

## 애기땅빈대의 항산화 활성 성분

홍현경 · 곽종환\* · 강세찬<sup>1</sup> · 이종욱 · 박종혁 · 안종웅<sup>2</sup> · 강혜숙<sup>3</sup> · 정의수 · 지옥표  
성균관대학교 약학대학, <sup>1</sup>세명대학교 자연약재과학과, <sup>2</sup>한국해양대학교 해양환경생명과학부,  
<sup>3</sup>한국해양대학교 해양과학기술연구소

### Antioxidative Constituents from the Whole Plants of *Euphorbia supina*

Hyun Kyung Hong, Jong Hwan Kwak\*, Se Chan Kang<sup>1</sup>, Jong-Wook Lee, Jong Hyuk Park,  
Jong-Woong Ahn<sup>2</sup>, Hye-Sook Kang<sup>3</sup>, Eui Su Choung, Ok Pyo Zee

College of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, Korea

<sup>1</sup>Department of Natural Medicine Resources, Semyung University, Jecheon 309-711, Korea

<sup>2</sup>Division of Marine Environment and Bioscience, Korea Maritime University, Busan 606-791, Korea

<sup>3</sup>Research Institute of Marine Science and Technology, Korea Maritime University, Busan 606-791, Korea

**Abstract** – Eight compounds were isolated from the EtOAc soluble fraction of *Euphorbia supina* MeOH extract as the radical scavengers for antioxidant activity. Their structures were identified as kaempferol (1), quercetin (2), juglanin (3), avicularin (4), astragalin (5), isoquercitrin (6), hyperin (7), and nicotiflorin (8) by spectroscopic analysis. The antioxidant activity was evaluated by the ORAC (oxygen radical absorbance capacity) assay, which measures scavenging activity against peroxy radicals induced by 2,2'-azobis (2-methylpropionamide) dihydrochloride, and the ORAC value is expressed as relative trolox equivalent. Compounds 4, 6, and 7 exhibited potent antioxidant activity, whereas the other compounds showed weaker activity than trolox.

**Keywords** – *Euphorbia supina*, flavonoid, antioxidant activity, ORAC assay

애기땅빈대 (*Euphorbia supina* Rafin.)는 대극과 (Euphorbiaceae)의 1년초로서 원줄기는 지면을 따라 퍼지고 잎의 중앙부에 붉은 빛이 도는 갈색 반점이 있으며, 중약에서 진초를 반지금 (斑地錦)이라 하여 지혈, 이뇨, 통유즙, 건위, 활혈, 해독의 효능으로 황달, 설사, 적리, 혈뇨, 혈붕, 외상출혈, 모유부족, 용종창독 등의 치료에 사용되었다.<sup>1,2)</sup> 애기땅빈대의 성분에 관한 연구로는 tannins<sup>3,4)</sup>, phenol성 물질 및 flavonoids<sup>5,6)</sup> 그리고 다수의 terpenoids<sup>7,8)</sup> 등이 보고되었다. 현재 항산화 활성 검색에는 다양한 방법이 사용되고 있으나 ORAC (oxygen radical absorbance capacity) assay는 peroxy radical의 생성과 소멸에 의한 fluorescent의 감소를 변화를 측정하는 것으로 ORAC assay는 2004년 항산화 작용의 표준화를 위한 세계학술대회에서 선정된 방법 중 하나로서 측정 감도가 예민하여 정확도를 높일 수 있는 방법이다.<sup>9)</sup> 본 연구에서는 ORAC assay에 의한 항산화 활성의 측정에서 강한 활성을 보인 애기땅빈대의 EtOAc 분획으로

부터 항산화 활성을 가지는 8종의 flavonoid 화합물을 분리하고 그 항산화 효과를 보고하고자 한다.

### 재료 및 방법

**실험재료** – 애기땅빈대 (*Euphorbia supina*)는 2006년 6월 경상남도 창원군에서 채집하여 정확히 감정한 후 사용하였으며, 표준품은 성균관대학교 약학대학 생약학 연구실에 보관하고 있다 (SKKU-06-25).

