

고들빼기 생리활성물질의 검색

신 수 철

순천대학교 농과대학 식품공학과

초록 : 우리나라 전지역의 산과 들에 야생하고 있는 고들빼기(*Youngia sonchifolia* Max.)는 전통식품인 고들빼기 김치의 원료로 이용될 뿐만 아니라 오래전부터 민간에서 위장장애 치료제로 이용되어 왔다. 그래서 고들빼기의 생화학적 활성 및 항암 실험과 그 특수성분을 분석하였는데 hexane 추출물 중에서 silica gel column chromatography와 재결정으로 얻어낸 화합물은 무색광상 결정으로 용점이 280~282°C 이었으며 구조결정을 위해 ¹³C-NMR, ¹H-NMR, MS로 분석한 결과 pentacyclic triterpene인 bauerenyl acetate인 것을 확인하였다(1993년 3월 2일 접수, 1993년 4월 15일 수리).

고들빼기는 학명이 *Youngia sonchifolia* Max.¹⁾ 또는 *Ixeris sonchifolia* Hance²⁾로 국화과중 민들레아과에 속하는 1~2년생 초본이며 높이는 12 cm~2 m이고 절단하면 백색의 유액이 나오는데 쓴맛이 강하다. 그리고 우리나라 산과 들에 9종이 분포하고 있다.³⁾

이 고들빼기는 옛날부터 봄철에는 나물로 먹거나 가을철에 김치를 담구어 먹고 있으며^{4,5)} 건위, 진통, 해열, 소종, 양혈 등의 작용이 있어 약용으로도 이용되어 왔다.⁶⁾

고들빼기에 관한 연구로는 이 등⁷⁾과 홍 등⁸⁾에 의한 재배와 수확량에 관한 실험 그리고 박 등⁹⁾의 갈변에 관한 연구, 박¹⁰⁾과 신,¹¹⁾ 강 등¹²⁾의 유리아미노산, 이 등¹³⁾의 휘발성 풍미성분에 관한 연구가 있다. 박¹⁰⁾은 고들빼기 추출물에 대한 항암실험을 하여 유의성이 있는 것으로 보고하여 본 연구에서는 항암성을 갖는 성분의 검색을 위해서 세포독성 실험 및 항암 실험과 고들빼기에 함유된 화합물의 구조결정을 하였기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

재료 및 시료조제

실험용 고들빼기는 전남 구례군 신월면 신촌마을에서 1991년 11월 22일 채취하여 가별게 물로 세척하고 토사를 제거하여 실내에서 2시간 물을 뺀 후 실내에서 약 15~18°C로 10일간 건조하였다. 건조시료를 분쇄기로 파쇄하여 메탄올로 75~78°C로 30시간 3회 추출하고 여과하여 진공농축기로 40°C에서 농축하여 시료로 사용하였다.

세포독성 실험(Screening on V-79 cell)

V-79세포 : Chinese hamster 폐에서 유래한 세포

배양 및 Screening : Conning 회사의 plate에 10% 소태자혈청(FCS) 및 Kanamycin(100 µg/ml)을 함유한 RPMI-1640배지 1.95 ml에 세포액 0.05 ml(6×10³ 세포/ml)를 넣고 5% CO₂ 항온기에서 37°C로 하루 배양후 100 µg/ml, 30 µg/ml, 10 µg/ml, 3 µg/ml, 1 µg/ml, 농도의 시료액을 넣고 배양하여 5일째 세포를 고정하고 염색하여 콜로니수를 계산하여 T/C(%)로 판정한다.

$$T/C(\%) = \frac{\text{시료처리구의 콜로니수}}{\text{대조구의 콜로니수}} \times 100$$

항종양활성 검정(Total packed cell volume method)

실험동물은 22~25g(5주령)의 ICR계 웅성마우스로 실험군은 1군 6마리를 사용하였고 암종, Sarcoma-180A를 1×10⁶ 세포/0.05 ml가 되도록 생리식염수로 희석하여 마우스 복강내에 이식하고 24시간 후 0.0~5% CMC 생리식염수로 희석한 시료 100 mg/kg/day를 1일 1회 5일간 복강내에 주사하였다. 7일째 마우스의 복강내의 복수를 채취하여 원심분리하여 복수전체량(TV : Total Volume) 및 종양세포량(PCV : Packed Cell Volume)과 종양성장률(GR : Growth ratio)을 측정하였다. 또한 대략의 활성을 보기위해서 체중변화량(BWC : Body weight Change)를 구하였다.

$$GR(\text{Growth ratio}) = \frac{PCV_{\text{treated}}}{PCV_{\text{control}}} \times 100$$
$$BWC(\text{Body Weight Change})$$

