

갓 지상부에서 플라보노이드와 고급 알콜 화합물의 분리

안병관 · 허종문 · 박종철*

국립순천대학교 한약자원학과 및 한의약연구소

Isolations of Flavonoids and a Higher Alcohol from the Aerial Parts of *Brassica juncea*

Byoung Gwan Ahn, Jong Moon Hur and Jong Cheol Park

Department of Oriental Medicine Resources and Research Institute of Korean Oriental Medicine, Suncheon National University, Suncheon, Jeonnam 540-742, Republic of Korea

Abstract – The aerial parts of *Brassica juncea* (Cruciferae) called by brown or oriental mustard have been widely used as a spice in food and also traditional folk medicine as stimulant, diuretic and expectorant agent. And *Gatkimchi* made of the aerial parts of this plant are very popular in Korea. The aerial parts of this plant was refluxed with MeOH and then fractionated with CH₂Cl₂, EtOAc, *n*-BuOH and H₂O, successively. One higher alcohol compound and three flavonoids were isolated from the EtOAc fraction through silica gel and Sephadex LH-20 column chromatographies. Their structures were elucidated as *n*-hexacosanol(1), kaempferol(2), isorhamnetin 3-*O*-β-D-glucopyranoside(3) and isorhamnetin 3-*O*-(6"-*O*-acetyl)-β-D-glucopyranoside(4) by comparison of spectral data with those in references. And compounds **1** and **4** were firstly isolated from this plant.

Key words – *Brassica juncea*, *n*-hexacosanol, flavonoids, isorhamnetin glycoside

갓(*Brassica juncea*)은 십자화과(Cruciferae)에 속하는 1년 또는 2년생 식물로 높이가 30~100 cm 내외이며 뿌리에서 돋은 잎은 넓은 타원형 또는 도란형이며 줄기에 달린 잎은 장타원상 피침형이며 가장자리가 밋밋하거나 희미한 톱니가 있고 검은 자줏빛이 돈다. 봄부터 여름까지 총상화서에 황색 꽃이 달리며 잎과 종자를 신미성 향신료나 조미료, 건강식품 등으로 사용한다.^{1,2)} 우리나라는 전남 여수시에서 지역특산물인 갓김치의 제조용으로 많은 양이 재배되고 있다.

갓 지상부를 전통의학에서는 개채(芥菜)라 하며, 맛(味)이 맵(辛)고 성(性)이 따뜻(溫)해서 선폐(宣肺),化痰(化痰), 온중(溫中), 이기(理氣)의 효능을 나타낸다고 알려져 있다.³⁾ 동의보감(東醫寶鑑)에서는 “눈을 밝게 하고 몸을 따뜻하게 하며 머리와 얼굴의 풍(頭面風)을 예방하는 효과도 있다.” 고 하였다.⁴⁾ 그리고 갓의 종자를 개자(芥子)라 하며 온중산한(溫中散寒), 이기(理氣),化痰(化痰), 통경락(通經絡), 소종해독(消腫解毒)의 목적으로 사용하고 있다.⁵⁾

갓에 함유된 것으로 알려진 화합물로는 *sec*-butyl isothiocyanate, allyl isothiocyanate, *n*-hexyl isothiocyanate,

p-hydroxybenzyl glucosinolate 등의 glucosinolate류를 포함해서 kaempferol과 isorhamnetin 및 이들의 배당체 등의 flavonoid류 및 β-carotene, lutein, lutein epoxide, cryptoxanthin 등의 carotenoid류 등이 있다.⁶⁻¹⁰⁾

연구된 갓의 활성으로는 glucosinolate의 분해산물의 하나인 isothiocyanate류의 항균활성, 항산화 활성, 혈중 cholesterol 농도와 동맥경화에 미치는 영향, nitric oxide 합성 억제 등이 보고되어 있다.¹¹⁻¹⁴⁾

본 연구는 전남 여수지역의 특용작물로 많이 재배되고 있고 건강보조식품과 한방기능성식품으로 개발 가능성이 높은 돌산 갓 지상부를 대상으로 silica gel과 Sephadex LH-20 column chromatography를 행하여 함유된 4종화합물을 분리하여 화학구조를 동정하였다.

