

항비만 기능성 식품소재 개발을 위한 생약 추출물의 탐색

김영진¹ · 김보혜¹ · 이선이¹ · 김민수² · 박찬선² · 이문수² · 이강현² · 김동섭*

¹부산대학교 의과대학 미생물학교실 및 면역학교실, ²한국생명공학연구원, 부산대학교 생명자원과학대학 생명응용과학부

Screening of Medicinal Plants for Development of Functional Food Ingredients with Anti-Obesity

Yeong-Jin Kim¹, Bo-Hye Kim¹, Sun-Yi Lee¹, Min-Soo Kim², Chan-Sun Park², Moon-Soo Rhee², Kang-Hyun Lee² and Dong-Seob Kim*

¹Department of Microbiology and Immunology, College of Medicine, Pusan National University, Busan 602-739, Korea

²Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Yusong, Taejeon 305-600, Korea

School of Applied and Life Science, College of Natural Resources and Life Science, Pusan National University, Miryang 627-706, Korea

Received May 16, 2006; Accepted July 20, 2006

In order to search anti-obesity agents, the methanol extracts of 155 herbal medicines were screened using with pancreatic lipase, which is involved in conversion of triglycerol to fatty acid. Among the tested medicinal plants, methanol extracts of *Amsonia elliptica*, *Arecae pericarpium*, *Biota orientalis*, *Cinnamomum cassia*, *Curcuma aromatia*, *Elsholtzia ciliate*, *Glycyrrhiza uralensis*, *Mucunae Caulis*, *Rhus javanica*, and *Rubus coreanus* showed potent inhibition at final concentration of 200 µg/ml on pancreatic lipase activity. All of them were extracted into chloroform fraction. The relative inhibitory activities against pancreatic lipase by orlistat, the chloroform fraction of *Arecae pericarpium* and *Cinnamomum cassia* were 89, 80 and 80%, respectively. These results demonstrated that the screened medicinal plants could be develop as the effective lipase inhibitors in preventing and ameliorating obesity of human beings.

Key words: Pancreatic lipase inhibitor, medicinal herbs, obesity, modulating agent

서 론

1990년대 이후 국내 경제의 발전과 함께 과학기술의 고도성장은 특히 식생활의 풍요로움을 가져왔다. 이에 따라 유아 사망률은 낮아지고 국민의 평균수명이 연장되면서 인구는 선진국형 고령화로 접어드는 동시에 성인병과 같은 각종 생활습관 병이 급격히 증가하고 있는데, 이는 현대인들의 스트레스 과중과 운동 부족뿐만 아니라 서구적인 식생활의 증가에 의한 것으로, 실제로 비만을 동반한 합병증인 심장 및 뇌혈관성 질환이 사망률 1, 2위를 기록하고 있다. 특히 비만은 각종 성인병의 원인으로 제시되고 있으며, 비만인 사람은 자신의 체형 때문에 열등감을 느끼고, 대인관계가 원만치 못하므로 사회생활에도 큰 문제가 따르고 있다.

비만이란 체내에 지방조직이 과도하게 축적되어 있는 상태를

말하며, 비만을 유발하는 가장 큰 이유는 칼로리가 높거나 지방을 많이 함유한 음식의 섭취 및 운동 부족으로 인한 체중의 증가나 체내에 지방이 축적되는 현상을 들 수 있다.^{1,2)} 그러나 최근에는 식습관뿐만 아니라 신경 내분비 계통의 이상이나 약물과 유전적 원인 및 생화학적 이상 반응에 의해서도 비만이 초래될 수 있는 것으로 보고되고 있다.^{3,4)} 1996년 세계보건기구(WHO) 보고 자료에 의하면 세계 비만관련 질환인구가 5년마다 두 배씩 증가하여 2003년 현재 17억 명에 이르고, 미국의 경우 성인 인구의 약 65%가 과체중에 해당된다고 발표하였다.⁵⁾ 따라서 비만을 지구의 심각한 보건문제 중의 하나로써 치료가 필요한 비전염성 만성질환이라고 경고하고 있는데,⁶⁾ 최근에는 우리나라도 비만인구가 꾸준히 증가하고 있으며, 특히 우려되는 점은 세계적으로 소아비만의 증가가 10년을 주기로 3배로 급증하고 있어 더 많은 성인 비만인구의 증가를 초래할 것으로 예상된다. 우리나라에서 발표된 2001년 국민건강심층분석보고서에 의하면 체질량지수(BMI) 25 kg/m² 이상의 비만인구가 20세 미만의 경우 11.2%, 20세 이상인 경우 31%로, 1995년 실시한 국민영양조사에 의한 체질량지수가 25 kg/m² 이상인 비만

