

야생 꽃송이버섯 추출물의 생리활성

김은정¹ · 유관희² · 김양섭³ · 석순자⁴ · 김준호⁵*

¹상지대학교 임상병리학과, ²상지대학교 생명과학과, ³세종데이터해석연구원, ⁴국립농업과학원 농업미생물과, ⁵상지대학교 정밀화학신소재학과

Biological Activities of Wild *Sparassis crispa* Extracts

Eun-Jung Kim¹, Kwan-Hee Yoo², Yang-Sup Kim³, Soon-Ja Seok⁴ and Jun-Ho Kim⁵*

¹Department of Biomedical Laboratory Science, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

²Department of Life Science, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

³Sejong Institute of Data Analysis Co Ltd., Suwon 433-270, Korea

⁴Agricultural Microbiology Division, National Academy of Agricultural Science, RDA, Wanju 565-851, Korea

⁵Department of Fine Chemistry and New Materials, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

ABSTRACT : Physiological activities of solvent extracts of *Sparassis crispa* were investigated for fibrinolytic, thrombin inhibitory, anti-oxidative and anti-inflammatory activities. The fibrinolytic activity was the highest in ethyl acetate extract (2.03 plasmin units/mL) followed by butanol extract (0.70 plasmin units/mL). The ethyl acetate extract exhibited the highest anti-oxidative activity as assessed by the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging rate with a value of 95.94%. The chloroform extract showed thrombin inhibitory activity up to 83.87%. The chloroform extract also showed the highest anti-inflammatory effects on the production of nitric oxide (NO) in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RAW264.7 cells. These findings suggest that *Sparassis crispa* may be a useful material for development of drugs and functional foods.

KEYWORDS : Anti-inflammatory activity, Anti-oxidative activity, Fibrinolytic activity, *Sparassis crispa*, Thrombin inhibitory activity

서론

버섯은 필수 아미노산, 지방산, 비타민 등의 풍부한 영양소와 독특한 맛과 향을 함유하고 있어 주로 식용으로 애용되어 왔으며 그 중 일부만이 약용으로 이용되어 왔다. 하지만 과학의 발전과 함께 체계적인 연구로 버섯의 약리 성분들이 규명되고 다양한 질병 예방과 치료에 이용하려는 시도가 이루어지면서 약용버섯에 대한 관심이 급증하고 있다.

현대 사회에서 급증하는 다양한 질환들은 각기 다른 원인에 의해 질병이 유발되에도 불구하고 대부분은 염증성 질환의 성격을 가지고 있다. 최근에는 이에 따른 면역체계의 조절을 통한 여러 질병 등의 치료법 개발과 새로운 면역조절 물질 개발이 증가하고 있는 추세이다. 특히 한국인의 사망원인 중 높은 비율을 차지하고 있는 암, 심혈관계 질환, 뇌혈관계 질환, 당뇨 등 성인병 치료와 예방에 관련된 생리활성 물질의 소재를 천연물에서 찾는 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 특히 오랫동안 식용으로 이용되어 왔으며 다양한 생리활성 물질을 함유하고 있는 것으로 알려진 버섯이 좋은 재료로 주목을 받고 있다.

버섯의 β-1,3-D-glucan이 면역증강과 암 치료에 효과가 있는 것으로 알려지면서 식용 가능한 꽃송이버섯(*Sparassis crispa*)에 대한 관심이 증가하였다[1]. 꽃송이버섯은 β-1,3-D-glucan 함량이 가장 높은 버섯으로 높은 면역활성과 항암효과를 나타내는 것으로 알려져 있다[2]. β-1,3-D-glucan에 의한 면역기능 강화는 암의 발생, 증식, 전이도 억제하는 것으로 보고되었다[3]. 꽃송이버섯의 β-1,3-D-glucan 추출물은 주사뿐 아니라 경구투여에 의해서도 같은 효과를 나타내며[4], 열을 가하여 추출한 경우에도 높은 효과를 나

Kor. J. Mycol. 2015 March, 43(1): 40-46
<http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2015.43.1.40>
 pISSN 0253-651X • eISSN 2383-5249
 © The Korean Society of Mycology

*Corresponding author

E-mail: jhokim@sangji.ac.kr

Received February 20, 2015

Revised February 28, 2015

Accepted March 5, 2015

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

타내 꽃송이버섯을 이용한 의약품이나 건강 기능성 식품으로서의 개발 가능성이 큼을 시사하고 있다[5]. 또한 꽃송이버섯에서는 혈전 용해 효과와 트롬빈 저해 효과가 있는 것이 밝혀져 꽃송이버섯을 이용한 기능성 식품을 지속적으로 섭취할 경우 성인병 치료와 예방 효과를 얻을 수 있을 것으로 기대되고 있다.

