

## 꽃마리 지상부의 DPPH Free Radical 소거활성 성분

이은별<sup>1</sup> · 안달래<sup>1</sup> · 이태관<sup>1</sup> · 은재순<sup>1</sup> · 전 훈<sup>1</sup> · 차동석<sup>1</sup> · 최 훈<sup>1</sup> · 신태용<sup>1</sup> · 조종현<sup>2</sup> · 김대근<sup>1\*</sup>  
<sup>1</sup>우석대학교 약학대학, <sup>2</sup>전북농업기술원

### DPPH Free Radical Scavengers from the Aerial Part of *Trigonotis peduncularis* Bentham

Eun Byeol Lee<sup>1</sup>, Dalrae Ahn<sup>1</sup>, Tae Gwan Lee<sup>1</sup>, Jae Soon Eun<sup>1</sup>, Hoon Jeon<sup>1</sup>, Dong Seok Cha<sup>1</sup>,  
Xun Cui<sup>1</sup>, Tae-Yong Shin<sup>1</sup>, Chong Hyeon Cho<sup>2</sup>, and Dae Keun Kim<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>College of Pharmacy, Woosuk University, Jeonju 565-701, Korea

<sup>2</sup>Jeollabuk-do Agricultural Research and Extension Services, Iksan 570-704, Korea

**Abstract** – In the course of screening for antioxidant compounds by measuring the DPPH radical scavenging activity, a total extract of the aerial part of *Trigonotis peduncularis* (Boraginaceae) was found to show potent DPPH radical scavenging activity. Subsequent activity-guided fractionation of the methanolic extract of *T. peduncularis* led to the isolation of seven compounds, kaempferol (1), quercetin (2), trigonotin A (3), astragalol (4), trigonotin C (5), kaempferol-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside (6), and rutin (7) from the active ethyl acetate soluble fraction. Their structures were elucidated by spectroscopic studies. Among seven compounds, compounds 1, 2, 4, 6 and 7 were isolated for the first time from this plant, and compounds 2 and 7 showed the significant DPPH free radical scavenging activities.

**Key words** – *Trigonotis peduncularis*, Boraginaceae, DPPH radical

체내에서 발생하는 산소의 대부분은 에너지 대사과정에서 인산화를 통해서 환원되지만 그 중 일부는 활성산소종의 형태로 유리기를 형성하여 인체에 장해를 일으키는 것으로 보고되어 있다. 체내에 축적된 활성산소는 인체의 구성성분인 DNA, 단백질, 지질, 아민 및 탄수화물 등을 비가역적으로 파괴하여 세포를 파괴하고 산화를 촉진시키며 노인성 질환 등을 비롯한 노화 관련된 질병의 주요 원인으로 보고되어 있다. 따라서 부작용이 적고 안전한 천연 항산화제의 개발이 요구되고 있으며, 근래에 활성 산소종이나 자유 라디칼을 제거하기 위한 많은 항산화제의 연구가 진행되고 있다.<sup>1-5)</sup>

꽃마리 *Trigonotis peduncularis* Bentham는 지치과 (Boraginaceae)에 속하는 월년초로 산이나 들의 메마른 곳에서 자란다.<sup>6)</sup> 꽃마리에 대해서는 지금까지 lignan sucrose diester 성분인 trigonotin A-C와 몇 가지 물질만이 보고<sup>7)</sup>되어 있을 뿐 식물화학적 연구나 약리학적인 연구가 자세히 보

고된 바가 없어, 본 연구는 천연자원에서 항산화물질을 찾는 연구의 일환으로 본 식물의 methanol 추출물을 용매로 계통분획하여 얻은 분획물을 DPPH radical 소거효과에 기인한 항산화활성을 확인하여 보았다. 그 결과 ethyl acetate 분획에서 강한 활성이 확인되어 ethyl acetate 분획에서 물질을 분리하여 그 구조를 확인한 다음 DPPH radical 소거효과를 측정하여 천연 항산화제로서의 이용가능성을 알아보고자 하였다.

