연구논문

韓資植誌 24(1) : 40~47(2011)
Korean J. Plant Res.

물이끼 추출물의 식물화학적 성분 및 항암활성 연구

남정환*, 정진철, 윤영호, 홍수영, 김수정, 진용익, 이예진, 유동림, 이경태[1], 박희준[2]

농촌진흥청 국립식량과학원 고령지농업연구센터, [1]경희대학교 약학대학 약학과, [2]상지대학교 보건대학 제약공학과

Phytochemical Constituents and Anticancer Activity of *Sphagnum palustre* Extract

Jung Hwan Nam*, Jin-Cheol Jeong, Young Ho Yoon, Su Young Hong, Su Jeong Kim, Yong Ik Jin, Ye Jin Lee, Dong Lim Yoo, Kyung Tae Lee[1] and Hee Juhn Park[2]

Highland Agricultre Research Center, National Institute of Crop Science, RDA, Pyeongchang 232-955, Korea
[1]Department of pharmaceutical, College of Pharmacy, Kyung-Hee University, Seoul 130-701, Korea
[2]Department of Pharmaceutical Engineering, College of Health Sciences, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

Abstract - *Sphagnum palustre* is a semi aquatic moss. *S. palustre* has been used as Korean traditional medicine to treat cardiac pain and stroke. This study was carried out to analyze phytochemical constituents of *S. palustre* and investigate the biological activity for the promotion of human health. At first, we isolated seven compounds from the ethanolic extract of this plant, and their structures were characterized by spectroscopic methods. Their structures were characterized to be Coumarin(1), Caffeic acid(2), Quercetin(3), Astragalin(4), Luteolin(5), Chlorogenic acid(6), Rutin(7) were for the first time reported from this source. The ethanol extract from *S. palustre* which was tested for its anticancer activity against three human tumor cell line by *in vitro* assay.

Key words - Phenolic compound, Flavonoid, Phenylpropanoid, Pyrone, *Sphagnum palustre* Anticancer activity

서 언

동의보감에서 물이끼는 지의(地衣) 즉 땅이끼의 일종으로써 특히 하게도 물속의 돌 위에서 나는 것을 척리라 일컬었으며 성질이 차고 약간의 독이 있으며 졸심통(卒心痛:심장통)과 중악(中惡:중풍)을 치료한다고 명기 하였다. 한국명은 물이끼로써 학명은 *Sphagnum palustre* 이며 북한에서는 현재까지 물이끼를 척리라 표현하여 사용하고 있다.

물이끼는 bog moss, sphagnum moss 라고도 불리며 물이끼목(*Sphagnales*), 물이끼 과(*Sphagnaceae*), 물이끼속(*Sphagnum*)에 속하는 식물로써 물이끼속은 물이끼과의 단일속이라 할 수 있다. 물이끼는 녹색에서부터 붉은색까지의 색을 띠며 높이가 30 cm에 이른다(Choi, 1980).

열대에서부터 극지에 가까운 지역까지 연못, 습지, 늪지, 호숫가 및 습기가 있는 절벽, 벼랑 등지에서 군락을 이루어 자란다. 엽맥이 없고 줄기의 표피층에는 서로 연결된 커다란 저장 세포들이 다수 분포되어 있는데, 세포의 표면에 있는 천공을 통해 외부에서 수분이 들어와 몸무게의 20여배까지 수분을 저장할 수 있다. 붉은색을 띠는 각각의 삭 또는 포자낭은 건조해지면 오그라들면서 식물체내 압력이 증가해 포자가 삭의 뚜껑을 밀어내고 식물체로부터 10 m 정도까지 퍼져 나간다. 물이끼의 체내 물대사에 의해 주변에 있는 물의 산도가 높아져 세균의 활성이 줄어들고, 따라서 물이 변질 되는 것을 막아준다(Korea britannica online, 2010).

지구상 북반구 지역에서는 물이끼가 다양한 형태의 습지를 만든다. 죽은 식물과 다른 식물 찌꺼기들이 압축되어 화학적으로 분해되어 토탄이라고 알려진 유기물질을 만드는데 토탄은 채취 후 건조하여 연료로 쓴다. 또한 건조된 물이끼는 수술용 붕대, 기저귀, 램프, 심지, 외양간에 까는 깃, 마굿간 두엄 등으로 사용되며 정원 조경 시 토양의 습도,

*교신저자(E-mail) : conplab@korea.kr

다공성, 산도를 증가시킬 목적으로 토양첨가제로 이용되기도 한다. 토양침식을 막는 데 효과적으로 이용되기도 하고 적당하게 수분을 제거한 물이끼습지는 농업용으로도 다양하게 쓰인다. 소수의 식물학자들은 물이끼를 하나의 강으로 보기도 하지만 대부분의 학자들은 목이나 과로 분류한다(Korea britannica online, 2010).

국내에서 자생하는 *Sphagnum* 선류에 대해서는 식물학적 특성에 관한 일부 연구에도 불구하고 식물의 성분 및 생리활성연구는 아직 수행된 바가 없다. 이에 저자 등은 국내에 자생하는 이끼에 대한 체계적인 연구를 수행하던 중에 물이끼에 대한 식물화학적 연구의 필요성을 인식하여 물이끼의 성분 및 생리활성연구를 수행 하였다. 즉, 건조된 물이끼의 Ethanol 추출물로부터 다양한 극성용매를 이용한 분획과 반복적인 컬럼크로마토그래피 실험법을 실시하여 7종의 화합물을 분리, 정제하여 이화학적 성상 과 기기분석 자료를 통한 구조를 규명 하였으며. *In viro* assay를 통한 3종의 암세포주에 대한 항암활성을 측정하였다.