2014년 통계청 발표에 따르면 우리나라의 주요 사망원인 중 2위가 심장 질환, 3위가 뇌혈관 질환으로 밝혀졌다. 이 같은 혈관계 질환의 원인 중 하나로 알려진 혈전은 혈소판과 섬유소로 이루어진 불용성의 고분자 물질로서, 섬유소는 혈관 내에서 섬유소원에 트롬빈이 작용하여 만들어진다. 혈전은 혈류의 흐름을 막아서 뇌출혈, 뇌혈전증, 심부전증, 심근경색 등의 혈관계 질환을 초래한다[6]. 따라서 혈관계 질환은 혈전 용해 물질을 이용하여 치료할 수 있으며, 또는 혈전 형성의 필수효소인 트롬빈의 활성을 억제하여 예방 및 치료할 수 있다. 기존의 혈전 용해제와 트롬빈 저해제는 장기간 복용 시 면역반응과 같은 부작용을 나타내어, 이를 극복하기 위해 혈전에 대한 선택성이 높고 활성이 큰 새로운 혈전 용해 물질과 트롬빈 저해물질을 찾는 연구가 시급한 실정이다.

꽃송이버섯(*Sparassis crispa*)은 민주름버섯목(Aphyllophorales), 꽃송이버섯과(Sparassidaceae), 꽃송이버섯속(*Sparassis*)에 속하는 버섯으로 한국, 중국, 유럽, 북미에 분포하며, 가을에 침엽수의 그루터기 또는 그 주위에 발생하여 뿌리에 기생하는 것으로 알려져 있다[7]. 꽃송이버섯은 β -1,3-D-glucan과 함께 다양한 폴리페놀 화합물도 많이 함유하고 있어 면역활성과 항암효과와 함께 항균[8], 항염증[9], 당뇨[10]에도 높은 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다[11].

꽃송이버섯의 다양한 생리활성 능력이 있다는 것이 알려져 있지만 혈관계 질환에 대한 연구는 부족한 실정이다. 따라서 꽃송이버섯에서 혈관계 질환 관련 생리활성 물질이 확인될 경우 꽃송이버섯은 성인병 관련 제약과 기능성 식품 개발에 폭넓게 이용될 것으로 예상된다. 따라서 본 연구에서는 꽃송이버섯을 혈관계 질환 관련 의약품과 건강 기능성 식품 개발에 이용하기 위한 기초자료를 얻기 위해 야생 꽃송이버섯의 물 추출물과 유기용매 분획물의 항산화 효과, 항염증 효과, 혈전 용해 효과 및 트롬빈 저해 효과를 조사하였다.

재료 및 방법

꽃송이버섯과 시약

꽃송이버섯은 2013년 7월 치악산에서 채집하여 분류 동정 후 동결 건조시켜 분말 상태로 냉동고에 저장하면서 사용하였으며 생리활성 측정에 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), Thrombin (Sigma-Aldrich), Fibrinogen (Sigma-Aldrich), H-D-phenyl-

alanine-L-pipecolyl-L-arginine-paranitroaniline dihydrochloride (Chromogenix S-2238; Chromogenix, Orangeburg, NY, USA)을 사용하였고 나머지 시약도 모두 일등급을 사용하였다.

물 추출물과 유기용매 분획물 조제

꽃송이버섯 자실체 분말의 일정량에 20배의 증류수를 가하고 25°C에서 24시간 동안 진탕 추출하였다. 이 추출액을 5,000 rpm에서 30분 동안 원심분리 후 상등액을 Whatman No.2 (Sigma-Aldrich)로 여과하고 동결 건조한 다음 물 추출물 시료로 사용하였다. 유기용매 분획물은 위의 Whatman No.2 여과지로 여과하여 얻은 여과액을 같은 부피의 헥산(hexane), 클로로포름(CHCl_3), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 부탄올(butanol)로 3번씩 추출 후 각각의 추출물을 농축시키고, 마지막에 남은 물 층을 동결 건조하여 물 분획물을 얻었다. 실험에 사용한 물 추출물과 분획물 시료는 Dimethyl sulfoxide (DMSO) (Sigma-Aldrich)와 증류수에 10 mg/mL로 준비하여 혈전 용해 활성, 트롬빈 저해 활성, 항산화 활성 측정에 사용하였다.

세포배양

RAW 264.7 세포, mouse leukemic macrophage cells는 한국세포주은행(Korea Cell Line Bank [KCLB], Seoul, Korea)에서 분양 받아 사용하였다. 세포는 DMEM (Gibco-BRL, Life technologies Inc., Grand Island, New York, USA)배지에 10% fetal bovine serum, 1% penicillin/streptomycin을 첨가하여 37°C, 5% CO_2 조건의 배양기에서 계대배양하였다.

