

## 자생곤충으로부터 트롬빈 저해물질의 탐색 및 DPPH radical 소거활성

류희영 · 허진철<sup>1</sup> · 황재삼<sup>2</sup> · 강석우<sup>2</sup> · 윤치영<sup>3</sup> · 이상환<sup>1</sup> · 손호용\*

안동대학교 식품영양학과, <sup>1</sup>경북대학교 식품공학과, <sup>2</sup>농업과학기술연구원 농업생물부, <sup>3</sup>대전대학교 생물학과

Received January 31, 2008 / Accepted March 12, 2008

**Screening of Thrombin Inhibitor and its DPPH Radical Scavenging Activity from Wild Insects.** Hee-Young Ryu, Jin-Cheol Heo<sup>1</sup>, Jae Sam Hwang<sup>2</sup>, Seok Woo Kang<sup>2</sup>, Chi-Young Yun<sup>3</sup>, Sang-Han Lee<sup>1</sup> and Ho-Yong Sohn\*. Dept. of Food & Nutrition, Andong National University, Andong 760-749, Korea, <sup>1</sup>Dept. of Food Science and Technology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea, <sup>2</sup>Division of AgroBiology, National Institute of Science & Technology, RDA, Suwon 441-707, Korea, <sup>3</sup>Department of Biology, Daejeon University, Daejeon 300-716, Korea - The *in vitro* thrombin inhibitory activities of 304 crude extracts from 76 kinds of Korean wild insects were evaluated. Measurement of thrombin time showed that the DMSO extracts of *Acrida cinerea cinerea* (Thunberg), *Anax parthenope julius* Brauer, *Eurydema rugosa* Motschulsky, and *Stethophyma magister* (Rehn) and the water extracts of *Dolycoris baccarum* Linne, *Lixus divaricatus* Motschulsky, *Metrioptera bonneti*, *Moechotypa diphysis* (Pascoe), *Nicrophorus concolor* sp., and *Tomapoderus ruficollis* (Fabricius) had strong thrombin inhibitory activity. No prominent changes of activated partial thromboplastin time by treatment of the selected extracts suggested direct inhibition of thrombin activity by the insect extracts. DPPH scavenging activity of selected extracts showed that the extract of *A. cinerea cinerea* (Thunberg), *D. baccarum* Linne, *L. divaricatus* Motschulsky and *N. concolor* sp. has good antioxidant activity as well as antithrombin activity. Our results suggested that some of Korean wild insects could be developed as a natural source of antithrombosis.

**Key words :** Antithrombosis, DPPH radical scavenging activity, thrombin inhibitors, wild insects

### 서 론

인간의 혈액은 13만 km의 혈관을 통해 순환하고 있으며, 산소, 영양분, 노폐물의 운반기능, 체온, 혈압, 수분, 삼투압 및 이온평형의 조절기능, 병원균 및 이물질 제거의 방어기능 등 다양한 기능을 수행한다. 혈관의 손상은 출혈을 나타내게 되며, 지혈을 위해서는 혈액 응고에 의한 혈전생성이 불가피하다. 혈액 응고 기작은 혈관벽에 혈소판이 점착, 응집하여 혈소판 혈전을 형성한 후, 혈액응고계가 활성화되어 혈소판 응집피를 중심으로 수많은 인자들의 다단계반응을 거쳐 fibrin 혈전이 형성되는 것으로 알려져 있다[4,22,23]. 그 중, thrombin의 활성화는 혈전 형성의 여러 단계의 반응 중, 가장 중요하면서도 최종적인 반응이다. 활성화된 thrombin은 fibrinogen으로부터 fibrin monomer를 생성하고, 이 단량체들은 Ca<sup>++</sup>에 의해 중합되어 혈소판과 내피세포에 결합하게 되며, Factor XIII에 의해 교차 결합된 fibrin polymer를 형성하면서 최종적으로 혈전을 생성하게 한다. 또한, 트롬빈은 혈소판, V 인자, VII 인자들을 활성화시켜 혈액응고 반응을 촉진한다[4,8,23]. 그러나 비정상적인 과도한 혈전 생성은 혈액 순환을 방해하여, 혈액 고유의 기능을 수행하지 못하게 하며, 특히 이러한

혈전이 심장 또는 뇌에서 나타나는 경우, 심근경색증, 뇌졸중, 폐동맥 경색증 등의 심각한 질환의 원인이 되기도 한다[22]. 그러므로 정상적인 혈액 순환을 위해서는 혈액응고 반응계의 효율적 조절 및 혈전용해 반응계와 상호보완적 조절이 필수적이다.