재료 및 방법

실험재료

물이끼(*Sphagnum palustre*)는 2007년 7월 강원도 평창군 대관령면에 소재한 선자령 일대(해발 800 m)에서 채집하여 농촌진흥청 국립식량과학원 고령지농업연구센터 유전자원 시험포장내 생육된 물이끼와 정확히 비교감정 후 사용하였고, 식물표본은 고령지 농업연구센터 유기분석실험실(표본번호: NIHA-005)에 보관되어 있다.

기기 및 시약

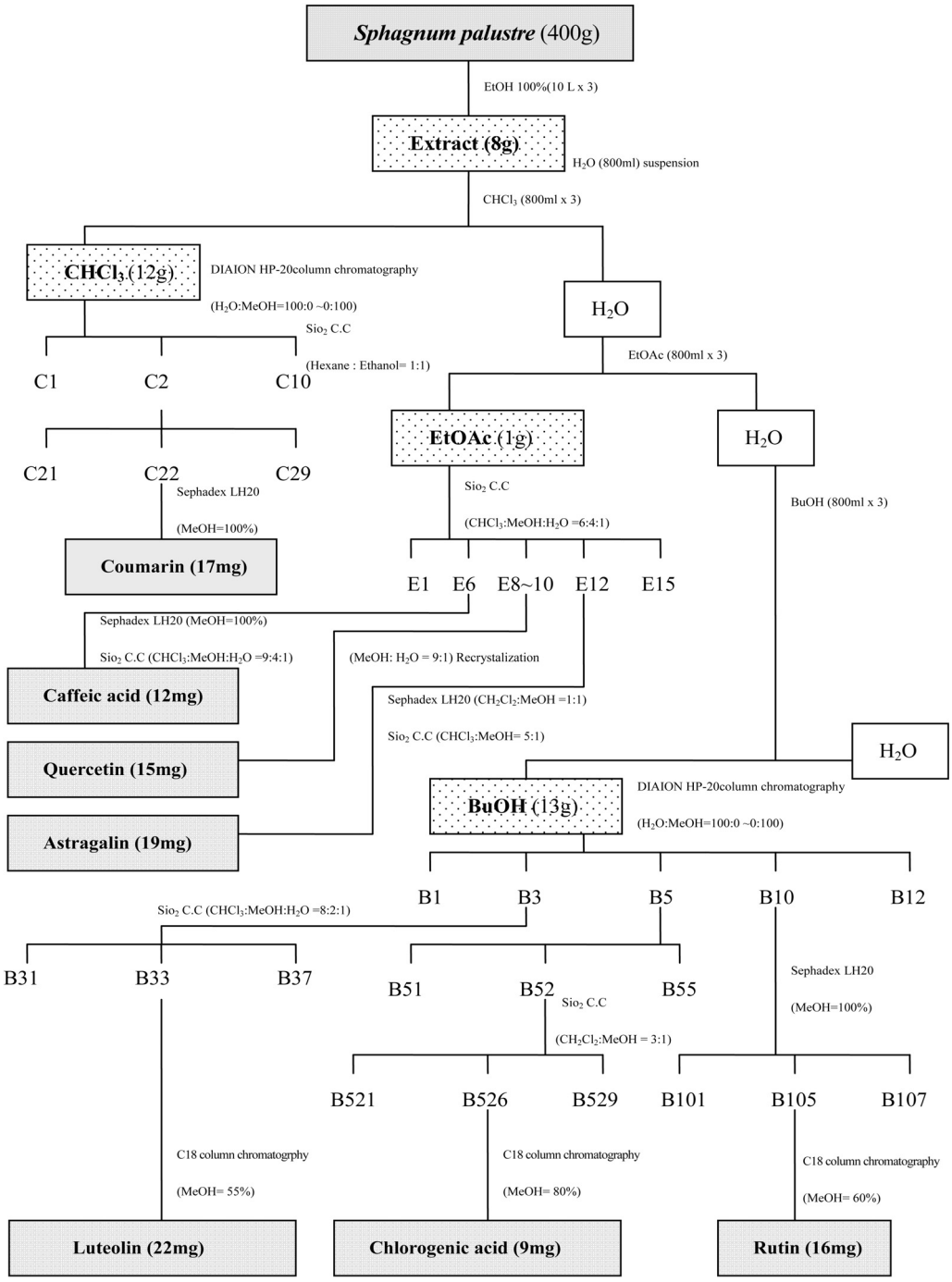
융점측정은 Elctrothermal digital melting point apparatus를 사용하여 측정하였고. NMR은 Varian Unity Inova 500 spectrophotometer를 사용하였다. EI-MS spectrum은 JMS-700(Jeol, Japan)와 FAB-MS는 VG70-VSEG(VG Analytical, UK)를 사용 측정하였다. Column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel 60(Merck)와 LiChroprep C18 (Merck)를 사용하였고, molecular sieve column chromatography용 packing 물질은Sephadex LH-20(GE)을 사용하였다. TLC plate는 Kiesel gel 60 F254 precoated plate(Art.552, Merck)를 사용하였고, TLC 발색시약은 10% H_2SO_4을 사용하였으며 UV 254 nm, 365 nm detction을 병행 하였다.