*Corresponding author

Phone: 82-55-350-5356; Fax: 82-55-350-5359

E-mail: kds@pusan.ac.kr

인구가 20.5% 인 수치에 비하면 10% 가량 증가된 것으로 비만 유행률이 급격히 증가하는 추세로 파악되고 있다. 이러한 비만은 단순한 외형상의 문제뿐만 아니라 체중 증가에 따르는 당뇨, 동맥경화, 심혈관질환, 고혈압, 고지혈증 등 심각한 성인병을 유발하며, 대장암, 직장암, 전립선암, 유방암, 난소암 등 각종 암의 발생빈도가 높아지기 때문에 비만의 발생원인, 비만의 치료 및 예방법, 처방법 등에 관한 많은 보고들이 제시되고 있다.⁷⁻¹¹⁾

최근에는 비만치료를 위한 여러 가지 약품 개발을 위한 많은 연구가 진행되고 있으며, 그 중 하나의 방법으로써 췌장 지방분해효소 저해제(pancreatic lipase inhibitor)를 이용한 비만치료법에 대한 연구가 진행 중이다. 식이로 섭취된 지방의 분해 및 흡수는 장내 낮은 pH에 의한 물리·화학적 지방의 변화와 아울러 여러 가지 효소 작용이 동반되는 매우 복잡한 경로를 거쳐 진행된다.¹²⁾ 이들 여러 가지 효소 중에 pancreatic lipase는 triacylglycerol을 2-monoacylglycerol과 fatty acid로 분해하는 핵심적인 반응을 진행시키는 효소로 작용한다.¹³⁾ 이 pancreatic lipase의 활성을 저해하는 대표적인 화합물로는 Streptomyces toxicicini로부터 유래된 lipstatin의 유도체인 tetrahydrolipstatin(Orlistat, Ro 18-0647)을 들 수 있다. Tetrahydrolipstatin은 pancreatic lipase의 active site에 위치한 serine과 공유 결합을 형성하여 lipase의 활성을 억제하는 것으로 보고되고 있으며,¹⁴⁾ 그 효능이 매우 우수하여 섭취된 지방의 30%까지 저해하는 것으로 제시되어,¹⁵⁻¹⁸⁾ 현재 의약품(Xenical, Roche Co.)으로도 시판되고 있다. 그러나 이와 같이 뛰어난 효능에도 불구하고 tetrahydrolipstatin은 위장장애, 과민증, 담즙분비장애, 지용성 비타민 흡수억제 등의 부작용이 나타나는 것으로 보고되어 부작용에 대한 문제가 제기되고 있다.¹⁹⁾ 그러므로 최근에는 부작용이 없는 식품 및 천연물로부터 pancreatic lipase inhibitor를 개발하여 비만 예방 및 치료제로 사용하고자 하는 연구가 꾸준히 진행되고 있다.^{20,21)}

따라서 본 연구에서는 국내에서 자생되고 있는 식용 또는 약용식물을 대상으로 pancreatic lipase에 대해 저해활성을 갖는 생약 추출물을 탐색하고, 이를 비만 예방 혹은 치료 기능이 있는 기능성 식품 소재로 개발하고자 기초 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

실험 재료. 본 실험에 사용한 생약 재료들은 Table 1과 같으며 부산 소재 삼세당인삼에서 구입하여 사용하였고, 생약추출을 위한 유기용매는 덕산약품공업(주)의 제품을 사용하였다. 생약 시료는 methanol 100 ml에 건조한 생약시료 20 g을 첨가하여 상온에서 5일 간 방치한 뒤, 감압 농축하였고, 이를 각 시료의 농도가 10 mg/ml이 되도록 조절하여 탐색용 시료로 사용하였다. Pancreatic lipase assay를 위한 tributylin은 Fluka(St. Gallen, Switzerland) 제품을, pancreatic lipase(Type VI-S, porcine pancreas)와 gum arabic은 Sigma(St. Louis, USA) 제품을 사용하였다.

Pancreatic lipase 활성 저해물질의 탐색. Pancreatic lipase 활성에 대한 저해물질을 탐색하기 위하여 10 mM CaCl₂, 200

Table 1. Inhibitory effect of lipase activity by methanol extract of medicinal plants