### 재료 및 방법

**실험재료** – 본 실험에 사용한 꽃마리는 2011년 6월에 전북 완주군에서 채집하여, 정확히 감정한 후에 실험에 사용하였으며, 표준품은 우석대학교 약학대학 생약표본실에 보관하고 있다(WSU-11-018).

**시약 및 기기** – 실험에 사용한 기기로는 <sup>1</sup>H-NMR 및 <sup>13</sup>C-NMR spectrum은 Jeol JMN-EX 400 spectrometer(Japan)를 이용하여 확보하였다. 추출 및 분획용 시약은 1급 용매를 사용하였으며, TLC 및 column용 시약 등은 1급 용매 또는

\*교신저자(E-mail): dkkim@woosuk.ac.kr  
(Tel): +83-63-290-1574

특급시약을 사용하였다. Column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel 60(Art. 1.07734, 230-400 mesh, Merck)을 사용하였으며, molecular sieve column chromatography용 packing material은 Sephadex LH-20(Pharmacia)을 사용하였다. TLC plate는 Kiesel gel 60 F<sub>254</sub> precoated plate(Art. 1.07752, Merck)를 사용하였으며, LPLC용 column은 Lobar A(LiChroprep Si 60, Merck) column을 사용하였다. 발색시약으로는 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (in EtOH) 시약을 사용하였으며, UV의 검색은 254, 365 nm에서 하였다.

**추출 및 분리** – 꽃마리 지상부를 세절한 다음 건조하여 얻은 시료 약 1.0 kg을 methanol로 가끔 진탕하면서 5시간씩 50°C에서 3회 온침 추출하였다. 그 추출액을 수욕상에서 감압농축하여 methanol 엑스 약 210 g을 얻었으며, 이 methanol 엑스를 증류수로 현탁시키고 상법에 따라 동량의 methylene chloride(16 g) 및 ethyl acetate(21 g)로 용매 분획하여 각각의 분획물을 얻었다. 이들 분획물에 대해 DPPH radical 소거활성을 측정하여 강한 소거효능을 보인 ethyl acetate분획에서 물질 분리를 시도하였다. Ethyl acetate분획 3 g을 CHCl<sub>3</sub>-MeOH(4:1)을 유출용매로 silica gel column을 통과시켜 TLC 양상에 따라 5개의 분획(E1-E5)으로 나누었다. E1분획을 Sephadex LH-20(MeOH) column을 통과시켜 2개의 분획(E11-E12)으로 나누고 E11을 ethyl acetate를 이동상으로 silica gel column을 통과시켜 정제하여 화합물 **1**(12 mg)을 얻었다. E12를 methanol로 재결정을 시도하여 화합물 **2**(15 mg)을 확보하였다. E2분획을 Sephadex LH-20(MeOH) column을 통과시켜 3개의 분획(E21-E23)으로 나누고 E21을 CHCl<sub>3</sub>-MeOH(4:1)을 유출용매로 Lobar A column을 통과시켜 정제하여 화합물 **3**(15 mg)을 얻었다. E22를 methanol로 재결정을 시도하여 화합물 **4**(9 mg)을 확보하였다. E3분획을 Sephadex LH-20(MeOH) column을 통과시켜 3개의 분획(E31-E33)으로 나누고 E31을 CHCl<sub>3</sub>-MeOH(3:1)을 유출용매로 Lobar A column으로 정제하여 화합물 **5**(8 mg)을 얻었다. E32를 methanol로 재결정을 시도하여 화합물 **6**(15 mg)을 확보하였다. E5분획을 Sephadex LH-20(MeOH) column을 통과시켜 5개의 분획(E51-E55)으로 나누고 E52와 E54를 methanol로 재결정을 시도하여 화합물 **6**(8 mg)과 **7**(16 mg)을 각각 확보하였다.

