

초석잠(*Stachys sieboldii* MIQ.) 줄기와 뿌리 추출물의 특성분석과 아질산염 소거능에 대한 고찰

송승구, 백홍석, 장지영, 류병호*,
부산대학교 화학공학과, 경성대학교 식품 공학과*
전화 (051)510-3082, FAX(051)512-8563

Abstracts

This study was to search antioxidant constituents of ethyl acetate extract from *Stachys sieboldii* MIQ. The test of nitrite scavenging abilities were performed on the extracts of methanol, hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol, and water. Ethyl acetate extract, The most promising one was fractionated on a silical gel column using elution solvent(chloroform:methanol:water=70:30:5 lower phase) at a flow rate 1.0ml/min. UV-VIS spectral data of each fraction showed adsorption maxima in the range of 284~330nm which is the characteristic range of 210~290nm and 300~550nm phenolic compounds. These results suggested that *Stachys sieboldii* MIQ. shows natural antioxidant activity. The nitrite scavenging abilities reached the maxium at pH 1.2 and the ethyl acetate fraction of root showed stronger scavenging ability.

서론

산소는 사람을 포함한 호기성 생물의 생존에 필요 불가결한 요소이지만, 경우에 따라 반응성이 높은 활성 산소를 생성한다. 이러한 활성 산소는 체내의 방어 시스템에 의하여 소거되지만, 다른 한편으로는 황록색 야채의 섭취를 통해 얻어진 식물내의 다양한 항산화 물질에 의해서 활성산소종을 소거되거나 발생이 억제되어 연쇄반응이 차단되기도 한다. 이는 식물내의 2차 대사 산물이 생체에 대하여 활성을 나타내고 있기 때문이며, 대표적인 것이 phenolic compounds이다. Phenolic compounds는 생체 내에서 노화 방지, 항산화 활성, 항암 등과 같은 활성을 나타내는 것으로 보고 되어져 있다.^(1,2) 본 연구에 사용된 초석잠(*Stachys sieboldii* MIQ.)은 1년생 풀로서 동충하초와 모양이 비슷하고 약효도 비슷하여 식물의 동충하초라 불리우는 특용 작물이다. 중국의 중약편에 의하면 뇌경색, 기억력 증진, 노인성 치매와 장을 강화하는 장수채로 알려져 있다. 이러한 초석잠을 이용해 항산화 물질로 알려진 phenolic compounds의 특성

구조를 확인하고 아질산염의 소거능을 조사하였다.

실험 및 방법

초석잠을 뿌리, 잎, 및 줄기로 분리한 건조물을 methanol로 추출하고 hexane, chloroform, ethylacetate, butanol 순으로 분획하였다. 각 용매별 추출물에 따른 아질산염 소거능을 측정하였다. 이전 실험에서 ethyl acetate 추출물이 가장 좋은 활성도를 나타내었으므로 silica gel column을 이용하여 다시 분획하였다.

◆아질산염 소거능 측정

Kato 등이 사용한 방법⁽³⁾으로, 1mM NaNO₂ 용액 2ml에 각 시료 1mL를 가하고 0.1N HCl (pH1.2) 0.2M 구연산 완충액 (pH 3.0, 6.0) 으로 각각 pH 1.2, 3.03, 5.97 으로 보정하고 반응 용액의 부피를 10mL로 하였다. 이 용액을 37℃에서 1시간 반응시킨 후 각 반응액 1ml를 취해 2% 초산용액 2mL와 30% 초산 용액으로 용해 한 griss reagent 0.4mL를 가한 후 실온에서 15분 방치 후 520nm에서 측정하였다. 아질산염 소거능은 시료 첨가구의 흡광도/무 첨가구의 흡광도에 대한 백분율로 나타내었다.

◆Column chromatography

Ethyl acetate의 추출물이 항산화 활성도가 가장 높게 나타나 silica gel column (3cm 직경, 67cm 길이, 입자 크기:60~200 μ m)을 사용하여 분리하였다. 용출 용매로는 chloroform : methanol : water(70 : 30 : 5)의 하층을 이용하였다. column의 맨 위 부분에 소량의 메탄올에 녹인 ethyl acetate 추출물을 넣고 1.0mL/min의 속도로 용출 용매를 전개시켜 뿌리는 6개, 줄기는 5개의 분획을 얻었다. 용출 용매를 제거 하기 위해 rotary vacuum evaporatory를 이용하였다. 얻어진 각각의 분획에 대하여 UV-VIS spectrophotometer로 최대 흡광도를 측정하였다.

