생 약 학 회 지
Kor. J. Pharmacogn.
35(4) : 388 ~ 392 (2004)

식품학적 가공에 의한 생약의 성분 및 활성 변화 (II)
– Roasting 처리에 의한 목단피 (Moutan Cortex) 에탄올 추출물 중 Paeonol의 함량변화 –

전소영 · 김은경 · 곽혜민 · 김자영 · 임정현[1] · 정신교[1] · 송경식*
경북대학교 농업생명과학대학 응용생물화학부, [1]식품공학과

Changes in Chemical Composition and Biological Activities of Oriental Crude Drugs by Food Processing Techniques (II)
– Changes in Paeonol Contents in Roasted Moutan Cortex –

So-Young Jeon, Eun-Kyung Kim, Hye-Min Kwak, Ja-Young Kim, Jung-Hyun Lim[1], Shin-Kyo Chung[1], and Kyung-Sik Song*
Division of Applied Biology and Chemistry, and
[1]Department of Food Science & Technology, College of Agriculture and Life Sciences, Kyungpook National University, Deagu 702-701 Korea

Abstract – The paeonol content in roasted Moutan Cortex was increased about three times compared to that of untreated one. The paeonol content reached at its maximum level (454.3 μg/mg ethanol extract) after roasting at 190°C for 30 minutes. Roasting processing did not affect on the DPPH radical scavenging activity of Moutan extracts.

Key words – Moutan Cortex, roasting, paeonol, content change

목단피(*Moutan Cortex*)는 갈잎떨기나무에 속하는 모란(*Paeonia moutan* Sims., *Paeonia suffruticosa* Andrews)의 뿌리껍질로 관상~반관상을 이루고, 외면은 암갈색~자갈색을 나타내고 가로로 길며, 작은 원형인 측근의 자국과 세로 주름이 있고, 내면은 엷은 회갈색을 나타낸다고 알려져 있다.[1,2] 한방에서는 소염, 해열, 진통제 등으로 사용하고 있는 중요한 한약재로 항돌연변이성,[3,4] 항염증작용,[5] 항산화작용[6]에 관한 연구가 보고된 바가 있으며, 목단피의 성분으로는 paeonol, paeoniflorin, paeonoside, gallic acid, methyl gallate, ethyl gallate 등이 알려져 있다.[7,8]

한약은 천연물을 기원으로하고 있기 때문에 사용에 필요한 형태로 가공을 거치지 않으면 안되며 이러한 공정을 한방에서는 수치(修治), 또는 포제(炮製)라 하여 반하의 경우와 같이 약물의 독성을 감소시키거나, 결명자 등과 같이 초(炒)하여 성분의 용출을 쉽게 하는 경우 등, 생약의 가공처리 방법 및 처리후의 약성변화 등에 대한 많은 자료가 있다.[9-13] 그러나 아직까지 수치나 가공후의 성분변화 및 활성변화를 연구한 예는 치자, 건강, 감초 등 극히 일부의 한약을 제외하고는 찾아보기 어렵다.[14-17] 수치 방법 또한 고전 한방서에 기초한 것이 대부분으로 가열처리, 가압처리, 효소처리 등과 같은 근대적 개념의 식품 가공처리 방법을 응용한 경우 생약 중 유효성분의 함량변화나 생리활성 변화에 대한 추적은 상대적으로 미미한 형편이다.

본 연구에서는 빈용 한약재에 식품에 이용되는 각종 가공방법을 응용하였을 경우 이에 따라 변화하는 성분 및 약효를 추적하고자 하였으며, 목단피에 대하여 roasting 처리, extrusion, 효소처리 등의 가공방법을 적용한 결과, 효소처리 시에는 변화가 없었으나, roasting 및 extrusion 처리 시 1종의 화합물의 함량증가를 확인하였으므로, 본 보에서는 이 중 roasting 처리에 의해 생성되는 화합물에 대하여 보고하고자 한다.

