

行經紅花湯의 抗血栓 效果에 對한 實驗的 研究

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

ABSTRACT

The Experimental Study on Antithrombotic Effect of Heanggyonghonghwatang

Kim Eui-il, Shin Yong-wan, 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 Haenggyonghonghwatang(HGHHT).

Methods : Measured 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 solution. 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 reagent.

Each of the groups consisted in 8 mice, was divided into Normal, Control, and HGHHT. All of these 3 group were supplied a saline solution and after an hour the control group brought the dextran extravasated blood. Also the HGHHT group was dosed 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 as well as the Control group.

Results : The results were obtained as follows. HGHHT inhibited platelet aggregation induced by ADP and epinephrine significantly as compared with the control group. HGHHT showed fibrinolytic activity insignificantly as compared with the control group. HGHHT increased blood flow rate significantly as compared with the control group in vitro, but insignificantly as compared with the control group in vivo. HGHHT inhibited pulmonary embolism induced by collagen and epinephrine (inhibitive rate 50%). HGHHT increased number of platelet, fibrinogen amount and shortened prothrombin time, activated partial thromboplastin time significantly as compared with the control group in thrombus model induced by dextran.

Conclusion : HGHHT is effective antithrombotic activity from experimental result.

Key words : Haenggyonghonghwatang(HGHHT), antithrombus, extravasated blood.

I. 緒 論

行經紅花湯은 《濟陰綱目》¹⁾에 처음 수록되었으며, “治婦人室女經候不行 時作脹痛”이라 하여 瘀血에 의한 혈액순환장애로 발생하는 經閉症을 치료할 목적으로 입방되었다^{1,2)}.

經閉症은 무월경을 말하는데, 병인은 대체적으로 허증과 실증으로 구별되며, 허증은 肝腎不足, 氣血虛弱, 陰虛血燥 등으로, 실증은 氣滯血瘀, 痰濕阻滯 등으로 세분된다. 이 중 氣滯血瘀로 인한 經閉症에는 活血化瘀, 調理衝任시키는 치법이 활용되고 있다^{3,6)}.

瘀血은 생리적 기능을 상실한 혈액이 經脈內外 또는 조직간에 응취하여 형성된 일종의 병리적 산물인 동시에 치병 인자가 되는 것으로 계속해서 氣機를 조제하고 氣血의 운행에 영향을 미쳐 장부기능을 실조케 하는데^{7,8,9)}, 이러한 瘀血은 서양의학의 혈전의 개념과 유사하다고 이미 인식되고 있다^{10,11)}.

血栓症에 대한 실험적 연구로 和血通經散¹²⁾, 芎歸湯加味方¹³⁾, 坐宮丹¹⁴⁾, 加味通經湯¹⁵⁾等¹⁶⁻¹⁸⁾의 처방이 항혈전에 유효하다는 보고가 있으나, 行經紅花湯의 혈전에 대한 실험적 연구는 아직 접하지 못하였다.

이에 저자는 活血通經, 散瘀止痛하는 行經紅花湯의 抗血栓 作用을 규명하고자 in vitro 에서 혈소판 응집, fibrinolytic activity, 그리고 혈전유발에 따른 혈류속도를 측정하였고, in vivo 에서 폐색전유발 및 dextran에 의한 혈전증 유발 후 혈소판 수, prothrombin time, activated partial thromboplastin time 그리고 fibrinogen량을 측정하여 유의성

있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實 驗

1. 材 料

1) 動物

본 실험에 사용된 쥐는 체중 180~250g의 Sprague-Dawley계 雄性 白鼠(대한 실험동물센터, 충청북도 음성)와, 18~20g의 ICR(International Cancer Research)계 생쥐(대한실험동물센터, 충청북도 음성)로, 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 배합 사료 Co.)와 물을 충분히 供給하고, 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 行經紅花湯은 《濟陰綱目》¹⁾에 準하였으며, 사용된 약제는 대전대학교 부속한방병원에서 구입, 精選하였고, 한 첩의 내용과 용량은 다음과 같다.

Table 1. The Prescription of 行經紅花湯 (HGHT) extract

韓藥名	生 藥 名	用量(g)
當歸尾	<i>Angelicae Gigantis Radix</i>	4
赤芍藥	<i>Paeonia Radix Rubra</i>	4
紫葳	<i>Campsis Flos</i>	4
劉寄奴	<i>Artemisiae Anomalaе Herba</i>	4
牛膝	<i>Achyranthis Radix</i>	4
玄胡索	<i>Corydalis Tuber</i>	4
紅花	<i>Carthami Flos</i>	4
蘇木	<i>Sappan Lignum</i>	4
桃仁	<i>Persicae Semen</i>	4
青皮	<i>Citri Reticulatae Viride Pericarpium</i>	3
香附子	<i>Cyperus rotundus</i>	3
桂心	<i>Cinnamomi Ramulus</i>	2
Total amount		44

3) 시약 및 기기

실험에 사용한 시약은 Dulbecco's phosphate buffered saline (DPBS-A), Hank's balanced salt solution(HBSS), collagen, epinephrine, dextran, 3.8% sodium citrate, fibrinogen, acid citrate dextrous (ACD), 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 사용하였으며, IL Test™ PT-Fibrinogen HS, IL Test™ APTT Lyophilized silica는 Instrumentation Laboratory(U.S.A) 제품을, aspirin은 바이엘(U.S.A) 제품을 사용하였다.

기기는 serum separator(녹십자, Korea), Minos-ST(Cobas Co., France), centrifuge(Beckman Co., USA.), rotary vacuum evaporator(Büchi 461, Switzerland), deep freezer(Sanyo Co., Japan), freeze dryer(Eyela Co., Japan), autoclave(Hirayama, Japan), ultrasonic cleaner(Branson Ultrasonics Corp., USA.), roller Mixer(Gowon scientific technology Co., Korea), vortex(Vision Co., Korea), camera(Nikon, Japan), ACL-100(Instrumentation Laboratory, USA.), platelet aggregation profiler (model PAP-4), silicon-treated cuvette(이상 BIO/DATA Co. USA), Simplanstin kit(General Diagnostics, USA)등을 사용하였다.

2. 방 법

1) 검액의 조제

行經紅花湯(HGHHT) 2첩을 3,000ml round flask에 넣고 증류수 2,000ml을 넣은 후, 3시간 가열 추출하고, 침전물을

3회 여과(3M filter paper)하고, 이 여과액을 rotary vacuum evaporator에서 감압 농축하였다. Round flask에 농축된 용액을 -70℃ deep freezer에서 4시간 동안 방치하고, 24시간 동안 freeze dryer로 동결 건조하여 1첩 당 3.38g의 분말을 얻어서 실험에 필요한 농도로 생리식염수에 희석하여 사용하였다.

