

원 저

當歸가 백서의 뇌손상 및 심혈관계에 미치는 영향

김 용 진, 황 치 원

대전대학교 한의과대학 심계내과학교실

An Experimental Study on Brain Damage and Cardiovascular System Effects of *Angelicae Gigantis Radix* Extract

Yong-Jin Kim, Chi-won Hwang

Department of Oriental Medicine, College of Oriental Medicine, Taejon University

Objective : The purpose of this study was to investigate the effects of *Angelicae Gigantis Radix* on brain damage and the cardiovascular system.

Method : By administraction *Angelicae Gigantis Radix*, we compared treated groups with not treated groups, in view of five points as follows ① the intervascular eNOS, ② the blood pressure of SHR, ③ the transcription of the Kir6.2, ④ the survival time of the rats when common carotid artery was ligated, and ⑤ antiplatelet aggregation.

Result : In this experiment, *Angelicae Gigantis Radix* treated group showed significant produced in the intervascular eNOS and decreased the blood pressure of SHR, increased the transcription of the Kir6.2 and SUR significantly in all Treated groups, prolonged the survival time of the rats when common carotid artery, showed the effects on antiplatelet aggregation.

Conclusion : According to the above results, *Angelicae Gigantis Radix* can protect the brain damage and have cardiovascular system effect. (J Korean Oriental Med 2000;21(4):37-46)

Key Words: *Angelicae Gigantis Radix*, Brain Damage, Cardiovascular System

서 론

當歸(*Angelicae Gigantis Radix*)는 形科에 속한 다년생 草本인 當歸(*Angelica Gigas Nakai*)의 뿌리를 가을에 채취하여 건조한 것으로 補血和血^{1,2)}, 潤燥滑腸^{1,2)}, 腦神營養³⁾의 효능이 있어 관상동맥 혈류량 증가, 심박을 조정, 혈소판 응집 저하, 항혈전 작용, 심계, 건망, 질타손상을 주치^{1,3)}하며 血病에 要藥으로 널리

사용되어 지는 약이다^{1,3)}.

뇌손상의 대표적 질환인 허혈성 뇌혈관 질환은 뇌혈관의 순환장애로 뇌의 신경손상이 야기되어 감각스런 의식장애와 운동, 감각, 반사기능의 장애를 일으키는 것^{4,5)}으로, 심장, 대동맥궁, 경동맥등의 심혈관계에서 유래된 혈전에 의해 혈류가 폐색된 경우, 또는 국소 뇌혈관의 협착에 의한 허혈로 발생하게 된다⁶⁾.

심혈관계의 혈전은 지혈기전의 병리적 현상으로서 정교한 조절에도 불구하고 다양한 병적 원인에 의하여 생체내 혈액응고의 균형이 깨지게 되면 혈전이 형성되어 혈관을 막게 되므로 혈액순환이 정지되어

· 접수 : 2000년 10월 9일 · 채택 : 12월 8일
· 교신저자 : 김용진, 대전광역시 중구 대흥동 22-5 대전대 부속 한방병원 (Tel. 042-229-6756)

조직의 손상을 일으키게 된다^{5,8)}. 그 결과 뇌혈관이 막히게 되면 뇌경색이 일어나 半身不遂나 全身痲痺가 일어날수 있으며, 심혈관이 막히게 되면 심근경색이 일어나 사망할 수도 있게된다^{4,5,8)}.

최근 뇌손상과 심혈관계에 대한 연구로는 薛 등^{9,11)}과 盧¹²⁾의 논문이 있으나, 當歸에 대한 연구는 鄭¹³⁾의 當歸의 혈압하강 및 심근수축력 억제작용 뿐 뇌손상과의 관계에 대하여 아직 접하지 못하였다.

이에 저자는 當歸의 뇌손상 및 심혈관계에 미치는 효능을 실험적으로 규명하고자 Nitric oxide synthase(이하 NOS)의 혈관확장 유도효과, 혈압강하효과, 경동맥 결찰 후 생존시간에 미치는 영향, KATP channel이 미치는 혈관 평활근 이완효과, 그리고 혈소판응집 억제효과에 대한 검색실험을 관찰한 바 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

실 험

1. 재료

1) 약재

본 실험에 사용된 當歸(*Angelicae Gigantis Radix*)는 대전대학교 부속한방병원에서 구입한 것을 정선하여 사용하였다.

2) 동물

실험 동물은 체중 200±20g의 Spontaneous Hypertensive Rat(이하 SHR)와 SD rats(Sprague-Dawley계 白鼠)를 고형사료(삼양사료(주), 소 동물용)와 물을 충분히 공급하였고, 사육 환경은 12시간의 명암 주기와 18~20℃를 유지시키며 사육하였다.

3) 세포 및 배지

Human으로부터 유래한 endothelial cell은 human umbilical vein endothelial cell(이하 HUVEC)을 배지는 hydrocortisone, vascular endothelial growth factor(이하 VEGF), human re-combinant. epidermal growth factor (hEGF), long recombinant 3-insulin-like growth factor-1 (R3-IGF-1), gentamicin/amphotericin-B, ascorbic acid, hFGF-B (w/ heparin), heparin, fetal bovine serum (FBS) 2%를 포함하는 EGM-2 Bulletkit

(Clonetics, U.S.A.)를 구입하여 사용하였다. 세포의 배양은 5% CO₂, 37℃에서 배양하며 실험하였다. 약재의 처리는 세포가 배양 용기에 완전히 부착된 후 배지를 교환하였으며 이 시기에 처리 농도는 10 mg/ml로 첨가하여 24시간 동안 배양 후 실험에 사용하였다.

