

식용식물자원에서부터 활성물질의 탐색 -XIV. 사자발쑃 (*Artemisia herba*)의 전초로부터 flavonoid 화합물의 분리

방면호 · 김동현¹ · 유종수¹ · 이대영¹ · 송명종¹ · 양혜정¹
정태숙² · 이경태³ · 최명숙⁴ · 정해곤 · 백남인^{1,*}

강화군농업기술센터 특화작목연구소, ¹경희대학교 생명공학원 및 식물대사연구센터,
²한국생명공학연구원 지질대사연구실, ³경희대학교 약학대학 약품생화학고실, ⁴경북대학교 식품영양학과

Development of Biologically Active Compounds from Edible Plant Sources XIV. Isolation and Identification of Flavonoids from the Aerial Parts of Sajabalssuk (*Artemisia herba*)

Myun-Ho Bang, Dong-Hyun Kim¹, Jong-Su Yoo¹, Dae-Young Lee¹, Myoung-Chong Song¹,
Hye-Joung Yang¹, Tae-Sook Jeong², Kyung-Tae Lee³, Myung-Sook Choi⁴,
Hae-Gon Chung and Nam-In Baek^{1,*}

Ganghwa Agricultural R&D Center, Korea

¹The Graduate School of Biotechnology & Plant Metabolism Research Center, Suwon 449-701, Korea

²National Research Laboratory of Lipid Metabolism & Atherosclerosis,
Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Daejeon 305-33, Korea

³Department of Biochemistry, College of Pharmacy, Kyung-Hee University,
Dongdaemun-Ku, Hoegi-Dong, Seoul 130-701, Korea

⁴Department of Food Science and Nutrition, Kyungpook National University,
1370 Sankyuk Dong Puk-ku, Daegu, 702-701, Korea

Received August 3, 2005; Accepted September 12, 2005

In order to search for biologically active compounds from edible plant sources, the aerial parts of Sajabalssuk (*Artemisia herba*) were extracted with 80% aqueous MeOH, and the concentrated extract was partitioned with EtOAc, *n*-BuOH and H₂O, successively. From the EtOAc fraction, four compounds were isolated through the repeated silica gel and ODS column chromatographies. From the results of physico-chemical data including NMR, MS and IR, the chemical structures of the compounds were determined as eupatilin (1), jaceosidin (2), apigenin (3) and eupafolin (4). Among them, compounds 3 and 4 were isolated for the first time from Sajabalssuk (*Artemisia herba*).

Key words: Sajabalssuk, *Artemisia herba*, flavonoid, eupatilin, jaceosidin, apigenin, eupafolin

서 론

사자발쑃는 국화과(Compositae)에 속하는 여러해살이 식물로, 강화도 지역에만 주로 자생하고 있다. 잎이 넓고 짙은 녹색이며, 키는 70 cm 내외로 곧게 자라고 잎은 사자발 모양으로 갈라져 마디마디 착생하며 뒷면에 흰털이 밀생하고 특유의 향을 발한다. 7-9월에 3 mm 정도의 이삭모양의 붉은 빛을 띤 연보라 빛 꽃이 핀다.¹⁾ 효능으로는 소염제, 진통제, 강심제, 진해제 및 흡입제로 쓰이며, 주요 약리작용으로는 항균 작용이 알려져

있다.²⁾ 사자발쑃는 약쑃인 *Artemisia asiatica* 또는 *A. princeps*와 유사한 것으로 알려져 있지만, 아직까지 확실한 식물학적 동정이 되어 있지 않다. 지금까지 약쑃(*Artemisia asiatica*, *A. princeps*)으로부터는 다양한 성분들이 분리 보고 되어 있지만, 강화지역에 자생하고 있는 사자발쑃으로부터는 cineole, camphor 및 borneol 등의 정유(精油) 성분을 GC/MS로 분석한 결과와 eupatilin과 jaceosidin이 분리·보고 되어 있을 뿐이다.^{2,3)} 본 연구에서 사자발쑃의 활성연구에 선행하여 본 식물의 식물 화학적 성분연구의 결과로 4종의 flavonoid 화합물을 분리, 동정하였기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료. 본 실험에 사용한 사자발쑃 전초는 강화군농업기

*Corresponding author
Phone: 82-31-201-2661; Fax: 82-31-201-2157
E-mail: nibaek@khu.ac.kr

술센터로부터 제공받았고, 단국대학교 분자생물학과 피재호 박사가 동정하였으며, 표본시료(KHU-05067)는 경희대학교 생명공학원 천연물화학실에 보관되어 있다.

