

## 자운영(*Astragalus sinicus*)종자의 페놀성 화합물 및 항산화 활성

염승환 · 김민기 · 김현정 · 심재걸 · 이재희 · 이민원\*  
중앙대학교 약학대학

### Phenolic Compounds from Seeds of *Astragalus sinicus* and Its Antioxidative Activities.

Seung-Hwan Yeom, Min-Kee Kim, Hyun-Jung Kim, Jae-Geul Shim, Jae-Hee Lee, and Min-Won Lee\*

College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea

**Abstract** – Phytochemical examination of seeds of *Astragalus sinicus* has led to the isolation and characterization of kaempferol 3-*O*- $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside (1), quercetin 3-*O*- $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranoside (2), ampelopsin (3), ampelopsin 3'-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (4), ampelopsin 3'-*O*- $\beta$ -D-xylopyranoside (5), myricetin (6), myricetin 3'-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (7), myricetin 3'-*O*- $\beta$ -D-xylopyranoside (8). Antioxidative activity of these compounds was determined by measuring the radical scavenging effect on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radicals. Flavanonols(3, 4, and 5) showed potent antioxidative activity.

**Key words** – *Astragalus sinicus*, Flavonoid, Antioxidative activities

자운영(*Astragalus sinicus*)은 콩과(Leguminosae)이고 황기속(*Astragalus Linne*)이며, 중국 원산으로, 우리 나라 남부에서 재배하는 월년초이다. 키 19–25 cm. 밑에서 가지가 많이 갈라져 옆으로 자라다 곧게서고, 잎은 1회 깃꼴겹잎, 작은잎은 9–11장, 도란형, 타원형이고, 길이 6–20 mm, 끝이 둥글거나 패어진다. 꽃은 홍자색, 간혹 흰색. 길이 12 mm, 7–10송이씩 산형화서로 달리고, 화축은 길다. 말린씨는 편평한 신장형인데 한 끝은 비교적 길고 대개 갈고리 모양으로 길이는 3–4 mm이다. 겉면은 황녹색 또는 갈색을 때때 반들반들하고 윤기가 나며, 민간적으로 제한약, 이노제, 강장제, 항당뇨, 저혈압제로 쓰였다.<sup>1-4)</sup>

황기속의 구성성분으로는 주로 triterpene glycoside<sup>5-20)</sup>계통이 많이 보고 되었고, flavonoid<sup>6,20,21)</sup>와 isoflavonoid<sup>22-24)</sup>도 보고가 되었다.

생리활성 연구로는 McCracken<sup>25)</sup> 등이 황기속에 식물에 대한 독성실험을 하였고, Abdallah<sup>26,27)</sup> 등이 *A. trigonus*와 *A. spinosus*에서 분리한 cycloartane triterpene glycoside의 인간 암세포에서 항암작용과 HIV 항바이러스 작용에 대해 연구하였다. Luisa<sup>11)</sup> 등은 *A. verrucosus*의 엑스와 이 식물에서 분리된 astraverrucins I-VI을 가지고 항미생작용과 항균

작용에 대해 연구하였다. Baek<sup>23)</sup> 등은 황기 *A. membranaceus*에서 분리된 3,4-methylenedioxyppyrolealdehyde와 7-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl 7,3'-dihydroxy-4'-methoxy isoflavone의 간기능보호 기능을 보고하였다.

본 연구에서는 자운영(*Astragalus sinicus*) 종자로부터 페놀성화합물을 분리하여 그 항산화 효과를 파악하고자 하였다.

#### 재료 및 방법

**실험재료** – 본 실험에서 사용한 자운영(*Astragalus sinicus*)의 종자는 2002년 12월 시판하는 것을 경동시장에서 구입하여 사용하였다.

**기기 및 시약** – IR spectrophotometer : Shimadzu IR-435 (Japan), KBr, <sup>1</sup>H-NMR spectrometer : Varian GEMINI 2000, 300 MHz (USA), Bruker AMX-500, 500 MHz (Germany), <sup>13</sup>C-NMR spectrometer : Varian GEMINI 2000, 75 MHz (USA), Bruker AMX-500, 125 MHz (Germany), Mass spectrometer : API 3000 triple quadrupole mass spectrometry (Canada), TLC : Adsorbent ; Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Merck, Germany), Cellulose (Sigma, USA), Solvent (v/v); CHCl<sub>3</sub> : MeOH : H<sub>2</sub>O=6 : 4 : 1, 70 : 30 : 4 Detection; Ethanolic-FeCl<sub>3</sub> solution, 10%-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in H<sub>2</sub>O (heating),

\*교신저자(E-mail) : mwlee@cau.ac.kr  
(FAX) : 02-822-9778

UV-lamp (254 nm), Chromatographic gels : Sephadex LH-20 (25–100 μm, Sigma, USA), MCI-gel CHP-20P (75–150 μm, Mitsubishi, Japan), YMC-gel ODS-A(230/70, 400/230, 500/400 mesh, YMC Co., Japan), Low Pressure Liquid Column Chromatography (pump : Gilson minipuls 3, detector : Gilson 112 UV/VIS (254 nm), gel : YMC-gel ODS-A (500/400 mesh, YMC Co., Japan), data system : Autochro-Win 3.0 plus (Young-lin Co., Korea))

DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), *l*-ascorbic acid, 2-thiobarbituric acid는 Sigma에서 구입하였고, 99.5% ethanol은 Merck, trichloroacetic acid는 ACROS에서 구입하여 사용하였다. 기타용매는 1급 시약을 사용하여 실험하였다. 흡광도는 Human TU-1800PC UV/Vis spectrophotometer (PGENERAL)를 사용하여 측정하였다.

