

## 국내산 주요 갈조류 추출물의 항혈액응고 활성

김영명\* · 김동수 · 최용석  
한국식품연구원

## Anticoagulant Activities of Brown Seaweed Extracts in Korea

Young Myoung Kim\*, Dong-Soo Kim, and Yong-Suk Choi  
Korea Food Research Institute

Effects of extraction conditions and molecular fractionation on anticoagulant activities of major brown seaweeds in Korea were investigated. Hot water extracts of *C. costata*, *U. pinnatifida* (Sporophyte), *L. japonica*, *K. crassifolia*, *E. stolonifera*, *E. bicyclis*, *S. horneri*, and *E. kurome* increased activated partial thromboplastin time (APTT) over 190 seconds, which may be related to intrinsic pathway of blood coagulation. Hot water extract of *E. Kurome* (EKJ) was further fractionated by ethanol precipitation. EKJ-eim, ethanol-insoluble material of EKJ, showed higher anticoagulant activity than EKJ. EKJ-eim was further fractionated with ultrafiltration. EKJ-eim 1, (over 100 kDa) fraction showed higher APTT activity than EKJ-eim. A EKJ-eim 1 was sulfated polysaccharide consisting of fucose, xylose, mannose, galactose, glucose and, sulfate at molar ratio of 1 : 0.05 : 0.10 : 0.15 : 0.17 : 1.46. The anticoagulant activity increased as sulfate content and molecular weight increased.

**Key words:** brown seaweed, *Ecklonia kurome*, anticoagulant activity, blood coagulation, APTT

### 서 론

해조는 오래 전부터 주로 한국, 일본 등 극동 아시아 지역에서 식용으로 즐겨 이용되어 왔으며, 유럽에서는 극히 일부분의 식용 소비 외에 대부분은 식품첨가물이나 공업용 다당류의 원료, 비료 또는 사료의 원료로 이용되어온 실정이었다. 그러나 근래에 해조에 풍부하게 함유되어 있는 기능성 다당 및 생리 활성 물질에 대한 관심이 고조되면서 해조에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(1). 해조 중 갈조류의 주성분은 다당류로서 cellulose와 같은 구조다당과 세포간 점질 다당인 alginic acid, fucoidan 등이 있으며, 저장다당으로는 주로  $\beta$ -1,3 결합으로 이루어진 laminaran이 있다. 이 중에서 fucoidan과 laminaran은 항종양활성 및 항혈액응고 활성이 우수한 것으로 보고되고 있다(2,3).

근래에 경제 수준이 향상되고 식생활의 서구화와 운동부족으로 인해 심부전, 심근경색, 뇌출혈, 뇌혈전, 동맥경화, 협심증 등의 혈액순환 장애 환자가 증가하는 추세이다(4). 생체 내에서 혈액응고 반응은 혈액 응고계의 어느 한 요소에 의해 억제 또는 방해작용을 가지는 외래성 항응고제에 의해서 효과적으로 저해될 수 있어서 심장질환 및 성인병의 예방 및 치료에 관

한 항혈액응고활성에 대한 연구가 진행되고 있다(5).

기존의 항혈액응고제로서는 거머리에서 분리한 heparin, 소의 심장이나 돼지의 소장에서 추출한 hirudin, 유기 합성 제제인 coumarin 그리고 polysine, protamine, 견사에서 추출한 단백질 등이 있다(6). 이 중에서 임상적으로 많이 사용되는 heparin은 생산 단가가 비싸고, 장기간 사용시 혈소판의 감소와 출혈, 골다공증의 부작용이 있으며, 반감기가 1-2시간으로 매우 짧은 단점이 있는 것으로 알려지고 있으며(7), 이러한 기존 항혈액응고 활성 소재의 문제점 해결을 위한 시도로서 천연물 또는 전통 약물소재로부터 항혈액응고 물질에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(8).

이와 관련하여 본 연구에서는 국내산 주요 해조류로부터 혈액순환 개선소재 개발 연구의 일환으로 갈조류를 중심으로 항혈액응고 물질을 추출 용매를 달리하여 추출·검색하였으며, 그 중에서 비교적 활성이 높았던 미역, 다시마, 감태, 곰피, 대황, 툇, 팽생이 모자반을 추출온도를 달리하면서 추출하여 활성을 조사하였으며, 활성이 우수한 감태 추출물을 분자량별로 분획하여 항혈액응고 활성 및 화학적 성분조성을 살펴보았다.

