

## 발효 갈근탕과 쌍화탕의 혈소판 응집 억제 효과 연구

손추영\*\* · 송병정\*\* · 마진열\* · 권광일\*\*.#

\*한국 한의학 연구원, \*\*충남대학교 약학대학 임상약학실

(Received June 7, 2011; Revised July 31, 2011; Accepted August 23, 2011)

### Anti-platelet Aggregation Study of Fermented Galgeun Tang and Fermented Ssanghwa Tang

Chu-Young Son\*\*, Byung-Jeong Song\*\*, Jin Yeul Ma\* and Kwang-Il Kwon\*\*.#

\*Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon 305-811, Korea

\*\*Department of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

**Abstract** — This study was performed to evaluate enhanced effect of fermented Galgeun tang (GGT) and Ssanghwa tang (SHT) on the anti-platelet aggregation. Platelet aggregation assay was performed *In vitro* using human platelet rich plasma (PRP) and *In vivo* using SD-rat plasma by platelet aggregometer. Pharmacodynamic parameters,  $E_{max}$  and  $EC_{50}$ , were calculated using Winnolin. SD-rats administered 1 g/kg of oriental medicine every 12 hr for 8 days. Platelet aggregation was measured by optical method with collagen inducer (4  $\mu$ g/ml). In *In vitro* anti-platelet study,  $EC_{50}$  of GGT-A was lower than that of GGT-con about 79.13  $\mu$ g/ml. And  $EC_{50}$  of SHT-A and SHT-B was lower than that of SHT-con about 122.73 and 110.15  $\mu$ g/ml, respectively. It is assumed that fermented GGT and SHT were more effective than original medicine. In multiple administration study, anti-platelet effect was significantly increased both GGT and SHT. Fermented GGT and SHT were more effective than original herbal medicine on anti-platelet aggregation.

**Keywords** □ Galgeun tang, Ssanghwa tang, fermentation, anti-platelet, original medicine

인구 고령화와 생활 환경의 변화로 노인성 질환, 만성·난치성 질환 증가와 함께 동양에서만 국한적으로 사용되던 한방 처방에 대한 관심과 수요가 증가하였다. 이러한 관심의 급증과 함께 한방처방의 문제점 역시 대두되고 있다. 그 문제점은 한약제에 의한 부작용 및 독성, 불순물이나 오염에 의한 문제, 타 약물과의 상호 작용, 동일 한방처방에 대한 개개인의 약효 차이 등이다. 최근 연구 결과에 따르면 개개인의 효과 차이는 장내세균에 의한 대사 정도 때문이라고 규명되었다. 이는 체내에서 흡수, 분포, 대사, 배설 과정을 거치는 약물과는 달리 한방처방내에 다량 함유되어 있는 배당체들이 흡수되기 전에 장내세균에 의한 대사를 거치는 경우가 많기 때문이다. 따라서 인체 내에 존재하는 장내 세균총의 차이로 인해 흡수되는 양에 차이가 생겨 결국 개개인의 효능차이가 야기된다. 이러한 문제점을 보완하는 방법으로 본 연구에서는 한약재를 유산균이나 효모균과 같은 미생물로 발

