

## 홍화적색소 Carthamin의 효과적인 분리 및 화학구조 분석

김준범 · 조만호<sup>1</sup> · 한태룡<sup>1</sup> · 백영숙\*

경희대학교 자연과학대학 화학과, <sup>1</sup>유전공학과 및 자연과학종합연구소

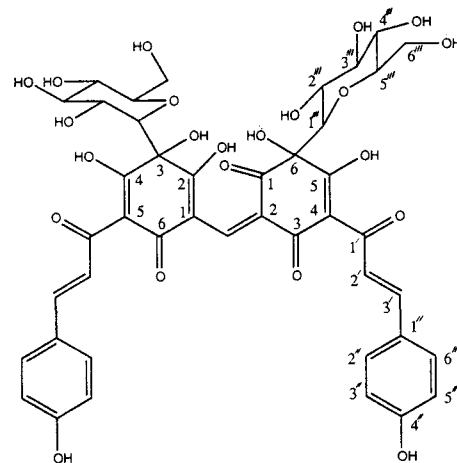
**초록 :** 우리나라에서 오랫동안 적색 및 황색색소원으로 널리 사용하여 왔던 홍화(*Carthamus tinctorius*)로 부터 전통적인 추출방법을 응용한 새로운 방법을 사용하여 적색소를 효과적으로 분리정제하였다. 홍화꽃잎을 물 및 메탄올로 처리하여 황색소를 제거한 다음 건조과쇄하여 0.5 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>로 홍색소를 추출하고 0.5 M citrate 수용액으로 침전시킨 후 cellulose 흡착, Sephadex LH-20 관크로마토그래피로 분리정제하였다. 분리정제된 적색소는 300 °C에서 분해되었고 silica gel TLC 상에서 BAW(n-BuOH:HOAc:H<sub>2</sub>O=4:1:5)로 전개하였을 때 R<sub>f</sub>값이 0.56이었다. 에탄올 용액에 녹인 적색소의 UV/Vis 흡수스펙트럼은 519, 372, 311, 244 nm에서 최대 흡수피크를 나타내었고, IR 스펙트럼은 특히 3400 cm<sup>-1</sup>의 넓은 영역에서 hydroxyl기에 의한 강한 흡수띠를 보여주었다. <sup>1</sup>H 및 <sup>13</sup>C NMR data로 부터 enolized β-triketone, p-hydroxycinnamoyl, methine 및 glucosyl moieties를 확인하였고 그 값을 제시하였다. 이상의 data를 문헌과 비교한 결과 분리한 홍화적색소의 화학구조는 6-β-D-glucopyranosyl-2-[[3-β-D-glucopyranosyl-2,3,4-trihydroxy-5-[3'-(4"-hydroxyphenyl)-1'-oxo-2'-propenyl]-6-oxo-1,4-cyclohexadien-1-yl]methylene]-5,6-dihydroxy-4-[3'-(4"-hydroxyphenyl)-1'-oxo-2'-propenyl]-4-cyclohexene-1,3-dione 인 carthamin으로 확인하였다.(1996년 8월 16일 접수, 1996년 9월 24일 수리)

### 서 론

우리나라는 고대로 부터 여러 종류의 식물에서 각종 색소를 생산하여 식용 및 의류염색용으로 사용하여 왔으나, 근대에 이르러 합성색소<sup>1)</sup>가 광범위하게 사용되면서 전통색소의 맥이 거의 끊어지게 되었다. 따라서 천연색소에 대한 체계적이고 과학적인 연구가 거의 전무한 것이 현재의 실정이다. 그러나 최근 들어 합성색소는 인체에 대한 독성과 발암성을 갖는 등의 문제점<sup>2)</sup>으로 인해 점차 사용이 제한되고 있어서, 합성색소에서 천연색소로의 이행전환을 절실히 추구하고 있는 것이 세계적인 추세이다. 본 연구에서는 우리나라에서 식품착색용, 의류염색용 등 적색 및 황색색소원으로 널리 이용하여 왔던 식물인 홍화(잇꽃, *Carthamus tinctorius*)<sup>3,4)</sup>를 선택하여 적색성분을 효과적으로 분리하고 그 화학구조를 동정하고자 하였다.

