大韓本草學會誌 제31권 제3호(2016년 5월)
Kor. J. Herbol. 2016 ; 31(3) : 13-22

ISSN 1229-1765(Print), ISSN 2288-7199(Online)
http://dx.doi.org/10.6116/kjh.2016.31.3.13.

초법에 따른 당귀의 항산화 및 항혈전 효과

김민영[1#], 권오준[2#], 추병길[3], 이가위[4], 박은혜[4], 김홍준[4*]

1 : 대구한의대학교 한의과대학 본초약리학교실, 2 : 대경지역사업평가원 경북지역산업평가단,
3 : 전북대학교 농생명과학부, 4 : 우석대학교 한의과대학 방제학교실

The Effect of Angelicae gigantis radix according to Heat-process on Anti-Oxidant and Anti-Thrombotic

Min Yeong Kim[1#], O Jun Kown[2#], Byung Kil Choo[3],
Chia Wei Lee[4], Eun Hey Park[4], Hong Jun Kim[4*]

1 : College of Korean Medicine, Daegu Hanny university, Daegu, Republic of Korea,
2 : Gyeongbuk Regional industry Evaluation, Daegyeong Institute for Regional Program Evaluation, Republic of Korea,
3 : Department of Crop Agriculture & Life Science, Chonbuk National University, Jeonju, Republic of Korea,
4 : Department of Korean Medical Prescription, Woosuk University, Wanju-gun Republic of Korea

ABSTRACT

Objectives : Arachidonic acid is control the thromboxane A2 (TXA2) and prostacycline (PGI_2) synthesis, TXA2 increase lead to thrombus produced by induces platelet aggregation and vasoconstriction. Angelicae gigantis radix (RAR) is mainly used blood deficiency and stagnation. In previous studies, RAR has been reported that a vasodilating and blood clotting delay effects. In this study, investigate that anti-oxidant and anti-thrombotic effects of RAR by heat-process.

Methods : The heated angelicae gigantis radix sample were made by 140, 180, and 220 ℃ and 4, 6, 9 and 12 min using water or 30% ethanol. The anti-oxidant effects were measured by total polyphenol, total flavonoid, DPPH and ABTS radical scavening activation. Anti-thrombotic effect conducted in samples that are determined to be effective through the anti-oxidant experiment such as angelicae gigantis radix roasted 180℃, and 220℃ and angelicae gigantis radix roasted with 30% ethanol 180℃, and 220℃.

Results : Anti-oxidant parameters were efficacious in high temperature roasted AR. Also AR and EAR increased a inhibitory activity of FXa compared with RAR. The blood coagulation time of administration groups were significantly increased compare with control group. The TXB2 was significantly decreased in AR and EAR.

Conclusions : We confirmed that whether AR and EAR administration has anti-oxidant and anti-thrombotic effect or not. As the results, AR and EAR were improved anti-oxidant effects and blood biochemistry compare with control group. This study provides scientific evidence that AR and EAR are have an anti-oxidant effect and anti-thrombotic effect, it expected that there is no difference between the two.

Key words : Angelicae gigantis radix ; stir-frying ; anti-oxidant effect ; anti-thrombotic effect, FXa, TXB2

*Corresponding author : Hong Jun Kim.
Department of Korean Medical Prescription, Woosuk University, Wanju-gun Republic of Korea.
· Tel : +82-63-290-9028 · E-mail : kimboncho@woosuk.ac.kr
#First author : Min Yeong Kim. College of Korean Medicine, Daegu Hanny university, Daegu, Republic of Korea.
· Tel : +82-10-8321-9199 · E-mail : oo9199@naver.com
O Jun Kwon. Gyeongbuk Regional industry Evaluation, Daegyeong Institute for Regional Program Evaluation, Republic of Korea.
· Tel : +82-10-2975-8053 · E-mail : gbria@hanmail.net
· Received : 15 February 2016 · Revised : 28 April 2016 · Accepted : 16 May 2016

Ⅰ. 서 론

생체 내에서 혈액은 혈소판과 혈장의 응고, 섬유소 분해, 응고 억제 등의 과정을 통해 조절과 균형을 이루어 손실을 막을 수 있지만[1], 여러 가지 요인에 의해 균형이 파괴 되면 혈관 속에서 피가 굳어지게 되며 순환기계의 어느 곳이나 발생하여 각종 질병의 원인이 된다. 특히 최근에는 고령화, 비만, 흡연, 음주 등 생활습관의 변화를 통해 그 진행 정도가 증가하고 있는 추세이다[2,3].

세포막 인지질의 아라키돈산은 Thromboxane A2 (TXA2)와 prostacycline (PGI_2)의 합성을 조절하는데, 혈소판 응집과 혈관수축을 유도하는 TXA2의 증가로 혈소판의 접착 및 분비반응을 유도하여 혈전생성을 유발할 수 있다[4]. 흔히 혈전은 섬유소 용해 과정을 통해 소멸되지만, 병리적 산물로 발생한 경우에는 계속적인 혈액응고반응의 증가로 생성량이 증가하여 혈관의 축적이 발생한다. 현재 혈전의 치료제로 항응고제, 혈전용해제 등이 사용되지만 부작용 및 고가의 가격으로 인해 새로운 치료제의 개발이 필요한 실정이다[5].

한의학에서 혈전은 '瘀血 '로 여겨지고 있으며, 瘀血이란 우리 몸에서 정상적으로 흐르지 못하고 鬱滯가 생성되어 정체되어 있는 상태의 병리적 산물이며 治病因子로 瘀血을 치료하기 위해서는 活血祛瘀 하는 약물을 사용하는데, 선행연구에 의하면 活血祛瘀藥의 사용으로 血行 및 혈액의 오염을 개선시켰다고 보고되어 있다[6,7].

당귀 (當歸)는 산형과 (Umbelliferae)에 속하는 다년생 초본인 참당귀 (Angelicae gigantis radix)의 뿌리를 건조시킨 것으로, 性味는 溫하고 甘辛하며 心·肝·脾經에 歸經하여 補血和血, 調經止痛, 潤燥滑腸, 月經不調, 經閉腹痛 등을 主治한다[8]. 당귀는 血虛나 血滯로 인한 병증에 주로 사용되며, 심혈관계에서 혈관 확장 및 혈액응고 지연 효과가 보고되어져 있다[8-10].

따라서 본 연구에서는 혈관확장 및 혈액응고 지연 등 심혈관계에 효과가 있다고 보고되어진 당귀가 청초, 주초를 실시하였을 경우 항산화 및 항혈전 효과의 차이를 비교하기 위하여 실험을 진행하였다.

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 재료

1) 시약 및 기기

Human purified FXa, thrombin, and plasmin (Kordia (Leiden, The Netherlands), Factor XIa (FVIIa ; Calbiochem (Schwalbach, Germany), trypsin, urokinase from Sigma (Taufkirchen, Germany), activated protein C (APC) from Haemochrom Diagnostica (Essen, Germany), Factor VIIa (FVIIa), Factor IXab (FIXab), FX, prothrombin (Swansea, UK), tissue factor (American Diagnostica Inc, Stanford, USA), Chromogenic substrates (chromozym TH, X, U, trypsin, and plasmin ; Roche Diagnostics, Mannheim, Germany), S 2366 (Chromogenix Instrumentation Laboratory ; Bubendorf, Switzerland), Pefachrome FXa (Pentapharm ; Basel, Switzerland), Fluorogenic substrates (I-1100 and Boc-Ile-Glu-Gly-Arg-AMC acetate salt ; Bachem, Bubendorf, Switzerland), Russell' s viper venom (RVV : Pentapharm, NeoplastinPlus), thromboplastin, PTT-Reagent (Roche Diagnostics), hirudin (Refludan, Aventis, Strasbourg, France), Xylazine (Rompun ; Bayer HealthCare), ketamine (Ketavet ; Pharmacia & Upjohn, Karlsruhe, Germany), pentobarbital Na (Nembutal ; Richter Pharma, Wels, Austria)을 사용하였다.

