



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

2018 學年度

제주조릿대 抽出物の 抗血小板 및 抗血栓  
效果

Anti-platelet and Anti-thrombotic Effects of  
*Jeju-jolitdae*(*Sasa quelpaertensis Nakai*) Extracts

圓光大學校 韓醫學專門大學院

第 3 醫 學 科

高 隱 相



제주조릿대 抽出物の 抗血小板 및 抗血栓  
效果

Anti-platelet and Anti-thrombotic Effects of  
*Jeju-jolitdae*(*Sasa quelpaertensis Nakai*) Extracts

指導教授 宋 勇 善

이 論文을 韓醫學博士 學位論文으로提出함.

2018年 10月

圓光大學校 韓醫學專門大學院

第 3 醫 學 科

高 隱 相



高隱相의 韓醫學博士 學位論文을 認准함.

審 查 委 員

審 查 委 員 長    李 起 男    (印)

審 查 委 員    朱 鍾 天    (印)

審 查 委 員    裴 懸 玉    (印)

審 查 委 員    鄭 明 秀    (印)

審 查 委 員    宋 勇 善    (印)

圓光大學校 韓醫學專門大學院

2018年 12月



# 目次

目次 .....	i
LIST OF TABLES .....	iii
LIST OF FIGURES .....	iv
LIST OF ABBREVIATION AND SYMBOLS .....	v
Abstract .....	vi
국문초록 .....	viii
I. 序論 .....	1
II. 實驗 및 方法 .....	3
1. 材料 및 試藥 .....	3
2. 方法 .....	3
가. 조릿대 추출물 제조 .....	3
나. 실험동물 .....	3
다. Rat 혈소판 준비 .....	4
라. 세포독성 검사 .....	4
마. 혈소판 응집반응 검사 .....	5
바. 혈액 응고반응 검사 .....	5
사. Thromboxane B2 검사 .....	6



아. Carrageenan 꼬리 혈전 모델 제작 .....	6
자. 통계처리 .....	7
III. 結果 .....	8
1. 제주조릿대 추출물의 세포독성 .....	8
2. 제주조릿대 추출물의 <i>in vivo</i> 항혈소판 효과 .....	10
3. 제주조릿대 추출물의 <i>ex vivo</i> 항혈소판 효과 .....	13
4. 제주조릿대 추출물의 TXB2 분비 억제효과 .....	16
5. 제주조릿대 추출물의 혈액응고의 미치는 영향 .....	19
6. 제주조릿대 추출물의 항혈전 효능 평가 .....	20
IV. 考察 .....	23
V. 結論 .....	29
參考文獻 .....	30



## LIST OF TABLES

Table 1. Effects of LE, SE and RE on LDH release in washed platelets .....	8
Table 2. Effects of LE, SE and RE on rat plasma coagulation time <i>in vitro</i> .....	19



## List of Figures

Fig. 1. Inhibitory effects of LE, SE and RE on collagen-induced platelet aggregation <i>in vitro</i> .....	11
Fig. 2. Inhibitory effects of LE, SE and RE on ADP-induced platelet aggregation <i>in vitro</i> .....	12
Fig. 3. Inhibitory effects of LE, SE and RE on collagen-induced platelet aggregation <i>ex vivo</i> .....	14
Fig. 4. Inhibitory effects of LE, SE and RE on ADP-induced platelet aggregation <i>ex vivo</i> .....	15
Fig. 5. Inhibitory effects of LE, SE and RE on collagen-induced TXB2 production .....	17
Fig. 6. Inhibitory effects of LE, SE and RE on ADP-induced TXB2 production .....	18
Fig. 7. Inhibitory effects of LE, SE and RE on carrageenan-induced rat tail thrombosis .....	21
Fig. 8. Inhibitory effect of SE on carrageenan-induced rat tail thrombosis .....	22





## LIST OF ABBREVIATION AND SYMBOLS

LE	: Leaf Extracts
SE	: Stem Extracts
RE	: Root Extracts
PRP	: Platelet-Rich Plasma
ACD	: Anticoagulant Citrate Dextrose
EGTA	: Ethylene Glycol Tetraacetic Acid
LDH	: Lactate Dehydrogenase
HCl	: Hydrogen Chloride
ATP	: Adenosine Triphosphate
PT	: Prothrombin Time
aPTT	: Activated Partial Thromboplastin Time
TXB <sub>2</sub>	: Thromboxane B <sub>2</sub>
ADP	: Adenosine 5' -diphosphate
TXA <sub>2</sub>	: Thromboxane A <sub>2</sub>



## Abstract

# Anti-platelet and Anti-thrombotic Effects of *Jeju-jolitdae*(*Sasa quelpaertensis Nakai*) Extracts

Eunsang Ko

Dept. of Third Medicine

Professional Graduate School of Korean Medicine

Wonkwang University

Directed by Prof. Yungsun Song, K.M.D., Ph.D.

The anti-platelet and anti-thrombotic effects of leaf (LE), stem (SE) and root (RE) extracts of *Jeju-jolitdae* (*Sasa quelpaertensis Nakai*) were investigated using rat platelets and  $\kappa$ -carrageenan-induced rat model of tail thrombosis. LE, SE and RE dose-dependently inhibited the collagen and ADP induced aggregation of rat platelets and the production of thromboxane B<sub>2</sub> *in vitro and ex vivo*, SE the most effective, followed by RE and LE. Unexpectedly, LE, SE and RE had no significant effect on prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (aPTT). In a rat model of tail thrombosis, LE, SE and RE exerted significant anti-thrombotic effects via a reduction in the length of rat tail thrombus; SE had the most potent anti-thrombotic activity, followed by RE and LE. Collectively, these results provide scientific evidence that the extracts of *Jeju-jolitdae*, have anti-platelet and anti-thrombotic effects and that SE was the most effective.



*Key words:* *Sasa quelpaertensis* Nakai, Anti-platelet effect,  
Anti-thrombotic effect, blood circulation



# 제주조릿대 抽出物の 抗血小板 및 抗血栓 效果

高隱相  
圓光大學校 韓醫學專門大學院  
第3醫學科  
指導教授 宋勇善

Rat 혈소판 및  $\kappa$ -carrageenan-유도 rat 꼬리 혈전 모델을 이용하여 제주조릿대(*Sasa quelpaertensis Nakai*)의 잎 추출물(LE), 줄기 추출물(SE) 및 뿌리 추출물(RE)의 항혈소판 및 항혈전 효과를 조사하였다. 실험관 내 및 생체 외의 실험에서 LE, SE 및 RE는 농도-의존적으로 collagen 또는 ADP에 의해 유도된 혈소판 응집반응 및 thromboxane B<sub>2</sub> 분비를 억제하였다. 이러한 효과는 SE > RE > LE 순서로 우수하게 관찰되었다. 흥미롭게도, LE, SE 및 RE는 prothrombin time (PT) 및 activated partial thromboplastin time (aPTT)에는 의미 있는 영향을 주지 못했다. Rat 꼬리 혈전 모델에서, LE, SE 및 RE는 꼬리 혈전을 감소시키는 유의한 항혈전 효과를 보였다. 종합적으로, 이러한 실험결과는 제주조릿대 추출물에, 특히 줄기 추출물, 항혈소판 및 항혈전 효과가 있다는 과학적 사실을 제공한다.

중심어: 제주조릿대, 항혈소판 효과, 항혈전 효과, 혈액 순환



## I. 序 論

조릿대는 禾本科의 식물로 대나무아과에 속하며, 온대성(溫帶性) 목본(木本)인 대나무(temperate woody bamboo)이다. 우리나라에 자생하는 조릿대종류는 학자가 주장하는 견해에 따라 다소 차이가 있으나 4-6 종이 분포하는 것으로 알려져 있다.<sup>1)</sup> 제주도 한라산에만 자생하는 제주조릿대는 학명으로는 *Sasa quelpaertensis Nakai*라 한다.<sup>2)</sup> 제주조릿대는 생약명은 담죽엽(淡竹葉)이고 性味는 甘寒淡하며 歸經은 心, 小腸에 작용한다. 효능은 淸熱·淸心火·除煩·利水하며 治煩悶·消渴·口炎·尿濃·舌瘡한다.<sup>3)</sup> 생리활성을 나타내는 성분으로는 alkene glycoside, flavonoid, p-coumaric acid, polyphenol, polysaccharide, tricin, 등의 다양한 물질들이 함유되어 있으며, 예로부터 민간에서 당뇨병, 고혈압, 위염, 만성간염, 암 등에 사용되었다.<sup>4)</sup>

동양의 전통의학에서는 ‘어혈(瘀血)’이라 하여 체내 혈액이 일정한 부위에 정체됨으로써, 혈액의 공급이 원활하지 못하여 혈이 운행의 조화가 깨어짐으로 인한 심혈관성 질환 외에 각종 만성질환의 원인이 된다는 것으로 설명하고 있다.<sup>5,6)</sup> 어혈은 체내의 혈액의 역류 또는 억제류 또는 국소적인 혈류의 정체 또는 체내에 있으면서 분산되지 못한 혈관 밖의 비정상적인 피로 인해 발생하는 병리 상태를 말한다.<sup>7)</sup> 血栓은 瘀血의 개념으로서 정상적인 생리기능의 실조된 혈액이 凝聚로 인한 일종의 病理産物이다. 나타나는 증상은 동통, 부종, 울혈, 궤혈증 등이 발생하는데, 이는 瘀血에 의한 刺痛, 腫塊, 出血 등의 증상과 밀접한 상관성을 보여주고 있다.<sup>8)</sup> 그리고 대표적인 혈전성 질환 중의 하나인 뇌졸중의 각종 증상을 ‘풍(風)’ 증상으로 설명하고 있으며, 이러한 증상을 개선하고 치료하는 목적으로 여러 가지 종류의 천연물질(韓藥, 生藥)이 사용되어왔다.<sup>9)</sup>

혈소판(platelet)은 직경 2-4  $\mu\text{m}$ 의 원판형의 혈구세포로서 혈관이 손상될 경우 손상된 혈관 부위에서 혈관마개를 형성하여 지혈 기능을 수행하고, 응고 인자들의 응고 과정을 촉진시킴으로써 혈관 손상 부위에서 급격한 혈액 손실



