

토끼 대동맥환의 혈관 긴장도에 미치는 Saponin의 효과

연세대학교 의과대학 가정의학과*, 연세대학교 의과대학 생리학교실
박계숙* · 김미영 · 이혜영 · 최은진 · 백광세 · 강복순

= Abstract =

The Effect of Saponin on the Vascular Contractility of the Rabbit Aortic Ring

Kye Sook Park, M.D.,* Mee Young Kim, M.D., Hye Young Lee,
Eun Jin Choi, Kwang Sei Paik, M.D., Bok Soon Kang, M.D.

Department of Physiology, College of Medicine, Yonsei University, Seoul, Korea
Department of Family Medicine, College of Medicine, Yonsei University, Seoul, Korea*

Purpose : There have been conflicting reports on vascular response to Panax ginseng. The conflicting reports may be due to difference of ingredient of Panax ginseng. The aim of the present study was to investigate the effect of saponin, the main ingredient of Panax ginseng, on the vascular contractility.

Methods : The rabbit aortic rings were cut and mounted on the force transducer to record an isometric tension on polygraph. To elucidate the mechanism of saponin effect on vascular smooth muscle, the contractility of the vascular smooth muscle were measured under varying experimental condition.

Results :

1) When the aortic rings were precontracted with norepinephrine, saponin caused biphasic (initial relaxation-sustained contraction) dose-response in the endothelium dependent manner. But saponin had no effect on the resting tension.

2) When EDRF inhibitors such as methylene blue(10^{-5} M), hemoglobin(10^{-5} M), N- ω -nitro-L-arginine(100 μ M) were added to precontracted ring with norepinephrine, the initial relaxation caused by 2mg% saponin was inhibited.

3) When Ca^{2+} -channel blocker, nifedipine(5×10^{-7} M), was added to precontracted rings with norepinephrine, the sustained contraction by saponin was inhibited.

4) When hemoglobin(10^{-5} M) was added to precontracted rings with norepinephrine, the contractility by norepinephrine was increased and this effect was further augmented by 2mg% saponin.

Conclusions : From the above results, it may be concluded that saponin stimulated the release of both an endothelium-dependent relaxing factor and endothelium-dependent contracting factor.

KEY WORDS : Saponin · Vascular contractility · Rabbit aorta.

서 론

인삼이 혈관계에 미치는 작용에 대해서는 여러 측면에서 많은 연구가 이루어졌으나 그 실험결과와 작용기전에 관하여는 일치하지 않거나 상반되는 점이 많은 실정이다.

Park¹⁾은 인삼투여로 혈압이 하강하다 다시 증가하여 정상으로 되돌아 오는데 이는 5-hydroxytryptamine (5-HT) 투여시에 나타나는 혈압변동과 매우 유사하다고 하였고^{2,3)}, 이 등⁴⁾은 인삼 수침물을 개에 투여했을 때 급격한 혈압하강 작용이 나타나는데 이는 histamine 유리작용에 의한 간접작용이며, antihistamine 전치치로 인삼투여 효과가 소실됨을 관찰하였다. 또한 Wood 등⁵⁾은 인삼의 혈압하강 작용이 atropine 투여로 소실됨으로 그 작용이 cholinergic 효과라고 보고한 바 있다. 뿐만 아니라 인삼은 말초저항에도 영향을 미치는데 인삼투여시 관상혈류량^{6,7,8)}과 신동맥혈류량⁹⁾이 증가됨을 관찰한 바 있다. 따라서 이러한 실험결과들로 볼 때 인삼은 혈관을 확장시키는 작용이 있음을 알 수 있다. 그러나 임¹⁰⁾과 오 등¹¹⁾은 인삼을 장기간 투여할 때 혈압변동에 별 영향을 주지 않았음을 밝힌 바 있으며, Nabata 등¹²⁾은 인삼 saponin인 ginseng neutral saponin을 투여시 관상혈류량에 변화가 없음을 관찰하여 인삼이 혈관계에 아무런 영향이 없음을 보고한 바 있다. 이와는 달리 Wood 등⁵⁾과 Nabata 등¹²⁾은 인삼투여로 대퇴혈류량이 감소되므로 인삼은 혈관 수축작용이 있다고 보고하였다.

한편, 인삼이 생체내 혈관계에 미치는 영향외에 적출된 혈관에서의 실험 보고 역시 상반되는 결과가 많다. 임¹⁰⁾은 적출된 대동맥 절편에서 인삼은 혈관 긴장도에 영향을 미치지 않는다고 보고하였으나, Hah 등¹³⁾과 유 및 강¹⁴⁾은 가토의 적출된 대동맥 절편에서 norepinephrine으로 유도된 혈관수축이 인삼알콜 추출물의 첨가로 이완이 되는데, 이는 인삼이 혈관의 α 및 β adrenoceptor에 모두 agonist로 작용하나 인삼의 혈관 이완 효과는 β -receptor에 대한 작용이 α -receptor에 대한 작용보다 강하게 나타나기 때문이라고 하였다.

이와 같이 인삼이 혈관계와 적출된 혈관에서의 작용이 서로 상반되게 나타나는 것은 아마도 실험동물의 종류에 따른 차이일 수도 있겠지만 주로 인삼의 투여량, 인삼의

종류 및 인삼추출물의 종류(알콜 추출물, 지용성 분획 또는 수용성 분획)의 차이에 따라 다르게 나타나는 결과로 생각되어진다¹⁵⁾. 따라서 인삼의 종류 및 추출물의 종류에 따른 인삼 성분의 차이로 이러한 상반되는 결과들이 나타날 것이라 추측된다. 즉 인삼의 효과가 인삼성분 중 어떤 것에 의해 나타나는 지는 확실치 않으나 Garriques¹⁶⁾가 American ginseng으로 부터 일종의 saponin을 분리하여 panaquilone이라 명명한 이래 여러 연구자들에 의해 인삼에는 saponin성 배당체가 다수 존재하는 것으로 보고되었다¹⁷⁾.

한편, 인삼에 의한 적출된 혈관에서의 상반된 결과가 상기의 인삼성분에 따른 차이 이외에도 혈관 평활근의 조제(preparation)에 따른 차이 때문에 생기는 결과일 수도 있다. 즉, 이제까지 관찰된 인삼이 혈관 긴장도에 미치는 영향은 주로 인삼알콜 추출물의 효과를 적출된 혈관절편에서 연구한 것으로 내피세포의 존재유무를 중요시 하지 않고 혈관긴장도의 변화를 관찰하였다. 그러나 1980년대 초 혈관 평활근의 긴장도는 세포내 유리 Ca^{2+} 농도와 수축 단백질의 Ca^{2+} 에 대한 감수성 이외에 혈관 내피세포(endothelial cell)에서 분비되는 물질에 의해 조절된다는 것이 Furchgott¹⁸⁾에 의해 밝혀졌다. 즉 적출된 대동맥 절편이나 대동맥환은 혈관에 내피세포가 존재할 때 여러가지 혈관수축제로 유도된 혈관수축이 acetylcholine¹⁸⁾ 및 histamine¹⁹⁾등과 같은 여러 물질에 의해 이완이 되고, endothelin등에 의해 수축이 되는데 이는 혈관의 내피세포에서 혈관을 이완시키는 요소(endothelium-derived relaxing factor, EDRF)와 수축시키는 요소(endothelium-derived contracting factor, EDCF)를 유리하여 혈관의 긴장도를 조절하기 때문인 것으로 밝혀졌다²⁰⁾. 그러므로 적출된 혈관에 인삼의 효과를 관찰할 때 적출된 혈관에 내피세포의 존재유무에 따라 인삼의 효과가 다르게 나타날 수 있을 것으로 추측된다.

