

한약재의 전혈혈소판응집억제

전원경 · 김정희 · 이아영 · 김호경

한국한의학회연구원

Abstract

Inhibition of Whole Blood Platelet aggregation from Traditional medicines

Jeon Wonkyung, Kim Junghee, Lee Ayeong, Kim Hokyong

Korea Institute of Oriental Medicine

To evaluate anti-aggregatory activity of traditional prescriptions and medicines for treatment of Ohyul symptom, 70% methanol extracts were examined using collagen stimulated in vitro platelet aggregation by impedance method in rat whole blood. The crude extracts from DoHaekSeungKiTang, BoYangHwanOhTang, Caesalpinia sappan, Rhus verniciflua, Rheum palmatum, Polygonum cuspidatum, Salvia miltiorrhiza were found to inhibit platelet aggregation. The effective crude extracts of traditional medicine were fractionated to dichloromethane, ethyl acetate, butanol and aqueous layer. Polygonum cuspidatum, Caesalpinia sappan and Rhus verniciflua ethyl acetate fractions concentration-dependently (250 - 50 μ g/ml) inhibited the aggregation of platelet in whole blood induced by collagen. These results suggested that ethyl acetate fractions of Polygonum cuspidatum, Caesalpinia sappan and Rhus verniciflua have potent anti-aggregatory activity.

Keywords : anti-aggregatory activity, collagen, Dohackseongkitang, Polygonum cuspidatum, Caesalpinia sappan, Rhus verniciflua

I. 서론

혈소판의 응집은 혈액응고 및 혈전생성으로 이어지는 필수적인 단계로 혈소판 자체의 생리적 활성이 증가되거나 혈장에서의 지질대사가 변화하여도 쉽게 영향을 받는다. 혈소판응집의 증가는 arachidonic acid 대사활성의 증가로 인해 강력한 혈소판응집제인 TXA₂ 증가, 혈소판내 calcium 농도조절 기전의 이상 및 증가된 TXA₂의 작용에 의한 세포내 free calcium 농도의 증가, cAMP생성량 감소로 인한 혈소판 agonist에 대한 감소성 증가, 막신호전달 체계이상, dense granule 및 alpha granule 성분의 유리증가 등 혈소판 기능항진으로 인한 결과라고 보고 되고 있다. 결국 혈액 중의 혈소판이 점착, 활성화, 응집되고 혈액응고계를 활성화함으로써 급속한 혈전을 형성하게 되는 것이다¹⁾. 인체 내에서 혈전은 계속 생성되나 체내에 존재하는 혈전분해효소에 의하여 분해 제거된다. 혈전의 생성 분해 과정의 제어과정에 불균형은 체내에 혈전의 축적을 초래하고 이와 같은 현상은 cerebral thrombosis, cerebral embolism, ischemic stenocardia, myocardial infraction, arterio thrombosis, pulmonary thrombosis 등 여러 가지 질병을 유도하게 된다. 이와 같은 질병은 한번 발현되면 생명에도 매우 위험한 질병으로 현대인의 사망률 중의 높은 비중을 차지하고 있는 실정이다. 혈전성 질환의 예방과 치료에는 혈전용해제, 항혈소판제, 항응고제 등이 보편적으로 사용되고 있다. 유로키나제나 t-PA와 같은 혈전용해제는 이미 형성된 혈전을 용해시켜 혈액의 흐름을 돕는 효과적인 치료제로 사용되고 있으며, 항혈소판 제제인 아스피린은 효능이 우수하지만 위장장애와 같은 부작용이 보고되어 있고, 항응고제인 쿠마린은 너무 강한 활성 때문에 출혈의 부작용이 나타나고 있는 등 모두 장기적인 1차 예방제로는 사용하는데 한계가 있다.^{2, 3)} 한의학에서 혈전은 혈액이 소통이 안돼 어체(血滯)

가 생성된 것으로 볼 수 있다. 혈액이 체내에서 어체(血滯)된 것을 어혈이라 정의하며 어혈은 병리적 산물로 대개 혈액순환과 관련된 병리과정으로 혈액순환 장애를 유발하는 중요한 원인이 된다. 어혈은 혈류학적 이상, 말초순환장애, 혈액학적 이상을 말하는 것으로 이 중 혈전은 혈류학적 이상에 주 요인이다. 동의학에서는 어혈을 단순히 비생리적 혈독의 물질개념으로만 이해하는 것이 아니라 血滯라는 순환장애의 기능개념으로 이해한다. 어혈은 『氣·血·水』의 동의학적 流體病理觀에서 이해되어야하며 이러한 이해가 正確했을 때 임상에서도 바라는 치료효과가 높아질 수 있다. 어혈의 용어는 張仲景(B.C 2-3)의 傷寒論과 金匱要略에 처음으로 나타나는데 여기서 어혈은 비생리적 산물로서의 응고된 혈액으로 병태생리상태, 혈류장애, 열병상, 건조병상 등의 증후군으로 이해하였고 이에 대한 치료로 파어조어법과 온경활어법 및 거어활혈법을 사용하였다.

