

자귀나무 잎의 자유라디칼 소거 물질

장규관¹ · 오현철² · 고은경 · 강기홍 · 박성은 · 오명훈 · 김윤철*
원광대학교 약학대학, ¹원광대학교 자연식물원, ²원광대학교 한의학전문대학원

Free Radical Scavengers from the Leaves of *Albizzia julibrissin*

Kyu-Gwan Jang,¹ Hyuncheol Oh,² Eun-Kyung Ko, Ki-Hong Kang, Sung-Eun Park,
Myung-Hun Oh and Youn-Chul Kim*

MRRC and College of Pharmacy, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

¹Botanical Garden, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

²Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

Abstract – Assay-guided fractionation of the methanol extract of the leaves of *Albizzia julibrissin* has furnished quercitrin (**1**) and afzelin (**2**) as the scavengers of DPPH radical. Quercitrin and afzelin showed scavenging activity of DPPH free radical with the IC₅₀ values of 17.3 and 71.5 μM, respectively.

Key words – *Albizzia julibrissin*, free radical scavenger, DPPH, quercitrin, afzelin

최근 자유라디칼이 여러 질병에 관여한다는 사실이 알려지고 있다. 자유라디칼은 생체막의 불포화 지방산을 공격하여 생체막 과산화 지질을 일으키고, 이는 노화, 발암 및 동맥경화 등과 밀접한 관계가 있는 것으로 보고되었다.¹⁾ 또한, 지질과산화는 식품의 저장 과정에 있어서 변성의 중요요인으로도 알려져 있다. 따라서, 새로운 자유라디칼 소거능을 가지는 화합물의 발견은 의미 있는 것으로 생각된다. 저자 등은 천연물로부터 자유라디칼 소거물질의 도출을 목적으로 예비 검색을 실시하여 자귀나무 잎의 메탄올 추출물이 유의성 있는 결과를 나타냄을 알 수 있었다.

자귀나무(*Albizzia julibrissin* Durazz)는 콩과(Leguminosae)에 속하는 낙엽교목으로 그 줄기 껍질을 합환피(合歡皮)라 하며, 해울(解鬱), 화혈(和血), 소종(消腫)의 효능이 있고, 심실불안, 우울불면, 옹종(癰腫), 나력, 근골절상의 치료에 이용되고 있다.²⁾ 자귀나무에 대한 연구로는 합환피로부터 세포독성 saponin의 분리^{3,4)} 및 합환화로부터 진정작용을 가지는 flavonol 배당체의 보고가 있었다.⁵⁾ 저자 등은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거활성 검색에서 유의성 있는 효과를 나타낸 자귀나무 잎의 메탄올 추출물로부터 자유라디칼 소거능을 가지는 2종의 flavonol 배당

체를 분리하여 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 및 기기 – 자귀나무 잎은 2001년 7월 원광대학교 캠퍼스에서 채집하여 음건한 후 세절하여 사용하였으며 증거표본(WP No. 515)은 원광대학교 약학대학 생약표본실에 보관되어 있다. Column chromatography용 담체는 silica gel(70-230 mesh, Merck)을 사용하였으며, TLC plate는 Kieselgel 60 F₂₅₄ plate(0.2 mm, Merck)를 사용하였다. 기타 시약과 용매는 1급 또는 특급시약을 사용하였다. 또한 사용한 기기는 다음과 같다. ¹H-, ¹³C-NMR spectrum은 JEOL ECP-500을 사용하여 측정하였다.

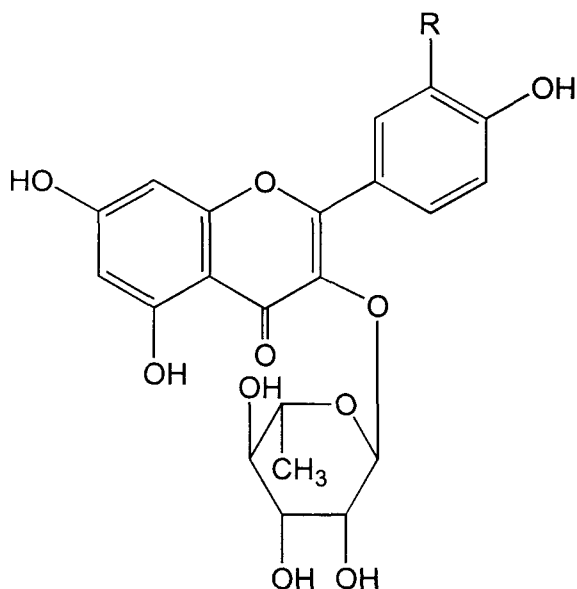
추출 및 분리 – 건조한 자귀나무 잎 116 g을 세절한 후 메탄올(2.5 l)로 환류시키면서 2시간 1회 추출한 다음 온시에 여과한 후 여액을 감압농축하여 메탄올 추출물(17.7 g)을 얻었다. 얻어진 메탄올 추출물을 silica gel column에 흡착시킨 후 CH₂Cl₂(500 ml), acetone(500 ml) 및 CH₂Cl₂:MeOH(1:1, 500 ml)을 사용하여 순차적으로 용출시켜 CH₂Cl₂분획(9.46 g), acetone 분획(2.24 g) 및 CH₂Cl₂:MeOH(1:1)분획(2.4 g)을 얻었다. 이 중 DPPH소거 활성을 나타낸 acetone분획(2.24 g)을 silica gel column chromatography

