

미나리 지상부에서 라디칼 소거 활성을 가지는 페놀성 화합물의 분리

조현우¹, 이승호², 남두현², 김종연², 임상규³, 이정수³, 박종철^{1,*}
¹국립순천대학교 한약자원학과, ²영남대학교, ³경인제약

Antioxidant Activity and Phytochemical Study on the Aerial Parts of *Oenanthe javanica*

Hyun Woo Jo¹, Seung Ho Lee², Doo Hyun Nam², Jong Yeon Kim², Sang Kyu Lim³,
Jeong Soo Lee³, and Jong Cheol Park^{1,*}

¹Department of Oriental Medicine Resources and Research Institute of Korean Oriental Medicine, Suncheon National University, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Republic of Korea

²Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Republic of Korea

³Kyeong-In Pharm. Co., Daegu 705-804, Republic of Korea

Abstract – Five compounds were isolated from the methanol extract of the aerial parts of *Oenanthe javanica*(Umbelliferae). Their chemical structures were identified as isorhamnetin(1), uracil(2), adenosine(3), persicarin(4) and uridine(5) by comparison of their spectral data with those of authentic samples and compounds 2, 3 and 5 were isolated from *Oenanthe javanica* for the first time. Compound 1 showed the strong radical scavenging activity among the compounds isolated from *Oenanthe javanica*.

Key words – *Oenanthe javanica*, Umbelliferae, isorhamnetin, uracil, adenosine, uridine, DPPH

미나리(*Oenanthe javanica*(BL.) DC.)는 미나리과(Umbelliferae)에 속하는 다년생 초본식물로서 우리 식생활에서 다량 섭취되어지는 채소로서 독특한 향미 및 약리작용으로 인해 기능성 식품소재나 향신료로 활용도가 높은 약용식물이며, 우리나라를 비롯하여 대만·일본·자바·인도 및 아시아 대륙에 걸쳐 분포하고 있다.^{1,2)} 이명으로 수근(水芹), 근채(芹菜), 수영(水英) 등으로 표기되며 중국에서도 현재 이 같은 이름이 사용되고 있다.²⁾

신농본초경에는 여자의 적옥(赤沃)을 치료하며, 지혈하고 정(精)을 기르며 혈맥을 보호하고 기를 보익하며 사람이 살찌고 건강하게 하고 식욕을 왕성하게 한다고 하였으며, 동의보감에서는 갈증을 멎게 하고, 정(精)을 보충해 주며 술을 마신 후 생기는 열독을 제거하며, 대소변을 잘 나가게 한다고 소개하고 있다.³⁾

미나리 지상부를 이용하여 수종의 화합물을 분리, 동정하였으며 이들의 DPPH 라디칼 소거활성을 검토하였다.

재료 및 방법

식물재료 – 실험에 사용한 미나리는 2006년 8월에 경북 청도 지역에서 구입하였으며, 표본은 순천대학교 한약자원학과 표본실(NM-OEJ-0608)에 보관하였다.

시약 및 기기 – DPPH 시약(Sigma Chemical Co., St. Louis, U.S.A)과 용매는 일급 및 특급 시약을 사용하였다. Column chromatography용 충전제는 silica gel Kiesel gel 60(70-230 mesh, No. 7734 Merck, Germany)과 Sephadex LH-20(25-100 μ , Sigma-Aldrich, U.S.A), TLC는 Kiesel gel 60 F₂₅₄(No. 5735, Merck, Germany) 그리고 NMR은 Bruker AMX 400 spectrometer (Bruker, Germany)를 이용하여 DMSO-d₆(Sigma, U.S.A)에 녹여 측정하였다.

