

나문재 추출물의 성분 분석

양희정·박수남[†]

서울산업대학교 자연생명과학대학 정밀화학과
(2008년 7월 22일 접수, 2008년 8월 6일 채택)

Component Analysis of *Suaeda asparagoides* Extracts

Hee Jung Yang and Soo Nam Park[†]

Department of Fine Chemistry, College of Nature and Life Science, Seoul National University of Technology, 172,
Gongneung 2-dong, Nowon-gu, Seoul 139-743, Korea
(Received July 22, 2008; Accepted August 6, 2008)

요약: 이전 연구에서 저자들은 나문재 추출물의 항산화 작용과 추출물 함유 크림의 유효 안정성에 대한 결과를 보고한 바 있다[1,2]. 본 연구에서는 thin layer chromatography (TLC), high performance liquid chromatography (HPLC)와 liquid chromatography/Electrospray Tandem mass spectrometry (LC/ESI-MS/MS), ¹H-NMR을 이용하여 나문재 추출물에 대한 성분 분석을 수행하였다. 나문재 추출물 중 ethyl acetate 분획의 TLC는 5개의 띠(SA 1 ~ SA 5)로 분리되었다. Ethyl acetate 분획의 당 제거반응 후 얻어진 aglycone 분획에 대한 HPLC 크로마토그램은 2개의 피이크(SAA 2 및 SAA 1)를 나타냈고, 각각 그 용리 순서는 quercetin, kaempferol이었으며 조성비는 quercetin 16.88 %, kaempferol 83.12 %로 kaempferol의 함량이 큰 것으로 나타났다. 또한 LC/ESI-MS/MS를 통해서 SA 2는 kaempferol-3-O-glucoside로 SA 3는 quercetin-3-O-glucoside, SA 4는 kaempferol-3-O-rutinoside, SA 5는 quercetin-3-O-rutinoside로 확인되었다. LC/ESI-MS/MS의 스펙트럼에서 SAA 1은 탈양성자화된 aglycone 분획에 상응하는 분자이온 [M-H]⁻(*m/z* 285) 피이크를 나타냈으며, ¹H-NMR 분석을 실시한 결과 [δ 6.19 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-6), δ 6.44 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-8), δ 6.92 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-3',5'), δ 8.04 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-2',6')]에서 피이크들이 나타났다. 따라서 SAA 1은 kaempferol임이 확인되었다. SAA 2는 aglycone 분획에 상응하는 분자이온 [M-H]⁻(*m/z* 301)을 생성하였고, ¹H-NMR 스펙트럼은 [δ 6.20 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6), δ 6.42 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), δ 6.90 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-5'), δ 7.55 (1H, dd, *J* = 8.6, 2.2 Hz, H-6'), δ 7.69 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-2')]에서 피이크들을 나타냈고, 따라서 SAA 2는 quercetin으로 확인되었다. 결론적으로, 이미 보고된 나문재 추출물의 항산화 작용 그리고 안정성 실험과 더불어 나문재 추출물의 성분 분석은 새로운 기능성 화장품원료로서 응용이 가능함을 시사한다.

Abstract: In the previous study, the anti-oxidant activity of extract/fraction of *Suaeda asparagoides* (SA) and the stability test for the cream containing SA extract were investigated respectively[1,2]. In this study, the components of SA extract were analyzed by TLC, HPLC, and LC/ESI-MS/MS, ¹H-NMR. TLC chromatogram of ethyl acetate fraction of SA extract revealed 5 bands (SA 1 ~ SA 5). HPLC chromatogram of aglycone fractions obtained from deglycoylation reaction of ethyl acetate fraction showed 2 bands (SAA 2 and SAA 1), which were identified as quercetin (composition ratio, 16.88 %) and kaempferol (83.12 %) in the order of elution time. Among 5 bands of TLC chromatogram, 4 bands (SA 2 ~ SA 5) also were identified as kaempferol-3-O-glucoside (SA 2), quercetin-3-O-glucoside (SA 3), kaempferol-3-O-rutinoside (SA 4), quercetin-3-O-rutinoside (SA 5) by LC/ESI-MS/MS/MS, respectively. The spectrum generated for SAA 1 by LC/ESI-MS/MS in the negative ion mode also gave the ion corresponding to the deprotonated aglycone [M-H]⁻ (285 *m/z*), the ¹H-NMR spectrum contained signals [δ 6.19 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-6), δ 6.44 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-8), δ 6.92 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-3',5'), δ 8.04 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-2',6')], thus SAA 1

[†] 주 저자 (e-mail: snpark@snut.ac.kr)

was identified as kaempferol. SAA 2 yielded the deprotonated aglycone ion $[M-H]^-$ (301 m/z), 1H -NMR spectrum showed signals [δ 6.20 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), δ 6.42 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), δ 6.90 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-5'), δ 7.55 (1H, dd, $J = 8.6, 2.2$ Hz, H-6'), δ 7.69 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-2')], thus SAA 2 was identified as quercetin. In conclusion, with the anti-oxidant activity and the stability test reported previously, component analysis of SA extracts could be applicable to new cosmeceuticals.

Keywords: *Suaeda asparagoides*, flavonoids, LC/ESI-MS/MS, component analysis, NMR

1. 서 론

나문재는 1년생 초본으로서 염생식물(halophyte), 명아주과(chenopodiaceae)에 속한다. 이러한 염생식물에는 갈대, 칠면초, 나문재, 갯잔디, 통통마디 등이 있다. 이 중 나문재(*Suaeda asparagoides*)는 단백질, 지방 등의 필수 영양소와 무기질, 인, 칼슘, 철, 나트륨 등의 미량원소 그리고 비타민 A, B₁, B₂, C 등 많은 영양소를 골고루 함유하고 있어 건강식품이나 민간 약초로도 사용되어 왔다[3]. 그러나 성분의 효과와 성분의 분석에 대한 연구 보고는 거의 없다.

