

## 식용식물자원에서부터 활성물질의 탐색 -XII. 꽃마리 (*Trigonotis peduncularis* Benth.)로부터 Flavonol 배당체의 분리 및 hACAT1 저해활성

양혜정 · 송명종 · 방면호 · 이진희 · 정인식 · 이윤형 · 정태숙<sup>1</sup> ·  
권병목<sup>1</sup> · 김성훈<sup>2</sup> · 김대근<sup>3</sup> · 박미현<sup>4</sup> · 백남인\*

경희대학교 생명공학원 및 식물대사연구센터, <sup>1</sup>한국생명공학연구원,  
<sup>2</sup>경희대학교 동서의학대학원, <sup>3</sup>우석대학교 약학대학, <sup>4</sup>(주)이룸라이프

## Development of Biologically Active Compounds from Edible Plant Sources-XII. Flavonol Glycosides from *Trigonotis peduncularis* Benth and its hACAT1 Inhibitory Activity

Hye-Joung Yang, Myoung-Chong Song, Myun-Ho Bang, Jin-Hee Lee, In-Sik Chung,  
Youn-Hyung Lee, Tae-Sook Jeong<sup>1</sup>, Byoung-Mog Kwon<sup>1</sup>, Sung-Hoon Kim<sup>2</sup>,  
Dae-Keun Kim<sup>3</sup>, Mi-Hyun Park<sup>4</sup> and Nam-In Baek\*

Graduate School of Biotechnology & Plant Metabolism Research Center, KyungHee University, Suwon 449-701, Korea

<sup>1</sup>Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Daejeon 305-333, Korea

<sup>2</sup>Graduate School of East-West Medical Science, KyungHee University, Suwon 449-701, Korea

<sup>3</sup>Department of Pharmacy, Woosuk University, Jeonju, 565-701; <sup>4</sup>Erom Life Co. Ltd., Seoul 135-825, Korea

Received September 24, 2004; Accepted February 14, 2005

The MeOH extracts obtained from whole plant of *Trigonotis peduncularis* Benth. were solvent fractionated using EtOAc, *n*-BuOH and water, successively. The EtOAc and *n*-BuOH fractions gave four flavonol glycosides through application of silica gel and octadecyl silica gel (ODS) column chromatographies. The chemical structures of the flavonol glycosides were determined by the interpretation of several spectral data including 2D-NMR as kaempferol-3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (astragalín, 1), kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl (1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside (nicotiflorin, 2), quercetin-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside (rutin, 3), quercetin-3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (isoquercitrin, 4). The flavonoids have been first isolated from this plant. Nicotiflorin (100  $\mu$ g/ml) showed 68.3 $\pm$ 1.2% of the inhibitory effect on hACAT1(human Acyl CoA: cholesterol transferase 1) activity.

**Key words:** *Trigonotis peduncularis*, flavonol glycoside, astragalín, nicotiflorin, rutin, isoquercitrin, hACAT1

### 서 론

꽃마리(*Trigonotis peduncularis* Benth.)는 지치과(Boraginaceae)에 속하는 일년생 초본식물로써, 한국 전역의 들이나 밭에 주로 자생하고 있으며, 아시아 전역에 널리 분포하는 것으로 알려져 있다. 개화기는 4~7월이며, 꽃은 하늘색을 띄고, 초장은 10~30 cm에 달하며 전체에 짧은 털이 있다. 한방에서는 그 전초를 부지채(附地菜)라고 하며, 효능으로는 유뇨(遺尿), 적백리(赤白痢), 발배(發背), 진통(鎮痛), 열종(熱腫), 수족마비(手足癱痺), 늑막염(肋膜炎), 감기에 치료 효과가 있는 것으로 알려져 왔고,<sup>1)</sup> 어린순은 나물로 먹기도 한다. 지금까지 꽃마리로부터 geranol,

linalool,  $\alpha$ -terpineol 등의 monoterpene 화합물 정도가 분리, 보고<sup>2)</sup>되어 있을 뿐, 꽃마리에 대한 식물화학적 연구나 생리활성에 관한 연구는 보고된 바가 없다. 따라서, 본 연구는 꽃마리로부터 활성이 기대되는 이차대사산물을 분리·동정하고자 실시하였다. 본 논문에서는 꽃마리에서 kaempferol을 골격으로 하는 flavonol 배당체인 astragalín, nicotiflorin 2종과 quercetin 골격의 flavonol 배당체인 isoquercitrin, rutin 2종을 분리, 동정하였다. 이 flavonoid 화합물은 저자 등이 꽃마리로부터 처음으로 분리하였고, 각 flavonoid에 대하여 hACAT1에 대한 활성을 측정함으로써, 활성 물질인 flavonoid를 함유한 꽃마리의 식물자원으로써의 가치를 재평가하였기에, 그 결과를 보고하고자 한다.

