

원저

星香正氣散이 家兔의 頸動脈 平滑筋 切片에서
t-Butyl Hydroperoxide 에 의한
脂質過酸化 및 收縮에 미치는 影響

金瑩均, 金鍾勳

東義大學校 韓醫學科 內科學教室

Effect of Sunghyangchungi-san (Xingxiangzhengqi-san)
on Contraction and Lipid Peroxidation Induced by
t-Butyl Hydroperoxide in Isolated Rabbit Carotid Artery

Young-Gyun Kim, Jong-Hoon Kim

Dept. of Oriental Medicine, Dong Eui University

This study was undertaken to evaluate the effect of Sunghyangchungi-san (SHCS) on the oxidant-induced contraction and lipid peroxidation in rabbit carotid artery. Vascular rings isolated from rabbit carotid artery were exposed to t-butyl hydroperoxide (t-BHP), an extrinsic oxidant, and the effect of SHCS on the changes of vascular tension and lipid peroxidation induced by t-BHP was determined. t-BHP induced a slowly developing and sustained contraction of the arterial rings. SHCS effectively relaxed the arterial rings that were pre-contracted by t-BHP. The responses to SHCS were partially dose-dependent at concentrations lower than 0.5 mg/ml. When SHCS was applied prior to the exposure to t-BHP, it inhibited the t-BHP-induced contraction as well. t-BHP increased lipid peroxidation in

a dose-dependent manner. SHCS as well as well-known anti-oxidants GSH and DPPD reduced significantly lipid peroxidation induced by t-BHP. SHCS partially blocked the increase in ⁴⁵Ca uptake induced by t-BHP. In contrast to SHCS, anti-oxidants GSH and DPPD failed to inhibit significantly the t-BHP-induced contraction or ⁴⁵Ca uptake.

From the above results, it is suggested that SHCS relaxed t-BHP-induced contraction of rabbit carotid artery independently of its anti-oxidant action, and inhibition of Ca²⁺ influx may contribute to the underlying mechanism.

Key words: Sunghyangchungi-san, lipid peroxidation, oxidant-induced contraction

· 접수 : 1999년 11월 1일

· 채택 : 2000년 1월 26일

· 교신저자 : 김종훈, 부산 진구 부암3동 346-19 능인한의원 (T. 051-818-0121)

I. 緒 論

星香正氣散은 戴¹⁾의 《證治要訣》에 처음 收載된 處方으로, 本 方은 理氣祛痰의 效能이 있어²⁾ 中風, 中氣, 痰厥, 食厥 等證에 先用되는 代表的인 方劑이며^{3,4)}, 臨床에서 中風昏倒, 人事不省, 痰涎壅盛 等證에 調氣의 目的으로 活用되고 있다⁵⁾. 腦損傷의 代表的인 疾患의 하나인 中風의 主要 症狀은 意識障礙, 運動麻痺, 言語障礙 等으로^{6,7)} 그 原因은 風, 火, 濕痰 및 虛 等이 爲主가 되고^{6,8-10)}, 이에 대한 治法은 疏風, 清熱瀉火, 理氣祛痰 및 補虛를 基本으로 하며¹⁰⁻¹²⁾, 中風 初期의 救急處方으로 星香正氣散을 活用하고 있다^{2,3,13,14)}.

최근 腦 組織을 비롯한 여러 臟器의 虛血, 혹은 虛血 後 再灌流에 의한 組織 損傷 過程에서 反應性 酸素基 (reactive oxygen radical)의 役割이 注目받고 있다¹⁵⁻¹⁸⁾. 血管系에서도 高血壓 및 動脈硬化症의 形成 過程 등에서 反應性 酸素基가 重要한 役割을 하는 것으로 알려져 있다^{19,20)}. 즉 이들 反應性 酸素基는 細胞構成 成分들인 脂質, 蛋白質, 糖, DNA 等에 대하여 非選擇的, 非可逆的인 破壞作用을 함으로써 癌을 비롯하여 腦卒中, 파킨슨氏病 等の 腦疾患과 心臟 및 血管疾患, 皮膚疾患, 消化器疾患, 炎症, 류마티스, 自家免疫疾患 等の 各種 疾病 및 老化를 일으키는 것으로 알려져 있다^{21,22,23)}. 따라서 本 研究에서는 反應性 酸素基에 의한 血管 緊張度 變化나 組織 損傷이 腦卒中, 心筋梗塞 같은 疾病의 誘發 要因 中 하나로 보고^{24,25)}, 中風 初期의 救急處方으로 活用되는 星香正氣散을 實驗에 應用하였다.

星香正氣散에 關한 實驗的 研究로는 安²⁶⁾, 文²⁷⁾, 柳²⁸⁾等이 實驗 動物을 利用하여 血壓, 心搏動, 腦壓, 腦損傷等에 星香正氣散이 미치는 影響을 報告한 바 있으나, 反應性 酸素基에 의한 血管 緊張度 變化나 脂質 過酸化에 미치는 星香正氣散의 影響에 對해서 報告된 바는 없었다.

이에 著者는 家兔 頸動脈 平滑筋 切片에 血管 收縮과 組織 損傷을 誘發하여, 腦血管障礙에 使用되는 星香正氣散이 血管 緊張度나

組織 損傷의 防止에 어떤 影響을 미치는지 研究 觀察한 바 다음과 같은 結論을 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實 驗

1. 動物 및 材料

1) 動物

體重 1.5 - 2.5 kg의 토끼 (New Zealand white rabbit)를 암수 區別없이 使用하였다.

