대한한방내과학회지 제32권 3호(2011년 9월)
Korean J. Orient. Int. Med. 2011:32(3)345-360

天麻鉤藤飮加減이 고혈압 유관인자 및 SHR 병태모델에 미치는 영향

송병용, 최은희, 정태산, 강성순, 안가영, 김오영*, 전상윤, 홍 석
동신대학교 한의과대학 내과학교실, *동신대학교 한의과대학 사상의학과교실

The Effect of *Cheonmagudeng-um gagam*(CGG) on Spontaneous Hypertensive Rat(SHR)

Byoung-yong Song, Eun-hee Choi, Tae-san Jung, Seong-sun Kang
Ga-yong An, Oh-young Kim*, Sang-yun Jeon, Seok Hong
Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dong-Shin University
*Dept. of Sasang Constitutional Medicine, College of Oriental Medicine, Dong-Shin University

ABSTRACT

Objectives : This study was examined to investigate the effects of *Cheonmagudeng-um gagam* (CGG) extract on spontaneous hypertension.

Methods : For the study of CGG, we divided rats into three groups. The normal group was Wister Kyoto rats (WKY). The control group was spontaneously hypertensive rats (SHR). The treatment group was SHR which were administered CGG extract (SHR-CGG). SHR-CGG were orally administered CGG extract that was diluted in distilled water at the various concentrations for 4 weeks (234.5 ㎎/㎏) and SHR were orally administered the same dosage of plain distilled water as SHR-CGG. Then we measured anti-oxygen effects, ACE inhibitory activity, weight of heart and kidney, blood pressure, heart rate, plasma aldosterone, electrolyte, creatinine, uric acid, BUN, and observed the cortex of the cardiac muscle, kidney, and adrenal gland.

Results : CGG increased DPPH scavenging activity and SOD similar activity depending on the concentration. CGG significantly decreased ROS, TNF-α, IL-6, IL-1β, heart weight, blood pressure, heart rate, aldosterone, and BUN in SHR. CGG increased ACE inhibition activity depending on the concentration. CGG inhibited the heart, kidney and adrenal gland tissue injury that is caused by hypertension.

Conclusions : These results suggest that CGG is effective in treatment and prevention of hypertension.

Key words : spontaneously hypertensive rat, *Cheonmagudeng-um gagam* (*tiānmágōuténg-yǐn jiājiǎn*)

Ⅰ. 서 론

고혈압은 만성 순환기계 질환 중 발생빈도가 가장 높은 질환으로, 2008년 국민건강영양조사[1]에 따르면 만 30세 이상 성인의 유병률은 26.9%이며 남녀 모두 연령이 높을수록 증가하는 경향을 보였다.

고혈압은 자각증상이 뚜렷하지 않으나 뇌혈관질환, 관상동맥질환, 신장질환, 말초혈관질환 등의 치명적인 합병증을 유발할 수 있기 때문에[2,3], 단순히 혈압만 강하시키는 것이 아니라 일련의 증상을 개선시켜야 한다[4].

한의학에서 고혈압은 中風, 頭痛, 眩暈, 心火上

· 교신저자: 홍 석 전남 순천시 조례동 1722-9번지
동신대학교 순천한방병원 2내과 2진료실
TEL: 061-729-7155
E-mail: 17under@hamail.net

炎, 肝陽上亢의 범주에 해당되며, 주요 병인으로는 風, 火, 痰, 虛이며, 치법은 疏風, 淸熱瀉火, 祛痰, 調氣, 補陰, 養血 등을 기본으로 한다[2].

고혈압에 대한 최근 연구는 加味順氣活血湯[5], 加味豨簽湯[6], 淸熱導痰湯[7], 加味除濕順氣湯[8]등 임상에서 다용되는 처방과 何首烏[9], 黑蔘[10], 蒼耳子[11]등 단일 약물에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다.

天麻鉤藤飮加減은《實用中西醫結合 診斷治療學》[12]에 수록된 처방으로 天麻鉤藤飮에 夜交藤, 茯神을 祛하고 生地黃, 白何首烏, 菊花를 加하여 陰虛陽亢으로 인한 頭痛, 眩暈, 耳鳴, 高血壓 등에 응용되고 있다.

天麻鉤藤飮 계열의 연구로 정[13]은 “항간질성 효과”를, 임[14]은 “심혈관계에 강압하는 효과”를, 강[15]은 “노화된 뇌조직의 개선 효과”를, 홍[16]은 “고지혈증, 혈전, 뇌허혈 및 뇌손상에 대한 보호 효과”를 보고하였다. 또한 송[17] 등은 加味天麻鉤藤飮이 DOCA-salt로 유발된 흰쥐의 고혈압 억제작용을 실험적으로 검증한 바 있으나 天麻鉤藤飮加減이 고혈압 유관인자 및 SHR 병태모델에 미치는 영향에 대한 보고는 아직 없었다.

이에 天麻鉤藤飮加減을 SHR에 경구 투여하여 항산화 반응, 염증 cytokine의 생성량, ACE 저해능, 체중과 혈압 및 심박수의 변화, 혈중 aldosterone및 전해질 함량의 변화 및 심장, 신장, 부신의 조직학적 변화를 측정하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실 험

1. 재 료

1) 약 재

본 실험에 사용한 天麻鉤藤飮加減(*Cheonmagudeng-umgagam* 이하 CGG)의 구성 약물은 동신대학교 부속한방병원에서 구입 후 정선하여 사용하였다. 약물 구성은 1첩 분량으로 다음과 같다(Table 1).

Table 1. The Composition of *Cheonmagudeng-umgagam* (CGG)

韓藥名	生藥名	用量(g)
天 麻	*Gastrodiae Rhizoma*	5
釣鉤藤	*Uncariae Ramulus Et Uncus*	10
石決明	*Haliotidis Concha*	15
梔子(炒)	*Gardeniae Fructus*	6
黃 芩	*Scutellariae Radix*	8
懷牛膝	*Achyranthis Radix*	6
杜沖(炒)	*Eucommiae Cortex*	6
益母草	*Leonuri Herba*	6
桑寄生	*Visci Herba et Loranthi Ramulus*	15
生地黃	*Rehmanniae Radix Crudus*	15
白何首烏	*Cynanchi Wilfordii Radix*	6
菊 花	*Chrysanthemi Flos*	6
Total amount		104

2) 동물 및 사료

본 실험에 사용된 흰쥐는 7주령, 체중 200-220 g의 雄性 Wister kyoto rat(WKY)와 spontaneously hypertensive rat(SHR)으로, 이들을 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

성 분	함유량
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. 방 법

1) 약물 추출

시료 추출 방법은 CGG 2첩을 한약 유출기에 넣고, 정제수(동원샘물) 1500 ㎖와 같이 혼합하여 3시간 열탕하여 추출한 후 흡입 여과하였다. 이를 rotary vacuum evaporator에서 감압 농축하여 CGG를 분리한 후, 다시 freeze dryer에서 24시간 동결건조하여 분말 14.1 g을 얻었으며, 얻어진 분말은 deep freezer(-80℃)에서 보관하면서, 실험에 따라 필요한 농도로 증류수에 희석하여 사용하였다.

2) *In vitro*

(1) 세포 독성 측정

세포 독성 측정은 MTT assay로 하였다. 배양한 hFCs를 96 well plate에 2×10^5 cell 씩 분주한 후 배양하고, 24시간 후 CGG를 12.5, 25, 50, 100, 200 ㎍/㎖ 농도로 투여하였다. 다시 48시간 배양 후 부유액을 제거하고, 각 well에 MTT solution(0.5 ㎎/㎖) 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 ㎚에서 흡광도를 측정하였다.

(2) 항산화 활성 측정

① 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) 소거능 측정

150 mM DPPH/EtOH 100 ㎕에 CGG를 25, 50, 100, 200 ㎍/㎖ 농도로 희석하여 50 ㎕씩 첨가한 후 37℃에서 30분간 반응시켰다. 이를 흡광도 517 ㎚에서 측정하여 아래의 방법으로 계산하였다.

