

## 薏苡仁(Coicis Semen)의 醫藥品開發에 關한 研究(I)

—아미노酸的 含量에 대하여—

龍 在 益

淑明女子大學校 藥學大學

### Studies on the Drug Development of *Coicis Semen*(I) Aminoacid Contents in *Coicis Semen*

Jae Ick Yong

(Received Sept. 10, 1977)

Free amino acid in ethanol extracts and total amino acid hydrolysates of *Coicis semen* were analyzed by amino acid autoanalyzer.

The sample A (unpolished *Coicis Semen*) and sample B (polished *Coicis Semen*) are used in this experiments.

The results obtained from this study are as follows:

1) 17 kinds of free amino acid (Asp, Thr, Ser, Glu, Pro, Gly, Ala, Val, Cys, Met, Ileu, Lew, Try, Phe, Lys, His, Arg,)

including 7 kinds of essential amino acid (Val, Lew, Ileu, Thr, Lys, Met, Phe,) as human nutrition were identified and quantified but tryptophan.

2) Total free amino acids of sample A is more than about 3 folds that of sample B.

3) The distribution of free amino acids contained in sample A, threonine is the richest and then comes Ala, Glu, Asp, and Pro, in that order. In sample B, glutamic acid is the richest and then comes Thr, Asp, Ala, and Gly, in that order.

4) 17 kinds of total amino acid (Asp, Thr, Ser, Glu, Pro, Gly, Ala,

\*. College of Pharmacy, Sookmyung Women's University

Val, Cys, Met, Ileu, Lew, Tyr, Pher, Lys, His, Arg,) including 7 kinds of essential amino acid (Val, Leu, Ileu, Thr, Lys, Met, Phe,) in human nutrition except tryptophan were identified and quantified.

- 5) Total amino acid content of sample A is more than about 1.06 folds that of sample B.
- 6) Total amino acid content of sample A in acid hydrolysates is more than about 1.06 folds that of sample B in acid hydrolysates.
- 7) Unknown chromatogram of ethanol extracts and acid hydrolysates of *Coicis Semen* were identified as Ornithine.

## 緒 論

薏苡仁(*Coicis Semen*)은 禾本科(*Gramineae*)에 속한 一年生本草인 粟(薏苡)의 子仁이며, 原植物은 *Coix Lacryma-jobi L. rar ma-yuen stapf*이다. 薏苡仁은 澱粉, 蛋白質 및 脂肪등을 適當量 含有하는 穀에 좋은 營養食品이 되며 漢方에서는 利尿 緩下 消炎 解熱 鎮痙등에 藥効가 있으며 그 外에도 사마귀를 除去하는 效果가 있다 한다. 薏苡仁은 澱粉 52%, 蛋白質 18%, 脂肪 7% 및 微量의 抗腫瘍性物質 coixenolide  $C_{38}H_{70}O_4$ 를 含有하고 있고 根은 coixol을 含有하고 있다.<sup>1,2)</sup> 1955年 Koyama等<sup>3)</sup>은 根에서 coixol을 檢出하고 또한 合成<sup>4)</sup>하였고, Ukita等<sup>5)</sup>은 種子에서 coixenolide를 檢出確認하였고 Vavaerv<sup>6)</sup>은 coixenolide를 合成하였다.

Ukita<sup>7, 8)</sup> 등은 acetone 抽出液(oil)이 低血壓에 有效하고 呼吸率을 增加시킨다고하였고 抗腫瘍作用이 에틸抽出液에 있음을 報告하였다.

Matsusima<sup>9)</sup>는 palmitic acid 成分으로 腸의 收縮과 擴張, 末梢血管의 收縮과 擴張, 低血壓, 呼吸率의 增進 등의 報告가 있고, HANO等<sup>10, 11)</sup>은 fat oil이 血糖의 減少, 筋收縮의 弱화가 있음을, 또한 Ukita等<sup>12)</sup>은 根成分인 coixol이 心臟作用의 抑制, 呼吸의 增進 低血壓에 有效함을 報告하였고, 陳等<sup>13)</sup>은 “粟의 利用開發에 關한 研究”를 報告하였다. 著者는 薏苡仁의 醫藥品開發 또는 食品으로서의 蛋白構成 amino酸을 調査하여 營養面에서도 檢討코져 本研究를 着手하였으며 薏苡仁의 ethanol抽出物에 대하여 遊離 아미노酸을, 酸加水分解物에 대하여 全아미노酸을 amino acid acutoanalyzer(Technicon PNC-1)을 사용하여 分析한 結果를 報告하는 바이다.