2) 藥 材

星香正氣散의 處方 內容은 方藥合編³⁾에 依據하였으며, 本 實驗에 使用한 藥材는 市中에서 購入하여 良質의 것을 精選하여 使用하였다. 그 內容과 1貼 分量은 다음과 같다.

Prescription of Sunghyangjunggi-san

韓 藥 名	生 藥 名	重 量(g)
雀 香	<i>Herba Pogostemi</i>	5.625
蘇 葉	<i>Folium Perillae</i>	3.75
白 芷	<i>Radix Angelicae Dahuricae</i>	1.875
大腹皮	<i>Pericarpium Arecae</i>	1.875
白茯苓	<i>Poria</i>	1.875
厚 朴	<i>Cortex Magnoliae</i>	1.875
白 朮	<i>Rhizoma Atractylodis Macrocephalae</i>	1.875
陳 皮	<i>Pericarpium Citri Nobilis</i>	1.875
半夏製	<i>Tuber Pinelliae</i>	1.875
桔 梗	<i>Radix Platycodi</i>	1.875
甘草炙	<i>Radix Glycyrrhizae (Broiled)</i>	1.875
生 薑	<i>Rhizoma Zingiberis</i>	3.0
大 棗	<i>Fructus Zizyphi Jujubae</i>	3.0
南 星	<i>Rhizoma Arisaematis</i>	3.75
木 香	<i>Radix Saussurea</i>	3.75
	Total amount	39.750

3) 溶液 및 試藥

t-butyl hydroperoxide (t-BHP), glutathione (GSH), KHS 用 試藥 等은 Sigma (美國, St. Louis, MO), N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine (DPPD)는 Aldrich (美國, Milwaukee, WI) 製品을 使用하였으며, nifedipine 等은 Rearch Biochemicals International (美國, Natick,

MA)社 製品을 使用하였다.

2. 方法

1) 檢液의 調製

星香正氣散 10貼 分量인 397.5g을 등근 플라스크에 넣고 蒸溜水 3,000ml를 加한 後 3時間 동안 煎湯하고 濾過液을 凍結乾燥機로 凍結乾燥하여 89.5g의 extract를 얻었다.

2) 組織 處理 및 張力의 測定

토끼의 耳靜脈 (ear vein)을 통하여 pentobarbital sodium (20 mg/kg)을 注入하여 麻酔한 後 頸動脈을 摘出하였다. 摘出した 組織을 찬 Krebs-Henseleit 溶液 (KHS)에 넣고 立體顯微鏡(stereomicroscope) 하에서 眼科用 微細 가위와 핀셋을 利用하여 動脈 組織을 損傷하지 않도록 注意하여 周圍의 結合組織을 除去한 後 두께 1.5 mm의 크기로 切斷하여 動脈環 (arterial ring)을 만들었다. 動脈環을 KHS가 들어 있는 組織 培養器 (organ chamber)에 넣고 L 자형 스테인레스 고리를 利用하여 張力 變換機 (Grass FT-03)에 固定시키고 基礎張力으로 1 g의 張力을 加하였다.

實驗에 使用한 KHS의 組成은 (單位 mM) NaCl 115, KCl 4.7, CaCl₂ 2.5, MgCl₂ 1.2, NaHCO₃ 25, KH₂PO₄ 1.2, Dextrose 10이었다. 溶液을 37°C로 維持하면서 95% O₂/ 5% CO₂ 混合가스를 供給하였다.

實驗 始作 前 2 時間 동안 平衡시킨 後 1 μM의 phenylephrine으로 血管의 收縮 反應을 觀察하여 反應이 安靜된 後 實驗을 始作하였다. 實驗 期間 동안 每 20分마다 溶液을 갈아 주면서 1 g의 基礎 張力이 維持되도록 調節하였다. 筋收縮의 變化는 等尺性 收縮 (isometric contraction)을 張力 變換機 (Grass FT-03)로 測定하여 生理記錄機 (Grass polygraph 7E)로 記錄하였다.

本 實驗에 使用한 血管 切片은 血管 內皮細胞의 效果를 除去하기 위하여 內皮細胞를 除去한 後 使用하였으며, 이는 가는 나무봉을 利用하여 血管 內面을 가볍게 문질러 內皮細胞 除去 (denuded endothelium) 標本을 만들었다. 血管 內皮細胞가 완전히 除去되었는지

는 1 μM의 phenylephrine으로 收縮을 誘發한 後 acetylcholine에 의한 弛緩 反應의 消失有無를 觀察하여 確認하였다. 內皮細胞 存在時 phenylephrine으로 收縮을 誘發한 後 acetylcholine을 投與하면 1 μM에서 50% 以上, 10 μM에서는 90% 以上 弛緩되는 樣相을 보였으나 內皮細胞를 除去한 標本에서는 acetylcholine에 의한 이러한 弛緩 反應이 사라졌다.

3) 脂質 過酸化 程度의 測定

脂質 過酸化의 程度는 脂質 過酸化 産物의 一種인 malondialdehyde (MDA)의 形成量을 Uchiyama 및 Mihara 의 方法으로 測定하여 決定하였다. 實驗 處理된 組織 切片을 冷却된 1.15% KCl 溶液에서 粉碎하였다. 粉碎液 0.5 ml에 1% phosphoric acid 3 ml 및 0.6% thiobarbituric acid 1 ml을 加하고 잘 섞은 後 45分間 끓는 물에서 重湯하였다. 重湯後 室溫의 물에서 식힌 後 4 ml의 n-butanol을 添加하고 完全히 混合되도록 잘 섞은 後 2,000 g에서 20分間 遠心分離하였다. 이 過程에서 MDA는 下層의 水溶液層에서 分離되어 上部의 n-butanol層으로 抽出된다. 이 n-butanol層으로 抽出된 MDA의 濃度는 分光光度計 (Hewlett Packard, 8453A)를 利用하여 이중 波長 모드 즉 535 및 520 nm에서의 吸光度의 差異를 測定하여 計算하였다. MDA 生成量은 組織 粉碎液의 蛋白質 濃度를 Bradford 의 方法으로 測定하여 mg 단백질당 生成된 nmole MDA로 나타내었다.

