大韓外官科學會誌 : 第14卷 第1號
The Journal of Oriental Medical Surgery,
Ophthalmology & Otolaryngology
Vol. 14, No 1, May 2001.

煎湯方法의 變化에 의한 五積散 물추출액이 Hydrocortisone acetate로 유발한 瘀血病態에 미치는 효과

서부일*, 김미려**, 박지하*, 지선영***

ABSTRACT

Effects of Ojeoksan extracted by varied extraction method in HA-induced model of blood stasis

Bu il Seo, Mi Ryeo Kim, Ji Ha Park, Seon Young JI

This study was performed to compare the effect of Ojeoksan which have extracted by varied extractor(press extractor : PE, pressless extractor : PLE, short acting extractor : SE) on model of blood stasis in rats. Except for the normal group, hydrocortisone acetate(HA;25㎎/㎏ in ethanol, IM) to induce experimental blood stasis model for 1weeks and each extract of Ojeoksan was administrated after 1hr following HA injection for 1week. We measured the hematocrit, the platelet count, the prothrombin time, levels of fibrinogen in rats' blood.

The sample Ⅰ(Ojeoksan extracted by PE) group showed significant decrease of hematocrit, prothrombin time and significant increase of the platelet count, levels of fibrinogen in comparison with those of the control group. The sample Ⅱ(Ojeoksan) extracted by PLE) group showed significant decrease of hematocrit and significant increase of levels of fibrinogen in comparison with those of the control group. Administration of the sample Ⅲ(Ojeoksan extracted by SE) group showed significant decrease of hematocrit and significant increase of the platelet count, levels of fibrinogen in comparison with those of the control group.

*경산대학교 한의과대학 본초학교실
**경산대학교 한의과대학 약리학교실
***경산대학교 한의과대학 외관과학교실

These results suggest that Ojeoksan extracted by PE is more effective than the other on experimental model of blood stasis, although they also have been some effects to improve the intravascular coagulation. Therefore, these findings indicate that further investigation for the other effects depending different method of extraction is necessary.

Ⅰ. 緖 論

五積散은 太平惠民和劑局方 卷2에 처음 수록된 처방으로[1,2], 發表溫裏, 順氣化痰, 活血消積, 燥濕健脾하는 효능을 지니고 있으며, 外感風寒과 內傷生冷으로 인한 身熱無汗, 頭痛身疼, 項背拘急, 胸滿惡食, 嘔吐腹痛, 舌苔白滑 등의 증상과 婦女의 血氣不和로 인한 心腹疼痛, 月經不調 등이 寒性에 속한 症候를 치료한다[2].

현재 한방의료기관에서 기계를 활용하여 이용되고 있는 전탕방식에는 압력식, 무압력식으로 크게 구분되고 있으며, 최근에 와서 15분 전탕용 기계가 등장하고 있다. 따라서, 論者는 이러한 여러 가지 전탕기계를 활용하여 약을 추출한 다음 이들 전탕방식에 의한 약효의 차이를 살펴보고자 하였으며, 사용되는 약물로는 현재 임상에서 頻用되고 있는 五積散 處方을 이용하였으며, 각각의 전탕법으로 전탕한 다음 瘀血의 측면에서 약효의 비교를 하였다.

Ⅱ. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

1) 실험재료

五積散 처방의 구성약물은 한약재 제조회사에서 생산된 것을 약업사에서 구입하여 이용하였다. 五積散의 구체적인 1첩 분량과 한약재의 생산지는 다음의 표와 같다.