세포독성 측정

꽃송이버섯 추출물에 따른 세포독성을 조사하기 위해 Cell Counting Kit-8 (CCK-8; Dojindo Laboratories, Kumamoto, Japan)을 이용하여 측정하였다. RAW 264.7 세포를 96-well plate에 well (200 μL)당 2×10^4 개의 수로 seeding하고 12시간 동안 배양한 후, 추출물 농도를 0, 3, 10, 30 및 100 $\mu\text{g/mL}$ 이 되도록 처리하였다. 그리고 추가적으로 37°C 배양기에서 48시간동안 반응시킨 후, CCK-8 용액을 세포배양액에 10 $\mu\text{L/well}$ 을 첨가하고 3시간 동안 37°C 배양기에서 반응하였다. 반응 후, microplate reader (Molecular Devices, Sunnydale, CA, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Nitric oxide (NO) 생성 저해 효과 측정

생성된 NO의 양을 조사하기 위해 RAW 264.7 세포를 96-well plate에 5×10^4 개/well (200 μL)의 수로 seeding하고 12시간 동안 배양하였다. 그 다음 NO 생성을 유도하기 위해 1 $\mu\text{g/mL}$ 농도 lipopolysaccharide (LPS)를 1시간 전 처리하고, 추가적으로 추출물 및 분획물 농도를 0, 10 및 100

μg/mL이 되도록 처리하고 37°C 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후, 세포 배양 상층액과 Griess reagent (Sigma-Aldrich)을 1:1 비율로 반응시켜 실온에서 15분 동안 반응한 후, microplate reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

혈전 용해 활성 측정

Fibrin 분해활성은 Haverkate와 Traas[12]의 방법에 따라 0.7% (w/v) fibrinogen을 함유하는 2% gelatin 용액 10 mL와 50 mM barbital buffer (pH 7.5) (Sigma-Aldrich)에 녹인 Thrombin (100 NIH units) 50 μL를 잘 섞고 petri-dish에 부어 fibrin 막을 만들었다. 준비한 꽃송이버섯 물 추출물과 유기용매 분획물 20 μL씩을 fibrin plate 위에 점적하고 36°C에서 8시간 방치한 후 용해 면적을 측정하였다. 대조구로는 플라스민(1.0 plasmin unit/mL)을 사용하였으며, 추출액의 혈전 용해 활성은 대조구의 용해 면적에 대한 시료의 용해 면적의 상대적인 비율로 환산하여 계산하였다.

트롬빈 저해 활성 측정

트롬빈의 저해 활성은 Doljak 등[13]의 실험 방법을 이용하여 측정하였다. 10 mM HEPES (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), 150 mM NaCl, 0.1% bovine serum albumin을 포함하는 HBSA (Hank's Hepes buffer containing BSA) 완충용액(pH 7.5) 40 μL에 트롬빈 용액(0.5 NIH units/mL) 50 μL를 첨가하고 섞는다. 준비한 꽃송이버섯 추출물이나 유기용매 분획물(10 mg/mL) 10 μL를 첨가하고 실온에서 15분간 incubation 후, H-D-phenylalanyl-L-pipecolyl-L-arginine-paranitroaniline dihydrochloride를 이용하여 준비한 기질 용액(0.5 mM) 50 μL를 가하고 5분 동안 incubation시킨 후 405 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다(UV-1601PC; Shimadzu, Kyoto, Japan). 트롬빈 활성 저해율은 다음 식에 의해 산출하였으며, 사용한 흡광도는 대조구의 흡광도를 제외한 수치를 이용하였다.

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

전자공여능 측정

Blois[14] 및 Kim 등[15]의 방법에 따라 준비한 꽃송이버섯 물 추출물이나 유기용매 분획물 적정 희석액 0.4 mL를 시험관에 넣고, 1×10⁻⁴ M의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)-ethanol 용액 5.6 mL을 가하여 6 mL이 되도록 하였다. 이 혼합액을 4분간 반응시키고 다시 여과한 다음, 총 반응시간이 10분이 되면 525 nm에서 흡광도를 측정하였다(UV-1201; Shimadzu). 전자공여능은 다음 식에 의해 산출하였다.

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

통계 분석

3회 반복 실험을 통하여 얻은 결과는 mean ± SD로 나타내었으며, 각 실험군 간의 통계학적 분석은 Student t-test를 실시하여 유의한 결과를 얻었다(p < 0.05).

