

마우스의 혈전증 및 내독소 쇼크 모델에 있어서 Higenamine에 의한 사망률 저하효과

윤혜숙* · 김문희

서울대학교 천연물과학연구소

(Received March 15, 1994)

Higenamine Reduced Mortalities in the Mouse Models of Thrombosis and Endotoxic Shock

Hye Sook Yun-Choi* and Moon Hee Kim

Natural Product Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea

Abstract—Higenamine is a tetrahydroisoquinoline alkaloid which was isolated as a cardiotoxic principle from Aconiti tuber. I.v. injection of higenamine was reported to increase the cardiac output and heart rate and to decrease the blood pressure and the systemic vascular resistance presumably by stimulating the adrenergic β -receptors. The anti-platelet and anti-thrombotic effects of higenamine were investigated in this paper. Higenamine(0.5 mg/ml) showed mild inhibitory effect against collagen induced platelet aggregation *in vitro* and the inhibitory effect was increased with the pre-incubation(5~30 min) of platelet rich plasma(PRP) with higenamine. With the 30 min incubation, the platelet aggregation was almost completely inhibited. And the oral administration of higenamine(50~200 mg/kg) enhanced the survival in the mouse model of thrombosis and that of endotoxic shock. The anti-thrombotic and anti-septic effects of higenamine thus appear to be due to the β -agonistic and the anti-platelet effects of this compound.

Keywords □ Higenamine, inhibition against platelet aggregation, anti-thrombotic, protection of endotoxic shock.

혈전증(thrombosis)이라함은 지혈에 대응하는 병적인 상태로서, 폐쇄혈관내에서의 지혈기전의 과민반응 또는 혈관벽의 이상등의 원인에 의하여 발생한다. 즉 혈소판들이 활성화되면서 점착 및 방출반응이 일어나고 혈소판들의 응집이 일어나게 되며, 이에 따라 백색혈전(white thrombus) 또는 적색혈전(red thrombus)이 형성되고 이들 혈전에 의하여 혈관내의 원활한 혈액의 흐름이 방해받게 되는 상태를 칭한다. 이러한 혈전들은 동맥, 정맥, 모세혈관 또는 심장등 순환기계의 어느곳에도 발생할 수 있으며 정맥에 혈전이 발생하는 정맥혈전의 경우 해당부위에 부종이나 염증 등의 증상이 야기되고, 동맥에 혈전이 형성된 경우

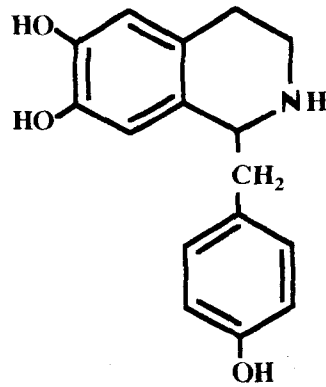
해당 조직에 허혈 또는 경색을 초래하게 되어 심근 경색증, 뇌졸중, 폐동맥 경색증 등의 심각한 혈전성 질환으로까지 발전하게 된다. 또한 혈소판의 비정상적인 활성화에 의하여 생성되는 미세혈전들은 각종 혈전성 질환뿐 아니라 동맥경화증, 고혈압, 당뇨병 등의 성인병들의 일차적인 원인으로서 밝혀지고 있으며, 동양의 전통의학에서는 어혈증상(체내 혈액이 일정한 부위에서 정체됨으로서 혈액의 공급이 원활하지 못하고 혈액의 조화가 깨어진 상태를 칭하는 것으로 이해됨)이 각종 심혈관성 질환뿐 아니라 만성 소화기병, 신경통 등의 만성 난치병들의 원인 또한 되는 것으로 설명하고 있다. 파종성 혈관내 응고증(DIC, Disseminated Intravascular Coagulation)은

*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

양수색전증, 급성 백혈병, 광범위한 외상, 화상 등의 원인에 의하여 또는 각종 감염증의 악화에 따라 균이 분비하는 내독소에 의하여 발생하며 급속한 혈액 응고계의 활성화, 혈관폐색, 출혈, 쇼크 등으로 이어지는 응급증상으로서 내독소에 의한 DIC 또는 내독소쇼크 동물모델에서 여러가지 기전의 활성화에 따른 혈소판 응집이 내독소쇼크의 진행에 중요역할을 함이 또한 밝혀지고 있다.

