

# 桂枝茯苓丸 및 그 構成藥物의 血小板凝集抑制에 關한 研究

金宗求 · <sup>1)</sup>朴宣東 · 朴元煥

東國大學校 韓醫學科 診斷學教室, <sup>1)</sup>方劑學教室

**【초록】** 動物性 脂肪攝取量の 增加, 運動不足, 肥滿, 스트레스의 加重, 高齡化의 增加 等の 原因으로 循環器系疾患의 發病率이 增加하고 있으며, 이러한 循環器系疾患의 危險因子로서 血栓症이 重要하게 대두되고 있다. 특히 최근 문제시되고 있는 狹心症이나 心筋梗塞등의 虛血性 心疾患은 血小板凝集에 의해 일어나는 血栓形成에 起因하고 있다. 韓醫學에서 血栓症은 瘀血의 範疇에 屬하며, 瘀血은 각종 病理的 原因에 의해 발생한 全身性 또는 局所性的 血液循環 障礙 또는 血流停滯와 그에 수반되는 일련의 症候를 나타내며, 驚悸怔忡, 鼓脹, 積聚, 癥瘕, 癲狂, 中風等の 發病原因이 된다. 또한 瘀血에 의한 각종 症候에는 活血祛瘀劑 또는 驅瘀血劑등이 사용되고 있다.

本 研究에서는 韓醫學에서 瘀血症으로 惹起되는 여러 가지 症狀의 개선에 사용되는 驅瘀血劑들의 血小板凝集에 미치는 영향을 검색하기 위하여 桂枝茯苓丸(Geijibokryunghwan; GBH) 및 그 構成藥物을 使用하였다. 桂枝茯苓丸은 『金匱要略』에 있는 方으로써 祛邪不傷正하고 調氣寒熱하여 예로부터 驅瘀血劑로 사용되어 왔다.

이에 桂枝茯苓丸 및 그 構成藥劑의 ADP, AA 또는 collagen으로 유도되는 血小板凝集에 대하여 抑制效果를 探索한 結果, 桂枝茯苓丸 및 個別 構成藥物의 血小板凝集抑制作用을 확인하였고, 血小板凝集으로 惹起되는 血栓症등에 桂枝茯苓丸 및 個別 構成藥物은 매우 臨床實驗的 應用價値가 있는 것으로 생각되었다.

**중심낱말** : 血栓症, 虛血性 心疾患, 血小板凝集, 瘀血, 活血祛瘀劑, 桂枝茯苓丸, 金匱要略, ADP, AA, collagen

## I. 序 論

동물성 지방섭취량의 증가, 운동부족, 비만, 스트레스의 加重, 고령화의 증가 등의 원인으로 循環器系疾患의 발병율이 증가하고 있으며, 이러한 循環器系疾患의 危險因子로서 血栓症이 중요하게 대두되고 있다<sup>1-2)</sup>. 특히 최근 문제시되고 있는 狹心症이나 心筋梗塞등의 虛血性 心

疾患은 血小板凝集에 의해 일어나는 血栓形成에 起因하고 있으며, 西醫學에서는 그 治療와 豫防藥으로써 aspirin이나 ticlopidine 등의 血小板凝集抑制劑를 사용하고<sup>3)</sup> 있으나, <金匱要略·胸痺心痛短氣病脈證治><sup>4)</sup>에 의하면 胸痛이나 心痛의 種類, 狀態, 程道등에 따라서 治療方法을 적절히 사용한다고 하였다.

血小板은 骨髓에서 생산되는 血中の 細胞

로서 正常의 血管內皮細胞에는 부착하지 않으나 內皮損傷 등과 같은 자극에 의해 손상된 내피에 부착하거나 血小板끼리 凝集을 일으킨다<sup>5)</sup>. 이때 血小板內部로 부터 ADP, thromboxane A2 등의 血小板 凝集誘導物質을 분비함으로써 凝集을 촉진하여 급속한 혈액의 손실을 방지하는 一次防禦機能을 갖는다<sup>6)</sup>. 그러나 非正常의인 血小板의 活性化는 血小板凝塊 및 血栓形成을 초래하여 閉鎖性 血管疾患, 즉 心血管疾患, 腦血管疾患, 動脈硬化性疾患등을 일으킨다<sup>6-8)</sup>.

本 研究에서는 韓醫學에서 瘀血症으로 惹起되는 여러 가지 症狀의 개선에 사용되는 藥物들의 血小板凝集에 미치는 영향을 탐색하기 위하여 桂枝茯苓丸(Geijibokryunghwan; GBH) 및 그 構成藥物을 使用하였다. 桂枝茯苓丸은 『金匱要略』에 있는 方으로써 祛邪不傷正하고 調氣寒熱하여 예로부터 驅瘀血癆로 사용되어 왔다<sup>16)</sup>.

이에 本 著者는 桂枝茯苓丸 및 그 構成藥物들의 血小板凝集反應에 대한 抑制活性을 檢定하였으며, 同時에 活性이 강한 代表藥物들의 組合物을 檢索하여 이에 대한 結果를 報告하고자 한다.

## II. 材料 및 方法

### 1. 材料

#### 1) 藥材<sup>17)</sup>

本 實驗에 使用된 藥物은 東國大學校 韓方病院에서 提供받아 다음과 같이 使用하였다.

桂枝( <i>Cinnamomi Ramulus</i> )	1.33 g
茯苓( <i>Hoelen</i> )	1.33 g
牡丹皮( <i>Moutan Cortex Radicis</i> )	1.33 g
芍藥( <i>Paeoniae Radix</i> )	1.33 g
桃仁( <i>Persicae Semen</i> )	1.33 g
總 量	6.65 g

### 2) 試藥

Adenosine 5'-diphosphate (ADP) dicyclohexylammonium salt, rachidonic acid sodium salt (AA) 및 collagen (acid soluble from alf skin)은 Sigma사(St. Louis, MO, USA)제품을 사용하였다.

### 3) 實驗動物

生命工學研究所 實驗動物센터로부터 購入한 雄性的 Spraque-Dawley계 흰쥐(250 ± 20 g)를 사용하였다.

## 2. 方法

### 1) 桂枝茯苓丸(GBH) 및 構成藥物의 調製

GBH는 桂枝, 茯苓, 牡丹皮, 芍藥 및 桃仁을 각각 1.33g 씩 증류수 200 ml에 넣고 10 0℃에서 2시간씩 2회 拈出하여 濾過濃縮하였으며, 構成藥物의 調製는 藥物 各 10 g을 같은 방법으로 濾過 濃縮하였다.

