

## Biological activities of Solvent Fractions Isolated from *Areca catechu* L

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

This study was conducted to investigate the biological activities of *Areca catechu* L. The antioxidative, fibrinolytic, thrombin inhibitory, and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of *Areca catechu* L extracted with hexane, CHCl<sub>3</sub>, ethyl acetate, butanol, and water were measured. The water fraction showed the highest extraction yield at 3.65% (w/w). The butanol, CHCl<sub>3</sub>, water, and ethyl acetate fractions showed strong antioxidative activities at 81.6%, 87.1%, 88.0%, and 89.5%, respectively. The fibrinolytic activity was strong only in the ethyl acetate fraction at 0.84 plasmin units/ml. The 100-fold dilution of the water fraction had the strongest thrombin inhibitory activity at 59.2%. The 100-fold dilution of butanol fraction displayed the strongest  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity at 88.6%. In conclusion, the extracts of *Areca catechu* L hold promise for use in the development of biofunctional foods to prevent cardiovascular diseases.

**Key Words:** Antioxidative activity, *Areca catechu* L, Fibrinolytic activity,  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory activity, Thrombin inhibitory activity

### 서 론

건강한 노후를 보내기 위한 모든 이들의 희망은 간혹 성인병에 의해 좌절을 겪기도 한다. 성인병은 한번 발생하면 완전 치유가 힘들고 치유기간이 길며 많은 비용을 요구하기 때문이다. 대표적인 성인병으로 암, 뇌혈관 질환, 심장 질환, 당뇨병 등이 있으며, 이들 성인병은 연령의 증가와 함께 높은 비율로 발생하기 때문에, 치료보다 예방이 더 중요하며 평생 시 성인병에 효과적인 물질을 미리 섭취하는 것이 가장 효과적인 예방법이 되고 있다. 특히 심혈관계 질환으로 대표되는 뇌혈관 질환, 심장 질환, 동맥경화, 고혈압, 당뇨병 등은 혈관내 혈액의 흐름이 원활하지 않아 생기는 성인병 (Daka and Semba, 1995)으로 이 질환으로 사망하는 사람들의 비율의 합은 한국인의 사망원인 중 가장 높은 비율을 차지하는 암의 비율과 비슷하며 점차 증가하는 추세로 주의가 각별히 요구되는 질환들이다.

최근 한약제들이 많은 이들에게 큰 관심을 끌고 있다.

이는 오랜 세월 동안 식용과 의료용으로 사용되어 어느 정도 독성에 대한 우려가 감소되고 화학약품에 비해 부작용이 적은 것이 확인되고, 분석기기의 발전으로 한약제의 성분이 과학적으로 새롭게 밝혀지고 있기 때문이다. 한약제들이 폭넓게 이용될 수 있는 또 다른 장점으로는 다양한 종류와 그들이 함유하고 있는 독특한 생리활성 물질 때문이다. 한약제는 약리효과를 갖는 식물의 2차 대사 산물을 함유하고 있어 인체에 대한 생리활성효과도 다양하다. 한약제인 산수유, 황금 등의 항암효과, 구기자, 목단 등의 항균효과, 산수유 (Oh and Kim, 2006), 산사 (Oh and Kim, 2008), 목과 등의 항산화효과, 혈전용해효과 및 혈당강하효과, 마황, 황금 등의 항혈전효과, 당귀의 면역 활성화작용 등의 다양한 약리효과가 알려져 있다 (Lee et al., 2000). 이 같은 효과는 노화의 시작과 함께 나타나는 암, 혈관계 질환, 당뇨, 고혈압 등과 같은 성인병의 치료와 예방에 이용될 수 있는 약리효과들이다. 따라서 한약제를 성인병 관련 치료와 예방을 위한 제약과 기능성 식품의 개발에 이용하기 위해서는, 암, 노화 등 여러 가지 질병의 발생과 관련이 큰 활성 산소의 양을 줄이는 능력의 지표가 되는 항산화효과 (Ames et al., 1933), 원활한 혈액의 흐름을 저해하여 발생하는 뇌졸중, 심장마비, 동맥경화와 같은 혈관계 질환을 야기하는 가장 큰 원인 중의 하나인 혈전을 용해하는 혈전용해효과 (Daka and Semba, 1995), 혈전형성의 필수효소인 트롬빈의 작용

\*접수일: 2010년 8월 21일 / 수정일: 2010년 11월 29일  
채택일: 2010년 12월 9일

†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

을 억제하여 혈전의 형성을 억제함으로써 혈관계 질환을 예방하는 트롬빈 저해효과, 당뇨병의 원인인 혈중 혈당치를 감소시키기 위해, 탄수화물 분해효소인  $\alpha$ -glucosidase의 활성을 저해하는 혈당강하효과 등의 성인병 관련 생리활성을 한약재로부터 확인할 필요가 있다.