서양에서는 어혈을 혈전현상으로 인식하면서 미세순환장애, 혈액의 유동학 이상, 혈액의 유체역학적 이상의 측면에서 이에 대한 개선 및 예방에 대한 연구가 진행되고 있다. 그러나 동의학에서는 어혈에 대한 임상적 효과를 거두어 왔는데 특히 중국에서는 어혈에 대한 동서의학적 연구가 1970년대 이후부터 본격적으로 시작되었다. 1979년 중의연구원 서원의원에서는 동의학의 어혈과 불통의 본질을 서양의학의 ‘혈전형상’, ‘動脈粥樣斑塊형성’의 개념으로 이해하고 심혈관 질환의 원인이 어혈로 인한 心脈瘀阻에 있다고 보면서 동의학의 어혈치료제인 활혈화어약물 및 처방들을 응용하여 좋은 효과를 보였다. 또한 활혈화어약물들의 병리적 기능에 대한 실험적 연구를 하여 그 결과 활혈화어약물에는 혈관순환개선, 항혈소판작용 및 血液流變학적개선성질, 動脈粥樣斑塊 및 혈지에 대한 효과가 있는 것으로 알려졌다.³⁾

국내의 어혈연구는 1980년대 이후 중국과 일본의 영향을 받아 동서의학적 연구가 이론적 연구와 실험적 연구로 나누어 진행되었다. 실험연구에서는 병리병태 모형을 개발하여 그동안 임상에서 사용되어오고 있는 활혈화어약물과 처방에 대한 약리학 및 병리학적 기전을 과학적으로 규명하고 이론적 연구에서는 고전을 통한 어혈개념에 대한 새로운 인식과 혈액유동학 및 혈액유변학적 입장에서 어혈병리기전 및 형성에 대한 비교연구가 진행되었으며 또한 어혈의 본질적인 연구가 진행되고 있다. 국내에서는 어혈에 대한 병증에 따라 활혈화어약물 및 처방을 사용하였으며 사용시기, 방법 및 약물의 용량을 달리하는데 있고 본질에 따라 처방 및 약물이 달라진다. 임상에서는 전통적으로 내려오는 기존처방을 병증에 따라 치료하는 변증시지적 방법과 활혈화어약물에 대한 현대약리학 및 병리학으로 그 작용을 밝혀 단일약물로 제제화한 약품들이 나와 새로운 약품으로 등장하였다.^{5,6)}

혈소판응집억제능을 검색하기 위해 가장 많이 이용하는 방법은 혈소판풍부혈장(PRP)를 이용하여 turbidity를 측정하는 방법⁷⁾으로 이 방법은 PRP를 만드는 단계를 거쳐야 하는 점과 한약재추출물이 가지는 고유색에 의해 결과가 영향을 받는 단점이 있다. 본 연구자는 이러한 단점을 보완할 수 있는 impedance 법⁸⁾을 응용하여 전혈혈소판응집억제능을 측정하기에 적합한 방법을 확립하였다. 한의서를 근거로 23종 처방에 대한 활성을 검색하였고 이를 구성하고 있는 단미제 및 본초학에서 혈의 운행을 소통시켜 어혈을 풀어주는 활혈거어약과 청혈약으로 분류되어있는 단미제 75종을 중심으로 혈소판응집억제활성을 검색하였기에 보고하고자 한다.

II. 재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 한방처방은 동의보감, 제중신편 등 한의고서를 근거로 하여 어혈에 효능이 있는 처방 23종을 선별한 다음 처방내용과 분량은 문헌을 근거로 구성한약재들을 보합하여 준비하였다. 단미제는 본초학에서 활혈거어약과 청혈약으로 분류된 한약재 및 26종 처방을 구성하고 있는 한약재를 중심으로 선정하였다. 본 실험에 사용한 단미제 75종은 정도물산(서울소재)에서 구입하였고 본 연구원 검사사업부에서 외부형태를 비교 검사한 후 잡질을 제거하여 실험에 사용하였다.

