

玄胡索散의 抗血栓作用에 대한 연구

임민철 · 김동희*

대전대학교 한의과대학 병리학교실

The Experimental Studies on Antithrombotic Effects of Hyunhosaiksan

Min Cheul Lim, Dong Hee Kim*

Department of Pathology, Oriental Medical Collage, Daejeon University

The purpose of the present study was to investigate the effects of Hyunhosaiksan (HHS) on antithrombotic actions which include blood activation, thrombus removal, warming of circulating blood, and the control of pain on abdomen and lower and upper burning spaces. HHS significantly inhibited platelet aggregation induced by ADP and epinephrine in a HHS dose-dependent manner when analyzed by the Sigmoid Emax model in WinNonlin. EC50 values of HHS were 1.71 μ g/ml and 0.004 μ g/ml for ADP and epinephrine respectively. In the vivo study, HHS inhibited pulmonary embolism induced by collagen and epinephrine, which was however statistically insignificant. HHS increased number of platelets, APTT and volume of fibrinogen significantly as compared with the control group in dextran-induced thrombus model. Furthermore, HHS stimulated levels of blood flow in vivo though its effect was not observed in vitro. These results suggest that Hyunhosaiksan (HHS) can be used for treating numerous diseases related with blood aggregation and circulation problems. Further systematic investigations on the synergic effects among drugs used in the oriental medicine as well as in the western medicine in relation to thrombosis therapy would provide an important insight into the potential therapeutic applications.

Key words : Hyunhosaik-san(玄胡索散), antithrombotic actions, dextran, platelet aggregation, platelets, APTT, fibrinogen

서론

玄胡索散은 延胡索散, 玄胡當歸散 등의 異名이 있으며, 《婦人良方》¹⁾에서 "婦人血氣 攻心腹痛"을 治한다고 收載된 이래, 《景岳全書·婦人規古方》에서는 "治血積小腹疼痛, 或因氣逆而月經不行, 肚腹作痛..."이라고 記載되었으며²⁾, 《濟陰綱目》³⁾ 《沈氏尊生書》⁴⁾에서는 "七情所傷에 의한 心腹腰脇痛과 經行腹痛"을, 《女科準繩》⁵⁾에서는 "瘀血痛, 兒枕痛 및 產後臍下痛"을 다스린다고 記載되어 있다. 處方 構成은 文獻에 따라 다소 差異가 있으나, 共通的으로 瘀血로 인한 心腹部 疾患 및 女性 疾患에 廣範圍하게 應用되고 있다. 正常的인 生理 機能을 喪失한 血液으로, 病理的 產物 혹은 循環 障礙의 病理的 狀態를 基盤으로 나타나는 特殊症候群으로 定義되는 瘀血은 最近 血液 循環障礙, 血液 成分의 變化 및 結滯 組織의 增殖 變性 등과 聯關되어 報告^{6,7)}되고 있다. 특히 血液이 心臟이나 血管에 凝固된 血塊로 지칭되는

血栓은 病理 및 症狀面에서 瘀血과 가장 類似하게 認識되고 있고^{6,8)}, 國內 疾病 發生 및 死亡率에서 首位를 잡고 있는 心·血管 疾患의 主要因이라는 점에서, 韓醫學界에서도 이에 대한 研究가 1980년 이 후 多樣하게 이루어지고 있다. 이에 대한 文獻的 研究로 康⁹⁾과 尹¹⁰⁾ 등은 韓醫學에서 瘀血에 대한 概念과 東醫學의 客觀化와 東西醫學 病名 統一을 위한 方法 등을 記述하면서 血栓을 瘀血의 範疇에 포함시켰고, 全 등¹¹⁾은 瘀血을 前瘀血證, 血瘀證, 및 瘀血證으로 區分하면서 血栓症을 瘀血證으로 보았으며, 李¹²⁾는 瘀血로 인한 刺痛, 出血, 腫塊 등이 症狀面에서 血栓症과 매우 密接한 相關性이 있음을 實驗 考察에서 記述한 바가 있다. 또한 이러한 文獻的 研究와 더불어 崔¹³⁾는 血府逐瘀湯, 徐¹⁴⁾는 失笑散, 趙¹⁵⁾는 歸朮破瘀湯, 全¹⁶⁾은 桃仁承氣湯, 文¹⁷⁾는 桂枝茯苓丸과 抵當湯 등, 瘀血을 治하는 代表的인 處方을 試料로 이들의 抗血栓 作用을 實驗的으로 糾明한 바가 있다. 이 밖에도 李¹⁸⁾는 蒲黃, 洪¹⁹⁾은 赤芍藥 水鍼이 血栓症에 미치는 影響을 報告하는 등 韓醫學的으로 多樣한 接近이 이루어져 왔다. 血栓에 의한 症狀은 動脈과 靜脈 內腔의 閉塞과 塞栓의 有無에 따라 鬱血, 浮腫, 硬塞, 壞疽, 敗血症 등이 나타날 수 있으며, 特히 冠狀動脈 血

* 교신저자 : 김동희, 대전광역시 동구 용문동, 대전대학교 한의과대학
· E-mail : dhkim@dju.ac.kr · Tel : 042-280-2623
· 접수 : 2003/04/09 · 수정 : 2003/05/13 · 채택 : 2003/07/18

栓은 心筋梗塞을, 腦動脈 血栓은 腦梗塞을 일으키면서 갑작스런 死亡에 이르기도 한다^{20,21}. 現在 血栓 治療法으로 西洋醫學에서는 血栓溶解劑, 抗血小板製劑 및 antithrombin 製劑가 이용되고 있으나²³, 現在까지는 여전히 多様な 副作用이 存在하고 있어, 이를 補完하기 위한 研究에 많은 投資가 이루어지고 있으며, 아울러 最近 天然物에 대한 檢索 또한 활발하게 이루어지고 있다.

이에 著者は 新規 韓醫學의 抗血栓 處方 및 藥物을 檢索하기 위한 一環으로, 瘀血로 인한 多様な 症狀에 應用되고 있는 玄胡索散의 抗血栓作用을 糾明하고, 向後 構成 藥物 및 多様な 藥物과의 相乘作用에 의한 抗血栓作用의 基礎 資料를 提供하고자, in vitro에서 platelet aggregation, fibrinolytic activity, blood flow rate 등에 미치는 影響을 測定하고, in vivo에서 pulmonary embolism, dextran 病態 모델에서의 血小板數, prothrombin time(PT), activated partial thromboplastin time (APTT) 및 blood flow rate 등을 測定한 結果, 유의성있는 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

재료 및 방법

1. 동물 및 약재

本 實驗에 使用된 實驗用 쥐는 體重 180~250g의 Sprague-Dawley계(대한실험동물센터, 충청북도 음성) 雄性 白鼠와, 18~20g의 ICR(International Cancer Research-대한실험동물센터, 충청북도 음성)계 생쥐로, 實驗 當日까지 固形 飼料(조단백질 22.1% 이상, 조지방 8.0% 이하, 조섬유 5.0% 이하, 조회분 8.0% 이하, 칼슘 0.6% 이상, 인 0.4%이상 삼양사 配合 飼料 Co.)와 물을 充分히 供給하고, 실온 22±2℃, 相對 濕度 50±10%, 照明 時間 12時間(07:00~19:00), 照度 150~300 Lux로 設定하여 2 週日間 實驗室 環境에 適應시킨 후 體重 變化가 一定하고 健康한 動物만을 選別하여 實驗에 使用하였다. 本 實驗에 使用한 玄胡索散 構成은 《沈氏尊生書》4)에 準하였으며, 構成 藥物은 大田大學校 附屬韓方病院에서 購入하였고, 1첩의 內容과 用量은 다음과 같다.