## 實 驗

### 實驗材料

Sample A : 粟(薏苡仁)을 完全搗精하지 않은 外面赤黃色의 卵形의 것)

Sample B : 울무쌀(薏苡仁의 엷은 껍질을 除去한 精白品)

生藥名 : 薏苡仁 Coicis Semen

原植物 : Coix agrestis Lourerio

學名 : Coix Lacryma-Jobi 4. Var. ma-yuen Stap F.

#### 機器 및 試藥

Aminoacid autoanalyzer(Technicon PNC-1)

赤外線燈(OHANS)

Semimicrobalance (Ainsworth)

4N sodium acetate buffer (PH5.5)

Ninhydrin solution (0.6% buffered)

Hydrazine sulfate (Merk)

Buffer for 140×0.6cm colum (21 hurs type)

1) pH 2,875 : 0.2N Na<sup>+</sup>

2) pH 3.8 : 0.02 Na<sup>+</sup>

3) pH 5 : 0.8 Na<sup>+</sup>

#### 試料의 調製

##### 遊離 아미노酸測定用試料<sup>14,15)</sup>

薏苡仁(sample A 및 sample B)을 赤外線燈下에서 乾燥시켜 粉末노 한것 1g을 精秤하여 250ml 抽出用 flask에 넣고 75% ethanol 30ml을 加하여 水浴上에서 30分間 抽出한다. 冷却후 抽出液을 모으고 殘渣에 다시 75% ethanol 20ml을 加하여 上浴上에서 30分間 抽出한후 抽出液을 合한다. 殘渣는 75% ethanol 10ml로 잘 씻어 濾過하고 抽出液을 全部 합하여 水浴上에서 ethanol을 蒸發除去하고 沈澱을 濾過한다.

濾液을 分液漏斗에 모으고 여기에 ethylether 20ml을 加하여 ether層을 分別除去하여 濾過한다. 이 液을 沸騰水浴上에서 約 1 ml가 되도록 濃縮하여 식힌후 pH 2.2 구연산緩衡液을 加하여 全量을 25ml로 하였다.

##### 遊離 아미노 酸測定用試料(酸加水分解法)<sup>16)</sup>

이서와 같이 乾燥시켜 粉末노한 薏苡仁(Sample A 및 Sample B) 10mg을 미리 크롬 黃酸 蒸溜水 및 1N-HCl로 씻어 乾燥시킨 pyrex 試驗管(外徑 12~16mm, 길이 120~200mm의 시험관을 위에서 3~4cm되는 部分을 가늘게 뽑은 것)에 넣고 6N-HCl 6ml로 잘 分解시킨후 N<sub>2</sub> gas를 통한다. 試驗管을 密封한후 111±1°C에서 70시간 加水分解시킨다. 加水分解完了후 室溫으로 냉각하여 4°C이하에 保存하고 分析하기 直前에 개봉하여 加水分解物을 濾過, 沈澱物을 除去한다. 蒸溜水 2ml로 試驗管벽을 씻어 濾過한다. (이조작을 3회 반복) 이 濾液을 모두 合하여 50ml beaker에 넣고 沸騰水浴上에서 鹽酸을 除去한다. beaker

중의 溶液이 거의 없어지면 蒸溜水 4ml로 기벽을 씻으면서 加하여 乾固시킨다음(이조작은 4회 반복) pH 2.2 구연산 緩衡液 2ml을 加하여 試料溶液으로 하였다.

