

Pancreatic Lipase Inhibitors in the Roots of *Taraxacum ohwianum*, a Herb Used in Korean Traditional Medicine

Taewan Kim¹ and Tae Hoon Kim^{2*}

¹Department of Food Science and Biotechnology, Andong National University, Andong 760-749, Korea

²Department of Herbal Medicinal Pharmacology, Daegu Haany University, Gyeongsan 712-715, Korea

민들레 뿌리로부터 Pancreatic lipase 저해 물질의 분리

김태완¹ · 김태훈^{2*}

¹안동대학교 식품생명공학과, ²대구한의대학교 한약재약리학과

Abstract

Activity-guided isolation from an ethylacetate-soluble fraction of a 70% (v/v) ethanolic extract from the roots of *Taraxacum ohwianum*, using a pancreatic lipase inhibition assay, resulted in isolation and identification of five phenolic metabolites of previously known structure; these were 3,5-di-*O*-caffeoylquinic acid, chicoric acid, caffeic acid, protocatechuic aldehyde, and luteolin. All structures were confirmed by NMR and MS spectroscopic data. Of these compounds 3,5-di-*O*-caffeoylquinic acid exhibited the most potent inhibitory activity, with IC₅₀ of 65.1±0.7 μM against pancreatic lipase.

Key words : *Taraxacum ohwianum*, pancreatic lipase inhibition, caffeic acid derivatives

서 론

소득수준의 향상 및 산업의 발달로 인하여 식생활, 식습관 등 라이프스타일이 빠르게 서구화됨에 따라 만성질환이나 성인병환자가 급격히 증가하고 있는 실정이며, 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 체내 지방 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 높아지는 것이 잘 알려져 있다(3,4). 비만치료의 일반적인 원칙으로서 식이 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 toxytricini*로부터 유래된 lipstatin의 유도체인 tetrahydrolipstatin (orlistat)으로서, 현재 항비만 의약품으로서 시판중이며 섭취된 지방의 약 30%를 저해할 정도로 효능이 가장 우수한 것으로 알려져 있다(6,7). 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 저해제를 저해할 수 있는 소재의 개발을 위한 연구가 다수의 연구팀에 의해 진행되고 있으며(9), *Platycodin grandiflorum*, *Salvia officinalis*, *Salacia reticulate*, *oolong*차로부터 지방분해 효소를 억제하는 활성성분이 보고되었다(10). 본 연구팀도 천연물 유래의 항비만 선도물질 개발의 일환으로 천연소재 및 천연물에 생물전환기법을 적용하여 pancreatic lipase

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

저해제를 분리하여 그 효능에 대해 보고하였다(11-13). 본 연구에서는 약용식물로부터 pancreatic lipase의 활성을 저해하는 천연물질을 탐색하고자 국내의 자생식물을 대상으로 lipase 저해능력을 측정하였으며, 그중에서 우수한 저해능을 나타낸 민들레 뿌리의 70% ethanol 추출물에 대하여 활성물질 탐색을 수행하였다.

민들레는 국화과(Compositae)에 속한 다년초로서 한방에서 건조한 전초를 봄과 여름에 채취하여 해독, 소염, 이뇨의 목적으로 이용하여 왔다(14). 식품공전에는 민들레의 어린순, 어린잎, 뿌리부위를 식품의 주원료로 이용할 수 있다고 수록하고 있으며, 일본 한약도감에는 소염, 항균, 이뇨, 유즙분비 촉진, 적출심장에 대하여 효과가 있다고 기록되어 있다(15,16). 본 실험에서 사용한 울릉 민들레는 서양민들레의 왕성한 번식력에 밀려 토종 민들레를 찾아보기 힘든 현실에서 울릉도 자생 민들레의 항비만 효과를 평가하고 우수성을 알리고 활용가치를 높이고자 한다.