### 2) 血小板 凝集抑制 作用檢索

(1) 血小板 濃縮血漿 (Platelet-rich plasma, PRP)의 調製

CHCl3로 마취시킨 흰쥐의 심장에서 3.8% sodium citrate를 넣은 plastic 주사기를 사용하여 채혈하였다. Sodium citrate 함유 혈액을 200 xg로 10분간 상온에서 원심분리하여 상층액에 존재하는 血小板濃縮血漿을 얻었다.

(2) 血小板 凝集抑制 作用試驗

Modified smear method<sup>18)</sup>를 사용하였으며 각각의 시료는 생리식염수를 이용하여 필요한 농도로 희석하여 사용하였다. Plastic micropipette를 사용하여 PRP 0.16 ml를 플라스틱 시험관에 옮기고 시료액 (대조군은 생리식염수) 0.02 ml를 가하여 혼합하고 37℃, 2분간 배양시켰다. ADP, 또는 collagen 용액 0.2 ml을 최종농도가 각각 2×10<sup>-7</sup>g/ml, 5×

10-5g/ml 및  $1 \times 10^{-5}$  g/ml이 되도록 가한 후 10분간 강하게 혼든 후 다시 37°C, 2분간 배양시켰다. 배양된 혈장을 slide glass 에 얇게 도말한 후 공기중에서 빨리 건조시키고 Wright-Giemsa 염색후 오븐에서 건조시켰다. 각각의 smear를 oil immersion objective lens 를 사용하여 광학현미경( $\times 1000$ )하에서 관찰하고 다음 기준으로 각각의 血小板의 응집 정도를 판정하였다. 즉 (-)는 PRP에 생리식염수만을 넣었을 때와 같이 血小板凝集이 일어나지 않은 상태를, ( $\pm$ )는 약간의 血小板凝集이 일어난 상태를, (+)는 血小板凝集이 상당히 일어났으나 PRP에 血小板凝集 유도물질을 첨가했을 때 보다는 미치지 못한 상태를, (++)는 PRP에 血小板凝集 유도물질을 첨가했을 때와 같은 정도의 血小板凝集이 일어난 상태를 나타내는 것으로 하고, 위의 4가지 판정기준에 따라 PRP에 검체 시료와 血小板凝集 유도물질을 같이 넣었을 때의 血小板凝集 정도를 검색하였다.

### (3) 血小板凝集抑制 活性的 測定

혈액 0.9 ml에 3.8%의 sodium citrate 0.1 ml를 첨가한 용기에 건강한 흰쥐의 혈액을 채혈하여, 1,100 rpm, 10분간, 23°C에서 원심분리후 상청액을 분취하여 血小板濃縮血漿 (platelet-rich plasma, PRP)를 얻는다. 남은 물질층에는 3,000 rpm, 10분간, 23°C에서 원심분리후 그 상청액을 분취하여 低血小板血漿 (platelet poor plasma, PPP)를 얻었다. PRP의 血小板數를 자동혈소판측정장치를 이용하여 측정하고, PPP로  $3 \times 10^5/\mu l$ 로 희석하여 시험용 혈장으로 하였다. 凝集能은 자동혈소판응집계를 이용하였으며 Cuvett (5 mm $\times$ 50 mm)에 시험용 혈장 200 $\mu l$ 를 주입하여 여기에 각종 농도의 시료 25 $\mu l$ 를 첨가하여 2분 후에 collagen 25 $\mu l$  (최종농도 1.0 $\mu$ g/ml)를 첨가함으로써 생기는 응집을 측정하였다. 시료의 최종농도는 0.1-2.0mg/ml로 하였으며 血小板凝集抑制率은 대조군의

최대응집과 각 농도에서의 시료의 최대응집과의 차이를 다음공식으로 %단위로 계산하였다.

억제율 (%) = (1 - 시료의 최대응집/대조군의 최대응집)  $\times$  100

各 試料濃度에서의 凝集實驗은 3-4회 행하며 그 平均值와 標準誤差를 구하여 對照群에 대한 Student의 t-test 檢定을 하였다.

## Ⅲ. 實驗結果

### 1. 桂枝茯苓丸 및 各 構成藥物的 血小板凝集抑制 作用試驗

#### 1) 桂枝茯苓丸의 血小板凝集抑制 作用

桂枝茯苓丸이 ADP, AA 또는 collagen으로 유도되는 血小板凝集에 대해 抑制作用을 가지는지 Modified smear method 로 검색하여 이를 Table 1 에 요약하였다. 血小板濃縮血漿(PRP) 자체만으로는 血小板들이 응집을 일어나지 않은 상태(-)를, PRP에 혈소판응집 유도물질인 ADP, AA, collagen을 첨가했을때는 血小板들이 응집을 일으키는 상태(++)를 관찰할 수 있었다. 양성대조군으로써 aspirin은 (-) 또는 ( $\pm$ )의 血小板凝集도를 나타내어 ADP, AA, collagen에 의한 血小板凝集에 대해 강한 抑制作用을 나타내었다. 桂枝茯苓丸을 PRP에 첨가한 뒤 응집유도물질을 첨가했을 때에는 ADP, AA 또는 collagen에 의한 血小板凝集에서 (+)를 나타내어 PRP에 血小板凝集誘導物質을 첨가했을 때 보다 凝集抑制作用을 나타내었다(Table 1).

#### 2) 各 構成藥物的 血小板凝集抑制 作用

桂枝茯苓丸의 각각의 構成藥물들이 ADP, AA 또는 collagen으로 유도 되는 血小板凝集에 대해 抑制作用을 가지는지 Modified

Table 1. The effect of Gejibokryunghwan on inhibition of platelet aggregation

Sample	Aggregating agents (g/ml)		
	ADP( $2 \times 10^{-7}$ )	AA( $5 \times 10^{-5}$ )	Collagen( $1 \times 10^{-57}$ )
Controls			
PRP I	-	-	-
PRP II	++	++	+-
Aspirin 0.5mg/ml	+	+-	+-
1.0mg/ml	-	-	-
1.5mg/ml	-	-	-
GBH	+, ++	+	+

PRP I : without aggregating agents

PRP II : with aggregating agents

GBH : Gejibokryunghwan

smear method로 검색하여 이를 Table 2에 요약하였다. 血小板濃縮血漿(PRP) 자체만으로는 血小板들이 凝集을 일어나지 않은 상태(-)를, PRP에 血小板凝集誘導物質인 ADP, AA, collagen을 첨가했을 때는 血小板들이 凝集을 일으키는 상태(++)를 관찰할 수 있었다. 양성대조군으로서 aspirin은 (-) 또는 (±)의 血小板凝集도를 나타내

어 ADP, AA, collagen에 의한 血小板凝集에 대해 강한 抑制作用을 나타내었다. 桂枝茯苓丸을 構成하고 있는 個別藥物을 PRP에 첨가한 뒤 응집유도물질을 첨가했을 때 芍藥 및 牡丹皮가 ADP, AA, collagen에 의한 血小板凝集反應에서 凝集度(+)로서 抑制作用을 나타내었다(Table 2).