**Kaempferol (1)** – Yellow powder; FeCl<sub>3</sub> test: positive; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.97 (2H, d, *J*=8.8 Hz, H-2', 6'), 6.79 (2H, d, *J*=8.8 Hz, H-3', 5'), 6.28 (1H, d, *J*=1.8 Hz, H-8), 6.07 (1H, d, *J*=1.8 Hz, H-6). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 176.1 (C-4), 164.1 (C-7), 160.6 (C-5), 159.2 (C-4'), 156.1 (C-9), 146.8 (C-2), 135.7 (C-3), 129.6 (C-2', 6'), 121.6 (C-1'), 115.2 (C-3', 5'), 103.1 (C-10), 98.3 (C-6), 93.6 (C-8).

**Quercetin (2)** – Yellow powder; FeCl<sub>3</sub> test: positive;

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 7.68 (1H, d, *J*=2.2 Hz, H-2'), 7.56 (1H, dd, *J*=8.2, 2.2 Hz, H-6'), 6.90 (1H, d, *J*=8.2 Hz, H-5'), 6.43 (1H, d, *J*=1.9 Hz, H-8), 6.19 (1H, d, *J*=1.9 Hz, H-6). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) d: 176.1 (C-4), 163.9 (C-7), 160.7 (C-5), 156.3 (C-9), 147.8 (C-2), 146.9 (C-3'), 145.4 (C-4'), 135.8 (C-3), 122.1 (C-1'), 119.9 (C-6'), 115.6 (C-5'), 115.1 (C-2'), 103.1 (C-10), 98.6 (C-6), 93.6 (C-8).

**Trigonotin A (3)** – Yellow powder; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.75 (1H, s, H-1), 6.90 (1H, s, H-8), 6.65 (1H, d, *J*=7.8 Hz, H-6'), 6.61 (1H, d, *J*=1.8 Hz, H-2'), 6.59 (1H, dd, *J*=7.8, 1.8 Hz, H-5'), 5.41 (1H, d, *J*=4.2 Hz, H-1g), 4.91 (1H, dd, *J*=13.2, 2.4 Hz, H-6f), 4.85 (1H, s, H-3f), 4.78 (1H, d, *J*=0.6 Hz, H-4), 4.31 (1H, ddd, *J*=8.8, 7.0, 1.8 Hz, H-5g), 4.16 (1H, dd, *J*=11.2, 1.8 Hz, H-6g), 4.14 (1H, d, *J*=2.8 Hz, H-5f), 4.10 (1H, d, *J*=0.6 Hz, H-3), 4.07 (1H, d, *J*=13.2 Hz, H-6f), 4.01 (1H, dd, *J*=13.2, 7.0 Hz, H-6g), 3.94 (1H, d, *J*=12.6 Hz, H-1f), 3.90 (3H, s, 7-OCH<sub>3</sub>), 3.86 (1H, s, H-4f), 3.76 (1H, dd, *J*=9.6, 9.6 Hz, H-3g), 3.73 (1H, d, *J*=12.6 Hz, H-1f), 3.71 (3H, s, 3'-OCH<sub>3</sub>), 3.48 (1H, dd, *J*=9.6, 4.2 Hz, H-2g), 3.47 (3H, s, 5-OCH<sub>3</sub>), 3.24 (1H, dd, *J*=9.6, 8.8 Hz, H-4g), 1.63 (3H, s, COCH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD) d: 174.8 (C-3a), 172.6 (COCH<sub>3</sub>), 168.3 (C-2a), 149.0 (C-7), 148.6 (C-3'), 146.7 (C-5), 146.3 (C-4'), 144.4 (C-6), 142.3 (C-1), 137.3 (C-1'), 125.4 (C-10), 122.9 (C-2, 9), 121.3 (C-6'), 116.4 (C-5'), 112.4 (C-2'), 109.9 (C-8), 109.7 (C-2f), 94.5 (C-1g), 88.0 (C-5f), 80.2 (C-3f), 75.1 (C-3g, 4f), 73.4 (C-2g), 72.1 (C-5g), 72.0 (C-4g), 66.3 (C-6f), 66.0 (C-6g), 63.4 (C-1f), 60.6 (5-OCH<sub>3</sub>), 56.8 (7-OCH<sub>3</sub>), 56.6 (3'-OCH<sub>3</sub>), 50.4 (C-3), 39.9 (C-4), 20.4 (COCH<sub>3</sub>).