따라서, 저자들은 본 논문에 앞서 나문재 추출물의 항산화 작용과 추출물 함유 크림의 유효 안정성에 대하여 이미 보고한 바 있다[1,2]. 보고된 논문에서 나문재 추출물의 free radical (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 소거활성(FSC₅₀, $\mu\text{g/mL}$)은 100 % 에탄올 추출물(329.33 $\mu\text{g/mL}$) < 50 % 에탄올 추출물(40.73 $\mu\text{g/mL}$) < ethyl acetate 분획(13.87 $\mu\text{g/mL}$) < aglycone 분획(7.80 $\mu\text{g/mL}$) 순으로 ethyl acetate 분획과 그 분획에서 당을 제거시킨 aglycone 분획의 free radical 소거활성이 매우 큼을 알았다. 또한 Fe^{3+} -EDTA/ H_2O_2 계를 이용한 총항산화능(OSC₅₀, $\mu\text{g/mL}$)은 100 % 에탄올 추출물(6.50 $\mu\text{g/mL}$) < 50 % 에탄올 추출물(0.99 $\mu\text{g/mL}$) < ethyl acetate 분획(0.05 $\mu\text{g/mL}$) < aglycone 분획(0.03 $\mu\text{g/mL}$) 순으로 ethyl acetate 분획과 aglycone 분획의 총 항산화 효과 또한 매우 큼을 확인하였다. $^1\text{O}_2$ 으로 유도된 세포 손상에 대한 추출물의 세포 보호 활성은 aglycone 추출물의 경우 1 ~ 50 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도 범위에서 농도 의존적으로 세포보호 활성을 나타냈다. 이상 3가지 항산화 실험에서 나문재 추출물 중 ethyl acetate 분획과 aglycone 분획은 항산화 활성이 커서 자외선에 노출된 피부에서 항산화제로서의 작용을 할 수 있을 것으로 판단되었다. 또한 나문재 추출물 함유 크림의 유효 안정성 연구에서는 추출물 함유 크림을 2주 동안 온도별 저장(0 °C, 25 °C, 37 °C 및 45 °C)과 태양광선에 노출 하였을 경

우 제품의 pH와 흡광도 변화는 거의 없었으며, 오히려 나문재 추출물은 태양광선에 대항하는 보호제로 작용하여 크림의 점도를 유지시켜 제품을 안정화시키는데 기여함을 확인하였다.

그러나 나문재 추출물 중 항산화 효과를 가진 분획 즉, ethyl acetate 분획과 aglycone 분획에 대한 성분 분석은 이루어진 예가 없다. 따라서 본 연구에서는 나문재 추출물의 항산화 성분들을 최초로 분석하였고 이를 보고하고자 한다.

2. 재료 및 실험

2.1. 기기 및 시약

UV-visible spectrophotometer는 Varian (Australia)사의 Cary 50, HPLC는 Dionex사, NMR는 Varian (USA)사의 Mercury400, LC/ESI-MS/MS는 Applied Biosystems사의 API2000 제품을 사용하였다.

에탄올, 메탄올, ethyl acetate (EtOAc) 등 각종 용매는 시판 특급 시약을 사용하였으며, Tirmethyl sulfoxide (contains 0.1 v/v% TMS)는 Sigma사(USA)에서 구입하였다. Flavonoid의 분석에 사용한 thin layer chromatography (TLC)는 aluminum sheet silica gel 60 F₂₅₄ (0.2 mm)로 Merck사(USA)에서 구입하였다. 플라보노이드 비교물질로 사용한 kaempferol, quercetin, quercetin-3-O-rutinoside (rutin), quercetin-3-O-glucoside (isoquercitrin)은 Sigma사(USA)에서 구입하였다.

실험에 사용한 건조된 나문재는 (주)생그린으로부터 채취, 건조시킨 것을 공급받았다.

2.2. 나문재의 추출 및 용매 분획

2006년 2월 생그린에서 제공해준 건조시킨 나문재 500 g을 잘게 자른 후 50 % 에탄올 5 L를 이용하여 일주일 동안 침적시킨 후 여과하였다. 이 여액을 감압 건조하여 파우더를 얻고 이를 실험에 사용하였다. 또한 50 % 에탄올 추출물은 감압 농축한 후 물과 *n*-hexane을 이용하여

Table 1. HPLC Conditions for Separation of Ethyl Acetate and Deglycosylated Fraction from *Suaeda asparagoides* Extracts

Condition of HPLC analysis	
Column	Luna 5 μ C18 (L : 250 nm, LD : 4.6 mm)
Detector	UVD 170s DIONEX
Flow Rate	1.0 mL/min
Mobile Phase	2 % acetic acid : 0.5 % acetic acid in H ₂ O in 50% acetonitrile solution
	(70 : 30 ~ 10 : 90, Gradient) for ethyl acetate fraction
	(50 : 50 ~ 0 : 100, Gradient) for aglycone fraction (deglycosylated)

비극성 성분을 제거하고 이후 ethyl acetate 분획을 감압·농축하여 파우더를 얻었다.

Ethyl acetate 분획으로부터 aglycone 제조: ethyl acetate 분획에서 얻은 파우더 일부는 산 가수분해 반응을 이용해서 당을 제거시킨 aglycone 파우더를 실험에 사용하였다. 실험 방법은 ethyl acetate 가용분 일정량에 H₂SO₄ 및 acetone 용액을 넣고, 4 h 동안 중탕 가열하면서 환류·냉각시킨다. 환류 시킨 용액을 5 % KOH-MeOH 용액으로 중화 적정한다. 중화 적정 후 다시 ethyl acetate 층을 분획하고 이를 감압·농축하여 실험에 사용하였다.