<표 1>五積散의 구성약물과 중량 및 생산지

구성약물	중량	생산지	제조회사
蒼朮	2錢	수입	동성약업사
麻黃	1錢	수입	동성약업사
陳皮	1錢	국산(제주)	동성약업사
厚朴	8分	수입	동성약업사
桔梗	8分	수입(중국)	동성약업사
枳殼	8分	수입	동성약업사
當歸	8分	국산(경북진부)	동성약업사
乾薑	8分	수입	동성약업사
白芍藥	8分	국산(경북의성)	동성약업사
白茯苓	8分	수입	동성약업사
川芎	7分	국산(경북영양)	동성약업사
白芷	7分	국산	동성약업사
半夏	7分	수입	동성약업사
桂皮	7分	수입	동성약업사
甘草	6分	수입(중국)	동성약업사
生薑	3片	韓國産	상동시장
葱白	3本	韓國産	상동시장

2)실험동물

대한실험동물에서 구입한 건강한 Sprague Dawley계 흰쥐를 고형사료(rat chow, 삼양사)로 사육하면서 물을 충분히 공급하고 약 1주일간 실험실 환경에 적응시킨후 실험에 사용하였다.

2. 실험방법

1)검액의 조제

五積散은 물로 추출하였으며, 五積散 處方의 試料는 제약회사에서 구입하여 경산대학교 한의과대학 본초학교실의 검증을 거친 것을 압력식추출기(세익메디칼; S-15000)와 무압력식추출기(미강기업; ME-45) 및 단시간형추출기(N.B.I;

Medicap-M15)로 추출방법을 달리하여 사용하였다. 압력식과 무압력식추출에서는 3시간 가열하여 추출한 용액을 사용하였으며, 단시간형추출기에서는 15분 동안 가열하여 추출한 물추출액을 실험에 사용하였다.

2)血栓에 미치는 영향

(1)Hydrocortisone acetate 투여

흰 쥐를 각군당 8마리씩 정상군, 대조군, 압력식추출 오적산투여군, 무압력식추출 오적산투여군, 단시간추출 오적산투여군으로 구분하였다. 정상군은 생리식염수를 마리당 2㎖씩 투여하였고, 대조군은 hydrocortisone acetate를 ethyl alcohol에 녹인 것을 25㎎/㎏씩 1일 1회 1주간 둔부에 근육주사하였고 주사 1시간 후에 생리식염수를 마리당 2㎖를 투여하였으며, 약물투여군에서는 대조군과 동량의 hydrocortisone acetate 주사하였고, 1시간 후에 추출방법을 달리한 실험약물의 물추출액 농출액을 마리당 2㎖씩 1일 1회 1주일간 경구투여하였다.

(2)採血 및 血漿分離

hydrocortisone acetate를 투여하고 24시간 후 pentobarbital sod.액으로 0.1cc/100g을 복강 주사하여 마취시키고 복부대동맥에서 채혈한 후 CBC bottle과 3.8% sodium citrate를 가한 용기에 각각 담아서 2,500rpm에서 5분간 원심분리시켜 혈장을 얻었다.

(3)혈소판수측정

혈소판수는 Fonio법[6]에 의하여 sysmex kx-21 기기를 사용하여 STROMATOLYSER-WH 시약(일본)으로 측정하였다.

(4)Fibrinogen 量 측정[7]

혈장내의 Fibrinogen량은 Amelung Coagulometer 기기를 이용하여 Hemolab Fibrinomat 試藥(Japan)을 사용하여 측정하였다.

(5)Prothrombin time 측정[8,9,10]

Prothrombin time은 Amelung Coagulometer 기기를 이용하여 Thrombocheck PT 試藥(일본)을 사용하여 측정하였다.

(6)Hematocrit値 측정[6]

Hematocrit値는 Sysmex kx-21 기기를 사용하여 STROMATOLYSER-WH 試藥(일본)을 이용하여 측정하였다.

3. 통계

각 群間의 실험결과는 Student's t-test로 통계학적인 유의성($p<0.05$수준)을 검증하였다.

Ⅲ. 實驗成績

1. Hematocrit値에 미치는 影響

Hematocrit値는 正常群이 39.1±0.93%인데 比하여, 對照群은 52.37±0.96%로 有意性있게 增加되었다. 反面에 압력식으로 추출한 五積散投與群은 41.51±1.62%로 나타나 對照群에 比하여 有意性있게 減少되었다. 무압력식으로 추출한 五積散投與群은 43.97±1.39%로 나타나 對照群에 比하여 有意性있게 減少되었다. 단시간형으로 추출한 五積散投與群은 41.03±0.76%로 나타나 對照群에 비하여 有意性있게 減少되었다(Table Ⅰ).