결과 및 고찰

용매별 분획물의 수율

동결 건조한 일정량의 꽃송이버섯을 물 추출 후 여러 종류의 유기용매를 이용하여 추출한 분획물의 수율을 측정할 결과 핵산 분획물이 0.12%, 클로로포름 분획물이 0.62%, 에틸아세테이트 분획물이 1.63%, 부탄올 분획물이 5.46%, 물 분획물이 25.76%로 나타나 물 분획물의 수율이 가장 높았다.

혈전 용해 활성

혈전 용해 활성을 혈전의 주성분인 피브리인을 이용한 fibrin plate 방법으로 측정하였다. 물 추출물, 핵산 분획물, 클로로포름 분획물, 물 분획물에서는 활성을 나타내지 않았지만, 부탄올 분획물에서 0.70 plasmin unit/mL의 활성과 에틸아세테이트 분획물에서 2.03 plasmin unit/mL의 높은 혈전 용해 활성을 보였다(Fig. 1). 이는 0.70 plasmin unit/mL의 검은비늘버섯[16]이나 1.33 plasmin unit/mL의 아위버섯에 비교해 상대적으로 높은 활성임을 알 수 있다(미 발표). 이 같은 혈전 용해 활성을 나타내는 물질로는 flavonoid나 페놀유도체 화합물로 예상할 수 있으며[17], 꽃송이

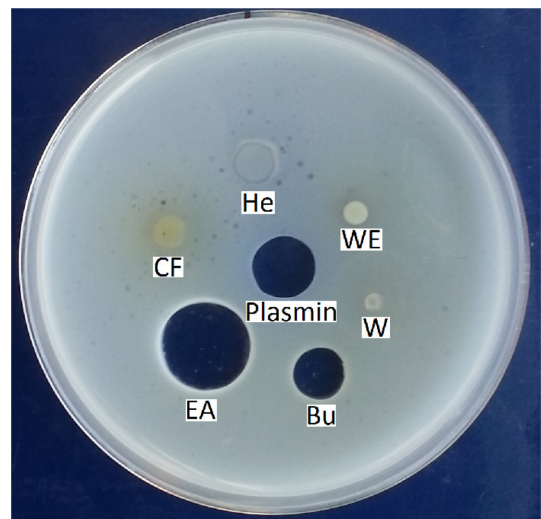


Fig. 1. Fibrinolytic activity of solvent fractions obtained from a *Sparassis crispa* water extract by fibrin plate method. WE, water extract; He, hexane fraction; CF, chloroform fraction; EA, ethyl acetate fraction, Bu, butanol fraction; W, H₂O fraction. Plasmin, 1.0 plasmin unit/mL; EA, 2.03 plasmin unit/mL; Bu, 0.7 plasmin unit/mL. Sample concentrations were 10 mg/mL.

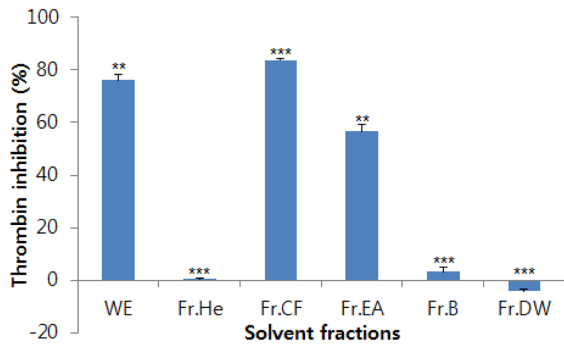


Fig. 2. Thrombin inhibitory activity of solvent fractions. WE, water extract; Fr.He, hexane fraction; Fr.CF, chloroform fraction; Fr.EA, ethyl acetate fraction; Fr.B, butanol fraction; Fr.DW, H₂O fraction. Sample concentrations were 10 mg/mL. ** $p < 0.01$ compared with control group; *** $p < 0.001$ compared with control group. The control levels were set at 100%.

버섯의 균사체로부터 1.0 plasmin unit의 혈전 용해 활성이 측정되었다는 보고도 있다[18].

트롬빈 저해 활성

혈전 형성의 필수효소인 트롬빈의 활성을 억제시키는 트롬빈 저해제로 사용 가능성을 확인하기 위해 트롬빈 저해 활성을 측정된 결과, 물 추출물이 76.14%의 트롬빈 저해 활성을 나타내었고, 클로로포름 분획물이 83.87%의 높은 저해 활성을 나타냈다(Fig. 2). 이는 검은비늘버섯의 87.36%와 노루궁뎅이버섯의 77.67%의 저해 활성과 비슷하게 높은 저해 활성이다[19].

