

左金丸의 혈관이완과 K⁺ channel

손창우 · 이현재 · 유가량 · 신흥묵*

동국대학교 한의과대학 생리학교실

Role of K⁺ Channels in the Vasodilation of Jagumhuan

Chang Woo Son, Heon Jae Lee, Jia Liang Liou, Heung Mook Shin*

Department of Physiology, College of Oriental Medicine, Dongguk University

This study was performed for the investigation of vasodilatory efficacy and its underlying mechanisms of Jagumhuan(JGH), a herbal remedy. JGH produced completely endothelium-dependent relaxation and relaxed phenylephrine(PE)-precontracted aorta in a concentration dependent manner. The magnitude of relaxation was greater in PE induced contraction than that of KCl, suggesting involvement of K⁺ channel in the relaxant effect. Both glibenclamide(10⁻⁵M), a K_{ATP} channel inhibitor and indometacin, a cyclooxygenase inhibitor, completely prevented this relaxation. The relaxation effects of JGH, involve in part the release of nitric oxide from the endothelium as pretreatment with L-NAME, an NOS inhibitor, and methylene blue, a cGMP inhibitor, attenuated the responses by 62% and 58%, respectively. In addition, nitrite was produced by JGH in human aortic smooth muscle cells and human umbilical vein endothelial cells. The relaxant effect of JGH was also inhibited by 55.41% by tetraethylammonium(TEA; 5mM), a K_{Ca} channel inhibitor. In the absence of extracellular Ca²⁺, pre-incubation of the aortic rings with JGH significantly reduced the contraction by PE, suggesting that the relaxant action of the JGH includes inhibition of Ca²⁺ release from intracellular stores. These results indicate that in rat thoracic aorta, JGH may induce vasodilation through ATP sensitive K⁺ channel activation by prostacyclin production. However, the relaxant effect of JGH may also mediated in part by NO pathways and Ca²⁺ activated K⁺ channel.

Key words : Jagumhuan, Vasodilation, ATP sensitive K⁺ channel, Ca²⁺ release

서 론

한의학에서 고혈압은 頭痛, 眩暈, 肝陽, 肝風, 嘔吐, 厥症의 범주로 인식하며 치료는 변증논치를 통한 음양평형을 조절함으로써 고혈압의 발생과 진행의 내재적 원인을 제거하는데 있다. 즉 風, 濕痰, 火, 虛 등 원인에 따른 清熱瀉火, 祛風, 滋陰, 涼肝, 化痰, 補虛의 치법과 처방을 적용한다^{1,4)}.

左金丸은 黃連, 吳茱萸가 6:1의 비율로 배합되었으며 清肝瀉火하고 降逆止嘔의 효능으로 肝火가 犯胃하여 나타나는 脇肋脹痛과 嘈雜, 吞酸, 嘔吐, 口苦, 脘痞, 噯氣, 舌紅, 苔黃, 筋疝, 痢疾 및 脈弦數의 증상을 목표로 처방 한다^{5,6)}. 본 처방의 黃連은 胃火 및 肝火를 清熱瀉火하여 胃氣의 和降을 돕고, 肝火의 亢盛을 막음으로서 변증논치의 관점에서 火가 주 원인이 되는 고혈압의

치료에 清熱瀉火의 효능을 기대할 수 있으며, 吳茱萸의 辛熱한 性은 黃連의 苦寒한 약성을 제약하므로서 고혈압 치료에 있어서 단일 성분의 부작용을 최소화하면서 치료효과를 최대화하는 시너지 효과를 기대할 수 있을 것으로 생각된다.

이에 저자는 左金丸의 항 고혈압 효능을 혈관이완 작용에 기초하여 확인하고, 그 기전을 NO(nitric oxide), EDHF (endothelium-derived hyperpolarizing factor) 및 prostacyclin과 같은 내피세포 유래 이완인자와 관련한 K⁺ 통로, 소포체로부터의 Ca²⁺의 유리에 미치는 영향을 관찰하여 유의한 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

실험동물은 체중 300-350g의 雄性 Sprague-Dawley계 흰쥐를 恒溫恒濕 장치가 부착된 사육장에서 고흡사료를 충분히 공급

* 교신저자 : 신흥묵, 경북 경주시 석장동 707, 동국대학교 한의과대학
 · E-mail : heungmuk@donguk.ac.kr, · Tel : 054-770-2372
 · 접수 : 2005/03/05 · 수정 : 2005/04/20 · 채택 : 2005/05/21

하면서 2주일 이상 실험실 환경(온도, 21±2℃; 습도, 50~60%)에 적응시킨 후 사용하였다. 본 실험에 사용한 左金丸은 黃連 180g, 吳茱萸 30g로 구성하였다. 각 약재는 동국대학교 부속한방병원에서 구입하여 사용하였다.

