다양한 부위별 연 추출물의 항혈전 활성

안선미¹, 성화정¹, 김종식², 박종이³, 손호용^{1*}

¹안동대학교 식품영양학과

²안동대학교 생명과학과

³경북바이오 산업연구원

Received: May 27, 2018 / Revised: July 24, 2018 / Accepted: July 26, 2018

***In-vitro* Anti-thrombosis Activities of Different Parts of *Nelumbo nucifera* Gaertner**

Seon-Mi Ahn¹, Hwa-Jung Sung¹, Jong-Sik Kim², Jong-Yi Park³, and Ho-Yong Sohn^{1*}

¹Department of Food and Nutrition, ²Department of Biological Science, Andong National University, Andong 36729, Republic of Korea

³Gyeongbuk Institute for Bio-Industry, Andong 36728, Republic of Korea

To investigate the bio-activities of lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertner), ethanol extracts were prepared from different parts of lotus, including lotus root, node of root (NR), leaf, pod of seed (PS), seed (S), and embryo of seed (ES), respectively. Anti-thrombosis activities were evaluated. NR, S, and PS extracts displayed strong anti-coagulation activities, as evidenced by the inhibition of thrombin, prothrombin, and coagulation factors, respectively. NR, leaf, S, and PS extracts displayed strong platelet aggregation inhibitory activities. The aggregation inhibition of S and PS extract was comparable to that of aspirin. The extracts of NR, S, and PS did not show hemolysis activity up to 1.0 mg/ml.

Keywords: Anti-coagulation, anti-platelet aggregation, lotus, *Nelumbo nucifera* Gaertner

연(*Nelumbo nucifera* Gaertner)은 수련과(Nymphaeaceae)에 속하는 다년생 부엽성 초본 수생식물로 인도, 중국, 일본, 한국 및 시베리아 지역의 습지, 늪, 호수 및 연못 등에 분포한다[1, 2]. 연은 지상부의 연꽃, 연자방, 연자육, 연잎 및 지하부의 연근 및 우절 등으로 구분할 수 있으며(Fig. 1), 이 중 연꽃, 연잎 및 연근은 약용 및 식용으로 널리 사용되어 왔다[2, 3]. 특히 인도, 중국, 한국 등의 아시아 지역에서는 연잎으로 밥을 싸서 먹거나, 어린 잎 또는 어린 줄기를 다른 채소와 함께 샐러드나 피클로 만들어 먹기도 하며, 뿌리를 각종 요리의 재료로 다양하게 조리하여 스프, 튀김 등으로 섭취해 왔다[3]. 또한 연은 약초로서도 다양하게 활용되어 설사, 비정상적 출혈, 소화불량, 발열, 불면증에 대한 전통적인 민간요법 치료제로도 사용되어 왔으며, 완숙된 열매(연자육)는 양질의 단백질 및 유지 자원으로 활용되기도 하고, 간 보호, 면역력 증진, 진통 효과, 저혈당, 피부병 등의 치료에 이용되어 왔다[1, 2]. 한편 연은 진흙 속에서도 꽃을 피워 더러움에

도 물들지 않는 성스러운 꽃이라 하여 불교의 상징으로도 알려져 있다.

현재까지 연에 대한 연구는, 연근과 연잎에 관한 성분 및 활성에 대해 주로 이루어져 왔으며, 연근의 성분 분석[4], 항산화 활성[5, 6], 간 보호 효과[7] 및 식품 부재료 이용 연구[8, 9]가 알려져 있으며, 연잎의 항산화 활성[10], 항비만 및 지질조절 효과[11] 및 식품 부재료로 사용시 물성 및 기능성 개선 연구[12–14] 등이 보고되어 있다. 또한 생리활성 물질로는, 항산화 물질로 알려진 kaempferol과 quercetin, isoquercetin과 같은 flavonoids, tannic acid 등의 polyphenol 화합물, oligomeric procyanidine 등이 연잎[15, 16], 연꽃[17], 연근[18, 19] 및 연자육[20]에서 보고되어 있다. 그러나, 연자방, 연자육, 연자심 및 우절에 대한 연구는 초보적인 단계에 있으며, 항산화, 항균 활성 및 항염증 활성이 일부 보고[21–23]되어 있을 뿐, 민간에서 연의 주요 기능으로 알려진 혈행개선 효능에 대한 연구는 현재까지 이루어진 바 없다. 따라서, 본 연구에서는 연의 다양한 부위 중, 연근, 우절, 연잎, 연자방, 연자육 및 연자심으로부터 각각 ethanol 추출물을 제조하고, 이들의 성분 분석, 항혈전 활성 및 용혈활성을 검토하였다. 실험에 사용한 연은 2016년 경북 문경에서

