

An Evaluation of the Anti-thrombosis and Antioxidant Activities of Different Parts of *Dystaenia takeshimana*

Deok-Gyeong Kang¹, Yun-Jin Lee¹, Jong Sik Kim² and Ho-Yong Sohn^{1*}

¹Department of Food and Nutrition, Andong National University, Andong 36729, Korea

²Department of Biological Sciences and Biotechnology, Andong National University, Andong 36729, Korea

Received January 12, 2022 / Revised February 19, 2022 / Accepted February 20, 2022

Dystaenia takeshimana is an endemic plant found only in Korea, especially on Ulleung Island. The leaves and roots of *D. takeshimana* have been used as food, forage, and oriental medicine. Anti-bacterial, anti-inflammation, antioxidant, and α -glucosidase inhibition biological activities have been reported in the plant's root extract. However, studies concerning the anti-thrombosis activities of *D. takeshimana* are still in the rudimentary stage. In this study, the extracts of the leaf (DT-L), stem (DT-S), and root (DT-R) of *D. takeshimana* were prepared using 70% ethanol, and their anti-thrombosis activities were evaluated. DT-L extracts (0.25 mg/ml) showed strong inhibitions against platelet aggregation, comparable to aspirin, with strong radical scavenging activities. Furthermore, the DT-L extract did not show any RBC hemolysis up to 1 m/ml. The ant-coagulation and antioxidant activities of the DT-S extract were ignorable. While the DT-R extract showed inhibitions against thrombin and blood coagulation factors, it also showed strong platelet aggregation. This is a first report of the anti-thrombosis activities of *D. takeshimana*, and our results suggest that DT-L could be developed as a valuable bio-resource for high value-added products.

Key words : Anti-thrombosis, blood clot, *Dystaenia takeshimana*, hemolysis, platelet aggregation

서 론

섬바디(*Dystaenia takeshimana*)는 산형과에 속하는 다년생 초본식물로서 울릉도, 금강산 등지에 분포하는 우리나라 특산식물의 하나이며, 울릉도에서는 돼지가 잘 먹는다고 돼지풀이라고 부르기도 한다. 섬바디는 키가 2 m 정도까지 자라며, 4~5개의 마디가 있고 줄기는 속이 비었고 잎은 어긋나게 자란다. 실제 어린 잎은 나물로 식용 가능하며, 한방에서는 해독제로 사용되기도 한다[17]. 섬바디 잎은 높은 단백질 함량으로 인해 좋은 목초로서 각광을 받은 적도 있었으나[16], 재배상의 문제로 인하여 현재는 생산 및 이용이 제한되고 있다[17].

섬바디는 전 세계적으로 한국에만 자생하는 관계로 관련 연구는 국내에서만 이루어졌으며, 현재까지 해외에서는 연구가 진행된 바 없다. 현재까지 지하부 뿌리로부터 umbelliferon, skimmion, isoscopoletin, β -sitosterol, campesterol, stigmasterol의 분리[4] 및 furanocoumarin 분리[8]가 보고된 바 있으며, 뿌리에서 분리된 polyactylene계 화합물인 faltarindiol의 *Listeria monocytogenes*에 대한 항균활성이 알려져 있다[14, 15].

또한, 섬바디 지상부의 항산화 활성 및 양식넙치 어병세균 (*Streptococcus iniae*)에 대한 항균력도 보고[3]된 바 있으며, 최근에는 섬바디 전초 추출물의 항염증 활성[10], 전초 에탄올 추출물의 n-hexane 분획물에서 α -glucosidase 저해활성 및 ethylacetate 분획물에서 항산화 활성이 보고되어 있다[5]. 그러나, 현재까지 섬바디의 항혈전 활성에 대한 보고는 없는 실정이며, 특히 잎, 줄기, 뿌리 부위별 활성 평가는 이루어진 바 없다. 따라서 본 연구에서는 울릉도산 섬바디의 잎, 줄기, 뿌리 추출물을 조제하고, 이들의 혈액 응고 및 혈소판 응집에 미치는 영향, 혈전 생성과 연관된 항산화 활성 및 적혈구 용혈에 미치는 활성을 평가하여, 향후 항혈전 활성 소재로서 섬바디 사용 가능성을 확인하였기에 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

실험재료 및 시약

본 실험에 사용된 2019년 울릉도에서 수확한 섬바디를 구입하여 에탄올 추출물 제조에 사용하였다. 구체적으로는, 섬바디의 잎(DT-L), 줄기(DT-S), 뿌리(DT-R)를 구분하여, 각각의 시료에 대해 10배의 70% ethanol (Daejung Chemicals & Metals Co., Ltd. Korea)을 가하고, 상온에서 2회 반복 추출하고, 추출액을 모아 filter paper (Whatsman No. 2, GE healthcare UK limited, UK)로 여과한 후 감압 농축(Eyela Rotary evaporator N-1110S, Tokyo Rikakikai Co., Ltd. Japan)하고 동결건조(FD5508, Ilshin Lab Co. Ltd, Korea)하여 분말로 제

*Corresponding author

Tel : +82-54-820-5491, Fax : +82-54-820-6281

E-mail : hysohn@anu.ac.kr

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.