현재, 우리나라는 급격한 인구의 고령화, 서구식 고지방 식이패턴의 도입에 따라 과도한 혈전 생성에 따른 심혈관계 질환이 급격히 증가하고 있으며, 이에 따른 효율적인 혈전생성 저해제 개발이 시급한 실정이다[9,11]. 최근에는 의약품 형태보다는 경제적이면서, 상대적으로 부작용이 적고, 또한 상시 섭취가 가능한 식품형태의 혈전생성 저해제 개발이 이루어지고 있으며, 본 연구진에서는 주로 약용 및 식용식물을 대상으로 연구를 진행하여 왔다[10,16-20].

한편, 곤충은 동물군중 가장 많은 생물군으로 세계적으로 180만종이 알려져 있고, 국내에서도 12,000종 이상이 서식하고 있다. 곤충은 뛰어난 환경 적응력으로 인해 전 세계 어디에나 존재하며, 약용 및 식용으로 이용되어 왔다[14,15]. 우리나라에서도 메뚜기, 누에 번데기 등이 식용으로[2], 동충하초, 지네, 거미 등이 약용으로 이용되고 있으며, 민간에서는 해열제[3], 배앓이, 어린이 흉진치료 및 치아 진통제[6] 등으로 이용되기도 하였다. 실제 본초강목습유와 같은 우리나라 고서에는 100종 이상의 곤충이 약용으로 기록되어 있으며[7], 최근에는 귀뚜라미 추출물의 간보호 및 항피로 효과[3], 무당벌레의 항

#### \*Corresponding author

Tel : +82-54-820-5491, Fax : +82-54-823-1625

E-mail : hysohn@andong.ac.kr

산화 및 항염증 효과[6,7,15], 말벌, 지네, 비단노린재의 항동맥경화 효과[14] 등이 보고되면서, 새로운 생물자원으로 곤충산업의 중요성이 조명되고 있다[7,14,15]. 혈전생성 억제효과로는 전갈, 선대(혹매비 우화허물), 자충(바퀴벌레), 상표초(사마귀 알집), 홍랑자(매미)를 포함하는 중국 시판 곤충생약 9종으로부터 항혈전 활성을 평가하여 선대, 홍랑자 등을 선별한 바 있으며[5], Ahn 등[1]은 10종의 중국 시판 곤충을 포함하는 28종의 곤충시료 추출물을 이용하여 항트롬빈 활성을 평가한 결과 동충하초, 벼메뚜기, 전갈의 물 추출물에서 강한 활성을 보고한 바 있다. 최근에는 침노린재과의 흡혈곤충들의 침샘 및 타액에서 혈전생성 억제제가 보고[12,13]되면서 곤충의 유용 생물자원으로서의 무한한 가능성을 제시하고 있다. 또한 곤충세포는 확립된 baculovirus expression system을 통해 유단백질의 발현 및 생산에도 유용하게 이용되고 있다[21].

본 연구에서는 혈전생성 저해제 개발을 위해, 다양한 곤충의 추출물을 조제하고, 이들의 인간 트롬빈 저해활성을 평가하여, 새로운 생물자원인 곤충류로부터 경제적이거나, 상시 섭취가 가능한 혈전생성 저해 식품소재로서 개발가능한 곤충류를 탐색하고자 하였다. 이러한 연구는 곤충류가 약용생물자원 및 기능성 식품소재로 개발이 가능함을 제시하고 있다.

## 재료 및 방법

### 실험재료 및 시료의 조제

실험에 사용한 곤충시료는 2004년에서 2007년에 걸쳐 대전대학교 생명과학과에서 준비하였으며, 이미 보고한 곤충시료 library 42종[15]과 추가적으로 확보한 34종을 포함하여 모두 76종을 사용하였다. 확보된 곤충시료는 distilled water, dimethyl sulfoxide (DMSO), ethanol 및 methanol로 기존의 사용된 방법[15]과 동일하게 추출하였다. Distilled water로 추출하는 경우, 시료 10 g당 100 ml의 증류수를 가하여 60°C에서 24시간 추출하였으며, DMSO, ethanol 및 methanol로 추출하는 경우에는 시료 10 g당 100 ml의 용매를 가하여 상온에서 24시간 추출하여, 추출물 304종을 준비하였다. 추출물은 감압 건조하여 분말화한 후, DMSO에 녹인 후 적당한 농도로 희석하여 thrombin time (TT) 및 activated partial thromboplastin time (aPTT) 측정, 열 및 산 안정성 평가에 사용하였다. 혈장은 최근 1개월 동안 약물투여를 받지 않은 지원자의 전혈로부터 조제하였으며, 채혈 후 즉시 4°C에서 5,000×g로 5분 동안 원심 분리하여 혈장을 분리하고 냉동한 상태로 보관하였으며(신선 동결혈장), 필요시 상온에서 해동하여 사용하였다.

