

여뀌 추출물의 성분 분석

김정은·김은희·박수남[†]

서울산업대학교 자연생명과학대학 정밀화학과
(2010년 3월 16일 접수, 2010년 3월 26일 수정, 2010년 3월 29일 채택)

Component Analysis of *Persicaria hydropiper* L. Extracts

Jung Eun Kim, Eun Hee Kim, and Soo Nam Park[†]

Department of Fine Chemistry, Research Center for Development of Green Cosmetic, College of Nature and Life Science, Seoul National University of Technology, 172, Gongneung 2-dong, Nowon-gu, Seoul 139-743, Korea
(Received March 16, 2010; Revised March 26, 2010; Accepted March 29, 2010)

요약: 이전 연구에서 저자들은 여뀌 추출물의 항산화작용과 미백, 항주름 효과를 통한 항노화 활성, 항균활성 및 여뀌 추출물을 함유한 크림을 제조하여 인체에서 측정된 보습효능에 대한 결과를 보고한 바 있다. 본 연구에서는 thin layer chromatography (TLC), high performance liquid chromatography (HPLC)를 이용하여 여뀌 추출물에 대한 성분분석을 수행하였다. 여뀌 추출물 중 ethyl acetate 분획의 당 제거 반응 후 얻어진 aglycone 분획은 TLC 및 HPLC 실험에서 각각 2개의 띠와 피크로 분리되었으며, 분리된 2가지 성분은 quercetin 및 kaempferol이었다. 여뀌 추출물의 ethyl acetate 분획의 TLC 크로마토그램은 6개의 띠(PH1 ~ PH6)로 분리되었고, HPLC 크로마토그램은 7개의 피크를 보여주었다. TLC와 HPLC의 띠와 피크를 확인한 결과 quercetin, hyperin, isoquercitrin, quercitrin, kaempferol 이 함유되어 있음을 확인하였다. 이상의 여뀌 추출물의 성분에 대한 분석 결과들은 이미 보고된 여뀌 추출물의 항산화 작용과 항노화 활성, 항균활성 및 보습효능 측정과 더불어 기능성 화장품 원료로서 응용이 가능함을 시사한다.

Abstract: In the previous study, we reported the antioxidative activity, antiaging activity, antibacterial activity and moisturizing effect of cream containing *Persicaria hydropiper* L. extract. In this study, the components of *Persicaria hydropiper* L. extract were analyzed by TLC and HPLC. Aglycone fractions obtained from the deglycosylation reaction of ethyl acetate fraction among the *Persicaria hydropiper* L. extract, showed 2 bands and 2 peaks in TLC and HPLC experiments, respectively. Two components were identified as quercetin and kaempferol. TLC chromatogram of ethyl acetate fraction of *Persicaria hydropiper* L. extract revealed 6 bands and HPLC chromatogram showed 7 peaks, which were identified as quercetin, hyperin, isoquercitrin, quercitrin, kaempferol. In conclusion, with the antioxidative activity, antiaging activity, antibacterial activity and moisturizing effect reported previously, component analysis of *Persicaria hydropiper* L. extracts could be applicable to new cosmeceuticals.

Keywords: *Persicaria hydropiper*, flavonoids, component analysis, antioxidative activity, cosmetics

1. 서 론

여뀌(*Persicaria hydropiper*)는 마디풀목 마디풀과의 쌍떡잎 식물로, 원산지는 일본 및 중국이며, 주로 북반구의 열대지방 및 온대지역의 냇가와 습지의 야생지역에

분포하고 있다[1]. 여뀌의 건조한 잎의 추출물의 주성분으로는 quercetin 3-O-β-L-rhamnoside (quercitrin), scutillarein, 6-hydroxyluteolin 등이 함유된 것으로 보고되었다[2]. 이러한 플라보노이드가 함유된 여뀌는 항산화 활성과 지질과산화 억제 작용을 하는 것으로 보고되고 있고[3], 또한 항균작용 및 지혈작용을 한다[1]. 본 논문에서 앞서 저자들은 여뀌 추출물의 항균 작용[4]과 항

[†] 주 저자 (e-mail: snpark@snut.ac.kr)

산화, 미백, 항주름 효과를 통한 항노화 활성을 조사하였으며[5], 여뀌 추출물을 함유한 크림을 제조하여 인체 피부에서의 보습 효능을 측정하였다[4].

