

# 범부채 뿌리에 존재하는 이소플라보노이드들의 DPPH 라디칼 소거 활성에 대한 *in vitro* 및 DFT 연구

최종근  
청운대학교 화학생명공학과

## *In vitro* and DFT studies on DPPH radical scavenging activities of isoflavonoids present in rhizomes of *Iris domestica* (L.) Goldblatt & Mabb

Jongkeun Choi

Department of Chemical and Biological Engineering, Chungwoon University

**요약** 본 연구는 범부채의 뿌리에 존재하는 이소플라보노이드들의 항산화 활성을 *in vitro* 시험법으로 평가하고 이론적 계산을 통하여 항산화 기작을 조사하기 위하여 수행되었다. 먼저, UPLC-PDA-MS를 활용하여 얻은 질량 스펙트럼들과 UV 스펙트럼들을 기존에 발표된 결과와 비교하여 5종의 주요 화합물, 즉 iridin, irigenin, tectoridin, tectorigenin 그리고 irisfloreantin을 확인하였다. DPPH 라디칼 소거능 평가에서 메탄올 추출물과 iridin, irigenin 그리고 tectorigenin은 항산화 활성을 보였다. 반면에, tectoridin과 irisfloreantin의 활성은 확인할 수 없었다. 이소플라보노이드에 대하여 hydrogen atom transfer (HAT), single electron transfer followed by proton transfer (SET-PT) 그리고 sequential proton loss electron transfer (SPLET)의 잘 알려진 항산화 기작을 밝히고자 기상과 액상(에탄올과 물)에서 B3LYP/6-311++g(d,p) 수준에서 범밀도함수를 적용하였다. 계산결과를 바탕으로 세 개의 기작과 관계되어 있는 다섯의 반응 엔탈피들을 분석하였다. 분석 결과, iridin과 irigenin은 다른 이소플라보노이드들에 비하여 좀 더 높은 항산화 활성을 가질 것으로 예측되었다. 또한 기상에서는 항산화기작으로 HAT이 좀 더 가능성이 높고 에탄올과 물에서는 HAT뿐만 아니라 SPLET가 우세할 것으로 판단되었다.

**Abstract** This study was conducted to evaluate antioxidant activities of isoflavonoids from rhizomes of *Iris domestica* (L.) Goldblatt & Mabb. by *in vitro* assay and to investigate antioxidation mechanisms by theoretical calculation. First, five major chemical constituents, namely iridin, irigenin, tectoridin, tectorigenin and irisfloreantin were identified by comparing mass and UV spectra obtained with UPLC-PDA-MS to previously published result. DPPH radical scavenging assay revealed that methanol extract, iridin, irigenin and tectorigenin showed antioxidant activity. On the other hand, antioxidant activities of tectoridin and irisfloreantin could not be observed. Density functional theory (DFT) at B3LYP/6-311++g(d,p) level was applied to elucidate three well-known antioxidant mechanisms including hydrogen atom transfer (HAT), single electron transfer followed by proton transfer (SET-PT) and sequential proton loss electron transfer (SPLET) of isoflavonoids in the gas and liquid phase (ethanol and water). On the basis of the calculated results, five reaction enthalpies related with three mechanisms were analyzed. As a result of analysis, it was expected that iridin and irigenin have higher antioxidant activity than other isoflavonoids. And the results also suggested that HAT is more favored mechanism in gas phase and SPLET as well as HAT is preferred in the ethanol and water.

**Keywords** : *Belamcanda Chinensis* (L.) DC., Blackberry Lily, DPPH, B3LYP, Antioxidant, Isoflavonoids

\*Corresponding Author : Jongkeun Choi(Chungwoon Univ.)

email: jkchoi@chungwoon.ac.kr

Received December 5, 2022

Revised December 26, 2022

Accepted February 3, 2023

Published February 28, 2023

## 1. 서론

플라보노이드는 과일, 야채 등 인간이 섭취하는 식물에 흔하게 존재하는 2차 대사산물로 어원은 노란색을 의미하는 라틴어에서 유래하였다[1,2]. 이들은 에스트라디올과 구조가 유사하며 에스트로겐 효능의 증진 및 억제 효과가 확인되어 식물성 에스트로젠으로 불리우기도 한다[3]. 플라보노이드는 항암, 항알츠하이머, 항동맥경화, 항염증 그리고 항노화 효능이 있어 의약품, 식품, 화장품의 천연 원료로 사용되며 지속적인 업계의 주목을 받고 있다[1]. 플라보노이드는 폴리페놀 구조를 가진 식물의 2차 대사산물로 Fig. 1에 보인 것과 같이 두 개의 phenyl 고리 A, B와 heterocyclic 고리 C가 결합된 구조를 가지고 있다[3]. 기본구조에서 다양한 유도체들이 만들어질 수 있으며 anthocyanidin, flavanone, flavonol, isoflavone, flavone, flavan-3-ol의 하위 그룹으로 분류하고 있다[4]. 이소플라보노이드는 플라보노이드와 구조가 유사한 화합물들로 고리 C의 2번 탄소가 아닌 3번 탄소에 고리 B의 phenyl기가 결합된 3-phenylchroman의 골격을 가진다[5]. 이소플라보노이드는 식물 특히, 콩과식물에 다량 존재하며 식물에서는 외부 침입에 방어하는 phytoalexin 기능을 가지고 있다. 따라서 미생물의 침입과 스트레스는 이소플라보노이드의 합성을 촉진한다[5].

