

식용 식물자원에서부터 활성물질의 탐색 - III. 달래 (*Allium monanthum* Max.)로부터 flavonoid 배당체의 분리

안은미 · 장태오¹ · 백남인^{1*}

(주)사이젠테크놀로지, ¹경희대학교 생명공학원 및 식물대사연구센터

(2000년 8월 29일 접수, 2000년 10월 19일 수리)

서 론

달래는 백합과(liliium)에 속하는 다년생 알뿌리 식물로 우리나라 전지역의 산과 들에 자생하고 있다.¹⁾ 최근에는 특유의 풍미가 있는 향신 채소로서 뿐만 아니라 영양이 풍부한 무공해 자연식품으로 겨울부터 봄철에 걸쳐 수요가 급증하고 있으며, 농가의 소득을 높일 수 있는 새로운 채소로서 각광을 받고 있다. 본 연구는 이러한 관점으로 우리 일상에서 흔히 이용되는 식용식물자원에서부터 활성물질을 탐색하여 부가가치가 높은 농가의 주요한 소득 작물로 자리잡을 수 있도록 하기 위해 실시하였다.

달래는 식용으로 뿐만 아니라 약용으로도 많이 이용되고 있고, 주요 약효로는 살균, 지혈 등이 알려져 있다.²⁾ 주요 성분으로는 항균 활성이 있는 것으로 알려진 alliin, methyl alliin, scorodose가 보고되어 있고,²⁾ 그 외의 성분에 대해서는 보고된 바가 없기에 달래로부터 2차 대사산물을 분리하여 그것들의 활성을 규명하고자 본 실험을 실시하였다.

재료 및 방법

기기 및 시약

Column chromatography용 silica gel은 Kieselgel 60(70~230 mesh, Merck, Germany)을, TLC는 Kieselgel 60 F₂₅₄를 사용하였고, 그 외 시약은 모두 일급 또는 특급을 사용하였다. ¹H-NMR(400 MHz), ¹³C-NMR(100 MHz) 및 DEPT spectra는 JEOL JNM-LA400으로 측정하였고, IR spectrum은 Perkin-Elmer model 599B(Massachusetts, U.S.A.)로 측정하였으며, 융점은 Fisher-Johns melting point apparatus(U.S.A.)로 측정하였고 그 미보정하였다.

식물시료

수원 농수산물 시장에서 구입하여 생체를 그대로 사용하였다.

Flavonoid 배당체의 분리

달래 생체 18 kg을 100% MeOH(18 l×2)를 가하여 실온에서 2회 추출한 후 여과지로 여과하여 감압 농축하였다. 농축물을 물(1 l)과 EtOAc(1 l×2)로 분배 추출하고, 물층을 다시 *n*-BuOH(800 ml×2)로 분배, 추출하였다.

n-BuOH층을 silica gel(330 g) column chromatography(CHCl₃-MeOH = 10:1→7:1→5:1→3:1)를 실시하여 70 ml씩 분취하였다. 이 분취액을 TLC로 확인하여 유사한 분획끼리 모아 농축하여 모두 16개의 분획물(AMB-1~AMB-16)을 얻었다. 그 중 12번째 분획(AMB-12)을 다시 silica gel(150 g) column chromatography(CHCl₃-MeOH-H₂O = 65:35:10, 아래층)하여 flavonoid 화합물 1(AMB-12-5, 103 mg) 및 flavonoid 화합물 2(AMB-12-6, 152 mg)를 분리하였다.

