

약용 및 야생식물로부터 트롬빈 저해물질의 탐색 (II)

손호용* · 류희영 · 권윤숙 · 금은주 · 권정숙 · 권기석¹ · 김건우¹ · 손건호
안동대학교 식품영양학과, ¹안동대학교 생명자원과학부

Screening of Thrombin Inhibitor from Medicinal and Wild Plants (II)

Ho-Yong Sohn*, Hee-Young Ryu, Yun-Sook Kwon, Eun-Joo Kum, Chong-Suk Kwon,
Gi-Seok Kwon¹, Kun-Woo Kim¹, and Kun Ho Son

Department of Food and Nutrition, Andong National University, Andong 760-749, Korea
¹The School of Bioresource sciences, Andong National University, Andong 760-749, Korea

Abstract – To develop safe and new anticoagulation agents from natural resources, the inhibitory activities of 291 methanol extracts, which were prepared from different parts of 197 kinds of medicinal and wild plants, against human thrombin were evaluated. Based on anti-coagulation activity determined by thrombin time and activated partial thromboplastin time, the extract of leaf of *Myrica rubra* was finally selected. The extract of *M. rubra* showed a strong thrombin inhibitory activity (above 1,819%) at 0.5 mg/ml as a final concentration, whereas aspirin showed 337% inhibition at concentration of 1.5 mg/ml. The activity of the extract remained more than 85% and 60% by heat treatment at 100°C for 30 min, and acid treatment at pH 2 for 60 min, respectively. Our results suggested that the extract of *Myrica rubra* could be the potential source as thrombin inhibitor.

Key words – medicinal and wild plants, *Myrica rubra*, thrombosis, thrombin time (TT)

인간의 혈액은 산소, 영양분, 노폐물의 운반기능과 체온 유지, 원충작용, 삼투압 조절, 이온평형유지, 수분 일정유지, 혈압의 유지 및 조절, 생체방어 등 다양한 기능을 수행하는 중요한 생체 구성성분이다. 정상적인 혈액 순환은 체내 혈액응고 반응계와 혈전용해 반응계와의 상호보완적 조절에 의해 이루어지며, 이러한 혈액응고-혈전용해 조절기능의 혼돈 및 상실은 뇌혈관질환 및 심장질환과 같은 다양한 질환을 유발하게 된다.¹⁾ 최근 인구의 고령화와 사회 발달에 따라 혈관계 질환은 급속히 증대되고 있어 사회적 관심이 집중되고 있으며,²⁾ 발병 시 높은 사망률을 나타낼 뿐만 아니라 후유증 또한 심각하여, 치료보다는 예방에 대한 연구가 집중적으로 이루어지고 있다.³⁻⁵⁾ 현재 혈전 생성 억제제를 위한 항응고제로 가장 많이 사용되고 있는 헤파린은 높은 가격, 출혈, 과민성 반응, 짧은 반감기 및 비경구투여의 문제점을 나타내며, 항혈소판 혈전생성 저해제인 아스피린의 경우에는 심각한 위장장애와 과민반응 등으로 그 사용이 한정되고 있다.^{6,7)} 따라서, 최근의 연구는 안전성이 우수한 천

연 약용 및 식용식물에서 혈전생성 저해제를 개발하고자 하는 노력들이 진행되고 있다. 특별히 혈액 내 수많은 인자들에 의한 다양한 연속 반응에 의해 혈전이 생성됨을 고려할 때,^{1,6-8)} 혈전 생성의 최종 반응의 필수효소인 트롬빈을 직접 저해하는 경구용 제제 개발이 필요한 것으로 인식되고 있다.^{9,10)}

본 연구에서는, 약용 및 야생 식물자원으로부터 혈전생성 저해 및 심혈관 혈류개선을 위한 트롬빈 직접저해제 개발을 위해 197종의 약용 및 야생 식물체의 다양한 부위로부터 291종의 추출물을 조제하여 트롬빈 저해활성을 검색하였으며, 400% 이상의 저해활성을 나타내는 소귀나무(잎 및 줄기껍질), 범꼬리(뿌리), 쇠고비(전초), 붓순나무(줄기)를 1차 선별하였으며, 각각의 추출물의 농도별 항혈전 활성을 측정하여 최종적으로 소귀나무(잎) 추출물을 선정하였다. 또한 활성물질의 가공적성을 검토하기 위해 열 안정성 및 산안정성을 검토하여, 소귀나무 잎의 항혈전 물질은 내열성은 우수하나 내산성이 다소 약함을 확인하였다. 이러한 결과는, 약용 및 야생식물자원으로부터 혈전생성 저해 및 심혈관 혈류개선을 위한 식물생약 개발이 가능하며, 특히 소귀

*교신저자(E-mail) : hysohn@andong.ac.kr
(FAX) : 054-820-5491

나무로부터 새로운 트롬빈저해 활성 물질의 개발이 가능함을 제시하고 있다.

