Korean J. Food Preserv.
Vol. 17, No. 5. pp. 727-732, October 2010

사단법인 한국식품저장유통학회
THE KOREAN SOCIETY OF FOOD PRESERVATION

산양삼 잎으로부터 Pancreatic lipase 저해 활성물질의 분리

홍주연[1] · 신승렬[1] · 배만종[2] · 배종섭[3] · 이인철[4] · 권오준[5] · 정지욱[6] · 김용한[6] · 김태훈[6†]
[1]대구한의대학교 한방식품조리영양학부, [2]대구한의대학교 한방식품약리학과, [3]대구한의대학교 한방제약공학과,
[4]영동대학교 고령친화산업 기업지원센터, [5]경북전략산업기획단, [6]대구한의대학교 한약재약리학과

Pancreatic Lipase Inhibitors Isolated from the Leaves of Cultivated Mountain Ginseng (*Panax ginseng*)

Ju-Yeon Hong[1], Seung-Ryeul Shin[1], Man-Jong Bae[2], Jong-Sup Bae[3], In Chul Lee[4], O Jun Kwon[5], Ji Wook Jung[6], Yong Han Kim[6] and Tae Hoon Kim[6†]
[1]*Faculty of Herbal Food & Nutrition, Daegu Haany University, Gyeongsan 712-715, Korea*
[2]*Department of Herbal Food Science, Daegu Haany University, Gyeongsan 712-715, Korea*
[3]*Department of Herbal Pharmaceutical Engineering, Daegu Haany University, Gyeongsan 712-715, Korea*
[4]*Senior Industry Cluster Agency, Youngdong University, Youngdong 370-701, Korea*
[5]*Gyeongbuk Regional Innovation Agency, Gyeongsan 712-210, Korea*
[6]*Department of Herbal Medicinal Pharmacology, Daegu Haany University, Gyeongsan 712-715, Korea*

Abstract

Activity-guided fractionation of an ethyl acetate (EtOAc)-soluble portion of an ethanolic extract from the leaves of cultivated mountain ginseng, using pancreatic lipase inhibition assay, led to the isolation and identification of three flavonoids of a previously described structure, kaempferol-3-O-sophoroside (I), kaempferol-3-O-β-D-glucopyranoside (astragalin, II) and kaempferol (III). All compounds (I - III) showed pancreatic lipase inhibitory activities, with IC_{50} values ranging from 20.3±2.2 to 9.1±1.5 μM, kaempferol (III) showed the most potent inhibitory activity with an IC_{50} of 9.1±1.5 μM. The level of activity may depend on the number of C-3 glucosyl group(s) linked to the kaempferol backbone, and the isolated compounds may have promise as pancreatic lipase inhibitors.

Key words : *Panax ginseng*, cultivated mountain ginseng, pancreatic lipase inhibition, flavonoid

서 론

최근 산업의 발달 및 소득수준의 향상과 더불어 식생활, 식습관 등 라이프스타일이 서구화됨에 따라 만성질환이나 성인병환자가 급증하고 있으며, 그 원인 중의 하나가 비만으로 알려져 있다. 비만은 섭취에너지와 소비에너지의 불균형에 의한 에너지 대사이상으로서, 결과적으로 지방세포에 중성지방이 과도하게 축적된 상태로 정의되며 비만의 가장 큰 원인은 고에너지나 고지방을 함유한 음식의 섭취 및 운동 부족으로 인한 체중의 증가나 체내지방 축적이지만, 최근에는 신경내분비 계통의 이상, 약물, 유전적 요인 및 생화학적 이상반응에 의해서도 유발되는 것으로 보고되고 있다(1,2). 비만은 단순히 외형상의 문제뿐만 아니라 체중 증가와 더불어 고혈압, 제 2형 당뇨병, 고혈압, 심장질환, 뇌졸중, 관절염, 동맥경화, 암 등의 심각한 성인병을 유발할 확률이 높아짐이 보고되어져 있다(3,4). 비만치료의 원칙으로서는 식사 및 운동이 가장 적절한 방법이나 최근에는 식욕억제제, 열 생산 촉진제, 흡수억제제의 개발이 진행되어 항비만약의 유용성이 주목을 받고 있으며, 그중에서도 지방분해효소 저해제(pancreatic lipase inhibitor)가 관심을 받고 있다. Pancreatic lipase는 triglyceride를 2-monoacylglycerol과 fatty acid로 분해하는 key enzyme으로 작용한다(5). 대표적인 pancreatic lipase inhibitor는 *Streptomyces toxitricini*로