Flavonoid 화합물 1(3-*O*-[β-D-glucopyranosyl(1→4) β-D-glucopyranosyl] kaempferol): Pale yellow crystals(MeOH); mp 194-196°C, IR_{KBr}(cm⁻¹) 3320, 3027, 2960, 1690, 1635; ¹H-NMR(400 MHz, CD₃OD, δ) 8.04(1H×2, d, *J*=8.1 Hz, H-2', 6'), 6.91(1H×2, d, *J*=8.1 Hz, H-3', 5'), 6.41(1H, br. s, H-8), 6.25(1H, br. s, H-6), 5.02(1H, d, *J*=7.8 Hz, H-1"), 4.40(1H, d, *J*=7.6 Hz, H-1"), 3.92-3.27(sugar moieties); ¹³C-NMR(100 MHz, CD₃OD, δ_c) 178.82(C-4), 165.42(C-7), 162.20(C-5), 160.97(C-4), 158.95(C-2), 157.85(C-9), 135.23(C-3), 131.88(×2, C-2', 6'), 121.97(C-1'), 115.76(×2, C-3', 5'), 105.23(C-10), 104.47(C-1"), 104.01(C-1"), 99.85(C-6), 94.73 (C-8), 80.08(C-4"), 77.39, 77.11(C-3", 3"), 77.11, 76.01(C-5", 5"), 74.59, 74.07(C-2", 2"), 70.62(C-4"), 63.95, 61.86(C-6", 6").

Flavonoid 화합물 2(3-*O*-[β-D-glucopyranosyl(1→2) β-D-glucopyranosyl] kaempferol): Yellow needles(MeOH); mp 195-197°C, IR_{KBr}(cm⁻¹) 3327, 3023, 2960, 1695, 1624; ¹H-NMR(400 MHz, CD₃OD, δ) 7.94 (1H×2, d, *J*=8.6 Hz, H-2', 6'), 6.81(1H×2, d, *J*=8.6 Hz, H-3', 5'), 6.28(1H, br. s, H-8), 6.08(1H, br. s, H-6), 5.28(1H, d, *J*=7.3 Hz, H-1"), 4.68(1H, d, *J*=7.1 Hz, H-1"), 3.79-3.10(sophorosyl moieties); ¹³C-NMR(100 MHz, CD₃OD, δ_c) 179.60(C-4), 165.81(C-7), 162.95(C-5), 161.46(C-4'), 158.97(C-2), 158.38(C-9), 134.92(C-3), 132.32(×2, C-2', 6'), 122.72(C-1'), 116.23(×2, C-3', 5'), 105.74(C-10), 104.59(C-1"), 104.11(C-1"), 99.89(C-6), 94.76

찾는 말 : 달래, flavonoid, kaempferol, 배당체

*연락처 : Tel : 82-31-201-2661; Fax: 031-204-8116

E-mail : nibaek@khu.ac.kr

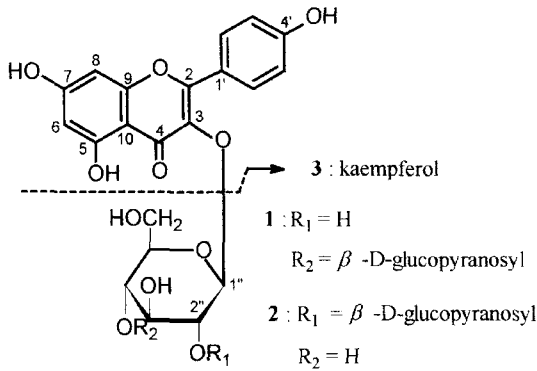


Fig. 1. Chemical structures of flavonoids isolated from the *Allium monanthum* Max.

(C-8), 82.32(C-2''), 78.10, 78.05(C-3'', 3'''), 77.77(×2, C-5'', 5'''), 75.43(C-2'''), 71.61, 70.97(C-4'', 4'''), 62.48, 62.32(C-6'', 6''').

화합물 1, 2의 아세틸화

화합물 1(20 mg)과 2(30 mg)을 6 ml의 pyridine에 녹인 후, 병냉하에서 acetic anhydride 6 ml를 적가하였다. 실온에서 10 시간 교반시키고 반응액을 EtOAc(70 ml×3)와 빙수(100 ml)로 분배 추출하였다. 유기층을 5% HCl 수용액, 포화 중조 및 염수로 세척한 후, 무수 MgSO₄로 탈수하고, 여과 농축하였다. 농축물을 silica gel(70 g) column chromatography(*n*-hexane : EtOAc)하여 화합물 1, 2의 아세틸화합물 1a(17 mg)과 2a(28 mg)를 정제하였다.

