

흑썬기풀의 Flavonoid 성분 및 항산화 효과

양민철 · 최상진 · 이성옥 · 정애경 · 남정환 · 이규하 · 이강노*
성균관대학교 약학대학 천연물약품화학연구실

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(葉腋)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, 이뇨작용, 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 薊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) : krllee@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 흑썬기꽃의 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 용매로 하여 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 산기수분해¹²⁾ – 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 당 부분은 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, 4에 OH기가 존재함을 추정할 수 있었다. NaOAc/H₃BO₃ 첨가시 band의 변화가 거의 없는 것으로 보아 3' 위치에 -OH 이외의 다른 치환기가 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, 4에 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, 4에 OH기가 존재함을 추정할 수 있었다.¹⁷⁾ NaOAc/H₃BO₃ 첨가시 band의 변화가 거의 없는 것으로 보아 3' 위치에 -OH이외의 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-2의 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

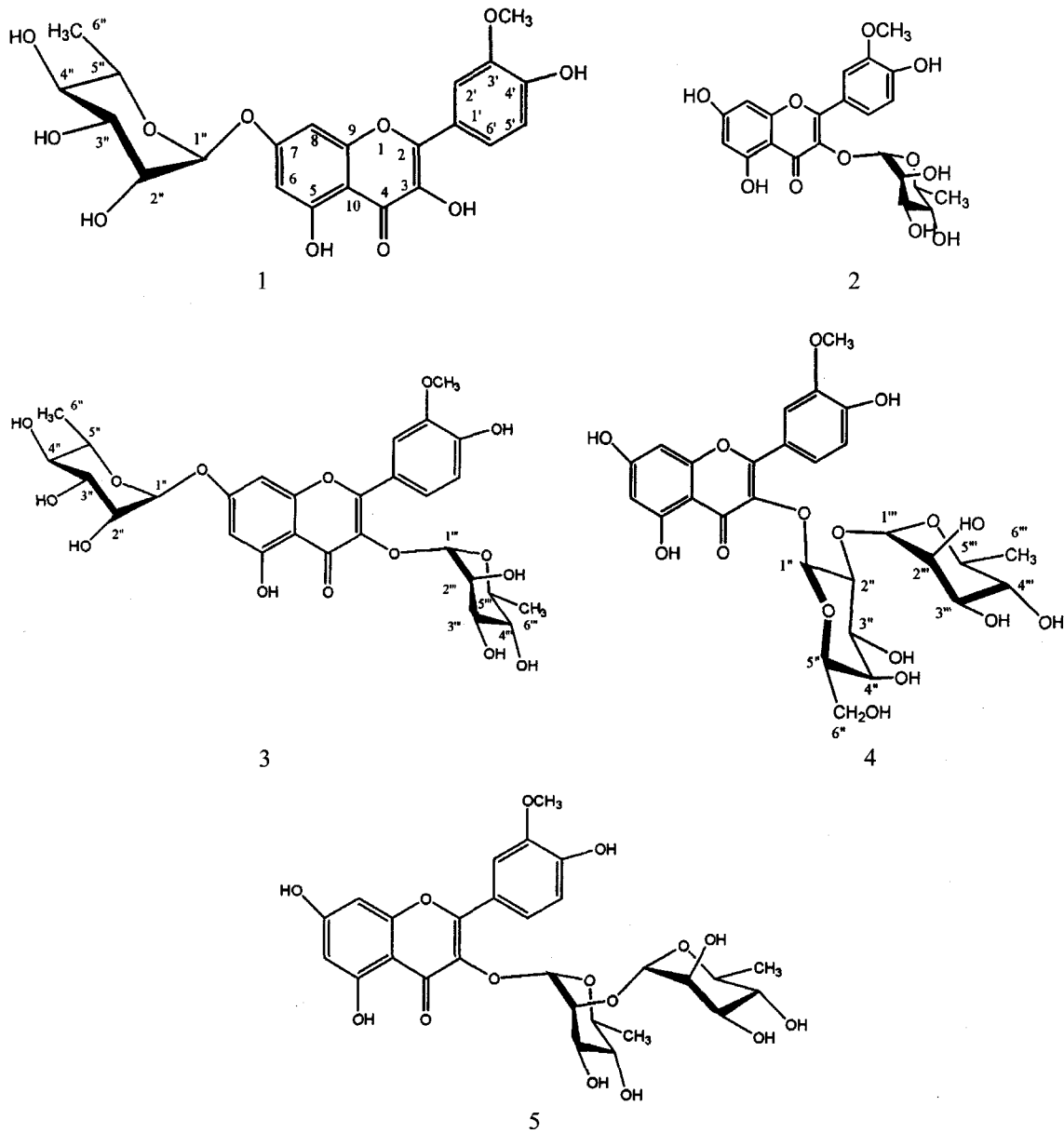


Fig. 1. The Structures of Isolated Compounds 1-5.

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

Sample	EC50 ($\mu\text{g}/\text{m}$) [*]
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 보는바와 같이 EC₅₀ value가 화합물 3은 20 $\mu\text{g}/\text{m}$ 로 우수하였고, 화합물 2 (45 $\mu\text{g}/\text{m}$)와 화합물 5 (55 $\mu\text{g}/\text{m}$)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 분획으로부터 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

1. 이창복(1985) 대한식물도감, 290. 향문사, 서울.
2. 이우철(1996) 원색한국기초식물도감, 69. 도서출판 아카데미, 서울.
3. 강창민, 신민교, 이경순, 안덕균(1999) 중약 대사전, 2782-2783. 도서출판정담, 서울.

4. 안덕균(1998) 원색 한국본초도감, 339. 교학사, 서울.
5. 송주택(1989) 식물 대보감(상), 190. 도서출판 일흥, 서울.
6. 윤국병, 장준근(1989) 몸에 좋은 산야초, 153. 석오 출판사, 서울.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. 유승조, 광종환(1989) 국내 자생 식물의 화학 성분 검색. *Kor. J. Pharmacogn.* **20**(3): 149-153.
11. Choi, J. S., Jung, M. J., Park, H. J., Chung, H. Y., and Kang, S. S. (2002) Further isolation of peroxyxynitrite 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.
12. 강삼식, 최재수, 우원식, 지형준(1983) Isorhamnetin 7-O-glucoside from the leaves of *Typha latifolia*. *Kor. J. Pharmacogn.* **14**(4): 137-139.
13. Markham, K. R. (1982) Techniques of flavonoid identification. 52-53. Academic press.
14. 정철만, 황은주, 권학철, 김선여, 배기환, 지옥표, 이강노 (1999) 고추나물의 항산화 활성 flavonoid 성분. *Kor. J. Pharmacogn.* **30**(2): 196-201.
15. 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.
16. 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.
17. Dey, P. M. and Harbone, J. B. (1989) Method in plant biochemistry, vol 1, 209-216. Academic press.
18. Maria, W. (1989) Flavonol glycosides from *Sedum album*. *Phytochemistry.* **28**(8): 2187-2189.
19. Maria, W. and Maria, K. (1989) Flavonol glycosides from *Sedum acre*. *Phytochemistry.* **27**(12): 3941-3943.
20. Singh, K. N. and Pandey, V. B. (1986) Isorhamnetin 7-glucoside from *Cnicus wallichi*. *Phytochemistry.* **25**(11): 2683.
21. 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)