

식품학적 가공에 의한 생약의 성분 및 활성 변화 IV - Roasting 처리에 의한 진피 중 5-HMF 함량증가 -

예근학 · 허종문 · 최선하 · 양은주 · 이유미¹ · 강영화 · 송경식*
경북대학교 농업생명과학대학 응용생물화학부, ¹생명공학부

Changes in Chemical Composition and Biological Activities of Oriental Crude Drugs by Food Processing Techniques IV - Increase in 5-HMF Content of *Aurantii nobilis* Pericarpium During Roasting Process -

Qinxue Ni, Jong-Moon Hur, Sun-Ha Choi, Eun-Ju Yang, Yu-Mi Lee¹,
Young-Hwa Kang and Kyung-Sik Song*

School of Applied Life Sciences, College of Agriculture and Life Sciences

¹Department of Genetic Engineering, College of Natural Sciences, Kyungpook National University, Deagu 702-701 Korea

Abstract – Regarding chemical changes in oriental drugs after food processing such as roasting, fermentation, and extrusion, fifty commonly-used medicinal plants were investigated. As a result, *Aurantii nobilis* Pericarpium (a tangerine peel from *Citrus unshu* Markovich) showed remarkably different HPLC profiles after being roasted. An increased peak was isolated by repeated chromatography and identified as 5-hydroxymethyl furfural (5-HMF) by means of instrumental analyses. The 5-HMF content of *Aurantii nobilis* Pericarpium reached its maximum level after being roasted for 30 min at 225°C (49.2 mg/g extract, ca 42 times of increase over untreated control). Although there were no significant changes in *in vitro* biological activity such as antioxidative, anti-dementia, anti-hypertension, anti-coagulation, or cytotoxicity, before and after roasting process, our results suggested that simple heat treatment might improve the value of the above oriental drug since 5-HMF has been known to possess inhibitory activities toward nitric oxide formation, tyrosinase, and sickling of red blood cells.

Key words – *Aurantii nobilis* Pericarpium, roasting, processing, 5-Hydroxymethyl furfural (5-HMF)

진피(*Aurantii nobilis* Pericarpium)는 운향과(Rutaceae)에 속한 귤(*Citrus unshiu* Markovich) 및 동속 근연식물의 성숙한 과실의 과피를 건조한 것으로 이기(理氣), 조습(燥濕), 건비(健脾), 화담(化痰) 등의 효능이 있어 흉복창만(胸腹脹滿), 식욕부진(食慾不振), 해소담다(解消痰多), 어해중독(魚蟹中毒) 등을 치료한다.^{1,2)} 또한 진피에 당삼, 백출을 배합하면 보(補)하면서 체(滯)하지 않고 그 효력을 높여 주며, 반하와 복령을 배합하면 화담(化痰)하는 효능이 있고, 창출과 후박을 배합하면 행기(行氣), 조습(燥濕)하는 효력이 증강되고, 방풍, 백작약, 백출을 배합하면 지통(止痛)과 사하작용(瀉下作用)이 있고, 생강과 죽여를 배합하면 화위(和胃), 강역(降

逆)하는 효능이 있다고 한다. 귤에는 carotenoids, limonoids 및 flavonoids 화합물이 함유되어 있는 것으로 보고되어 있으며, 이들 함유된 성분을 이용한 많은 생리활성 연구결과가 알려져 있다.³⁻⁵⁾

한편, 식품가공에 있어 roasting (볶음 및 가열처리)은 제품의 성분 및 성분 조성을 변화시켜 고유한 향미와 색을 얻기 위한 가공법의 하나로,⁶⁾ 음료용 차 등의 고부가성 가공 제품 개발의 유용한 방법이 되고 있으며 그 예로, coffee, 등글레차, 보리차, 치커리 등 차류와 들깨, 참깨, 단감 등을 예로 들 수 있다.⁷⁻¹²⁾

또한 전통약물은 꿀이나 술 등을 보조 재료로 첨가하여 roasting하거나 수증기로 찌는 등의 가공을 통해 약물의 인체에 대한 독성과 부작용을 없애거나 줄이고, 치료효과와