을 방지하는 일차적 생체 방어기전을 갖는다.<sup>10)</sup> 즉, 혈관 벽을 구성하는 혈관 내피세포의 손상된 부위에서 노출된 콜라겐 섬유(collagen fiber)에 혈소판들이 부착하여 형태 변형되면서 활성화되어 ADP, TXA<sub>2</sub>, thrombin, serotonin 등을 방출하는 혈소판 방출반응(platelet release)이 발생하는데,<sup>11)</sup> serotonin은 혈관을 수축시키고 혈액의 유출 통로를 좁혀서 止血을 용이하게 하고 ADP, TXA<sub>2</sub> 등은 혈소판 응집(platelet aggregation)을 유도하여 혈소판 응집괴(platelet plug)를 형성하게 하여 결과적으로 출혈의 일차적 지혈이 일어나<sup>12,13)</sup> 혈액 응고제가 활성화되면서 섬유소의 형성이 뒤따르면서 이차적 지혈(secondary hemostasis)이 발생되어 지혈 과정(hemostatic plug formation)이 완성된다. 그러나 폐쇄 혈관 내에서 지혈 기전의 과민반응, 혈관 벽의 이상 등의 원인에 의해서 혈소판들이 비정상적으로 활성화될 경우, 혈관 손상의 경우와 유사하게 혈소판 응집 및 방출반응이 일어나게 되어 백색 혈전(white thrombosis) 또는 적색 혈전(red thrombosis)이 형성된다.<sup>14)</sup> 이러한 혈전은 동맥, 정맥, 모세혈관 등에서 발생할 수 있으며, 혈액의 원활하게 흐르는 것을 방해할 수 있다. 특히, 정맥에 혈전이 발생하는 경우 해당부위에 부종 또는 염증 등의 증상이 야기될 수 있으며, 동맥에 혈전이 발생하는 경우에는 해당조직에 허혈 또는 경색 등이 초래되어 심근경색증, 뇌졸중, 폐동맥경색증 등의 심각한 혈전성 질환이 나타날 수도 있다.<sup>15)</sup> 따라서 비정상적인 혈소판의 활성을 억제시켜 혈소판 응집을 억제하는 약물은 혈소판 응집으로 인한 혈전증 또는 혈소판 활성화에 의해 발병할 수 있는 다른 병적과정 진행의 예방하거나 치료하는데 유용할 것으로 기대되며, 이러한 점에서 최근에는 항혈소판 약물의 개발이 주목을 받고 있으며, 이들 천연약물로부터 항혈소판 또는 항혈전 효과가 있는 새로운 약물이 개발될 수 있을 것이다. 조릿대에 대한 실험적 연구에서 항비만,<sup>16)</sup> 항산화효과,<sup>17)</sup> 항암효과,<sup>18)</sup> 항당뇨,<sup>19)</sup> 항염증의<sup>20)</sup> 기능이 보고되었으나, 조릿대의 항혈전 효과는 아직까지 보고된 바 없다.

이에 저자는 제주조릿대 잎, 줄기 및 뿌리 추출물의 抗血小板 및 抗血栓 효능 평가를 수행하여 유의(有意)하게 나타난 결과를 보고하는 바이다.



## II. 實驗 및 方法

### 1. 材料 및 試藥

Potassium chloride, sodium bicarbonate, sodium chloride, Magnesium chloride, sodium citrate, glucose 등 모든 대부분의 試藥(reagent)들은 Sigma(Sigma, St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고 실험에 사용하였으며, 그 외의 다른 시약은 특급 그리고 일급으로 사용하였다. 약품은 3차 증류수에 용해시켜 필요에 따라 생리식염수에 첨가되었다.

### 2. 方法

#### 가. 제주조릿대 추출물 제조

본 연구에 사용 되어진 재료는 제주도에서 채취한 제주조릿대로 줄기, 뿌리, 잎 부분을 각 건조한 다음, 완전히 분쇄한 후에 분말(50 g)을 질량의 10배 (v/w)에 해당하는 증류수(500 mL)를 이용하여 100℃에서 4시간 동안 단회 환류냉각-추출 과정을 거친 다음, 그 여액을 filter paper (150 mm, Whatman)를 사용하여 여과하고, 여액을 감압농축기(減壓濃縮器)를 사용하여 농축하고, 농축액을 24시간 동안 -72℃ 넣어 동결시킨 다음, 동결건조(lyophilizer, Il-Shin Co., Seoul, Korea)하여, 제주조릿대 잎 추출물(LE) 38.91 g, 제주조릿대 줄기 추출물(SE) 38.84 g, 제주조릿대 뿌리 추출물(RE) 28.11 g을 각각 수득하였다. 최종적으로 만들어진 추출물 분말은 -20℃의 저장고에 보관하면서 실험에 사용하였다.

#### 나. 실험동물



수컷(雄性) Sprague-Dawley rat(300-350g)는 샘타코(Osan, South Korea)로부터 구입하였다. 실험동물은 1주 동안 순화(馴化)시켰고 습도는  $50 \pm 10\%$ 로 온도는  $22 \pm 1$  °C에서 24시간을 나누어 12시간은 밝게 12시간은 어둡게 순환(循環)하는 실험동물 사육실에 수용하였다. 동물은 실험 식이와 물을 임의로 섭취하게 하였다. 동물의 사용과 관련한 모든 실험은 원광대학교 실험윤리위원회의 규정에 따라 진행하였다(승인번호: WKU17-58).

#### 다. Rat 혈소판 준비

血液은 Rat의 腹部 大動脈에서 採血하여서 0.8% citric acid, 2.2% trisodium citrate 및 2% dextrose 함유한 항응고제인 anticoagulant citrate dextrose (ACD) 용액에 稀釋시켰다(9:1 v/v). Rat의 血液은  $230 \times g$ 에서 10분간 원심분리시켜 上層液 platelet-rich plasma (PRP)를 얻었으며, PRP를  $800 \times g$ 에서 15분간 원심분리시켜 혈소판을 沈澱하게 하고 0.3% bovine serum albumin가 함유된 HEPES 완충액(緩衝液)[137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 5.6 mM glucose, 3.8 mM HEPES; pH 6.5]을 사용하여 2회 洗淨하였다. 혈소판은 0.4 mM EGTA가 함유된 HEPES 완충액(pH 7.4)에 또다시 懸濁시키고, 혈소판 浮遊液은  $1 \times 10^8$  cells/mL 농도로 조정하였다.

#### 라. 세포독성 검사

시료의 혈소판 세포독성 효과를 측정하기 위하여 lactate dehydrogenase (LDH) release assay kit를 이용하였다. 혈소판을  $1 \times 10^8$  cells/mL로 맞춘 다음, 100  $\mu$ L씩 96-well plate에다 분주(分株)하여 CO<sub>2</sub> 세포 배양기에서 10분 동안 培養하였다. 이어서, 시료를 주어진 농도로 혈소판에 처리하여 5분 동안 培養하였다. 培養液의 위에 부분(上層)을 새로운 96-well plate에 50  $\mu$ L 분주





(分株)하고, LDH reagent를 50  $\mu$ L씩 첨가시켜 反應한 다음, 反應이 끝나면 stop solution인 1N HCl을 100  $\mu$ L 첨가하고 反應하는 것을 중지시켰다. 살아 남은 혈소판의 LDH 측정하기 위해 남은 培養液을 제거시키고, 0.5% Triton X-100 용액을 50  $\mu$ L 첨가해서 40 rpm으로 10분 동안 혼합시켜 동일한 방법으로 LDH reagent를 첨가하여 反應하게 하고 反應이 멈추면 反應 停止液을 함유한 뒤, 이것을 각각 540 nm에서 吸光度(absorbance)를 측정하였다.

#### 마. 혈소판 응집반응 검사

혈소판 응집은 Aggregometer (Model 490-2D; Chrono-log, USA)로 측정하였다. 준비한 혈소판( $1 \times 10^8$  cells/mL)의 浮遊液(400  $\mu$ L)을 37  $^{\circ}$ C에다 맞춘 Aggregometer에 5분 동안 사전배양(pre-incubation)한 다음에  $\text{CaCl}_2$  용액(1.0 mM)을 첨가하여 2분 동안 반응시키고, 각각의 시료를 주어진 농도별로 첨가하여 2분 동안 반응시켰다. 혈소판 응집반응 유도물질인 collagen (2  $\mu$ g/mL) 또는 ATP (10  $\mu$ M)를 넣어 5분 동안 반응시킨 다음 투과도(transmittance)를 측정하여, 혈소판 응집반응의 정도를 계산하였다.

#### 바. 혈액 응고반응 검사

혈액 응고반응의 억제효과는 시료의 prothrombin time (PT) 및 activated partial thromboplastin time (aPTT)을 測定하였고, 이를 評價하였다. PT 및 aPTT는 自動血液凝固分析機(Auto blood coagulation analyzer, Sysmex CA-540, Japan) 사용해서 조사하였다. ① PT 분석: 50  $\mu$ L의 Thromborel® S reagent를 溶媒에다가 溶解시킨 각 試料 10  $\mu$ L와 混合하고 나서 37  $^{\circ}$ C에서 10분 동안 사전처리(pre-treatment)하였다. 이어서, 100  $\mu$ L의 rat 플라스마(plasma) 添加하고 反應시키면서 血液凝固에 소요되어지는 시간을 측정하였다. 이때 溶媒와 溶媒에 溶解시킨 heparin을 양성 대조군(positive control)로



이용하였다. ② aPTT 분석: 50  $\mu$ L의 Dade® Actin® Activated Cephaloplastin reagent를 각 試料 10  $\mu$ L와 混合하고 나서 37°C에서 10분 동안 사전처리 하였다. 이어서 50  $\mu$ L의 rat 플라스마(plasma) 및 50  $\mu$ L의 25 mM CaCl<sub>2</sub> 溶液을 첨가하여 反應하게 해서 혈액응고가 소요되는 시간을 측정 하였다. 이 과정에 溶媒와 溶媒에 溶解시킨 heparin을 양성 대조군으로 이용하였다.

## 사. Thromboxane B<sub>2</sub> 검사

Thromboxane B<sub>2</sub> (TXB<sub>2</sub>)와 일정량의 peroxidase로 표지된 TXB<sub>2</sub>-특이 항체(antibody)의 결합에 대한 경쟁반응을 유도하도록 제조된 enzyme immunoassay (ELIA) kit (amersham phamacia biotech, UK)를 사용하였다. 제조사의 kit 시행방법에 따라, 각각 시약을 반응시킨 후 1  $\mu$ M 황산용액을 함유하여 종결시키고 나서 生成된 반응물질(reagent)은 450 nm에서 microtitreplate photometer (SPECTRA MAX 340, USA)로 읽어 比色分析하였다.

