대한한방부인과학회지
THE JOURNAL OF ORIENTAL OBSTETRICS & GYNECOLOGY
VOL.18, NO.3 : 110 - 126 (2005)

# 牛膝散의 抗血栓作用에 對한 實驗的 硏究

대전대학교 한의과대학 부인과학교실
김경수, 신용완, 김의일, 김수민, 이정은, 유동열

## ABSTRACT

**The Experimental Study on Antithrombotic activities of Wuslsan**

**Kim Kyung-Su, Shin Yong-wan, Kim Eui-il, Kim Su-min,**
**Lee Jung-eun, Yoo Dong-youl**
**Dept. of Ob & Gyn, College of Oriental Medicine, Daejeon Univ.**

**Purpose** : The Purpose of this research was to investigate the effects of antithrombotic activities of Wuslsan (WSS).

**Methods** : Measure the effect which was given to blood flow rate through the regular volume of glass tube after the blood was diluted five times with ACD soulution. Antithrombotic effect was calculated as a percentage of the experimental animal figure protected from the paralysis of hind legs or death of the mouse that is caused from the administration of platelet aggregation regent.

Being classified one group of eight mice, each of them was divided into Normal, Control, and WSS. The normal group supplied a saline solution and the control group brought the dextran extravasated blood after an hour of administering the saline solution. Also WSS was dissolved in 2㎖ saline solution and then we dosed it to the experimental mice with Oral Zonde one day before the experiment. After that, the mice were abstained from food. And then we gave a measured amount of it before an hour. Finally, it gave rise to dextran extravasated blood in the same way as the Control group.

**Results** : The results were obtained as follows. WSS inhibited platelet aggregation induced by ADP and epinephrine significantly as compared with the control group. WSS showed fibrinolytic activity insignificantly as compared with the control group. WSS increased blood flow rate significantly as compared with the control group in vitro. WSS inhibited pulmonary embolism induced by collagen and Epinephrine (inhibitive rate is 37.5%). WSS increased number of platelet and fibrinogen amount significantly, and shortened PT and APTT as compared with the control group in thrombus model induced by dextran.

**Conclusion** : WSS is effective antithrombotic activity from experimental result.

**Key words** : Wuslsan (WSS), antithrombus, extravasated blood, pulmonary embolism

교신저자(유동열) : 대전광역시 중구 대흥동 22-5번지 대전대학교 부속 한방병원
전화 : 042-229-6756 이메일 : syynam@hanmail.net

# Ⅰ. 緖 論

牛膝散은 明代 王[1]의 《女科準繩》에 처음 수록되었으며 "治月水不利 臍腹作痛 或小腹引痛 氣攻胸膈"이라 하여 瘀血內蓄으로 인한 月經不利에 活血化瘀하여 치료하는 처방이다[2-6].

瘀血이란 정상적인 生理機能을 상실한 혈액이 凝聚되어 형성된 일종의 病理的 産物이며 단순히 血毒으로서의 비생리적인 혈액만을 의미한 것이 아니라 血滯라는 循環障碍의 병리적 상태를 기반으로 나타나는 특수한 증후군까지도 포함하는 것으로, 최근 임상 및 실험적 연구를 통하여 瘀血은 서양의학에 있어서의 혈액순환장애, 혈액성분의 변화 및 결체조직의 증식변성으로 귀납되어진다고 보고된 바 있다[7,8]. 따라서 瘀血은 현대병리, 병태학적 개념에서 血栓의 범주에서 다루어진다고 볼 수 있다.

血栓에 의한 症狀은 매우 다양하여 그 증상이 전혀 나타나지 않는 경우에서부터 鬱血, 浮腫, 梗塞, 혹은 壞疽, 心臟機能의 機械的障碍, 敗血症등이 나타날 수 있으며 冠狀血管閉塞, 또는 腹部大動脈血栓에 의하여 갑작스런 사망에 이르는 경우도 있다[9]. 이러한 症狀은 韓醫學에서 瘀血로 인한 血行凝結不行으로 야기되는 病症과 유사한 점이 많으며[10], 최근에 康[11] 은 血栓症을 瘀血의 범주에 포함시키기도 하였다.

血栓에 대한 실험적 연구로 歸朮破癥湯[12], 加味桂枝茯苓丸[13], 麻黃附子細辛湯[14], 少腹逐瘀湯[15], 活絡丹[16], 身痛逐瘀湯[17], 和血通經散[18], 芎歸湯加味方[19], 四物湯[20], 坐宮丹[21], 加味生化湯[22], 加味通經湯[23] 등이 血栓症에 효과가 있다는 연구 보고가 있으나 牛膝散에 대한 연구는 아직 접하지 못하였다.

이에 저자는 活血化瘀, 理氣止痛하는 牛膝散의 抗血栓 작용을 究明하고자 in vitro에서 血小板 凝集, fibrinolytic activity 그리고 血栓誘發에 따른 혈류속도를 측정하였고, in vivo에서 肺塞栓 誘發 및 dextran에 의한 血栓症 유발 후 혈소판수, prothrombin time, activated partial thrombo -plastin time, 그리고 fibrinogen 量을 측정하였으며, 瘀血誘發에 따른 혈류속도를 측정하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

# Ⅱ. 實 驗

## 1. 材 料

### 1) 動 物

본 실험에 사용된 실험용 쥐는 체중 180-250g의 Sprague-Dawley계(대한실험동물센터, 충청북도 음성) 雄性 白鼠와, 18-20g의 ICR(Interna- tional Cancer Research-대한실험동물센터, 충청북도 음성)계 생쥐로, 실험 당일까지 고형 사료(조단백질 22.1%이상, 조지방 8.0%이하, 조섬유 5.0%이하, 조회분 8.0%이하, 칼슘 0.6%이상, 인 0.4%이상 삼양사 배합사료 Co.)와 물을 충분히 공급하고, 실온 22±2℃, 상대 습도 50±10%, 조명 시간 12시간(07:00-19:00), 조도 150-300 Lux로 설정하여 2주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 체중 변화가 일정하고 건강한 동물만을 선별하여 실험에 사용하였다.

### 2) 藥 物

본 실험에 사용한 牛膝散의 구성 약물은 대전대학교 부속한방병원에서 구입하였고, 용량은 다음과 같다.

Table 1. The Compositions of Wusisan (이하 WSS로 지칭함)

| 韓藥名 | 生 藥 名 | 用量(g) |
|---|---|---|
| 牛膝 | *ACHYRANTHIS BIDENTATAE* | 4 |
| 桂心 | *CINNAMOMI RAMULUS* | 2 |
| 赤芍藥 | *PAEONIAE RADIX RUBRA* | 2 |
| 桃仁 | *PERSICAE SEMEN* | 2 |
| 玄胡索 | *CORYDALIDIS TUBER* | 2 |
| 當歸 | *ANGELICAGE GIGANTIS* | 2 |
| 木香 | *AUCKLANDIAE RADIX* | 2 |
| 牧丹皮 | *MOUTAN CORTEX* | 2 |
| Total amount | | 18g |

3) 試藥 및 機器

실험에 사용한 試藥은 Dulbecco's phosphate buffered saline, Hank's balanced salt solution, Hank's balanced salt solution, collagen ephi- neprine, dextran, 3.8% sodium citrate, fibrinogen, acid citrate dextrous, heparin, urokinase는 Sigma Co.(U.S.A) 제품을 사용하였고, normal saline은 중외제약(Korea) 제품을, ADP reagent, collagen reagent, thrombin reagent은 Chrono-Log Corp.(U.S.A) 제품을 사용 하였으며, IL Test ™ PT-Fibrinogen HS와 IL Test ™ AP TT Lyophilized silica는 Instrumentation Laboratory(U.S.A) 제품을, aspirin은 바이엘(U.S.A) 제품을 사용하였다.

