

탄수화물과 지방 소화 억제 소재를 이용한 체중조절용 식품의 개발

Screening of Plant Sources with Inhibitory Activity against
Digestive Enzymes and Its Application to Development of
Weight-Control Foods

연구기관
경북대학교

농 립 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “탄수화물과 지방 소화 억제 소재를 이용한 체중조절용 식품의 개발” 연구과제의 최종연구보고서로 제출합니다.

2004. 8. 9.

주관연구기관명 : 경북대학교

총괄연구책임자 : 김 정 상

연 구 원 : 임 진 규

연 구 원 : 이 정 순

연 구 원 : 김 성 희

연 구 원 : 임 현 애

연 구 원 : 김 정 현

협동연구기관명 : 안동대학교

협동연구책임자 : 손 건 호

연 구 원 : 권 정 숙

연 구 원 : 김 지 현

위탁연구연구기관: 인제대학교

위탁연구책임자 : 김 정 인

연 구 원 : 장 민 정

요 약 문

I. 제 목

탄수화물과 지방 소화 억제 소재를 이용한 체중조절용 식품의 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

국내에서 재배 또는 자생하는 식물로부터 탄수화물 및 지방소화효소활성을 저해하는 소재를 탐색하고 이를 이용하여 체중조절용 제품을 개발함

III. 연구개발의 내용 및 범위

1. 탄수화물 소화 억제 농산물 소재의 발굴
 - *In vitro* assay를 이용하여 α -glucosidase, α -amylase 등 탄수화물 소화관련 효소활성을 저해하는 농산물 소재 탐색
 - 동물실험을 통한 체중조절효능 확인
 - 활성성분의 분리 및 특성규명
2. 지방 소화 억제 농산물 소재의 발굴
 - *In vitro* assay를 이용하여 췌장 lipase 활성을 저해하는 농산물소재의 탐색
 - 동물실험과 임상실험을 통한 체중조절효능 확인
 - 활성성분의 분리 및 특성규명

3. 탐색된 소재를 이용한 체중조절용 드링크 제품 개발

- 활성 소재들의 적정 첨가 비율 결정
- 기타 재료의 함량 결정 및 제품의 formulation
- 저장 안정성 실험

4. Lipase 저해활성을 갖는 소재가 첨가된 마요네즈 개발

- 활성 소재의 적정 첨가 비율 결정

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 약 300여종의 농산물과 자생식물을 대상으로 탄수화물 소화효소의 하나인 α -glucosidase 저해활성을 측정한 결과, 잔대와 산뽕나무의 추출물이 활성이 가장 높은 것으로 나타났으며, 잔대의 경우 물분획의 활성이 높았음. 잔대(*Adenophora tryphilla*), 더덕(*Codonopsis lanceolata*), 모시대(*Adeophora rimotiflora*)에 대하여 동물모델계에서 비만억제활성을 조사한 결과, 잔대, 더덕, 모시대는 2 및 5% 수준에서 대조군에 비하여 쥐의 체중증가율을 10% 정도 감소시키는 것으로 나타났음. 이들 시료들은 비만과 당뇨환자용 치료보조 제품에 활용될 수 있을 것으로 판단됨.

2. 탄수화물 소화효소 가운데 α -amylase 저해활성이 높았던 금은화, 음양곽(삼지구엽초) 가운데 식품재료로 사용이 가능한 금은화는 동물모델계에서 체중 조절효과가 관찰되었으며, 특히, 에칠아세테이트 분획의 활성이 높은 것으로 나타났기 때문에, 비만 치료용 소재로 사용이 가능할 것으로 판단됨. 한편 금은화로부터 α -amylase 저해활성성분의 분리를 시도하여, luteolin

을 동정하였음.

3. 본 연구에서 사용한 시료들에 대하여 지방소화효소에 대한 저해활성을 탐색한 결과, 부채마, 지모, 좁쌀풀, 독활, 머위, 산꼬리풀, 쥐손이풀, 야콘 등의 메탄올 추출물이 IC₅₀ 값 0.05 mg/mL이하로서 비교적 높은 lipase 저해활성을 보였음. 한편 우리가 일반적으로 식품소재로 사용하는 농산물시료 가운데서는 마름과 울무가 가장 높은 lipase 저해활성을 보였으며, 마름의 경우 생쥐(mice)를 이용한 실험에서 지질대사 및 체중에 영향을 미치는 것이 확인되었으나, 울무는 동물실험에서 체중증가를 억제하는 효과가 없는 것으로 나타났음.

4. 부채마는 동물모델계를 이용한 실험에서 체중조절효과가 있는 것으로 확인되었으며, 혈중 지질지표를 개선하는 등 임상적으로 효능이 있을 가능성이 높은 것으로 평가됨.

5. 부채마로부터 lipase 저해활성성분을 분리하였으며, dioscin, diosgenin, gracillin, prosapogenin A와 C등이 확인되었음.

6. 부채마로부터 lipase 저해활성 성분을 여러 농도의 에탄올 수용액을 사용하여 추출하였을 때, 80% (v/v) 이상의 용액이 추출효율이 가장 높은 것으로 나타났음.

7. 부채마분말을 이용하여 대조군 9명, 실험군 12명을 대상으로 임상효능평가를 수행하였으며, 부채마를 섭취한 실험군이 대조군에 비하여 체중이 감소된 인원비율이 높았음.

8. 부채마의 80% 에탄올 추출액을 이용하여 드링크 제품을 개발하였음. 최종제품의 조성은 부채마 추출물 0.5%, 고과당 12%, 구연산 0.05%, 비타민 C 0.02%, 이었으며, 당도는 12.7°Brix, 적정산도는 0.08이었다. 시제품에 대하여 종합적 기호도를 조사한 결과, 고미(苦味)의 문제점이 지적되었으나 전체적으로 양호한 관능적 평가를 받았음.

9. 고지방식이의 모델로 마요네즈를 선정하여 여기에 본 연구에서 탐색된 지방소화억제 소재 (부채마 추출물)를 첨가하여 제품화를 시도하였음. 마요네즈는 일반적인 방법으로 제조하고 여기에 탐색된 소재를 여러 농도로 첨가하여 관능적 특성 및 물성상의 변화여부를 평가하여 최적 첨가 비율 (0.1%)을 결정하였음.

SUMMARY

I. Title

Development of weight-control foods using plants with carbohydrate- and/or lipid-digesting enzyme inhibitory activities

II. Objective and Significance

This study was performed to screen potential food materials with carbohydrate- and/or lipid-digesting enzyme inhibitors from agricultural products and to develop those materials into the weight-control foods

III. Contents and Scope

1. Screening of agricultural products with inhibitory activity against carbohydrate-digesting enzymes
 - o Evaluation of α -glucosidase, α -amylase-inhibitory activities of agricultural products with *in vitro* assay system
 - o Confirm the weight control efficacy of selected raw food materials in animal models
 - o Isolation and identification of active compounds
2. Screening of agricultural products with inhibitory activity against lipid-digesting enzyme
 - o Evaluation of lipase-inhibitory activities of agricultural products

with *in vitro* assay system

- o Confirm the weight control efficacy of selected raw food materials through animal and human studies
 - o Isolation and identification of active compounds
3. Development of weight-control drinks using raw food materials with lipase-inhibitory activity
- o Determine optimum formula for ingredients including plant extract, sweetener etc.
 - o Storage stability of final product
4. Preparation of mayonnaise containing plant extract with lipase inhibitory activity
- o Determine optimum content of plant extract in mayonnaise through sensory evaluation

IV. Major results and Recommendation

1. The preliminary *in vitro* screening for digestive enzyme inhibitory activity using about 300 kinds of agricultural products including wild herbs and food materials showed that methanol extracts from *Adenophora tryphilla* and *Morus bombysis* had relatively strong α -glucosidase inhibitory activity. *Adenophora tryphilla* was subjected to solvent fractionation and its water-soluble fraction was strongest in inhibitory activity against the enzyme. Feeding rats with diet containing

2 or 5% the powders of *Adenophora tryphilla*, *Codonopsis lanceolata*, or *Adeophora rimotiflora* at 10% level in diet caused about 10% reduction in body weight compared to control group, suggesting their potential as anti-diabetic or anti-obesity measures.

2. The dry powders of *Lonicera japonica* and *Epomedium koreanum* which showed strong inhibitory activity against porcine pancreatic α -amylase caused a significant suppression in weight gain of rats. The active component(s) of *Lonicera japonica* appeared to be concentrated in ethylacetate solvent fraction. Luteolin was confirmed to be a main compound responsible for inhibition of porcine pancreatic α -amylase.

3. The plants shown relatively strong inhibitory activity against porcine pancreatic lipase include *Dioscorea nipponica*, *Lysimachia davurica*, *Petasites japonicus*, *Polymni sonchifolia* (leaves), *Veronica rotundavar*, *Petasites japonicus*, *Anemarrhena asphodeloides*, *Aralia continentalis* (seed), *Geranium sibiricum* with IC_{50} values lower than 0.05 mg/mL. Additional food materials that are commonly consumed were tested for inhibitory activity against lipase. Methanol extracts of *Coix lachryma-jobi* and *Trapa japonica* Flerov. showed the strongest inhibitory activity against the enzyme. However, feeding rats with diet containing 5 or 10% of the flour of *Coix lachryma-jobi* did not inhibit weight gain compared to control group while *Trapa japonica* Flerov. had some effect on body weight gain and lipid metabolism in ICR mice.

4. Diet containing 5% *Dioscorea nipponica* powder had a significant effect on weight control in rats and it also improved plasma lipid profile, suggesting the potential of the plant or its extract as anti-obesity and anti-hyperlipidemic measures.

5. We isolated dioscin, diosgenin, gracillin, prosapogenin A and C from *Dioscorea nipponica* as active components with strong inhibitory activity against lipase.

6. The components with lipase-inhibitory activity was most efficiently extracted with 80% (v/v) or higher aqueous ethanol solution from *Dioscorea nipponica*.

7. The powder from *Dioscorea nipponica* was made into pill and used for human efficacy study. Thirty subjects were recruited for human study, followed by division into control and experimental groups where each group was assigned with 15 subjects. Total 21 subjects completed the study including 9 in placebo group and 12 in treatment group. Percentage of subjects who lost body weight was higher in treatment group than placebo group, suggesting weight control effect of *Dioscorea nipponica*.

8. Drink for weight control was developed using concentrate made from extraction with 80% ethanol extract of *Dioscorea nipponica*. The formulation established for the drink through sensory evaluation is as

follows; extract of *D. nipponica* 0.5%, HFCS 12%, citrate 0.05%, vitamin C 0.02%. The refractive index and acidity of the product were 12.7 and 0.08, respectively.

9. Mayonnaise, one of the high-fat foods, was prepared using the aqueous ethanol extract of *Dioscorea nipponica*. The maximum content of the herb extract in mayonnaise which does not affect sensory quality was 0.1%.

여 백

CONTENTS

Summary	1
Introduction	19
Materials and methods	24
A. Preparation of samples	24
B. Measurement of inhibitory activity of samples against carbohydrate-digesting enzymes	31
1. Assay of α -glucosidase-inhibitory activity	31
2. Assay of α -amylase-inhibitory activity	32
3. Assay of lipase-inhibitory activity	32
C. Isolation and identification of enzyme-inhibitory components	33
D. Evaluation of anti-obesity activity of samples in animal model	33
E. Evaluation of anti-obesity efficacy in human study	38
F. Development of weight-control food using plant with digestive enzyme inhibitory activity	39
1. Development of weight-control drink	39
a. Determination of optimum extraction condition	39
b. Determination of formulae for drink	39
c. Storage stability assessment	40
2. Preparation of mayonnaise using Dioscorea extract	40
Results and Discussions	42

A. Inhibitory activity of agricultural products against digestive enzymes	42
1. Inhibitory activity of samples against carbohydrate-digesting enzymes	42
a. Inhibitory activity of samples against rat intestinal α -glucosidase	42
b. Inhibitory activity of samples against α -amylase, sucrase, and isomaltase	44
2. Inhibitory activity of samples against porcine pancreatic lipase	57
B. Anti-obesity effect of samples with inhibitory activity against carbohydrate-digesting enzymes in rats	69
C. Anti-obesity effect of samples with lipase-inhibitory activity in rats	72
1. Anti-obesity effect of <i>Dioscorea nipponica</i>	72
a. Isolation and identification of lipase inhibitors from <i>Dioscorea nipponica</i>	72
b. Inhibition of fat absorption by dioscin and diosgenin	73
c. Anti-obesity effect of <i>Dioscorea nipponica</i> powder	74
2. Antiobesity effect and improvement of serum lipid profile by diet containing <i>Anemarrhena asphodeloides</i> powder	80
3. Antiobesity effect of <i>Coix lachryma-jobi</i>	84
4. Antiobesity effect of <i>Trapa japonica</i> F.	87
D. Isolation and identification of digestive enzyme inhibitors	89
1. Isolation and identification of carbohydrate-digestive enzyme inhibitors	89

a. Bioassay-guided fractionation of methanol extract of <i>Lonicera japonica</i>	89
b. Isolation of luteolin from ethylacetate fraction as α -amylase inhibitor	89
c. Physicochemical properties and spectroscopic data of luteolin	89
d. Determination of luteolin structure by mass spectrometry and NMR	30
2. Isolation and identification of lipase inhibitor	91
a. Isolation and purification of dioscin	91
b. Isolation and purification of diosgenin	92
c. Isolation and purification of gracillin	93
d. Isolation and purification of prosapogenin A	93
e. Isolation and purification of prosapogenin C	94
E. Anti-obesity evaluation by human study	97
1. Anthropometric and plasma parameters of human subjects	97
a. Anthropometric parameters of human subjects	97
b. Change of plasma parameters by <i>Dioscorea nipponica</i> powder intake	97
c. Change of anthropometric parameters by <i>Dioscorea nipponica</i> powder intake	102
F. Development of weight-control foods	107
1. Development of weight-control drink	107
a. Extraction yield and lipase-inhibitory activities of ethanol extracts of <i>Dioscorea nipponica</i>	107
b. Formula of weight-control drink	111

c. Quality change of drink during storage	114
2. Quality of mayonnaise prepared with different levels of	
<i>Dioscorea</i> extract	116
a. Sensory quality of mayonnaise prepared with different levels of	
<i>Dioscorea</i> extract	116
b. Rheological properties of mayonnaise containing different levels	
of <i>Dioscorea</i> extract	117
G. Trends in development of weight control food products in Korea and	
world	118
Achievements and Contribution of the study	127
Application areas of results from the study	130
Reference	133

목 차

요 약 문	1
SUMMARY	7
제 1 장 서 론	19
제 2 장 재료 및 방법	24
제 1 절 시료의 준비	24
제 2 절 탄수화물 소화효소 저해활성의 측정	31
1. α -Glucosidase 저해활성 측정	31
2. α -Amylase 저해활성 측정	32
3. Lipase 저해활성 측정	32
제3절 활성성분의 분리와 구조 결정	33
제4절 동물실험을 통한 항비만 활성 평가	33
제5절 인체실험을 통한 탐색된 소재의 효능 평가	38
제6절. 체중조절용 제품 개발	39
1. 체중조절용 음료 개발	39
가. 최적 추출조건의 선정	39
나. 활성소재의 적정 첨가비율 결정	39
다. 저장안정성 실험	40
2. 부채마 추출물을 이용한 마이요네즈 제조	40
제 3 장 결과 및 고찰	42
제1절 농산물소재의 소화효소저해활성	42
1. 시료추출물의 탄수화물소화효소 저해활성	42
가. α -Glucosidase 저해활성	42
나. <i>In vitro</i> 계 α -amylase, sucrase, isomaltase 저해활성	44

2. 시료추출물의 <i>in vitro</i> 계 lipase 저해활성	57
제2절 탄수화물소화효소 저해활성물질의 <i>in vivo</i> 비만 억제 효과	69
제3절 지방소화효소 저해활성물질의 <i>in vivo</i> 비만 억제 효과	72
1. 부채마의 비만억제 효과	72
가. 부채마에서 lipase 저해활성 물질의 분리 및 동정	72
나. Dioscin과 diosgenin의 <i>in vivo</i> 지방흡수억제 활성	73
다. 부채마 분말의 흰쥐 모델계 비만 억제 효과	74
2. 지모의 비만 억제 및 혈중 지질지표 개선 활성	80
3. 울무의 비만억제 활성 평가	84
4. 마름 (<i>Trapa japonica</i> Flerov.)의 <i>in vivo</i> 비만억제 활성	87
제4절 소화효소 저해활성 물질의 분리 및 동정	89
1. 탄수화물소화효소 저해활성물질의 분리 및 동정	89
가. 금은화 추출물의 분획	89
나. 금은화 EtOAc 분획으로부터 α -amylase 저해성분 luteolin의 분리	89
다. Luteolin의 물리화학적 성질 및 분광학적 데이터	89
라. Luteolin의 구조결정	90
2. 지방소화효소 저해활성물질의 분리 및 동정	91
가. Dioscin의 분리 및 정제	91
나. Diosgenin의 분리 및 정제	92
다. Gracillin의 분리 및 정제	93
라. Prosapogenin A의 분리 및 정제	93
마. Prosapogenin C의 분리 및 정제	94
제5절 인체효능평가	97
1. 인체실험지원자의 신체계측결과 및 혈액학적 지표변화	97
가. 신체계측결과	97

나. 부채마섭취에 의한 혈액학적 지표의 변화	97
다. 부채마섭취에 의한 비만도의 변화	102
제6절. 체중조절용 제품 개발	107
1. 체중조절용 음료 개발	107
가. 에탄올 농도별 추출물 및 lipase 저해활성	107
나. 부채마추출물 함유 체중조절용 음료의 적정 배합비 결정	111
다. 음료의 저장 중 품질 변화	114
2. 부채마 추출물 첨가 농도별 마이요네즈 특성 변화	116
가. 첨가비율에 따른 관능적 특성 변화	116
나. 첨가비율에 따른 물리화학적 변화	117
제7절 국내외 체중조절용 제품개발 및 시장 현황	118
제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	127
제5장 연구결과의 활용내용 및 계획	130
제6장 참고문헌	132

여 백

제 1 장 서 론

체중과다와 비만은 오래 전부터 여러 가지 만성질환과 밀접하게 연관되어 있는 것으로 알려져 왔다. 즉, 비만은 심혈관질환 (심장병, 뇌졸중), 당뇨, 암, 간 질환, 고혈압 등의 위험인자로 잘 알려져 있으며, 수술이나 임신에 대한 위험을 가중시킨다 (Levinson 1977). 특히 WHO(세계보건기구)에서는 비만이 당뇨 등 성인병의 주요인자로 보고, 21세기 인류의 건강과 복지를 위협하는 가장 큰 위험 요인으로 규정한 바 있다 (Taubes 2000).

보건복지부 통계에 의하면 1998년에서 2001년간 비만율은 남자의 경우 특히 고령층을 중심으로 크게 증가하였으며, 여자의 경우에도 60세 이상 연령층에서 증가된 것으로 나타났다. 특히, 비만율은 읍면지역 거주자와 저학력·저소득 등 사회경제적 수준이 낮은 계층에서 높은 것으로 나타났으며, 고혈압 및 간질환 가족력과 관련성을 나타내고 있는 것으로 보고되었다. 한편, 비만율은 남자의 경우 현재 흡연자에서 낮았으나 여자의 경우 현재 흡연자에서 오히려 높게 나타나 체중조절을 위한 흡연시작을 추측하게 하였다. 또한 비만율은 음주자에서 높았으며, 운동의 경우 적절운동군에서 오히려 높게 나타나 비만에 따른 행태변화가 예상 된다 (이유찬 2004). 2001년 보건복지부 통계에 의하면 우리나라 성인의 경우 남자 36.2 %, 여성은 29.4%가 과체중이상으로 나타났다. 비만도는 선진국으로 갈수록 증가하는 경향을 보이고 있는데, 미국의 경우 20세 이상 성인의 50%이상이 과체중이며, 25%정도가 비만인 것으로 보고 되어있어, 소득향상에 따라 우리나라도 비만문제가 더욱 심각한 사회 문제로 등장할 것으로 예상된다. 최근에는 소아비만이 심각한 사회문제로 대두되고 있는데, 2001년도 보건복지부 통계에 의하

면 20세미만 남자의 경우 14.3 %, 여자의 경우 10.2%가 비만으로 나타났다 (이유찬 2004).

비만의 지표로 여러 가지 척도가 사용되지만 가장 보편적으로 사용되고 있는 지표가 체질량지수 (body mass index, BMI)로서, 체중 (kg)을 키(m)의 제곱으로 나눈 값으로 정의된다. BMI가 25이상을 보통 '과체중 (overweight)', 30이상을 비만 (obese)으로 평가한다. 비만은 유전적인 소인이 35~50% 정도 차지하며 나머지 50~65%가 환경적인 요인에 기인하는 것으로 추정하고 있다. 특히, 비만의 주요 원인으로 기름진 음식의 섭취, 균형 잡히지 못한 식단, 잦은 간식, 운동부족 등이 지목되고 있다.

비만과 그에 수반되는 당뇨, 암, 심장 및 뇌혈관 질환등과 같은 만성질환에 대한 위험성증가 그리고 날씬한 체형에 대한 유행이 확산되면서 체중조절을 위한 식품의 필요성이 급속히 증대되고 있으며, 이에 따라 많은 종류의 체중조절용 식품이 시판되고 있으나, 대부분 그 효능이 과학적으로 규명되어 있지 않으며, 오히려 소비자들에게 위해를 줄 가능성이 있다. 따라서 과학적으로 증명된 식품이나 소재의 개발이 절실히 필요한 실정이다.

현재 체중 조절용 의약품이나 제품으로 상품화되어 있거나 고려되고 있는 것들은 대체로 에너지 영양소의 소화 및 흡수를 저해하거나 식욕을 저해하는 기전에 의하여 효능을 발휘한다. 예를 들어, 탄수화물 또는 지방소화효소를 저해함으로써 에너지원의 흡수를 제한하는 약물로서 대표적으로 Orlistat이나 Acarbose등이 개발되어 있다. 또한 식욕을 억제함으로써 체중을 조절하는 약물로서 교감신경계를 자극하는 noradrenergic agonists (Phentermine, diethylpropion)과, serotonin이나 noradrenaline의 세포내로의

reuptake를 저해함으로써 포만감을 증가시키고 식욕을 억제하는 Sibutramine, Fluoxetine등이 상품화되어 있다.

그 외에도 교감신경계를 활성화하여 열발생을 촉진함으로써 비만을 억제하는 약물로 levothyroxine, β -agonist인 BRL 26380A등이 있다.

국내에서 비만억제효능을 갖는 소재 또는 물질의 탐색 및 제품개발이 최근 들어 더욱 활발하게 진행되고 있는데, 예를 들어, 고추의 매운 맛 성분인 capsaicin의 대사조절효능을 응용한 제품, 난소화성 다당체 (식이섬유)를 이용한 제품, 동아, α -glucosidase 저해제를 함유한 빵잎을 이용한 제품, hydroxycitric acid를 함유한 *Garcinia cambogia* 추출물을 함유한 음료 등이 출시되거나 개발되어 있다 (매경 2000/4/29, 매경 2004/07/20, 김현복 등 1999, 홍석산 1998). 한편 본 연구자들은 버섯추출물, 한약재 추출물, 산채류, flavonoids등에 대한 탄수화물 소화효소 α -glucosidase 저해활성을 탐색한 바 있으며, 활성성분으로 luteolin 등을 확인 하였다 (Kim 등 2000a, 2000b). 그밖에도 본 연구팀은 산채류로부터 탄수화물소화지연(α -glucosidase 저해 활성) 활성을 탐색하여 잔대와 모시대 등이 우수한 것을 확인하였으며 관련 기술을 특허출원 한바 있다 (출원번호10-2000-0065427, 10-2000-0065428).

한편, 국외에서는 비만 관리를 위하여 3가지 방법으로 접근하고 있는데 (Hackman 1997), 첫째, 식품섭취를 줄이는 방법으로 *Garcinia cambogia* 열매로부터 추출한 hydroxycitric acid를 이용하는 것이 대표적인 예이다. 약품으로는 뇌의 섭식중추에 작용하여 식욕을 억제하는 Sibutramine (serotonin-norepinephrine reuptake inhibitor)가 개발되어 있다.

둘째, 대사를 조절하는 방법으로 탄수화물분해효소나 췌장 lipase를 저해하는 방법이 있는데, 췌장 lipase 저해제로서는 Orlistat (Xenical)이 개발되

어 있으며 탄수화물분해 효소저해제인 Acarbose가 비만을 효과적으로 억제하는 것이 보고되었다 (William-Olsson 1985, Vedula *et al.* 1991).

셋째, 열발생을 증가시키는 성분으로 ephedrine과 caffeine이 알려져 있는데, 최근 미국등지에서 ephedrine의 부작용이 보고됨에 따라, 이 성분이 함유된 마황을 포함하여 모든 보조식품의 판매를 금지하고 있다 (www.cfsan.fda.gov/~dms/ds-ephed.html).

한편 혈당조절제도 비만억제의 수단으로 이용될 수 있는 가능성이 있는데, 현재 당뇨병 환자용 경구 투여제로 개발된 물질로서 대표적인 것들은 대개 α -glucosidase 저해제로서 acarbose, miglitol, voglibose등 3종이 혈당조절제로 임상에 사용되고 있다 (Mooradian, 1999). 차세대 유망한 비만 및 당뇨치료물질로 α -glucosidase, α -amylase, sucrase 등 탄수화물분해효소 조절물질이 중요하다고 보고 있다. 지금까지, 두충(*Eucommia ulmoides*), 닭의장풀(*Commelinina communis*), *Salacia reticulata*, 황금(*Scutellaria baicalensis*) 등으로부터 α -glucosidase 저해제가 분리된바 있다 (Kim 1999, Watanabe 1997, Nishioka 1998, Yoshikawa 1998). 지방으로부터 에너지를 많이 섭취하는 서구인들에게는 lipase저해활성을 갖는 물질이 체중조절에 효과적이기 때문에 이에 대한 연구가 활발하다. 지금까지 lipase 저해활성을 많은 종류의 식물 추출물이 탐색되었으며, 이들 대부분은 비만, 지방간, 고지혈증 등을 예방 및 개선하는데 효과가 있음이 보고가 되었다(Yamamoto 등 1999, 2000). 이와 같이 농산물을 포함한 식물체에는 탄수화물이나 지방의 소화효소를 억제하는 성분들이 풍부하게 분포되어 있는 것으로 알려져 있으며, 따라서 이들로부터 식후혈당상승(postprandial hyperglycemia)이나 지방소화를 지연·억제함으로써 비만을 효과적으로 조절하는 것이 가능할 것으로 전망되었다 (Lankisch 1998, Matsuo 1992, Goese 등 2000, Yamamoto

등 2000). 더구나 소화효소저해를 통하여 체중을 조절하는 것이 부작용이 상대적으로 적고, 비만 환자들에게 순응도(compliance)가 높은 방법으로 여겨진다.

따라서 본 연구팀은 약 300여종의 농산물을 포함한 식물성 천연자원으로부터 α -amylase와 α -glucosidase의 탄수화물 소화관련 효소 및 지방분해효소인 췌장 lipase 저해활성을 갖는 소재를 탐색하고 활성성분을 분리하였으며, 이들 식물성 소재를 이용하여 체중조절용 제품을 개발하는 연구를 수행하였다.

제 2 장 재료 및 방법

제1절 시료의 준비

본 연구에서 사용한 시료는 산채류와 야생식물류, 기타식품소재 등 300여종으로 경북의성에 위치한 약초시험장과 지역시장에서 구입하거나 경북 북부지방 (안동, 봉화, 청송)의 산야에서 3~8월경에 직접 채취하여 실온에서 풍건하거나 동결건조하여 시험에 사용하였다 (Table 1, 2). 특히 비만 억제활성이 높아 제품화에 사용한 부채마 (*Dioscorea nipponica* M.)는 경북 청송의 산야에서 직접 채취하여 수세, 정선, 세절과정을 거쳐 동결건조하였다. 건조된 시료는 20 메쉬 이하로 분쇄하여, 10~20배의 용매 (메탄올, 에탄올, 물)를 사용하여 추출하여 활성을 측정하거나 물질의 분리와 제품개발에 사용하였다.

Table 1. Samples used in this study

Scientific name	Korean common name	Scientific name	Korean common name
<i>Acanthopanax sessiliflorus</i> (frutes)*	오갈피(열매)*	<i>Aralia continentalis</i> (leaves)	독활(잎)
<i>Acanthopanax sessiliflorus</i> (leaves)	오갈피(잎)	<i>Aralia continentalis</i> (seed)	독활(씨)
<i>Achillea sibirica</i> Ledeb	톱풀	<i>Aralia elata</i> (leaves)	두릅
<i>Achyranthes japonica</i> (aerial)	쇠무릎(지상)	<i>Arctium lappa</i> (aerial)	우영(지상)
<i>Aconitum carmichaeli</i>	부자	<i>Arisaema amurense</i> (frutes)	천남성(열매)
<i>Acorus calamus</i> (leaves)	창포(잎)	<i>Artemisia capillaris</i>	사철쑥
<i>Actinidia arguta</i> Planch (leaves)	다래(잎)	<i>Artemisia keiskeana</i>	맑은대쑥
<i>Adenophora triphylla</i> (root)	잔대뿌리	<i>Artemisia melini</i> (aerial)	더위지기(지상)
<i>Agastache rugosa</i> (aerial)	배초향(꼭향/지상)	<i>Artemisia princeps</i> (aerial)	참쑥(지상)
<i>Agrimonia pilosa</i>	집신나물	<i>Artemissiae capillaris</i> (leaves)	인진(잎)
<i>Akebia quinata</i> Dence(leaves)	으릅(잎)	<i>Aruncus dioicus</i>	눈개승마
<i>Allium senescens</i> (aerial)	두메부추(산구/지상부)	<i>Asparagi Tuber</i>	천문동
<i>Allium thunbergi</i>	산부추	<i>Asparagus</i> <i>oligoclonus</i>	방울빛자루
<i>Allium tuberosum</i>	부추	<i>Asparagus</i> <i>oligoclonus</i> Max	방울빛자루 (줄기)
<i>Allium victorialis</i> (root)	산마늘(뿌리)	<i>Aster scaber</i>	참취
<i>Althaea rosea</i>	접시꽃	<i>Aster tataricus</i>	개미취
<i>Aneilema keisak</i>	죽자초(죽자채)	<i>Astragalus</i> <i>membranaceus</i>	황기
<i>Anemarrhena asphodeloides</i>	지모	<i>Atractylodes japonica</i>	삼주
<i>Angelica autiloba</i> (leaves)	일당귀(지상)	<i>Belamcanda chinensis</i> (frutes)	범부채
<i>Angelica dahurica</i>	구릿대	<i>Campsis grandiflora</i> (leaves)	능소화(잎)
<i>Angelica gigas</i>	당귀	<i>Canavalia gladiata</i> (aerial)	작두콩(도두/지 상)
<i>Angelica gigas</i> (frutes)	당귀(열매)	<i>Canavalia gladiata</i> (frutes)	작두콩(열매)
<i>Angelica gigas</i> (leaves)	당귀(잎)	<i>Caragana sinica</i>	꿀담초
<i>Angelica tenuissima</i>	고본	<i>Cassia tora</i>	긴강남차
<i>Aquilegia buergeriana</i>	메발톱꽃(누두채)	<i>Cassia tora</i> (seed)	긴강남콩차(씨)
<i>Aralia continentalis</i> (frutes)	독활(열매)	<i>Cassiae Semen</i>	석결명

*Herbs represent the part used in this study, otherwise, whole herbs were used

(Continued)

Scientific name	Korean common name	Scientific name	Korean common name
<i>Cedrela sinensis (leaves)</i>	참죽나무(잎)	<i>Ecinopsis setifer</i>	절굿대
<i>Chelidonium majus</i>	애기똥풀	<i>Elsholtzia splendens</i>	꽃향유
<i>Chloranthus japonicus (aerial)</i>	홀아비꽃대(지상)	<i>Epomedium koreanum (aerial)</i>	삼지구엽초(지상)
<i>Chrysanthemum boreale</i>	산국	<i>Equisetum hyemale</i>	속새
<i>Chrysanthemum cinerariae</i>	제충국	<i>Euphorbia pekinensis</i>	대극
<i>Chrysanthemum indicum (aerial)</i>	감국(지상)	<i>Euphorbia pekinensis (leaves)</i>	대극(잎)
<i>Chrysanthemum zawadskii</i>	구절초	<i>Ficus carica</i>	무화과
<i>Cichorium intybus</i>	치커리	<i>Ficus carica (leaves)</i>	무화과(잎)
<i>Cirsium japonicum</i>	영경귀	<i>Foeniculi vulgare (aerial)</i>	소회향(지상)
<i>Cnidium officinale (aerial)</i>	일천궁(지상)	<i>Foeniculum vulgare (aerial)</i>	회향(지상)
<i>Codonopsis pilosula (aerial)</i>	만삼(지상)	<i>Forsythiae Fructus</i>	개나리꽃나무
<i>Coix lacryma-jobi (aerial)</i>	울무(지상)	<i>Galium verum</i>	솔나물
<i>Commelina communis (flower)</i>	닭의장풀(꽃)	<i>Geranium sibiricum</i>	쇠손이풀
<i>Commelina communis (leaves)</i>	닭의장풀(잎)	<i>Geranium sibiricum (aerial)</i>	쥐손이풀(지상)
<i>Convallaria keiskei</i>	은방울꽃	<i>Geum japonicum (aerial)</i>	뱀부(수양매/지상)
<i>Convallaria keiskei (root)</i>	은방울꽃(뿌리)	<i>Glycyrrhizae Radix(seed)</i>	감초(뿌리)
<i>Cyperi rotundus</i>	향부자	<i>Glycyrrhizae uralensis gondrea (aerial)</i>	감초
<i>Cyperi rotundus (seed)</i>	향부자(씨앗)	<i>Gossypium indicum (leaves)</i>	곶드레(지상)
<i>Dendrobium moniliforme</i>	석곡	<i>Gymnaster koraiensis</i>	목화(잎)
<i>Dianthus chinensis</i>	패랭이꽃	<i>Gynostemma pentaphyllum (leaves)</i>	벌개미취
<i>Dianthus superbus (aerial)</i>	술패랭이꽃(지상)	<i>Hemerocallis fulva</i>	돌외(잎)
<i>Dictamnus dasycarpus</i>	백선	<i>Hemerocallis fulva (root)</i>	원추리
<i>Dioscorea batatas (leaves)</i>	마(잎)	<i>Hemerocallis fulva var. 왕원추리</i>	왕원추리
<i>Dioscorea nipponica (root)</i>	부채마(천상용)	<i>Hemerocallis lilioasphodelus</i>	꽃잎원추리
<i>Disporum sessile subsp</i>	윤판나물	<i>Hemerocallis lilioasphodelus(root)</i>	꽃잎원추리(뿌리)
<i>Duchesnea chrysantha (aerial)</i>	뱀딸기(지상)		

(Continued)

Scientific name	Korean common name	Scientific name	Korean common name
<i>Hibiscus manihot</i> (aerial)	닥풀(지상)	<i>Liriope platyphylla</i> (leaves)	맥문동(잎)
<i>Hibiscus manihot</i> (flowers)	닥풀(꽃)	<i>Liriope platyphylla</i> (whole)	맥문동(전초)
<i>Hibiscus manihot</i> (frutes)	닥풀(열매)	<i>Lonicera japonica</i> (aerial)	인동(지상)
<i>Hibiscus manihot</i> (leaves)	닥풀(잎)	<i>Lonicera japonica</i> (frutes)	인동(열매)
<i>Hibiscus manihot</i> (whole)	닥풀	<i>Lotus corniculatus</i>	벌노랑이
<i>Hibiscus mutabilis</i>	부용	<i>Lycium chinense</i> (aerial)	구기자(지상)
<i>Hosta lancifolia</i> (leaves)	산옥잠화(잎)	<i>Lycium chinense</i> (frutes)	구기자(열매)
<i>Hosta plantaginea</i>	옥잠화	<i>Lycium chinense</i> (leaves)	구기자(잎)
<i>Houttuynia cordata</i> (aerial)	약메밀(지상)	<i>Lysimachia barystachys</i> (aerial)	까치수염(지상)
<i>Impatiens textori</i> (aerial)	물봉선(지상)	<i>Lysimachia davurica</i>	좁쌀풀
<i>Inula britannica</i> (aerial)	금불초(지상)	<i>lythrum anceps</i>	부처꽃
<i>Inula helenium</i>	목향	<i>Menispermum dauricum</i> (aerial)	새모래덩굴(지상)
<i>Inula helenium</i> (root)	목향(뿌리)	<i>Mentha arvensis</i>	박하
<i>Iris koreana</i>	국산붓꽃	<i>Menthae Herba</i>	개박하(중간)
<i>Iris pallassii</i> (leaves)	타래붓꽃(잎)	<i>Metaplexis japonica</i> (aerial)	박주가리(지상)
<i>Iris sanguinea</i> Hornem	붓꽃	<i>Morus bombysis</i> (leaves)	산뽕나무(잎)
<i>Ixeridium dentatum</i>	썸바귀	<i>Oenothera odorata</i>	
<i>Ixeris dentata</i> (whole)	썸바귀(전초)	<i>Osmunda japonica</i> (aerial)	고비(자기/지상)
<i>Jasminum nudiflorum</i> (aerial)	영춘화(지상)	<i>Ostericum koreanum</i>	강활
<i>Leonurus sibiricus</i>	익모초	<i>Paeonia suffruticosa</i>	모란
<i>Leonurus sibiricus</i> (aerial)	익모초(지상)	<i>Paeonia suffruticosa</i> (flower)	모란(꽃)
<i>Ligularia fischeri</i> (leaves)	곰취(호로칠/잎)	<i>Patarinia scabiosaefolia</i>	마타리
<i>Ligusticum chuanxiong</i>	토천궁	<i>Patrinia villosa</i>	뚝갈
<i>Lilium leichtlinii</i>	중나리	<i>Perilla frutescens</i>	자소
<i>Lilium tigrinum</i>	참나리(백합)	<i>Persicaria filiformis</i> (aerial)	이삭여뀌(지상)
<i>Liriope platyphylla</i> (frutes)	맥문동(열매)	<i>Petasites japonicus</i>	머위

(Continued)

