

數種의 韓藥材 抽出物의 抗酸化能과 血栓溶解能

주은영¹, 박찬성^{2*}

1 : 대구한의대학교 한자원학과, 2 : 대구한의대학교 한방식품조리영양학부

Antioxidative and Fibrinolytic Activities of Several Medicinal Plant Extracts

Eun-Young Joo¹, Chan-Sung Park^{2*}

1 : Dept. of Herbal Biotechnology

2 : Faculty of Herbal Food Cuisine & Nutrition, Daegu Haany University

ABSTRACT

Objectives : This study was conducted to evaluate the antioxidative and fibrinolytic activity of the water and ethanol extracts from medicinal plants.

Methods : Five kinds of medicinal plants(Carthami Flos, Glycyrrhizae Radix, Schisandrae Fructus, Atractylodes Rhizoma, Shiitake mushroom) were extracted with distilled water and 70% ethanol, and the extracts were tested for their antioxidative and fibrinolytic activities.

Results : The highest polyphenol contents of the water and ethanol extracts from medicinal plants were 812.52 mg and 685.44 mg per 100 g of *Carthamus tinctorius* and *Schizandra chinensis*, respectively. The electron donating abilities (EDA) of the water extracts from all medicinal plants except *Lentinus edodes* were about 90% at 1,000 ppm and ethanol extracts were higher than those of water extracts. The highest SOD-like activity and nitrite scavenging abilities (NSA) were both of water and ethanol extracts from *Schizandra chinensis*. Five kinds of medicinal plants had fibrinolytic activity and the highest activities were water and ethanol extracts from *Glycyrrhiza uralensis*.

Conclusion : These results suggest that the medicinal plants can be used as natural antioxidant to prevent oxidative damage in normal cells probably because of their antioxidative and fibrinolytic activities.

Key words : Carthami Flos, Glycyrrhizae Radix, Schisandrae Fructus, Atractylodes Rhizoma, Shiitake mushroom

서론

심혈관질환은 전세계적으로 대표적인 사망원인중 하나로서, 우리나라의 통계청 자료¹⁾에서 2008년 사망원인 순위로 뇌혈관질환이 2위, 심장질환이 3위, 당뇨병 5위, 고혈압성 질환이 10위를 차지하여 만성질환의 문제에 대한 관심이 점차 커지고 있다. 오늘날 서양문화의 유입으로 국내 식생활도 동물성 식품의 소비가 급격히 증가하고 상대적으로 식물성 식품의 소비가 저하된 식생활은 인체의 대사과정이 균형을 깨뜨림으로써 뇌혈전증, 뇌출혈, 심부전증, 심장마비 등의 혈관계 질환에 의한 사망을 증가시키고 있으며 혈전이 원인이 되어 질병을 유발시키는 것을 혈전성 성인병 또는 혈전증이라 한다²⁾.

특히 혈관이 손상을 받아 출혈이 일어나면 체내 방어작용이 작동하게 되어 thrombin에 의해 fibrinogen이 fibrin으로

전환됨으로써 유도된다³⁾. 이렇게 생성된 혈전이 상처회복 후에는 plasmin과 같은 혈전용해효소에 의해 용해되는데, 만약 생성된 혈전이 체내에 과도하게 축적되거나 혈전용해 기작이 원활하게 작동하지 못하면 혈전을 유발하여 인체에 치명적인 손상을 줄 수도 있다⁴⁾. 이 혈관계 질환의 주 원인중 하나인 혈전을 용해하는 혈전용해제에 대한 관심이 점점 더 커지고 있으며 천연식품으로부터 혈전용해능을 가진 효소의 개발이 필요한 실정이다.

한편, 인체내의 대사과정에서 생성된 활성산소에 의한 산화 스트레스로 인하여 세포는 DNA, 단백질과 지방이 심한 손상을 받아서 질병을 유발시키고 있으며, 동맥경화, 고혈압, 당뇨병, 암 및 치매 등의 여러 질환과 노화의 중요 병인으로 알려져 있다^{5,6)}. 인체는 superoxide dismutase, catalase 등의 항산화 효소가 활성산소의 유리기를 제거함으로써 산화-항산화

*교신저자 : 박찬성, 경북 경산시 유곡동 290 대구한의대학교 한방식품조리영양학부.
· Tel : 053-819-1426, · E-mail : parkcs@dhu.ac.kr
· 접수 : 2010년 8월 6일 · 수정 : 2010년 8월 31일 · 채택 : 2010년 9월 13일

균형을 유지하여 산화적 스트레스로부터 인체를 보호하고 있으나⁷⁾ 환경 독성물질이나 흡연, 격렬한 운동 등으로 자신의 항산화효소의 방어능력을 능가하게 되면 부가적인 방어는 외인성 항산화물질의 섭취로 이루어진다⁸⁾. 최근, 항산화능이 높은 천연식품이나 한약재를 생리학적 산화-환원 항상성 조절 또는 항산화제로 이용할 수 있는 물질을 개발하여 인체의 지질과산화물을 억제하고 질병을 예방하려는 목적으로 '항산화제 치료(antioxidant therapy)' 라는 새로운 약물학적, 의학적 치료가능성을 제시할 수 있게 되었다⁹⁾.

한약재의 생리활성 물질을 탐색하여 성인병의 예방에 이용하려는 목적으로 질병에 대한 처방을 중심으로 사용한 한약재에 대한 조사로서, Kim 등¹⁰⁾은 동양의학에서 당뇨병에 대한 처방 131건을 검색하여 이 처방에 사용된 180종의 천연약재에 대하여, Park 등¹¹⁾은 암에 대한 처방으로 사용된 401종의 천연약재에 대하여 처방 순위와 사용량을 점수화 한 후, 총 처방점수(TPS)와 평균 처방점수(MPS)를 계산하여 보고하였는데 甘草, 五味子, 白朮은 당뇨와 암에 대한 처방에서 모두 총 처방점수(TPS)와 평균 처방점수(MPS)가 높은 약재이다. 紅花는 당뇨병의 처방에도 사용되었으며¹⁰⁾ 항산화능이 우수하며¹²⁾, 신생골 형성을 촉진시키고¹³⁾, 진통, 소염, 관절염 유발 억제효과¹⁴⁾ 등이 보고되고 있다.

