

## 한국산 방아잎(배초향, *Agastache rugosa* O. Kuntze)에서 항산화물질 로즈마린산의 분리, 동정 및 활성

김정봉\* · 김종범 · 조강진 · 황영수 · 박노동<sup>1</sup>

농업과학기술원 생화학과, <sup>1</sup>전남대학교 농화학과

**초 록** : 국내 식물자원 30 가지의 항산화활성을 탐색한 결과 방아잎, 형개, 택란의 methanol 추출물에서 높은 활성을 확인하였다. 그 중에서 항산화활성이 가장 높은 방아잎의 건조분말을 methanol로 환류냉각 추출하여 hexane, chloroform, ethyl acetate, water 순으로 용매분획한 결과 ethyl acetate 분획에서 가장 높은 항산화활성을 확인하였으며, 이를 농축한 다음 Sephadex LH-20으로 chromatography하여 순수물질을 얻었다. 이물질을 ESI-MS로 분석한 결과 분자량이 360임을 확인하였고, IR과 UV spectra에 의해서 phenol계 화합물임을 확인하였으며 NMR 분석에 의해서 이 항산화물질이 rosmarinic acid임을 확인하였다. 이 물질의 항산화활성을 검정한 결과 돈지와 팜유에 대해서 BHT나  $\alpha$ -tocopherol보다도 우수한 지질과산화 억제효과를 나타냈다. 방아잎의 methanol추출물의 항산화력은 rosmarinic acid의 methanol 추출물과는 비슷하였으나, sage의 methanol추출물 보다는 높게 나타났다. (1999년 4월 21일 접수, 1999년 6월 21일 수리)

### 서 론

사람들이 일상생활에서 흔히 먹는 양념류들은 음식의 맛과 향을 내는 기본적인 역할 외에도 식품의 산패를 방지하는 기능 즉 항산화작용이 식생활의 발달과 함께 관심을 끌고있다.<sup>1)</sup> 이런 성질의 물질들은 우리 몸에 해를 주는 활성산소종(reactive oxygen species; ROS)뿐만 아니라 프리라디칼 등을 제거해 준다는 측면에서 노화억제 물질로도 효과가 인정되어 생물학자들 뿐만 아니라 의학자들에게도 관심의 대상이 되고 있다. 이미 잘 알려진 물질로  $\alpha$ -tocopherol과 ascorbic acid 등이 자연에 존재하고 있으며 이들 물질과 함께 BHT(butylated hydroxytoluene) 등의 합성물질들이 현재 사용되고 있지만 보다 효과적이면서도 안정적인 항산화물질에 대한 개발노력이 계속되고 있다.<sup>2,3)</sup>

방아잎은 학명이 *Agastache rugosa* (Fisch. et Mey.) O. Kuntze이며 *Agastache foeniculum*도 방아잎으로 통칭되고 있다. 이 식물은 방아, 방앗잎 또는 배초향(藿香, 廣藿香 또는 土藿香)과 같은 말로도 불리우고 있으나 우리나라 야산에서 자생하면서 약간의 큐틴질의 잎을 지닌 방아풀(*Isodon japonicus* Burm. Hara)과는 다르다. 방아잎은 꿀풀과의 다년초로서 일본, 만주, 중국, 시베리아, 타이완 그리고 우리나라의 전국이 주요 산지로 기록 되어 있으며 우리나라에서는 전라도 동남부에서부터 부산 그리고 경남북일대에 이르는 지역의 논과 밭 가에서 흔히 볼 수 있다. 한방에서는 건위, 구풍, 소화, 열내림약으로 더위를 먹거나 먹은 것이 체할 때, 감기, 두통, 구토, 설사에 사용하고, 드물게는 중앙치료에도 사용되며 비장과 위장병 치료에는 중요한 약재이며 식료품에는 좋은 향료로 이용되며 특히 벌레가 생기지 않게 한다는 기록이 있다.<sup>4,7)</sup>

본 실험에서는 우리나라 유망자원에 대한 항산화활성을 평

가하여 그중에서 방아잎을 선발하였으며 방아잎의 주요 항산화물질은 rosmarinic acid임을 확인하였다. 분리한 rosmarinic acid에 대해서 프리라디칼 소거력을 측정할 결과  $\alpha$ -tocopherol과 BHT를 훨씬 능가하는 활성을 보였으며, 팜유와 돈지 그리고 들기름을 기질로 하여 산화억제실험을 한 결과 역시  $\alpha$ -tocopherol과 BHT보다 우수한 효과를 확인하였다.

