

芎歸湯加味方の 抗血栓效果에 關한 研究

尹 賢 子*
田 炳 薰**

〈目 次〉

- I. 緒論
- II. 實驗材料 및 方法
- III. 實驗成績
- IV. 考察
- V. 結論

I. 緒論

芎歸湯은 羅¹⁾의 《衛生寶鑑》에 「治胎前產後 一切去血過多」라 하여 처음 收錄된 이래 歷代 醫家^{3~6, 9~11, 15, 16)}에 依하여 臨月에 복용하여 縮胎易産하고, 産後에 服用하여 惡血을 自下할 目的으로 使用되었으며, 또 一切의 失血過多로 인한 諸疾에도 應用되어온 處方이다.

血은 生成된 후에 血管에서 끊임없이 흐르면서 全身을 營養하는 작용을 담당하므로써 人體의 각종 生理機能을 유지시키며, 臟腑組織의 生成維持에 필요한

物質의 資料를 供給하는 것으로^{2,12)} 血의 機能은 정상적인 運行이 前提가 되므로 血의 運行의 失調은 곧 病을 초래하게 되며, 病의 한의학적 分類로는 血虛, 瘀血, 溢血 등이 있다^{2, 5, 7, 13)}.

芎歸湯加味方은 芎歸湯^{3, 4, 6, 9, 10, 11, 16)}에 桃仁, 紅花를 加하여 構成된 處方으로, 當歸는 補血活血 調經止痛 潤腸通便하고 川芎은 活血行氣 去舊生新 祛風止痛^{16, 18, 19)} 하며, 桃仁은 破血 瘀潤燥滑腸하고, 紅花는 活血通經 瘀止痛^{16, 18, 19)}하는 藥理作用이 있으므로 本方은 補血活血 活血去瘀하는 效能으로 瘀血와 血虛로 인한 産前後의 諸疾 및

* 圓光韓醫大 大學院

** 圓光大學校 韓醫大 病理學教室 教授

血暈 人事不省과 橫産, 逆産, 胎不下, 血崩不止등을 治療하는데 活用되고 있다^{3, 5, 6, 9, 10, 11, 15).}

한편 本方에 대한 實驗的研究로는 李²⁴⁾의 芎歸紅花湯藥針의 效能및 安全性에 대한 研究등이 있으나 抗血栓效果에 미치는 影響에 대한 實驗的研究는 아직 찾아 볼 수 없었다.

이에 著者는 芎歸湯이 抗血栓作用에 미치는 影響을 알아보기 위하여 本方을 마우스에 經口投與한 後 血中赤血球數, 血小板數, 出血時間, 血液凝固時間, 死亡率, 血小板凝集抑制作用, 血漿凝固因子活性度, 纖維素溶解活性度등을 觀察하여 有意性있는 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 實驗材料

1) 動物

體重 250g 內外의 Sprague-Dawley 系 雌性白鼠 및 30g 內外의 Balb/C 雄性 마우스를 一般配合飼料(三養飼料:조단백질 22.1% 以上, 조지방 3.5% 以上, 조섬유 5.0% 以下, 조회분 8.0% 以下, 칼슘 0.6% 以上, 인 0.4% 以上)로 1週間 以上 飼育한 後 實驗室 環境에 適應시켜 實驗에 利用하였다. 實驗期間동안 물과 基本配合 食餌는 자유롭게 먹을 수 있도록 하였다.

2) 藥材

實驗에 使用한 芎歸湯加味方은 圓光 大學校 韓醫科大學 附屬韓方病院에서 購入한 後 精選하여 使用하였고, 처방은 東醫寶鑑에 準하였는데 그 내용은 다음과 같다.

prescription of Gungguitanggamibabg

韓藥名	生藥名	重量
川芎	Rhizoma Ligustici	3.75g
當歸	Radix Angelicae Sinensis	3.75g
桃仁	Semen Persicae	3.75g
紅花	Flos Carthami	3.75g
總計(total amount)		15g

3) 檢液의 調劑

芎歸湯加味方 10貼 分量을 蒸溜水 2000ml와 함께 환저플라스크에 넣고 冷却器를 附着하여 2時間동안 加熱하여 煎湯한 後에 冷却시켰다. 3000rpm에서 20分間 遠心分離하여 上

清液을 取한 後, 濾過布와 濾過紙로 濾過한 濾液을 減壓回轉蒸發機를 利用하여 65℃에서 減壓濃縮한 다음, 100ml가 되도록 生理食鹽水를 가하여 抽出液을 製造하고, pH 7.0으로 調節한 다음 低溫에서 24時間 放置하여

생성된 沈澱物을 遠心分離하여 濾過分離한 다음 0.2 μ m의 micropore syringe filter를 이용하여 濾過滅菌하고 앰플에 보관하여 사용하였다.

4) 抽出液의 投與

芎歸湯加味方 抽出液을 필요한 濃度로 증류수에 稀釋하여 體重 100g당 1ml, 2ml씩을 經口投與하였다.

2. 實驗方法

1) 血栓誘發 및 血液 測定

芎歸湯加味方 抽出液을 白鼠 體重 100g당 1ml, 2ml씩 血栓誘發 2, 4時間前에 經口投與한 다음 collagen(10 μ g/10g B.W.)과 serotonin (10 μ g/10g B.W.)의 混合液을 尾靜脈에 빠르게 注射하여 血栓을 誘發하였다. 血栓誘發 후 4時間 後에 ether 마취하에 心臟穿刺하여 採血하였다.