\*Corresponding author

Phone: 82-31-201-2661; Fax: 82-31-201-2157

E-mail: nibaek@khu.ac.kr

재료 및 방법

**실험재료.** 본 실험에 사용한 꽃마리(*Trigonotis peduncularis* Benth.)는 2003년 4월 말 경기도 수원 경희대학교 주위의 산야에서 채취하였고, 우석대학교 김대근 교수가 동정하였다(KHU 0347).

**시약 및 기기.** Column chromatography(c.c.)용 silica gel은 Merck(Germany)사에서 생산한 silica gel 60(63~200 μm)를 사용하였고, octadecyl silica gel(ODS)은 Merck사에서 생산한 Lichroprep RP-18(40~63 μm)을 사용하였다. Thin layer chromatography(TLC)는 Merck사에서 생산한 silica gel 60 F<sub>254</sub>를 사용하였고, octadecyl silica gel TLC는 Merck사에서 생산한 DC-Fertigplatten RP-18 F<sub>254S</sub>를 사용하였다.

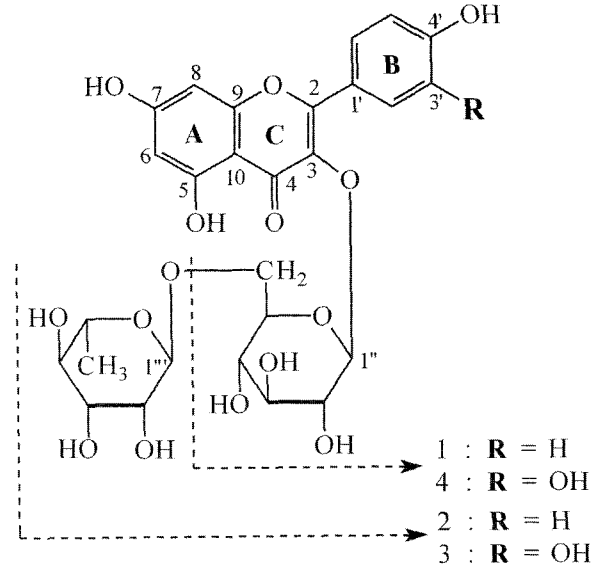
hACAT1의 활성 측정을 위해 사용한 [1-<sup>14</sup>C] oleoyl-CoA(56 μCi/μmol)는 Amersham Biosciences Korea Ltd.에서 구입하여 사용하였으며, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, dithiothreitol, bovine serum albumin (fatty acid free) 등은 Sigma-Aldrich Korea Ltd.에서 구입하여 사용하였다.

NMR은 400 MHz FT-NMR spectrometer(Varian Inova AS 400, Varian, USA)로 측정하였고, IR spectrum은 Perkin model 599B(Perkin-Elmer, USA)로 측정하였으며, 비선광도는 Polarimeter P-1020(JASCO, Japan)으로, FAB/MS는 JMSAX 505-WA(JEOL, Japan)를 사용하여 측정하였다. 용접은 Fisher-Johns 용접측정기(Fisher Scientific, USA)를 사용하여 측정하였으며, 미보정하였다.

**꽃마리의 용매 추출 및 분획.** 꽃마리 생체 9kg을 먼저 약 2 cm 정도의 크기로 잘라서, 80% MeOH 수용액(18 l)에 24시간 담가서 실온에서 추출하였다. 추출물을 여과하고, 남은 것은 동일한 방법으로 1회 더 추출하였다. 얻어진 여액을 모두 합쳐 감압/농축하여 MeOH 추출물을 얻었다. 얻어진 MeOH 추출물을 EtOAc(2 l × 2)/H<sub>2</sub>O(2 l)로 분배 추출하였고, 다시 H<sub>2</sub>O층을 n-BuOH(2 l × 2)/H<sub>2</sub>O(2.5 l)로 분배 추출하였다. 각층을 감압/농축하여, EtOAc 분획(TPE, 29 g)과 n-BuOH 분획(TPB, 31 g)과 H<sub>2</sub>O 분획을 얻었다.

