

수종 생약의 항혈전활성

윤혜숙 · 정교순 · 김문희 · 오재희
서울대학교 천연물과학연구소

Antithrombotic Effects of Some Traditional Plant Medicines

Hye Sook Yun-Choi, Kyo Soon Chung, Moon Hee Kim and Jay Hee Oh
Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea

Abstract—Twentyfive plant crude drugs with traditional reputation were selected for the antithrombotic screening. MeOH (80%) extract of each plant was given (500 mg/Kg, *p.o.*) to mice 1 hr prior to the thrombotic challenge (1.8 mg collagen plus 180 ug epinephrine/Kg, *i.v.*). Seven extracts (1, 2, 8, 10, 18, 22 and 23) showed either comparable or better recovery than aspirin (50 mg/Kg, *p.o.*) from paralysis caused by the pulmonary thrombosis. 1, 2, 8, 10, 18, 22 and 23 were fractionated to CH₂Cl₂ soluble (fr I) and H₂O soluble (fr II) fractions and each fraction (100 mg/Kg, *p.o.*) was also tested. Mice treated with fr I of 2 (*Angelica koreana*), 10 (*Corydalis* spp.) or 23 (*Schizonepeta tenuifolia*) showed higher recovery and lower mortality rates than aspirin (50 mg/Kg, *p.o.*) treated mice.

Keywords—Antithrombotic, *Angeleia koreana*, *Corydalis* spp, *Schizonepeta tenuifolia*.

지혈(hemostasis)은 손상된 혈관으로부터 혈액의 손실을 최소화 하기 위한 생체반응으로서, 순환혈액의 정상적인 유동성을 유지시키기 위한 일련의 생체방어기전이다. 혈전증상(thrombosis)은 지혈에 대응하는 병적인 상태로서, 폐쇄혈관 내에서 각종 과민반응에 의하여 지혈기전이 활성화되고, 이에 의하여 혈소판 응집과 또는 지혈과 등의 혈전(thrombus)이 형성됨에 따라 혈관내의 원활한 혈액의 흐름이 방해를 받는 상태로서, 이러한 지혈 또는 혈전 형성과정에는 혈소판, 혈장 응고제, 피브린용해제 등의 각종 혈액구성인자, 혈관내피세포 및 혈액의 유동성 등이 상호 상승적 또는 억제적으로 매우 복잡하게 관여한다. 지혈기전의 활성화에 따라 혈전은 동맥, 정맥, 모세혈관 또는 심장등 순환기계의 어느곳에도 발생하고 혈류를 따라 이동하기도 하며, 동맥혈전의

경우 해당부위에 허혈 또는 경색을 일으켜 심근경색증, 뇌졸중, 폐동맥경색증 등의 심각한 질환으로 발전하기도 하고, 정맥혈전의 경우 해당부위에 부종 또는 염증을 일으킨다. 또한 혈소판의 비정상적인 활성화에 의하여 생성되는 미세혈전들은 동맥경화증, 고혈압, 당뇨병 등의 발현에도 관여함이 밝혀지고 있어 항혈전작용 약물들은 각종 혈전관련 질환들의 예방 및 치료에 유효할 것으로 기대된다. 특히 근래 평균수명의 연장과 더불어 각종 심장, 혈액관련질환 이환율이 급격히 증가하는 추세에 있어 항혈전작용 약물의 개발에 많은 관심이 집중되고 있다.

혈전성 질환의 예방과 치료에는 항응고제, 항혈소판제와 혈전용해제 등이 사용되고 있다. 혈전용해제는 이미 형성된 혈전을 용해시켜 혈전으로 인한 각종 응급상황에서의 단기치료 목적으로

사용되거나 전신적 또는 국소적인 출혈 등의 부작용으로 인하여 예방 또는 장기치료에는 부적합하며, 헤파린, 쿠마린 등의 항응고제 등 또한 출혈성 부작용이 문제점으로 지적되고 있다. 아스피린 등의 혈소판응집 억제작용 약물들이 근래에 심근경색증 등의 혈전관련 질환의 일차발병 후 재발방지에 유용한 것으로 밝혀지고 있고, 따라서 지혈 또는 혈전형성의 초기단계인 혈소판응집에 억제작용을 갖는 항혈소판제들이 혈전성 질환의 예방이나 혈전관련 질환의 일차발병 후 재발방지 약물로서 유용할 것으로 기대되며, 근래에 TXA₂ 길항작용, c-AMP 상승작용, Ca²⁺통로 차단작용 등을 갖는 새로운 항혈소판 작용물질에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있다.