따라서 본 연구에서는 인삼의 주성분인 saponin이 적출된 가토 대동맥 평활근에서 내피세포가 존재할 때와 존재하지 않을 때에 혈관 긴장도에 미치는 영향을 관찰하여 혈관의 내피세포와 평활근에 대한 saponin의 영향을 규명하여 인삼이 혈관계에 미치는 영향을 규명하고자 하였다.

방 법

1. 실험동물

실험동물로는 체중 1.5 내지 2.0Kg 내외의 가토를 암수 구별없이 사용하였다.

2. 실험방법

1) 대동맥환의 제조

가토를 두부 강타하여 희생시킨 후 흉곽을 열어 즉시 하행성 흉부 대동맥을 적출하여 이를 실온에서 혼합기체 (95% O₂+5% CO₂)로 포화된 Krebs-Henseleit 용액 (KH 용액: mM: NaCl, 118; KH₂PO₄, 1.2; KCl 4.8; MgSO₄ 1.2; NaHCO₃ 24; CaCl₂ 1.8; glucose 11; ethylenediaminetetraacetic acid 0.03; pH 7.4)에 담그어 현미경하에서 혈관 주위의 지방과 결체조직을 제거한 후, 이를 2~3mm폭으로 잘라 대동맥환을 만들어 실험에 사용하였다. 또한 실험목적에 따라 내피세포가 존재하지 않는 혈관 평활근을 만들었는데 이는 혈관검자를 혈관강에 삽입하여 내면을 문질러 내피세포를 제거하여 혈관 평활근만의 대동맥환을 만들었다. 혈관의 내피세포 존재유무는 Furchgott²¹⁾의 방법으로 확인하였다. 즉 10⁻⁷M의 norepinephrine으로 혈관수축을 유도하고 norepinephrine 존재하에 10⁻⁶M의 acetylcholine을 첨가하여 수축된 혈관이 이완하면 내피세포가 존재하는 것(EC+)으로 간주하고, 수축된 혈관이 이완되지 않거나 오히려 더 수축이 되는 경우는 내피세포가 제거된 것으로 간주하였다(EC-).

2) 장력의 측정

대동맥환은 20ml의 muscle chamber에 담그어 L자로 된 2개의 stainless steel hook(직경 0.6mm)을 혈관강에 삽입하고, hook의 일단은 muscle chamber의 하단에 고정하고, 다른 일단은 force transducer (Grass Model FT03; Quincy Mass USA)에 연결하여 혈관의 등척성 장력을 polygraph(Grass Model 7P; Quincy Mass USA)에 기록하였다(Fig. 1). 대동맥환은 혼합기체가 충분히 공급되고, 온도가 37℃로 유지되는 KH 용액의 muscle chamber에 고정시킨 후 2g의 안정장력을 가하여 120분간 온도 및 흥분성이 일정해질 때까지 평형을 유지시켰다. 이 2시간의 평형 기

간에 10⁻⁷M의 norepinephrine으로 혈관수축을 유도한 후 세척과정을 2 내지 3회 반복하였으며, 혈관 평활근의 수축고가 일정해졌을 때 본 실험을 시행하였다.

(1) Saponin에 의한 혈관 장력변화의 측정

EC+ 과 EC-의 혈관을 37℃의 muscle chamber에서 온도 및 흥분성을 평형시킨 후, 10⁻⁷M의 norepinephrine을 첨가하여 혈관수축을 유도하고, 혈관수축이 평형에 도달했을 때 saponin을 1, 2, 3, 4 및 5mg% 되게 점진적으로 첨가하여 내피세포 존재유무에 따른 혈관 장력의 누적-용량 반응을 측정하였다. 또한 안정장력 상태에서 saponin(2mg%)을 처치하여 혈관 평활근의 긴장도에 대한 saponin의 효과를 관찰하였다.

(2) Norepinephrine 및 high-K⁺으로 유도된 혈관수축에 saponin에 의한 혈관 장력변화의 측정

Saponin이 여러가지 혈관수축제로 유도된 혈관수축에 미치는 영향을 규명하기 위하여 EC+와 EC-의 혈관을 10⁻⁷M norepinephrine과 high-K⁺(정상 KH용액의 조성중 Na⁺을 K⁺으로 대치한 용액)으로 각각 수축을 유발한 다음 2mg% saponin을 처치하였을 경우 장력의 변화를 관찰하였다.

(3) N-ω-nitro-L-arginine이 saponin에 의한 장력 변화에 미치는 영향

Saponin에 의한 장력변화의 원인을 규명하기 위해 10⁻⁷M norepinephrine으로 유도된 혈관수축에 2mg% saponin을 처치한 후 장력의 변화를 관찰하여 대조군의

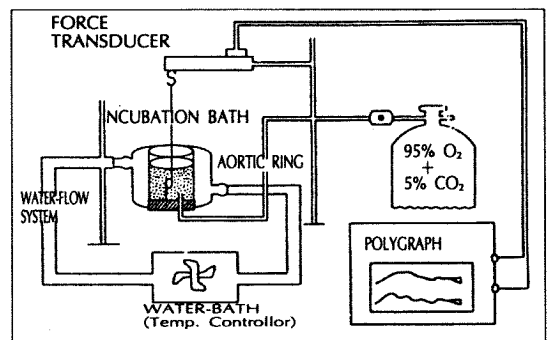


Fig. 1. 혈관 평활근의 장력 측정장치. 대동맥환 내에 L자의 stainless steel hook을 삽입하여 하단은 muscle chamber 밑에 고정하고, 상단은 force transducer에 연결하여 혈관 평활근에서 발생되는 등척성 장력을 polygraph에 기록하였음. 실험기간 동안 chamber내의 온도는 37℃로 일정하게 유지하였고 혼합기체를 공급하였다.

로 하고, 100 μ M N- ω -nitro-L-arginine을 2mg% saponin과 동시에 처리하였을 때의 장력의 변화를 관찰하여 대조군과 비교하였다.

(4) Methylene blue와 hemoglobin이 saponin에 의한 장력변화에 미치는 영향

Saponin에 의한 장력변화의 기전을 규명하기 위해 10⁻⁷M norepinephrine으로 유도된 혈관수축에 2mg% saponin을 처리하여 장력의 변화를 관찰하여 대조군으로 하고, 10⁻⁵M methylene blue와 10⁻⁵M hemoglobin을 각각 2mg% saponin과 처리하였을 때 발생하는 장력의 변화를 관찰하여 대조군과 비교하였다.

