

매실(*Prunus memu*)의 항산화활성 물질, Rutin

한재택* · 이상윤 · 김경남 · 백남인¹

풀무원 기술연구소,

¹경희대학교 생명공학원 및 식물대사연구센터

(2000년 10월 14일 접수, 2000년 11월 13일 수리)

Key words : 매실, 항산화활성, DPPH 라디칼 소거 활성, linoleic acid 산화억제, rutin

서 론

매화나무(*Prunus memu*)의 과실인 매실은 민간에서 기능성 식품으로 다양하게 쓰여진 대표적인 민속약재로 잘 알려져 있다. 매실에 관한 연구를 보면 오매가 간디스토마에 대하여 살충활성이 있고,¹⁾ 청매 추출물이 항균활성, 간장장애를 회복, 항돌연변이 활성이 있다는 보고가 있다.²⁻⁴⁾ 그리고 매실로부터 유기산인 succinic acid, citric acid, malic acid, tartaric acid⁵⁾와 flavonoid인 naringenin⁶⁾등과 amylo alcohol⁷⁾이 분리 보고되었다.

지금까지 알려져 있는 피로회복, 정장작용, 식욕증진, 해독, 항균활성 등⁸⁾과 같은 매실의 기능성은 대부분 풍부한 유기산의 효과에 기인한다고 볼 수 있을 것이다. 그러나 최근 매실 메탄올 추출물의 항산화 활성이 보고 되었는데⁹⁾ 이는 매실에 유기산 외에 다른 기능성 성분이 존재함을 시사하고 있는 것이라고 하겠다. 본 연구에서는 매실의 항산화 활성 물질을 분리하여 화학구조를 밝힘으로써 천연 항산화제로써의 개발 가능성을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

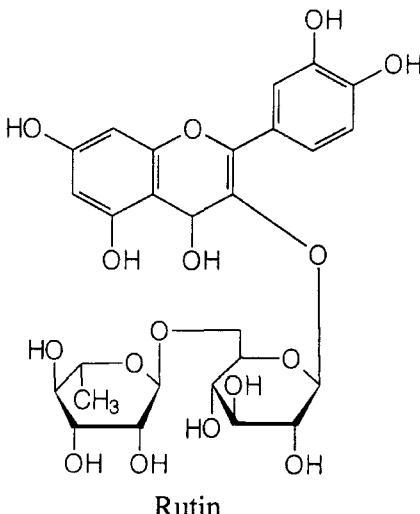
실험재료. 경동시장에서 2000년 5월 하순에 매화나무의 미숙 과실을 구입, 분쇄하여 사용하였다. 녹차추출물은 InterHealth Nutraceuticals(California, USA)의 제품이고, 포도씨 추출물은 Kikoman(Tokyo, Japan)의 제품을 사용하였다.

활성물질분리. 분쇄한 매실(7 kg)을 methanol(MeOH)로 2회 추출한 후 여과하고 감압 농축하여 약 5.2%에 해당하는 추출물을 얻었다. 추출물을 물과 *n*-hexane으로 분배 추출한 후 물층을 ethyl acetate(EtOAc)로 분배 추출하였고 물층을 다시 *n*-butanol(*n*-BuOH)로 추출하였다. 각 층을 농축하여 얻어진 네 분획에 대하여 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl(DPPH)라디칼 소거 활성을 측정하였다.

n-BuOH 농축물을 silica gel column chromatography(CHCl₃

/MeOH = 3/1 → CHCl₃/MeOH/H₂O = 6/4/1)를 실시하여 10개의 분획으로 나누었다. 그 중 7번 분획에 대하여 silica gel column chromatography(CHCl₃/MeOH/H₂O = 6/4/1)를 실시하여 8개의 분획으로 나누었고, 5번 분획에 대하여 다시 한 번 silica gel column chromatography(CHCl₃/MeOH/H₂O = 65/40/10)를 실시하여 혼합물을 얻은 후 혼합물을 다시 한번 동일한 방법으로 정제하여 화합물 1(95 mg)을 분리하였다.

