

흑썬기풀의 Flavonoid 성분 및 항산화 효과

양민철 · 최상진 · 이성욱 · 정애경 · 남정환 · 이규하 · 이강노*

성균관대학교 약학대학 천연물약품화학연구소

Flavonoid Constituents and Their Antioxidant Activity of *Laportea bulbifera* Weddell

Min Cheol Yang, Sang Zin Choi, Sung Ok Lee, Ae Kyung Chung, Jung Hwan Nam,
Kyu Ha Lee, and Kang Ro Lee*

Natural Products Laboratory, College of Pharmacy, SungKyunKwan University, Suwon 440-746, Korea

Abstract – The repeated column chromatographic separation of the MeOH extract of *Laportea bulbifera* Weddell resulted in the isolation of five flavonoids. Structures of the isolated compounds have been identified as isorhamnetin-7-O- α -L-rhamnoside (1), isorhamnetin-3-O- α -L-rhamnoside (2), isorhamnetin-3,7-O- α -L-dirhamnoside (3), isorhamnetin-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -galactopyranoside (4), isorhamnetin-3-O- α -rhamnosyl-(1 \rightarrow 2)-rhamnoside (5) by spectroscopic means.

Key words – *Laportea bulbifera* Weddell, flavonoid, isorhamnetin-7-O- α -rhamnoside, isorhamnetin-3-O- α -rhamnoside, isorhamnetin-3,7-O- α -dirhamnoside, isorhamnetin-3-O- α -rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -galacto-pyranoside, isorhamnetin-3-O- α -rhamnosyl-(1 \rightarrow 2)-rhamnoside

흑썬기풀 (*Laportea bulbifera* Weddell)은 우리나라 전도, 중국, 일본 등지의 숲속 음지에 자라는 다년초로서 높이 40~70 cm이고, 엽액(葉液)에 달려 있는 육아(肉芽)로 번식한다. 뿌리에는 작은 원추형(圓錐形)의 괴근(塊根)이 달리며 원줄기는 높이 40~70 cm로서 곧추 자라고 잎과 더불어 자모(刺毛)가 있다.^{1,2)} 전초 및 뿌리를 약용으로 하며, 한방에서는 ‘야록마(野綠麻)’ 또는 ‘주아에마(珠芽艾麻)’라고 불리며, 풍습(風濕), 거풍(祛風), 활혈(活血), 소아의 감적(疳積), 산후 경련 발작, 소아경풍, 이노작용, 고혈압, 관절염, 종기, 당뇨, 단독(丹毒)의 치료³⁻⁶⁾에 사용되어 왔다. 국내에 자생하고 있는 *Laportea*속 식물은 *Laportea bulbifera* Weddell 1종이며, 동속식물의 연구로는 *Laportea moroides*에서 분리된 bicyclic octapeptide 분리 연구 및⁷⁾ antimitotic activity에 관한 연구^{8,9)}가 보고되어 있으나, 본 식물에 대해서는 劉등이 terpenoid, anthraquinone 및 flavonoid에 양성 반응을 보였다고 보고된 것 뿐이다.¹⁰⁾

본 연구에서는 흑썬기풀 지상부의 MeOH추출물로부터 5종의 flavonoid glycoside를 분리하여 이화학적 성상 및 기

기분석적 방법으로 구조를 규명하였으며 DPPH free radical 소거 방법에 의한 항산화 효과를 검색하였기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험방법 – 흑썬기풀 (*Laportea bulbifera* Weddell)은 2001년 8월 오대산 노인봉에서 자생하는 것을 채집하여 정확히 감정한 후 사용하였다. 표본은 성균관대학교 약학대학 표본실 (SKKU01-04)에 보관되어 있다.

기기 및 시약 – 용점은 Gallenkamp melting point apparatus를 사용하여 측정하였으며 UV는 Shimadzu UV-1601 UV-Visible spectrophotometer를 사용하였다. ¹H- 및 ¹³C-NMR은 Varian VXR-500 spectrometer로 측정하였으며, FAB-MS는 VG70-VSEQ를 사용하였다. Column chromatography 용 silica gel은 Kiesel gel 60 (70–230 and 230–400 mesh, ASTM Art. 78734 and 9385, Merck)과 Lichroprep RP-18 Lobar[®]-A (Merck, 40–63 μ m)를 사용하였고, molecular sieve column chromatography용 packing 물질은 Sephadex LH-20 (Pharmacia)을 사용하였으며, TLC plate는 Kiesel gel

*교신저자(E-mail) : krlee@yurim.skku.ac.kr
(FAX) : +82-331-290-7730

60F₂₅₄ precoated plate (Art. 5554, Merck)를 사용하였다. LPLC Pump는 FMI LAB PUMP MODEL QSY (U.S.A)를 사용하였으며, 추출 및 column chromatography용 용매는 1급 시약을, 기타 시약은 1급 또는 특급을 사용하였으며, TLC에 분무하는 발색시약은 10% H₂SO₄ (EtOH)을 사용하였다.