*교신저자(E-mail): kssong@knu.ac.kr
(FAX): 053-956-5715

증대, 약성의 변형 및 약물을 장기간 보관할 목적으로 가공하여 사용하였다.¹³⁻¹⁷⁾ 전통약물의 가공법을 수치, 법제 또는 포제라 하며, 가열처리하여 볶는 roasting은 약제에 함유된 어떤 성분을 파괴시키거나 제거하여 약물의 자극성과 부작용을 감소시키거나 방향성 향미를 증가시켜 교취, 교미, 견비 등의 작용을 일으키게 하며 약제의 분쇄, 저장 및 유효성분의 추출을 편리하도록 할 목적으로 행해지고 있다. 현재, 결명자, 산조인, 견우자, 우방자, 만형자, 빈랑, 백과, 자소자 등 30 종 이상의 한약재가 roasting 가공을 하여 임상에서 널리 사용되고 있다.^{18,19)} 그러나 약제의 roasting 처리에 따른 성분변화 및 생리활성의 변화에 관한 연구는 대부분의 성분이 약제에 미량 함유되어 있는 관계로 많은 어려움이 있다. 이로 인해 roasting으로 인해 성분이나 생리활성 변화가 가시적으로 보인 약물은 결명자와 감초 등의 일부 한약재이다.²⁰⁻²²⁾

현재, 임상에서 사용되고 있는 가공품은 주로 가공자의 주관적인 경험에 의존하고 있어, 한약 가공법의 규격화를 위한 많은 연구가 필요하며, 전통적인 가공법에 현대적 개념의 식품가공 처리법을 응용한다면 특정성분의 함량 증가 및 화합물의 변성에 의하여 천연물 신약과 차 등의 기능성 가공제품 개발 시에 화학적 다양성의 확보라는 측면에서 유용한 도구로 활용할 수 있을 것이다.

본 연구는 빈용 한약재에 가열, extrusion, 발효 등 여러가지 가공 처리 시 성분의 변화와 약효에 대한 일련의 연구 중 하나로, roasting 처리에 의한 진피의 성분조성 변화를 HPLC를 이용하여 비교분석 한 후, 증가된 화합물을 분리하여 화학구조를 동정하고 함량을 증가시킬 수 있는 최적의 roasting 조건을 확립하였으므로 보고하고자 한다.

재료 및 방법

재료 - 실험에 사용된 진피는 2005년에 대구 약령시장에서 구입하여 사용하였으며, 표본은 경북대학교 전통기술첨단화연구실에 비치하였다 (Voucher no. NPC-ANP1).

시약 및 기기 - HPLC 분석은 Dionex사의 AS50 Chromatography Compartment, AS50 Autosampler, AD25 Absorbance Detector, GS50 Gradient Pump로 구성하였다. 그리고 분리한 화합물의 구조동정에 사용한 ¹H과 ¹³C-NMR 분석은 Bruker사 Avance Digital 400 spectrophotometer (Karsruhe, Germany)를 사용하여 400 MHz와 100 MHz에서 측정하였으며, chemical shift는 TMS(tetramethyl silane)를 기준물질로 하여 ppm으로 나타내었다. TLC는 precoated silica gel plate(Kieselgel 60F₂₅₄)를, 화합물 분리를 위한 column용 충전제로는 silica gel(Art. 7734)을 각각 Merck사 (NJ, U.S.A.)에서 구입하여 사용하였다. 표준품 5-hydroxymethyl-2-furfural(5-HMF)는 Sigma사에서 구입하여 사용하였으며 기

타 용매 및 시약은 일급 및 특급을 사용하였다.

Roasting 처리 - 자체 제작한 전기볶음 기계를 이용하여 진피절편 50 g을 190°C에서 30분간 roasting처리를 하여 에탄올로 추출한 후, HPLC를 이용하여 처리하지 않은 시료와 비교분석 하였다. 그리고 roasting 시간 (15, 30, 60분)과 온도 (120, 150, 190, 220, 280°C)가 성분의 함량증가에 미치는 영향은 진피 10 g씩을 각각 이용하여 실험하였다.

