

# 가미소풍활혈탕의 혈소판 응집억제 작용에 대한 in vitro 연구

이혜영\* · 민경윤 · 김슬지 · 박영주 · 양가은 · 이미정 · 류재환 · 이범준<sup>1</sup> · 조인영<sup>2</sup>

경희대학교 부속 한방병원 내과학교실 동서협진실, 1: 강남경희한방병원 내상성인병센터, 2: 경희대학교 동서의학대학원

## Anti-Platelet Aggregation Effect of Extract from Gamisopunghwalheol-tang in Vitro

Hae Yong Lee\*, Kyoung Yoon Min, Seul Ji Kim, Youn Ju Park, Ga Eun Yang, Mi Jung Lee, Jae Whan Lew, Beom Joon Lee<sup>1</sup>, In Young Cho<sup>2</sup>

East West Integrated Medicine, Oriental Internal Medicine, Kyunghee Oriental Medicine Hospital of Kyunghee University,

1: Department of Internal Medicine, Kangnam Korean Hospital, Kyunghee University,

2: Graduate School of East-West Medical Science, Kyunghee University

The study was designed to test anti-platelet effect and find out anti-platelet mechanism of extract from Gamisopunghwalheol-tang in vitro. The extract was investigated for the inhibition against the aggregation of human platelet suspensions induced from collagen by aggregometer. And also the extract was investigated for the inhibition against the aggregation of human platelet suspensions who is taking aspirin or clopidogrel induced from collagen by aggregometer. In collagen-induced platelet aggregation test, the extract significantly inhibited collagen-induced platelet aggregation in a concentration-dependent manner(p<0.05). The extract significantly inhibited collagen-induced platelet aggregation of human platelet who is taking aspirin or clopidogrel in 0 mg/ml concentration(p<0.05). And the extract inhibited more in patients who is taking aspirin. These results show that the extract from Gamisopunghwalheol-tang has anti-platelet aggregation effect.

Key words : gamisopunghwalheol-tang, antiplatelet activity, aggregometer

### 서 론

현대 사회가 발전할수록 고령화 사회가 되어 가면서 고혈압, 협심증 등 심혈관 질환과 중풍의 뇌혈관 질환도 증가하고 있으며 그에 대한 예방의 중요성도 커지고 있다. 심혈관질환의 발생에는 혈소판이 중요한 역할을 담당하고 있으며, 따라서 aspirin, clopidogrel 같은 항혈소판 제제의 유용성이 입증되어 있다<sup>1)</sup>. 그러나 기존의 항혈소판 제제는 환자들의 반응이 다양하여 내성이 생기기도<sup>2)</sup> 하고 출혈부작용이 뒤따르는 등<sup>3)</sup>의 문제로 인하여 좀 더 안전하고 효과적인 약물 개발의 필요성이 절실한 상태이다.

혈소판의 세포막에는 여러 종류의 glycoprotein(GP)이 존재하는데, 그 중 혈소판 응집에 관여하는 것으로 가장 널리 연구된 fibrinogen receptor로 GP IIb/IIIa 가 알려져 있다. 혈소판은 보

통 비활성화상태로 존재하나 ADP, collagen, thromboxane A2(TXA2), thrombin, epinephrine, ristocetin 등과 같은 작용제와 반응하면 활성화상태로 변하면서 GP IIb/IIIa가 발현하여 fibrinogen과 결합하면서 응집반응이 진행된다. 동맥 내 혈전의 예방으로는 혈소판 응집을 차단하는 것이 가장 중요하다고 생각되어진다.

소풍활혈탕에 대한 기존 약리 연구로는 소염작용, 진통작용, 해열작용<sup>4)</sup>, 혈압하강작용, 항염작용<sup>5)</sup>, 항혈전작용<sup>6)</sup> 등이 있으나 연구가 오래되었고 Aggregometer로 실험한 연구가 없었다. 이에 소풍활혈탕의 항혈전작용에 대한 in vitro 실험을 진행해 보았다.