### 재료 및 방법

#### 재료

본 실험에 사용한 시료는 국내에 자생 또는 양식되는 갈조류를 중심으로 전국에서 생시료를 구입하여 부착물을 제거한 후 수세, 건조 후 분쇄한 다음 밀봉 보관하여 두고 실험에 사용하였다.

\*Corresponding author: Young Myoung Kim, Korea Food Research Institute, San 46-1, Baekhyun-dong, Bundang-gu, Seongnam, 463-420, Korea  
Tel: 82-31-780-9009  
Fax: 82-31-780-9099  
E-mail: ymkim@kfri.re.kr

**항혈액응고 활성 물질 추출**

주요 갈조류에 들어 있는 항응고 활성 물질을 추출하기 위하여 추출 용매를 각각 달리하면서 추출하였다. 먼저 열수 추출은 분쇄 시료에 15배의 증류수를 가하고 100°C에서 2시간 교반하면서 추출하였다. 그리고 이 추출물을 여과(Whatman No. 41)후 감압 농축한 다음 동결 건조하여 열수추출물을 얻었다. 에탄올 추출 및 메탄올 추출은 각각의 분쇄 시료 15 g에 200 mL의 각각의 용매를 가한 후 80°C에서 4시간 환류 추출하였다. 그리고 추출물은 여과 후 동결 건조하여 각각의 에탄올 추출물과 메탄올 추출물을 얻었다.

주요 갈조류에서 추출한 물질 중에서 산지 및 구입 용이성, 가격 등을 고려하여 비교적 활성이 좋았던 미역(UPU), 다시마(LJW), 감태(EKJ), 대황(EBU), 툃(HFW), 팽새이 모자반(SHY), 곰피(ESB) 등 7종의 시료는 다시 열수추출 온도와 에탄올 추출 농도를 달리하면서 추출하였다. 즉, 온도별 추출은 시료에 15배의 증류수를 가하고 추출온도를 30-100°C로 달리하면서 2시간 추출한 다음 2겹의 여과지로 여과한 후 여액을 투석한 후 동결 건조하여 추출온도별 추출물을 얻었다. 에탄올 농도별 추출은 에탄올 농도를 50-100%로 달리하면서 환류 추출 후 투석, 동결 건조하여 에탄올 농도별 추출물을 얻었다.

**에탄올 정제 및 분자량별 분획**

추출온도별 열수추출물 중에서 항혈액응고 활성이 높았던 90°C에서 추출한 다시마(LJW)와 감태(EKJ)를 3배량의 에탄올로 침전시키고 원심분리(3,000×g 10 min)하여 에탄올 가용성 물질(ethanol soluble material, esm)과 불용성 물질(ethanol insoluble material, eim)로 나누었다. 그리고 활성이 높은 EKJ-eim은 1%(w/v, 증류수) 농도로 용해한 다음 한외여과기(ultrafilter cell, Amicon 8400)를 사용하여 분자량별(100 kDa 이상, eim 1; 100-50 kDa, eim 2; 50-10 kDa, eim 3)로 분획한 후 동결 건조하여 분자량별 분획물을 얻었다.

**항혈액응고 활성 측정**

항혈액응고 활성 중 내인성 경로(intrinsic pathway)에 기인하는 활성트롬보 플라스틴 시간(activated partial thromboplastin time; APTT)과 외인성 경로(extrinsic pathway)에 기인하는 프로트롬빈 시간(prothrombin time; PT)은 혈액응고자동분석기 Sysmex CA-540을 사용하여 측정하였다(9).

**일반 성분 분석**

총당의 함량은 glucose를 standard로 사용하여 phenol-sulphuric acid법(10)으로 측정하였고, 단백질의 함량은 Lowry법(11)에 따라 standard로 bovine serum albumin(BSA, Sigma Co.)을 사용하여 정량하였다. 황산기의 함량은 Dodgson과 Price(12) 방법에 따라서 시료를 가수분해 한 후 가수분해한 시료용액 0.2 mL에 3% TCA 용액 3.8 mL와 BaCl<sub>2</sub>-젤라틴 용액 1 mL를 첨가하여 20분간 방치한 후 360 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 표준 검량선은 K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 사용하여 작성하였다. 우론산의 함량은 D-glucuronic acid를 표준물질로 사용하여 m-hydroxydiphenyl 법(13)으로 분석하였다.