***Corresponding author**

Tel: +82-54-820-5491, Fax: +82-54-820-7804

E-mail: hysohn@anu.ac.kr

© 2018, The Korean Society for Microbiology and Biotechnology

Fig. 1. Different parts of *Nelumbo nucifera* Gaertner used in this study.

재배한 연을 부위별로 구입하여 사용하였으며, ethanol 추출물 제조를 위해 이물질을 제거하고 수세한 연 시료에 10배의 95% ethanol (Daejung Chemicals & Metals Co., Ltd., Korea)을 가한 후 상온에서 24시간, 3회 반복 추출하였으며, 추출액은 filter paper (Whatsman No. 2)로 거른 후 감압 농축(Eyela Rotary evaporator N-1000, Tokyo Rikakikai Co., Ltd., Japan)하여 분말로 조제하였다. 각각의 추출 수율은 Table 1에 나타내었으며, 연잎, 연자육, 연자심, 연근, 연자방 및 우절 순으로 각각 9.3, 4.6, 2.6, 2.4, 2.3 및 1.3%의 추출효율을 나타내었다. 조제된 연 부위별 추출물의 총 폴리페놀(total polyphenol: TP) 함량 측정 결과, 연자방, 연자육 및 우절에서 각각 203.3, 203.7 및 103.7 mg/g으로 높은 함량을 나타내었으며, 연잎은 74.3 mg/g, 연자심과 연근은 각각 23.1 및 10.5 mg/g의 상대적으로 낮은 함량을 보였다. 한편 총 플라보노이드(total flavonoid: TF) 함량을 측정한 결과, 연잎에서 가장 높은 34.5 mg/g을 나타낸 반면, 우절 연자방, 연자육, 연자심은 13–20 mg/g으로 유사한 수준을 보였으며, 연근은 가장 낮은 5.0 mg/g으로 나타났다. 총당의 경우 연자육 > 연자방 > 연근 > 연잎 > 우절 > 연자심 순으로 높