### 標準 아미노酸 溶液의 調製

Table 1에서 表示한 바와같이 2.5 milimole에 해당하는 各 아미노酸(cysteine은 1/2量)을 精稱하여 1l volumetric flask에 넣고 蒸溜水를 반쯤 채워 濃 鹽酸 10ml를 加하여 溶解시킨 후 蒸溜水를 加하여 1l로한다. 이 溶液(2.5 $\mu$ mole/ml)을 貯藏용액으로 하고 分析時 pH 2.2 구연산 衡液으로 희석하여 標準아미노 酸溶液으로 使用하였다.

Table I—Standard Amino Acid Mixture

Amino Acid	Grams per Liter, 2.5 millimolar	
1. DL-Aspartic acid	(Asp)	0.3327
2. L-Threonine	(Thr)	0.2977
3. DL-Serine	(Ser)	0.2627
4. DL-Glutamic acid	(Glu)	0.3678
5. DL-Proline	(Pro)	0.2877
6. Glycine	(Gly)	0.1877
7. DL-Alanine	(Ala)	0.2227
8. DL-Valine	(Val)	0.2927
9. L-Cystein	(Cys)	0.1805
10. DL-Methionine	(Met)	0.3730
11. L-Isoleucine	(Ileu)	0.3280
12. L-Leucine	(Leu)	0.3280
13. DL-Tyrosine	(Tyr)	0.4530
14. DL-Phenylalanine	(Phe)	0.4130
15. Ammonium Sulfate		
16. DL-Lysine HCl	(Lys)	0.4567
17. DL-Histidine Hcl-H <sub>2</sub> O	(His)	0.5240
18. L-Arginine HCl	(Arg)	0.5267

### 아미노酸의 分析

#### 試料濃度の 推定

아미노 酸分析機로 分析이 가능한, 各 아미노酸의 試料濃도는 0.3~3.0 $\mu$  mole이지만, 分析의 最適濃도는 各 아미노酸이 0.5~1.0 $\mu$  mole이 含有<sup>17)</sup> 되어야 하므로 本實驗에 앞서 試料濃도를 다음과 같이 推定하였다.

檢體試料 1.0ml을 시험관에 취하여 물 1.0ml과 ninhydrin 試藥1.0ml을 가하여, 100°C에서 15分間 加熱發包시키고 식힌다음 물을 가하여 全量을 25ml로하여 570nm에서 光電比色한다. 이때 吸光度 0.8일때가 아미노酸量이 1 $\mu$ mole에 해당되지만, 同時에 1 $\mu$ mole에 상

당하는 leucine 및 증류수에 대하여 發色시켜 試料中の 量을 leucine 値로 計算하였다. 그리고 試料濃도를 적당히 稀釋하여 注入量이 1.0 또는 2.0ml 되도록 하였다.

### 使用機器 및 分析條件

아미노酸分析은 Amino Acid Autoanalyzer(Technicon PNC-1)을 사용하였으며 Table II 와 같은 分析條件下에서 測定하였다.

Table II—Measurement Condition

Column Size:	6.3mmID×140cm
Temperature:	60°C constant
Ion Exchange Resin:	Chromobead-Type A
Flow rate:	
Buffer Solution:	30ml/hr. (0.5ml/min.)
Ninhydrin:	30ml/hr.
Buffer Solution:	PH 2.8, PH 3.8, PH 5.0 Na-citrate buffer
Buffer Change:	Gradient elution device (Autograd)
Chart Speed:	6 inch/hr.
Wave Length:	1. 15mm tubular flow cell, 570mm(red) 2. 8mm tubular flow cell, 570mm(yellow) 3. 15mm tubular flow cell, 440mm(green)
Analysis Time:	21hrs.

### 아미노酸定量

試料溶液 1ml을 정확히 취하여, ion exchange resin을 充塡시킨 column 上面에 注入 N<sub>2</sub> gas로 吸着시킨 후 pH 2.8 구연산 緩衝液으로 column 空間을 채운다음 各아미노酸의 chromatogram을 標準 아미노酸 mixture의 chromatogram과 比較하여, 各 試料의 아미노酸을 確認하고 또 各아미노酸量은 chromatogram의 面積에 比例하므로, HW法<sup>18)</sup>(半值幅法)에 의하여 그 面積을 계산하고, 一定량의 標準아미노酸溶液의 分析結果와 比較하여 定量하였다.