본 연구에서는 과학적 검증이 전무한 울릉도 민들레 뿌리의 70% ethanol 추출물로부터 3종의 caffeic acid 유도체 및 2종의 페놀성 화합물을 분리, 동정하였으며 이들 화합물의 pancreatic lipase 저해 활성을 확인하였기에 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 시료로 사용한 울릉도 자생 민들레(*Taraxacum ohwianum*) 뿌리는 경북 울릉도 나리분지에서 2009년도 9월에 채취한 민들레를 사용하였으며, 표본시료는 본대학교의 한약재약리학과 천연물화학실험실에 보관하고 있다.

추출물의 제조 및 분획

신선한 민들레 뿌리 1.2 kg을 분쇄기로 잘게 마쇄한 후 70% ethyl alcohol (EtOH) 8 L로 3일간 3회 반복 추출한 후 얻어진 결과물(235.0 g)에 대해 pancreatic lipase 저해효능을 평가한 결과 IC_{50} 이 $141.0 \pm 3.0 \mu\text{g/mL}$ 의 효능을 나타내었다. 계속해서 유기용매를 사용하여 극성에 따른 분획은, 70% EtOH 추출물을 감압 농축하여 EtOH을 제거하고 물에 현탁된 추출시료를 저극성용매인 *n*-hexane으로 먼저 추출한 후 수용층을 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(3.6 g), EtOAc 가용분획(8.0 g), *n*-BuOH 가용분획(32.4 g), H₂O 가용분획(158.5 g)을 각각 얻었다. 각 가용분획에 대하여 지방 흡수와 관련되어 있는 pancreatic lipase에 대한 활성을 측정하여 가장 강한 활성을 나타낸 민들레 70% ethanol 추출물의 EtOAc 가용부(IC_{50}

= $43.3 \pm 3.4 \mu\text{g/mL}$)에 대해 activity-guided isolation을 수행하여 활성물질의 분리 정제를 실시하였다(Fig. 1).

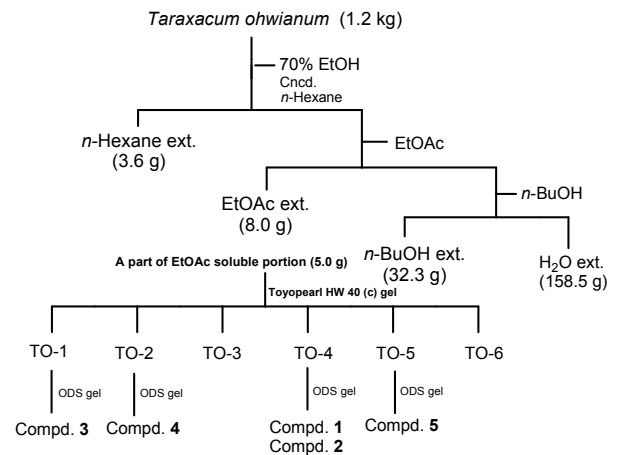


Fig. 1. Isolation procedure for pancreatic lipase inhibitors from the roots of *Taraxacum ohwianum*.