DPPH 소거능 (%) =

$$\left(\frac{\text{대조군의 흡광도} - \text{CGG 투여군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}}\right) \times 100$$

② Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 측정

CGG 0.2 ㎖에 tris-HCl buffer(pH 8.5) 2.6 ㎖와 7.2 mM pyrogallol 0.2 ㎖를 가하여 25℃에서 10분 동안 반응 후 1 N HCl 0.1 ㎖로 반응 정지시켰다. 반응액을 420 ㎚에서 흡광도를 측정하고 buffer를 첨가한 것을 대조군으로 하여 아래와 같이 저해율을 측정하였다.

SOD 유사활성(%) =

$$100 - \left\{\left(\frac{\text{CGG 투여군의 흡광도}}{\text{buffer 첨가군의 흡광도}}\right) \times 100\right\}$$

③ Reactive oxygen species(ROS) 활성 측정

Raw 264.7 세포내에서 생성된 ROS를 측정하기 위하여 24 well plate의 각 well에 5×10^5 cells씩 분주하고, 50 μM의 LPS를 처리한 후 CGG 100, 50 ㎍/㎖을 처리하고, 37℃, CO_2 배양기에서 48시간 동안 배양하였다. 배양 종료 후 2′7′-dichlorofluorescein diacete(DCFH-DA) 10 μM을 처리하여 5분간 배양한 후, 2회 수세하였다. 이를 유세포 형광분석기로 세포내 형광 ROS를 측정하였으며, 대조군은 LPS만 처리하였다.

(3) 염증 cytokine 억제 활성 측정

염증 cytokine 측정을 위해 48well tissue culture plate에 Raw 264.7 세포를 5×10^5 cells/㎖로 분주하고, CGG를 각 농도(25, 50, 100 ㎍/㎖)로 처치 후 배양 하였다. CGG 처치 1시간 후에 1 ㎍/㎖의 LPS를 처치한 다음 12시간 후에 배지를 취하여 ELISA Kit를 이용하여 TNF-α와 IL-6 그리고 IL-1β 생성량을 측정하였다.

(4) Angiotensin-converting enzyme(ACE)저해능 측정

ACE 측정은 Cushman & Cheung 의 방법[18]으로 하였다. 각 농도(200, 100, 50, 25 ㎍/㎖)의 CGG 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 ㎖의 ethyl acetate를 넣고 교반 후 3,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 얻은 상층액 750 ㎕를 95℃에서 10분 동안 건조하여 용매를 완전히 제거하고, 1 ㎖의 증류수로 용해시켜 228 ㎚에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 시료 대신 증류수를 혼합시켰다.

ACE inhibition activity (%) =

$$\left(1 - \frac{\text{CGG 투여군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}}\right) \times 100$$

3) *In vivo*

(1) 약물 투여

실험군은 WKY군, SHR군 그리고 SHR-CGG군으로 각 군 6마리씩 실험을 실시하였다. SHR-CGG군에는 성인 기준 하루 두 첩 분량(234.5 ㎎/㎏), 1일 1회, 경구로 4주 동안 CGG를 투여하였고, SHR군은 동량의 증류수를 투여하였다.

(2) 장기 무게 측정

① 체중 측정

몸무게는 실험 종료 하루 전에 전자저울을 이용하여 측정하였다.

② 심장 및 신장 무게 측정

심장, 신장은 ether로 마취 후 채혈한 다음에 적출하여 지방과 다른 조직들과 수분을 제거한 후 무게를 측정하였다.

(3) 혈압 및 심박 수 측정

혈압과 심박수는 혈압측정기를 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

CGG의 투여 종료 후 12시간 절식 후 ether로 마취시킨 다음 심장에서 12 ㎖이상의 혈액을 취하여 5 ㎖를 15 ㎖ conical tube에 넣어 6,500 rpm에 15분간 원심 분리시켜 혈청을 분리하였다. 나머지 혈액은 EDTA 첨가 튜브에 넣어 혈장을 분리하였다.

(5) 혈청 및 혈장 성분의 측정

분리한 혈청은 생화학기기를 이용하여 ALT, AST, BUN, creatinine, uric acid를 측정하였고, Na^+, K^+, Cl^-의 측정은 전해질 측정기를 이용하였다. 혈장 성분은 감마 카운터기를 이용하여 핵의학적 방법으로 aldosterone을 측정하였다.

(6) Hematoxyline & Eosin 염색 관찰

각 실험군 별로 적출한 심장, 신장, 간, 부신을 10% 중성 포르말린에 48시간 고정하여 고정이 완료된 각 조직들은 흐르는 수돗물에서 12시간 수세하여 조직 내 고정액을 완전 제거하였다. 조직의 탈수를 위해 60%에서 100% 알코올에 이르기까지 농도 상승 순으로 통상의 방법에 따라 탈수하고, xylene에 투명 과정을 거친 다음 파라핀 블럭을 제작하였다. 제작된 블록은 박절기를 이용하여 3~4 ㎛ 두께로 절편을 만들어 탈 파라핀 및 함수 과정을 거친 다음 hematoxyline 과 eosin(H&E) 일반 염색을 실시하여 광학현미경상에서 관찰 및 사진 촬영 하였다.

4) 통계 처리

본 실험에서 얻은 결과를 t-test(JAVA, Bonferroni Ver 1.1)로 분석하여 p값을 구하였다. SHR군을 WKY군과, SHR-CGG군을 SHR군과 비교하여 $p<0.05$ 일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

III. 실험결과

1. 독성 검사

1) hFCs에 대한 세포독성

SHR군의 세포생존율이 100±0.9%인데 비하여, SHR-CGG군 12.5, 25, 50, 100, 200 ㎍/㎖의 농도에서는 각각 102.4±1.0, 99.4±0.5, 95.4±3.8, 91.7±1.7, 86.4±1.1%로 나타났다(Fig. 1).

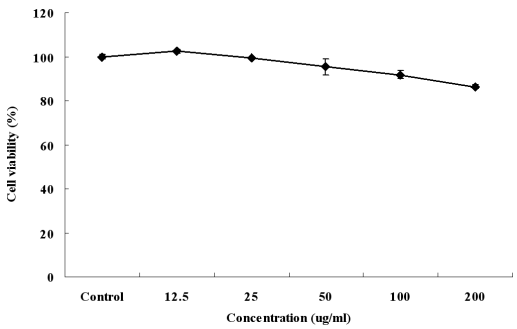

Fig. 1. Cytotoxicity of CGG on hFCs.

2) 간 독성 평가

(1) AST

AST는 SHR군이 236.0±15.5 I.U/㎗, WKY군이

167.3±28.3 I.U/dℓ로 나타나 WKY군에 비하여 SHR군에서 증가하였다. SHR-CGG군은 228.3±24.0 I.U/dℓ로 SHR군에 비하여 큰 차이가 나타나지 않았다(Fig. 2).

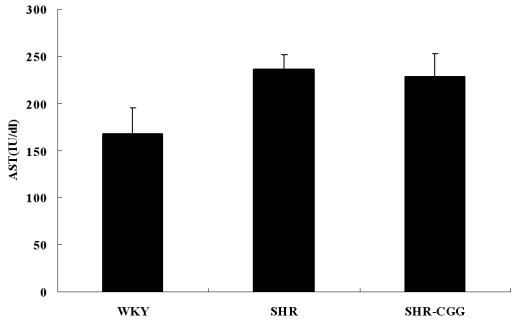

Fig. 2. Effect of CGG on the AST in rat.

(2) ALT

ALT는 SHR군이 55.3±1.5 I.U/dℓ, WKY군이 46.7±3.2 I.U/dℓ로 나타나 WKY군에 비하여 SHR군에서 약간 증가하였다. SHR-CGG군은 51.0±9.1 I.U/dℓ로 SHR군에 비하여 감소하였으나 유의성은 없었다(Fig. 3).

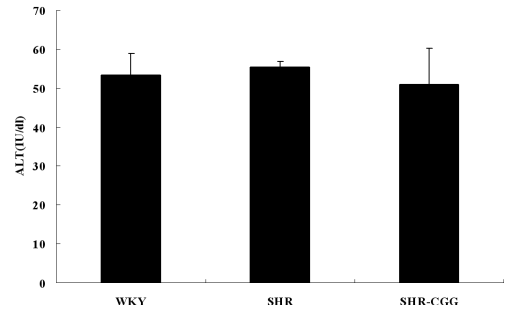

Fig. 3. Effect of CGG on the ALT in rat.

