

계절에 따른 참죽나무잎 Flavonoid 화합물의 변화 분석

박종철[†] · 김성환*

순천대학교 한약자원학과

*경북보건환경연구원

Seasonal Variation of Flavonoid Contents in the Leaves of *Cedrela sinensis*

Jong-Cheol Park[†] and Sung-Hwan Kim*

Dept. of Oriental Medicine Resources, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

*Kyongbuk Insitute of Health and Environment, Daegu 702-702, Korea

Abstract

The seasonal variation of two flavonoid, quercitrin and afzelin, in the leaves of *Cedrela sinensis* A. Juss. from May until November was investigated by high performance liquid chromatography. Separation by reversed phase chromatography on μ -Bondapak C₁₈ column was achieved by isocratic elution. The concentration of quercitrin was 5.81% (w/w) in May and high in July (8.89%, w/w), August (7.94%, w/w), and decreased from September to November. The content of another flavonoid, afzelin was 0.06% (w/w) in May and highest in June (0.12%, w/w), and was reduced from July.

Key words : *Cedrela sinensis*, Meliaceae, HPLC, quercitrin, afzelin, seasonal variation

서 론

참죽나무 (*Cedrela sinensis* A. Juss.)는 멀구슬나무과에 속하는 낙엽교목으로서 외피가 얇게 갈라져서 적색 껍질이 나타나며 가지는 굵고 암갈색이며 어린가지에 털이 있으나 점차 없어진다(1). 이의 어린잎은 참죽부각, 잎쌈, 장아찌 등으로 식용한다. 참죽을 먹는 풍습은 우리나라와 중국 뿐이며 이른 봄에 참죽나무순이 돌아 날 때는 붉은색을 나타내므로 아름답고 맛과 향과 색이 조화를 이루는 귀한 산채이다(2). 약용으로는 참죽나무의 잎을 소염, 해독, 살충의 효능으로 장염, 이질 등의 치료에 이용되기도 하며(1,2) 뿌리의 껍질을 대하, 적백리 등의 치료에, 열매는 대변하혈, 관절통 등에 사용한다(3). 이 식물의 잎에는 flavonoid 성분이 풍부하게 함유되어 있으며 이 성분의 약리작용으로는 모세혈관 투과성 억제, 항virus, 항혈액응고 및 급성간염 억제, 고혈압 및 당뇨병성 백내장 등의 예방, 항산화, 항염, 진경, 혈압강하 등의 많은 활성이 알려져 있다(4-10). Flavo-

noid 성분의 약리작용에 대한 관심이 증대됨에 따라 치료목적으로 사용할 flavonoid 생약에 대한 품질평가도 중요시 되고 있으며 이러한 flavonoid 화합물은 열, 광선 또는 산소 등에 의해 쉽게 분해되며 계절적 변동에 의해서도 그 함량의 변화가 심한 것으로 알려져 있다(11). 따라서 저자 등은 천연자원식물의 품질 규격화를 위한 연구의 일환으로서 이 식물을 월별로 채집하여 주성분으로 함유된 quercitrin 및 afzelin의 flavonoid 화합물이 계절적 변동에 따라 함량변화를 나타내므로 이에 관해 보고하고자 한다.

재료 및 방법

기기

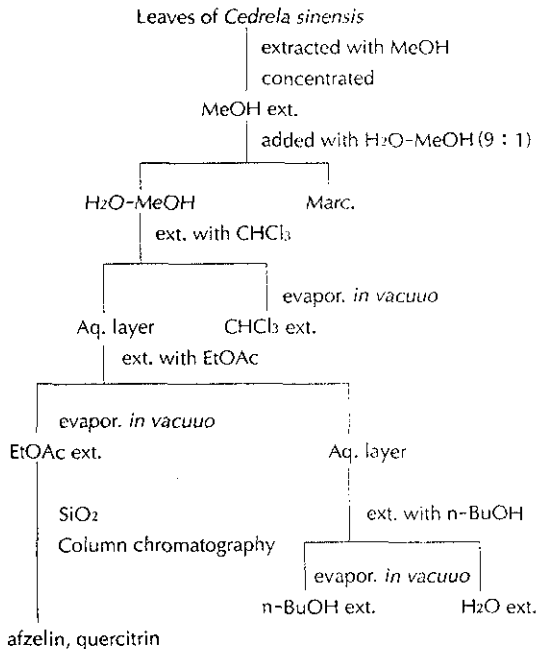
HPLC는 Spectra physics의 분석용 liquid chromatography로서 Spectra 100을 이용하였으며 column은 μ -Bondapak C₁₈(3.9mm × 100mm)을 사용하였다. 분석시약은 HPLC용을 분석 전에 Millipore 여과기로 여과하여 사용하였으며 내부표준물질의 luteolin은 고들빼기(12)에서 분리한 화합물을 이용하였다. 화학구조 분석용 기