재료 및 방법

재료 및 시약 – 실험에 사용된 목단피는 대구 소재의 한

*교신저자(E-mail) : kssong@knu.ac.kr
(FAX) : 053-956-5715

약제상에서 구입하여 사용하였다. HPLC는 Dionex사의 AS50 Chromatography Compartment, AS50 Autosampler, AD25 Absorbance Detector, GS50 Gradient Pump로 구성하였다. TLC는 precoated silica gel plate(Kieselgel 60F_{254}, Merck, NJ, USA)를 사용하였으며, silica gel column chromatography는 Kieselgel 60(Art. 7734, 70-230 mesh, Merck, NJ, USA)을 사용하였다. ^{1}H- 및 ^{13}C-NMR은 Bruker Avance Digital 400 Spectrometer(Karlsruhe, Germany)로 400과 100 MHz에서 각각 측정하였다. Chemical shift는 TMS를 표준물질로 하여 δ(ppm)로 나타내었다. 그 외 시약은 1급 또는 특급을 사용하였다.

Roasting 처리 – 자체 제작한 전기볶음 기계를 이용하여 190°C에서 30분간 볶음처리를 하였다.

Paeonol의 정량 – 본 실험에서 분리한 paeonol(HPLC UV 280 nm상 순도 95% 이상)을 표준물질로 하여 HPLC에서의 peak area와 농도간의 상관관계를 이용하여 검량선 [Y(peak area) = 0.0469×X(concentration in μg) + 0.0014625, r^2 = 0.9948]을 작성하였으며 미지농도의 peak area를 상관관계식에 대입하여 paeonol의 함량을 정량하였다. Roasting 처리 후 증가하는 paeonol의 함량을 정량하기 위하여 roasting 처리 후 목단피 에탄올 추출물 10 mg을 1 m*l*의 에탄올에 녹인 후, 4.5 μm membrane filter로 여과 후 이 중 20 μ*l*를 HPLC로 분석하였다. HPLC 조건은 1%의 acetic acid를 포함한 acetonitrile을 0%에서 100%가 되도록 60분간 농도구배를 주어 분석하였다. 사용된 column은 ZORBAX Eclipse XDB-C_{18}(4.6×150 mm, 5 μm, Agilent, USA)이며, 유속은 0.8 m*l*/min, 검출은 280 nm에서 하였다. 함량은 2회 반복실험의 평균치로 나타내었다.

추출 및 분리 – 목단피 추출물 중 roasting 처리에 의하여 함량이 증가한 화합물을 분리하기 위하여 위에서 기술한대로 roasting 처리한 목단피 500 g을 2 *l*의 에탄올로 3회 환류 추출한 후 감압 농축하여 추출물 84.56 g을 얻었다. 이를 다시 1 *l*의 증류수에 분산시킨 후 동량의 CH_2Cl_2로 2회 분배 추출한 다음 CH_2Cl_2 가용성 분획에 대하여 무수 Na_2SO_4로 수분을 제거하고 여과 후 감압 농축하여 extract 10.46 g을 얻었다. 이 CH_2Cl_2 가용성 분획에 대하여 silica