추출 및 분획 – 미나리의 지상부 2.5 kg을 음건 세절한 후 MeOH(methyl alcohol)로 3시간 동안 3회 반복 환류냉각 열탕추출하고, 여과한 후 농축시켜 MeOH 추출물 900 g을 얻었다. 이 MeOH 추출물에 10% MeOH을 가해 현탁시킨 후 CH₂Cl₂(methylene chloride), EtOAc(ethyl acetate)과 *n*-BuOH(*n*-butyl alcohol)으로 분획하여 CH₂Cl₂ 분획물 80 g, EtOAc 분획물 15 g, *n*-BuOH 분획물 120 g 및 H₂O 분획물

*교신저자(E-mail): jcpark@sunchon.ac.kr
(FAX): 82-61-752-8551

600 g 을 얻었다.

EtOAc 분획물을 CH_2Cl_2 -MeOH- H_2O (5:1:1, 25:8:5, 7:3:1, 65:35:10, 하층)의 전개용매를 이용하여 column chromatography를 실시하여 subfraction으로 나누었다(OEJ3E-1~4). 이 subfraction중 OEJ3E-1에서 화합물 1, OEJ3E-2에서 화합물 2, OEJ3E-3에서 화합물 3, OEJ3E-4에서 화합물 4를 얻었다. 동일한 방법으로 미나리 MeOH 추출물에서 분획된 *n*-BuOH 가용부를 CH_2Cl_2 -MeOH- H_2O (5:1:1, 25:8:5, 7:3:1, 65:35:10, 하층)의 전개용매로 4개 subfraction으로 나누었다(OEJ3B-1~4). 이 subfraction 중 OEJ3B-1에서 화합물 2, OEJ3B-3에서 화합물 3, OEJ3B-4에서 화합물 5를 순수하게 분리하였다.

화합물 1(isorhamnetin) – $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 7.69(1H, dd, $J=2.05$ & 8.47 Hz, H-6'), 7.76(1H, d, $J=2.05$ Hz, H-2'), 6.94(1H, d, $J=8.47$ Hz, H-5'), 6.48(1H, d, $J=1.97$ Hz, H-8), 6.19(1H, d, $J=1.97$ Hz, H-6), 3.85(3H, s); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 175.56(C-4), 164.14(C-7), 160.42(C-5), 155.96(C-9), 148.75(C-3'), 147.13(C-4'), 146.24(C-2), 135.56(C-3), 121.77(C-1'), 121.43(C-6'), 115.30(C-5'), 111.47(C-2'), 102.58(C-10), 98.10(C-6), 93.41(C-8), 55.53(-OCH₃).

화합물 2(uracil) – $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 7.39(1H, d, $J=7.63$ Hz, H-5), 5.45(1H, d, $J=7.63$ Hz, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 164.28(C-1), 151.47(C-3), 142.14(C-5), 100.18(C-6).

화합물 3(adenosine) – $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 400 MHz) δ : 8.35(1H, s, H-2), 8.12(1H, s, H-8), 5.87(1H, d, $J=6.30$ Hz, H-8), 4.61(1H, m, H-2'), 4.14(1H, m, H-3'), 3.96(1H, dd, $J=3.30$ & 6.30 Hz, H-4'), 3.65(1H, m, H-5'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 156.1(C-6), 152.3(C-2), 149.0(C-4), 139.8(C-8), 119.3(C-5), 87.72(C-1'), 85.7(C-4'), 73.24(C-2'), 70.46(C-3'), 61.46(C-5').

화합물 4(persicarin) – $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 8.05(1H, d, $J=2.2$ Hz, H-2'), 7.61(1H, dd, $J=2.2$ & 8.8 Hz, H-6'), 6.90(1H, d, $J=8.8$ Hz, H-5'), 6.46(1H, d, $J=2.2$ Hz, H-8), 6.20(1H, d, $J=2.2$ Hz, H-6), 3.85(3H, s); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 177.24(C-4), 166.44(C-7), 161.14(C-5), 156.3(C-2), 155.53(C-9), 149.49(C-3'), 146.96(C-4'), 132.32(C-3), 121.88(C-6'), 121.38(C-1'), 115.06(C-2'), 113.48(C-5'), 103.13(C-10), 99.07(C-6), 93.84(C-8), 55.63(-OCH₃).

