

선물레나물(*Hypericum perforatum* L.)에타놀추출물에서 히페르포린의 분리확인

박성철, 박철해

선물레나물(*Hypericum perforatum* L.)은 물레나물과(Hypericaceae)에 속하는 식물로서 여기에는 히페리진, 히페르포린을 비롯한 폴리페놀류, 플라보노이드, 유기산, 비타민 등 여러 가지 유용성분들이 들어있어 사람이나 동물유기체에서 항균 및 항비루스작용, 면역강화작용, 항산화작용, 항암작용, 항우울증작용, 진정 및 진통작용, 리노작용 등 많은 약리작용을 한다.[2]

우리 나라에서 선물레나물은 중부이남지대에서 재배하고있는데 아직까지 식물체전초 알콜추출물에서 주요활성성분으로 알려진 히페르포린을 분리확인한 연구자료는 제기된 것이 없다. 이로부터 우리는 선물레나물에서 히페르포린을 분리확인하기 위한 연구를 하였다.

재료 및 방법

2018년 10월에 수확한 선물레나물 식물체전초를 분석시료로 리용하였다.

개별물질확인에는 자외선분광광도계(《Specord M40 GDR》), 적외선분광광도계(《Shimadzu IR-420》), 질량스펙트럼분석장치(《JMS DX 300》), 녹음점측정장치(《Reichert Thermo》)를 리용하였다.

개별물질 II의 분리는 선행방법[3]을 참고하였다.

TLC(얇은층크로마토그래프)분석에서 흡착제로는 실리카겔G, 실루폴 UV-254(알루미늄판)을, 전개용매로는 클로로포름:초산에틸:메타놀(60:35:5 v/v/v)혼합용매를, 현색시약으로는 5% FeCl₃과 10% H₂SO₄용액을 리용하였다.

성분에 대한 단일성검토는 1차원 및 2차원 TLC에서 1개 반점이 나타나면 단일물질로 보고 물성을 검토하였다.

제조한 선물레나물에서 알콜추출물(HPEEt) 10g에 50mL의 초산에틸을 넣고 상온에서 이따금씩 저어주면서 3h씩 3회 추출하였다. 초산에틸을 회수하고 남은 초산에틸추출류분 12g을 적당한 량의 메타놀에 풀고 여기에 실리카겔G 12g을 넣고 혼합하여 건조시킨 다음 미리 준비한 실리카겔G를 채운 탑(φ 3.0cm×60cm)의 상단에 주입하였다. 여기에 클로로포름:초산에틸혼합용매(40:0)로 계단용출하였다. 매 용출단계에서 초산에틸농도를 3%씩 증가시키면서 100mL씩 용출하였다.

이 용출류분들을 20mL씩 받아 TLC분석을 진행하였다. 이동도(R_f)값이 같은 류분(류분 26—40, 물질 II)들을 합하고 2차탑크로마토그래프분리를 재차 진행하였다. 2차탑크로마토그래프에서는 II 성분에 대하여 클로로포름:초산에틸(9:1 v/v)을 용출용매로 리용하였다. 2차탑크로마토그래프를 통하여 얻은 물질 II를 전개용매인 클로로포름:초산에틸:메타놀(60:35:5 v/v/v)로 TLC에 전개시켜 단일성분이라는것을 확인하였다.

물질 II는 물리적 및 화학적인 방법과 함께 자외가시선흡수스펙트럼분석, 질량스펙트럼분석, 적외선스펙트럼분석, 수소핵자기공명스펙트럼분석으로 확인하였다.

결과 및 고찰

2차랍크로마토그래프를 통하여 얻은 물질Ⅱ를 전개용매인 클로로포름:초산에틸:메타놀(60:35:5 v/v/v)로 TLC에서 전개시켰을 때 얇은 층에서 단일성분으로 나타났다.(그림 1)

물질Ⅱ의 류분 300mL로부터 이동도가 0.66인 무색의 바늘모양결정 176mg을 얻었다.