**기기 및 시약** – <sup>1</sup>H- 및 <sup>13</sup>C-NMR spectra는 Varian Unity INOVA 500 spectrometer로 측정하였고, ESI-MS는 Agilent 1100 LC/MSD trap classic을 사용하였다. Recycling HPLC는 JAIGEL-GS310 column이 장착된 JAI LC-908 Recycling Preparative HPLC를 이용하였으며, fluorescent microplate reader는 fimax<sup>®</sup> fluorescent microplate reader (Molecular Device Co., California)를 사용하였다. Column chromatography용 충전제는 Kiesel gel 60 (230~400mesh, No. 9385, Merck), Lipophilic Sephadex (LH-20, 25~100 μ, Sigma-Aldrich)와 LiChroprep RP-18 (40~63 μm, Merck)을 사용하

\*교신저자 (E-mail): jhkwak@skku.edu  
(FAX): 031-290-7725

였으며 TLC plate는 precoated Kiesel gel 60 F<sub>254</sub> (No. 5715, Merck)와 precoated RP-18 F<sub>254s</sub> (No.15423, Merck)을 사용하였다. 2, 2'-azobis (2-methylpropionamide) dihydrochloride 와 trolox는 Aldrich사 (Milw., WI, USA)에서 구입하여 사용하였고, fluorescent stock은 Sigma사 (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 추출 및 column chromatography용 용매는 1급시약을 증류하여 사용하였으며 recycling HPLC에는 HPLC용 용매를 적용하였고 기타 시약은 1급 또는 특급을 사용하였다.

**추출 및 분리** - 실온에서 음건 세절한 애기땅빈대 전초 540g을 MeOH로 2회 실온 추출 및 1회 열추출 (55°C)한 후, 감압 농축하여 MeOH 추출물 (65 g)을 얻었다. MeOH 추출물 55 g을 증류수에 현탁시킨 후, 순차적으로 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, EtOAc, *n*-BuOH로 용매 분획하여 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 분획물 17.2 g, EtOAc 분획물 4.8 g, *n*-BuOH 분획물 5.2 g 및 H<sub>2</sub>O층 26.5 g을 얻었다. 항산화 효능 평가를 위한 ORAC assay에서 positive control인 trolox보다 강한 활성을 나타낸 EtOAc 가용부를 EtOAc-MeOH (15:1, 10:1, 5:1, 1:1) 혼합용매로 silica gel column chromatography에 적용하여 4개의 분획 (Fr. 1~4)으로 나누었다. 소분획 Fr.1을 다시 silica gel column (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc/MeOH = 50:7:5, 30:10:7, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O = 40:10:1, 70:30:3)에 적용하여 8개의 분획 (Fr.1-1~1-8)을 얻었다. 분획 Fr.1-1과 Fr.1-2로 각각 reverse phase (RP) C-18 (60% MeOH)과 Sephadex LH-20 column chromatography (MeOH)를 실시하여 화합물 1 (2.1 mg), 2 (9.6 mg)를 분리하였다. 소분획 Fr.1-3을 MeOH를 용매로 Sephadex LH-20 column chromatography하고 다시 MeOH를 용매로 recycling HPLC (JAI-GEL GS-310)에 적용하여 화합물 3 (3.6 mg) 및 4 (27.4 mg)를 얻었고, Fr.1-4의 Sephadex LH-20 column chromatography (MeOH)로부터 화합물 5 (144.5 mg)를 정제할 수 있었다. 화합물 6은 Fr.1-5의 RP C-18 column chromatography (50% MeOH)와 Fr.1-6을 80% MeOH로 Sephadex LH-20 column chromatography하여 얻었다 (72.3 mg). EtOAc 가용부의 소분획 Fr.2를 MeOH용매로 Sephadex LH-20 column에 적용하여 9개의 분획 (Fr.2-1~2-9)으로 나누었으며, 5번째 분획인 Fr.2-5를 recycling HPLC (JAI-GEL GS-310, MeOH)로 정제하여 화합물 7 (22.2 mg)을 얻었다. 화합물 8은 분획 Fr.2-3의 RP C-18 column chromatography (48% MeOH)와 재결정을 통하여 분리하였다 (18.9 mg).