Table Ⅰ. Effects of varied Ojeoksan extract on the hematocrit in HA-treated rats.

Group	Hematocrit(%)
Normal	39.1±0.93#)
Control	52.37±0.96***
Sample Ⅰ	41.51±1.62***
Sample Ⅱ	43.97±1.39***
Sample Ⅲ	41.03±0.76***

#) Mean ± Standard Error

*Statistically significant compared with control group (***: P<0.001)

Sample Ⅰ: Administration of Ojeoksan extracted by pressure extractor

Sample Ⅱ: Administration of Ojeoksan extracted by no-pressure extractor

Sample Ⅲ: Administration of Ojeoksan extracted by short acting extractor

2. Platelet count에 미치는 影響

血小板數의 變化는 正常群이 1025.25±20.56(×10^3/㎣)인데 비하여 對照群은 803.83±33.32(×10^3/㎣)로 有意하게 減少되었다. 反面에 압력식으로 추출한 五積散投與群은 1085.45±81.84(×10^3/㎣)로 나타나 對照群에 比하여 有意性있게 增加되었다. 무압력식으로 추출한 五積散投與群은 1064.33±117.73(×10^3/㎣)로 나타나 對照群에 比하여 증가하였으나, 有意性은 인정되지 않았다. 단시간형으로 추출한 五積散投與群은 1096.75±86.89(×10^3/㎣)로 나타나 對照群에 비하여 有意性있게 增加되었다(Table Ⅱ).

Table Ⅱ. Effects of varied Ojeoksan extract on platelet in HA-treated rats.

Group	Platelet count(×10^3/㎣)
Normal	1025.25±20.56
Control	803.83±33.32***
Sample Ⅰ	1085.45±81.84**
Sample Ⅱ	1064.33±117.73
Sample Ⅲ	1096.75±86.89**

#) Mean ± Standard Error

*Statistically significant compared with control group (***: P<0.001, **: P<0.01)

Sample Ⅰ: Administration of Ojeoksan extracted by pressure extractor

Sample Ⅱ: Administration of Ojeoksan extracted by no-pressure extractor

Sample Ⅲ: Administration of Ojeoksan extracted by short acting extractor

3. Prothrombin time에 미치는 影響

Prothrombin time의 變化를 보면, 正常群이 14.25±0.16(sec)인데 비하여 對照群은 14.38±0.18(sec)로 增加되었으나 有意性은 없었다. 反面에 압력식으로 추출한 五積散投與群은 13.43±0.02(sec)로 나타나 對照群에 比하여 有意性있게 減少되었다. 무압력식으로 추출한 五積散投與群은 13.67±0.33(sec)로 나타나 對照群에 比하여 감소되었으나 有意性은 인정되지 않았다. 단시간형으로 추출한 五積散投與群은 14.0±0.27(sec)로 나타났으나, 有意性은 없었다(Table Ⅲ).

Table Ⅲ. Effects of varied Ojeoksan extract on prothrombin time in HA-treated rats.

Group	Prothrombin time(sec)
Normal	14.25±0.16
Control	14.38±0.18
Sample Ⅰ	13.43±0.02***
Sample Ⅱ	13.67±0.33
Sample Ⅲ	14.0±0.27

#) Mean ± Standard Error

*Statistically significant compared with control group (***: P<0.001)

Sample Ⅰ: Administration of Ojeoksan extracted by pressure extractor

Sample Ⅱ: Administration of Ojeoksan extracted by no-pressure extractor

Sample Ⅲ: Administration of Ojeoksan extracted by short acting extractor

4. Fibrinogen含量에 미치는 影響

Fibrinogen含量은 正常群이 166.43±6.67(㎎/dℓ)인데 비하여 대조군에서는 133.0±8.54로 감소되었다. 反面에 압력식으로 추출한 五積散投與群은 232.14±3.84로 나타나 對照群에 比하여 有意性있게 增加되었다. 무압력식으로 추출한 五積散投與群은 231.33±3.51로 나타나 對照群에 比하여 有意性있게 增加되었다. 단시간형으로 추출한 五積散投與群은 216.38±1.89로 나타나 對照群에 比하여 有意性있게 증가되었다(Table Ⅳ).