Higenamine(1)은 tetrahydroisoquinoline계 alkaloid로서 부자(Aconiti tuber)로부터 강심작용 성분으로서 분리되었으며, 세신(Asiasari radix) 및 *Annona squamosa*의 잎 및 가지로부터도 분리되었고, *Nelumbo nucifera*의 배아로부터는 광학활성체인 R-(+)-higemanine이 분리되어 보고되었다.¹⁻⁵⁾ Higenamine은 Kosuge와 Yokota에 의하여 부자의 강심작용 성분물질로서 보고된 이래 각종 *in vitro* 및 *in vivo* 실험을 통하여 그 작용기전에 관한 연구가 이루어져 아드레날린 수용체에 비선택적으로 작용함으로써 adenylyl cyclase 활성도를 높여주며, Ca⁺⁺ion의 세포내 유입을 증가시키는 등의 작용에 의하여 심근수축력 및 심박동수 증강작용, 심박출량 증가작용, 혈압강하, 전신저항 감소작용 등을 가짐이 관찰되었으며, higenamine은 또한 혈중 c-AMP 농도를 증가시키고 혈소판 응집억제작용을 가짐이 보고되었다. 그러나 정맥 주사시 그 작용시간은 5~8분으로 매우 짧은 것으로 보고되었고, 혈중농도 또한 급격히 저하됨이 관찰되었다.⁶⁻¹⁰⁾

부자(Aconiti tuber)류의 생약은 한방 또는 민간에서 강심, 이뇨, 항염제로서, 중풍, 신경통, 관절염 치료제로서 또는 쇼크시의 구급목적으로 널리 사용되어온 중요한 전통약물의 하나로서, 위에서 정리한 바와 같은 higenamine의 작용 들은 한방 또는 민간에서의 경구투여에 의한 부자 또는 부자제제들의 사용 타당성을 설명하기에는 미흡하다. 본 연구에서는 혈소판 혈장(platelet rich plasma)을 higenamine과 일정시간 배양할 때 higenamine의 혈소판 응집억제작용이 증가함을 관찰하였으며, 또한 마우스의 혈전증 및 내독소 쇼크 모델에서 higenamine을 경구 투여함으로써 사망률을 현저히 저하시킴을 관찰하여 보고하는 바이며, 부자류 생약의 작용 규명을 위한 다각적인 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.



Higenamine (1)

실험방법

실험기기 및 시약-NMR은 Varian FT-80A, IR은 Perkin-Elmer 283, centrifuge는 Sorvall RT-6000, Whole blood platelet analyzer는 Texas International Lab. PLT-4, Whole blood platelet aggregometer는 Chrono-Log 500VS를 사용하였으며 시약은 Aldrich Chem. Co., Sigma Chem. Co. 및 Chrono-Log Corp. 으로부터 구입하여 사용하였다.

N-(3',4'-Dimethoxyphenylethyl)-4-methoxyphenylacetamide(2)의 합성-3,4-Dimethoxyphenethylamine(9.1 g, 0.05 mole)을 80 ml의 toluene에 녹이고 4-methoxyphenylacetic acid(8.3 g, 0.05 mole)을 가한 후 반응액을 약 72시간 환류시키면서 가열하였다. 이때 Dean-Stark trap을 연결하여 생성되는 H₂O를 제거하여 반응을 촉진시켰다. 반응액을 냉각시킨 후 감압하에서 용매를 제거하고 얻어진 고체는 CH₂Cl₂에 녹였다. CH₂Cl₂용액은 d-HCl, d-NaHCO₃ 및 H₂O로 씻어주고 무수의 Na₂SO₄로 제습한 후 감압하에서 용매를 제거하고 얻어진 물질은 EtOH로 재결정하여 목표의 amide(13.2 g, 수율 80%)를 얻었다. m.p. 122~123°C.