활성물질 분리

EtOAc가용분획 5.0 g을 H₂O—MeOH 혼합용매를 용출용매로 사용하여 Toyopearl HW 40 (coarse grade; 1.5 cm i.d. x 60 cm)를 사용한 column chromatography를 실시하여 총 6개의 분획[TO-1; H₂O—MeOH (100:0), TO-2; H₂O—MeOH (7:3), TO-3; H₂O—MeOH (1:1), TO-4; H₂O—MeOH (3:7), TO-5; H₂O—MeOH (0:10), TO-6; H₂O—Me₂CO (3:7)]으로 나누었으며, 각 분획물에 대하여 활성을 테스트 한 결과 TO-4 (IC_{50} = $40.3 \pm 2.7 \mu\text{g/mL}$)의 pancreatic lipase 저해 활성을 확인하였다. 얻어진 소분획 TO-4 (300 mg)에 대해 YMC gel ODS AQ 120S (1.1 cm i.d. x 38 cm)를 이용한 칼럼크로마토그래피 및 ODS column (YMC gel ODS A-323, 4.6 mm x 150 mm)을 이용한 semi-preparative HPLC를 수행하여 3,5-di-*O*-caffeoylquinic acid (1) (18.5 mg), chicoric acid (2) (4.6 mg)를 분리하였으며, 활성이 비교적 약한 TO-1, 2, 5로부터는 각각 caffeic acid (3) (2.7 mg), protocatechuic aldehyde (4) (3.3 mg), luteolin (5) (5.7 mg)을 순수 분리하였다(Fig. 2). 이동상 용매로는 H₂O (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. 본 실험에 사용된 시약 및 기기로서, HPLC는 Shimadzu LC-10A를 사용하였으며, Fraction collector는 Advantec SF-160을 사용하였다. ¹H, ¹³C NMR과 ¹H-¹H COSY, NOESY, HSQC, HMBC 스펙트럼은 CD₃OD 용매를 이용하여 600 MHz FT-NMR spectrometer (Varian VNS600)로 측정하였으며, 추출 및 Column chromatography용 용매는 특급시약을 사용하였다. TLC plate는 Kiesel gel 60 F254

(Merck) 및 RP-18 (Whatman)을 사용하였다. Column chromatography용 고정상은 Toyoperal HW-40 (Tosoh, Tokyo, Japan) 사용하였고, octadecyl silica gel (ODS)은 Merck사에서 생산한 Lichroprep RP-18 (40-63 mesh)을 사용하였다. Semi-prep용 column으로서는 YMC gel ODS A-302 (4.6 mm x 150 mm)을 이용하여 순수물질분리를 하였다. 발색시약으로는 vanillin-sulfuric acid 시액, 10% sulfuric acid 시액을 사용하였고, TLC spot검출에는 UV lamp의 파장은 254 및 360nm를 사용하였다. 흡광도 측정은 multiplate spectrophotometer (Tecan, Infinite F200, Austria)로 각 흡수대에 따른 흡광도를 측정하였다.

Pancreatic lipase 저해활성 측정

Pancreatic lipase 저해활성 측정은 Kim 등(14)이 행한 방법을 변형하여 실시하였다. 즉 enzyme buffer에 lipase를 0.5 mg/200 mL의 농도로 4°C를 유지하면서 용해한 후 4000 rpm으로 원심 분리를 하여 상층액을 사용하여 169 μ L Tis-HCl buffer와 6 μ L enzyme buffer를 혼합한다. 샘플은 DMSO로 용해하여 final 농도가 3%가 되도록 한 후 다양한 농도로 희석하여 positive control을 MeOH에 녹인 후 사용

한다. *p*-Nitriphenyl butyrate (*p*-NPB)을 10 mM이 되게 DMF에 용해한 후 기질을 빼고 enzyme과 sample을 먼저 37°C에서 15분 동안 shaking incubation 시킨 후 기질을 첨가 하여 37°C에서 30분 동안 shaking incubation 시킨 후 405 nm에서 ELISA reader를 이용하여 흡광도를 측정하였다. Pancreatic lipase 저해활성은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

결과 및 고찰

전통 약용식물로부터 항비만 선도물질개발을 위해 pancreatic lipase 저해 활성을 지표로 한 분리를 수행하여, 민들레 뿌리의 70% ethanol 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. 비교적 높은 활성을 보인 EtOAc 분획으로부터 Toyopearl 및 ODS gel을 이용한 column chromatography를 수행하여 5종의 페놀성 화합물을 분리하였으며, 분리한 단일 물질에 대해 지방 분해효소인

