

## 더덕과 일부 한약재 열수추출물의 혼합 비율에 따른 생리활성

오 해숙·김준호\*

상지대학교 식품영양학과·상지대학교 화학과\*

### Physiological Functionalities of Hot Water Extract of *Codonopsis lanceolata* and Some Medicinal Materials, and Their Mixtures

Oh, Hae Sook · Kim, Jun Ho\*

Dept. of Food and Nutrition, Sangji University, Wonju, Korea

Dept. of Chemistry, Sangji University, Wonju, Korea\*

#### ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the physiological functionalities of *Codonopsis lanceolata*, *Glycyrrhiza uralensis*, *Chaenomeles sinensis*, *Crataegus pinnatifida*, and their mixtures. We also determined their antioxidative, fibrinolytic, and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities. The antioxidative activities of *Codonopsis lanceolata*, *Glycyrrhiza uralensis*, *Chaenomeles sinensis*, and *Crataegus pinnatifida* were 79%, 88.3%, 89.9%, and 89.3% respectively. Their fibrinolytic activities were 0.80plasmin unit/ml, 0.57 plasmin unit/ml, 0.52 plasmin unit/ml, and 0.53 plasmin unit/ml respectively. The  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of *Codonopsis lanceolata* was 25%. The 10-fold diluents of *Glycyrrhiza uralensis*, *Chaenomeles sinensis*, and *Crataegus pinnatifida* showed  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of 93.6%, 65.3%, and 61.3% respectively. In antioxidative activity tests of the medicinal plants mixtures at various ratios, the mixtures of *Glycyrrhiza uralensis*, *Chaenomeles sinensis*, and *Crataegus pinnatifida* with *Codonopsis lanceolata* showed antioxidative activities of approximately 90%. In fibrinolytic activity tests mixtures(1:1) of *Codonopsis lanceolata* with *Chaenomeles sinensis* and *Crataegus pinnatifida* exhibited increases of 23% and 24% in activity respectively. In  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity tests, a mixture (4:1) of *Codonopsis lanceolata* and 10-fold diluted *Glycyrrhiza uralensis* showed an inhibitory activity of 98%, a mixture (3:1) of *Codonopsis lanceolata* and 10-fold diluted *Chaenomeles sinensis* showed an inhibitory activity of 69.6%, and a mixture (1:1) of *Codonopsis lanceolata* and 10-fold diluted *Crataegus pinnatifida* showed an inhibitory activity of 50.2%. In conclusion, the mixtures of *Glycyrrhiza uralensis*, *Chaenomeles sinensis*, and *Crataegus pinnatifida* with *Codonopsis lanceolata* will be used as a material for the development of biofunctional foods.

**Key words:** *Chaenomeles sinensis*, *Codonopsis lanceolata*, fibrinolytic activity,  
 $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity, antioxidative activity

접수일: 2007년 7월 15일 채택일: 2007년 8월 30일

Corresponding Author: Kim, Jun Ho Tel: 82-33-730-0423 Fax: 82-33-730-0403

e-mail: jhokim@sangji.ac.kr

## I. 서론

과학의 발전으로 인해 인간의 수명은 연장되었으나 새로운 질병 양상을 나타내며 이에 대한 대응책도 달라지고 있다. 현대인의 질병의 특성 상 치료보다는 예방이 중요하며, 따라서 좀 더 편안한 삶을 추구하기 위한 필요조건으로 질병의 예방에 보다 많은 관심을 갖게 되었다. 식생활의 변화는 만성질환의 한 원인이 되기도 한다. 생활수준의 향상에 따라 육류 섭취가 증가하였으며, 편리한 생활을 추구하려는 경향이 커짐에 따라 인스턴트식품을 선호하게 되었고, 결과적으로 영양의 불균형으로 인한 각종 성인병 즉, 비만, 당뇨병, 동맥경화 등의 발생이 뒤따르게 되었다. 또한 항산화능력이 뛰어난 과채류의 섭취 감소는 노화와 암, 뇌경색, 뇌졸중, 심장마비, 동맥경화 등 혈관질환의 증가에서 중요한 위치를 차지하는 것으로 보고되고 있다(신동화 1997; Ames et al. 1933; Kim et al. 1997). 이를 성인병은 한번 발생되면 완전 치유가 힘들고 치료기간도 장기화되기 때문에 고령화 사회로 들어서면서 치료비용은 급증할 것으로 예상된다. 이에 성인병 치료 및 예방을 위해서 항산화 효과, 혈전용해 효과,  $\alpha$ -glucosidase의 저해 효과가 큰 식용자원들을 이용하여 새로운 기능성 제품을 개발할 필요성이 대두되었고 많은 연구가 이루어지고 있는 실정이다 (Oh et al. 2002a, 2003b, Jang et al. 2003a, 2003b).

