

## 秋石에 관한 연구 (IV)

皂角仁의 Amino 산에 대하여

李 殷 玉·黃 德 美

淑明女子大學校 藥學大學

### Studies on "Chu Suk" (IV)

Amino acids in Seeds of Gleditsia

Eun Ok LEE and Duck Mi HWANG

College of Pharmacy, Sook Myung Women's University, Seoul, Korea

The composition of amino acids in seeds of three species of Gleditsia, *Gleditsia japonica* var. *Koraiensis*, *Gleditsia japonica* var. *Imarmatu*, and *Gleditsia officinalis* Hemsley, were determined by the Amino-Acid Autoanalyzer (Technicon PNC-1). Total contents of amino acids were less than that of ordinary edible soybean and an undetermined amino acid was found. The undetermined amino acid showed an absorption peak between histidine and arginine.

### 서 론

著者들은 秋石의 本態를 究明하기에 앞서 우선 皂莢\*\*의 成分을 研究할 目的으로 前報에서 著者中 李<sup>1)</sup>는 *Gleditsia officinalis*의 꼬투리에서 oleanolic acid  $C_{30}H_{48}O_9$ 와 *Gleditsia* 屬에서는 처음으로 echinocystic acid  $C_{30}H_{48}O_4$ 를 分離, 化學構造를 決定하여 報告하였으며 本報에서는 皂角仁中の amino酸을 分離 定量하여 이에 報告하고자 한다. 皂角仁의 成分研究에 관하여서는 北村等<sup>2)</sup>의 脂肪酸의 分離報告가 있을 뿐이며 amino酸에 대한 報文은 아직은 없다.

또한 가장 効力이 優秀한 回蟲구제劑인 헤인초 *Digenia simplex*에서 有効成分으로 새로운 酸性 amino酸인 kainic acid  $C_{10}H_{15}O_4N$ 의 發見이나<sup>3)</sup> *Chondria armato*에서의 domic acid  $C_{15}H_{22}O_6N \cdot 2H_2O$ , *Chondria crassicaulis*에서의 yunaine  $C_5H_9O_3NS$ , 파리버섯 *Tricholoma muscarium*의 有効成分 tricholomic acid  $C_6H_8O_4N_2$ , *Amanita strobiliformis*에서의 ibotenic acid

$C_5H_6O_4N_2$ , 使君子(種子)에서 quisqualic acid  $C_5H_7O_5N_2$ 等<sup>4)</sup>이 모두 새로운 amino酸이라는 點이나, 最近에 *Indigofera spicata*(*Leguminosae*)의 種子를 염소, 소에 먹이던 간장변화, 지방의 이상축적이 일어나고 유산의 原因이 되는 本態가 새로운 아미노酸 indospicin  $C_7H_{15}O_2N_3$ <sup>5)</sup>임을 報告한 點으로 미루어 보아 皂角仁中에도 이와같은 有毒性인 새로운 아미노酸이 있기 때문에 食用이나 家畜의 飼料로 使用되지 못한 것이 아닌가 추측이 될 뿐만 아니라 生理活性과 amino酸은 密接한 關係가 있다고 생각되므로 著者는 皂角仁의 아미노酸을 分析하고 indospicin과 비슷한 염기성 아미노酸의 peak도 確認할 수 있었음을 報告한다.

### 실험재료 및 방법

#### I. 實驗材料

慶州産 조각자나무(*Gleditsia officinalis* HEMSLEY, *Gleditsia horrida* MAKINO와 同一種)의 果實(市中漢藥

\*前報: 藥學會誌, 19, 111 (1975). 本報는 鑛物性 漢藥에 관한 研究(VIII)임.

\*\*皂莢은 조각자 나무의 果實로서 꼬투리와 조각仁(種子)으로 區別된.