◆Thin layer chromatography

Silica gel thin layer chromatography로 위의 column chromatography의 총 분획을 뿌리는 6개, 줄기는 5개의 분획으로 나누었다. 전개용매로는 chloroform: methanol water(70:30:5)의 하층을 사용하였다. 분리 띠의 확인은 UV light 254nm 검출기와 10%H₂SO₄에 1%의 Ce(SO₄)를 녹여 발색제로 사용하였다.

결과 및 고찰

각 추출물의 pH 1.2, 3.03, 5.97에서 아질산염의 분해작용을 측정한 결과를 뿌리는 Fig. 1에 줄기는 Fig. 2에 나타내었다. pH가 낮을수록 높은 소거능을 보였으며 특히 pH 1.2에서는 hexane를 제외한 모든 추출물군에서 90%이상의 억제력을 보이고 있다.

특히 ethyl acetate 추출물과 butanol 추출물이 각 pH별로 다른 추출물에 비해 우수한 억제능을 보이고 있으며 줄기보다는 뿌리의 추출물이 더 높은 소거능을 나타내었다.

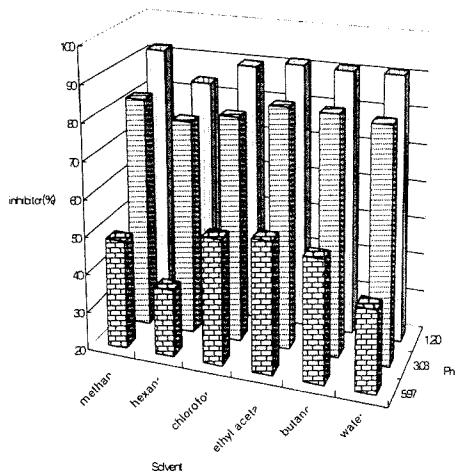


Fig. 1. Nitrite scavenging ability of the fraction of *Stachys sieboldii* MIQ. roots.

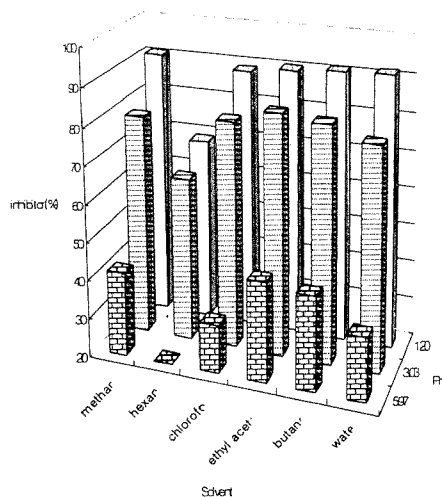


Fig.2. Nitrite scavenging ability of the fraction of *Stachys sieboldii* MIQ. stalks.

◆Thin layer chromatography를 이용한 column chromatography분획물의 분리

TLC를 통해 ethyl acetate 추출물을 뿌리는 ES-R1(1~3), ES-R2(4~6), ES-R3(7~14), ES-R4 (15~28), ES-R5(29~50), ES-R6(51~65)로 줄기는 ES-R1(1~7), ES-R2(8~15), ES-R3(16~29), ES-R4,(30~43) ES-R5(44~64)로 나누었다. 분리되어진 띠의 확인은 UV254nm와 1% Ce(SO₄)/10%H₂SO₄를 이용하였다. 가장 두드러지게 나타난 띠의 Rf값은 뿌리는 ES-R1(0.85), ES-R2(0.71), ES-R3(0.63), ES-R4(0.47), ES-R5(0.42), ES-R6(0.15) 등 이었으며 줄기는 ES-S1(0.96), ES-S2(0.91), ES-S3(0.82), ES -S4(0.24), ES-S5(0.2)등이었다.