Scientific name	Korean common name	Scientific name	Korean common name
<i>Peucedanum japonicum</i>	식방풍	<i>Rubus crataegifolius</i>	산딸기
<i>Peucedanum japonicum</i> (leaves)	갯기름나물(잎)	<i>Rumex acetocella</i>	큰애기수염
<i>Physalis alkekengi</i>	파리	<i>Rumex crispus</i>	소리쟁이
<i>Physalis alkekengi</i> (leaves)	파리(잎)	<i>Ruta graveolens</i> (aerial)	운향(지상)
<i>Phytolacca americana</i> (aerial)	미국자리공 (지상)	<i>Salvia plebeia</i>	뱀차조기
<i>Pimpinella brachycarpa</i>	참나물	<i>Sanguisorba officinalis</i> (seed)	오리풀(지상)
<i>Plantago asiatica</i>	질경이	<i>Saururus chinensis</i>	삼백초
<i>Plantago asiatica</i> (aerial)	질경이(지상)	<i>Schisandra chinensis</i> (leaves)	삼백초(잎)
<i>Plantago asiatica</i> (seed)	질경이(씨)	<i>Scilla chinensis</i> (aerial)	무릇(지상)
<i>Platycodon grandiflorum</i>	도라지	<i>Scilla chinensis</i> (seed)	무릇(씨)
<i>Polygonatum sibiricum</i> (leaves)	죽대동굴래 (잎)	<i>Scutellaria baicalensis</i> (aerial)	황금(지상)
<i>Polygonatum sibiricum</i> (root)	죽대동굴래 (뿌리)	<i>Sedum aizoon</i>	가는 기린초
<i>Polygonatum stenophyllum</i> (root)	황정(뿌리)	<i>Sedum kamtschaticum</i> (aerial)	기린초(지상)
<i>Polygonum multiflorum</i>	하수오	<i>Sedum kamtschaticum</i> (root)	기린초(뿌리)
<i>Polygonum multiflorum</i> (leaves)	하수오(잎)	<i>Sedum sarmentosum</i>	들나물
<i>Polymni sonchifolia</i> (leaves)	야콘(잎)	<i>Sedum spectrabile</i>	큰평의 비름
<i>Potentilla discolor</i>	숨양지꽃	<i>Selaginella tamariscina</i>	부처손(전초)
<i>Pteridium aquilinum</i>	고사리	<i>Sophora flavescens</i>	고삼
<i>Pulsatilla koreana</i>	활미꽃	<i>Symphytum officinale</i>	컴프리
<i>Rehmanniae glutinosa</i> (leaves)	지황(잎)	<i>Symphytum officinale</i> (root)	컴프리뿌리
<i>Reynoutria elliptica</i> (leaves)	호장근(잎)	<i>Syneilesis palmata</i> (aerial)	우산나물(지상)
<i>Reynoutria elliptica</i> (leaves)	호장근(잎)	<i>Taraxacum platicarpum</i> (aerial)	민들레(지상)
<i>Reynoutria elliptica</i> (root)	호장근(뿌리)	<i>Trachelospermum asiaticum</i>	마삭줄
<i>Rheum undelatum</i> (leaves)	대황(잎)	<i>Veronica linariaefolia</i>	
<i>Rhodea japonica</i> (leaves)		<i>Veronica rotundavar</i>	산꼬리풀
<i>Rhododendron mucronulatum</i>	진달래	<i>Viola mandshurica</i>	제비꽃

(Continued)

Scientific name	Korean common name	Scientific name	Korean common name
<i>Viola mandshurica</i> (aerial)	체비꽃(지상)	<i>Zanthoxylum schinifolium</i>	산초
<i>Vitis coignetiae</i> (leaves)	머루(잎)	<i>Zanthoxylum schinifolium</i> (leaves)	산초(잎)
<i>Washabia japonica</i> (aerial)	겨자무(지상)	<i>Zingiber mioga</i>	양하
<i>Washabia japonica</i> (leaves)	겨자무(잎)	<i>Zizyphus jujuba</i> (frutes)	멧대추(열매)
<i>Xanthium strumarium</i>	도꼬마리		

Table 2. Foodstuffs used in this study

Scientific name	Korean common name	Scientific name	Korean common name
<i>Allium tuberosum</i> Roth.	부추	<i>Phaseolus angularis</i>	팥
Bean paste	된장	<i>Phaseolus radiatus</i> L.	녹두
<i>Camelia japonica</i> (oil)	동백유	<i>Phellinus lintwus</i>	상황버섯
<i>Capsicum annuum</i>	고추	<i>Phellodendri</i> Cortex	황경나무
<i>Chrorella</i> sp.	클로렐라	<i>Phyllostachys bambusoides</i>	왕대
Chunggukjang(yellow)	청국장 (백태)	<i>Phyllostachys bambusoides</i> (leaves)	왕대잎
Chunggukjang (water extract)	청국장 (물추출물)	<i>Pisum sativum</i> L INN.	완두콩
<i>Coxi lachryma-jobi</i> var.	울무	<i>Porphyra tenera</i>	다시마
<i>Cucurbita moschata</i> Duchene	호박	<i>Setaria italica</i> (L.) Beauv.	조
<i>Ephedrae sinica</i>	마황	<i>Sorghum bicolor</i> Moench	수수
<i>Fagopyrum esculentum</i> Moench	메밀	Soy sauce	간장
<i>Glycine max</i> (black)	콩(흑태)	Soybean curd	두부
<i>Glycine max</i> (L.) Merrill	콩나물	Soybean milk	두유
<i>Glycine max</i> (soy flour)	콩(백태)	<i>Taraxacum platycarpum</i>	느타리버섯
Green soybean	콩(청태)	<i>Trapa japonica</i> FLEROV	마름
<i>Laminaria</i>	미역	<i>Tricholoma masutake</i>	새송이버섯
<i>Letinus edoes</i>	콩과류	Waxy barley	찰쌀보리
<i>Oenanthe javanica</i> (Blume) DC.	미나리	Waxy brown rice	현미찰쌀
<i>Oryza sativa</i> (black rice)	흑미	Yakkong	약콩
<i>Oryza sativa</i> L.	현미	Yangdae-kong	양대콩
<i>Oryza sativa</i> (waxy).	찰쌀		

제2절 탄수화물 소화효소 저해활성의 측정

1. α -Glucosidase 저해활성 측정

동물의 소장 점막에서 분비되는 탄수화물소화효소의 일종인 α -glucosidase는 Kim 등 (2000a)과 Watanabe (1997) 등이 사용한 방법에 따라, 기질로서 p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside를 사용하고, 효소원으로는 효모 α -glucosidase와 rat intestinal powder (Sigma I 1630)로부터 추출하여 제조한 α -glucosidase를 이용하여 용매만을 넣은 대조군 (ΔA_0)과 일정 농도의 시료 추출액을 넣어 반응시킨 처리구의 흡광도 변화(ΔA)를 관찰하여 시료의 효소 저해활성 정도를 평가하였다. 즉, rat intestinal α -glucosidase 효소액을 0.2% bovine serum albumin과 0.02% NaN_3 를 함유하는 0.1M 인산완충액(pH 7.0)에 0.7 U/mL가 되도록 용해하였다. Rat intestinal α -glucosidase 효소액은 100 mg의 rat intestinal powder를 0.9% NaCl용액 3 mL에 가하여 ice bath에서 30초간 12회 sonication하여 효소를 추출하고, 10,000g에서 30분간 원심분리하여 제조하였으며, 상층액을 효소저해활성 측정에 사용하였다 (Asano 1996; Oki et al. 1999). 기질은 p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (Sigma N 1377)를 0.1M 인산완충액 (pH 7.0)에 5 mM 농도로 용해하여 사용하였다. 효소액 50 μ L와 시료추출물 (대조군의 경우 추출에 사용한 용매) 10 μ L를 96-well plate에 넣고 405 nm에서 흡광도를 측정하고 (A at time=0), 5분간 실온에 방치한 후, 기질을 50 μ L 가하고 실온에서 5분간 반응시킨 후 다시 405 nm에서 흡광도 (A at time=5 min)를 측정하였다. 효소활성의 저해정도는 다음 식에 의하여 산출하였다.

$$\text{효소활성 저해도 (\%)} = (\Delta A_0 - \Delta A) / \Delta A_0 \times 100$$

ΔA_0 : 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도 변화

ΔA : 시료첨가후 흡광도 변화

2. α -Amylase 저해활성 측정

시료의 α -amylase 저해활성은 Lorentz (1983)가 개발한 방법을 응용하여, 효소원으로 돼지의 췌장 amylase (Sigma A3176; 100U)를 사용하고 기질로서 5 mM p-nitrophenyl- α -D-maltohexaoside (Sigma 73681)를 이용하여 효소활성을 측정하였다. 즉, 효소를 100 mM 인산완충액 (2 g BSA/mL, 0.2 g NaN_3/L)에 녹여 사용하였다. 효소활성측정은 α -glucosidase 활성측정방법과 동일하게 수행하였으며, 단지 효소반응시간을 20분간으로 하여 수행하였다.

3. Lipase 저해활성 측정

Lipase 저해활성은 돼지 췌장 효소와 기질로서 4-methylumbelliferyl oleate (4-MU)를 사용하여 평가하였다 (Kawaguchi 등 1997). 즉, 총 200 uL의 반응액에 100 uL 0.1 mM 4-MU oleate와 60 uL McIlvaline 완충액 (0.1 M citrate- Na_2HPO_4 , pH 7.4), 10 uL 시료용액을 혼합하고, 췌장 lipase 30 uL (0.03 U)를 가함으로서 반응을 개시하였다. 37°C에서 15분간 반응시킨 후 1 mL의 0.1 N HCl 용액과 2 mL 0.1 M sodium citrate를 첨가하여 반응을 종료시켰다. Lipase에 의하여 유리된 4-methylumbelliferone을 형광광도계 (Ex320/Em450nm)에서 측정하였다. Lipase 저해활성은 다음 계산식에 의하여 산출하였다.

$$\% \text{저해율} = (A-B)/A \times 100$$

A: 시료를 첨가하지 않았을 때의 형광광도

B: 시료를 첨가하였을 때의 형광광도

제3절 활성성분의 분리와 구조 결정

시료의 메탄올 추출물을 dichloromethane, ethylacetate, butanol, 물 등으로 계통적으로 용매 분획하였다. 즉, 용매분획에서 활성이 가장 높은 획분을 용매를 달리하여 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 수행하고, 여기서 얻어진 획분을 재차 bioassay-guided chromatographic fractionation (TLC, column chromatography, HPLC)을 수행하였다. 최종적으로 분리된 활성성분들의 물리화학적 성질을 검토하면서 UV, Mass, IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ 등의 화학기기를 이용하여 얻은 스펙트럼을 분석함으로써 화학구조를 결정하였다.

부채마의 lipase 저해활성 성분으로 본 연구에서 확인된 물질인 dioscin의 정량적 분석은 Evaporative Light Scattering Detector (ELSD) (Model 800, Alltech)가 장착된 HPLC (Jasco PU1580)를 사용하여 수행하였다. 이때 사용한 column은 Capcell Pak C18 (Shiseido)이었으며, 이동상은 60% acetonitrile로 분당 0.5 mL씩 elution 시켰다. 시료는 20 ul 주입하였다.

제4절 동물실험을 통한 항비만 활성 평가

일차적인 *in vitro* 탐색실험에서 얻어진 결과를 토대로 하여 동물실험을 통하여 소재들의 효능을 평가하였다. 실험에 사용한 동물은 C57BL/6 계 생쥐 (mouse, 4주령) 또는 Sprague-Dawley (SD)계 수컷 쥐 (rat, 체중 200~250g)을 한국실험동물센터 (충북, 음성)에서 구입하여 사용하였다. 쥐는 cage당 1 마리씩 넣어 개별 사육하였으며, 사육실 온도는 $24\pm 2^\circ\text{C}$, 습도는 $50\pm 10\%$ 로 하였으며, 12시간 간격으로 광주기를 조절하였다 (점등시간: 07:00~19:00). 특별한 실험을 제외하고는 실험기간중 물과 식이를 자유채식

하도록 하였다. 실험마다 약간의 차이는 있었지만 처리군당 10~20마리의 쥐를 사용하였다. 처음 쥐가 도착하였을 때는 1주일간 Chow (Purina, Korea)를 공급하여 적응기간을 주었으며, 실험 식이를 6~10주간 공급하였다. 식이섭취량을 3일 간격으로 측정하였으며, 체중은 7일 간격으로 관측하였다. 시료의 항비만효능 평가시 사용한 실험용 쥐의 대표적인 식이조성은 Table 3~5와 같다. 실험이 종료된 이후, 동물을 희생시켜 혈액을 채취하고, 필요한 경우, 부고환 (epididymis), 신장 주변(perirenal), 서혜부 (inguen)에서 지방부위를 완전히 제거하여 총지질함량을 측정하였다 (Vedula 등 1991).

Heparin를 함유한 튜브에 수집한 혈액을 원심분리하여 혈장을 얻은 다음, 혈장 포도당, 중성지방, 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 함량을 정량용 kit (Sigma)를 사용하여 효소법으로 측정하였다.

한편 생쥐(mice)를 이용한 마름시료의 체중조절효능평가 실험의 경우, 쥐를 이용한 실험에서와 동일한 방법으로 사육하면서 수행하였다.

금은화 메탄올 추출물시료의 내당능(glucose tolerance)을 평가하기 위하여 oral glucose tolerance test를 수행하였다. 수용성 전분 1g을 5 ml의 증류수에 용해하고, 여기에 금은화의 에틸아세테이트 층 (10 mg) 또는 양성대조구로서 Acarbose를 혼합하여 잘 현탁시킨 다음, 한국생명공학연구원에서 분양받은 유전적 당뇨 생쥐 (db/db mouse) 체중 1 kg당 5 mL를 구강투여하고 30분 또는 60분 간격으로 꼬리 정맥에서 채혈하여 생리식염수로 2배로 희석한 다음, 혈당농도를 glucose oxidase 방법으로 측정하였다 (Sigma kit).

Table 3. Composition of experimental diets (g/kg diet) for anti-obesity study of *Adenophora triphylla*

Diet ingredients	Group		
	Control (0%)	2% <i>Adenophora triphylla</i>	5% <i>Adenophora triphylla</i>
Corn starch (carbohydrate from <i>Adenophora triphylla</i>)	600	596.0 (4.0)	590.0 (10.0)
Casein (protein from <i>Adenophora triphylla</i>)	200	197.7 (2.3)	194.1 (5.9)
Corn oil (fat from <i>Adenophora triphylla</i>)	100	98.7 (1.3)	96.7 (3.3)
Cellulose (fiber from <i>Adenophora triphylla</i>)	50	39.6 (10.4)	24.1 (25.9)
Vitamin mixture	10	10	10
Mineral mixture (ash from <i>Adenophora triphylla</i>)	40	38.1 (1.9)	35.2 (4.8)
Choline	2	2	2
Methionine	3	3	3
Powdered <i>Adenophora triphylla</i> *	0	20	50

*Diet composition was adjusted based on results from chemical analysis of the sample.

Table 4. Composition of experimental high-fat diets (g/kg diet) for anti-obesity study of *Coix lachryma-jobi* (Job's tear)

Diet ingredients	Group		
	Control (0%)	5% <i>Coix</i> <i>lachryma-jobi</i>	10% <i>Coix</i> <i>lachryma-jobi</i>
Beef tallow (fat from Job's tear)	400	397.3 (2.7)	394.6 (5.4)
Casein (protein from Job's tear)	300	293.3 (6.7)	286.5 (13.5)
Corn starch (carbohydrate from Job's tear)	100	67.0 (33.0)	33.9 (66.1)
Sugar	100	100	100
Cellulose (fiber from Job's tear)	50	48.8 (1.2)	47.5 (2.5)
Vitamin mixture	10	10	10
Mineral mixture (ash from Job's tear)	35	33.5 (1.5)	32.0 (3.0)
Choline	2	2	2
Methionine	3	3	3
Job's tear powder*	0	50	100

*Diet composition was adjusted based on results from chemical analysis of the sample.

Table 5. Composition of experimental high-fat diets (g/kg diet) for anti-obesity study of *Dioscorea nipponica* using SD rats

Component	Control	2% DN	5% DN
	<i>g per kg of diet</i>		
Beef tallow	400	400	400
Casein	300	300	300
Starch	100	84.3	60.8
Sugar	100	100	100
Cellulose	50	45.7	39.2
Vitamin mixture	10	10	10
Mineral mixture	35	35	35
Choline	2	2	2
Methionine	3	3	3
<i>Dioscorea nipponica</i> powder	0	20	50

*Diet composition was adjusted based on results from chemical analysis of the sample.

부채마 성분인 dioscin과 diosgenin의 지질 소화흡수 저해정도는 체중 약 40g의 웅성 ICR mouse를 이용하여 측정하였다. 즉, mouse를 하룻밤동안 금식시킨 다음, 미리 제조한 lipid+시료 emulsion을 구강 투여하고 0, 0.5, 1, 2, 3, 4시간 후에 꼬리 정맥에서 혈액을 취하여 Triglyceride E-test kit (Sigma)를 이용하여 혈중 중성지방 농도를 측정함으로써 지질 흡수 정도를 평가하였다. 이때 lipid emulsion은 6 mL 옥수수 기름, 80 mg cholic acid, 2 mg cholesteryl oleate, 6 mL 생리식염수, 시료 (dioscin과 diosgenin) 등을 넣어 제조하였다.

제5절 인체실험을 통한 탐색된 소재의 효능 평가

최종 선발된 항비만소재의 인체실험을 통하여 다음과 같은 방법으로 효능을 평가하였다. 체질량지수 (body mass index, BMI)가 23~41 범위의 사람을 대상으로 하되 가능한 과체중이상인 사람을 모집하여 2개월간 blind study를 실시하였다. 대상자를 10~15명씩 2 군으로 나누어, 대조군은 활성 성분이 없는 밀가루로 만든 환(pill)을, 실험 군에 속한 10~15명에게는 부채마분말로 제조된 2g의 환을 매일 3회씩 식전 30분에 섭취하도록 하였다. 1개월마다 본 연구기관을 방문하여 체중과 체지방함량을 측정 받도록 하였으며, 부작용이 발생한 인체실험참여자(subject)는 실험환의 섭취를 중단시켰다. 체지방함량은 Bioimpedance analyzer (Tanica, 일본)를 사용하여 측정하였다. 비만인은 실험 기간동안 일상적인 식생활 및 생활습관을 유지하도록 하였다. 실험시작 전·후에 환자의 신장과 체중을 측정하여 체질량지수 (body mass index, BMI, kg/m^2)를 계산하였다. 실험참여자의 실험식이 전후 체지방, 엉덩이 및 허리둘레, 그리고 혈압을 측정하였으며, 공복시 정맥에서 채혈한 후, 혈당, creatinine, blood urea nitrogen (BUN), 콜레스테롤,

중성지방, HDL-콜레스테롤, 유리지방산(free fatty acids, FFA), GOT(glutamate oxaloacetate transaminase), GPT(glutamate pyruvate transaminase) 효소등을 kit (Sigma, USA) 사용하여 측정하였다.

제6절 체중조절용 제품 개발

1. 체중조절용 음료 개발

가. 최적 추출조건의 선정

체중조절효과가 가장 높았던 부채마를 경북북부 지역에서 채집하여 동결 건조(전북 테크노파크시설 사용)하고 분말화하여, 다양한 농도의 에탄올 수용액으로 추출하고 추출율과 추출물의 lipase저해활성이 가장 높은 에탄올 농도를 결정하였다. 최적 추출 에탄올농도에서 대량으로 시료를 제조하고, 이를 드링크개발에 사용하였다.

나. 활성소재의 적정 첨가비율 결정

부채마의 80% 에탄올 추출물과 설탕, 고과당, 구연산, 비타민 C 등을 이용하여 본교 대학원생으로 이뤄진 훈련된 패널의 관능검사를 통하여 최적 배합비율을 결정하였다. 동물실험과 임상실험에서 얻어진 효능결과를 바탕으로 1회 섭취용량을 부채마 추출물 0.5g이 함유되도록 하였다.

다. 저장 안정성 실험

체중조절용 음료의 저장 안정성을 평가하기 위하여 용기(100ml, 투명 플라스틱용기)에 음료를 담아 autoclave (Vision, 한국)에서 95℃, 15분간 살균한 후 저장 조건에 따라 3개 군으로 나누어 시험하였다. 즉, 부채마 추출물

을 베이스로한 체중조절용 음료의 저장 중 품질 변화 조사는 최종 개발제품을 투명용기에 담아 0℃, 25℃ (상온), 36℃에 각각 저장하면서 음료의 산도, pH, 색도, 침전물 생성정도 등의 품질 변화를 조사하였다.

2. 부채마 추출물을 이용한 마요네즈 제조

지방소화효소억제활성이 높았던 소재를 기존 식품에 첨가하는 방안으로서 지방함량이 상대적으로 높은 마요네즈를 모델 식품으로 선정하여 적정 첨가비율을 검토하였다. 마요네즈의 조성은 Table 6과 같으며, 원료를 잘 혼합하여 냉장고에 보관하면서 공시하였다 (박금순 등 2000). 마요네즈의 제조 방법은 다음과 같다.

난황 --> 2분간 beating --> 소금, 설탕 첨가 --> 8분간 beating -->
식용유, 식초 첨가 -- emulsion 형성 --> 부채마 추출물 첨가 -->
1분간 beating --- 유화 --> 제품

Table 6. Formula of mayonnaise containing different level of Dioscorea extract

Ingredients	Dioscorea extract, %				
	0	0.1	0.3	0.5	1.0
Soybean oil, mL	79.17	79.07	78.87	78.67	78.17
Egg yolk, g	14.17	14.17	14.17	14.17	14.17
Sugar, g	1.67	1.67	1.67	1.67	1.67
Salt, g	1.17	1.17	1.17	1.17	1.17
Vinegar, mL	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83
Dioscorea extract, g	0.00	0.10	0.30	0.50	1.00

제 3 장 결과 및 고찰

제1절 농산물소재의 소화효소저해활성

1. 시료추출물의 탄수화물소화효소 저해활성

가. α -Glucosidase 저해활성

본 연구에서 사용한 시료는 300여종으로 경북 의성 약초시험장 및 시장에서 구입하여 사용하였다. 시료 추출물은 건조 시료 10 g당 100 mL의 메탄올을 첨가하여 실온에서 하룻밤동안 추출하고, 일부를 채취하여 질소가스로 실온에서 flushing 하여 용매를 증발시켜 공시하였다. 시료의 메탄올추출물에 대하여 탄수화물소화의 마지막 단계인 맥아당을 포도당으로 분해하는 α -glucosidase 효소를 저해하는 소재를 탐색한 결과는 Table 7과 같다.

시료의 메탄올 추출물을 dimethylsulfoxide (DMSO)용매에 5 mg/ml 농도로 용해시킨 다음, 상기 방법으로 쥐의 소장에서 추출한 α -glucosidase, 돼지췌장의 α -amylase 효소에 대한 저해활성을 측정하였다. 대부분의 시료가 α -glucosidase 효소저해활성이 없었으나, 산뽕나무 잎과 잔대가 α -glucosidase 저해활성이 가장 높은 것으로 나타났다. 이들은 농도의존적으로 α -glucosidase 효소활성을 저해하는 것으로 나타났다 (Fig. 1)

한편 잔대추출물을 분획한 결과, 물분획에서 α -glucosidase 저해활성이 가장 높게 나타났다 (Fig.2). Asano 등(2000)은 잔대로부터 β -glucosidase를 저해하는 물질로서 nojirimycin 계열과 arabinitol, 2R,5R-bis(hydroxymethyl)-3R,4R-dihydropyrrolidine 등을 분리한 바 있다. 따라서 잔대에서 α -glucosidase 저해활성을 보인 것은 이들 성분들일 가능성이 높다.

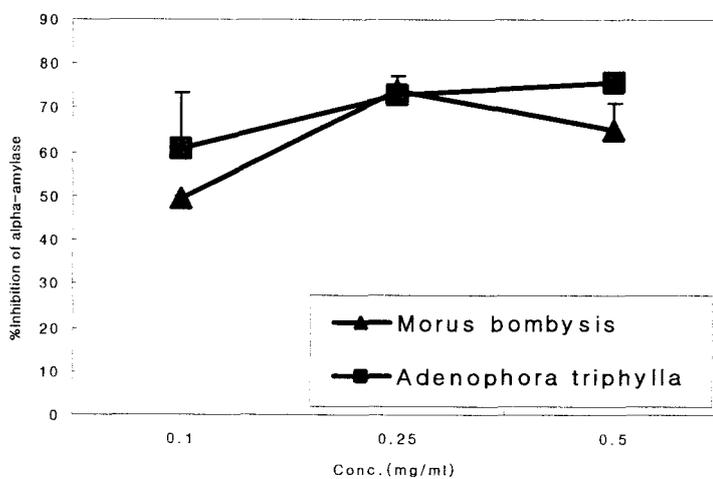


Fig. 1. Dose-dependent inhibition of rat intestinal α -glucosidase (AG) activity by *Adenophora triphylla* and *Morus bombysis* extract. Mean \pm S.D. (n=3).

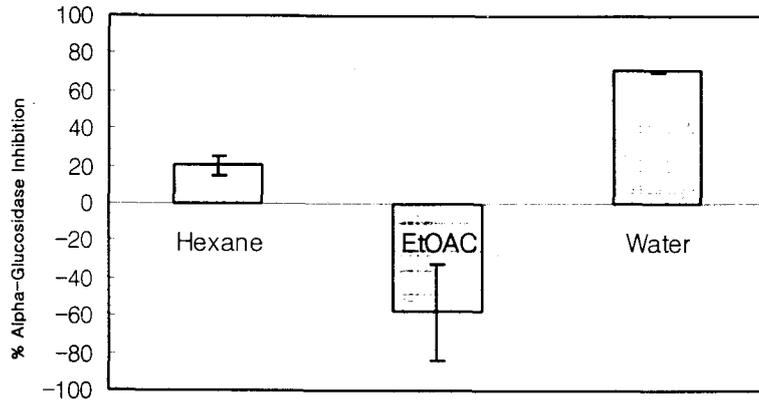


Fig. 2. α -Glucosidase-inhibitory activities of solvent fractions of *Adenophora triphylla*. Bar represents mean \pm S.D. (n=3).

나. *In vitro*계 α -amylase, sucrase, isomaltase 저해활성

본 실험에서 탄수화물소화억제 소재로 검토한 시료가운데 삼지구엽초 (음양곽, *Epomedium koreanum Nakai*)와 뱀차조기(*Salvia plebeia*), 금은화 (인동꽃, *Lonicera japonica Thunb*)가 α -amylase 저해활성이 가장 높은 것으로 나타났다. 삼지구엽초, 뱀차조기, 금은화 메탄올 추출물은 0.5 mg/L 농도에서 돼지 췌장 α -amylase 효소활성을 각각 86.1, 62.2, 84.0%를 저해하는 것으로 나타났다. 이들 삼지구엽초와 금은화 시료의 농도별 효소저해활성은 Fig. 3과 4에 나타낸 바와 같이 농도의존적으로 효소활성을 저해하는 것으로 나타났다. 삼지구엽초와 금은화 추출물의 IC_{50} 는 각각 0.1, 0.2 mg/mL이었다.

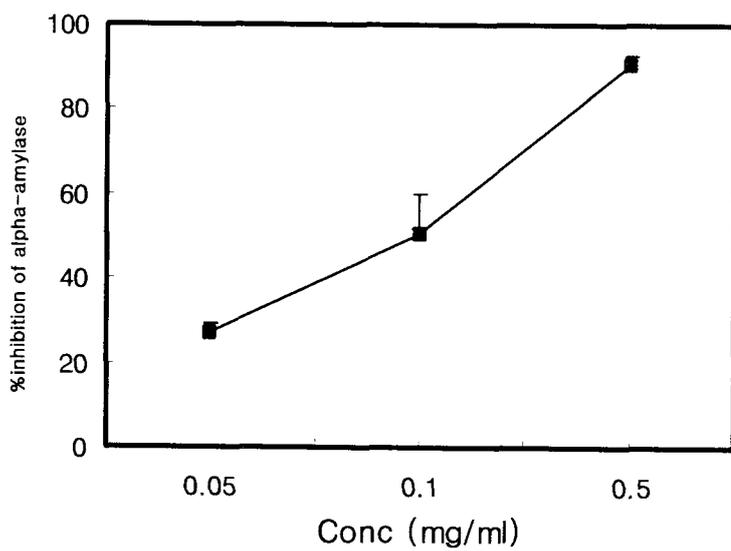


Fig. 3. Inhibition of α -amylase by methanol extract of *Epomedium koreanum*.

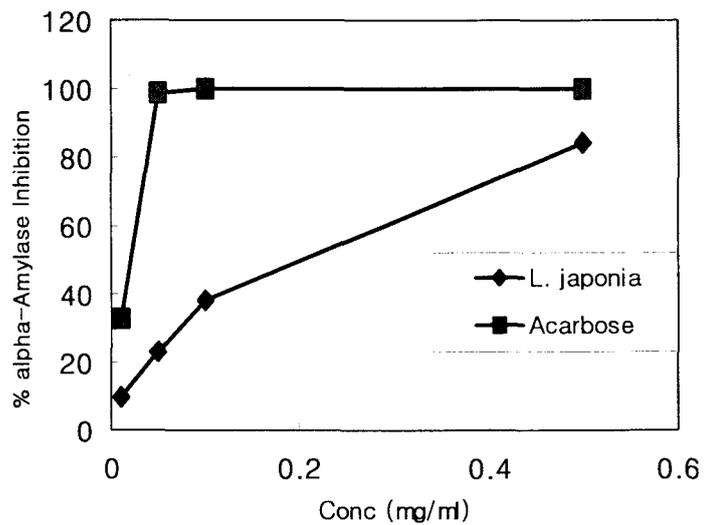


Fig. 4. Inhibition of α -amylase by ethylacetate fraction of *Lonicera japonica* methanol extract.

한편 식용이 가능한 금은화에 대하여 sucrase 및 isomaltase 저해활성을 비교한 결과, 금은화 메탄올 추출물이 α -glucosidase 저해제로로서 혈당강하제로 사용되는 Acarbose와 비교하여 sucrase 저해하는 활성이 높은 것으로 나타났다 (Fig. 5). 그러나 isomaltase 효소 저해활성은 없는 것으로 나타났다 (Fig 6).

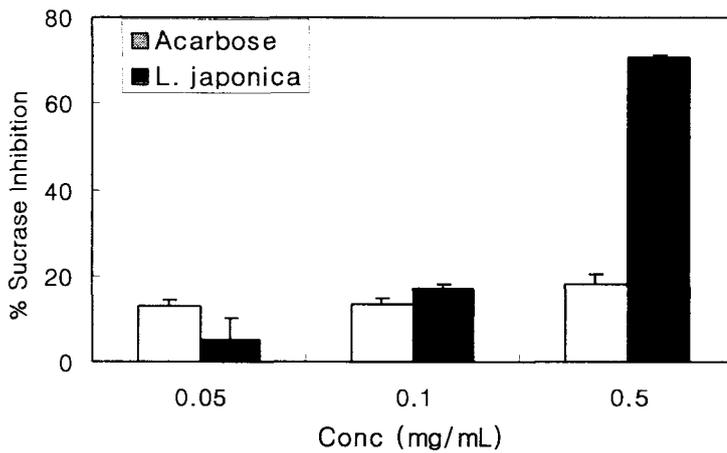


Fig. 5. Inhibition of sucrase by ethylacetate fraction of *Lonicera japonica* methanol extract.

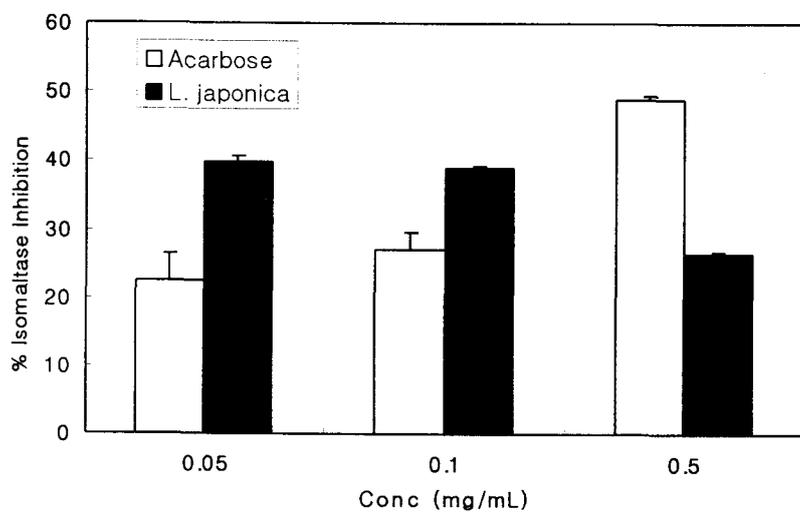


Fig. 6. Regulation of isomaltase activity by ethylacetate fraction of *Lonicera japonica* methanol extract.

Table 7. Inhibitory activities of medicinal herb extracts against rat intestinal α -glucosidase and porcine pancreatic α -amylase

Scientific name	α -Glucosidase inhibitory activity (%)	α -Amylase inhibitory activity (%)
<i>Acanthopanax sessiliflorus</i> (frutes)	13	-6
<i>Acanthopanax sessiliflorus</i> (leaves)	-2	-32
<i>Achillea sibirica</i>	-10	-58
<i>Achyranthes japonica</i> (aerial)	-29	-42
<i>Aconitium carmichaehi</i>	-14	-42
<i>Acorus calamus</i> (leaves)	-47	-97
<i>Actinidia arguta</i> (leaves)	-12	-60
<i>Adenophora triphylla</i> (root)	76	-24
<i>Agastache rugosa</i> (aerial)	-31	14
<i>Agrimonia pilosa</i>	-17	-17
<i>Akebia quinata</i> (leaves)	-38	19
<i>Allium senescens</i> (aerial)	3	-51
<i>Allium thunbergi</i>	-11	-39
<i>Allium tuberosum</i>	-4	-56
<i>Allium victorialis</i> (root)	4	-2
<i>Althaea rosea</i>	-15	-50
<i>Aneilema keisak</i>	11	-32
<i>Anemarrhena asphodeloides</i>	-40	-75
<i>Angelica autiloba</i>	-3	-39
<i>Angelica dahurica</i>	10	-33
<i>Angelica gigas</i>	-11	-13
<i>Angelica gigas</i> (frutes)	-5	-23
<i>Angelica gigas</i> (leaves)	-33	-81
<i>Angelica tenuissima</i>	7	-45
<i>Aquilegia buergeriana</i>	-21	8
<i>Aralia continentalis</i> (frutes)	-2	-43

(Continued)

Scientific name	α -Glucosidase inhibitory activity (%)	α -Amylase inhibitory activity (%)
<i>Aralia continentalis</i> (leaves)	-7	-48
<i>Aralia continentalis</i> (seed)	15	-52
<i>Aralia elata</i> (leaves)	-7	-14
<i>Arctium lappa</i> (aerial)	-33	-73
<i>Arisaema amurense</i> (frutes)	-4	-37
<i>Artemisia capillaris</i>	-19	-54
<i>Artemisia keiskeana</i>	-36	8
<i>Artemisia melini</i> (aerial)	-32	23
<i>Artemisia princeps</i> (aerial)	-13	-55
<i>Artemissiae capillaris</i> (leaves)	-16	-27
<i>Aruncus dioicus</i>	-27	13
<i>Asparagi Tuber</i>	21	-37
<i>Asparagus oligoclonos</i>	7	-29
<i>Asparagus oligoclonos</i> Max	-3	-91
<i>Aster scaber</i>	-28	-50
<i>Aster tataricus</i>	3	-62
<i>Astragalus membranaceus</i>	-5	-41
<i>Atractylodes japonica</i>	-25	-27
<i>Belamcanda chinensis</i> (frutes)	-108	-63
<i>Campsis grandiflora</i> (leaves)	-34	49
<i>Canavalia gladiata</i> (aerial)	-23	-27
<i>Canavalia gladiata</i> (frutes)	10	-30
<i>Caragana sinica</i>	-4	-34
<i>Cassia tora</i>	5	-30
<i>Cassia tora</i> (seed)	-29	-88
<i>Cassiae Semen</i>	-10	-30

(Continued)

Scientific name	α -Glucosidase inhibitory activity (%)	α -Amylase inhibitory activity (%)
<i>Cedrela sinensis</i> (leaves)	-23	5
<i>Chelidonium majus</i>	-23	-6
<i>Chloranthus japonicus</i> (aerial)	-11	-51
<i>Chrysanthemum boreale</i>	-26	12
<i>Chrysanthemum cinerariae</i>	-1	-59
<i>Chrysanthemum indicum</i> (aerial)	-26	-36
<i>Chrysanthemum zawadskii</i>	-21	-54
<i>Cichorium intybus</i>	-22	-94
<i>Cirsium japonicum</i>	-55	-47
<i>Cnidii officinale</i> (aerial)	-13	-52
<i>Codonopsis pilosula</i> (aerial)	-50	43
<i>Coix lacryma-jobi</i> (aerial)	-38	-36
<i>Commelina communis</i> (flower)	-4	-28
<i>Commelina communis</i> (leaves)	-14	-35
<i>Convallaria keiskei</i>	12	-21
<i>Convallaria keiskei</i> (root)	21	-22
<i>Cyperus rotundus</i>	-3	-47
<i>Cyperus rotundus</i> (seed)	-9	11
<i>Dendrobium moniliforme</i>	-20	-34
<i>Dianthus chinensis</i>	-10	-61
<i>Dianthus superbus</i> (aerial)	-4	-64
<i>Dictamnus dasycarpus</i>	-3	16
<i>Dioscorea batatas</i> (leaves)	-11	-19
<i>Dioscorea nipponica</i> (root)	-57	-30
<i>Disporum sessile</i> subsp	-18	41
<i>Duchesnea chrysantha</i> (aerial)	-20	-3

(Continued)

Scientific name	α -Glucosidase inhibitory activity (%)	α -Amylase inhibitory activity (%)
<i>Ecinopsis setifer</i>	8	-16
<i>Elsholtzia splendens</i>	-33	18
<i>Epomedium koreanum (aerial)</i>	-13	86
<i>Equisetum hyemale</i>	2	-53
<i>Euphorbia pekinensis</i>	5	-45
<i>Euphorbia pekinensis (leaves)</i>	-11	-17
<i>Ficus carica</i>	-19	-6
<i>Ficus carica (leaves)</i>	-29	-8
<i>Foeniculi vulgare (aerial)</i>	-15	-17
<i>Foeniculum vulgare (aerial)</i>	-5	-48
<i>Forsythiae Fructus</i>	-12	1
<i>Galium verum</i>	16	-2
<i>Geranium sibiricum</i>	-29	-81
<i>Geranium sibiricum (aerial)</i>	-8	-56
<i>Geum japonicum (aerial)</i>	-8	-17
<i>Glycyrrhizae Radix(seed)</i>	-28	-22
<i>Glycyrrhizae uralensis gondrea (aerial)</i>	-10 -36	-30 -8
<i>Gossypium indicum (leaves)</i>	-67	-75
<i>Gymnaster koraiensis</i>	1	-39
<i>Gynostemma pentaphyllum (leaves)</i>	-8	-32
<i>Hemerocallis fulva</i>	-11	-41
<i>Hemerocallis fulva (root)</i>	0	-29
<i>Hemerocallis fulva var.</i>	-17	-77
<i>Hemerocallis lilioasphodelus</i>	-10	-49
<i>Hemerocallis lilioasphodelus(root)</i>	17	-21

