

향유속(*Elsholtzia* spp.) 식물자원의 플라보노이드 성분 분석에 관한 연구

엄혜진 · †김건희
덕성여자대학교 식품영양학과

Studies on the Flavonoid Compositions of *Elsholtzia* spp.

Hye-Jin Um and †Gun-Hee Kim

Dept. of Food and Nutrition, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea

Abstract

Elsholtzia spp., a herbaceous perennial plant grown worldwide, have been used as a folklore medicine. Due to the presence of flavonoids in their extracts, *Elsholtzia* spp. have various functional properties. The objective of this research was to compare the amount of flavonoids in *Elsholtzia* spp. extracts in order to improve the potential of by using their functional properties. *Elsholtzia* spp. were collected in various areas of Korea. These were divided into leaf, flower, stem, and root. Each sample was dried using various drying method and ground to a powder. The powdered sample prepared was extracted with 80% ethanol. Extracts were analysed for the content of total flavonoids and apigenin by HPLC. Higher content of flavonoids was observed in the extracts of leaves and flowers. In previous study, apigenin among flavonoids was detected from *Elsholtzia* spp. so, apigenin content was analysed by HPLC. According to the results, the extracts of leaf and flower had the higher apigenin content than other samples.

Key words: *Elsholtzia* spp., total flavonoid, apigenin.

서론

향유(*Elsholtzia ciliata*)와 꽃향유(*Elsholtzia splendens*)는 국내 전역에 넓게 분포하는 꿀풀과 향유속의 방향성 식물이다¹⁾. 꽃이 달린 어린 잎은 식용으로 이용하며, 민간에서는 개화기에 진초를 생약으로 사용하는데, 발한, 해열, 이뇨, 수종 등에 사용한다²⁾. 국내에서 자생하는 향유속에는 꽃향유, 향유, 애기향유(*Elsholtzia saxatilis*), 가는잎향유(*Elsholtzia angustifolia*), 흰꽃향유(*Elsholtzia splendens* Nakai) 등이 있으며, 한약재로서 향유와 꽃향유가 사용되고 있다³⁾. Yoon⁴⁾의 연구에 따르면 꽃향유는 소염, 진통, 해열 및 항균 효과가 있는 것으로 나타났다. 향유와 꽃향유의 정유 주성분은 elsholtzidiol이고, 기타 스테롤, 페놀성 물질과 플라보노이드 배당체를 함유하고 있다⁵⁾. 향유속으로부터 isoatragalin, lutedin-

7-glucoside, lutedin-3-glucoside, lutedin-7-galactoside 등 플라보노이드와 관계가 깊은 5,2-dimethoxy-6,7-methylenedioxy flavanone; 5-hydroxy-7-methoxy-6-O-[-l-rhamnopyranosyl(1→2)-β-d-fucopyranosyl] flavoneglycoside; 5,5-dihydroxy-7-acetoxy-6,8,3,3-tetramethylpyran(3,4)flavone; 5,5-dihydroxy-7-methylbutyryloxy-6,8,3,3-tetramethylpyran(3,4)flavone; 5,5-dihydroxy-6-7-methylenedioxy-8,3,3-trimethylpyran(3,4) flavone 등이 분리 확인되었다^{5,6)}.

현재 보고된 향유와 꽃향유 관련 연구는 정유에 대한 향기 성분 분석 연구가 활발히 진행되고 있고^{7~9)}, 향유와 꽃향유 추출물의 유효성분에 대한 연구는 미비하다. 따라서 본 연구에서는 향유와 꽃향유 추출물 중 기능성이 있는 플라보노이드 분석을 위해 재배지역과 건조방법 및 부위에 따른 플라보노이드 함량의 변화를 연구하고자 하였다.