5-HMF의 정량 - Roasting처리에 의해 증가되는 성분으로 밝혀진 5-HMF의 정량은 표준품(아래 기술한 HPLC 조건에서 순도 96.5% 이상)을 HPLC로 분석하여 peak area와 농도간의 상관관계를 이용하여 검량선 [$Y(\text{peak area}) = 0.0221 \times X(\text{concentration in } \mu\text{g}) + 0.0187, r^2 = 0.9922$]을 작성한 다음, 미지농도의 peak area를 검량식에 대입하여 산출하였다. Roasting 전, 후의 5-HMF 함량을 정량하기 위하여 다양한 조건으로 roasting한 진피 에탄올 추출물 및 처리하지 않은 대조군 각 10 mg을 1 ml의 에탄올에 녹여 4.5 μm membrane filter로 여과 한 다음 이 중 10 μl 를 취하여 HPLC분석에 사용하였다. HPLC 이동상은 1%의 acetic acid를 포함한 water (A)와 acetonitrile (B)로 B를 0%에서 100%까지 50분간 농도기울기를 주어 분석하였다. 사용된 column은 ZORBAX Eclipse XDB-C18(4.6 \times 150 mm, 5 μm , Agilent, USA)이며, 유속은 0.8 ml/min, 검출은 UV 280 nm에서 하였다.

추출 및 분리 - 190°C에서 30분간 roasting 처리한 진피 (6 kg)을 에탄올로 4 시간 3회 반복 열탕추출한 후, 감압 농축하여 추출물 1.75 kg을 얻었다. 이 추출물을 증류수에 분산시킨 후, CH₂Cl₂, EtOAc, BuOH 순으로 분획한 후, CH₂Cl₂와 EtOAc 가용부의 수분을 Na₂SO₄로 제거하였다. CH₂Cl₂, EtOAc, BuOH 가용부를 HPLC로 분석한 결과, roasting처리로 증가한 성분이 CH₂Cl₂ 가용부에 함유되어 있는 것으로 나타났다. 증가된 성분을 분리하기 위해 CH₂Cl₂ 가용성 분획 (113.86 g)을 silica gel(70-230 mesh)로 column chromatography(10.5 \times 100 cm)하였으며, 용출용매로 hexane-EtOAc 혼합용매 (100:110:1)를 사용하여 TLC 패턴에 따라 11개의 fraction (ANE1-11)을 얻었다. 11개의 fraction중 ANE6 fraction에서 결정화된 화합물 1 (795 mg)을 분리하였다. 이 화합물은 HPLC 분석에서 roasting처리에 의해 진피 중 증가된 화합물의 peak와 retention time이 정확히 일치하였다.

화합물 1 - ¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 9.59 (1H, s, CHO), 7.23 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-3), 6.53 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-4), 4.73 (2H, s, -CH₂-), 2.73 (1H, brs, -OH); ¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ : 177.7 (2-CHO), 160.7 (C-5), 152.3 (C-2), 122.9 (C-3), 110.6 (C-4), 57.6 (C-6).

활성검정 - DPPH 라디칼 소거능 및 항혈전활성(APTT, activated partial thromboplastin times)은 각각 기 보고된 방

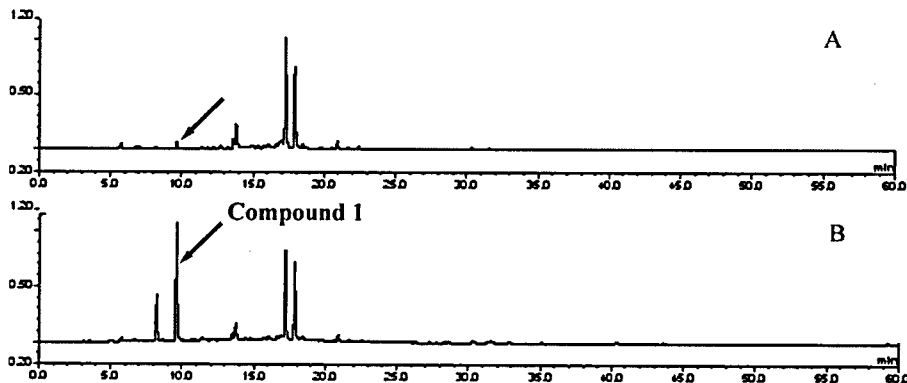


Fig. 1. HPLC profile of unroasted (A) and roasted (B) *Aurantii nobilis* Pericarpium.