소풍활혈탕은 임상에서 주로 역절통(歷節痛)에 많이 활용되는데 효능 중에서 風濕痺痛, 流走不定 등의 증상을 치료하는 通絡止痛작용은 혈전의 유발기전 및 혈전으로 인한 증상의 개선과 일정한 관련을 가지고 있는 것으로 생각된다. 따라서 임상에서 소풍활혈탕의 심혈관질환에의 응용가능성에 대한 기반을 마련하고, 항혈전작용에 대한 효능과 기전을 연구하기 위하여 본 실험

\* 교신저자 : 이혜영, 서울시 동대문구 회기동 1, 경희의료원 동서협진과

· E-mail : deemo@hanmail.net, · Tel : 02-958-9212

· 접수 : 2009/08/31 · 수정 : 2009/09/23 · 채택 : 2009/10/08

을 시작하였다.

우선 Aggregometer(MODEL 700, Chrono-log Co)를 이용하여 in vitro로 혈전용해제의 복용력이 없는 사람의 전혈에 가미소풍활혈탕을 분주하여 혈소판 응집억제 효능을 측정하고, aspirin 및 clopidogrel을 복용한 환자군에 가미소풍활혈탕을 분주하여 혈소판 응집억제 효능의 synergic effect를 확인하여 유의한 결과를 얻었으므로 이에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 혈소판

(1) 소풍활혈탕의 투여를 위한 혈소판은 적십자 혈액원에서 구입하였다. 혈소판을 Tyroide buffer(129 mM NaCl, 2.8 mM KCl, 8.9 mM NaHCO<sub>3</sub>, 0.8 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.8 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 mM CaCl<sub>2</sub>, 5.6 mM glucose, 10 mM HEPES, 0.35% BSA, pH 7.4)로 재부유시켰다. 이후 혈소판의 수를 Coulter Counter (Coulter electronics, USA)로 센 후 3×10<sup>8</sup>/ml의 농도가 되도록 생리식염수로 조정하여 Platelet Rich Plasma(이하 PRP)를 만들었다.

(2) aspirin과 clopidogrel을 투여한 환자의 혈소판은 뇌졸중의 후유증으로 인하여 경희의료원 동서협진과 외래를 다니는 환자들의 전혈을 채취하여 사용하였다. 정맥 채혈 후 응고가 일어나지 않도록 곧바로 3.2% sodium citrate vacutainer에 분주하였다. 채취한 혈액은 TJ-6 centrifuge(BECKMAN, USA)를 이용해 800rpm에서 10분간 원심분리한 다음 층을 회수하였다. 혈소판 수를 Coulter Counter (Coulter electronics, USA)로 센 후 3×10<sup>8</sup>/ml의 농도로 조정하여 PRP를 만들었다.

(3) Platelet Poor Plasma(이하 PPP)는 최초 원심분리한 혈장을 회수한 다음 Centrifuge 5402(Eppendorf, Germany) 14000 rpm에서 5분간 원심분리 한 다음 위에 부유되는 층만 떠서 만들었다.

#### 2) 약제

본 실험에 사용한 가미소풍활혈탕은 경희의료원 한방병원 약제연구실에서 제조하였다.

(1) 처방대로 각 한약을 칭량하며 1000접분(약 76 Kg)에 약전 규격 정제수를 500 L 가한다.

(2) 가열교반식 추출기를 이용하여 100℃에서 1시간 반 동안 가열하여 균질하게 추출한다.

(3) 원심분리 여과법으로 22,000 rpm으로 추출된 탕약을 여과한다.

(4) 박막유해식 감압농축기를 이용하여 50℃이하의 저온에서 여과된 탕액을 1시간 반 동안 농축한다.

(5) chamber내의 상부로부터 농축액을 분무하여 안개상태로 증발시키는 분무건조법(Spray Dryer)을 이용하여 약물을 건조시킨다.

(6) STREA-15(Fuji SangYo, Japan)으로 건조시킨 한약을 공기에 의하여 유동층을 형성시켜 건조하면서 Polyvinylpyrrolidone 용액을 분무하고 결합시키며 액체 가교에 의한 입자 동지(同志)

를 부착 응집시켜 조립한다.

(7) 15℃, 습도 45%의 황온, 황습의 실내, Automatic Packing Machine(Toyo Machine, Japan)으로 은박 7 μm, vinyl 50 μm, cellophane 20 μm이상으로 코팅된 은박지의 포장용기 안에 최대한 공기를 제어할 수 있도록 감압하면서 기밀포장하여 일반적으로 6 g씩 포장한다.

