

옥수수수염에 함유된 Flavonoids의 분리 및 동정

김선림*[†] · 김미정* · 이유영* · 정건호* · 손범영* · 이진석* · 권영업* · 박용일**

*농촌진흥청 국립식량과학원, **가톨릭대학교 생명·환경학부

Isolation and Identification of Flavonoids from Corn Silk

Sun-Lim Kim*[†], Mi-Jung Kim*, Yu-Young Lee*, Gun-Ho Jung*, Beom-Young Son*, Jin-Seok Lee*,
Young-Up Kwon*, and Yong-Il Park**

*National Institute of Crop Science RDA Suwon 441-857, Korea

**Department of Biotechnology, The CUK Agromedical Research Center, The Catholic University of Korea,
Bucheon, Gyeonggi-do 420-743, Korea

ABSTRACT This study was carried out to isolate and characterize the flavonoids present in corn silks. Maysin content in the unpollinated corn silks (*Kwangpyeongok*) showed its highest level at 3 days after silking, and decreased thereafter, while the content of open pollinated silks were consistently decreased after silking. This result indicates that the maysin content is considerably affected by the pollination of corn silk. Unpollinated corn silks were collected with excising, and ethanol employed to extract flavonoids at common temperature for 9 days. After extraction, chlorophyll, lipids *etc.* were removed with methylene chloride, then submitted to flash column cartridge (150 × 40 mm i.d.) packed with a preparative RP-C₁₈ bulk packing material (125 Å, 55-105 μm), and monitored at 352 nm. Four fractions, fraction-I, -II, -III, and -IV, were isolated from ethanolic extract of corn silks. Absorption spectrum of fraction I showed its maximum intensity (λ_{max}) at 327 nm and 239 nm, fraction-II showed its maximum intensity at 339 nm and 274 nm, fraction-III showed its maximum intensity at 345 nm and 277 nm, and fraction-IV showed its maximum intensity at 352 nm, 270 nm, 257 nm, respectively. On the basis of ESI micro-TOF analysis, fraction-I was identified as chlorogenic acid (*m/z* 355, 3-(3,4-dihydroxycinnamoyl)quinic acid, C₁₆H₁₈O₉), fraction-II identified as a mixture of chlorogenic acid and luteolin 3'-methyl ether 7-glucuronosyl-(1→2)-glucuronide (*m/z* 653, C₂₈H₂₈O₁₈), fraction-III identified as a mixture of chlorogenic acid luteolin 7-O-neohesperidoside (*m/z* 595, C₂₇H₃₀O₁₅), and luteolin 3'-methyl ether 7-glucuronosyl-(1→2)-glucuronide, and fraction-IV identified as maysin (*m/z* 577, 2"-O-α-L-rhamnosyl-6-C-(6-deoxy-xylohexose-4-ulosyl)luteolin, C₂₇H₂₈O₁₄), respectively. From the

ethanolic extract of corn silks, fraction-I was obtained about 35 mg/100 g F.W., fraction-II was about 48 mg/100 g F.W., fraction-III was about 46 mg/100 g F.W., and fraction-IV was about 138 mg/100 g F.W., respectively.

Keywords : corn silk, chlorogenic acid, luteolin 3'-methyl ether 7-glucuronosyl-(1→2)-glucuronide, luteolin 7-O-neohesperidoside, maysin

타식성 작물인 옥수수는 수이삭(雄穗)과 암이삭(雌穗)이 같은 포기에서 자라는 자웅동주 식물로서 암이삭에서 발달되는 옥수수수염(silk)은 화분을 포집하여 수정을 돕는 역할을 하며 수정이 완료되면 생육이 정지되고 말른다(Nielson, 1992; Sprague & Dudley, 1988). 옥수수수염은 예로부터 우리나라를 비롯한 중국, 남미, 유럽 등지에서 신장염 치료제, 요로 결석 치료제, 이노제 및 당뇨병 치료제 등 각종 민간요법 약제로 널리 사용되어 왔다(Bensky *et al.*, 1986; Caceres *et al.*, 1987; Doan *et al.*, 1992; Hung, 1993; Morton, 1977; Khairunnisa *et al.*, 2012). 최근 연구결과에 의하면 옥수수수염은 이노작용(Velazquez *et al.*, 2005), 항당뇨 효과(Guo *et al.*, 2009), 간보호 효과(Katikova *et al.*, 2002; Mohammad *et al.*, 2013; Singh *et al.*, 2009), 항고지혈 효과(Yan *et al.*, 2011), 항우울증 효과(Ebrahimzadeh *et al.*, 2009) 등이 있는 것으로 보고되고 있다.

옥수수수염에는 maysin을 비롯한 유사 물질들이 특이적으로 존재하고 있는데, Zapalote chico라는 멕시코 옥수수

[†]Corresponding author: (Phone) +82-31-290-6764 (E-mail) kimsl@korea.kr

<Received 14 August 2014; Revised 1 September 2014; Accepted 5 September 2014>

에서 maysin이 최초로 확인된 이래 옥수수수염을 가해하는 corn earworm (*Helicoverpa Zea* Boddie)에 대한 저항성에 메이신이 관여하고 있다고 보고되면서 luteolin을 기본구조로 이루어진 flavonoid 계열의 물질에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있다(Snook *et al.*, 1995).

최근 옥수수수염에 함유된 flavone glycoside들은 항산화 효과(Liu *et al.*, 2011; Ren *et al.*, 2013; Thoudam *et al.*, 2011), 자유 라디칼 소거효과, nitric oxide 생성 억제효과, NBT (Nitroblue tetrazolium) 환원저해 효과(Ebrahimzadeh *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2004; Kim *et al.*, 2014; Singh *et al.*, 2009), 젠타마이신(gentamicin) 유발 신독성(nephrotoxicity)의 방지효과(Sepehri *et al.*, 2009), 항균활성(Nessa *et al.*, 2012), 항피로활성(Hu *et al.*, 2010) 등이 있는 것으로 보고되고 있다.

따라서 본 연구는 각종 생리활성이 주목되어 활발히 연구가 진행되고 있는 옥수수수염에 함유된 메이신을 비롯한 유사 flavonoid 물질을 분리 및 동정하여 부산물로 얻어지는 옥수수수염을 식·의약 소재로 활용하고자 실시하였다.

재료 및 방법

옥수수수염의 채취 및 에탄올 추출

본 연구에 사용된 옥수수수염은 농촌진흥청 국립식량과학원에서 육성된 ‘광평옥’을 2013년 농촌진흥청 국립식량과학원 발작물 시험포장에서 재배한 후 채취하여 사용하였다. 옥수수수염이 이삭에서 출사하기 이전에 실크백(silk bag)으로 처리하여 화분을 수분하지 못하도록 하고, 출사후 3일이 경과된 미수정된 옥수수수염을 채취하여 사용하였다. 옥수수수염은 채취 즉시 약 5~10 cm의 크기로 세절하여 옥수수수염 1 kg 당 prethanol A (C₂H₅OH, Duksan, Korea) 2,000 mL을 가한 후 4°C, 15°C 및 25°C (상온)에서 보관하면서 추출시간의 경과에 따른 플라보노이드 및 페놀성 물질의 추출효율을 검토하였다. 추출이 완료된 prethanol A 추출물은 Whatman No. 3 여과지로 여과 후 감압농축을 하였으며 이때 수조의 온도는 40°C, 환류냉각수의 온도를 4°C로 조절하여 옥수수수염 추출액의 농축물을 얻었다.