추출 및 분획

건조 중량 400 g의 물이끼를 상온에서 EtOH로 환류냉각하에 3회 가열 추출하였다. 추출액을 감압 농축하여 EtOH 엑기스 8 g을 얻었다. 이를 chloroform($CHCl_3$), ethylacetate (EtOAc), *n*-butanol(BuOH)로 용매 분획하여 chloroform (1.2 g), ethyl acetate(1 g), *n*-butanol(1.3 g) 분획으로부터 화합물 7종을 분리 하였다.

화합물의 분리

$CHCl_3$분획(1.2 g)을 H_2O:MeOH(100:0~0:100)을 유출용매로 하여 DIAION HP-20 column chromate-graphy를 실시하여 10개의 분획(C1~C10)으로 나누었으며 C2분획을 다시 Hexane:EtOAc(1:1)을 용매로 하여 SiO_2 column chromatography 실시하여 9개의 소분획(C21~C29)으로 나누었다. 이중 소분획 C22를 methanol(100%)을 용매로 하여 Sephadex LH-20로 정제 하여 백색의 분말상 물질 1 (17 mg)을 얻었다. EtOAc분획(1 g)을 $CHCl_3$:MeOH:H_2O (6:4:1)전개 용매로 하여 SiO_2 columnchromato-graphy를 실시하여 15개(E1~E15) 소분획을 얻은 후, 소분획 E6를 농축하여 이를 methanol(100%)을 용매로 하여 Sephdaex LH-20을 실시한 후 다시 $CHCl_3$:MeOH: H_2O(9:4:1) 전개용매로 SiO_2 column chromatography를 실시, 정제하여 백색의 분말상 물질 2(12 mg)를 얻었다. E8~10을 농축하여 이들을 MeOH:H_2O(9:1) 용매로 재결정하여 황색 침상결정의 물질 3(15 mg)을 얻었고, E12 분획을 농축 후 CH_2Cl_2:MeOH(1:1)를 전개용매로 Sephadex LH-20 column chromatography를 실시하고 다시 농축 후 $CHCl_3$:MeOH (5:1)을 용매로 하여 SiO_2 column으로 정제하여 황색 침상결정 물질 4(19 mg)를 얻었다. *n*-butanol분획(1.3 g)을 농축 후 H_2O:MeOH(100:0~0:100)을 유출 용매로 하여 DIAION HP-20 column chromatography를 실시하여 12개의 분획(B1~B12)으로 나누었으며, 그 중 B3 분획을 다시 $CHCl_3$:MeOH:H_2O(8:2:1)을 용매로 하여 SiO_2 column chromatography를 실시하여 7개의 소분획(B31~B37)으로 나누었다. 이중 소분획 B33을 methanol (55%)를 용매로 하여 C18 column 으로 정제 하여 황색 분말상 물질 5(22 mg)를 얻었다. B5분획을CH_2Cl_2:MeOH(1:1)전개용매로 Sephadex LH-20 columnchromatogra-phy를 실시하여



Scheme 1. Isolation of compounds 1~7 from *Sphagnum palustre*.

5개의 분획(B51-B55)으로 나누고 이중 B52를 $CHCl_3$:MeOH (3:1)을 용매로 하여 SiO_2 column chromatography를 실시하여 9개의 소분획(B521~B529)으로 나누었으며 소분획 B526 분획을 methanol(80%)로 용매로 하여 C18 column으로 정제하여 황색 오일상 물질 6(9 mg)을 얻었고 B10 분획을 MeOH(100%)를 용매로 하여 Sephadex LH-20 column chromatography를 실시하여 7개의 소분획(B101~B107)으로 나누고 이중 소분획 B105 분획을 methanol (60%)용매로 하여 C18 column으로 정제 하여 황색 분말상 물질 7(16 mg)을 얻었고Scheme 1에 나타내었다.

Compound 1(2-chromenone)

White powder; m.p. : 325~330℃; $[M+Na]^+$; ^{1}H-NMR (500 MHz, CD_3OD) δ:7.89(1H, d, J = 9.6 Hz, H-4), 7.51, 7.58(2H, m, H-5, 7), 6.46(1H, d, J=9.6 Hz, H-3); ^{13}C-NMR(125 MHz, CD_3OD) δ:162.7(C-2),155.2(C-9) 145.6 (C-4), 133.1(C-7), 129.4(C-5), 125.8(C-6),12 0.3(C-10), 117.5(C-3), 117.1(C-8).

Compound 2(3, 4-Dihydroxy-cinnamic acid)

White powder: m.p : 222~223℃; EI-MS *m/z* : 180[M+]: $FeCl_3$ test: positive: IR ᵞmax KBr, cm^{-1}): 3450(OH), 1650(C=O), 1515: UV ^max(MeOH) nm : 323, 295, 230: ^{1}H-NMR(500 MHz, CD_3OD) δ:7.53(1H, d, J = 15.9 Hz, H-8), 7.05(1H, d, J = 1.5 Hz H-2), 6.95(1H, dd, J = 8.0, 1.5 Hz, H-6), 6.78(1H, d, J = 8.0 Hz, H-5), 6.21(1H, d, J = 15.9 Hz, H-7); ^{13}C-NMR(125 MHz, CD_3OD) δ:171.0(C-9), 149.3(C-4), 146.8(C-4), 146.7(C-8),127.7 (C-6), 116.4 (C-5), 115.6(C-7), 115.0(C-2).

