

개두릅에서 칼로파낙스사포닌의 월별 함량 변화의 추이

남정환 · 정현주 · 최종원¹ · 박광균² · 김원배³ · 이명선 · 박희준*

상지대학교 자원식물학과, ¹경성대학교 약학대학, ²연세대학교 치과대학, ³농촌진흥청 고령지농업연구소

Monthly Variation of the Kalopanaxsaponin Content in the Leaves of *Kalopanax pictus*

Jung-Hwan Nam, Hyun-Ju Jung, Jong-Won Choi¹, Kwang-Kyun Park²,
Won-Bae Kim³, Myung-Sun Lee, and Hee-Juhn Park*

Department of Botanical Resources, Sangji University, Woosan-Dong, Wonju 220-702, Korea

¹College of Pharmacy, Kyungsung University, Busan 608-736, Korea

²College of Dentistry, Yonsei University, Seoul Korea, 120-749, Korea

³National Alpine Experimental Station, RDA, Pyeongchang 232-950, Korea

Abstract – To find the monthly variation of kalopanaxsaponin contents in the leaves of *Kalopanax pictus* with thorns (KPT) and with no thorns (KPN), the leaves monthly collected from May to September were extracted with MeOH and then the kalopanaxsaponin fractions were prepared. KPT collected on May showed the lowest saponin content of the KPTs whereas KPT on August exhibited the highest saponin content. From September, the saponin content in the leaves decreased. The highest saponin content was shown to be 7.3% in KPN collected on August. Evaluation of six kalopanaxsaponins A, I, J, B, H and K (KPA, KPI, KPJ, KPB, KPH, and KPK) were performed using TLC densitometer. In this measurement, considerably higher KPB and KPH, both hederagenin bisdesmosides, were found whereas very low contents in monodesmosides KPI and KPJ were observed. In conclusion, it was shown that the leaves of KPN of August could be a biomaterial source for the kalopanaxsaponin fraction. It was also suggested that measurement of the weight of kalopanaxsaponin fraction and the content of KPB as the representative compound for kalopanaxsaponins will be used for the quantitative evaluation of the kalopanaxsaponins of *K. pictus*.

Key words – *Kalopanax pictus*, Araliaceae, saponin, kalopanaxsaponin, quantitative

개두릅은 음나무의 잎을 나물로 식용할 때 부르는 명칭이다. 개두릅은 예로부터 음나무의 새순을 채취하여 식용하는데 이의 이용에 관한 연구가 미진하다. 음나무의 잎에 대해서는 각종 kalopanaxsaponin 등이 알려져 있고¹⁾ 이것이 장내 미생물의 분해과정에 의해 hederagenin²⁾이나 kalopanaxsaponin A 등으로 전환되고 이를 분해된 화합물이 진통작용, 소염작용 등의 효과를 나타낸다고 보고한 바 있다.^{2,3)} 이 이외에도 음나무 수피에는 각종 폐늘성 화합물들이 함께 보고되어 있다.⁴⁾ 이와 같이 음나무 잎의 함유성분에 대한 연구가 수행되어 이미 그 구조가 알려졌다.

저자들은 이러한 음나무의 수피, 즉 해동피(*Kalopanaxis Cortex*)에 대해 그 약리성분에 대한 연구를 수회 수행하였

음에도 불구하고,⁵⁻⁷⁾ 개두릅을 이용한 식용자원의 개발 및 산업화에 대한 본격적인 연구가 없음에 착안하여 개두릅의 개발을 위한 연구에着手하였다.

본 연구에서는 개두릅으로부터 신 등의 방법⁸⁾을 이용하여 총사포닌(칼로파낙스사포닌 분획)을 제조하고 그 총사포닌의 함량을 중량법에 의해 측정하였으며 kalopanaxsaponin A, I, J, B, H, K 6종 화합물을 지표로 하여 그 함량을 정하였다. 신속하고 용이한 측정을 위하여 TLC densitometry의 방법을 이용하였다. 또한 식물재료인 개두릅으로 정선 자생의 가시가 있는 음나무의 잎, 가시가 없는 민가시의 잎을 월별 채집하였으며, 비교를 위해 한국산 해동피와 중국산 해동피를 함께 사용하였다.

