

Comparison of Anti-thrombosis, Antioxidant and Anti-diabetes Activities among Different Cultivars of *Hibiscus cannabinus* L. Seeds

Yun-Jin Lee¹, Deok-Gyeong Kang¹, Ji-Min Kim¹, Young-Min Kim² and Ho-Yong Sohn^{1*}

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

²Hemp & R Bio, Andong 36618, Korea

Received February 26, 2022 /Revised March 22, 2022 /Accepted March 22, 2022

Recently, kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) has been highlighted due to its rapid growth in dry, infertile land and its versatile applications in textiles, paper, feed, food, medicine, and phyto-remediation. In Korea, a new cultivar, 'Jangdae', which has the merit of feasible seed-gathering, was established in 2013. However, most of the kenaf seeds used are still imported, and a comparison study of useful bio-activities between Jangdae and imported seeds has not been conducted. In this study, anti-thrombosis, antioxidant and anti-diabetic activities of the ethanol extracts of the Jangdae seed (E-JS) and 8 imported cultivar seeds (E-ICS) were investigated. The E-JS has 14.4 mg/g of total polyphenol and 5.3 mg/g of total flavonoids, whereas the E-ICS has 5.9~8.7 mg/g and 0.7~1.5 mg/g, respectively. Among the 9 kenaf seed extracts, IT 181215 and IT 207877 seed extracts showed 1.92 and 1.88-folds extended thrombin time (TT), and IT 207886 seed extracts showed 3.04-folds extended activated partial thromboplastin time (aPTT). All extracts, except Hong-ma seed, showed 1.36~1.56-folds extended prothrombin time (PT). The E-JS showed strong anti-thrombosis activities with 1.46-folds (TT), 1.38-folds (PT) and 2.37-folds (aPTT) compared to those of solvent controls. The E-JS has the strongest antioxidant activities among the seed extracts, with 0.48 mg/ml of RC₅₀ for ABTS cation and 0.27 mg/ml of RC₅₀ for nitrite scavenging. Meanwhile, the E-JS and IT 181215 extracts showed strong inhibition against α -glucosidase with 10.3~10.6% inhibition at 0.5 mg/ml. Our results suggest the E-JS has potential as an anti-thrombosis, antioxidant and anti-diabetic agent.

Key words : Anti-thrombosis, anti-oxidant, anti-diabetic, *Hibiscus cannabinus* L., 'Jangdae' cultivar

서 론

케나프(*Hibiscus cannabinus* L.)는 서아프리카가 원산지인 무궁화과(Malvaceae)의 1년생 초본 식물로서 척박한 건조 토양이나 습한 습지에서 잘 자라며 빠른 줄기 생육과 줄기껍질 회수가 용이하여 대표적인 섬유용 식물로 재배되어 왔다. 최근에는 단위면적당 이산화탄소 흡수량이 삼나무의 7배 이상으로 보고[1]되면서 탄소 저감용 식물로도 관심을 받고 있으며, 우수한 내염성, 내건성, 중금속 내성을 나타내어 토양 및 대기 정화용 식물로 각광받고 있다[1]. 국내에서는 1960년대 가마니 대체 포대 생산을 위한 케나프 재배연구가 진행되었으나, 2,000년대 이후 케나프를 이용한 다양한 친환경 산업소재, 사료 및 기

능성 식의약품 개발 연구가 진행되고 있으며[6, 13, 15, 23], 2008년부터 새만금 간척지 등의 척박한 토양에서 대량 재배되면서 친환경 섬유, 종이, 바이오플라스틱 및 우드펠릿 자원으로 개발되고 있다[8, 12]. 현재 케나프의 잎과 줄기 분쇄물은 가축 사료로, 종자 오일은 해열, 진통, 항균 및 최음용의 식품 및 민간 처방으로, 나머지 부산물은 소각하여 친환경 비료로 사용되면서 버릴 부분이 없는 경제작물로 인정받고 있다[13, 16].

한편 케나프는 국내 재배는 가능하나 채종이 불가하여 종자를 전량 수입하여 사용하여 온 바, 이는 45일 이상, 12시간 이상의 일조 가능 기간과 종자 충실에 필요한 15°C 이상의 높은 재배 온도 요구를 국내에서는 충족하기 어려웠기 때문이었다[16]. 이러한 문제를 해결하고자 한 국원자력연구원에서 방사선 돌연변이 기술을 사용하여 수확량이 많으면서도 국내 채종이 가능한 '장대' 품종 [품종보호권 등록: 제4560호, 존속기간 2013. 6. 18 ~ 2033. 6. 17]을 개발하였으며[16], 현재 국내 일부 지역에서 재배되고 있다.

최근 연구결과, 케나프 종자 추출물에서 항산화 및 콜레스테롤 저하기능을 나타내는 phytosterol이 보고[30]되

*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.