법에 준하여 수행하였다.^{23,24)} 항치매활성과 관련이 있는 PEP (prolyl endopeptidase) 및 BACE1(β -secretase)과 항고혈압활성과 관련이 있는 ACE(angiotensin converting enzyme)에 대한 활성 측정은 각각 Lee,²⁵⁾ Jeon,²⁶⁾ Cushman 등²⁷⁾의 방법으로 측정하였고, NIH-3T3에 의한 인간암세포주에 대한 독성은 Kanamaru 등,²⁸⁾ 그리고 HUVECs(human umbilical vein endothelial cell)에 대한 독성은 Lin 등의 방법에 따랐다.²⁹⁾

결과 및 고찰

Roasting 처리에 의한 진피 추출물의 HPLC pattern 변화 - Roasting처리 전·후의 진피 에탄올 추출물을 HPLC로 비교하여 보았다. 190°C에서 30분간 roasting처리한 추출물에서 처리하지 않은 대조군 보다 강도가 크게 증가한 peak (t_R , 9.6 min)를 관찰할 수 있었다 (Fig. 1).

Roasting처리에 의하여 증가한 화합물의 구조 동정 - HPLC chromatogram 분석에서 roasting처리로 크게 증가한 화합물을 분리하기 위해 진피의 에탄올 추출물을 CH_2Cl_2 , EtOAc, n-BuOH 순으로 분획한 후, 각 분획물을 HPLC로 분석한 결과, CH_2Cl_2 분획에서 증가된 화합물이 관찰되었다. CH_2Cl_2 분획을 대상으로 silica gel column chromatography를 행하여 화합물 1을 분리하였다. 화합물 1은 $^1\text{H-NMR}$ 분석결과, δ 9.59 (1H, s)에서 aldehyde기에 의한 proton resonance가 관측되었고, δ 7.23 (1H, d, $J=3.56$ Hz)과 6.53 (1H, d, $J=3.56$ Hz)에서 furane 골격에 특징적인 aromatic proton signal이 관측되어 furfural 유도체의 일종임을 예상할 수 있었다. 또한 δ 4.73 (2H, s)과 δ 2.73 (1H, brs)에서 나타난 peak들은 furfural C-5에 hydroxymethyl기가 결합한 골격임을 암시하였다. 최종적으로 화합물 1의 ^1H 와 $^{13}\text{C-NMR}$ data를 문헌치³⁰⁾ 및 표준품과 비교하여 5-hydroxymethyl-2-furfural (5-HMF)로 구조동정하였다 (Fig. 2).

5-HMF 함량증가를 위한 최적 roasting 조건 - 진피를 대상으로 roasting 온도와 시간이 5-HMF 함량변화에 미치는 영향을 HPLC로 분석하였다. 진피절편 10 g씩을 120,

150, 190, 225, 280°C 조건에서 30분간 roasting처리 후 에탄올로 추출하여 5-HMF의 함량변화에 미치는 온도의 영향을 조사한 결과, 225°C 조건으로 처리하였을 때 5-HMF가 최대함량을 나타내고 225°C 이상은 온도가 증가하더라도 함량에 영향을 주지 않았다 (Fig 3). 그리고 roasting 온도를 225°C로 고정시키고 15, 30, 60분 간 roasting 처리하여 5-HMF의 함량변화에 미치는 온도의 영향을 조사한 결과, 30분간 처리하였을 때 함량이 가장 높게 나타났으며, 30분 이상은 처리시간이 증가하더라도 5-HMF 함량에 영향을 주지

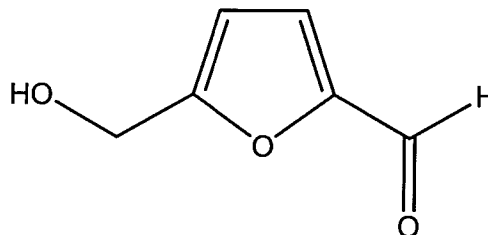


Fig. 2. Chemical structure of 5-hydroxymethyl-2-furfural (5-HMF).