†Corresponding author. E-mail : skyey7@dhu.ac.kr,
Phone : 82-53-819-1371, Fax : 82-53-819-1272

부터 유래된 lipstatin의 유도체인 tetrahydrolipstatin (orlistat)으로서 섭취된 지방의 약 30%를 저해할 정도로 효능이 가장 우수한 것으로 알려져 있으며(6,7), 현재 의약품으로 시판중이다. 그러나 이와 같은 효능에도 불구하고 orlistat은 위장장애, 과민증, 담즙분비장애, 지용성 비타민 흡수억제 등의 부작용이 있는 것으로 알려져 있다(8). 따라서 최근에는 부작용이 없는 천연소재로부터 pancreatic lipase 저해제의 개발을 위한 연구가 다수의 연구팀에 의해 진행 되고 있으며(9), *Platycodin grandiflorum, Salvia officinalis, Salacia reticulate*, oolong tea로부터 지방분해 효소 억제 활성성분이 보고되었다(10). 본 연구에서는 약용식물로 부터 pancreatic lipase의 활성을 저해하는 물질을 탐색하고자 국내의 자생식물을 대상으로 lipase 저해능력을 측정하였으며, 그중에서 저해능이 우수한 산양삼 잎의 EtOH 추출물에 대하여 활성물질 탐색을 수행하였다.

산양삼은 오가피과에 속하는 다년생 초목인 인삼(*Panax ginseng*)이 야생상태에서 발아하여 성장한 산삼의 씨앗이나 유삼을 인공적으로 재배하여 얻어진 삼을 말하나 산양삼에 대한 정의는 명확하지 않은 상태이다. 산양삼은 효능면에서 재배 인삼보다 효과가 더 높은 것으로 알려져 있으며, 한약처방전에서 산양삼을 천연 자연 산삼 다음으로 효능을 높이 평가하고 있다. 산양삼은 재배인삼과 비교하였을 때 인삼 사포닌인 ginsenoside의 함량이 높다고 보고되어져 있으며 재배된 인삼보다 효능 면에서 뛰어남이 알려져 있다(11,12). Ginsenoside 함량은 재배지에서 집중적으로 생육된 인삼의 경우에 더욱 낮으며 중국 및 한국의 야생에서 자란 산양삼의 경우 암 예방 등의 효능에서 더욱 뛰어남이 보고되어 있다(13). 그러나 산양삼의 효능에 대한 실제적 연구를 통한 과학적 입증은 거의 없는 실정이며, 본 연구에서는 산양삼 잎 EtOH 추출물로부터 3종의 flavonoid 화합물을 분리, 동정하였으며 이들 화합물의 pancreatic lipase 저해 활성을 확인하였기에 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

재 료

본 실험에 시료로 사용한 산양삼(cultivated mountain ginseng)잎은 경북 예천 소재의 농업회사법인인 (주)어인마니에서 2007년도에 생산된 산양삼을 사용하였으며, 표본시료는 본대학교의 한약재약리학과 천연물화학실험실에 보관하고 있다.

시약 및 기기

HPLC는 Shimadzu LC-10A (Kyoto, Japan)를 사용하였으며, Fraction collector는 Eyela DC-1200 (Tokyo, Japan)을 사용하였다.