## 아. Carrageenan 꼬리 혈전 모델 제작

실험동물은 6개 군으로 분류되었으며 각 군 구성 마리수의 산정(算定)은 3R의 원칙을 준수하여 통계적 의미를 가릴 수 있고 윤리적인 측면인 최소한의 마리수를 사용하였다. 각 시료를 주어진 농도의 투여 용량으로 선정해서 1일 1회씩 3일 동안 경구 투여하였다. 꼬리 혈전 모델의 경우  $\kappa$ -carrageenan을 20 mg/kg의 용량을 복강으로 투여하여 유발하였다. 투여 다음, 쥐꼬리의 끝 부분에 약간의 경색이 생기는 때를 관찰하였으며, 48시간 동안 관찰하여 경색길이를 측정하였다.



## 자. 통계처리

모든 측정 결과는 3회 이상 독립적인 반복 실험에서 도출된 값의 평균 (mean)과 표준오차(standard error of the mean; SEM)로 표시하였다. Dunnett's test와 *t*-test sigma statistical software (San Rafael)을 사용한 ANOVA test를 시행하였으며 구체적인 事後檢定은 Duncan's multiple range test를 사용하여  $p < 0.05$  수준에서 결과의 有意性을 檢定하였다.



### Ⅲ. 結 果

#### 1. 제주조릿대 추출물의 세포독성

분리된 혈소판에서 제주조릿대 잎(LE), 줄기(SE) 및 뿌리(RE) 추출물의 잠재적 세포독성을 조사하기 위하여, LDH 유출량 측정법을 사용하였다. 여러 농도(100, 200, 300 및 600  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )의 LE, SE 및 RE를 혈소판( $10^8$  cells/mL)에 5분간 처리한 다음, 배양배지에 유출된 LDH 양을 측정하였다. 대조군과 비교하여, 모든 처리군에서 유의한 LDH 양의 증가를 관찰할 수 없다(Table 1). 따라서 LE, SE 및 RE는 주어진 농도에서 혈소판에 대하여 세포독성을 나타내지 않는 것으로 본다.

**Table 1.** Effects of LE, SE and RE on LDH release in washed platelets.

Treatment	Concentration ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	LDH release* ( $\mu\text{U}/10^8$ cells)
None (control)	-	78 $\pm$ 8
LE	100	77 $\pm$ 5
LE	200	74 $\pm$ 7
LE	300	77 $\pm$ 4
LE	600	81 $\pm$ 8
SE	100	78 $\pm$ 8
SE	200	66 $\pm$ 7
SE	300	76 $\pm$ 6
SE	600	80 $\pm$ 3
RE	100	77 $\pm$ 7



RE	200	70 ± 5
RE	300	72 ± 6
RE	600	82 ± 5

---

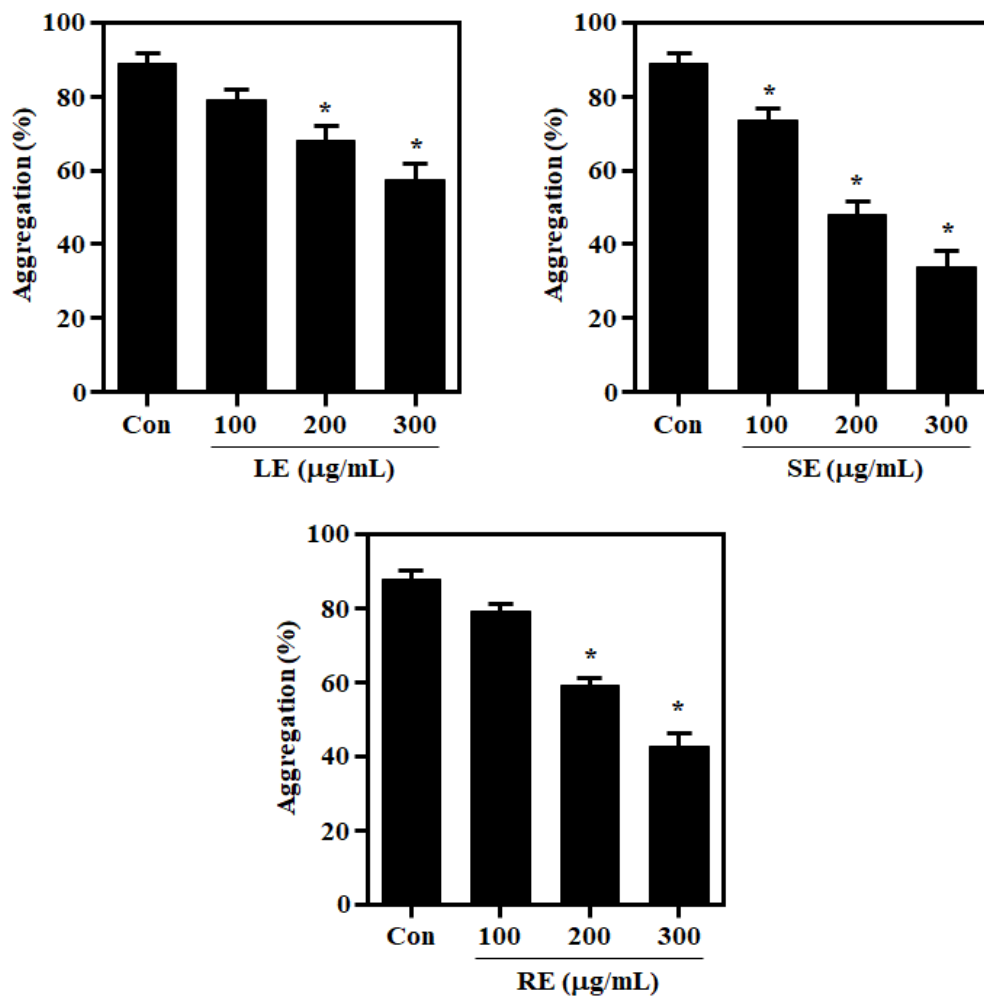
\*Data are expressed as mean ± SEM ( $n = 3$ ).



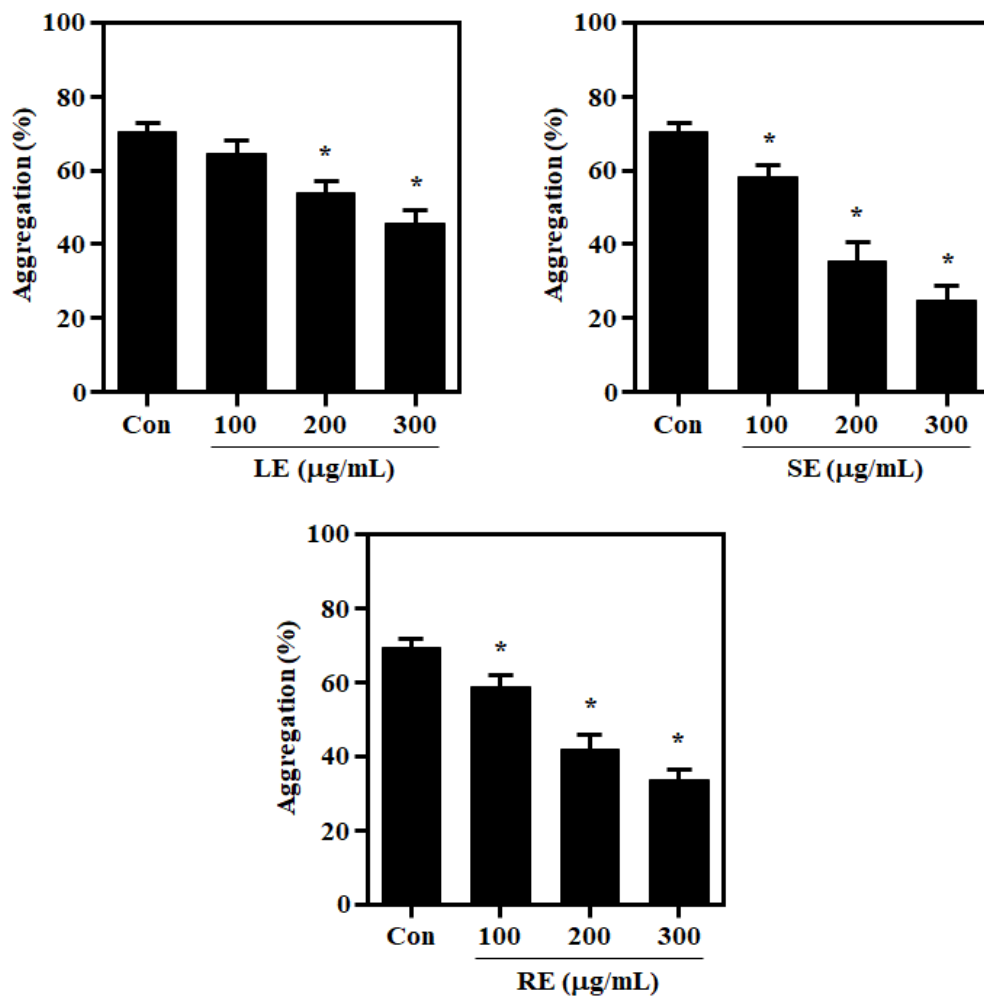
## 2. 제주조릿대 추출물의 *in vitro* 항혈소판 효과

여러 농도(100, 200, 300  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )의 LE, SE 및 RE를 혈소판에 5분간 처리한 다음, collagen 또는 ADP로 5분간 자극하여 혈소판 응집반응을 유도하였다. Collagen에 의해 유도된 혈소판 응집반응의 경우, 대조군과 비교하여 모든 추출물 처리군에서 농도 의존적인 혈소판 응집 감소가 관찰되었고, 각각의 추출물의 혈소판 응집 억제효과는 300  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서  $\text{SE} > \text{RE} > \text{LE}$  순위로 관찰되었다(Fig. 1). 이와 유사한 실험결과가 ADP로 혈소판 응집반응을 유도한 실험에서도 관찰되었다(Fig. 2).





**Fig. 1.** Inhibitory effects of LE, SE and RE on collagen-induced platelet aggregation *in vitro*. After pre-incubation with indicated doses of LE, SE or RE for 5 min at 37°C, platelets were stimulated with 2 µg/mL collagen. Platelet aggregation assay was carried out as described in materials and methods. Data are expressed as the mean ± SEM (n = 6). \*p < 0.05 compared with the vehicle control.