### 항혈전 활성

항혈전 활성은 시료의 TT (thrombin time) 및 aPTT (activated partial thromboplastin time)를 측정하여 평가하였다. 트롬빈 저해 활성은 기존의 보고한 Amelung coagulometer KC-1A

(Japan)를 이용하여 혈액 응고시간을 측정하여 평가하였다[16-20]. 37°C에서 0.5 U 트롬빈(Sigma Co., USA) 50 µl와 20 mM CaCl<sub>2</sub> 50 µl, 다양한 농도의 시료 추출액 10 µl를 coagulometer의 튜브에 혼합하여 2분간 반응시킨 후, 혈장 100 µl를 첨가한 후 혈장이 응고될 때까지의 시간을 측정하였으며, 시료 대조군으로는 아스피린(Sigma Co.)을, 용매 대조군으로는 시료 대신 DMSO를 사용하였다. DMSO의 경우 평균 33.1초의 응고시간을 나타내었으며, 트롬빈 저해 활성은 3회 이상 반복한 실험의 평균치를 용매 대조구인 DMSO의 평균치의 비로 나타내었다[18-20]. TT 측정결과 항혈전 활성이 인정되는 추출물의 경우 aPTT를 측정하였다. aPTT 측정의 경우에는, 혈장 100 µl와 다양한 농도의 시료 추출액 10 µl를 Amelung coagulometer KC-1A (Japan)의 튜브에 첨가하여 37°C에서 3분간 가온한 후, 50 µl의 aPTT reagent (Sigma, ALEXIN™)를 첨가하고 다시 37°C에서 3 분간 반응하였다. 이후 50 µl CaCl<sub>2</sub> (35 mM)을 첨가한 후 혈장이 응고될 때까지의 시간을 측정하였다[16-20]. 용매 대조군으로는 DMSO를 사용하였으며, 이 경우 55.2초의 응고시간을 나타내었다. aPTT의 결과는 3회 반복한 실험의 평균치로 나타내었다.

### 곤충 추출물의 항산화 활성

항트롬빈 활성이 인정되는 곤충 추출물들의 항산화 활성은 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) radical에 전자를 공여하여 자유기를 소거하는 활성을 측정하여 평가하였다[16,19]. 먼저, 다양한 농도로 희석한 시료 20 µl에 99.5% 에탄올에 용해시킨 2×10<sup>-4</sup> M DPPH 용액 380 µl를 넣고 혼합하여 37°C에서 30분 동안 반응시킨 후, 516 nm에서 microplate reader (Asys Hitech, Expert96, Asys Co., Austria)를 사용하여 흡광도를 측정하였다. 대조구로는 butyl hydroxytoluene, vitamin C 및 vitamin E (Sigma Co., USA)를 사용하였다. DPPH free radical 소거능은 시료첨가구와 비첨가구의 백분율로 표시하였으며, IC<sub>50</sub>는 50% 소거능을 나타내는 농도로 계산하였다.

DPPH scavenging activity (%)

$$= \{1 - (\text{Sample O.D.}) / (\text{Control O.D.})\} \times 100$$

## 결과 및 고찰

곤충시료 76종으로부터 조제된 304종의 추출물을 이용하여 인간 트롬빈의 저해활성을 평가하였다(Table 1). 먼저 항혈전제로 이용되고 있는 아스피린의 경우, 최종 처리농도 1.5 mg/ml에서 260±35%의 트롬빈 저해활성을 나타내었다[16,18]. 본 연구에서는 추출물이 정제되지 않은 점을 고려하여, 최종 농도가 5 mg/ml 되도록 처리하여 각 추출물의 TT를 측정하였다. 그 결과, 150% 이상의 트롬빈 저해활성을 나타내는 경우는 총 10종의 추출물에서 확인되었으며, 방아깨비(*Acrida cinerea*

Table 1. A list of insect extracts used in this study and the thrombin inhibitory activity of extracts of ethanol (E), methanol (M), DMSO (D) and water (W), respectively