(8) 최종적으로 6 g씩 포장된 소풍활혈탕 과립제를 이용하여 정제된 증류수에 희석하여 농도를 만들어 사용하였다. 본 실험에서는 성인이 한 포 6 g의 용량을 100 cc정도의 물과 함께 먹는 것을 60 mg/ml의 농도를 기준으로 하여 그 농도를 20 mg/ml, 30 mg/ml, 40 mg/ml, 50 mg/ml, 60 mg/ml로 만들어 사용하였다.

(9) 최종 수율은 23.5%였다.

### 3) 시약 및 기기

#### (1) 시약

Aggregometer 실험시 사용되는 응집 유도 시약에는 collagen, ADP, thrombin, epinephrine, ristocetin, arachidonic acid가 있는데 이 중 collagen, ADP가 많이 이용된다. 본 실험에는 Collagen을 실험 시약으로 사용하였으며 Chrono-log Co (Havertown, PA, USA)에서 구입하였다.

#### (2) 기기

PRP를 만들기 위해서 TJ-6 centrifuge(BECKMAN, USA)를 사용하였으며 PPP는 Centrifuge 5402(Eppendorf, Germany)를 이용하여 만들었고 aggregation에는 Dual channel automatic aggregometer(MODEL 700, Chrono-log Co)를 사용하였다.

### 2. 방법

#### 1) aspirin 및 clopidogrel 투여

실험자는 각각 12명의 뇌졸중 후의 환자였으며 적어도 3개월 이상 꾸준히 보령제약회사의 Astrix 100 mg/cap, 동아제약회사의 Plavitor 75 mg/Tab을 하루 1회 복용하였다. aspirin을 복용한 12명의 환자는 평균 66.0±9.2였으며 여자가 10명 남자가 2명이었다. clopidogrel을 복용한 12명의 환자의 평균 나이는 64.2±8.6세였으며 여자가 6명 남자가 6명이었다. 또한 평균 복용기간은 aspirin을 복용한 12명의 환자는 99.8±35.9이었으며 clopidogrel을 복용한 12명의 환자는 15.0±7.6개월이었다(Table 1).

Table 1. Baseline characteristic of the participants.

Patients	Total	Male	Female	Age	Duration(month)
Aspirin	12	2	10	66.0±9.2	99.8±35.9
Clopidogrel	12	6	6	64.2±8.6	15.0±7.6

#### 2) Aggregometer 실험(가미소풍활혈탕)

혈소판 응집과정에 대한 가미소풍활혈탕의 억제 효과를 알아보기 위하여 Born's method 7를 이용하였고 Dual channel automatic aggregometer(MODEL 700, Chrono-log Co)를 사용하였다. PRP 450 μl를 37℃에서 2분간 배양시키고, 실험군에 쓰이는 PRP에는 다양한 농도의 소풍활혈탕 50 μl를 넣고 대조군에는 생리식염수 50 μl를 넣고 2분간 반응시켰다. 소풍활혈탕의 최종 농도는 20 mg/ml, 30 mg/ml, 40 mg/ml, 50 mg/ml, 60 mg/ml이었

다. 교반침을 넣고 1200 rpm으로 교반시키면서 collagen(2 µg/ml)를 넣고 응집반응을 유도하였다. 응집반응은 빛의 투과도의 변화에 의해 측정되었고 최대 응집율에 이를 때까지 기록하였다. 각각의 응집 억제율은 다음과 같이 계산되었다.

$$\text{Inhibition rate (\%)} = \frac{\text{MAR of Con} - \text{MAR of Ex}}{\text{MAR of Con}} \times 100$$

MAR=Maximal aggregation rate

Ex=experimental group

Con=control group

### 3) Aggregometer 실험(Aspirin 및 clopidogrel 투여 환자군)

전혈 채취후 PRP를 만들어 두 개로 나누었다. 한쪽에는 450 µl의 PRP를 37°C에서 2분간 배양시키고 생리식염수를 50 µl를 넣고 2분간 반응시켰다. 교반침을 넣고 1200 rpm으로 교반시키면서 collagen(2 µg/ml)를 넣고 응집반응을 유도하였다. 또 다른 한쪽에는 450 µl의 PRP를 37°C에서 2분간 배양시키고 20 mg/ml 농도의 가미소풍활혈탕을 50 µl를 넣어 2분간 반응시킨 뒤 교반침을 넣고 1200 rpm으로 교반시키면서 collagen(2 µg/ml)를 넣고 응집반응을 유도하였다.