표고버섯은 향기가 매우 좋아서 향심(香馨)이라는 한약재명이 있고 마고(蘑菇)라고도 하며 양질의 섬유질이 많은 식품으로 아무리 먹어도 독성이 없고 콜레스테롤의 체내 흡수를 억제하고 비타민 D의 모체인 에르고스테롤을 함유하여 체내에서 비타민 D로 변하여 칼슘의 흡수를 높여주므로 골다공증이나 골연화증을 예방하고 혈당을 낮추어 당뇨병에도 좋은 효과가 있다¹⁵⁾. 표고는 항산화능이 높고¹⁶⁾, 당뇨병 환자에게 미각적인 거부감이나 소화기계에 대한 부작용이 없이 혈당 및 지질대사를 개선시키는 효과가 있으며¹⁷⁾, 자궁경부암 세포에 대하여 직접적인 성장억제효과를 나타내는 것으로 보고되었다¹⁸⁾.

만성 질환이나 암치료제로 사용되는 약제들은 가격이 비싸고, 부작용이 크고 반감기가 짧은 특성이 있으나 식품섭취를 통하여 뇌졸중, 심근경색, 혈전증 등을 예방하고 개선시킬 수 있는 물질을 찾기 위한 노력이 진행중이다^{2,4)}. 생리활성이 우수한 한약제들을 이용하면 현대의학으로 치료하는 약들보다 부작용이 적고, 여러 가지 생약 성분들이 복합적으로 작용하여 상승작용을 하게 되며¹⁹⁾, 성인병을 치료하거나 예방할 수 있는 효과가 있을 것으로 예상된다. 최근에는 이러한 한약제들을 첨가한 식품으로서 紅花씨를 함유한 건강 음료¹²⁾,五味子 추출물을 첨가한 두부²⁰⁾, 표고버섯을 첨가한 진통 된장²¹⁾, 甘草분말을 첨가한 된장²²⁾ 등의 생리활성 물질을 첨가한 건강 식품을 개발하려는 시도가 점차 증가하고 있다.

본 연구는 한약재 중 항산화능이 우수하고, 고혈압, 당뇨, 암, 혈전증, 골다공증 등의 성인병 예방과 치료에 효과가 있는 것으로 알려진 紅花, 甘草, 白朮, 五味子 및 표고버섯을 물과 에탄올로 추출한 후, 각 한약재 추출물의 폴리페놀 함량, 항산화능 및 혈전용해능을 조사하여 건강 기능성 식품의 개발에 활용하기 위한 기초자료를 얻고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료 및 추출물 제조

본 실험에 사용한 한약재는 紅花(의성산), 甘草(제천산), 五味子(문경산), 白朮과 표고버섯은 국내산을 경북 영천시의 한약재 건재상(부강물산)에서 구입하여 -20℃의 냉장고에 보관하면서 추출용 시료로 사용하였으며, 증류수 1,000 mL에 100 g의 시료를 가하여 80℃에서 3시간 동안 3회 반복 추출, 여과하였다. 에탄올추출물은 70%의 에탄올 1,000 mL에 100 g의 시료를 가하여 70℃에서 3시간 동안 3회 반복 추출, 여과하였다. 각 추출물은 회전식증발농축기(EYELA, Japan)로 농축하여 동결건조한 후, -70℃의 Deep freezer에 보관하면서 기능성 실험 시료로 사용하였으며, 시료의 추출 수율은 추출전 시료의 중량에 대한 각 추출물의 동결건조 후 중량 백분율로 나타내었다.

2. 폴리페놀 함량 측정

한약재 추출물의 폴리페놀 화합물 함량은 Folin-Denis법²³⁾으로 측정 하였다. 즉 시료를 10 mg/mL 농도로 증류수에 녹인 다음 0.2 mL를 시험관에 취하고 증류수를 가하여 2 mL로 만든 후, 여기에 0.2 mL Folin-ciocalteu's phenol reagent를 첨가하여 잘 혼합한 후 3분간 실온에 방치하였다. 정확히 3분 후 Na₂CO₃ 포화용액 0.4 mL를 가하여 혼합하고 증류수를 첨가하여 4 mL로 만든 후 실온에서 1시간 방치하여 상징액을 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 폴리페놀 화합물은 tannic acid를 0, 50, 100, 150, 200 및 300 μg/mL 용액이 되도록 취하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다.

3. 추출물의 항산화능 측정

1) 전자공여능

전자공여능(electron donating ability; EDA)은 Blois의 방법²⁴⁾에 준하여 각 시료 2 mL에 0.2 mM DPPH(1-1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) 1.0 mL를 넣고 혼합하여 30분 동안 반응시킨 다음 분광광도계로서 517 nm에서 반응액의 흡광도를 측정한 후, 시료 첨가 전·후의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

2) SOD 유사활성

SOD 유사활성은 Marklund와 Marklund의 방법²⁵⁾에 따라 각 시료 0.2 mL에 Tris-HCl buffer(pH 8.5) 3 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 가하고 25℃에서 10분간 반응시킨 후 1N HCl 1 mL로 반응을 정지시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하여 시료용액의 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

3) 아질산염 소거능

아질산염 소거작용(nitrite scavenging ability; NSA) 측정은 Kato 등의 방법²⁶⁾에 준하였다. 즉, 1 mM NaNO₂ 용액 2 mL에 각 시료 추출물 1 mL를 가하고, 0.2 M 구연산 완

층액으로 반응용액의 pH를 각각 pH 1.2, 3.0, 6.0으로 보정한 다음 반응용액의 부피를 10 mL로 하였다. 이 용액을 37 °C에서 1시간 반응시킨 후 각 반응액 1 mL를 취하여 Griess 시약(1% sulfanilic acid : 1 % naphthylamine = 1 : 1) 0.4 mL를 가한 후 혼합하여 실온에서 15분간 방치 후 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염의 백분율로 나타내었으며 공시험은 Griess 시약 대신 증류수를 가하여 동일하게 행하였다.