**Kaempferol (1)** - Yellowish amorphous powder ; (+)-ESI-MS  $m/z$  : 309[M+Na]<sup>+</sup>; (-)-ESI-MS  $m/z$  : 285[M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-NMR(500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 6.18(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6), 6.43(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8), 6.92(2H, d, *J*=8.8 Hz, H-3', 5'), 8.04(2H, d, *J*=8.8 Hz, H-2', 6'), 12.48(1H, brs, 5-OH).

**Quercetin (2)** - Yellow amorphous powder ; (+)-ESI-

MS  $m/z$  : 325[M+Na]<sup>+</sup>; (-)-ESI-MS  $m/z$  : 301[M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-NMR(500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 6.18(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6), 6.40(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8), 6.88(1H, d, *J*=8.4 Hz, H-5'), 7.54(1H, dd, *J*=8.4, 2.4 Hz, H-6), 7.67(1H, d, *J*=2.4 Hz, H-2'), 12.50(1H, s, 5-OH).

**Juglanin (kaempferol 3-O- $\alpha$ -L-arabinofuranoside) (3)** - Yellow amorphous powder ; (+)-ESI-MS  $m/z$  : 441[M+Na]<sup>+</sup>; (-)-ESI-MS  $m/z$  : 417[M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-NMR(500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 3.30~3.57(2H, m, H-5"), 3.84(1H, m, H-4"), 3.92(1H, dd, *J*=5.0, 2.8 Hz, H-3"), 4.32(1H, dd, *J*=3.0, 1.0 Hz, H-2"), 5.45(1H, brs, H-1"), 6.14(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6), 6.31(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8), 6.93(2H, d, *J*=8.5 Hz, H-3', 5'), 7.95(2H, d, *J*=8.5 Hz, H-2', 6').

**Avicularin (quercetin 3-O- $\alpha$ -L-arabinofuranoside) (4)** - Yellow amorphous powder ; (+)-ESI-MS  $m/z$  : 457[M+Na]<sup>+</sup>; (-)-ESI-MS  $m/z$  : 433[M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-NMR(500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 3.30~3.55(2H, m, H-5"), 3.86(1H, m, H-4"), 3.90(1H, m, H-3"), 4.32(1H, dd, *J*=3.0, 1.0 Hz, H-2"), 5.45(1H, brs, H-1"), 6.18(1H, d, *J*=1.8 Hz, H-6), 6.36(1H, d, *J*=1.8 Hz, H-8), 6.89(1H, d, *J*=8.5 Hz, H-5'), 7.48(1H, dd, *J*=8.0, 2.0 Hz, H-6'), 7.52(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-2').

**Astragalinal (kaempferol 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside) (5)** - Yellowish amorphous powder ; (+)-ESI-MS  $m/z$  : 471[M+Na]<sup>+</sup>; (-)-ESI-MS  $m/z$  : 447[M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-NMR(500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 3.05~3.65(6H, m, Glc.-H), 5.45(1H, d, *J*=6.9 Hz, H-1"), 6.21(1H, d, *J*=1.8 Hz, H-6), 6.43(1H, d, *J*=1.8 Hz, H-8), 6.88(2H, d, *J*=8.4 Hz, H-3', 5'), 8.04(2H, d, *J*=8.7 Hz, H-2', 6'), 12.60(1H, brs, 5-OH); <sup>13</sup>C-NMR(125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 61.1(C-6"), 70.1(C-4"), 74.4(C-2"), 76.7(C-3"), 77.7(C-5"), 93.8(C-8), 98.9(C-6), 101.1(C-1"), 104.2(C-10), 115.3(C-3', 5'), 121.1(C-1'), 131.1(C-2', 6'), 133.5(C-3), 156.4(C-2), 156.6(C-9), 160.1(C-4'), 161.4(C-5), 164.2(C-7), 177.5(C-4).

