

카드뮴(II)-플라보노이드 킬레이트 반응에 관한 연구

이정호 · 신선우* · 백승화*^{#,}

송호대학 자연건강관리과, *원광대학교 한의학전문대학원 한약자원개발학과
(Received September 7, 2009; Revised October 12, 2009; Accepted October 12, 2009)

Studies on the Cd(II)-Flavonoid Chelation Reactions

Jeong Ho Lee, Sun Woo Shin* and Seung Hwa Baek*^{#,}

Department of Natural Health Management, Songho College, Hoengseong 225-801, Korea

*Department of Herbal Resources, Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

Abstract — The interaction of cadmium (II) ion with quercetin, quercitrin and (+)-catechin was investigated in aqueous solution at various pH. The flavonoid/cadmium stoichiometries for cadmium (II) binding to flavonoid have been determined by UV-visible spectroscopy. 1 : 1 Cd(II)-Flavonoid complex had a maximum absorbance and showed the bathochromic shift of the long-wavelength band of the UV-vis spectra in the alkaline pH, that occurs upon complexation, is due to a ligand-to-metal charge transfer. The optimal concentration of Cd(II)-flavonoid complexes showed that complexation reaction could be classified in the following way: 55.27 μ M catechin > 54.72 μ M quercetin > 53.52 μ M quercitrin at the chelating site level. These results suggest that Cd(II)-flavonoid complex has the optimal condition of chelation in 0.2 M NH₃ - 0.2 M NH₄Cl (pH 8.0) solution.

Keywords □ quercetin, quercitrin, (+)-catechin, bathochromic shift, Cd(II)-complex, ligand-to-metal charge transfer, UV-visible spectroscopy

폴리 페놀화합물인 플라보노이드는 식물의 뿌리, 줄기, 열매 등에 함유되어 있으며, 플라보노이드의 항암, 항염증, 항바이러스, 항알러지, 항콜레스테롤 등과 같은 생리활성이 보고되었다.¹⁾ 케르세틴은 식물속에 널리 존재하는 플라보노이드로서, 사람의 건강에게 주는 유용성과 생리활성 때문에 많은 연구자들에게 관심이 집중되고 있다.²⁾ Souza 등은 알루미늄(III)-케르세틴 착물이나 아연(II)-케르세틴 착물의 항산화 효과가 케르세틴의 항산화 효과보다 증가한다고 보고하였으며,³⁾ 케르세틴은 가능한 세 가지의 결합자리에서 경쟁반응할 수 있는 화합물로서 3-hydroxy- and 5-hydroxy-4-carbonyl group와 3',4'-dihydroxyl(catechol) 그룹들을 갖고 있다. 케르세틴의 세 가지 관능기의 착물 형성능력은 3',4'-dihydroxyl group > 3-hydroxy-carbonyl group > 5-hydroxy-carbonyl group의 순서로 이루어졌으며, 납(II)은 착물의 형성능력이 가장 높은 케르세틴의 catechol group에서 납(II)-케르세틴 착물은 1 : 1로 형성된다고 보고하였다.⁴⁾ Cornard 등⁵⁾은 알루미늄

늄(III)의 경우는 납(II)과는 다르게, 순수한 메탄올에서 알루미늄(III)은 케르세틴의 3-hydroxy-carbonyl group에서 주 생성물인 안정한 1 : 2의 dimeric complex(안정도상수 = 2×10^{12})가 형성되며, 산성 메탄올 수용액은 케르세틴의 5-hydroxy-carbonyl group에서 알루미늄 착물(1 : 1)과 sodium methanoate를 포함한 염기성 메탄올 용액은 케르세틴의 3',4'-dihydroxyl group에서 알루미늄 착물(1 : 2)의 화학량론적 관계로 착물이 형성된다고 보고하였다. 이 등⁶⁾은 어성초에서 분리한 케르세틴을 이용하여, 0.2 M 암모니아 - 0.2 M 염화 암모늄(pH 8.0) 용액에서 케르세틴과 카드뮴(II)과 1 : 1 카드뮴 착물의 최적형성의 농도는 53.52 μ M임을 제시하였다. 53.52 μ M 케르세틴에서 NIH 3T3 섬유모세포의 카드뮴(II)독성에 대한 세포의 재생효과를 MTT 정량분석법으로 측정된 결과에 의하면, 53.52 μ M 케르세틴에서 통계적으로 유의성있는 해독경감 효과가 관찰되었으며, 세포의 형태학적인 조건에서도 세포의 재생현상이 관찰되었다. Le Nest 등^{7,8)}은 Zn²⁺, Cu²⁺ 이온이 케르세틴, 카테킨과 루틴의 카테콜 그룹과 안정한 금속착물을 형성한다고 보고하였다. 최근에 카테킨은 치아 부식의 원인균인 *Streptococcus mutans*에 항균효과가 있다고 보고한 바 있으며,⁹⁾ 브로모벤젠으로 간독성을 유발시킨 흰쥐 간장

[#]본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 063-850-6225 (팩스) 063-850-6225
(E-mail) shbaek@wonkwang.ac.kr

중에 존재하는 약물대사에 관여하는 효소들의 활성에 미치는 영향을 보고하였다.¹⁰⁾ 또한 녹차 추출물에 함유된 (+)-카테킨이 누드 마우스 피부에서 UVB에 의해서 손상된 피부조직에 미치는 영향 및 손상된 피부세포 증식과 세포사멸에 미치는 영향을 보고하였다.¹¹⁾ 녹차, 홍차, 우롱차 및 광범위하게 이용되는 티백에 존재하는 카테킨류가 oxygen radical absorbing capacity 분석법을 이용하여 항산화능을 비교하였다.¹²⁾ 이러한 연구결과에 의하면, 카드뮴(II)은 케르세틴과 (+)-카테킨의 카테콜 그룹에서 두 자리 리간드로서 착물형성이 이루어지리라 예측된다(Fig. 1).^{4,5)}

이에 본 연구는 정상세포에서 카드뮴 독성을 경감시킬수 있는 케르세틴, 케르씨트린과 (+)-카테킨의 최적농도와 여러 가지의 pH 수용액의 조건하에서, 카드뮴(II)-플라보노이드 착물의 형성 능력에 대한 화학량론적 관계를 확립하고자, 카드뮴(II)-플라보노이드 착물의 최적조건에 대한 농도를 측정하였기에 보고하는 바이다.