2. *In vitro*

1) 항산화 활성에 미치는 영향

(1) DPPH 소거활성에 미치는 영향

25, 50, 100, 200 ㎍/㎖ 농도에서 각각 33.2±3.4, 57.9±2.8, 68.6±2.2, 81.1±1.5%의 소거 활성 효과를 나타냈다(Fig. 4).

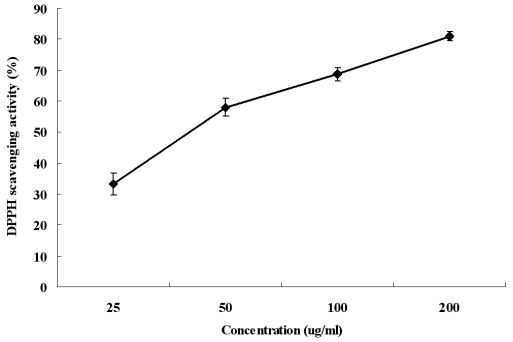

Fig. 4. Scavenging activity of CGG on DPPH free radical.

(2) SOD 유사 활성에 미치는 영향

SOD나 SOD 유사 물질에 의해서만 항산화 활성을 나타내는 pyrogallol을 이용하여 CGG의 항산화 활성을 측정한 결과, 25, 50, 100, 200 ㎍/㎖의 농도에서 각각 11.6±0.9, 30.2±1.0, 37.4±0.9, 45.4±0.62%의 항산화 활성 효과를 나타냈다(Fig. 5).

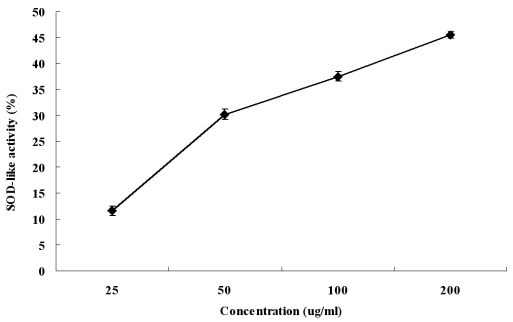

Fig. 5. SOD-like activity of CGG.

(3) ROS 측정

Raw 264.7 세포에서 ROS의 생성량(%)을 측정한 결과, 대조군에서 40.1±1.4%로 나타나 정상군 8.1±0.5%에 비하여 유의성 있게(## : $p<0.001$) 증가하였고, CGG 50, 100투여군에서 각각 31.4±2.4%, 18.6±1.5%로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게(* : $p<0.05$, ** : $p<0.01$) 감소하였다(Fig. 6).

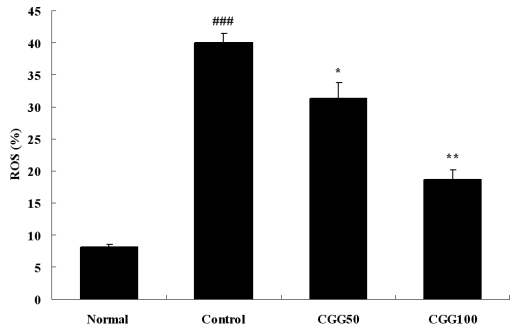

Fig. 6. The inhibitory effect of CGG on ROS.

2) 염증 cytokine에 미치는 영향

(1) TNF-α 생성량에 미치는 영향

LPS의 자극에 의해 활성화된 Raw 264.7 세포에서 생성되는 TNF-α에 대한 CGG의 억제 효과를 측정한 결과, 정상군에서는 646.5±53.8 pg/㎖, 대조군에서는 2,334.9±213.9 pg/㎖로 정상군에 비하여 유의성 있게(## : $p<0.001$) 증가하였으며, CGG 25, 50, 100 ㎍/㎖의 농도에서 각각 1,595.4±209.3, 1,481.2±179.1, 1,215.9±35.4 pg/㎖로 대조군에 비해 유의성 있게(* : $p<0.05$, ** : $p<0.01$) 감소하였다(Fig. 7).

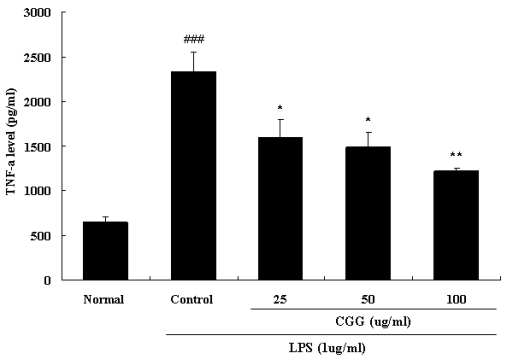

Fig. 7. CGG inhibits LPS-induced TNF-α production by Raw 264.7 cells.

(2) IL-6 생성량에 미치는 영향

LPS의 자극에 의해 활성화된 Raw 264.7 세포에서 생성되는 IL-6에 대한 CGG의 억제 효과를 측정한 결과, 정상군에서는 9.5±3.6 pg/㎖, 대조군에서 16,137.0±1,937.2 pg/㎖로 정상군에 비하여 유의성 있게(## : $p<0.001$) 증가하였으며, CGG 25, 50, 100 ㎍/㎖의 농도에서 각각 12,509.9±1,065.0, 6,788.8±497.7, 5,154.8±265.1 pg/㎖로 대조군에 비해 유의성 있게(* : $p<0.05$, *** : $p<0.001$) 감소하였다(Fig. 8).

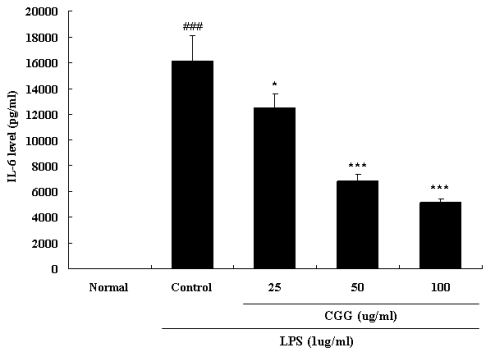

Fig. 8. CGG inhibits LPS-induced IL-6 production by Raw 264.7 cells.

(3) IL-1β 생성량에 미치는 영향

LPS의 자극에 의해 활성화된 Raw 264.7 세포에서 생성되는 IL-1β에 대한 CGG의 억제 효과를 측정한 결과, 정상군에서는 2.5±0.8 pg/㎖, 대조군에서 47.2±0.5 pg/㎖로 정상군에 비하여 유의성 있게(## : $p<0.001$) 증가하였으며, CGG 25, 50, 100 ㎍/㎖의 농도에서 각각 38.3±3.4, 25.4±4.9, 19.3±1.5 pg/㎖로 대조군에 비해 유의성 있게(* : $p<0.05$, ** : $p<0.01$) 감소하였다(Fig. 9).

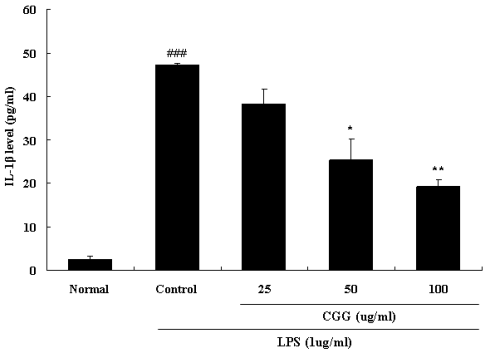

Fig. 9. CGG inhibits LPS-induced IL-1β production by Raw 264.7 cells.

3) ACE 저해능에 미치는 영향

25, 50, 100, 200 ㎍/㎖ 농도에서 각각 10.8±1.5, 20.6±0.9, 42.1±1.9, 47.4±2.1%의 저해 효과를 나타냈다(Fig. 10).

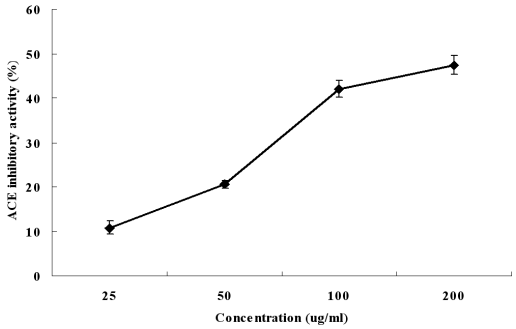

Fig. 10. The inhibitory effect of CGG on ACE.