機器는 Serum separator(녹십자, Korea), minos-ST(Cobas Co., France), centrifuge(Beckman Co., U.S.A.), rotary vaccum evaporator( Büchi 461, Swiss), deep freezer(Sanyo Co., Japan), freeze dryer(Eyela Co., Japan), autoclave (Hirayama, Japan), ultrasonic cleaner(Branson Ultrasonics Corp., U.S.A.), roller Mixer(Gowon scientific technology Co., Korea), vortex(Vision Co., Korea), camera(Nikon, Japan), ACL-100 (Instrumentation Laboratory, U.S.A.), silicon-treated cuvette, Platelet Aggregation Profiler Model PAP-4(BIO/DATA Co. U.S.A), simplastin kit(General, Diagnostics, U.S.A)등을 사용하였다.

2. 方 法

1) 檢液의 造製

WSS 2첩을 3,000㎖ round flask에 넣고 증류수 2,000㎖를 가한 후, 3시간 가열 추출하여, 침전물을 3회 여과(3M filter paper)하고, 이 여과액을 rotary vaccum evaporator에서 감압 농축하였다. Round flask에 농축된 용액을 -70℃ deep freezer에서 4시간 동안 방치하고, 24시간 동안 freeze dryer로 동결 건조하여 1첩당 3.41g의 분말을 얻어서 실험에 필요한 농도로 생리식염수에 희석하여 사용하였다.

2) 血小板 凝集(Platelet aggregation) 測定[24-27]

12시간 이상 공복을 유지한 지원자의 상박 정맥으로부터 채혈한 혈액을 3.8% 구연산나트륨이 들어있는 일회용 시험관에 혈액과 1:9의 비율로 넣고 원심분리(900rpm 10분)하여 상등액으로부터 platelet rich plasma (PRP)를 얻고 잔액을 다시 원심분리(3,000rpm 10분)하여 platelet poor plasma(PPP)를 얻었다. PRP는 채취 즉시 변화를 막고 얼음이 들어 있는 용기에 방치하였다.

약물의 항혈소판 응집 효과는 Platelet Aggregation Profiler Model PAP-4를 사용하였으며 최종 농도는 ADP 6μM과 epinephrine 5μM이 되도록 하였다. Micro-magnetic bar를 넣은 silicon-treated cuvette에는 미리 37℃에서

incubation시킨 PRP 320㎕와 실험군을 40㎕를 넣고 다시 incubation한 후 ADP 40㎕를 가하여 5분간 반응시켰다.

실험군은 증류수에 용해시키고 희석하여 사용하였으며 최종농도가 10, 5, 2.5, 1.25, 0.6, 0.3 ㎎/㎖가 되도록 PRP에 가하고 응집 유도제를 넣기 전까지 37℃에서 3분간 incubation 하였다. 실험의 처음과 마지막에는 PRP에 volume을 맞추기 위해 생리식염수 40㎕를 가한 뒤 최대응집률 %을 측정하여 채혈 후 시간 경과로 인한 혈소판 변질로 나타날 수 있는 실험 오차를 방지하였으며 PRP를 얻은 후 2시간 안에 모든 실험을 진행시켰다. 실험 조작 동안 온도는 37℃로 유지하고 교반 속도는 500-1,500rpm으로 하며 528nm에서 응집도를 측정하였다.

약물에 의해 aggregation이 억제되는 정도를 다음 식에 의거하여 transmission maxium reduction percent를 산출하였다.

$$Inhibition\% = \frac{A-B}{A} \times 100$$

A = control(vehicle)의 maxium aggregation %

B = 실험군의 maxium aggregation %

각각의 농도에서의 aggregation(%)은 mean±S.D.로 나타내었고 시험약물의 통계적인 유의성은 Student t-test를 통해 검정하였다.

3) Fibrinolytic activity의 측정[28]

최종 0.7%가 되도록 fibrinogen(plasminogen-containing)을 0.05M babital buffer, pH 7.8에 녹인 뒤 5㎖의 용액을 0.1㎖의 thrombin(100 NIH/㎖)에 넣어 수 초 내에 petri dish(85×15 ㎜)에서 혼합하였다. 이것을 37℃에서 30분간 방치하여 fibrin plate가 형성됨을 확인하고 형성된 fibrin plate 상에 disk를 이용하여 양성대조군 urokinase 0.1㎖(100IU/㎖)를 점적하고 시료를 농도별로 점적한 다음 37℃ incubation에 24시간 동안 방치하여 용해되는 whole well의 크기를 측정하여 대조군과 실험군을 비교하였다.

4) 血流速度 測定

In vitro에서는 heparin(1,000 units/㎖)을 처리한 syringe를 이용하여 일반 정상 쥐의 심장 천자를 통해 채혈하였다. 혈액을 acid citrate dextrous (ACD)용액으로 5배 희석한 다음 일정한 크기의 유리관을 통과하게 하여 혈류속도에 미치는 영향을 측정하였다. 혈액에 dextran을 넣은 일반군과 약물을 처리한 실험군으로 실험하였고, 사용한 희석 혈액은 37℃가 유지되도록 하였으며 시료를 넣고 5분간 pre-incubation 시킨 후 상기 방법으로 혈류속도를 측정하였다.

In vivo에서는 시료를 10일간 SD에 경구 투여하고 dextran으로 瘀血病態를 유발한 다음 heparin(1,000 units/㎖)을 처리한 syringe를 이용하여 채혈하였다.

채혈한 혈액을 acid citrate dextrous(ACD)용액으로 5배 희석한 다음 직경 2㎜ 크기의 유리관을 통과하는데 걸리는 시간을 통하여 혈류속도를 측정하였다.

5) 肺塞栓(Pulmonary thrombosis) 誘發 實驗

실험적 血栓의 유도는 Kimura의 실험방법[29]에 준하여 실시하였다. 실험 동물은 몸무게 약 18-20g 정도의 수컷 ICR계 mouse를 사용하였고, WSS extract 투여군은 20g ICR 생쥐를 기준으로 검액 2.27㎎ 생리식염수 0.2㎖에 용해시켜 oral zonde를 이용하여 하루에 1회씩 2일간 경구 투여한 후. 血栓의 유발은 혈소판

응집 시약(11.3㎍의 collagen과 1.32㎍의 epinephrine)을 HBSS 200㎕에 함유되도록 조제하였고, ICR계 mouse의 몸무게 20g당 200㎕의 용량으로 미정맥에 주사하였다.

실험 동물을 실험 전 24시간 絶食시킨 후, 혈소판 응집 유발 시약의 정맥 주사 2시간 전에 상기한 농도의 WSS extract를 ICR계 mouse에 경구 투여하였으며, 양성대조군으로는 aspirin 0.1㎎/g을 경구 투여하였다.

항 혈전 효과는 혈소판 응집 시약의 투여로 인하여 발생하는 mouse 뒷다리의 마비나 죽음으로부터 보호된 실험동물 숫자의 백분율로 계산하였으며, 여기서 마비는 20분 이상 뒷다리의 기능을 상실하거나 떨림 상태가 지속될 때를 기준으로 하였다.

