

Physiological Functionalities of Solvent Fractions Isolated from *Crataegi Fructus*

Hae-Sook Oh¹ and Jun-Ho Kim^{2,†}

¹Department of Food and Nutrition, and ²Department of Chemistry, Sangji University, Wonju, Kangwon-do 220-702, Korea

In this study we investigated the biological activities of *Crataegi Fructus*, including antioxidative, fibrinolytic, α -glucosidase inhibitory, and thrombin inhibitory activities. *Crataegi Fructus*, hot water extract was fractionated into hexane, CHCl_3 , ethyl acetate, butanol, and water fractions, and each of these was assayed individually. The water fraction showed the highest extraction yield at 4.08% (w/w). The antioxidative activities of the water, ethyl acetate, and butanol fractions were 31.07%, 45.87%, 50.28%, and 91.74%, respectively. Assays for fibrinolytic activity indicated that only the butanol fraction has significant efficacy at 1.93 plasmin units/ml. Thrombin inhibitory assays indicated that the 10-fold dilutions of the CHCl_3 , ethyl acetate, and butanol fractions had inhibitory activities of 34.97%, 41.43%, and 58.10%, respectively. The 10-fold dilutions of the only ethyl acetate fraction demonstrated α -glucosidase inhibitory activities of 75.07%. From the above results, we propose that extracts of *Crataegi Fructus* can be used as a material for the development of biofunctional foods.

Key Words: Antioxidative activity, *Crataegi Fructus*, Fibrinolytic activity, α -Glucosidase inhibitory activity, Thrombin inhibitory activity

서 론

급속한 성장과 산업화는 소득의 향상과 함께 생활수준의 향상을 가져 왔으며 이는 식생활 양식의 변화와 함께 자연 환경에도 큰 변화를 초래하였다. 식생활의 급격한 서구식 형태로의 변화는 간편한 인스턴트 식품을 선호하게 되었으며, 이는 곧 영양공급의 과잉으로 비만을 초래하여 그에 수반되는 당뇨, 암, 심장 및 뇌혈관 질환 등과 같은 만성 질환에 대한 위험성의 증가를 가져왔다. 또한 급속한 산업화로 대기오염과, 수질오염, 환경호르몬의 발생은 자연파괴와 함께 인간의 생명을 크게 위협하기 시작하였으며, 이 결과로 선진국형 질병인 성인병의 발생 빈도는 크게 증가하였다. 통계청 발표에 의하면 2006년도 3대 사망원인은 악성신생물(암), 뇌혈관 질환, 심장 질환으로 전체 사망자의 47.6%를 차지하고 있으며 이들이

차지하는 비율은 1997년의 42.9%에 비해 계속 증가하고 있는 추세임을 알 수 있다. 이들 중 암은 단일 질병으로 가장 큰 비율인 27.0%를 차지하고 있지만, 암을 제외한 대부분의 성인병은 혈액 순환과 관련된 혈관계 질환들로 이들에 의한 사망 비율의 합은 27.3%로 암의 비율보다도 큰 것으로 나타나 혈관계 질환의 심각성을 알 수 있다.

성인병 발생의 원인 중 하나인 활성 산소는 대사 과정과 생체 방어를 위한 면역 과정에서 생성되며 질병 발생 원인의 약 90%가 활성 산소의 작용과 관련이 있다고 한다 (Ames et al., 1933). 활성 산소는 세포의 구성 성분인 지질, 단백질, DNA, RNA에 변화를 일으켜 암이나 노화를 촉진시키며, 동맥경화증, 당뇨병, 뇌졸중, 심근경색증, 간염 등의 질병을 발생시킨다. 따라서 활성 산소의 발생을 줄이거나 생성된 활성 산소를 제거함으로써 이 같은 성인병을 예방하거나 치료할 수 있다.