생리활성을 강화시킨 새로운 기능성 식품은 의약품의 장기 사용 시 발생할 수 있는 문제점을 개선 혹은 해결할 수 있는 방안이 될 수 있다. 생리활성의 급원으로 한약재가 가장 주목받고 있는데 대부분의 한약재는 옛날부터 식품재료 뿐 아니라 질병 치료와 예방의 목적으로 널리 이용되어 왔으며 오랜 경험을 통해 인체에 대한 안전성이 대체로 검증되었기 때문이기도 하다. 한약재로 다양하게 사용되고 있는 감초는 간장보호 효과, 균증식 억제 효과를 갖고 있으며, 목과는 항균작용, 소화효소활성 억제, 돌연변이원성, 항돌연변이원성, 면역세포활성화 효과를 갖고 있고, 산사는 항산화 효과가 큰 것으로 알려져 있다(이진만 등 2000). 이들을 성인병 예방과 치료에 이용하기 위해서는

성인병의 원인으로 알려져 있는 활성 산소를 제거하는 능력인 항산화효과(남석현·강미영 2000), 혈관질환의 주요 원인으로 알려진 혈전을 용해하는 혈전용해활성과 당뇨병의 발생과 관련이 있는 탄수화물의 분해 효소인  $\alpha$ -Glucosidase 저해활성이 높은 생리활성물질들을 함유하고 있는지 확인할 필요가 있다(Oh & Kim 2006). 더덕은 선행 연구 결과(Chang et al. 1986; Chung & Na 1997; Choi & Choi 1999; Han et al. 1976; Kim & Chung 1975; Lee 1997) 생리활성이 비교적 우수한 것으로 규명된 바 있으나 채취 등의 과정에서 과육이 손상되면 갈변현상이 빠르게 진행되는 등 상품성이 떨어지므로 새로운 용도 탐색이 필요하다. 따라서 기 입증된 더덕의 생리활성을 보강할 수 있는 한약재의 발굴은 주요 질병을 예방 및 개선하는데 긍정적으로 영향을 미칠 것으로 여겨진다. 한약들마다 우수한 생리활성이 각기 다르므로 이들을 적절하게 혼합함으로써 상승효과를 기대할 수 있으나 동시에 서로 상쇄 효과를 나타낼 수도 있으므로 혼합물의 종류 및 혼합비율별로 각각의 생리활성을 재확인할 필요가 있다.

질병예방 차원에서 개발하는 기능성 제품은 오래전부터 식용해 온 식품 혹은 음식에 생리활성이 우수한 식용자원을 첨가하는 것이 소비자들에게 접근하기 쉬운 방법이 될 수 있다. 따라서 생리활성 급원으로서의 식용자원은 기존의 제품에 부족한 영양성분이나 생리활성이 충분해야 하며, 관능적으로도 거부감이 없어야 할 것으로 여겨진다. 본 연구에서는 더덕과 한약재인 목과, 산사, 감초의 열수추출물의 혼합액을 이용하여 암, 노화, 비만, 당뇨, 혈관질환의 예방과 치료에 이용할 수 있는 기능성 소재를 개발하기 위한 것으로 각 재료들과 그들의 혼합물의 생리활성을 전자공여능, 혈전용해활성 및  $\alpha$ -glucosidase 저해활성의 관점에서 측정하였다.

## II. 연구방법

### 1. 실험재료 및 시약

본 실험에서 사용한 소재는 더덕, 감초, 목과,

및 산사 등이었다. 더덕은 경기도 양평군 서종면 문호리에서 재배된 야산재배더덕으로 채취 직후 수세, 박파 및 세척하여 3~5일간 풍건시킨 다음 사용하였다. 더덕과 혼용하기 위한 한약재는 감초, 목과, 및 산사를 선택하였는데, 이들은 10여 종의 한약재 열수추출물을 대상으로 관능적 품질을 평가한 결과 한약재 특유의 냄새와 색깔이 매우 약했으므로 이들의 첨가로 인해 제품의 관능적 특성에 크게 영향을 주지 않을 것으로 판단했기 때문이다. 이 재료들은 원주시 소재 한약재료상에서 원산지가 국산으로 명시된 것으로 구입하였으며, 흐르는 물에 수세하여 먼지와 이물질을 제거한 후 풍건시켰다.

시료의 생리활성 측정에 사용된 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, plasmin, fibrinogen, thrombin,  $\alpha$ -Glucosidase, p-nitrophenyl  $\alpha$ -D-glucopyranoside 등은 Sigma사 제품이었고, 그 밖의 시약은 모두 일등급 시약이었다.

## 2. 실험방법

1) 더덕 및 한약재 추출물의 조제 및 혼합  
풍건시킨 산더덕을 분쇄기로 곱게 길고 5배(W/V)의 중류수를 가하여 약 30분 정도 수화시킨 다음 homogenizer로 균질화시키고(1000 rpm, 2분, GTR-1000, Eyela Co., Japan), 100°C에서 20분간 열을 가한 후 12,000 rpm에서 1시간 동안 원심분리(Supra 21, 한일과학) 및 여과(Whatman No. 1)하여 얻어진 상층액을 시료로 사용하였다. 3종의 한약재는 20배(V/W)의 중류수를 가하여 환류냉각시키면서 3시간 동안 열수추출하였다. 얻어진 열수추출물은 asperator를 이용하여 얻어진 추출액 무게의 10%가 되도록 감압농축시킨 것을 냉동보관하면서 사용하였다. 한약재와 더덕의 열수추출물에 대해 전자공여능, 혈전용해활성,  $\alpha$ -Glucosidase 저해활성을 측정하고, 더덕열수추출물과 한약재추출물을 4:1, 3:1, 2:1, 1:1의 비율로 혼합하여 항산화 활성을 측정하였으며, 1:1의 비율로 혼합하여 혈전용해활성 증감 여부를 비교하고, 더덕과 10배 희석한 한약재추출물을 전자공여능 측정과 같은 비율로 섞고  $\alpha$ -Glucosidase 저해활성을 측정하였다.