화합물 1a: ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃, δ) 8.01(1H×2, d, J=8.8 Hz, H-2', 6'), 7.29(1H, d, J=2.2 Hz, H-8), 7.21(1H×2, d, J=8.8 Hz, H-3', 5'), 6.83(1H, d, J=2.2 Hz, H-6), 5.52(1H, d, J=7.8 Hz, H-1''), 4.43(1H, d, J=7.8 Hz, H-1''); ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃, δ_c) 171.87(C-4), 170.53, 170.26, 170.12, 170.00, 169.66, 169.33, 169.28, 168.94(×2), 167.97(each acetyl-carbonyl), 156.60(C-7), 155.37(C-5), 153.90(C-4'), 152.45(C-2), 150.21(C-9), 136.48(C-3), 130.46(×2, C-2', 6'), 127.12(C-1'), 121.42(×2, C-3', 5'), 115.02(C-10), 113.45(C-1'''), 108.94(C-1''), 100.72(C-6), 98.55(C-8), 76.16(C-4''), 72.92, 72.76(C-3'', 3'''), 72.16, 71.95(C-5'', 5'''), 71.75, 71.51(C-2'', 2'''), 67.73(C-4'''), 61.49, 61.07(C-6'', 6'''), 21.19(×2), 21.12, 20.86, 20.72, 20.68, 20.49, 20.54(×3)(each acetyl-methyl)

화합물 2a: ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃, δ) 8.01(1H×2, d, J=8.8 Hz, H-2', 6'), 7.28(1H, br. s, H-8), 7.24(1H×2, d, J=8.8 Hz, H-3', 5'), 6.84 (1H, br. s, H-6), 5.76(1H, d, J=7.0 Hz, H-1''), 4.92(1H, d, J=7.8 Hz, H-1''); ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃, δ_c) 172.15(C-4), 170.64, 170.41, 170.36, 169.94, 169.78, 169.33, 169.29(×2), 168.92, 167.98 (each acetyl-carbonyl), 156.61(C-7), 155.38(C-5), 153.86(C-4'), 152.49(C-2), 150.24(C-9), 136.36(C-3), 130.35(×2, C-2', 6'), 127.88(C-1'), 121.56(×2, C-3', 5'), 115.15(C-10), 113.48(C-

1''), 108.92(C-1''), 99.99(C-6), 99.03(C-8), 77.94(C-2''), 74.50, 73.14(C-3'', 3'''), 71.90, 71.49(C-5'', 5'''), 71.39(C-2'''), 68.48, 68.17(C-4'', 4'''), 61.56, 61.49(C-6'', 6'''), 21.21, 21.18, 21.10, 20.85, 20.68, 20.62(×2), 20.58, 20.52, 20.50(each acetyl-methyl)

Flavonoid 배당체의 산 가수분해

화합물 1 및 2를 각각 12 mg씩을 4 ml MeOH에 녹이고 5% HCl/MeOH 1 ml를 가한 뒤 3시간 정도 환류하였다. 이를 Ag₂CO₃를 적당량 가하여 중화시킨 뒤 여과하고 감압 농축하였으며, 이 농축물을 silica gel column chromatography(CHCl₃-MeOH = 10 : 1)로 정제하여 kaempferol(3)을 각각 3.5 및 3.9 mg씩 얻었다.

화합물 3(Kaempferol): White powder(CHCl₃-EtOH); ¹H-NMR(400 MHz, CD₃OD, δ) 7.98(1H×2, d, J=8.3 Hz, H-2', 6'), 6.82(1H×2, d, J=8.3 Hz, H-3', 5'), 6.29(1H, br. s, H-8), 6.14(1H, br. s, H-6); ¹³C-NMR(100 MHz, CD₃OD, δ_c) 177.83(C-4), 165.74(C-7), 162.61(C-5), 161.29(C-4'), 157.90(C-9), 149.54(C-2), 137.15(C-3), 131.33(×2, C-2', 6'), 123.47(C-1'), 117.34(×2, C-3', 5'), 105.22(C-10) 99.83(C-6), 95.28(C-8).