화합물 1: Yellow powder (MeOH), ¹H-NMR(400 MHz, CD₃OD, δ) 7.66(1H, d, *J* = 2.2, H-2'), 7.62(1H, dd, *J* = 8.5, 2.2, H-6'), 6.87(1H, d, *J* = 8.5, H-5'), 6.39(1H, d, *J* = 2.2, H-8), 6.20(1H, d, *J* = 2.2, H-6), 5.09(1H, d, *J* = 7.6, H-1'), 4.51(1H, d, *J* = 1.48, H-1''), 1.11(3H, d, *J* = 6.36, H-6''); ¹³C-NMR(100 MHz, CD₃OD, δ), 179.4(C-4), 166.1(C-7), 163.0(C-5), 159.3(C-9), 158.5(C-2), 149.8(C-4'), 145.8(C-3'), 135.6(C-3), 123.6(C-6), 123.1(C-1'), 117.7(C-5'), 116.1(C-2'), 105.6(C-10), 104.7(C-1''), 102.4(C-1''), 100.0(C-6), 94.9(C-8), 78.2(C-3''), 77.2(C-55''), 75.7(C-2''), 73.9(C-4''), 72.3 (C-3''), 72.1 (C-2''), 71.4(C-4''), 69.7(C-5''), 68.6(C-6''), 17.9(C-6'').



Rutin

DPPH라디칼 소거활성의 측정. 감압 농축하고 vacuum oven에서 수분을 제거한 각 시료를 0.1 mg, 1.0 mg, 2.0 mg 취한 후 ethanol(EtOH) 1 mL로 용해시켰다. 각 시료 용액 중 100 μL를 시험관에 취하고 40 μg/mL DPPH EtOH 용액 2 mL씩을 가하여 반응시켰다. 실온에서 30분 방치 후 517 nm에서 흡광도를 측정하여 DPPH의 환원에 의한 흡광도를 조사하였다. Electron donating ability(EDA)는 시료첨가구와 대조군의 흡광도차를 백분율로 표시하였다.

Linoleic acid 산화 억제활성의 측정. 지질 산화는 2,2-azobis(2-amidinopropane)-dihydrochloride (AAPH)에 의해 유도하였다. Linoleic acid(1 μg/mL) 200 μL과 시료(1 μg/mL) 50 μL를 AAPH(50 mM)와 혼합하여 37°C에서 1시간 배양한 후 15% SDS와 혼합하였다. 그리고 1% 2-thiobarbituric acid(TBA)와 acetic acid glacial 120 μL를 첨가한 후 85°C에서 30분간 가열

*연락처

Phone : 82-31-205-3804; Fax : 82-31-204-8116

E-mail : jthan@pulmuone.co.kr

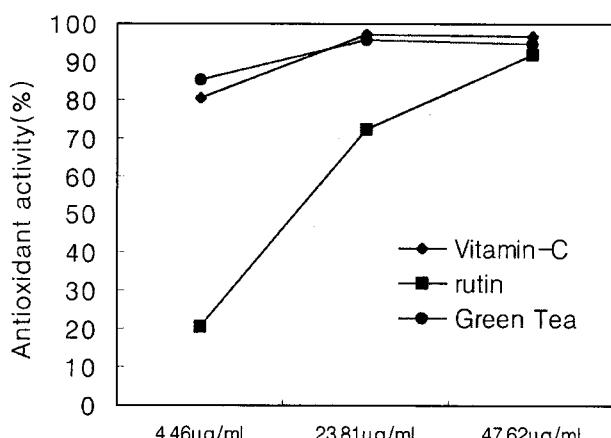


Fig. 1. Electron donating ability of rutin isolated from the *Prunus mume* and other compounds.

한 다음 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 지질 산화 억제활성은 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도차를 백분율로 표시하였다.