1-(4'-Methoxybenzyl)-6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisoquinoline hydrochloride(3)의 합성-PCl₅ 2.7 g (0.013 mole)을 CHCl₃ 10 ml에 현탁시키고 CaCl₂ tube로 습기유입을 방지한 반응용기 내에서 위에서 합성한 amide(2) 3.17 g(0.01 mole)을 CHCl₃ 15 ml에

녹인 용액을 ice bath로 냉각 시키면서 서서히 가해 주고 약 16시간 실온에서 저어주어 반응을 완결 시켰다. Ether 약 30 ml를 반응액이 혼탁하여 질때까지 가하고 냉장고에 하루밤 방치한후 여과하여 반응생성물을 얻었다. 여액에 다시 약 20 ml의 ether를 가하고 냉장고에 방치한후 여과하여 얻은 반응생성물은 앞에서 얻은 물질과 합하여 EtOH로 재결정하여 목표의 dihydroisoquinoline 염산염(3.11 g, 수율 93%)을 얻었다. m.p. 146~150°C.

1-(4'-Hydroxybenzyl)-6,7-dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (1, Higenamine) hydrobromide의 합성— 위의 3,4-dihydroisoquinoline 염산염(3)을 상법에 의하여 sodium borohydride로 환원시켜 1-(4'-methoxybenzyl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrochloride(4, m.p. 188~190°C)를 얻었으며, 위에서 얻은 tetrahydroisoquinoline 염산염(4) 3.5 g(0.01 mole)을 acetic acid(10 ml)와 47% HBr(7.5 ml)의 혼합액과 약 4시간 환류시키면서 가열하였다. 반응액을 냉각시킨 후 여과하여 결정을 얻었으며 iPrOH로 씻고 MeOH로 재결정하여 higenamine(1) hydrobromide(2.9 g, 수율 82%)를 얻었다. m.p. 262~265°C.

혈소판응집 억제작용 검색¹¹⁾— Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐(200±20 g)를 CHCl₃으로 마취시킨 후 2.2% trisodium citrate(1 volume)를 넣은 plastic 주사기를 이용하여 심장으로부터 혈액(9 volume)을 채취하고 200×g에서 10분간 원심분리하여 상층액 혈소판 혈장 (PRP, Platelet Rich Plasma)를 얻고 남은층은 700×g에서 30분간 다시 원심분리하여 혈소판 제거 혈장 (PPP, Platelet Poor Plasma)를 얻어 실험하였다. Platelet Analyzer를 이용하여 PRP의 혈소판 수를 세고 생리식염수로 희석하여 혈소판 수를 400~450×10⁶/ml로 맞추어 사용하였다. 혈소판 응집 측정기를 이용하여 PRP(0.45 ml)를 0.05 ml higenamine의 생리식염수용액(5 mg/ml)과 일정시간 37°C에서 배양한 후 ADP 또는 collagen 용액을 넣고 1000 rpm으로 stirring하면서 37°C에서 배양을 계속하여, 혼탁도의 변화로서 혈소판 응집정도를 판정하였다. ADP 및 collagen의 최종 농도는 각각 2~3×10⁻⁶ g/ml 및 6~10×10⁻⁶ g/ml로서 각 PRP가 최고응집을 일으키는 농도에서 실험하였으며 각 시료의 응집억제도를 %로서 구하였다.

마우스를 이용한 항혈전작용 검색¹²⁾— 미리 약 3시간 절식시킨 마우스(ICR계, 20±2 g)에 시료용액(또는 시료용액 제조용매)을 경구 투여하고 collagen과 epinephrine 혼합용액(900 µg collagen+9 µg epinephrine/10 ml saline/Kg)을 꼬리정맥에 주사한후 15분간 마비의 지속, 사망 또는 마비로 부터의 회복 여부를 관찰하여 시료의 항혈전 효과를 판정하였다.