시료의 조제

한방처방 시료는 문헌을 근거로 단미제를 조합하여 준비한 다음 약탕기에서 2시간동안 추출하였다. 단미제 시료는 믹서기를 이용하여 가루로 만든 다음 150g을 등근 플라스크에 넣고 70% 메탄올 500 ml를 가하여 100℃에서 5시간 추출하였다. 각 추출액을 실온에서 방치한 후 여과지로 여과하고 60℃ 수욕상에서 evaporator로 감압 농축한 후 증류수에 용해하여 -70℃에서 방치한 다음 동결건조기로 동결 건조하여 시료로 사용하였다.

시료의 추출 및 분획

75종의 단미제 추출물에서 항혈소판 활성이 가장 높게 측정된 후보 단미제 중에 호장근, 건칠, 소목, 단삼은 다음과 같은 방법으로 추출, 분획하고 정제하였다.

각각의 한약재 600g을 분쇄하여 70% MeOH 6 l와 함께 10 l 등근 플라스크에 넣고 수욕상에서 100℃로 5시간 가열한 후, 여과지로 여과하여 농축시켰고 이 농

축물은 분획을 실시하였다. 70% MeOH 농축물을 증류수에 현탁시킨 다음 동량의 CH_2Cl_2 를 가하여 진탕하고 3회 분획하여 CH_2Cl_2 층으로 하였다. H_2O 층은 다시 EtOAc로 앞의 방법과 같이 3회 분획하여 EtOAc층을 얻었고, H_2O 층은 다시 n-BuOH로 3회 분획하여 n-BuOH 층과 H_2O 층을 얻었다.

실험동물

6~8 주령의 수컷 Sprague-Dawley (SD) rat를 대한 바이오링크에서 구입하여 동물사육실에서 1주일간 순화시킨 다음 실험에 사용하였다. 물과 사료는 24시간 동안 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였으며 명암의 주기는 12시간 간격으로 조정하였다.

전혈 혈소판 응집 억제 측정

한방처방 및 단미제의 혈소판응집억제활성을 검색하기 위하여 혈소판응집분석기 aggregometer (Chrono Log, USA)를 이용한 impedance 방법을 구축하여 rat의 전혈 혈소판응집 억제능을 측정하였다. SD rat 부대 정맥에서 혈액을 채혈하여 3.2% sodium citrate 혈액응고제와 9:1로 혼합한 다음 혈구분석기 (Coulter JT, USA)를 이용하여 혈소판수를 측정하였다. 혈소판수가 $4 \times 10^8/\text{ml}$ 되도록 생리식염수로 조절한 다음 900 μl 를 취하여 37°C에서 10분간 incubation하고 시료를 50 μl 가하여 37°C에서 5분간 incubation 하였다. 혈소판응집촉진물질은 collagen (1mg/ml, Chrono Log)을 사용하였는데 이를 이용하여 응집을 유도하였다. 혈소판응집분석기 aggregometer (Chrono Log, USA)를 이용하여 혈소판 응집도를 impedance ohm값으로 측정함으로써 대조군에 대한 응집억제 정도를 백분율로 환산하였다.

III. 연구결과 및 고찰

한방처방에 대한 전혈 혈소판 응집 억제 측정

콜라젠을 응집유도제로 이용하여 한방처방 대한 전혈 혈소판응집 억제능을 측정한 결과는 table 1과 같은데 총 23종의 처방 중에서 8종의 처방이 혈소판응집억제활성이 있는 것으로 측정되었다. 활성이 측정된 처방 중에 활성이 높게 측정된 처방은 도핵승기탕과 보양환오탕으로 impedance 값이 각각 $8 \pm 1.7 \text{ ohm}$ 와 $9.5 \pm 0.7 \text{ ohm}$ 이었고, 이를 혈소판응집억제율로 환산하면 $65.9 \pm 3.8\%$ 와 $54.6 \pm 6.4\%$ 로 나타났다. 도핵승기탕의 경우 혈소판 응집 억제율이 $65.9 \pm 3.8\%$ 로 나타나 본 연구에서 선정한 한방 처방 중에서 활성이 가장 높게 측정되었다. 도핵승기탕은 어혈을 치료하는 대표적인 방제로 파혈하여 효능이 있으며 김, 등⁹⁾이 어혈병태동물을 이용한 항혈전능 효과가 유의성이 있다고 보고한 바 있고, 이 처방을 구성하고 있는 단미제 중에 Rheum palmatum 대황, Erigeron canadensis 망초, Cinnamomum cassia 육계가 본 연구의 단미제 검색에서 응집억제 활성이 강하게 측정되는 것으로 보아 혈소판응집억제 활성이 이에 기인하는 것으로 판단되었다. 보양환오탕의 경우는 처방을 구성하고 있는 Stellaria dichotoma 시호, Cinnamomum cassia 육계, Fraxinus rhynchophylla 진피의 혈소판응집억제 활성으로 인하여 효능이 나타난 것으로 사료되었다. 도핵승기탕과 보양환오탕을 제외한 후보처방 6종은 낮은 정도의 비슷한 활성을 나타냈다. 생화탕 $17.1 \pm 10.8\%$, 소풍활혈탕 $13.6 \pm 0\%$, 탈화전 $8.9 \pm 6.5\%$, 온경탕 $4.7 \pm 0.2\%$, 별갑전환 $1.5 \pm 6.9\%$, 통규활혈탕 $13.6 \pm 6.4\%$ 순으로 혈소판 응집 억제능이 있는 것으로 보아 임상에서 응용하고 있는 처방이 in vitro에서 효능이 있는 것으로 측정되었다. 본 연구에 포함된 처방 중에 온경탕과 계지복령환의