2. 방법

1) 한약 추출물의 제조

左金丸 210g을 둥근 flask에 넣고, 증류수 1,500ml을 가하여 100℃에서 3시간 가열 추출한 후 추출액을 여과지로 여과하고, rotary evaporator로 감압 농축한 후 동결 건조하여 18.5g의 분말을 얻었다.

2) 혈관절편의 제작

흰쥐를 마취하여 희생시킨 다음, 즉시 복강을 열고 흉부 대동맥을 적출하였다. 이들 조직을 혼합기체 (95%O₂+5%CO₂)로 포화시킨 Krebs-Ringer bicarbonate 용액(NaCl 119.8, KCl 4.6, CaCl₂ 2.5, MgCl₂ 1.2, NaHCO₃ 25, KH₂PO₄ 1.2, glucose 10 mM, pH 7.4)에 넣고 실온에서 혈관주위의 결합조직과 지방을 제거하고 약 3mm 정도로 잘라 고리형태의 대동맥 환(aortic ring)을 제작하였다. 이렇게 만든 표본을 physiograph 장치에 연결하여 실험에 사용하였다.

3) 혈관장력의 측정

95%의 O₂와 5%의 CO₂를 혼합한 가스가 연속적으로 공급되고 37±0.5℃로 유지되는 Krebs-Ringer bicarbonate 용액을 채운 organ bath(용량 20 ml)에 혈관절편을 현수하여 한쪽 끝은 organ bath의 저부에 고정시키고 다른 쪽 끝은 근 수축변환기에 연결하여 등척성 장력을 기록하였다. 미세장력 조절장치(Grass FT-03)를 이용하여 초기 장력을 2g 부하하고 1시간 이상 회복시킨 후 실험에 이용하였다. 혈관절편을 10⁻⁶M의 phenylephrine (PE) 또는 51mM의 고농도 KCl로 수축시킨 후 최고 수축기에 이르렀을 때, 농도별(0.01, 0.03, 0.05 및 0.1 mg/ml) 左金丸 물 추출물의 이완효력을 측정하였다. 또 NG-nitro-L-arginine methyl ester(L-NAME; 10⁻⁴M), methylene blue(MB; 10⁻⁵M), indomethacin (10⁻⁶M), glibenclamide(10⁻⁵M), tetraethylammonium (TEA; 5mM) 의 전 처치 및 Ca²⁺ free 용액(Krebs-Ringer bicarbonate 용액에서 CaCl₂를 제거하고 1mM의 EGTA를 첨가한 용액)에서 PE 수축에 대한 左金丸(0.1mg/ml)의 이완반응을 physiograph(Grass 7, USA)로 연속 기록하였다.

4) 세포배양

Human umbilical vein endothelium cell(HUVEC), human aortic smooth muscle cell(HASMC)은 95% air/5% CO₂의 humidified atmosphere, 37℃의 조건에서 10% fetal bovine serum과 1% penicillin-streptomycin을 포함하는 DMEM을 이용하여 배양하였으며 90% confluence 자랐을 때 trypsin-EDTA를 처리하여 분양하였다.

5) 세포생존율 측정

세포 생존율은 XTT assay 방법을 이용하였다⁷⁾. 96 wells plate에 cell (5×10³ cells/100μl)을 분주하고 24 시간 배양 후, 左金丸을 처리하고 다시 24 시간 배양하였다. Well 당 50μl의 XTT

를 처리후 4시간 반응시킨 후 490nm에서 ELISA reader를 이용하여 흡광도의 변화를 관찰하였다. 세포를 뺀 배지를 같이 배양하여 실험군의 흡광도와 비교하여 세포 생존율을 백분율(%)로 표시하였다.