항산화 효과

항산화제들은 활성산소에 전자를 주어 환원시키고 자신은 radical 형태에서도 안전한 구조를 유지할 수 있어야 한다. 활성산소에 전자를 줄 수 있는 능력이 클수록 항산화 능력이 크다고 할 수 있고 즉, 항산화능이 클수록 활성산소의 제거 능력이 큼을 의미한다. 항산화능을 알아보기 위하여 DPPH radical 소거능을 이용하여 꽃송이버섯 물 추출물과 유기용매 분획물의 활성산소 제거능력을 측정된 결과 물 추출물은 16.87%의 낮은 항산화 활성을 나타냈지만, 부탄올 분획물과 물 분획물이 각각 59.14%와 53.95%의 항산화 활성을 나타내었고 에틸아세테이트 분획물이 95.94%의 가장 높은 활성을 나타냈다(Fig. 3). 이는 상황버섯의 80.74%나 양송이버섯의 51.35% 보다 상대적으로 높은 항산화 활성임을 알 수 있다[20]. 앞선 꽃송이버섯의 함량 분석 결과에서도 외인성 항산화제인 비타민 C와 비타민 E의 함량이 기존의 연구들에서 보고된 아귀버섯이나 소나무잔나비버섯에 비해 1.5배 이상의 높은 함량을 나타내는 것으로 이미 밝혀졌으며[21], 본 연구의 전자공여능 결과에서도 동일한 결과를 보여 항산화 기능이 우수함을 시사하고

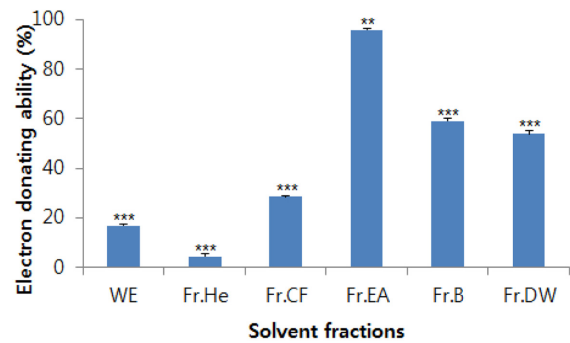


Fig. 3. Electron donating activity of solvent fractions using the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) assay. WE, water extract; Fr.He, hexane fraction; Fr.CF, chloroform fraction; Fr.EA, ethyl acetate fraction; Fr.B, butanol fraction; Fr.DW, H₂O fraction. Sample concentrations were 10 mg/mL. ** $p < 0.01$ compared with control group; *** $p < 0.001$ compared with control group. The control levels were set at 100%.

있다.

세포독성 조사

꽃송이버섯의 세포독성을 알아보기 위해 RAW264.7 세포에서 꽃송이버섯 물 추출물과 유기용매 분획물을 0, 3, 10, 30 그리고 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 다양한 농도로 함께 처리하여 48시간 동안 배양한 후 Cell proliferation assay (MTS) 방법을 이용하여 세포의 생존율을 조사하였다. 그 결과 대조군과 비교했을 때, 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 물 추출물 66.18%, 핵산 분획물 66.11%, 클로로포름 분획물 86.21%, 에틸아세테이트 분획물 81.53%, 부탄올 분획물 89.54% 그리고 물 분획물 87.42%의 생존율을 유지함을 확인하였다. 이와 같은 결과를 통해 꽃송이버섯 추출물 및 모든 분획물은 고농도에서도 거의 독성을 나타내지 않음을 알 수 있었으며 또한 혈전 용해, 트롬빈 저해, 항산화 및 항염증 효과가 세포에 영향을 주어 나타나는 효능이 아님을 확인할 수 있었다(Fig. 4).

NO 생성 억제 효과

RAW264.7 세포에서 NO와 같은 염증성 매개 인자들의 발현을 유발하는 LPS (1 $\mu\text{g/mL}$) 자극에 의해 염증반응을 유도한 후, 꽃송이버섯 물 추출물과 유기용매 분획물을 10 $\mu\text{g/mL}$ 와 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도로 함께 처리하여 항염증 효과가 있는지 확인하였다. 그 결과 LPS 단독군과 비교했을 때, 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 클로로포름 분획물에서 82.62%로 가장 효과적으로 NO 생성이 억제됨을 확인하였다. 또한 핵산 분획물에서도 56.55%로 유의하게 NO 생성이 저해됨을 알 수 있었다(Fig. 5). 이는 기존에 보고된 꽃송이버섯의 NO 생성 억제율에 비해 1.5 배 이상 높았다[9].