(Continued)

Scientific name	α -Glucosidase inhibitory activity (%)	α -Amylase inhibitory activity (%)
<i>Hibiscus manihot</i> (aerial)	-10	-19
<i>Hibiscus manihot</i> (flowers)	-2	-76
<i>Hibiscus manihot</i> (frutes)	1	-58
<i>Hibiscus manihot</i> (leaves)	-12	-30
<i>Hibiscus manihot</i> (whole)	-45	-44
<i>Hibiscus mutabilis</i>	-39	-111
<i>Hosta lancifolia</i> (leaves)	-5	-31
<i>Hosta plantaginea</i>	-6	-64
<i>Houttuynia cordata</i> (aerial)	-15	-70
<i>Impatiens textori</i> (aerial)	-30	-35
<i>Inula britannica</i> (aerial)	-29	0
<i>Inula helenium</i>	-60	-49
<i>Inula helenium</i> (root)	-24	-48
<i>Iris koreana</i>	-12	-6
<i>Iris pallasii</i> (leaves)	-18	-29
<i>Iris sanguinea</i> Hornem	-16	-20
<i>Ixeridium dentatum</i>	-23	1
<i>Ixeris dentata</i> (whole)	-1	-8
<i>Jasminum nudiflorum</i> (aerial)	-2	-30
<i>Leonurus sibiricus</i>	-29	-58
<i>Leonurus sibiricus</i> (aerial)	-2	-9
<i>Ligularia fischeri</i> (leaves)	-34	-18
<i>Ligusticum chuanxiong</i>	13	-36
<i>Lilium leichtlinii</i>	19	-88
<i>Lilium tigrinum</i>	-14	-36
<i>Liriope platyphylla</i> (frutes)	14	4

(Continued)

Scientific name	α -Glucosidase inhibitory activity (%)	α -Amylase inhibitory activity (%)
<i>Liriope platyphylla</i> (leaves)	-39	-43
<i>Liriope platyphylla</i> (whole)	6	-29
<i>Lonicera japonica</i> (aerial)	-5	-7
<i>Lonicera japonica</i> (frutes)	-2	26
<i>Lotus corniculatus</i>	9	10
<i>Lycium chinense</i> (aerial)	-7	-125
<i>Lycium chinense</i> (frutes)	-7	-78
<i>Lycium chinense</i> (leaves)	8	-128
<i>Lysimachia barystachys</i> (aerial)	-42	-36
<i>Lysimachia davurica</i>	-18	-153
<i>Lythrum anceps</i>	-11	-74
<i>Menispermum dauricum</i> (aerial)	-1	-41
<i>Mentha arvensis</i>	-20	-9
<i>Menthae Herba</i>	-13	-52
<i>Metaplexis japonica</i> (aerial)	-16	-13
<i>Morus bombycis</i> (leaves)	69	-40
<i>Oenothera odorata</i>	-52	-49
<i>Osmunda japonica</i> (aerial)	-14	-66
<i>Ostericum koreanum</i>	-32	21
<i>Paeonia suffruticosa</i>	-15	20
<i>Paeonia suffruticosa</i> (flower)	-32	29
<i>Patarinia scabiosaefolia</i>	4	-37
<i>Patrinia villosa</i>	-18	-1
<i>Perilla frutescens</i>	-13	-37
<i>Persicaria filiformis</i> (aerial)	-41	14
<i>Petasites japonicus</i>	-28	-44

(Continued)

Scientific name	α -Glucosidase inhibitory activity (%)	α -Amylase inhibitory activity (%)
<i>Peucedanum japonicum</i>	-19	-44
<i>Peucedanum japonicum</i> (leaves)	-7	-26
<i>Physalis alkekengi</i>	2	-20
<i>Physalis alkekengi</i> (leaves)	-46	8
<i>Phytolacca americana</i> (aerial)	1	-9
<i>Pimpinella brachycarpa</i>	-20	-89
<i>Plantago asiatica</i>	5	-44
<i>Plantago asiatica</i> (aerial)	-10	-36
<i>Plantago asiatica</i> (seed)	-8	-70
<i>Platycodon grandiflorum</i>	-16	26
<i>Polygonatum sibiricum</i> (leaves)	-45	-77
<i>Polygonatum sibiricum</i> (root)	-16	-4
<i>Polygonatum stenophyllum</i> (root)	-15	-45
<i>Polygonum multiflorum</i>	-3	38
<i>Polygonum multiflorum</i> (leaves)	-14	-40
<i>Polymni sonchifolia</i> (leaves)	-10	-35
<i>Potentilla discolor</i>	-8	-26
<i>Pteridium aquilinum</i>	27	-21
<i>Pulsatilla koreana</i>	-2	-9
<i>Rehmanniae glutinosa</i> (leaves)	-14	-22
<i>Reynoutria elliptica</i> (leaves)	-58	22
<i>Reynoutria elliptica</i> (leaves)	-27	-2
<i>Reynoutria elliptica</i> (root)	-26	-22
<i>Rheum undelatum</i> (leaves)	-24	-37
<i>Rhodea japonica</i> (leaves)	-7	-17
<i>Rhododendron mucronulatum</i>	-30	-4

(Continued)

Scientific name	α -Glucosidase inhibitory activity (%)	α -Amylase inhibitory activity (%)
<i>Rubus crataegifolius</i>	-7	-7
<i>Rumex acetocella</i>	-17	-63
<i>Rumex crispus</i>	-5	-59
<i>Ruta graveolens (aerial)</i>	-8	-18
<i>Salvia plebeia</i>	7	62
<i>Sanguisorba officinalis (seed)</i>	-24	-22
<i>Saururus chinensis</i>	-3	14
<i>Schisandra chinensis (leaves)</i>	-32	21
<i>Scilla chinensis (aerial)</i>	-11	-19
<i>Scilla chinensis (seed)</i>	-24	-44
<i>Scutellaria baicalensis (aerial)</i>	-45	-46
<i>Sedum aizoon</i>	-17	-66
<i>Sedum kamtschaticum (aerial)</i>	-7	-40
<i>Sedum kamtschaticum (root)</i>	-18	-70
<i>Sedum sarmentosum</i>	-28	-48
<i>Sedum spectrabile</i>	-38	-16
<i>Selaginella tamariscina</i>	-12	1
<i>Sophora flavescens</i>	-26	-18
<i>Symphytum officinale</i>	6	-79
<i>Symphytum officinale (root)</i>	-30	-74
<i>Syneilesis palmata (aerial)</i>	-40	-41
<i>Taraxacum platicarpum (aerial)</i>	-18	-37
<i>Trachelospermum asiaticum</i>	-8	6
<i>Veronica rotundavar</i>	-24	-31
<i>Viola mandshurica</i>	-7	-66
<i>Viola mandshurica(aerial)</i>	-6	-115

(Continued)

Scientific name	α -Glucosidase inhibitory activity (%)	α -Amylase inhibitory activity (%)
<i>Vitis coignetiae</i> (leaves)	-36	8
<i>Washabia japonica</i> (aerial)	-2	-59
<i>Washabia japonica</i> (leaves)	-12	-41
<i>Xanthium strumarium</i>	-9	-86
<i>Zanthoxylum schinifolium</i>	-15	-55
<i>Zanthoxylum schinifolium</i> (leaves)	-39	7
<i>Zingiber mioga</i>	-16	-85
<i>Zizyphus jujuba</i> (frutes)	4	0

2. 시료추출물의 *in vitro*계 lipase 저해활성

산채류를 포함하여 자생식물 218종에 대한 돼지 췌장 lipase에 대한 저해활성을 측정한 결과 (Kawaguchi, 1997), 부채마, 지모, 좁쌀풀, 독활, 머위, 산꼬리풀, 쥐손이풀, 야콘 등의 메탄올 추출물이 IC₅₀ 값 0.05 mg/mL이하로서 비교적 높은 lipase 저해활성을 보였다 (Table 8, Fig. 7). 특히 부채마 추출물의 lipase 저해활성이 높았으며, 농도 의존적으로 효소활성을 저해하였다 (Fig. 8). 부채마는 식품의약품안전청에 질의한 결과 식품원료로 사용이 가능하다는 회신을 받았다 (별첨 참조).

Table 8. Inhibitory activities of medicinal herb extracts against pancreatic lipase

Scientific name	Lipase inhibitory activity(%)
<i>Acanthopanax sessiliflorus</i> (frutes)	60
<i>Acanthopanax sessiliflorus</i> (leaves)	41
<i>Achillea sibirica</i>	36
<i>Achyranthes japonica</i> (aerial)	60
<i>Aconitium carmichaehi</i>	-5
<i>Acorus calamus</i> (leaves)	40
<i>Actinidia arguta</i> (leaves)	-56
<i>Adenophora triphylla</i> (root)	-108
<i>Agastache rugosa</i> (aerial)	13
<i>Agrimonia pilosa</i>	27
<i>Akebia quinata</i> (leaves)	-20
<i>Allium senescens</i> (aerial)	66
<i>Allium thunbergi</i>	36
<i>Allium tuberosum</i>	36
<i>Allium victorialis</i> (root)	55
<i>Althaea rosea</i>	46
<i>Aneilema keisak</i>	-190
<i>Anemarrhena asphodeloides</i>	76
<i>Angelica autiloba</i> (leaves)	-51
<i>Angelica dahurica</i>	-142
<i>Angelica gigas</i>	-125
<i>Angelica gigas</i> (frutes)	-1200
<i>Angelica gigas</i> (leaves)	-974
<i>Angelica tenuissima</i>	-71
<i>Aquilegia buergeriana</i>	4
<i>Aralia continentalis</i> (frutes)	70
<i>Aralia continentalis</i> (leaves)	67

(Continued)

Scientific name	Lipase inhibitory activity(%)
<i>Aralia continentalis</i> (seed)	85
<i>Aralia elata</i> (leaves)	26
<i>Arctium lappa</i> (aerial)	61
<i>Arisaema amurense</i> (frutes)	44
<i>Artemisia capillaris</i>	-342
<i>Artemisia keiskeana</i>	-541
<i>Artemisia melini</i> (aerial)	-81
<i>Artemisia princeps</i> (aerial)	6
<i>Artemissiae capillaris</i> (leaves)	-17
<i>Aruncus dioicus</i>	59
<i>Asparagi Tuber</i>	-14
<i>Asparagus oligoclonos</i>	-27
<i>Asparagus oligoclonos Max</i>	41
<i>Aster scaber</i>	38
<i>Aster tataricus</i>	-121
<i>Astragalus membranaceus</i>	30
<i>Atractylodes japonica</i>	-139
<i>Belamcanda chinensis</i> (frutes)	90
<i>Campsis grandiflora</i> (leaves)	-18
<i>Canavalia gladiata</i> (aerial)	-7
<i>Canavalia gladiata</i> (frutes)	43
<i>Caragana sinica</i>	25
<i>Cassia tora</i>	-37
<i>Cassia tora</i> (seed)	68
<i>Cassiae Semen</i>	81
<i>Cedrela sinensis</i> (leaves)	30
<i>Chelidonium majus</i>	42

(Continued)

Scientific name	Lipase inhibitory activity(%)
<i>Chloranthus japonicus (aerial)</i>	68
<i>Chrysanthemum boreale</i>	48
<i>Chrysanthemum cinerariae</i>	10
<i>Chrysanthemum indicum (aerial)</i>	75
<i>Chrysanthemum zawadskii</i>	-37
<i>Cichorium intybus</i>	0
<i>Cirsium japonicum</i>	43
<i>Cnidii officinale (aerial)</i>	61
<i>Codonopsis pilosula (aerial)</i>	54
<i>Coix lacryma-jobi (aerial)</i>	77
<i>Commelina communis (flower)</i>	47
<i>Commelina communis (leaves)</i>	43
<i>Convallaria keiskei</i>	47
<i>Convallaria keiskei (root)</i>	55
<i>Cyperus rotundus</i>	58
<i>Cyperus rotundus (seed)</i>	64
<i>Dendrobium moniliforme</i>	-50
<i>Dianthus chinensis</i>	-14
<i>Dianthus superbus (aerial)</i>	-90
<i>Dictamnus dasycarpus</i>	-188
<i>Dioscorea batatas (leaves)</i>	70
<i>Dioscorea nipponica (root)</i>	88
<i>Disporum sessile subsp</i>	-150
<i>Duchesnea chrysantha (aerial)</i>	25
<i>Ecinopsis setifer</i>	-50
<i>Elsholtzia splendens</i>	27
<i>Epomedium koreanum (aerial)</i>	50

(Continued)

Scientific name	Lipase inhibitory activity(%)
<i>Equisetum hyemale</i>	68
<i>Euphorbia pekinensis</i>	21
<i>Euphorbia pekinensis (leaves)</i>	19
<i>Ficus carica</i>	-204
<i>Ficus carica (leaves)</i>	-380
<i>Foeniculi vulgare (aerial)</i>	50.6
<i>Foeniculum vulgare (aerial)</i>	-101
<i>Forsythiae Fructus</i>	41
<i>Galium verum</i>	-34.
<i>Geranium sibiricum</i>	9
<i>Geranium sibiricum (aerial)</i>	74
<i>Geum japonicum (aerial)</i>	52
<i>Glycyrrhizae Radix(seed)</i>	27
<i>Glycyrrhizae uralensis</i>	8
<i>gondrea (aerial)</i>	34
<i>Gossypium indicum (leaves)</i>	-12
<i>Gymnaster koraiensis</i>	-29
<i>Gynostemma pentaphyllum (leaves)</i>	34
<i>Hemerocallis fulva</i>	75
<i>Hemerocallis fulva (root)</i>	66
<i>Hemerocallis fulva var.</i>	45.
<i>Hemerocallis lilioasphodelus</i>	22
<i>Hemerocallis lilioasphodelus(root)</i>	23
<i>Hibiscus manihot (aerial)</i>	36
<i>Hibiscus manihot (flowers)</i>	64
<i>Hibiscus manihot (frutes)</i>	33
<i>Hibiscus manihot (leaves)</i>	26

(Continued)

Scientific name	Lipase inhibitory activity(%)
<i>Hibiscus manihot</i> (whole)	7
<i>Hibiscus mutabilis</i>	52
<i>Hosta lancifolia</i> (leaves)	84
<i>Hosta plantaginea</i>	23
<i>Houttuynia cordata</i> (aerial)	10
<i>Impatiens textori</i> (aerial)	70
<i>Inula britannica</i> (aerial)	25
<i>Inula helenium</i>	28
<i>Inula helenium</i> (root)	47
<i>Iris koreana</i>	22
<i>Iris pallasii</i> (leaves)	43
<i>Iris sanguinea</i> Hornem	29
<i>Ixeridium dentatum</i>	-129
<i>Ixeris dentata</i> (whole)	23
<i>Jasminum nudiflorum</i> (aerial)	18
<i>Leonurus sibiricus</i>	4
<i>Leonurus sibiricus</i> (aerial)	70
<i>Ligularia fischeri</i> (leaves)	12
<i>Ligusticum chuanxiong</i>	-49
<i>Lilium leichtlinii</i>	6
<i>Lilium tigrinum</i>	48
<i>Liriope platyphylla</i> (frures)	14
<i>Liriope platyphylla</i> (leaves)	12
<i>Liriope platyphylla</i> (whole)	32
<i>Lonicera japonica</i> (aerial)	11
<i>Lonicera japonica</i> (frutes)	-13
<i>Lotus corniculatus</i>	-11

(Continued)

Scientific name	Lipase inhibitory activity(%)
<i>Lycium chinense (aerial)</i>	67
<i>Lycium chinense (frutes)</i>	35
<i>Lycium chinense (leaves)</i>	58
<i>Lysimachia barystachys (aerial)</i>	55
<i>Lysimachia davurica</i>	80
<i>lythrum anceps</i>	-41
<i>Menispermum dauricum (aerial)</i>	-14
<i>Mentha arvensis</i>	-26
<i>Menthae Herba</i>	4
<i>Metaplexis japonica (aerial)</i>	75
<i>Morus bombysis (leaves)</i>	20
<i>Oenothera odorata</i>	12
<i>Osmunda japonica (aerial)</i>	53
<i>Ostericum koreanum</i>	-75
<i>Paeonia suffruticosa</i>	20
<i>Paeonia suffruticosa (flower)</i>	-20
<i>Patarinia scabiosaefolia</i>	37
<i>Patrinia villosa</i>	-145
<i>Perilla frutescens</i>	32
<i>Persicaria filiformis (aerial)</i>	72
<i>Petasites japonicus</i>	86
<i>Peucedanum japonicum</i>	-232
<i>Peucedanum japonicum (leaves)</i>	37
<i>Physalis alkekengi</i>	-92
<i>Physalis alkekengi (leaves)</i>	12
<i>Phytolacca americana (aerial)</i>	51
<i>Pimpinella brachycarpa</i>	64

(Continued)

Scientific name	Lipase inhibitory activity(%)
<i>Plantago asiatica</i>	-236
<i>Plantago asiatica</i> (aerial)	50
<i>Plantago asiatica</i> (seed)	31
<i>Platycodon grandiflorum</i>	-44
<i>Polygonatum sibiricum</i> (leaves)	77
<i>Polygonatum sibiricum</i> (root)	-49
<i>Polygonatum stenophyllum</i> (root)	44
<i>Polygonum multiflorum</i>	44
<i>Polygonum multiflorum</i> (leaves)	73
<i>Polymni sonchifolia</i> (leaves)	84
<i>Potentilla discolor</i>	-33
<i>Pteridium aquilinum</i>	0
<i>Pulsatilla koreana</i>	-64
<i>Rehmanniae glutinosa</i> (leaves)	-16
<i>Reynoutria elliptica</i> (leaves)	-6
<i>Reynoutria elliptica</i> (leaves)	79
<i>Reynoutria elliptica</i> (root)	64
<i>Rheum undelatum</i> (leaves)	61
<i>Rhodea japonica</i> (leaves)	5
<i>Rhododendron mucronulatum</i>	-117
<i>Rubus crataegifolius</i>	15
<i>Rumex acetocella</i>	-28
<i>Rumex crispus</i>	33
<i>Ruta graveolens</i> (aerial)	-768
<i>Salvia plebeia</i>	1
<i>Sanguisorba officinalis</i> (seed)	75
<i>Saururus chinensis</i>	-31

(Continued)

Scientific name	Lipase inhibitory activity(%)
<i>Schisandra chinensis</i> (leaves)	27
<i>Scilla chinensis</i> (aerial)	-15
<i>Scilla chinensis</i> (seed)	41
<i>Scutellaria baicalensis</i> (aerial)	52
<i>Sedum aizoon</i>	74
<i>Sedum kamschaticum</i> (aerial)	66
<i>Sedum kamschaticum</i> (root)	5
<i>Sedum sarmentosum</i>	67
<i>Sedum spectrabile</i>	36
<i>Selaginella tamariscina</i>	78
<i>Sophora flavescens</i>	61
<i>Symphytum officinale</i>	11
<i>Symphytum officinale</i> (root)	16
<i>Syneilesis palmata</i> (aerial)	60
<i>Taraxacum platycarpum</i> (aerial)	44
<i>Trachelospermum asiaticum</i>	27
<i>Veronica linariaefolia</i>	48
<i>Veronica rotundavar</i>	88
<i>Viola mandshurica</i>	-139
<i>Viola mandshurica</i> (aerial)	-62
<i>Vitis coignetiae</i> (leaves)	78
<i>Washabia japonica</i> (aerial)	-9
<i>Washabia japonica</i> (leaves)	3
<i>Xanthium strumarium</i>	44
<i>Zanthoxylum schinifolium</i>	-4
<i>Zanthoxylum schinifolium</i> (leaves)	-12
<i>Zingiber mioga</i>	-9
<i>Zizyphus jujuba</i> (frutes)	-27

한편 우리가 일반적으로 식품소재로 사용하는 채소류 및 곡류에 대하여 lipase 저해활성을 측정한 결과, 마름과 율무가 가장 높은 저해활성을 보였다. 즉, 마름(*Trapa japonica*)과 율무(*Coix lachryma-jobi*)의 메탄올 추출물이 0.25 mg/mL농도에서 pancreatic lipase 활성을 80, 90% 저해하는 것으로 나타났다 (Table 9). 그 밖에도 찹쌀(*Oryza glutinosa*), 흑색미(*Oryza sativa*-black)등도 lipase 효소 저해활성이 높은 것으로 나타났다.

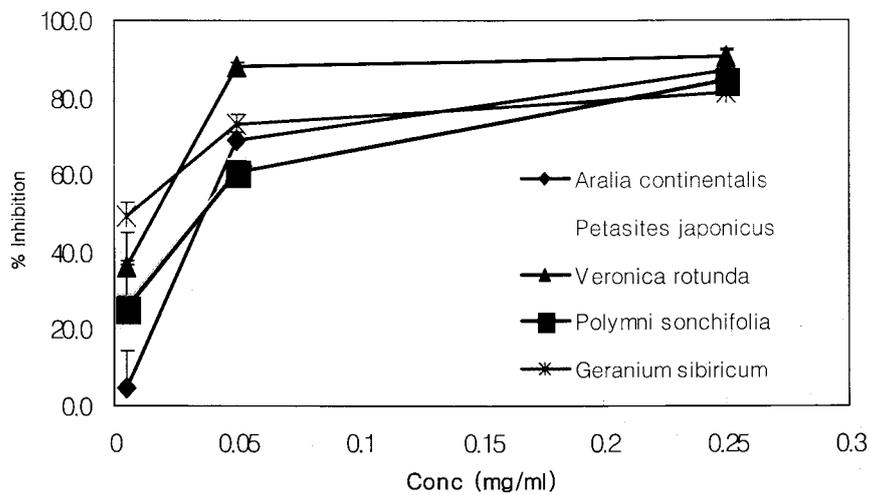


Fig. 7. Lipase-inhibitory activities of some plant extracts at various concentrations.

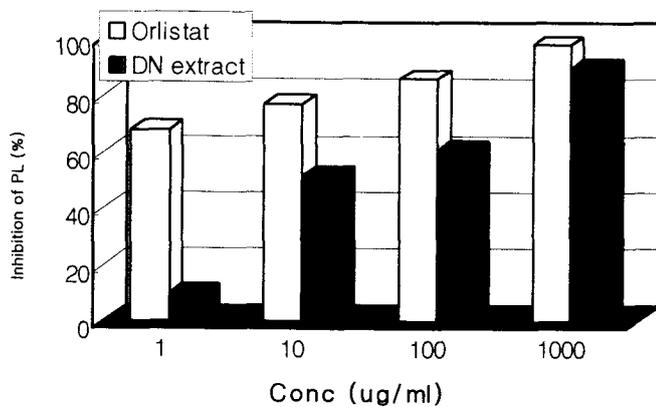


Fig. 8. Inhibition of Porcine Pancreatic Lipase (PL) by the *Dioscorea nipponica* (DN) Extract.

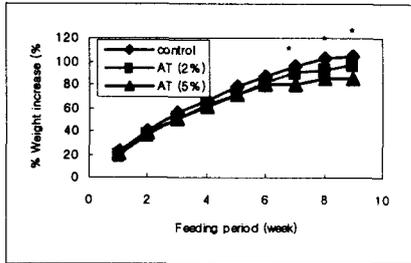
Table 9. Lipase-inhibitory activities of foodstuffs

Scientific name	Lipase inhibitory activity (%)	Scientific name	Lipase inhibitory activity (%)
<i>Allium tuberosum</i> Roth.	73	<i>Oryzias sativa</i> (waxy)	59
Bean paste	-309	<i>Phaseolus angularis</i>	-153
<i>Camelia japonica</i> (oil)	72	<i>Phaseolus radiatus</i> L.	-9
<i>Capsicum annum</i>	-11	<i>Phellinus lintuus</i>	37
Chrorella sp.	88	<i>Phellodendri</i> Cortex	75
Chunggukjang(yellow)	-397	<i>Phyllostachys bambusoides</i> Sieb.	71
Chungkukjang (green soy)	-397	<i>Phyllostachys bambusoides</i> Sieb. (leaves)	62
Chungkukjang (water extract)	25	<i>Pisum sativum</i> L.	-228
<i>Coxi lachryma-jobi</i> var.	80	<i>Porphyra tenera</i>	59
<i>Cucurbita moschata</i> Duchene	-10	<i>Setaria italica</i> (L.) Beauv.	87
<i>Ephedrae sinica</i>	56	<i>Sorghum bicolor</i> Moench	70
<i>Fagopyrum esculentum</i> Moench	65	Soy sauce	-13
<i>Glycine max</i> (black)	-263	Soybean curd	-301
<i>Glycine max</i> (L.) Merrill	-7	Soybean milk	-619
<i>Glycine max</i> (soy flour)	-38	<i>Taraxacum platycarpum</i> H.DAHLST.	33
Green soybean	-112	<i>Trapa japonica</i> FLEROV	90
<i>Laminaria</i>	28	<i>Tricholoma masutake</i>	-98
<i>Letinus edoes</i>	-7	Waxy barley	-527
<i>Oenanthe javanica</i> (Blume) DC.	67	Waxy brown rice	63
<i>Oryza sativa</i> (black rice)	88	Yakkong	-104
<i>Oryza sativa</i> L.	79	Yangdae-kong	24

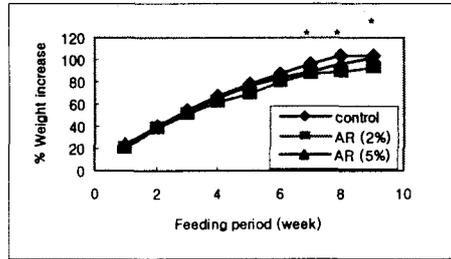
제2절 탄수화물소화효소 저해활성물질의 *in vivo* 비만 억제 효과

이전 *in vitro* 평가실험에서 α -glucosidase 저해활성이 높았던 잔대 (*Adenophora tryphilla*), 더덕(*Codonopsis lanceolata*), 모시대(*Adeophora rimotiflora*) (Kim et al. 2000)와 α -amylase 저해활성이 높았던 삼지구엽초 (*Empomidium koreanum*)에 대하여 동물모델계에서 비만억제활성을 조사한 결과, 잔대, 더덕, 모시대는 2 및 5% 수준에서 대조군에 비하여 쥐의 체중증가를 10% 정도 감소시키는 것으로 나타났으나, 삼지구엽초는 체중 증가를 억제하지 못하는 것으로 나타났다 (Fig. 9). 한편 금은화 (인동꽃, *Lonicera japonica* T.) 메탄올 추출물의 에칠아세테이트 분획이 *in vitro* 실험에서 α -amylase 저해활성이 높았었는데, 이에 대한 동물실험에서도 5% 식이수준에서 약 10% 체중감소를 유발하는 것으로 나타났다. 또한 당뇨쥐 모델에서 내당능을 개선하는 효과도 확인되었다 (Fig. 10). 따라서 금은화는 비만 예방 및 치료 뿐 아니라 당뇨병자의 혈당조절에도 사용될 수 있는 가능성을 보였다. 금은화의 모체가 되는 인동은 낙엽성의 관목으로 줄기(길이 4~5 m)는 덩굴져 자라며 연한 밤색털과 샘털이 배게 나 있다. 꽃은 5~7월에 잎아귀에서 보통 2송이씩 피는데 처음에 흰색이던 것이 누런색으로 변한다. 우리나라 북부의 높은 산지를 제외한 각지의 산기슭, 들판의 양지바른 곳에서 자란다. 세계적으로는 중국, 일본에 분포되어 있다. 인동꽃 (금은화)에는 플라보노이드인 luteolin, lonicerin과 chlorogenic acid, isochlorogenic acid, 이노시롤 등과 정유가 있다. 잎에서는 로가닌, 로니세린 등과 알칼로이드인 베노테르핀, 그 밖에 카페인산메틸에스테르, 바닐린산 등이 알려졌다. 최근에 지상부에서 새로운 배당체인 보겔로시드, 에피보겔로시드, 세콜로가닌디메틸아세탈이 알려졌다 (<http://krpia.co.kr/>).

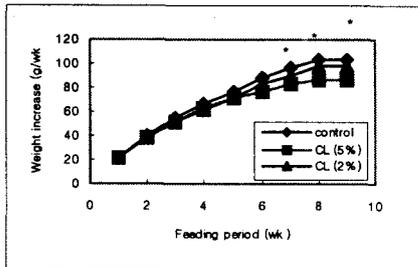
Adenophora tryphilla (AT)



Adeophora rimotiflora (AR)



Codonopsis lanceolata (CL)



Lonicera japonica (LJ)

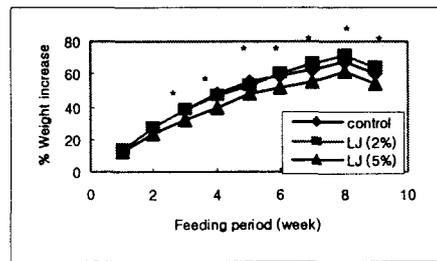


Fig. 9. Effect of diet containing 2 or 5% of *Adenophora tryphilla* (AT), *Adeophora rimotiflora* (AR), *Codonopsis lanceolata* (CL), and *Lonicera japonica* (LJ) on weight increase of rats. Asterisk represents significant difference between control and 5% sample groups ($P < 0.05$).

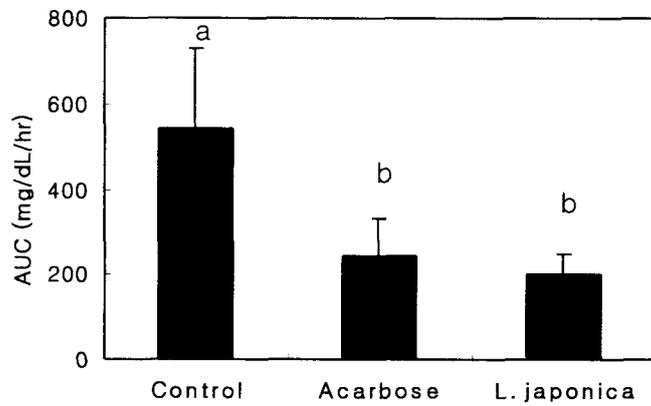


Fig. 10. Improvement of glucose tolerance by ethylacetate fraction (5 mg/kg bw) of *Lonicera japonica* methanol extract in db/db mice. Bars with different superscript are significantly different from each other.

제3절 지방소화효소 저해활성물질의 *in vivo* 비만 억제 효과

1. 부채마의 비만억제 효과

가. 부채마에서 lipase 저해활성 물질의 분리 및 동정

In vitro 계 lipase 저해활성 측정결과, 활성이 높았던 부채마 (*Dioscorea nipponica*)의 매탄올 추출물로부터 활성성분을 실리카 컬럼 크로마토그래피 방법으로 분리하여 dioscin, diosgenin, gracillin, prosapogenin A와 C등을 동정하였다. 이들 화합물의 pancreatic lipase에 대한 저해활성은 Table 10과 같다. 표에서 보는 바와 같이 dioscin, diosgenin, gracillin 등은 유사한 저해활성을 보였으며, prosapogenin A가 가장 저해활성이 높은 것으로 나타났다. 부채마 추출물에는 dioscin함량이 2.7%로 가장 높았으며, 나머지 성분들은 본인들이 사용한 HPLC분석 조건에서는 확인할 수 없는 낮은 농도로 존재하였다. 따라서 부채마 추출물의 lipase저해활성은 주로 dioscin에 의하여 발현되는 것으로 추정된다.

Table 10. Inhibitory activities of some compounds purified from *Dioscorea nipponica* against pancreatic lipase

	Dioscin	Diosgenin	Gracillin	Pro-sapogenin A	Pro-sapogenin C
IC ₅₀ (ug/ml)	20.0	28.0	28.9	1.8	42.2

나. Dioscin과 diosgenin의 *in vivo* 지방흡수억제 활성

한편 dioscin과 diosgenin을 옥수수 기름(corn oil)과 함께 생쥐에게 구강투여하여, 경시적으로 혈중 중성지방 농도 변화를 측정한 결과, 대조군에 비

하여 혈중 중성지방 농도(TG) 상승이 억제되는 것으로 나타나 (Fig. 11, 12), 이들 화합물이 동물의 소장에서 지방분해(소화)효소작용을 억제하는 것이 간접적으로 증명되었다.

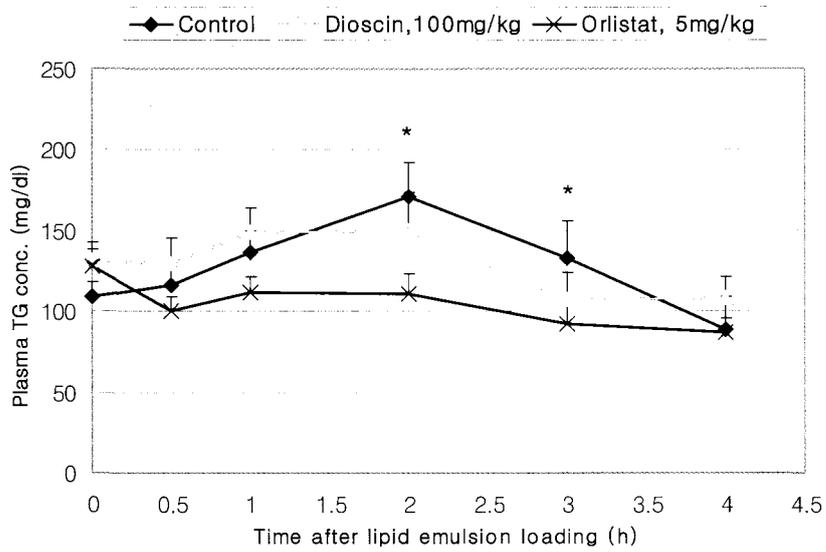


Fig. 11. Effect of Dioscin on Elevation of the Plasma Triacylglycerol (TG) Level after Oral Administration of a Lipid Emulsion. The plasma TG concentration at the times marked with an asterisk are significantly different between the control and dioscin (100 mg/kg) groups ($P < 0.05$).

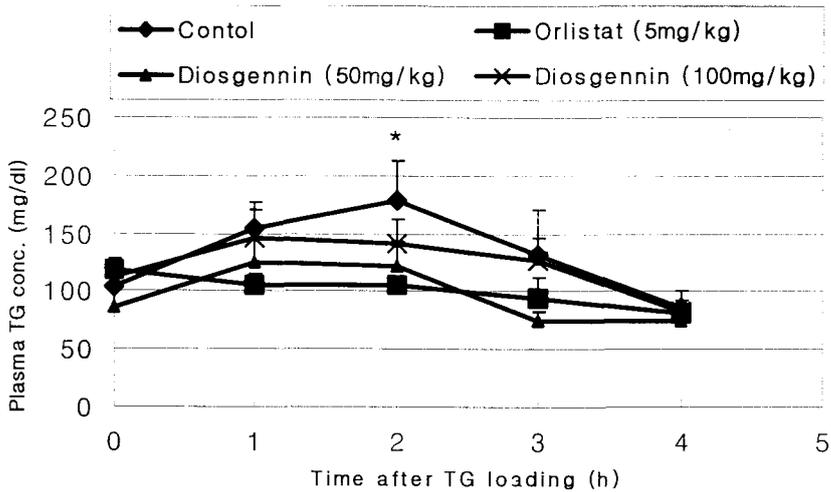


Fig. 12. Effect of Diosgenin on Elevation of the Plasma Triacylglycerol (TG) level after Oral Administration of a Lipid Emulsion. The plasma TG concentrations at the times marked with an asterisk are significantly different between the control and diosgenin (100 mg/kg) groups ($P < 0.05$).

다. 부채마 분말의 흰쥐 모델계 비만 억제 효과

지방소화효소활성 물질을 함유한 부채마의 비만 억제 효과를 평가하기 위하여 고지방 식이 (AIN-76 식이)에 부채마 분말을 2% 및 5%를 첨가하여 8주간 사육하면서 (Fig. 13) 식이섭취량, 증체정도를 평가한 결과, 비만억제 효과가 통계적으로 유의성 있게 나타났다. 즉, 8주간 사육기간중 식이섭취량은 고지방대조군 (40% beef tallow 첨가), 2% 부채마 군 (40% beef tallow + 2% 또는 5% 부채마 분말)간에 차이가 없었으나, 체중증가율은 5% 부채마 첨가군에서 통계적으로 유의적으로 낮은 것으로 나타났다.

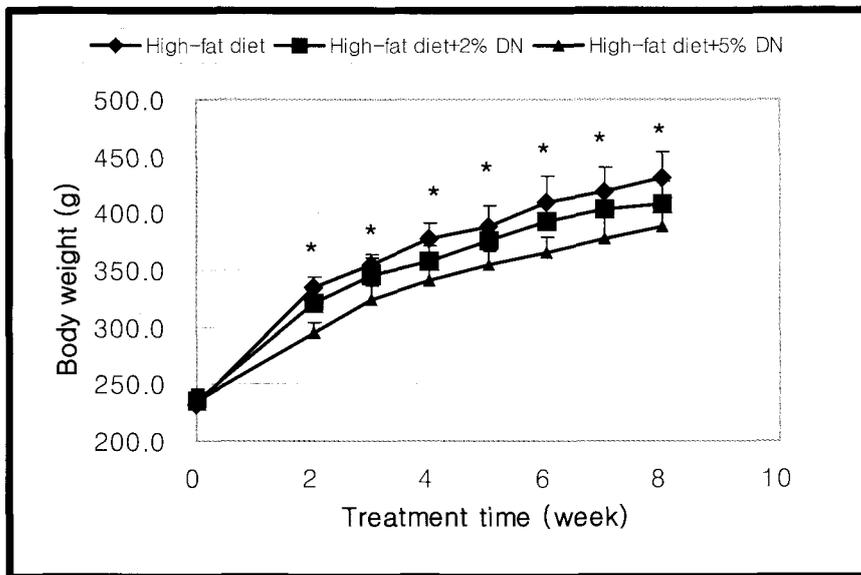


Fig. 13. Effect of *Dioscorea nipponica* Powder (DN) on the Body Weight Gain of Rats Fed on the High-fat Diet for Eight Weeks. The body weight between the control and 5% DN powder groups was significantly different at all times from the 2nd to 8th week ($P < 0.05$).

부채마 분말을 8주간 섭취시킨 후, 쥐를 희생하여 체내 지방을 적출하여 중량을 측정함으로써, 체내 지방 축적정도를 평가한 결과에서도 부채마 섭취군은 대조군에 비하여 지방 축적도가 유의적으로 낮은 것으로 나타났다 (Table 11). 특히 5% 부채마 함유 식이 섭취군에서 총 체지방함량이 마리당 27.6g으로 대조군 38.6g비하여 72% 수준인 것으로 나타나, 부채마 분말의 지방 축적 저해 효과가 큰 것으로 판단된다.