3. *In vivo*

1) 장기 무게에 미치는 영향

(1) 심장 무게에 미치는 영향

몸무게에 대한 심장의 무게가 WKY군은 3.32±0.07 / B.W (㎎/g), SHR군은 4.16±8.96 / B.W (㎎/g)로 나타났다. SHR군은 WKY군에 비하여 유의성 있게(# : p<0.05) 증가하였다. SHR-CGG군은 3.76±0.04 / B.W (㎎/g)로 나타나 SHR군에 비하여 유의성 있게(* : p<0.05) 감소하였다(Fig. 11).

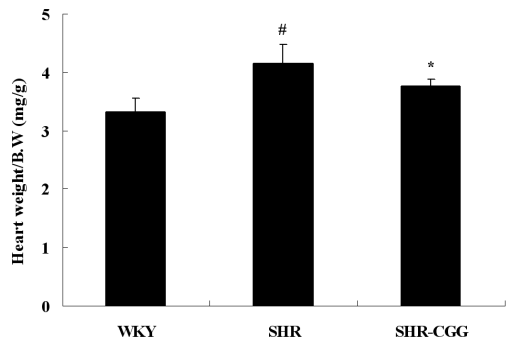

Fig. 11. Effect of CGG on the heart weight in SHR.

(2) 신장 무게에 미치는 영향

몸무게에 대해 신장의 무게가 WKY군은 2.99±0.04 / B.W (㎎/g), SHR군은 3.52±0.26 / B.W (㎎/g)로 WKY군에 비해 유의성 있게(# : p<0.05) 증가하였다. SHR-CGG군은 3.42±0.12 / B.W (㎎/g)로 나타났다(Fig. 12).

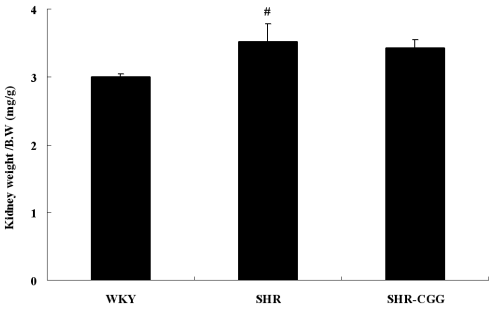

Fig. 12. Effect of CGG on the kidney weight in SHR.

2) 혈압에 미치는 영향

WKY군은 130.5±1.7 mmHg, SHR군은 191.1±22.1 mmHg 로 나타나 SHR에서 WKY군에 비하여 유의성 있게(## : p<0.01) 증가하였다. SHR-CGG군은 157.3±17.2 mmHg로 나타나 SHR군에 비하여 유의성 있게(* : p<0.05) 감소하였다(Fig. 13).

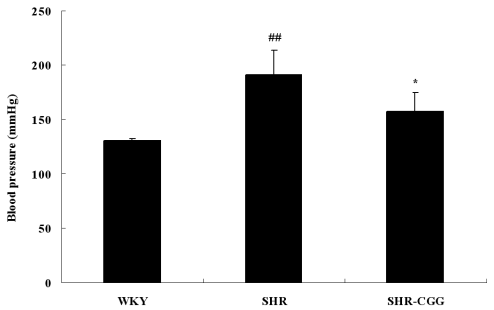

Fig. 13. Effect of CGG on the blood pressure in SHR.

3) 심박수에 미치는 영향

WKY군은 306.2±15.2 times/min, SHR군은 576.8±27.4 times/min 로 나타나 SHR군에서 WKY군에 비하여 유의성 있게(## : p<0.01) 증가하였다. SHR-CGG군은 444.2±59.1 times/min로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게(* : p<0.05) 감소하였다(Fig. 14).

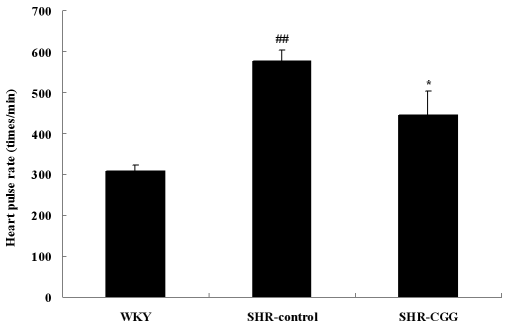

Fig. 14. Effect of CGG on the heart rat in SHR.

4) Aldosterone 농도 변화에 미치는 영향

WKY군은 238.5±101.9 pg/㎖, SHR군은 796.0±155.8 pg/㎖로 나타나 SHR군에서 WKY군에 비하여 유의성 있게(## : $p<0.01$) 증가하였다. SHR-CGG군은 410.6±92.2 pg/㎖로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게(* : $p<0.05$) 감소하였다(Fig. 15).

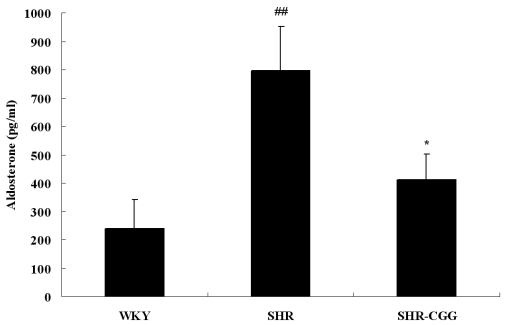

Fig. 15. Effect of CGG on the plasma aldosterone in SHR.

5) 전해질 변화에 미치는 영향

(1) Na^+ 변화에 미치는 영향

WKY군은 144.3±0.6 mEq/l, SHR군은 144.7±1.2 mEq/l로 나타났으며 SHR-CGG군은 142.3±2.1 mEq/l로 나타났다(Fig. 16).

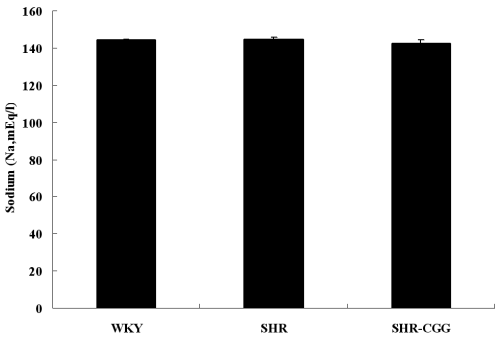

Fig. 16. Effect of CGG on the Na^+ in SHR.

(2) K^+ 변화에 미치는 영향

WKY군은 5.5±0.5 mEq/l, SHR군은 5.4±0.5 mEq/l로 나타났다. SHR-CGG군은 5.5±0.9 mEq/l로 나타났다(Fig. 17).

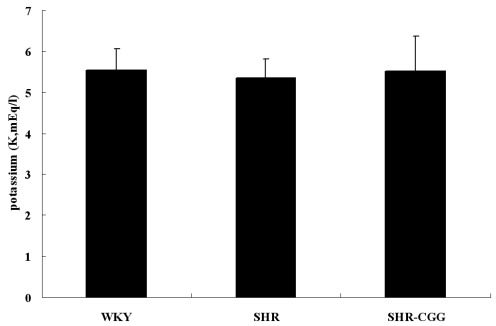

Fig. 17. Effect of CGG on the K^+ in SHR.

(3) Cl^- 변화에 미치는 영향

WKY군은 97.4±1.6 mEq/l, SHR군은 102.3±0.6 mEq/l로 나타났다. SHR-CGG군은 100.7±0.9 mEq/l로 나타났다(Fig. 18).

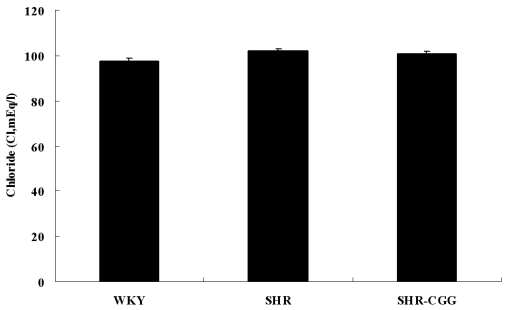

Fig. 18. Effect of CGG on the Cl^- in SHR.

