

국산 5종 蒲公英의 항염 효과 및 성분 함량 비교 연구

이미화¹, 송선호¹, 함인혜¹, 부영민^{1,2}, 김호철^{1,2}, 최호영^{1,2*}

1 : 경희대학교 한의과대학 본초학교실, 2 : 경희대학교 한의학연구소

Anti-inflammatory effect and contents from the aerial part and root of the various *Taraxacum* spp. distributed in Korea

Mi-Hwa Lee¹, Sun-Ho Song¹, In-Hye Ham¹, Young-Min Bu^{1,2},
Ho-Cheol Kim^{1,2}, Ho-Young Choi^{1,2*}

1 : Department of Herbology, College of Oriental Medicine, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Republic of Korea, 2 : Institute of Oriental Medicine, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Republic of Korea

ABSTRACT

Objectives : Taraxaci Herba et Radix (THR) is widely used as a food and medicinal herb in Korea. It has been used for treatment of virus inflammatory disease, liver diseases and gastritis. So far, anti-inflammatory effects and constituents of various species in THR has not been studied for comparison. The aim of this study is to compare the anti-inflammatory effects of the aerial part and root from various THR. Also, we have compared the contents of its known constituents with each.

Methods : In this study, we estimated anti-inflammatory effect and compared their constituent by HPLC. For the determination of anti-inflammatory effects, we investigated NO and PGE₂ production by ELISA. The expressions of iNOS was determined by western blotting in LPS-induced RAW 264.7 macrophage cells. And, standard compounds which are methyl gallate, gallic acid, syringic acid and esculetin of THR were analyzed by HPLC using a C₁₈ column.

Results : Methanol extracts of THR decreased NO and PGE₂ production. The expressions of iNOS protein were also decreased in methanol extracts of THR. As a result, HPLC analysis showed that they showed similar patterns. Methyl gallate and esculetin showed the highest content. Methyl gallate was included over 10% content in each aerial part and root of THR.

Conclusions : These results indicate that most of THR distributed in Korea might represent therapeutic agent for treatment of inflammatory diseases.

Key words : Taraxacum, inflammation, nitric oxide, prostaglandin E₂, HPLC

서론

蒲公英(Taraxaci Herba)은 국화과(Compositae)에 속한 다년생 초본인 민들레 *Taraxacum platycarpum* H. Dahlstedt 또는 동속 근연식물의 전초를 건조한 것으로, 봄과 여름에 꽃 피기 전후에 채취하여 晒乾한다. 蒲公英의 性味는 苦甘 寒하고, 肝胃經에 歸經한다. 淸熱解毒 消腫散結 利尿通淋의 效能이 있으므로 疔瘡腫毒, 乳癰, 目赤, 咽痛, 肺癰, 腸癰, 濕熱黃疸, 熱淋澀痛을 치료한다¹⁾.

민들레는 북반구를 중심으로 전 세계에 약 2,000여 종이 존재하는 것으로 알려져 있다. 그 중 국내에는 민들레(*T. platycarpum*), 좀민들레(*T. hallaisanense*), 산민들레(*T. ohwianum*), 흰민들레(*T. coreanum*) 및 서양민들레(*T. officinale*)가 분포하고 있다^{2,3)}.

염증은 생체의 세포 조직에 무언가 기질적 변화를 가져오는 침습이 가해질 때, 생체가 재생이나 회복 등의 방어 반응으로써 대응하는 과정이라고 정의한다⁴⁾. 일반적으로 cytokines, lipopolysaccharide (LPS)와 같은 염증성 물질의

*교신저자 : 최호영, 서울시 동대문구 회기동 경희대학교 한의과대학 본초학교실.
· Tel : 02-961-9372, · E-mail : hychoi@khu.ac.kr.
· 접수 : 2010년 11월 7일 · 수정 : 2010년 12월 5일 · 채택 : 2010년 12월 15일

자극을 받은 세포는 cyclooxygenase-2 (COX-2)와 inducible NO synthase (iNOS)의 발현양이 증가한다. 이 효소들의 발현증가는 prostaglandins (PGs)와 nitric oxide (NO)의 생성을 증가시켜 다양한 염증성 질환을 일으키는 중요한 역할을 한다⁵⁾. 염증반응에서 NO 생성은 대부분 iNOS에 의한 것이라 할 수 있고⁶⁾, PGs도 대부분 COX-2에 의해서 생성된다⁷⁾.

蒲公英에 관한 선행연구로 항균물질을 포함하고 있을 뿐 아니라 항산화, 항암효과가 우수한 것으로 보고되고 있다^{8,9)}. NF- κ B활성 조절을 통한 민들레 추출물의 NO생성 및 iNOS 발현 억제 효과¹⁰⁾, 간세포 보호 활성에 관한 연구¹¹⁾, 항위염 작용¹²⁾, 중추신경계에서 포공영의 항염증작용에 관한 연구¹³⁾ 등이 진행되어 왔다.

그러나, 지금까지 국내 분포하는 민들레 5종(민들레, 흰민들레, 산민들레, 좁민들레, 서양민들레)의 성분 및 항염증 효과는 비교되어 보고된 바 없으며, 또한 각각의 지상부와 뿌리의 성분 및 활성은 아직 비교되어 보고된 바 없다.