*교신저자(E-mail) : hjpark@sangji.ac.kr
(FAX) : 033-730-0564

재료 및 방법

식물재료 – 2005년 5월 20일경 강원도 정선군에서 재배 중인 음나무로부터 잎을 채입하였으며 30일마다 채집하여 9월에 마지막 채집을 하였다. 그리고 민가시음나무는 6월 20일에 첫 채집을 하였으며 9월에 채집을 마쳤다. 채집된 음나무의 잎들을 충분히 익진하여 식물재료로 사용하였다. 그리고, 해동피는 한국산과 중국산을 강원도 원주시 단계동 소재의 천일약업사에서 구입하여 사용하였다.

기기 및 시약 – TLC Documentation System은 UVI tel Limited 제품을 사용하였으며 software는 동일회사의 UVI band program으로 그 colony수를 측정하여 saponins의 함량을 측정하였다. TLC plate는 silica gel aluminium sheets (Si-gel 60F₂₅₄, Merck 1.05554.0001)를 사용하였으며 전개용 배는 CHCl₃-MeOH-H₂O(16:11:3, 하층)으로 10 cm 전개한 다음 말리고 50%-H₂SO₄로 분무하고 120°C의 오븐에서 30 초 발색시킨 다음 이를 TLC densitometry로 colony 수를 카운트하였다.

추출 및 총 사포닌 분획의 제조 – 분쇄한 각 재료를 정확히 평량하여 100 g을 취한 후 1.00 L의 메탄올로 5시간씩

3회 끓여서 추출한 다음 여과하였다. 이를 진공농축기를 이용하여 감압하에 농축하고 동결건조한 다음 정확히 메탄올 추출물을 평량하였다. 이 메탄올 추출물을 500 ml의 증류수에 혼탁시키고 분획깔때기에서 hexane 800 ml로 2회 분배 추출한 다음 남은 수층에 에테르 800 ml로 2회 분배추출하였다. 남은 수층에 수포화 BuOH로 3회 분배추출하였고 BuOH 층을 농축하였다. 이 BuOH 분획을 증류수 500 ml에 혼탁시킨 다음 charcoal 70 g을 넣고 흔들어 준 다음 여과지에서 거른다. 계속하여 Diaion HP20(320 g, 5 × 7 cm) 칼럼에 시료를 넣고 증류수 2000 ml로서 전개하여 당 분획을 제거한 다음, 계속하여 MeOH 2.0 L로 전개하여 유출된 액을 모아 농축하였으며, 이를 칼로파낙스사포닌 분획으로 하였다. 칼로파낙스사포닌 분획은 TLC에서 사포닌 이외의 반점을 거의 확인할 수 없었다. 칼로파낙스사포닌 분획을 얻는 과정을 Fig. 1에 나타내었으며, 동일한 실험을 3회 반복하여 평균한 값인 알코올 추출물의 무게와 칼로파낙스사포닌의 무게를 Fig. 2에 나타내었다.

표준액의 제조 및 검량선 작성 – 전보의 방법⁹⁾에 따라 제조된 kalopanaxsaponin A, I, J, B, H, K의 6종을 각각 메탄올에 녹이고 희석하여 0.625, 1.25, 2.50, 5.00, 10.0 mg/

