

## Isolation and Identification of Flavonoids from the Roots of *Brassica rapa* ssp.

Rak-Hun Jeong · Qian Wu · Jin-Gyeong Cho · Dae-Young Lee · Sabina Shrestha ·  
Min-Ho Lee · Kyung-Tae Lee · Myung-Sook Choi · Tae-Sook Jeong ·  
Eun-Mi Ahn · Hae-Gon Chung · Yeong-Deok Rho · Nam-In Baek\*

### 순무(*Brassica rapa* ssp.) 뿌리로부터 flavonoid의 분리 및 동정

정락훈 · Qian Wu · 조진경 · 이대영 · Sabina Shrestha · 이민호 · 이경태 ·  
최명숙 · 정태숙 · 안은미 · 정해곤 · 노영덕 · 백남인\*

Received: 10 September 2012 / Accepted: 2 November 2012 / Published Online: 31 March 2013

© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2013

**Abstract** The roots of *Brassica rapa* ssp. were extracted with 95% aqueous ethanol and the concentrated extracts were partitioned using ethyl acetate (EtOAc), *n*-butyl alcohol and H<sub>2</sub>O, successively. From the EtOAc fraction, five flavonoids were isolated through repeated silica gel and octadecyl silica gel (ODS)

column chromatography (c.c.). Based on NMR, mass spectrometry (MS) and IR spectroscopic data, the chemical structures of the compounds were determined to be licochalcone A (1), 4,4'-dihydroxy-3'-methoxychalcone (2), liquiritigenin (3), liquiritin (4), and isoliquiritin (5). This is the first report of these compounds isolated from the root of this plant.

R. -H. Jeong · Q. Wu · J. -G. Cho · S. Shrestha · M. -H. Lee · Y. -D. Rho · N. -I. Baek  
Department of Oriental Medicinal Materials & Processing and Graduate School of Biotechnology, Kyung Hee University, Yongin 446-701, Republic of Korea

D. -Y. Lee  
Herbal Crop Utilization Research Team, National Institute of Horticultural and Herbal Science, RDA, Eumseong 369-873, Republic of Korea

K. -T. Lee  
Department of Biochemistry, College of Pharmacy, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Republic of Korea

M. -S. Choi  
Department of Food Science and Nutrition, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Republic of Korea

T. -S. Jeong  
National Research Laboratory of Lipid Metabolism & Atherosclerosis, KRIBB, Daejeon 305-333, Republic of Korea

E. -M. Ahn  
Department of Herbal Foodceutical Science, DaeguHaany University, Gyeongsan 712-715, Republic of Korea

H. -G. Chung  
Ganghwa Agricultural R&D Center, Incheon 417-833, Republic of Korea

\*Corresponding author (N. -I. Baek: nibaek@khu.ac.kr)

**Keywords** *Brassica rapa* ssp · 4,4'-dihydroxy-3'-methoxy-chalcone · isoliquiritin · licochalcone A · liquiritigenin · liquiritin

### 서 론

순무(*Brassica rapa* ssp.)는 양귀비목 십자화과(Brassicaceae)의 두해살이 풀로서, 뿌리와 잎을 식용할 수 있는 채소이다. 여름철에 파종하고, 가을에 발아하며, 월동한 다음 해 봄에 꽃줄기가 자란 후 노란 십자 모양의 꽃이 핀다. 뿌리의 모양은 팽이와 유사하고 껍질 색은 적자색 또는 녹색을 띠며 무우보다 순한 맛을 지니나 무우는 다른 독특한 맛을 나타낸다. 고려 중엽 이규보의 가포육영(家圃六詠)에 순무를 재료로 한 김치가 우리나라 문헌상 최초로 등장하였다. 순무의 알려진 효능으로는 개위(開胃), 하기(下氣), 이습(利濕), 해독 효과가 있고, 식체, 황달, 당뇨병의 치료 효과가 있으며, 약리작용으로는 세균, 진균, 효모 및 수종의 기생충을 억제하는 작용이 있는 것으로 알려져 있다(Jung 과 Shin, 1990). 현재 우리나라에서는 강화도 등지에서 특산물로 널리 재배되고 있으며 주로 김치의 원료로 활용되고 있다.

성분연구로는 순무 잎에 포함된 휘발성 isothiocyanate (Itoh 등, 1984) 연구와 순무의 glucosinolate 및 nitrile (Ju 등, 1982)

에 대한 연구, 가열 전, 후 순무의 glucosinolate의 함량의 변화에 대한 연구결과(Sones 등, 1984)가 보고되어 있다. 또한 순무 뿌리로부터 palmitic acid methyl ester, linolenic acid methyl ester,  $\beta$ -sitosterol, daucosterol (Bang 등, 2007)이 분리되었으며, caulilexin C, arvelexin, indoleacetonitrile이 분리되었다(Bang 등, 2008). 순무뿌리의 생리활성으로는 D-galactosamine 유발 간장해 보호효과(Choi 등, 2006), myrosinase 활성(Wilkinson 등, 1984), 순무 피클에서의 젖산발효(Morita 등, 1990) 순무의 생리활성 연구가 보고 되어 있다.

본 연구는 순무뿌리로부터 계속하여 이차대사산물을 분리 및 동정하고, 그 화합물에 대한 여러 가지 생리활성과 관련한 연구를 진행시킴으로써 순무뿌리의 기능성 식품 또는 의약품 개발 등과 같은 활용방안을 모색하고자 하였다. 순무뿌리로부터 용매추출, 용매분획 및 column chromatography (c.c.)를 실시하여 5종의 flavonoid 화합물을 분리하였으며, NMR, mass spectrometry (MS) 및 IR등의 기기분석을 통하여 구조를 결정하였다.