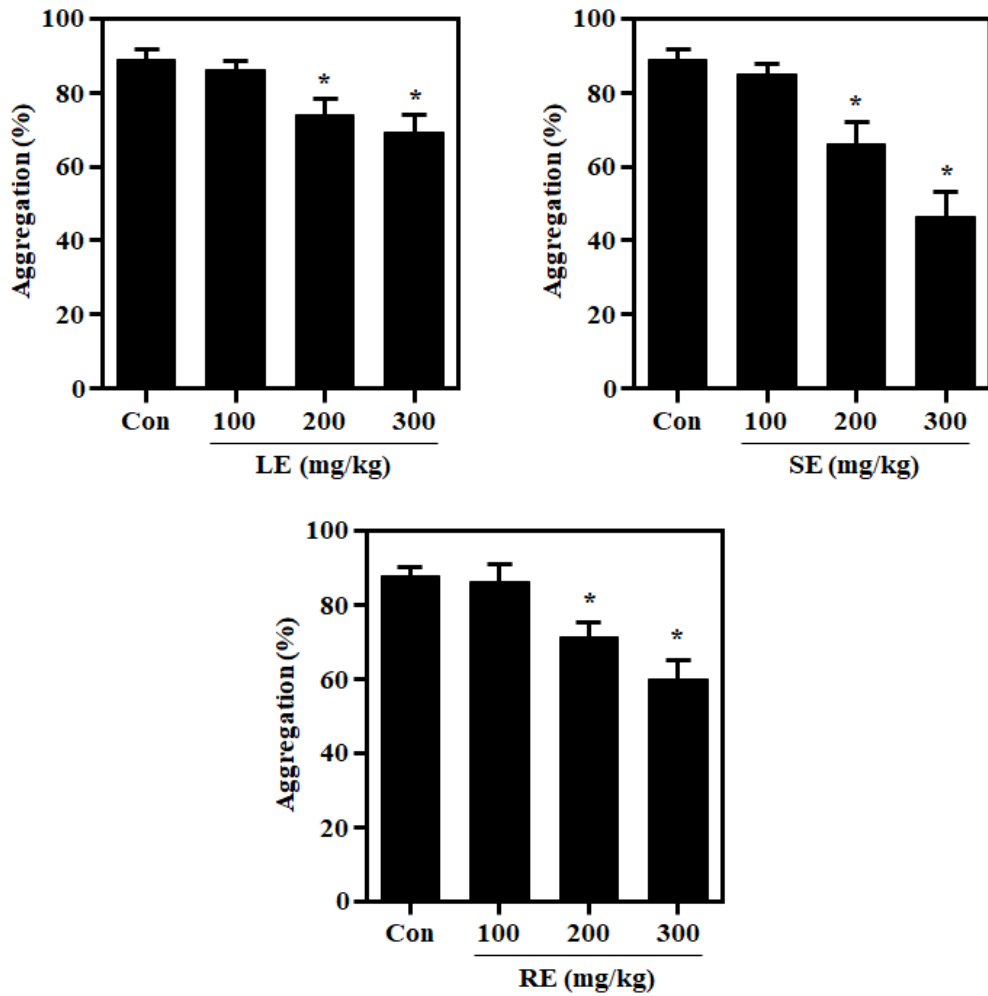
**Fig. 2.** Inhibitory effects of LE, SE and RE on ADP-induced platelet aggregation *in vitro*. After pre-incubation with indicated doses of LE, SE or RE for 5 min at 37°C, platelets were stimulated with 10 µM ADP. Platelet aggregation assay was carried out as described in materials and methods. Data are expressed as the mean  $\pm$  SEM (n = 6). \*p < 0.05 compared with the vehicle control.



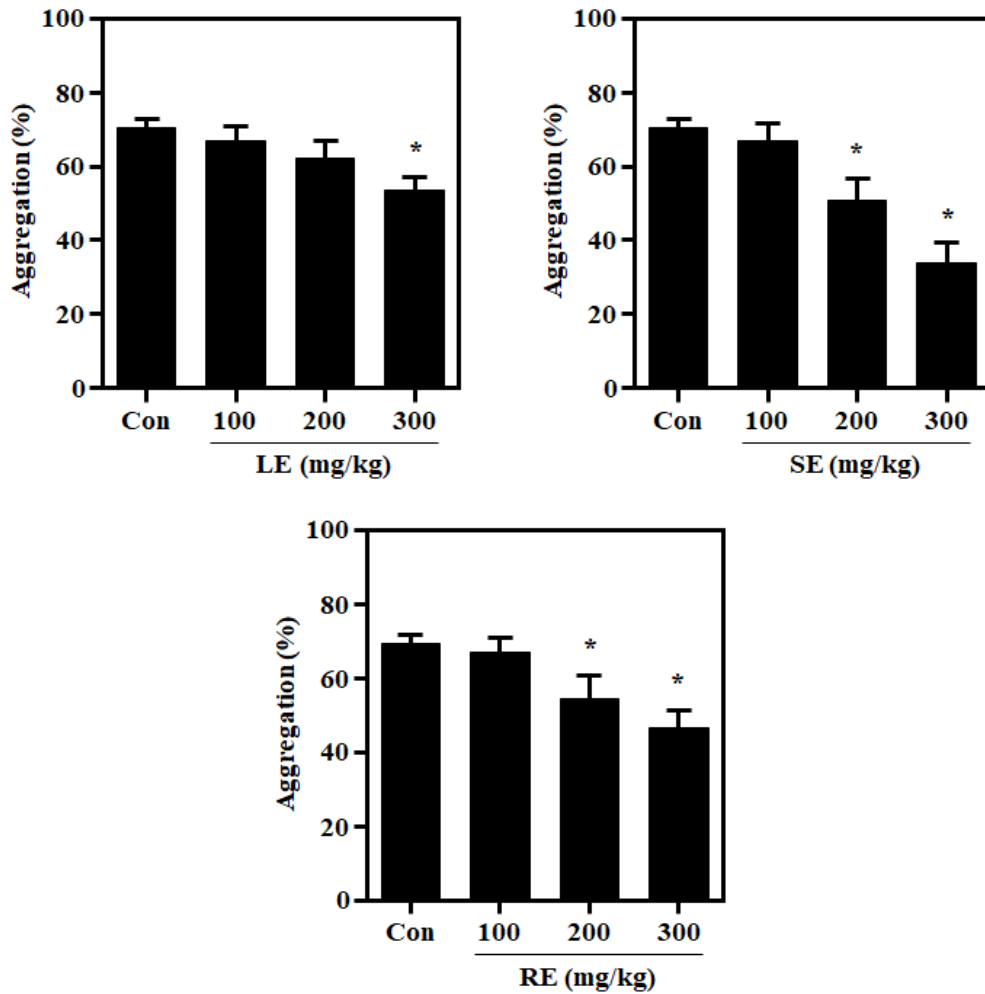
### 3. 제주조릿대 추출물의 *ex vivo* 항혈소판 효과

생체의외(*ex vivo*) 항혈소판 효과를 조사하기 위하여, 1일 1회 3일간 여러 농도(100, 200, 300 mg/kg 체중)의 LE, SE 및 RE를 쥐의 구강에 투여한 후에 채취(採取)한 혈액에서 혈소판을 분리하였다. 분리한 혈소판( $10^8$  cells/mL)에 collagen 또는 ADP로 5분간 자극하여 혈소판 응집반응을 유도하였다. Collagen에 의해 유도된 혈소판 응집반응의 경우, 대조군과 비교하여 모든 추출물 투여군에서 유의한 혈소판 응집 감소가 관찰되었고, 각각의 추출물의 혈소판 응집 억제효과는 300 mg/kg 농도에서 SE > RE > LE 순위로 관찰되었다(Fig. 3). 이와 유사한 실험결과가 ADP로 혈소판 응집반응을 유도한 실험에서도 관찰되었다(Fig. 4).





**Fig. 3.** Inhibitory effects of LE, SE and RE on collagen-induced platelet aggregation *ex vivo*. After rats were orally treated with LE, SE or RE (100, 200, 300 mg/kg), blood samples were collected, and platelets were stimulated with 2  $\mu$ g/mL collagen. Platelet aggregation assay was carried out as described in materials and methods. Data are expressed as the mean  $\pm$  SEM (n = 6). \*p < 0.05 compared with the vehicle control.

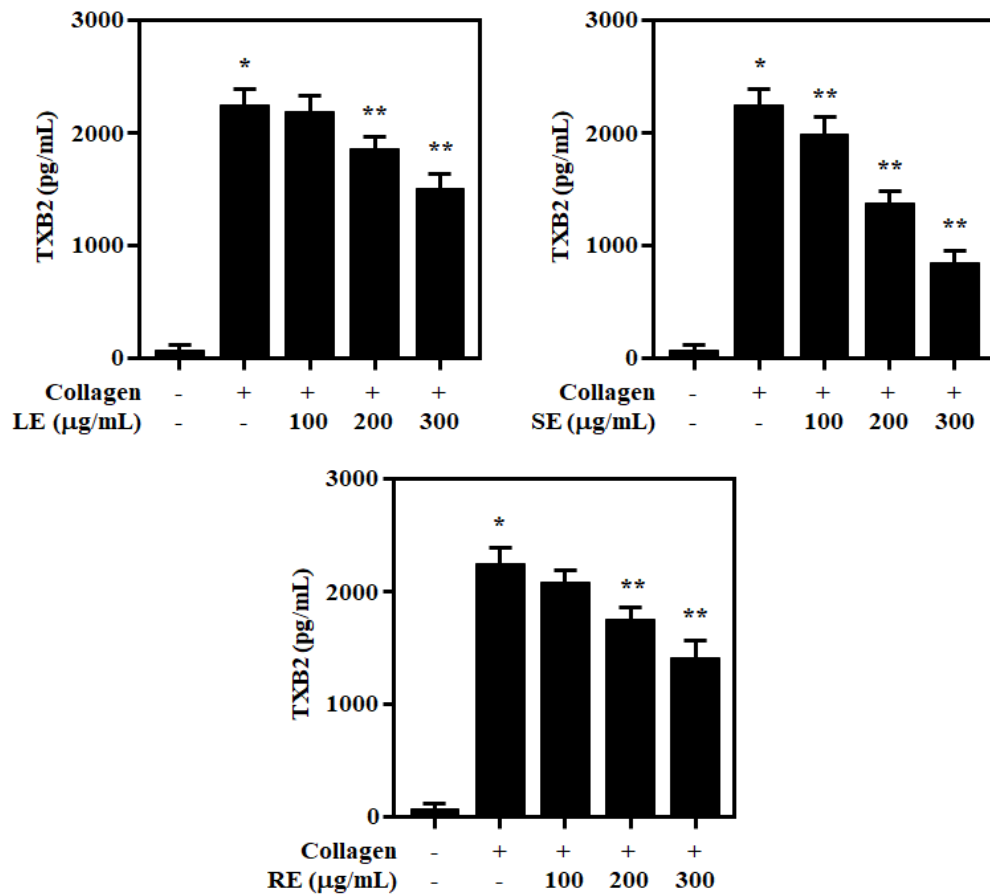


**Fig. 4.** Inhibitory effects of LE, SE and RE on ADP-induced platelet aggregation *ex vivo*. After rats were orally treated with LE, SE or RE (100, 200, 300 mg/kg), blood samples were collected, and platelets were stimulated with 10  $\mu$ M ADP. Platelet aggregation assay was carried out as described in materials and methods. Data are expressed as the mean  $\pm$  SEM (n = 6). \*p < 0.05 compared with the vehicle control.