2.3. 나문재 추출물로부터 플라보노이드의 동정 및 정량

2.3.1. TLC 및 HPLC를 이용한 나문재 추출물의 플라보노이드 분석

나문재 추출물 중 ethyl acetate 분획과 이로부터 당을 제거시킨 aglycone 분획을 100 % 에탄올에 녹인 후, syringe filter (Millipore 0.45 μ m)를 이용하여 여과하고 이 여액을 TLC 및 HPLC 분석을 위한 시료로 이용하였다. TLC 분석에서 전개용매는 ethyl acetate 분획의 경우 ethyl acetate : acetic acid : formic acid : water = 100 : 11 : 11 : 10을 aglycone 분획은 *n*-hexane : ethyl acetate : acetic acid = 21 : 14 : 5를 사용하였다. 성분 확인은 플라보노이드 표준물질의 R_f치와 자외선, 황산발색을 이용한 분리된 띠 등으로 확인하였다.

HPLC 분석은 2 % acetic acid 수용액과 0.5 % acetic acid를 함유한 50 % acetonitrile 수용액을 기울기 용리법으로 분리하였고, 이 때 HPLC 분리조건은 Table 1에 나타내었다. 또한 나문재 추출물의 성분 분석을 위하여 TLC로 분리된 각각의 띠를 긁은 후 50 % 에탄올에 추출, 여과한 뒤 감압 농축하여 파우더를 얻었다. 이 때 얻

어진 파우더 중 일부는 100 % 에탄올에 녹인 후, syringe filter (Millipore 0.45 μ m)를 이용하여 여과하고 그 여액을 HPLC 분석에, 나머지는 당 제거반응으로 aglycone을 제조하는데 사용하였다. Aglycone 분말 또한 HPLC 분석에 사용하기 위해 100 % 에탄올에 녹이고, syringe filter (Millipore 0.45 μ m)로 여과한 후 사용하였다.

2.3.2 LC/ESI-MS/MS와 NMR을 이용한 나문재 추출물의 플라보노이드 분석

LC 분석은 autosampler와 diode-array detector (DAD)가 장착된 Agilent (Waldbronn, Germany) Model 1100을 사용하였다. 컬럼은 Pursuit XR_s C18 (2.0 \times 50 mm, 3 μ m) (Varian, USA)을 사용하였다. 이동상은 0.5 % formic acid (in water) (solvent A) : 0.5 % formic acid (in MeOH : Acetonitrile = 5 : 5) (solvent B) = 20 : 80 으로 하였으며, 유속은 200 μ L/min으로 하였다.

MS/MS 분석은 ionspray source을 사용하였고, negative ion mode로 capillary voltage는 -3500 V, nebulizer gas (N₂) 10 (arbitrary units), collision gas (N₂) 그리고 ion source temperature는 400 $^{\circ}$ C에서 행하였다. Declustering potential (DP)와 collision energy (CE)는 각각 화합물에 따라 최적화하였으며, Tables 4, 5에 나타내었다.

¹H-NMR 기기 분석은 Mercury400 (Varian, USA)를 사용하였으며, 분석 용매는 dimethyl sulfoxide-*d*₆ (DMSO)를 사용하였으며, 내부 표준물질로는 tetramethylsilane (TMS)를 기준점(Si(CH₃)₄, δ = 0)으로 하였다.

2.4. 통계처리

모든 실험은 3회 반복하였고 통계분석은 5 % 유의수준에서 Student's *t*-test를 행하였다.

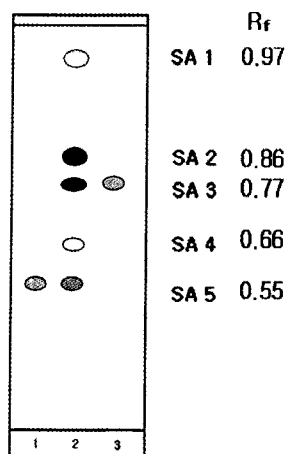


Figure 1. TLC chromatogram of ethyl acetate fraction from *Suaeda asparagoides* and references, 1: rutin, 2: *Suaeda asparagoides* extract (EtOAc fraction), 3: isoquercitrin. For detailed chromatographic protocol see the experimental section.

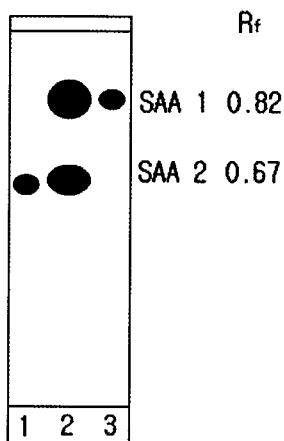


Figure 2. TLC chromatogram of deglycosylated extract from *Suaeda asparagoides* (EtOAc fraction) and references, 1: quercetin, 2: deglycosylated extract (EtOAc fraction), 3: kaempferol. For detailed chromatographic protocol see the experimental section.