## 재료 및 방법

**실험재료.** 본 실험에 사용한 순무(*Brassica rapa*ssp.) 뿌리는 인천 강화도에서 재배한 것으로 2009년 강화도 농업기술센터에서 제공받아 사용하였다. 표본시료(KHU090512)는 경희대학교 천연물화학실에 보관되어 있다.

**시약및기기.** C.c. 순상 (normal phase) silica gel은 Kiesel gel 60 (Merck, Germany)을, 역상(reverse phase) silica gel은 LiChroprep RP-18 (Merck)을, Lipophilic Sephadex LH-20 (Sigma, Sweden)을 사용하였다. Thin layer chromatography (TLC)는 Kiesel gel 60 F<sub>254</sub>와 RP-18 F<sub>254S</sub> (Merck)을 사용하였고, TLC상의 물질검출에는 UV lamp Spectroline Model ENF-240 C/F (Spectronics Corporation, USA)와 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 사용하였다. NMR spectrum은 400 MHz FT-NMR spectrometer (Varian Inova AS 400, USA)로 측정하였고, IR spectrum은 Perkin model 599B (Perkin-Elmer Co., Ltd., USA)로 측정하였다. Electron ionization/mass spectrometer (EI/MS)와 fast atom bombardment/mass spectrometer (FAB/MS)는 JMSAX 700 (JEOL, Japan)을 사용하여 측정하였다. 비선광도는 polarimeter P-1020 (Jasco, Japan)을 사용하여 측정하였고, 용점은 Fisher-Johns 용점측정기(Fisher Scientific, USA)를 사용하여 측정하였으며, 미보정하였다.

**Ethyl acetate (EtOAc) 분획으로부터 flavonoid의 분리.** 순무뿌리(생체중 77 kg)을 ethanol (EtOH) 95% 수용액(770 L×3)으로 실온에서 24시간 추출하였다. 추출물을 여과하고, 남은 것은 동일한 방법으로 2회 더 추출하였다. 얻어진 여액을 감압농축하여 EtOH 추출물(295 g)을 얻었다. 얻어진 EtOH 추출물을 EtOAc (8.0 L×2)와 H<sub>2</sub>O (8.0 L)로 분배 추출하였고, 다시 H<sub>2</sub>O층을 *n*-butyl alcohol (*n*-BuOH) (6.4 L×2)로 분배 추출하였다. 각층을 감압 농축하여 EtOAc (BRE, 39 g), *n*-BuOH (BRB, 117 g) 및 H<sub>2</sub>O (BRW, 139 g) 분획을 얻었다. EtOAc 분획(38 g)에 대하여 silica gel c.c. [ $\phi$  15×20 cm, *n*-hexane-EtOAc (15:1→12:1→9:1→7:1→CHCl<sub>3</sub>-methanol (MeOH)=14:1→9:1→7:1→3:1) 각 3 L]를 실시하여 16개의 분획물(BRE-1~BRE-16)을 얻었다. 그 중에서 BRE-8 분획[9.37 g, elution volume/total volume [(Ve/Vt) 0.47–0.53]]을 silica gel c.c. ( $\phi$