그러므로 국내 자생하는 5종 민들레의 지상부와 뿌리에 대하여 민들레 기지 성분 중 gallic acid, methyl gallate, esculetin, syringic acid의 함량을 비교 분석하였으며, 각각

의 항염증 효과를 비교하기 위하여 LPS로 자극한 RAW 264.7 세포에서 COX-2, iNOS 단백질 발현량과 PGE₂와 NO의 함량을 측정하여 유의한 결과를 얻었다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 약재

본 실험에 사용된 시료 중 서양민들레 *T. officinale*는 경기도 안성시 보개면 야산에서 2009년 5월 채취하였고, 좁민들레 *T. hallaisanense*는 제주도 민속오일장에서 2009년 5월에 구입하였고, 산민들레 *T. ohwianum*는 강원도 양구군 양구읍에서 2009년 5월에 채취하였고, 흰민들레 *T. coreanum*는 강원도 정선에서 채배되는 것으로 2009년 5월에 채취하였고, 민들레 *T. platycarpum*는 강화도 화두면에서 2009년 5월에 채취하였다. 채취한 식물은 뿌리와 지상부로 구분한 후 음건하여 실험에 사용하였다. 시료의 일부는 경희대학교 한의과대학 본초학교실에 표본으로 보관하고 있다.(Table 1.)

Table 1. Plants used for experiment

Sample	Used Part (Abbreviation)	Vouchers	Locality	Date
<i>T. officinale</i>	Root (TOR)	s001r	Ansung : Korea	May 2009
	Herb (TOH)	s001h	-	-
<i>T. hallaisanense</i>	Root (THR)	s002r	Jeju : Korea	May 2009
	Herb (THH)	s002h	-	-
<i>T. ohwianum</i>	Root (TOR)	s003r	Yanggu : Korea	May 2009
	Herb (TOh)	s003h	-	-
<i>T. coreanum</i>	Root (TCR)	s004r	Jungsun : Korea	May 2009
	Herb (TCH)	s004h	-	-
<i>T. platycarpum</i>	Root (TPR)	s005r	Ganghwa : Korea	May 2009
	Herb (TPH)	s005h	-	-

2) 시약 및 기기

실험에 사용된 시약은 DMEM medium (Gibco BRL Co., USA), Fetal bovine serum (FBS, Gibco BRL Co., USA), Penicillin (Gibco BRL Co., USA), Streptomycin (Gibco BRL Co., USA), CellTiter 96[®](Promega Co., USA), Nitrate/Nitrite Colorimetric assay kit (Cayman Chemical Co., USA), Lipopolysaccharide (Sigma Co., USA), Pro-prep protein extraction solution (Intron Biotechnology Co., Korea), COX-2 monoclonal antibody (BD Bioscience Pharmingen Co., Korea), iNOS monoclonal antibody (BD Bioscience Pharmingen Co., Korea), Anti-mouse antibody (Cell Signalling Co., USA), Prostaglandin E₂ Enzymeimmunoassay Biotrak System (BD Bioscience Pharmingen Co., USA), BCIP-NBT (Nakalai Tesque, Japan)이며, 사용된 기기는 ELISA reader : Versamax (Molecular Devices Co., USA), UV/VIS Spectrophotometer (Gilsion Co., USA), HPLC : GILSON 254 Autoinjector (USA), GILSON 321

pump (USA), GILSON UV/VIS-155 (USA) 등이다.

2. 방법

1) 약재의 추출 및 시료의 제조

건조된 5종의 민들레의 지상부와 뿌리 50g을 각각 100% methanol을 용매로 하여 환류추출기에서 3시간, 3회씩 반복 전탕하였으며, 각각의 추출물은 여과지(Whatman filter parer No.2)로 여과한 후 감압 농축하여 시료로 사용하였다. 시료 중 지상부의 수득률은 약 28.2 ± 2.5 %, 뿌리의 수득률은 약 11.0 ± 3.8 %이었다.

2) 생리활성실험

(1) 세포의 배양

본 실험에서는 murine macrophage RAW 264.7 세포를 한국 세포주 은행 (Korean Cell Line Bank, Korea)에서 분양받아 실험에 사용하였으며, 세포 성장을 위한 기본 배지로는 10% fetal bovine serum과 streptomycin sulfate (100

$\mu\text{g/ml}$), penicillin G (100 units/ml), 10mM sodium bicarbonate를 첨가한 Dulbecco's Modified Eagle's Medium을 사용하여 humidified CO₂ incubator (5% CO₂, 95% air)에서 37℃의 조건으로 배양하였다.

(2) 세포독성 시험 (MTS assay)

시료의 세포 독성 효과를 확인하기 위하여 RAW 264.7 세포를 96 well plate에 5×10^4 cells/ml로 접종하고 24시간 배양 후, 시료를 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 각 well에 MTS와 PMS를 20:1의 비율로 잘 혼합하여 처리하고 3시간 배양한 후, ELISA reader를 이용하여 490nm에서 흡광도를 측정하고 대조군과의 비교를 통해 상대적인 세포생존율(% of control)을 계산하였다.