4) 검액의 조제 및 투여

시료로 사용되는 當歸 200g을 3,000ml round flask에 증류수 2,000ml를 넣고 2시간 동안 가열하여 약리 성분을 추출하였다. 여과한 여액은 rotary vacuum evaporator에서 감압 농축하고 이 round flask를 -80℃ deep freezer에서 1시간 냉동시켜 freeze dryer로 동결 건조하여 건조 분말을 얻었다. 약재의 분말은 냉동고에 보관하고, 필요시 실험에 필요한 농도로 녹여 사용하였다. 약재는 경구 투여 방식으로 10일간 지속적으로 150mg/1회 투여한 뒤 약재의 효과 검색에 사용하였다. 그리고 각 군당 SHR 5마리씩 약재를 투여하였다.

5) 유전자 검출을 위한 oligonucleotides의 합성

각 유전자 발현을 검출하기 위한 primers는 genebank (NIH, U.S.A.)검색을 통하여 해당 유전자의 염기 서열을 바탕으로 각각 유전자의 sense primer와 antisense primer를 합성하였다(Table 1). HUVEC의 내부 표준 유전자는 β-actin을 사용하였고, 심장 적출 후 Polymerization Chain Reaction(PCR)시 내부 표준 유전자는 glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase(GAPDH)를 사용하였다.

2. 방법

1) Total RNA의 준비

HUVEC 세포로부터 total RNA의 분리는 RNAzol B (Tel-test, U.S.A.)를 사용하여 분리하였다. 심장 조직으로부터 전체 RNA는 Chomczynski¹⁴⁾의 방법에 따라 준비하였다. 우선 perfusion 시행을 마친 심장 조직 2~3mg을 막자 사발에 20~30 mesh sea sand (Junsei, Japan)와 함께 넣어 액체 질소로 급냉시켜 곱게 갈아주었다. 파쇄한 조직에 solution D 5ml과 동량의 phenol/chloroform/isopropanol (50:49:1)를 넣어 상

Table 1. Primer Sequence of Each Genes in This Studies

Gene	Source	Direction	Sequences
eNOS	H & R	S	5-TCCR*AATCTGGAACAGCCAGCTGG
		AS	5-GY*TCCATGCAGACAGCCACATCCTC
iNOS	H	S	5-GCAGACTGGATTGGCTGG
		AS	5-GAGGGTACATGCTGGAGC
Kir6.1	R	S	5-TGGCACGGTTCCGCTGCCGAGAACC
		AS	5-TGACACATGTACACGCACGGAGTCC
Kir6.2	R	S	5-TTCGCCATGGTCTGGTGGCTCATC
		AS	5-TCACTAGGAGCCAGGTCGTAGAGC
SUR1	R	S	5-TGACTACTGGCTGGCCAAGTGGAC
		AS	5-AAGGTGGATCTGCTCAGGCCACTCC
β-actin	H	S	5-GACCCAGATCATGTTTGAGACC
		AS	5-GATGTCCACGTCACACTTCATG
GAPDH	R	S	5-CCAAGGTCATCCATGACAAC
		AS	5-TCATTGAGAGCAATGCCAGC

* R denotes A, G and Y denotes C, T

온에서 천천히 1시간 동안 교반하였다. 이를 3,000rpm에서 20분간 원심 분리하여 상층액을 취하고 위 과정을 1회 반복한후 동량의 chloroform으로 2회 추출하고 상층액을 에탄올 침전을 통해 RNA를 침전시켰다. 이를 70% 에탄올로 세척 후 건조하여 DEPC가 처리된 증류수에 녹이고 RNase-free DNase를 처리하여 -80℃에 보관하며 사용하였다.

2) Reverse Transcription-Polymerization Chain Reaction (RT-PCR)

(1) First strand cDNA 합성

HUVEC 및 심장으로부터 분리한 total RNA 3μg으로 20μl의 반응액 (50mM Tris-Cl, pH 8.3, 75mM KCl, 3mM MgCl₂, 10mM DTT, 2.5 mM 4 NTPS, 1μg random hexamer, 200units M-MLV, 20units RNase inhibitor)을 제조하여 37℃에서 1시간 동안 반응시켜 first strand cDNA를 합성하고 90℃에서 5분간 가열하여 RT활성을 제거하였다.

(2) PCR

합성된 cDNA 중 1μl는 20μl의 PCR 반응액 (10 mM Tris-Cl, pH 8.3, 50mM KCl, 1.5mM MgCl₂, 7.5mM 4 NTPS, 20 pmole sense, antisense primers, 2units Taq polymerase)을 제조하였다. 반응액은 turbo thermalcycler system (Bioneer, Korea)을 사용하여 predenaturation 3분; denaturation 94℃, 1분; annealing

55℃, 1분; extension 72℃, 1분 패턴으로 30회 반복하였다. 각 primer의 특성에 따라서 annealing 온도를 변화시켰으며 반응산물은 1% agarose gel에서 전기 영동하여 분석하였다.

3) 혈압측정

최종일까지 당귀를 투여하였고 혈압의 측정은 약재 투여 후 cage에서 2시간 동안 안정시켰다. 혈압 측정은 SHR의 꼬리를 alcohol로 잘 닦은 후 37.5℃ 예비 보온기에 10분간 넣어 두었다가 physiograph Model 7 (GRASS Instrument Co., U.S.A.) 7P8 channel로 마취하지 않은 상태에서 각 군(n=5)의 혈압을 측정하였다. chart paper 1cm에 혈압은 50mmHg (baseline ; 0)으로 보정하였다.