6) 신장에 미치는 영향

(1) Creatinine 변화에 미치는 영향

WKY군은 0.48±0.04 ㎎/dℓ SHR군은 0.59±0.02 ㎎/dℓ로 나타나 SHR 대조군에서 WKY군에 비하여 유의성 있게(# : $p<0.05$) 증가하였다. SHR-CGG군은 0.50±0.05 ㎎/dℓ로 나타났다(Fig. 19).

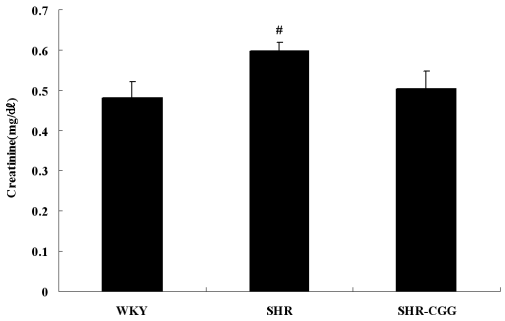

Fig. 19. Effect of CGG on the creatinine in SHR.

(2) Uric acid 변화에 미치는 영향

WKY군은 2.7±0.3 ㎎/dℓ SHR군은 3.3±0.9 ㎎/dℓ로 나타났다. SHR-CGG군은 2.1±0.9 ㎎/dℓ로 나타났다(Fig. 20).

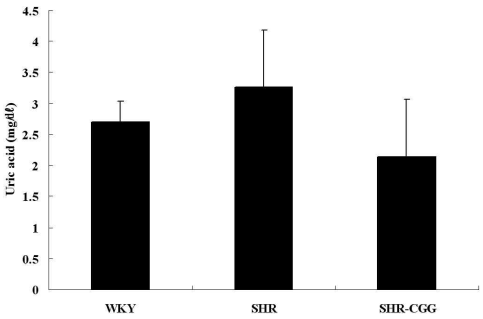

Fig. 20. Effect of CGG on the uric acid in SHR.

(3) BUN 변화에 미치는 영향

WKY군은 16.9±0.3 ㎎/dℓ, SHR군은 24.9±1.1 ㎎/dℓ로 나타나 SHR군에서 WKY군에 비하여 유의성 있게(## : $p<0.01$) 증가하였다. SHR-CGG군은 23.1±0.3 ㎎/dℓ로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게(* : $p<0.05$) 감소하였다(Fig. 21).

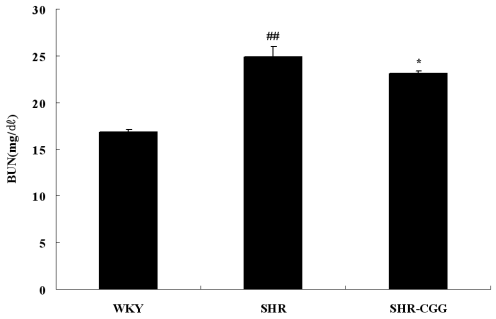

Fig. 21. Effect of CGG on the BUN in SHR.

7) 조직화학적 변화에 미치는 영향

(1) 심 장

좌심실의 가로로 배열된 심근 세포들을 중심으로 관찰한 결과, 대조군에서 윤반을 단위로 세포질에 강한 호산성 염색 소견인 eosinophilic band(E.P)가 특징적으로 나타났다. 반면 SHR-CGG 투여군에서는 세포질이 호산성으로 염색되는 심근 세포의 수가 정상군에 가깝게 줄어들었다(Fig. 22).

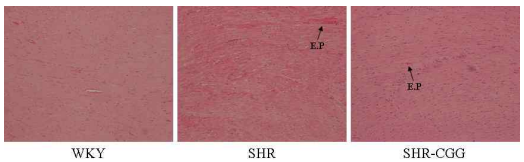

Fig. 22. Light micrographic appearance of the cardiac muscle, ×100.

Eosinophilic band were observed in cardiac muscle fiber in control group. (E.P: eosinophilic band)

(2) 신 장

신장은 사구체, 근위세뇨관, 원위세뇨관의 조직학적 배열 상태는 모두 정상이고, 정상군에서는 신세동맥벽의 비후가 보이지 않으나 대조군에서는 비후에 의한 혈관 협착이 많이 일어나 있으며, SHR-CGG 투여군에서는 정상군에 가깝게 협착이 완화된 것으로 나타났다(Fig. 23).

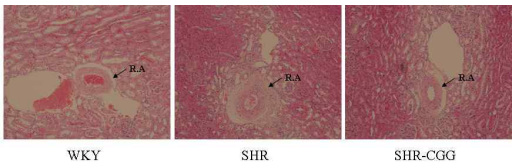

Fig. 23. Light micrographic appearance of the cortex of kidney, ×100.

The lμmen of renal arteriole was narrowed. (R.A : renal arteriole)

(3) 부 신

대조군의 토리층(zona glomerulosa)은 피막 바로 아래 위치하는 세포들이 무리를 이루고 있고 그 사이에는 확장된 모세혈관들이 관찰되었으며, 전해질 코르티코이드를 분비하는 세포들의 수가 정상과 비교하여 상대적으로 적게 관찰되었다. CGG 투여군에서는 토리층을 이루는 세포들의 배열 형태는 뚜렷하지는 않지만 정상군과 유사한 배열을 하였고, 대조군에 비해서는 세포의 배열이 다소 뚜렷하였고, 세포들 사이 모세혈관의 뚜렷한 확장은 관찰되지 않았다(Fig. 24).

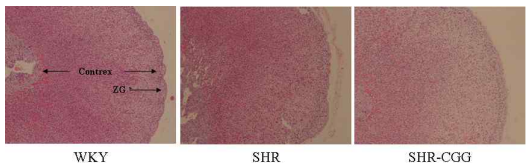

Fig. 24. Light-micrographic appearance of the adrenal gland, ×100 (Z.G : zona glomerulosa).

Ⅳ. 고 찰

2003년 미국 국립보건원에서 발간하는 JNC-보고서[19]는 수축기혈압이 120-139 mmHg, 이완기혈압이 80-89 mmHg인 경우를 고혈압 전기로 정의하여 기존보다 혈압의 기준을 강화하였다[20]. 또한 2007년 발표된 유럽 고혈압학회 및 심장학회의 고혈압 지침서에서 표적장기의 손상이 있는 고혈압은 비록 혈압이 정상 범위라도 치료를 해야 한다고 강조되고 있다.[21]

대부분의 고혈압 환자는 증상이 없으나 증상이 나타나면 두통, 두중, 이명, 현기증, 피로감, 심계항진 등을 자각증상으로 호소한다. 임상적으로 고혈압은 그 자체로 인한 증상보다는 합병증과 동맥경화가 촉진되어 나타나는 병발질환이 더 위험하다. 합병증으로 뇌출혈, 고혈압성뇌증, 심부전 등이 있고, 동맥경화가 촉진되어 나타나는 병발질환으로는 관상동맥의 협착이나 폐쇄로 인한 협심증이나 심근경색, 뇌경색, 말초혈관질환 등이 있다[2].

현재 고혈압 치료에 사용되는 약제는 이뇨제, 항adrenalin제, 혈관확장제, 칼슘 유입 차단제, ACE 억제제 및 angiotensin 수용체 차단제 등이 있다[22].

한의학에서 고혈압이란 명칭은 없으나 이에 해당하는 증후, 증상에 근거하여 변증적인 방법으로 치료해 왔다. 해당되는 증상으로는 中風, 頭痛, 眩暈, 項强, 肝風 등과 유사하며, 주로 肝, 心, 腎系 병증과 관련이 있다. 病因은 風, 火, 痰, 虛로 나눌 수 있으며 치법은 疏風, 淸熱瀉火, 祛痰, 調氣, 補陰, 養血 등이 있다[2].

天麻鉤藤飮加減(CGG)은《實用中西醫結合　診斷

治療學》[10]에 수록된 처방으로 陰虛陽亢으로 인한 頭痛, 眩暈, 耳鳴, 高血壓 등에 응용되고 있다.

