

쉽싸리 전초의 성분 연구(I)

도재철 · 채주영 · 손진호*

영남대학교 약학대학 · 안동대학 식품영양학과*

Studies on the Components of *Lycopus lucidus* (I)

Jae Chul Do, Joo Young Chai and Kun Ho Son*

College of Pharmacy, Yeungnam University, Kyongsan 712-749 and

*Department of Food and Nutrition, Andong National University, Andong 760-749, Korea

Abstract—Four triterpenoids were isolated from the leaves and stems of *Lycopus lucidus* and identified as betulinic acid, oleanolic acid, 3-epimaslinic acid and euscaptic acid by spectroscopic methods.

Keywords—*Lycopus lucidus* · Labiatae · betulinic acid · oleanolic acid · 3-epimaslinic acid · euscaptic acid

쉽싸리(*Lycopus lucidus*)는 꿀풀과(Labiatae)에 속하는 다년생 초본으로서 전초를 택란이라 하여 한방에서는 활혈통경, 이뇨소중, 폐경, 어혈에 의한 무월경, 산후부종, 타박상 등에 사용한다.¹⁾ *Lycopus*속 식물의 성분에 관한 연구로는 *Lycopus europaeus*에서 ursolic acid,²⁾ pimara-8(9), 15-diene³⁾을 *Lycopus virginicus*에서 luteolin-7-O- β -glucoside등⁴⁾이 보고된 바 있으나 현재 한국에 자생하는 *Lycopus lucidus*의 성분에 관한 연구가 미비하였다. 이에 저자 등은 쉽싸리의 약용부위인 전초의 성분연구를 실시하여 betulinic acid, oleanolic acid, 3-epimaslinic acid 및 euscaptic acid를 분리하고 그 구조를 확인하였다.

실 험 방 법

실험재료

대구시 근교의 물가, 습지에서 자생하는 쉽싸리의 지상부를 상온에서 건조하여 사용하였다.

기기 및 시약

용점은 Yanaco의 Micro melting point appara-

tus를 사용하여 측정하였으며 온도는 보정하지 않았다. IR spectrum를 Mattson Polaris FT-IR spectrophotometer를 사용하여 KBr disc법으로 측정하였다. ¹H-NMR spectrum(300 MHz)과 ¹³C-NMR spectrum (75.5 MHz)은 Bruker AM 300 spectrometer를 사용하여 측정하였으며, 내부표준물질로서 tetramethylsilane(TMS)을 사용하였고 ppm 단위로 나타내었다. Mass spectrum은 Karatos MS 25 RFA spectrometer를 사용하여 EI법으로 측정하였다. TLC plate는 precoated kieselgel 60F₂₅₄ (No. 5715, Merck)를 cellulose plate는 precoated cellulose plate(No. 5552, Merck)를 사용하였으며, column chromatography 용 silica gel은 kieselgel 60(No. 7734, 70~230 mesh, Merck)와 kieselgel 60(No. 9385, 230~400 mesh, Merck) 및 kieselgel 60(No. 7729, 230 mesh 이상, Merck)을 사용하였다.

추출 및 분리

건조한 쉽싸리 520 g을 세절하여 MeOH(4 l)로 12시간씩 3회 추출하여 추출액을 여과, 농축하여 52 g(10%)의 MeOH extract를 얻었다. 이 MeOH extract에 증류수 및 n-hexane을 가하여

분액칼대기로 n-hexane층과 수층으로 분획한 다음 n-hexane층을 감압 농축하여 n-hexane extract 9.1 g(1.75%)을 얻었고, 다시 수층을 CHCl₃, EtOAc, n-BuOH 순으로 분액하여 CHCl₃ extract 20.1 g(3.87%), EtOAc extract 3.1 g(0.59%), n-BuOH extract 3.9 g(0.76%)을 얻었다. 위의 각 extract를 silica gel column chromatography (70~230 mesh, 230~400 mesh)하여 CHCl₃ extract는 n-hexane : EtOAc(9 : 2→8 : 2)의 용매로 극성이 증가하는 순서대로 화합물 I, II, III를 각각 분리하였으며 EtOAc extract는 CHCl₃:MeOH (98 : 2→97 : 3→96 : 4)액으로 화합물 IV를 분리하였다. 분리한 4종의 물질들을 각각 MeOH로 재결정하여 화합물 I은 백색의 침상 결정 그리고 화합물 II, III, IV는 백색 무정형의 결정으로 각각 얻었다.