◆Column chromatography를 통해 분리한 ethyl acetate 추출물의 UV/VIS spectral data

TLC를 통해 분리된 각 분획을 UV-VIS spectrophotometer로 측정된 결과를 Fig. 3과 4 과 Table 1과 2에 나타내었다. 뿌리와 줄기 모두 280~330nm사이에서 최대 흡광도를 나타내고 있다. 이는 일반적으로 알려져 있는 phenolic compound의 흡광도인

200~400nm와 잘 일치하고 있다.

Table 1. UV/VIS spectral data for roots fraction of ethyl acetate extract by silical gel column chromatography

fraction	λ_{max} (nm)
ES-R1	282
ES-R2	320,290
ES-R3	327,289
ES-R4	323
ES-R5	322,289
ES-R6	289,326

Table 2. UV/VIS spectral data for stalks fraction of ethyl acetate extract by silical gel column chromatography

fraction	λ_{max} (nm)
ES-S1	284
ES-S2	284
ES-S3	287,326
ES-S4	322,290
ES-S5	330

요 약

질산염은 채소류에 많이 포함되어 있으며, 체내에서 아질산염으로 환원된다. 이는 위장내의 낮은 산성조건에서 쉽게 일어나서 발암물질인 nitrosamine을 생성할 수 있다. 초석잠의 아질산염 소거능은 pH가 낮을수록 높아지고 그 중 뿌리의 ethyl acetate와 butanol 추출물이 가장 높은 소거능을 보이고 있다. 이전 실험에서 ethyl acetate 추출물이 가장 좋은 항산화 활성도를 나타내어 이를 silica gel column으로 분획하여 뿌리

는 6개의 분획을 줄기는 5개의 분획을 얻었다. 각 분획의 UV/VIS spectral data는 280~300nm에서 최대 흡광도를 나타내어 phenolic compound의 흡광도인 200~400nm와 일치함을 보이고 있다. 보다 정확한 구조는 차후 실험에서 C-NMR, H-NMR, IR등을 이용해 밝히고자 한다.

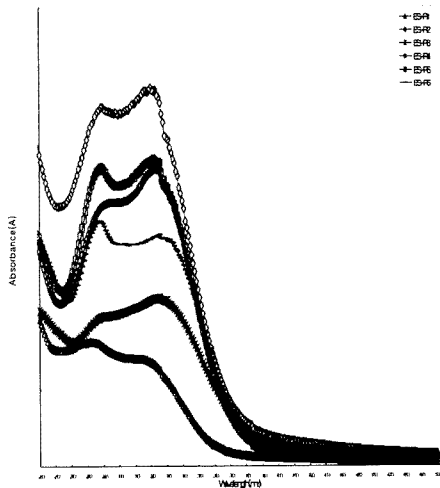


Fig. 3. UV/VIS spectral scan for fraction of *Stachys sieboldii* MIQ. roots by silical gel column chromatography.

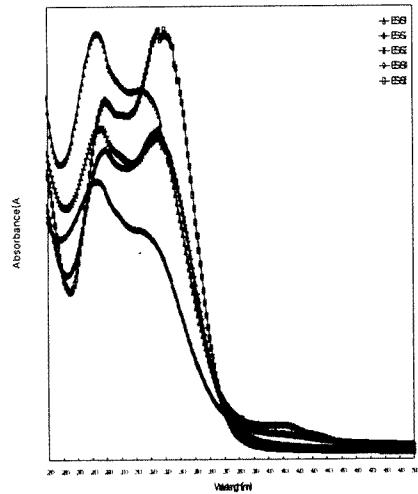


Fig.4. UV/VIS spectral scan for fraction of *Stachys sieboldii* MIQ. stalks by silical gel column chromatography.

참고 문헌

1. M.-E Cuvelier, H Richard, C. Berset, Antioxidative activity and phenolic comparison of pilot-plant and commercial extract of sage and rosmmary
2. Markham, K.R., 1982. Techniques of Flavonoid Identification. Academic Press, London and New York.
3. kato H. Lee. I.E chuyen N.V Kim S.B and Hayase. F. : Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. Agric. Biol Chem 51, 1333-1338 (1987)