결과 및 고찰

식용 식물자원으로부터 활성물질을 탐색하기 위한 연구의 일환으로 달래를 MeOH로 추출하여 이 추출물을 극성에 따라 EtOAc, *n*-BuOH 및 H₂O로 분배 추출하였다. 각 분획을 silica gel TLC를 이용하여 함유성분을 추정하고 그중 자외선 조사와 10% 황산으로 발색하여 *n*-BuOH 분획에 flavonoid 화합물이 함유되어있는 것을 확인 할 수 있었다. 따라서 *n*-BuOH 분획을 silica gel column chromatography를 반복하여 2종의 flavonoid 배당체인 화합물 1과 2를 각각 0.00057%와 0.00084%의 수율로 분리, 정제하였다.

화합물 2, yellow needles(MeOH), mp 195-197°C, IR spectrum에서 수산기(3327 cm⁻¹) 및 벤젠환(1624 cm⁻¹)의 흡수 peak가 관찰되었다. ¹H-NMR(400 MHz, CD₃OD)에서는 para-치환 벤젠환의 특징적인 signal인 δ7.95 (1H×2, d, J=8.6 Hz), δ6.81(1H×2, d, J=8.6 Hz) 및 벤젠의 2개의 proton signal이 δ6.28과 δ6.08에서 관측됨에 따라 flavonoid 골격의 존재가 추정되었다.^{3,6)} 또한 δ5.28(1H, d, J=7.3 Hz), δ4.68(1H, d, J=7.1 Hz)에서 두 개의 anomeric proton signal과 δ4.30-δ3.10사이에서 oxy-methine과 oxy-methylene signal이 다수 관측됨에 따라 당 두 분자를 가진 배당체임을 확인 할 수 있었다. ¹³C-NMR(100 MHz, CD₃OD)에서 비당부의 chemical shift를 조사한 결과 flavonoid 화합물 중 kaempferol인 것으로 판명되었고,⁷⁾ 이는 화합물 1, 2를 산 가수분해 하였을때 kaempferol과 glucose가 얻어진 점 등으로도 확인하였다. 당부의 chemical shift로부터 2분자의 glucose가 존재함을 확인 할 수 있었고, 2분자의 glucose는 chemical shift를 조사한 결과 glucose의 2번 탄소가 저자장으로 shift됨이 관측됨에 따라 2분자의 당이 (1→2) 결합한 sophorose임을 추정할 수 있었다.⁸⁾ Kaempferol과

glucopyranose의 결합은 glycosylation의 효과에 의해 kaempferol의 3번 탄소가 고자장으로 2.2 ppm shift되고 2번 탄소가 4번 탄소는 저자장으로 각각 1.8과 9.4 ppm으로 shift 되는 것이 관측됨에 따라 3번 수산기에 glucopyranose가 결합하고 있는 것으로 확인되었다.⁷⁾ 2분자의 glucopyranose는 ¹H-NMR에서의 anomeric proton의 coupling constant가 7.3 Hz와 7.1 Hz로 이들 당은 모두 β-configuration을 갖는 것을 알 수 있었다. 이러한 결과로부터 화합물 2의 화학구조는 3-O-[β-D-glucopyranosyl(1→2) β-D-glucopyranosyl] kaempferol로 결정하였다.^{3,7,8,10)}

화합물 1, pale yellow crystals(MeOH), mp 194-196°C의 경우에도 IR spectrum에서 수산기(3320 cm⁻¹) 및 벤젠환(1635 cm⁻¹)의 흡수 peak가 관측되었다. ¹H-NMR(400 MHz, CD₃OD) 및 ¹³C-NMR(100 MHz, CD₃OD)의 signal들은 화합물 2와 유사하게 관측되었고, 이는 kaempferol과 2분자의 glucose로 이루어진 flavonoid 배당체임을 확인 할 수 있었다. 당부의 signal을 조사한 결과 ¹³C-NMR spectrum에서 당의 4번 탄소가 저자장으로 shift됨이 관측됨에 따라 2분자의 당이(1→4) 결합함을 확인 할 수 있었다. ¹H-NMR에서 anomeric proton의 coupling constant가 각각 7.8과 7.6 Hz로 관측됨에 따라 당은 모두 β-결합하고 있는 것을 알 수 있었고, 이상의 결과로부터 화합물 1의 화학구조는 3-O-[β-D-glucopyranosyl(1→4) β-D-glucopyranosyl] kaempferol로 결정하였다.