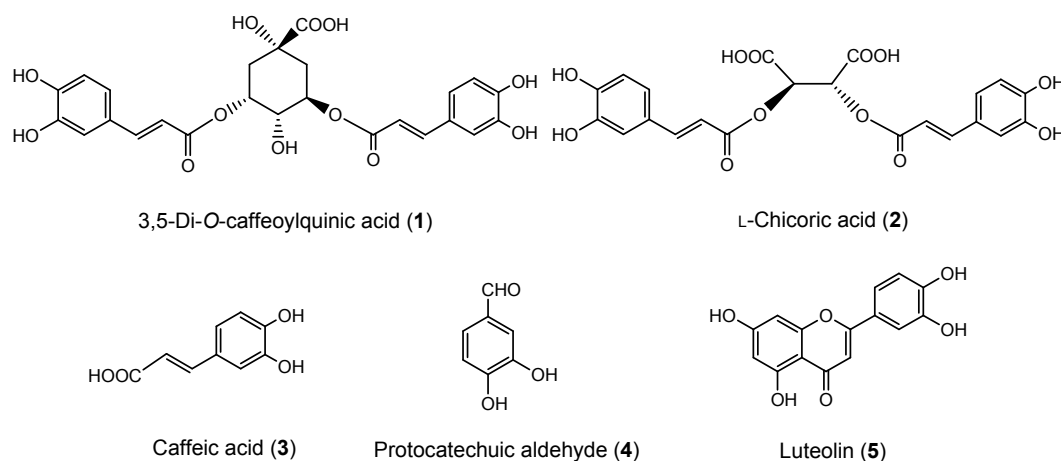


Fig. 2. Structures of isolated compounds 1—5 from the roots of *Taraxacum ohwianum*.

Compound 1 (3,5-di-O-caffeoylquinic acid) white amorphous powder; $[\alpha]_D^{20}$ -153.1° (*c* 1.0, MeOH); positive FAB-MS: m/z 517 $[M+H]^+$; 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H 7.61 (1H, d, *J*=16.0 Hz, H-7''), 7.57 (1H, d, *J*=16.0 Hz, H-7'), 7.06 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-2''), 7.05 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-2'), 6.96 (1H, dd, *J*=8.0, 2.0 Hz, H-6''), 6.95 (1H, dd, *J*=8.0, 2.0 Hz, H-6'), 6.77 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-5''), 6.76 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-5'), 6.3 (1H, d, *J*=16.0 Hz, H-8''), 6.26 (1H, d, *J*=16.0 Hz, H-8'), 5.42 (1H, m, H-3), 5.38 (1H, m, H-5), 3.97 (1H, dd, *J*=7.6, 3.4 Hz, H-4), 2.30 (1H, m, H-2), 2.22 (2H, m, H-6), 2.15 (1H, m, H-2). ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ_C 177.4 (C-7), 168.9 (C-9'), 168.4 (C-9''), 149.6 (C-4'), 149.5 (C-4''), 147.3 (C-7''), 147.0 (C-7'), 146.8 (C-3', 3''), 127.9 (C-1''), 127.8 (C-1'), 123.1 (C-6''), 123.0 (C-6'), 116.5 (C-5''), 116.3 (C-5'), 115.7 (C-2''), 115.3 (C-8''), 115.1 (C-8'), 74.7 (C-1), 72.6 (C-5), 72.1 (C-3), 70.6 (C-4), 37.7 (C-6), 36.0 (C-2).

Compound 2 (chicoric acid) Yellow amorphous powder; $[\alpha]_D^{20}$ +363.7° (*c* 0.5, MeOH); positive FAB-MS: m/z 475 $[M+H]^+$; 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H 7.64 (2H, d, *J*=15.6 Hz, H-7', 7''), 7.08 (2H, s, H-2', 2''), 6.98 (2H, d, *J*=7.8 Hz, H-6', 6''), 6.78 (2H, d, *J*=7.8 Hz, H-2', 2''), 6.37 (2H, d, *J*=15.6 Hz, H-8', 8''), 5.78 (2H, s, H-2, 3). ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ_C 170.3 (C-1, 4), 167.9 (C-9', 9''), 149.9 (C-4', 4''), 148.3 (C-7', 7''), 146.9 (C-3', 3''), 127.7 (C-1', 1''), 123.3 (C-6', 6''), 116.5 (C-5', 5''), 115.2 (C-2', 2''), 114.0 (C-8', 8''), 73.0 (C-2, 3).