범부채는 사간(射干)으로도 불리며 붓꽃과(Iridaceae)에 속하는 다년생 식물로 뿌리는 옅은 갈색을 띠며, 20~120 cm까지 자란다[6,7]. 학명은 *Iris domestica* (L.) Goldblatt & Mabb.이며 과거 범부채의 학명은 *Belamcanda chinensis* (L.) DC.이었으나 2005 DNA 분석결과를 근거로 Iris속으로 재 분류되었다[6,8]. 범부채는 조경용, 식용 그리고 약용으로 이용되며 동의보감에 따르면 뿌리 달인 물을 마시면 기침하거나 입 냄새가 나는 것, 인후가 부은 것을 치료할 수 있으나 설사를 하는 사람과 임산부는 피하는 것이 좋다고 한다. 범부채에는 플라보노이드, terpenoid, quinone, 유기산 등 100여종의 화합물이 발견되어 동정되었다[7,9]. 특히, tectoridin, iridin, tectorigenin, irigenin 등의 이소플라보노이드들은 범부채의 주요 생리활성 물질로 항암, 간보호, 동맥경화증, 골다공증 및 고지혈증 치료 효과가 알려졌다[10-14]. 본 연구에서는 범부채의 주요 성분을 확인하고 추출물과 주요 성분들의 항산화 활성을 *in vitro* 시험으로 평가한 다음 범밀도합수를 적용한 이론적 연구를 통하여 항산화 기작을 밝히고자 하였다.

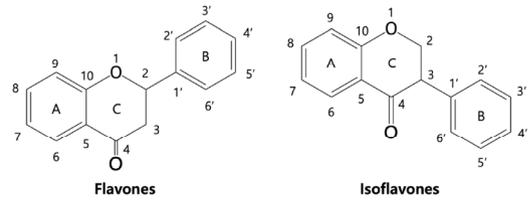


Fig. 1. Skeleton structure of flavonoids and isoflavones

## 2. 재료 및 방법

### 2.1 재료, 시약 및 기구

실험에 사용한 범부채의 뿌리줄기는 중국산으로 ㈜휴먼허브(경산, 한국)에서 구입하여 믹서로 분쇄한 다음 -20 °C 냉동고에 보관하였다. 용매추출, 시약 조제에 사용한 메탄올 및 에탄올은 Fisher Chemical 사(Loughborough, UK)의 HPLC급을 사용하였으며 dimethyl sulfoxide (DMSO)는 삼전화학(서울, 한국)의 GR급을 사용하였다. 항산화 활성을 측정하기 위한 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical, quercetin 그리고 LC-MS 급의 formic acid는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)사에서 구입하였다. 플라보노이드 표준품으로 사용한 iridin, irigenin, tectoridin, 그리고 tectorigenin은 코아사이언스(서울, 한국)사에서 구입하여 사용하였다. 추출물에 존재하는 플라보노이드 분리 분석에는 Aquity photodiode array (PDA) 검출기와 micromass Quattro Micro API mass spectrometer (MS)가 검출기로 장착된 Waters사(Milford, MA, USA)의 Aquity ultra performance liquid chromatography (UPLC) 시스템을 사용하였다. 또한 흡광도 측정에는 Molecular Devices사(Sunnyvale, CA, USA)의 SpectraMax Plus 384 마이크로플레이트 리더를 사용하였다. 그밖에 실험에 사용한 기구와 시약은 덕산종합과학 혹은 Sigma-Aldrich사에서 구입한 것을 사용하였다.

### 2.2 범부채 추출물 준비 및 화합물 조성 분석

분쇄한 범부채 가루의 무게를 달고 10배 부피의 메탄올을 넣은 다음 이를 동안 가끔 흔들어 섞어 주면서 방치하여 추출하였다. 추출액은 거름종이로 거른 다음 용매를 감압 농축하거나 0.45 μm PVDF 시린지 필터로 여과한 후에 Waters사의 Aquity UPLC-PDA-MS 시스템에 도입하여 주요 피크의 UV스펙트럼들과 질량스펙트럼

들을 얻었다. 물질 분리에는 Acclaim<sup>®</sup> C18 컬럼(100 mm × 2 mm i.d., 3 μm, Thermo Scientific Dionex, Sunnyvale, California, USA)을 사용하였으며, 이동상은 0.1% formic acid 수용액(A)과 0.1% formic acid 아세토니트릴액(B)을 사용하여 30분간 10% B에서 100% B까지 변화를 주면서 0.4 mL/min의 유량으로 흘러주었다.