(3) Nitrite의 발현량 측정

NO의 생성량을 측정함으로써 iNOS의 활성을 측정하였다. RAW 264.7 세포로부터 생성된 NO의 양은 Nitrate/Nitrite colorimetric assay kit를 이용하여 세포질에 존재하는 NO₂⁻의 형태로서 측정하였으며, 실험 방법은 Cayman Chemical Company의 지시에 따라 정량하였다.

(4) PGE₂ 생성량 측정

시료의 COX-2 활성을 조사하기 위해 세포내 prostaglandin E₂ (PGE₂)의 양을 정량하였다. 실험은 nitrite assay와 동일한 방법으로 세포질 용액을 취하여 유리된 PGE₂의 양을 Prostaglandin E₂ Enzymeimmunoassay Biotrak System의 지시에 따라 정량하였다.

(5) Western blot

RAW 264.7 세포로부터 iNOS와 COX-2의 단백질 발현 양에 미치는 시료의 영향을 조사하기 위해 Western blotting을 실시하였다. 시료를 처리한 세포를 채취하여 PBS로 2번 씻어낸 후, Pro-prep시약 100 μl 를 가하여, -20℃에서 10분간 방치한 뒤, 4℃에서 12,000rpm으로 10분 원심 분리하여 상등액을 얻었다. 얻어진 세포 내 단백질 용액을 Pro-measure 시약을 사용해 단백질 농도를 정량하고, 100 $\mu\text{g/dm}^3$ 단백질을 취하여 샘플버퍼와 혼합하여 95℃에서 5분간 가열한 후 10%의 SDS-acrylamide gel에 전기영동 시킨 후 PVDF membrane으로 단백질을 transfer시켰다. Transfer가 끝난 membrane을 5%의 skim milk용액에 실온에서 1시간 blotting 시킨 후 primary antibody를 5% skim milk 용액에 정해진 비율대로 희석하여 4℃에서 overnight 하였다. 다음 날 Tris-Buffered Saline Tween-20 (TBST) 세척 후 secondary antibody를 1시간 동안 상온에서 반응시켰다. 다시 TBST로 세척 후 BCIP-NBT용액과 1분간 반응시켜 현상하였다.

3) HPLC를 통한 정량

(1) 검액의 조제

시료를 HPLC용 methanol을 이용하여 10mg/ml의 농도로 희석시켜 녹인 후 0.45 μm syringe filter로 filter하여 검액으로 사용하였다.

(2) 표준액의 조제

민들레에 함유된 것으로 보고된²⁹⁾ methyl gallate (분리품, 99.0%), gallic acid (분리품, 99.0%), esculetin (분리품, 99.0%), syringic acid (분리품, 99.0%)을 표준물질로 사용하였으며, 표준물질 1.0mg을 각각 정밀하게 달아 HPLC용 methanol 10ml을 넣어 표준액으로 하였다.

(3) HPLC 조건

Column은 LUNA 5 μ C₁₈(2) (Phenomenex, 250 \times 4.60 mm, USA) column을 사용하였으며, 이동상으로 solvent A는 water (2% acetic acid), solvent B는 50% acetonitrile(0.5% acetic acid)를 사용하여, solvent B의 비율을 10%(0 min.)→18%(20 min.)→24%(30 min.)→30%(45 min.)→30%(65 min.)→55%(70 min.)의 조건으로, 이동상의 속도는 0.4ml/min, UV detector는 280nm 파장에서 측정하였다. 시료의 주입량은 10 μl 였다.

4) 통계처리

실험결과는 평균값 \pm standard error (SE)로 나타냈으며 통계적 분석은 유의성 시험(Student t-test)을 사용하였다. 각 실험은 3회 이상 반복하였으며, p값이 0.05미만인 경우 통계적으로 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

1. 세포독성 시험

MTS assay를 이용하여 RAW 264.7 세포에 대한 독성실험 결과, 시료 농도 50~400 $\mu\text{g/ml}$ 에서 정상군에 비해 모두 80%이상의 세포생존율을 보였다.(Fig. 1)

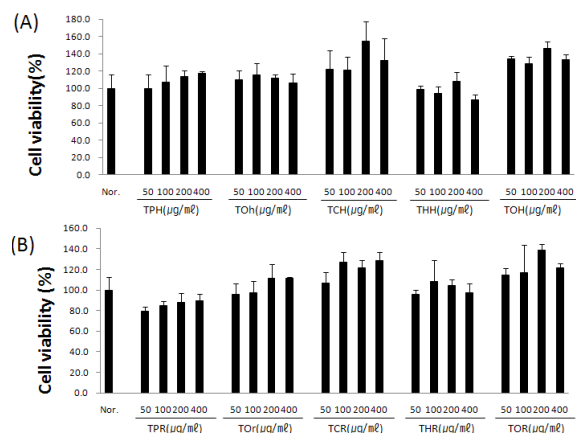


Fig. 1. The effect of Taraxaci Herba (A) and Radix (B) on cell viability in RAW 264.7 cells. The cells(5×10^4 cells/ml) were incubated 24 h and then pretreated with 50, 100, 200, 400 $\mu\text{g/ml}$ different Taraxacum extracts. Cell viability was determined by MTS assay in the presence or absence of Taraxacum for 24h. Data represent the mean \pm SE of at least three independent experiments.