No.	Species	Korean name	E	M	D	W
1	<i>Acrida cinerea cinerea</i> (Thunberg)	bang-a-gaebi	90.9	121.1	199.4	116.3
2	<i>Agapanthia pilicornis</i> (Fabricius)	namsakchowon haneulso	84.6	97.6	95.4	91.0
3	<i>Aiolocaria hexaspilota</i> Hope	namsangi mudangbeulrae	90.7	86.6	112.7	141.1
4	<i>Allomyrina dichotoma</i> Linn	jangsu pungdengi	97.4	134.0	90.9	112.0
5	<i>Anax parthenope julius</i> Brauer	wang jamjari	96.6	88.9	168.9	98.3
6	<i>Anomala chamaeleon</i> Fairmaire	chameleon julpungdengi	95.4	105.4	114.9	105.7
7	<i>Atractomorpha lata</i> (Motschulsky)	sumseugu maeddugi	110.3	97.7	110.0	110.0
8	<i>Blitopertha pallidipennis</i>	yeonnorang pungdengi	78.5	84.4	108.6	110.3
9	<i>Bothrogonia japonica</i> Ishihara	gutkeumeun malmaemichung	92.4	93.4	113.7	115.2
10	<i>Camponotus japonicus</i>	ilbon wangkemi	76.8	81.2	104.9	111.2
11	<i>Cerogria janthinipennis</i> (Fairmaire)	kunnamsek ipbeulraebuti	86.1	72.9	110.0	104.6
12	<i>Chloropphanus grandis</i>	hwangchorok bagumi	78.7	82.9	86.6	116.4
13	<i>Chrysomela(Chrysomela) populi</i> Linn	sasinamu ipbeulrae	95.6	99.5	97.1	123.5
14	<i>Chrysomela(Microdera) vigintipunctata</i> (Scopoli)	beudulip beulrae	96.6	89.5	96.1	116.1
15	<i>Cicindela (Cicindela) transbaicalica hamifasciata</i> Kolbe	chamdulkil apjabi	105.4	97.7	117.1	109.4
16	<i>Cletus schmidtii</i> Kiritshenko	worikasi heorinorinjae	85.1	79.7	87.3	134.5
17	<i>Coccinella (Coccinella) septempunctata</i> Linn	chilsungmudang beulrae	128.6	90.0	134.3	122.9
18	<i>Colpura lativentris</i> Motschulsky	ddaehori norinjae	89.0	83.1	97.6	117.1
19	<i>Cybister (Meganectes) brevis</i> Aube	keomjung mulbangkea	99.7	82.0	129.1	105.4
20	<i>Dolycoris baccarum</i> Linne	alacsuyeom noringae	92.4	95.8	76.5	155.7
21	<i>Dybowskyia reticulata</i>	bindaebuti	84.6	83.4	108.6	120.3
22	<i>Erannis golda</i> Djakonov	chamnamukyeolul kajinabang	80.9	91.4	99.0	96.8
23	<i>Eurema hecabe</i> (Linn)	nambang norangnabi	98.3	95.4	117.7	86.3
24	<i>Eurydema rugosa</i> Motschulsky	bidan norinjae	97.3	79.5	180.7	108.3
25	<i>Exomala orientalis</i>	dungealruk pungdengi	89.0	80.9	109.5	100.0
26	<i>Gametis jucunda</i> Faldermann	pulsek gotmuji	106.6	89.7	122.6	128.6
27	<i>Gampsocleis sedakovi obscura</i>	yeochi	79.7	89.5	121.5	100.5
28	<i>Gastrimargus marmoratus</i> (Thunberg)	kongjungi	103.4	111.1	128.9	95.7
29	<i>Gryllotalpa orientalis</i> (Burmeister)	ddangkangaji	102.9	92.6	100.0	104.9
30	<i>Halyomorpha brevis</i> Walker	seokdungnamu norinjae	94.4	89.0	134.0	107.1
31	<i>Harmonia axyridis</i> (Pallas)	mudangbeulrae	99.4	94.0	114.0	123.1
32	<i>Hydrophilus acuminatus</i> Motschulsky	muldangdangi	98.9	110.6	114.3	98.9
33	<i>Isyndus obscurus</i> Dallas	wangchim norinjae	98.3	81.7	9.8	109.8
34	<i>Laccotrephes japonensis</i> Scott	changguebi	115.1	105.7	106.3	111.1
35	<i>Latoia consocia</i> (Walker)	changsu sseikinabang	115.4	98.0	122.3	95.2
36	<i>Leptura arcuata</i>	kinalacgot haneulso	85.3	73.1	104.4	101.7
37	<i>Lixus divaricatus</i> Motschulsky	kasikiljuk bagumi	80.9	73.6	86.3	198.0
38	<i>Luciola lateralis</i> Motschulsky	eabandibuli	110.0	83.7	120.0	130.6
39	<i>Megopsis sinica</i>	budul hanulso	84.1	105.1	100.0	105.9
40	<i>Meimuna mongolica</i> (Distant)	sseolummaemi	101.7	75.1	108.0	122.0
41	<i>Meimuna opalifera</i> (Walker)	emaemi	111.7	110.6	123.7	121.7
42	<i>Melolontha incana</i> (Motschulsky)	wang pungdengi	105.7	111.1	117.1	120.6
43	<i>Metrioptera bonneti</i>	jannalgae yeochi	83.1	78.5	88.3	150.0
44	<i>Mimela splendens</i>	pungdengi	103.7	86.6	83.1	117.1
45	<i>Moechotypa diphysis</i> (Pascoe)	teoldukeobi hanulso	120.3	97.1	124.9	152.6
46	<i>Molipteryx fuliginosa</i> Uhler	kunheori norinjae	94.9	72.9	98.0	65.3
47	<i>Muljarus japonicus</i> (Vuillefroy)	muljara	108.6	104.6	114.9	109.4
48	<i>Nicrophorus concolor</i> sp.	songjangbeulrae yuchung	79.5	84.4	85.3	156.2
49	<i>Nonarthra cyanea</i> Baly	chumnalgae ipbeulrae	85.8	94.4	104.6	112.7
50	<i>Oedaleus infernalis</i> Saussure	patchungi	102.9	110.3	118.9	118.0