天麻鉤藤飮은 天麻, 釣鉤藤, 石決明, 山梔子, 黃芩, 牛膝, 杜沖, 益母草, 桑寄生, 夜交藤, 茯神으로 구성[23]되어 있는데 본 실험에 사용된 天麻鉤藤飮加減(CGG)은 安神定志시키는 夜交藤, 茯神을 祛하고[24] 生地黃, 白何首烏, 菊花를 加한 처방이다. 方중 天麻, 釣鉤藤, 石決明은 平肝熄風하며 山梔子, 黃芩은 肝火를 淸泄하게 하며 杜沖, 桑寄生은 肝腎을 補陰시키고, 牛膝은 引血下行하며, 益母草는 活血利水하고[23] 生地黃은 淸熱凉血하며 白何首烏는 補益肝腎, 凉血祛風하고 菊花는 散風淸熱, 平肝明目하는 작용을 한다[24].

天麻鉤藤飮 계통의 연구로는 약물 구성은 다르지만 정[13]은 “항간질성 효과에 대한 실험적 연구”를, 임[14]은 “마취 흰쥐에서 심혈관 작용에 대한 연구”를, 강[15]은 “뇌조직의 생화학적 변화에 미치는 영향”를, 홍[16]은 “혈전증 뇌허혈증 및 뇌손상에 대한 실험적 연구”를 보고하였다. 또한 저자는 加味天麻鉤藤飮(KCGE)[17]으로 DACA-salt로 유발된 고혈압 흰쥐의 고혈압 억제작용을 실험적으로 검증한 바 있다. 그러나 加味天麻鉤藤飮(KCGE)과 구성약물이 다르며 임상에서 다용되고 있는 天麻鉤藤飮加減(CGG)이 고혈압 유관인자 및 SHR 병태모델에 미치는 보고는 아직 접해 보지 못하였다.

이에 天麻鉤藤飮加減(CGG)이 혈압 유관인자들에 어떤 영향을 주는지 살펴보고자 이를 자발성 고혈압 흰쥐에 경구 투여하여 항산화 반응, 염증 cytokine의 생성량, ACE 저해능, 체중과 혈압 및 심박수의 변화, 혈중 aldosterone및 전해질 함량의 변화 및 심장, 신장, 부신의 조직학적 변화를 측정하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

약재의 안전성을 평가하고자 hFCs의 세포생존율과 간 기능의 지표 성분인 AST, ALT 측정하였다. 그 결과, 세포 생존율에서 CGG 투여군의 200 ㎍/㎖ 농도에서만 86.4±1.1로 측정되고 나머지 농도에서는 90% 이상의 수치가 측정되었다. 또한 AST, ALT의 수치는 SHR군에 비하여 SHR-CCG군에서 큰 차이를 나타내지 않았다.

호흡과정에서 흡입한 산소 중 대부분은 영양소를 산화시켜 ATP로 만들어 에너지로 사용하지만, 나머지 5% 정도는 미토콘드리아의 호흡작용, 면역세포에 의한 방어 작용 또는 외부의 자외선, 오존, 흡연 등의 각종 자극에 의해 활성산소종(ROS)을 생성한다[25-27]. 생체에는 정상적인 대사과정 중 지속적으로 생기는 이러한 활성산소종을 제거하는 항산화효소계와 여러 항산화화합물 등이 존재함으로서 활성산소종의 생성과 제거사이에 균형을 갖추어 세포기능을 유지하고 있다[28].

하지만 활성산소종이 너무 많이 생성되거나 항산화시스템의 기능이 저하되면 효소, 세포막 등을 파손하는 유해성을 보이며 생체세포를 공격하여 지질과 DNA, RNA를 파괴하고 여러 효소기능을 저해하여 질병을 촉진한다[25-26].

또한 활성산소는 여러 경로를 통해 혈관내피 세포를 직접 공격하여 염증을 일으키거나, monocyte 등이 혈관내피로 침윤되도록 유도한다. 혈관내피에 침윤된 monocyte는 macrophage로 변하여 foam cell이 되며, 이는 혈관의 경화를 가져와서 고혈압을 일으킨다[4,29].

DPPH assay는 안정화된 free radical을 가지고 있는 수용성 물질인 DPPH가 전자나 수소를 받아 안정된 분자를 이루고 자색이 되는 원리를 이용한 시험법[30]으로 항산화 활성을 육안으로도 쉽게 관찰할 수 있는 장점이 있다[31]. SOD는 대표적인 활성산소종의 하나인 O_2^-(superoxide anion)를 제거하는 효소로[32] 활성산소의 산화반응으로 발생하는 질병을 예방하거나 치료하는 역할을 한다[33].

CGG의 항산화 활성에 미치는 영향에 대해 알아보고자 DPPH 소거능과 SOD유사 물질의 항산화 활성 및 ROS 감소 효과를 측정하였다. 그 결과, DPPH의 소거활성과 SOD 유사 물질의 항산화 활성 효과가 CGG의 농도 의존적으로 증가하였고, SHR군에 비하여 SHR-CGG군에서 ROS의 생성량

이 유의성 있게 감소하였다. 이러한 결과를 통하여 CGG가 활성산소의 생성을 억제함과 동시에 항산화 작용이 있을 것으로 생각된다.

혈관 염증에 미치는 영향에 대해 알아보고자 Raw 264.7 세포에서 생성되는 TNF-α와 IL-6, IL-1β에 대한 CGG의 억제 효과를 측정하였다. 그 결과, SHR군에 비하여 SHR-CGG군에서 농도 의존적으로 cytokine의 생성량을 억제 하는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 CGG가 고혈압으로 인한 혈관 손상에 유의성 있는 방어 작용이 있음을 시사한다.

혈압상승의 중요한 기전인 renin-angiotensin system (RAS)에 있어 중요한 효소인 ACE은 angiotensin Ⅰ(Ang I)을 angiotension Ⅱ(Ang Ⅱ)로 전환하는 효소이며, 전환된 Ang Ⅱ는 Ang Ⅱ-type 1(AT1) receptor에 작용하여 혈관을 수축시키고 aldosterone의 분비를 증가시켜 혈압을 상승시킨다고 알려져 있다. 또한 Ang Ⅱ는 NADH/NADPH 산화 효소계를 활성화 시킴으로써 활성산소종 및 질소종의 생성을 증가시켜, 내피세포의 산화적 스트레스를 유발하며 저밀도 지단백질 등의 산화를 통한 혈관의 염증반응을 유도한다[34]. 최근 ACE 저해제는 고혈압뿐만 아니라 만성신장병, 동맥경화, 심장 발작과 그로 인한 사망 등을 효과적으로 감소시킬 수 있다는 많은 임상 결과들이 있으며 이에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다[35].

CCG의 ACE 저해능을 측정한 결과, 농도 의존적으로 ACE 저해효과를 나타냈다. 이를 통해 CCG는 조직 산화의 억제 및 항산화력의 증가와 더불어 ACE 저해를 통한 혈압 강하 작용이 있을 것으로 생각된다.

고혈압이 지속되면 여러 합병증이 나타나는데, 증가된 혈관의 장력과 혈관 내피세포의 기능을 억제하고 여러 가지 세포의 분열을 초래하여 세포의 비후 및 증식이 야기되고 이로 인해 좌심실 비대, 신경화 등이 발생된다[4,22].

CGG가 자발성 고혈압 흰쥐의 심장, 신장의 무게에 미치는 영향을 측정하였다. 그 결과, 몸무게에 대한 심장의 무게가 SHR-CGG 군은 3.76±0.04 / B.W (㎎/g)로 나타나 SHR 군에 비하여 유의성 있게 감소하였다.

신장 무게를 측정한 결과, 몸무게에 대한 신장의 무게가 WKY 군은 2.99±0.04 / B.W (㎎/g), SHR 군은 3.52±0.26 / B.W (㎎/g)로 나타났고 SHR-CGG 군은 3.42±0.12 / B.W (㎎/g)로 나타났다.

혈압 및 심박수를 측정하였는데, 혈압은 SHR-CGG 군은 157.3±17.2 mmHg로 나타나 대조군인 SHR 군의 191.1±22.1 mmHg에 비하여 유의성 있게 감소하였다. 심박수는 SHR-CGG 군은 444.2±59.1 times/min로 나타나 대조군인 SHR 군의 576.8±27.4 times/min에 비하여 유의성 있게 감소하였다.

이처럼 SHR-CGG 군이 대조군인 SHR 군에 비하여 심장의 무게를 유의성 있게 감소시키면서, 혈압과 심박수를 낮추는 것으로 보아 CGG가 혈압 강하 작용 및 합병증으로 인한 심장 기능 개선에 영향을 미칠 것으로 기대된다.