어 있으며, 암세포 사멸활성[5, 37], 항산화 활성[38] 및 고지혈증 억제 활성[11]도 알려져 있다. 최근에는 종자 꼬투리에서 강력한 항산화 활성 및 항혈전 활성이 보고되었으며[14], 잎에는 항산화[9], 항염[3, 5], 항당뇨[10] 및 혈당 조절[33], 통각억제 활성[5]이 알려진 kaempferitrin이 다량 함유된 것으로 알려져 있다. 그러나 현재까지 국내에서 채종 가능한 장대 품종과 외국산 케나프 품종의 생리활성 비교연구는 이루어진 바 없다. 따라서 본 연구에서는 국내에서 개발된 장대 품종과 8종의 외국산 케나프 품종의 종자 추출물을 각각 조제하고 이를 대상으로 항혈전 활성, 항산화 활성 및 항당뇨 활성을 평가하였으며, 그 결과 국내 장대 종자가 외국산 종자보다 우수한 항혈전, 항산화, 항당뇨 활성을 나타냄을 확인하였기에 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

실험재료 및 시약

본 실험에 사용된 케나프 종자는 2020년 전남 순천지역

에서 재배된 ‘장대’ 품종에서 채종한 종자[14]와 외국산 8종 케나프 종자로 각각의 정보는 Table 1 및 Fig. 1에 나타내었다. 외국산 품종 중, 홍마는 중국산 홍마 74-3 종자를 (주)카나프코리아에서 구입하여 사용하였으며, 그외 종자 7종(IT 181215 ~ IT 236176)은 국립농업과학원의 농업생명자원 분양 프로그램 지원으로 확보하였다(DT-22001). 확보된 종자는 이물질질을 제거한 후 세절하여 추출에 사용하였으며, 케나프 종자 시료에 각각 20배의 95% ethanol (Daejung Chemicals & Metals Co., Ltd. Korea)을 첨가한 후 상온에서 2일 동안 침지하여 추출하였고, 추출액은 filter paper (Whatman No. 2, GE healthcare UK limited, UK)로 거른 후 감압 농축(Eyela Rotary evaporator N-1110S, Tokyo Rikakikai Co., Ltd. Japan)후 동결건조하였다[16]. 추출물들은 DMSO에 100 mg/ml의 농도로 녹인 후, 항혈전, 항산화 및 항당뇨 활성 평가에 사용하였으며 최종농도가 0.05~5 mg/ml가 되도록 조정하여 첨가하였다.

항혈전 활성

다양한 품종의 케나프 종자 추출물의 항혈전 활성은

Table 1. Informations of 9 different cultivars of *Hibiscus cannabinus* L. seeds used in this study

*IT No. or common name	Origin	Weight of 100 seeds (g)	Average length (cm)	Germination (%)
Hong-ma	China	2.70±0.02 ^c	0.52±0.04 ^a	90
Jangdae	Korea	2.72±0.04 ^c	0.53±0.04 ^a	92
181215	Taiwan	2.90±0.02 ^d	0.49±0.02 ^a	92
181217	Cuba	2.72±0.01 ^c	0.52±0.04 ^a	72
181220	USA	2.44±0.04 ^a	0.50±0.01 ^a	80
207877	India	2.51±0.03 ^b	0.48±0.04 ^a	98
207884	France	2.71±0.04 ^c	0.50±0.01 ^a	86
207886	China	3.04±0.06 ^e	0.50±0.01 ^a	92
236176	Myanmar	2.93±0.02 ^d	0.48±0.04 ^a	88

*IT No.: Material management number of National Institute of Agricultural Sciences



Fig. 1. The representative photographs of 9 different cultivars of *Hibiscus cannabinus* L. seeds used in this study.

혈액응고에 따른 혈전 생성시간의 변화를 각각 thrombin time (TT), prothrombin time (PT) 및 activated partial thromboplastin time (aPTT)을 측정하여 평가하였다[19]. 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[19]. 활성 대조구로 사용된 aspirin과 기타 시약은 Sigma Co. (St. Louis, MO, USA)의 시약급 이상의 제품을 구입하여 사용하였다. 모든 실험은 3회 반복하여 평균치로 나타내었으며, 각각의 항응고 활성은 시료 첨가시의 응고 시간의 평균치를 무첨가시의 응고시간의 평균치의 비로 나타내었다[19, 28].

항산화 활성

다양한 품종의 케나프 종자 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[17]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. 상기 분석에서 다양한 농도의 케나프 종자 추출물(0~10 mg/ml)을 첨가하여 항산화 활성을 평가한 후 활성이온의 50% 소거능을 나타내는 추출물 농도를 계산하여 RC₅₀ (Concentration required for 50% scavenging of reactive radical)로 나타내었다[28].

항당뇨 활성

다양한 품종의 케나프 종자 추출물의 항당뇨 활성은 α -glucosidase 저해 활성을 측정하여 나타내었다. α -Glucosidase 저해활성은 케나프 종자 추출물 시료 2.5 μ l와 50 mM sodium acetate buffer (pH 5.6)로 희석한 α -glucosidase (0.25 U/ml) 25 μ l를 혼합하여 37°C에서 10분간 반응시켰고 1 mM *p*-nitrophenol glucoside 용액 25 μ l를 첨가하여 60°C에서 10분간 반응시켰다. 이후 1M NaOH 25 μ l를 첨가하여 반응을 정지시키고, 405 nm에서 흡광도를 측정하여 저해율을 계산하였다[29].

$$\text{저해율(\%)} = [1 - (\text{시료 첨가구 효소활성} / \text{대조구 첨가구 효소활성})] \times 100$$

총 폴리페놀 및 기타 분석

Total polyphenol (TP) 및 Total flavonoid 함량 측정은 기존의 보고된 방법[31]에 따라 측정하였으며, 각각 rutin

과 tannic acid를 표준시약으로 사용하였다. 총당 정량은 phenol-sulfuric acid법[26]으로, 환원당 정량의 경우에는 DNS 변법을 이용하였으며, 각각 sucrose와 glucose를 표준 물질로 사용하였다[26, 28].

