

## 칠향(*Pueraria lobata*)꽃의 알콜데히드로게나제 활성화성분에 대한 연구

최정덕, 장윤중

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《...새로운 약초자원을 적극 찾아내고 그에 대한 연구사업을 강화하여 효능이 높은 고려약을 많이 만들어내도록 하여야 하겠습니까.》(《김정일선집》 증보판 제6권 156페이지)

칠향(*Pueraria lobata*)은 콩과(Fabaceae)의 칠향속(*Pueraria* D.C)에 속하는 여러해살이풀이다.

칠향꽃에는 플라보노이드, 사포닌, 정유, 비타민이 들어있다. 칠향꽃은 달고 서늘하며 술독을 풀고 갈증을 멈추며 비위를 든든하게 한다.[1, 2]

예로부터 칠향꽃을 술독을 푸는데 리용[1]하여왔지만 그속의 어떤 물질이 이러한 작용을 하는지는 알려지지 않았다.

칠향꽃우림물은 알콜데히드로게나제(ADH)를 활성화하여 알콜대사속도를 빠르게 한다.

이로부터 우리는 칠향꽃우림물로부터 ADH활성화성분을 분리하여 그 물성과 구조를 확인하기 위한 연구를 하였다.

### 재료와 방법

재료, 시약 및 기구 실험에 리용한 칠향꽃은 평양시 강동군에서 2015년 8~9월에 채취한것을 리용하였다. 시약으로는 메타놀(분석순), 클로로포름(분석순), 1% 염화제2철용액, 무수에 타놀(분석순),  $\text{NAD}^+$ (《上海化学试剂工厂》,  $\geq 100\text{U/mg}$ ),  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ (분석순),  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ (분석순), 젤라틴(분석순), 디메틸설폭시드(DMSO, 분석순), 효모ADH(《上海化学试剂工厂》,  $\geq 300\text{U/mg}$ ), HCl(분석순), 탑크로마토용흡착제로는 실리카겔 G를, 기구로는 회전증발기(《ZFQ85A》), 자외선분광광도계(《UV-8453》), 푸리에변환적외선분광기(《5DXC》), 액체결합질량스펙트르분석(ESI-MS)장치(《Finnigan-LCQ-DECA》)를 리용하였다.

칠향꽃의 우리기 메타놀랭침법으로 우리기를 진행하였다.

칠향꽃을 정선하여 건조기(50℃)에서 건조시키고 분쇄기로 분쇄하였다. 다음 칠향꽃가루 100g을 세번에 나누어 메타놀랭침하여 려액을 합치고 50mL 될 때까지 증발시켜 칠향꽃의 조엑스를 얻었다. 이 메타놀조엑스를 석유에테르층의 색깔이 무색에 이를 때까지 석유에테르로 몇번 씻고 석유에테르층을 제거한다. 다음 회전증발기로 농축하여 교체화된 10g정도의 농축물을 얻었다.

크로마토그래프법에 의한 ADH활성화성분의 분리 얇은층크로마토분석을 위하여  $\text{CHCl}_3$  :  $\text{CH}_3\text{OH}$ 를 7.5 : 1.5, 8 : 3, 6 : 3으로 한 전개용매를 만들고 칠향꽃우림물에 대한 전개를 진행하였으며  $\text{FeCl}_3$ 으로 분무하여 발색시켰다.

얇은층크로마토분석을 통하여 적합한 전개계통을 찾고 탑크로마토그래프를 리용하여 분

획화하였다. 탑크로마토분석에는  $\phi$  3cm $\times$ 45cm인 탑을 리용하였으며 가압구의 용적은 5 000mL이다. 먼저  $\text{CHCl}_3$  :  $\text{CH}_3\text{OH}$  8 : 3인 용액을 용출액으로 하여 얇은층크로마토를 통하여 얻은 류분을 분획화하였는데 분획체적은 10mL로 하였으며 매번 수집할 때마다  $\text{FeCl}_3$ 으로 분무하여 발색반응시켰다. 양성반응이 나타나지 않을 때까지 용출을 진행한다.