조하였다[7, 18]. 확증표본은 안동대학교 식품영양학과에 보관하고 있다. 추출물들은 DMSO에 100 mg/ml 농도로 녹인 후, 항혈전 활성 평가시 최종농도가 2.5 mg/ml 되도록 첨가하였으며, 적혈구 용혈활성 평가시에는 최종농도가 1 mg/ml 되도록 첨가하였다. 항혈전 활성평가에 사용한 혈장은 시판 control plasma (MD Pacific Technology Co., Ltd, Huayuan Industrial Area, China)를 사용하였으며, PT reagent와 aPTT reagent는 MD Pacific Hemostasis (MD Pacific Technology Co., Ltd, Huayuan Industrial Area, China)의 분석시약을 사용하여 측정하였다[6, 18]. 기타 시약은 Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)의 시약급 이상의 제품을 구입하여 사용하였다.

섬바디 부위별 추출물의 혈액응고 저해 활성

섬바디 부위별 추출물의 항응고 활성은 각각 thrombin time (TT), prothrombin time (PT) 및 activated partial thromboplastin time (aPTT)을 측정하여 평가하였다[18, 23]. 모든 실험은 3회 반복하여 평균치로 나타내었으며, 각각의 항응고 활성은 시료 첨가시의 응고 시간의 평균치를 무첨가시의 응고 시간의 평균치의 비로 나타내었다[6, 18].

섬바디 부위별 추출물의 혈소판 응집 저해 활성

섬바디 부위별 추출물의 혈소판 응집저해 활성은 수세된 농축 혈소판에 섬바디 시료를 첨가한 후 collagen을 첨가하여 혈소판 응집을 유도한 후 Whole Blood Aggregometer (Chrono-log, PA, U.S.A)의 미세전극에 혈소판이 부착, 응집됨에 따라 발생하는 전기 저항값의 변화를 측정하여 평가하였다(IRB-Andong National Univ-1312: 1040191-202002-BR-001-01) [18]. 보다 자세하게는 10 mM CaCl₂ 50 µl, suspending buffer 147.5 µl, 섬바디 시료 5 µl가 포함된 반응 cuvette에 50 µl의 인간 유래 혈소판(5×10⁸ cells/ml)을 첨가하고 3분 동안 37°C로 가온 후, 응집유도제로 collagen (1 mg/ml)을 2.5 µl를 넣고 혈소판 응집을 측정하였다. 응집반응은 Whole Blood Aggregometer의 교반장치를 이용하여 반응액을 500 rpm으로 교반시키면서 collagen 첨가 후 12분간 측정하였다. 이후 얻어진 응집곡선으로부터 Aggrolink program (Aggrolink 5.2.3, Chrono-log, PA, USA)을 이용하여 amplitude, slope, area under 를 측정하여 혈소판 응집을 평가하였다[6, 18]. 이때, amplitude (Ω)는 응집유도제를 첨가하였을 때 일어나는 혈소판의 최대 응집도를 나타내며, slope는 응집유도제를 첨가한 직후부터 1분 동안의 응집곡선의 기울기를 나타내며, area under는 전체적인 혈소판 응집 정도를 표시하는 것으로 전기저항 증가에 따른 slope 곡선의 하강면적을 나타낸다[21].

최종적으로 혈소판 응집도(PAR: Platelet Aggregation Ratio)는 시료 첨가시의 area under 값과 용매대조구인 DMSO 첨가시의 area under값의 비를 백분율로 나타내었다[18].

섬바디 부위별 추출물의 항산화 활성

섬바디 부위별 추출물의 항산화 활성은 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) 활성 음이온 소거능, ABTS [2,2-azobis(3-ethylbenzothiazoline -6- sulfonate)] 활성 양이온 소거능, nitrite 소거능 및 환원력(reducing power) 측정으로 평가하였다. 활성 평가는 기존의 방법[18, 19]과 동일하게 사용하였으며, 활성 대조구로는 vitamin C (Sigma Co., St. Louis, MO, USA)를, 용매 대조구로는 DMSO를 사용하였다. 각각의 활성 평가는 각각 3회 반복한 실험의 평균과 편차로 표시하였다.