10×20 cm, CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O=10:3:1, 1.5 L)를 실시하여12개의 분획(BRE-8-1~BRE-8-12)으로 나누었고, 그 중에서 BRE-8-4 (2.4 g, Ve/Vt 0.18–0.29)에 대하여 RP-18 (ODS) c.c. ( $\phi$  4.5×7 cm, MeOH-H<sub>2</sub>O=1:1→2:1→3:1→5:1, 각 1.5 L)를 실시하여 25개의 분획물(BRE-8-4-1~BRE-8-4-25)을 얻었다. 그 중에서 BRE-8-4-7 (244 mg, Ve/Vt 0.19–0.28)에 대하여 Sephadex LH-20 c.c. ( $\phi$  2.0×44 cm, acetone-H<sub>2</sub>O=1:1, 1 L)를 실시하여 15개의 분획물(BRE-8-4-7-1~BRE-8-4-7-15)로 나누었고, 화합물 1 [BRE-8-4-7-7, 7 mg, Ve/Vt 0.41–0.46, ODS TLC R<sub>f</sub> 0.60, acetone-H<sub>2</sub>O=1:1]을 분리하였다. BRE-8-5 (1.95 g, Ve/Vt 0.29–0.40)에 대하여 Sephadex LH-20 c.c. ( $\phi$  3×60 cm, MeOH-H<sub>2</sub>O=1:2, 1 L)를 실시하여 19개의 분획물(BRE-8-5-1~BRE-8-5-19)을 얻었고, BRE-8-5-8 (39 mg, Ve/Vt 0.40–0.50)에 대하여 ODS c.c. ( $\phi$  3×5.5 cm, MeOH-H<sub>2</sub>O=3:2, 1 L)를 실시하여 10개의 분획물(BRE-8-5-8-1~BRE-8-5-8-10)로 나누었고, 화합물 2 [BRE-8-5-8-1, 7 mg, Ve/Vt 0–0.29, ODS TLC R<sub>f</sub> 0.40, MeOH-H<sub>2</sub>O=4:1]을 분리하였다. BRE-8-5-12 (25 mg, Ve/Vt 0.70–0.77)에 대하여 ODS c.c. ( $\phi$  3×5 cm, MeOH-H<sub>2</sub>O=3:2, 1 L)를 실시하여 7개의 분획물(BRE-8-5-12-1~BRE-8-5-12-7)로 나누었고, 화합물 3 [BRE-8-5-12-2, 3 mg, Ve/Vt 0.23–0.26, ODS TLC R<sub>f</sub> 0.4, MeOH-H<sub>2</sub>O=4:1]를 분리하였다. BRE-10 (9 g, Ve/Vt 0.62–0.70)에 대하여 ODS c.c. ( $\phi$  6×7 cm, MeOH-H<sub>2</sub>O=1:4→1:2→1:1→2:1→3:1→4:1→5:1→8:1→10:1→13:1→18:1, 각 3 L)를 실시하여 36개의 분획물(BRE-10-1~BRE-10-36)을 얻었고, 그 중에서 BRE-10-4 (242 mg, Ve/Vt 0.14–0.21)에 대하여 SiO<sub>2</sub> c.c. ( $\phi$  3.5×13 cm, CHCl<sub>3</sub>-MeOH=12:1, 1 L)를 실시하여 17개의 분획물(BRE-10-4-1~BRE-10-4-17)을 얻었으며, BRE-10-4-9 (43 mg, Ve/Vt 0.48–0.51)에 대하여 Sephadex LH-20 c.c. ( $\phi$  3×60 cm, MeOH-H<sub>2</sub>O=1:2, 1 L)를 실시하여 10개의 분획물(BRE-10-4-9-1~BRE-10-4-9-10)로 나누었고, 화합물 4 [BRE-10-4-9-4, 9 mg, Ve/Vt 0.31–0.39, ODS TLC R<sub>f</sub>0.40, MeOH-H<sub>2</sub>O=1:1]와 화합물 5 [BRE-10-4-9-6, 3 mg, Ve/Vt 0.55–0.62, ODS TLC R<sub>f</sub>0.60, MeOH-H<sub>2</sub>O=1:1]를 분리하였다.

화합물 1 (licochalcone A) yellow needles (MeOH); m.p. 101–102°C; EI/MS *m/z*338 [M]<sup>+</sup>, 307 ([M-OCH<sub>3</sub>])<sup>+</sup>; UV (MeOH)  $\lambda_{max}$ 204, 232, 255, 311, 377 nm; IR (KBr,  $\nu_{max}$ ) 3429, 2923, 1621, 1590 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta_H$ ) 8.01 (1H, d, *J*=16.0 Hz, H- $\beta$ ), 7.96 (2H, d, *J*=8.0 Hz, H-2', 6'), 7.58 (1H, d, *J*=16.0 Hz, H- $\alpha$ ), 7.44 (1H, s, H-6), 6.20 (2H, d, *J*=8.0 Hz, H-3', 5'), 6.42 (1H, s, H-3), 6.17 (1H, dd, *J*=17.6, 10.4 Hz, H-2''), 5.38 (1H, br.d, *J*=17.6 Hz, H-3''a), 5.32 (1H, br.d, *J*=10.4 Hz, H-3''b), 3.82 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 1.37 (6H, s, H-4'', 5''); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta_C$ ) 190.4 (C=O), 160.2 (C-4'), 159.4 (C-2), 158.9 (C-4), 147.6 (C-2''), 147.1 (C- $\beta$ ), 131.0 (C-1', 2', 6'), 128.7 (C-6), 124.4 (C-5), 120.0 (C- $\alpha$ ), 116.4 (C-1), 115.3 (C-3', 5'), 113.9 (C-3''), 101.0 (C-3), 55.6 (C-2-OCH<sub>3</sub>), 39.7 (C-1''), 27.1 (C-4'', 5'').

화합물 2 (4,4'-dihydroxy-3'-methoxychalcone) colorless crystals; m.p. 181–182°C; EI-MS *m/z* 269 [M]<sup>+</sup>; UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  353 nm; IR (KBr,  $\nu_{max}$ ) 3400, 1640, 1592 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta_H$ ) 8.03 (1H, d, *J*=15.2 Hz, H- $\beta$ ), 7.96 (2H, d, *J*=8.8 Hz, H-3, 5), 7.59 (1H, d, *J*=15.2 Hz, H- $\alpha$ ),

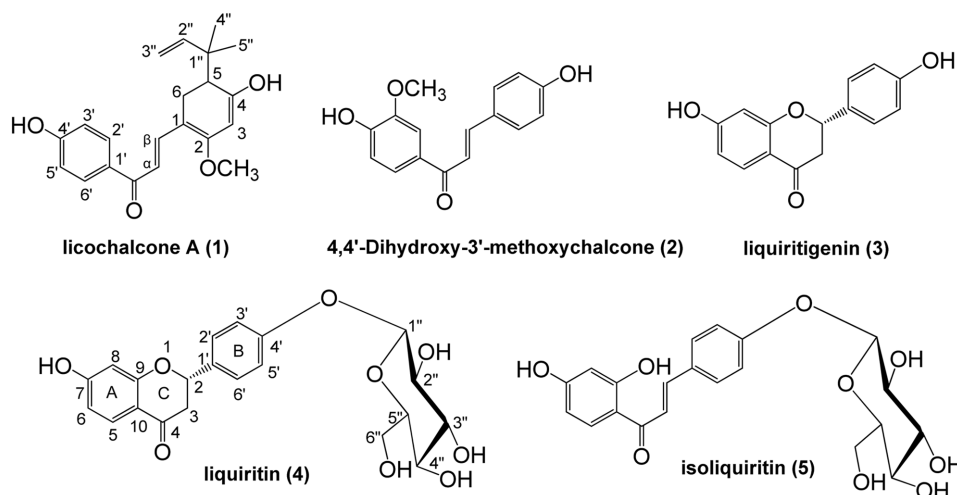


Fig. 1 Chemical structures of flavonoids from the root of *Brassica rapa* ssp.