효시켜 유효성분을 추출함과 동시에 한방처방의 흡수율 문제를 개선시키고자 하였다.<sup>1,2)</sup>

갈근탕은 갈근(葛根), 마황(麻黃), 생강(生薑), 대추, 감초(甘草), 작약(芍藥), 계지(桂枝) 등 7가지 생약의 복합제제이며 쌍화탕은 백작약(白芍藥), 숙지황(熟地黃), 당귀(當歸), 천궁(天芎)으로 구성된 사물탕과 황기(黃耆), 계피(桂皮), 감초(甘草), 대추, 생강(生薑)으로 조합된 황기건중탕을 합방한 처방이다. 갈근탕은 흔히 감기 몸살에 사용되어온 한방처방으로 백혈구 주화성 항진작용과 면역능 증강작용을 통하여 염증 초기반응에서 혈관 투과성이 항진되어 부종이 생겼을 때 세균의 탐식능을 증강시키고 혈관 투과성을 억제하여 염증 반응을 개선시킨다.<sup>3)</sup> 쌍화탕은 혈액과 관련된 일체의 질병을 치료하여 보혈의 대표적 처방인 사물탕과 아무 때나 땀이 축축하게 흐르는 자한증에 뛰어난 효과를 발휘하는 황기건중탕이 더해진 처방이다. 두 처방 모두 감기 증상의 완화 및 치료에 사용되는 한방처방으로서 체온의 변화, 염증의 감소, 혈행 개선 효과 등이 있다. 본 연구에서는 혈소판 응집 억제 효과 측정을 통해 혈행 개선 효과 강화를 입증하고자 하였다.

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로  
(전화) 042-821-7310 (팩스) 042-823-6781  
(E-mail) kwon@cnu.ac.kr

재료 및 방법

원방 갈근탕과 쌍화탕

본 연구에 사용된 갈근탕과 쌍화탕은 각 생약재의 무게를 측정 후 건조중량의 10배수 생수(화이트, 무학 산청 샘물)를 가하여 180분간 열수 추출하여 전탕 추출법(초고속 진공 저온 농축 추출기, Cosmos-660, 경서기계산업)을 이용하여 제조하였다. 각 구성 한약재의 원산지 및, 전탕 시 사용된 각 약재의 무게는 Table I에 기술하였으며 본 연구에 사용된 갈근탕과 쌍화탕은 한의학연구원에서 받아 사용하였다.

갈근탕과 쌍화탕의 발효

한방처방의 흡수를 개선하기 위해 갈근탕과 쌍화탕의 발효에 사용된 균주는 모두 한국식품연구원(Korea Food Research Institute; KFRI, Seongnam, Korea) 식품미생물 유전자 은행에서 분양 받았으며, MRS 배지(Difco, Detroit, MI, USA)에서 계대 배양한 뒤 초기균수를  $1 \times 10^6$  CFU/ml로 조절하여 사용하였다. MRS 배지의 조성을 Table II에 표시하였다. 발효는 1 M NaOH로 각 한방처방의 pH를 조정 한 후(갈근탕: 7.0, 쌍화탕: 8.0), 121°C, 1.5 기압에서 15분간 가압멸균하고, 상온까지 냉각시킨 후, 유산균을 1%(v/v)로 접종하고 37°C의 항온배양기에서 48시간 동안 통기 배양하여 갈근탕과 쌍화탕을 발효하였다.<sup>4)</sup> 원방 갈근탕(GGT-con)을 *Lactobacillus plantarum* 144로 발효한 것은 GGT-A, *Lactobacillus plantarum* 402로 발효한 것은 GGT-

Table I - 1. The origin of herbs for Galgeun tang

Specific name	Part used	Weight (g)	Origin
<i>Pueraria lobata</i>	Radix	400	Geochang
<i>Pheum palmatum</i>	Rhizoma	200	China
<i>Zingiber officinale</i>	Rhizoma	50	Wanju
<i>Zyzyphus jujube</i>	Fructus	200	Gyeongsan
<i>Cinnamomum cassia</i>	Bark	150	Vietnam
<i>Paeonia lactiflora</i>	Radix	150	Youngcheon
<i>Glycyrrhizae uralensis</i>	Radix or Rhizoma	100	China

Table I - 2. The origin of herbs for Ssanghwa tang

Specific name	Part used	Weight (g)	Origin
<i>Paeonia lactiflora</i>	Radix	468.5	Youngcheon
<i>Rehmannia glutinosa Liboschitz</i>	Radix	187.5	Gunwi
<i>Astragalus membranaceus</i>	Radix	187.5	Jecheon
<i>Angelica gigas Nakai</i>	Radix	187.5	Pyeongchang
<i>Zingiber officinale</i>	Rhizoma	74.5	Gongju
<i>Zyzyphus jujube</i>	Fructus	100	Gyeongsan
<i>Cinnamomum cassia</i>	Bark	140.5	Vietnam
<i>Cnidium officinale</i>	Rhizoma	187.5	Youngju
<i>Glycyrrhizae uralensis</i>	Radix or Rhizoma	140.5	China