통계분석

모든 분석결과는 3회 반복한 실험의 평균과 편차로 나타내었다. 실험 결과는 SPSS 26.0 버전을 사용하여 mean \pm SD로 나타내었으며, 각 군간의 차이는 각 군 간의 차이는 일원배치 분산분석(1-way analysis of variance, ANOVA)을 한 후, Duncan's multiple range test에 의하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다[14].

결과 및 고찰

다양한 품종별 케나프 종자의 특성 및 종자 추출물의 총 폴리페놀, 총 플라보노이드, 총당 및 환원당 분석

국내에서 재배된 케나프 장대 및 외국산 케나프 품종의 종자는 Fig. 1에 나타내었으며, 종자의 백중립, 평균 크기 및 평균 발아율(국립농업과학원 제공)은 Table 1에 나타내었다. 종자의 크기는 0.48~0.53 cm로 유의성 있는 차이 ($p < 0.05$)가 없었으나, 백중립의 무게는 종자별로 차이가 나타났다. 가장 무거운 종자는 IT 207886의 중국산 종자였으며, 가장 가벼운 종자는 IT 181220의 미국산 종자로 나타났다. 장대 품종의 종자는 2.72 g/100 seeds로 쿠바산, 프랑스산 종자와 유사하였다. 종자의 무게는 구성성분 및 충실도를 반영하나, 종자 발아율과는 상관관계가 인정되지 않았다. 따라서 케나프 품종별 종자 무게 차이는 종자 구성 성분의 차이, 재배 및 수확시기의 차이 및 저장기간의 차이 등의 복합적인 요인에 의해 나타나는 특성으로 이해된다[8, 12, 15].

다양한 케나프 품종의 종자를 대상으로 에탄올 추출물을 제조하여 이의 유용성분을 분석하였으며, 그 결과는 Table 2에 나타내었다. 총 폴리페놀 함량 분석 결과, 장대의 종자를 제외한 외국산 종자는 모두 5.9~8.7 mg/g를 포함하여 유의성 있는 차이가 나타나지 않았으나, 장대 종자 추출물에서는 14.4 mg/g으로 큰 차이가 나타났다($p < 0.05$). 총 플라보노이드 함량 분석에서도 장대 종자 추출물은 5.3 mg/g을 나타내어 여타의 외국산 품종의 종자에서 나타나는 0.7~1.5 mg/g과 큰 차이가 나타났다. 적색을 나타내는 홍마 종자의 경우, 총 플라보노이드 함량은 4.8 mg/g으로 여타의 외국산 종자와는 차별화되었다. 한편 총당 함량 분석 결과, IT 207884 (프랑스산), IT 181220 (미국산) 종자에서 각각 645.4 및 477.8 mg/g을 나타내어 다른 품종 종자와 차별화되었으며, 환원당 함량의 경우, 중국산 홍마 품종의 종자 추출물이 여타의 종자와 차별화되는 114.3 mg/g의 높은 함량을 보였다. 따라서 국내 채종 가능

Table 2. Component analyses of the ethanol extracts of 9 different cultivars of *Hibiscus cannabinus* L. seeds

Extract of seed*	Contents (mg/g)			
	Total polyphenol	Total flavonoid	Total sugar	Reducing sugar
Hong-ma	8.5±0.4 ^a	4.8±0.1 ^c	259.6±3.3 ^b	114.3±12.3 ^d
Jangdae	14.4±0.3 ^b	5.3±0.5 ^d	186.5±0.6 ^a	84.7±12.6 ^{bc}
181215*	7.7±0.4 ^a	1.2±0.1 ^{ab}	270.4±14.8 ^b	94.5±4.5 ^c
181217	7.4±0.8 ^a	0.7±0.6 ^a	337.5±14.8 ^c	94.8±6.8 ^c
181220	8.7±0.3 ^a	1.2±0.1 ^{ab}	413.9±10.4 ^d	74.2±5.6 ^b
207877	5.9±0.1 ^a	1.2±0.1 ^{ab}	316.5±26.7 ^c	70.2±1.8 ^{ab}
207884	6.7±0.0 ^a	1.5±0.4 ^b	477.8±38.5 ^e	54.3±3.2 ^a
207886	6.8±0.1 ^a	1.1±0.1 ^{ab}	381.5±29.6 ^d	92.0±2.8 ^c
236176	7.2±0.1 ^a	1.0±0.1 ^{ab}	645.4±5.9 ^f	94.0±1.5 ^c

*Seed: The seed numbers represent the IT number of National Institute of Agricultural Sciences. Different superscripts within a column differ significantly ($p<0.05$).

한 장대 품종의 종자는 다른 종자들보다 상대적으로 높은 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 나타내어 우수한 생리 활성을 나타낼 것으로 예상되었다[14, 19].

