

## 갓과 겨자의 항산화 활성성분에 관한 연구

한용봉 · 김미라 · 한병훈\* · 한용남\*  
고려대학교 가정학과 · \*서울대학교 생약연구소

### Studies on Anti-oxidant Component of Mustard Leaf and Seed

Yong Bong Han, Mi Ra Kim, Byung Hoon Han\* and Yong Nam Han\*

Department of Home Economics, Korea University, Seoul 132 and

\*Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110, Korea

**Abstract**—Mustard leaf and seed showed the protective effect on lipid peroxidation in mouse liver. Their active principle was turned out to be sinapine.

**Keywords**—*Brassica juncea* · mustard · antioxidant · sinapine

芥子(*Brassica juncea*)는 십자화과 식물로서 잎은 갓(mustard leaf)이라 하여 그대로 식용하고, 씨는 겨자(mustard seed)라 하며 신미성 향신료로 사용한다.<sup>1)</sup> 겨자는 백겨자(*Sinapis alba*), 흑겨자(*Brassica nigra*), 일본겨자(*Brassica juncea*) 등이 있다. 종자가 황색 구형인 백겨자, 적갈색 구형인 흑겨자 및 일본겨자는 각각 영국, 지중해 연안, 일본 및 한국이 원산지이다.<sup>2)</sup>

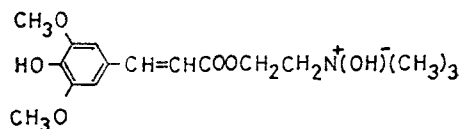
백겨자는 sinalbin, 흑겨자는 sinigrin이라는 thioglycoside를 함유하며 공존하는 myrosinase에 의해 가수분해하여 isothiocyanate를 생성한다. 그 밖에 sinapic acid, sinapine 등이 함유되어있고, 30~37%의 지방유를 함유하며 erucic acid, arachidic acid, linoleic acid 등의 glyceride로 존재한다.<sup>3)</sup> 갓의 화학성분에 관해서는 Uda 등이 salting한 갓의 휘발성 성분과 냉동저장 중 향기 성분의 변화에 대하여 보고하였고<sup>4)</sup>, Morimoto 등은 갓의 영양성분을 보고하였을 뿐<sup>5)</sup>, 갓의 항산화 작용 및 그 활성분에 대해서는 아직 보고된 바 없다.

겨자의 항산화작용에 관해서는 Yamaguchi 등이 서양 고추냉이 (horse radish, *Armoracia lapathifolia*)와 겨자의 항산화작용에 대하여 서로 비교한 바 있다.<sup>6)</sup> 이들은 서양 고추냉이 보

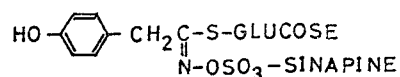
다 겨자가 더 강한 항산화 작용이 있으며, 물로 끓이거나 70% 메탄올로 myrosinase를 불활성화시키면 항산화작용은 증가된다고 하였다. 또한 sinigrin은 항산화작용이 있으나 매우 미약하며, 겨자의 지질 분획은 항산화작용이 없으나 탈지한 겨자는 2배 가량 강한 항산화작용이 있다고 하였다. 그리고 겨자의 항산화작용은 tocopherol보다 2배 가량 강하며 tocopherol과 겨자를 혼합하였을 때 항산화작용이 상승한다고 하였다. 그러나 겨자의 항산화 활성성분에 관해서는 보고된 바 없다.

그러므로 본 연구에서는 갓과 겨자의 항산화 활성성분을 단리하고자 하였다. 갓과 겨자는 널

#### SINAPINE



#### SINALBIN



리 식용하고 있으므로 항산화 활성을 측정함에 있어 mice의 간의 지질과산화물을 갖과 겨자가 억제하는가를 관찰하였다. 식물에 널리 존재하는 carotenoids에 항산화 활성이 있다는 보고가 있으므로<sup>7)</sup>, 갖의 항산화 활성을 측정시 시금치와 상호 비교하였다. 그 결과 시금치보다 갖이 항산화 활성이 강하였으며 유효성분 중에 하나로 sinapine을 단리하였고, 겨자의 항산화 활성성분도 sinapine임을 알 수 있었기에 보고하고자 한다.

## 실험방법

### 1. 실험재료 및 시약

갖은 1984년 11월, 시금치는 1985년 1월 경동시장에서, 겨자는 1985년 9월 한약재상에서 각각 구입하여 시료로 사용하였다. Column chromatography용 silica gel은 E. Merck사의 Kiesel-gel 60을, TLC plate는 Kiesel-gel 60 GF<sub>254</sub> (precoated)를 사용하였다. 2-thiobarbituric acid (TBA)는 Sigma제품이며 sodium dodecylsulfate는 E. Merck (특급) 제품을 사용하였고, 그외 다른 시약은 모두 1급을 사용하였다.