(1) 血中 血小板 數

血小板은 EDTA bottle에 採血한 血液을 自動血球測定器로 測定하였다.

(2) 出血時間의 測定

出血時間은 白鼠를 痲醉시킨 後 꼬리의 末端에서 3mm되는 곳을 切斷하여 5cm되는 곳 까지 37 $^{\circ}$ C의 生理食鹽水에 넣어 止血할 때 까지의 時間을 測定하였다.

2) 抗血栓作用

(1) Mouse 死亡率沮害效果

30g 內外의 Balb/C Mouse를 實驗開始 前날 하루밤 絶食시킨 後 急性肺性血栓症(acute pulmonary thromboembolism)을 誘發하기 위하여 collagen

(20 μ g/10g B.W.)과 serotonin(50 μ g/10g B.W.)의 混合液(100 μ l/10g B.W.)을 尾靜脈에 빠르게 注射하였다. Mouse의 死亡은 collagen(20 μ g/10g B.W.)과 serotonin(50 μ g/10g B.W.)의 混合液(100 μ l/10g B.W.)을 尾靜脈에 注射한 後 10分안에 決定하였다. collagen(20 μ g/10g B.W.)과 serotonin(50 μ g/10g B.W.)의 混合液을 注射하기 2, 4 時間 前에 2회에 걸쳐 미리 제조한 芎歸湯加味方 抽出液을 0.01ml/g, 0.02ml/g 씩을 各各 經口投與하였으며, 對照群은 同量의 生理食鹽水를 주사하였고, 藥物對照群으로 cyproheptadine(ED50=0.1mg/kg B.W.)을 collagen(10 μ g/20g B.W.)과 serotonin(50 μ g/10g B.W.)의 混合液을 注射하기 1時間 前에 經口投與하였다. 結果는 mouse의 死亡數와 百分率로 表示하였다. 死亡率(%)은 아래의 等式에 의하여 救하였다.

$$\text{死亡率} = \frac{\text{No. of dead mice} \times 100}{\text{No. of treated mice} \times \text{CD}}$$

$$\text{CD} = \frac{\text{No. of dead mice in control Group}}{\text{No. of mice in control Group}}$$

(2) 血小板凝集抑制作用과 血漿凝固因子活性에 미치는 影響

250g內外의 Sprague-Dawley系의 白鼠를 實驗開始 前날 하루밤 絶食시킨 後 使用하였다. 實驗開始 2, 4 時間前에 芎歸湯加味方 抽出液을 0.01ml/g, 0.02ml/g 씩을 經口투여하였으며, 對照群은 同量의 生理食鹽水를 주사하

였으며, 藥物對照群으로 實驗開始 1時間 前에 aspirin 10mg/kg을 經口投與 하였다. sodium phenobarbital(36mg/kg)로 麻醉시킨 後 正中線 開腹術을 施行하고, 3.8% sodium citrate溶液을 含有한(血液의 1/10) 琉璃注射器로 白鼠의 腹部大動脈에서 採血하였다. 200g을 10分間 遠心分離하여 上清液을 取해서 platelet rich plasma(PRP)로 利用하였다. platelet poor plasma(PPP)는 남은 血液 1500g을 15分間 遠心分離하여 얻었다. 血小板凝集의 測定은 Born의 比濁測定法을 利用하였다. 250 μ l의 PRP(platelet rich plasma)에 5 μ l의 凝集因子를 添加하여 測定하였다.

血漿凝固因子活性的 測定을 爲하여 血小板凝集抑制 實驗에서와 같이 準備된 PPP를 使用하였으며, 血小板凝集度를 測定하는 方法과 同一하게 施行하였다. prothrombin time(PT)과 activated partial thromboplastin time(APTT)은 COBAS FIBRO(ROCHE)와 thromboplastin kit(American Dade)를 使用하여 自動測定하였다.

3) 纖維素溶解活性化度

(1) ex vivo assay

250g內外의 Sprague-Dawley系의 白鼠를 實驗開始 前날 하루밤 絶食시킨 後 使用하였다. 實驗開始 2, 4 時間前에 芎歸湯加味方 抽出液을 0.01ml/g, 0.02ml/g씩을 各各 경구投與하였으며, 對照群은 同量의 生理食鹽水를 注射하였다.

sodium phenobarbital(36mg/kg)로

麻醉시킨 後 正中線 開腹術을 施行하고, 3.8% sodium citrate溶液을 含有한(血液의 1/10) 琉璃注射器로 白鼠의 腹部大動脈에서 採血하였다. 血漿을 얻기 위하여 1500g에서 10分間 遠心分離하였다. 血漿 0.5ml에 0.3mM acetic acid를 4.5ml를 加하여 4°C에서 1時間 동안 放置하였다. 酸性化한 血漿을 遠心分離한 後 euglobulin solution을 얻기위하여 沈澱物을 100mM phosphate buffer(pH 7.4) 0.5ml에 溶解하였다. 이 溶液 0.4ml에 50IU/ml thrombin 80 μ l를 加한 다음 fibrin clot lysis recorder를 利用하여 euglobulin clot lysis time(ECLT)을 測定하였다. 또한 纖維素평판위의 溶解面積을 計算하여 纖維素 溶解度를 測定하였다. 0.6%의 사람 fibrinogen 溶液을 10ml를 plastic plate위에서 thrombin 5IU/ml로 凝固시켰다. euglobulin 溶液 25 μ l를 各 plate에 seeding하고 37°C에서 18時間 incubation 한 다음 各各의 溶解 面積을 測定하였다.