### 재료 및 방법

#### 재료

본 실험에서 사용한 방아잎, 더덕, 익모초, 들깨, 미나리 등은 순천지역에서, 꿀풀, 박하, 자소, 방풍, 천궁, 홍화, 호박 등은 작물시험장에서, 애기뽕풀, 꿩의다리, 석창포 등은 농업과학기술원 시험포장에서 채취하였고, 당근과 썬은 수원지역 시장에서, 그리고 나머지 약초는 경동 약초시장에서 구입하였다. 약초의 선발기준은 주로 독특한 향을 지닌 식물들을 탐색시료로 하였으며 일부는 문헌을 참조하고 나머지는 본 실험자 임의로 선발하였다. 추출용매는 1급시약을 사용하였으며 HPLC용매는 Aldrich사의 HPLC용매, DPPH(1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl)는 Sigma사로부터 구입하여 사용하였다.

#### 성분추출 및 정제

건조시료를 분쇄기에서 분쇄한 다음 분말 300 g을 900 ml의 80% methanol로 12시간 동안 환류냉각방식으로 추출하여 여과하고 잔사를 같은 방법으로 반복하여 추출하여 여액을 모아 회전농축기에서 메탄올을 제거하였다. 농축액을 최종 부피가 500 ml가 되도록 증류수를 채워서 분액여두에 넣고 hexane, chloroform, dichloromethane, ethyl acetate순으로 순차분획하였다.<sup>8,9)</sup> 칼럼분획은 Sephadex LH-20 150 g을 methanol에 활성화시켜서 유리관( $\phi = 4.4$  cm, length = 50 cm)에 충전시킨 open column을 사용하였으며, elution solvent는 methanol로 하고, 1 ml/min 속도로 7 ml씩 모두 300개의 분획을 받았다. 성

찾는말 : 항산화물질, 방아잎, rosmarinic acid

\*연락처

분의 조성확인에는 주로 HPLC (Shimadzu SPD-10A)에 의해서 했으며 column은 역상인 C<sub>18</sub>(Partisil 10 μm, ODS, 25 cm, analytical column)을 2% acetic acid와 acetonitrile을 78 : 22 비율로 섞은 용매 한 가지와 증류수(pH 2.5)와 acetonitrile 혼합 용액(80 : 20)을 용매로 사용하였고, 유속은 1 ml/min, 320 nm 에서 검색하였다. TLC plate는 silica gel 60 F<sub>254</sub>를 유리판에 미리 입힌 Merck사의 제품을 사용하였고 용매는 chloroform : methanol (2 : 1, v/v)을 사용하였으며, 역상(reverse phase C<sub>18</sub>) 역시 같은 회사의 제품에 ethyl acetate:acetic acid:formic acid : water(100 : 11 : 11 : 27, v/v/v/v), acetonitrile : methanol : water (15 : 75 : 25, v/v/v) 를 사용하였다.

#### Rancimat을 이용한 항산화효과 측정

Rancimat(Metrohm Herisau Switzerland 679)에 의한 항산화 활성측정은 시료의 유도기간을 대조시료의 유도기간으로 나누어 활성의 기준으로 삼았으며, BHT와 α-tocopherol을 표준물질로 하였다. 시료는 돈지와 팜유, 들기름 각 2.5 g에 항산화물질이 0.005%(w/w)가 되게 농도를 조절하여 110°C를 유지하면서 산화를 유도하여 electric conductivity를 측정하였다.<sup>10,11)</sup>

#### DPPH소거력측정

수집한 자원을 탐색하는 방법은 Chen<sup>12)</sup>과 Takao 등<sup>13)</sup>이 해 조류에서 항산화물질을 탐색할 때 사용한 DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl)의 소거력 측정법을 일부 수정하여 측정하였다. 시료에서 추출한 stock solution을 10배로 희석한 용액 100 μl와 DPPH 용액(640 μg/ml in ethanol) 2 ml을 10 ml 시험관에 넣고 실온에서 40분간 반응시킨후 spectrophotometer (Beckman Du-70)로 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며 이후 이를 동안 반응의 경과를 육안으로 관찰하여 재확인하였다.