Table Ⅳ. Effects of varied Ojeoksan extract on levels of fibrinogen in HA-treated rats.

Group	Fibrinogen(㎎/dℓ)
Normal	166.43±6.67
Control	133.0±8.54*
Sample Ⅰ	232.14±3.84***
Sample Ⅱ	231.33±3.51***
Sample Ⅲ	216.38±1.89***

#) Mean ± Standard Error

*Statistically significant compared with control group (***: P<0.001, *: P<0.05)

Sample Ⅰ: Administration of Ojeoksan extracted by pressure extractor

Sample Ⅱ: Administration of Ojeoksan extracted by no-pressure extractor

Sample Ⅲ: Administration of Ojeoksan extracted by short acting extractor

Ⅳ. 考 察

五積散은 太平惠民和劑局方 卷2에 처음수록된 처방으로[1,2], 發表溫裏, 順氣化痰, 活血消積, 燥濕健脾하는 효능을 지니고 있으며, 外感風寒과 內傷生冷으로 인한 身熱無汗, 頭痛身疼, 項背拘急, 胸滿惡食, 嘔吐腹痛, 舌苔白滑 등의 증상과 婦女의 血氣不和로 인한 心腹疼痛, 月經不調 등이 寒性에 속한 症候를 치료한다[2]. 따라서, 論者는 이러한 효능을 지니고 있는 五積散을 이용하여 瘀血의 측면에서 약효 비교를 하게 되었다.

HA(hydrocortisone acetate)로 유발한 어혈병태는 HA를 白鼠의 臀部에 1일 1회 1주일간 근육주사하여 瘀血證候를 일으키는 것인데, HA는 부신피질 hormone으로 말초에서의 glucose 흡수와 이용을 억제하여 혈당을 증가시키고 단백질의 분해를 촉진하여 中性脂質酸의 加水分解促進으로 血中脂肪酸을 증가시킨다[3]. 또, HA를 근육주사하면 毛髮疏鬆 不光澤, 消瘦, 肢冷, 蹉曲, 拱背, 活動減少, 反應遲鈍, 不活動 등의 外觀的인 변화가 나타나고[4], 血液에서는 高粘度血症 즉, 血液의 粘度와 濃度 그리고 凝固性 및 赤血球凝集의 增加 등의 변화가 일어난다[5]. 본 실험에서는 김 등[5]의 방법에 의하여 HA 투여로 瘀血을 유발하여 hematocrit 値, platelet count, prothrombin time, fibrinogen 含量에 미치는 영향을 살펴보았다.

Hematocrit(혈구용적) 値는 血液 全體의 부피에 대한 血球 부피를 나타낸 것[11]으로, 항응고제를 가한 혈액을 원심분리하여 혈구성분을 침전시키고 전혈에 대한 혈구의 비율을 산정하여 %로 나타낸다[13]. 정상상태에서는 거의 일정하지만 빈혈의 경우 혈액의 용적은 빈혈의 정도에 따라 감소되므로, hematocrit은 빈혈의 척도가 된다[12]. 또, hematocrit 値가 낮은 경우는 빈혈, 적혈구수에 비하여 hematocrit値가 큰 경우에는 대구성빈혈, 상대적으로 낮은 경우에는 소구성빈혈을 의미한다[11,13]. 本 실험에서 hematocrit値의 변화를 보면, 對照群은 52.37±0.96%로 正常群에 비하여 有意性있게 增加되었는데, 이렇게 對照群이 正常群보다 증가한 결과는 HA의 약리작용으로 인한 적혈구수의 증가 때문이다[14]. 反面에 압력식으로 추출한 五積散投與群은 41.51±1.62(%), 무압력식으로 추출한 五積散投與群은 43.97±1.39(%), 단시간형으로 추출한 五積散投與群은 41.03±0.76(%)으로 나타났으며, 세가지 實驗群 모두에서 對照群에 비하여 有意性있게 減少되었다(Table Ⅰ).