### 2.3 DPPH 라디칼 소거능

범부채 메탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 Dietz 등의 방법을 변형하여 측정하였다[15]. 메탄올 추출액 100 μL를 48 well 마이크로플레이트에 넣고 DPPH 에탄올액(0.01 g/ mL) 100 μL을 첨가한 다음 흔들어서 섞고 암실에서 30분간 반응시켰다. 에탄올을 넣은 well을 바탕으로 570 nm에서 SpectraMax Plus 384 마이크로플레이트 리더로 흡광도를 측정하였다. 대조구는 추출액 대신에 에탄올을 넣었으며 아래의 식으로 DPPH 라디칼 소거 활성을 계산하였다.

DPPH radical scavenging activity (%) =

$$\frac{A_C - A_T}{A_C} \times 100$$

where  $A_C$  is the absorbance of the control without sample, and  $A_T$  is the absorbance of the reaction mixture with test sample.

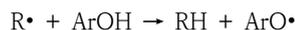
### 2.4 DFT 계산 방법

범부채 메탄올 추출물에서 발견된 이소플라보노이드들의 항산화력 예측에 사용한 소프트웨어는 Gaussian 16 (RevC.01, Gaussian Inc., Wallingford CT, USA)[16]이었으며 분자 구조의 준비와 결과 해석은 GassView 6.0 (Semichem Inc., Shawnee Mission, Kansas, USA)[17]의 분자 그래픽스 프로그램을 이용하였다. B3LYP/6-311++g(d,p) 수준에서 범밀도함수(DFT)를 적용하여 이소플라보노이드들의 구조를 최적화하고 진동(frequency)수를 계산하였다. 또한 용매효과와 모사는 integral equation formulation-polarized continuum model (IEF-PCM)을 사용하여 계산하였으며, 양성자와 전자의 엔탈피 값은 문헌에 보고된 값을 사용하였다[18, 19].

폴리페놀의 항산화력을 분자수준에서 반응 유형을 나누면 이론적으로 세 가지 서로 다른 기작, 즉 “hydrogen atom transfer” (HAT), “single electron transfer

followed by proton transfer” (SET-PT) 그리고 “sequential proton loss electron transfer” (SPLET)가 제시되고 있다[20-22]. 본 연구에서는 B3LYP/6-311++g(d,p) 수준에서 화합물들과 일련의 반응산물들의 엔탈피 값(Sum of electronic and thermal enthalpy)들을 구하여 반응기작을 분석하였다.

먼저 HAT 기작은 알킬 라디칼( $R\cdot$ )이 폴리페놀의 수산화기(ArOH)로부터 수소 원자를 받아 안정한 분자가 되는 것이다. 따라서 HAT 기작은 폴리페놀 O-H 결합의 해리 엔탈피(BDE: bond dissociation energy, 이하 BDE)와 연관된다. 즉, BDE 값이 작을수록 라디칼 소거능이 클 것으로 예상할 수 있다.



$$BDE = H(ArO\cdot) + H(H\cdot) - H(ArOH)$$

Where, H represents enthalpy.

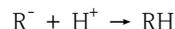
SEP-PT 기작에서 폴리페놀은 먼저 전자를 전달하여 산화되고 순차적으로 양성자를 잃어 아릴 라디칼( $ArO\cdot$ )이 되는 것이다. 이것은 이온화 에너지(IE: ionization energy, 이하 IE)와 양성자 해리 엔탈피(PDE: proton dissociation energy, 이하 PDE)와 관계가 있으며 이들 값이 작을수록 항산화력이 커진다.



$$IE = H(ArOH^{+\cdot}) + H(e^-) - H(ArOH)$$

$$PDE = H(ArO\cdot) + H(H^+) - H(ArOH^{+\cdot})$$

마지막으로, SPLET 기작은 폴리페놀이 해리되어 음이온이 되고 이어서 전자를 제공하는 기작으로 양성자 친화도(PA: proton affinity, 이하 PA)와 전자 전달 엔탈피 값(ETE: electron transfer energy, 이하 ETE)에 의존한다.



$$PA = H(ArO^-) + H(H^+) - H(ArOH)$$

$$ETE = H(ArO\cdot) + H(e^-) - H(ArO^-)$$

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1 UPLC-PDA-MS 분석을 통한 범부채 추출물의 화합물 분석

범부채 메탄올 추출물에 존재하는 주요 성분을 확인하기 위하여 범부채 분쇄 가루에 10배 분량의 메탄올을 넣은 다음 이를 동안 방치하였다. 추출액을 여과한 다음 PDA와 질량분석기가 검출기로 장착된 UPLC에 주입하

여 Fig. 2에 보인 것과 같은 크로마토그램을 얻었다. 각각의 피크의 UV 스펙트럼들과 질량 스펙트럼들을 문헌과 비교하여 5종의 주요 성분 (iridin, irigenin, tectoridin, tectorigenin, 그리고 irisflorentin)을 확인할 수 있었다(Table 1)[9,23,24]. 또한 각각의 성분들은 별도로 구입한 표준품을 이용하여 UPLC-PDA-MS로 분석한 결과와 비교하여 각 피크를 최종 확인할 수 있었다.