4) NO 농도 측정

혈압 측정이 끝난 rat는 심장으로부터 각 5ml씩 채혈하였다. 채혈 후 rat의 심장을 적출하여 RNA 분리에 사용하였다. 혈액은 3,500rpm에서 30분간 원심분리하여 적혈구와 백혈구를 제거하였다. 혈장에서 NO의 농도 측정은 griess reagent를 사용하여 측정하였다. 측정 전 solution A(0.2% Naphtyl ethylene diamine dihydrochloride in H₂O)와 solution B(2% Sulfonileamide in 5% H₃PO₄)를 동량으로 섞어 griess reagent를 준비하였다. 측정은 검액 시료 100μl와 griess reagent 100μl를 96plate에 분주하고 기포가 생기지 않도록

주의하며 혼합하였다. 이 혼합액은 540nm에서 ELISA reader를 이용하여 흡광도를 측정하였다. NO의 정량은 NaNO_3 를 사용하여 표준곡선을 구하여 시료내 NO의 농도를 계산하였다.

5) Platelet aggregation 억제능

200±20g SHR을 ether를 사용하여 마취시켜 심장으로 부터 혈액을 채취하였다. 이는 0.6ml의 3.8% sodium citrate soln이 담긴 polyethylene test tube에 옮겨 고루 섞어 주었고, 1,100g에서 10분간 원심분리하여 상등액을 취해 얻어진 Platelet Rich Plasma(이하 PRP)는 test tube에 넣고 뚜껑을 막아 pH변화를 최소화하였다. PRP를 제외한 잔류물은 다시 1,000g이상에서 15분간 원심분리하여 상등액으로부터 platelet poor plasma(이하 PPP)를 얻었다. PRP는 Coulter Counter를 이용하여 혈소판 수를 측정 한 후 5×10^5 cells/ μl 이 되도록 PPP로 희석하였다. 항혈소판 응집 효과 측정은 aggregometer(Chrono-Log Co. Ltd., U.S.A.)를 사용하여 Born¹⁵⁾의 탁도 측정법에 준하여 측정하였다. PRP 180 μl 를 silicone coating된 7.25×55 mm cuvette에 취하고 micro-magnetic bar를 넣은 후 37℃에서 1~2분간 방치하였다. 이를 37℃에서 stirring하면서 1분간 incubation하였고, 이어서 5 μM ADP 용액 20 μl 를 가하여 platelet aggregation을 유발시켰다. 이때 약물에 의해 aggregation이 억제되는 정도(%)를 계산하였다.

6) 경동맥 결찰후 생존시간의 측정

하룻밤 절식시킨 SD(각 군 n=5)는 ketamine chlo-

ride, O₂, N₂O를 흡입시키며 전신마취 시켰다. 마취한 쥐는 수술대에 고정시키고 목 중양을 절개하였다. 신경손상을 주지 않도록 주의하면서 총경동맥과 내경동맥을 구분하여 결찰하였다. 총 수술시간은 30분 이내로 신속히 진행하였고, 수술중 적외선 등을 사용하여 체온하강을 방지하였으며, 출혈을 최소화하였다.

7) 통계처리

실험결과는 student's t-test¹⁶⁾로 검정하였다.

성적

1. Nitric oxide synthase의 유도효과

當歸의 투여에 따른 endothelial cell내에서 NOS의 전사유도 효과를 검색하였다. 우선적으로 검색 대상은 NO의 합성에 관여해 혈관의 확장 유도 효과를 보일 것으로 기대되는 iNOS와 eNOS 두 유전자의 전사 유도 효과를 살펴보았다. Endothelial cell은 내피만을 분리한 세포로 eNOS와 β -actin은 발현되었으나 iNOS는 발현되지 않았다. eNOS는 양적 차이는 크게 나타나지 않았으나 대조군과 비교하여 상대적으로 eNOS의 농도는 약 1.43배 발현이 증가하여 유의성 있는 혈관확장 유도 효과를 나타냈다(Fig. 1-1, Fig. 1-2, Fig. 1-3, Fig. 1-4).

2. 혈압강하효과

當歸의 투여후 SHR의 혈압 변동은 대조군이 176 mmHg로 나타났고, Sample A에서는 151mmHg, Sample

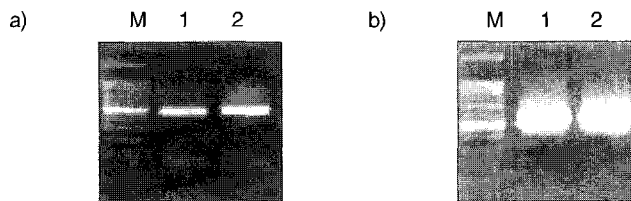


Fig. 1-1 . The expression levels of eNOS and β -actin in human endothelial cell. The drug treated concentration was 100 mg/ml. a) endothelial nitric oxide synthase gene(eNOS) b) β -actin Lane M : 100 base pair ladder(size standard) Lane 1 : Control(Non-treated group) Lane 2 : 100mg/ml of *Angelicae Gigantis Radix* Extract treated group

