

*Saururus chinensis*의 Flavonoid성분 연구

鄭憲商

제주대학교 자연과학대학 화학과

A Study on the Flavonoid Components of *Saururus chinensis*

Duk-Sang Jung

Department of Chemistry, Cheju National University

Abstract

Four Flavonoids such as isoquercitrin, hyperin, quercitrin and rutin were isolated from the aerial parts of *Saururus chinensis* growing in Cheju, and identified by the comparison of their TLC, GC, and HPLC chromatogram with those of pure authentic compounds.

서 론

삼백초(*Saururus chinensis*)는 삼백초과(Saururaceae)의 *Saururus*속에 속하는 다년생 초본이다. *Saururus*속 식물로는 2종(*S. chinensis*, *S. cernus*)이 아시아에 분포되어 있으며, 이 중 *S. chinensis*만이 제주도의 서쪽 습지에서 자생하고 있다.¹⁻²⁾

삼백초는 부종, 각기, 대하, 화농, 말라리아, 간염, 열독 및 수종을 치료하고, 해독 및 이뇨작용을 하는 것으로 알려져 있다.^{3,4-7)}

전보에서,^{8,11)} 저자들은 삼백초의 지상부로부터, 정유성분, 지방산 및 아미노산등을 분리, 확인하여 삼백초과의 *Houttuynia*속 식물인 약모밀

(*Houttuynia cordata*)에 대한 Tutupalli(1975)¹²⁾ 및 Takaki와 Kubota(1978)¹³⁾ 등의 연구결과와 비교하였다.

삼백초의 Flavonoid에 관한 연구는 거의 없고, 근연식물인 약모밀에 대해서만 주로 보고되어 있다.^{2,3,6,14-19)}

본 연구에서는 TLC, GC, HPLC 및 분광학적 방법을 이용하여 삼백초의 지상부로부터 얻은 MeOH추출물에서 분리, 확인된 Quercitrin, Rutin, Hyperin 및 Isoquercitrin등의 Flavonoids를 보고하고자 한다.

실 험

실험재료

본 실험에 사용된 삼백초는 제주도 한림읍 용수리에 자생하는 것을 제주시 아라동 제주대학교 구내에 이식, 번식시킨 것을 1993년 8월에 채취하여 음건시킨 것을 세절하여 사용하였다.

시약 및 기기

Isoquercitrin 및 Hyperin은 Carl Roth GmbH (Germany) 사의 표준품을, Rutin 및 Quercetin은 WAKO (Japan) 사의 표준품을 사용하였다. TLC plate는 Merck (Germany) 사의 Kieselgel 60F254를, 용매들은 HPLC급을 사용하였으며, 그 외의 시약들은 1급을 그대로 사용하였다.

HPLC는 U6K Injector, Turnable Absorbance Detector, Solvent Delivery System이 부착된 Waters 600E를, GC는 HP5890을, UV는 Shimadzu 460을, IR은 Analect 6160을 각각 사용하였다.

Flavonoid의 추출

세절한 삼백초의 지상부 100g을 EtOH로 상온에서 30일간 침적시켜 추출하여 여과하고, 잔류물을 수욕상에서 다시 EtOH로 5시간 동안 환류추출하여 여과하고 여액들을 합하여 감압, 농축한다. 농축액을 Ether 200ml씩 5회 추출한 다음, 잔류물을 MeOH 100ml로 3회 추출하여 여과한 후 여액을 감압, 농축하여 100ml로 하였다.

Flavonoid의 분리 및 확인

TLC에 의한 분리 및 확인

삼백초의 MeOH추출액 및 Flavonoid표준품의 MeOH용액을 일정량씩 TLC plate에 점적하여 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (1000/400/50) 및 $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5/\text{HCOOH}/\text{CH}_3\text{COOH}/\text{H}_2\text{O}$ (100/11/11/27)²⁰의 2종의 전개용매를 사용하여 2시간 동안 상승전개법으로 전개시킨 후, 건조하여 Rf값을 비교하였다.

HPLC에 의한 분리 및 확인

삼백초의 MeOH추출물 및 Flavonoid표준품의 MeOH용액을 일정량씩 HPLC에 주입하여 chromatogram을 얻었으며, 실험조건은 Table 1과 같다.

Table 1. HPLC conditions

Colum	: Lichrosorb RP-18
Mobile phase	: 1) $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}/\text{CH}_3\text{COOH}$: 60/40/1
	: 2) $\text{THF}/\text{CH}_3\text{COOH}/5\%\text{H}_3\text{PO}_4/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$
	: 190/20/2/40/788
Flow Rate	: 1ml/min
Detector	: UV 254nm
Injection volume	: 10 μ l

GC에 의한 당의 분리 및 확인

삼백초의 MeOH추출물 10ml에 5% H_2SO_4 2ml를 가하여 수욕상에서 30분간 가열하여 가수분해시킨다. 분말상 BaCO_3 를 소량씩 가하여 중화시킨 후, 여과한다. 여액(당부분)을 감압, 농축하여 진

조시커 20% TMSI(in pyridin) 2ml를 가하여 상온에서 3시간 동안 방치하여 Monosaccharide의 TMS유도체를 만들고, Glucose, Galactose, Xylose, Arabinose 및 Rhamnose표준품 10mg을 시료와 동일한 방법으로 TMS유도체로 만들어, 각각의 GC chromatogram을 얻었다. GC의 실험조건은 Table 2와 같다.