혈관계 질환의 원인으로 알려진 혈전은 혈액의 흐름을 방해하여 동맥경화, 심근경색, 뇌출혈, 뇌혈전증, 심부전증, 심장마비 등의 질환을 유발한다 (Daka and Semba, 1995). 혈전은 혈소판과 섬유소원의 결합물질에 트롬빈이 작용하여 섬유소원을 섬유소로 변형시켜 혈소판과 섬유소로 이루어진 비용해성 고분자 물질로 변화시킴으로써

*논문 접수: 2008년 11월 10일

수정재접수: 2008년 12월 4일

†교신저자: 김준호, (우) 220-702 강원도 원주시 우산동 660, 상지대학교 이공과대학 화학과

Tel: 033-730-0423, Fax: 033-730-0403

e-mail: jhokim@sangji.ac.kr

생성된다. 이 혈전의 생성을 억제하기 위해서 트롬빈 저해제를 사용하면 혈전이 생성되지 않아 혈전에 의한 혈관계 질환을 예방할 수 있다. 그러나 일단 형성된 혈전은 쉽게 용해되지 않아, 혈전용해제를 사용하여 섬유소를 분해시켜 혈전의 축소로 혈액의 흐름을 원활하게 하여 혈관계 질환을 치료할 수 있다 (Chung, 1991). 식생활에서 이용하고 있는 혈전용해물질 함유 식품으로는 된장 (Kim, 1998), 청국장 (Kim et al., 1996), 젓갈 (Kim et al., 1997) 등과 같은 발효 식품들이 있으며, 버섯 (Kim and Kim, 1999)으로부터 혈전용해효소를 분리한 경우도 알려져 있다 (Park et al., 1998). 또한 콩류 (Oh et al., 2002; Oh et al., 2003) 등 일부 식물성 식품에서 혈전용해효소가 아닌 혈전용해성분의 활성이 보고되기도 하였다.

당뇨병은 혈액내 당의 농도가 높아 발생하는 질병으로 그 질병 자체보다는 합병증이 더 위험한 것으로 알려져 있다. 이 같은 당뇨병의 발생과 합병증은 혈액내 당의 농도를 조절함으로써 예방과 치료를 할 수 있다. 그 방법 중 하나로 소장에서 작용하는 탄수화물 분해효소인 α -glucosidase의 작용을 저해하는 α -glucosidase 저해제를 이용하여 당의 생성 속도와 혈액에 흡수되는 당의 양을 조절하는 방법이 있다 (Puls and Keup, 1973).

이 같은 성인병들은 연령의 증가와 함께 발병율도 높으며, 한번 발생하면 치료를 위해 많은 시간과 비용이 소요되며 완치가 힘들다. 이런 이유로 근래에는 질병의 치료와 함께 예방에 대한 관심이 매우 높아지고 있다. 많은 성인병이 환경오염과 관련이 깊은 것으로 알려져 환경오염에 의한 질병을 줄이기 위해 무공해 식품과 유기농식품에 대한 큰 관심을 가져 왔으며, 질병 치료에 사용하는 제약들도 기존에 사용하던 화학약품들 대신 생약을 이용하려는 경향이 증가하였다. 특히 한약재는 오랫동안 식용과 약용으로 이용되어 왔기에 안정성이 확인된 장점을 갖고 있기 때문이기도 하며, 식품재료나 기능성 음료에 이용할 경우 장기간 섭취가 가능해 큰 효과를 기대할 수 있기 때문이기도 하다.

본 연구에서는 이미 오래 전부터 혈관계 질환의 예방과 치료에 이용되어 온 산사를 성인병 관련 기능성 식품의 소재로써 이용하기 위해 산사의 열수추출물을 유기용매로 분획화하고 각각 분획물의 항산화효과, 혈전용해효과, α -glucosidase 저해효과, 트롬빈 저해효과를 측정하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료 및 시약

본 실험에 사용한 산사는 원주시 소재 한약재료상에서 원산지가 국산으로 명시된 것으로 구입하였으며, 생리활성 측정에 사용된 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, fibrinogen, thrombin, 효모유래 α -Glucosidase, p-nitrophenyl- α -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 일등급 시약을 사용하였다.