(2) in vitro assay

sodium phenobarbital(36mg/kg)로 麻醉시킨 後 正中線 開腹術을 施行하고, 3.8% sodium citrate溶液을 含有한(血液의 1/10) 琉璃注射器로 rat의 腹部大動脈에서 採血하였다. 血液 1.40ml에 芎歸湯加味方 抽出液 0.1ml를 加하여 37°C에서 5分間 incubation하였다. 血漿을 얻기 위하여 1500g에서 10分間 遠心分離한 다음 上記의 方法으로 euglobulin 分劃을 얻은 다음 ECLT를 測定하였다.

4) 統計處理

實驗結果의 統計處理는 Mac Stat View TM+512를 利用하여 unpaired t-test에 準하여 處理하였고, 實驗值의 表現은 Mean±SE으로 하였으며, p-value가 最大值 0.05(p<0.05)以下인 境遇를 有意한 것으로 判定하였다.

70.3±0.9(10⁵/ml), 68.4± 2.1(10⁴/ml)였으며 白鼠의 尾靜脈에 collagen과 serotonin을 注射하여 生理食鹽水를 前處置한 對照群에서는 54.5±1.3(10⁵/ml), 52.1±3.5(10⁴/ml)로 나타나 正常群에 比하여 減少되었고, 芎歸湯加味方 乾燥엑기스 0.01ml/g을 經口投與한 GGT-A群에서는 64.3±2.1(10⁵/ml)과 63.5±3.2(10⁴/ml)로 나타났으며, 0.02ml/g을 投與한 GGT-A群에서는 66.9±2.3(10⁵/ml)과 66.3±2.5(10⁴/ml)로 증가하였다.(Table 1)

III. 實驗成績

1. 血中 赤血球 및 血小板數

正常群의 赤血球數와 血小板數는

Table 1. Effect of the fluid of *GungguiTanggambiang* extract on the number of RBC and platelet in rats with thrombosis induced by collagen and serotonin

Group	No. of animals	RBC Count(10 ⁵ /ml)	Platelet Count(10 ⁴ /ml)
Normal	10	70.3±0.9	68.4±2.1
Control	10	54.5±1.3	52.1±3.5
GGT-A	10	64.3±2.1*	63.5±3.2*
GGT-B	10	66.9±2.3**	66.3±2.5**

Normal:saline treated group

CONT:thrombosis-induced group by collagen and serotonin and treated with saline only as a vehicle

GGT-A:thrombosis-induced group by collagen and serotonin and the fluid of *GungguiTanggambiang* extract 0.01ml/g B.W. was administered orally.

GGT-B:thrombosis-induced group by collagen and serotonin and the fluid of *GungguiTanggambiang* extract 0.02ml/g B.W. was administered orally.

The data are shown as Mean±SEM. The statistic analysis between vehicle control group and treated groups was performed by student's t-test. Asterisks denote significance levels of differences between control group and the fluid of *GungguiTanggambiang* extract treated groups : * P<0.05, ** P<0.01.

2. 出血時間 및 血液凝固時間의 測定

正常群의 bleeding time과 blood clotting time은 395.4±24.1초와 112.4±10.5초 였으며 白鼠의 尾靜脈內에 collagen과 serotonin을 注射하여 生理食鹽水로 前處置한 對照群에서는 bleeding time이 678.6±36.4초로 正常群에 比하여 增加되었고 blood clotting time

은 78.1±13.6초로 正常群에 比하여 減少되었다. 芎歸湯加味方 乾燥엑기스를 0.01ml/g 經口投與한 GGTA-群에서는 bleeding time과 blood clotting time은 598.4±33.4초와 94.7±11.4초, 0.02ml/g을 經口投與한 GGT-B 群에서는 476.3±24.1초와 107.8±10.5초로 나타내었다.(Table2)

Table 2. Effect of the fluid of *GungguiTanggambang* extract on the bleeding time and blood clotting time in rats with thrombosis induced by collagen and serotonin

Group	No. of animals	Bleeding Time(sec)	Blood Clotting Time(sec)
Normal	8	395.4 ± 24.1	112.4 ± 10.5
Control	8	678.6 ± 36.4	78.1 ± 13.6
GGT-A	8	598.4 ± 33.4	94.7 ± 11.4*
GGT-B	8	476.3 ± 24.1**	107.8 ± 10.5**

Normal:saline treated group

CONT:thrombosis-induced group by collagen and serotonin and treated with saline only as a vehicle

GGT-A:thrombosis-induced group by collagen and serotonin and the fluid of *GungguiTanggambang* extract 0.01ml/g B.W. was administered orally.

GGT-B:thrombosis-induced group by collagen and serotonin and the fluid of *GungguiTanggambang* extract 0.02ml/g B.W. was administered orally.

The data are shown as Mean±SEM. The statistic analysis between vehicle control group and treated groups was performed by student's t-test. Asterisks denote significance levels of differences between control group and the fluid of *GungguiTanggambang* extract treated groups:* P<0.05, ** P<0.01.