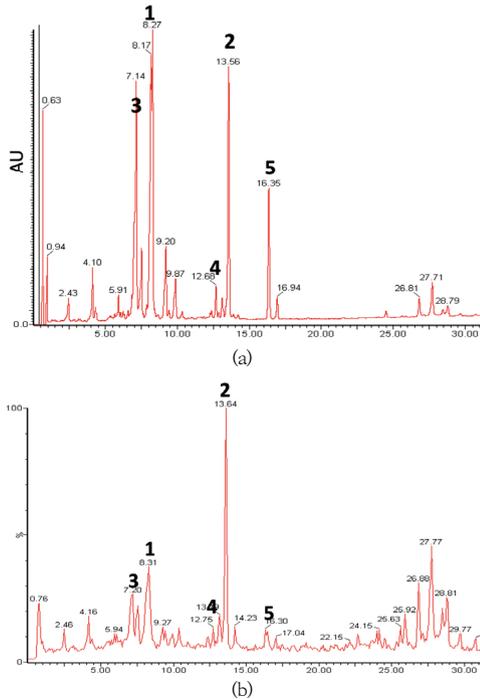


Fig. 2. UPLC peak profile of *Iris domestica* (L.) Goldblatt & Mabb. methanol extracts. (a) UPLC chromatogram detected at 254 nm (b) UPLC chromatogram obtained with mass spectrometer.

### 3.2 DPPH 라디칼 소거 활성

범부채 메탄올 추출물과 UPLC-PDA-MS 분석 결과로 확인된 주요 성분들에 대한 DPPH 라디칼 소거활성을 측정하였다(Fig. 3). 양성대조 물질로 quercetin을 사용하였으며 30  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 74 %의 저해효과를 나타냈다. 이것은 이전에 보고된 quercetin의 DPPH 소거활성과 유사한 결과이다[25-27]. 범부채 메탄올 추출물은 310  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 48 %의 저해 효과를 보였으며 이소플라보노이드들 중 iridin과 irigenin은 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 28 %의 저해효과를 보였다. 또한 상대적으로 tectorigenin은 활성이 낮았으며 tectoridin과 irisflorentin은 활성을 확인할 수 없었다.

Table 1. Structures of compounds identified with mass spectra.

Compounds	Mass spectra
<p>1: Iridin</p> <p>MW=522.45 g/mol</p>	<p>m/z=521.4 (ES-)</p>
<p>2: Irogenin</p> <p>MW=360.31 g/mol</p>	<p>m/z=359.3 (ES-)</p>
<p>3: Tectoridin</p> <p>MW=462.40 g/mol</p>	<p>m/z=461.4 (ES-)</p>
<p>4: Tectorigenin</p> <p>MW=300.26 g/mol</p>	<p>m/z=299.3 (ES-)</p>
<p>5: Irisflorentin</p> <p>MW=386.36 g/mol</p>	<p>m/z=387.3 (ES+)</p>

irisflorentin의 경우 free O-H 작용기가 없기 때문에 라디칼 소거능이 낮은 것으로 생각된다. 그리고 monohydroxyl B-ring의 tectorigenin과 tectoridin 보다는 iridin과 irigenin이 두 개의 methoxy 작용기가 더해진 B-ring의 구조를 가지고 있어, 즉 상대적으로 B-ring에 전자 공여능이 큰 산소가 더 많이 결합되어 있기 때문에 반응의 결과 생성된 라디칼을 좀 더 안정화할 수 있을 것으로 생각된다. 이것은 3개의 O-H 작용기가 치환된 gallic acid가 2개의 O-H 작용기로 치환된 protocatechuic acid에 비하여 높은 항산화력을 보여준 것[28,29]과 유사한 결과로 생각된다. 그렇지만 hydroxy 그룹이 methoxy 그룹에 비하여 라디칼 소거능을 높이는 데 좀 더 효과적인 것으로 알려졌다[30]. 따라서 quercetin에 비하여 iridin과 irigenin의 활성이 낮은 것으로 생각된다.

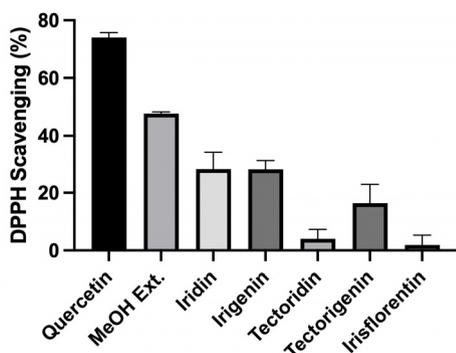


Fig. 3. DPPH radical scavenging activities of 30  $\mu$ g/mL quercetin (positive control), 310  $\mu$ g/mL methanolic extract from *Iris domestica* (L.) Goldblatt & Mabb., and 100  $\mu$ g/mL isoflavonoids found in methanol extract. Values are presented as mean  $\pm$  standard deviation (n=3).