### 2. 항산화 활성 측정

1) **검액조제** : 갖, 시금치 각 500 g을 메탄올로 2회 수욕상에서 5시간 가열한 후 메탄올 추출물을 모아 농축하여 메탄올을 제거하고 증류수에 현탁하여 100 ml로 하여 검액의 원액으로 사용하였다. 이 검액 30 ml를 각각 취하여 상법에 따라 hexane, butanol 추출물을 각각 얻고 용매를 제거한 후 얻은 잔사를 물 30 ml에 현탁시켜 검액으로 사용하였다.

겨자 1,200 g을 hexane으로 수회 가열 추출하여 탈지한 다음 메탄올로 수회 가열 추출하여 메탄올 엑스를 얻었다. 이 엑스를 다시 메탄올 500 ml에 녹이고 핵산으로 추출하여 완전히 탈지하고, 메탄올을 제거한 후 메탄올 엑스 95 g을 얻었다. 이 메탄올 엑스를 소량의 메탄올에 용해시킨 다음 과량의 에테르를 가하여 에테르 가용 분획과 불용 분획으로 나누었다(Scheme 1). 각 분획의 1/10 양을 취하고 증류수에 현탁시켜 120 ml되도록 하여 검액으로 사용하였다.

2) **실험동물** : 암수 구별없이 체중 20~25 g의 dd계 mice를 시판 고형사료로 사육하여 실험동물로 하였다.

### 3) 간조직의 과산화지질의 정량

**In vitro 실험** : mice 간 1 g에 saline 5 ml를 가하여 빙냉하에서 마쇄한 다음 간 마쇄액에 saline을 가하여 10 ml되도록 하였다. 이 간 마쇄액 0.3 ml에 검액 또는 증류수 0.1 ml를 가하고 37°에서 4시간 incubation하여 생성된 과산화지질을 TBA법으로 정량하였다.<sup>8)</sup>

**In vivo 실험** : 6마리의 mice를 한 실험군으로 하여 Kalish의 방법<sup>9)</sup>에 따라 간독성을 유도하였으며 사료 공급 시간과 절식 시간을 조절하였다. 하루 2회 씩 2일간 갖, 시금치 검액을 mouse 체중 kg당 검액 5, 1, 0.5 ml 해당량을 경구투여한 다음, 마지막 투여 3시간후 45% 에탄올 0.3 ml/20 g을 경구투여하여 에탄올 급성중독에 의한 간내 지질 과산화물을 유도하였다. 대조군은 saline 0.3 ml/20 g을 경구투여하였다. 에탄올 투여후 12시간 동안 사료 공급을 중단하였고 동물을 희생시킨 다음 간을 적출하였다. 동일군의 동물의 간을 합하고 간 1 g당 10 ml되도록 saline으로 마쇄한 후 0.3 ml를 취하여 TBA법에 따라 간조직중의 과산화 지질을 정량하였다.<sup>10)</sup>

### 3. Pauly 반응

1) **Pauly시약 조제** : 0.5% sulfanilic acid용액(A액, 0.5 g의 sulfanilic acid를 C-HCl 10 ml에 녹인 후 증류수를 가하여 100 ml로 하였다)과 5% NaNO<sub>2</sub>용액(B액)을 각각 조제하였으며 필요시 A/B=1:1 비율로 혼합한 후 즉시 사용하였다.

2) **정성반응** : TLC plate에 Pauly시약을 분무한 다음 ammonia gas도 알칼리성으로 하여 발색시켰다.

3) **정량반응** : 시험관에 검액 0.1 ml를 취하고 1 N NaOH 1 ml를 가하여 95°에서 가열하였다. 냉각 후 1 N HAc 1 ml와 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1 ml를 차례로 가하였다. 여기에 Pauly 시약 0.5 ml를 가한 다음 480 nm에서 흡광도를 측정하였다. Blank 시험은 Pauly시약 대신 0.6 N HCl를 사용하였다.

### 4. 갖의 항산화 활성물질의 추출 및 분리

1) 갖 부탄을 분획으로부터 **sinapic acid** 및

### Ferulic acid의 단리

추출한 것 메탄올 엑스를 용매분획법에 따라 핵산분획, 부탄올분획, 물분획으로 나누었다. 부탄올분획 10 g을 에탄올 100 ml에 녹인 다음 0.2 N NaOH로 95°에서 2시간 가열하였다. 냉각후 묽은 황산으로 pH 3정도로 산성화시키고 에테르로 추출하였다. 용매를 농축하여 0.57 g의 잔사를 얻었다. 이것을 CHCl<sub>3</sub>/MeOH(5:1) 용매로 silica gel column chromatography를 실시하여 TLC에서 ferulic acid와 Rf치가 일치하는 화합물을 얻었다. 이 물질을 CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>로 메틸화한 다음 무수초산과 피리딘으로 아세틸화하고 hexane/ethylacetate(3:1) 용매로 silica gel column chromatography를 실시하여 compound I 및 II를 얻었다.