2) 동물

본 실험을 위하여 사용된 8주령 (300 g) 수컷 Sprague-Dawley (SD) 흰쥐는 중앙실험동물 (주)에서 분양받아 1주 이상 적응시킨 후 실험에 사용하였으며 실험당일까지 고형사료 (조단백질 22%이상, 조지방 80%이하, 조섬유 50%이라, 조회분 80%이하, 칼슘 0.6%이상, 인 0.4%이상, 삼양사 Co Korea)와 물을 충분히 공급하고 실온 22±2℃를 계속 유지하고 2주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

3) 시료

본 실험에 사용한 당귀 (Angelica gigas radix)은 옴니허브에서 구매하여, 약전 규격에 부합되는 것만을 정선하여 시료로 사용하였다.

2. 방법

1) 시료 추출

선정 된 당귀를 140℃, 180℃, 200℃에서 3분, 6분, 9분, 12분간 아무런 보료를 가하지 않고 초한 청초당귀 (AR)와 30% ethanol을 이용하여 초한 주정초당귀 (EAR)를 얻었다. 생당귀 (RAR), AR, EAR은 분쇄기로 분쇄 한 다음 시료 5 g에 Distilled water 50 ml를 넣고, 100℃에서 3시간씩 2회 반복 추출하였다. Kimble-filtering flask에 funnel을 장착하고 여과지(Whatman No.2)를 사용하여 추출물을 여과한 뒤 여과액을 미리 항량된 수기에 넣어 45~50℃의 수온에서 rotary vacuum evaporator(JP/N-1000X, EYELA)를 사용하여 감압농축 후 동결건조 (FD5508, IlShin)하였다. 이 분획물을 DMSO에 녹여 200 mg/mℓ의 stock 용액으로 제조한 뒤 -20℃에 보관하여 사용하였다.

2) HPLC 분석

각 시료 100 mg을 취하여 80% methanol 5.0 mL를 가한 다음 20분간 초음파 처리하여 완전히 용해시킨다. 그 중 일부를 취하여 membrane filter로 여과 후 HPLC로 분석에 사용하였다. HPLC 기기는 Waters system (Milford, MA, USA)으로 구성된 600 controller와 600 pump, 717 plus autosampler, 486 tunable absorbance detector를 사용하였으며, Column은 SunFire™ C18 (4.6×250 mm, 5 μm)를 사용하였다. 성분분리는 gradient mode로 하였으며, 이동상 A는 Water, 이동상 B는 Acetonitrile을 사용하여 기울기 용리 조건에서 분리하였다. 분석은 상온에서 실시하였으며 유량은 1.0 mL/min, 주입량은 10μL, 검출기 파장은 330 nm로

하여 분석하였다. 기울기 용리 조건은 80% A/20% B at 0 min, 80% A/20% B at 10min, 20% A/80% B at 5 min, 80% A/20% B at 15 min, 80% A/20% B at 5 min이며 총 Run time은 35 min으로 하였다.

3) Total polyphenol 함량 분석

Total polyphenol 함량은 Folin-Denis법 (Velioglu, et al. 1998)을 이용하였다. 각 시료 25 ㎕ (1 mg/ml)과 10% Folin-Ciocalteau's phenol reagent 500 ㎕를 혼합하여 실온에서 5분간 반응시킨다. 그 후 10% Sodium carbonate 500 ㎕를 더하여 30℃ incubator에서 90분 동안 반응시킨 후 725 nm에서 흡광도 (Multiscan spectrum, Thermo Scientific)를 측정하였다. 총 페놀 함량은 gallic acid를 표준물질로 이와 같은 방법으로 측정하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다.

4) Total flavonoid 함량 측정

Total flavonoid의 함량 측정은 Davis법을 변형한 방법 (Chae SK 2002)에 따라 측정하였다. 추출한 시료 300 ㎕에 Diethylene glycol 600 ㎕를 잘 섞어준 후, 이 혼합물에 1 N NaOH 6 ㎕를 가하여 37℃에서 1시간 동안 방치한 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 Flavonoid 함량은 Rutin을 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다.

5) DPPH Free Radical 소거활성 측정

추출한 시료의 Free Radical 소거능 활성의 측정을 위해 DPPH법을 이용하였다. 각 시료를 농도별로 희석한 용액 100 ㎕와 0.2 mM DPPH 용액 100 ㎕를 혼합하여 37℃에서 30분간 암소 상태에서 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH free radical 활성은 시료를 첨가하지 않은 대조구와 시료 첨가구의 흡광도 차를 백분율로 표시하였다.

6) ABTS Radical Scavenging Activity

7 mM ABTS 용액과 2.4 mM의 potassium persulfate을 혼합하여 실온의 암소 상태에서 약 16시간이상 방치하여 $ABTS^+$을 형성시킨 후 734 ㎚에서 흡광도 값이 0.70 (±0.02)이 되게 100% Ethanol로 희석하였다. 희석된 용액 900 ㎕에 시료 100 ㎕를 가하여1분 동안 방치한 후 흡광도를 측정하였다. 각 시료 추출물의 유리 라디칼 소거 활성은 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도를 1/2로 환원시키는데 필요한 시료의 농도인 RC_{50} 값으로 나타내었다.

7) 혈액에서의 FXa 활성

인간 혈액은 최근 10일 동안 약물을 투약하지 않은 건강한 신체를 가진 사람의 정맥혈을 채취하였다. 혈액은 38% Trisodium citrate가 있는 플라스틱 튜브에 보관하였고, 이를 4℃에서 10분간 2,500 g로 원심분리한 다음, -20℃에서 보관하면서 실험 시 사용 하였다. 인간 혈장 (45 ㎕)에 5 ㎕ hirudin (10 ㎍/ml)을 섞고, 5 ㎕ 당귀추출물 (100 ㎎/ml)와 50 ㎕ RVV (human, 07 mU/ml)를 37℃에서 $CaCl_2$ 50 uM에 녹인다. Chromozym X (50 ㎕ ; 600 uM)를 15분 후에 첨가하였다. 증가된 optical density를 37℃에서 spectra rainbow thermo reader (Tecan, Crailsheim, Germany)로 각각 20분간 측정하였다. FXa에 대한 억제효과는 Cheng-Prusoff 공식 ($Ki=IC_{50}/1+[S]/Km$)에 따라 계산하였으며, [S]는 기질의 농도이며, Km은 Michaelis-Menten 상수이다. Km은 Lineweaver-Burk plot에 의해 결정된다. IC_{50}은 50%에 의한 대조군의 처음 속도를 결정하는데 필요한 inhibitor의 총량이다.

8) 전혈 응고시간

SD 흰쥐는 C그룹 (약물을 구강투여하지 않은 대조군), *in vitro* 실험 중 효과가 있었던 4개의 약물투여군 6분 초한 AR180, AR220, EAR180, EAR220 (500 mg/kg 농도)으로 각각 그룹별로 5수씩 분류하였다. 실험 전날 절식을 시켰으며 물은 제공하였다. 실험일에 증류수를 C그룹에 구강투여하였고, 약물투여군에도 농도별로 구강투여 하였다.

전혈 응고시간은 당귀추출물을 구강투여한 2시간 후에 랫트를 졸레틸로 마취시켜 개복한 다음 주사기를 이용하여 복강대정맥에서 혈액을 채취하고 채취된 혈액 중 1 ㎖를 유리시험관에 넣고 즉시 17% $CaCl_2 \cdot H_2O$ 200 ㎕를 가한 후 가만히 섞어 준 뒤, 혈액에 $CaCl_2$를 가한 시간부터 응고가 생길 때까지의 시간으로 측정하였다.