^{1}H, ^{13}C NMR과 ^{1}H-^{1}H COSY, NOESY, HSQC, HMBC 스펙트럼은 CD_3OD 용매를 이용하여 600 MHz FT-NMR spectrometer (Varian VNS600, NJ, USA)로 측정하였으며, 추출 및 Column chromatography용 용매는 특급시약을 사용하였다. TLC plate는 Kiesel gel 60 F254 (Merck, NJ, USA)를 사용하였다. Column chromatography용 고정상은 Toyoperal HW-40 (Tosoh co., Tokyo, Japan) 사용하였고, octadecyl silica gel (ODS)은 Merck 사에서 생산한 Lichroprep RP-18 (40-63 mesh, NJ, USA)을 사용하였다. Semi-prep용 column으로서는 YMC gel ODS A-302 (4.6 mm x 150 mm, Kyoto, Japan)을 이용하여 순수물질분리를 하였다. 발색시약으로는 vanillin- sulfuric acid 시액, 10% sulfuric acid 시액을 사용하였고, TLC spot검출에는 UV lamp의 파장은 254 및 360 nm를 사용하였다. 흡광도 측정은 multiplate spectrophotometer (Tecan, Infinite F200, Untersdergstrasse, Austria)로 각 흡수대에 따른 흡광도를 측정하였다.

추출 및 분리

신선한 산양삼 잎 717.0 g을 분쇄기로 잘게 마쇄한 후 80% ethyl alcohol (EtOH) 4 L로 3일간 3회 반복 추출한 후 얻어진 결과물(11.9 g)에 대해 pancreatic lipase 저해효능을 평가한 결과 IC_{50}이 34.4±4.0 μg/mL의 비교적 강한 효능을 나타내었다. 계속해서 유기용매를 사용하여 극성에 따른 분획은, 80% 에탄올 추출물을 감압 농축하여 에탄올을 제거하고 물에 현탁된 추출시료를 저극성용매인 *n*-hexane으로 먼저 추출한 후 물층을 다시 ethyl acetate (EtOAc), *n*-butyl alcohol (*n*-BuOH)을 이용하여 각각 순차적으로 3회 분획하여 추출하였다. 각 용매추출 분획을 감압 농축하여 건조 시킨 후 *n*-Hexane 가용분획(0.17 g), EtOAc 가용분획(8.8 g), *n*-BuOH 가용분획(1.4 g), H_2O 가용분획(1.4 g)을 각각 얻었다. 각 가용분획에 대하여 지방 흡수와 관련되어 있는 pancreatic lipase에 대한 활성을 측정하여 가장 강한 활성을 타나낸 산양삼 잎 EtOH 추출물의 EtOAc 가용부(IC_{50} = 28.3±3.4 μM)에 대해 activity-guided isolation을 수행하여 활성물질의 분리 정제를 실시하였다(Fig. 1).

EtOAc가용분획 4.3 g을 $CHCl_3$-MeOH 혼합용매를 용출용매로 사용하여 silica gel (63-200 mesh, 1.8 cm i.d. x 42 cm)를 사용한 column chromatography를 실시하여 총 6개의 분획[WG-1;$CHCl_3$-MeOH (100:0), WG-2;$CHCl_3$-MeOH (10:1); WG-3;$CHCl_3$-MeOH (1:1), WG-4;$CHCl_3$-MeOH (1:3), WG-5; $CHCl_3$-MeOH (3:1), WG-6;$CHCl_3$-MeOH (0:1)]으로 나누었으며, 각 분획물에 대하여 활성을 테스트 한 결과 WG-3 (IC_{50} = 17.3±2.7 μM)과 WG-4 (IC_{50} = 11.7±3.1 μM)에서 강한 pancreatic lipase 저해 활성을 확인하였다. 얻어진 소분획 WG-3 (900.0 mg)과 WG-4 (160.0 mg)중 각 100 mg에 대해 YMC gel ODS AQ 120S (1.1 cm i.d. x 37 cm)를 이용한 칼럼크로마토그래피 및 ODS column (YMC gel ODS A-323, 4.6 mm x 150 mm)을 이용한 semi-preparative HPLC를 수행

하여 WG-3로부터 kaempferol-3-O-sophoroside (I) (22.0 mg, t_R 15.0 min), Kaempferol-3-O-β-D-glucopyranoside (astragalin, II) (3.6 mg, t_R 15.8 min), WG-4로부터는 kaempferol (III) (2.5 mg, t_R 18.8 min)을 순수 분리하였다(Fig. 2). 이동상 용매로는 H_2O (solvent A)와 acetonitrile (solvent B)를 사용하여 gradient elution을 다음과 같이 수행하였다. 0-5 min, 100% A; 5-15 min, 50% A, 50% B; 15-30 min, 100% B로 물질 분석 및 분리를 하였으며 이동상의 유속은 1.0 mL/min을 유지하였고 280 nm에서 화합물을 검출하였다.