Table 1. Continued

No.	Species	Korean name	E	M	D	W
51	<i>Oides decempunctatus</i> (Billberg)	yeolchumbaki ipbeulrae	100.0	95.4	116.9	101.4
52	<i>Oncotympana fuscata</i>	chammaemi	96.9	71.4	116.6	110.9
53	<i>Orthetrum albistylum speciosum</i> (Uhler)	miljamjari	108.6	87.1	134.3	97.1
54	<i>Oxya japonica japonica</i> (Thunberg)	beamaeddugi	103.1	99.4	130.6	106.9
55	<i>Papilio maackii</i> Mntris	snamjebinabi	109.4	104.0	127.7	85.6
56	<i>Papilio xuthus</i> Linn	horangnabi	111.4	100.9	121.7	87.0
57	<i>Pentatoma japonica</i> Distant	bunhongdari norinjae	82.6	83.1	93.9	122.0
58	<i>Pieris rapae</i> (Linn)	bechuhinnabi	89.4	96.3	128.6	91.1
59	<i>Podismopsis genicularibus</i>	kumchungmurup sapsari	80.2	91.4	81.9	103.9
60	<i>Poecilocoris lewisi</i> (Distant)	kwangdae norinjae	102.3	87.1	107.7	125.1
61	<i>Protaetia brevitarsis seulensis</i> (Kolbe)	hinjembaki gotmuji	110.0	86.6	123.1	133.4
62	<i>Pyrocoela rupa</i> Olivier	neokbandibuli	118.0	91.4	135.1	111.4
63	<i>Ranatra chinensis</i> Mayr	gaeajebi	107.7	116.0	108.9	93.7
64	<i>Sasakia charonda</i> (Hewitson)	wangoseknabi	100.9	99.1	122.3	81.5
65	<i>Sipalinus gigas gigas</i> (Fabricius)	wangbagumi	119.4	98.3	112.9	103.4
66	<i>Spedanolestes impressicollis</i> Stal	darimuniechim noringae	85.3	95.4	103.7	95.4
67	<i>Statilia maculata</i> (Thunberg)	jomsamagi	95.4	105.1	109.1	103.4
68	<i>Stethophyma magister</i> (Rehn)	gutkeumeun maeddugi	95.1	122.6	163.0	115.4
69	<i>Tenodera angustipennis</i> Saussure	samagui	102.6	95.7	118.6	113.7
70	<i>Tenodera aridifolia</i> (Stoll)	wang sanmagui	105.4	86.9	114.0	97.4
71	<i>Timomenus komarovi</i> (Semenov)	gomarobeu jibkaebeulrae	83.1	81.2	104.4	97.3
72	<i>Tomapoderus ruficollis</i> (Fabricius)	deungpalkan keuibeulrae	81.2	79.2	107.6	151.3
73	<i>Trichius succinctus</i> (Pallas)	horanggotmuji	93.1	114.3	110.6	135.7
74	<i>Urochela quadrinotata</i> Reuter	dussangmuneui norinjae	84.4	84.1	141.3	125.4
75	<i>Velarifictorus aspersus</i> (Walker)	geuddurami	105.4	101.1	103.1	120.6
76	<i>Vespa crabro</i>	malbeol	89.0	82.4	91.9	81.9

cinerea), 왕잠자리(*Anax parthenope julius* Brauer), 비단노린재 (*Eurydema rugosa* Motschulsky) 및 끝검은메뚜기(*Stethophyma magister*)의 DMSO 추출물 4종, 알락수염노린재(*Dolycoris baccarum* Linne), 가시길쭉바구미(*Lixus divaricatus* Motschulsky), 잔날개여치(*Metrioptera bonneti*) 털두꺼비하늘소(*Moechotypa diphysis*), 송장벌레과 유충(*Nicrophorus concolor* sp.) 및 등빨간 거위벌레(*Tomapoderus ruficollis*)의 물 추출물 6종에서 우수한 활성을 나타내었다. 그러나, 에탄올 및 메탄올 추출물에서 150% 이상의 활성을 나타내는 경우는 나타나지 않았다. 이는 기존의 약용 및 식용 식물 등의 천연물 유래의 트롬빈 저해활성 검색이, 주로 메탄올 추출물 조제로부터 시도되었고, 또한 메탄올 추출물에서 강력한 활성이 보고된 것[16-20]과는 대조적이다. 따라서 곤충시료의 경우에는 추출용매의 선택이 중요함을 알 수 있으며, 트롬빈 저해제 검색의 경우에는 물을 이용하는 것이 효율적일 것으로 추측된다. 또한 곤충시료의 활성 평가 결과, 트롬빈 저해활성이 200%를 넘는 경우가 없어, 전반적으로 기존의 선별된 약용식물들에 비해 곤충 추출물들은 상대적으로 약한 활성을 나타내는 것으로 판단된다[10,16-20]. 한편 활성이 인정되는 10종의 추출물을 대상으로 aPTT를 측정 한 결과, 비단노린재, 방아깨비 및 잔날개여치 추출물에서