Table 2. GC conditions

Column	: Ultra 2(glass capillary column, 15m×0.25mm)
Column temp.	: 150°C(15min)-250°C, 5°C/min
Carrier gas	: N ₂
Air	: 300ml/min
H ₂ gas	: 30ml
Detector	: FID

Aglycon의 분리 및 확인

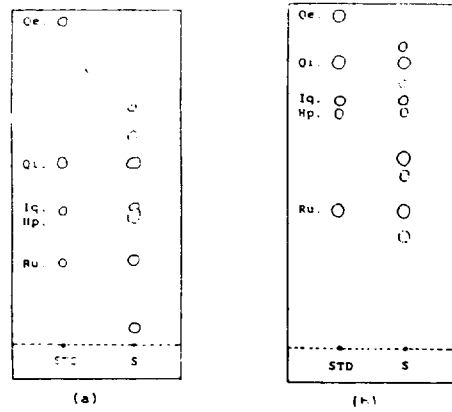
앞에서 얻은 가수분해 침전물(비당부분)을 EtOH로 용해시켜 여과하였다. 여액 및 Quercetin표준품을 Table 1의 HPLC실험조건과 동일한 방법으로 얻은 chromatogram을 비교하여 확인하였으며, 여액을 감압, 건조시켜 분광학적 실험(IR, UV, NMR)도 병행하였다.

결과 및 고찰

Flavonoid

삼백초의 MeOH추출물에 대한 TLC chromatogram을 Fig. 1에 나타내었다.

Fig. 1에서 (a)는 분취용(column chromatograph 또는 TLC)으로 사용되는 전개용매를 이용한 chromatogram으로 분리능(quercetin의 R_f값 : 0.95, quercitrin의 R_f값 : 0.55, isoquercitrin



Qe: Quercetin, Qi: Quercitrin, Iq: Isoquercitrin
 Hp: Hyperin, Ru: Rutin, STD: Standard, S: *S.chinenensis*
 Plate: precoated silicagel 60F254(Merck)
 Detection: UV light(254 nm)
 Solvent: (a) CHCl₃/MeOH/H₂O(1000/35/50)
 (b) EA/HCO₂H/CH₃CO₂H/H₂O(100/11/11/27)

Fig. 1. Thin layer chromatogram of Meoh extract.

및 hyperin의 R_f값 : 0.4, rutin의 R_f값 : 0.26)은 좋은 편이나 isoquercitrin 및 hyperin이 겹친다. 전개용매(b)는 quercetin 및 quercetin-3-O-glycoside계통의 Flavonoid의 확인시험에 적합하며, hyperin 및 isoquercitrin의 R_f값이 차이가 크지는 않으나 분리가 가능하다(quercetin의 R_f값 : 0.9, quercitrin의 R_f값 : 0.84, isoquercitrin의 R_f값 : 0.71, hyperin의 R_f값 : 0.69, rutin의 R_f값 : 0.42).

삼백초의 Flavonoid류에 대한 HPLC chromatogram을 Fig. 2에 나타내었다. Fig. 2(a)에서 quercitrin(RT, 17.70min)을 제외한 rutin, hyperin 및 isoquercitrin(RT, 12.02min)등이 겹친다. Fig. 2(b)는 다른 이동상에 의한 chromatogram으로 Fig. 2(a)보다 좋은 결과를 보이는데, hyperin과 isoquercitrin(RT, 16.64 min)만이 겹치며, rutin(RT, 11.12min) 및

quercitrin (RT, 27.97min)의 분리가 가능하다. RT 15.07min과 18.40min의 봉우리는 당의 확인 시험에서도 확인되지 않은 미확인 봉우리이다. TLC에서 확인되었던 quercetin은 확인할 수 없었는데, 이는 quercetin은 배당체화합물을 강산으로 가수분해할 때 quercitrin이 분해되어 생기기때문인 것으로 추정된다. HPLC로 부터 얻어진 Flavonoid류의 함량은 시료 100g당, rutin : 47.118mg, quercitrin : 84.730mg, isoquercitrin (hyperin이 포함됨) : 25.988mg이었다.

Flavonoid의 당 및 Aglycon

당

삼백초의 MeOH추출물의 가수분해물의 여액에서 얻은 당(TMS유도체)의 GC chromatogram을 Fig. 3(b)에 나타내었다.

Fig. 3(b)에서 quercitrin의 당부분인 rhamnose (RT, 24.05min), hyperin의 당부분인 galactose (RT, 31.38min) 및 isoquercitrin의 당부분인 glucose (RT, 32.24min)가 확인되었다. 당의 TMS 유도체는 불안정하여 변화가 심하였으며, 특히 5탄당인 xylose와 arabinose는 72시간이 경과되면 각각의 봉우리의 넓이가 0%와 5.7%로 감소하였다 (Fig. 4).