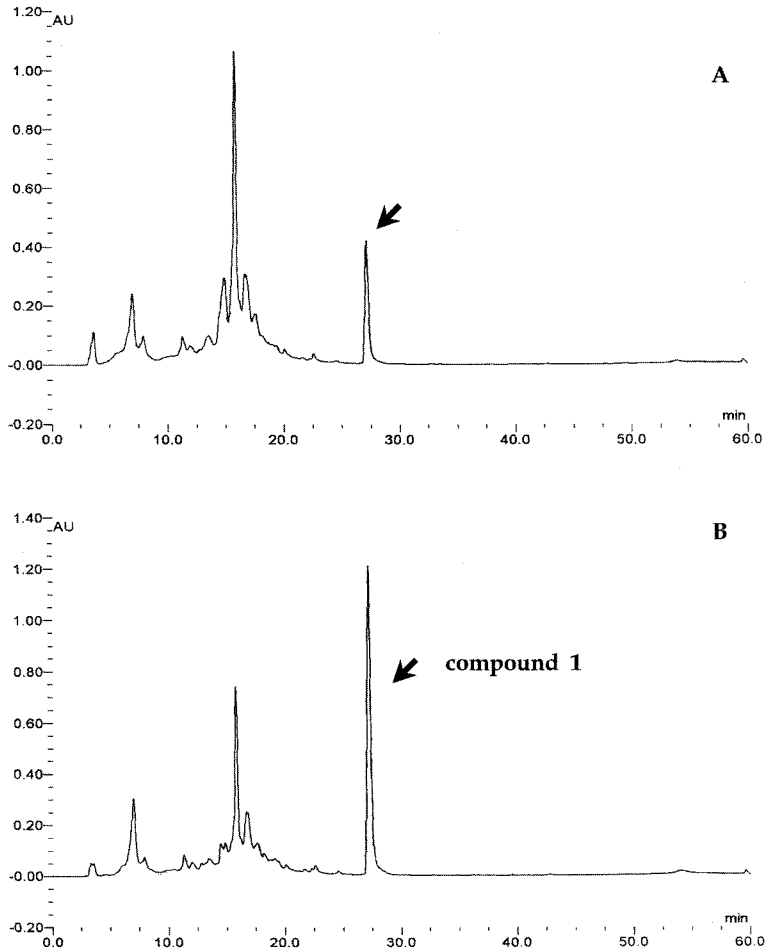

Fig. 1. HPLC profile of the ethanol extract of roasted Moutan Cortex. A: ethanol extract B: ethanol extract from roasted Moutan Cortex.

gel column chro- matography(4×54.5 cm, Hexane-EtOAc-HOAc = 100 : 1 : 1% → 1 : 1 : 1%)를 실시하여 총 fr.1~fr. 13의 열세개의 분획을 얻었으며 이중 fr.3(compound **1**, 6.23 g)을 HPLC로 분석한 결과 증가된 화합물과 t_R이 정확히 일치하였다.

DPPH에 의한 항산화 활성측정 – DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical 소거활성은 Blois[18]의 방법에 준하여 행하였다. 즉, 25 및 100 ppm 농도의 시료를 포함하는 200 μl의 에탄올 용액에 4×10^{-4} M DPPH 용액 800 μl를 가하여 10 초간 혼합한 후 10 분간 방치하고 525 nm에서 흡광도를 측정한 다음 소거활성={1-(S/C)}×100의 계산식에 의하여 소거활성을 나타내었다. 여기서 C는 시료를 포함하지 않는 200 μl의 에탄올 용액의 흡광도치이며, S는 시료를 가하였을 때 흡광도치다. 결과치는 2반복 실험 후 평균치로 나타내었으며 이 때 양성대조군으로서는 BHA(butylated hydroxyanisol)를 사용하였다.

결과 및 고찰

Roasting 처리에 의한 목단피 추출물의 HPLC pattern 변화 – 목단피 에탄올 추출물과 roasting 처리 후 목단피 에탄올 추출물의 HPLC pattern을 비교하였다. 목단피 에탄올 추출물보다 roasting 처리 후의 목단피 에탄올 추출물에서 area가 매우 증가된 peak (t_R, 28 min)를 발견할 수 있었다 (Fig. 1).

가열처리에 의하여 증가한 화합물의 구조 동정 – Roasting 처리에 의하여 목단피 에탄올 추출물 중 함량이 증가된 compound **1**의 ^{1}H-NMR 분석결과, δ 12.73에서 hydrogen bond를 하고 있는 hydroxy proton이 검출되었으며, aromatic region에서 δ 7.82(1H, *d*, *J*=8.9 Hz), 6.52 (1H, *dd*, *J*=8.9, 2.4 Hz), 6.47(1H, *d*, *J*=2.4 Hz)의 proton signal로부터 1,2,4-trisubstituted benzen ring 골격을 예상할 수 있었다. 또