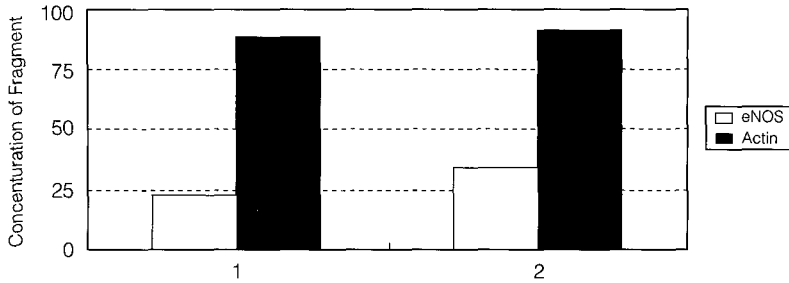


Fig. 1-2 . The expression levels of eNOS and β -actin in human endothelial cell.
 1. control : Non-treated group 2. 100mg/ml of *Angelicae Gigantis Radix* Extract

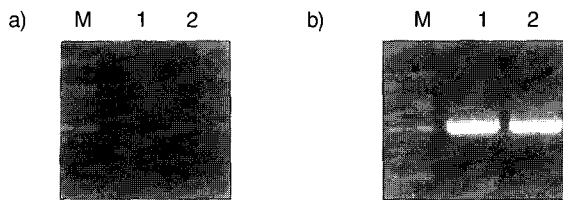


Fig. 1-3. The expression levels of iNOS and β -actin in human endothelial cell.
 a) iNOS b) β -actin
 Lane M : 100 base pair ladder(size standard)
 Lane 1 : Control group(Non-treated group)
 Lane 2 : 100mg/ml *Angelicae Gigantis Radix* of Extract Treated group

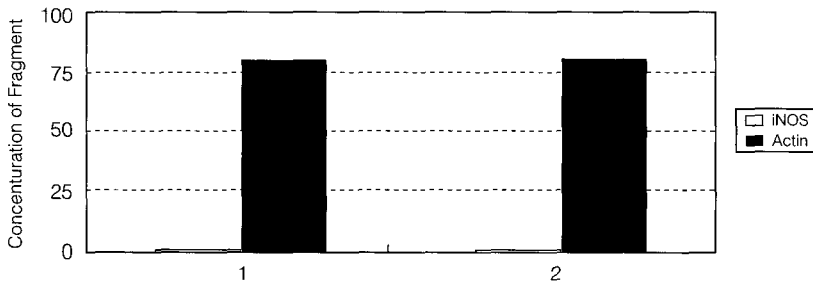


Fig. 1-4 . The expression levels of iNOS and β -actin in human endothelial cell.
 1. Control group : Non-treated group 2. Treated group : 100mg/ml of *Angelicae Gigantis Radix* Extract

B에서는 155mmHg, 그리고 Sample C에서는 153mmHg로 나타나 대조군에 비하여 모든 실험군에서 유의성 있게 강화되었다(Fig. 2).

3. KATP channel에 미치는 효과

각 KATP chanel에 영향을 주는 것으로 알려진 유전자들을 대상으로 PCR을 이용해 心臟 조직으로부터 증폭시켜본 결과 음성 대조군과 비교하여 Kir6.2는 저농도인 100mg/ml of *Angelicae Gigantis Radix* Extract

에서 1.1배, 고농도인 200mg/ml of *Angelicae Gigantis Radix* Extract에서 1.18배 증가하였고, SUR은 각각 1.53배와 1.12배가 증가하였다(Fig. 3-1, Fig. 3-2).

4. 경동맥 결찰후 생존시간에 미치는 효과

양측 경동맥 결찰후의 생존시간은 대조군이 57 ± 2.1sec.로 나타났고, Sample A와 Sample B는 각각 60 ± 1.1과 61 ± 1.1(sec.)로 나타나 대조군에 비해 모두 유의성있게 연장되었다(Fig. 4).

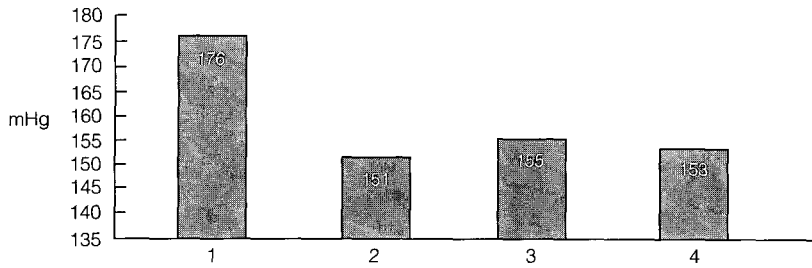


Fig. 2. The effect of blood pressure treated after oral administration of *Angelicae Gigantis Radix* extract.

- 1. Control : Non-treated group
- 2. Sample A : average of five SHR
- 3. Sample B : average of five SHR
- 4. Sample C : average of five SHR

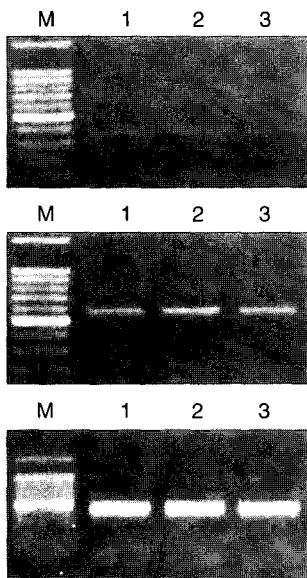


Fig. 3-1. The expression level of genes which involved KATP channel regulation in heart.

