J. Korean Soc. Food Nutr.
25(3), 519 ~ 522(1996)

한국영양식량학회지

털조장나무잎의 소염활성 및 Kaempferol 배당체의 분리

박종철† · 박주권* · 김종홍* · 김성환** · 김남재***

순천대학교 한약자원학과, *순천대학교 생물학과
**경북보건환경연구원, ***경희대학교 동서의학연구소

Isolation of Kaempferol Glycoside from *Lindera sericea* and Anti-inflammatory Effect

Jong-Cheol Park†, Ju-Gwon Park*, Jong-Hong Kim*, Sung-Hwan Kim and Nam-Jae Kim*****

Dept. of Oriental Medicine Resources, Sunchon National University, Sunchon 540-742, Korea
**Dept. of Biology, Sunchon National University, Sunchon 540-742, Korea*
***Kyongbuk Institute of Health and Environment, Daegu 702-702, Korea*
****East-West Medical Research Institute, Kyunghee University, Seoul 130-702, Korea*

Abstract

From the leaves of *Lindera sericea* Bl., kaempferol-3,7-0-di-α-L-rhamnopyranoside was isolated and characterized by spectral data and acid hydrolysis. This compound is reported for the first time from this plant. The content of kaempferol glycoside was high in May and June, and low in the fall. And the methanolic extract of title plant showed the inhibitory effect on carrageenin-induced edema.

Key words: *Lindera sericea* Bl., kaempferol-3,7-0-di-α-L-rhamnopyranoside, seasonal variation, anti-inflammatory effect

서 론

녹나무과는 학자에 따라 약 30속에서 50속까지 그 범위가 설정되며 2000종류가 주로 열대와 아열대 특히 동남아시아와 브라질을 중심으로 분포하고 있다. 한국에 생육하는 녹나무과 식물은 육계나무, 월계수, 세손이의 도입종을 포함하여 8속, 16종이며 이중 자생종류는 6속, 13종류이다. 이들의 분포지역은 생강나무속을 제외하고는 남해안과 그 도서지방 그리고 제주도에 국한되어 있으나, 참식나무는 안면도와 울릉도, 후박나무는 서해의 대청도까지 북상하여 분포한다. 털조장나무(*Lindera sericea* Bl.)는 전남의 무등산과 조계산에만 생육하고 있으며, 생강나무속 식물의 경우 중북부 이남에 골고루 분포하고 있다(1). 저자 등은 녹나무과 식물 12종을 채집하여 활성 및 화학성분 연구 중(2) 전남 조계산의 특산식물인 털조장나무의 잎에서 flavonoid 배당체를 분리하여 화학구조를 결정하였다. 털조장나무는 전남의 조계산 및 무등산의 계곡에서 자라는 낙엽활엽관목으로 줄기 색깔은 연한 녹색이며 직립성이다. 토양의 수분이 많고 비옥한 곳에서 잘 자라지만 다른 나무처럼 토질을 가리지 않는다. 잎은 긴 타원형인데 어긋나며, 양면에 잔털이 있고 뒷면은 회백색이다. 암수 딴그루로서 4월에 새로 돋은 잎 밑에서 노란색 꽃이 모여서 피며, 열매는 둥글고 10월에 흑색으로 익는다(3). 어린잎과 가지를 차로 끓여 마시고, 특히 일본에서는 털조장나무의 잎과 어린가지에서 향료를 추출하여 사용하며, 근연식물인 *L. umbellata*는 수피를 위장카타르, 위궤양, 부종에 다려서 마시며, 류마티스, 관절통에 욕장료(浴場料)로 사용하기도 한다(4). 이 식물의 잎부분에서 flavonoid 배당체를 분리하여 계절에 따른 함량의 변화분석과 생쥐를 이용한 소염활성을 검토하였다.

---

†To whom all correspondence should be addressed

재료 및 방법

식물재료

전남 조계산에서 1994년 8월 25일 대량 채집하였으며, 계절별 성분 함량 분석을 위해 5월 부터 10월 까지 동일 나무에서 월별 동일 날짜에 채집, 음건하여 사용하였다. 식물의 표본은 순천대 한약자원학과 생약표본실에 보관중이다.