미약한 aPTT 증가가 나타났으나, 전반적으로 유의적인 혈전 생성 억제활성은 나타나지 않았다(Table 2). 따라서 선별된 10종의 곤충 추출물들은, 트롬빈을 직접 저해함으로써 혈전 생성을 억제하는 것으로 추측되었다. 트롬빈 저해활성이 확인된 비단노린재의 경우에는 항동맥 경화에 주요한 lipoprotein-associated phospholipase A<sub>2</sub> 저해효과, LDL-항산화 효과, 및 acyl CoA: cholesterol acyltransferase 저해효과가 알려져 있어 [14], 향후 심혈관계 질환 예방 등에 매우 유용한 곤충자원으로 판단된다. 그러나, 항산화 및 항염증 활성이 우수하다고 알려진 무당벌레류[6,7,15]의 경우, 실험에 사용된 남생이 무당벌레, 칠성무당벌레, 무당벌레의 다양한 용매 추출물 12종 모두에서 유의한 트롬빈 저해활성은 나타나지 않았다(Table 1).

한편 심혈관 질환 및 동맥경화 등의 질환은 과산화지질 생성을 포함하는 산화적 스트레스와도 밀접하게 관련되어 있으므로[15,16,19], 항트롬빈 활성이 인정되는 곤충 추출물 10종을 대상으로 항산화활성을 평가하였다. 그 결과, 방아깨비, 가시길쭉바구미, 알락수염노린재 및 송장벌레과 유충 추출물에서 우수한 DPPH 소거능을 확인하였으며(Fig. 1), 추정된 IC<sub>50</sub>은 각각 5.9, 3.0, 4.9 및 4.2 mg/ml로, 특히 트롬빈 저해활성이 강력한 가시길쭉바구미 물 추출물에서 가장 우수한 항산화활

Table 2. The activated partial thromboplastin time of selected insect extracts

Species	Korean name	Extraction solvent	aPTT (sec)
<i>Acrida cinerea cinerea</i> (Thunberg)	bang-a-gaebi	DMSO	58.4±2.5
<i>Anax parthenope julius</i> Brauer	wang jamjari	DMSO	49.2±4.2
<i>Dolycoris baccarum</i> Linne	alacsuyeom noringae	Water	51.6±4.6
<i>Eurydema rugosa</i> Motschulsky	bidan norinjae	DMSO	62.3±3.5
<i>Lixus divaricatus</i> Motschulsky	kasikiljuk bagumi	Water	50.9±3.8
<i>Metrioptera bonneti</i>	jannalgae yeochi	Water	58.4±2.5
<i>Moechotypa diphysis</i> (Pascoe)	teoldukeobi hanulso	Water	50.7±3.9
<i>Nicrophorus concolor</i> sp.	songjangbeulrae yuchung	Water	53.6±2.2
<i>Stethophyma magister</i> (Rehn)	gutkeumeun maeddugi	DMSO	55.5±3.3
<i>Tomapoderus ruficollis</i> (Fabricius)	deungpalkan keuibulrae	Water	55.0±3.2

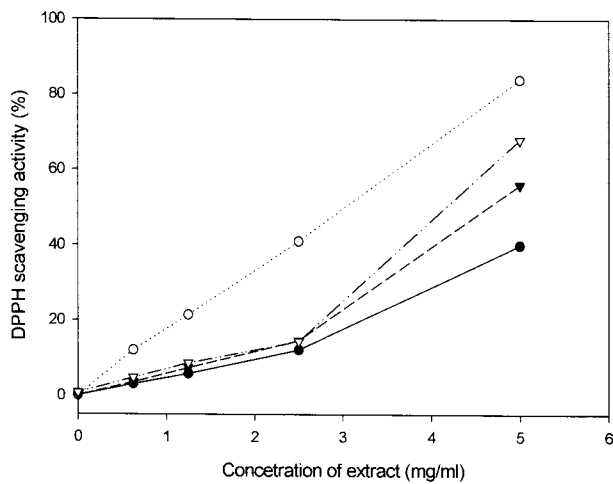


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of DMSO extract of *Acrida cinerea cinerea* (Thunberg) (●) and water extracts of *Dolycoris baccarum* Linne (▼), *Lixus divaricatus* Motschulsky (○) and *Nicrophorus concolor* sp. (▽), respectively.