2. 추출 및 분획

산사는 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 n-hexane, CHCl_3 , Ethyl acetate, n-butanol로 차례로 3번씩 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 10 mg/ml의 농도로 준비하여 α -glucosidase 저해활성과 트롬빈 저해활성 측정에 사용하였다.

3. 전자공여능 측정

전자공여능은 Blois (1958) 및 Kim 등 (1997)의 실험 과정에 따라 측정하였다. 산사 분획물 0.4 mL를 시험관에 취하고 5.6 mL의 1×10^{-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.

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

4. 혈전용해활성 측정

Fibrin 분해 활성은 Haverkate-Trass (1974)의 fibrin plate

Table 1. The fraction yields of *Crataegi Fructus* Extract

	Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	Butanol	Water
Yield (%)	trace	0.01	0.10	0.22	2.29

Fraction yields were described as the percent of dry substance of fractions based on the dry substance *Crataegi Fructus*

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 μ L를 잘 섞고 petri dish에 부어 fibrin 막을 만들었다. fibrin 막에 분획화한 산사용액 (100 mg/ml) 20 μ L씩 점적한 후 36°C에서 16시간 방치하고 용해된 면적을 측정하여 이들의 넓이를 비교하였다. 대조구로는 plasmin (1.0 unit/ml)을 사용하였으며, 추출액의 혈전 용해활성은 대조구의 용해면적에 대한 시료의 용해면적의 상대적인 비율로 환산하여 계산하였다.

5. 트롬빈 저해활성 측정

트롬빈에 대한 저해활성 측정은 Doljak 등 (2001)의 실험 방법을 이용하였다. 즉, 10 mM HEPES, 150 mM NaCl, 0.1% bovine serum albumin을 포함하는 HBSA 완충용액 (pH 7.5) 40 μ L에 트롬빈용액 (0.5 NIH units/ml) 50 μ L를 첨가하고 섞는다. 준비한 산사용액 (10 mg/mL) 10 μ L를 첨가하고 실온에서 15분간 incubation 후, H-D-phenylalanine-L-pipecolyl-L-arginine-paranitroaniline dihydrochloride (S-2238)를 이용하여 준비한 기질용액 (0.5 mM) 50 μ 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

6. α -glucosidase 저해활성 측정

α -Glucosidase에 대한 저해활성은 Watanabe 등 (1997)의 실험 방법을 이용하였다. 즉, 100 mM phosphate buffer (pH 7.0)로 α -Glucosidase (0.7 U, sigma)와 p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (5 mM)를 용해시켜 각각 효소와 기질용액을 만든 다음 효소용액 50 μ L, 분획화한 산사용액 (10 mg/ml) 10 μ L 및 완충용액 890 μ L을 넣고 섞은 다음 5분 동안 실온에서 preincubation하고, 준비한 기질용액 50 μ L

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

	Samples	Mean \pm SD
Electron donation capacity	Hot water extract	89.30 \pm 0.36 ^a
	Chloroform	50.28 \pm 1.23 ^b
	Ethyl acetate	45.87 \pm 2.33 ^c
	Butanol	91.74 \pm 0.57 ^a
	Water	31.07 \pm 0.84 ^d
	F-value	2777.14 ^{***}

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

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

을 가하고 다시 5분 동안 incubation시킨 후 405 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다 (UV-1601PC, Shimadzu, Japan). α -glucosidase 활성 저해율은 트롬빈 저해율의 계산 방법과 같은 방법으로 산출하였다.

7. 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

1. 용매별 분획물의 수율

산사 100 g을 열수추출 후 여러 종류의 용매를 이용하여 추출한 분획물의 수율을 측정한 결과 n-hexane 추출물은 약간의 흔적만 나타냈고, CHCl₃ 추출물이 0.02%, ethyl acetate 추출물 0.19%, n-butanol 추출물 0.43%, H₂O 추출물 4.08%로 물 분획물의 수율이 가장 높았다 (Table 1).

