

측백 열매에 관한 연구(3)

과피의 물 추출액을 알카리로 처리할 때의 지방산과 아미노산 분석

남 현 근

광주보건전문대학

Studies of the Thuja Orientalis (3)

Amino Acid and Fatty Acid Composition in the Thuja Biotae Water Extract Treated with Alkaline

Nam, Hyun-Keun

Kwangju Health Junior College

(Received Sep. 28, 1988)

ABSTRACT

In order to investigate the amino acid and fatty acid content in Thuja biotae water extract treated with alkaline, it was performed.

There are 16 kinds of different amino acid and 20 kinds of different fatty acid in Thuja biotae water extract. An aspartic acid was contained 52% and proline was contained 10%, particularly, r-aminobutyric acid was analysed. Essential fatty acids; linoleic acid, linolenic acid and arachidonic acid were contained a lot amount.

There are 11 different unknown materials which were identified by GC-MS spectrum, such as N-[(4 α ,5 α)-cholestan-4-yl]-acetamide; 22,26-Epithio-furost-5-en-3-ol; 2-Methyl-6-(4-methyl-3-cyclohexen-1-yl)-4-heptanone; 3,12,14-Tris(acetyloxy)-pregnane-15,20-dione; 22-Methyl-26-thio-furost-5-en-3-ol; 7-Ethenyl-1,2,3,4,4a,4b,5,6,7,9,10,10a-dodecahydro-1,4a,7-trimethyl-1-phenanthrene carboxyaldehyde; Methoxyiminopropanedioic acid; 13-Methyl-13 β -Methyl-13-vinyl-dodecaarp-7-en-3-ol; 22-Methyl-26-thio-furost-6-methyl-3-ol; 5 α -Androstane-2,11-dione; 9-Methyl-heptadecanoic acid.

I. 서 론

우리나라에 널리 분포되어 있는 측백 나무에서 측백 열매를 채취하여 측백씨의 아미노산 조성은 보고된 바¹⁾ 있으나 과피의 아미노산과 지방산의 조성은 연

구 보고된 바 없다.

한방에서 청량성 지혈제로서 이뇨 작용, 혈중 치료제로 사용하고 있다.^{2,3)} 이것들의 약리적 근거를 조사하기 위하여 측백 과피를 물로 추출하여 그속에 함유되어 있는 아미노산과 지방산의 조성을 조사 분석하였기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재 료

본 실험에 사용한 재료는 1987년 10월 전남 담양에서 채취하여 그늘에서 건조시키고 열매에서 씨를 분리 제거한 다음에 과피만을 마쇄하여 50mesh를 통과한 것만을 기본 시료로 하였다. 이 기본 시료 일정량을 취하여 증류수 1l에 넣고 수욕상에서 4시간동안 가온하였다. 냉각시킨 다음 물 추출액만을 분리하여 추출액의 전체량이 50ml 되도록 농축시켜서 아미노산과 지방산 분석용 시료로 하였다.

2. 지방산 분석

지방은 Bligh and Dyer 방법⁴⁾으로 추출하여 산촉매를 사용하여 transmethylation시켰다.⁵⁾ 즉 시료 1ml를 취하여 benzene 1ml에 녹이고 5% HCl-MeOH 2ml를 가하여 2시간동안 100°C에서 가열한다. 반응이 끝나면 실온에서 냉각시켜 준다. 방냉후 H₂O-Hexane (1:1) 1ml를 가하여 지방산의 에스테르만을 분리 추출하여 chromatography 분석용으로 하였다. 분석조건은 10% silarioc (2.1m×3.2mm) column, temperature는 160~240°C (4°C/min), detector는 UV-detector를 사용하였고, MeOH-CHCl₃ (9:1)액을 eluent로 사용하였다.

3. 아미노산 분석

시료 2g을 취하여 질소 기체속에서 건조시킨 후 6N HCl로 110±2°C에서 22시간동안 반응시켰다. 반응이 끝난 다음 과잉의 염산을 증발 건조시키고 sodium citrate buffer pH 2.2 용액을 첨가하여 gas chromatography로 분석하였다. 분석 조건은 glass

Table 1. Conditions for GC-MS operation.

Instrument	SHIMADZU GCMS-9020 DF	
Ionization	75 ev, 300 A	
Inject temp.	250	
Column temp.	100	
Chamber temp.	300	
	EI/CI	
Set mass range	m/e	max

column (2.0m×3.0mm) 20% DEGS를 충전하였고, detector는 FID, 230°C에서 행하였다.⁶⁻⁸⁾

4. 질량 분석

물로 추출한 시료에서 지방 추출 용매로 추출하여 지방산을 분석하였는데 미지의 peak가 나타났으므로 이를 GC-MS로 하였다.⁹⁻¹²⁾ 분석 조건은 Table 1과 같다.

III. 결과 및 고찰

1. 지방산 분석

일정량의 시료를 HPLC로 분석한 결과는 Table 2와 Fig.1, 2와 같다.

앞의 Table 2와 Fig.1, 2에서 볼 수 있는 바와같이 지방산과 그 유도체가 20종이 분석되었다. 그러나 미지의 물질이 11가지가 나타났다. 특히하게 C_{18:3} 상당량 함유되어 있었고, C_{20:2}와 C_{20:4}도 함유되어 있는 것으로 분석되었다.

그리고 미지의 물질은 GC-MS로 확인하여 Fig. 3~Fig.13과 같은 결과를 얻었다.