#### Compound I

Mp.: 148~150° (무색, 막대모양의 결정)

MS: *m/z* 238 (M<sup>+</sup>, base peak)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, δ): 2.33 (3H, s, COCH<sub>3</sub>), 3.80 (3H, s, COOCH<sub>3</sub>), 3.84 (6H, s, 2×OCH<sub>3</sub>), 6.36 (1H, d, *J*=16Hz, —CH=CH—COO—), 6.75 (2H, s, benzene ring H), 7.62 (1H, d, *J*=16Hz, —CH=CH—COO—)

Compound I은 표준품 sinapic acid의 methyl ester acetate와 TLC, mp, <sup>1</sup>H-NMR에서 동일하였다.

#### Compound II

Mp.: 118~120° (황색, 침상 결정)

MS: *m/z* 208 (M<sup>+</sup>, base peak)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, δ): 2.31 (3H, s, COCH<sub>3</sub>), 3.80 (3H, s, COOCH<sub>3</sub>), 3.85 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 6.37 (1H, d, *J*=16Hz, —CH=CH—COO—), 7.08 (3H, s, benzene ring H), 7.65 (1H, d, *J*=16Hz, —CH=CH—COO—). Ferulic acid methyl ester acetate의 표준품과 TLC, mp, <sup>1</sup>H-NMR에서 동일하였다.

### 2) 갓 부탄올분획의 Sephadex LH-20에 의한 gel filtration

갓 부탄올분획 4 g을 메탄올 20 ml에 용해하여 Sephadex LH-20 column chromatography를 실시하였다. (column size: 3.4×85 cm, eluant: methanol) Void volume에 해당하는 처음 용출

액 300 ml를 받은 다음 tube당 14 ml씩 분취하였다. 각 tube에 대하여 항산화활성(*in vitro*)과 Pauly 반응을 측정하였다(Fig. 4).

### 3) CM-32 cellulose에 의한 이온교환 chromatography

Sephadex LH-20에 의한 gel filtration에서 항산화활성이 강한 14~26번의 tube를 모아 메탄올을 제거한 잔사를 시료로 하였다. 0.05 M HAc-pyridine buffer (pH 5.0)로 평형화 시킨 CM-32 cellulose (Whatman사)를 이용하여 이온교환 chromatography를 실시하였다(Table III).

Column size: 1.7×68 cm

Eluant: 0.05 M HAc-pyridine buffer (pH 5.0)  
200 ml→0.5 M HAc-pyridine buffer (pH 5.0)  
200 ml→0.5 M HAc 200 ml→0.5 M HCl 200 ml  
위의 용출액을 사용하여 4분획을 얻고 각 분획에 대해 항산화활성(*in vitro*)을 측정하였다. 0.5 M HAc-pyridine 분획을 농축한 후 잔사를 소량의 메탄올에 녹인 후 과잉량의 에테르를 가하여 생성된 침전을 모아 건조하였다. 이 분말은 cellulose plate (Merck사) 상에서 butanol/pyridine/HAc/H<sub>2</sub>O(15:10:3:12)용매로 TLC 하였을 때 Dragendorff 시약에 양성인 단일 spot를 나타내었다(Rf=0.73).

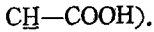
IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3,400 (OH), 1,710 (ester), 1,635, 1,610 (α,β-unsaturated olefin)

<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O, δ ppm): Fig. 5 참조

이 분말 소량을 알칼리 가수분해하고 d-HCl로 pH 3 정도로 산성으로 한 후 ether로 추출하였다. 에테르 가용분획으로 부터 sinapic acid를 단리하였고 수층으로부터 choline chloride를 단리하였다. 즉 수층을 80% 메탄올 용매로 Sephadex LH-20 column chromatography를 실시하여 Dragendorff 시약에 양성인 분획을 모아 농축하여 잔사를 얻었다. 이 잔사는 cellulose plate 상에서 TLC 하였을 때 표준품 choline chloride와 동일한 Rf치를 나타내었다(Rf=0.3).

### Sinapic acid

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>, δ ppm): 3.79 (2×3H, s, 2×OCH<sub>3</sub>), 6.38(1H, d, *J*=16Hz, —CH=CH—COOH), 6.97 (2H, s, benzene ring H), 7.48 (1H, d, *J*=16Hz, —CH=



**Choline chloride**

<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O, δ) : 3.15 (s, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> N<sup>+</sup>—),

3.73 (m, —N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH)

**5. 겨자의 항산화 활성물질의 추출 및 분리**

Scheme 1과 같이 겨자를 hexane으로 탈지한 후 얻은 메탄올엑스를 소량의 메탄올에 녹이고 여기에 과잉량의 에테르를 가하여 생성된 미황색의 침전을 얻었다. 이 침전물 10 g을 0.1M NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 완충액 (pH 8.0) 15 ml에 녹이고 Sephadex G-50으로 gel filtration하였다. (용매 : 0.1 M NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>, column size : 5×140 cm) 처음 용출액 50ml를 받은 다음 tube당 9.3 ml씩 분취하였다. 각 tube에 대해 327 nm에서 UV흡수와 항산화활성 (in vitro)을 측정하였다. Tube no 127-143 (Fig. 6)을 모아 동결건조하여 무색 분말을 얻었다. 이 물질은 갖에서 분리한 항산화 활성물질 (sinapine)과 cellulose plate상에서의 TLC, IR, <sup>1</sup>H-NMR의 data와 동일한 data를 나타내었다.