2. NO와 PGE₂의 생성에 대한 효과

LPS로 자극된 RAW 264.7 세포로부터 생성된 NO의 양은 Nitrate/Nitrite colorimetric assay kit를 이용하여 세포질에 존재하는 NO₂⁻의 형태로써 측정하였다. 시료를 200 µg/ml의 농도로 18시간 처리하였다. 그 결과 대조군에 비하여 흰민들레의 뿌리추출물이 74.8%로 가장 많이 억제되었다. 흰민들레 지상부추출물은 22.1%로 억제율이 낮았으며, 흰민들레 지상부추출물을 제외한 모든 추출물에서 40%이상의 nitrite 생성이 억제되었다(Fig. 2A). 또한 민들레류의 지상부와 뿌리 추출물(200 µg/ml)에 의한 COX-2의 활성을 조사하기 위해 세포내 PGE₂의 양을 정량하였다. LPS로 유도되는 PGE₂의 생성에 미치는 영향을 조사한 결과, 대조군에 비하여 뿌리보다 지상부의 PGE₂생성이 전반적으로 높게 억제되었다. 산민들레의 지상부와 뿌리추출물은 PGE₂생성량이 각 71.4%, 82.4%로 30%이하의 억제율이 나타나 효과가 매우 낮았다(Fig. 2B).

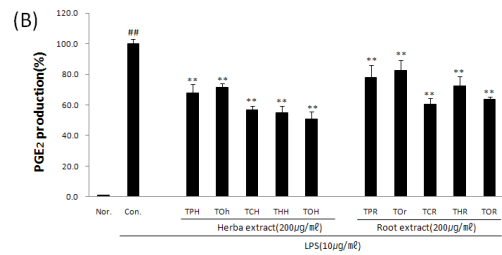
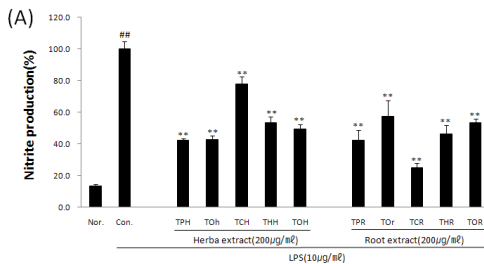


Fig. 2. The effect of Taraxaci Herba and Radix on NO and PGE₂ production in LPS-induced RAW 264.7 cells. RAW 264.7 cells were preincubated with 200 µg/ml of Taraxaci Herba and Radix extracts in 1 hr and then treated with 10 µg/ml of LPS for 18hrs. (A): NO production was measured by Griess reagent System, (B): The PGE₂ production was measured by ELISA as described in Materials and Methods. Data represent the mean ± SE of at least three independent experiments. Significantly different from control (#) or LPS alone (*); ##, **: p<0.01.

3. iNOS와 COX-2 발현에 대한 효과

LPS로 염증이 유발된 RAW 264.7 cell에서 시료에 의한 iNOS와 COX-2의 단백질 발현에 미치는 효과를 Western blotting을 통하여 확인하였다. 그 결과, iNOS와 COX-2 단백질 발현은 RAW264.7 세포만 배양한 정상군에서는 나타나지 않았으며, LPS 처리한 대조군에서 높게 나타났다. 민들레의 항염증활성을 알아보기 위해 각각의 시료를 200µg/ml 농도로 처리한 결과 iNOS의 단백질 발현양은 전반적으로 대조군에 비해 발현양이 줄었으며, 뿌리보다 지상부의 iNOS의 발현 억제율이 높았다. 특히 좁민들레와 서양민들레의 지상부에서 iNOS 감소량이 많았다(Fig. 3A). COX-2의 단백질 발현의 억제를 지상부와 뿌리에서 관찰할 수 없었다(Fig. 3B).

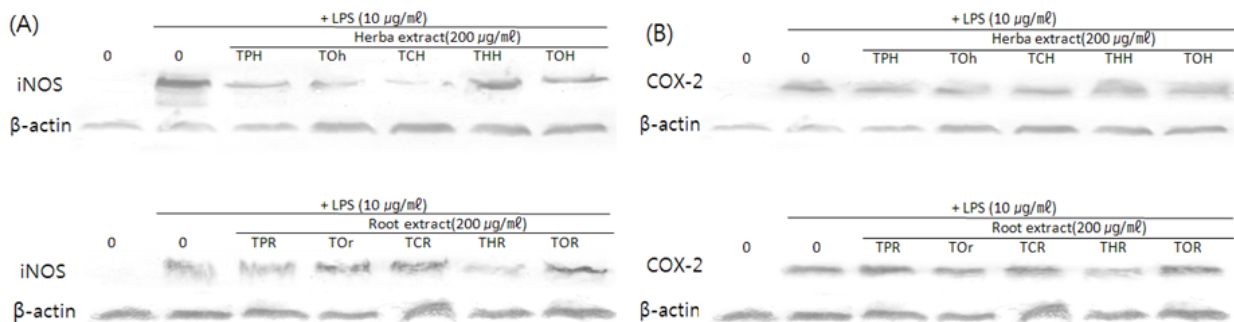


Fig. 3. The effect of Taraxaci Herba and Radix on iNOS (A) and COX-2 (B) expression in LPS-induced RAW 264.7 cells. The cells (2×10⁶ cells/ml) were preincubated with 200 µg/ml of Taraxaci Herba and Radix extracts in 1 hr and then treated with 10 µg/ml of LPS for 18hrs. Protein (100µg) from each sample was resolved 10% SDS-PAGE, and western blotting performed. β-actin was used as a control. Typical result from three independent experiments is shown.