2. 항산화효과

활성 산소는 암의 발생, 동맥경화, 세포의 노화 등 각종 성인병의 발생과 깊은 관련이 있는 것으로 알려져 있으며, 항산화제들에 의해 제거된다. 항산화제들은 활성 산소에 전자를 주어 환원시키고 자신은 radical 형태의 안정한 화합물을 이루게 된다. 이 같이 활성 산소에 전자를 줄 수 있는 능력이 클수록 항산화능이 크다고 하며 항산화능이 클수록 활성 산소의 제거능력이 큰 것이다. 분획물들의 항산화활성을 측정하기 위해 전자공여능 측정 방법으로 DPPH radical 소거능을 측정하였다. Table 2와 같이 산사 열수추출물은 89.3%의 항산화활성을 나타냈으며, CHCl₃ 추출물이 50.28%, ethyl acetate 추출물이

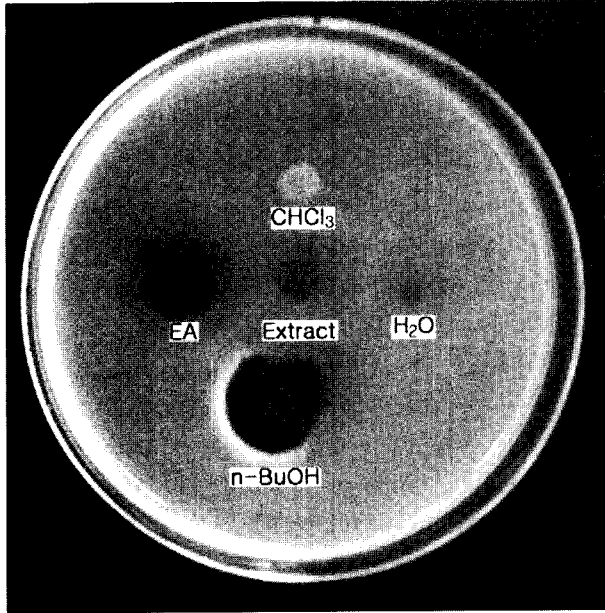


Fig. 1. Fibrinolytic activity of hot water extract and various fraction obtained from *Crataegi Fructus* extracts by fibrin plate method (Extract, hot water extract; CHCl₃, chloroform fraction; EA, ethyl acetate fraction; n-BuOH, butanol fraction; H₂O, H₂O fraction).

45.87%, H₂O 추출물은 31.07%의 낮은 저해활성을 나타낸 반면 butanol 추출물은 91.74%의 높은 활성을 나타냈다.

3. 혈전용해활성

혈전용해활성은 생성된 혈전을 용해하는 정도를 나타내는 척도로써, fibrin plate 방법을 이용하여 측정하였다. 열수추출물과 분획화한 시료의 활성을 측정한 결과 CHCl₃ 층과 H₂O 층은 전혀 활성을 나타내지 않았지만, 열수추출물 (1 g/ml)은 작은 활성을 나타냈으며 ethyl acetate 추출물은 표면만 넓게 녹이고 완전히 용해시키지는 못했다. 그러나 n-butanol 층은 1.93 plsm unit/ml의 큰 활성을 나타냈다 (Fig. 1).

4. 트롬빈 저해활성

트롬빈은 혈소판과 섬유소원의 결합으로 혈전이 생성되는 최종 단계에 관여하는 필수 효소로 혈전 생성에 중요한 역할을 한다. 이 단계에 트롬빈의 작용을 억제하는 저해제가 작용하면 혈전의 생성이 저해되어 혈전에 의한 혈관계 질환을 예방할 수 있다. 분획물들의 트롬빈 저해활성을 측정한 결과 Table 3과 같이 CHCl₃ 층과 ethyl acetate 층은 각각 34.97%와 41.43%의 저해율을 나타낸 반면, n-butanol 층은 가장 높은 58.10%의 저해율을 나타냈