**추출 및 분리** - 자운영 종자 800 g을 80% aqueous acetone으로 실온에서 3회 추출하여 여과하였다. 그 추출액을 감압 농축한 엑스(80 g)를 H<sub>2</sub>O에 현탁하여 여과한 후 Sephadex LH-20 컬럼크로마토그래피를 실시하였다. 용매는 물에서부터 메탄올을 10%씩 올려 100%까지 농도를 높였으며 TLC를 실시하여 7개의 fraction으로 나누었다. Fr.2에 대해서는 MCI-gel CHP 20P (20% MeOH→100% MeOH, gradient system) 및 ODS-gel을 이용한 Low pressure liquid column chromatography (H<sub>2</sub>O→80% MeOH, gradient system)을 실시하여 compound **1** (170 mg)을 얻었다. Fr.3에 대하여는 ODS-gel을 이용한 Low pressure liquid column chromatography (20% MeOH→80% MeOH, gradient system)와 MCI-gel CHP 20P (H<sub>2</sub>O→80% MeOH, gradient system)를

실시하여 compound **2** (264 mg)를 얻었고, MCI-gel CHP 20P (H<sub>2</sub>O→100% MeOH, gradient system)를 이용하여 compound **3** (95 mg)를 얻었다. Fr. 4, 5, 6, 7에 대해서는 ODS-gel을 통한 Low pressure liquid column chromatography (20% MeOH→80% MeOH, gradient system)를 실시하여 compound **4** (824 mg), **5** (189 mg), **6** (112 mg), **7** (129 mg), **8** (110 mg)를 얻었다.

**Kaempferol 3-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-α-L-rhamnopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside (1)**

Yellow amorphous powder, IR ν<sub>max</sub><sup>KBr</sup> cm<sup>-1</sup> : 3361 (OH),

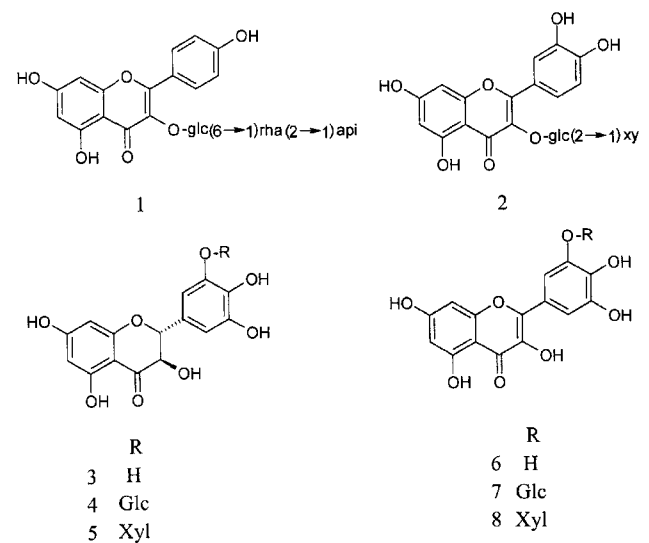
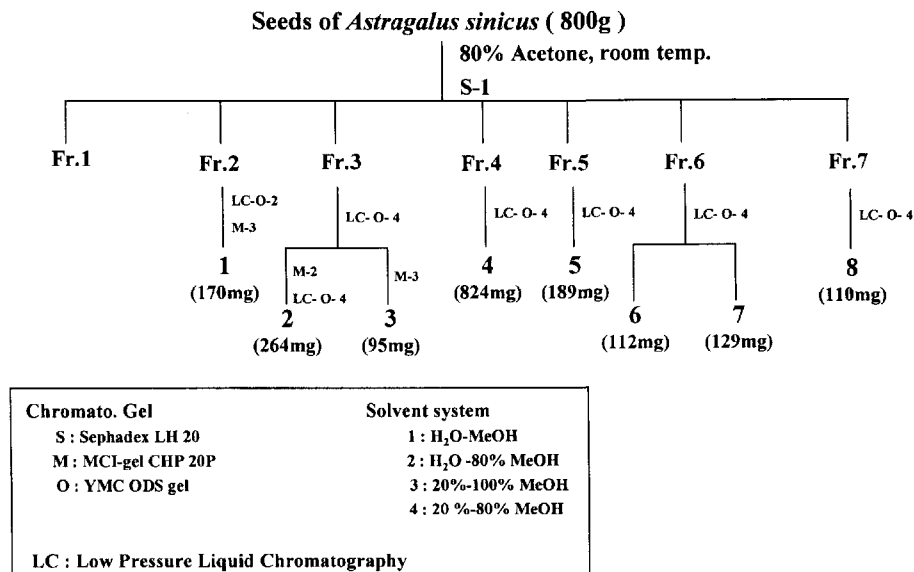


Fig. 1. Structures of Compounds 1-8.



Scheme 1. Extraction and isolation procedures.