## 2) DPPH 자유라디칼에 대한 전자공여능 측정

Blois(1958) 및 Kim 등(1997)의 실험 방법에 따라 전자공여능을 측정하였다. 시료 2~3 g를 취해 3배 분량(w/v)의 중류수를 가한 다음 10분간 수화시켰다. 1000 rpm에서 2분간 균질화시킨 후 (GTR-1000, Eyela Co., Japan) 12,000×g에서 60분간 원심분리하고(Supra 21, 한일과학) 여과한 (Whatman, No 1) 여액 0.4ml를 시험판에 넣고 5.6ml의  $1 \times 10^{-4}$ M의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl ethanol 용액을 가하여 6ml이 되도록 하였다. 4분간 반응시키고 다시 여과한 다음, 총 반응시간이 10분이 되면 525nm에서 흡광도를 측정하였다(UV-1201, Shimadzu Co., Japan). 다음 식에 의해 전자공여능을 계산하였으며, 바탕시험은 중류수를 사용하였다.

$$\text{전자공여능} = \{ 1 - (\text{O.D.시료}/\text{O.D.중류수}) \} \times 100$$

## 3) 혈전용해활성의 측정법

Haverkata와 Trass(1974)의 fibrin plate법에 따라 2% gelatin용액에 녹인 0.5%(w/v) fibrinogen용액 10 ml와 0.05 M barbital 완충용액(pH 7.5)에 녹인 thrombin(100 NIH units) 50 $\mu$ l을 잘 섞은 후 이를 petri dish에 부어 fibrin막을 만들었다. 준비한 더덕추출물, 한약재열수추출물, 더덕과 한약재 혼합용액을 20 $\mu$ l씩 fibrin plate 위에 점적하고 36°C에서 16시간 방치한 후 용해면적을 측정하고 이들의 넓이를 비교하였다. 대조구로는 plasmin (1.0 unit/ml)를 사용하였으며, 추출액의 혈전용해활성은 대조구의 용해면적에 대한 시료의 용해면적의 상대적인 비율로 환산하여 계산하였다.

## 4) $\alpha$ -glucosidase 저해활성의 측정

$\alpha$ -glucosidase에 대한 저해활성은 Watanabe 등(1997)의 실험 방법에 따라 p-nitrophenyl  $\alpha$ -D-glucopyranoside를 기질로 하여 측정하였다. 즉 100 mM phosphate buffer(pH 7.0)에 녹아 있는 효모 기원의  $\alpha$ -glucosidase(0.7 U, sigma)를 효소로 사용하고 같은 완충용액에 5mM 농도로 준비한 p-nitrophenyl  $\alpha$ -D-glucopyranoside를 기질 용액으로 사용하였다. 효소용액 50 $\mu$ l와 한약재 열수추

출물 10 $\mu$ l와 완충용액 890 $\mu$ l을 넣고 섞은 후 5분 동안 실온에서 preincubation 후, 준비한 기질 용액 50 $\mu$ l를 첨가 후 다시 5분 동안 incubation 후 UV-visible spectrophotometer(UV-1601PC, Shimadzu, Japan) 405nm에서 흡광도 변화를 측정하고, 또한 시료를 첨가하지 않고 대신 완충용액을 첨가한 경우의 흡광도 변화도 측정하여 저해율을 계산하였다. 3종류 한약재 열수추출물의 경우  $\alpha$ -glucosidase 저해활성이 매우 커었으므로 다양한 비율로 희석하여 실험한 결과 10배 희석액에서 적정 측정치를 얻을 수 있었고 반복실험 시 편차가 적었다. 따라서 더덕과 한약재 각각의  $\alpha$ -glucosidase 저해활성을 비교하기 위해서는 모든 시료는 10배로 희석하였으며, 더덕의  $\alpha$ -glucosidase 저해활성을 보강을 위해 한약재 열수추출물과 혼합 시에는 더덕 원액에 10배 희석한 한약재를 혼합하여  $\alpha$ -glucosidase 저해활성을 측정하였다.

$$\text{저해율}(\%) = (1 - A/B) \times 100$$

A: 시료 첨가구의 흡광도, B: 시료 무첨가구의 흡광도

단, A, B 모두 대조구의 흡광도를 제외한 수치임

### 3. 통계처리

모든 자료는 SPSS 10.0 통계 프로그램을 이용하여 분석하였으며, 시료 간 유의성 차이 여부는 분산분석 및 LSD 다변위 검사법을 이용하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 더덕과 한약재들의 생리활성 측정

항산화활성은 암, 심장질환 등의 성인병 및 노화의 원인이 되는 활성산소종을 조절할 수 있는 하나의 지표로서 DPPH 라디칼 소거활성, ABTS 라디칼 소거활성, Hydrogen peroxide 라디칼 소거활성, Linoleic acid에 대한 항산화효과 측정 등 다양한 방법으로 측정할 수 있다. 더덕의 전자공여능은 78.6%로 비교적 높은 편이었으나, 감초 88.3%, 목과 89.9%, 산사 89.3% 등에 비해서 유

의적으로 낮았다(Table 1, p<0.001). 남석현 등 (2000)의 실험결과에 따르면 감초 70%, 목과 86%, 산사 82%로 본 실험결과보다 높지 않았다. 이와 같이 동일 한약재라도 연구자마다 보고한 활성이 차이를 보이는 이유는 한약재의 처리 방법이 다르거나 산지 혹은 숙성도 등이 고려되지 않았기 때문으로 여겨진다.