4) ⁴⁵Ca 蓄積의 測定

筋 切片을 KHS에서 약 2時間 동안 平衡시킨 後 1 μCi/ml 의 ⁴⁵Ca를 包含한 各 條件의 溶液에서 10分間 處理하였다. 그 後 筋切片을 ⁴⁵Ca이 없고 2mM의 ethyleneglycol-bis-(β-aminoethylether)-N,N,N',N'-tetraacetic acid를 包含한 찬 KHS에서 45分間 處理하여 細胞 外部에 結合된 ⁴⁵Ca를 除去하였다. 以後 組織의 불기를 除去하고 무게를 단 後 1 N NaOH에 녹이고 scintillation cocktail을 添加하여 ⁴⁵Ca의 量을 液體閃光計數器로 測定하여 nmole/ g wet weight로 나타내었다.

5) 資料分析

實驗 結果는 3 마리 以上의 다른 토끼에서 分離한 6개 以上의 實驗 標本에서 얻은 結果를 分析하여 平均 ± 標準誤差로 나타내었고, 두 그룹간의 平均의 差異를 檢定할 必要가 있을 때에는 student's t-test로 檢定하여 p<0.05일 때 有意한 差異가 있는 것으로 看做하였다.

III. 實驗成績

1. t-BHP에 의한 收縮과 星香正氣散의 弛緩 效果

Fig. 1에 나타난 結果는 內皮細胞를 除去한 토끼 頸動脈環을 2 mM의 t-BHP로 處理하였을 때 나타나는 收縮을 記錄한 것이다. t-BHP에 의한 收縮은 藥物 處理 후 多少 時間이 經過한 후 서서히 나타났으며, t-BHP의 濃度를 5 mM까지 增加시키에 따라 그 收縮의 크기도 增加하였다 (Fig. 2). 最大 收縮의 크기는 0.4g 정도로 1 μM phenylephrine에 의한 收縮 크기의 40%에 달하였다. t-BHP에 의한 收縮은 藥物을 除去하더라도 바로 弛緩되지 않고, 5分 間隔으로 계속 KHS로 洗滌할 경우 約 40分 後에 基礎張力으로 恢復되었다. 이는 t-BHP에 의한 血管 張力 變化가 一部 非可逆의 機轉에 의하여 나타남을 示唆한다. 한편 星香正氣散을 添加시 0.1 mg/ml에서 0.5 mg/ml의 濃度까지 濃度에 의존적으로 弛緩 效果를 보였으며 0.5 mg/ml에서 보인 弛緩 效果는 38.4 ± 6.7 %이었다. 星香正氣散에 의한 弛緩 效果는 收縮을 誘發한 t-BHP의 濃度에 관계 없이 比較的 一定 하였다 (Fig. 2).

星香正氣散을 phenylephrine을 處理하기 前에 前處置하였을 때에도 後處置하였을 때와 類似한 樣相의 抑制 效果를 보였으며 그 弛緩 效果는 後處置하였을 때보다 다소 크게 나타났다 (Fig. 3). 基礎 張力에는 弛緩 效果를 보이지 않았다.

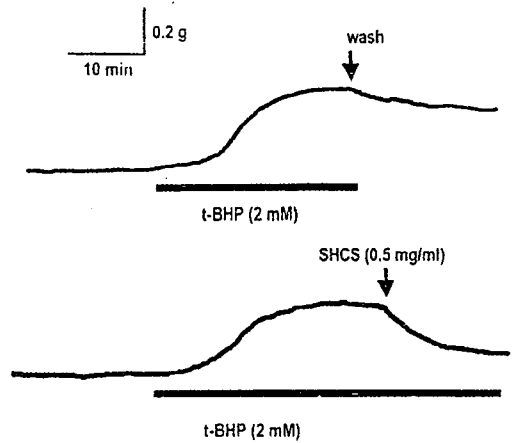


Fig. 1. Typical tracings of the contraction induced by t-BHP and the relaxant effect of Sunghyangchungi-san (SHCS) in endothelium-denuded rabbit carotid artery.

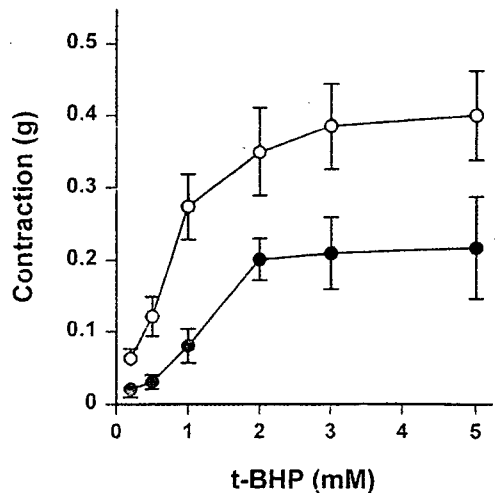


Fig. 2. Dose-reponse curves of t-BHP-induced contractions in rabbit carotid artery. The arterial strips were exposed to each concentration of t-BHP in the presence (●) and absence (○) of Sunghyangchungi-san (SHCS, 0.5 mg/ml). Data are mean ± S.E of 6 experiments.