Table 1. The Compositions of Hyunhosaik-san Extracts

韓藥名	生藥名	用量(g)
玄胡索	Corydalis Tuber	10
當歸	Angelicae gigantis Radix	10
赤芍藥	Paeonia Radix Rubra	10
蒲黃(炒)	Pollen typhae	10
肉桂	Cinnamomi Cortex	10
黃連	Coptidis Rhizoma	6
木香	Aucklandiae Radix	6
乳香	Olibanum	6
沒藥	Myrrha	6
甘草	Glycyrrhizae Radix	5
Total amount		79

2. 시약 및 기기

實驗에 使用한 試藥은 Dulbecco's phosphate buffered saline (DPBS-A; Sigma Co., U.S.A.), normal saline(중외제약, Korea), Hank's balanced salt solution (HBSS; Sigma Co., U.S.A), collagen(Sigma Co., U.S.A.) ephineprine(Sigma Co.,

U.S.A.), dextran(Sigma Co., U.S.A), 3.8% sodium citrate(Sigma Co., U.S.A), ADP reagent (Chrono-Log Corp., U.S.A), collagen reagent(Chrono-Log Corp., U.S.A), thrombin reagent (Chrono-Log Corp., U.S.A), IL Test TM PT-Fibrinogen HS(Instrumentation Laboratory, U.S.A.), IL Test TM APTT Lyophilized silica(Instrumentation Laboratory, U.S.A.), fibrinogen(Sigma Co., U.S.A.), acid citrate dextrous(ACD; Sigma Co., U.S.A.), heparin(Sigma Co., U.S.A.), urokinase (Sigma Co., U.S.A.), aspirin(Sigma Co., U.S.A.)를 使用하였다.

器機는 serum separator(녹십자, Korea), minos-ST(Cobas Co., France), centrifuge(Beckman Co., U.S.A.), rotary vacuum evaporator(Büchi 461, Switzerland), deep freezer(Sanyo Co., Japan), freeze dryer(Eyela Co., Japan), autoclave (Hirayama, Japan), ultrasonic cleaner(Branson Ultrasonics Corp., U.S.A.), roller mixer(Gowon scientific technology Co., Korea), vortex (Vision Co., Korea), camera(Nikon, Japan), ACL-100 (Instrumentation Laboratory, U.S.A.), platelet aggregation profiler Model PAP-4(BIO/DATA Co., U.S.A), silicon-treated cuvette(BIO/DATA Co., U.S.A) 등을 使用하였다.

3. 檢液의 造製

玄胡索散(이하 HHS로 지칭) 2첩을 약탕기(대웅)에 넣고 蒸溜水 1,300 ml을 넣은 후 3時間 加熱 抽出하고, 이를 3회 屢번한 濾過液을 rotary vacuum evaporator에서 減壓 濃縮하였다. round flask에 濃縮된 溶液을 -70℃ deep freezer에서 4時間 放置하고, 24時間 동안 freeze dryer로 凍結 乾燥하여 1첩당 5.82 g의 粉末을 얻어서 實驗에 必要한 濃度로 生理食鹽水에 稀釋하여 使用하였다.

4. In vitro test

1) 血小板 凝集 測定

12時間 以上 空腹을 維持한 支援者의 上膊 靜脈으로부터 採血한 血液을 3.8% 구연산나트륨이 들어있는 一回用 試驗管에 血液과 1:9의 比率로 넣고 遠心分離 (900 rpm 10분)하여 상등액으로부터 platelet rich plasma (PRP)를 얻고 殘額을 다시 遠心分離 (3,000 rpm 10분)하여 platelet poor plasma (PPP)를 얻었다. PRP는 採取 卽時 變化를 막고 얼음이 들어있는 容器에 放置하였다. 藥物의 抗血小板 凝集效果는 platelet aggregation profiler model PAP-4 (BIO/DATA Co., U.S.A)를 使用하였으며, 最終 濃度는 ADP 6 μM와 epinephrine 5 μM이 되도록 하였다. Micro-magnetic bar를 넣은 silicon-treated cuvette에는 미리 37℃에서 incubation시킨 PRP 320 μl와 HHS 40 μl를 넣고 다시 incubation한 후 ADP 40 μl를 가하여 5분간 反應시켰다.

實驗群은 蒸溜水에 溶解시키고 稀釋하여 使用하였으며, 最終 濃度가 10, 5, 2.5, 1.25, 0.6, 0.3 mg/ml이 되도록 PRP에 가하고 凝集 誘導劑를 넣기 전까지 37℃에서 3분간 incubation 하였다. 實驗의 처음과 마지막에는 PRP에 volume을 맞추기 위해 生理食鹽水 40 μl를 가한 뒤 最大 凝集 %를 測定하여 採血 後時

間 經過로 인한 血小板 變質로 나타날 수 있는 實驗 誤差를 防止 하였으며, PRP를 얻은 후 2時間 안에 모든 實驗을 進行시켰다. 實驗 造作 동안 溫度는 37℃로 維持하고 攪拌 速度는 500-1,500 rpm으로 하며 528 nm에서 凝集度를 測定하였다. 藥物에 의해 aggregation이 抑制되는 定度를 다음 식에 의거하여 transmission maximum reduction percent를 產出하였다.

$$\text{Inhibition\%} = \frac{A-B}{A} \times 100$$

A=對照群(vehicle)의 maxum aggregation %, B=藥物 處理時의 maxum aggregation %

各各의 濃度에서의 aggregation(%)은 mean±S.D.으로 나타 내었고, 試驗 藥物의 統計的인 有意性은 Student t-test를 통해 檢定하였다.

2) PD analysis

ADP 와 epinephrine을 凝集誘導劑로 使用하여 얻은 各 濃度에서의 aggregation %를 產出하고, Sigmoid Emax mode에 適用하여 fitting하였다. Computer program WinNolin을 이용하여 fitting된 프로그램으로부터 PD parameter로 Emax, EC50, γ 를 產出하였다. 藥物의 效果를 나타내는 pharmacodynamic (PD) parameter는 藥物 投與 後 懶惰나는 生理的 反應을 直-間接的으로 測定하여 產出하였다. 藥物의 藥物動力學 (pharmacodynamic) 的인 特性은 收容體에 대한 親和力 (potency, EC50), 藥物의 活性 (efficacy, Emax) 및 效果-濃度 曲線에서의 sigmoidity (Hill coefficient, γ)로서 表現된다.

3) Fibrinolytic activity 測定

最終 0.7%가 되도록 fibrinogen(plasminogen-containing, Sigma)을 0.05 M babital buffer, pH 7.8에 녹인 뒤 5ml의 溶液을 0.1 ml의 thrombin(100 NIH/ml)에 넣어 수 초 내에 petri dish(85x15 mm)에서 混合하였다. 이것을 37℃에서 30분간 放置하여 fibrin plate가 形成됨을 確認하고, 形成된 fibrin plate 상에 disk를 이용하여 陽性對照群 urokinase 0.1 ml(100iu/ml)를 점적 하고, HHS를 濃度別로 점적한 다음 37℃ incubation에 24시간 동안 放置하여 溶解되는 whole well의 크기를 측정하여 對照群과 實驗群을 比較하였다.

4) 血流 速度 測定

Heparin(1000 units/ml) 處理한 syringe를 이용하여 一般 正常 쥐의 心臟 穿刺를 통해 採血하였다. 血液을 acid citrate dextrous (ACD) 溶液으로 5배 稀釋한 다음 一定한 크기의 유리 관을 通過하게 하여 血流 速度에 미치는 影響을 測定하였다. 血液에 dextran을 넣은 對照群과 HHS를 처리한 實驗群으로 分離하였고, 使用한 稀釋 血液은 37℃가 維持되도록 하였으며 HHS를 넣고 5분간 pre- incubation 시킨 후 血流 速度를 測定하였다. 5 ml의 稀釋 血液을 기준으로 直徑 2 mm의 크기를 가진 유리관을 通過하는데 걸리는 時間을 測定하였다.