9) 혈장 Thromboxane B2 (TXB2) 함량

분석방법은 unlabelled TXB2와 일정량의 peroxidase로 labelled된 TXB2 간의 한정된 수의 specific antibody의 결합위치에 대한 competition을 근거로 한 enzyme immunoassay (ELIA) kit (amersham phamacia biotech, UK)를 사용하였다. Kit의 시행방법에 따라 시약을 반응시킨 후 1 M 황산용액을 넣어 종결시켜 생성된 반응물질은 450 nm에서 microtitre plate photometer (SPECTRA MAX 340, USA)로 읽어 비색정량 하였다.

10) 통계처리

모든 수치는 평균±표준편차 (mean±S.D)로 표시하였으며, 실험군 간의 차이는 Student' s t-test를 사용하여 통계적으로 유의성을 나타내었고, 등분산일 경우 one way ANOVA test를 실시한 다음 least-significant differences (LSD) test로 사후검증을 실시하여 실험군 간의 유의성을 측정하였다. 다중비교검증을 이용한 통계처리는 SPSS for Windows (Release 14.0K, SPSS Inc., USA)를 이용하여 평가하였으며, p-value가 0.05 이하인 경우 통계적 유의성을 인정하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 당귀 추출물의 HPLC 분석 결과

각 시료 별 지표성분 (Nodakenin, Decursin)을 분석한 결과 AR의 경우 140℃에서는 nodakenin이 6분에서, decursin은 9분에서 가장 높았다. 180℃에서는 두 성분 모두 3분에서, 20℃에서는 nodakenin은 9분에서, decursin은 12분에서 함량이 가장 높았다. EAR의 분석 결과 140℃, 180℃ 및 200℃

에서는 모두 12분일 때 가장 높은 함량을 보였다 (Table 1.).

Table 1. HPLC chromatogram of RAR by processing time and temperature.

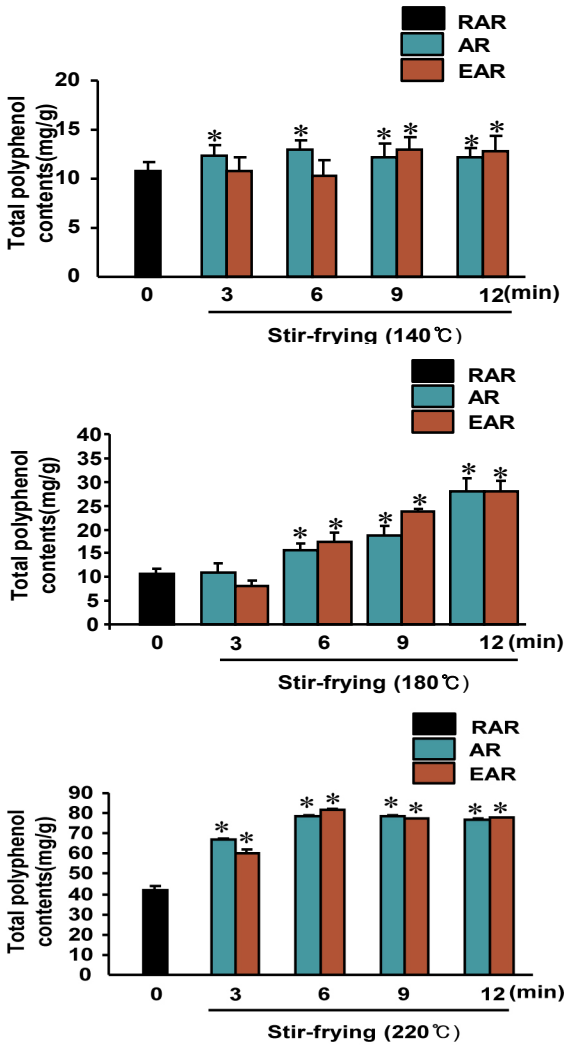
Sample	Temperature	Time	Component (ug/g)	
			Nodakenin	Decursin
RAR	0	0	4760.4	5924.2
AR	140 ℃	3 min	2659.8	3712.9
		6 min	3123.6	4738.1
		9 min	3110.8	10480.8
		12 min	2994.3	9191.8
	180 ℃	3 min	2904.8	14161.5
		6 min	2782.1	8485.7
		9 min	2786.5	5936.5
		12 min	2970.0	7428.9
	220 ℃	3 min	2792.4	5694.2
		6 min	3534.6	5556.4
		9 min	5425.8	7676.6
		12 min	3980.2	8991.9
EAR	140 ℃	3 min	2863.1	5635.1
		6 min	3238.5	5236.7
		9 min	3078.2	6765.8
		12 min	3379.5	7773.2
	180 ℃	3 min	2930.7	5059.7
		6 min	2834.8	7654.5
		9 min	3047.3	6300.2
		12 min	3271.6	8400.5
	220 ℃	3 min	2785.1	7920.7
		6 min	3010.9	3903.4
		9 min	5662.8	16563.4
		12 min	6065.2	20005.5

Analysis Condition : Detection: Waters system, 600 controller, 717 plus autosampler, 486 tunable absorbance detector, Column : SunFire™ C18 (4.6 × 250 mm, 5μm), Flow rate : 1.0 mL/min, Inj. Conc. : 10 μL/ 1 mL in 50% of methanol, Column Temp. : 25 °C, Mobile Phase : A: Water, B: Acetonitrile ; 20% Acetonitrile (0 min) 20% Acetonitrile (10 min) 80% Acetonitrile (5 min) 20% Acetonitrile (15 min) 20% Acetonitrile (5 min)

2. 당귀의 초법에 따른 Total phenol 함량 변화

당귀의 초법에 따른 항산화 활성을 비교하기 위해 total polyphenol 함량을 측정하였다. 그 결과, 140℃에서 3분, 6분, 9분, 12분 간격으로 처리하였을 때 AR의 경우 모든 시료에서 RAR (10.72 mg/g)에 비해 함량이 높게 나타났고 ($p<0.05$), 6분 처리군 (12.92 mg/g)에서 가장 높게 증가하였으나 함량 차이는 미비하였다. EAR의 경우 6분간 처리하였을 때 RAR에 비해 오히려 함량이 감소하였고 9분 처리군 (12.99 mg/g)에서는 가장 높게 나타났으나 다른 시료와 큰 차이를 보이지 않았다. 180℃에서 처리한 경우, AR에서 처리시간에 따라 각각 11.04, 15.67, 18.82, 28.08 mg/g으로 6분, 9분, 12분에서 유의하게 함량이 증가하였으며 ($p<0.05$), 12분에서 가장 높게 증가하였다. 180℃에서 EAR은 RAR에 비해 3분에서 함량이 감소하였으나 처리시간에 따라 증가하여 12분에서는 27.93 mg/g으로 가장 높게 나타났다 ($p<0.05$). 220℃에서 처리한 경우, AR은 RAR에 비해 모두 함량이 증가하였고 각각 13.89, 46.35, 38.72, 33.33 mg/g으로 6분에서 가장 높은 함량을 나타냈으나 이후 감소하는 경향을 보였다($p<0.05$). EAR은 처리시간에 따라 증가하여 12분에서 45.82 mg/g으로 가장 높은 함량을 나타냈다 ($p<0.05$) (Fig. 1).

Fig. 1. Total Polyphenol contents of RAR extracts depending on stir-frying process.