우리나라에서 홍화적색소, 즉 연지를 얻기 위하여 사용하여 왔던 전통적인 방법은 홍화를 연수에 보름정도 방치한 후 물로 헹구면서 우선 황색소를 빼내고, 다음에 콩각지나 잇대의 잿물을 잇주머니에 부어 붉은 색소를 녹여낸 다음 오미자즙을 넣고 저으면 연지가 가라앉게 된다.<sup>5)</sup> 잇꽃의 적색소가 알카리 수용액에 잘 녹고 산성 수용액에서는 침전되는 점을 이용한 것이다. 그러나 홍화의 적색성분이 어떤 조건에서 효과적으로 추출되고 분리되는지에 관한 연구는 거의 전무한 실정이다. 일본의 경우에는 홍화적색소가 고가의 천연색소로 판매되고 있으나, 적색소를 추출하는 방법이

비효율적이고 성가시고 노동집약적인 과정을 거치므로 발전의 비법으로 전해지고 있을 뿐만 아니라 그 비법의 공개를 꺼리고 있는 것이 현재의 실정이다. 다만 홍화의 적색성분으로 C-glucosylquinochalcone의 구조를 가지는 carthamin(Scheme 1)이 <sup>13</sup>C NMR값 등의 정확한 분광분석 자료는 미비한 상태로 보고되어 있다.<sup>5,6)</sup> 본 연구에서는 마른 홍화꽃잎에 들어 있는 적색소를 전통적인 방법을 응용한 새로운 방법으로 효과적으로 분리정제하였고 분리된 적색소 성분을 UV, IR, <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR 등 기기를 사용하여 그 자료를 제시하였고 화학구조를 문헌과 비교하여 확인하였다.



Scheme 1. Chemical Structure of Carthamin

찾는말 : 홍화, 잇꽃, *Carthamus tinctorius*, carthamin, enolized β-triketone  
 \*연락처

## 재료 및 방법

### 재료 및 시약

마른 홍화 (*Carthamus tinctorius* L.)는 시중약제사에서 구입하여 빛과 습기를 차단한 상태로 저온 ( $-10^{\circ}\text{C}$ )에 보관하면서 시료로 사용하였다. Dimethyl-*d*<sub>6</sub> sulfoxide (DMSO-*d*<sub>6</sub>), trifluoroacetic acid-*d* (TFA-*d*), 흡착용 cellulose는 Sigma사 시약을 사용하였고, Sephadex LH-20은 Pharmacia fine Chemicals사에서 구입하여 사용하였다. TLC용 흡착제는 Merck사 제품의 Kiesel gel 60 F<sub>254</sub>를 사용하였다. 그외 아세톤, 에탄올, 메탄올, 부탄올, acetic acid, formic acid, 염산 등은 Duksan Pharm. Co., Junsei chemical, 삼전사 등 몇몇 회사의 일급시약을 사용하였다.

### 홍화적색소의 추출 및 분리

마른 홍화 10 g을 2 l의 증류수로 24시간씩 3회 처리하여 수용성 황색소를 녹여내고, 다시 100 ml의 메탄올을 가하여 남아 있는 수용성 황색소 및 그외 유기물을 제거한 다음 건조시켜 시료로 사용하였다. 과색한 홍화시료를 100 ml의 0.5 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>로 처리하여 적갈색 수용액을 얻었는데 이 용액에 120 ml의 0.5 M citrate 수용액을 가하여 적색소를 침전시켰다. 침전된 적색소를 cellulose에 흡착시킨 다음, 증류수로 수회 씻어 잔류한 황색소 등 이물질을 제거하였다. 다음 과정으로 적색소가 흡착된 cellulose를 아세톤으로 녹여내고 감압농축하여 31.2 mg의 적색소를 얻었다. 적색소는 다시 Sephadex LH-20 관크로마토그래피를 이용하여 1:1 비율의 메탄올/아세톤 용매로 elution 후 얻어진 적색 fraction을 감압농축한 다음 에탄올에 녹여서 반짝이는 판모양의 흑적색 고체를 얻었다.