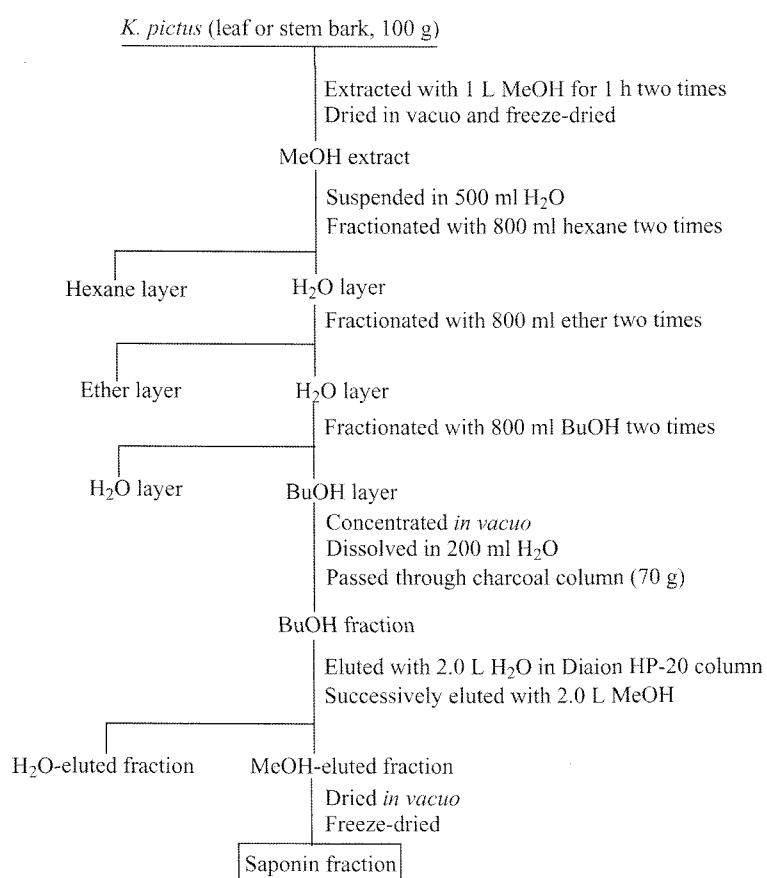


Fig. 1. Schematic procedure for preparation of saponin extract from *K. pictus*.

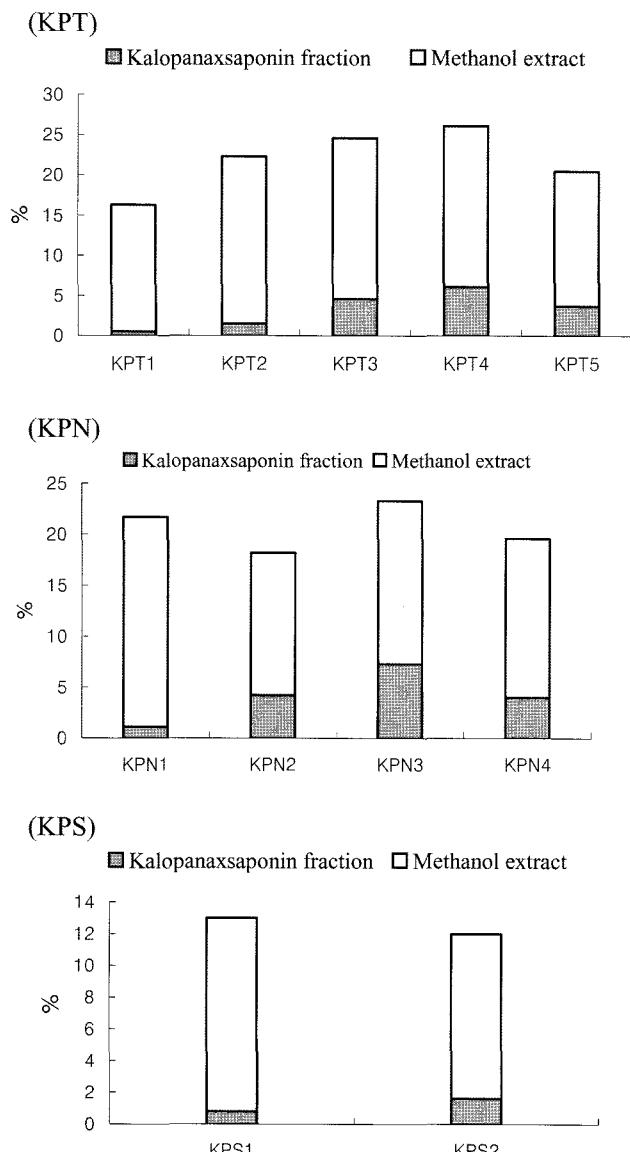
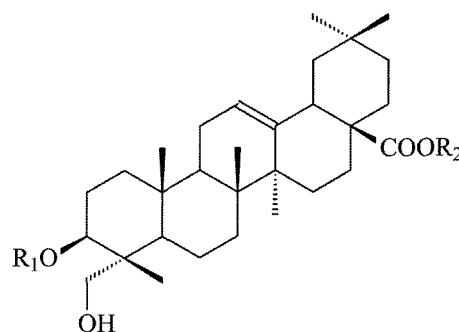


Fig. 2. Yield of total extract and kalopanaxsaponin fraction from *K. pictus*.