4. 혈전용해능 측정

혈전용해능은 fibrin plate법²⁷⁾을 약간 수정하여 측정하였다. 0.01 M phosphate buffered saline(pH 7.25)에 fibrinogen을 0.5%가 되도록 용해시킨 후 petridish에 10 mL를 분주하고 thrombin 10 unit를 가하여 균일한 두께의 fibrin clot를 형성시킨 후 실온에서 1시간 방치하여 fibrin plate를 제조하였다. 혈전용해 효소활성은 직경 8 mm의 paper disc를 제조한 fibrin plate에 놓고 각 농도의 오미자 추출물 20 μL를 가하여 37°C에서 12시간동안 반응시킨 후, 생성된 투명한 부위의 직경을 측정하여 면적을 계산하였으며, 이때 대조구는 plasmin(Sigma, St Louis, MO, USA)을 농도별로 조제하여 사용하였다. 오미자 추출액의 혈전용해능은 plasmin의 농도별 fibrin 용해면적을 기준으로 작성한 표준곡선에 대하여 추출시료의 fibrin 용해면적의 상대적 비율로서 계산하였다.

5. 통계처리

본 실험에서 얻어진 결과는 SPSS 통계분석 프로그램 (version 12.0)을 이용하여 평균치와 표준오차를 산출하였으며, one way ANOVA test 및 Duncan's multiple range test를 통하여 각 데이터 구간에 유의적인 차이를 분석하였다.

결 과

1. 추출물의 수율

실험에 사용한 5종류의 한약재 추출수율은 Table 1과 같으며 물추출물은 白朮의 추출수율이 53.64%로 가장 높았고 다음은 표고버섯(38.12%), 五味子(31.54%), 甘草(24.36%)의 순이었으며 紅花가 7.89%로 가장 낮았다. 한편, 에탄올추출물의 수율은 五味子が 32.64%로 가장 높았으며, 甘草와 표고버섯은 각각 28.33, 27.23%로서 비슷한 수율이었고, 다음은 白朮이 24.26%였으며 紅花는 6.84%로서 5종류의 한약재 중에서 물과 에탄올 추출물 모두 가장 낮은 수율이었다.

Table 1. Yields of water and ethanol extracts from medicinal plants. (%)

Medicinal plants	Symbol	Yield	
		Water	Ethanol
<i>Carthamus tinctorius</i> L.	CT	7.89	6.84
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> F.	GU	24.36	28.33
<i>Schizandra chinensis</i> B.	SC	31.54	32.64
<i>Atractylodes macrocephala</i> K.	AM	53.64	24.26
<i>Lentinus edodes</i> S.	LE	38.12	27.23

2. 폴리페놀 함량

Table 2는 한약재 추출물의 총 폴리페놀 함량으로서, 물추출물의 폴리페놀 함량은 한약재 100 g당 紅花가 812.5 mg으로 가장 높았으며 다음은 五味子が 523.46 mg이었으며 白朮과 甘草가 200~250 mg이었으나 표고버섯은 48.23 mg으로 가장 함량이 낮았다. 에탄올추출물은 한약재 100 g당 五味子が 685.4 mg으로 가장 높았고, 다음은 紅花가 510.10 mg이었으며 甘草와 白朮은 각각 171.22, 126.16 mg으로 유의적 차이가 없었으며 물추출물에서 폴리페놀함량이 가장 낮았던 표고버섯이 46.26 mg으로 유의적으로 낮은 편이었다.

Table 2. Polyphenol contents of water and ethanol extracts from medicinal plants.

Medicinal plants	Extract	
	Water	Ethanol
<i>Carthamus tinctorius</i> L.	812.52±10.12 ^a	510.10±3.56 ^b
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> F.	251.33±3.26 ^c	171.22±2.64 ^c
<i>Schizandra chinensis</i> B.	523.46±3.48 ^b	685.44±4.36 ^a
<i>Atractylodes macrocephala</i> K.	208.13±1.46 ^c	126.16±1.43 ^c
<i>Lentinus edodes</i> S.	48.23±0.89 ^e	46.26±0.32 ^d

The values represent the Mean±SD for triplicate experiments. *In each column, different superscripts are significantly different at p<0.05.

3. 한약재 추출물의 항산화능

1) 전자공여능

Fig. 1은 한약재 물추출물의 전자공여능으로서, 1,000 μg/g 농도에서 물추출물은 紅花, 甘草, 五味子, 白朮이 모두 유의적인 차이 없이 90%에 가까운 전자공여능을 보였으며 白朮의 경우에는 500 μg/g에서도 85% 이상의 전자공여능으로서 다른 한약재 1,000 μg/g과 유의적인 차이 없이 높은 활성을 나타내었다. 그러나 표고버섯 물추출물의 전자공여능은 1,000 μg/g에서 76%로서 다른 한약재 추출물들에 비하여는 약간 낮은 편이지만 활성이 우수한 편이었으며 甘草와 五味子は 500 μg/g에서도 70% 이상의 높은 활성을 나타내었다.