6) Nitric oxide 측정

세포배양액에 측정된 NO의 농도는 Griess 法⁸⁾에 따라 ELISA microplate reader(Behring EL311)로 흡광도를 측정하였다. 간략히 기술하면, 50μl의 검액과 Griess 시약 (1% sulfanilamide, 0.1% naphthyl-ethylendiamine dihydrochloride, 2.5% H₃PO₄) 50 μl을 혼합하여 상온에서 15분간 반응시킨 후 ELISA reader로 A570에서 흡광도를 측정하였다. NO의 농도는 sodium nitrite의 농도를 기준으로 작성한 표준곡선으로 환산하여 계산하였으며, 각 실험에서 기본 대조군은 세포 배양액을 사용하였다.

실험성적

1. 左金丸이 Phenylephrine 유도 수축혈관에 미치는 영향

내피세포 의존성 여부를 확인하기 위하여 내피세포가 있는 경우와 없는 경우에서의 10⁻⁶M의 phenylephrine에 의한 수축혈관에 대하여 左金丸 추출물의 농도별 이완효과를 관찰하였다. 내피세포 존재하에서 추출물 0.01mg/ml에서 12.64±6.99%, 0.03mg/ml에서 32.08±5.99%, 0.05mg/ml에서 65.96±5.23%, 0.1mg/ml에서 77.19±3.55%의 농도 의존적 이완작용을 보였다(Fig. 1). 그러나 내피세포 부재시 추출물 0.01mg/ml에서 -3.66±1.88%, 0.03mg/ml에서 -2.77±2.80%, 0.05mg/ml에서 2.35±3.51%, 0.1mg/ml에서 17.92±9.42%의 이완작용을 보여, 그 이완의 크기는 내피세포가 있는 경우에 비하여 유의하게 작았다(Fig. 1).

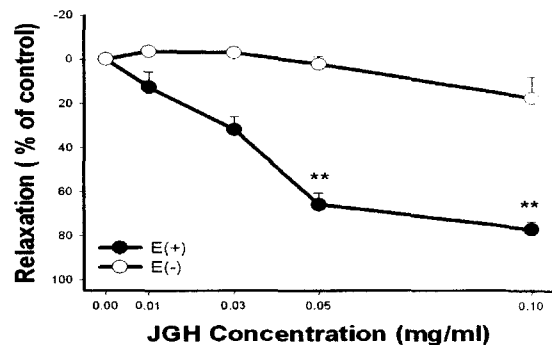


Fig. 1. Vasorelaxation effects of the water extract of Jagumwhan (JGH) in the presence(E+) and absence(E-) of endothelium on the phenylephrine(PE)-induced contraction in rat thoracic aorta. Values are mean±SEM(n=8). **p<0.01.

2. 左金丸이 KCl 유도 수축혈관의 이완에 미치는 영향

51mM의 KCl에 의한 수축혈관에 대하여 左金丸 추출물의 농도별 이완효과를 내피세포 유무에 기초하여 관찰하였다. 내피세포 존재하에서 추출물 0.01mg/ml에서 -8.01±3.42%, 0.03mg/ml에서 -7.62±6.12%, 0.05mg/ml에서 -1.17±6.13%, 0.1mg/ml에서 5.49±3.97%의 이완작용을 보였다. 또한 내피세포가 없는 경우 추출물 0.01mg/ml에서 0.09±2.48%, 0.03mg/ml에서 12.03±5.11%, 0.05mg/ml에서 12.03±5.11%, 0.1mg/ml에서 13.03±5.21%의 이완작

용량에 보였다(Fig. 2).

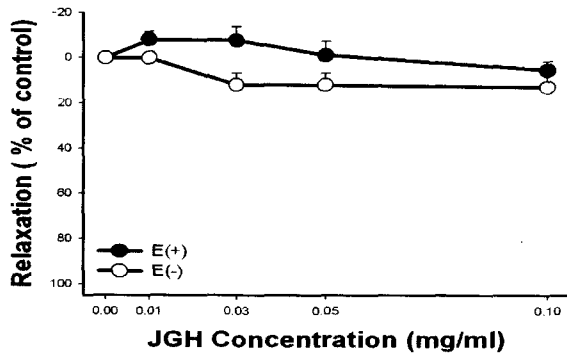


Fig. 2. Relaxation effect of JGH on KCl-induced contraction in rat thoracic aorta. Percentages are referred to KCl contraction levels. Values are mean \pm SEM (n=6).