7.58 (1H, d,  $J=8.4$  Hz, H-5'), 6.88 (2H, d,  $J=8.8$  Hz, H-2, 6), 6.46 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-2'), 6.45 (1H, dd,  $J=8.4, 2.0$  Hz, H-6'), 3.87 (1H, s, 3'-OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta_c$ ) 191.3 (C=O), 163.4 (C-4), 163.0 (C-4'), 161.9 (C-3'), 141.1 (C- $\beta$ ), 131.5 (C-3, C-5), 131.2 (C-5'), 119.2 (C- $\alpha$ ), 116.5 (C-1), 116.4 (C-1'), 116.2 (C-2, C-6), 109.1 (C-6'), 99.8 (C-2'), 56.0 (3'-OCH<sub>3</sub>).

화합물 3 (liquiritigenin) colorless crystals (MeOH); m.p. 203–204°C; UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  313, 276 nm;  $[\alpha]_D^{21} -22.5^\circ$  ( $c$  0.21, MeOH); IR (KBr,  $\nu_{max}$ ) 3200, 1650, 1600 cm<sup>-1</sup>; EI-MS  $m/z$  256 [M]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta_H$ ) 7.72 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H-5), 7.31 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-2', 6'), 6.81 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-3', 5'), 6.47 (1H, dd,  $J=8.8, 2.0$  Hz, H-6), 6.34 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-8), 5.35 (1H, dd,  $J=13.2, 2.8$  Hz, H-2), 3.04 (1H, dd,  $J=16.8, 13.2$  Hz, H-3a), 2.67 (1H, dd,  $J=16.8, 2.8$  Hz, H-3b); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta_c$ ) 193.4 (C-4), 166.6 (C-7), 165.4 (C-9), 158.8 (C-4'), 133.8 (C-1'), 129.7 (C-5), 128.9 (C-2', 6'), 116.2 (C-3', 5'), 114.8 (C-10), 111.6 (C-6), 103.7 (C-8), 81.0 (C-2), 44.9 (C-3).

화합물 4 (liquiritin) colorless crystals (MeOH); m.p. 212–214°C; UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  313, 276 nm;  $[\alpha]_D^{21} -56.0^\circ$  ( $c$  0.21, MeOH); IR (KBr,  $\nu_{max}$ ) 3332, 2922, 2854, 1650, 1608, 1579, 1512 cm<sup>-1</sup>; EI-MS  $m/z$  418 [M]<sup>+</sup>, 256, 255; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta_H$ ) 7.74 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H-5), 7.44 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-2', 6'), 7.15 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-3', 5'), 6.51 (1H, dd,  $J=8.8, 2.0$  Hz, H-6), 6.37 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-8), 5.45 (1H, dd,  $J=12.8, 2.8$  Hz, H-2), 4.95 (1H, d,  $J=7.2$  Hz, H-1"), 3.91 (1H, dd,  $J=12.0, 5.6$  Hz, H-6"a), 3.71 (1H, dd,  $J=12.0, 5.6$  Hz, H-6"b), 3.04 (1H, dd,  $J=16.8, 12.8$  Hz, H-3a), 2.73 (1H, dd,  $J=16.8, 2.8$  Hz, H-3b); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta_c$ ) 193.0 (C-4), 166.6 (C-7), 165.2 (C-9), 159.0 (C-4'), 134.3 (C-1'), 129.7 (C-5), 128.7 (C-2', 6'), 117.7 (C-3', 5'), 114.9 (C-10), 111.7 (C-6), 103.7 (C-8), 102.1 (C-1"), 80.6 (C-2), 78.1 (C-5"), 77.9 (C-3"), 74.8 (C-2"), 71.3 (C-4"), 62.5 (C-6"), 45.0 (C-3).

화합물 5 (isoliquiritin) colorless crystals (MeOH); m.p. 209–210°C;  $[\alpha]_D^{21} -53^\circ$  ( $c$  0.27, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  228 nm; IR (KBr,  $\nu_{max}$ ) 3346, 1680, 1594, 1511 cm<sup>-1</sup>; positive FAB/MS  $m/z$  417 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta_H$ ) 7.98 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H-6'), 7.71 (2H, d,  $J=8.8$  Hz, H-2, 6), 7.15 (2H, d,  $J=8.8$  Hz, H-3, 5), 7.80 (1H, d,  $J=15.6$  Hz, H- $\alpha$ ), 7.15 (1H, d,  $J=15.6$  Hz, H- $\beta$ ), 6.42 (1H, dd,  $J=12.4, 5.2$  Hz, H-6"a), 6.41 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H-5'), 6.28 (1H, d,  $J=2.4$  Hz, H-2'), 6.42 (1H, dd,  $J=12.4, 5.2$  Hz, H-6"b), 4.99 (1H, d,  $J=7.6$  Hz, H-1"); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta_c$ ) 185.7 (C=O), 168.1 (C-4'), 166.5 (C-2'), 160.9 (C-4), 144.6 (C- $\beta$ ), 135.0 (C-6'), 131.2 (C-2, C-6), 130.4 (C-1), 119.9 (C- $\alpha$ ), 117.9 (C-3, C-5), 114.5 (C-1'), 109.2 (C-5'), 103.7 (C-3'), 101.7 (C-1"), 78.2 (C-3"), 77.9 (C-5"), 74.8 (C-2"), 71.2 (C-4"), 62.4 (C-6").