(5) Ca²⁺-channel blocker가 saponin에 의한 장력 변화에 미치는 영향

Saponin에 의한 장력변화의 기전을 규명하기 위해 10⁻⁷M norepinephrine으로 유도된 혈관수축에 2mg% saponin을 처리하여 장력의 변화를 관찰하여 대조군으로 하고, 5 \times 10⁻⁷M nifedipine을 2mg% saponin과 처리하였을 때 발생하는 장력의 변화를 관찰하여 대조군과 비교하였다.

3) 통계처리

Saponin에 의한 장력변화의 각 값은 norepinephrine으로 유도된 혈관의 최대수축에 대한 백분율로 Mean \pm S.E.M으로 나타내었으며 대조군과 약물투여군의 차이는 paired t-test로 유의성을 검정하였고 p-value가 0.05이하시 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

1. Saponin이 혈관 평활근의 장력변화에 미치는 영향

인삼의 주성분인 saponin이 혈관 평활근의 긴장도에 미치는 영향을 규명하기 위해 실험한 결과는 Fig. 2에 나타낸 바와 같다. 그림에서 보는 바와 같이 EC+와 EC-의 혈관을 37 $^{\circ}$ C의 muscle chamber에서 온도 및 흥분성을 평형시킨 후, 10⁻⁷M의 norepinephrine을 첨가하여 혈관수축을 유도하고, 혈관수축이 평형에 도달했을 때 saponin을 1, 2, 3, 4 및 5mg%되게 점진적으로 첨가하였을 때 EC+ 혈관에서는 1 및 2mg%의 saponin에 의해 이완이 유발되는데 반해 3, 4 및 5mg%

의 saponin에 의해서는 오히려 수축이 유발되나(Fig. 2A₁), EC- 혈관에서는 전 농도의 saponin에 의해 norepinephrine에 의한 수축이 거의 변화되지 않았다(Fig. 2B₁). 이때 EC+ 혈관에서 saponin에 의한 혈관 긴장도의 변화 정도는 1, 2, 3, 4 및 5mg% 각각 norepinephrine에 의한 수축고의 87.6 \pm 3.8, 26.3 \pm 2.4, 76.7 \pm 8.1, 89.0 \pm 4.2 및 96.0 \pm 3.9(%)로 나타났고, EC- 혈관에서는 각각 97.3 \pm 1.0, 90.3 \pm 0.6, 84.7 \pm 1.3, 85.4 \pm 1.0 및 87.7 \pm 4.3(%)로 나타났다(Fig. 2C). 한편 saponin이 안정장력 상태의 혈관 긴장도에 미치는 영향을 관찰한 결과 EC+ 및 EC- 혈관에 거의 영향을

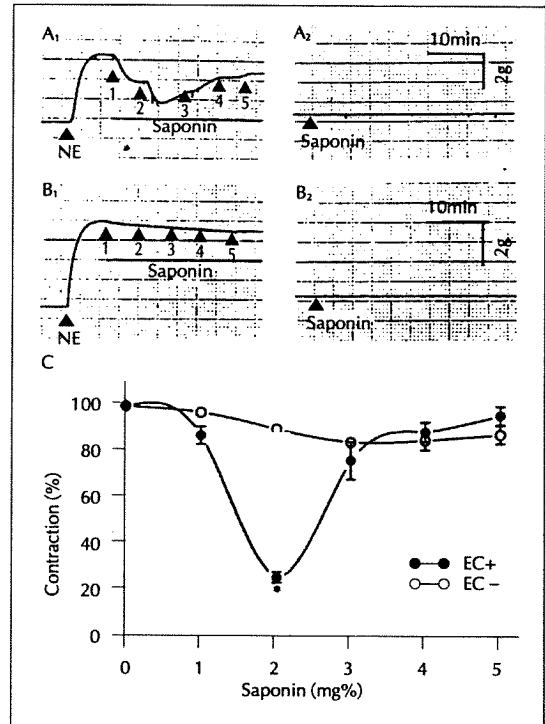


Fig. 2. Saponin이 혈관 평활근의 긴장도에 미치는 영향. Saponin이 10⁻⁷M의 norepinephrine(NE)으로 유도된 혈관수축과 안정장력에 미치는 영향을 관찰하였음. A₁과 B₁은 EC+ (A₁)와 EC- (B₁) 혈관을 norepinephrine으로 수축시킨 후 saponin을 1, 2, 3, 4 및 5mg%되게 점진적으로 첨가하였을 때 나타나는 용량-반응의 전형적인 기록이고, A₂와 B₂는 EC+ (A₂)와 EC- (B₂) 혈관에 2mg% saponin을 처리하였을 때 나타나는 장력의 변화임. C는 EC+ (●)와 EC- (○) 혈관을 norepinephrine으로 수축시킨 후 saponin을 1, 2, 3, 4 및 5mg%되게 점진적으로 첨가하였을 때 나타나는 용량-반응을 Mean \pm S.E.M. (n=7)으로 표시한 것임.
EC+ : 내피세포가 존재하는 대동맥환
EC- : 내피세포가 존재하지 않는 대동맥환

미치지 않았다(Fig. 2A₂ 및 B₂).

2. Saponin이 norepinephrine 및 high-K⁺으로 유도된 혈관수축에 미치는 영향

인삼의 주성분인 saponin이 norepinephrine 및 high-K⁺으로 유도된 혈관수축에 미치는 영향을 관찰하여 수축제의 종류에 따른 혈관 평활근의 긴장도에 대한 saponin의 영향을 규명하고자 하였다. 먼저, 대동맥환에 10⁻⁷M의 norepinephrine을 첨가하여 혈관수축을 유도하고, 혈관수축이 평형에 도달했을 때 saponin을 2mg%을 첨가한 경우에는 EC+ 혈관에서는 초기에 빠른 이완이 나타나나 후기에는 오히려 수축이 되는 bi-phasic한 형태를 관찰할 수 있었으나, EC- 혈관에서는 saponin이 norepinephrine에 의한 혈관수축에 거의 영향을 미치지 않았다. 또한 high-K⁺으로 유도된 혈관수축에서 saponin의 영향을 관찰하였던 바 동일한 실험 결과를 얻을 수 있었다(Fig. 3).