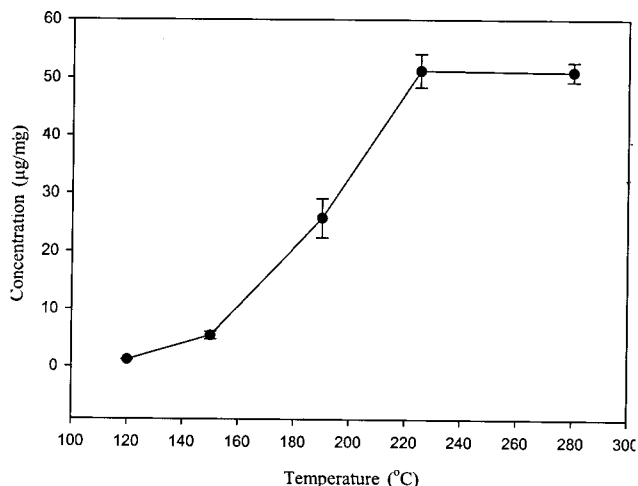


Fig. 3. Changes in 5-HMF content according to the roasting temperature.

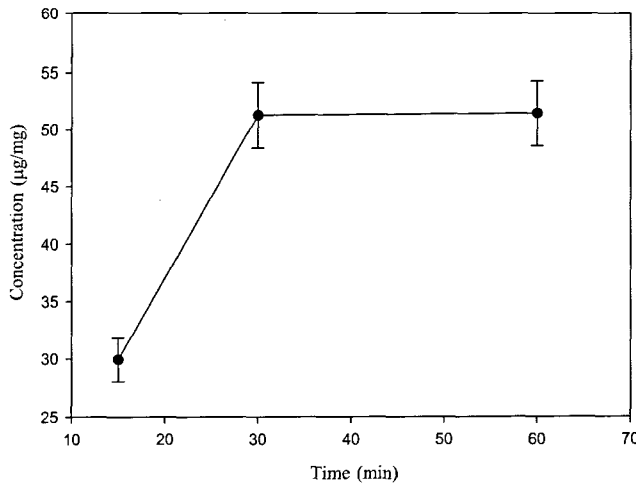


Fig. 4. Changes in 5-HMF content according to the roasting time.

Table I. Comparison of biological activities before and after roasting treatment

	Untreated	Roasted
DPPH ^{a)}	45.3	47.1
PEP ^{b)}	12.3	15.5
BACE1 ^{c)}	22.5	18.3
ACE ^{d)}	11.3	10.1
APTT ^{e)}	22.3	19.1
NIH-3T3 ^{f)}	52.3	50.3
HUVECs ^{g)}	77.1	74.3

^{a)}Antioxidative effect (scavenging % at 100 ppm). ^{b,c)}Anti-dementia (inhibition % at 40 ppm, PEP for prolyl endopeptidase and BACE1 for β -secretase. ^{d)}Anti-hypertensive effect (inhibition % at 20 ppm, ACE for angiotensin converting enzyme). ^{e)}Anti-coagulation effect (inhibition % at 167 ppm, APTT for activated partial thromboplastin times). ^{f)}Cytotoxicity to human cell line (survival % at 40 ppm). ^{g)}Cytotoxicity for normal cells (survival % at 200 ppm, HUVECs for human umbilical vein endothelial cell)

않았다 (Fig 4). 따라서 5-HMF는 225°C에서 30분간 roasting 하였을 때 함량이 가장 높아짐을 알 수 있었고, 이 조건에서 5-HMF 함량은 처리 전 (1.18 mg/g) 보다 42배 (49.2 mg/g) 증가한 것으로 관찰되었다.

한편, 5-HMF 이외에도 roasting 처리에 의하여 t_R 8.2 min 부근에 증가한 peak를 목격할 수 있었으나 이들의 분리에는 실패하였다. 그러나 LC-MS 측정결과 [M-1] peak가 m/z 127에서 관측되어 5-HMF의 환원형태인 2,5-dihydroxymethyl furan일 것으로 추정하였으나 정확한 구조 동정을 위하여는 추가적인 실험이 필요할 것으로 판단된다.