EtOAc분획(29 g)으로부터 silica gel c.c.(n-hexane-EtOAc = 10 : 1 → 5 : 1 → 3 : 1 → 1 : 1 → CHCl<sub>3</sub>-MeOH = 10 : 1 → 5 : 1 → 3 : 1 → 1 : 1)를 실시하여 분획하였고, 이 분획을 TLC로 확인하여 유사한 것끼리 모아 9개의 분획(TPE-1~TPE-9)으로 나누었다. 그 중에서 TPE-8 분획(3.1 g)에 대하여 silica gel c.c.(CHCl<sub>3</sub>-MeOH = 5 : 1)를 실시하여 15개의 분획(TPB-8-1~TPB-8-15)으로 나누었고, 이 중에서 TPE-8-8(545 mg)분획을 다시 silica gel c.c.(EtOAc-n-BuOH-H<sub>2</sub>O = 10 : 1 : 1)를 실시하여 화합물 1(33 mg, astragalín)을 분리하였다.

**화합물 1(astragalín):** Yellow powder(MeOH-H<sub>2</sub>O); m.p. 178-180°C; [α]<sub>D</sub> = +16.0°(c = 1.1, MeOH); pos. FAB/MS m/z: 471[M+1]<sup>+</sup>, 449, 287; IR(KBr, ν) 3348, 2925, 2360, 1655, 1608, 1500 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ) 8.41(2H, dd, J = 9.2, 1.6 Hz, H-2',6'), 7.17(2H, dd, J = 9.2, 1.6 Hz, H-3',5'), 6.68(1H × 2, d, J = 1.6 Hz, H-6, H-8), 6.29(1H, d, J = 7.2 Hz, H-1''); <sup>13</sup>C-NMR(100 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ) (Table 1).



**Fig. 1.** Chemical structures of flavonol glycosides from the whole plants of *Trigonotis peduncularis* Benth.

n-BuOH분획(31 g)에 대하여 silica gel c.c.(CHCl<sub>3</sub>-MeOH = 10 : 1 → CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O = 15 : 3 : 1 → 10 : 3 : 1 → 7 : 3 : 1 → 65 : 35 : 10 → 6 : 4 : 1 → 6 : 5 : 1)를 실시하여 분획하였고, 이 분획을 TLC로 확인하여 유사한 것끼리 모아 12개의 분획(TPB-1~TPB-12)으로 나누었다. 그 중에서 TPB-7 분획(3.6 g)에 대하여 silica gel c.c.(CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O = 9 : 3 : 1)를 실시하여 20개의 분획(TPB-7-1~TPB-7-20)으로 나누었고, 이 중에서 TPB-7-11(530 mg)분획을 다시 silica gel c.c.(CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O = 9 : 3 : 1)를 실시하여 화합물 2(80 mg, nicotiflorin)을 분리하였다.

**화합물 2(nicotiflorin):** Yellow powder(MeOH-H<sub>2</sub>O); m.p. 168-170°C; [α]<sub>D</sub> = -14.9°(c = 1.3, MeOH); pos. FAB/MS m/z: 617[M+1]<sup>+</sup>, 595, 449, 287; IR(KBr, ν) 3364, 2935, 2362, 1654, 1608, 1605, 1510 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ) 8.03(2H, d, J = 8.8 Hz, H-2',6'), 6.87(2H, J = 8.8 Hz, H-3',5'), 6.33(1H, br. s, H-6), 6.16(1H, br. s, H-8), 5.16(1H, d, J = 7.6 Hz, H-1''), 4.52(1H, br. s, H-1''), 1.13(3H, d, J = 6.4 Hz Rhm-6); <sup>13</sup>C-NMR(100 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ) (Table 1).

TPB-8 분획(6.7 g)에 대하여 silica gel c.c.(EtOAc-n-BuOH-H<sub>2</sub>O = 5 : 4 : 1)를 실시하여 16개의 분획(TPB-8-1~TPB-8-16)으로 나누었고, 이 중에서 TPB-8-5(2 g)분획을 다시 silica gel c.c.(CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O = 9 : 3 : 1)를 실시하여 화합물 3(169 mg, rutin)을 분리하였다.