**Astragalín (4)** – Yellow powder; FeCl<sub>3</sub> test: positive; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 8.03 (2H, d, *J*=8.8 Hz, H-2', 6'), 6.87 (2H, d, *J*=8.8 Hz, H-3', 5'), 6.38 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8), 6.18 (1H, d, *J*=1.9 Hz, H-6), 5.24 (1H, d, *J*=7.5 Hz, H-1"). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD) d: 179.6 (C-4), 166.4 (C-7), 163.2 (C-5), 161.5 (C-4'), 159.3 (C-9), 158.4 (C-6), 135.6 (C-7), 132.4 (C-2', 6'), 122.9 (C-1'), 116.2 (C-3', 5'), 105.6 (C-10), 104.2 (C-1"), 100.1 (C-6), 94.9 (C-8), 78.5 (C-3"), 78.1 (C-5"), 75.8 (C-2"), 71.5 (C-4"), 62.6 (C-6").

**Trigonotin C (5)** – Yellow powder; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.71 (1H, s, H-1), 6.88 (1H, s, H-8), 6.69 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-5'), 6.65 (1H, d, *J*=1.8 Hz, H-2'), 6.62 (1H, dd, *J*=8.0, 1.8 Hz, H-6'), 5.40 (1H, d, *J*=4.2 Hz, H-1g), 4.89 (1H, dd, *J*=13.2, 2.4 Hz, H-6f), 4.85 (1H,

s, H-3f), 4.77 (1H, d,  $J=0.8$  Hz, H-4), 4.16 (1H, dd,  $J=11.5, 3.8$  Hz, H-6g), 4.14 (1H, d,  $J=2.8$  Hz, H-5f), 4.04 (1H, dd,  $J=10.2, 7.0$  Hz, H-5g), 3.96 (1H, d,  $J=0.5$  Hz, H-3), 4.08 (1H, d,  $J=13.2$  Hz, H-6f), 3.58 (1H, dd,  $J=11.5, 7.0$  Hz, H-6g), 3.91 (1H, d,  $J=12.6$  Hz, H-1f), 3.90 (3H, s, 7-OCH<sub>3</sub>), 3.90 (1H, s, H-4f), 3.74 (1H, dd,  $J=9.6, 9.6$  Hz, H-3g), 3.78 (1H, d,  $J=12.6$  Hz, H-1f), 3.75 (3H, s, 3'-OCH<sub>3</sub>), 3.48 (1H, dd,  $J=9.6, 4.2$  Hz, H-2g), 3.49 (3H, s, 5-OCH<sub>3</sub>), 3.44 (1H, dd,  $J=10.2, 9.6$  Hz, H-4g), 1.63 (3H, s, COCH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 174.9 (C-3a), 168.5 (C-2a), 149.1 (C-7), 148.8 (C-3'), 146.9 (C-5), 146.3 (C-4'), 144.5 (C-6), 142.1 (C-1), 137.6 (C-1'), 125.6 (C-10), 123.2 (C-2), 123.0 (C-9), 121.4 (C-6'), 116.5 (C-5'), 112.5 (C-2'), 109.9 (C-8, 2f), 94.9 (C-1g), 88.1 (C-5f), 80.4 (C-3f), 75.5 (C-4f), 75.2 (C-3g), 74.1 (C-5g), 73.7 (C-2g), 70.9 (C-4g), 66.5 (C-6f), 63.5 (C-1f), 61.9 (C-6g), 60.6 (5-OCH<sub>3</sub>), 56.9 (7-OCH<sub>3</sub>), 56.6 (3'-OCH<sub>3</sub>), 50.7 (C-3), 40.0 (C-4).