**구성당 조성 분석**

구성당 조성 분석은 Furneaux 등(14)의 방법에 따라서 시료를 supelco vial에 취한 후 TFA로 가수분해 후 sodium borohydride로 환원시켰다. 그리고 acetic anhydride로 120°C에서 20분간 acetylation시켜 유도체를 alditol acetate로 전환시킨 다음 dichloromethane에 용해시켜서 -20°C에서 보관하여 두고 gas chromatography(HP 6890)로 분석하였다. 칼럼으로는 SP-2330을 사용하였고, 230°C에서 등온 분석하였다. 구성당의 확인은 표준시약의 크로마토그램과 retention time을 비교하여 확인하였고, 정량은 내부 표준물질(myo-inositol)과 표준시약(D-galactose, D-glucose, D-mannose, L-rhamnose, D-xylose, D-fucose, D-ribose, L-arabinose)을 시료와 동일하게 처리하여 농도별 상대

**Table 1. Anticoagulant activities of hot water extracts from brown seaweed<sup>1)</sup>**

Scientific name (한국명)	Habitat	Abbreviation	Water extract	
			APTT (sec)	PT (sec)
<i>Undaria pinnatifida</i> (미역1)	Wan-do	UPU	95.4	11.8
<i>Undaria pinnatifida</i> (미역2)	Gijang	UPG	84.1	16.2
<i>Costaria costata</i> (쇠미역)	Gangnung	CCG	>190.0 <sup>2)</sup>	14.4
<i>Undaria pinnatifida</i> (Sporophyte: 미역귀)	Gangnung	UPS	>190.0	29.9
<i>Undaria pinnatifida</i> (Stalks)	Wando	UPWS	66.1	11.8
<i>Hizikia fusiformis</i> (툃)	Wando	HFW	122.8	12.5
<i>Laminaria japonica</i> (다시마1)	Gangnung	LJG	>190.0	34.7
<i>Laminaria japonica</i> (다시마2)	Baengnyeongdo	LJB	>190.0	21.9
<i>Laminaria japonica</i> (다시마3)	Baengnyeongdo	LJB 1	>190.0	27.4
<i>Kjellmaniella crassifolia</i> (개다시마)	Gangnung	KCG	>190.0	72.9
<i>Ecklonia stolonifera</i> (곰피)	Busan	ESB	>190.0	36.6
<i>Sargassum patens</i> (쌍발이모자반)	Yeosu	SPY	108.5	12.7
<i>Eisenia bicyclis</i> (대황)	Ullung-do	EBU	>190.0	18.9
<i>Sargassum thunbergii</i> (지층이)	Yeosu	STY	89.3	13.0
<i>Sargassum horneri</i> (팽새이모자반)	Yeosu	SHY	>190.0	13.8
<i>Pelvetia siliquosa</i> (뜸부기)	Jejudo	PSJ	79.5	13.7
<i>Ecklonia kurome</i> (검둥감태)	Jejudo	EKJ	>190.0	37.3
<i>Sargassum yendoii</i> (엔도오모자반)	Jejudo	SYJ	122.5	15.5

<sup>1)</sup>The concentration of extracts is 10 mg/mL.

<sup>2)</sup>The activity value of >190 means over-range of coagulator.

**Table 2. Anticoagulant activities of ethanol and methanol extracts from brown seaweed**

Abbreviation <sup>1)</sup>	Methanol extract		Ethanol extract	
	APTT (sec)	PT (sec)	APTT (sec)	PT (sec)
UPU	48.5	13.9	112.5	20.8
UPG	60.2	14.2	71.7	15.4
CCG	54.6	14.1	87.5	19.0
UPS	64.2	15.3	77.3	17.9
UPWS	57.8	14.9	85.5	18.5
HFW	57.2	13.1	>190.0	25.8
LJG	74.5	16.1	72.4	15.9
LJB	66.0	15.6	79.7	16.5
LJB 1	57.5	14.5	50.1	13.2
KCG	65.5	15.4	62.6	15.3
ESB	119.9	17.8	107.2	19.3
SPY	66.3	13.5	136.3	19.4
EBU	73.8	16.2	175.1	25.9
STY	73.1	15.5	120.1	18.1
SHY	79.1	16.7	72.6	14.9
PSJ	58.5	14.0	77.6	15.1
EKJ	105.5	19.7	98.3	17.2
SYJ	78.5	15.9	118.7	19.3

<sup>1)</sup>Refer to Table 1.