추출 및 분리 - 실온에서 음건된 흑썬기질의 지상부 (2.3 kg)을 세절한 후 실온 및 60°C에서 MeOH로 각각 3회 추출한 후 감압 농축하여 MeOH 추출물 (200 g)을 얻었으며 MeOH 추출후 남은 잔사를 60°C에서 50% MeOH로 3회 온침한 후 감압 농축하여 추출물 (100 g)을 얻었다. MeOH 추출물 (200 g)을 증류수에 현탁시켜 *n*-hexane, CHCl₃, BuOH 순으로 용매 분획하여 각각 70 g, 20 g, 30 g (BuOH-1)을 얻었으며, MeOH 추출물 잔사의 50% MeOH 추출물 (100 g)은 BuOH로 분획하여 8 g (BuOH-2)을 얻었다. 이 중 BuOH-1 분획물 (30 g)을 H₂O : MeOH (1:1~0:1)을 gradient 유출 용매로 하여 XAD-2 column chromatography를 실시하여 4개의 분획으로 나누었다. 소분획물 F1 (600 mg)을 CHCl₃ : MeOH : H₂O (14:5:1)을 용매로 하여 silica gel column chromatography를 실시 9개의 소분획 (F11~F19)으로 나눈 후 이중 F13 분획 (70 mg)을 45% MeOH : 0.1% TFA (45:55)를 용매로 하여 reverse phase (RP) Lobar[®]-A column chromatography 후 cation exchange column chromatography (IRA-67)로 TFA를 제거 후 amine sep-pak으로 정제후 화합물 1 (10 mg)을 얻었고, 소분획물 F3 (11 g)을 CHCl₃ : MeOH : H₂O (14:5:1~6:4:1)을 gradient 유출 용매로 하여 silica gel column chromatography를 실시하여 13개의 소분획 (F31~F313)으로 나눈 후, 이중 F32 분획 (2.7 g)을 70% MeOH를 용매로 하여 sephadex LH-20을 거친 후 70% MeOH를 용매로 하여 reverse phase (RP) Lobar[®]-A column chromatography 후 amine sep-pak으로 정제하여 화합물 2 (13 mg)을 분리하였다. F34 분획 (2 g)을 MeOH로 recrystallization한 후 amine sep-pak으로 정제하여 화합물 3 (20 mg)을 얻었으며, F38 분획 (800 mg)을 CHCl₃ : MeOH : H₂O (12:6:1)을 유출 용매로 하여 silica gel column chromatography를 실시 한 후 40% MeOH를 유출 용매로 하여 reverse phase (RP) Lobar[®]-A column chromatography 후 RP-18 sep-pak으로 정제하여 화합물 4 (20 mg)을 분리하였다. 50% MeOH Ex. (100 g)의 BuOH-2 분획물 (8 g)을 CHCl₃ : MeOH : H₂O (5:4:1)을 유출 용매로 하여 silica gel column chromatography를 수행하여 4개 분획 (R1~R4)으로 나누었고 소분획물 R3 (2 g)을 CHCl₃ : MeOH : H₂O (10:5:1)을 유출 용매로 하여 silica gel column chromatography하여 10개의 소분획 (R31~R310)으로 나눈 후 이중

R31 분획을 45% MeOH를 유출 용매로하여 reverse phase (RP) Lobar[®]-A column chromatography 후 amine sep-pak으로 정제하여 화합물 5 (10 mg)을 얻었다.

화합물 1 - yellow powder; mp : 240°C; 1% FeCl₃ test : positive (dark green); Mg-HCl and Zn-HCl : positive (red); UV λ_{max} (MeOH) nm : 255, 275sh, 354; (+NaOMe) nm : 265, 411; (+AlCl₃) nm : 270, 305sh, 390; (+NaOAc) nm : 255, 270sh, 355; (+NaOAc/H₃BO₃) nm : 255, 270sh, 355; positive-mode FAB-MS *m/z* : 463 [M+H]⁺; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD, δ ppm) : 1.26 (3H, d, *J*=6.0 Hz, H-6"), 3.96 (3H, s, -OCH₃), 3.31~4.04 (4H, m, H-2", H-3", H-4", H-5"), 5.58 (1H, br s, H-1"), 6.47 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6), 6.75 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8), 6.90 (1H, d, *J*=6.0 Hz, H-5'), 7.62 (1H, d, *J*=6.5 Hz, H-6'), 7.90 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-2'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD, δ ppm) : (aglycone moiety) 55.65 (-OCH₃), 94.32 (C-8), 98.70 (C-6), 102.57 (C-10), 113.45 (C-2'), 114.91 (C-5'), 121.76 (C-6'), 122.83 (C-1'), 134.40 (C-3), 147.29 (C-4'), 149.90 (C-3'), 156.89 (C-9), 147.29 (C-2), 160.59 (C-7), 162.42 (C-5), 178.42 (C-4), (sugar moiety) 99.46 (C-1"), 70.28 (C-2"), 70.54 (C-3"), 70.94 (C-4"), 70.11 (C-5"), 16.88 (C-6")