[†]To whom all correspondence should be addressed

기는 Gallen Kamp Melting Point Apparatus, Bomen MB 100-C15 FT-IR spectrophotometer, CE 599 Universal automatic scanning spectrophotometer, Bruker AM-200 NMR spectrometer를 이용하였으며 column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel 60 (Merck Art. 7729), thin layer chromatography용 precoated plates는 Kiesel gel 60 F254 (Merck Art. 5735)을 사용하였다.

추출 및 분리

전남 승주군 서면의 한그루 나무에서 1994년 5월 7일부터 11월 7일까지 월별로 같은 날짜에 채집한 참죽나무 잎 200g씩을 음건 후 세절하여 수욕상에서 환류냉각하면서 MeOH로 3회 추출하여 검액으로 사용하였다. 성분 분리를 위한 실험으로는 5월에 참죽나무 잎을 1kg 채집하여 MeOH로 상기방법과 같이 추출한 후 용매를 감압하여 제거, MeOH 엑스를 얻었다. 이 엑스를 10% MeOH에 현탁시킨 후 용매의 극성증가순에 따른 계통 분획을 실시하여 CHCl_3 , ethyl acetate (EtOAc), n-butanol 및 수증으로 분획하였다 (Scheme 1). 이중 EtOAc분획을 silica gel column chromatography (CHCl_3 -MeOH-H₂O=7:3:1, 하층)를 실시하여 afzelin, quercitrin (Fig. 1)의 flavonoid 성분을 분리하여 사용하였다.



Scheme 1. Isolation of flavonoid compounds from *Cedrela sinensis*.

분석조건

이동상으로는 THF-dioxane-MeOH-HOAc-5% H₃PO₄-H₂O (145:125:50:2:658)을 사용해서 isocratic elution 시켰다. 분석은 실온에서 실시하였으며 용매의 유속은 1.2ml/min, UV detector는 365nm를 사용하였고 감도는 0.1 AUs, chart speed는 0.25cm/min으로 하였다.

표준검량선의 작성

표준검량선은 내부 표준물질로서 luteolin 14mg을 정평하여 MeOH 10ml에 용해시켜 1400 μ g/ml의 표준액을 조제하였다. Quercitrin은 20mg으로 정평하여 MeOH 10ml에 용해시킨 용액을 stock solution으로 해서 이를 일정량씩 취한 후 각각에 MeOH를 가해 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0mg/ml가 되게 조제하였다. 또한 afzelin 20mg을 정평하여 MeOH 10ml에 용해시킨 용액을 1ml 취하고 MeOH를 가해 10ml로 하여 stock solution으로 하였다. 두 표준액을 내부 표준물질과 각각 1:1 혼합하여 얻은 액 5 μ 를 취하여 HPLC를 실시하여 평균 area ratio를 구하였다. Quercitrin 검량선의 회귀직선 방정식은 $Y=0.2561X+0.0073$ 이며, afzelin은 $Y=5.0778X-0.0068$ 로서 상관계수가 0.9998 및 0.9999로서 1.0에 접근하므로 직선성이 인정되었다.

MeOH 엑스중의 quercitrin 및 afzelin 정량

월별로 채집하여 제조한 MeOH 엑스 100mg을 정평한 후 이를 MeOH 10ml에 용해시킨액을 검액으로 사용하였다. 검액과 내부 표준액인 luteolin의 혼합액 5 μ

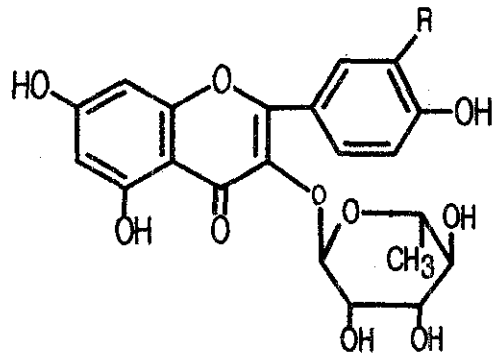


Fig. 1. Structure of flavonoids isolated from *Cedrela sinensis*.
Quercitrin: OH at R site
Afzelin: H at R site

를 취하여 HPLC를 실시하여 area ratio값을 구하였다.