3. 결과 및 고찰

3.1. TLC 및 HPLC를 이용한 나문재 추출물의 플라보노이드 분석

3.1.1. TLC를 이용한 나문재 추출물의 플라보노이드 분석
 나문재 추출물의 TLC 크로마토그램은 Figure 1 및 Figure 2와 같다. Figure 1은 50 % 에탄올로 추출한 나문재 추출물로부터 얻은 ethyl acetate 분획으로 5개의 띠

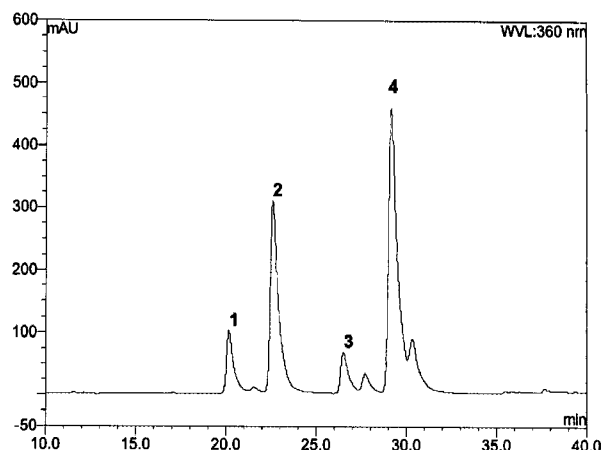


Figure 3. HPLC chromatogram of ethyl acetate fraction from *Suaeda asparagoides*, 1: SA 5, 2: SA 3, 3: SA 4, 4: SA 2.

(SA 1, SA 2, SA 3, SA 4, SA 5)로 분리되었다. 그 중 Rf 0.86인 SA 2는 자외선 및 발색법으로 확인한 결과 농도가 가장 진한 것으로 나타났다. 본 TLC 조건에서 flavonoid aglycones은 SA 1과 동일한 위치에서 나타났고, SA 2 ~ SA 5 띠들은 플라보노이드 배당체(flavonoid glycosides)로 추정되었다.

Figure 2는 나문재 추출물 중 ethyl acetate 분획에 대하여 당 제거 실험 후 얻어진 aglycone 분획의 TLC 크로마토그램이다. 이 aglycone 분획은 2개의 띠(SAA 1, SAA 2)로 분리되었고, 표준물질을 이용하여 SAA 1은 kaempferol, SAA 2는 quercetin으로 추정하였고, 이어 HPLC, LC/ESI-MS/MS 및 NMR 스펙트럼을 분석하여 정확한 구조를 확인하였다.

3.1.2. HPLC를 이용한 나문재 추출물의 플라보노이드 분석

나문재 추출물 중 ethyl acetate 분획의 HPLC 크로마토그램은 Figure 3과 같다. 크로마토그램은 4개의 피크를 나타내었다. 각각의 피크를 동정하기 위하여, Figure 1에 있는 TLC 크로마토그램에서 분리된 띠를 끊어서 추출·여과하고 용매를 감압·건조시킨 후 얻은 파우더를 에탄올 용액으로 하여 HPLC 분석을 위한 시료로 사용하였다. Figure 1의 TLC (normal phase) 크로마토그램에서 R_f치가 가장 작은 띠인 SA 5 (R_f 0.55)는 Figure 3의 HPLC (reverse phase) 피크 1으로, SA 3는 피크 2, SA 4는 피크 3, SA 2는 피크 4와 일치함을 확인하였다. SA 3와 SA 4 띠가 HPLC에서 순서가 바뀐 것 이외에는 정상(TLC)과 역상(HPLC) 크로마토그래피에서 용리된 순서가 예측한 대로 거의 일치하였다.

나문재 추출물 중 ethyl acetate 분획의 당 제거반응

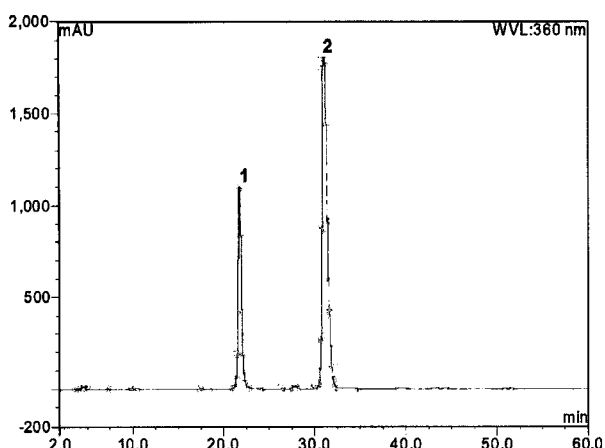


Figure 4. HPLC chromatogram of deglycosylated *Suaeda asparagoides* extracts (EtOAc fraction). 1: SAA 2, 2: SAA 1.

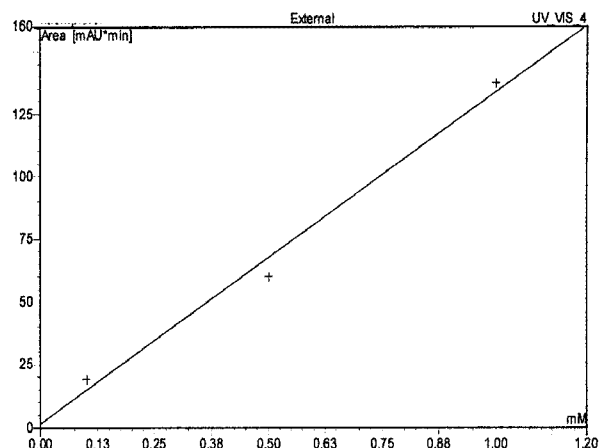


Figure 5. Calibration curve of the kaempferol standard injected in the range from 0.1 to 1.0 $\mu\text{g/mL}$ ($\lambda = 360 \text{ nm}$).