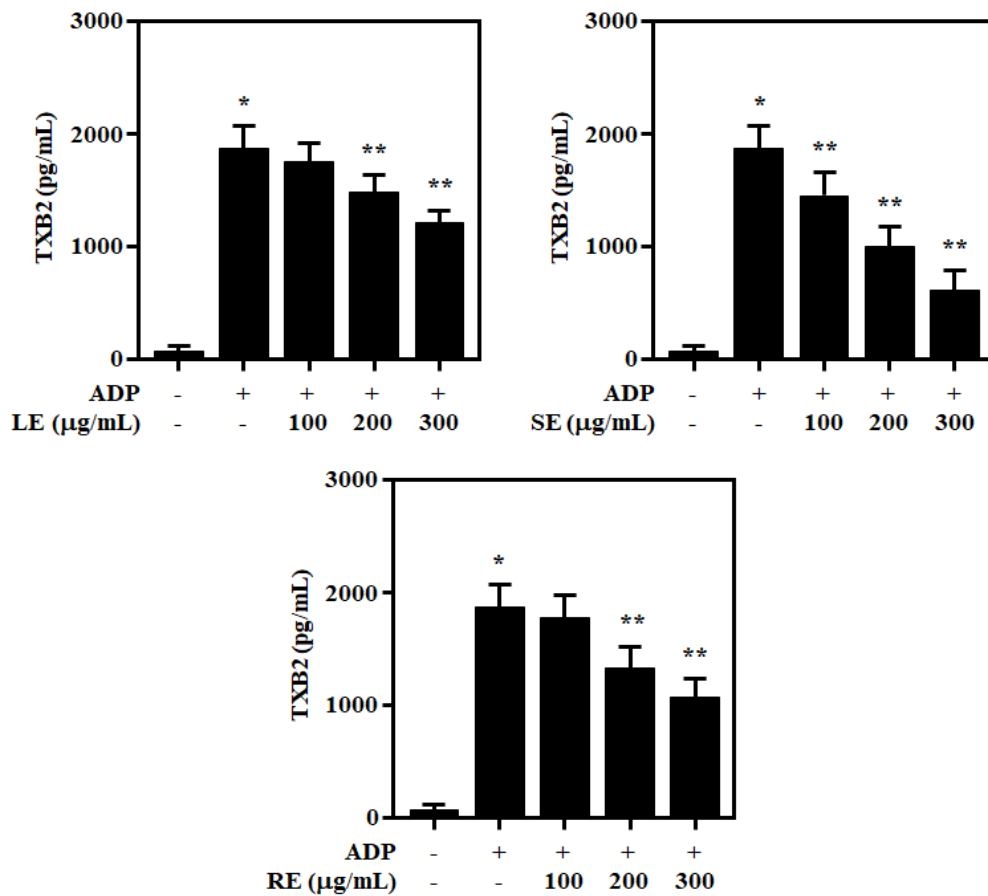
#### 4. 제주조릿대 추출물의 TXB2 분비 억제효과

여러 농도(100, 200, 300  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )의 LE, SE 및 RE를 혈소판에 5분간 처리한 다음, collagen 또는 ADP로 5분간 자극하여 혈소판 활성화를 유도하였다. Collagen에 의해 유도된 혈소판 활성화의 경우, 대조군과 비교하여 모든 추출물 처리군에서 농도 의존적인 TXB2 분비 억제효과가 관찰되었고, 각각의 추출물의 TXB2 분비 억제효과는 300  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서  $\text{SE} > \text{RE} > \text{LE}$  순위로 관찰되었다(Fig. 5). 이와 유사한 실험결과가 ADP로 혈소판 활성화를 유도한 실험에서도 관찰되었다(Fig. 6).





**Fig. 5.** Inhibitory effects of LE, SE and RE on collagen-induced TXB2 production. After pre-incubation with indicated doses of LE, SE or RE for 5 min at 37°C, platelets were stimulated with 2 µg/mL collagen for 5 min. ELISA for the TXB2 production was carried out as described in materials and methods. Data are expressed as the mean ± SEM (n = 6). \*p<0.05 with respect to the vehicle control. \*\*p<0.05 with respect to treatment with collagen alone.



**Fig. 6.** Inhibitory effects of LE, SE and RE on ADP-induced TXB2 production. After pre-incubation with indicated doses of LE, SE or RE for 5 min at 37°C, platelets were stimulated with 10  $\mu\text{M}$  ADP for 5 min. ELISA for the TXB2 production was carried out as described in materials and methods. Data are expressed as the mean  $\pm$  SEM (n = 6). \* $p < 0.05$  with respect to the vehicle control. \*\* $p < 0.05$  with respect to treatment with ADP alone.

## 5. 제주조릿대 추출물의 혈액 응고에 미치는 영향

제주조릿대 추출물의 항응고 활성(anticoagulant activity)을 조사하기 위하여, 쥐의 혈액에서 분리된 혈청에 300 µg/mL 농도의 LE, SE 및 RE를 처리한 다음, PT와 aPTT 시간을 측정하였다. 대조군과 비교하여, LE, SE 및 RE 처리는 PT 및 aPTT 시간을 유의하게 증가시키지 못했다(Table 2). 반면, 항응고 작용을 나타내는 heparin은 PT 및 aPTT 시간을 유의하게 증가시켰다.

**Table 2.** Effects of LE, SE and RE on rat plasma coagulation time *in vitro*.

Treatment (dose)	PT* (sec)	aPTT* (sec)
None (vesicle)	8.44 ± 0.10	17.00 ± 0.81
LE (300 µg/mL)	8.62 ± 0.20	18.20 ± 0.50
SE (300 µg/mL)	9.31 ± 0.15	19.74 ± 0.75
RE (300 µg/mL)	8.83 ± 0.10	17.73 ± 0.40
Heparin (10 IU/mL)	35.03 ± 5.51**	> 100**

\*Data are expressed as mean ± SEM ( $n = 3$ ).

\*\* $p < 0.05$  compared with the vesicle.



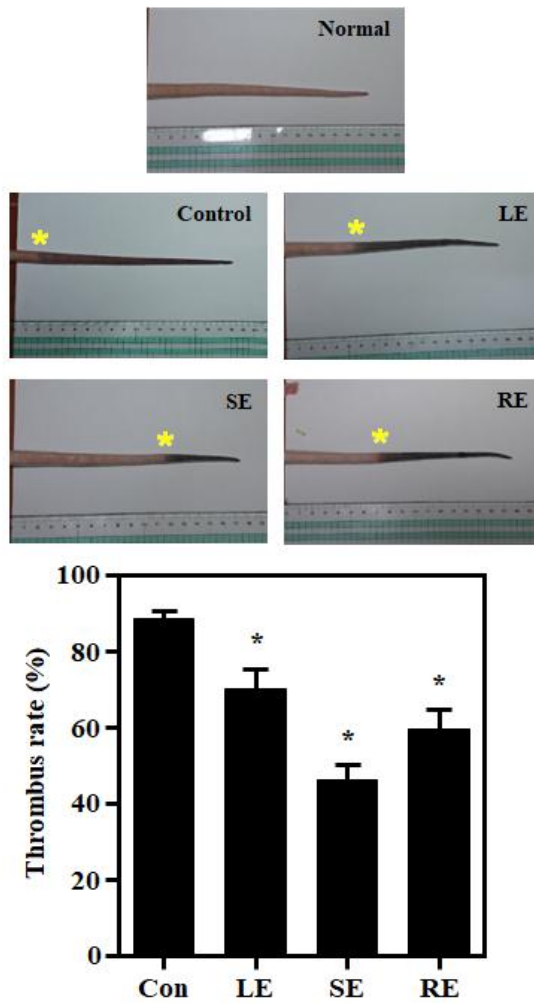
## 6. 제주조릿대 추출물의 항혈전 효능 평가

Carrageenan-유도 꼬리 혈전 모델은 설치류(齧齒類) 꼬리에 혈전을 유발하는 것으로 각종 천연물의 항혈전 효능평가에 널리 사용되고 있다. Carrageenan을 쥐의 복강 또는 등에 주사하는 경우, 와인색의 영역이 꼬리의 끝에서부터 나타나고, 일정 시간 후에는 괴사상태로 변화되어 육안으로도 혈전 상태를 확인할 수 있다. 정확한 혈전생성 기전은 불분명하나, carrageenan이 선택적으로 꼬리 혈관에 과도한 염증을 유발하기 때문에 혈전이 유발되는 것으로 추론되고 있다.<sup>21)</sup> 다양한 형태의 혈전 모델이 항혈전제 및 혈전용해제의 효능을 평가하는데 사용되고 있으나, carrageenan-유도 꼬리 혈전 모델은 복잡한 외과적(外科的) 과정을 걸치지 않고 혈전의 진행을 직접적이고 가시적이며, 그리고 시간 의존적 방식으로도 관찰할 수 있는 유일한 방법이다. 따라서 본 연구에서는 carrageenan-유도 꼬리 혈전 모델을 사용하여, 제주조릿대 추출물의 항혈전 효능을 평가하였다.