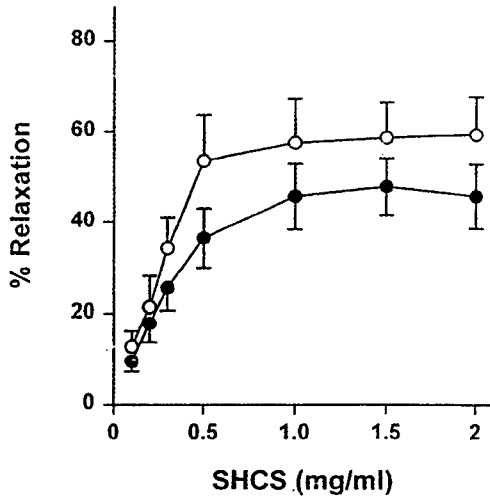


Fig. 3. Dose-dependent effect of Sunghyangchungi-san (SHCS) on t-BHP-induced contractions in rabbit carotid artery. SHCS was applied 10 min before(○) or after(●) the addition of t-BHP. The magnitude of relaxation or inhibition by SHCS of t-BHP-induced contractions was expressed as percentile compared to complete relaxation to the resting tension which was set as 100%. Each point represents mean±S.E. of 6 experiments.

2. t-BHP에 의한 脂質 過酸化의 增加

t-BHP는 많은 組織에서 過酸化에 의한 細胞損傷을 나타내는 것으로 알려져 있다. 本研究에서 나타난 t-BHP에 의한 家兔 頸動脈의 收縮이 脂質 過酸化와 聯關되어 있는 지를 確認하기 위하여 먼저 여러 濃度の t-BHP 存在 下에서 脂質 過酸化의 정도를 測定하였다. 그 結果는 Fig. 4에 나타내었다. t-BHP는 5 mM까지 濃度에 依存的으로 脂質 過酸化를 增加시켰으며 그 增加 樣相은 收縮을 誘發하는 樣相과 類似하였다.

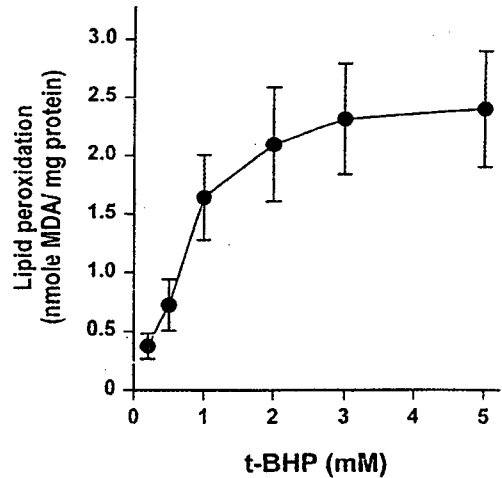


Fig. 4. Effect of various concentrations of t-BHP on lipid peroxidation in rabbit carotid artery strips. Arterial strips were treated with indicated concentrations of t-BHP for 30 min at 37°C and malondialdehyde production was measured. Data are mean±S.E. of 6 experiments.

3. 脂質過酸化에 미치는 星香正氣散 및 酸化抑制劑의 效果

Fig. 5에 나타낸 結果는 t-BHP에 의한 脂質 過酸化와 이에 미치는 星香正氣散의 效果를 確認하고 이를 잘 알려진 酸化抑制劑인 GSH 및 DPPD이 效果와 比較한 것이다. GSH는 細胞內 存在하는 酸化抑制劑로 잘 알려진 內因性 細胞 損傷 防止 機轉의 하나이며 DPPD는 外因性 酸化抑制劑로 잘 알려져 있다. 예상대로 GSH와 DPPD는 t-BHP에 의한 脂質過酸化를 強力하게 抑制하였으며 특히 DPPD의 效果가 顯著하였다. 한편 星香正氣散도 이들보다 弱하지만 酸化抑制 效果를 보여, 0.5 mg/ml 濃度에서 t-BHP에 의한 脂質 過酸化 增加를 39.4±6.8% 抑制하였다. 또한 그 機轉은 精確히 알 수 없지만 L-型 Ca²⁺ 通路 遮斷劑인 nifedipine에 의해서도 脂質過酸化가 一部 抑制되었다.

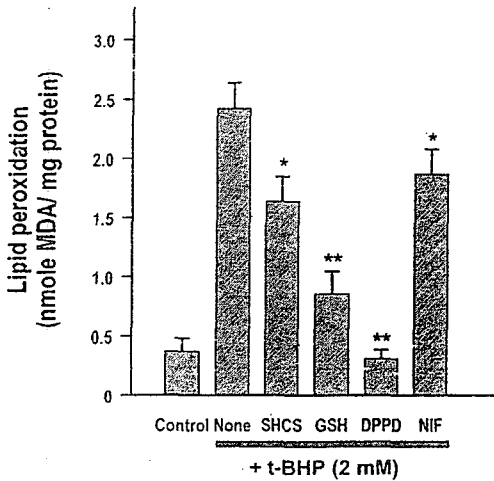


Fig. 5. Effects of Sungyangchungi-san (SHCS), glutathione (GSH), N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine (DPPD), and nifedipine (NIF) on t-BHP-induced lipid peroxidation in rabbit carotid artery strips. Arterial strips were treated with 2 mM t-BHP in the presence of 0.5 mg/ml SHCS, 5 mM GSH, 5 μM DPPD, or 1 μM NIF for 30 min at 37°C and malondialdehyde production was measured. Data are mean±S.E of 6 experiments. *p<0.05, **p<0.01 vs. t-BHP alone.