한약재의 유용성분을 성인병 예방과 치료를 위한 기능성 식품의 재료로 사용할 경우 그 효과는 크게 나타날 것으로 기대된다. 한약제는 단독으로 사용하기 보다는 다른 종류의 성인병 관련 성분을 함유하고 있는 한약제와 혼합하여 사용하면 더 큰 효과를 얻을 수 있을 것으로 기대된다. 그러나 이 경우 한약제 단독의 효과와 함께 혼합시료의 효과도 확인할 필요가 있다. 이는 큰 활성의 재료들이 혼합 시 오히려 활성이 감소되는 경우도 있기 때문이다. 이미 이 같은 과정을 거쳐 기능성 음료의 재료로 사용되고 있는 한약제로는 당귀, 구기자, 천궁, 영지 등이 알려져 있다 (Lee et al., 2000).

빈랑나무 (*Areca catechu* L)는 중국의 남부 지방, 인도네시아, 필리핀, 말레이반도에 주로 자생하거나 재배되며, 높이는 25 m 이상 자라고 잎의 길이는 1~2 m인 암수한그루 식물로 꽃은 단성화이고 흰색을 나타낸다. 빈랑은 빈랑나무의 성숙한 과실을 건조한 것으로 arecoline, arecolidine, guvacoline 등의 alkaloid와 함께 steroid와 tannin도 함유하고 있으며, 장내 유해균에 대한 항균효과, 항진균효과, 항 virus 효과, 살충효과 등을 나타내 (Lee et al., 1998a; Lee et al., 1998b) 조충구제약, 녹내장 치료, 구강청량제 등의 치료에 이용되어 왔다 (Lee et al., 2001). 많은 동남아인들이 주로 저녁 식사 후 이것을 씹는데 이는 빈랑의 성분이 소화를 촉진시키기 때문으로 알려져 있으며, 인도에서 만도 연간 10만톤 이상의 빈랑을 소비하는 것으로 알려져 있다. 빈랑은 염료로도 사용하고 있으며 티로시나제 저해물질 (Chin and Cho, 2007)도 포함하고 있어 미백 화장품 제조를 위한 기능성 화장품의 재료로도 사용 가능하다. 빈랑은 독성이 없는 것으로 알려져 있으며 빈랑나무의 어린잎은 식용으로도 사용되고 있다. 따라서 독이 없으며 식용 가능한 빈랑의 유효성분은 식품에 이용할 수 있는 가능성이 높음을 알 수 있다. 최근 기준에 알려진 빈랑의 효과 외에 항암효과와 혈전증효과 등이 알려져 (Chin and Cho, 2007), 빈랑을 새로운 성인병 관련 기능성 식품 개발에 재료로 이용하기 위해 아직 밝혀지지 않은 빈랑 함유 성인병 관련 유용물질의 종류와 활성을 탐색하게 되었다.

본 연구는 빈랑을 심혈관계 질환 관련 기능성 식품의

소재로 이용하기 위한 기초자료를 얻기 위해 빈랑 열수 추출물을 여러 종류의 유기용매로 분획화하고, 분획물들의 항산화효과, 혈전용해효과, 트롬빈 저해효과, 혈당강하효과를 확인하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료 및 시약

본 실험에 사용한 빈랑은 경동시장에서 구입하여 사용하였으며, 생리활성 측정에 사용된 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, fibrinogen, thrombin, 효모유래  $\alpha$ -Glucosidase, p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside, Hepes, bovine serum albumin 등은 Sigma사 제품이고, H-D-phenylalanine-L-pipecolyl-L-arginine-paranitroaniline dihydrochloride (S-2238)는 Chromogenix (Orangeburg, New York, USA)의 제품이었으며, 그 밖의 시약은 모두 일등급이었다.