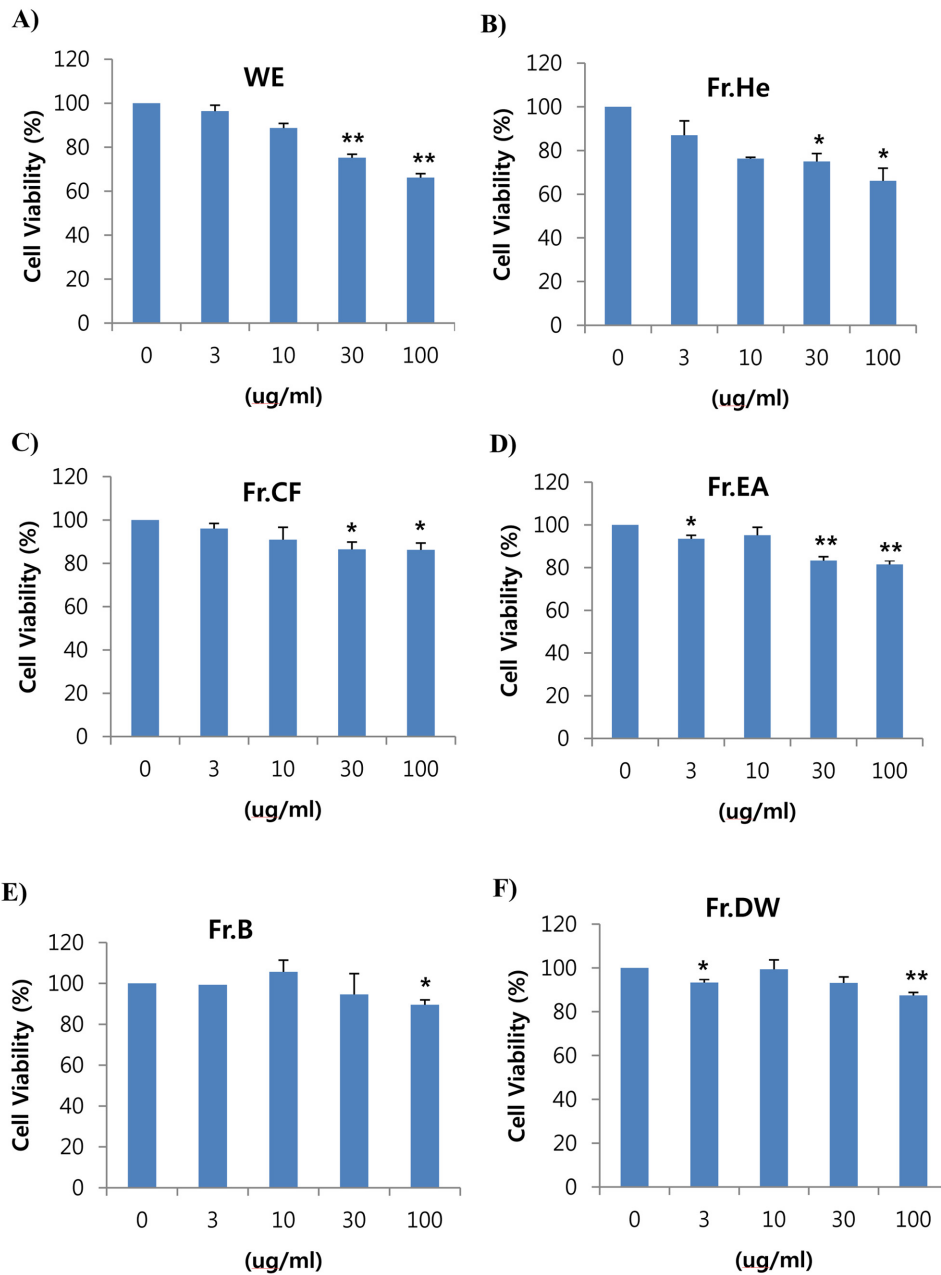


Fig. 4. *In vitro* cytotoxicity effects of solvent fractions. The cells were treated with solvent fractions for 48 hours. Data represent the mean \pm SD of three independent experiments. A, water extract (WE); B, hexane fraction (Fr.He); C, chloroform fraction (Fr.CF); D, ethyl acetate fraction (Fr.EA); E, butanol fraction (Fr.B); F, H₂O fraction (Fr.DW). * $p < 0.05$ compared with untreated control; ** $p < 0.01$ compared with untreated control.