기기 및 시약

HPLC 분석기기는 Spectra-Physics의 분석용 Liquid chromatograph로서 Spectra 100 detector, column은 μ-Bondapak C_{18}, 분석용시약은 분석 전에 Millipore 여과기로 여과시켰다. Flavonoid 분석용 용매는 특급 및 1급 시약, column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel 60(70-230 mesh, Merck, Art 7734)을 사용하였다. Flavonoid 분석기기로서 융점은 Perkin-Elmer Electrothermal Digital MP appratus, IR spectrum은 Hitachi 270-50, UV spectrum은 Shimadzu Mps-50L spectrophotometer, NMR spectrum은 Brucker AM 200 spectrometer를 사용하여 측정하였다.

MeOH 엑스 제조 및 화합물 1의 분리

월별로 채집한 털조장나무잎을 각각 20g씩 음건하여 MeOH로 환류냉각하에서 추출하여 엑스를 제조하였다. 그리고 성분분리를 위해서 이 식물 1,400g을 음건 후 분쇄하여 수욕상에서 환류냉각하면서 MeOH로 3회 추출하였다. MeOH 엑스(198g)를 10% MeOH에 현탁시킨 후 용매의 극성 증가순에 따른 분획을 실시하여 $CHCl_3$(74g), EtOAc(11g), n-BuOH(32g) 및 수층(58g)으로 분획하였다. 이중 EtOAc 가용부를 silica gel column chromatography로서 $CHCl_3$-MeOH-H_2O(7 : 3 : 1, 하층) 및 $CHCl_3$-MeOH-H_2O(65 : 35 : 10, 하층)의 혼합용매로 계속 용출하여 subfr. 19-27에서 화합물 1을 분리하였다.

화합물 1의 분광학적 특성

mp : 220~222°C

$FeCl_3$, Mg/HCl, Molisch 반응 : 양성

UV, λmax (MeOH)nm : 267, 315, 350 ; (NaOMe) 246, 270, 350(sh), 389 ; (NaOAc) 265, 318(sh), 358, 406(sh) ; (NaOAc/ H_3BO_3) 265, 319(sh), 353 ; ($AlCl_3$) 255(sh), 274, 354, 400 ; ($AlCl_3$/HCl) 274, 298(sh), 348, 398

IR ν_{max}^{KBr} (cm^{-1}) 3396(OH), 1656(C=O), 1601, 1497 (C=C), 1432, 1354, 1176, 1063(C-O)

^{1}H-NMR (DMSO-d_6) δ 7.42(2H, d, J=8.7Hz, H-2'&6'), 6.91(2H, d, J=8.7Hz, H-3'&5'), 6.77(1H, d, J=2.0Hz, H-8), 6.44(1H, d, J=2.0, H-6), 5.54(1H, d, J=1.16Hz, anomeric H of C-3-rhamnose), 5.41(1H, d, J=1.34, anomeric H of C-7-rhamnose), 1.2(3H, d, J=5.9Hz, CH_3), 0.81(3H, d, J=5.2Hz, CH_3)

^{13}C-NMR (DMSO-d_6) δ 177.9(C-4), 161.7(C-7), 160.9(C-5), 160.2(C-4'), 157.8(C-2), 156.1(C-9), 134.5(C-3), 130.7(C-2'), 130.7(C-6'), 120.3(C-1'), 115.4 (C-3'), 115.4(C-5'), 105.8(C-10), 101.9(C-1'''), 99.5 (C-1''), 98.4(C-6), 94.6(C-8), 71.6(C-4''), 71.1(C-4'''), 70.7(C-2''), 70.3(C-2'''), 70.2(C-3''), 70.2(C-3'''), 70.1 (C-5''), 69.8(C-5'''), 17.9(C-6''), 17.5 (C-6''')

화합물 1의 산 가수분해

화합물 1(50mg)을 10% H_2SO_4 30ml로 수욕상에서 환류냉각시키면서 5시간 동안 가열한 후 EtOAc에 이행시켜 MeOH로 재결정하였다.

mp : 276~278°C

^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ 11.58(1H, brs, C_5-OH), 8.02(2H, d, J=9.1Hz, H-2'&6'), 6.94(2H, d, J=9.1Hz, H-3'&5'), 6.49(1H, J=2.1Hz, H-8), 6.22(1H, d, J=2.1 Hz, H-6)