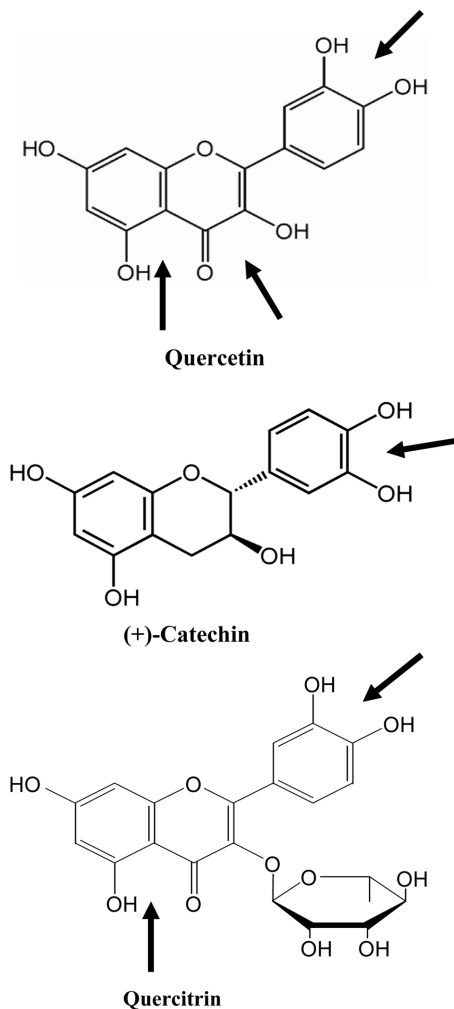


Fig. 1 – Representation and atomic numbering adopted for flavonoid. The arrows indicate the potential chelating sites.

실험방법

시약 및 기기

자외선-가시광선 분광 광도계는 Hewlett Packard사의 model HP 8453A를 사용하여, 시료를 일정한 농도로 메탄올에 녹인 후 190~700 nm까지 scanning하여 스펙트럼을 얻었다. 적외선 분광 광도계는 Jasco사의 model FT/IR 5300을 사용하였다. 카드뮴 착물의 분광화학적 측정은 케르세틴, (+)-카테킨, 염화 카드뮴, 수산화 나트륨, 암모니아, 염화 암모늄, 초산 나트륨, 초산, 염산 등의 화합물을 Aldrich회사에서 구입하여 사용하였다. 케르씨트린은 어성초에서 분리하여 사용하였다.⁶⁾

시료의 조제 및 처리

카드뮴과 시료의 착물을 측정하기 위한 pH 용액은 조제하여 사용하였으며,^{13,14)} 조제한 시료는 즉시 4°C 냉장고에 저장하였다가 사용직전에 10^{-2} ~ 10^{-5} mg/ml의 농도로 희석하여 실험하였으며, 카드뮴(CdCl_2)은 사용 당일일에 증류수로 녹여 1 mM의 농도를 stock solution으로 하여 필요한 농도를 희석하여 사용하였다.

카드뮴(II)용액

염화 카드뮴 1.833 mg을 1.0×10^{-6} M 수산화 나트륨(pH 8.0) 용액(1 ml)에 녹여 1.0×10^{-2} M 염화 카드뮴 용액이 되도록 조제한 후, 다시 1.0×10^{-2} M 염화 카드뮴 용액(1 ml)에 1.0×10^{-6} M 수산화 나트륨(pH 8.0) 용액(9 ml)를 첨가하여, 1.0×10^{-3} M 염화 카드뮴 용액을 희석하여 염화 카드뮴 용액을 농도별로 조제하였다. 위의 방법과 같이 1.0×10^{-2} M 암모니아(pH 10.6) 용액, 0.2 M 암모니아 - 0.2 M 염화 암모늄(pH 8.0) 용액, 0.2 M 초산 나트륨 - 0.2 M 초산(pH 4.0) 용액, 1.0×10^{-4} M 초산(pH 4.5) 용액, 1.0×10^{-4} M 염산(pH 4.0) 용액을 희석하여 염화 카드뮴 용액을 농도별로 조제하였다.

시료용액

시료를 1.0×10^{-6} M 수산화 나트륨(pH 8.0) 용액 1 ml에 녹여 1.0×10^{-2} M 시료가 되도록 조제한 후, 다시 1.0×10^{-4} M 시료 농도가 되도록 1.0×10^{-6} M 수산화 나트륨(pH 8.0) 용액으로 희석 조제하여 용액의 pH를 유지시켰다. 위와 같은 방법으로 1.0×10^{-2} M 암모니아(pH 10.6) 용액, 0.2 M 암모니아 - 0.2 M 염화 암모늄(pH 8.0) 용액, 0.2 M 초산 나트륨 - 0.2 M 초산(pH 4.0) 용액, 1.0×10^{-4} M 초산(pH 4.5) 용액, 1.0×10^{-4} M 염산(pH 4.0) 용액으로 1.0×10^{-4} M 시료용액을 조제하였다.

카드뮴 착물의 분광 화학적 측정

모든 스펙트라 측정은 실험용액의 액성 즉, pH 농도를 유지시켰으며, 온도는 17~20°C에서 실시하였다. 흡수 스펙트라의 측

정범위는 190~700 nm 범위에서 측정하였으며, 흡수 분광학적 방법에 의한 복합체의 결합비의 결정은 몰 비율법을 사용하였다.¹⁵⁾ 몰비법은 한 성분의 농도를 고정하고 다른 한 성분의 농도를 연속적으로 변화시켜 흡광도를 측정하는 것 즉, $[M]/[L]$ 을 바꾸면서 착물의 최대흡수 파장에서 흡광도를 측정하여 흡광도 변화와 반응물의 몰비를 도출하였다.¹⁶⁾

실험결과 및 고찰

카드뮴(II)-케르세틴의 최적농도

0.2 M 암모니아 - 0.2 M 염화 암모늄(pH 8.0) 용액에서도 몰 비율이 증가함에 따라 흡광도가 흡광감소 효과로 나타났으며, 흡광도가 307 nm, 350 nm, 372 nm, 423 nm의 4가지의 등흡광점은 약 1~3 nm 파장의 장파장 이동에서 나타난 중간단계의 활성 착물이라 생각된다.^{4,5)} 알카리 용액처럼 흡광도가 328 nm에서 카드뮴(II)과 케르세틴이 착물을 형성하였으며, 카드뮴 착물의 몰 비율이 1.0에서 1:1 착물이 형성됨을 알 수 있었다. 카드뮴 착물의 농도와 몰 흡광계수를 이용하여, 케르세틴과 카드뮴(II)이 1:1로 착물되는 최적농도는 알카리 용액에서 가장 낮은 최적농도로 54.72 μM 케르세틴($A = 1.00793$)임을 알 수 있었다. 카드뮴 착물은 $\lambda_1 = 485 \text{ nm}$, $\lambda_2 = 373 \text{ nm}$, $\lambda_3 = 313 \text{ nm}$ 이후에서 새로운 흡수 스펙트럼은 카드뮴 착물에 기인된 것으로 사료된다. 308 nm 이후에서는 농도가 증가할수록 흡광도는 흡광증가 효과의 현상이 나타났으며, 351 nm 이후에서는 농도가 증가할수록 흡광감소 효과로 관찰되었다(Fig. 3).^{4,5,17)} 0.2 M 초산 수산화 나