Table II - Composition of MRS culture medium

Substance	Concentration	Substance	Concentration
Peptone	10 g/l	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2 g/l
Beef extract	10 g/l	Sodium acetate	5 g/l
Yeast extract	5 g/l	Triammonium citrate	2 g/l
Glucose	20 g/l	MgSO <sub>4</sub> · 4H <sub>2</sub> O	0.2 g/l
Tween 80	1 mg/l	MnSO <sub>4</sub> · 4H <sub>2</sub> O	0.2 g/l
pH (6.2~6.6)			

B라 명칭 하였으며 원방 쌍화탕(SHT-con)을 *Lactobacillus fermentum* 164로 발효한 것은 SHT-A, *Lactobacillus gasseri* 658로 발효한 것은 SHT-B라 명칭 하였다. 배양된 시험물질을 동결건조하여 시험에 사용하였으며, 추출수율은 23.10% 이었다.

In vitro에서 혈소판 응집 억제효과 연구

**혈액의 준비** - 채혈 지원자는 2주 전부터 혈소판 관련 약물을 복용하지 않은 건강한 남성으로서 채혈한 혈액은 3.8% sodium citrate가 담긴 vacutaine tube에 담았다. 각각의 혈액은 혈구분석기(Coulter Beckham®, Coulter Electronics, USA)로 일반 혈액검사를 실시하여 백혈구 수, 적혈구 수, 혈색소수치, 적혈구 용적(HCT; Hematocrit) 등의 측정 항목이 정상범위에 해당하는 혈액만을 실험에 사용하였다.

**한방처방 용액 및 양성 대조군 용액의 조제** - 갈근탕(GGT-con, GGT-A, GGT-B)과 쌍화탕(SHT-con, SHT-A, SHT-B) 6가지 한방처방의 동결건조분말을 DMSO(Dimethyl sulfoxide, Samchon chemical Co., Korea):0.9% saline(1:3, v/v) 혼합용매에 10 mg/ml의 농도로 용해시켰다. 동일 혼합용매로 계열 희석하여 0.5, 1, 2.5, 5, 7.5, 10 mg/ml 농도의 용액을 제조하였다.

양성 대조군은 ASA(acetyl salicylic acid, Sigma, USA)를 선정하여 한방처방과 동일 혼합용매에 1 mg/ml의 농도로 용해시킨 후 계열 희석하여 10, 50, 100, 500, 1000 µg/ml 농도의 용액을 제조하였다.

**혈소판 응집 측정** - 혈액을 800 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상등액으로부터 platelet rich plasma(PRP)를 얻고 다시 3000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 platelet poor plasma(PPP)를 얻었다. PRP는 혈구분석기를 이용하여 혈소판수를 측정하였으며 PPP를 이용하여 혈소판 수가  $3.5 \times 10^8$ /ml가 되도록 희석하여 사용하였다.

Collagen(4 µg/ml)에 의해 유도되는 혈소판 응집에 대한 한방처방의 억제 효과는 platelet aggregometer(Chrono-Log Corp., 570VS, USA)를 이용하여 측정하였다. Magnetic stirrer bar를 넣은 cuvette에 PRP를 넣은 후 3분간 37°C에서 incubation 시킨 후 각 한방처방제 또는 ASA 시험 용액을 50 µl 가하고, collagen을 가하여 8분간 반응시켰다. 한방처방의 혈소판 응집 억제 정도는 Eq. (1)에 의거하여 transmission maximum reduction

percent를 산출하였다.<sup>5-9)</sup>

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100 \quad \text{Eq. (1)}$$

A = control의 최대 응집도 %

B = 한방처방 투약 후의 최대 응집도 %

**혈소판 응집 저해 효과 분석** - 각 한방처방에 대한 혈소판 응집 억제율(%)은 WinNonlin program을 이용하여 Sigmoid  $E_{\max}$  model에 적용하여 fitting 하였다. Fitted된 그래프로부터 약물동력 매개변수인  $E_{\max}$ ,  $EC_{50}$ 를 산출하였다.<sup>10-12)</sup>