은 함량을 나타내었으며, 환원당 함량은 연자육 = 연자심 > 우절 = 연잎 > 연근 > 연자심으로 나타났으며, 연근과 연자심은 각각 72.0 및 21.7 mg/g의 낮은 함량을 나타내었다. 이때 TP 및 TF 함량은 기존 보고와 동일하게 분석하였으며, 각각 tannic acid 및 rutin을 표준시약으로 각각 사용하였다[24]. 총당 및 환원당 정량은 각각 phenol-sulfuric acid 법 및 DNS 변법을 이용하였다[25]. 상기 결과는, 식용 및 약용으로 사용되고 있는 연근 및 연잎 이외의 부위도 신규의 생리활성 자원으로 이용 가능성을 제시하고 있다. 연 시료의 ethanol 추출물의 항혈전 활성은 혈액응고 저해활성과 혈소판 응집저해 활성을 각각 측정하여 평가하였다. 혈액응고 저해활성은 기존에 보고[26]된 thrombin time (TT), prothrombin time (PT) 및 activated partial thromboplastin time (aPTT)을 측정하였다. Fibrinogen을 fibrin polymer로 전환시키는 thrombin의 활성을 평가하는 TT는 37°C에서 0.5 U thrombin (Sigma Co., USA) 50 µl와 20 mM CaCl₂ 50 µl, 다양한 농도의 연 ethanol 추출물 10 µl를 Amelung coagulometer KC-1A (Amelung, Lemgo, Germany) 튜브에 혼합하여 2분간 반응시킨 후, 표준혈장(MD Pacific Technology Co., Ltd., Huayuan Industrial Area, China) 100 µl를 첨가한 후 혈장이 응고될 때까지의 시간을 측정하였다[27]. PT는 외인성 응고계(II, V, VII 및 X 인자)의 응고 활성을 종합적으로 측정하는 방법으로, 혈장 70 µl와 다양한 농도의 연 ethanol 추출물 10 µl를 coagulometer 튜브에 첨가하여 37°C에서 3분간 가온 후, 130 µl의 PT reagent (MD Pacific Technology Co., Ltd., Huayuan Industrial Area, China)를 첨가하고 혈장이 응고될 때까지의 시간을 측정하였다[26]. 한편 내인성 경로에 의한 혈액응고활성을 평가하는 aPTT 측정의 경우에는, 표준혈장 70 µl와 다양한 농도의 연 ethanol 추출물 10 µl를 coagulometer 튜브에 첨가하여 37°C에서 3분간 가온 후, 65 µl의 aPTT reagent (MD Pacific Technology Co., Ltd., Huayuan Industrial Area, China)를 첨가하고 다시 37°C에서 3분간 반응하였다. 이후 65 µl CaCl₂ (35 mM)을

Table 1. Yields of the ethanol extracts of the different parts of *Nelumbo nucifera* Gaertner and their components analysis.

Samples	Extraction yield (%)	Content (mg/g-extract or g-fraction)			
		Total polyphenol	Total flavonoid	Total sugar	Reducing sugar
Root	2.4	10.5 ± 0.8 ^a	5.0 ± 0.1 ^a	282.7 ± 10.8 ^d	72.0 ± 1.7 ^b
Node of root	1.3	103.7 ± 2.7 ^d	20.0 ± 7.2 ^b	183.5 ± 8.5 ^b	98.3 ± 9.1 ^c
Leaf	9.3	74.3 ± 0.1 ^c	34.5 ± 6.4 ^c	258.3 ± 5.0 ^c	95.7 ± 4.2 ^c
Pod of seed	2.3	203.3 ± 5.7 ^e	14.4 ± 0.1 ^b	385.5 ± 0.2 ^e	151.8 ± 10.9 ^d
Seed	4.6	203.7 ± 3.5 ^e	14.2 ± 1.2 ^b	443.5 ± 5.8 ^f	155.2 ± 6.0 ^d
Embryo of seed	2.6	23.1 ± 0.4 ^b	13.0 ± 0.9 ^b	168.0 ± 11.7 ^a	21.7 ± 1.9 ^a

Data are presented as the mean ± SD of three determinations.

Different superscripts within a column differ significantly ($p < 0.05$).

Table 2. Anti-coagulation activities of the ethanol extracts of different parts of *Nelumbo nucifera* Gaertner.

Samples/Chemicals	Conc. (mg/ml)	Anti-coagulation activity ¹⁾		
		TT	PT	aPTT
DMSO	-	1.00 ± 0.02 ^a	1.00 ± 0.04 ^b	1.00 ± 0.05 ^a
Aspirin	5.0	>15.0 ^f	>15.0 ^e	>15.0 ^f
	1.5	1.38 ± 0.03 ^c	1.29 ± 0.00 ^d	1.49 ± 0.11 ^e
Root	5.0	1.02 ± 0.05 ^a	1.14 ± 0.08 ^c	1.33 ± 0.01 ^d
	5.0	>15.0 ^f	>15.0 ^e	>15.0 ^f
Node of root	2.5	>15.0 ^f	>15.0 ^e	>15.0 ^f
	1.25	3.51 ± 0.11 ^d	1.05 ± 0.08 ^b	1.38 ± 0.02 ^d
Leaf	5.0	1.20 ± 0.06 ^b	0.88 ± 0.03 ^b	1.17 ± 0.07 ^c
	5.0	>15.0 ^f	>15.0 ^e	>15.0 ^f
Pod of seed	2.5	>15.0 ^f	>15.0 ^e	>15.0 ^f
	1.25	>15.0 ^f	>15.0 ^e	>15.0 ^f
	0.625	4.43 ± 0.27 ^e	>15.0 ^e	>15.0 ^f
	5.0	>15.0 ^f	>15.0 ^e	>15.0 ^f
Seed	2.5	>15.0 ^f	>15.0 ^e	>15.0 ^f
	1.25	>15.0 ^f	>15.0 ^e	>15.0 ^f
	0.625	3.43 ± 0.09 ^d	0.85 ± 0.05 ^a	1.14 ± 0.06 ^{bc}
Embryo of seed	5.0	1.37 ± 0.10 ^c	1.00 ± 0.04 ^b	1.09 ± 0.04 ^b