Table 11. Effect of *Dioscorea nipponica* Powder (DN) on the Body Weight Gain and Body Fat in Rats Fed on the High-fat Diet for 8 Weeks

Group	Body weight gain (g)	Subcutaneous fat (g)	Epididymal fat (g)	Inguinal fat (g)	Perirenal fat (g)	Total body fat (g)
Control	192.7±31.6 ^{a*}	12.9 ± 2.7 ^a	8.3± 2.0 ^a	6.5±2.0 ^{ns}	6.8±1.6 ^a	38.6 ±9.4 ^a
2% DN	161.8±18.4 ^b	11.4±1.4 ^{ab}	6.8± 1.2 ^{ab}	5.0±1.2 ^{ns}	5.6±1.0 ^{ab}	32.4 ±4.7 ^{ab}
5% DN	140.0±20.8 ^b	9.8 ±2.0 ^b	5.6± 0.8 ^b	4.8±1.1 ^{ns}	4.6±1.3 ^b	27.6± 5.5 ^b

*Values not sharing a common superscript within the same column are significantly different from each other ($P<0.05$). ns represents statistically 'not significant'.

부채마에 의한 체중 및 체지방 감소가 lipase저해활성 저해에 기인한 2차적인 효과라는 것을 증명하기 위하여, 분변중 지질함량을 분석한 결과 Table 12와 같이 부채마 섭취군이 대조군에 비하여 분변중 지질 배설량이 높았다. 이는 부채마의 pancreatic lipase의 저해활성으로 지방소화가 억제되어 나타난 결과로 해석할 수 있다. 또한 혈중 중성지방, 총콜레스테롤, VLDL-콜레스테롤 농도가 부채마 투여군에서 현저히 낮아졌으며, 이는 부채마의 지질성분 흡수 저해효과를 입증한다고 볼 수 있다 (Table 13). 이렇듯

부채마는 소화관에서 지방분해를 억제함으로써 비만을 억제하고, 혈중지질 지표를 개선하여 각종 만성질환(심장병, 동맥경화, 고혈압, 뇌졸중 등)을 예방할 가능성이 높은 소재로 여겨진다.

부채마는 다년생 풀로서 덩이뿌리는 굵으며 옆으로 길게 뻗는다. 줄기는 둥근 기둥 모양이고 길게 덩굴져 자라며 가지를 친다(Fig. 14). 잎은 어긋나며 긴 잎꼭지가 있다. 잎몸은 달걀 모양이거나 넓은 달걀 모양(길이 7~15 cm, 너비 4~12cm)인데 보통 손바닥 모양으로 얇게 갈라져 있으며 가운데 갈라진 조각이 좀 크다. 밑 부분은 심장 모양이고 윗부분은 길게 뾰족하며 변두리는 성긴 큰 톱니 모양이다. 잎 뒷면 잎줄은 도드라지고 잔털이 있다. 꽃은 7~8월에 잎아귀에서 나온 긴 꽃줄기 끝에서 피는데 암수딴포기식물이다. 수꽃차례는 이삭 모양이고 곧추 선다. 수꽃은 꽃울 조각이 6개인데 타원형이고 끝이 둔하다. 수꽃술은 6개이며 갈라졌다. 암꽃차례는 아래로 드리운다. 꽃은 푸르스름한 누런색이며 종 모양인데 완전히 펼쳐지지 않는다.

열매는 튀는 열매인데 거꿀 달걀 모양의 타원형이며 3개의 날개가 있다. 씨앗에는 한쪽에만 날개가 있다. 우리나라 북부, 중부, 남부와 산지, 들판에서 자라며, 세계적으로는 중국, 일본에 분포되어 있다.

뿌리줄기에 dioscin을 주성분으로 하는 사포닌이 고농도로 함유되어 있는데, dioscin은 물분해되면 diosgenin이 생성된다. Dioscin외에 gracillin, 트릴린, 유리사포게닌인 diosgenin, 토코로게닌, 토코로닌, 요노게닌, 요노닌, 코가게닌, 토코로게닌산 등이 있다. 이 밖에 뿌리줄기에는 다량의 녹말이 있다. 특히 뿌리 부분은 한약재로 사용되는데, 자양, 강장, 이뇨완화제로, 뇌혈관경화증의 예방과 치료에 효능이 있는 것으로 보고 되어 있다. 그 밖에도 일반적인 동맥경화증, 혈압이 높은 동맥경화증, 심장경화증에 처방한다. 최근 스테로이드호르몬의 원료로도 쓰며 부신피질호르몬인 cortisone의 합성 원료로 중요하게 쓰인다(<http://krpia.co.kr/>).

Table 12. Effect of *Dioscorea nipponica* (DN) Intake on the Fecal Fat Excretion

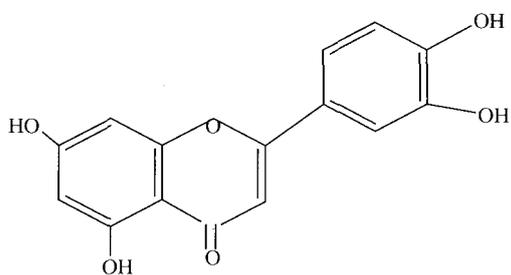
Group	Control	2% DN	5% DN
Fecal fat excretion (mg/day)*	71 ± 5 ^a	166 ± 43 ^b	189 ± 58 ^b

*Values not sharing a common superscript letter are significantly different from each other ($P < 0.05$).

Table 13. Effect of *Dioscorea nipponica* powder (DN) Intake on the Blood Parameters in Rats

Plasma parameter	Control	2% DN	5% DN
Total triacylglycerol (mg/dl)	59 ± 14 ^{a*}	35 ± 9 ^b	41 ± 11 ^b
Total cholesterol (mg/dl)	110 ± 13 ^a	93 ± 6 ^b	82 ± 9 ^b
HDL-cholesterol (mg/dl)	16 ± 2 ^a	21 ± 3 ^b	22 ± 2 ^b
VLDL-cholesterol (mg/dl)	12 ± 3 ^a	7 ± 2 ^b	8 ± 2 ^b
Atherogenic index	6.1 ± 1.6 ^a	3.6 ± 0.9 ^b	2.8 ± 0.6 ^b
GOT (Karmen/ml)	62.8 ± 15.9	64.3 ± 6.1	63.1 ± 6.4
GPT (Karmen/ml)	17.8 ± 8.2	20.4 ± 7.0	18.1 ± 9.9

*Values not sharing a common superscript letter within the same row are significantly different from each other ($P < 0.05$).



LUTEOLIN

Fig. 14. *Lonicera japonica* (left) and *Dioscorea nipponica* M.(right). Ethylacetate fraction of *L. japonica* extract showed strong inhibitory activity against alpha-amylase, and *D. nipponica* had anti-obesity effect in rodent model. Luteolin is one of major components responsible for alpha-amylase inhibitory activity in *L. japonica*.

2. 지모의 비만 억제 및 혈중 지질지표 개선 활성

지모 뿌리(*Anemarrhenae Rhizoma*)는 혈당강하효과가 있고, 스트레스성 위궤양을 치료하는데 사용되는 한약재인데 (한대석, 1994), 본 연구에서 지질분해효소를 억제하는 활성이 높은 것으로 나타나, 쥐를 이용하여 비만억제효능을 평가하였다. 부채마 실험의 경우와 같이 고지방식이에 지모 분말을 1, 3% 첨가하여, 약 10주간 급여한 결과, Fig. 15와 16에 나타낸 바와 같이 식이섭취량과 체중변화에서 큰 차이는 관찰되지 않았으나,

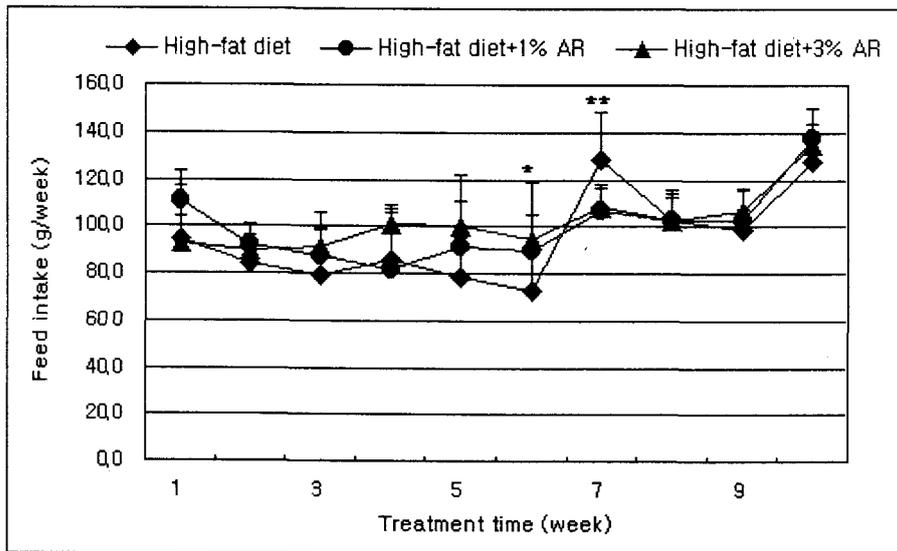


Fig. 15. Dietary intake of the control and treatment groups. Asterisk represents significant difference between control and treatment (3%) groups ($P < 0.05$).

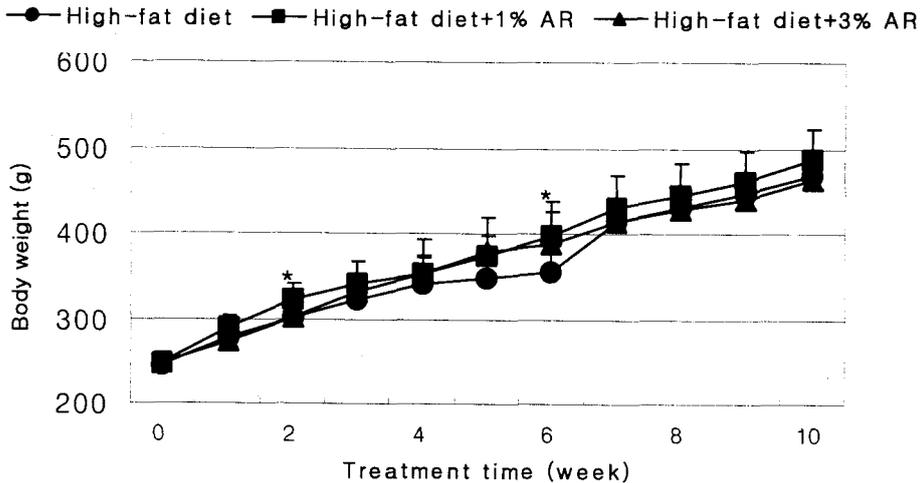


Fig. 16. Effect of *Anemarrhenae Rhizoma* powder on the body weight gain of rats fed high-fat diet. Asterisk represents significant difference between control and 3% sample groups ($P < 0.05$).

전체적으로 지모 첨가군이 체중이 낮은 상태를 유지하고 있으며, 특히 2주와 6주째에는 대조군에 비하여 유의적으로 체중이 낮은 것으로 나타나, 비만 억제효과가 부분적으로 있는 것으로 판단된다. 더구나 지모 첨가식을 공급받은 쥐의 경우, 부고환부위의 지방무게가 대조군에 비하여 유의적으로 감소하는 것으로 나타났다 (Table 14). 한편 지모는 혈액 지질 지표를 개선시키는 효과가 높은 것으로 나타났다. Table 15에 나타낸 바와 같이 1% 지모식이군의 경우 대조군에 비하여 HDL-콜레스테롤 함량이 유의적으로 증가하였으며, 3% 지모군은 혈중 중성지방 농도와 총콜레스테롤 함량이 유의적으로 낮았고, HDL-콜레스테롤은 높은 것으로 나타났다.

지모는 다년생 초본으로 뿌리줄기는 짧으며 덩이 모양이다. 잎은 뿌리목

에서 여러 개 모여 난다. 잎 몸은 줄 모양(길이 20~70cm)이며 밑 부분은 통 모양으로 줄기를 둘러싸나 완전한 줄기집을 이루지 않으며 윗부분은 길게 뾰족하다. 잎 앞면은 연한 초록색이고 뒷면은 초록색이며 윤기 나고 질은 좀 굳다. 꽃은 7~8월에 잎 사이에서 나온 꽃줄기(높이 60~90cm) 끝에서 이삭 모양 꽃차례를 이루고 피는데 연한 보라색이다. 꽃싼 잎은 꼬리 모양으로 뾰족한 달걀 모양인데 꽃 싹잎 아귀에 2~3개가 모여 피어 좁은 통 모양을 이룬다. 꽃 율은 6갈래로 길게 갈라져 있다. 수꽃술은 3개인데 꽃울 가운데에 붙어 있다. 열매는 튀는 열매(길이 12mm 안팎)이며 긴 타원형이다. 씨앗에는 3개의 날개가 있다. 우리나라 북부, 중부 석회암지대의 산기슭, 낮은 산에서 자란다. 우리나라 외에도 중국에 분포되어 있다. 뿌리줄기에 스테로이드사포닌인 아스포닌(6%), 사르사사포게닌, 마르코게닌과 그 밖에 만기페린(지모닌), 아이소만기페린 등이 있다 (<http://krpia.co.kr/>)

Table 14. Effect of Anemarrhenae Rhizoma powder on body fat in rats fed on the high-fat diet for 8 weeks

	High-fat diet	High-fat diet + 1% AR	High-fat diet + 3% AR
Body weight gain (g)	467.9±29.2ns	486.3±36.0	463.9±26.6
Abdominal fat (g)	4.1±1.1ns	4.9±1.3	3.9±1.4
Subcutaneous fat (g)	11.7±1.5ns	12.1±1.7	11.0±1.7
Epididymal fat (g)	8.5±1.5 ^a	9.6±1.6 ^a	6.9±1.2 ^b
Inguinal fat (g)	5.1±1.6ns	4.6±1.8	4.3±2.4
Perirenal fat (g)	7.1±2.0ns	7.4±1.5	6.6±2.1
Brown fat (g)	0.6±0.1 ^a	0.6±0.1 ^a	0.5±0.1 ^b
Total body fat (g)	34.2±5.3ns	39.1±5.0	32.9±7.3

Values not sharing a common superscript letter within the same column are significantly different from each other. ($P < 0.05$, ** $P < 0.01$).

Table 15. Effect of *Anemarrhenae Rhizoma* powder on the blood parameters in rats

Plasma parameter	High-fat diet	High-fat diet + 1% AR	High-fat diet + 3% AR
Total triacylglycerol (mg/dl)	71.8±17.4 ^b	74.6±8.9 ^b	58.1±4.6 ^{a*}
Total cholesterol (mg/dl)	78.9±8.4 ^b	79.5±8.2 ^b	72.1±4.8 ^{a*}
HDL-cholesterol (mg/dl)	25.3±4.9 ^a	29.4±2.2 ^{b*}	34.5±4.8 ^{c**}

Values not sharing a common superscript letter within the same row are significantly different from each other. ($P < 0.05$, ** $P < 0.01$).

3. 울무의 비만억제 활성 평가

울무는 몇몇 연구에서 비만억제 활성이나 고지혈증을 예방할 수 있는 것으로 보고 된 바 있다 (김혜경 2000; 신태규 1990). 본 연구에서도 *in vitro* 실험에서 lipase 저해활성이 높게 나타났다. 따라서 체중조절효과가 있는지 *in vivo*에서 시험하기 위하여 고지방 식이에 울무를 5%, 10%를 첨가하여 4주간 급여 한 결과, Fig. 17에서 보듯이 울무함유식이군이 체중증가율이 높게 나타났다. 이와 같이 울무는 비만을 예방하거나 치료하는데 효과가 없는 것으로 평가된다. 더구나 울무를 함유한 식이는 쥐의 특정부위(부고환)의 지방 무게를 증가시켰으며(Table 16), 혈중 중성지방농도를 유의적으로 높이는 것으로 나타났다 (Table 17). 이렇듯 체지방 축적량이나 혈중 지질 profile 측면에서도 울무 첨가식은 비만억제나 고지혈증을 예방하는데 역기능을 나타낼 것으로 사료된다.

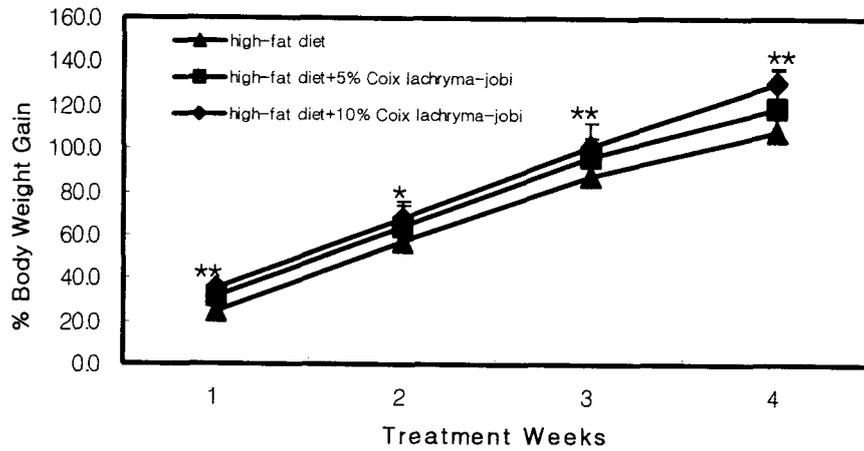


Fig. 17. Effect of *Coix lachryma-jobi* powder in diet on body weight gain (%) in rats fed the high-fat diet. Values are Mean±S.D. (n=10). * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

Table 16. Effect of *Coix lachryma-jobi* powder on body fat in rats fed high-fat diet for 6 weeks

Group	Subcutaneous fat (g)	Abdominal fat (g)	Epididymis fat (g)	Perirenal fat (g)	Inguinal fat (g)	Brown fat (g)
Control	6.3±2.4	2.2±1.8	4.3±1.2 ^{b*}	2.7±1.2	2.2±1.1	0.4±0.2
5% <i>Coix-lachryma-jobi</i>	5.8±2.3	2.8±1.3	4.8±1.6 ^{ab}	3.6±1.7	2.7±1.4	0.5±0.2
10% <i>Coix-lachryma-jobi</i>	7.9±1.1	3.1±0.7	6.2±1.0 ^a	3.8±1.2	3.2±1.5	0.5±0.1

*Values not sharing common superscript within same column are significantly different from each other ($P<0.05$).

Table 17. Effect of *Coix lachryma-jobi* powder intake on blood parameters in rats

Plasma Parameter	Control	5% <i>Coix-lachryma-jobi</i>	10% <i>Coix-lachryma-jobi</i>
Total Triglyceride (mg/dl)	68.1±24.4 ^{b*}	88.3±23.5 ^a	89.8±13.5 ^a
Total Cholesterol (mg/dl)	36.7±8.1	34.7±3.8	34.9±4.9

*Values not sharing common superscript within same row are significantly different from each other ($P<0.01$).

울무는 우리나라 여러 곳에서 재배되고, 원산지는 중국이다. 씨에는 단백질 함량이 비교적 높은 편이며 (8~20%), 지방질(2~8%), 당질(50~78%), 회분 (0.5~2.3%) 등이 있다. 단백질을 이루고 있는 주 아미노산은 leucine (21%), glutamate (15%), tyrosine (2%), tryptophan (2%), arginine (1.7%),

phenylalanine (1.2%) 등이며 기름을 이루고 있는 지방산에는 coixic acid (cis-8-octadecenoic acid)가 있다. 씨에는 coixeloide라는 지방족불포화탄화수소의 에스테르가 있다. 뿌리의 정유 성분으로서 coixol도 있다.

율무는 오래전부터 보양약으로 사용되어 왔으며, 소염제, 이뇨제, 배농약, 진통제로 부종, 굵는 질병, 신경통, 관절통에 쓰며, 사마귀 제거에 효과적인 것으로 알려져 있다 (<http://krpia.co.kr/>)

4. 마름(*Trapa japonica* Flerov.)의 in vivo 비만억제 활성

마름은 한국 전역에 분포하고 있는 수생식물로 물에 떠서 자라는 한해살이 풀이다. 지방산화효소 억제활성 물질을 함유한 마름 (*Trapa japonica* Flerov.)의 비만 억제 효과를 평가하기 위하여 4주령의 C57BL/6 mice (n = 14)를 난괴법으로 두 군으로 나누어, 대조군에게는 AIN-93G diet를 베이스로 한 고지방식이(콩기름 7% 및 우지 23%를 지방급원으로 공급)를 실험군에게는 마름 분말을 10% 첨가한 고지방食이를 6주간 공급하여, 체중, 식이섭취량, 서혜부 지방량, 혈장 지질농도를 측정하였다. 마름 분말의 섭취는 식이섭취량에 영향을 주지 않았으나, 체중 및 epididymal fat 무게를 유의적으로 감소시켜, 고지방 식이로 비만을 유도한 동물에 있어서 비만억제 효과를 나타내었다 (Table 18). 마름 분말의 섭취는 혈중 중성지방 농도를 유의적으로 감소시켰으며, 총콜레스테롤 농도를 감소시키는 경향을 나타내었다 (Fig. 18). 따라서 마름은 소화관에서 지방분해를 억제함으로써 비만을 억제하고, 혈중지질지표를 개선하여 각종 심혈관계 만성질환을 예방할 가능성이 높은 소재로 사료된다.

Table 18. Effect of *Trapa japonica* Flerov. powder on food intake, body weight, and body fat in mice fed high-fat diet for 6 weeks

Group	Food intake (g/d)	Final body weight (g)	Epididymis fat (g)
Control	4.6±0.5	41.6±1.2	1.8±0.3
10% <i>Trapa japonica</i> Flerov.	5.2±0.6	39.4±1.9*	1.4±0.2.*

*Significantly different at $P < 0.05$

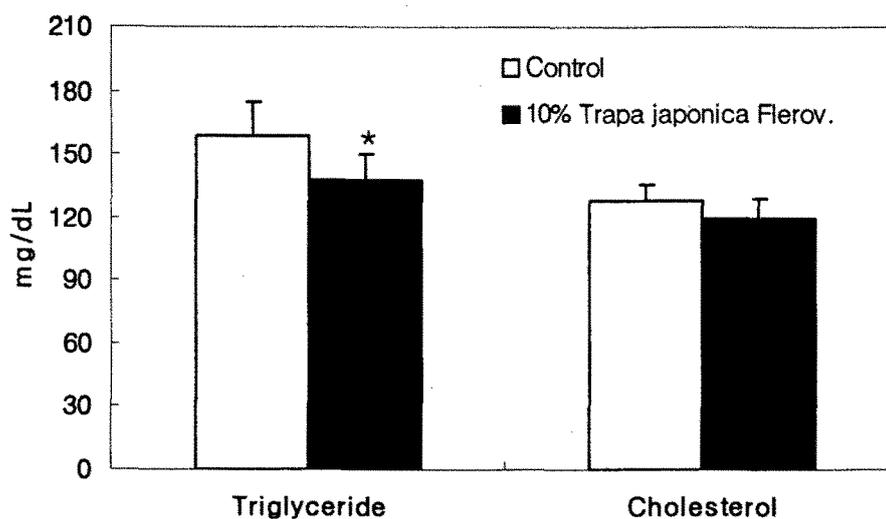


Fig. 18. Effect of *Trapa japonica* Flerov. powder on plasma lipid profile in C57BL/6 mice fed high fat diet.

제4절 소화효소 저해활성 물질의 분리 및 동정

1. 탄수화물소화효소 저해활성물질의 분리 및 동정

가. 금은화 추출물의 분획

금은화(*Lonicera japonica*)로부터 α -amylase를 저해하는 물질을 탐색한 결과, 에칠아세테이트 층에 존재하는 것을 확인하였으며, bioassay-guided fractionation 방법으로 활성성분을 분리하고 구조결정을 하였다. 우선 금은화 2.4 kg을 methanol (MeOH)로 상온에서 1주일간 3회 연속 추출하여 여과한 후 여액을 감압 농축하여 MeOH 추출물 573 g을 얻었다. MeOH 추출물에 증류수 5 L를 가하여 현탁시킨 후 분액 여두를 이용하여 5 L의 hexane으로 분획하여 hexane 분획물 22 g을 얻었으며, 다시 물층을 5 L의 ethylacetate (EtOAc)로 분획하여 EtOAc 분획물 34 g을 얻었다.

나. 금은화 EtOAc 분획으로부터 α -amylase 저해성분 luteolin의 분리

금은화 EtOAc 분획 30 g을 실리카겔 컬럼에 걸어 CHCl_3 -MeOH 용매 system으로 gradient 방법을 이용하여 유출시켜 9개의 소분획으로 나누었다. 이중 활성이 강하게 나타난 3번 소분획을 다시 실리카겔 컬럼에 걸어 CHCl_3 -MeOH (98 : 2)으로 유출시켜 luteolin이 다량 함유된 분획을 얻고, 이를 sephadex LH-20 column에 걸어 MeOH로 유출시켜 순수한 luteolin 120 mg을 얻었다.

다. Luteolin의 물리화학적 성질 및 분광학적 data

MeOH로 재결정하여 황색 무정형 분말을 얻었으며, FeCl_3 및 Mg/HCl test에 양성을 나타내었다.

- ◆ mp : 300°C 이상

◆ EI-MS (70 eV) m/z (rel. int.) : 286 [M]⁺ (61.5), 258 [M-CO]⁺ (19.6), 257 [M-HCO]⁺ (6.3), 153 [A₁+H]⁺ (37.3), 137 [B₂]⁺ (11.9), 134 [B₁]⁺ (21.7)

◆ ¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 6.19 (1H, d, J=1.5 Hz, H-6), 6.44 (1H, d, J=1.5 Hz, H-8), 6.65 (1H, s, H-3), 6.89 (1H, d, J=8.1 Hz, H-5'), 7.39 (1H, d, J=1.9 Hz, H-2'), 7.40 (1H, dd, J=8.1, 1.9 Hz, H-6'), 12.96 (1H, brs, 5-OH)

◆ ¹³C-NMR (DMSO-d₆) δ : 163.8 (C-2), 102.8 (C-3), 181.5 (C-4), 161.4 (C-5), 98.8 (C-6), 164.1 (C-7), 93.8 (C-8), 157.2 (C-9), 103.8 (C-10), 121.4 (C-1'), 113.3 (C-2'), 145.6 (C-3'), 149.6 (C-4'), 115.9 (C-5'), 118.8 (C-6')

라. Luteolin의 구조결정

본 화합물은 FeCl₃ 및 Mg/HCl test에 양성을 나타내었으므로 flavonoid 계열의 화합물로 추정되었다. 이 화합물의 EI-mass spectrum에서 molecular ion peak가 286에서 나타나고 m/z 153 [A₁ + H]⁺, 137 [B₁]⁺의 fragment ion peak의 존재로써 이 화합물의 A ring에는 di-OH기가 존재하고 B-ring에도 di-OH기가 존재함이 추정되었다. ¹H-NMR 또한 A-ring의 6-H와 8-H 및 3-H에 기인하는 peak pattern은 apigenin과 유사하나 δ 6.89 (1H, d, J=8.1 Hz, H-5'), 7.39 (1H, d, J=1.9 Hz, H-2'), 7.40 (1H, dd, J=8.1, 1.9 Hz, H-6')에서 나타나는 3개의 proton에 의한 signal은 전형적인 ABX type임을 보여주고 있다. 따라서 이 화합물을 5, 7, 3', 4' - tetrahydroxyflavone인 luteolin으로 동정하였으며 ¹³C-NMR data 역시 문헌치와 잘 일치하였다 (Fig. 14).

2. 지방소화효소 저해활성물질의 분리 및 동정

가. Dioscin의 분리 및 정제

부채마(*Dioscorea nipponica*)의 근경 3 kg을 세절한 후, 환류냉각장치를 사용하여, 25°C에서 메탄올 5 L로 72시간동안 3회 연속 추출하였다. 얻어진 메탄올 추출액을 여과지를 사용한 깔대기로 여과한 후 76 mmHg에서 감압, 농축하여 부채마 메탄올 추출물 115.1g을 얻었다. 부채마 메탄올 추출물 25g을 실리카겔 컬럼(90×6cm, Merck 7734 silica gel 900g)에, CHCl₃:CH₃OH:H₂O=7:3:1 (분액 깔대기에 상기 비율로 혼합하여 하층부를 사용함)의 용매를 사용하여 전개시켰다. 전개를 시작한 후, 60분후부터 2 L씩 8개의 분획을 수득하였다. 이중 5번 분획을 물포화 CH₃COOCH₂CH₃:CH₃OH=98:2의 용매로부터 물포화 CH₃COOCH₂CH₃:CH₃OH =95:5의 용매까지 단계적으로 극성을 높여가며, 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 실시하였다 (이때, 물포화 CH₃COOCH₂CH₃라 함은 CH₃COOCH₂CH₃와 증류수를 분액 깔대기에서 1 : 1로 혼합하여 6 시간 방치한 후의 상층부를 의미한다). 전개를 시작한 후, 30분 후부터 500 mL씩 60개의 분획으로 수득하였다. 수득된 분획 중 35번에서 50번까지의 분획으로부터 디오신을 얻었으며, TLC 및 NMR 분석법을 사용하여, 이 물질이 디오신임을 확인하였다. 디오신은 메탄올로 재결정하여 무색침상 결정을 얻었다. 디오신의 측정치는 다음과 같다.

녹는점 : 290~292°C

$[\alpha]_D^{25}$: -112.3° (c, 0.3 in MeOH)

IR(KBr, cm⁻¹) 3420, 1640, 1100~1000, 920, 900, 866, 838(900>920, 25(R)-스피로케탈), 811

¹H NMR(300 MHz, 피리딘-d₅) 6.69(3H, d, J=5.2Hz, 27-CH₃), 0.81(3H, s, 18-CH₃), 1.01(3H, s, 19-CH₃), 1.09(3H, d, J=6.9Hz, 21-CH₃),

1.52(3H, d, J=6.2Hz, rha-CH₃), 1.66(3H, d, J=6.1Hz, rha-CH₃), 4.82(1H, d, J=7.4Hz, anomeric H), 5.30(1H, brd, J=4.6Hz, H-6), 5.62(1H, brs, anomeric H), 6.17(1H, s, anomeric H).

¹³C NMR(75.5 MHz, 피리딘-d₅) δ37.4, 29.9, 78.0, 38.8, 140.7, 121.5, 32.0, 31.6, 50.6, 37.0, 20.9, 39.8, 40.3, 56.5, 32.2, 80.9, 62.8, 16.2, 19.3, 41.8, 14.8, 109.0, 31.7, 29.1, 30.4, 66.7, 17.1, 100.1, 79.5, 76.5, 77.7, 77.6, 61.8, 101.7, 72.1, 72.2, 73.9, 70.0, 18.2, 102.7, 72.4, 72.5, 73.6, 69.2, 18.3.

나. Diosgenin의 분리 및 정제

상기 실시예 1)의 8개의 분획 중 1번 분획을 CH₃COOCH₂CH₃의 용매로 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 실시하였다. 전개를 시작한 후, 20분 후부터 500 mL 15개의 소분획을 수득하여 그 중 5번에서 14번까지의 소분획으로부터 디오스제닌을 얻었으며, TLC 및 MS 분석법을 사용하여, 이 물질이 디오스제닌임을 확인하였으며, 분자구조는 Fig. 19에 나타낸 바와 같다. 디오스제닌은 메탄올로 재결정하여 무색침상 결정을 얻었다. 디오스제닌의 측정치는 다음과 같다.

녹는점 : 205~207°C

$[\alpha]_D^{25}$: -41.7° (c, 0.2 in pyridine)

IR(KBr, cm⁻¹) 3444, 981, 920, 900, 865 (900>920, 25(R)-스피로케탈)

MS(30eV), *m/z*(rel. int.) 414(3.7), 396(1.9), 355(1.3), 342(2.9), 300(10.2), 285(11.0), 282(47.7), 271(25.2), 267(22.5), 253(12.0), 227(18.7), 214(32.2), 139(100.0), 115(20.2)

¹H NMR(300 MHz, CDCl₃) δ0.79(3H, s, 18-CH₃), 0.79(3H, d, J=6.2Hz, 27-CH₃), 0.97(3H, d, J=6.9Hz, 21-CH₃), 1.02(3H, s, 19-CH₃), 4.40(1H, m, H-16), 5.34(1H, brd, J=5.2Hz, H-6)

다. Gracillin의 분리 및 정제

상기 실시예 1)의 60개의 소분획 중 52번부터 59번 소분획으로부터 gracillin을 얻었으며, TLC 및 NMR 분석법을 사용하여, 이 물질이 그라실린임을 확인하였다. 그라실린은 메탄올로 재결정하여 무색침상 결정을 얻었다. gracillin의 측정치는 다음과 같다.

녹는점 : 296~298°C

$[\alpha]_D^{25}$: -95° (c, 0.4 in pyridine)

IR(KBr, cm^{-1}) 3420, 1640, 1100~1000, 920, 900, 866, 836(900>920, 25(R)-스피로케탈), 812

^1H NMR(300 MHz, 피리딘- d_5) δ 0.71(3H, d, $J=5.7\text{Hz}$, 27- CH_3), 0.82(3H, s, 18- CH_3), 1.04(3H, s, 19- CH_3), 1.11(3H, d, $J=6.9\text{Hz}$, 21- CH_3), 1.66(3H, d, $J=6.1\text{Hz}$, rha- CH_3), 4.84(1H, d, $J=7.3\text{Hz}$, anomeric H), 4.97(1H, d, $J=7.7\text{Hz}$, anomeric H), 5.32(1H, brd, $J=4.8\text{Hz}$, H-6), 6.18(1H, s, anomeric H)

^{13}C NMR(75.5 MHz, 피리딘- d_5) δ 37.5, 30.0, 78.4, 38.7, 140.8, 121.7, 32.2, 31.8, 50.3, 37.1, 21.1, 39.9, 40.4, 56.7, 32.3, 81.0, 62.9, 16.2, 19.3, 41.9, 14.9, 109.2, 31.7, 29.2, 30.5, 66.8, 17.2, 100.0, 77.8, 89.3, 69.4, 77.6, 62.4, 102.0, 72.2, 72.6, 74.0, 69.5, 18.6, 104.3, 74.8, 77.0, 71.4, 78.3, 62.4

라. Prosapogenin A의 분리 및 정제

상기 실시예 1)의 8개의 분획 중 4번 분획을 $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}:\text{H}_2\text{O}=7:3:1$ 의 용매(분액갈대기에 10시간 방치한 후의 하층부를 사용함.)로 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 실시하여, 전개 후 15분부터 500ml씩 유출시킨 15개의 소분획 중 6번에서 12번 소분획으로부터 Prosapogenin A를 얻었다.

Prosapogenin A는 메탄올로 재결정하여 무색침상 결정을 얻었다.
Prosapogenin A의 측정치는 다음과 같다.

녹는점 : 238~240°C

$[\alpha]_D^{25}$: -12.5° (c, 0.4 in MeOH)

IR(KBr, cm^{-1}) 3410, 1650, 1100~1000, 920, 900, 865, 837(900>920,
25(R)-스피로케탈), 811

^1H NMR(300 MHz, 피리딘- d_5) δ 0.68(3H, d, $J=5.7\text{Hz}$, 27- CH_3),
0.80(3H, s, 18- CH_3), 1.01(3H, s, 19- CH_3), 1.09(3H, d, $J=6.9\text{Hz}$, 21- CH_3),
1.67(3H, d, $J=6.3\text{Hz}$, rha- CH_3), 4.92(1H, d, $J=7.2\text{Hz}$, anomeric H), 5.28(1H,
brd, $J=4.8\text{Hz}$, H-6), 6.20(1H, s, anomeric H)

^{13}C NMR(75.5 MHz, 피리딘- d_5) δ 37.4, 30.0, 77.9, 38.8, 140.8, 121.5,
32.0, 31.6, 50.2, 37.0, 20.9, 39.8, 40.3, 56.5, 32.2, 80.9, 62.8, 16.1, 19.2, 41.8,
14.8, 109.0, 31.7, 29.1, 30.4, 66.7, 17.1, 100.2, 79.4, 77.8, 71.7, 77.9, 62.6,
101.9, 72.5, 72.7, 74.0, 69.3, 18.5

마. Prosapogenin C의 분리 및 정제

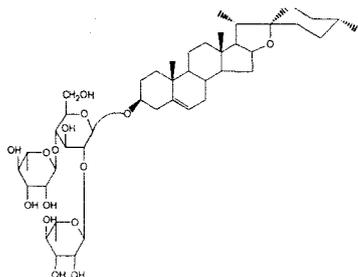
상기 실시예 1)의 8개의 분획 중 2번 분획을 $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}:\text{H}_2\text{O}=8:2:0.5$ 의
용매(분액 깔대기에 10시간 방치한 후의 하층부를 사용함)로 실리카겔 컬럼
크로마토그래피를 실시하여, 전개 후 30분부터 500ml씩 유출시킨 24개의 소
분획 중 7번에서 16번까지의 소분획으로부터 Prosapogenin C를 얻었다.
Prosapogenin C는 메탄올로 재결정하여 무색침상 결정을 얻었다.
Prosapogenin C의 측정치는 다음과 같다.

녹는점 : 247~249°C

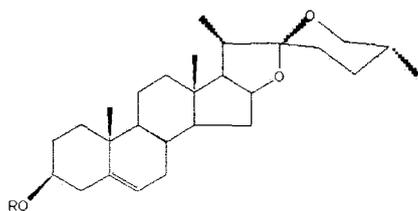
IR(KBr, cm^{-1}) 3450, 1650, 1070, 1045, 1025, 920, 900, 865,
835(900>920, 25(R)-스피로케탈), 810

^1H NMR(300 MHz, 피리딘- d_5) δ 0.70(3H, d, $J=5.2\text{Hz}$, 27- CH_3)
0.83(3H, s, 18- CH_3), 0.92(3H, s, 19- CH_3), 1.13(3H, d, $J=6.9\text{Hz}$, 21- CH_3)
5.01(1H, d, $J=7.7\text{Hz}$, anomeric H), 5.31(1H, brd, $J=4.4\text{Hz}$, H-6)

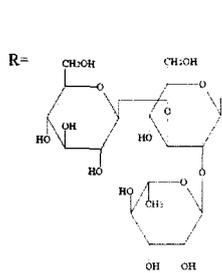
^{13}C NMR(75.5 MHz, 피리딘- d_5) δ 37.3, 30.0, 78.3, 39.1, 140.7, 121.5
32.0, 31.5, 50.1, 36.9, 20.9, 39.7, 40.3, 56.5, 32.1, 80.9, 62.7, 16.2, 19.2, 41.8
14.8, 109.1, 31.6, 29.1, 30.4, 66.7, 17.1, 102.4, 75.1, 78.0, 71.5, 78.2, 62.7



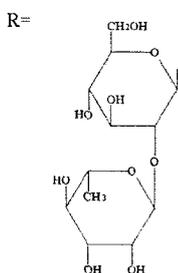
Dioscin



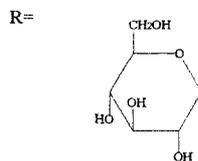
Diosgenin (R=H)



gracillin



prosapogenin A of dioscin



prosapogenin C of dioscin

Fig 19. Chemical structures of saponins in *Dioscorea nipponica*.