## 결과 및 고찰

순무뿌리를 95% 주정으로 추출하여 얻어진 추출물에 대하여 용매의 극성에 따라 EtOAc, *n*-BuOH 및 H<sub>2</sub>O로 순차 분획하고 각 분획을 감압 농축하여 3개의 분획을 얻었다. EtOAc 분획으로부터 UV 흡수특성을 보이고 황산 발색시 황색 혹은 붉은색으로 발색되는 물질을 분리하기 위하여 silica gel, ODS 및 Sephadex LH-20 column chromatography를 반복 실시하여 5종의 flavonoid 화합물을 분리하였다.

화합물 1 (yellow needles)는 TLC로 전개하였을 때 UV 흡수특성을 보였고, 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 이용하여 분무하고 가열하였을 때 붉은색으로 발색되었다. 분자량은 EI/MS에서  $m/z$  338 [M]<sup>+</sup>, 307 [M-OCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>가 관측되어 338로 결정되었다. IR spectrum에서 수산기 (3429 cm<sup>-1</sup>), 공역 ketone (1621 cm<sup>-1</sup>) 및 이중결합 (1590 cm<sup>-1</sup>)의 작용기를 갖는 것으로 확인되었다. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta_H$ ) spectrum을 보면, 저자장 영역에서 관측된 2개의 olefinemethine proton signal [ $\delta_H$  8.01 (1H, d,  $J=16.0$  Hz, H- $\beta$ ), 7.58 (1H, d,  $J=16.0$  Hz, H- $\alpha$ )]로부터 trans의 이

중결합 한쌍이 존재함을 확인하였고, 4개의 olefin methine proton signal [ $\delta_H$  7.96 (2H, d,  $J=8.0$  Hz, H-2' ,6'), 6.20 (2H, br.d,  $J=8.0$  Hz, H-3', H-5')]로 부터 para-이치환 benzene ring을 확인하였다. 또한, 2개의 olefin methine proton signal [ $\delta_H$  7.44 (1H, s, H-6), 6.42 (1H, s, H-3)]로 부터 1,2,4,5-사치환 benzene ring을 확인하였고, 2개의 olefine methylene과 methine proton signal [ $\delta_H$  6.17 (1H, dd,  $J=17.6, 10.4$  Hz, H-2"), 5.38 (1H, br.d,  $J=17.6$  Hz, H-3"a), 5.32 (1H, br.d,  $J=10.4$  Hz, H-3"b)]로 부터 exomethylene을 갖고 있는 이중결합 한쌍을 확인하였다. 산소가 치환된 영역에서 methoxy proton signal [ $\delta_H$  3.82 (3H, s, OCH<sub>3</sub>)]이 관측되었고, 고자장 영역에서는 methyl proton signal [ $\delta_H$  1.37 (6H, s, H-4", 5")] 2개가 관측되었다. 따라서 compound 1은 chalcone 골격에 isoprenyl기 1개가 치환된 화합물로 판단하였다. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta_C$ ) spectrum에서 총 21개의 탄소 signal이 관측되었다. 저자장 영역에서 공역 ketone signal [ $\delta_C$  190.4 (C=O)] 하나와 oxygenated olefin quaternary carbon signal [ $\delta_C$  160.2 (C-4'), 159.4 (C-2), 158.9 (C-4)] 3개, olefin quaternary carbon signal [ $\delta_C$  131.0 (C-1'), 124.4 (C-5), 116.4 (C-1)] 3개, olefin methine carbon signal [ $\delta_C$  147.6 (C-2'), 147.1 (C-β), 131.0 (C-2', 6'), 128.7 (C-6), 120.0 (C-α), 115.3 (C-3', 5'), 101.0 (C-3)] 9개가 관측되었다. 그리고, olefin methine carbon signal [ $\delta_C$  147.6 (C-2")] 하나와 exomethylene carbon signal [ $\delta_C$  113.9 (C-3")] 하나, methoxy carbon signal [ $\delta_C$  55.6 (OCH<sub>3</sub>)] 한개, quaternary carbon signal [ $\delta_C$  39.7 (C-1")] 하나, methyl carbon signal [ $\delta_C$  27.1 (C-4", 5")] 두개가 관측되었다. 따라서 chalcone 골격에 methoxy 1개와 이중결합을 포함한 prenyl기 1개가 결합한 구조로 예상되었다. 주요한 치환기의 결합위치를 확인 하기 위하여 hetero-nuclear multiple bond connectivity (HMBC)를 측정하였다. Ketone ( $\delta_C$  190.4)이 H-2' ( $\delta_H$  7.96), H-6' ( $\delta_H$  7.96), H-α ( $\delta_H$  7.58), H-β ( $\delta_H$  8.01)와 cross peak를 보였고, H-α는 C-1 ( $\delta_C$  116.4), C-1' ( $\delta_C$  131.0)과 H-β는 C-2 ( $\delta_C$  159.4) C-6과 cross peak를 보여 chalcone 구조가 확인되었다. 그리고, C-5 ( $\delta_C$  124.4)는 H-4", 5" ( $\delta_H$  1.37)과, H-2" ( $\delta_H$  6.17)는 C-1" ( $\delta_C$  39.7), C-4" ( $\delta_C$  27.1), C-5" ( $\delta_C$  27.1)와 cross peak를 보여 isoprenyl 구조가 3-methylbut-1-enyl 기임이 확인되었다. 이를 종합한 결과 화합물 1은 chalcone인 licochalcone A (Wang 등 2004; Won 등, 2007)로 동정되었으며, 이 화합물은 순무뿌리에서는 분리되고 된바가 없다.