3. L-NAME 및 MB가 左金丸의 혈관이완에 미치는 영향

左金丸에 의한 혈관이완 작용이 내피세포가 있는 경우에 훨씬 강하게 나타나므로 NO-cGMP 경로와 유관한 것인지 확인하기 위하여 NOS inhibitor인 L-NAME(10^{-4} M)과 cGMP inhibitor인 methylene blue(MB; 10^{-5} M)의 전 처치가 左金丸의 혈관이완에 미치는 영향을 관찰하였다. Fig. 3에서 보는바와 같이 左金丸(0.1mg/ml)에 의한 $77.19\pm 3.55\%$ 의 이완율은 L-NAME과 MB의 처리에 의하여 각각 $26.75\pm 1.94\%$, $24.35\pm 4.71\%$ 로 혈관이완 작용을 유의하게 억제시켰다(Fig. 3).

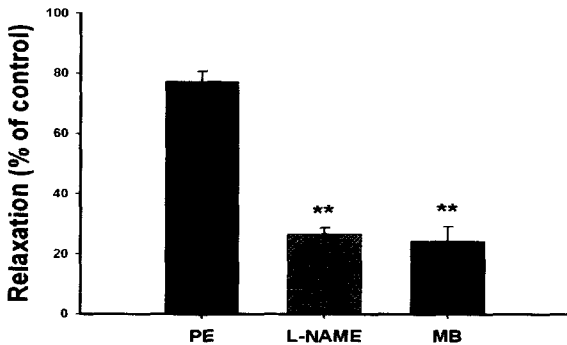


Fig. 3. Effect of L-NAME(10^{-4} M) or MB(10^{-5} M) on JGH-induced vasodilation against PE-induced contractions in rat thoracic aorta. Values are mean \pm SEM(n=9). **p<0.01 as compared with control group.

4. Indomethacin이 左金丸의 혈관이완에 미치는 영향

左金丸에 의한 혈관이완 작용에 cyclooxygenase(COX)-1 경로가 관여하는지 확인하기 위해 prostacyclin(PGI₂) inhibitor인 indomethacin (10^{-6} M)의 처치가 左金丸의 혈관이완에 미치는 영향을 관찰하였다. Fig. 4에서 보는바와 같이 indomethacin은 PE 수축에 대한 左金丸(0.1mg/ml)의 혈관이완 작용을 $-6.60\pm 3.91\%$ 로 완전히 차단하였다.

5. Glibenclamide와 TEA가 左金丸의 혈관이완에 미치는 영향

左金丸에 의한 혈관이완 작용에 potassium channel이 관여하는지 확인하기 위해 ATP-sensitive K⁺ channel (K_{ATP}) inhibitor인 glibenclamide(G; 10^{-5} M)와 Ca²⁺-sensitive K⁺ channel (K_{Ca}) inhibitor인 TEA (5mM)의 처치가 左金丸의 혈관이완에

미치는 영향을 관찰하였다. Fig. 5에서 보는바와 같이 PE 수축에 대한 左金丸(0.1mg/ml)의 $77.19\pm 3.55\%$ 의 혈관이완 작용은 glibenclamide에 의해 $-2.82\pm 8.62\%$ 로 완전히 차단되었고, TEA는 $35.19\pm 5.16\%$ 로 그 이완을 유의하게 감소시켰다.

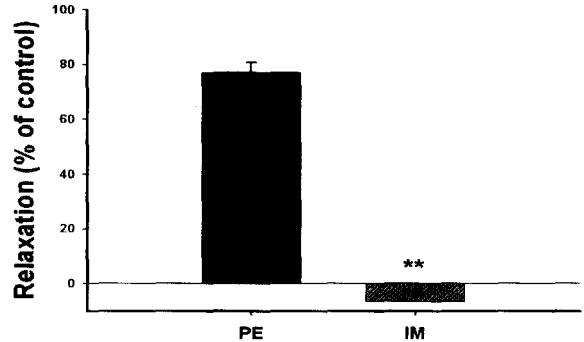


Fig. 4. Effect of IM(10^{-4} M) on JGH-induced vasodilation against PE-induced contractions in rat thoracic aorta. Values are mean \pm SEM(n=4). **p<0.01 as compared with control group.