Compound 3 (caffeic acid) White amorphous powder. 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H 7.42 (1H, d, *J*=16.0 Hz, H-8), 7.08 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-2), 6.92 (1H, dd, *J*=8.0, 2.0 Hz, H-5), 6.79 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-6), 6.23 (1H, d, *J*=16.0 Hz, H-7).

Compound 4 (protocatechuic aldehyde) White amorphous powder; 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H 9.68 (1H, s, -CHO), 7.30 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-2), 7.29 (1H, dd, *J*=8.0, 2.0 Hz, H-6), 6.95 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-5).

Compound 5 (luteolin) Yellow amorphous powder; 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H 7.39 (1H, dd, *J*=8.0, 2.0 Hz, H-6'), 7.37 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-2'), 6.95 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-5'), 6.63 (1H, s, H-3), 6.49 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8), 6.23 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6).

pancreatic lipase에 대한 저해활성을 평가하였다.

화합물 1은 백색 분말상 물질로 얻어졌으며 FeCl₃ 시액에 의하여 양성의 정색반응을 확인하였다. FAB-MS 측정결과 m/z 517 [M+H]⁺에서 ion peak를 확인하였고, ¹H-NMR 스펙트럼의 aromatic proton 영역에서 벤젠고리 유래의 2쌍의 ABX 타입 시그널이 δ_H 7.06 (1H, d, J=2.0 Hz), 7.05 (1H, d, J=2.0 Hz), 6.96 (1H, dd, J=8.0, 2.0 Hz), 6.95 (1H, dd, J=8.0, 2.0 Hz), 6.77 (1H, d, J=8.0 Hz) 및 6.76 (1H, d, J=8.0 Hz)에서 관찰되었고, 2쌍의 *trans* olefinic proton 시그널이 δ_H 7.61 (1H, d, J=16.0 Hz), 7.57 (1H, d, J=16.0 Hz), 6.34 (1H, d, J=16.0 Hz) 및 6.26 (1H, d, J=16.0 Hz) 관찰되었다. 이들 시그널은 caffeic acid의 전형적인 시그널과 일치하였고 본 화합물의 구성 subunit로 추정하였다. 또한 aliphatic proton 영역에서 δ_H 5.42 (1H, m), 5.38 (1H, m), 3.97 (1H, dd, J=7.6, 3.4 Hz), 2.30 (1H, m), 2.22 (2H, m), 2.15 (1H, m)의 시그널이 관찰되었으며 이는 quinic acid 유래의 시그널임을 확인하였다. 이들 구성 화합물의 결합 방식을 결정하기 위하여 HMBC등의 2D NMR을 측정한 결과 본 화합물은 quinic acid의 3 및 5번 위치에 caffeic acid가 결합한 3,5-di-*O*-caffeoylquinic acid로 확인 동정하였으며 문헌치의 결과(18)와 일치하였다.

Table 1. Inhibitory effects of the ethanolic extracts of *Taraxacum ohwianum* roots and its EtOAc-, *n*-BuOH-, and H₂O-soluble portions against pancreatic lipase

Conc. (μ g/mL)	Inhibition (%) ^a				
	250	125	62.5	31.3	15.6
70% EtOH ext.	60.7 \pm 1.7	47.5 \pm 1.5	40.2 \pm 0.3	29.5 \pm 0.6	17.1 \pm 1.1
<i>n</i> -Hexane layer	27.1 \pm 1.5	13.7 \pm 2.1	10.5 \pm 1.1	5.3 \pm 0.5	3.2 \pm 2.1
EtOAc layer	70.5 \pm 0.8	65.1 \pm 1.5	57.3 \pm 1.3	45.1 \pm 0.6	38.7 \pm 0.7
<i>n</i> -BuOH layer	36.1 \pm 0.7	25.9 \pm 0.5	18.6 \pm 0.5	10.3 \pm 0.5	7.3 \pm 0.6
H ₂ O layer	29.2 \pm 0.8	23.1 \pm 0.5	17.1 \pm 0.2	9.5 \pm 0.3	5.3 \pm 0.9
Orlistat ^b	97.2 \pm 1.6	94.2 \pm 1.8	91.1 \pm 0.1	86.1 \pm 0.6	78.1 \pm 1.2

^aData represent the mean \pm SD three replications.