엽록소, 지질 및 당질의 제거

농축된 옥수수수염 추출물에 다량 함유된 엽록소, 지질 및 당질을 제거시키기 위해 농축된 추출물 약 100 mL 당 methylene chloride (CH₂Cl₂) 약 150 mL을 가하여 2회에 걸쳐 분액 후 현탁액(slurry) 상태로 농축하고 무수에탄올(absolute ethanol)을 가하여 플라보노이드 및 페놀성 물질

등 유효물질들을 3회에 걸쳐 용출시킨 후 혼합하여 감압농축기로 완전히 건조시켰다.

Preparative C₁₈ column에 의한 추출물의 분리 및 흡광도 측정

엽록소, 지질 및 당질이 제거된 추출물은 감압농축시킨 후 농축물 약 50 g 당 ethanol 약 200 mL을 가하여 추출물을 완전히 용해시켜 preparative C₁₈ column chromatography (Büchi, Newcastle, DE)에 주입하여 옥수수수염 추출물에 함유된 플라보노이드 및 페놀성 물질을 분리하였다. 이때 사용된 column cartridge는 40 × 150 mm의 크기로서 120 g의 preparative RP-C₁₈ bulk packing material, 125Å 55-105 μm (Waters, Milford, MA) 분말을 vacuum V-700 pump (Büchi, Newcastle, DE)와 N₂ gas로 충전하여 column을 제조하였다. 옥수수수염 추출물 분리에 사용된 이동상은 초순수와 HPLC용 ethanol을 사용하였으며 C₁₈ column cartridge에 20 mL의 추출물을 주입하고, 초순수 100%의 초기조성에서 에탄올 100%로 된 기울기법의 이동상 용매를 분당 20 mL의 유속으로 70분간 흘려주었다. 이때 UV-detector (Büchi UV photometer C-635)의 파장은 352 nm, 분취기의 fraction은 시험관 당 20 mL가 되도록 조절하여 옥수수수염 추출물로부터 분취물 I, II, III 및 IV를 각각 분리하였다. 분리된 옥수수수염 에탄올 추출물의 분취물 I, II, III, IV의 흡광도 확인은 UV/Vis spectrophotometer (U-2900, Hitachi, Japan)를 사용하여 측정하였다.

Micro Q-TOF mass를 이용한 분취물의 분자량(m/z) 확인

Preparative C₁₈ column chromatography로 분리된 옥수수수염 추출물의 분취물 I, II, III 및 IV에 포함된 flavonoids의 분자량(molecular weight) 확인을 위해 사용된 질량분석기는 micro Q-TOF mass spectrometer (Bruker Daltonics Inc, Germany)로서 질량분석 조건은 1) source: ESI, 2) capillary: 4500 V, 3) nebulizer gas: 0.8 bar N₂, 4) dry gas: 7 L/min N₂, 5) dry temperature: 200°C이었다. 이 때 사용된 HPLC는 Dionex Ultimate 3000 (Dionex, German)이었고, XTerra MS C₁₈ column (Waters, 5 μm, 150 × 2.1 mm)을 사용하여 0.1% formic acid를 포함한 10% ethanol 용액 80% (A)와 0.1% formic acid를 포함한 100% ethanol용액 (B)의 20% 초기조성에서 100% ethanol의 비율이 80%가 될 때 까지 47분간 H₂O/EtOH linear gradient 하였으며 column으로부터 분리된 flavonoids는 UV 352 nm로 측정하였다(Kim *et al.*, 2000).

결과 및 고찰

옥수수수염의 채취 및 에탄올 추출물 제조

옥수수수염이 이삭에서 출사하기 이전에 실크백(silk bag)을 처리하면 옥수수수염이 출사하여도 화분의 수분 및 수정이 차단되어 수염이 지속적으로 길이 신장을 하게 되는데, 본 시험에서는 출사 후 3일이 경과되어 15 cm 이상 자라난 옥수수수염을 실크백을 제거하고 채취하였다. Fig. 1은 실크백(silk bag)을 씌워 화분이 수분되지 않은 옥수수수염과 방임수분(수정) 시킨 옥수수수염의 메이신 함량의 변화를 출사 후 일수 경과에 따라 나타낸 것이다. 그림에서 보는 바와 같이 화분이 수분되지 않은 옥수수수염의 메이신 함량은 출사 후 3일에 최대치에 도달하고, 그 후 감소되는 것으로 나타났으며, 방임수분된 옥수수수염의 메이신 함량은 출사 후 지속적으로 감소되는 것으로 나타나 화분의 수분 여부에 따라 메이신 함량에 많은 차이가 있음을 알 수 있었다.

출사한 옥수수수염을 인위적으로 절단시키면 절단된 부위가 신속히 갈색 또는 흑갈색으로 변하는 현상을 흔히 관찰할 수 있는데, 이와 같은 현상은 polyphenol성 물질인 dihydroxy flavone이 효소적 산화에 의하여 O-quinone을 생성시켜 단백질과 결합되어 갈변화 되기 때문이라고 한다 (Levings & Stuber, 1971; Widstrom *et al.*, 1992). 절단된 옥수수수염의 갈변화 반응에는 luteolin의 유도체인 5, 7, 3', 4'-tetrahydroxyflavone 계열의 물질들이 관여하며 이들을 가수분해하면 C-glycosylflavone과 luteolin 7-O-glycoside가 검출되는데, 이와 같은 flavonoid 계열의 물질을 함유하고 있지 않은 계통들의 옥수수수염은 절단되어도 갈변되지 않으며 이들은 열성유전자에 의해 합성이 조절되는 luteolin이 결핍되어 있다고 한다(Byrne *et al.*, 1996; Levings & Stuber, 1971). Kim *et al.* (2000)은 luteolin 6-C-glycoside

인 maysin 및 apimaysin의 함량이 낮은 계통들은 옥수수수염을 절단하여도 갈변화 반응이 미약하였는데, 이는 옥수수수염의 갈변화 반응에 maysin 및 apimaysin 등이 관여하기 때문이며 옥수수수염을 절단하여 갈변화 정도를 판단하여 maysin 고 함유 계통선발에 응용할 수 있다고 하였다.

Kim *et al.* (2000)은 옥수수수염에 함유된 메이신 함량은 출사 후 3~4일경 최대에 달하고 그 이후에 감소되는데, 그 원인으로 옥수수수염은 출사 후 3일 이내에 화분의 수분 및 수정이 완료되어 길이 신장이 정지되고 급격히 위조되기 때문이라 하였다. 본 시험에서도 옥수수 이삭에서 수염이 출사하기 이전에 실크백을 처리하여 화분의 수분을 인위적으로 차단시켜 옥수수수염의 신장을 유도함과 동시에 메이신 함량이 최고에 도달한 시기에 옥수수수염을 채취하는 것이 효과적인 방법임을 확인할 수 있었다. 따라서 지금까지 얻어진 결과를 종합적으로 고려할 때 미수정 옥수수수염은 출사 후 2~7일까지 메이신 함량이 높은 옥수수수염의 채취가 가능할 것으로 판단되었고, 화분이 수분(수정)된 옥수수수염의 경우에는 출사 후 2~5일까지 옥수수수염의 채취가 가능한 것으로 나타났으나 수정된 옥수수수염의 메이신 함량은 급격한 감소를 보이기 때문에 메이신 등 flavonoid 계열의 물질의 추출을 위해서는 미수정된 옥수수수염을 사용하는 것이 보다 효율적인 것으로 판단되었다.