Fig.3에서 parent ion [M⁺]의 relative inten-

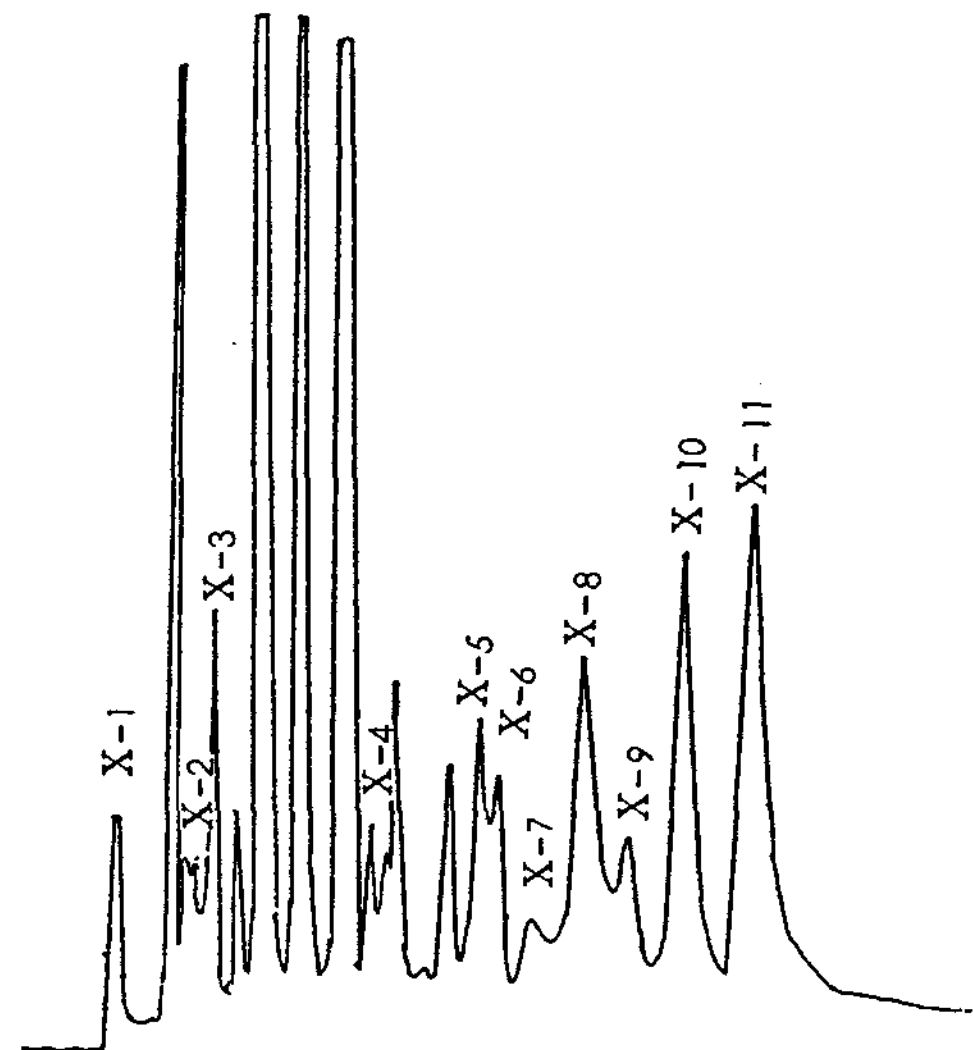


Fig. 1. Unknown chromatogram of Thujae Biotae water extract treated with alkali catalyst by HPLC

Table 2. Composition of fatty acids in Thujae biotae water extract

Carbon number	Name	Content (%)
C _{16:0}	Palmitic acid	19.5
C _{16:1}	Palmitoleic acid	2.6
C _{18:0}	Stearic acid	28.8
C _{18:1}	Oleic acid	5.6
C _{18:2}	Linoleic acid	2.1
C _{18:3}	Linolenic acid	3.8
C _{20:2}	Eicosadienoic acid	0.3
C _{20:4}	Arachidonic acid	2.9
C _{22:0}	Behnic acid	0.4
X-1	Unknown	0.5
X-2	Unknown	1.6
X-3	Unknown	6.0
X-4	Unknown	3.7
X-5	Unknown	0.9
X-6	Unknown	3.1
X-7	Unknown	10.2
X-8	Unknown	2.0
X-9	Unknown	3.7
X-10	Unknown	1.2
X-11	Unknown	1.1
		100.0

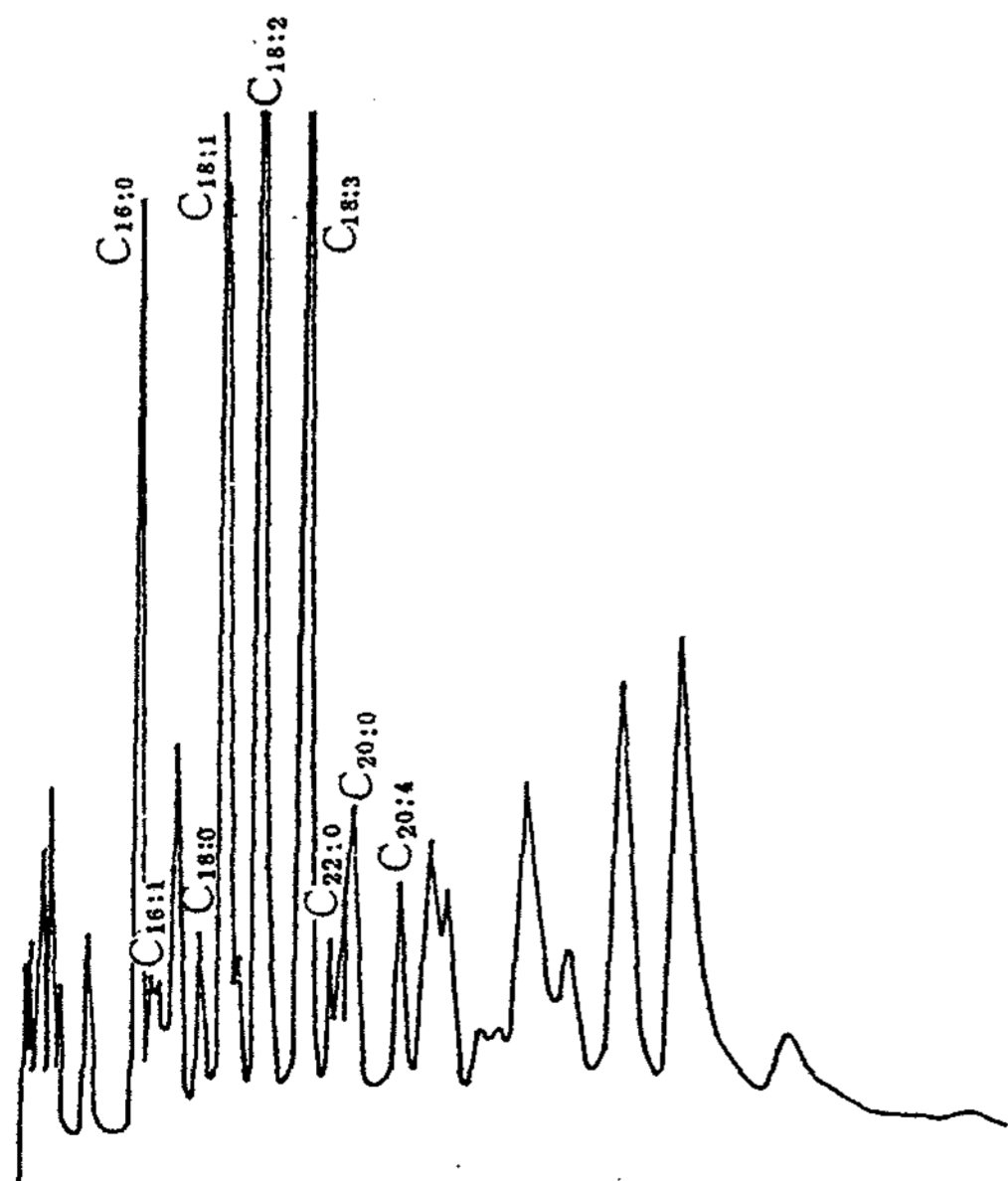


Fig. 2. The chromatogram of Thuja biotae water extract treated with alkali catalyst by HPLC