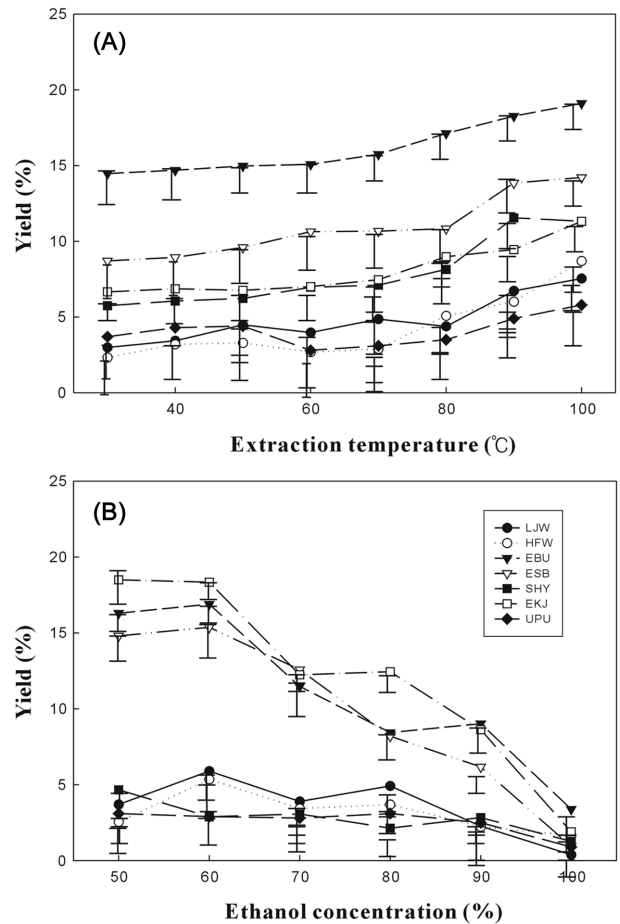
Heparin 10 U/mL: 184.0 sec (APTT) and 14.5 sec (PT).

면적비를 구하여 환산하였다.

**결과 및 고찰**

**추출 용매에 따른 항혈액응고 활성**

국내산 주요 해조류로부터 혈액 순환 개선 소재의 개발 연구 일환으로 주로 갈조류를 중심으로 각각 다른 용매를 사용하여 추출한 추출물에 대하여 항혈액응고 활성(APTT, PT)을 측정하였다(Table 1 및 2). 대조군인 혈장의 APTT 및 PT가 각각 30.3초, 11.2초인 가운데 열수, 메탄올, 에탄올 추출물 모두 APTT 및 PT의 시간이 연장되었고, 전체적으로 APTT 시간은 열수 추출물, 에탄올 추출물, 메탄올 추출물 순으로 혈액응고 시간이 지연되었다. 그리고 열수 추출물 중에서 *C. costata*, *U. pinnatifida*(Sporophyte), *L. japonica*, *K. crassifolia*, *E. stolonifera*, *E. bicyclis*, *S. horneri*, *E. kurome*가 10 mg/mL 농도에서 혈액응고의 내인성 경로에 기인하는 APTT 시간이 190.0초 이상 지연되어 갈조류 중에서 우수한 항혈액응고 활성을 나타내었으며, 내인성 경로에 기인하는 PT 시간도 증가하였다. Kweon 등(8)에 의하면 녹조류인 *Codium fragile*을 추출 용매를 달리하여 추출하였을 때 항혈액응고 활성은 약산성 수용액으로 추출하였을 때 가장 좋았으며, 유기용매로 추출하였을 때의 활성은 상대적으로 미약하였다고 보고하였으며 약산성 추출물의 경우 대조군과 비교하여 APTT는 4.3배, PT는 1.9배 응고시간이 지연되어 외인성 경로보다는 내인성 경로에 영향을 주어 응고시간을 지연시킨다는 결과와 동일하였으며, 해조의 다당은 고분자 물질로서 시료 분쇄 후 약산성으로 가수분해 추출하는 것이 효율적인 추출방법으로 많이 쓰인다. 그리고 Yoon 등(15)은 각종 해조류를 열수, 냉수, 메탄올 추출하였을 때 항응고활성은 열수 추출물이 가장 좋았으며, 메탄올 추출물의 활성은 작았다고 하였다.