- a) Kir6.2 b) SUR c) GAPDH
- Lane M : 100 base pair ladder(size standard)
- Lane 1 : Control(Non-treated group)
- Lane 2 : 100mg/ml of *Angelicae Gigantis Radix* Extract
- Lane 3 : 200mg/ml of *Angelicae Gigantis Radix* Extract

5. 혈소판 응집 억제효과 (In vitro)

ADP로 유도된 SHR의 PRP(Platelet Rich Plasma) 응집반응을 측정한 결과, 대조군의 응집 정도는 10.1 ± 0.98 ohms이고, Sample A와 Sample B는 각각 9.24 ± 1.93 와 10.1 ± 0.98 ohms였으며, 억제도는 각각 41.1%와 35.7%로 나타나 모든 실험군에서 유의성있는 억제효과가 나타났다(Fig. 5).

고찰

뇌는 인체내에서 대사가 활발한 곳 중의 하나인데, 뇌조직은 그 기능을 원활하게 유지시키기 위한 에너지 지원으로서 호기적 해당계에 의존하고 있는데, 이를 위하여 다량의 산소와 glucose의 지속적인 공급을 필요로 한다. 이 뇌혈류의 안정적 공급을 위하여 뇌의 소동맥들은 산소분압과 이산화탄소분압에 예민하게 반응하는데 이산화탄소의 분압이 증가되면 소동맥은 수축하고 뇌혈류는 감소한다^{17,18)}.

만일 뇌혈류의 장애가 일어나면 10-20초 이내에 뇌파에서 뇌의 활동이 정지되었음을 볼 수 있으며, 30초 이상 계속될 때에는 뇌조직에서 산소공급의 부족으로 유산이 생산되며 세포의 sodium-potassium pump가 정지되고 뇌조직의 glucose도 급격히 감소된다. 그 결과 sodium과 물, calcium의 세포내 유입이 일어나 세포는 괴사하게 되며^{17,18)} 비가역적인 기능장애가 일어나 전뇌허혈증(global ischemia)과 국소적인 경색으로 나타난다¹⁹⁻²¹⁾.

뇌허혈은 심장, 대동맥궁, 경동맥등의 심혈관계에서 유래된 혈전에 의해 혈류가 폐쇄된 경우, 또는 국소 뇌혈관의 협착에 의한 허혈로 발생하게 되는데⁶⁾ 이러한 혈전은 생체내의 혈관 또는 심장내에서 혈액이 형성하는 응고피를 말한다^{8,19)}. 혈전의 형성은 지혈기전과 밀접한 관계를 가지는데, 생리적 반응에서 지혈현상은 반드시 손상된 혈관 주변에서만 제한적으로 일어나며 다른 부위로 진행되지 않는다^{22,23)}. 또한

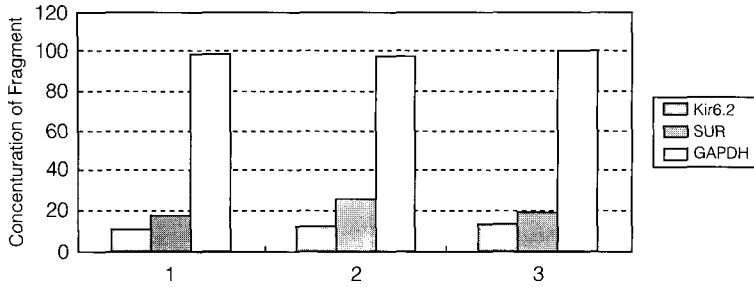


Fig. 3-2. The expression level of genes which involved KATP channel regulation in heart.
 1. Control : Non-treated group 2. 100mg/ml of *Angelicae Gigantis Radix* Extract
 3. 200mg/ml of *Angelicae Gigantis Radix* Extract

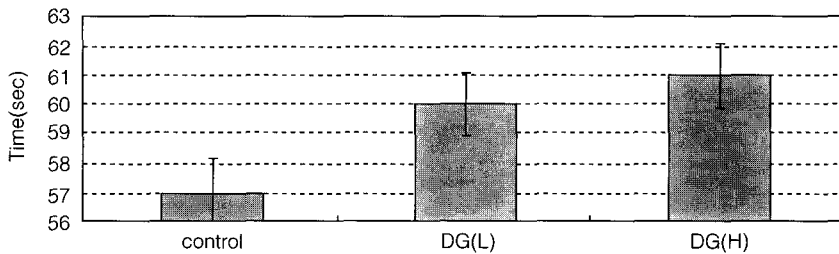


Fig. 4. The survival time following ligation of both common carotid arteries 30 min. after oral administration of *Angelicae Gigantis Radix* extract.
 Control : Non-treated group Sample A : 100mg/ml of *Angelicae Gigantis Radix* Extract
 Sample B : 200mg/ml of *Angelicae Gigantis Radix* Extract

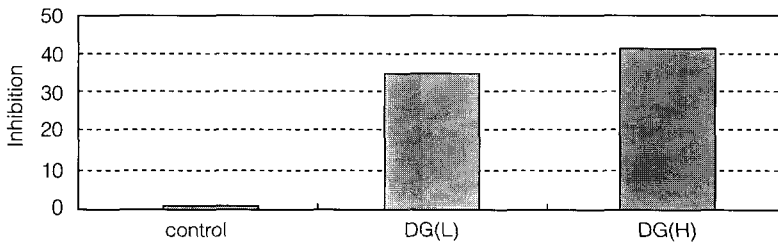


Fig. 5. Inhibition of ADP(Adenosine diphosphate) induced aggregation of rat platelet by *Angelicae Gigantis Radix* Extract.
 Control : Non-treated group Sample A : 100mg/ml of *Angelicae Gigantis Radix* Extract
 Sample B : 200mg/ml of *Angelicae Gigantis Radix* Extract

혈액응고 과정은 응고인자들의 선택적 결합과 혈장 내에 존재하는 여러 가지 단백질 가수분해 억제인자들과 길항작용을 하는 일련의 효소반응에 의하여 정교하게 조절되고 있다²⁴⁾.