#### 구조분석

질량측정은 ESI/MS(electrospray ionization/mass spectrometry)을 이용하여 negative ion mode(HP Model 1050 HPLC quaternary pump system/VG Quattro LC quadrupole/VG Biotech)에서 측정하였다. IR(Infrared spectroscopy)측정에는 KBr pellet을 이용하였으며 기기는 Vector 22(Bruker analytische messtechnik GMBH) IR spectrometer(resolution, 4.0; source, global; velocity, 6. 10.0 kHz, Aquisition mode, double sided/forward-backward)를 이용하였다. NMR(Nuclear

Table 1. The antioxidative activities of various plants by DPPH test

Samples/part(Korean name/family)	Activity(Δ A <sub>517</sub> )
<i>Artemisia capillaris</i> /whole(쑥/국화과)	0.535
<i>Carthamus tinctorius</i> L./flower(홍화/국화과)	-
<i>Prunus mumelfruit</i> (매실/장미과)	-
<i>Armeniaca amarum semen</i> /seed(행인/장미과)	-
<i>Aralia continentalis</i> /root(토당귀/두릅나무과)	0.657
<i>Aralia continontalis</i> /root(독활/두릅나무과)	0.645
<i>Schizonepeta tenuifolia</i> /whole(헹개/말풀과)	1.494
<i>Elsholtzia splendens</i> /whole(향유/말풀과)	-
<i>Prunella vulgaris</i> /whole(꿀풀/말풀과)	0.552
<i>Leonurus sibiricus</i> /root(익모초/말풀과)	0.819
<i>Mentha arvensis</i> /whole(박하/말풀과)	0.838
<i>Agastache rugosa</i> /leaf(방아잎/말풀과)	3.878
<i>Perilla frutescens</i> /leaf(자소/말풀과)	0.778
<i>Scutellaria biacalensis</i> /root(황금/말풀과)	0.739
<i>Lycopus lucidus</i> /whole(택란/말풀과)	1.526
<i>Perilla frutescens</i> /leaf(들깨/말풀과)	-
<i>Oenanthe javanica</i> /stem(미나리/산형과)	-
<i>Daucus carota</i> /root(당근/산형과)	0.760
<i>Ledebouriella divaricata</i> /root(방풍/산형과)	0.765
<i>Cnidium officinale</i> /root(천궁/산형과)	0.453
<i>Chelidonium majus</i> /whole(애기똥풀/양귀비과)	-
<i>Cucurbita moschata</i> /seed(호박/박과)	-
<i>Codonopsis wall</i> /root(더덕/초롱꽃과)	-
<i>Ginkgo biloba</i> /leaf(은행/은행과)	-
<i>Zingiber officinale</i> /root(생강/생강과)	-
<i>Capsicum annuum</i> /fruit(고추/가지과)	0.850
<i>Acorus graminens</i> /root(석창포/천남성과)	-
<i>Thalictrum aquilegifolium</i> /seed(꿩의다리/미나리아재비과)	-
<i>Thalictrum aquilegifolium</i> /leaf(꿩의다리/미나리아재비과)	0.812
<i>Belamcanda chinensis</i> /root(사간/붓꽃과)	0.675

Activity(Δ A<sub>517</sub>):absorbance difference between blank and sample at 517 nm by DPPH.

magnetic resonance) spectroscopy는 JEOL LA400 기종을 이용하였으며 용매는 CD<sub>3</sub>OD을 사용하였다.

## 결과 및 고찰

### 항산화물질 자원식물 탐색

모두 30가지 시료의 항산화활성을 DPPH 소거력을 측정하여 검색하였다. 시료에 대한 상대적인 항산화 활성을 측정한 결과(Table 1) 방아잎의 활성이 월등히 높았으며 택란과 형개도 비교적 높은 활성을 나타냈으나 생강 그리고 고추의 항산화활성은 약하게 나타났다. 이것은 Chipault 등<sup>1,2)</sup>이 천연식품과 양념류에 대해 조사한 항산화활성의 비교값과 비슷하였으며 생강과 당근에는 각각 gingerol과 carotenoids가 그리고 고추에는 capsaicin이라는 항산화물질이 들어 있는 것으로 알려져 있으나 강한 활성을 나타내지 않았다.