트륨 - 0.2 M 초산(pH 4.0) 산성 완충용액에서 306 nm, 351 nm, 371 nm, 421 nm의 4가지의 등흡광점은 다른 산성용액보다 약 3~5 nm 파장의 장파장 이동에서 나타난 중간단계의 활성착물이라 생각되며,^{4,5)} 카드뮴 착물의 농도와 몰 흡광계수를 이용하여, 카드뮴 착물의 최적농도가 54.53 μM 케르세틴($A = 1.00791$)으로 관찰되었으며, 이때 328 nm에서 카드뮴(II)과 케르세틴이 1:1로 착물이 형성되는 것을 알 수 있었다. 0.2 M 초산 나트륨 - 0.2 M 초산(pH 4.0) 완충 용액은 $\lambda_1 = 485 \text{ nm}$, $\lambda_2 = 376 \text{ nm}$, $\lambda_3 = 316 \text{ nm}$ 이후에서 새로운 흡수 스펙트럼은 카드뮴 착물에 기인된 것으로 사료된다. 348 nm 이후에 농도가 증가할수록 흡광도가 흡광감소 효과로 나타났으며, 352 nm 이후에서는 농도가 증가할수록 흡광증가 효과의 현상으로 나타났다(Fig. 4).^{4,5,17,18)} 이러한 최적농도는 초산 완충용액의 초산과 케르세틴의 H^+ 이온 해리작용의 경쟁반응에 기인되는 것으로 생각되며, 카드뮴(II)과 착물을 형성하는 두 자리 리간드를 갖는 카테콜 그룹의 음이온 형성이 감소되는 것으로 생각된다. Cornard 등⁵⁾은 알루미늄(III)의 경우는 카드뮴(II)과는 다르게, 염산 용액(pH = 2)에서 1:2의 안정한 알루미늄(III)-케르세틴 착물로 형성된다고 보고하였다.

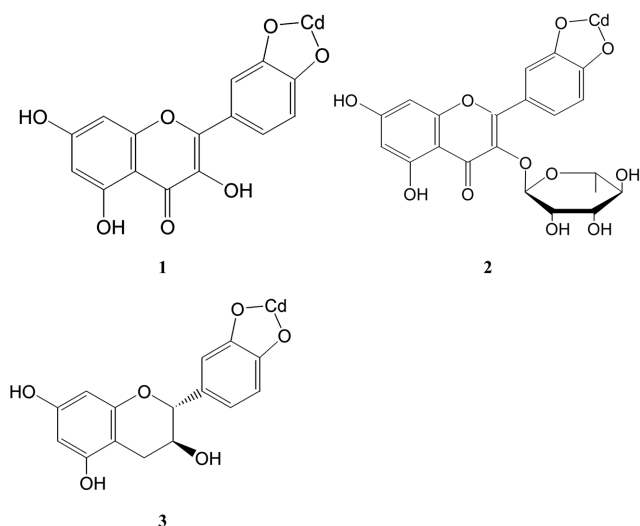


Fig. 2 - The proposed structures of 1:1 complex of cadmium (II) and flavonoids in the presence of 0.2 M NH_3 - 0.2 M NH_4Cl (pH 8.0) solution at $\lambda = 328 \text{ nm}$, $\lambda = 267 \text{ nm}$ and $\lambda = 281 \text{ nm}$. Cd(II)-quercetin complex (1), Cd(II)-quercitrin complex (2), and Cd(II)-(+)-catechin complex (3).

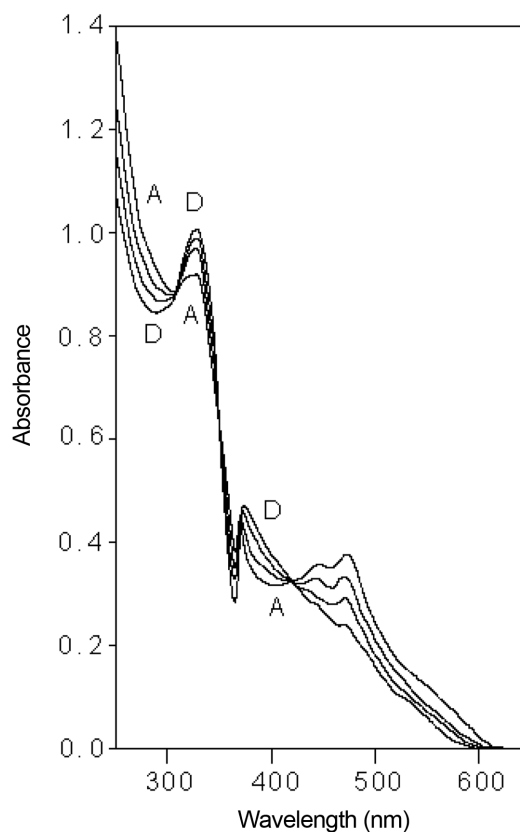


Fig. 3 - Electronic absorption spectra of 50 μM quercetin. a) 0.2 M NH_3 - 0.2 M NH_4Cl (pH 8.0) in the presence of various concentrations of cadmium (II) at $\lambda = 328 \text{ nm}$. b) $R = [\text{cadmium}]/[\text{quercetin}]$; $R = 0.0$ (A), 0.6 (B), 0.8 (C), and 1.0 (D).

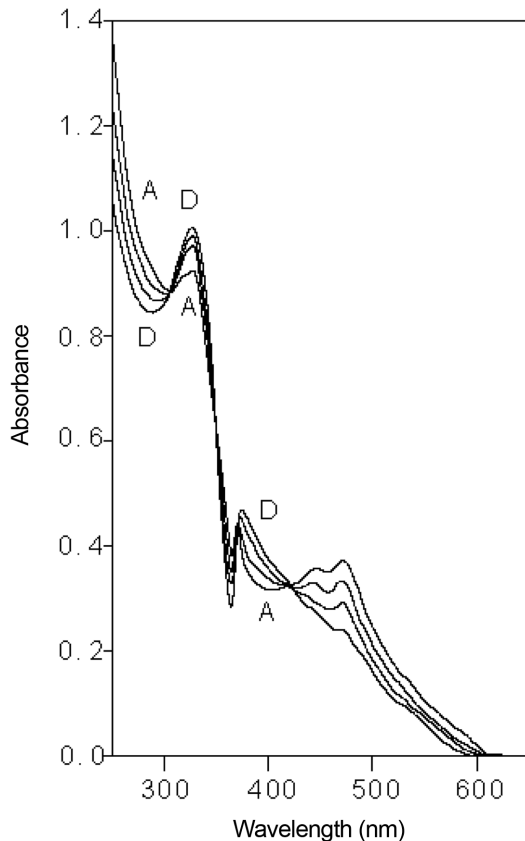


Fig. 4 – Electronic absorption spectra of 50 μM quercetin. a) 0.2 M NaOAc - 0.2 M CH_3COOH (pH 4.0) in the presence of various concentrations of cadmium (II) at $\lambda = 328\text{ nm}$. b) $R = [\text{cadmium}]/[\text{quercetin}]$; $R = 0.0$ (A), 0.6 (B), 0.8 (C), and 1.0 (D).