### 추출 및 분획

빈랑은 흐르는 물에 수세하여 먼지와 이물질을 제거한 후 풍건시킨 다음 일정량에 20배 (wt/vol)의 증류수를 가하고 환류 냉각시키면서 3시간 동안 가열 추출 후 asperator를 이용하여 감압여과 (Whatman, No. 1)하였다. 이 열수추출물을 같은 부피의 hexane,  $\text{CHCl}_3$ , ethyl acetate, butanol로 차례로 3번 씩 추출 후 각각의 추출물을 evaporatory로 농축시키고, 동결 건조하여 분획물을 얻었다. 분획별 시료를 50% DMSO와 증류수에 100 mg/ml로 준비하여 혈전용해활성 실험에 사용하였으며, 100배 희석한 시료 용액 (1 mg/ml)으로 thrombin 저해활성과  $\alpha$ -glucosidase 저해활성을 측정하였다.

### 전자공여능 측정

전자공여능은 Blois (1958) 및 Kim 등 (1997)의 실험과정에 따라 측정하였다. 빈랑 분획물 (100 mg/ml) 0.4 mL를 시험관에 취하고 5.6 mL의  $1 \times 10^{-4}$  M의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ethanol 용액을 가하여 6 mL이 되도록 하였다. 4분간 반응시키고 다시 여과한 다음, 총 반응시간이 10분이 되면 525 nm에서 흡광도를 측정하였고 (UV-1201, Shimadzu Co., Japan), 다음 계산식에 의해 전자공여능을 산출하였다.

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

**Table 1.** The fraction yields of *Areca catechu* L Extract

	Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	Butanol	Water
Yield (%)	0.04%	0.04%	0.69%	1.34%	3.65%

Fraction yields were described as the percent of dry substance of fractions based on the dry substance *Areca catechu* L.

#### 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 분획화한 빈랑 용액 (100 mg/ml) 20  $\mu$ L씩 점적한 후 36°C에서 16시간 방치하고 용해된 면적을 측정하여 이들의 넓이를 비교하였다. 대조구로는 plasmin (1.0 unit/ml)을 사용하였으며, 추출액의 혈전용해활성은 대조구의 용해면적에 대한 시료의 용해면적의 상대적인 비율로 환산하여 계산하였다.

#### Thrombin 저해활성 측정

Thrombin에 대한 저해활성은 Doljak 등 (2001)의 실험 방법을 이용하였다. 즉, 10 mM HEPES, 150 mM NaCl, 0.1% bovine serum albumin을 포함하는 HBSA 완충 용액 (pH 7.5) 40  $\mu$ L에 트롬빈 용액 (0.5 NIH units/ml) 50  $\mu$ L를 첨가하고 섞는다. 준비한 빈랑 용액 (1 mg/mL) 10  $\mu$ L를 첨가하고 실온에서 15분간 incubation 후, H-D-phenylalanine-L-pipecolyl-L-arginine-paranitroaniline dihydrochloride (S-2238)를 이용하여 준비한 기질 용액 (0.5 mM) 50  $\mu$ L을 가하고 5분 동안 incubation시킨 후 405 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다 (UV-1601PC, Shimadzu, Japan). Thrombin 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 방법을 이용하였다. 즉, 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 기질 용액을 만든 다음 효소 용액 50  $\mu$ L, 분획화한 빈랑 용액

(1 mg/ml) 10  $\mu$ L 및 완충용액 890  $\mu$ L을 넣고 섞은 다음 5분 동안 실온에서 preincubation하고, 준비한 기질 용액 50  $\mu$ L을 가하고 다시 5분 동안 incubation시킨 후 405 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다 (UV-1601PC, Shimadzu, Japan).  $\alpha$ -glucosidase 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.