Sample ¹	Plant name	Part of plant ²	Inhibition ³
<i>Aconitum carmichaeli</i>	Bu-ja	tu	-
<i>Aconitum kusnezoffii</i>	Cho-o	ra	-
<i>Acorus gramineus</i>	Seok-chang-po	rh	-
<i>Adenophora tryphylla</i>	Sa-sam	ra	-
<i>Agrimonia pilosa</i>	Sun-hak-cho	ap	-
<i>Ailanthus altissima</i>	Ga-jook-na-moo	rb	-
<i>Akebia quinata</i>	Mok-tong	ra	-
<i>Akebia quinata</i>	Tong-cho	ap	-
<i>Alisma orientale</i>	Taek-sa	rh	-
<i>Althaea rosea</i>	Chok-gyu-hwa	fl	-
<i>Amomum kravanh</i>	Baek-doo-goo	fr	-
<i>Amomum xanthioides</i>	Sa-in	sm	-
<i>Amonum tsao-ko</i>	Cho-gwa	fr	-
<i>Amsonia elliptica</i>	Jung-hyang	fl	+++
<i>Anemarrhena asphodeloides</i>	Ji-mo	rh	-
<i>Angelica dahurica</i>	Baek-je	ra	-
<i>Angelica gigas</i>	Dang-gui	ra	-
<i>Angelica koreana</i>	Gang-hwal	ra	-
<i>Anthriscus sylvestris</i>	Jun-ho	ra	-
<i>Aralia cordata</i>	Dok-hwal	ra	-
<i>Archyranthes japonica</i>	Woo-seul	ra	-
<i>Arctium lappa</i>	Woo-bang-ja	fr	-
<i>Areca catechu</i>	Bin-rang	sm	++
<i>Arecae pericarpium</i>	Dae-bok-pee	ba	+++
<i>Arisaema erubescens</i>	Nam-sung	rh	-
<i>Artemisia argyi</i>	Ae-yeupap	-	-
<i>Artemisia capillaries</i>	In-jin	ra	++
<i>Asiasarum sieboldi</i>	Se-sin	ra	-
<i>Asparagus cochinchinensis</i>	Chun-moon-dong	ra	-
<i>Aster tataricus</i>	Ja-won	ra	-
<i>Atractylodes japonica</i>	Chang-chool	rh	-
<i>Bambyx mori</i>	Baek-Gang-Jam	ap	-
<i>Belamcanda chinensis</i>	Sa-gan	rh	-
<i>Benincasa hispida</i>	Dong-gwa-ja	sm	-
<i>Biota orientalis</i>	Baek-ja-in	sm	+++
<i>Bupleurum falcatum</i>	Sic-ho	ra	-
<i>Caesalpinia sappan</i>	So-mok	li	++
<i>Carthamus tinctorius</i>	Hong-hwa	fl	-
<i>Cassia obtusifolia</i>	Gyeul-myung-ja	sm	-
<i>Cassia occidentalis</i>	Seok-gyeul-myung	sm	-
<i>Chelidonium major</i>	Baek-gool-chae	ap	-
<i>Chrysanthemum indicum</i>	Gam-gook	fl	-
<i>Cimicifuga heracleifolia</i>	Seung-ma	rh	-
<i>Cinnamomi ramulus</i>	Gye-je	ba	++
<i>Cinnamomum cassia</i>	Gye-pee	ba	+++
<i>Cirsium japonicum</i>	Dae-gye	ap	-
<i>Cistanche deserticola</i>	Yuk-jong-yong	ap	-
<i>Citrus unshiu</i>	Jin-pee	pc	-
<i>Clematis chinensis</i>	Wi-ryung-seon	ra	-
<i>Cnidium officinale</i>	Chung-goong	rh	-
<i>Coix lachryma-jobi</i>	Eui-yi-yeon	sm	-
<i>Coptis japonica</i>	Hwang-ryun	rh	++
<i>Cornus officinalis</i>	San-soo-yoo	fr	-
<i>Corydalis yanhusuo</i>	Hyun-ho-saek	tu	-
<i>Crataegus pinnatifida</i>	San-sa-ja	fr	-