5. In vivo test

1) 肺塞栓(Pulmonary thrombosis) 誘發

實驗的 血栓의 誘導는 Kimura의 實驗 方法²³⁾에 準하여 實施

하였다. 實驗 動物은 몸무게 약 18 g-20 g 정도의 수컷 ICR계 mouse를 使用하였고, HHS는 20 g ICR 생쥐를 基準으로 檢液 7.76 mg/20 g/day을 生理食鹽水 0.2 ml에 溶解시켜 oral zonde를 이용하여 2회 經口 投與하였다. 血栓의 誘發은 血小板 凝集試藥 (11.3 μ g의 collagen과 1.32 μ g의 epinephrine)을 Hank's balanced salt solution (HBSS) 200 μ l에 含有되도록 造製하였고, ICR계 mouse의 몸무게 20 g당 200 μ l의 用量으로 尾靜脈에 注射하였다. 實驗 動物을 實驗 前 24時間 絶食시킨 후, 血小板 凝集 誘發 試藥의 靜脈 注射 2時間 전에 上記한 濃度の HHS를 ICR계 mouse에 經口 投與하였으며, 陽性對照群으로는 aspirin 100 mg/kg을 經口 投與하였다. 抗血栓效果는 血小板 凝集 試藥의 投與로 인하여 發生하는 mouse 뒷다리의 痲痺나 죽음으로부터 保護된 實驗 動物 숫자의 百分率로 計算하였으며, 여기서 痲痺는 20분 이상 뒷다리의 機能을 상실하거나 떨림 상태가 持續될 때를 基準으로 하였다.

2) Dextran 瘀血 病態 誘發 實驗

① Dextran 瘀血 病態 誘發 및 藥物 投與

白鼠 8마리를 1군으로 하여 正常群(Normal), 對照群(Control) 및 實驗群(HHS)으로 각각 나누었다. 正常群은 生理食鹽水を 供給하고, 對照群은 生理食鹽水を 投與한 지 1시간 후에 dextran 瘀血 病態를 誘發하였으며, HHS 投與群은 77.6 mg/200 g/day을 生理食鹽水 2ml에 溶解하여 oral zonde로 實驗 하루 전에 1회 經口 投與하고, 이 후 絶食시킨 후 實驗하기 1시간 전에 다시 1회 經口 投與한 후 對照群과 同一한 方法으로 dextran 瘀血 病態를 誘發하였다. Dextran 瘀血 病態 誘發 : Dextran(분자량 21만)을 生理食鹽水에 넣고 加熱하면서 완전히 溶解시켜 10 % 濃度の 溶液을 만들어 1.1 ml/200 g(rat)씩 白鼠의 尾靜脈에 3분 이내에 全量 注射하고, 4時間 經過 후 心臟 穿刺로 採血하여 各種 檢査를 實施하였다. 正常群 및 對照群은 實驗 藥物 대신 生理食鹽水を 投與하여 實驗群과 同一한 시각에 各種 指標을 檢査하였다.

② 血小板數 測定

血小板數 測定은 3.6 % sodium citrate 溶液을 가지고 心臟 採血 후 바로 自動血球計算器, Minos-ST(Cobas Co., France)를 사용하여 血小板數를 測定하였다.

③ Prothrombin time 測定

Prothrombin time은 3.6 % sodium citrate 용액을 가지고 心臟 採血 後 3,000 rpm으로 遠心分離를 이용하여 血清을 불리한 후 生理食鹽水와 1:1로 섞은 다음 Simplastin Kit(General Diagnostics, U.S.A)를 使用하여 ACL- 100(Instrumentation Laboratory, U.S.A.)으로 測定하였다.

④ Activated Partial Thromboplastin time 測定

Activated Partial Thromboplastin time(APTT)은 3.6 % sodium citrate 용액을 가지고 心臟 採血 後 3,000 rpm으로 遠心分離를 이용하여 血清을 불리한 후 生理食鹽水와 1:1로 섞은 다음 Simplastin Kit (General Diagnostics, U.S.A)를 使用하여 ACL-100(Instrumentation Laboratory, U.S.A.)으로 測定하였다.

⑤ Fibrinogen 量 測定

Fibrinogen 量은 3.6 % sodium citrate 溶液을 가지고 心臟 採血 後 3,000 rpm으로 遠心分離를 이용하여 血清을 분리한 후 生理食鹽水와 1:1로 섞은 다음 Simplastin Kit(General Diagnostics, U.S.A)를 사용하여 ACL-100 (Instrumentation Laboratory, U.S.A.)으로 測定하였다.

3) 血流 速度 測定

HHS를 10日間 SD에 經口 投與하고 dextran으로 瘀血 病態를 誘發을 한 다음 heparin(1000 units/ml) 처리한 syringe를 이용하여 採血하였다. 採血한 血液을 acid citrate dextrous (ACD) 溶液으로 5배 稀釋한 다음 一定한 크기의 유리관을 통과하게 하여 血流 速度에 미치는 影響을 測定하였다. 5 ml의 稀釋 血液을 基準으로 直徑 2 mm의 크기를 가진 유리관을 通過하는데 걸리는 時間을 測定하여 決定하였고, 實驗에 사용한 稀釋 血液은 37℃가 維持되도록 하였다.

6. 統計處理

實驗 結果는 unpaired student's T-test를 使用하여 統計 處理하였으며 P<0.05 또는 P<0.01 水準에서 有意性을 檢定하였다.

실험성적

■ In vitro

1 血小板 凝集(Platelet Aggregation) 抑制 效果

In vitro에서 最終 濃度 ADP(6 μM) 의해서 誘導된 血小板 凝集에 대한 阻害 效果를 測定하기 위하여 濃도에 대한 最大 凝集率 %과 inhibition %를 算出하였다. 먼저 HHS를 濃度別로(10 mg/ml, 5 mg/ml, 2.5 mg/ml)로 處理하여 ADP(6 μM)에 의해서 誘導된 血小板 凝集 反應을 測定하였는데, 對照群의 最大 凝集率 이 61 %로 나타난 반면, HHS 10 mg/ml 投與群은 最大 凝集率 0 %, 抑制率 100 %로 나타났고, 5 mg/ml 投與群은 最大 凝集率 2 %, 抑制率 96.7 %로 나타났으며, 2.5 mg/ml 投與群은 最大 凝集率 13 %, 抑制率 78.68 %로 나타났다(Fig. 1).

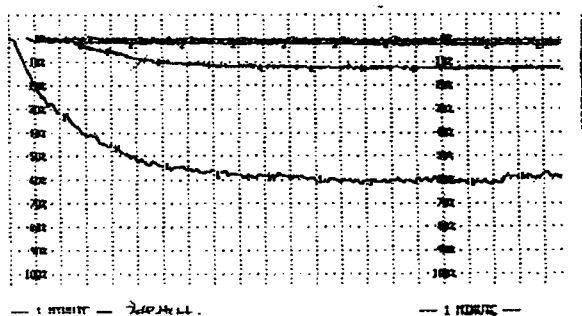


Fig. 1. Effect of HHS on human platelet aggregation induced by ADP. Each line represent the platelet aggregation curve recorded on a chart at a speed of 25 cm/min, where the relative optical transmission of PPP and PRP were designed as 0 and 100 respectively. 1 : Control, 2 : 10 mg/ml, 3 : 5 mg/ml, 4 : 2.5 mg/ml

Epinephrine(5 μM)에 의해 誘導된 血小板 凝集에 대한 阻

害 效果에서는 對照群의 最大 凝集率이 63%로 나타났으나, HHS 를 ADP 實驗과 同一 濃度別(10 mg/ml, 5 mg/ml, 2.5 mg/ml)로 處理한 實驗群에서는 모두 最大 凝集率 0%, 抑制率 100 %로 나타 났다(Fig. 2).