房에서 경주산 조협이라고 稱하며 300餘年前에 中國에서 移植한 天然記念物 제115호 中國주엽나무를 재배한 것임)의 꼬투리를 除去한 皂角仁과, 修理山에서 採集한 주엽나무(*Gleditsia japonica* var. *koraiensis* NAKAI) 및 南山의 민주엽나무(*Gleditsia japonica* var. *IMAR-MATA*)의 皂角仁을 使用하였다.

## II. 試料의 調製<sup>6)</sup>

### 1. 유리아미노酸 測定用 試料

조각인을 건조분쇄(200g)한 후 75%에탄올로 수욕상에서 40分間 추출, 잔사에 다시 75% 에탄올을 加하여 추출한 후, 추출액을 合하였다.

추출액을 수욕상에서 에탄올을 증발시켜 석출된 수지상 물질을 제거하고 분액깔때기에서 에틸로 추출하여 에틸層을 分劃除去한 수용액을 2等分하여 각각 비등수욕상에서 約 1ml로 될 때까지 농축하여 그 중 일부를 구연산완충액(pH 2.2)을 加하여 全量을 12.5ml로 하여 아미노산 分析用 試料로 하고 나머지는 증류수 5ml에 녹여 TLC用 試料로 하였다.

### 2. 全아미노酸 測定用 試料

1에서와 같이 시료를 完全히 乾燥시켜 粉碎한 것을 다시 mortar에서 粉末로 한 조각인 20mg을 미리 크롬黃酸, 증류수 및 1N-HCl로 씻어 건조시킨 pyrex 試驗管(外徑 12-16mm, 길이 120~200mm의 試驗管을 위에서 3~4cm 되는 部分을 가늘게 뽑은것)에 넣고 6N-HCl 8ml로 잘 분산시킨 후 N<sub>2</sub> gas를 충전하고 試驗管을 密封한 後 110±1°C에서 70時間 加水分解시켰다. 加水分解物을 4°C 以下에서 保存하고 分析하기 直前 開封하여 加水分解物을 여과하여 침전물을 제거하고 증류수 2ml로 試驗管벽을 씻어 여과하였다. 이 여액을 모두 合하여 50ml beaker에 넣고 비등수욕상에서 beaker中의 용액을 거의 증발시키고 구연산완충액(pH 2.2) 2ml을 加하여 其中 1ml을 試料용액으로 하였다. TLC는 시료 1g을 썼으며 나머지 조각은 같이 건조시킨 후 증류수 5ml을 加하여 使用하였다.

### 3. 標準아미노酸 溶液의 調製

Amino acid calibration mixture 5ml(2.5μmole/ml) (Proline은 5.00μ mole/ml)中 1ml를 分析時 구연산완충액(pH 2.2) 5ml로 희석하여 其中 1ml을 標準 아미노酸용액으로 使用하였다.

## III. 아미노酸의 分析

### 1. 使用機器 및 分析條件<sup>7)</sup>

Amino산 分析은 Amino acid Autoanalyzer(Technicon

PNC-1)을 使用하였으며 分析條件은 column size; 6.3 mmID×140cm, temperature; 60°C constant, ion exchange resin; Chromobeads; type A, flow rate; ① buffer solution; 30ml/hr.(0.5ml/min) ② Ninhydrin; 30ml/hr., buffer solution; pH 2.875, pH 3.8, pH 5.0 Na-citrate buffer solution, buffer change는 gradient elution device(Autograd)로 TLC plate는 20×20cm, 두께 0.25mm의 silica gel G를 使用하고 第一次전개용매 n-butanol: acetic acid: water(3:1:1), 第二次전개용매 phenol: water(3:1)이며, 발색은 95ml BuOH과 5ml acetic acid의 ninhydrin 0.2% 용액으로 spray한 후 100°C에서 가열 발색시켰다.

### 2. 아미노酸의 定性

TLC는 20μmoles의 표준아미노산을 spot하였을 때 分離가 잘 되므로 lamda pipett로 여러번 spot 해본 결과 가수분해는 시료 1g을 使用한 것에 증류수 5ml를 加한 것 5μl spot하고 유리아미노산은 15μl spot 하였을 때 표준아미노산용액의 分離結果와 比較하여 確認하였다.