이러한 기전은 한의학에서 어혈로 인한 혈액응결 불행으로 야기되는 병증과 유사한 점이 많으며²⁵⁾, 최근에 唐²⁵⁾은 혈전증을 어혈의 범주에 포함시키기도 하였다.

瘀血은 생리적 기능을 상실한 혈액이 응취하여 형성된 일종의 병리적인 산물인 동시에 치병인자가 되는 것으로 혈액순환장애, 혈류속도감소, 혈액성분 변화의 병리상태를 포괄하며⁴⁰⁾, 오늘날 혈액순환장애, 혈액류변성(혈행속도감소), 혈액점도이상으로 인한 조직과 기관의 수종변성 염증증식, 궤양, 괴저, 위축, 혈전형성, 혈관협착 혹은 폐색 등의 일련의 병리 변화 상태 등이 이에 해당된다고 볼 수 있으며, 현대의

학적으로는 혈전증, 고지혈증 및 고점도혈증이 유사한 개념으로 인식되어져 이에 대한 연구²⁷⁾가 활발히 이루어지고 있으며 허혈성 뇌혈관질환의 중요한 원인 중 하나로 꼽히고 있다^{19,21)}.

뇌손상의 대표적 질환인 허혈성 뇌혈관질환은 혈류량 감소가 초래되어 발생하는 질환으로^{4,19,28)}, 한의학에서는 中風의 범주에 속하는데^{4,25,28-30)}, 中風의 원인 설로는 風²⁹⁾, 火³⁰⁾, 氣虛³¹⁾, 濕痰說³²⁾이 주류를 이루었으나 王³³⁾에 의해 瘀血說이 새롭게 대두되었다.

中風의 치료에 대해서는 《黃帝內經》이후 外感 風邪에 대하여 發汗, 祛風, 理氣血하는 치법을 주로 사용하였으나, 金元時代 이후 치법에도 변화가 생겨 劉³⁴⁾는 淸熱通裏를, 朱³⁵⁾는 治痰을 우선으로 하고 다음 養血行血하는 방법을, 李³²⁾는 培補元氣를 주장하였다. 清代에 이르러 中風의 治療에 있어 王³³⁾이 補氣活血祛瘀를 주장한 이후로 唐²⁵⁾의 “離經之血 雖淸血 鮮血 亦是瘀血” 개념을 이용하여 活血化瘀를 위주인 中風의 治療에 대한 연구가 있었다³⁴⁾.

當歸(*Angelicae Gigantis Radix*)는 산형과에 속한 다년생 초본인 참당귀(*Angelica gigas Nakai*)의 뿌리를 가을에 채취하여 건조한 것으로 乾歸, 山蕲, 白蕲, 등의 異名으로 불린다¹⁾. 또한 當歸는 神農本草經 中品에 처음 수록된 약물로 性은 溫 無毒하고 味는 甘辛하며 心肝脾經으로 입하는데²⁾ 心은 血을 주하고 肝은 血을 藏하며 脾는 血을 통괄하므로 모든 血證을 治療하여 補血和血, 腦神營養, 調經止痛, 潤燥滑腸의 效能¹⁻³⁾이 있어 冠狀動脈 血流量 增加, 心搏率 調整, 血小板 凝集 低下, 抗血栓 作用, 心悸, 健忘, 頭痛, 眩暈, 癰疽瘡瘍, 跌打損傷을 주치¹⁻³⁾하며 血病에 요약으로 널리 사용되어 지는 약이다¹⁻³⁾.

當歸에 대한 연구는 鄭¹³⁾의 當歸의 혈압하강 및 심근수축력 억제작용 연구가 있었으나 뇌손상 및 심혈관계에 대한 실험적 논문은 아직 접하지 못하였다.

이에 저자는 當歸의 뇌손상 및 심혈관계에 미치는 효능을 실험적으로 규명하고자 NOS의 혈관확장 유도효과, 혈압강하효과, 경동맥 결찰 후 생존시간에 미치는 영향, KATP Channel이 미치는 영향에 의한 혈관 평활근 이완효과, 그리고 혈소판응집 억제효과에 대

하여 검토하였다.

우선 혈관 내에 NO의 역할은 혈관의 확장에 기여하는 매개체로 인식되어 최근 활발한 연구가 진행되고 있다. 이러한 관점에서 當歸에 의해 NOS가 유도되어지는 경우 혈액내 NO의 농도 역시 증가 할 것이므로 혈관 내피 세포에서 발현되는 eNOS를 중심으로 傳寫 誘導 효과를 검색하였다³⁵⁾.

NOS의 傳寫 誘導에 의한 혈관확장 유도검색에서 當歸의 혈관확장 유도효과는, 혈관 외벽으로부터 발현되는 eNOS는 발현되었으나 혈관 내피로부터 직접 발현되는 iNOS는 발현되지 않았다. 또한 eNOS의 양적 차이는 크게 나타나지 않았으나 대조군과 비교하여 상대적으로 eNOS의 농도는 약 1.43배 발현이 증가하여 유의성있는 혈관확장 유도 효과를 시사한다고 생각되어진다(Fig. 1-1, Fig. 1-2, Fig. 1-3, Fig. 1-4).