### 기기분석

적색소의 UV/Vis 스펙트럼은 에탄올을 용매로 하여 Milton Roy사의 Spectronic 3000 기기로 측정하였다. <sup>1</sup>H NMR과 <sup>13</sup>C NMR, <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY와 <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C COSY 스펙트럼은 적색소를 DMSO-*d*<sub>6</sub>에 녹여 OXFORD FT-NMR을 사용하여 <sup>1</sup>H은 400 MHz에서, <sup>13</sup>C은 100 MHz에서 측정하였으며 chemical shift는 tetramethylsilane(TMS)을 내부표준 물질로 사용하여  $\delta$ -unit value로 표시하였다. IR 스펙트럼은 Nicolet MX-S FT-IR Spectrometer로, 녹는 점은 Mel-Temp 기기로 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 홍화적색소의 분리 및 정제

홍화로 부터 적색소 성분을 추출하기 위하여 우리나라에서 전통적으로 사용하던 방법<sup>2)</sup>과 Saito 등에 의한 방법<sup>7)</sup>을 응용하였다. 물 및 메탄올을 용매로 하여 수용성 황색소와 그외 유기물을 제거한 홍화시료에 전통적 방법인 콩깍지나 잇대의 잿물 대신 potassium carbonate 또는 sodium carbonate 수용액을 가하여 적갈색 용액을 얻었고 그 여액에

오미자즙 대신 citrate 수용액을 가해서 침전물 형태의 적색소를 얻었다. 일본의 문헌에서는 홍화적색소를 얻기 위하여 알카리 수용액으로 potassium carbonate를 사용하였는데, 황색소를 제거한 홍화에 미지근한 물을 붓고 꽃양의 8% 정도의 potassium carbonate를 가하고 잘 저어서 다갈색 액체를 얻거나, 또는 반가공된 홍병에 0.5% potassium carbonate를 가하여 얻으며, Saito 등<sup>7)</sup>은 0.5% potassium carbonate 수용액을 사용하는 경우가 0.5% sodium carbonate 수용액을 사용하는 경우와 비교하였을 때 거의 비슷하거나 약간 나은 결과를 보여 준다고 보고하고 있다.

본 연구에서는 홍화적색소의 수율을 높이기 위하여 알카리 수용액의 농도를 변화시켜가면서 적절한 조건을 찾는 실험을 시도하였다. 10 g의 건조홍화를 증류수 및 메탄올 처리 후, 0.01 M에서 1.0 M까지 농도를 변화시켜 가며 potassium carbonate 또는 sodium carbonate 수용액으로 적색소를 추출하고, 다음에 citrate 수용액으로 처리하여 침전된 적색소를 cellulose에 흡착 후 acetone으로 추출, 건조시켜 그 무게를 측정하였다. 그 결과 potassium carbonate 수용액을 사용한 경우에는 0.01 M에서 1.0 M까지의 여러 농도 중 0.05 M 농도에서 가장 많은 적색소를 얻었고(8.2 mg), sodium carbonate 수용액을 사용하는 경우에는 여러 농도 중 0.5 M 농도에서 가장 많은 적색소를 얻었다(31.2 mg). 그러므로 본 실험의 결과는 홍화적색소를 얻기 위하여 Saito 등<sup>7)</sup>이 보고한 내용인 0.5% potassium carbonate 수용액을 사용하는 경우와 0.5% sodium carbonate 수용액을 사용하는 경우를 비교하였을 때 potassium carbonate 수용액이 약간 나은 결과를 보여 준다는 내용과는 달리, sodium carbonate 수용액을 사용할 때가 potassium carbonate 수용액을 사용할 때보다 세배 이상의 수율을 보여 주었다. 또한 0.5 M sodium carbonate 수용액을 사용하는 것이 같은 농도의 potassium carbonate 수용액을 사용하는 것보다 10배 이상의 수율을 내는 것도 확인하였다. 알카리 수용액에 녹아 있는 홍화적색소는 citrate 수용액을 가하여 침전시킨 다음, 적색소가 목면의류에 잘 염착되는 성질을 이용하여 적색침전물을 cellulose에 흡착시킨후 물로 씻어 황색소 등 이물질을 제거하고 아세톤으로 녹여낸 다음 감압농축하여 용매를 제거하였다. 이렇게 얻어진 적색소는 TLC 및 UV 측정 결과 상당히 순수하였으나 NMR 측정시 이물질 피크가 관찰되므로 다음 단계로 적색소를 Sephadex LH-20 관크로마토그래피를 이용하여 1:1 비율의 메탄올/아세톤 용매로 elution 후 얻어진 적색 fraction을 감압농축하였다. 정제한 적색소를 에탄올에 녹여서 반짝이는 판모양의 흑적색 고체를 얻었는데, 녹는점을 측정한 결과 약 300 °C에서 분해되었다. 홍화적색소는 유기용매 중 피리딘에 잘 녹았고, DMSO, 아세톤, 에탄올 등에 미량 녹았지만, 그외 물을 포함한 극성용매로 부터 비극성 용매인 헥산, 에테르 등 거의 모든 유기용매에 녹지 않았다.