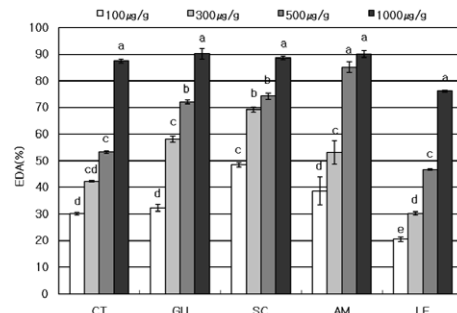


Fig. 1. Electron donating ability of water extracts from medicinal plants. CT, GU, SC, AM and LE: See the legend in Table 1. The values represent the Mean±SD for triplicate experiments and those with different alphabetical letters are significantly different at p<0.05.

한약재 에탄올추출물의 전자공여능은 Fig. 2와 같으며, 한약재 에탄올추출물의 전자공여능은 1,000 μ g/g 농도에서 紅花, 甘草, 五味子, 白朮이 모두 유의적인 차이없이 90% 이상의 전자공여능을 보였으며, 甘草, 五味子, 白朮의 경우에는 500 μ g/g에서도 90%에 가까운 전자공여능으로서 물추출물보다 높은 편이었으며 표고버섯 물추출물의 전자공여능은 1,000 μ g/g에서 80% 이상으로서 역시 물추출물에 비하여 활성이 우수한 편이었다.

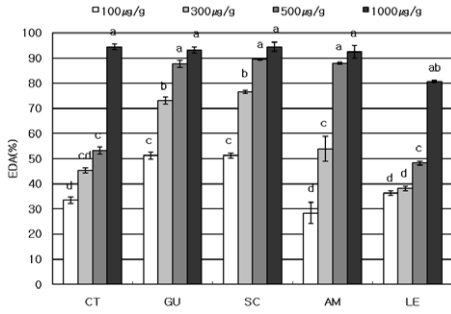


Fig. 2. Electron donating ability of ethanol extracts from medicinal plants. CT, GU, SC, AM and LE: See the legend in Table 1. The values represent the Mean \pm SD for triplicate experiments and those with different alphabetical letters are significantly different at $p < 0.05$.

2) SOD 유사활성

한약재 물추출물의 SOD 유사활성은 Fig. 3과 같으며 5,00 μ g/g과 1,000 μ g/g에서 五味子の 활성은 38.45 \pm 1.21, 43.56 \pm 0.65%로서 다른 한약재 추출물 1,000 μ g/g에 비하여 활성이 유의적으로 높았다($p < 0.05$). 甘草, 白朮, 표고버섯 물추출물은 1,000 μ g/g에서 30~33%로서 비슷한 활성이었으며 紅花는 24.25 \pm 0.74%로 가장 SOD 유사활성이 가장 낮았다.

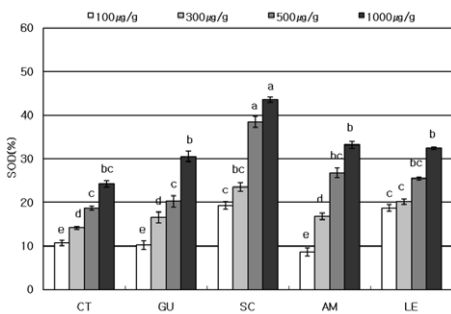


Fig. 3. SOD-like activity of water extract from medicinal plants. CT, GU, SC, AM and LE: See the legend in Table 1. The values represent the Mean \pm SD for triplicate experiments and those with different alphabetical letters are significantly different at $p < 0.05$.

한약재 에탄올추출물의 SOD 유사활성은 Fig. 4와 같으며, 五味子が 1,000 μ g/g에서 47.23 \pm 1.84%로서 다른 한약재 추출물에 비하여 유의적으로 활성이 컸으며($p < 0.05$), 500 μ g/g에서도 약 40%의 활성을 나타내어 다른 한약재 추출물 1,000 μ g/g보다 높은 활성을 나타내었다. 나머지 한약재 에탄올추출물 1,000 μ g/g의 SOD 유사활성은 白朮(38.25 \pm 1.02%), 甘草(35.26 \pm 1.05%), 표고버섯(30.56 \pm

0.46%), 紅花(28.69 \pm 1.20%)의 순이었다. 전반적으로 표고버섯을 제외한 나머지 4종류의 한약재는 에탄올 추출물의 활성이 물추출물에 비하여 3~4% 높은 편이었다.

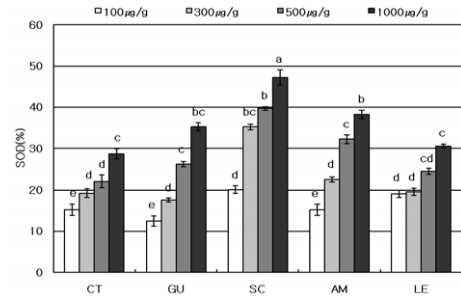


Fig. 4. SOD-like activity of ethanol extract from medicinal plants. CT, GU, SC, AM and LE: See the legend in Table 1. The values represent the Mean \pm SD for triplicate experiments and those with different alphabetical letters are significantly different at $p < 0.05$.

3) 아질산염 소거능

Fig. 5는 한약재 물추출물의 pH 1.2에서 아질산염 소거능을 나타낸 것으로서 1,000 μ g/g에서 五味子が 62.36 \pm 0.65%로 다른 한약재 추출물에 비하여 가장 높은 소거능을 나타내었으며 300 μ g/g과 500 μ g/g에서도 47.23 \pm 0.99%, 50.23 \pm 1.21%로서 나머지 4종류의 한약재 추출물 1,000 μ g/g보다 유의적으로 높은 활성이었다 ($p < 0.05$). 다음은 표고버섯 물추출물이 1,000 μ g/g에서 40.12 \pm 0.31%로 높았으며 紅花, 甘草, 白朮 물추출물의 아질산염 소거능은 25~28%로서 五味子和 표고버섯 추출물에 비하여 유의적으로 낮았다.