4. t-BHP에 의한 頸動脈 收縮에 미치는 星香正氣散 및 酸化抑制劑의 效果 比較

위의 結果들에서 一見 t-BHP에 의한 頸動脈環의 收縮과 이에 미치는 星香正氣散의 效果가 脂質 過酸化의 增加와 密接히 聯關되어 있는 것으로 보인다. 이를 確認하기 위하여 t-BHP에 의한 收縮에 미치는 星香正氣散의 效果를 酸化抑制劑 및 Ca²⁺ 通路 遮斷劑의 效果와 比較하고 이를 脂質過酸化 抑制 效果와 比較分析하였다. 앞의 結果에서 星香正氣散보다 強力한 酸化抑制 效果를 보였던 GSH나 DPPD는 弛緩 效果를 보이지 않거나 微微한 弛緩 效果를 보였다 (Fig. 6). 한편 脂質過酸化에는 微微한 抑制 效果를 보였던 nifedipine은 t-BHP에 의한 收縮을 強力히 弛緩하는 效果를 보였다. 星香正氣散의 弛緩 效果는 nifedipine으로 이미 弛緩된 경우에는 附加 作用이 나타나지 않았다. 이는 星香正氣散의 弛緩 效果가 酸化抑制作用과 聯關되어 있기 보다는 이와 無關하게 Ca²⁺ 通路를 抑制함으로

써 Ca²⁺의 流入을 遮斷하여 나타났을 可能性의 کم을 示唆하는 結果이다.

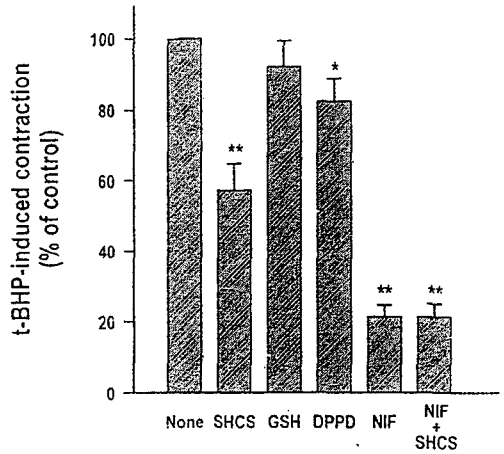


Fig. 6. Effects of Sungyangchungisan (SHCS), glutathione (GSH), N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine (DPPD), and nifedipine (NIF) on t-BHP-induced contraction in rabbit carotid artery. Arterial rings were treated with 2 mM t-BHP in the presence of 0.5 mg/ml SHCS, 5 mM GSH, 5 μM DPPD, or 1 μM NIF. Maximum isometric tension induced by 2 mM t-BHP in the absence of drug was set as 100%, and the relative contractile tension was expressed as % contraction. Data are mean±S.E of 6 experiments. *p<0.05, **p<0.01 vs. t-BHP alone.

5. ⁴⁵Ca 蓄積에 미치는 效果

t-BHP, 星香正氣散 및 酸化抑制劑들의 Ca²⁺ 流入에 미치는 效果를 直接 觀察하기 위하여 ⁴⁵Ca 蓄積의 變化를 測定하였다. Fig. 7에 나타낸 結果에서 보듯이 2 mM의 t-BHP 존재시 ⁴⁵Ca 蓄積이 顯著히 增加하였으며 이는 星香正氣散에 의해 一部 遮斷되었다. 한편 酸化抑制劑인 GSH 및 DPPD는 ⁴⁵Ca 蓄積에 有意한 效果를 나타내지 못하였다

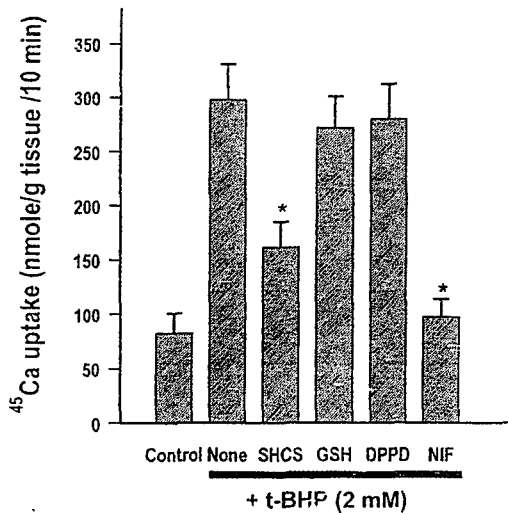


Fig. 7. Effects of Sunggyangchungisan (SHCS), glutathione (GSH), N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine (DPPD), and nifedipine (NIF) on t-BHP-induced increase in ⁴⁵Ca uptake in rabbit carotid artery strips. Effect of 2 mM t-BHP on 10 min ⁴⁵Ca uptake was determined in the presence or absence of 0.5 mg/ml SHCS, 5 mM GSH, 5 μM DPPD, or 1 μM NIF. Data are mean ± S.E. of 6 experiments. Data are mean ± S.E. of 6 experiments. *p<0.01 vs. t-BHP alone.1