Aldosterone은 부신피질에서 분비되는 hormone으로 주요 자극인자는 RAS계, K^+ 부하, ACTH 부하 및 저 Na^+ 혈증 등으로 원위세뇨관의 ion 교환 부위에 작용하여 Na^+, OH^- 재흡수와 K^+, H^+ 분비를 촉진하여 혈액량의 증가와 함께 혈압의 상승을 일으킨다[4]. 그러므로 aldosterone의 혈중 농도를 측정하면 각종 고혈압 질환이나 체액, 전해질 이상을 수반하는 여러 질환을 진단 감별하는데 유용하다[34].

혈장내 aldosterone의 수치를 비교 분석한 결과, aldosterone의 농도는 SHR 군은 796.0±155.8 pg/㎖, SHR-CGG 군은 410.6±92.2 pg/㎖로 나타나 대조군인 SHR 군에 비하여 유의성 있게 감소하였다. 이를 통해 CGG가 신성 hormone에 의한 혈압 조절 체계에 작용하여 혈압 상승을 억제하는 것으로 생각된다.

생체 내 전해질은 세포내외의 삼투압을 유지하고 세포내의 수분량을 조절하여 혈압을 유지하는 중요한 요소다. 전해질 균형의 붕괴는 고혈압, 신

장기능 장애 등의 직접적인 원인으로 작용한다[22]. 혈장 삼투압을 결정하는 가장 큰 인자는 Na^+의 농도인데, Na^+이 체내에 과다하게 증가하게 되면 Na^+, K^+ 채널의 이상, Na^+의 세포내 축적, Ca^{2+}의 세포내 침착 등을 가져와 신장장애, 고혈압 등을 유발하게 된다[36]. 혈장 Cl^- 또한 세포 외액량 변화를 알 수 있는 지표로 수분, Na^+ 평형 이상을 치료하는데 유용하다[32]. K^+의 섭취는 Na^+-K^+ pump의 활성화를 도와서 혈관확장을 유도하여 혈압을 낮추거나, renin의 기능을 저하시켜 angiotensin II의 활성을 억제시킨다는 보고가 있다[26].

본 실험에서 혈중 Na^+의 농도는 SHR 군에서 144.7±1.2 mEq/l로 나타났으며, SHR-CGG 군에서 142.3 ± 2.1 mEq/l로 나타났다. K^+은 SHR-CGG 군에서 5.5±0.9 mEq/l로 나타나 SHR 군의 5.4±0.5 mEq/l에 비하여 증가하였다. Cl^-의 농도는 SHR-CGG 군에서 100.7±0.9 mEq/l로 나타나 SHR 군의 102.3±0.6 mEq/l에 비하여 감소하였다. 실험 결과 Na^+, K^+, Cl^-농도에 대한 유의성 있는 결과는 없었으나 이와 관련된 기전은 지속적으로 연구되어야 한다고 생각된다.

신장은 체액 및 전해질을 조절하는 중요한 장기로 혈압 조절에 중심적인 역할을 하고 있다[37]. 구심성 및 원심성 세동맥과 사구체 모세혈관총의 동맥경화성 병변이 고혈압으로 인한 가장 흔한 신 혈관병변이며, 그 결과로 사구체 여과율(GFR)의 감소와 세뇨관 기능장애가 초래된다[22].

Uric acid는 핵산 중 purine 염기의 최종 대사산물로 근위세뇨관에서 재흡수와 재분비가 이루어지는데[37] 고요산 혈증은 고혈압의 원인 인자이자 신질환의 악화 인자로 보고되고 있다[38-39].

Creatinine은 외인성 또는 신장 이외의 영향을 받지 않고, 사구체로 여과되어 세뇨관에서 재흡수되지 않고 체외로 배설되므로 신장 기능의 지표로서 중요시 되고 있다. BUN은 신장질환과 관계가 깊은 질소대사 산물로서 사구체 여과치가 50% 이하로 떨어지면 기준범위 이상으로 증가한다. 즉 사구체 여과량의 감소와 동시에 증가하며, 혈중 creatinine의 증가와 더불어 증가하여 신장 기능 지표로 이용된다[30].

CGG가 신장 기능에 미치는 영향을 알아보고자 혈중 creatinine, uric acid, BUN을 측정하였다. 그 결과 creatinine농도는 WKY 군에서 0.48±0.04 ㎎/㎗ SHR 군에서 0.59±0.02 ㎎/㎗로 나타나 SHR 군에서 WKY군에 비하여 유의성 있게 증가하였다. SHR-CGG 군은 0.50±0.05 ㎎/㎗로 나타나 SHR 군에 비하여 감소하였다.

Uric acid 농도는 WKY 군에서 2.7±0.3 ㎎/㎗ SHR군에서 3.3±0.9 ㎎/㎗로 나타나 SHR 군에서 WKY 군에 비하여 증가하였다. SHR-CGG 군은 2.1±0.9 ㎎/㎗로 나타나 SHR 군에 비하여 감소하였다.

BUN 농도는 WKY 군에서 16.9±0.3 ㎎/㎗, SHR 군에서 24.9±1.1 ㎎/㎗로 나타나 SHR 군에서 WKY 군에 비하여 유의성 있게 증가하였다. SHR-CGG 군은 23.1±0.3 ㎎/㎗로 나타나 SHR 군에 비하여 유의성 있게 감소하였다. SHR-CGG 군에서 BUN의 농도가 SHR 군에 비해 유의성 있게 감소된 것으로 보아 CGG가 신장 기능의 장애로 인한 고혈압의 치료에 유의한 효과가 있을 것으로 생각된다.

조직학적 변화를 살펴보면, 심장에서 좌심실의 가로로 배열된 심근 세포들을 중심으로 관찰한 결과, SHR 군에서 윤반을 단위로 세포질에 강한 호산성 염색 소견인 eosinophilic band(E.P)가 특징적으로 나타났다. 반면 SHR-CGG 군에서는 세포질이 호산성으로 염색되는 심근세포의 수가 WKY 군에 가깝게 줄어들었다

신장에서 사구체, 근위세뇨관, 원위세뇨관의 조직학적 배열 상태는 모두 정상이고, WKY 군에서는 신세동맥(renal arteriole) 벽의 비후가 보이지 않으나 SHR 군에서는 비후에 의한 혈관 협착이 많이 나타났으며, SHR-CGG 군에서는 WKY 군에 가깝게 협착이 완화된 것으로 나타났다.

부신에서 SHR 군의 토리층(zona glomerulosa) 피막 바로 아래 위치하는 세포들이 무리를 이루고 있고 그 사이에는 확장된 모세혈관들이 관찰되었다. 또한 전해질 코르티코이드를 분비하는 세포들의 수가 WKY 군과 비교하여 상대적으로 적게 관찰되었다. SHR-CGG 군에서는 토리층을 이루는 세포들의 배열 형태는 뚜렷하지는 않지만 WKY 군과 유사한 배열을 보였으며, SHR 군에 비해서는 세포의 배열이 다소 뚜렷하였고, 세포들 사이 모세혈관의 뚜렷한 확장은 관찰되지 않았다.