*교신저자(E-mail) : yckim@wonkwang.ac.kr

(CH₂Cl₂-MeOH, 32:1 - 1:1)를 시행하여 TLC의 양상에 따라 3개의 분획(Fr. A-C)으로 나누었다. 활성분획인 Fr. C(1.78 g)는 silica gel column chromatography(CH₂Cl₂-MeOH, 5:1)를 2회 반복시행하여 TLC의 양상에 따라 3개의 분획(Fr. D-F)로 나누었다. Fr. E (950 mg)는 Sephadex LH-20 column chromatography(CH₂Cl₂-MeOH, 6:1)를 시행하여 화합물 **1**(235.6 mg, 0.2 w/w%)과 화합물 **2**(92.4 mg, 0.08 w/w%)를 얻었다.

compound **1** - 미황색 분말; mp 180~182°C; IR, ν_{\max}^{KBr} 3220 (OH) and 1650 (C=O) cm⁻¹; UV, λ_{\max} (MeOH) 258, 306sh, 352 nm; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 0.92 (3H, d, $J=6.0$ Hz, H-6"), 3.30 (1H, m, H-4"), 3.40 (1H, m, H-5"), 3.74 (1H, dd, $J=3.2, 9.6$ Hz, H-3"), 4.21 (1H, dd, $J=1.8, 3.2$ Hz, H-2"), 5.34 (1H, d, $J=1.8$ Hz, H-1"), 6.19 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-6), 6.36 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-8), 6.90 (1H, d, $J=8.3$ Hz, H-5'), 7.30 (1H, dd, $J=1.8, 8.3$ Hz, H-6'), 7.32 (1H, d, $J=1.8$ Hz, H-2'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 177.68 (C-4), 164.39 (C-7), 161.27 (C-5), 157.23 (C-9), 156.44 (C-2), 148.44 (C-4'), 145.19 (C-3'), 134.17 (C-3), 121.08 (C-1'), 120.69 (C-6'), 115.60 (C-5'), 115.43 (C-2'), 103.98 (C-10), 101.81 (C-1"), 98.72 (C-6), 93.63 (C-8), 71.15 (C-4"), 70.57 (C-3"), 70.33 (C-2"), 70.04 (C-5"), 17.48 (C-6").

compound **2** - 미황색 분말; mp 184~186°C; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 0.91 (3H, d, $J=5.4$ Hz, H-6"), 3.30



1: R = OH

2: R = H

(1H, m, H-4"), 3.34 (1H, m, H-5"), 3.70 (1H, dd, $J=3.2, 9.1$ Hz, H-3"), 4.21 (1H, dd, $J=1.8, 3.2$ Hz, H-2"), 5.37 (1H, d, $J=1.8$ Hz, H-1"), 6.20 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-6), 6.36 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-8), 6.92 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-3', 5'), 7.75 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-2', 6').

DPPH 라디칼 소거활성 검색⁶⁾ - 0.1 mM DPPH 에탄올 용액(1 ml), 에탄올(1 ml), 0.05 M Tris-HCl 완충용액 (pH 7.4; 0.95 ml)의 혼합용액에 시료 에탄올 용액(50 μ l)을 넣고 실온에서 30분간 반응시켜 각 반응액의 흡광도를 517 nm에서 측정하였다. 대조구로는 시료 대신 에탄올을 넣어 시료의 흡광도 감소 정도를 검토하였으며, DPPH 라디칼을 50% 소거시키는 시료의 농도를 IC₅₀치로 나타내었다. 시료는 단계별로 희석한 4가지 농도를 이용하였으며, 각각 3회 측정하여 평균치를 구하였다. 양성 대조약물로는 L-ascorbic acid를 사용하여 DPPH 자유라디칼 소거활성을 비교하였다.

결과 및 고찰

화합물 **1**은 FeCl₃ 반응 및 Mg-HCl 반응에 양성반응을 나타내었으며, ¹H-NMR spectrum에서는 flavonoid의 골격의 특징인 proton signal들이 나타났다. 즉, 5개의 방향족 proton에 기인하는 signal이 관찰되었으며, 이들 중 6.19 및 6.36 ppm에 나타난 meta-couple된 2개의 signal은 A ring의 각각 6번과 8번 탄소 위치에 결합한 수소로 예상되었으며, 6.90, 7.30 및 7.32 ppm에 나타난 3개의 proton signal의 coupling constant를 검토한 결과 이들은 B ring의 2개의 탄소가 치환된 구조임을 추정할 수 있었으며, 5.34 ppm에 나타난 1개의 anomeric proton과 0.92 ppm의 doublet 3H 및 3.30~4.21 ppm의 methine protons는 rhamnose에 기인한 signal로 판단되었다. 또한, ¹³C-NMR spectrum을 검토한 결과에서도 화합물 **1**은 quercetin과 rhamnose가 각각 1 mole씩 결합한 배당체임을 알 수 있었다. 이들 NMR spectra와 문헌치⁷⁾를 비교하여 화합물 **1**의 구조를 quercitrin(quercetin 3-O- α -L-rhamnopyranoside)으로 동정하였다.