1637, 1515 (aromatic C=C) Negative FAB MS :  $m/z$  725 [M-H]<sup>-</sup> <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ ) :  $\delta$  7.98 (2H, d,  $J=8.5$  Hz, H-2', 6'), 6.86 (2H, d,  $J=9.0$  Hz, H-3', 5'), 6.39 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-8), 6.18 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-6), 5.44 (1H, d,  $J=7.0$  Hz, glc-1), 5.31 (1H, s, api-1), 4.30 (1H, s, rha-1), 0.92 (m, rha-6), <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, DMSO- $d_6$ ) : <Table I>

#### Quercetin 3-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranoside (2)

Brown amorphous powder, IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$   $\text{cm}^{-1}$  : 3348 (OH), 1658, 1592 (aromatic C=C), Negative FAB MS :  $m/z$  595 [M-H]<sup>-</sup> <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ +D<sub>2</sub>O) :  $\delta$  7.77 (1H, dd,  $J=8.4, 2.4$  Hz, H-6'), 7.53 (1H, d,  $J=2.4$  Hz, H-2'), 6.84 (1H, d,  $J=8.4$  Hz, H-5'), 6.41 (1H, d,  $J=1.8$  Hz, H-8), 6.20 (1H, d,  $J=1.8$  Hz, H-6), 5.72 (1H, d,  $J=7.2$  Hz, glc-1), 4.56 (1H,  $J=7.5$  Hz, xyl-1), <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO- $d_6$ ) : <Table I>

#### Ampelopsin (3)

Brown amorphous powder,  $[\alpha]_D^{20}$  : + 41.8° (c=0.01, MeOH), IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$   $\text{cm}^{-1}$  : 3249 (OH), 1625, 1471 (aromatic C=C) Negative FAB MS :  $m/z$  319 [M-H]<sup>-</sup> <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ +D<sub>2</sub>O) :  $\delta$  6.54 (2H, s, H-2', 6'), 5.93 (1H, d,  $J=2.1$  Hz, H-8), 5.90 (1H, d,  $J=2.1$  Hz, H-6), 4.84 (1H, d,  $J=11.4$  Hz, H-2), 4.47 (1H, d,  $J=11.4$  Hz, H-3), <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO- $d_6$ ) : <Table I>

#### Ampelopsin 3'-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (4)

Yellow amorphous powder,  $[\alpha]_D^{20}$  : + 73.1° (c=0.01, MeOH), IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$   $\text{cm}^{-1}$  : 3370 (OH), 1647, 1515 (aromatic C=C) Negative FAB MS :  $m/z$  481 [M-H]<sup>-</sup> <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ +D<sub>2</sub>O) :  $\delta$  6.76 (1H, d,  $J=1.8$  Hz, H-2'), 6.64 (1H, d,  $J=1.8$  Hz, H-6'), 5.90 (1H, d,  $J=2.1$  Hz, H-8), 5.86 (1H, d,  $J=2.1$  Hz, H-6), 4.94 (1H, d,  $J=11.1$  Hz, H-2), 4.49 (1H, d,  $J=11.1$  Hz, H-3), 4.64 (1H, d,  $J=7.2$  Hz, glc-1), <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO- $d_6$ ) : <Table I>

#### Ampelopsin 3'-O- $\beta$ -D-xylopyranoside (5)

Brown amorphous powder,  $[\alpha]_D^{20}$  : + 69.5° (c=0.01, MeOH), IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$   $\text{cm}^{-1}$  : 3414 (OH), 1637, 1504 (aromatic C=C) Negative FAB MS :  $m/z$  451 [M-H]<sup>-</sup> <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ +D<sub>2</sub>O) :  $\delta$  6.81 (1H, d,  $J=1.8$  Hz, H-

2'), 6.77 (1H, d,  $J=1.8$  Hz, H-6'), 5.93 (1H, d,  $J=1.8$  Hz, H-8), 5.90 (1H, d,  $J=1.8$  Hz, H-6), 4.91 (1H, d,  $J=11.4$  Hz, H-2), 4.77 (1H, d,  $J=7.2$  Hz, xyl-1), 4.47 (1H, d,  $J=11.4$  Hz, H-3), <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO- $d_6$ ) : <Table I>

#### Myricetin (6)

Brown amorphous powder, IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$   $\text{cm}^{-1}$  : 3260 (OH), 1647, 1592 (aromatic C=C) Negative FAB MS :  $m/z$  317 [M-H]<sup>-</sup> <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ +D<sub>2</sub>O) :  $\delta$  7.27 (2H, s, H-2', 6'), 6.38 (1H, d,  $J=1.5$  Hz, H-8), 6.20 (1H, d,  $J=1.5$  Hz, H-6), <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO- $d_6$ ) : <Table I>

#### Myricetin 3'-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (7)

Brown amorphous powder, IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$   $\text{cm}^{-1}$  : 3348 (OH), 1658, 1592 (aromatic C=C) Negative FAB MS :  $m/z$  479 [M-H]<sup>-</sup> <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ +D<sub>2</sub>O) :  $\delta$  7.55 (1H, d,  $J=1.8$  Hz, H-2'), 7.53 (1H, d,  $J=1.8$  Hz, H-6'), 6.43 (1H, d,  $J=1.8$  Hz, H-8), 6.20 (1H, d,  $J=1.8$  Hz, H-6), 4.93 (1H, d,  $J=5.4$  Hz, glc-1), <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO- $d_6$ ) : <Table I>

#### Myricetin 3'-O- $\beta$ -D-xylopyranoside (8)

Green amorphous powder, IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$   $\text{cm}^{-1}$  : 3337 (OH), 1655, 1592 (aromatic C=C) Negative FAB MS :  $m/z$  449 [M-H]<sup>-</sup> <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ +D<sub>2</sub>O) :  $\delta$  7.49 (2H, s, H-2', 6'), 6.43 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-8), 6.21 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-6), 4.74 (1H, d,  $J=7.5$  Hz, xyl-1), <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, DMSO- $d_6$ ) : <Table I>

**라디칼 소거작용의 측정** - Hatano *et al.*의 방법<sup>28)</sup>에 의하여 시료를 각 농도별로 조제한 용액 100  $\mu$ l (control : 99.5% ethanol)에 0.1 mM DPPH 용액 (99.5% ethanol) 1.9 ml을 가하였다. 각 시료는 5가지 농도로 조제하였다. Vortex mixer로 10초간 진탕한 후 37°C에서 30분 동안 incubation 시킨 후 spectrophotometer를 이용하여 515 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조약물로는 ascorbic acid를 5가지 농도로 조제하여 측정하였다. 각 시료의 항산화작용은 IC<sub>50</sub> 치 (DPPH 라디칼 형성을 50%로 억제하는 데 필요한 농도 mM)로 나타내었다.