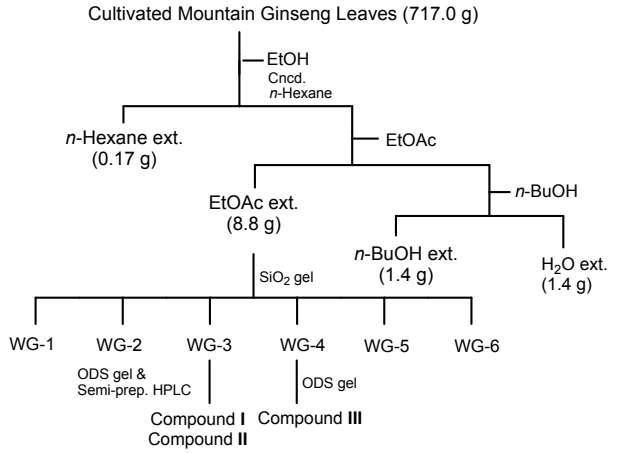

Fig. 1. Isolation scheme for pancreatic lipase inhibitors from the leaves of cultivated mountain ginseng

Compound I (kaempferol-3-O-sophoroside): Yellow amorphous powder; $[\alpha]_D^{20}$ -112.2° (c 1.0, MeOH); negative FAB-MS: *m/z* 609[M-H]$^-$; ^{1}H-NMR (500 MHz, CD_3OD) δ_H 8.08(2H, d, *J*=9.0 Hz, H-2', 6'), 6.89(2H, d, *J*=9.0 Hz, H-3', 5'), 6.39(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8), 6.19(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6), 5.34(1H, d, *J*=7.5 Hz, glc-1'), 4.74(1H, d, *J*=7.0 Hz, glc-1″), 3.94(1H, t, *J*=8.8 Hz, glc-2'), 3.89(1H, m, glc-4'), 3.86(1H, m, glc-2″), 3.71(1H, m, glc-2'), 3.62(1H, m, glc-6″), 3.62(1H, m, glc-6″), 3.57(1H, m, glc-5'), 3.56(2H, m, glc-4', 6'), 3.33(2H, m, glc-3″, 5″), 3.30(1H, m, glc-4″), 3.22(1H, t, *J*=8.4 Hz, glc-3'). ^{13}C-NMR (125 MHz, CD_3OD) δ_C 180.0(C-4), 166.1(C-7), 163.3(C-5), 161.7(C-4'), 159.0(C-9), 158.6(C-2), 135.1(C-3), 132.6(C-2', 6'), 122.8(C-1'), 116.4(C-3', 5'), 105.9(C-10), 104.9(glc-1″), 101.6(glc-1'), 100.0(C-6), 94.9(C-8), 84.6(glc-2'), 77.9(glc-5″), 77.4(glc-3″), 76.5(glc-5'), 75.0 (glc-3'), 74.7(glc-2″), 71.2(glc-4″), 70.0(glc-4″), 68.4(glc-6'), 62.4(glc-6″).

Compound II (astragalin): Yellow amorphous powder; $[\alpha]_D^{20}$ +15.5° (c 1.0, MeOH); positive FAB-MS: m/z 471[M+H]$^+$; ^{1}H-NMR (500 MHz, CD_3OD) δ_H 8.10(2H, d, J=9.0 Hz, H-2', 6'), 6.93(2H, d, *J*=9.0 Hz, H-3', 5'), 6.44(1H, d, *J*=1.8 Hz, H-8), 6.21(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6), 5.30(1H, d, *J*=7.2 Hz, glc-1'), 3.73(1H, d, *J*=12.0, 2.4 Hz, glc-6a'), 3.57(1H, d, *J*=12.0, 5.4 Hz, glc-6b'), 3.46-3.23(4H, m, glc-2', 3', 4', 5'). ^{13}C-NMR (125 MHz, CD_3OD) δ_C 179.1(C-4), 165.5(C-7), 163.2(C-5), 161.6(C-4'), 158.9(C-9), 158.6(C-2), 135.4(C-3), 132.3(C-2', 6'), 122.8(C-1'), 116.1(C-3', 5'), 105.6(C-10), 104.1(glc-1"), 100.0(C-6), 94.8(C-8), 78.4 (glc-5"), 78.0(glc-3"), 75.7(glc-2"), 71.3(glc-4"), 62.6(glc-6″).

