

가을강아지풀의 C-Glycosylflavone 성분

김대근*

우석대학교 약학대학

C-Glycosylflavonoids from the Whole Plants of *Setaria faberi* Herrmann

Dae Keun Kim*

College of Pharmacy, Woosuk University, Jeonju 55338, Korea

Abstract – Four flavone compounds were isolated from the whole plants of *Setaria faberi* Herrmann (Gramineae) through repeated column chromatography. Their chemical structures were elucidated as tricin (1), and three C-glycosylflavone, 2''-O-rhamnosylvitexin (2), 2''-O-rhamnosylscoparin (3), and 2''-O-rhamnosylorientin (4), respectively, by spectroscopic analysis. These compounds were isolated for the first time from this plant.

Key words – *Setaria faberi*, Gramineae, C-glycosylflavone

가을강아지풀(*Setaria faberi* Herrmann)은 벼과(Gramineae)에 속하는 높이 50-140 cm까지 자라는 1년초로 우리나라 중부이남에서 자란다. 잎은 선상 피침형이고 길이 30 cm, 너비 2 cm 정도이며, 화서는 원기둥 모양으로 길이 10-15 cm까지 자라고 9-11월에 개화한다.¹⁾ *Setaria*속 식물에 대한 연구로는 *S. italica*(조)에서 O-glycosylflavone, C-glycosylflavone 및 coumarin 성분 등이 보고되어 있고,^{2,4)} *C. viridis*(강아지풀)에서 C-glycoside와 p-hydroxycinnamic acid 분리 및 이들에 대한 항산화 효능이 보고되어 있으나,⁵⁾ 가을강아지풀(*S. faberi*)의 식물화학적 성분연구나 약리학적 연구가 없어 잡초로서 흔히 자라고 있는 본 식물의 자원으로서의 가치를 알아보고자 식물 전초의 식물화학적 성분연구의 일환으로 진행하였다. Methanol 추출물의 ethyl acetate와 butanol 가용분획에서 몇 가지 반복적인 column chromatography를 실시하여 1종의 flavone 화합물과 3종의 C-glycosylflavone을 분리하고, 이들 화합물의 spectral data로부터 그 구조를 확인·동정하였기에 이를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 – 본 실험에 사용한 가을강아지풀은 2014년 8월에 전북 완주군에서 채취하였으며, 연구자가 정확히 감정

한 후에 음건세절하여 실험에 사용하였다(WSU-14-009).

시약 및 기기 – 구조분석을 위해 ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR은 Jeol JMN-EX 400 spectrometer(Japan)를 이용하여 NMR 자료를 확보하였다. 추출 및 분획용 시약은 1급 용매를 사용하였으며, TLC 및 column용 시약 등은 1급 용매를 재증류하여 사용하거나 특급시약을 사용하였다. Column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel 60(Art. 1.07734, 230-400 mesh, Merck)이며, molecular sieve column chromatography용 packing material은 Sephadex LH-20(Pharmacia)을 사용하였다. TLC plate는 Kiesel gel 60 F₂₅₄(Art. 1.07752, Merck), low pressure liquid chromatography(LPLC)용 column은 Lobar-A Lichroprep Si 60(Merck) column을, prep-HPLC용 column은 JAI GS-310 column(Tokyo, Japan)을 사용하였다. 발색시약은 10% H₂SO₄(in EtOH) 시액을 사용하였으며, UV의 검색은 254와 365 nm를 병행하였다.

추출 및 분리 – 신선한 가을강아지풀을 음건 세절한 시료 약 1.5 kg을 methanol로 가끔 진탕하면서 5시간씩 50°C에서 3회 온침 추출하였다. 그 추출액을 수욕상에서 감압농축하여 methanol 엑스 약 177 g을 얻었으며, 이 methanol 엑스에 증류수 500 ml를 가하여 현탁시키고 상법에 따라 동량의 n-hexane(16.5 g), methylene chloride(2.5 g), ethyl acetate(1.6 g) 및 n-butanol(11.9 g)의 순으로 용매 분획하였다. TLC로 함유물질의 양상을 확인한 후 UV상에서 가장 진한 반점을 나타낸 ethyl acetate와 butanol 가용분획을 TLC상에서

*교신저자(E-mail): dkkim@woosuk.ac.kr
(Tel): +82-63-290-1574

10% H₂SO₄ 및 FeCl₃ 발색시약과 UV로 검색하면서 silica gel column chromatography 및 Sephadex LH-20을 사용한 molecular sieve column chromatography와 Lobar-A Lichroprep Si 60 column을 사용한 low pressure liquid column chromatography 등을 반복 실시하고 JAI GS-310 column을 이용한 HPLC로 화합물을 정제하였다.