5-HMF는 amino acid와 환원당이 가열에 의해 melanodin 을 만드는 Maillard reaction의 중간산물로, 과습이나 산성이

강한 식품에서 다량으로 생성되므로 식품 가공 중 변화하는 화합물의 중요한 중간체로 생각되고 있다.³¹⁾ 천문동과 대추를 roasting 처리하였을 때도 5-HMF가 다량 생성되는 것으로 이미 선행연구 결과로 보고한 바 있으며,³²⁾ 숙지황,³³⁾ 산수유³⁰⁾ 및 맥문동과 오미자를 함께 전탕하였을 때도 생성된다고 한다.^{3,4)}

한편, roasting처리 전, 후의 활성변화를 관찰하기 위해 항산화능을 DPPH법에 의하여 측정된 결과 처리전후에 큰 변화는 없었다. 또한 뇌 내의 인지기능 및 memory process와 관련이 있는 것으로 알려진 prolyl endopeptidase와 뇌신경독성 β 를 만드는 데 관여하는 β -secretase(BACE1)에 대한 저해활성 역시 주목할 만한 차이를 나타내지는 않았다. 그의 고혈압과 관련된 ACE(angiotensin converting enzyme)에 대한 저해활성과 항혈전 활성 지표인 APTT assay에서, 그리고 인간피부암세포주 및 정상상피세포에 대한 세포독성을 측정된 결과, roasting 처리가 이들의 활성에 거의 영향을 주지 못하는 것으로 나타났다 (Table I).

한편, 5-HMF가 chick embryo에 대한 세포독성이 있다는 사실이 한 편 보고되었으나³⁵⁾ 반면 phase II enzyme의 유도에 의해 암예방 및 항암효과도 알려져 있어³⁶⁾ 항암효과 및 발암효과에 대한 결론에는 다소 논란의 여지가 있는 듯하다. 그러나 5-HMF는 nitric oxide (NO)의 생성 저해,³⁷⁾ tyrosinase 저해,³⁸⁾ 산소와 hemoglobin의 친화력 증가에 의한 적혈구의 sickling 억제,³⁹⁾ DNA polymerase 와 terminal deoxynucleotidyltransferase에 대한 선택적 억제⁴⁰⁾ 등의 활성이 알려져 있어 roasting 처리는 진피의 기능성을 높이는 유용한 도구가 될 수 있을 것으로 기대된다.

결론

진피를 190°C에서 30분간 roasting처리한 후, 처리하지 않은 시료와 HPLC chromatogram을 비교분석한 결과, 1종의 화합물의 함량이 크게 증가한 것으로 관찰되었다. 이 화합물을 분리하기 위하여 roasting처리한 진피를 에탄올로 열탕추출한 다음 유기용매에 의하여 순차적으로 분획하였다. 이 추출물의 유기용매 분획물 중, CH_2Cl_2 분획을 silica gel column chromatography하여 1 종의 단일화합물을 얻었으며, HPLC 분석결과 roasting 처리에 의하여 진피 중 증가한 화합물의 retention time과 정확히 일치하였다. 이 화합물은 문헌치 및 표준품의 NMR data와 비교하여 5-hydroxymethyl-2-furfural (5-HMF)로 동정하였다. 또한 최적 roasting 처리 조건을 조사한 결과, 225°C에서 30분간 처리하였을 때 가장 함량이 높게 나타났으며, 이 조건에서 5-HMF 함량은 49.2 mg/g ext로 처리하지 않은 경우에 비하여 42배 증가하였다. 한편, DPPH에 의한 라디칼소거능, ACE에 의한 항고혈압활성, APTT에 의한 항혈전활성, PEP 및 BACE1에 대한 항치매활성 및 암

세포와 정상세포에 대한 세포독성을 비교한 결과 roasting 처리는 활성에 거의 영향을 미치지 못하는 것으로 나타났다.

사 사

본 연구는 2003년-2005년도 한국과학재단 전통기술첨단 화연구실 사업의 지원에 의해 수행되었기에 이에 감사를 드립니다. 또한 본 연구에 참여한 허종문박사가 산업자원부의 지역인력양성사업에 의해 재정적 지원을 받았음에 감사드립니다.

