

## Pharmaceutical Characteristics of Solvent Fractions Isolated from *Glycyrrhiza uralensis*

Jun-Ho Kim<sup>1,†</sup> and Hae-Sook Oh<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Fine Chemistry and New Materials, and <sup>2</sup>Department of Food and Nutrition,  
Sangji University, 660 Woosan-dong, Wonju-si, Kangwon-do 220-702, Korea

In this study, the biological activities of *Glycyrrhiza uralensis* were investigated, including antioxidative, fibrinolytic, thrombin inhibitory, and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity. The hot water extract of *Glycyrrhiza uralensis* was fractionated into hexane,  $\text{CHCl}_3$ , ethyl acetate, butanol, and water fractions, and each of these fractions were assayed individually. The water fraction showed the highest extraction yield of 19.45% (w/w). Using the DPPH method, the free radical scavenging activity was to be the strongest in the  $\text{CHCl}_3$  fraction at 89.3%. Using the fibrin plate method, only the butanol fraction showed a substantial plasmin activity of 0.62 units/ml. In thrombin inhibitory activity tests, a 100-fold dilution of the ethyl acetate fraction showed the strongest activity of 46.9%. In the  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity assay, a 100-fold dilution of the  $\text{CHCl}_3$  fraction showed the strongest activity of 80.6%. In conclusion, the combined results of this study demonstrate that the extracts of *Glycyrrhiza uralensis* can be used as a material for the development of biofunctional foods for diabetics.

**Key Words:** Antioxidative activity, Fibrinolytic activity,  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory activity, *Glycyrrhiza uralensis*, Thrombin inhibitory activity

### 서 론

우리나라는 평균수명의 연장과 노인인구 비율의 증가로 점점 노령화 사회로 가고 있으며, 소득 증가로 인한 생활수준의 향상으로 노후에 삶의 질을 중시하게 되었다. 따라서 한번 발생하면 치료기간이 길고, 경제적 부담도 크며, 완전 치유가 힘든 성인병은 모든 이들의 경계의 대상이 되고 있다. 지난 5년간 한국인의 성인병 발생률과 증감 추세를 살펴보면 대부분의 성인병은 감소 추세에 있지만 한국인의 사망 원인으로 가장 큰 비율을 차지하는 악성 신생물(암)과 심장 질환은 계속 증가 추세에 있다. 심장 질환을 비롯한 뇌혈관 질환, 고혈압성 질환, 당뇨병 등의 심혈관계 질환으로 사망하는 비율의 합은 암으로 사망하는 비율과 비슷하여 심혈관계 질환의 위험성이 크게 주목을 받고 있다. 심혈관계 질환은 혈관에

쌓인 노폐물에 의해 혈액의 흐름이 원활하지 않아 생기는 질병으로 그 원인으로는 혈전, 콜레스테롤 등이 알려져 있다. 이 노폐물의 주성분인 혈전의 용해와 생성 억제가 혈관계 질환의 치료와 예방의 핵심 과제가 되고 있다. 정상적인 상태에서는 혈관내에 혈액응고계와 혈전용해계가 균형을 이루고 있어 혈전이 생성되지 않는다. 그러나 혈관내 출혈로 지혈이 이루어질 때, 출혈부분에 혈소판과 섬유소원의 집합체에 트롬빈이 작용하여 불용성 물질인 혈전이 생성된다. 이 지혈과정에 과응고로 생긴 혈전은 조직의 재생 후 혈전용해계에 의해 완전히 용해되지 않고 혈관을 따라 흐르며 뇌혈관 질환과 심장 질환 등의 혈관계 질환을 유발하게 된다 (Daka and Semba, 1995). 이 같은 혈전에 의한 혈관계 질환의 치료와 예방에는 혈전을 용해하는 혈전용해효소와 혈전 생성을 억제하는 항혈소판제와 항응고제 등이 이용되고 있다 (Chung, 1991). 예방 목적으로 사용하는 제품들은 주로 혈전 생성 시 필수 효소로 작용하는 트롬빈의 작용을 억제하거나 혈소판의 응집을 억제하는 물질을 사용하여 만든다. 선천적 원인과 후천적 원인에 의해 발생하는 당뇨병은 혈액내 당의 농도가 높아 발생하는 혈관계 질환으로 당뇨병 그 자체보다는 합병증으로 인한 위험 때문에 혈당의 농도를 적정