재료 및 방법

실험재료 및 시료의 조제 - 경북 및 강원도 일대에서 2002년 3월에서 2004년 7월 사이에 채집한 약용 및 야생 식물 197종을 대한식물도감에서 검증¹¹⁾하고, 그늘에서 일주일 간 건조 한 후 잘게 썰어 메탄올로 추출하였으며, 추출액은 감압 농축하여 분말로 제조하여 사용 전까지 저온 밀봉 보관하였다. 사용한 식물 재료 및 추출 부위는 Table I에 나타내었다. 준비된 시료는 DMSO (dimethylsulfoxide)에 녹인 후 적당한 농도로 희석하여 thrombin time 측정, activated partial thromboplastin time (aPTT) 측정, 열 및 산 안정성 평가에 사용하였다. 혈장은 최근 1개월 동안 약물투여를 받지 않은 지원자의 전혈로부터 조제하였으며, 채혈 후 즉시 4°C에서 5,000 g로 5분 동안 원심분리하여 혈장을 분리하고 냉동한 상태로 보관하였으며(신선동결혈장), 필요시 상온에서 해동하여 사용하였다.

항혈전 활성 - 항혈전 활성은 시료의 thrombin time 및 aPTT를 측정하여 평가하였다. 트롬빈 저해 활성은 기존의 보고¹²⁻¹⁴⁾한 Amelung coagulometer KC-1A (Japan)를 이용하여 혈액 응고시간을 측정하여 평가하였다. 37°C에서 0.5 U 트롬빈 (Sigma Co., USA) 50 μ l와 20 mM CaCl₂ 50 μ l, 다양한 농도의 시료 추출액 10 μ l를 coagulometer의 튜브에 혼합하여 2분간 반응시킨 후, 혈장 100 μ l를 첨가한 후 혈장이 응고될 때까지의 시간을 측정하였으며, 시료 대조군으로는 아스피린(국산화학, Japan)과 heparin (Sigma Co.)을, 용매 대조군으로는 시료 대신 DMSO를 사용하였다. DMSO의 경우 33초의 응고시간을 나타내었다. 열 안정성 평가의 경우에는 0.3 mg/ml의 소귀나무 추출물과 1.5 mg/ml의 아스피린을 각각 100°C에서 일정시간 열처리한 후, 40°C에서 냉각하여 잔존활성을 측정하였다. 산 안정성 평가를 위해서는, pH 2 염산용액에 1시간 동안 실온에서 반응시킨 후, 1 N NaOH 용액으로 pH 7로 보정하여 잔존 활성을 측정하였다. 트롬빈 저해 활성은 3회 이상 반복한 실험의 평균치±표준오차 (mean±SD)로 나타내었으며, 시료 첨가시의 응고시간을 용매 대조군의 응고시간으로 나눈 값에 100을 곱하여 %로 나타내었다.¹²⁻¹⁴⁾ 한편 aPTT 측정의 경우에는, 혈장 100 μ l와 다양한 농도의 시료 추출액 10 μ l를 Amelung coagulometer KC-1A (Japan)의 튜브에 첨가하여 37°C에서 3분간 가온한 후, 50 μ l의 aPTT reagent (Sigma, ALEXINTM)를 첨가하고 다시 37°C에서 3분간 배양하였다. 이후 50 μ l CaCl₂ (35 mM)을 첨가한 후 혈장이 응고될 때까지의 시간을 측정하였다.^{12,13,15)} 용매 대조군으로는 DMSO를 사용하였으며, 이 경우 55초의 응고시간을 나타내었다. aPTT의 결과는 3회

반복한 실험의 평균치±표준오차 (mean±SD)로 나타내었으며, 시료 첨가시의 응고시간을 용매 대조군의 응고시간으로 나눈 값에 100을 곱하여 %로 나타내었다.^{12,13)}

결과 및 고찰

혈전생성 저해 및 심혈관 혈류개선을 위한 식물생약 개발 연구의 일환으로, 197종의 약용 및 야생식물의 다양한 부위로부터 291종의 메탄올 추출물을 조제하고, 추출물의 최종 농도가 0.5 mg/ml가 되도록 조정한 후 thrombin time을 측정하여 항혈전 활성을 평가하였다. 그 결과, 범꼬리(뿌리), 붓순나무(줄기), 소귀나무(잎), 소귀나무(껍질) 및 쇠고비(전초)에서 각각 446%, 412%, 1,819%, 434% 및 634%의 강력한 트롬빈 저해활성을 확인하였다(Table I). 또한 미역줄나무(줄기)와 새끼노루귀(전초)에서도 264% 및 288%의 트롬빈 저해활성을 확인하였다. 아스피린의 혈전 생성 저해능이 0.5 mg/ml 농도에서 137%, 1.5 mg/ml의 농도에서 337% 정도임을 감안할 때, 소귀나무(잎) 추출물의 트롬빈 저해에 따른 항혈전 활성은 매우 강력함을 알 수 있다. 또한 갈퀴나무(잎), 갈퀴덩굴(전초), 벌개미취(지상부), 송악(전초), 작약(중자)에서는 트롬빈 저해능이 각각 71%, 68%, 64%, 67% 및 56%로, 오히려 트롬빈 활성화로 혈전 생성능이 증대되었다. 따라서 이러한 트롬빈 활성능력을 가진 추출물은 외과용 지혈제제로 개발 가능하리라 판단된다.