6) Dextran 瘀血 病態에 대한 實驗[30]

(1) Dextran 瘀血病態 誘發 및 藥物 投與

白鼠 8마리를 1군으로 하여 정상군, 대조군 및 WSS extract 투여군으로 각각 나누었다. 정상군은 생리식염수를 공급하고, 대조군은 생리식염수를 투여한 지 1시간 후에 dextran 瘀血 病態를 유발하였으며, WSS extract 투여군은 체중 200g당 22.7㎎을 생리식염수 2㎖에 용해하여 oral zonde로 실험 하루 전에 1회 경구 투여한 후 絶食시키고, 실험하기 1시간 전에 다시 1회 경구 투여한 다음 대조군과 동일한 방법으로 dextran 瘀血 病態를 유발하였다.

Dextran 瘀血 病態 誘發: Dextran(분자량 21만)을 생리식염수에 넣고 가열하면서 완전히 용해시켜 10% 농도의 용액을 만들어 1.1㎖/200g씩 백서의 미정맥에 3분 이내에 전량 주사하고, 4시간 경과 후 심장 천자로 채혈하여 각종 검사를 실시하였다. 정상군 및 대조군은 실험 약물 대신 생리식염수를 투여하여 실험군과 동일한 시각에 각종 지표를 검사하였다.

(2) 血小板數 測定

혈소판수 측정은 자동혈구계산기, Minos-ST를 사용하여 측정하였다,

(3) Prothrombin time 測定[31]

Prothrombin time은 Simplastin Kit를 사용하여 ACL-100으로 측정하였다.

(4) Activated Partial Thromboplastin time 測定

Activated Partial Thromboplastin time은 Simplastin Kit를 사용하여 ACL-100으로 측정하였다.

(5) Fibrinogen 量 測定

Fibrinogen 양은 Simplastin Kit를 사용하여 ACL-100으로 측정하였 다.

7) 統計處理

실험 결과는 unpaired student's T-test를 사용하여 통계 처리하였으며 $P<0.05$ 또는 $P<0.01$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

## Ⅲ. 結 果

### 1. 血小板 凝集(Platelet Aggregation) 抑制 效果[32]

1) ADP에 의한 혈소판 응집 억제 효과

WSS extract를 농도별 30㎎/㎖, 20㎎/㎖, 10㎎/㎖, 5㎎/㎖, 2.5㎎/㎖, 1.25㎎/㎖로 ADP(6μM)에 의해서 유도된 혈소판 응집 반응을 실험하여, 최대 응집율은 87.2%로 나타난 반면, WSS extract 투여군은 30㎎/㎖ 농도에서의 응집율은 58.48%, 20㎎/㎖ 농도에서는 78.5%, 10㎎/㎖ 농도에서는 86.0%, 5㎎/㎖ 농도에서

는 90.8%, 2.5㎎/㎖ 농도에서는 95.1%, 1.25㎎/㎖ 농도에서는 97.7%의 응집율을 나타냈다.

2) Epinephrine에 의한 혈소판 응집 억제 효과

Epinephrine에 의해서 유도된 혈소판 응집에 대한 저해 효과에서는 대조군의 최대 응집율이 98.2%로 나타난 반면, WSS extract 투여군은 30㎎/㎖ 농도에서의 응집율은 0%, 20㎎/㎖ 농도에서는 5.90%, 10㎎/㎖ 농도에서는 19.34%, 5㎎/㎖ 농도에서는 77.59%, 2.5㎎/㎖ 농도에서는 92.66%, 1.25㎎/㎖ 농도에서는 95.92%의 응집율을 나타냈다.

3) ADP와 epinephrine에 대한 $E_{max}$, $EC_{50}$ 및 γ값

응집 유도체로 ADP를 사용한 경우 $E_{max}$는 200.48%로 나타났고, $EC_{50}$은 155.8μg/㎖로 나타났다. Epinephrine의 경우는 $E_{max}$가 185.13%, $EC_{50}$은 21.92g/㎖로 나타나, $E_{max}$ model에서는 epinephrine의 값이 sigmodicity가 크게 나타났다(Table 2).

Table 2. Pharmacodynamic Parameter Estimated by $E_{max}$ Model in WinNolin Program

| parameter / Inducer | $E_{max}$ (%) | $EC_{50}$(μg/㎖) |
|---|---|---|
| ADP | 200.48 | 155.87 |
| Epinephrine | 185.13 | 21.92 |

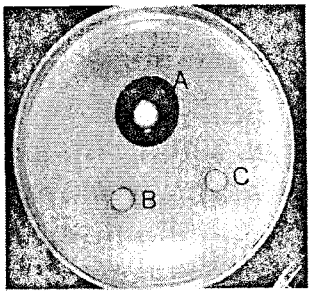
**2. Fibrinolytic activity에 미치는 영향**

Whole well의 크기를 측정한 결과 WSS extract 투여군에서 용해되는 whole well이 보이기는 하나 유의적인 결과가 나타나지 않았다(Table 3, Fig. 1)

Table 3. Effect of WSS on the Fibrinolytic Activity by Fibrin Plate

| Group | Concentration | Fibrinolysis size per Dilutions(cm) |
|---|---|---|
| A | 10IU/disk | 3.2 |
| B | 10㎎/disk | 0.3 |
| C | 2.5㎎/disk | - |

Sam A ; Urokinase: 10IU/disk treated group.
Sam B ; 10㎎/disk WSS treated group.
Sam C ; 2.5㎎/disk WSS treated group.




Fig, 1. Effect of WSS on the fibrinolytic activity by fibrin plate.

**3. 血栓 誘發에 따른 血流速度에 미치는 영향**

In vitro 실험으로 혈류 속도를 측정한 결과 정상군은 20.07±1.47(sec), 대조군은 27.5±2.05(sec), WSS extract 투여군은 25.48±1.33(sec)로 나타나 대조군에 비해 혈류 감소효과를 나타내었다(Table 4, Fig. 2).

Table 4. Effect of WSS on Blood Flow Rate in Vitro

| Sample | Flow Rate(sec) |
|---|---|
| Norml | 20.07±1.47 |
| Control | 27.5±2.05+ |
| WSS | 25.48±1.33 |

a) : Mean ± Standard Error
Normal : Normal blood.
Control : Normal blood on 10% dextran
WSS : Normal blood on 10% dextran with 10/10㎖ of WSS extract.
+: Statistically significant value compared with normal data ( +: P<0.05)

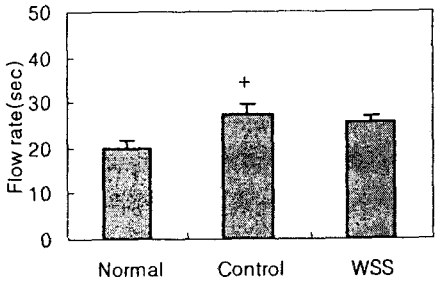



Fig. 2. Enhancement of blood flow rate by administration in vitro.
+: Statistically significant value compared with normal data ( +: P<0.05)

In vivo 에서 어혈을 유발시킨 SD에서 혈액을 채취하여 혈류속도를 측정한 실험의 결과, 정상군은 21.07±2.48(sec), 대조군은 26.26±2.81(sec), WSS extract투여군은 22.48±1.08(sec)로 나타나 대조군에 비하여 혈류속도의 감소는 보였으나 유의성 있는 결과는 나타나지 않았다 (Table 5, Fig. 3).