\*접수일: 2010년 7월 2일 / 수정일: 2010년 8월 31일  
채택일: 2010년 8월 31일

†교신저자: 김준호, (우) 220-702 강원도 원주시 우산동 660,  
상지대학교 이공과대학 정밀화학 신소재학과  
Tel: 033-730-0423, Fax: 033-730-0403  
e-mail: jhokim@sangji.ac.kr

수준으로 조절하는 예방과 치료가 필요하며 이를 위해 꾸준한 자기 관리도 필요한 성인병 중 하나로 알려져 있다 (Puls and Keup, 1973). 압, 노화, 동맥경화 등 대부분의 성인병 발생과 관련이 있는 활성 산소는 생체내 대사작용과 면역작용에 의해 발생되어 살아 있는 생명체에서는 생길 수밖에 없는 물질이다 (Ames et al., 1933). 따라서 이 질환들의 예방과 치료를 위해 활성 산소의 제거를 위한 항산화 물질이 필요하며 이를 찾으려는 연구가 동·식물, 미생물 뿐 아니라 한약 재료인 약용식물에서도 활발히 진행되고 있다.

많은 사람들이 개인의 소득과 의료 혜택의 증가로 생긴 여유로운 삶속에서 성인병 예방에 보다 많은 관심을 갖게 되었다. 성인병 관련 생리활성을 포함하고 있는 물질이나 재료를 식품이나 음료에 첨가하여 평상 시 지속적으로 섭취함으로써 성인병을 예방하려고 한다. 오랜 세월 동안 한약 재료로 사용되고 있는 약용식물은 식용으로도 사용되어 왔기에 어느 정도 독성이 확인된 장점을 갖고 있으며, 최근 생약 연구의 발전으로 그 성분들이 자세히 밝혀지고 있다. 동양과 서양에서 오랜 세월 동안 폭넓게 사용되고 있는 감초에 관한 연구가 활발하게 진행되어 (Mauricio et al., 1997), 많은 성분과 생리활성이 밝혀지고 있다. 감초 (*Licorice, Glycyrrhiza uralensis* Fisch)는 몽고와 시베리아 지방이 원산지이며, 유럽 남부에 넓게 분포하는 콩과 다년생 초본 식물로 단맛을 나타내며 모든 약의 독을 풀어 주고 약을 조화롭게 하는 성질이 있어, 예로부터 가장 많이 사용되는 한약 재료 중 하나로, 근육통·신경통 치료와 간장기능 강화, 동맥경화 예방, 위 보호작용, 뼈와 근육을 튼튼히 해주는 목적 등으로 사용되어 왔다 (Woo et al., 2006). 최근 한의학의 발전과 생약 연구의 활성화로 감초의 생리활성이 더욱 자세히 밝혀져, 감초는 항산화효과, 혈전용해효과, 혈당강하효과 (Oh and Kim, 2007), 트롬빈 저해효과 (Sohn et al., 2004), 멜라닌생성 억제효과 (Lee et al., 2003) 등을 함유하고 있는 것으로 확인되었으며, 높은 단맛도 함유하고 있어 제약 분야, 화장품 분야와 더불어 제과, 음료, 식품 등 다양한 분야에 이용할 수 있을 것으로 기대된다. 감초의 주 성분으로는 glycyrrhizin, liquiritigenin, glabrone, glabridin 등이 알려져 있다. 단맛을 내는 glycyrrhizin은 항알레르기, 만성 질환 등의 효과가 알려져 있으며 (Kumagai et al., 1967), liquiritigenin 성분은 항균활성 (Ahn et al., 1998)을, glabrone은 항균활성과 항산화활성 (Park et al., 2002)을, glabridin은 혈중 지질단백질의 하나인 LDL (low density

lipoprotein)의 산화반응을 억제시키는 효과가 있다고 알려져 있어 동맥경화, 고혈압, 뇌혈관 질환, 심장 질환 등의 혈관계 질환의 치료와 예방에 이용될 수 있을 것으로 기대된다 (Belinky et al., 1998; Ishikawa et al., 1999). 따라서 감초의 다양한 생리활성 물질을 기능성 식품과 음료 개발에 이용하기 위해, 특정 성분만의 효과적인 추출 방법을 확립하기 위해 열수추출한 감초를 여러 유기용매로 분획화하고 분획물의 항산화효과, 혈전용해효과, 혈당강하효과, 트롬빈 저해효과를 측정하였다.