^bOrlistat was used as a positive control.

화합물 2의 ¹H-NMR 스펙트럼의 aromatic proton 영역에서 δ_H 7.64 (2H, d, J=15.6 Hz), 7.08 (2H, s), 6.98 (2H, d, J=7.8 Hz), 6.78 (2H, d, J=7.8 Hz) 및 6.37 (2H, d, J=15.6 Hz)의 시그널이 관찰되었고 이는 쉽게 *trans* olefinic proton을 가진 caffeic acid의 존재를 확인하였다. 또한 δ_H 5.78(2H, s)에서의 oxymethine 시그널과 positive mode의 FAB-MS 측정결과 m/z 475 [M+H]⁺에서 ion peak를 나타내었다. 이들 결과로부터 본 화합물은 대칭적인 구조를 가지고 있는 dicaffeoyltartaric acid임을 확인하였다. 또한 tartaric acid와 비교하였을 시에 δ_H 5.78에서 나타난 시그널의 down field shift 및 HMBC 스펙트럼의 분석결과 두 개의 caffeic acid는

tartaric acid의 OH기에 결합한 것을 확인하였다. 이상의 결과 및 문헌상의 data(19)와 비교하여 본 화합물은 chicoric acid로 동정하였다.

화합물 3은 TLC상에서 FeCl₃ 시액에 의해 담녹색으로 나타나 phenolic 화합물임을 알 수 있었으며, ¹H-NMR 스펙트럼의 δ_H 7.42 (1H, d, J=16.0 Hz)과 6.23 (1H, d, J=16.0 Hz)에서 *trans* coupling하는 olefinic proton signal이 관찰되었으며, δ_H 7.08 (1H, d, J=2.0 Hz, H-2), 6.92 (1H, dd, J=8.0, 2.0 Hz)의 6.79 (1H, d, J=8.0 Hz)의 signal이 전형적인 ABX type의 coupling pattern으로 나타났다. 이상의 결과는 문헌치(20)와 잘 일치하였고 표품과 HPLC 직접 비교를 통하여 화합물 3를 caffeic acid로 동정하였다.

화합물 4는 백색의 분말상으로서 분리 되었으며 FeCl₃ 시액에 의하여 양성의 정색반응을 확인하였다. ¹H-NMR 스펙트럼에서 CHO 유래의 δ_H 9.68(1H, s) proton 시그널이 확인되었고, δ_H 7.30 (1H, d, J=2.0 Hz), 7.29 (1H, dd, J=8.0, 2.0 Hz) 및 6.95 (1H, d, J=8.0 Hz)에서 벤젠 유래의 전형적인 ABX-type의 시그널이 확인되었다. 이상의 분광학적결과는 문헌치(21)와 잘 일치하였고 표품과 HPLC 직접 비교를 통하여 화합물 4를 protocatechuic aldehyde로 동정하였다.

화합물 5는 황색분말상의 물질로서 분리 되었으며 FeCl₃ 시액에 의하여 양성의 정색반응을 확인하였다. ¹H-NMR 스펙트럼에서 flavonoid A-ring유래의 시그널인 δ_H 6.49 (1H, d, J=2.0 Hz), 6.23 (1H, d, J=2.0 Hz) 시그널이 확인되었고, B-ring유래의 ABX 형태의 시그널이 δ_H 7.39 (1H, dd, J=8.0, 2.0 Hz), 7.37 (1H, d, J=2.0 Hz), 6.95(1H, d, J=8.0 Hz)에서 관찰되었으며, C-ring유래의 δ_H 6.63 (1H, s)본 화합물은 luteolin으로 추정하였다. 이상의 분광학적결과는 문헌치(22)와 잘 일치하였고 표품과 HPLC 직접 비교를 통하여 화합물 5를 luteolin로 동정하였다.