^{13}C-NMR(DMSO-d_6) δ 175.9(C-4), 163.8(C-7), 160.6(C-5), 159.1(C-4'), 156.1(C-9), 146.8(C-2), 135.6(C-3), 129.5(C-2'), 129.5(C-6'), 121.6(C-1'), 115.4 (C-5'), 115.4(C-3'), 103.0(C-10), 98.2(C-6), 93.4(C-8)

화합물 1의 정량

분석 조건은 Table 1과 같으며 내부표준물질인 acrinol 5mg을 정평하여 MeOH 10ml에 용해시켜 500 μg/ml의 표준액을 조제하여 표준검량곡선을 작성하였다. 화합물 1의 20mg을 정평하여 MeOH 10ml에 용해시킨 용액을 stock solution으로 해서 이를 일정량씩 취한 후 MeOH을 가해 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0mg/ml가 되게 조제하였다. 이 두 표준액을 각각 1 : 1로 혼합하여 얻은 액 10μl를 취하여 HPLC를 실시하였다. 화합물 1을 정량하기 위해 MeOH 엑스 100mg을 정평하여 MeOH 10ml에 용해시킨 액을 검액으로 사용하였다. 검액과 내부표준액을 1 : 1로 혼합한 후 이 혼합액 10μl을 취하여 HPLC를 실시하여 평균 area ratio값을 구하여 정량하였다.

Table 1. HPLC analysis condition

Column	μBondapak C_{18}(3.9mm×100mm)
Detector	UV 365nm
Mobile phase	THF-dioxane-MeOH-HOAc-5% H_3PO_4-H_2O(145 : 125 : 50 : 20 : 2 : 658)
Flow rate	1.0ml/min
Chart speed	0.25cm/min

Carrageenin 유발 소염효과

실험동물은 ICR계 체중 18~22g의 웅성 생쥐를, 사료는 삼양유지사료의 고형사료로 사육하였고, 물은 충분히 공급하면서 2주간 실험실 환경에 순응시킨 후 24±2℃에서 실시하였다. 생쥐 1군을 6마리로 하여 Winter 등의 방법(5)에 준하였다. 즉 생쥐에 털조장나무 MeOH 엑스 500mg/kg 및 1,000mg/kg을 경구투여하고 30분 후에 1.0% carrageenin 20μl/mouse를 생쥐의 후지족척에 피하주사하여 염증을 유발시켰다. 기염제 투여 30분, 1시간, 2시간, 3시간, 4시간 및 5시간에 각각 족척의 두께를 측정하여 부종의 증가율을 산출하였다. 비교약물로는 indomethacin 30mg/kg을 사용하여 관찰하였다.