화합물 5(uridine) – $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 6.48(1H, d, $J=8.08$ Hz, H-6), 5.78(1H, d, $J=5.4$ Hz, H-1'), 5.64(1H, d, $J=8.08$ Hz, H-5); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 163.08(C-4), 150.73(C-2), 140.69(C-5),

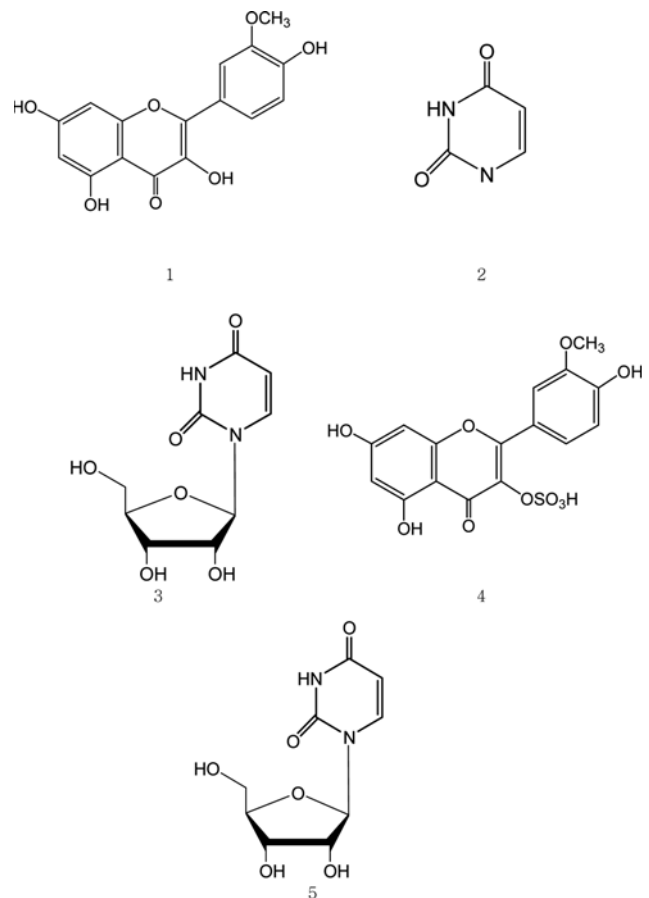


Fig. 1. Structures of compounds 1-5.

101.70(C-6), 87.66(C-1'), 84.79(C-4'), 73.51(C-2'), 69.83(C-3'), 60.81(C-5').

DPPH radical 소거 측정 – MeOH 추출물, 분획물 및 분리한 화합물들을 DMSO에 녹여 다양한 농도로 각각 제조하여 96 well plate에 well당 검체 100 μl 와 60 μM DPPH 100 μl 를 각각 첨가하여 균일하게 혼합한 다음, 실온에서 30 분간 방치한 후, 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 기존의 항산화제인 ascorbic acid를 사용하여 활성을 비교하였다. Free radical 소거활성은 다음과 같은 계산식을 이용하여 산정하였다.

DPPH radical 저해율은 아래 계산식에 따라 나타내었다.

$$\text{Inhibition activity (\%)} = \{1 - S/S_0\} \times 100$$

S: 시료 첨가군

S₀: 시료무첨가군

결과 및 고찰

미나리 지상부의 항산화 활성물질들을 분리하기 위해, 환류 냉각 추출하여 얻은 MeOH 추출물과 이 추출물의 CH_2Cl_2 , EtOAc 및 *n*-BuOH 분획물을 대상으로 DPPH를 이용한 항

Table 1. The radical scavenging effect of MeOH extracts and fractions of the aerial parts of *Oenanthe javanica* on DPPH radical.

	IC ₅₀ (μg/ml) ^{a)}
MeOH extracts	> 100
CH ₂ Cl ₂ fraction	> 100
EtOAc fraction	20.50
<i>n</i> -BuOH fraction	> 100
L-ascorbic acid	4.69

^{a)}Concentration giving a 50% decrease of DPPH radical

Table 2. The radical scavenging effects of the compounds isolated from the aerial parts of *Oenanthe javanica*.