Table 2. The effect of each constituent herbs of GBH on inhibition of platelet aggregation

Sample	Aggregating agents (g/ml)		
	ADP ( $2 \times 10^{-7}$ )	AA ( $5 \times 10^{-5}$ )	Collagen ( $1 \times 10^{-57}$ )
Controls			
PRP I	-	-	-
PRP II	++	++	++
Aspirin 1.0mg/ml	-	-	-
1.5mg/ml	-	-	-
Each constituent herbs			
Cinnamomi Ramulus	++	+, ++	++
Hoelen	+	++	++
Moutan Cortex Radicis	+	+	+
Paeoniae Radix	+	+	+
Persicae Semen	++	++	++

PRP I : without aggregating agents

PRP II : with aggregating agents

3) 各 構成藥物中 抑制效果를 나타낸 各各 藥物의 組合方에 對한 血小板凝集抑制 作用

血小板濃縮血漿(PRP) 자체만으로는 血小板들이 凝集을 일어나지 않은 상태(-)를, PRP에 血小板凝集 誘導物質인 ADP, AA, collagen을 첨가했을 때는 血小板들이 凝集을 일으키는 상태(++)를 관찰할 수 있었다. 양성대조군으로서 aspirin은 (-) 또는 (±)의 血小板凝集도를 나타내어 ADP, AA, collagen에 의한 血小板凝集에 대해 강한 抑制作用을 나타내었다. 桂枝茯苓丸의 各各의 構成藥物을 PRP에 첨가한 뒤 凝集誘導物質을 첨가했을 때 抑制效果를 나타낸 各各의 藥物을 組合시킨 芍藥·茯苓配伍, 芍藥·牡丹皮配伍, 茯苓·牡丹皮配伍에서도 ADP, AA, collagen에 의한 血小板凝集反應에서 (+) 또는 (+,++)로써 凝集抑制作用을 나타내었다 (Table 3).

2. 濃度差異에 따른 桂枝茯苓丸 및 各 構成藥物의 血小板 凝集抑制活性

1) 濃度差異에 따른 桂枝茯苓丸의 血小板 凝集 抑制活性

桂枝茯苓丸의 濃度別 血小板凝集抑制活性을 검정하기 위하여 각각을 농도별로 희석하였다. PPP 200 $\mu$ l를 시험용혈장으로 Cuvett (5 mm $\times$  50 mm)에 주입하여 여기에 각종 농도의 桂枝茯苓丸試料 25 $\mu$ l를 첨가하여 2분후에 collagen 25 $\mu$ l 를 첨가함으로써 생기는 응집을 측정하였다. 시료의 최종농도는 0.1-2.0mg/ml로 하였으며 血小板凝集抑制率은 대조군의 최대응집과 각 농도에서의 시료의 최대응집과의 차이를 %단위로 계산하였다. 그 결과 桂枝茯苓丸이 collagen으로 유도되는 血小板凝集에 대해 농도의 증가에 따라 억제작용도 증가되어 나타났으며, GBH 농도 1.0mg/ml, 2.0mg/ml에서 강한 抑制作用을 나타내었다(Table 4, Fig. 1).

Table 3. The effects of herb preparations(that have inhibition activity) on inhibition of platelet aggregation

Sample	Aggregating agents (g/ml)		
	ADP (2 $\times$ 10 <sup>-7</sup> )	AA (5 $\times$ 10 <sup>-5</sup> )	Collagen (1 $\times$ 10 <sup>-5</sup> )
Controls			
PRP I	-	-	-
PRP II	++	++	++
Aspirin 1.0mg/ml	-	-	-
1.5mg/ml	-	-	-
Combined herb preparations			
Paeoniae Radix+Hoelen	+, ++	+	+
Paeoniae Radix+Moutan Cortex Radicis	+	+	++
Hoelen+Moutan Cortex Radicis	++	++	+

PRP I : without aggregating agents

PRP II : with aggregating agents

Table 4. Typical inhibition curves on platelet aggregation induced by collagen in the presence of increasing amounts of complexed prescriptions of GBH

Concentration(mg/ml)	Inhibition(%)
0.1	1.4±0.21@
0.2	5.3±0.54
0.5	13.5±2.52
1.0	25.2±4.33*
2.0	40.1±5.23*

@ : Mean ± Standard Error.

\* : Statistically significant as compared with 0.1 concentration group of each concentration group ( \* : p < 0.05 )

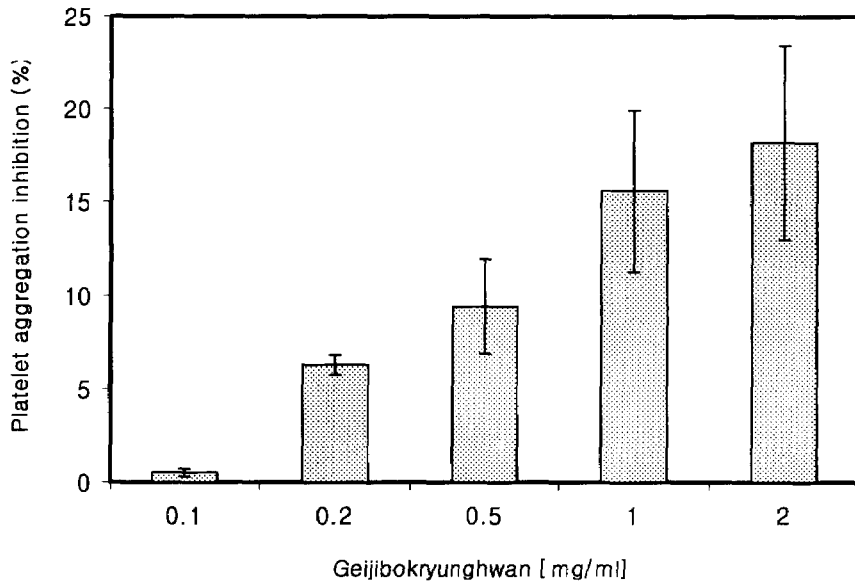


Fig. 1. Typical inhibition curves on platelet aggregation induced by collagen in the presence of increasing amounts of complexed prescriptions of GBH

2) 濃度差異에 따른 그 構成藥物의 血小板凝集抑制活性

各 構成藥物의 濃度別 血小板凝集抑制活性은 芍藥, 牡丹皮, 茯苓이 collagen으로

유도되는 血小板凝集에 대해 농도의 증가에 따라 抑制率도 증가되어 나타났으며, 芍藥과 牡丹皮는 濃度 2.0mg/ml에서 강한 抑制率을 나타내었다(Table 5, Fig. 2).