**화합물 3(rutin):** Yellow powder(MeOH-H<sub>2</sub>O); m.p. 210-212°C; [α]<sub>D</sub> = -8.8°(c = 1.4, MeOH); pos. FAB/MS m/z: 633 [M+1]<sup>+</sup>, 611, 465, 303; IR(KBr, ν) 3410, 2935, 1658, 1560, 1502 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ) 7.66(1H, d, J = 1.6 Hz, H-2'), 7.62(1H, dd, J = 8.4, 1.6 Hz, H-6'), 6.85(1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 6.38(1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 6.19(1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 5.08(1H, d, J = 7.6 Hz, H-1''), 4.51(1H, br. s, H-1''), 1.11(3H, d, J = 6.4 Hz Rhm-6); <sup>13</sup>C-NMR(100 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ) (Table 1).

Table 1.  $^{13}\text{C}$ -NMR data (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) of flavonol glycosides from the whole plants of *Trigonotis peduncularis* Benth

No. of Carbon	Compound 1	Compound 2	Compound 3	Compound 4
2	157.22	158.27	159.15	158.80
3	136.01	135.32	135.47	135.43
4	178.64	178.83	179.17	179.24
5	162.72	162.59	162.77	162.84
6	99.90	100.35	99.93	99.82
7	166.00	166.78	165.96	165.92
8	94.61	95.13	94.84	94.62
9	157.54	159.01	158.32	158.27
10	105.20	105.20	105.48	105.54
1'	121.93	122.51	123.98	123.06
2'	131.88	132.19	117.58	115.86
3'	116.00	115.99	145.66	145.74
4'	161.61	161.20	149.65	149.69
5'	116.00	115.99	116.95	117.39
6'	131.88	132.19	123.45	122.89
1''	104.01	104.71	104.66	104.16
2''	78.64	75.62	75.66	75.64
3''	79.13	77.98	78.10	78.32
4''	71.57	71.28	73.87	71.12
5''	76.10	69.62	77.13	78.02
6''	62.61	68.51	68.52	62.46
1'''		102.23	102.93	
2'''		71.93	72.18	
3'''		72.20	71.33	
4'''		73.80	72.05	
5'''		69.62	69.66	
6'''		17.93	17.93	

TPB-9 분획(6 g)에 대하여 ODS c.c.(MeOH-H<sub>2</sub>O = 1 : 5)를 실시하여 27개의 분획(TPB-9-1~TPB-9-27)으로 나누었고, 이 중에서 TPB-9-20(227 mg)분획을 다시 silica gel c.c.(CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O = 9 : 3 : 1)를 실시하여 화합물 4(8.8 mg, isoquercitrin)을 분리하였다.

화합물 4(isoquercitrin): Yellow powder(MeOH-H<sub>2</sub>O); m.p. 230-232°C;  $[\alpha]_D^{25} = -12.5^\circ$  (c = 0.9, MeOH); pos. FAB/MS *m/z*: 487[M+1]<sup>+</sup>, 465, 325, 303; IR(KBr, v) 3388, 2945, 2350, 1656, 1608, 1505 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta$ ) 7.72 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 7.6(1H, dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, H-6), 6.86(1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 6.38(1H, br. s, H-8), 6.19(1H, br. s, H-6), 5.2(1H, d, *J* = 7.2 Hz, H-1''); <sup>13</sup>C-NMR(100 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta$ ) (Table 1).

**hACAT1 단백질원의 생산.** hACAT1 단백질원은 human liver cDNA library로부터 hACAT1과 hACAT2 cDNA를 cloning하여, baculovirus로 expression하였다. Sf9 cell을 이용하여 recombinant virus를 얻었고, 이렇게 얻은 recombinant virus를 Hi5 cell에 infection하여 단백질을 얻었다<sup>3)</sup>. 결정된 MOI에 따라 재조합 바이러스를 건강하게 배양된 Hi5 세포(500 ml, 1.5 × 10<sup>6</sup> cell/ml)에 처리하고, 27°C에서 96시간 동안 배양플라스크(2 l spinner flask)를 80 rpm으로 교반하면서, 바이러스의 증식과 단백질의 대량생산을 유도한다. 배양 후 원심분리(1,000 × g)를 통해 Hi5 세포주를 회수하고, hypotonic buffer(40 mM phosphate/0.1 M sucrose/50 mM KCl/30 mM EDTA, pH 7.2)를 처리하여 급속

동결과 해동(Freezing & Thawing)의 방법으로 세포막을 부수어 단백질을 노출시키고, 1시간 동안 초원심분리(100,000 × g)하여 얻은 microsome을 분취한 후 -80°C 냉동고에 보관하면서 사용한다.