케르세틴에 카드뮴(II)을 농도별로 첨가하면 스펙트라가 변하는 것을 알 수 있었고, 이러한 스펙트라의 변화는 카드뮴(II)과 케르세틴간의 안정한 착물 형성에 의한 것으로 판단된다. 케르세틴과 카드뮴(II)을 pH 용액별 스펙트라의 변화를 몰 비율법에 도시한 결과에 의하면, 모든 농도에서 카드뮴(II)과 케르세틴의 몰 비율이 1.0이 되면 흡광도의 변화가 최대가 되고, 몰 비율이 높거나 낮으면 흡광도가 흡광감소 효과가 보였으며, 가장 안정된 분자구조의 착물을 형성하는 것으로 생각된다. 이는 카드뮴 착물이 형성될때에 카드뮴(II)의 4d 원자 궤도함수의 참여와 케르세틴의 B고리에서 γ -pyrone고리를 통해서 A고리로 낮은 전하이동이 일어나며, 이때에 ligand-to-metal charge transfer로 인한 장파장 효과를 나타낸다고 생각된다. 카드뮴 착물이 형성될때에 리간드로서 케르세틴이 평면구조를 이루어, catecholate 그룹에서 카드뮴(II)과 배위공유결합을 이루어, 이때에 $\text{C}_3'\text{O}_3'$ 와 $\text{C}_4'\text{O}_4'$ 의 결합길이는 감소하는 반면, $\text{O}_3'\text{Cd}$ 와 $\text{O}_4'\text{Cd}$ 의 결합길이는 증가하리라 생각된다(Fig. 2).^{4,5)} 카드뮴(II) 착물형성의 최적농도는 0.2 M 암모니아 - 0.2 M 염화 암모늄(pH 8.0) 완충용액이 다른

알칼리 용액보다 낮은 최적농도에서 카드뮴(II)착물이 이루어졌다. 0.2 M 초산 나트륨 - 0.2 M 초산(pH 4.0) 산성 완충용액은 염기성 완충용액과 같은 과정에서 케르세틴과 카드뮴(II)이 1:1로 착물이 형성되었으며, 0.2 M 암모니아 - 0.2 M 염화 암모늄 (pH 8.0) 용액에서 카드뮴 착물의 최적농도(54.72 μM)보다 약 0.19 μM 농도보다 낮은 최적농도에서 관찰되었다. 산성 완충용액이 염기성 완충용액보다 카드뮴(II) 착물의 최적농도가 낮은 것은 케르세틴의 3',4'-dihydroxyl function에서 탈 수산화 반응하는 리간드 기능으로 생각된다(Fig. 2, Table I).^{4,18)}

카드뮴(II)-케르세틴의 최적농도

0.2 M 암모니아 - 0.2 M 염화 암모늄(pH 8.0) 용액에서는 흡광도가 274 nm 이후에서 몰 비율이 증가함에 따라 흡광도는 흡광증가 효과가 나타났으며, 흡광도가 251 nm, 354 nm, 370 nm의 세 가지의 등흡광점이 관찰된 것은 이들 반응과정에서 나타난 중간단계의 활성착물이 나타났다. 흡광도가 268 nm에서 카드뮴(II)과 케르세틴이 1:1로 착물이 형성되는 것으로 나타났으며, 착물의 농도와 몰 흡광계수를 이용하여 이때의 농도가 53.52 μM ($A = 1.25719$)임을 알 수 있었으며, $\lambda_1 = 370\text{ nm}$, $\lambda_2 = 270\text{ nm}$ 이후에서 새로운 흡수대가 나타났다(Fig. 5). 0.2 M 초산 나트륨 - 0.2 M 초산(pH 4.0) 용액에서 착물의 농도와 몰 흡광계수를 이용하여 53.07 μM ($A = 1.25180$)의 농도로 266 nm에서 케르세틴과 카드뮴(II)이 1:1로 착물이 형성되는 것을 알 수 있었으며, 271 nm 이후에서 농도가 증가할수록 흡광도는 흡광증가 효과로 나타났다. 251 nm, 354 nm, 369 nm에서 등흡광점이 관찰되었으며, $\lambda_1 = 370\text{ nm}$, $\lambda_2 = 270\text{ nm}$ 이후에서 새로운 흡수대가 나타났다(Fig. 6). 케르세틴과 같이 등흡광점이 0.2 M 암모니아 - 0.2 M 염화 암모늄(pH 8.0) 용액은 $1.0 \times 10^{-6}\text{ M}$ 수산화 나트륨(pH 8.0)용액보다 장파장이동 효과가 된 것을 알 수 있었으며, 용액의 pH가 증가할수록 흡수 스펙트럼은 장파색 효과가 관찰되었다. 케르세틴에 카드뮴(II)을 농도별로 첨가하면 스펙트라가 변하는 것을 알 수 있었으며, 이러한 스펙트라의 변화는 카드뮴(II)과 케르세틴간의 안정한 착물 형성에 기인된 것으로 생각된다. pH 변화에 따른 스펙트라의 변화를 몰 비율법으로 도시한 것으로 카드뮴(II)과 케르세틴의 몰 비율이 1.0이 되면 흡광도의 변화가 최대가 되고, 몰 비율이 높거나 낮으면 흡광도가 낮게 나타났다. 몰 비율이 1.0에서 안정한 분자구조적 착물을 형성하였으며, 이 때 1단계는 산-염기 반응을 나타내고 2단계는 착물 반응 즉, 치환반응을 나타냈으며, 카드뮴(II) 이온과 케르세틴의 3',4'-dihydroxyl function의 두 자리 리간드와 고리를 형성하여 안정한 카드뮴(II) 착화합물을 형성하였다(Fig. 2, Table I).^{15,17-19)}

카드뮴(II)-(+)-카테킨의 최적농도

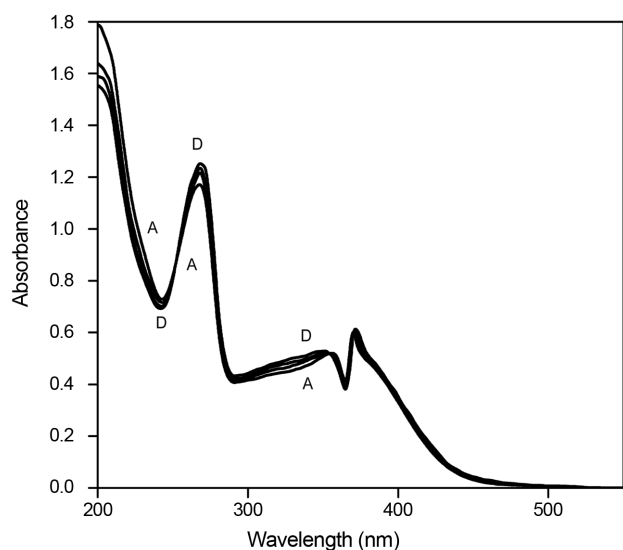
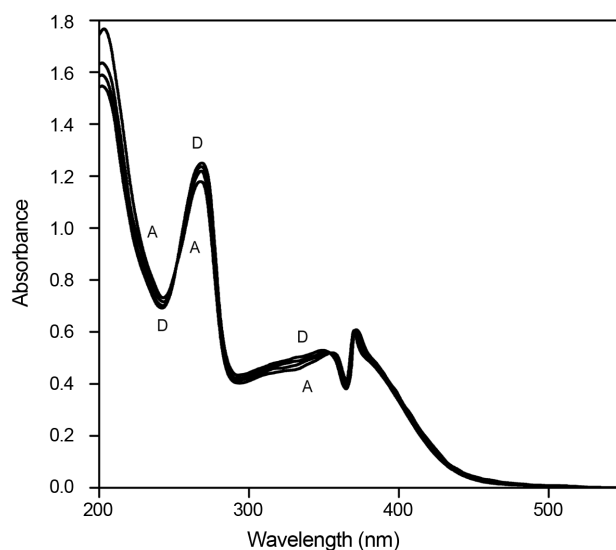
케르세틴의 C고리에 4-carbonyl그룹과 2번과 3번탄소에 2중결