시약 및 기기. Column chromatography용 silica gel은 Merck (Germany)사에서 생산한 silica gel 60(63~200 μm)을 사용하였고, thin layer chromatography(이하 TLC라고 함)는 Merck사에서 생산한 silica gel 60 F254를 사용하였다.

NMR은 400 MHz FT-NMR spectrometer(Varian Inova AS 400, Varian, USA)로 측정하였고, IR spectrum은 Perkin model 599B(Perkin-Elmer, Massachusetts, USA)로 측정하였다. UV는 Spectroliner(Model ENF-240 C/F, Spectronics Corporation, USA)을 사용하였으며, 용점은 Fisher-Johns 용점측정기(Fisher Scientific, USA)를 사용하여 측정하였고, 미보정하였다.

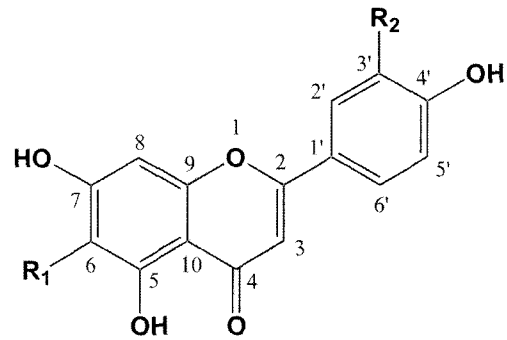
사자발쑤 전초의 용매 추출 및 분획. 건조한 사자발쑤 전초 2.4 kg을 80% MeOH 수용액(15 \times 2)에 24시간 담가서 실온에서 추출하였다. 추출물을 여과하고, 남은 것은 동일한 방법으로 2회 더 추출하였다. 얻어진 여액을 모두 합쳐 감압농축하여 MeOH 추출물을 얻었다. 얻어진 MeOH 추출물을 ethyl acetate (EtOAc, 2 \times 2)로 분배 추출하였으며, 물층은 다시 *n*-butanol (*n*-BuOH, 2 \times 2)로 분배 추출하였다. 각층을 감압농축하여, EtOAc 분획(47 g), *n*-BuOH 분획(55 g)과 H₂O 분획(35 g)을 얻었다.

EtOAc 분획으로부터 flavonoid의 분리. EtOAc 분획(47 g)으로부터 silica gel column chromatography(c.c.)(ϕ 7 \times 21 cm, *n*-hexane-EtOAc=7:1 \rightarrow 5:1 \rightarrow 3:1 \rightarrow 1:1)를 실시하여 20개의 분획물(SSE-1~SSE-20)을 얻었다. 그 중 SSE-16(1.53 g)분획을 silica gel c.c.(ϕ 4 \times 20 cm, CHCl₃-MeOH=30:1)로 정제하여 화합물 **1**(SSE-16-4, 127 mg)과 **3**(SSE-16-8, 13 mg)를 분리하였다.

SSE-16-6(558 mg) 분획을 ODS c.c.(ϕ 3 \times 20 cm, MeOH-H₂O=2:1)로 정제하여 화합물 **2**(SSE16-6-7, 57 mg)을 얻었으며, SSE-17분획(409 mg)에 대하여 silica gel c.c.(ϕ 5 \times 12 cm, CHCl₃-MeOH=3:1)를 수행하여 화합물 **4**(SSE-17-8, 42 mg)를 분리 하였다.