**Kaempferol-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside (6)** – Yellow powder; FeCl<sub>3</sub> test: positive; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 8.04 (2H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-2', 6'), 6.87 (2H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-3', 5'), 6.38 (1H, d,  $J=1.8$  Hz, H-8), 6.19 (1H, d,  $J=1.8$  Hz, H-6), 5.11 (1H, d,  $J=7.2$  Hz, H-1''), 4.51 (1H, brs, H-1'''), <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 177.7 (C-4), 164.3 (C-7), 161.0 (C-5), 159.8 (C-4'), 157.0 (C-9), 154.6 (C-2), 133.5 (C-3), 131.3 (C-2', 6'), 121.3 (C-1'), 115.5 (C-3', 5'), 104.2 (C-10), 101.5 (C-1''), 101.1 (C-1'''), 98.9 (C-6), 94.2 (C-8), 76.6 (C-3''), 75.9 (C-5''), 74.5 (C-2''), 71.6 (C-4'''), 70.8 (C-4''), 70.6 (C-2'''), 70.2 (C-3'''), 68.6 (C-5'''), 67.2 (C-6''), 17.9 (C-6''').

**Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside (7)** – Yellow powder; FeCl<sub>3</sub> test: positive; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.66 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-2'), 7.62 (1H, dd,  $J=8.8, 2.0$  Hz, H-6'), 6.85 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H-5'), 6.36 (1H, d,  $J=1.8$  Hz, H-8), 6.17 (1H, d,  $J=1.8$  Hz, H-6), 5.09 (1H, d,  $J=7.4$  Hz, H-1''), 4.52 (1H, brs, H-1'''), 1.13 (3H, d,  $J=6.3$ , H-6'''), <sup>13</sup>C-NMR, (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 177.6 (C-4), 164.3 (C-7), 161.4 (C-5), 156.9 (C-9), 156.7 (C-2), 148.6 (C-4'), 144.9 (C-3'), 133.5 (C-3), 121.9 (C-6'), 121.4 (C-1'), 116.4 (C-5'), 115.4 (C-2'), 104.2 (C-10), 101.3 (C-1''), 100.9 (C-1'''), 98.9 (C-6), 93.9 (C-8), 76.6 (C-3''), 76.1 (C-5''), 74.3 (C-2''), 72.0 (C-4'''), 70.7 (C-3'''), 70.6 (C-2'''), 70.2 (C-4''), 68.4 (C-5'''), 67.2 (C-6''), 17.9 (C-6''').

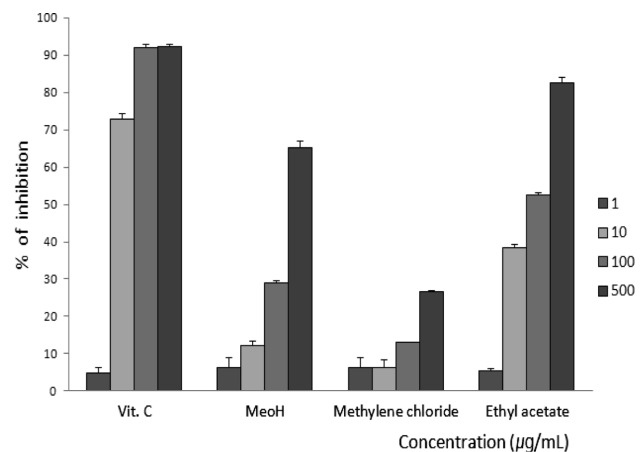
**DPPH Free Radical 소거법에 의한 항산화활성<sup>8)</sup>** – 96 well plate에 시료를 EtOH로 각 농도별로 조제한 용액에

0.2 mM의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) (EtOH)을 일정량씩 가하였다. 10초간 진탕한 후 25°C에서 30분간 방치한 후 microplate reader를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조약물은 L-ascorbic acid를 사용하였다. 항산화효과는 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도와 비교하여 그래프로 나타내었다. 각 시료에 대한 DPPH radical 소거작용을 3회 반복하여 측정하였다.