2) 혈소판 응집 측정¹⁹⁻²²⁾

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 들어있는 용기에 방치하였다.

약물의 항혈소판 응집 효과는 platelet aggregation profiler를 사용하였으며, 최종 농도는 Adenosine diphosphate(ADP) 6μM와 Epinephrine 5μM이 되도록 하였다. Micro-magnetic bar를 넣은 silicon-treated cuvette에는 미리 37℃에서 incubation시킨 PRP 320μl와 실험군을 40μl를 넣고 다시 incubation한 후 ADP 40μl를 가하여 5분간 반응시켰다.

실험군은 증류수에 용해시키고 희석하여 사용하였으며 최종 농도가 10, 5, 2.5, 1.25, 0.6, 0.3mg/ml이 되도록 PRP에 가하고 응집 유도제를 넣기 전까지 37℃에서 3분간 incubation하였다. 실험의 처음과 마지막에는 PRP에 volume을 맞추기 위해 생리식염수 40μl을 가한 뒤 최대응집 %를 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°C로 유지하고 교반 속도는 500~1,500rpm으로 하며 528nm에서 응집도를 측정하였다.

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

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

A = control(vehicle)의 maximum aggregation %

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

3) Fibrinolytic activity 측정²³⁾

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

4) 혈류속도 측정

In vitro에서는 heparin(1,000units/ml) 처리한 syringe를 이용하여 일반 정상쥐의 심장 천자를 통해 채혈하였다.

혈액을 ACD(acid citrate dextrous) 용액으로 5배 희석한 다음 일정한 크기의 유리관을 통과하게 하여 혈류 속도에 미치는 영향을 측정하였다. 혈액에 dextran만을 넣은 대조군과 약물을 처리한 실험군으로 실험하였고, 사용한 희석 혈액은 37°C가 유지되도록 하였으며, 시료를 넣고 5분간 pre-incubation 시킨 후 위의 방법으로 혈류 속도를 측정하였다.

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

채혈한 혈액을 ACD용액으로 5배 희석한 다음 일정한 크기의 유리관을 통과하게 하여 혈류 속도를 측정하였다.

5ml의 희석혈액을 기준으로 직경 2mm의 크기를 가진 유리관을 통과하는데 걸리는 시간을 측정하였다.

5) 폐색전 유발 실험

실험적 혈전의 유도는 Kimura의 실험 방법²⁴⁾에 준하여 실시하였다. 실험동물은 몸무게 약 18g~20g 정도의 수컷 ICR계 mouse를 사용하였고, HGHHT extract는 20g ICR 생쥐를 기준으로 검액 1.12mg/20g/day을 생리식염수 0.2ml에 용해시켜 oral zonde를 이용하여 2회 경구 투여하였다. 혈전의 유발은 혈소판 응집 시약(11.3μg의 collagen과 1.32μg의 epinephrine)을 Hank's balanced salt solution(HBSS) 200μl에 함유되도록 조제하였고, ICR계 mouse의 몸무게 20g당 200μl의 용량으로 尾靜脈에 주사하였다.

실험동물을 실험 전 24시간 絶食시킨 후, 혈소판 응집 유발 시약의 정맥 주사 2시간 전에 상기한 농도의 HGHHT extract를 ICR계 mouse에 경구 투여하였으

며, 양성대조군으로는 aspirin 100mg/kg 을 경구 투여하였다.

항혈전 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 병태에 대한 실험²⁵⁾

(1) Dextran 瘀血 병태 유발 및 약물 투여

白鼠 8마리를 1군으로 하여 정상군(Normal), 대조군(Control) 및 실험군(HGHHT)으로 각각 나누었다. 정상군은 생리식염수를 공급하고, 대조군은 생리식염수를 투여한 지 1시간 후에 dextran 瘀血 병태를 유발하였으며, HGHHT extract 투여군은 11.2mg/200g/day을 생리식염수 2ml에 용해하여 oral zonde로 실험 하루 전에 1회 경구 투여하고, 이 후 絶食시킨 후 실험하기 1시간 전에 다시 1회 경구 투여한 후 대조군과 동일한 방법으로 dextran 瘀血 병태를 유발하였다.

Dextran 瘀血. 병태 유발 : Dextran (분자량 21만)을 생리식염수에 넣고 가열하면서 완전히 용해시켜 10% 농도의 용액을 만들어 1.1ml/200g(rat)씩 白鼠의 尾靜脈에 3분 이내에 소량 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) 혈소판 수 측정

혈소판 수 측정은 자동혈구계산기,

Minos-ST를 사용하여 측정하였다.

(3) Prothrombin time 측정²⁶⁾

Prothrombin time은 Simplastin Kit를 사용하여 ACL-100으로 측정하였다.

(4) Activated Partial Thromboplastin time 측정

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

(5) Fibrinogen 량 측정

Fibrinogen 양은 Simplastin Kit(General Diagnostics., U.S.A)를 사용하여 ACL-100(Instrumentation Laboratory,U.S.A.)으로 측정하였다.

7) 통계처리

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

Ⅲ. 結 果

■ In vitro

1. 혈소판 응집 억제 효과

1) ADP에 의한 혈소판 응집 억제 효과

HGHHT extract를 농도별 30mg/ml, 20mg/ml, 10mg/ml, 5mg/ml, 2.5mg/ml, 1.25mg/ml로 ADP(6μM)에 의해서 유도된 혈소판 응집 반응을 실험하여, 최대 응집율은 85.4%로 나타난 반면, HGHHT extract 30mg/ml 농도에서의 응집율(%)는 37.47%, 20mg/ml 농도에서는 78.33%, 10mg/ml 농도에서는 90.16%, 5mg/ml 농도에서는 94.96%, 2.5mg/ml 농도에서는 94.96%, 1.25mg/ml 농도에서는 97.42%의 응집율(%)를 나타내었다.

2) Epinephrine에 의한 혈소판 응집 억제 효과

Epinephrine에 의해서 유도된 혈소판 응집에 대한 저해 효과에서는 대조군의 최대 응집율이 92.4%로 나타난 반면, HGHHT extract 30mg/ml 농도에서의 응집율(%)는 0%, 20mg/ml 농도에서는 0%, 10mg/ml 농도에서는 19.69%, 5mg/ml 농도에서는 46.96%, 2.5mg/ml 농도에서는 90.58%, 1.25mg/ml 농도에서는 95.45%의 응집율(%)를 나타낸다.