한편, 화합물 2에 대해서는 Baek 등³⁾이 Grb2-Shc 결합저해 활성을 갖는 것으로 보고한 바 있으며, flavonoid 배당체 중에는 혈소판 응집억제 작용 등의 여러 활성을 갖는 화합물들이 보고 된 바 있다.¹¹⁾ 따라서 달래로부터 이러한 2차 대사산물을 분리하고 이들 화합물들에 대한 활성을 검증함에 따라 달래는 기능성 작물로서 충분히 이용가치가 있을 것으로 본다.

참고문헌

1. Ahn, S. D., Jang, B. H., Lee, M. S., Kwon, B. S. and Kim, M.

- N. (1996) In 'Introduction of Resource Plant,' pp. 192, Sun Jin Mun Hwa Sa, Seoul, Korea.
2. Shanghai Science & Technology Press (1985) In 'Encyclopedia of Chinese Drugs,' pp. 226, Shogakukan, Tokyo, Japan.
3. Baek, N. I., Kim, Y. H., Ahn, E. M., Bang, M. H., Nam, J. Y. and Kwon, B. M. (1998) Isolation of biologically active compounds from the flower petals of *Carthamus tinctorius* L. *Agric. Chem. & Biotechnol.* **41**, 197-200.
4. Harborne, J. B and Mabry, T. J. (1982) In 'The flavonoids: Advances in Research,' Chap. 2, Chapman and Hall, London, U.S.A.
5. Agrawal, P. K. and Bansal, M. C. (1989) In 'Carbon-13 NMR of Flavonoids,' Chap. 6, Elsevier science Inc., New York, U.S.A.
6. Morita, N., Arisawa, M., Nagase, M., Hsu, H. Y. and Chen, Y. P. (1977) Studies on the constituents of formosan leguminosae. I. The constituents in the leaves of *Clitoria ternatea* L., *Yakugaku Zasshi* **97**, 649-653.
7. Markham, K. R., Ternal, B., Stanley, R., Geiger, H. and Mabry, T. J. (1978) Carbon-13 NMR studies of flavonoids-III, *Tetrahedron* **34**, 1389-1397.
8. Baek, N. I., Lee, M. J., Park, J. D., Kim, H. Y. and Kim, S. I. (1997) Preparation of sophorose-II. Preparation of sophorose from the culture broth of *torulopsis bombicola* and the pod of *sophora japonica*, *Agric. Chem. & Biotechnol.* **40**, 163-166.
9. Yoshizaki, M., Fujino, H., Masuyama, M., Arisawa, M. and Morita, N. (1987) A chemotaxonomic study of flavonoids in the leaves of six trichosanthes species, *Phytochemistry* **26**, 2557-2558.
10. Nohara, T., Ito, Y., Seike, H., Komori, T., Moriyama, M., Gomita, Y. and Kawasaki, T. (1982) Study on the constituents of *Paris quadrifolia* L. *Chem. Pharm. Bull.* **30**, 1851-1856.
11. Carotenuto, A., Feo, V. D., Fattorusso, E., Lanzotti, V., Magno, S. and Cicala, C. (1996) The flavonoid of *Allium ursinum*. *Phytochemistry* **41**, 531-536.

Development of Biologically Active Compounds from Edible Plant Sources-III. Isolation of Flavonoid-glycoside from the *Allium monanthum* Max.

Eun-Mi Ahn, Tae-Ho Jang¹ and Nam-In Baek^{1*}(Scigen Technology Co., Ltd., ¹Department of Life Sciences & Plant Metabolism Research Center, Kyung Hee University, Suwon 449-701, Korea)

Key words: *Allium monanthum* Max, flavonoid, kaempferol, glycoside

*Corresponding author