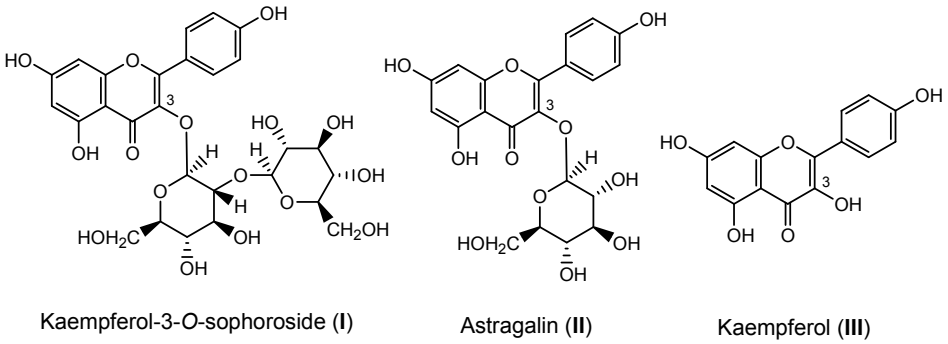

Fig. 2. Structures of isolated compounds I—III from the leaves of cultivated mountain ginseng

Pancreatic lipase 저해활성 측정

Kim 등의 방법(14)을 변형하여 실시하였는데, 즉 enzyme buffer에 lipase를 0.5 mg/200 mL의 농도로 4℃를 유지하면서 용해한 후 4000 rpm으로 원심 분리를 하여 상층액을 사용하여 169 μL Tis-HCl buffer와 6 μL enzyme buffer를 혼합한다. 샘플은 DMSO로 용해하여 final 농도가 3%가 되도록 한 후 다양한 농도로 희석하여 positive control을 MeOH에 녹인 후 사용한다. p-Nitriphenyl butyrate (p-NPB)을 10 mM이 되게 DMF에 용해한 후 기질을 빼고 enzyme과 sample을 먼저 37℃에서 15분 동안 shaking incubation 시킨 후 기질을 첨가 하여 37℃에서 30분 동안 shaking incubation 시킨 후 405 nm에서 ELISA reader를 이용하여 흡광도를 측정하였다. Pancreatic lipase 저해활성은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

Compound III (kaempferol): Yellow amorphous powder; ^{1}H-NMR (500 MHz, CD_3OD) δ_H 8.09(2H, d, *J*=9.0 Hz, H-2', 6'), 6.91(2H, d, *J*=9.0 Hz, H-3', 5'), 6.42(1H, d, *J*=1.8 Hz, H-8), 6.21(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6).

결과 및 고찰

천연물로 부터 pancreatic lipase 저해 활성물질을 분리하기 위해 본 연구를 수행하여, 산양삼 잎의 EtOH 추출물에 대하여 용매의 극성에 따라 *n*-hexane, EtOAc, *n*-BuOH로 순차 분획하여 얻어진 각 분획에 대하여 pancreatic lipase 저해활성 평가를 이용한 실험을 통해 생리활성을 평가하였다. 높은 활성을 보인 EtOAc 분획으로부터 silica 및 ODS gel을 이용한 column chromatography를 수행하여 3종의 플라보노이드 화합물을 분리하였으며, 분리한 단일 물질에 대해 지방 분해효소 에 대한 저해활성을 평가하였다.