### 홍화적색소의 물리화학적 특성 및 화학구조 분석

홍화에서 얻은 적색소의 UV/Vis 흡수스펙트럼(Fig. 1)은 519, 372, 311, 244 nm에서 최대흡수피크를 나타내었으며,

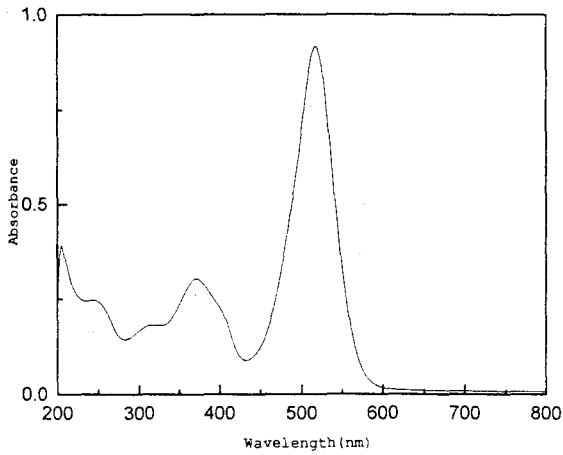


Fig. 1. UV/Vis spectrum of the purified red pigment, carthamin, in 95% ethanol.

Table 1.  $R_f$  values of the red pigment from *Carthamus tinctorius* on silica gel in various developing solvent systems

| Solvent             | $R_f$ ( $\times 100$ ) | Visible color |
|---------------------|------------------------|---------------|
| 5% formic acid/MeOH | 83                     | red           |
| Forestal            | 70                     | orange-yellow |
| BAW                 | 56                     | orange        |
| 1% HCl              | 3                      | bright yellow |

Solvent key: Forestal=conc.HCl : HOAc : H<sub>2</sub>O(3 : 30 : 10), BAW=n-BuOH : HOAc : H<sub>2</sub>O(4 : 1 : 5), 1%HCl=conc.HCl : H<sub>2</sub>O(3 : 97).