화합물 2 (colorless crystals, CH<sub>3</sub>OH)는 TLC로 전개 하였을 때 UV 흡수특성을 보였고, 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 이용하여 분무하고 가열 하였을 때 붉은색으로 발색되었다. 분자량은 EI/MS에서  $m/z$  269 [M]<sup>+</sup>가 관측되어 269로 결정되었다. IR spectrum에서 수산기 (3400 cm<sup>-1</sup>), 공역 ketone (1640 cm<sup>-1</sup>) 및 이중결합 (1592 cm<sup>-1</sup>)의 작용기를 갖는 것으로 확인되었다. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) spectrum의 olefine영역에서 methine [ $\delta_H$  8.03 (1H, d,  $J=15.2$  Hz, H-β), 7.96 (2H, d,  $J=8.8$  Hz, H-3, 5), 7.59 (1H, d,  $J=15.6$  Hz, H-α), 7.58 (1H, d,  $J=8.4$  Hz, H-5'), 6.88 (2H, d,  $J=8.8$  Hz, H-2, 6), 6.46 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-2'), 6.45 (1H, dd,  $J=8.4, 2.0$  Hz H-6')] proton signal이 관측되어 para-이치환 benzene ring, 1,2,4-삼치환 benzene ring 및 trans 구조를 갖는 이중결합의 존재가 예측되었다. 또한  $\delta_H$  3.87 (1H, s, 3'-OCH<sub>3</sub>) signal로부터 methoxy기의 존재가 확인되었다. 따라서 화합물 2는 chalcone 화합물로 판단되었다.

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD) 스펙트럼에서 methoxy carbon signal [ $\delta_C$  56.0 (C-3'-OCH<sub>3</sub>)] 1개를 포함하여 16개의 탄소 signal이 관측되어 화합물 2는 methoxy기 1개를 가지고 있는 chalcone 화합물로 확인되었다.  $\delta_C$  191.3에서 공역 ketone이 관측되었고,  $\delta_C$  163.4 (C-4), 163.0 (C-4'), 161.9 (C-3')에서 3개의 oxygenated olefine quaternary carbon signal이 관측되었다.  $\delta_C$  116.5 (C-1), 116.4 (C-1')에서 2개의 olefine quaternary carbon signal이,  $\delta_C$  141.1 (C-β), 131.5 (C-3, C-5), 131.2 (C-5'), 116.2 (C-2, C-6), 109.1 (C-6'), 99.8 (C-2')에서는 8개의 olefinemethine carbon signal이 관측되었다. 이와 같은 결과를 종합하여, 화합물 2는 chalcone에 2개의 수산기와 1개의 methoxy기를 가진 4,4'-dihydroxy-3'-methoxychalcone으로 동정되었다. 이 화합물 2 또한 순무뿌리로부터 처음 분리된 화합물이다.

화합물 3 (colorless crystals, CH<sub>3</sub>OH)은 TLC로 전개하였을 때, UV흡수특성을 보였고, 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 이용하여 분무하고 가열하였을 때 노란색으로 발색되었다. 분자량은 EI/MS에서  $m/z$  256 [M]<sup>+</sup>가 관측되어 256으로 결정되었다. IR spectrum에서 수산기 (3200 cm<sup>-1</sup>), 공역 ketone (1650 cm<sup>-1</sup>) 및 이중결합 (1600 cm<sup>-1</sup>)의 작용기를 갖는 것으로 확인되었다. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) 스펙트럼의 olefine 영역에서 methine [ $\delta_H$  7.72 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H-5), 7.31 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-2', 6'), 6.81 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-3', 5'), 6.47 (1H, dd,  $J=8.8, 2.0$  Hz, H-6), 6.34 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-8)] proton signal이 관측되어 para-이치환 및 1,2,4-삼치환 benzene ring의 존재가 각각 예측되었다. 또한  $\delta_H$  5.35 (1H, dd,  $J=13.2, 2.8$ , H-2), 3.04 (1H, dd,  $J=16.8, 13.2$ , H-3a), 2.67 (1H, dd,  $J=16.8, 2.8$ , H-3b)로 부터 flavanone C환에서 유래되는 signal로 H-2의  $J$ 값이 13.2 및 2.8 Hz 점으로부터 B환이 α결합한 flavanone 화합물로 확인되었다. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD) 스펙트럼에서 15개의 탄소 signal이 관측되었다.  $\delta_C$  193.4 (C-4)에서 공역 ketone이 관측되었고,  $\delta_C$  166.6 (C-7), 165.4 (C-9), 158.8 (C-4')에서 3개의 oxygenated olefine quaternary carbon signal이 관측되었으며,  $\delta_C$  133.8 (C-1'), 114.8 (C-10)에서 2개의 olefine quaternary carbon signal이 129.7 (C-5), 128.9 (C-2', 6'), 116.2 (C-3', 5'), 111.6 (C-6), 103.7 (C-8)에서는 7개의 olefine methine carbon signal이 관측되었다. 또한  $\delta_C$  81.0 (C-2)에서 oxygenated methine carbon signal과 44.9 (C-3)에서 methylene carbon signal이 관측되었다. 이와 같은 결과를 종합하여, 화합물 3은 flavanone골격의 7번과 4에 수산기가 각각 결합하고 C-2의 입체구조가 S인 liquiritigenin (Lyu 등, 2008)으로 동정되었으며, 순무뿌리에서 처음으로 분리되었다.

