

쇠비름 추출물이 담배의 Nicotine 성분 제거에 미치는 영향

배 지 현

계명대학교 식품영양학과

Effect of *Portulaca oleracea* Extract on Removing Nicotine Component of Tobacco

Ji-Hyun Bae

Dept. of Food Science and Nutrition, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

Abstract

Cigarette smoking is the potential risk factor for lung cancer and chronic pulmonary disease, as well as inflammatory bowel disease and reproductive malfunction. Nicotine and tar have been implicated as a major factor in the pathogenesis of the diseases. Nicotine increases heart rate and blood pressure due to stimulation of sympathetic neurotransmission and tar also accounts for the severe damage of periodontal diseases and osteoporosis in postmenopausal women. *Portulaca oleracea*, which contains significant amount of K⁺, noradrenaline and dopamine as well as various nutrients, has been used for many medicinal purposes and one of which is the detoxification of insect or snake-toxins. The purpose of this study was to investigate the action of *Portulaca oleracea* extracts on the reduction of harmful materials of tobacco. The reduction percentages were measured in the presence and absence of each solvent extract of *Portulaca oleracea* using reversed C18 column of HPLC. Nicotine reduction effects were obtained from aqueous, methanol and chloroform extracts of *Portulaca oleracea* as 89%, 55% and 51%, respectively. The results suggest that the polar extracts of *Portulaca oleracea* affects the reduction of nicotine which is responsible for many diseases.

Key words: *Portulaca oleracea*, nicotine, tobacco

서 론

담배를 피우는 사람은 흡연의 해로움에 대해서는 잘 알고 있지만 담배를 피울 때 느끼는 즐거움과 편안함 때문에 담배를 피운다고 한다. 그러나 흡연은 그것이 주는 즐거움에 비해서 그 위험성이 너무 크기 때문에 국가 재정에 큰 비중을 차지하면서 시판되고 있는 담배에조차 흡연은 폐암 등 각종 질병의 원인이 되며, 특히 임산부와 청소년의 건강에 해롭다는 경고문이 들어 있다. 흡연인구가 증가하면서 담배가 폐암 등의 악성종양 뿐만 아니라 심혈관질환, 호흡기질환, 위장관질환 등의 발병률과 밀접한 관련이 있고, 생식기능 등의 이상을 초래할 수 있다는 연구가 보고되고 있으며(1-10) 특히 여성흡연자의 경우 조기폐경이나 골다공증 등의 증상을 보이게 된다고 한다(10,11). 담배에 들어있는 화학물질 중 니코틴이나 타르성분들은 특히 인체에 유해한 물질로 잘 알려져 왔다. 니코틴은 마약이나 습관성 약품과 같은 중독 증상을 일으키게 되는데 인체내에서의 작용

은 혈관을 수축시켜 혈압을 올리고 각종 장기에 영양소와 산소의 공급을 감소시킨다. 또 혈관벽의 손상을 일으켜 동맥경화를 촉진시키며, 위장관의 운동을 항진시켜 구역질, 설사, 구토등을 일으키고 소화효소의 분비를 억제시키며 뇌분비계에는 항이뇨 호르몬의 분비를 촉진시켜 소변의 양을 감소시킨다(12-14). 또한 니코틴은 심장의 관상동맥을 수축시켜 혈류의 흐름을 방해함으로써 심장에 산소와 영양분 공급을 제한하게 되어 심장병을 유발하게 하거나(3), 말초혈관을 수축시키고 맥박을 빠르게 하여 혈압을 높이거나 호흡장애를 유발시키기도 하는데 이는 니코틴이 니코틴성 아세틸콜린 수용체를 활성화시켜 catecholamine분비를 자극함으로써 교감신경계를 흥분시키기 때문이다. 이러한 사실들로 인해 니코틴을 감소시키기 위한 연구가 진행 중이나 아직까지 만족할 만한 결과는 나오지 않은 실정이다. 한편 쇠비름은 쇠비름과의 1년생 잡초로서 오행초(五行草), 장명채(長命采), 마치채(馬齒菜) 등으로 불리기도 하는데, 주로 길가, 텃밭 등에서 자생하며, 줄기의 높이