화합물 2 - yellow powder; mp : 183°C; 1% FeCl₃ test : positive (dark green); Mg-HCl and Zn-HCl : positive (red); UV λ_{max} (MeOH) nm : 255, 270sh, 346; (+NaOMe) nm : 263, 397; (+AlCl₃) nm : 273, 300, 356; (+NaOAc) nm : 265, 270sh, 347; (+NaOAc/H₃BO₃) nm : 255, 270sh, 348 ; positive-mode FAB-MS *m/z* : 463 [M+H]⁺; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD, δ ppm) : 1.26 (3H, d, *J*=6.0 Hz, H-6"), 3.29~4.01 (4H, m, H-2", H-3", H-4", H-5"), 3.95 (3H, s, -OCH₃), 5.56 (1H, br s, H-1"), 6.30 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6), 6.51 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8), 6.95 (1H, d, *J*=6.5 Hz, H-5'), 7.40 (2H, m, H-2', H-6'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD, δ ppm) : (aglycone moiety) 55.53 (-OCH₃), 94.49 (C-8), 98.67 (C-6), 106.40 (C-10), 112.39 (C-2'), 115.40 (C-5'), 121.39 (C-6'), 123.14 (C-1'), 135.01 (C-3), 147.81 (C-4'), 150.10 (C-3'), 156.95 (C-9), 158.67 (C-2), 161.85 (C-7), 162.43 (C-5), 178.43 (C-4), (sugar moiety) 99.49 (C-1"), 70.16 (C-2"), 70.55 (C-3"), 70.91 (C-4"), 68.91 (C-5"), 16.95 (C-6")

화합물 3 - yellow powder; mp : 190~200°C; 1% FeCl₃ test : positive (dark green); Mg-HCl and Zn-HCl : positive (red); UV λ_{max} (MeOH) nm : 255, 270sh, 348; (+NaOMe) nm : 256, 270sh, 357; (+AlCl₃) nm : 272, 360; (+NaOAc)

nm : 255, 270sh, 348; (+NaOAc/H₃BO₃) nm : 255, 270sh, 348; positive-mode FAB-MS *m/z* : 631 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD, δ ppm) : 0.92 (3H, d, *J*=4.0 Hz, H-6''), 1.25 (3H, d, *J*=6.0 Hz, H-6'''), 3.94 (3H, s, -OCH₃), 3.29~4.2 (8H, m, sugar H), 5.38 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-1''), 5.55 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-1'''), 6.43 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6), 6.70 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8), 6.92 (1H, dd, *J*=6.5 Hz, 8.0 Hz, H-5'), 7.42 (2H, m, H-2', H-6'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD, δ ppm) : (aglycone moiety) 55.58 (-OCH₃), 94.44 (C-8), 98.73 (C-6), 106.43 (C-10), 112.36 (C-2'), 115.42 (C-5'), 121.50 (C-6'), 123.17 (C-1'), 135.33 (C-3), 147.75 (C-4'), 150.01 (C-3'), 156.91 (C-9), 158.51 (C-2), 160.60 (C-7), 162.38 (C-5), 178.57 (C-4) (sugar moiety) 102.25 (C-1''), 70.93 (C-2''), 71.04 (C-3''), 72.04 (C-4''), 70.55 (C-5''), 16.52 (C-6'') ; 99.44 (C-1'''), 70.75 (C-2'''), 70.09 (C-3'''), 72.01 (C-4'''), 70.14 (C-5'''), 16.91 (C-6'')

화합물 4 – yellow powder; mp : 208°C; 1% FeCl₃ test : positive (dark green); Mg-HCl and Zn-HCl : positive (red); UV λ_{max} (MeOH) nm : 255, 275sh, 356; (+NaOMe) nm : 262, 375; (+AlCl₃) nm : 270, 305sh, 380; (+NaOAc) nm : 255, 270sh, 357; (+NaOAc/H₃BO₃) nm : 255, 270sh, 357; positive-mode FAB-MS *m/z* : 647 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD, δ ppm) : 1.20 (3H, d, *J*=6.0 Hz, H-6'''), 3.26~4.04 (9H, m, sugar H), 4.00 (3H, s, -OCH₃), 5.29 (1H, d, *J*=7.5 Hz, H-1''), 5.58 (1H, br s, H-1'''), 6.25 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6), 6.50 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8), 6.92 (1H, d, *J*=6.5 Hz, H-5'), 7.62 (1H, d, *J*=6.0 Hz, H-2'), 8.04 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD, δ ppm) : (aglycone moiety) 55.82 (-OCH₃), 94.56 (C-8), 98.78 (C-6), 106.19 (C-10), 113.5 (C-2'), 114.92 (C-5'), 121.55 (C-6'), 122.78 (C-1'), 134.50 (C-3), 147.32 (C-4'), 150.04 (C-3'), 156.84 (C-9), 158.23 (C-2), 161.64 (C-7), 162.52 (C-5), 178.50 (C-4) (sugar moiety) 100.77 (C-1''), 70.54 (C-2'''), 70.90 (C-3'''), 71.92 (C-4'''), 68.89 (C-5'''), 16.92 (C-6'''), 99.45 (C-1'''), 73.81 (C-2'''), 72.70 (C-3'''), 68.1 (C-4'''), 74.45 (C-5'''), 66.1 (C-6'')