Table 2. Equations of Calibration Curves Obtained for Flavonoid Standards ($\lambda = 360 \text{ nm}$)

Standard	Calibration curves	R ₂
Quercetin	$y = 236.813x - 15.826$	99.405
Kaempferol	$y = 132.253x + 1.583$	99.376

Table 3. HPLC Quantitative Analysis Data of Deglycosylated *Suaeda asparagoides* Extracts (Aglycones of EtOAc Fraction)

No.	Ret. time (min)	Peak name	Height (mAU)	Area (mAU × min)	Rel. area (%)	Amount (mM)
1	21.75	Quercetin	1096.222	426.877	16.88	1.869
2	31.07	Kaempferol	1805.225	1220.183	83.12	9.214
Total:			2901.447	1647.060	100.00	11.084

후 얻어진 aglycone 분석에 대한 HPLC 크로마토그램은 Figure 4와 같다. 표준물질을 이용하여 확인한 Figure 2의 TLC 크로마토그램과 Table 2 및 Figure 5의 검량곡선, 그리고 Figure 4에서 확인한 바와 같이 Figure 4의 피이크 1은 quercetin, 피이크 2는 kaempferol임을 확인하였고, 2가지 플라보노이드의 조성비는 quercetin (피이크 1) 16.88%, kaempferol (피이크 2) 83.12%로 나타났다(Table 3).

Figure 1에 있는 TLC 크로마토그램에서 분리된 띠를 각각 끊어서 추출·여과하고 용매를 감압·건조시켜 얻은 띠별 파우더를 당 제거반응 시킨 후 에탄올 용액으로 만들고 이들을 HPLC 분석에 사용함으로써 Figure 3에 있는 피이크들이 어떤 플라보노이드인가를 알아보고자 하였다. 또한 분리된 TLC 띠 성분과 HPLC 피이크 확인에는 UV-Visible 흡수스펙트럼, IR 스펙트럼 등의 분광

학적 데이터들도 이용하였다.

Figure 3에서 피이크 크기가 가장 큰 피이크 4 (조성비, 53.80%)와 피이크 3 (7.83%)은 당 제거반응에서 kaempferol로 확인되었으며, 제일 먼저 용출된 peak 1 (8.73%)과 peak 2 (29.64%)는 quercetin으로 확인되었다.

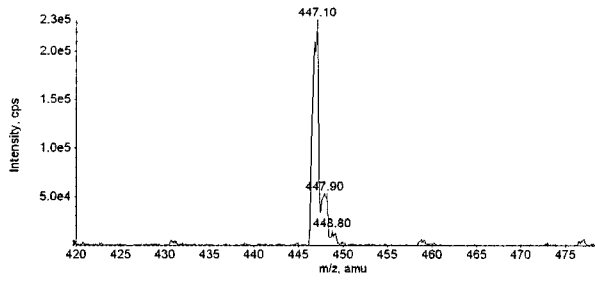
3.1.3. LC/ESI-MS/MS와 NMR를 이용한 나문재 추출물의 플라보노이드 분석

3.1.3.1. SA 2의 구조결정

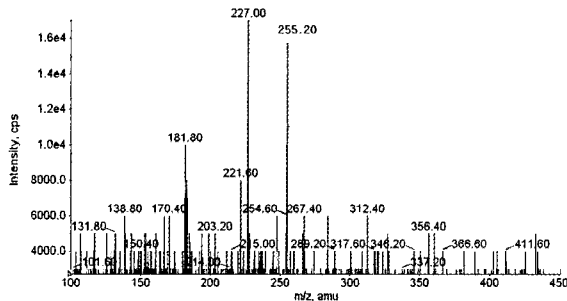
Kaempferol-3-O-glucoside (astragalín) - 황색분말, SA 2의 구조해석을 위해 LC/ESI-MS/MS를 이용한 분석을 행한 결과(Table 4, Figure 6), negative ion 모드에서 분자 이온 [M-H]⁻가 m/z 447에서 나타났으며, 분자 이온의 조각이온으로 분자이온에서 -CH₂O- (neutral

Table 4. LC/ESI-MS/MS Characteristics of Ethyl Acetate Fraction from *Suaeda asparagoides* in Negative Ion Mode

Compound	MW	MS/MS ions (<i>m/z</i>)	DP (V)	CE (V)
SA 2	448	447, 255, 227, 183, 182	-66	-50
SA 3	464	463, 301, 300, 271	-61	-39
SA 4	594	593, 284, 285, 255, 227	-76	-50
SA 5	610	609, 301, 300, 271, 255	-81	-48



(A)



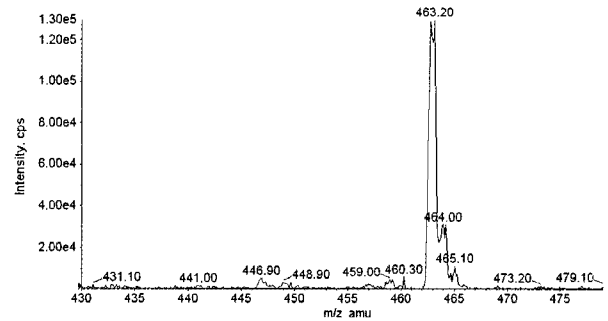
(B)

Figure 6. Mass spectra of SA 2 (kaempferol-3-*O*-glucoside, astragalín) in negative mode (LC-MS) : A - full MS spectra; B - MS/MS from precursor ion *m/z* 447.

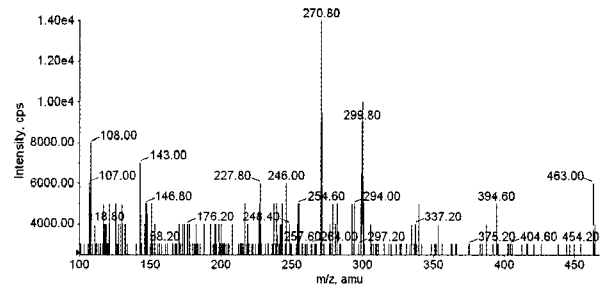
loss)의 소실에 의해 나타나는 특징적인 *m/z* 255가 확인 되었으며, 그 다음 -CO-의 소실에 의한 *m/z* 227가 나타났다. 이는 L. A. Tiberti 등에 의해서도 밝혀진 바 있다[4]. 따라서 SA2를 kaempferol-3-*O*-glucoside로 동정하였다.