Table 1. Cytotoxic screening with extract of *Youngia sonchifolia* Max

Concentration (µg/ml)	Root Root	Leaf (T/C, %)
100	44	74
30	87	98
10	88	98
3	95	99
1	94	97

= 종양 이식후 7일째 체중

-(종양 이식일 체중+복수 전용적)

메탄을 추출물의 분리 및 정제

메탄을추출물 184.67g을 증류수와 hexan으로 분획하여 다시 silica gel column chromatography를 하여 분리하였다. 용리시킨 용매는 hexan과 ethyl acetate 비율을 9 : 1, 8 : 2, 7 : 3, 6 : 4, 5 : 5로 하여 얻어낸 각 분획을 농축하여 TLC로 각 성분을 확인하여 비슷한 spot을 합하였다. n-Hexane과 ethyl acetate(9 : 1)의 용매로 용출한 분획중 TLC하여 R_f치가 같은 spot을 소량의 메탄올과 ethyl acetate로 재결정하고 재결정 모액을 다시 silica gel의 MPLC(middle presure liquid chromatography)로 분리하여 재결정과 같은 R_f치를 갖는 화합물을 모았다.

재결정의 물리적 성질 및 구조결정

얻어낸 재결정의 형태, 용점, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, MS를 측정하였는데, 형태와 용점은 Yanako MP-3 용점 측정기로, MS는 Hitachi M-80 EI형 MS를 사용하여고, NMR은 Bruker AM-400(Germany) 400 MHz 분석기를 사용하였다. 그리고 1차, 2차, 3차, 4차 탄소의 결정은 DEPT로 하였다.

결과 및 고찰

세포독성검정

V-70세포에 의한 세포독성 검정결과는 Table 1과 같이 나타나 뿌리의 T/C%가 각 농도에서 잎의 T/C%보다 낮았으며 지표로 하고 있는 30 µg/ml 농도에서 뿌리의 T/C%가 78%, 잎 98%를 나타내어 고들빼기의 뿌리와 잎의 세포독성은 매우 낮은 것으로 나타났다.

항종양검정

총세포 용적법에 의한 고들빼기 뿌리와 잎의 항종양 검정 결과는 Table 2와 같다. 종양성장률(GR%)은 뿌리가

Table 2. Antitumor activity of extract of *Youngia sonchifolia* Max

Dose(mg/kg/day)	BWC	PCV/TV	GR(%)
Root 100	-1.3	0.32	103.8
Leaf 100	-2.5	0.31	112.7

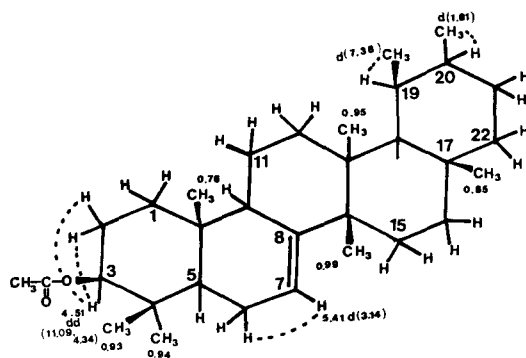


Fig. 1. The structural formula of bauerenyl acetate in hexane extract from *Youngia sonchifolia* Max.

103.8%, 잎이 112.7%로 기준치 66% 이상이어서 Sarcoma-180A에 대한 억제효과는 거의 없는 것으로 나타났고 체중변화량에서도 뿌리와 잎 모두 체중이 감소되어 항암효과가 거의 없는 것으로 나타났는데 이러한 결과는 박¹⁰⁾의 Sarcoma-180 복수종양에 대한 결과와 비슷하였다.

분리된 화합물의 구조결정

n-Hexane 추출물 중 n-hexane-ethyl acetate=9 : 1의 용매로 용리한 분획 중 n-hexane-ethyl acetate=8 : 2 전개용매로한 TLC로 분리하여 R_f치가 0.55와 0.41인 분획을 모아서 소량의 메탄올을 갖는 ethyl acetate로 재결정하여 0.4464g의 재결정과 모액 3.3708g을 얻었는데, 모액을 다시 MPLC(n-hexane-ethyl acetate=38 : 1)하여 얻은 분획 중 R_f=0.43(n-hexane-ethylacetate=9 : 1)인 결정 1.2733g을 얻었다.