Table I – Spectral parameters of quercetin and its cadmium complex in aqueous of solution at various pH

pH Solvent		0.0 (A)	0.2	0.4	0.6 (B)	0.8 (C)	1.0 (D)	1.2	1.4	1.6	1.8	2.0
1.0×10 ⁻⁶ M NaOH pH 8.0	A	0.91656	0.93495	0.95234	0.97052	0.98891	1.00780	0.99971	0.99167	0.98282	0.97499	0.96680
	λ (nm)	328	326	326	326	326	326	326	326	326	326	326
	C (μM)		50.00	51.95	52.94	53.95	54.98	54.54	54.10	53.62	53.19	52.74
1.0×10 ⁻² M NH ₃ pH 10.6	A	0.91831	0.93597	0.95458	0.97212	0.98991	1.00788	0.99980	0.99171	0.98393	0.97564	0.96793
	λ (nm)	328	328	328	328	328	328	328	328	328	328	328
	C (μM)		50.96	51.98	52.93	53.90	54.88	54.44	54.00	53.57	53.12	52.70
0.2 M NH ₃ - 0.2 M NH ₄ Cl pH 8.0	A	0.92092	0.93814	0.95579	0.97298	0.99012	1.00793	0.99989	0.99207	0.98478	0.97640	0.96861
	λ (nm)	328	328	328	328	328	328	328	328	328	328	328
	C (μM)		50.94	51.89	52.83	53.81	54.72	54.29	53.86	53.47	53.01	52.59
0.2 M NaOAc - 0.2 M CH ₃ COOH pH 4.0	A	0.92414	0.93999	0.95659	0.97321	0.99103	1.00791	0.99999	0.99209	0.98487	0.97672	0.96872
	λ (nm)	326	328	328	328	328	328	328	328	328	328	328
	C (μM)		50.86	51.76	52.66	53.62	54.53	54.10	53.68	53.29	52.85	52.41
1.0×10 ⁻⁴ M CH ₃ COOH pH 4.5	A	0.93841	0.95030	0.96232	0.97400	0.98594	0.99761	0.99345	0.98894	0.98568	0.98137	0.97806
	λ (nm)	324	324	324	324	324	324	324	324	324	324	324
	C (μM)		50.63	51.27	51.90	52.53	53.15	52.93	52.69	52.52	52.29	51.22
1.0×10 ⁻⁴ M HCl pH 4.0	A	0.94522	0.95511	0.96501	0.97459	0.98453	0.99413	0.99123	0.98838	0.98655	0.98348	0.98122
	λ (nm)	323	323	323	323	323	323	323	323	323	323	323
	C (μM)		50.52	51.05	51.55	52.08	52.59	52.43	52.28	52.19	52.02	51.90

A: Absorbance; λ: Wavelength; C: Micromolar concentration

R = [Cd]/[Quercetin]; 0.0 (A), 0.2, 0.4, 0.6 (B), 0.8 (C), 1.0 (D), 1.2, 1.4, 1.6, 1.8, 2.0.

**Fig. 5** – Absorption spectra of quercitrin (50 μM) at 0.2 M NH₃ - 0.2 M NH₄Cl (pH 8.0) in the presence of various concentrations of cadmium. R = [cadmium]/[quercitrin]; R = 0.0 (A), 0.6 (B), 0.8 (C), and 1.0 (D).**Fig. 6** – Absorption spectra of quercitrin (50 μM) at 0.2 M NaOAc - 0.2 M CH₃COOH (pH 4.0) in the presence of various concentrations of cadmium. R = [cadmium]/[quercitrin]; R = 0.0 (A), 0.6 (B), 0.8 (C), and 1.0 (D).

합이 없으며, C고리와 B고리에 conjugation이 없는 (+)-카테킨의 카드뮴(II) 착물형성에 최적조건을 확립하기 위하여, 0.2 M 암모니아 - 0.2 M 염화 암모늄(pH 8.0) 용액에서는 252 nm 이후에서 물 비율이 증가함에 따라 흡광도는 흡광증가 효과로 나타났으며, 250 nm와 263 nm에서 2가지의 등흡광점은 약 1~3 nm 파장의 장파장 이동에서 나타난 중간단계의 활성착물이라 생각된다.

다. 흡광도가 281 nm에서 카드뮴(II)과 (+)-카테킨이 착물을 형성하는 것은 물 분율이 1.0에서 1:1 착물이 형성됨을 알 수 있었으며, 착물의 농도와 물 흡광계수를 이용하여 이때의 55.27 μM (+)-카테킨으로 가장 높은 흡광도(A = 1.32217)를 관찰할 수 있었으며, λ₁ = 250 nm 이후에서 나타난 새로운 흡수 스펙트럼은 카드뮴 착물에 기인된 것으로 사료된다(Fig. 7). 0.2 M 초산 나

Table II – Spectral parameters of quercitrin and its cadmium complex in aqueous of solution at various pH