Table 1. Continued

Sample ¹	Plant name	Part of plant ²	Inhibition ³
<i>Croton tiglium</i>	Pa-doo	sm	-
<i>Curcuma aromatica</i>	Gang-hwang	ap	+++
<i>Curcuma zedoaria</i>	Bong-chool	rh	++
<i>Cuscuta chinensis</i>	To-sa-ja	sm	-
<i>Cyperus rotundus</i>	Hyang-bu-ja	rh	-
<i>Dendrobium moniliforme</i>	Seok-gok	ap	-
<i>Diodia teres</i>	Baek-ryung-pool	ap	-
<i>Dioscorea japonica</i>	San-yak	ra	-
<i>Dolichos lablab</i>	Baek-pyun-doo	sm	-
<i>Drynaria fortunei</i>	Gol-soae-borh	-	-
<i>Elsholtzia ciliate</i>	Hyang-yoo	ap	+++
<i>Ephedra sinica</i>	Ma-hwang	ap	-
<i>Epimedium koreanum</i>	Eum-yang-gwak	lf	-
<i>Eucommia ulmoides</i>	Doo-choong	pc	++
<i>Euphoria longana</i>	Yong-ahn-yook	sm	-
<i>Evodia officinalis</i>	O-soo-yoo	fr	-
<i>Foeniculum vulgare</i>	Hoi-hyang	fr	-
<i>Forsythia koreana</i>	Yeon-gyo	fr	-
<i>Fritillaria ussuriensis</i>	Pae-mo	bu	-
<i>Gardenia jasminoides</i>	Chi-ja	fr	-
<i>Gastrodia elata</i>	Chun-ma	rh	-
<i>Gentiana macrophylla</i>	Jin-gyo	ra	-
<i>Gentiana scabra</i>	Yong-dam-cho	ra	-
<i>Gleditsia sinensis</i>	Jo-gak-ja	fr	-
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	Gam-cho	ra	+++
<i>Hordeum vulgare</i>	Maek-a	fr	-
<i>Imula helenium</i>	Mok-hyang	ra	-
<i>Ledebouriella seseloids</i>	Bang-poong	ra	-
<i>Leonurus sibiricus</i>	Ik-mo-cho	ap	-
<i>Ligusticum tenuissimum</i>	Go-bon	ra	-
<i>Ligustrum lucidum</i>	Yeo-jung-sil	fr	-
<i>Lilium distichum</i>	Mal-na-ri	ap	-
<i>Lindera strychnifolia</i>	O-yak	ra	-
<i>Liriope graminifolia</i>	Maek-moon-dong	tu	-
<i>Lonicera japonica</i>	Geum-jan-hwa	fl	-
<i>Lophatherum gracile</i>	Jook-yeup	ap	-
<i>Loranthus parasiticus</i>	Sang-gi-saeng	ap	-
<i>Lunicea japonica</i>	In-dong	lf	-
<i>Lycium chinense</i>	Goo-gi-ja	fr	-
<i>Machilus thunbergii</i>	Hoo-bak	ba	-
<i>Magnolia liliflora</i>	Sin-yi-hwa	fl	++
<i>Mentha arvensis</i>	Bak-haap	-	-
<i>Morinda officinalis</i>	Pa-geuk	ra	-
<i>Morus alba</i>	Sang-baek-pee	ba	-
<i>Mucunae Caulis</i>	Gye-hyeul-deung	tu	+++
<i>Nelumbo nucifera</i>	Yeon-ja-yuk	sm	++
<i>Pachyma hoelen</i>	Bok-ryung	ho	-
<i>Paeonia japonica</i>	Baek-jak-yak	ra	-
<i>Paeonia lactiflora</i>	Juk-jak-yak	ra	-
<i>Paeonia moutan</i>	Mok-dan-pee	ba	+
<i>Panax ginseng</i>	Soo-sam	ra	-
<i>Perilla frutescens</i>	So-yeup	ap	-
<i>Peucedanum japonicum</i>	Bang-poong	ra	-
<i>Phellodendron amurense</i>	Hwang-baek	ba	++
<i>Phragmites communis</i>	No-geun	rh	-
<i>Picrorrhiza kurroa</i>	Ho-hwang-ryun	rh	-

Table 1. Continued

Sample ¹	Plant name	Part of plant ²	Inhibition ³
<i>Pinellia ternate</i>	Ban-ha	rh	-
<i>Piper longum</i>	Baek-geup	rh	-
<i>Piper longum</i>	Pil-bal	fr	-
<i>Plantago asiatica</i>	Cha-jun-ja	sm	-
<i>Platycodon grandiflorum</i>	Gil-gyung	ra	-
<i>Polygala tenuifolia</i>	Won-ji	ra	-
<i>Polyporus umbellatus</i>	Jeon-ryung	ho	-
<i>Poncirus trifoliata</i>	Ji-sil	fr	-
<i>Prunella vulgaris</i>	Ha-go-cho	ap	-
<i>Prunus mume</i>	Mae-sil	fr	-
<i>Prunus persica</i>	Do-in	sm	-
<i>Pueraria thunbergiana</i>	Gal-geun	ra	-
<i>Pulsatilla chinensis</i>	Baek-doo-ong	ra	-
<i>Rehmannia glutinosa</i>	Gun-ji-hwang	rh	-
<i>Rehmannia glutinosa</i>	Sook-ji-hwang	ra	-
<i>Reynoutria japonica</i>	Ho-jang-geun	ra	-
<i>Rheum palmatum</i>	Dae-hwang	rh	-
<i>Rhus javanica</i>	O-bae-ja	sm	+++
<i>Rubia cordifolia</i>	Chun-cho-geun	ra	-
<i>Rubus coreanus</i>	Bok-boon-ja	fr	+++
<i>Salvia multiorrhiza</i>	Dan-sam	ra	-
<i>Sanguisorba officinalis</i>	Ji-yu	ra	-
<i>Saururus chinensis</i>	Sam-baek-cho	ap	-
<i>Schisandra chinensis</i>	O-mi-ja	fr	++
<i>Schizonepeta tenuifolia</i>	Hyung-gae	ap	-
<i>Scirpus flaviatilis</i>	Sam-leung	rh	-
<i>Scrophularia ningpoensis</i>	Hyun-sam	ra	-
<i>Scutellaria baicalensis</i>	Hwang-geumra	-	-
<i>Siegesbeckia orientalis</i>	Huei-chum	ap	+
<i>Sinomenium acutum</i>	Bang-gee	rh	-
<i>Sophora angustifolia</i>	Go-sam	ra	-
<i>Sophora japonica</i>	Goi-hwa	fl	-
<i>Sorbus amurensis</i>	Jung-gong-pee	ba	-
<i>Teucrium verinicooides</i>	Gwak-hyang	ap	-
<i>Torilis japonica</i>	Sa-sang-ja	fr	+
<i>Torreya grandis</i>	Bi-ja	sm	-
<i>Tribulus terrestris</i>	Baek-jil-ryeo	fr	-
<i>Trichosanthes kirilowii</i>	Gwa-loo-in	ra	-
<i>Trichosanthes kirilowii</i>	Chun-hwa-boon	po	-
<i>Trigonella foenumgraecum</i>	Ho-ro-pa	sm	-
<i>Typha orientalis</i>	Po-hwang	po	-
<i>Vitex rotundifolia</i>	Man-hyeung-ja	fr	-
<i>Xanthium strumarium</i>	Chang-yi-ja	fr	-
<i>Zingiber officinale</i>	Gun-gang	rh	-
<i>Zizyphus jujube</i>	San-jo-in	sm	+