화합물 4 (colorless crystal, MeOH)는 TLC로 전개 하였을 때 UV흡수특성을 보였고, 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 이용하여 분무하고 가열하였을 때 노란색으로 발색되었다. 분자량은 EI/MS에서  $m/z$  418 [M]<sup>+</sup>가 관측되어 418로 결정되었다. IR spectrum에서 수산기(3332 cm<sup>-1</sup>), 공역 ketone (1650 cm<sup>-1</sup>) 및 이중결합(1608, 1579 cm<sup>-1</sup>)의 작용기를 갖는 것으로 확인되었다. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) 및 <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz) spectrum을 보면 화합물 3과 매우 유사한 양상을 나타냈다. 다른 점은 hemiacetal proton signal [ $\delta_H$  5.64 (1H, d,  $J=6.8$  Hz, H-1')] 하나와 당에서 유래하는 4개의 oxygenated methine 및 1개의 oxygenated methylene signal이 관측되어 liquiritigenin (3)에 육탄당 환분자가 결합한 배당체로 확인하였다. <sup>13</sup>C-NMR spectrum에서 당을

포함하여 총 21개의 탄소 signal이 관측되어 liquiritigenin의 hexose배당체로 확인되었으며, 당 유래의 hemiacetal carbon signal ( $\delta_c$  101.3, C-1"), 4개의 oxygenated methine carbon signal ( $\delta_c$  78.2, C-5"; 77.7, C-3"; 74.2, C-2"; 70.5, C-4")과 1개의 oxygenated methylene carbon signal  $\delta_c$  61.6 (C-6")의 chemical shift로부터 당의 구조가  $\beta$ -glucopyranose임을 확인하였고, anomer proton의 coupling constant 값(6.8 Hz)으로부터도  $\beta$  결합 하였음이 확인되었다. HMBC를 측정한 결과 H-1" ( $\delta_H$  4.95)과 C-4' ( $\delta_c$  159.0)이 cross peak를 보여 당이 aglycone 4'의 수산기에 결합하였음이 확인되었다. 이를 종합한 결과 화합물 4는 liquiritigenin의 4'-OH에 glucopyranose가  $\beta$  결합한 liquiritin (Lyu 등, 2008; Yunuskhodzhaeva 등, 2010)으로 동정되었으며, 순무뿌리에서는 분리 보고 된바가 없다.

화합물 5 (colorless crystals, MeOH)는 TLC로 전개 하였을 때 UV 흡수특성을 보였고, 10%  $H_2SO_4$ 를 이용하여 분무하고 가열 하였을 때 노란색으로 발색되었다. 분자량은 positive FAB/MS에서  $m/z$  419 [M+H]<sup>+</sup>가 관측되어 418로 결정되었다. IR spectrum에서 수산기 ( $3346\text{ cm}^{-1}$ ), ketone ( $1680\text{ cm}^{-1}$ ) 및 이중 결합( $1594\text{ cm}^{-1}$ )의 작용기를 갖는 것으로 확인되었다. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $CD_3OD$ ) spectrum을 살펴 보면 화합물 2와 매우 유사한 양상을 나타냈다. 다른 점은 당에서 유래되는 signal이 관측되어 chalcone 구조에 당이 한분자 결합한 구조로 확인하였다. 즉 1개의 hemiacetal ( $\delta_c$  101.7, C-1";  $\delta_H$  4.99, H-1"), 4개의 oxygenated methine carbon signal ( $\delta_c$  77.9, C-5"; 78.2, C-3"; 74.8, C-2"; 71.2, C-4")과 1개의 oxygenated methylene carbon signal  $\delta_c$  62.4 (C-6")이 관측되어, chemical shift 값으로부터 당의 종류가  $\beta$ -glucopyranose로 동정되었다. 또한 hemiacetal proton signal의 coupling constant 값(7.6 Hz)으로부터  $\beta$  결합임을 확인되었다. HMBC를 측정한 결과 H-1" ( $\delta_H$  4.99)과 C-4 ( $\delta_c$  160.9)간에 cross peak를 보여 당이 aglycone 4번 수산기에 결합 하였음이 확인되었다. 이와 같은 결과를 종합하여 화합물 5는 isoliquiritin (Fu 등, 2005)로 동정되었으며, 순무뿌리에서는 처음 분리되었다.

화합물 1-5는 이번에 순무뿌리에서 처음으로 분리되었으며, 각 화합물에대한 radical scavenging 활성 및 항염증 활성이 보고 되어있다(Guo 등 2007; Furusawa 등, 2009; Wang 등, 2011). 순무는 주로 김치와 샐러드로 섭취되는 식품으로 안전성이 확보된 소재이다. 따라서 순무 추출물 혹은 flavonoid 분획물을 이용하여 건강기능성식품 혹은 기능성 화장품으로의 개발이 가능하다. 이를 통하여 순무의 높은 부가가치가 창출될 수 있으며 농가의 소득증대에도 기여할 수 있을 것이다.