화합물 5 – yellow powder; mp : 220~223°C; 1% FeCl₃ test : positive (dark green); Mg-HCl and Zn-HCl : positive (red); UV λ_{max} (MeOH) nm : 265, 270sh, 345; (+NaOMe) nm : 265, 357; (+AlCl₃) nm : 274, 305sh, 351; (+NaOAc) nm : 270, 270sh, 346; (+NaOAc/H₃BO₃) nm : 265, 270, 346; positive-mode FAB-MS *m/z* : 631 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD, δ ppm) : 0.94 (3H, d, *J*=7.0

Hz, H-6''), 1.28 (3H, d, *J*=6.5 Hz, H-6'''), 3.32~4.24 (8H, m, sugar H), 3.96 (3H, s, -OCH₃), 5.41 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-1''), 5.58 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-1'''), 6.28 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6), 6.52 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8), 6.92 (1H, m, H-5'), 7.40 (2H, m, H-2', H-6'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD, δ ppm) : (aglycone moiety) 55.52 (-OCH₃), 94.39 (C-8), 98.68 (C-6), 106.40 (C-10), 112.26 (C-2'), 115.40 (C-5'), 121.47 (C-6'), 123.16 (C-1'), 135.31 (C-3), 147.74 (C-3'), 156.92 (C-9), 158.62 (C-2), 160.62 (C-4'), 161.87 (C-7), 162.37 (C-5), 178.60 (C-4), (sugar moiety) 99.37 (C-1''), 70.74 (C-2''), 70.92 (C-3''), 72.42 (C-4''), 70.52 (C-5''), 16.50 (C-6''), 102.33 (C-1'''), 70.69 (C-2'''), 70.88 (C-3'''), 71.20 (C-4'''), 70.12 (C-5'''), 16.91 (C-6''')

화합물의 산가수분해¹²⁾ – 화합물 **1** (5 mg)을 dioxane과 H₂O의 1:1 혼합용액 (10 ml)에 녹인 후 5% H₂SO₄ (0.5 ml)을 가하여 3시간 동안 가수분해를 실시한 다음, 1% NaOH로 중화한 후 evaporation하여 dioxane을 제거한 다음 methylene chloride로 물층을 3회 추출하여 aglycone (화합물 **1a**)을 얻었으며, silica gel column chromatography (CHCl₃:MeOH=20:1)로 최종 정제하여, ¹H-NMR spectrum을 측정하여 isorhamnetin임을 확인하였으며, 나머지 화합물 **2-5**는 가수분해 후 aglycone을 정제하여 화합물 **1a**와 비교 TLC (CHCl₃:MeOH=10:1, R_f 0.4)하여 isorhamnetin임을 확인하였다. 물층은 표준품 당 (Aldrich co.)과 비교 TLC하여 당 부분이 화합물 **1, 2, 3** 및 **5**는 L-rhamnose (CHCl₃:MeOH:H₂O=14:6:1, R_f 0.5, 황산발색 : 황색), 화합물 **4**는 L-rhamnose 및 D-galactose (*n*-BuOH:acetone:H₂O=4:5:1, R_f 0.36, 황산발색 : 짙은 갈색)임을 확인하였다.

화합물 1a (isorhamnetin)¹¹⁾ – ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm) δ 3.85 (3H, s, OMe), 6.20 (1H, br s, Hz, H-6), 6.48 (1H, br s, H-8), 6.95 (1H, d, *J*=9.0 Hz, H-5'), 7.68 (1H, dd, *J*=2.0, 8.3 Hz, H-6'), 7.75 (1H, br s, H-2'), 9.40 (1H, s, 3-OH), 9.71 (1H, s, 4'-OH), 10.75 (1H, s, 7-OH), 12.46 (1H, br s, 5-OH)

DPPH free radical 소거법에 의한 항산화 활성¹⁴⁻¹⁶⁾ – 분리된 각각의 compound 3 mg씩 취해 MeOH 25 ml로 녹인 후 각각의 농도를 120.0 μg/ml, 12.0 μg/ml, 1.2 μg/ml, 0.12 μg/ml로 희석한 용액 4 ml과 MeOH로서 1.5×10⁻⁴ M 농도가 되게 한 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 용액 1 ml씩을 vortex로 균일하게 혼합한 다음 실온에서 30분간 방치후 520 nm에서 optical density (O.D)를 측정하였다. 항산화 효과는 대조군에 대한 50% 흡광도의 감소를 나타내는 검체의 농도 (EC₅₀)로 표시하였다.