**Fig. 1. Yields of water and ethanol extracts of brown seaweeds.** A: Water extract, B: Ethanol extract.

**열수 추출 온도별 · 에탄올 추출농도별 항혈액응고 활성**

갈조류중 항혈액응고 활성이 좋은 7종(미역(UPU), 다시마(LJW), 감태(EKJ), 곰피(ESB), 대황(EBU), 툯(HFW), 팽새이모자반(SHY))의 해조를 선정하여 추출 온도별 및 에탄올 추출 농도별로 추출하여 항혈액응고 활성을 비교 검토하였으며, 온도 및 에탄올 농도에 따른 추출 수율을 Fig. 1에 나타내었다. 열수 추출물의 수율은 추출 온도가 높아질수록 수율이 증가하였으며, 이 중에서 대황의 수율이 14.5-19.1%로 다른 시료에 비하여 높았다. 반면에 에탄올 추출물은 에탄올 추출 농도가 높아질수록 감태, 대황, 곰피는 급격히 수율이 감소하였으며, 다시마, 미역, 툯, 팽새이모자반은 수율 감소폭은 작았다. 추출 온도 및 에탄올 농도에 따른 추출물의 항혈액응고 활성은 Table 3 및 4에 나타내었다. 검색과정에서 살펴본 바와 같이 열수 온도별 추출물의 활성이 높았으며, 에탄올 추출 농도별 항혈액응고 활성은 낮았다. 열수 추출물 중에서 다시마의 활성은 500 µg/mL일 때 82.2-127.0초로 가장 활성이 좋았으며, 그 다음으로는 감태의 활성이 74.0-97.1초로 높았다. 항혈액응고 활성은 모든 시료에서 추출 온도가 높아질수록 항혈액응고 활성은 증가하였으며, 다시마와 감태의 경우 90°C에서 추출한 추출물의 항혈액응고 활성이 가장 좋았다. Yoon 등(15)은 *Pachymeniopsis elliptica*을 4, 25, 50, 70, 100 및 121°C로 달리하면서 추출하였을 때 항혈액응고 활성은 추출 온도가 높아질수록 증가한다고 하였다. 본 연구에 있어서도 항혈액응고 활성을 보이는 sulfated polysaccharide

**Table 3. Anticoagulant activities of water extracts prepared from brown seaweed at different extraction temperatures**

Extraction Temp. (°C)	APTT (Sec) <sup>1)</sup>							PT (Sec)						
	LJW	EKJ	ESB	EBU	HFW	SHY	UPU	LJW	EKJ	ESB	EBU	HFW	SHY	UPU
30	82.2	74.0	70.3	51.0	40.9	61.4	38.4	22.5	20.5	18.3	15.2	12.8	14.8	10.5
40	83.9	78.1	88.1	53.8	41.1	67.6	45.2	17.8	19.9	19.6	15.7	13.0	14.8	10.1
50	92.3	84.8	81.4	54.3	40.7	74.3	36.9	24.4	21.7	19.5	15.7	13.5	15.1	10.1
60	97.9	88.0	85.6	50.6	43.1	72.5	39.0	20.7	21.8	19.5	15.0	13.9	15.0	10.2
70	102.3	90.4	83.2	49.7	44.1	81.1	40.5	19.4	21.0	19.2	14.6	14.0	15.1	10.2
80	120.7	96.7	89.3	49.6	45.4	88.4	42.0	22.1	21.3	17.9	14.9	14.4	14.7	10.4
90	127.0	97.1	88.5	69.2	43.7	90.8	45.1	20.6	22.1	17.6	14.7	13.7	14.1	10.6
100	119.2	90.7	66.2	78.4	46.8	89.2	65.0	19.1	19.5	13.4	17.9	14.4	14.5	11.3

<sup>1)</sup>The concentration of the extracts was 500 µg/mL.