저자들은 천연물로부터 항혈전작용 물질의 개발을 목표로하여 전통약물로서 혈전관련 질환에 사용되어 온 식물생약을 검색하여 보고하는 바이다. 식물생약은 동의보감등의 전통의학서에 어혈, 풍등의 혈전관련 질환 또는 혈전관련 증상의 개선목적으로 기재된 단방생약 또는 복방생약중 여러 처방에 출현빈도가 높은 식물생약 25종을 선정하여 실험하였다. 실험방법으로는 마우스 혈전증 모델을 채택하였다. 본 실험방법은 혈전유도물질을 마우스에 정맥주사 함으로서 폐동맥에 혈전을 유발시키고, 이어서 폐경색을 일으킴으로서 마우스를 사망에 이르게하는 방법으로서, 항혈전작용 물질의 투여로서 사망률이 저하함을 관찰하게 되며, 작은 실험동물을 이용하여 짧은 시간내에 시료의 항혈전 효과를 검색할수 있는 장점이있다.^{1,6)}

실험방법

실험재료 및 시약 - 본실험에 사용된 식물생약들은 경동시장에서 구입하여 서울대학교 천연물과학연구소 지형준교수의 감정을 받아 사용하였다. Collagen은 미국 Sigma Chem. Co.(St. Louis, Mo, U.S.A.)로부터 구입하였으며 epinephrine은 대한약품의 주사용제제를 사용하였다.

시료의 조제 - 식물생약들은 추출에 적합하도록 절단 또는 분쇄하여 각 200 g을 추출병에 넣

고 80% MoOH과 환류냉각 시키면서 수욕상에서 3시간씩 2회 추출한 후 여과하고, 여액으로부터 용매를 감압증류 제거하여 생약 엑스시료를 조제하였다. 항혈전작용을 갖는 엑스시료들은 각각 증류수에 현탁한 후 CH₂Cl₂로 추출하여 CH₂Cl₂층과 H₂O층으로 나누고, 감압하에서 각 용매층으로부터 용매를 제거하여 CH₂Cl₂가용 분획시료(fr I) 및 H₂O 가용 분획시료(fr II)를 조제하였다.

항혈전작용 검색 - 각 생약엑스 시료 10-15 mg는 2.5% CMC용액 5-7.5 ml에 녹여 시료용액을 제조하였다. 미리 약 3시간 절식시킨 마우스(ICR계, 20 + 2 g)에 검색시료 용액 25 ml/Kg을 경구투여하고 (대조군의 경우 2.5% CMC용액), 1 시간 후 collagen과 epinephrine의 혼합용액 (1.8 mg collagen + 180 ug epinephrine/10 ml saline/Kg)을 꼬리정맥에 주사한후 15분간 마비의 지속, 사망 또는 마비로부터의 회복 여부를 관찰하였다.

결과 및 고찰

본 연구자 등은 전통약물 38종을 선정하여 혈소판응집 억제작용을 검색한바 있다.^{7,8)} 실험관내 검색법은 적은 양의 시료로서 간단하게 생물활성을 검색할 수 있는 장점이 있는 반면에, 실험관내에서 강력한 작용을 갖는 시료라 하더라도 동물 생체 투여에 의한 작용을 보장할 수는 없는 단점이 있어 신물질 개발을 위한 천연물의 검색에는 동물실험을 병행함이 바람직하다. 근래에 마우스에 collagen과 epinephrine 또는 collagen과 serotonin 등 2종 이상의 혈소판응집 유도물질을 동시에 투여함으로서 짧은 시간에 폐동맥에 다량의 혈전형성을 유도하는 혈전 실험모델이 항혈전작용 검색에 많이 이용되고있다.^{1,3,6)} 즉 혈전형성에 의하여 폐동맥이 폐색되어 호흡곤란과 전신마비가 뒤따르며 이에따라 급성사망을 일으키는 혈전 실험모델로서 본실험에서는 collagen과 epinephrine의 혼합용액(1.8 mg collagen plus 180 ug epinephrine/Kg)을 마우스 꼬리정맥에 주사하였을 때 실험한 27마리의 마우스중 5분 이내에 70%가 사망하였고 6분 이내에 1마리(4%)만이 마비로부터 회복되었으며, 15분 이내

Table 1. Protection of mice from thrombotic challenge with the oral administration of plant extracts