3.1.3.2. SA 3의 구조결정

Quercetin-3-*O*-glucoside (isoquercitrin) - 황색분말, SA 3의 구조해석을 위해 LC/ESI-MS/MS를 이용한 분석을 행한 결과(Table 4, Figure 7), negative ion 모드에서 molecular ion [M-H]⁻이 *m/z* 463에서 나타났으며, glucose 단위의 소실로 인하여 *m/z* 463 → *m/z* 301, 300를 나타내었다. 이 결과들은 electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS/MS)에서 negative ion 모드에서 flavonoid *O*-diglycosides를 측정 한 Cuyckens 등[5]에



(A)



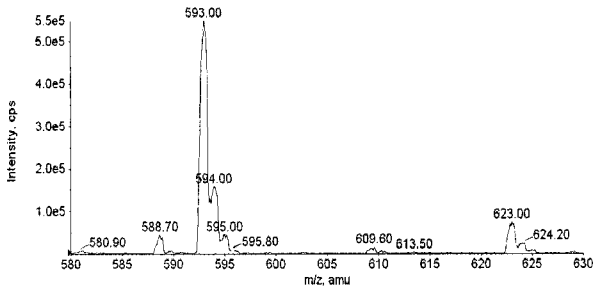
(B)

Figure 7. Mass spectra of SA 3 (quercetin-3-*O*-glucoside, isoquercitrin) in negative mode (LC/ESI-MS/MS) : A - full MS spectra; B - MS/MS from precursor ion *m/z* 463.

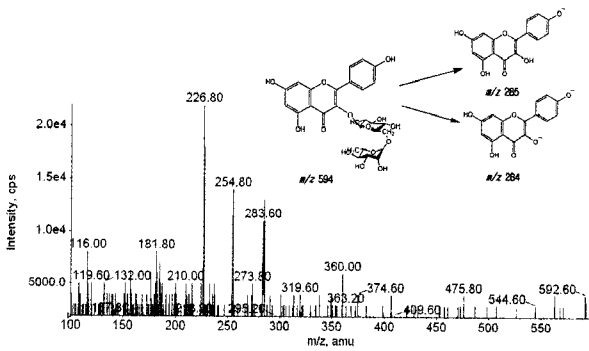
의해 기술된 것과 일치한다. 또한 SA 3는 -CH₂O- (neutral loss)의 소실에 의한 특징적인 *m/z* 271를 보였다. 따라서 SA 3를 quercetin-3-*O*-glucoside로 동정하였다.

3.1.3.3. SA 4의 구조결정

Kaempferol-3-*O*-rutinoside - 황색분말, SA 4의 구조 해석을 위해 LC/ESI-MS/MS를 이용한 분석을 행한 결과 (Table 4, Figure 8), negative ion 방식에서 분자 이온 [M-H]⁻이 *m/z* 593에서 나타났으며, rhamnose-glucose 단위의 소실로 인하여 *m/z* 593 → *m/z* 285, 284를 나타내었다. 또한 Aleksanteri Petsalo 등[6]에 의해 fragment ion *m/z* 255, 227를 나타내었다. 따라서 SA 2를 kaempferol-3-*O*-rutinoside로 동정하였다.

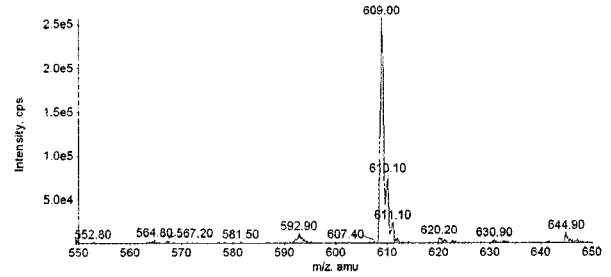


(A)

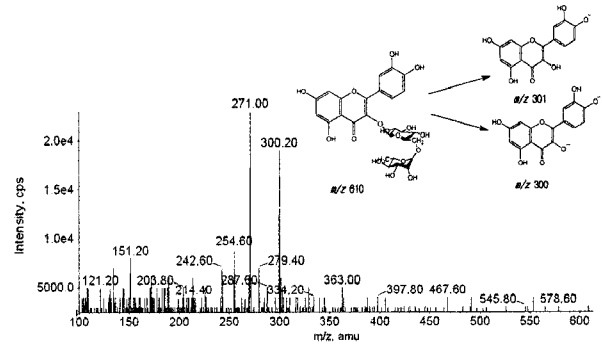


(B)

Figure 8. Mass spectra of SA 4 (kaempferol-3-O-rutinoside) in negative mode (LC/ESI-MS/MS) : A - full MS spectra; B - MS/MS from precursor ion m/z 593.



(A)



(B)

Figure 9. Mass spectra of SA 5 (quercetin-3-O-rutinoside, rutin) in negative mode (LC/ESI-MS/MS) : A - full MS spectra; B - MS/MS from precursor ion m/z 609.