혈전은 혈관질환의 주요 원인 중 하나이며, 따라서 식품 중에서 혈전용해활성이 높은 소재의 탐색은 이를 질환의 예방 및 치료에 매우 유용한

Table 1. Electron donating ability of mixtures of *Codonopsis lanceolata* and three medicinal plants at the various ratio

Medicinal plants	Mixing ratio of <i>Codonopsis</i> <i>lanceolata</i> and medicinal plants	Electron donating ability (%)
<i>Codonopsis</i> <i>lanceolata</i>	-	78.6 ± 2.09 <sup>a</sup>
	1 : 0	78.6 ± 2.09 <sup>a</sup>
	4 : 1	89.5 ± 0.25 <sup>b</sup>
<i>Glycyrrhiza</i> <i>uralensis</i> (F value = 65.8***)	3 : 1	88.7 ± 0.25 <sup>b</sup>
	2 : 1	88.9 ± 0.26 <sup>b</sup>
	1 : 1	87.1 ± 0.26 <sup>b</sup>
	0 : 1	88.3 ± 0.42 <sup>b</sup>
<i>Chaenomeles</i> <i>sinensis</i> (F value = 96.9***)	1 : 0	78.6 ± 2.09 <sup>a</sup>
	4 : 1	91.8 ± 0.21 <sup>b</sup>
	3 : 1	91.1 ± 0.25 <sup>b</sup>
	2 : 1	90.5 ± 0.69 <sup>b</sup>
	1 : 1	90.7 ± 0.17 <sup>b</sup>
	0 : 1	89.9 ± 0.15 <sup>b</sup>
<i>Crataegus pinnatifida</i> (F value = 142.6***)	1 : 0	78.6 ± 2.09 <sup>a</sup>
	4 : 1	93.2 ± 0.17 <sup>b</sup>
	3 : 1	94.1 ± 0.17 <sup>b</sup>
	2 : 1	93.8 ± 0.21 <sup>b</sup>
	1 : 1	94.1 ± 0.12 <sup>b</sup>
	0 : 1	89.3 ± 0.36 <sup>c</sup>

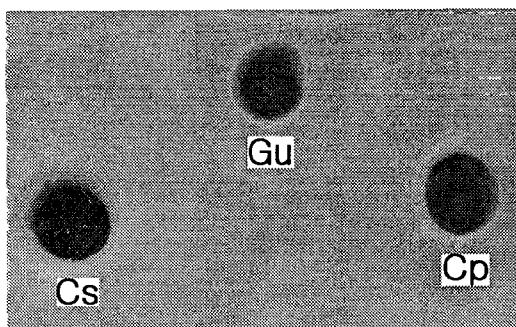
1) : mean ± SD from 5 replicates

a-c : Values with different superscripts within the group are significantly different by ANOVA

\*\*\* p<0.001

일이다. 혈전용해와 관련 연구는 된장(최낙식·김승호 1998), 청국장(김용태 등 1995; Kim et al. 1996), 젓갈(Kim et al. 1997), 김치(정영기 등 1995) 같은 발효식품을 중심으로 효소의 활성을 측정하였으며, 버섯(Kim & Kim 1999)이나 지렁이(Mihara et al. 1993; Park et al. 1998), 뱀(Chung & Kim 1992)으로부터 혈전용해효소의 분리가 시도되었다. 본 연구팀에서는 다양한 콩류 및 더덕, 홍화, 진피 및 산수유(Oh & Kim 2006) 등 일부 한약재의 열수추출물에서 비효소성분이 갖는 혈전용해활성을 측정한 바 있다.

더덕의 혈전용해활성은 선행연구(Kim et al. 2005)에서 0.80 plasmin unit/ml로 이미 보고한 바 있으며, 따라서 더덕과 3종류의 한약재의 활성 비교 시에는 이 측정값을 그대로 사용하였다. 감초와 목과, 산사의 평균 혈전용해활성은 각각  $0.57 \pm 0.11$ ,  $0.52 \pm 0.06$ ,  $0.53 \pm 0.12$  plasmin unit/ml으로 비교적 높았으나 더덕의 활성보다는 낮았다 (Fig. 1). 일반적으로 식물성 소재들의 혈전용해활



Gu (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch) :  $0.57 \pm 0.06^b$  plasmin unit

Cs (*Chaenomeles sinensis* Koehne) :  $0.52 \pm 0.12^a$  plasmin unit

Cp (*Crataegus pinnatifida* Bunge) :  $0.53 \pm 0.13^{ab}$  plasmin unit

\* 0.80 plasmin unit of fibrinolytic activity of *Codonopsis lanceolata* was cited from reference(Kim et al. 2005)

1) : mean  $\pm$  SD from 3~5 replicates

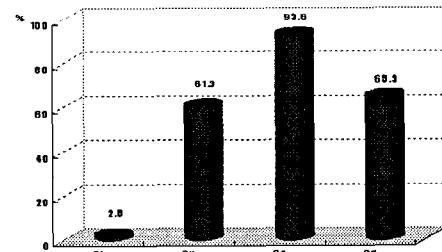
a,b : Values with different superscripts within the group are significantly different by ANOVA

F-value=5.8\*(p<0.05)

Fig. 1. Fibrinolytic activity of hot water extract of three medicinal plants

성은 야생버섯류와 달리 반복 측정치의 편차가 비교적 큰 경향을 보였으며(Oh & Kim 2004), 이에 혈전용해활성을 억제하는 물질의 공존 가능성 및 제거 필요성을 지적한 바 있다. 본 실험에서 사용한 한약재의 경우에도 전자공여등이나  $\alpha$ -glucosidase 저해활성과는 달리 혈전용해활성의 표준편차가 크게 나타났다(Fig. 2-4).