¹⁾Anti-coagulation activity is 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 (dimethylsulfoxide) were 36.7 sec, 20.4 sec and 103.95 sec, respectively. Data are means ± SD of triplicate determinations.

²⁾a,b,c,d: Data are presented as the mean ± SD of three determinations.

Different superscripts within a column differ significantly ($p < 0.05$).

첨가한 후 혈장이 응고될 때까지의 시간을 측정하였다[28]. TT, PT 및 aPTT 측정결과는 각각 3회 이상 반복한 연 시료 첨가구 실험의 응고시간 평균치를 용매 대조구인 DMSO의 응고시간 평균치의 비로 나타내었다[26, 28]. 실험 결과는 SPSS 24.0 버전을 사용하여 mean ± SD, 각 군간의 차이는 ANOVA로 분석하였으며, Duncan 다중비교 검증법으로 통계적 유의성 검정을 조사하였으며, 유의수준은 $p < 0.05$ 로 하였다. 먼저 대조구로 사용된 aspirin은 1.5 mg/ml 농도에서도 양호한 항응고 활성을 나타내었으며, 5 mg/ml 농도에서는 TT, PT, aPTT 모두를 15배 이상 연장시킴을 확인하였다. 부위별 연 추출물의 혈액응고 저해활성 분석결과, 연근, 연잎 및 연자심 추출물은 항응고 활성이 인정되지 않았으며, 우절, 연자방 및 연자육에서는 강력한 TT, PT, aPTT 연장효과를 나타내었고, aspirin 보다 강력한 항응고 활성을 나타내었다. 특히 연자방 및 연자육의 ethanol 추출물은 1.25 mg/ml 농도에서도 15배 이상 연장된 TT, PT, aPTT를 나타내어 우절 추출물보다 강력하였다(Table 2). 이러한 결과는 연자방, 연자육 및 우절 추출물이 기존의 항응고 활성이 보고된 흑마늘[26], 아로니아, 포도씨[27] 및 마가목 열매[28]보다 우수한 항응고 활성을 나타냄을 의미하며, 상기 추출물

을 이용한 항응고제 개발이 가능함을 제시하고 있다. 다양한 부위의 연 추출물을 대상으로 기존의 보고된 방법과 동일하게 인간 혈소판 응집 저해활성을 평가하였으며, 그 결과는 Table 3에 나타내었다. 혈소판 응집저해 활성은 Whole Blood Aggregometer (Chrono-log, USA)를 사용해 37℃에서 측정하였으며, 미세전극에 혈소판이 부착되어 응집됨에 따라 발생하는 전기 저항값의 변화를 측정하는 impedance 법을 사용하여 평가하였다[28, 29]. 상세하게는 인간 농축 혈소판 (platelet rich plasma: PRP)을 전처리 및 수세[28]한 후 최종 혈소판 농도가 $5 \times 10^8/\text{ml}$ 이 되도록 조정하여 사용하였으며, 10 mM CaCl_2 50 μl , suspending buffer 147.5 μl , 다양한 부위의 연 추출물 5 μl 가 포함된 반응 cuvette에 혈소판 50 μl 를 넣은 후 3분 동안 37℃로 가온 후 응집유도제로 collagen (1 mg/ml)을 2.5 μl 를 넣고 혈소판 응집을 측정하였다. 응집반응은 collagen 첨가 후 12분간 측정하였으며 amplitude, slope, area under를 측정하여 평가하였다[28]. 이때, amplitude (ohm)는 혈소판에 응집유도제를 첨가하였을 때 일어나는 최대 응집정도를 나타내며, slope는 응집유도제를 첨가한 직후부터 1분 동안의 응집곡선의 기울기를 나타내며, lag time은 응집유도제 첨가 이후 응집이 나타날 때