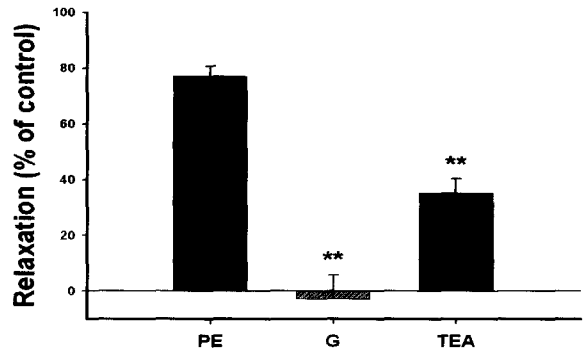


Fig. 5. Effect of Glibenclamide(10^{-5} M) or TEA(5mM) on JGH-induced vasodilation against PE-induced contractions in rat thoracic aorta. Values are mean \pm SEM(n=8). **p<0.01 as compared with control group.

6. 소포체의 Ca²⁺ 유리에 미치는 左金丸의 영향

左金丸의 혈관이완 작용에 세포내 Ca²⁺ 저장고인 소포체(sarcoplasmic reticulum)로부터의 Ca²⁺ 유리의 관여를 측정하기 위하여 Ca²⁺ 용액에서의 PE 유도 수축에 미치는 영향을 측정하였다. PE에 의한 초기의 유도성 수축은 소포체로부터의 Ca²⁺의 유리에 기인하는데⁹⁾, 세포의 Ca²⁺이 없는 상태에서 PE는 약 $0.41\pm 0.11\text{g}$ 의 수축을 보였다. 左金丸을 전 처치한 경우 $0.09\pm 0.05\text{g}$ 의 수축력을 보여 PE에 의한 일시적 수축을 유의하게 (p<0.05) 감소시켰다(Fig. 6).

7. 左金丸이 Nitric Oxide의 생성에 미치는 영향

NO는 혈관확장 및 신경전달 등 세포와 세포사이의 전령자로서 역할과 함께 강력한 세포 독성물질로 작용 한다^{10,11)}. 左金丸이 NO 의존성 혈관이완 작용을 나타내므로 실제 NO 생성에 미치는 영향을 측정하기 위하여 농도별 NO₂의 생성량을 조사하였다. 左金丸은 농도 의존적으로 NO₂ 생성을 증가시켰으며, HUVEC에서는 0.03mg/ml 에서 $3.64\pm 0.8\%$, 0.05mg/ml 에서 $3.89\pm 0.2\%$, 0.1mg/ml 에서 $5.85\pm 1.6\%$, 0.3mg/ml 에서 $9.31\pm 1.8\%$ 의 유의한 증가를 보였고, HASMC의 경우 0.03mg/ml 에서

7.95±0.6%, 0.05mg/ml에서 8.23±0.3%, 0.1mg/ml에서 9.12±0.6%, 0.3mg/ml에서는 10.52±0.7%의 유의한 증가를 보였다(Fig. 7).

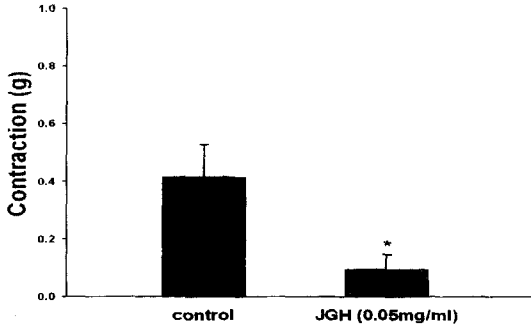


Fig. 6. Effect of JGH (1.0 mg/ml) on PE-induced transient contraction in Ca²⁺-free solution. Data represent mean ± SEM of 5 or 6 experiments. * p<0.05 Vs control.

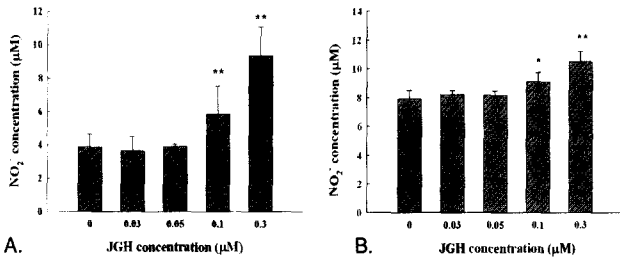


Fig. 7. Dose-dependent nitrite production of JGH on HUVEC(A) and HASMC(B). Data were chosen from six independent triplicate experiments. Values are mean ± SEM. *p<0.05, **p<0.01, as compared with the normal group.

고찰

고혈압은 뇌출혈과 심부전의 주 원인으로 고혈압의 예방과 치료는 심뇌혈관 질환의 위험인자를 제거하고 뇌동맥질환과 심장병으로 인한 사망률을 감소시킬 수 있다. 따라서 지금까지 많은 고혈압 치료제를 개발하여 왔지만 부작용으로 인해 상대적으로 부작용이 적고 장기간 사용이 가능한 한약제제의 개발과 치료에 주목하고 있다.