† Corresponding author: Gun-Hee Kim, Dept. of Food and Nutrition, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea.
Tel: +82-2-901-8496, Fax: +82-2-901-8474, E-mail: ghkim@duksung.ac.kr

재료 및 방법

1. 재료 및 시료의 제조

본 실험에 사용한 향유와 꽃향유는 경기도 광주, 강원도 화천, 강원도 춘천에서 2005년 10월에 수확한 것으로 꽃, 잎, 줄기, 뿌리로 나누어 오븐 건조와 음건(陰乾), 동결 건조 3가지로 건조하였다. 오븐 건조(Model WFO-601SD, Rikakikai Co, Tokyo, Japan)는 50°C에서 1주일간 건조하였으며, 음건은 통풍이 잘 되는 그늘에서 2주간 건조하였다. 동결 건조 시료는 -70°C에서 급속 동결하여 동결 건조기(FD5505 Ilshin Lab Co, Ltd, Seoul, Korea)에서 건조하여 믹서(Hanil Electrical Co, FM-681, Seoul, Korea)를 이용해 세절, 마쇄한 다음 냉동 보관하면서 실험에 사용하였다. 각 시험 항목에 대한 시료의 분석은 3회 반복하였다.

2. 플라보노이드 분석

1) 시료 전처리 방법

분말시료 0.5 g에 80% ethanol 50 ml를 가하여 60분 동안 교반시키면서 추출하였다. 추출 후 여과지(Whatman No. 1)를 사용하여 1차 여과하고 여과액을 2차 여과(0.45 µm membrane filter(Millipore Co, NY, USA)하여 HPLC용 시험용액으로 사용하였다.

2) 표준검량곡선 작성

플라보노이드 분석대상물질로 apigenin(Sigma Co, St. Louis, USA)을 사용하였다. Apigenin은 0.01 g을 Dimethyl Sulfoxide (DMSO)로 100 ml 정용하여 필요시 희석하여 표준물질로 사용하였고 검량선으로부터 시료의 apigenin의 함량을 결정하였다.

3) 기기분석

플라보노이드 성분은 LC/MS Agilent 1100 series로 분석하였다. 컬럼은 Capcell pak C18 VG 120(250×4.6 mm, 5 µm, Shiseido, Tokyo, Japan)를 사용하였으며, UV 345 nm 파장에서 측정하였다. 이동상으로는 (A) 0.1% formic acid in Water와 (B) 0.1% formic acid in acetonitrile를 A: 80~45%, B: 20~55%로 15분간 기울기를 주며 1 ml/min 유속으로 흘러주었고, 시료주입량은 10 µl를 사용하였다(Table 1). Apigenin의 정량분석을 위해 autosampler(717, Waters, NY, USA)와 UV detector(2487, Waters, NY, USA)가 장착된 HPLC(515, Waters, NY, USA)를 사용하였으며, 컬럼은 Luna 5u Phenyl-Hexyl(150×4.6 mm, 5 µm, Phenomenex, NY, USA)를 사용하였다(Table 2). UV 345 nm 파장에서 측정하였으며, 이동상으로는 (A) 0.1% formic acid in water와 (B) 0.1% for-

Table 1. LC/MS chromatographic operation conditions

Instrument	Agilent 1100
Column	Capcell pak C18VG 120 (250×4.6 mm, 5 µm)
Mobile phase	A: 0.1% formic acid in water B: 0.1% formic acid in acetonitrile
Gradient	A: 80~45% B: 20~55%
Detection abs.	UV 345 nm
Flow rate	1.0 ml/min
Injection vol.	10 µl

Table 2. HPLC chromatographic operation conditions

Instrument	Waters associate
Column	Luna 5u Phenyl-Hexyl (150×4.6 mm, 5 µm)
Mobile phase	A: 0.1% formic acid in water B: 0.1% formic acid in acetonitrile
Gradient	20% B~50% B in 15 min
Detection abs.	UV 345 nm
Flow rate	1.0 ml/min
Injection vol.	10 µl

mic acid in acetonitrile를 A: 80~50%, B: 20~50%로 15분간 기울기를 주며 1 ml/min 유속으로 흘러주었고, 시료를 10 µl 주입하였다¹⁰⁾.

3. 총 플라보노이드 분석

추출물 1 ml를 취하여 diethylene glycol 10 ml를 혼합하고 여기에 IN-NaOH 용액 1 ml 가하여 잘 혼합한 것을 37°C water bath에서 1시간 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 분석은 각 시료 당 3반복 실시하였고 이때 표준곡선은 rutin(Sigma Co, NY, USA)의 농도를 0~0.5 mg 범위가 되도록 제조한 표준용액을 이용하여 작성하였으며, 검량선으로부터 시료의 플라보노이드 함량을 결정하였다¹¹⁾.