IV. 考 察

酸素는 體內 代謝에 必須의인 因子이지만 酸素가 過多하게 蓄積되는 境遇나 或은 여러 形態의 代謝 異常, 炎症性 反應, 虛血後 血液 再灌流 等과 같이 反應性 酸素基의 生成이 過多하게 增加하는 境遇 細胞內에서 效果의 으로 除去되지 못하고 이는 여러 機轉에 의 해 細胞 損傷을 招來한다¹⁵⁻¹⁸⁾. 反應性 酸素基에 의한 細胞 損傷의 重要한 機轉中 하나가 細胞膜에 存在하는 脂質의 過酸化와 이와 聯 關 된 變 化 이 다²⁹⁻³¹⁾. 細胞膜은 酸化過程이 아 주 簡 便 히 일 어 나 는 不 飽 和 脂 肪 酸 들 을 많 이 包 含 하고 있 기 때 문 에 反 應 性 酸 素 基 은 簡 便 히 脂 質 成 分 의 過 酸 化 를 招 來 할 수 있 으 며, 이 는 周 圍 에 있 는 여 러 機 能 性 蛋 白 質, 즉 運 搬 體 나 이 온 通 路 等 의 構 造 的 或 은 機 能 的 變 化 를 招 來 하 여 細胞 機 能 에 損 傷 을

주게 된다²⁵⁾.

星香正氣散의 構成藥物의 藥理作用을 보면, 藿香은 辛溫하여 理氣和中, 化濕止嘔하며 表裏를 兼治하는 效能이 있고, 蘇葉, 白芷, 桔梗은 散寒利膈하여 邪氣를 發表시키고 理氣機하며, 厚朴, 大腹皮는 行水消滿하고 下氣寬中하며, 半夏, 陳皮는 燥濕祛痰, 和胃降逆하여 裏滯를 疏通시키며, 茯苓, 白朮, 炙甘草는 益脾祛濕하여 正氣를 補하고, 生薑, 大棗는 益胃和中하며^{4,32,33)}, 南星은 燥濕化痰, 祛風解痙하는 效能이 있어 風痰을 除去하며, 木香은 行氣止痛하는 效能이 있어 腸胃의 滯氣를 疏通시킨다³³⁾.

星香正氣散은 藿香正氣散에 祛風痰之劑인 南星과 理氣劑인 木香을 加한 理氣祛風痰之劑로 中風, 中氣, 痰厥, 食厥 等證에 先用 一 二 貼 하 여 正 其 氣 한 後 에 隨 症 治 之 하 는 救 急 處 方 으 로 널리 活用되고 있다^{3,4,5)}.

本 研究 에서는 外 因 性 酸 化 劑 인 t-BHP에 의한 家 兔 頸 動 脈 血管 收 縮 과 脂 質 過 酸 化 에 미 치 는 星 香 正 氣 散 의 效 果 를 既 存 의 잘 알 려 진 酸 化 抑 制 劑 및 Ca²⁺ 通 路 遮 斷 劑 의 作 用 과 比 較 하 여 觀 察 함 으 로 써 星 香 正 氣 散 의 作 用 과 機 轉 을 밝 히 고 자 考 索 하 였 다. t-BHP는 細胞膜을 쉽게 透過해 細胞內로 들어가며 細胞內에서는 glutathione peroxidase에 의해 물 로 代 謝 된 다. 이 때 還 元 型 의 glutathione (GSH)이 酸化型 glutathione (GSSG)으로 변 한 다. GSH는 細胞內 蛋白質의 thiol/disulfide 基의 比率을 維持함으로서 細胞 機能의 維持에 必須의인 役割을 한다. 따라서 GSH의 不足은 酸化劑에 의한 細胞 損傷을 惡化시키며, 반대로 GSH를 投與하면 酸化劑에 의한 細胞 損傷과 脂質 過酸化를 效果의 으로 防止하는 效果가 있는 것으로 알려져 있다. 本 研究 에서 t-BHP에 의한 脂 質 過 酸 化 의 增加는 다 른 많 은 組 織 들 에 서 報 告 된 結 果 들 과 그 樣 相 이 一 致 한 다.

本 研究 的 結 果 에서 t-BHP가 脂質過酸化를 增加시키는 것과 類似한 濃度 範圍에서 血管 收縮을 나타냄으로서, 一見 脂質過酸化와 收縮 誘發 機轉이 密接하게 聯關되어 있

는 것처럼 보이거나 酸化抑制劑 및 Ca^{2+} 通路遮斷劑 등의 효과를 比較 分析한 結果 서로 聯關 없이 獨立的으로 나타난 實驗 結果로 보인다. 즉 脂質過酸化를 현저하게 遮斷한 GSH 및 DPPD가 t-BHP에 의해 誘發된 收縮을 效果的으로 抑制하지 못함은 星香正氣散에 의한 收縮 抑制 效果가 脂質過酸化의 抑制 效果와는 無關하게 나타났음을 暗示한다. 이는 ^{45}Ca 를 利用한 Ca^{2+} 의 流入을 測定한 實驗에서도 確認된다. 즉 GSH나 DPPD 등 既存 酸化 抑制劑들은 ^{45}Ca 流入에 影響을 미치지 않은데 比하여 星香正氣散은 有意한 抑制 效果를 보여 星香正氣散의 收縮 抑制, 또는 弛緩 效果가 Ca^{2+} 流入의 抑制와 聯關이 있을 것이라는 推論을 뒷받침한다.