IR 스펙트럼은 특히 3400 cm<sup>-1</sup>의 넓은 영역에서 hydroxy기에 의한 강한 흡수띠를 보여주었다(data not shown). 적색소가 silica gel TLC상에서 BAW, Forestal 등 여러 전개용매에서 가지는  $R_f$ 값은 Table 1에 정리하였는데 전개용매에 따라 각기 다른  $R_f$ 값과 색을 나타내었다. BAW를 전개용매로 하였을 때 본 실험에서 측정된 적색소의  $R_f$ 값은 0.56으로 문헌에 나타난 홍화적색소 carthamin의  $R_f$ 값인 0.53<sup>9</sup>과 유사하였다. Table 2는 DMSO-*d*<sub>6</sub>를 용매로 사용하여 적색소의 <sup>1</sup>H 및 <sup>13</sup>C 스펙트럼 자료를 정리한 것이다. 용매로 사용한 DMSO-*d*<sub>6</sub>는  $\delta$  2.49 및  $\delta$  3.3(H<sub>2</sub>O)에서 피크를 나타내었다. 적색소의 <sup>1</sup>H NMR 스펙트럼에서 가장 특징적인 피크로는  $\delta$  19.02에서 나타난 broad 한 singlet을 들 수 있는데 이 특이한 피크는 문헌상에서 ceroptene,<sup>9</sup> usnic acid<sup>10</sup>에서도 발견된 것으로 enolized  $\beta$ -triketone기에 인한 것으로 추정하였다.  $\delta$  8.34(1H, s)에서 singlet으로 나타난 피크는 TFA-*d*를 가한 경우에도 사라지지 않았으므로, hydroxylic proton이 아님을 확인할 수 있었다. 두 개의 *p*-substituted aryl기의 signal인  $\delta$  6.84(2H $\times$ 2, d, J=8.4 Hz) 및  $\delta$  7.55(2H $\times$ 2, d, J=8.4 Hz)에서의 피크와, 두 개의 conjugated trans double bond의 signal인  $\delta$  7.40(1H $\times$ 2, d, J=16.0 Hz) 및  $\delta$  7.56(1H $\times$ 2, d, J=16.0 Hz)에서의 피크로부터 적색소는 두 개의 *p*-hydroxycinnamoyl기를 포함하는 것으로 추정하였다. Aromatic region의 *p*-hydroxycinnamoyl기의 chemical shift 및 coupling은 <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY 스펙트럼에서도 확인할 수 있었다(data not shown). 또한

Table 2. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR data of the red pigment from *Carthamus tinctorius* in DMSO-*d*<sub>6</sub> (chemical shifts in ppm).

| position                    | $\delta_H$          | $\delta_C$ |
|-----------------------------|---------------------|------------|
| 1                           | -                   | 172.3      |
| 2                           | -                   | 109.0      |
| 3                           | -                   | 177.4      |
| 4                           | -                   | 109.0      |
| 5                           | -                   | 186.9      |
| 6                           | -                   | 88.2       |
| 1'                          | -                   | 172.3      |
| 2'                          | 7.40 (d, J=16.0 Hz) | 120.7      |
| 3'                          | 7.56 (d, J=16.0 Hz) | 145.0      |
| 1''                         | -                   | 126.5      |
| 2''                         | 7.55 (d, J=8.4 Hz)  | 130.3      |
| 3''                         | 6.84 (d, J=8.4 Hz)  | 115.8      |
| 4''                         | -                   | 159.6      |
| 5''                         | 6.84 (d, J=8.4 Hz)  | 115.8      |
| 6''                         | 7.55 (d, J=8.4 Hz)  | 130.3      |
| 1'''                        | 3.84 (d, J=8.0 Hz)  | 84.8       |
| 2'''                        | 3.38 (br s)         | 69.6       |
| 3'''                        | 3.13 (br s)         | 78.4       |
| 4'''                        | 3.11 (m)            | 68.8       |
| 5'''                        | 2.92 (br s)         | 80.3       |
| 6'''                        | 3.82 (d, J=9.4 Hz)  | 59.5       |
|                             | 3.56 (d, J=9.4 Hz)  | -          |
| methine                     | 8.34 (s)            | 148.0      |
| enolized $\beta$ -triketone | 19.02 (br s)        | -          |

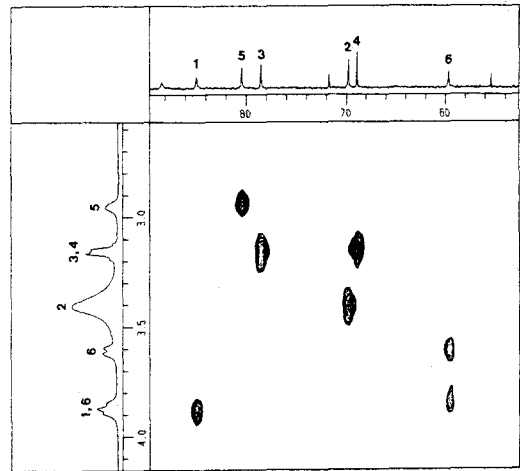


Fig. 2. <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C COSY spectrum of the glucosyl region of the purified red pigment, carthamin, in DMSO-*d*<sub>6</sub>.