**ACAT1의 활성 측정.** ACAT 활성의 측정은 [1-<sup>14</sup>C] oleoyl-CoA를 기질로 하여 Brecher & Chan<sup>4)</sup>의 방법을 일부 수정하여 사용하였다. 10  $\mu$ l 시험물질액, 4.0  $\mu$ l microsomal enzyme, 20.0  $\mu$ l assay buffer(0.5 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 10 mM DTT, pH 7.4), 40 mg/ml BSA (지방산이 제거된 것, Sigma A6003) 15.0  $\mu$ l, 20 mg/ml cholesterol 2.0  $\mu$ l, 41.0  $\mu$ l H<sub>2</sub>O를 가하여 37°C에서 15분간 예비반응시켰다. 이 반응액에 [1-<sup>14</sup>C] oleoyl-CoA 8  $\mu$ l (0.05  $\mu$ Ci, 최종농도 10  $\mu$ M)를 첨가하여 다시 37°C에서 15분간 반응시킨 후 isopropanol-heptane(4 : 1, v/v) 1 ml를 가하여 반응을 정지시키고, heptane 0.6 ml와 5배로 희석한 assay buffer 0.4 ml를 첨가한 후 원심분리를 행한다. 효소활성의 측정은 원심분리하여 얻은 상층액 100  $\mu$ l에 cocktail(Lipoluma, Lumac Co.) 4 ml를 첨가한 후 liquid scintillation counter(1450 Microbeta, Trilux Wallac Oy, Finland)를 이용하여 생성된 [1-<sup>14</sup>C] cholesteryl ester의 radioactivity를 측정한다.

## 결 론

화합물 1은 TLC 확인 시, UV(254/365 nm)에서 강한 UV 흡수를 보였으며, 10% 황산 발색 시, 황색으로 발색되었다. 또

한  $^1\text{H-NMR}$  spectrum을 보면 aromatic proton과 당에서 기인하는 hemiacetal signal, 다수의 oxygenated methine 및 methylene signal이 관측되어 이 화합물은 flavonoid 배당체임을 예측할 수 있었다. Flavonoid B환의  $\delta_{\text{H}}$  8.41(2H, dd,  $J=9.2, 1.6$  Hz)와  $\delta_{\text{H}}$  7.17(2H, dd,  $J=9.2, 1.6$  Hz) signal로부터 kaempferol 골격을 갖는 것으로 추정되었으며, A환의  $\delta_{\text{H}}$  6.68(2H, d,  $J=1.6$  Hz) signal에서 H-8과 H-6이 meta coupling하는 것을 알 수 있었다. 1개의 anomeric proton  $\delta_{\text{H}}$  6.29(d,  $J=7.2$  Hz) 및 당분자 signal들이 관측되어 당 1분자가 결합한 배당체임을 알 수 있었다.  $^{13}\text{C-NMR}$ 에서도 aglycone은 kaempferol에 해당하는 chemical shift의 signal들을 보였으며, 당은 chemical shift로부터 D-glucopyranose로 판명되었다. 그리고, anomeric proton의 coupling constant값이 7.2 Hz인 점으로부터 D-glucopyranose가  $\beta$  결합하고 있음을 알 수 있었다. 또한, 당의 결합위치는 gHSQC, gHMBC 등의 2D-NMR을 측정하여 확인하였다. 이를 종합하여 화합물 1은 astragalinal (kaempferol-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside)<sup>5)</sup>으로 구조결정하였다.

화합물 2는 TLC 확인 시, UV(254/365 nm)에서 강한 UV 흡수를 보였으며, 10% 황산 발색 시, 황색으로 발색되었다. NMR spectrum을 보면 화합물 1에서 관측된 signal 외에 L-rhamnopyranose에서 유래한 signal이 더 관측되었다. 즉  $^1\text{H-NMR}$  spectrum에서 anomeric proton( $\delta_{\text{H}}$  4.52, 1H, br. s)과 6번의 doublet methyl( $\delta_{\text{H}}$  1.13, 3H, d,  $J=6.4$  Hz) signal이 관측되었으며,  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum에서는  $\delta_{\text{C}}$  102.2(C-1"),  $\delta_{\text{C}}$  72.0(C-2"),  $\delta_{\text{C}}$  72.2(C-3"),  $\delta_{\text{C}}$  73.8(C-4"),  $\delta_{\text{C}}$  69.6(C-5") 및  $\delta_{\text{C}}$  17.9(C-6")이 관측되었다. 또한 D-glucopyranose의 6번 signal이  $\delta_{\text{C}}$  68.5로 화합물 1에 비해 5.9 ppm 저자장 shift 되어 glycosidation shift를 보여줌에 따라, L-rhamnopyranose는 D-glucopyranose의 6번 수산기에 결합한 것으로 판명되었고, 이 사실은 2D-NMR에 의해서도 확인되었다. 또한 L-rhamnopyranose의 anomeric 탄소의 chemical shift로부터  $\alpha$  결합하고 있음이 판명되었다. 따라서 화합물 2는 nicotiflorin(kaempferol-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside)<sup>6,7)</sup>로 구조 결정하였다.