4. HPLC를 이용한 민들레의 성분 비교

1) 표준품의 검량선 작성

표준 물질인 gallic acid, methyl gallate, esculetin 와 syringic acid (Fig. 4) 의 각각의 검량선을 작성하였다. (Fig. 5. gallic acid, R²=0.9974; methyl gallate, R²=0.9941; esculetin, R²=0.9982; syringic acid, R²=0.9913)

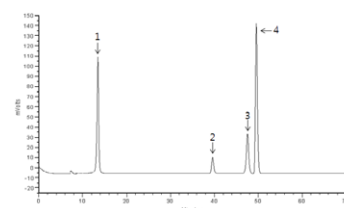


Fig. 4. Comparison analysis of HPLC pattern of standards. Peak 1: gallic acid, Peak 2: methyl gallate, Peak 3: esculetin, Peak 4: syringic acid

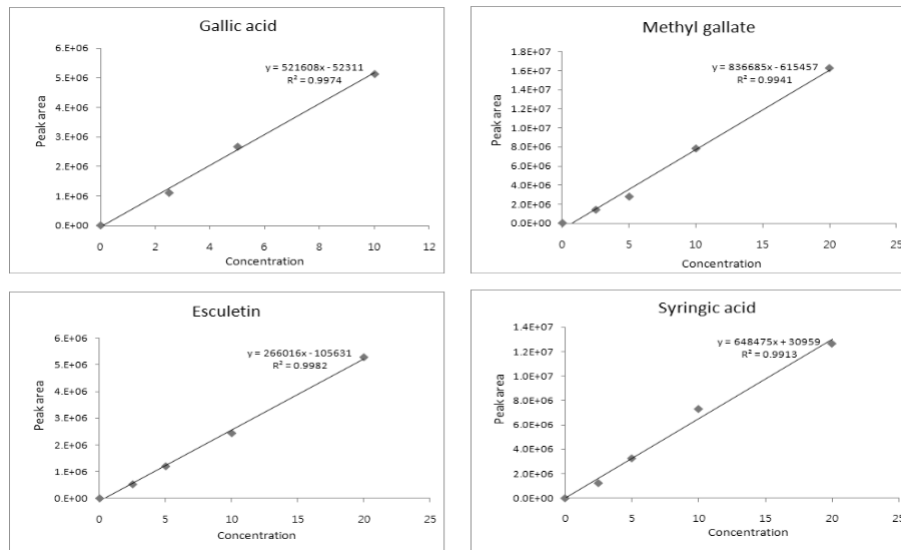


Fig. 5. Calibration curve of standards (gallic acid, methyl gallate, esculetin, syringic acid)

2) 민들레의 성분 분석 및 함량 비교

민들레의 지상부에 gallic acid, methyl gallate, esculetin, syringic acid가 대부분 함유되어 있었지만, 산민들레에서 methyl gallate와 syringic acid, 흰민들레에서 gallic acid와 syringic acid, 좁민들레에서 syringic acid는 검출되지 않았다. 흰민들레의 esculetin의 함량은 다른 민들레보다 2배정도 많이 함유되어 있고 전반적으로 methyl

gallate가 높은 함유량을 나타냈다. 뿌리에는 전반적으로 methyl gallate와 esculetin이 공통적으로 함유되어 있었고, syringic acid는 함유되어 있지 않았다. 민들레와 산민들레에서 gallic acid를 확인할 수 있었다.(Fig. 6) 마찬가지로 뿌리에서도 전반적으로 methyl gallate의 함유량이 다른 성분보다 많았다.(Table. 2) 그 외에도 다양한 성분들이 함유되어 있음을 확인할 수 있었다.

Table 2. Content of standards in Taraxaci Herba and Radix

Material	Content of standards (% in 1mg/ml)				
	Gallic acid	Methyl gallate	Esculetin	Syringic acid	
Herba	TPH	2,83	11,97	7,71	0,29
	TOh	3,07	ND	8,43	ND
	TCH	ND	16,51	14,49	ND
	THH	3,07	12,33	6,85	ND
	TOH	4,20	12,41	6,89	0,43
Radix	TPR	2,41	14,16	13,43	ND
	TOr	2,27	15,64	16,43	ND
	TCR	ND	15,28	11,69	ND
	THR	ND	12,47	8,22	ND
	TOR	ND	12,08	14,40	ND

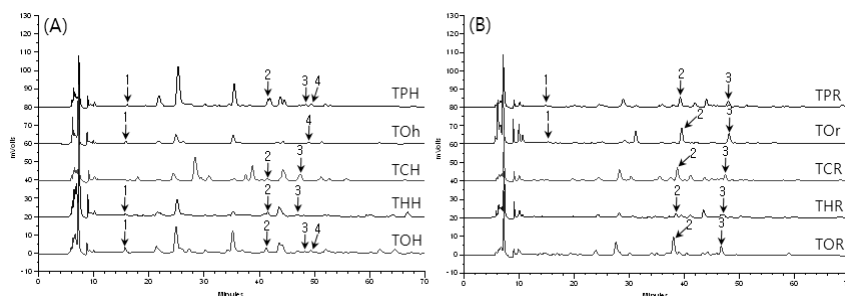


Fig.6. HPLC chromatogram of Taraxaci Herba (A) and Radix (B).