3) ADP와 Epinephrine에 대한 E_{max} , EC_{50} 및 γ 값

각 농도에 대한 inhibition%는 computer program WinNonlin을 이용하여 Sigmoid E_{max} model에 적용하여 fitting하였다. Fitted된 그래프로부터 산출된 E_{max} , EC_{50} 및 γ 의 pharmaco-dynamic parameter는 (Table 2)에 정리하였는데, 응집 유도제로 ADP를 사용한 경우 E_{max} 는 524.37 %로 나타났고, EC_{50} 은 75.87 μ g/ml, γ 값은 2.38로

나타났다. Epinephrine의 경우는 E_{max} 가 98.97%, EC_{50} 은 5.63 μ g/ml, γ 값은 2.30으로 나타나, Sigmoid E_{max} model에서는 epinephrine의 값이 sigmodicity가 크게 나타났다(Table 2).

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

parameter Inducer	E_{max} (%)	EC_{50} (μ g/ml)	γ
ADP	524.37	75.87	2.38
Epinephrine	98.97	5.63	2.30

2. Fibrinolytic activity에 미치는 효과

Fibrin plate 상에 disk를 이용하여 양성대조군인 urokinase를 0.1ml(100 IU/ml)를 점적하고, 시료를 농도별로 점적한 다음 37 $^{\circ}$ C incubater에 24시간 동안 방치하여 용해되는 whole well의 크기를 측정된 결과 sample 투여군에서 용해되는 whole well이 보이기는 하나 양성대조군에 비하여 효과 있는 결과를 나타내지는 않았다(Table 3, Fig. 1).

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

Group	Concentration	Fibrinolysis size per Dilutions(cm)
A	10IU/disk	3.8
B	10mg/disk	-
C	5mg/disk	-
D	2.5mg/disk	-

A ; Urokinase: 10IU/disk treated group.
 B ; 10mg/disk HGHHT extract treated group.
 C ; 5mg/disk HGHHT extract treated group.
 D ; 2.5mg/disk HGHHT extract treated group.

3. 혈전유발에 따른 혈류속도에 미치는 효과

In vitro 실험으로 혈류 속도를 측정한 결과 정상군은 20.07 \pm 1.47(sec), 대조군은 27.5 \pm 2.05(sec), HGHHT extract 투

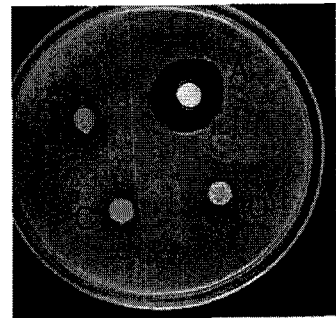


Fig. 1. Effect of HGHHT extract on the fibrinolytic activity by fibrin plate.

여군은 24.06 \pm 3.04(sec)로 나타나 대조군에 비해 혈류 속도 증가를 나타내었다 (Table 4, Fig. 2).

Table 4. Effect of HGHT extract on Blood Flow Rate in Vitro

Sample	Flow Rate(sec)
Normal	20.07±1.47
Control	27.5±2.05+
HGHT	24.06±3.04

a) : Mean ± Standard Error

Normal : Normal blood.

Control : Normal blood on 10% dextran.

HGHT : Normal blood on 10% dextran with 10mg/10ml of HGHT extract.

+: Statistically significant value compared with normal data(+: P<0.05)

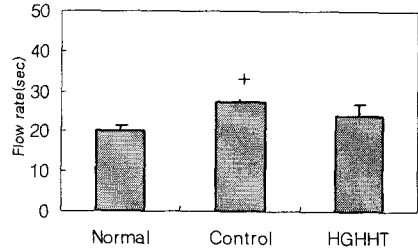


Fig. 2. Enhancement of blood flow rate by administration in vitro.

+: Statistically significant value compared with normal data (+: P<0.05)

■ In vivo

1. 폐색전에 대한 효과

Collagen과 epinephrine에 의해 유도된 폐색전 실험에서 대조군은 8마리 중 8마리가 죽거나 30분간 이상 마비가 지속이 되었는데, 양성대조군인 aspirin 투

여군은 8마리 중 2마리만이 죽거나 15분 이상 마비가 지속 되었다. 이에 반하여 HGHT extract 투여군은 8마리 중 4마리가 죽거나 15분 이상 마비가 지속 되어 50%의 억제 효과를 나타내었다 (Table 5, Fig. 3).

Table 5. Effect of HGHT extract on Pulmonary Embolism Mice

	Dose (mg/20g)	No. of killed or paralyzed / No. tested	% Protection
Control	HBSS	8/8	0
Aspirin	1	2/8	75
HGHT	1.12	4/8	50

HBSS : Hanks' Balanced Salt Solution

Control : 11.3µg collagen and 1.32µg epinephrine/200µl/20g treated group.

Aspirin : 11.3µg collagen and 1.32µg epinephrine/200µl/20g treated group after oral administration of 100mg/kg of aspirin

HGHT : 11.3µg collagen and 1.32µg epinephrine/200µl/20g treated group after oral administration of 1.12mg/20g of HGHT extract

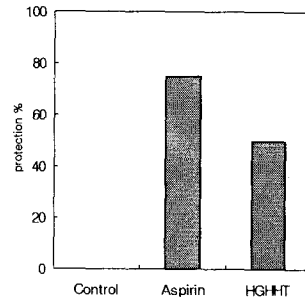


Fig. 3. Effect of HGHT extract on pulmonary embolism mice.

2. Dextran 瘀血 병태에 미치는 효과

1) 혈소판 수에 미치는 효과

혈소판 수 변화에서는 정상군이 889±18.8(×10³/mm³)인데 비하여, 대조군은 686±5.67(×10³/mm³), HGHT extract 투여군은 708.5±2.27(×10³/mm³)로 대조군에 비

하여 유의성(P<0.01) 있는 증가효과를 보였다(Table 6, Fig. 4).

Table 6. Effect of HGHHT extract on Platelet in Dextran Treated Rat

Group	NO. of animals	Platelet($\times 10^3/\text{mm}^3$)
Normal	8	889 \pm 18.8
Control	8	686 \pm 5.67+++
HGHHT	8	708.5 \pm 2.27**

a) : Mean \pm Standard Error

Normal : oral administration of normal saline.
Control : 1.1ml/200g dextran i.v. injected group after oral administration of normal saline.

HGHHT : 1.1ml/200g dextran i.v. injected group after oral administration of 11.2mg/200g of HGHHT extract.