1차에서 얻은 일부 분획들가운데서 혼합물로 인정되는 분획들에 대하여  $\text{CHCl}_3$  :  $\text{CH}_3\text{OH}$ 의 비율을 달리한 용출액으로 다시 탑크로마토그래프를 진행하였다. 1차 및 2차 탑크로마토그래프분석에서 얻은 분획물질들에 대하여 ADH에 대한 활성화물을 측정하는 방법으로 ADH활성화성분을 선정하였다.

ADH에 대한 활성을 측정하는 방법은 다음과 같다.

같은 류분을 합친 다음 회전증발기에서 증발건조시킨 시료를 각각 10mg씩 나누어 취하고 다시 1mL의 DMSO를 넣어 농도가 0.01g/mL인 측정용액을 준비하였다. 시험관에 pH 8.5, 0.1mol/L 피로린산나트륨완충용액 1.5mL, 0.048 6mg/mL  $\text{NAD}^+$  1.0mL, 무수에타놀 0.5mL, 측정용액 0.1mL를 넣고 충분히 섞은 다음 25 $^{\circ}\text{C}$ 의 수욕에서 5min간 방치하고 꺼냈다. 0.375mg/mL ADH용액 0.05mL를 넣고 고루 흔든 다음 자외선분광광도계로 흡광도( $A_{345}$ )값을 측정하였다. 1min 간격으로 4min간 측정하였으며 공백대조에는 DMSO 0.1mL를 넣었다.

얻어진 분획물질들의 ADH에 대한 활성화작용을 검토한 결과(표) 시료 2를 제외한 나머지 물질들은 ADH의 활성을 억제한데 비하여 시료 2는 ADH의 활성을 높여주는 작용을 나타내었다. 그러므로 시료 2는 ADH의 활성을 높여주는 물질이라고 볼수 있다.

얻어진 물질에 대한 정성 및 구조 확인 시료 2에 대하여 물리적 및 화학적성질을 조사하였으며 적외선 및 질량스펙트르분석법[3, 4]을 리용하여 그 물질의 구조를 확정하였다.

표. 분리한 분획물질들이 ADH의 활성화에 미치는 영향

구분	농도 /(mg·mL <sup>-1</sup> )	ADH활성 /(mmol·L <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	억제률 /%	활성화률 /%
대조	0	0.126 9 $\pm$ 0.004 7		
시료 1	0.01	0.125 1 $\pm$ 0.010 3	1.42	—
시료 2	"	0.183 3 $\pm$ 0.013 8	—	44.4
시료 3	"	0.123 1 $\pm$ 0.004 9	3.0	—
시료 4	"	0.078 3 $\pm$ 0.004 9	38.3	—
시료 5	"	0.113 2 $\pm$ 0.001 3	10.8	—

## 결과 및 론의

물리적 및 화학적성질 시료 2에 해당하는 물질(이하 ADH활성화성분)은 누런색의 무정형 가루이며 메타놀, 클로로포름에 용해되고 녹음점은 173.1 $\sim$ 175.8 $^{\circ}\text{C}$ 이다. 얻은 물질은  $\text{FeCl}_3$ 과 반응하여 검은풀색을 나타냈으며 질은  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 과 반응하여 누런색을 나타내었다.

자외선분광분석 ADH활성화활성이 제일 높은 분획의 최대흡수는 265nm 근방에서 나타났으며 어깨흡수는 295nm 근방에서 나타나지만 미약하여 명백하지 않았다. 이것은 얻어진 물질이 5-OH가 유리되지 않은 이소플라본화합물이라는것을 보여준다.

얻은 물질의 구조확인 ADH활성화성분에 대한 적외선흡수스펙트르분석결과는 그림 1과 같다.