결과 및 고찰

참죽나무잎은 어린잎을 식용하면서 약용으로 사용되는 천연자원 식물이다. 이의 잎에는 flavonoid 화합물이 풍부하게 함유되어 있으며 이 화합물은 계절에 따라서 함량이 변한다는 보고가 있다(11). 따라서 식품으로 이용되는 참죽나무잎의 품질 평가를 위한 연구의 일환으로서 이 식물의 잎을 MeOH로 추출한 후 μ -Bondapak C₁₈을 이용한 HPLC로서 THF-dioxane-MeOH-HOAc-5% H₃PO₄-H₂O의 혼합용매를 사용하여 flavonoid 함량을 월별로 정량하여 분석하였다.

Silica gel column chromatography를 실시하여 분리한 2종의 flavonoid 화합물은 표준품과의 비교에서 일치된 분광학적 데이터(13)를 얻을 수 있으므로 quercitrin과 afzeline으로 동정하였다. 내부 표준물질은 수중 화합물들을 동일 조건에서 HPLC를 실시하여 luteolin이 적합하였으며 지표물질의 함량은 표준 검량선을 작성하여 직선성을 검증한 결과 그 상관계수가 quercitrin 및 afzeline이 각각 0.9998과 0.9999로서 모두 1.0에 접근하므로 표준물질과 내부 표준물질의 중량비와 peak area ratio간에 직선성이 인정되었다. MeOH엑스 중에 함유된 quercitrin과 afzeline을 정량하기 위해 조제한 혼액 일정량을 취하여 HPLC를 실시하고 이로 부터 얻은 평균 area ratio값은, quercitrin은 5월 부터 11월 까지 각각 0.3795, 0.4332, 0.5766, 0.5157, 0.3565, 0.3267 및 0.3688이고 afzeline은 0.0677, 0.1385, 0.1008, 0.0886, 0.0469, 0.0664 및 0.0502이다. 이를 회귀직선방정식에 대입하여 월별로 계산하면 MeOH엑스 100mg 중에 주성분인 quercitrin의 함량은 5월 부터 11월 까지 각각

5.81, 6.65, 8.89, 7.94, 5.45, 4.99 및 5.65mg이며, 다른 flavonoid 화합물인 afzeline의 함량은 0.06, 0.12, 0.09, 0.08, 0.04, 0.06 및 0.05mg 함유되어 있다(Fig. 2).

Quercitrin은 잎이 생성되는 5월 부터 증가되어 여름철인 7월과 8월달에 검체 100mg당 8.89mg(8.89%, w/w), 7.94mg(7.94%, w/w)로서 가장 많으며 가을철인 9월(5.45%, w/w) 부터는 감소하여 11월달의 함량(5.65%, w/w)은 잎이 나기 시작하는 5월달 함량(5.81%, w/w)과 비슷함을 관찰할 수 있다. 그리고 afzeline의 함량은 초여름의 6월달이 검체 100mg당 0.12mg(0.12%, w/w)으로 최대이며 7월(0.09%, w/w), 8월(0.08%, w/w)에도 다른 달에 비해 많은 양을 함유하고 있으나 가을인 9월 부터 점차 감소하여 11월(0.05%, w/w)에는 5월(0.06%, w/w)과 비슷한 함유량을 유지하고 있다. 참죽나무잎에 함유된 flavonoid 화합물 중 quercitrin은 여름철인 7월, 8월에 걸쳐서 많은 양을 함유하고 있으며 시간이 지남에 따라 점차 감소하고, 또 다른 flavonoid 화합물인 afzeline도 여름철인 6월, 7월달에 비교적 많은 양을 함유하다가 9월 부터 감소하는 경향을 보이고 있다. 따라서 참죽나무잎을 식용하기 위해서는 4월 및 5월의 어린잎이 생성되는 시기에 채집하여 식품으로 사용하고 있으나 약효성분인 flavonoid 화합물의 함유량은 여름철인 7월 및 8월에 최대로 함유하고 있었다. 그리고 flavonoid 성분은 동일나무에서 일정한 농도로 존재하지 않고 계절에 따라 그 함량이 변하고 있음을 확인할 수 있다.