경우 혈소판응집억제 활성이 강력하지는 않으나 활성이 있다고 이미 보고¹⁰⁾된 바 있는데 본 실험에 따르면

온경탕은 활성이 약하게 측정되었으나 계지복령환은 활성이 측정되지 않아 상이한 결과를 얻었다.

Table 1. Inhibitory effects of traditional medicine prescription on rat platelet aggregation induced by collagen in vitro

Sample	Impedance (Ω)	Inhibition (%)
control (정상 혈액)	22.2 \pm 2.5	
Onkyungtang (온경탕)	20.5 \pm 0.7	4.7 \pm 0.2
Chungungchokyungtang (천궁조경탕)	28	-27.27
Daewhangmokdantang (대황목단피탕)	35	-59.09
Daewhangtan (대황탄)	43	-95.45
Bokwonwhalhyultang (복원활혈탕)	38	-72.72
Byulgakjeonhwan (별갑전환)	21.5 \pm 2.1	1.5 \pm 6.9
Tongkuhwalhyultang (통구활혈탕)	19 \pm 3.6	13.6 \pm 6.43
Boyanghwanotang (보양환오탕)	9.5 \pm 0.7	54.6 \pm 6.43
Silsosan (실소산)	33	-65
Gaegibokrunghwan (계지복령환)	25	-25
Guckhachukertang (격허촉어탕)	33	-40.9
Guichulpajangtang (귀출과장탕)	23.2 \pm 7.5	-2.8
Dohackseongkitang (도핵승기탕)	8 \pm 1.7	65.9 \pm 3.8
Tongkyungtang(I) (통경탕 I)	45	-73.1
Tongkyungtang(II) (통경탕 II)	32	-31.3
Hwalhyultang (활혈탕)	45	-73.1
Daewangjachunghwan (대황자충환)	35	-59.1
Talwhajeon (탈화전)	20.7 \pm 2.5	8.9 \pm 6.5
Sobokchukertang (소복촉어탕)	24	-20.0
Sopunghwalhyultang (소풍활혈탕)	19	13.6 \pm 0
Hwalrackhourungdan (활락효령단)	30	-36.3
Sohwalrackdan (소활락단)	22	0
Saenghwatang (생화탕)	19 \pm 2	17.1 \pm 10.8

Values are mean \pm S. D.

단미제에 대한 전혈 혈소판 응집 억제 측정

활혈거어약과 청열약 및 후보처방을 구성하고 있는 단미제 75종을 정하여 70% methanol로 추출한 다음 동결 건조한 시료를 얻어 각각에 대한 혈소판응집억제능 검색을 한 결과는 table 2에 정리하였다. 구입한 한약재는 70% methanol로 추출하여 동결 건조한 시료로 준비하였고 혈소판응집 유도제로는 collagen을 이용하였다. 혈소판응집 억제능 활성이 1차 검색된 단미제 75종 중 43종에서 활성이 나타났으며 활성 정도는 응집억제율로 볼 때 $77.8 \pm 4\% \sim 1.9 \pm 2.7\%$ 범위에서 나타났다. *Caesalpinia sappan*, *Rhus verniciflua*, *Rheum palmatum*, *Polygonum cuspidatum*, *Salvia miltiorrhiza*의 혈소판응집 impedance 값이 각각 5 ± 0 , 8 ± 4.5 , 7 ± 1.4 , 7 ± 2.8 , 11 ± 1 ohm으로 측정되었고 응집억제율로 계산하면 각각 $77.8 \pm 4.0\%$, $63.3 \pm 18.0\%$, $67.5 \pm 5.5\%$, $61.8 \pm 14.72\%$, $54.8 \pm 1.4\%$ 로 환산되었다. 활성이 가장 높게 측정된 후보 단미제 5종을 살펴보면 *Caesalpinia sappan* 소목, *Rhus verniciflua* 건칠, *Polygonum cuspidatum* 호장근, *Salvia miltiorrhiza* 단삼 등은 본초학¹³⁾에서 활혈거어약으로 분류한 약재이고 대황의 경우 사하약으로 분류되어 있었다. 활혈거어약으로 분류된 약재들 중에서 본 실험을 통해 효능 후보 약재가 많이 분포하는 것을 알 수 있었다. 한편, *Caesalpinia sappan* 소목의 주성분인 brazilin에 대한 혈소판응집억제능에 대한 보고있는 것으로 보아 brazilin에 의한 활성인 것으로 판단되었고, 대황의 경우 stilbene 유도체에 의해 혈소판응집이 억제된다고 보고되어 있어 stilbene 유도체에 의한 활성인 것으로 판단되었다.^{11,12)}