## 결과 및 고찰

Compound 1은 황색분말이며 TLC에서 FeCl<sub>3</sub> 분무에 의

**Table I.**  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra of Compound 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, and 8

Carbon number	1**	1a*	2*	2a*	3*	3a*	4*	5*	6*	6a*	7*	8**
C-2	156.6	146.8	156.2	147.5	85.4	83.2	83.3	84.9	147.0	147.1	146.6	146.2
C-3	133.1	135.6	133.3	136.5	73.7	71.6	71.6	73.5	136.1	136.1	136.2	136.2
C-4	177.6	175.9	177.7	176.5	198.7	197.5	198.0	198.4	176.0	176.0	176.1	176.0
C-5	161.5	160.7	161.4	161.0	164.7	162.4	163.6	165.3	160.1	161.0	160.9	160.8
C-6	98.9	98.2	98.4	99.5	96.5	94.9	95.3	96.2	98.3	98.5	98.3	98.3
C-7	164.2	163.9	164.3	166.0	169.0	166.7	167.2	168.7	164.2	164.2	164.2	164.0
C-8	93.9	93.5	93.6	94.5	97.5	95.9	96.2	96.3	93.3	93.5	93.8	93.4
C-9	156.7	156.2	155.5	156.7	165.5	163.3	162.8	164.4	156.3	156.4	156.4	156.1
C-10	104.2	103.1	104.0	104.0	101.9	100.4	100.6	101.8	103.1	103.3	103.2	103.1
C-1'	121.2	121.7	121.4	123.0	129.2	127.1	127.4	129.1	120.9	121.2	121.2	121.0
C-2'	131.1	129.5	115.4	116.0	108.2	106.9	108.0	109.9	107.3	107.5	108.3	108.4
C-3'	115.4	115.4	145.2	145.7	147.1	145.6	145.8	146.8	145.9	146.0	145.8	145.7
C-4'	160.0	159.2	148.8	148.1	135.1	133.4	135.6	137.3	136.1	136.1	137.8	137.8
C-5'	115.4	115.4	115.9	116.5	147.1	145.6	145.9	147.1	145.9	146.0	146.3	145.8
C-6'	131.1	129.5	122.5	121.0	108.2	106.9	110.5	111.5	107.3	107.7	110.9	110.5
glc-1	98.9		98.5				102.6				103.9	
2	74.1		81.7				73.5				70.7	
3	76.4		77.5				76.1				72.7	
4	70.6		69.4				69.9				68.1	
5	77.1		76.1				77.3				75.8	
6	66.8		60.5				60.7				60.4	
rha-1	100.8											
2	75.8											
3	70.5											
4	70.8											
5	68.4											
6	17.8											
api-1	108.9											
2	77.4											
3	79.5											
4	72.0											
5	77.1											
xyl-1			104.4					104.6				103.4
2			73.8					74.5				73.2
3			76.7					77.2				75.9
4			69.3					70.8				69.5
5			65.6					66.9				65.9

Solvent : \* 75 MHz, DMSO- $d_6$ , \*\*125 MHz, DMSO- $d_6$ 

1a, 2a, 3a, 6a :kaempferol, quercetin, ampelopsin, myricetin respectively in the reference

해서 열린 갈색을 나타냈으며, IR spectrum에서도 3361 (OH), 1637, 1515 (aromatic C=C)  $\text{cm}^{-1}$  등에서 흡수를 나타내 flavonoid 화합물로 추정되었다.

$^1\text{H}$ -NMR spectrum에서는 방향족 영역에서 meta coupling 하고 있는 H-6과 H-8의 signal이 각각  $\delta$  6.18 (1H, d,  $J=2.0$

Hz) 및 6.39 (1H, d,  $J=2.0$  Hz)에서 나타났으며,  $A_2B_2$  type 의 H-2', H-6' 및 H-3', H-5'의 signal이 각각  $\delta$  7.98 (2H, d,  $J=8.5$  Hz), 6.86 (2H, d,  $J=9.0$  Hz)에서 나타났다. 한편, 3개의 anomeric proton signal이 각각  $\delta$  5.44 (1H, d,  $J=7.0$  Hz), 4.30 (1H, s), 5.31 (1H, s)이 나타나 1은 3,5,7,4'-tetrahy-

droxyflavonol (kaempferol) triglycoside임을 추정할 수 있었다.

$^{13}\text{C-NMR}$  spectrum에서는 kaempferol과 비교하여 C-2가  $\delta$  156.6으로 저자장으로, C-3이  $\delta$  133.1으로 고자장 shift하여 당이 3번 위치에 결합한 것을 알 수 있었으며, glucose, rhamnose, apiose의 peak를 각각 확인하였다. 또한,  $^1\text{H-NMR}$  COSY와 HMQC spectrum을 통하여 각각의 carbon과 proton을 귀속시킨 후 HMBC spectrum에서 C-3과 glucose 1번수소, glucose 6번탄소와 rhamnose 1번수소, rhamnose 2번탄소와 apiose 1번수소 사이의 correlation peak를 확인하여 각 결합위치를 확인하였으며, negative FAB MS spectrum에서  $m/z$  724 [M-H] $^-$ 의 피크를 보여주었다.