### 3.3 DFT 계산

#### 3.3.1 3차원 구조 준비 및 최적화

대상 화합물의 초기 3차원 구조는 PubChem에서 내려 받아 사용하였다. 구조에서 hydroxyl group의 변형은 산소가 결합되어 있는 탄소번호를 부여하였다. 중성 분자들과 이들의 이온 및 라디칼 구조들의 구조 최적화에는 B3LYP/6-311++G(d,p) 수준에서 계산을 수행하였다. 최적화의 초기 3차원 구조들은 GaussView를 이용하여 분자내 수소 결합이 형성되도록 conformer들을 조정하여 다음 각각의 구조들을 최적화하고 에너지 값을 비교하여 최적의 구조를 선택하였다. 이후의 계산은 이들 최적화된 구조를 출발점으로 하여 수행하였다.

#### 3.3.2 HAT 기작

HAT 기작에 의한 항산화력은 이소플라보노이드들의 O-H 작용기가 균등 분해(homolytic cleavage)의 결과로 산화제에 수소원자를 전달하여 환원시키는 능력을 말한다[20,31]. 그리고 이 기작에 의한 항산화력을 예측하기 위한 매개변수는 BDE이다[20,31]. 먼저, 이소플라보노이드들과 수소가 제거된 구조(라디칼)들을 대상으로 B3LYP/6-311++G(d,p) 이론 수준에서 구조를 최적화하고 298 K에서 조화 진동을 분석하여 “Sum of electronic and thermal Enthalpy” 값을 계산하였다. 또한, 계산 결과를 이용하여 플라보노이드들의 O-H 결합의 해리 에너지(BDE)를 구하였다(Table 2).

Table 2에 나타난 것과 같이 O-H 그룹의 BDE 값은

77.0에서 91.7 kcal mol<sup>-1</sup> 이었으며 기체상과 용매 환경에서 BDE 값의 차이는 크지 않았다. 또한 BDE 계산 결과는 iridin의 O3'-H의 항산화 활성이 가장 클 것이라는 것을 보였다. 이러한 결과는 DPPH 라디칼 소거 활성에서 iridin의 실험결과와 일치한다(Fig. 3). 그렇지만 BDE계산 값만으로는 tectoridin의 활성이 없는 것을 예측하기는 어렵다고 판단되었다.

Table 2. Calculated BDEs at O-H bonds in gas phase and water and ethanol solvents (kcal/mol)

Compounds	Bond	Gas phase	Water	Ethanol
Iridin	O6-H	81.2	81.2	80.1
	O3'-H	77.0	78.7	77.4
Irogenin	O6-H	91.7	88.3	87.4
	O8-H	85.6	88.3	84.6
	O3'-H	82.7	81.3	80.1
Tectoridin	O6-H	82.3	81.2	80.1
	O4'-H	80.6	81.4	80.2
Tectorigenin	O6-H	92.0	88.2	87.3
	O8-H	85.6	87.1	84.6
	O4'-H	81.6	81.9	80.7

#### 3.3.3 SET-TP 기작

항산화제의 전자가 산화제에게 전달되고 이어서 양성자가 결합하여 라디칼의 소거 반응이 완성되는 기작이 SET-TP이다[20,31]. 즉 첫 번째 단계인 이온화 단계가 반응 전체를 좌우한다고 할 수 있다. 이온화 에너지를 basis set을 6-311++G(d,p)로 설정하고 B3LYP 함수로 DFT 계산을 실행한 결과 이온화 에너지(IE)는 Table 3과 같다. 계산결과 BDE와 마찬가지로 IE도 iridin의 값이 가장 작았으며 물과 에탄올 용매 환경에서는 기상에서와 비교하여 38 ~ 57 kcal/mol 만큼 낮아지는 경향을 보였다. 하지만 80 kcal/mol 내외의 값을 보인 BDE와 비교할 때 104 ~ 168 kcal/mol의 값은 SET-TP 기작이 일어나기에는 큰 값으로 생각된다. Bayat 등은 플

Table 3. Calculated IEs in gas phase and water and ethanol solvents (kcal/mol)

Compounds	Gas phase	Water	Ethanol
Iridin	153.6	103.5	115.9
Irogenin	162.3	111.9	119.4
Tectoridin	161.8	111.1	118.3
Tectorigenin	168.0	111.1	118.6

라보노이드의 일종인 fisetin에 대한 항산화 기작 연구 결과, 물과 벤젠의 용매 환경에서 단일 전자 전달 (single-electron transfer, SET)은 열역학적으로 가능하지 않다고 보고했으며 이것은 우리의 결과와 일치한다 [32]. 한편 PDE 값들은 기체상에서 230 kcal/mol 내외로 물과 에탄올에서의 10 kcal/mol 내외의 값보다 매우 큰 값을 보여 주었다(Table 4). 이것은 양성자의 용매화 에너지가 물에서 -252.2 kcal/mol인 것과 에탄올에서 -255.4 kcal/mol의 값을 가지고 있기 때문이다[18,19]. 물과 에탄올에서 이소플라보노이드 양이온들의 PDE 값들이 상대적으로 낮기 때문에 앞 단계에서 플라보노이드 양이온이 생긴다면 양성자의 해리와 전자를 받아 음이온이 된 DPPH의 양성자화는 자발적으로 일어날 것으로 예측된다.