### 實驗結果 및 考察

全아미노酸測定用試料의 加水分解法에 依하면, tryptophan은 完全히 破壞되어 定量되지 않으며 Rees<sup>19)</sup>에 의하면 6N-HCl, 100°C의 沸騰環流로 24時間 加水分解時 threonine이 約 5%, serine이 10%減少된다고 하였으며 또 Moore<sup>20)</sup>등에 의하면 22時間 加水分解時 threonine, cystine, tyrosine은 約5%, serine은 約10% 파괴된다고 하였으며 valine, Isoleucine의 分解는 試料에 따라 70時間以上을 요할 경우도 있다. 따라서 threonine, serine, cystine tyrosine, valine, isoleucine 등의 定量値는 본래의 含量보다 多少 낮

계 定量된다. 그러나 이와같은 條件下에서 測定된 값을 가지고 試料種類別의 含量관계를 관찰하는데 별로 影響이 없다.

### 을무현미(Sample A) 및 을무쌀(Sample B)의 遊離아미노酸定量結果

을무현미 및 을무쌀의 遊離 아미노酸의 檢出定量 結果는 Table III 과 같다.

Table III—Contents of Free Amino Acid in *Coicis Semen*(mg/g)

	Sample A	Sample B
1. Asp	0.079	0.023
2. Thr.	0.166	0.030
3. Ser.	0.043	0.025
4. Glu.	0.099	0.071
5. Pro.	0.061	0.009
6. Gly.	0.039	0.011
7. Ala.	0.107	0.015
8. Val.	0.020	0.006
9. Cys.	Trace	Trace
10. Met	Trace	Trace
11. Iso.	0.005	0.004
12. Leu.	0.007	0.005
13. Tyr.	0.013	0.005
14. Phe.	0.008	0.005
15. NH <sub>3</sub>	4,714	35,316
16. Lys.	0.010	0.007
17. His.	0.008	0.016
18. Arg.	0.038	0.007
Total	0.708	0.245

Table. III에서 보는바와 같이 sample A에서나 sample B에서 Asp, Thr, Ser, Glu, Pro, Gly, Ala, Val, Cys, Met, Iso, Leu, Tyr, Phe, Lys, His, Arg, 등 17종의 아미노酸을 檢出定量하였다. 이 중 Cys, 및 Met은 trace로 檢出되었다.

全體遊離아미노酸의 分布狀態는 Table III에서 보는바와같이 sample A에서는 Thr. > Ala. > Glu. > Asp. > Pro. > Ser 등의 順으로 많으며 Cys. 과 Met. 은 trace이다. sample B에서는 Glu. > Thr. > Asp. > Ala. > Gly. 등의 順으로 含量이 많다.

全體 遊離아미노酸의 量을 比較하여보면 NH<sub>3</sub>을 除外하고 sample A는 g當 0.7086mg, sample B는 g當 0.2457mg로서 sample A는 sample B보다 2.87 倍나 많은 全遊離아미노酸을 포함하고 있다.

또한 人體이 必須아미노酸中 tryptophan을 除外한 7종의 必須아미노酸 즉 Val, Leu,

Isoleu, Thre, Lys, Met, Phe, 등이 함유되어있으며 發有에 必要한 arginine과 histidine도 함유되어 있어 營養學上, 醫藥開發上 매우 價値가 있다고 思料된다.

以上 울무현미 및 울무쌀의 分析定量結果는 Fig. 2, Fig. 3의 chromatogram에서 明確히 觀察 할 수 있다.

**울무현미(Sample A) 및 울무쌀(Sample B)의 竣아미노酸의 定量結果**

울무현미(Sample A) 및 울무쌀(Sample B)의 竣아미노酸의 定量結果는 Table IV과 같다.