이상의 실험 결과, 天麻鉤藤飮加減은 심장의 무게, 혈압과 심박동수를 유의성 있게 감소시켰다. DPPH 소거능 및 SOD 유사활성을 증가시키고 ROS 생성량을 감소시킨것으로 보아 항산화 작용을 통해 고혈압의 직, 간접적인 원인을 방어하는 것으로 나타났다. cytokine의 생성량을 억제하여 고혈압으로 인한 혈관 손상에 유의성 있는 방어 작용이 있음을 시사하였다. 또한 ACE 저해를 통한 혈압 강하 작용이 있을 것으로 생각되며, aldosterone 농도를 유의성 있게 감소시킨 것으로 보아 체액성 조절을 통한 혈압강하 효과도 있는 것으로 생각된다. 한편 BUN 농도를 유의성 있게 감소시켜 신장 기능 개선에도 효과가 있는 것으로 파악되었다. 조직학적 검사에서는 고혈압의 표적장기에 해당하는 심장, 신장, 부신의 세포 손상을 억제하는 효과가 있었다. 따라서 天麻鉤藤飮加減은 고혈압의 치료에 보다 광범위하게 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

Ⅴ. 결 론

天麻鉤藤飮加減이 고혈압에 미치는 영향을 알아보고자 자발성 고혈압 흰쥐에 天麻鉤藤飮加減 추출물을 경구 투여하여 항산화작용, 체중과 혈압 및 심박수의 변화, 혈청 내 aldosterone과 전해질 및 신장 기능의 변화를 측정하고 심장, 신장, 부신에 대한 조직학적 변화를 관찰한 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 天麻鉤藤飮加減은 DPPH 소거 활성 및 SOD 유사활성을 농도 의존적으로 증가시켰다.
2. 天麻鉤藤飮加減은 ROS 생성량을 유의성 있게 감소시켰다.
3. 天麻鉤藤飮加減은 대조군에 비해 농도 의존적으로 cytokine의 분비량을 억제하였다.
4. 天麻鉤藤飮加減은 농도 의존적으로 ACE 저해 효과를 나타냈다.
5. 天麻鉤藤飮加減은 심장의 무게를 유의성 있게 감소시켰다.
6. 天麻鉤藤飮加減은 혈압과 심박동수를 유의성 있게 감소시켰다.
7. 天麻鉤藤飮加減은 혈중 aldosterone의 농도를 유의성 있게 감소시켰다.
8. 天麻鉤藤飮加減은 혈중 BUN의 농도를 유의성 있게 감소시켰다.
9. 天麻鉤藤飮加減은 조직학적 검사상 고혈압의 표적장기에 해당하는 심장, 신장, 부신 등의 장기 조직 세포손상을 억제시켰다.

참고문헌

1. 보건복지부 질병관리본부. 2008 국민건강통계. 국민건강영양조사 제4기 2차년도 결과 보고서. 2008, p. 50-1.
2. 전국한의과대학 심계내과학교실. 심계내과학. 서울: 군자출판사; 2006, p. 154-9.
3. 의학교육 연수원 편. 가정의학. 서울: 서울대학교 출판부; 2001, p. 414-25.
4. 이영우, 오병희, 김철호. 고혈압. 서울: 고려의학; 2000, p. 2-5, 112-5, 167-95.
5. 이영헌, 전상윤, 홍석, 조국령, 김남욱, 강성인, 등. 加味順氣活血湯이 DOCA-salt로 유발된 고혈압 흰 쥐에 미치는 작용기전. 대한동의생리학회지 2008;22(1):162-70.
6. 유종삼, 김동희, 박종오, 남궁욱, 홍석. 加味豨簽湯이 고혈압 및 뇌손상에 미치는 효과. 대한한

의학회지 2003;24(3):72-83.
7. 박경호, 최학주, 노성수, 구영선, 김동희. 淸熱導痰湯이 고혈압에 미치는 영향. 동의생리병리학회지 2007;21(3):626-33.
8. 문형권, 조현경, 유호룡, 설인찬, 김윤식. 加味除濕順氣湯이 고혈압에 미치는 영향. 동의생리병리학회지 2006;20(4):887-95.
9. 서용원, 김호현, 고흥. 何首烏가 고혈압과 수축혈관에 미치는 영향. 대한동의생리병리학회지 2008;22(3):593-9.
10. 송낙근, 최학주, 김동희, 노성수, 서영배. 黑蔘이 폐고혈압 유발 흰쥐에 미치는 영향. 대한본초학회지 2009;24(4):69-75.
11. 이윤미, 강대길, 김명규, 장지연, 이호섭. 蒼耳子로부터 안지오텐신 전환효소 억제 유효 성분의 분리. 동의생리학회지 2005;19(1):119-23.
12. 진귀정, 양사수. 실용중서의결합 진단치료학. 서울: 의성당; 1993, p. 55-7.
13. 정대영, 이인, 문병순. 天麻鉤藤飮의 항간질성 효과에 대한 실험적 연구. 대한한방내과학회지 1997;18(2):65-81.
14. 임동윤, 문석재, 배남규, 권오성. 마취흰쥐에서 天麻鉤藤飮의 심혈관작용에 대한 연구. 대한본초학회지 1997;12(2):157-82.
15. 강익현, 조남수, 성강경, 문병순. 天麻鉤藤飮이 뇌조직의 생화학적 변화에 미치는 영향. 대한한방내과학회지 1998;19(2):107-24.
16. 홍석. 加味天麻鉤藤飮의 혈전증 뇌허혈증 및 뇌손상에 대한 실험적 연구. 학위논문(박사). 대전대학교 대학원; 1999.
17. 송병용, 홍석, 김동희, 전상윤. 加味天麻鉤藤飮이 고혈압 병태모델에 미치는 영향. 동의생리병리학회지 2007;21(2):504-10.
18. Cushman DW, Cheung HS, Sabo EF, Ondetti MA. Development and design of specific inhibitors of angiotensin-converting enzyme. *Am J Cardiol* 1982;49(6):1390-4.
19. Chobanian A, Bakris G, Black H, et al. and the National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension* 2003;42(6):1206-52.
20. 예방의학 편찬위원회, 예방의학, 서울: 계축문화사; 2004, p. 280-4.
21. Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, et al. 2007 Guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension and the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2007;28:1462-536.
22. Kasper DL, Gauci AS, Braunwald E, Hause Sl, Longo DL, James JL, et al. 대한내과학회 해리슨내과 편집위원회 편. HARRISON'S 내과학 제 1권. 서울: 도서출판 MIP; 2003, p. 215-7, 1456-72.
23. 한의과대학방제학교수 공편저. 방제학. 서울: 영림사; 2006, p. 457-8.
24. 전국한의과대학 본초학 공동교재편찬위원회. 본초학. 서울: 영림사; 2004, p. 233-4, 184-5, 638-9.
25. Waris G, Ahsan H. Reactive oxygen species: role in the development of cancer and various chronic conditions. *J Carcinog* 2006;5(14):1-8.
26. 대한병리학회, 병리학, 서울: 고문사; 2000, p. 17-8, 995.
27. Badwey, JA. Karnovsky, ML. Active oxygen species and the fucntion of phagocytic leucocytes. *Annu Rev Biochem* 1980;49:695-726.
28. Babior BM. Phagocytes and oxidative stress. *Am J Med* 2000;109(1):33-44.
29. Dhawan V, Jain S. Effect of garlic supplementation on oxidized low density lipoproteins and lipid peroxidation in patients of essential hypertension.

Mol Cell Biochem 2004;266(1-2):109-15.
30. Sanchez-Moreno C. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Sci Technol Int* 2002;8:121-37.
31. Blois M.S. Antioxidant determination by the use of stable free radical. *Nature* 1958;181:1199-200.
32. 이귀녕, 권오헌. 임상병리파일. 서울: 의학문화사; 2003, p. 95-8, 102-5, 116-121, 122, 126-7, 430, 609-12, 399-401.
33. 이윤미, 이소은, 이재문, 김태영, 최승옥. 운동강도에 따른 MDA와 SOD의 변화. 운동영양학회지 2008;12(2):843-8.
34. McFarlane SI, KµMar A, Sowers JR.. Mechanisms by which angiotensin-converting enzyme inhibitors prevent diabetes and cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 2003;91(21A):30H-7H.
35. Bakris GL. Angiotensin-converting enzyme inhibition to enhance vascular health-clinical and research models. *Am J Hypertension* 2001;14(8Pt 2):264S-9S.
36. Dostanic I, Paul RJ, Lorenz JN, Theriault S, Van Huysse JW, Lingrel JB. The alpha2-isoform of Na-K-ATPase mediates ouabain-induced hypertension in mice and increased vascular contractility in vitro. *Am J physiol Heart Circ Physiol* 2005;288(2):H477-85.
37. 김기환, 엄융의, 김전. 생리학. 서울: 의학문화사; 2004, p. 269, 281.
38. 진호준, 나기영, 정해일, 김연수, 김성권, 채동완. 혈중 요산 농도가 IgA 신병증의 진행에 미치는 연구. 대한신장학회지 2007;26:174-81.
39. 최소영, 이태원, 정경환, 임천규, 송세빈, 이설라. 신기능이 저하된 IgA 신증 환자의 관련 위험 인자. 대한신장학회지 2010;29(2):198-207.