이상의 기기분석 결과로부터 이 화합물을 kaempferol 3-O- $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside로 확인하였으며, 문헌과의 data 비교를 통해 동정하였다.<sup>29,30)</sup>

Compound 2은 갈색분말이며 TLC에서  $\text{FeCl}_3$  분무에 의해서 옅은 갈색을 나타냈으며, IR spectrum에서도 3348 (OH), 1658, 1592 (aromatic C=C)  $\text{cm}^{-1}$  등에서 흡수를 나타내 flavonoid 화합물로 추정되었다.

$^1\text{H-NMR}$  spectrum에서는 방향족 영역에서 meta coupling 하고 있는 H-6과 H-8의 signal이 각각  $\delta$  6.20 (1H, d,  $J=1.8$  Hz) 및 6.41 (1H, d,  $J=1.8$  Hz)에서 나타났으며, ABX type의 H-2', H-5', H-6'의 signal이 각각  $\delta$  7.53 (1H, d,  $J=2.4$  Hz), 6.84 (1H, d,  $J=8.4$  Hz), 7.77 (1H, dd,  $J=8.4, 2.4$  Hz)에서 나타났다. 2개의 당에 의한 anomeric proton signal이 각각  $\delta$  5.72 (1H, d,  $J=7.2$  Hz), 4.56 (1H, d,  $J=7.5$  Hz)이 나타나 2는 3,5,7,3',4'-pentahydroxyflavonol (quercetin) diglycoside로 추정되었다.

$^{13}\text{C-NMR}$  spectrum에서는 quercetin과 비교하여 C-2가  $\delta$  156.5, C-3이  $\delta$  133.3으로 저자장으로 shift하여 glucose가 3번 위치에 결합한 것을 알 수 있었으며, glucose와 xylose의 peak를 나타내었고, negative FAB MS spectrum에서  $m/z$  595 [M-H] $^-$ 의 피크를 보여주었다. 이상의 기기분석 결과와 문헌과의 data 비교를 통해 이 화합물을 quercetin 3-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranoside로 확인, 동정하였다.<sup>31)</sup>

Compound 3은 황색분말이며 TLC에서  $\text{FeCl}_3$  분무에 의해서 옅은 갈색을 나타냈으며, IR spectrum에서도 3249 (OH), 1625, 1471 (aromatic C=C)  $\text{cm}^{-1}$  등에서 흡수를 나타내 flavonoid 화합물로 추정되었다.

$^1\text{H-NMR}$  spectrum에서는 방향족 영역에서 meta coupling 하고 있는 H-6과 H-8의 signal이 각각  $\delta$  5.90 (1H, d,  $J=2.1$  Hz) 및 5.93 (1H, d,  $J=2.1$  Hz)에서 나타났으며 H-2',

6'의 signal은  $\delta$  6.54 (2H, s)에서 나타났고, H-2는  $\delta$  4.84 (1H, d,  $J=11.4$  Hz)에서, H-3은  $\delta$  4.47 (1H, d,  $J=11.4$  Hz)에서 나타나 이 화합물을 3,5,7,3',4',5'-hexahydroxy flavanonol (ampelopsin)로 추정되었다.

$^{13}\text{C-NMR}$  spectrum에서 문헌의 ampelopsin과 동일한 peak를 보여주었고, negative FAB MS spectrum에서  $m/z$  451 [M-H] $^-$ 의 피크를 보여주었다.

이상의 기기분석 결과와 문헌과의 data 비교를 통해 이 화합물을 ampelopsin으로 확인, 동정하였다.<sup>32)</sup>

Compound 4은 황색분말이며 TLC에서  $\text{FeCl}_3$  분무에 의해서 옅은 갈색을 나타냈으며, IR spectrum에서도 3370 (OH), 1647, 1515 (aromatic C=C)  $\text{cm}^{-1}$  등에서 흡수를 나타내 flavonoid 화합물로 추정되었다.

$^1\text{H-NMR}$  spectrum에서는 방향족 영역에서 meta coupling 하고 있는 H-6과 H-8의 signal이 각각  $\delta$  5.86 (1H, d,  $J=2.1$  Hz) 및 5.90 (1H, d,  $J=2.1$  Hz)에서 나타났으며, H-2'와 H-6'의 signal이  $\delta$  6.76 (1H, d,  $J=1.8$  Hz) 및 6.64 (1H, d,  $J=1.8$  Hz)에서 나타났고, H-2는  $\delta$  4.94 (1H, d,  $J=11.1$  Hz)에서, H-3은  $\delta$  4.49 (1H, d,  $J=11.1$  Hz)에서 나타났다. 한편,  $\delta$  4.64에서 당의 anomeric proton에 의한 signal이 doublet ( $J=7.2$  Hz)로 나타나 4는 ampelopsin의 glycoside임을 추정할 수 있었다.

$^{13}\text{C-NMR}$  spectrum에서도 3과 비슷한 signal 패턴을 나타내었으나, ampelopsin의 C-3' 위치에 당이 결합함으로써 C-3', 5'가 각각  $\delta$  145.8과 145.9에서 나타났고, C-2', 6'도 각각  $\delta$  108.0와 110.5에서 나타났으며, glucose의 signal을 확인하였다. 또한 negative FAB MS spectrum에서  $m/z$  481 [M-H] $^-$ 의 피크를 나타내었다.