Table 3. Platelet aggregation inhibitory activities of the ethanol extracts of different parts of *Nelumbo nucifera* Gaertner.

Samples/Chemicals	Conc. (μg/ml)	Amplitude (Ω)	Slope (Ω/min)	Lag time (sec)	Area under	PAR ¹⁾ (%)
DMSO	-	17	2	69	103.8	106.9
	-	14	4	46	90.4	93.1
Aspirin	250	5	1	157	23.1	18.0
	125	6	1	50	39.5	30.8
Root	250	27	16	3	288.4	297.0
Node of root	250	7	4	16	67.6	69.6
	125	16	2	7	112.9	116.3
Leaf	250	6	2	16	54.1	41.7
	125	27	7	5	259.4	200.1
Pod of seed	250	2	0	52	18	13.9
	125	10	2	13	69	53.2
Seed	250	3	2	25	21.4	16.5
	125	15	2	4	106.1	81.8
Embryo of seed	250	16	4	18	142.5	106.8

¹⁾PAR: Platelet aggregation ratio. Data are presented as a 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. Lag time is expressed as delayed time for platelet aggregation after addition of collagen. Area under curve is a calculated area in descent drawing during platelet aggregation.

까지의 지체시간을 나타내며, area under는 전체적인 혈소판 응집 정도를 표시하는 것으로 전기저항 증가에 따른 slope 곡선의 하강면적을 의미한다[30]. 최종 혈소판 응집 활성은 DMSO를 첨가한 대조구와 연 추출물 시료를 첨가한 실험구의 area under 값의 비를 백분율로 나타내었다. 먼저, 대조구로 사용된 혈소판 응집저해제인 아스피린은 0.25 mg/ml 농도에서 무첨가구에 비해 18.0%의 응집율, 0.125 mg/ml 농도에서 30.8%의 응집율을 나타내어 농도의존적인 혈소판 응집저해 활성을 나타내었다(Table 3). 이후 부위별 연의 ethanol 추출물을 0.25 mg/ml 농도에서 혈소판 응집에 미치는 영향을 분석한 결과, 연근 추출물은 오히려 응집촉진 효과를 나타내었으며, 연자심 추출물은 영향이 없었으며, 우절, 연잎, 연자방, 연자육 추출물은 응집저해 효과를 나타내었다. 강력한 응집저해는 연자방과 연자육에서 나타났으며, 이는 아스피린에 필적하는 강력한 활성이었다. 특이한 현상은 연잎 추출물에서 나타난 바, 0.125 mg/ml 농도에서는 오히려 혈소판 응집촉진활성이 나타났다. 이는 연잎 추출물의 경우 다양한 응집촉진 및 응집저해 물질이 상존하는 것으로 이해되며, 농도에 따라 상이한 효과가 나타날 수 있음을 의미한다. 실제 민간에서 연근과 연잎을 지혈제로 사용해 온 바, 이에 대한 연구는 차후 활성물질의 분리 등을 통해 진행되어야 할 것으로 판단된다. 한편 우절, 연자방, 연자육의 항혈전제로서의 실제적 이용 가능성 검토를 위해 인간 적혈구에 대한 용혈활성을 기존에 보고한 방법[28]으로 평가한 결과, 상기 ethanol 추출물은 1.0 mg/ml 농도까지 전혀 용혈활성을 나

타내지 않음을 확인하였다. 본 연구결과는 우절, 연자방 및 연자육의 에탄올 추출물이 위장장애 등의 부작용을 나타내는 아스피린을 대체할 수 있는 신규의 항혈전제로 사용 가능함을 제시하고 있다.