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

	Samples	Mean ± SD
Thrombin inhibitory activity	Hot water extract	78.73±1.08 ^a
	Chloroform	34.97±0.23 ^d
	Ethyl acetate	41.43±4.27 ^c
	Butanol	58.10±1.80 ^b
	Water	-2.10±3.04 ^e
	F-value	438.56 ^{***}

1) : mean ± SD from 3~5 replicates

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

Table 4. α-glucosidase inhibitory activities of hot water extract and various fraction obtained from *Crataegi Fructus* extracts

	Samples	Mean ± SD
α-glucosidase inhibitory activity	Hot water extract	65.30±5.03 ^a
	Chloroform	16.03±10.86 ^b
	Ethyl acetate	65.07±18.30 ^a
	Butanol	19.73±1.67 ^b
	Water	3.47±7.88 ^b
	F-value	22.10 ^{***}

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

1) : mean ± SD from 3~5 replicates

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

다. 이는 산사 열수추출물의 트롬빈 저해활성이 78.73%인 것에 비교하면 저해물질이 여러 유기용매층에 고르게 분포된 것을 예상할 수 있다.

5. α-glucosidase 저해활성

탄수화물의 분해를 저해하여 혈관내 당의 농도를 조절하는 혈당강하 효과를 측정하기 위해 분획물들의 α-glucosidase 저해활성을 측정한 결과 Table 4와 같이 CHCl₃ 추출물은 16.03%의 저해율을 나타냈고, ethyl acetate 추출물은 75.07%의 가장 높은 저해율을 나타낸 반면, n-butanol 추출물과 H₂O 층은 각각 19.73%와 3.47%의 작은 저해율을 나타냈다. 또한 산사 열수추출물의 저해율은 65.30%로 ethyl acetate 추출물의 활성보다는 작지만 다른 추출물보다는 큰 활성을 나타냈다.

고 찰

산사는 장미과에 속한 산사나무의 성숙한 열매를 말하며, 복부팽만, 소화불량 등의 소화기 질환의 치료와 분만

후의 어혈로 인한 복통을 다스리는데 사용되어 왔으며, 산사의 혈압강하효과와 혈관확장효과는 혈액의 흐름을 원활하게 하여 고혈압이나 관상동맥경화 같은 심혈관계 질환의 치료에도 이용되고 있다 (Son et al., 2002; Bae and Kim, 2003). 최근 산사는 항산화효과 (Kim et al., 1993)와 함께 항균효과 (Oh et al., 1998), 항콜레스테롤 효과 (Lee and Choi, 1999), 혈전용해효과 (Oh and Kim, 2007), α -glucosidase 저해효과 (Oh and Kim, 2007)가 큰 것으로 알려져 대표적인 성인병인 악성신생물(암), 뇌혈관 질환, 심장 질환, 당뇨병, 고혈압성 질환, 동맥경화 등의 예방과 치료에 이용할 수 있을 것으로 기대되어 많은 연구가 진행되고 있다. 실험결과 산사 열수추출액의 항산화활성이 89.3%인 반면 butanol 분획물은 조금 높은 91.7%의 활성을 나타냈다. CHCl_3 분획물, ethyl acetate 분획물, 수용액층은 50% 이하의 낮은 활성을 보여, 항산화활성을 나타내는 물질들이 대부분 butanol로 추출된 것을 알 수 있었으며, 산사의 항산화물질들로는 caffeic acid, protocatechuic acid, pyrogallol 등이 알려져 있다 (Kim et al., 1993). 한약재 열수추출물의 항산화활성은 비교적 높은 것으로 알려져 있는데 산수유, 목과, 감초의 경우 항산화활성이 각각 90%, 89.9%, 88.3%로 산사 열수추출물과 비슷한 90%에 가까운 높은 활성이었다 (Oh and Kim, 2007).