### In vivo에서 혈소판 응집 억제효과 연구

**실험 동물** - 본 실험에 사용된 동물은 웅성 Sprague-Dawley rat(290~320 g)으로 (주) 효창 사이언스사로부터 공급받았으며, 실험 당일까지 고형 사료와 물은 충분히 공급하고, 사육 실내 온도는  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , 상대 습도  $55 \pm 5\%$ , 조명은 12시간 명/암 주기가 되도록 조절하여 일주일간 순화 시킨 후 실험에 사용하였다.

**반복 투여 후 rat 혈액의 준비** - 단기간에 효과가 나타나지 않는 한방처방의 특징을 고려하여 각 한방처방을 1 g/kg의 용량으로 처음 7일간은 12시간 간격으로 하루 두 번, 마지막 8일째는 아침에 한 번 투여하여 총 15번 반복 투여하였다. 마지막 경구 투여 후 3시간이 지나고 회복하여 복대정맥과 복대동맥에서 혈액을 취하여 3.8% sodium citrate와 1:9(v/v)로 혼합하였다.<sup>5-9)</sup>

**혈소판 응집 측정** - 채혈한 혈액은 800 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상등액으로부터 PRP를 얻고 다시 3000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상등액으로부터 PPP를 얻었다.

Magnetic stirrer bar를 넣은 cuvette에 PRP를 넣은 후 3분간  $37^\circ\text{C}$ 에서 incubation시킨 후 collagen(1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 5  $\mu\text{l}$ 를 가하여 최종 collagen의 농도가 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 가 되도록 하여 8분간 반응시켰다. 한방처방에 의한 혈소판 응집 억제 정도는 Eq. (1)에 의거하여 transmission maximum reduction percent를 산출하였다.<sup>5-9)</sup>

한방처방의 응집도(%)는  $\text{mean} \pm \text{S.D}$ 로 나타내었고 통계적인 유의성은 student t-test를 통해 검정하였다.

## 실험결과

### 발효 전후의 쌍화탕, 갈근탕의 비교

발효 전후의 쌍화탕 및 갈근탕의 pH 및 고형분 함량변화는 Table III과 같다

### In vitro에서 혈소판 응집 억제 효과

혈소판 응집 억제 효과 측정을 통해 갈근탕과 쌍화탕 두 한방처방의 발효 전후 효과를 비교하였다. 양성 대조군으로는 혈소

**Table III - 1.** pH and dry weight in Galgeun tang (GGT) fermented with lactic acid bacteria at  $37^\circ\text{C}$  for 48 h

Oriental medicine	pH	Dry weight (%)
GGT-con	$6.42 \pm 0.02$	$2.30 \pm 0.02$
GGT-A	$4.31 \pm 0.02$	$2.31 \pm 0.01$
GGT-B	$4.13 \pm 0.00$	$2.42 \pm 0.02$

**Table III - 2.** pH and dry weight in Ssanghwa tang (SHT) fermented with lactic acid bacteria at  $37^\circ\text{C}$  for 48 h

Oriental medicine	pH	Dry weight (%)
SHT-con	$6.37 \pm 0.00$	$3.93 \pm 0.07$
SHT-A	$4.09 \pm 0.01$	$3.67 \pm 0.03$
SHT-B	$4.01 \pm 0.01$	$3.69 \pm 0.07$

**Table IV** -  $EC_{50}$  and  $E_{\max}$  values of Galgeun tang and Ssanghwa tang on the human platelet aggregation induced by collagen (4  $\mu\text{g}/\text{m}$ )