혈소판응집 억제율이 50% 이하로 측정된 단미제로는 *Spatholobus suberectus* 계혈등 $41.7 \pm 25.6\%$, *Sophora flavescens* 고삼 $27.8 \pm 4.0\%$, *Erigeron canadensis* 망초 $30.3 \pm 8.6\%$, *Isatis indigotica* 대청엽

$27.5 \pm 23.4\%$, *Panax notoginseng* 전칠 $43.5 \pm 10.7\%$, *Stellaria dichotoma* 은시호 $27 \pm 17.4\%$, *Cinnamomum cassia* 육계 $23.2 \pm 0.7\%$, *Paeonia lactiflora* 적작약 $28.6 \pm 2.4\%$, *Manis pentadactyla* 천산갑 $30.7 \pm 0\%$ 등을 포함하여 38종이 활성이 있는 결과가 나와 활혈거어약으로 분류된 한약재의 대부분이 혈소판응집억제활성이 있는 것으로 판단되었다.

용매 분획에 대한 혈소판 응집 억제 측정

혈소판응집 억제활성이 측정된 단미제 중에 효능 후보 한약재로 *Caesalpinia sappan* 소목, *Rhus verniciflua* 건칠, *Polygonum cuspidatum* 호장근, *Salvia miltiorrhiza* 단삼을 선발하여 활성성분 분리를 위해 용매분획에 대한 전혈 혈소판응집억제능을 측정하였다. 1차적으로 *Caesalpinia sappan* 소목, *Rhus verniciflua* 건칠, *Polygonum cuspidatum* 호장근, *Salvia miltiorrhiza* 단삼에 대해 용매에 따른 분획을 하여 dichloromethane층, ethyl acetate층, butanol층, H₂O층을 각각 얻었다. 분획에 대한 혈소판응집억제 활성을 측정하었는데 결과는 table 3과 같다. 단미제 70% methanol 추출물의 경우 활성도가 *Caesalpinia sappan* 소목 > *Rhus verniciflua* 건칠 > *Polygonum cuspidatum* 호장근 순으로 측정된 반면에 ethyl acetate 층에서는 *Polygonum cuspidatum* 호장근 $92.7 \pm 6.6\%$, *Rhus verniciflua* 건칠 $88.5 \pm 3.8\%$, *Caesalpinia sappan* 소목 $71.0 \pm 5.0\%$ 순으로 측정되었다. 각각 단미제의 ethyl acetate 층에 대한 농도별로 활성을 측정한 결과는 table 4와 같은데 250 ~ 50 $\mu\text{g/ml}$ 범위에서 농도의존적인 결과가 측정되었다. 용매에 의한 다른 층의 경우 H₂O층에서는 *Caesalpinia sappan* 소목 47.8% , *Salvia miltiorrhiza* 단삼 $13.6 \pm 6.4\%$ 정도의 혈소판응집억제율이 측정되었고 n-BuOH층에서 *Polygonum cuspidatum* 호장근이 $32.0 \pm 26.5\%$ 로 나타났다. 용매에

따른 분석의 결과로 볼 때 ethyl acetate 층에서 혈소판 응집억제 활성이 가장 높은 것으로 나타남으로써 추 후 새로운 항혈전 기능성물질 개발의 가능성을 보여주었다.