+: Statistically significant value compared with normal data(+++ : P<0.001)

*: Statistically significant value compared with control data(** : P<0.01)

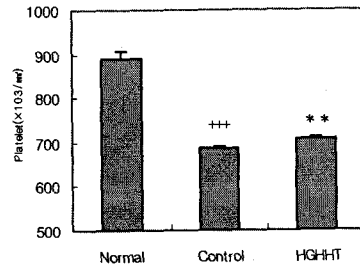


Fig. 4. Effect of HGHHT extract on platelet in dextran treated rat

+: Statistically significant value compared with normal data(+++ : P<0.001)

*: Statistically significant value compared with control data(** : P<0.01)

2) Prothrombin time에 미치는 효과
Prothrombin time에 대한 효과에서는 정상군이 17.26 \pm 0.43(sec)인데 비하여, 대조군은 30.55 \pm 8.14(sec), HGHHT extract

투여군은 16.24 \pm 0.48(sec)로 대조군에 비하여 유의성 (P<0.05) 있는 단축효과를 보였다(Table 7, Fig. 5).

Table 7. Effect of HGHHT extract on Prothrombin Time in Dextran Treated Rat

Group	NO. of animals	Prothrombin time(sec)
Normal	8	17.26 \pm 0.43
Control	8	30.55 \pm 8.14 +
HGHHT	8	16.24 \pm 0.48 *

a) : Mean \pm Standard Error

Normal : oral administration of normal saline.

Control : 1.1ml/200g dextran i.v. injected group after oral administration of normal saline.

HGHHT : 1.1ml/200g dextran i.v. injected group after oral administration of 11.2mg/200g of HGHHT extract.

+: Statistically significant value compared with normal data(+: P<0.05)

*: Statistically significant value compared with control data(* : P<0.05)

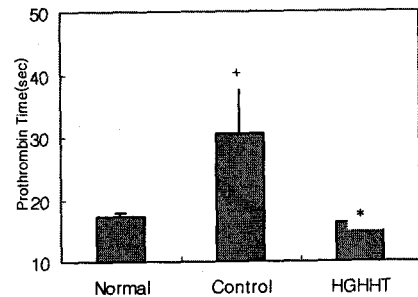


Fig. 5. Effect of HGHHT extract on prothrombin time in dextran treated rat.

+: Statistically significant value compared with normal data(+: P<0.05)

*: Statistically significant value compared with control data(* : P<0.05)

3) Activated partial thromboplastin time에 미치는 효과

APTT에 대한 효과에서는 정상군이 44.0 \pm 1.35(sec)인데 비하여 대조군은

67.8 \pm 2.02(sec), HGHHT extract투여군은 43.9 \pm 2.15(sec)로 나타나 대조군에 비하여 유의성(P<0.001) 있는 감소 효과를 나타내었다(Table 8, Fig. 6).

Table 8. Effect of HGHT extract 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 +++
HGHT	8	43.9 ± 2.15 ***

a) : Mean ± Standard Error

Normal : oral administration of normal saline.

Control : 1.1ml/200g dextran i.v. injected group after oral administration of normal saline.

HGHT : 1.1ml/200g dextran i.v. injected group after oral administration of 11.2 mg/200g of HGHT extract.

+: Statistically significant value compared with normal data(+++ : P<0.001)

*: Statistically significant value compared with control data(*** : P<0.001)

4) Fibrinogen 양에 미치는 효과

Fibrinogen 양에 대한 효과에서는 정상군에서 263.3±10.58(mg/dl)인데 반하여, 대조군은 181.5±11.5 (mg/dl),

Table 9. Effect of HGHT extract on Fibrinogen in Dextran Treated Rat

Group	NO. of animals	Fibrinogen(mg/dl)
Normal	8	263.3 ± 10.58
Control	8	181.5 ± 11.5 +++
HGHT	8	266.4 ± 1.39 **

a) : Mean ± Standard Error

Normal : oral administration of normal saline.

Control : 1.1ml/200g dextran i.v. injected group after oral administration of normal saline.

HGHT : 1.1ml/200g dextran i.v. injected group after oral administration of 11.2mg /200g of HGHT extract.

+: Statistically significant value compared with normal data(+++ : P<0.001)

*: Statistically significant value compared with control data(** : P<0.01)

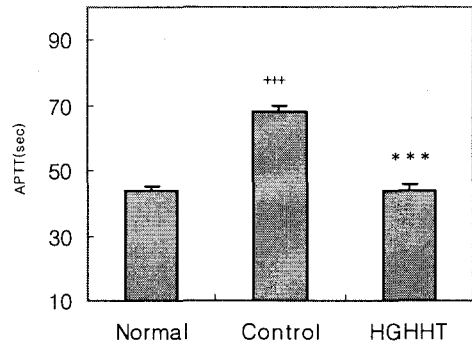


Fig. 6. Effect of HGHT extract on activated partial thromboplastin time in dextran treated rat.

+: Statistically significant value compared with normal data(+++ : P <0.001)

*: Statistically significant value compared with control data(*** : P <0.001)

HGHT extract 투여군은 266.4±1.39 (mg/dl) 으로 대조군에 비하여 유의성 (P<0.01) 있는 증가 효과를 나타내었다. (Table 9, Fig. 7).

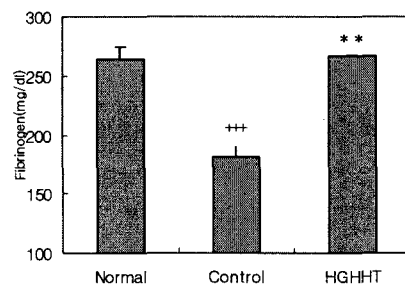


Fig. 7. Effect of HGHT extract on fibrinogen in dextran treated rat.

+: Statistically significant value compared with normal data(+++ : P <0.001)

*: Statistically significant value compared with control data(** : P <0.01)

3. 瘀血유발에 따른 혈류속도에 미치는 효과

瘀血을 유발시킨 SD에서 혈액을 채취하여 혈류속도를 측정 한 실험 결과, 정상군은 21.07±2.48(sec), 대조군은

26.26±2.81(sec), HGHHT extract 투여군은 23.08±3.15(sec)로 나타나 대조군에 비하여 혈류 속도의 증가를 보였으나 유의성 있는 결과는 나타나지 않았다 (Table 10, Fig. 8).

Table 10. Enhancement of Blood Flow Rate by Administration in Vivo

Sample	Flow Rate(sec)
Normal	21.07 ± 2.48
Control	26.26 ± 2.81
HGHHT	23.08 ± 3.15

a) : Mean ± Standard Error

Normal : Oral administration of normal saline.