가 약 15~30cm내외로 털이 없으며, 줄기는 갈색이고 가지가 많이 갈라져서 땅위로 비스듬히 퍼지면서 자라는 식물이다(15). 이의 성분은 L-noradrenaline, dopamine, dopa 등을 포함하고 있으며, 그외 K와 많은 양의 organic acid, glutamic acid, aspartic acid, alanine 등이 있다(16,17). 쇠비름은 양념 등으로 버무려서 식용하거나 약재로도 활용되어 왔으며 과거 선조들의 민간 요법에서는 충독, 사독 등의 각종 독소 성분에 대한 해독제로도 사용되었다(15). 본 연구에서는 이와같은 특성과 성분을 지닌 쇠비름을 각종 용매로 추출하여 이들이 니코틴이나 타르등의 담배 유해 성분을 제거할 수 있는지의 여부를 검정해 보고자 하였다.

재료 및 방법

쇠비름 시료

본 실험에 사용한 쇠비름은 경북 경산군 인근의 농가 지역에서 자생하는 것을 8월~9월사이에 채취하였으며, 동결하여 -20°C 냉동고(LG 냉동고, FC-A12AD, Korea)에 보관하면서 시료로 사용하였다.

시약 및 분석기기

쇠비름 추출용매로서 methanol, petroleum ether, hexane, benzene, chloroform 및 ethyl acetate 등은 J. T. Baker사(Phillipsburg, NJ, USA)의 것을 구입하여 사용하였고 증류수는 이온교환수지(Ultra Pure 700, Human Sci. Co., Korea)를 통과시킨 2차 증류수를 사용하였다. 그 밖의 담배 연기 포집물의 추출 및 분석에 필요한 시약 및 표준용액은 Aldrich사(Aldrich Chem. Co., Milwaukee, WI)와 일본 시약 회사(Junsei Chem. Co., Japan)의 특급품을 구입하여 사용하였다. 담배 연기 포집물을 얻기 위해 시판 중인 담배를 자동 흡연 장치(Smoking machine, CRM 20/CS, Borgwaldt, Germany)에 부착시켜 연소시켰고, mini column(Millex-HV13, Millipore)을 사용하여 정제시킨 각종 시료는 high performance liquid chromatography(HPLC, LC-10AD, Shimadzu Co., Japan)와 C18 column을 사용하여 분리 측정하였다.

자동 흡연 장치를 이용한 담배 유해물질 준비

40분의 켈런시료를 무작위로 선별하여 자동 흡연 장치에 고정시켜 일정한 풍조 길이까지 연소시키면서 연기성분을 포집하였다. 주위조건은 공기흐름이 같은 상태에서 켈런을 흡연시킬 수 있도록 공기의 흐름은 140

mm/sec로 조정하고, 필터의 흡인 저항은 900 Pa이 초과되지 않도록 하였다. 주위 온도와 상대습도는 COR-ESTA의 규정을 따라 22±3°C, 60±5%로 맞추어 주었다(18). 담배 연기 성분을 포집하기 위한 표준조건과 자동흡연 장치의 set up 조건은 Table 1과 같다. 자동흡연 장치로 켈런을 연소시켜 캠프리지 필터를 끼운 트랩으로 입자상의 물질을 포집하고 이어서 캠프리지 필터를 잘게 썰어 100ml 눈금 플라스크에 넣고 methanol 20ml로 트랩을 깨끗이 씻어낸 다음 마개를 막고 잘 흔들어 섞은 후 methanol 80ml를 넣어 16시간 실온에 보관하였다.

쇠비름 추출물 및 시료 제조

채취한 쇠비름은 흐르는 수돗물로 잘 세척하고 증류수로 재 세척한 후 37°C 건조기로 18시간 건조시켰다. 추출에 적합하도록 세절한 후 추출관에 넣고 5시간 동안 각종용매로 추출하였다. 용매의 극성에 따라 분별 분리를 행하여 hexane, benzene, petroleum ether, ethyl acetate, chloroform, methanol, water 층으로 극성의 차이에 의해 7분획으로 조제하였다. 분리된 각각의 쇠비름 용매 추출물을 회전 진공 농축기(Eyela, N-N series)로 감압농축 시켜 용매를 제거하고 농축물을 얻었다. 또한 잘게 분쇄한 쇠비름을 압착기(Sunbeam, Designer series)로 압착하여 추출한 쇠비름 압착 추출물등을 준비하여 본 실험에서 연구자 하는 담배 유해물질 제거를 위한 쇠비름 추출물을 제조하였다. 쇠비름의 용매추출물과 쇠비름 압착추출물(최종농도: 10mg/ml), 그리고 담배 연기 포집 추출물을 동량의 비로 혼합하여 시료를 준비하였다.