3. N-ω-nitro-L-arginine, methylene blue 및 hemoglobin이 saponin에 의한 초기 혈관이완에 미치는 영향

Saponin은 norepinephrine이나 high-K⁺으로 유도

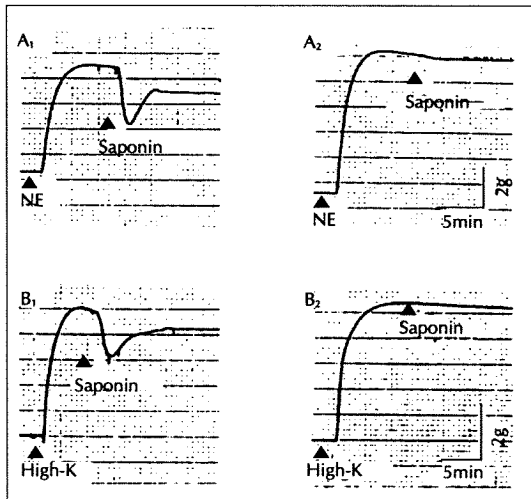


Fig. 3. Saponin이 norepinephrine 및 high-K⁺으로 유도된 혈관수축에 미치는 영향. 2mg% saponin이 10⁻⁷M의 norepinephrine (NE)과 high-K⁺으로 유도된 혈관수축에 미치는 영향을 관찰하였음. A₁과 B₁은 EC+ 혈관을 norepinephrine (A₁)과 high-K⁺ (B₁)으로 각각 수축시킨 후 saponin (2mg%)을 첨가하였을 때 나타나는 장력의 변화이고, A₂와 B₂는 EC- 혈관을 norepinephrine (A₂)과 high-K⁺ (B₂)으로 각각 수축시킨 후 saponin (2mg%)을 첨가하였을 때 나타나는 장력의 변화임.

된 혈관수축에 대해 초기에는 이완을 후기에는 수축을 유발함을 알 수 있었다. 따라서 saponin에 의한 초기 혈관이완의 원인 및 기전을 규명하기 위하여 먼저 EDRF라고 알려진 nitric oxide의 생성을 억제시키는 것으로 알려진 N-ω-nitro-L-arginine²²⁾이 saponin에 의한 초기 혈관이완에 미치는 영향을 관찰하였다. EC+ 대동맥환에 10⁻⁷M norepinephrine을 처리하여 혈관수축을

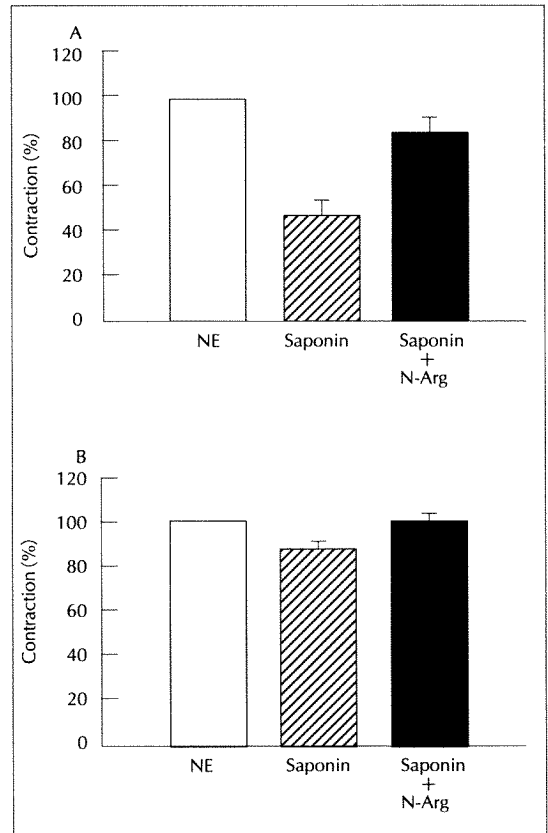


Fig. 4. N-ω-nitro-L-arginine이 saponin에 의한 초기 혈관이완에 미치는 영향. Norepinephrine (NE)으로 유도된 혈관수축이 saponin에 의해 초기 이완될 때 N-ω-nitro-L-arginine (N-Arg)의 영향을 관찰한 것임. A는 EC+ 혈관에서 실험을 한 것으로 norepinephrine으로 수축시켰을 때 발생하는 장력의 크기를 100%로 하였을 때 (□) saponin (2mg%)을 첨가한 후 장력의 변화를 norepinephrine에 의한 수축고의 상대적인 크기로 표시하였으며 (▨), 100μM N-ω-nitro-L-arginine을 saponin (2mg%)과 동시에 처리하였을 때 장력의 변화를 norepinephrine에 의한 수축고의 상대적인 크기로 표시한 것임 (■). B는 EC- 혈관에서 동일한 실험을 하였을 때 나타나는 결과를 도시한 것임. 그림의 모든 값은 Mean ± S.E.M (n=7)으로 표시하였음.

* : p<0.05 (saponin 단독 처리시와 saponin과 N-ω-nitro-L-arginine을 동시에 처리한 군에서의 비교).

유발한 후 2mg% saponin을 처리하였을 경우 norepinephrine에 의한 혈관수축이 saponin에 의해 이완되었으나(norepinephrine 수축고의 $32.0 \pm 1.3\%$), 이러한 saponin에 의한 혈관이완은 $100 \mu\text{M}$ N- ω -nitro-L-arginine의 처리에 의해 완전히 억제될 뿐 아니라 norepinephrine에 의한 수축고보다 더욱 더 수축하였다(norepinephrine 수축고의 $119.6 \pm 5.2\%$). 그러나 EC- 대동맥환에서 동일한 실험을 하였을 경우 saponin에 의한 혈관이완은 거의 나타나지 않을 뿐 아니라 N- ω -nitro-L-arginine는 saponin에 의한 장력변화에 거의 영향을 미치지 않았다(Fig. 4).

한편, EDRF의 작용을 억제시키는 것으로 알려진 methylene blue와 hemoglobin^{23,24,25)}이 saponin에 의한 초기 혈관이완에 미치는 영향을 관찰하였다. 먼저 methylene blue의 영향을 관찰하기 위해 EC+ 대동맥환에 10^{-5}M norepinephrine을 처리하여 혈관수축을 유발한 후 2mg% saponin을 처리하였을 경우 norepinephrine에 의한 혈관수축이 saponin에 의해 이완되었으나(norepinephrine 수축고의 $32.0 \pm 1.3\%$), 이러한 saponin에 의한 혈관이완은 10^{-5}M methylene blue의 처리에 의해 완전히 억제될 뿐 아니라 norepinephrine에 의한 수축고보다 더욱 더 수축하였다(norepinephrine 수축고의 $119.6 \pm 5.2\%$). 그러나 EC- 대동맥환에서 동일한 실험을 하였을 경우 saponin에 의한 혈관이완은 거의 나타나지 않을 뿐 아니라 methylene blue는 saponin에 의한 장력변화에 거의 영향을 미치지 않았다(Fig. 5). 또한 EDRF의 다른 억제제인 hemoglobin 역시 methylene blue와 유사하게 나타났다. 즉 EC+ 대동맥환에서 norepinephrine에 의한 혈관수축은 saponin에 의해 이완되었으며(norepinephrine 수축고의 $27.4 \pm 7.4\%$), 이러한 saponin에 의한 혈관이완은 10^{-5}M hemoglobin에 의해 완전히 억제되었다(norepinephrine 수축고의 $119.6 \pm 5.2\%$). 그러나 EC- 대동맥환에서 동일한 실험을 하였을 경우 saponin에 의한 혈관이완은 거의 나타나지 않을 뿐 아니라 hemoglobin은 saponin에 의한 장력변화에 거의 영향을 미치지 않았다(Fig. 6).