결과 및 고찰

활성물질의 구조 동정. 화합물 1은 황색 분말상의 물질로서 silica gel TLC에서 전개하고 UV 램프(254 nm)로 쪼였을 때 강한 UV 흡수특성을 보였으며, 10% 황산 분무 가열 시 황색으로 발색되었고, R_f 값(0.25, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O} = 65/40/10$)으로부터 판단한 극성의 정도로부터 flavonoid 화합물로 추정되었다. $^1\text{H-NMR}$ 을 보면 aromatic proton signal 5개와 당에서 기인하는 2개의 hemiacetal signal, 다수의 oxygenated methine 및 methylene signal이 관측되어 이 화합물은 flavonoid 배당체임을 예측하였다. δ 7.66(d, $J = 2.2$, H-2), δ 7.62(dd, $J = 8.5$, 2.2, H-6'), δ 6.87(d, $J = 8.5$, H-5) signal들의 coupling constant로 볼 때 flavonoid의 B환의 C-3'과 C-4'가 치환되어 있는 것을 확인할 수 있었다. 그리고 δ 6.39(1H, d, $J = 2.2$, H-8)과 δ 6.20(1H, d, $J = 2.2$, H-6)으로부터 A환에서 meta-coupling하고 있는 것으로 판명되었다. 또한 anomeric proton δ 5.09(d, $J = 7.6$, H-1"), δ 4.51(d, $J = 1.48$, H-1') 및 당분자 signal들이 관측되어 화합물 1은 5,7,3',4'-tetrahydroxyflavonol(quercetin)에 당 2분자가 결합한 배당체임을 알 수 있었다. $^{13}\text{C-NMR}$ 에서도 aglycone은 quercetin에 해당하는 chemical shift의 signal들을 보였다. 당은 chemical shift로부터 D-glucopyranose와 L-rhamnopyranose로 판명되었고, 당의 결합부위는 quercetin의 $^{13}\text{C-NMR}$ 과 비교한 결과 고자장으로 약 3 ppm 정도 이동한 3 번 수산기로 결정하였다. 또한 D-glucopyranose에 6번 탄소의 chemical shift가 유리당일 때와 비교하여 약 6 ppm 정도 저자장으로 이동하였기에 L-rhamnopyranose는 D-glucopyranose의 6 번 탄소와 결합하고 있음을 확인할 수 있었다. 그리고 anomeric proton의 coupling constant를 보면 H-1"은 $J = 7.6$ 으로 β 위치로 quercetin과 결합하며, H-1"은 $J = 1.5$ 로 α 위치로 D-glucopyranose와 결합하고 있음을 알 수 있었다.

따라서 이 화합물은 quercetin 3-O- α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 6)

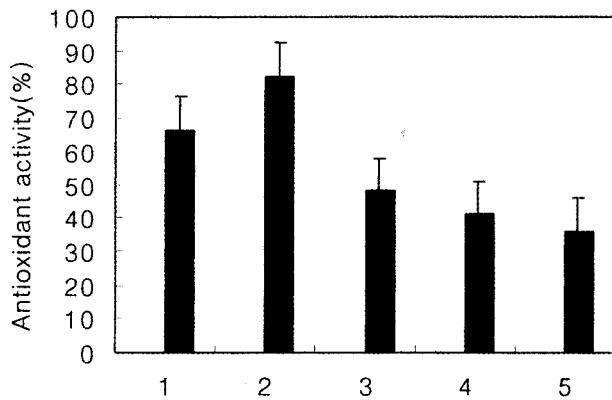


Fig. 2. Linoleic acid antioxidant activity of rutin isolated from the *Prunus mume* and other compounds.

1, vitamin-C; 2, BHT; 3, rutin; 4, green tea extract; 5, grape seed extract

β -D-glucopyranoside (rutin)으로 결정하였다.