#### 통계처리

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

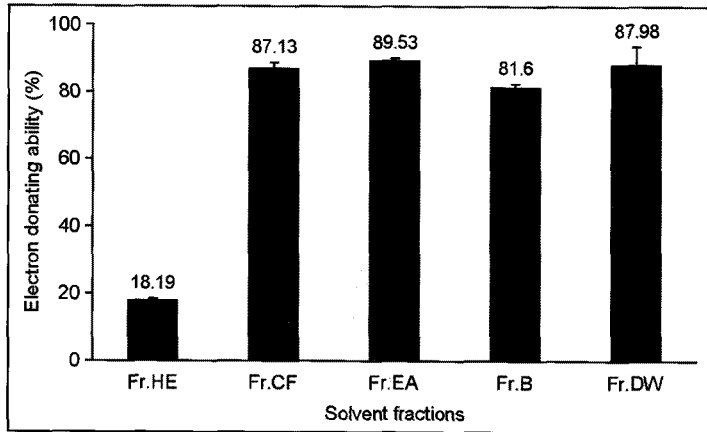
## 결 과

#### 용매별 분획물의 수율

빈랑 300 g을 열수추출 후 여러 종류의 용매를 이용하여 추출한 분획물의 수율을 측정된 결과 n-hexane 추출물과  $\text{CHCl}_3$  추출물이 0.04%, ethyl acetate 추출물 0.69%, n-butanol 추출물 1.34%,  $\text{H}_2\text{O}$  추출물 3.65%로 물 분획물의 수율이 가장 높았다 (Table 1).

#### DPPH radical 소거능

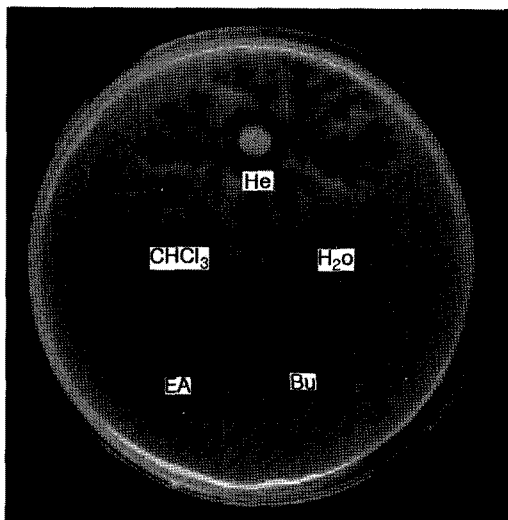
활성 산소는 전자쌍을 이루지 못하고 홀전자를 가진 불안정한 산소화합물로 반응성이 매우 커 생체 조직으로부터 전자를 쉽게 취하여 안정한 구조를 갖게 된다. 이 같은 활성 산소의 작용으로 조직과 세포의 구성물질들이 손상을 받게 된다. 특히 핵산과의 반응은 돌연변이나 암, 세포 노화의 원인이 되기도 하며 당뇨병, 동맥경화증, 뇌졸중 등의 원인으로도 알려져 있다. 활성 산소는 세포의 대사작용과 면역작용의 백혈구나 면역세포에서 대량 생산되므로 살아 있는 생명체에서는 생성될 수 밖에 없으며, 여러 가지 성인병의 주원인으로 알려져 있다 (Ames et al., 1933). 이 같은 활성 산소를 제거하는 물질이 항산화제이며 활성 산소의 제거 능력이 클수록 항산화능이 크다고 한다. 즉 항산화물질은 활성 산소에 전자를 주고도 자신은 안정한 구조를 갖출 수 있는 화합물들이다. 분획물들의 항산화능을 측정하기 위해 전자공여능 측정 방법으로 DPPH radical 소거능을 측정하였다. 측정된 결



Samples	Mean ± SD
Hexane	18.19±0.45 <sup>a</sup>
Chloroform	87.13±1.76 <sup>bc</sup>
Ethyl acetate	89.53±0.50 <sup>c</sup>
Butanol	81.60±1.00 <sup>b</sup>
Water	87.98±5.36 <sup>bc</sup>
F-value	424.93 <sup>***</sup>

\*\*\*P<0.001

**Fig. 1.** Electron donating activities of various fraction obtained from *Areca catechu* L extracts by DPPH assay  
Fr.HE: Hexane fraction, Fr.CF: Chloroform fraction, Fr.EA: Ethyl acetate fraction, Fr.B: Butanol fraction, Fr.DW: H<sub>2</sub>O fraction  
1) : mean ± SD from 3~5 replicates  
a-d: Values with different superscripts within the group are significantly different by ANOVA



**Fig. 2.** Fibrinolytic activity of various fraction obtained from *Areca catechu* L extracts by fibrin plate method.  
He: 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

과 n-hexane 추출물 18.19%, CHCl<sub>3</sub> 추출물 87.13%, ethyl acetate 추출물 89.53%, n-butanol 추출물 81.60%, H<sub>2</sub>O 추출물 87.98%로 ethyl acetate 분획물의 항산화효과가 가장 높았으나, n-hexane 추출물을 제외하고 4가지 추출물이 모두 80% 이상의 높은 소거능을 나타냈다 (Fig. 1).