결과 및 고찰

1. LC/MS에 의한 꽃향유 추출물의 플라보노이드 성분 분석

LC/MS를 이용하여 꽃향유 추출물의 플라보노이드 물질을 분석한 결과, rutin, quercetin, apigenin이 검출되었으며 특히 apigenin의 함량이 높았다(Fig. 1).

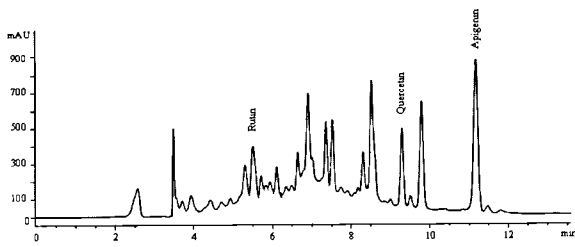


Fig. 1. LC/MS chromatogram of *Elsholtzia splendens*.

2. 검량선의 작성

표준물질 apigenin은 1, 5, 10, 50, 100 $\mu\text{g/ml}$ 되게 희석하고 HPLC의 크로마토그램에서 얻은 피크면적을 이용해 각 플라보노이드의 회귀방정식을 구한 결과, $Y=43305X-4804.9$ ($r=0.9995$)인 검량선을 얻었다. 총 플라보노이드의 검량선 작성으로는 rutin을 0~0.5 mg 범위가 되도록 하였으며 $Y=0.6968X+0.0011$ ($r=0.9954$)인 검량선을 얻었다.

3. 향유속 식물의 건조방법에 따른 지역별, 부위별 apigenin 함량 변화

향유 및 꽃향유의 지역별, 부위별 apigenin 함량은 Table 3, 4에 나타내었다. 예비실험결과 향유속의 플라보노이드 성분 중 apigenin이 많이 함유되었음을 알 수 있었다. 이 결과를 바탕으로 apigenin 성분을 대조군으로 하여 향유 및 꽃향유 추출물을 HPLC를 사용하여 건조방법에 따라 재배지역별, 시료 부위별로 총 72종의 시료를 분석하였다.

1) 향유 추출물의 Apigenin 함량 변화

부위에 따른 향유 추출물의 apigenin의 함량은 재배지역에 따라 차이를 보였다(Table 3). 음건 처리한 광주 지역 꽃 부위 추출물의 apigenin 함량은 18.67 mg/g으로, 잎 0.52 mg/g 줄기 0.25 mg/g, 뿌리 0.23 mg/g에 비해 매우 높은 함량을 보였다. 그러나 화천 지역과 춘천 지역은 잎이 각각 1.19 mg/g, 1.35 mg/g으로, 꽃 0.35 mg/g, 0.32 mg/g보다 apigenin 함량이 높았다.

2) 꽃향유 추출물의 Apigenin 함량 변화

꽃향유 추출물의 apigenin의 함량은 모든 지역에서 꽃 > 잎 > 줄기, 뿌리 순으로 조사되었으며, 꽃 부위에서 apigenin의 함량이 다른 부위에 비해 비교적 높은 수치로 확인되었다(Table 4). 음건, 동결 건조, 오븐 건조를 이용하여 꽃향유의 건조방법별 apigenin의 함량을 비교 분석한 결과 apigenin 함량은 차이를 보이고 있으나 건조방법에 따른 일정한 경향을 보이지는 않았다.

Yoon⁴⁾의 연구에서 항균 효과 및 소염, 진통 효과에 대해 향유보다는 꽃향유에서 더 유의한 효과를 보였는데, 이는 apigenin이 향유에 비해 꽃향유에서 더 높은 함량을 보이는 것과 일치한다고 볼 수 있다. Han¹²⁾의 연구에 따르면 산국 메탄올 추출물로부터 동정한 apigenin은 13.3 μg 의 농도에서 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) 라디칼을 50% 소거하는 활성을 나타내었다고 보고하였다. 따라서 apigenin을 함유하고 있는 향유와 꽃향유 추출물을 이용하여 항산화 활성 실험을 진행 할 필요가 있다.