Ethyl acetate 가용분획을 methanol을 유출용매로 Sephadex LH-20 column을 통과시켜 3개의 분획(E1-E3)으로 나누었다. E3분획을 methanol을 유출용매로 JAI GS-310 column으로 정제하여 화합물 **1**(15 mg)을 분리하였다. Butanol 가용분획을 methanol을 유출용매로 Sephadex LH-20 column을 통과시켜 4개의 fraction(B1-B4)으로 나누었다. B3분획 1 g을 CHCl₃-MeOH-H₂O(20:10:1)를 유출용매로 silica gel column chromatography를 실시하여 6개의 소분획으로 나누었다(B31-B36). 그 중 소분획 B34를 methanol을 유출용매로 JAI GS-310 column으로 정제하여 화합물 **2**(10 mg)와

3(14 mg)을 얻었으며, 소분획 B36을 JAI GS-310 column (MeOH)으로 정제하여 화합물 **4**(17 mg)를 얻었다.

화합물 1 – ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 7.19 (2H, s, H-2', 6'), 6.61 (1H, s, H-3), 6.44 (1H, d, *J*=1.8 Hz, H-8), 6.18 (1H, d, *J*=1.8 Hz, H-6), 3.93 (6H, s, OCH₃×2), ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) see Table I, Positive FAB-MS *m/z* 331 [M+H]⁺

화합물 2 – ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 7.99 (2H, d, *J*=8.8 Hz, H-2', 6'), 6.94 (2H, d, *J*=8.8 Hz, H-3', 5'), 6.61 (1H, s, H-3), 6.27 (1H, s, H-6), 5.09 (1H, s, H-1''), 5.01 (1H, d, *J*=10.4 Hz, H-1'''), 0.63 (3H, d, *J*=6.4 Hz, H-6'''), ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) see Table I, Positive FAB-MS *m/z* 579 [M+H]⁺

화합물 3 – ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 7.56 (1H, dd, *J*=8.4, 2.0 Hz, H-6'), 7.45 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-2'), 6.95 (1H, d, *J*=8.4 Hz, H-5'), 6.59 (1H, s, H-3), 6.24 (1H, s, H-6), 5.04 (1H, s, H-1'''), 4.58 (1H, d, *J*=12.4 Hz, H-1''), 3.73 (3H, s, OCH₃-3'), 0.60 (3H, d, *J*=6.4 Hz, H-6'''), ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) see Table I, Positive FAB-MS *m/z* 609 [M+H]⁺

화합물 4 – ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 7.56 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-2'), 7.51 (1H, dd, *J*=8.4, 2.0 Hz, H-6'), 6.91 (1H, d, *J*=8.4 Hz, H-5'), 6.53 (1H, s, H-3), 6.27 (1H, s, H-6), 5.09 (1H, d, *J*=1.6 Hz, H-1'''), 4.58 (1H, d, *J*=10.4 Hz, H-1''), 0.63 (3H, d, *J*=6.0 Hz, H-6'''), ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) see Table I, Positive FAB-MS *m/z* 595 [M+H]⁺

Table I. ¹³C-NMR spectral data of compounds **1-4**

C	1	2	3	4
2	166.0	166.8	166.6	166.8
3	105.4	103.7	103.8	103.7
4	183.8	184.2	184.1	184.2
5	163.2	162.8	162.9	162.8
6	100.2	99.8	99.8	99.8
7	166.0	164.3	164.3	164.2
8	95.1	105.8	105.4	106.0
9	159.4	158.0	158.0	157.9
10	104.5	106.0	106.0	105.7
1'	122.7	123.6	124.2	124.1
2'	105.2	130.2	114.9	115.0
3'	149.6	117.0	151.1	147.1
4'	141.2	162.8	147.2	151.0
5'	149.6	117.0	116.7	116.8
6'	105.2	130.2	121.0	121.0
OCH ₃			56.7	
D-glucose				
1		73.6	73.6	73.5
2		78.1	78.1	78.1
3		81.6	80.1	81.7
4		72.0	72.0	72.0
5		82.9	81.6	82.9
6		63.0	63.8	63.2
L-rhamnose				
1		102.6	102.7	102.5
2		72.5	72.2	72.4
3		73.7	73.9	73.8
4		72.2	72.2	72.2
5		70.0	70.0	70.0
6		18.1	18.0	18.1

Recorded at 100 MHz in CD₃OD

결과 및 고찰

가을강아지풀로부터 얻은 methanol 엑스를 통상적인 방법으로 분획하여 *n*-hexane, methylene chloride, ethyl acetate 및 *n*-butanol 엑스를 제조하였다. 이 중 ethyl acetate 가용분획과 butanol 가용분획을 silica gel과 Sephadex LH-20 column chromatography를 반복 실시하고 HPLC로 정제하여 4종의 화합물을 단리하였다.