Table 5. Typical inhibition activities on platelet aggregation induced by collagen in the presence of increasing amounts of each herb

○ 芍藥(Paeoniae Radix)

Concentration (mg/ml)	Inhibition (%)
0.1	0.5±0.04@
0.2	2.3±0.42
0.5	3.4±0.57
1.0	5.3±0.61
2.0	13.3±1.20*

@ : Mean ± Standard Error

\* : Statistically significant as compared with 0.1 concentration group of each concentration group ( \* : p < 0.05 )

○ 牡丹皮(Moutan Cortex Radicis)

Concentration (mg/ml)	Inhibition (%)
0.1	0.5±0.04@
0.2	2.3±0.42
0.5	3.4±0.57
1.0	5.3±0.61
2.0	13.3±1.20*

@ : Mean ± Standard Error

\* : Statistically significant as compared with 0.1 concentration group of each concentration group ( \* : p < 0.05 )

○ 茯苓(Hoelen)

Concentration (mg/ml)	Inhibition (%)
0.1	1.2±0.11@
0.2	4.4±0.16
0.5	6.2±1.09
1.0	12.2±1.65
2.0	18.4±2.11*

@ : Mean ± Standard Error

\* : Statistically significant as compared with 0.1 concentration group of each concentration group ( \* : p < 0.05 )

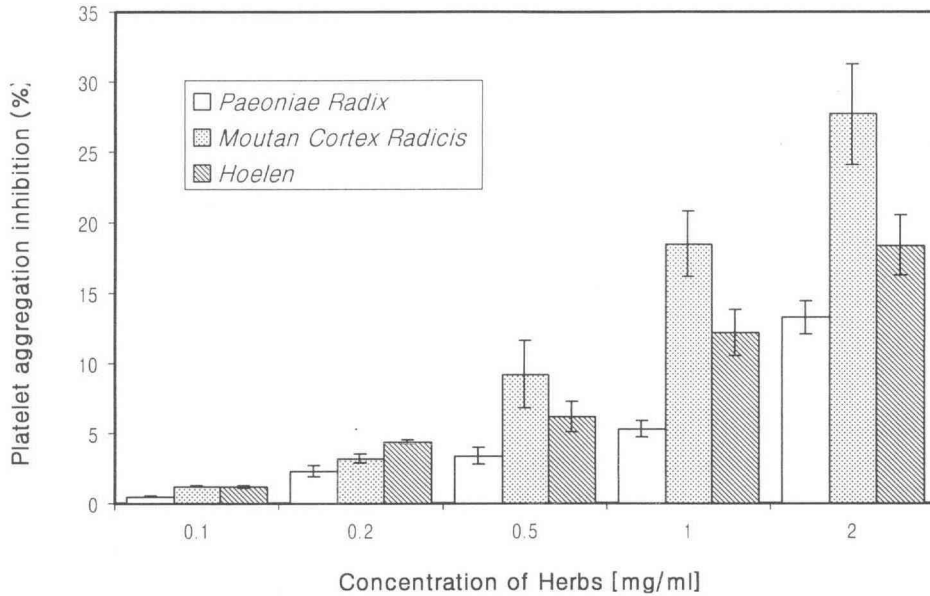


Fig. 2. Typical inhibition curves on platelet aggregation induced by collagen in the presence of increasing amounts of each herb

3) 濃度差異에 따른 各 藥物의 組合方에 대한 血小板 凝集抑制活性

構成藥物을 組合한 各 藥物의 濃度別 血小板凝集抑制活性은 芍藥·茯苓, 芍藥·牡丹皮, 茯苓·牡丹皮配伍에서 collagen으로 유도되는 血小板凝集에 대해 농도의 증가에 따라 抑制率도

증가되어 나타났다. 또한 芍藥·牡丹皮配伍와 茯苓·牡丹皮配伍는 濃度 1.0, 2.0(mg/ml)에서 강한 抑制率을 나타내었고, 芍藥·茯苓配伍는 濃度 2.0(mg/ml)에서 강한 억제율이 인정되었다 (Table 6, Fig. 3).

Table 6. Typical inhibition activities on platelet aggregation induced by collagen in the presence of increasing amounts of combined prescriptions

○ Paeoniae Radix · Hoelen

Concentration (mg/ml)	Inhibition (%)
0.1	0.5±0.01@
0.2	6.3±0.42
0.5	9.4±1.12
1.0	15.6±2.01
2.0	18.2±2.43*

@ : Mean ± Standard Error.

\* : Statistically significant as compared with 0.1 concentration group of each concentration group ( \* : p < 0.05 )



○ *Paeoniae Radix · Moutan Cortex Radicis*

Concentration (mg/ml)	Inhibition (%)
0.1	1.5±0.21@
0.2	4.4±0.35
0.5	12.2±2.43
1.0	23.3±2.76*
2.0	32.4±4.23*

@ : Mean ± Standard Error.

\* : Statistically significant as compared with 0.1 concentration group of each concentration group ( \* : p < 0.05 )

○ *Hoelen · Moutan Cortex Radicis*

Concentration (mg/ml)	Inhibition (%)
0.1	2.2±0.27@
0.2	3.3±0.42
0.5	11.8±1.54
1.0	18.6±2.32
2.0	28.3±3.54*

@ : Mean ± Standard Error.