Choi 등<sup>14)</sup>이 126종의 각종 약초의 추출액에 대해서 Rancimat에 의한 항산화력을 비교한 결과를 보면 마늘이나 박하 등에서 상대적으로 높은 활성을 보고한 바 있다. Cuvelier 등<sup>15)</sup>은 식물체에서 32가지 extract를 만들어서 항산화활력을 측정하고 그 성분을 조사하여 활성이 있는 carnosic acid, carnosol, rosmarinic acid 외에도 24가지의 물질을 분리하여 보고 한 바 있다.

### 항산화물질의 분리 및 정제

방아잎의 항산화물질을 분리하기 위하여 방아잎 시료 300 g 으로부터 만들어진 조추출액을 hexane, chloroform, dichloromethane, ethyl acetate, 증류수를 사용하여 용매분획하고 각 분획의 항산화활성을 분석한 결과 ethyl acetate의 분획에서 강한 활성을 보였다(Fig. 1). Hexane 이나 chloroform 등의 극성이 낮은 용매분획에서 활성이 없는 것으로 보아 방아잎의 주요 항산화물질은 hydroxyl group이나 carboxyl group을 관능기로 가진 극성물질로 추정되었다.

Ethyl acetate분획을 모아 농축한 다음 Sephadex LH-20을 사용하여 300개의 분획을 확보하고 이들 분획들의 항산화 활성을 비교 측정하였다. 측정결과 21번째 분획에서부터 25번째 분

획까지 활성이 있었으며 26, 27번째 분획에서도 약하게나마 활성이 있었다. 이들을 모아서 Sephadex G-25 칼럼으로 다시 정제한 다음 메탄올 등의 몇가지 용매에 대해서 재결정을 시도해 봤으나 재결정은 되지 않았으며 이것을 건조하여 혼합물 31 mg을 얻었다.

### 구조동정

C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>O<sub>8</sub>

R<sub>f</sub>: 0.18 (chloroform-methanol(2:1))

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -0.65° (c = 0.1067, MeOH)

UV (MeOH) λ<sub>max</sub>: 328

IR ν<sub>max</sub>(KBr, cm<sup>-1</sup>): 3400(OH), 3100(aromatic C-H stretching), 1737, 1725(carbonyl), 1610, 1526, 1514(aromatic C=C), 1349, 1295(C-O).

ESI-MS, 359(negative in mode, M-H).

<sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ7.50(1 H, d, J = 15.8 Hz, H-7), 7.03(1 H, d, J = 1.9 Hz, H-2), 6.93(1 H, dd, J = 1.9, 8.3 Hz, H-6), 6.75(1 H, d, J = 8.3 Hz, H-5), 6.73(1 H, d, J = 2.2 Hz, H-2'), 6.67(1 H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 6.65(1 H, d, J = 2.2, 8.0 Hz, H-6'), 6.20(1 H, d, J = 15.8 Hz, H-8), 5.15(1 H, dd, J = 4.2, 8.3 Hz, H-8'), 3.06(1 H, dd, J = 4.2, 14.4 Hz, H-7'a), 2.96(1 H, dd, J = 8.3, 14.4 Hz, H-7'b).

<sup>13</sup>C NMR(400 MHz, CD<sub>3</sub>OD δC): δ127.6(C-1), 115.1(C-2), 146.8(C-3), 149.7(C-4), 116.4(C-5), 123.1(C-6), 147.7(C-7), 114.3(C-8), 168.4(C-9), 129.2(C-1'), 117.5(C-2'), 146.1(C-3'), 145.2(C-4'), 116.2(C-5'), 121.8(C-6'), 37.9(C-7'), 74.6(C-8'), 173.5(C-9')

순수분리한 연한 연두색의 물질은 optical rotation을 측정한 결과 좌선성이었으며, UV영역에서는 328 nm에서 흡수최대값을 가지고 있었다. 이 물질을 negative ion 방식의 mass spectrometer에 의해서 질량을 측정해본 결과 m/z 359의 ion peak가 확인되어 분자량이 360일 것으로 추정 되었다. IR spectroscopy결과에 의하면 수산기와 방향족성 CH 및 지방족 CH 기가 혼재하여 형성된 넓은 3100-3500 cm<sup>-1</sup> 사이의 넓은 흡수띠가 관찰되었고 1610 cm<sup>-1</sup>에서 방향족성 C=C결합이, 그리고 1737 cm<sup>-1</sup>과 1725 cm<sup>-1</sup>에서는 ester와 carboxylic 기의 C=O의 흡수띠가 관찰되었다.