제5절 인체효능 평가

1. 인체실험 지원자의 신체 계측 결과 및 혈액학적 지표 변화

가. 신체계측 결과

부채마분말의 비만억제 효능평가 실험에 종료 시점까지 참여한 인원은 대조군이 9명, 부채마 섭취군이 12명이었다. 본 실험에 참여한 지원자들의 나이, 신장, 체중, 체질량지수 및 비만도 지수는 Table 19와 같다. 대조군의 평균 신장과 체중은 각각 158 ± 5 cm, 67.6 ± 11.1 kg, 부채마 섭취군은 159 ± 8 cm, 72.3 ± 18.8 이었으며, 체질량지수(BMI)는 대조군이 26.98 ± 3.51 , 부채마 섭취군이 28.3 ± 5.2 이었다.

나. 부채마 섭취에 의한 혈액학적 지표의 변화

부채마의 비만억제활성 평가에 참여한 총 21명 (대조군 9명, 처리군 12명)의 혈액학적 지표, 즉, 공복시 혈당, blood urea nitrogen (BUN), creatinine, alanine amino transferase (AST, GPT), aspartate aminotransferase (ALT, GOT), 혈중 cholesterol (Chol), 중성지방 (triglyceride, TG), HDL-cholesterol, 유리지방산 (FFA) 등의 농도를 측정 한 결과는 Table 20와 같다. 처리군이 혈당이 약간 높은 경향을 보였으나 통계적으로 유의성은 없었으며, 중성지방과 콜레스테롤 함량도 실험군간 유의적인 차이가 없었다. 한편 BUN과 creatinine 함량에서도 개인간 약간의 차이는 있었으나 전체적으로 처리군간 유의적인 차이는 없었다. creatinine은 근육량의 지표성분으로 근육량이 많은 사람일수록 혈액이나 소변중 농도가 높다. BUN은 단백질대사의 부산물로서 간에서 형성되며, 신장에서 제거된다. 따라서 BUN은 신장기능이 저하된 경우 높아지므로 신장기능의 척도로 활용된다. 보통 정상 성인의 경우 7-20 mg/dL이지만 임신중에 약 25% 감소되며, 노년기에 신장기

능의 퇴화로 혈중 요소농도가 증가한다. 신장기능이 저하된 경우 외에도 울혈성 심장질환, 쇼크, 탈수, 심근경색, 스트레스 등에 의해서도 BUN이 증가할 수 있다. 본 연구에 참여한 지원자중 대조군의 두명 (#21, #23)과 처리군에 3명 (#3, #4, #7)이 BUN이 20이상이었으나 임상적으로 문제가 있을 정도로 높은 수치는 아니었다. 간독성의 지표인 ALT, AST, BUN 등은 실험전과 후 그리고 처리군과 위약군간의 차이가 없는 것으로 나타나, 부채마환의 섭취로 인한 간독성은 없는 것으로 판단된다.

한편 부채마의 섭취(1회당 2g, 1일 3회 섭취 권장)가 지질대사관련 혈액학적 지표에 미치는 영향을 살펴본 결과, Table 20 (I 과 II)에 나타낸 바와 같이, 혈중 총콜레스테롤 함량이 위약군에 비하여 유의적으로 낮아지는 것을 확인할 수 있었으며, 혈중 LDL-cholesterol과 유리지방산 함량도 유의성은 없었으나 부채마군에서 낮아지는 경향을 보였다. 그러나 혈중 중성지방, HDL-cholesterol농도는 부채마 섭취군과 위약군간에 차이가 관찰되지 않았다.

결론적으로 부채마섭취가 지질대사에 영향을 미쳐 혈중콜레스테롤 감소를 유도하는 것으로 나타났기 때문에, 고콜레스테롤 혈증에 의하여 유발되는 일부 질환에 대한 부채마의 예방효과가 기대된다.

Table 19. Anthropometric data for human subjects participated in the study

Group	Subject No.	Age (yrs)	Height (cm)	Weight (kg)	BMI*	Obesity index**
Control	21	56	150	57	25.33	126.67
	22	56	152	63.2	27.35	135.04
	23	58	156	59	24.24	117.06
	24	39	163	64.8	24.39	114.29
	25	30	159	63	24.92	118.64
	26	53	160	62	24.22	114.81
	27	35	156	68	27.94	134.92
	28	57	164	79.5	29.56	138.02
	29	58	162	91.5	34.87	163.98
	Mean±sd	49±11	158±5	67.6±11.1	26.98±3.51	129.27±16.00
Treatment	1	33	158	66.4	26.60	127.20
	2	35	153	58	24.78	121.59
	3	59	156	74	30.41	146.83
	4	58	149	50.5	22.75	114.51
	5	35	162	75	28.58	134.41
	6	39	154	68	28.67	139.92
	7	53	151	54	23.68	117.65
	8	47	165	87	31.96	148.72
	9	27	166	114	41.37	191.92
	10	57	154	59.6	25.13	122.63
	11	57	163	63.8	24.01	112.52
	12	22	175	97	31.67	143.70
	Mean±sd	44±13	159±8	72.3±18.8	28.30±5.2	135.13±21.92

*Weight/height(m²)

**Body weight/standard weight × 100 where standard weight is equal to (height - 100) × 0.9

Table 20. Change in blood parameters by intake of *Dioscorea nipponica* pill for two months (I)

Group	Subject No.	Glucose, mg/dL			BUN, mg/dL			Creatinine, mg/dL			AST, IU/L			ALT, IU/L		
		Before	After	Change	Before	After	Change	Before	After	Change	Before	After	Change	Before	After	Change
Control	21	76	82	6	24.7	18.8	-5.9	0.9	0.9	0.0	18	15	-3	8	8	0
	22	77	85	8	13.3	14.9	1.6	0.7	1.0	0.3	31	27	-4	23	19	-4
	23	84	76	-8	22.3	19.4	-2.9	0.8	0.9	0.1	27	33	6	19	21	3
	24	76	79	3	17.2	29.9	2.7	0.8	1.0	0.2	16	25	10	14	19	6
	25	73	83	10	17.5	10.3	-7.2	0.9	0.9	0.0	19	14	-5	12	10	-2
	26	80	75	-5	19.5	18.2	-1.3	0.9	1.0	0.1	20	25	5	13	19	6
	27	78	88	10	12.6	13.3	0.7	0.9	0.8	-0.1	18	16	-2	14	11	-3
	28	82	87	6	14.7	16.3	1.6	0.9	0.9	0.1	22	19	-3	18	17	-1
	29	83	74	-9	14.2	15.7	1.5	0.8	0.9	0.2	16	23	7	11	15	4
	Mean±SD	79±3	81±5	2±7	17.3±4.2	16.3±3.2	-1.0±3.6	0.8±0.1	0.9±0.1	0.1±0.1	21±5	22±6	1±5	15±5	16±5	1±4
Treat-ment	1	90	92	2	13.8	11.1	-2.7	0.8	0.8	0.1	20	18	-2	17	18	1
	2	87	91	4	13.9	15.1	1.2	0.8	1.0	0.2	19	17	-2	18	21	3
	3	91	78	-13	23.3	22.7	-0.6	1.0	1.0	0.1	21	28	8	16	14	-2
	4	91	77	-14	21.2	14.8	-6.4	0.8	0.8	0.0	20	22	3	17	24	7
	5	89	85	-4	16.6	18.1	1.5	0.8	1.0	0.2	18	25	7	21	26	5
	6	88	94	6	11.4	10.4	-0.9	0.9	0.9	0.1	23	22	-1	28	36	9
	7	88	86	-2	21.5	25.0	3.5	0.9	0.9	0.0	15	16	2	12	17	5
	8	78	81	3	20.5	17.6	-2.9	1.0	0.9	-0.1	17	26	9	14	19	5
	9	76	79	4	11.6	9.5	-2.1	0.7	0.7	0.0	16	18	2	16	19	3
	10	87	84	-3	17.3	12.9	-4.4	0.8	0.8	0.0	20	19	-1	13	11	-2
	11	82	76	-6	17.6	16.5	-1.1	0.9	1.0	0.1	19	16	-3	16	21	5
	12	69	71	2	17.1	15.6	-1.5	1.0	0.9	-0.1	34	26	-8	51	45	-6
Mean±SD	85±7	83±7	-2±7	17.1±3.9	15.8±4.7	-1.4±2.7	0.9±0.1	0.9±0.1	0.0±0.1	20±5	21±4	1±5	20±11	23±9	3±4	

Table 20. Change in blood parameters by intake of *Dioscorea nipponica* pill for two months (II)

Group	Subject No.	CHOL, mg/dL			TG, mg/dL			HDL-CHOL, mg/dL			LDL-CHOL, mg/dL			FFA, mg/dL		
		Before	After	Change	Before	After	Change	Before	After	Change	Before	After	Change	Before	After	Change
Control	21	248	213	-35	77	88	11	66	51	-15	159	134	-25	739	803	65
	22	245	255	10	188	201	13	54	61	7	156	150	-6	490	561	71
	23	296	294	-2	190	181	-9	41	45	4	225	226	1	1118	1089	-29
	24	158	155	-3	106	131	26	45	39	-6	84	90	7	715	783	69
	25	178	187	9	69	89	21	42	48	6	112	123	11	1011	1089	78
	26	160	165	5	67	110	43	56	48	-8	77	83	6	737	681	-56
	27	176	183	7	71	82	11	57	50	-7	90	95	5	780	732	-48
	28	202	208	7	194	162	-32	43	46	4	121	138	17	911	854	-57
	29	169	180	11	75	92	17	40	44	5	105	95	-10	1030	997	-33
	Mean	203±48	204±45	1±14	115±58	126±45	11±21	49±9	48±6	-1±8	125±47	126±45	1±12	837±196	843±183	7±61
Treat-ment	1	241	203	-38	144	162	18	52	41	-11	155	123	-32	1234	1168	-66
	2	181	170	-11	121	119	-2	60	55	-5	88	101	13	522	546	24
	3	251	232	-19	137	112	-25	46	55	9	174	165	-9	813	876	63
	4	216	219	3	126	167	42	43	49	6	144	133	-11	1396	1327	-69
	5	180	173	-7	191	178	-13	38	43	5	100	92	-8	1057	1002	-55
	6	242	240	-2	193	169	-24	53	59	6	146	151	5	1463	1392	-71
	7	174	174	1	137	178	41	39	40	2	105	107	2	692	765	74
	8	190	184	-6	76	101	25	40	47	8	126	121	-5	538	601	64
	9	221	203	-18	96	105	10	51	49	-2	139	129	-10	967	900	-67
	10	233	196	-37	74	58	-16	63	51	-12	146	120	-26	753	802	50
	11	200	186	-14	92	98	6	49	52	3	130	119	-11	593	600	7
	12	209	198	-11	172	169	-3	44	49	5	127	105	-22	695	622	-73
Mean	211±27	198±23	-13±13*	130±41	135±40	5±23	48±8	49±6	1±7	132±25	12±21	-9±13	893±328	883±288	-10±62	

*Significantly different at $P < 0.05$

다. 부채마섭취에 의한 비만도의 변화

부채마 분말을 1일 3회 (회당 2 g)씩 2개월 동안 섭취하였을 때 체질량 지수 (BMI) 변화를 조사한 결과는 Table 21과 같다. 위약을 섭취한 대조군에서는 44%가 BMI 감소를 보인 반면, 부채마 섭취군에서는 12명중 9명 (75%)이 BMI 감소를 보였다. 비만의 또 다른 척도인 obesity index에서도 같은 경향을 보였다. 이와 같이 부채마 섭취가 2개월의 비교적 단기간에서도 체중조절효과가 있는 것으로 나타났다. 그러나 Bioimpedance 방법으로 측정된 체지방 함량에서는 대조군과 부채마 섭취군간의 차이가 관찰되지 않았다. (Table 22). 이와 같이 부채마 섭취군에서 체질량지수 (BMI)가 감소한 것은 신체조성의 변화와는 무관하게 전반적인 체중감소에 의한 것으로 추정된다.

한편 허리둘레 (waist circumference)와 엉덩이 둘레(hip circumference)는 대조군과 부채마 섭취군 간에 유의적인 차이가 없었으나, 부채마 섭취군이 허리둘레가 약간 감소하는 경향을 보인 반면, 대조군은 오히려 약간 증가하는 경향을 보였다 (Table 23).

또한 실험에 참여한 지원자들의 구두 질문을 통하여 부채마 섭취군에 속한 사람들의 경우, 배변횟수가 증가되었다는 응답이 많았으며, 일부가 속 쓰림을 경험했다고 응답하였다. 이러한 결과는 부채마에 함유된 saponins에 의한 작용으로 추정된다.

Table 24에 보인 바와 같이 부채마 섭취군과 대조군 모두 수축기 및 이완기 혈압에서 유의적인 차이는 관찰되지 않았다.

결론적으로 인체시험에서 부채마 섭취는 결과 현저한 부작용없이 체중을 저하시키는 효과가 있었으며, 체지방 함량에는 영향을 미치지 않았다.

Table 21. Change in BMI and obesity index by intake of *Dioscorea nipponica* pill for two months

Group	Subject No.	BMI			Obesity index*		
		Before	After	Change	Before	After	Change
Control	21	25.33	25.78	0.45	126.67	128.89	2.22
	22	27.35	27.70	0.35	135.04	136.75	1.71
	23	24.24	23.83	-0.41	117.06	115.08	-1.98
	24	24.39	24.09	-0.3	114.29	112.87	-1.42
	25	24.92	24.33	-4.59	118.64	115.82	-2.82
	26	24.22	24.22	0	114.81	114.81	0
	27	27.94	27.94	0	134.92	134.92	0
	28	29.56	29.86	0.3	138.02	139.41	1.39
	29	34.87	33.91	-0.96	163.98	159.50	-4.48
Treatment	1	26.60	26.84	0.24	127.20	128.35	1.15
	2	24.78	24.78	0	121.59	121.59	0
	3	30.41	29.87	-0.54	146.83	144.25	-2.58
	4	22.75	22.39	-0.36	114.51	112.70	-1.81
	5	28.58	28.50	-0.08	134.41	134.05	-0.36
	6	28.67	27.74	-0.93	139.92	135.39	-4.53
	7	23.68	23.24	-0.44	117.65	115.47	-2.18
	8	31.96	31.96	0	148.72	148.72	0
	9	41.37	41.01	-0.36	191.92	190.24	-1.68
	10	25.13	24.88	-0.25	122.63	121.40	-1.23
	11	24.01	23.98	-0.03	112.52	112.35	-0.17
	12	31.67	31.35	-0.32	143.70	142.22	-1.48

*Obesity index represents body weight/standard weight $\times 100$, where standard weight = (height -100) $\times 0.9$

Table 22. Change in body fat by intake of *Dioscorea nipponica* pill for one month

Group	Subject No.	Body fat, %		
		Before	After	Change
Control	21	36.5	36	-0.5
	22	38.25	39	0.75
	23	32.7	31.6	-1.1
	24	32.75	32.8	0.25
	25	31.2	30.9	-0.3
	26	33.55	34.1	0.55
	27	31.7	31.5	-0.2
	28	38.45	37.6	-0.85
	29	41.15	39.2	-1.95
Treatment	1	34.55	33.9	-0.65
	2	31.7	31	-0.7
	3	36.05	34.4	-1.65
	4	34.05	31.6	-2.45
	5	32.7	33.7	1.0
	6	33.45	33.1	-0.35
	7	30.5	32.3	1.8
	8	32.85	33.3	0.45
	9	44.55	45.2	0.75
	10	34.4	34.6	0.2
	11	31	30.2	-0.8
	12	31.95	31.2	-0.75

Table 23. Waist and hip circumferences before and after intake of *Dioscorea nipponica* pill for two month

Group	Subject No	Waist circumference (cm)		Hip circumference (cm)		WHR ¹	
		before	after	before	after	before	after
Control	21	78	81	93.25	93	0.84	0.87
	22	85	88	104.5	106	0.81	0.83
	23	77.75	80	91.75	92	0.85	0.87
	24	85.5	85.5	97.25	97	0.88	0.88
	25	77.5	76	94	94	0.82	0.81
	26	81	85	95.5	97	0.85	0.88
	27	81.5	82	97.5	98	0.84	0.84
	28	96.5	97	102	102	0.95	0.95
	29	106	107	116	110	0.91	0.97
		Mean±sd	85±10	87±10	99.08±7.6	99±6	0.86±0.04
Treatment	1	87	85	100	99	0.87	0.86
	2	79	79	96	96	0.82	0.82
	3	88.5	88	103.5	104	0.86	0.85
	4	83.5	83	88.25	87	0.95	0.95
	5	88	88	96.5	104	0.91	0.85
	6	85	83	95.5	93	0.89	0.89
	7	78	78	88	86	0.89	0.91
	8	89	92	110	107.5	0.81	0.86
	9	116	119	127	127	0.91	0.94
	10	79.5	75	96	92.5	0.83	0.81
	11	83	85	97	98	0.86	0.87
	12	105.5	105.5	113	113.5	0.93	0.93
	Mean±sd	89±11	88±12	101±11	101±12	0.88±0.04	0.88±0.05

¹Ratio of waist to hip circumferences

Table 24. Blood pressures (mmHg) before and after intake of *Dioscorea nipponica* pill for two month

Group	Subject No	Systolic		Diastolic	
		before	after	before	after
Control	21	112	139	72	76
	22	111	121	68	78
	23	122	119	82	72
	24	115	-	71	-
	25	121	119	71	72
	26	120	116	75	70
	27	128	-	75	-
	28	126	133	82	77
	29	142	152	78	80
Treatment	1	118	115	70	65
	2	-	-	-	-
	3	126	124	72	67
	4	130	105	76	67
	5	112	125	69	67
	6	134	138	82	82
	7	130	143	95	88
	8	134	136	81	84
	9	128	140	82	80
	10	142	150	82.5	93
	11	120	115	71	63
	12	142	-	83	-

제6절 체중조절용 제품 개발

1. 체중조절용 음료 개발

가. 에탄올 농도별 추출물 및 lipase 저해활성

부채마 분말로부터 lipase 저해활성 성분을 추출하기 위하여 에탄올 농도별로 추출물을 제조하여 lipase 저해활성을 측정 한 결과는 Fig. 20와 같다. 에탄올 농도가 80% 이상일 때 추출물 (50 ug/mL)의 lipase 저해활성이 가장 높았으며, 에탄올 농도가 60% 일 때는 41%, 50%일 때는 35%의 효소저해활성을 나타내었다. 이렇듯 지방소화억제를 통한 체중조절효과를 발휘하기 위해서는 80%이상의 농도를 갖는 주정으로 추출하는 것이 바람직할 것으로 사료된다. 한편 에탄올 농도별 고형분 함량기준으로 추출물을 조사하였을 때, 주정농도 60%까지는 큰 차이가 없었으나, 농도가 80%일 때 추출률이 유의적으로 감소되는 것이 관찰되었다 (Fig. 21). 즉, 주정농도가 0~60% 범위에서 추출률은 22~23% 이었으며, 80% 및 100%에서는 추출률이 각각 15%와 11%로 낮아졌다. 또한 에탄올 농도 50% 이상에서 lipase 저해활성 성분인 dioscin이 비교적 높은 수율로 추출되는 것으로 나타났다 (Fig. 22). 즉, 에탄올 농도가 20%일 때 부채마 분말 1g당 dioscin 추출율이 약 1.0 mg/g 이었던 반면, 40%와 50%에서 각각 10, 20 mg/g으로 큰 폭으로 상승하였다. 에탄올 농도가 80%와 100%일 때, 추출되는 dioscin의 함량은 각각 22, 24 mg/g 이었다. 결론적으로 lipase 저해활성활성과 추출률, 그리고 실제로 산업화하였을 때 작업에서의 수월성 및 안전등을 고려하여 부채마 추출에 80% 주정을 사용하는 것이 가장 바람직한 것으로 판단된다.

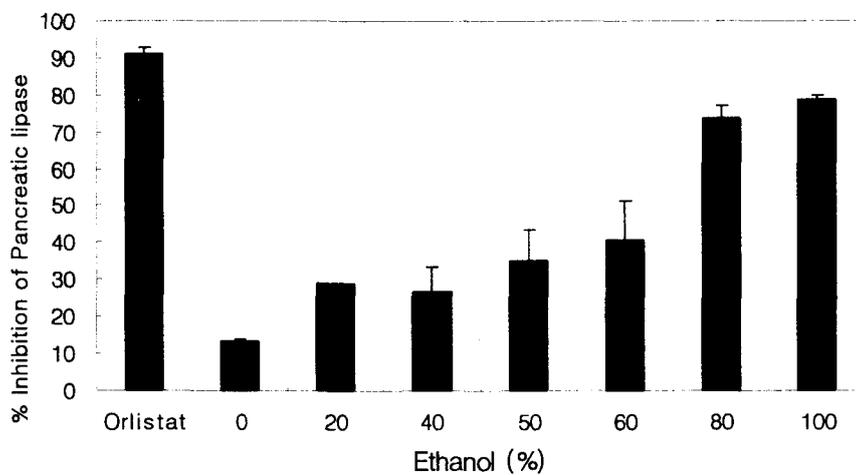


Fig. 20. Lipase inhibitory activity of *Dioscorea nipponica* extracts.
 The concentrations of *D. nipponica* ethanol extract and Orlistat used for the assay were 50 µg/mL and 2.5 µg/mL, respectively.

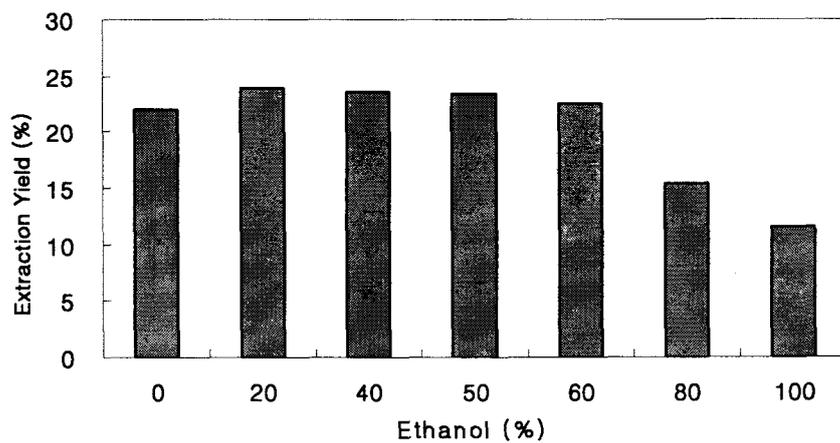


Fig. 21. Extraction yield of *Dioscorea nipponica* at various ethanol concentrations.

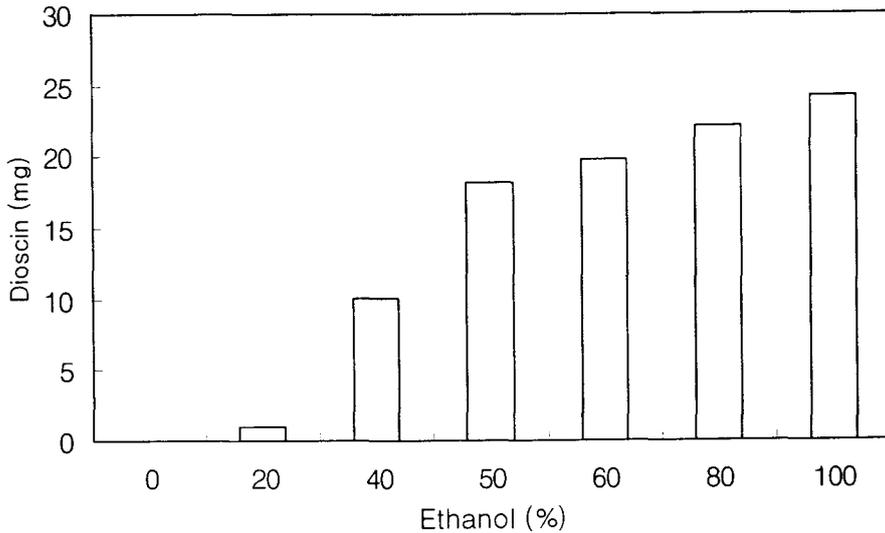


Fig. 22. Extraction of dioscin from *Dioscorea nipponica* at various ethanol concentrations. One gram of the herb powder was extracted with 10 mL of 0, 20, 40, 50, 60, 80, 100% ethanol solution for 12 hrs. Dioscin content was assayed by HPLC equipped with ELS detector and C18 column.

한편 부채마의 80% 에탄올 추출물은 농도 의존적으로 돼지췌장 lipase 효소활성을 저해하는 것으로 나타났으며, 특히 이미 lipase 저해활성이 잘 알려진 녹차와 비교하여 거의 유사한 수준으로 효소활성을 저해하였다 (Fig. 23). 예를 들면 50 ug/mL 농도에서 부채마의 80% 에탄올 추출물은 lipase 활성을 각각 82.6% 저해하는 것으로 나타났다. 한편 녹차의 경우도 80% 이상의 주정농도에서 추출한 경우가 lipase 저해활성이 가장 높은 것으로 나타났다. 녹차에는 teasaponin이라는 lipase inhibitor가 존재하는 것이 보고된 바 있다 (Han 등 2001).

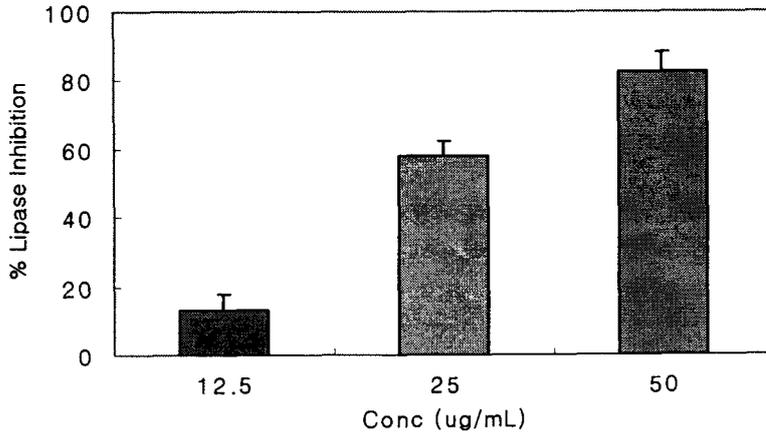


Fig. 23. Inhibitory activity of 80% ethanol extracts of *Dioscorea nipponica* against pancreatic lipase.

나. 부채마함유 체중조절용 음료의 적정 배합비 결정

동물실험과 인체실험에서 체중조절 효능이 확인된 부채마 함유 드링크제품의 배합비 결정을 위하여, 부채마의 활성성분을 80% 에탄올로 추출하여 증발농축과정을 거쳐 에탄올을 제거하고 slurry 상태에서 동결건조하여 분말화 하여 원료로 사용하였다. 인체실험에서 1회분 용량을 부채마 분말 2g으로 설정하였었는데 이는 단순 고형분 기준으로 에탄올 추출물로 환산하면 0.3g에 해당된다. 그러나 80% 에탄올에 의하여 활성성분이 완전히 추출되지 않으므로 추출수율을 감안하여 0.3g보다는 많은 양의 시료를 사용하는 것이 필요하다. 본 실험에서는 활성성분의 추출수율을 60%로 가정하고, 드링크제품에 첨가하는 부채마 추출물의 양을 건물기준으로 100mL 당 0.5g으

로 결정하였다. 감미재로서 고과당 (70°Brix)을 10~18%를 함유하는 formula구성하여 관능평가를 실시하였다. Table 25에 나타낸 바와 같이 음료중 고과당함량 12~18% 범위에서는 관능적 차이가 없이 모두 양호한 것으로 나타났다. 따라서 고과당 함량을 12%로 고정하고, 구연산의 비율을 결정하기 위하여 2차 관능평가를 실시하였다. 이때 첨가하는 비타민 C의 양을 0.02%로 고정하고, 구연산의 농도를 100 mL당 30, 50, 70, 90 mg 함유하는 드링크를 제조하여 관능평가를 실시한 결과, 구연산 함량이 30 또는 50 mg/dL인 경우가 가장 기호도가 높은 것으로 나타났다.

최종적으로 결정된 음료제품의 원료조성 (formula)은 부채마 추출물 0.5%, 고과당(70° Brix) 12%, 비타민 C 0.02%, 구연산 0.05% 이었다.

본 제품의 컨셉은 지방이 많이 함유된 식사 또는 간식후 섭취하는 체중조절용 음료로 설정하였으며, 상품화의 수월성을 고려하여 건강기능식품법 분류상의 식이섬유함유제품으로 하는 것이 바람직 할 것으로 판단된다. 따라서 추후 상품화에 앞서 polydextrose등과 같은 식이 섬유소재를 첨가한 formula를 구성하는 것이 필요하다.

Table 25. Sensory and physical properties of differently formulated drinks

Ingredient	Formula 1	Formula 2	Formula 3	Formula 4	Formula 5	Formula 6	Formula 7	Formula 8	Formula 9
Dioscorea extract	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
HFCS	10	12	14	16	18	12	12	12	12
Vitamin C	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
Citric acid	-	-	-	-	-	0.03	0.05	0.07	0.09
Water	89.5	87.5	85.5	83.5	81.5	87.4	87.4	87.4	87.4
Refractive index(°Bx)	11.0	13.4	15.0	17.1	19.6	12.6	12.7	12.2	12.6
Acidity (%)	-					0.06	0.08	0.11	0.12
sugar/acid	-					218	152	112	103
Overall* preference	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++	++

*Overall preference including sweetness, sourness, bitterness was evaluated by trained panel. +: very poor, ++: poor, +++: average, ++++: good, +++++: very good

다. 음료의 저장 중 품질 변화

부채마추출물을 함유한 음료를 95°C에서 15분간 살균하여 4°C, 실온, 37°C 등 3가지 온도 조건하에서 투명용기에 저장하면서 굴절률, pH, 침전물, 색도 등 품질지표의 변화를 모니터링 한 결과, 본 실험에서 설정한 저장기간 동안에는 모든 품질 지표에서 유의적 변화는 관찰되지 않았다 (Table 26).

Table. 26. Change in refractive index, acidity, pH, and sediment during storage at different temperature

Refractive index (°Brix)

Storage temp (°C)	Storage period (week)			
	1	2	3	4
4	13.1	13.2	13.1	13.2
실온	13.0	13.1	13.0	13.0
36	13.1	13.0	13.1	13.1

pH

Storage temp (°C)	Storage period (week)			
	1	2	3	4
4	3.30	3.28	3.17	3.13
실온	3.30	3.24	3.04	3.05
36	3.30	3.18	3.05	3.00

Sediment (%)

Storage temp (°C)	Storage period (week)			
	1	2	3	4
4	0.50	0.43	0.45	0.40
실온	0.50	0.50	0.43	0.43
36	0.50	0.53	0.58	0.53

Color*

Storage temp (°C)		Storage period (week)			
		1	2	3	4
4	L	16.8	17.2	17.1	16.9
	a	-5.9	-6.1	-5.8	-5.4
	b	5.6	6.1	5.7	5.1
실온	L	16.8	15.9	18.0	16.4
	a	-5.9	-5.1	-6.0	-5.2
	b	5.6	5.1	5.6	4.3
36	L	16.8	15.3	17.8	16.4
	a	-5.9	-5.1	-6.3	-5.6
	b	5.6	5.7	6.2	5.6

*Color was measured by Brightmeter TM MICRO S-5 (Technidyne Corp USA).

2. 부채마 추출물 첨가 농도별 마요네즈의 특성 변화

가. 첨가비율에 따른 관능적 특성 변화

부채마 추출물을 사용하여 재료 및 방법에 제시한 방법대로 마요네즈를 제조하여 관능평가를 수행한 결과, Table 27에 나타낸 바와 같이, 부채마 추출물의 고미(苦味)가 0.3% 첨가군부터 강하게 나타나는 것으로 드러났다. 마요네즈의 기름 냄새는 부채마 추출물 농도가 증가할 때 오히려 감소하여 관능적으로 유리한 점이 있으나, 고미로 인하여 전체적인 기호도는 감소되었다. 따라서 마요네즈에 최대 첨가량은 0.3% 이하를 유지해야 할 것으로 판단된다. 한편 0.1% 첨가수준에서는 대조군과 차이가 전체적인 평가항목에서 유의적인 차이가 없었다.

Table 27. Preference test of mayonnaise containing different level of Dioscorea powder

Sensory item	Dioscorea extract, %					
	0	0.1	0.3	0.5	1.0	
Odor (oily)	3.5	3.8	3.7	4.2	4.2	
Taste	oily	5.5	5.3	5.3	5.2	5.2
	salty	5.3	4.7	4.0	4.2	5.0
	sweet	3.3	3.3	2.7	2.7	2.3
	bitter	7.0	6.7	4.3	3.7	3.0
Taste acceptability	4.7	4.5	4.0	3.7	3.0	
Color acceptability	4.2	4.2	4.0	4.0	4.0	
Overall acceptability	4.8 ^a	4.5 ^a	3.8 ^b	3.5 ^b	3.0 ^c	

Sensory score represents as follows: 1, very poor; 3, slightly poor; 5, average; 7, good ; 9, very good.

Values sharing same superscript are not significantly different from each other.

나. 첨가비율에 따른 물리화학적 변화

부채마 추출물 농도별 마요네즈의 색도 및 물성을 측정된 결과는 Table 28과 같다. 시료의 함량이 0.3% 이하일 때는 대조군과 모든 측정항목에서 차이가 없었다. 그러나 0.5% 이상에서는 마요네즈의 점도가 증가하는 경향을 보였으며, 경도 (hardness) 및 gumminess 도 증가하였다. 이는 부채마 추출물에 함유된 saponins들의 영향으로 추정된다.

Table 28. Physical properties of mayonnaise containing different level of Dioscorea powder

		Dioscorea extract, %				
		0	0.1	0.3	0.5	1.0
Color	L	69.0	66.3	65.2	66.6	66.3
	a	-9.2	-8.8	-8.8	-8.5	-8.3
	b	39.5	40.2	40.4	41.9	40.7
Viscosity (P)*		13.9	12.4	12.5	19.9	19.5
Hardness**		15.3	12.4	11.2	20.4	19.1
Cohesiveness**		139.6	139.5	143.6	139.7	126.6
Springiness**		218.0	201.0	197.0	220.8	200.5
Gumminess**		90.8	75.4	77.5	124.3	116.4

Viscosity was measured using Rheometer UDS 200. The measurement conditions are as follows: Measuring system, MK23(50mm, 2); TU, TEK 150P/UDS; measuring position, 0.05 mm, position, 02.7675; measuring gap, 0.05 mm; temp., 25°C; NF, 0.094; shear rate (1/s), 20; time, 100sec

**Other textural parameters were measured with Sun Rheometer compact-100. Measuring condition is as follows; Table speed, 60 mm/m; sampling speed, 6 ms; load cell, 1 kg; sample move, 10 mm; sample length, 10 mm; Adapter type, #1. Load cell was plunged into sample by 5 mm depth.

제7절 국내외 체중조절용 식품 개발 및 시장 현황

1. 국내시장 현황

다이어트 용품, 비만클리닉, 약품 등을 포함해 국내 다이어트 관련 시장 규모는 1조원 이상으로 추정되고 있으며 이중 다이어트 식품은 약 2000억원 대 시장을 형성하고 있을 것으로 추산된다. 그러나 말 그대로 추산일 뿐 다이어트 식품에 대한 명확한 정의가 없는 상태에서 시장만 무한대로 커져가고 있는 상황이다. 현재 시중에서는 체중 감량에 도움을 주는 즉, '체중 감량을 목적으로 섭취하는 자연식품 또는 인공적으로 영양소를 가감한 식품'이 다이어트 식품으로 제조, 판매되고 있다. 굳이 식품공전 상의 유형을 들자면 특수영양식품 중 영양보충용 식품에 속하는 식이섬유 보충용 식품, 식사대용식품 중 체중조절용 식품을 포함시킬 수 있다.

건강보조식품 중에도 효소, 알로에, 키토산 함유 식품이 일부 다이어트 효과를 강조하고 있긴 하나 광고나 표시 등에서 인정을 받지 못하고 있다. 또한 일반 식품 중 다류를 중심으로 다이어트 기능을 강조하는 식품이 주로 단속의 대상이 되는 등 애매모호한 공전 상 분류와 시장에서의 실제 제품 간의 괴리로 소비자 뿐 만 아니라 식품 제조업체 측에서도 제품 개발이나 판매에 애로 사항이 많다. 매출 규모를 추정하기 위해 정부 통계를 기준으로 분석할 경우, 식이섬유 가공식품을 기준으로 보면 1992년 230억원이었던 매출액이 1996년 3000억원 이상으로 급격한 성장을 보였으나 1997년 경제위기를 맞으면서 500억원대로 감소했다 (식품세계 2003년 3월).

비만 인구의 증가 및 체형에 대한 사회적 인식의 변화와 더불어 체중조절

용 식품 시장은 현재보다 크게 팽창될 것으로 예상된다. 더구나 의약분업의 시행으로 의약품 매출이 20% 이상 감소할 것으로 예상되기 때문에 이를 상쇄하기 위해 건강과 관련된 식품의 매출에 제약회사들의 관심이 증가되고 있다 (매경 2000/4/24).

현재 국내에서 시판되는 다이어트 식품의 종류는 매우 다양하며 주류를 이루는 것이 식이섬유를 함유한 제품들이다. 대표적인 몇 가지를 들면 '팻다운 (Fat down)', '아프로디테-알파', '라이트 모닝', '키토 다이어트', '김치 바이오 슬림 다이어트' 등이 있으며, 주요 효능성분으로 hydroxycitric acid (HCA), 키토산, 크롬, 카르니틴(carnitine) 등이 함유되어 있다. 그러나 이들 제품들은 몇 가지 문제점을 내포하고 있다. 예를 들면, 크롬의 경우 체중 감소, 식욕조절, 체지방 감소를 내세우지만 미국 연방무역위원회(FTC)는 이런 주장을 뒷받침하는 과학적 근거가 불충분하다는 결론을 내렸다. 유류와 우유, 치즈 등 유제품에서 얻어지는 CLA는 동물실험과 보디빌더를 대상으로 한 조사에서 체중 감량 효과를 나타냈다. 하지만 비만 환자에게는 체중감량증거가 불충분한 상태이다 (중앙일보 2004.06.01).

