

수종 생약제제들의 혈소판 응집억제 작용

김제훈 · 유영선 · 맹미호 · 윤혜숙
서울대학교 생약연구소

Effects of Some Combined Crude Drug Preparations against Platelet Aggregations

Jae Hoon Kim, Young Sun Yoo, Mi Ho Mang and Hye Sook Yun-Choi

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

Abstract—Platelet anti-aggregating activities were evaluated with three combined crude drug preparations which have been used for “*eahyul*”—one of the pathological concept in oriental medicine presumably concerning blood stasis or stagnant syndrome. The water extract of each combined preparation and each component plant was tested for their effects against ADP, arachidonic acid (AA) or collagen induced rat platelet aggregations. Mild inhibitory activities were observed with all the three tested preparations, *Kaechibokryung-Hwan*, *Dangkqijakyak-San* and *Ohnkyung-Tang*, and the component plants which are included in at least two of the above preparations.

Keywords—Platelet anti-aggregating activities·ADP·arachidonic acid(AA)·collagen·“*eahyul*”·blood stasis·crude drug preparations(*Kaechibokryung-Hwan*·*Dangkqijakyak-San*·*Ohnkyung-Tang*)

혈소판은 복잡한 내부구조를 갖는 미세한 혈중 세포로서 정상적인 혈관 내피에는 부착하지 않으나 내피의 손상 등 여러가지 자극에 의하여 손상된 내피에 부착하거나 또는 혈소판 자체끼리의 응집을 일으킨다. 또한 이때 혈소판 내부로부터 adenosine 5'-diphosphate (ADP), thromboxane A₂ 등의 혈소판 응집유도 물질을 분비함으로써 더욱 응집을 촉진시킨다. 이와같은 성질에 의하여 혈소판은 혈관벽에 상처가 생겼을 때 혈전피(platelet plug)를 형성하여 급속한 혈액의 손실을 방지하는 일차방어 기능을 갖는 중요 세포이다. 그러나 비정상적인 혈소판의 활성화는 혈소판 응괴 및 혈전형성을 초래하여 폐쇄성 혈관 질환의 임상적 발현에 관여하게 된다. 특히 심근경색증 또는 뇌혈전증에서는 혈소판 응괴가 직접적인 원인이 되어 조직의 허혈을 초래하게

되며 또한 혈소판에서 유리된 물질들은 혈관수축, 염증, 동맥경화성 혈관 질환의 임상적 발현에도 관련되고 있음이 밝혀지고 있다.

한방에서 어혈증(瘀血症)이라 함은 각종 병리적 원인에 의하여 발생한 전신성 또는 국소성의 혈액순환 장애 또는 혈류정체와 그에 수반되는 일련의 증후를 가리키는 것으로 풀이되고 있으며 또한 어혈에 의한 혈행장애(血行障礙)에 기인하는 것으로 사료되는 각종 증후에 사용되는 처방을 활혈거어제(活血祛瘀劑) 또는 구어혈제(驅瘀血劑)로서 분류하고 있다.^{1~3)}

본 연구에서는 한방에서 어혈증으로 분류되는 여러가지 증상의 개선에 사용되어온 몇몇 구어혈제들의 혈소판 응집에 미치는 영향을 검색함으로써, 어혈증에 있어서 혈소판 활성화 또는 이에 의한 혈전형성의 역할에 대하여 고찰하고자 하

였다. 구 어혈제로서는 대한약사회에서 발간한 한약학(韓藥學)에¹⁾ 제시된 한약처방(韓藥處方) 중 구 어혈제로 분류된 계지복령환(桂枝茯苓丸), 당귀작약산(當歸芍藥散) 및 온경탕(溫經湯)을 각 처방상의 성분생약을 처방에 따라 조합한 후 이로부터 연조엑스를 얻어 시료로 하였다. 또한 각 처방상의 각각의 성분생약으로 부터 연조엑스를 조제하여 시료로 사용하였다.

실험 방법

재료 및 시약

본 실험에 사용된 식물생약은 시중에서 구입하여 사용하였다. ADP(adenosine 5'-diphosphate dicyclohexylammonium salt), AA(arachidonic acid sodium salt) 및 collagen(acid soluble, from calf skin)은 미국의 Sigma Chemical Co.로부터 구입하여 사용하였다.

실험 동물

서울대학교 실험동물 사육장으로 부터 구입한 웅성의 Sprague-Dawley계 흰쥐(220±30 g)를 사용하였다.

시료의 조제

a) 계지복령환 엑스-계지(1.33 g), 복령(1.33 g), 목단피(1.33 g), 도인(1.33 g) 및 작약(1.33 g)을 잘게 썰어 증류수 105 ml를 넣고 100°에서 2시간씩 2회 추출, 여과한후 60° 이하에서 감압 농축하여 연조엑스를 얻었다.

당귀 작약산 엑스-당귀(1 g), 천궁(1 g), 작약(2 g), 복령(1.33 g), 백출(1.33 g) 및 택사(1.66 g)을 잘게 썰어 위와 같은 방법으로 연조엑스를 얻었다.