3. 마우스의 死亡率測定

Mouse에서 誘發한 肺性血栓性塞栓症 모델은 serotonin과 collagen의 混合液을 尾靜脈에 注射하여 誘發하였으며, 각 實驗群마다 12마리의 Mouse를 對象으로 實施하였다. 檢液대신 control vehicle로서 生理食鹽水를 使用한 對照群에서는 塞栓症으로 因하여 呼吸困難症候를 誘發하고 實驗大商動物이

모두 死亡하였다. 藥物對照群으로 cyproheptadine(0.1mg/kg po)을 投與한 群은 12마리中 7마리가 死亡하여 58.3%의 死亡率을 보였으며, 芎歸湯加味方 乾燥엑기스를 投與한 GGT-A,B群은 各各 83.3%, 66.6%, 66.7%의 死亡率을 보여 濃度依存的으로 死亡率을 抑制하는 效果가 增加하는 樣相을 보였다(Table 3).

Table 3. Measurement of Mortality rate was observed by the anti-thrombotic activity of the fluid of *GungguiTanggamibang* extract against pulmonary thromboembolism induced by collagen the mixture (0.1ml/10g, 2mg/kg B.W) plus serotonin (5mg/kg B.W) in mouse

Groups	Mortality rate(%)	Inhibition of mortality (%)
CONT	12/12 (100 %)	0
GGT-A	10/12 (83.3 %)	16.7 %
GGT-B	8/12 (66.6 %)	33.4 %
Cyproheptadine	7/12 (58.3 %)	41.7 %

CONT:thrombosis-induced group by collagen and serotonin and treated with saline only as a vehicle

GGT-A:thrombosis-induced group by collagen and serotonin and the fluid of *GungguiTanggamibang* extract 0.01ml/g B.W. was administered orally.

GGT-B:thrombosis-induced group by collagen and serotonin and the fluid of *GungguiTanggamibang* extract 0.02ml/g B.W. was administered orally.

Cycloheptadine:thrombosis-induced group by collagen and serotonin and 0.1mg/kg B.W. oral administration

Suppressive effects of GGT extract on serotonin and collagen-induced pulmonary thromboembolic death in mice. The mortality rate within 10 minutes of the serotonin and collagen injection was determined. The data are shown as the percentage representing the mortality rate in animal number (dead animal number/total animal number used in the experiment)

4. 血小板凝集抑制作用

生理食鹽水を 前處置한 對照群의 血小板凝集度는 $68.2 \pm 3.4\%$ 를 보였으며, ticlopidine과 aspirin을 投與한 藥物對照群에서는 0.02ml/g投與한 群에서 $43.2 \pm 5.1\%$ 과 $27.6 \pm 3.6\%$ 의 血小板凝集도를 보여 24.7% 과 49.7% 의 有意한 血小板凝集抑制效果를 보였다. 芎

歸湯加味方 乾燥엑기스를 0.01ml/g 經口投與한 GGT-A群에서는 $58.1 \pm 4.2\%$ 로 凝集도가 減少하였으며 芎歸湯加味方 乾燥엑기스를 0.02mg/g 經口投與한 GGT-B群에서는 $54.5 \pm 4.1\%$ 의 凝集도를 보여 20.1%의 抑制效果를 나타냈으며, GGT-B群에서 統計的으로 有意한 血小板凝集抑制效果를 보였다(Table 4).

Table 4. Effect of the fluid of *GungguiTanggamibang* extract on the change of collagen-induced platelet aggregation in rats.

Groups	Dose (ml/kg.is)	Aggregation(%)	Inhibition Rate(%)
CONT	0(8)	68.2 ± 3.4	-
GGT-A	0.1(8)	$58.1 \pm 4.2^*$	14.8
GGT-B	0.2(8)	$54.5 \pm 4.1^{**}$	20.1
Ticlopidine	10(8)	51.3 ± 4.2	24.7
Aspirin	10(8)	$34.3 \pm 6.5^*$	49.7

PRP was prepared 1hr later after oral administration of aspirin, 2hrs later after oral administration of *GungguiTanggamibang* extract and 3hr after administration of ticlopidine. Platelet aggregation was induced by collagen($2.0 \mu\text{g/ml}$).

CONT: treated with saline only as a vehicle

GGT-A: thrombosis-induced group by collagen and serotonin and the fluid of *GungguiTanggamibang* extract 0.01ml/g B.W. was administered orally.

GGT-B: thrombosis-induced group by collagen and serotonin and the fluid of *GungguiTanggamibang* extract 0.02ml/g B.W. was administered orally.

The number in parenthesis means No. of animals used in experiments. The data are shown as mean SEM of 8 animals. The statistic analysis between vehicle control group and treated groups was performed by student's t-test. Asterisks denote significance levels of differences between contral group and treated groups : * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

5. 血漿凝固因子活性에 미치는 影響

血漿凝固因子活性에 미치는 影響은 prothrombin time(PT)과 activated partial thromboplastin time(APTT)을

測定하였다. PT와 APTT는 對照群에 比하여 檢液의 濃度增加에 따라 時間이 延長되는 效果를 보였으나, GGT-A群, GGT-B群 모두에서 有意한 結果는 나타내지 못하였다(Table 5).

Table 5. Effect of the fluid of *GungguiTanggamibang* extract on the coagulation activity in rats

Groups	PT(sec)	APTT(sec)
CONT	13.9±0.8	20.4±0.3
GGT-A	14.9±0.7	21.5±0.8
GGT-B	15.3±0.7	22.6±0.9

PPP was prepared 2hr after oral administration of of *GungguiTanggamibang* extract.