Oriental medicine		$EC_{50}$ ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	$E_{\max}$ (%)
ASA (Positive control)		$10.09 \pm 2.1$	$120.75 \pm 14.7$
Galgeun tang	GGT-con	$658.40 \pm 101.4$	$108.09 \pm 11.4$
	GGT-A	$576.27 \pm 11.7$	$117.78 \pm 17.5$
	GGT-B	$709.80 \pm 74.1$	$99.93 \pm 8.7$
Ssanghwa tang	SHT-con	$651.61 \pm 92.8$	$118.10 \pm 10.3$
	SHT-A	$528.88 \pm 62.1$	$99.08 \pm 7.8$
	SHT-B	$541.46 \pm 44.1$	$99.98 \pm 2.3$

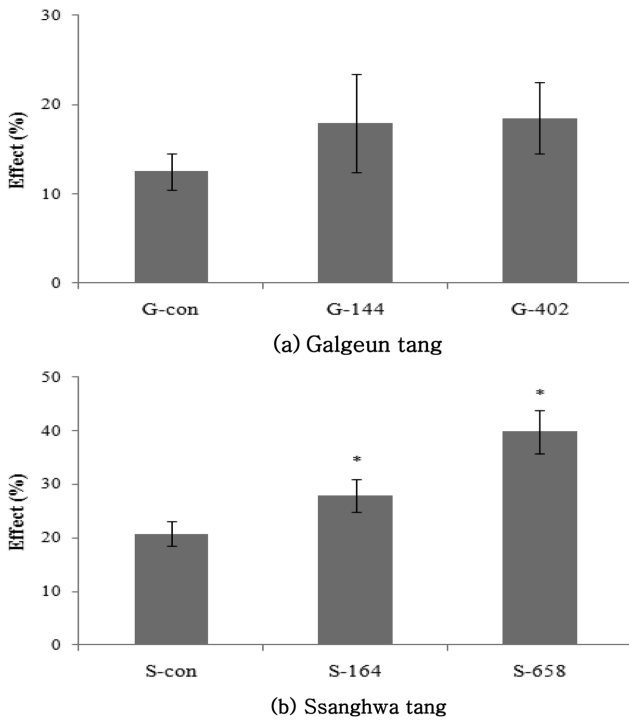
판 응집 억제가 규명된 ASA(Acetyl salicylic acid)를 선정하였다.

각 한방처방의 농도에 따른 inhibition %는 computer program WinNonlin을 이용하여 Sigmoid  $E_{\max}$  model에 적용하여 fitting 하였다. Fitted된 그래프로부터 산출된  $E_{\max}$ ,  $EC_{50}$ 의 약물동력학 매개변수는 Table IV와 같다. 실험 비교를 위하여 양성대조군인 ASA의 약물동력학 매개변수도 함께 정리하였다. GGT-A는 GGT-con에 비하여  $EC_{50}$ 의 값이 79.13  $\mu\text{g}/\text{ml}$  정도 낮은 576.27  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이며, SHT-A와 SHT-B 역시 SHT-con에 비하여  $EC_{50}$ 의 값이 각각 122.73, 110.15  $\mu\text{g}/\text{ml}$  낮게 산출된 528.88, 541.46  $\mu\text{g}/\text{ml}$  이었다. 이는 발효 한방처방이 원방 한방처방에 비하여 더 낮은 농도에서 혈소판 응집 억제 효과가 있다는 것을 의미한다.

### In vivo에서 혈소판 응집 억제 효과

SD-rat에 각 한방처방을 8일간 총 15번의 경구 반복 투여를 한 후 collagen(10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )에 의해 유도된 혈소판 응집에 대한 총 6가지 한방처방의 저해효과를 측정하여 각각에 대한 inhibition %를 산출하였다. 대조군으로 한방처방을 먹이지 않은 SD-rat의 혈액에 collagen을 처리하여 측정된 최대 응집율은  $61.00 \pm 6.89\%$ 로 측정되었다.