**Table 4. Anticoagulant activities of ethanol extracts prepared from brown seaweed at different ethanol concentrations**

Ethanol (%)	APTT (Sec) <sup>1)</sup>							PT (Sec)						
	LJW	EKJ	ESB	EBU	HFW	SHY	UPU	LJW	EKJ	ESB	EBU	HFW	SHY	UPU
50	39.7	44.5	40.8	41.8	45.0	59.9	46.5	11.4	12.1	11.4	12.0	11.7	11.0	12..8
60	40.2	45.5	41.3	43.9	43.5	40.6	55.4	10.4	12.3	11.6	12.0	11.6	11.2	12.0
70	41.5	45.5	43.1	43.1	45.5	42.2	46.1	11.5	12.3	11.4	12.1	11.5	11.3	12.0
80	42.3	45.3	42.0	43.3	44.1	41.5	39.9	11.8	12.4	11.5	12.1	11.4	11.0	12.3
90	40.6	44.9	43.2	44.3	44.4	43.2	44.4	11.6	12.2	11.6	12.2	11.6	11.3	13.7
100	43.0	49.4	44.2	45.2	44.9	40.8	42.0	11.2	12.6	11.8	12.3	11.6	11.3	12.6

<sup>1)</sup>The concentration of the extracts was 500 µg/mL.

**Table 5. Anticoagulant activities of ethanol soluble and insoluble fractions of the *E. kurome* water extract**

Sample	Concentration (µg/mL)	APTT (sec)
EKJ-esm <sup>1)</sup>	20	43.2
	100	38.8
	500	37.4
EKJ-eim <sup>2)</sup>	20	48.3
	100	185.9
	500	190

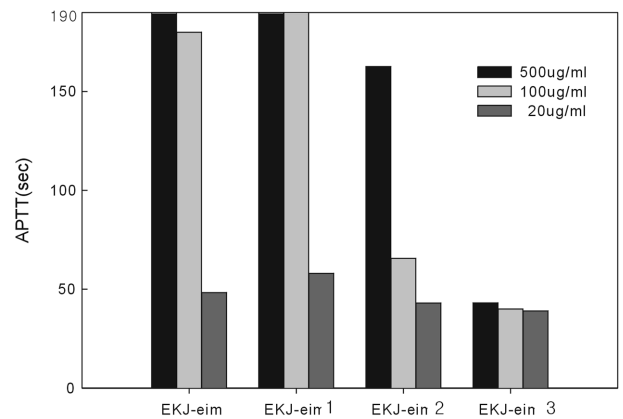
<sup>1)</sup>Ethanol soluble material.  
<sup>2)</sup>Ethanol insoluble material.

는 비교적 높은 온도에서 잘 추출된다는 기존의 보고와 일치하였다.

다시마의 항혈액응고 활성은 많이 연구(16)된 바 있어 감태를 가지고 알콜 분획 및 분자량별 분획하여 고활성을 나타내는 분획의 이화학적 조성을 살펴보았다.

**에탄올 분획물의 항혈액응고 활성**

감태의 열수 추출물(90°C)의 에탄올 가용물질(EKJ-esm)과 불용 물질(EKJ-eim)에 따른 항혈액응고 활성을 Table 5에 나타내었다. EKJ-eim을 20, 100 및 500 µg/mL 농도로 하여 항혈액응고 활성을 측정하였을 때 APTT의 값이 48.3초, 185.9초 및 190.0초 이상으로 혈액응고 시간이 연장되었다. 이는 APTT의 활성은 농도에 비례적으로 활성이 증가하는 것으로 보인다. 그리고 90°C 감태 열수 추출물의 APTT가 500 µg/mL 농도일 때 97.0초로 나타난 반면 에탄올로 분획하였을 때는 190.0초 이상



**Fig. 2. Anticoagulant activities of EKJ-eim derived from the *E. kurome* water-extract.**

EKJ-eim: ethanol insoluble fractions of the *E. kurome* water extract; EKJ-eim 1: >100 kDa, EKJ-eim 2: 100-50 kDa, EKJ-eim 3: 50-10 kDa..

으로 활성이 2배 이상 증가되었음을 알 수 있었다. 그러나 에탄올 가용성 성분의 활성은 동일조건 농도에서 43.2, 38.8 및 37.4초로 활성이 거의 없었다. 이는 에탄올 분획시 가용성분인 저분자 색소 물질들, 그리고 polyphenol 계통의 물질이 주요 구성 물질을 이루고 있어서 항 혈액응고 활성이 미미한 것으로 보이며, 에탄올 불용성 물질의 분획은 이러한 불순물들이 제거되고 해조다당의 주성분인 다당의 순도가 높아져서 활성이 증가한 것으로 보인다. Park 등(17)은 청각을 0.8% HCl로 추출한 추출물을 에탄올 침전 및 투석하여 활성이 2배 증가된 다당을 얻었다고 하여 본 실험과 같은 결과를 보였다.