左金丸의 처방 중 黃連의 淸熱瀉火의 작용은 肝火亢盛을 다스리나 肝經의 鬱火를 풀어주지 못하므로 吳茱萸의 辛熱한 약성으로 黃連의 苦寒한 약성을 조절하고 肝氣의 물체를 풀어주며, 그 下氣하는 효능은 혈압강하의 약리작용이 있을 것으로 기대된다. 이처럼 한약의 상호작용을 바탕으로 한 본 처방의 辛開苦降과 淸散의 작용은 肝陽과 氣鬱의 병리에 의한 고혈압에 대하여 일정한 치료 작용을 발휘할 것으로 생각된다. 이에 左金丸의 고혈압치료에의 적용 가능성을 검증하기 위하여 agonist 유도 혈관수축에 대한 혈관이완 작용과 기전을 연구하였다. 左金丸은 흰쥐의 흉부대동맥에서 내피세포 의존성 이완작용을 나타내었으며, KCl 보다 PE 유도 수축에 대하여 보다 강한 이완작용을 나타내었다. 이는 左金丸의 혈관 이완작용에 내피세포 유래 이완물질과 K⁺ 통로에 의한 막전위(membrane potential)의 관여를 시사한다.

혈관내피세포는 혈관의 정상생리를 유지하는 중요한 역할을 하며 다양한 자극에 의한 내피세포 유래 이완인자

(endothelium-derived relaxing factors, EDRFs)와 내피세포 유래 과분극인자 (endothelium-derived hyperpolarizing factor, DHFs)의 혈관이완 물질을 분비하여 그 긴장성을 조절한다. 내피세포 유래 혈관이완 인자는 nitric oxide(NO)와 prostacyclin이 가장 잘 알려져 있다. 이중 NO는 평활근의 sGC(soluble guanylyl cyclase)의 활성화에 의한 cGMP를 생성하여 세포질내 Ca²⁺ 농도를 감소시키고, prostacyclin은 adenylyl cyclase를 자극하고 평활근의 cAMP 수준을 증가시켜 평활근을 이완시키거나 cAMP의 증가에 의한 K⁺ 통로의 활성화를 통하여 평활근을 이완시키기도 한다¹²⁻¹⁵. 또 EDHF 역시 K⁺ 통로를 활성화시켜 혈관평활근을 과분극시킴으로써 Ca²⁺ 통로가 억제되어 혈관이완을 초래한다.^{13,15,16}

左金丸의 혈관이완 작용에 NO가 관여하는지를 규명하기 위한 NO 생성의 관찰에서 左金丸은 농도 의존적으로 NO의 생성을 증가시켰으며, NO 생성효소 억제제인 L-NAME과 cGMP 억제제인 MB의 전 처치는 左金丸의 혈관이완 작용을 각각 약 65.35%, 68.45% 감소시켰다. 이는 그 이완작용에 내피세포로부터의 NO의 유리가 관여함을 시사하는 것이다. 그러나 NO 저항성이완효능(NO resistant relaxation)은 agonist의 수용체 활성화 이후 또 다른 경로의 관여 가능성을 시사한다.

COX는 arachidonic acid(AA)로부터 prostaglandins(PGs)의 형성을 촉매하며, COX-1과 COX-2의 분리된 2개의 유전자로 암호화되어 PGD₂, PGE₂, PGI₂, PGF_{2α} 및 thromboxane A를 포함하는 다양한 eicosanoids의 형성에 관여한다¹⁷. COX-1의 주요기능은 항상성 조절을 위한 PG의 생합성에의 관여이고, 대부분의 조직에서 항상 발현되어 위점막의 세포보호, 혈관이완 및 혈소판 응집의 조절에 관여한다. 즉 PGs의 배열은 하위 특정 세포형태에 존재하는 효소적 기구에 따라 다양하다. 즉 혈장에 대하여 thromboxane의 합성에 관여하지만 혈관내피세포에서는 혈관이완을 유도하는 prostacyclin의 생성에 관여한다¹⁸.