Compound 3(3, 3', 4', 5, 7-pentahydroxy-2phenyl-chromen-4-one)

Yellow needles : m.p : 310~313℃; $FeCl_3$, Mg-HCl, Zn-HCl: positive: IR max KBr, cm^{-1} : 3380, 3300(OH), 1670(α,β-unsauturated ketone), 1610, 1510(aromatic C=C), 1360, 1315, 817: UV ^max(MeOH) nm : 258, 305(sh 375; ^{1}H-NMR(500 MHz, DMSO-d_6+D_2O) δ:6.17(1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 6.39(1H, d, J = 2.0, Hz, H-8), 6.87(1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 7.53(1H, dd, J = 2.0, 8.0 Hz, H-6'), 7.66(1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 12.46(1H, s, C_5OH); ^{13}C-NMR(125 MHz, DMSO-d_6)δ:146.9(C-2), 135.7 (C-3), 175.7(C-4), 160.7(C-5), 98.2(C-6), 163.9 (C-7), 93.4(C-8), 156.2(C-9), 103.0(C-10),122.0(C-1'), 115.3 (C-2'), 145.0(C-3'), 147.6(C-4'), 115.6(C-5'), 120.0, (C-6')

Compound 4(kaemperol-3-O-*β*-D-glucopy-ranoside)

Yellow needles; m.p. : 187~191℃; Mg/Hcl and Zn/ HCl test(양성): UV max(MeOH) nm: 266, 298 sh, 320 sh, 352; ^{1}H-NMR(500 MHz, CD_3OD) δ:8.04(2H, d, J = 8.8 Hz, H-2', 6'), 6.88(2H, d, J = 8.8 Hz H-8), 6.39(1H, d, J = 2.0, Hz, H-8), 6.20(1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 5.25(1H, d, J = 7.1 Hz, anomeric H), 3.70~3.19(sugar H); ^{13}C-NMR(125 MHz, CD_3OD) δ:158.5(C-2), 135.4 (C-3), 179.5(C-4), 163.1, (C-5), 99.9(C-6), 166.0(C-7), 94.7(C-8),159.1(C-9), 105.8(C-10), 122.8, (C-1'), 132.3 (C-2'), 116.1(C-3'), 161.6(C-4'), 116.1(C-5'), 132.3(C-6'), 104.1(C-1''), 75.7(C-2''), 78.4(C-3''), 71.4(C-4''), 78.0 (C-5''), 62.6(C-6).

Compound 5(5, 7, 3', 4'-tetra hydroxy flavones)

Yellow powder; m.p. ; 325~330℃; FAB-MS *m/z* : 326 $[M+Na]^+$; ^{1}H-NMR(500 MHz, CD_3OD) δ:7.41(1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 7.39(1H, dd, J = 8.5 ,2.0 Hz, H-6'), 6.18(1H, d, J = 8.5 Hz, H-5'), 6.43(1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 6.17(1H, d, J = 2.0 Hz, H-6); ^{13}C-NMR(125 MHz, DMSO-d_6) δ:175.8(C-4), 163.8(C-7), 160.7(C-5), 156.1 (C-9), 147.6(C-2), 146.7(C-4'), 145.0(C-3'), 135.7(C-3), 121.9(C-1'), 119.9(C-6'). 115.6(C-5'), 115.0(C-2), 103.0 (C-10), 98.1(C-6), 93.3(C-8).

Compound 6, 3-[[3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-1-oxo-2-propenyl]oxy]-1, 4, 5-trihydroxycyclohexane carboxylic acid

Yellow oil ; m.p. : 211~213℃ ; IR ᵞmax KBr, cm^{-1}); 3470-3353(OH), 2927, 1727(〉C=O), 1601(aromatic), 1458 (cycloalkane), 1189(phenol); UV^max(MeOH) nm : 216, 242, 300(sh), 326; ^{1}H-NMR(500 MHz, CD_3OD) δ:7.67 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-7'), 7.05(1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.94(1H, dd, J = 8.2, 2.0 Hz, H-6'), 6.78 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5'), 6.29(1H, d, J = 15.9 Hz, H-8'), 5.38(1H, ddd, J = 11.2, 6.2, 5.0 Hz, H-5'), 4.11(1H, dd, J = 6.2, 3.0 Hz, H-3), 3.67(1H, dd, J = 10.0, 3.7 Hz, H-6), 2.15 (1H, dd, J = 14.7, 3.1 Hz, H-2), 2.07(1H, dd, J = 14.7, 2.1 Hz, H-6ax), 2.01(1H, dd, J = 14.7, 3.1 Hz, H-2eq); ^{13}C-NMR(125 MHz, CD_3OD) δ:181.0(C-7), 169.2(C-9'), 149.5(C-4'), 146.9(C-7', 3'), 127.9(C-1'), 123.0(C-6'), 116.6(C-8'),115.6(C-2'), 115.2(C-5'), 77.8(C-1), 75.3(C-4), 73.2(C-5), 72.7(C-3), 40.7(C-6), 39.3(C-2).