심근세포에서 KATP channel 존재는 Noma³⁶⁾에 의하여 최초로 보고되어 韃장의 β세포³⁷⁾, 골격근 세포³⁸⁾ 및 뇌등의 조직에서도 존재하여 insulin분비, 골격근 피로등에 중요한 생리적 기능을 갖고 있음이 보고되었다. 이 이온 통로는 평활근을 과분극시켜 항고혈압 효과를 나타내는 cromakalim³⁹⁾에 의하여 활성도가 증가하며, 심근 세포와 韃장의 β-세포등에서 glybenclamide에 의하여 KATP만 선택적으로 억제됨을 보고하였다. K-이온통로 개방제는 내피세포의 막전압에 영향을 미쳐 endothelium-dependent relaxing factor(EDRF)의 분비를 조절함으로써 간접적으로 혈관 평활근의 수축에 중요한 역할을 할 것으로 생각된다⁴⁰⁾. 현재까지의 연구에서 KATP channel에 관련되어 밝혀진 유전자로는 Kir6.1, Kir6.2, sulphonylurea receptor (SUR)등이 알려져 있다.

심근세포에서의 KATP channel을 활성화시키면 혈관 평활근을 과분극시켜 항고혈압효과를 나타내는데³⁹⁾, 當歸를 SHR에 투여한 후 예비보온기에 10분간 넣어 두었다가 각 군(n=5)의 혈압을 측정한 결과, 대조군 평균(176mmHg)에 비해서 Sample A(151mmHg), Sample B(155mmHg), Sample C(153mmHg)에서 모두 유의성있는 억제효과를 보였다(Fig. 2).

즉 當歸는 생체내 심근세포중 KATP channel의 활

성화에 의해 평활근을 과분극시켜 抗高血壓 효과를 나타내는데 관여하는 것으로 추정되어 지며 더욱 자세한 연구가 뒤따라야한다.

세포내 ATP 농도에 의해 조절받는 K_{ATP} channel은 이의 개방제에 의한 막전압의 과분극으로 활성화되어 간접적으로 혈관 평활근의 이완에 중요한 역할을 한다³⁶⁻⁴⁰. 當歸의 K_{ATP} 이온통로의 활성화 실험결과 Kir6.2는 저농도에서 1.1배, 고농도에서 1.18배 증가하고 SUR은 저농도와 고농도 각각 1.53, 1.12 배가 증가하였고, Kir6.2는 음성 대조군 전사효과를 보였다(Fig. 3-1, Fig. 3-2).

이는 當歸가 심장에 존재하는 K_{ATP} 이온통로를 활성화시켜 내피세포의 막분극에 영향을 미쳐 간접적으로 혈관 평활근의 이완에 중요한 역할을 하고 있음을 나타낸다.

양측 경동맥 결찰후의 생존시간은 대조군이 57±2.1sec.로 나타났고, Sample A와 Sample B는 각각 60±1.1과 61±1.1(sec.)로 나타나 대조군에 비해 모두 유의성 있게 연장되었다(Fig. 4).

이러한 결과는 경동맥 결찰로 무산소 부하상태를 만들었을 때 당귀가 유산의 생산을 억제하고 기도폐색 등으로 인한 뇌세포의 손상을 막아주는 뇌보호기능이 있어 뇌세포의 무산소 부하시 생존시간을 연장시켜 주는 것으로 추정되나 자세한 기전은 추후 연구검토되어야 할 것이다.

혈소판의 응집률과 수의 변동은 혈액질환 뿐만 아니라 간질환, 교원병, 악성종양, 염증성질환, 약물 등의 영향에 의한다²⁴. SHR의 심장으로부터 채취한 혈액에 當歸를 투여한 후 검색한 혈소판의 응집정도는 대조군이 15.7±1.08ohms이고, 저농도와 고농도는 각각 10.1±0.98, 9.24±1.93ohms였으며, 억제도는 각각 41.1%와 35.7%로 나타났으며, PT는 대조군에서 12.0±0.15sec이고, 저농도와 고농도는 각각 9.5±0.11, 9.0±0.47sec로 모든 실험군에서 유의성있는 억제효과가 나타났다(Fig. 5).

이는 當歸가 실험동물에서 뿐만 아니라 인체 혈액에서의 항혈전작용을 검색하기 위한 것으로 유의성있는 억제효과가 있음을 나타낸다.

이상 뇌손상 모델과 심혈관, 혈전실험 결과, 당귀는 허혈성 뇌질환과 심혈관 질환의 치료 및 예방에 유용하게 활용될 수 있을 것으로 보이며, 향후 이에 대한 지속적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결론

當歸가 뇌손상 및 심혈관계에 미치는 영향을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 當歸 eNOS의 유전자 발현을 유의성있게 증가시켰다.
2. 當歸의 투여에 따른 혈압강하 효과가 대조군과 비교하여 모든 실험군에서 유의성있게 나타났다.
3. 當歸의 투여는 심근에서의 K_{ATP} channel에 관여하는 Kir6.2와 SUR의 발현을 유의성있게 증가시켰다.
4. 當歸는 백서의 경동맥 결찰후 생존시간을 유의성있게 연장시켰다.
5. 當歸는 백서의 *In vitro* 혈소판응집을 유의성있게 억제시켰다.