재료 및 방법

실험재료 – 실험에 사용한 갓 지상부는 2005년 4월 전남 여수시 돌산읍 둔전리에서 직접 재배한 것을 구입하여 사용하였으며, 표준품(NM-BJ-200504)은 순천대학교 한약자원학과 표본실에 보관 중이다.

*교신저자 (E-mail): icpark@suncheon.ac.kr
(FAX): 061-752-8551

시약 및 기기 - Column chromatography용 충전제인 silica gel Kiesel gel 60(70-230 mesh, No. 7734)과 TLC plate인 Kiesel gel 60 F₂₅₄(No. 5735)는 Merck사 (Germany)에서, Sephadex LH-20(25-100 μ)은 Sigma사 (U.S.A.)에서 각각 구입하여 사용하였다. ¹H-NMR(400 MHz), ¹³C-NMR(100 MHz)은 Bruker AMX 400 spectrometer(Bruker, Germany)를 이용하였다.

추출 및 분리 - 갓 지상부(3.7 kg)를 음건 세절한 후, MeOH로 3시간 동안 4회 반복 환류냉각 열탕추출하고 여과를 한 후, 감압농축하여 추출물 996 g을 얻었다. 이 MeOH 추출물에 10% MeOH을 가해 현탁시킨 후 CH₂Cl₂, EtOAc, *n*-BuOH 및 H₂O 순으로 계통분획한 후, 85 g, 18 g, 121 g 및 694 g의 분획물을 각각 얻었다. 이중 EtOAc 가용부(18 g)를 CH₂Cl₂과 CH₂Cl₂-MeOH-H₂O 혼합용매(5:1:1, 25:8:5, 7:3:1, 65:35:10, 하층)로서 silica gel column(6.3×70 cm) chromatography를 이용하여 TLC 패턴에 따라 8개의 fraction으로 나누었다(BJ1~8). BJ1 fraction은 CH₂Cl₂로 결정을 유도하여 화합물 **1**을 백색의 단일성분으로 분리하였다. 그리고 BJ2와 BJ3 fraction은 acetone으로 용출하는 Sephadex LH-20 column chromatography를 행하여 4개의 fraction(BJ2A~D와 BJ3A~D)으로 각각 나눈 후, BJ2B와 BJ3B fraction을 다시 MeOH로 용출하는 Sephadex LH-20 column chromatography를 행하여 화합물 **2**와 화합물 **3**을 각각 단일물질로 분리하였다. 그리고 BJ5 fraction를 MeOH로 재결정을 유도하여 화합물 **4**를 주성분으로 얻었다.

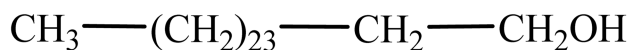
화합물 1(*n*-hexacosanol) - ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 3.57 (2H, t, *J*=6.6 Hz, -CH₂OH), 1.50 (2H, m, -CH₂CH₂OH), 1.18 (46H, s, -(CH₂)₂₃-), 0.81 (3H, t, *J*=6.8 Hz, -CH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 63.2, 32.8,

31.9, 29.7, 29.4, 25.7, 22.7, 14.1.

화합물 2(kaempferol) - ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8.05 (2H, d, *J*=8.9 Hz, H-2' & H-6'), 6.92 (2H, d, *J*=8.9 Hz, H-3' & H-5'), 6.45 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8), 6.20 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 176.4 (C-4), 164.4 (C-7), 161.2 (C-5), 159.7 (C-4'), 156.7 (C-9), 147.3 (C-2), 136.1 (C-3), 130.0 (C-2' & C-6'), 122.1 (C-1'), 115.9 (C-3' & C-5'), 103.5 (C-10), 98.7 (C-6), 93.9 (C-8).