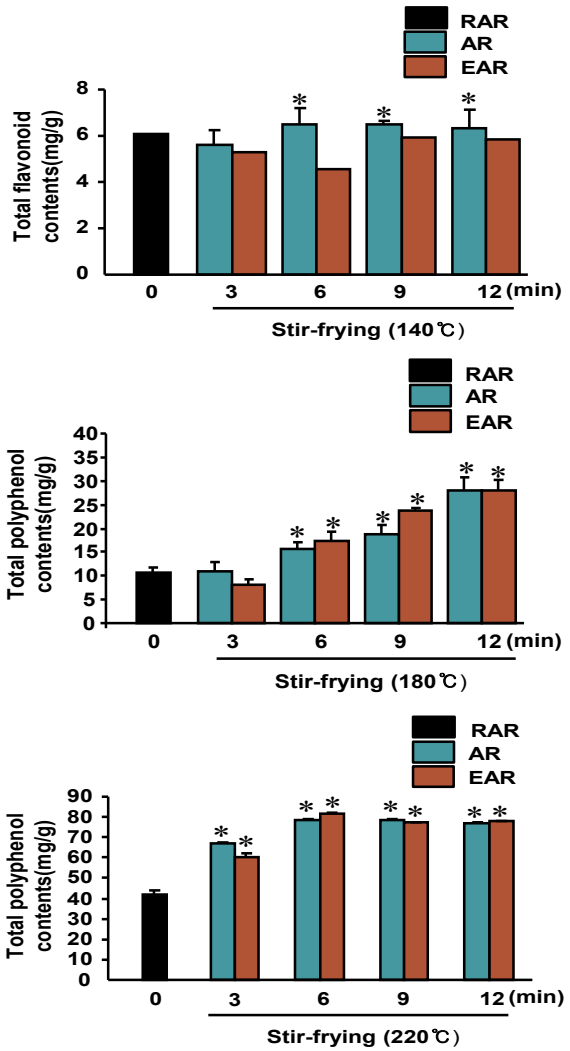
RAR; Raw angelicae gigantis radix extract
AR; Angelicae gigantis radix extract roasted.
EAR; Angelicae gigantis radix extract roasted.
Each value is mean±S.D. of triplicate, significantly different compare with RAR at $p<0.05$ by student's t-test(*).

3. 당귀의 초법에 따른 Total flavonoid 함량 변화

당귀의 초법에 따른 항산화 활성을 비교하기 위해 total flavonoid 함량을 측정한 결과, 140℃에서 3분, 6분, 9분, 12분 간격으로 처리하였을 때 AR의 경우 각각 5.63, 6.50, 6.49, 6.28 mg/g으로 3분에서는 RAR (6.07 mg/g)에 비해 함량이 낮게 나타났고 6분 이후에는 증가하였으나 함량 차이는 미비하였으며 EAR의 경우에는 RAR에 비해 모두 함량이 감소하였다. 180℃에서 처리한 경우, AR은 각각 5.65, 6.84, 8.20, 13.94 mg/g으로 처리시간에 따라 함량이 증가하여

12분에서 가장 높은 함량을 나타냈다 ($p<0.05$). EAR은 3분에서 RAR보다 함량이 더 낮았지만 처리시간에 따라 증가하여 12분에서 12.82 mg/g으로 가장 높게 증가하였다 ($p<0.05$). 220℃에서 처리한 경우, AR은 각각 7.26, 22.29, 18.98, 15.77 mg/g으로 6분에서 가장 높게 증가하였으나 이후 함량이 감소하였으며 EAR은 처리시간에 따라 증가하여 12분에서 28.46 mg/g으로 가장 높게 나타났다 ($p<0.05$) (Fig. 2). 이에 따라, 당귀의 flavonoid 함량은 polyphenol 함량의 경우와 마찬가지로 청초전처리와 주정전처리 간의 큰 차이를 보이지 않았지만 220℃에서는 12분간 주정전처리를 하였을 때 가장 효과적이었다.

Fig. 2. Total Flavonoid contents of RAR water extracts depending on stir-frying process.



RAR; Raw angelicae gigantis radix extract
AR; Angelicae gigantis radix extract roasted.
EAR; Angelicae gigantis radix extract roasted.
Each value is mean±S.D. of triplicate, significantly different compare with RAR at $p<0.05$ by student' s t-test(*).

4. 당귀의 초법에 따른 DPPH radical 소거 활성 변화

당귀의 초법에 따른 항산화 활성을 비교하기 위해 DPPH radical 소거 활성을 측정결과는 Table 2.와 같다. 양성대조군으로 사용 된 L-ascorbic acid의 소거활성은 99.99%였다. 140℃에서 3분, 6분, 9분, 12분 간격으로 처리하였을 때 AR은 51.15, 51.74, 59.88, 57.93%로 RAR (41.89%)에 비해 모두 소거활성이 증가하였고 9분에서 가장 높게 나타났다. EAR은 53.63, 47.21, 62.66, 59.79%로 AR과 비슷한 경향을 보였고 9분에서 가장 높게 나타났다. 180℃에서 처리한 경우, AR은 처리시간에 따라 모두 소거활성이 증가하였고 9분, 12분에서 각각 79.62, 80.59% 로 가장 높은 활성을 나타냈으며, EAR은 6분, 9분, 12분에서 비슷한 수준으로 증가하여 각각 78.63, 81.06, 81.07%의 소거 활성을 나타냈다. 220℃에서 처리한 경우, AR은 RAR에 비해 모두 활성이 증가하여 각각 66.97, 78.27, 78.83, 77.08%로 9분까지는 활성이 증가하였으나 12분에서 감소하였다. EAR은 59.91, 81.59, 77.46, 78.07%로 6분에서 활성이 가장 높게 증가하였으나 이후 활성이 감소하는 경향을 보였다. 따라서 당귀의 DPPH radical 소거 활성은 청초전처리와 주정전처리 간의 큰 차이는 나타나지 않았으나 220℃에서 6분 주정전처리를 하였을 때 가장 높게 증가함을 확인하였다.

Table 2. DPPH radical scavenging activity of RAR water extracts depending on stir-frying process.

Sample	Temperature	Time	DPPH radical cavenging (%)
L-ascorbic acid	0	0	99.99±0.01
RAR	0	0	41.89±0.01
AR	140℃	3 min	51.15±0.01*
		6 min	51.75±0.01*
		9 min	59.88±0.01*
		12 min	57.93±0.01*
	180℃	3 min	57.01±0.01*
		6 min	69.76±0.01*
		9 min	79.62±0.01*
		12 min	80.59±0.01*
	220℃	3 min	66.97±0.01*
		6 min	78.27±0.01*
		9 min	78.83±0.01*
		12 min	77.08±0.01*
EAR	140℃	3 min	53.63±0.01*
		6 min	47.21±0.01
		9 min	62.66±0.01*
		12 min	59.79±0.01*
	180℃	3 min	51.78±0.01*
		6 min	78.63±0.01*
		9 min	81.06±0.01*
		12 min	81.07±0.01*
	220℃	3 min	59.91±0.01*
		6 min	81.59±0.01*
		9 min	77.46±0.01*
		12 min	78.07±0.01*

RAR; Raw angelicae gigantis radix extract
AR; Angelicae gigantis radix extract roasted.
EAR; Angelicae gigantis radix extract roasted.
Each value is mean±S.D. of triplicate, significantly different compare with RAR at $p<0.05$ by student' s t-test(*).