#### 혈전용해활성

혈전의 주성분인 fibrin을 이용한 fibrin plate 방법으로 혈전용해활성을 측정하였다. 분획한 n-hexane 추출물, CHCl<sub>3</sub> 추출물, n-butanol 추출물, H<sub>2</sub>O 추출물은 활성을 나

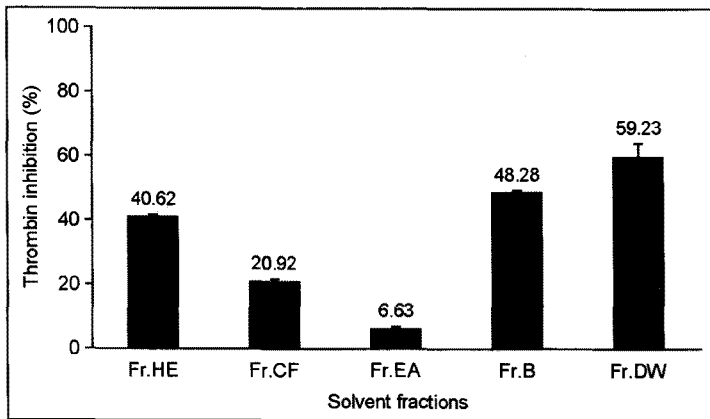
타내지 않았지만 ethyl acetate 추출물은 0.84 pl/min unit/ml의 큰 활성을 나타냈다 (Fig. 2).

#### 트롬빈 저해활성

혈소판과 섬유소의 고분자로 이루어진 혈전은 혈관을 따라 흐르며 혈액의 흐름을 방해하여 혈관계 질환을 유발한다. 이 같은 혈전에 의한 혈관계 질환을 예방하기 위하여 혈전의 형성을 억제시키는 방법으로는 혈소판의 응집을 억제시키는 항혈소판제를 이용하는 방법과 혈전 생성 시 섬유소원이 섬유소 고분자로 변하는 단계의 필수효소인 트롬빈의 작용을 저해하여 혈전형성을 억제하는 트롬빈 저해제를 이용하는 방법 등이 있다. 분획물의 트롬빈 저해효과를 측정하기 위해 Doljak 등 (2001)의 실험 방법에 따라 100배 희석한 추출물들의 thrombin 저해 활성을 측정한 결과 Fig. 3과 같이 hexane 추출물 40.62%, CHCl<sub>3</sub> 추출물 20.92%, ethyl acetate 추출물 6.63%, butanol 추출물 48.28%의 저해활성을 각각 나타냈으며, 물 추출물이 가장 큰 59.23%의 저해활성을 나타냈다.

#### α-glucosidase 저해활성

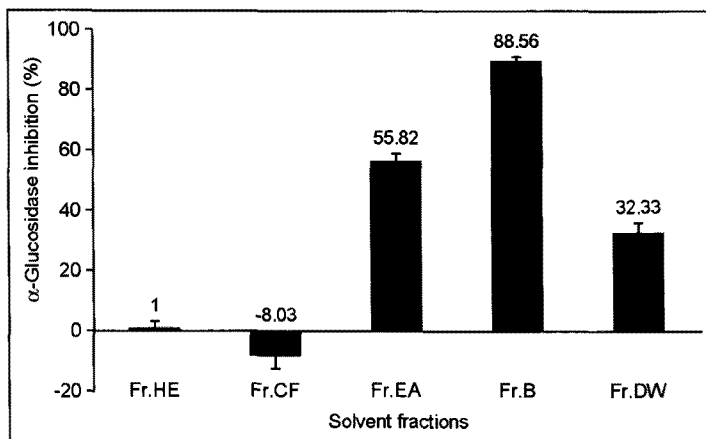
당뇨병의 원인인 혈액내 당의 높은 수치를 줄이기 위한 한 가지 방법으로 혈당강화제를 이용한다. 이 목적으로 이용하기 위해, 소장내에서 탄수화물을 포도당으로 분해하는 효소인 α-glucosidase의 저해활성을 측정한 결과 Fig. 4와 같이 n-hexane 추출물이 1.00%, CHCl<sub>3</sub> 추출물이 -8.03%, ethyl acetate 추출물이 55.82%, H<sub>2</sub>O 추출물이 32.33%의 저해활성을 각각 나타냈으며, n-butanol 추출물