Fig. 2는 출사 후 3일이 경과된 미수정된 옥수수수염을 채취하여 약 5~10 cm의 크기로 세절하여 옥수수수염 약 1 kg 당 에탄올(95% v/v) 약 2,000 mL을 가한 후 4°C, 15°C 및 25°C (상온)에서 보관하였을 때 추출시간의 경과에 따른 플라보노이드 및 페놀성 물질의 추출효율을 메이신 함량의 변화로 나타낸 것이다.

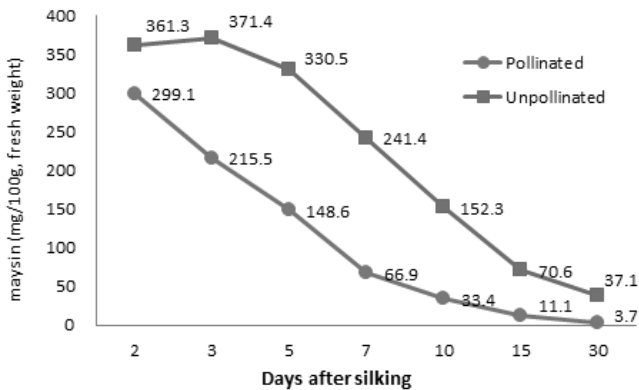


Fig. 1. Changes on maysin content in silks of Kwangpyeongok according to days after silking.

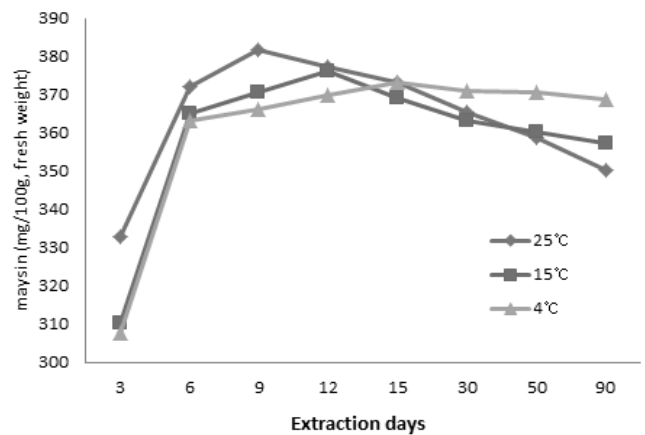


Fig. 2. Comparison of extraction efficiency of maysin from silks of Kwangpyeongok under different temperature conditions.

채취한 옥수수수염에 추출용 에탄올을 가한 후 보관 온도에 따른 플라보노이드 및 페놀성 물질의 추출시간은 25°C (상온)가 4°C 및 15°C에 비해 다소 추출시간이 단축되는 것으로 나타났으나, 25°C의 상온조건은 온도변화가 다소 크고 직사광선에 노출되어 변질의 우려가 있는 반면 15°C 이하의 저온조건은 저장성은 높으나 플라보노이드 및 페놀성 물질의 추출효율이 상온에 비해 다소 낮은 것으로 나타났다.

따라서 본 시험에서 얻어진 결과를 종합적으로 고려할 때 상온 또는 저온에서 추출 하기 위해서는 최소 6일 이상 저장하면서 추출을 하는 것이 바람직할 것으로 판단되었는데, 보다 구체적으로는 에탄올을 가한 옥수수수염을 15~25°C에서 추출할 경우 6~15일, 4°C에서 추출할 경우에는 6~30일간 보관시 플라보노이드 및 페놀성 물질의 변화를 최소화시킬 수 있을 것으로 판단되었다.

옥수수수염 에탄올 추출물의 분리

Fig. 3은 감압 농축된 옥수수수염 조추출물을 분취용 크로마토그래피(flash chromatography, Buchi, Newcastle, DE)의 C₁₈ 컬럼에 적재하여 70분간 기울기법으로 이동상용매를 흘려서 수거된 옥수수수염 추출물의 크로마토그램(chromatogram)을 나타낸 것이다. 본 시험의 결과 40 × 150mm 크기의 column cartridge 충전에 사용된 preparative RP-C₁₈ reverse phase bulk packing material의 양은 100~130 g의 범위가 가장 적절한 것으로 나타났는데(결과 미제시), 충전제의 양을 110 g 미만으로 충전할 경우 분리능이 현격히 저하되고, 충전제의 양을 130 g 이상으로 충전 할 경우에는 분취용 크로마토그래피 시스템 pump의 압력이 높아지고 물질분리에 소요되는 시간이 길어지는 단점이 있는 것으로 나타났다. 따라서 120 g 내외의 C₁₈ 분말로 충전시킨 column cartridge를 이

용하여 옥수수수염 추출물을 분리시켰을 때 그림에서 보는 바와 같이 옥수수수염 조추출물은 RT (retention time)가 450~690초에서 분취물 I이 분리되었고, RT 1,690~1,880초에 분취물 II, RT 1,881~2,120초에 분취물 III, RT 2,600~3,000초에 분취물 IV가 각각 분리되었다.

C₁₈ 컬럼 분취물의 흡광도 측정

Fig. 4a~4e는 분취용 크로마토그래피 C₁₈ 컬럼으로 분리된 분취물 I, II, III, IV에 대하여 UV/Vis spectrophotometer (U-2900, Hitachi, Japan)를 사용하여 분취물의 흡광도를 확인한 결과를 나타낸 것이다.

천연물의 특성을 검토하고자 할 때 일반적으로 대상물질의 흡광도를 측정하는 absorption spectroscopy법이 널리 이용되고 있는데, 흡광도 측정법은 시료가 소량일지라도 분석이 가능하고, 간단한 조작으로 목적 물질에 대한 유용한 정보를 얻을 수 있으며, UV/Vis spectrophotometer와 같은 비교적 간단한 분석장비가 사용된다는 점에서 많은 이점이 있다(Andersen & Markham, 2006).

얻어진 분취물들의 흡광도를 분석한 결과 분취물 I은 327 nm 및 239 nm에서 최대 흡광도(λ_{max})를 나타냈고, 300~320 nm 부근에서 특유한 shoulder를 보여(Fig. 4a) 분취물 I가 phenolic 계열의 물질임을 알 수 있었다. 분취물 II의 최대 흡광도(λ_{max})는 339 nm 및 274 nm (Fig. 4b), 분취물 III의 λ_{max} 는 345 nm 및 277 nm (Fig. 4c)를 나타내 분취물 II와 III은 전형적인 flavonoid 계열의 물질임을 알 수 있었고, 분취물 IV의 최대 흡광도는 352 nm, 270 nm, 257 nm에서 λ_{max} 를 나타내었으며, 255~270 nm 부근에서 특유한 shoulder를 보여(Fig. 4d) 분취물 IV는 flavonoid A환에 hydroxy group이 2개이상 존재하는 전형적인 flavonoid 계열의 물질