화합물 3(isorhamnetin 3-O-β-D-glucopyranoside) - ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.93 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-2'), 7.50 (1H, dd, *J*=8.4 & 2.0 Hz, H-6'), 6.92 (1H, d, *J*=8.4 Hz, H-5'), 6.46 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8), 6.22 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6), 5.56 (1H, d, *J*=7.4 Hz, H-1"), 3.84 (3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 177.4 (C-4), 164.1 (C-7), 161.2 (C-5), 156.3 (C-2 & C-9), 149.3 (C-3'), 146.9 (C-4'), 132.9 (C-3), 122.0 (C-6'), 121.0 (C-1'), 115.2 (C-5'), 113.4 (C-2'), 100.7 (C-1"), 98.9 (C-6), 93.7 (C-8), 77.3 (C-3"), 76.3 (C-5"), 74.3 (C-2"), 69.8 (C-4"), 60.6 (C-6").

화합물 4(isorhamnetin 3-O-(6"-O-acetyl)-β-D-glucopyranoside) - ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.85 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-2'), 7.55 (1H, dd, *J*=8.4 & 2.0 Hz, H-6'), 6.92 (1H, d, *J*=8.4 Hz, H-5'), 6.47 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8), 6.22 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6), 5.44 (1H, d, *J*=7.6 Hz, H-1"), 3.17 (3H, s, -OCH₃), 1.74 (3H, s, -OOCCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 177.3 (C-4), 169.8 (-OOCCH₃) 164.3 (C-7), 161.2 (C-5), 156.3 (C-2 & C-9), 149.5 (C-3'), 146.8 (C-4'), 132.9 (C-3), 122.2



Compound 1

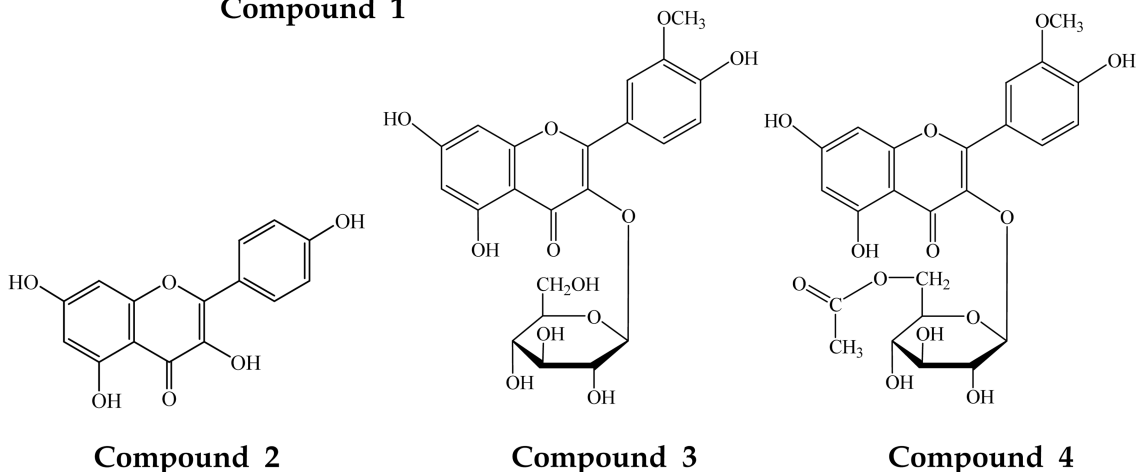


Fig. 1. Structures of compounds isolated from EtOAc soluble fraction of the aerial parts of *Brassica juncea*.

(C-6'), 120.9 (C-1'), 115.1 (C-5'), 113.3 (C-2'), 101.1 (C-1"), 98.7 (C-6), 93.7 (C-8), 76.1 (C-3"), 74.2 (C-2"), 73.8 (C-5"), 69.8 (C-4"), 62.7 (C-6"), 55.6 (-OCH₃), 20.1 (-OOCCH₃).