Table 4. Calculated PDEs at O-H bonds in gas phase and water and ethanol solvents (kcal/mol)

Compounds	Bond	Gas phase	Water	Ethanol
Iridin	O6-H	243.5	15.9	7.0
	O3'-H	239.4	13.3	4.3
Irigenin	O6-H	245.3	14.6	10.9
	O8-H	239.2	14.6	8.1
Tectoridin	O3'-H	236.3	7.6	3.6
	O6-H	236.3	8.3	4.6
Tectorigenin	O4'-H	234.7	8.5	4.6
	O6-H	233.4	14.2	8.9
Tectorigenin	O8-H	229.5	8.9	5.0
	O4'-H	239.9	15.3	11.6

### 3.3.4 SPLET 기작

마지막으로 SPLET 기작의 가능성에 대해서 조사하였다. 반응의 첫 단계와 관련이 있는 PA 값들은 기상에서는 330 kcal/mol 이상이었으며 물과 에탄올 용매 조건에서는 33 ~ 43 kcal/mol을 보여 주었다(Table 5). 따라서 기상에서는 SPLET 기작의 가능성이 없는 것으로 판단할 수 있다. 물과 에탄올의 용매 조건에서는 다른 기작의 첫 번째 단계들과 비교할 때 가장 작은 값이기 때문에 SPLET 기작이 극성 용매 조건에서 유력한 반응 기작으로 생각된다. 하지만, 이어지는 반응과 관련이 있는 ETE 값들은 BDE 값들과 유사한 값을 보여주었다 (Table 5). 따라서 극성 용매 환경에서의 항산화 반응은 SPLET가 주요한 반응 기작이거나 경우에 따라서 HAT과 SPLET 기작이 경쟁적으로 일어날 것으로 생각되었다. ETE의 값들 중에서 가장 낮은 값은 iridin의 O3'-H 그룹이었으며 대체로 irigenin, tectoridin 그리고 tectorigenin 순으로 높아졌다. 이것은 실험결과 iridin의 DPPH의 소거능이 가장 우수한 것과 일치한 결과이다.

## 4. 결론

범부채 메탄올 추출액을 대상으로 UPLC-PDA-MS를 이용한 분석결과 5종의 이소플라보노이드를 확인할 수 있었다. 이들 이소플라보노이드들의 항산화력은 DPPH 라디칼 소거능 평가 결과 quercetin보다 크지는 않았지만, 항산화력을 확인할 수 있었다. 이소플라보노이드들 간

Table 5. Calculated PAs and ETEs at O-H bonds in gas phase and water and ethanol solvents (kcal/mol)

Compounds	Bond	PA			ETE		
		Gas phase	Water	Ethanol	Gas phase	Water	Ethanol
Iridin	O6-H	329.8	36.4	35.7	67.3	83.0	87.2
	O3'-H	339.2	42.2	34.8	53.7	74.6	85.4
Irigenin	O6-H	342.0	42.9	41.6	65.6	83.6	88.7
	O8-H	330.2	34.4	32.7	71.2	92.1	94.7
Tectoridin	O3'-H	340.9	41.2	39.6	57.6	78.3	83.4
	O6-H	333.2	36.9	35.5	65.0	82.5	87.4
Tectorigenin	O4'-H	340.9	40.3	38.8	55.6	79.3	84.2
	O6-H	330.8	34.5	32.9	70.7	90.8	94.6
Tectorigenin	O8-H	336.6	39.6	38.0	61.0	80.4	85.5
	O4'-H	342.7	43.1	41.7	65.2	107.4	106.0

에는 iridin의 항산화력이 가장 우수하였으며 irigenin과 tectorigenin의 항산화력도 확인할 수 있었다. 하지만 tectoridin과 irisflorentin의 활성은 확인할 수 없었다. B3LYP/6-311++G(d,p) 수준에서 DFT 계산으로 BDE, IE, PDE, PA, ETE 값들을 얻고 항산화력을 예측한 결과, 다른 이소플라보노이드에 비하여 iridin과 irigenin의 항산화 활성이 높을 것으로 예측되었다. 또한 세가지 항산화 기작의 예측 결과, 범부채 뿌리에 존재하는 이소플라보노이드들은 기상에서는 HAT 기작만이 가능하고 에탄올과 물의 용매 조건에서는 HAT뿐만 아니라 SPLET가 우세할 것으로 예측되었다.