4. Ca^{2+} -channel blocker 및 EDRF 억제제가 saponin에 의한 후기 혈관수축에 미치는 영향

Saponin은 norepinephrine이나 high- K^+ 으로 유도된 혈관수축에 초기에는 이완을 후기에는 수축을 유발함

을 알 수 있었다. 따라서 saponin에 의한 후기 혈관수축의 원인 및 기전을 규명하기 위하여 먼저 Ca^{2+} -channel blocker인 nifedipine²⁶⁾이 saponin에 의한 후기 혈관수축에 미치는 영향을 관찰하였다. 먼저 nifedipine이 norepinephrine으로 유도된 혈관수축에 미치는 영향을 관찰하기 위해 실험한 결과 $5 \times 10^{-7}\text{M}$ nifedipine은 EC+ 및 EC- 혈관에서 모두 norepinephrine으로 유

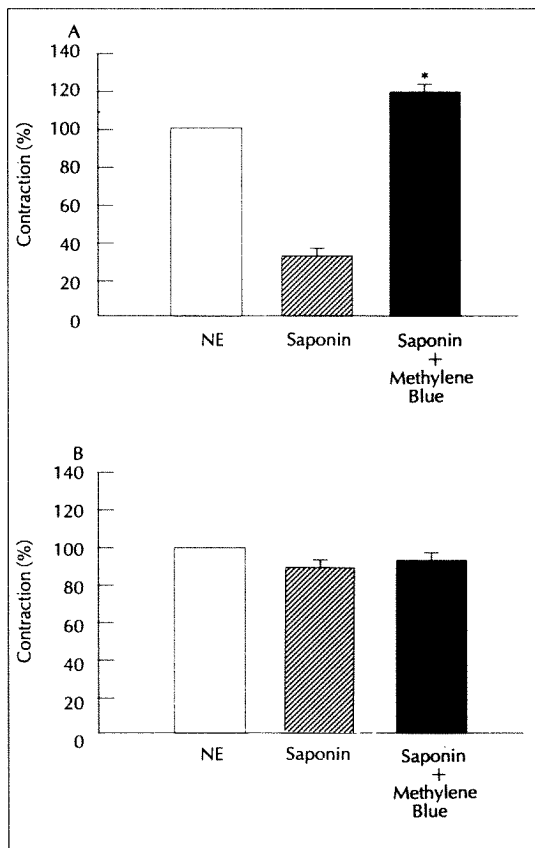


Fig. 5. Methylene blue가 saponin에 의한 초기 혈관이완에 미치는 영향. Norepinephrine (NE)으로 유도된 혈관수축이 saponin에 의해 초기 이완될 때 methylene blue (MB)의 영향을 관찰한 것임. A는 EC+ 혈관에서 실험을 한 것으로 norepinephrine으로 수축시켰을 때 발생하는 장력의 크기를 100%로 하였을 때 (□) saponin (2mg%)을 첨가한 후 장력의 변화를 norepinephrine에 의한 수축고의 상대적인 크기로 표시하였으며 (▨), 10^{-5}M methylene blue를 saponin (2mg%)과 동시에 처리하였을 때 장력의 변화를 norepinephrine에 의한 수축고의 상대적인 크기로 표시한 것임 (■). B는 EC- 혈관에서 동일한 실험을 하였을 때 나타나는 결과를 도시한 것임. 그림의 모든 값은 Mean \pm S.E.M (n=7)으로 표시하였음.

*: $p < 0.05$ (saponin 단독 처리시와 saponin과 methylene blue를 동시에 처리한 군에서의 비교)

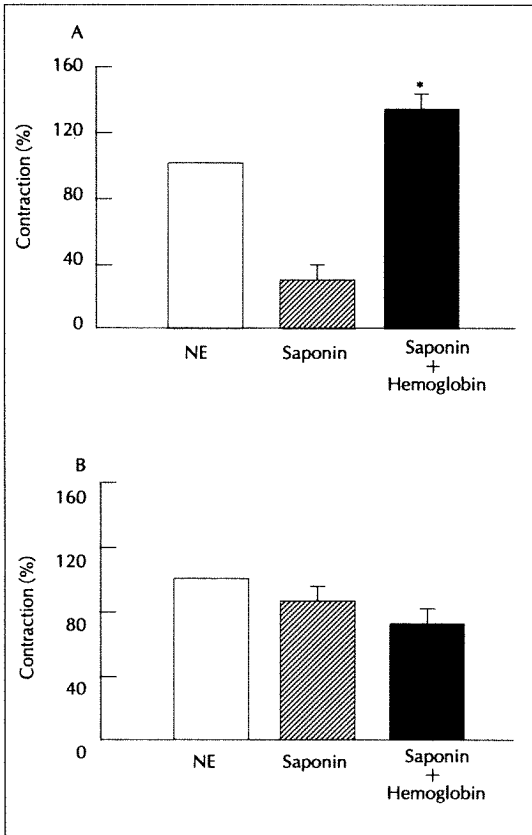


Fig. 6. Hemoglobin이 saponin에 의한 초기 혈관이완에 미치는 영향. Norepinephrine (NE)으로 유도된 혈관수축이 saponin에 의해 초기 이완될 때 hemoglobin의 영향을 관찰한 것임. A는 EC+ 혈관에서 실험을 한 것으로 norepinephrine으로 수축시켰을 때 발생하는 장력의 크기를 100%로 하였을 때 (□) saponin (2mg%)을 첨가한 후 장력의 변화를 norepinephrine에 의한 수축고의 상대적인 크기로 표시하였으 며 (▨), 10^{-5} M hemoglobin을 saponin (2mg%)과 동시에 처치하였을 때 장력의 변화를 norepinephrine에 의한 수축고의 상대적인 크기로 표시한 것임 (■). B는 EC- 혈관에서 동일한 실험을 하였을 때 나타나는 결과를 도시한 것임. 그림의 모든 값은 Mean \pm S.E.M (n=5)으로 표시하였음.
* : $p < 0.05$ (saponin 단독 처치시와 saponin과 hemoglobin을 동시에 처치한 군에서의 비교)

도된 혈관수축을 이완시켰다(Fig. 7A₁ 및 7A₂). 이 후 EC+ 대동맥환에 10^{-7} M norepinephrine을 처치하여 혈관수축을 유발한 후 2mg% saponin을 처치하였을 경우 norepinephrine에 의한 혈관수축이 saponin에 의해 이완 후(norepinephrine 수축고의 $23.6 \pm 2.9\%$) 수축이 나타나게 되는데(norepinephrine 수축고의 $45.3 \pm 2.5\%$) 이러한 수축은 5×10^{-7} M nifedipine에 의해