Samples	Mean ± SD
Hexane	40.62±0.56 <sup>c</sup>
Chloroform	20.92±0.58 <sup>b</sup>
Ethyl acetate	6.63±0.58 <sup>a</sup>
Butanol	48.28±0.18 <sup>d</sup>
Water	59.23±4.21 <sup>e</sup>
F-value	360.11 <sup>***</sup>

\*\*\*P<0.001

**Fig. 3.** Thrombin inhibitory activities of various fraction obtained from *Areca catechu* L extracts  
Fr.HE: Hexane fraction, Fr.CF: Chloroform fraction, Fr.EA: Ethyl acetate fraction, Fr.B: Butanol fraction, Fr.DW: H<sub>2</sub>O fraction  
We used 100-fold diluent (1 mg/mL) of samples because of their high thrombin inhibitory activity.  
1) : mean ± SD from 3~5 replicates  
a-e: Values with different superscripts within the group are significantly different by ANOVA



Samples	Mean ± SD
Hexane	1.00±2.43 <sup>b</sup>
Chloroform	-8.03±3.87 <sup>a</sup>
Ethyl acetate	55.82±2.43 <sup>d</sup>
Butanol	88.56±1.05 <sup>e</sup>
Water	32.33±3.53 <sup>c</sup>
F-value	586.19 <sup>***</sup>

\*\*\*P<0.001

**Fig. 4.** α-Glucosidase inhibitory activities of various fraction obtained from *Areca catechu* L extracts  
Fr.HE: Hexane fraction, Fr.CF: Chloroform fraction, Fr.EA: Ethyl acetate fraction, Fr.B: Butanol fraction, Fr.DW: H<sub>2</sub>O fraction  
We used 100-fold diluent (1 mg/mL) of samples because of their high thrombin inhibitory activity.  
1) : mean ± SD from 3~5 replicates  
a-e: Values with different superscripts within the group are significantly different by ANOVA

이 88.56%의 가장 큰 저해활성을 나타냈다.

## 고 찰

기아와 영양부족으로 성인병이 발생했던 과거에 비해 이제는 영양공급 과잉으로 여러 가지 성인병이 발생하고 있다. 개인 소득의 향상과 윤택한 생활은 비만을 비롯한 암, 뇌혈전증, 심장 질환, 당뇨, 동맥경화, 고혈압 등의 성인병을 불러왔으며, 육류 식단의 선호와 과일과 채소, 비타민, 필수지방산, 필수아미노산 등의 적은 섭취도 성인병 발생을 더욱 증가시켰다. 따라서 식품의 섭취와 밀

접한 관계가 있는 성인병 예방을 위해서는 올바른 균형 잡힌 식단과 식사습관이 중요하다. 즉 섭취하는 식품의 종류와 영양 상태, 섭취 방법의 조절이 성인병 예방과 치료에 가장 효과적인 방법이 될 수 있을 것이며, 성인병과 관련된 한약재의 유용성분을 식품 재료와 함께 사용할 경우 성인병 예방효과는 더욱 크게 나타날 것으로 기대된다.

성인병 관련 생리활성물질을 함유하고 있는 것으로 알려진 빈랑을 제약이나 기능성 식품의 재료로 이용하기 위해 빈랑 열수추출물을 유기용매로 분획화하고, 분획물의 항산화효과, 혈전용해효과, 트롬빈 저해효과,

$\alpha$ -glucosidase 저해효과를 확인하였다. 분획물의 수율은 H<sub>2</sub>O 추출물이 3.65%로 가장 높았으며, DPPH radical 소거능을 이용하여 측정된 항산화효과는 ethyl acetate 추출물에서 89.53%의 가장 높은 활성을 나타냈으나 H<sub>2</sub>O 추출물, CHCl<sub>3</sub> 추출물과 butanol 추출물도 이와 비슷한 87.98%, 87.13%, 81.60%의 높은 활성을 나타냈다.