Proton NMR spectrum에 11개의 peak 또는 signal 이 나타났는데 3.06과 2.96 ppm에 두 개의 dd signal은 8'의 proton과 7'의 나머지 proton에 의해서 나타나는 vicinal coupling과 geminal coupling 때문이며 5.15 ppm의 dd signal은 7'-methylene의 두 개의 수소와 각각 coupling하기 때문인 것으로 판단되었다. 6.93과 6.65 ppm의 proton은 6과 6'과 2와 2'의 long range coupling을 나타냈다.

<sup>13</sup>C NMR spectrum에서 나타난 173.5, 168.4 ppm의 탄소는 각각 9'과 9번 탄소이고 37.9와 74.6 ppm의 탄소는 7'과 8'탄소로 나타났다. 110-150 ppm의 탄소들은 aromatic의 methine 탄소와 quaternary 탄소가 섞여서 나온 signal이며 이것은 IR spectrum에서 3100-3300 cm<sup>-1</sup> 에 나타나는 peak특성과 부합되는 결과였다. <sup>13</sup>C NMR의 DEPT(distortionless enhanced by

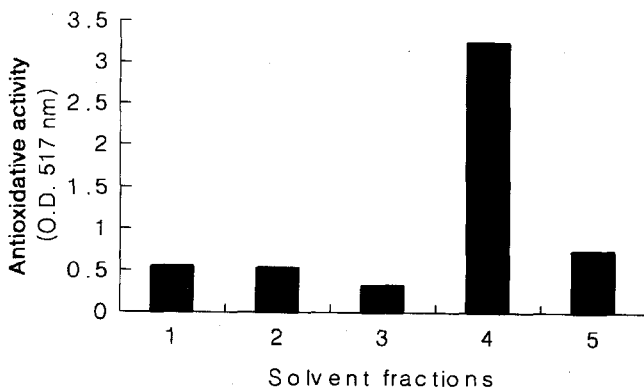


Fig. 1. Antioxidative activities of the solvent fractions from *A. rugosa*. 1: hexane, 2: chloroform, 3: dichloro-methane, 4: ethyl acetate, 5: water.

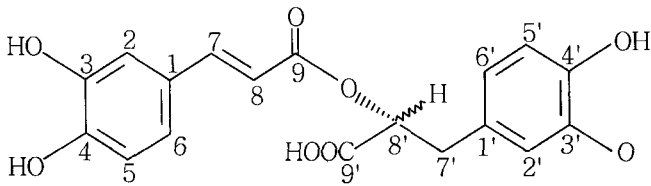


Fig. 2. The putative structure of the antioxidant substance, rosmarinic acid, from *Agastache rugosa*.

polarization transfer) spectrum에 있어서  $\theta = 135^\circ$ 에서는 고자장쪽인 37.9 ppm에서  $\text{CH}_2$ 가 하나 나타나고  $\theta = 45^\circ$ 에서는 CH 형태의 탄소인 9개의 탄소가 관찰되었다. 또한  $\theta = 90^\circ$ 와  $1\text{C}$  NMR의 spectrum를 비교한 결과  $\text{CH}_3$  형태는 나타나지 않았으며 quaternary carbon 8개 모두가 125 ppm이하의 저자장에 나타남으로써 173.5와 168.5 ppm의 두 개의 carbon 형태를 제외하면 이들은 대부분 benzene고리의 탄소 signal인 것으로 추정되었다. HMBC에서는 5, 5', 6, 6' 탄소의 위치를 정확하게 해 줌으로써 4개의 hydroxyl group의 위치가 3, 4와 3', 4'로 확인되었다.

이상의 자료를 종합해보면 에칠아세트분획의 항산화물질은 강력한 항산화활성을 지닌 물질로 이미 알려진 rosmarinic acid(Fig. 2)로 동정되었다.