결과 및 고찰

털조장나무의 MeOH 엑스로부터 분획한 EtOAc 가용부를 silica gel column chromatography를 실시하여 분리한 화합물 1의 구조 분석은 다음과 같다. 화합물1은 $FeCl_3$, Mg/HCl, Molisch 반응에서 양성을 보이고, IR spectrum에서 OH, C=O, C=C, C-O의 흡수대는 flavonoid 배당체임을 암시하고 있다. ^{1}H-NMR spectrum에서 meta coupling 하고 있는 두 aromatic proton의 signal[δ 6.77(1H, d, J=2.0Hz), 6.44(1H, d, J=2.0 Hz)], 또 다른 2개의 meta coupling signal[δ 7.42(2H, d, J=8.7Hz), 6.91(2H, d, J=8.7Hz)] 및 2mole 당 기원의 anomeric proton signal [δ 5.54(1H, d, J=1.6), 5.41(1H, d, J=1.34Hz)]이 보이며, 2개의 rhamnose methyl기로 추정되는 δ 0.81 및 1.2의 doublet peak가 관측된다. 당부분을 제외하고는 ^{13}C-NMR spectrum에서 kaempferol 골격과 유사하며 2mole의 당은 ^{1}H-NMR spectrum에서의 rhamnose의 특징적인 methyl 관측과 더불어 L-rhamnose 유래의 signal[δ 101.9(C-1‴), 99.5(C-1″), 71.6(C-4″), 71.1(C-4‴), 70.7(C-2″), 70.3(C-2‴), 70.2 (C-3″ & 3‴), 70.1(C-5″), 69.8(C-5‴), 17.9(C-6″), 17.5 (C-6‴)]로 rhamnose가 2mole 존재함을 알 수 있다. 산 가수분해에서 비당체는 ^{1}H-NMR spectrum분석에서 kaempferol이므로 이 화합물은 kaempferol-di-rhamnoside이다. 당의 결합위치는 화합물 1의 UV spectrum에서 MeOH로 측정하였을 경우 band I이 350nm에서 관측되며 NaOAc 용매 중에서 band II의 파장변화가 관측되지 않아 kaempferol의 C-7 위치에 결합하고 있음을 알 수 있다(6). Kaempferol의 ^{13}C-NMR data와 비교할 경우 C-3 및 C-7이 고자장 shift하는 사실에서 C-3 및 C-7위치에 2mole의 당이 각각 결합하고 있다. 이상의 분광학적 분석에 의해 화합물 1은 kaempferol-3,7-0-di- α -L-rhamnopyranoside(Fig. 1)로 결정하였으며 털조장나무에서는 처음으로 분리한 flavonoid 배당체이다. 식물에 함유된 flavonoid는 계절에 따라서 함량이 변한다는 보고가 있다(7). 잎의 MeOH 추출물을 u-Bondapak C_{18}을 이용한 HPLC로서 THF-dioxane-MeOH-HOAc-5% H_3PO_4-H_2O의 혼합용매로서 kaempferol-3,7-0-di- α -L-rhamnopyranoside 함량을 월별로 정량분석하였다. 검량선의 회귀직선방정식은 y=1.0290x-0.0139이며 상관계수는 0.9986, 표준물질과 내부표준물질의 중량비와 peak area ratio 간에 직선성은 인정되었다. 회귀직선방정식에 대입하여 월별로 함량을 계산하면 MeOH 엑스 중에 화합물 1은 5월 부터 10월 까지 각각 2.67%, 2.66%, 2.43%, 2.15%, 1.58% 및 1.87% 함유되어있다(Fig. 2). 즉 kaempferol 배당체는 잎이 생성되는 5월과 6월에 가장 많으며 가을철인 9월과 10월 부터는 함량이 감소하는 것을 관찰할 수 있다. 따라서 약효성분인 flavonoid 화합물의 함유량은 초여름에 최대이며 동일나무에서 일정한 농

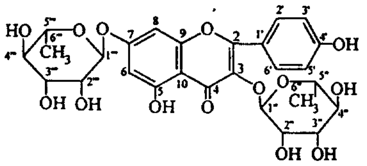

Fig. 1. Structure of compound 1.

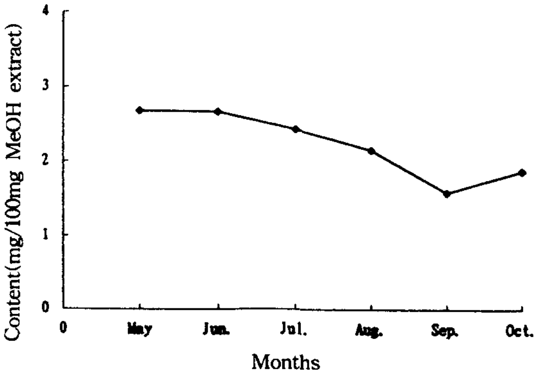

Fig. 2. Seasonal variation of compound 1 content in methanol extract of *Lindera sericea*.

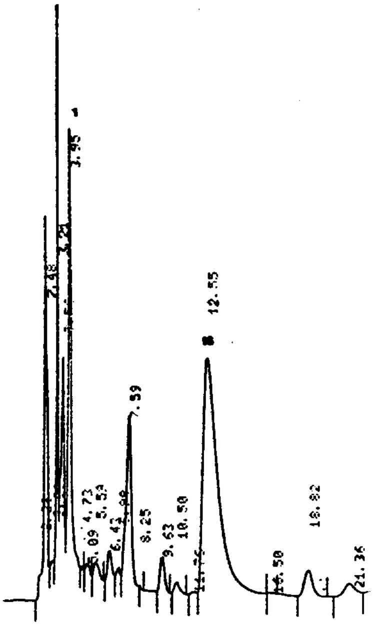

Fig. 3. HPLC chromatogram for methanol extract from *Lindera sericea*.
1: kaempferol-3,7-0-di-α-L-rhamnopyranoside,
IS: acrinol

도로 존재하지 않고 계절에 따라 그 함량이 변하고 있음을 확인할 수 있다. 이와 같은 HPLC 분석법을 이용하면 용이하게 털조장나무잎의 계절에 따른 품질평가에도 이용할 수 있으리라 사료된다.