다양한 품종별 케나프 종자 추출물의 항혈전 활성

다양한 케나프 품종별 종자의 에탄올 추출물의 항혈전 활성은 TT, PT, aPTT를 각각 측정하여 평가하였다. 용매 대조구는 DMSO를, 활성 대조구로는 aspirin을 사용하였다. 먼저 thrombin 및 혈액응고인자 저해를 나타내는 aspirin [32, 34]은 1.5 mg/ml 농도에서 용매 대조구에 비해 TT, PT, aPTT를 각각 1.45, 1.41 및 1.49배로 증가시켜 우수한 혈전생성 저해활성을 나타내었다(Fig. 2). 한편 케나프 종자 추출물(5 mg/ml)의 트롬빈 저해활성을 측정 결과, 용매 대조구에 비해 1.36~1.92배 증가된 TT를 나타내었으며, 가장 우수한 저해활성은 IT 181215 (1.92배) 및 IT 207877 (1.88배) 종자 추출물에서 확인되었다(Fig. 2A). 프로트롬빈 저해활성을 측정할 결과, 홍마 종자 추출물에서 용매 대조구보다 1.21배 증가된 PT를 보였으며, 그 외 8종의 종자 추출물에서는 1.36~1.56배 증가된 PT를 보여 유사한 저해활성을 나타내었다(Fig. 2B). 한편, 혈관 손상을 동반하지 않는 내인성 혈전 생성에서 가장 중요한 혈액응고인자(coagulation factors) 저해활성 평가 결과, IT 207886 및 장대 종자 추출물에서 가장 강력한 3.04배 및 2.37배 연장된 aPTT를 보였다. 또한 IT 181217, 5: IT 181220 종자 추출물에서도 각각 1.93~1.97배가 증가된 aPTT가 확인되어 우수한 응고인자 저해활성을 나타내었다(Fig. 2C). 한편 항혈전 활성이 강력하다고 알려진 블랙커런트의 경우 5 mg/ml 농도에서 15배 이상 증가된 TT, PT, aPTT [20]를 나타내는 것과 비교하면, 케나프 품종별 종자 추출물들은 상대적으로 미약한 항혈전 활성을 보였다. 그러나 5 mg/ml의 동일 농도에서 장수풍뎅이, 흰점박이꽃무지 유충, 쌍별귀뚜라미 등의 약용 곤충 추출물들이 1.1~1.5배 증가된 TT와 PT [29], 모링가 지하부 추출물의 1.1~1.42배 증가된 TT, PT

및 aPTT [22] 및 흑생강 지하부 추출물의 1.07~1.24배 연장된 TT, aPTT [24]보다는 증가된 혈전생성 시간을 나타내어 케나프 종자 추출물이 약용곤충, 모링가 및 흑생강 추출물보다는 우수한 항혈전 활성을 나타냄을 확인하였다. 이러한 결과는 케나프 종자, 특히 국내 장대의 종자 추출물이 새로운 항혈전 활성 소재로 개발 가능성을 제시하고 있다.

다양한 품종별 케나프 종자 추출물의 항산화 활성

다양한 케나프 품종별 종자의 에탄올 추출물을 대상으로 항산화 활성을 측정하였으며 그 결과는 Fig. 3에 나타내었다. 먼저 DPPH 음이온 소거능 측정결과 9종의 종자 추출물이 전체적으로 10% 미만의 미약한 활성을 나타내었으며, IT 181215에서 가장 높은 9.1%의 소거능을 보였다(Fig. 3A). ABTS 양이온 및 nitrite 소거능 평가결과 각각 20.1~51.2% 및 28.5~57.4%의 다양한 소거활성을 보였으며, 가장 높은 소거능은 장대 종자 추출물에서 확인되었다(Fig. 3B, Fig. 3C). 환원력 측정 결과, 장대 및 IT 181220 종자 추출물에서 다른 종자 추출물보다 유의적으로 높은 활성을 보였다($p<0.05$) (Fig. 3D). 이러한 결과는 케나프 종자 추출물의 경우 ABTS 양이온 및 nitrite 소거능이 우수하며, 특히 국내 채종 가능한 장대 종자가 강력한 항산화 활성을 나타내는 것을 알 수 있다.

케나프 종자의 에탄올 추출물을 대상으로 다양한 농도에서 항산화 활성을 평가하여 활성이온의 50% 소거에 필요한 농도(RC₅₀)를 계산하였다. 먼저 대조구로 사용된 vitamin C의 DPPH 음이온, ABTS 양이온 및 nitrite 소거능의 RC₅₀값은 각각 0.01, 0.009 및 0.016 mg/ml으로 매우 강력한 항산화 활성을 확인하였다(Table 3). 9종 케나프 종자 추출물의 DPPH 음이온 소거능의 경우 IT 181215 종자 추출물에서 2.77 mg/ml, ABTS 양이온 소거능의 경우 장대 종자 추출물에서 0.48 mg/ml, nitrite 소거능의 경우 장대 및 IT 181220 종자 추출물에서 0.27 mg/ml으로 가장 낮은