결과 및 고찰

BJ1 fraction을 CH₂Cl₂로 재결정하였을 때 분리된 화합물 1은 ¹H-NMR spectrum에서 δ 3.57 (2H, t, J=6.6 Hz)에서 -CH₂OH의 methylene group에 의한 peak가 나타났으며, δ 1.50 (2H, m)에서 -CH₂OH의 α 위치에 있는 methylene group에 의한 peak가 각각 관측되었다. 그리고 δ 1.18 (46H)에서 long chain methylene group에 의한 multiple peak와 δ 0.81 (3H, J=6.8 Hz)에서 methyl group에 의한 triplet peak가 각각 관측되었다. ¹³C-NMR spectrum은 δ 63.2에서 -CH₂OH의 carbon peak와 δ 14.1에 나타난 말단 methyl group를 포함해서 8개의 peak가 관찰되었다. 화합물 1의 NMR data를 문헌치^{15,16)}와 비교하여 *n*-hexacosanol로 구조 동정하였으며, Sigma사(U.S.A)에서 표준품을 구입해서 측정한 NMR data와도 잘 일치 하였다(Fig. 1).

화합물 2는 ¹H-NMR spectrum에서 전형적인 flavonoid의 aglycone 화합물에 의한 peak가 나타났으며, δ 8.05 (2H, d, J=8.9 Hz, H-2' & H-6')와 δ 6.92 (2H, d, J=8.9 Hz, H-3' & H-5')에서 B-ring의 ortho coupling하는 proton이, δ 6.45 (1H, d, J=2.0 Hz, H-8)와 δ 6.20 (1H, d, J=2.0 Hz, H-6)에서 A-ring의 meta coupling하는 peak들이 관찰되었다. 그리고 ¹³C-NMR spectrum의 문헌치¹⁷⁾와 비교하여 화합물 2를 kaempferol로 결정하였다.

화합물 3의 ¹H-NMR spectrum은 δ 7.93 (1H, d, J=2.0 Hz, H-2'), δ 7.50 (1H, dd, J=8.4 & 2.0 Hz, H-6'), 6.92 (1H, d, J=8.4 Hz, H-5')에서 전형적인 flavonoid B-ring에 ABX system에 의한 3개의 proton peak가 관측되었고, A-ring의 methine기에 의한 peak가 δ 6.46 (1H, d, J=2.0 Hz, H-8)과 δ 6.22 (1H, d, J=2.0 Hz, H-6)에서 각각 관찰되었다. 그리고 δ 5.56 (1H, d, J=7.4 Hz)에서 β형태를 취하는 당의 anomeric proton이 나타나 화합물 3이 flavonoid 배당 체임을 알 수 있었으며, δ 3.84에서 methoxy group(-OCH₃)에 의한 singlet peak도 관찰되었다. ¹³C-NMR spectrum에서 당을 제외한 비당부는 isorhamnetin의 data와 거의 일치하였으며, δ 77.3~60에서 나타난 peak로 당은 glucose임을 알 수 있었다. 화합물 3은 문헌치¹⁸⁾의 ¹H-와 ¹³C-NMR spectral data와 잘 일치하므로 isorhamnetin 3-O-β-D-glucopyranoside로 동정하였다.

화합물 4는 ¹H-NMR spectrum에서 δ 1.74 (3H, s, -OOCCH₃)에서 관측된 peak와 ¹³C-NMR spectrum에서 δ 169.8와 δ 20.1에서 관측된 peak를 통해 acetyl기가 존재함

을 알 수 있었으며, acetyl기를 제외한 모든 data는 화합물 3과 거의 일치하였다. Acetyl기의 결합위치는 문헌치와¹⁹⁾ 비교하였을 때 glucose의 C-6 위치에 acetyl가 결합한 화합물과 잘 일치하여 화합물 4를 isorhamnetin 3-O-(6"-O-acetyl)-β-D-glucopyranoside로 구조결정하였다.