성이 나타났다. 이외에도 알락수염노린재 및 송장벌레과 유충의 경우에도 물 추출물에서 활성이 인정되어 항산화 활성은 수용성 물질에 기인하는 것으로 판단되었다. 나머지 6종에서는 5 mg/ml 농도까지 활성이 나타나지 않아 항산화 활성이 미약함을 확인하였다(결과 미제시). 이러한 결과는, 자생곤충 중의 일부는 유용한 기능성 식품 및 약용 생물자원으로 이용될 수 있음을 보여주며, 현재 시료확보가 용이한 방아깨비 추출물로부터 항혈전 및 항산화 활성물질의 분리, 정제가 진행 중에 있다.

현재까지, 전갈, 선태(혹매미 우화허물), 자충(바퀴벌레), 상표초(사마귀 알집) 등의 중국산 혐오성 곤충시료에서 트롬빈 저해활성이 보고되어 약용곤충으로 널리 알려져 있으나[5], 국내의 광범위한 야생곤충으로부터 트롬빈 저해활성을 검토한 바는 없다. 이는, 기존의 다른 약용 식물과 달리, 곤충시료의 확보가 매우 어렵기 때문이며, 곤충의 대량배양이 시도되지 않은 경우가 대부분이기 때문으로 추측된다. 따라서 76종의

곤충 시료 중 항혈전 및 항산화 활성이 우수한 것으로 최종 선정된 방아깨비, 가시길쭉바구미, 알락수염노린재 및 송장벌레과 유충의 경우에도, 근본적인 곤충시료 확보 방안이 강구되어야 하며, 향후 활성물질의 규명 및 식품 적합성 검토 등의 연구가 보완될 경우 곤충의 유용 생물자원으로서의 고부가가치가 실현되리라 판단된다.

### 요 약

국내의 자생곤충 76종으로부터 다양한 용매를 이용하여 304종의 추출물을 조제한 후, 이들의 항혈전 활성을 평가하였다. 먼저 트롬빈 저해활성 평가 결과, 방아깨비, 왕잠자리, 비단노린재 및 끝검은메뚜기의 DMSO 추출물 4종, 알락수염노린재, 가시길쭉바구미, 잔날개여치, 털두꺼비하늘소, 송장벌레과 유충 및 등빨간거위벌레의 물 추출물 6종에서 우수한 활성을 확인하였다. 선정된 10종을 대상으로 aPTT 측정결과 비단노린재, 방아깨비 및 잔날개여치 추출물에서 미약한 증가가 나타났으나, 전반적으로 혈전 생성 저해의 유의적인 변화는 인정되지 않아, 이들 추출물들은 트롬빈을 직접 저해하는 것으로 추측되었다. 한편 항트롬빈 활성이 우수한 10종 추출물 중에서 방아깨비, 가시길쭉바구미, 알락수염노린재 및 송장벌레과 유충 추출물에서는 우수한 DPPH 소거능을 나타내어 이들의 약용 곤충자원으로서의 개발 가능성을 확인하였다.

### References

- Ahn, M. Y., B. S. Hahn, K. S. Ryu and S. I. Cho. 2002. Effect of insect crude drugs on blood coagulation and fibrinolysis system. *Nat. Prod. Sci.* **8**, 66-70.
- Ahn, M. Y., K. S. Ryu, B. Y. Park, D. W. Kim, I. Kim and S. H. Kim. 2000. Effect of cricket on the chicken and its egg. *Kor. J. Poult. Sci.* **27**, 197-202.
- Ahn, M. Y., Y. W. Lee, K. S. Ryu, H. S. Lee, I. Kim, J. W. Kim, Y. K. Lee, E. S. Kim and Y. S. Kim. 2002. Protective effects of water/methanol extracts of cricket on the acute hepatic damages in the ICR-mice induced by administration