## 재료 및 방법

### 실험 재료 및 시약

실험에 사용한 감초는 원주시 소재 한약 재료상에서 원산지가 중국산으로 명시된 것을 구입하였으며, 생리활성 측정에 사용된 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, fibrinogen, thrombin, 효모유래  $\alpha$ -glucosidase, p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside, Hepes, bovine serum albumin 등은 Sigma 사 제품을, H-D-phenylalanine-L-pipecolyl-L-arginine-paranitroaniline dihydrochloride (S-2238)는 Chromogenix (Orangeburg, New York, USA)의 제품을 사용하고, 그 밖의 시약은 모두 일등급 시약을 사용하였다.

### 추출 및 분획

감초는 흐르는 물에 수세하여 이물질을 제거한 후 풍건시킨 다음 일정량에 20배 (wt/vol)의 증류수를 가하고 환류 냉각시키면서 3시간 동안 가열 추출 후 aspirator를 이용하여 감압여과 (Whatman, No. 1)하였다. 이 열수추출물을 같은 부피의 n-hexane, CHCl<sub>3</sub>, Ethyl acetate, n-butanol로 차례로 3번 씩 추출 후 각각의 추출물을 농축시키고, 동결 건조하여 분획물을 얻었다. 실험에 사용한 열수추출물 (1 g/ml)과 함께 준비한 분획별 시료는 50% DMSO와 증류수에 100 mg/ml로 준비하여 혈전용해활성 실험에 사용하였으며, 50% DMSO에 1 mg/ml의 농도로 준비하여  $\alpha$ -glucosidase 저해활성과 트롬빈 저해활성 측정에 사용하였다.

### 전자공여능 측정

전자공여능은 Blois (1958) 및 Kim 등 (1997)의 실험 방법에 따라 측정하였다. 감초 분획물 0.4 mL를 시험관에 넣고 5.6 mL의  $1 \times 10^{-4}$  M의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ethanol 용액을 가하여 6 mL이 되도록 하였다. 4

**Table 1.** The fraction yields of *Glycyrrhiza uralensis* extract

	Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	Butanol	Water
Yield (%)	0.02	0.16	1.18	4.70	19.45

Fraction yields were described as the percent of dry substance of fractions based on the dry substance *Glycyrrhiza uralensis*.

분간 반응시키고 다시 여과한 다음, 총 반응시간이 10 분이 되면 525 nm에서 흡광도를 측정하였고 (UV-1201, Shimadzu Co., Japan), 다음 계산식에 의해 전자공여능을 산출하였다.

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

#### 혈전용해활성 측정

Fibrin 분해활성은 Haverkate-Trass (1974)의 fibrin plate 법에 따라 0.5% (w/v) fibrinogen을 함유하는 2% gelatin 용액 10 mL와 50 mM barbital buffer (pH 7.5)에 녹인 thrombin (100 NIH units) 50  $\mu$ L를 잘 섞고 petri dish에 부어 fibrin 막을 만들었다. fibrin 막에 감초 시료용액을 (100 mg/ml) 20  $\mu$ L씩 점적한 후 36°C에서 16시간 방치하고 용해된 면적을 측정하여 이들의 넓이를 비교하였다. 대조구로 plasmin (1.0 unit/ml)을 사용하였으며, 혈전용해활성은 대조구의 용해면적에 대한 시료의 용해면적의 상대적인 비율로 환산하여 계산하였다.

#### 트롬빈 저해활성 측정

트롬빈에 대한 저해활성은 Doljak 등 (2001)의 실험 방법을 이용하여 측정하였다. 10 mM HEPES, 150 mM NaCl, 0.1% bovine serum albumin을 포함하는 HBSA 완충용액 (pH 7.5) 40  $\mu$ L에 트롬빈용액 (0.5 NIH units/ml) 50  $\mu$ L를 첨가하고 섞는다. 준비한 감초용액 (1 mg/ml) 10  $\mu$ L를 첨가하고 실온에서 15분간 incubation 후, H-D-phenylalanine-L-pipecolyl-L-arginine-paranitroaniline dihydrochloride (S-2238)를 이용한 기질용액 (0.5 mM) 50  $\mu$ L을 가하고 5분 동안 incubation시킨 후 405 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다 (UV-1601PC, Shimadzu, Japan). 트롬빈 활성 저해율은 다음 식에 의해 산출하였다.

$$\text{저해율 (\%)} = [1 - (\text{시료 첨가구의 흡광도} / (\text{시료 무첨가구의 흡광도}))] \times 100$$