Control : 1.1ml/200g dextran i.v. injected group after oral administration of normal saline.

HGHHT : 1.1ml/200g dextran i.v. injected group after oral administration of 11.2 mg/200g of HGHHT extract.

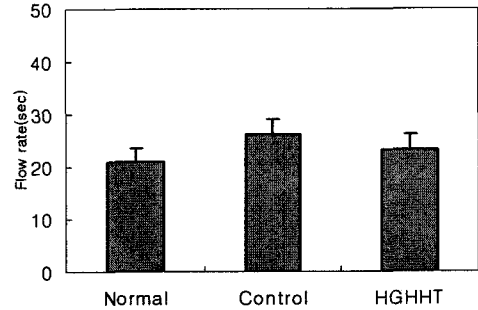


Fig. 8. Enhancement of blood flow rate by administration in vivo.

IV. 考 察

行經紅花湯은 《濟陰綱目治·治血澁經閉門》¹⁾에서 언급된 처방으로 “治婦人室女經候不行 時作脹痛”이라 하여 血澁에 의한 經閉症을 치료할 목적으로 立方되었다^{1,2)}.

經閉란 여성이 사춘기를 지났는데도 月經이 없거나, 혹은 원래 있던 月經이 돌연 정지되어 3개월 이상 된 것을 이른다. 임신이나 수유기, 폐경기의 經閉는 생리적 經閉로 병리적 經閉의 범위에 포함되지 않는다²⁾. 經閉에 대하여 《素問》²⁷⁾에서는 女子不月, 月事不來, 張²⁸⁾은 月水不來, 月經不通, 月閉, 宋^{2,3)} 등의 現代 文獻에서는 無月經, 經閉, 閉經이라 命名하였다.

이러한 經閉의 대부분의 원인을 여러 醫家에서 瘀血로 보고 있는데, 李²⁹⁾는

“經病百端血滯枯”라 하여 經病의 主要原因이 瘀血임을 言及하였고, 《景岳全書·婦人規》³⁰⁾ “肝主疏泄而氣抑鬱 肝氣不舒畢容易橫逆 若肝氣橫逆 氣鬱血滯而痛經者”, 《校注婦人良方·婦人腹中瘀血方論》³¹⁾ “婦人腹中瘀血者 由月經閉積或產後餘血未盡 或風寒滯瘀 久而不消則爲積聚矣”라 하여, 經閉및 經病의 原因을 瘀血이라고 언급하였다³⁾.

經閉의 병인 病기는 복잡 다양하지만, 대체적으로 허증과 실증으로 大別한다. 허증은 肝腎不足, 氣血虛弱, 陰虛血燥 등으로 세분되며, 실증은 氣滯血瘀, 痰濕阻滯 등으로 세분된다. 이 중에서 氣滯血瘀가 원인인 경우에는 氣行則血行하고, 氣滯則血滯하므로, 특히 肝의 疏泄機能이 失調되면 肝氣鬱結이 되어 氣鬱, 氣滯의 氣機失調가 초래되어 氣血이 조화되지 못하여 瘀血이 정류하게 되어 血澁하게 된다³²⁾. 그런 이유로, 갑자기

無月經이 생기게 되고, 精神이 抑鬱되어 있어, 煩燥로우며, 화를 잘 내고, 胸脇이 脹滿하며, 小腹이 脹痛하고, 만지면 거북하게 된다. 이 때 舌은 어두운 色이거나, 혹은 瘀癥이 있고, 苔는 정상이거나 약간 黃色이며, 脈은 弦하거나 緊하다. 따라서 이런 經閉의 治法은 活血化瘀, 調理衝任하는 法을 활용하여야 하는데³⁻⁶⁾, 이는 上記한대로 行經紅花湯이 治婦人室女經候不行 時作脹痛한다는 것과 일치한다^{1,2)}.

瘀血은 혈액순환장애, 혈액성분의 變化 및 結體組織의 增殖, 變成으로 인식되어지고 있는데, 이는 서양의학의 혈전의 개념과 유사하여^{10,11)}, 活血化瘀 處方 및 藥物과 抗血栓作用을 연결시킨 연구가 이루어지고 있다^{16-18,33)}.

이미 和血通經散¹²⁾, 芎歸湯加味方¹³⁾, 坐宮丹¹⁴⁾, 加味通經湯¹⁵⁾等¹⁶⁻¹⁸⁾의 處方이 抗血栓에 대하여 유효하다고 보고된 바가 있으며, 이러한 실험적 연구는 活血化瘀 藥物 및 處方이 혈액의 점조도를 변화하게 하고, 혈소판의 응집을 조절하고, 순환을 개선시킨다는 결론에 이르고 있으며, 임상적으로도 이에 관련된 유의성 있는 다양한 결과가 보고^{16-18,34)}되고 있다.

行經紅花湯은 當歸尾, 赤芍藥, 紫葳, 劉寄奴, 牛膝, 玄胡索, 紅花, 蘇木, 桃仁, 青皮, 香附子, 桂心으로 구성되었는데 각각의 효능을 살펴보면 當歸尾는 補血活血, 調經止痛하는 효능이 있어, 月經不調, 經閉腹痛, 崩漏 등을 치료하고³⁵⁻³⁷⁾, 赤芍藥은 淸熱涼血, 散瘀止痛의 효능이 있어, 經閉腹痛, 癥瘕腹痛을 치료하고³⁵⁻³⁹⁾, 紫葳는 行血祛瘀, 涼血祛風하는 효능이 있어, 經閉癥瘕를 치료하고³⁵⁾, 劉寄

奴는 破血通經, 散瘀止痛 하는 효능이 있어, 血滯經閉, 產後瘀阻腹痛등을 치료하고^{35,39)}, 牛膝은 散瘀血, 消癰腫하는 효능이 있어, 經閉, 癥瘕를 치료하고^{35-37,39)}, 玄胡索은 活血, 散瘀, 理氣, 止痛하는 효능이 있어, 經閉痛經, 產後瘀阻등을 치료하고^{35-37,39)}, 紅花는 活血通經, 散瘀止痛하는 효능이 있어 經閉, 痛經, 惡露不行, 癥瘕痞塊를 치료하고^{35-37,39)}, 蘇木은 行血破瘀, 消腫止痛하는 효능이 있어 經閉痛經, 胸腹刺痛등을 치료하고^{35-37,39)}, 桃仁은 活血祛瘀하는 효능이 있어 經閉, 痛經, 癥瘕痞塊등을 치료하고^{35-37,39)}, 青皮는 疏肝破氣, 散結消瘀하는 효능이 있고^{35,37)}, 香附子는 理氣解鬱, 止痛調經하는 효능이 있어 氣鬱不舒, 胸腹脇肋脹痛, 月經不調등을 치료하고^{35-37,39)}, 桂心은 溫經通脈, 助陽化氣하는 효능이 있다^{35-37,39)}. 이상을 종합하여 보면 行經紅花湯은 活血通經, 散瘀止痛하는 효능이 있어 血澁으로 인한 經閉를 치료할 目的으로 活用될 수 있을 것으로 사료된다.