HPLC를 이용한 성분 분석

쇠비름의 용매 추출물과 압착 추출물에 담배 연기 포집 추출물을 가하여 36°C에서 5시간 반응시킨 후, 각각의 시료를 microcentrifuge(Hettich, Mikro 24-48R)를 이용하여 20,160g에서 20분간 원심분리하고 상층액을

Table 1. Smoking conditions to trap smoke components

Setup items	Conditions
Puff duration	2.0±0.05 sec
Puff volume	35±0.15ml
Puff profile	Bell shape at 0.8~1.2 sec after smoking
Maximum flow rate	25cm ³ ~30cm ³ /sec
Butt length	filter length+8mm
Cigarette holder	9±0.5mm
Air resistance at smoke trap	below 300Pa

0.45 um filter가 들어있는 mini column에 여과, 정제하여 분석에 사용하였다. 담배 연기 포집 추출물은 40가지의 담배에 포함된 니코틴, 타르 등을 추출한 것이며 대조군으로는 담배 추출물에 쇠비름 추출물 대신 HPLC 전개용매로 사용한 methanol을 동량의 비로 혼합한 것을 사용하였다(19). HPLC 분석조건 및 전개 용매는 Table 2와 같다.

결과 및 고찰

담배의 유해성분

니코틴은 심장병유발 뿐만 아니라 위궤양을 일으키거나 비타민 D 대사를 방해해 골 손실을 일으키며 골다공증을 유발하기도 하는데(9,11), Fig. 1과 같은 구조를 가지고 있다. 담배가 건강에 해로운 것은 니코틴만의 영향이 아니라 타르의 여러 성분을 들 수 있고 그 중 중금속은 체내에 축적될 수가 있다. 또한 담배의 타르 속에 있는 벤조피렌이라는 발암물질이 폐로 들어가면 microsomal 효소들의 작용으로 분해되기도 하는데 이 분해 과정에서 생성되는 중간 물질은 강력한 발암력을 지니고 있는 것으로 알려져 있다. 즉 발암성 물질로 알려져 있는 벤조피렌은 체내에서 cytochrome P450 과 epoxide hydrolase에 의해 7,8-dihydroxy-9,10-epoxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzopyrene(DHEP-BP)로 바뀌게 되고 이것이 DNA와 결합하여 종양을 유발하게 된다(20). 타르는 그 자체로도 맹독성이 있어 적은 양으

로도 실험 동물에 대한 치사율이 높는데 이 타르는 담배연기를 통하여 폐로 가서 혈액에 스며들어 우리 몸의 모든 장기에 피해를 주기도 하고 잇몸, 기관지 점막 등을 손상시켜 만성 염증을 일으키기도 한다(21,22).

담배 유해 물질 성분의 HPLC에 의한 확인

High performance liquid chromatography를 이용하여 담배 연기 포집 추출물을 분석한 결과 Fig. 2와 같은 결과를 얻었다. 담배 연기 포집물을 추출한 후 0.45 um의 millipore filter 정제과정을 거치고 HPLC로 분석했을 때 nicotine 표준용액과 retention time이 일치하는 nicotine peak이 관찰되었고, 고분자 복합물질인 타르는 검출되지 않아 이는 정제과정에서 걸러짐을 알 수 있었다. 본 실험에 사용한 용매로 추출한 쇠비름 용매 추출물이나 암착, 여과에 의해 얻은 쇠비름 암착 추출물 중 비교적 극성이 높은 쇠비름 chloroform 추출물, methanol 추출물 및 증류수 추출물이 nicotine 제거 효과를 보였다(Fig. 3). HPLC는 흡연자나 비흡연자의 소변에 들어있는 nicotine의 양을 정량하기 위해 reversed-phase column과 UV detector을 이용하여 사용되어 지고 있는데 20ml의 소변에서 추출되어 정량될 수 있는 nicotine의 최소량은 5ng/ml이며 회수율은 47~86%로 알려져 있다(19).