인간 적혈구 용혈활성

섬바디 부위별 추출물의 인간 적혈구 용혈 활성은 PBS로 3회 수세한 인간 적혈구 100 µl를 96-well microplate에 가하고 다양한 부위 추출물 100 µl를 가하여 최종농도가 1 mg/ml가 되도록 조정 후 37°C에서 30분간 반응시켰으며, 이후, 반응액을 10분간 원심분리(1,500 rpm)하여 상등액 100 µl를 새로운 microtiter plate로 옮긴 후 용혈에 따른 헤모글로빈 유출 정도를 414 nm에서 측정하였다[18]. 시료의 용매 대조구로는 DMSO (2%)를 사용하였으며, 적혈구 용혈을 위한 실험 대조구로는 Triton X-100 (1 mg/ml) 및 amphotericin B를 사용하였다. 용혈 활성은 다음의 수식을 이용하여 계산하였다[6, 18].

$$\text{Hemolysis (\%)} = [(A_{414 \text{ nm}} \text{ in the samples} - A_{414 \text{ nm}} \text{ in PBS}) / (A_{414 \text{ nm}} \text{ in 0.1\% Triton X-100} - A_{414 \text{ nm}} \text{ in PBS})] \times 100.$$

추출물의 총 폴리페놀 및 기타 분석

Total polyphenol (TP) 및 Total flavonoid 함량 측정은 기존의 보고된 방법[20]에 따라 측정하였으며, 각각 rutin과 tannic acid를 표준시약으로 사용하였다. 총당 정량은 phenol-sulfuric acid법으로[12], 환원당 정량의 경우에는 DNS 변법을 이용하였으며, 각각 sucrose와 glucose를 표준물질로 사용하였다 [5, 12].

통계분석

모든 분석결과는 3회 반복한 실험의 평균과 편차로 나타내었다. 실험 결과는 SPSS 26.0 버전을 사용하여 mean ± SD로 나타내었으며, 각 군간의 차이는 일원배치 분산분석(1-way analysis of variance, ANOVA)을 한 후, Duncan's multiple range test에 의하여 p<0.05 수준에서 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

섬바디 부위별 추출물의 총 폴리페놀, 총 플라보노이드, 총당 및 환원당 분석

섬바디 부위별 추출물의 유용성분 함량을 분석하였으며, 그 결과는 Table 1에 나타내었다. 먼저 섬바디 에탄올 추출효율은 잎 > 뿌리 > 줄기의 순으로 나타났으며, 18.5~25.9%의 수율을

Table 1. Component analysis of the ethanol extracts of different parts of *D. takeshimana*

Extract	Yield (%)	Contents (mg/g)			
		Total polyphenol	Total flavonoid	Total sugar	Reducing sugar
DT-L	25.9	116.9±0.8 ^c	125.7±0.3 ^c	685.3±89.7 ^b	193.4±3.9 ^a
DT-S	18.5	18.1±0.3 ^a	11.1±0.1 ^a	802.4±75.9 ^c	380.2±26.3 ^b
DT-R	20.5	30.6±2.4 ^b	27.0±2.8 ^b	553.6±0.0 ^a	191.4±12.7 ^a

Symbols: DT-L: Leaf, DT-S: Stem, and DT-R: Root of *D. takeshimana*. Different superscripts within a column differ significantly ($p < 0.05$).

나타내었다. 부위별 추출물의 총 폴리페놀 함량 분석 결과, 잎 추출물에서 116.9 mg/g으로 매우 높게 나타났으며, 이는 뿌리 추출물(30.6 mg/g)의 3.8배, 줄기 추출물(18.1 mg/g)의 6.5배 높은 함량이었다. 또한, 총 플라보노이드 함량 역시, 잎 추출물에서 125.7 mg/g으로 가장 높았으며 이는 뿌리 추출물(27.0 mg/g)의 2.15배, 줄기 추출물(11.1 mg/g)의 11.3배로 나타났다. 총당 분석 결과, 특이하게 줄기 추출물에서 가장 높았으며, 다음으로 잎과 뿌리 추출물의 순으로 높았으며, 이러한 패턴은 환원당 함량 분석에서도 동일하게 나타났다. 따라서, 섬바디의 부위별 추출물 중에서는 잎 추출물이 가장 우수한 생리활성을 나타낼 것으로 예상되었다.