**6. 실험 기기**

Mp는 Mitamura Heat Block Model-MRK로 측정하고 측정치는 보정하지 않았다. IR은 Perkin-Elmer Model 281B spectrophotometer (KBr disk)를, UV는 Gilford System 2600 UV/Vis spectrophotometer를, <sup>1</sup>H-NMR은 Varian Model FT80A NMR spectrometer를, Mass는 Hewlett Packard Model HP5985B GC/MS System을, centrifuge는 Sorvall RT-6000 Centrifuge를 사용하였다.

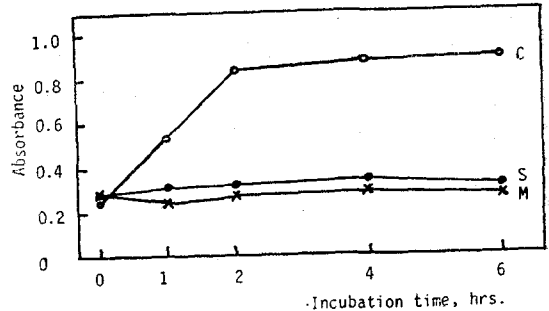
**실험결과 및 고찰**

**1. 갖과 시금치의 항산화 활성비교**

**가. In vitro 실험**

**1) Incubation시간 변화에 따른 지질 과산화 억제효과**

간 homogenate 0.3 ml에 검액의 원액 또는 증류수를 0.1 ml 가하고 37°에서 incubation하여 시간 경과에 따른 간조직의 지질과산화정도를 비교한 결과를 Fig. 1에 나타내었다.



**Fig. 1.** Effects of mustard leaves and spinach on lipid peroxidation of mouse liver *in vitro* according to the incubation time change (C: control, S: spinach, M: mustard leaves)

증류수를 첨가한 대조시험에서는 시간이 경과함에 따라 과산화지질이 급격히 증가하여 2시간에 4배가량 증가하였으며, 그후 거의 일정한 수준에 도달하였다. 갖 또는 시금치의 원액을 첨가한 시험에서는 거의 완전히 지질 과산화를 억제하였으며, 갖이 시금치보다 약간지질 과산화 억제효과가 강하였다.

**2) 검액의 농도에 따른 지질 과산화 억제효과**

갖 및 시금치의 검액을 각각 10배, 100배, 1,000배 희석하여 그 항산화효과를 비교한 결과를 Fig. 2에 나타내었다.

갖이 시금치보다 20~50배 지질과산화 억제효과가 강함을 관찰할 수 있었다.

**나. In vivo 실험**

갖 및 시금치의 검액을 mouse 체중 kg당 5 ml, 1 ml, 0.5 ml씩 1일 2회 2일간 경구투여하였다. 이것을 생시료로 환산하면 25 g/kg, 5 g/kg, 1 g/kg에 해당되는데 Table I에 나타내었다. 각 실험군의 동물은 6마리씩 사용하였으며, 최종까지 생존한 동물은 5 ml/kg 투여군에서 갖·시금치 각각1마리씩, 1 ml/kg 투여군에서는 갖은 4마리, 시금치는 3마리였으며, 0.5 ml/kg 투여군에서는 갖·시금치 각각 4마리씩이 었다.

각 실험군의 지질 과산화 억제효과는 0.5 ml/kg 투여군에서 갖이 76%, 시금치가 61%였으며, 1 ml/kg 투여군에서는 갖이 47%, 시금치가 43%였고, 5 ml/kg투여군에서는 갖이 0%, 시금치가 21%의 항산화 활성을 나타내었다.

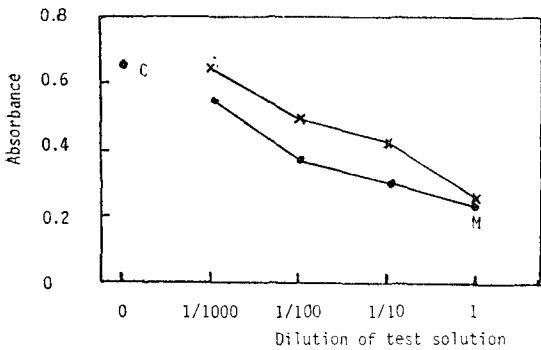


Fig. 2. Effects of mustard leaves and spinach on lipid peroxidation of mouse liver *in vitro* according to the concentration of extracts in reaction mixtures (4 hrs.)

Table I. Inhibitions of mustard leaves and spinach on lipid peroxidation in mouse liver

Test soln (ml/kg)	Dose* (g/kg)	Animal No.	Inhibition % (survival animal No.)	
			mustard leaves	spinach
5	25	6	0(1)	21(1)
1	5	6	47(4)	43(3)
0.5	1	6	76(4)	61(4)

\* Orally administered twice per day for two days.