갈근탕(GGT-con, GGT-A, GGT-B)과 쌍화탕(SHT-con, SHT-A, SHT-B) 총 6가지 한방처방에 대한 마지막 투약 후 3시간에 서의 응집 억제율을 다음 Fig. 1에 나타내었다. 갈근탕의 경우



**Fig. 1** – Anti-platelet effect of Galgeun tang (GGT-con, GGT-A and GGT-B) and Ssanghwa tang (SHT-con, SHT-A and SHT-B) at 3 hr after 15<sup>th</sup> oral administration in SD-rat (n=3). Student t-test: \*P<0.05 between original oriental medicines (Galgeun tang and Ssanghwa tang) and fermented oriental medicines.

GGT-A의 혈소판 응집 억제 효과는 GGT-con에 비하여 약 5.43% 정도 증가하여 17.93±5.50%이었고, GGT-B는 약 5.97% 정도 증가하여 18.47±4.00%이었다. 쌍화탕의 경우에는 SHT-A의 혈소판 응집 억제 효과가 SHT-con에 비해 약 1.64% 정도 효과가 증가하여 22.40±3.51%이었고, SHT-B는 약 8.74% 정도 증가한 29.50±6.24%이었다.

갈근탕의 경우 원방 갈근탕보다 혈소판 응집 억제 효과가 GGT-A, GGT-B 모두 통계적으로 유의한 차이성을 보이지 않았지만, 쌍화탕은 발효 쌍화탕인 SHT-A, SHT-B 모두 원방 쌍화탕보다 통계적으로 혈소판 응집 억제 효과가 증가하였다(p-value<0.05).

**고찰 및 결론**

오랜 역사 동안 사용되어온 한방처방은 경험으로 인한 효과나 효능뿐만이 아니라 최적의 약효를 얻고, 독성과 같은 부작용을 줄이기 위해서는 약물동태나 약효 평가와 같은 객관적으로 과학적인 연구접목이 필요하다. 또한 세계적으로 한방처방이 사용되기 위해서는 신뢰성 구축을 위한 객관적인 약효검증 시도가 필요하다.

본 연구에서는 개개인에 대해 약효의 차이가 크게 나타나는

한방처방의 문제점을 보완하기 위해 갈근탕과 쌍화탕의 한방처방을 *Lactobacillus* 균주로 발효하였으며, 발효 갈근탕과 쌍화탕의 흡수율 개선으로 인한 약효가 강화되었는지 입증하기 위하여 혈소판 응집 억제 효과를 *in vitro*와 *in vivo*에서 측정하였다. 인체 혈액을 이용한 *in vitro* 실험에서 collagen(4 µg/ml)에 의한 혈소판 응집의 갈근탕과 쌍화탕의 저해효과는 Sigmoid E<sub>max</sub> model에 잘 적용되었다. 발효 갈근탕(GGT-A)과, 발효 쌍화탕(SHT-A, SHT-B)의 EC<sub>50</sub>값은 원방 한방처방의 EC<sub>50</sub>값보다 더 낮게 산출되었는데 즉, 발효 후 갈근탕과 쌍화탕의 혈소판 응집 억제 효과가 증가한 것을 알 수 있다. *In vivo* 실험에서 SD-rat에 발효 전후 갈근탕과 쌍화탕을 1g/kg의 용량으로 15번 반복투여 한 후 측정된 혈소판 응집 억제 작용은 갈근탕과 쌍화탕 모두 원방 한방처방에 비하여 더 높게 측정되었다. Student t-test 결과 갈근탕의 경우 통계적으로 유의한 차이가 보이지 않았지만, 쌍화탕의 경우 통계적으로 유의한 차이가 있어 발효 후 혈소판 응집 억제 효과가 증가하였다.