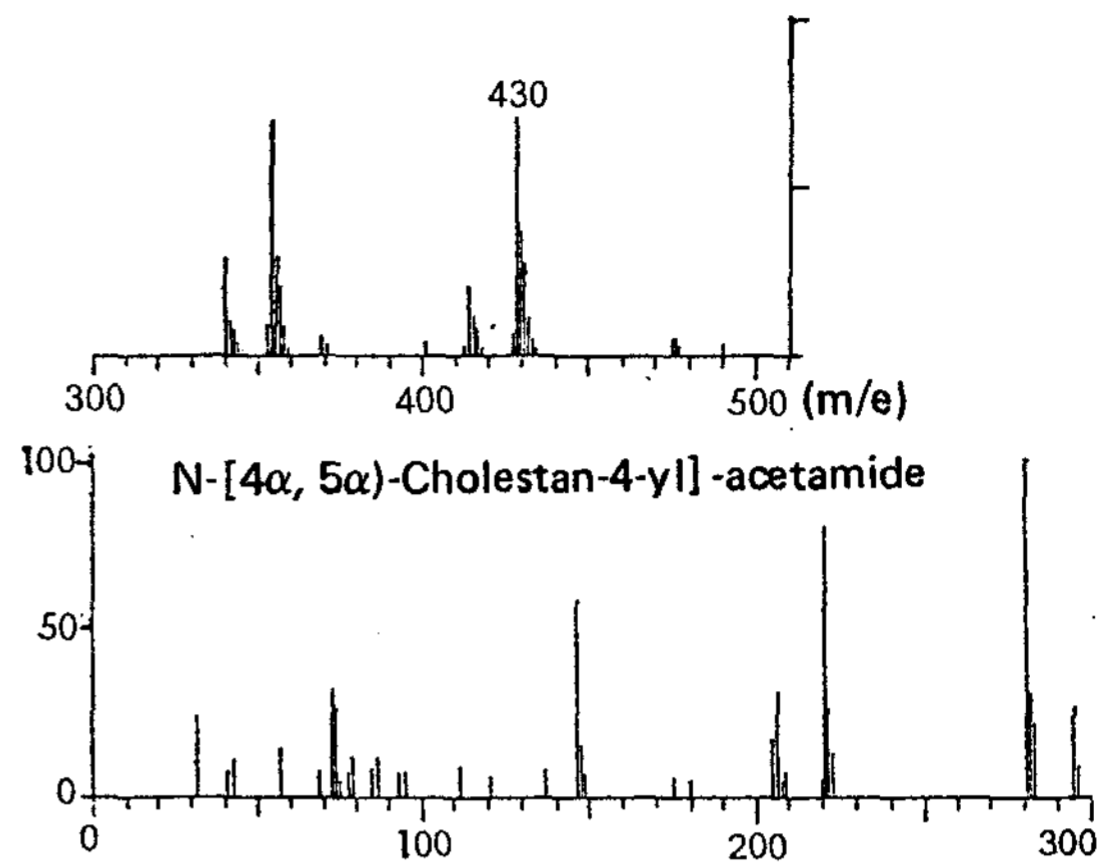


Fig. 3. Unknown X-1 mass spectrum of Thujae Biotae water extract.