화합물 3은 TLC 확인 시, UV(254/365 nm)에서 강한 UV 흡수를 보였으며, 10% 황산 발색 시, 황색으로 발색되었다. 화합물 2와 NMR spectrum을 비교한 결과 B환의 구조만이 달랐다. 즉  $^1\text{H-NMR}$  spectrum에서 1,3,4-삼치환 benzene에서 유래한 3개의 proton signal( $\delta_{\text{H}}$  7.66(1H, d,  $J=1.6$  Hz),  $\delta_{\text{H}}$  7.62(1H, dd,  $J=8.4, 1.6$  Hz),  $\delta_{\text{H}}$  6.85(1H, d,  $J=8.4$  Hz)이 관측되어, 화합물 3은 quercetin 골격의 화합물로 확인되었다.  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum과 2D-NMR spectrum에서도 위의 사실이 확인되어, 화합물 3은 rutin(quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside)<sup>8,9)</sup>으로 구조 결정하였다.

화합물 4은 TLC 확인 시, UV(254/365 nm)에서 강한 UV 흡수를 보였으며, 10% 황산 발색 시, 황색으로 발색되었다. NMR spectrum을 화합물 1, 3과 비교한 결과 D-glucopyranose가 quercetin에  $\beta$  결합한 quercetin-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (isoquercitrin)<sup>7,10,11)</sup> 즉, isoquercitrin으로 구조결정하였다.

Acyl coenzyme A: cholesterol acyltransferase(ACAT)은 동물 조직과 세포내에서 콜레스테롤의 에스테르화 반응을 촉매하는

효소이며<sup>12)</sup>, 소장에서의 cholesterol 흡수 조절과 간에서의 lipoprotein의 합성과 분비 조절 기능을 한다. ACAT에 의한 lipoprotein의 합성 및 분비 그리고 macrophage에 cholesteryl ester(CE)가 축적되어 foam cell의 형성에 영향을 미치기 때문에 동맥경화의 치료 혹은 예방 목적으로 지난 20년간 다양한 ACAT 저해제들이 개발되었다. 한편 ACAT는 ACAT1과 ACAT2의 두 가지의 형태로 존재한다. 이들은 심혈관질환에서 콜레스테롤의 세포내 저장 등의 중요한 역할을 하며, 조직 특이성, 세포내에 존재하는 위치, 소포체막에 결합된 형태, 대사적 기능 등에서 ACAT1과 ACAT2는 뚜렷한 차이가 있다<sup>13)</sup>. 최근 ACAT1의 유전자가 적중된 생쥐모델(ACAT1<sup>-/-</sup>) 연구 결과 대조군에 비해(ACAT1<sup>+/+</sup>) 동맥경화가 훨씬 감소하였으며, 주된 기능은 뇌, 피부, 아드레날, 대식세포 등의 콜레스테롤 항상성을 유지하는 것으로 밝혀졌다<sup>14)</sup>. 지금까지 보고된 ACAT inhibitor 들은 rat liver microsomal ACAT 또는 rat liver macrophage(J774) ACAT inhibitor 이었다. 따라서 본 연구에서는 hACAT1 단백질을 사용하여 이번에 분리한 4종 플라보노이드 화합물에 대하여 hACAT1 저해 활성을 측정하였다.