본 연구에서 보고하는 추출물은, 본 연구진이 기존에 보고한 천연물 추출물(210종 약용 및 야생 식물 264종의 시료, 산채류 53종의 55종 추출물, 및 국내 시판 51종의 브랜드 추출물)^{12,13,16)}과는 다른 식물종이거나, 추출부위가 달라 기존의 항혈전 활성을 검색한 식물 추출물과는 차별된다. 또한, 기존 보고^{12,13,16)}에서 가장 강력한 항혈전 활성을 나타내는 마황 및 후박 추출물이 최종농도 0.5 mg/ml에서 각각 1,152% 및 714%의 활성을 나타낼 때, 소귀나무(잎) 추출물의 강력한 항혈전 활성은 실제적 응용 가능성을 제시하며, 정제되지 않은 조추출물임을 고려할 때, 정제 활성물질의 항혈전 활성은 더욱 우수하리라 판단된다.

트롬빈 저해활성 400% 이상을 나타낸 5종 추출물의 항혈전 활성을 농도별로 측정된 결과는 Table II에 나타내었다. 대조구로 사용된 아스피린과 헤파린은 각각 1.5 mg/ml 농도에서 290.5%와 0.125 mg/ml에서 2,000% 이상의 저해활성을 나타내었다. 소귀나무(껍질), 범꼬리(뿌리), 쇠고비(전초) 추출물은 농도 감소에 따라 저해활성이 비례적으로 감소하였으나, 여전히 아스피린보다 강력한 활성을 나타내었다. 붓순나무(줄기)의 경우에는 0.25 mg/ml의 농도에서 저해활성을 나타내지 못하였다. 한편 소귀나무(잎) 추출물의 경우 농도감소에 따라 활성이 급격히 감소함을 알 수 있었으며, 이러한 현상은 헤파린, 오메, 오수유, 조합, 호장근, 후

Table I. Inhibitory activity of methanol extract of medicinal and wild plants against human thrombin

Korean name	Scientific name (Family)	Part	Inhibition(%)
가는괴불주머니	<i>Corydalis ochotensis</i> (Fumariaceae)	whole	100
가는잎할미꽃	<i>Pulsatilla cernua</i> (Ranunculaceae)	whole	111
가죽나무	<i>Ailanthus altissima</i> (Simaroubaceae)	leaf	92
		branch	103
갈퀴나물	<i>Vicia amoena</i> (Leguminosae)	leaf	71
갈퀴덩굴	<i>Galium spurium</i> (Rubiaceae)	whole	68
갈퀴현호색	<i>Corydalis grandicalyx</i> (Fumariaceae)	whole	100
개감수	<i>Euphorbia sieboldiana</i> (Euphorbiaceae)	whole	110
개구리발톱	<i>Semiaquilegia adoxoides</i> (Ranunculaceae)	whole	99
개맥문둥	<i>Liriope spicata</i> (Liliaceae)	whole	124
개말나물	<i>Sium suave</i> (Umbelliferae)	whole	109
개버무리	<i>Clematis serratifolia</i> (Ranunculaceae)	whole	99
개상사화	<i>Lycoris aurea</i> (Amaryllidaceae)	rhizoma	96
개승마	<i>Cimicifuga acerina</i> (Ranunculaceae)	whole	149
갯질경	<i>Limonium tetragonum</i> (Plumbaginaceae)	whole	131
검종덩굴	<i>Clematis fusca</i> (Ranunculaceae)	whole	162
고추냉이	<i>Wasabia koreana</i> (Cruciferae)	radix	77
		whole	119
곰딸기	<i>Rubus phoenicolasius</i> (Rosaceae)	fructus	109
		stem	143
구름미나리아재비	<i>Ranunculus borealis</i> (Ranunculaceae)	aerial	109
		radix	104
국수나무	<i>Stephanandra incisa</i> (Rosaceae)	branch	136
		leaf	121
굴거리	<i>Daphniphyllum macropodum</i> (Euphorbiaceae)	twig	121
		fructus	107
굴피나무	<i>Platycarya strobilacea</i> (Juglandaceae)	leaf	97
		branch	121
궁궁이	<i>Angelica polymorpha</i> (Umbelliferae)	rhizoma	104
		leaf	113
금평의다리	<i>Thalictrum rochebrunianum</i> (Ranunculaceae)	aerial	137
금새우난	<i>Calanthe striata</i> (Orchidaceae)	radix	104
기름나물	<i>Peucedanum terebinthaceum</i> (Umbelliferae)	whole	106
까마중	<i>Solanum nigrum</i> (Solanaceae)	aerial	108
까치고들빼기	<i>Youngia chelidoniifolia</i> (Compositae)	radix	89
		leaf	125
꼭두서니	<i>Rubia akane</i> (Rubiaceae)	whole	86
꽃창포	<i>Iris ensata</i> (Iridaceae)	whole	150
나도바람꽃	<i>Isopyrum raddeanum</i> (Ranunculaceae)	whole	108
나도하수오	<i>Pleuropterus cilinervis</i> (Polygonaceae)	whole	112
노랑매발톱	<i>Aquilegia buergeriana</i> (Ranunculaceae)	whole	136
노랑물봉선	<i>Impatiens noli</i> (Balsaminaceae)	whole	106
노루발	<i>Pyrola japonica</i> (Pyrolaceae)	whole	115
노루삼	<i>Actaea asiatica</i> (Ranunculaceae)	whole	109
노린재나무	<i>Symplocos chinensis</i> (Symplocaceae)	leaf	93
		flower	92