각 흡광도는 대조구의 흡광도를 제외한 수치임

#### $\alpha$ -glucosidase 저해활성 측정

$\alpha$ -glucosidase에 대한 저해활성은 Watanabe 등 (1997)의

실험 방법으로 측정하였다. 100 mM phosphate buffer (pH 7.0)로  $\alpha$ -glucosidase (0.7 U, sigma)와 p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (5 mM)를 용해시켜 각각 효소와 기질용액을 만든 다음 효소용액 50  $\mu$ L, 분획화한 감초용액 (1 mg/ml) 10  $\mu$ L 및 완충용액 890  $\mu$ L을 넣고 섞은 다음 5분 동안 실온에서 preincubation하고, 준비한 기질용액 50  $\mu$ L을 가하고 다시 5분 동안 incubation시킨 후 405 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다 (UV-1601PC, Shimadzu, Japan).  $\alpha$ -glucosidase 저해활성은 트롬빈 저해율의 계산 방법과 같은 방법으로 산출하였다.

#### 통계처리

모든 자료는 SPSS 10.0 통계 프로그램을 이용하여 분석하였으며, 시료 간 유의성 차이 여부는 t-검정, 분산분석 및 Tukey의 다범위 검사법을 이용하였다.

## 결 과

#### 분획물의 수율

감초 300 g을 열수추출 후 여러 종류의 용매를 이용하여 추출한 분획물의 수율을 계산한 결과 n-hexane 추출물이 0.02%,  $\text{CHCl}_3$  추출물 0.16%, ethyl acetate 추출물 1.18%, n-butanol 추출물 4.70%,  $\text{H}_2\text{O}$  추출물이 19.45%로 추출물의 대부분은 물에서 추출되었다 (Table 1).

#### 항산화효과

DPPH radical 소거능을 이용하여 분획물의 활성 산소 제거능력을 측정한 결과, n-hexane 층 57.03%,  $\text{CHCl}_3$  층 89.31%, ethyl acetate 층 53.04%, n-butanol 층 39.46%,  $\text{H}_2\text{O}$  층은 42.84%의 항산화활성을 나타냈다 (Table 2).  $\text{CHCl}_3$  층의 89.31% 항산화활성은 감초 열수추출액의 항산화활성 88.3%보다 조금 증가된 값으로 이는 열수추출액의 항산화 물질이 다른 유기 층에도 녹아들어 갔음을 알 수 있다.

#### 혈전용해활성

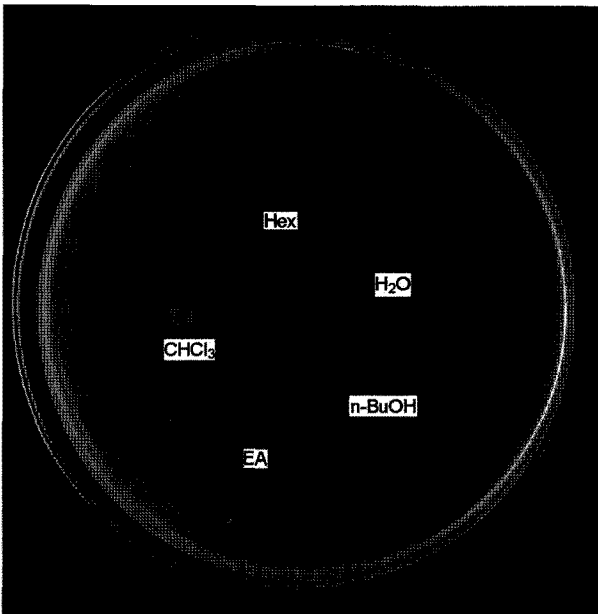
Fibrin plate 방법을 이용한 분획물들의 상대적인 fibrin

**Table 2.** Electron donating activities of hot water extract and various fraction obtained from *Glycyrrhiza uralensis* extracts by DPPH assay

	Samples	Mean $\pm$ SD
Electron donation capacity	Hot water extract	88.34 $\pm$ 0.42 <sup>a</sup>
	Hexane	57.03 $\pm$ 1.24 <sup>d</sup>
	Chloroform	89.31 $\pm$ 0.73 <sup>a</sup>
	Ethyl acetate	53.04 $\pm$ 0.74 <sup>c</sup>
	Butanol	39.46 $\pm$ 0.89 <sup>a</sup>
	Water	42.84 $\pm$ 1.18 <sup>b</sup>
	F-value	1799.70 <sup>***</sup>

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

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



**Fig. 1.** Fibrinolytic activity of various fraction obtained from *Glycyrrhiza uralensis* extracts by fibrin plate method (Hex, hexane fraction; CHCl<sub>3</sub>, chloroform fraction; EA, ethyl acetate fraction; n-BuOH, butanol fraction; H<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub>O fraction).