### 3. 통계처리

결과는 평균±표준편차로 표시하였다. 그룹간의 통계학적인 차이를 보기위해 SPSS(version:12.0k;SPSS InC. Chicago, Illinois, USA)의 one-way ANOVA 분석을 이용하였고, 다중분석은 Tukey's HSD를 이용하였다. p값이 0.05이하인 경우 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

## 결 과

### 1. Collagen 유도 혈소판 응집반응에 대한 가미소풍활혈탕의 효과

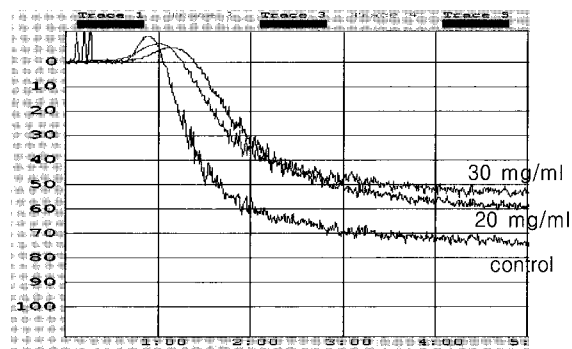
collagen에 의해 유도된 혈소판 응집반응에 대한 가미소풍활혈탕의 억제 효과를 보기위해 dual channel aggregometer를 사용하였다. 각 농도별 최대 응집율(%)을 구한 결과 20 mg/ml, 30 mg/ml, 40 mg/ml, 50 mg/ml, 60 mg/ml 농도에서 65.7±5.5%, 57.5±0.5%, 48.0±2.8%, 36.7±3.5%, 2.5±1.2%로 나타났으며 농도가 높아질수록 응집율이 떨어지는 경향을 보였다(Fig. 1). 각 농도별 최대 응집율(%)을 구하여 control의 최대 응집율(%) 대비 응집 억제율을 구한 결과 20 mg/ml, 30 mg/ml, 40 mg/ml, 50 mg/ml, 60 mg/ml 농도에서 10.2±0.5%, 21.0±6.5%, 34.3±2.8%, 49.5±6.2%, 96.5±1.8%으로 농도가 증가함에 따라 응집 억제율이 증가하는 경향을 보였다. 다중비교 결과 control 대비 모든 군과의 비교에서 농도가 증가함에 따라 응집 억제율이 유의하게 증가하였다.(p<0.05)(Fig. 2).

### 2. aspirin과 clopidogrel 복용환자군에 가미소풍활혈탕 투여 후 collagen 유도 혈소판 응집반응에 대한 효과

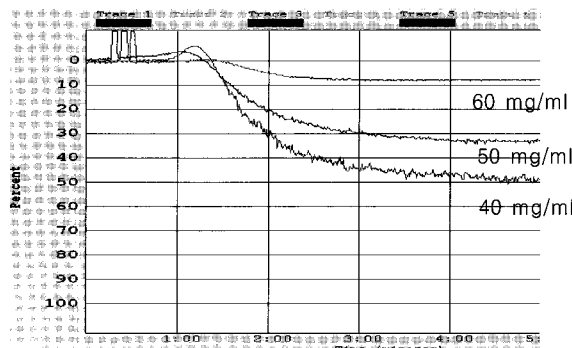
뇌졸중 후 적어도 3개월 이상 꾸준히 aspirin 및 clopidogrel

을 복용해온 환자들의 전혈을 채취하여 각각에 생리식염수 50 µl과 20 mg/ml 농도의 가미소풍활혈탕 50 µl를 투여한 다음 collagen에 반응시키고 dual channel aggregometer를 사용하였다. aspirin을 복용한 환자군에서 최대 응집율(%)을 구한 결과 생리식염수를 넣어 반응시킨 control에서는 48.9±19.2%으로 나타났으며 20 mg/ml의 가미소풍활혈탕을 넣어 반응시킨 쪽에서는 21.8±17.9%으로 나타났다(Fig. 3).