즉 검액을 낮은 농도로 투여한 실험군에서는 갖이 시금치보다 강한 항산화 활성을 나타내었으나, 높은 농도로 투여한 실험군에서는 갖·시금치 모두 항산화 활성이 낮았으며, 각각 6마리의 실험동물중 1마리씩 밖에 최종까지 살아남지 않았다. 이러한 결과는 검액의 항산화 활성에 의한 것이 아니라, 검액의 mouse에 대한 독성에 기인한 것으로 생각된다.

2. 갖의 항산화 활성 성분

가. 분획별 항산화 활성

갖을 용매 분획법으로 분획하여 헥산 분획, 부탄올 분획, 물 분획으로 나누고, 각각에 대하여 *in vitro* 실험으로 항산화 활성을 측정하여 Table II에 나타내었다. 갖의 헥산 분획은 8%, 부탄올 분획은 80%, 최종 수층은 39%의 항산화 활성을 나타내었다.

또한 항산화 활성이 강한 부탄올 분획과 최종 수층의 검액을 2배, 4배, 8배, 16배 희석하여 항산화 활성을 비교한 결과, 부탄올 분획이 최종

Table II. Antioxidant activity of each solvent fraction of mustard leaves. (*in vitro*)

solvent fraction	antioxidant activity %
Hexane fraction	8
BuOH fraction	80
H <sub>2</sub> O fraction	39

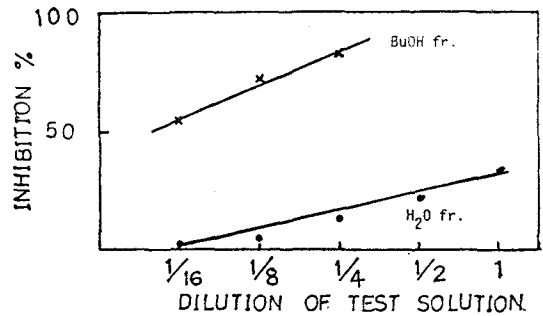


Fig. 3. Inhibition of lipid peroxidation of BuOH fr. and H<sub>2</sub>O fr. of mustard leaves

수층보다 50배 정도 강한 항산화 활성이 있음을 관찰하였다(Fig. 3).

나. 항산화 활성 성분의 분리

1) Silica gel column chromatography.

갖의 항산화 활성이 가장 강한 부탄올 분획 중에서 그 유효성분을 단리하기 위하여 silica gel column chromatography를 실시하였다. 그러나 용출된 모든 분획에 항산화 활성이 퍼져 있어서 유효성분의 분리는 실패하였다. 또한 배당체 분리에 사용되는 CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O system의 용매로 TLC하여 페놀성 화합물을 검출하기 위해 Pauly 시약을 분무하였을 때, 이 반응에 양성인 물질이 tailing하여 단일 spot를 확인할 수 없었다.

갖 부탄올 분획중의 페놀성 성분을 확인하기 위하여 0.2 N-NaOH로 알칼리 가수분해를 실시하였다. 이것을 에테르로 추출하여, 에테르 추출물을 silica gel column chromatography를 실시하여 ferulic acid와 Rf치가 일치하는 화합물을 분리하였다. 이 물질은 U.V.와 Pauly 반응과 황산 발색에 의하여 두가지 물질의 혼합물인 것으로 추정하고 CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>로 메틸화하고, 무수초산과 피리딘으로 아세틸화한 다음 silica gel column chromatography를 실시하여 compound I과 com-

pound II를 단리하였다.

Compound I은 용점이 148~152° 무색 막대 모양의 결정이며, 분자량은 238이었다. <sup>1</sup>H-NMR을 실시하였을 때 2.33 ppm에서 -OAc가 singlet로, 3.80 ppm에서 -COOCH<sub>3</sub>가 singlet로 나타났으며, 3.84 ppm에서 2개의 -OCH<sub>3</sub>가 singlet로 나타났다. 6.36 ppm과 7.62 ppm에서 olefin계 수소가 각각 doublet로, 6.75 ppm에서 benzene ring의 수소 2개가 singlet로 나타났다. 이것으로 compound I은 acetyl sinapic acid methyl ester임을 확인하였다.

Compound II는 용점이 118~120° 황색 침상 결정이며, 분자량은 208이었다. <sup>1</sup>H-NMR을 실시하였을 때 2.31 ppm에서 -OAc가 singlet로, 3.80 ppm에서 -COOCH<sub>3</sub>가 singlet로 나타났으며, 3.85 ppm에서 -OCH<sub>3</sub>가 singlet로 나타났다. 6.37 ppm과 7.65 ppm에서 olefin계 수소가 각각 doublet로, 7.08 ppm에서 benzene ring의 수소 2개가 singlet로 나타났다. 이것으로 이 물질은 acetyl ferulic acid methyl ester임을 확인하였다.