용해활성을 측정된 결과 n-butanol 층 분획물만 0.62 plsmín unit/ml의 활성을 나타냈다 (Fig. 1).

#### Thrombin 저해활성

H-D-phenylalanine-L-pipecolyl-L-arginine-paranitroaniline dihydrochloride (S-2238)를 기질로 이용하는 Doljak 등 (2001)의 실험 방법에 따라 100배 희석한 분획물들의 thrombin 저해활성을 측정된 결과 n-hexane 층 26.6%, CHCl<sub>3</sub> 층과 ethyl acetate 층은 각각 29.6%와 46.9%의 저해율을 나타냈으며, n-butanol 층과 H<sub>2</sub>O 층은 각각 15.1%

**Table 3.** Thrombin inhibitory activities of hot water extract and various fraction obtained from *Glycyrrhiza uralensis* extracts

	Samples	Mean $\pm$ SD
Thrombin inhibitory activity	Hot water extract	33.44 $\pm$ 3.47 <sup>b</sup>
	Hexane	26.60 $\pm$ 0.48 <sup>c</sup>
	Chloroform	29.61 $\pm$ 0.36 <sup>bc</sup>
	Ethyl acetate	46.67 $\pm$ 0.60 <sup>a</sup>
	Butanol	15.12 $\pm$ 0.90 <sup>d</sup>
	Water	14.13 $\pm$ 1.17 <sup>d</sup>
	F-value	119.94 <sup>***</sup>

We used 100-fold diluent of hot water extract of samples because of their high thrombin inhibitory activity.

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

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

**Table 4.**  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of hot water extract and various fraction obtained from *Glycyrrhiza uralensis* extracts

	Samples	Mean $\pm$ SD
$\alpha$ -glucosidase inhibitory activity	Hot water extract	61.30 $\pm$ 5.82 <sup>d</sup>
	Hexane	12.11 $\pm$ 0.58 <sup>b</sup>
	Chloroform	80.57 $\pm$ 0.55 <sup>e</sup>
	Ethyl acetate	37.25 $\pm$ 4.06 <sup>c</sup>
	Butanol	1.82 $\pm$ 2.07 <sup>a</sup>
	Water	0.00 $\pm$ 0.50 <sup>a</sup>
	F-value	275.86 <sup>***</sup>

We used 100-fold diluent of hot water extract of samples because of their high  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity.

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

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

와 14.1%의 낮은 저해율을 각각 나타냈다 (Table 3). thrombin 저해물질이 어느 정도 n-hexane 층과 CHCl<sub>3</sub> 층에 분산되어 있지만 가장 높은 저해활성을 나타내는 ethyl acetate 층의 46.9% 저해율은 감초 열수추출액의 33.4%보다 증가된 값으로 이는 100배 희석한 시료임을 고려하면 매우 큰 활성인 것을 알 수 있다.

#### $\alpha$ -glucosidase 저해활성

100배 희석한 시료 분획물들의  $\alpha$ -glucosidase 저해활성을 측정된 결과 n-hexane 층 12.1%, CHCl<sub>3</sub> 층은 80.6%, ethyl acetate 층은 37.3%의 저해율, n-butanol 층과 H<sub>2</sub>O 층은 각각 1.8%와 0%의 낮은 저해율을 나타냈다 (Table 4). CHCl<sub>3</sub> 층의 80.6% 저해활성은 감초 열수추출액의 저해활성 61.3%보다 크게 증가된 값으로 이는  $\alpha$ -glucosidase 저해물질 추출용매로 CHCl<sub>3</sub>가 가장 효과적임을 나타내고 있다.