마우스를 이용한 내독소 쇼크 억제작용¹³⁾— 미리 약 3시간 절식시킨 마우스(ICR계, 20±2 g)에 lipopolysaccharides(from *E. coli*, 25~50 mg/10 ml saline/Kg)을 꼬리정맥에 주사한후 30시간 이상 생존하는가를 관찰하였으며 시료용액(또는 시료용액 제조용매)을 lipopolysaccharides 주사전 1시간 또는 주사후 1시간에 경구투여하여 시료의 내독소 쇼크에 대한 억제작용을 판정하였다.

결과 및 고찰

본 실험에 사용한 higenamine은 기존의 합성방법 들을 변형하여 합성하였다. 특히 amide(2)로 부터 환축합 반응에 의하여 3,4-dihydroisoquinoline(3)을 합성할때 POCl₃를 PCl₅로 대체함으로써 반응을 homogenous한 상태로 진행시킬수 있었으며 기존의 방법보다 높은 수율로서 목적하는 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline(4)을 얻어 전체적인 higenamine의 합성 수율을 높일 수 있었으며 반응중간체 및 higenamine의 ir, nmr data 등은 문헌상의 data와 동일하였다.¹⁴⁾

Higenamine은 1-substituted 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline핵을 갖는 등 강력한 혈소판 응집 억제작용 물질인 trimethoquinol과 구조적으로 매우 유사하며, *in vitro*에서 collagen에 의하여 유도되는 혈소판 응집에 대하여 약한 억제작용을 가짐이 보고되었다.¹⁵⁾ 또한 Higenamine은 정맥주사시 심근수축력 및 심박동수 증강작용, 심박출량 증가작용, 혈압강하, 전신저항 감소작용 등을 나타내며 그 작용시간은 5~8분으로 매우 짧은 것으로 보고되었으나^{7,9)} 피하주사시에 혈중 c-AMP의 농도가 상당히 증가하며 10~15분에 최고농도에 달하고 그 후 서서히 감소하나 2시간 후에도 정상보다 높은 c-AMP치를 유지함아 또한 보고되었기에¹⁰⁾ 혈소판을 higenamine과 배양할 때 혈소판 응집에 미치는 영향을 검색하였다. 흰쥐의 혈소판

혈장(PRP, platelet rich plasma)을 higenamine(0.5 mg/ml)과 3분간 배양한 후 혈소판 응집을 유도할 때, ADP에 의하여 유도되는 혈소판 응집에 대하여는 19.2%, collagen에 의하여 유도되는 혈소판 응집에 대하여는 31%의 약한 억제작용을 보였다(Table I). 배양 시간을 5~30분으로 연장함에 따라 ADP에 의하여 유도되는 혈소판 응집에 대하여는 억제작용이 감소하는 경향을 보인 반면, collagen에 의하여 유도되는 혈소판응집에 대한 억제작용은 배양시간이 길어짐에 따라 증가함을 관찰할 수 있었으며 20분 이상 배양하였을 때 90% 이상의 강한 억제작용을 보였다. Higenamine이 *in vitro*에서 혈소판응집에 대하여 억제작용을 가짐으로 마우스 혈전증 모델에서의 효과를 관찰하였다. 마우스에 collagen과 epinephrine의 혼합용액(CoEp soln.)을 정맥주사할 때 폐동맥내에 혈전이 형성되고 이에 의하여 폐동맥이 폐색됨으로서, 주사후 1분 이내에 대부분이 마비되어 움직이지 못하게 되고, 동공이 커지며 호흡이 고란하게 되고, 경련이 뒤따르며 5분 이내에 약 70%의 마우스가 사망하고 나머지 대부분 15분 이내에 사망하거나 15분 이상 마비가 계속된다.¹²⁾ Higenamine을 경구투여한 후 CoEp