## References

- [1] A. N. Panche, A. D. Diwan, S. R. Chandra, "Flavonoids: An overview", *Journal of Nutritional Science*, Vol.5, e47, pp.1-15, 2016.  
DOI: <https://doi.org/10.1017/ins.2016.41>
- [2] M. Sharma, D. Ahuja., A. Jain, "Designing and Synthesis of Flavonoids Derivatives and Screening of their Antioxidant Activity. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, Vol.9, No.4-s, pp.1226-1231, Jul. 2019.  
DOI: <https://doi.org/10.22270/jddt.v10i2-s.3965>
- [3] S. A. de Souza Farias, K. S. da Costa, J. B. L. Martins, "Analysis of Conformational, Structural, Magnetic, and Electronic Properties Related to Antioxidant Activity: Revisiting Flavan, Anthocyanidin, Flavanone, Flavonol, Isoflavone, Flavone, and Flavan-3-ol", *ACS Omega*, Vol.6, No.13, pp.8908-8918, Mar. 2021.  
DOI: <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c06156>
- [4] E. Miadoková "Isoflavonoids - an overview of their biological activities and potential health benefits", *Interdiscip Toxicol.*, Vol.21, No.4, pp.209-234, Oct. 2010.  
DOI: <https://doi.org/10.2478/v10102-009-0021-3>
- [5] L. Křížová, K. Dadáková, J. Kašparovská, T. Kašparovský, "Isoflavones", *Molecules*, Vol.24, No.6, pp.1076, Mar. 2019.  
DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24061076>
- [6] S. J. Park, J. K. Sim, H. D. Park, "A molecular systematic study of Korean Iris (Iridaceae) based on RAPD analysis", *Korean Journal of Plant Taxonomy*, Vol.32, No.4, pp.383-396, Dec. 2002.  
DOI: <https://doi.org/10.11110/kipt.2002.32.4.383>
- [7] L. Zhang, K. Wei, J. Xu, D. Yang, C. Zhang, Z. Wang, M. Li, "Belamcanda chinensis (L.) DC-An ethnopharmacological, phytochemical and pharmacological review", *Journal of Ethnopharmacology*, Vol.186, pp.1-13, Jun. 2016.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.03.046>
- [8] P. Goldblatt, D. J. Mabberley, "Belamcanda included in Iris, and the new combination *I. domestica* (Iridaceae: Irideae)", *Novon*, Vol.15, No.1, pp.128-132, Apr. 2005.  
DOI: <http://www.istor.org/stable/3393403>
- [9] M. Liu, S. Yang, L. Jin, D. Hu, Z. Wu, S. Yang, "Chemical Constituents of the Ethyl Acetate Extract of *Belamcanda chinensis* (L.) DC Roots and Their Antitumor Activities", *Molecules*, Vol.17, No.5, pp.6156-6169, May 2012.  
DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules17056156>
- [10] H. Zhou, Y. Zhang, H. Liang, H. Song, J. Zhao, L. Liu, J. Zeng, L. Sun, S. Ma, D. Meng, "A novel multidimensional strategy to evaluate *Belamcanda chinensis* (L.) DC and *Iris tectorum* Maxim based on plant metabolomics, digital reference standard analyzer and biological activities evaluation", *Chinese Medicine*, Vol.16, No.85, pp1-18, Aug. 2021.  
DOI: <https://doi.org/10.1186/s13020-021-00494-3>
- [11] D. Woźniak, A. Matkowski, "Belamcandae chinensis rhizome—a review of phytochemistry and bioactivity", *Fitoterapia*, Vol.107, pp.1-14, Dec. 2015.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2015.08.015>
- [12] C. Morrissey, J. Bektic, B. Spengler, D. Galvin, V. Christofel, H. Klocker, J. M. Fitzpatrick, R. W. Watson, "Phytoestrogens derived from *Belamcanda chinensis* have an antiproliferative effect on prostate cancer cells in vitro", *Journal of Urology*, Vol.172, No.6, pp. 2426-2433, 2004.  
DOI: <https://doi.org/10.1097/01.ju.0000143537.86596.66>
- [13] H. U. Lee, E. A. Bae, D. H. Kim, "Hepatoprotective effect of tectoridin and tectorigenin on tert-butyl hydroperoxide-induced liver injury", *J Pharmacol Sci.*, Vol.97, pp.541-548, Apr. 2005.  
DOI: <https://doi.org/10.1254/jphs.scz040467>
- [14] Y. Xiong, Y. Yang, J. Yang, H. Chai, Y. Li, J. Yang, Z. Jia, Z. Wang, "Tectoridin, anisoflavone glycoside from the fower of *Pueraria lobata*, prevents acuteethanol-induced liver steatosis in mice", *Toxicology*, Vol.276, No1, pp.64-72, Sep. 2010.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tox.2010.07.007>
- [15] B. M. Dietz, Y. H. Kang, G. Liu, A. L. Egger, P. Yao, L. R. Chadwick, G. F. Pauli, N. R. Farnsworth, A. D. Mesecar, R. B. van Breemen, J. L. Bolton, "Xanthohumol isolated from *Humulus lupulus* Inhibits menadione-induced DNA damage through induction of quinone reductase", *Chem. Res. Toxicol.*, Vol.18, No.8, pp.1296-1305, Aug. 2005.  
DOI: <https://doi.org/10.1021/tx050058x>
- [16] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Caricato, M. Li, A. V. Marenich, J. Bloino, B. G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H. P. Hratchian, J. Ortiz, A. F. Izmaylov, J. L. Sonnenberg, D. Williams-Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V. G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J. A. Montgomery, J. E.