이상의 기기분석 결과를 통해 이 화합물을 ampelopsin 3'-O- $\beta$ -D-glucopyranoside로 확인하였으며, 문헌과의 data 비교를 통해 동정하였다.<sup>32)</sup>

Compound 5는 갈색분말이며 TLC에서  $\text{FeCl}_3$  분무에 의해서 옅은 갈색을 나타냈으며, IR spectrum에서도 3414 (OH), 1637, 1504 (aromatic C=C)  $\text{cm}^{-1}$  등에서 흡수를 나타내 flavonoid 화합물로 추정되었다.

$^1\text{H-NMR}$  spectrum에서는 방향족 영역에서 meta coupling 하고 있는 H-6과 H-8의 signal이 각각  $\delta$  5.90 (1H, d,  $J=1.8$  Hz) 및 5.93 (1H, d,  $J=1.8$  Hz)에서 나타났으며 H-2'와 H-6'의 signal이  $\delta$  6.81 (1H, d,  $J=1.8$  Hz) 및 6.77 (1H, d,  $J=1.8$  Hz)에서 나타났고, H-2는  $\delta$  4.91 (1H, d,  $J=11.4$  Hz)에서, H-3은  $\delta$  4.47 (1H, d,  $J=11.4$  Hz)에서 나타났다. 한편,  $\delta$  4.77에서 당의 anomeric proton에 의한 signal이 doublet ( $J=7.2$  Hz)로 나타나 5는 4와 비슷한 ampelopsin glycoside임을 추정할 수 있었다.

$^{13}\text{C}$ -NMR spectrum에서도 4와 비슷한 signal 패턴으로써, ampelopsin의 C-3', 5'가 각각  $\delta$  146.8과 147.1에서 나타났고, C-2', 6'도 각각  $\delta$  109.9와 111.5에서 나타나 C-3' 위치에 당이 결합한 것으로 확인되었고, xylose의 peak가 나타났으며, negative FAB MS spectrum에서  $m/z$  451 [M-H]<sup>-</sup>의 피크를 보여주었다.

이상의 기기분석 결과를 토대로 이 화합물을 ampelopsin 3'-O- $\beta$ -D-xylopyranoside로 확인하였으며, 문헌과의 data 비교를 통해 동정하였다.<sup>32)</sup>

Compound 6은 갈색분말이며 TLC에서 FeCl<sub>3</sub> 분무에 의해서 옅은 갈색을 나타냈으며, IR spectrum에서도 3260 (OH), 1647, 1592 (aromatic C=C) cm<sup>-1</sup> 등에서 흡수를 나타내 flavonoid 화합물로 추정되었다.

$^1\text{H}$ -NMR spectrum에서는 방향족 영역에서 meta coupling 하고 있는 H-6과 H-8의 signal이 각각  $\delta$  6.20 (1H, d,  $J=1.5$  Hz) 및 6.38 (1H, d,  $J=1.5$  Hz)에서 나타났으며 H-2', 6'의 signal은  $\delta$  7.27 (2H, s)에서 나타나 이 화합물을 3,5,7,3',4',5'-hexahydroxy flavonol (myricetin)로 추정되었다.

$^{13}\text{C}$ -NMR spectrum에서는 문헌의 myricetin과 동일한 peak를 보여주었고, negative FAB MS spectrum에서  $m/z$  317 [M-H]<sup>-</sup>의 피크를 보여주었다.

이상의 기기분석 결과와 문헌과의 data 비교를 통해 이 화합물을 myricetin으로 확인, 동정하였다.<sup>32)</sup>

Compound 7은 갈색분말이며 TLC에서 FeCl<sub>3</sub> 분무에 의해서 옅은 갈색을 나타냈으며, IR spectrum에서도 3348 (OH), 1658, 1592 (aromatic C=C) cm<sup>-1</sup> 등에서 흡수를 나타내 flavonoid 화합물로 추정되었다.

$^1\text{H}$ -NMR spectrum에서는 방향족 영역에서 meta coupling 하고 있는 H-6과 H-8의 signal이 각각  $\delta$  6.20 (1H, d,  $J=1.8$  Hz) 및 6.43 (1H, d,  $J=1.8$  Hz)에서 나타났으며 H-2'와 H-6'의 signal이  $\delta$  7.55 (1H, d,  $J=1.8$  Hz) 및 7.53 (1H, d,  $J=1.8$  Hz)에서 나타났으며,  $\delta$  4.93 ppm에서 당의 anomeric proton에 의한 signal이 doublet ( $J=5.4$  Hz)로 나타났다.

$^{13}\text{C}$ -NMR spectrum에서는 6과 비슷한 signal 패턴을 나타내었으나, myricetin의 C-3', 5'가 각각  $\delta$  145.8과 146.3에서 나타났고, C-2', 6'도 각각  $\delta$  108.3와 110.9에서 나타나 C-3' 위치에 당이 결합한 것으로 확인되었고, glucose의 peak가 나타났으며, negative FAB MS spectrum에서  $m/z$  479 [M-H]<sup>-</sup>의 피크를 보여주었다.