Table 2. Inhibitory effects of traditional medicines on rat platelet aggregation induced by collagen in vitro

Species	Impedance (Ω)	Inhibition (%)
control (정상 혈액)	21.4 \pm 2.4	
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> (감초)	27 \pm 2.8	-25.4 \pm 9
<i>Curcuma aromatica</i> (강황)	23.5 \pm 3.5	4.3 \pm 6.1
<i>Rhus verniciflua</i> (진찰)	8 \pm 4.5	63.3 \pm 18.0
<i>Spatholobus suberectus</i> (계혈등)	14 \pm 5.5	41.7 \pm 25.6
<i>Sophora flavescens</i> (고삼)	18 \pm 0	27.88 \pm 4.07
<i>Eriocaulon sieboldianum</i> (곡정초)	24 \pm 1.4	-4.3 \pm 6.1
<i>Sophora japonica</i> (괴각)	24.5 \pm 4.9	-6.5 \pm 21.5
<i>Selaginella tamariscina</i> (권백)	20.5 \pm 0.7	17.9 \pm 1.8
<i>Lonicera japonica</i> (금은화)	23.5 \pm 2.1	-2.1 \pm 9.2
<i>Phragmites communis</i> (노근)	20 \pm 5.2	-2.3 \pm 36.6
<i>Phaseolus radiatus</i> (녹두)	21.5 \pm 2.1	6.5 \pm 9.2
<i>Rhaponticum uniflorum</i> (누로)	21.5 \pm 2.1	6.5 \pm 9.2
<i>Salvia miltiorrhiza</i> (단삼)	11 \pm 1	54.8 \pm 1.4
<i>Lophatherum gracile</i> (담죽엽)	24.5 \pm 4.9	-6.5 \pm 21.5
<i>Isatis indigotica</i> (대청엽)	13.7 \pm 2.8	27.5 \pm 23.4
<i>Glycine max</i> (대두황련)	22 \pm 2.8	4.3 \pm 12.2
<i>Rheum palmatum</i> (대황)	7 \pm 1.4	67.5 \pm 5.5
<i>Prunus persica</i> (도인)	21.8 \pm 3.1	-0.4 \pm 13.5
<i>Lasiosphaera fenzlii</i> (마발)	21 \pm 2.8	4.7 \pm 6.7
<i>portulaca oleracea</i> (마치현)	20 \pm 0	14.8 \pm 2.5

Values are mean \pm S. D.

...continued

<i>Verbena officinalis</i> (마편초)	22 ± 1	-2.5 ± 12.1
<i>Tabanus bivittatus</i> (망충)	22.5 ± 0.7	8.1 ± 0.2
<i>Erigeron canadensis</i> (망초)	14.3 ± 1.1	30.3 ± 8.6
<i>Paeonia suffruticosa</i> (목단피)	44 ± 1.4	-96.1 ± 12.2
<i>Buddleja officinalis</i> (밀몽화)	39.5 ± 3.5	-77 ± 32.4
<i>Pulsatilla koreana</i> (백두옹)	22.5 ± 6.3	0.8 ± 18.9
<i>Dictamnus dasycarpus</i> (백선피)	20 ± 2.8	4.1 ± 5.8
<i>Oldenlandia diffusa</i> (백화사설초)	21.5 ± 3.5	4.7 ± 6.7
<i>Belamcanda chinensis</i> (사간)	19.5 ± 3.5	6.9 ± 1.9
<i>Sophora tonkinensis</i> (산두근)	17.7 ± 1.7	13.7 ± 18.5
<i>Cremastra appendiculata</i> (산자고)	22.5 ± 4.9	0.5 ± 12.6
<i>Sparganium stoloniferum</i> (삼릉)	44 ± 0	-92.7 ± 23.7
<i>Whitmania pigra</i> (수질)	27.5 ± 3.5	-14.3 ± 7.9
<i>Rehmannia glutinosa</i> (숙지황)	24 ± 4.2	-14 ± 29.4
<i>Caesalpinia sappan</i> (소목)	5 ± 0	77.8 ± 4.0
<i>Massa Medicata Fermentat</i> (신곡)	23 ± 7	3.2 ± 15.5
<i>Curcuma zedoaria</i> (아출)	16.7 ± 2	11.5 ± 17.1
<i>Chrysanthemum indicum</i> (야국)	21.5 ± 6.3	5.3 ± 19.3
<i>Houttynia cordata</i> (어성초)	32 ± 9.8	-54.7 ± 71.4

Values are mean ± S. D.