## 고 찰

약용으로 사용된 감초의 역사는 매우 오래되었으며, 150년 전 서양에서는 감초의 감미성분을 이용하여 주류, 제과, 담배 등 주로 기호 식품에 이용한 경우도 있다. 감초는 종류에 따라 이용 분야도 다르다. 한약감초 (*Glycyrrhizae Uralensis* Fisch)는 주로 한약 재료와 한방 식품의 재료로 사용되며, 신과감초 (*Glycyrrhizae Inflata* Bat.)는 성분 중 *isoliquiritigenin-2'-O-methyl ether*와 같은 *tyrosinase* 활성저해물질들을 함유하고 있어 *melanin* 생성을 억제하므로 기능성화장품인 미백화장품 생산 재료로 이용되기도 한다. 또한 감초는 단맛을 내는 *glycyrrhizin*을 6~14%의 높은 농도로 함유하고 있으며, *glycyrrhizin*은 감초의 지표성분으로 2% 이상을 함유하도록 규정하고 있다. 감초는 서당보다 약 170배 정도의 단맛을 내 설탕 대용 물질로 이용할 수 있어 (Kim et al., 2004), 단맛을 요구하는 당뇨병 환자를 위한 식품이나 아이스크림제조 등의 기호 식품 개발에 이용 가능하며, 비만 예방을 위한 다이어트 식품 개발에도 이용할 수 있을 것이다. 혈관계 질환의 중요인자 중 하나인 콜레스테롤은 LDL (low density lipoprotein)에 의해 혈관을 통해 온몸으로 이동하는 중 혈관에 쌓여 혈전을 형성하기도 하며, 이 LDL의 산화는 동맥경화, 고혈압 등의 성인병을 촉진하는 원인이 되기도 한다. 따라서 LDL 산화반응을 억제하는 감초의 *glabridin*은 이 같은 성인병 치료와 예방에 이용될 수 있을 것이다 (Belinky et al., 1998; Ishikawa et al., 1999).

성인병과 치료와 예방에 관련된 많은 생리활성 물질을 함유하고 있는 감초를 이용하여 기능성 식품을 개발하기 위해, 감초의 열수추출을 여러 유기용매로 분획화하고 분획물의 항산화효과, 혈전용해효과, 혈당강하효과, 트롬빈 저해효과를 측정하였다. 실험 결과 열수추출액의 항산화활성이 88.3%인 반면  $\text{CHCl}_3$  분획물은 조금 높은 89.3%의 활성을 나타냈으며, *hexane* 분획물, *ethyl acetate* 분획물, *butanol* 분획물, 수용액 층이 각각 57.0%, 53.0%, 39.5%, 42.8%의 활성을 보였다. 결과로부터 항산화 물질이 여러 분획물에 분포되어 있는 것을 알 수 있다. 한약제 열수추출물의 항산화활성은 비교적 높은 것으로 알려져 있으며, 산수유, 목과, 산사의 항산화활성이 각각 90%, 89.9%, 89.3%로 감초 열수추출물과 비슷한 것으로 확인되었다 (Oh and Kim, 2006; Oh and Kim, 2007). 감초의 항산화 물질로는 *glabrone* 등이 알려져 있다 (Park et al., 2002).

근래 혈관계 질환의 치료와 예방의 목적으로 발효 식품인 된장 (Kim, 1998)과 청국장 (Kim et al., 1996)에 대한 관심이 증가하고 있다. 콩을 이용한 발효 식품 속에는 균주들의 작용으로 생성된 혈전용해효소와 함께 콩 자체 내에 있는 작은 펩티드의 혈전용해 물질이 있기 때문이다 (Oh et al., 2002; Oh et al., 2003). 이 같은 혈전용해효소를 생산하는 발효식품으로는 된장, 청국장과 함께 젓갈 (Kim et al., 1997) 등이 알려져 있으며, 야생버섯 (Kim and Kim, 1997)과 함께 한약제인 산수유, 산사, 감국 등으로부터 혈전용해 물질의 보고도 있었다. 발효식품이나 버섯으로부터 분리한 혈전용해 물질은 주로 효소로 열에 약한 단점을 갖고 있다. 그러나 한약재의 경우는 열로 추출한 물질이므로 열을 이용하는 기능성 음료나 식품 개발에 이용할 수 있는 장점을 갖고 있다. 혈전의 주성분인 *fibrin*을 이용한 *fibrin plate*로 혈전용해활성을 측정할 결과 *butanol* 분획물에서만 0.62 *plsm* unit/ml의 활성을 확인하였다. 이는 감초 열수추출액의 활성 0.57 *plsm* unit 보다 조금 증가된 활성이었다 (Oh and Kim, 2007). 결과로부터 혈전용해 물질을 추출하기에 적합한 용매는 *butanol*임을 알 수 있었다. 혈전용해활성을 나타내는 한약제로 산사, 목과, 산수유가 각각 0.54 *plsm* unit, 0.52 *plsm* unit, 1.74 *plsm* unit의 활성을 나타내는 것으로 보고되었다 (Oh and Kim, 2006; Oh and Kim, 2007).