著者는 이러한 行經紅花湯의 효능으로 보아 行經紅花湯이 抗血栓효과를 갖을 것으로 추측되었고, 아직 行經紅花湯의 抗血栓에 대한 실험적 연구를 접하지 못하였기에, 이를 규명하기 위하여 다음과 같이 실험하였다.

In vitro에서는 혈소판 응집, fibrinolytic activity, 그리고 혈전유발에 따른 혈류속도를, in vivo에서는 폐색전 유발 및 dextran에 의한 혈전증 유발 후 혈소판수, prothrombin time, activated partial thromboplastin time, 그리고 fibrinogen양을 각각 측정하여, 行經紅花湯의 抗血栓作用을 규명하려 하였고, 그 결과 유의성 있는 결과를 얻었기에 보

고하는 바이다.

먼저 *in vitro*에서는 platelet aggregation 억제 작용에서는 혈소판 응집에 대해 관여하는 부위가 서로 다른 응집 유도제인 ADP와 epinephrine을 사용하였다.

혈액순환에서 혈소판 필수 활성 인자 중 하나는 수용성 물질인 ADP는 혈관의 상해 부위에서 농도가 증가하여 그곳에서 혈소판들이 축적된다⁴⁰⁾. 따라서 혈전에 대한 작용 검색시 가장 기본적으로 ADP로 유도된 혈소판 응집에 대한 검색이 이루어지는데, 본 실험에서는 농도 의존적으로 억제하였다.

즉, HGHHT extract를 농도별 (각각 30, 20, 10, 5, 2.5, 1.25mg/ml)로 나누어, ADP(6 μ M)에 의해서 유도된 혈소판 응집 반응을 실험한 결과, 최대 응집율은 85.4%로 나타난 반면, HGHHT extract 30mg/ml 농도에서의 응집율(%)는 37.47%, 20mg/ml 농도에서는 78.33%, 10mg/ml 농도에서는 90.16%, 5mg/ml 농도에서는 94.96%, 2.5mg/ml 농도에서는 94.96%, 1.25mg/ml 농도에서는 97.42%의 응집율(%)를 나타내었다. 또한 Sigmoid E_{max} model에 적용하여 fitting한 결과 E_{max} 는 524.37%, EC_{50} 은 5.63 μ g/ml, γ 값은 2.30으로 나타났다(Table 2).

이와는 달리 epinephrine은 부신수질에서 分泌되는 hormone으로 심박수 및 심장에서 내보내는 혈액량을 증가시키고, 혈관 벽에 작용하여 혈관을 수축시키며, 산소소비도 증가시켜 기초대사를 높이는 작용을 하는데⁴¹⁾, 본 실험에서는 ADP와 동일한 농도로 실시한 실험군에서 HGHHT extract 30mg/ml, 20mg/ml 농도에 0% 응집률을 나타내었다.

즉, epinephrine에 의해서 유도된 혈소판 응집에 반응한 결과에서는 대조군의 최대 응집율이 92.4%로 나타난 반면, HGHHT extract 30mg/ml 농도에서의 응집율(%)는 0%, 20mg/ml 농도에서는 0%, 10mg/ml 농도에서는 19.69%, 5mg/ml 농도에서는 46.96%, 2.5mg/ml 농도에서는 90.58%, 1.25mg/ml 농도에서는 95.45%의 응집율(%)를 나타내었다.

아울러 E_{max} 가 98.97%, EC_{50} 은 5.63 μ g/ml, γ 값은 2.30으로 나타났다(Table 2). 이는 본 시료가 고농도 투여 시 epinephrine에 의해 유도된 혈소판 응집에 매우 효과적임을 알 수 있다.

Fibrinolytic activity에 대한 실험에서는 양성 대조군인 urokinase에서는 3.8cm 정도로 혈전을 용해시켰고, 行經紅花湯 투여군에서는 미약하게 whole well이 보이기는 하나, 효과 있는 결과를 나타내지는 않았다(Table 3, Fig. 1).

혈전 유발에 따른 혈류속도 측정에 있어서는 정상군의 혈액에 직접 약물을 투여 시켜 혈류속도를 측정하는 *in vitro* 실험에서는 정상군은 20.07 \pm 1.47(sec), 대조군은 27.5 \pm 2.05(sec), HGHHT extract 투여군은 24.06 \pm 3.04(sec)로 나타나 대조군에 비해 혈류 속도 증가를 나타내었다(Table 4, Fig. 2). 어혈을 유발시킨 SD에서 혈액을 채취하여 혈류 속도를 측정하는 *in vivo* 실험에서는 정상군은 21.07 \pm 2.48 sec, 대조군은 26.26 \pm 2.81 sec, HGHHT extract 투여군은 23.08 \pm 3.15 sec로 대조군에 비하여 혈류 속도의 증가는 보였으나 유의성 있는 결과를 나타내지는 않았다(Table 5, Fig. 3).

Collagen은 교원질로 단단한 단백질의 하나이며, 뼈, 연골, 인대, 진피 등에 존

재하는데, 물이나 묽은 산, 묽은 알칼리 용액에 장기간 끓이면 수용성 gelatin으로 변한다⁴²⁾. 또한 epinephrine은 혈관을 수축시킨다⁴¹⁾.

이러한 collagen과 epinephrine에 의해 유도된 폐색전 실험에서 대조군은 8마리 중 8마리가 죽거나 30분간 이상 마비가 지속이 되었는데, 양성대조군인 aspirin 투여군은 8마리 중 2마리만이 죽거나 15분 이상 마비가 지속이 되었다. 이에 반하여 HGHHT extract 투여군은 8마리 중 4마리가 죽거나 15분 이상 마비가 지속되어 50%의 억제 효과를 나타내었다(Table 5, Fig. 3).

Dextran은蔗糖으로부터 만들어진 포도당으로 구성된 수용성다당류로서 혈장증량제로 사용되고⁴³⁾, 항원항체반응을 일으킬 가능성이 많고 혈소판응집을 방해하며 적혈구 응집을 촉진시키므로⁴⁴⁾, 이를 이용하여 어혈을 유발시킨 후 行經紅花湯을 투여하여 혈소판 수, prothrombin time, activated partial thromboplastin time, fibrinogen 양을 측정하였다.