Table 1. Inhibitory effects of the ethanolic extract of cultivated mountain ginseng leaves and its EtOAc-, BuOH-, and H_2O-soluble fractions against pancreatic lipase

Conc. (μg/mL)	Inhibition[a]				
	200	100	50	25	12.5
EtOH ext.	70.7±2.7	59.5±1.7	50.5±0.3	49.5±0.6	42.1±1.1
n-Hexane layer	21.3±1.5	15.7±2.3	12.7±1.1	7.3±0.5	5.2±2.1
EtOAc layer	75.1±0.8	65.4±1.5	52.5±0.5	47.0±0.6	43.3±2.3
n-BuOH layer	53.1±0.3	50.7±0.5	41.2±0.5	32.1±0.5	28.1±1.6
H_2O layer	31.2±0.8	28.1±0.5	26.1±0.2	20.1±0.3	15.7±1.9
Orlistat[b]	98.2±1.6	95.2±1.8	93.1±0.1	87.0±0.6	80.8±1.3

[a]Data represent the mean±SD three replications.
[b]Orlistat was used as a positive control substance.

Compound I은 황색 분말상 물질로 얻어졌으며 $FeCl_3$ 시액에 의하여 양성의 정색반응을 확인하였다. ^{1}H-NMR 스펙트럼의 aromatic proton 영역에서 B-ring 유래의 A_2B_2 타입의 시그널이 δ_H 8.08 (2H, d, 9.0 Hz) 및 6.89 (2H, d, 9.0 Hz)에서 관찰되었고, A-ring 유래의 δ_H 6.39 (1H, d, 2.0 Hz) 및 6.19 (1H, d, 2.0 Hz)에서 전형적인 플라보노이드 H-6 및 8위치의 시그널이 관찰되었다. 또한 aliphatic proton 영역에서 δ_H 5.34 (1H, d, 7.5 Hz) 및 4.74 (1H, d, 7.0 Hz)의 전형적인 anomeric proton 시그널이 관찰되었으며 수소의 결합상수로부터 beta-결합을 한 것으로 추정하였다. 또한 이들 시그널은 화합물 I의 구성 부분으로 kaempferol이 존재함을 시사하였고, C-3번 위치의 δc 135.1 시그널이 kaempferol의 시그널이 shift 한 것으로 보아 glycosylation 된 것을 알 수 있었다. 당에 해당하는 시그널로서 δc 104.9, 101.6, 84.6, 77.9, 77.4, 76.5, 75.0, 74.4, 71.2, 70.0, 68.4, 62.4에서 2개의 glucose가 존재함을 확인하였다. 이상의 기기분석 결과와 문헌(15)과의 비교를 통하여 화합물 I은 kaempferol의 C-3 위치에 β-D-glucose가 2개 결합되어 있는 kaempferol-3-O-sophoroside로 확확인 동정하였으며 이 식물로 부터는 처음으로 분리된 화합물이었다.

화합물 II의 ^{1}H-NMR 스펙트럼의 aromatic proton 영역에서 δ_H 8.10 (2H, d, 9.0 Hz), 6.93 (2H, d, 9.0 Hz), 6.44 (1H, d, 1.8 Hz) 및 6.21(1H, d, 1.8 Hz)의 시그널이 확인되어 화합물 I과 흡사한 kaempferol유래의 스펙트럼을 나타내었으며 δ_H 5.30 (1H, d, 7.2 Hz)의 피크 및 3.57-3.24에 걸쳐 당 유래의 수소피크가 관찰되어 본 화합물은 kaempferol의 glycoside로 추정하였다. 또한 당의 결합 형태는 anomeric proton의 coupling constant (7.2 Hz)로부터 beta 결합을 한 것으로 추정하였고 이상의 결과들은 ^{13}C NMR 및 2D NMR을 통해서도 더욱 지지되었다. 이상의 결과 및 문헌상의 data(16)와 비교하여 본 화합물은 astragalin으로 동정하였으며 이 식물에서 처음 분리된 화합물이었다.