이상의 기기분석 결과를 토대로 이 화합물을 myricetin 3'-O- $\beta$ -D-glucopyranoside로 확인하였으며, 문헌과의 data 비교를 통해 동정하였다.<sup>32)</sup>

Compound 8은 녹색분말이며 TLC에서 FeCl<sub>3</sub> 분무에 의해서 옅은 갈색을 나타냈으며, IR spectrum에서도 3337

(OH), 1655, 1592 (aromatic C=C) cm<sup>-1</sup> 등에서 흡수를 나타내 flavonoid 화합물로 추정되었다.

$^1\text{H}$ -NMR spectrum에서는 방향족 영역에서 meta coupling 하고 있는 H-6과 H-8의 signal이 각각  $\delta$  6.21 (1H, d,  $J=2.0$  Hz) 및 6.43 (1H, d,  $J=2.0$  Hz)에서 나타났으며 H-2'와 H-6'의 signal이  $\delta$  7.49 (2H, s)이 나타났으며,  $\delta$  4.74에서 당의 anomeric proton에 의한 signal이 doublet ( $J=7.5$  Hz)로 나타나 8은 myricetin glycoside임을 확인할 수 있었다.

$^{13}\text{C}$ -NMR spectrum에서는 7과 비슷한 signal 패턴을 나타내어, myricetin의 C-3', 5'가 각각  $\delta$  145.7과 145.8에서 나타났고, C-2', 6'도 각각  $\delta$  108.4와 110.5에서 나타나 C-3' 위치에 당이 결합한 것으로 확인되었고, xylose의 peak가 나타났으며, negative FAB MS spectrum에서  $m/z$  449 [M-H]<sup>-</sup>의 피크를 보여주었다.

이상의 기기분석 결과를 통해 이 화합물을 myricetin 3'-O- $\beta$ -D-xylopyranoside로 확인하였고, 문헌과의 data 비교를 통해 동정하였다.<sup>32)</sup>

한편 이들 8가지 화합물에 대하여 DPPH를 이용한 항산화 활성을 측정한 결과, 양성대조군인 ascorbic acid (IC<sub>50</sub>=10.91  $\mu\text{M}$ )와 비교하여, flavonol 화합물로서 kaempferol의 배당체 (1, IC<sub>50</sub>=17.41  $\mu\text{M}$ )와 quercetin의 배당체 (2, IC<sub>50</sub>=13.44  $\mu\text{M}$ ), myricetin (6, 12.92  $\mu\text{M}$ )과 그 배당체 (7, IC<sub>50</sub>=18.31  $\mu\text{M}$ ; 8, IC<sub>50</sub>=29.06  $\mu\text{M}$ )에 비하여, flavanonol 화합물인 ampelopsin (3, IC<sub>50</sub>=6.47  $\mu\text{M}$ )과 그 배당체들 (4, IC<sub>50</sub>=8.45  $\mu\text{M}$ ; 5, IC<sub>50</sub>=4.69  $\mu\text{M}$ ) 이 보다 우수한 항산화 활성을 보여 주었다(Table II 참조).

## 결론

자운영 종자로부터 3종의 flavanonol, 5종의 flavonol 화합물을 분리함으로써 자운영종자는 풍부한 flavonoid 화합물의 자원임을 알 수 있었으며, 이들 flavonoid 화합물들은

Table II. Antioxidative activities of Compounds 18

Compounds	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )
1	17.41
2	13.44
3	6.47
4	8.45
5	4.69
6	12.92
7	18.31
8	29.06
Ascorbic acid	10.91

DPPH를 이용한 항산화실험에서 우수한 항산화효과를 나타내었다. 특히, flavanonol 형태인 **3** ( $IC_{50}=6.47 \mu M$ ), **4** ( $IC_{50}=8.45 \mu M$ ), **5** ( $IC_{50}=4.69 \mu M$ )가 양성대조군인 ascorbic acid ( $IC_{50}=10.91 \mu M$ )와 비교하여 뛰어난 항산화 활성을 보여 주었다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 자운영종자의 flavonoid 화합물은 항산화제로의 개발가능성이 있다고 사료된다.