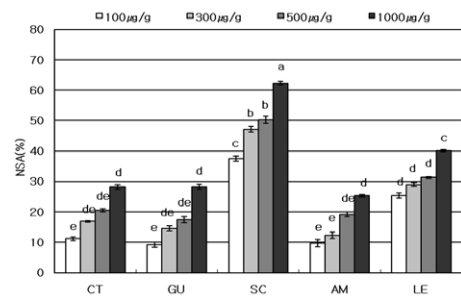


Fig. 5. Nitrite scavenging ability of water extract from medicinal plants at pH 1.2. CT, GU, SC, AM and LE: See the legend in Table 1. The values represent the Mean \pm SD for triplicate experiments and those with different alphabetical letters are significantly different at $p < 0.05$.

한약재 에탄올추출물의 pH 1.2에서 아질산염 소거능은 Fig. 6과 같으며, 1,000 μ g/g에서 五味子が 66.89 \pm 1.84%로 가장 높은 활성을 나타내었으며, 五味子 추출물 100, 300, 500 μ g/g에서도 각각 47.66 \pm 0.89, 53.12 \pm 0.66, 59.56 \pm 0.39%로서 추출물의 농도에 비례하여 증가하였으며 물추출물보다 4~9% 높은 활성을 보였으며 나머지 4종류의 한약재 추출물 1,000 μ g/g보다 유의적으로 높은 활성을 나타내었다($p < 0.05$). 각 한약재 추출물 1,000 μ g/g의 아질산염 소거능은 표고버섯 35.25 \pm 0.46%, 紅花와 白朮이 약 27%로 비슷하였으며 甘草는 약 15%로 가장 낮은 활성을 보였다.

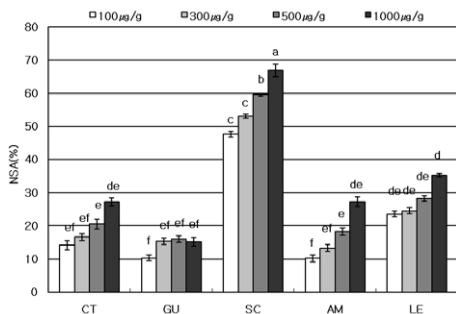


Fig. 6. Nitrite scavenging ability of ethanol extract from medicinal plants at pH 1.2. CT, GU, SC, AM and LE: See the legend in Table 1. The values represent the Mean±SD for triplicate experiments and those with different alphabetical letters are significantly different at p<0.05.

4. 한약재 추출물의 혈전용해능

5종류의 한약재 추출물(5.0%)과 plasmin의 농도(0-1.0 unit)별로 fibrn plate상에서 혈전용해에 의해 형성된 투명한 Fig. 7과 같으며 투명환이 타원형인 경우에는 긴 지름과 짧은 지름을 평균하여 면적을 계산하였다. Fig. 8은 plasmin의 투명한 면적을 기준으로 작성한 표준곡선으로서 이로부터 도출된 추출물의 상대적인 혈전용해능을 계산한 식은 다음과 같다($r^2=0.896$).

$$\text{Fibrinolytic activity (Unit)} = 0.002 \times S - 0.0967$$

S : Lyzed zone의 면적(mm²)

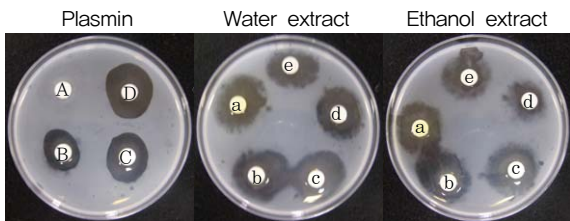


Fig. 7. Fibrinolytic activity of medicinal plant extracts. Plasmin (Unit); A: 0 Unit, B: 0.25 Unit, C: 0.5 Unit, D: 1.0 Unit Medicinal plants; a: *Glycyrrhiza uralensis*, b: *Schizandra chinensis*, c: *Carthamus tinctorius*, d: *Lentinus edodes*, e: *Atractylodes macrocephala*

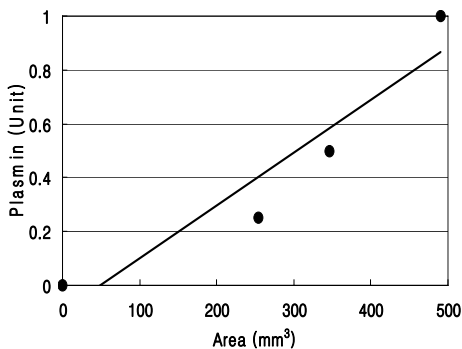


Fig. 8. Standard curve of fibrinolytic activity from plasmin.

각 한약재 추출물에 의한 투명환의 면적을 Fig. 8의 표준 곡선을 기준으로 계산한 혈전용해능을 plasmin의 양으로 환산한 결과는 Table 3과 같다. 본 실험에 사용한 각 한약재

추출물 농도는 5%로서,五味子の 물추출물의 혈전용해능은 plasmin 0.678 unit에 해당하는 활성으로서 혈전용해능이 다른 한약재에 비하여 가장 컸으며, 甘草, 紅花, 표고버섯 추출물이 0.455 unit로서 같은 활성이었고, 白朮 물추출물은 0.323 unit로서 5종류의 한약재 추출물 중에서 혈전용해능이 가장 낮았다.