¹Final concentration: 200 µg/ml.²ap, arial part; ba, bark; bu, bulb; cl, calyx; fl, flower; fr, fruit; hn, hoelen; li, lignum; lf, leaf; pc, pericarpium; po, pollen; ra, radix; rb, root bark; rh, rhizome; sm, seed; tu, tuber.³Inhibitory effect: +++, strong; ++, strong; +, weak; -, none.

mM NaCl이 포함된 5% gum arabic 용액 100 mL을 제조하고, 이 용액 9 mL에 tributylin 1 mL을 섞어 sonicator로 유회시킨 후, 2% 한천과 혼합하여 agar diffusion method를 수행하기 위한 고체평판배지를 제조하였다. 5 mm 두께의 고체평판배지에 지

름 6 mm의 구멍을 뚫어 methanol로 추출한 생약시료와 pancreatic lipase 용액을 3 분간 반응시킨 혼합액을 넣고 4시간 후 효소에 의해 가수분해되는 투명환의 크기를 측정하여 pancreatic lipase에 대한 저해활성을 확인하였다. 탐색 결과 pancreatic lipase에 대한 높은 저해활성을 보이는 시료에 대해서는 chloroform과 butanol 그리고 H₂O로 분획하여 2차 탐색을 실시하였다.

Pancreatic lipase 활성 및 저해능의 측정. Pancreatic lipase의 활성 및 저해능을 측정하기 위하여 0.1 M NaCl이 포함된 0.1 M *N*-tris-(hydroxymethyl)-methyl-2-aminoethanesulfonic acid (pH 7.0) 9 ml에 triolein 90 µM, gum arabic 45 mg, taurocholic acid 9.45 µM을 첨가하고 sonicator로 5분 동안 처리하여 반응 기질 용액을 제조하였다¹³⁾. 제조된 기질 용액에 대해 효소용액 (pancreatic lipase, 1,500 U/ml) 15 µl, 생약추출물 5 µl, 기질 용액 180 µl을 혼합하여 최종 부피가 200 µl가 되도록 반응용액을 제조한 뒤(pH 7.0), 37°C에서 30분 간 반응시켰다. 반응용액 0.2 ml에 2% (v/v) methanol이 포함된 chloroform/heptane (1:1) 용액 3 ml를 첨가하여 10분 동안 혼합한 후, 10분 동안 원심분리(2,000 × g)하여 물 층을 제거하였으며, 여기에 copper 반응액 1 ml를 첨가하여 10분 동안 혼합한 후, 다시 10분 동안 원심분리(2,000 × g)하여 추출된 oleic acid와 copper salt가 포함된 유기용매층 1 ml를 취하여 0.05% (w/v) 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole이 포함된 0.1% (w/v) bathocuprione 용액 1 ml를 첨가하여 혼합하였다. 그런 다음, 최종 반응액에 대해 480 nm에서 흡광도를 측정하여 효소반응 후 생성된 oleic acid의 양을 측정하였다.²²⁾

