7.
20. Moncada S. The first Robert Furchgott lecture: from endothelium-dependent relaxation to the L-arginine:NO pathway. Blood Vessels. 1990;27(2-5):208-17.
21. Ignarro LJ, Lippton H, Edwards JC, Baricos WH, Hyman AL, Kadowitz PJ, et al. Mechanism of vascular smooth muscle relaxation by organic nitrates, nitrites, nitroprusside and nitric oxide:evidence for the involvement of S-nitrosothiols as active intermediates. J Pharmacol Exp Ther. 1981;218(3):739-49.
22. Deth R, van Breemen C. Relative contributions of Ca2+ influx and cellular Ca2+ release during drug induced activation of the rabbit aorta. Pflugers Arch. 1974;348(1):13-22.
23. Endo M, Tanaka M, Ogawa Y. Calcium induced release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of skinned

skeletal muscle fibres. Nature. 1970;228(5266):34-6.
24. Garcha RS, Hughes AD. Inhibition of norepinephrine and caffeine-induced activation by ryanodine and thapsigargin in rat mesenteric arteries. J Cardiovasc Pharmacol. 1995;25(5):840-6.
25. Kim HH. Mechanism of blood vessel relaxation effect of Scutellaria baicalensis. Journal of Korean Oriental Medical Institute Semyung University. 1998;(1):55-70.
26. Min BG. A Study on the Relaxation Efficacy and Mechanism of Shrinking Blood Vessels of Coptis chinensis. Semyung University Graduate School. 2004.
27. Kim T, Kim HH, Ahn DK, Choi HY. The Effect of Rheum palmatum L. and Rheum undulatum L. on Rat Thoracic Aorta and Abdominal Aorta. Korean Journal of Oriental Medicine. 2003;24(4):87-91.
28. Kim HH, Park SY, Ahn DK, Park SK. Vasodilation Effect of the Water Extract of Alcohol Steamed Rheum undulatum L. in Rat Thoracic Aorta. Korean J. Oriental Physiology & Pathology. 2004;18(1):69-74.
29. Kim JB, Kwon OK, Son CW, Shin HM. Vasodilatory Effects of Samhwangsasim-tang on Vascular Smooth Muscle. Korean J. Oriental Physiology & Pathology. 2004;18(5):1382-6.