**Isoquercitrin (quercetin 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside) (6)** - Yellow amorphous powder ; (+)-ESI-MS  $m/z$  : 487[M+Na]<sup>+</sup>; (-)-ESI-MS  $m/z$  : 463[M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-NMR(500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 3.05~3.60(6H, m, Glc.-H), 5.43(1H, d, *J*=7.2 Hz, H-1"), 6.18(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6), 6.38(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8), 6.83(1H, d, *J*=8.7 Hz, H-5'), 7.56(2H, m, H-2', 6'), 12.62(1H, brs, 5-OH); <sup>13</sup>C-NMR(125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 61.0(C-6"), 70.0(C-4"), 74.2(C-2"), 76.5(C-3"), 77.7(C-5"), 93.8(C-8), 98.8(C-6), 101.0(C-1"), 104.2(C-10), 115.4(C-2'), 116.3(C-5'), 121.4(C-1'), 121.9(C-6'), 133.6(C-3), 144.9(C-3'), 148.5(C-4'), 156.5(C-2), 156.6(C-9), 161.2(C-5), 164.2(C-7), 177.6(C-4).

**Hyperin (quercetin 3-O- $\beta$ -D-galactopyranoside) (7)** - Yellow amorphous powder ; (+)-ESI-MS  $m/z$  : 487[M+Na]<sup>+</sup>

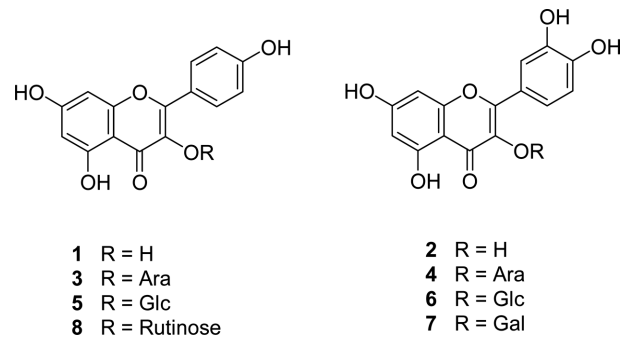
; (-)-ESI-MS  $m/z$ : 463[M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-NMR(500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 3.20~3.72(6H, m, Gal.-H), 5.38(1H, d,  $J$ =7.5 Hz, H-1''), 6.18(1H, d,  $J$ =2.0 Hz, H-6), 6.38(1H, d,  $J$ =2.0 Hz, H-8), 6.83(1H, d,  $J$ =8.7 Hz, H-5'), 7.56(1H, d,  $J$ =2.2 Hz, H-2'), 7.69(1H, dd,  $J$ =8.6, 2.2 Hz, H-6'), 12.62(1H, brs, 5-OH); <sup>13</sup>C-NMR(125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 60.2(C-6''), 68.0(C-4''), 71.3(C-2''), 73.3(C-3''), 75.9(C-5''), 93.7(C-8), 99.0(C-6), 102.0(C-1''), 103.5(C-10), 115.2(C-5'), 115.9(C-2'), 121.1(C-1'), 122.0(C-6'), 133.5(C-3), 144.9(C-3'), 148.6(C-4'), 156.1(C-9), 156.4(C-2), 161.2(C-5), 177.3(C-4).