쇠비름 hexane 추출물의 담배 유해 물질 제거

본 실험에서 사용한 추출 용매(hexane, benzene, petroleum ether, ethyl acetate, chloroform, methanol,

Table 2. HPLC analytical conditions and solvent

Apparatus and setup	Conditions
Column	ODS C18 column (4.6×250mm, 5um reverse phase C18)
Flow rate	1.0ml/min
Eluent	70% methanol+0.1% TFA
Detector	UV 254nm
Attenuation coefficient	7
Purification filter	0.45um filter (Millipore, USA)
Injection volume	10ul

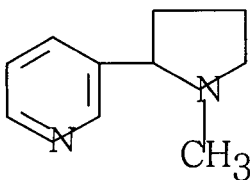


Fig. 1. Structure of nicotine.

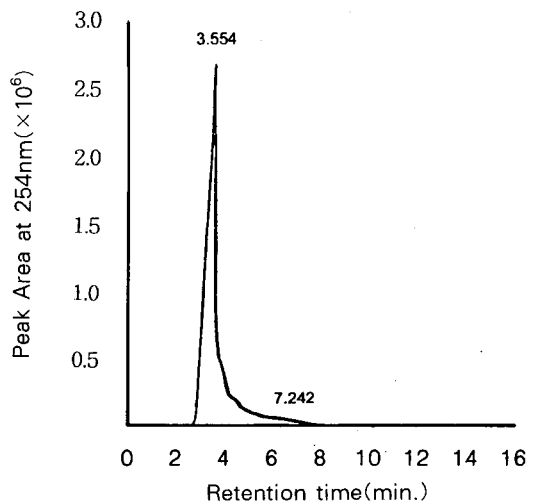


Fig. 2. Analysis of harmful materials from tobacco by HPLC.
One peak is obtained at the retention time of 3.554 min, which is nicotine.

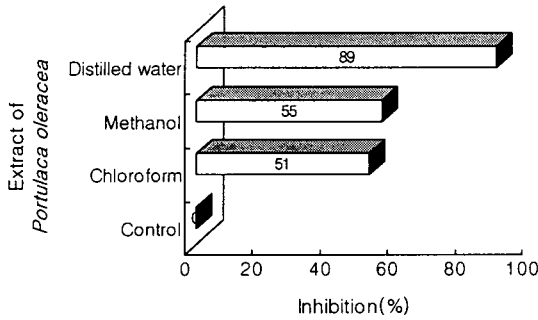


Fig. 3. Reduction percentages of nicotine with aqueous, methanol and chloroform extracts of *Portulaca oleracea*.

water)중 가장 극성이 낮은 용매인 hexane 추출물 결과는 Fig. 4에 나타내었다. Fig. 4에서는 nicotine peak 면적이 대조군 면적의 68%로서 다소 감소하였으나, 이것은 전개용매로 사용한 70% methanol과 0.1% TFA는 비교적 극성이 높은 용매로서 시료에 들어있는 비극성 성분들을 완전히 용해하지 못하고 column을 지나갔을 것이라고 사료된다. 따라서 peak 면적이 줄어든 것이 반드시 쇠비름 hexane 추출물이 담배의 nicotine성분을 제거했기 때문이라고 보기는 어렵다.

쇠비름 methanol 추출물의 담배 유해 물질 제거

쇠비름 methanol 추출층에는 비교적 극성이 높은 물질들이 함유되어 있다고 생각된다. 이것을 담배연기성분과 동량으로 혼합하여 반응시킨 결과 Fig. 5와 같이 두 개의 분리된 peak를 얻었다. 아주 비슷한 retention time을 가지는 두 peak가 인접해 있음을 관찰할 수 있