### 3. 아미노酸의 定量

아미노산自動分析機에의 最適농도는 各 아미노산이 0.5~1.0μ mole씩<sup>8)</sup> 함유되어 있어야 하므로 試料농도가 1ml當 1μ mole에 해당되도록 조절하였으며 試料용액 1ml를 精確히 취하여 ion exchange resin을 충전시킨 column 上面에 注入, N<sub>2</sub> gas로 sample을 resin에 흡착시킨 후 구연산완충액(pH 2.8)으로 column 공간을 채운 다음 分析을 시작한다. 여기서 얻어진 各 아미노酸의 chromatogram을 標準아미노酸 mixture의 chromatogram과 比較하여 各 조각인의 아미노酸을 確認한다. 그리고 各 아미노酸量은 chromatogram의 面積에 比例하므로 HW法(반치폭法)<sup>9)</sup>에 依하여 그 面積을 計算하고 一定量의 標準아미노酸용액의 分析結果와 比較하여 精량하였다.

## 실험결과 및 고찰

조각인의 全아미노酸측정용 試料調製時 산가수분해에 依하여 threonine, serine, cysteine, tyrosine, valine, isoleusine 등의 아미노산은 部分的으로 파괴되는 것이 알려져 있으나 本報에서는 이를 補正하지 않았다<sup>10)</sup>. 또한 tryptophan은 完全히 파괴되어 精량되지 않았다.

### I. 유리아미노酸 및 全아미노酸의 定性的 確認

#### 1. 자동분석

조각인 3種의 유리아미노酸 및 쏘아미노酸을 측정 한 結果는 Table I, II와 같으며, 유리아미노酸에 있어서는 민주엽나무와 주엽나무에 cysteine이 함유되어 있지 않다. 그리고 arginine이 大體로 多量 함유되어 있으며, methionine은 少量 함유되어 있거나 거의 검출되지 않고 있다.

3種의 조각인의 유리아미노酸에 있어서는 필수아미노酸 8種이 檢出되었으며(단 tryptophan은 미량) 그外 9種(경주산 조각자나무는 10種)이 檢出되었다. 또한 標準品 아미노酸 mixture 以外에 8種이 檢出되었는데 그 양은 미량이며 그中에  $\alpha$ -aminobutyric acid, ethanolamine, alloisoleucine, ornithine의 4種을 標準品과 比較 確認하였으며<sup>11)</sup> 나머지 4種은 아직 確認하지 못하였다. 3種 조각인의 쏘아미노酸에 있어서는 필수아미노

酸 7種과 그外 10種이 檢出되었다. 또한 標準아미노산 mixture 以外에 ornithine과 미지物質 1種(조각자나무는 2種)을 檢出하였으며, ornithine은 3種의 조각인中 유리아미노酸과 쏘아미노酸에서 모두 檢出되었다. 또한 유리아미노酸의 標準아미노酸 mixture 以外에 8種이 檢出된 것은 原料를 많이 使用하고 加水分解에 依한 쏘아미노酸은 試料를 少量 使用하여 含量이 너무 적어서 검출되지 않은 것인가도 생각된다.

2. TLC

3種 조각인의 유리아미노酸 및 쏘아미노酸의 정성 結果中 유리아미노酸에 있어서는 경주산 조각자나무에서 valine, alanine, glutamic acid, proline, ornithine, histidine, aspartic acid를 檢出하고, 민주엽나무와 주엽나무에서 Ala, Glu, Gly, Asp, His.을 檢出하고, 조

Table I. Contents of Free Amino Acids in *Gleditsia Semen* ( $10^{-5}$ g/100g)