no	plant name	family	part of the plant used	total no of mice tested	recovered within 6min		recovered within 15min		killed within 5min	
					no	%	no	%	no	%
	control			27	1	4	3	11	19	70
1	<i>Angelica gigas</i> Nakai	Umbelliferae	radix	11	0	0	7	64	4	36
2	<i>Angelica koreana</i> Max.	Umbelliferae	radix	10	2	20	6	60	3	30
3	<i>Angelica tenuissima</i> Nakai	Umbelliferae	radix	6	0	0	2	33	3	50
4	<i>Aralia cordata</i> Thunberg	Araliaceae	radix	6	0	0	2	33	2	33
5	<i>Arisaema</i> spp.	Araceae	tuber	12	0	0	7	58	5	42
6	<i>Bupleurum falcatum</i> Linne	Umbelliferae	radix	7	1	14	2	28	3	43
7	<i>Caesalpinia sappan</i> Linne	Leguminosae	lignum	5	1	20	1	20	2	40
8	<i>Carthamus tinctorius</i> Linne	Compositae	flos	12	0	0	7	58	3	25
9	<i>Cinnamomum cassia</i> Blume	Lauraceae	cortex	6	0	0	3	50	2	33
10	<i>Corydalis</i> spp.	Papaveraceae	tuber	13	0	0	8	62	4	31
11	<i>Cnidii officinale</i> Makino	Umbelliferae	rhizoma	6	0	0	2	33	4	67
12	<i>Curcuma longa</i> Linne	Zingiberaceae	rhizoma	5	0	0	0	0	4	80
13	<i>Gastrodia elata</i> Blume	Orchidaceae	rhizoma	6	1	17	3	50	2	33
14	<i>Leonurus sibiricus</i> Linne	Labiatae	herba	12	0	0	6	50	3	25
15	<i>Ligustrum lucidum</i> Aitou	Oleaceae	fructus	6	0	0	0	0	6	100
16	<i>Liriope platyphylla</i> Wang et Tang	Liliaceae	tuber	6	0	0	3	50	2	33
17	<i>Panax notoginseng</i> F. H. Chen	Araliaceae	radix	6	0	0	1	17	4	67
18	<i>Peucedanum japonicum</i> Thunb.	Umbelliferae	radix	13	0	0	8	62	5	39
19	<i>Prunus Persica</i> Batsch	Rosaceae	semen	6	0	0	2	33	2	33
20	<i>Rebmania glutinosa</i> var. <i>purpurea</i> Makino	Scrophulaceae	radix	12	1	8	7	58	5	42
21	<i>Rheum undulatum</i> Linne	Polygonaceae	rhizoma	6	0	0	2	33	3	50
22	<i>Salvia multiorbiza</i> Bunge	Labiatae	radix	12	1	8	6	67	2	17
23	<i>Schizonepeta tenuifolia</i> Briq.	Labiatae	spica	19	6	32	12	63	4	21
24	<i>Scirpus flaviatilis</i> A. Gray	Cyperaceae	rhizoma	6	0	0	2	33	4	67
25	<i>Typha</i> spp.	Typhaceae	pollen	6	0	0	2	33	4	67
	aspirin			32	1	3	18	56	8	25

*Extract (500 mg/Kg) or aspirin (50 mg/Kg) was given orally 1 hr prior to the thrombotic challenge.

에 급성 혈전증상으로부터 회복되어 자유로이 움직인 마우스는 3마리(11%)인 반면 89%인 24마리는 15분 이내에 사망하거나 15분이상 전신마비 상태가 지속되었다. 검색시료들은 혈전 유도 물질을 주사하기 1시간 전에 경구투여하였으며, 양성대조군으로서 aspirin 50 mg/Kg을 투여한 마우스군의 경우 6분 이내 회복률은 대조군에 비하여 개선되지 않았으나 5분 이내 사망률이 25%

로 감소하였고 15분 이내 회복률 또한 56%로 증가하여 혈전증상이 대조군에 비하여 경감되었음을 보였다. 엑스시료들은 각 500 mg/Kg을 경구 투여하고 혈전유도 약물에 의한 마비의 지속, 사망 또는 마비로부터의 회복여부를 15분간 관찰하여 결과를 Table 1에 정리하였다. 25종의 엑스시료 투여군중 15분 이내 회복률이 양성대조군인 aspirin 투여군의 56%보다 높은 시료는 당귀(1),

Table 2. Protection of mice from thrombotic challenge with the oral administration of the fractions of plant extracts

no	plant name	fraction	total no of mice tested	recovered within 6min		recovered within 15min		killed within 5min	
				no	%	no	%	no	%
	control		27	1	4	3	11	19	70
1-I	<i>Angelica gigas</i> Nakai	I	14	0	0	3	21	8	57
1-II	"	II	14	0	0	3	21	11	79
2-I	<i>Angelica koreana</i> Max.	I	10	3	30	7	70	1	10
2-II	"	II	6	1	17	3	50	3	50
8-I	<i>Carthamus tinctorius</i> Linne	I	6	0	0	1	17	5	83
8-II	"	II	6	1	17	2	33	4	67
10-I	<i>Corydalis</i> spp.	I	22	2	9	15	68	6	27
10-II	"	II	7	0	0	3	43	3	43
18-I	<i>Peucedanum japonicum</i> Thunb.	I	12	2	17	7	58	5	42
18-II	"	II	12	0	0	3	25	5	42
22-I	<i>Salvia miltiorrhiza</i> Bunge	I	6	0	0	0	0	6	100
22-II	"	II	6	1	17	3	50	2	33
23-I	<i>Schizonepeta tenuifolia</i> Briq.	I	18	4	22	13	72	4	22
23-II	"	II	6	0	0	1	17	5	83
	aspirin		32	1	3	18	56	8	25

*Fraction(100 mg/Kg) or aspirin (50 mg/Kg) was given orally 1 hr prior to the thrombotic challenge.