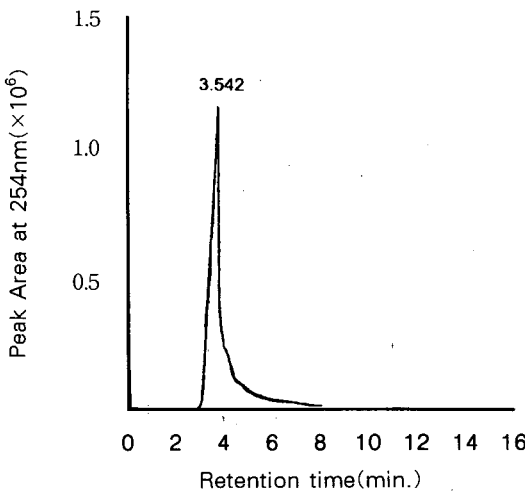


Fig. 4. Effect of hexane extract of *Portulaca oleracea* on the reduction of nicotine from tobacco.

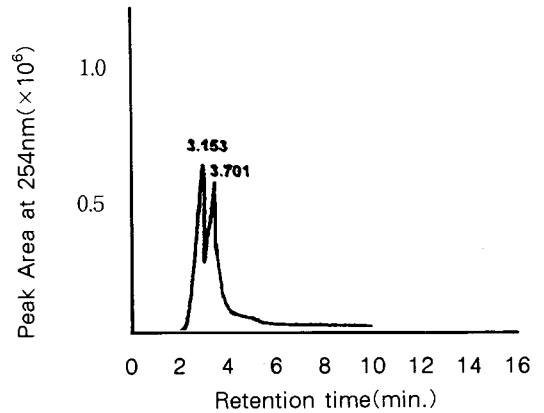


Fig. 5. Effect of methanol extract of *Portulaca oleracea* on the reduction of nicotine from tobacco.

었는데 이는 본 실험에서 사용한 전개용매가 70% methanol로 일정한 polarity를 가짐에 비해 쇠비름 methanol 추출층의 비교적 다양한 polarity를 가지는 성분들의 복합작용으로 peak의 분리가 일어났기 때문이라고 생각된다. Methanol 추출층의 경우 nicotine의 peak면적이 대조군 면적의 55%를 보여 쇠비름 methanol 추출물에 의해 nicotine 함량이 감소됨을 알 수 있었다.

쇠비름 증류수 추출물의 담배 유해 물질 제거

본 실험에서는 Fig. 6에서 보는 바와 같이 쇠비름 증류수 추출물이 담배의 연기성분 중 nicotine을 거의 제거해 주는 결과를 얻을 수 있었다. 일반적으로 nicotine은 Fig. 1에서 보는 바와 같이 전자공명효과를 가지는 방향족 고리와 비공유전자쌍을 지닌 전기음성도가 큰 질소원자를 함유하고 있어 극성이 높은 물질이다. 따라서 쇠비름 증류수 추출물이 nicotine peak를 거의 없애

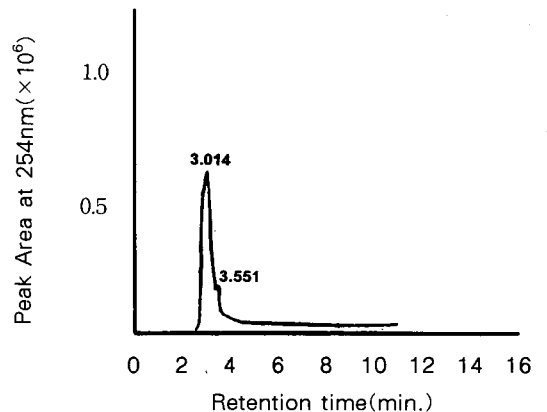


Fig. 6. Effect of an aqueous extract of *Portulaca oleracea* on the reduction of nicotine from tobacco.

준 결과는 극성이 높은 쇠비름 수용성 성분과 nicotine 간의 상호작용 때문이라고 생각된다. Nicotine peak보다 retention time이 줄어든 peak(3.014)가 관찰되었는데 reverse-phase를 이용한 HPLC에서는 polar functional group을 가진 시료의 경우 retention time이 줄어들게 되며, aldehyde나 ketone 혹은 ester group은 retention time을 약간 줄이고 alcohol이나 amide 등은 retention time을 크게 줄여준다(23). 쇠비름의 증류수 추출물 중 어떠한 성분이 nicotine과 반응을 일으켰는지는 본 실험의 결과만으로는 알 수 없지만 구조 분석 등의 연구를 계속적으로 진행하여 그 반응기전을 추적할 수 있으리라고 사료된다.