대표적인 성인병인 당뇨병은 탄수화물의 흡수 속도가 매우 중요하다. 이에 소장의 탄수화물 가수분해효소인  $\alpha$ -glucosidase의 활성을 억제함으로써 가수분해 속도 및 혈액으로의 단당류 흡수 속도를 조절하려는 노력이 이루어졌다. Fig. 2에서 볼 수 있는 바와 같이 더덕의  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성은 25%로 매우 낮은 반면, 목과, 산사,



Samples	Mean $\pm$ SD
<i>Codonopsis lanceolata</i>	$2.5 \pm 0.06^{1)a}$
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch	$61.3 \pm 5.82^b$
<i>Chaenomeles sinensis</i> Koehne	$93.6 \pm 3.75^c$
<i>Crataegus pinnatifida</i> Bunge	$65.3 \pm 5.03^d$
F-value	239.6***

\*\*\* p<0.001

We used 10-fold diluent of hot water extract of samples because of their high  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity.

CI : *Codonopsis lanceolata*

Gu : *Glycyrrhiza uralensis* Fisch

Cs : *Chaenomeles sinensis* Koehne

Cp : *Crataegus pinnatifida* Bunge

1) : mean  $\pm$  SD from 3~5 replicates

a-d : Values with different superscripts within the group are significantly different by ANOVA

Fig. 2.  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory activity of *Codonopsis lanceolata* and three medicinal plants

감초 등은 10배 희석액에서도 각각 93.6%, 65.3%, 61.3%의 높은 저해능을 보였다.

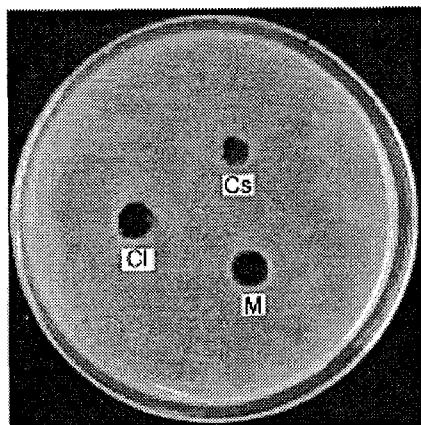
## 2. 더덕과 한약재 혼합물의 생리활성 변화

한약재와 달리 오랜 기간 고급 식재료로 사용해온 더덕은 전자공여능과 혈전용해활성이 우수하므로 새로운 기능성 식품의 기본 소재가 될 수 있으며, 다른 소재와의 혼합으로 부족한  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성을 보강할 수 있다면 기능성을 크게 향상시킬 수 있을 것으로 기대된다. 생리활성 측정 결과를 살펴보면, 감초와 목과, 산사는 전자공여능과  $\alpha$ -glucosidase 저해활성이 매우 크며, 혈전용해활성 역시 유용한 것으로 나타났다. 특히  $\alpha$ -glucosidase 저해활성은 3종의 한약재 열수추출물이 더덕 열수추출물의 24.5~37.4배로 현저하게 높았으므로 더덕에 부족한 기능성을 보충하기 위해서 이들 한약재의 혼합을 고려할

만하다(Fig. 2).

생약은 나름대로 장점을 갖고 있으나 이들의 혼합물에서 각각의 생리활성이 상승되거나 서로 상쇄될 수 있음을 고려해야 하며 또한 최적 혼합비율에 대한 검토도 필요하다고 여겨진다.

Table 1은 더덕과 한약재 열수추출물을 4:1, 3:1, 2:1, 1:1로 혼합하여 전자공여능을 측정한 결과이다. 더덕 열수추출물의 전자공여능은 78.6%였으나, 감초 열수추출물을 20%, 25%, 33%, 50% 첨가 시 감초의 전자공여능 수준인 89.5%, 88.7%, 88.9%, 87.1%로 유의적으로 증가하였으며 ( $p<0.001$ ), 혼합비율에 따른 차이는 없었다. 목과 열수추출물 혼합 시 전자공여능은 90.5~91.8%로 혼합비율에 따라 차이를 보이지 않았고 더덕 단독 보다는 유의적으로 증가하여 감초 추출물 혼합 시와 같은 양상을 띠었다. 한편, 더덕과 산사 혼합물의 전자공여능은 93.2~94.1%로 78.6%의 더덕이나 89.3%의 산사 열수추출물보다 유의적으



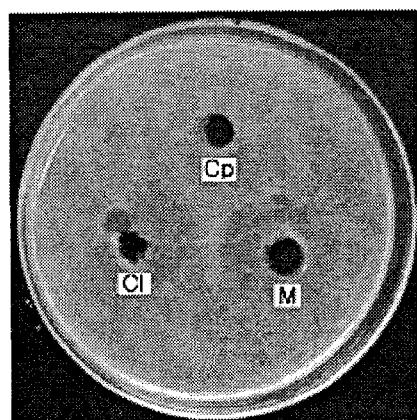
Cs (*Chaenomeles sinensis* Koehne) :  $0.52 \pm 0.12^{1a}$   
plasmin unit  
CI (*Codonopsis lanceolata*) :  $0.62 \pm 0.08^{ab}$  plasmin unit  
M (1:1 mixture of Cs and CI) :  $0.76 \pm 0.05^b$  plasmin unit