Table 5. Enhancement of Blood Flow Rate by Administration in Vivo

| Sample | Flow Rate(sec) |
|---|---|
| Norml | 21.07±2.48 |
| Control | 26.26±2.81 |
| WSS | 22.48±1.08 |

a) : Mean ± Standard Error
Normal : Oral administration of normal saline.
Control : 1.1㎖/200g dextran i.v. injected group after oral administration of normal saline.
WSS : 1.1㎖/200g dextran i.v. injected group after oral administration of 22.7㎎/200g of WSS extract.

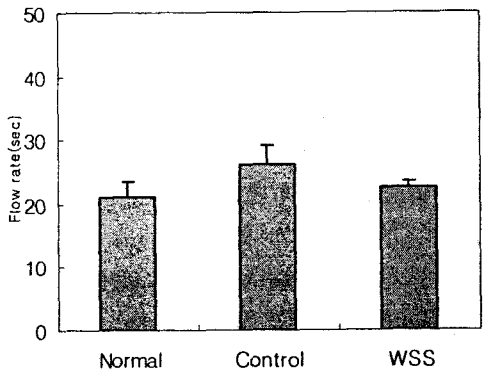



Fig. 3. Enhancement of blood flow rate by administration in vivo.

**4. 肺塞栓(Pulmonary embolism)에 대한 효과[33)]**

Collagen과 epinephrine에 의해 유도된 폐색전 실험에서 대조군은 8마리 중 8마리가 죽거나 30분간 이상 마비가 지속이 되었는데, 양성대조군인 aspirin 투여군은 8마리중 2마리만이 죽거나 15분 이상 마비가 지속 되었다. 이에 반하여 WSS extract 투여군은 8마리중 5마리가 죽거나 15분 이상 마비가 지속되어

37.5%의 억제효과를 나타내었다(Table 6, Fig. 4).

Table 6. Effect of WSS on Pulmonary Embolism Mice

| | Dose (㎎/20g) | No.of killed or paralyzed / No. tested | % Protection |
|---|---|---|---|
| Control | HBSS | 8/8 | 0 |
| Aspirin | 2 | 2/8 | 75 |
| WSS | 2.27 | 5/8 | 37.5 |

HBSS : Hanks' Balanced Salt Solution
Control : 11.3㎍ collagen and 1.32㎍ epinephrine/200㎕ /20g treated group.
Aspirin : 11.3㎍ collagen and 1.32㎍ epinephrine/200㎕ /20g treated group after oral administration of 100㎎ /kg of aspirin.
WSS : 11.3㎍ collagen and 1.32㎍ epinephrine/200㎕ /20g treated group after oral administration of 2.27㎎ /20g of WSS extract.

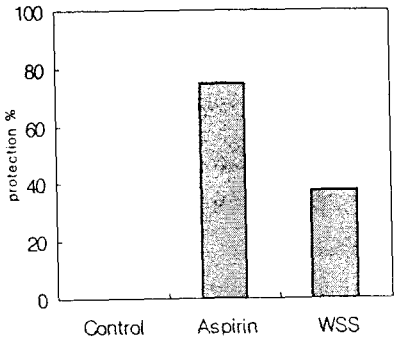



Fig. 4. Effect of WSS extract on pulmonary embolism mice.

**5. Dextran 瘀血 病態에 미치는 효과**

1) 血小板數에 미치는 효과

혈소판수 변화에서는 정상군이 889±18.8(×10³/㎟)인데 비하여, 대조군은 686±5.67(×10³/㎟), WSS extract 투여군은 725.13±3.61(×10³/㎟)로 대조군에 비하여 유의성(P<0.001) 있는 증가효과를 보였다 (Table 7, Fig. 5).

Table 7. Effect of WSS on Platelet in Dextran Treated Rat

| Group | NO. of animals | Platelet(×103/㎟) |
|---|---|---|
| Normal | 8 | 889±18.8 |
| Control | 8 | 686±5.67+++ |
| WSS | 8 | 725.13±3.61*** |

a) : Mean ± Standard Error
Normal : oral administration of normal saline.
Control : 1.1㎖/200g dextran i.v. injected group after oral administration of normal saline.
WSS : 1.1㎖/200g dextran i.v. injected group after oral administration of 22.7㎎/200g of WSS extract.
+: Statistically significant value compared with normal data (+++ : P<0.001)
* : Statistically significant value compared with control data (*** : P<0.001)

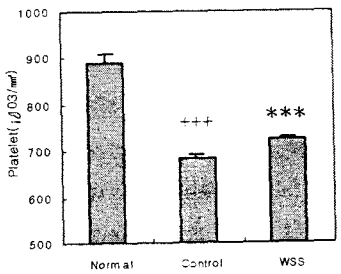



Fig. 5. Effect of WSS extract on platelet in dextran treated rat.
+: Statistically significant value compared with normal data (+++ : P<0.001)
* : Statistically significant value compared with control data (*** : P<0.001)

2) Prothrombin time(PT)에 미치는 효과

Prothrombin time에 대한 효과에서는 정상군이 17.26±0.43(sec)인데 비하여, 대조군은 30.55±8.14(sec), WSS extract 투여

군은 16.5±0.63(sec)로 대조군에 비하여 유의성 (P<0.05) 있는 단축효과를 보였다 (Table 8, Fig. 6).

Table 8. Effect of WSS on Prothrombin Time in Dextran Treated Rat

| Group | NO. of animals | Prothrombin time (sec) |
|---|---|---|
| Normal | 8 | 17.26±0.43 |
| Control | 8 | 30.55±8.14+ |
| WSS | 8 | 16.5±0.63* |

a) : Mean ± Standard Error
Normal : oral administration of normal saline.
Control : 1.1㎖/200g dextran i.v. injected group after oral administration of normal saline.
WSS : 1.1㎖/200g dextran i.v. injected group after oral administration of 22.7㎎/200g of WSS extract.
+: Statistically significant value compared with normal data (+: P<0.05)
* : Statistically significant value compared with control data (* : P<0.05)

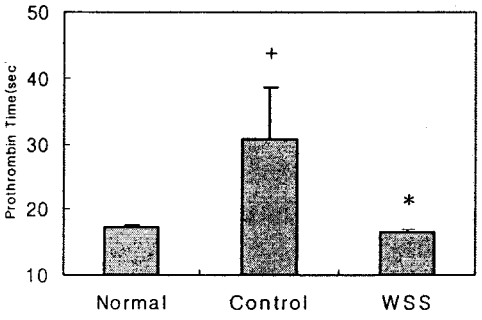



Fig. 6. Effect of WSS extract on prothrombin time in dextran treated rat.
+: Statistically significant value compared with normal data (+: P<0.05)
* : Statistically significant value compared with control data (* : P<0.05)

3) Activated partial thromboplastin time(APTT)에 미치는 효과

APTT에 대한 효과에서는 정상군이 44.0±1.35(sec)인데 비하여 대조군은 67.8±2.02(sec), WSS extract 투여군은 47.57±1.13(sec)로 나타나 대조군에 비하여 유의성(P<0.001) 있는 감소효과를 나타내었다(Table 9, Fig. 7).