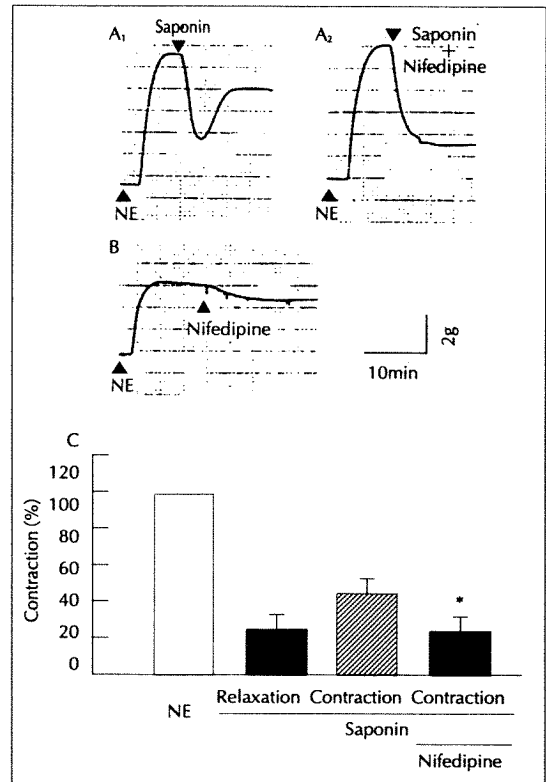


Fig. 7. Ca^{2+} -channel blocker가 saponin에 의한 후기 혈관수축에 미치는 영향. Saponin에 의한 후기 혈관수축에 Ca^{2+} -channel blocker인 nifedipine의 영향을 관찰한 것임. A₁는 10^{-7} M norepinephrine으로 혈관수축 후 2mg% saponin에 의한 초기 이완 후 후기 수축의 전형적인 기록이고, A₂는 2mg% saponin을 5×10^{-7} M nifedipine과 동시에 처치하였을 경우 장력의 변화이며, B는 EC+ 혈관에서 nifedipine이 norepinephrine에 의한 혈관 수축에 미치는 영향을 관찰한 것임. C는 EC+ 혈관에서 실험을 한 것으로 norepinephrine으로 수축시켰을 때 발생하는 장력의 크기를 100%로 하였을 때 (□) saponin (2mg%)을 첨가한 후 초기 이완 (▨) 및 후기 수축 (▨)과 nifedipine을 saponin과 동시에 처치하였을 때 장력의 변화를 norepinephrine에 의한 수축고의 상대적인 크기로 표시한 것임 (■). 그림의 모든 값은 Mean \pm S.E.M (n=7)으로 표시하였음.
* : $p < 0.05$ (saponin에 의한 후기 수축고와 nifedipine과 saponin을 동시에 처치한 군에서의 비교)

완전히 억제됨을 알 수 있었다(norepinephrine 수축고의 $24.0 \pm 1.2\%$, Fig. B₁ & B₂ 및 C).

한편, saponin에 의한 후기 혈관수축이 내피세포로부터 EDCF의 유리에 의한 것인지를 확인하고자 실험한 결과는 Fig. 8에 나타낸 바와 같다. 그림에서 보는 바와 같이 EC+ 대동맥환에 10^{-7} M norepinephrine을

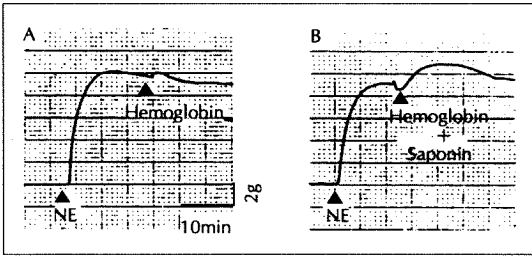


Fig. 8. Hemoglobin이 norepinephrine으로 유도된 장력 변화에 미치는 영향.

Hemoglobin이 saponin 존재할 때와 존재하지 않을 때에 norepinephrine (NE)으로 유도된 혈관수축에 미치는 영향을 관찰한 것임. A는 EC+ 혈관에서 10^{-5} M hemoglobin이 norepinephrine 처치시 발생된 장력에 미치는 영향을 관찰한 것이고, B는 EC+ 혈관에서 2mg% saponin과 10^{-5} M hemoglobin의 동시 처치가 norepinephrine으로 유도된 장력변화에 미치는 영향을 관찰한 것임.

처치하여 수축을 유발한 다음 EDRF 억제제인 hemoglobin(10^{-5} M)을 처치하여 장력의 변화를 관찰해 본 결과 변화가 없거나 다소 증가함을 알 수 있었다. 그러나 동일한 실험에 2mg% saponin과 hemoglobin을 동시에 처치했을 경우 hemoglobin 단독에 의한 수축보다 더욱 더 증가함을 알 수 있었다(Fig. 8).

고 안

인삼이 혈관계에 미치는 작용에 대해서는 여러 측면에서 많은 연구가 이루어졌다. 즉 인삼투여시 관상혈류량^{6, 7, 8)}과 신동맥혈류량⁹⁾이 증가되어 인삼은 혈관을 확장시키는 작용이 있음을 보고한 반면에 임¹⁰⁾과 오 등¹¹⁾은 인삼을 장기간 투여할 때 혈압변동에 별 영향을 주지 않았음을 밝힌 바 있으며, Nabata 등¹²⁾은 인삼 saponin인 ginseng neutral saponin을 투여시 관상혈류량에 변화가 없음을 관찰하여 인삼이 혈관계에 아무런 영향이 없음을 보고한 바 있다. 이와는 달리 Wood 등⁵⁾과 Nabata 등¹²⁾은 인삼투여로 대퇴혈류량이 감소되므로 인삼은 혈관수축 작용이 있다고 보고하였다. 한편 적출된 혈관에서의 실험결과도 상반되는 경우가 많은데 임¹⁰⁾은 적출된 대동맥 절편에서 인삼은 혈관 긴장도에 영향을 미치지 않는다고 보고하였으나, Hah 등¹³⁾과 유 및 강¹⁴⁾은 가토의 적출된 대동맥 절편에서 norepinephrine으로 유도된 혈관수축이 인삼알콜 추출물의 첨가로 이완이 된다고 보고한 바 있다.

이와 같이 인삼이 혈관계와 적출된 혈관에서의 작용이 서로 상반되게 나타나는 것은 아마도 실험동물의 종류에 따른 차이일 수도 있겠지만 주로 인삼 성분의 차이¹⁵⁾와 적출된 혈관을 사용시 혈관 내피세포의 존재유무에 따른 차이에 의해서 일어날 것이라 추측되나 그 기전은 자세히 밝혀지지 않고 있다.