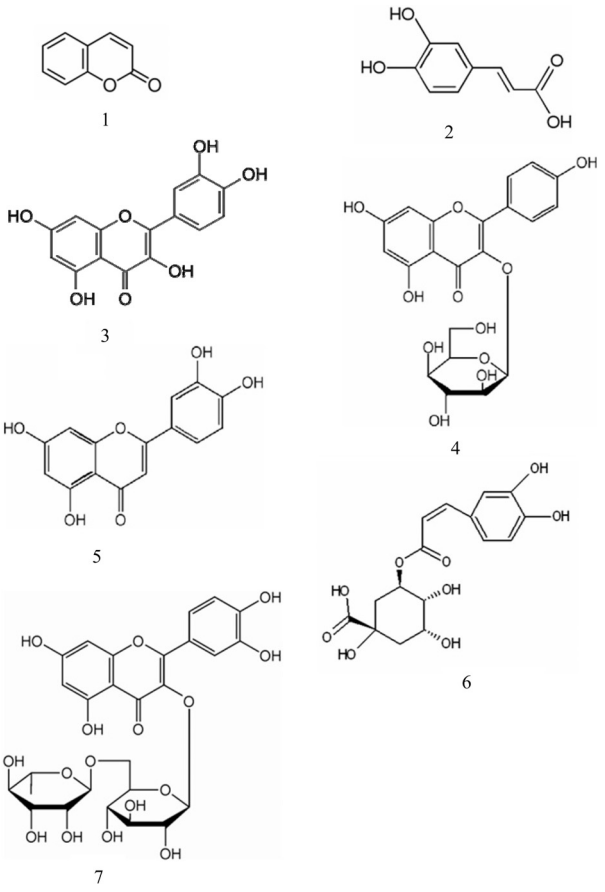


Fig. 1. The structure of compounds 1~7 isolated from *Sphagnum palustre*.

Compound 7(quercetin-3-O-rutinoside)

Yellow powder; m.p. : 221℃; FAB-MS *m/z* : 611 $[M+Na]^+$; ^{1}H-NMR(500 MHz, CD_3OD) δ:1.13(3H, d, *J* = 6.0 Hz, H-6''), 4.35(1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-1''), 5.31 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-1'''), 6.22(1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6), 6.40(1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 6.89(1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-5'), 7.63(1H, dd, *J* = 2.0, 8.5 Hz, H-6'), 7.65(1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'); ^{13}C-NMR(125 MHz, CD_3OD) δ: 156.7(C-2), 133.5(C-3), 177.6(C-4), 161.5(C-5), 100.1 (C-6), 164.8(C-7), 93.8(C-8), 156.8(C-9), 103.8(C-10), 121.8(C-1'), 115.5(C-2'), 145.0(C-3'), 148.8(C-4'), 116.5, (C-5'), 121.3(C-6'), 101.4(Glc-1), 74.2(Glc-2), 76.6(Glc-3), 70.1(Glc-4), 76.1(Glc-5), 67.1(Glc-6), 101.0(Rha-1), 70.005(Rha-2), 70.7(Rha-2), 72.0(Rha-3), 68.4(Rha-4), 17.8(Rha-6).

세포주 및 배양배지

HeLa(human cervical adenocarcinoma), A549(human lung adenocarcinoma), SK-OV-3(human ovarian adeno-carcinoma)는 한국세포주은행에서 구입 하였다. 이들 세포들은 열처리 불활성화 된 10% FBS 및 penicillin(100 U/ml) and streptomycin sulfate(100 mg/ml)이 포함된 RPMI 1640 배지에서 37℃, 5% CO_2 조건을 유지하여 배양했다.

항암활성 측정

항암활성을 측정하기 위해서 96 well에 5×10^4 cells/ml로 100 μl씩 세포를 동일하게 분주하고 24시간 동안 배양한 후 여러 농도의 시료 용액을 배지에 희석하여 첨가 하였다. 48시간이 지난 후 MTT 시약(5 mg/ml) 50 μl씩 넣고 4시간 동안 어두운 곳에서 배양한 후 상등액을 제거하고 형성된 MTT formazan을 DMSO 100 μl를 첨가하여 녹였다. 10분 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계처리

실험치의 값은 3번의 독립된 실험을 시행하여 mean ± S.D.로 나타냈으며 분석은 Student's *t*-test로 그 유의성을 나타내었다.

결과 및 고찰

화합물 1, 2, 3, 4, 5, 6 및 7은 본 식물에서는 처음 분리되었으나 이미 이종의 식물에서는 보고 되어진 성분들이다. 이들 성분의 구조는 I.R, U.V, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR 및 MS 스펙트럼 자료를 문헌과 비교하여 구조를 결정하였다.

화합물 1은 흰색 분말상의 물질로써 m.p.는 325~330℃이며, 10% vanillin sulfuric acid 시약에서 흑색으로 발색되었다. ^{1}H-NMR 스펙트럼에서는 a-pyrone ring에 기인하는 3, 4번 위치에 전형적인 proton signal인 δ7.89(1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-4)과 6.46(1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-3)이 나타났으며 5, 7번 위치의 multiplet signal인 δ7.51-7.58 (2H, m, H-5, 7)관찰 되었다. ^{13}C-NMR spectrum에서는 Methine group의 signal인 δ145.6(C-4), 133.1(C-7), 129.4(C-5), 125.8(C-6), 117.5(C-3), 117.1(C-8)을 확인 할 수 있었고 δ162.7(C-2)에는 carbonyl signal을 관

찰할 수 있었다. 이상의 자료로부터 화합물 1은 2-chromenone (coumarin)으로 구조를 추정하였고 기존의 문헌을 비교하여 구조를 확인 동정하였다(Jung *et al.*,1978; Mukherjee *et al.*, 1998; Moon and Zee, 1999; Lee *et al.*, 2002; Min, 2006).