혈소판은 단지 혈액질환뿐만 아니라, 감염증, 혹은 종양에 의한 질환 등에 있어 그 진단, 증상, 예후의 판정, 치료효과와 전신 상태를 파악하기 위한 중요한 지표가 된다. 특히 막에 함유된 다량의 인지질을 중심으로 한 혈액의 응고 작용, 세포구성인자와 대사물질에 의한 혈관운동, 염증반응, 동맥경화현상과 關聯이 있다고 알려져 있다⁴⁵⁾.

혈소판수의 측정은 응혈 및 혈전형성여부의 대표적인 지표가 되며⁴⁶⁾, 혈소판수의 감소는 자반증이나 감염증, 빈혈 등을 유발할 수 있다⁴⁷⁾.

이러한 혈소판 수 변화에서는 정상군이 889 ± 18.8 ($\times 10^3/\text{mm}^3$)인데 비하여, 대조군은 686 ± 5.67 ($\times 10^3/\text{mm}^3$), HGHHT extract 투여군은 708.5 ± 2.27 ($\times 10^3/\text{mm}^3$)로 대조군에 비하여 유의성 ($P < 0.01$) 있는 단축효과를 보였다(Table 6, Fig. 4).

Prothrombin은 혈액응고인자의 제 2인자로 응고 시 중요한 작용을 하며, 간장에서 형성되는데⁴⁸⁾, prothrombin time의 측정은 각종 출혈성 질환의 진단 및 치료에 있어 중요한 역할을 할 뿐만 아니라 간 장애의 종류와 황달의 감별진단, 호흡장애의 유무판정 등에 응용된다⁴⁹⁾. Prothrombin time에 대한 효과에서는 정상군이 17.26 ± 0.43 (sec)인데 비하여, 대조군은 30.55 ± 8.14 (sec), HGHHT extract 투여군은 16.24 ± 0.48 (sec)로 대조군에 비하여 유의성 ($P < 0.05$) 있는 단축효과를 보였다(Table 7, Fig. 5).

Thromboplastin은 혈액응고에 중요한 역할을 하는 제 3인자로 출혈 시에 혈장 속에 있는 prothrombin을 thrombin으로 바꿈으로서 지혈에 관여하는 것으로 thrombokinase라고도 하며, 태반, 간, 뇌 실질 등의 조직에 다량으로 함유되어 있다⁵⁰⁾. Activated partial thromboplastin time의 검사목적은 지혈기구의 이상이 어디에 있는가를 조사하는 것으로 이 검사에서 이상치를 보이는 것은 내인계 응고장애가 있음을 의미하는 것이며, 주로 간담도 질환의 진단, 혈우병 등에 응용된다⁵¹⁾. 이러한 APTT에 대한 효과에서는 정상군이 44.0 ± 1.35 (sec)인데 비하여 대조군은 67.8 ± 2.02 (sec), HGHHT extract 투여군은 43.9 ± 2.15 (sec)로 나타나 대조군에 비하여 유의성($P < 0.001$) 있는 감소 효과를

나타내었다(Table 8, Fig. 6).

Fibrinogen은 혈액응고 기전의 최종단계에 위치하는 응고인자이며 혈액이 응고할 때 나오는 gel 모양의 단백질인 fibrin의 전구체로 심근경색, 간질환, 출혈증 등의 예측 및 치료에 응용되고, 중증 간질환, 악성빈혈, 거대혈전증, 백혈병 등에서 감소하는 경향을 나타낸다^{52,53}). 이러한 fibrinogen 양에 대한 효과에서는 정상군에서 263.3±10.58(mg/dl)인데 반하여, 대조군은 181.5±11.5(mg/dl), HGHHT extract 투여군은 266.4±1.39(mg/dl)으로 대조군에 비하여 유의성(P<0.01)있는 증가 효과를 나타내었다(Table 9, Fig. 7).

이상의 실험결과, 行經紅花湯은 혈소판 응집 억제와 폐색전 억제 및 瘀血병태실험에서 모두 유의성 있는 항혈전 효과를 보여 주었으므로 瘀血에 의한 經閉 및 부인과질환에 활용하면 더욱 유효할 것으로 사료된다.

V. 結 論

行經紅花湯의 活血化於하는 효능을 실험적으로 究明하기 위하여 혈소판 응집, fibrinolytic activity, 혈류속도, pulmonary embolism, 혈소판 수, prothrombin time(PT), activated partial thromboplastin time(APTT), fibrinogen 량의 측정을 통하여 抗血栓作用을 평가한 결과는 다음과 같다.

1. ADP로 유도된 혈소판 응집 억제 효과에서 E_{max} 와 EC₅₀은 각각 524.37%, 75.87mg/ml 로 나타났고, epinephrine으로 유도된 경우는 98.97%, 5.63mg/ml로 나타났다.
2. Fibrinolytic activity에 대한 효과는

HGHHT extract 투여군에서 양성대조군에 비하여 유의적인 결과가 나타나지는 않았다.

3. 혈류속도에 미치는 효과에서는 in vitro, in vivo에서 각각 속도의 증가는 보였으나 유의성 있는 결과는 나타나지 않았다.

4. 폐색전에 대한 효과는 HGHHT extract 투여군이 50%의 억제효과를 나타내었다.

5. Dextran 瘀血 병태 모델에서 HGHHT extract 투여군이 혈소판수나 fibrinogen 량에 대해서는 유의성 있는 증가를 나타내었고, prothrombin time과 activated partial thromboplastin time에서는 유의성있는 단축 효과를 나타내었다.

이상의 결과로 보아 行經紅花湯은 자궁내 瘀血에 의해서 혈액순환장애로 經閉症이 나타나는 증상에 活血祛瘀하는 抗血栓作用이 있는 것으로 나타났다.

□ 투 고 일 : 2005년 07월 21일

□ 심 사 일 : 2005년 08월 02일

□ 심사완료일 : 2005년 08월 10일

參 考 文 獻

1. 武之望 : 濟陰綱目, 서울, 一中社, p.30, 1992.
2. 宋炳基 : 漢方婦人科學, 서울, 杏林出版社, p.45, 165, pp.182~189, 1978.
3. 韓醫婦人科學 編纂委員會 : 韓醫婦人科學, 서울, 정담, pp.115~123, 2001.
4. 申天浩 : 問答式 婦人小兒科學 編譯, 서울, 成輔社, pp.83~87, 1992.