화합물 1, 2, 3, 및 4는 각각 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 처리하였을 때, 13.1 $\pm$ 0.8%, 68.3 $\pm$ 1.2%, 18.6 $\pm$ 0.6% 및 1.2 $\pm$ 0.4% 저해활성을 나타내었다. Positive control로 사용한 oleic acid anilide는 동일한 실험조건에서 0.3  $\mu\text{M}$  처리했을 때 57.4 $\pm$ 2.1% 저해한 결과와 비교하면 저해활성이 높다고는 할 수 없으나, 화합물 2인 nicotiflorin의 경우는 천연에서 유래한 화합물들의 저해활성과 비교하면 비교적 높은 편에 속한다고 할 수 있다. 특히 꽃마리에는 이들 flavonoid 화합물의 함량이 어느 정도 이용할 수 있을 정도의 양은 있다는 점에서 의미 있는 결과라고 할 수 있다. 뿐만 아니라 이번에 분리한 flavonol 화합물들은 항산화활성<sup>5)</sup>을 비롯한 다양한 약리활성을 가지고 있는 것으로 알려져 있다. 예를 들면 kaempferol 골격을 갖는 astragalinal의 경우, 아토피 피부염, 알러지 피부염 및 각종 피부 과민반응에 치료효과가 있는 것으로 보고 되어 있으며,<sup>15)</sup> nicotiflorin의 경우, botulinus에 의한 신경독에 대한 해독작용<sup>16)</sup> 및 항균활성<sup>17)</sup> 등이 있는 것으로 알려져 있다. 또한, quercetin 골격의 rutin 및 isoquercitrin은 지금까지 혈관계 질환의 치료와 모세혈관 강화, 항염증성 효과 등에 사용되는 천연물질로서 의약품분야에서 매우 중요한 위치를 차지하고 있으며,<sup>18)</sup> isoquercitrin의 경우, 항경련,<sup>19,20)</sup> 항염증,<sup>19,20)</sup> 항우울증,<sup>21)</sup> 진정작용,<sup>22)</sup> 항고혈압작용,<sup>23)</sup> 항균활성<sup>17)</sup>에 대한 다양한 활성이 보고 되어 있다. 따라서 이와 같이, hACAT1 저해활성을 가지고 있을 뿐만 아니라 위에서 기술한 바와 같이 다양한 활성을 가진 flavonoid 물질을 함유하고 있는 꽃마리는 건강기능성식품 또는 의약품의 소재로서의 가치가 충분히 있다고 사료되며, 추후 이의 활용과 관련된 연구가 활발히 추진될 것으로 기대된다.

## 초 록

꽃마리를 80% MeOH로 추출하고, 얻어진 추출물을 EtOAc, *n*-BuOH 및 H<sub>2</sub>O로 용매 분획하였다. EtOAc와 *n*-BuOH 분획에 대하여 column chromatography를 반복하여 4종의 flavonol 배

당체를 분리하였다. 각각에 대하여 2D-NMR을 포함한 스펙트럼 데이터의 해석과 문헌 자료를 조사하여 kaempferol-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside(astragalín), kaempferol-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside(nicotiflorin), quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside(rutin), quercetin-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside(isoquercitrin)로 구조를 결정하였다. 이 화합물들은 꽃마리에서는 이번에 처음 분리, 보고되었다. 또한 nicotiflorin(100  $\mu$ g/ml)은 hACAT1에 대하여  $68.3 \pm 1.2\%$  저해활성을 나타내었다.

**Key words:** 꽃마리, flavonol 배당체, astragalín, nicotiflorin, rutin, isoquercitrin, hACAT1

### 감사의 글

본 연구는 과학기술부 · 한국과학재단 지정 우수연구센터인 경희대학교 식물대사연구센터와 농촌진흥청 바이오그린 21 사업에서 지원하는 연구비로 수행되었음.