#### 산화억제효과

방아잎의 항산화성분으로 rosmarinic acid를 분리 동정하였으며 이는 건물중을 기준으로 대략 1%의 함량으로 분포하였다. 따라서 분리정제된 rosmarinic acid의 산화억제효과를 측정

하기 위하여 기준물질로 BHT,  $\alpha$ -tocopherol 및 방아잎 용매분획을 상대로 DPPH에 의한 항산화활성을 비교 하였다(Table 2). 방아잎의 용매분획 중에서는 예상했던대로 ethyl acetate 분획에서 가장 강한 활성을 나타냈으며 표준물질인 BHT나  $\alpha$ -tocopherol과 비교했을 때도 rosmarinic acid가 강한 활성을 나타냈다.<sup>10,16)</sup>

한편 항산화활성을 측정법으로 실제 기질에 응용하는 방법 중의 하나인 Rancimat를 이용하여 돈지와 팜유 그리고 들기름에 대한 산화억제효과를 비교측정하였다(Table 3). 들기름에서는 rosmarinic acid의 활성이 0.86으로 비교물질인 BHT 및  $\alpha$ -tocopherol과 비슷한 활성을 나타냈으나, 동물성 유지 돈지와 식물성유지 팜유에서는 rosmarinic acid가  $\alpha$ -tocopherol이 BHT에 비해서 월등히 우수한 항산화활성을 나타냈다.<sup>9,17)</sup> 이와 같은 결과는 Chen 등<sup>12)</sup>이 Rancimat 으로 측정한 BHT,  $\alpha$ -tocopherol등의 phenolic compounds에 대한 항산화활성 조사 결과와도 일치하였다.<sup>18,19)</sup> 또한 Cuvelier 등<sup>20)</sup>은 methyl linoleate가  $110^\circ\text{C}$ 에서 자동산화되는 정도를 억제하는 항산화 측정 방법을 이용해서 측정한 18가지의 phenolic compound에 대한 항산화활성 비교에서도 rosmarinic acid의 산화억제효과가 gallic acid, BHA, BHT, ferulic acid, vanillic acid, salicylic acid 등의 물질보다도 강력함을 밝힌 바 있다. 그러므로 앞서 Rancimat을 이용한 항산화활성을  $110^\circ\text{C}$ 의 고온에서 측정하였을 뿐 만 아니라 본 실험과정에서 보여준 물질의 안정성으로 보아서 rosmarinic acid는 기존 항산화제의 단점이라고 할 수 있는 고온에 대한 불안정성을 극복할 수 있는 유망한 물질로 개발될 수 있을 것으로 판단된다.

#### 참고문헌

1. Chipault, J. R., Mizuno, G. R., Hawkins, J. M. and Lundberg W. O. (1952) The antioxidant properties of natural spices. *Food Res.* **17**, 46-55.
2. Chipault, J. R., Mizuno, G. R. and Lundberg W. O. (1956) The antioxidant properties of spices in foods. *Food Technol.* **10**, 209-211.
3. Lee, S. H. (1997) Control of lipid oxidation by oxygen scavengers. *Agrobiotech* **4**, 26-47.
4. Lee, C. B. (1989) In Illustrated flora of Korea, p 649-661, Hwangmunsa Inc., Seoul, Korea.
5. Kim, T. J. (1996) In Korea resources plants, Vol. IV, p 44, Seoul National University, Seoul, Korea.
6. Mun, K. S. (1991) In Components and application of medicinal plants, p 506-507, Ilwoelseogak Inc., Seoul, Korea.
7. Ahn, B. and Yang, C. B. (1991) Volatile flavor components of *Bangah*(*Agastache rugosa* O. Kuntze) herb. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **23**, 582-586.
8. Tada, M., Matsemoto, R., Yamaguchi, H. and Chiba K. (1996) Novel antioxidants isolated from *Perilla frutescens* Britton var. *crispa*(Thunb.) *Biosci. Biotech. Biochem.* **60**, 1093-1095.
9. Bertelsen, G., Christophersen, C., Halfdan, N.P., Lindberg, M. H. and Stadel, P. (1995) Chromatographic isolation of antioxidants guided by a methyl linoleate assay. *Am. Chem. Soc.* **15**, 135-138.

Table 2. Antioxidative activities of rosmarinic acid, BHT,  $\alpha$ -tocopherol, and fractions from *A. rugosa*

Samples	Antioxidative activity* ( $\text{SC}_{50}$ , $\mu\text{g/ml}$ )
BHT	89
$\alpha$ -Tocopherol	49
Purified rosmarinic acid	7.7
<i>A. rugosa</i> MeOH extract	71
Hexane fraction	-
$\text{MeCl}_2$ fraction	-
EtOAc fraction	10
BuOH fraction	-

\*Concentration of antioxidant required scavenging 50% of free radical(DPPH) in a reaction mixture.