화합물 **3**(apigenin) yellow needles(CHCl₃-MeOH); m.p. 343-344°C; IR(KBr, cm⁻¹): 3600, 1655, 1600, 1436, 900, 820; EI/MS *m/z*(70 eV): 270 [M]⁺, 269, 242, 153, 121; ¹H-NMR(400 MHz, C₅D₅N, δ): 7.91(2H, d, *J*=8.4 Hz, H-2', 6'), 7.20(2H, d, *J*=8.4 Hz, H-3', 5'), 6.90(1H, s, H-3), 6.81(1H, s, H-8), 6.74(1H, s, H-6). ¹³C-NMR(100 MHz, C₅D₅N, δ): 182.64(C-4), 165.82(C-7), 164.42(C-2), 163.07(C-5'), 162.61(C-4'), 158.42(C-9), 128.88(C-2', 6'), 122.24(C-1'), 116.83(C-3', 5'), 104.96(C-10), 103.88(C-3), 100.02(C-6), 94.87 (C-8).

화합물 **4**(eupafolin); yellow amorphous powder(CHCl₃-MeOH); m.p. 272-274°C; IR(KBr, cm⁻¹): 3410, 1662; EI/MS *m/z*(70 eV): 316 [M]⁺, 301, 298, 273, 167; ¹H-NMR(400 MHz, C₅D₅N, δ): 7.31(1H, s, H-2'), 7.30(1H, d, *J*=8.0 Hz, H-6'), 6.85(1H, d, *J*=8.0 Hz, H-5'), 6.46(2H, s, H-3, 8), 3.86(3H, s, OCH₃). ¹³C-NMR (100 MHz, C₅D₅N, δ): 183.88 (C-4), 166.10(C-2), 158.42(C-9), 154.34(C-5), 153.91(C-7), 150.73(C-4'), 146.75(C-3'), 132.61(C-6), 123.46(C-1'), 120.16



1 (apigenin): R₁ = H, R₂ = H

2 (eupafolin): R₁ = OCH₃, R₂ = OH

Fig. 1. Chemical structures of flavonoids from the aerial parts of *Sajabalssuk* (*Artemisia herba*).

(C-6'), 116.59(C-5'), 113.98(C-2'), 105.59(C-10), 103.25(C-3), 95.13(C-8), 60.91(OCH₃).

결과 및 고찰

사자발쑤는 약쑤(*Artemisia asiatica* 또는 *A. princeps*)과 유사한 것으로 알려져 있고, 아직까지 확실한 식물학적 동정이 되어 있지 않았지만, 최근 단국대학교의 피재호 박사는 서해안 일대에 자생하는 180여종의 약쑤과 사자발쑤의 유전자 배열 차이와 외부형태적인 특성, 즉 생육초기, 중기 및 개화기 등의 특성 차이를 비교하여 사자발쑤이 약쑤과는 생물학적으로 상이하다는 것을 입증하였다.

사자발쑤 전초로부터 얻어진 MeOH 추출물에 대하여 용매의 극성에 따라 EtOAc, *n*-BuOH 및 H₂O로 순차 분획하고 각 분획은 감압농축하여 3개의 분획을 얻었다. EtOAc 분획을 silica gel 과 ODS column chromatography로 정제하여 화합물 **1**, **2**, **3** 및 **4**를 분리하였다. 이들 중 화합물 **1**과 **2**는 본 식물에서 분리, 보고 된 바 있는 eupatilin⁴⁾과 jaceosidin⁵⁾으로 동정하였다.

화합물 **3**(yellow needles: C₅D₅N)은 TLC에 전개시켜 관찰한 결과 UV 흡수가 뚜렷하게 있고, 10% aq. H₂SO₄로 분무, 건조 및 가열하였을 경우, 노란색으로 발색되었다. 또한 IR로부터 수산기(3600 cm⁻¹) 및 carbonyl(1655 cm⁻¹) 작용기를 갖는 것으로 확인되어 flavonoid 화합물로 추정하였다. ¹H-NMR(400 MHz, C₅D₅N) spectrum에서 δ_{H} 7.91(2H, d, *J*=8.4 Hz)와 δ_{H} 7.20(2H, d, *J*=8.4 Hz)의 signal로부터 para-치환 벤젠을 확인할 수 있었고, δ_{H} 6.90(1H, s), δ_{H} 6.81(1H, s) 및 δ_{H} 6.74(1H, s)에서 3개의 singlet aromatic methine proton signal을 확인할 수 있었다. Coupling pattern과 chemical shift를 고려해 본 결과가 화합물은 A환의 5,7번이 hydroxyl기로 치환된 flavone으로 추정하였다. ¹³C-NMR(100 MHz, C₅D₅N) spectrum에서 15개의 탄소 signal이 관측되어 flavonoid 화합물이라는 것을 확인할 수 있었고, carbonyl이 δ_{C} 183.88에서 관측되어 flavone 화합물이라는 것을 확인할 수 있었다. δ_{C} 165.82, δ_{C} 164.42, δ_{C} 163.07, δ_{C} 162.61 및 δ_{C} 158.42에서 산소가 결합되어 있는 aromatic