화합물 **1**은 FeCl₃ 시액에 양성으로 나타나 페놀성 화합물임이 확인되었으며, ¹H-NMR spectrum에서 aromatic 영역에서 δ 7.19에서 2H에 해당하는 1개의 singlet proton peak가 확인되었고, δ 6.44과 6.18에서는 *meta* coupling(*J*=1.8 Hz)하는 각각 1H에 해당하는 2개의 doublet signal이 관찰되었다. δ 6.61(1H, H-3)에서는 1H에 해당하는 1개의 proton peak가 확인되었으며, δ 3.93(6H, s)에서 2개의 methoxy peak에 해당하는 signal이 관찰되었다. 이상의 양상으로 보아 화합물 **1**은 같은 *Setaria*속 식물에서 보고된 tricinin으로 추정하였으며, 기존 문헌^{5,6)}의 data와 비교하여 확인·동정하

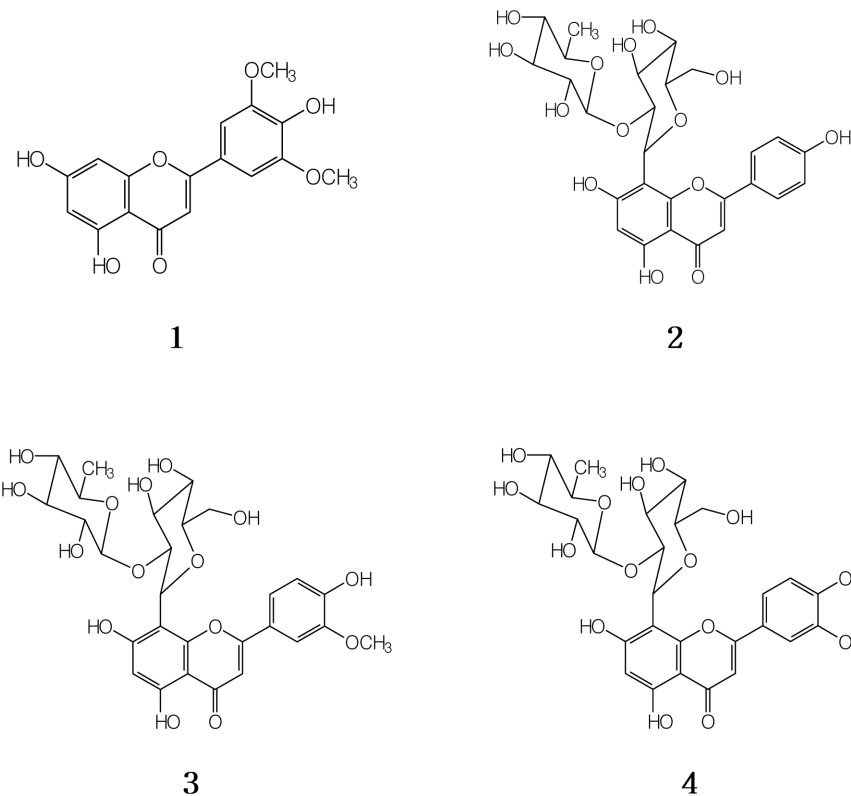


Fig. 1. Structures of compounds 1-4.

었다. Tricin은 항염효능을^{7,8)} 비롯하여 항바이러스⁹⁾ 및 항히스타민 작용¹⁰⁾ 등 몇 가지 효능이 보고되어 있다.

화합물 **2**는 FeCl₃ 시액에 양성으로 폐놀성 화합물임을 알 수 있었으며, ¹H-NMR spectrum에서 aromatic 영역의 δ 7.97과 6.94에서 *ortho* coupling($J=8.8$ Hz)하는 각각 2H에 해당하는 2개의 proton peak가 확인되었으며, δ 6.61과 6.27에서는 각각 1H에 해당하는 singlet signal이 관찰되었다. δ 5.09(1H, s), 5.01(1H, d, $J=10.4$ Hz)에서 anomeric proton으로 추정되는 2개의 signal이 확인되었으며, δ 0.63(3H, d, $J=6.4$ Hz)에서 1개의 methyl signal이 관찰되었다. ¹³C-NMR spectrum에서는 olefin 영역에서 14개 정도의 carbon peak와 aliphatic 영역에서 methyl기 한 개를 포함한 12개 정도의 signal 및 1개의 carbonyl carbon signal(δ 184.2)이 관찰되었다. 이상의 결과를 검토한 결과 화합물 **2**는 전형적인 A₂B₂ splitting pattern의 B ring을 부분구조로 갖고 있으며, 6번 탄소가 methyl인 rhamnose당을 포함한 2개의 당을 갖고 있는 C-glycoside 화합물인 vitexin계열의 화합물로 추정되었으며, 기존 문헌¹¹⁻¹³⁾의 data와 비교한 결과 2"-O-rhamnosylvitexin으로 확인·동정하였다. 2"-O-rhamnosylvitexin은 tyrosinase 억제효능과¹⁴⁾ 산화적 스트레스 억제효과가¹⁵⁾ 보고되어 있다.