Table I. Continued

Korean name	Scientific name (Family)	Part	Inhibition(%)
늦것가락나물	<i>Aconitum ciliare</i> (Ranunculaceae)	whole	108
누른종덩굴	<i>Clematis chiisanensis</i> (Ranunculaceae)	aerial	138
누린내풀	<i>Caryopteris divaricata</i> (Verbenaceae)	radix	91
		aerial	135
눈피불주머니	<i>Corydalis ochotensis</i> (Fumariaceae)	aerial	85
눈빛승마	<i>Cimicifuga davurica</i> (Ranunculaceae)	herba, stem	135
느릅나무	<i>Ulmus davidiana</i> (Ulmaceae)	leaf	104
		branch	107
다래	<i>Actinidia arguta</i> (Actinidiaceae)	leaf	
닥나무	<i>Broussonetia kazinoki</i> (Moraceae)	aerial	130
단풍마	<i>Dioscorea quinqueloba</i> (Dioscoreaceae)	radix	98
		aerial	141
달맞이꽃	<i>Oenothera odorata</i> (Onagraceae)	radix	98
		aerial	100
담쟁이덩굴	<i>Parthenocissus tricuspidata</i> (Vitaceae)	stem	111
		leaf	142
		radix	136
		whole	146
당개지치	<i>Brachybotrys paridiformis</i> (Borraginaceae)	whole	103
대극	<i>Euphorbia pekinensis</i> (Euphorbiaceae)	whole	117
대사초	<i>Carex siderosticta</i> (Cyperaceae)	whole	101
도깨비고비	<i>Cyrtomium falcatum</i> (Aspidiaceae)	whole	190
동의나물	<i>Caltha palustris</i> (Ranunculaceae)	leaf, stem	129
		radix	104
두릅	<i>Aralia elata</i> (Araliaceae)	aerial	95
등굴레	<i>Polygonatum odoratum</i> (Liliaceae)	leaf	87
		radix	94
등근잎평의비름	<i>Sedum rotundifolium</i> (Crassulaceae)	aerial	107
		flower	140
등나무	<i>Wistaria floribunda</i> (Leguminosae)	branch	97
		fructus	98
등대풀	<i>Euphorbia helioscopia</i> (Euphorbiaceae)	whole	74
매죽나무	<i>Styrax japonica</i> (Styracaceae)	leaf	106
		branch	101
뚝갈	<i>Patrinia villosa</i> (Valerianaceae)	rhizoma	114
맑은대쑥	<i>Artemisia keiskeana</i> (Compositae)	whole	100
매발톱꽃	<i>Aquilegia buergeriana</i> (Ranunculaceae)	flower	104
매발톱나무	<i>Berberis amurensis</i> (Berberidaceae)	leaf, branch	100
멀구슬나무	<i>Melia azedarach</i> (Meliaceae)	leaf, flower	112
		branch	116
		heartwood	99
며느리밑씻개	<i>Persicaria senticosa</i> (Polygonaceae)	whole	131
명아주	<i>Chenopodium album</i> (Chenopodiaceae)	whole	91
모데미풀	<i>Megaleranthis saniculifolia</i> (Ranunculaceae)	whole	120
물레나물	<i>Hypericum ascyron</i> (Hypericaceae)	whole	164
미국가막사리	<i>Bidens frondosa</i> (Compositae)	radix	98
		aerial	98

Table I. Continued

Korean name	Scientific name (Family)	Part	Inhibition(%)
미국자리공	<i>Phytolacca americana</i> (Phytolaccaceae)	rhizoma	111
미나리아재비	<i>Ranunculus japonicus</i> (Ranunculaceae)	whole	101
미역줄나무	<i>Tripterygium regelii</i> (Celastraceae)	branch	264
미치광이풀	<i>Scopolia japonica</i> (Solanaceae)	radix	91
		stem	90
		leaf	131
밀나물	<i>Smilax riparia</i> (Liliaceae)	seed	103
바늘꽃	<i>Epilobium pyrricholophum</i> (Onagraceae)	whole	120
바디나물	<i>Angelica decursiva</i> (Umbelliferae)	whole	
바위취	<i>Saxifraga stolonifera</i> (Saxifragaceae)	whole	173
박주가리	<i>Metaplexis japonica</i> (Asclepiadaceae)	fructus	100
방기	<i>Sinomenium acutum</i> (Menispermaceae)	stem, radix	108
방아풀	<i>Isodon japonicus</i> (Labiatae)	aerial	88
		radix	92
배풍등	<i>Solanum lyratum</i> (Solanaceae)	whole	117
백당나무	<i>Viburnum sargentii</i> (Caprifoliaceae)	fructus	81
백선	<i>Dictamnus dasycarpus</i> (Rutaceae)	radix	100
		leaf	148
		rhizoma	130
백양꽃	<i>Lycoris koreana</i> (Amarylidaceae)	rhizoma	119
뱀딸기	<i>Duchesnea chrysantha</i> (Rosaceae)	whole	143
벌개미취	<i>Aster koraiensis</i> (Compositae)	aerial	64
범꼬리	<i>Bistrora manshuriensis</i> (Polygonaceae)	leaf	122
		radix	446
벗풀	<i>Sagittaria trifolia</i> (Alismataceae)	whole	104
복수초	<i>Adonis amurensis</i> (Ranunculaceae)	whole	105
부처손	<i>Selaginella tamariscina</i> (Selaginaceae)	aerial	118
		radix	83
붓순나무	<i>Illicium religiosum</i> (Illiciaceae)	leaf	164
		branch	412
비자나무	<i>Torreya nucifera</i> (Taxaceae)	leaf	87
		branch	91
뻬꾩채	<i>Rhapontica uniflora</i> (Compositae)	radix	97
		leaf	109
사상자	<i>Torilis japonica</i> (Umbelliferae)	rhizoma	120
		aerial	128
사스레나무	<i>Eurga japonica</i> (Theaceae)	branch	98
		fructus, leaf	100
사위질빵	<i>Clematis apiifolia</i> (Ranunculaceae)	aerial	96
산괴불주머니	<i>Corydalis speciosa</i> (Fumariaceae)	aerial	119
산구절초	<i>Chrysanthemum zawadskii</i> (Compositae)	whole	92
산평의다리	<i>Thalictrum filamentosum</i> (Ranunculaceae)	whole	94
삼주	<i>Atractylodes japonica</i> (Compositae)	rhizoma	139
		aerial	130
삿갓나물	<i>Paris verticillata</i> (Liliaceae)	radix	97
상사화	<i>Lycoris radiata</i> (Amarylidaceae)	leaf	110
		rhizoma	113