화합물 1인 *n*-hexacosanol은 개느삼(*Echinophora koreensis*), 자귀나무(*Albizia julibrissin*) 꼬투리 등에서 분리된 바 있으며,^{15,16)} 인슐린 분비증강과 당뇨병 신경장애 완화, 신경손상 보호 등의 활성이 우수한 것으로 알려져 있다.^{20,21)} 그리고 화합물 2는 식물계에 널리 분포하고 있는 화합물로 많은 생리활성 연구결과가 보고되어 있다. 화합물 3인 isorhamnetin 3-O-β-D-glucopyranoside는 연꽃(*Nelumbo nucifera*)의 잎을 포함한 일부 약용식물에 함유되어 있다고 하며,¹⁸⁾ 항산화, 항염증 등의 생리활성이 알려져 있다.^{22,23)} 화합물 4는 극소수의 식물에만 함유되어 있는 성분으로 생리활성 연구가 거의 진행된 바 없어 활성관련 많은 연구가 요구되는 성분이다. 갯 지상부 MeOH 추출물의 EtOAc 가용부에서 분리한 4종 화합물중, 화합물 1인 *n*-hexacosanol과 화합물 4인 isorhamnetin 3-O-(6"-O-acetyl)-β-D-glucopyranoside는 갯에서 처음 분리된 화합물이다.

갯의 지상부와 열매는 김치, 향신료 등의 재료로 널리 사용되고 있을 뿐만 아니라 전통의학에서 사용되고 있기에 다양한 기능성을 가진 제품개발에 유용하게 활용할 수 있는 소재가 될 수 있을 것으로 판단되며, 전남 여수시 지역특산물로 재배되고 있는 돌산 갯의 효능을 규명하는데, 보다 체계적이고 활발한 연구가 필요하다고 사료된다.

결 론

갯은 십자화과에 속하는 1년생 또는 2년생 식물로, 신미성 향신료나 조미료, 건강식품 등으로 이용되고 있으며, 우리나라에는 주로 전남 여수지역에서 지역특산식물인 갯김치로 많은 양을 재배하고 있다. 갯 지상부 MeOH 추출물의 EtOAc 가용부를 silica gel과 Sephadex LH-20 column chromatography를 행하여 1종의 지방족 고급알콜 화합물과 3종의 flavonoid 화합물을 분리하였다. 분리한 화합물들은 NMR과 MS 분석을 통해 *n*-hexacosanol, kaempferol, isorhamnetin 3-O-β-D-glucopyranoside, isorhamnetin 3-O-(6"-O-acetyl)-β-D-glucopyranoside로 화학구조를 결정하였다. 이 중 *n*-hexacosanol과 isorhamnetin 3-O-(6"-O-acetyl)-β-D-glucopyranoside는 갯 지상부에서 처음으로 분리한 화합물이다.

사 사

본 연구는 2004년도 산업자원부 RIS 김치사업단 지원으로 수행되었기에 이에 감사를 드립니다.

