

# 치자로부터 분리한 crocetin계 색소성분들의 구조결정 및 정량화

박연실 · 최홍진

경북대학교 공업화학과

## 1. 서론

최근 환경과 건강에 대한 관심이 높아짐에 따라, 염색산업에서도 합성염료가 아닌 생활 주변에서 쉽게 구할 수 있는 환경 친화적인 원료로부터 고유한 색깔을 얻고자 하는 노력이 새롭게 대두되고 있다. 예로부터 한약재나 식품의 산화를 방지하는 첨가제 및 황색을 나타내는 식물성 천연염료로 사용해 왔던 치자 (*Gardenia jasminoides* Ellis)는 최근의 천연염색의 재현으로 주목받고있는 전통 천연염재 중 하나이다. 지금까지 알려져 있는 치자의 주된 황색 색소성분은 carotenoid 계통의 crocin이라는 수용성 성분이며, 염색분야 외에 의약 및 다른 여러 분야에서도 연구가 활발히 이루어지고 있는 물질이다. 구조는 1900년대 초반부터 알려져 왔지만 아직까지 정확한 몰 흡광계수는 밝혀져 있지 않다. 본 연구에서는 완전히 성숙한 치자에서 원소분석적으로 순수한 crocin을 분리해 얻은 UV/Vis 스펙트럼으로부터 최초로 몰 흡광계수를 측정하여 치자 열매에 존재하는 여러 가지 crocetin계 성분들의 정량화를 수행했다. 또한  $^1\text{H}$  NMR 및  $^{13}\text{C}$  NMR의 chemical shift를 완전히 assign했다.

## 2. 실험

자연 건조된 치자열매를 디클로로메탄으로 지질성분들을 제거하고 soxhlet extractor장치를 사용해 메탄올로 추출한 후, 회전증발기로 용매를 모두 제거한 뒤 진공건조시켜 질은 주황색의 점성이 큰 치자 색소추출물을 얻었다. 색소 추출물을 증류수에 녹이고 celite 층으로 여과한 후, HPLC급 증류수와 메탄올 전개액을 사용해 semiprep reverse column C18 (Supelco LC-18-DB, 25 × 100 mm, 5  $\mu\text{m}$ , 120  $\text{\AA}$ )이 장착된 HPLC (high-performance

liquid chromatography)로 주된 색소성분인 주황색의 crocin을 분리했다. 분리된 crocin은 원소분석, UV/Vis, high resolution FAB-MS 및 여러 가지 NMR 기술 ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DQF-COSY, NOESY 및 HMQC)을 이용해 구조를 밝혔다. 또한 원소분석적으로 순수한 crocin의 UV/Vis 스펙트럼으로부터 몰 흡광계수를 측정했고, DAD (Diode Array Detector)가 장착된 HPLC-MS를 이용해 치자에 포함된 여러 가지 색소성분들을 밝히고 몰흡광계수를 이용해 동일한 chromophore를 갖는 치자 색소성분들의 정량화를 실시했다.

**HRMS-FAB** (glycerol) Calcd for  $\text{C}_{44}\text{H}_{64}\text{O}_{24}\text{-H}$  977.3866, Found  $m/z$  977.3853

Anyl. Calcd for  $\text{C}_{44}\text{H}_{64}\text{O}_{24}\text{-2H}_2\text{O}$ : C, 52.17; H, 6.77; O, 41.06. Found: C, 52.22; H, 6.47.

**UV**  $\lambda_{\text{max}}$  (methanol) 458 nm ( $\epsilon$  96,640  $\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ), 433 nm ( $\epsilon$  103,480  $\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ )

**$^1\text{H}$  NMR** (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  1.97 (s, 3H), 2.00 (s, 3H), 2.94 (ddd,  $J$  = 9.3, 8.0, 4.8 Hz), 3.05 (m, 2H), 3.11 (m, 1H), 3.20 (m, 1H), 3.22 (m, 1H), 3.24 (m, 1H), 3.42 (m, 1H), 3.43 (m, 1H), 3.59 (dd, 1H,  $J$  = 11.2, 5.2 Hz), 3.65 (ddd, 1H,  $J$  = 11.2, 6.0, 2.0 Hz), 3.99 (br d, 1H,  $J$  = 10.0 Hz), 4.17 (d, 1H,  $J$  = 8.0 Hz), 4.44 (t, 1H,  $J$  = 6.0 Hz), 4.85 (d, 1H,  $J$  = 4.8 Hz), 4.88 (d, 1H,  $J$  = 4.4 Hz), 4.92 (d, 1H,  $J$  = 4.4 Hz), 5.08 (d, 1H,  $J$  = 5.2 Hz), 5.17 (d, 1H,  $J$  = 4.4 Hz), 5.31 (d, 1H,  $J$  = 4.8 Hz), 5.42 (d, 1H,  $J$  = 7.6 Hz), 6.53 (m, 1H), 6.67 (dd, 1H,  $J$  = 11.6, 14.5 Hz), 6.82 (d, 1H,  $J$  = 14.5 Hz), 6.88 (m, 1H), 7.36 (d, 1H,  $J$  = 11.6 Hz).