Ph solvent		0.0 (A)	0.2	0.4	0.6 (B)	0.8 (C)	1.0 (D)	1.2	1.4	1.6	1.8	2.0
1.0×10^{-6} M NaOH pH 8.0	A	1.17441	1.19118	1.20593	1.22178	1.23841	1.25432	1.24454	1.23482	1.22488	1.21219	1.19999
	λ (nm)	268	267	267	267	267	267	267	267	267	267	267
	C (μ M)		50.71	51.34	52.02	52.72	53.40	52.99	52.57	52.15	51.61	51.09
1.0×10^{-2} M NH_3 pH 10.6	A	1.17451	1.19153	1.20788	1.22414	1.24008	1.25651	1.24625	1.23511	1.22452	1.21334	1.20262
	λ (nm)	268	268	268	268	268	268	268	268	268	268	268
	C (μ M)		50.73	51.42	52.11	52.79	53.49	53.05	52.58	52.13	51.65	51.20
0.2 M NH_3 - 0.2 M NH_4Cl pH 8.0	A	1.17460	1.19190	1.20800	1.22490	1.24102	1.25719	1.24659	1.23536	1.22461	1.21546	1.20574
	λ (nm)	267	268	268	268	268	268	268	268	268	268	268
	C (μ M)		50.74	51.42	52.14	52.98	53.52	53.06	52.59	52.13	51.74	51.33
0.2 M NaOAc - 0.2 M CH_3COOH pH 4.0	A	1.17950	1.19431	1.20788	1.22361	1.23768	1.25180	1.24358	1.23140	1.22686	1.21842	1.21008
	λ (nm)	266	267	267	267	267	267	267	267	267	267	267
	C (μ M)		50.63	51.20	51.87	52.47	53.07	52.72	52.20	52.01	50.20	51.30
1.0×10^{-4} M CH_3COOH pH 4.5	A	1.19252	1.20210	1.21215	1.22332	1.23109	1.24009	1.23720	1.23149	1.22781	1.22392	1.21929
	λ (nm)	264	264	264	264	264	264	264	264	264	264	264
	C (μ M)		50.40	50.82	51.29	51.62	52.00	51.87	51.63	51.48	51.32	51.12
1.0×10^{-4} M HCl pH 4.0	A	1.19992	1.20798	1.21568	1.22320	1.23094	1.23845	1.23564	1.23214	1.22930	1.22683	1.22379
	λ (nm)	261	261	261	261	261	261	261	261	261	261	261
	C (μ M)		50.34	50.66	50.97	51.29	51.61	51.49	51.34	51.22	51.12	51.00

A: Absorbance; λ : Wavelength; C: Micromolar concentration

R = [Cd]/[quercitrin]; 0.0 (A), 0.2, 0.4, 0.6 (B), 0.8 (C), 1.0 (D), 1.2, 1.4, 1.6, 1.8, 2.0.

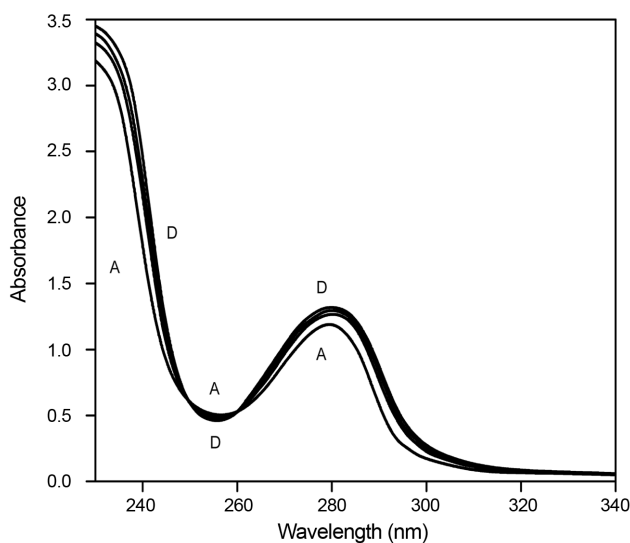


Fig. 7 – Absorption spectra of 50 μ M (+)-catechin. a) 0.2 M NH_3 - 0.2 M NH_4Cl (pH 8.0) in the presence of various concentrations of cadmium (II) at $\lambda = 281$ nm. b) R = [cadmium]/[catechin]; R = 0.0 (A), 0.6 (B), 0.8 (C), and 1.0 (D).

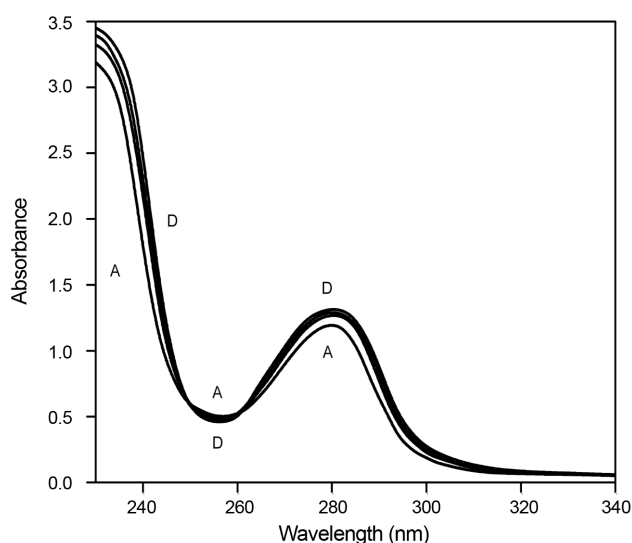


Fig. 8 – Absorption spectra of 50 μ M (+)-catechin. a) 0.2 M NaOAc - 0.2 M CH_3COOH (pH 4.0) in the presence of various concentrations of cadmium (II) at $\lambda = 280$ nm. b) R = [cadmium]/[catechin]; R = 0.0 (A), 0.6 (B), 0.8 (C), and 1.0 (D).

트립 - 0.2 M 초산(pH 4.0) 완충용액에서는 280 nm에서 (+)-카테킨과 카드뮴(II)이 1:1로 착물이 형성되는 것을 알 수 있었으며, 착물의 농도와 몰 흡광계수를 이용하여 이때의 최적농도는 54.93 μ M(A = 1.31722)로 측정되었다. 249 nm와 261 nm에서 2가지의 등흡광점은 다른 산성용액보다 약 2~3 nm 파장의 장파장 이동에서 나타난 중간단계의 활성착물이라 생각되며, 250 nm

이후에서 몰 비율이 증가함에 따라 흡광도는 흡광증가 효과로 나타났다. $\lambda_1 = 251$ nm에서 나타난 새로운 흡수 스펙트럼은 카드뮴 착물에 기인된 것으로 사료된다(Fig. 8). (+)-카테킨이 다른 플라보노이드보다 카드뮴(II)과 착물을 형성할 수 있는 높은 최적농도는 (+)-카테킨의 C고리의 포화된 시그마 결합골격의 분자 구조와 B고리에 위치한 두 자리 리간드를 갖는 3'4'-dihydroxyl