4. 향유속 식물의 지역별, 부위별 총 플라보노이드 함량 변화

Table 3. HPLC analysis of *Elsholtzia ciliata* extracted with 80% ethanol

		Apigenin content($\mu\text{g/ml}$)		
		Hwacheon	Kwangju	Chuncheon
Flower	Air dry	0.35 \pm 0.04 ¹⁾	18.67 \pm 0.45	0.27 \pm 0.04
	Oven dry	0.49 \pm 0.03	13.61 \pm 0.34	0.22 \pm 0.02
	Freeze drying	0.31 \pm 0.03	11.17 \pm 3.03	0.22 \pm 0.04
Leaf	Air dry	1.19 \pm 0.52	0.52 \pm 0.01	1.35 \pm 0.39
	Oven dry	1.89 \pm 0.45	0.41 \pm 0.16	1.40 \pm 0.26
	Freeze drying	2.27 \pm 0.15	0.33 \pm 0.17	1.38 \pm 0.15
Stem	Air dry	0.21 \pm 0.04	0.25 \pm 0.15	N.D. ²⁾
	Oven dry	0.24 \pm 0.03	0.28 \pm 0.05	0.15 \pm 0.01
	Freeze drying	0.17 \pm 0.01	N.D.	0.22 \pm 0.07
Root	Air dry	0.32 \pm 0.04	0.23 \pm 0.01	N.D.
	Oven dry	0.29 \pm 0.02	0.21 \pm 0.01	N.D.
	Freeze drying	0.34 \pm 0.10	N.D.	0.30 \pm 0.08

¹⁾ Mean \pm S.D.(n=3), ²⁾ N.D.: not detected.

Table 4. HPLC analysis of *Elsholtzia splendens* extracted with 80% ethanol

		Apigenin($\mu\text{g}/\text{mL}$)		
		Hwacheon	Kwangju	Chuncheon
Flower	Air dry	11.19 \pm 1.50 ¹⁾	12.11 \pm 0.19	11.97 \pm 1.56
	Oven dry	9.05 \pm 1.28	5.15 \pm 1.91	16.34 \pm 1.93
	Freeze drying	5.51 \pm 0.75	18.02 \pm 6.94	7.460 \pm 0.70
Leaf	Air dry	1.44 \pm 0.09	0.48 \pm 0.03	2.15 \pm 0.16
	Oven dry	0.39 \pm 0.05	0.55 \pm 0.01	2.34 \pm 0.35
	Freeze drying	1.62 \pm 0.02	1.35 \pm 0.12	5.02 \pm 0.51
Stem	Air dry	0.22 \pm 0.15	0.37 \pm 0.01	0.45 \pm 0.03
	Oven dry	0.26 \pm 0.05	0.23 \pm 0.01	0.43 \pm 0.17
	Freeze drying	0.19 \pm 0.02	0.44 \pm 0.03	0.26 \pm 0.01
Root	Air dry	0.28 \pm 0.05	N.D. ²⁾	0.21 \pm 0.02
	Oven dry	0.28 \pm 0.04	N.D.	0.18 \pm 0.01
	Freeze drying	0.64 \pm 0.15	0.21 \pm 0.01	0.27 \pm 0.02

¹⁾ Mean \pm S.D.(n=3), ²⁾ N.D.: not detected.

1) 향유 추출물의 총 플라보노이드 함량 변화

향유 추출물의 부위별 총 플라보노이드 함량 역시 apigenin 함량에서와 같이 부위와 재배 지역별로 차이가 있었다(Fig. 2). 지역별 향유 추출물의 총 플라보노이드 함량은 광주 지역이 월등히 높았고, 화천 지역과 춘천 지역의 향유 추출물의 총 플라보노이드 함량은 비슷한 경향을 보였다. 동결 건조 처리된 광주 지역의 향유 추출물은 꽃 2.75 mg/g, 잎 3.51 mg/g, 줄기 0.63 mg/g, 뿌리 0.34 mg/g으로 조사되었고, 화천 지역의 향유 추출물은 꽃 1.70 mg/g, 잎 1.03 mg/g, 줄기 0.31 mg/g, 뿌리 0.27 mg/g으로, 춘천 지역의 향유 추출물은 꽃 1.64 mg/g, 잎 1.64 mg/g, 줄기 0.35 mg/g, 뿌리 0.31 mg/g으로 조사되었다. 향유의 부위별 총 플라보노이드 함량은 지역별로 조금 차이는 있으나 대체로 잎 > 꽃 > 줄기 > 뿌리 순이었으며, 잎과 꽃은 줄기와 뿌리에 비해 비교적 높은 함량을 보였다.