Table 9. Effect of WSS on Activated Partial Thromboplastin Time in Dextran Treated Rat

| Group | NO. of animals | APTT(sec) |
|---|---|---|
| Normal | 8 | 44.0±1.35 |
| Control | 8 | 67.8±2.02+++ |
| WSS | 8 | 47.57±1.13*** |

a) : Mean ± Standard Error
Normal : oral administration of normal saline.
Control : 1.1㎖/200g dextran i.v. injected group after oral administration of normal saline.
WSS : 1.1㎖/200g dextran i.v. injected group after oral administration of 22.7㎎/200g of WSS extract.
+: Statistically significant value compared with normal data (+++ : P<0.001)
* : Statistically significant value compared with control data (*** : P<0.001)

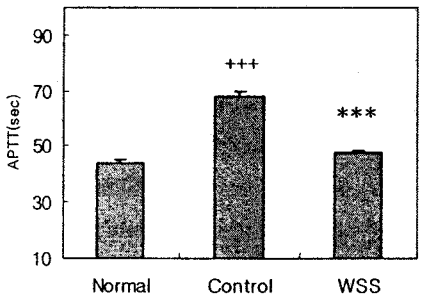



Fig. 7. Effect of WSS extract on activated partial thromboplastin time in dextran treated rat.
+: Statistically significant value compared with normal data (+++ : P<0.001)
* : Statistically significant value compared with control data (*** : P<0.001)

4) Fibrinogen 量에 미치는 영향

Fibrinogen 量에 대한 효과에서는 정상군에서 263.3±10.58(㎎/㎖)인데 반하여, 대조군은 181.5±11.5(㎎/㎖), WSS extract 투여군은 229.5±10.6 (㎎/㎖)으로 대조군에 비하여 유의성(P<0.01)있는 증가효과를 나타내었다(Table 10, Fig. 8).

Table 10. Effect of WSS on Fibrinogen in Dextran Treated Rat

| Group | NO. of animals | Fibrinogen(㎎/㎗) |
|---|---|---|
| Normal | 8 | 263.3±10.58 |
| Control | 8 | 181.5±11.5+++ |
| WSS | 8 | 229.5±10.6** |

a) : Mean ± Standard Error
Normal : oral administration of normal saline.
Control : 1.1㎖/200g dextran i.v. injected group after oral administration of normal saline.
WSS : 1.1㎖/200g dextran i.v. injected group after oral administration of 22.7㎎/200g of WSS extract.
+: Statistically significant value compared with normal data (+++ : P<0.001)
* : Statistically significant value compared with control data (** : P<0.01)

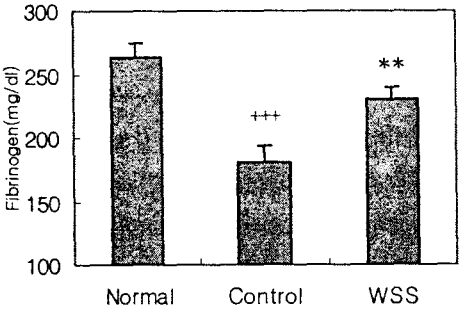



Fig. 8. Effect of WSS extract on fibrinogen in dextran treated rat.
+: Statistically significant value compared with normal data (+++ : P<0.001)
* : Statistically significant value compared with control data (** : P<0.01)

## Ⅳ. 考 察

牛膝散은 明代 王[1]의 《女科準繩》에 처음 수록 되었으며 "治月水不利 臍腹作痛 或小腹引痛 氣攻胸膈"이라 하여 月水不利를 治療할 목적으로 立方 되었다.

月經週期 또는 기간이 일정치 않거나 月經量의 過多 혹은 過少, 不定期出血, 崩漏 등의 병리적 상태를 月經不調라고 하는데 이 중에서 月經不利는 過少月經에 속한다. 過少月經의 원인으로는 肝腎虛弱, 血室虛寒, 下焦寒濕, 瘀血內蓄으로 분류할 수 있는데, 이 중 瘀血內蓄으로 인한 月經不利에는 活血化瘀의 治法이 活用되고 있다[2-6].

瘀血이란 生理的 기능을 상실한 血液이 凝聚하여 형성된 일종의 病理的 산물로 經脈外로 溢出하여 組織間에 蓄積됨으로써 괴사된 혈액인 惡血과 血液循環이 장애를 받아 經脈官內나 器官內에 瘀積된 蓄血을 모두 포함하고 있으며 주요한 致病因子가 된다[34].

《內經》에 보면 留血, 着血, 惡血, 凝血, 血結, 血閉, 血泣, 血澁 등의 언급이 있는데 이는 모두 瘀血과 유사한 의미로

사용되고 있으며,[2,35-37]. 또한 血의 生理作用과 瘀血의 形成原因, 症候 및 治療 原則에 관해서 밝혀놓았다.

"瘀血"이란 名稱은 漢代 張[38]이 ≪金櫃要略·驚悸吐下血胸滿瘀血病≫에 최초로 언급하면서 변증 및 치료의 기초를 성립시켰고, 淸代에 들어와 葉[39], 王[40], 唐[41]에 의해 瘀血의 病因, 病機, 症狀 및 治療에 대한 체계적인 理論이 확립되었다.

瘀血이 形成되는 原因으로는 먼저 氣滯로 因한 경우가 있는데 氣는 血之師가 되고, 血은 氣之配가 되므로 氣行則血行하고 氣滯則血滯하게 되기 때문이다. 또한 血脈이 寒凉한 邪氣의 侵犯을 받게 되어 脈絡을 凝滯阻塞케한 경우(血寒)나 邪熱이 裏로 傳하여 小腹膀胱에 結하고 脈絡을 損傷시켜 血液이 熱을 받아 外溢케 되어 脈外에 殘하는 경우(血熱) 또는 打撲, 挫閃 등의 外傷도 瘀血形成의 원인이 된다[34,42].

임상적으로 瘀血을 진단할 수 있는 증상은 固形性刺痛 出血 腫塊 舌質紫暗 肌膚甲錯, 瘀癍 脈澁 등으로 나타난다[43]. 治法으로는 活血化瘀法이 기본이 되며, 그 原因에 따라서 益氣活血, 理氣活血, 溫經通絡, 攻逐血瘀, 祛瘀止血 등이 활용되고 있다. 특히 여성에게 있어 血行障碍가 발생하여 瘀血이 형성되면 月經不調, 經少, 痛經, 經閉, 崩漏, 不姙症, 子宮外姙娠 등이 나타날 수 있으며, 산후에 자궁내 瘀血이 완전히 제거되지 않으면 産後血暈, 惡露不下, 惡露不絶, 産後腹痛, 産後發熱, 癥下 등과 같은 병증이 나타나는 등의 婦人科 病症이 초래 된다[44]. 그러므로 瘀血을 해소시키는 活血化瘀法은 婦人科 臨床에서 흔히 사용되는 치료법이다.

瘀血은 서양의학에 있어서의 혈액순환 장애, 혈액성분의 변화 및 결체조직의 증식변성으로 귀납되어진다고 보고된 바 있다[6,7]. 따라서 瘀血은 현대병리, 병태학적 개념에서는 血栓의 범주에서 다루어진다고 볼 수 있다.

血栓이란 血管內에서 혈액성분이 凝固된 혈액의 덩어리를 말하는 것으로 발생부위에 따라 다양한 증상을 나타낸다. 血液의 凝固體制는 血管의 收縮과 함께 過度한 出血을 防止할 수 있는 重要한 生體機能의 하나이지만 心臟이나 血管內의 抗凝固體制와의 균형이 어긋나는 病的인 狀態의 血液의 凝固를 誘發할 수 있게 된다[45,46].