섬바디 부위별 추출물의 혈액응고 저해 활성

섬바디 부위별 추출물의 항응고 활성을 TT, PT, aPTT를 각각 측정하여 평가하였다. 활성대조구로는 thrombin 및 혈액응고인자 저해를 통해 혈전생성을 억제하는 aspirin [18, 23]을 사용하였으며, aspirin의 경우 1.5 mg/ml 농도에서 용매 대조구에 비해 TT, PT, aPTT를 각각 1.62, 1.57 및 1.69배 증가시켜 우수한 혈액응고 저해 활성을 나타내었다(Fig. 1). 반면, 섬바디 잎 및 줄기 추출물은 2.5 mg/ml 농도에서 TT, PT, aPTT 모두에서 무첨가구에 비해 확연한 연장 효과가 나타나지 않았으며, 특히 줄기 추출물의 경우 트롬빈 및 프로트롬빈을 저해하여 TT 및 PT가 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$). 섬바디 뿌리 추출물에서는 TT 및 aPTT를 각각 1.36배 및 1.67배 연장하는 효과가 나타났으며, 특히 내인성 혈전 생성과 연관된 aPTT의 경우 aspirin (1.5 mg/ml)에 필적하는 우수한 혈액응고인자 저해 활성을 보였다(Fig. 1A, Fig. 1C). 섬바디 뿌리 추출물은 기존의 장수풍뎅이 유충, 쌍별귀뚜라미, 흰점박이꽃무지 등의 약용 곤충의 1.1~1.5배 연장된 TT, PT [18], 모링가 뿌리의 1.1~1.42배의 연장된 TT, PT, aPTT [7] 및 흑생강 지하부 추출물의 1.07~1.24배 연장된 TT, aPTT [10]보다 상대적으로 강력한 항혈전 활성을 나타내었다.

섬바디 부위별 추출물의 혈소판 응집 저해 활성

섬바디 추출물의 항혈전 평가를 위해 부위별 추출물의 혈소판 응집에 미치는 영향을 평가하였다. 먼저 aspirin은 0.125 mg/ml 농도에서 68.6%의 응집도를, 0.25 mg/ml 농도에서 32.5%의 응집도를 나타내어 농도 의존적으로 혈소판 응집저

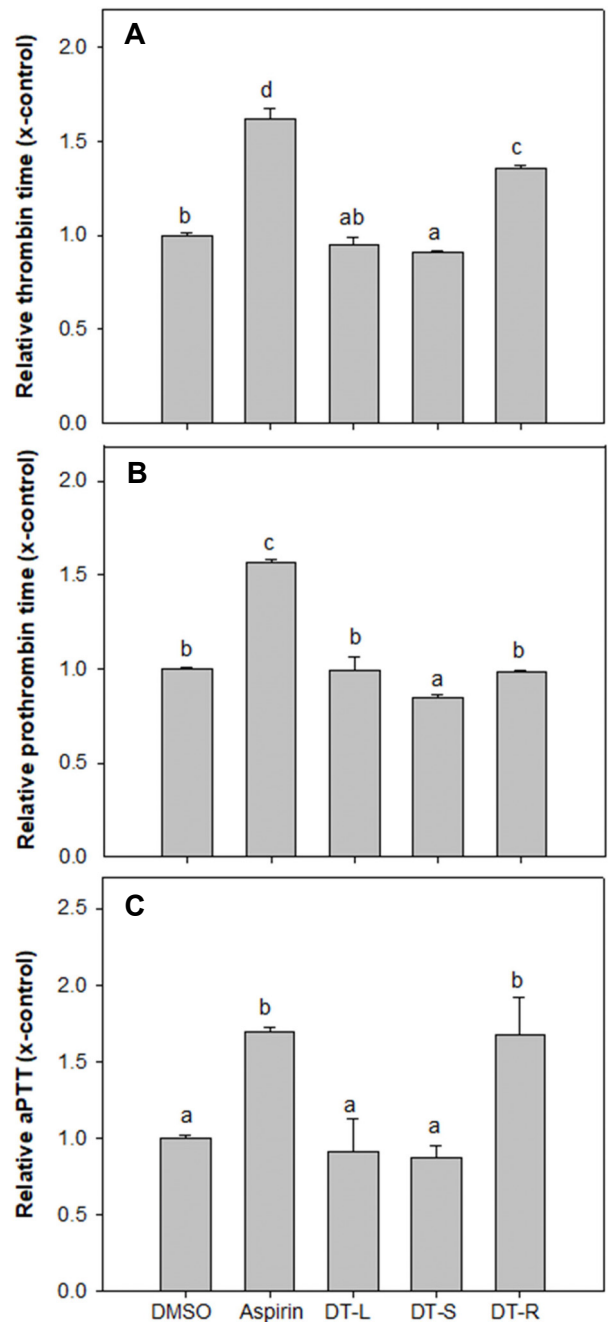


Fig. 1. Effect of the ethanol extracts of different parts of *D. takeshimana* on (A) thrombin time, (B) prothrombin time and (C) activated partial thromboplastin time.