Table III. CM-32 Cellulose Ion Exchange Column Chromatography

Eluant	Inhibition %
0.05M HAC-pyridine buffer (pH 5.0)	0
0.5 M HAC-pyridine buffer (pH 5.0)	71
0.5 M HAC soln.	30
0.5 M HCl soln.	0

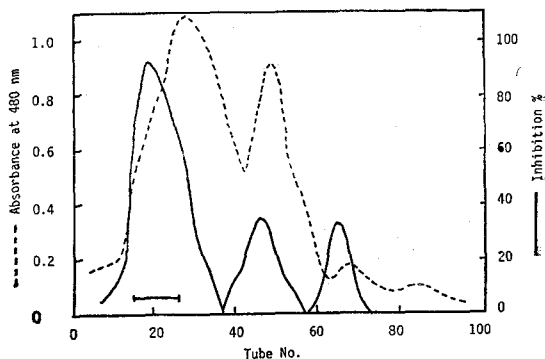


Fig. 4. Gel filtration of butanol fraction of mustard leaves on a Sephadex LH-20 column. ... : Pauly reaction, — : antioxidant activity

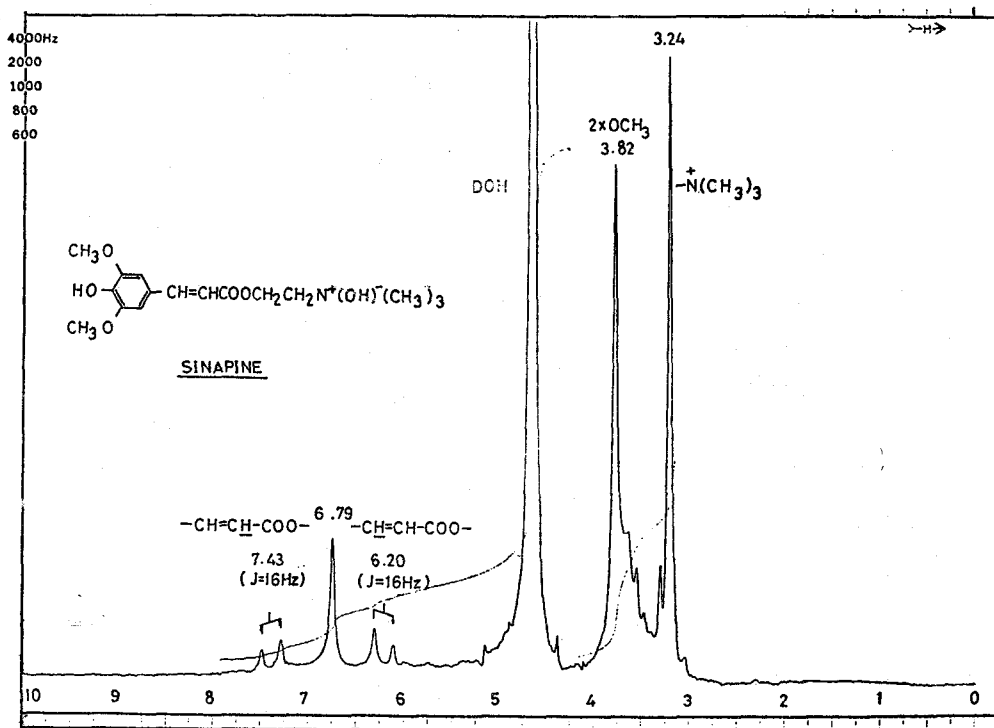


Fig. 5. <sup>1</sup>H-NMR spectra of sinapine isolated from mustard leaves. (solvent: D<sub>2</sub>O)

2) Sephadex LH-20 gel filtration

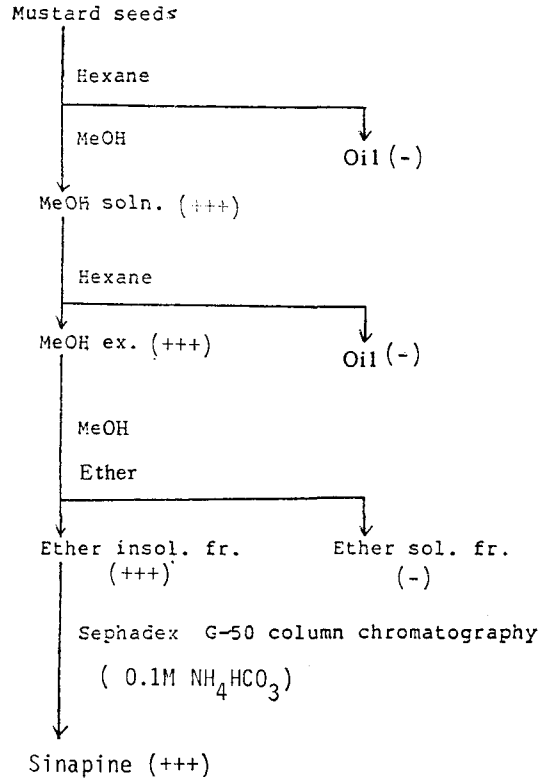
갓 부탄을 분획을 Sephadex LH-20 gel filtration하여 항산화 활성과 Pauly 반응을 관찰하였다. Fig. 4에 나타낸 바와 같이 Pauly 반응에 양성인 peak와 항산화활성을 나타내는 peak는 서로 일치하지 않으므로 항산화 활성물질은 Pauly 반응을 나타내는 물질이 아님을 알 수 있었다. 그런데 갓의 부탄을 분획을 알카리 가수분해하여 얻은 두가지 화합물 중에서 ferulic acid는 Pauly 반응에 양성이었었고 sinapic acid는 음성이었으므로 갓의 항산화 활성물질은 sinapic acid의 관련 화합물로 추정하였다.