Pancreatic lipase 저해 활성을 나타낸 민들레 뿌리의 70% EtOH 추출물을 극성별 유기용매로 순차 추출하여 활성을 나타낸 EtOAc 가용부에 대해서 각종 칼럼크로마토 그래피를 이용한 activity-guided isolation을 수행하였다. 얻어진 화합물 중 quinic acid에 caffeic acid 두 분자가 결합된 3,5-di-*O*-caffeoylquinic acid (1)가 65.1 \pm 0.7 μ M로 가장 강한 pancreatic lipase 저해능을 나타내었고, tartaric acid에 caffeic acid 두 분자가 대칭적으로 결합된 chicoric acid (2)의 경우에도 126.3 \pm 2.3 μ M의 IC₅₀ 값을 나타내었다. Caffeic acid (3), protocatechuic aldehyde (4) 및 luteolin (5)은 pancreatic lipase에 대하여 200 μ M 이하에서 저해활성을 나타내지 않는 것으로 확인되었다. 최근, 3,5-di-*O*-caffeoylquinic acid (1)는 당뇨합병증(23), 항위궤양 효과(24), 항혈전 효능(25) 등의 다양한 효능이 알려져 있으며 항비만 소재개발 관련 효소인 pancreatic lipase에 대한 본 화합물의 저해활성에 대한 보고는 이번이 처음이다.

Table 2. Inhibitory effects of isolated compounds 1-5 on pancreatic lipase activity.

Compound	Inhibitory Activity (IC ₅₀ value) ^a
	μM
3,5-Di-O-caffeoylquinic acid (1)	65.1±0.7
Chicoric acid (2)	126.3±2.3
Caffeic acid (3)	> 200
Protocatechuic aldehyde (4)	> 200
Luteolin (5)	> 200
Orlistat ^b	0.6±0.2

^aThe concentration of a compound required for a 50% inhibition (IC₅₀) of the pancreatic lipase activity. IC₅₀ values were calculated from dose inhibition curves. Inhibitory effects are expressed as the mean ± SD of duplicate experiments.

^bOrlistat was used as a positive control.

요 약

신선한 울릉도 민들레 뿌리를 70% ethanol로 침지 추출하여 얻어진 추출물을 *n*-hexane, EtOAc, *n*-BuOH로 순차용매 분획하였다. 이중 상대적으로 높은 pancreatic lipase 저해활성을 나타낸 EtOAc 분획에 대해 Toyopearl 및 C₁₈겔을 활용한 column chromatography를 수행하여 5종의 페놀성 화합물을 분리하였다. 각 화합물의 화학구조는 NMR 스펙트럼 데이터 해석 및 표준과의 HPLC 직접 비교를 통하여 3,5-di-O-caffeoylquinic acid, chicoric acid, caffeic acid, protocatechuic aldehyde, luteolin 으로 동정하였다. 이들 화합물중 3,5-di-O-caffeoylquinic acid 는 IC₅₀ 값이 65.1±0.7 μM로 가장 강한 효능을 나타내었으며, 다음으로 tartaric acid의 수산기에 2분자의 caffeic acid가 결합한 chicoric acid의 IC₅₀ 값이 126.3±2.3 μM의 저해능을 나타내었다. 민들레 뿌리의 EtOAc 가용부에 존재하는 caffeic acid 유도체가 pancreatic lipase 저해활성 물질임을 확인하였으며, 이들 활성은 caffeic acid가 결합한 quinic acid 및 tartaric acid 등의 구성화합물에 따라 다름이 시사되었다. 향후 이들 활성물질의 활성 기작에 대한 연구가 필요하며 본 연구결과는 보다 우수한 pancreatic lipase 저해능을 가지는 새로운 선도 화합물 발굴을 위한 기초자료로 이용될 수 있을 뿐만 아니라 울릉도에 자생하는 민들레 뿌리의 식물 화학적 성분에 대한 기초자료로 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단 기초연구사업 지원에 의해 수행된 연구과제(2010-0022783)결과의 일부로서 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Bray GA, Popkin BM (1998) Dietary fat intake dose affect obesity. *Am J Clin Nutr*, 68, 1157-1173
2. Bray GA, Popkin BM (1999) Dietary fat affects obesity rate. *Am J Clin Nutr*, 70, 572-573
3. Freedman DS, Serdula MK, Pery 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, Tsujita 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, Czubyko F, Von Bergmann K, Strobel W, Sjtrot 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 Discov Today*, 12, 879-889
11. Lee EM, Lee SS, Chung BY, Cho JY, Lee IC, Ahn SR, Jang SJ, Kim TH (2010) Pancreatic lipase inhibition by C-glucosidic flavones isolated from *Eremochloa ophiuroides*. *Molecules*, 15, 8251-8259
12. Hong JY, Shin SR, Bae MJ, Bae JS, Lee IC, Kwon OJ, Jung JW, Kim YH, Kim TH (2010) Pancreatic lipase inhibitors isolated from the leaves of cultivated mountain ginseng (*Panax ginseng*). *Korean J Food Preserv*, 17, 727-732
13. Kim TH, Kim JK, Ito H, Jo C (2011) Enhancement of pancreatic lipase inhibitory activity of curcumin by radiolytic transformation. *Bioorg Med Chem Lett*. 21, 1512-1514
14. Kang BS (2000) *Bonchohak*, 6th edition, Young Lim