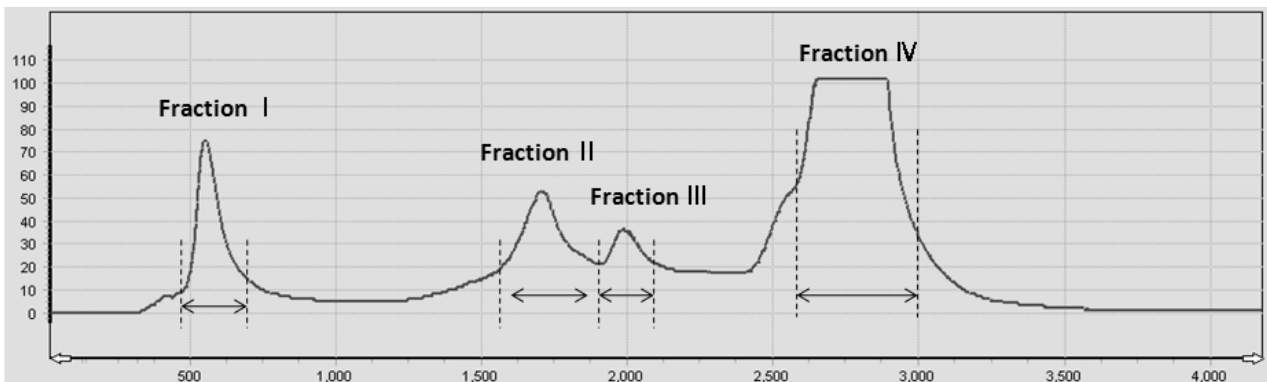


Fig. 3. Isolation of four fractions from ethanolic extract of *Kwangpyeongok* silks by flash chromatography. Fractionation was performed on a flash column cartridge (150 × 40 mm i.d.) packed with a preparative RP-C₁₈ bulk packing material (125 Å, 55-105 μm), and monitored at 352 nm.

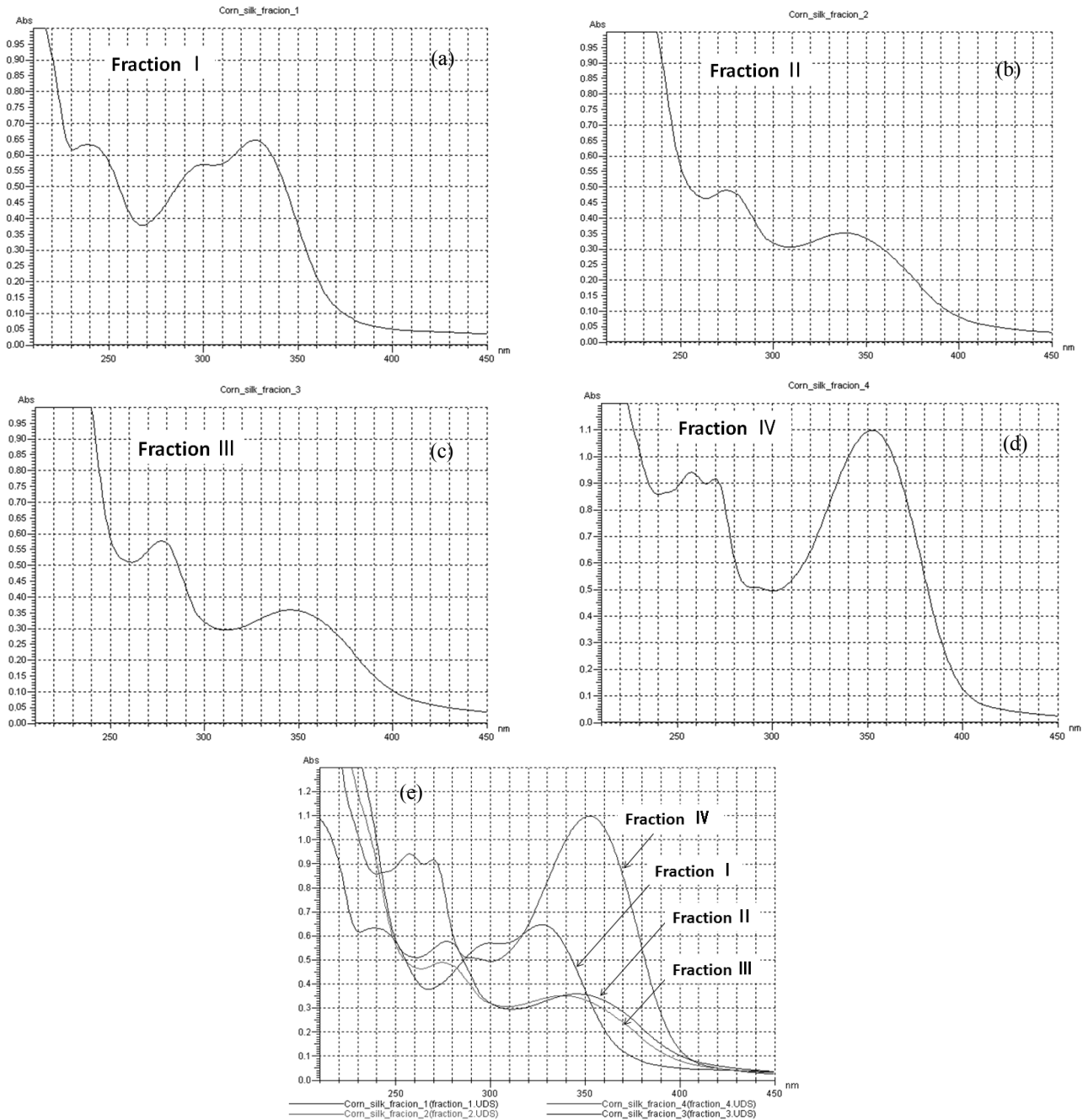


Fig. 4. Absorption spectra of fraction-I, -II, -III, and -IV isolated from ethanolic extract of *Kwangpyeongok* silks.

임을 알 수 있었다(Andersen & Markham, 2006; Harborne & Baxter, 1999)