\* : Statistically significant as compared with 0.1 concentration group of each concentration group ( \* : p < 0.05 )

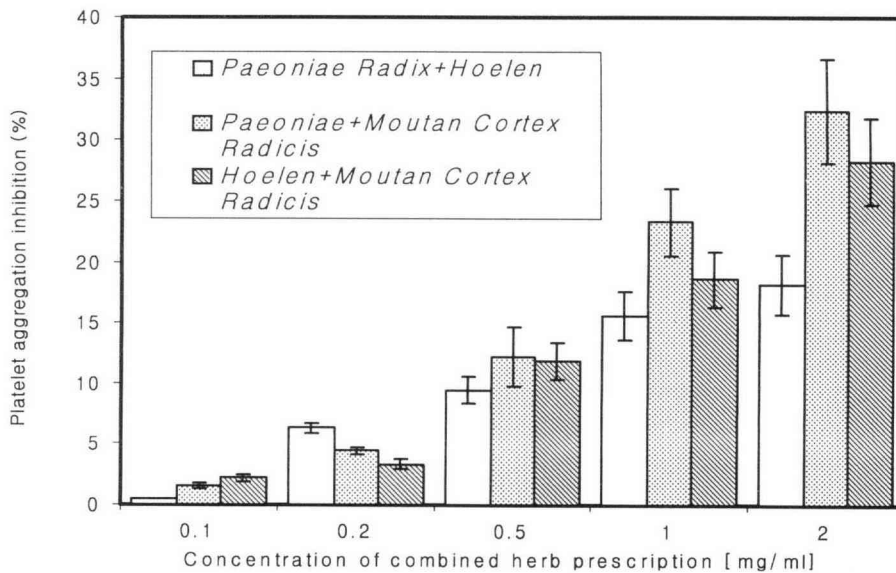


Fig. 3. Typical inhibition curves on platelet aggregation induced by collagen in the presence of increasing amounts of combined prescriptions

#### IV. 考 察

血栓症은 瘀血의 概念으로 보는데, 瘀血은 血液運行的 障碍로서 脈管 또는 脈管을 벗어난 어떤 部位에 瘀滯된 것을 말한다<sup>19)</sup>. 瘀血은 정상적인 生理 機能을 상실한 血液凝集으로 형성된 一種의 病理現狀이다<sup>20)</sup>. “瘀血”은 『金匱要略』의 “驚悸吐衄下血胸滿瘀血病”篇에 最初로 收錄되어 있으며 實質의인 內容 面에서는 『內經』과 『靈樞』중의 “惡血”에서 그 起源을 찾을 수 있다<sup>21)</sup>. 以後 歷代 醫家에 의하여 發展되어 왔는데 그 名稱에 있어서도 留血·惡血·衄血·敗血·畜血·積血·死血·汚血·血凝·等<sup>22-27)</sup>으로 표현되어 각종 疾病을 일으키는 原因으로 제시되고 있다. 瘀血은 正氣不足, 津液不足, 內熱 및 기타 打撲傷 등이 原因으로 部位에 따라서 心血이 瘀滯되면 心痛 胸悶 口唇靑紫하고, 肺血이 瘀滯되면 胸悶 咯血하고, 肝血이 瘀滯되면 脇痛 痞塊하고, 胃脘에 瘀血이 있으면 嘔血 便血하고, 瘀血이 上焦에 있으며 惑髮脫不生 惑骨膊胞隔頑硬刺痛 木不了了하며, 中焦에 있으면 腹痛脇痛 腰臍間刺痛 着滯血府하고, 下焦에 있으며 季脇 少腹脹滿刺痛 大便黑하며 脈沈細澁하는 등의 症狀이 나타난다고 하였다<sup>28)</sup>.

近代로 오면서 瘀血은 “血氣不和 白病乃變化而生”이라 하여 단순히 血毒으로서의 非生理的인 血液만을 의미하지 않고 血滯라는 循環障碍의 病理的 狀態를 基盤으로 하는 특수한 症候群까지도 포함하는데<sup>29)</sup>, 이는 西洋醫學에서의 血液循環障碍로 인한 鬱血, 出血, 血栓 및 水腫 등과 炎症으로 인한 組織의 滲出, 變化, 壞死, 萎縮 혹 增殖 등과 代謝 障碍로 인한 組織의 變化 등을 포괄하는데<sup>30)</sup>, 最近 尹 等<sup>31,32)</sup>은 血栓症을 瘀血의 範疇에 포함시켰으며 兪 等<sup>33,34)</sup>은 瘀血 治療劑가 血栓症 治療에 效果가 있음을 實驗的으로 立證하였다.

또한 本 研究에 사용된 藥物中 芍藥, 茯苓 등의 血小板 凝集抑制作用에 대한 研究報告가 發表된 바 있으나<sup>35,36)</sup>, 강한 抑制作用은 報告되지 않았다. 그 이유로는 藥物의 調製方法上의 차이를 들 수 있을 것이다.

血栓症(thrombosis)은 心血管 血液이 凝固壞를 形盛하는 것으로 血液凝固壞를 血栓(thrombus)이라 한다<sup>37)</sup>. 一般的으로 血液은 血管內에서는 流動性을 가지며 循環하지만 일단 血管 밖으로 露出되면 急速히 凝固된다. 血管이 損傷되면 出血이 일어나며 損傷받은 血管이 動脈 등의 큰 血管인 경우 手術로서 出血을 막아야 하나 작은 損傷인 境遇 血管에서 自然히 止血된다. 血管內部表面은 內皮細胞로 둘러 쌓여 있으며 內皮 細胞는 정상인 경우 血液凝固를 抑制하는 作用을 하고 손상시 急速하게 止血作用을 한다<sup>38)</sup>.

腦血管에 血栓生成이 되어 腦血栓症이 일어나면 半身不隨가 되고, 腦의 微細血管이 破裂되어 腦出血이 일어나면 生命에 치명적인 狀態를 惹起한다. 또한, 血栓에 의해 心臟血管이 막히면 心不全症이나 心臟麻痺가 발생된다. 따라서 사망의 중요한 원인인 血栓을 제거하기 위해 스트렙토키나제와 유로키나제 같은 plasminogen 活性因子가 개발되어 정맥주사로 血栓溶解系(fibrinolytic system)를 活性化하는 治療法이 지난 30여년간 普遍的으로 사용되어 왔다. 이들이 血栓溶解에 상당한 效果가 臨床例에서 입증되었으나, 血栓에 대한 特異性이 없어 치료시 全身出血(systemic haemorrhage)등의 부작용이 보고되었다. 이외에 1987년 유전공학적으로 tPA (tissue-type plasminogen activator)가 개발되었는데 이는 血栓과 직접 결합함으로써 그 선택성이 높아 처음에는 이상적인 血栓 溶解劑로 인식되었으나 임상치료 결과에서는 스트렙토키나제(streptokinase)나 유로키나제(urokinase) 投與時와 같은 부작용이 여전히 나타나고 血液內 半減期가 6分 정도로 매우 짧아 사용이 불편한 問題點 등이 지적되었다<sup>6,7,39)</sup>.