KPT (the leaves of *K. pictus* with thorns), KPN (the leaves of *K. pictus* with no thorns), and KPS (the stem bark of *K. pictus* of the habitats of Korea and Japan).

ml의 용액을 제조한 다음 TLC plate에서 0.300 ml씩 정밀히 채취하여 spotting하였다. 이를 CHCl₃-MeOH-H₂O(16:11:3, 하층)으로 10 cm 전개한 다음 말리고 50%-H₂SO₄로 분무하고 120°C의 오븐에서 30초 발색시킨 다음 이를 TLC densitometry로 colony 수를 카운트하였다. 컴퓨터 프로그램을 이용한 검량선 계산에서 각 화합물에 대한 회귀방정식은 다음과 같이 얻어졌다. KPA Y=0.30384X, KPK Y=0.3084X + 0.0120, KPB Y=0.3907X + 0.0162, KPI Y=0.3221X - 0.0062, KPH Y=0.3082X + 0.0219 (r^2 값은 0.9980이상, 여기서 X의 단위는 colony 수이며 Y는 mg/ml임). 그리고 칼



KPA: R₁= α -L-rha(p) (1 \rightarrow 2)- α -L-ara(p); R₂=H
KPI: R₁= β -D-xyl(p) (1 \rightarrow 3)- α -L-rha(p) (1 \rightarrow 2)- α -L-ara(p); R₂=H
KPJ: R₁= β -D-glc(p) (1 \rightarrow 4)- β -D-xyl(p) (1 \rightarrow 3)- α -L-rha(p) (1 \rightarrow 2)- α -L-ara(p); R₂=H
KPB: R₁= α -L-rha(p) (1 \rightarrow 2)- α -L-ara(p); R₂= α -L-rha(p) (1 \rightarrow 6)- β -D-glc(p)
KPH: R₁= β -D-xyl(p) (1 \rightarrow 3)- α -L-rha(p) (1 \rightarrow 2)- α -L-ara(p); R₂= α -L-rha(p) (1 \rightarrow 2)- β -D-glc(p)
KPK: R₁= β -D-glc(p) (1 \rightarrow 4)- β -D-xyl(p) (1 \rightarrow 3)- α -L-rha(p) (1 \rightarrow 2)- α -L-ara(p); R₂= α -L-rha(p) (1 \rightarrow 2)- β -D-glc(p) (1 \rightarrow 6)- β -D-glc(p)

Fig. 3. Structures of saponins isolated from the stem bark of *K. pictus*.

로파낙스사포닌 6종의 구조를 Fig. 3에 나타내었다.

검액의 제조 및 사포닌 함량평가 – 각 재료의 총사포닌 20 mg씩 취하고 1000 μ l에 녹이고 300 μ l씩 점액하였다. 표준액의 경우와 같이 TLC chamber에서 전개시킨 다음 발색시키고 TLC densitometry로 colony를 카운트하였다. 여기서 얻은 콜로니 값을 회귀방정식을 이용하여 농도를 구한 다음 식물재료 중량당 사포닌 중량(mg/g)의 값을 계산하여 Table I-III에 나타내었다.

결 과

가시개두릅의 알코올 추출물과 칼로파낙스사포닌의 함량 – Fig. 2에서 보듯이 알코올 추출물의 수득량은 음나무의 경우 5월에는 최소량(15.8% 수득률)을 나타내었고 6월이 되면 현저히 증가하였고 이후 8월까지 큰 변화없이 알코올 추출물 수득량의 큰 변화가 없다가(6월 20.8%, 7월 20.0%, 8월 20.0%) 9월이 되면 상당히 감소하는 경향을 나타내었다(9월 16.8%). 이에 비해 5월에는 총사포닌 함량이 낮으나(0.5% 사포닌 함량) 점차 월별로 증가하여 8월에는 최고의 사포닌 함량을 보였다(6.1% 사포닌 함량). 그러나 9월이 되면 사포닌이 상당히 감소되는 현상을 보였다.

민가시개두릅의 알코올 추출물과 칼로파낙스사포닌의 함량 – 민가시개두릅의 알코올 추출물 함량은 6월에 높은 추출률(20.8%)을 보이다가 7월에는 감소되었으며(7월 14.0%) 8월에는 증가하다가 이후 9월까지 일정해지는 경향을 보였다(8월 16.0%, 9월 15.6%). 반면에 사포닌은 6월에는 매우

Table I. Monthly variation of Kalopanaxsaponin A, I, B, H and K quantity in the leaves of *K. pictus* with thorns (Korean habitat)

Plant material	Month	KPA	KPI	KPJ	KPB	KPH	KPK
KPT1	May	<1.0	trace	-	1.60	1.68	-
KPT2	Jun	<1.0	<1.0	-	9.61	5.68	-
KPT3	Jul	1.82	<1.0	-	20.8	16.1	-
KPT4	Aug	2.10	14.9	-	30.4	15.6	-
KPT5	Sep	1.36	<1.0	-	16.7	15.2	-

The leaves of *K. pictus* with thorns were collected from Jungsun-Kun area.