- Peralta, F. Oglario, M. J. Bearpark, J. J. Heyd, E. N. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. A. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. P. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J. M. Millam, C. Klene Adamo, R. Cammi, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J. B. Foresman, Fox D.J. Gaussian 16 Rev. C.01. Gaussian, Inc., Wallingford CT USA. 2016.
- [17] R. D. I. I. Dennington, T. A. Keith, J. M. Millam, GaussView, version 6.0. Semichem Inc Shawnee Mission KS. USA. 2016.
- [18] J. E. Bartmess, "Thermodynamics of the electron and the proton", *The Journal of Physical Chemistry*, Vol.98, No.25, pp.6420-6424, Jun. 1994. DOI: <https://doi.org/10.1021/j100076a029>
- [19] J. Rimarčík, V. Lukeš, E. Klein, M. Ilčin, "Study of the solvent effect on the enthalpies of homolytic and heterolytic N-H bond cleavage in p-phenylenediamine and tetracyano-p-phenylenediamine", *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, Vol.952, pp.25-30. Jul. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theochem.2010.04.002>
- [20] H. Zhou, X. Li, Y. Shang, K. Chen, "Radical Scavenging Activity of Puerarin: A Theoretical Study", *Antioxidants (Basel)*, Vol.8, No.12, pp.590. Nov. 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox8120590>
- [21] M. Leopoldini, M. N. Russo, M. Toscano, "The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants", *Food Chemistry*, Vol.125, No.2, pp.233-306. Mar. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.012>
- [22] N. Nenadis, M. Z. Tsimidou, "Contribution of DFT computed molecular descriptors in the study of radical scavenging activity trend of natural hydroxybenzaldehydes and corresponding acids", *Food Research International*, Vol.48, No.2, pp. 538-543, Oct. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.05.014>
- [23] Y. Y. Zhang, Q. Wang, L. W. Qi, X. Y. Qin, M. J. Qin, "Characterization and determination of the major constituents in Belamcandae Rhizoma by HPLC-DAD-ESI-MS(n)", *J Pharm Biomed Anal*. Vol.56, No.2, pp.304-314, Sep. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2011.05.040>
- [24] S. Li, S. Li, Y. Tang, C. Liu, L. Chen, Y. Zhang, "Ultrafiltration-LC-MS combined with semi-preparative HPLC for the simultaneous screening and isolation of lactate dehydrogenase inhibitors from *Belamcanda chinensis*", *J Sep Sci*. Vol.39, No.23, pp.4533-4543, Dec. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1002/jssc.201600703>
- [25] V. Srividhya, Sengottuvel Thangavel, K. Gopala Satheeskumar, J. Kanupriya, G. Arihara Sivakumar, "Antioxidant potential and Phytochemical analysis of fruit extract of *Cucurbita pepo*", *International Journal of Current Research in Chemistry and Pharmaceutical Sciences*, Vol.6, No.3, pp.22-32, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.22192/ijcrps.2019.06.03.003>
- [26] P. Iacopini, M. Baldi, P. Storchi, L. Sebastiani, "Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content, in vitro antioxidant activity and interactions", *Journal of Food Composition and Analysis*, Vol.21, No.8, pp.589-598, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.03.011>
- [27] H. A. Mohammed, M. S. Al-Omar, S. A. A. Mohammed, A. H. Alhowail, H. M. Eldeeb, M. S. M. Sajid, E. M. Abd-Elmoniem, O. A. Alghulayqeh, Y. I. Kandil, R. A. Khan, "Phytochemical Analysis, Pharmacological and Safety Evaluations of Halophytic Plant, *Salsola cyclophylla*", *Molecules*, Vol.26, No.8, pp.2384, Apr. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26082384>
- [28] S. Mathew, T. E. Abraham, Z. A. Zakaria, "Reactivity of phenolic compounds towards free radicals under in vitro conditions", *Journal of food science and technology*, Vol.52, No.9, pp.5790-5798, Sep. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1704-0>
- [29] Y. Z. Cai, S. Mei, X. Jie, Q. Luo, H. Corke, "Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants", *Life Sciences*, Vol.78, No.25, pp.2872-2888, May 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.11.004>
- [30] E. M. Marinova, N. V. Yanishlieva, "Effect of temperature on the antioxidative action of inhibitors in lipid autoxidation", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol.60, pp.313-318, 1992. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740600307>
- [31] L. Messaadia, Y. Bekkar, M. Benamira, H. Lahmar, H. "Predicting the antioxidant activity of some flavonoids of *Arbutus* plant: A theoretical approach", *Chemical Physics Impact*, Vol.1, pp.100007, Dec. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chphi.2020.100007>
- [32] A. Bayat, A. Fattahi, "A quantum chemical study on the OH radical quenching by natural antioxidant fisetin", *Journal of Physical Organic Chemistry*, Vol.30, No.11, e3692, Nov. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1002/poc.3692>

최 종 근(Jongkeun Choi)

[정회원]



- 1993년 2월 : 서울대학교 농화학과 (농학사)
- 1995년 2월 : 서울대학교 농화학과 (농학석사)
- 2006년 8월 : 서울대학교 화학부 (이학박사)
- 2013년 3월 ~ 현재 : 청운대학교 화학생명공학과 교수

<관심분야>

단백질 3차 구조, 분자 모델링, 기기분석, 천연물, 화장품, 의약품