요 약

연(*Nelumbo nucifera* Gaertner)으로부터 신규의 유용 생리활성을 확인하기 위해, 연잎, 연자방, 연자육, 연자심, 우절 및 연근으로부터 각각 ethanol 추출물을 제조하고, 현재까지 보고되지 않은 항혈전 활성을 평가하였다. 그 결과, 연근, 연잎 및 연자심 추출물은 항응고 활성이 인정되지 않았으나, 우절, 연자방 및 연자육 추출물에서는 강력한 TT, PT, aPTT 연장효과를 나타내었으며, aspirin 보다 강력한 항응고 활성을 나타내었다. 또한 혈소판 응집저해 활성 평가 결과, 우절, 연잎, 연자방, 연자육 추출물에서 응집저해가 나타났다. 가장 강력한 응집저해는 연자방과 연자육에서 확인된 바, 이는 아스피린에 필적하는 강력한 활성이었다. 상기 활성 추출물은 1.0 mg/ml 농도까지 인간 적혈구 용혈활성이 없음을 확인하여, 우절, 연자방 및 연자육 추출물이 신규의 항혈전제로 사용 가능함을 제시하였다.

Acknowledgments

This work (Grant No. N0001805) was supported by Biotherapy

Industry Base Construction Project from Ministry of Trade, Industry and Energy (MTIE) in 2017.

Conflict of Interest

The authors have no financial conflicts of interest to declare.