....continued

<i>Nelumbo nucifera</i> (연자육)	38 ± 1.4	-86.7 ± 26.2
<i>Lonicera japonica</i> (인동)	22 ± 0	-10.2 ± 7.7
<i>Stellaria dichotoma</i> (은시호)	13.7 ± 4.6	27 ± 17.4
<i>Trogopterus xanthipes</i> (오령지)	39 ± 0	-80.6 ± 34.8
<i>Vaccaria segetalis</i> (왕불류행)	24 ± 5.6	-8.6 ± 4.7
<i>Achyranthes bidentata</i> (우슬)	21 ± 2.8	0
<i>Curcuma aromatica</i> (울금)	17 ± 1.2	12.6 ± 15.2
<i>Artemisia anomala</i> (유기노)	25 ± 2.8	-8.7 ± 1
<i>Cinnamomum cassia</i> (육계)	16.5 ± 0.7	23.2 ± 0.7
<i>Leonurus sibiricus</i> (익모초)	20 ± 4.2	11.0 ± 0.7
<i>Viola yedoensis</i> (자화지정)	21 ± 7	0
<i>Lithospermum erythrorhizon</i> (자초)	20.5 ± 3.5	-0.3 ± 20.7
<i>Eupolyphaga sinensis</i> (자충)	19 ± 4.2	15.5 ± 0.2
<i>Paeonia lactiflora</i> (적작약)	17.5 ± 2.1	28.6 ± 2.4
<i>Lycium chinense</i> (지골피)	16.3 ± 3.2	14.7 ± 12
<i>Panax notoginseng</i> (전칠)	11.7 ± 3.4	40.5 ± 10.7
<i>Fraxinus rhynchophylla</i> (진피)	16.5 ± 3.5	12.8 ± 14.7
<i>Gleditsia sinensis</i> (조각자)	25.5 ± 4.9	-8.1 ± 4.7

Values are mean ± S. D.

....continued

<i>Anemarrhena asphodeloides</i> (지모)	27.5 ± 3.5	-34.5 ± 21.8
<i>Phyllostachys nigra, henonis</i> (죽엽)	21.5 ± 0.7	-5 ± 7
<i>Cnidium officinale</i> (천궁)	22 ± 4.2	1.9 ± 2.7
<i>Manis pentadactyla</i> (천산갑)	18	30.7 ± 0
<i>Artemisia annua</i> (청호)	34.5 ± 6.3	-67.5 ± 13.7
<i>Gentiana scabra</i> (초롱담)	18.5 ± 2.1	9.8 ± 1
<i>Leonurus sibiricus</i> (충울자)	25.5 ± 12	-10.1 ± 29.1
<i>Patrinia villosa</i> (패장근)	17.2 ± 6.3	14.5 ± 22.2
<i>Taraxacum mongolicum</i> (포공영)	19 ± 1.4	7.1 ± 2.7
<i>Smilax glabra</i> (토복령)	26.5 ± 7.7	-34.2 ± 48.3
<i>Lycopus lucidus</i> (택란)	36 ± 2.8	-62.5 ± 23.1
<i>Scrophularia buergeriana</i> (현삼)	16.3 ± 3	8.2 ± 26.6
<i>Corydalis turtschaninovii</i> (현호색)	22 ± 5.6	2.6 ± 3.7
<i>Coptis chinensis</i> (황련)	36.5 ± 10.6	-60.7 ± 31.9
<i>Carthamus tinctorius</i> (홍화)	19.5 ± 2.1	6.9 ± 2.4
<i>Polygonum cuspidatum</i> (호장근)	7 ± 2.8	61.8 ± 14.6
<i>Prunella vulgaris, lilacina</i> (하고초)	33 ± 8.4	-53.7 ± 58.3
<i>Scutellaria baicalensis</i> (황금)	33 ± 7	-53 ± 52.2

Values are mean ± S. D.

Table 3. Inhibitory effects of *Rhus verniciflua*, *Caesalpinia sappan* and *Polygonum cuspidatum* layers on rat platelet aggregation induced by collagen in vitro

Sample	layers	impedance (Ω)	inhibition (%)
control		21.2' \pm 4.9	
<i>Rhus verniciflua</i>	EtOAc	2.6 \pm 0.8	88.5 \pm 3.8
	CH ₂ Cl ₂	39	-77.27
	H ₂ O	23	-4.7 \pm 6.7
	n-BuOH	31.3 \pm 15.8	-38.1 \pm 65.6
<i>Caesalpinia sappan</i>	EtOAc	6.6 \pm 1.1	71.0 \pm 5.0
	CH ₂ Cl ₂	30 \pm 8.4	-30.4 \pm 36.8
	H ₂ O	12	47.8
	n-BuOH	44 \pm 2.8	-91.3 \pm 12.3
<i>Polygonum cuspidatum</i>	EtOAc	1.6 \pm 1.5	92.7 \pm 6.6
	CH ₂ Cl ₂	34.5 \pm 17.6	-54.6 \pm 83.4
	H ₂ O	24.5 \pm 0.7	-6.5 \pm 3.0
	n-BuOH	14 \pm 3.7	32.0 \pm 26.5
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	EtOAc	37 \pm 11.3	-62.8 \pm 14.4
	CH ₂ Cl ₂	22	0
	H ₂ O	19 \pm 1.4	13.6 \pm 6.4
	n-BuOH	31	-19.2

values are mean \pm S. D.