적 요

야생 꽃송이버섯의 생리활성 물질을 탐색하여 기능성 식품 개발에 이용하기 위해 꽃송이버섯 물 추출물과 유기용매 분획물의 혈전 용해 활성과 트롬빈 저해 활성, 항산화 활성 및 항염증 활성을 확인하였다. 부탄올 분획물과 에틸아세테이트 분획물이 각각 0.70 plasmin unit과 2.03 plasmin unit의 높은 혈전 용해 활성을 나타내고, 클로로포름

분획물이 83.87%의 높은 트롬빈 저해 활성을 나타냈으며, 에틸아세테이트 분획물이 95.94%의 높은 항산화 활성을 나타냈으며, 클로로포름 분획물은 82.62%의 높은 항염증 활성을 나타냈다. 그러므로 본 연구에서 나타난 꽃송이버섯의 혈전 용해, 트롬빈 저해, 항산화 및 항염증 효과들의 우수한 생리활성 결과들로부터 꽃송이버섯은 혈관계 질환 성인병 치료와 예방을 위한 기능성 식품소재로 활용 가치가 매우 큼을 알 수 있었다.

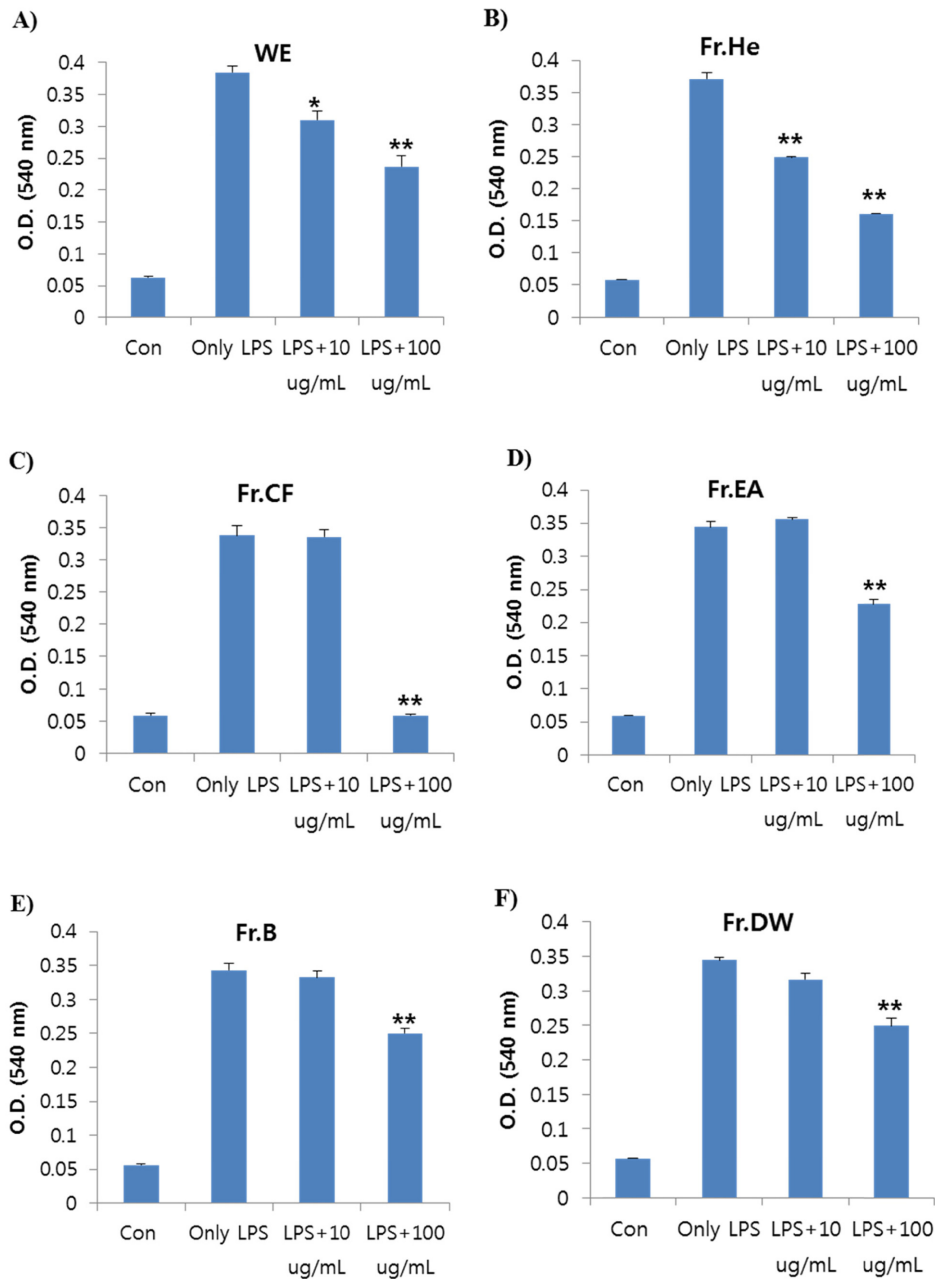


Fig. 5. Inhibitory effects of solvent fractions on lipopolysaccharide (LPS)-induced nitric oxide (NO) production in RAW 264.7 cells. The cells were incubated for 24 hours with LPS in the presence or in the absence of solvent fractions. Data represent the mean \pm SD of three independent experiments. A, water extract (WE); B, hexane fraction (Fr.He); C, chloroform fraction (Fr.CF); D, ethyl acetate fraction (Fr.EA); E, butanol fraction (Fr.B); F, H₂O fraction (Fr.DW); Con, control (no treatment group); O.D., optical density. * $p < 0.05$ versus only LPS-treated group; ** $p < 0.01$ versus only LPS-treated group.