화합물 2 는 백색 분말상의 물질로써 $FeCl_3$에서 양성반응을 보였고 m.p.는 222~223℃이며, MS spectrum에서는 m/z 180에서 molecular ion peak를 관찰할 수 있었고 IR spectrum에서는 3450(OH), 1650(C=O)등에서 강한 흡수대를 관찰할 수 있었다. ^{1}H-NMR 스펙트럼에서는 δ7.53 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-8)과 6.21(1H, d, J = 15.9 Hz, H-7)에서 trans coupling하는 proton signal을 확인 할 수 있었고 δ7.05(1H, d, J = 1.5 Hz H-2), 6.95(1H, dd, J = 8.0, 1.5 Hz, H-6), 6.78(1H, d, J = 8.0 Hz, H-5)의 proton signal은 ABX의 coupling system으로 관찰할 수 있었다. ^{13}C-NMR spectrum에서는 δ171.0(C-9)에서 carbonyl signal을 확인 하였고 δ149.3(C-4), 146.8(C-4), 146. (C-8), 127.7(C-6), 116.4(C-5), 115.6(C-7), 115.0 (C-2)에서는 olefinic carbon signal을 관찰할 수 있었다. 이상의 자료로부터 화합물 2는 3,4-Dihydroxy-cinnamic acid(caffeic aid)로 구조를 추정하였고 기존의 문헌을 비교하여 구조를 확인 동정하였다(Park, 1973; Kim, 1975; Kwon *et al.*, 2000; Lee, 2002; Jung *et al.*, 2003).

화합물 3은 황색 침상의 물질로써 m.p.는 310-313℃이며, 10% H_2SO_4(EtOH)에서 노란색으로 발색되었다. 화합물 3의 구조는 IR, UV 스펙트럼, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR 스펙트럼 자료를 문헌치와 비교하여 3, 3', 4', 5, 7-pentahydroxy-2-phenylchromen-4-one(quercetin)으로 구조를 확정하였다(Lee *et al.*, 2003; Huong *et al.*, 2004; Park *et al.*, 2004).

화합물 4는 황색 침상의 물질로써 m.p.는 187~191℃이며, 10% H_2SO_4(EtOH)에서 노란색으로 발색되었다. 화합물 4의 구조는 Mg/HCl and Zn/HCl test와 U.V 스펙트럼, ^{1}H-NMR,^{13}C-NMR 스펙트럼 자료를 문헌치와 비교하여 kaempferol-3-O-β-D-gluco Pyranoside(astragalin)로 구조를 확정하였다(Lee *et al.*, 1994; Kim *et al.*, 1996; Won *et al.*, 2004).

화합물 5는 황색 분말상의 물질로써 m.p.는 325~330℃이며, 10% H_2SO_4(EtOH)에서 노란색으로 발색되었다. ^{1}H-NMR 스펙트럼에서는 4번의 ketone기에 수소 결합을 하는 5번위치의 OH sign-al이 확인 되었으며, δ6.18(1H, d, J = 8.5 Hz, H-5'), 6.43(1H, d, J = 2.0 Hz, H-8)에서는 m-coupling 하여 각각 결합상수 J = 2.0 Hz의 doublet으로 관찰되는 A환 6, 8번 위치의 전형적인 proton signal이 관찰 되었다. ^{13}C-NMR spectrum에서는 총 15개의 carbon signal : δ175.8(C-4), 163.8(C-7), 160.7 (C-5), 156.1(C-9), 147.6(C-2), 146.7(C-4'), 145.0(C-3'), 135.7(C-3), 121.9(C-1'), 119.9(C-6'). 115.6(C-5'), 115.0 (C-2), 103.0(C-10), 98.1(C-6), 93.3(C-8) 관찰할 수 있었다. 이상의 자료로부터 화합물 5는 5, 7, 3', 4'-tetra hydroxy flavone(luteolin)으로 구조를 추정하였고 기존의 문헌을 비교하여 구조를 확인 동정하였다(Kim and Choi, 1993; Kim *et al.*, 2005).

화합물 6은 황색 오일상의 물질로써 m.p.는 211~213℃이며 IR spectrum에서는 3470-3353(OH), 2927, 1727 (>C=O), 1601(aromatic), 1458(cycloalkane), 1189(phenol) 강한 흡수대를 확인할 수 있었고 UV spectrum에서는 216, 242, 300(sh), 326: 흡수대를 관찰할 수 있었다. 화합물 6의 I.R, U.V 스펙트럼, ^{1}H-NMR ,^{13}C-NMR 스펙트럼 자료를 문헌치와 비교하여 3-[[3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-1-oxo-2-propenyl]oxy]-1,4,5-Trihydroxyc-yclohexanecarbox-ylic acid(chlorogenic acid)로 구조를 확정하였다(Park and Jung, 1975; Chung *et al.*, 1978; Lee, 1998; Kim *et al.*, 2005).