Aglycon

가수분해침전물의 HPLC chromatogram은 Fig. 5에 나타내었는데, quercetin표준품과 동일한 머무른 시간을 나타내었다. 이 침전물의 IR, UV 및 NMR spectrum도 quercetin표준품과 동일하게 나타났다.

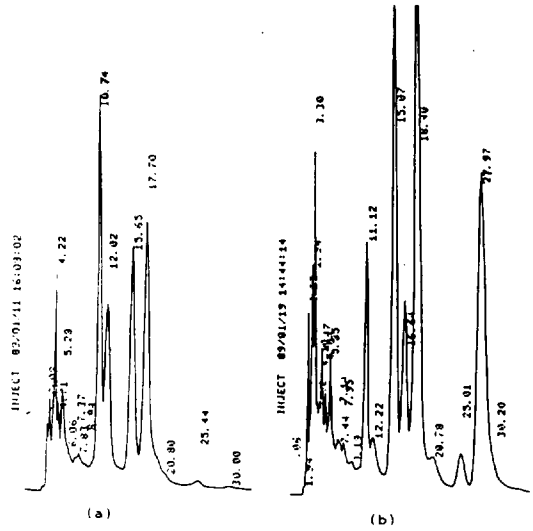
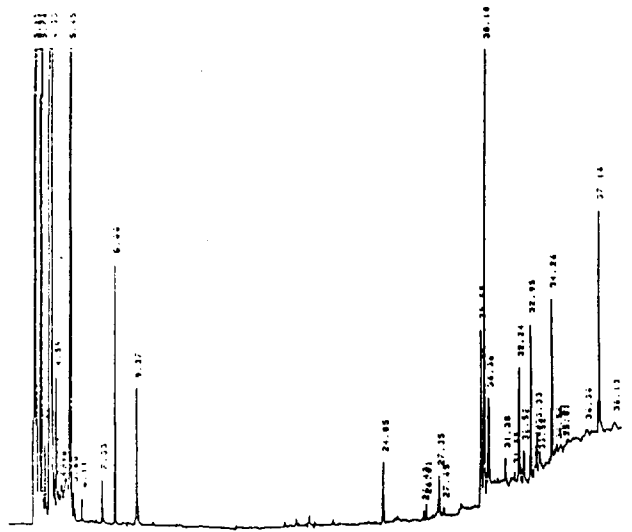


Fig. 2. Chromatogram of Flavonoids extracted from *S. Chinensis* Mobile phase :

(a) $H_2O/MeOH/CH_3COOH=60/40/1$.

(b) $THF/CH_3COOH/5\% H_3PO_4/H_2O=190/20/2/40/788$.



3. Yuk, C.S. *Colored Medicinal Plants of Korea*; Academy press; 1989; p.556.
4. 木島正夫; 紫田承二; 下村孟; 東丈夫 廣川藥用植物大事典; 廣川書店; 東京, 1963; p 241, 299.
5. Perri, L.V. *Medicinal Plant of East and Southeast Asia, Attributed Properties and Use*; the MIT press; New York, U.S. A., 1980; p.378.
6. 小學館 中藥大事典; 上海科學技術出版社; 東京; 1985; p 507,979.
7. Hsu, H.Y.; Chen, Y.P.; Hsu, C.S.; Chen, C.C. *Oriental Material Medical*; Oriental Healing Arts Institute; Long Beach, U.S.A., 1986; p.200.
8. Choe, K.H.; Kwon, S.J. *J. Kor. Soc. Anal.* 1988, 1, 259.
9. Choe, K.H.; Kwon, S.J.; Lee, K.C. *ibid.* 1989, 2, 285.
10. Jung, D.S. *Cheju Nat. Uni. J.* 1991, 33, 105.
11. Jung, D.S. *ibid.* 1992, 35, 111.
12. Tutupalli, L.V. *J. of Natural Product* 1975; 38, 92.
13. Takaki, S.; Kubota, M. *Shoyokugaku Zasshi* 1978; 32(20), 123.
14. 金文洪 濟州道植物圖鑑; 濟州道; 1985; p 59.
15. Kim, J.K. *Illustrated Natural Drugs Encyclopedia*; Nam San Dang; 1989; Vol. 2, p 174.
16. 九谷昇 熊本女子大學學術紀要; 熊本女子大學; 1962, 14(1), p 85.
17. Xu, L.; Zhang; Liu, A. *Yaowu Ferxi Zaghi* 1988, 8(4), 223.
18. Xu, L.; Xu, Y. *Yaouxue Xaobao* 1986, 21(3), 306.
19. 沙世炎 中國藥有效成分分析法; 人民生出版社; 東京; 1984; p 34.
20. Wagner, H.; Bladt, S.; Zgainski, E.M. *Plant Drug Analysis*; 1984, p 172.