그림 1에서 보면 이 물질의 분자안에 유리OH기(3 353cm<sup>-1</sup>)와 메틸기(2 910, 2 847cm<sup>-1</sup>),  $\gamma$ -피론고리(1 651cm<sup>-1</sup>), 벤졸고리(1 609, 1 591cm<sup>-1</sup>) 및 C=O결합(1 291, 1 223, 1 061cm<sup>-1</sup>)이 존재한다는것을 알수 있다.

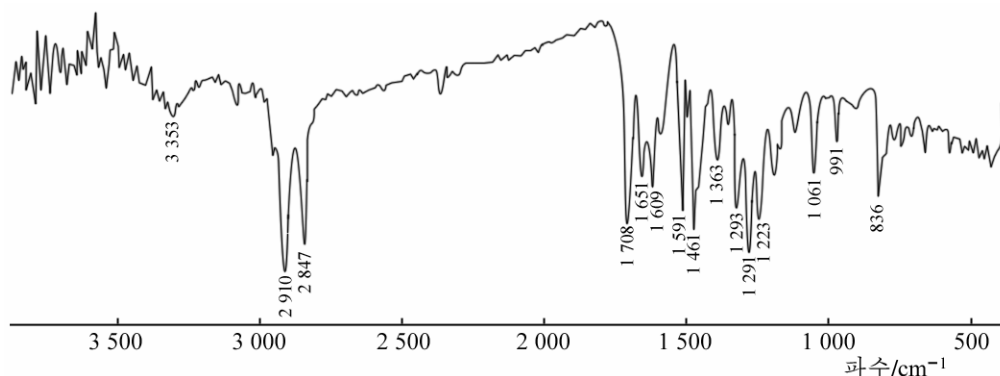


그림 1. 분리한 알콜무독화물질의 적외선흡수스펙트럼

ADH활성화성분의 ESI-MS스펙트럼을 분석한데 의하면  $300(M^+, 100)$ ,  $285(M^+ - Me, 65)$ ,  $(M^+ - H_2O, 47)$ ,  $271(8)$ ,  $257(M^+ - Me - CO)$ ,  $139(A_1 - 43, 13)$ ,  $131$ ,  $118(B_1, 22)$ ,  $110$ ,  $93$  등과 같은 특성봉우리가 나타났다. 이것은 이 물질이 이소플라보노이드이며 고리 A의 6, 7위치에  $-OCH_3$ ,  $-OH$ 가 있고 고리 B의 4'위치에  $-OH$ 가 있다는것을 보여준다.

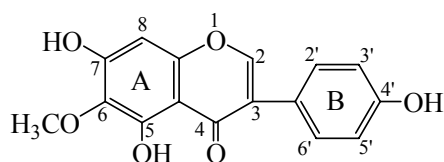


그림 2. 텍토리제닌의 구조

이상의 연구결과를 종합해보면 칩꽃에서 ADH를 활성화시키는 물질은 이소플라본계 화합물로서 그 구조를 선행연구결과[2]와 조사비교한 결과 텍토리제닌(tectorigenin, 그림 2)이었다.

## 참 고 문 헌

- [1] 문관심; 조선약초전서 3, 의학과학출판사, 237~244, 주체104(2015).
- [2] 王胜鹏; 中药药理与临床, 28, 2, 193, 2012.
- [3] 华卡; 中南药学, 10, 6, 435, 2012.
- [4] 尹俊亭; 中草药, 37, 3, 350, 2006.

주체105(2016)년 9월 5일 원고접수

## On Component activating the Alcohol Dehydrogenase from Flower of Kudzu (*Pueraria lobata*)

Choe Jong Dok, Jang Yun Jung

We extracted several matters from flower of kudzu with methanol and isolated a matter which activated the alcohol dehydrogenase(ADH) by chromatography, and confirmed the structure of matter by using infrared spectrum and mass spectra. As a result of analysis, this matter is tectorigenin.

Key words: kudzu flower, ADH, isoflavonoid, alcohol detoxication, tectorigenin