결과 및 고찰

화합물 1은 10% H₂SO₄ (EtOH)에 주황색으로 발색되는 황색 분말상 화합물로서 1% FeCl₃ solution (dark green), Mg-HCl 및 Zn-HCl test (red)에 양성을 나타내었으며, 255, 275sh, 354 nm의 UV spectrum 양상으로 flavonol 유도체로 추정할 수 있었다.¹⁷⁾ UV shift reagent에 의한 흡수 spectrum의 측정에서 NaOMe 및 AlCl₃ 첨가시 band I,II의 bathochromic shift로부터 C-5, C-4에 OH기가 존재함을 추정할 수 있었다.¹⁷⁾ NaOAc 및 NaOAc/H₃BO₃ 첨가시 band의 변화가 거의 없는 것으로 보아 C-7, C-3' 위치에 hydroxyl기 이외의 다른 치환기의 존재를 추정할 수 있었다.¹⁷⁻²⁰⁾ ¹H-NMR spectrum에서 δ 6.47 (d, *J*=2.0 Hz) 및 6.75 (d, *J*=2.0 Hz)은 flavonol의 A ring의 H-6, H-8으로 추정할 수 있었고, δ 6.90 (d, *J*=6.5 Hz)은 H-5', δ 7.62 (dd, *J*=2.0, 6.5 Hz)은 H-6', 7.90 ppm에서 H-2' (d, *J*=2.0 Hz)의 signal을 관찰할 수 있었다. δ 3.31~4.04에서 당으로 추정되는 signal을 관찰할 수 있었고, 당의 anomeric proton인 δ 5.58의 signal이 broad singlet임을 관찰하여 α-form의 당임을 추정하였으며, δ 1.26 (d, *J*=6.0 Hz)에서 나타나는 메틸기로 볼 때 결합된 당은 rhamnose임을 추정할 수 있었다.¹⁷⁾ 화합물 1의 산 가수분해를 통하여 표준품과의 비교 TLC로 당부분은 L-rhamnose로, aglycone은 ¹H-NMR spectrum으로부터 isorhamnetin (화합물 1a)으로 확인하였다.¹¹⁾ 이상의 결과와 기존 문헌 data¹⁷⁻²³⁾를 비교하여 화합물 1의 구조는 isorhamnetin 7-α-rhamnoside로 결정하였다.

화합물 2은 10% H₂SO₄ (EtOH)에 주황색으로 발색되는 황색 분말상 화합물로서 1% FeCl₃ solution (dark green), Mg-HCl 및 Zn-HCl test (red)에 양성을 나타내었으며, 255, 270sh, 346 nm의 UV spectrum 양상으로부터 flavonol로 추정할 수 있었다.¹⁷⁾ UV shift reagent에 의한 흡수 spectrum의 측정에서 NaOMe, NaOAc, AlCl₃ 첨가시 band I,II가 bathochromic shift로부터 5, 7, 4'에 OH기가 존재함을 추정할 수 있었다. NaOAc/H₃BO₃ 첨가시 band의 변화가 거의 없는 것으로 보아 3' 위치에 -OH 이외의 다른 치환기의 존재함을 추정할 수 있었다.¹⁷⁾ ¹H-NMR spectrum에서 δ 6.30 (d, *J*=2.0 Hz) 및 6.51 (d, *J*=2.0 Hz)은 flavonol의 A ring의 H-6, H-8으로 추정할 수 있었고, δ 6.95 (d, *J*=6.5 Hz)은 H-5', δ 7.42 (m)에서 H-2' (d, *J*=2.0 Hz), H-6' (dd, *J*=2.0, 8.5 Hz)의 B ring signal을 관찰할 수 있었다. δ 3.29~4.01에서 당으로 추정되는 signal을 관찰할 수 있었고, 당의 anomeric proton인 δ 5.56의 signal이 broad singlet임을 관찰하여 α-form의 당임을 추정하였으며, δ 1.26 (d, *J*=6.0 Hz)에서 나타나는 메틸기로 볼 때 결합된 당은 rhamnose임을 추정할 수

있었다.¹⁷⁾ 이상의 결과와 기존 문헌의 data^{24,25)}와 비교하여 compound 2는 isorhamnetin-3-α-rhamnoside로 구조를 결정하였다.

화합물 3은 10% H₂SO₄ (EtOH)에 주황색으로 발색되는 황색 분말상 화합물로서 1% FeCl₃ solution (dark green), Mg-HCl 및 Zn-HCl test (red)에 양성을 나타내었으며, 255, 270sh, 348 nm의 UV spectrum 양상으로 flavonol로 추정할 수 있었다.¹⁷⁾ UV shift reagent에 의한 흡수 spectrum의 측정에서 NaOMe 및 AlCl₃ 첨가시 band I,II의 bathochromic shift로부터 5, 4'에 OH기가 존재함을 추정할 수 있었다.¹⁷⁾ NaOAc 및 NaOAc/H₃BO₃ 첨가시 band의 변화가 거의 없는 것으로 보아 7 및 3' 위치에 -OH 이외의 다른 치환기의 존재를 추정할 수 있었다.¹⁷⁾ ¹H-NMR spectrum에서 δ 6.43 (d, *J*=2.0 Hz) 및 6.70 (d, *J*=2.0 Hz)은 flavonol의 A ring proton H-6, H-8으로 추정할 수 있었고, δ 6.92 (d, *J*=6.5 Hz)은 H-5', δ 7.42 (m)에서 H-2' (d, *J*=2.0 Hz), H-6' (dd, *J*=2.0, 8.5 Hz)의 B ring signal을 관찰할 수 있었다.²⁶⁾ 화합물 3의 산 가수분해를 통하여 표준품과의 비교 TLC로 당 부분은 L-rhamnose로, aglycone은 화합물 1a와 비교 TLC하여 isorhamnetin으로 확인하였다. 이상의 결과와 기존 문헌의 data²⁶⁻²⁸⁾를 비교하여 화합물 3는 isorhamnetin-3,7-α-dirhamnoside로 구조를 결정하였다.