血管을 包含한 平滑筋의 收縮은 細胞內 Ca^{2+} 濃度の 增加와 密接한 聯關이 있다. 細胞內 Ca^{2+} 濃度の 增加는 細胞內 貯藏庫로부터의 遊離나 細胞外液에서의 Ca^{2+} 流入에 의하여 媒介된다. 細胞內 가장 重要한 Ca^{2+} 貯藏庫는 筋漿그물 (sarcoplasmic reticulum)로서, 이곳에서 遊離되는 Ca^{2+} 은 여러 收縮物質에 의한 收縮의 初期 機轉으로 重要한 役割을 한다. Phenylephrine을 包含한 대개의 收縮 物質의 作用에 phospholipase C의 活性化가 重要하게 關係하는 것으로 알려져 있는데, 그 結果 生成되는 2次 전령물질의 하나인 inositol 1,4,5-triphosphate (IP_3)가 筋漿그물로부터의 Ca^{2+} 遊離를 促進한다. 이에 附加하여 平滑筋에서의 收縮은 骨格筋에서와 달리 相當 部分이 細胞外液으로부터의 Ca^{2+} 流入에 依存하는데 이는 크게 2가지 形態의 Ca^{2+} 通路를 통해 이루어진다. 受容體에 直接 連結되어 開閉되는 Ca^{2+} 通路 (receptor-operated Ca^{2+} channel, ROC)와 細胞膜電位の 變化에 의해 開閉되는 Ca^{2+} 通路 (voltage-operated Ca^{2+} channel, VOC)가 그것이다.

本 研究에서 나타난 t-BHP에 의한 收縮과 이에 隨伴하는 Ca^{2+} 流入이 어떤 機轉에 의한 것인지는 本 研究에서 나타난 結果만으로 結論을 내리기는 分明하지 않다. 細胞內 Ca^{2+} 濃度の 增加는 細胞膜 또는 筋漿 그물에 존

재하는 Ca^{2+} -펌프의 抑制, 細胞膜에 存在하는 Na^+/Ca^{2+} 交換 機轉의 抑制, 여러 經路를 통한 細胞 外部 Ca^{2+} 의 流入 등 여러 機轉에 의해 招來될 수 있다. 그러나 t-BHP에 의한 收縮 및 ^{45}Ca 蓄積이 모두 nifedipine에 의해 效果的으로 遮斷됨은 VOC의 일종인 L-형 Ca^{2+} 通路의 役割을 示唆한다. 즉 t-BHP에 의한 細胞膜 損傷 또는 機能 變化와 聯關되어 細胞膜電壓의 脫分極이 先行되고 그 結果 膜電位에 의해 開閉되는 VOC의 일종인 L-형 Ca^{2+} 通路를 媒介로 Ca^{2+} 의 流入과 收縮이 招來되었을 可能性이 높다. 또한 星香正氣散의 收縮 抑制 혹은 弛緩 效果도 L-형 Ca^{2+} 通路遮斷劑인 nifedipine과 類似點이 發見된다. 星香正氣散에 의한 弛緩 效果가 미리 Ca^{2+} 通路遮斷劑인 nifedipine으로 一部 弛緩된 경우에 附加의 弛緩 效果가 나타나지 않는 것은 星香正氣散과 nifedipine의 收縮 弛緩 效果의 機轉이 서로 같은 部位에 있음을 示唆한다. 따라서 星香正氣散의 弛緩 效果도 nifedipine에 의해 抑制되는 VOC의 一種인 L형 Ca^{2+} 通路를 통한 Ca^{2+} 의 流入을 抑制하여 나타났을 可能性이 많다.

本 研究에서 星香正氣散이 t-BHP에 의한 收縮을 抑制 혹은 弛緩하는 作用과 별개로, 脂質過酸化를 완화시키는 效果도 注目할 必要가 있다고 思料된다. 緒論에서도 言及하였듯이 腦卒中을 包含한 많은 腦血管性 疾患에서 病變의 進行이나 腦組織 損傷에 反應性 酸素基가 重要하게 作用함이 알려지고 있고 反應性 酸素基에 의해 나타나는 病態生理學的 機轉의 하나로 脂質過酸化가 重要하게 關係하기 때문에 이러한 疾患의 進行 防止나 治療와 聯關지어 星香正氣散의 作用을 注目할 必要가 있을 것으로 생각된다. 星香正氣散은 家兔 頸動脈 平滑筋에서 t-BHP에 의한 血管 緊張度 增加 및 脂質過酸化를 抑制하고, 血管 緊張度 增加를 抑制 혹은 弛緩시키는 效果는 脂質過酸化에 대한 抑制 作用과는 獨立的으로 나타나며, 이는 Ca^{2+} 流入을 抑制하여 나타나므로 臨床에서 腦血管 疾患의 防止나 治療에 效果的으로 應用될 수 있다고 생

각된다.

V. 結 論

星香正氣散이 家兔의 頸動脈 平滑筋에서 t-BHP에 의한 脂質過酸化 및 收縮에 미치는 影響을 觀察한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 家兔 頸動脈 切片을 t-BHP로 處理時 濃도에 依存的으로 收縮이 誘發되었으며 最大收縮의 크기는 phenylephrine에 의한 最大收縮의 약 40%에 달하였다.

2. 星香正氣散은 濃도에 依存的으로 t-BHP에 의한 收縮을 抑制 혹은 弛緩시켰으며 그 效果는 後處置時보다 前處置時 더 效果的으로 나타났다.

3. 家兔 頸動脈 切片을 t-BHP로 處理時 濃도에 依存的으로 脂質過酸化가 增加하였다.

4. 星香正氣散은 既存의 잘 알려진 抗酸化劑인 glutathione (GSH) 및 N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine (DPPD) 등과 類似하게 脂質過酸化를 抑制하는 效果를 보였다.