CONT:treated with saline only as a vehicle

GGT-A:thrombosis-induced group by collagen and serotonin and the fluid of *GungguiTanggamibang* extract 0.01ml/g B.W. was administered orally.

GGT-B:thrombosis-induced group by collagen and serotonin and the fluid of *GungguiTanggamibang* extract 0.02ml/g B.W. was administered orally.

The data are shown as mean SEM of 8 animals. The statistic analysis between vehicle control group and treated groups was performed by student's t-test. Asterisks denote significance levels of differences between contral group and treated groups : * P<0.05, ** P<0.01.

6. 纖維素溶解活性度の 測定

ex vivo assay와 in vitro assay를 施行하여 芎歸湯加味方 乾燥엑기스의 纖維素溶解活性度を 測定하였다. ex vivo assay에서는 euglobulin分劃의 溶解時間과 溶解面積을 計算하여 測定하였으며, in vitro assay에서는 溶解時間을 測定하였다. 對照群의 溶解時間은 259 ±12min였으며, GGT-A群에서는 232 ±16min로 溶解時間이 減少하였으며, GGT-B群에서는 224 ±13min으로 各

各 有意性있는 減少를 보여 10.4, 13.5 %의 溶解時間減少效果를 나타내었다. 또한 溶解面積의 結果도 類似한 樣相을 觀察할 수 있었다. 卽 對照群에서의 89.3 ±5.1mm²가 GGT-A群에서는 93.5 ±5.5mm²로 增加하였고, GGT-B群에서는 98.6 ±6.0mm²로 統計적으로 有意性있게 增加하여 4.7, 10.4%의 溶解面積增加效果를 보였다(Table 6).

in vitro assay에서는 濃度增加에 따라 全血과 血漿에서 溶解時間이 점차 減少하여 濃度依存的 減少하는 傾向을

보였으나 統計적으로 有意한 結果는 아니었다(Table 7).

Table 6. Effect of the fluid of *GungguiTanggamibang* extract on ex vivo fibrinolytic activity of euglobulin fraction in rats.

Groups	Lysis Time (min)	Decrease (%)	Lysis Area (mm ²)	Increase (%)
CONT	259 ± 12	-	89.3 ± 5.1	-
GGT-A	232 ± 16	10.4	93.5 ± 5.5	4.7
GGT-B	224 ± 13*	13.5	98.6 ± 6.0*	10.4

Blood was taken 2hr after oral administration of of *GungguiTanggamibang* extract and euglobin fraction was prepared. Fibrinolytic activity was evaluated by measuring ECLT and area of lysis on each fibrin plate after incubation for 18 hr at 37. Each value represents the mean SEM of 8 animals. The statistic analysis between vehicle control group and treated groups was performed by student's t-test. Asterisks denote significance levels of differences between contral group and treated groups: * P < 0.05, ** P < 0.01.

CONT: treated with saline only as a vehicle

GGT-A: thrombosis-induced group by collagen and serotonin and the fluid of *GungguiTanggamibang* extract 0.01ml/g B.W. was administered orally.

GGT-B: thrombosis-induced group by collagen and serotonin and the fluid of *GungguiTanggamibang* extract 0.02ml/g B.W. was administered orally.

Table 7. Effect of the fluid of *GungguiTanggamibang* extract on in vitro fibrinolytic activity of euglobulin fraction in rats.

Dose (μl)	Lysis Time	
	Whole Blood	Plasma
0	211 ± 14	234 ± 16
10	205 ± 11	225 ± 16
30	201 ± 12	220 ± 12
100	194 ± 14	214 ± 15
200	190 ± 15	211 ± 12

Citrated blood or plasma from rats was incubated with the fluid of *GungguiTanggamibang* extract for 5 min at 37 and the euglobin clot lysis time(ECLT) was measured. Each value represents the mean SEM of 8 animals. The statistic analysis between vehicle control group and treated groups was performed by student's t-test. Asterisks denote significance levels of differences between contral group and treated groups: * P < 0.05, ** P < 0.01.

IV. 考察

血은 中焦에서 水穀을 받아 精汁으로 變化되어 生成된 붉은 液體^{2, 12, 13)}를 말하는 것으로 經脈을 통해 全身에 흘러 들어가 七竅를 靈妙하게 하고 四肢를 움직이게 하며 筋骨을 和柔하게 하고 肌肉을 豐盛하게 하며 臟腑를 滋養하고 神魂을 편안하게 하며 色을 潤澤하게 하며 營衛를 充實케 하는 作用을 한다²⁾).

血의 運行은 心에 의해서 主管되고 脾에 의해서 統攝되며 肝에 의해서 貯藏 되고 肺에 의해서 宣布되며 腎에 의해서 施泄되므로써 營爲되는 總體的 機能活動의 하나로 各種의 原因에 의해서 血의 運行氣機와 관계가 있는 臟腑, 血脈, 氣, 津液등에 異常을 초래하면 血病을 유발하게 되는데 血病의 病機는 대체로 血溢 瘀血 血虛 등으로 轉歸된다^{2, 12, 13)}.