한편, 에탄올추출물은五味子 추출물이 plasmin 0.678 unit에 해당되는 활성으로서 물추출물과 동일한 활성이었으며, 다음은 紅花 추출물 0.528, 甘草 0.455, 白朮 0.323 unit의 순이었고, 표고버섯 추출물은 0.050 unit의 활성으로 가장 낮았다. 각 한약재의 물추출물과 에탄올 추출물의 활성은 甘草,五味子, 白朮은 두 추출물에서 혈전용해능의 차이가 없었으나, 紅花는 에탄올추출물에서 활성이 큰 반면에 표고는 물추출물에서 큰 활성을 나타내어 추출용매에 따라 혈전용해능에 상당한 차이를 나타내었다.

Table 3. Fibrinolytic activity of medicinal plants extracts.

Medicinal plants	Water extract	Ethanol extract
	Fibrinolytic activity (plasmin unit/mL) ¹⁾	Fibrinolytic activity (plasmin unit/mL) ¹⁾
<i>Carthamus tinctorius</i> L.	0.455	0.528
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> F.	0.455	0.455
<i>Schizandra chinensis</i> B.	0.678	0.678
<i>Atractylodes macrocephala</i> K.	0.323	0.323
<i>Lentinus edodes</i> S.	0.455	0.050

¹⁾ Fibrinolytic activity was calculated from Fig. 8.

고 찰

인체내의 대사과정에서 생성된 활성산소에 의한 산화스트레스는 세포의 DNA, 단백질과 지방이 심한 손상을 받아서 노화와 관련된 각종 퇴행성 질환과 심혈관계 질환의 원인이 되고 있으며 동맥경화, 당뇨병, 관절염 및 치매 등의 원인으로서는 비만과 만성퇴행성 질환의 발병 기전 역시 산화적 스트레스 측면에서 연구가 이루어 지고 있다²⁸⁾. 심혈관질환은 전 세계적으로 대표적인 사망원인중 하나로서, 뇌혈전증, 뇌출혈, 심부전증, 심장마비 등의 혈관계 질환에 의한 사망을 증가시키고 있다²⁾.

인체는 superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase 등의 항산화 효소가 활성산소의 유리기를 제거함으로써 산화적 스트레스로부터 인체를 보호하고 있으나⁷⁾ 활성산소가 자신의 항산화효소의 방어능력을 능가하게 되면 외부로부터 항산화물질의 섭취로 부가적인 방어가 이루어져야 한다⁸⁾.

퇴행성 신경 질환을 치료하기 위해서 항산화물 처리, 세포 이식 등의 다양한 치료법이 제시되고 있지만 대부분이 위험요소와 부작용을 나타내고 있어 신경세포의 손상을 보호하는 치료제는 개발되지 못하고 있는 실정이다²⁹⁾. 현재까지 혈전증의 치료제로는 streptokinase, urokinase 등이 사용되고 있으나 반감기가 짧으며 가격이 비싼 문제점을 가지고 있어서 식품의 섭취를 통하여 뇌졸중, 심근경색, 혈전증 등을 미연에 방지하거나 개선시킬 수 있는 새로운 물질을 찾기 위한 노력이 진행

중이다³⁰⁾.

최근, 대체의학에 대한 관심이 고조되면서 항산화능이 높은 천연식품이나 한약재를 생리학적 산화-환원 항상성 조절 또는 항산화제로 이용할 수 있는 물질을 개발하여 인체내의 지질과산화물 억제하고 질병을 예방하려는 목적으로 '항산화제 치료(antioxidant therapy)' 라는 새로운 약물학적, 의학적 치료가능성을 제시할 수 있게 되었다⁹⁾. 한약재로는 이전부터 오랫동안 여러 가지 동양의학서에서 당뇨병과 암에 대한 처방으로 많이 사용되었으며 오랫동안 섭취하여 안전성이 입증된 약재를 중심으로 성인병의 예방과 치료를 목적으로 항산화능에 대한연구가 활기를 띄게 되었다.

이러한 관점에서 본 연구는 한약재 중 항산화능이 우수하고, 고혈압, 당뇨, 암, 혈전증, 골다공증 등의 성인병 예방과 치료에 효과가 있는 것으로 알려진 5종류의 한약재(紅花, 甘草, 五味子, 白朮 및 표고버섯)를 물과 에탄올로 추출한 후, 각 한약재 추출물의 폴리페놀 함량, 항산화능 및 혈전용해능을 조사하여 건강 기능성 식품의 개발에 활용하기 위한 기초 자료를 얻고자 실험하였다. 실험에 사용한 약재 중 甘草, 五味子, 白朮은 당뇨와 암에 대한 처방에서 모두 총 처방점수(TPS)와 평균 처방점수(MPS)가 높은 약재로서^{10,11)} 항산화작용^{31,32)}, 항암작용^{33,34)}이 큰 것으로 보고되었다. 그리고 紅花는 항산화능이 우수하며¹²⁾, 신생골 형성을 촉진시키고¹³⁾, 진통, 소염, 관절염 유발 억제효과¹⁴⁾ 등이 보고 되었다. 표고버섯은 골다공증이나 골연화증을 예방하고 당뇨병에도 좋은 효과가 있으며^{15,17)} 표고는 항산화능이 높고¹⁶⁾, 자궁경부암 세포에 대하여 직접적인 종양세포주 성장억제 효과를 나타내는 것으로 보고되고 있다¹⁸⁾.

본 연구 결과에서 한약재의 폴리페놀 함량은 물과 에탄올 추출물에서 紅花와 五味子が 모두 한약재 100 g당 500 mg 이상으로 함량이 높아서 다양한 생리활성작용이 있을 것으로 생각된다. 각 한약재 추출물 1,000 μ g/g의 전자공여능은 표고버섯을 제외한 4종류의 한약재 물추출물에서 약 90%의 활성이 있었으며 에탄올추출물은 물추출물보다 더 높은 활성을 나타내었다. SOD 유사활성과 아질산염소거능은 五味子の 추출물에서 다른 한약재보다 월등히 높은 높은 활성이 있었으며 ($p < 0.05$), 물추출물보다는 에탄올추출물에서 높은 활성을 보였다. 실험에 사용한 5종류의 한약재는 모두 혈전용해능이 있었으며, 특히 甘草는 다른 한약재들보다 혈전용해능이 우수하였으며, 紅花, 甘草, 표고는 물과 에탄올 추출물간에 활성의 차이가 없었으나 五味子是 에탄올추출물, 白朮은 물추출물의 혈전용해능이 더 우수하였다.