이 결정은 무색판상의 결정으로 용점이 280~282℃ 이었다. 이 결정의 ¹³C-NMR(ppm)은 37.7(C₁, t), 24.0(C₂, t), 81.2(C₃, d), 36.6(C₄, s), 50.6(C₅, d), 24.2(C₆, t), 116.3(C₇, d), 145.5(C₈, s), 55.0(C₉, d), 35.1(C₁₀, s), 28.9(C₁₁, t), 29.2(C₁₂, t), 32.1(C₁₃, s), 41.3(C₁₄, s), 16.9(C₁₅, t), 32.5(C₁₆, t), 31.6(C₁₇, s), 48.2(C₁₈, d), 35.4(C₁₉, d), 38.0(C₂₀, d), 28.8(C₂₁, t), 37.8(C₂₂, t), 15.8(C₂₃, q), 27.5(C₂₄, q), 13.1(C₂₅, q), 22.7(C₂₆, q), 22.6(C₂₇, q), 25.7(C₂₈, q), 23.7(C₂₉, q), 21.3(C₃₀, q), 21.3(CH₃-COO, q), 171.0(acetyl기, s)이었다.

Table 3. ¹H-NMR Chemical shift of compound of hexane extract of *Youngia sonchifolia* Max (400 MHz, CDCl₃)

	Chemical shift (ppm)	Multiplicity (Hz)
H-3	4.51	dd(11.09, 4.34)
H-7	5.41	d(3.14)
C ₂₃ , methyl	0.93	s
C ₂₄ , methyl	0.94	s
C ₂₅ , methyl	0.76	s
C ₂₆ , methyl	0.95	s
C ₂₇ , methyl	0.99	s
C ₂₈ , methyl	0.85	s
C ₂₉ , methyl	1.04	d(7.38)
C ₃₀ , methyl	0.91	d(1.81)
-OCOCH ₃	2.04	s

1차탄소(q)는 8개로 -CH₃기의 결사슬로 규정하였고, 171.0 ppm의 4차탄소는 메틸기를 갖는 카보닐 탄소에 1개의 아세틸기를 가지며 21.3 ppm의 1차탄소(q)는 아세틸기의 메틸기로 규정하였으며 116.3 ppm의 3차탄소(d)와 145.5 4차탄소(s)가 한개의 2중결합을 형성하는 triterpenoid 화합물로 Fig. 1과 같은 bauerene계 triterpenoid로 추정하였다.

다시 ¹H-NMR 스펙트럼에서 확인된 특수 proton의 성질로 판명된 수소와 메틸기를 Table 3에 나타내었다. 역시 ¹H-NMR 스펙트럼에서도 8개의 메틸기와 2.04 ppm에서 acetyl기를 확인하였고, 4.51 ppm의 3번 탄소의 양성자가 동격이 아닌 상태의 2번 탄소 2개의 양성자와 공명하여 dd(doublet doublet)로 나타났으며, 5.41 ppm에서 2중결합의 7번탄소에 결합된 양성자가 6번탄소의 양성자와 공명한 것으로 나타났다. 특히 29번, 30번 탄소의 메틸기는 d(doublet)로 나타나 29, 30번 탄소에 양성자가 한개씩인 것으로 판명되었다.

이러한 ¹H-NMR의 분석 결과는 Antonio 등¹⁴⁾이 *Mochinea polymorpha* 껍질에서 분리해낸 bauerenyl acetate의 ¹³C-NMR, ¹H-NMR의 스펙트럼과 같은 결과를 나타내었고, Robin 등¹⁵⁾의 *Tapeinosperma pseudojambosa*의 껍질에서, Ramachandra 등¹⁶⁾의 *Gelonium multiflorum*의 껍질과 *Diospyros sylvatica*의 잎에서 분리한 bauerenyl acetate의 ¹H-NMR 스펙트럼과 비슷하였다.

그리고 bauerenyl acetate는 *Solidago altissima*¹⁷⁾의 뿌리, *Pertya robusta*의 지하경,¹⁸⁾ *Tabernaemontana laurifolia*의 껍질¹⁹⁾과 *Gelonium multiflorum*의 껍질²⁰⁾에서 분리되었다. Bauerenyl acetate로 확인된 화합물의 MS 스펙트럼의 peak(m/z)는 466(M⁺-2, 38%), 453(M⁺-CH₃,

20%), 344(30%), 289(100%), 229(289-CH₃COOH, 74%), 204(90%), 189(32%), 132(64%), 109(77%)이었다. 이 화합물의 M⁺ 봉우리(peak)가 468 m/z인데 M⁺-2의 466 m/z 봉우리가 강하게 나타났으며 289 m/z에서 base 봉우리가 나타났는데 이것은 bauerenyl acetate의 강한 봉우리며¹⁴⁾ 이 화합물에서 아세틸기가 쪼개진 봉우리는 60 m/z가 적은 229 m/z가 74% 정도의 강한 봉우리를 보이는데 역시 이것은 bauerenol의 강한 봉우리로 알려져 있다.^{21,22)} 그리고 3번 탄소의 아세틸기가 결합된 bauerenyl acetate는 344 m/z가 특징적으로 봉우리를 나타낸다.¹⁴⁾ 또한 bauerene계 bauerenol의 특징 봉우리는 19번 탄소에 결합된 메틸기²³⁾ 13번, 14번탄소의 메틸기에 의해서 204 m/z에서 봉우리를 가지는데^{24,25)} 이러한 결과들과 일치하여 7번탄소와 8번탄소 사이에 이중결합 1개를 가지는 bauerenyl acetate로 결정하였다.