5. 卞廷煥 : 完譯校註 婦人良方, 大邱, 韓林院, pp.28~32, 1987.
6. 羅元愷 : 中醫婦科學, 北京, 人民衛生出版社, pp.92~98. 1988.
7. 金聖勳 외 : 東醫病理學, 大田, 도서출판 한림원, pp.348~356, 1994.
8. 이중달 : 그림으로 보는 병리학, 서울, 고려의학, pp.127~134, 1990.
9. 吉利和 : 內科診斷學, 서울, 第一醫學士, pp.6~8, 1994.
10. 崔昇勳 : 黃帝內經에서의 瘀血의 認識에 대한 理論的 研究, 大田大學校 論文集, 6(2):313~320, 1987.
11. 鄧士賢 : 活血化瘀藥的藥理與應用, 雲南中醫雜誌, 5:50~53, 1985.
12. 김광겸 : 和血通經散의 抗炎, 抗血栓 및 鎮痛效果에 對한 研究, 圓光大學校 大學院, 1996.
13. 윤현자 : 芎歸湯加味方의 抗血栓效果에 關한 研究, 圓光大學校 大學院, 1996.
14. 趙善花 : 坐宮丹이 抗菌 抗血栓 및 鎮痛作用에 미치는 影響, 大田大學校 大學院, 2001.
15. 이혜경 : 加味通經湯의 抗血栓, 消炎 및 鎮痛作用에 對한 研究, 大田大學校 大學院, 2002.
16. 林民哲 : 玄胡索散의 抗血栓作用에 대한 研究, 大田大學校 大學院 碩士學位論文, 2003.
17. 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.
18. 孫泰熏 : 加味生化湯의 抗血栓 및 鎮痛效果에 對한 研究, 大田大學校 大學院, 2001.
19. Lee. J.H., Lee, Y.S. and Kwon, K.I. : Protective effects of Phellinus linteus on reperfusion of the isolated perfused Guinea pig hearts and anti-platelet aggregation effects of Phellinus linteus. J. Pharm. Sci.(C.N.U) 10:17~25, 1994.
20. Guerra-Fernando, J.I. et al. : Effect of losartan on human platelet activation. J. Hypertension 17:447~452, 1999.
21. Lewis, S.M. and Verwilghen, R.L. : Quality assurance in hematology, pp.113~145.
22. Platelet aggregation PROFILER model PAP-4 : operating instructions and methods manual. BIO/DATA corporation.
23. 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, 104(3): 223~232, 2001.
24. Kimura, Y., Tani, T., and Watanabe, K. : Effect of cilostazol on platelet aggregation and experimental thrombosis. Arzneim. Forsch./Drug Res. 35(II):1144~1149, 1985.
25. Song YM, Qin JM, Li ZX, Shi S. : Effects of aspirin and nifedipine alone or in combination on mesenteric microcirculation of rats, Zhongguo Yao Li Xue Bao 17(2):189~192, 1996.

26. Leadley RJ Jr, Morgan SR, Bentley R 외: Pharmacodynamic activity and antithrombotic efficacy of RPR120844, a novel inhibitor of coagulation factor Xa, J C Cardiovasc Pharmacol, 34(6):791~799, 1999.
27. 洪元植 : 精校黃帝內經素問, 서울, 東洋醫學研究院出版社, p.38, 55, 78, 83, pp.86~88, p.104, 107, 110, pp.116~124, p.213, 233, 247, 256, pp.261~262, p.292, 304, 315, 319, 326, 342, 347, 1985.
28. 張景岳 : 婦人科, 廣東, 廣東科學技術出版社, pp.76~82, 1984.
29. 李 挺 : 醫學入門, 台聯國風出版社, p.443, pp.445~446, 1979.
30. 張介賓 : 景岳全書(上), 上海, 上海科學技術出版社, pp.635~643, 1984.
31. 陳自明 : 校注婦人良方, 台北, 人民衛生出版社, pp.215~216, 1985.
32. 金完熙, 崔達永 : 臟腑辨證論治, 서울, 成輔社, p.59, pp.371~375, 1985.
33. 李政垠 : 蒲黃의 抗血栓, 鎮痛 및 抗菌作用에 대한 實驗的 研究, 大田大學校 大學院 碩士學位論文, 2002.
34. 우원홍 외 : 活血化瘀의 東西醫學의 理解, 東醫生理病理會誌, 15(6): 833~838, 2001.
35. 全國韓醫科大學本草學教授 : 本草學, 서울, 永林社, pp.124~125, 195~196, 349~350, 354~355, 413~414, 423~425, 427~428, 437~439, 481~482, 578~580, 1995.
36. 임종필: 本草生藥學, 서울, 도서출판 신일상사, pp.46~48, 224~225, 261~266, 274~276, 377~379, 383~384, 2003.
37. 李芳遠 : 本草精要, 서울, 一中社, pp. 159~160, 288~291, 308~310, 324~429, 405~407, 423~424, 425~429, 431~434, 630~636, 2002.
38. 李泰浩 : 最新國漢藥物學, 서울, 杏林出版社, p.446, 519, 1981.
39. 辛民教 : 原色臨床本草學, 서울, 남산당, p.300, pp.385~387, 464~465, 467~472, p.468, 480, 481, 518, 519, 1986.
40. Cornell RF, Randolph TR. : The minimum concentration of fibrinogen needed for platelet aggregation using ADP, Clin Lab Sci, Winter; 15(1):3~6, 2002.
41. 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, 12:70, 1996.
42. 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, 3:29, 1996.
43. 李宇宙 : 醫學辭典, 서울, 아카데미서적, p.313, 1992.
44. 金敬煥 : 李宇宙의 藥理學 講義, 서울, 醫學文化社, pp.781~782, 1998.
45. 醫學教育研修院 : 症狀別臨床檢査, 서울, 서울대학교출판부, p.396, 1991.
46. 李三悅, 鄭充燮 : 臨床病理檢査法, 서울, 延世大學校出版部, pp.120~130, 1982.
47. 理工産業編輯部 : 헨디臨床檢査法, 서울, 理工産業, p.139, 1973.
48. 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, 19:89, 1996.
49. 金井泉, 金井正光 : 臨床檢査法提要,

- 서울, 高文社, p.341, 355, 361, 1991.
50. 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,
18:149, 1996.
51. 이귀녕, 권오현 : 임상병리파일, 서
울, 醫學文化社, p.1118, 1212, 2000.
52. 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,
19:116, 1996.
53. 金箕洪 : 檢査成績의 臨床的 活用,
서울, 高文社, pp.120~124, 1980.