本 研究에서 사용된 桂枝茯苓丸은 『金匱要略』에 있는 方으로써 예로부터 驅瘀血劑로 사용되어 왔다. 즉, 『婦人宿有瘀病, 經斷未及三月, 而得漏下不止, 胎動在臍上者, 爲癥瘕害, 妊娠六月動者, 前三月經水利時, 胎也, 下血者, 後斷三月衄也, 所以血不止者, 期癥不去故也, 當下其癥, 桂枝茯苓丸主之』라고 되어 있으며 그 構

成 藥物과 服用法으로 桂枝, 茯苓, 牡丹(去心), 芍藥, 桃仁(去皮炒熟)各等分 上五味, 末之, 煉蜜和丸, 如兔屎大, 每日 食前服一丸, 不知, 加至三丸 으로 記述되어 있다<sup>40)</sup>.

桂枝茯苓丸은 妊娠中 癥病으로 因한 胎不安을 治療하였던 方이다. 癥病은 原來 瘀血이 內結하여 癥病을 이루고 現代의인 病名으로는 子宮肌腫라고 불수가 있으며 婦人이 妊娠한지 2~3個月이 되면 胚胎가 점점 자라나서 이 子宮肌腫를 壓迫함으로써 出血을 誘發한다. 이때 胚胎를 保全하며 癥瘕를 없애는 處方으로 桂枝茯苓丸을 兔屎大로 蜜丸하여 每日 食前 1~3丸씩 服用하는 것이다. 즉 祛邪不傷正 하고 化癥而 保胎의 目的으로 쓰는 方인 것이다. 桂枝茯苓丸의 構成 藥物中에서 桂枝와 芍藥은 一陰一陽 하고 茯苓과 牡丹皮는 一氣一血하여 調氣寒溫과 正氣를 扶한다. 桃仁은 惡血을 破하며 癥癖을 消하나 胎는 傷하지 아니한다. 또한 癥病의 初는 반드시 寒으로 因하므로 桂枝는 化氣하여 寒을 消하고, 癥病이 이루어지면 濕熱을 挾하므로 茯苓으로 濕氣를 滲出하며 牡丹皮로 血熱을 清熱시키며 芍藥으로 斂肝血하고 扶脾하며 統血하여 正氣를 培養하여 祛邪 시키는 것이다<sup>41)</sup>.

이와같이 桂枝茯苓丸 및 그 構成 藥物이 ADP, AA 또는 collagen으로 誘導되는 血小板凝集抑制에 미치는 影響을 觀察한 結果 다음과 같았다.

桂枝茯苓丸이 血小板 凝集抑制에 미치는 作用은 血小板濃縮血漿(PRP) 자체만으로는 血小板들이 응집이 일어나지 않았으며, PRP에 血小板凝集誘導物質인 ADP, AA, collagen을 첨가했을 때는 血小板들이 凝集을 일으키는 것을 관찰할 수 있었다. 양성대조군으로서 aspirin은 (-) 또는 (±)의 血小板凝集度를 나타내어 ADP, AA, collagen에 의한 血小板凝集에 대해 강한 抑制作用을 나타내었다. 桂枝茯苓丸을 PRP에 첨가한 뒤 응집유도물질을 첨가했을 때에는 ADP, AA 또는 collagen에 의한 血小板凝集에서 (+)를 나타내어 PRP에 血小板凝集誘導物質을 첨가했을 때보다 凝集抑制作用을 나타내었다.

各 構成 藥物의 血小板 凝集抑制 作用에서는 芍藥 및 牡丹皮가 ADP, AA, collagen에 의한 血

小板凝集反應에서 凝集度(+)로써 抑制作用을 나타내었다.

各 構成 藥物中 抑制效果를 나타낸 各 藥物의 組合方에 對한 血小板凝集抑制 作用에서 芍藥·茯苓, 芍藥·牡丹皮, 茯苓·牡丹皮의 配伍方이 ADP, AA, collagen에 의한 血小板凝集反應에서 (+) 또는 (+,++)로써 凝集抑制作用을 나타내었다.

濃度差異에 따른 桂枝茯苓丸의 血小板 凝集抑制活性은 collagen으로 유도되는 血小板凝集에 대해 농도의 증가에 따라 抑制作用도 증가되어 나타났으며, GBH 농도 1.0mg/ml, 2.0mg/ml에서 강한 抑制作用을 나타내었다.

濃度差異에 따른 各 構成 藥物의 血小板 凝集抑制活性은 芍藥, 牡丹皮, 茯苓이 collagen으로 유도되는 血小板凝集에 대해 농도의 증가에 따라 抑制率도 증가되어 나타났으며, 芍藥과 牡丹皮는 濃度 2.0mg/ml에서 강한 抑制率을 나타내었다.

濃度差異에 따른 各 藥物의 組合方에 대한 血小板 凝集抑制活性은 芍藥·茯苓, 芍藥·牡丹皮, 茯苓·牡丹皮의 配伍方에서 collagen으로 유도되는 血小板凝集에 대해 농도의 증가에 따라 抑制率도 증가되어 나타났었다. 또한 芍藥·牡丹皮配伍와 茯苓·牡丹皮配伍는 濃度 1.0, 2.0(mg/ml)에서 강한 抑制率을 나타내었고, 芍藥·茯苓配伍는 濃度 2.0(mg/ml)에서 강한 억제율이 인정되었다.

本 實驗은 단지 血小板만을 분리하여 桂枝茯苓丸과 그 構成 藥物들이 血小板의 凝集抑制에 미치는 影響에 대하여 實驗하였으므로 臨床의 意味와는 차이가 있다고 볼 수 있다. 桂枝茯苓丸中 가장 破血作用이 강한 桃仁이 血小板凝集抑制에 있어서 實驗上으로는 다른 藥物보다는 抑制力이 떨어졌었다. 그렇다고 우리가 桃仁의 破血作用을 무시할 수 없으며 이는 桃仁이 다른 機轉으로 作用하여 破血作用을 가지는 것으로 思料된다. 그리고 組合方에서는 芍藥·牡丹皮配伍方이 가장 血小板凝集抑制에 대하여 높은 抑制率을 나타내었다.