Table 3. Antioxidative effect of rosmarinic acid on lard, palm oil and perilla oil measured by Rancimat method

Samples	Antioxidant index*		
	Lard	Palm oil	Perilla oil
BHT	1.35	1.39	0.93
$\alpha$ -Tocopherol	1.35	1.63	0.8
Rosmarinic acid	2.21	2.17	0.86
<i>A. rugosa</i> EtOAc fr.	1.2	1.79	0.98

\*Antioxidant index was defined as the induction time of lipid oxidation with antioxidant over the induction time of control by Rancimat method.

10. Frankel, E. N., Huang, S. W. and Aeschbach, R. (1997) Antioxidant activity of green teas in different lipid systems. *JAOCS* **74**, 1309-1315.
11. Frankel, E. N., Huang, S. W., Aeschbach, R. and Prior, E. (1996) Antioxidant activity of a rosemary extract and its constituents, carnosic acid, carnosol, and rosmarinic acid, in bulk oil and oil-in-water emulsion. *J. Agric. Food Chem.* **44**, 131-135.
12. Chen, J. H. and Ho, C. T. (1997) Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. *J. Agric. Food Chem.* **45**, 2374-2378.
13. Takao, T., Kitatani, F., Watanabe, N., Yagi, A. and Sakata, K. (1994) A simple screening method for antioxidants and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shellfish. *Biosci. Biotech. Biochem.* **58**, 1780-1783.
14. Choi, U., Shin, D. H., Chang, Y. S. and Shin, J. I. (1992) Screening of natural antioxidant from plant and their antioxidative effect. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **24**, 142-148.
15. Cuvelier, M. E., Richard, H. and Berset, C. (1996) Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary. *JAOCS* **73**, 645-652.
16. Ahn, B. and Yang, C. B. (1991) Chemical composition of *Ban-gah*(*Agastache rugosa* O. Kunze) herb. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **23**, 375-378.
17. Pearson, D. A., Frankel, N., Aeschbach, R. and German J. B. (1997) Inhibition of endothelial cell-mediated oxidation of low-density lipoprotein by rosemary and plant phenolics. *J. Agric. Food Chem.* **45**, 578-582.
18. Duh, P. D., Yeh, D. B. and Yen, G. C. (1992) Extraction and identification of an antioxidative component from peanut hulls. *JAOCS* **69**, 814-818.
19. Baniyas, C., Oreopoulou, V. and Thomopoulos C. D. (1992) The effect of primary antioxidants and synergists on the activity of plant extracts in lard. *JAOCS* **69**, 52-524.
20. Cuvelier, M. E., Richard, H. and Berset, C. (1992) Comparison of the antioxidative activity of some acid-phenols: Structure-activity relationship. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **56**, 324-325.

---

**Isolation, Identification, and Activity of Rosmarinic Acid, a Potent Antioxidant Extracted from Korean *Agastache rugosa*.**

Jung-Bong Kim\*, Jong-Bum Kim, Kang-Jin Cho, Young-Soo Hwang and Ro-Dong Park<sup>1</sup>(*Department of Biochemistry, National Institute of Agricultural Science & Technology; <sup>1</sup>Department of Agricultural Chemistry, Chonnam National University*)

**Abstract :** Thirty plants were screened for their antioxidative activity. The extracts of *Agastache rugosa*, *Schizonepeta tenuifolia* and *Lycopus lucidus* had high free radical(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) scavenging activities. Methanol extract of *Agastache rugosa* was fractionated with hexane, chloroform, ethyl acetate, and water. The ethyl acetate fraction showed the highest antioxidant activity in the DPPH test. The ethyl acetate fraction was applied to Sephadex LH-20 column, and the fractions showing antioxidative activity were collected and used for identification of the substance. The purified substance was applied to mass, IR, UV and NMR spectroscopy. The spectra of mass, IR, UV and NMR implied that the substance is a rosmarinic acids as a kind of phenolic compound. The rosmarinic acid has more antioxidative effect than those of BHT and  $\alpha$ -tocopherol in the Rancimat test.

---

Key words : antioxidants, *Agastache rugosa*, rosmarinic acid

\*Corresponding author