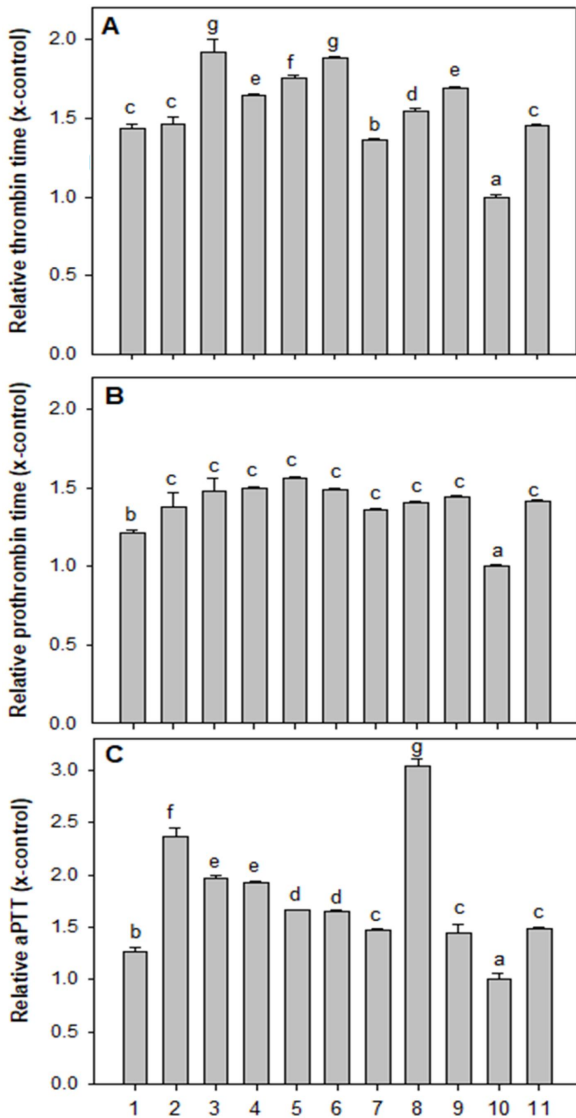


Fig. 2. Effects of the ethanol extracts prepared from 9 different cultivars of *Hibiscus cannabinus* L. seeds. 1: Hong-Ma, 2: Jangdae, 3: IT 181215, 4: IT 181217, 5: IT 181220, 6: IT 207877, 7: IT 207884, 8: IT 207886, 9: IT 236176, 10: DMSO and 11: aspirin on (A) thrombin time, (B) prothrombin time and (C) activated partial thromboplastin time. Anti-coagulation activity was calculated on the clotting time of sample divided by the clotting time of solvent control in blood coagulation assay. The thrombin time (TT), prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (aPTT) of solvent control (dimethylsulfoximide) were 18.5 sec, 13.4 sec and 46.2 sec, respectively. Data are means \pm SD of triplicate determinations. Different superscripts within a panel differ significantly ($p < 0.05$).

RC₅₀값을 나타내었다. 항산화 활성이 우수한 블랙 커런트 착즙액의 경우 ABTS 소거능 및 nitrite 소거능의 RC₅₀값이 각각 0.078 mg/ml 및 0.074 mg/ml [20]인 것을 고려한다면

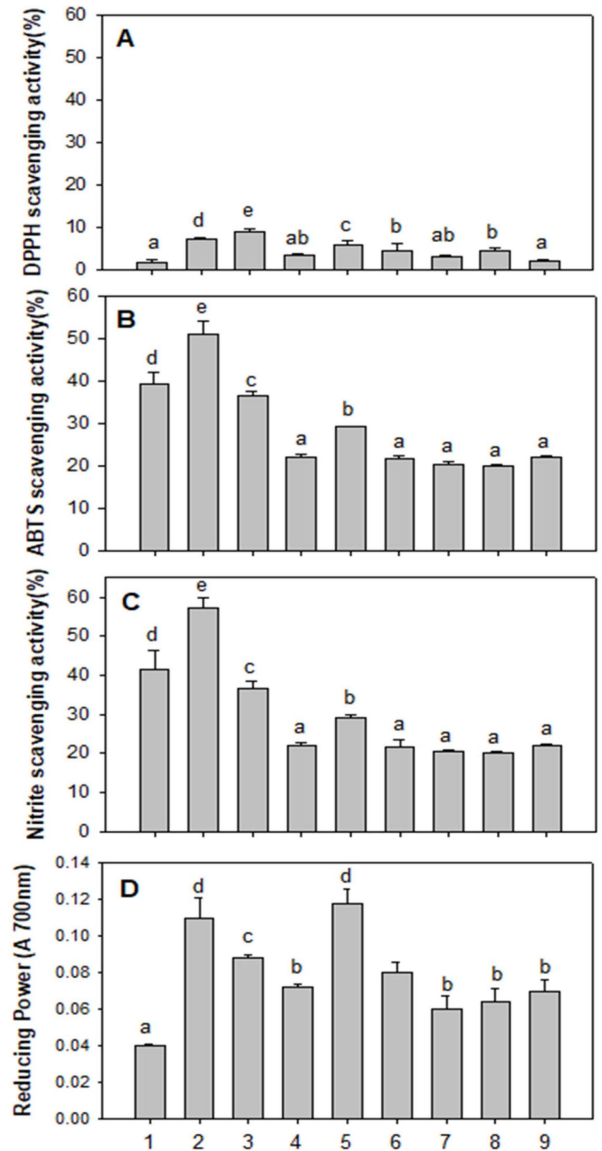


Fig. 3. Radical scavenging activities of the ethanol extracts prepared from 9 different cultivars of *Hibiscus cannabinus* L. seeds. 1: Hong-Ma, 2: Jangdae, 3: IT 181215, 4: IT 181217, 5: IT 181220, 6: IT 207877, 7: IT 207884, 8: IT 207886 and 9: IT 236176. The concentrations of extracts used for DPPH, ABTS, and reducing power assay were 0.5 mg/ml, and nitrite scavenging activity assay was 0.2 mg/ml, respectively. Different superscripts within a panel differ significantly ($p < 0.05$).