Table 6. Yields and chemical compositions of EKJ-eim

Fractions <sup>1)</sup>	Yield	Sulfate (%)	Protein (%)	Uronic acid(%)	Total sugar(%)	Sugar composition <sup>2)</sup>						
						Rhm	Fuc	Rib	Xyl	Man	Gal	Glc
EKJ-eim	—	18.6	18.3	25.2	51.1	N.D.	61.7	1.1	3.1	4.6	8.9	20.6
EKJ-eim 1	52.2	32.1	22.3	27.8	56.4	N.D.	66.5	N.D.	3.2	7.2	10.8	12.3
EKJ-eim 2	7.5	8.1	33.4	15.6	44.6	1.6	11.5	1.7	2.9	6.8	1.9	73.7
EKJ-eim 3	6.4	6.5	31.0	11.4	42.9	tr <sup>3)</sup>	tr	tr	tr	2.6	tr	97.3

<sup>1)</sup>EKJ-eim: ethanol insoluble fractions of the *E. kurome* water extract, EKJ-eim 1: >100 kDa, EKJ-eim 2: 100-50 kDa, EKJ-eim 3: 50-10 kDa.

<sup>2)</sup>N.D.: not detected.

<sup>3)</sup>Trace

### 분자량별 분획물의 항혈액응고 활성

감태의 에탄올 불용성 물질을 한외여과기를 이용하여 분자량별로 분획한 추출물의 항혈액응고 활성은 Fig. 2에 나타내었다. EKJ-eim에 대한 분자량별 분획 수율은 100 kDa 이상인 EKJ-eim 1이 52.2%로 주 분획이었으며, EKJ-eim 2, EKJ-eim 3의 수율은 각각 7.5 및 6.4%였다. EKJ-eim 1의 항혈액응고 활성은 500, 100 및 20 µg/mL 농도에서 각각 190.0초 이상, 190.0초 이상 및 58.0초로서 EKJ-eim에 비하여 활성이 증가하였으나 EKJ-eim 2 및 EKJ-eim 3의 활성은 오히려 감소하였다. 그리고 분자량별 활성은 100 µg/mL 농도에서 저분자 분획으로 갈수록 활성이 각각 190.0초 이상, 65.6초 및 40.0초로 활성이 감소하여 분자량이 큰 분획일수록 항혈액응고 활성이 높음을 알 수 있었다.

### 분획 다당의 구성당 조성

감태의 에탄올 불용성 물질의 분자량별 화학적 성분조성은 Table 6에 나타내었다. EKJ-eim 1의 화학적 조성을 살펴보면 황산기가 32.1%, 단백질이 22.3% 그리고 총당의 함량이 56.4%였으며, 주 구성당은 fucose로 총당의 66.5%를 차지하고 있었으며, glucose, galactose, mannose가 소량 존재하였다. 그리고 fucose, xylose, mannose, galactose, glucose, sulfate의 몰비는 1:0.05:0.10:0.15:0.17:1.46으로 2 mole의 fucose에 3 mole의 황산기가 결합되어 있는 것으로 보인다. EKJ-eim 2의 fucose, mannose, glucose, sulfate에 대한 몰비는 1:0.14:1.51:0.69로서 fucose에 대한 황산기의 함량이 높을수록 항혈액응고 활성이 높음을 알 수 있었다. Nishino 등(2)은 *Ecklonia kurume*에서 추출한 희분 중 고효성을 나타내는 분획의 몰조성비는 fucose, galactose, glucuronic acid 그리고 sulfate는 1.00:0.11-0.19:0.02-0.07:1.22-1.48이었다고 보고하였다. 그리고 Nishino와 Nagumo(18)는 고효성을 나타내는 fucoidan을 desulfation 시켜서 활성을 비교하였는데 총당에 대한 황산기의 함량이 감소됨에 따라서 APTT 값이 작아진다고 하여 본 실험과 같은 결과를 보였다.