쇠비름 추출물의 nicotine성분 제거비율

HPLC chromatogram에서 얻은 peak의 면적을 이용하여 nicotine성분의 함량을 정량분석한 결과 Fig. 3과 같은 결과를 얻을 수 있었다. 쇠비름 추출물 중 극성이 높은 증류수 추출물과 methanol, chloroform 추출물에서 각각 nicotine 제거효과를 보였고 특히 증류수 추출물이 89%로 가장 현저한 효과를 나타내었다. 쇠비름의 methanol과 chloroform 추출물에서도 각각 55%와 51%의 제거효과를 보여주었다. 쇠비름에는 ω -3 fatty acid와 그밖의 α -tocopherol, ascorbic acid, β -carotene, glutathione 등의 항산화제가 많이 들어 있어(24) 각종 유기용매별로 다양한 성분들이 추출되어 나오리라 사료된다. 쇠비름의 수용액 추출물에는 neuro-muscular activity를 조절하여 혈압에 영향을 미치는 물질이 들어 있다고 보고되고 있으며, 특히 K^+ 이온이 많이 들어 있어 근육이완에 효과가 있는 것으로 알려져 있다(25-28).

요 약

흡연은 폐암 뿐만 아니라 심혈관 질환 등을 일으키고, 위장관이나 생식기능에도 이상을 초래할 수 있다고 알려져 있는데 이는 담배에 들어 있는 니코틴이나 타르 등의 여러 유해물질 때문이다. 쇠비름은 충독이나 사독 등의 독소를 제거하는 식물로 이용되어져 왔고 K^+ , nor-adrenaline, dopamine 등의 여러 가지 영양소를 함유하고 있다. 본 실험에서는 쇠비름을 각종 용매로 추출하여, 이들 추출물들이 담배의 유해성분을 제거할 수 있는지를 HPLC의 reversed C18 column을 이용하여 조사해 보았다. 40가지의 담배에서 포집한 담배 연기 포집 추출물을 일정량의 쇠비름 용매 추출물과 혼합, 반응시킨 후 분석해 본 결과, 비교적 극성이 높은 chloroform, methanol, 수용액 추출물에서 각각 51%, 55%, 89%의

니코틴 제거효과를 보였다. 그러나 benzene, petroleum ether 및 ethyl acetate 등의 추출물에서는 거의 효과가 없었다.

문 헌

1. Tzivoni, D., Keren, A., Meyler, S., Khoury, Z., Lerer, T. and Brunel, P. : Cardiovascular safety of transdermal nicotine patches in patients with coronary artery disease who try to quit smoking. *Cardiovasc Drugs Ther.*, **12**, 239-244(1998)
2. Haass, M. and Kepler, W. : Nicotine and sympathetic neurotransmission. *Cardiovasc Drugs Ther.*, **10**, 657-665(1997)
3. Manley, A. F. : Cardiovascular implications of smoking: the surgeon general's point of view. *J. Health Care Poor Underserved*, **8**, 303-310(1997)
4. Hecht, S. S. : Tobacco and cancer: approaches using carcinogen biomarkers in chemoprevention. *Ann. NY Acad. Sci.*, **833**, 91-111(1997)
5. Hackshaw, A. K. : Lung cancer and passive smoking. *Stat. Methods Med. Res.*, **7**, 119-136(1998)
6. Heusch, W. L. and Maneckjee, R. : Signalling pathways involved in nicotine regulation of apoptosis of lung cancer cells. *Carcinogenesis*, **19**, 551-556(1998)
7. Missale, C., Codignola, A., Sigala, S., Finardi, A. and Paez, P. M. : Nerve growth factor abrogates the tumorigenicity of human small cancer cell lines. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 5366-5371(1998)
8. Clark, K. D., Wardrobe, W. N., Elliott, J. J., Gill, P. T., Tait, N. P. and Snashall, P. D. : Cigarette smoke inhalation and lung damage in smoking volunteers. *Eur. Respir. J.*, **12**, 395-399(1998)
9. Eastwood, G. L. : Is smoking still important in the pathogenesis of peptic ulcer disease? *J. Clin Gastroenterol.*, **25**, S1-S7(1997)
10. Tinneberg, H. R. and Borsay, P. : Influence of nicotine on progesterone and estradiol production of cultured human granulosa cells. *Early Pregnancy*, **3**, 34-37(1997)
11. Burnham, J. M. : Exercise is medicine: health benefits of regular physical activity. *J. La State Med. Soc.*, **150**, 319-323(1998)
12. Pickworth, W. B. and Fant, R. V. : Endocrine effects of nicotine administration, tobacco and other drug withdrawal in humans. *Psychoneuroendocrinology*, **23**, 131-141(1998)
13. Shioda, S., Nakajo, S., Hirabayashi, T., Nakayama, H., Nakaya, K., Matsuda, K. and Nakai, Y. : Neuronal nicotinic acetylcholine receptor in the hypothalamus: morphological diversity and neuroendocrine regulations. *Brain Res. Mol. Brain Res.*, **49**, 45-54(1997)
14. Shioda, S., Yada, T., Muroya, S., Takigawa, M. and Nakai, Y. : Nicotine increases cytosolic Ca^{2+} in vasopressin neurons. *Neurosci Res.*, **29**, 311-318(1997)
15. Youk, C. S. : Coloured medicinal plants of Korea. Academic Press, p.164(1989)
16. Peng, P. C., Haynes, L. J. and Magnus, K. E. : High concentration of (-)-Noradrenaline in *Portulaca ole-*