케나프 종자 추출물은 약한 항산화 활성을 나타내는 것으로 평가되나, 시판 약용 곤충 추출물 및 케나프의 잎, 줄기 추출물과 비교시에는 유사한 ABTS 양이온 및 nitrite 소거능을 나타내었다[14, 28]. 또한 사용 시료가 1차 추출물 상태임을 고려한다면 케나프 장대 종자의 경우에는 활성 물질 연구를 통해 신규 항산화제 소재로 개발 가능할 것으로 기대된다. 특히 산화적 스트레스에 의한 fibrinogen의

Table 3. Calculated RC₅₀s of the ethanol extracts prepared from 9 different cultivars of *Hibiscus cannabinus* L seeds

Extract of Seed*	Anti-oxidant activity (RC ₅₀ : mg/ml)		
	DPPH	ABTS	Nitrite
Hong-ma	> 10.00	0.63	0.60
Jangdae	5.39	0.48	0.27
181215*	2.77	0.69	0.29
181217	7.16	1.14	0.28
181220	4.24	0.84	0.27
207877	5.94	1.15	0.28
207884	7.99	1.22	0.34
207886	4.46	1.24	0.32
236176	> 10	1.14	0.28
Vitamin C	0.01	0.009	0.016

*Seed: The seed numbers represent the IT number of National Institute of Agricultural Sciences.

니트로화 수식[2, 25], 섬유화(fibrillization) 촉진[35] 및 적혈구 용혈 유도에 의한 혈전증 가속화[27]가 알려져 있으므로, 장대 및 IT 181215 종자 추출물은 항산화 활성과 혈액응고 저해활성을 동시에 나타내어 우수한 항혈전 활성을 기대할 수 있으리라 판단된다.

다양한 품종별 케나프 종자 추출물의 항당뇨 활성

H. sabdariffa [7], *H. mutabilis* [21], *H. syriacus* [36] 등의 기존 *Hibiscus* 속 식물들의 항당뇨 활성은 잘 알려져 있다. 따라서 다양한 케나프 품종별 종자의 에탄올 추출물을 대상으로 항당뇨 활성을 평가하였으며, 그 결과는 Fig. 4에 나타내었다. 먼저 임상에서 항당뇨제로 사용되고 있는 acarbose는 0.065 및 0.5 mg/ml 농도에서 각각 48.6% 및 69.6%의 α -glucosidase 저해활성을 나타내어 우수한 활성

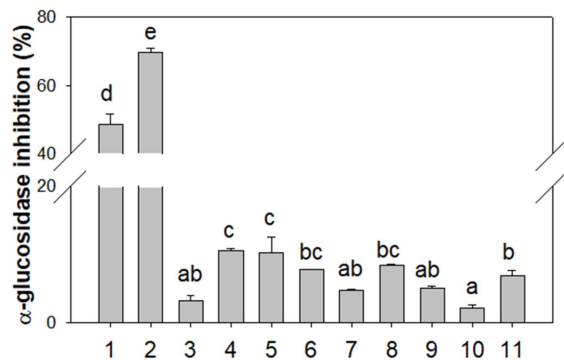


Fig. 4 Effects of the of the ethanol extracts prepared from 9 different cultivars of *Hibiscus cannabinus* L. seeds on α -glucosidase. 1: acarbose (0.065 mg/ml), 2: acarbose (0.5 mg/ml), 3: Hong-Ma, 4: Jangdae, 5: IT 181215, 6: IT 181217, 7: IT 181220, 8: IT 207877, 9: IT 207884, 10: IT 207886 and 11: IT 236176. Different superscripts within a panel differ significantly ($p < 0.05$).

이 확인되었다. 케나프 종자 추출물은 0.5 mg/ml 농도에서 2.2~10.6%의 α -glucosidase 저해활성을 나타내었으며, 장대 및 IT 181215 종자 추출물에서 각각 10.6 및 10.3%의 가장 우수한 저해활성을 보였다(Fig. 4). 케나프 종자 추출물들은 전반적으로 acarbose에 비해서는 약한 저해활성을 보였으며, 항당뇨 활성이 우수하다고 보고된 *Hibiscus* 속 식물[7, 21, 36] 및 도깨비 부채 뿌리[29], 섬바디 지상부[18] 등의 약용식물들보다 미약한 활성을 보였다. 그러나 장대 종자 추출물의 경우, 활성물질의 분획 및 정제를 통해 항당뇨 활성을 증강시킬 수 있으리라 판단된다. 상기의 결과들은 식의약품 및 화장품 산업에서 케나프 종자, 특히 장대 종자가 새로운 생물자원으로서 이용 가능성을 제시하고 있다. 본 연구는, 케나프 품종별 종자 추출물의 항혈전, 항산화 및 항당뇨 활성에 대한 최초 비교 보고이며, 국내에서 대량 재배되고 있는 케나프 및 장대 종자를 이용한 고부가가치 생물소재 개발의 기초자료로 활용될 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 한국연구재단 중점연구소 지원사업(NRF-2018R1A6 A1A03024862)의 지원에 의해 이루어진 결과로 이에 감사드립니다.