이전의 연구에서 여뀌의 잎에 대한 성분이 보고된 바 있으나, 본 연구에서는 국내 자생 여뀌의 전초 추출물 중 ethyl acetate 분획 또는 aglycone 분획을 기능성화장품 소재로서 가능성이 있는지 알아보기 위해 TLC 및 HPLC를 이용한 성분 분석을 실시하였다.

2. 재료 및 실험

2.1. 기기 및 시약

HPLC는 Dionex사, 에탄올(EtOH), 메탄올(MeOH), ethyl acetate (EtOAc) 등 각종 용매는 시판 특급 시약을 사용하였으며, 플라보노이드의 분석에 사용한 thin layer chromatography (TLC)는 aluminum sheet silica gel 60 F₂₅₄ (0.2 mm)로 Merck (USA)사에서 구입하였다. 플라보노이드 비교물질로 사용한 quercetin, kaempferol, quercitrin, hyperin, isoquercitrin은 Sigma (USA)사에서 구입하였다. 실험 재료인 여뀌는 강원도 홍천군에서 채취한 것을 2008년 6월경 경동시장에서 구입하여 사용하였다.

2.2. 여뀌의 플라보노이드 분획 추출

건조된 여뀌 200 g을 잘게 자른 후 50 % 에탄올 2 L를 이용하여 일주일 동안 침적시킨 후 여과하였다. 이 여액을 감압 건조하여 파우더를 얻고 이를 실험에 사용하였다. 또한 50 % 에탄올 추출물은 감압 농축한 후 물과 hexane을 이용하여 비극성 성분을 제거하고 이후 ethyl acetate 분획을 감압·농축하여 파우더를 얻었다.

Ethyl acetate 분획으로부터 aglycone 제조: ethyl acetate 분획에서 얻은 파우더 일부는 산 가수분해 반응을 이용해서 당을 제거시킨 후 얻은 aglycone 파우더를 실험에 사용하였다. 실험 방법은 ethyl acetate 가용분 일정량에 H₂SO₄ 및 acetone 용액을 넣고, 4 h 동안 중탕 가열하면서 환류·냉각시킨다. 환류시킨 용액을 5 % KOH-MeOH 용액으로 중화 적정한다. 중화 적정 후 다시 ethyl acetate 층을 분획하고 이를 감압·농축하여 실험에 사용하였다.

2.3. TLC 및 HPLC를 이용한 여뀌 추출물의 플라보노이드 분석

여뀌 추출물 중 ethyl acetate 분획과 aglycone 분획을

Table 1. HPLC Conditions for Separation of Ethyl acetate and Deglycosylated Fraction from *P. hydropiper* Extract

Column	Luna 5 μ C18 (L: 250 nm, LD: 4.6 mm)
Detector	UVD 170 s DIONEX
Flow rate	1.0 mL/min
Mobile phase	2 % acetic acid : 0.5 % acetic acid in H ₂ O in 50 % acetonitrile solution
	(70 : 30 ~ 10 : 90, Gradient) for ethyl acetate fraction
	(50 : 50 ~ 0 : 100, Gradient) for aglycone fraction (deglycosylated)

100 % 에탄올에 녹인 후, syringe filter (Millipore 0.45 μ m)를 이용하여 여과하고 이 여액을 TLC 및 HPLC 분석을 위한 시료로 이용하였다. TLC 분석에서 전개용매는 ethyl acetate 분획의 경우 ethyl acetate : formic acid : water = 82 : 9 : 5 (v/v)을 사용하여 분석하였으며, aglycone 분획은 hexane : ethyl acetate : acetic acid = 21 : 14 : 5 (v/v)를 사용하였다. 성분 확인은 이미 보고된 분광학적 자료, 플라보노이드 표준물질의 R_f 값과 자외선 및 발색법을 이용한 분리된 띠의 색상 등으로 확인하였다.