결과 및 고찰

기능성 식품은 생체조절기능이 효율적으로 나타나도록 설계 되어 가공된 것으로서 최근 들어 질병 예방과 생체 조절 및 노화 억제기능에 대한 활발한 연구와 제품 개발이 이루어지고 있는데 특히 생체 조절기능에는 비만 방지와 혈당 조절 등이 포함된다. 따라서 본 연구에서는 비만 예방 효과를 가진 기능성 식품 소재를 탐색하고자 국내에서 자생되고 있는 식물 및 약용 식물 중 155종의 생약 추출물을 대상으로 pancreatic lipase의 활성 저해물질을 탐색하였다. 각각의 생약 추출물은 methanol 100 ml에 생약 20 g을 첨가하여 실온에서 5일 간 방치하여 추출한 후, 감압 농축하여 각 시료의 농도를 10 mg/ml이 되도록 조절하였다. 이들 시료를 최종적으로 1 mg/ml으로 희석한 후, 그 중 10 µl를 취하여 40 µl pancreatic lipase 용액과 혼합하여 3분 간 반응시킨 뒤, tributylin을 함유한 평판배지의 구멍에 넣고 4시간 후 투명환의 크기를 측정하였다. Pancreatic lipase에 의해 나타나는 투명환의 크기가 상대적으로 적은 생약시료를 1 차적으로 탐색하여, Table 1에서 나타난 바와 같이 최종농도 200 µg/ml에서 pancreatic lipase에 대해 저해 활성을 나타내는 26종의 생약추출물을 선별하였다. 그 중 lipase에 대하여 강한 저해 활성(+++)을 보이는 생약추출물로는 *Amsonia elliptica*(정향), *Arecae pericarpium*(대복피), *Biota orientalis*(백자인), *Cinnamomum cassia*(계피), *Curcuma aromatica*(강황), *Elsholtzia*

Table 2. Inhibition of lipase activity by solvent extract of medicinal plants

Sample ¹	Inhibitory effect (%) ²			
	Methanol	Chloroform	Butanol	H ₂ O
<i>Amsonia elliptica</i>	+++	+++	-	-
<i>Areca catechu</i>	++	+	-	-
<i>Arecae pericarpium</i>	+++	+++	-	-
<i>Artemisia capillaries</i>	++	++	-	-
<i>Biota orientalis</i>	+++	+++	-	-
<i>Caesalpinia sappan</i>	++	-	++	-
<i>Cinnamomi ramulus</i>	++	+	-	-
<i>Cinnamomum cassia</i>	+++	+++	++	-
<i>Coptis japonica</i>	++	++	-	-
<i>Curcuma aromatica</i>	+++	+++	-	-
<i>Curcuma zedoaria</i>	++	++	-	++
<i>Eucommia ulmoides</i>	++	++	-	-
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	+++	+++	+	-
<i>Magnolia liliflora</i>	++	++	+	+
<i>Mucunae Caulis</i>	+++	+++	+	-
<i>Nelumbo nucifera</i>	++	++	-	-
<i>Paenonia moutan</i>	+	-	+	-
<i>Phellodendron amurense</i>	++	++	-	-
<i>Pueraria thunbergiana</i>	+	+	-	-
<i>Pueraria thynbergiana</i>	+	+	-	-
<i>Rhus javanica</i>	+++	+++	++	-
<i>Rubus coreanus</i>	+++	+++	-	-
<i>Schisandra chinensis</i>	++	+	-	-
<i>Siegesbeckia orientalis</i>	+	+	-	-
<i>Torilis japonica</i>	+	+	-	-
<i>Zizyphus jujube</i>	+	+	-	-

¹Final concentration; 200 µg/ml.

²Inhibitory effect: +++, strong; ++, strong; +, weak; -, none.

ciliate(향유), *Glycyrrhiza uralensis*(감초), *Mucunae caulis*(계혈 등), *Rhus javanica*(오배자), *Rubus coreanus*(복분자) 등 10종이 있으며, *Areca catechu*(빈랑), *Artemisia capillaries*(인진), *Caesalpinia sappan*(소목) 등 나머지 16종은 중간 혹은 약한 저해 활성(++ , +)을 나타내었다.

상기의 결과를 바탕으로 이번에는 pancreatic lipase에 대한 저해능을 나타낸 26종의 생약 추출물들을 대상으로 chloroform, butanol, 그리고 H₂O 층으로 용매 분획한 후 1 mg/ml 농도(최종농도: 200 µg/ml)가 되도록 시료를 제조하여 pancreatic lipase에 대한 저해능을 조사한 결과(Table 2), chloroform 층에서 저해활성이 우수하면서 계속적인 실험 조건에서 재현성을 나타내는 생약 9종을 최종 선정하고 methanol 추출물 및 chloroform 층(최종농도: 25 µg/ml)을 대상으로 pancreatic lipase 활성에 대한 저해능을 측정하여 비교하였다. 대조구로서는 현재 비만 치료제로 시판되고 있는 orlistat를 사용하였으며, pancreatic lipase 활성에 대한 저해능은 시료를 처리하지 않았을 때의 pancreatic lipase 활성을 기준으로 하여 계산하였다(Fig. 1). 그 결과, orlistat의 경우 최종농도 25 µg/ml에서 89%의 저해활성을 나타냈으며, 이와 비교하여 선정된 생약 methanol 추출물의 경우(최종농도: 25 µg/ml)에는 54~75%로 orlistat 보다 낮은 저해활성을 보였지만, methanol로 추출한 각 생약추출물을 chloroform으로