1) : mean  $\pm$  SD from 3~5 replicates

a,b : Values with different superscripts within the group are significantly different by ANOVA

F-value=6.4<sup>\*</sup>( $p<0.05$ )

Fig. 3. Fibrinolytic activity of *Codonopsis lanceolata*, *Chaenomeles sinensis* Koehne and their mixture (1:1)



Cp (*Crataegus pinnatifida* Bunge) :  $0.53 \pm 0.13^{1a}$   
plasmin unit  
CI (*Codonopsis lanceolata*) :  $0.80 \pm 0.10^b$  plasmin unit  
M (1:1 mixture of Cp and CI) :  $0.99 \pm 0.08^b$  plasmin unit

1) : mean  $\pm$  SD from 3~5 replicates

a,b : Values with different superscripts within the group are significantly different by ANOVA

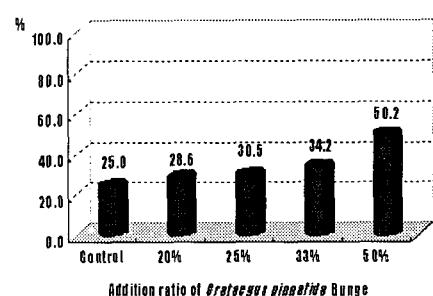
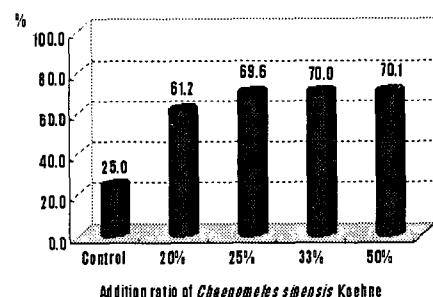
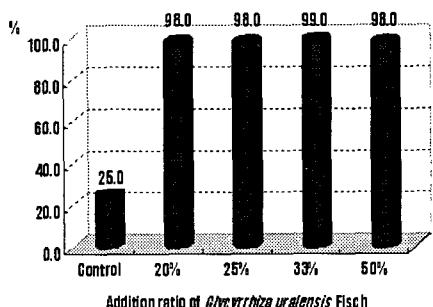
F-value=11.4<sup>\*\*</sup>( $p<0.01$ )

Fig. 4. Fibrinolytic activity of *Codonopsis lanceolata*, *Crataegus pinnatifida* Bunge and their mixture (1:1)

로 높았다. 따라서 전자공여능 측면에서 볼 때 이미 80% 정도의 높은 전자공여능을 지니고 있는 더덕이지만 3종의 한약재 열수추출물을 첨가함으로써 전자공여능이 유의적으로 증가하였을 뿐 아니라 첨가비율에 따른 차이가 없었으므로 사용이 편리할 것으로 생각된다.

한약재 열수추출물의 혈전용해활성은 더덕에

비해 높지 않았으므로 혼합 필요성이 크지 않았으며, 따라서 1:1 혼합물의 활성만을 측정하였다. 한약재 첨가가 혈전용해활성에 미치는 영향을 살펴보면, 더덕과 감초 자체의 활성이 높았음에도 불구하고 이들의 혼합물에서는 혈전용해활성이 거의 나타나지 않는 특이한 양상을 보였다. 목과와 더덕의 혼합액의 혈전용해활성은 0.76 plasma



Samples	$\alpha$ -Glucosidase inhibitory activity(%)
<i>Codonopsis lanceolata</i>	25.0±0.59 <sup>1)a</sup>
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch	61.3±5.82 <sup>b</sup>
20%(4:1)	98.0±4.30 <sup>c</sup>
25%(3:1)	98.3±3.42 <sup>c</sup>
33%(2:1)	99.0±2.48 <sup>c</sup>
50%(1:1)	98.0±2.80 <sup>c</sup>
F-value	216.1***

Samples	$\alpha$ -Glucosidase inhibitory activity(%)
<i>Codonopsis lanceolata</i>	25.0±0.59 <sup>1)a</sup>
<i>Chaenomeles sinensis</i> Koehne	93.6±3.75 <sup>b</sup>
20%(4:1)	61.2±4.76 <sup>c</sup>
25%(3:1)	69.6±10.3 <sup>c</sup>
33%(2:1)	70.0±14.6 <sup>c</sup>
50%(1:1)	70.1±5.10 <sup>c</sup>
F-value	23.5***

Samples	$\alpha$ -Glucosidase inhibitory activity(%)
<i>Codonopsis lanceolata</i>	25.0±0.59 <sup>1)a</sup>
<i>Crataegus pinnatifida</i> Bunge	65.3±5.03 <sup>b</sup>
20%(4:1)	28.6±1.85 <sup>a</sup>
25%(3:1)	30.5±0.67 <sup>a</sup>
33%(2:1)	34.2±0.40 <sup>a</sup>
50%(1:1)	50.2±6.41 <sup>c</sup>
F-value	61.9***

1) : mean ± SD from 3~5 replicates

a-c : Values with different superscripts within the group are significantly different by ANOVA

\*\*\*: p<0.001

Fig. 5.  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Activity of mixture of *Codonopsis lanceolata* and three medicinal plants at the various ratio

unit/ml로 더덕 자체의 활성(0.62 plasma unit/ml)에 비해 23%가 증가하였고(Fig. 3, p<0.05), 산사와 더덕을 혼합한 경우에는 0.99 plasma unit/ml로 산사(0.53 plasma unit/ml)와 더덕(0.80 plasma unit/ml) 각각의 혈전용해활성보다 산사의 87% 및 더덕의 24%까지 유의적으로 증가하였다(Fig. 4, p<0.001). 이상의 결과를 통해서 생약의 혼합으로 각각의 생약들이 갖는 생리활성에 변화를 예측하기는 쉽지 않으며, 반드시 확인과정이 필요함을 확인할 수 있었다.