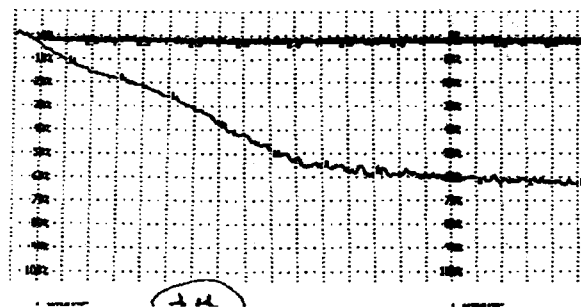


Fig. 2. Effect of HHS on human platelet aggregation induced by Epinephrine. Each line represent the platelet aggregation curve recorded on a chart at a speed of 2.5 cm/min, where the relative optical transmission of PPP and PRP were designed as 0 and 100 respectively. 1 : Control, 2 : 10 mg/ml, 3 : 5 mg/ml, 4 : 2.5 mg/ml

2. ADP와 epinephrine에 대한 Emax, EC50 및 γ 값

各 濃도에 대한 inhibition %는 computer program WinNonlin을 이용하여 Sigmoid Emax model에 적용하여 fitting 하였는데(Fig. 3), fitted된 그래프로부터 산출된 Emax, EC50 및 γ의 pharmaco-dynamic parameter는 Table 2에 나타난 바와 같다. 凝集 誘導體로 ADP를 使用한 경우 Emax는 134.39 % 이고, EC50은 1.71 μg/ml 이었고, epinephrine의 경우는 Emax가 96.36 %, EC50은 0.004 g/ml 으로 나타났다. Sigmoid Emax model에서 曲線의 sigmoidicity를 나타내는 γ은 ADP가 0.48 로 나타났다(Table 2).

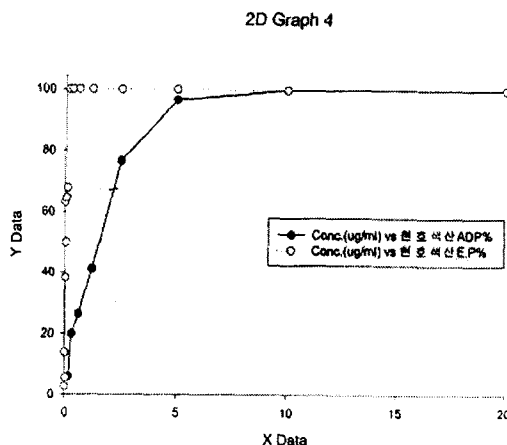


Fig. 3. In vitro pharmacodynamic response (inhibition %) versus concentration of HHS using the Sigmoid Emax model in WinNonlin. The solid and open circles are observed values of ADP and epinephrine-induced aggregation, respectively. The solid lines and dashed line are the model predicted values of ADP and epinephrine.

Table 2. Pharmacodynamic Parameter Estimated by Sigmoid Emax Model in WinNolin Program

Inducer	Parameter	Emax (%)	EC50(μ g/ml)	γ
	ADP	134.39	1.71	0.48
	Epinephrine	96.36	0.004	-

3. Fibrinolytic activity에 미치는 효과

Fibrin plate 상에 disk를 이용하여 양성對照群인 urokinase를 0.1 ml(100 iu/ml)를 점적하고, HHS를 濃度別로 점적한 다음 37°C incubater 에 24 時間 동안 放置하여 溶解되는 whole well 의 크기를 測定한 결과, 양성 對照群인 urokinase에서는 2.0cm 정도로 fibrin plate를 溶解시켰고, HHS 投與群은 濃度 依存的으로 fibrin plate를 溶解시켰지만 양성 對照群보다는 效果的인 結果가 나타나지 않았다(Table 3).

Table 3. Effect of HHS on the Fibrinolytic Activity by Fibrin Plate

Group	Concentration	Fibrinolysis size per Dilutions(cm)
Urokinase	10 iu/disk	2.0
Sam A	10 mg/disk	1.0 >
Sam B	5 mg/disk	1.0 >
Sam C	2.5 mg/disk	-

Urokinase : 10 u/dsk treated group. Sam A : 10 mg/disk HHS treated group. Sam B : 5 mg/disk HHS treated group. Sam C : 2.5 mg/disk HHS treated group.

4. 血栓 誘發에 따른 血流 速度에 미치는 효과

正常群의 血液에 直接 藥物을 投與시켜 血流 速度를 測定한 結果 正常群은 25.74 ± 1.25(sec), 對照群은 27.00 ± 1.45(sec), HHS 投與群은 26.44 ± 0.88(sec)로 나타나 對照群에 비하여 血流 速度가 減少하였으나, 有意性은 나타나지 않았다(Table 4).

Table 4. Effect of HHS on Blood Flow Rate in Vitro

Sample	Flow Rate(sec)
Normal	25.74 ± 1.25
Control	27.00 ± 1.45
HHS	26.44 ± 0.88

a) : Mean ± Standard Error. Normal : Normal blood. Control : Normal blood treated with 10% dextran, HHS : Normal blood treated with 10% dextran and 1 mg/ml of HHS extracts.

■ In vivo

1. 肺塞栓(Pulmonary embolism)에 대한 효과

Collagen과 epinephrine에 의해 誘導된 肺塞栓 實驗에서 對照群은 8마리 중 7마리가 죽거나 30분간 이상 痲痺가 持續이 된 반면, 양성 對照群인 aspirin 投與群은 8마리중 2마리만이 죽거나 15분 이상 痲痺가 持續 되었다. 이에 반하여 HHS 投與群은 8마리중 6마리가 죽거나 15분 이상 痲痺가 持續되어 對照群에 비하여 약 14% 抑制 效果를 나타내었다(Table 5).

2. Dextran 瘀血 病態에 미치는 효과

1) 血小板數에 미치는 효과

血小板數 變化에서는 正常群이 889.00 ± 18.80(× 10³/mm³)인데 비하여, 對照群은 686.00 ± 5.67(× 10³/mm³)로 나타났으며, HHS 投與群은 765.00 ± 6.99(× 10³/mm³)로 나타나 對照群에 비해 有意性있게 血小板 凝集을 抑制하였다(Table 6).

Table 5. Effect of HHS on Pulmonary Embolism Mice

	Dose (mg/20g)	No. of killed or paralyzed / No. tested	% Protection
Control	HBSS	7/8	0
Aspirin	2	2/8	60
HHS	7.76	6/8	14

HBSS : Hanks' Balanced Salt Solution, Control : 11.3 μ g collagen and 1.32 μ g epinephrin/200 μ l/20 g treated group. Aspirin : 11.3 μ g collagen and 1.32 μ g epinephrin/200 μ l/20 g treated group after oral administration of 50 mg/kg of aspirin. HHS : 11.3 μ g collagen and 1.32 μ g epinephrin/200 μ l/20 g treated group after oral administration of 7.76 mg/20g of HHS extracts.

Table 6. Effect of HHS on Platelet in Dextran Treated Rat

Group	NO. of animals	Platelet(× 10 ³ /mm ³)
Normal	8	889.00 ± 18.80
Control	8	686.00 ± 5.67 + +
HHS	8	765.00 ± 6.99***

a) : Mean ± Standard Error. Normal : Oral administration of normal saline. Control : 1.1 ml/200 g dextran i.v. injected group after oral administration of normal saline. Glibbht : 1.1 ml/200 g dextran i.v. injected group after oral administration of 77.6 mg/200 g of HHS extracts. + : Statistically significant value compared with normal data(+ : P<0.05, ++ : P<0.01, +++ : P<0.001). * : Statistically significant value compared with control data(* : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001)

2) Prothrombin time에 미치는 효과

Prothrombin time에 대한 效果에서는 正常群은 13.50 ± 1.73(sec)인데 비하여, 對照群은 15.40 ± 1.39(sec), HHS 投與群은 13.60 ± 1.10(sec)로 對照群에 비하여 PT가 減少하였으나, 有意性은 나타나지 않았다(Table 7).