화합물 4는 10% H₂SO₄ (EtOH)에 주황색으로 발색되는 황색 분말상 화합물로서 1% FeCl₃ solution (dark green), Mg-HCl 및 Zn-HCl test (red)에 양성을 나타내었으며, 255, 275sh, 356 nm의 UV spectrum 양상으로 flavonol 유도체로 추정할 수 있었다.¹⁷⁾ UV shift reagent에 의한 흡수 spectrum의 측정에서 NaOMe, AlCl₃, NaOAc 첨가시 band I,II의 bathochromic shift로부터 5, 7, 4'에 OH기가 존재함을 추정할 수 있었다.¹⁷⁾ NaOAc/H₃BO₃ 첨가시 band의 변화가 거의 없는 것으로 보아 3' 위치에 -OH 이외의 다른 치환기의 존재를 추정할 수 있었다.¹⁷⁾ ¹H-NMR spectrum에서 δ 6.25 (d, *J*=2.0 Hz) 및 6.50 (d, *J*=2.0 Hz)은 flavonol의 A ring의 H-6, H-8으로 추정할 수 있었고, δ 6.92 (d, *J*=6.5 Hz)은 H-5', δ 7.62 (d, *J*=6.0 Hz)은 H-2', δ 8.04 (d, *J*=2.0 Hz)은 H-6'의 B ring signal을 관찰할 수 있었다.²⁶⁾ 화합물 4의 산 가수분해를 통하여 표준품과의 비교 TLC로 당 부분은 L-rhamnose, D-galactose로, aglycone은 화합물 1a와 비교하여 isorhamnetin임을 확인하였다. 이상의 결과와 기존 문헌의 data²⁹⁾와 비교하여 화합물 4은 isorhamnetin-3-O-α-rhamnopyranosyl (1→2)-β-galactopyranoside로 확인 동정하였다.

화합물 5는 10% H₂SO₄ (EtOH)에 주황색으로 발색되는 황색분말상 화합물로서 1% FeCl₃ solution (dark green),

Mg-HCl 및 Zn-HCl test (red)에 양성을 나타내었으며, 265, 270sh, 345 nm의 UV spectrum 양상으로 flavonol로 추정할 수 있었다.¹⁷⁾ UV shift reagent에 의한 흡수 spectrum의 측정에서 NaOMe 및 AlCl₃ 첨가시 band I,II가 bathochromic shift, NaOAc 첨가시 band II의 bathochromic shift로부터 5, 7, 4'에 OH기가 존재함을 추정할 수 있었으며, NaOAc/H₃BO₃ 첨가시 band I의 변화가 거의 없는 것으로 보아 3' 위치에 -OH 이외의 다른 치환기가 존재함을 추정할 수 있었다.¹⁷⁾ ¹H-NMR spectrum에서 δ 6.28 (d, $J=2.0$ Hz) 및 6.52 (d, $J=2.0$ Hz)은 flavonol의 A ring의 H-6, H-8으로 추

정할 수 있었고, δ 6.92 (d, $J=6.5$ Hz)은 H-5', H-6', δ 7.42 (m)에서 H-2'의 B ring signal을 관찰할 수 있었다.²⁶⁾ δ 3.32~4.24에서 당으로 추정되는 signal을 관찰할 수 있었고, 당의 anomeric proton인 δ 5.41 (d, $J=2.0$ Hz) 및 5.58(d, $J=2.0$ Hz)의 signal로 인해 각각 α form의 당임을 추정하였으며, δ 1.28, 0.94 (d, $J=6.0$ Hz)에서 나타나는 메틸기로 볼 때 결합된 α -form의 당은 rhamnose임을 추정할 수 있었다. 화합물 5의 산 가수분해를 통하여 표준품과의 비교 TLC로 당 부분은 L-rhamnose로, aglycone은 화합물 1a와 비교 TLC하여 isorhamnetin임을 확인하였다. 이상의 결과와 기존 문헌의