혈전 생성의 필수 효소인 트롬빈의 작용을 저해하면 혈전의 생성을 억제하여 혈관계 질환을 미리 예방할 수 있다. 감초 열수추출물과 분획물의 트롬빈 저해활성을 측정할 결과 열수추출물은 33.4%의 낮은 트롬빈 저해효과를 나타냈지만, *ethyl acetate* 추출물은 46.9%의 증가된 활성을 나타냈고, 나머지 분획물은 30% 이하의 작은 저해활성을 나타냈다. 하지만 100배 희석액을 사용한 점을 감안하면 *ethyl acetate* 추출물의 46.9%는 매우 큰 저해활성임을 알 수 있다.

우리나라 인구 10명 중 한 명이 앓고 있는 것으로 알려진 당뇨병은 영양공급 과잉으로 인한 질병 중 하나로, 비만과 매우 밀접한 관련을 갖고 있으며 많은 합병증을 유발하는 것으로 알려져 있다. 제 2형 당뇨병 환자의 치료를 위해 사용하는 경구혈당강하제의 하나인 아카보스계 약물은 탄수화물의 분해 속도를 조절하여 혈당을 조절하는 방법으로 탄수화물 분해효소인  $\alpha$ -glucosidase의 저해물질을 이용한다 (Puls and Keup, 1973). 감초 열수추출물과 분획물의  $\alpha$ -glucosidase 저해활성을 확인한 결과 감초 열수추출물이 61.30%의 저해활성을 나타낸 반면,

CHCl<sub>3</sub> 분획물은 80.6%의 높은 저해효과를 나타냈다. 100배 희석한 시료의 사용을 감안하면 CHCl<sub>3</sub> 분획물의 높은  $\alpha$ -glucosidase 저해활성은 기능성 식품의 재료로 이용하기에 매우 적합함을 알 수 있고, 이를 분리하기에 CHCl<sub>3</sub>이 가장 적합한 용매임을 알 수 있다. 산사의 경우 열수추출물이 65.3%의  $\alpha$ -glucosidase 저해활성을 보이고 10배 희석한 ethyl acetate 분획물이 65.1%의  $\alpha$ -glucosidase 저해활성 나타내므로 감초의 분획물이 상대적으로 큰 저해활성을 나타내고 있음을 알 수 있다.

감초 열수추출물을 유기용매로 분획화하고 분획물의 혈관계 질환 관련 생리활성을 확인한 결과 CHCl<sub>3</sub> 추출물에서 높은 항산화효과와  $\alpha$ -glucosidase 저해효과를, ethyl acetate 추출물에서 높은 트롬빈 저해활성을 확인하였으며, butanol 추출물에서만 혈전용해활성을 확인하였다. 따라서 감초의 높은 항산화효과,  $\alpha$ -glucosidase 저해효과, 트롬빈 저해효과와 glabridin에 의한 LDL의 산화반응 억제 효과를 이용하면 혈관계 질환의 치료와 예방을 위한 기능성 식품이나 음료의 개발에 감초를 이용할 수 있으며, 특히 설탕을 대체할 수 있는 높은 당도를 함유하고 있어 당뇨병 환자나 비만 예방을 위한 기능성 식품 개발에도 이용 할 수 있을 것으로 기대된다.

#### 감사의 글

이 논문은 2008년도 상지대학교 교내연구비의 지원으로 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