화합물 7은 황색 분말상 물질로써 m.p.는 211℃이고 10% H_2SO_4(EtOH)에서 황색으로 발색되었다. IR spectrum에서는 3350(OH), 1654(C=O), 1605, 1507 cm^{-1}(aromatic C=C) 등에서 강한흡수대를 관찰할 수 있었다. ^{1}H-NMR 스펙트럼에서는 δ6.89(1H, d, J = 8.5 Hz, H-5'), 7.63 (1H, dd, J = 8.5 Hz, H-6') 및 7.65(1H, d, J = 2.0 Hz,

Table 1. Cytotoxicity of *S. palustre* ethanol extract on three cancer cell lines

Treatment	IC_{50}*(μg / ml)		
	A549	Hela	SK-OV-3
S. palustre Ethanol extract	176.12	267.24	335.8
Cisplatin	60.37	103.84	210.14

*IC_{50} value represent the mean of three independent experiments and were defined as the drug concentration which resulted in a 50% decrease in cell number as compared with the control cultures in the absence of inhibitor

H-2')에서 flavonoid의 B ring의 proton들과 6.22(1H, d, J = 2.0 Hz, H-6) 및 6.40(1H, d, J = 2.0 Hz, H-8)에서 A ring의 proton들을 관찰할 수 있었다. 또한, 당 부분의 δ5.31(1H, d, J = 7.5 Hz, H-1''')은 glucose의 anomeric proton 이 β결합을 하고 있음을 알 수 있었고, δ4.35의 singlet signal은 rhamnose의 anomeric proton으로 추정되었으며, δ1.13(3H, d, J = 6.0 Hz, H-6'')은 rhamnose의 methyl기로 추정하였다. ^{13}C-NMR spectrum에서 당으로부터 기인하는 총 12개의 carbon signal {δ101.4(Glc-1), 74.2(Glc-2), 76.6(Glc-3), 70.1(Glc-4), 76.1(Glc-5), 67.1(Glc-6), 101.0(Rha-1), 70.5(Rha-2), 70.7(Rha-2), 72.0(Rha-3), 68.4(Rha-4), 17.8(Rha-6)}을 통해 2개의 당이 결합하고 있음을 확인할 수 있었고, 특히, glucose의 C-6 위치에 당이 결합되어 있음을 추측할 수 있었다. 또한, 총 27개의 carbon signal 중 당의 signal을 제외하고 총 15개의 carbon signal이 관찰 되었으며, 이는 flavonoid의 골격을 나타내는 signal로 추정하였으며, δ177.6에서 C-4의 carbonyl기를 관찰할 수 있었다. 이상의 자료로부터 화합물 7은 quercetin-3-O-rutinoside(rutin)로 구조를 추정하였고 기존의 문헌을 비교하여 구조를 동정하였다(Nam *et al.*, 1975; Agrawal, 1989).

위와 같이 물이끼의 전초에서 물질을 분리·동정하기 위해 EtOH추출물을 $CHCl_3$, EtOAc 및 BuOH로 용매 분획하였다. $CHCl_3$분획으로부터 2-chromenone(Coumarin)을 분리하였고 EtOAc 분획에서3, 4-Dihydroxy-cinnamic acid(Caffeic acid), 3, 3', 4', 5, 7-pentahydroxy-2phenyl-chromen-4-one(quercetin)과 kaemperol-3-O-β-D-glucopy-ranoside(astragalin)을 분리 하였다. BuOH분획으로 부터는 5, 7, 3',4'-tetra hydroxy flavone(Luteolin), 3-[[3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-1-oxo-2-propenyl] oxy]-1, 4, 5-trihydroxycyclohexane carboxylic acid (Chlorogenic acid)와 quercetin-3-O-rutinoside(Rutin)를 분리하여 IR, UV, Mass, NMR과 이화학적인 확인법으로 그 구조를 규명하였고 Fig. 1에 나타내었다.

분리한 물질 7종은 모두 본 식물에서 처음으로 보고 하였으며 *in vitro* assay를 통한 항암활성 실험에서는 물이끼의 Ethanol 추출물이 3종의 암세포주 중 A549 세포주에 대해서 유의성 있는 세포독성을 Table 1에 나타내었다.

적 요

본 연구에서는 척리 즉 물이끼를 이용한 고부가가치 기능성 소재를 개발하기 위하여 물이끼의 Ethanol 추출물을 이용한 항암활성과 식물화학적 성분연구를 수행 하였다.

3종의 암세포주(A549, HeLa, SK-OV-3)에 대하여 세포독성연구를 수행해 본 결과 폐암세포주인 A549에서 유의성 있는 결과를 보였다. 이 결과는 난치성 질환인 암을 치료하려는 목적 의약품 보다는 Chemopreventive agent로서의 예방 의학적 기능성 소재로 충분한 가치가 있음이 사료 되어지기에 식물화학적 성분연구를 실시하여 7종의 화합물(Comp.1 : Coumarin, Comp.2 : Caffeic acid, Comp.3 : Quercetin, Comp.4 : Astragalin, Comp.5 : Luteolin, Comp.6 : Chlorogenic acid, Comp.7 : Rutin)를 분리하여 구조동정 하였다.

인용문헌

Agrawal, P.K. 1989. Carbon-13 NMR of flavonoids. Elsevier. 335-337.