항산화 활성. 매실 추출물의 항산화 활성에 관한 보고⁹⁾에서 밝힌 바와 같이 DPPH radical 소거활성을 나타내는 본체를 구명하기 위하여 MeOH 추출물을 *n*-hexane, EtOAc, *n*-BuOH과 H_2O 로 용매분획하였고, 각 분획에 대하여 활성을 측정한 결과 *n*-BuOH 분획에서 활성이 나타났다. *n*-BuOH분획을 DPPH radical 소거활성을 추적하며 물질을 분리하여 최종적으로 항산화 활성을 나타낸 rutin을 분리, 동정하였다. Rutin과 잘 알려진 다른 항산화 물질의 DPPH에 대한 전자공여능을 비교한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 저 농도에서는 vitamin-C나 녹차 추출물에 비해서 활성이 매우 떨어지지만 농도가 높아짐에 따라 90%이상의 활성을 나타내는 것으로 볼 때 매실을 식품으로써 장기 복용할 경우 항산화 활성에 의한 체내에서의 유익한 역할을 기대할 수 있을 것으로 보인다. 또한 지질산화에 대한 억제 실험에서는 vitamin-C보다는 활성이 낮았으나 녹차추출물에 비해서는 활성이 높게 나타났다(Fig. 2).

Rutin은 지금까지 혈관계 질환의 치료와 모세혈관 강화, 항염증 효과 등에 사용되는 천연물로 의약분야에서 매우 중요한 위치를 차지하고 있는 물질이다.¹⁰⁾ 이러한 rutin은 아직까지 매실에서는 분리 보고된 바가 없기 때문에 매실이 갖고 있는 여러 생리활성 중에서 하나의 원인물질이 될 것으로 예상된다.

참고문헌

- Kwack, Y. S., Ryu, S. H., Baek, B. K., Lee, J. K. and Ahn, B. Z. (1985) The anthelmintic principle of "O-Mae", the roasted fruits of *Prunus mume*, against *Clonorchis sinensis*. *Yakhak Hoeji* **29**, 32-38.
- Lim, J. W. (1999) Studies on the antibacterial and physiological activities of *Prunus mume*, MS Thesis, Kyunghee University, Suwon, Korea
- Sheo, H. J., Lee, M. Y. and Chung, D. L. (1990) Effect of *Prunus mume* extract on gastric secretion in rats and carbon tetrachloride induced liver damage of rabbits. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **19**, 21-26.
- Dogasaki, C., Murakami, H., Nisijjima, M., Yamamoto, K. and Miyazaki, T. (1992) Antimutagenic activities of *Prunus mume*

- SIEB. et ZUCC. *Yakugaku Zasshi* **112**, 577-584.
5. Lee, D. S., Woo, S. K. and Yang, C. B. (1972) Studies on the chemical composition of major fruis in Korea. *Korean J. Food Sci. Technol.* **4**, 134-139.
6. Hasegawa, M. (1959) Flavonoids of various *Prunus* species. *J. Org. Chem.* **24**, 408-409.
7. Kameoka, H. and Kitagawa, C. (1976) Constituents of the fruits of *Prunus mume* SIEB. et ZUCC. *Nippon Nogeik Kagaku Kaishi* **50**, 389-393.
8. Mathmoto, C. (1994) In *Miracle Maesil Method*, Lee, C. M. (ed.) Kookilmunhwasa, Korea.
9. Kim, B. J. and Kim, J. H. (1997) Biological screening of 100 plant extracts for cosmetic use (II): anti-oxidative activity and free radical scavenging activity. *Int. J. Cosmet. Sci.* **19**, 299-307.
10. Havsteen, B. (1983) Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem. Pharmacol.* **32**, 1141-1148.

Rutin, Antioxidant Compound Isolated from the Fruit of *Prunus memu*

Jae-Taek Han*, Sang-Yoon Lee, Kyung-Nam Kim and Nam-In Baek¹(*Pulmuone R&D Center, Seodaemun P.O.Box 146, Seoul 120-600, Korea*; ¹*Department of Life Science & Plant Metabolism Research Center, Kyunghee University, Suwon 449-701, Korea*)

Key words : *Prunus memu*, DPPH radical scavenging activity, linoleic acid antioxidant, rutin

*Corresponding author