고찰

민들레는 蒲公英, 地丁, 金簪草, 婆婆丁, 蒲公英, 黄花, 안진방이, 앓은뱅이, 움드레, 무순들레, 문들레, 안질방이 등

의 다양한 이름이 있다¹⁴⁾.

蒲公英의 효능으로 本草綱目에서는 민들레 즙을 계속마시면 머리카락이 검어지고, 胃와 脾가 튼튼해진다고 하였고, 本草正義에서는 蒲公英의 성질이 淸량하여 熱毒, 紅腫, 瘡疔,

癰瘍의 치료에 내복과 외용이 모두 가능하며 그 효과가 대단히 좋다고 한다¹⁵⁾.

蒲公英에 관한 연구로 서양민들레 추출물은 NF- κ B활성 조절을 통한 NO생성 및 iNOS 발현 억제 효과가 있으며¹⁶⁾, carrageenan 유발 염증 및 CAM assay에서 항염 활성이 있는 것으로 보고되었다¹⁷⁾. 또한 蒲公英은 자유라디칼 소거능 및 생리활성 작용이 우수하여 식품 및 화장품의 천연소재로 이용 가능하며¹⁸⁾, 중추신경계에 대한 항염증작용이¹⁹⁾ 보고되어 있다.

그러나, 아직 국내 자생하는 다양한 민들레의 성분 및 항염증 효과는 비교되어 있지 않다. 그러므로, 국내에서 자생하는 5종 민들레의 지상부 및 뿌리의 성분 및 항염 활성을 비교분석하였다.

MTS assay를 이용하여 RAW 264.7 세포에 대한 시료의 독성 실험 결과, 실험한 모든 농도에서는 세포생존율에 큰 영향을 주지 않았다.

NO는 염증반응의 중요 인자로 신경계통 조직에서 신경전달물질, 신경조절물질 또는 이차전령물질(second messenger)로 작용하는 것으로 알려진 free radical이며 생리적, 병리적 기능을 두루 수행하는 인자로 합성과 다양한 mechanism에 작용하며, 염증반응과 면역에 관여하는 중요한 인자이다²⁰⁾. NO는 iNOS에 의해서 발생되는데 iNOS는 외부 자극에 반응하여 생체를 방어하려는 목적으로 단시간에 다량의 NO를 생성하여 급만성 염증에 관여한다²¹⁾. 연구 결과 蒲公英의 추출물은 LPS에 의해 RAW 264.7 세포로부터 생성된 NO의 생성량은 전반적으로 억제하였으나 iNOS의 단백질 발현은 산민들레와 흰민들레 지상부추출물에서 억제하는 경향을 보였다.

COX는 arachidonic acid를 PGE₂로 전환시키는데 관여하는 중요한 효소이며, COX-1과 COX-2 두 종류의 아형으로 동정되었다. COX-1은 많은 정상조직에서 일정한 수준으로 발현되어 있으나, COX-2는 몇몇 염증질환 상태나 악성종양에서 유도된다^{22,23)}. 이 COX 활성에 따른 주요 산물이 바로 PGE₂이며, 염증질환, 자가면역질환, 종양성 질환의 병리에서 중요한 역할을 하며, 특히 염증 반응의 중요한 물질로 매개된다^{24,25)}. 본 연구 결과에서 蒲公英 추출물은 LPS에 의해 RAW 264.7 세포로부터 생성된 PGE₂의 생성량은 70%이상으로 억제율이 낮게 나타났으며, COX-2의 단백질 발현은 쯤민들레 뿌리추출물을 제외한 약재에서는 효과가 나타나지 않았다. 즉 蒲公英 추출물의 세포 안전성에 관해서는 실험한 모든 농도에서 안전성을 보여주었고, 蒲公英의 추출물에서 NO와 PGE₂는 감소시킴으로써 항염 효과가 있음이 입증되었으며, 이들의 합성효소인 iNOS의 발현은 감소되었으나 COX-2의 발현은 대부분 감소되지 않아 이에 대한 기전 연구가 필요할 것으로 생각된다.

민들레에 관한 성분 연구에 따르면 뿌리에는 taraxacin과 inulin의 함량이 특히 많으며, carotenoid성분인 taraxathin과 triterpene 성분인 taraxol과 taraxasterol 및 choline이 풍부하다고 보고되었고^{26,27)}, 민들레의 잎은 뿌리보다 K, Ca, Fe 등의 무기질과 비타민C, tocopherol의 함량이 매우 높다고 보고되었으며, 다른 국화과 약용식물에 비해서 단백질 함량이 높은 편이다²⁸⁾. 전초에서 gallic acid, methyl gallate, esculetin, syringic acid 등의 44가지의 성분을 분리하였고

²⁹⁾ 지상부에서 taraxasterol, taraxerol³⁰⁾, 꽃에서 arnidiol, lutein, flavoxanthine 등의 성분이 분리되었으며, 잎에는 lutein, violaxanthin, plastoquinone 등이 함유되어 있으며, 특히 guainolide sesquiterpene인 desacetylmaticarin (austricin)은 항알러지 작용이 있는 것으로 알려져 있다³¹⁾.