(A)



(B)



(C)

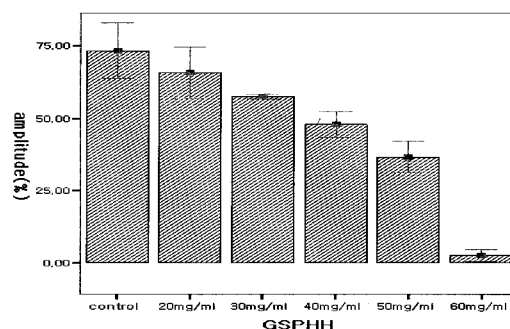


Fig. 1. Maximum effect of Extract of Gamisopunghwalheol-tang(GSPHH) on human platelet aggregation by collagen. Platelet suspensions were pre-incubated for 2 min with various 麩攀玲 concentrations of GSPHH before the addition of collagen(2 µg/ml). The results were expressed as means±S.D.(n=4). (A) Trace 1. 麩攀玲 秒颠秒, Trace 3. GSPHH 20 mg/ml, Trace 5. GSPHH 攀攀玲 秒颠秒 (B) Trace 1. GSPHH 40 mg/ml, Trace 3. GSPHH 女攀玲 秒颠秒 Trace 5. GSPHH 收攀玲 秒颠秒 (C) 馮颠颠 of GSPHH on collagen-induced platelet aggregation.

또한 clopidogrel을 복용한 환자군에서 최대 응집율(%)을 구한 결과 생리식염수를 넣어 반응시킨 control에서는 67.8±9.1%로 나타났으며 20 mg/ml의 가미소풍활혈탕을 넣어 반응시킨 쪽에

서는 33.5±11.0%로 나타났다(Fig. 4).

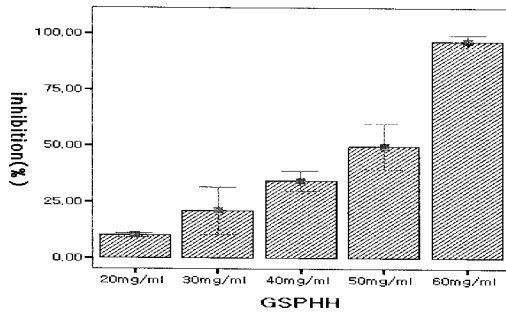


Fig. 2. Inhibitory effect of Extract of Gamisopunghwalheol-tang(GSPHH) on human platelet aggregation by collagen. Platelet suspensions were pre-incubated for 2 min with various concentrations of GSPHH before the addition of collagen(2  $\mu$ g/ml). The results were expressed as means±S.D.(n=4). The statistically significant differences with control were calculated by Tukey's HSD in one-way ANOVA.  $p < 0.05$ .

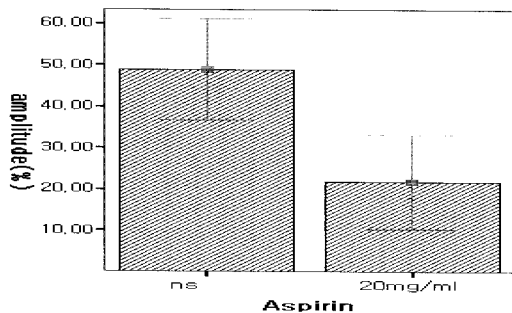


Fig. 3. Maximum effect of Normal saline and 20 mg/ml of Extract of Gamisopunghwalheol-tang(GSPHH) on PRP of patients taking aspirin. Platelet suspensions were pre-incubated for 2 min with normal saline and GSPHH before the addition of collagen(2  $\mu$ g/ml). The results were expressed as means±S.D.(n=12).

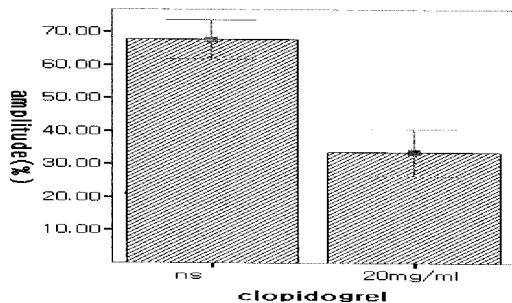


Fig. 4. Maximum effect of normal saline and 20 mg/ml of Extract of Gamisopunghwalheol-tang(GSPHH) on PRP of patients taking clopidogrel. Platelet suspensions were pre-incubated for 2 min with normal saline and GSPHH before the addition of collagen(2  $\mu$ g/ml). The results were expressed as means±S.D.(n=12)

Aspirin과 clopidogrel을 복용한 각 군에서 control의 최대 응집율(%) 대비 응집 억제율을 구한 결과 aspirin 복용군에서는 57.0±25.9%로 나타났으며 clopidogrel 복용군에서는 48.6±18.9%로 나타나 aspirin 복용군에서 좀 더 응집 억제가 잘 나타났다(Fig. 5).