Table 7. Effect of HHS on Prothrombin Time in Dextran Treated Rat

Group	NO. of animals	Prothrombin time (sec)
Normal	8	13.50 ± 1.73
Control	8	15.40 ± 1.39
HHS	8	13.60 ± 1.10

3) Activated partial thromboplastin time(APTT)에 미치는 효과

APTT에 대한 效果에서는 正常群은 54.50 ± 1.40(sec), 對照群은 63.20 ± 1.20(sec), HHS 投與群은 56.30 ± 1.12(sec)로 나타나 對照群에 비하여 有意性있게 減少하였다(Table 8).

Table 8. Effect of HHS on Activated Partial Thromboplastin Time in Dextran Treated Rat

Group	NO. of animals	APTT(sec)
Normal	8	54.50 ± 1.40
Control	8	63.20 ± 1.20 +
HHS	8	56.30 ± 1.12*

+ : Statistically significant value compared with normal data(+ : P<0.05, ++ : P<0.01, +++ : P<0.001) * : Statistically significant value compared with control data* : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001)

4) Fibrinogen 量에 미치는 효과

Fibrinogen 量에 대한 效果에서는 正常群은 235.00 ± 6.57(mg/dl), 對照群은 209.00 ± 7.31(mg/dl), HHS 投與群은 234.00 ± 2.81(mg/dl)으로 나타나, 對照群에 비하여 有意性있는 增加를 나타내었다(Table 9).

3. 血流 速度에 미치는 효과

Dextran으로 瘀血을 誘發시킨 SD에서 血液을 採取하여 血流 速度를 測定한 결과, 正常群은 26.44 ± 0.85(sec), 對照群은

33.75±1.10(sec), HHS 投與群은 28.75±1.23 (sec)로 對照群에 비하여 有意性 있는 減少 效果를 나타내었다(Table 10).

Table 9. Effect of HHS on the Volume of Fibrinogen in Dextran Treated Rat

Group	NO. of animals	Fibrinogen(mg/dl)
Normal	8	235.00±6.57
Control	8	209.00±7.31+
HHS	8	234.00±2.81**

+: Statistically significant value compared with normal data(+ : P<0.05, ++ : P<0.01, +++ : P<0.001). *: Statistically significant value compared with control data(* : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001)

Table 10. Enhancement of Blood Flow Rate by Administration of HHS in Vivo

Sample	NO. of animals	Flow Rate(sec)
Normal	8	26.44±0.85
Control	8	33.75±1.10+
HHS	8	28.75±1.23*

a) : Mean ± Standard Error, Normal : Oral administration of normal saline, Control : 1.1 ml/200 g dextran v. injected group after oral administration of normal saline, HHS : 1.1 ml/200 g dextran v. injected group after oral administration of 77.6 mg/200 g of HHS extracts. +: Statistically significant value compared with normal data(+ : P<0.05, ++ : P<0.01, +++ : P<0.001) * : Statistically significant value compared with control data(* : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001)

고찰

正常 止血이란 血管이 破裂되거나 또는 다른 形態의 損傷을 받을 때 出血을 막기 위한 生理的 反應으로 血液이 단단히 凝塊하는 現狀을 말한다. 反面 血栓症이란 損傷되지 않는 正常 血管 또는 극히 微細하게 損傷된 血管內에서 不適切하게 血液 凝塊가 形成되어 血流 障礙를 招來하는 病的인 過程을 말한다^{20,21}. 血栓은 時間이 지남에 따라 4가지 경도로 바뀌어 간다. 첫째는 계속 成長하여 血管을 閉鎖하고, 둘째는 血栓의 일부가 떨어져 나가 塞栓을 만들며, 셋째는 纖維素 溶解 酵素의 活性에 의해 작은 血栓은 없어질 수도 있다. 마지막으로 넷째는 血栓에 炎症이 일어나 器質化되며, 新生 血管이 만들어져 再 貫通이 될 수 있다^{20,22}.

이 같은 發病 機轉을 지닌 血栓은 두가지 이유에서 특히 重要한데, 첫째는 動脈과 靜脈의 內腔을 閉鎖시키며, 둘째는 塞栓의 원천이 될 수 있다. 靜脈血栓은 原位部에 充血과 浮腫을 일으킬 수 있으며, 간혹 臨床적으로 심각한 結果를 招來하기도 한다. 下肢의 深部 靜脈에 생긴 血栓이 떨어져 나가 肺動脈 塞栓症이나 肺梗塞을 일으키면 死亡할 수도 있다. 또한 動脈血栓도 塞栓을 일으킬 수 있으며, 특히 冠狀動脈 血栓은 心筋梗塞을, 腦動脈 血栓은 腦梗塞을 일으킨다는 점이다^{22,23}. 現在 2003년 統計報告가 아직 作成되지 않았지만, 血栓 등에 의한 心血管 疾患 發生率은 매년 높아져 社會的 問題가 되고 있다²⁴. 韓醫學에서도 이러한 現實의 狀況과 中風 등의 循環器 疾患이 臨床적으로 가장 많은 患者를 차지한다는 점에서 보다 根本的이고 效果的인 循環器 疾患의 治療 對策 마련에 많은 投資를 하고 있다. 특히 血液循環 障礙, 血液 成分의 變化 및 結體 組織의 增殖 變成으로 認識되어 지는 瘀血과 循環器 疾患의 主要 原因인 血栓의 病理 및 症狀이 相互 類似하여, 1980년 中반부터 瘀血에 活用되는 活血化瘀 處方 및 藥物의 抗血栓 作用에 대한 檢索이 활발하게 이루어지고 있

다. 또한 이러한 實驗의 研究를 통하여 活血化瘀 藥物 및 處方이 血液의 粘稠度를 變하게 하고, 血管의 張力을 增加시키며, 血小板의 凝集을 調節하고 微循環을 改善시킨다는 結論에 이르고 있으며, 臨床적으로도 이에 관련된 有意性있는 多様な 結果가 報告⁶⁻¹⁹되고 있다. 本 試料인 玄胡索散은 延胡索散, 玄胡當歸散 등의 異名이 있으며, 處方 構成은 文獻에 따라 多少 差異가 있다². 《婦人良方》¹⁾에서는 熟地黃 40g, 玄胡索, 當歸, 川芎 桂心 30g, 木香, 枳殼, 赤芍藥, 桃仁 20g으로 構成되어 婦人血氣 攻心腹痛을 治한다고 하였으며, 《景岳全書·婦人規古方》에서는 當歸, 赤芍藥, 劉寄奴, 沒藥, 枳殼(炒), 玄胡索(炒) 각 等분으로, 血積小腹 疼痛, 或因氣逆而月經不行, 肚腹作痛을 治한다고 하였으며, 《濟陰綱目》³⁾에서는 當歸(酒浸), 赤芍藥(炒), 玄胡索, 蒲黃(炒), 桂皮, 硫黃, 沒藥 各 4g으로 構成되어 七情所傷에 의한 心腹腰脇痛과 經行腹痛을 治한다고 하였으며, 《女科準繩》⁵⁾에서는 玄胡索, 當歸 40g, 赤芍藥 20g, 桂心 12g, 琥珀, 蒲黃(炒) 10g, 紅藍花 8g으로 構成되어 瘀血痛, 兒枕痛을 治한다고 하였고, 《沈氏尊生書》⁴⁾에서는 玄胡索, 當歸, 赤芍藥, 蒲黃(炒), 官桂 20g, 黃蓮, 木香, 乳香, 沒藥 12g, 甘草(炙) 10g으로 構成되어 婦人の 七情鬱結, 心腹作痛, 一切 血氣痛을 治한다고 記載되어 있다. 全體적으로 藥物 構成은 當歸, 赤芍藥, 玄胡索 등 活血化瘀 藥物이 共通적으로 配合되어 있고, 여기에 각각 活血化瘀行血 藥物과 行氣 藥物을 配合하여, 주로 瘀血로 인한 心·腹部 疾患 및 女性 疾患에 應用되고 있다.