Nicotiflorin (kaempferol 3-O-rutinoside) (8) – Yellowish amorphous powder; (+)-ESI-MS  $m/z$ : 617[M+Na]<sup>+</sup>; (-)-ESI-MS  $m/z$ : 593[M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-NMR(500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 0.99(3H, d,  $J$ =6.0 Hz, H-6'''), 3.02~3.75(10H, m, sugar-H), 4.38(1H, d,  $J$ =1.5 Hz, H-1'''), 5.32(1H, d,  $J$ =7.5 Hz, H-1''), 6.21(1H, d,  $J$ =2.0 Hz, H-6), 6.42(1H, d,  $J$ =2.0 Hz, H-8), 6.88(2H, d,  $J$ =8.5 Hz, H-3', 5'), 7.99(2H, d,  $J$ =8.5 Hz, H-2', 6'), 12.56(1H, brs, 5-OH); <sup>13</sup>C-NMR(125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 17.9(C-6'''), 67.1(C-6''), 68.5(C-5''), 70.0(C-3''), 70.4(C-2''), 70.7(C-4''), 71.9(C-4'''), 74.3(C-2''), 75.9(C-5'), 76.4(C-3''), 94.0(C-8), 98.9(C-6), 101.0(C-1''), 101.5(C-1'), 104.2(C-10), 115.3(C-3', 5'), 121.2(C-1), 131.1(C-2', 6'), 133.5(C-3), 156.8(C-2), 157.2(C-9), 159.9(C-4'), 161.1(C-5), 164.2(C-7), 177.6(C-4).

**항산화 활성 측정 (ORAC assay)** – 추출물 및 화합물의 항산화 활성은 peroxy radical의 생성과 소멸에 의한 fluorescent의 감소율 변화를 측정하였다. 과산화 라디칼의 생성을 위해 2, 2'-azobis (2-methylpropionamide) dihydrochloride (AAPH)를 사용하였고, Talcott & Lee가 항산화 활성 측정에 사용한 ORAC (oxygen radical absorbance by fluorescein) 분석법을 이용하였다.<sup>10)</sup> 본 실험에서 검액 및 표준액의 농도별 희석과 실험용 시액들의 제조에는 중성 phosphate buffer를 사용하였다. 검량곡선을 작성하기 위하여 항산화 활성 비교 표준액으로 trolox를 인산 완충용액을 가하여 각각 0, 1.65, 3.125, 6.25, 12.5, 25.0, 50.0 μg/ml 농도로 희석하여 표준 곡선을 작성하였다. Fluorescent 표준 용액은 Ou 등<sup>11)</sup>의 방법에 따라 fluorescent stock 10 μL를 phosphate buffer 50 mL에 용해하여 제조하였고, 측정기기는 fimax fluorescent microplate reader를 사용하여 485 nm에서 전자가 여기 (ex-citation)되고 538 nm에서 방출 (emission)되게 조절하여 본 실험에 적용하였다.

## 결과 및 고찰

애기땅빈대의 항산화 활성 성분 규명을 위하여 전초를 MeOH로 추출하고 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, EtOAc, *n*-BuOH 순으로 용매



**Fig. 1.** Structure of compounds 1~8 isolated from *Euphorbia supina*.

분획하였다. 항산화 효능 평가를 위한 ORAC assay에서 positive control인 trolox보다 강한 활성을 나타낸 EtOAc 가용부를 silica gel, Sephadex LH-20 및 RP C-18 column chromatography를 반복 실시하고, 일부 분획은 recycling HPLC로 정제하여 8종의 flavonoid화합물을 분리하였다.

화합물 1~8은 TLC plate상에서 10%-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 및 FeCl<sub>3</sub>용액에 의한 발색과 NMR spectrum의 양상으로 부터 flavonoid 계열의 화합물임을 알 수 있었다. 화합물 1과 2는 유사한 물질로서 ESI-MS에서 16의 분자량 차이로부터 2에 산소가 하나 더 도입된 화합물임을 알 수 있었고, <sup>1</sup>H-NMR spectrum에서 flavonol의 aglycone에 해당하는 signal들의 존재로부터 당이 결합되지 않은 flavonol화합물임을 인지하였으며, 두 화합물의 차이를 나타낸 flavonol B-ring에 해당하는 signal들의 chemical shift값과 coupling양상으로부터 화합물 1과 2는 각각 kaempferol과 quercetin임을 알 수 있었고 이들의 spectral data는 문헌에 보고된 값<sup>6,12,13)</sup>과 잘 일치하였다.