그러나 이 항산화활성들은 빈랑 열수추출물의 항산화 활성 90.7% 보다는 모두 작은 값들이었다 (Oh and Kim, 2007a). 이 같이 열수추출물에 비해 분획물들의 활성이 작은 것은 여러 종류의 항산화물질에 의한 공동상승효과로 큰 활성을 나타내던 열수추출물이 여러 용매로 분획화되며 항산화물질들이 극성에 따라 여러 용매로 분산돼 활성이 감소되었기 때문으로 추측된다 (Lee et al., 1998). 그러나 ethyl acetate 추출물 89.53%의 항산화활성은 산사 n-butanol 추출물의 91.74% 활성과 비슷하며, 산사, 감초, 목과 열수추출액의 활성 89.3%, 88.3%, 89.9%와 비슷한 높은 항산화활성이다 (Oh and Kim, 2007b). 또 다른 방법으로 측정된 빈랑의 항산화활성도 비교적 높은 것으로 알려졌다 (Lim et al., 1996). 이 같은 항산화물질의 구조는 phenol 유도체 화합물로 알려져 있으며 식물속의 phenol 화합물과 flavonoid 화합물들이 항암, 항산화, 혈전용해효과 등의 다양한 효과를 나타내는 것으로 알려졌다 (Lee et al., 1998).

Fibrin plate 방법을 이용하여 혈전용해활성을 측정한 결과 빈랑의 열수추출물에서 나타나지 않았던 활성이 (Oh and Kim, 2007b), ethyl acetate 추출물에서 0.84 plsmim unit/ml의 큰 활성을 나타냈다. 즉 ethyl acetate가 혈전용해물질의 추출조건으로 가장 적합한 용매임을 알 수 있었으며, n-hexane 추출물의 경우 fibrin plate를 녹이지는 않았지만 투명한 줄무늬로 퍼져 있는 것을 확인할 수 있었는데 이는 n-hexane에 의해 추출된 lipid류 화합물로 추정되지만 더 확인해야 할 부분이다. 빈랑의 ethyl acetate 추출물 활성은 산사 n-butanol 추출물 1.93 plsmim unit의 활성 보다는 작지만 (Oh and Kim, 2008) 감초의 n-butanol 추출물 0.62 plasmim unit 보다는 큰 활성임을 알 수 있었다 (미발표). 한약재 열수추출물의 혈전용해활성이 확인된 경우는 드물지만 감초, 목과, 산사, 산수유의 열수추출물이 각각 0.57, 0.52, 0.53, 1.74 plasmin unit의 활성을 나타내는 것으로 확인되었다 (Oh and Kim, 2006; Oh and Kim, 2007a). 그러나 한약재 함유 생리활성물질의 활성과 함량은 그들이 자란 환경과 시료처리 방법에 따라 크게 차이가 나타났으며, 재현성이 낮은 문제점도 확인하였다.

이 같은 혈전용해 물질을 함유하고 있는 발효식품으로 청국장 (Kim et al., 1996), 된장 (Kim, 1998), 젓갈 (Kim et al., 1997) 등이 알려져 있으며, 이들 식품 속의 미생물에 의해 생성된 혈전용해 효소의 특성에 대해서도 발표된 바 있다. 청국장의 혈전용해효과를 이용한 기능성 식품은 이미 시판되고 있다. 청국장의 경우 발효에 의해 생성된 혈전용해 효소와 함께 콩 자체 속에 있는 작은 펩티드에 의한 혈전용해효과로 큰 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다. 본 실험실에서 더덕 (Oh and Kim, 2007a), 산수유 (Oh and Kim, 2006), 산사 (Oh and Kim, 2008) 등 일부 한약재 열수추출물에서 비효소성분의 혈전용해물질을 확인한 바 있다.

Doljak 등 (2001)의 실험 방법에 따라 트롬빈 저해효과를 측정한 결과 10배 희석한 빈랑 열수추출액이 78.43%의 저해활성을 나타냈으나 (미발표), 100배 희석한 추출물 중에서 물 추출물이 59.23%의 가장 높은 thrombin 저해활성을 나타냈다. 산사는 butanol 추출물이 가장 큰 58.10%의 저해활성을 나타내 빈랑의 물 층보다 작은 저해효과를 나타냈다. 기존에 사용되고 있는 트롬빈 저해제는 높은 가격과 사용 시 출혈, 과민성 반응 등과 같은 부작용이 있어, 이 같은 문제점을 극복할 수 있는 새로운 트롬빈 저해제의 개발이 필요하게 되었으며, 이 같은 목적으로 최근 약용 식물 자원에서 thrombin 저해활성을 검색하고 그 결과가 발표된 바 있다 (Sohn et al., 2004).