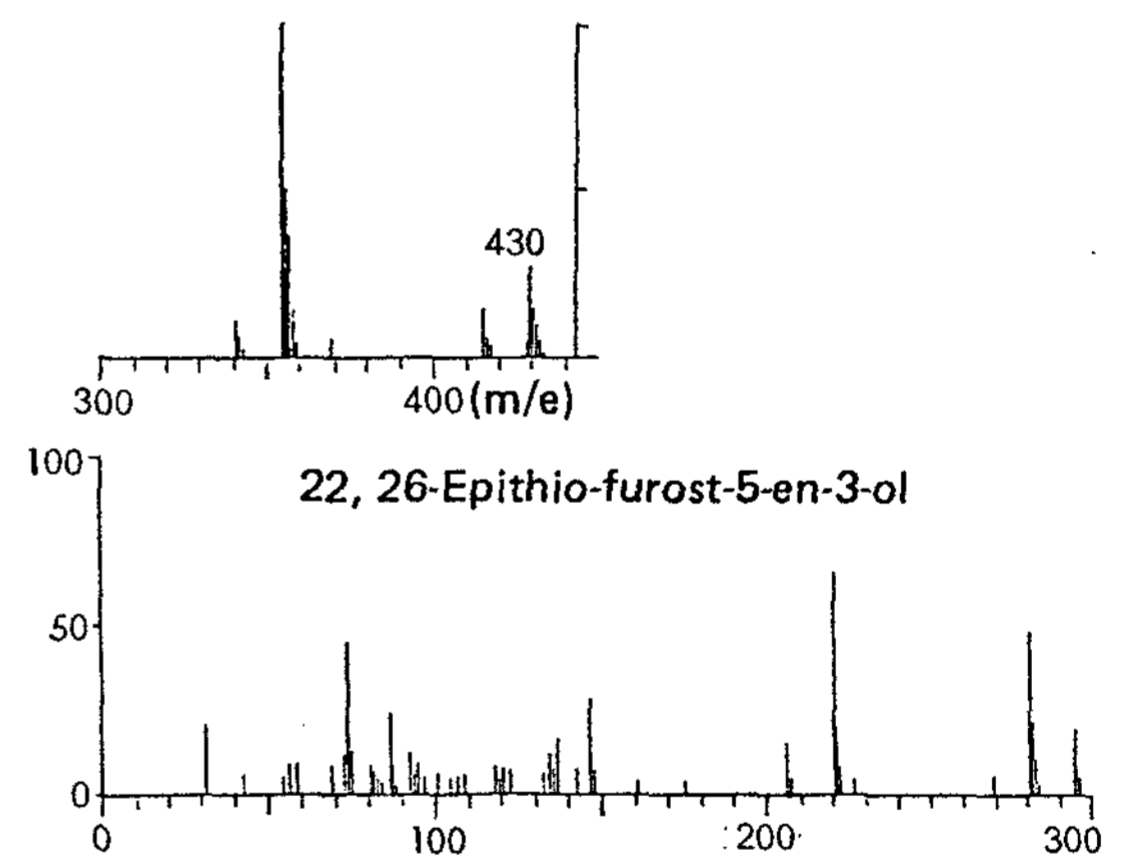


Fig. 4. Unknown X-2 mass spectrum of Thujae Biotae water extract

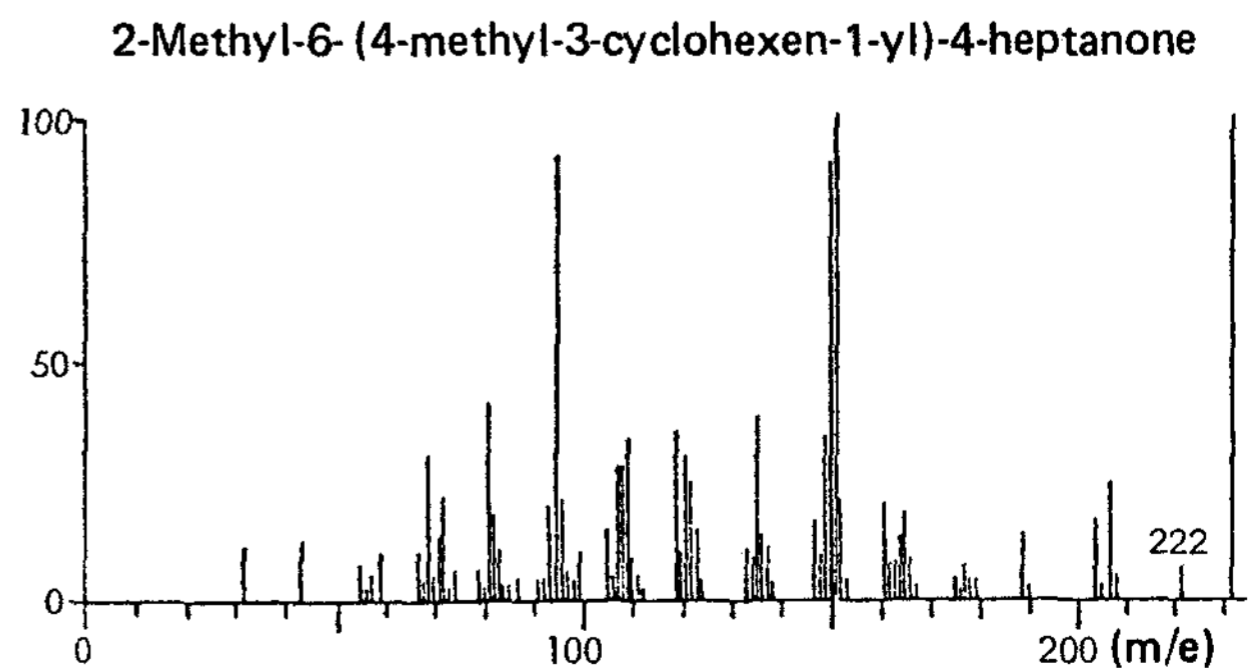


Fig. 5. Unknown X-3 mass spectrum of Thujae Biotae water extract

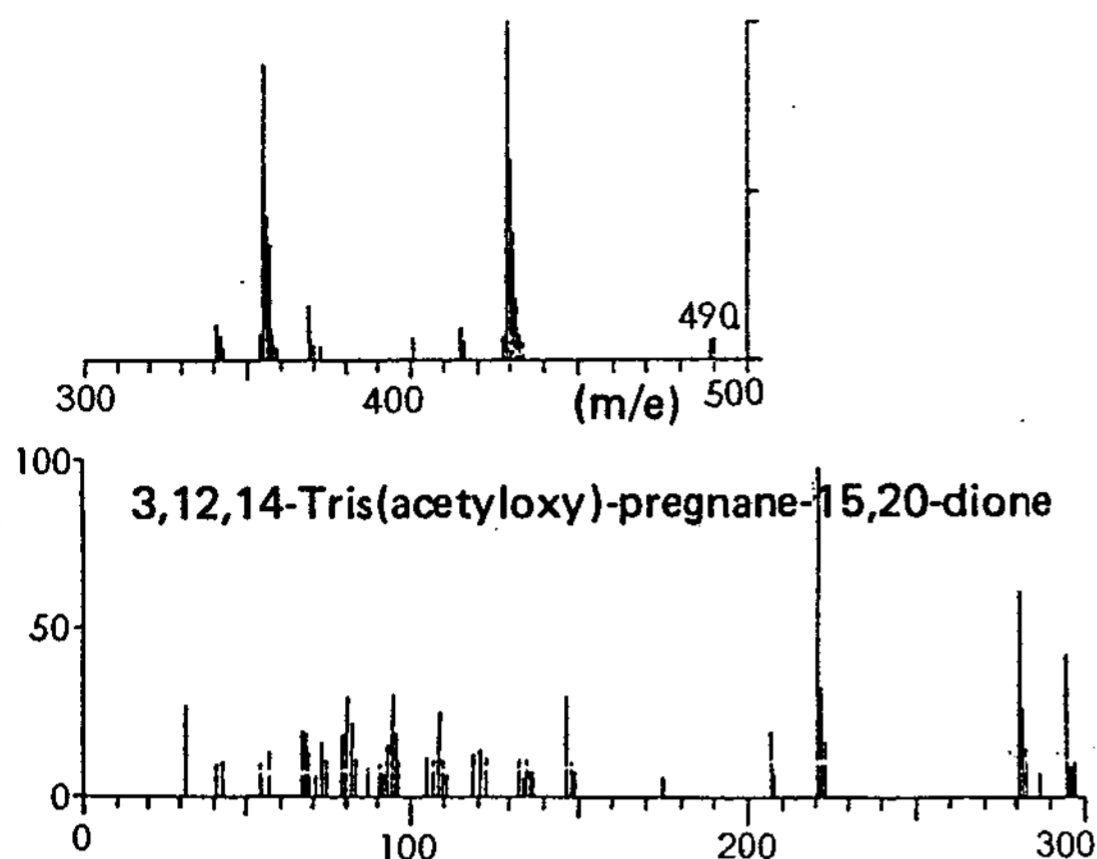


Fig. 6. Unknown X-4 mass spectrum of Thujae Biotac water extract.