5. 당귀의 초법에 따른 ABTS radical 소거 활성 변화

당귀의 초법에 따른 항산화 활성을 비교하기 위해 ABTS radical 소거 활성을 측정한 결과는 Table 3.과 같다. 140℃에서 3분, 6분, 9분, 12분 간격으로 처리하였을 때 AR은 각각 5.36, 3.33, 4.65, 3.41%로 RAR (3.06%)에 비해 모두 증가하였으나 활성 차이는 미비하였다. EAR은 각각 3.30, 2.99, 3.59, 3.12%로 6분에서 RAR에 비해 감소하였으나 AR과 마찬가지로 활성차이는 미비하였다. 180℃에서 처리한 경우 AR은 처리시간에 따라 활성이 증가하는 경향을 보였고 12분에서 11.91%로 가장 높은 활성을 보였다. EAR은 6분, 9분, 12분에서 각각 7.67, 7.94, 7.82%로 비슷하게 증가하였다. 220℃에서 처리한 경우는 AR 6분에서 11.0%, EAR 6분에서 8.94%로 가장 높게 증가하였으나 이후 처리시간이 길어짐에 따라 감소하는 경향을 나타냈다. 이에 따라, 당귀의 ABTS radical 소거 활성은 청초전처리에서 효과적이었으며 180℃ 에서 12분 처리, 220℃에서 6분 처리를 하였을 때 가장 높게 증가하였다.

Table 3. ABTS radical scavenging activity of RAR water extracts depending on stir-frying process.

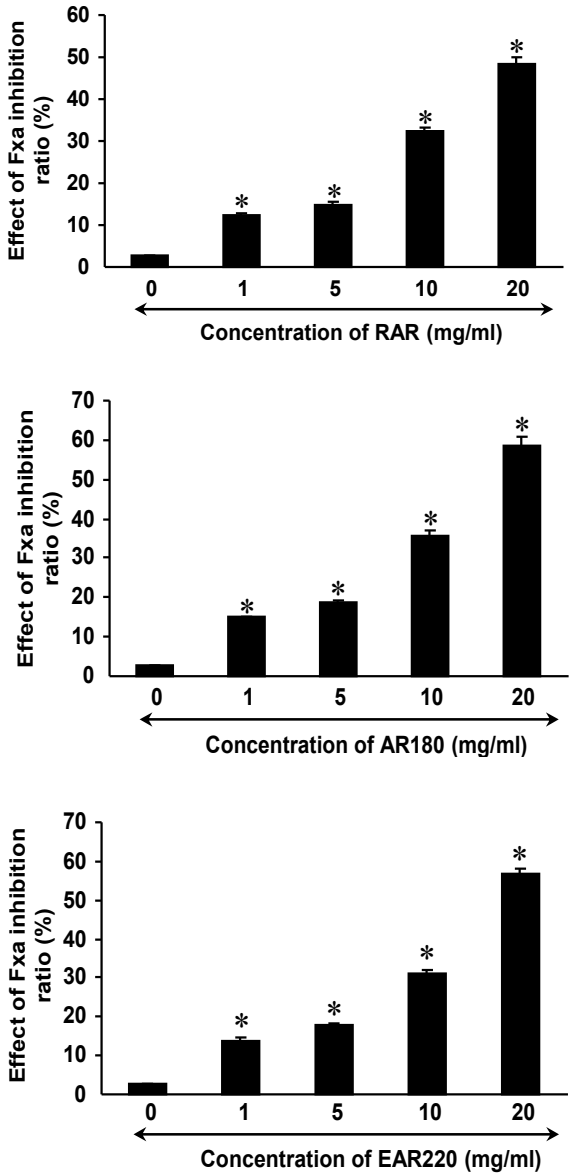
Sample	Temperature	Time	ABTS radical Scavenging (%)
L-ascorbic acid	0	0	99.99±0.06
RAR	0	0	3.06±0.01
AR	140℃	3 min	5.36±0.01*
		6 min	3.33±0.01
		9 min	4.65±0.01*
		12 min	3.41±0.01
	180℃	3 min	2.85±0.01
		6 min	4.31±0.01
		9 min	6.18±0.01*
		12 min	11.91±0.01*
	220℃	3 min	2.09±0.01
		6 min	11.00±0.01*
		9 min	10.96±0.01*
		12 min	10.14±0.01*
EAR	140℃	3 min	3.30±0.01
		6 min	2.99±0.01
		9 min	3.59±0.01
		12 min	3.12±0.01
	180℃	3 min	3.77±0.01
		6 min	7.67±0.01*
		9 min	7.94±0.01*
		12 min	7.82±0.01*
	220℃	3 min	4.49±0.01
		6 min	8.94±0.01*
		9 min	8.65±0.01*
		12 min	7.01±0.01*

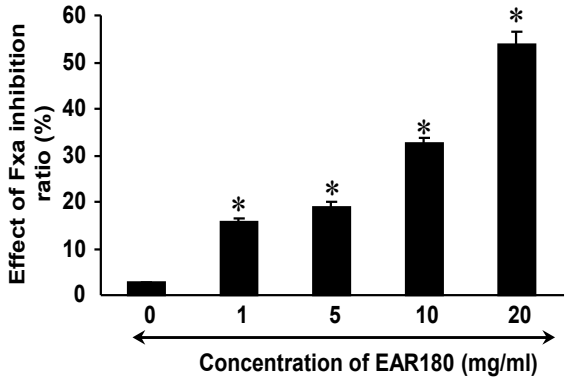
RAR; Raw angelicae gigantis radix extract
AR; Angelicae gigantis radix extract roasted.
EAR; Angelicae gigantis radix extract roasted.
Each value is mean±S.D. of triplicate, significantly different compare with RAR at p<0.05 by student's t-test(*).

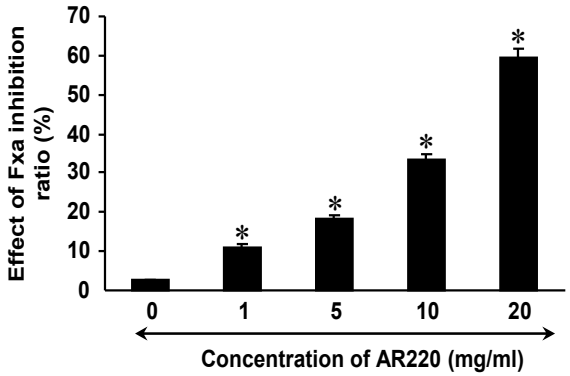
6. 당귀의 초법에 따른 FXa 억제 효과

각각의 당귀 추출물을 0, 1, 5, 10, 20 mg/mℓ 농도로 처리한 후, FXa 활성을 측정한 결과, 대조군의 FXa 억제율은 2.7±0.2%인 반면에 RAR의 억제율은 1, 5, 10, 20 mg/mℓ의 농도로 각각 12.3±0.5%, 15±0.8%, 32.3±1.1%, 48.3±1.7로 농도의존적으로 증가하는 것을 확인 할 수 있었다(*p<0.05). AR180의 농도에 따른 FXa 억제율은 14.9±0.4%, 18.7±0.5%, 35.9±1.2%, 58.7±2%, AR220의 FXa 억제율은 2.7±0.2, 11.1±0.6%, 18.4±0.9%, 33.6±1.2%, 59.4±2.3%로 RAR과 비교하여 높은 억제율을 보였다 (*p<0.05). EAR180에서의 FXa 억제율은 15.8±0.7%, 18.8±1.1%, 32.5±1.4%, 53.8±2.7%였고, EAR220의 FXa 억제율은 13.9±0.8%, 17.8±0.6%, 31.2±0.9%, 56.8±1.3%로 RAR과 비교하였을 때는 억제율이 증가하는 것을 확인 할 수있었지만, AR과 비교하였을 때 낮은 억제율을 보였다 (*p<0.05).

Fig. 3. Effects of RAR extract on purified human free Factor Xa (FXa) using a chromogenic substrate of FXa on platelet surfaces.