5. 星香正氣散과 달리 GSH 및 DPPD는 脂質過酸化에 미치는 強力한 抑制 效果에 비해 t-BHP에 의한 收縮을 抑制 혹은 弛緩시키는 效果는 미미하거나 없었다.

6. t-BHP는 頸動脈 平滑筋 切片에서 ⁴⁵Ca 蓄積을 增加시켰으며 星香正氣散은 t-BHP에 의한 ⁴⁵Ca 蓄積의 增加를 抑制하였다. 한편 GSH 혹은 DPPD는 星香正氣散과 달리 아무런 效果를 보이지 않았다.

參考文獻

1. 戴思恭. 證治要訣(醫部全錄-VI). pp.35~6, 香港, 宇光出版社, 1976.
2. 龔延賢. 新刊醫林狀元濟世全書. p.21,23,27, 臺北, 新文豐出版社, 1982.
3. 黃度淵. 證脈方藥合編. pp.138~40, 서울, 南山堂, 1978.
4. 李麟星. 藿香正氣散과 夏節病. 醫林 180:4~7,12, 1987.
5. 金定濟. 診療要鑑. (1)pp.448~9,453,(2)p.431,

- 서울, 東洋醫學研究院, 1974.
6. 金定濟. 中風證의 病理的 考察. 東洋醫學 4:33~8, 1978.
7. 김상현. 腦卒中의 症狀과 豫後. 大韓醫學協會誌 20:1037~42, 1977.
8. 金永錫. 中風の 病因病理에 關한 文獻的 考察. 東洋醫學 7:42~54, 1981.
9. 宋孝貞, 文禧典. 淸上瀉火湯이 血壓 및 脂質代謝에 미치는 影響. 慶熙韓醫大論文集 5:131~46, 1982.
10. 李京燮, 具本泓. 竹瀝湯, 加味竹瀝湯이 高血壓 및 血糖에 미치는 影響. 慶熙韓醫大論文集 3:91~108, 1980.
11. 朴鍾榮, 李京燮. 祛風續命湯이 脂質代謝에 미치는 影響에 關한 研究. 慶熙韓醫大論文集 5:335~43, 1982.
12. 權寧哲, 李京燮. 疎風湯 및 加味疎風湯이 高脂血症에 미치는 影響. 慶熙韓醫大論文集 5:269~79, 1982.
13. 徐春甫. 古今醫統秘方大全(III). pp.1106~9, 서울, 新文豐出版公司, 1982.
14. 方賢. 奇效良方(I). p.2,5, 香港, 商務印書館, 1977.
15. Faber JL, Kyle ME, Coleman JB. Biology of disease: mechanisms of cell injury by activated oxygen species. Lab. Invest 62:670-79, 1990.
16. Floyd RA. Role of ROS in carcinogenesis and brain ischemia. FASEB J 4:2587-97, 1990.
17. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. Lab. Invest 47:412-26, 1982.
18. Mccod JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. N. Engl. J. Med 312:159-63, 1985.
19. Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. Diabetes mellitus, hypertension, and cardiovascular disease: which role for oxidative stress? Metabolism 44:363-8, 1995.
20. Harrison DG. Endothelial function and oxidant stress. Clin. Cardiol 20:11-7, 1997.
21. 김중평, 유익동. 新物質探索, pp.325~9, 서울, 자유아카데미, 1996.
22. Farooqui AA, Horrocks LA. Lipid peroxides

- in the free radical pathophysiology of brain diseases. *Cell Mol Neurobio* 18:6 599-608, 1998.
23. Greib P, Ryba MS, Debicki GS, Gordon-Krajcer W, Januszewski S, Chrapusta SJ. Changes in oxidative stress in the rat brain during post-cardiac arrest reperfusion, and the effect of treatment with the free radical scavenger idebenone. *Resuscitation* 39:1-2 107-13, 1998
 24. Ravati A, Junker V, Kouklei M, Ahlemeyer B, Culmsee c, Kriegstein J. Enalapril and moexipril protect from free radical-induced neuronal damage in vitro and reduce ischemic brain injury in mice and rats. *Eur J Pharmacol* 28 373:1 21-33, 1999.
 25. Favier AE. Analysis of free radicals in biological systems. Basel; Boston; Berlin; Birkhauser pp.80~8, 1995.
 26. 安恭立, 星香正氣散이 家猫의 血壓 및 心搏動에 미치는 影響, 圓光大韓醫大論文集, 2:199~217, 1982.
 27. 文炳淳, 星香正氣散이 家兔의 頭蓋內壓 및 血壓에 미치는 影響, 圓光大學校, 1988.
 28. 柳鍾三, 星香正氣散이 흰쥐의 腦損傷에 미치는 影響, 大田大學校, 1992.
 29. Salahudeen AK. Role of lipid peroxidation in H₂O₂-induced renal epithelial (LLC-PK1) cell injury. *Am. J. Physiol.* 268:F30-F38, 1995.
 30. Sheridan AM, Fitzpatrick S, Wang C, Wheeler DC, Lieberthal W. Lipid peroxidation contributes to hydrogen peroxide induced cytotoxicity in renal epithelial cells. *Kid. Int* 49:88-93, 1996.
 31. Rush GF, Gorski JR, Ripple MG, Sowinski J, Bugelski P, Hewitt WR. Organic hydroperoxide-induced lipid peroxidation and cell death in isolated hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 78:473-83, 1985.
 32. 陳潮祖 外編. 中醫方劑與治法. pp.320~3, 四川, 1985.
 33. 張仲景. 金匱要略方論. p.30,31, 서울, 成輔社, 1985.