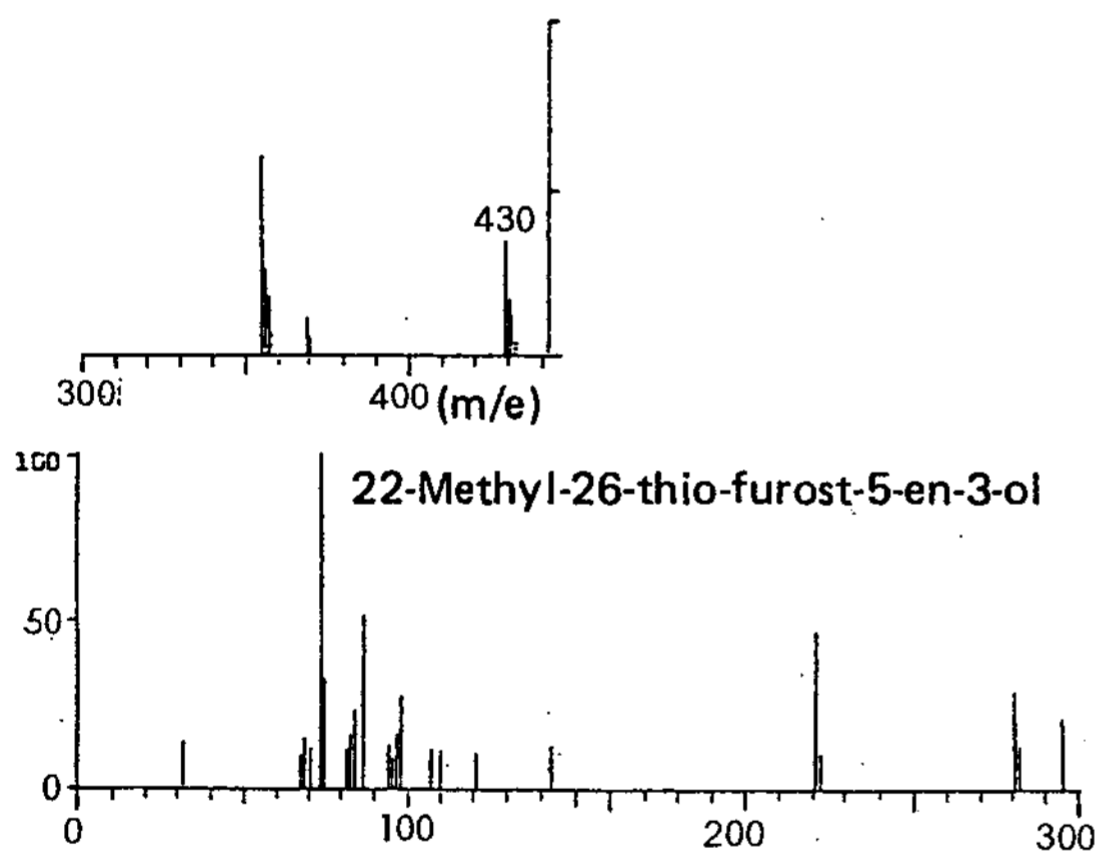


Fig. 7. Unknown X-5 mass spectrum of Thujae Biotac water extract.

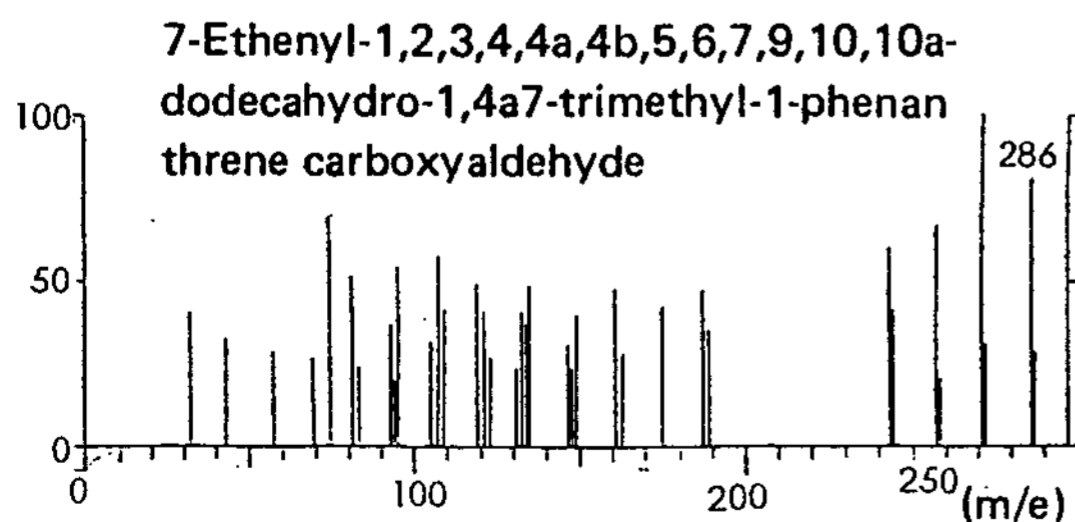


Fig. 8. Unknown X-6 mass spectrum of Thujae Biotae water extract.

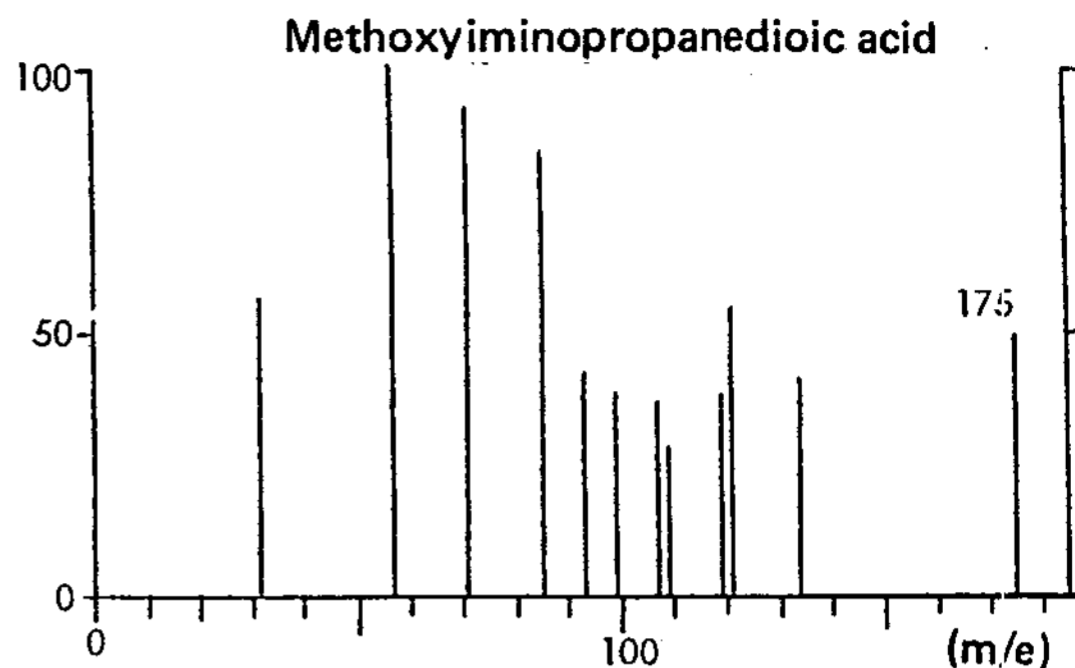


Fig. 9. Unknown X-7 mass spectrum of Thujae Biotae water extract.