생리활성이 우수한 한약재의 이용은 직접 종양세포에 작용하는 항암효과를 나타낸다는 보고¹⁸⁾와 간접적으로 면역체계의 기능을 활성화시켜 간접적으로 macrophage의 활성화 및 인터페론 생성촉진 등에 의한 항암효과도 보고되고 있으며 무엇보다도 화학요법중인 암환자의 불면증, 식욕부진, 불안감 등을 감소시켜 삶의 질을 증가시키는 것으로 보고되고 있다³⁵⁾. 이러한 의미에서 최근에 개발되고 있는 한약재를 첨가하는 식품으로서 五味子 추출물을 첨가한 두부²⁰⁾, 표고버섯, 甘草를 첨가한 전통 된장^{21,22)} 등은 일상적으로 섭취하는 식품으로서 다량 섭취하여도 부작용이 없을 뿐만 아니라 한약재와 식품 재료간의 생리활성 물질의 복합적인 작용으로 건강식품의 가치가 더욱 증가할 것으로 생각된다.

본 실험 결과에서 한약재의 추출시에 사용하는 추출 용매에 따른 생리활성은 추출용매에 따라 차이를 나타내고 있는데, Kim 등³²⁾은 甘草 에탄올추출물의 항산화능이 높다고 보고하여 본 연구결과와 유사한 결과를 보고하였다. 그러나 Yoon 등¹⁹⁾은 甘草의 추출용매별 항염증 연구에서, 메탄올추출물이 물, 에탄올, hexane 추출물에 비하여 월등히 높은 효능이 있음을 보고하였고 Park 등¹⁸⁾은 표고버섯의 물, 에탄올, isopropanol 및 acetone 추출물로 자궁경부암 동물세포에 대한 성장억제효과를 조사한 결과에서 물추출물이 세포성장을 직접 억제하는 것으로 보고하였다. 이러한 결과들로 미루어 볼때, 각 한약재의 추출용매와 여러 가지 생리활성에 관한 연구는 대단히 중요한 과제로서 앞으로도 지속적인 연구가 필요하며 각 추출물들의 열안정성도 함께 연구되어야 할 것으로 생각된다. 본 실험결과를 종합해 볼때, 실험에 사용한 한약재들은 높은 항산화 활성과 혈전용해능을 나타냄으로써 성인병 예방과 치료를 위한 건강식품 개발을 위하여 유용한 소재로 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

결론

본 연구의 목적은 항산화활성을 가진 건강식품소재 개발하기 위하여 5종류의 한약재(紅花, 甘草, 五味子, 白朮, 표고버섯)를 물과 70% 에탄올로 추출한 후, 각 추출물의 폴리페놀 함량, 항산화능과 혈전용해능을 측정하였다. 한약재 100 g 중의 폴리페놀 함량은 물추출물에서는 紅花가 812.52 mg, 에탄올추출물에서는 五味子が 685.44 mg으로 가장 높았다. 각 한약재 추출물 1,000 μ g/g 농도의 전자공여능은 표고버섯을 제외한 4종류의 한약재 물추출물에서 약 90%의 활성이 있었으며 에탄올추출물은 물추출물보다 더 높은 활성을 나타내었다. SOD 유사활성과 아질산염소거능은 五味子の 물과 에탄올추출물에서 다른 한약재보다 월등히 높은 높은 활성이 있었다($p < 0.05$). 실험에 사용한 5종류의 한약재는 모두 혈전용해능이 있었으며, 특히 甘草는 다른 한약재들보다 높은 활성을 나타내었다. 본 실험결과로 볼때, 실험에 사용한 한약재들은 높은 항산화 활성과 혈전용해능을 나타냄으로써 건강식품 개발에서유용한 소재로 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

참고문헌

- 통계청(2009) : 사망원인통계(전국편, 2008년)
http://www.kosis.kr/nsportal/ups/ups_01List01.jsp?pubcode=YD
- Kwon SJ, Lim CY, Kim JS, Park MH, Lee SY. Fibrinolytic activities and effects of gamma-irradiated on seeds from *Coix Lacryma-jobi* L., *Carthamus tinctorius* L. and *Malva verticillata* L. Korean J Biotechnol Bioeng. 2006;21(1):20-27.
- Marks D, Marks A, Smith C. Basic medical biochemistry. Baltimore, Wilkins & Wilkins, 1996:107.
- Kim SH, Choi NS, Lee WY, Lee JW and Kim DH