해를 나타내어(Table 2, Fig. 2B, Fig. 2C) 임상에서 항혈전제로 사용되는 근거를 알 수 있었다[19]. 섬바디 잎 추출물은 0.25 mg/ml에서 53.3%의 응집도를 나타내어 동일 농도의 aspirin 보다는 미약하였으나, 0.125 m/ml 농도의 aspirin 활성보다는 우수한 혈소판 응집저해 활성을 보였다(Table 2, Fig. 2D). 또한 섬바디 잎 추출물의 경우 항혈전 활성이 우수하다고 알려진 흑생강 추출물의 22.2% 혈소판 응집[10]보다는 항혈전 활성이 미약하였으나, 블랙커런트의 0.3 mg/ml에서 92.4%의 혈소판 응집[6]보다는 강력하여 우수한 항혈전 활성을 나타내리라 예상되었다. 반면 섬바디 줄기 및 뿌리 추출물은 0.25 mg/ml에서 각각 125.1 및 150.8%의 혈소판 응집도를 나타내어 오히려 혈전 생성을 촉진하는 것으로 확인되었다(Table 2, Fig. 2E, Fig. 2F). 따라서 섬바디 뿌리 추출물은 우수한 혈액응고인자 저해 활성을 보인 반면, 0.25 mg/ml 농도에서 150.8%의 혈소판 응집촉진을 동시에 나타내어 실제적인 항혈전제로 이용은 제한될 것으로 판단된다. 이상의 결과는 섬바디 잎 추출물은 혈소판 응집 저해를 통한 항혈전제로, 섬바디 줄기 및 뿌리 추출물은 혈소판 응집 촉진을 통한 지혈제로 개발 가능

함을 제시하고 있다.

섬바디 부위별 추출물의 항산화 활성

산화적 스트레스는 혈전 생성에서 중추적 역할을 수행하는 fibrinogen의 수식[11]과 섬유화(fibrillization)를 통해 혈전 생성을 촉진하며, 적혈구 용혈을 유도하여 혈전증을 가속화하는 것으로 알려져 있다[2, 13, 24]. 또한 항산화 활성을 나타내는 카테킨과 같은 phytochemical들은 fibrinogen의 니트로수산화(nitrative modification)를 억제하여 혈전 생성을 억제할 수 있음이 알려져 있다[1]. 따라서 섬바디 부위별 추출물의 항산화 활성을 평가하였으며, 그 결과는 Table 3에 나타내었다. 먼저 활성 대조구로 사용된 vitamin C는 0.1 mg/ml 농도에서 DPPH 음이온 소거능, ABTS 양이온 소거능 nitrite 소거능 및 환원력 평가 결과 각각 92.9%, 98.5%, 85.2% 및 1.601을 나타내어 강력한 항산화 활성을 보였다. 한편 섬바디 잎 추출물(0.5 mg/ml)의 경우 DPPH 음이온 소거능, ABTS 양이온 소거능 nitrite 소거능 및 환원력 평가 결과 각각 59.3%, 88.1%, 48.3% 및 1.015를 나타내어 강력한 항산화 활성을 보였으며(Table

Table 2. Effect of the ethanol extracts of different parts of *D. takeshimana* on platelet aggregation

Chemicals/Extract	Conc. (mg/ml)	Amplitude (Ω)	Slope (Ω/min)	Lag time (sec)	Area under	PAR ¹⁾ (%)
DMSO	-	22	6	34	167.6	100
Aspirin	0.25	10	1	91	54.5	32.5
	0.125	18	3	36	120.9	68.6
DT-L	0.25	13	2	22	89.3	53.3
DT-S	0.25	28	6	24	209.6	125.1
DT-R	0.25	28	7	9	252.7	150.8

¹⁾PAR: Platelet Aggregation Ratio. Data are presented as representative result relative of independent three determinations. Amplitude is expressed as ohms by maximum extent of platelet aggregation and slope (rate of reaction) is determined by drawing a tangent through the steepest part of curve. Area under is a calculated area in descent drawing during platelet aggregation. Symbols: DT-L: Leaf, DT-S: Stem, and DT-R: Root of *D. takeshimana*.