- of CCl<sub>4</sub>. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **34**, 684-687.
4. Butenas, S. and K. G. Mann. 2002. Blood coagulation. *Biochemisrty (Moscow)* **67**, 3-12.
  5. Hahn, B. S., S. G. Wu, S. W. Kim and Y. S. Kim. 1999. Evaluation of anticoagulant and fibrinolytic activities from crude extracts of insects. *Kor. J. Pharmacogn.* **30**, 409-412.
  6. Han, S. M., S. H. Lee, C. Y. Yun, S. W. Kang, K. G. Lee, I. S. Kim, E. Y. Yun, P. J. Lee, S. Y. Kim and J. S. Hwang. 2006. Inhibition of nitric oxide production by ladybug extracts (*Harmonia axyridis*) in LPS-activated BV-2 cells. *Kor. J. Appl. Entomol.* **45**, 31-36.
  7. Heo, J. C., J. Y. Park, J. S. Hwang, H. C. Park, S. W. Kang, S. J. Hwang, C. Y. Yun, T. K. Kwon and S. H. Lee. 2006. Comparison of in vitro antioxidant activity and cyclooxygenase-2 promoter inhibitory activity in *Harmonia axyridis* Pallas and *Coccinella septempunctata* Linne. *Kor. J. Food Preserv.* **13**, 513-518.
  8. Hsieh, K. H. 1997. Thrombin interaction with fibrin polymerization sites. *Thrombosis Research* **86**, 301-316.
  9. Korea National Statistical Office. 2000. A study on causes of death for 1999.
  10. Kwon, C. S., Y. S. Kwon, Y. S. Kim, G. S. Kwon, I. Jin, G. C. Ryu and H. Y. Sohn. 2004. Inhibitory activities of edible and medicinal herbs against human thrombin. *J. Life Sci.* **14**, 509-513.
  11. Lee, S. S., S. M. Kim, U. Y. Park, H. Y. Kim and I. S. Shin. 2002. Studies on proteolytic and fibrinolytic activity of *Bacillus subtilis* JM-3 isolated from anchovy sauce. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **34**, 283-289.
  12. Morota, A., H. Isawa, Y. Orito, S. Iwanaqa, Y. Chinzei and M. Yuda. 2006. Identification and characterization of a collagen-induced platelet aggregation inhibitor, triplatin from salivary glands of the assassin bug. *Triatoma infestans*. *FEBS J.* **273**, 2955-2962.
  13. Noeske-Junqblut, C., J. Kratzschmar, B. Haendler, A. Alagon, L. Possani, P. Verhallen, P. Donner and W. D. Schleuning. 1994. An inhibitor of collagen-induced platelet aggregation from the saliva of *Triatoma pallidipennis*. *J. Biol. Chem.* **269**, 5050-5053.
  14. Park, D. S., M. A., Yoon, M. Z. Xu, H. Yu, J. R. Kim, T. S. Jeong and H. Y. Park. 2004. Screening of anti-atherogenic substances from insect resources. *Kor. J. Pharmacogn.* **35**, 233-238.
  15. Park, J. Y., J. C. Heo, S. M. An, E. Y. Yun, S. M. Han, J. S. Hwang, S. W. Kang, C. Y. Yun and S. H. Lee. 2005. High throughput-compatible screening of anti-oxidative substances by insect extract library. *Kor. J. Food Preserv.* **12**, 482-488.
  16. Ryu, H. Y., K. H. Bae, E. J. Kum, S. J. Park, B. H. Lee and H. Y. Sohn. 2007. Evaluation for the antimicrobial, antioxidant and antithrombosis activity of natural spices for fresh-cut yam. *J. Life Sci.* **17**, 652-657.
  17. Ryu, H. Y., Y. K. Kim, I. S. Kwon, C. S. Kwon, I. Jin and H. Y. Sohn. 2007. Thrombin inhibition activity of fructus extract of *Crataegus pinnatifida* Bunge. *J. Life Sci.* **17**, 535-539.
  18. Sohn, H. Y., C. S. Kwon, K. H. Son, G. S. Kwon, H. Y. Ryu and E. J. Kum. 2006. Antithrombin and thrombosis prevention activity of buckwheat seed, *Fagopyrum esculentum* Moench. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **35**, 132-138.
  19. Sohn, H. Y., C. S. Kwon, K. H. Son, G. S. Kwon, Y. S. Kwon, H. Y. Ryu and E. J. Kum. 2005. Antithrombosis and antioxidant activity of methanol extract from different brands of rice. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **34**, 593-598.
  20. Sohn, H. Y., Y. S. Kwon, Y. S. Kim, H. Y. Kwon, G. S. Kwon, G. J. Kim, C. S. Kwon and K. H. Son. 2004. Screening of thrombin inhibitors from medicinal and wild plants. *Kor. J. Pharmacogn.* **35**, 52-61.
  21. Yun, E. Y., T. W. Goo, J. S. Hwang, S. H. Kim, S. W. Kang, K. Y. Kim and B. R. Jin. 2002. Characterization and expression of antibacterial protein gene, nuecin. *Kor. J. Seric. Sci.* **44**, 64-68.
  22. Yun, Y. P., W. S. Kang and M. Y. Lee. 1996. The antithrombotic effects of green tea catechins. *J. Fd Hyg. Safety* **11**, 77-82.
  23. Yun-Choi, H. S., K. S. Chung, M. H. Kim and J. H. Oh. 1995. Antithrombotic effects of some traditional plant medicines. *Kor. J. Pharmacogn.* **26**, 154-158.