더덕 열수추출물에 한약재 열수추출물 10배 희석액을 20~50%의 비율로 첨가하고  $\alpha$ -glucosidase 저해활성을 측정한 결과 모든 경우에서 더덕 자체의  $\alpha$ -glucosidase 저해활성(25%)에 비해 1.1~4.0배 가량 높아졌다(Fig. 5). 그러나 활성 증가 양상은 한약재마다 차이를 보였는데, 김초의 경우에는  $\alpha$ -glucosidase 저해활성이 98~99%로서 더덕은 물론 김초 자체의 61.3%보다 유의적으로 증가하였다(p<0.001). 따라서  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성은 두 소재의 혼합으로 상승효과를 나타내는 것으로 보이며, 혼합 비율에 따른 차이는 없었다. 목과의 경우에는 더덕과 혼합으로 더덕보다는 강한 저해활성을 보였으나 목과 자체보다는 유의적으로 낮았으며, 혼합비율 간에는 유의적 차이가 없었으므로(p<0.001), 더덕과의 혼합 시 상쇄작용이 발생한 것으로 판단된다. 한편 산사 희석액은 더덕과의 혼합으로 산사의 높은  $\alpha$ -glucosidase 저해활성이 저하됨을 확인할 수 있었으며, 다만 산사 희석액 첨가량이 20~33% 범위내에서는 첨가량이 증가함에 따라  $\alpha$ -glucosidase 저해활성이 회복되는 경향을 보였고(28.6~34.2%), 50% 첨가 시에는 50.2%로 20~33% 첨가 시보다 현저하게 증가하였다(p<0.001).

#### IV. 요약 및 결론

본 연구는 우리나라 주요 사망원인인 심혈관 질환 및 당뇨병의 예방 및 관리에 유용한 기능성 소재를 개발하기 위한 것이다. 이에 더덕과 한약재 특유의 냄새가 약한 김초, 목과, 산사 등 3종의 한약재를 다양한 비율로 혼합하고 항산화

활성, 혈전용해활성,  $\alpha$ -glucosidase 저해활성을 측정하였다.

더덕과 김초, 목과, 산사 열수추출물은 각각 78.6%, 88.3%, 89.9%, 89.3%의 높은 항산화활성과 함께, 각각 8.0, 0.57, 0.52, 0.53 plasmin unit/ml의 비교적 높은 혈전용해활성을 나타냈다.  $\alpha$ -glucosidase 저해활성의 경우 더덕은 25%로 매우 낮았으나 김초, 목과, 산사 열수추출액은 10배 희석액임에도 불구하고 각각 61.3%, 93.6%, 65.3%로 매우 높았다.

더덕과 한약재 열수추출물을 4~1 : 1의 비율로 혼합하였을 때 모두 90% 정도의 높은 전자공여 능을 유지하였으며, 혈전용해활성은 김초 혼합액은 활성을 나타내지 않았지만, 목과 혼합액과 산사 혼합액은 더덕의 활성에 비해 각각 23%와 24%가 증가하였다. 더덕 원액에 한약재 10배 희석액을 4~1 : 1(20~50%)의 비율로 첨가한 혼합액의  $\alpha$ -glucosidase 저해활성을 측정한 결과, 김초 희석액은 20%만 첨가해도 98%의 높은 저해활성을 나타낸 반면, 목과는 25% 첨가로 70%의 저해활성을, 산사는 50% 첨가 시 50.2%의 저해활성을 보였다.

본 실험에 사용한 3종류의 한약재는 전자공여 능과 혈전용해활성 및  $\alpha$ -glucosidase 저해활성이 모두 높았으므로 특히 더덕에 부족한  $\alpha$ -glucosidase 저해활성의 보충 소재로 활용할 수 있을 것으로 여겨졌다. 그러나 더덕에 3종의 한약재 열수추출물을 혼합하는 경우 전자공여능은 3종 한약재 모두에 의해, 혈전용해활성과  $\alpha$ -glucosidase 저해활성은 목과와 산사에 의해 보강이 가능함을 확인하였다. 따라서 김초, 목과, 산사의 더덕 혼합물은 기능성식품 소재로 사용할 수 있음이 확인되었으며, 또한 생리활성이 큰 기능성 소재들을 혼합 사용하는 경우 적정 혼합 비율에 대한 검토가 반드시 선행되어야 함을 제안하는 바이다.