화합물 3~7은 각각 ESI-MS에서 얻어진 분자량과 당에 의한 signal들, 그리고 anomeric proton의 coupling양상 등으로 부터 공통적으로 flavonol의 3번 hydroxyl기에 하나의 당이 결합된 배당체임을 추정하였다. 화합물 3과 4의 <sup>1</sup>H-NMR spectrum에서 flavonoid의 aglycone에 해당하는 영역은 각각 1, 2와 거의 흡사하였으며 3의 δ 5.45와 4의 δ 5.45에서 나타난 broad singlet의 anomeric proton peak와 δ 3.30~4.40 범위의 당에 의한 signal들로부터 화합물 3, 4는 각각 kaempferol 3-O-α-L-arabinofuranoside (juglanin)과 quercetin 3-O-α-L-arabinofuranoside (avicularin)로 추정하였으며, 문헌 기록 spectral data<sup>6,14,15)</sup>와의 비교로부터 확정하였다.

미황색 또는 황색 무정형분말로 얻어진 화합물 5, 6 및 7은 <sup>1</sup>H-NMR spectrum의 δ 6.16~8.10범위에서 나타난 signal들의 위치와 coupling양상으로부터 각각 kaempferol, quercetin, quercetin을 aglycone으로 하는 배당체임을 알 수 있었고 각각의 당은 5의 δ 5.45(d,  $J$ =6.9 Hz), 6의 δ 5.43(d,  $J$ =7.2 Hz), 그리고 7에서 δ 5.38의 doublet( $J$ =7.5 Hz) peak인 anomeric

**Table I.** Antioxidative activities of extract and solvent fractions of *Euphorbia supina* on ORAC assay

Extract and Fractions	ORAC <sub>PE</sub>
MeOH	0.72 ± 0.04
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0.73 ± 0.09
EtOAc	1.26 ± 0.21
<i>n</i> -BuOH	0.81 ± 0.18
H <sub>2</sub> O	0.19 ± 0.02
Trolox	1.00

**Table II.** Antioxidative activities of compounds isolated from the EtOAc fraction of *Euphorbia supina* on ORAC assay

Compounds	ORAC <sub>PE</sub>
1	0.78 ± 0.11
2	0.72 ± 0.12
3	0.62 ± 0.12
4	1.56 ± 0.24
5	0.67 ± 0.16
6	1.16 ± 0.21
7	1.18 ± 0.19
8	0.95 ± 0.13
Trolox	1.00

proton들과 <sup>13</sup>C-NMR spectrum의 δ 60.0~102에서 나타난 당의 carbon chemical shift값으로부터 glucose, glucose, galactose임을 인지하였다. 이상의 결과와 spectral data에 대한 문헌 보고 수치<sup>16-18)</sup>와의 비교로부터 화합물 5, 6, 7은 각각 astragalín (kaempferol 3-*O*-β-D-glucopyranoside), isoquercitrín (quercetin 3-*O*-β-D-glucopyranoside) 및 hyperin (quercetin 3-*O*-β-D-galactopyranoside)으로 확인 동정하였다.

화합물 8은 미황색 무정형 분말로 ESI-MS로부터 얻어진 594의 분자량과 NMR spectral data로부터 2개의 당이 결합된 flavonol glycoside임을 인지하였다. <sup>1</sup>H-NMR spectrum에서 kaempferol에 해당되는 proton signal 이외에 δ 4.38(d, *J* = 1.5 Hz)과 5.32(d, *J* = 8.8 Hz)의 anomeric proton singal 들로부터 rhamnose와 glucose가 각각 1mole이 결합되어 있음을 알 수 있었으며 이는 <sup>13</sup>C-NMR spectrum에서도 확인할 수 있었다. <sup>13</sup>C-NMR spectrum에서 sugar의 chemical shift는 문헌 기재의 rutinose<sup>19)</sup>와 잘 일치하였으며, 이상의 결과 및 문헌 기재 spectral data<sup>20)</sup>와의 비교로부터 화합물 8은 kaempferol 3-*O*-[α-L-rhamnopyranosyl(1→6)-β-D-glucopyranoside], 즉 nicotiflorin으로 확정하였다.