물질Ⅱ의 확인 물질Ⅱ는 메타놀에서 결정화할 때 색이 없는 미세한 바늘모양결정으로서 녹음점은 360°C(MeOH)였다. 뜨거운 물과 에타놀, 메타놀에 쉽게 풀리고 클로로포름, 석유에테르, 벤졸에는 풀리지 않았다.

물질Ⅱ의 자외가시선(UV)흡수스펙트르분석결과 300nm (λ_{\max} , MeOH)에서 최대흡수신호가 나타났다.(그림 2)

물질Ⅱ의 IR(ν_{\max}^{KBr})스펙트르분석결과 3 400 cm^{-1} 에서 히드록실기(-OH), 3 180 cm^{-1} 에서 CH_n , 3 550~3 000 cm^{-1} 와 1 640 cm^{-1} 에서 C=O, 1 660, 1 590 cm^{-1} 에서 방향족고리, 1 460 cm^{-1} 에서 C-O, 1 360, 1 225 cm^{-1} 에서 C-O에 해당되는 흡수띠가 나타났다.

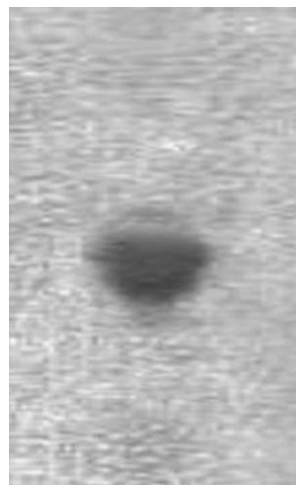


그림 1. 물질Ⅱ의 실리카겔G얇은층 크로마토그램

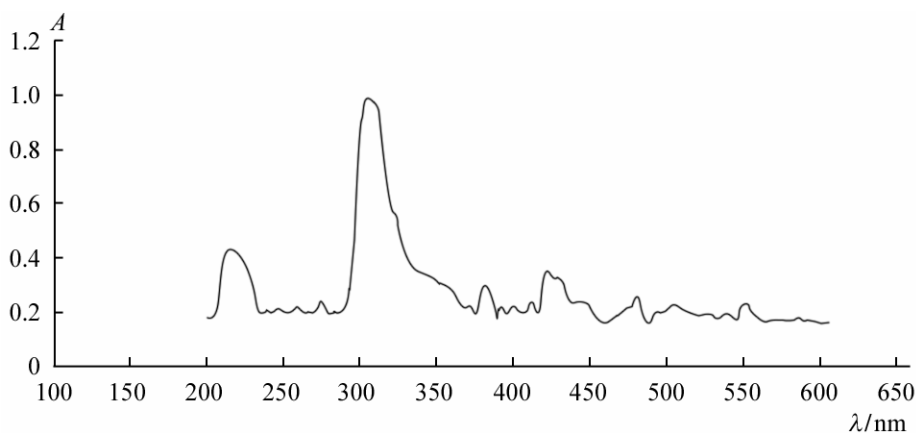


그림 2. 물질Ⅱ의 자외가시선흡수스펙트르

물질Ⅱ의 EI-MS(m/z (%))분석결과 548(100), 446, 447, 448, 461, 463, 464, 546, 573, 582, 585, 605, 606, 619에 특성봉우리들이 나타났다.(그림 3)

그림 3에서 보는바와 같이 $m/z=548$ 봉우리가 기준봉우리로 나타난것은 이 물질이 분자량이 548인 폴리페놀류라는것을 말하여준다.

또한 m/z 548의 봉우리는 I-경로분렬의 $[\text{A}, +\text{H}]^+$ 을 의미하며 m/z 516봉우리는 I-경로의 분렬과 II-경로의 분렬이 동시에 일어난다는것과 사슬고리에 11개의 CH_3 기가 결합되어 있다는것을 시사해준다.