## 요 약

국내산 주요 갈조류 18종의 추출용매 및 온도에 따른 항혈액응고 활성을 측정한 결과 미역, 다시마, 감태, 대황, 곰피, 툯, 팽새이 모자반의 열수 추출물의 APTT가 190.0초 이상으로 활성이 높았으며, 이 때의 추출온도는 90°C였다. 감태의 에탄올 불용성분의 항혈액응고 활성은 500 µg/mL에서 에탄올 가용성 물질에 비하여 2배 이상 증가하였으며, 에탄올 불용성분의 분자량에 따른 항혈액응고 활성은 100 µg/mL 농도에서 EKJ-eim 1(100 kDa 이상)이 190초 이상으로 EKJ-eim 2(100-50 kDa) 및

EKJ-eim 3(50-10 kDa)에 비해 좋았으며, 이 분획의 화학적 조성 성분은 fucose, xylose, mannose, galactose, glucose, sulfate로 구성되어 있으며, 몰비는 1:0.05:0.10:0.15:0.17:1.46으로 2 mole의 fucose에 3 mole의 황산기가 결합되어 있는 산성다당임을 확인하였다.

## 감사의 글

본 연구는 해양수산부 수산특정연구개발과제의 연구비 지원에 의하여 수행된 연구 결과의 일부이며 연구비 지원에 감사드립니다.

## 문 헌

- Ito K, Hori K. Seaweed: chemical composition and potential food uses. *Food Rev. Int.* 5: 101-144 (1989)
- Nishino T, Yokoyama G, Dobashi K, Fujihara M, Nagumo T. Isolation, purification, and characterization of fucose containing sulfated polysaccharides from the brown seaweed *Ecklonia kurome* and their blood-anticoagulant activities. *Carbohydr. Res.* 186: 119-129 (1989)
- Percival E, McDowell RH. Chemistry and Enzymology of Marine Algal Polysaccharides. Academy Press Inc. London, UK (1967)
- Richard L, Mueller MD. History of drugs for thrombotic disease. *Circulation* 89: 432-450 (1994)
- Jackson CM, Nemerson Y. In Blood Coagulation. *Ann. Rev. Biochem.* 49: 765-771 (1980)
- Shim YY, An JH, Cho WD, Chun H, Kim KI, Cho HY, Yang HC. Inhibitory mechanism of blood coagulation and *in vivo* anticoagulant activities of polysaccharides isolated from *Codium fragile*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 31: 917-923 (2002)
- Jaques LB. Heparins: anionic polyelectrolyte drugs. *Pharmacol. Exp. Therap.* 31: 99-166 (1979)
- Kweon MH, Park MK, Ra KS, Sung HC, Yang HC. Screening of anticoagulant polysaccharides from edible plants. *Agric. Chem. Biotech.* 39:159-164 (1996)
- Kim HS, Nam KH, Lee DH. Measurement of PT, APTT, and fibrinogen by automatic coagulation analyzer, sysmex CA-540. *J. Clin. Pathol. Qual. Cont.* 23: 247-252 (2001)
- Dubois M, Gills KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. Colorimetric method for the determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28: 350-352 (1956)
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr L, Rindall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 256-275 (1951)
- Dodgson KS, Price RG. A note on the determination of the ether sulphate content of sulphated polysaccharides. *J. Biochem.* 84: 106-107 (1962)
- Blumenkronz N, Asboe-Hansen G. New method for quantitative determination of uronic acids. *Anal. Biochem.* 54: 484-487 (1973)
- Furmeaux RH, Miller IJ, Stevenson TT. Agaroids from New Zealand members of the *Gracilariaceae* (*Gracilariales*, *Rhodophyta*)-a novel dimethylated agar. *Hydrobiologia* 204: 645-650

- (1990)
15. Yoon JA, Yu KW, Jun WJ, Cho HY, Son YS, Yang HC. Screening of anticoagulant activity in the extracts of edible seaweeds and optimization of extraction condition. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 29: 1098-1106 (2000)
16. Koo JG, Jo KS, Do JR, Woo SJ. Isolation and purification of fucoidans from *Laminaria religiosa* and *Undaria pinnatifida* in Korea. *J. Korean Fish. Soc.* 28: 227-236 (1995)
17. Park MK, Kweon MH, Cho HY, Yang HC. Anticoagulant activity of sulfated polysaccharides isolated from *Codium fragile*. *J. Korean Soc. Agric. Chem Biotech.* 42: 140-146 (1999)
18. Nishino T, Nagumo T. The sulfate-content dependence of the anticoagulant activity of a fucan sulfate from the brown seaweed *Ecklonia kurome*. *Carbohydr. Res.* 214: 193-197 (1991)
- 
- (2004년 9월 1일 접수; 2004년 11월 25일 채택)