Table I. ^{1}H- and ^{13}C-NMR data of compound **1**

No	^{1}H	^{13}C
1		116.5
2		167.0
3	6.47 (1H, *d*, *J*=2.4 Hz)	103.5
4		168.5
5	6.52 (1H, *dd*, *J*=8.9, 2.4 Hz)	110.0
6	7.82 (1H, *d*, *J*=8.9 Hz)	136.3
-C=O		205.9
$-COCH_3$	2.57 (3H, *s*)	29.3
$-OCH_3$	3.83 (3H, *s*)	58.5
-OH	12.73 (1H, *s*)	

^{1}H- and ^{13}C-NMR were measured in DMSO-d_6 at 400 and 100 MHz, respectively.

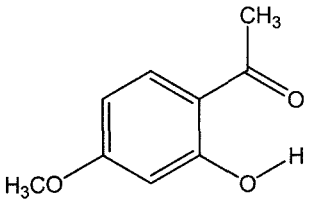

Fig. 2. Chemical structure of paeonol.

한 δ 3.83(3H, s)과 2.57(3H, s)에서 각각 methoxy기와 methyl기를 가지고 있음을 확인할 수 있었다. ^{13}C-NMR에서는 총 9개의 carbon peak가 검출되었으며 δ 205.9에서 carbonyl carbon이, δ 167.0와 168.5에서 oxygenated carbon이, δ 136.3, 116.5, 110.0, 103.5에서 aromatic carbon이 검출되었다. 또한 δ 58.5과 29.3에서 sp^3 carbon으로 추정되는 signal이 검출되었다. ^{1}H-와 ^{13}C-NMR 분석결과 compound **1**을 paeonol로 추정하였고 문헌치[19]와의 비교를 통하여 paeonol로 동정하였다.

Paeonol 함량증가를 위한 최적 roasting 조건 – 목단피를 roasting 처리 시 roasting 온도와 시간에 따른 paeonol의 함량변화를 측정하여 보았다. 우선 시간을 30분으로 고정한 후 150, 170, 190, 210°C의 온도조건에서 roasting처리한 후 에탄올로 추출하여 paeonol의 함량변화를 조사한 결과 190°C에서 paeonol이 최대함량을 나타내었다(Fig. 3). 한편 이 조건에서 5, 10, 30, 60분간 시간을 달리하여 목단피를 roasting한 후 에탄올로 추출하여 paeonol의 함량변화를 조사해본 결과 함량변화는 매우 미미하였다(data 미제시). 따라서 roasting시간보다는 온도에 영향을 받으며 190°C가 가장 좋은 온도조건임을 알 수 있었고, 이 조건 하에서 목단피 에탄올 추출물 중 paeonol의 함량은 에탄올 추출물 1 g당 454.3±5.7 mg으로 처리전(142.4±3.3 mg/g)의 3배에 달하

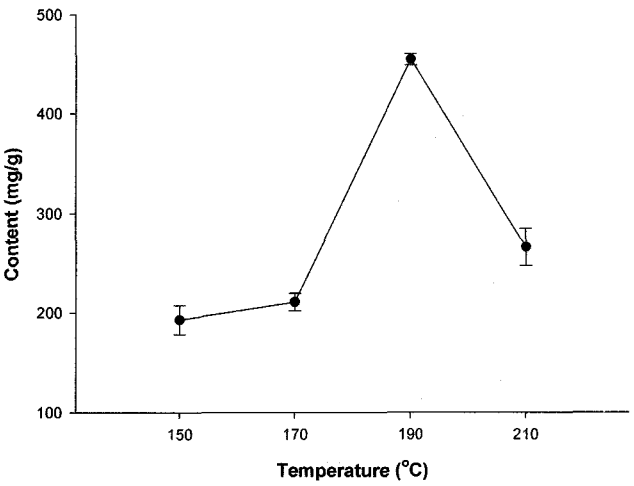

Fig. 3. Changes in paeonol content according to the roasting temperature.