두 개의 glucosyl기의 signal이  $\delta$  2.9~3.9(ca. 14H, m)에서 나타났다. 적색소의 <sup>13</sup>C chemical shift는 100 MHz로 측정하였으며 <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C COSY 스펙트럼과 문헌상의 자료를 이용하여 결정하였다.<sup>5,11</sup> 홍화적색소의 <sup>13</sup>C NMR값은 미비하게 문헌에 보고되었으므로<sup>5</sup> 확인하기가 곤란하였으나, carthamin의 전구체로 알려진 precarthamin의 <sup>13</sup>C NMR값<sup>11</sup>을 참고로 하여 본 실험에서 분리한 적색소의 data와 비교하여 그 값을 제시하였다. Fig. 2는 glucosyl기 영역의 <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C COSY 스펙트럼으로 glucose의 탄소와 연결된 일곱 개의 수소의 coupling을 보여주고 있는데, 이 스펙트럼과 문헌상

의 자료로 부터 glucosyl기의  $^{13}\text{C}$  NMR chemical shift는 G-1으로 부터 G-6까지 각각  $\delta$  84.8, 69.6, 78.4, 68.8, 80.3, 59.5로 추정하였다. *p*-Hydroxycinnamoyl기의 aryl기의 signal은  $\delta$  126.5, 130.3, 115.8 및 159.6에서, conjugated trans double bond는  $\delta$  172.3, 120.7, 145.0에서 나타났다. Cyclohexene-1,3-dione기의 경우, carbonyl기 및 enol기는  $\delta$  186.9, 177.4, 172.3에서 나타났고, glucose와 결합한 탄소는  $\delta$  88.2에서, methine기 및 cinnamoyl기와 결합한 탄소는  $\delta$  109.0에서 다소 broad하게 나타났으며 methine기 자체는  $\delta$  148.0에서 나타났다. 이상의 여러 분석치를 종합한 결과 적색소는 두 개의 enolized  $\beta$ -triketone기, 두 개의 *p*-hydroxycinnamoyl기, 하나의 methine기, 그리고 두 개의 glucosyl기를 포함한다고 추정할 수 있었고 이 data를 문헌과 비교하였다. 문헌에 나타난 carthamin의 UV/Vis,<sup>5,12)</sup> IR,<sup>12)</sup>  $^1\text{H}$  NMR,<sup>5,6,11)</sup>  $^{13}\text{C}$  NMR<sup>5,11)</sup> data를 본 실험에서 홍화로 부터 분리한 적색소의 data와 비교하였을 때 그 값이 거의 일치하였다. 따라서 본실험에서 홍화로 부터 분리한 적색소는 6- $\beta$ -D-glucopyranosyl-2-[[3- $\beta$ -D-glucopyranosyl-2,3,4-trihydroxy-5-[3'-(4"-hydroxyphenyl)-1'-oxo-2'-propenyl]-6-oxo-1,4-cyclohexadien-1-yl]methylene]-5,6-dihydroxy-4-[3'-(4"-hydroxyphenyl)-1'-oxo-2'-propenyl]-4-cyclohexene-1,3-dione<sup>13)</sup>인 carthamin으로 확인하였고 이 색소성분의 물리화학적 특성 및 안정성에 관한 연구를 진행중이다.

### 감사의 글

이 논문은 1995년도 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비와 1995년도 농림수산부의 특정연구과제 연구비에 의하여 연구되었음.