本 實驗에서는 上記한 處方中 보다 多様な 藥物로 構成된 沈³⁾의 玄胡索散을 試料로 選擇하였는데, 이는 向後 個別 藥物 및 藥物間的 相互 作用에 대한 研究를 위해 보다 많은 藥物로 構成된 處方을 選擇한 것이다. 實驗에 앞서 構成 藥物의 效能과 實驗 研究를 살펴보면 다음과 같다. 玄胡索은 活血, 散瘀, 理氣, 止痛 作用으로 胸脇脘腹疼痛, 經閉痛經, 產後瘀阻 등을 治하며²⁵, 冠狀動脈 血流量 增加, 心搏動 調節, 消炎·鎮痛作用, 抗潰瘍, 催眠·鎮靜 作用에 대한 實驗의 研究²⁶⁻²⁹가 있다. 當歸는 補血和血 調經止痛, 潤燥滑腸 作用으로 婦人漏下, 血虛 或 血瘀經閉, 痛經, 頭痛, 風濕痺痛 등을 治하며²⁵, 實驗的 研究로 子宮平滑筋, 氣管 支平滑筋 弛緩 作用, 血小板凝集 抑制 作用, 脾臟淋巴球促進作用, 抗溶血作用 등이 報告^{26,30,31}된 바가 있다. 蒲黃은 涼血止血, 破血消腫, 活血祛瘀, 消炎利尿 作用으로 崩漏, 月經過多 등의 出血, 특히 瘀血性 出血症과 經閉, 婦人痛經, 心腹疼痛, 產後腹痛 (兒枕痛), 惡露不盡, 下焦濕熱瘀積, 小便淋瀝作痛 등을 治한다²⁵. 이에 대한 實驗的 研究로는 endotoxin에 의해 誘發된 白鼠의 瘀血病態 模型에 미치는 영향³², mouse의 血漿 prothrombin Time 에 미치는 影響³³, 消炎·鎮痛作用 등²⁶이 있다. 赤芍藥은 清熱涼血, 散瘀止痛 作用으로 經閉痛經, 癥瘕腹痛, 溫毒發斑, 癰腫瘡瘍, 吐血衄血 등을 治한다²⁵. 實驗的으로 抗血栓, 抗血小板凝集 作用 등이 報告^{26,34}된 바가 있다. 肉桂는 溫補脾腎, 散寒止痛, 通利血脈 作用으로 胃腹冷痛, 虛寒泄瀉, 寒痺腰痛, 經閉癥瘕 등을 治한다²⁵. 이에 대한 實驗的 研究로는 抗潰瘍作用, 止瀉作用, 肝保護作用, 抗血小板凝集 및 抗高脂血 作用이 報告²⁶된 바가 있다. 甘草는 補脾益氣, 清熱解毒, 緩急止痛, 調和諸藥 作用으로 脾胃虛弱, 倦怠無力, 心悸氣短, 四肢攣急疼痛 등을 治한다²⁵. 이에 대한

實驗의 研究로는 抗潰瘍作用, 抗痙攣, 補肝作用, 抗高脂血作用 등이 報告²⁶⁾된 바가 있다. 乳香은 調氣活血, 止痛, 追毒作用으로 心腹疼痛, 癰瘡腫毒, 打撲損傷 등을 治하며²⁵⁾, 이에 대한 實驗의 研究로 凝固 및 凝集時間 延長, 全血粘度 降下, 血小板表面活性 및 凝集 抑制 등에 대한 報告^{26,35,36)}가 있다. 沒藥은 散血祛瘀, 消腫止痛 등의 作用으로 筋骨胸腹疼痛, 癥瘕, 經閉 등을 治하며²⁵⁾, 이에 대한 實驗의 研究로 乳香과 同一한 研究^{26,36)}가 이루어진 바가 있다. 이 밖에 黃連은 清熱燥濕, 瀉火解毒作用으로 濕熱痞滿, 嘔吐瀉利, 黃疸, 吐血 등을 治하며²⁵⁾, 포도상구균, 폐렴구균 등에 대한 抗菌作用, 降血壓作用, 心搏動調節作用, 抗潰瘍作用 등이 報告^{26,37)}된 바가 있으며, 木香은 行氣止痛, 溫中和胃作用으로 中寒氣滯, 脘腹脹痛, 嘔吐, 泄瀉 등을 治한다²⁵⁾. 이와 같이 玄胡索散은 活血祛瘀 藥物을 中心으로 構成되어 있고, 構成 個別 藥物 역시 이미 實驗의 研究로 活血化瘀作用이 糾明된 바가 있어, 血栓症에 보다 效果的으로 作用할 것으로 思料된다. 먼저 in vitro에서는 platelet aggregation, fibrinolytic activity, blood flow rate 등을 測定하였는데, platelet aggregation 抑制作用에서는 血小板凝集에 대해 關與하는 部位가 서로 다른 凝集 誘導劑인 ADP와 epinephrine을 使用하였다. 血液 循環에서 血小板 必修 活性 因子中 하나는 水溶性 物質인 ADP (adenosine diphosphate)는 血管의 傷害 部分에서 濃度가 增加하여 그 곳에서 血小板들이 蓄積된다³⁸⁾. 따라서 血栓에 대한 作用 檢索時 가장 基本的으로 ADP로 誘導된 血小板 凝集에 대한 檢索이 이루어지는데, 本 實驗에서는 濃度 依存的으로 抑制하였고, Sigmoid Emax model에 적용하여 fitting한 결과(Fig. 3), Emax와 EC50은 각각 134.39 %와 1.71 $\mu\text{g/ml}$ 로 나타났다(Table 2).

이와는 달리 epinephrine은 副腎髓質에서 分泌되는 hormone으로 心搏數 및 心臟에서 내보내는 血液量을 增加시키고 血管壁에 作用하여 血管을 收縮시키며, 酸素消費도 增加시켜 基礎代謝를 높이는 作用을 하는데³⁹⁾, 本 實驗에서는 ADP와 同一한 濃度로 實施한 實驗群에서 모두 100 % 抑制率을 나타내었다(Fig. 2). 아울러 Emax는 96.36%, EC50은 0.004 $\mu\text{g/ml}$ 로 나타났는데(Table 2, Fig. 3), 이는 本 試料가 複合 物質로 이루어진 單一 藥劑라는 점에서 epinephrine에 의해 誘導된 血小板 凝集에 매우 效果的임을 알 수 있다. Fibrinolytic activity에 대한 實驗에서는 HHS 投與群은 濃度 依存的으로 fibrin plate를 溶解시켰지만 陽性 對照群보다는 效果的인 結果가 나타내지는 않았다(Table 3, Fig. 4). 이 같은 結果는 李¹²⁾의 加味通經湯, 崔⁴⁰⁾의 通痺飲 등의 實驗 結果와 類似하여 複合方에서의 fibrinolytic activity는 보다 높은 濃度에서 檢索되어야 할 것으로 보이며, 이에 대한 實驗의 補完이 必要할 것으로 思料된다. 血流速度 測定에서는 in vitro에서 對照群에 비하여 有意성이 나타나지 않았지만(Table 4), in vivo 實驗에서는 對照群에 비하여 有意性있는 增加를 나타내었는데, 이 같은 結果는 本 試料가 生體內에서 多様な 機轉에 의해 血流 速度를 增加시킴을 말해주는 結果로 認識할 수 있다(Table 10). 다음으로 in vivo에서는 먼저 血栓症 in vivo 스크린에 基本的으로 사용되는 肺塞栓 實驗을 實施하였는데, 對照群에 비해 약 14% 抑制 效果를 나타내었다(Table 5). 이 같은 結果는

蘇痰湯 50%와 加味蘇痰湯 70%⁴¹⁾, 通痺飲 40%⁴⁰⁾ 등 祛痰順氣 藥物을 中心으로 한 處方보다는 다소 微弱한 것으로 보인다.