이러한 結果를 토대로 볼 때 構成 藥物의 適切한 組合이 藥理效果를 높여 주고 있으며 이에 대

한 韓醫學의 考察과 研究가 必要할 것으로 보인다. 또한 驅瘀血劑인 桂枝茯苓丸이 血小板凝集에 대한 抑制效果를 나타낸 것으로 보아 血小板凝集 反應으로 惹起되는 諸疾患에 대한 積極적인 對應 藥劑로서의 應用價値가 높은 것으로 思料된다.

### V. 結 論

桂枝茯苓丸 및 그 構成藥物의 ADP, AA 또는 collagen으로 유도된 血小板凝集에 대한 抑制效果를 탐색한 결과 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 桂枝茯苓丸 및 각각의 構成藥物을 PRP에 첨가한 뒤 응집유도물질을 첨가했을 때 桂枝茯苓丸에서는 血小板凝集에서 (+)의 抑制作用을 나타내었으며, 個別 構成藥物中 芍藥 및 牡丹皮에서 (+)로서 抑制作用을 나타내었다.

2. 血小板凝集抑制效果를 나타낸 각 藥物을 조합시킨 芍藥·茯苓配伍, 芍藥·牡丹皮配伍, 茯苓·牡丹皮配伍등은 (+,++)로써 抑制作用을 나타내었다.

3. 농도별 血小板凝集抑制 활성검정에서 桂枝茯苓丸은 collagen으로 유도되는 응집상태에 강한 抑制作用을 나타내었으며, 그 구성약물에서도 芍藥 및 牡丹皮가 collagen에 의해 유도되는 응집반응에 대해 농도의존적으로 억제능을 나타내었다.

4. 個別 藥物에서 抑制效果를 나타낸 각 藥物을 조합시킨 芍藥·茯苓配伍, 芍藥·牡丹皮配伍, 茯苓·牡丹皮配伍에서도 collagen에 의해 유도되는 응집반응에 농도의존적으로 억제활성을 나타내었다.

이와같이 桂枝茯苓丸 및 個別 構成藥物의 血小板凝集抑制作用을 확인함으로써, 血小板凝集으로 惹起되는 血栓症등에 桂枝茯苓丸 및 個別 構成藥物은 매우 臨床實驗的 應用價値가 있는 것으로 思料된다.

### 參 考 文 獻

1. 金辰圭, 臨床脂質學, 서울; 醫學出版社, pp.241~270, 1995
2. 徐順圭, 成人病 老人病學, 서울; 高麗醫學, p.27, 38~53, 1992
3. 대한병리학회, 病理學, 서울; 고문사, pp.112~113, 1995
4. 杜雨茂, 張聯惠, 金嶺要略闡釋, 陝西省; 陝西科技, pp.235~252, 1987
5. 이중달역, 그림으로 설명한 병리학, 원저; A.D.T.Govan, P.S. Macfarlane, R.Callander, 서울; 고려의학, pp. 127~134, 573, 1991
6. Anderson, W.A.D. and Scotti, T.M. : Synopsis of Pathology 10th ed., Mosby Co., St. Louis, p.107~109, 111, 1980
7. Guyton AC : Textbook of Medical physiology 7th ed. WB Saunders, Philadelphia, p.76~86, 1986
8. Wyngaarden, J.B. et al : Cecil Textbook of Medicine 19th ed., WB Saunders, Philadelphia, p.999, 1012, 1992
9. 田炳薰, “鬱證·痰證·瘀證에 관한 文獻的 考察”, 東醫病理學會誌 4, pp.103~112, 1989
10. 신민교, 臨床本草學, 서울; 南山堂, p.143, 453, 1986
11. 久保道德, 松田秀秋, 松田玲子, 抗血栓形作用について, 牡丹皮の研究, 第8報 pp. 38, 307~312, 1994
12. 金永安, “中風 治療에 應用되는 竹瀝과 地龍의 效能에 對한 文獻的 考察”, 大田大學校 論文集, 第2卷, pp. 91~104, 1993
13. 朴昌國, “熊膽 및 水蛭이 瘀血 病態 模型에 미치는 影響”, 東西醫學 19, pp.5~42, 1994
14. 임준식, “中風治療에 있어서 活血化瘀法에 對한 文獻的 考察”, 惠和醫學 5, pp. 115~128, 1996
15. 홍 석, “水蛭에 對한 文獻的 考察”, 惠和醫學, 1, pp. 55~66, 1993
16. 陳可翼外 3人, 血瘀證與活血化瘀研究, 上海; 上海科技, p.642, 1990

17. 李尙仁外 5人, 漢藥臨床應用, 서울; 成輔社, 1990, p. 37, 151, 108, 360, 285
18. Brossi, A., Dumont, R., Yun-Choi, H. S. and Lee, J. R., Arch. Pharm. Res. 10, pp.100~105, 1987
19. 金完熙 外, 臟腑辨證論治, 서울; 成輔社, pp.59, 61-62, 1982
20. 田炳薰 外, 瘀血의 概念에 關한 東醫學的 考察, 東醫病理學會誌 4, pp.93~102, 1989
21. 洪元植, 精校黃帝內經, 서울; 東洋醫學研究院出版社, p.38, 55, 57, 78, 83, 86, 88, 104, 107, 110, 1981
22. 孫思邈, 備急千金要方, 서울; 大星文化社, pp.2, 46-47, 1984
23. 張機, 仲景全書, 臺北, 集文書局, pp.172~173, 228, 236, 1972
24. 王壽, 外臺秘要, 서울; 成輔社, p. 317, 320, 745, 747, 751, 1987
25. 許浚, 東醫寶鑑, 서울; 南山堂, p.106~114, 1975
26. 李梴, 醫學入門, 臺聯; 國風出版社, pp.109, 380, 385, 404, 406, 408, 410, 413~420, 425, 591, 1980
27. 王肯堂, 六科准繩, 서울; 柳林社, p.176, 181, 188, 1982
28. 安德馨, 活血化瘀療法臨床實踐, 雲南; 雲南人民出版社, pp.1~3, 1984
29. 姜春華, 活血化瘀研究, 上海; 上海科學技術出版社, p.27, 28, 41, 1981
30. 黃杏開, 試論祛瘀活血治虛的實質, 遼寧中醫雜誌, Vol.4, pp.5~7, 1985
31. 尹吉榮, 韓醫學의 客觀化와 東西醫學病各統一을 위한 方法, 東西醫學 2, pp.7~15, 1976
32. 康舜洙, “韓醫學에서 瘀血에 對한 概念”, 大韓韓醫學會誌, Vol.5, No.1 pp.138~140, 1984
33. 俞企英, “疏經活血湯이 血栓症에 미치는 影響”, 慶熙韓醫大論文集, 7, pp.23~25, 1984
34. 崔昇勳, “血府逐瘀湯이 血栓症과 皮下血腫에 미치는 影響”, 慶熙大學 敎大學院 碩士學位論文, 1986
35. Yun-Choi, H. S., Kim, S. O., Kim, J. H., Lee, J. R. and Cho. H. I., J. Nat. Prod. 48, pp.363~369, 1985
36. Kim, J. H., Yoo, Y. S., Mang, M. H. and Yun-Choi, H. S., Kor. J. Pharmacogn. 21, pp.126~129, 1990
37. 慶北大學校 醫科大學 病理學教室, 最新病理學, 서울; 高文社, p.19~21, 1987
38. 서울대학교의과대학, 혈액학, 서울; 서울대학출판사, pp.181~193, 1985
39. 대한병리학회, 病理學, 서울; 고문사, p.112, 113, 1995
40. 李克光, 金匱要略, 서울; 아울로스출판사, pp. 562~564, 1994
41. 杜雨茂, 張聯惠, 金匱要略闡釋, 陝西省; 陝西科技, pp.565~568, 1987