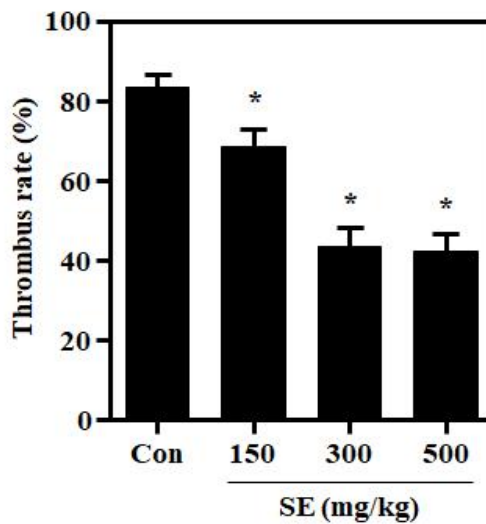
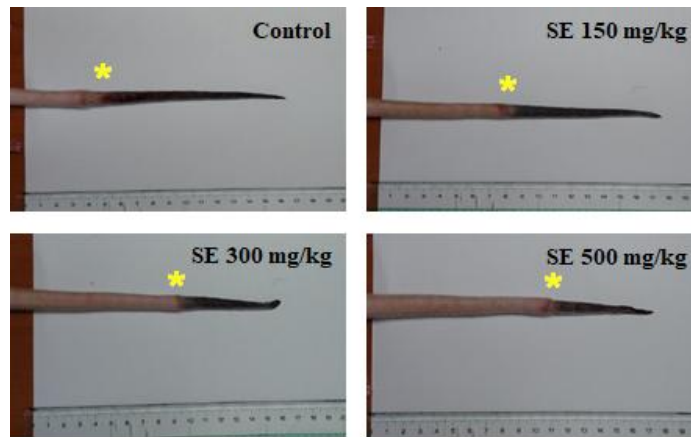
생체외(*ex vivo*) 실험에서 최대 항혈소판 효과를 나타낸 추출물의 농도인 300 mg/kg의 LE, SE 및 RE를 1일 1회 3일간 구강투여하고 carrageenan을 이용하여 꼬리 혈전을 유도하였다. 대조군에서 혈전 상태의 긴 꼬리가 관찰되었으나, LE, SE 및 RE 처리군에서 혈전 상태의 꼬리가 유의하게 감소하였고, SE > RE > LE 순서로 감소하였다(Fig. 7). SE 농도에 대한 혈전 상태의 꼬리 길이 변화를 조사한 결과, 300 mg/kg SE 농도에서 최적의 혈전 꼬리 감소를 보였다(Fig. 8).







**Fig. 7.** Inhibitory effects of LE, SE and RE on carrageenan-induced rat tail thrombosis. Rat tail thrombosis was induced by carrageenan. LE, SE or RE (300 mg/kg) were orally administered 1 h before carrageenan injection, and thereafter treated with 24 h interval for 3 days. The formation of thrombosis was photographed 1 h after the last treatment (upper). The thrombus lengths was measured 1 h after the last treatment (lower). Data are expressed as the mean  $\pm$  SEM (n = 6). \*p<0.05 versus the control (Con).



**Fig. 8.** Inhibitory effect of SE on carrageenan-induced rat tail thrombosis. Rat tail thrombosis was induced by carrageenan. SE (150, 300 or 500 mg/kg) was orally administered 1 h before carrageenan injection, and thereafter treated with 24 h interval for 3 days. The formation of thrombosis was photographed 1 h after the last treatment (upper). The thrombus lengths was measured 1 h after the last treatment (lower). Data are expressed as the mean  $\pm$  SEM (n = 6). \*p<0.05 versus the control (Con).

#### IV. 考 察

瘀血은 血行이 阻滯不暢하고 經脈 內에서 留滯되었거나 혈액이 經脈 外에 溢出로 하고 조직과 조직사이에 축적되었다가 기관 내에 瘀積이 형성되어 消散하지 못하면 생성된다.<sup>22)</sup> 瘀血은 다른 질병을 발생시킬 수 있는 요인으로 留血, 蓄血, 惡血, 衄血, 乾血, 凝血, 着血, 血痺 등을 포괄하며, 瘀血의 형성은 주요 두 가지 원인으로 氣虛, 氣滯, 血熱, 血寒 등의 원인에 의한 血行不暢하여 凝滯되는 것과 또 다른 요인은 內外傷이나 기타의 원인으로 血液이 經脈을 離脫하여 體內에 積聚하여 瘀血을 형성되며, 정상 血液의 濡養作用을 상실할 뿐만 아니라, 全身과 局部의 血液運行에 障礙가 되어 疼痛, 出血, 經脈의 瘀塞不通을 발생시켜, 內臟에 癥積이 발생되고, 體表에는 瘀腫, 腫瘍이 형성되며, 瘀血不去, 新血不生의 기타 증상도 나타날 수 있다.<sup>23)</sup> 瘀血이 生成하게 되면 이는 發病因子가 되어 지속적으로 氣機를 阻滯시켜, 氣와 血의 運行에 장애를 주어 臟腑機能을 失調시키는 循環이 연속되므로 어혈은 일종의 발병인자에 속한다고 볼 수 있다.<sup>22,24)</sup> 어혈의 기본개념은 黃帝內經<sup>25)</sup>을 비롯하여 여러 문헌<sup>26-30)</sup>에서 다양하게 언급하고 있다.

동양의학에서 어혈(瘀血)이란 생리적 기능이 상실된 혈액이 정체하여 형성된 일종의 병리적 산물인 동시에 질병을 유발하는 인자가 되는 것으로 혈액순환장애와 혈류속도감소의 병리상태를 포괄하는 개념으로, 이는 서양의학의 혈전(血栓)의 개념과 유사하다.<sup>5,6,31)</sup> 血栓症이란 혈관이나 심장 내에서 혈액성분인 固形塊가 형성되어 혈관의 협착(狹窄), 폐색(閉塞)을 야기(惹起)시켜 뇌, 심장, 신장, 폐 등에 허혈성 질환과 梗塞 그리고 기능장애를 초래한다. 氣滯, 氣虛, 血熱, 血寒, 外傷, 기타원인 등으로 발생되며, 固定性刺痛, 脈澁, 瘀斑, 腫塊, 出血, 皮膚甲錯, 舌質紫暗 증상 등이 나타난다.<sup>8)</sup> 혈전은 일반적으로 혈관손상으로 출혈이 일어나서 혈소판이 응집되어 혈액이 혈관과 조직 내에서 응고되어 생성된다.<sup>32)</sup> 정상적인 혈전인 경우는 혈전용해효소인 plasmin 등과 같은 것에 의해 체내에서 자연스럽게 분해된다. 그러나 혈관이나 조직 내에 혈



전이 과도한 양의 축적되거나 혈전용해와 관련한 생리학적 기구(機構)가 정상적이지 아닌 경우에 비정상적인 혈전이 생성될 수 있다.<sup>33)-35)</sup> 비정상적인 혈전이 생성될 수 있는 주요인으로는 혈류의 정체(停滯)나 와류(渦流)가 있을 경우, 활성화된 응고인자의 청소와 회석이 안 이루어져서 혈류속도가 떨어지는 경우, 혈관내피세포의 손상으로 인해서 혈소판의 응고 덩어리가 핵으로 변하여 혈전을 형성되는 경우, 병적상태에 의한 응고항진의 경우 등이 있다.<sup>36)</sup> 특히, 혈류속도의 변화와 혈관의 손상을 유발하는 당뇨병,<sup>37)</sup> 고혈압,<sup>38)</sup> 동맥경화<sup>39)</sup> 등에서 혈전이 비정상적으로 생성되는 것으로 알려져 있다. 혈전성 질환의 일차 발병한 후 혈전성 질환의 진행차단, 재발방지 또는 예방 목적으로 항혈전 작용 약물인 aspirin, ticlopidine 등의 주로 사용되고 있으나, 보다 안전성이 확보되고 효과적인 항혈전 작용 약물의 개발이 필요하다.<sup>40)</sup>

조릿대는 줄기의 마디 특성 등에 따라 제주조릿대(*Sasa quelpaertensis* Nakai), 조릿대(*S. borealis* (Hack.)), 신이대(*S. coreana* Nakai), Makino), 섬대(*S. borealis* var. *gracilis* (Nak.) T. Lee), 갓대(*S. borealis* var. *chiisanensis* (Nak.) T. Lee), 섬조릿대(*S. kurilensis* (Rupr.) Makino et Shibata) 등 6종류로 구분하였고 중풍, 고혈압, 당뇨병, 해열, 위염 등에 사용되었다.<sup>41,42)</sup> 조릿대는 이명(異名)으로 山竹, 地竹, 笠竹, 竹葉 또는 淡竹葉, 林下竹, 土麥冬이라고 불린다.<sup>43)</sup> 조릿대의 명칭에 대한 연구 결과를 보면, 한의학적 제반내용을 문헌을 통하여 정리한 것을 보면 淡竹葉과 竹葉의 구별은 明代의 李時珍의 本草綱目に 淡竹葉이 기록된 이후로 淡竹葉은 草部に 竹葉은 木部로 기록되었고 淡竹葉과 竹葉은 禾本科에 속하고 神農本草經에 최초로 수록되어 있으며, 多年生木草인 조릿대풀(*Lophatherum gracile*)인 莖葉과 多年生常綠喬木인 섬대(*Phyllostachys nigra* var. *henonis*)의 잎을 건조한 것으로서 조릿대의 기원을 보면, 문헌에 담죽엽(淡竹葉)은 조릿대풀의 莖葉을, 죽엽(竹葉)은 섬대의 葉으로 구분한다. 產地는 淡竹葉이 남부지역인 반면 竹葉은 중북부지역에 이르러 더욱 넓게 분포하며,<sup>3)</sup> 조릿대의 생리활성을 나타내는 성분으로는 arumdoin, cylindrin, freindelin, taraxerol 등이 알려져 있다.<sup>44)</sup>



제주조릿대는 벼과(Gramineae)로 한라산 일대에 폭넓게 군락을 형성하여 분포하고 있으며, 높이가 10~80 cm인 상록관엽식물(常綠觀葉植物)로<sup>41,42)</sup> 지역 고유종으로 내륙 지방의 조릿대와는 형태적인 특징이 구별되며,<sup>45)</sup> 잎 가장자리의 퇴색이 시작된다.<sup>43)</sup> 기후변화 영양 등으로 인해 자생지역이 급격히 확산되어지고 있는 추세로 한라산 생태계의 생물다양성을 교란하는 위협적인 존재로 부각되고 있다.<sup>46)</sup> 제주조릿대는 일명 제주도산약죽(濟州道山藥竹), 탐라세(耽羅笹), 산죽(山竹), 도의대, 탐라산죽이라 칭한다. 마디는 도드라지며 지름 3-4 mm로서 털이 없으며 녹색이다. 葉은 橢圓形 또는 긴 타원형이고 길이는 7-20 cm이며 너비는 15-20 mm로서 표면은 軟綠色으로 冬節氣에는 엽연(葉緣)은 말리고 갈라져서 마치 줄무늬처럼 보이며, 花은 6-7년 마다 한 번씩 피고 열매(實)는 보리나 밀알 모양이며, 전분자원(澱粉資源)으로 먹을 수가 있고 열매는 한때 구황식물로 사용하였다.<sup>2)</sup> 제주조릿대와 우리나라에 자생하는 여러 종류의 조릿대는 전통의학에서 그리고 민간에서 당뇨병, 고혈압, 동맥경화 등의 질병을 치료하기 위하여 사용되었다.<sup>47)</sup>