REFERENCES

- Chan GC, Chan WK, Sze DM. The effects of β -glucan on human immune and cancer cells. *J Hematol Oncol* 2009;2:25.
- Ohno N, Miura NN, Nakajima M, Yadomae T. Antitumor 1, 3- β -glucan from cultured fruit body of *Sparassis crispa*. *Biol Pharm Bull* 2000;23:866-72.
- Kim HS, Kim JY, Ryu HS, Park HG, Kim YO, Kang JS, Kim HM, Hong JT, Kim Y, Han SB. Induction of dendritic cell maturation by β -glucan isolated from *Sparassis crispa*. *Int Immunopharmacol* 2010;10:1284-94.
- Saravanakumar M, Raja B. Veratric acid, a phenolic acid attenuates blood pressure and oxidative stress in L-NAME induced hypertensive rats. *Eur J Pharmacol* 2011;671:87-94.
- Kim IK, Yun YC, Shin YC, Yoo J. Effect of *Sparassis crispa* extracts on immune cell activation and tumor growth inhibi-

- tion. J Life Sci 2013;23:984-8.
6. Daka MD, Semba CP. Thrombolytic therapy in venous occlusive disease. J Vasc Interv Radiol 1995;6:73S-7S.
 7. National Institute of Agricultural Science and Technology. Rural Development Administration. The mushrooms of Korea. 1st ed. Seoul: Dongbang Books; 2004.
 8. Kim MS, Lee KT, Jeon SM, Ka KH. The quantities of methyl orsellinate and sparsolol of *Sparassis latifolia* by host plants. Kor J Mycol 2013;41:236-42.
 9. Choi WS, Shin PG, Yoo YB, Noh HJ, Kim GD. Anti-inflammatory effects of *Sparassis crispa* extracts. J Mushroom Sci Prod 2013;11:46-51.
 10. Kwon AH, Zeyu Q, Hashimoto M, Yamamoto K. Effects of medical mushroom (*Sparassis crispa*) on wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats. Am J Surg 2009;197:503-9.
 11. Kim MY, Seguin P, Ahn JK, Kim JJ, Chun SC, Kim EH, Seo SH, Kang EY, Kim SL, Park YJ, et al. Phenolic compound concentration and antioxidant activities of edible and medicinal mushrooms from Korea. J Agric Food Chem 2008;56:7265-70.
 12. Haverkate F, Traas DW. Dose-response curves in the fibrin plate assay. Fibrinolytic activity of proteases. Thromb Diath Haemorrh 1974;32:356-65.
 13. Doljak B, Stegnar M, Urleb U, Kreft S, Umek A, Ciglaric M, Strukelj B, Popovic T. Screening for selective thrombin inhibitors in mushrooms. Blood Coagul Fibrinolysis 2001;12:123-8.
 14. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 1958;181:1119-200.
 15. Kim YJ, Kim CK, Kwon YJ. Isolation of antioxidative components of *Perillae semen*. Korean J Food Sci Technol 1997;29:38-43.
 16. Kim JH. Physiological activities of water extract and solvent fractions of an edible mushroom, *Pholiota adiposa*. Kor J Mycol 2014;42:207-12.
 17. 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;18:407-15.
 18. Park JS, Hyun KW, Seo SB, Cho SM, Yoo CH, Lee JS. Detection of platelet aggregation inhibitors and fibrinolytic substances from mushrooms. Kor J Mycol 2003;31:114-6.
 19. Kim JH. Biological activities of water extract and solvent fractions of an edible mushroom, *Hericium erinaceus*. Kor J Mycol 2012;40:159-63.
 20. Choi SJ, Lee YS, Kim JK, Kim JK, Lim SS. Physiological activities of extract from edible mushrooms. J Korean Soc Food Sci Nutr 2010;39:1087-96.
 21. Shin HJ, Oh DS, Lee HD, Kang HB, Lee CW, Cha WS. Analysis of mineral, amino acid and vitamin contents of fruiting body of *Sparassis crispa*. J Life Sci 2007;17:1290-3.