HPLC 분석은 2 % acetic acid 수용액과 0.5 % acetic acid를 함유한 50 % acetonitrile 수용액을 기울기 용리법으로 분리하였고, 이때 HPLC 분리조건은 Table 1에 나타내었다. 또한 제조된 aglycone 분말은 100 % 에탄올에 녹이고, syringe filter (Millipore 0.45 μ m)로 여과한 후 HPLC 분석에 사용하였다.

2.4. 통계처리

모든 실험은 3회 반복하였고 통계분석은 5 % 유의수준에서 Student's *t*-test를 행하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 여뀌 추출물의 TLC 및 HPLC 성분 분석

3.1.1. 여뀌 추출물의 TLC 성분 분석

여뀌 추출물의 TLC 크로마토그램은 Figure 1 및 Figure 2에 나타내었다. Figure 1는 50 % 에탄올로 추출한 여뀌 추출물로부터 얻은 ethyl acetate 분획의 TLC 크로마토그램이며 플라보노이드 배당체들을 분리할 수 있는 조건에서 여뀌의 ethyl acetate 분획은 6의 띠

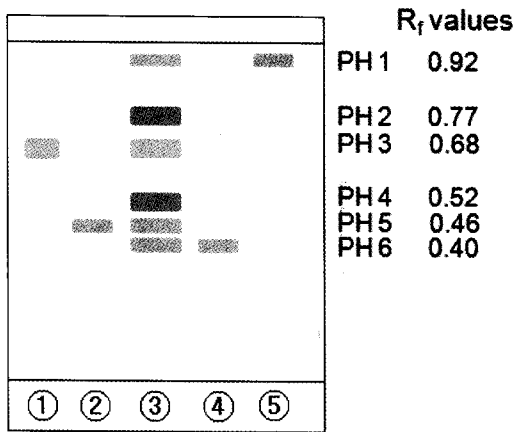


Figure 1. TLC chromatogram of ethyl acetate fraction from *Persicaria hydropiper* and references. Eluent system: ethyl acetate : formic acid : water = 82 : 9 : 5 (v/v) ①: quercitrin, ②: isoquercitrin, ③: ethyl acetate fraction, ④: hyperin, ⑤: quercetin.

(PH1, PH2, PH3, PH4, PH5, PH6)로 분리되었다. 이 6개의 띠가 어떤 플라보노이드인가를 알아보기 위하여, TLC 크로마토그램에서 분리된 띠를 각각 긁어서 추출. 여과하고 용매를 감압·건조시켜 얻은 띠별 파우더를 분석에 사용하였다. 또한 분리된 TLC 띠 성분 확인에는 UV-visible 흡수스펙트럼, IR 스펙트럼 등 여뀌의 분광학적 데이터들도 이용하였다. 그 결과 Figure 1에서 용출된 PH2, 3, 4, 5, 6은 모두 당 제거반응에서 quercetin으로 확인되었다. 그 중 R_f value는 0.92인 PH1은 quercetin으로 확인되었고, 그 부근에 소량의 kaempferol의 존재를 확인할 수 있었다. PH3은 quercetin 3-O-β-L-rhamnoside (quercitrin)로 나타났고, PH5는 quercetin 3-O-β-D-glucoside (isoquercitrin), PH6는 quercetin 3-O-β-D-galactoside (hyperin)로 나타났다. PH2와 PH4는 아직 확인되지 않았지만, 자외선 및 발색법에 의해 PH3, PH5와 같은 주황색을 나타내는 것으로 보아 quercetin 배당체라 추정된다.

Figure 2은 여뀌 추출물 중 ethyl acetate 분획을 당 가수분해 시켜서 얻은 당이 제거된 분획(aglycone 분획)의 TLC 크로마토그램이다. 이 aglycone 분획은 2개의 띠 (PH a-1, PH a-2)로 분리되었고, 표준물질을 이용하여 확인한 결과 PH a-1은 quercetin으로 확인되었고, PH a-2는 kaempferol로 확인되었다. 한편, ethyl acetate 분획을 당 가수분해시켜서 얻은 aglycone 분획에는 플라보노이드 배당체는 존재하지 않았다.