화합물 III은 황색분말상의 물질로서 분리 되었으며 $FeCl_3$ 시액에 의하여 양성의 정색반응을 확인하였다. ^{1}H-NMR 스펙트럼에서 flavonoid A-ring유래의 시그널인 δ_H 6.42 (1H, d, *J*=1.8 Hz, H-8), 6.21 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6) 시그널이 확인되었고, B-ring유래의 A_2B_2 형태의 시그널이 δ_H 8.09 (2H, d, *J*=9.0 Hz, H-2', 6') 및 6.91 (2H, d, *J*=9.0 Hz, H-3', 5')에서 관찰되어 본 화합물은 kaempferol로 추정하였다. 이상의 분광학적결과는 문헌치(17)와 잘 일치하였고 표품과 HPLC 직접 비교를 통하여 화합물 III을 kaempferol로 동정하였다.

Pancreatic lipase 저해 활성을 나타낸 산양삼 잎의 EtOAc 가용부에 대해서 각종 칼럼크로마토 그래피를 이용한 activity-guided isolation을 수행하였다. 얻어진 화합물중 flavone의 기본 구조를 갖고 있는 kaempferol (III)은 가장 낮은 IC_{50} (9.1±1.5 μM) 값을 나타내었으며, C-3번 위치에 glucose 1개 unit가 결합한 astragalin (II)은 17.4±2.7 μM의 IC_{50} 값을 나타내었으며, kaempferol 구조의 C-3 위치에 glucose 2개가 결합한 kaempferol-3-O-sophoroside (I)의 경우에는 20.3±2.2 μM의 IC_{50} 값을 나타내었다. 최근 flavonoid 구조에 따른 항산화 및 효소저해능과의 구조활성 상관관계에 대한 연구가 많이 진행되었고, 그중에서도 glucosidase, amylase 등의 효소와 flavonoid C-ring의 극성과의 상관관계에 대한 밀접한 관계가 보고되어져 있다(18). 본 연구에서 얻어진 이상의 결과로부터 kaempferol 유도체의 경우 pancreatic lipase 저해활성은 C-3번 위치의 O-glucosylation 정도와 밀접한 관계가 있음을 시사하였다.

Table 2. Inhibitory effects of isolated compounds I-III on pancreatic lipase activity.

Compound	Inhibitory Activity (IC_{50} value)[a]	
	μg/mL	μM
kaempferol-3-O-sophoroside (I)	12.4±1.2	20.3±2.2
Astragalin (II)	7.8±1.4	17.4±2.7
Kaempferol (III)	2.6±0.8	9.1±1.5
Orlistat[b]	0.2±0.1	0.3±0.2

[a]The concentration of a compound required for a 50% inhibition (IC_{50}) of the pancreatic lipase activity. IC_{50} values were calculated from dose inhibition curves. Inhibitory effects are expressed as the mean ± S.D. of duplicate experiments.
[b]Orlistat was used as a positive control.