2) 꽃향유 추출물의 총 플라보노이드 함량 변화

꽃향유 추출물의 재배지역별 총 플라보노이드 함량은 향유 추출물과 같은 경향을 보였다(Fig. 3). 광주 지역의 꽃향유 추출물이 화천과 춘천 지역에 비해 월등히 높은 함량을 나타내었다. 꽃향유의 부위별 총 플라보노이드 함량은 꽃 > 잎 > 줄기 > 뿌리 순으로 조사되어 향유에서 잎의 총 플라보노이드 함량이 높은 것과 다른 경향을 보였지만, 역시 잎과 꽃은 줄기와 뿌리에 비해 높은 함량을 보였다.

요약 및 결론

우리나라에서 자생하는 향유속 식물 중 향유와 꽃향유를

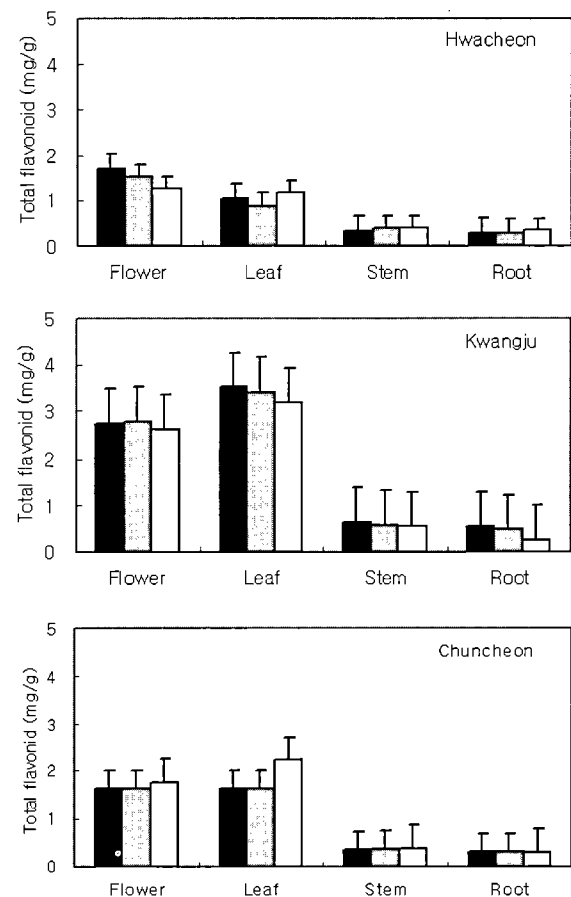


Fig. 2. Total flavonoid content in different sections of *Elsholtzia ciliat*.

■: Air dry, □: Oven dry, ▤: Freeze drying.

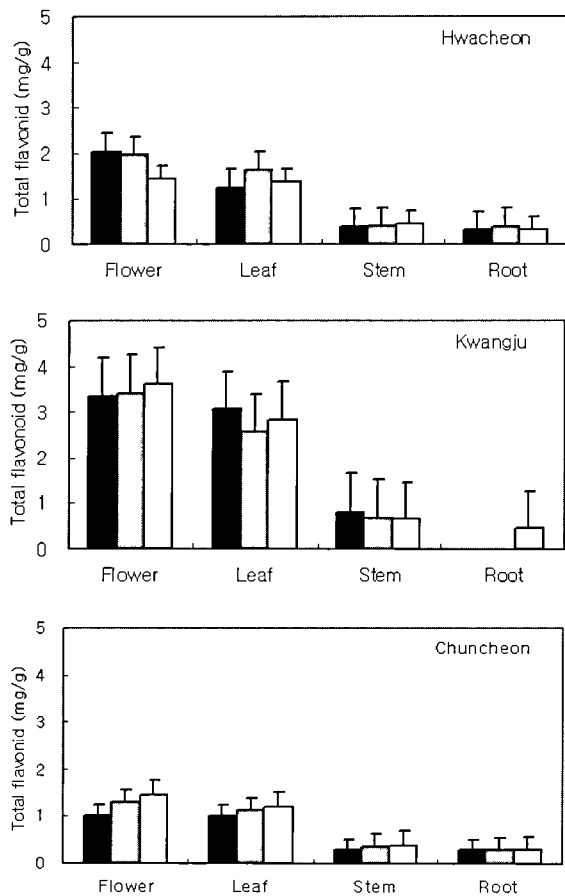


Fig. 3. Total flavonoid content in different sections of *Elsholtzia splendens*.