血栓症을 일으키는 요인으로는 年齡, 脫水, 惡性腫瘍, 肥滿, 貧血, 高血壓, 肝炎, 糖尿病, 高脂血症, collagen, 血管질환 및 endotoxin shock, 炎症性腸疾患 등이 있으며, 이러한 것들이 원인이 되어 혈관벽의 변화, 혈류의 변화 및 혈액성분의 변화 등과 纖溶因子와 細網內皮系의 기능이 관여하여 血栓症이 유발된다[46].

血栓은 發生部位에 따라 여러 양상으로 나타날 수 있는데 첫째, 動脈에 생긴 血栓은 血栓이 생긴 부위 이하에서 血流障碍를 招來하고 血流를 받지 못하는 部位의 組織에 괴사가 일어날 수 있는데 이를 梗塞이라 한다. 둘째, 靜脈에 생긴 血栓은 靜脈血의 鬱血로 인하여 해당 部位에 浮腫 및 疼痛을 일으킬 수 있는데 특히 다리의 심부 靜脈血栓은 그 중에서 일부가 떨어져 나가 心臟을 거쳐 肺循環을 하는 동안 肺動脈의 閉鎖現狀을 일으키는 肺塞栓을 일으킬 수 있다. 셋째, 心臟에 생긴 血栓은 動脈에서 생긴 血栓과 마찬가지로 각 部位에 梗塞을 招來할 수 있다[45,47]. 이러한 증상은 한의학에서 瘀血

로 인한 血行凝結不行으로 惹起되는 病症과 유사한 점이 많으며, 최근에 康 등은 血栓症을 瘀血의 범주에 포함시키기도 하였다.

血栓의 형성기전으로는 血流의 停滯나 渦流가 있을 때 活性化된 凝固因子의 稀釋과 청소가 안 되어 血流速度가 떨어지는 경우와 血管內皮의 損傷에 依해 血小板의 凝固덩어리가 核이 되어 血栓을 形成하는 경우, 그리고 血小板 數나 性質의 變化, 抗凝固因子의 缺乏, 敗血症이나 癌에 同伴된 凝固亢進狀態 및 經口用 避姙藥을 長期服用할 때에 나타날 수 있는 血液造成의 變化에 起因하는 경우 等이 있다[45,48].

血栓에 의한 症狀은 매우 다양하여 그 症狀이 전혀 나타나지 않는 경우에서부터 鬱血, 浮腫, 梗塞, 혹은 壞疽, 心臟機能의 機械的障碍, 敗血症등이 나타날 수 있으며 冠狀血管閉塞, 또는 腹部大動脈血栓에 의하여 갑작스런 사망에 이르는 경우도 있다[9].

牛膝散은 牛膝, 桂心, 赤芍藥, 桃仁, 玄胡索, 當歸, 木香, 牧丹皮로 구성되어 있는데 구성 藥物의 效能을 살펴보면, 牛膝, 赤芍藥, 桃仁, 當歸, 牧丹皮는 活血化瘀하고, 桂心은 溫經散寒하며, 玄胡索은 理氣止痛하고, 木香은 行氣導滯한다. 본 處方은 대부분 溫한 藥物로 구성되어 있으며 凉藥인 牧丹皮를 加해 溫해도 燥하지 않게 하였고, 配伍하는 藥 또한 攻하면서도 몸을 傷하지 않게 하고 滯하지 않도록 하였다. 따라서 牛膝散은 이상과 같은 특성이 있고 活血化瘀, 理氣止痛하는 效能이 있어 瘀血이나 血寒으로 인한 月水不利나 月經痛에 多用될 수 있으리라고 思料된다[52].

血栓에 대한 실험적 연구로 歸朮破癥湯[12], 加味桂枝茯苓丸[13], 麻黃附子細辛湯[14], 少腹逐瘀湯[15], 活絡丹[16], 身痛逐瘀湯[17], 和血通經散[18], 芎歸湯加味方[19], 四物湯[20], 坐宮丹[21], 加味生化湯[22], 加味通經湯[23] 등이 抗血栓症에 효과가 있다는 硏究 보고가 있으나 牛膝散에 대한 硏究는 아직 접하지 못하였다.

이에 저자는 牛膝散의 抗血栓 작용을 究明하기 위하여 in vitro에서 血小板 凝集 抑制 作用, fibrinolytic activity 그리고 血栓誘發에 따른 血流速度, in vivo에서 肺塞栓 誘發 및 dextran에 의한 血栓症 誘發 後 血小板數, prothrombin time, activated partial thromboplastin time, 그리고 fibrinogen 量을 측정하였다.

In vitro 실험으로 血小板 凝集 억제 효과에서는 최종농도 ADP(6μM)에 의해서 誘導된 血小板 凝集에 대한 저해효과를 측정하기 위하여, 농도에 대한 최대 응집율(%)과 억제율을 산출한결과 WSS extract를 농도별 30㎎/㎖, 20㎎/㎖, 10㎎/㎖, 5㎎/㎖, 2.5㎎/㎖, 1.25㎎/㎖로 ADP(6μM)에 의해서 유도된 혈소판 응집반응을 실험하여, 최대 응집율은 87.2%로 나타난 반면, WSS extract 투여군은 30㎎/㎖ 농도에서의 응집율은 58.48%, 20㎎/㎖ 농도에서는 78.5%, 10㎎/㎖ 농도에서는 86.0%, 5㎎/㎖ 농도에서는 90.8%, 2.5㎎/㎖ 농도에서는 95.1%, 1.25㎎/㎖ 농도에서는 97.7%의 응집율을 나타냈고 Epinephrine에 의해서 유도된 혈소판 응집에 대한 저해 효과에서는 대조군의 최대 응집율이 98.2%로 나타난 반면, WSS extract 투여군은 30㎎/㎖ 농도에서의 응집율은 0%, 20㎎/㎖ 농도에서는 5.90%, 10㎎/㎖ 농도에서는 19.34%, 5㎎/㎖ 농도에서는 77.59%, 2.5㎎/㎖ 농도에서는

92.66%, 1.25㎎/㎖ 농도에서는 95.92%의 응집율을 나타냈으며 Fitted된 그래프로부터 산출된 $E_{max}$, $EC_{50}$ 및 γ의 pharmaco dynamic parameter는 (Table 2)에 정리하였는데, 응집 유도체로 ADP를 사용한 경우 $E_{max}$는 200.48%로 나타났고, $EC_{50}$은 155.8μg/㎖로 나타났다.

Epinephrine의 경우는 $E_{max}$가 185.13%, $EC_{50}$은 21.92g/㎖로 나타나 $E_{max}$ model에서는 epinephrine의 값이 sigmodicity가 크게 나타났다(Table 2).

Fibrinolytic activity에 대한 효과에서는 WSS extract 투여군에서 양성 대조군에 비하여 유의성 있는 결과가 나타나지 않았다(Table 3, Fig. 1).

血栓誘發에 따른 血流速度 측정에 있어서 in vitro에서 혈류 속도를 측정한 결과 정상군은 20.07±1.47sec, 대조군은 27.5±2.05sec, WSS extract 투여군은 25.48±1.33sec로 나타나 대조군에 비해 유의성(P<0.01)있는 血流 감소 효과를 나타내었으나(Table 4, Fig. 2) in vivo 에서 정상군은 21.07±2.48(sec), 대조군은 26.26±2.81(sec), WSS extract 투여군은 22.48±1.08(sec)로 나타나 대조군에 비해 혈류 속도 감소는 보였으나 유의성 있는 결과는 나타나지 않았다(Table 5, Fig. 3).