가르시니아 캄보지아 (*Garsinia cambogia*)는 남아시아 서식 나무의 마른 과일껍질로부터 추출되는 물질로 Hydroxy Citric Acid (HCA)가 10~30% 함유되어 있다. HCA는 오렌지, 밀감류에 함유된 구연산(citric acid)와 매우 유사한 물질이나 자연계에서 극히 드물게 발견된다. 남부 인디아 해안지역에서 소화를 돕기 위해 소스로 사용하기도 해왔다. HCA는 구연산을 oxaloacetate와 acetyl CoA로 전환하는 효소인 ATP citrate lyase의 경쟁적 저해제로 알려져 있다. Acetyl CoA는 지방산, 콜레스테롤, 중추신경계 신경 전달물질인 acetylcholine 등의 합성에 사용된다(Shara 2004). 이렇듯 HCA

는 지방합성을 억제하고 glycogen의 합성을 촉진하는 효과가 있으며, 과잉의 당질 축적에 의하여 식욕억제 효능도 발휘할 것으로 추정하고 있다. 여러 동물실험에서 체중조절효능이 증명된 바 있으나, 일부 인체실험에서는 명확한 체중감량효과가 관찰되지 않은 경우도 보고 되었다 (Heymsfield 1998).

2. 국외 시장 현황

미국에는 비만인의 인구가 2001년 현재 9700만 명으로 전체 국민의 절반이상 (여자 51%, 남자 59%)이 과체중이며, BMI가 30이상인 비만자의 비율도 여자가 25%, 남자가 20%로 매우 높은 편이다. 미국 내 체중조절관련 시장규모는 약 465억\$으로 추정되고 있으며, 이 가운데 86%는 저지방 또는 저칼로리 식품매출분이고, 체중조절용 보충식품의 매출액이 33.6억불로 추정된다 (Sloan 2001). 비만 인구의 지속적인 증가가 예상되는 가운데 체중조절용제품의 시장도 2008년까지 매년 6.7% 씩 성장할 것으로 예상하고 있다.

대표적인 체중조절용 제품의 브랜드를 보면 Slim Fast, Nestle Sweet Success, Boost, PediaSure, Sustacal 등이며, 제조회사로는 Unilever, Ross Laboratories, Mead Johnson, Nestle 등이다. 2003년 하반기부터 ephedrine 이 함유된 제품의 판매가 금지됨에 따라 회사마다 효능 측면에서 이에 버금할 만한 대체 소재를 찾는데 분주하다. Table 29은 미국 내에서 2003년 현재 시판되는 체중조절용 식품의 종류와 특성을 조사한 것이다. 대부분의 제품들이 caffeine 소재를 공통적으로 사용하고 있으며, chromium, chromium picolinate, CLA, HCA, guarana, caffeine, ginseng, green tea, chitosan, cholecystokinin/CCK, synephrine 등이 가장 높은 빈도로 사용되고 있다. 이들 체중조절관련 성분 외에도 vitamins, minerals, 섬유소, inositol, chitin, 특수 스포츠영양관련 소재 등이 사용되고 있다. 한편 체중조절용 제품에 많

이 사용되는 허브소재로서는 *Garcinia cambogia*, psyllium, aloe, senna, willow bark, *yerba mate*, *Sida cordifolia*, kola nut, Bladder wrack, yohimbe, Commiphora mukal, Piper longum, burdock, dandelion, nettles 등이 있다 (Table 29).

미국내 체중조절식품의 컨셉은 크게 2가지로 대별되는데, 첫째는 Atkins diet에 영향을 받은 고단백-저탄수화물 제품이고, 다른 하나는 'Satrietol', 'Lean On Me' (Functional Foods Inc.) 같은 포만감을 주는 제품이다. 특히 후자는 포만감을 주어 군것질을 줄여주는 효과가 있어 체중을 효율적으로 줄이는데 기여할 것으로 기대된다. 건강식품 및 자연식품 소매상을 대상으로 한 설문조사에서 향후 수년간 체중조절용 식품의 시장은 다른 어느 제품보다 성장속도가 빠를 것으로 예상하였다.

Table 29. Major brands of weight control products in US market

Bland	Producer	Serving size	servings/ container	Ingredients	Remarks
Trim Pills Slander power®	Vitamin World Inc.	2 tablets	120	Dicalcium Phosphate (87mg), Chromium Picolinate(400 ug), L-Carnitine (250mg), Chitosan(250mg), <i>Garcinia cambogia</i> fruit (standardized to contain 50% HCA) (300mg), <i>Citrus aurantium</i> fruit (standardized to contain 6% synephrine, 18mg)(300 mg), Hydro Support Blend (200mg) (<i>Uva Ursi (Arctostaphylos uva-ursi)</i> , Buchu (<i>Barosmabetulina</i>) (leaf), Juniper Berry (<i>Juniperus communis</i>) (fruit)), Green Tea Extract(standardized to contain 50% polyphenols, 7.5mg)-200mg	Direction : For adult, take two tablets daily, preferably with breakfast and lunch. ***The use of <i>Citrus aurantium</i> for weight management is licensed by Zhishin, LLC under U.S.Patent Nos. 6,224,873, and 6,340,482
Xtreme Trim Ephedra Free	Vitamin World Inc	2 capsules	120	Vitamin C (as Ascorbic Acid)-100mg, Vitamin B-6 (as Pyridoxine Hydrochloride)-10mg, Pantothenic Acid (as d-Calcium Pantothenate)-100mg, Magnesium (as Magnesium Oxide)-10mg, XtremeTrim™ Thermo Complex-1,415mg, Yerba Mate Extract (leaf) (standardized for Methylxanthines(Caffeine)), Green Tea Extract (<i>Camellia sinensis</i>) (leaf) (standardized for Epigallocatechin gallate, Caffeine, Polyphenols), Metabromine Cocoa Extract (standardized for Theobromine, Caffein), Bitter Orange Extract (<i>Citrus aurantium</i> **) (fruit) (standardized for Synephrine, N-Methyltyramine, Hordenine, Octopamine and Tyramine), Tyrosine complex (L-Tyrosine and Acetyl L-Tyrosine), L-Methionine, Ginger Extract (<i>Zingiber officinale</i>) (root),	Direction : For adults, in the morning take two capsules before eating or exercising and in the mid-afternoon take two more capsules. If you weigh less than 150 pounds, start with half the suggested amount for the first week (one capsule two times daily).

				Grape Seed Extract (seed), Flavone Complex (Proprietary Blend of 3,3',4',5-7-Pentahydroxyflavone and 3,3',4',7-Tetrahydroxyflavone), DMAE (Dimethylaminoethanol)	***The use of <i>Citrus aurantium</i> for weight management is licensed by Zhishin, LLC under U.S. Patent Nos. 6,224,873, and 6,340,482
Xtreme Trim Carb Curb formula	Vitamin World Inc.	2 tablets	60	Chromium(as chromium Picolinate)-200µg, Northern White Kidney Bean Extract-1,000mg, Gymnema Sylvestre (leaf)-1,000mg, Vanadyl Sulfate-2mg, Alpha Lipoic Acid-2mg, DeodorizedGarlic(<i>Alliumsativum</i>)(bulb)-40mg, Papaya-6mg	Direction : For adults, take two tablets thirty minutes before your two largest meals of the day.
METABO-DR ENE DIET Ma Huang Free	The Vitamin Shoppe	3 capsules	40	Chromium(Chromax [®])(as Pyridoxine Picolinate)-200µg, L-Phenylalanine-250mg, Guarana Extract-909mg(<i>Paullinia cupana</i>) (seed) std. to 22% Caffeine 200mg, Garcinia cambogia Extract-500mg(Citrimax [™])(rind) std. to 50% (-) Hydroxycitric Acid(HCA) 250mg, L-Carnitine (L-Carnipure [®])(as L-carnitine L-tartrate)-100mg, Potassium Phosphate Monobasic-75mg, Magnesium Phosphate Tribasic-25mg	Direction : As a dietary supplement, take three capsules before breakfast or morning workout. Also take three capsules before afternoon and evening meals. Do not exceed nine capsules daily. Taking more than the recommended amount will not improve results and may cause adverse reactions listed in the warning below. Begin use with one-third the recommended dose (one capsule three times per day) to assess your tolerance.

<p>Thermo Dynam X</p>	<p>EAS Inc.</p>	<p>3 capsules</p>	<p>40</p>	<p>Green tea (<i>Camellia sinensis</i>) (leaf)-610mg, Total Polyphenols, 305mg Catechins, 213mg Epigallocatechin Gallates(EGCG), 110mg Maté(<i>Ilex paraguariensis</i>) Leaves and Stems-500mg, Caffeine (from Maté, caffeine anhydrous and Green tea)-200mg, Octopamine HCL-200mg, Synephrine (<i>from Citrus aurantium</i>)-20mg</p>	<p>Direction : Take 2~3 capsules twice daily before meals, at least 4 hours between servings and 1 hour before exercise. Do not exceed 5 day per week. Do not use more than 12 week. After 12 weeks of use, discontinue for 2 weeks. Smaller individuals or individuals who have never taken thermogenic products may wish to start with one capsules twice daily and increase the dosage as tolerated.</p>
<p>PHEN-PLE X</p>	<p>Vitamin World Inc.</p>	<p>4 capsules</p>	<p>30</p>	<p>L-Tyrosine-500mg, Cordyceps (aerial) (standardized for 7% cordyceptic acid)-500mg, Citrus aurantium (fruit)(standardized for 8% synephrine)-300mg, St. John's Wort (<i>Hypericum perforatum</i>) (aerial)(standardized for 0.3% hypericin)-200mg, Yohimbe (<i>Pausinystalia yohimbe</i>) (Bark)(standardized for 3% yohimbine) -100mg, Yerba Maté(<i>Ilex paraguayensis</i>) (leaf)(standardized to contain 20% caffeine)-495mg, Cayenne Pepper Powder (<i>Capsicum annum</i>) (fruit)-25mg, Other ingredients : Dicalcium Phosphate, Cellulose (Plant Origin), Gelatin, Silica, Vegetable, Magnesium Stearate.</p>	<p>Direction : For adults, take two to four capsules, two to three times daily, 30 minutes before meals and/or exercise.</p>

<p>LEAN SYSTEM 7</p>	<p>iSatori Global Technologies Inc.</p>	<p>3 capsules</p>	<p>30</p>	<p>Yerba maté (<i>Ilex paraguariensis</i>)(leaves)-500mg, Guaraná extract (<i>Paullinia cupana</i>) (seeds)[Standardized for 15% alkaloids as caffeine(105mg)]-700mg, Citrus aurantium fruit extract [Standardized for 6% synephrine (30mg)]-300mg, ForsLean® Coleus forskohill extract (root)[Standardized for 20% forskolin (30mg)]-150mg,7-Keto™(3-Acetyl-7-oxo-dehydroepiandrosterone)-50mg, Dandelion leaf and root powder(<i>Taraxacum officinale</i>)-250mg, Bioperine®(<i>Piper nigrum</i>)(fruit)[98% piperine (4.9mg)]-5mg, Other ingredients : Gelatin, rice flour, magnesium stearate, and titanium dioxide.</p>	
<p>ZANTREX™-3</p>	<p>Zoller Laboratories.</p>	<p>2 capsules</p>	<p>42</p>	<p>Niacin-30mg, Zantrex™-3-1230mg A Proprietary Blend Containing : Yerba Maté (leaf) , Caffeine, Guarana (seed), Damiana (leaf, stem), Green tea (leaf), Kola Nut, Shizonepeta (spica), Piper Nigrum (fruit), Tibetan Ginseng (root), Panax Ginseng (root), Maca Root *, Cocoa Nut, Thea Sinensis Complex (leaf), Other ingredients : Rice Flour</p>	<p>Direction : For maximum weight, loss, take two capsules with a full glass of water, 15~30minutes before main meals. Not to exceed 2 servings in any 8 hour period. Remember, the calorie-reducing properties of Zanter™-3 are activated by food. For significant energy boost, take 2 capsules anytime as needed.</p>

Fat Blaster	Nutritional concepts Inc.	4 tablets	30	Calcium (as calcium Phosphate)-544mg, Chromium (as Chromium Picolinate)-200µg, Kola Nut Extract (Cola Acuminala) (Nut)-550mg, Caffeine (from Kola Nut and Caffeine Citrate)-55mg, Cinnamon Powder (Cinnamomum Zeylanicum) (Bark)-100mg, Mustard Powder (Sinapis alba) (Seed)-100mg, L-Carnitine-50mg, Grapefruit Extract (40:1) (Citrus Paradis) (Fruit)-50mg, Cayenne Powder (Capsicum Fruitescens) (Fruit)-20mg, Other ingredients : Magnesium stearate, gelatin	Direction : As a dietary supplement, take four tablets approximately 1/2 hour after meals or as directed by a physician or health care professional.
RIPPED FUEL	Twin laboratories Inc.	2 capsules	30	Bitter Orange Fruit Extract (standardized for 6% synephrine alkaloids)-325mg, L-Phenylalanine(50mg), Guarana Seed Extract (22% caffeine)-800mg, Metabolic Fat Loss Blend(310mg), St. John's Wort Extract (aerial parts) (standardized for 0.9mg hypericin) Green Tea Leaf Extract, Quercetin, Citrus Bioflavonoid Complex, Ginger Root, Cayenne Fruit, Other ingredients : Magnesium stearate, Gelatin, Cellulose, Purified Water, MCT.	Direction : As a dietary supplement, take two capsules before each meal. Do not exceed 6 capsules daily. Taking more than the recommended amount will not improve results and may cause adverse reactions listed in the warning. Begin use with one-half the recommended serving (one capsule three times per day) to assess your tolerance.
Chromium Picolinate	Albertson's Inc.	1 tablets		Chromium(400µg), Other ingredients : Calcium Carbonate, Cellulose, Maltodextrin, Croscarmellose -Sodium, Cornstarch, Chromium Picolinate, Magnesium Stearate, Silicon Dioxide, Polyethylene Glycol.	Direction : Take one tablet daily with a full glass of water, preferably after a meal.
Chromium Picolinate 400	Albertson's Inc.	1 tablet		Chromium(400µg), Other ingredients : Calcium, Carbonate, Cellulose, Maltodextrin, Croscarmellose -Sodium, Chromium Picolinate, Dextrin, Magnesium Stearate, Silicon Dioxide, Dextrose, Lecithin, Sodium Carboxymethylcellulose, Sodium Citrate.	Direction : Take one tablet daily with a full glass of water, preferably after a meal.

제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

1. 목표달성도

본 연구의 목표는 소화효소를 저해하는 천연물을 탐색하고, 이들에 대한 효능을 검증하여 궁극적으로 체중조절용 제품으로 개발하는 것이었다. 이러한 목표를 달성하기 위하여 연차별로 다음과 같은 목표를 설정하여 연구를 수행하였다.

가. 1차년도 연구목표 및 달성도

연구시작연도의 목표는 농산물과 자생식물자원을 수집하고 이들을 대상으로 탄수화물 및 지방소화효소 저해활성을 조사하는 것이었다. 본 연구에서 약 300여종의 농산물을 포함한 식물성 소재를 수집하였고, 이들에 대한 용매 추출물을 제조하였으며, 일부는 극성에 따라 용매 분획도 실시하였다. 제조한 시료추출물에 대하여 탄수화물소화효소인 alpha-glucosidase (쥐 소장), alpha-amylase (돼지 췌장)과 지방소화효소인 lipase (돼지 췌장)를 이용하여 국제적으로 공인된 활성 측정방법을 이용하여 효소활성을 저해하는 정도를 분석하였다. 본 연구에서 잔대, 산뽕나무, 더덕, 금은화, 부채마, 지모, 마름 등의 소화효소저해활성을 갖는 소재들을 탐색할 수 있었다.

또한 금은화로부터 alpha-amylase저해활성 성분으로 luteolin을 분리하여 기기분석 (NMR 등)을 이용하여 분자구조를 밝혔다.

본 연구에서 얻어진 결과는 Journal of Food Science and Nutrition (2002)에 게재하였다.

나. 2차년도 연구목표 및 달성도

당해연도에는 1차 년도에 *in vitro* 시스템에서 탐색된 소화효소저해활성을 갖는 소재들에 대하여 동물모델계를 이용하여 효능을 평가하였으며, 활성성분의 분리 및 동정연구도 수행하였다.

*in vitro*계에서 활성을 나타낸 소재들은 대부분 동물실험에서도 체중조절 효능을 나타냈다. 예를 들어, 잔대, 더덕, 금은화 등 탄수화물 소화를 저해하는 소재들은 흰쥐모델계에서 체중증가를 약 10% 억제하는 효과를 확인할 수 있었다. 특히 금은화 (인동)의 에칠아세테이트 분획은 당뇨쥐의 내당능 (glucose tolerance)을 현저히 개선하는 효과를 나타내었다. Lipase 효소저해 소재가운데는 부채마가 가장 활성이 높은 것으로 나타났으며, 부채마 분말 5% 첨가 식이는 흰쥐에게서 약 10%의 체중감소를 유발하였다. 부채마로부터 lipase저해관련 성분을 분리하여 dioscin등 5종의 활성성분을 동정하였고, 관련 연구결과는 국제학술지 (Biocsci Biotechnol Biochem, 2003)에 게재하였다. 그 외에도 본 연구에서 도출된 연구결과를 토대로 특허 4종을 출원하였다. 한편 부채마는 식약청에 질의한 결과, 식용이 가능하다는 답신을 받았다.

다. 3차년도 연구목표 및 달성도

당해연도의 연구목표는 2차년도 연구에서 동물모델계에서 효능이 확인된 소재를 이용하여 인체실험을 통하여 효능을 확인하고, 제품을 개발하는 것이었다. 인체실험은 부채마를 대상으로 실시하였으며, 실험에 참여한 인원은 21명이었다. 인체실험에서 부채마는 체중과 혈중콜레스테롤을 유의적으로 낮추는 효과가 확인되었다. 또한 부채마의 섭취는 배변을 촉진하는 효과가 있는 것으로 나타났으며 2개월간 실험에서 부작용이나 독성은 관찰되지 않았다. 또한 식약청의 답변에서도 부채마는 식용이 가능한 것으로 드러났으

므로 식품으로 개발하는데 문제가 없는 것으로 판단하였다.

이와 같이 체중조절 효능과 식용가능이 확인된 부채마를 이용하여 체중조절을 목표로 한 드링크를 개발하였다. 먼저 부채마로부터 체중조절과 관련이 있는 사포닌계열의 활성성분을 추출하기 위하여 다양한 농도의 에탄올을 사용하여 추출물을 제조하고 lipase 저해정도를 분석하여 80% 에탄올 수용액이 최적추출용매인 것을 확인하였다. 부채마의 80% 에탄올 추출물을 이용하여 고과당, 구연산, 비타민 C 등의 기본 원료만을 사용하여 드링크의 배합비를 결정하였다. 이때 1 회분 (serving) 당 추출물의 함량은 임상실험 결과를 근거로 0.5g으로 결정하였다. 최종제품은 약간의 쓴맛이 단점으로 드러났으나 전체적으로 양호한 기호성을 가진 음료를 개발하였다. 음료를 95°C에서 15분간 살균하여 4주 동안 저장실험을 한 결과, 색깔, 산도, 당도 등의 변화가 없는 것으로 나타났다. 본 실험에서 포장 형태로 100 mL들이 투명용기를 사용하였으나, 실제 상품화를 위해서는 약간의 침전물 때문에 불투명용기가 권장된다. 또한 고지방 식품인 마요네즈를 모델로 하여 기존 제품에 체중조절기능성을 부여하기 위한 연구개발을 수행하였다. 지방소화를 억제하는 부채마추출물을 0.1% 정도 첨가하였을 때, 맛이나 물성에 영향을 주지 않는 마요네즈를 제조할 수 있었다. 당초 계획에서는 식빵, 면류 등이 고려되었으나 최종 선정된 소재 (부채마)가 지방소화효소저해활성을 가지는 것이므로 고지방식품모델을 선정하여 실험을 수행하였다.

2. 관련 분야의 기여도

가. 기술적 측면

첫째, 본 연구를 통하여 체중조절을 위한 방법으로 부작용 가능성이 가장 낮다고 판단되는 '인체의 에너지대사 조절'을 통하여 기존 체중조절 제품보다 업그레이드된 식품소재를 개발하였다고 자체 평가한다.

둘째, 본 연구에서 개발된 소재들은 체중조절뿐만 아니라 당뇨, 고지혈증, 고콜레스테롤 혈증 등의 환자들을 위한 치료용 보조 식품소재로 사용될 수 있을 것으로 판단된다.

셋째, 본 연구에서 발생한 결과들은 지금까지 3편의 논문과 8건의 국내외 학술발표 논문, 4건의 특허로 발표되었으며, 이들을 통한 홍보효과가 기대된다.

나. 경제, 산업적 측면

첫째, 본 연구에서 효능이 확인된 체중조절용 소재들은 상품화될 수 있는 잠재력을 가지고 있으며, 실용화가 될 경우 재배농가의 경제에 기여할 것으로 기대한다. 특히, 부채마의 경우 아직까지 본격적인 수요가 없어 재배가 되고 있지는 않지만, 향후 제품개발이 이뤄질 경우, 경북북부 지역이 재배의 적지이므로 이 지역 경제에 도움이 되리라 생각한다. 또한 인동 (금은화)는 이미 한약재로 상당량 생산되고 있는데, 체중조절효능의 규명으로 부가적인 수요 증가와 이에 따른 해당 농가의 소득증대가 기대된다.

둘째, 현재 급증하고 있는 체중조절용 식품시장에서 국산소재의 발굴로 의화절감 및 소재의 다양화를 통한 관련시장의 활성화가 기대된다.

제5장 연구결과의 활용내용 및 계획

본 연구의 핵심연구결과는 천연물소재로부터 탄수화물과 지방소화효소를 탐색하는 high throughput 기술을 정립하였다는 것 (물론 기초기술은 이미 개발되어 있었으나 본 연구목적에 맞도록 정립함)과 이를 이용하여 체중조

절용 식품소재를 탐색하여 현재 식품으로 사용되고 있거나 산야에서 자생하는 식물들의 새로운 용도를 발굴하여 잠재적인 부가가치를 높였다는데 의의가 크다. 우선 본 연구에서 도출된 결과들 일부는 다음과 같이 연구 논문으로 발표하였으며, 일부는 특허로 출원하였다.

가. 본 연구로부터 발생된 업적

[국외 및 국내 전문학술지 논문 발표]

- 1) Kwon and Kim et al.: Anti-obesity effect of *Dioscorea nipponica* Makino with lipase-inhibitory activity in rodents. *Biosci Biotechnol Biochem* 67(7):1451-6 (2003)
- 2) Kim and Kim et al.: Inhibition of carbohydrate-digesting enzymes and amelioration of glucose tolerance by Korean medicinal herbs. *J Food Sci & Nutr.* 7(1): 62-66 (2002)
- 3) Kwon, Chong Suk, Son, Kun Ho, Kim, Jong Sang: Effect of *Lonicera japonica* flower on body weight gain and glucose tolerance in rodents. *Food Sci and Biotechnol* (submitted)

[국외 학술대회 발표논문]

- 1) Kwon and Kim et al: Anti-obesity effect of *Dioscorea nipponica* M powder in rats. *Proc of the Nut Soc* 2002 61:168A
- 2) Kim and Kim et al.: Modulation of Carbohydrate Digestive Enzyme Activity and Glucose Tolerance by Some Medicinal Plants. International symposium on food, nutrition and health for 21st century, Korea University, Dec 7-8, 2001
- 3) Kim and Kim et al.: Anti-obesity activity of *Adenophora* species. International symposium on food, nutrition and health for 21st century, Korea University, Dec 7-8, 2001

[국내 학술대회 발표논문]

- 1) Lee and Kim: Anti-obesity effect of *Anemarrhenae Rhizoma*. 한국식품과학회 추계학술발표대회 경주교육문화회관, 2003. 6.
- 2) Kim and Kim et al: Effect of *Rubus coreanus* on postprandial glucose response in normal and diabetic rats. 51차 한국식품영양과학회 학술발표회, 경상대학교, 진주, 2002. 6.1.
- 3) Jung In Kim, Min-Jung Kang, Suk-Heui Jung, Jong-Sang Kim.

Inhibition of Porcine Pancreatic Lipase by Methanol Extracts of Some Vegetables and medical herbs. 한국식품과학회 70차 학술발표회 및 심포지엄. 2003

- 4) Jung-In Kim, Sae-Youn Bae, Ji-Eun Lim, Hee-Jung Joo, Suk-Heui Jung, Jong-Sang Kim. Lipase Inhibitory Activity of *Trapa japonica* Flerov. in mice. 한국식품과학회 70차 학술발표회 및 심포지엄. 2003
- 5) Sung Hee Kim, Min Jung Kang, Jung Soon Lee, Woo Keun Kim, Jung In Kim, Jong-Sang Kim. Inhibition of Pancreatic Lipase by Methanol Extracts from Some Foodstuffs. 한국식품영양과학회 제 51차 학술발표회. 2002

[특허출원]

- 1) 김정상의 3인: 잔대추출물과 그를 함유한 비만억제용 조성물. 출원번호 10-2002-0014010. 2002. 3. 15.
- 2) 김정상의 3인: 모시대추출물과 그를 함유한 비만억제용 조성물. 출원번호 10-2002-0014020. 2002. 3. 15
- 3) 김정상의 3인: 더덕추출물과 그를 함유한 비만억제용 조성물 출원번호 10-2002-0014021. 2002. 3. 15.
- 4) 김정상의 3인: 리파아제 억제제 및 이를 함유하는 비만 방지용 기능성 식품. 출원번호 10-2002-45489, 2002. 8. 1.

나. 본 연구결과의 활용계획

우선 체중조절효능이 확인된 부채마를 이용한 드링크제품의 실용화를 위하여 참여기업 (지엔지 바이오)와 건강기능성식품 제조 및 음료가공시설을 갖춘 경북과학대학 가공공장의 실무진과 협의를 계속할 것이다.

그 외에도 약 2-3편의 논문을 투고할 예정이며, 세미나 등을 통하여 결과를 홍보함으로써 탐색된 소재의 활용도를 높이는 노력을 지속할 예정이다.

제 6 장 참고문헌

Aoyama, T.: Effect of soy protein isolate and its hydrolysate on body fat in obese rats and mice. Proc. Int'l Symp. Soybean & Human Health. Seoul, Korea. (2000)

Arai, I., Amagaya, S., Komatsu, Y. and Okada, M.: Improving effects of the extracts from *Eugenia uniflora* on hyperglycemia and hypertriglyceridemia in mice. *J Ethnopharmacol* 68:301-314 (1999)

Asano, N., Yamashita, T., Yasuda, K., Ikeda, K., Kizu, H., Kameda, Y., Kato, A., Nash, R.J., Lee, H.S. and Ryu, K.S.. Polyhydroxylated alkaloids isolated from mulberry trees (*Morus alba* L.) and silkworms (*Bombyx mori* L.). *J Agric Food Chem*. 49: 4208-4213 (2001)

Bray, G.A.: A concise review on the therapeutics of obesity. *Nutrition* 16:953-60 (2000)

Drent, M.L., Larsson, I. Qilliam-Olsson, T., Quaade, F., Czubyko, F. and Bermann, K. : Orlistat (RO 18-0847), a lipase inhibitor, in the treatment of human obesity: a multiple dose study. *Int J Obesity* 19:221-226 (1995)

Goese, M., Eisenreich, W., Kupfer, E., Weber, W. and Bacher, A.: Biosynthetic origin of hydrogen atoms in the lipase inhibitor lipstatin. *J Biol Chem* 275:21192-21196 (2000)

Greenway, F. L. and Smith, S. R.: The future of obesity research. *Nutrition* 16: 976-982 (2000)

Hackman, R. M.: 체중조절용식품의 기능성소재. 건강보조식품심포지움. 한국식품과학회, 1997. 5. 16. pp21-39

Han, L.K., Kimura, Y., Kawashima, M., Takaku, T., Taniyama, T., Hayashi, T., Zheng, Y.N., Okuda, H.: Anti-obesity effects in rodents of dietary teasaponin, a lipase inhibitor. *Int J Obes Relat Metab Disord*.

25(10):1459-64 (2001)

Harp, J.: An assessment of the efficacy and safety for the long-term management of obesity. *J Nutr Biochem* 9:516-521 (1998)

Heymsfield, S.B., Allison, D.B., Vasselli, J.R., Pietrobelli, A., Greenfield, D. and Nunez, C.: Garcinia cambogia (hydroxycitric acid) as a potential antiobesity agent: a randomized controlled trial. *JAMA* 280: 1596-1600 (1998)

Kano, T., Usami, Y., Adachi, T., Tatematsu, M. and Hirano, K.: Inhibition of purified human sucrase and isomaltase by ethanolamine derivatives. *Biol Pharm Bull* 19: 341-344 (1996)

Kim, H.S., Kim, Y.H., Hong, Y.S., Paek, N.S., Lee, H.S., Kim, T.H., Kim, K.W. and Lee, J.J.: alpha-Glucosidase inhibitors from *Commelina communis*. *Planta Med* 65:437-439 (1999)

Kim, J.-S., Kwon, C-S, and Son, K. H.: Inhibition of alpha-glucosidase and amylase by luteolin, a flavonoid. *Biosci Biotechnol Biochem* 64:2458-2461 (2000a)

Kim, J.-S., Kwon, C.-S., Son, K. H. and Kim, J.-I.: alpha-Alpha-glucosidase inhibitory activities of some wild vegetable extracts. *J Food Sci & Nutr* 5: 174-176 (2000b)

Lankisch, M., Layer, P., Rizza, R.A. and DiMagno, E.P.: Acute postprandial gastrointestinal and metabolic effects of wheat amylase inhibitor (WAI) in normal, obese, and diabetic humans. *Pancreas* 17:176-81 (1998)

Levinson ML. Obesity and health. *Prev Med.* 6(1):172-80 (1977)

Lorentz, K.: Evaluation of α -amylase assays with 4-nitrophenyl-oligosaccharides as substrate. *J Clin Chem Clin Biochem* 21:463-471 (1983)

Matsuo, T., Odaka, H. and Ikeda, H.: Effect of an intestinal disaccharidase inhibitor (AO-128) on obesity and diabetes. *Am J Clin Nutr* 55 (1Suppl):314S-317S (1992)

Mehta, A., Lu, X., Block, T.M., Blumberg, B.S. and Dwek, R.A.: Hepatitis B virus (HBV) envelope glycoproteins vary drastically in their sensitivity to glycan processing: evidence that alteration of a single N-linked glycosylation site can regulate HBV secretion. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:1822-1827 (1997)

Mooradian, A.D. and Thurman, J.E.: Drug therapy of postprandial hyperglycemia. *Drugs* 57:19-29 (1999)

Nishioka, T., Kawabata, J. and Aoyama, Y.: Baicalein, an alpha- glucosidase inhibitor from *Scutellaria baicalensis*. *J Nat Prod* 61:1413-1415 (1998)

Nobuko Hongu, N. and Sachan, D.S. : Caffeine, Carnitine and Choline Supplementation of Rats Decreases Body Fat and Serum Leptin Concentration as Does Exercise. *J Nutr* 130:152-157 (2000)

Proietto, J., Baur, L.A.: Management of obesity. *Med J Aust* 180: 474-480 (2004)

Shara, M., Ohia, S.E., Schmidt, R.E., Yasmin, T., Zardetto-Smith, A., Kincaid, A., Bagchi, M., Chatterjee, A., Bagchi, D. and Stohs, S.J.: Physico-chemical properties of a novel (-)-hydroxycitric acid extract and its effect on body weight, selected organ weights, hepatic lipid peroxidation and DNA fragmentation, hematology and clinical chemistry, and histopathological changes over a period of 90 days. *Mol Cell Biochem.* 260(1-2):171-86 (2004)

Sloan, A.: Weighing in on the weight control market. *Functional Foods & Nutraceuticals*, Jul-Aug, 2001

Taubes, G.: Weight Increases Worldwide? *Science* 280: 1368 (2000)

Umezawa, K.: Inhibition of experimental metastasis by enzyme inhibitors from microorganisms and plants. *Adv Enzyme Regul* 36:267-281 (1996)

Vedula, U., Schnitzer-Polokoff, R. and Tulp, O.L.: The effect of acarbose on the food intake, weight gain, and adiposity of LA/N-cp rats. *Comp Biochem Physiol A* 100:477-482 (1991)

Watanabe, J., Kawabata, J., Kurihara, H. and Niki, R. : Isolation and identification of alpha-glucosidase inhibitors from Tochu- cha (*Eucommia ulmoides*). *Biosci Biotechnol Biochem* 61:177-178 (1997)

Wajchenberg, B.L.: Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue: Their Relation to the Metabolic Syndrome. *Endocrine Reviews* 21: 697-738 (2000)

Wickelgren, I.: Obesity: How Big a Problem? *Science* 280:1364-1367 (2000)

Yamamoto, M., Shimura, S., Itoh, Y., Ohsaka, T., Egawa, M. and Inoue, S.: Anti-obesity effects of lipase inhibitor CT-II, an extract from edible herbs, Nomame Herba, on rats fed a high-fat diet. *Int J Obes Relat Metab Disord* 24:758-764 (2000)

Yamamoto, M., Jia, D.M., Fukumitsu, K.I., Imoto, I., Kihara, Y., Hirohata, Y. and Otsuki, M.: Metabolic abnormalities in the genetically obese and diabetic Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rat can be prevented and reversed by alpha-glucosidase inhibitor. *Metabolism* 48:347-354 (2000)

Yoshikawa, M., Murakami, T., Yashiro, K. and Matzuda, H.: A potent alpha-glucosidase inhibitor with thiosugar sulfonium sulfate structure, from antidiabetic Ayurvedic medicine *Salacia reticulata*. *Chem Pharma Bull* 46:1339-1340 (1998)

김정상, 권정숙, 손건호, 장동재: 잔대추출물과 그를 함유한 혈당강하용 조성물. 대한민국 특허출원번호 10-2000-0065427 (2000a)

김정상, 권정숙, 손건호, 장동재: 모시대 추출물과 그를 함유한 혈당강하용 조성물. 대한민국 특허출원번호 10-2000-0065428 (2000b)

김현복 外: 뽕잎 아이스크림의 관능적 특성 및 혈당 상승 억제효과. 한국잡사학회지 41:129-134 (1999)

김혜경, 조동욱, 함영태: 울무겨 급여가 고지혈증 및 당뇨유발 백서의 지질대사와 당내성에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지 29: 140-146 (2000)

맹원재, 홍희옥, 송병춘: 현대인의 식생활과 건강. 건국대출판부, p 77 (2000)

박혜순: 비만의 평가와 치료. 1998년 한국식품영양과학회 춘계산업심포지움. (1998)

박금순, 박어진, 김향희: 녹차분말 농도에 따른 마요네즈의 품질 특성. 동아시아 식생활학회지 10: 411-418 (2000)

신덕규, 박찬현, 이윤주, 이용역: 울무쌀이 흰쥐의 체지방과 조직 변화에 미치는 영향. 한국유화학회지, 7:83-91 (1990)

이유찬: 2001년 국민건강영양조사 연계심층분석결과 발표. 보건복지부, 2004. 3.31.

홍석산, 권석형: 동아의 생리활성. 식품기술 11: 7-10 (1998)

부 록

A. 논문 실적

1. Kwon and Kim et al.: Anti-obesity effect of *Dioscorea nipponica* Makino with lipase-inhibitory activity in rodents. *Biosci Biotechnol Biochem* 67(7):1451-6 (2003)
2. Kim and Kim et al.: Inhibition of carbohydrate-digesting enzymes and amelioration of glucose tolerance by korean medicinal herbs. *J Food Sci & Nutr*. 7(1): 62-66 (2002)
3. Kwon, Chong Suk, Son, Kun Ho, Kim, Jong Sang: Effect of *Lonicera japonica* flower on body weight gain and glucose tolerance in rodents. *Food Sci and Biotechnol* (submitted)

B. 부채마의 식용 근거 자료

Anti-obesity Effect of *Dioscorea nipponica* Makino with Lipase-inhibitory Activity in Rodents

Chong-Suk KWON,² Ho Yong SOHN,² Sung Hee KIM,¹ Ji Hyun KIM,² Kun Ho SON,² Jeong Soon LEE,¹ Jin Kyu LIM,¹ and Jong-Sang KIM^{1,†}

¹Department of Animal Science and Biotechnology, Kyungpook National University, Taegu 702-701, S. Korea

²Department of Food Science and Nutrition, Andong National University, Andong 760-749, S. Korea

Received September 27, 2002; Accepted February 28, 2003

In the process of screening for pancreatic lipase inhibitors, which could be used as an anti-obesity measure, the methanol extract of *Dioscorea nipponica* Makino powder (DP) appeared to have potent inhibitory activity against porcine pancreatic lipase with an IC₅₀ value of 5–10 µg/ml, where the enzyme activity was assayed by using 4-methylumbelliferyl oleate as a substrate. Further purification of active components present in the herb generated dioscin that belongs to the saponin family. Dioscin and its aglycone, diosgenin, both suppressed the time-dependent increase of blood triacylglycerol level when orally injected with corn oil to mice, suggesting their inhibitory potential against fat absorption. Sprague-Dawley rats fed on a high-fat diet containing 5% *Dioscorea nipponica* Makino and 40% beef tallow gained significantly less body weight and adipose tissue than control animals fed on a high-fat diet alone during an 8-week experimental period ($P < 0.05$).

Key words: obesity; *Dioscorea nipponica*; lipase inhibition; dioscin; diosgenin

Obesity is a chronic, stigmatized and costly disease that is rarely curable and is increasing in prevalence throughout most of the world.¹⁾ The inhibition of dietary fat absorption has been reported to be one of the effective ways of managing obesity. For instance, the application of a strong lipase inhibitor such as Orlistat, a hydrogenated derivative of lipostatin derived from *Streptomyces toxicicini*, has proven to be used successfully for the treatment of obesity.²⁾ In our preliminary study, about 200 medicinal herbs were tested for their inhibitory activity against porcine pancreatic lipase by using an assay system containing 4-methylumbelliferyl oleate as a substrate.³⁾ The methanol extract of *Dioscorea nipponica* Makino showed the strongest inhibitory effect against pancreatic lipase. *Dioscorea nipponica* Makino, a perennial herb growing in mountainous areas of the

Korean peninsula, has long been used as a folk medicine for asthma, rheumatoid arthritis, bronchitis, and other diseases in this country. In the present study, the active component from the herb was purified, and its effect on the elevation of plasma triacylglycerol level in mice caused by the oral administration of a lipid emulsion was examined. The effects of the powder on the body weight gain, amount of adipose tissue, and blood parameters in rats fed on a high-fat diet for 8 weeks were also investigated.