左金丸의 혈관이완 효능은 prostacyclin inhibitor인 indometacin(10⁻⁶M)의 처치에 의하여 완전히 차단되었다. 따라서 左金丸에 의한 혈관이완작용은 내피세포에서의 COX-1에 의한 prostacyclin의 분비에 기인함을 알 수 있다.

한편 K⁺ 통로에 의한 혈관평활근의 막전위의 조절은 혈관 긴장성의 조절에 중요하며¹⁹, prostacyclin은 K⁺ 통로를 열어 세포막의 과분극을 유도하여 혈관이완을 초래하므로 左金丸에 의한 prostacyclin의 분비가 K⁺ 통로 조절에 관여하는지를 확인하였다. 左金丸에 의한 혈관이완작용은 glibenclimide에 의하여 완전히 차단되었으며, TEA에 의해 약 55.41%의 억제력을 보여 평활근의 과분극은 K_{ATP} 통로의 활성화에 기인하며 부분적으로 K_{Ca} 통로가 관여하는 것으로 보인다.

또한 PE에 의한 흰쥐의 흉부대동맥의 수축은 초기에 세포내 Ca²⁺의 유리에 의한 Ca²⁺ sparks에 의하여 이어서 전압과 수용체 의존성 Ca²⁺ 통로가 열리고 Ca²⁺ 유입에 의하여 tonic 수축이 뒤 따른다^{20,21}. 左金丸의 혈관이완작용에 소포체로부터의 Ca²⁺의 유리와 관련이 있는지를 확인하기 위한 Ca²⁺ free 용액에서의 PE에 의한 초기 수축에 대한 左金丸의 영향을 관찰하였다. 左金丸은 PE

의 초기 일시적 수축을 유의하게 감소시켰다. 따라서 左金丸의 혈관이완 작용은 소포체로부터의 Ca²⁺의 유리 억제와 관련이 있을 수 있다. 또 K⁺ 통로에 의한 막전위의 과분극은 Ca²⁺ 유입을 억제할 뿐만 아니라 소포체에서 Ca²⁺의 유리를 억제하며,^{22,23)} 소포체에서의 Ca²⁺ 유리는 large conductance Ca²⁺-activated K⁺ (BKca) 통로 활성에 근본적 역할을 한다.^{24,25)} 따라서 TEA에 의한 左金丸의 혈관 이완효능의 감소와 左金丸의 Ca²⁺ 유리 억제로부터 左金丸은 Kca 통로를 활성화시키고 이는 소포체에서의 Ca²⁺ 유리를 억제하는 것으로 생각된다.

이상의 실험적 결과로부터 左金丸은 내피세포로부터 혈관이완 물질인 NO와 PGI₂을 유리시키고 이에 의한 K⁺ 통로의 활성화가 평활근의 과분극을 유도하여 세포외로부터의 Ca²⁺ 유입을 차단하고, 소포체로부터의 Ca²⁺ 유리를 억제함으로써 이완작용을 나타내는 것으로 생각된다. 또 K⁺ 통로의 활성화에는 K_{ATP} 통로가 주된 역할을 하는 것으로 보인다. 이러한 결과는 한의학적 변증론치에 기초하여 左金丸을 혈관이완작용을 통한 혈액순환개선과 고혈압의 치료에 적용할 수 있을 것으로 기대된다.

결 론

左金丸의 효현제 유도 수축혈관에 대한 혈관이완 효과와 그 기전의 연구를 통하여 다음의 결론을 얻었다.

左金丸은 PE와 KCl의 수축에 대하여 혈관 이완작용을 보였으며 그 이완효능은 PE-유도 수축의 경우에 있어서 보다 효과적이었다. 左金丸의 혈관 이완작용은 L-NAME과 MB의 처치에 의하여 유의하게 억제되었다. Indometacin은 左金丸의 혈관 이완작용을 완전히 억제하였다. 左金丸의 혈관이완작용은 glibenclimide에 의하여 완전히 차단되었으며 TEA에 의해 부분적으로 억제되었다. 左金丸은 세포의 Ca²⁺이 없는 상태에서 PE에 의한 일시적 수축을 유의하게 억제시켰다.

이상의 결과로부터 左金丸은 유도성 수축혈관에 대한 혈관이완 작용을 나타내며, 그 이완작용에 기전에 NO와 PGI₂의 생성을 통한 K⁺ 통로의 활성화와 막전위의 과분극 유도, 소포체로부터의 Ca²⁺ 유리의 억제가 관여함을 확인할 수 있었다.