이상의 결과로 보아 當歸는 뇌손상보호작용과 심혈관계에 혈압강하, 혈소판억제, 혈관확장의 효과가 있는 것으로 사료된다.

참고문헌

1. 全國韓醫科大學 本草學教授共編著. 本草學. 서울:永林社. 1995:578-580.
2. 李時珍. 本草綱目. 北京:人民衛生出版社. 1982:833-837.
3. 陳鍾. 實用中醫腦病學. 北京:人民交通出版社. 1993:920.
4. 全國韓醫科大學 心系內科學教室. 東醫心系內科學. 서울:書苑堂(上). 1995:107-108,203,438-462. (下). 1995:72-73.
5. 해리슨번역편찬위원회 譯. Harrison 내과학. 서울:정담 1997:341-346,1145-1165,1189-1119, 1944-1958,2409-2435.

6. 이광우 譯. 임상신경학. 서울:고려의학. 1997:395, 418-429.
7. 郭隆璨. 圖解腦神經外科學. 서울:第一醫學社. 1992:394-397.
8. 醫學教育研修院. 家庭醫學. 서울:서울대학교출판부. 1996:343-344.
9. 薛仁燦. 加味補陽還五湯이 高脂血症, 血栓, 高粘度血症, 高血壓 및 腦損傷에 미치는 影響. 大田大學校 大學院 博士學位論文. 1998.
10. 安鐸源. 加味通絡化痰湯이 血栓症과 腦虛血症 및 腦損傷에 미치는 影響에 대한 實驗의 研究. 大田大學校 大學院 博士學位論文. 1999.
11. 康永祿. 遠志와 石菖蒲의 單獨 및 混合投與가 白鼠의 腦損傷에 미치는 影響. 大田大學校 大學院 碩士學位論文. 1997.
12. 盧鉉泰. 加味清心湯이 心血管系 및 腦損傷에 미치는 影響. 大田大學校 大學院 博士學位論文. 1998.
13. 鄭基一. 當歸의 血壓下降 및 心臟收縮力 抑制作用에 관한 研究. 漢陽大學校 大學院 碩士學位論文. 1982.
14. Chomczynski, p. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate chloroform extraction. *Anal. biochem.* 1987;156-159,162.
15. Born. Quantification of the morphological reaction of platelets to aggregating agents and of its reversal by aggregation inhibitors. *J. Physiol.* 1978;280:193-212.
16. Daniel, W.W. A foundation for analysis in the health science. *Biostatistics (third edition)*. 1983:136-146.
17. Peter Duus. 神經局所診斷學. 서울:科學書籍센터. 1990:304-305,311-315,319-322.
18. Kurt J. Isselbacher. Principles Of Internal Medicine. New York: McGraw-Hill. 1994: 2233.
19. 大韓病理學會. 병리학Ⅱ. 서울:高文社. 1995:125-146,449-455,479-485,1218-1220,1259-1261, 112-129.
20. 서울대학교 의과대학. 신경학. 서울대학교 출판부. 1993:295-304.
21. 郭隆璨. 圖解 腦神經外科學. 서울:第一醫學社. 1992:42,44-48,394-404.
22. 이정수. 人體生理學. 서울:도서출판 정담. 1994:263-267.
23. 金昌種. 病態生理學. 서울:꽃잎文化社. 1988:132-135.
24. 권현영. 血液學. 서울:고려의학. 1993:209-225.
25. 唐容川. 血證論. 台北:力行書局有限公司. 1973:115-120.
26. 金聖勳. 東醫病理學. 大田:한림원. 1994:348-356.
27. 田炳薰. 實驗의 血栓症에 미치는 韓藥材의 抗血栓效果에 관한 研究. 東醫病理學會誌. 1996; 10(1):72-78.
28. 金鍾石 譯. 腦卒中的 豫防과 治療. 大邱:裕盛出版社. 1996:1,15-142.
29. 馬元臺. 黃帝內經素問靈樞合編. 臺北:臺聯國風出版社. (素問). 1972:20,66,31,198,204,218,286, 291,294, 408,412,422,629. (靈樞) 1972:180,199,306,388, 405,435,445,468.
30. 劉完素. 劉河間三六書. 서울:成輔社. 1976:281, 282,323.
31. 方廣. 丹溪心法附錄. 서울:大星文化社. 1981:67-68.
32. 李杲. 東垣十種醫書. 서울:大星文化社. 1992:158.
33. 王清任. 醫林改錯. 서울:一中社. 1992:54-61.
34. 孫立. 瘀血證89例腦阻抗血液圖分析. 實用中西醫結合雜誌. 1996;9(1):17.
35. Donald, M. *Annu. Rev. Med.* 1996;47:365-375.
36. Noma A. ATP-regulated K channel in cardiac muscle. *Nature.* 1985;305:147-148.
37. Cook, D. L. Intracellular ATP directly blocks K channels in pancreatic β -cells. *Nature.* 1984;311:271-273.
38. Spruse, A. E. Voltage dependent ATP-sensitive potassium channels of skeletal muscle membrane. *Nature.* 1985;316:736-738.
39. Buckingham, R. E. Inhibition by glybenclamide of the vasorelaxant action of cromakalim in the rat. *Br. J. Pharmacol.* 1989;97:57-64.
40. Janigro, D. Ion channels in rats microvascular endothelial cells. *Soc. Neurosci. Abstr.* 1991;17:542.