Sample Amino acids	<i>Gleditsia officinalis</i>	<i>Gleditsia japonica var. koraiensis</i>	<i>Gleditsia japonica var. Imarmata</i>
Asparagine	8.87	2.03	4.52
Threonine	6.12	5.78	7.17
Serine	8.21	4.12	8.27
Glutamic acid	1.48	2.95	2.51
Proline	5.21	1.35	1.22
Glycine	1.82	0.66	2.70
Alanine	6.52	4.97	5.76
Valine	5.23	5.44	5.37
Cysteine	trace	—	—
Methionine	0.83	0.14	0.32
Isoleucine	2.47	1.85	1.85
Leucine	2.27	1.06	1.28
Tyrosine	2.35	0.88	1.51
Phenylalanine	1.66	1.78	4.13
Lysine	0.82	0.31	0.51
Histidine	1.54	0.45	1.03
Arginine	18.57	3.84	12.62
$\alpha$ -aminobutyric acid	trace	trace	trace
Tryptophane	"	"	"
Ethanolamine	"	"	"
Alloisoleucine	"	"	"
Ornithine	"	"	"
Unknown compound between histidine and arginine	"	"	"
Peak between proline and glycine	"	"	"
Next peak of serine	"	"	"
Peak between alloisoleucine and ornithine	"	"	"
Total	73.97	37.71	60.77

각자나무에서 3種, 민주엽나무와 주엽나무에서 2種의 미확인 物質을 檢出하였다. 쏘아미노酸에 있어서는 경주산 조각자나무에서 Phe, Ile, or Leu, Thy, Met, Val, Thr, Ala, Glu, Gly, Asp, Cys, Orn, Lys, Arg, His, Pro.을 檢出하고, 민주엽나무와 주엽나무도 같이 나왔는데 경주산 조각자나무와 주엽나무에서 자색 (Rf<sub>1</sub> 0.33, Rf<sub>2</sub> 0.37)과 분홍 (Rf<sub>1</sub> 0.25, Rf<sub>2</sub> 0.04)의 未知物質, 그리고 민주엽나무에서 분홍의 미지물질이 확인되었다.

II. 유리아미노酸 및 쏘아미노酸의 定量

조각인 3種에 對하여 유리아미노酸 및 쏘아미노酸을 定量한 結果는 Table I, II와 같다. 이 結果에 對하여 1) 아미노酸의 全體의 分布狀態 2) 쏘아미노酸에 있어서 필수아미노酸을 糞과 比較 觀察한 結果는 各各 다

음과 같다.

1. 아미노酸의 全體의 分布

Table I에서 보는 바와 같이 유리아미노酸에 對하여 조각인 全體에 걸쳐보면 Arg가 가장 많이 含有되어 있고 Thr, Ser, Val, Asp.의 順으로 많으며, Table II에서 보는바와 같이 쏘아미노酸에 있어서는 Glu.가 가장 많고 Arg, Lys, Leu, Asp, Val, Gly, Ala. 順으로 含有되어 있다. 또한 경주산 조각자나무는 다른 조각인에 比較하여 多量의 Pro를 含有하고, 주엽나무는 쏘아미노酸에서 다른 조각인에 比較하여 多量의 Glu를 含有하고 있다.

2. 쏘아미노酸에 있어서 필수아미노酸의 糞과의 比較 (g/100g)

Table III Comparison of Amino Acids in Seeds of Gleditsia and Soy Bean.

Sample	Thr.	Val.	Met.	Ileu.	Leu.	Phe.	Lys.
Soybean	1.300	1.630	0.451	1.688	2.733	1.233	1.893
<i>Gleditsia officinalis</i>	0.45	0.99	trace	0.83	1.26	0.77	1.65
<i>Gleditsia japonica var. koraiensis</i>	0.79	1.26	0.02	1.05	1.65	0.93	2.76
<i>Gleditsia japonica var. Imarmata</i>	0.31	1.11	trace	1.04	1.72	1.02	2.10

이 表에서 보는 바와 같이 주엽나무와 민주엽나무에서 Lys.만 糞보다 含量이 다소 많고 다른것은 모두 糞보다 含量이 비교적 적다. 따라서 같은 糞과이면서 조각인중에는 필수아미노酸이 糞보다 적게 含有되어 있다. 그리고 조각인에는 필수아미노酸의 하나인 methionine이 미량 함유되었거나 또는 거의 검출되지 않은 結果로 나타났으나 이것은 산화되어 methionine 산화物<sup>12)</sup> (methionine sulfate)로 되어 Asp peak 앞에 位置하는 것같이 여겨진다.