## 초 록

순무뿌리(*Brassica rapa*ssp)를 실온에서 95% ethanol 수용액으로 추출하고 이 추출물을 ethyl acetate (EtOAc)분획, *n*-butyl alcohol 분획 및  $H_2O$  분획으로 나누었다. EtOAc분획에 대하여 silica gel, ODS 및 Sephadex LH-20 column chromatography를 반복 실시하여 5종의 flavonoid를 분리하였다. NMR, IR 및 MS data를 해석하여 각각 licochalcone A (1), 4,4'-dihydroxy-3'-methoxychalcone (2), liquiritigenin (3), liquiritin (4), isoliquiritin (5)으로 구조동정하였다. 이들 화합물들은 순무뿌리에서는 처음으로 분리되었다.

**Keywords** 순무 · 4,4'-dihydroxy-3'-methoxychalcone · isoliquiritin · licochalcone A · liquiritigenin · liquiritin

**감사의글** 본 연구는 농촌진흥청 차세대바이오그린 21(PJ008020) 연구비로 수행되었음.

## 참고문헌

- Bang MH, Lee DY, Han MW, Oh YJ, Chung HG, Jeong TS et al. (2007) Development of biologically active compounds from edible plant sources-XX. Isolation of lipids from the roots of *Brassica campestris* ssp *rapa*. *J Korean Soc Appl Biol Chem* **50**, 233–7.
- Bang MH, Lee DY, Oh YJ, Han MW, Yang HJ, Chung HG et al. (2008) Development of biologically active compounds from edible plant sources XXII. Isolation of indoles from the roots of *Brassica campestris* ssp *rapa* and their hACAT inhibitory activity. *J Korean Soc Appl Biol Chem* **51**, 65–9.
- Choi HJ, Han MJ, Baek NI, Kim DH, Jung HG, and Kim NJ (2006) Hepatoprotective effects of *Brassica rapa*(turnip) on D-galactosamine induced liver injured rats. *Korean J Pharmacogn* **37**, 258–65.
- Fu B, Li H, Wang X, Lee FSC, and Cui S (2005) Isolation and Identification of Flavonoids in Licorice and a Study of Their Inhibitory Effects on Tyrosinase. *J Agric Food Chem* **53**, 7408–14.
- Furusawa J, Funakoshi-Tago M, Tago K, Mashino T, Inoue H, Sonoda Y et al. (2009) Licochalcone A significantly suppresses LPS signaling pathway through the inhibition of NF- $\kappa$ B p65 phosphorylation at serine 276. *Cellular Signalling* **21**, 778–85.
- Guo L, Cho SY, Kang SS, Lee SH, Baek HY, and Kim YS (2007) Orthogonal array design for optimizing extraction efficiency of active constituents from Jakyak-Gamcho Decoction, the complex formula of herbal medicines, *Paeoniae Radix* and *Glycyrrhizae Radix*. *J Ethnopharmacol* **113**, 306–11.
- Itoh H, Yoshida R, Mizuno T, Kudo M, Nikuni S, and Karki T (1984) Study on the contents of volatile isothiocyanate of cultivars of *Brassica* vegetables. *Rept Natl Food Res Inst* **45**, 33–41.
- Ju H, Chong C, Mullin W, and Bilble B (1982) Volatile isothiocyanates and nitriles from glucosinolates in rutabaga and turnip. *J Am Soc Horticultural Sci* **107**, 1050–4.
- Jung BS and Shin MK (1990) In *Hyang Yak DaeSa Jun*. Young Lim Sa (3rd ed.), Seoul, Korea.
- Lyu HN, Kwak HY, Lee DY, Kim KT, Kim SY, and Baek NI (2008) Isolation of flavonoids from processed aconitituber. *J Appl Biol Chem* **51**, 165–8.
- Morita H, Miyamoto T, Mori K, Kataoka K, and Izumimoto M (1990) Isolation and identification of lactic acid bacteria from pickles. *J Japan Dairy Food Sci* **39**, A183–A193.
- Sones K, Heaney R, and Fenwick G (1984) An estimate of the mean daily intake of glucosinolates from cruciferous vegetables in the UK. *J Sci Food Agric* **35**, 712–20.
- Wang QE, Lee FSC, and Wang X (2004) Isolation and purification of inflacoumarin A and licochalcone A from licorice by high-speed counter-current chromatography. *J Chromatogr A* **1048**, 51–7.
- Wang QS, Cui YL, Wang YF, and Chi W (2011) Effects of compounds from Bi-Qi Capsule on the expression of inflammatory mediators in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. *J Ethnopharmacol* **136**, 480–7.
- Wilkinson A, Rhodes M, and Fenwick R (1984) Myrosinase activity of crucifer vegetables. *J Sci Food Agric* **35**, 543–52.
- Won SR, Kim SK, Kim YM, Lee PH, Ryu JH, Kim JW et al. (2007) Licochalcone A: A lipase inhibitor from the roots of *Glycyrrhiza uralensis*. *Food Res Int* **40**, 1046–50.
- Yunuskhodzhaeva NA, Eshbakova KA, and Abdullabekova VN (2010) Flavonoid composition of the herb *Polygonum aviculare*. *Chem Nat Comp* **46**, 803–4.