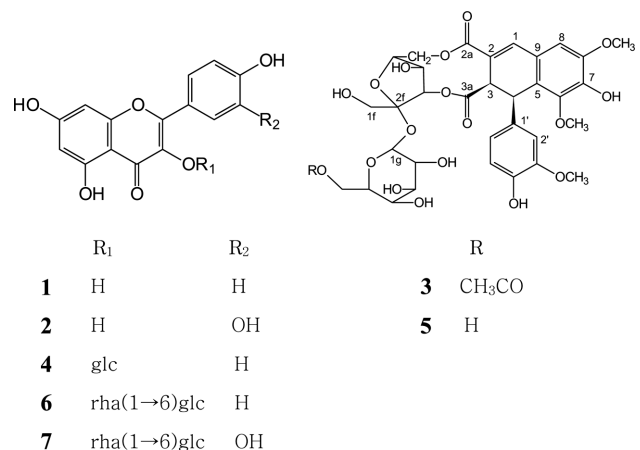
**결과 및 고찰**

꽃마리 지상부로부터 얻은 methanol 엑스를 용매로 분획하여 methylene chloride 및 ethyl acetate 엑스를 제조하였다. 이 중 더 강한 DPPH 라디칼 소거활성(Fig. 1)을 나타낸 ethyl acetate 분획물에서 몇 가지 column chromatography를 반복 실시하여 7종의 화합물을 단리하였다(Fig. 2).

화합물 1은 FeCl<sub>3</sub> 반응에 양성으로 나타나 phenol성 화합물임을 알 수 있었다. <sup>1</sup>H-NMR spectrum에서는  $\delta$  7.97(2H,



**Fig. 1.** DPPH radical scavenging effects of the methanol extract, and its fractions of *Trigonotis peduncularis*.



**Fig. 2.** Structures of compounds 1-7.

d,  $J = 8.8$  Hz)과 6.79(2H, d,  $J = 8.8$  Hz)의 proton signal과  $\delta$  6.28(1H, d,  $J = 1.8$  Hz)과 6.07(1H, d,  $J = 1.8$  Hz)의 proton signal이 확인되어 flavonoid 화합물인 kaempferol로 추정하였으며,  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum 자료와 함께 문헌치<sup>9)</sup>와 비교하여 이를 확정하였다. 화합물 4와 6은 aromatic 영역에서 화합물 1과 유사한 양상의 peak signal로 관찰되었으며, 화합물 4의  $^1\text{H-NMR}$  spectrum의  $\delta$  5.24(H, d,  $J = 7.5$  Hz)에서, 화합물 6은  $\delta$  5.11(1H, d,  $J = 7.2$  Hz)과 4.51(1H, brs)에서 anomeric proton으로 추정되는 proton peak가 관찰되어 이 두 화합물은 kaempferol glycoside로 추정하였으며,  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum 자료와 함께 문헌치와 비교하여 화합물 4는 kaempferol glucoside인 astragal<sup>10)</sup>으로, 화합물 6은 kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside<sup>11)</sup>로 각각 확인·동정하였다.

화합물 2는  $\text{FeCl}_3$  반응에 양성으로 나타났으며,  $^1\text{H-NMR}$  spectrum의 aromatic 영역에서  $\delta$  7.68(1H, d,  $J = 2.2$  Hz), 7.56(1H, dd,  $J = 8.2, 2.2$  Hz) 및 6.90(1H, d,  $J = 8.2$  Hz)에서 전형적인 ABX coupling system의 3개의 proton이 확인되고,  $\delta$  6.43(1H, d,  $J = 1.9$  Hz)과 6.19(1H, d,  $J = 1.9$  Hz)의 proton signal이 확인되어 flavonoid 화합물인 quercetin으로 추정하였으며,  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum 자료와 함께 문헌치<sup>12)</sup>와 비교하여 이를 확정하였다. 화합물 7은 aromatic 영역에서 화합물 2와 유사한 양상의 peak signal로 관찰되었으며,  $\delta$  5.09(1H, d,  $J = 7.4$  Hz)와 4.52(1H, brs)에서 anomeric H으로 추정되는 2개의 proton peak가 관찰되어 quercetin glycoside로 추정하였으며  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum 자료와 함께 문헌치<sup>11)</sup>와 비교하여 화합물 7은 quercetin-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside인 rutin으로 확정하였다.