강황(2), 천남성(5), 홍화(8), 현호색(10), 방풍(18), 지황(20), 단삼(22) 및 형개(23)이었으며 이들중 2, 8, 22와 23은 5분 이내 사망률도 30% 이내로서 aspirin 투여군과 비슷하거나 낮았으며 2 및 23은 6분 이내 회복률 또한 20% 및 32%로서 혈전증상이 상당히 경감됨을 보였다. 15분 이내 회복률이 aspirin 투여군보다 높은 엑시시료들은 각 CH₂Cl₂가용성분획(fr I)과 H₂O가용성분획(fr II)으로 분리하여 각각의 분획시료들의 항혈전효과를 검색하였고, Table 2에 정리하였다. 이때 5분이내의 사망률이 40% 이상으로서 양성대조군의 5분 이내 사망률보다 월등히 높은 사망률을 보인 5 및 20은 제외시켰다. 즉 7종의 엑시시료로부터 조제한 14종의 분획시료들 각 100 mg/Kg을 경구투여하였을때 15분 이내에 50% 이상의 회복률을 보인시료는 2-I, 2-II, 10-I, 18-I, 22-II 및 23-I이었으며 이들시료중 2-I과 23-I은 6분 이내 회복률도 20% 이상이었다. 2-I, 10-I 및 23-I은 5분이내 사망률 또한 27% 이하로서 aspirin 투여군과 비슷하거나 낮았으며 혈소판혈장에서 ADP 또는 collagen에 의하

여 유도되는 혈소판응집에 대하여도 2 mg/ml에서 각각 50% 이상의 억제작용을 가짐이 관찰되었다.⁹⁾ 이상의 결과를 종합하여 볼 때 혈전관련 질환에 사용되어 온 전통약물들 상당수가 항혈소판작용, 항응고작용 등의 항혈전작용을 가지는 것으로 추정되었다. 따라서 새로운 항혈전작용물질의 개발을 위한 좀더 광범위한 문헌검색과 전통약물에 대한 지속적인 작용검색이 필요할 것으로 생각된다. 또한 본 검색과정에서 혈전증상의 개선효과를 보인 식물생약들로부터 작용성분의 분리, 규명 및 작용기전의 규명등 후속연구가 기대된다.

감사의 말씀 - 본 논문은 과학기술처 선도기술개발사업중 신동의약개발과제의 지원에 의한 연구의 일부임을 밝히며 연구비 지원에 감사드린다.

(1995년 5월 4일 접수)

참고문헌

1. 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. Ther.* **225**, 57 (1983).
2. Darius, H. and Lefer, A.M.: Blockade of thromboxane and the prevention of eicosanoid-induced sudden death in mice (42190). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **180**, 364 (1985).
3. Dikshit, M., Srivastava, R., Kar, K. and Srimal, R.C.: Antithrombotic effect of some platelet modifying drugs. *Thromb. Res.* **46**, 397 (1987).
4. Hara, H., Kitajima, A., Shimada, H. and Tamao, Y.: Antithrombotic effect of MCI-9042, a new antiplatelet agent on experimental thrombosis models. *Thromb. Haemorr.* **66**, 484 (1991).
5. 윤혜숙, 김문희: 마우스 혈전증 및 내독소 쇼크 모델에 있어서 higenamine에 의한 사망률 저하 효과. *약학회지*, **38**, 191 (1994).
6. Arruzazabala, M.L., Carbajal, D., Mas, R., Carcia, M and Fraca, V.: Effects of policosanol on platelet aggregation in rats. *Thromb. Haemorr.* **69**, 321 (1993).
7. Yun-Choi, H.S., Kim, S.O., Kim, J.H., Lee, J.R. and Cho, H.I.: Modified smear method for screening potential inhibitors of platelet aggregation from plant sources. *J. Nat. Prod.* **48**, 363 (1985)
8. 윤혜숙, 김제훈, 이종란: 혈소판 응집 억제 작용 생약의 검색. *생약학회지*, **17**, 19 (1986).
9. 윤혜숙, 박선양, 장기철, 백용기, 정성현, 박상철: 항혈소판제개발(성인병치료제개발), p. 21, 선도기술개발과제 보고서, 과학기술처(1993).