#### REFERENCES

- Ahn EY, Shin DH, Baek NI, Oh JA. Isolation and Identification of Antimicrobial Active Substance from *Glycyrrhizin uralensis* FISCH. Korean J Food Sci Technol. 1998. 30: 680-687.
- Ames BN, Shigenaga MK, Hagen. Oxidant, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Proc Natl Acad Sci USA. 1933. 90: 7915.
- Belinky PA, Aviram M, Fuhrman B, Rosenblat M, Vaya J. The antioxidative effects of the isoflavan glabridin on endogenous constituents of LDL during its oxidation. Atherosclerosis 1998. 137: 49-61.
- Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 1958. 181: 1199-1210.
- Chung KH. In Proceeding of the 2nd symposium on the biochemical methodology for the R&D of the bioactive substances. Biochem Soc. 1991. pp. 53.
- Daka MD, Semba CP. Thrombolytic therapy in venous occlusive disease. J Vasc Interv Radiol. 1995. 6: 73-77.
- Doljak B, Stegnar M, Urleb U, Kreft S, Umek A, Ciglaric M, Strukelj B, Popovic T. Screening for selective thrombin inhibitor in mushrooms. Blood Coagul Fibrinolysis. 2001. 12: 123-128.
- Haverkate F, Traas DW. Dose-response curves in the fibrin plate assay. Fibrinolytic activity of protease. Thromb Haemost. 1974. 32: 356-365.
- Ishikawa S, Kato M, Tokuda T, Momoi H, Sekijima Y, Higuchi M, Yanagisawa N. Licence-induced hypokalemic myopathy and hypokalemic renal tubular damage in anorexia nervosa. Int J Eat Disord. 1999. 26: 111-114.
- Kim HK, Kim GT, Park SH. Characterization of a novel fibrinolytic enzyme from *Bacillus* sp. KA38 originated from fermented fish. J Ferment Biotech. 1997. 84: 307-312.
- Kim JH, Kim YS. Fibrinolytic metalloprotease from the fruiting bodies of an edible mushroom. *Armillariella mellea*. Biosci Biotech Biochem. 1999. 63: 2130-2136.
- Kim SH. New trends of studying on potential activities of Doen-Jang. Korea Soybean Digest. 1998. 15: 8-15.
- Kim YJ, Kim CK, Kwon YJ. Isolation of antioxidative components of *Perillae semen*. Kor J Food Sci Technol. 1997. 29: 38-43.
- Kim YS, Choi HS, Woo IA, Song TH. The effect on the sensory and mechanical characteristics of functional muffin using *Glycyrrhizae radix* Extract. Korean J Soc Food Cookery Sci. 2004. 20: 95-99.
- Kim YT, Kim WK, Oh HS. Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme produced from *Bacillus* sp. Strain CK 11-4 screened from ChungkookJang. Appl Environm Microbiol. 1996. 2482-2488.
- Kumagai A, Nanaboshi M, Asanuma Y, Yagura T, Nishino K. Effect of glycyrrhizin on thymolytic and immunosuppressive action of cortisone. Endocrinol Jpn. 1967. 14: 39.
- Lee JS, Kim JA, Cho SH, Son AR, Jang TS, So MS, Chung SR, Lee SH. Tyrosinase inhibitors isolated from the roots of *Glycyrrhiza glabra* L. Kor J Pharmacogn. 2003. 34: 33-39.
- Mauricio I, Francischetti B, Monteiro RQ, Guimaraes JA. Identification of *Glycyrrhizin* as a thrombin inhibitor. Biochem Biophys Res Commun. 1997. 235: 259-263.
- Oh HS, Kim JH. Development of functional soy-based stew sauce including hot water extract of *Cornus officinalis* S. et Z. Kor J Food Culture. 2006. 21: 550-558.
- Oh HS, Kim JH. Physiological functionalities of hot water extract of *Codonopsis lanceolata* and some medicinal materials, and

- their mixtures. Korean J Community Living Sci. 2007. 18: 407-415.
- Oh HS, Kim JH, Lee MH. Isoflavone Contents, Antioxidative and Fibrinolytic Activities of Red Bean and Mung Bean. Korean J Soc Food Cookery Sci. 2003. 19: 263-270.
- Oh HS, Park YH, Kim JH. Isoflavone Contents, Antioxidative and Fibrinolytic Activities of Some Commercial Cooking-with-Rice Soybeans. Korean J Food Sci Technol. 2002. 34: 498-504.
- Park YC, Lee SD, Lee YS. Efficacy and Poisonous Character of *Glycyrrhizin*. Korean J Pois Char. 2002. 18: 301-309.
- Puls W, Keup U. Influence of an  $\alpha$ -amylase inhibitor (Bay d7791) on blood glucose, serum insulin and NEFF in starch loading tests in rats, dogs and man. Diabetologia. 1973. 9: 97-101.
- Sohn HY, Kwon YS, Kim YS, Kwon HY, Kwon GS, Kim KJ, Kwon CS, Son KH. Screening of thrombin inhibitors from medicinal and wild plants. Kor J Pharmacogn. 2004. 35: 52-61.
- Watanabe J, Kawabata J, Kurihara H, Niki R. Isolation and identification of alpha-glucosidase inhibitors from Tochu-cha (*Eucommia ulmoides*). Biosci Biotechnol Biochem. 1997. 61: 177-178.
- Woo KS, Jang KI, Kim KY, Lee HB, Jeong HS. Antioxidative activity of heat treated licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fish) extracts. Korean J Food Sci Technol. 2006. 38: 355-360.
-