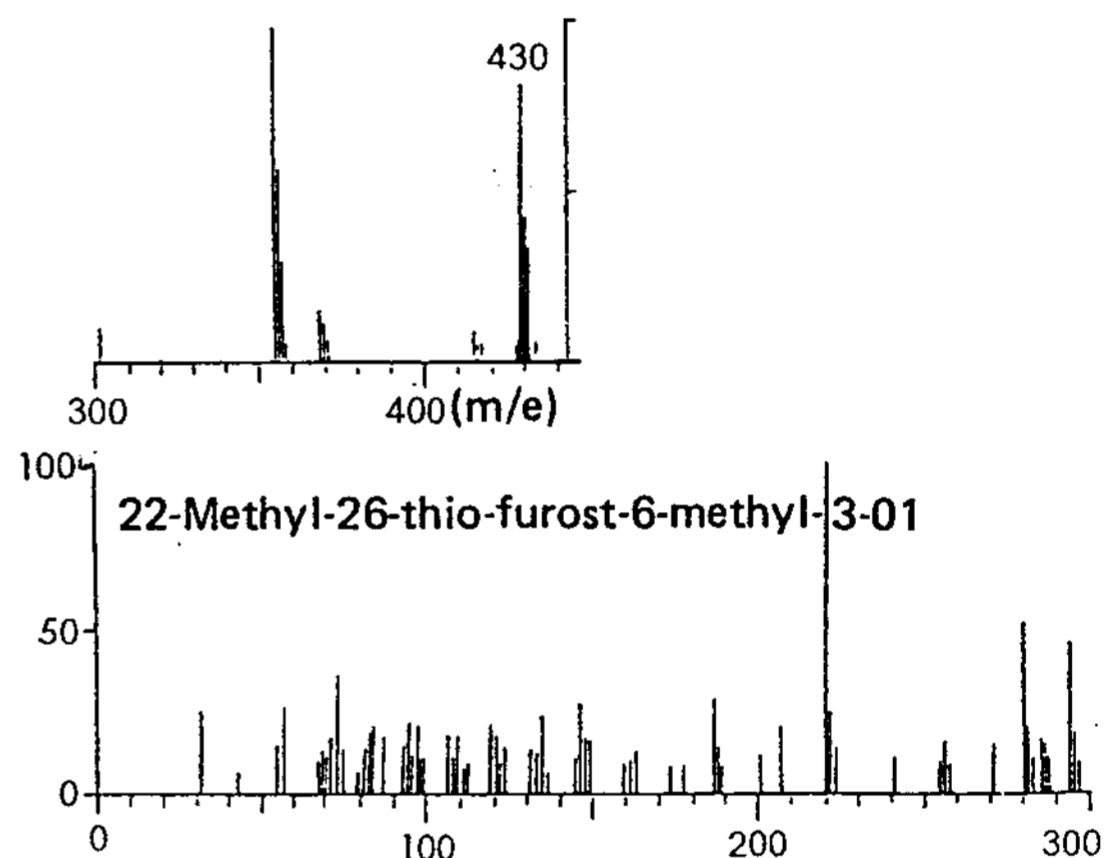


Fig. 10. Unknown X-9 mass spectrum of Thujae Biotae water extract

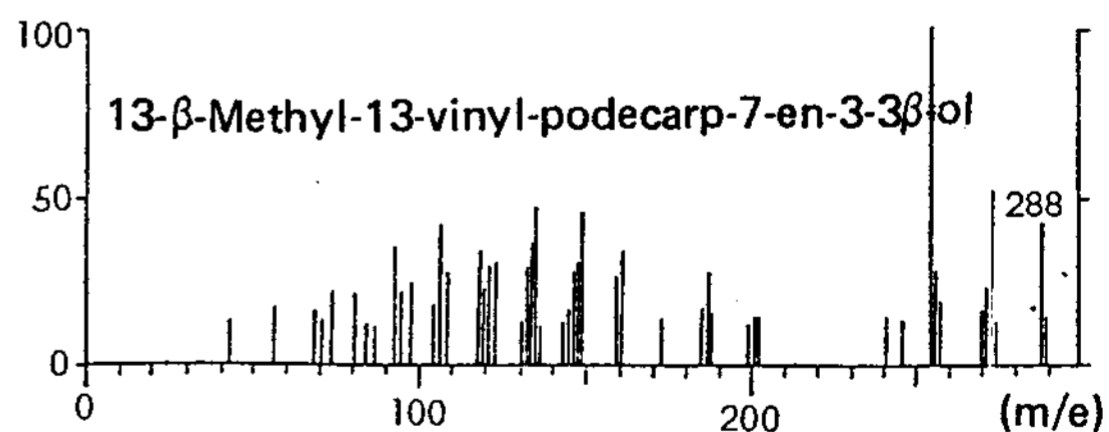


Fig. 11. Unknown X-8 mass spectrum of Thujae Biotae water extract.

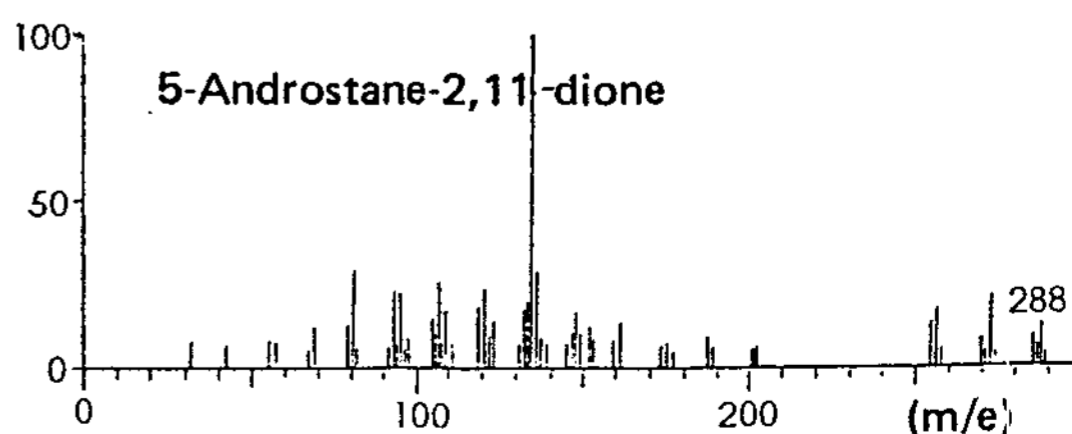


Fig. 12. Unknown X-10 mass spectrum of Thujae Biotae water extract.