어혈과 혈전의 유사점을 고려하면, 전통의학에서 어혈관련 증상 또는 질환 등에 사용되어온 천연물(生藥, 韓藥)에 혈전의 생성을 억제시킬 수 있는 물질이 함유되어 있는지 실험적으로 조사해볼 필요성이 있다. 즉, 제주조릿대는 비정상적인 혈전 생성을 유발할 수 있는 혈관성 질병의 치료에 오래전부터 사용되어온 것으로 추측(推測)되며, 이는 제주조릿대에는 비정상적인 혈전의 생성을 방지할 수 있는 예방효과가 있을 수도 있다는 것을 의미한다. 이에, 본 논문은 전통의학과 민간에서 어혈관련 증상 및 질환 등에 자주 사용된 제주조릿대에 혈전발생을 억제하는 효과가 있을 것이라는 연구가설을 설정하고, 실험관내(*in vitro*), 생체외(*ex vivo*) 그리고 생체내(*in vivo*) 수준에서 설정된 연구가설을 실험적으로 검증하였다. 여러 종류의 조릿대들 중에서 제주조릿대를 연구 약물로 선정하고, 약물의 정확한 효과 검증을 위해서, 제주조릿대를 잎, 줄기 그리고 뿌리로 나누어 각각의 추출물을 얻었다. 실험관 내의 혈소판 응집반응 및 혈액 응고반응에 사용된 혈소판 및 혈청은 쥐(rat)의 혈액에서 분리



하여 사용하였고, 생체외 및 생체내 실험을 위해 1일 1회 3일간 각각의 추출물을 쥐의 구강에 투여한 후에 얻은 혈액에서 혈소판을 분리하였다.

실험적으로, 본 연구에서는 실험관 내의 혈소판 응집효과를 조사하기 위하여 생리적 환경 내에서 혈소판 응집을 일으키는 collagen 및 ADP로 유도한 혈소판 응집반응에서 제주조릿대의 잎(葉), 줄기(莖) 및 뿌리(根) 추출물 각각이 미치는 영향을 조사하였다. 그 결과 제주조릿대의 각각의 추출물은 세포독성을 유발하지 않는 농도(Table 1)에서 collagen와 ADP로 유도한 혈소판 응집반응에 대해 농도 의존적 억제활성 경향을 보였으며, 특히 제주조릿대의 줄기 추출물은 잎 또는 뿌리 추출물보다 우수한 혈소판 응집 억제활성을 보였다(Fig. 1 및 Fig. 2). 이러한 실험관 내(in vitro)의 실험결과는 3일간 제주조릿대 추출물을 경구 투여한 실험동물에서 얻은 혈소판의 응집반응에서 관찰한 생체외(ex vivo)의 실험결과와 유사한 경향성을 보였다(Fig. 3 및 Fig. 4).

혈소판에 의한 백색혈전 생성단계는 1) 혈소판이 활성화 유도물질(collagen, ADP 등)에 노출되어 부착하는 단계(adhesion step), 2) 부착된 혈소판이 활성화되어 활성화물질(TXA<sub>2</sub>, serotonin 등)을 분비하는 단계(activation step) 그리고 3) 활성화된 혈소판이 응집되는 단계(aggregation step)로 구분할 수 있다.<sup>12,13)</sup> TXA<sub>2</sub>는 활성화상태의 혈소판에서 분비되며, 정상상태의 혈소판을 활성화시킬 뿐만 아니라 혈소판의 응집반응을 촉진시킨다.<sup>48,49)</sup> 따라서 혈소판에 의한 TXA<sub>2</sub> 분비 정도는 대표적인 혈소판 活性指標로 볼 수 있다.<sup>50)</sup> 그러나 생리적 조건에서 TXA<sub>2</sub>는 짧은 시간 안에 (加水分解되어 안정한 형태의 TXB<sub>2</sub>로 전환되어 결과적으로는 TXA<sub>2</sub> 분비량이 TXB<sub>2</sub> 발생량과 잘 일치하게 된다.<sup>51)</sup> 그러므로 본 연구에서는 TXB<sub>2</sub> 농도를 측정하여, TXA<sub>2</sub> 농도를 간접적으로 예측함으로써 혈소판 활성을 평가하였다. 혈소판 활성화 유도물질인 collagen 및 ADP에 노출된 혈소판은 다량의 TXB<sub>2</sub>를 분비하였으며, 이러한 TXB<sub>2</sub>의 분비는 제주조릿대 추출물에 의해서 유의하게 감소하였다(Fig. 5 및 Fig. 6). 특히, 제주조릿대 줄기 추출물의 TXB<sub>2</sub> 분비 억제효과가 제주조릿대 뿌리 또는 잎 추출물보다 우수하게 관찰되었다. 이러한 결과로부터, 제주조릿



대 추출물에 의한 혈소판 응집반응의 저해효과(沮害效果)는 제주조릿대 추출물에 의한 혈소판 활성의 억제효과(抑制效果)와 밀접한 연관이 있다는 것을 추론할 수 있었다. 종합적으로, 제주조릿대는 혈소판 활성을 억제시켜, 혈소판 응집을 저해하는 것으로 판단된다.

지혈은 출혈하는 것을 멈추기 위해 혈관수축(血管收縮)과 1차 지혈과정의 혈소판 응집반응에 의해서 血小板 마개(platelet plug)가 形成되자마자 바로 2차 지혈과정인 혈액 응고반응에 의한 止血 마개(hemostatic plug)가 형성되는 과정이다.<sup>52)</sup> 혈액응고는 2차 지혈과정으로 內因性 經路(intrinsic pathway)의해서 그리고 外因性 經路(extrinsic pathway)에 의하여 활성화된다. 궁극적으로, 內因性 經路和 外因性 經路에 의해서 prothrombin는 thrombin으로 또한 thrombin으로 인해 fibrinogen는 fibrin으로 변환되어 지혈 마개가 형성된다. 內因性 經路 또는 外因性 經路의 어느 한쪽에 이상이 발생하는 경우, 혈액응고가 정상적으로 이루어지지 않으며, 결과적으로는 지혈에 문제가 발생할 수 있다. 실험적으로, 內因性 經路의 이상 유무는 aPTT 검사를 통해서 알 수 있으며, 外因性 經路의 이상 유무는 PT 검사를 통해서 확인할 수 있다.<sup>53)</sup> 제주조릿대 추출물이 혈액응고에 미치는 영향을 실험한 결과, PT 또는 aPTT에 전혀 유의적인 영향을 주지 않았다(Table 2). 따라서 제주조릿대 추출물의 항혈전 작용은 혈소판 응집 억제 작용에 국한되어 있음을 확인할 수 있었다.

제주조릿대 추출물의 항혈전 효과를 평가하기 위하여 carrageenan을 이용하여 꼬리 혈전증 동물모델을 제작하고, 혈전이 유발된 꼬리의 길이를 측정하였다. 제주조릿대 잎, 줄기 및 뿌리 추출물을 300 mg/kg의 농도로 각각 처리하여 혈전이 유발된 꼬리 길이를 측정한 결과 모든 투여군에서 유의한 감소가 확인되었으며, 특히 제주조릿대 줄기 추출물에서 감소효과가 크게 관찰되었다(Fig. 7). 한편, 항혈전 효과가 크게 관측된 제주조릿대 줄기 추출물의 농도 의존성을 조사한 결과 300 mg/kg의 농도에서 최대 항혈전 효과가 관찰되었다. 이러한 제주조릿대 추출물의 생체 내의 항혈전 효과는 실험관 내 및 생체 외의 실험에서 관찰된 항혈소판 효과와 어느 정도는 관련이 있을 것으로 판단된



다. 즉, 제주조릿대는 혈소판의 비정상적인 응집반응을 억제하여 항혈전 효과를 나타낸다고 볼 수 있다.

현재 혈전을 예방하고 치료방법으로는 식이조절, 약물요법, 운동요법 등이 있으며, 약물요법으로는 심혈관계 약물로는 고지혈증 치료제 그리고 혈액 관련 약물로는 항혈소판제, 항응고제 등이 사용되고 있다.<sup>40)</sup> 하지만, 이러한 치료제들은 가격이 매우 높을 뿐만 아니라 인체에 투여하였을 경우 지혈과다억제, 소화기장애, 불임 등의 여러 부작용을 야기한다.<sup>54)</sup> 따라서 최근에는 천연물을 활용하여 보다 안전성이 확보된 인체에 비교적 독성이 없고, 경제적이고, 혈전을 선택적으로 용해시킬 수 있고, 혈관 내에서 혈소판의 응집을 저해시켜, 혈전예방의 효과를 나타내고 높일 수 있는 신물질의 탐색이 요구되는 실정이다.<sup>55,56)</sup>

따라서 본 연구에서 제주조릿대 추출물을 이용한 抗血小板 凝集과 抗血栓 活性 평가를 수행하여 혈관질환에 응용해서 사용할 수 있는지 천연물질 효능 평가를 하고자 하였다. 그 결과 제주조릿대 추출물은 혈액응고 기전에 영향을 미치지 않으며, 抗血小板 효과와 抗血栓 작용으로 혈관질환의 치료와 예방물질로 이용할 수 있어서 천연물신약 연구 개발에 기여할 수 있을 것으로 사료된다.





## V. 結 論

제주조릿대 잎, 줄기 및 뿌리 추출물의 항혈소판, 항응고 및 항혈전 효과를 조사하여 아래와 같은 실험결과를 얻었다.