soln.을 정맥주사하고 마우스를 관찰하여 위와 같은 혈전증상이 경감되는가를 관찰하였다(Table II). CoEp soln.만을 정맥주사 하였을 때 5분 이내에 79%가 사망하였으며 15분 이내에 회복된 마우스는 없은 반면, higenamine 50 mg/Kg 투여후 1시간 또는 2시간에 CoEp soln.을 주사하였을 때, 주사 후 6분 이내에 약 25%가 회복되어 자유로이 움직였으며 15분 이내에 약40%가 회복되었고 5분 이내의 사망률은 약 50%로서 혈전증상이 상당히 경감되었음을 알 수 있었다. Higenamine투여 후 3시간에 CoEp soln.을 주사하였을 때, 15분 이내에 29%가 회복되었고 5분 이내에 53%가 사망하여 대조군보다는 증상이 경감되었으나 higenamine의 혈전증상 억제효과가 투여후 1시간 또는

Table I—Inhibitory effects of higenamine against platelet aggregation

aggregating agents	pre-incubation time (min.)						
	3	5	10	15	20	25	30
ADP	19.2	16.4	5.7	—	—	—	—
collagen	31.0	59.7	75.4	81.0	90.0	94.8	98.8

*Inhibition(%) with 0.5 mg/ml of higenamine; ADP, 2×10^{-6} g/ml; collagen, $6 \sim 10 \times 10^{-6}$ g/ml

Table II—Protection of mice from thrombotic challenge with oral administration of higenamine

	total no. of mice tested	recovered within 6 min.		recovered within 15 min.**		killed within 5 min	
		no.	%	no.	%	no.	%
control	19	0	0	0	0	15	79
1 hr	17	4	24	7	41	8	47
2 hr	16	4	25	7	44	8	50
3 hr	17	1	6	5	29	9	53

*Higenamine(50 mg/Kg, *p.o.*) was given at different hrs prior to the thrombotic challenge(900 µg collagen plus 90 µg epinephrine/Kg, *i.v.*).

**The number of mice included those recovered within 6 min.

Table III—Protection of mice from thrombotic challenge with oral administration of higenamine

dose (mg/Kg)	total no. of mice tested	recovered within 6 min.		recovered within 15 min.**		killed within 5 min	
		no.	%	no.	%	no.	%
control	27	1	4	3	11	19	70
100	23	16	70	20	87	2	9
50	15	4	27	7	47	4	27
25	23	2	9	6	26	15	65
12.5	23	1	4	4	17	16	70
aspirin	32	1	3	18	56	8	25

*Higenamine or aspirin(50 mg/Kg, *p.o.*) was given 1 hr prior to the thrombotic challenge(900 µg collagen plus 90 µg epinephrine/Kg, *i.v.*).

**The number of mice included those recovered within 6 min.

2시간에서 보다 낮음을 보였다. 또한 higenamine의 투여용량을 변화시켰을 때, 투여량이 증가함에 따라 항혈전 효과가 증가함을 관찰하였으며 Table III에 정리하였다. 즉 higenamine 100 mg/Kg를 투여하였을 때 6분 이내에 70%가 회복되어 움직였으며 15분 이내에 87%가 회복되어 자유로이 움직인 반면, 5분 이내의 사망률은 9%로서 대조군에 비하여 증상의 개선이 뚜렷하였으며 양성 대조약물로 사용한 aspirin 50 mg/Kg 투여군보다 6분 이내 회복율 및 15분 이내 회복율이 현격한 증가를 보였고 5분 이내 사망율 또한 뚜렷한 감소를 보였다. 50 mg/Kg 투여시 15분 이내 회복율 및 5분 이내 사망율은 aspirin 투여군과 유사하였으나, 6분 이내 회복율은 27%로서 aspirin 투여군보다 월등히 높았다. 25 및 12.5 mg/Kg 투여군에서는 15분 이내 회복율은 대조군에 비하여 약간 증가하였으나 5분 이내 사망율은 개선되지 않았다.