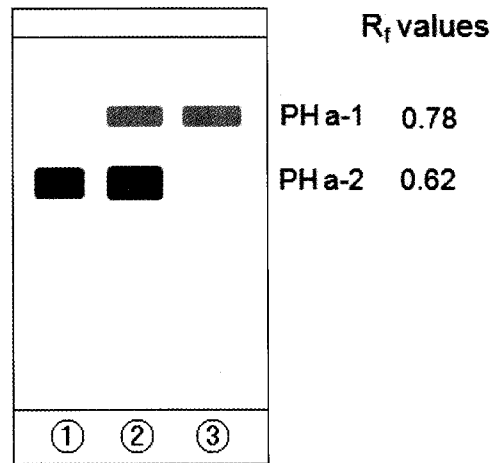


Figure 2. TLC chromatogram of deglycosylated fraction (aglycone fraction) from *Persicaria hydropiper* extract (EtOAc fraction) and references. ①: quercetin, ②: deglycosylated fraction (EtOAc fraction), ③: kaempferol. Eluent system: hexane : ethyl acetate : acetic acid = 21 : 14 : 5 (v/v).

3.1.2. 여뀌 추출물의 HPLC 성분 분석

여뀌 추출물 중 ethyl acetate 분획의 HPLC 크로마토그램은 Figure 3과 같다. 크로마토그램은 7개의 peak를 나타내었다. 각각의 peak를 동정하기 위하여, Figure 1에 있는 TLC 크로마토그램에서 분리된 띠를 긁어서 추출·여과하고 용매를 감압·건조시킨 후 얻은 파우더를 에탄올 용액으로 하여 HPLC 분석을 위한 시료로 사용하였다. 그 결과 Figure 1의 TLC (normal phase) 크로마토그램에서 PH1 (R_f 0.92)은 Figure 3의 HPLC (reverse phase) peak 6과 peak 7로, PH3는 peak 4, PH5는 peak 2, PH6은 peak 1 일치함을 확인하였다. 또한 Figure 1와 함께 표준 물질을 사용하여 peak 1 (7.57%)는 quercetin 3-O-β-D-galactoside, peak 2 (12.98%)는 quercetin 3-O-β-D-glucoside, peak 4 (7.98%)는 quercetin 3-O-β-L-rhamnoside임을 확인하였다. Peak 6과 peak 7은 각각 quercetin (29.53%) 및 kaempferol (6.73%)으로 확인되었다. 그리고 Figure 1의 용리 순서에 따라 peak 3과 peak 5는 각각 PH4와 PH2로 추정되므로, quercetin 배당체라고 생각된다.

여뀌 추출물 중 ethyl acetate 분획의 당 제거반응 후 얻어진 aglycone 분획에 대한 HPLC 크로마토그램은 Figure 4와 같다. 표준물질을 이용하여 확인한 Figure 2의 TLC 크로마토그램에서 확인한 바와 같이 Figure 4의 peak 1은 quercetin, peak 2는 kaempferol임을 확인하였다.

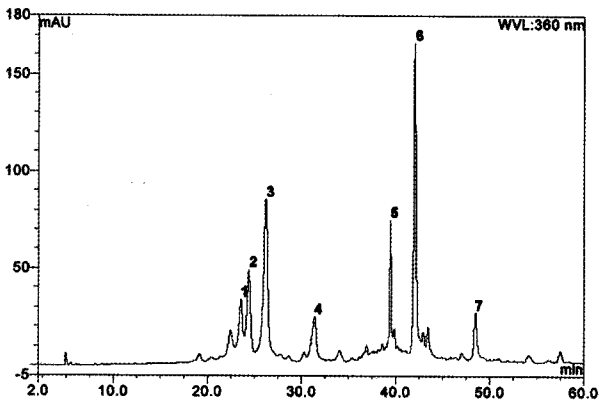


Figure 3. HPLC chromatogram of ethyl acetate fraction from *Persicaria hydropiper*, at $\lambda = 360$ nm. 1: quercetin 3-O- β -D-galactoside, 2: quercetin 3-O- β -D-glucoside, 3: unknown, 4: quercetin 3-O- β -L-rhamnoside, 5: unknown, 6: quercetin, 7: kaempferol.