## 인용문헌

- Lee, Y.N. (1996) Flora of Korea, 410, Kyo-Hak Publishing Co., Seoul.
- Kim, C.M, Shin, M.K., Ahn, D.K., and Lee, K.S. (1998) 中藥大辭典, 4630, Jung-Dam Publishing Co., Seoul.
- Lee, W.C. (1996) Standard Illustrations of Korean Plants, 186, Academic Publishing Co., Seoul.
- Tong, W. and Eisenbrand, G. (1992) Chinese Drugs of plant Origin, Springer Verlag, Berlin.
- Erdal, B., Ihsan, C., Chuck, D., Rudraksh, S., John, K. B., and Ikhlas, A. K. (2001) Two novel cycloartane-type triterpene glycosides from the roots of *Astragalus prusianus*, *Tetrahedron* **57**: 5961-5966.
- Erdal, B., Ihsan, C., Rita, A., Sonia, P., and Cosimo, P. (1999) Trojanoside H : A cycloartane-type glycoside from the aerial parts of *Astragalus trojanus*, *Phytochemistry* **51**: 1017-1020.
- Pierluigi, G., Francesca, P., Marco, T., Luisella, V., Nadia, E. S., Aya, M. A., Rokia, M. A., and Soas, M. T. (1995) Cycloratan triterpene glycosides from *Astragalus trigonus*, *Phytochemistry* **40**: 1755-1760.
- Lusia, P., Stefania, P., Guido, F., Aleessandra, B., and Antonio, M. (1997) Three cycloasrtagenol glycosides from *Astragalus verrucosus*, *Phytochemistry* **45**: 585-587.
- Luisa, P., Stefania, P., Alessandra, B., and Donatella, P. (1998) Cicloastragenol glycosides from *Astragalus verrucosus*, *Phytochemistry* **49**: 2467-2471.
- Nadia A.E., Aya, M.A., Rokia, M.A., Soad, M.T., and Fulvia, O. (2000) Constituents of Egyptian *Astragalus tribuloides* Del., *Nat. Prod. Sci.* **6**: 11-15.
- Luisa, P, Alessandra, B., Elena, L., Ivano, M., and Lirio, P. (2002) Antimicrobial and antifungal activity of crude extracts and isolated saponin from *Astragalus verrucosus*, *Fitoteria* **73**: 336-339.
- Ihsan, C., Hasan, Y., Oliver, Z., and Otto, S. (1999) Cephalotoside : A tridesmosidic cycloartane type glycoside from *Astragalus cephalotes* var. *brevicalyx*, *Phytochemistry* **50**: 843-847.
- Luisella, V., Marco, T., Nadia, A. E., and Soad, M. T. (1998) Cycloartane triterpene glycosides from *Astragalus sieberi*, *Phytochemistry* **48**: 1403-1409.
- Yu, Z., Masao, H., Hekai, R., and Tsutomu, F. (1995) Two triglycosidic triterpene astragalosides from hairy root culture of *Astragalus membranaceus*, *Phytochemistry* **38**: 1407-1410.
- Baoliang C., Yusuke, S., Takashi, T., Junei, K., and Toshihiro N. (1992) Four new oleanene derivatives from the seeds of *Astragalus complanatus*, *Chem. Pharm. Bull.* **40**: 136-138.
- Baoliang, C., Junko, I., Takashi, T., Junei, K., and Toshihiro, N. (1992) Triterpene glycosides from the seeds of *Astragalus sinicus* L., *Chem. Pharm. Bull.* **40**: 3330-3333.
- Kim, J. S., Park, J. S., Kim, C. S., and Kim, J. M. (2000) NMR assignments including HMBC and 1D-TOCSY data of astraloside, and isoastragaloside from from roots of *Astragalus membranaceus*, *Kor. J. Pharmacogn* **31**: 34-38.
- Kim, J. S., Kim, Y. T., and Kim, C. S. (1996) A study on the constituents from the roots of *Astragalus membranaceus* (I), *Kor. J. Pharmacogn* **27**: 336-341.
- Kim, J. S. and Kim, C. S. (2000) Astudy on the constituents from the roots of *Astragalus membranaceus* (III), *Kor. J. Pharmacogn* **31**: 109-111.
- Shoji, Y., Mareshige, K., and Hiroshi, K. (2000) Flavonoid glycosides and saponins from *Astragalus shikokianus*, *Phytochemistry* **53**: 469-471.
- Baoliang, C., Motoyuki, N., Junei, K., and Toshihiro, N. (1992) Structures of three new acylated flavonoid glycosides from *Astragalus complanatus* R. Br., *Chem. Pharm. Bull.* **40**: 1943-1945.
- Xiaofeng, M., Pengfei, T., Yingjie, C., Tianyou, Z., Yun, W., and Yoichiro, I. (2003) Preparative isolation and purification of two isoflavanones from *Astragalus membranaceus* Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao by high-speed counter-current chromatography, *Journal of Chromatography A*, **992**: 193-197.
- Baek, N. I., Kim, Y. S., Kung, J. S., and Park, K. H. (1996) Isolation of anti-hepatotoxic agent from the root of *Astragalus membranaceus*, *Kor. J. Pharmacogn.* **27**: 111-116.
- Kim, J. S. and Kim C. S. (1997) A study on the constituents from the roots of *Astragalus membranaceus* (II), *Kor. J. Pharmacogn* **28**: 75-79.
- McCracken, D.S., Schermiester, L.J., and Bhatti, W.H. (1970) Phytochemical and cytotoxic evaluation of sevral *Astragalus* species of north dakota, *Llydia* **33**: 19-24.
- Abdallah, R.M., Harraz, F.M., and El-Sebakhy, N.A. (1990) *Astragalus trigonus* DC : Cytotoxicity screeinig of its cycloartane diglucoside and macro- and micro-morphology of the leaf, stem and root. *Alex. J. Pharm. Sci.* **4**: 192-196.
- Abdallah, R.M., Ghazy, N.M, El-Sebakhy, N.A., Pirillo, A., and Verotta, L. (1993) Astragalosides from Egyptian *Astragalus spinosus* Vahl. *Pharmazie* **48**: 452-454.
- Hatano, T., Edamatsu, R., Hiramatsu, M., Mori, A., Fujita,

- Y., Yasuhara, T., Yoshida, T., and Okuda, T. (1989) Effects of the interaction of tannins with co-existing substances. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical, and on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chem. Pharm. Bull.* **37**: 2016-2021.
29. Yong-Long, L., Barbara N.T., Joseph, J.H., and Steven P.M. (1993) A flavonol triglycoside from *Bassharia thesioides*. *Phytochemistry* **33**: 1549-1551.
30. Simone, F.D., Dini, A., Pizza, C., Saturnino, P. and Schettino, O. (1990) Two flavonol glycosides from *Chenopodium quinoa*, *Phytochemistry* **29**: 1690-1692.
31. Rosemary, F.W. (1991) A flavonol triglycoside from *Actinidia arguta* var. *giraldii*, *Phytochemistry* **30**: 2443-2444.
32. Agrawal, P.K. (1989) CARBON-13 NMR of Flavonoids, elsevier.

(2003년 12월 1일 접수)