사이에 미지의 염기성 아미노酸의 peak가 나오는 것을 確認하였다. 이 사이에서 檢出되는 아미노酸은 carnasine, 3-methylhistidine, 2-amino-3-guanidopropion酸, canavanine<sup>13)</sup> 등이 있다. 또한 *Indigofera spicata* (Leguminosae)의 有毒物質인 새로운 아미노酸 indospicin (L-α-amino-ε-amigino-capron酸)도 염기성 아미노酸으로서 上記物質과 類似한 性質을 가지고 있다.

本 研究를 지도하여 주신 서울大·生藥研究所 洪文和 博士님께 깊이 감사할 드리며 또한 실험에 많은 도움을 주신 淑明女子大學校 藥學大學 여러 教授님께 감사드립니다.

<1976. 2. 4 접수>

문 헌

1) 李殷玉: 藥學會誌, 19, 111 (1975).  
 2) 北村一夫, 官下史郎, 坂井佐喜男: 工業化學雜誌, 61, 122 (1958).  
 3) 竹本常松: 日藥誌, 74, 506 (1954).  
 4) 竹本常松: 自然, 26, No. 12, 70 (1971).  
 5) Hegaty M. and Paund; A.: Priroda, 11, 112 (1968).

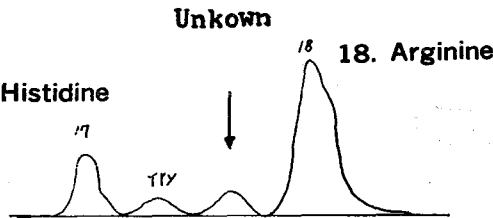


Fig. 1. Absorption peak of unknown amino acid.

III. 미지아미노酸

3種의 조각인의 유리아미노酸中 histidine과 arginine

Table II. Contents of Total Amino Acids in *Gleditsia Semen* (g/100g)

Amino Acids	Sample	<i>Gleditsia officinalis</i>	<i>Gleditsia japonica</i> <i>var. koraiensis</i>	<i>Gleditsia japonica</i> <i>var. Imarmata</i>
Asparagine		1.39	2.28	0.90
Threonine		0.45	0.79	0.31
Serine		0.61	1.03	0.50
Glutamic acid		3.16	5.65	1.53
Proline		0.23	0.32	0.34
Glycine		0.85	1.16	1.06
Alanine		0.61	1.13	0.91
Valine		0.99	1.26	1.11
Cysteine		0.02	0.02	0.02
Methionine		trace	0.02	trace
Isoleucine		0.83	1.05	1.04
Leucine		1.26	1.65	1.72
Tyrosine		0.44	0.35	0.51
Phenylalanine		0.77	0.93	1.02
Lysine		1.65	2.76	2.10
Histidine		0.56	0.80	0.98
Arginine		2.37	3.06	3.61
Unknown peak in front of asparagine		trace	trace	—
Peak between valine and cysteine		trace	—	trace
Ornithine		trace	trace	trace
Total		16.19	24.26	17.66

6) 波多野博行：アミノ酸自動分析法，化學同人，963，p. 79 (1964).

7) Technicon Instrument Co: Amino Acid Autoanalyzer Instruction Manual AAA-1, (1970).

8) 波多野博行：アミノ酸自動分析法，化學同人，76 (1964).

9) *Ibid*, 21 (1970).

10) 表明允，魯一協：韓國營養學會誌，8，47 (1975).

11) 垣花秀武，成田來井造：イオン交換樹脂，廣川書店，233 (1966).

12) 鹿又和郎等：食品の機器分析，光琳書院，461 (1971).

13) 波多野博行：アミノ酸自動分析法，化學同人，100，(1964).