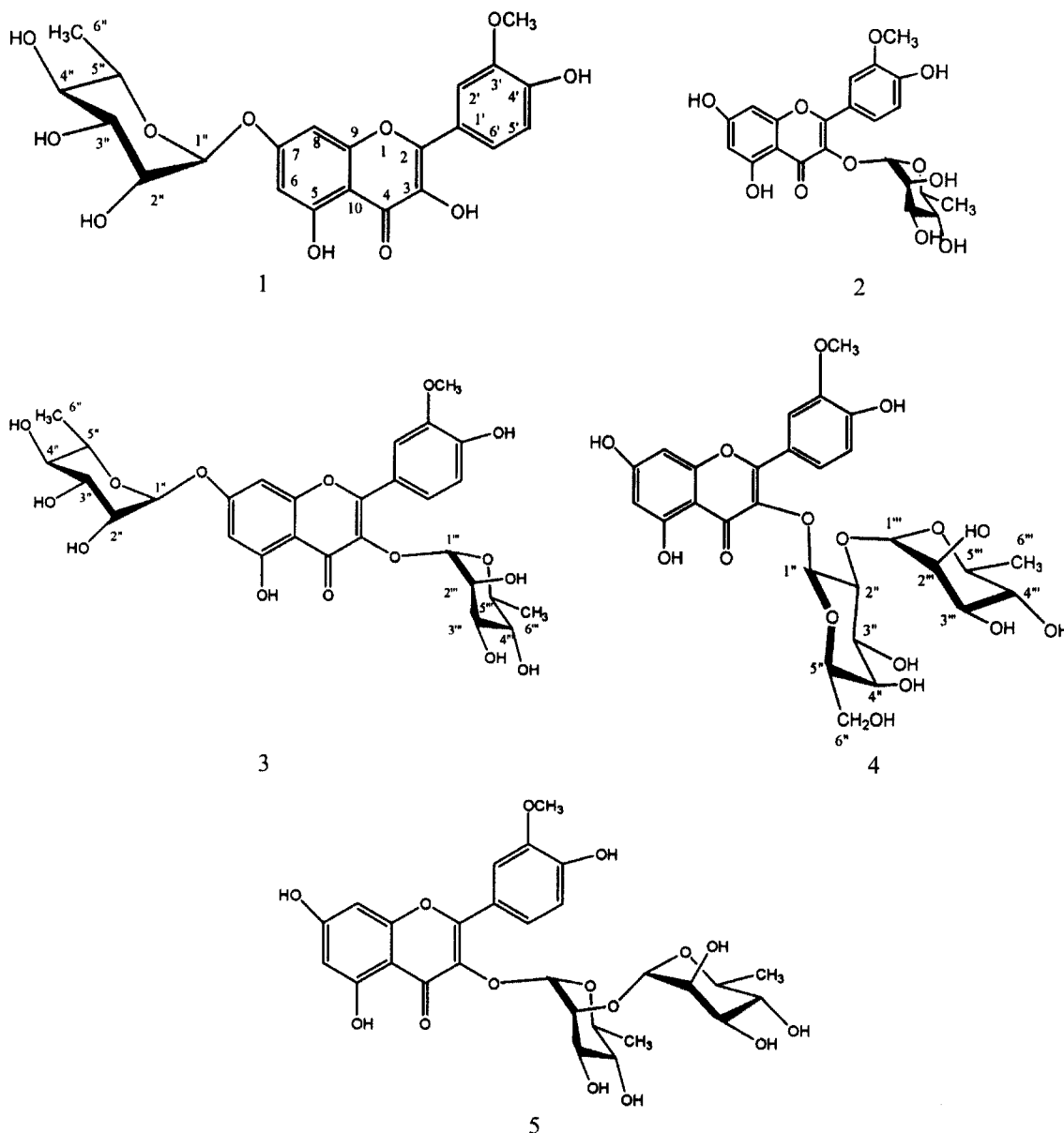


Fig. 1. The Structures of Isolated Compounds 1-5.

Table I. Scavenging effects of compounds (1~5) from *L. bulbifera* on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical

Sample	EC50 (µg/ml)*
Compound 1	>480.0
Compound 2	45.0
Compound 3	20
Compound 4	>480.0
Compound 5	55
L-ascorbic acid	11

*EC₅₀ value represents the concentration of a compound required for 50% decrease of DPPH radicals.

data^{22,24)}와 비교하여 화합물 5는 isorhamnetin-3-rhamnosyl-(1→2)-rhamnoside로 구조를 결정하였다.

흑썬기풀 전초로부터 분리한 화합물을 DPPH radical 소거법에 의해 항산화 활성을 검색하였다. 그 결과 Table I에서 보논바와 같이 EC₅₀ value가 화합물 3은 20 µg/ml로 우수하였고, 화합물 2 (45 µg/ml)와 화합물 5 (55 µg/ml)는 미약한 항산화 활성을 나타냈고, 화합물 1, 4는 항산화 활성이 없는 것으로 나타났다. 분리된 5종의 화합물은 천연에서 분리된 바 있으나 흑썬기풀에서는 처음 보고되는 화합물이다.

결 론

흑썬기풀의 MeOH 추출물 및 잔사의 50% MeOH 추출물의 BuOH 분획으로 부터 총 5종의 flavonoid 배당체를 분리 정제하여 이화학적 성상 및 기기 분석적 방법으로 구조를 규명하였다.

화합물 1은 isorhamnetin 7-O-α-L-rhamnoside, 화합물 2은 isorhamnetin 3-O-α-L-rhamnoside, 화합물 3은 isorhamnetin-3,7-O-α-L-dirhamnoside, 화합물 4은 isorhamnetin-3-O-α-L-rhamnopyranosyl (1→2)-β-D-galactopyranoside, 화합물 5은 isorhamnetin-3-O-α-L-rhamnosyl-(1→2)-rhamnoside으로 확인 동정하였다. DPPH radical 소거방법에 의한 항산화 활성을 검색한 결과 화합물 3에서 유의성 있는 항산화 작용이 나타났다.