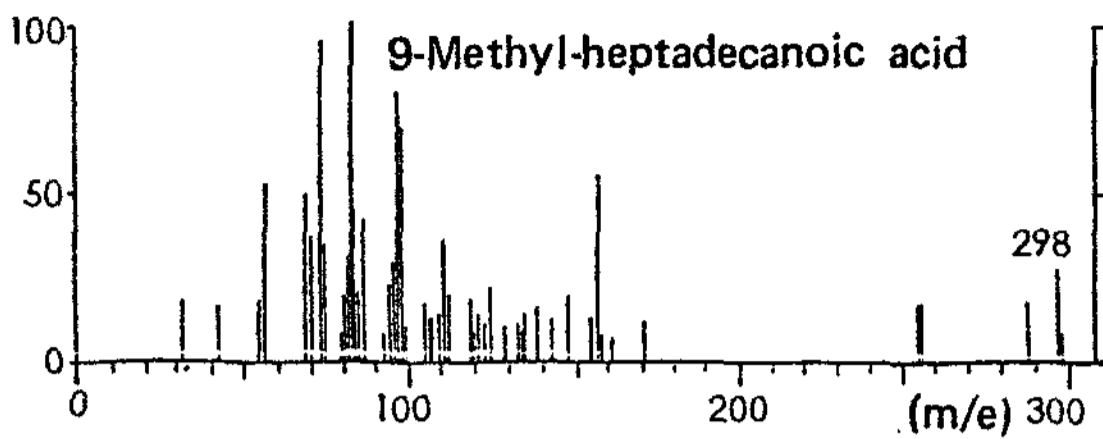


Fig. 13. Unknown X-11 mass spectrum of Thujae Biotae water extract.

Fig. 8에서 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity는 80.6%로 M-286 이었고, m/e 271에서 RI는 100%로 $[M-15]^+$ phenanthrene carboxylate, H_2O 가 현저하였다.

Fig. 9에서 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity는 49.0%로 M-175 이고, m/e 57에서 RI는 100%로 $CH_3-CH_2CH_2CH_2^+$ 가 현저히 많았고, m/e 121에서 RI는 54.1%로 $[M-46]^+$ 가 현저하였다.

Fig. 10에서 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity는 42.8%로 M-288 이며, m/e 255에서 RI는 100%로 7-en-3- β -ol, H_2O $[M-33]^+$ 이온이 현저하였고, m/e 199에서 RI는 12.6%로 low Intensity를 보여 $[M-89]^+$ 가 나타났다.

Fig. 11에서 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity는 42.2%로 M-430 이었고, m/e 221에서 RI는 100%로 furost-6-methyl-3-ol의 base peak가 현저하였고, m/e 355에서 RI는 99.1%로 $[M-75]^+$ 를 보였다.

Fig. 12에서 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity는 13.7%로 M-288 이고, m/e 135에서 RI는 100%로 $[M-139]^+$ 이었다.

Fig. 13에서 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity는 8.8%로 M-298 이었고, m/e 139에서 RI는 15.8%로 heptadecare이 많이 존재하였으며, m/e 255에서 RI는 16.5%로 $[M-43]^+$, m/e 97에서 RI는 79.4%로 $[M-201]^+$ 이 나타났다.

이상의 결과로 알 수 있는 것은 cyclic compound에 있어서는 m/e 72.74에서 base peak가 비교적 낮은 relative intensity를 보였으며 $CH_3OCO(CH_2)_n^-$ 에서 hydrocarbon ion을 형성하여 $C_nH_{2n+1}^-$ 등도 만들어지며 methylate되므로 methoxy group이 떨어질때 형성된다는 Myher⁹⁾, Murata¹⁰⁾, Sun¹¹⁾, McClosky¹²⁾ 등이 보고한 것과 잘 일치되었고 문헌상¹³⁾의 mass spectrum과의 비교로 확인한바 N-[(4 α , 5 α)-cholestan-4-yl]-acetamide (M. Wt : 430); 22.26-Epithio-furost-5-en-3-ol (M. Wt : 430); 2-methyl-6-(4-methyl-3-cyclohexen-1-yl)-4-heptanone (M. Wt : 222); 3, 12, 14-Tris(acetyloxy)-pregnane-15,20-dione (M. Wt : 490); 22-Methyl-26-thio-furost-5-en-3-ol (M. Wt : 430); 7-Ethenyl-1, 2, 3, 4, 4a, 4b, 5-

Fig. 4에서 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity는 14.5%로 M-430 이며, m/e 355에서 RI는 100%로 5-en-3-ol $[M-75]^+$ 이온이 현저하게 많았고, m/e 281에서 RI는 49.3%로 $[M-149]^+$, m/e 221에서 RI는 65.4%로 $[M-209]^+$, 이온이 현저하게 존재하였다.

Fig. 5에서 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity는 6.8%로 비교적 낮게 나타났고, m/e 208에서 RI는 23.5%로 $[M-14]^+$ 로 $CH_2=CH(CH_2)_nCO^+$ 의 존재로 나타났고, m/e 151에서 RI는 100%를 나타내 4-methyl-3-cyclohexene-1-yl, $[M-72]^+$ 이온이 현저하였고, m/e 119에서 RI는 34.7%로 $[M-103]^+$ 이온이 현저 하였고 m/e 69에서 RI는 30.6%로 cyclopentane의 base peak가 나타났다.

Fig. 6에서 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity는 6.6%로 비교적 낮게 나타났고 M-490 이며, m/e 429에서 RI는 100%로 $[M-61]^+$ 으로 pregnane-15,20-dione, H_2O 가 존재하였으며, m/e 355에서 RI는 87.4%로 $[M-135]^+$ 이었고, m/e 67에서 RI는 19.2%로 cyclopentane의 peak가 나타났다.

Fig. 7에서 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity는 16.8%이었고 M-430 이었다. m/e 74에서 RI는 100%로 $CH_3OCOCH_2^+$ 이온이 현저하였고, m/e 221에서 RI는 47%로 $[M-209]^+$, m/e 355에서 RI는 59.8%로 $[M-75]^+$ 로 나타났다.

Fig. 8에서 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity는 80.6%로 M-286 이었고, m/e 271에서 RI는 100%로 $[M-15]^+$ phenanthrene carboxylate, H_2O 가 현저하였다.

Fig. 9에서 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity는 49.0%로 M-175 이고, m/e 57에서 RI는 100%로 $CH_3-CH_2CH_2CH_2^+$ 가 현저히 많았고, m/e 121에서 RI는 54.1%로 $[M-46]^+$ 가 현저하였다.

Fig. 10에서 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity는 42.8%로 M-288 이며, m/e 255에서 RI는 100%로 7-en-3- β -ol, H_2O $[M-33]^+$ 이온이 현저하였고, m/e 199에서 RI는 12.6%로 low Intensity를 보여 $[M-89]^+$ 가 나타났다.

Fig. 11에서 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity는 42.2%로 M-430 이었고, m/e 221에서 RI는 100%로 furost-6-methyl-3-ol의 base peak가 현저하였고, m/e 355에서 RI는 99.1%로 $[M-75]^+$ 를 보였다.