3) CM-32 cellulose 이온교환 chromatography

위의 Sephadex LH-20 gel filtration에서 항산화 활성이 가장 강한 분획을 모아 이것을 CM-32 cellulose 이온교환 chromatography한 다음 각 분획에 대해 항산화 활성을 측정하였다(Table III). 항산화 활성이 가장 큰 0.5 M HAc-pyridine buffer로 elution한 분획으로부터 무색 분말의 화합물을 얻었다. 이 물질은 326.5 nm에서 최대 흡수를 보였고 <sup>1</sup>H-NMR (Fig. 5)에서 δ 3.24(s)의 -N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> peak, δ 3.82에서 2×OCH<sub>3</sub>의 singlet peak, δ 6.20 및 7.43에서 AB quartet형의 2개의 olefin 수소가 관찰 되었고, δ 6.79에서 benzene ring의 2개의 수소가 singlet로 나타났으므로 sinapine으로 추정하였다.

이 물질을 알카리 가수분해한 후 에테르 가용

분획에서 sinapic acid를, 불용분획(수층)에서 choline chloride를 각각 단리하였다. 그러므로 갓의 항산화 활성성분은 sinapine으로 동정하였다.



Scheme 1. Isolation of sinapine showing antioxidant activity from mustard seeds.

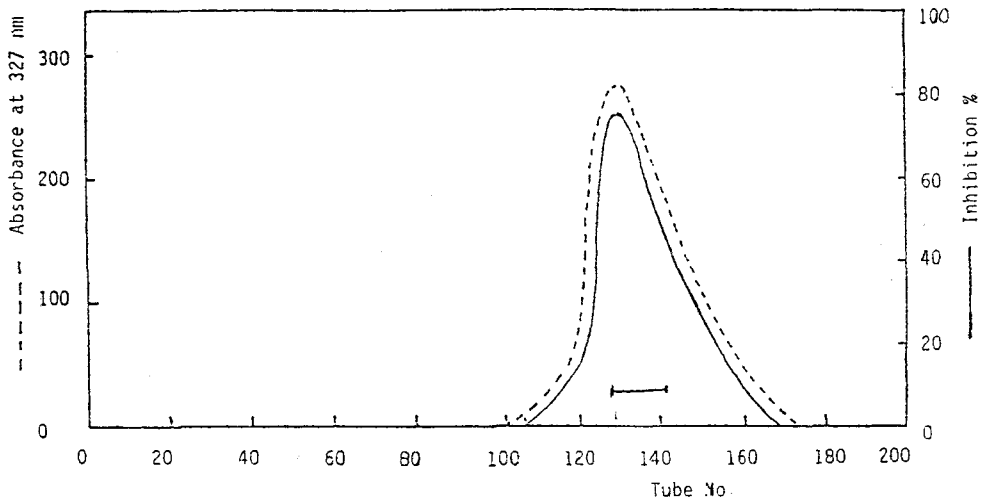


Fig. 6. Gel filtration of an ether-insoluble fraction of mustard seeds on a Sephadex G-50 column.

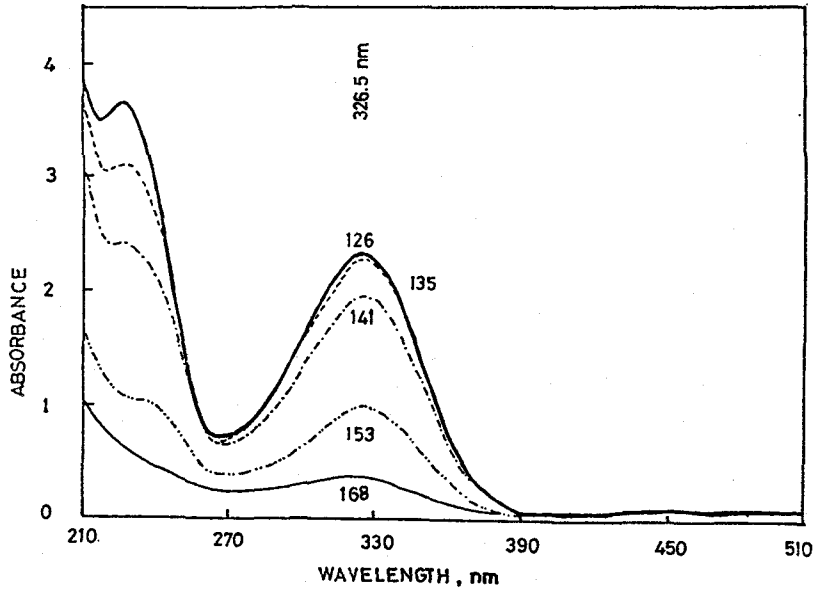


Fig. 7. UV spectra of various tubes obtained from Sephadex G-50 column (Fig. 6).