인용문헌

1. 강승수, 고운채, 김선희, 노승현, 서영배, 송승준, 신민교, 안덕균, 이상인, 이영종, 이강희, 주영승 (1994) 본초학, 347-349. 영림사, 서울.
2. 정보섭, 신민교 편저 (1998) 도해향약(생약)대사전 (식물편), 784. 영림사, 서울.
3. Whang, H. J. and Yoon, K. R. (1995) Carotenoid pigment of Citrus fruits cultivated in Korea. *Korean J. Food Sci. Technol.* **27**: 950-957.
4. Ozaki, Y., Ayano, S., Inaba, N., Miyake, M., Berhow, M. A. and Hasegawa, S. (1995) Limonoid glucosides in fruit, juice and processing byproducts of Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marco.). *J. Food Sci.* **60**: 186-189.
5. Kim, Y. C., Koh, K. S. and Koh, J. S. (2002) Changes of some flavonoids in the peel of late maturing citrus during maturation. *J. Food Sci. Nutr.* **7**: 1-4.
6. Wandsnider, L. (1997) The roasted and the boiled: food composition and heat treatment with special emphasis on pit-heat cooking. *J. Anthropol. Archaeol.* **16**: 1-48.
7. Rhu, K. C., Chung, H. W., Kim, K. T. and Kwon, J. H. (1997) Optimization of roasting conditions for high-quality *Polygonatum odoratum* tea. *Korean J. Food Sci. Technol.* **29**: 776-783.
8. Park, C. K., Jeon, B. S., Kim, N. M., Kwon, O. G. and Shim, K. H. (2004) Changes in the free sugars and amino acids components of chicory roots by different roasting process. *Food Ind. Nutr.* **9**: 45-52.
9. Park, C. K., Lee, J. G., Jeon, B. S., Kim, N. M. and Sim, K. H. (2002) Changes of volatile flavor components with different roasting processing in chicory roots. *Food Eng. Proc.* **6**: 232-240.
10. Son, G. M., Kim, K. H., Sung, T. S., Kim, J. H. and Sin, D. J. (2002) Physicochemical characteristics of sweet persimmon by heating treatments. *Korean J. Food Nutr.* **15**: 144-150.
11. Kim, Y. E., Kim, I. H., Jung, S. Y. and Jo, J. S. (1996) Changes in components and sensory attribute of the oil extracted from perilla seed roasted at different roasting conditions. *Agric. Chem. Biotechnol.* **39**: 118-122.
12. Czerny, M. and Grosch, W. (2000) Potent odorants of raw arabia coffee. Their changes during roasting. *J. Agric. Food Chem.* **48**: 868-872.
13. 北川 勳, 吉川雅之 (1985) Chemical characterization of crude drug processing: on Aconiti Tuber and Ginseng Radix. *現代東洋醫學* **6**: 101-110.
14. 국가중의약관리국 (1996) 중화본초 정선본 (상), 34-37. 상해과학기술출판사, 상해.
15. 한국생약학교수협의회 (2002) 본초학, 41-48. 아카데미서적, 서울.
16. 김남재 (1995) 한방약물의 약리작용. *병원약사회지*. **12**: 121-138.
17. Zhu, Y. P. (1998) Chinese meateria medica, 17-25. Harwood Academic Publisher, Amsterdam.
18. 이정원, 강승수 편저 (1991) 한방임상을 위한 한약포제와 응용, 257-294. 영림사, 서울.
19. 김재길 편저 (1992) 임상응용 한약포제학, 61-142. 약업신문사, 서울.
20. Lee, H. J., Jung, J. H., Kang, S. S. and Choi, J. S. (1997) A rubrofuran gentiobioside isomer from roasted *Cassia tora*. *Arch. Pharm. Res.* **20**: 513-515.
21. Wu, C. H. and Yen, G. C. (2004) Antigenotoxic properties of Cassia tea (*Cassia tora* L.): mechanism of action and the influence of roasting process. *Life Sci.* **76**: 85-101.
22. Sung, M. W. and Li, P. C. H. (2004) Chemical analysis of raw, dry-roasted, and honey-roasted licorice by capillary electrophoresis. *Electrophoresis* **25**: 3434-3440.
23. Blois, M. S. (1985) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **181**: 1199-1201.
24. Morin, R. J. and Willoughby, D. (1975) Comparison of several activated partial thromboplastin time methods. *Am. J. Clin. Pathol.* **64**: 241-247.
25. Lee, J. H., Lee, S. Y., Lee, K. S., Jang, H. J., Lee, K. H., Hahn, T. R. and Paik, Y. S. (2004) Prolyl endopeptidase inhibitors from the leaves of *Ginkgo biloba*. *Planta Med.* **70**: 1228-1230.
26. Jeon, S. Y., Bae, K., Seong, Y. H. and Song, K. S. (2003) Green tea catechins as a BACE1 (β -secretase) inhibitor. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **13**: 3905-3908.
27. Cushman, D. W., Gordon, E. M., Wang, F. L., Cheung, H. S., Tung, R. and Delaney, N. G. (1983) Purification and characterization of enkephalinase, angiotensin converting enzyme, and a third peptidyl dipeptidase from rat brain. *Life Sci.* **33**: 25-28.
28. Kanamaru, H. and Yoshida, O. (1989) Assessment of in vitro lymphokine activated killer (LAK) cell activity against renal cancer cell lines and its suppression by serum factor using crystal violet assay. *Urol. Res.* **17**: 259-264.
29. Lin, P. S., Ho, K. C. and Sung, S. J. (1993) Combined treatments of heat, radiation, or cytokines with flavone acetic acid on the growth of cultured endothelial cells. *Int. J. Hyperther.* **9**: 517-28.