그람 음성균 외피의 지질성분인 Lipopolysaccharide(LPS)는 혈전형성, 혈관폐색, 급격한 혈압감하 등을 동반하는 파종성 혈관내 응고(DIC) 및 이에 따르는 내독소 쇼크 등을 유발하는 강력한 독소이다. 최근 LPS에 의하여 혈중 TXB₂와 6kPGF₁의 농도가 상승함이 보고되었고, TXB₂에 의한 혈관 수축작용 및 혈소판 응집작용이 LPS에 의한 쇼크시 혈전형성과 이에 따른 허혈증상의 발현에 역할을 할 것으로 추정되었으며 LPS에 의한 흰쥐 DIC 실험모델에서 항혈전 작용 약물들이 증상의 개선효과를 가짐이 또한 보고되었다.^{13,16)} 마우스에 LPS를 정맥주사하여 쇼크를 유발시킬 때 대부분이 30시간 이내에 사망함이 관찰되었으나, 마우스의 종류와 LPS의 종류(동일한 제품이라도 batch에 따라 차이가 있었음)에 따라 쇼크를 일으키는 용량에 차이가 컸으며 각 batch에 따라 용량의 재조정이 필요하여 LPS 25~30 mg/Kg을 ICR계 마우스에 정맥주사 할때 30시간 이내에 약 90%의 마우스가 사망함을 관찰하였다. Higenamine의 경구 투여에 의하여 LPS에 의한 사망율이 감소하는가를 검토하였으며 Table IV에 정리하였다. LPS만을 주사한 대조군의 경우 13%만이 30시간 이상 생존하였으며, higenamine을 LPS투여전 1시간에 투여하였을 경우 200, 150, 100, 50, 25 또는 12.5 mg/Kg 투여에 의하여 30시간 이상 생존율이 각각 100, 71, 63, 59, 54 및 42%로서 실험한 higenamine의 모든용량 투

Table IV—Protection of mice from endotoxic challenge with oral administration of higenamine or aspirin

comp.	dose (mg/Kg)	total no. of mice tested	no. of mice survived	% of survivor
control		32	4	13
higen-amine	200	13	13	100
	150	24	17	71
	100	32	20	63
	50	32	19	59
	25	24	13	54
	12.5	24	10	42
aspirin	200	16	8	50
	150	24	14	58
	100	24	14	58
	50	24	12	50
	25	24	9	38
	12.5	24	6	25

*Higenamine or aspirin was given 1 hr prior to the endotoxic challenge(lipopolysaccharide, 30 mg/10 ml saline/Kg, *i.v.*).

여군에서 대조군에 비하여 LPS에 대한 상당한 방어 효과를 보였다. 양성대조로 사용한 aspirin 투여군에서도 12.5~200 mg/Kg 투여군 모두에서 25~50%의 생존율을 보여 LPS에 대하여 억제효과를 보였으나, 100~200 mg/Kg의 투여용량에서 용량이 증가하여도 작용의 증가를 볼수 없었으며 오히려 감소하는 경향을 보였다. 이는 aspirin이 흰쥐의 DIC모델에서 일정 용량이하에서는 DIC증상을 개선하였으나 높은 용량에서는 작용이 낮아졌다는 보고와 일치한다.¹⁶⁾ 최근 적출 대동맥혈관을 이용한 isoproteneol과의 비교실험에서 isoproteneol은 낮은 농도에서는 higenamine의 약 10배의 이완효과를 보이나 높은 농도에서는 이완후 수축의 일관성 없는 작용을 보인 반면, higenamine은 농도 의존적으로 일관성 있는 이완작용을 나타냄이 보고되었으며¹⁷⁾ higenamine이 아드레날린 수용체에 작용하여 이완작용을 가질것으로 추정되었다. 따라서 higenamine이 아드레날린 β수용체에 작용함으로써 혈소판 응집 억제작용과 함께 혈관 이완 작용을 가짐으로서 collagen과 epinephrine에 의한 혈전모델 및 LPS에 의한 내독소 쇼크 모델에서 생존율을 증가시킬것으로 추정되었다.