**$^1\text{H}$  NMR** (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6/\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  1.98 (s, 3H), 2.00 (s, 3H), 3.09 (ddd, 1H,  $J$  = 8.0, 8.0, 4.8 Hz), 3.15 (m, 2H), 3.21 (ddd, 1H,  $J$  = 9.8, 6.0, 1.9 Hz), 3.27 (dd, 1H,  $J$  = 9.2, 8.8 Hz), 3.36 (m, 1H), 3.38 (m, 1H), 3.52 (dd, 1H,  $J$  = 12.8, 6.0), 3.54 (m, 1H), 3.70 (dd, 1H,  $J$  = 11.0, 5.0 Hz), 3.74 (br d, 1H,  $J$  = 12.8, 1.9 Hz), 4.04 (br dd, 1H,  $J$  = 11.0, 1.8 Hz), 4.28 (d, 1H,  $J$  = 8.0 Hz), 5.47 (d, 1H,  $J$  = 8.2 Hz), 6.58 (m, 1H), 6.69 (dd, 1H,  $J$  = 11.6, 14.5 Hz), 6.85 (d, 1H,  $J$  = 14.5 Hz), 6.88 (m, 1H), 7.42 (d, 1H,  $J$  = 11.6 Hz).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  166.5, 145.0, 140.3, 137.3, 136.3, 132.4, 125.6, 124.3, 103.4, 94.9, 77.2, 77.1, 76.61, 76.58, 73.78, 72.8, 70.3, 69.5, 68.2, 61, 13.0, 12.9.

### 3. 결과 및 고찰

완전히 성숙한 치자열매로부터 모두 여덟가지의 crocetin계 색소성분들을 관찰할 수 있었다. 이중 세가지 성분은 극소량으로 존재했고 다섯가지 성분은 HPLC-MS로 물질 규명 및 정량화를 수행할 수 있었다. 치자의 노란색 색소들은 모두 crocetin chromophore를 가지며 여기에 배당체가 결합된 형태를 띠고 있다. 주 색소성분인 crocin은 두개의 배당체가 각각

양쪽에 결합된 crocetin digentiobioside ester이며 HPLC 분석결과 전체 색소성분의 60.5%를 차지했고 모두 세개의 배당체가 연결된 crocetin monogentiobioside monoglucoside ester가 20%, 하나의 배당체가 각각 양쪽에 결합한 crocetin diglucoside ester가 13.6%를 차지했다.

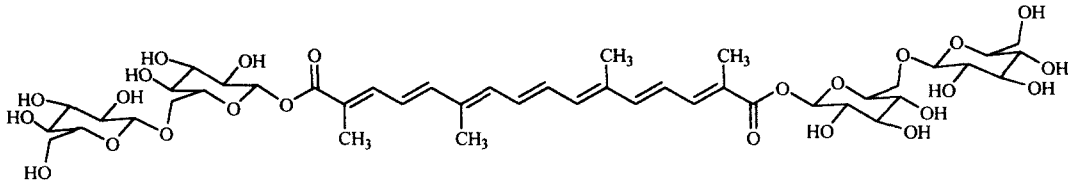


그림1. Crocetin digentiobioside ester (Crocine)

Crocine은 주황색의 무정형 고체로 얻었으며 HRMS-FAB 분석결과 molecular ion  $[M-H]^{-}$ 가 977.3866을 나타냈고 원소분석도  $C_{44}H_{64}O_{24}$ 와 일치했다. 메탄올 용매로 얻은 crocine의 UV-Vis 스펙트럼에서 458 nm ( $\epsilon$  96,600)와 433 nm ( $\epsilon$  103,500)에서 최대흡수파장을 나타냈고, 433 nm ( $103,480 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )에서 몰 흡광계수를 최초로 측정했다.

또한 Crocine의 모든  $^1\text{H}$ 과  $^{13}\text{C}$  NMR chemical shift값을 여러 가지 2D NMR 기술 (DQF-COSY, NOESY 및 HMQC)들을 이용해 완전히 assign할 수 있었다. crocetin 골격에 대한  $^1\text{H}$ 과  $^{13}\text{C}$  NMR chemical shift값은 많이 보고되었지만 digentiobioside 부분은 아직까지 정확한 chemical shift값이 보고되지 않았다. 본 연구에서는 처음으로 crocine의 전 골격구조의  $^1\text{H}$ 과  $^{13}\text{C}$  NMR chemical shift값을 assign했다.

#### 4. 결론

완전히 성숙한 치자열매로부터 주 색소성분인 crocine을 순수하게 분리하여 원소분석, UV/Vis, high resolution FAB-MS 및 여러 가지 NMR 기술 ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DQF-COSY, NOESY 및 HMQC)로 구조를 밝혔다.

Crocine의 UV-Vis 스펙트럼에서 458 nm ( $\epsilon$  96,600)와 433 nm ( $\epsilon$  103,500)에서 최대흡수파장을 나타냈고, 433 nm에서 몰 흡광계수 ( $103,480 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )를 최초로 측정했다. 이를 이용해 동일한 chromophore를 갖는 치자 색소성분들의 정량화를 실시했다.