Compound	IC ₅₀ (μM) ^{a)}
1	17.72
2	>1000
3	>1000
4	30.69
5	>1000
L-ascorbic acid	14.1

^{a)}Concentration giving a 50% decrease of DPPH radical

산화 활성을 검색하였다. 높은 소거활성을 보인 EtOAc, *n*-BuOH 분획물을 이용하여 silica gel과 Sephadex LH-20 column chromatography를 실시하여 5종의 화합물을 분리하여 활성을 검토하였다.

화합물 1의 ¹H-NMR spectrum은 δ7.76(1H, d, *J*=2.05 Hz, H-2'), 7.69(1H, dd, *J*=2.05 & 8.47 Hz, H-6') 및 6.94(1H, d, *J*=8.47 Hz, H-5')에서 ortho, meta coupling하는 peak가 관측되고 δ6.48(1H, d, *J*=1.97 Hz, H-8), 6.19(1H, d, *J*=1.97 Hz, H-6)에서는 meta coupling하는 peak가 관찰된다. ¹³C-NMR spectrum에 나타난 모든 peak들과 문헌치⁵⁾를 비교하여 화합물 1은 isorhamnetin로 결정하였다.

화합물 2의 ¹H-NMR spectrum에서 δ7.39(1H, d, *J*=7.63 Hz, H-5), 5.45(1H, d, *J*=7.63 Hz, H-6)에서 ortho coupling에 의한 피크가 관측되었으며, ¹³C-NMR spectrum에서 pyrimidine계 화합물의 C-1과 C-3에 결합한 ketone기에 의한 피크가 δ164.28과 δ151.47에서 관측되었다. 이상의 결과는 문헌치⁶⁾와 잘 일치하여 화합물 2를 uracil로 동정하였다.

화합물 3의 ¹H-NMR spectrum에서 δ8.35(1H, s, H-2), 8.12(1H, s, H-8)에서 2개의 singlet proton이 관측되고, δ5.87(1H, d, *J*=6.21 Hz, H-1')의 signal은 5탄당인 ribose의 anomeric proton으로 추정하였다. ¹³C-NMR spectrum은 δ155.96~119.16 ppm 까지 5개의 peak는 adenine임을 알 수 있었고, 1 mole의 당은 ribose[87.72(C-1'), 85.70(C-4'), 73.24(C-2'), 70.46(C-3'), 61.46(C-5')]임을 문헌치^{6,7,12)}와 비

교하여 화합물 3이 adenosine임을 알 수 있었다.

화합물 4의 ¹H-NMR spectrum은 화합물 1의 peak와 유사하므로 isorhamnetin 유도체임을 알 수 있다. 화합물 4의 ¹³C-NMR data는 persicarin 문헌치⁸⁾와 잘 일치하므로 persicarin으로 결정하였다.

화합물 5의 ¹H-NMR spectrum은 δ6.48(1H, d, *J*=8.08 Hz, H-5), 5.64(1H, d, *J*=8.08 Hz, H-6)에서 meta coupling signal을 보여주며, δ5.78(1H, d, *J*=5.4 Hz H-1') signal은 ribose의 anomeric proton으로 추정된다. ¹³C-NMR spectrum은 문헌치^{9,12)}와 비교할 때 δ163.10~101.72의 4개 peak는 uracil 그리고 당은 ribose[87.66(C-1'), 84.79(C-4'), 73.51(C-2'), 69.83(C-3'), 60.81(C-5')]임을 알 수 있으므로 화합물 5는 uridine으로 동정하였다. 분리된 물질 중 화합물 2, 3, 5는 미나리에서 처음으로 분리하였다.