- racea* L. *Nature*, **191**, 1108(1961)
17. Mohamed, A. I. and Hussein, A. S. : Chemical composition of purslane(*Portulaca oleracea*). *Plant Foods for Human Nutr.*, **45**, 1-9(1994)
 18. CORESTA : Standard Method No. 10. International Standard, p.287(1968)
 19. Oddoze, C., Pauli, A. M. and Pastor, J. : Rapid and sensitive high-performance liquid chromatographic determination of nicotine and cotinine in nonsmoker human and rat urines. *J. Chromatogr.*, **708**, 1-2(1998)
 20. Hecht, S. S., Carmella, S. G., Chen, M., Miller, A. T., Murphy, S. J., Zimmerman, C. L. and Hatsukami, D. K. : Quantitation of urinary metabolites of a tobacco-specific lung cancer after smoking cessation. *Cancer Res.*, **59**, 590-596(1999)
 21. Hoffmann, D. and Hoffmann, I. : The changing cigarette, 1950-1995. *J. Toxicol. Environ. Health*, **50**, 307-364(1997)
 22. Qandil, R., Sandhu, H. S. and Matthews, D. C. : Tobacco smoking and periodontal diseases. *J. Can. Dent. Assoc.*, **63**, 187-192(1997)
 23. Neue, U. D. : HPLC columns; Theory, Technology and Practice. Wiley-VCH, pp.182-216(1997)
 24. Simopoulos, A. P., Norman, H. A., Gillaspay, J. E. and Duke, J. A. : Common purslane: a source of omega-3 fatty acids and antioxidants. *J. Am. Coll. Nutr.*, **11**, 374-382(1992)
 25. Parry, O., Okwuasaba, F. and Ejike, C. : Effect of an aqueous extract of *Portulaca oleracea* leaves on smooth muscle and rat blood pressure. *J. Ethnopharmacol.*, **22**, 33-44(1988)
 26. Habtemariam, S., Harvey, A. L. and Waterman, P. G. : The muscle relaxant properties of *Portulaca oleracea* are associated with high concentrations of potassium ions. *J. Ethnopharmacol.*, **40**, 195-200(1993)
 27. Parry, O., Marks, J. A. and Okwuasaba, F. K. : The skeletal muscle relaxant action of *Portulaca oleracea*: role of potassium ions. *J. Ethnopharmacol.*, **40**, 187-194(1993)
 28. Parry, O., Okwuasaba, F. K. and Ejike, C. : Skeletal muscle relaxant action of an aqueous extract of *Portulaca oleracea* in the rat. *J. Ethnopharmacol.*, **19**, 247-253(1987)

(1999년 3월 23일 접수)