인용문헌

1. 이창복 (2003) 원식대한식물도감 (상), 425-426. 향문사, 서울.
2. Farrell, K. T. (1985) Spices, Condiments and Seasonings, 150-155. Van Nostant Company, New York.
3. 정보섭 (1990) 도해 향약 (생약) 대사전 (식물편), 572-573. 영림사, 서울.
4. 허준 (1987) 동의보감, 506-507. 남산당, 서울.
5. 대한한의학 대학 본초학교수 공편저 (1994) 본초학, 453-454. 영림사, 서울.
6. Fabre, N., Bon, M., Moulis, C., Fouraste, I. and Stanislas, E. (1997) Three glucosinolates from seeds of *Brassica juncea*. *Phytochemistry*, **45**: 525-527.
7. Han, Y. B., Kim, M. R., Han, B. H. and Han, Y. N. (1987) Studies on anti-oxidant component of mustard leaf and seed. *Kor. J. Pharmacogn.*, **18**: 41-49.
8. Kim, J. E., Jung, M. J., Jung, H. A., Woo, J. J., Cheigh, H. S., Chung, H. Y. and Choi, J. S. (2002) A new kaempferol 7-O-triglucoside from the leaves of *Brassica juncea* L. *Arch. Pharm. Res.*, **25**: 621-624.
9. Choi, J. S., Kim, J. E., Kim, J. I., Cheigh, H. S. and Yokozawa, T. (2000) A flavonol diglucoside from the leaves of *Brassica juncea*. *Nat. Prod. Sci.*, **6**: 199-200.
10. Cho, Y. S., Ha, B. S., Park, S. K. and Chun, S. S. (1993) Contents of carotenoids and chlorophyll in Dolsan leaf mustard (*Brassica juncea*). *Korea J. Dietary Culture*, **8**: 153-157.
11. Dorman, H. J. and Deans, S. G. (2000) Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.*, **88**: 308-316.
12. Kim, H. Y., Yokozawa, T., Cho, E. J., Cheigh, H. S., Choi, J. S. and Chung, H. Y. (2003) *In vitro* and *in vivo* antioxidant effects of mustard leaf (*Brassica juncea*). *Phytother. Res.*, **17**: 465-471.
13. Jo, Y. S., Park, J. R., Park, S. K., Chun, S. S., Chung, S. Y. and Ha, B. S. (1993) Effects of mustard leaf (*Brassica juncea*) on cholesterol metabolism in rats. *Korean J. Nutrition*, **26**: 13-20.
14. Kim, H. Y., Yokozawa, T. and Cho, E. J. (2005) Mustard leaf suppresses nitric oxide synthesis by mouse macrophage. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **51**: 200-203.
15. Kang, S. S. and Kim, C. M. (1987) Studies on the Korean indigenous plants. Isolation of 1-eicosanoyl cafferate from *Echinosophora Koreensis*, *Arch. Pharm. Res.*, **10**: 67-68.
16. Kim, Y. H. (1999) Isolation of acylated sterylglucosides from the legumes of *Albizzia julibrissin*. *Kor. J. Pharmacogn.*, **30**: 290-294.
17. Park, J. G., Park, J. C., Hur, J. M., Park, S. J., Choi, D. R., Shin, D. Y., Park, K. Y., Cho, H. W. and Kim, M. S. (2000) Phenolic compounds from *Orostarchys japonicus* having anti-HIV-1 protease activity. *Natural Product Sciences*, **6**: 117-121.
18. Lim, S. S., Jung, Y. J., Hyun, S. K., Lee, Y. S. and Choi, J. S. (2006) Rat lens aldose reductase inhibitory constituents of *Nelumbo nucifera* stamens. *Phytother. Res.*, **20**: 825-830.
19. Chiu, C. Y., Li, C. Y., Chiu, C. C., Niwa, M., Kitanaka, S., Damu, A. G., Lee, E. J. and Wu, T. S. (2005) Constituents of leaves of *Phellodendron japonicum* Maxim. and their anti-oxidant activity. *Chem. Pharm. Bull.*, **53**: 1118-1121.
20. Chiko, S., Motoaki, S., Yukako, K., Itaru, S., Tomoharu, K., Takuya, H., Eiji, N., Kaori, A., Hiroto, S., Masashi, Y. and Keisuke, S. (2006) n-Hexacosanol reverses diabetic induced muscarinic hypercontractility of ileum in the rat. *Eur. J. Pharmacol.*, **545**: 177-184.
21. Borg, J. (1991) The neurotrophic factor, n-hexacosanol, reduces the neuronal damage induced by the neurotoxin, kainic acid. *J. Neurosci. Res.*, **29**: 62-67.
22. Kim, M. Y., Kim, Y. C. and Chung S. K. (2005) Identification and *in vitro* biological activities of flavonols in garlic leaf and shoot. Inhibition of soybean lipoxygenase and hyaluronidase activities and scavenging of free radicals. *J. Sci. Food. Agric.*, **85**: 633-640.
23. Ahmed, M. S., Tanbouly, N. D., Islam, W. T., Steem, A. A. and Senousy, A. S. (2005) Antiinflammatory flavonoids from *Opuntia dillenii* (Ker-Gawl) haw flowers growing in Egypt. *Phytother. Res.*, **19**: 807-809.

(2007년 7월 23일 접수)