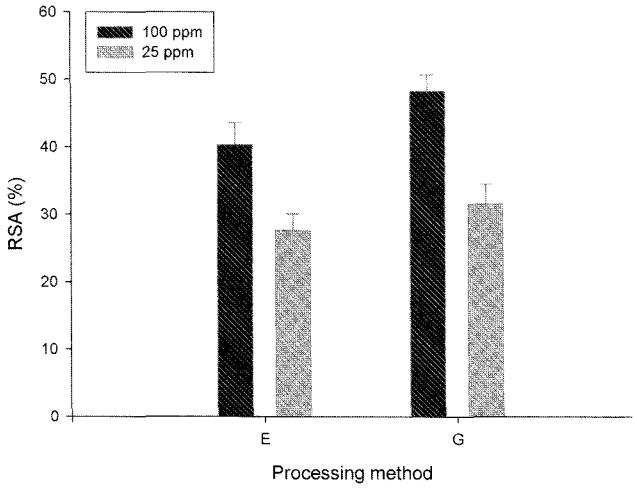

Fig. 4. DPPH radical scavenging activity of Moutan Cortex before and after roasting processing. E: non extracted ethanol extract from Moutan Cortex, G: ethanol extract of Moutan Cortex after roasting.

는 것으로 분석되었다.

목단피의 DPPH radical 소거활성능에 대한 roasting 처리의 영향 – 목단피를 최적 조건하에서 roasting 처리한 다음, 이의 에탄올 추출물에 대하여 DPPH에 대한 항산화 효과를 처리 전과 비교하였다. 그 결과, paeonol 함량의 증가에도 불구하고 roasting 처리가 항산화 활성에는 거의 영향을 미치지 못하였다(Fig. 4). 한편, extrusion을 행한 경우도 paeonol의 함량은 매우 증가하였으나 항산화 활성은 처리 전에 비교하여 약 2배정도 증가하는 것을 관찰할 수 있었다(data 미제시). 이러한 결과는 extrusion을 행한 경우, paeonol의 함량 증가 뿐 아니라 HPLC 상에서 잘 검출되지 않는 화합물들의 생성이 증가되어 항산화 활성이 높아진 것으로 예측된다. Extrusion에 의해 생성되는 항산화물질에 대한 본체는 앞으로 더 연구가 이루어져야할 것이다. 또한 각종 처리 후 항산화활성의 변화 뿐 아니라 ACE(Angiotensin Converting Enzyme) 및 TNF-α(Tumor Necrosis Factor-α) 등에 대한 활성 변화를 측정하여 보았으나 뚜렷한 활성의 변화는 관측되지 않았다.

결 론

목단피를 190°C에서 30분간 roasting 처리한 후 에탄올로 추출하였을 때 처리 전에 비하여 paeonol의 함량이 3배 정도 증가하였다. Roasting 처리의 시간과 온도에 대한 영향을 조사해본 결과 시간에 따라서는 paeonol의 함량변화가 거의 없었으나 150~210°C로 온도를 변화시켜 본 결과 190°C에서 paeonol 함량이 최대치를 나타내 roasting 시간보다는 온도가 함량증가에 다소 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. 한편, roasting 처리시 DPPH 라디칼에 대한 소거활성은 처리전에 비교하여 거의 변화가 없었다. Paeonol은 간보호활성, 항염증작용 등 많은 생물활성[20-22]이 알려져 있어 roasting 처리된 paeonol 고함유 목단피를 건강 기능성 식품 또는 천연물 의약품의 원료로 이용할 수 있을 것으로 기대된다.

사 사

본 연구는 2003년-2004년도 한국과학재단 전통기술첨단화연구실 사업의 지원에 의해 수행되었기에 이에 감사를 드립니다.