Collagen은 膠原質로 硬蛋白質의 하나이며, 骨, 軟骨, 靭帶, 眞皮 등에 존재한다. 물이나 묽은 산, 묽은 알카리용액에 장기간 끓이면 水溶性 gelatin 이 된다.

Epinephrine은 부신피질에서 분해되는 hormone의 한가지로 생리적으로는 心臟에서 작용하여 心搏數 및 心臟에서 내보내는 血液量을 증가시키고 血管壁에 작용하여 혈관을 수축시킨다. 胃와 腸에 작용하여 수축 및 운동성을 감소시키고 氣管氣管支에 대해서는 긴장을 약화시키고 확장시키는 작용을 한다. 또한 膀胱括約筋에 대해서는 수축작용을 한다. 酸素消費도 증가시켜 基礎代謝를 높이는 작용을 한다[49].

Collagen과 epinephrine에 의해 誘導된 肺塞栓 實驗에서 대조군은 8마리 중 8마리가 죽거나 30분간 이상 마비가 지속이 되었는데, 양성 대조군인 aspirin 투여군은 8마리 중 2마리만이 죽거나 15분 이상 마비가 지속이 되었다. 이에 반하여 WSS extract 투여군은 8마리 중 5마리가 죽거나 15분 이상 마비가 지속되어 37.5%의 억제 효과를 나타내었다(Table 6, Fig. 4).

Dextran은 蔗糖으로부터 만들어진 葡萄糖으로 구성된 水溶性多糖類로서 血漿增量劑로 사용되고, 抗原抗體反應을 일으킬 가능성이 많고 血小板 凝集을 방해하며 赤血球 凝集을 촉진[50]시키므로, 이를 이용하여 瘀血을 誘發시킨 후 WSS extract를 투여하여 血小板數 prothrombin time, activated partial thromboplastin time, fibrinogen 量을 측정하였다.

血中 血小板은 손상된 血管壁 內皮細胞下 組織과 반응하여 止血血栓을 형성하는 것이 주된 기능이므로, 血小板數의 測定은 出血原因을 감별하는 데는 물론, 凝血 및 血栓形成與否를 알아내는 데 대표적인 指標가 된다[51].

이러한 혈소판수의 변화에서는 정상군이 889±18.8(×$10^3$/㎟)인데 비하여, 대조군은 686±5.67(×$10^3$/㎟), WSS extract 투여군은 725.13±3.61(×$10^3$/㎟)로 대조군에 비하여 유의성(P<0.001) 있는 증가 효과를 보였다(Table 7, Fig. 5).

Prothrombin time 측정은 血漿에 組織

thrpmboplastin과 cacium을 첨가하여 fibrin이 석출할 때까지의 시간을 측정하는 것으로, 이 반응은 Ⅶ, X, Ⅱ인자와 fibrinogen이 관여하므로 PT는 외인성 및 공통성의 응고 과정 이상을 검출하는 방법이다[51]. 이러한 PT에 대한 효과에서는 정상군이 17.26±0.43sec인데 비하여, 대조군은 30.55±8.14sec, WSS extract 투여군은 16.5±0.63sec로 대조군에 비하여 유의성 ($P<0.05$) 있는 단축효과를 보였다(Table 8, Fig. 6).

Thromboplastin은 血液凝固에 중요한 인자로 출혈시에 血漿속에 있는 prothrombin을 thrombin으로 바꿈으로서 止血에 관여하는 것으로, 활성화 부분 APTT의 검사목적은 지혈기구의 이상이 어디에 있는 가를 조사하는 검사로 이 검사에서 이상치를 보이는 것은 내인계 응고장애가 있음을 의미하는 것이다[51]. 이러한 APTT에 대한 효과에서는 정상군이 44.0±1.35(sec)인데 비하여 대조군은 67.8 ±2.02(sec), WSS extract 투여군은 47.57 ±1.13(sec)로 나타나 대조군에 비하여 유의성($P< 0.001$) 있는 감소 효과를 나타내었다(Table 9, Fig. 7).

Fibrinogen은 血液凝固 기전의 최종단계에 위치하는 凝固因子이며 血液이 凝固할 때 석출되는 gel 모양의 단백질인 fibrin의 전구체이다. 肝臟에서의 生成障碍, 全身的인 凝固에 따른 消費, fibrin의 溶解 亢進 때 그 값이 떨어진다[49]. Fibrinogen 量에 대한 효과에서는 정상군에서 263.3±10.58(㎎/㎖)인데 반하여, 대조군은 181.5±11.5(㎎/㎖), WSS extract 투여군은 299.5±10.6(㎎/㎖)로 대조군에 비하여 유의성($P<0.001$)있는 증가 효과를 나타내었다(Table 10, Fig. 8).

以上의 실험결과로 보아 牛膝散은 血小板 凝集 抑制와 肺栓塞 抑制 및 瘀血病態 實驗에서 모두 유의성 있는 抗血栓 효과를 나타내었다.

## Ⅴ. 結 論

牛膝散의 효능을 실험적으로 究明하기 위하여 in vitro에서 血小板 凝集 억제 작용, fibrinolytic activity 그리고 血栓誘發에 따른 血流速度를 측정하였고, in vivo에서 肺塞栓 誘發 및 dextran에 의한 血栓症 誘發 後 血小板數, prothrombin time), activated partial thromboplastin time, fibrinogen 量의 측정, 그리고 瘀血誘發에 따른 血流速度를 측정한 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. ADP로 誘導된 血小板 凝集 억제 효과에서 $E_{max}$ 와 $EC_{50}$이 각각 200.48%와 155.8㎍/㎖로 나타났고, epinephrine으로 誘導된 血小板 凝集 억제 효과에서는 각각 185.13%와 21.92g/㎖로 나타났다.
2. Fibrinolytic activity에 대한 효과에서는 WSS extract 투여군에서 양성 대조군에 비하여 유의적인 결과가 나타나지 않았다.
3. 血栓誘發에 따른 血流速度에 대한 효과에서는 vitro에서는 WSS extract 투여군이 25.48±1.33sec로 대조군의 27.5± 2.05sec 에 비해 유의성 있는 효과를 나타내었으나 vivo에서는 대조군은 26.26 ±2.81sec, WSS extract투여군은 22.48± 1.08sec로 나타나 대조군에 비하여 혈류속도의 감소는 보였으나 유의성 있는 결과는 나타나지 않았다.

4. 肺塞栓에 대한 效果에서는 WSS extract 투여군이 37.5%의 억제 효과를 나타내었다.
5. Dextran 瘀血 病態에 미치는 효과에서는 WSS extract 투여군이 혈소판수와 fibrinogen 양에 대해서는 유의성 있는 증가를, PT와 APTT에 대한 효과에서는 유의성 있는 단축 효과를 나타내었다.