Glycyrrhizin, cinnamic acid, paeoniflorin, 6-gingerol, puerarin 등 여러 가지 성분의 복합체인 갈근탕과 glycyrrhizin, cinnamic acid, 6-gingerol, puerarin, decursin 등이 포함되어 있는 쌍화탕은 감기·몸살에 일차적으로 사용되어 온 대표적 한방처방이다. 문헌 조사에 따르면 갈근탕과 쌍화탕의 유효성분인 glycyrrhizin, cinnamic acid, paeoniflorin, 6-gingerol, puerarin, decursin에 대한 혈소판 응집 억제효과는 모두 입증되어 있다.<sup>6,13-17</sup> 혈소판 응집 억제 효과가 있는 갈근탕과 쌍화탕이 발효에 의하여 효과가 증가된 것은, 발효과정을 통해 성분들의 흡수가 증대되었기 때문이라 예상되며 특히 배당체인 glycyrrhizin, paeoniflorin과 같은 경우는 발효과정에서 당이 떨어져 나가 aglycone 상태가 되면서 흡수율이 더 증대된 것이라 예상된다.<sup>18-22</sup> 이미 한국에서는 발효 한방처방에 대한 연구가 진행되고 있으며 앞으로 실험을 통한 과학적인 입증과 기전 연구를 계속 진행해 나간다면 개개인에 따라 효과 차이가 나는 문제점 해결을 물론이고 발효 한방처방만의 이점도 규명해 낼 수 있을 것이다.<sup>23-25</sup>

**감사의 말씀**

본 연구는 2010년도 한국한의학연구원 지원사업의 연구비 지원(Y10032)에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

**참고문헌**

- 1) Jin, J. S., Nishihata, T., Kakiuchi, N. and Hattori, M. : Biotransformation of C-Glucosylisoflavone puerarin to estrogenic (3S)-equol in co-culture of two human intestinal bacteria. *Biol. Pharm. Bull.* **31**, 1621 (2008).
- 2) Kenneth, D. R. S., Nadine, M. B. and Eva, L. O. : The