Table II. Monthly variation of Kalopanaxsaponin A, I, B, H and K quantity in the leaves of *K. pictus* with no thorns (Korean habitat)

Plant material	Month	KPA	KPI	KPJ	KPB	KPH	KPK
KPN1	Jun	<1.0	<1.0	-	8.06	14.7	-
KPN2	Jul	3.68	<1.0	-	36.2	15.5	-
KPN3	Aug	1.27	<1.0	-	54.7	26.8	-
KPN4	Sep	1.60	<1.0	-	35.6	15.5	-

The leaves of *K. pictus* with no thorns were collected from Jungsun-Kun area.

Table III. Monthly variation of Kalopanaxsaponin A, I, B, H and K quantity in *K. pictus* with thorns (Korean habitat)

Plant material	Collection	KPA	KPI	KPJ	KPB	KPH	KPK
KPS1	Korea	<1.0	<1.0	-	6.65	2.84	-
KPS2	China	<1.0	<1.0	1.46	6.28	5.38	5.59

KPS1(Kalopanax Cortex of the Korean habitat) and KPS2 (Kalopanax Cortex of the Chinese habitat) were purchased from Chun-II Herb Store, Wonju, Korea.

낮은 사포닌 함량(1.1%)을 보이다가 7월에는 증가하고(4.2%) 8월에는 최고 함량(7.3%)을 보이다가 9월에는 감소하는 경향을(4.0%) 나타내었다. 민가시음나무 잎의 알코올 추출물의 45.5%가 사포닌으로 높은 함량을 보인 점이 특기할 만하였다.

해동피의 알코올 추출물과 칼로파낙스사포닌의 함량 – 해동피의 총 추출물의 함량은 비슷하나 한국산이 중국산보다 높은 추출물을 보였다(한국산 12.2%, 중국산 10.4%). 반면 총사포닌 함량은 중국산이(1.6%) 한국산보다(0.8%) 높은 함량을 나타내었다. 음나무 껍질의 사포닌 함량은 대체로 잎보다 낮은 함량을 보였다.

각 칼로파낙스사포닌 함량의 월별 변화 – Table I-III은 음나무의 잎, 민가시음나무의 잎, 그리고 한국산과 중국산 음나무 수피에 함유된 6종의 각 사포닌 성분의 함량을 나타낸 것이다. 대체로 한국산 음나무에서는 kalopanaxsaponin A, I, B, H는 나타나나 kalopanaxsaponin J와 K는 TLC에서 관찰되지 않았다. KPA, KPI, KPJ와 같은 monodesmoside는 그 함량이 매우 낮으나(1.0 mg/g dry weight of plant material) 내외) KPB, KPH와 같은 bisdesmoside와 같은 사포닌은 그 함량이 매우 높게 나타났다. 5월의 가시개두릅은

그 함량이 매우 낮다가 7월이 되면 크게 증가하고 8월에 최고에 이르렀다가 9월이 되면 크게 감소하는 현상을 보여주었다.

민가시음나무 잎의 경우도 음나무 잎의 경우와 유사하나 8월의 사포닌이 특히 높게 관찰되는 현상을 보여주었다. 그리고, KPB는 8월에 최고에 이르렀으며(8월 54.7 mg/g), 9월이 되었을 때 감소하였다(9월 35.6 mg/g).

중국산 해동피에서는 KPJ가 관찰된다는 점이 한국산 해동피 및 개두릅의 경우와 상이하였으며, 당이 7개 결합한 KPK가 중국산의 경우에 관찰된다는 점과 한국산에서는 나타나지 않는다는 점이 특이하였다. 그리고 KPJ는 중국산 해동피에서만 나타났다.