Table 5. LC/ESI-MS/MS Characteristics of Deglycosylated *Suaeda asparagoides* Extract (Aglycones of EtOAc Fraction) in Negative Ion Mode

Compound	MW	MS/MS ions (m/z)	DP (V)	CE (V)
SAA 1	286	285, 133	-81	-40
SAA 2	302	301, 151, 179	-31	-30

3.1.3.4. SA 5의 구조결정

Quercetin-3-O-rutinoside (rutin) - 황색분말, SA 5의 구조해석을 위해 LC/ESI-MS/MS를 이용한 분석을 행한 결과(Table 4, Figure 9), negative ion 방식에서 분자이온 $[M-H]^-$ 이 m/z 609에서 나타났으며, SA 4와 동일하게 rhamnose-glucose 단위(m/z 609 \rightarrow m/z 301, 300)의 소실을 보여주었다. 또한 SA 3와 마찬가지로 quercetin에서 $-CH_2O-$ (neutral loss)가 소실되어 나타난 특징적인 fragment ion인 m/z 271 피크를 확인 할 수 있었다. 따라서 SA 2를 quercetin-3-O-rutinoside로 동정하였다.

3.1.3.5. SAA 1의 구조결정

Kaempferol - SAA 1은 이미 TLC와 HPLC를 통해 kaempferol로 추정하였으며, LC/ESI-MS/MS와 NMR을 통하여 다시 확인하였다. LC/ESI-MS/MS의 결과,

negative ion 방식에서 SAA 1은 탈양성자화된 aglycone에 상응하는 이온 $[M-H]^-$ (m/z 285) 피크를 나타냈으며, 특징적인 fragment ion으로 m/z 133이 나타났다(Table 5, Figure 10). 이 화합물은 Stobiecki 등에 의해서도 확인된 바 있다[6]. 또한 보다 정확한 구조 해석을 위해 1H -NMR 분석을 실시한 결과(Figure 11), δ 6.19 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-6), δ 6.44 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-8), δ 6.92 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-3'5'), δ 8.04 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-2'6')에서 피크들이 검출되었다. 이 양성자들의 화학적 이동, 분열 패턴 및 짝지음 상수 값으로부터 SAA 1은 kaempferol로 확인되었다.

3.1.3.6. SAA 2의 구조결정

Quercetin - SAA 2은 이미 TLC와 HPLC를 통해 quercetin으로 추정하였으며, LC/ESI-MS/MS와 NMR

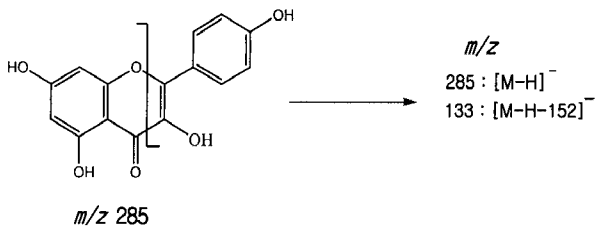


Figure 10. Structure and fragmentation pathways of SAA 1 (kaempferol) by negative ion mode LC/ESI-MS/MS.

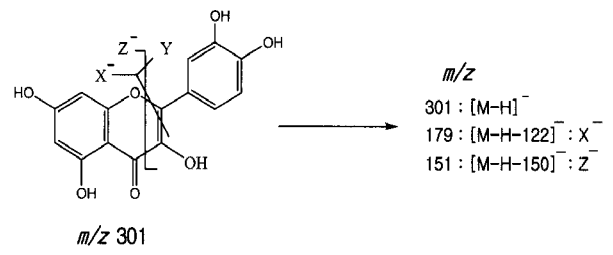
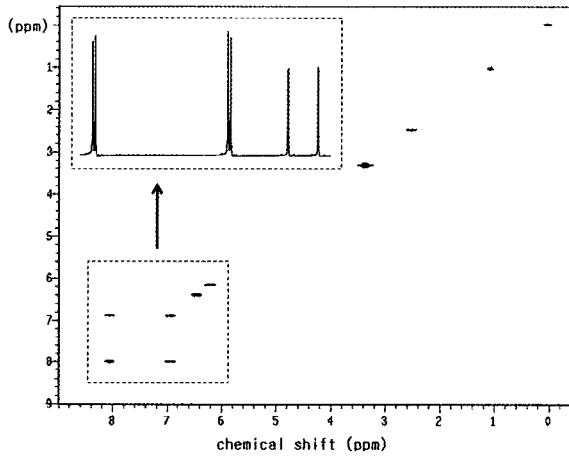
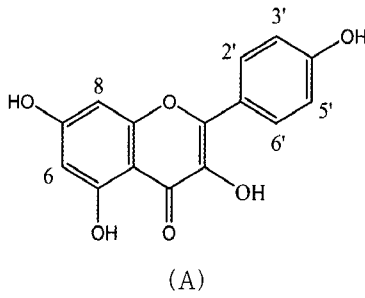


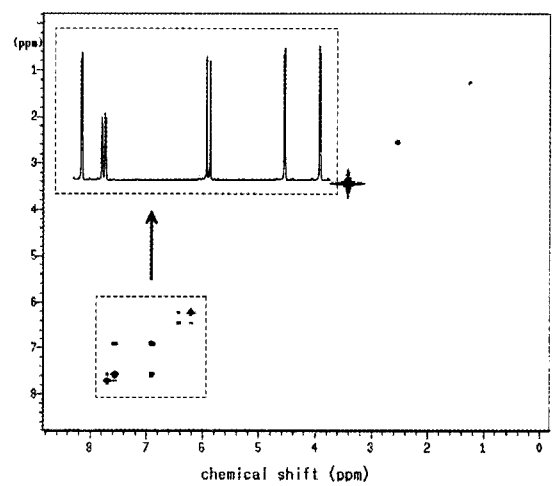
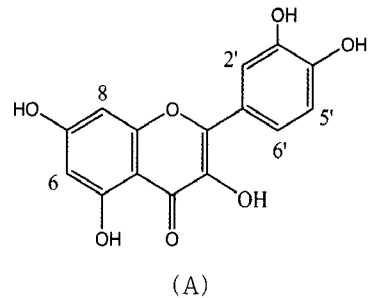
Figure 12. Structure and fragmentation pathways of SAA 2 (quercetin) by negative ion mode LC/ESI-MS/MS.