본 연구에서는 *T. mongolicum*의 전초의 성분에 대한 연구보고²⁹⁾를 참고하여 함유된 성분인 gallic acid, methyl gallate, esculetin 및 syringic acid의 함량을 분하였다. 그 중 gallic acid와 methyl gallate는 구강상피세포에서의 염증성 사이토카인에 대한 효과가 있으며³²⁾, esculetin은 TNF에 유도된 3T3-L1 adipocytes에 대한 iNOS 발현의 억제 효과가 있고³³⁾, syringic acid는 암세포종인 인체 구강유상피암종 세포에 대하여 독성이 있으며 항암작용이 있다고 보고되어 있다.³⁴⁾ 본 연구에서 HPLC를 이용한 시료의 성분 함량 분석한 결과, 산민들레의 지상부를 제외한 5종의 민들레에서 methyl gallate와 esculetin를 정량할 수 있었다. Methyl gallate는 지상부에 11.97~16.51%, 뿌리에 12.47~15.64% 함유하고 있었다. Esculetin은 지상부에 6.85~14.49%, 뿌리에 8.22~16.43% 함유하고 있었다. 항염활성이 있는 methyl gallate와 esculetin은 민들레류의 항염증 효과와 관련될 것으로 추정된다. 그러나, 본 실험에서 나타난 항염활성 정도는 methyl gallate와 esculetin의 함량과 비례 관계가 없었으며, 향후 민들레의 항염활성 및 활성성분 분리에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

결론

우리나라에서 자생하는 민들레 5종의 지상부와 뿌리의 methanol추출물의 항염증 효과와 성분 비교 연구를 수행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. RAW 264.7 세포에 대한 독성실험 결과, 시료 농도 50 ~ 400 μ g/ml에서 모두 80%이상의 세포생존율을 나타내었다.
2. 蒲公英 추출물은 LPS로 유도되는 NO, PGE₂ 생성량을 감소시켰다. NO 생성은 모든 시료에서 크게 감소시켰으며, 특히 흰민들레 뿌리는 70%이상 크게 감소시켰다. PGE₂ 생성은 모든 시료에서 크게 감소되었다.
3. LPS에 의해 유도된 iNOS 발현은 지상부에서 쯤민들레와 서양민들레가 크게 감소시켰고, 뿌리에서는 흰민들레와 쯤민들레가 크게 감소시켰다. COX-2 발현은 지상부와 뿌리에서 모두 변화가 나타나지 않았다.
4. 민들레의 기지 성분 중 gallic acid, methyl gallate, esculetin, syringic acid에 대한 함량 분석 결과 산민들레의 지상부를 제외한 5종의 민들레에서 methyl gallate와 esculetin를 정량할 수 있었다. Methyl gallate는 지상부에 11.97~16.51%, 뿌리에 12.47~15.64% 함유하고 있었다. Esculetin은 지상부에 6.85~14.49%, 뿌리에 8.22~16.43% 함유하고 있었다.

연구 결과 국내 자생하는 다양한 민들레의 지상부와 뿌리는 모두 유의한 항염증 효과를 기대할 수 있었으며, 종 및 부위에 따른 성분함량의 차이가 있음을 확인할 수 있었다. 본 실험에서 나타난 민들레의 종 및 부위에 따른 항염활성 정도는 분석된 기지성분의 함량과 관련이 없었으므로, 향후 항염활성 및 활성성분 분리에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