Table I. Continued

Korean name	Scientific name (Family)	Part	Inhibition(%)
상산	<i>Orixa japonica</i> (Rutaceae)	leaf, branch	136
상수리나무	<i>Quercus acutissima</i> (Fagaceae)	leaf	146
		branch	197
새끼노루귀	<i>Hepatica insularis</i> (Ranunculaceae)	whole	288
새모래덩굴	<i>Menispermum daouricum</i> (Menispermaceae)	leaf	115
서양톱풀	<i>Achillea millefolium</i> (Compositae)	whole	99
석산	<i>Lycoris squamigera</i> (Amaryllidaceae)	leaf	112
		rhizoma	77
섬기린초	<i>Sedum takesimense</i> (Crassulaceae)	whole	89
섬노루귀	<i>Hepatica maxima</i> (Ranunculaceae)	leaf	88
		aerial	105
		whole	133
섬바디	<i>Dystaenia takeshimana</i> (Umbelliferae)	aerial	160
		radix	107
섬백리향	<i>Thymus quinquecostatus</i> (Labiatae)	whole	104
섬천남성	<i>Arisaema negishii</i> (Araceae)	fructus	83
		aerial	115
		rhizoma	96
섬황벽	<i>Phellodendron insulare</i> (Rutaceae)	leaf	96
		heartwood	101
		bark	147
		fructus	133
세뿔투구꽃	<i>Aconitum austro</i> (Ranunculaceae)	aerial	131
소귀나무	<i>Myrica rubra</i> (Myricaceae)	leaf	1,819
		wood	107
		bark	434
솔나물	<i>Galium verum</i> (Rubiaceae)	whole	97
솔장다리	<i>Salsola collina</i> (Chenopodiaceae)	whole	115
송악	<i>Hedera rhombea</i> (Araliaceae)	fructus	95
		whole	67
쇠고비	<i>Cyrtomium fortunei</i> (Aspidiaceae)	whole	634
쇠무릅	<i>Achyranthes japonica</i> (Amaranthaceae)	radix	101
쇠물푸레나무	<i>Fraxinus sieboldiana</i> (Oleaceae)	branch	99
수송나물	<i>Salsola komarovii</i> (Chenopodiaceae)	leaf	123
쉬나무	<i>Evodia daniellii</i> (Rutaceae)	branch	104
		leaf	126
승마	<i>Cimicifuga heracleifolia</i> (Ranunculaceae)	leaf	122
시호	<i>Bupleurum falcatum</i> (Umbelliferae)	whole	83
쑥	<i>Artemisia princeps</i> (Compositae)	rhizoma	101
		whole	104
아카시아	<i>Robinia pseudo</i> (Leguminosae)	radix	111
		leaf	115
		branch	76
		flower	117
암대극	<i>Euphorbia jolkini</i> (Euphorbiaceae)	leaf	127
		radix	103