(B)

Figure 11. The structure^(A) and cosy ¹H-NMR spectrum^(B) of SAA 1 (kaempferol).

을 통하여 다시 확인하였다. LC/ESI-MS/MS의 결과, negative ion 방식에서 SAA 2는 aglycone 이온 $[M-H]^-$ (m/z 301)을 생성하였고, 특징적인 fragment ion으로 m/z 179 와 151 이 나타났다(Table 4, Figure 12). 이는 Tiberti 등의 결과와도 일치하였다[7]. 또한 보다 정확한 구조 해석을 위해 ¹H-NMR 분석을 실시한 결과(Figure 13), δ 6.20 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), δ 6.42 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), δ 6.90 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-5'), δ 7.55 (1H, dd, J = 8.6, 2.2 Hz, H-6'), δ 7.69 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-2')에서 피크들이 나타났다. 이 양성자들의 화학적 이동, 분열 패턴 및 짝지음 상수 값으로써



(B)

Figure 13. The structure^(A) and cosy^(B) ¹H-NMR spectrum of SAA 2 (quercetin).

터 SAA 2는 quercetin으로 확인되었다.

4. 결 론

1) 나뭇재 추출물 중 ethyl acetate 분획의 TLC는 5개의 띠(SA 1 ~ SA 5)로 분리되었고, 그 중에서 R_f 0.86인 SA 2의 농도가 가장 진한 것으로 나타났다.

2) Ethyl acetate 분획의 당 제거반응 후 얻어진 aglycone 분획에 대한 HPLC 크로마토그램은 2개의 피크를 나타냈고 그 용리 순서는 quercetin, kaempferol이었으

며 조성비는 quercetin 16.88 %, kaempferol 83.12 %로 kaempferol 함량이 더 많은 것으로 나타났다.

3) LC/ESI-MS/MS법의 negative ion 모드에서 SA 2는 분자 이온 $[M-H]^-$ 이 m/z 447, SA 3는 m/z 464, SA 4는 m/z 593, SA 5는 m/z 609로 나타났다. 따라서 SA 2는 kaempferol-3-*O*-glucoside로 SA 3는 quercetin-3-*O*-glucoside, SA 4는 kaempferol-3-*O*-rutoside, SA 5는 quercetin-3-*O*-rutoside로 확인되었다.

4) SAA 1는 negative ion 모드에서 aglycone 분획에서 이온 $[M-H]^-$ 이 m/z 285에서 나타났으며, 1H -NMR 분석을 실시한 결과, δ 6.19 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-6), δ 6.44 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-8), δ 6.92 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-3',5'), δ 8.04 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-2',6')에서 피크들이 검출되었다. 따라서 SAA 1은 kaempferol로 확인되었다.

5) SAA 2은 negative ion 방식에서 aglycone 분획에서 이온 $[M-H]^-$ 이 m/z 301에서 나타났으며, 1H -NMR 분석 결과, δ 6.20 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), δ 6.42 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), δ 6.90 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-5'), δ 7.55 (1H, dd, $J = 8.6, 2.2$ Hz, H-6'), δ 7.69 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-2')에서 피크가 나타났다. 따라서 SAA 2는 quercetin으로 확인되었다.

결론적으로, 이미 보고된 나문재 추출물의 항산화 작용 그리고 안정성 실험과 더불어 나문재 추출물의 성분 분석은 새로운 기능성 화장품원료로서 응용이 가능함을 시사한다.

감사의 글

본 논문은 (재)서울테크노파크 연구개발 사업의 일환으로 서울테크노파크 지원(과제번호: R&BD-2008-001)을 받았으며, 또한 보건복지부 "2005년도 건강기능제품 개발 사업"(과제번호: A050453)의 일부 지원을 받아 수행된 연구 결과의 일부이며, 지원에 감사드립니다.

참고 문헌

1. S. M. Jeon, S. I. Kim, J. Y. Ahn, and S. N. Park, Antioxidative properties of extract/fractions of *Suaeda asparagoides* and *Salicornia herbacea* extracts (I), *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **33**(3), 145 (2007).
2. S. M. Jeon, J. Y. Ahn, and S. N. Park, A study on the stability test for the cream containing *Suaeda asparagoides* Extract, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **33**(4), 231 (2007).
3. B. H. Lee, Y. H. Moon, B. C. Jeong, K. S. Kim, and S. N. Ryu, Growth characteristics and its potentiality of use of halophyte, *Suaeda asparagoides* MIQ, *Korean J. Intl. Agri.*, **14**(2), 87 (2002).
4. L. A. Tiberti, J. H. Yariwake, K. Ndjoko, and Hostettmann, On-line LC/UV/MS analysis of flavonols in the three apple varieties most widely cultivated in brazil, *J. Braz. Chem. soc.*, **18**(1), 100 (2007).
5. H. Vuorinen, K. Maatta, and R. Torronen, Content of the flavonols myricetin, quercetin and kaempferol in finnish berry wines, *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 2675 (2000).
6. M. Stobiecki, A. Skiryecz, L. Kerhoas, P. Kachlicki, D. Muth, J. Einhorn, and B. Mueller-Roeber, Profiling of phenolic glycosidic conjugates in leaves of *Arabidopsis thaliana* using LC/MS, *Metabolomics*, **2**(4), 197 (2006).
7. A. Petsalo, J. Jalonen, and A. Tolonen, Identification of flavonoids of *Rhodiola rosea* by liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. A*, **1112**, 224 (2006).