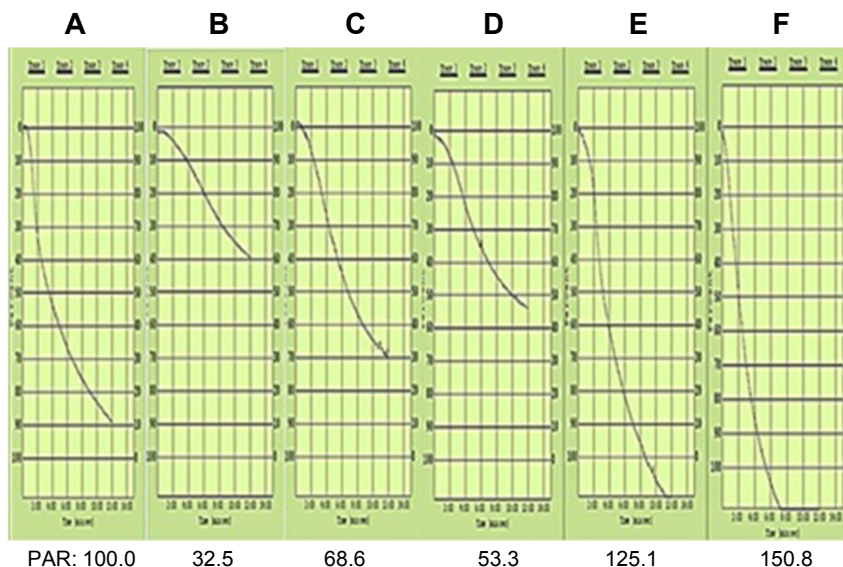


Fig. 2. Impedance changes during platelet aggregation after addition of aspirin and the extracts of different parts of *D. takeshimana* in whole blood aggregometer. (A) DMSO, (B) aspirin (0.25 mg/ml), (C) aspirin (0.125 mg/ml), (D) DT-L extract (0.25 mg/ml), (E) DT-S extract (0.25 mg/ml) and (F) DT-R extract (0.25 mg/ml), respectively.

Table 3. Antioxidant activities of the ethanol extracts of different parts of *D. takeshimana*

Extracts/Chemical	Anti-oxidant activity (%)			Reducing power (700 nm)
	DPPH SA ¹⁾	ABTS SA	Nitrite SA	
DT-L	59.3±0.5 ^c	88.1±0.2 ^c	48.3±0.5 ^c	1.015±0.001 ^c
DT-S	24.9±2.1 ^a	45.3±0.0 ^a	9.1±0.2 ^b	0.250±0.006 ^a
DT-R	51.5±4.6 ^b	86.3±0.6 ^b	-9.0±0.0 ^a	0.493±0.033 ^b
Vitamin C	92.9±0.4 ^d	98.5±0.5 ^d	85.2±1.1 ^d	1.601±0.035 ^d

Symbols: Symbols: DT-L: Leaf, DT-S: Stem, and DT-R: Root of *D. takeshimana*.

¹⁾SA: scavenging activity. The concentrations of extracts used for DPPH, ABTS, and reducing power assay were 0.5 mg/ml, and nitrite scavenging activity assay was 0.2 mg/ml, respectively. The concentration of vitamin C used for the assays were 0.1 mg/ml. Different superscripts within a column differ significantly ($p < 0.05$).

3), 이러한 항산화 활성은 블랙커런트 열매[6], 모링가 뿌리[7] 및 도깨비부채 추출물[19]보다 우수하였다. 그러나 뿌리 추출물은 DPPH 음이온 소거능, ABTS 양이온 소거능 평가에서만 양호한 항산화 활성을 보였으며, 줄기 추출물은 전체적으로 미약한 항산화 활성을 보였다. DPPH 음이온 소거능 및 환원력의 경우 잎 > 뿌리 > 줄기 순으로 나타났으며, ABTS 양이온 소거능의 경우 잎, 뿌리 > 줄기 순으로 나타났다. 그러나 nitrite 소거능은 잎 > 줄기 > 뿌리의 순으로 나타났다(Table 3). 우수한 항산화 활성을 나타내는 섬바디 잎 추출물을 대상으로 다양한 농도에서 항산화 활성을 평가하여 활성이온의 50% 소거에 필요한 농도(RC₅₀)를 계산하였다. 대조군으로 사용된 vitamin C의 DPPH 음이온, ABTS 양이온 및 nitrite 소거능의 RC₅₀ 값은 9.5, 8.3 및 15.5 µg/ml로 매우 강력한 항산화 활성을 확인하였으며, 잎 추출물에서는 각각 118.4, 54.3 및 211.7 µg/ml의 RC₅₀값을 확인하였다. 이러한 결과는 섬바디 잎 추출물

이 정제되지 않은 상태임을 감안한다면 기존 강력한 항산화 활성이 보고된 블랙커런트, 흑생강 및 도깨비 부채 추출물[6, 10, 19]보다 강력한 항산화 활성물질을 포함하는 것으로 이해된다.

섬바디 부위별 추출물의 인간 적혈구 용혈활성

섬바디 추출물의 실제적 이용 가능성을 평가하기 위해 부위별 추출물의 적혈구 용혈활성을 평가하였다. 먼저, 용매 대조군으로 사용된 DMSO는 용혈 활성이 없었으며, Triton X-100은 1 mg/ml 농도에서 적혈구를 100% 용혈시킴을 확인하였다(Table 4). 또한, 항암제, 항진균제로 사용되고 있는 amphotericin B의 경우 0.0125 mg/ml 농도에서 48% 이상 적혈구를 용혈시킴을 확인하였다. 한편 섬바디 잎 및 줄기 추출물은 1 mg/ml 농도까지 전혀 적혈구 용혈현상이 나타나지 않아 적혈구 용혈에 따른 급성독성은 없음을 확인하였으며, 섬바디 뿌리 추출물은 1 mg/ml 농도에서 88.8%의 강력한 용혈활성을 나타내었다. 섬바디 뿌리 추출물은 0.5 mg/ml 농도에서도 28.6%의 용혈활성을 나타내어 용혈인자를 포함하고 있음을 확인하였다. 상기의 결과는, 섬바디 잎 추출물에서 강력한 항산화 활성 및 혈소판 응집저해 활성에 의한 항혈전 활성을 기대할 수 있으며, 섬바디 잎 추출물의 활성물질을 이용한 항혈전제 및 항산화제로의 개발 가능성을 제시하고 있다. 본 연구는 섬바디의 항혈전 활성에 대한 최초 보고이며, 전 세계적으로 희귀한 섬바디를 이용한 고부가가치 생물소재 개발이 가능함을 제시하고 있다.