**Table IV**—Contents of Total Amino Acid in *Coicis* Semen(mg/g)

	Sample A	Sample B
1. Asp.	11.751	7.214
2. Thr.	3.574	2.841
3. Ser.	5.889	4.217
4. Glu.	32.607	32.119
5. Pro.	7.914	8.752
6. Gly.	3.725	2.809
7. Ala.	10.180	10.964
8. Val.	5.559	6.112
9. Cys.	Trace	Trace
10. Met.	0.459	Trace
11. Iso.	4.042	4.836
12. Leu.	12.480	13.922
13. Tyr.	0.657	6.007
14. Phe.	6.588	5.559
15. NH <sub>3</sub>	25.038	26.731
16. Lys.	3.473	1.802
17. His.	3.708	2.373
18. Arg.	5.405	2.390
<b>Total</b>	<b>118.019</b>	<b>111.923</b>

Table IV에서 보는바와 같이 sample A, sample B에서 Asp. Thr. Ser. Glu. Pro. Gly. Ala. Val. Cys. Met. Iso. Leu. Tyr. Phe. NH<sub>3</sub> Lys. His. Arg. 등 17종의 竣 아미노酸을 檢出 定量하였다. 이 중 Cys.이 sample A에서 Cys. 및 Met.이 sample B에서 trace로 檢出되었다. 竣 아미노酸의 分布狀態는 sample A에서 Glu. > Asp. > Leu. > Ala. > Ser. 등의 順으로 많이 함유되어 있고 sample B에서는 Glu. > Leu. > Ala. > Asp. > Val. 등의 順으로 多量 함유되어 있다. 또한 Cys. Met은 trace로 함유되어 있다.

竣 아미노酸의 量을 比較하여보면 sample A는 g當 118.0192mg이고 sample B는 111.923mg으로서(NH<sub>3</sub>을 除外한 것임) sample A가 sample B보다 約 1.06倍 多量 함유하고

있다.

또한 必須아미노酸인 Val. leu. Isoleu. Thr. Lys. Met. Phe. 등 7종의 아미노酸과 發育에 重要的 Arg. His. 등의 아미노酸도 含有되고 있다.

以上 올무현미 및 올무쌀의 分析結果는 Fig. 4. Fig. 5의 chromatogram에서 明確히 觀察할 수 있다.

以上 Table III 및 Table IV에서 보는바와 같이 必須 아미노酸의 하나인 methionine이 微量 含有 되었거나 또는 檢出되지 않은 結果로 나타났으나 이것은 酸化되어 methionine 酸化物<sup>21)</sup> (methioninesulfate)로 되어 Asp. peak 앞에 位置하는것 같다.

#### 未知 아미노酸의 確認과 定量

遊離 및 全 아미노酸의 分析結果 未確認物質들은 Boulter의 植物成分中の 아미노酸 chromatogram 位置를 밝힌 報文<sup>22)</sup>을 參考할때 NH<sub>3</sub>와 Lys. 사이의 peak인 orinitine이 含有됨을 控定하고 다음과 같이 實施하였다.

Orinitin 0.3294g을 精稱하여 C. HCl 10ml를 添加하면서 蒸溜水 1l에 녹여 2.5 millimole의 orinitine의 標準液을 만들었다. 이것을 稀釋하여 0.5 $\mu$ mole로 만들어 이 溶液 1ml를 標準 아미노酸液에 加하여 自動分析器로 分析을 한 結果 chromatogram은 NH<sub>3</sub>와 Lys사이의 peak인 orinitine peak와 一致 하였으며 定量結果는 다음 Table V와 같다.

Table V—Contents of Orinitine (mg/g)

	Free Amino Acid	Total Amino Acid
Sample A	0.003	1.058
Sample B	0.005	1.851

## 結 論

올무(薏苡仁)의 醫藥品開發研究의 一環으로 그 蛋白質成分의 構成 아미노酸을 分析하기 위하여 올무현미(sample A : 完全搗精을 하지 않은것)와 올무쌀(sample B : 完全搗精을 하여 白米와 같이 만든것)을 試料로 하여 各各에 대하여 에탄을 抽出物은 遊離아미노酸을, 酸加水分解物에 대하여 竣아미노酸을 aminoacid autoanalyzer(Technicon PNC-1)를 使用하여 分析하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 薏苡仁의 에탄을 抽出物에서 遊離 아미노酸 Asp. Thr. Ser. Glu. Pro. Gly. Ala. Val. Cys. Met. Ileu. leu. Tyr. Phe. Lys. His. Arg. 등 17種의 遊離 아미노酸을 確認 定量 하였으며 triptophan을 除外한 Val. leu. Ileu. Thr. Lys. Met. Phe. 등 7種의 必須아미노酸 및 發育에 必要的 Arg. His. 등도 그중에 含有되어 있다.