실험부와 같은 HPLC 분석법을 이용하면 용이하게 참죽나무 잎 중의 flavonoid 을 월별로 정량할 수 있으며 식용식물인 참죽나무 잎의 계절에 따른 품질평가에도 이용할 수 있으리라 사료된다.

요 약

참죽나무잎 flavonoid들을 column chromatography로서 분리하여 HPLC를 이용하여 화합물을 분석하고 주성분인 quercitrin 및 afzeline을 계절별로 채집, 함유량을 정량하였다. 참죽나무잎 중의 flavonoid는 주성분인 quercitrin은 채집 초기인 5월을 시작으로 증가되다가 7월과 8월에 7.94, 8.89%로서 최대치에 달하며 9월 부터 감소하는 경향을 보였다. Afzeline의 함유량도 6월에 0.12%로서 최고조에 달하며 7, 8월에 0.09, 0.08%로 많은 양을 함유하다가 가을철인 9월 부터 점점 감소함을 관찰할 수 있다. 따라서 참죽나무잎의 flavonoid 함유량은 여름에 최고조에 달하며 동일나무에서 그의 함

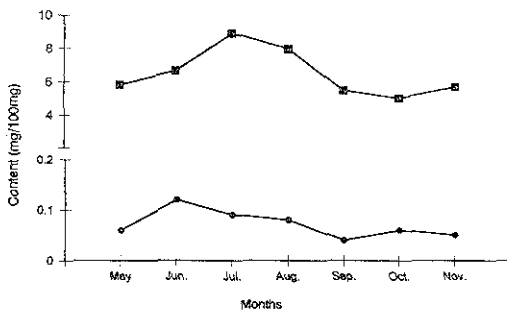


Fig. 2. Seasonal variation of flavonoid contents in *Cedrela sinensis*.

- : The content of quercitrin
- : The content of afzelin

량은 일정하지 않고 계절에 따라 변화함을 관찰할 수 있다.

문 헌

1. 이창복 : 대한식물도감. 향문사, 서울, p.507(1985)
2. 최영전 : 산나물 재배와 이용법. 오성출판사, 서울, p.206(1992)
3. 江蘇新醫學院 : 中藥大辭典. 小學館, 東京, p.3717(1985)
4. Veckenstedt, A. and Horn, M. : Testing of antiviral compounds against Mengo virus infection of Mice. A 2-step procedure of *in vivo* screening. *Z. Allg. Microbiol.*, **16**, 57(1976)
5. Hladovec, J. : Antithrombotic effects of some flavonoid alone and combined with acetylsalicylic acid. *Arzneim. Forsch.*, **27**, 1989(1977)
6. Swallow, D. L. : Antiviral agent. In "Progress in Drug Research" Jucker, E. (ed.), Birkhauer Verlag Basel und Stuttgart, **22**, 312(1978)
7. Kameda, K., Takeshi, T., Okuda, H. and Kimura, Y. : Inhibitory effects of various flavonoids isolated from leaves of persimmon on angiotensin-converting enzyme activity. *J. Natural Products*, **4**, 680(1987)
8. Toshimitsu, H., Kazuko, S., Kawasaki, M., Munehisa, A., Shimizu, M. and Morita, N. : Inhibition of cow's milk xantine oxidase by flavonoids. *J. Natural Products*, **51**, 345(1988)
9. Kim, C. J., Su, S. K., Joo, J. H. and Cho, S. K. : Pharmacological activities of flavonoids (Ⅱ)-relationships of anti-inflammatory and antigranulomatous actions. *Yakhak Hoeji*, **34**, 407(1990)
10. 柴田承二 : 生理活性天然物化學. 醫齒藥出版社, 東京, p.425(1970)
11. Kang, S. S., Youm, J. R. and Kang, S. K. : Seasonal variations of the flavonol glycosides content from *Ginkgo biloba* leaves. *Kor. J. Pharmacogn.*, **24**, 47(1993)
12. Young, H. S., Im, K. S. and Choi, J. S. : The pharmacological study on the plant of *Ixeris* spp. 2. Flavonoid and free amine acid composition of *Ixeris sonchifolia*. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **21**, 296(1992)
13. Park, J. C., Young, H. S., Yu, Y. B. and Lee, J. H. : Studies on the chemical components and biological activities of edible plants in Korea (I). *Yakhak Hoeji*, **37**, 306(1993)

(1995년 5월 16일 접수)