#### 참고문헌

- 용해균주의 분리 및 동정. 한국응용 미생물학회지 23, 1-5.
- 남석현·강미영(2000) 한약재 열수추출물의 항산화 효과 검정. 한국농화학회지 43(2), 141-147.
- 신동화(1997) 천연 항산화제의 연구동향과 방향. 식품과학과 산업 30(1), 14.
- 이진만·이상한·김환득(2000) 약용식품으로 한약재의 이용 식품산업과 영양 5(1), 50-56.
- 정영기·양웅석·강정옥·공인수·김정옥(1995) 김치의 혈전용해작용. 한국생명과학회지 5, 203-210.
- 최낙식·김승호(1998) 된장에서 분리한 *Bacillus amyloliquefaciens*가 분비하는 혈전용 해효소 활성의 양상. 한국지혈혈전학회지 5, 139-145.
- Ames BN, Shigenaga MK, Hagen(1993) Oxidant, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Proc Natl Acad Sci USA 90, 7915.
- Blois MS(1958) Antioxidant determinations by the use of a stale free radical. Nature 181, 1199-1202.
- Chang YK, Kim SY, Han BY(1986) Chemical Studies on the Alkaloidal Constituents of *Codonopsis lanceolata*. Yakhak hoeji 30, 1-7.
- Chung BS, Na DS(1997) Studies on the terpenoid component of the roots of *Codonopsis lanceolata* Benth et Hook. Kor J Pharmacog 8, 49-53.
- Chung KH, Kim DS(1992) Fibrinolytic and coagulation activities of korean snake venoms. Kor Biochem J 25, 696-701.
- Choi MS, Choi PS(1999) Plant regeneration and saponin contents in *Codonopsis lanceolata* L. Kor J Med Crop Sci 7, 275-281.
- Han BH, Kang SS, Woo WS(1976) Triterpenoids from *Codonopsis lanceolata*. J Pharm Soc Korea 20, 79-84.
- Haverkate F, Traas DW(1974) Dose-response curves in the fibrin plate assay. Fibrinolytic activity of protease. Thromb Haemost 32, 356-365.
- Jang KW, Park SH, Ha SD(2003) Market Trends in Functional Foods. Food Science and Industry 36(1), 8.
- Jang KW, Park SH, Ha SD(2003) Technology Trends in Functional Foods. Food Science and Industry 36(1), 17.
- Kim CH, Chung MH(1975) Pharmacognostical Studies on *Codonopsis lanceolata*. Kor J Pharmacog 6, 43-47.
- Kim HK, Kim GT, Park SH(1997) Characterization of a novel fibrinolytic enzyme from *Bacillus* sp. KA38 originated from fermented fish. J Ferment Biotech 84, 307-312.
- Kim HY(1997) In vitro Inhibitory activity on rat intestinal Mucosa  $\alpha$ -Glucosidase by rice hull extract. Kor J Food Sci Technol 29(3), 601-608.
- Kim JH, Kim YS(1999) A fibrinolytic metalloprotease from the fruiting bodies of an edible mushroom, *Armillariella mellea*. Biosci Biotech Biochem 63, 2130-2136.
- Kim JH, Oh HS, Choi MY(2005) Change of fibrinolytic activities of *Condonopsis lanceolata* according to various storage conditions, and heat or salt treatments. Kor J Biomed Lab Sci 11, 63-69.
- Kim YJ, Kim CK, Kwon YJ(1997) Isolation of antioxidative components of *Perillae emen*. Kor J Food Sci Technol 29, 38-43.
- Kim YT, Kim, WK, Oh HS(1996) Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme produced from *Bacillus* sp. Strain CK 11-4 screened from ChungkookJang. Appl Environm Microbiolo 2482-2488.
- Lee IR(1997) Pharmacological and chemical constituents of the root of *Codonopsis pilosula* Nannfeldt. Kor J Pharmacog 8, 43-48.
- Lee WY, Ahn JK, Park YK, Park SY, Kim YM, Rhee HI(2004) Inhibitory effects of Proanthocyanidin extracted from *Distylium racemosum* on  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase activities. Kor J Pharmacog 35(4), 271-275.
- Matsuura H, Asakawa C, Kurimoto M, Mizutani J(2002) alpha-Glucosidase inhibitors from the seeds of Balsam Pear (*Momordica charantia*) and the fruit bodies of *Grifola frondosa*. Biosci Biotechnol Biochem 66, 1576-1578.
- Mihara H, Nakajima N, Sumi H(1993) Characterization of potent fibrinolytic enzymes in earthworm, *Lumbricus rubellus*. Biosci Biotech Biochem 57, 1730.
- Oh HS, Kim JH(2004) Partial purification and characterization of fibrinolytic substance from Wooltalkong (*Phaseolus* spp.) Kor J Biomed Lab Sci 10, 415-420.
- Oh HS, Kim JH(2006) Development of functional soy-based stew sauce including hot water extract of *Cornus officinalis* S. et Z. Kor J Food Culture 21(5), 550-558.
- Oh HS, Kim JH, Lee MH(2003) Isoflavone contents, antioxidative and fibrinolytic activities of red bean and mung bean. Kor J Soc Food Cookery Sci 19, 263-270.
- Oh HS, Park YH, Kim JH(2002) Isoflavone contents, antioxidative and fibrinolytic activities of some commercial cooking-with-rice soybeans. Kor J Food Sci Technol 34, 498-504.
- Park YD, Kim JW, Min BG, Seo JW, Jeong JM(1998) Rapid purification and biochemical characteristics of *Lumbrokinase III* from earthworm for use as a fibrinolytic agent. Biotechnol Lett 20, 169-172.
- Watanabe J, Kawabata J, Kurihara H, Niki R(1997) Isolation and identification of alpha-glucosidase inhibitors from Tochu-cha (*Eucommia ulmoides*). Biosci Biotechnol Biochem 61, 177-178.