참고문헌

1. 鮑學全, 全小林 主編. 疑難病中醫治療及研究, 北京, 人民衛生出版社, p 509, 1995.
2. 趙光勝. 高血壓, 上海, 上海科學出版社, pp 123-125, 1991.
3. 何紹奇. 現代中醫內科學, 北京, 中國醫學科學技術出版社, pp 263-268, 1991.
4. 具本泓. 東醫心系內科學, 서울, 書苑堂, pp 305-311, 1985.
5. 한의과대학 방제학교수. 方劑學, 서울, 永林社, pp 195-196, 1999.
6. 申載鏞編著. 方藥合編解說, 서울, 成輔社(傳統醫學研究所), p 249, 2000.
7. Scudiero, D.A., Shoemaker, R.H., Paull, K.D., Monks, A., Tierney, S., Nofziger, T.H., Currens, M.J., Seniff, D., Boyd,

- M.R. Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. *Cancer Research*. 48, 4827-4833. 1988.
8. Griess, P. Bemerkungen zu der abhandlung der H.H. Weselsky und Benedikt "Ueber einige azoverbindungen." *Chem. Ber.* 12, 426. 1879.
9. Cauvin, C., Malik, S. Induction of calcium influx and intracellular calcium release in isolated rat aorta and mesenteric resistance vessels by norepinephrine activation of α -receptors, *Journal of pharmacology and Experimental Therapeutics* 230, 413-418, 1984.
10. Lowenstein, C. J., Dinerman, J. L., Snyder, S. H. *Ann. Intern. Med.* 120, 227-237, 1994.
11. Jaffrey, S.R., Snyder, S.H. *Ann. Rev. Cell Dev. Biol.* 11, 417-440, 1995.
12. Flavhan, N.A., Vanhoutte, P.M. Endothelial cell signaling and endothelial dysfunction, *The American Journal of Hypertension* 8(5):28-41, 1995.
13. Furchgott, R.F., Vanhoutte, P.M. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEB J* 3, 2007-2018, 1989
14. Vanhoutte, P.M. Other endothelium-derived vasoactive factors. *Circulation* 87, V9-V17, 1993.
15. Busse, R., Mulsch, A., Fleming, I., Hecker, M. Mechanism of nitric oxide release from the vascular endothelium. 87, V18-V25, 1993.
16. Busse, R., Edwards, G., Fe'letou, M., Fleming, I., Vanhoutte, P. M., Weston, A. H. EDHF: bring the concepts together, *TRENDS Pharmacological Sciences* 23(8):374-380, 2002.
17. Warner, T.D., Mitchell, J.A. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic, *FASEB*, 18, 790-804, 2004.
18. Dubois, R.N., Abramson, S.B., Crofford, L., Gupta, R.A., Simson, L.S., Van De Putte, L.B.A., Lipsky, P.E. Cyclooxygenase in biology and disease, *FASEB J*, 12, 1063-1073, 1998.
19. Nelson, M.T., Quayle, J.M. Physiological roles and properties of potassium channels in arterial smooth muscle, *American Journal Physiol* 268, C799-C822, 1995.
20. Bolton, T.B. Mechanism of action of transmitters and other substances on smooth muscles. *Physiological Reviews*, 59, 606-718, 1979.
21. Karaki, H., Weiss, G.B. Calcium channels in smooth Ggastroenterology, 87, 960-970, 1984.
22. Yamagishi, T., Yanagisawa, T., Taria, N. Ca²⁺ influx induced by the agonist U46619 is inhibited by hyperpolarization induced by the K⁺ channel opener cromakalim in canine coronary artery. *Jpn J Pharmacol* 59, 291-299, 1992.
23. Yanagisawa, T., Yamagishi, T., Okada, Y. The hyperpolar-

- zation induced by K⁺ channel openers inhibits Ca²⁺ influx and release in coronary artery, *Cardiovasc Drugs Ther* pp 565-574, 1993.
24. Knot, H.J., Standen, N.B., Nelson, M.T. Ryanodine receptors regulate arterial diameter and wall[Ca²⁺] in cerebral arteries of rat via Ca²⁺-dependent K⁺ channels. *J Physiol (Lond)* 508, 211-221, 1998.
25. Nelson, M.T., Cheng, K., Rubart, M., Santana, L.F., Bonev, A.C., Knot, H.J., Lederer, W.J. Relaxation of arterial smooth muscle by calcium sparks. *Science* 270, 663-637, 1995.