고 찰

음나무의 줄기껍질은 해동피라 하여 한방에서 관절염, 신경통, 강장제로 사용되어 왔을 뿐 아니라 민간에서도 강장제로 식품으로 이용되고 있다.¹⁰⁾ 음나무의 잎, 즉 개두릅의 진통소염작용에 관해서도 저자들이 이미 보고하여 잎이 껍질과 유사한 효능을 보인다는 사실도 이미 보고한 바 있

다.¹¹⁾ 음나무 잎의 새순을 개두릅이라 하여 식용되는데 이것은 잎이 커지면 거칠고 맛이 매우 쓰게 되어 나물로 식용되기 어려운 점 때문인 것으로 생각된다. 현재 저자들은 칼로파낙스사포닌 성분들과 페놀성 물질 수종에 대한 쓴맛을 검정하였으나 별다른 쓴 맛을 확인하지 못하였으므로 추가적인 쓴맛 성분에 대한 연구가 필요한 실정이다. 그러므로 최소한 현재 실험에 사용된 6종 사포닌은 쓴맛 성분이 아닌 것으로 나타났다.

식용하는 두릅의 종류로서 두릅, 개두릅, 참두릅, 땃두릅 등이 있고 약용식물 및 나물로 사용되고 있기 때문에 이들의 용용에 관한 연구가 있다고 생각한다. 저자들은 여러 실험과 보고를 통해 음나무 사포닌의 활성부위는 hederagenin으로 밝혔으나¹²⁾ 흰쥐와 생쥐를 이용한 경구투여에서는 사포닌 함량이 높은 추출물이 높은 활성을 나타내지 않는 사실에서 실험동물과 인간에서 효능발현은 일치하지 않을 수도 있을 것이다.

Oleszek 등^{13,14)}은 TLC densitometry를 이용한 사포닌의 정량에 대해서는 매우 많이 보고되어 왔으며 사포닌 분석을 위한 우수한 도구라고 하였다. 본 실험의 결과 개두릅 새순에는 그 사포닌 함량이 매우 낮다는 사실이 밝혀졌다 (0.5%). 그리고 8월이 되면 사포닌 함량이(6.1%) 최고에 이르렀다가 9월 이후 사포닌이 급감한다는 사실도(3.7%) 밝혔다. 이러한 사실로부터 KPB를 위주로 하는 여러 종의 사포닌들이 생합성되거나 이 식물의 다른 부위로부터 새순으로 이동해 들어 왔다가 9월 경 다시 잎에서 다른 부위로 이동하는 것이 유추된다. 즉, KPB는 감소하나 다른 사포닌들이나 사포계닌의 급증이 나타나지 않는 사실로부터 잎에서 사포닌의 생합성 혹은 분해가 아닌 다른 부위로 이동되었을 가능성을 뒷받침한다고 믿어진다. 광합성 활동이 가장 왕성한 7, 8월이 지나 9월이 되면 사포닌 함량이 감소하는 것은 특기할만하다.

잎, 줄기껍질에 관계없이 monodesmoside의 함량은 매우 낮게 존재하였으며(1.0 mg/g 안팎), 대부분의 사포닌은 불활성형인 bisdesmoside의 형태로 존재하였다. 그리고, 줄기껍질은 한국산에는 KPB, KPH가 주로 존재하였으며 KPK는 관찰되지 않은 반면, 중국산은 KPK를 다량 함유하고 있는 점에서 차이가 있었다. 그러므로, 중국산과 한국산의 감별은 KPK의 존재여부로 삼을 것을 제안한다.

저자들은 민가시개두릅 새순의 진통소염 효과가 우수함을 확인하여 보고한 바가 있고¹¹⁾ kalopanaxsaponin들에서 얻어지는 사포계닌인 hederagenin의 진통소염효과가 우수함을 확인한 바 있었다.¹²⁾ 본 연구결과 음나무 사포닌을 이용하기 위한 가장 좋은 식물소재는 8월에 채집한 민가시개두릅이었음을 밝혔다. 최근 한방식품 및 그 추출물의 발효제품을 이용하여 상품화하는 추세가 있으므로 8월 채집한 민가시개두릅은 그 높은 사포닌 함량을(알코올 추출물 중

45.5%, 식물재료 건조물당 7.3%, KPB로서 54.7 mg/g임) 이용하여 발효제품화하여 그 추출물을 이용할 수 있는 사포닌 소재의 biomaterial이 될 수 있음을 제시할 수 있었다.