蘇痰湯 등의 祛痰順氣 處方이 活血化瘀 處方보다 높게 나타난 점은 非生理的인 物質로써 瘀血과 痰飲이 同源이라는 韓醫學 理論에 맞추어 이를 說明할 수 있을 것으로 보이나, 이에 대한 研究는 個別 藥物에 대한 檢索이 이루어진 후에 可能 할 것으로 보인다. 또한 같은 效能을 지닌 活血化瘀 處方인 加味通經湯이 50%¹²⁾로 나타난 반면, 加味生化湯⁴²⁾이 本 試料와 同一하게 20% 이내의 抑制 效果를 나타낸 점은 尙後 構成 藥物의 個別的인 檢索과 相乘 作用에 대한 研究의 必要性을 示唆해주고 있으며, 아울러 祛痰順氣藥物과 活血化瘀 藥物의 多様な 配合를 통한 處方 構成이 血栓症에 보다 效果的일 수 있음을 說明해주고 있다. 다음으로 血栓症 病態 모델로 자주 사용되는 Dextran 病態 모델을 이용하여 瘀血을 誘發시킨 후 HHS를 投與하여 止血과 血栓 疾患에 關聯된 檢査를 實施하였다.

瘀血 病態를 誘發하기 위한 方法으로 使用된 dextran은 葡萄糖으로 구성된 水溶性多糖類로서 血漿增量劑로 사용되고, 抗原抗體反應을 일으킬 가능성이 많고 血小板凝集을 妨害하며 赤血球 凝集을 促進시킨다^{43,44)}. 대부분 止血과 凝固(혹은 凝集)는 血管과 血液內 血小板, 凝固와 纖維素 溶解에 作用하는 血漿蛋白과 關聯이 있어, 이와 關聯된 實驗은 대부분 血小板數, prothrombin time(PT), activated partial thromboplastin time(APTT) 및 blood flow rate 등을 基本的으로 測定한다⁴⁵⁾. 血小板은 巨核球 細胞質의 작은 破片으로, 血管內膜이 損傷된 경우 露出된 內皮下層에 血小板이 凝集하여 止血이 이루어지며, 膜에 함유된 多量의 磷脂質을 中心으로 한 血液의 凝固作用, 細胞構成 因子와 代謝物質에 의한 血管運動, 炎症反應, 動脈硬化現狀과 關聯이 있다고 알려져 있어 生體內에서 凝血 및 血栓形成에 큰 役割을 擔當한다. 또한 血液疾患뿐만 아니라 感染症 혹은 腫瘍에 의한 疾患 등에 있어 그 診斷, 症狀, 豫後의 判定, 治療效果와 全身狀態를 파악하기 위한 重要한 指標가 되는데⁴⁶⁾, 本 實驗에서는 對照群에 비해 有意性있게 血小板數가 增加하여(Table 6), 既存의 活血化瘀 處方의 抗血小板 凝集作用에 대한 報告와 附合되었다. Prothrombin time은 血液凝固檢査의 基本的인 檢査로, 血漿에 組織 thrombo plastin과 calcium을 첨가하여 fibrin이 析出될 때까지의 時間을 測定하는 것이다⁴⁷⁾. 이는 血液內 프로트롬빈의 全體量을 나타내는 檢査法으로, 外因性 凝固系(II, V, VII, X 因子)의 全般的인 機能을 檢討하기 위한 檢査이며, 短縮은 凝固性 亢進을 意味하고 延長은 凝固性 抑制를 意味한다^{47,48)}. 本 實驗에서는 對照群에 비하여 減少하였으나 有意성은 나타나지 않았다(Table 7, Fig. 8). 그러나 正常群과 큰 차이가 나타나지 않은 것으로 보아 prothrombin time 短縮面에서도 一定한 效果가 있음을 알 수 있다. APTT 檢査는 內的 機轉의 트롬보플라스틴 形成에 關係되는 因子 등의 缺乏을 檢出하는 銳敏한 檢査로 組織 thromboplastin을 가하지 않고 接觸因子를 活性化시킨 후 血漿의 凝固 時間을 測定하는 것이다^{47,48)}. 이 檢査에 使用되는 부분 트롬보플라스틴은 제 5, 8, 9, 10, 11 12 因子에 作用을 하는 成分들을 包含하고 있지 않기 때문에 이런 凝固 因子들이 缺乏된 血

滿은 凝固를 시키지 않는다. 프로트롬빈이나 피브리노겐에 缺乏이 있으면, 凝血 첫 段階에서는 異狀이 없어도 APTT가 延長될 수 있다. 이런 이유로 프로트롬빈시간(PT) 檢査를 同時에 測定하여 PT는 正常인데 APTT가 길어진 경우 內的 凝固 機轉의 異狀으로 判定한다⁴⁹⁾. 즉 제 8, 9, 11, 12 因子의 缺乏을 疑心한다. 반대로 PT는 延長되어 있는데 APTT는 正常이면 제 7 凝固 因子의 缺乏으로 診斷하는데, 本 實驗에서는 prothrombin time 結果와 有關하게 對照群에 비하여 有意性있게 減少하였다(Table 8).

Fibrinogen은 凝固 過程에서 第 I 因子라고도 불리며, 最終 段階에 있어서의 重要な 凝固 因子다. 트롬빈(thrombin)(활성화 제 II 인자)의 작용에 의해 fibrin monomer에 轉化하면, 서로 重合해서 fibrin polymer가 되어 凝固를 생기고, 第 XIII 因子의 作用으로 가교화 되어서 강한 fibrin 血栓이 되는데^{47,48)}, 이러한 fibrinogen 量은 本 實驗에서 對照群에 비하여 有意性있는 增加를 나타내었다(Table 9).

이상의 內容을 綜合하여 보면 platelet aggregation 抑制作用에서는 특히 epinephrine에 의해 誘導된 血小板 凝集에 매우 效果적으로 나타나, 이에 대한 持續的인 研究가 기대되며, 血流 速度에서는 in vivo 實驗에서 有意性있는 結果가 나타나 本 試料가 體內에서 多様な 藥物 代謝 機轉을 통해 抗血栓 作用을 發揮함을 推測할 수 있었다. 아울러 動物 實驗에서 血小板의 變化, APTT 및 fibrinogen 量에 대하여 有意性있는 結果가 導出되고, 비록 有意성은 나타나지 않았지만 正常群의 수치와 비슷하게 나타난 PT 結果 등은 尙後 數種의 藥物 配合를 통해 血栓으로 인한 多様な 疾患에 本 試料가 基本方으로 應用 될 수 있음을 보여 주고 있다.