1. 쥐의 혈액에서 분리된 혈소판 응집반응 실험에서 제주조릿대 잎, 줄기 및 뿌리 추출물은 농도 의존적인 항혈소판 효과를 보였으며, 줄기 추출물이 보다 우수한 효과를 보였다.
2. 3일간 각각의 추출물을 구강투여 받은 쥐의 혈액에서 분리된 혈소판의 응집반응 실험에서도 항혈소판 효과가 관찰되었으며, 줄기 추출물의 투여군에서 보다 우수한 항혈소판 효과가 관찰되었다.
3. 실험관 내의 혈소판 활성화 실험에서 각각의 추출물은 혈소판 활성화지표인 TXB2 분비를 농도 의존적으로 억제하였으며, 이러한 억제효과는 줄기 추출물에서 보다 우수하게 관찰되었다.
4. 쥐의 혈액에서 분리된 혈청을 이용한 혈액응고 실험에서 제주조릿대 잎, 줄기 및 뿌리 추출물은 PT 또는 aPTT에 전혀 유의적인 영향을 주지 않았다.
5. Carrageenan을 이용하여 꼬리 혈전증 동물모델에서 추출물 각각은 항혈전 효과를 보였으며, 줄기 추출물에서 우수한 항혈전 효과가 관찰되었다.

종합적으로, 제주조릿대 추출물은 혈소판의 활성화를 억제하여 항혈소판 효과를 나타내고, 이러한 항혈소판 효과에 의해서 항혈전 효과를 나타내는 것으로 판단된다.



## 參考文獻

1. 이창복. 원색대한식물도감. 서울. 향문사. 2003.pp.430-32.
2. 이혜선, 박지혜. 제주조릿대를 이용한 천연염색. 한국염색가공학회지. 2007;19(1):17-23.
3. 김재환, 주영승. 淡竹葉과 竹葉의 起源에 관한 文獻的 考察. 대한한의학회지. 1996;17(2):5-16.
4. 변지희, 김민영. 인간 대장암 HT-29 세포에서 제주조릿대의 세포사멸 효과. 생명과학회지. 2014;24(9):1012-8.
5. 강순수. 한의학에서 瘀血에 대한 개념. 대한한의학회지. 1984;5(1):138-40.
6. 최승훈. 黃帝內經에서의 瘀血의 인식에 대한 병리적 연구. 대전대학교논문집. 1987;6(2):313-20.
7. 박태우, 박원환. 화어탕의 항혈전 작용에 대한 연구. 동의생리병리학회지. 2002;16(1):181-5.
8. 이승아, 임현정, 신선미, 유동열. 調肝湯加減方의 抗血栓作用에 대한 실험적 연구. 대한한방부인과학회지. 2009;22(1):110-24.
9. 정재한, 선종주, 민인규, 김미영, 최원우, 홍진우, 나병조, 정우상, 문상관, 조기호, 김영석. 대한한방내과학회지. 2007;28(4):808-15.



10. Holinstat M. Normal platelet function. *Cancer Metastasis Rev.* 2017;36:195-8.
11. Al Dieri R, de Laat B, Hemker HC. Thrombin generation: what have we learned? *Blood Rev.* 2012;26:197-203.
12. Braunwald E, Zipes DP, Libby P. Hemostasis, thrombosis, fibrinolysis, and cardiovascular disease. *Heart disease: A textbook of cardiovascular medicine* (6th ed). Saunders. 2001;pp.2099-2132.
13. Li Z, Delaney MK, O'Brien KA, Du X. Signaling during platelet adhesion and activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30:2341-9.
14. Jneid H, Bhatt DL. Advances in antiplatelet therapy. *Expert Opin Emerg Drugs.* 2003;8:349-63.
15. Sibbing D, Angiolillo DJ, Huber K. Antithrombotic therapy for acute coronary syndrome: Past, present and future. *Thromb Haemost.* 2017;117:1240-8.
16. Kim EY, Jung EY, Lim HS, Heo YR. The effects of the Sasa Borealis leaves extract on plasma adiponectin, resistin, C-reactive protein and homocysteine levels in high fat diet-induced obese C57/BL6J mice. *Korean J Nutr.* 2007;40(4): 303-11.
17. Lu B, Wu X, Tie X, Zhang Y, Zhang Y. Toxicology and safety of



anti-oxidant of bamboo leaves. Part 1: Acute and subchronic toxicity studies on anti-oxidant of bambooleaves. Food Chem Toxicol. 2005;43(5):783-92.

18. Byun JH, Kim MY. Apoptotic effect of *Sasa quelpaertensis* Nakai in human colon cancer HT-29 cells. J Life Sci. 2014.;24(9):1012-8.

19. Ko BS, Jun DW, Jang JS, Kim JH, Park SM. Effect of *Sasa Borealis* and white lotus roots and leaves on insulin action and secretion in vitro. Korean J Food Sci Technol. 2006;38(1):114-20.

20. 하유빈, 박재형, 장준우, 임동우, 김재은. 조릿대의 잎과 줄기 추출물 분획의 염증 및 비만 억제 효과 비교. 동의생리병리학회지. 2016;30(4):229-35.

21. Yan F, Yan J, Sun W, Yao L, Wang J, Qi Y, Xu H. Thrombolytic effect of subtilisin QK on carrageenan-induced thrombosis model in mice. J Thromb Thrombolysis. 2009;28(4):444-8.

22. 최승훈, 김광호. 血府逐瘀湯이 혈전증과 피하혈종에 미치는 영향. 경희한의대논문집. 1987;7(2):605-25.

23. 나창수 외. 한의학 총강. 서울. 의성당. 2013.pp.529-34.

24. 허은정, 이인선, 강형원, 전원경. 경동맥 손상 및 혈전을 유발한 동물 모델에서 續命湯의 효능 검증. 동의생리병리학회지. 2012;26(5):732-37.

25. 이경우. 황제내경소문 3권. 서울. 여강출판사. 1995.p.500, 506.



26. 당중해, 권건혁. 국역 혈증론. 서울. 반룡. 2000.pp.279-90.
27. 문준진, 안규석, 김성훈, 엄현섭, 지규용, 김정범 외. 상한론정해. 서울. 경희대학교 출판국. 2000.p.505.
28. 박성규, 김윤경, 오명숙. 처방제형학. 서울. 영림사. 2006.p.294.
29. 양동훈, 박영재, 박영배. 어혈변증설문개발을 위한 기초연구. 대한한의진단학회지. 2005;9(1):86-8.
30. 장중경, 이동건. 국역 금궤요략. 서울. 서원당. 2002.p.231, 296.
31. 정수정, 마영훈, 최승범, 박경미. 국내 한의학계의 항혈전 효과에 대한 실험 연구 고찰: 2001년 이후 한방부인과학회지에 발표된 논문을 중심으로. 대한한방부인과학회지. 2014;27(1):152-66.
32. Wolberg AS, Campbell RA. Thrombin generation, fibrin clot formation and hemostasis. Transfusion and Apheresis Science. 2008;38:15-23.
33. 전병훈, 정우열. 實驗的 血栓症에 미치는 韓藥材의 抗血栓效果에 관한 연구. 동의병리학회지. 1996;10(1):72-8.
34. Mizuno T, Sugimoto M, Matsui H, Hamada M, Shida Y, Yoshioka A. Visual evaluation of blood coagulation during mural thrombogenesis under high shear blood flow. Thrombosis Research. 2008;121:855-64.



35. Wolberg AS. Thrombin generation and fibrin clot structure. *Blood Reviews*. 2007;21:131-42.
36. 안규환, 최창민, 김송백, 조한백. 加味調經湯의 煎湯 방법에 따른 항혈전 및 염증에 관한 연구. *대한한방부인과학회지*. 2009;22(1):53-78.
37. Ceriello A. Coagulation activation in diabetes mellitus: the role of hyperglycaemia and therapeutic prospects. *Diabetologia*. 1993;36:1119-25.
38. 40. Kakar P, Lip GY. Hypertension: endothelial dysfunction, the prothrombotic state and antithrombotic therapy. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2007;5:441-50.
39. Davies MJ. Anatomic features in victims of sudden coronary death. *Coronary artery pathology*. *Circulation*. 1992;85:I19-24.
40. Chen C, Yang FQ, Zhang Q, Wang FQ, Hu YJ, Xia ZN. Natural products for antithrombosis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2015;876426 (doi: 10.1155/2015/876426).
41. 김창민, 신민교, 안덕균, 이경순 외. *중약대사전*. 서울. 도서출판 정담. 1999.pp.881-3, 3900-2.
42. 박종회. *한국약초도감*. 서울. 신일상사. 2004.p.88.
43. 김명일. 조릿대 연구와 고찰. *한국엔터테인먼트산업학회지*. 2012;188-93.



44. Kim NJ, Lee SJ, Kwon JH, Hong ND. Antilipoperoxidatant effects of leaves of *phyllostachys bambusoides* S. et Z. *Kor J Phamacogn.* 1995;26(4):368-76.
45. 정완석. 제주 식물자원을 활용한 기능성식품의 개발(제주조릿대). *한국식품영양과학회지.* 2012.;172-3.
46. 김지혜, 김민영. 제주조릿대의 인간 암세포 증식 저해와 자연사멸 효과. *생명과학회지.* 2014;24(8):903-9.
47. 박종희. 한국 민간약의 기원에 대한 조사보고, *생약학회지* 1993;24:322-27.
48. Fontana P, Zufferey A, Daali Y, Reny JL. Antiplatelet therapy: targeting the TxA2 pathway. *J Cardiovasc Transl Res.* 2014;7:29-38.
49. Luscher TF, Steffel J. Individualized antithrombotic therapy. *Hamostaseologie.* 2016;36:26-32.
50. Reilly M, Fitzgerald GA. Cellular activation by thromboxane A2 and other eicosanoids. *Eur Heart J.* 1993;14:88-93.
51. FitzGerald GA. Mechanisms of platelet activation: thromboxane A2 as an amplifying signal for other agonists. *Am J Cardiol.* 1991;68:11B-15B.
52. Lyu CJ. Introduction to coagulation system. *J Korean Soc Neonatol.* 2011;18:1-5.



53. Jenny NS, Mann KG. Thrombosis and hemorrhage (3rd ed). Lippincott Williams & Wilkins. 2003;p.1-21.
54. Burggraf D, Vosko MR, Schubert M, Stassen JM, Hamann GF. Different therapy options protecting microvasculature after experimental cerebral ischemia and reperfusion. Thrombosis and Haemostasis. 2010;103:891-900.
55. Mine Y, Wong AHK, Jiang B. Fibrinolytic enzymes in Asian traditional fermented foods. Food Research International. 2005;38:243-50.
56. Swenson S, Markland FS Jr. Snake venom fibrin(ogen)olytic enzymes. Toxicon. 2005;45:1021-39.