요 약

신선한 산양삼 잎을 EtOH로 침지 추출하여 얻어진 추출물을 *n*-hexane, EtOAc, *n*-BuOH 로 용매 분획하였다. 이중 pancreatic lipase 저해활성이 상대적으로 높은 EtOAc 분획에 대해 silica 및 C_{18} column chromatography를 이용하여 3개의 flavonoid 화합물을 분리하였다. 각 화합물의 화학구조는 NMR 스펙트럼 데이터 해석 및 표품과의 HPLC 직접 비교를 통하여 kaempferol-3-O-sophoroside (I), astragalin (II), kaempferol (III)로 동정하였다. 이들 화합물중 kaempferol (III)는 IC_{50} 값이 9.1±1.5 μM로 가장 강한 효능을 나타내었으며, 다음으로 C-3 번 위치에 1개의 glucose가 결합한 astragalin (II)의 IC_{50} 값이 17.4±2.7 μM, C-3 번 위치에 2개의 glucose가 결합한 kaempferol-3-O-sophoroside (I)의 IC_{50} 값이 20.3±2.2 μM의 저해능을 나타내었다. 산양삼 잎의 EtOAc 가용부에에 존재하는 flavonoid계 pancreatic lipase 저해활성 물질을 동정하였으며, 이들 활성은 kaempferol 타입의 화합물은 C-3위치에 당 결합에 의한 hydrophobicity와 관련됨을 시사 하였다. 향후 이들 활성물질의 활성 기작에 대한 연구가 필요하며 본 연구결과는 보다 우수한 pancreatic lipase 저해능을 가지는 새로운 선도화합물 발굴을 위한 기초자료로 이용될 수 있을 뿐만 아니라 산양삼 잎의 식물 화학적 성분에 대한 기초자료로 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2007 산림과학기술개발 사업의 지원에 의해 수행된 연구과제(S120707L0501104)의 일부이며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Bray GA, Popkin BM. (1998) Dietary fat intake dose affect obesity. Am. J. Clin. Nutr., 68, 1157-1173
2. Bra, GA, Popkin BM. (1999) Dietary fat affects obesity rate. Am. J. Clin. Nutr., 70, 572-573
3. Freedman DS, Serdula MK, Perey CA, Whitle L. (1997) Obesity levels of lipids and glucose, and smoking among Navajo adolescents. J. Nutr., 127, 2120-2127
4. Rexrode KM, Manson JE, Hennekens CH. (1996) Obesity and cardiovascular disease, Curr. Opin. Cardiol., 11, 490-495
5. Bitou N, Nimomiya M, Tsjita T, Okuda H. (1999) Screening of lipase inhibitors from marine algae. Lipids, 34, 441-445
6. Drent ML, Larsson I, William-Olsson T, Quaade F, Czubayko F, Von Bergmann, K, Strobel W, Sjotro L, Van der Veen EA. (1995) Orlistat (RO 18-0647), a lipase inhibitor, in the treatment of human obesity: a multiple dose study. Int. J. Obesity, 19, 221-226
7. Hadvay P, Lengsfeld H, Wolter H. (1988) Inhibition of pancreatic lipase in vitro by covalent inhibitor tetrahydrolipstatin, Biochem. J. 256, 357-361
8. Peter C, Williams G. (2001) Drug treatment of obesity: from past failures to future successes? Br. J. Clin. Pharmacol., 51, 135-141
9. Yamamoto M, Shimura Y, Iyoh M Egawa, S Ionue. (2000) Anti-obesity effects of lipase inhibitor CT-II, an extract from edible herbs, Nomame Herba, on rats fed a high-fat diet. Int. J. Obesity, 24, 758-764
10. Birari RB, Bhutani KK. (2007) Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential. Drug Dicov. Today, 12, 879-889
11. Lim W, Mudge KW, Weston LA. (2007) Utilization of RAPD markers to assess genetic diversity of wild populations of north American ginseng (*Panax quinquefolium*). Planta Med., 73, 71-76
12. Lui JHC, Staba EJ. (1980) The ginsenosides of various ginseng plants and selected products. J. Nat. Prod., 43, 340-346
13. Lim W, Mudge KW, Vermeylen F. (2005) Effects of population, age, and cultivation methods on ginsenoside content of wild American ginseng (*Panax quinquefolium*). J. Agric. Food Chem., 53, 8498-8505
14. Kim JH, Kim HJ, Park HW, Youn SH, Choi DY, Shin CS. (2007) Development of inhibitors against lipase and alpha-glucosidase from derivatives of monascus pigment.

FEMS Microbiol. Lett., 276, 93-98
15. Kim HJ, Kim MK, Shim JG, Yeom SH, Kwon SH, Lee MW. (2004) Anti-oxidative compounds from *Sophorae fructus*. Nat. Prod. Sci., 10, 330-334
16. Peng ZF, Strack D, Baumert A, Subramaniam R, Goh NK, Chia TF, Tan SN, Chia LS. (2003) Antioxidant flavonoids from leaves of *Polygonum hydropiper* L. Phytochemistry, 62, 219-228
17. Choi DY, Choi EJ, Jin Q, Shin EJ, Woo ER. (2003) Biological activity of flavonoids isolated from *Aster tataricus* L. Korean J. Parmacogn., 40, 123-127
18. Li YQ, Zhou FC, Gao F, Bian JS, Shan F. (2009) Comparative evaluation of quercetin, isoquercetin and rutin as inhibitors of alpha-glucosidase. J. Agric. Food Chem., 57, 11463-11468

(접수 2010년 4월 27일, 수정 2010년 9월 7일 채택 2010년 9월 10일)