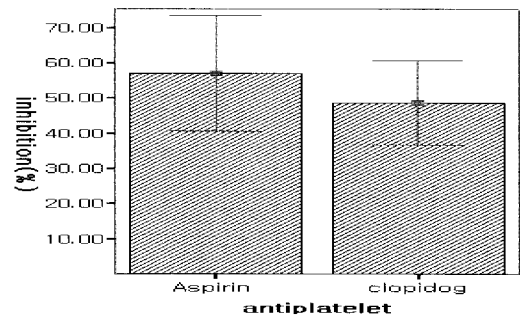


Fig. 5. Inhibitory effect of 20 mg/ml of Extract of Gamisopunghwalheol-tang(GSPHH) on PRP of patients taking aspirin and clopidogrel. Platelet suspensions were pre-incubated for 2 min before the addition of collagen(2  $\mu$ g/ml). The results were expressed as means±S.D.(n=12).

## 고찰

심혈관질환이나 뇌경색처럼 혈전이 혈관을 막아 일어나는 병을 통틀어 혈전증이라고 말하며 혈전증의 시작은 나이가 들면서 진행되는 혈관벽의 죽상경화이지만 혈관 중의 혈소판 응집력의 항진에 의한 혈전의 형성이 직접적인 원인이 된다. 이와 같은 경우 혈전형성을 방지하기 위해 혈소판 기능을 약간 억제할 필요가 있고 그 역할을 하는 항혈소판제제가 요구된다<sup>8)</sup>. 그러나 Aspirin이나 Clopidogrel같은 기존의 항혈소판제제는 내성 및 부작용을 나타내고 있어 최근에는 기존 제제 이외에 경구 투여하거나 혈관 주사와 병용하여 혈액 내의 혈전 용해능을 증가시킬 수 있는 제제에 관심이 모아지고 있다.

혈소판을 저해하여, 혈전을 억제하는 항혈소판제의 작용기전은 크게 4종류로 구분할 수 있다. 첫째, cyclooxygenase(COX)를 저해하는 기전, 둘째, cyclic adenosine monophosphate(cAMP)를 증가시키는 기전, 셋째, adenosine diphosphate receptor를 저해하는 기전, 넷째, glycoprotein IIb/IIIa를 저해하는 기전이다<sup>9)</sup>.

아스피린의 작용기전은 세포막에서 생성되는 arachidonic acid을 prostaglandin으로 변환시키는 효소인 cyclooxygenase을 acetylation 시킴으로써 cyclooxygenase의 기능을 완전히 차단하는 것이다<sup>10)</sup>. 그러므로 prostaglandin endoperoxides G2/H2의 생성이 억제되고, 결국thromboxane A2(TXA2)의 생성이 억제된다.

Thienopyridine에 속하는 clopidogrel은 adenosine diphosphate (ADP) 수용체를 비가역적으로 방해하여 혈소판 응집을 억제하며 아스피린보다 더 강력하게 혈소판기능을 억제한다.

본 실험에서 사용한 소풍활혈탕은 방약합편에 나오는 처방에 파어혈의 효능이 있는 약재를 가미한 것이며 처방구성은 다음과 같다.

【 금은화, 포공영 각각 10 g 백지, 위령선, 강활, 창출, 계지, 천궁, 천남성, 황백, 당귀, 도인, 방기 각각 4 g, 현호색 2.8 g, 홍화 1.2 g, 생강 10 g 】

기존처방인 소풍활혈탕에 치옹저(治癰疽), 한종소산(寒腫消散), 파혈축혈(破血逐血), 타박어혈(打撲瘀血)하는 현호색, 홍화,

금은화, 포공영등을 가미하여 사지백절유주자통(四肢百節流注刺痛), 풍한습어혈(風寒濕瘀血)로 인(因)한 역절통(歷節痛), 기통처(其痛處) 혹은혹부종(或腫或不腫) 혹은발적종통(或發赤腫痛)등을 주로 치료한다<sup>11)</sup>. 경희의료원에서 제조한 소풍활혈탕 제제의 용법은 통상 성인 1일 1-6회, 1회 1-2포씩 식전 혹은 식간에 경구투여하며, 또한 연령, 체중, 증상에 따라 적절하게 증감한다.<sup>12)</sup>