quaternary carbon signal, δ_c 122.24와 δ_c 104.96에서 2개의 aromatic quaternary carbon signal을 확인하였다. 또한 δ_c 128.88과 δ_c 116.83에서 각각 2개씩 겹쳐진 aromatic methine signal이 관측되었고, δ_c 103.88, δ_c 100.02 및 δ_c 94.87의 signal로부터 모두 7개의 aromatic methine proton의 존재를 확인할 수 있었다. 따라서 화합물 1은 A환의 C-5, C-7 및 B환의 C-4가 산화된 flavone 화합물이라는 것을 추정할 수 있었다. 이와 같은 자료들을 종합하여 화합물 3은 *Chrysanthemum morifolium*에서 주로 분리된 apigenin⁶⁾으로 동정하였다.

화합물 2(yellow amorphous powder: CHCl_3 -MeOH)는 TLC에 전개시켜 관찰한 결과 UV 흡수가 뚜렷하게 있고 10% aq. H_2SO_4 로 발색하였을 경우 노란색으로 발색되었다. 또한 IR로부터 수산기(3410 cm^{-1}) 및 carbonyl(1662 cm^{-1})의 작용기를 갖는 것으로 확인되어 flavonoid 화합물로 추정되었다. 화합물 2의 NMR data는 apigenin(화합물 1)과 매우 유사하였다. 화합물 2의 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_3\text{N}$) spectrum을 화합물 1과 비교해 본 결과 화합물 1의 6번과 3번의 aromatic methine에 산소가 치환된 것으로 추정되었다. 즉 $^1\text{H-NMR}$ spectrum을 보면 화합물 1에서 보였던 2개의 aromatic methine proton signal이 각각 δ_H 7.20과 δ_H 6.74에서 관측되지 않았으며, $^{13}\text{C-MNR}$ (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_3\text{N}$) spectrum에서도 δ_c 116.83과 δ_c 100.02에서 2개의 aromatic methine이 사라진 대신 δ_c 146.75와 δ_c 132.61에서 2개의 산소가 결합되어 있는 aromatic quaternary carbon이 관측되었다. 또한 저자장 영역에서 δ_c 60.91의 signal로부터 1개의 methoxy기를 확인할 수 있었고 이 관능기의 위치는 δ_c 132.61의 C-6 signal과 δ_H 3.86의 methoxy signal이 서로 correlation을 보이는 HMBC spectrum을 통하여 C-6번으로 결정하였다. 이와 같은 결과를 종합하여 화합물 2는 apigenin(화합물 1)의 C-3'와 C-6'이 산화되고 C-6번의 수산기가 methylation된 eupafolin으로 동정하였다.⁷⁾

이번에 사자발쑤에서 처음 분리된 flavonoid 화합물들은 *Digitalis schischkini*⁸⁾와 *Mikania micrantha*⁹⁾ 등의 식물들에서 분리, 보고 되었다. 특히 eupafolin은 *Centaurea bracteata*에서 분리, 보고 된 적이 있으며, 이 식물에서 분리된 화합물은 같은 화합물임에도 nepetin으로 명명되었다.¹⁰⁾ 사자발쑤에서 분리, 보고 된 바 있는 eupatilin(화합물 1)과 jaceosidin(화합물 2)은 항염증 활성이 알려져 있으며,¹¹⁾ 특히 eupatilin은 혈소판 응집 억제 활성을 가지고 있는 것으로 보고 되었다.¹²⁾ 또한 apigenin(화합물 3)은 돌연변이억제 활성⁶⁾, 그리고 eupafolin(화합물 4)은 항산화 활성이 보고된 바 있다.¹³⁾ 따라서 강화도에서 매우 쉽게 구할 수 있으며 식용으로 쓰이고 있다는 점에서 사자발쑤의 폭넓은 이용가능성을 시사하고 있다. 앞으로 이들 flavonoid 화합물에 대한 다양한 생리적 및 약리적 활성을 검토함으로써 건강기능성 식품 또는 의약품의 소재로서의 충분한 가치가 있다고 여겨지며, 추후 이의 활용과 관련된 연구가 활발히 추진될 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 강화군에서 지원하는 강화 특화 작목의 생리활성