혈관내 혈액에는 혈액응고계와 혈전용해계가 균형을 이루고 있어 정상적인 경우에는 혈전이 생성되지 않지만 여러 원인에 의해 노폐물들의 축적과 함께 혈전이 생성되면 혈액의 흐름을 방해하여 혈관계 질환이 발생된다. 한번 생성된 혈전은 쉽게 용해되지 않아 혈전용해제를 사용하여 혈전을 용해시켜 혈관계 질환을 치료할 수 있다. 혈전용해활성을 fibrin plate를 이용하여 측정된 결과 열수추출물이나 다른 분획물에서는 의미 있는 활성을 확인하지 못했지만 butanol 분획물에서만 1.93 pl/min unit/ml의 큰 혈전용해활성을 확인하였다. 결과로부터 산사의 혈전용해물질을 추출하기 위해 가장 적합한 용매는 butanol임을 알 수 있었다. 오 등 (Oh and Kim, 2007)에 따르면 소수의 한약재 열수추출물에서만 혈전용해활성이 확인되었으며, 산사, 감초, 목과, 산수유 열수추출물의 혈전용해활성은 각각 0.54 plasmin unit, 0.57 plasmin unit, 0.52 plasmin unit, 1.74 plasmin unit으로 보고되었다. 따라서 butanol 추출물의 혈전용해활성은 열수추출물들에 비해 상당히 높은 활성임을 알 수 있었다. 오 등의 보고와는 달리 본 실험에서는 산사 열수추출물의 혈전용해활성이 작게 나타났다. 이 같은 식물 함유 생리활성물질의 활성과 함량은

식물이 자란 환경과 시료처리 방법에 따라 크게 차이가 나타났으며, 재현성이 낮은 문제점도 확인되었다. 기존의 혈전용해제들은 urokinase를 제외하고는, 경구 투여를 할 수 없고, 가격이 비싼 단점과 함께, 혈전에 대한 선택성이 적어 오랫동안 사용 시 면역 반응과 전신 출혈의 부작용이 나타나며, 또한 이들은 효소로 열에 약해 오랫동안 보관하기가 힘든 단점도 있다. 이 같은 문제점을 보완하기 위해 혈전에 대한 선택성이 높고 활성이 크며, 열에도 강한 새로운 혈전용해물질을 찾는 연구가 진행되고 있는데 한약제도 그 후보 소재 중의 하나이다. 한약제는 오랫동안 민간요법에서 사용하여 왔기 때문에 독성에 대한 안전성이 확인되었으며, 주로 열수추출하여 사용함으로 혈전용해활성이 확인될 경우 요리나 가열이 뒤따르는 기능성 식품의 개발에도 이용할 수 있어 사용범위가 넓어지고, 식품으로 이용할 경우 장기간 섭취가 가능해 유효성분이 미량이라도 큰 효과를 기대할 수 있다.

혈전은 혈소판과 섬유소원의 집합체에 트롬빈이 작용하여 만들어지는 불용성의 고분자 물질이다. 따라서 혈전 생성의 필수 효소인 트롬빈의 작용을 저해하면 혈전의 생성을 억제하여 혈관계 질환을 미리 예방할 수 있다. 산사 열수추출물로부터 항혈전효과를 확인하기 위해 thrombin 저해활성을 측정된 결과 산사 열수추출물은 78.73%의 높은 저해활성을 나타낸 반면, chloroform 추출물, ethyl acetate 추출물, butanol 추출물은 각각 34.97%, 41.43%, 58.1%의 비슷한 작은 저해활성을 나타냈다. 즉 thrombin 저해물질들이 여러 유기용매층으로 고르게 분포된 것을 알 수 있다.