결 론

玄胡索散이 抗血栓作用에 미치는 影響을 觀察한 結果, Adenosine diphosphate로 誘導된 血小板 凝集 抑制 效果에서는 濃度 依存的으로 凝集을 抑制하였고, Emax와 EC50이 각각 134.39 %와 1.71 $\mu\text{g/ml}$ 로 나타났고, Epinephrine으로 誘導된 血小板 凝集 抑制 效果에서는 2.5 mg/ml 이상의 濃度에서 100 % 抑制率을 나타내었으며, Emax와 EC50이 각각 96.36%, 0.004 $\mu\text{g/ml}$ 로 나타났으며, Collagen과 epinephrine으로 誘發한 肺塞栓 實驗에서는 對照群에 비해 14%의 抑制效果를 나타내었으나 陽性對照群에 비하여서는 微弱하였다. 또, Fibrinolytic activity에 對한 效果에서는 濃度 依存的으로 fibrin plate를 용해시켰지만 陽性對照群에 비하여서는 微弱하였고, 血流速度 變化에서는 in vitro에서 有意성이 나타나지 않았지만, in vivo 實驗에서는 對照群에 비하여 有意性있는 增加를 나타냈으며, Dextran 瘀血病態 모델에서 血小板數, APTT, fibrinogen 量은 對照群에 비하여 有意性있는 增加를 나타내었으나, prothrombin time은 有意性있는 結果가 나타나지 않았다.

이상의 結果로 보아 玄胡索散의 抗血栓作用이 認定되어, 血栓으로 인한 多様な 疾患에 應用 可能할 것으로 보이며, 尙後 보다 效果的인 抗血栓 治療劑 開發을 위해 構成 藥物 및 數種 藥

物과의 配合에 대한 研究가 持續적으로 이루어져야 할 것으로 思料된다.

참고문헌

1. 진자명 : 婦人良方大典(校注婦人良方注釋), 一社, pp.360-363, 1989.
2. 허점민 외 : 中醫大辭典, 人民衛生出版社, p.168, 1980.
3. 무지망 : 濟陰綱目, p.34, 大成出版社, 1982.
4. 심금존 : 沈氏尊生書, 中國中醫學出版社, p.869, 1997.
5. 왕금당 : 女科證治繩, 翰成社, p.450, 1982.
6. 우원홍 외 : 活血化瘀의 東西醫學의 理解, 東醫生理病理學會誌, 15(6), pp.833-838, 2001.
7. 강춘화 : 活血化瘀研究新編, 上海醫科大學出版社, 1990.
8. 김기현 외 : 實驗의 研究의 方向 摸索을 위한 考察(I), 東醫病理學會誌, 5(1): 17-30, 1990.
9. 강순수 : 韓醫學에서의 瘀血에 대한 概念, 大韓韓醫學會誌, 5(1) : pp.138~140, 1984.
10. 윤길영 : 東醫學의 客觀化와 東西醫學 病名 統一을 위한 方法, 東洋醫學, 2(4) : pp.7~15, 1976.
11. 전병훈 외 : 瘀血의 概念에 대한 東醫學의 考察, 東醫病理學會誌, Vol. 4, pp.138-140, 1989.
12. 이해경 : 加味通經湯의 抗血栓, 消炎 및 鎮痛作用에 대한 研究, 大田大學校大學院, 2002.
13. 최승훈 : 血府逐瘀湯이 血栓症과 皮下血腫에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院, 1987.
14. 서민화 : 失笑散이 Endotoxin으로 誘發된 白鼠의 血栓症에 미치는 影響, 圓光大學校大學院, 1992.
15. 조흥건 : 歸朮破瘀湯이 endotoxin으로 誘發된 白鼠의 實驗의 血栓症에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1994.
16. 전기석 : 桃仁承氣湯과 加味桃仁承氣湯이 Endotoxin으로 유발된 白鼠의 血栓症에 미치는 影響, 서울, 慶熙大學校大學院, 1994.
17. 문종모 : 桂枝茯苓丸, 抵當湯 및 桂枝茯苓丸合豬苓湯이 Endotoxin으로 誘發된 白鼠의 血栓症에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1996.
18. 이종희 : Endotoxin에 의해 誘發된 白鼠의 瘀血 病態 모형에 蒲黃 水鍼이 미치는 影響, 東國大學校大學院, 1994.
19. 홍유성 : 赤芍藥 水鍼이 白鼠의 抗血栓 作用에 미치는 影響, 圓光大學校大學院, 1995.
20. 대한병리학회 : 병리학, 고문사, pp.75-86, 2000
21. 서울대학교 의과대학 내과학교실 : 내과학, 군자출판사, p.186, pp.146~147, 176~183, 212~218, 226~227, 235~247, 1996.
22. Kimura, Y., Tani, T., and Watanabe, K. Effect of cilostazol on platelet aggregation and experimental thrombosis. *Arzneim. Forsch./Drug Res.*, 35(II):1144-1149, 1985.
23. 대한병리학회 : 병리학II, 고문사, pp.112~129, 1995.

24. 통계청 : 사망원인통계연보, pp.16-17, 1999.
25. 전국한의과대학본초학교실 : 본초학, 영림사, p.180, 195, 336, 353, 578, 401, 410, 412, 540, 1991.
26. 왕육생 외 : 中藥藥理與應用, 人民衛生出版社, 439-449, 1983
27. 이병천 : 玄胡索 水鍼이 鎮痛 作用에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1991.
28. 문영식 : 玄胡索湯 煎湯液이 實驗 動物의 鎮痛, 止血效果와 摘出子宮筋에 미치는 影響, 圓光大學校大學院, 1990.
29. 안현석 : 玄胡索 藥針刺戟이 鎮痛, 抗痙攣 및 抗潰瘍 效果에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院, 1994.
30. 윤중수 : 藥學學報, 15(6) ; 326, 1980.
31. 서리병 : 中國藥理學報, 2(1) ; 35, 1981.
32. 정 경 외 : 五靈脂 및 蒲黃이 Mouse의 血漿 Prothrombin Time에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院, 1979.
33. 이종희 : Endotoxin에 의해 誘發된 白鼠의 瘀血病態 模型에 蒲黃水鍼이 미치는 影響, 東國大學校大學院, 1994.
34. 성은미 : 赤芍藥 藥鍼이 關節炎에 미치는 實驗的 研究, 大田大學校大學院, 2000.
35. 유덕렬 : 硫黃, 沒藥이 鎮痛 消炎作用에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院, 1980.
36. 임윤경 : 玄胡索, 乳香, 沒藥 複合劑 藥鍼 刺戟의 鎮痛 效果에 대한 研究, 慶熙大學校大學院, 1997.
37. 신정인 : 黃連의 Helicobacter pylori에 대한 抗菌 效果, 東國大學校大學院, 2002.
38. Cornell RF, Randolph TR. : The minimum concentration of fibrinogen needed for platelet aggregation using ADP, Clin Lab Sci., Winter; 15 (1) : 30-6, 2002.
39. 最新醫療大百科事典編纂委員會 : 原色最新醫療大百科事典, 新太陽社, 12卷, p.70, 1992.
40. 崔榮 : 通痺飲이 血栓 및 腦損傷에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 2002.
41. 金允植 : 蘇痰湯과 加味蘇痰湯이 腦損傷 및 血栓에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 2000.
42. 孫泰熏 : 加味生化湯의 抗血栓 및 鎮痛效果에 對한 研究, 大田大學校大學院, 2001.
43. 李宇宙 : 醫學辭典, 아카데미서적, pp.313, 508, 1992.
44. 金敬煥 : 李宇宙의 藥理學 講義, 醫學文化社. pp.781, 782, 1998.
45. 대한임상병리학회 : 臨床病理學, 高麗醫學, pp.212-228, 1996.
46. 理工產業編輯部 : 헨디臨床檢査法, 理工產業, pp.139, 142, 1973.
47. 金井泉, 金井正光 : 臨床檢査法提要, 高文社, pp.341, 355, 361, 1991.
48. 金箕洪 譯 : 檢査成績의 臨床的 活用, 高文社, pp.120, 122~124, 1980.