추출물과 분획, 분리된 화합물의 항산화 활성은 ORAC assay법을 적용하여 검토하였다. 추출물 및 분획의 항산화 활성을 측정된 결과 각 시료의 농도가 2 μg/mL이하 수준에서는 차이를 나타내지 않았으나, 10 μg/mL을 처리한 경우

시료에 뚜렷한 차이를 나타내었다. ORAC value는 항산화 대조물질로 수용성 비타민 E의 일종인 trolox를 대조 표준액으로 사용하였고, 대조 표준액의 value를 1로 볼 때, 상대적으로 비교한 수치이다. 애기땅빈대 MeOH추출물 및 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>와 *n*-BuOH 분획에서 ORAC value는 0.72~0.81로 대조 표준액인 trolox에 비해 낮은 항산화 효과를 보였지만, EtOAc 분획에서 trolox보다 약 1.2배 이상 높은 항산화 효과를 나타내었다 (Table I). 따라서 EtOAc 분획으로부터 8종의 flavonoid 화합물을 분리하였고 각각의 항산화 활성을 측정된 결과, 화합물 4는 trolox에 비하여 약 1.5배 이상의 높은 항산화 수치로 매우 높은 활성이 나타났으며 화합물 6과 7은 EtOAc 분획과 유사한 값으로 trolox보다 높은 항산화 활성을 보여주었고, 나머지 화합물은 대조물질인 trolox보다 약한 활성을 나타내었다(Table II).

본 연구에 사용한 ORAC assay는 2004년 플로리다 올랜도에서 열린 항산화 작용의 표준화를 위한 세계학술대회에서 선정된 방법 중 하나로서 측정 감도가 예민하여 정확도를 높일 수 있는 방법이다.<sup>9)</sup> 추후 애기땅빈대의 EtOAc 분획으로부터 더 많은 성분의 분리와 다양한 유사 유도체의 확보로부터 정확한 구조 활성 상관 관계의 연구와 활성 메커니즘의 규명이 필요하리라 사료된다.

## 결 론

애기땅빈대의 항산화 활성 성분을 밝히기 위하여 MeOH 추출물 및 용매분획의 항산화 효능을 검색하였다. ORAC assay에 의한 항산화 활성의 측정에서 강한 활성을 보인 애기땅빈대의 EtOAc 분획을 각종 컬럼 크로마토그래피에 적용하여 8종의 화합물을 분리하였고 이화학적 성상 및 기기 분석적 방법으로 그 구조를 규명하였다. 분리된 화합물은 flavonoid인 kaempferol (1), quercetin (2), juglanin (3), avicularin (4), astragalín (5), isoquercitrín (6), hyperin (7) 및 nicotiflorin (8)으로 확인 동정하였다.

ORAC assay에 의한 분리된 화합물의 항산화 활성 검색 결과, 화합물 4에서 높은 항산화 활성을 나타내었으며, 화합물 6, 7 또한 비교적 높은 활성을 보였고, 나머지 화합물은 trolox보다 약한 활성을 가짐을 알 수 있었다.

## 사 사

본 연구는 Korea Research Foundation Grant (KRF-2006-005-J00502)의 일부분 지원에 의해 수행되었습니다.

## 인용문헌

1. 중약대사전 편찬위원회 (1999) 중약대사전, 4, 1500-1501.