어혈이란 생리적 기능을 상실한 혈액이 응취하여 형성된 일종의 병리적 산물인 동시에 致病因子가 되는 것으로 혈액순환장애와 혈류속도감소의 병리상태를 포괄한다<sup>13)</sup>. 황재내경에서는 어혈이라는 명칭이 직접적으로 사용되지는 않았지만 이와 유사한 개념으로 악혈(惡血), 유허(留血), 착혈(着血), 배(瘀), 축혈(蓄血) 등이 쓰여졌고 한대 장(張)<sup>14)</sup>이 어혈이라는 명칭을 처음 사용하면서 어혈의 병증 및 치료의 기초를 키웠으며 청대 의가들에 의해 어혈의 병인, 병기, 증상 및 치료에 대한 체계적인 이론이 확립되고 어혈의 임상적 가치가 추구되었다.

최근에는 어혈에 관한 다양한 연구가 진행되어 혈액순환장애, 혈액속도감소, 혈액점도이상, 이로 인한 조직기관의 수종, 변성, 염증, 증식, 궤양, 괴저, 위축, 혈전형성, 혈관협착 또는 폐색 등의 일련의 병리변화 상태를 포괄 한다<sup>15)</sup>. 최근 연구에서는 혈전증을 어혈의 범주에 포함시켜 고전도의 혈액 성상을 어혈형태의 일부로 인정하며 어혈치료제를 혈전증의 치료에 이용하고 있다<sup>16)</sup>. 따라서 현재 나타나고 있는 심혈관 질환의 대부분이 한의학적으로 보았을 때 어혈병태로 분류 될 수 있다.

본 실험에서 사용된 가미소풍활혈탕의 포함된 약재들은 그 효능이 通經, 補血, 養血, 活血하는 것으로 어혈의 병리상태를 개선할 수 있다<sup>17)</sup>.

혈소관의 기능을 알아보는 실험으로 전통적인 실험으로는 Bleeding time, Platelet aggregometry가 있고, 새로운 선택적인 실험으로는 Verify Now, Plateletworks, Thrombelastograph Platelet Mapping System, Impact cone and plate(let) analyzer, Platelet Function Analyzer 100 (PFA-100), vasodilator-stimulated phosphoprotein (VASP) phosphorylation state 등이 있다. 이 중 Bleeding time 은 비특이적이고, 임상적 상관관계가 부족하여 더 이상 추천되지 않으며, 새로운 실험들은 아직 표준화 되어있지 않은 상태여서, 현재 혈소관 기능 실험의 절대표준인 Aggregometer를 사용하였다<sup>18)</sup>.

Aggregometer는 Born's principle를 사용하는 방법으로, 혈소관 기능을 평가하는 여러 방법 중 여전히 가장 널리 사용되는 방법이다. Aggregometer는 혈소관 기능이상을 발견하거나, aspirin, thienopyridines, GP IIb/IIIa inhibitors와 같은 약물의 영향을 평가하거나, 응집 억제 물질을 연구하기 위해 사용된다<sup>19)</sup>.

Collagen을 이용한 aggregometer 실험 결과 다양한 농도의 가미소풍활혈탕을 투여했을 때 가미소풍활혈탕의 농도가 증가함에 따라서 최대응집율을 낮아졌으며 응집억제율은 증가하였다. 생리식염수를 투여한 대조군에 비해 모두 유의하게 응집억제율이 증가하였다( $p<0.05$ )(Fig. 1). Aspirin 및 clopidogrel을 꾸준히 복용한 환자군에서도 20 mg/ml 농도의 가미소풍활혈탕을 투여한 결과 생리식염수를 투여한 대조군에 비해 최대 응집율이 낮

아졌으며 응집억제율은 증가하였다. 따라서 본 실험에 사용된 가미소풍활혈탕은 혈소관의 응집 억제효과가 있으며 기존의 항혈소판제제를 복용하고 있는 환자들에게서 혈소관 응집의 synergic effect가 나타나 이를 통하여 심혈관질환 및 뇌혈관질환의 예방과 치료에 응용할 수 있을 것으로 기대되었다.