30. Miyazawa, M., Anzai, J., Fujioka, J. and Isikawa, Y. (2003) Insecticidal compounds against *Drosophila melanogaster* from *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. *Nat. Prod. Res.* **17**: 337-339.
31. Ames, J. M., Bailey, R. G. and Mann, J. (1999) Analysis of furanone, pyranone, and new heterocyclic colored compounds from sugar-glycine model Maillard systems. *J. Agric. Food Chem.* **47**: 438-443.
32. Kwak, H. M., Kim, J. Y., Lim, J. H., Cung, S. K., Kwon, S. H., Jeong, H. H., Hur, J. M. and Song, K. S. (2005) Changes in Chemical composition and biological activities of oriental crude drugs by food processing techniques . Changes of 5-HMF contents from roasted Asparagi Tuber and Zizyphi Fructus. *Kor. J. Pharmacogn.* **36**: 235-239.
33. Li, J., Zhang, L. P., Liu, W., Zhang, Z. L. and Liu, L. J. (2005) Studies on the changes of 5-hydroxymethyl furfuraldehyde content in Radix Rehmanniae steamed for different time. *Zhongguo Zhong Yao Zazhi* **30**: 1438-1440.
34. Zhu, D., Li, Z., Yan, Y. and Zhu, J. (1998) A research on chemical dynamic changes and drug efficacy of shengmaisan compound prescription: chemical researches on shengmaisan prescription (). *Zhongguo Zhong Yao Zazhi* **23**: 319-320.
35. Lang, K. and Bickel, H. (1970) Tolerance to 5-hydroxymethylfurfural (HMF). 3. Proof of the cytotoxic effects on chick embryo fibroblasts. *Z. Ernahrungswissenschaft* **10**: 153-154.
36. Xiao, H., Parkin, K. L. (2007) Isolation and identification of potential cancer chemopreventive agents from methanolic extracts of green onion (*Allium cepa*). *Phytochemistry* **68**: 1059-1067.
37. Kim, N. Y., Kang, T. H., Kim, D. H. and Kim, Y. C. (1999) A nitric oxide synthesis inhibitor from the roots of *Gentiana scabra* in RAW 264.7 cells. *Kor. J. Pharmacogn.* **30**: 173-176.
38. Sharma, V. K., Choi, J., Sharma, N., Choi, M. and Seo, S. Y. (2004) *In vitro* anti-tyrosinase activity of 5-(hydroxymethyl)-2-furfural isolated from *Dictyophora indusiata*. *Phytother. Res.* **18**: 841-844.
39. Abdulmalik, O., Safo, M. K., Chen, Q., Yang, J., Brugnara, C., Ohene-Frempong, K., Abraham, D. J. and Asakura, T. (2005) 5-hydroxymethyl-2-furfural modifies intracellular sickle haemoglobin and inhibits sickling of red blood cells. *Br. J. Haematol.* **128**: 552-561.
40. Mizhshina, Y., Yagita, E., Kuramochi, K., Kuriyama, I., Shimazak, N., Koivai, O., Uchiyama, Y., Yomezawa, Y., Sugawara, F., Kobaysahi, S., Sakaguchi, K. and Yoshida, H. (2006) 5-(Hydroxymethyl)-2-furfural: a selective inhibitor of DNA polymerase and terminal deoxynucleotidyltransferase. *Arch. Biochem. Biophys.* **446**: 69-76.

(2007년 3월 5일 접수)