The plasma was collected in healthy human and centrifuged at 2500 g for 10 min, stored −20℃. RAR; Raw angelicae gigantis radix extract, AR180; Angelicae gigantis radix extract roasted in 180℃, AR220; Angelicae gigantis radix extract roasted in 220℃, EAR180; Angelicae gigantis radix extract roasted in 180℃ with ethanol, EAR220; Angelicae gigantis radix extract roasted in 220℃ with ethanol .Mean ± SD of 5 times. Statistically significant compared with control group (*p〈0.05).

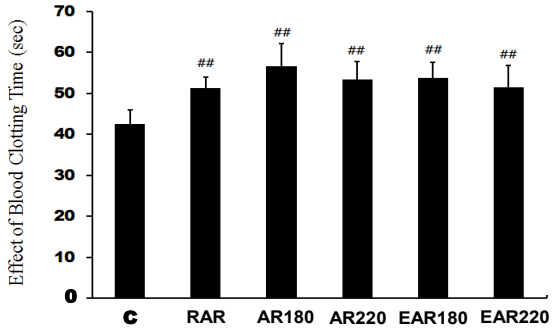
7. 당귀의 초법에 따른 전혈 응고시간 분석

전혈 응고 시간 분석 결과, 당귀추출물을 처리하지 않은 대조군의 전혈응고 시간은 42.5±6.0 sec이었고, RAR 군은 전혈응고 시간이 51.2±2.8 sec이었으며, AR180군의 전혈응고 시간은 56.7±5.4 sec, AR200군의 전혈응고 시간은 53.4±4. 4sec, EAR180군의 전혈응고 시간은 53.8±3.8 sec, EAR200군의 전혈응고 시간은 51.4±5.4 sec로 유의성 있게 응고시간이 증가되었다 ($^{##}$P〈0.01).

8. 당귀의 초법에 따른 Thromboxane B2 함량 변화

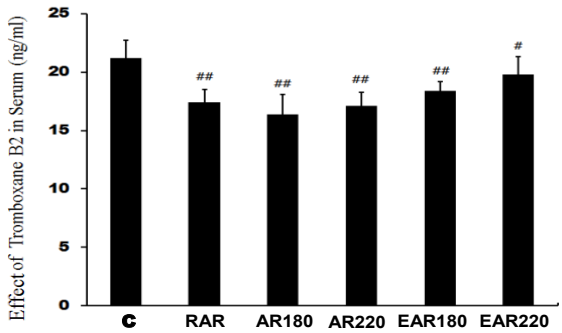
당귀추출물을 구강투여한 후 채혈한 혈장 내 TXB2 함량 분석 결과, 대조군의 혈장 내 TXB2 함량은 21.2±1.5 ng/ml이었고, RAR군은 17.4±1.1 ng/ml이었으며, AR180군은 16.4±1.7 ng/ml, AR220군은 17.1±1.2 ng/ml, EAR180군은 18.4±0.8 ng/ml, EAR220군의 혈장 내 TXB2 함량은 19.8±1.5 ng/ml로 유의성있게 감소되었다 ($^{#}$P〈0.05, $^{##}$P〈0.01).

Fig. 4. Effects of blood coltting time by RAR extract treatment.



C : Normal rats had a distiled water oral administration ; RAR; Raw angelicae gigantis radix extract with 500 mg/kg concerntration, AR180; Angelicae gigantis radix extract roasted in 180℃ with 500 mg/kg concerntration, AR220; Angelicae gigantis radix extract roasted in 220℃ with 500 mg/kg concerntration, EAR180; Angelicae gigantis radix extract roasted in 180℃ with ethanol and treated in 500 mg/kg concerntration, EAR220; Angelicae gigantis radix extract roasted in 220℃ with ethanol and treated in 500 mg/kg concerntration. Meas± SD. Statistically significant compared with control group (##P〈0.01).

Fig. 5. Effects of TXB2 in serum treated with RAR extract.



C; Normal rats had a distiled water oral administration, RAR; Raw angelicae gigantis radix extract with 500 mg/kg concerntration, AR180; Angelicae gigantis radix extract roasted in 180℃ with 500 mg/kg concerntration, AR220; Angelicae gigantis radix extract roasted in 220℃ with 500 mg/kg concerntration, EAR180; Angelicae gigantis radix extract roasted in 180℃ with ethanol and treated in 500 mg/kg concerntration, EAR220; Angelicae gigantis radix extract roasted in 220℃ with ethanol and treated in 500 mg/kg concerntration. Meas± SD. Statistically significant compared with control group ($^{#}$P〈0.05, $^{##}$P〈0.01)

Ⅳ. 고 찰

당귀는 산형과에 속하는 다년생 초본인 당귀 (Angelicae gigantis radix)의 뿌리를 건조시킨 것으로, 대표적인 補血藥이다. 또한 선행연구에 의해 당귀 에탄올 추출물의 항염증 효과[11] 및 dinitrofluorobenzene으로 유도 된 염증모델에서의 항알러지 효과[12], 항산화 효과[13], 항종양 효과[14] 등이 보고되어져 있다.

한의학에서 초제(炒製)는 아무 보료를 사용하지 않거나, 보료를 이용하여 약물에 불을 가하여 볶는 방법이다. 약재를 초하게 되면 약물의 치료효과 증강, 보존과 製劑의 편리, 독성의 제거 및 성능의 완화와 변화할 수 있다[15,16].

세포막의 인지질이 phospholipase A2의 작용으로 아라키

돈산을 유출하고, 아라키돈산은 prostaglandin I2와 prostaglandin H2를 형성하여 thromboxane가 된다[17]. 이러한 과정을 통해 혈소판이 활성화 되어 항응고 작용이 일어나고, 혈관벽에 침착, 응집한 혈소판이 혈관이완 및 항혈전 활성을 하는 인자인 PGI_2 생성을 억제하여 혈전형성이 증가하게 된다[18]. 혈전생성은 혈액응고억제인자인 antithrombin, protein C, protein S의 유전적 결핍 뿐만 아니라, 흡연, 음주, 비만, 고혈압, 당뇨 등에 의한 혈관내피세포의 손상에 의해 발생한다[7,19]. 혈전의 치료제로 섬유소 용해제와 항응고제가 사용되는데, 섬유소 용해제에는 urokinase, streptokinase 등이 있고[20-22], 항응고제는 heparin, warfarin이 사용되는데[23,24], 이들 치료제는 출혈 부작용이 발생 할 수도 있고 와파린을 제외한 치료제들은 고가의 가격으로 일반적으로 사용하는 것에 어려움이 있기에 새로운 치료제의 개발이 필요하다.

당귀는 심혈관계에서 혈관 확장 및 혈액응고 지연효과가 있어 혈전 생성 억제에 도움이 된다고 보고되어져 있는데[8-10], 본 실험에서는 혈전치료제의 부작용을 완화할 수 있도록 당귀, 보료를 사용하지 않고 초한 당귀와 30% ethanol을 이용하여 초한 당귀를 이용하여 초법에 따른 항산화 효과의 변화 및 혈전개선효과를 확인하고자 하였다.

열처리를 한 약재들은 화학적인 변화를 통해 polyphenol 류의 화합물의 함량을 증가시켜 생리적인 활성을 변화시킨다고 알려져 있다[25]. 당귀의 초법에 따라 지표성분의 함량의 변화를 확인하고자 HPLC 분석을 실시하였는데, 당귀와 비교하여 nodakenin, decursin의 함량이 AR과 EAR에서 증가한 것을 확인할 수 있었고, 고온에서 특히 함량이 변화가 큰 것을 확인 하였다. 당귀와 비교하여 가공을 한 당귀에서는 유효성분의 함량이 증가하였으나, 청초와 주초간의 함량의 차이는 크게 없었다. 따라서 보료의 차이보다 열처리 온도와 시간이 성분 함량이 증가에 영향을 끼치는 것으로 사료된다.