Fig. 12에서 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity는 13.7%로 M-288 이고, m/e 135에서 RI는 100%로 $[M-139]^+$ 이었다.

Fig. 13에서 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity는 8.8%로 M-298 이었고, m/e 139에서 RI는 15.8%로 heptadecare이 많이 존재하였으며, m/e 255에서 RI는 16.5%로 $[M-43]^+$, m/e 97에서 RI는 79.4%로 $[M-201]^+$ 이 나타났다.

이상의 결과로 알 수 있는 것은 cyclic compound에 있어서는 m/e 72.74에서 base peak가 비교적 낮은 relative intensity를 보였으며 $CH_3OCO(CH_2)_n^-$ 에서 hydrocarbon ion을 형성하여 $C_nH_{2n+1}^-$ 등도 만들어지며 methylate되므로 methoxy group이 떨어질때 형성된다는 Myher⁹⁾, Murata¹⁰⁾, Sun¹¹⁾, McClosky¹²⁾ 등이 보고한 것과 잘 일치되었고 문헌상¹³⁾의 mass spectrum과의 비교로 확인한바 N-[(4 α , 5 α)-cholestan-4-yl]-acetamide (M. Wt : 430); 22.26-Epithio-furost-5-en-3-ol (M. Wt : 430); 2-methyl-6-(4-methyl-3-cyclohexen-1-yl)-4-heptanone (M. Wt : 222); 3, 12, 14-Tris(acetyloxy)-pregnane-15,20-dione (M. Wt : 490); 22-Methyl-26-thio-furost-5-en-3-ol (M. Wt : 430); 7-Ethenyl-1, 2, 3, 4, 4a, 4b, 5-

Fig. 4에서 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity는 14.5%로 M-430 이며, m/e 355에서 RI는 100%로 5-en-3-ol $[M-75]^+$ 이온이 현저하게 많았고, m/e 281에서 RI는 49.3%로 $[M-149]^+$, m/e 221에서 RI는 65.4%로 $[M-209]^+$, 이온이 현저하게 존재하였다.

Fig. 5에서 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity는 6.8%로 비교적 낮게 나타났고, m/e 208에서 RI는 23.5%로 $[M-14]^+$ 로 $CH_2=CH(CH_2)_nCO^+$ 의 존재로 나타났고, m/e 151에서 RI는 100%를 나타내 4-methyl-3-cyclohexene-1-yl, $[M-72]^+$ 이온이 현저하였고, m/e 119에서 RI는 34.7%로 $[M-103]^+$ 이온이 현저 하였고 m/e 69에서 RI는 30.6%로 cyclopentane의 base peak가 나타났다.

Fig. 6에서 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity는 6.6%로 비교적 낮게 나타났고 M-490 이며, m/e 429에서 RI는 100%로 $[M-61]^+$ 으로 pregnane-15,20-dione, H_2O 가 존재하였으며, m/e 355에서 RI는 87.4%로 $[M-135]^+$ 이었고, m/e 67에서 RI는 19.2%로 cyclopentane의 peak가 나타났다.

Fig. 7에서 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity는 16.8%이었고 M-430 이었다. m/e 74에서 RI는 100%로 $CH_3OCOCH_2^+$ 이온이 현저하였고, m/e 221에서 RI는 47%로 $[M-209]^+$, m/e 355에서 RI는 59.8%로 $[M-75]^+$ 로 나타났다.

Fig. 8에서 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity는 80.6%로 M-286 이었고, m/e 271에서 RI는 100%로 $[M-15]^+$ phenanthrene carboxylate, H_2O 가 현저하였다.

Fig. 9에서 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity는 49.0%로 M-175 이고, m/e 57에서 RI는 100%로 $CH_3-CH_2CH_2CH_2^+$ 가 현저히 많았고, m/e 121에서 RI는 54.1%로 $[M-46]^+$ 가 현저하였다.

Fig. 10에서 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity는 42.8%로 M-288 이며, m/e 255에서 RI는 100%로 7-en-3- β -ol, H_2O $[M-33]^+$ 이온이 현저하였고, m/e 199에서 RI는 12.6%로 low Intensity를 보여 $[M-89]^+$ 가 나타났다.

Fig. 11에서 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity는 42.2%로 M-430 이었고, m/e 221에서 RI는 100%로 furost-6-methyl-3-ol의 base peak가 현저하였고, m/e 355에서 RI는 99.1%로 $[M-75]^+$ 를 보였다.

Fig. 12에서 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity는 13.7%로 M-288 이고, m/e 135에서 RI는 100%로 $[M-139]^+$ 이었다.

Fig. 13에서 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity는 8.8%로 M-298 이었고, m/e 139에서 RI는 15.8%로 heptadecare이 많이 존재하였으며, m/e 255에서 RI는 16.5%로 $[M-43]^+$, m/e 97에서 RI는 79.4%로 $[M-201]^+$ 이 나타났다.

이상의 결과로 알 수 있는 것은 cyclic compound에 있어서는 m/e 72.74에서 base peak가 비교적 낮은 relative intensity를 보였으며 $CH_3OCO(CH_2)_n^-$ 에서 hydrocarbon ion을 형성하여 $C_nH_{2n+1}^-$ 등도 만들어지며 methylate되므로 methoxy group이 떨어질때 형성된다는 Myher⁹⁾, Murata¹⁰⁾, Sun¹¹⁾, McClosky¹²⁾ 등이 보고한 것과 잘 일치되었고 문헌상¹³⁾의 mass spectrum과의 비교로 확인한바 N-[(4 α , 5 α)-cholestan-4-yl]-acetamide (M. Wt : 430); 22.26-Epithio-furost-5-en-3-ol (M. Wt : 430); 2-methyl-6-(4-methyl-3-cyclohexen-1-yl)-4-heptanone (M. Wt : 222); 3, 12, 14-Tris(acetyloxy)-pregnane-15,20-dione (M. Wt : 490); 22-Methyl-26-thio-furost-5-en-3-ol (M. Wt : 430); 7-Ethenyl-1, 2, 3, 4, 4a, 4b, 5-

8. Roach, D. and C.W. Gehrke,: *J. of Chromatography* 52, 394 (1970).
9. Myher, J.J., Marai, L. and Kukasis, A: *Anal Biochem*, 62, 188 (1974).
10. Murata, T.: *Anal. Chem.* 47, 573 (1975).
11. Sun, K.K. and Holman, R.T.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 45, 810 (1968).
12. McCloskey, J.A. and Law, J.H.: *Lipids* 2, 225 (1967).
13. EPA/NIH: EPA/NIH MASS Spectral Data Base, U.S. department of Commerce, Washington, D.C. U.S.A. (1978).