감사의 글

이 논문은 2010년도 BK21사업의 한의과학사업단의 지원으로 수행된 연구결과이므로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 全國韓醫科大學 共同教材編纂委員會. 本草學. 서울 : 永林社. 2000 : 201-2.
2. 이영노. 한국식물도감. 서울 : 교학사. 1998 : 866-8.
3. 정보섭, 김일혁. 천연 약물대사전. 서울 : 남산당. 1984 : 77.
4. 菊地浩吉. 최신면역학. 서울 : 집문당. 1989 : 355-6.
5. Jin X, Zhang XH, Zhao NC. Effects of petroleum ether extract of *Peucedanum praeruptorum* Dunn on rabbit trachea smooth muscles. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 1994 ; 19(6) : 365-7.
6. Huang YC, Guh JH, Cheng ZJ, Chang YL, Hwang TL, Liao CH, Tzeng CC and Teng CM. Inhibition of the expression of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in macrophages by 7HQ derivatives : Involvement of IkappaB-alpha stabilization. *Eur. J. Pharmacol*. 418. 2001 ; 133-9.
7. Reddy ST, Herschman HR. Ligand-induced prostaglandin synthesis requires expression of the TIS10/PGS-2 prostaglandin synthase gene in murine fibroblasts and macrophages. *J Biol Chem*. 1994 ; 269(22) : 15473-80.
8. Kisiel W, Barszcz B. Further sesquiterpenoids and phenolics from *Taraxacum officinale*. *Fitoterapia*. 2000 ; 71 : 269-73.
9. Takasaki M, Konoshima T, Tokuda H, Arai Y, Shiojima K, Ageta H. Anti-carcinogenic activity of *Taraxacum* plant. *Biol Pharm Bull*. 1999 ; 22 : 602-5.
10. 박지영. NF-kB활성 조절을 통한 민들레 추출물의 NO 생성 및 iNOS 발현 억제효과. 인제대학교 대학원 식품영양학과. 2005.
11. 백흠영. 포공영의 자유라디칼 소거 및 간세포 보호활성. 생약학회지. 2003 ; 324-6.
12. 이은방, 김정근, 김옥경. 포공영의 항위염 작용. 생약학회지. 1993 ; 313-8.
13. 김준한, 김태현, 류영수, 고재왕. 중추신경계에서 포공영의 항염증작용에 관한 연구. 동의신경정신과학회지. 2000 ; 11-21.
14. 김태정. (약이 되는)한국의 산야초. 서울 : 국일미디어. 1994 : 302.
15. 강미정, 김광수. 민들레의 생리활성과 연구동향. 식품산업과 영양. 2001 ; 6(3) : 560-7.
16. 박지영. NF-kB활성 조절을 통한 민들레 추출물의 NO 생성 및 iNOS 발현 억제효과. 인제대학교 대학원 식품영양학과. 2005.
17. Jeon HJ, Kang HJ, Jung HJ, Kang YS, Lim CJ, Kim YM, Park EH. Anti-inflammatory activity of *Taraxacum officinale*. *Journal of Ethnopharmacology*. 2008 ; 115(1) : 82-8.
18. 천순주, 김영훈, 황연경, 이진태, 박경숙, 조우아, 최은영. 포공영의 항산화활성 및 화장품소재 응용에 관한 연구. 대한본초학회지. 2007 ; 109-13.
19. 김준한, 김태현, 류영수, 고재왕. 중추신경계에서 포공영의 항염증작용에 관한 연구. 동의신경정신과학회지. 2000 ; 11-21.
20. Feldman PL, Griffith OW, Stuehr D. The surprising life of nitric oxide. *Chemical and Engineering News*. 1993 ; 20 : 26-38.
21. Badger AM, Cook MN, Swift BA, Newmantra TM, Gowen M, Lark M. Inhibition of interleukin-1 induced proteoglycan degradation and nitric oxide production in bovine articular cartilage/chondrocyte cultures by the natural product, hymenialdisine. *J Pharmacol Exp Ther*. 1999 ; 290(2) : 587-93.
22. Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. Cyclooxygenases 1 and 2. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1998 ; 38 : 97-120.
23. Hawkey CJ. Cox-2 inhibitors. *The Lancet*. 1999 ; 353 : 307-14.
24. Horton JK, Williams AS, Smith-Phillips Z, Martin RC, O'Beirne G. Intracellular measurement of prostaglandin E₂: effect of anti-inflammatory drugs cyclooxygenase activity and prostanoid expression. *Anal Biochem*. 1999 ; 271(1) : 18-28.
25. Chou T, Earl Fu, Shen E. Chitosan inhibits PGE₂ formation and COX-2 induction in lipopolysaccharide-treated RAW 264.7 macrophages. *Biochem Biophys Res Com*. 2003 ; 308 : 403-7.
26. Williams CA, Goldstone F, and Greenham J. Flavonoids, cinnamic acids and coumains from the different tissues and medicinal preparations of *Taraxacum officinale*. *Phytochemistry*. 1996 ; 42 : 121-7.
27. Power FB and Browning HJ. The constituents of *Taraxacum* root. *J. Chem. Soc*. 1996 ; 101 : 121-7.
28. Kang MJ, Seo YH, Kim JB, Shin SR, and Kim KS. The chemical composition of *Taraxacum*

- officinale* consumed in Korea. *J. Soc. Food. Sci.* 2000 ; 16 : 182-7.
29. Shi SY, Zhou CX, Xu Y, Tao QF, Bai H, Lu FS, Lin WY, Chen HY, Zheng W, Wang LW, Wu YH, Zeng S, Huang KX, Zhao Y, Li XK, Qu J. Studies on chemical constituents from herbs of *Taraxacum mongolicum*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2008 ; 33(10) : 1147-57.
30. Ahmad VU, Yasmeen S, Ali Z, Khan MA, Choudhary MI, Akhtar F, Miana GA, Zahid M. Taraxacin, a new guaianolide from *Taraxacum wallichii*. *J. Nat Prod.* 2000 ; 63 : 1010-1.
31. Cheong H, Choi EJ, Yoo GS, Kim KM, Ryu SY. Desacetylmaticarin, an anti-allergic component from *Taraxacum platycarpum*. *Plant Med.* 1998 ; 64 : 577-8.
32. 장희숙. Inhibitory effects of methyl gallate and gallic acid on interleukin-6 and interleukin-8 production by *Fusobacterium nucleatum*-activated oral epithelial cell. 전남대학교 대학원 석사학위논문. 2009.
33. Yang JY. Inhibitory Effect of Esculetin on the inducible nitric oxide synthase expression in TNF-stimulated 3T3-L1 adipocytes. *Korean Journal of Physiology & Pharmacology*. 2003 ; 7(5) : 283-7.
34. Lee JH, Han DS, Jekal SJ, Lee JH, Kim CH, Yoo M, Park ST. Cytotoxic effect of syringic acid on human oral epithelioid carcinoma cells. *Journal of Experimental & Biomedical Sciences*. 2005 ; 11(3) : 337-41.