### 참고문헌

- Jung, E. B. and Shin, M. K. (1990) In 'HyangYakDaeSaJun', Young Lim Sa (3rd ed.) Seoul, Korea.
- TradiMed-Traditional Oriental Medicines Database (1999) Natural Products Research Institute, Graduated Studies in Natural Products Science, Seoul National University.
- Cho, K. H., An, S., Lee, W. S., Paik, Y. K., Kim, Y. K., and eong, T. S. (2003) Mass-production of human ACAT-1 and ACAT-2 to screen isoform-specific inhibitor: A different substrate specificity and inhibitory regulation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **309**, 864-872.
- Brecher, P. and Chan, C. T. (1980) Properties of acyl-CoA: cholesterol O-acyltransferase in aortic microsomes from atherosclerotic rabbits. *Biochem Biophys Acta* **1617**, 458-471.
- Han, J. T., Bang, M. H., Chun, O. K., Kim, D. O., Lee, C. H. and Baek, N. I. (2004) Flavonol glycosides from the aerial parts of *Aceriphyllum rossii* and their antioxidant activities. *Arch. Pharm. Res.* **27**, 390-395.
- Markham, K. R. (1982) In *Techniques of Flavonoid Identification*, Academic Press, p. 87.
- Harborne, J. B. and Mabry, T. J. (1982) In *The Flavonoids: Advances in research*, Chapman and Hall Ltd., London. pp. 47.
- Markham, K. R. and Ternai, T. (1976)  $^{13}\text{C}$ -NMR of flavonols: Flavonoids other than flavones and flavonol aglycones. *Tetrahedron* **32**, 2607-2612.
- Choi, Y. H., Park, W. Y., Hwang, B. Y., Oh, G. J., Kang, S. J., Lee, K. S. and Ro, J. S. (1998) Phenolic compounds from the stem bark of *Cornus walteri* Wanger. *Kor. J. Pharmacogn.* **29**, 217-224.
- Mabry, T. J., Markham, K. R. and Thomas, M. B. (1970) In *The Systematic Identification of the Flavonoids*. Springer, New York. p. 461.
- Agrawal, P. K. (1989) In  $^{13}\text{C}$ -NMR of flavonoids, Elsevier Science Publishing Company Inc., New York. pp. 154-293.
- Chang, T. Y., Chang, C. C. Y., and Cheng, D. (1997) Acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferase, *Annu. Rev. Biochem.* **66**, 613-638.
- Rudel, L.L., Lee, R. G., and Cockman, T. L. (2001) Acyl coenzyme A: cholesterol acyltransferase types 1 and 2: structure and function in atherosclerosis, *Curr. Opin. Lipidol.* **12**, 121-127.
- Accad, M., Smith, S. J., Newland, D. L., Sanan, D. A., King Jr., L. E., Linton, M. F., Fazio, S., and Farese Jr. R. V. Massive xanthomatosis and altered composition of atherosclerotic lesions in hyperlipidemic mice lacking acyl CoA:cholesterol acyltransferase 1. *J. Clin. Invest.* **105**, 711-719.
- Kotany, M., Matsumono, M., Fujita, A., Higa, S., Wang, W., Suemura, M., Kishimono, T. and Tanaka, T. (2000) Persimmon leaf extract and astragalín inhibit development of dermatitis and IgE elevation in NC/Nga mice. *J. Allergy Clin. Immunol.* **106**, 159-166.
- Sawamura, S., Sakane, I., Satoh, E., Ishii, T., Shimizu, Y., Nishimura, M. and Umehara, K. (2002) Isolation and determination of an antidote for botulinum neurotoxin from black tea extract. *Nippon Yakurigaku Zasshi.* **120**, 116-118.
- Hidalgo Baez D, de los Rios C, Crescente O, Caserta A. (1998) Antibacterial and chemical evaluation of *Chromolaena moritziana*. *J. Ethnopharmacol.* **59**, 203-206.
- Havesteen, B. (1983) Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem. Pharmacol.* **32**, 1141-1148.
- Krenn, L., Beyer, G., Pertz, H. H., Karall, E., Kremser, M., Galambosi, B. and Melzig, M. F. (2004) *In vitro* antispasmodic and anti-inflammatory effects of *Drosera rotundifolia*. *Arzneimittelforschung* **54**, 402-405.
- Melzig, M. F., Pertz, H. H. and Krenn, L. (2001) Anti-inflammatory and spasmolytic activity of extracts from *Droserae herba*. *Phytomedicine* **8**, 225-229.
- Butterweck, V., Nishibe, S., Sasaki, T. and Uchida, M. (2001) Antidepressant effects of apocynum venetum leaves in a forced swimming test. *Biol. Pharm. Bull.* **24**, 848-851.
- Kang, T. H., Jeong, S. J., Kim, N. Y., Higuchi, R. and Kim, Y. C. (2001) Sedative activity of two flavonol glycosides isolated from the flowers of *Albizzia julibrissin* Durazz. *J. Ethnopharmacol.* **71**, 321-323.
- Somanadhan, B., Smitt, U. W., George, V., Pushpangadan, P., Rajasekharan, S., Duus, J. O., Nyman, U., Olsen, C. E. and Jaroszewski, J. W. (1998) Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors from *Jasminum azoricum* and *Jasminum grandiflorum*. *Planta Med.* **64**, 246-250.