## 결 론

가미소풍활혈탕의 혈소관 응집 저해 효과를 규명하기 위해 Aggregometer 실험을 진행하였다. 먼저 농도별로 가미소풍활혈탕을 혈소관에 투여하여 혈소관응집억제의 효능을 관찰하였고 aspirin과 clopidogrel을 복용한 환자들에게 20 mg/ml의 가미소풍활혈탕을 투여하여 혈소관 응집억제의 효능을 관찰하였다. 그 결과는 다음과 같다.

가미소풍활혈탕의 혈소관 응집억제 효과에 있어서, aggregometer를 이용한 in vitro 실험 결과 가미소풍활혈탕은 농도 의존적으로 collagen 유도 혈소관 응집을 억제하며 모든 농도에서 유의성이 높게 억제하였다. 가미소풍활혈탕의 혈소관 응집 억제에 있어서, aspirin과 clopidogrel을 복용한 환자에게 20 mg/ml의 가미소풍활혈탕을 투여한 결과 control대비 최대 응집율이 낮아졌으며 aspirin 복용군에서 좀 더 응집 억제가 잘 나타났다. 따라서 가미소풍활혈탕은 혈소관 응집억제 효과가 있어 혈전으로 인한 질환의 치료제로서 개발 가능성이 있는 한약재로 사료되며 현재 항혈전제를 복용하고 있는 환자에게 한약재를 복합투여 했을 때의 항혈전기능을 높일 가능성이 있다고 사료된다.

## 참고문헌

1. Antithrombotic Trialists' Collaboration. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ*. 324: 71-86, 2002.
2. Michelson, A.D. Platelet function testing in cardiovascular diseases. *Circulation*. 110: e489-e493, 2004.
3. Rodondi, N., Bauer, D.C. Assessing the risk/ benefit profile before recommending aspirin for the primary prevention of cardiovascular events. *Am J Med*. 117: 528-530, 2004 .
4. 남 영, 채병윤. 역절풍에 소풍활혈탕이 미치는 소염 진통 해열 및 Albumin응고에 관한 실험적 연구. 경희한의대 논문집, 4: 145-151, 1981.
5. 문영희, 김경완, 엄기전. 소풍활혈탕의 약효에 관한 연구-진통, 항염증 및 혈압에 미치는 효과에 대하여. 생약학회지 22(4):240-245, 1991.
6. 양문혁, 최승훈, 안규석. 소풍활혈탕 및 소풍활혈탕 가 붕독이 어혈병태에 미치는 영향. 대한한의학회지 15(1):385-399, 1994.
7. Born, G.V., Wehmeier, A. Inhibition of platelet thrombus formation by chlorpromazine acting to diminish haemolysis. *Nature*. 282: 212-213, 1979.

8. 박순기. 백작약 추출물이 항산화활성, LDL산화 억제 및 혈전 용해에 미치는 영향. 대한한의학회지 30(2):88-103, 2009 .
9. Giovanni, Dav., M.D., et al. Platelet Activation and Atherothrombosis ; NEJM. 357: 2482-2494, 2007.
10. Roth, G.J., Clverley, D.C. Aspirin, Platelet, and Thrombosis: Therapy and Practice. Blood 83(4):885-898, 1994 .
11. 허준. 동의보감. 법인문화사, p 981, 2007.
12. 경희의료원. 경희의료원 한약처방집, p 399, 2007.
13. 전국한의과대학 병리학교실. 한방병리학. 일지사, pp 81-85, 2002.
14. 張機. 仲景全書. 도서출판 정담, p 25, 1999.
15. 김정범. 도인승기탕 및 그 구성단미제가 어혈병태에 미치는 영향. 97 국제 어혈심포지움 논문집, pp 77-104, 1997.
16. 박선영외 9명. 보양환오탕이 혈전생성관여인자에 미치는 영향. 대한한방내과학회지 21(5):829-837, 2000.
17. 본초학. 전국한의과대학 본초학교실. 영림사, pp 124-578, 2007.
18. Michelson, A.D., Frelinger, A.L.3rd, Furman, M.I. Current options in platelet function testing. The American journal of cardiology. 98(10A):4N-10N, 2006.
19. Breddin, H.K. Can platelet aggregometry be standardized. Platelets. 16(3-4):151-158, 2005.