The Conflict of Interest Statement

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

References

- Alexopoulou, E., Papatheohari, Y., Christou, M. and Monti, A. 2013. Keanf: A multi-purpose crop for several industrial applications. Springer-verlag, London. England. pp. 1-15.
- 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. doi: 10.1016/j.thromres.2012.03.017.
- Boller, S., Soldi, C., Marques, M. C., Santos, E. P., Cabrini, D. A., Pizzolatti, M. G., Zampronio, A. R. and Otuki, M. F. 2009. Antiinflammatory effect of crude extract and isolated compounds from *Baccharis illinita* DC in acute skin inflammation. *J. Ethnopharmacol.* **130**, 262-266.
- Choi, Y. H., Kong, K. R., Kim, Y. A., Jung, K. O., Kil, J. H. Rhee, S. H. and Park, K. Y. 2003. Induction of Bax and activation of caspases during β -sitosterol-mediated apoptosis in human colon cancer cells. *Int. J. Oncol.* **23**, 1657-1662
- De Melo, G. O., Malvar Ddo, C., Vanderlinde, F. A.,

- Rocha, F. F., Pires, P. A., Costa, E. A., de Matos, L. G., Kaiser, C. R. and Costa, S. S. 2009. Antinociceptive and anti-inflammatory kaempferol glycosides from *Sedum dendroideum*. *J. Ethnopharmacol.* **12**, 4228-4232.
6. Han, S. E., Sung, K. I. and Kim, B. Y. 2004. Changes of dry matter yield and nutritive value of Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) cultivars on different harvest dates in Chunchon area. *Ann. Anim. Resour.* **15**, 1-7.
7. Ifie, I., Ifie, B. E., Ibitoye, D. O., Marshall, L. J. and Williamson, G. 2018. Seasonal variation in *Hibiscus sabdariffa* (Roselle) calyx phytochemical profile, soluble solids and alpha-glucosidase inhibition. *Food Chem.* **261**, 164-168.
8. Jeong, J. S., Kim, G. M., Jeong, H. J., Kim, G. B. and Jeon, C. H. 2019. A study on the improved the hydrophobicity of torrefied biomass. *Trans. Kor. Hydrogen New Energy Soc.* **30**, 49-57.
9. Jin, C. W., Eom, S. H., Park, H. J., Ghimeray, A. K., Yu, C. Y. and Cho, D. H. 2009. Antioxidant activity of *Hibiscus cannabinus* L. leaves in different growth time. *Kor. J. Med. Crop Sci.* **17**, 21-25.
10. Jorge, A. P., Horst, H., de Sousa, E., Pizzolatti, M. G. Silva, F. R. 2004. Insulinomimetic effects of kaempferitrin on glycaemia and on 14 C-glucose uptake in rats oleus-muscle. *ChmicoBiol. Interact.* **14**, 989-996.
11. Kai, N. S., Nee, T. A., Ling, E. L. C., Ping, T. C., Kamariah, L. and Lin, N. K. 2015. Anti-hypercholesterolemic effect of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) seed on high-fat diet Sprague dawley rats. *Asian Pac. J. Trop Biomed.* **8**, 6-13.
12. Kang, C. H., Lee, I. S., Go, D. Y., Kim, H. J. and Na, Y. E. 2018. The growth and yield differences in kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) in reclaimed land based on the physical types of organic materials. *Kor. J. Crop Sci.* **63**, 64-71.
13. Kang, C. H., Yoo, Y. J., Choi, K. H., Kim, H. J., Shin, Y. K., Lee, G. J., Ko, D. Y., Song, Y. J. and Kim, C. K. 2014. Analysis of ecotype, growth and development, yield and feed value of Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) genetic resources. *Kor. J. Plant Res.* **27**, 556-566.
14. Kang, D. K., Lee, Y. J., Kim, Y. M. and Sohn, H. Y. 2022. Evaluation of anti-thrombosis and anti-oxidant activities of the ethanol extract of different parts of *Hibiscus cannabinus* L. cv 'Jangdae' *J. Life Sci.* **32**, 155-160.
15. Kang, S. Y., Kim, P. G., Kang, Y. K., Kang, B. K., Riu, U. Z. K. and Song, H. S. 2004. Growth, yield and photosynthesis of introduced kenaf cultivars in Korea. *Kor. J. Plant Res.* **17**, 139-146.
16. Kang, S. Y., Kwon, S. J., Jeong, S. W., Kim, J. B., Kim, S. H. and Ryu, J. 2016. An improved kenaf cultivar 'Jangdae' with seed harvesting in Korea. *Kor. J. Breed Sci.* **48**, 349-354.
17. Kim, D. B., Shin, G. H., Lee, Y. J., Lee, J. S., Cho, J. H., Baik, S. O. and Lee, O. H. 2014. Assessment and comparison of the antioxidant activities and nitrite scavenging activity of commonly consumed beverages in Korea. *Food Chem.* **151**, 58-64.
18. 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.
19. Kim, M. S., Shin, W. C., Kang, D. K. and Sohn, H. Y. 2016. Anti-thrombosis activity of sinapic acid isolated from the lees of bokbunja wine. *J. Microbiol. Biotechnol.* **26**, 61-65.
20. 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.
21. Kumar, D., Kumar, H., Vedasiromoni, J. R. and Pal, B. C. 2012. Bio-assay guided isolation of alpha-glucosidase inhibitory constituents from *Hibiscus mutabilis* leaves. *Phytochem. Anal.* **23**, 421-425.
22. 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.
23. Lee, J. Y., Velusamy, V., Koo, J. Y., Ha, H. K., Kim, D. S., Kim, J. B., Kim, S. H. and Kang, S. Y. 2012. Comparison of growth characteristics and chemical composition of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) varieties as a potential forage crop. *J. Crop Sci.* **57**, 132-136.
24. 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.
25. 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.
26. 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.
27. 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.
28. 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. doi: 10.3390/foods9040401.
29. Pyo, S. J., Lee, Y. J., Kang, D. G., Son, H. J., Park, G. H., Park, J. Y. and Sohn, H. Y. 2020. Antimicrobial, anti-oxidant, and anti-diabetic activities of *Rodgersia podophylla*. *J. Life Sci.* **30**, 298-303.
30. Ryu, J., Ha, B. K., Kim, D. S., Kim, J. B., Kim, S. H. and Kang, S. Y. 2013. Assessment of growth and seed oil composition of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) germplasm. *J. Crop Sci. Biotechnol.* **16**, 297-302.
31. 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.