- Sa, Seoul, Korea.
15. Namba T (1993) The encyclopedia of Wakan-yaku with color pictures vol 1, 68-71, Hoikusha, Osaka, Japan.
 16. Hwang KH, Park TK (2006) The inhibitory activity of the *Taraxacum mongolicum* on monoamine oxidase. Korean J Pharmacogn, 37, 229-234
 17. 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
 18. Zhu X, Zhang H, Lo R (2004) Phenolic compounds from the leaf extract of Artichoke (*Cynara scolymus* L.) and their antimicrobial activities. J Agric Food Chem, 62, 7272-7278
 19. Vett M, Strack D, Czygan F-C, Wray V, Witte L (1991) Di-*E*-caffeoyl-*meso*-tartaric acid in the barren sprouts of *Equisetum arvense*. Phytochemistry, 30, 527-529
 20. Kwon YS, Won HM, Kim CM (2000) Flavonoids from *Indigofera pseudo-tinctoria* stem. Korean J Pharmacogn, 31, 280-283
 21. Xu M, Zhang Z, Fu G, Sun J, Yang M, Liu Z, Han J, Guo D (2007) Liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of protocatechuic aldehyde and its phase I and II metabolites in rat. J Chromatogr, 856, 100-107
 22. Markham KR, Ternai B, Stanley R, Geiger H, Marbry TJ (1978) Carbon-13 NMR studies of flavonoids-III : Naturally occurring flavonoid glycosides and their acylated derivatives. Tetrahedron, 34, 1389-1397
 23. Jung HA, Islam MD, Kwon YS, Jin SE, Son YK, Park JJ, Sohn HS, Choi JS (2010) Extraction and identification of three major aldose reductase inhibitors from *Artemisia montana*. Food Chem Toxicol, In press.
 24. Lee BI, Nugroho A, Bachri MS, Choi J, Lee KR, Kim WB, Lee KT, Lee JD, Park HJ (2010) Anti-ulcerogenic effect and HPLC analysis of the caffeoylquinic acid-rich extract from *Ligularia stenocephala*. Biol Pharm Bull, 33, 493-497
 25. Satake T, Kamiya K, An Y, Oishi Nee Taka T, Yamamoto J (2007) The anti-thrombotic active constituents from *Centella asiatica*. Biol Pharm Bull, 30, 935-940

(접수 2010년 9월 15일, 수정 2011년 1월 19일 채택 2011년 1월 21일)