Choi, D.M. 1980. Musci · hepaticae. Illustrated Flora & Fauna of Korea 24:160-161 (in Korean).

Chung, D.K., T.H. Kim and Y.R. Lee.1978. The chemical screening of *Caryophyllaceae* Plants. Kor. J. Pharmacogn. 9:83-88 (in Korean).

E-journal, http://preview.britannica.co.kr. 2010. peat moss. Encyclopaedia Britannica Online Korea.

Huong, D.T. L., N.T. Dat, X.F.Cai and G. Shen. 2004. Phenolic components from the leaves and twings of *Rhamnus taquetii*. Kor. J. Pharmacogn. 35:139-142 (in Korean).

Jung, H.W., J.Y. Choi, J.G. Lee, E.H. Choi, J.S. Oh, D.C. Kim, J.A. Kim, S.H. Park, J.K. Son and S.H. Lee. 1978. Isolation of melanogenesis inhibitors from *Cinnamomi Cortex*. Kor. J. Pharmacogn. 38:382-386 (in Korean).

Jang, C.H., J.S. Eun, J.P. Lim, H.W. Park, J.W. Kim, T.Y. Shin, D.O. Eom, N.I. Baek and D.K. Kim. 2003. Phytochemical components from the whole Plants of *Bothriospermum tenellum*. Kor. J. Pharmacogn. 34:119-122 (in Korean).

Kim, C.W. and K.S. Choi. 1993. Studies on the constituents of *Impatiens extori*. Kor. J. Pharmacogn. 24:26-31 (in Korean).

Kim, D.K., J.H. Kwak, K,W. Song, H.C. Kwon, O.P. Zee

and K.R. Lee. 1996. Phytochemical constituents from *Aconitum pseudolaeve* var. erectum. Kor. J. Pharmacogn. 27:75-79 (in Korean).

Kim, M.J., Y.S. Kwon and C.Y. Yu. 2005. Antioxidative compounds in extracts of *Eleutherococcus senticosus* Max. Plantlets. Kor. J. Medicinal Crop Sci. 13:194-198 (in Korean).

Kim, K.S., S.H. Lee, K.H. Kang and B.K. Kim. 2005. Flavonoid galactosides from Artemisia apiacea. Nat. Prod. Sci. 11:10-1.

Kim, T.H. 1975. Studies on unutilized plant resources (I) components of wild edible plants. Kor. J. Pharmacogn. 6: 23-27 (in Korean).

Kwon, Y.S., K.K. In and C.M. Kim. 2000. Chemical constituents from the roots of *Ostericum koreanum*. Kor. J. Pharmacogn. 31:284-287 (in Korean).

Lee, E.H., H.J. Kim, Y.S. Song, C.B. Jin, K.T. Lee, J.S. Cho and Y.S. Lee. 2003. Constituents of the stems and fruits of *Opuntia ficus-indica* var. saboten. Arch. Pharm. Res. 26:1018-1023.

Lee, M.W. 1998. Phenolic compound from *Lepisorus thunbergianus*. Kor. J. Pharmacogn. 29:142-144 (in Korean).

Lee, M.W. 2002. Phenolic compound from *Lepisorus thunbergianus*. Kor. J. Pharmacogn 31:284-287 (in Korean).

Lee, S.H., S.S. Kang and K.H. Shin. 2002. Coumarins and a pyrimidine from *Angelica gigas* roots. Nat. Prod. Sci. 8:58-61.

Lee, M. S., S. C. Lim and H. J. Park. 1994. Phthalate ester and flavonoids isolated from leaves of *Erythronium japonicum*. Kor. J. Medicinal Crop Sci. 2:67-72 (in Korean).

Min, B.S. 2006. Coumarins and a polyacetylene from the roots of *Angelica purpuraefolia*. Nat. Prod. Sci. 12:129 -133.

Mukherjee, K.K., S.K. Mitra and S.N. Ganguly. 1998. A new coumarin from the seeds of Jute (*Corchorus olitorius* L.). Nat. Prod. Sci. 4:51-52.

Moon, H.I. and O.P. Zee. 1999. Anticancer compounds of *Plantago asiatica* L. Kor. J. Medicinal Crop Sci. 7:143 -146 (in Korean).

Nam, J.H., S.Z. Choi and K.R. Lee. 2004. Phytochemical constituents of *Synurus excelsus*, Kor. J. Pharmacogn. 35: 116-121 (in Korean).

Park, S.S. 1973. Studies on polyphenols in higher plants (II). Kor. J. Pharmacogn. 4:67-70 (in Korean).

Park, S.S. and S.H. Jung. 1975. Studies on Polyphenols in Higher Plants (IV). Kor. J. Pharmacogn. 6:93-99 (in Korean).

Park, J.C., J.G. Park, J.S. Hur, M.R. Choi, E.J. Yoo, S.H. Kim, J.C. Son and M.S. Kim. 2004. Inhibitory effects of methanol extract, phenolic acids and favonoids from the leaves of *Eucalyptus darylmpleana against* 1.1-diph enyl-2-picrylhydrazyl radical. Nat. Prod. Sci. 10:244-247.

Won, H.M., Y.S. Kwon, J.H. Lee and C.M. Kim. 2004. Chemical constituents of the Leaves of *Weigela subsesillis*. Kor. J. Pharmacogn. 35:1-5 (in Korean).

(접수일 2010. 8. 30; 수락일 2010. 11. 26)