물질Ⅱ의 ^1H NMR(CDCl_3 , $^\circ\text{H}$ (90MHz, ppm)) 결과 7.35(^1H , S), 6.62(^1H , S), 2.9~2.68(^2H , dd), 1.19~1.04(^3H , t)에서 특징적인 띠들이 나타났다.

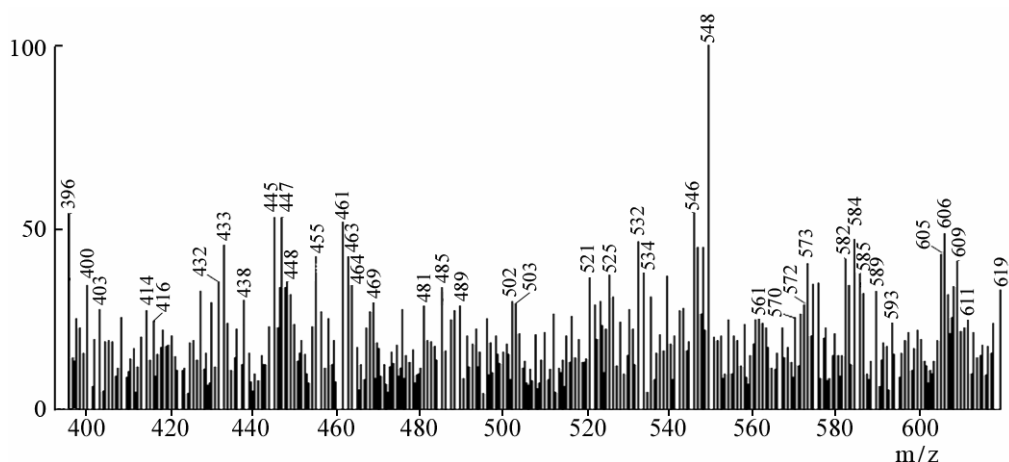


그림 3. 물질 II의 EI-MS

이상의 스펙트르자료들은 물질 II가 히페르포린(그림 4)이라는것을 증명해준다.

물질 II의 분석결과를 NIST표준자료기지[1]와 비교해본 결과 그것은 히페르포린의 자료와 일치하였다. 이로부터 우리는 물질 II를 히페르포린이라고 확정하였다.

이상의 분석결과들로부터 우리 나라에서 재배하고있는 선물레나물의 에타놀추출물속에 주요생리활성물질인 히페르포린이 들어있다는것을 확인하였다.

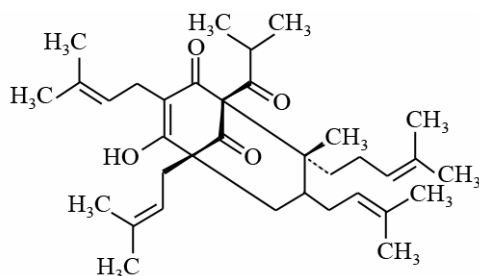


그림 4. 히페르포린

맺는 말

선물레나물에타놀추출물에서 히페르포린을 분리확인하였다.

참고문헌

- [1] A. G. Harrison et al.; Chemical Ionization Mass Spectrometry, CRC Press, 127~131, 2015.
- [2] K. Linde; Forsch Komplementmed, 16, 146, 2009.
- [3] 嵇杨 等; 中草药, 33, 9, 附5, 2002.

주제109(2020)년 4월 5일 원고접수

Isolation and Identification of Hyperforin from Ethanolic Extracts of *Hypericum perforatum* L.

Pak Song Chol, Pak Chol Hae

In recent years, *H. perforatum* has received increasing attention for the treatment of depression and other neuralgic disorders. The main constituents of *H. perforatum* extract include naphthodianthrone, phloroglucinols, flavonoids, essential oils and xanthenes.

We have isolated and identified the hyperforin in ethanolic extracts of *Hypericum perforatum* L.

Keyword: *Hypericum perforatum* L.