32. 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.
33. Vishnu Prasad, C. N., Suma Mohan, S., Banerji, A. and Gopalakrishnapillai, A. 2009. Kaempferitrin inhibits GLUT4 translocation and glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **380**, 39-43.
34. Wang, J., Xiong, X. and Feng, B. 2014. Aspirin resistance and promoting blood circulation and removing blood stasis: Current situation and perspectives. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* **2014**, 954863.
35. 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.
36. Wei, Q., Ji, X. Y., Xu, F., Li, Q. R. and Yin, H. 2015. Chemical constituents from leaves of *Hibiscus syriacus* and their alpha-glucosidase inhibitory activities. *Zhong Yao Cai* **38**, 975-979.
37. Wong, Y. H., Tan, W. Y., Tan, C. P., Long, K. and Nyam, K. L. 2014. Cytotoxic activity of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) seed extract and oil against human cancer cell lines. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* **4**(Suppl 1), S510-515.
38. Yusri, N. M., Chan, K. W., Iqbal, S. and Ismail, M. 2012. Phenolic content and antioxidant activity of *Hibiscus cannabinus* L. seed extracts after sequential solvent extraction. *Molecules* **17**, 12612-12621.

초록 : 케나프 품종별 종자 추출물의 항혈전, 항산화, 항당뇨 활성의 비교

이윤진¹ · 강덕경¹ · 김지민¹ · 김영민² · 손호용^{1*}

(¹안동대학교 식품영양학과, ²㈜헵프앤알바이오)

케나프(*Hibiscus cannabinus* L.)는 척박한 건조 토양이나 습한 습지에서도 빠른 성장을 나타내어 섬유용, 제지용, 사료용, 식품용 및 환경 정화용 식물로 각광받고 있다. 국내에서는 전량 수입되어 온 케나프 종자를 대체하기 위해 국내 채종가능한 장대 품종이 최근 개발되어 재배되고 있으나 외국산 종자와 장대 종자의 생리활성 비교 평가는 이루어진 바 없다. 본 연구에서는 8종의 외국산 케나프 품종과 신품종 장대의 종자를 대상으로 에탄올 추출물을 제조하고 이들의 항혈전 활성, 항산화 활성 및 항당뇨 활성을 평가하였다. 케나프 종자 추출물의 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량을 분석한 결과, 장대 종자 추출물이 각각 14.4 mg/g 및 5.3 mg/g을 나타내어 외국산 품종의 종자 추출물보다 월등히 높은 함량을 보였다. 항혈전 활성평가를 위한 트롬빈 저해활성 측정에서는 IT 181215 및 IT 207877 종자 추출물에서 용매 대조구보다 1.92배 및 1.88배 증가된 thrombin time을 보였으며, 프로트롬빈 저해활성 평가에서는 홍마 종자 추출물을 제외한 모든 추출물에서 유사한 1.36~1.56배 증가된 prothrombin time을 보였다. 혈액응고인자 저해활성 평가에서는 IT 207886 종자 추출물에서 가장 강력한 3.04배 증가된 aPTT를 보였다. 장대 종자 추출물은 각각 1.46배, 1.38배, 2.37배 증가된 TT, PT, aPTT를 우수한 항혈전 활성을 보였다. 장대 종자 추출물은 ABTS 양이온 및 nitrite 소거능의 RC₅₀값이 0.48 및 0.27 mg/ml으로 외국산 종자 추출물보다 우수한 항산화 활성을 보였다. 또한, α-glucosidase 저해활성 측정에서 장대 및 IT 181215 종자 추출물은 0.5 mg/ml 농도에서 10.3~10.6%의 저해활성을 보여 다른 품종의 종자 추출물보다 우수하였다. 본 연구결과는 케나프 품종별 종자 추출물의 항혈전, 항산화 및 항당뇨 활성에 대한 최초 보고이며, 케나프 신품종 장대 종자를 이용한 고부가가치 생물소재 개발이 가능할 것으로 기대된다.