화합물 3은  $\text{FeCl}_3$  반응에 양성으로 나타났으며,  $^1\text{H-NMR}$  spectrum의 aromatic 영역 또는 olefinic 영역에서  $\delta$  7.75와 6.90에서 각각 1개씩의 singlet peak가 관찰되었고,  $\delta$  6.65(1H, d,  $J = 7.8$  Hz), 6.61(1H, d,  $J = 1.8$  Hz) 및 6.59(1H, dd,  $J = 7.8, 1.8$  Hz)에서 benzene ring의 전형적인 ABX coupling system의 3개의 proton이 확인되었다.  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum에서는  $\delta$  174.8, 172.6 및 168.3에서 3개의 carbonyl carbon이 확인되었고, aromatic 영역 또는 olefinic 영역에서 12개로 추정되는 carbon signal이 관찰되었다. 그 외에  $\delta$  60.6, 56.8 및 56.6에서 3개의 methoxyl signal이 확인되었고,  $\delta$  20.4에서 1개의 acetyl group의 methyl기에 해당하는 peak가 관찰되었다. 화합물 5는 acetyl group이 관찰되지 않는 것을 제외하고  $^1\text{H-}$  및  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum에서 매우 유사하게 나타났다. 화합물 3과 5는 분리과정에서 용매에 녹아 있을 때 진한 형광을 나타내는 특징을 보여 주었다. 이상의 자료를 종합하여 검토한 결과 화합물 3과 5는 본 식물에서 이미 분리되어 발표된 천연 형광물질일 것으로 추

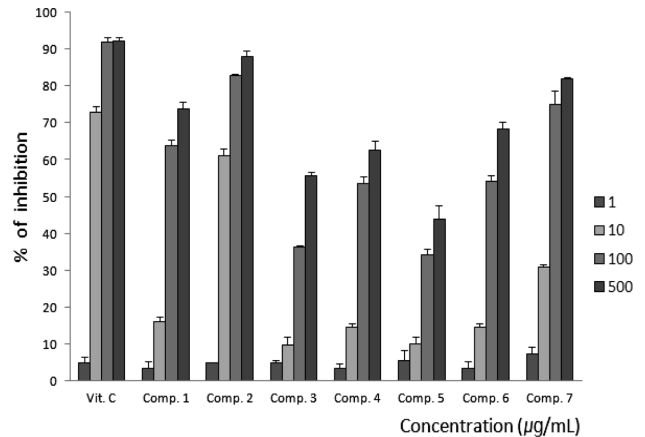


Fig. 3. DPPH radical scavenging effects of compounds 1-7.

정되었으며, 문헌치<sup>7)</sup>와 비교하여 화합물 3은 aryldihydronaphthalene type lignan의 sucrose diester 화합물인 trigonotin A로 화합물 5는 trigonotin C로 확인·동정하였다.

이상과 같이 꽃마리 지상부의 methanol 추출물 분획 중 DPPH free 라디칼 소거활성이 좋은 ethyl acetate 분획으로부터 물질 7종을 분리하여 그 구조를 동정하였다. 화합물 1, 2, 4, 6 및 7은 본 식물에서 처음 보고되는 화합물이며, 분리된 화합물의 DPPH free 라디칼 소거활성은 Fig. 3에 나타난 바와 같이 화합물 2( $\text{IC}_{50}$ : 3.7  $\mu\text{g/mL}$ )와 화합물 7( $\text{IC}_{50}$ : 15.7  $\mu\text{g/mL}$ )이 농도 의존적으로 비교적 강한 DPPH free 라디칼 소거활성을 보여 주었으며, vitamin C의  $\text{IC}_{50}$ 는 3.1  $\mu\text{g/mL}$ 으로 측정되었다. 한편 천연 형광물질인 화합물 3과 5는 비교적 약한 DPPH 라디칼 소거활성을 나타냈다. 이상의 결과로 화합물 3과 5는 꽃마리의 methanol 추출물이 갖고 있는 항산화활성을 나타내는 일부 구성 물질임을 알 수 있었으며, 꽃마리 지상부는 항산화활성을 갖는 천연 자원소재로서의 이용가능성이 있을 것으로 사료된다.