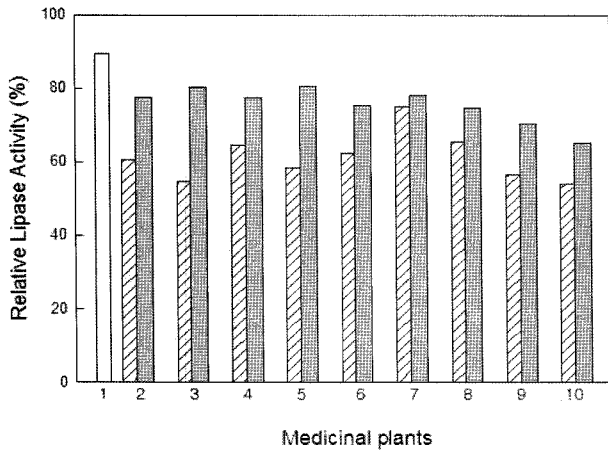


Fig. 1. Inhibitory activity against pancreatic lipase by the solvent extracts of medicinal plants. Lane 1: Orlistat, 2: *Amsonia elliptica* (Jung-hyang), 3: *Arecae pericarpium* (Dae-bok-pee), 4: *Biota orientalis* (Baek-ja-in), 5: *Cinnamomum cassia* (Gye-pee), 6: *Curcuma aromatica* (Gang-hwang), 7: *Glycyrrhiza uralensis* (Gam-cho), 8: *Mucunae caulis* (Gye-hyeul-deung), 9: *Rhus javanica* (O-bae-ja), 10: *Rubus coreanus* (Bok-boon-ja). Final concentration of solvent extract: 25 μ g/ml, □: Orlistat, ▨: MeOH extract, ▩: CHCl₃ extract

재추출하여 조사한 결과에서는 65~80%의 저해활성을 보여 이전 보다 더 높아진 것으로 나타났다. 그 중에서도 *Arecae pericarpium*(대복피)와 *Cinnamomum cassia*(계피)의 경우, 저해 활성이 80% 정도로 나타나 추가적인 고도의 정제 과정을 거친다면 그 활성은 더욱 높아질 것으로 사료된다. 한편, Bitou 등¹³⁾은 총 54종의 marine algae 중 27종의 methanol 추출물로부터 43~100%의 lipase 활성에 대한 저해능을 확인하였는데 이는 해조류에 다량 포함되어 있는 polyphenols 때문인 것으로 보고하고 있다. 이를 본 연구 결과와 비교해 볼 때, *Caulerpa taxifolia*와 *Asparagopsis taxiformis*와 같이 강한 저해활성을 가진 종을 제외하면 거의 유사한 수준이었다.

이상의 결과를 통해, 본 연구에서 사용된 생약의 methanol 추출물 또는 chloroform 용매 추출물이 현재 pancreatic lipase 저해제로서 비만치료제로 시판되고 있는 orlistat 보다 lipase에 대한 저해활성이 다소 낮긴 하지만 이러한 생약 추출물들의 경우, 일반적으로 순수하게 정제된 후에는 활성이 더욱 높아지는 경향을 보이므로 본 연구 결과를 토대로 현재 pancreatic lipase에 대한 저해 활성능이 우수한 생약 추출물들을 중심으로 계속적인 분리, 정제를 시도하고 있다. 특히 본 연구에 사용된 식물들은 식용 또는 민간요법 등에서 오랜 기간 사용되었던 것들로서 이와 같은 생약 추출물들을 이용하여 새로운 pancreatic lipase 저해제를 개발한다면 기존의 orlistat 복용 시 발생하는 위장장애, 과민증, 담즙분비장애, 지용성 비타민 흡수억제 등의 부작용이 상당히 줄어들 것으로 예상되어 비만과 기타 성인병 등에 대해 예방 혹은 치료 효과가 있는 기능성 식품으로서 뿐만 아니라 의약품 시장에서도 상당한 경쟁력을 확보할 수 있을 것으로 기대된다.

초 록

효과적인 항비만효과를 가진 식품소재 개발을 위해 155종의 생약추출물에 대해 pancreatic lipasae에 대한 억제효과를 탐색하였다. 탐색 결과, 정향, 대복피, 백자인, 계피, 강황, 향유, 감초, 오배자 그리고 복분자의 메탄올 추출물들이 200 μ g/ml 농도에서 췌장지방분해효소에 대한 억제효과를 나타내었다. 특히, 상기의 추출물에 대해 추가적인 클로로포름 추출과정을 통해 얻은 분획에 있어 대복피와 계피의 경우, 현재 비만치료제로 시판되고 있는 orlistat와 비교하여 pancreatic lipase에 대해 80%와 89% 정도로 유사한 억제효과를 나타내었다. 이러한 결과는 생약추출물이 비만을 예방하는데 있어 효과적인 지방분해효소 억제제로서 개발될 수 있음을 증명하는 것이다.