血溢은 여러가지 原因으로 인해 脈絡의 損傷 혹은 血液의 妄行이 誘發되어 血液이 脈의 外部로 逸脫하는 病理變化를 말하는 것이며^{2, 9, 13)}, 血瘀는 血液이 運行의 障礙를 받아서 脈管이나 臟腑등에 瘀滯되거나, 脈管을 벗어난 어떤 部位에 血液이 瘀滯된 병리적 상태를 말하는 것으로 그 治法은 活血化瘀를 위주로 한다^{2, 5, 7, 13, 21, 22, 23)}.

血虛는 失血過多나 臟腑의 虛損, 精血을 化生시키는 機能의 減退등으로 血液이 不足하여 濡養機能을 잃어버리는 病變으로 面色蒼白 或委黃 脣色淡白 頭暈眼花 心悸 失眠 脈細無力등의

특징적인 症狀을 나타내며 그 治法은 補血을 위주로 한다.^{9, 13)}

芎歸湯加味方은 芎歸湯의 構成藥物인 當歸, 川芎에^{3, 4, 6, 9, 10, 11, 16)} 桃仁, 紅花를 加하여 構成된 處方으로 構成藥物의 藥理作用을 살펴보면 當歸는 補血活血 調經止痛 潤腸通便하고, 川芎은 活血行氣 去舊生新 祛風止痛하며, 桃仁은 破血 瘀 潤燥滑腸하고, 紅花는 活血通經 瘀止痛^{16, 18, 19)}하는 藥理作用이 있고, 許 等^{3, 9, 11)}은 本方을 臨月에는 縮胎易産을 目的으로, 産後에는 惡血을 自下하게 할 目的으로, 一切의 失血過多로 인한 眩暈 人事不省 등 症에는 補血을 할 目的으로 사용한 것으로 보아 本方은 補血和血 活血去瘀하는 效能으로 血虛와 瘀血로 인한 諸證에 사용된 處方임을 알 수 있다.

한편 현재 國內外에서의 血瘀와 血虛에 대한 研究傾向을 살펴보면 血液學의 方面, 血液流變學의 方面, 心臟血流動力學의 方面, 微細循環學의 方面, 免疫學의 方面, 結合組織學의 方面⁷⁾ 등으로 다양하게 研究되고 있는 실정이다.

이에 著者는 本方이 抗血栓效果에 미치는 影響을 實驗적으로 糾明하고자 本方을 마우스에 投與한 후 血中赤血球數, 血小板數, 出血時間, 血液凝固時間, 死亡率, 血小板凝集抑制作用, 血漿凝固因子活性度, 纖維素溶解活性度 등을 觀察하였다. 이때 그 成績結果를 分析考察하면 다음과 같다.

芎歸湯加味方 乾燥엑기스의 抗血栓效果를 알아보기 위하여 急性肺性血栓性塞栓證을 誘發하여 死亡率을 觀察하

였다. 急性肺性血栓性塞栓證 모델은 serotonin과 collagen으로 誘導된 血小板血栓의 塞栓에 依하여 惹起되었으며, 이것은 serotonin과 collagen으로 誘導된 in vitro 血小板凝集의 in vivo 모델에 該當하는 것이다. collagen(20 μ g/10g B.W.)과 serotonin(50 μ g/10g B.W.)의 混合液(100 μ l/10g B.W.)으로 誘導된 이 實驗모델에서 90%以上の 死亡率이 誘導되었으며, 이 모델에서 發生하는 死因의 機轉은 다음과 같이 說明할 수 있다. 尾靜脈에 注射된 serotonin과 collagen은 血管內 血小板凝集을 誘發하여 血小板凝塊를 形成하고 이것이 閉鎖動脈에 塞栓을 誘發하여 呼吸困難症候를 誘發하고 마침내 死亡에 이르게 한다. 芎歸湯加味方 乾燥엑기스는 投與量의 增加에 따라 死亡率을 減少하는 效果를 보였으며, 藥物對照群의 S2-serotonergic and H1-histaminergic antagonist인 cyproheptadine의 死亡率은 44.4%였다. 最近의 報告에는 serotonin은 血小板凝集에 重要な 役割을 한다고 하였다. 따라서 serotonin과 collagen으로 誘發된 血栓性塞栓證에는 強力한 S2-serotonergic and H1-histaminergic antagonist인 cyproheptadine이 顯著하게 血栓性塞栓證으로 因한 마우스의 死亡率을 減少시키는 效果를 보였으며, 芎歸湯加味方 乾燥엑기스도 이러한 對照藥物보다는 微弱하나 意義를 가진 死亡抑制效果를 나타냈다. 그러므로 芎歸湯加味方 乾燥엑기스의 S2-serotonergic and H1-histaminergic antagonist로서의 效

果에 대해서 研究가 되어져야 할 것으로 思慮된다.

collagen으로 誘導된 血小板의 凝集效果는 血小板抑制劑인 ticlopidine과 aspirin을 10, 20mg/kg 投與한 群에서 顯著하게 나타났으며, 芎歸湯加味方 乾燥엑기스를 投與한 群에서도 濃度依存的으로 凝集이 抑制되는 結果를 나타냈다. 특히 芎歸湯加味方 乾燥엑기스 20mg/kg 投與한 GGT-B에서 對照群에 比하여 有意性있는 減少效果가 있었다. 또한 血液의 凝固因子의 活性檢査를 위하여 prothrombin time과 activated partial thromboplastin time을 測定한 結果 芎歸湯加味方 乾燥엑기스를 投與한 實驗群에서 多少의 時間延長結果를 나타냈으나 統計的有意性은 없었다. 血漿凝固因子活性의 時間이 延長된 것은 serotonin과 collagen으로 誘發한 血栓形成過程에 血液凝固因子의 非正常的 消耗에 依하여 血液凝固因子의 缺乏에 따른 一時的 效果라고 여겨진다. 따라서 芎歸湯加味方 乾燥엑기스는 血小板의 作用을 抑制하여 血栓形成의 減少를 誘導하고 이에 따라 serotonin과 collagen으로 誘發한 肺性血栓性塞栓症으로 인한 마우스의 死亡率減少와 關係가 있을 것으로 思慮된다.