세포막 인지질의 아라키돈산에 의해 활성 된 cyclooxygenase (COX)가 작용하면 lipid hydroperoxide에 의해 TXA2가 촉진되어 발생한다[26,27]. 이러한 항산화효소의 불균형 및 산화적 스트레스가 혈전을 촉진하므로 항산화 효과를 가지는 약물이 혈전을 개선할것으로 예상된다. 본 실험에서 당귀의 초법에 따른 항산화 효과를 확인하기 위하여 Total Polyphenol과 Total Flavonoid를 측정한 결과 140℃에서는 AR와 EAR 모두 RAR과 비교하여 큰 차이를 보이지 않은 반면에 180℃, 220℃에서는 유의한 증가를 보였다. 또한 DPPH와 ABTS radical 소거능을 확인한 결과 DPPH radical 소거능이 180℃, 220℃에서 AR군과 EAR군 모두 유의하게 증가하였고, ABTS radical 소거능은 180℃에서는 EAR군이 AR군보다 소거율이 높은 경향이 있었지만, 220℃에서는 AR군이 EAR군보다 높은 소거율을 확인 할 수 있었다. 당귀의 초법에 따라 항산화 효과는 AR군과 EAR군간의 큰 차이는 확인 할 수 없었지만, 180℃와 220℃에서의 항산화 효과가 월등하게 높았으므로 높은 온도에서 초하는 것이 항산화효과를 증강할 것으로 예상된다.

혈관내피세포의 손상이 발생하면 혈관벽에 혈소판이 침착하여 PGI_2와 nitric oxide 같은 혈소판 생성 억제 인자의 분비를 억제 시킨다. 유착된 혈소판이 TXA2와 adenosine diphosphate 등을 분비하고, 그 과정을 통해 1차 지혈이 일어나 혈액 응고 과정이 활성화 된다. 이러한 과정에서 내인성과 외인성의 경로가 존재하는데, 이러한 두 경로 모두 Factor Xa (FXa)가 주요한 역할을 수행하므로 FXa의 억제는 혈전생성억제에 중요한 타겟이 된다[28-31]. FXa의 억제를 확인하기 위하여 항산화 효과를 확인한 AR와 EAR 180℃, 220℃를 이용하여 실험을 진행한 결과 RAR에서 보다 AR와 EAR군 모두 농도 의존적으로 FXa의 억제율이 증가하는 것을 확인 할 수 있었다. 특히 AR의 경우는 EAR보다 높은 억제율을 보였다. 전혈의 응고시간 역시 당귀 투여군에서는 모두 유의한 증가를 보였고, AR 180℃에서 가장 긴 응고시간을 보였다. 따라서 초한 당귀는 전처리에 상관없이 모두 FXa의 억제에 효과가 있었으며 혈액의 응고시간을 지연시켜 혈전형성의 개선효과가 있다고 보여진다.

아라키돈산과 COX의 작용으로 thromboxane synthase가 일어나 TXA2가 생성된다. TXA2는 혈소판 응집의 중요한 역할을 하며, 가수분해를 통해 안정한 상태의 thromboxane B2 (TXB2)를 형성한다. 따라서 TXB2의 측정은 혈소판 응집 및 혈관수축을 측정하기 위한 좋은 지표이다. 초법에 따른 당귀의 항혈전효과를 확인하기 위하여 렛트의 혈액에서 TXB2를 측정한 결과 RAR와 AR, EAR 모두 대조군과 비교하여 유의하게 감소하였고, AR와 EAR간의 큰차이는 보이지 않았다. 따라서 초한 당귀는 혈소판의 응집을 저해하여 항혈전 효과가 있다고 예측할 수 있다.

초법에 따른 당귀추출물의 투여를 통해 항산화, 항혈전효과를 확인한 결과 청초와 주정초당귀 사이의 지표성분은 청초당귀는 180℃에서 9분간, 주정초당귀는 220℃에서 9분간에서 가장 우수하였다. 또한, 청초와 주정전처리 모두 당귀와 비교하여 항산화 지표들이 증가를 보였으며 이를 토대로 실시한 FXa 억제율, 전혈응고시간, TXB2 함량 모두 청초와 주정전처리에서 유의한 개선효과를 확인 하였고, 초한 당귀가 보료첨가 유무에 관계없이 항혈전효과가 있다고 보여진다. 이러한 결과를 토대로 생당귀 보다 초한 당귀가 유효성분, 항산화 및 항혈전에 탁월한 효과가 나타났다고 사료된다. 초한 당귀의 항혈전 효과의 정확한 기전은 밝혀지지 않았지만 초한 당귀가 항혈전 효과가 있다고 생각되며, 초한 당귀의 어떠한 성분 변화가 항혈전 효과를 나타내는지, 또한 기전을 밝히기 위한 혈전관련 단백질의 발현 의 변화 등을 알아보기 위하여 추후연구를 진행할 예정이다.

V. 결 론

본 연구에서는 당귀와 청초당귀, 주정초당귀의 항산화 효과 및 항혈전효과를 확인하기위하여 실험을 진행한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 청초당귀 및 주정초당귀의 지표성분 함량의 변화를 확인하기 위하여 HPLC분석을 실시한 결과 함량의 큰 변화는 없었으며, 당귀와 초 당귀간의 함량변화는 차이가 있었으나, 청초당귀 및 주정전처리 초당귀간의 큰 차이가 보이지 않았다.

2. 청초당귀 및 주정초당귀의 항산화력 변화를 확인하기 위하여 total phenol 및 total flavonoid 함량 분석을

실시한 결과 당귀와 비교하여 초당귀의 함량의 유의하게 증가하였지만, 청초당귀 및 주정전처리 초당귀간의 큰 차이가 보이지 않았다.

3. 청초당귀 및 주정초당귀의 항산화력 변화를 확인하기 위하여 DPPH 및 ABTS radical 소거율 분석을 실시한 결과 당귀와 비교하여 초당귀의 함량의 유의하게 증가하였지만, ABTS radical 소거율은 180℃에서 청초당귀, 220℃에서 주정전처리 초당귀의 효과가 크게 증가하였다.

4. 청초당귀 및 주정초당귀의 FXa 억제율을 확인한 결과 초법에 관계없이 모든 투여군에서 FXa의 억제율이 증가하였으나, 특히 청초당귀에서 높은 억제율을 보였다.

5. 청초당귀 및 주정초당귀의 전혈응고시간을 확인한 결과 초법에 관계없이 모든 투여군에서 응고시간이 유의하게 증가하였으나, 특히 청초당귀 180℃에서 높은 억제율을 보였다.

6. 청초당귀 및 주정초당귀의 TXB2 함량을 확인한 결과 초법에 관계없이 모든 투여군에서 TXB2의 함량이 유의하게 감소하였으나, 특히 청초당귀 낮은 TXB2 함량을 보였다.

따라서 생당귀와 비교하여 초한 당귀가 증가한 지표성분의 함량, total phenol과 total flavonoid에 따라 항산화 및 항혈전 효과가 있다고 사료된다.

감사의 글

본 논문은 한국한의학연구원의 한의이론과학화사업(과제번호:K14306) 및 2016년 우석대학교의 교내학술연구비 지원을 받았음을 밝힙니다.