소염작용을 관찰하기 위하여 carrageenin을 기염제로 사용하여 실험적 급성염증 병태모델을 만들었다. 1% carrageenin 생리식염수를 투여한 대조군에 비해 MeOH엑스 500mg/kg 투여군은 경구투여 30분에서 3시간까지 유의한 부종증가 억제율을 나타내었으며, 용량을 증가시킨 1,000mg/kg 투여군도 5시간까지 부종증가억제효과가 관찰되었다(Table 2).

요 약

조계산 특산식물인 털조장나무잎에서 분리한 화합물 1 의 화학구조는 IR, UV, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR spectra 분석을 통해 비당체는 kaempferol, 당은 rhamnose가 2몰 결합되어 있는 kaempferol-3,7-0-di-α-L-rhamnopyranoside로 결정하였으며 이는 털조장나무에서는 처음으로 분리한 flavonoid 배당체이다. 월별로 채집한 털조장나무잎 MeOH 엑스 중의 kaempferol 배당체 함량은 5월에 2.67%, 6월 2.66% 및 9월 1.58%, 10월 1.87% 함유되어 있다. 잎이 생성되는 초여름에 kaempferol 배당체의 함량이 많으며 가을철에는 감소함을 관찰할 수 있다. 털조장나무잎의 MeOH 엑스 500mg/kg 경구투여군은 carrageenin유발 생쥐의 대조군에 비해 30분에서 3시간까지 유의한 부종증가 억제율을 나타내었다.

문 헌

1. 선병윤 : 한국산 녹나무과 식물의 분류학적 연구. 서울대 대학원 박사학위논문, p.1(1986)
2. 박주권 : 녹나무과 식물의 화학적 특성 및 플라보노이드 화합물. 순천대 대학원 석사학위논문, p.1(1995)
3. 이창복 : 대한식물도감. 향문사, p.377(1980)
4. 奧田拓男 : 天然藥物事典. 廣川書店, 東京, p.132(1986)
5. Winter, C. A. and Flataker, L. : Reaction thersholds to pressure in edmatous hindpaws of rats and response to analgesic drugs. *J. Pharmacol. Exptl. Ther.*, **150**, 165 (1965)
6. Mabry, T. J., Markham, K. R. and Thomas, M. B. : The systematic identification of flavonoid. Springer, N.Y., p.28(1970)
7. 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)

(1996년 4월 2일 접수)

Table 2. Anti-inflammatory effect of methanol extract of *Lindera sericea* on the carrageenin induced mice paw edema

Group	Dose (mg/kg p.o)	No. of animals	Time course of swelling percent(%)					
			0.5	1	2	3	4	5(hr)
Control	–	6	51.2±3.66[1)]	54.5±5.29	73.1±4.37	72.6±4.16	58.5±5.34	51.9±1.98
MeOH extract	500	6	33.2±1.91**	36.8±5.87*	52.1±4.72**	58.3±5.33	56.2±4.41	53.7±4.13
Indomethacin	30	6	32.5±2.97**	34.7±4.42*	38.0±4.37***	42.5±5.62**	39.2±4.99*	37.5±3.21**
Control	–	6	49.8±5.03	47.6±4.61	60.0±2.77	70.3±3.89	68.0±2.64	65.4±2.32
MeOH extract	1000	6	37.4±2.08*	30.2±2.84**	44.1±1.06***	53.8±3.83*	50.5±4.53**	50.0±2.31**
Indomethacin	30	6	37.2±2.55*	30.3±1.78**	31.4±3.28***	39.1±2.78***	33.7±2.72***	30.7±3.45***

[1)]Mean±S.E.
Statistically significant compared with control data: *$p<0.05$, **$p<0.01$ and ***$p<0.001$