따라서 본 연구에서는 인삼의 주성분인 saponin¹⁶⁾이 적출된 가토 대동맥 평활근에서 내피세포가 존재할 때와 존재하지 않을 때에 혈관 긴장도에 미치는 영향을 관찰해 본 결과 saponin은 안정장력 상태의 혈관 긴장도에 내피세포의 존재유무에 관계없이 거의 영향을 미치지 않았으나(Fig. 2A₂ 및 B₂), norepinephrine을 첨가하여 혈관수축을 유도하고, 혈관수축이 평형에 도달했을 때 saponin을 1, 2, 3, 4 및 5mg%되게 점진적으로 첨가한 경우에도 EC+ 혈관에서는 1 및 2mg%의 saponin에 의해 이완이 유발되고 3, 4 및 5mg%의 saponin에 의해서는 오히려 수축이 유발되나(Fig. 2A₁), EC- 혈관에서는 전 농도의 saponin에 의해 norepinephrine에 의한 수축이 거의 변화되지 않았다(Fig. 2B₁). 한편, norepinephrine으로 혈관수축을 유도한 후 이완의 효과가 가장 큰 농도의 saponin(2mg%)을 처치하였을 경우 EC+ 혈관에서는 biphasic한 장력변화 즉, 초기에 이완을 유발한 후 후기에 수축을 유발한 반면에 EC- 혈관에서 saponin은 norepinephrine에 의한 혈관수축을 거의 변화시키지 않았다(Fig. 3). 또한 내피세포가 존재하는 혈관에서 saponin에 의한 biphasic한 장력변화는 혈관수축제의 종류에 관계없이 동일하였다. 즉, 주로 세포내 Ca^{2+} 저장소로부터 Ca^{2+} 을 유리시켜 혈관을 수축시키는 것으로 알려진²⁷⁾ norepinephrine이나 세포외액으로부터 Ca^{2+} 을 유입시켜 혈관수축을 유발하는 것으로 알려진²⁷⁾ high- K^+ 로 혈관수축을 유발한 후 saponin 처치시 모두 biphasic한 형태의 장력변화를 유발하였다. 이러한 실험결과로 볼 때 saponin은 내피세포에 작용하여 혈관장력을 변화시키는 인자를 유리하여 초기에는 혈관이완을 후기에는 혈관수축을 유발하는 것으로 생각되어 진다.

Saponin에 의한 초기 혈관이완의 원인 및 기전을 규명하기 위하여 먼저 EDRF라고 알려진 nitric oxide의 생성을 억제시키는 것으로 알려진 N- ω -nitro-L-arginine²²⁾이 saponin에 의한 초기 혈관이완에 미치는 영향을 관찰해 본 결과 EC+ 대동맥환에서 saponin에 의

한 초기 혈관이완은 100 μ M N- ω -nitro-L-arginine의 처치에 의해 완전히 억제될 뿐 아니라 norepinephrine에 의한 수축고보다 더욱 더 수축하였다(Fig. 4). 또한 EDRF의 작용을 억제시키는 것으로 알려진 methylene blue와 hemoglobin^{23,24,25)}이 saponin에 의한 초기 혈관이완에 미치는 영향을 관찰해 본 결과 이들 약물 역시 saponin에 의한 초기 혈관이완을 완전히 억제시켰다(Fig. 5 및 6). 따라서 혈관수축제로 혈관 수축을 유발한 후 saponin을 처치시 초기 혈관이완은 내피세포로부터 유리된 EDRF가 평활근내 cyclic GMP의 농도를 증가시켜 일어난 결과로 추측된다.

한편, saponin에 의한 후기 혈관수축의 원인 및 기전을 규명하기 위하여 Ca^{2+} -channel blocker인 nifedipine²⁶⁾이 saponin에 의한 후기 혈관수축에 미치는 영향을 관찰하였다. 그 결과 nifedipine은 saponin에 의한 후기 혈관수축을 완전히 억제시켰으나 초기 혈관이완에는 아무런 영향이 없었다(Fig. 7). 내피세포에서 EDRF 및 EDCF의 유리에는 내피세포내 Ca^{2+} 농도의 증가가 필요하다는 것은 잘 알려져 있는 사실이다^{28,29,30)}. 따라서 nifedipine 처치시 saponin에 의한 후기 혈관수축이 억제되는 것은 EDCF의 유리에 기인하는 것으로 추측된다. 그러나 saponin에 의한 초기 혈관이완이 EDRF의 유리에 기인한다면 이 역시 nifedipine의 처치에 의해 억제되어야 하나 본 실험 결과에서는 거의 변화가 없었다(Fig. 7). 이러한 결과는 nifedipine이 norepinephrine으로 유도된 혈관수축을 억제하는 본 실험 결과로 볼 때(Fig. 7) 아마도 nifedipine 처치시 EDRF 및 EDCF가 동시에 합성 또는 유리가 억제되나 nifedipine의 단독 효과로 인해 초기 혈관이완은 변화가 없는 것으로 추측되고, 후기 혈관수축은 완전히 억제되는 것으로 생각되어진다. 또한 saponin에 의한 후기 혈관수축이 내피세포로부터 EDCF의 유리에 의한 것인지를 확인하고자 다른 방법으로 실험한 결과 EC+ 대동맥환에 10⁻⁷M norepinephrine을 처치하여 수축을 유발한 다음 EDRF 억제제인 hemoglobin(10⁻⁵M)을 처치하여 장력의 변화를 관찰해 본 결과 norepinephrine에 의한 수축에 비해 변화가 없거나 다소 증가함을 알 수 있었다. 그러나 동일한 실험에 2mg% saponin과 hemoglobin을 동시에 처치했을 경우 hemoglobin 단독에 의한 수축보다 더욱 더 증가함을 알 수 있었다(Fig. 8). 이 실험결과는 saponin 처치시 EDRF와 EDCF가 동

시에 유리되나 hemoglobin이 유리된 EDRF가 평활근 세포내로 확산해 들어가는 것을 차단하므로²⁵⁾ saponin에 의한 혈관이완 작용은 차단된 상태에서 EDCF의 작용만 발현될 것이므로 hemoglobin 단독에 의한 장력의 증가보다 saponin과 동시에 투여했을 때 장력의 증가가 뚜렷한 것으로 생각되어 진다.

이상의 실험결과로 볼 때 saponin은 내피세포가 존재하는 가토 대동맥에서 agonist로 유발된 혈관수축을 초기에는 이완, 후기에는 수축을 유발하는데 이의 기전으로는 saponin에 의한 내피세포로부터 EDRF와 EDCF가 동시에 유리되어 일어나는 현상으로 생각되나, 초기에는 EDRF가 후기에는 EDCF의 효과가 더욱 더 현저한 것으로 추측되어진다. 그러나 EDRF의 본성은 N- ω -nitro-L-arginine의 사용으로 nitric oxide라 규명하였지만 EDCF의 특성이 endothelin인지 아니면 다른 EDCF인지는 좀 더 연구되어야 할 과제로 생각된다.

요 약

목 적 :

인삼이 혈관계에 미치는 영향은 실험 보고자에 따라 상반된다. 이러한 상반된 보고는 인삼의 성분에 따른 차이와 혈관 내피세포 존재유무에 기인하는 것으로 추측되거나 확실하게 밝혀지지 않고 있다. 따라서 본 연구에서는 인삼의 주성분인 saponin이 내피세포가 존재하는 대동맥환의 수축력에 미치는 영향을 규명하고자 하였다.

방 법 :

가토 대동맥환을 분리하여 장력 측정 장치에서 등척성 장력을 측정하였다. Saponin이 혈관 평활근의 수축력에 미치는 영향을 규명하기 위해 여러가지 실험 조건 즉, EDRF 억제제와 Ca^{2+} -channel blocker 존재하에 장력을 측정하였다.