분획물들의  $\alpha$ -glucosidase 저해활성 측정 결과 n-butanol 추출물에서 88.56%의 가장 큰 저해활성을 확인하였다. 열수추출액의  $\alpha$ -glucosidase 저해활성이 92.3%이었던 (Oh and Kim, 2007b) 결과와 비교하면 100배 희석한 butanol 추출물의 88.56% 저해활성은 매우 높은 저해활성임을 알 수 있으며 butanol이  $\alpha$ -glucosidase 저해물질 추출에 가장 효과적인 용매임을 알 수 있다. 100배 희석한 산수유 열수추출물의 73% 저해활성과, 10배 희석한 목과, 산사, 감초추출물의 93.6%, 65.3%, 61.3%의 저해활성에 비교해도 큰 활성임을 알 수 있으며 (Oh and Kim, 2007a), 산사의 가장 높은 활성을 나타내는 ethyl acetate 추출물의 65.07% 저해활성 보다 높은 값을 확인할 수 있었다.

실험 결과로부터 빈랑의 유기용매 분획물들은 높은 활성의 항산화물질, 혈전용해물질, thrombin 저해물질,  $\alpha$ -glucosidase 저해물질을 함유하고 있음이 확인되었으며, 이 물질들을 열수추출물로부터 추출하기에 가장 적합한 유기용매로는 항산화물질은 hexane을 제외한 모든 용매가 효과적인 추출용매로 사용 가능하며, 혈전용해물질은

ethyl acetate 용매, thrombin 저해효과가 큰 물질은 H<sub>2</sub>O, α-glucosidase 저해효과가 큰 물질은 butanol 용매가 효과적인 추출용매임을 알 수 있었다. 따라서 빈랑 용매별 추출물의 활성 결과를 이용하여 이들 분획물의 효과와 상호 보완적인 기능성 효과를 나타내는 식품재료와 함께 사용하면 빈랑은 성인병 예방과 치료를 위한 기능성 식품의 소재로 사용 가능하며, 이들을 이용한 기능성 식품은 장기간 섭취가 가능해 심혈관계 질환 예방에 큰 효과를 얻을 수 있을 것으로 기대된다.

### 감사의 글

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

### REFERENCES

- Ames BN, Shigenaga MK, Hagen. Oxidant, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Proc Natl Acad Sci USA. 1933. 90: 7915.
- Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 1958. 181: 1199-1120.
- Chin JE, Cho NC. The Effects of Areca catechu Extracts on Tyrosinase Gene Expression in B 16 Mouse Melanoma Cells. Kor J Food Nutr. 2007. 20: 240-244.
- 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.
- 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 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 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.
- Lee JM, Lee SH, Kim HM. Use of oriental herbs as medicinal food. Food Industry and Nutrition. 2000. 5: 50-56.
- Lee KS, Kim SH, Chun SH, Park SS, Park CS, Shin YS. Antimicrobial activity of *Areca catechu* L. Extract of against intestinal pathogens. Kor J Food Nutr. 1998. 11: 36-40.
- Lee KS, Kim SH, Kim SS, Park SS, Chun JY, Shin YS. Antimicrobial activity of herbs related with treatments of intestinal disease against intestinal pathogens Kor J Food Nutr. 1998. 11: 31-35.
- Lee SH, Kim SY, Son KH, Kang SJ, Chang SY, Park JH, Lee KS. Isolation and quantitative determination of Arecoline from Arecae semen. Kor J Pharmacogn. 2001. 32: 39-42.
- Lim DK, Choi UC, Shin DH. Antioxidative activity of ethanol extract from korean medicinal plants. Kor J Food Sci Technol. 1996. 29: 601-608.
- 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. Bioactive compounds of hot-water extracts from medicinal plants. J Life Natural Sci (Sangji university). 2007. 14: 83-89.
- Oh HS, Kim JH. Physiological functionalities of solvent fractions isolated from *Crataegi fructus*. Kor J Biomed Lab Sci. 2008. 14: 249-255.
- 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.