Key words: Pancreatic lipase inhibitor, medicinal herbs, obesity, modulating agent

참고문헌

1. Bray, G. A. and Popkin B. M. (1998) Dietary fat intake dose affect obesity. *Am. J. Clin. Nutr.* **68**, 1157-1173.
2. Bray, G. A. and Popkin B. M. (1999) Dietary fat affects obesity rate. *Am. J. Clin. Nutr.* **70**, 572-573.
3. Alberti, K. G. and Zimmet P. Z. (1988) Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med.* **13**, 539-553.
4. Grundy, S. M. (1999) Hypertriglyceridemia, insulin resistance, and the metabolic syndrome. *Am. J. Cardiol.* **83**, 25F-29F.
5. Flegal, K. M., Carroll M. D., Ogden C. L. and Johnson C. L. (2002) Prevalence and trends in obesity among U.S. adults, 1999-2000. *JAMA* **288**, 1723-1727.
6. World Health Organization Consultation on Obesity. (1998) Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic. World Health Organization: Geneva.
7. Diehl, A. K. (1991) Epidemiology and natural history of gallstone disease. *Gastroenterol. Clin. N. Am.* **20**, 1-19.
8. Freedman, D. S., Serdula M. K., Percy C. A. and Whitle L. (1997) Obesity levels of lipids and glucose, and smoking among Navajo adolescents. *J. Nutr.* **127**, 2120S-2127S.
9. Larsson, B., Björntorp P. and Tibblin G. (1981) The health consequences of moderate obesity. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* **5**, 97-106.
10. Rexrode, K. M., Manson J. E. and Hennekens C. H. (1996) Obesity and cardiovascular disease. *Curr. Opin. Cardiol.* **11**, 490-495.
11. Wada, K. and Ikeda.Y. (1998) Longitudinal studies to determine the effect of body fat rate reduction on blood pressure. *J. Med. Syst.* **22**, 19-25.
12. Borgstom, B. (1986) Luminal digestion of fat. In *The exocrine*

- pancreas: biology, pathobiology, and disease.* (1st ed.). pp. 361-373, Raven Press, New York.
13. Bitou, N., Nimomiya M., Tsjita T. and Okuda H. (1999) Screening of lipase inhibitors from marine algae. *Lipids* **34**, 441-445.
 14. Hadvary, P., Sidlerj W., Meister W., Vetter W. and Wolfer H. (1991) The lipase inhibitor tetrahydrolipstatin binds covalently to the putative active site serine of pancreatic lipase. *J. Biol. Chem.* **266**, 2021-2027.
 15. Drent, M. L., Larsson I., William-Olsson T., Quaade F., Czubayko F., Von Bergmann K., Strobel W., Sjotro L. and Van der Veen E. A. (1995) Orlistat (RO 18-0647), a lipase inhibitor, in the treatment of human obesity: a multiple dose study. *Int. J. Obes.* **19**, 221 -226.
 16. Hadvary, P., Lengsfeld H. and Wolter H. (1988) Inhibition of pancreatic lipase *in vitro* by covalent inhibitor tetrahydrolipstatin. *Biochem. J.* **256**, 357-361.
 17. Hauptman, J. B., Jeunet F. S. and Hartmann D. (1992) Initial studies in humans with the novel gastrointestinal lipase inhibitor Ro 18-0647 (tetrahydrolipstatin). *Am. J. Clin. Nutr.* **55**, 309S -313S.
 18. Sjostrom, L., Rissanen A., Andersen T., Boldrin M., Golay A. and Koppeschaar H. P. F. (1998) Randomized placebo-controlled trial of orlistat for weight loss and prevention of weight regain in obese patients. *Lancet* **352**, 167 -172.
 19. Peter, C. and Williams G. (2001) Drug treatment of obesity: from past failures to future successes. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **51**, 135.
 20. Shimura, S., Tsuzuki W., Itho Y., Kobayashi S. and Suzuki T. (1994) Inhibitory effect of tannin fraction *Cassia mimosoides* L. var. *nomame makino* on lipase activity. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi.* **41**, 561-564.
 21. Yamamoto, M., Shimura S. , Iyoh Y., Egawa M. and Ionue S. (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.
 22. Zapf, J., Schoenole E. W., Waldvogel M., Sand M. and Froesch E. R. (1981) Effect of trypsin treatment of rat adipocyte on biological effects and binding of insulin and insulin-like growth factors: Further evidence for the action of insulin-like growth factors through the insulin receptor. *Eur. J. Biochem.* **133**, 605-609.