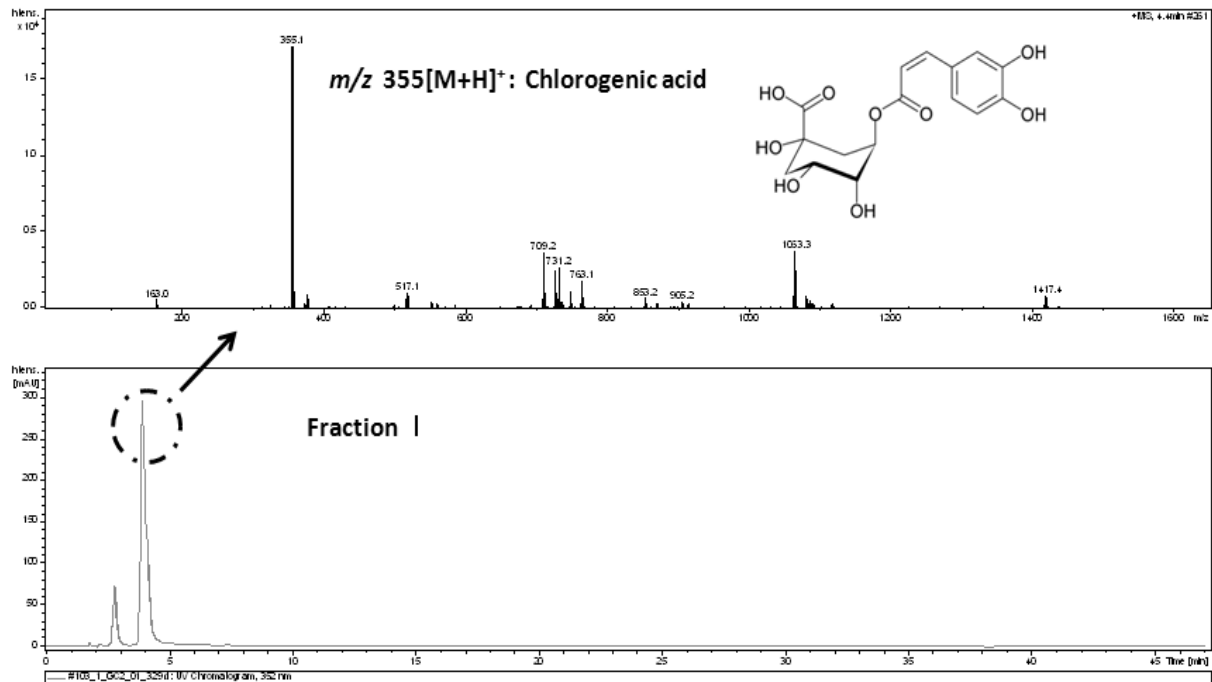
C₁₈ 컬럼 분취물의 분자량(m/z) 확인

Table 1과 Fig. 5~8은 micro TOF-Q II 분석을 통하여 분취물 I, II, III 및 IV의 질량(mass)값을 분석한 결과를 나타낸 것이다.

Fig. 5는 분취용 크로마토그래피 C₁₈ 컬럼으로 분리된 분취물 I의 HPLC 크로마토그램 및 micro TOF-Q II에 의한 분자량(m/z)을 분석한 결과를 나타낸 것으로, mass spectrometry 분석 결과 분취물 I을 구성하고 있는 주요물질이 m/z 355 [M+H]⁺인 3-(3,4-dihydroxycinnamoyl)quinic acid로서 chlorogenic acid (C₁₆H₁₈O₉)임을 확인하였다. Chlorogenic acid는 caffeic acid와 quinic acid의 에스테르 결합으로 형성된 polyphenol

Table 1. Protonated molecular ions analysis with isolated four fractions from ethanolic extract of *Kwangpyeongok* silks and related flavonoid compounds.

Fractions	Mass [M+H] ⁺	Related flavonoid compounds
Fraction I	355	3-(3,4-dihydroxycinnamoyl)quinic acid, (C ₁₆ H ₁₈ O ₉ , chlorogenic acid)
Fraction II	355	3-(3,4-dihydroxycinnamoyl)quinic acid, (C ₁₆ H ₁₈ O ₉ , chlorogenic acid)
	653	luteolin 3'-methyl ether 7-glucuronosyl-(1→2)-glucuronide, (C ₂₈ H ₂₈ O ₁₈)
Fraction III	355	3-(3,4-dihydroxycinnamoyl)quinic acid, (C ₁₆ H ₁₈ O ₉ , chlorogenic acid)
	595	luteolin 7- <i>O</i> -neohesperidoside, (C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅)
Fraction IV	653	luteolin 3'-methyl ether 7-glucuronosyl-(1→2)-glucuronide, (C ₂₈ H ₂₈ O ₁₈)
	577	2"- <i>O</i> -α-L-rhamnosyl-6- <i>C</i> -(6-deoxy-xylo-hexose-4-ulosyl)luteolin, (C ₂₇ H ₂₈ O ₁₄ , maysin)

**Fig. 5.** ESI micro Q-TOF mass spectrometer analysis for fraction-I isolated from ethanolic extract of *Kwangpyeongok* silks.

화합물로 각종 식물 등에 많이 함유되어 있으며 산화적인 손상으로 야기되는 암이나 심혈관 질병을 예방할 수 있는 물질로서(Rice-Evans *et al.*, 1996), 생체 내에서 항산화 작용, 과산화지질의 생성 억제효과, 콜레스테롤 생합성 억제 효과 및 메탈이온의 착화합화 등이 보고되었다(Chen & Ho, 1997).

Fig. 6 및 7은 분취용 크로마토그래피 C₁₈ 컬럼으로 분리된 분취물 II 및 III의 HPLC 크로마토그램 및 분자량을 분석한 결과를 나타낸 것이다. Mass spectrometry 분석 결과 분취물 II을 구성하고 있는 주요물질이 chlorogenic acid 및 m/z 653 [M+H]⁺인 luteolin 3'-methyl ether 7-glucuronosyl-(1→2)-glucuronide (C₂₈H₂₈O₁₈)로 구성된 혼합물임을 확인하였고, 분취물 III를 구성하고 있는 주요물질은 chlorogenic

acid, luteolin 7-*O*-neohesperidoside (m/z 595 [M+H]⁺, C₂₇H₃₀O₁₅) 및 luteolin 3'-methyl ether 7-glucuronosyl-(1→2)-glucuronide (m/z 653 [M+H]⁺)로 구성된 혼합물임을 각각 확인하였다.

옥수수수염 추출물에 포함되는 flavonoid 계열의 물질 중 luteolin 7-*O*-neohesperidoside는 *Veronicastrum sibiricum*, *Lonicera gracilipes*, *Hedwigia ciliata* 등의 식물에서 보고(Österdahl, 1979, Kikuchi & Matsuda, 1996)된 바 있는 flavonoid *O*-glycoside 계열의 물질로서 항산화작용 및 항균효과가 있는 것으로 알려져 있으며, luteolin 3'-methyl ether 7-glucuronosyl-(1→2)-glucuronide는 luteolin-7-*O*-glucuronide 계열에 속하는 물질로서 본 연구를 통하여 옥수수수염에 함유되어 있음을 처음으로 확인할 수 있었는데, 지금까지 그 기능에 대해 알려진 바가 별로 없어(Harborne & Baxter,