Materials and Methods

Materials. Porcine pancreatic lipase (type VI-S), 4-methylumbelliferyl oleate (4-MU oleate), and cellulose were obtained from Sigma (St. Louis, MO, U.S.A.). Assay kits for triacylglycerol, and total-, HDL-, and LDL-cholesterol were also purchased from Sigma. Beef tallow was from Samwoo (Seoul, Korea). Vitamin and mineral mixtures were from Teklad (Madison, WI, U.S.A.). All other chemicals were of reagent grade. The root of *Dioscorea nipponica* Makino was obtained from Uisung Medicinal Farm (Uisung, Korea), freeze-dried, powdered, and kept at -20°C . This study was approved by the committee of Andong National University for the care and use of laboratory animals.

Animals and diet composition. Male ICR mice (8-week old) and male Sprague Dawley (SD) rats (7-week old) were obtained from Korea Experimental Animal Center (Umsung, Korea), and housed for 1 week under a 12-hr light:dark cycle (light 0700–1900 h) in a temperature- and humidity-controlled room ($22 \pm 1^{\circ}\text{C}$). The animals were given free access to the diet and water. The ICR mice were given standard feed (Purina, Korea), and the SD rats were fed on a standard feed for 1 week and then on experimental diet whose composition is shown in Table 1.

[†] To whom correspondence should be addressed. Tel: +82-53-950-5752; Fax: +82-53-950-6750; E-mail: vision@knu.ac.kr

Abbreviations: DN, *Dioscorea nipponica* M.; MU oleate, 4-methylumbelliferyl oleate; ANOVA, analysis of variance; VLDL, very-low-density-lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein; HDL, high-density lipoprotein

Table 1. Composition of the Experimental Diets

Component	Control	2% DN	5% DN
	g/kg of diet		
Beef tallow	400	400	400
Casein	300	300	300
Starch	100	84.3	60.8
Sugar	100	100	100
Cellulose	50	45.7	39.2
Vitamin mixture	10	10	10
Mineral mixture	35	35	35
Choline	2	2	2
Methionine	3	3	3
<i>Dioscorea nipponica</i> powder	0	20	50

Measurement of the lipase-inhibitory activity. The inhibitory activity of each sample against pancreatic lipase was measured by using 4-MU oleate as a substrate.^{3,4)} The reaction mixture consisted of 0.1 ml of 0.1 mM 4-MU oleate, 0.04 ml of a McIlvane buffer (0.1 M citrate-Na₂HPO₄, pH 7.4) and 0.01 ml of a sample solution. Adding 0.05 ml of lipase, all in a final volume of 0.2 ml, started the reaction. After incubating at 37°C for 20 min, 1 ml of 0.1 N HCl and 2 ml of 0.1 M sodium citrate were each added. The amount of 4-MU released by the lipase was measured fluorometrically at an excitation wavelength of 320 nm and an emission wavelength of 450 nm. The inhibitory activity (%) was calculated as $(1 - A/B) \times 100$, where A and B represent the activities of the enzyme with and without sample. IC₅₀, the concentration of a tested compound giving 50% inhibition of the enzyme activity, was evaluated from the least-square regression line of the plot of the logarithm of concentration vs. the inhibitory activity.

Purification and characterization of the inhibitor(s). Three kilograms of *Dioscorea nipponica* root were extracted three times with five liters each of methanol. After filtration, the extract was evaporated *in vacuo* to give 115.1 g of a dry sample. The evaporated sample (25 g) was loaded into a silica gel column (90 × 6 cm, silica gel 900 g; Merck 7734, Darmstadt, Germany), and eluted with chloroform/methanol/water (7/3/1). From 60 min after starting the elution, eight fractions of 2 l each in volume were collected. The 5th fraction was further fractionated by silica gel chromatography eluted with ethylacetate/methanol (98/2 → 95/5). Sixty fractions of 500 ml each were collected. The fractions from 35th to 50th showed strong inhibitory activity against pancreatic lipase. One of those fractions was dioscin as analyzed by IR spectroscopy (Perkin-Elmer 283B, Shelton, CT, U.S.A.) and NMR spectroscopy (Bruker AMX 300, Rheinstetten, Germany).

Measurement of the plasma triacylglycerol level after the oral administration of a lipid emulsion to rats. Lipid emulsions were prepared with 6 ml of corn oil, 80 mg of cholic acid, 2 mg of cholesteryl oleate, and 6 ml of saline in the absence or presence of dioscin or diosgenin.^{5,6)} After male ICR mice weighing 40 g had been fasted overnight, they were orally administered with 200 μl of a lipid emulsion. Blood samples were taken from the tail vein at 0, 0.5, 1, 2, 3 and 4 hrs after administering the lipid emulsion with or without dioscin or diosgenin. The plasma triacylglycerol level was determined with a Triglyceride E-test kit (Sigma).

Evaluation of the body and several adipose tissue weights, plasma triacylglycerol and total cholesterol in rats fed on the high-fat diet for 8 weeks. After adaptation to the high-fat diet and laboratory conditions for 1 week, male Sprague-Dawley rats (7-week old, weighing 220–240 g) were divided into three groups, each group matched for its body weight. The control group was given only the high-fat diet; the other group was given the high-fat diet with *Dioscorea nipponica* root powder mixed in at a concentration of 2% or 5% (Table 1). The body weight was measured once weekly. After 8 weeks of the *Dioscorea nipponica* powder treatment, the animals were killed; adipose tissues from the subcutaneous, perirenal, inguinal, and epididymal areas were collected and their weights measured. Feces were collected for 3 days immediately before sacrificing the rats, dried, and powdered. The fecal fat content was measured by the Soxhlet extraction method.⁷⁾ Blood was taken by heart puncture just prior to killing. The blood samples were centrifuged, and plasma was separated and frozen at -80°C until needed for the assay. The plasma triglyceride (TG), total cholesterol (TC), HDL-cholesterol, VLDL-cholesterol, aspartate aminotransferase (GOT) and alanine aminotransferase (GPT) activities were measured by kits from Sigma. The atherogenic index (AI) was calculated as follows: $AI = (\text{total cholesterol} - \text{HDL cholesterol}) / \text{HDL cholesterol}$.

HPLC analysis of dioscin. The root of *Dioscorea nipponica* was dried for 7 days at room temperature and then powdered in a homogenizer. Two grams of the powder was extracted with 100 ml of methanol by a sonic vibrator (Branson 3210R-DTH, Branson, U.S.A.) at 50°C for 8 hr. Dioscin, prosapogenin A and prosapogenin C in the root extract of *Dioscorea nipponica* were determined by a HPLC system comprising an SCL-10A system controller, LC-10AD pump and SPD-10A UV detector (Shimadzu, Japan). The analytical column was a Nova-Pak C₁₈ type (Waters, U.S.A.). The mobile phase for HPLC consisted of 60% acetonitrile (v/v) with a flow rate of 1 ml/min. The column temperature was maintained at

28–30°C. A 20- μ l volume of the final extract was injected into the HPLC system, and the UV absorption at 218 nm was recorded for a saponin analysis. The retention times and detection limits for dioscin, prosapogenin A and prosapogenin C were 5.7, 7.6 and 13.4 min, and 20, 15, and 15 μ g/ml under these analytical conditions, respectively.

Statistical analyses. Data are expressed as the mean \pm s.d. and were analyzed by one-way ANOVA and Duncan's multiple-range test; a *P*-value of <0.05 is considered significant.

Results

Inhibitory activity of dioscin and its derivatives against pancreatic lipase

The methanol extract of DN root inhibited the lipase activity in a dose-dependent manner in the assay system with 4-MU oleate as a substrate (Fig. 1). The lipase activity was inhibited by 50% at the concentration of 10 μ g/ml of the methanol extract of the herb. The inhibitor(s) from the methanol extract of the herb was purified by sequential silica gel chromatography, using chloroform/methanol/water (7:3:1, lower layer) and then ethylacetate/methanol mixtures (gradient) as the eluent. The purified inhibitor was identified as dioscin by IR, and ¹H- and ¹³C-NMR spectroscopic analyses.

Mp 289–292°C; [α]_D²⁵ –110.5° (c, 0.3 in MeOH); IR (KBr, cm⁻¹): 3420, 1645, 1100–1000, 920, 900, 863, 835 (900 > 920, 25(*R*)-spiroketal), 810; ¹H-NMR (300 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 0.68 (d, *J* = 5.2 Hz), 0.82 (s), 1.05 (s), 1.12 (d, *J* = 6.9 Hz), 1.60 (d, *J* = 6.9 Hz),

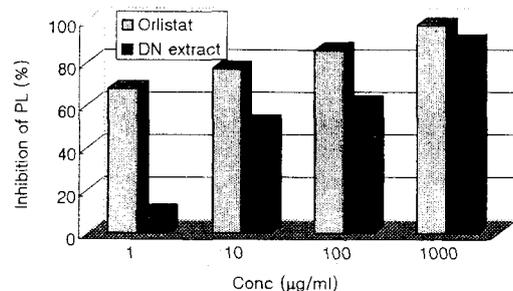


Fig. 1. Inhibition of Porcine Pancreatic Lipase (PL) by the *Dioscorea nipponica* (DN) Extract.

The inhibitory activity of the methanol extract of DN and of Orlistat against porcine pancreatic lipase was measured at concentrations of 1, 10, 100, and 1000 μ g/ml.

1.74 (d, *J* = 6.2 Hz), 4.92 (d, *J* = 6.7 Hz), 5.32 (br d, *J* = 4.6 Hz), 5.80 (s), 6.34 (s); ¹³C-NMR (75.5 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 37.4, 29.9, 78.0, 38.8, 140.7, 121.5, 32.0, 31.6, 50.6, 37.0, 20.9, 39.8, 40.3, 56.5, 32.2, 80.9, 62.8, 16.2, 19.3, 41.8, 14.8, 109.0, 31.7, 29.1, 30.4, 66.7, 17.1, 100.1, 79.5, 76.5, 77.7, 77.6, 61.8, 101.7, 72.1, 72.2, 73.9, 70.1, 18.2, 102.7, 72.4, 72.5, 73.6, 69.2, 18.3.

Dioscin and its derivatives had been isolated from DN in the previous study.⁸⁾ We therefore examined the inhibitory activities of dioscin and its family against the lipase. Dioscin, diosgenin, gracillin, prosapogenin A (diosgenin-3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside) and C (diosgenin-3-*O*- β -D-glucopyranoside) each showed strong inhibitory activity against porcine pancreatic lipase, with respective IC₅₀ values of 20.0, 28.0, 28.9, 1.8 and 42.2 μ g/ml that caused 50% inhibition of the enzyme (Table 2).

Effect of dioscin and diosgenin on the plasma triacylglycerol level after orally administering a lipid emulsion to mice

Figures 2 and 3 show the time-course characteristics of the plasma triacylglycerol concentration when a corn oil suspension with or without dioscin and diosgenin was orally administered to mice. At 2, 3, and 4 hr after orally administering the lipid emulsion, the elevation of the plasma triacylglycerol concentration has been significantly reduced by dioscin (100 mg/kg bw) and diosgenin (100 mg/kg bw) in the mice. The

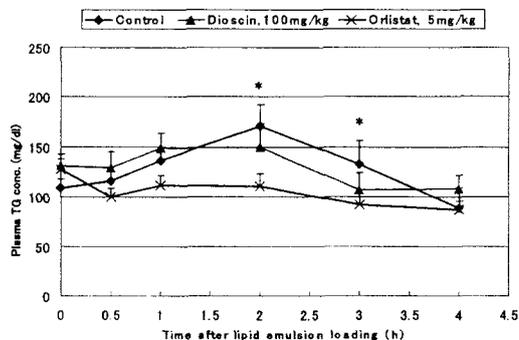


Fig. 2. Effect of Dioscin on Elevation of the Plasma Triacylglycerol (TG) Level after Oral Administration of a Lipid Emulsion.

The plasma TG concentration at the times marked with an asterisk are significantly different between the control and dioscin (100 mg/kg) groups (*P* < 0.05).

Table 2. Lipase Inhibitory Activity of the Saponins Isolated from *Dioscorea nipponica*

	Dioscin	Diosgenin	Gracillin	Pro-sapogenin A	Pro-sapogenin C
IC ₅₀ (μ g/ml)	20.0	28.0	28.9	1.8	42.2

peak plasma triacylglycerol concentration was also reduced by dioscin and diosgenin.

Effects of the Dioscorea nipponica powder on the food consumption, and body and adipose tissue weights of rats fed on a high-fat diet

The mean food consumption per week per rat was not significantly different between the high-fat group and high-fat plus 2% or 5% DN diet group (Fig. 4). The change in body weight of the groups during the experimental period of 8 weeks is shown in Fig. 5.

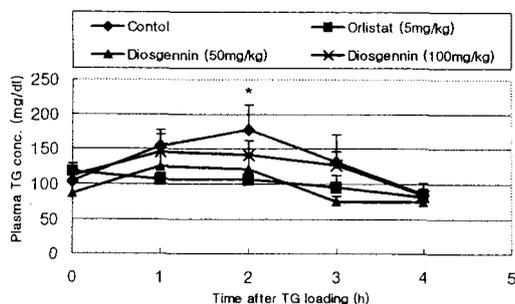


Fig. 3. Effect of Diosgenin on Elevation of the Plasma Triacylglycerol (TG) Level after Oral Administration of a Lipid Emulsion.

The plasma TG concentrations at the times marked with an asterisk are significantly different between the control and diosgenin (100 mg/kg) groups ($P < 0.05$).

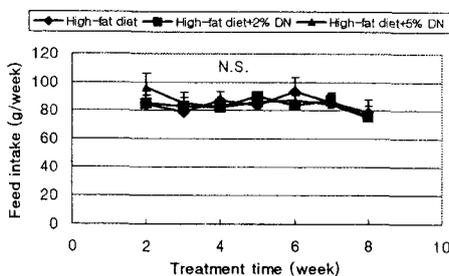


Fig. 4. Feed Intake of the Control and Treatment Groups.

The rats in the control group were fed on the high-fat diet alone, whereas those in the treatment group were fed on the high-fat diet containing 5% *Dioscorea nipponica* (DN) powder. There was no significant difference in diet intake between the groups ($P < 0.05$). N.S. represents 'not significant'.

Feeding the high-fat diet plus 5% DN powder significantly suppressed the body weight gain when compared to the control group fed on the high-fat diet alone during the experimental period. The amounts of subcutaneous, perirenal, and epididymal fat were significantly lower in the group fed on the diet containing 5% DN powder than in the control group (Table 3).

Fecal fat excretion

Fecal samples from rats fed on the control and experimental diets containing 2% or 5% DN powder were collected for 3 days prior to sacrifice. The fecal fat excretion of the experimental groups fed with the 2% and 5% DN powder were significantly higher than that of the control group, suggesting that the DN powder at the 2% or 5% level prevented dietary fat absorption in the rats (Table 4).

Effect of the Dioscorea nipponica intake on the plasma parameters after 8 weeks of treating lean rats fed on the high-fat diet

The plasma concentrations of TG, cholesterol, VLDL-cholesterol, and LDL-cholesterol were significantly lower in the group fed on the diet containing 2% or 5% DN powder, than in the control group fed on the high-fat diet alone. Furthermore, the DN powder increased the level of HDL-cholesterol, leading to an improvement in the atherogenic index (Table 5).

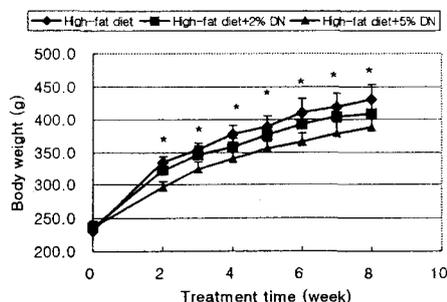


Fig. 5. Effect of *Dioscorea nipponica* Powder (DN) on the Body Weight Gain of Rats Fed on the High-fat Diet for Eight Weeks.

The body weight between the control and 5% DN powder groups was significantly different at all times from the 2nd to 8th week ($P < 0.05$).

Table 3. Effect of *Dioscorea nipponica* Powder (DN) on the Body Weight Gain and Body Fat in Rats Fed on the High-fat Diet for 8 Weeks

Group	Body weight gain (g)	Subcutaneous fat (g)	Epididymal fat (g)	Inguinal fat (g)	Perirenal fat (g)	Total body fat (g)
Control	192.7 ± 31.6 ^{a*}	12.9 ± 2.7 ^a	8.3 ± 2.0 ^a	6.5 ± 2.0 ^{ns}	6.8 ± 1.6 ^a	38.6 ± 9.4 ^a
2% DN	161.8 ± 18.4 ^b	11.4 ± 1.4 ^{ab}	6.8 ± 1.2 ^{ab}	5.0 ± 1.2 ^{ns}	5.6 ± 1.0 ^{ab}	32.4 ± 4.7 ^{ab}
5% DN	140.0 ± 20.8 ^b	9.8 ± 2.0 ^b	5.6 ± 0.8 ^b	4.8 ± 1.1 ^{ns}	4.6 ± 1.3 ^b	27.6 ± 5.5 ^b

* Values not sharing a common superscript within the same column are significantly different from each other ($P < 0.05$). ns represents statistically 'not significant'.

Table 4. Effect of *Dioscorea nipponica* (DN) Intake on the Fecal Fat Excretion

Group	Control	2% DN	5% DN
Fecal fat excretion (mg/day)*	71 ± 5 ^a	166 ± 43 ^b	189 ± 58 ^b

* Values not sharing a common superscript letter are significantly different from each other ($P < 0.05$).

Table 5. Effect of *Dioscorea nipponica* powder (DN) Intake on the Blood Parameters in Rats

Plasma parameter	Control	2% DN	5% DN
Total triacylglycerol (mg/dl)	59 ± 14 ^{**}	35 ± 9 ^b	41 ± 11 ^b
Total cholesterol (mg/dl)	110 ± 13 ^a	93 ± 6 ^b	82 ± 9 ^b
HDL-cholesterol (mg/dl)	16 ± 2 ^a	21 ± 3 ^b	22 ± 2 ^b
VLDL-cholesterol (mg/dl)	12 ± 3 ^a	7 ± 2 ^b	8 ± 2 ^b
Atherogenic index	6.1 ± 1.6 ^a	3.6 ± 0.9 ^b	2.8 ± 0.6 ^b
GOT (Karmen/ml)	62.8 ± 15.9	64.3 ± 6.1	63.1 ± 6.4
GPT (Karmen/ml)	17.8 ± 8.2	20.4 ± 7.0	18.1 ± 9.9

* Values not sharing a common superscript letter within the same row are significantly different from each other ($P < 0.05$).

Quantification of dioscin in *Dioscorea nipponica*

The content of dioscin in the root extract of *Dioscorea nipponica* was about 2.7% (w/w), with prosopogenin A and prosapogenin C being below the detection limit under the HPLC conditions used.

Discussion

Obesity is associated with the development of type 2 diabetes, coronary heart disease, an increased incidence of certain forms of cancer, respiratory complication, and osteoarthritis of the large and small joints.⁹ The strategy for preventing and/or treating obesity includes the suppression of dietary intake, increased thermogenesis, and inhibition of adipocyte differentiation. A drug for inhibiting the absorption of energy nutrients, in particular, fat, has been successfully launched on the market. Orlistat, a hydrogenated derivative of a bacterial lipase inhibitor, is known to inhibit pancreatic lipase, thus decreasing TG digestion and body weight gain.¹⁰ Dioscin and diosgenin, the saponins present in DN, showed a strong inhibitory effect on pancreatic lipase and suppressed the time-dependent increase of plasma TG concentration in mice that had been orally injected with corn oil, although its effect was lower than that of Orlistat, a prescription drug. Prosapogenin A, diosgenin 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside, has good potential to suppress

dietary TG digestion and absorption as it showed the strongest inhibitory activity against pancreatic lipase among the compounds tested; however, its effect on the plasma TG increase after corn oil load could not be evaluated due to the limited amount of the compound. Considering relative abundance as well as lipase inhibitory activity, dioscin seems to have been major compound exerting the lipase inhibitory action in *Dioscorea nipponica*. Prosapogenin A and C, which were formerly known to be present in the herb,⁸ could not be detected under our HPLC conditions. However, we do not exclude the possibility that prosapogenin A in the herbal extract might have contributed to the lipase inhibition and exerted anti-obesity activity as it showed the strongest lipase inhibitory activity among the saponins tested.

Since the *in vitro* study demonstrated strong lipase inhibitory activity of the extract of *Dioscorea nipponica* and its components such as dioscin, we continued to evaluate the effect of the DN powder on obesity in rats induced by feeding a high-fat diet. The inclusion of the DN powder at the 5% level in the diet significantly suppressed the body weight increase of rats fed on a high-fat diet containing 40% beef tallow for 8 weeks. However, the use of the herb powder at the 2% level was only marginally effective in suppressing the body weight gain, although its level was enough to affect the blood parameters toward a reduced atherogenic risk (Table 5). The inhibition of body weight gain did not depend upon a decreased food or energy intake, because there was no significant difference in diet intake between the control and experimental groups, but was caused by preventing and/or delaying of fat absorption. As shown in Table 4, the intake of DN powder increased the excretion of fat through the feces. This observation further supports the assumption that the weight reduction from the herb intake was caused by the decreased fat absorption. The administration of the DN powder at the 5% level in the diet also significantly reduced the amount of fat in the subcutaneous, inguinal, and perirenal tissues in the rats, this being consistent with the reduced body weight gain of experimental group. Long-term feeding of the DN powder to rats caused significant changes in the blood parameters, including decreased levels of plasma triacylglycerol, and total, LDL- and VLDL-cholesterol, but an increased HDL-cholesterol level. All blood parameters in the rats fed on the diet containing the DN powder at the 2% and 5% levels indicated an improvement in the atherogenic index (Table 5). It seems that the saponins present in DN were responsible for preventing high-fat diet-induced obesity, because they were effective in inhibiting the triacylglycerol absorption by the mice injected with corn oil. Han and co-workers have also found that saponins prevented the high-fat diet-induced increase in parametrial adipose tissue weight by inhibiting the

intestinal absorption of dietary fat *via* inhibition of the pancreatic lipase activity.^{5,6)}

It has been reported that herb saponins caused hemolysis and cytotoxicity. In particular, dioscin and diosgenin have been shown to be cytotoxic against several cancer cell lines.¹¹⁾ No sign of sickness and erythrocyte hemolysis in the groups of experimental rats was apparent for 8 weeks in this study.

In conclusion, the DN powder was effective for preventing both the body and adipose tissue weight gains in rodents induced by a high-fat diet.

Acknowledgments

This study was supported by the Technology Development Program for Agriculture and Forestry, Ministry of Agriculture and Forestry, Republic of Korea (2001).

References

- 1) Bray, G. A., and Tartaglia, L. A., Medicinal strategies in the treatment of obesity. *Nature*, **404**, 672–677 (2000).
- 2) Yamamoto, M., Shimura, S., Itoh, Y., Ohsaka, T., Egawa, M., and Inoue, S., Anti-obesity effects of lipase inhibitor CT-II, an extract from edible herbs, *Nomame herba*, on rats fed a high-fat diet. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, **24**, 758–764 (2000).
- 3) Kawaguchi, K., Mizuno, T., Aida, K., and Uchino, K., Hesperidin as an inhibitor of lipases from porcine pancreas and *Pseudomonas*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **61**, 102–104 (1997).
- 4) Bitou, N., Ninomiya, M., Tsujita, T., and Okuda, H., Screening of lipase inhibitors from marine algae. *Lipids*, **34**, 441–445 (1999).
- 5) Han, L. K., Kimura, Y., Kawashima, M., Takaku, T., Taniyama, T., Hayashi, T., Zheng, Y. N., and Okuda, H., Anti-obesity effects in rodents of dietary teasaponin, a lipase inhibitor. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, **25**, 1459–1464 (2001).
- 6) Han, L. K., Zheng, Y. N., Xu, B. J., Okuda, H., and Kimura, Y., Saponins from *Platycodi Radix* ameliorate high fat diet-induced obesity in mice. *J. Nutr.*, **132**, 2241–2245 (2002).
- 7) AOAC, Official methods of analysis of AOAC International, ed. Cunniff, P., Ch. 31, p. 10 (1995).
- 8) Son, K. H., Jung, K. Y., and Do, J. C., Saponin constituents from the Rhizomes of *Dioscorea quinqueloba*. *Kor. J. Pharmacogn.*, **24**, 187–191 (1993).
- 9) Kopelman, P. G., Obesity as a medical problem. *Nature*, **404**, 635–643 (2000).
- 10) Bray, G. A., A concise review on the therapeutics of obesity. *Nutrition*, **16**, 953–960 (2000).
- 11) Hu, K., and Yao, X., Protodioscin (NSC-698 796): Its spectrum of cytotoxicity against sixty human cancer cell lines in an anticancer drug screen panel. *Planta Med.*, **68**, 297–301 (2002).

Inhibition of Carbohydrate-Digesting Enzymes and Amelioration of Glucose Tolerance by Korean Medicinal Herbs

Sung Hee Kim, Chong-Suk Kwon*, Jung Soon Lee, Kun Ho Son*, Jin Kyu Lim and Jong-Sang Kim†

Department of Animal Science and Biotechnology, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea

*Department of Food Science and Nutrition, Andong National University, Andong 760-749, Korea

Abstract

As inhibitors of carbohydrate-digesting enzymes can prevent hyperglycemia that is known to cause many macrovascular complications, they may prove a useful adjunct to hypocaloric diets in patients with type 2 diabetes and obesity. Inhibitory activities of two hundred and fifteen kinds of medicinal herb extracts against α -glucosidase (EC 3.2.1.20) and α -amylase (EC 3.2.1.1) have been investigated *in vitro*. *Adenophora triphylla*, *Aneilema keisak*, and *Morus bombycis* significantly suppressed rat intestinal α -glucosidase activity *in vitro*. Porcine pancreatic amylase was efficiently inhibited by methanol extracts of *Epimedium koreanum*, *Campsis grandiflora* and *Salvia plebeia*. Methanol extract of *Epimedium koreanum* among the medicinal herbs tested showed the strongest inhibitory activity against porcine pancreatic α -amylase with 0.1 mg/mL of IC₅₀. The herb extract also improved glucose tolerance in ICR mice when loaded with 0.9 g soluble starch per kg body weight. Taken together, *Epimedium koreanum* merits further evaluation as a therapeutic measure.

Key words: α -glucosidase, α -amylase, inhibitory activity, *Epimedium koreanum*

INTRODUCTION

Despite periods of feeding and fasting, plasma glucose remains in a narrow range between 4 and 7 mM in normal individuals. This tight control is governed by the balance between glucose absorption from the intestine, production by the liver and uptake and metabolism by peripheral tissues (1). In diabetic or insulin-resistant patients plasma glucose level remains high, resulting in the development of macrovascular complications such as heart disease, kidney failure, blindness and even loss of limbs (2). Inhibition of carbohydrate-digesting enzymes such as α -glucosidase and amylase has been recognized as one of major tools to ameliorate hyperglycemia in diabetic and obese patients. α -Glucosidase is an enzyme that catalyzes the final step in the digestive process of carbohydrates, and hence α -glucosidase inhibitors could retard the use of dietary carbohydrates to suppress postprandial hyperglycemia (PPHG) (3). α -Glucosidase inhibitors such as acarbose, miglitol and voglibose are known to reduce PPHG primarily by interfering with the carbohydrate-digesting enzymes and delaying glucose absorption (2). Amylases, endoglucanases that catalyze the hydrolysis of internal α -1,4-glucosidic linkages in starch and other related polysaccharides, have also been target for suppression of PPHG (4). In fact, inhibitors of α -amylases are expected to be better suppressor of PPHG, since they would not result in an ab-

normal accumulation of maltose that causes side effects such as abdominal pain, flatulence, diarrhea, and soft feces in the colon (5). Although several drugs targeted for carbohydrate-hydrolyzing enzymes are in clinical use, it is necessary to have a large inhibitor pool as diabetic patients can develop resistance to current regimens. Medicinal herbs, which are widely distributed in the plant kingdom have been used since ancient times by physicians and laymen to treat a great variety of human diseases such as diabetes, coronary heart disease, and cancers (5). In this study we investigated α -glucosidase and α -amylase inhibitory activities of some domestic medicinal herbs to evaluate their potential as dietary supplements for diabetic or obese people.

MATERIALS AND METHODS

Porcine pancreatic α -amylase, *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside, and α -nitrophenyl- α -D-maltopentoglycoside were purchased from Sigma (St Louis, MO, USA), and α -glucosidase was prepared from rat intestinal powder (Sigma) as described elsewhere (6). Acarbose (purity: 96.1 %) was kindly provided by Bayer Korea Ltd. (Seoul, Korea).

Preparation of test sample

Medicinal herbs were obtained from the Medicinal Herb Experiment Station located in Kyungpook province of

†Corresponding author. E-mail: vision@knu.ac.kr
Phone: 82-53-950-5752. Fax: 82-53-950-6750

Korea and extracted with ten volumes of methanol, followed by rotary evaporation to dryness. Herb extracts were dissolved in dimethylsulfoxide (DMSO) at the concentration of 5 mg per mL and used as test samples.

Assays of α -glucosidase and amylase inhibitory activities

The α -glucosidase inhibitory assay was performed by the chromogenic method described by Watanabe (3) using a readily available rat intestinal enzyme. Briefly, α -glucosidase (0.7 U, Sigma) was dissolved in 100 mM phosphate buffer (pH 7.0) containing 2 g/L bovine serum albumin and 0.2 g/L NaN_3 and used as an enzyme solution. 5 mM *p*-Nitrophenyl- α -D-glucopyranoside in the same buffer (pH 7.0) was used as a substrate solution. The 50 μL of enzyme solution and 10 μL of test compounds dissolved in dimethylsulfoxide at the 5 mg/mL concentration were mixed in a well of a microtiter plate and measured for titer (Abs 405 nm) at zero time with a microplate reader (model 550, Biorad, Hercules, California, USA). After incubation for 5 min, the substrate solution (50 μL) was added and incubated for another 5 min at room temperature. The increase in absorbance from zero time was measured. Inhibitory activity was expressed as 100 minus relative absorbance difference (%) of test compounds to absorbance change of the control where test solution was replaced by the carrier solvent. α -Amylase inhibitory activity was assayed in the same way as described for the α -glucosidase inhibitory assay except that porcine pancreatic amylase (100 U, Sigma) and blocked *p*-nitrophenyl- α -D-maltopentoglycoside were used as enzyme and substrate, respectively.

Glucose tolerance test

A glucose tolerance test was conducted after overnight food deprivation. Soluble starch (0.9 g) was dissolved in 5 mL warm water with and without 25 mg test sample. Dissolved starch was intubated into ICR mice, and peripheral blood was sampled at 0, 30, 60, 90, 120 min. Plasma concentrations of glucose were determined in triplicate using a commercial kit (Sigma Procedure No. 315, St. Louis, MO) and read at 505 nm using spectrophotometer (BU 7400, Beckman Instruments, Fullerton, CA) (7).

RESULTS

Edible parts of two hundred and fifteen medicinal herbs raised in Korea were extracted with methanol (10 mL/g fresh weight). The extracts were rotary-evaporated to dryness, and redissolved in dimethylsulfoxide at the concentration of 5 mg per mL. The inhibitory activities of the sample extracts against rat intestinal α -glucosidase and porcine pancreatic α -amylase are shown in Table 1. Although most of sample extracts were not effective in in-

hibiting α -glucosidase, methanol extract of *Adenophora triphylla*, *Aneilema keisak*, and *Morus bombycis* significantly suppressed rat intestinal α -glucosidase activity *in vitro*. The extract of *Epimedium koreanum* showed the strongest inhibitory activity against α -amylase. *Campsis grandiflora* and *Salvia plebeia* also showed moderate inhibitory activity against the enzyme activity although their inhibitory activities were less potent than that of *Epimedium koreanum*. However, none of the samples inhibited both enzyme activities simultaneously.

Epimedium koreanum repressed α -amylase activity in a dose-dependent manner with 0.1 mg/mL of IC_{50} , a concentration causing 50% inhibition of enzyme activity (Fig. 1). However, its inhibitory activity against α -amylase was one tenth of that of Acarbose, a prescription drug and a potent α -amylase inhibitor, with 0.01 mg/mL of IC_{50} (data not shown).

Time-dependent increase in plasma glucose concentration in mice by the intubation of starch solution was significantly suppressed by the extract of *Epimedium koreanum*, especially at 30 min after starch feeding (Fig. 2).

DISCUSSION

Non-insulin dependent diabetes mellitus (NIDDM) accounts for 90~95% of all diabetes. This heterogeneous disorder afflicts an estimated 6% of the adult population in Western society; its worldwide frequency is expected to continue to grow by 6% per annum, potentially reaching a total of 200~300 million cases in 2010 (8). The main force driving this increasing incidence is a staggering increase in obesity, the single most important contributor to the pathogenesis of diabetes (8). Therefore developing the measures to prevent obesity is essential for lessening the increasing rate of diabetes. One of the main features observed commonly in obesity and NIDDM is postprandial hyperglycemia. Such high blood glucose concentration accelerates lipogenesis and fat accumulation through hypersecretion of insulin as well as the development of chronic complications such as retinopathy and nephropathy (9). At present, therapy for NIDDM or type 2 diabetes relies mainly on several approaches intended to reduce the hyperglycaemia itself: sulphonylureas (and related insulin secretagogues), which increase insulin release from pancreatic islets; metformin, which acts to reduce hepatic glucose production; peroxisome proliferator-activated receptor- γ agonists (thiazolidinediones), which enhance insulin action; α -glucosidase inhibitors, which interfere with gut glucose absorption; and insulin itself, which suppresses glucose production and augments glucose utilization (8).