### 참고 문헌

1. Zollinger, H. Color Chemistry. 2nd. Ed., VCH, Weinheim,

- 1991.
2. 이춘녕, 김우정. 천연향신료와 식용색소. 향문사, 1985.
3. Harbone, J. B. The Flavonoids. Chapman & Hall, Cambridge, 1994.
4. Harbone, J. B. Phytochemical Methods. Chapman & Hall, Hong Kong, 1984.
5. Obara, H. and Onodera, J.-I. Structure of carthamin. *Chem. Lett.*, 201-204 (1979).
6. Takahashi, Y., Miyasaka, N., Tasaka, S., Miura, I., Urano, S., Ikura, M., Hikichi, K., Matsumoto, T., and Wada, M. Constitution of two coloring matters in the flower petals of *Carthamus tinctorius* L. *Tetrahedron Lett.*, **23**, 5163-5166(1982).
7. Saito, K., Yamamoto, T., and Miyamoto, K.-I. Isolation and partial purification of carthamin: an instrumentaion manual. *Z. Lebensm. Unters Forsch.*, **195**, 550-554(1992).
8. Saito, K. Hydrogen peroxide, an excellent chromogenic reagent for reddening dyer's saffron flowers. *Z. Lebensm. Unters Forsch.*, **195**, 443-445(1992).
9. Forsen, S., and Nilsson, M. Proton magnetic resonance studies of enolized  $\beta$ -triketones. *Acta Chem. Scand.*, **13**, 1383-1394(1959).
10. Forsen, S., and Nilsson, M. and Wachtmeister, C. A. Spectroscopic studies on enols. Hydrogen bonding in usnic acid. *Acta Chem. Scand.*, **16**, 583-590(1962).
11. Kumazawa, T., Sato, S., Kanenari, D., Kunimatsu, A., Hirose, R., Matsuba, S., Obara, H., Suzuki, M., Sato, M., and Onodera, J. Precursor of carthamin, a constituent of safflower. *Chem. Letters.*, 2343-2344(1994).
12. Nakano, K., Sekino, Y., Yomo, N., Wakayama, S., Miyano, S., Kusaka, K., Daimon, E., Imaizumi, K., Totsuka, Y., Oda, S., and Yamada, Y. High-performance liquid chromatography of carthamin, safflor yellow A and a precursor of carthamin. *J. Chromatography*, **438**, 61-72(1988).
13. Merck Index. 12th Ed., Merck & Co., INC., 1996.

---

**Efficient Purification and Chemical Structure Identification of Carthamin from *Carthamus tinctorius***Jun-Beom Kim<sup>1</sup>, Man-Ho Cho<sup>2</sup>, Tae-Ryong Hahn<sup>2</sup> and Young-Sook Paik<sup>1\*</sup> (*Department of <sup>1</sup>Chemistry, <sup>2</sup>Genetic Engineering and Institute of Natural Sciences, Kyung Hee University, Suwon 449-701, Korea*)

**Abstract :** The major red color component from *Carthamus tinctorius* was efficiently isolated by a modified new method of traditional procedure and column chromatographic technique. After removing yellow pigments by washing *Carthamus* flowers with water and methanol, the red pigment was extracted with 0.5 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> and precipitated with aqueous citrate. The pigment was further isolated and purified with cellulose adsorption and Sephadex LH-20 column chromatography. The purified red pigment was decomposed at about 300°C, and its R<sub>f</sub> value on silica gel in BAW(n-BuOH : HOAc : H<sub>2</sub>O=4 : 1 : 5) was 0.56. UV/Vis spectrum of the red pigment showed λ<sub>max</sub> at 519, 372, 311, 244 nm and its IR spectrum showed wide and strong absorption near 3400 cm<sup>-1</sup> indicating characteristic hydroxyl groups. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectra showed that it contained two enolized β-triketone, two *p*-hydroxycinnamoyl moieties, a methine, and two glucosyl moieties. On the basis of spectroscopic evidences, the chemical structure of the red pigment was identified as 6-β-D-glucopyranosyl-2-[[[3-β-D-glucopyranosyl-2,3,4-trihydroxy-5-[3'-(4''-hydroxyphenyl)-1'-oxo-2'-propenyl]-6-oxo-1,4-cyclohexadien-1-yl]methylene]-5,6-dihydroxy-4-[3'-(4''-hydroxyphenyl)-1'-oxo-2'-propenyl]-4-cyclohexene-1,3-dione, carthamin.

---

\*Corresponding author