- 도서출판 정담, 서울.
2. Lee, T. B. (2003) Coloured Flora of Korea(I), 677. Hyang Moon Sa, Seoul.
  3. Lee, S.-H., Tanaka, T., Nonaka, G.-i. and Nishioka, I. (1991) Tannins and related compounds. CV. Monomeric and dimeric hydrolyzable tannins having a dehydrohexahydroxydiphenoyl group, supinanin, euphorscopin, euphorhelin and jolkianin, from *Euphorbia* species. *Chem. Pharm. Bull.* **39**: 630-638.
  4. Agata, I., Hatano, T., Nakaya, Y., Sugaya, T., Nishibe, S., Yoshida, T. and Okuda, T. (1991) Tannins and related polyphenols of Euphorbiaceous plants. VIII. Eumaculin A and eusupinin A, and accompanying polyphenols from *Euphorbia maculata* L. and *E. supina* Rafin. *Chem. Pharm. Bull.* **39**: 881-883.
  5. Fang, Z., Zeng, X., Zhang, Y. and Zhou, G. (1993) Chemical constituents of spottedleaf euphorbia (*Euphorbia supina*). *Zhongcayao* **24**: 230-233.
  6. An, R.-B., Kwon, J.-W., Kwon, T.-O., Chung, W.-T., Lee, H.-S. and Kim, Y.-C. (2007) Chemical constituents from the whole plants of *Euphorbia supina* Rafin. *Kor. J. Pharmacogn.* **38**: 291-295.
  7. Tanaka, R. and Matsunaga, S. (1999) Terpenoids and steroids from several Euphorbiaceae and Pinaceae plants. *Yakugaku Zasshi* **119**: 319-339.
  8. Chung, B.S. and Kim, H.G. (1985) Studies on the terpenoid constituents of *Euphorbia supina* Rafin. *Kor. J. Pharmacogn.* **16**: 155-159.
  9. Prior, R. L., Wu, X. and Schaich, K. (2005) Standardized method for determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and biological and food samples. *J. Agric. Food Chem.* **53**: 4290-4302.
  10. Talcott, S. T. and Lee, J. (2002) Ellagic acid and flavonoid antioxidant content of muscadine wine and juice. *J. Agric. Food Chem.* **50**: 3186-3192.
  11. Ou, B., Hampsch-Woodill, M. and Prior, R. L. (2001) Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *J. Agric. Food Chem.* **49**: 4619-4626.
  12. Chang, B. S., Kwon, Y. S. and Kim, C. M. (2004) The chemical structure and their antioxidant activity of the components isolated from the heartwood of *Hemiptelea davidii*. *Kor. J. Pharmacogn.* **35**: 80-87.
  13. Lee, K. T., Ku, C. H., Eun, J. S., Shin, T. Y., Lim, J. P., Eom, D. O., Zee, O. P. and Kim, D. K. (2001) Antioxidative components from the aerial parts of *Persicaria thunbergii*. *Yakhak Hoeji* **45**: 611-616.
  14. Jung, H. A., Kim, A. R., Chung, H. Y. and Chio, J. S. (2002) *In vitro* antioxidant activity of some selected *Prunus* species in Korea. *Arch Pharm. Res.* **25**: 865-872.
  15. Zhang, X. F., Thuong, P. T., Jin, W. Y., Su, N. D., Sok, D. E., Bae, K. H. and Kang, S. S. (2005) Antioxidant activity of anthraquinones and flavonoids from flower of *Reynoutria sachalinensis*. *Arch. Pharm. Res.* **28**: 22-27.
  16. Jung, H. A., Kim, J. E., Chung, H. Y. and Choi, J. S. (2003) Antioxidant principles of *Nelumbo nucifera* stamens. *Arch. Pharm. Res.* **26**: 279-285.
  17. Chaurasia, N. and Wichtl, M. (1987) Flavonol glycosides from *Urtica dioica*. *Planta Medica* **53**: 432-434.
  18. Kim, K. S., Lee, S., Kang, K.-H. and Kim, B.-K. (2005) Flavonol galactoside from *Artemisia apiacea*. *Natural Product Sciences* **11**: 10-12.
  19. Markham, K. R., Ternai, B., Stanley, R., Geiger, H. and Mabry, T. J. (1978) Carbon-13 NMR studies of flavonoids. III. Naturally occurring flavonoid glycosides and their acylated derivative. *Tetrahedron* **34**: 1389-1397.
  20. Shen, G., Oh, S.-R., Min, B.-S., Lee, J., Ahn, K. S., Kim, Y. H. and Lee, H.-K. (2008) Phytochemical investigation of *Tiarella polyphylla*. *Arch. Pharm. Res.* **31**: 10-16.

(2008년 8월 22일 접수)