온경탕 엑스-만하(1.67 g), 맥문동(3.33 g), 당귀(1 g), 천궁(0.67 g), 작약(0.67 g), 인삼(0.67 g), 계지(0.67 g), 아교(0.67 g), 목단피(0.67 g), 감초(0.67 g), 전생강(0.33 g) 및 오수유(1 g)을 잘게 썰어 위와 같은 방법으로 연조엑스를 얻었다.

각 단일 생약의 엑스-각각의 단일생약(10 g)을 잘게 썰어 증류수 105 ml를 넣고 위와 같은 방법으로 연조엑스를 조제하였다.

혈소판 응집억제 작용의 검색

a) 혈소판 농축혈장(Platelet rich plasma, PRP)의 조제

CHCl₃로 마취시킨 흰쥐의 심장으로 부터 2.2% trisodium citrate를 넣은 plastic 주사기를 이용하여 혈액을 채취하였다. Citrate(0.22%) 함유혈액을 200×g로 10분간 상온에서 원심분리하여 상층액 혈소판 농축혈장을 얻었다.

b) 혈소판 응집억제 작용의 검색

Modified smear method⁴⁾ 의하여 다음과 같이 검색하였으며 각각의 시료는 생리식염수에 필요 농도를 용해시켜 사용하였다. Plastic micropipette를 사용하여 PRP 0.16 ml를 프라스틱 시험관에 옮기고 시료용액(control의 경우에는 생리식염수) 0.02 ml를 가하여 혼합하고 37°에서 2분간 배양시켰다. ADP, AA 또는 collagen 용액 0.02 ml를 최종 농도가 각각 7.5×10^{-7} g/ml, 6×10^{-5} g/ml 및 1×10^{-5} g/ml가 되도록 가한후 10초동안 세게 흔든 후 다시 37°에서 4분간 배양하였다. 배양된 혈장을 glass slide에 얇게 smear하여 공기중에서 빨리 건조시키고 Wright-Giemsa 염색하여 오븐에서 건조시켰다. 각각의 smear들은 oil immersion objective lens를 써서 광학현미경(1000×)하에서 slide를 상하좌우로 움직이면서 관찰하여 다음의 기준에 의하여 각각의 혈소판의 응집정도를 판정하였다. 즉, (-), PRP에 생리식염수만을 넣었을때와 같이 혈소판 응집이 일어나지 않은 상태; (±), 약간의 혈소판 응집이 일어난 상태; (+), 혈소판 응집이 상당히 일어났으나 PRP에 혈소판 응집 유도물질을 첨가했을 때 보다는 못미치는 상태; (H), PRP에 혈소판 응집 유도물질을 넣었을때와 같은 정도의 응집이 일어난 상태, 위의 판정 기준에 따라 PRP에 검체 시료와 혈소판 응집 유도물질을 같이 넣었을 때의 혈소판응집도를 검색하였다.

실험 결과 및 고찰

계지복령환, 당귀작약산 및 온경탕은 한약학에¹⁾ 제시된 처방에 따라 성분생약을 조합하였으며 이로부터 대한약전 제제총칙상의 엑스제 제법에 준하여 수침 연조엑스를 조제하여 시료로 하였다. 또한 각각의 성분생약으로 부터도 같은

Table I. Anti-platelet aggregating activities of some crude drugs

Sample	Preparation belonged	Aggregating agents		
		ADP ^a	AA ^b	Collagen ^c
Controls				
PRP(without aggregating agents)		—	—	—
PRP(with aggregating agents)		++	++	++
Aspirin		±(-) ^d	±(-) ^e	±(-) ^f
Combined crude drug preparations				
계지복령환 <i>Kaechibokryung-Hwan</i>	a	+~++	+	+
당귀작약산 <i>Dangkuijakyak-San</i>	b	+~++	+~++	+~++
은경탕 <i>Ohnkyung-Tang</i>	c	+~++	++	+~++
Component plant sample				
작약 <i>Paeoniae Radix</i>	a, b, c	+	+	+
복령 <i>Pachymae Fungus</i>	a, b	+~++	+~++	+~++
복단피 <i>Moutan Cortex Radicis</i>	a, c	+	+	+
계지 <i>Cassiae Cortex</i>	a, c	++	+~++	+~++
당귀 <i>Angelicae Gigantis Radix</i>	b, c	++	+~++	+~++
천궁 <i>Cnidii Rhizoma</i>	b, c	+~++	+	+
도인 <i>Persicae Semen</i>	a	++	++	+~++
택사 <i>Alismatis Rhizoma</i>	b	++	++	++
백출 <i>Atractylodes Rhizoma</i>	b	++	++	++
인삼 <i>Ginseng Radix</i>	c	+~++	+~++	++
진생강 <i>Zingiberis Rhizoma</i>	c	+~++	+	+
감초 <i>Glycyrrhizae Radix</i>	c	++	++	++
반하 <i>Pinelliae Tuber</i>	c	++	++	++
맥문동 <i>Liriopis Tuber</i>	c	+~++	+	+
오수유 <i>Evodiae Fructus</i>	c	+~++	+	+

*a, 7.5×10^{-7} g/ml of ADP, b, 6×10^{-5} g/ml of AA; c, 1×10^{-5} g/ml of collagen,

*Concentration of aspirin; d, 0.5 mg/ml (1 mg/ml in parenthesis), e, 0.025 mg/ml (or 0.05 mg/ml); f, 0.1 mg/ml (or 0.25 mg/ml),

*Concentration of test sample; 5 mg/ml

*The data represents the average of minimum five testings.