血小板은 그 膜에 함유된 多量의 燐脂質을 중심으로 血液의 凝固作用, 細胞構成因子의 대사물질(prostaglandins, serotonin), 세포성장인자 및 동맥경화현상 등이 알려짐과 동시에 생체내 반응에 관해서도 血栓형성의 과정에 결정적으로 관여하는 것으로 밝혀짐으로써, 혈소판수는 凝血 및 血栓形成 與否의 대표적 지표가 된다[15,16]. 本實驗 결과, 血小板數의 變化는 對照群이 803.83±33.32(×10^3/㎣)로 正常群에 비하여 有意하게 減少되었으며, 反面에 압력식으로 추출한 五積散投與群은 1085.45±81.84(×10^3/㎣), 단시간형으로 추출한 五積散投與群은 1096.75±86.89(×10^3/㎣)로 나타나 모두 對照群에 비하여 有意性있게 增加되었다. 그런데, 무압력식으로 추출한 五積散投與群은 1064.33±117.73(×10^3/㎣)로 나타나 對照群에 比하여 증가하였으나 有意性은 인정되지 않았다(Table Ⅱ).

Prothrombin time(PT)은 혈장에 조직 thromboplastin과 calcium을 첨가하여 fibrin이 석출될 때까지의 시간을 측정하는 것으로[13], 경구 항응혈제를 투여하면 prothrombin time은 연장된다[13]. 따라서 prothrombin time이 단축되는 것은 응고성이 항진됨을 뜻하고, 연장되는 것은 응고성이 억제되는 것을 의미한다. PT 연장을 초래하는 질환은 선천성과 후천성으로 구분되는데, 선천성은

유전자 이상으로 나타나며, 후천성은 PT의 응고기전에 관여하는 응고인자(Ⅶ, X, V, Ⅱ (prothrombin), Ⅰ(fibrinogen)인자)의 생산저하 또는 질적이상, 소비항진, 외인성 응고과정에 대한 병적 inhibitor의 출현 등으로 인하여 초래된다[13]. 또한 prothrombin time은 파종성 혈관내 응고병증(disseminated intravascular coagulopathy)과 같은 소비항진이 있는 경우에는 증가한다[13]. 本實驗에서 Prothrombin time의 變化를 보면, 正常群이 14.25±0.16(sec)인데 비하여 對照群은 14.38±0.18(sec)로 增加되었으나 有意性은 없었다. 反面에 압력식으로 추출한 五積散投與群은 13.43±0.02(sec)으로 나타나 對照群에 比하여 有意性있게 減少되었다. 그런데, 무압력식으로 추출한 五積散投與群은 13.67±0.33(sec)으로 나타나 對照群에 比하여 감소되었으나 有意性은 인정되지 않았다. 단시간형으로 추출한 五積散投與群은 14.0±0.27(sec)로 나타나 對照群에 比하여 減少하는 傾向性을 보였으나, 有意性은 없었다(Table Ⅲ).

Fibrinogen은 간에서 생합성되고 혈중으로 방출되어 혈장중에 존재하는 응고인자로서 thrombin에 의해 분해되어 fibrin으로 전환되어서 止血素子 또는 創傷局所의 fibrin matrix의 기초재료가 되며, 염증·악성종양·혈전급성기·신장질환·당뇨병 등에서 증가되고, 간실질장애로 인한 생산저하와 파종성 혈관내 응고병과 같은 소비항진이 있을 경우에는 감소[13]하므로, 심근경색·간질환·壞疽性損傷 및 출혈증과 같은 질병의 예측 및 치료에 응용된다. 本實驗에서 血漿內의 fibrinogen 含量의 변화를 보면, 對照群에서는 133.0±8.54(㎎/dℓ)로 正常群에 比하여 有意性있게 減少되었다. 反面에 압력식으로 추출한 五積散投與群은 232.14±3.84, 무압력식으로 추출한 五積散投與群은 231.33±3.51, 단시간형으로 추출한 五積散投與群은 216.38±1.89로 나타나 모두 對照群에 比하여 有意性있게 증가되었다(Table Ⅳ).