Table 4. Hemolytic activities of the ethanol extracts of different parts of *D. takeshimana* against human red blood cell

Chemicals/Extract	Concentration (mg/ml)	Hemolysis (%)
DMSO	-	1.5±1.2
Triton-X 100 (1.0).	1.0	100.0±0.1
Amphotericin B	0.1	95.8±0.3
	0.05	80.7±7.3
	0.025	59.5±6.3
	0.0125	48.2±5.9
DT-L	1.0	-22.0±0.5
DT-S	1.0	-23.5±1.2
DT-R	1.0	88.8±1.3
	0.5	28.6±4.0
	0.25	13.9±0.9
	0.125	-17.3±5.4

Symbols: Symbols: DT-L: Leaf, DT-S: Stem, and DT-R: Root of *D. takeshimana*.

Data are presented as the mean ± SD of three determinations. Hemolytic activity was evaluated using 4% human red blood cell.

감사의 글

이 논문은 2021년도 안동대학교 학술연구조성비에 의하여 연구되었음.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

- Bijak, M., Nowak, P., Borowiecka, M., Ponczek, M. B., Zbikowska, H. M. and Wachowicz, B. 2012. Protective effects of (-)-epicatechin against nitrative modifications of fibrinogen. *Thromb. Res.* **130**, e123-128.
- Gomez-Mesa, J. E., Galindo-Coral, S., Montes, M. C. and Muñoz Martin, A. J. 2021. Thrombosis and coagulopathy in COVID-19. *Curr. Probl. Cardiol.* **46**, 100742.
- Kang, M. A., Kim, M. B., Kim, J. H., Ko, Y. H. and Lim, S. B. 2010. Integral antioxidative capacity and antimicrobial activity of pressurized liquid extracts from 40 selected plant species. *J. Kor. Soci. Food Sci. Nutr.* **39**, 1249-1256.
- Kim, B. H., Kwon, Y. S. and Kim, C. M. 1993. A study on the chemical components from the root of *Dystaenia takeshimana*. *Kor. J. Pharmacogn.* **24**, 296-298.
- Kim, J. H., Jeong, G. H., Jeong, Y. H. and Kim, T. H. 2019. Free radical scavenging and α -glucosidase inhibitory activities of the extracts of *Dystaenia takesimana* from Ulleung island. *Kor. J. Food Preserv.* **26**, 246-252.
- Kim, M. S. and Sohn, H. Y. 2016. Anti-oxidant, anti-coagulation, and anti-platelet aggregation activities of black currant (*Ribes nigrum* L.). *J. Life Sci.* **26**, 1400-1408.
- Kwon, C. S., Sung, H. J. and Sohn, H. Y. 2019. Anti-thrombosis activities of the root extract of *Moringa oleifera* Lam. *Microbiol. Biotechnol. Lett.* **47**, 20-24.
- Kwon, Y. S., Kim, C. W. and Kim, C. M. 1992. A study on the chemical components from the root of *Dystaenia takeshimana*. *Kor. J. Pharmacogn.* **23**, 218-220.
- Lee, J. Y., Yoo, D. H., Joo, D. H. and Chae, J. W. 2016. Inhibitory efficacy of *Dystaenia takeshimana* extract on iNOS, COX-2 protein and mRNA expression in Raw 264.7 cell. *Microbiol. Biotechnol. Lett.* **44**, 571-576.
- Lee, M. H., Sung, H. J., Kwon, C. S. and Sohn, H. Y. 2018. Anti-coagulation and anti-platelet aggregation activities of black ginger (*Kaempferia parviflora*). *J. Life Sci.* **28**, 1068-1075.
- Martinez, M., Weisel, J. W. and Ischiropoulos, H. 2013. Functional impact of oxidative posttranslational modifications on fibrinogen and fibrin clots. *Free Radic. Biol. Med.* **65**, 411-418.
- Masuko, T., Minami, A., Iwasaki, N., Majima, T., Nishimura, S. and Lee, Y. C. 2005. Carbohydrate analysis by a phenol-sulfuric acid method in microplate format. *Anal. Biochem.* **339**, 69-82.
- Matarrese, P., Straface, E., Pietraforte, D., Gambardella, L., Vona, R., Maccaglia, A., Minetti, M. and Malorni, W. 2005. Peroxynitrite induces senescence and apoptosis of red blood cells through the activation of aspartyl and cysteinyl proteases. *FASEB J.* **19**, 416-418.
- Oh, J. A., Shin, D. H. and Baek, N. I. 1999. Antilisterial synergistic effect of faltarindiol isolated from *Dystaenia takesimana* Kitagawa with monoglyceride. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **31**, 864-869.
- Oh, J. A., Shin, D. H. and Baek, N. I. 1999. Isolation and identification of growth inhibition substance on *L. monocytogenes* from *Dystaenia takesimana* Kitagawa. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **31**, 984-993.
- Park, K. K. and Chung, C. J. 1976. Study on seombody drying. *J. Kor. Soc. Agric. Mach.* **1**, 56-63.
- Pfossler, M., Jakubowsky, G., Schlüter, P. M., Fer, T., Kato, H., Stuessy, T. F. and Sun, B. Y. 2005. Evolution of *Dystaenia takesimana* (Apiaceae), endemic to Ullung island, Korea. *Plant Syst. Evol.* **256**, 159-170.
- Pyo, S. J., Kang, D. G., Jung, C. and Sohn, H. Y. 2020. Anti-thrombotic, anti-oxidant and haemolysis activities of six edible insect species. *Foods* **9**, 401.
- Pyo, S. J., Lee, Y. J., Kang, D. G., Son, H. J., Park, G. H., Park, J. Y. and Sohn, H. Y. 2020. Antimicrobial, antioxidant, and anti-diabetic activities of *Rodgersia podophylla*. *J. Life Sci.* **30**, 298-303.
- Singleton, V. L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* **299**, 152-178.
- Sweeney, J. D., Hoerning, L. A., Behrens, A. N., Novak, E. and Swank, R. T. 1990. Thrombocytopenia after desmopressin but absence of *in-vitro* hypersensitivity to ristocetin. *Am. J. Clin. Pathol.* **93**, 522-525.
- Szczeklik, A., Musial, J., Undas, A., Swadzba, J., Gora, P. F., Piwowarska, W. and Duplaqa, M. 1996. Inhibition of thrombin generation by aspirin is blunted in hypercholesterolemia. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **16**, 948-954.
- Wang, J., Xiong, X. and Feng, B. 2014. Aspirin resistance and promoting blood circulation and removing blood stasis: Current situation and prospectives. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* **2014**, 954863.
- Wang, L., Li, L., Wang, H. and Liu, J. 2017. Study on the influence of oxidative stress on the fibrillation of fibrinogen. *Sci. Rep.* **7**, 12429.