인용문헌

1. 배기환 (2000), 한국의 약용식물, 170, 교학사, 서울.
2. 약품식물학연구회 (1982), 약품식물학각론, 162-163, 한국학습교재사, 서울.
3. Fukuhara, Y. and Yoshida D. (1987) Paeonol : A bio-anti-mutagen isolated from a crude drug, Moutan Cortex. *Agric. Biol. Chem.* **51**: 1441-1446.
4. Ryuichiro, L., Yoshikawa K., Minakawa H., Komura H. and Kada T. (1984) Specificities of bio-antimutagens in plant kingdaom. *Agric. Biol. Chem.* **48**: 2587-2591.
5. Mitsuo, M., Maruyara H. and Kameoka H. (1983) Essential oil constituents of "Moutan Radics Cortex" *Paeonia moutan* Sims. (=*P. suffruticosa* Andrews). *Agric. Biol. Chem.* **47**: 2925-2927.
6. Boo, Y. C. and Jeon C. O. (1993) Antioxidants of Theae Folium and Moutan Cortex. *J. Korean Agric. Chem. Biotechnol.* **36**: 326-331.
7. Shibata, S., M. Inaba and Aimi N. (1966) The occurance of paeoniflorin in the plants of *Paeonia* spp. *Syoyakugaku zasshi,* **20**: 37-39.
8. Yukihiro, S., Yamada Y., Nishioka I. and Matsunaka H. (1990) Depigmentation and inhibition of cell growth of B-16 melanoma cells by compounds isolated from *Paeonia suffruticosa callus. Plant Cell Reports* **8**: 711-713.
9. 동의학연구소 편저 (1994) 동약법제. 여강출판사. 서울.
10. 北川 勳, 吉川雅之 (1985) Chemical Characterization of Crude Drug Processing : on Aconiti Tuber and Ginseng Radix. 現代東洋醫學. **6**: 101-110.
11. 北川 勳, 吉川雅之 (1992) 漢方藥 (29, 臨時增刊號, Processing of Chinese Traditional Medicine). 86-98. 中山書店. 東京.
12. Kun-Ying Yen (1992) 漢方藥 (29, 臨時增刊號, Relationship Between Syndrome Pattern and the Process of Preparing Chinese Medicine). 108-116. 中山書店. 東京.
13. 김남재 (1995) 한방약물의 약리작용. 병원약사회지. **12**: 121-138.

14. 신용욱, 김동현, 김남재 (2003) 한약의 수치에 관한 연구(제 7보)-치자의 수치에 의한 성분변화 및 생리활성. 생약학회지 **34**: 45-54.
15. 김호경, 김영아, 황성원, 고병섭 (2002) 수치에 따른 건강증의 6-Gingerol 함량 분석. 생약학회지, **33**: 291-295.
16. 김남재, 홍남두 (1996) 한약수치에 관한 연구 (제5보) - 수치에 의한 감초 의 성분변화 및 생리활성. 생약학회지 **27**: 196-206.
17. 김남재, 진영호, 홍남두 (1995) 한약수치에 관한 연구 (4)-수치에 의한 감초중 Glycyrrhizin 의 물리화학적 변화. 생약학회지 **26**: 31-38.
18. Blois, M. S. (1985) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **181**: 1199-1201.
19. Takaaki Yasuda, Rinko Kon, Takahiro Nakazawa and Keisuke Ohsawa. (1999) Metabolism of Paeonol in Rats. *J. Nat. Prod.* **62**: 1142-1144.
20. Kim Sung-Hoon, Kim Seung-Ae, Park Mi-Kyung, Kim Seung-Hyung, Park Young-Doo, Na Ho-Jeong, Kim Hyung-Min, Shin Min-Kyu and Ahn Kyoo-Seok. (2004) Paeonol inhibits anaphylactic reaction by regulating histamine and TNF-. *Int. Immunopharmacol.* **4**(2): 279-287.
21. Li Yong-Kun, Li Cong, Gu Kun, Chen Yuan-teng, Yin Jia-Yuan. (2003) Microbiological assay of natural antioxidant. *Fenxi Shiyanshi.* **22**(5): 63-66.
22. Chou Tz-Chong. (2003) Anti-inflammatory and analgesic effects of paeonol in carrageenan-evoked thermal hyperalgesia. *Br. J. Pharmacol.* **139**(6): 1146-1152.

(2004년 12월 13일 접수)