우리나라 인구의 약 10%가 당뇨병을 갖고 있는 것으로 추정되며 그들 중 약 91%가 제 2형 당뇨병환자로 치료제를 위해 경구혈당강하제를 복용한다. 혈당강하제의 한 종류인 아카보스계의 약물로 α -glucosidase 저해물질이 사용되고 있다. α -glucosidase 저해제는 탄수화물이 소화되는 과정을 지연시킴으로써 혈당조절을 유도한다. 그러나 소화가 잘되지 않고 복부팽만, 설사 등의 부작용을 초래하고 있어 이 같은 단점을 극복할 수 있는 새로운 혈당강하 물질을 산사에서 찾게 되었다. 산사 열수추출물과 분획물의 α -glucosidase 저해활성을 확인한 결과 산사 열수추출물이 65.30%의 저해활성을 나타낸 반면, ethyl acetate 분획물은 75.07%의 높은 저해율을 나타냈고 나머지 분획물들은 20% 미만의 낮은 저해율을 나타냈다. 즉 α -glucosidase 저해물질의 추출용매로는 ethyl acetate가 최적임을 알 수 있었으며, 이 같은 산사의 α -glucosidase

저해물질로는 chlorogenic acid 등이 알려져 있다 (Kim et al., 2007). 몇몇 한약제 열수추출물의 α -glucosidase 저해활성도 알려져 있는데 감초와 목과 열수추출물의 저해활성은 각각 61.3%와 93.6%였으며, 이들보다 열 배 희석한 산수유 열수추출물은 73%의 저해활성을 나타내는 것으로 보고되었다. 산사추출물의 혈당강하효과는 감초추출물과 비슷하지만 목과나 산수유에 비해서는 작게 나타났다.

예로부터 한의학에서 성인병 관련 치료제로 이용되고 있는 산사의 열수추출물을 여러 종류의 유기용매로 분획화하고 분획물의 성인병 관련 생리활성을 확인한 결과 butanol 추출물에서 높은 항산화효과, 혈전용해활성, 트롬빈 저해활성을 확인하였으며, ethyl acetate 추출물에서 높은 α -glucosidase 저해효과를 확인하였다. 따라서 산사 열수추출물의 butanol 추출물과 ethyl acetate 추출물은 이들 분획물에 부족한 생리활성물질을 보완할 수 있는 소재와 함께 사용하여 새로운 성인병 예방과 치료를 위한 기능성 식품의 개발에 소재로 이용할 수 있을 것으로 기대된다.

REFERENCES

- Ames BN, Shigenaga MK, Hagen. Oxidant, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Proc Natl Acad Sci USA. 1933. 90: 7915.
- Bae MH, Kim HH. Mechanism of *Crataegus Fructus* extract induced endothelium-dependent vasorelaxation in the rabbit carotid artery. Korean J Herbol. 2003. 18: 169-180.
- Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 1958. 181: 1199-1120.
- 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.
- 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 MU, Cho YJ. Isolation and identification of inhibitory compound from *Crataegi Fructus* on α -amylase and α -glucosidase. J Korean Soc Appl Biol Chem. 2007. 50: 204-207.
- Kim JH, Kim YS. Fibrinolytic metalloprotease from the fruiting bodies of an edible mushroom. *Armillariella mellea*. Biosci Biotech Biochem. 1999. 63: 2130-2136.
- Kim JS, Lee GD, Kwon JH, Yoon HS. Identification of phenolic antioxidative components in *Crataegus pinnatifida* Bunge. J Korean Agric Chem Soc. 1993. 36: 154-157.
- 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 HJ, Choi MS. Measurement of inhibitory activities on 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase and Acyl-CoA: Cholesterol Acyltransferase by various plant extracts *in vitro*. J Korean Soc Food Sci Nutr. 1999. 28: 958-962.
- Oh DG, Ham SS, Park BK, Ahn C, Yu JY. Antimicrobial activities of natural medicinal herbs on the food spoilage or foodborne disease microorganisms. Korean J Food Sci Technol. 1998. 30: 957-963.
- 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.
- Puls W, Keup U. Influence of an α -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.
- Son CH, Chae KC, Kim GW, Shin HK. Effects of *Crataegus Fructus* on the vascular relaxation and antioxidative status. Korean J Oriental Medical Physiol Pathol. 2002. 16: 67-71.

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.