초록 : 섬바디 부위별 추출물의 항혈전 및 항산화 활성

강덕경¹ · 이윤진¹ · 김종식² · 손호웅^{1*}

(¹안동대학교 식품영양학과, ²안동대학교 생명과학부)

섬바디(*Dystaenia takesimana*)는 대한민국 울릉도 등지에만 분포하는 우리나라 특산 식물의 하나로, 잎은 식용 및 사료로, 뿌리는 약용으로 이용되고 있다. 현재까지 섬바디 뿌리의 항균, 항염증, 항산화 및 α -glucosidase 저해 활성이 보고된 바 있으나, 섬바디의 항혈전 활성에 대한 연구는 이루어진 바 없다. 본 연구에서는 울릉도산 섬바디의 잎(DT-L), 줄기(DT-S) 및 뿌리(DT-R)를 구분하여 각각 70% 에탄올 추출물을 조제하고 이들의 혈액응고 저해, 혈소판 응집저해, 항산화 활성 및 적혈구 용혈활성을 평가하였다. 그 결과, DT-L 추출물은 2.5 mg/ml 농도까지 혈액응고에는 영향을 미치지 않았으나 0.25 mg/ml 농도에서 aspirin과 비교할 만한 강력한 혈소판 응집저해활성을 보였으며, 우수한 활성 라디칼 소거능(DPPH anion, ABTS cation 및 nitrite)과 환원력을 나타내었다. 또한 DT-L 추출물은 적혈구 용혈활성도 나타나지 않아 신규의 항혈전제 소재로 개발 가능성을 확인하였다. 반면, DT-S 추출물은 혈액응고 저해, 혈소판 응집저해 및 항산화 활성이 미약하였으며, DT-R 추출물은 트롬빈 저해 및 혈액응고인자 저해에 의한 혈액응고 저해활성이 우수한 반면 혈소판 응집 촉진활성도 강력하였으며 적혈구 용혈활성도 강력하여 항혈전 용도로 이용은 제한되었다. 본 연구는 섬바디의 항혈전 활성에 대한 최초 보고이며, 전 세계적으로 희귀한 섬바디를 이용한 고부가가치 생물소재 개발이 가능함을 제시하고 있다.