인용문헌

- 이창복(1985) 대한식물도감, 290. 향문사, 서울.
- 이우철(1996) 원색한국기준식물도감, 69. 도서출판 아카데미, 서울.
- 강창민, 신민교, 이경순, 안덕균(1999) 중약 대사전, 2782-2783. 도서출판정담, 서울.
- 안덕균(1998) 원색 한국본초도감, 339. 교학사, 서울.
- 송주택(1989) 식물 대보감(상), 190. 도서출판 일흥, 서울.
- 윤국병, 장준근(1989) 몸에 좋은 산야초, 153. 석오 출판사, 서울.
- Leung, T. W., Williams, D. H., Barna, J. C., Forti, S. and Oelrichs, P. B. (1986) Structural studies on the peptide moroidin from *Laportea moroide*. *Tetrahedron*. **43**(12): 3333-3348.
- Hiroshi, M., Kazutaka, S., Hideyuki, S. and Jun'ichi, K. (2000) Antimitotic activity of moroidin, a bicyclic peptide from the seeds of *Celosia argentea*. *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **10**: 469-471.
- Jun'ichi, K., Hayato, S., Kazutaka, S., Koichi, T. and Hiroshi, M. (2001) Celogentin A-C, New antimitotic bicyclic peptide from the seeds of *Celosia argentea*. *J. Org. Chem.* **66**: 6626-6633.
- 유승조, 광종환(1989) 국내 자생 식물의 화학 성분 검색. *Kor. J. Pharmacogn.* **20**(3): 149-153.
- Choi, J. S., Jung, M. J., Park, H. J., Chung, H. Y., and Kang, S. S. (2002) Further isolation of peroxynitrite and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl scavenging isorhamnetin 7-O-glucoside from the leaves of *Brassica juncea* L. *Arch. Pharm. Res.* **25**(5): 645-627.
- 강삼식, 최재수, 우원식, 지형준(1983) Isorhamnetin 7-O-glucoside from the leaves of *Typha latifolia*. *Kor. J. Pharmacogn.* **14**(4): 137-139.
- Markham, K. R. (1982) Techniques of flavonoid identification. 52-53. Academic press.
- 정철만, 황은주, 권학철, 김선영, 배기환, 지옥표, 이강노 (1999) 고추나물의 항산화 활성 flavonoid 성분. *Kor. J. Pharmacogn.* **30**(2): 196-201.
- Chung, I. M., Kim, K. H., K., Ahn, J. K., and Lee, J. O. (2000) Varietal variation in antioxidant activity of rice grain by DPPH and TBA Methods. *Korean J. Crop Sci.* **45**(4): 261-266.
- Yoshida, T., Mori, K., Hatano, T., Okumura, T., Uehara, I., Komagoe, K., Fujita, Y. and Okuda, T. (1989) Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and flavonoids. V. Radical-scavenging effects of tannins and related polyphenols on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chem. Pharm. Bull.* **37**(7): 1919-1921.
- Dey, P. M. and Harbone, J. B. (1989) Method in plant biochemistry, vol 1, 209-216. Academic press.
- Maria, W. (1989) Flavonol glycosides from *Sedum album*. *Phytochemistry.* **28**(8): 2187-2189.
- Maria, W. and Maria, K. (1989) Flavonol glycosides from *Sedum acre*. *Phytochemistry.* **27**(12): 3941-3943.
- Singh, K. N. and Pandey, V. B. (1986) Isorhamnetin 7-glucoside from *Cnicus wallichii*. *Phytochemistry.* **25**(11): 2683.
- Liu, K. C., Yang, S. L., Roverts, M., and Phillipson, J. D.

- (1989) Eupafolin rhamnosides from *Kalanchoe gracilis*. *J. Nat. Prod.* **52**(5): 970-974.
22. Agrawal, P. K. (1989) Carbon-13 NMR of flavonoids, 284-312. Elsevier. Amsterdam.
23. Komissarenko, N. F. (1988) Flavonoids of Inflorescences of *Calendula officinalis*. *Khim. Pri. Soedin.*: 675-680.
24. Williams, C. A., Harbone, J. B., and Eagles, J. (1989) Leaf flavonoid diversity in the Australian genus *Patersonia*. *Phytochemistry*. **28**(7): 1891-1896.
25. Reynaud, J., Vinzani, F. (1988) The flavonoids of *Senecio incanus*. *Pharmazie*. **43**(12): 878-879.
26. Mohamed, S., Mohamed, E. A. and Nabel, S. (1997) Flavonoids of four *Cleome* and three *Capparis species*. *Biochem. System. Ecol.* **25**(2): 161-166.
27. Mizuno, M., Kyotani, Y., Inuma, M., Tanaka, T., Kojima, H., Iwatsuki K. (1991) Mearnsetin 3,7 dirhamnoside from *Asplenium antiquum*. *Phytochemistry*. **30**(8): 2817-1818.
28. Ahmed, A., Fikria, A. (1987) Flavonoid from *Cleome droserifolia*. *Egypt. J. Pharm. Sci.* **28**: 313-318.
29. Kaouadji, M. (1990) Flavonol diglycosides from *Blackstonia perfoliata*. *Phytochemistry*. **29**(4): 1345-1347.

(2003년 1월 22일 접수)