미나리의 DPPH 라디칼 소거효과를 알아보기 위하여 MeOH 추출물과 CH₂Cl₂, EtOAc, *n*-BuOH 분획물을 실험한 결과 EtOAc 분획물에서 가장 좋은 활성이 관찰되었다 (Table 1). EtOAc와 *n*-BuOH 분획물에서 분리한 5종의 화합물에 대한 DPPH 라디칼 소거효과 실험을 실시한 결과 isorhamnetin이 가장 우수한 활성을 나타내었다(Table 2).

결 론

미나리 지상부의 EtOAc 분획물과 *n*-BuOH분획물에서 5종 화합물을 분리하였다. 이 화합물들은 isorhamnetin(1), uracil(2), adenosine(3), persicarin(4), uridine(5)으로 동정하였으며, 그 중에서 화합물 2, 3, 5는 미나리에서 처음으로 분리하였다. 분리한 5종 화합물의 DPPH 라디칼 소거활성을 관찰한 결과 화합물 1이 높은 활성을 나타내었다.

사 사

본 연구는 산업자원부에서 시행한 지역산업기술개발사업의 지원으로 수행되었습니다.

인용문헌

1. 이창복 (1993) 대한식물도감, 581, 향문사, 서울.
2. 이병일 (2002) 한국의 미나리, 16-19, 산해, 서울.
3. 허준 (2004) 동의보감, 671, 남산당, 서울
4. 박종철 (2002) 기능성 식품의 천연물과학, 38-42, 도서출판 효일, 서울.
5. Harborne, J. B. (1982) The flavonoids : advances in reseach, 102.
6. 권용수, 인고길, 김창민 (2000) 강활의 활성성분, *생약학회지* 31(3): 284-287.
7. 이미경, 임선옥, 박훈 (1990) 水蓼에서의 아데노신 분리 동정, *고려인삼학회지* 14(3): 437-441.

8. Park, J. C., Han, S. Y., Yu, Y. B., Lee, J. H. (1995) Isorhamnetin sulphate from leaves and stems of *Oenanthe javanica* in Korea, *Planta Med.* **61**(4): 377-378.
9. 김동현, 송명중, 최정민, 김성훈, 김대근, 정인식, 박미현, 권병묵, 백남인 (2004) 식용자원으로부터 활성물질의 탐색-VIII. 용안육으로부터 분리된 uridine의 혈소판응집 저해효과, *한국응용생명화학회지* **47**(1): 130-134.
10. 박종철, 유영범, 이종호, 최명락, 옥광대 (1996) *Angelica keiskei* 지상부의 화학성분, *생약학회지* **27**(1): 80-82.
11. Ibarra, M., Moreno, L., Vera, R., Cogolludo, A., Duarte, J., Tamargo, J. and Perez-vizcaino, F. (2003) Effects of the flavonoid quercetin and its methylated metabolite isorhamnetin in isolated arteries from spontaneously hypertensive rats, *Planta Med.* **69**(11): 995-1000.
12. 권승봉 (2004) 천연물화학, 131, 천연물화학고재편찬위원회, 영림사, 서울.
13. 이양숙, 주은영, 김남우 (2005) 싸리(*Lespedeza bicolor*) 추출물의 항산화성에 관한 연구, *한국식품저장유통학회지* **12**(1): 75-79.
14. Kitahara, K., Matsumoto, Y., Ueda, H. and Ueoka, R. (1992) A remarkable antioxidation effect of natural phenol derivatives on the antioxidation of irradiated methyl linoleate. *Chem. Pharm. Bull.* **40**(2): 2208-2209.
15. Blois, M. S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical, *Nature*, **181**: 1199-1200.
16. Harborne, J. B. (1982) The flavonoids : advances in reseach, 98.
17. Park, J. C., Yu, Y. B., Lee, J. H. (1993) Isolation of steroids and flavonoids from the herb of *Oenanthe javanica*, *Kor. J. Pharmacogn.* **24**(3): 244-246.
18. 박종철, 이효연 (1996) 전남지역 자생식물들의 소염활성검 색 및 활성화합물. *한국식품영양과학회지* **25**(3): 523-528.

(2008년 5월 21일 접수)