Table I. Continued

Korean name	Scientific name (Family)	Part	Inhibition(%)
애기괭이눈	<i>Chrysosplenium flagelliferum</i> (Saxifragaceae)	whole	100
애기똥풀	<i>Chelidonium majus</i> (Papaveraceae)	leaf	142
애기앉은부채	<i>Symplocarpus nipponicus</i> (Araceae)	whole	96
약오밀	<i>Houttuynia cordata</i> (Saururaceae)	aerial	126
양지꽃	<i>Potentilla fragarioides</i> (Rosaceae)	whole	116
어수리	<i>Heracleum moellendorffii</i> (Umbelliferae)	leaf	131
		rhizoma	100
얼레지	<i>Erythronium japonicum</i> (Liliaceae)	fructus	95
		radix	121
영경귀	<i>Cirsium japonicum</i> (Compositae)	leaf	142
		radix	105
여뀌	<i>Persicaria hydropiper</i> (Polygonaceae)	whole	197
여로	<i>Veratrum maackii</i> (Liliaceae)	aerial	102
		radix	79
		fructus	88
연령초	<i>Trillium kamtschaticum</i> (Liliaceae)	whole	119
왕고들빼기	<i>Lactuca indica</i> (Compositae)	whole	92
왕호장근	<i>Reynoutria sachalinensis</i> (Polygonaceae)	leaf	206
왜현호색	<i>Corydalis ambigua</i> (Fumariaceae)	aerial	112
		radix	101
용담	<i>Gentiana scabra</i> (Gentianaceae)	whole	102
울릉쑥부쟁이	<i>Aster glehni</i> (Compositae)	whole	109
으아리	<i>Clematis mandshurica</i> (Ranunculaceae)	whole	103
인동	<i>Lonicera japonica</i> (Caprifoliaceae)	whole	103
일천궁	<i>Cnidium officinale</i> (Umbelliferae)	whole	104
자주괴불주머니	<i>Corydalis incisa</i> (Fumariaceae)	whole	125
자주평의다리	<i>Thalictrum uchiyamai</i> (Ranunculaceae)	whole	114
작약	<i>Paeonia lactiflora</i> (Paeonia)	seed	56
		petal	110
정영영경귀	<i>Cirsium chanroenicum</i> (Compositae)	aerial	115
조릿대	<i>Sasa borealis</i> (Gramineae)	stem	85
		rhizoma	91
		leaf	128
조팝나무	<i>Spiraea prunifolia</i> (Rosaceae)	leaf	110
		branch	95
		flower	103
조희풀	<i>Clematis heracleifolia</i> (Ranunculaceae)	leaf	119
족도리	<i>Asarum sieboldii</i> (Aristolochiaceae)	whole	130
족제비싸리	<i>Amorpha fruticosa</i> (Leguminosae)	whole	127
주목	<i>Taxus cuspidata</i> (Taxaceae)	fructus	108
		leaf	109
		branch	147
주엽나무	<i>Gleditsia japonica</i> (Leguminosae)	leaf	114
		heartwood	109
		bark	138
취방울덩굴	<i>Aristolochia contorta</i> (Aristolochiaceae)	leaf	115

Table I. Continued

Korean name	Scientific name (Family)	Part	Inhibition(%)
지느러미영경귀	<i>Carduus crispus</i> (Compositae)	whole	113
지렁쿠나무	<i>Sambucus sieboldiana</i> (Caprifoliaceae)	branch	105
		leaf	113
지치	<i>Lithospermum erythrorhizon</i> (Borraginaceae)	radix	121
		aerial	127
쑤신나물	<i>Agrimonia pilosa</i> (Rosaceae)	radix	109
		aerial	99
쪽동백나무	<i>Styrax obassia</i> (Styracaceae)	branch	119
		leaf	119
		bark	102
		heartwood	89
참빗살나무	<i>Euonymus sieboldiana</i> (Celastraceae)	fructus	118
		leaf, branch	121
참취	<i>Aster scaber</i> (Compositae)	leaf	107
처녀치마	<i>Heloniopsis orientalis</i> (Thunberg)	whole	118
천남성	<i>Arisaema amurense</i> (Araceae)	rhizoma	92
천문동	<i>Asparagus cochinchinensis</i> (Liliaceae)	aerial	83
철쭉	<i>Rhododendron schlippenbachii</i> (Ericaceae)	leaf, branch, flower	137
청미레덩굴	<i>Smilax china</i> (Liliaceae)	leaf	110
		radix	101
초피나무	<i>Zanthoxylum piperitum</i> (Rutaceae)	leaf	144
		branch	116
춧대승마	<i>Cimicifuga simplex</i> (Ranunculaceae)	whole	106
취	<i>Pueraria thunbergiana</i> (Leguminosae)	whole	112
큰제비고깔	<i>Delphinium maackianum</i> (Ranunculaceae)	whole	101
큰피막이	<i>Hydrocotyle ramiflora</i> (Umbelliferae)	whole	97
탱자나무	<i>Poncirus trifoliata</i> (Rutaceae)	terminal leaf	106
		fructus	120
터리풀	<i>Filipendula glaberrima</i> (Rosaceae)	whole	133
털개구리미나리	<i>Ranunculus cantoniensis</i> (Ranunculaceae)	whole	96
토끼풀	<i>Trifolium repens</i> (Leguminosae)	whole	112
투구꽃	<i>Aconitum jaluense</i> (Ranunculaceae)	flower	80
		rhizoma	99
		aerial	109
파리풀	<i>Phryma leptostachya</i> (Phrymaceae)	whole	96
피마자	<i>Ricinus communis</i> (Euphorbiaceae)	aerial	106
		seed	99
		fructus, shell	125
하늘말나리	<i>Lilium tsingtauense</i> (Liliaceae)	radix	97
해국	<i>Aster spathulifolius</i> (Compositae)	leaf	92
향유	<i>Elsholtzia ciliata</i> (Labiatae)	aerial	77
		rhizoma	127
헛개나무	<i>Hovenia dulcis</i> (Rhamnaceae)	fructus	137
현삼	<i>Scrophularia buergeriana</i> (Scrophulariaceae)	aerial	115
호랑가시나무	<i>Ilex cornuta</i> (Aquifoliaceae)	leaf	108
		heartwood	108
		bark	108

Table I. Continued

Korean name	Scientific name (Family)	Part	Inhibition(%)
호박	<i>Cucurbita moschata</i> (Cucurbitaceae)	flower	98
홀아비꽃대	<i>Chloranthus japonicus</i> (Chloranthaceae)	radix	142
홀아비바람꽃	<i>Anemone koraiensis</i> (Ranunculaceae)	whole	115
환삼덩굴	<i>Humulus japonicus</i> (Cannabaceae)	aerial	94
황칠나무	<i>Dendropanax morbifera</i> (Araliaceae)	leaf	158
		branch	132
회리바람꽃	<i>Anemone reflexa</i> (Ranunculaceae)	whole	102
흰바디나물	<i>Angelica cartilagino</i> (Umbelliferae)	whole	135
흰진범	<i>Aconitum longecassidatum</i> (Ranunculaceae)	radix	88
		aerial	94
		whole	99