화합물 **3**은 FeCl₃ 시액에 양성인 폐놀성 화합물로 확인되었으며, ¹H-NMR spectrum에서 전형적인 flavonoid의 A-ring

에 기인하는 *meta*-coupled signal이 관찰되지 않고 δ 6.59(1H, s)와 6.24(1H, s)에서 각각 singlet peak가 관찰되었으며, δ 7.56(1H, dd, $J=8.4, 2.0$ Hz, H-6'), 7.45(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2') 및 6.95(1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5')에서 전형적인 1,3,4-trisubstituted aromatic signal이 확인되었다. 또한 δ 5.04(1H, s), 4.58(1H, d, $J=12.4$ Hz)에서 anomeric proton으로 추정되는 2개의 signal이 확인되었으며, δ 3.73(3H, s)에서 methoxy signal과 δ 0.60(3H, d, $J=6.4$ Hz)에서 1개의 methyl signal이 관찰되었다. ¹³C-NMR spectrum에서는 olefin 영역에서 14개 정도의 carbon peak와 aliphatic 영역에서 methyl기와 methoxy peak를 포함한 13개 정도의 signal 및 1개의 carbonyl carbon signal(δ 184.1)이 관찰되었다. 이상의 결과를 검토한 결과 화합물 **3**은 전형적인 ABX splitting pattern의 B ring을 가지고 있으며, 6번 탄소가 methyl인 rhamnose당을 포함한 2개의 당을 갖고 있는 luteolin 골격의 C-glycoside 화합물로 추정하였으며, 기존 문헌¹¹⁾의 data와 비교한 결과 2"-O-rhamnosylscoparin으로 확인·동정하였다.

화합물 **4**는 FeCl₃ 시액에 양성으로 폐놀성 화합물로 확인되었으며, ¹H-NMR spectrum은 화합물 **3**과 유사하게 나타났다. 전형적인 flavonoid의 A-ring에 기인하는 *meta*-coupled signal이 관찰되지 않았고, δ 6.53(1H, s)와 6.27(1H, s)에서

각각 singlet peak가 관찰되었으며, δ 7.56(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2'), 7.51(1H, dd, $J=8.4, 2.0$ Hz, H-6'), 6.91(1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5')에서 전형적인 1,3,4-trisubstituted aromatic signal이 확인되었다. 또한 δ 5.09(1H, d, $J=1.6$ Hz), 4.58(1H, d, $J=10.4$ Hz)에서 anomeric proton으로 추정되는 2개의 signal이 확인되었으며, δ 0.60(3H, d, $J=6.0$ Hz)에서 1개의 methyl signal이 관찰되었다. ^{13}C -NMR spectrum에서는 olefin 영역에서 14개 정도의 carbon peak와 aliphatic 영역에서 methyl기를 포함한 12개 정도의 signal 및 1개의 carbonyl carbon signal(δ 184.2)이 관찰되었다. 이상의 결과를 검토한 결과 화합물 4는 전형적인 ABX splitting pattern의 B ring을 가지고 있으며, 6번 탄소가 methyl인 rhamnose 당을 포함한 2개의 당을 갖고 있는 luteolin 골격의 C-glycoside 화합물로 화합물 3에서 methoxy기가 없는 화합물로 추정하였으며, 기존 문헌¹¹⁻¹³⁾의 data와 비교한 결과 2"-O-rhamnosylorientin으로 확인·동정하였다. 2"-O-rhamnosylorientin은 항산화 및 urease 억제효과가¹⁶⁾ 보고되어 있다.

결 론

가을강아지풀의 methanol 추출물 중 ethyl acetate 가용분획과 butanol 가용분획에서 4종의 화합물을 분리하였으며, 이들의 spectral data로부터 구조를 확인한 결과 tricinin(1), 2"-O-rhamnosylvitexin(2), 2"-O-rhamnosylscoparin(3) 및 O-rhamnosylorientin(4)로 각각 확인·동정하였다. 이 화합물들은 모두 본 식물로부터 처음 보고되는 화합물로 식물화학 성분연구의 기초자료로 사용할 수 있을 것으로 생각되며, 향후 동정된 화합물의 활성연구가 필요할 것으로 사료된다.