그러나 血栓形成抑制의 또 다른 機轉으로 생각할 수 있는 血栓溶解를 考慮해야할 것으로 생각되어 芎歸湯加味方 乾燥엑기스의 纖維素溶解能實驗을 實施하였다. 纖維素溶解能을 測定하기 위하여 euglobulin clot lysis. time과

euglobulin分劃에 의한 纖維素평판의 溶解面積을 計算하여 實施하였다. ECLT의 檢査의 原理는 纖維素溶解系의 檢査法中の 하나이다. 血漿을 물로 稀釋하여 이온 強度를 低下하면 沈澱되어 석출되는 部分이 euglobulin이다. 血漿中の fibrinogen, plasminogen, plasmin activator 등의 大部分을 含有한다. 그러나 antiplasmin은 含有하지 않는다. 이 euglobulin分劃에 thrombin을 加하여 纖維素凝固를 誘發하고 加溫하면 plasminogen activator에 依해서 plasminogen이 plasmin으로 轉換되어 纖維素凝塊를 溶解하게 된다. 그러므로 이 時間을 利用하여 纖維素溶解機轉의 活性與否를 反映할 수 있는 것이다. 卽 이 方法은 血漿의 plasminogen activator 活性與否를 反映할 수 있는 方法이다. 이 實驗結果 溶解時間은 芎歸湯加味方 乾燥엑기스의 投與濃度가 커질수록 溶解時間이 短縮되는 結果를 보였으며, 溶解面積은 增加하는 樣相을 보였고, 特히 GGT-B에서는 有意性있는 結果가 나타났다. 이러한 結果를 類推할 때 芎歸湯加味方 乾燥엑기스는 纖維素溶解能의 增加效果를 가지며, 그 效果는 特히 plasminogen activator의 活性에 起因한다고 할 수 있을 것이다. 또한 in vitro에서 實施한 溶解時間 測定은 芎歸湯加味方 乾燥엑기스의 直接的인 溶解能檢査를 위해 實施하였다. 全血과 血漿의 纖維素溶解時間은 減少하는 傾向을 보였으나 有意性은 없었다. 卽 芎歸湯加味方 乾燥엑기스의 纖維素溶解能의 增加는

直接的인 纖維素溶解能보다는 血漿의 plasminogen activator 등의 活性에 起因하여 이루어지는 것으로 推測할 수 있다.

以上の 모든 結果를 考察해 볼때 芎歸湯加味方は 赤血球와 血小板數를 增加시키고 bleeding time은 減少시키며 blood clotting time, 死亡率變化, 血小板凝集抑制作用, 纖維素溶解活性度를 增加시키므로써 抗血栓效果를 나타내는 것으로 思料된다.

V. 結論

本實驗은 補血和血 活血去瘀하는 效果로 血瘀와 血虛로 인한 産前後의 諸疾을 治療하는 芎歸湯加味方の 抗血栓效果를 實驗적으로 糾明하기 위하여 serotonin과 collagen으로 血栓症을 誘發시킨 白鼠의 赤血球, 血小板數, bleeding time, blood clotting time을 측정하고, 마우스의 死亡率變化, 白鼠의 血小板凝集抑制, 血漿凝固因子活性및 纖維素溶解活性度를 觀察한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 芎歸湯加味方群은 赤血球및 血小板數를 對照群에 比하여 有意性 있게 增加시켰다.
2. 芎歸湯加味方群은 Bleeding time은 對照群에 比하여 有意性있게 短縮시켰고, Blood clotting time은 有意性있게 延長시켰다.

3. 芎歸湯加味方群은 마우스 死亡率을 對照群에 比하여 有意性있게 抑制시켰다.
 4. 芎歸湯加味方群은 血小板凝集을 對照群에 比하여 有意性있게 抑制시켰다.
 5. 芎歸湯加味方群은 血漿凝固因子的 活性檢査에서 prothrombin time과 activated partial thromboplastin time을 延長시켰으나 有意性은 없었다.
 6. 芎歸湯加味方群은 ex vivo assay에서 白鼠의 纖維素溶解時間을 有意性있게 短縮시켰고 纖維素溶解面積을 有意性있게 增加시켰으며, in vitro assay에서는 纖維素溶解時間을 減少시켰다.
- 以上的 結果로 보아 芎歸湯加味方은 抗血栓效果가 있는 것으로 思料된다.