결론적으로 개두릅과 해동피의 사포닌 함량은 본법과 같이 총사포닌 분획법에 따르는 중량법으로 평가하는 것이 타당하다고 생각되며, 단일성분으로는 KPB의 함량이 총사포닌 중량법에 의한 평가와 유사한 경향을 보였으므로 지표물질이 될 수 있음을 밝혔다. 그러나 사포닌 함량이 이 생약의 우수성을 대변할 수 있을지에 관해서는 논란이 가능하다고 생각된다.

사사

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린21사업(20050401-034-695-006-01-00)의 지원에 의해 이루어진 것임을 밝히며, 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Shao, C. J., Nakai, R., Ohtani, K., Xu, J. D. and Tanaka, O. (1989) Saponins from leaves of *Kalopanax septemlobus* (Thunb.) Koidz, Structures of kalopanaxsaponins La, Lb and Lc. *Chem. Pharm. Bull.* **37**: 3251-3252.
- Kim, D. H., Yu, K. W., Bae, E. A., Park, H. J. and Choi, J. W. (1998) Metabolism of Kaopanaxsaponin B and H by Human Intestinal Bacteria and Antidiabetic Activity of Their Metabolites. *Biol. Pharm. Bull.* **21**: 360-365.
- Kim, D. H., Kim, E. A., Han, M. J., Park, H. J., Choi, J. W. (2002) Metabolism of kalopanaxsaponin K by human intestinal bacteria and antitumouroidal arthritis activity of their metabolites, *Biol. Pharm. Bull.* **25**: 68-71.
- Sano, K., Sanada, S., Ida, Y. and Shoji, J. (1991) Studies on the constituents of the stem bark of *Kalopanax pictus* Nakai. *Chem. Pharm. Bull.* **39**: 865-870.
- Lee, K. T., Sohn, I. C., Park, H. J., Kim, D. W., Jung, G. O. and Park, K. Y. (2000) Essential Moiety for Antimutagenic and Cytotoxic Activity of Hederagenin Monodesmosides Isolated from the Stem Bark of *Kalopanax pictus*. *Planta Med.* **66**: 329-332.
- Kim, Y. K., Park, S. J., Ha, J. H., Choi, J. W., Park, H. J., and Lee, K. T. (2002) *In vitro* antiinflammatory activity of kalopanaxsaponin A isolated from *Kalopanax pictus* in murine macrophage RAW 264.7 cells, *Biol. Pharm. Bull.* **25**: 472-476.
- Choi, J. W., Huh, K., Kim, S. H., Lee, K. T., Lee, H. K., and Park, H. J. (2002) Kalopanaxsaponin A from *Kalopanax pictus*, a potent antioxidant in the rheumatoidal rat treated with Freund's Complete Adjuvant Reagent, *J. Ethnopharmacol.* **79**: 113-118.
- 신지영, 최연호, 위재준 (2001) 인삼 조사포닌의 새로운 분

- 리 방법, *Korean J. Food SCI. Technol.*, **33**(2): 166-172.
9. Choi, J., Han, Y. N., Lee, K. T., Park, K. Y., Kwak, T. S., Kwon S. H., and Park, H. J. (2001) Anti-lipid Peroxidative Principles from the Stem Bark from *Kalopanax pictus* Nakai, *Arch. Pharm. Res.* **24**: 536-540.
10. 지형준, 이상인 (1988) 대한약전외 한약(생약) 규격집 주 해서, 407. 한국메디칼인테스사, 서울.
11. 박희준, 남정환, 정현주, 김원배, 박광균, 정원윤, 최종원 (2005) 음나무 잎 및 수피의 진통소염효과 및 아주반트로 유발된 산화적 스트레스에 대한 효과, *생약학회지* **36**: 318-323.
12. Jung, H. J., Choi, J. W., Lee, K. T., and Park, H. J. (2005) Antinociceptive and Antiinflammatory Effects of Oleanolic Acid and Hederagenin Obtained from the Stem of *Akebia quinata*, *J. Med. Food* **8**: 78-85.
13. Oleszek, W. A. (2002) Chromatographic determination of plant saponins, *J. Chromatogr.* **967**: 147-162.
14. Oleszek, W. and Bialy, Z. (2006) Chromatographic determination of plant saponins-An update (2002-2005), *J. Chromatogr.* **1112**: 147-162.

(2006년 7월 19일 접수)