Table II. Inhibitory activities of five plant extracts against human thrombin determined by thrombin time (TT) and activated partial thromboplastin time (aPTT)

Herbal extracts (part used)	TT (%)						aPTT (%)	
	Concentration (mg/ml)						0.5	0.25
	1.5	0.5	0.25	0.125	0.002	0		
<i>Myrica rubra</i> (Leaf)	ND*	>2,000	212.4±14.3	160.0±12.5	ND	100	>1,000	109.6±11.6
<i>Myrica rubra</i> (Bark)	ND	434.1±21.2	207.1±6.6	137.4±4.9	ND	100	>1,000	119.1±6.5
<i>Bistrora manshuriensis</i> (Radix)	ND	446.2±18.7	231.2±13.2	138.2±23.7	ND	100	262.4±12.9	104.2±5.9
<i>Cyrtomium fortunei</i> (Whole)	ND	634.2±39.6	234.5±19.6	137.1±9.2	ND	100	182.3±5.6	108.6±4.3
<i>Illicium religiosum</i> (Branch)	ND	412.3±29.5	105.3±3.2	100.2±6.9	ND	100	136.1±4.1	114.1±7.9
Aspirin	290.5±50.4	116.4±8.3	105.2±5.3	100.5±4.6	ND	100	154.2±8.1	113.2±11.2
Heparin	ND	ND	ND	>2,000	301.3±18.7	100	ND	ND

*ND: Not Determined. The % of inhibition was expressed as mean±SD from triplicated experiments.

박, 갯버들, 할미밀망, 우산나물에서도 확인된바 있다.^{12,13)} 이와 같은 현상은 정확히 이해되어 있지 않으나, 아스피린과 달리 사용된 시료가 정제되지 않은 상태라는 점과, 일정 농도 이상의 미세한 혈전괴가 생성된 이후에 효율적인 혈전생성이 개시되어 나타나는 현상으로 사료된다. 한편 5종

추출물에 대한 aPTT 측정에 의한 혈액 항응고 활성 평가의 결과는 Table II에 나타내었으며, 소귀나무 잎 및 껍질 추출물이 강력한 항응고성 물질을 포함하고 있음을 확인하였다.

현재까지 소귀나무 추출물의 항혈전 활성은 국내는 물론 전 세계적으로 보고된 바 없으나, 최근 항바이러스 효과, 항

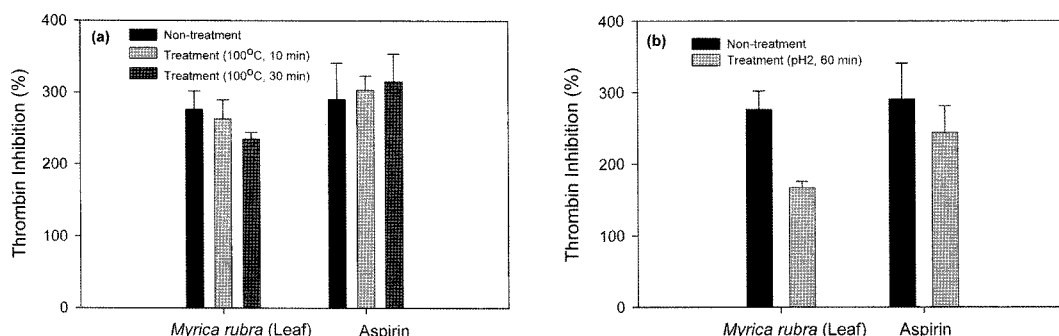


Fig. 1. The heat stabilities and acid stability of methanol extract of *Myrica rubra* leaf and aspirin. The remaining activities was determined by thrombin time after (a) heat treatment at 100°C for 10 min or 30 min, and (b) acid treatment at pH 2 at 30°C for 60 min, respectively. The used concentrations of the extract and aspirin were 0.3 mg/ml and 1.5 mg/ml, respectively, as a final concentration.

암효과 및 항산화효과를 나타내는 다양한 색소성분과 flavonol류 화합물이 소귀나무로부터 보고^{17,18)}되어 있으며, 이들은 산성조건에서 더욱 안정한 것으로 알려져 있다. 소귀나무 잎 추출물의 식품 소재 및 식물생약으로의 개발 가능성을 위해 열 안정성 및 산 안정성을 검토한 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 먼저 소귀나무 잎 추출물 0.3 mg/ml에서, 10분간 100°C에서 열처리 한 경우 276%의 저해활성이 263%로 감소되었으며, 30분 열처리에 의해서는 235%로 활성이 감소되었다. 그러나 이러한 결과는 최초 저해활성의 각각 95% 및 85%로 활성소실이 미약한 것으로 확인되었다(Fig. 1a). 아스피린 1.5 mg/ml를 사용한 경우에는 기존 보고¹⁶⁾와 동일하게, 초기 활성의 109% (290%에서 315%로 증대)까지 저해활성이 다소 증가하였다. 한편 소귀나무 잎 추출물의 산 안정성 측정 결과 pH 2에서 1시간 처리한 경우 초기 트롬빈 저해활성의 60%가 유지되었으나, 아스피린의 경우 72.5%를 유지하여(Fig. 1b), 소귀나무 잎 추출물이 내열성은 우수한 반면 내산성은 다소 약한 것으로 확인되었다. 이러한 결과는, 소귀나무 잎 추출물을 이용한 식품 소재개발 및 다양한 가공적성검토의 기초 자료로 이용될 것이다. 현재, 소귀나무 추출물의 활성성분에 대한 정제와, 다양한 단백질 분해효소에 대한 비특이적 저해 활성 및 항산화능을 포함한 생리활성을 검토 중에 있다.