### 3. 겨자의 항산화 활성성분

Scheme 1에 나타낸 바와 같이 겨자를 hexane으로 탈지한 후 메탄올로 추출하였고 메탄올엑스를 다시 hexane으로 추출하여 완전히 탈지하였다. 탈지한 메탄올엑스를 소량의 메탄올에 녹이고 여기에 과량의 에테르를 가하여 생성된 침전물에 항산화 활성이 나타났다. 이 침전물을 Sephadex G-50을 사용하여 gel filtration을 실시하였다(Fig. 6). 용출액에 대해 327 nm에서 흡광도를 측정하고, 항산화 활성을 측정하여 본 결과 void volume에 극소량의 항산화 활성이 있으나 대부분은 tube no. 130에 항산화 활성의 극대 peak를 나타내었다. 이 항산화 활성과 327 nm에서의 흡수가 서로 평행을 이루고 있으므로 327 nm의 흡수 물질이 항산화 활성성분임을 추정할 수 있었다. 또한 항산화 활성을 보이는 각 시험관의 용출액에 대해 UV 흡수곡선을 조사해 본 결과, Fig. 7에 나타낸 바와 같이 이 항산화물질은 모두 326.5 nm에서 흡수 극대를 나타내었고 동일한 UV흡수곡선을 나타내므로 단일 물질임을 추정할 수 있었다. Fig. 6에서의 tube no. 127~143를 모아 동결건조하여 무색의 분말을 얻었다. 이 물질은 cellulose plate에서 TLC하였을 때 단일 spot를 나타내었고 갖에서 단리한

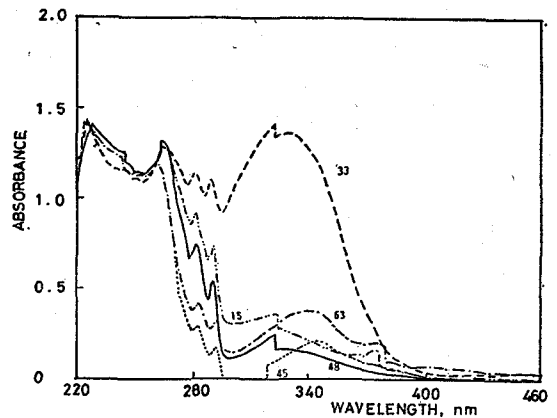


Fig. 8. UV spectra of various fractions obtained from Sephadex LH-20 column chromatography of heat-treated sinapine.

sinapine과 TLC, IR, NMR에서 동일하였으므로 겨자의 항산화 활성성분도 sinapine으로 동정하였다. 겨자의 항산화 활성성분은 대부분 sinapine임을 알 수 있었으나 갖의 경우 sinapine의에도 다수의 항산화 성분이 있을 것으로 짐작된다(Fig. 4 및 Table III 참조). 갖의 sinapine이외의 다른 항산화 성분에 대해서는 금후 계속 연구할 계획이다. 한편 갖, 겨자는 김치, 병면등에 식용으로 사용되며 이때 가열 또는 끓여 요리를 하지



않으므로 sinapine이 열처리 시에 어떤 변화를 받는가를 조사하여 보았다. Sinapine을 소량의 물에 녹인 후 95°에서 30분 가열한 후 반응액을 Sephadex LH-20 column에서 gel filtration한 후 얻은 각 용출액에 대해 UV 흡수곡선을 조사하여 보았다. Fig. 8에 나타낸 바와 같이 모든 용출액에서 sinapine 특이한 흡수곡선(Fig. 7)을 찾아볼 수 없었다. 그러므로 sinapine은 열에 불안정한 화합물임을 알 수 있었다.

〈1986년 12월 8일 접수: 12월 31일 수리〉

## 문 헌

1. 이창복: 대한식물도감. 향문사
2. 조재선: 개정식품재료학, 기전연구사, 295-299 (1981).
3. 약품식물학연구회: 약품식물학각론, 진명출판사, 306 (1980).
4. Uda, Y., Ikawa, H., Ishibashi, O. and Maeda, Y.: *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 31, 371 (1984).
5. Morimoto, A., Ikegaya, Y. and Harada, I.: 日本 榮養・食糧學會誌 36, 515 (1983).
6. Yamaguchi, N., Kanoo, M., Ikeda, K. and Kijima I.: *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 31, 114 (1984).
7. 淺田浩三: 酸素毒性, 生化學 48, 226 (1983).
8. Han, Y.N., Kwon, Y.K. and Han, B.H.: *Kor. J. Pharmacogn.* 12, 26 (1981).
9. Kalish, G.H. and Luzio, N.R.D.: *Science* 152, 1390 (1966).
10. Han, B.H., Park, M.H., Han, Y.N. and Shin, S.C.: *Yakhak Hoeji* 28, 231 (1984).