Table 4. The effects of *Rhus verniciflua*, *Caesalpinia sappan* and *Polygonum cuspidatum* ethyl acetate layers on platelet aggregation induced by collagen in vitro. Rat whole blood platelet were incubated with various concentration of ethyl acetate layers

sample	Conc. ($\mu\text{g/ml}$)	impedance (Ω)	Inhibition (%)
control		21.2 \pm 4.9	
<i>Rhus verniciflua</i>	50	27.3 \pm 11.0	-35.3 \pm 51.0
	100	15 \pm 6.9	31.1 \pm 31.0
	150	6.3 \pm 2.5	70.9 \pm 11.0
	200	3.6 \pm 1.5	83.0 \pm 7.0
	250	2.6 \pm 0.8	88.5 \pm 3.8
<i>Caesalpinia sappan</i>	50	35.5 \pm 0.7	-72.9 \pm 38.3
	100	28.4 \pm 6.4	-26.5 \pm 26.5
	150	15.1 \pm 7.9	29.4 \pm 35.0
	200	7 \pm 1	67.6 \pm 4.6
	250	6.6 \pm 1.1	71.0 \pm 5.0
<i>Polygonum cuspidatum</i>	25	40	-100
	50	14 \pm 6.9	32.1 \pm 35.3
	100	5 \pm 6.2	73.7 \pm 35.1
	250	1.6 \pm 1.5	92.7 \pm 6.6

values are mean \pm S. E.

사사

본 연구는 본 연구원의 지원으로 수행된 기관고유연구 사업의 연구결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. Mustard JF, Packham MA. 『Factors influencing platelet function: adhesion, release and aggregation』, Pharmacol Rev. 22, 97-137, 1970.
2. 정광희. 『새로운 항혈전제의 연구개발』, 한국지혈혈전학회. 3, 1-12, 1996.
3. Miwa K, Kambara H, Kawai C. 『Effect of aspirin in large doses on attacks of variant angina』, Am Heart J. 105, 262-273, 1983.
4. 『어혈연구』, 원광대학교 한의과대학 병리학교실 동창회 1997
5. 전병훈, 우원홍, 정우열, 『한국의 어혈발진 과정과 최근의 연구 동향』, 동의병리학회지, 10(1)1-5, 1996.
6. 『어혈병태 모형 개발에 관한 연구』, 동의병리학회지, 13(1) 25-35, 1999.
7. Kyu-Tae Kang, Byoung-In Jung, Ok-Nam Bae, Moo-Yeol Lee, Seung-Min Chung, Joo-Young Lee, Sang-Koo Lee, In-Chul Kim1, Jin-Ho Chung, 『Antithrombotic activity of LB30057, a newly synthesized direct thrombin inhibitor』, Thromb Haemost 2003; 89:104-11
8. Armida P. Torres Duarte, Quan Sheng Dong, Jose Young, Sylvie Abi-Younes and Adam K. Myers, 『Inhibition of Platelet Aggregation in Whole Blood by Alcohol, Thrombosis Research 78(2)』, 107-115, 1995.
9. 김정범, 최승훈, 안재석, 『도핵승기탕 및 그 구성약물이 어혈병태모형에 미치는 영향』, 동의병리학회지 11(1) 65-76, 1997.
10. 김제훈, 유영선, 맹미호, 윤혜숙, 『수중한약제제들의 혈소판응집억제 작용』, 생약학회지 21(2) 126-129, 1990.
11. Hwang, GS., Kim, JY., Chang, TS., Jeon, SD., So, DS., Moon, CK. 『Effect of Brazilin on the phospholipase A2 Activity and Changes of Intracellular Free Calcium Concentration in Rat Platelet, Arch Pharm Res 21(6)』 774-778, 1998.
12. Ko, SK., Lee, SM., Whang, WK. 『Anti-Platelet Aggregation activity of Stilbene Derivatives from Rheum undulatum』, Arch Pharm Res 22(4) 401-403, 1999.
13. 전국한의과대학 본초학교수. 『본초학』, 영림사. 서울. 1995.
14. 허준. 『동의보감』, 남산당. 1616.
15. 김창민 외. 『중약대사전』, 정담. 1998.