The present study indicates that some medicinal herbs

Table 1. Inhibitory activities of medicinal herb extracts against rat intestinal α -glucosidase and porcine pancreatic amylase

Scientific name	α -Glucosidase inhibitory activity (%)	α -Amylase inhibitory activity (%)	Scientific name	α -Glucosidase inhibitory activity (%)	α -Amylase inhibitory activity (%)
<i>Acanthopanax sessiliflorus</i> (leaves)	-2	-32	<i>Cichorium intybus</i> L.	-22	-94
<i>Acanthopanax sessiliflorus</i> (frutes)	13	-6	<i>Cirsium japonicum</i>	-55	-47
<i>Achillea sibirica</i>	-10	-58	<i>Cnidium officinale</i>	-13	-52
<i>Achyranthes japonica</i>	-29	-42	<i>Codonopsis pilosula</i>	-50	43
<i>Aconitium carmichaeli</i>	-14	-42	<i>Coix lachryma-jobi</i>	-38	-36
<i>Acorus calamus</i> (leaves)	-47	-97	<i>Commelina communis</i> (flower)	-4	-28
<i>Actinidia arguta</i> (leaves)	-12	-60	<i>Commelina communis</i> (leaves)	-14	-35
<i>Adenophora triphylla</i>	70	-24	<i>Convallaria keiskei</i>	12	-21
<i>Agastache rugosa</i>	-31	14	<i>Convallaria keiskei</i>	21	-22
<i>Agrimonia pilosa</i>	-17	-17	<i>Cyperus rotundus</i>	-3	-47
<i>Akebia quinata</i> (leaves)	-38	19	<i>Cyperus rotundus</i> (seed)	-9	11
<i>Allium senescens</i> L.	3	-51	<i>Dendrobium moniliforme</i>	-20	-34
<i>Allium thunbergi</i>	-11	-39	<i>Dianthus chinensis</i>	-10	-61
<i>Allium tuberosum</i>	-4	-56	<i>Dianthus superbus</i>	-4	-64
<i>Allium victorialis</i>	4	-2	<i>Dictamnus dasycarpus</i>	-3	16
<i>Althaea rosea</i>	-15	-50	<i>Dioscorea batatas</i>	-11	-19
<i>Anemema keisak</i>	83	-32	<i>Dioscorea nipponica</i>	-57	-30
<i>Anemarrhena asphodeloides</i>	-40	-75	<i>Disporum sessile</i>	-18	41
<i>Angelica autiloba</i>	-3	-39	<i>Duchesnea chrysantha</i>	-20	-3
<i>Angelica dahurica</i> (leaves)	10	-33	<i>Echinops setifer</i>	8	-16
<i>Angelica gigas</i> (leaves)	-33	-81	<i>Elsholtzia splendens</i>	-33	18
<i>Angelica tenuissima</i>	7	-45	<i>Epimedium koreanum</i>	-13	86
<i>Anglelica gigas</i> (radis)	-11	-13	<i>Episetum hyemale</i>	2	-53
<i>Anglelica gigas</i> (frutes)	-5	-23	<i>Euphorbia pekinensis</i>	5	-45
<i>Aquilegia buergeriana</i>	-21	8	<i>Euphorbia pekinensis</i> (leaves)	-11	-17
<i>Aralia continentalis</i> (frutes)	-2	-43	<i>Ficus carica</i>	-19	-6
<i>Aralia continentalis</i> (leaves)	-7	-48	<i>Ficus carica</i> (leaves)	-29	-8
<i>Aralia continentalis</i> (seed)	15	-52	<i>Foeniculum vulgare</i>	-15	-17
<i>Aralia elata</i>	-7	-14	<i>Forsythia viridissima</i>	-12	1
<i>Arctium lappa</i>	-33	-73	<i>Geranium sibiricum</i>	-29	-81
<i>Arisaema amurense</i>	-4	-37	<i>Geranium sibiricum</i> (leaves)	-8	-56
<i>Artemisia capillaris</i>	-19	-54	<i>Geum japonicum</i>	-8	-17
<i>Artemisia capillaris</i> (leaves)	-16	-27	<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	-10	-30
<i>Artemisia keiskeana</i>	-36	8	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> (seed)	-28	-22
<i>Artemisia melini</i>	-32	23	<i>Gondrea</i>	-36	-8
<i>Artemisia princeps</i>	-13	-55	<i>Gossypium indicum</i> (leaves)	-67	-75
<i>Aruncus dioicus</i>	-27	13	<i>Gymnaster koraiensis</i>	1	-39
<i>Asparagus cochinchinensis</i>	21	-37	<i>Gynostemma pentaphyllum</i>	-8	-32
<i>Asparagus oligoclonos</i>	7	-29	<i>Hemerocallis fulva</i>	-11	-41
<i>Asparagus oligoclonos</i> Max	-3	-91	<i>Hemerocallis fulva</i> var.	-17	-77
<i>Aster scaber</i>	-28	-50	<i>Hemerocallis fulva</i> (root)	0	-29
<i>Aster tataricus</i>	3	-62	<i>Hemerocallis lilioasphodelus</i>	-10	-49
<i>Astragalus membranaceus</i>	-5	-41	<i>Hemerocallis lilioasphodelus</i> (root)	17	-21
<i>Atractylodes japonica</i>	-25	-27	<i>Hibiscus manihot</i>	-45	-44
<i>Belamcanda chinensis</i>	-108	-63	<i>Hibiscus manihot</i> (flowers)	-2	-76
<i>Campsis grandiflora</i> (leaves)	-34	49	<i>Hibiscus manihot</i> (leaves)	-12	-30
<i>Canavalia gladiata</i>	-23	-27	<i>Hibiscus manihot</i> (frutes)	1	-58
<i>Canavalia gladiata</i> (frutes)	10	-30	<i>Hibiscus manihot</i> (leaves)	-10	-19
<i>Caragana sinica</i>	-4	-34	<i>Hibiscus mutabilis</i>	-39	-111
<i>Cassia tora</i>	5	-30	<i>Hohyang</i>	-5	-48
<i>Cassia tora</i> (seed)	-29	-88	<i>Hosta lancifolia</i>	-5	-31
<i>Cassiae Semen</i>	-10	-30	<i>Hosta lancifolia</i> (leaves)	-6	-64
<i>Cedrela sinensis</i> (leaves)	-23	5	<i>Houttuynia cordata</i>	-15	-70
<i>Chelidonium majus</i>	-23	-6	<i>Impatiens textori</i>	-30	-35
<i>Chloranthus japonicus</i>	-11	-51	<i>Inula britannica</i>	-29	0
<i>Chrysanthemum boreale</i>	-26	12	<i>Inula helenium</i>	-60	-49
<i>Chrysanthemum cinerariae folium</i>	-1	-59	<i>Inula helenium</i> var.	-24	-48
<i>Chrysanthemum indicum</i>	-26	-36	<i>Iris koreana</i> Nakai	-12	-6
<i>Chrysanthemum zawadskii</i>	-21	-54	<i>Iris nertschinskia</i>	-16	-20

Table 1. Continued

Scientific name	α -Glucosidase inhibitory activity (%)	α -Amylase inhibitory activity (%)	Scientific name	α -Glucosidase inhibitory activity (%)	α -Amylase inhibitory activity (%)
<i>Iris pallasi</i> (leaves)	-18	-29	<i>Polygonatum stenophyllum</i>	-45	-77
<i>Ixeris dentate</i>	-23	1	<i>Polygonatum stenophyllum</i> (root)	-16	-4
<i>Ixeris dentata</i> (whole)	-1	-8	<i>Potentilla discolor</i> Bunge	-8	-26
<i>Kirinwon</i>	-18	-70	<i>Pteridium aquilinum</i>	27	-21
<i>Leonurus sibiricus</i>	-29	-58	<i>Pulsatilla koreana</i>	-2	-9
<i>Leonurus sibiricus</i> (aerial)	-2	-9	<i>Rehmannia glutinosa</i>	-14	-22
<i>Ligularia fischeri</i>	-34	-18	<i>Reynoutria elliptica</i>	-58	22
<i>Ligusticum chuanxiong</i>	13	-36	<i>Reynoutria elliptica</i> (leaves)	-27	-2
<i>Lilium leichtlinii</i>	19	-88	<i>Reynoutria elliptica</i> (root)	-26	-22
<i>Lilium tigrinum</i>	-14	-36	<i>Rheum undvlatum</i>	-24	-37
<i>Liriope platyphylla</i> (leaves)	-39	-43	<i>Rhododendron mucronulatum</i>	-30	-4
<i>Liriope platyphylla</i> (whole)	6	-29	<i>Polygonatum stenophyllum</i> (root)	-15	-45
<i>Liriope platyphylla</i> (seed)	14	4	<i>Rubus crataegifolius</i>	-7	-7
<i>Lonicera japonica</i> (seed)	-5	-7	<i>Rumex acetocella</i>	-17	-63
<i>Lonicera japonica</i> (aerial)	-2	26	<i>Rumex crispus</i>	-5	-59
<i>Lotus corniculatus</i>	9	10	<i>Ruta graveolens</i> (leaves)	-8	-18
<i>Lycium chinense</i>	-7	-125	<i>Salvia plebeia</i>	7	62
<i>Lycium chinense</i> (frutes)	-7	-78	<i>Sanguisorba officinalis</i> (seed)	-24	-22
<i>Lycium chinense</i> (leaves)	8	-128	<i>Saururus chinensis</i>	-3	14
<i>Lysimachia barystachys</i>	-42	-36	<i>Schizandra chinensis</i> (leaves)	-32	21
<i>Lysimachia davurica</i>	-18	-153	<i>Scilla chinensis</i>	-11	-19
<i>Mannunchung</i> (leaves)	-7	-17	<i>Scilla chinensis</i> (seed)	-24	-44
<i>Menispermum dauricum</i>	-1	-41	<i>Scutellaria baicalensis</i>	-45	-46
<i>Mentha arvensis</i>	-20	-9	<i>Sedum aizoon</i>	-17	-66
<i>Menthae Herba</i>	-13	-52	<i>Sedum kamschaticum</i>	-7	-40
<i>Metaplexis japonica</i>	-16	-13	<i>Sedum sarmentosum</i>	-28	-48
<i>Morus bombycis</i>	69	-40	<i>Sedum spectrabile</i>	-38	-16
<i>Oenothera odorata</i>	-52	-49	<i>Selaginella tamariscina</i>	-11	-74
<i>Osmunda japonica</i>	-14	-66	<i>Selaginella tamariscina</i> (whole)	-12	1
<i>Ostericum koreanum</i>	-32	21	<i>Sognamool</i>	16	-2
<i>Paeonia suffruticosa</i>	-15	20	<i>Sophora flavescens</i>	-26	-18
<i>Paeonia suffruticosa</i> (flower)	-32	29	<i>Symphytum officinale</i>	6	-79
<i>Patrinia scabiosaefolia</i>	4	-37	<i>Symphytum officinale</i> (root)	-30	-74
<i>Patrinia villosa</i>	-18	-1	<i>Syneilesis palmata</i>	-40	-41
<i>Perilla frutescens</i>	-13	-37	<i>Taraxacum platycarpum</i>	-18	-37
<i>Persicaria filiforme</i>	-41	14	<i>Trachelospermum asiaticum</i>	-8	6
<i>Petasites japonicus</i>	-28	-44	<i>Veronica rotunda</i>	-24	-31
<i>Peucedanum japonicum</i>	-19	-44	<i>Viola mandshurica</i>	-7	-66
<i>Peucedanum japonicum</i> (leaves)	-7	-26	<i>Viola mandshurica</i> (aerial)	-6	-115
<i>Physalis alkekengi</i>	2	-20	<i>Vitis coignetiae</i> Pulliat	-36	8
<i>Physalis alkekengi</i> (leaves)	-46	8	<i>Washabia japonica</i>	-2	-59
<i>Phytolacca americana</i>	1	-9	<i>Washabia japonica</i> (leaves)	-12	-41
<i>Pimpinella brachycarpa</i>	-20	-89	<i>Xanthium strumarium</i>	-9	-86
<i>Plantago asiatica</i>	5	-44	<i>Yacoon</i> (leaves)	-10	-35
<i>Plantago asiatica</i> (aerial)	-10	-36	<i>Youngchunwha</i>	-2	-30
<i>Plantago asiatica</i> (seed)	-8	-70	<i>Zanthoxylum schinifolium</i>	-15	-55
<i>Platycodon grandiflorum</i>	-16	26	<i>Zanthoxylum schinifolium</i> (leaves)	-39	7
<i>Pleuropterus multiflorus</i>	-3	38	<i>Zingiber mioga</i>	-16	-85
<i>Pleuropterus multiflorus</i> (leaves)	-14	40	<i>Zizyphus jujuba</i>	4	0

have potential to inhibit carbohydrate-digesting enzymes such as α -glucosidase and amylase. Some species of *Adenophora* and *Morus* inhibited α -glucosidase significantly, consistent with the previous study (10). It has been reported that the active components of these herbs were 1-deoxynojirimycin and other polyhydroxylated alkaloids such as (2*R*, 3*R*, 4*R*)-2-hydroxymethyl-3,4-dihydroxy-

pyrrolidine-*N*-propionamide and 4-*O*- α -D-galactopyranosylcalystegine B2 (10).

It is generally accepted that α -amylase inhibitor has an advantage over α -glucosidase inhibitor due to its relatively low side effects such as flatulence and diarrhea (2). In fact, our study showed that Acarbose was a very potent α -amylase inhibitor while it is better known as a α -glu-

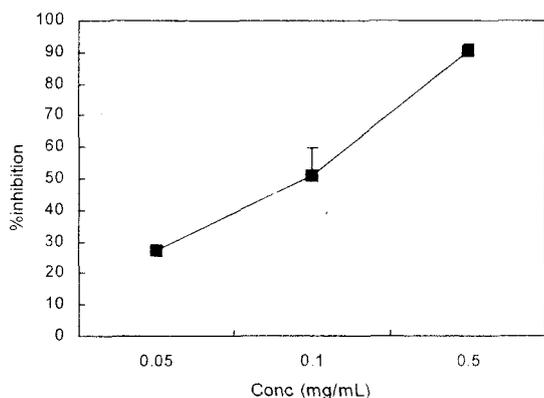


Fig. 1. Dose-dependent inhibition of porcine pancreatic α -amylase activity by *Epimedium koreanum* extract.

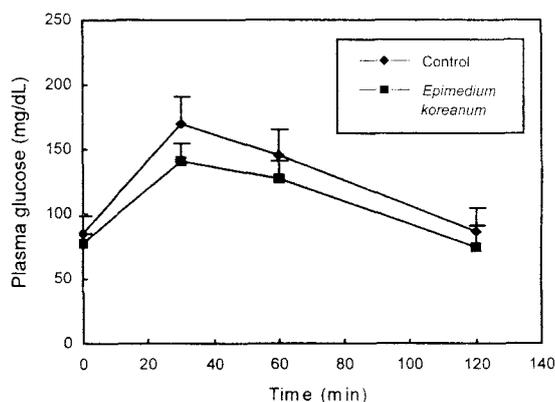


Fig. 2. Effect of *Epimedium koreanum* extract on plasma glucose level in starch-loaded ICR mice. Mice were intubated with 0.9 g soluble starch per kg body weight dissolved in water, followed by collecting blood from tail and measuring plasma glucose as described in Material and Methods. Mean \pm SD (n=8). *p<0.05

cosidase inhibitor (data not shown). Therefore, this study focused on the medicinal herbs with a strong inhibitory activity against α -amylase. α -Amylase inhibitor is known to prevent postprandial hyperglycemia due to its ability to inhibit the conversion of starch into to maltose and its absorption in the small intestine (11). It is also expected to exert anti-obesity action as it lowers the utilization of starch, a major energy nutrient present in typical Korean diet. Some α -glycosidase inhibitors such as Acarbose have been proven to be effective in preventing obesity (8,12).

We found that the methanol extract of *Epimedium kor-*

eanum effectively suppressed the α -amylase and improved hyperglycemia induced by oral starch load using both *in vitro* and *in vivo* studies. Therefore *Epimedium koreanum* extract deserves further clinical study for its development as a dietary supplement for obese and diabetic people.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study has been supported by Agricultural Research Promotion Center, Ministry of Agriculture and Forestry (2001).

REFERENCES

1. Saktiel AR, Kahn CR. 2001. Insulin signaling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* 414: 799-806.
2. Mooradian AD, Thurman JE. 1999. Drug therapy of postprandial hyperglycemia. *Drugs* 57: 19-29.
3. Watanabe J, Kawabata J, Kurihara H, Niki R. 1997. Isolation and identification of alpha-glucosidase inhibitors from Tochu-cha (*Eucommia ulmoides*). *Biosci Biotechnol Biochem* 61: 177-178.
4. Kazaz MA, Desseaux V, Marchis-Mouren G, Prodanov E, Santimone M. 1998. The mechanism of porcine pancreatic alpha-amylase inhibition of maltopentaose hydrolysis by acarbose, maltose and maltotriose. *Eur J Biochem*. 252: 100-107.
5. Uchida R, Nasu A, Tokutake S, Kasai K, Tobe K, Yamaji N. 1999. Synthesis of new N-containing maltooligosaccharides, alpha-amylase inhibitors, and their biological activities. *Chem Pharm Bull* 47: 187-193.
6. Oki T, Matsui T, Osajima Y. 1999. Inhibitory effect of alpha-glucosidase inhibitors varies according to its origin. *J Agric Food Chem* 47: 550-553.
7. Guan X, Matte JJ, Ku PK, Snow JL, Burton JL, Trottier NL. 2000. High chromium yeast supplementation improves glucose tolerance in pigs by decreasing hepatic extraction of insulin. *J of Nutr* 130: 1274-1279.
8. Moller DE. 2001. New drug targets for type 2 diabetes and the metabolic syndrome. *Nature* 414: 821-827.
9. Matuo T, Odaka H, Ikeda H. 1992. Effect of an intestinal disaccharidase inhibitor (AO-128) on obesity and diabetes. *Am J Clin Nutr* 55: 314S-317S.
10. Asano N, Yamashita T, Yasuda K, Ikeda K, Kizu H, Kameda Y, Kato A, Nash RJ, Lee HS, Ryu KS. 2001. Polyhydroxylated alkaloids isolated from mulberry trees (*Morus alba* L.) and silkworms (*Bombyx mori* L.). *J Agric Food Chem* 49: 4208-4213.
11. Lankisch M, Layer P, Rizza RA, DiMaggio EP. 1998. Acute postprandial gastrointestinal and metabolic effects of wheat amylase inhibitor (WAI) in normal, obese, and diabetic humans. *Pancreas* 17: 176-81.
12. Vedula U, Schnitzer-Polokoff R, Tulp OL. 1991. The effect of acarbose on the food intake, weight gain, and adiposity of LA/N-cp rats. *Comp Biochem Physiol A*. 100: 477-482.

(Received December 10, 2001; Accepted February 9, 2002)

Effect of *Lonicera japonica* flower on body weight gain and glucose tolerance in rodents

Kwon, Chong Suk^{*}, Son, Kun Ho^{*} and Kim, Jong Sang[†]

*Department of Animal Science and Biotechnology, Kyungpook National University,
Taegu 702-701, Korea*

**Department of Food Science and Nutrition, Andong National University, Andong 760
749, Korea*

[†]Corresponding author. E-mail: vision@knu.ac.kr
Phone: +82-53-950-5752, Fax: +82-53-950-6750

ABSTRACT

In our previous study the herbs with inhibitory activity against carbohydrate-digesting enzymes including alpha-glucosidase and alpha-amylase were screened to evaluate their potential as anti-obesity measure. Ethylacetate fraction of methanol extract of *Lonicera japonica* Thunb flower inhibited porcine pancreatic alpha-amylase activity in a dose-dependent manner, with IC_{50} of 0.2 mg/mL. The ethylacetate fraction of herb extract also inhibited significantly intestinal sucrase activity at the concentration of 0.5 mg/mL although it had no effect on isomaltase and maltase activities. The feeding rats with the powder of *Lonicera japonica* flower led to significant suppression of the body weight gain in Sprague Dawley rats and improved glucose tolerance in db/db mice. In conclusion, the flower of *Lonicera japonica* has potential as anti-obesity and anti-diabetic- measures.

Key words: alpha-amylase, sucrase, *Lonicera japonica*, obesity, diabetes, glucose tolerance

INTRODUCTION

Obesity is a chronic, stigmatized and costly disease that is rarely curable and is increasing in prevalence in most of the world (1, 2). Inhibition of dietary carbohydrate digestion and/or absorption has been reported to be one of ways of managing obesity. For instance, the application of a strong glucosidase inhibitor such as Acarbose has proven to be used successfully for the treatment of obesity and diabetes (2, 3). In our preliminary study, about 200 medicinal plants were tested for their inhibitory activities against porcine pancreatic alpha-amylase using assay system containing para-nitrophenyl-alpha-D-maltohexaoside as a substrate (4, unpublished data). Methanol extract and its ethylacetate fraction of *Lonicera japonica* Thunb flower showed strong inhibitory effect against alpha-amylase. In the present study, the effect of the flower of *Lonicera japonica* on weight gain in Sprague Dawley rats and impaired glucose tolerance in db/db mice was investigated.

MATERIALS AND METHODS

Reagents

Para-nitrophenyl-alpha-D-maltohexaoside, porcine pancreatic alpha-amylase, glucose assay kit and intestinal acetone powder were purchased from Sigma (St. Louis, MO, USA). Other chemicals were of reagent grade.

Preparation of sample extracts

The flower of *Lonicera japonica* Thunb was purchased from Taegu Medicinal Herb Market (Taegu, Korea) and powdered using ball mill (Korea Machine Eng., Buchun, Korea). If necessary, the herb powder was extracted with 10 volumes of methanol, and subjected to sequential solvent fractionation with hexane, ethylacetate, butanol, and water (5). For the enzyme inhibitory assay ethylacetate fraction of the herb extract was collected and evaporated to dryness. Dry sample was redissolved in proper medium (eg. DMSO) and used for an experiment.

Enzyme inhibitory assay

The alpha-amylase inhibitory assay was done by the chromogenic method described by Kim and coworkers (6) using a readily available porcine pancreatic enzyme. Briefly, porcine pancreatic alpha-amylase (0.7 U, Sigma) was dissolved in 100 mM phosphate buffer (pH7.0) containing 2 g/L bovine serum albumin and 0.2 g/L NaN₃ and used as an enzyme solution. 5 mM para- nitrophenyl-alpha-D-maltohexaoside in the same buffer (pH7.0) was used as a substrate solution. Fifty microliter of enzyme solution and 10 µl of ethylacetate fraction of the herb dissolved in dimethylsulfoxide (DMSO) were mixed in a well of a microtiter plate and measured for titer (Abs 405 nm) at zero time with microplate reader (model 550, BioRad, Hercules, California, USA). After incubation for 20 min, the substrate solution (50µl) was added and incubated for another 5 min at room temperature. The increase in absorbance from zero time was measured. Inhibitory activity was expressed as 100 minus relative absorbance difference (%) of sample to absorbance change of the control where test solution was replaced by carrier solvent.

Inhibitory activity of the herb's solvent fraction against sucrase and isomaltase was assayed using crude enzymes extracted from rat intestinal acetone powder (7). The enzyme extract was prepared by mixing 100 mg of intestinal acetone powder with 3 mL of 0.9% saline solution, followed by homogenizing with sonication equipment (Kontes, Vineland, USA) for 30 sec, 12 times in ice bath. After centrifugation at 10,000 g for 30 min, the resulting supernatant was directly used for enzyme inhibitory assay. For enzyme assay the enzyme extract (20 uL) was incubated with 37 mM sucrose or isomaltose (500 uL) dissolved in 80 mM phosphate buffer (pH7.0) in the presence and absence of herb's ethylacetate fraction (20 uL). Glucose concentration in reaction mixture was measured enzymatically by using glucose assay reagent (Sigma).

Animals experiment

Genetically diabetic mice (db/db, 8-week old) and male Sprague Dawley (SD) rats (7-week old, weighing 220-240 g) were obtained from Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB, Daejeon, Korea) and Korea Experimental Animal Center (Umsung, Korea), respectively, and housed for 1 week under 12/12 hr light/dark cycle in a temperature- and humidity-controlled room. The animals were given free access to diet and water. The mice were given Chow (Purina, Korea) and SD rats were fed Chow for 1 week and then experimental diet of which composition is shown in Table 1. More specifically, after adaptation to laboratory conditions for 1 week lean male SD rats were divided into three groups, each group matched for body weight. The control group was given the control diet; the other groups were given the experimental diet containing 2 or 5% *Lonicera niponica* flower powder. Body weight was measured once weekly for 9 weeks.

For glucose tolerance test four db/db mice were intubated with 1g soluble starch dissolved in 5 mL water and 10 mg ethylacetate fraction of the herb or 5 mg acarbose per kg body weight, and were subjected to blood collection from tail vein at 0, 30,60, 90, 120 min.

Statistical analysis. Data were expressed as mean \pm s.d. and analyzed by one-way ANOVA and Duncan's multiple range test; a *P*-value of <0.05 was considered significant.

[Table 1]

RESULTS AND DISCUSSION

In the preliminary experiment 216 herbs were assayed for inhibitory activity against amylase. The methanol extract and its ethylacetate fraction of *Lonicera japonica* Thunb flower showed strong inhibitory action on the enzyme. As shown in Fig. 1, the ethylacetate fraction of the herb inhibited porcine pancreatic alpha-amylase in a dose-dependent manner, with IC_{50} of 0.2 mg/mL, although it was less potent than Acarbose, a well-known alpha-amylase inhibitor and anti-diabetic drug. The herb's solvent fraction also showed strong inhibition for sucrase while Acarbose did not have any effect at the same concentration (Fig. 2). Sucrase activity was inhibited by 70% in the presence of ethylacetate fraction of the herb in the reaction mixture (0.5 mg/mL). However, neither the herb's ethylacetate fraction nor Acarbose did show any inhibition against isomaltase even at the highest dose used in the study (Fig. 3). These

results suggest that component(s) responsible for the inhibition of amylase holds specificity for enzyme in spite of its action for more than one enzyme.

SD rats fed diet containing the powder of *Lonicera japonica* flower at 2 or 5% level gained less body weight than control group fed AIN-76 diet alone, suggesting the anti-obesity activity of the herb. In particular, body weight gain of rats in 5% herb powder group was about 10% lower than control group from the 3rd week after feeding experimental diet and allowed maintenance of weight loss till the end of experiment (Fig. 4). Traditionally, a new obesity treatment has been assessed by its effect on body weight and considered successful if it (i) prevent further weight gain, (ii) induces a 5 to 10% weight loss from the initial body weight, and (iii) allows long-term maintenance of the weight loss once it is achieved (1). By this criterion, *L. japonica* might be considered to have good potential as anti-obesity measure.

From glucose tolerance test performed with db/db mice, we found blood glucose level after challenge with starch was much lower in the *L. japonica* and acarbose groups compared to control group (Fig. 5). Recently an alternative, medically based outcome measure for obesity treatment is “metabolic fitness” defined as the absence of biochemical risk factors associated with obesity such as impaired glucose tolerance, elevated blood cholesterol and blood pressure. Many studies have shown that during period of weight loss is a uniform improvement in the profile of risk factors. Improvement of impaired glucose tolerance by component(s) of *L. japonica* is also considered as promising indicator for anti-obesity action of the herb.

It has been reported that *L. japonica* contains variety of phytochemicals such as protocatechuic acid, methyl caffeate, methyl chlorogenic acid, luteolin (8),

loniceroid A and B (9), loniceracetals A and B (10), caffeoylquinic acids and esters (11), methyl caffeate, 3,4-di-O-caffeoylquinic acid and methyl 3,4-di-O-caffeoylquinic acid (8). Most of them were known to have anti-inflammatory effect. Our previous study demonstrated that luteolin had strong inhibitory activity on yeast α -glucosidase and porcine pancreatic α -amylase (4). Therefore, one of the main components in *L. japonica* responsible for inhibition of amylase and body weight gain can be luteolin that is mostly concentrated in ethylacetate fraction (5). As described earlier, ethylacetate fraction of *L. japonica* extract showed strongest inhibitory activity against α -amylase and improved glucose tolerance in diabetic mice among solvent fractions.

Lonicera japonica (Caprifoliaceae) has long been used for treatment of infectious diseases in East Asian countries. In traditional Chinese medicine, it is supposed that *L. japonica* dispels noxious heat from blood and neutralizes the poisonous effects. And *L. japonica* significantly increases blood neutrophil activity and promotes the neutrophil phagocytosis at its proper concentrations. Some investigators suggested that the methanol extract of *L. japonica* have protective effects on rat hepatic injuries caused by carbon tetrachloride and the aqueous extract of *L. japonica* flower may act as therapeutic agent for inflammatory disease through a selective regulation of NF κ B activation in rat liver (12). Thus *L. japonica* has been well recognized as herb with anti-inflammatory activity. In addition, we found that the herb might exert anti-obesity activity maybe through inhibition of carbohydrate-digesting enzymes, conferring additional value on the herb.

In conclusion, *L. japonica* merits further clinical study to evaluate its clinical usefulness as anti-obesity and anti-diabetic measures.

ACKNOWLEDGMENTS

We express our thanks to Dr Hyun BH at KRIBB and Dr Kim TS at Bayer-Korea for providing db/db mice and acarbose standard, respectively. This study was supported by Technology Development Program for Agriculture and Forestry, Ministry of Agriculture and Forestry, Republic of Korea (2001).

REFERECNCES

1. Campfield, L.A., Smith, F.J., Burn, P. Strategies and potential molecular targets for obesity treatment. *Science*. 280: 1383-1387 (1998)
2. Alper, J. New insights into type 2 diabetes. *Science*. 289: 37-39 (2000)
3. Marchand-Brustel, YL., Rochet, N., Gremeaux, T., Marot, I., and Obberghen, EV. Effect of an alpha-glycosidase inhibitor on experimentally-induced obesity in mice. *Diebetologia*. 33: 24-30 (1990)
4. Kim, J.S., Kwon, C.S., Son, K.H., Kim, J.I. Alpha-glucosidase Inhibitory Activities of Some Wild Vegetable Extracts. *J. Food Sci. Nutr.* 5: 174-176 (2001)
5. Son, K.H., Kim, J.S., Kang, S.S., Kim, H.P., Chang, H.W. Isolation of flavonoids from *Lonicera japonica*. *Kor. J. Pharmacogn.* 25: 24-27 (1994)
6. Kim, J.S., Kwon, C.S., Son, K.H. Inhibition of alpha-glucosidase and amylase by luteolin, a flavonoid. *Biosci. Biotechnol Biochem.* 64: 2458-2461 (2000)
7. Matsuo, T., Odaka, H., Ikeda, H. Effect of an intestinal disaccharidase inhibitor (AO-128) on obesity and diabetes. *Am J. Clin. Nutr.* 55(1 Suppl): 314S-317S (1992)
8. Chang, W.C., Hsu, F.L. Inhibition of platelet activation and endothelial cell injury by polyphenolic compounds isolated from *Lonicera japonica* Thunb. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 45: 307-312 (1992)
9. Son, K.H., Jung, K.Y., Chang, H.W., Kim, H.P., Kang, S.S. Triterpenoid saponins from the aerial parts of *Lonicera japonica*. *Phytochemistry.* 35: 1005-1008 (1994)
10. Kakuda, R., Imai, M., Yaoita, Y., Machida, K., Kikuchi, M. Secoiridoid glycosides from the flower buds of *Lonicera japonica*. *Phytochemistry.* 55: 879-881 (2000)
11. Peng, L.Y., Mei, S.X., Jiang, B., Zhou, H., Sun, HD. Constituents from *Lonicera japonica*. *Fitoterapia.* 71: 713-715 (2000)
12. Tae, J., Han, S.W., Yoo, J.Y., Kim, J.A., Kang, O.H., Baek, O.S., Lim, J.P., Kim, D.K., Kim, Y.H., Bae, K.H., Lee, Y.M. Anti-inflammatory effect of *Lonicera japonica* in proteinase-activated receptor 2-mediated paw edema. *Clin. Chim. Acta.* 330: 165-171 (2003)
13. William-Olsson, T. alpha-Glucosidase inhibition in obesity. *Acta Med Scand Suppl.* 706: 1-39 (1985)

FIGURE LEGENDS

Fig. 1. Ethylacetate fraction of *L. japonica* extract inhibits amylase in a dose-dependent manner.

Fig. 2. Effect of ethylacetate fraction of *L. japonica* extract on rat intestinal sucrase.

Fig. 3. Effect of ethylacetate fraction of *L. japonica* extract on rat intestinal isomaltase.

Fig. 4. Suppression of weight gain in rats fed diet containing 2 or 5% *L. japonica* powder. Asterisk represents statistical significance ($p < 0.05$) between control and treatment (5% *L. japonica*) in weight gain. Double asterisk represents between control and treatment (2% *L. japonica*) in weight gain. LJ indicates *Lonicera japonica*. Bars not sharing same superscript are significantly different from each other.

Fig. 5. Ethylacetate fraction of *L. japonica* extract improves glucose tolerance in db/db mice. Diabetic mice (db/db) were intubated with soluble starch (1g) with and without samples (acarbose or ethylacetate fraction of *L. japonica* extract) per kg body weight. Whole blood was drawn from the tail vein at 0, 30, 60, 90, and 120 min and subjected to glucose concentration assay.

Table 1. Diet composition (g/kg diet) for animal experiment

Ingredient	<i>L. japonica</i> powder		
	Control	2%	5%
Corn starch	600	600	600
Casein	200	200	200
Corn oil	100	100	100
Cellulose	50	30	0
Vitamin mix	10	10	10
Mineral mix	40	40	40
Choline	2	2	2
Methionine	3	3	3
<i>L. japonica</i> (powder)	0	20	50

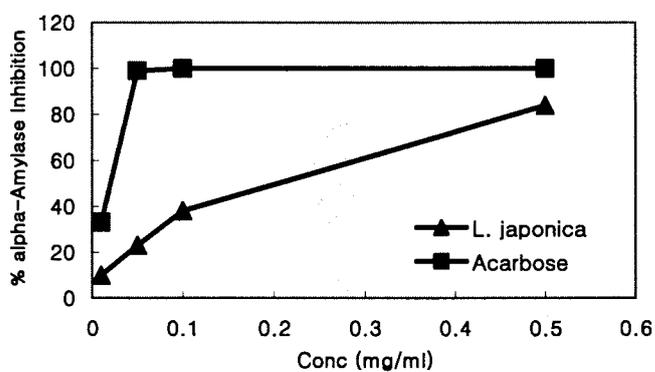


Fig. 1. Ethylacetate fraction of *L. japonica* extract inhibits amylase in a dose-dependent manner.

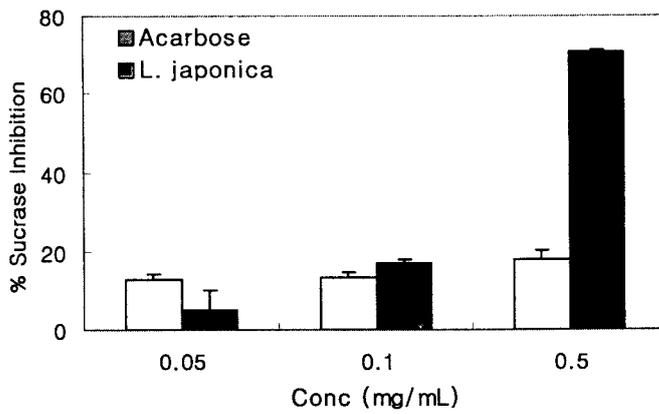


Fig. 2. Effect of ethylacetate fraction of *L. japonica* extract on rat intestinal sucrase.

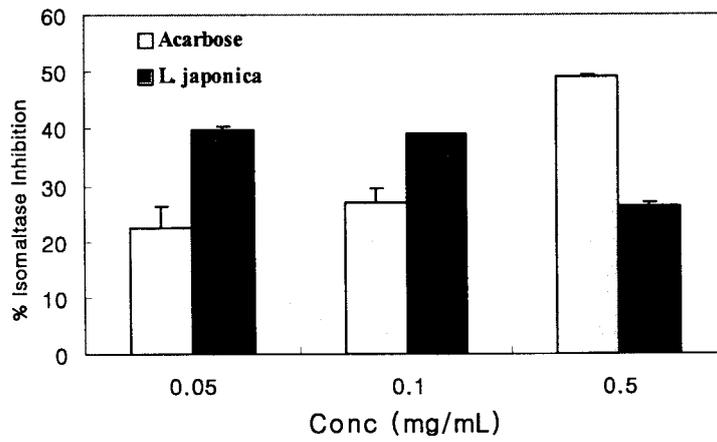


Fig. 3. Effect of ethylacetate fraction of *L. japonica* extract on rat intestinal isomaltase.

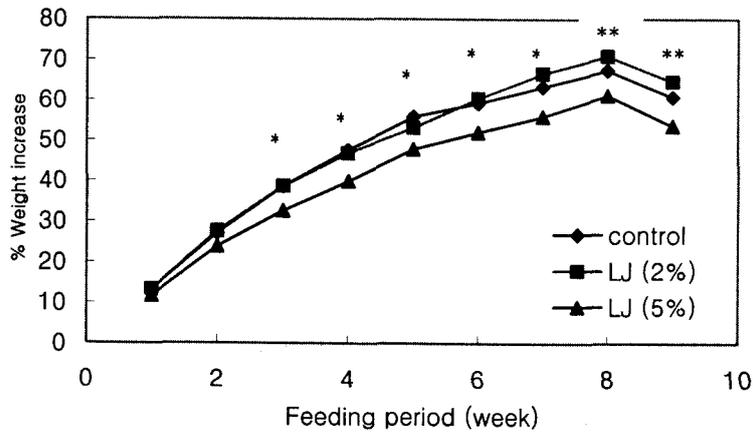


Fig. 4. Suppression of weight gain in rats fed diet containing 2 or 5% *L. japonica* powder.

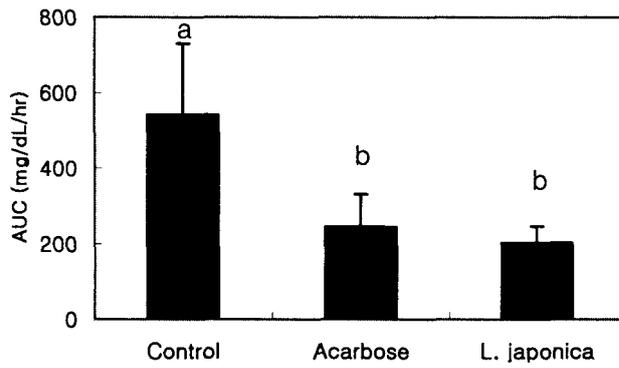


Fig. 5. Ethylacetate fraction of *L. japonica* extract improves glucose tolerance in db/db mice.



전자민원

HOME > 전자민원창구 > 민원질의

- ▶ 민원안내
- ▶ 질의응답모음
- ▶ 민원질의
- ▶ 민원상담예약
- ▶ 국가검정민원안내
- ▶ 화연학위과정안내
- ▶ 수련실습과정안내
- ▶ 정보공개청구

민원질의

현재 민원 처리상태

접수준비중 →	담당부서 배정중 →	담당부서에서 처리중 →	답변완료
---------	------------	--------------	------

질의 내용

성명	임현애	질의날짜	2004.05.10
제목	부채마가 식용가능 한지 궁금합니다.		
내용	식품 원재료 검색엔진에서 부채마를 검색하여 보면 용도와 효능,효과는 명시되어 있으나 식용가능 여부란에 공란이 되어 있습니다. 식용가능 여부란에 공란이 되어 있는것은 식용이 가능하다는 뜻인지 아니면 식용이 불가능하다는 뜻인지 또는 식용가능여부가 검토중인지 궁금합니다.		

답변 내용

문서번호	식품규격과-1124	답변날짜	2004.05.13
담당부서	식품규격과	담당자	정형욱 (☎ 02-380-1667)
내용	<p>1. 전자민원 13626(2004.5.10)호와 관련입니다.</p> <p>2. 위 대호로 귀하께서 질의하신 내용을 검토한 결과, 부채마(Dioscorea nipponica)의 뿌리는 통상 식용하는 바, 식품원료로 사용이 가능함을 알려드리니 업무에 참고하시기 바랍니다. 끝.</p>		

[이전글](#) | [목록](#) | [후력](#)

개인정보보호방침 | 행정서비스현장 | 부서별 전화번호안내 | 뉴스레터

서울특별시 은평구 녹번동 5번지 대표전화 (02)380-1800
Copyright© 2003. Korea Food & Drug Administration. All rights reserved.
More Information Mail to m_kfda@kfda.go.kr

본 홈페이지에 게시된 이메일 주소가 자동 수집되는 것을 거부하며, 이를 위반시 정보통신망법에 의해 처벌됨을 유념하시기 바랍니다.

KFDA 식품원재료 Search 2002

[기본검색](#)
[상세검색](#)
[통합검색](#)
[원재료리스트](#)
[문의사항](#)

식품 원재료명 검색

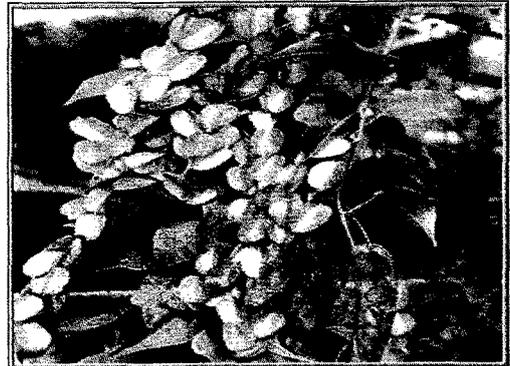
본 자료는 구축중인 자료로 완성된 자료가 아니므로 식용가능여부 판단을 위해서는 반드시 식품의약품안전청으로 질의하여 주시기 부탁드립니다.

* 동자료의 효능·효과란에 기재되어 있는 내용은 참고사항이므로, 식품관련광고등의 목적으로 사용할수 없습니다.

① 상세내역

기본검색리스트
 검색초기화면
 프린트

원재료명(영문명)	부채마
학명	<i>Dioscorea nipponica</i> Makino
생약명	
기원	
이명	
식용가능여부	가능
용도(이용부위)	약용(뿌리줄기)



클릭하시면 원래 크기로 보실 수 있습니다.

분포 및 특성	한국, 일본, 중국에 분포한다. 우리나라 각처의 산지에 나는 다년생 덩굴 식물이다. 근경은 비후, 원기둥 모양, 옆으로 뻗고, 딱딱하다. 잎은 호생, 잎자루는 길고, 난형, 넓은 난형, 길이는 5~12cm, 알개 갈라져 손바닥 모양이며, 대개 잔털이 있다. 꽃은 암수 딴그루, 녹색, 종 모양, 원전이 벌어지지 않고, 이삭화서로 달린다. 수꽃 화서는 곧게 서고, 암꽃 화서는 밑으로 처진다. 화피는 6장, 타원형, 수술 6개, 열매는 삭과, 도란상 타원형, 날개가 3개이다.
주요성분(부위별)	
식용 근거	2002. 11 민원회신 (부채마의 뿌리는 식품원료로 사용이 가능함)
효능, 효과	진해, 거담작용 등이 있다.
독성	
근거자료	1. 한국식물도감, 교학사, 948p(1998) 2. 두산세계대백과 엔싸이버 3. 원색한국본초도감, 교학사, (1998) 4. 원색한국식물도감, 교학사, (1996) 5. 원색한국기중식물도감, 아카데미서적, (1996) 6. 대한식물도감, 향문사, (1979) 7. 한국식물도감, 신지사, (1958)
기타	

서울특별시 은평구 녹번동 5번지 대표전화 (02)380-1800