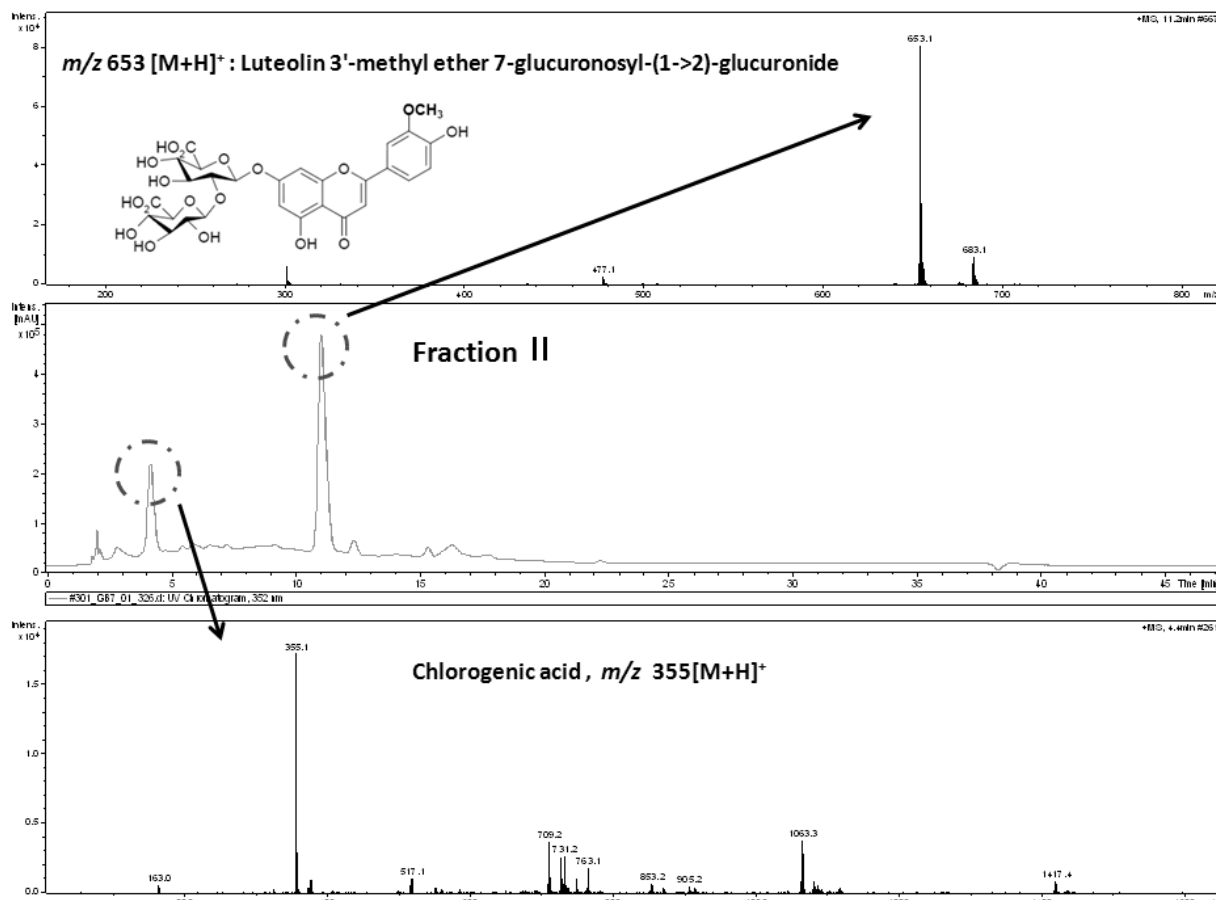


Fig. 6. ESI micro Q-TOF mass spectrometer analysis for fraction-II isolated from ethanolic extract of *Kwangpyeongok* silks.

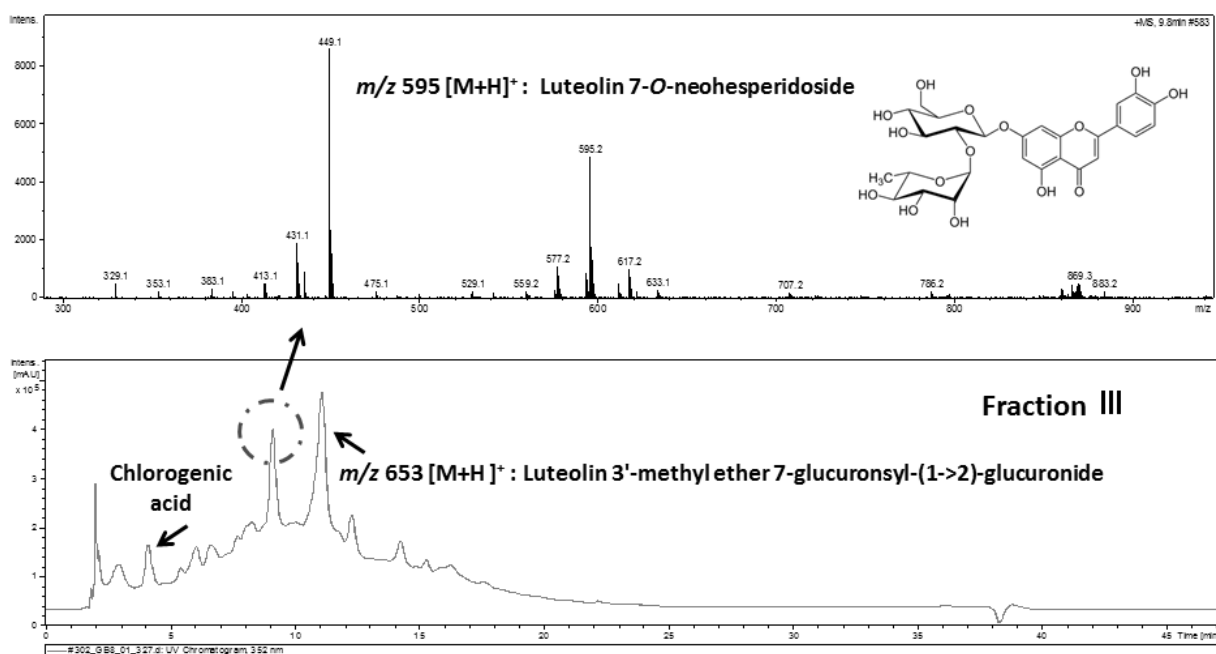


Fig. 7. ESI micro Q-TOF mass spectrometer analysis for fraction-III isolated from ethanolic extract of *Kwangpyeongok* silks.

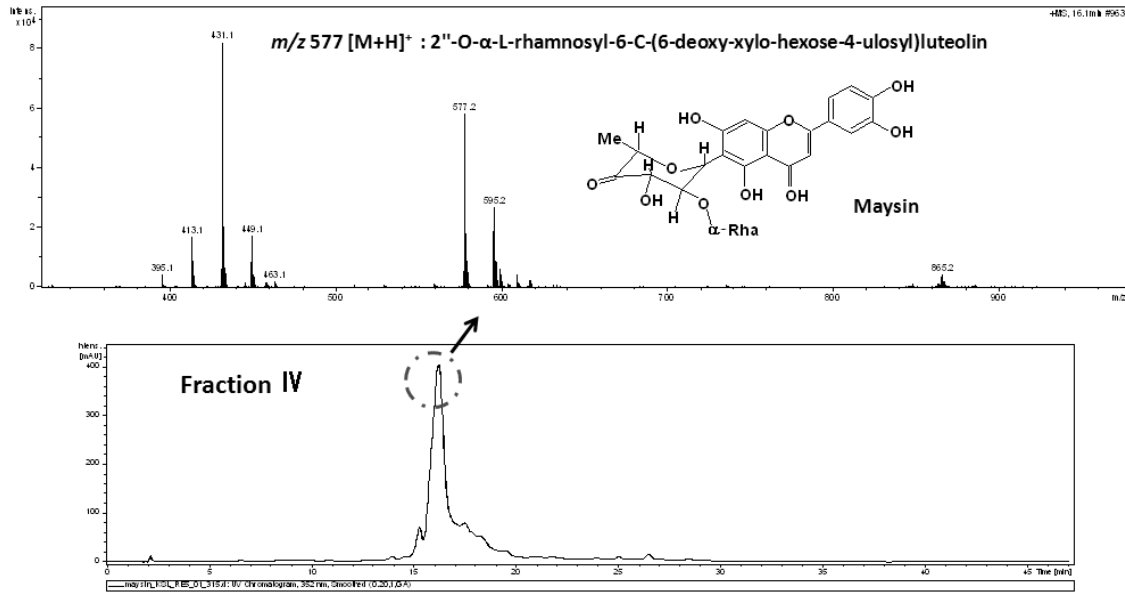


Fig. 8. ESI micro Q-TOF mass spectrometer analysis for fraction-IV isolated from ethanolic extract of *Kwangpyeongok* silks.