■: Air dry, □: Oven dry, ▨: Freeze drying.

대상으로 하여 플라보노이드 함량을 조사하였다. 향유와 꽃향유의 플라보노이드 함량을 조사한 결과, 꽃향유에 더 많은 함량을 알 수 있었다. 플라보노이드 중 높은 함량을 보이는 apigenin 성분을 대조군으로 하여 향유 및 꽃향유 추출물을 HPLC를 이용하여 재배 지역별, 건조 방법별, 시료 부위별로 72종의 시료를 분석하였다. 광주 지역의 향유속 식물에서 다른 지역에 비해 높은 플라보노이드 함량을 보이고 있어 지역별로 차이가 있음을 알 수 있었다. 건조방법에 따른 플라보노이드의 함량은 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. 향유의 시료 부위별 함량은 잎 > 꽃 > 줄기 > 뿌리 순으로 나타났으며, 꽃향유는 꽃 > 잎 > 줄기 > 뿌리 순으로 나타났다. 향유와 꽃향유의 부위별 함량은 다른 경향을 보이지만 잎과 꽃의 함량이 다른 부위에 비해 비교적 높은 수치로 확인되었다. 총 플라보노이드는 재배 지역별, 건조 방법별로 뚜렷한 차이는 보이지 않았으며, 부위별 함량은 꽃과 잎이 줄기와 뿌리에 비해 많은 함량을 보이고 있어 apigenin 함량과 비슷한 경향을 보였다.

감사의 글

본 연구는 농림기술개발 연구비(204024-03-2-CG000) 및 2005년 정부(교육인적자원부)의 재원으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구임(KRF-2005-005-J13001).

참고문헌

1. Lee, TB. Illustrated flora of Korea, p660. Hyangmoonsa, Seoul. Korea. 1989
2. Heo, J. Donguibogam, p1173. Nasadang, Seoul. Korea. 2000
3. Kim, NM, Ko, SR, Choi, KJ and Kim, WJ. Effect of some factors on extraction of effectual components in cinamon extract. *J. Kor. Agric. Chem. Soc.* 36:17-22. 1993
4. Yoon, JS. The comparative studies on the effects of *Elsholtzia ciliata* and *Elsholtzia splendens*. *Kor. J. Herbology.* 7:33-45. 1992
5. Lu, J, Shen, T and Guo, Z. The chemical constituents of *Elsholtzia blanda*. *Acta Botanica Sinaca.* 43:545-550. 2001
6. Zhang, W and Du, J. Separation and evaluation of flavonoid glycosides from *Elsholtzia blanda* benth. *China J. of Chinese Materia Medica.* 24:96-98. 1999
7. Jeong, JH and Lim, HB. Chemical composition and biological activities of *Elsholtzia ciliata*(Thunb.) hylander. *Kor. J. Medical Crop Sci.* 12:463-472. 2004
8. Son, GH, Song, JS, Seon, US and Kim, GS. Effects of uniconazole on aromatic compounds of *Elsholtzia ciliata* and *E. splendens*. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 44:961-966. 2003
9. Lee, SY, Chung, MS, Kim, MK, Baek, HH and Lee, MS. Volatile compounds of *Elsholtzia splendens*. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 37:339-344. 2005
10. Kim, SJ and Kim, GH. Identification for flavones in different parts of *Cirsium japonicum*. *J. Food Sci. Nutr.* 8:330-335. 2003
11. Lister, CE, Lancaster, JE and Stutton, KH. Developmental changes in the concentration and composition of flavonoids in skin of a red and a green apple cultivate. *J. Sci. Food Agric.* 64:155-161. 1994
12. Han, WS. Isolation and structure Elucidation of radical scavengers from *Chrysanthemum boreale* Makino. *Kor. J. Medical Crop Sci.* 11:1-4. 2003

(2007년 3월 20일 접수; 2007년 4월 7일 채택)