- Isolation of *Bacillus* strains secreting fibrinolytic enzymes from Doen-Jang. Korean J Microbiol. 1998;34(2):87-90.
5. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. Nature, 2002;408: 239-247.
 6. Martindale JL, Holbrook NJ. Cellular response to oxidative stress: signaling for suicide and survival. J Cell Physiol. 2002;192:1-15.
 7. Ji LL. Antioxidant enzyme response to exercise and aging. Med Sci Sport Exercise. 1993;25(2):225-231.
 8. Seo CJ, Yi SM, Ko YW. The effect of antioxidant supplement on the activity of SOD, CAT and MDA in high intensity aerobic exercise. J Kor Sport Res. 2007;18(2):21-31.
 9. Burton GW, Taber MG. Vitamin E : antioxidant activity, biokinetics, and bioavailability. Annu Rev. 1990;10:357-382.
 10. Kim DH, Kang YG, Kim H, Chae HJ. Investigation of antidiabetic medicinal plants using an oriental medicinal database. Korean J Biotechnol Bioeng. 2004;19(2):125-131.
 11. Park KH, Kim SY, Chae HJ. Selection of oriental medicinal plants for screening of anticancer agents. Korean J Biotechnol Bioeng. 2007;22(3): 139-145.
 12. Kim JH, Park JH, Park SD, Choi SY, Seong JH, Moon KD. Preparation and antioxidant activity of health drink with extract powders from safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed. Korean J Food Sci Technol. 2002;34(4):617-624.
 13. Kim KW, Suh SJ, Lee TK, Ha KT, Kim JK, Kim KH, Kim DI, Jeon JH, Moon TC, Kim CH. Effect of safflower seeds supplementation on stimulation of the proliferation, differentiation and mineralization of osteoblastic MC3T3-E1 cells. J Ethnopharmacology. 2008;115(1) 42-49.
 14. Seo BI, Lee ES, Park JH, Kim SC, Byun BH, Choi HY. A efficacy of Korean and Chinese *Carthami Semen* on analgesic effect, anti - inflammation and arthritis. Kor. J Herbology. 2001;16(1):1-10.
 15. 서부일, 변부형, 신순식, 김봉현. 한방식품학. 대구:벤엘 기획. 2003;265-267.
 16. Kim CH, Jeong JG. Antioxidant activities and the effect of reducing serum alcohol concentration of *Lentinus edodes*. Kor. J Herbology. 2009;24(4): 159-164.
 17. Chang JH, Kim MS, Kim JY, Choi WH, Lee SS. Effects of mushroom supplementation on blood glucose concentration, lipid profile, and antioxidant enzyme activities in patients with type 2 diabetes mellitus. Korean J Nutr. 2007;40(4): 327-333.
 18. Park JM, Lee SH, Kim JO, Park HJ, Park JB, Sin JI. *In vitro* and *in vivo* effects of extracts of *Lentinus edodes* on tumor growth in a human Papillomavirus 16 Oncogenes-transformed animal tumor model - Apoptosis-mediated tumor cell growth inhibition. Korean J Food Sci Technol. 2004;36(1):141-146.
 19. Yoon TS, Cheon MS, Kim SJ, Lee AY, Moon BC, Chun JM, Choo BK, Kim HK. Evaluation of solvent extraction on the anti-inflammatory efficacy of *Glycyrrhiza uralensis*. Korean J Medicinal Crop Sci. 2010;18(1):28-33.
 20. Kim JS, Choi SY. Quality characteristics of soybean curd with Omija extract. Korean J Food & Nutr. 2008;21(1):43-50.
 21. Choi SY, Sung NJ, Kim HJ. Physicochemical characteristics of traditional Doenjang with added *Lentinus edodes*. Korean J Food Cookery Sci. 2006;22(1):69-79.
 22. Kim ML, Park EJ, Jeong JS. Sensory characteristics of Doenjang with added *Licorice* powder as assessed by response surface methodology. Korean J Food Cookery Sci. 2010;26(1):62-71
 23. AOAC. Official method of analysis, 15th ed. Association of official analytical chemists, Washington D.C. USA, 1990.
 24. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature. 1958;26:1198.
 25. Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur. J. Biochem. 1974;47:469-474.
 26. Kato H, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. Agric. Biol. Chem. 1987;51:1333.
 27. Astrup TS, Mullertz S. The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity. Arch Biochim Biophys. 1952;40:346-351.
 28. Lee DH. A study on SOD activity and serum antioxidant mineral concentrations in obese adolescents. Kor J Nutr. 2007;40(1):41-48.
 29. Yoon MY, Lee BB, Kim JY, Kim YS, Park EJ, Lee SC, Park HR. Antioxidant activity and neuroprotective effect of *Psoralea corylifolia* Linne extracts. Kor J Pharmacogn. 2007;38(1):84-89.
 30. Kim SS, Lee JH, An YS, Kim JH, Kang DG. A fibrinolytic enzyme from *Bacillus amyloliquefaciens* D4-7 isolated from Chungkook-Jang; It's characterization and influence of additives on thermostability. Korean J Microbiol Biotechnol. 2003;31(3):271-276.

31. Kim SI, Sim KH, Ju SY, Han YS. A Study on antioxidative and hypoglycemic activities of Omija(*Schizandra chinensis* Baillon) extract under variable extract conditions. Korean J Food & Nutr. 2009;22(1):41-47.
32. Kim SJ, Kweon DH, Lee JH. Investigation of antioxidative activity and stability of ethanol extracts of *Licorice* root (*Glycyrrhiza glabra*). Korean J Food Sci Technol. 2006;38(4):584-588.
33. Rho SN, Oh HS. Effect of Omija(*Schizandra Chinensis* Baillon) extracts on the growth of liver cancer cell line SNU - 398. Korean J Nutr. 2002;35(2):201-206
34. Lee SO, Seo JH, Lee JW, Yoo MY, Kwon JW, Choi SU, Kang JS, Kwon DY, Kim YK, Kim YS, Ryu SY. Inhibitory effects of the *Rhizome* extract of *Atractylodes japonica* on the proliferation of human tumor cell lines. Korean J Pharmacogn. 2005;36(3):201-204.
35. Kimura Y, Iijima S, Kato T, Tsujie M, Naoi Y, Hayashi T, Tanigawa T, Yamamoto H, Kurokawa E, Kikkawa N, Matsumura N. Usefulness of TS-1 and lentinan combination immunotherapy in advanced or recurrent gastric cancer—pilot study aiming at a randomized trial. Gan To Kagaku Ryoho. 2003;30:1125-1130.