화합물 **2**는 물리화학적 성질 및 spectral data를 검토한 결과 화합물 **1**과 유사한 구조를 가지는 것으로 생각되었다. 즉, 화합물 **1**과 **2**의 ¹H-NMR spectrum을 비교한 결과 화합물 **2**는 B ring이 para 치환된 비당체를 가지는 것 외에는 화합물 **1**과의 차이점을 발견할 수 없었다. 이와 같은 결과로부터 그 구조를 afzelin(kaempferol 3-O- α -L-rhamnopyranoside)으로 추정하였으며, Platycarya strobiliceae의 수피로부터 분리, 보고되어진 문헌치⁷⁾와 비교한 결과 일치함을 알 수 있었다.

분리된 화합물 **2**종에 대한 DPPH 자유라디칼 소거활성을

검토한 결과 화합물 1과 2는 각각 17.3 및 71.5 μM 의 농도에서 DPPH 라디칼을 50% 소거하는 활성을 나타내었으며, 이 중 화합물 1은 양성 대조약물로 이용했던 L-ascorbic acid ($\text{IC}_{50}=50.3 \mu\text{M}$)에 비하여 강한 활성을 나타내었다. 한편, 화합물 1인 quercitrin은 monoamine oxidase type B의 활성을 억제하는 것으로 보고되어져 있으며, 이는 hydroxyl radical 소거능에 기인하는 것으로 알려져 있다.⁸⁾ 또한, 인간 lymphocytes에 있어서 산화적 DNA 손상을 보호한다는 보고가 있어,⁹⁾ 이 또한 quercitrin의 자유라디칼 소거능이 관여하는 것으로 생각된다. 따라서, 저자 등은 앞으로 자귀나무 잎에서 분리된 2종의 flavonol 배당체에 대하여 자유라디칼과 관련된 간손상 등의 보호효과를 검토하고자 한다.

결 론

천연물로부터 항산화 활성물질을 발견할 목적으로 DPPH 자유라디칼 소거활성 검색법을 활용하여 검색을 실시하고, 유의한 활성을 나타낸 자귀나무 잎의 메탄올 추출물로부터 2종의 화합물을 분리하고 기기분석을 이용하여 화합물 1과 2의 구조를 각각 flavonol배당체인 quercitrin과 afzelin으로 동정하였다. 이들 화합물은 각각 17.3 및 71.5 μM 의 농도에서 DPPH 라디칼을 50% 소거하는 활성을 나타내었으며, 화합물 1은 양성 대조약물인 L-ascorbic acid ($\text{IC}_{50}=50.3 \mu\text{M}$)에 비하여 강한 활성을 나타내었다.

사 사

본 연구는 21세기 프론티어연구개발사업인 자생식물이용 기술개발사업단의 연구비지원(PF002105-01)에 의해 수행되었습니다.

인용문헌

- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. (1984) Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage and anti-oxidant therapy. *Lancet* **23**: 1396-1397.
- 배기환(2000) 한국의 약용식물, 239. 교학사, 서울.
- Ikeda, T., Fujiwara, S., Araki, K., Kinjo, J., Nohara, T. and Miyoshi, T. (1997) Cytotoxic glycosides from *Albizzia julibrissin*. *J. Nat. Prod.* **60**: 102-107.
- Zou, K., Zhao, Y., Tu, G., Cui, J., Jia, Z. and Zhang, R. (2000) Two diastereomeric saponins with cytotoxic activity from *Albizzia julibrissin*. *Carbohydr. Res.* **324**: 182-188.
- Kang, T. H., Jeong, S. J., Kim, N. Y., Higuchi, R. and Kim, Y. C. (2000) Sedative activity of two flavonol glycosides isolated from the flowers of *Albizzia julibrissin* Durazz. *J. Ethnopharmacol.* **71**: 321-323.
- Kumar, V. P., Shashidhara, S., Kumar, M. M. and Sridhara, B. Y. (2000) Effect of *Luffa echinata* on lipid peroxidation and free radical scavenging activity. *J. Pharm. Pharmacol.* **52**: 891-894.
- Lee, J. H., Kwon, Y. S. and Kim, C. M. (1998) Flavonoids from the stem bark of *Platycarya strobilacea*. *Kor. J. Pharmacogn.* **29**: 353-356.
- Lee, M. H., Lin, R. D., Shen, L. Y., Yang, L. L., Yen, K. Y. and Hou, W. C. (2001) Monoamine oxidase B and free radical scavenging activities of natural flavonoids in *Melastoma candidum* D. Don. *J. Agric. Food Chem.* **49**: 5551-5555.
- Noroozi, M., Angerson, W. J. and Lean, M. E. (1998) Effects of flavonoids and vitamin C on oxidative DNA damage to human lymphocytes. *Am. J. Clin. Nutr.* **67**: 1210-1218.

(2002년 1월 5일 접수)