參 考 文 獻

1. 羅天益: 衛生寶鑑, 北京, 人民衛生出版社, p.288, 1987.
2. 朴贊國: 病因病機學, 서울, 傳統醫學研究所, pp.383~393, 1992.
3. 申載庸: 方藥合編解說, 서울, 成輔社, pp.88, 1988.
4. 江克明外: 簡明方劑辭典, 上海 上海科學技術出版社, pp.390, 1989.
5. 王新華: 中醫歷代醫論選, 江蘇省, 江蘇科學技術出版社, pp.337~368, 1983.
6. 林佩金: 類證治裁, 台北, 旋風出版社, pp.546~554, 1979.
7. 陣可翼: 血瘀證與 活血化瘀研究, 上海, 上海科學技術出版社, pp.115~117, 1990.
8. 劉道清: 中醫名言大辭典, 서울, 一中社, pp.1493~1495, 1992.
9. 許 浚: 東醫寶鑑(雜病篇 卷之九十一, 서울, 大星文化社), pp.204, 1985.
10. 龔 信: 古今醫監, 南昌, 江西科學技術出版社, pp.333-334, 1990.
11. 葉天士: 葉天士女科全書, 서울, 대성문화사, pp.320, 321, 1984.
12. 余朋千: 新東洋醫學概論, 서울, 一中社, pp.189-202, 1994.
13. 唐容川: 血證論, 上海, 上海人民出版社, pp.82-89, 1977.
14. 朱丹溪: 脈因證治, 서울, 웅남출판사, p.69 1983.
15. 武之望: 濟陰綱目, 台北, 旋風出版社, pp.388~391, 1973.
16. 康舜洙: 方劑學, 서울, 癸丑文化社, p.118, 1984.
17. 辛民教: 臨床本草學, 서울, 永林社, pp.221, 222, 249, 250, 465, 467, 1991.
18. 申佶求: 申氏本草學, 서울, 壽文社, pp. 519~521, 573~574, 582~584, 1982.
19. 李尙仁 外: 韓藥臨床應用, 서울, 成輔社, pp.299, 318, 321, 399, 1986.
20. 金完熙外: 臟腑辨證論治, 서울, 成輔社, pp.57~59, 1985.
21. 章眞和: 風火痰瘀論. 北京, 人民衛生出版社, pp.102~136, 1986.
22. 康舜洙: 韓醫學에서의 瘀血에 대한 概念, 서울, 大韓韓醫學會誌, Vol.5, No.1, pp.138~140, 1984.
23. 鄭遇悅外: 瘀血의 概念에 關한 東醫學의 考察, 東醫病理學會誌, Vol4, pp.92~102, 1989.
24. 이유리: 芎歸紅花湯藥針의 效能및 安全性에 대한 研究, 慶熙大學校 大學院, 1992.

25. 全國韓醫科大學 心系內科學教室:東醫心系內科學(上), 서울, 書苑堂, pp.291, 1995.
26. 田村風幸:藥理學實驗法, 東京, 協同出版社, p.194, 1972.
27. 津田恭介, 野上 壽:藥效の評價(I), 東京, 地人書館, p.1067, 1972.
28. Nicholas, T. E.:A perfused tail artery preparation from the rat. J. Pharm. Pharmacol. 21:826, 1969.
29. Dimino, G., and Silver M. J.:Mouse antithrombotic assay:A simple method for the evaluation of antithrombotic agents in vivo. Potentiation of antithrombotic activity by alcohol. J. Phamacol. Exp. Therap. 225: 57, 1983.
30. Petruszewicz, J., et al:Antithrombotic activity of a new pyrazosine derivative determined by the mouse antithrombotic assay, Pharmacology and Toxicology, 70:448, 1992.
31. Dikshit, M., et al:Role of free radicals in pulmonary thromboembolism in mice, Throm. Res. 54: 741, 1989.
32. Rosella T., et al: A novel insight into the mechanism of the antithrombotic action of defibrotide, Life Science, 51:1545, 1992.
33. H. Hara, et al:Antithrombotic effect of MCI-9042, a new antiplatelet agent on experimental thrombosis models, Thrombosis and Hemostasis, 66(4) :484, 1991.
34. Krstenansky J. L., Mao, S. J. T.:Comparison of hirudin andq hirudin PA C-terminal fragments and related analogs as antithrombin agents, Tromb. Res., 52:137, 1988.
35. Hayashi, S., Park, M. K.: Effect of prostaglandins and arachidonic acid on baboon cerebral and mesenteric arteries, Prostaglandins, 32:587, 1986.
36. Lumley, P., et al:Comparison of the potencies of some prostaglandins as vasodilators in three vascular beds of the anaesthetised dog, Eur. J. Pharmacol., 81:421, 1982.
37. R. J. Broersma, et al:Antithrombotic activity of a novel C-terminal hirudin analog in experimental animals, Thrombosis and Hemostasis, 38: 168, 1982.
38. Born, G. C. R., and Cross, M. J.:the aggregation of blood platelets, J. Phsiol, 168:178, 1963.
39. Yukio Motoyama, et al:TFC-612, a prostaglandin derivative, enhance fibrolytic activity in rats, Thrombosis Res., 65:55, 1992.
40. Kiek, A.d., Trabka, E.K., et al :Effect of prostacyclin on fibrolytic activity in patients with arteriosclerosis obliterans, Tromb. Hemostasis, 47:190, 1982.
41. Winther, K., et al: The effect of prostacyclin infusion on tissue plasminogen activator, Tromb. Haemostasis, 46:74, 1987.
42. Ambrus, C. N., et al :The role of fibrinolysis in the therapy of peripheral vascular disease, Angiology, 35:436, 1984.