References

- Asokan SM, Maraippan R, Muthusamy S, Velmurugan BK. 2018. Pharmacological benefits of neferine – A comprehensive review. *Life Sci.* **199**: 60-70.
- Lee KW, Kim YH, Shin KO. 2017. In vitro antioxidant activities and antimicrobial activity of lotus (leaf, stem, and seed pod) extracts. *Korean J. Food Nutr.* **30**: 771-779.
- Park SH, Hyun JS, Shin EH, Han JH. 2005. Functional evaluation of lotus root on serum lipid profile and health improvement. *J. East Asian Soc. Dietary Life.* **15**: 257-263.
- Bae MJ, Kim SJ, Ye EJ, Nam HS, Park EM. 2008. Study on the chemical composition of lotus root and functional evaluation of fermented lotus root drink. *J. Korean Soc. Food Cul.* **23**: 222-227.
- Kim OK. 2014. Ethanol effect of *Nelumbo nucifera* root on carbohydrate metabolism related enzyme activities and antioxidative effect in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Korean Oil Chem. Soc.* **31**: 509-516.
- Lee JJ, Ha JO, Lee MY. 2007. Antioxidative activity of lotus root (*Nelumbo nucifera* G.) extracts. *J. Life Sci.* **17**: 1237-1243.
- Lee JJ, Park SY, Lee YM, Lee MY. 2006. Protective effects of lotus root (*Nelumbo nucifera* G.) extract on hepatic injury induced by alcohol in rats. *Korean J. Food Preserv.* **13**: 774-782.
- Choi YJ, Park HS, Park KS, Lee KS, Moon YH, Kim MJ, et al. 2012. Quality characteristics of pork patty containing lotus root and leaf powder. *J. East Asian Soc. Dietary Life.* **22**: 33-40.
- Yu HH. 2016. Quality characteristics and antioxidant activity of soymilk added with *Nelumbo nucifera* root powder. *Korean J. Human Eco.* **25**: 239-249.
- Yoo DH, Joo DH, Lee SY, Lee JY. 2015. Antioxidant effect of *Nelumbo nucifera* G. leaf extract and inhibition of MITF, TRP-1, TRP-2, and tyrosinase expression in a B16F10 melanoma cell line. *J. Life Sci.* **25**: 1115-1123.
- Lee KS, Lee KY. 2011. Effect of lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf extract on serum and liver lipid levels of rats fed a high fat diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **40**: 1544-1547.
- Kim IH. 2014. Quality characteristics of domestic wheat white bread added with lotus leaf and root powder. *J. Agri. Life Soc.* **48**: 365-373.
- Lee KS, Kim JN, Jung IC. 2012. Quality characteristics and palatability of ground pork meat containing lotus leaf and root extracts. *J. East Asian Soc. Dietary Life.* **22**: 851-859.
- Shin YJ. 2007. Quality characteristics of fish paste containing lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf powder. *Korean J. Food Cookery Sci.* **23**: 947-953.
- Kim SB, Rho SB, Rhyu DY, Kim DW. 2005. Effect of *Nelumbo nucifera* leaves on hyperlipidemic and atherosclerotic bio F1B hamster. *Korean J. Pharmacogn.* **36**: 229-234.
- Lee KS, Kim MG, Lee KY. 2006. Antioxidative activity of ethanol extract from lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **35**: 182-185.
- Quan JQ. 2002. Cardiovascular pharmacological effects of bibenzylisoquinoline alkaloid derivatives. *Acta. Pharmacol. Sin.* **23**: 1086-1092.
- Cho EJ, Yokozawa T, Rhyu DY, Kim SC, Shibahara N, Park JC. 2003. Study on the inhibitory effects of Korean medicinal plants and their main compounds on the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Phytomedicine* **10**: 544-551.
- Hu MH, Skibsted LH. 2002. Antioxidative capacity of rhizome extract and rhizome knot extract of edible lotus (*Nelumbo nucifera*). *Food Chem.* **76**: 327-333.
- Ling ZQ, Xie BJ, Yang EL. 2005. Isolation, characterization, and determination of antioxidative oligomeric procyanidins from the seedpod of *Nelumbo nucifera* Gaertn. *J. Agric. Food Chem.* **53**: 2441-2445.
- Park JH, Lee BG, Byun GI, Kim DW. 2010. Antioxidant activities and inhibitory effect on oxidative DNA damage of *Nelumbinis Semen* extracts. *Korean J. Herbol.* **25**: 55-59.
- Jang YA, Park SH, Kim BA, Park JY, Jeong YO, Lee JT. 2017. Effect of ethanol extract of *Lotus rhizome* and node of *Lotus rhizome*. *J. Oil. Appl. Sci.* **34**: 657-665.
- Kim YG, Kwon MJ, Cho SI. 2005. Effect of nodus *Nelumbinis rhizomatis* extract on the regulation of regional cerebral blood flow in rats. *Korean J. Herbol.* **20**: 75-81.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* **299**: 152-178.
- Valentina U, Fabric J, Stampar F. 2007. Sugars, organic acids, phenolic composition and antioxidant activity of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Food Chem.* **107**: 185-192.
- Jung IC, Sohn HY. 2014. Antioxidation, antimicrobial and anti-thrombosis activities of aged black garlic (*Allium sativum* L.). *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **42**: 285-292.
- Bijak M, Bobrowski M, Borowiecka M, Podsedek A. 2011. Anticoagulant effect of polyphenols-rich extracts from black chokeberry and grape seeds. *Fitoterapia* **82**: 811-817.
- Kim MS, Sohn HY. 2015. Anti-coagulation and anti-platelet aggregation activity of the mature fruit of *Sorbus commixa*. *Microbiol. Biotechnol. Lett.* **43**: 373-377.
- Chen H, Qi X, He C, Yin Z, Fan D, Han G. 2013. Coagulation imbalance may not contribute to the development of portal vein thrombosis in patients with cirrhosis. *Thromb. Res.* **131**: 173-177.
- Sweeney JD, Hoerning LA, Behrens AN, Novak E, Swank RT. 1990. Thrombocytopenia after desmopressin but absence of *in-vitro* hypersensitivity to ristocetin. *Am. J. Clin. Pathol.* **93**: 522-525.