Kaoru 등²⁶⁾은 천연화합물 151종류를 MM2 종양세포(포유류 carcinoma 종양)에 대하여 저해효과를 실험하였는데 bauerenyl acetate에서 초산기가 가수분해된 bauerenol이 낮은 저해효과(500 µg/ml)를 나타낸다고 보고하여 bauerenyl acetate를 함유한 고들빼기는 항암식품으로서 의의가 있다고 생각되며 오히려 저해효과가 낮고 독성이 적어서 약품재료보다는 항암성을 적게 나타내는 좋은 식품의 재료로 생각되었다.

감사의 글

이 논문은 1991년도 교육부 국비해외파견연구 지원에 의하여 수행된 것으로 이에 깊이 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. 이창복: 대한식물도감, 향문사, 786(1980)
2. 이덕봉: 한국동식물도감, 식물편, 삼화서적주식회사, 278(1974)
3. 정태현: 한국식물도감, 초본부, 교육사, 744(1972)
4. 윤서석: 한국음식, 수학사, 30(1984)
5. 윤서석: 한국식품사연구, 신광출판사, 8(1985)
6. 김재길: 원색천연약물대사전, 남산당, 42(1984)
7. 이병무, 강병화: 한국잡초학회지, 8: 265(1988)
8. 홍정기, 이성열, 민황기, 김두열, 이동우: 농사시험연구논문집, 27: 140(1985)
9. 박수선, 김안근: 생약학회지, 15: 78(1984)
10. 박수선: 한국생화학회지, 10: 241(1977)
11. 신수철: 한국농화학회지, 31: 261(1988)
12. 강동희, 우영숙, 이영경, 정승용: 한국영양식량학회지, 12: 225(1983)

13. 이미순, 김정희: 한국식품과학회지, 21 : 511(1989) 123(1963)
14. Antonio C. Monteiro de Farias and Therezinha C. B. Tomassini: J. Natr. Prod., 47 : 363(1984) 21. Black, M. G. and Hargreaves, K. R.: Phytochemistry, 11 : 2115(1972)
15. D. Robin Baigent and Keith G. Lewis: Aust. J. Chem., 31 : 1375(1978) 22. Agnes M. rimando, Shogo Inoshiri and Magdalena C. Cantoria: 生藥學雜誌, 41 : 242(1987)
16. L. Ramachandra Row and C. Sankara Rao: Tetrahedron Lett., 48 : 4845(1967) 23. H. Budzikiewicz, Wilson, J. M. and Carl Djerassi: J. Am. Chem. Soc., 85 : 3688(1963)
17. Okano, A., Nomura, Y. and Tezuka, T.: J. Natr. Prod., 46 : 750(1983) 24. Fukuoka, M. and Natori, S.: Chem. Pharm. Bull., 20 : 974(1972)
18. 南雲清二, 伊淵一男, 永井正博: 藥學雜誌, 98 : 1327 (1978) 25. Sunil, K. T., Subrata, S. and Bani, T.: Tetrahedron Lett, 57 : 5963(1968)
19. Cava, M. P., Shubber, A. K. and Kota, V. Rao: Phytochemistry, 11 : 2115(1972) 26. Kaoru, K., Kaoru, M. and Shinsaku, N.: Planta Med., 58 : 137(1992).
20. Sengupta, P. and Khastgir, H. N.: Tetrahedron, 19 :

Exploitation of the biologically active components in *Youngia sonchifolia* Max.

Soo-Cheol Shin (Department of Food Science and Technology, Suncheon National University, Chonnam 540-742, Korea)

Abstract : *Youngia sonchifolia* Max. has been used as raw materials of traditional Kimchi and medicinal herb in Korea. This study was performed to investigate biologically active components in the plant.

First, the writer carried out the experiment of antitumor screening test against Sarcoma-180A and the cytotoxic activity against Chinese hamster V-79 cells with methanol extract of the plant. And the aqueous solution of the extract from roots of *Youngia sonchifolia* Max. was partitioned into n-hexane. The concentrated extract of n-hexane layer was chromatographed on silica gel column and developed with n-hexane and ethylacetate. Two yellow elutes, on concentration, were recrystallized from ethylacetate, and the R_f value of TLC of the crystal was 0.43. After analysis by $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ and MS to confirm the structure, the author could identify the compound as bauerenyl acetate, a naturally occurring pentacyclic triterpene. The crystal was colorless plate and m.p. was 280~282°C.