Table III - Spectral parameters of (+)-catechin and its cadmium complex in aqueous of solution at various pH

pH Solvent		0.0 (A)	0.2	0.4	0.6 (B)	0.8 (C)	1.0 (D)	1.2	1.4	1.6	1.8	2.0
1.0×10 ⁻⁶ M NaOH pH 8.0	A	1.19391	1.21983	1.24653	1.27001	1.29509	1.32076	1.30248	1.28477	1.26729	1.25100	1.23283
	λ (nm)	281	280	280	280	280	280	280	280	280	280	280
	C (μM)		51.09	52.20	53.18	54.24	55.31	54.55	53.81	53.07	52.39	51.63
1.0×10 ⁻² M NH ₃ pH 10.6	A	1.19486	1.22002	1.24673	1.27021	1.29734	1.32126	1.30325	1.28583	1.26864	1.25146	1.23553
	λ (nm)	280	280	280	280	280	280	280	280	280	280	280
	C (μM)		51.05	52.17	53.15	54.29	55.29	54.54	53.81	53.09	52.37	51.70
0.2 M NH ₃ - 0.2 M NH ₄ Cl pH 8.0	A	1.19602	1.22009	1.24695	1.27070	1.29997	1.32217	1.30451	1.28786	1.27070	1.25430	1.23813
	λ (nm)	280	281	281	281	281	281	281	281	281	281	281
	C (μM)		50.01	52.13	53.12	54.35	55.27	54.54	53.84	53.12	52.44	51.76
0.2 M NaOAc - 0.2 M CH ₃ COOH pH 4.0	A	1.19894	1.22199	1.24584	1.27001	1.29324	1.31722	1.30214	1.28655	1.27124	1.25695	1.24215
	λ (nm)	280	280	280	280	280	280	280	280	280	280	280
	C (μM)		50.96	51.96	52.96	53.93	54.93	54.30	53.65	53.02	52.42	51.80
1.0×10 ⁻⁴ M CH ₃ COOH pH 4.5	A	1.21618	1.23543	1.25367	1.27458	1.29295	1.31421	1.30213	1.28558	1.27447	1.26532	1.25251
	λ (nm)	278	278	278	278	278	278	278	278	278	278	278
	C (μM)		50.79	51.54	52.40	53.16	54.03	53.53	52.85	52.40	52.02	51.49
1.0×10 ⁻⁴ M HCl pH 4.0	A	1.22132	1.23874	1.25412	1.26971	1.28639	1.30379	1.29458	1.28548	1.27683	1.26755	1.25841
	λ (nm)	277	277	277	277	277	277	277	279	277	277	279
	C (μM)		50.71	51.34	51.98	52.66	53.38	53.00	52.63	52.27	51.89	52.51

A: Absorbance; λ: Wavelength; C: Micromolar concentration

R = [Cd]/[(+)-catechin]; 0.0 (A), 0.2, 0.4, 0.6 (B), 0.8 (C), 1.0 (D), 1.2, 1.4, 1.6, 1.8, 2.0.

그림의 탈 수소화 작용을 억제하는 것으로 생각된다.^{4,5,17,18} (+)-카테킨에 카드뮴(II)을 농도별로 첨가하게 하면 스펙트라가 변하는 것을 알 수 있었고, 이러한 스펙트라의 변화는 카드뮴(II)과 (+)-카테킨간의 안정한 착물 형성에 기인한 것으로 생각된다. pH 변화에 따라 (+)-카테킨과 카드뮴(II)이 1:1로 착물이 형성되는 흡광점에서의 스펙트라 변화를 몰 비율법으로 도식한 것이며, 측정된 결과에 의하면, 카드뮴(II)과 (+)-카테킨의 몰 비율이 1.0이 되면 흡광도의 변화가 최대가 되고, 몰 비율이 높거나 낮으면 흡광도가 낮게 관찰되었다. (+)-카테킨과 카드뮴(II)간의 착물형성되는 1단계로 산-염기 반응, 2단계는 착물반응을 나타냈으며, 카드뮴(II)과 (+)-카테킨의 B고리에 위치한 두 자리 리간드를 갖는 3',4'-dihydroxy이온과 결합하여 안정한 카드뮴(II)착화합물을 형성하였으며, 몰 비율이 1.0에서 가장 안정된 분자구조의 착물을 형성하는 것으로 생각된다(Table III).^{19,20}

카드뮴(II)-케르세틴의 착물이 형성될때 케르세틴이 평면구조와 B고리와 γ-pyrone고리의 conjugation를 통해서 A고리로 낮은 전하이동에 기인하며, 카드뮴(II)-케르세틴의 최적농도가 카드뮴(II)-케르세틴 보다 낮은 최적농도는 C고리의 3-rhamnopyranoside에 기인된 용해도 현상으로 생각된다. 카드뮴(II)-(+)-카테킨 착물은 (+)-카테킨이 평면구조를 이루지 않으며, B고리와 A고리를 잇는 중간단계의 C고리의 포화에 기인되어, 최적농도가 가장 높게 측정되었다. 카드뮴(II)-케르세틴과 카드뮴(II)-케르세틴의 착물 형성처럼, 카드뮴(II)-(+)-카테킨의 착물형성시에도 카드뮴(II)의 4d 원자 궤도함수의 참여가 이루어지며, 케르세틴,

케르세틴과는 달리 (+)-카테킨 B고리의 p 궤도함수에 따른 파 이 전자의 방향족 화합물의 전자운에 의한 배위결합이 형성되리라 생각된다. 따라서 카드뮴(II)-(+)-카테킨 착물은 높은 최적농도에서 이루어지며, 착물의 형성능력은 카드뮴(II)-케르세틴과 카드뮴(II)-케르세틴의 착물의 형성능력보다 낮은 안정도상수가 측정되리라 사료된다.²¹ 카드뮴(II)-플라보노이드 착물의 최적농도는 카드뮴(II)-(+)-카테킨 > 카드뮴(II)-케르세틴 > 카드뮴(II)-케르세틴 순서로 감소되었다. 카드뮴(II)-플라보노이드 착물의 최적농도가 염기성 완충용액보다 산성 완충용액에서 더 낮은 최적농도는 리간드와 완충용액사이의 경쟁반응에 기인하는 것으로 사료된다.²²⁻²⁴ 카드뮴(II)-케르세틴 착물은 카드뮴의 독성을 억제할 수 있는 리간드 화합물로서, 케르세틴은 유용한 생리활성물질로 평가될 수 있으리라 생각된다. 앞으로 여러 가지의 pH 수용액에서 중금속과 플라보노이드 화합물의 화학량론적인 관계와 금속착물에 대한 분광학적인 구조와 메카니즘의 규명, 금속착물의 분자구조에 따른 활성관계는 연구할 가치가 있다고 사료된다.

결 론

어성초에 함유되어 있는 케르세틴, 케르세틴과 (+)-카테킨은 분자구조에 따른 카드뮴(II)과 착물의 형성능력에 따른 연구 결과에 의하면, 케르세틴을 0.2 M 암모니아 - 0.2 M 염화 암모늄 pH 8.0 완충용액으로 328 nm에서 카드뮴(II)-케르세틴의 1:1 착