=Abstract=

## Effect of Gejibokryunghwan and each constituent herb on inhibition of platelet aggregation

Jong-Goo Kim · <sup>1)</sup>Sun-Dong Park · Won-Hwan Park

*Dept. of Diagnostics,*

*<sup>1)</sup>Dept. of Prescription, College of Oriental Medicine,  
Dongguk University*

The cause that the increase of animality fat intakes, under exercise, fatness, adding the stress, advanced age etc., the occurrence rate of the circulation system disease has been increased. And the thrombosis importantly came to the front as the risk factor of these circulation system's disease. Nowadays, the ischemic disease has especially discussed, for example the angina or myocardial infarction, originated in thrombosis that came from the platelet aggregation. In the western medicine, as the cure and prevention, using the aspirin or ticlopidine for platelet aggregation suppressant. But in the <Synopsis of the golden chamber : On Pulse, Syndrome Complex and Treatment of Chest Obstruction, Heart Pain and Shortness of Breath>, the curing method must be used properly according to the pectoralgia or heartache's kind, state, grade.

The platelet do not attache to the normal hemangioendothelial cell. But when it stimulated by endothelium peronia and so on, it attache to the injury endothelium or rise aggregation between the platelet. On this time, it secrete the platelet aggregation inducer as like ADP, thromboxane A<sub>2</sub> from the inside of platelet. So it has first defensive function through the aggregation augment that prevent the celerity consumption of blood. But the activation of abnormal platelet occur the platelet grume and thrombogenesis. So it bring up the occlusive angiosis, so to speak, cardiovascular disease, cerebrovascular disease, arterial sclerosis.

In oriental medicine, the thrombosis in the category of blood stasis and this blood stasis present the generalise or local blood circulation disturbance that generated by all kinds of pathological fact or blood stream retention accompanying with a series of syndrome. As the syndrome, stabbing pain fixed at certain region, squamous and dry skin, fullness and pain of the chest and hypochondrium, firmness and fullness of the lower abdomen, black stool, dark purple tongue or with ecchymoses and petechiae etc.. has been created. And it becomes the pathopoiesis cause that the convulsion and palpitation, severe palpitation, tympanites, the symtom complex with a mass or swelling in the abdomen, insanity, stricken by wind etc..

Moreover, it used the drugs for invigorating blood circulation and eliminating blood stasis or drugs for removing blood stasis for all kinds of syndrome through the blood stasis. And the drugs for activating the blood circulation, such as *Salviae Radix*, *Angelicae Sinensis Radix*, *Persicae Semen*, *Achyranthis Radix*, *Cnidii Rhizoma*, *Carthami Flos* are used for that. And it is used to the herbs of insects that has strong effect about the disintegrating blood stasis such as *Hirudo*, *Scolopendrae Corpus*, *Buthus*, *Lumbricus* etc..

On this study, It used *Gejibokryunghwan*(GBH) and the consisting herbs to investigate the influence of platelet aggregation about drugs that used to improvement various symptoms created by the thrombosis in oriental medicine. GBH formula has as formula recorded in the <Synopsis of the golden chamber>, action of 'eliminating the evil and not impairment of healthy energy' and 'promoting the flow of Qi and cold and heat, so used for the expel blood stasis - herbs from the ancient.

Therefore we investigated the restraint effect of GBH and the consisting herbs about the platelet aggregation induced to the ADP, AA or collagen. The conclusion is following.

1. When it added the aggregation inducer after that it added GBH and individual consisting herbs in the PRP, GBH showed the (+) inhibition effect on the platelet aggregation and it showed the (+) inhibition effect in the individual consisting herbs as like *Paeoniae Radix* and *Moutan Cortex Radicis*.
2. It showed the (+), (+,++) inhibition effect on the platelet aggregation in *Paeoniae Radix · Hoelen*, *Paeoniae Radix · Moutan Cortex Radicis*, *Hoelen · Moutan Cortex Radicis* etc.
3. In the aggregation inhibition activating on the difference of density, GBH showed strong inhibition effect to the aggregation state induced to collagen, and it showed the inhibition effect in the individual consisting herbs as like *Paeoniae Radix* and *Moutan Cortex Radicis* about the aggregation induced by the collagen.
4. It showed the strong inhibition effect about the aggregation induced by the collagen in *Paeoniae Radix · Hoelen*, *Paeoniae Radix · Moutan Cortex Radicis*, *Hoelen · Moutan Cortex Radicis* etc

Like this, as confirm GBH and the individual consisting herb's inhibition effect of platelet aggregation, We considered that GBH and the individual consisting herbs have practical applicational value of clinical trial in the thrombosis caused by platelet aggregation.

**Key Words** : Thrombosis, Ischemic disease, Platelet aggregation, Blood stasis, *Gejibokryunghwan* (GBH), Synopsis of the golden chamber, ADP, AA, Collagen