- clinical importance of the metabolite equol - a clue to the effectiveness of soy and its isoflavones. *J. Nutr.* **132**, 3577 (2002).
- 3) 박영순 : 한방의 약리해설, 아카데미서적, 서울 p. 196 (2002).
  - 4) Kim, D. S., Um, Y. R., Yang, M. C., Yun, N. Y. and Ma, J. Y. : Polyphenol contents and antioxidant activities of fractions from Ssanghwa-tang and fermented Ssanghwa-tang. *Korean Journal of Oriental Medicine.* **18**, 175 (2010).
  - 5) Yun, Y. P., Do, J. H., Ko, S. R., Ryu, S. Y., Kim, J. H., Song, H. C., Park, Y. D., Ahn, K. S. and Kim, S. H. : Effect of Korean red ginseng and its mixed prescription on the high molecular weight dextran-induced blood stasis in rats and human platelet aggregation. *Journal of Ethnopharmacology* **77**, 259 (2001).
  - 6) Lee, Y. Y., Lee, S., Jin, J. L. and Yun-Choi, H. S. : Platelet anti-aggregatory effects of coumarins from the roots of *Angelica genuflexa* and *A. gigas*. *Arch. Pharm. Res.* **26**, 723 (2003).
  - 7) Sugidachi, A., Ogawa, T., Kurihara, A., Hagihara, K. and Jakubowski, J. A. : The greater *in vivo* antiplatelet effects of prasugrel as compared to clopidogrel reflect more efficient generation of its active metabolite with similar antiplatelet activity to that of clopidogrel's active metabolite. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* **5**, 1545 (2007).
  - 8) 이귀희, 임현정, 신선미, 유동열 : 청열조혈탕가미방의 항혈전작용에 대한 실험적 연구. 대한한방부인과학회지 **22**, 79 (2009).
  - 9) 장정순, 이철규, 신장식, 조일환, 서정진 : 구인 (*Lumbricus rubellus*) 추출물의 혈전 분해 및 항혈전 효과. 약학회지 **39**, 666 (1995).
  - 10) Schumacher, W. A., Bostwick, J. S., Ogletree, M. L., Stewart, A. B., Steinbacher, M. A., Hua, J., Price, L. A., Wong, P. C. and Rehfuss, R. P. : Biomarker optimization to track the antithrombotic and hemostatic effects of clopidogrel in rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* **322**, 369 (2007).
  - 11) 김의일, 신용완, 김수민, 이정은, 유동열 : 행경홍화탕의 항혈전 작용에 대한 실험적 연구. 대한한방부인과학회지 **19**, 1 (2006).
  - 12) 류동훈, 신용완, 김의일, 김수민, 이정은, 유동열 : 홍화당귀산의 항혈전 작용에 대한 실험적 연구. 대한한방부인과학회지 **19**, 31 (2006).
  - 13) Kim, D. H., Hong, S. W., Kim, B. T., Bae, E. A., Park, H. Y. and Han, M. J. : Biotransformation of Glycyrrhizin by human intestinal bacteria and its relation to biological activities. *Arch. Pharm. Res.* **23**, 172 (2000).
  - 14) Pyo, M. K., Koo, Y. K. and YunChoi, H. S. : Anti-platelet effect of the phenolic constituents isolated from the leaves of *magnolia obovata*. *Natural Product Sciences* **8**, 147 (2002).
  - 15) Zhu, M., Tang, Y., Duan, J., Guo, J., Guo, S., Su, S., Shang, E., Qian, D. and Ding, A. : Roles of paeoniflorin and senkyunolide I in SiWu decoction on antiplatelet and anticoagulation activities. *J. Sep. Sci.* **33**, 3335 (2010).
  - 16) Guh, J. H., Ko, F. N., Jong, T. T. and Teng, C. M. : Antiplatelet effect of gingerol isolated from *Zingiber officinale*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **47**, 329 (1995).
  - 17) Choo, M. K., Park, E. K., Yoon, H. K. and Kim, D. H. : Antithrombotic and antiallergic of daidzein, a metabolite of puerarin and daidzin produced by human intestinal microflora. *Biological & Pharmaceutical Bulletin.* **25** (2002).
  - 18) Toru, I., Mariusz, K. P., Sachiko, O., Akio, O., Koichiro, T., Makoto, S., Shigehiro, K., Yoshiro, K. and Mamoru, K. : Soy isoflavone aglycones are absorbed faster and in higher amounts than their glucosides in humans. *Journal of Nutrition.* **130**, 1695 (2000).
  - 19) Kaeko, M. and Junji, T. : Antioxidative flavonoid quercetin: implication of its intestinal absorption and metabolism. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **417**, 12 (2003).
  - 20) Eriko, K., Norifumi, S., Yuji, O., Ken, K., Osamu, I., Kunio, K., Akiharu, F. and Michio, U. : Absorption and metabolism of glycosidic sweeteners of stevia mixture and their aglycone, steviol, in rats and humans. *Food and Chemical Toxicology* **41**, 875 (2003).
  - 21) Yan, L. and Ming, H. : Absorption and metabolism of flavonoids in the Caco-2 cell culture model and a perused rat intestinal model. *Drug Metabolism and Disposition* **30**, 370 (2011).
  - 22) 이창호, 김병수, 신미경, 우청주, 김정희, 권기영, 박희동 : 상황버섯 추출액을 이용하여 제조한 된장의 효소 활성 및 기능성의 변화. *Korean J. Food. Preserv.* **15**, 736 (2008).
  - 23) Francischetti, I. M., Monteiro, R. Q. and Guimaraes, J. A. : Identification of glycyrrhizin as a thrombin inhibition. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **235**, 259 (1997).
  - 24) Okuyama, T., Shibata, S., Hoson, M., Kawada, T., Osada, H. and Noguchi, T. : Effect of oriental plant drugs on platelet aggregation; III. Effect of chine drug "Xiebai" on human platelet aggregation. *Planta. Med.* **52**, 171 (1986).
  - 25) Koo, Y. K., Kim, J. M., Koo, J. Y., Kang, S. S., Bae, K., Kim, Y. S., Chung, J. H. and Yun-Choi, H. S. : Platelet anti-aggregator and blood anti-coagulant effects of compounds isolated from *Paeonia lactiflora* and *Paeonia suffruticosa*. *Pharmazie.* **65**, 624 (2010).