참고문헌

1. Lefevre M, Kris-Etherton PM, Zhao G, Tracy RP. Dietary fatty acids, hemostasis, and cardiovascular disease risk. J Am Diet Assoc. 2004 ; 104(3) : 410-9.
2. Keum-Ran, Seung. Effect of Car thamus tinctorius L. Semen on Endotox in- Induced Thrombosi s in Rats. Graduate School Duksung Women' s University. 2000.
3. Chang CS, Lee CK, Shin JS, Cho IH, Suh JJ. Fibrinolytic and anticoagulant effects of earthworm lumbricus rubellus, extracts. Yakhak Hoeji. 1995 ; 39 : 666-70.
4. Frankel EN, Kanner J, German JB, Parks E, Kinsella JE. Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. Lancet. 1993 ; 341(8843) : 454-7.
5. Miwa K, Kambara H, Kawai C. Effect of aspirin in large doses on attacks of variant angina. Am Heart J. 1983 ; 105(2) : 351-5.
6. Huh Jun, Dongyibogam. Namsangdang. 1980 : 134-5.
7. Park IS, Lee KM, Lee IS, Han JI, Jeon WK. Screening of Anti-thrombotic Activity of Herbal Extracts in Ferric Chloride-induced Thrombosis Model. Kor. J. Herbology 2013 ; 28(5) : 33-8.
8. The whole country a college of Oriental medicine. Herbalogy. younglimsa. 1995
9. Shin YJ, Park YK. Kor. Effects of different parts of Angelica gigas Nakai on brain damages and neuronal death in transient middle artery occlusion/ reperfusion-induced ischemic rats. J. Herbology 2014 ; 29(6) : 85-93.
10. Kim HH, Lee JH, Lee JH, Ahn DK, Park SK. Vasodilation effect of the water extract of three Angelica species and four-substance decoctions in rat thoracic aorta. Korean J Herbology. 2001 ; 16(2) : 29-34.
11. Shin S, Jeon JH, Park D, Jang JY, Joo SS, Hwang BY, Choe SY, Kim YB. Anti-inflammatory effects of an ethanol extract of Angelica gigas in a Carrageenan-air pouch inflammation model. Exp Anim. 2009 ; 58(4) : 431-6.
12. Joo SS, Park D, Shin S, Jeon JH, Kim TK, Choi YJ, Lee SH, Kim JS, Park SK, Hwang BY, Lee do I, Kim YB. Anti-allergic effects and mechanisms of action of the ethanolic extract of Angelica gigas in dinitrofluorobenzene-induced inflammation models. Environ Toxicol Pharmacol. 2010 ; 30(2) : 127-33.
13. Kang SA, Han JA, Jang KH. DPPH radical scavenger activity and antioxidant effects of Cham-Dang-Gui (Angelica gigas). J Korean Soc Food Sci Nutr. 2009 ; 14 : 179-87.
14. Lee S, Lee YS, Jung SH, Shin KH, Kim BK, Kang SS. Anti-tumor activities of decursinol angelate and decursin from Angelica gigas. Arch Pharm Res. 2003 Sep;26(9):727-30.
15. Seo BI. Easy Herbology. Daegu Haany university publisher. 2008
16. Yoo HH, Park JH, Kwon SW. In vitro cytotoxic activity of some Korean medicinal plants on human cancer cell lines: enhancement in cytotoxicity by heat processing. Phytother Res. 2007 ; 21(9) : 900-3.
17. Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DE, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PA. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. Am J Clin Nutr. 2001 ; 74(4) : 418-25.
18. Petroni A, Blasevich M, Salami M, Papini N, Montedoro GF, Galli C. Inhibition of platelet

aggregation and eicosanoid production by phenolic components of olive oil. Thromb Res. 1995 ; 78(2) : 151-60.
19. Day SM, Reeve JL, Pedersen B, Farris DM, Myers DD, Im M, Wakefield TW, Mackman N, Fay WP. Macrovascular thrombosis is driven by tissue factor derived primarily from the blood vessel wall. Blood. 2005 ; 105(1) : 192-8.
20. Graor RA, Young JR, Risius B, Ruschhaupt WF. Comparison of cost effectiveness of streptokinase and urokinase in the treatment of deep vein thrombosis. Ann Vasc Surg. 1987 ; 1(5) : 524-8.
21. Zimmermann R, Mörl H, Harenberg J, Gerhardt P, Kuhn HM, Wahl P. Urokinase therapy of subclavian-axillary vein thrombosis. Klin Wochenschr. 1981 ; 59(15) : 851-6.
22. Rogers LQ, Lutcher CL. Streptokinase therapy for deep vein thrombosis: a comprehensive review of the English literature. Am J Med. 1990 ; 88(4) : 389-95.
23. Pini M, Aiello S, Manotti C, Pattacini C, Quintavalla R, Poli T, Tagliaferri A, Dettori AG. Low molecular weight heparin versus warfarin in the prevention of recurrences after deep vein thrombosis. Thromb Haemost. 1994 ; 72(2) : 191-7.
24. Hull R, Raskob G, Pineo G, Rosenbloom D, Evans W, Mallory T, Anquist K, Smith F, Hughes G, Green D, Elliott CC, Panju A, Brant R. A comparison of subcutaneous low-molecular-weight heparin with warfarin sodium for prophylaxis against deep-vein thrombosis after hip or knee implantation. N Engl J Med. 1993 ; 329(19) : 1370-6.
25. Shin SH, Shin YO, Lee JY, Lee AR, Kim MY, Park CH, Seo BI, Roh SS. Ethanol-Heated Processed Scutellariae Radix Improve Inflammatory Response through an Inhibitory Effect against Oxidative Stress in Mice with the Lipopolysaccharide-induced Intestine Injury of Mice. Kor. J. Herbol. 2015 ; 30(4) : 81-8.
26. Burnett BP, Bitto A, Altavilla D, Squadrito F, Levy RM, Pillai L. Flavocoxid inhibits phospholipase A2, peroxidase moieties of the cyclooxygenases (COX), and 5-lipoxygenase, modifies COX-2 gene expression, and acts as an antioxidant. Mediators Inflamm. 2011 ; 2011 : 385780.
27. Lee BH, Hwang SH, Choi SH, Shin TJ, Kang J, Lee SM, Nah SY. Resveratrol enhances 5-hydroxytryptamine type 3A receptor-mediated ion currents: the role of arginine 222 residue in pre-transmembrane domain I. Biol Pharm Bull. 2011 ; 34(4) : 523-7.
28. Perzborn E, Strassburger J, Wilmen A, Pohlmann J, Roehrig S, Schlemmer KH, Straub A. In vitro and in vivo studies of the novel antithrombotic agent BAY 59-7939--an oral, direct Factor Xa inhibitor. J Thromb Haemost. 2005 ; 3(3) : 514-21.
29. Jia ZJ, Wu Y, Huang W, Goldman E, Zhang P, Woolfrey J, Wong P, Huang B, Sinha U, Park G, Reed A, Scarborough RM, Zhu BY. Design, synthesis and biological activity of novel non-amidine factor Xa inhibitors. Part 1: P(1) structure-activity relationships of the substituted 1-(2-Naphthyl)-1H-pyrazole-5-carboxylamides. Bioorg Med Chem Lett. 2002 ; 12(12) : 1651-5.
30. Zhang P, Zuckett JF, Woolfrey J, Tran K, Huang B, Wong P, Sinha U, Park G, Reed A, Malinowski J, Hollenbach S, Scarborough RM, Zhu BY. Design, synthesis, and SAR of monobenzamidines and aminoisoquinolines as factor Xa inhibitors. Bioorg Med Chem Lett. 2002 ; 12(12) : 1657-61.
31. Czekaj M, Klein SI, Guertin KR, Gardner CJ, Zulli AL, Pauls HW, Spada AP, Cheney DL, Brown KD, Colussi DJ, Chu V, Leadley RJ, Dunwiddie CT. Optimization of the beta-aminoester class of factor Xa inhibitors. Part 1: P(4) and side-chain modifications for improved in vitro potency. Bioorg Med Chem Lett. 2002 ; 12(12) : 1667-70.