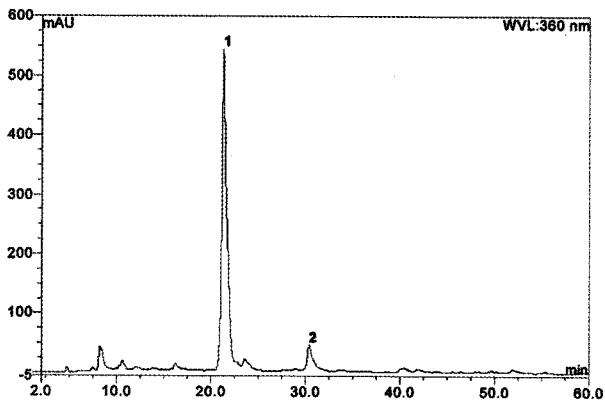


Figure 4. HPLC chromatogram of deglycosylated fraction (aglycone fraction) from *Persicaria hydropiper* extract (EtOAc fraction). 1: Quercetin, 2: Kaempferol.

4. 결 론

1) 여뀌 추출물 중 ethyl acetate 분획의 TLC는 6개의 띠(PH1 ~ PH6)로 분리되었고, 그 중에서 R_f 0.52인 PH 4의 농도가 가장 진한 것으로 나타났다.

2) 여뀌 추출물 중 ethyl acetate 분획에 대하여 당 제거 실험 후 얻어진 aglycone 분획의 TLC는 2개의 띠(PHa-1 ~ PHa-2)를 나타내었고, 이때 PHa-1, PHa-2는 각각 kaempferol과 quercetin으로 확인되었다.

3) Aglycone 분획에 대한 HPLC 크로마토그램은 2개의 피이크를 나타냈고 그 용리순서는 quercetin, kaempferol이었으며, quercetin의 함량이 가장 큰 것으로 나타

났다.

4) 여뀌 추출물 중 ethyl acetate 분획의 HPLC 크로마토그램은 검출파장 360 nm에서 7개의 피이크를 나타내었고, peak 1은 quercetin 3-O- β -D-galactoside, peak 2는 quercetin 3-O- β -D-glucoside, peak 3는 quercetin 배당체, peak 4는 quercetin 3-O- β -L-rhamnoside, peak 5는 quercetin 배당체, peak 6는 quercetin, peak 7는 kaempferol로 확인되었다.

결론적으로 이미 보고된 여뀌 추출물의 항균, 항산화, 항노화 작용 및 보습 효능평가와 더불어 여뀌 추출물에 대한 성분 분석은 새로운 기능성 화장품원료로서 응용 가능성이 있음을 시사한다.

감사의 글

본 연구는 보건복지가족부 보건의료연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것으로 이에 감사드립니다(과제 고유번호 : A092055).

참 고 문 헌

1. M. Miyazawa and N. Tamura, Inhibitory compound of tyrosinase activity from the sprout of *Polygonum hydropiper* L. (Benitade), *Biol. Pharm. Bull.*, **30**(3), 595 (2007).
2. Z. F. Peng, D. Strack, A. Baumert, R. Subramaniam, N. K. Goh, T. F. Chia, S. N. Tan, and L. S. Chia, Antioxidant flavonoids from leaves of *Polygonum hydropiper* L., *Phytochemistry*, **62**, 219 (2003).
3. H. Haraguchi, I. Ohmi, S. Sakai, and A. Fukuda, Effect of *Polygonum hydropiper* sulfated flavonoids on lens aldose reductase and related enzymes, *J. Nat. Prod.*, **59**, 443 (1996).
4. E. H. Kim, J. E. Kim, and S. N. Park, Antibacterial Activity of *Persicaria hydropiper* Extracts and Its Application for Cosmetic Material, *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.*, **38**(1), 170 (2010).
5. E. H. Kim, J. E. Kim, and S. N. Park, Antioxidative and Antiaging Effects of *Persicaria hydropiper* L. Extracts, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **35**(4), 293 (2009).