본 연구에서 최종적으로 선정된 소귀나무 잎 추출물은, 본 연구진에 의해 보고^{12,13,16)}된 513종의 약용식물, 야생식물 및 곡류의 다양한 부위에서 조제한 664종의 천연물 추출물중 가장 강력한 항혈전 활성을 나타내어, 소귀나무 잎 추출물의 활성물질들을 포함하는 심혈관 혈류개선 천연물 생약으로서의 개발 가능성을 제시하고 있다.

사 사

본 연구는 2004년도 경상북도 바이오산업기술 개발사업 (G03-16)의 지원에 의해 수행되었기에 이에 감사를 드립니다.

인용문헌

- Butenas, S. and Mullertz, S. (2002) Blood coagulation. *Biochemistry (Moscow)* **67**: 3-12.
- Korea National Statistical Office. (2000) A study on causes of death for 1999.
- Cattaneo, F., Trento, F., Pescador, R., Porta, R. and Furro, L. (2002) Pharmacodynamics of the anticoagulant activity (APTT) of an algal polysaccharide. *Thromb. Res.* **105**: 455-457.
- Molina, V., Arruzazabala, M. L. and Mas, C. R. (2003) Synergistic effect of D-003 and aspirin on experimental thrombosis models. *Prostag. Leukotr. Ess.* **68**: 305-310.
- Katira, R., Chauhan, A. and More, R. S. (2005) Direct thrombin inhibitors: novel antithrombotics on the horizon in the thromboprophylactic management of atrial fibrillation. *Postgrad. Med. J.* **81**: 370-375.
- Weitz, J. I. and Crowther, M. (2002) Direct thrombin inhibitors. *Thromb. Res.* **106**: 275-284.
- Gwak, H.-S. and Chun, I. K. (2000) Formulation study of aspalatone, a new antithrombotic agent. *J. Appl. Pharmacol.* **8**: 332-337.
- Hsieh, K.-H. (1997) Thrombin interaction with fibrin polymerization sites. *Thromb. Res.* **86**: 301-316.
- Hellgren, M., Johansson, S., Eriksson, U. G. and Wahlander, K. (2005) The oral direct thrombin inhibitor, ximelagatran, an alternative for anticoagulant treatment during the puerperium and lactation. *BJOG* **112**: 579-583.
- Gulseth M. P. (2005) Ximelagatran: an orally active direct thrombin inhibitor. *Am. J. Health. Syst. Pharm.* **62**: 1451-1467.
- Lee, T.-B. (1993) Illustrated flora of Korea. Hwang Moon Sa, Seoul.
- Sohn, H.-Y., Kwon, Y.-S., Kim, Y.-S., Kwon, H.-Y., Kwon, G.-S., Kim, G.-J., Kwon, C.-S. and Son, K. H. (2004) Screening of thrombin inhibitors from medicinal and wild plants. *Kor. J. Pharmacogn.* **35**: 52-61.
- Kwon, C.-S., Kwon, Y.-S., Kim, Y.-S., Kwon, G.-S., Jin, I., Ryu, G.-C. and Sohn, H.-Y. (2004) Inhibitory activities of edible and medicinal herbs against human thrombin. *J. Life Sci.* **14**: 509-513.
- Lee, H.-J., Kim, J.-S., Heo, G.-Y., Lee, K.-B., Rhee, I.-K. and Song, K.-S. (1999) Inhibitory activities of basidiomycetes on prolyl endopeptidase, acetylcholine esterase and coagulation. *J. Korean Soc. Agri. Chem. Biotechnol.* **42**: 336-343.
- Hahn, B.-S., Wu, S. and Kim, Y.-S. (1999) Evaluation of anticoagulant and fibrinolytic activities from crude extracts. *Kor. J. Pharmacogn.* **30**: 409-412.
- Sohn, H.-Y., Kwon, C.-S., Son, K.-H., Kwon, G.-S., Kwon, Y.-S., Ryu, H.-Y. and Kum, E.-J. (2005) Antithrombosis and antioxidant activity of methanol extract from different brands of rice. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **34**: 593-598.
- Bao, J., Cai, Y., Sun, M., Wang, G. and Corke, H. (2005) Anthocyanins, flavonols, and free radical scavenging activity of Chinese bayberry (*Myrica rubra*) extracts and their color properties and stability. *J. Agric. Food Chem.* **53**: 2327-2332.
- Kuo, P. L., Hsu, Y. L., Lin, T. C., Lin, L. T. and Lin, C. C. (2004) Induction of apoptosis in human breast adenocarcinoma MCF-7 cells by prodelphinidin B-2 3, 3'-di-O-gallate from *Myrica rubra* via Fas-mediated pathway. *J. Pharm. Pharmacol.* **56**:1399-1406.

(2005년 8월 5일 접수)