이상의 실험결과로 보아 牛膝散은 抗血栓 효과가 있었으므로, 瘀血 등으로 誘發된 月經不利와 月經痛에 有效하게 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

□ 투 고 일 : 2005년 07월 21일
□ 심 사 일 : 2005년 08월 01일
□ 심사완료일 : 2005년 08월 10일

## 參考文獻

1. 王肯. 女科準繩. 서울: 翰成社. 1982; 84.
2. 宋炳基. 漢方婦人科學. 서울; 杏林出版社. 1978; 45, 165, 182, 204-240, 361.
3. 姜明孜. 臨床婦産科學. 서울: 成輔社. 1989; 104-107.
4. 申天浩. 問答式 婦人小兒科學 編譯. 서울: 成輔社. 1992; 83-87.
5. 卞廷煥. 完譯校註 婦人良方. 大邱: 韓林院. 1987; 28-32.
6. 羅元愷. 中醫婦科學. 北京: 人民衛生出版社. 1988; 92-98.
7. 崔昇勳. 黃帝內經에서의 瘀血의 認識에 대한 理論的 硏究. 大田大學校論文集. 1987; 6(2): 313-320.
8. 鄧土賢. 活血化瘀藥的藥理與應用. 雲南中醫雜志. 1985; 5: 50-53.
9. 孫泰重. 病理學槪論. 서울: 高文社. 1979; 84-86.
10. 최승. 어혈의 병리에 관한 문헌적 고찰. 대전대학교논문집. 1985; 4(1): 399-406.
11. 康舜洙. 韓醫學에서의 瘀血에 대한 槪念. 大韓韓醫學會誌. 1984; 5(1): 138-140.
12. 趙洪建. 歸朮破癥湯이 endotoxcin으로 誘發된 白鼠의 實驗的 血栓症에 미치는 영향. 大田大學校大學院 碩士學位論文. 1994.
13. 崔彰祐. 加味桂枝茯苓丸이 血栓症에 미치는 實驗的 硏究. 大田大學校大學院 碩士學位論文. 1991.
14. 高光錫. 麻黃附子細辛湯 및 處方構成藥材가 endotoxin으로 誘發된 血栓症에 미치는 영향. 서울: 慶熙大學校大學院. 1990.
15. 이상수. 少腹逐瘀湯이 抗血栓 및 消炎, 鎭痛에 미치는 影響. 圓光大學校大學院. 1995.
16. 강승범. 活絡丹의 抗炎, 鎭痛 및 抗血栓 效果에 關한 硏究. 圓光大學校 大學院. 1996.
17. 유지용. 身痛逐瘀湯의 抗炎, 鎭痛 및 抗血栓效果에 關한 硏究. 圓光大學校大學院. 1996.
18. 김광겸. 和血通經散의 抗炎, 抗血栓 및 鎭痛效果에 對한 硏究. 圓光大學校大學院. 1996.
19. 윤현자. 芎歸湯加味方의 抗血栓效果에 關한 硏究. 圓光大學校 大學院. 1996.
20. 趙炳旭. 四物湯 構成藥物이 抗血栓 및 抗stress 效果에 미치는 影響. 慶熙大學校 大學院. 1998.

21. 趙善花. 坐宮丹이 抗菌 抗血栓 및 鎭痛作用에 미치는 影響. 大田大學校 大學院. 2001.
22. 孫泰熏. 加味生化湯의 抗血栓 및 鎭痛效果에 對한 硏究. 大田大學校 大學院. 2001.
23. 이혜경. 加味通經湯의 抗血栓, 消炎 및 鎭痛作用에 對한 硏究. 大田大學校 大學院. 2002.
24. Lee, J.H., Lee, Y.S. and Kwon, K.I. Protective effects of Phellinuslinteus on reperfusion of the isolated perfused Guinea pig hearts andanti-platelet aggregation effects of Phellinus linteus. J. Pharm. Sci.(C. N.U.) 1994; 10: 17-25.
25. Guerra-Fernando, J.I. et al. Effect of losartan on human platelet activation. J. Hypertension. 1999; 17: 447-452.
26. Lewis, S.M. and Verwilghen, R.L. Quality assurance in haematology. 113-145.
27. Platelet aggregation PROFILER model PAP-4 : operating instructions and methods manual. BIO/DATA corporation.
28. Jansen JW, van den Brink H, Hoogenboom PH. Method to measure in vivo blood fibrinolytic activity with a 125i-fibrin coated aorta loop validated with agents which affect blood fibrinolytic activity. Thromb Res Nov. 2001; 104(3): 223-232.
29. Kimura, Y., Tani, T., and Watanabe, K. Effect of cilostazol on platelet aggregation and experimental thrombosis. Arzneim.Forsch. Drug Res. 1985; 35(II): 1144-1149.
30. Fonio, A. On the retraction process in blood plasma coagulation. Acta Haematol. 1966; 36(5): 371-385.
31. Leadley RJ Jr et al. Pharmacodynamic activity and antithrombotic efficacy of RPR120844, a novel inhibitor of coagulation factor Xa. J Cardiovasc Pharmacol. USA. 1999; 34(6): 791-799.
32. Brinda, K. PH. D. Pharmacokinetic -pharmacodynamic model for scopolamine. chapter Ⅶ of Application of Pharmacokinetic model to the study of drug disposition. 85-120.
33. Kumari R, Dikshit M, Srimal RC. Free radical scavenging mechanisms during pulmonary thromboembolism in rats. Thromb Res. India 1993; 69(1): 101-111.
34. 金聖勳 등. 東醫病理學. 大田: 도서출판 한림원. 1994; 348-356.
35. 李尙仁 등. 漢藥臨床應用. 成輔社. 1975; 56, 79, 130, 230, 243, 258.
36. 崔昇勳. 內經病理學. 서울: 통나무. 1993; 206-218.
37. 洪元植. 精校黃帝內經素問. 서울: 東洋醫學硏究院出版部. 1985; 38, 55, 78, 86-88, 104, 107, 110, 116-124, 213, 233, 247, 256.
38. 張 機. 仲景全書. 臺北: 集文書局. 1972; 172-173, 228, 236.
39. 葉 桂. 臨證指南醫案. 서울: 輪成社. 1985; 513, 596.
40. 王淸任. 醫林改錯. 서울: 宮昌德書店. 1961; 44, 61-62, 77.
41. 唐宗海. 血證論. 上海: 上海科學技術出

版社. 1987; 327-328.
42. 金完熙, 崔達永. 臟腑辨證論治. 서울: 成輔社. 1985; 59, 371-375.
43. 上海中醫學院. 中醫學基礎. 上海: 商務印書館. 1977; 43, 168.
44. 楊恒茂·張文閣. 실용중의부과방제학. 陝西: 협서과학기술출판사. 1988; 58.
45. 新太陽社 編輯局 百科事典部. 原色最新醫療大百科事典. 서울: 新太陽社. 1996; 20: 66-68.
46. 大韓病理學會. 病理學 II. 서울: 高文社. 1995; 112-129.
47. 金昌種. 病態生理學. 서울: 癸丑文化社. 1988; 132-135.
48. 金正鎭. 生理學. 서울: 高文社. 1985; 59-63.
49. 最新醫療大百科辭典編纂委員會. 原色醫療大百科辭典. 서울; 新太陽社. 1992; 12: 70, 19: 116.
50. 金敬煥. 李宇宙의 藥理學 講義. 서울: 醫學文化社. 1998; 781-782.
51. 이귀녕, 권오현. 임상병리파일. 서울; 아카데미서적. 1992; 508.
52. 전국한의과대학 본초학 교수 공편저. 본초학. 서울; 영림사. 1992; 194-195, 409-410, 413-417, 425, 578-579.