탐색 및 효능 검증 연구비로 수행되었음.

초 록

사자발쑤의 전초를 80% MeOH 용액으로 추출하고, 추출물을 EtOAc, *n*-BuOH 및 물로 분배, 추출하였다. 이 중 EtOAc 분획을 silica gel과 octadecylsilica gel(ODS) column chromatography로 정제하여 4종의 화합물을 분리하였다. 각 화합물의 화학구조는 NMR, MS 및 IR 등의 스펙트럼 데이터를 해석하여, eupatilin (1), jaceosidin (2), apigenin (3) 및 eupafolin (4)으로 동정하였다. 이들 중 eupatilin과 jaceosidin은 사자발쑤에서 분리, 보고된 바 있으나 eupafolin과 apigenin은 처음 분리되었다.

Key words: 사자발쑤, eupatilin, jaceosidin, apigenin, eupafolin

참고문헌

- Lee, T. B. (2003) In *Coloured Flora of Korea*, Hyang Mun Sa, Seoul, Korea.
- Cho, Y. H. and Chiang, M. H. (2001) Essential oil composition and antibacterial activity of *Artemisia capillaris*, *Artemisia argyi*, and *Artemisia princeps*. *Kor. J. Intl. Agri.* **13**, 313-320.
- Ryu, S. N., Kang, S. S., Kim, J. S. and Ku, B. I. (2004) Quantitative analysis of eupatilin and jaceosidin in *Artemisia herba*. *Korean J. Crop Sci.* **49**, 452-456.
- Jin, Y. Z., Han, S. K. and Row, K. H. (2005) Extraction and purification of eupatilin from *Artemisia princeps* PAMPAN. *J. Kor. Chem. Soc.* **49**, 196-200.
- Ryu, S. Y., Kim, J. O. and Choi, S. U. (1997) Cytotoxic components of *Artemisia princeps*. *Planta Med.* **63**, 384-385.
- Miyazawa, M. and Hisama, M. (2003) Antimutagenic activity of flavonoids from *Chrysanthemum morifolium*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **67**, 2091-2099.
- Aguinaldo, A. M., Padolina, W. G., Abe, F. and Yamauchi, T. (2003) Flavonoids from *Mikania cordata*. *Biochem. Sys. Ecol.* **31**, 665-668.
- Imre, S., Öztunc, A. und Wagner, H. (1977) Flavone und anthrachinone aus den blättern von *Digitalis schischkini*. *Phytochem.* **16**, 799-800.
- Wei, X., Huang, H., Wu, P., Cao, H. and Ye, W. (2004) Phenolic constituents from *Mikania micrantha*. *Biochem. Sys. Ecol.* **32**, 1091-1096.
- Flamini, G., Antognoli, E. and Morelli, I. (2001) Two flavonoids and other compounds from the aerial parts of *Centaurea bracteata* from Italy. *Phytochem.* **57**, 559-564.
- Pelzer, L. E., Guardia, T., Juarez, A. O. and Guerreiro, E. (1998) Acute and chronic antiinflammatory effects of plant flavonoids. *Il Farmaco.* **53**, 421-424.
- Zhong, Y. and Cui, S. (1992) Effective chemical constituents of *Artemisia argyi* Levl. et Vant for inhibition of platelet aggregation. *Zhongguo Zhongyao Zazhi* **17**, 353-354.
- Miura, K., Kikuzaki, H. and Nakatani, N. (2002) Antioxidant activity of chemical components from sage (*Salvia officinalis* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) measured by the oil stability index method. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 1845-1851.