결 과 :

1) Norepinephrine으로 수축시킨 대동맥환에 saponin을 가한 경우 biphasic한 형태(initial relaxation-sustained contraction)의 장력변화를 관찰할 수 있었으며, 이러한 효과는 혈관 내피세포에 의존적이었다. 그러나 saponin은 안정장력에는 아무런 영향이 없었다.

2) Norepinephrine으로 수축시킨 대동맥환에 2mg% saponin을 처치시 유발되는 초기 이완은 EDRF 생성

억제제인 100 μ M N- ω -nitro-L-arginine에 의해 억제되었고, EDRF의 억제제인 10⁻⁵M methylene blue 및 10⁻⁵ M hemoglobin에 의해서도 억제되었다.

3) Norepinephrine으로 수축시킨 대동맥환에 2mg% saponin을 처치시 유발되는 후기 수축은 Ca²⁺-channel blocker인 5 \times 10⁻⁷M nifedipine에 의해 완전히 억제되었다.

4) Hemoglobin(10⁻⁵M)은 norepinephrine에 의한 혈관수축을 다소 증가시켰으나 2mg% saponin과 동시에 투여하였을 때는 혈관수축을 더욱 더 증가시켰다.

결 론 :

Saponin은 혈관 내피세포 이완인자를 분비하여 initial relaxation을 야기하며, sustained contraction은 혈관 내피세포에서 유리되는 수축인자에 기인하는 것으로 사료된다.

■ Acknowledgement

이 연구는 연세학술연구비(1995)에 의해 수행되었음.

References

- 1) Park DI : Pressor and depressor actions of *Panax ginseng* in mammals. *중합의학* 5 : 818-822, 1960
- 2) Hwang WT : The relation of 5-HT with some actions of *Panax ginseng*. *중합의학* 5 : 227-232, 1960
- 3) Yoon SR : 5-hydroxytryptamine and *Panax ginseng* on the motility of the stomach and intestine. *중합의학* 5 : 832-836, 1969
- 4) 이우주 · 장운섭 · 이세규 : 인삼의 histamine 유리 작용에 관한 연구. *최신의학* 3 : 37-43, 1960
- 5) Wood WR, Roh BL and White RP : Cardiovascular actions on *Panax ginseng* in dogs. *Jap J Pharmacol* 14 : 284-296, 1964
- 6) Kim C : The similarity of *Panax Ginseng* with 5-hydroxytryptamine in some pharmacological aspects. *중합의학* 5 : 85-98, 1960
- 7) Lee KS : The pharmacological actions of ginseng on cardiovascular system. The 20th anniversary thesis collections on Korean ginseng. Korean ginseng products Co. Seoul, Korea. pp192-198, 1978a
- 8) Lee KS : Effect of ginseng extract(Korseng) on cardiac function and hypertrophy. The 20th anniversary thesis collection on Korean Ginseng(Suppl) pp44-50,

1978b

- 9) 김현수 : 적출 rat 신혈관에 미치는 조선 인삼의 작용. *중약의학* 11 : 653-657, 1961
- 10) 임종덕 : 인삼에 관한 실험적 연구. *대한내과학회지* 10 : 401-409, 1967
- 11) 오진섭 · 임성규 · 박찬웅 : 인삼이 고혈압에 미치는 영향. *대한약리학회잡지* 4 : 27-35, 1968
- 12) Nabata H, Saito H and Takagi K : *Pharmacological studies of neutral saponins(GNS) of panax ginseng root*. *Jap J Pharmacol* 23 : 29-31, 1973
- 13) Hah JS, Kang BS and Kang DH : Effect of *Panax ginseng* alcohol extract on cardiovascular system. *Yonsei Med J* 19 : 11-19, 1978
- 14) 유연희 · 강두희 : 인삼 알콜추출물이 혈관평활근의 수축력에 미치는 영향. *연세의대 논문집* 14 : 148-156, 1981
- 15) Lim JK : A comparative studies of *panax ginseng* fractions effect on histamine and serotonin liberation. *Seoul J Med* 4(1) : 9-21, 1963
- 16) Garriques PA : *Panax quinquefolia* L. *Annal Chem* 90 : 231-232, 1854
- 17) Shibata S : Studies on the constituents of japanese and chinese crude drugs. XI. Panaxdiol, a sapogenin of ginseng roots. *Chem and Pharm Bull* 11 : 759-764, 1963
- 18) Furchgott RF : The requirement for endothelial cells in the relaxation of arteries by acetylcholine and some other vasodilators. *Trends Pharmacol Sci* 2 : 173-176, 1981
- 19) Van de Voorde J and Leusen I : Role of endothelium in the vasodilator response of rat thoracic aorta to histamine. *Eur J Pharmacol* 87 : 113-120, 1983
- 20) De May JG and Vanhoutte PM : Heterogenous behavior of the canine arterial and venous wall. *Cir Res* 51 : 439-447, 1982
- 21) Furchgott RF : Role of endothelium in response of vascular smooth muscle. *Cir Res* 53 : 557-562, 1983
- 22) Palmer RMJ and Moncada S : A novel citrulline-forming enzyme implicated in the formation of nitric oxide by vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 158 : 348-352, 1989
- 23) Murad F, Arnold WP, Mittal CK and Braughter JM : Properties and regulation of guanylate cyclase and some proposed futions for cyclic GMP. *Adv Cy-*

clie Nucleotide Res 11 : 185-194, 1979

- 24) Greutter CA, Kadowitz PJ and Ignarro LF : *Methylene blue inhibits coronary arterial relaxation and guanylate cyclase activation by nitroglycerin, sodium nitrite and amyl nitrite. Can J Physiol Pharmacol* 59 : 150-158, 1981
- 25) Furchgott RF : *The role of endothelium in the responses of vascular smooth muscle to drugs. Annu Rev Pharmacol Toxicol* 24 : 175-185, 1984
- 26) Huddleston CB, Wareing TH, Boucek RJ and Hammon JW : *Response of the hypertrophied left ventricle to global ischemia. Comparison of hyperkalemic cardioplegic solution with and without verapamil. J Thorac Cardiovasc Surg* 103 : 919-926, 1992
- 27) Karaki H, Nakagawa H and Urakawa N : *Comparative effects of verapamil and sodium nitroprusside on contraction and ⁴⁵Ca uptake in the smooth muscle of rabbit aorta, rat aorta and guinea-pig taenia coli. Br J Pharmacol* 81 : 393-400, 1984
- 28) Van der Bosch H : *Intracellular phospholipase C. Biochem Biophys Acta* 604 : 191-204, 1980
- 29) Long CJ and Stone TW : *The release of endothelium-derived relaxant factor is calcium dependent. Blood Vessels* 22 : 205-212, 1985
- 30) Miller RC, Schoeffter P and Stoclet JC : *Insensitivity of calcium-dependent endothelial stimulation in rat isolated aorta to the calcium entry blocker, flunarizine. Br J Pharmacol* 85 : 481-487, 1985