2. 울무현미 中の 全遊離아미노酸의 含量은 울무쌀의 量보다 約 2 倍가 많이 含有되고 있다.
3. 遊離 아미노酸의 分布狀態는 울무현미에서 Thr. > Ala. > Glu. > Asp. > Pro. 等の 順으로 많고 울무쌀에서는 Glu. > Thr. > Asp. > Ala. > Gly. 等の 順으로 많이 含有되어 있다.
4. 薏苡仁의 加水分解物에 대하여 全 아미노酸을 定量分析한 結果 遊離 아미노酸과 같이 Asp. Thr. Ser. Glu. Pro. Gly. Ala. Val. Cys. Met. Ileu. leu. Tyr. Phe. Lys. His. Arg. 等 17種의 全 아미노酸과 Val. leu. Ileu. Thr. Lys. Met. Phe. 等 7種의 必需 아미노酸 및 發育에 必要한 Arg. His. 도 含有되어 있다.
5. 酸加水分解物의 全 아미노酸의 總量을 울무현미와 울무쌀을 比較해보면 울무현미가 g 當 118.0192mg 울무쌀이 g當 111.9238mg로서 約 1.06倍만큼 울무현미가 多量含有되어 있다.
6. 薏苡仁의 에탄올 抽出物, 酸加水分解物中的 遊離 및 全 아미노酸의 chromatogram 中 未知物은 orinitine임을 確認하였다.

(本研究는 産業協同財團學術 研究助成費 1976年度分の 支援으로 遂行되었음을 感謝드립니다)

## 文 獻

- 1) 李尙仁; 本草學, 醫藥社 發行, 276(1975)
- 2) 鄭東奎; 最新分類의 生藥學, 壯文社, 358(1965)
- 3) T. Koyama *et al.*, *Yakugaku Zasshi*, **75**, 699—701(1955)
- 4) T. Koyama *et al.*, *Yakugaku Zasshi*, **76**, 1002—1005 (1956)
- 5) T. Ukita, *Chem. Pharm. Bull.*, **9**, 43—53 (1961)
- 6) Vaver V.A. *et al.*, *Khim. Prir. Soedin*, **6**(2), 170—3 (1970) Japan
- 7) T. Ukita, *et al.*, Screening test of the chemical compounds which inhibit the Yoshida ascites Sarcoma of rat, *Gann*, 140—141 (1949) Japan
- 8) T. Ukita, *et al.*, *Ibid.* 91—92 (1950)
- 9) S. Matsushima, *J. of pharmacology*(Japan), **48**, 109—126 (1952)
- 10) K. Hano, *et al.*, *Yakugaku Zasshi*, **79**, 1412—8 (1959)
- 11) K. Hano, *et al.*, *Ibid.*, **80**, 1118—26 (1960)
- 12) T. Ukita, *et al.*, *Chem. Pharm. Bull.*, **9**, 43~6 (1961)
- 13) 陳甲德; 嶺南大學校 天然物化學研究所報, **2**, 1—6 (1974)
- 14) 魯一協, 表明允; 韓國營養學會誌, **8**, No.1, 47—59 (1975)
- 15) 波多野博行; アミノ酸 自動分析法 化學同人, **79** (1964)
- 16) 波多野博行 *Ibid.*, **63** (1964)
- 17) 波多野博行 *Ibid.*, **76** (1964)
- 18) Technicon Instrument Co.: Amino acid autoanalyzer manual AAA-1, (1970)
- 19) M.W. Rees, *Biochem. I.* **40**, 632 (1946)
- 20) C.H.W. Hirs, S. Moore, W.H. Stein, *J. Biol. Chem.* **235**, 633 (1970)
- 21) 鹿文和郎外3人; 食品의 機器分析, 光林書院, 461 (1971)
- 22) Doris I. Schmidt: Techniques in amino acid analysis Technicon International Division S.A. Geneva Switzerland, 103(1966)