Ⅴ. 結 論

단시간형 및 압력식, 무압력식으로 추출한 오적산 물추출액이 hydrocortisone acetate로 유발한 흰쥐의 어혈병태에 미치는 영향을 비교한 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Hematocrit値의 변화를 보면, 압력식으로 추출한 五積散投與群, 무압력식으로 추출한 五積散投與群, 단시간형으로 추출한 五積散投與群 세가지 實驗群 모두에서 對照群에 비하여 有意性있게 減少되었다.

2. 혈소판수의 변화를 보면, 압력식으로 추출한 五積散投與群과 단시간형으로 추출한 五積散投與群에서 對照群에 비하여 有意性있게 增加되었다.

3. Prothrombin time의 變化를 보면, 압력식으로 추출한 五積散投與群에서 對照群에 比하여 有意性있게 減少되었다.

4. Fibrinogen 含量의 변화는 압력식으로 추출한 五積散投與群, 무압력식으로 추출한 五積散投與群 및 단시간형으로 추출한 五積散投與群에서 모두 對照群에 比하여 有意性있게 증가되었다.

이상의 실험결과, HA로 유발한 어혈병태모형의 혈액학적 변화에 미치는 효과에서는 압력식 오적산추출물의 효과가 비교적 좋은 것으로 나타났으나, 무압력식과 단시간형 오적산추출물도 압력식과 비슷하게 有意한 효과를 보였다. 향후 전탕방법의 변화에 따른 약효실험은 여러 가지 약효면에서 연구가 계속 되어야 할 것으로 사료된다.

參考文獻

1. 申載鏞: 方藥合編解說, 成輔社, pp.105-108, 1988.

2. 金相贊, 金先熙, 盧昇鉉 등: 方劑學, 永林社, 서울, pp.268-270, 1999.

3. 韓大燮: 藥理學, 서울, 藥事硏究社, pp.448-452, 1977.

4. 金聖洙: Hydrocortisone acetate로 誘發된 陽虛動物模型에 關한 硏究, 大韓韓醫學會誌, 7(2):103-106, 1986.

5. 金聖洙, 安圭錫, 金光湖: Hydrocortisone acetate로 誘發된 瘀血病態 model에 關한 硏究, 서울, 大韓韓醫學會誌, 8(2):133-138, 1987.

6. 金井 泉·金井 正光 編著, 高文社編輯部譯: 臨床檢查法提要, 서울, 高文社, p.227-231, 239, 1993.

7. Hoagland, S.E: J. Biol. Chem., 162:143, 1946.

8. Kalmar, R., Ansell JE., Canoso RT., Doykin D.: Clinical trial of a new bleeding-time device : Am. J. Clin. Pathol., 70(4):642-5, 1978.

9. Kleiner, E.E., Heiges L., Fukuchima M.: Sensitivities of thrombopastins to factor Ⅶ deficiency: Am. J. Clin. Pathol., 56(2):162-5, 1971.

10. Miale, J.B. et al: Am. J. Clin. Pathol., 47:50, 1967.

11. 서울대학교의과대학편: 혈액학, 서울, 서울대학교출판부, pp.338, 1993.

12. 殷鋭錫: 臨床檢查法提要, 서울, 고문사, pp.227-231, 1993.

13. 이귀녕, 이종순: 임상병리과일, 서울, 도서출판 의학문화사, pp.735-736, 767-769, 812-819, 846-849, 860-862, 1263-1264, 1993.

14. 鄭燦吉: 血栓 및 高粘度血症에 미치는 黃芪, 桂枝 및 紅花의 效能에 關한 實驗的 硏究, 서울, 慶熙大學校大學院, 1989.

15. 徐德圭: 血液學實技, 서울, 高文社, pp.67-69, 304-306, 1976.

16. 李三悅, 鄭允燮: 臨床病理檢查, 서울, 延世大出版部, pp.120-133, 202-212, 439-440, 1985.