1999; Mues, 1983) 앞으로 이들 물질과 관련된 연구가 보다 구체적으로 이루어져야 할 것으로 판단되었다.

Fig. 8은 분취용 크로마토그래피 C₁₈ 컬럼으로 분리된 분취물 IV의 HPLC 크로마토그램 및 mass spectrometry 분석 결과를 나타낸 것으로, 분취물 IV는 m/z 577 [M+H]⁺인 2"-O-α-L-rhamnosyl-6-C-(6-deoxy-xylo-hexose-4-ulosyl) luteolin로서 분리된 물질이 maysin (C₂₇H₂₈O₁₄)임을 확인하였다.

최근 Choi *et al.* (2014)은 신경세포의 사멸에 대한 옥수수수염 유래 메이신의 세포 사멸 저해 활성을 알아보기 위해 human neuroblastoma cell line (SK-N-MC)을 2시간동안 5~50 μg/ml 농도로 처리하고, H₂O₂ 200 μM 농도로 24시간 동안 반응시킨 후 MTT assay를 통해 cell viability를 측정된 결과 세포생존율이 유의적으로 증가하였다고 하였으며, apoptotic cell death와 DNA fragmentation이 감소함을 확인하였다. 또한 세포내 ROS의 생성량이 줄었고, 항산화효소들인 CAT, GPx-1, SOD-1,-2, HO-1의 mRNA level을 증가시켜줌으로써 H₂O₂에 의해 유발된 산화 스트레스에 대한 억제효과가 있음을 확인한 바 있다. 또한 Lee *et al.* (2014)은 활성화된 murine RAW 264.7 대식세포(macrophages)에서 옥수수수염에서 분리한 메이신이 면역자극활성(immunostimulating activity)을 통한 면역조절 효과(immunomodulatory effect) 및 자연 면역활성(innate immunity activity)을 증진시키는 효과가 있음을 보고하였다.

본 연구의 결과 얻어진 옥수수수염의 알코올 추출물로부터 분리된 분취물 I, II, III 및 IV를 감압농축기로 농축하여

분취물 분말을 얻었는데, 분취물 I은 옥수수수염 생체 100 g 당(수분함량 약 92%) chlorogenic acid 35 mg/100 g, 분취물 II는 chlorogenic acid 및 luteolin 3'-methyl ether 7-glucuronosyl-(1→2)-glucuronide를 함유한 혼합물로 48 mg/100 g, 분취물 III는 chlorogenic acid, luteolin 7-O-neohesperidoside 및 luteolin 3'-methyl ether 7-glucuronosyl-(1→2)-glucuronide를 함유한 혼합물로 46 mg/100 g, 분취물 IV는 maysin 138 mg/100 g을 얻을 수 있었다.

적 요

본 연구는 옥수수수염에 함유된 flavonoid 계열의 물질인 maysin, luteolin 7-O-neohesperidoside, luteolin 3'-methyl ether 7-glucuronosyl-(1→2)-glucuronide 및 polyphenol성 물질인 chlorogenic acid을 추출 및 분리하는 방법에 관한 것으로, 얻어진 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 수정되지 않은 옥수수수염의 메이신 함량은 출사 후 3일에 함량이 최대치에 도달하고, 그 후 감소되는 것으로 나타났으며, 방임수분된 옥수수수염의 메이신 함량은 출사후 지속적으로 감소되는 것으로 나타나 화분의 수분 여부에 따라 메이신 함량에 많은 차이가 있음을 알 수 있었다.
2. 채취한 옥수수수염에 에탄올을 가하여 9일간 상온에서 추출 후 엽록소, 지질 및 당질 등을 제거시키고, C₁₈ column chromatography를 수행하여 분취물 I, II, III,

IV를 얻었다.

- 분취물의 흡광도를 분석한 결과 분취물 I은 327 nm 및 239 nm에서 최대 흡수 파장(λ_{\max})을 나타내었고, 분취물 II는 339 nm 및 274 nm, 분취물 III는 345 nm 및 277 nm, 분취물 IV는 352 nm, 270 nm, 및 257 nm에서 최대 흡수파장을 나타내었다.
- 분취물 I은 m/z 355[M+H]⁺인 chlorogenic acid(3-(3,4-dihydroxycinnamoyl)quinic acid, C₁₆H₁₈O₉)이었으며, 분취물 II는 chlorogenic acid와 m/z 653[M+H]⁺인 luteolin 3'-methyl ether 7-glucuronosyl-(1→2)-glucuronide (C₂₈H₂₈O₁₈)를 함유한 혼합물, 분취물 III는 chlorogenic acid와 m/z 595[M+H]⁺인 luteolin 7-O-neohesperidoside (C₂₇H₃₀O₁₅) 및 luteolin 3'-methyl ether 7-glucuronosyl-(1→2)-glucuronide를 함유한 혼합물이었고, 분취물 IV는 m/z 577[M+H]⁺인 maysin (C₂₇H₂₈O₁₄, 2"-O- α -L-rhamnosyl-6-C-(6-deoxy-xylo-hexose-4-ulosyl)luteolin 임을 각각 확인 하였다.
- 옥수수수염의 알코올 추출물로부터 분리된 분취물 I은 옥수수수염 생체 100 g 당 (수분함량 약 92%) 35 mg/100 g, 분취물 II는 48 mg/100 g, 분취물 III는 46 mg/100 g, 분취물 IV는 138 mg/100 g을 얻을 수 있었다.

사 사

본 논문은 농촌진흥청 작물시험연구사업(ATIS 과제번호: PJ00924502)의 지원에 의해 수행된 결과입니다.

인용문헌(REFERENCES)