물 형성의 최적농도는 54.72 μM 케르세틴으로 관찰되었다. 케르세틴은 암모니아(pH 8.0, $\lambda = 268 \text{ nm}$)완충용액에서 카드뮴(II)-케르세틴의 1:1 착물 형성의 농도는 53.52 μM 케르세틴으로 관찰되었지만, (+)-카테킨은 281 nm에서 케르세틴과 케르세틴 농도보다 높은 55.27 μM (+)-카테킨에서 카드뮴(II)-(+)카테킨 착물(1:1)이 형성됨을 알 수 있었다. 카드뮴(II)-케르세틴의 최적농도가 카드뮴(II)-케르세틴보다 낮은 최적농도는 C고리의 3-rhamnopyranoside에 기인된 용해도 현상으로 사료되며, 카드뮴(II)-(+)카테킨의 가장 높은 최적농도는 C고리와 B고리에 unconjugation에 기인하는 것으로 생각된다. 카드뮴(II)-플라보노이드 착물의 형성능력에 대한 최적농도는 55.27 μM (+)-카테킨(A = 1.32217) > 54.72 μM 케르세틴(A = 1.00793) > 53.52 μM 케르세틴(A = 1.25719) 의 감소순서로 안정한 착물구조를 이룬다. 이러한 연구결과에 의하면, 카드뮴(II)-플라보노이드의 착물형성 능력은 페놀분자의 hydroxyl그룹의 위치와 수, pyrone 고리의 치환기와 포화에 영향을 미친다. 앞으로 카드뮴(II) 독성이 정상세포에 유발되었을 때, 케르세틴, 케르세틴과 (+)-카테킨 같은 플라보노이드 화합물을 처리하여, 세포독성을 경감시킬 수 있는 다양한 연구는 필요하리라 생각된다.

참고문헌

- Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Marin, F. R., Ortuno, A. and Del-Rio, J. A. : *J. Agric. Food Chem.* **45**, 4505 (1997).
- Moreira, A. J., Fraga, C., Alonso, M., Collado, P. S., Zettler, C., Marroni, C., Marroni, N. and Gonzalez-Gallego, J. : Quercetin prevents oxidative stress and NF-kB activation in gastric mucosa of portal hypertensive rats. *Biochem. Pharmacol.* **68**, 1939 (2004).
- Souza, R. F. V. D. and Giovani, W. F. D. : Antioxidant properties of complexes of flavonoids with metal ions. *Redox Report* **9**, 97 (2004).
- Cornard, J. P., Dangleterre, L. and Lapouge, C. : Computational and spectroscopic characterization of the molecular and electronic structure of the Pb(II)-quercetin complex. *J. Phys. Chem. A* **109**, 10044 (2005).
- Cornard, J. P. and Merlin, J. C. : Spectroscopic and structural study of complexes of quercetin with Al(III). *J. Inorg. Biochem.* **92**, 19 (2002).
- Lee, J. H., Lee, K. N., Lee, C. W., Chun, H. J., You, J. S., Lim, J. A and Baek, S. H. : The inhibitory effects of quercitrin from *Houttuynia cordata* against cadmium induced cytotoxicity (VII). *J. Kor. Chem. Soc.* **47**, 175 (2003).
- Le Nest, G., Caille, O., Woudstra, M., Roche, S., Burlat, B., Guerlesquin, F. and Lexa, D. : Zn-polyphenol chelation: complexes with quercetin, (+)-catechin, and derivatives: I optical and NMR studies. *Inorg. Chim. Acta* **357**, 775 (2004).
- Le Nest, G., Caille, O., Woudstra, M., Roche, S., Burlat, B., Belle, V., Guerlesquin, B. and Lexa, D. : Zn-polyphenol chelation: complexes with quercetin, (+)-catechin, and derivatives: II Electrochemical and EPR studies. *Inorg. Chim. Acta* **357**, 2027 (2004).
- Park, S. N. and Jin, D. C. : Antimicrobial effect of (-)-catechin and (-)-epicatechin on *Streptococcus mutans*. *Oral Biol. Res.* **30**, 17 (2006).
- Hur, J. M., Kim, I. H. and Park, J. C. : Hepatoprotective effect of catechin isolated from the root of *Rosa rugosa* Thunb. *Kor. J. Medicinal Crop. Sci.* **15**, 21 (2007).
- Lee, E. H., Lee, J. K., Hong, J. T., Jung, K. M., Kim, Y. K., Lee, S. H., Chung, S. Y. and Lee, Y. W. : Protective effect of green tea extract, catechin on UVB-induced skin damage. *J. Fd. Hyg. Safety* **16**, 117 (2001).
- 이민준, 권대중, 박옥진 : 국내 시판되는 녹차, 우롱차 및 홍차의 카테킨 함량과 항산화능 비교. *한국식생활문화학회지* **22**, 449 (2007).
- Dean, J. A. : Lange's Handbook of Chemistry. McGraw-Hill Book Company, p. 90 (1985).
- Oxtoby, D. W. and Freeman, W. A. : Chemistry: Science of Change, 3rd eds. Saunders Golden Sunburst Series, p. 317 (1998).
- Skoog, D. A., West, D. and Holler, F. J. : Fundamentals of Analytical Chemistry, 6th. ed, Saunders College Publishing, p. 22 (1992).
- Bullatov, M. I. and Kalinkin, I. P. K. : Practical Manual of Photometric Analysis, Chemistry, 5th ed., Leningrad (1986).
- Lee, J. H., Shin, S. W. and Baek, S. H. : Optimum concentration of the Cd(II)-quercetin complexation reaction. *J. Phram. Soc. Korea* **53**, 235 (2009).
- Lee, J. H., Shin, S. W. and Baek, S. H. : Complexation studies for cadmium (II) with quercetin and (+)-catechin. *J. Pharm. Soc. Korea* **53**, 342 (2009).
- Choi, J. H. and Rhee, S. J. : Effects of green tea catechin on cadmium accumulation in chronic cadmium poisoned rats. *Kor. Nutr. Soc.* **34**, 384 (2001).
- 우원식 : 천연물화학 연구법, 서울대학교 출판부, p. 30 (2001).
- Esparza, I., Salinas, I., Santamaria, C., Garcia-Mina, J. M. and Fernandez, J. M. : Electrochemical and theoretical complexation studies for Zn and Cu with individual polyphenols. *Anal. Chim. Acta* **543**, 267 (2005).
- Bernal, M., Garcia-Vazquez, J. A., Romero, J., Gomez, C., Duran, M. L., Sousa, A., Sousa-Pedrares, A., Rose, D. L., Maresca, K. P. and Zubieta, J. : Electrochemical synthesis of cobalt, nickel, copper, zinc and cadmium complex with N[(2-hydroxy phenyl)methylidene]-N-tosylbenzene-1,2-diamine. The crystal structures of {(1,10-phenanthroline)[N-(2-oxophenyl)-

- methylidene]-N-tosylbenzene-1,2-diaminato}nickel(II) and {(1,10-phenanthroline)[N-(2-oxophenyl)-methylidene]-N-tosylbenzene-1,2-diaminato}copper(II). *Inorg. Chem. Acta* **295**, 39 (1999).
- 23) Bodini, M. E., Copia, G., Tapia, R., Leighton, F and Herrera, L. : Iron complexes of quercetin in aprotic medium. Redox chemistry and interaction with superoxide anion radical. *Polyhedron* **18**, 2233 (1999).
- 24) Mira, L., Fernandez, M. T., Santos, R., Flore-Ncio, M. H. and Jennings, K. R.: Interactions of flavonoids with iron and copper ions: A mechanism for their antioxidant activity. *Free Rad. Res.* **36**, 1199 (2002).