방법으로 연조엑스를 조제하였다. 각각의 연조 엑스들이 ADP(adenosine 5'-diphosphate), AA (arachidonic acid) 또는 collagen에 의하여 유도 되는 혈소판 응집에 대하여 억제작용을 갖는가를 modified smear method로서⁴⁾ 검색하였으며, 이를 Table I에 종합하였다. 혈소판 농축혈장(PRP) 자체에서는 혈소판들이 응집을 일으키지 않은 상태(-)를, PRP에 응집유도 물질인 ADP, AA 또는 collagen을 가하였을때는 혈소판들이 응집을 일으킨 상태(++)를 관찰할 수 있었다. Positive control로서 aspirin은 Table에 명시된 각각의 실

험농도에서 (±) 또는 (-)의 응집도를 보임으로서 ADP, AA 또는 collagen에 의한 혈소판 응집에 대하여 강력한 억제작용을 갖음을 확인할 수 있었으며 혈소판 응집 억제작용 물질을 함유한 엑스 시료들도 이들 응집유도 물질에 의한 혈소판 응집을 감소시킬 것으로 기대되었다. 계지복령환, 당귀작약산, 은경탕 엑스시료 및 15개의 생약엑스 시료를 PRP에 가한 후 응집유도 물질을 넣어 응집반응을 유도하였을 때, 복합제제중에는 계지복령환이 AA 및 collagen에 의한 혈소판 응집에서 응집도 (+)로서 가장 강한 억

제작용을 보였다. 단일 생약중에서는 작약과 목단피가 ADP, AA 및 collagen에 의한 혈소판응집 모두에서 응집도 (+)로서 억제작용을 나타내었으며, 천궁, 전생강, 맥분동 및 오수유가 AA 및 collagen에 대하여 응집도 (+)로서 억제작용을 보였다. 이외 도인, 택사, 백출, 감초, 반하를 제외한 모든 수침엑스 시료들이 적어도 2종 이상의 응집유도 물질에 의한 혈소판 응집에 대하여 약한 억제작용(응집도 +~++)을 보였다. 본 연구에 포함된 단일생약중 작약, 인삼 등의 몇몇 생약들의 혈소판 응집 억제작용에 대하여는 이미 보고된 바 있으나^{5,6)}, 대부분의 경우 보고된 바와 같은 정도의 억제작용을 관찰할 수 없었으며 이는 생약으로 부터 검색시료의 조제방법이 상이하기 때문인 것으로 판단된다.

본 실험결과로서 계지복령환, 당귀작약산, 온경탕 등의 구 어혈제들이 강력하지는 않으나 약한 혈소판 응집억제 작용을 갖임을 확인하였으며, 처방상의 성분생약중 세가지 처방에 모두 포함된 작약 및 두가지 처방에 포함된 복령, 목단피, 계지, 당귀 및 천궁 또한 약한 응집억제 작용을 갖임을 확인하였다. 생약제제들은 대부분 장기간 복용함으로써 완만하고 지속적인 약효를

기대하며, 강력한 혈소판 응집억제제를 장기간 복용할 경우 내출혈 등의 부작용을 유발한 가능성이 있음을 감안할 때, 이들 약한 혈소판 응집 억제 작용 생약제들이 새로운 혈소판 응집 내지 혈전 형성을 예방함으로써 증상을 서서히 개선할 가능성이 있음이 시사되었다.

감사의 말씀—본 연구를 진행함에 있어 엑스시료의 조제에 도움을 주신 한풍제약 주식회사에 감사드립니다.

〈1990년 3월 20일 접수 : 4월 28일 수리〉

문 헌

1. 한약연구소위원회 : 한약학, p. 53, 대한약사회(1986)
2. 이상인, 안덕균, 신민교 : 한약임상응용, p. 298, 성보사 (1982).
3. 신민교 : 임상본초학, p. 143, 453, 남산당 (1986).
4. Brossi, A., Dumont, R., Yun-Choi, H.S. and Lee, J.R.: *Arch. Pharm. Res.* 10, 100 (1987).
5. Yun-Choi, H.S., Kim, S.O., Kim, J.H., Lee, J.R. and Cho, H.I.: *J. Nat. Prod.* 48, 363 (1985).
6. Yun-Choi, H.S., Kim, J.H. and Lee, J.R.: *Kor. J. Pharmacogn.* 17, 19 (1986).