## 결론

꽃마리의 methanol 추출물 중 ethyl acetate분획에서 항산화 활성을 갖는 7종의 화합물을 단리하였으며, 이들의 spectral data로부터 구조를 확인한 결과 kaempferol(1), quercetin(2), trigonotin A(3), astragal(4), trigonotin C(5), kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside(6) 및 rutin(7)으로 각각 확인·동정하였다. 이중 화합물 1, 2, 4, 6 및 7은 본 식물로부터 처음 분리·보고되는 화합물이며, 화합물 2와 7이 강한 DPPH 라디칼 소거 효능을 보여 주었다.

## 사사

이 논문은 우석대학교 산학협력선도대학(LINC)사업단의

지원을 받아 연구되었으며 이에 감사드립니다.

### 인용문헌

1. Yu, B. P. (1996) Aging and oxidative stress: modulation by dietary restriction. *Free Radic. Biol. Med.* **21**: 651-668.
2. Agrawal, S., Kulkarni, G. T. and Sharma, V. N. (2011) A comparative study on the antioxidant activity of methanolic extracts of *Terminalia paniculata* and *Madhuca longifolia*. *Free Rad. Antiox.* **1**: 62-68.
3. Sasikumar, J. M., Patharaj, J., Adithya, E. S., Adithya, Christabel, P. H. and Shamna, R. (2012) Antioxidant capacity and phenolic content of *Elaeagnus kologa* schlecht. an under-exploited fruit from India. *Free Rad. Antiox.* **2**: 28-35.
4. Hatipoglua, G., Sökmen, M., Bektaş, E., Dafererac, D., Sökmen, A., Demira, E. and Sahin, H. (2013) Automated and standard extraction of antioxidant phenolic compounds of *Hyssopus officinalis* L. ssp. *angustifolius*. *Ind. Crops Prod.* **43**: 427-433.
5. Si, C.-L., Shen, T., Jiang, Y.-Y., Wu, L., Yu, G.-J., Ren, X.-D., Xu, G.-H., Hu, W.-C. (2013) Antioxidant properties and neuroprotective effects of isocampneoside II on hydrogen peroxide-induced oxidative injury in PC12 cells. *Food Chem. Toxicol.* **59**: 145-152.
6. Lee, Y. N. (2006) New flora of Korea II. 127, Kyohaksa, Seoul.
7. Otsuka, H., Kuwabara, H. and Hoshiyama, H. (2008) Identification of sucrose diesters of Aryldihydronaphthalene-type lignans from *Trigonotis peduncularis* and the nature of their fluorescence. *J. Nat. Prod.* **71**: 1178-1181.
8. Yoshida, T., Mori, K., Hatano, T., Okumura, T., Uehara, I., Komagoe, K., Fujita, Y. and Okuda, T. (1989) Studies on inhibition mechanism of autooxidation by tannins and flavonoids. V. Radical scavenging effects of tannins and related polyphenols on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chem. Pharm. Bull.* **37**: 1919-1921.
9. Budzianowski, J. (1991) Six flavonol glucuronides from *Tulipa gesneriana*. *Phytochemistry* **30**: 1679-1682.
10. Do, J. C., Yu, Y. J., Jung, K. Y. and Son, K. H. (1992) Flavonoids from the leaves of *Polygala japonica*. *Kor. J. Pharmacogn.* **23**: 9-13.
11. Han, J. T., Bang, M. H., Chun, O. K., Kim, D. O., Lee, C. Y. and Baek, N. I. (2004) Flavonol glycosides from the aerial parts of *Aceriphyllum rossii* and their antioxidant activities. *Arch. Pharm. Res.* **27**: 390-395.
12. Park, J. C., Yu, Y. B., Lee, J. H., Choi, J. S. and Ok, K. D. (1996) Phenolic compounds from the rachis of *Cedrela sinensis*. *Kor. J. Pharmacogn.* **27**: 219-223.

(2013. 8. 26 접수; 2013. 9. 9 심사; 2013. 9. 12 게재확정)