문헌

- 1) Kosuge, T. and Yokota, M.: Studies on cardiac principle of aconite root. *Chem. Pharm. Bull.* **24**, 176-178 (1976).
- 2) Kosuge, T., Yokota, M. and Nagasawa, M.: Studies on cardiac principle in aconite roots. I. Isolation and structural determination on higenamine. *Yakugaku Zasshi*, **98**, 1370-1375 (1978).
- 3) Kosuge, T., Yokota, M., Nukaya, H., Gotoh, Y. and Nagasawa, M.: Studies on antitussive principles of Asiasari radix. *Chem. Pharm. Bull.* **26**, 2284-2285 (1978).
- 4) Leboeuf, M., Cave, A., Touche, A., Provost, J. and Forgacs, P.: Isolement de l'higenamine a partir de l'*Annona squamosa*; interet des resines adsorbantes macromoleculaires en chimie vegetale extractive. *J. Nat. Prod.* **44**, 53-60 (1981).
- 5) Koshiyama, H., Ohkuma, H., Kawaguchi, H., Hsu, H. -Y. and Chen, Y. -P.: Isolation of 1-(*p*-hydroxybenzyl)-6,7-dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (demethylcoclaurine), an active alkaloid from *Nelumbo nucifera*. *Chem. Pharm. Bull.* **18**, 2564-2568 (1970).
- 6) Park, S. O., Hong, C. Y., Paik, S. W. and Yun-Choi, H. S.: Determination of blood concentration of higenamine by high pressure liquid chromatography. *Arch. Pharm. Res.* **10**, 60-66 (1987).
- 7) Chang, K. C., Lim, J. K., Park, C. W. and Kim, M. S.: Studies on the mechanism of positive inotropic action of higenamine. *Kor. J. Pharmacol.* **17**, 7-16 (1981).
- 8) Park, C. W., Chang, K. C. and Lim, J. K.: Effects of higenamine on isolated heart adrenoceptor of rabbit. *Arch. Int. Pharmacodyn.* **267**, 279-288 (1984).
- 9) Kim, N. S., Hong, C. Y., Pak, C. W. and Lim, J. K.: An Experimental study on the adrenergic effect of higenamine in rabbit cardiovascular system. *Kor. Circ. J.* **16**, 1-18 (1986).
- 10) Feng, Y. P., Zhang, Y., Zhan, H. S. and Sun, F. L.: Effect of dl-demethyl coclaurine on plasma cyclic AMP in mice. *Acta Pharmacol. Sinica*, **2**, 114-117 (1981).
- 11) Born, G. V. R.: Platelet aggregation by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature*, **194**, 927-929 (1962).
- 12) Diminno, G. and Silver, M. J.: Mouse antithrombotic assay: A simple method for the evaluation of antithrombotic agents *in vivo*. Potentiation of antithrombotic activity by ethyl alcohol. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* **225**, 57-60 (1983).
- 13) Wilson, D. D., de Garavilla, L., Kuhn, W., Togo, J., Burch, R. M. and Steranka, R.: D-Arg-[Hyp³-D-Phe⁷]-bradykinin, a bradykinin antagonist, reduces mortality in a rat model of endotoxic shock. *Circ. Shock*, **27**, 93-101 (1989).
- 14) Chang, K. -C., Yun-Choi, H. S., Lim, J. -K. and Park, C. -W.: Synthesis of higenamine, a cardiotonic principle of aconite root. *Arch. Pharm. Res.* **7**, 133-136 (1984).
- 15) Yun-Choi, H. S., Paik, S. W. and Lee, J. R.: Platelet anti-aggregating activities of higenamine analogs. *Yakhak Hoeji*, **30**, 245-252 (1986).
- 16) Yoshikawa, T., Murakami, M., Furukawa, Y., Take-mura, S. and Kondo, M.: Effects of ticlopidine and aspirin on endotoxin-induced disseminated intravascular coagulation in rats. *Thromb. Haemostas. (Stuttgart)*, **49**, 190-192 (1983).
- 17) Choi, J. S.: The effects of higenamine on the nor-epinephrine induced contraction of rabbit aortic strips. MS thesis, Seoul National University (1988).