- Andersen, O. M. and K. R. Markham. 2006. Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications. CRC press. Taylor & Francis group. Boca Raton London New York.
- Bensky, D., A. Gamble, and T. Kaptchuk. 1986. Chinese herbal medicine materia medica. *Eastland Press Seattle*. pp220-222.
- Byrne, P. F., L. L. Darrah, M. E. Snook, B. R. Wiseman, N. W. Widstrom, D. J. Moellenbeck, and B. D. Barry. 1996. Maize silk-browning, maysin content, and antibiosis to the corn earworm, *Helicoverpa zea* (Boddie). *Maydica* 41 : 13-18.
- Doan, D. D., N. H. Nguyen, H. K. Doan, T. L. Nguyen, T. S. Phan, V. D. Nguyen, M. Grabe, R. Johansson, G. Lindgren, and Stjernstrom. 1992. Studies on the individual and combined diuretic effects of four Vietnamese traditional herbal remedies (*Zea mays*, *Imperata cylindrica*, *Plantago major* and *Orthosiphon stamineus*). *J. Ethnopharmacology* 36 : 225-231.
- Caceres, A. L. M. Giron, and A. M. Martinez. 1987. Diuretic activity of plants used for the treatment of urinary ailments in Guatemala. *J. Ethno. Pharmacol.* 19 : 233-245.
- Chen, J. H. and C. T. Ho. 1997. Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. *J. Agric. Food Chem.* 45 : 2374-2378.
- Choi, D. J., S. L. Kim, J. W. Choi, and Y. I. Park. 2014. Neuroprotective effects of corn silk maysin via inhibition of H₂O₂-induced apoptotic cell death in SK-N-MC cells. *Life Sciences* 109 : 57-64.
- Doan, D. D., H. N. Nguyen, H. K. Doan, T. L. Nguyen, T. S. Phan, V. D. Nguyen, M. Grabe, R. Johansson, G. Lindgren, and Stjernstrom. 1992. Studies on the individual and combined diuretic effects of four Vietnamese traditional herbal remedies (*Zea mays*, *Imperata cylindrica*, *Plantago major* and *Orthosiphon stamineus*). *J. Ethnopharmacology* 36 : 225-231.
- Ebrahimzadeh, M. A., M. Mahmoudi, N. Ahangar, S. Ehteshami, F. Ansaroudi, S. F. Nabavi, and S. M. Nabavi. 2009. Antidepressant activity of corn silk. *Pharmacologyonline* 3 : 647-652.
- Ebrahimzadeh, M. A., F. Pourmorad, and S. Hafezi. 2008. Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Turk J. Biol.* 32 : 43-49.
- Guo, J., T. Liu, L. Han, and Y. Liu. 2009. The effects of corn silk on glycaemic metabolism. *Nutrition & Metabolism.* 6(47): <http://www.nutritionandmetabolism.com/content/6/1/47>
- Harborne, J. B. and H. Baxter. 1999. The handbook of natural flavonoids, 3. Flavone O-glycosides. John Wiley & Son. Chichester, UK.
- Katikova, O. I., I. V. IKostin, and V. S. Tishkin. 2002. Hepatoprotective effect of plant preparations. *Eksp. Klin. Farmakol.* 65 : 41-43.
- Khairunnisa H., H. Puziah, and M. Shuhaimi. 2012. Corn silk (*stigma maydis*) in healthcare: A phytochemical and pharmacological review. *Molecules* 17 : 9697-9715.
- Kim, J. T., I. M. Chung, B. Y. Son, J. S. Lee, S. L. Kim, S. B. Baek, M. J. Kim, Y. U. P Kwon, E. H. Kim, and S. H. Kim. 2014. Comparison of the antioxidant activity of maysin (C-glycosylflavone) and other flavonoids. *Asian J. Chem.* 26(10) : 2931-2934.
- Kim, K. A., S. K. Choi, and H. S. Choi. 2004. Corn silk induces nitric oxide synthase in murine macrophages. *Exp. Mol. Med.* 36 : 545-550.
- Kim, S. L., M. E. Snok, E. H. Kim, and C. H. Park. 2000. Identification of maysin and related flavonoid analogues in corn silks. *Korean J. Crop Sci.* 45(3) : 151-157.
- Kim, S. L., M. E. Snook, and J. O. Lee. 2003. Radical scavenging activity and cytotoxicity of maysin (C-glycosylflavone) isolated from silks of *Zea mays* L. *Korean J. Crop Sci.* 48(5) : 392-396.
- Kikuchi, M. and N. Matsuda. 1996. Flavone glycosides from *Lonicera gracilipes* var. *glandulosa*. *J. Nat. Prod.* 59(3) : 314-315.
- Lee, J. S., S. L. Kim, S. Lee, M. J. Chung, and Y. I. Park. 2014. Immunostimulating activity of maysin isolated from corn silk in murine RAW 264.7 macrophages. *BMB Rep.* 47(7) : 382-387.
- Levings, C. S. and C. W. Stuber. 1971. A maize gene controlling

- silk browning in response to wounding. *Genetics* 69 : 496-498.
- Liu, J., C. Wang, Z. Wang, C. Zhang, S. Lu, and J. Liu. 2011. The antioxidant and free-radical scavenging activities of extract and fractions from corn silk (*Zea mays* L.) and related flavone glycosides. *Food Chemistry* 126 : 261-269.
- Hu, Q. L., L. J. Zhang, Y. N. Li, Y. J. Ding, and F. L. Li. 2010. Purification and anti-fatigue activity of flavonoids from corn silk. *Int. J. Phys. Sci.* 5(4) : 321-326.
- Hung, K. C. 1993. The pharmacology of chinese herbs. CRC Press. London : p246.
- Mohammad, K., S. Sodabah, and N. Farshad. 2013. The hepatoprotective effects of corn silk against dose-induced injury of ecstasy (MDMA) using isolated rat liver perfusion system. 2013. *IJT*. 7(20) : 808-815.
- Morton, J. F. 1977. Some folk-medicine plants of central american markets. *Quart. J. Crude Drug Res.* 15 : 165-192.
- Mues, R., 1983. Species specific flavone glucuronides in *Elodea* species. *Biochem. Syst. Ecol.* 11(3) : 261-265.
- Nessa, F., Z. Ismailb, and N. Mohamed. 2012. Antimicrobial activities of extracts and flavonoid glycosides of corn silk (*Zea mays* L.). *Int. J. Biotech. Well. Indus.* 1 : 115-121.
- Nielson, R. L. 1992. Corn Grower's guidebook Purdue Univ., West Lafayette, IN47907-1150.
- Österdahl, B. G. 1979. Chemical studies on bryopytes. 21. flavonoid glycosides of *Hedwigia ciliata*. *Acta Chemica Scandinavica* B 33 : 119-124.
- Ren, S. C., Q. Q. Qiao, and X. L. Ding. 2013. Antioxidative activity of five flavones glycosides from corn silk (*Stigma maydis*). *Czech J. Food Sci.* 31 : 148-155.
- Rice-Evans, C. A., N. J. Miller, and G. Paganga. 1996. Structure antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biol. Med.* 20 : 933-956.
- Sepehri, G., A. Derakhshanfar, and F. Y. Zadeh. 2009. Protective effects of corn silk extract administration on gentamicin-induced nephrotoxicity in rat. *Comp. Clin. Pathol.* 20(1) : 89-94.
- Snook, M. E., N. W. Widstrom, B. R. Wiseman, P. F. Byrne, J. S. Harwood, and C. E. Costello. 1995. New C-4''-hydroxy derivatives of maysin and 3'-methoxymaysin isolated from corn silks (*Zea mays*). *J. Agr. Food Chem.* 43(10) : 2740-2745.
- Singh, N. K., A. N. Sahu, and S. K. Singh. 2009. Free radical scavenging and hepatoprotective activities of standardized methanolic extract of maydis stigma. *Pharmacologyonline* 2 : 440-449.
- Sprague, G. E. and J. W. Dudley. 1988. Corn & corn improvement, third edition. Madison Wisconsin, USA.
- Thoudam, B., T. Kirithika, J. Ramya, and K. Usha. 2011. Phytochemical constituents and antioxidant activity of various extracts of corn silk (*Zea mays* L.). *Res. J. Pharm. Bio. Chem. Sci.* 2(4) : 986-993.
- Velazquez, D. V., H. S. Xavier, J. E. Batista, and C. de Castro-Chaves. 2005. *Zea mays* L. extracts modify glomerular function and potassium urinary excretion in conscious rats. *Phytomedicine* 12 : 363-369.
- Widstrom, N. W., M. E. Snook, and R. C. Gueldner. 1992. Relationship among silk browning, maysin and related silk constituents. *Ann. Plant Resis. Insect Newsletter* 18 : 31p.
- Yan, Z, D. Y. Sui, J. S. Zhou, and H. L. Zhou. 2011. Microwave-assisted extraction and antihyperlipidemic effect of total flavonoids from corn silk. *Afr. J. Biotechnol.* 10(65) : 14583-14586.