인용문헌

- Lee, Y. N. (2006) *New flora of Korea II*, 568, Kyo-Hak Publishing Co., LTD, Seoul.
- Gluchoff-Fiasson, K., Jay, M. and Viricel, M. R. (1989) Flavone O- and C-glycosides from *Setaria italica*. *Phytochemistry* **28**: 2471-2475.
- Jain, N., Ahmad, M., Kamil, M. and Ilyas, M. (1991) 8,3'-Dimethoxy-5,4'-dihydroxyflavone 7-glucoside from *Setaria italica*. *Phytochemistry* **30**: 1345-1347.
- Jain, N., Alam, M. S., Kamil, M., Ilyas, M. and Ali, M. (1991) A coumarin from *Setaria italica*. *Phytochemistry* **30**: 3826-3827.
- Kwon, Y. S., Kim, E. Y., Kim, W. J., Kim, W. K. and Kim, C. M. (2002) Antioxidant constituents from *Setaria viridis*. *Arch. Pharm. Res.* **25**: 300-305.
- Agrawal, P. K. (1989) Carbon-13 NMR of flavonoids. In Agrawal, P. K., Thakur, R. S. and Bansal, M. C., *Flavonoids*, 136, Elsevier, New York.
- Shalini, V., Jayalekshmi, A. and Helen, A. (2015) Mechanism of anti-inflammatory effect of tricinin, a flavonoid isolated from Njavara rice bran in LPS induced hPBMCs and carrageenan induced rats. *Mol. Immunol.* **66**: 229-239.
- Lee, S. S., Baek, Y. S., Eun, C. S., Yu, M. H., Baek, N. I., Chung, D. K., Bang, M. H. and Yang, S. A. (2015) Tricinin derivatives as anti-inflammatory and anti-allergic constituents from the aerial part of *Zizania latifolia*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **79**: 700-706.
- Yazawa, K., Kurokawa, M., Obuchi, M., Li, Y., Yamada, R., Sadanari, H., Matsubara, K., Watanabe, K., Koketsu, M., Tsuchida, Y. and Murayama, T. (2011) Anti-influenza virus activity of tricinin, 4',5,7-trihydroxy-3',5'-dimethoxyflavone. *Antivir. Chem. Chemother.* **22**: 1-11.
- Kuwabara, H., Mouri, K., Otsuka, H., Kasai, R. and Yamasaki, K. (2003) Tricinin from a malagasy connaraceous plant with potent antihistaminic activity. *J. Nat. Prod.* **66**: 1273-1275.
- Doyama, J. T., Rodrigues, H. G., Novelli, E. L., Cereda, E. and Vilegas, W. (2005) Chemical investigation and effects of the tea of *Passiflora alata* on biochemical parameters in rats. *J. Ethnopharmacol.* **96**: 371-374.
- Escobar, L. K., Liu, Y. L. and Mabry, T. J. (1983) C-Glycosylflavonoids from *Passiflora coactilis*. *Phytochemistry* **22**: 796-797.
- Nikolov, N., Seligmann, O., Wagner, H., Horowitz, R. M. and Gentili, B. (1982) Neue flavonoid-glykoside aus *Crataegus monogyna* und *Crataegus pentagyna*. *Planta Med.* **44**: 50-53.
- Mustapha, N., Bz  ouich, I. M., Ghedira, K., Hennebelle, T. and Chekir-Ghedira, L. (2015) Compounds isolated from the aerial part of *Crataegus azarolus* inhibit growth of B16F10 melanoma cells and exert a potent inhibition of the melanin synthesis. *Biomed. Pharmacother.* **69**: 139-144.
- Wei, W., Ying, X., Zhang, W., Chen, Y., Leng, A., Jiang, C. and Liu, J. (2014) Effects of vitexin-2"-O-rhamnoside and vitexin-4"-O-glucoside on growth and oxidative stress-induced cell apoptosis of human adipose-derived stem cells. *J. Pharm. Pharmacol.* **66**: 988-997.
- Perveen, S., El-Shafae, A. M., Al-Taweel, A., Fawzy, G. A., Malik, A., Afza, N., Latif, M. and Iqbal, L. (2011) Antioxidant and urease inhibitory C-glycosylflavonoids from *Celtis africana*. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **13**: 799-804.

(2016. 8. 2 접수; 2016. 8. 26 심사; 2016. 8. 31 게재확정)