화합물 I : Mp 295~297°; IR, $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$: 3420 (OH), 1670(carboxylic C=O), 1635, 880(C=C); MS, m/z (rel. int.) : 456(M⁺, 24.1), 438 (M⁺-H₂O, 7.5), 248(20.5), 203(248-COOH, 17.2), 207(M⁺-248-H, 32.3), 189(207-H₂O, 47.0); ¹H-NMR, (CDCl₃, 300 MHz) δ : 0.76, 0.83, 0.94, 0.97, 0.98(each 3H, s, CH₃), 1.69(3H, s, CH₃-30), 3.01(1H, m, H-19), 3.18(1H, dd, $J=10.5$, 4.4 Hz, H-3 α), 4.61(1H, br s, H-29a), 4.74(1H, br s, H-29b); ¹³C-NMR, (CDCl₃, 75.5 MHz) : Table I 참조.

화합물 II : Mp 290~292°; IR, $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$: 3400 (OH), 1680(carboxylic C=O), 1630(C=C); MS, m/z (rel. int.) : 456(M⁺, 5.4), 410 [M⁺-(H+COOH), 4.8], 248(D/E ring, 100), 208 (A/B ring, 22.5), 203(248-COOH, 51.5), 190 (208-H₂O, 11.5); ¹H-NMR, (CDCl₃, 300 MHz) δ : 0.75, 0.77, 0.90, 0.92, 0.93, 0.99, 1.13 (each 3H, s, CH₃), 2.82(1H, dd, $J=9.7$, 4.4 Hz, H-18), 3.23(1H, dd, $J=10.1$, 4.5 Hz, H-3 α), 5.28(1H, t, $J=3.0$ Hz, H-12); ¹³C-NMR, (CDCl₃, 75.5 MHz) : Table I 참조.

화합물 III : Mp 242~244°; IR, $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$: 3400(OH), 1694(carboxylic C=O), 1650 (C=C), 1030, 1000(sec. OH); MS m/z (rel. int.) : 472(M⁺, 6.2), 454(M⁺-H₂O, 0.5), 426 [M⁺-(H+COOH), 12.5], 408(426-H₂O, 4.5), 248 (D/E ring, 92.9), 224(A/B ring, 10.0), 203 (248-COOH, 58.2); ¹H-NMR, (CDCl₃, 300 MHz) δ : 0.73, 0.84, 0.89, 0.92, 0.95, 1.01, 1.13 (each 3H, s, CH₃), 2.81(1H, dd, $J=10.1$, 4.9 Hz, H-18), 3.41(1H, d, $J=2.1$ Hz, H-3 β), 3.99(1H, ddd, $J=11.5$, 5.6, 2.9 Hz, H-2 β), 5.25(1H, t, $J=3.1$ Hz, H-12); ¹³C-NMR,

Table I. ¹³C-NMR chemical shift values of compounds, 75.5 MHz

C	Compound I	Compound II	Compound III	Compound IV
1	38.8 ^a	38.4	41.7	42.9
2	27.5	27.2	66.5	66.1
3	79.0	79.4	78.9	79.4
4	38.9 ^a	38.7	38.4 ^b	38.8
5	55.4	55.2	48.1	48.8
6	18.3	18.3	18.0	18.6
7	34.4	32.6	32.5	33.6
8	40.8	39.3	39.7	40.6
9	50.6	47.6	47.4	47.7
10	37.3	37.0	38.4 ^b	38.7
11	20.9	23.0	23.4	24.1
12	25.6	122.6	122.5	128.0
13	38.4	143.6	143.7	140.0
14	43.5	41.6	42.0	42.2
15	30.6	27.7	27.6	29.3
16	32.2	23.4	22.9	26.4
17	56.3	46.5	46.5	48.3
18	46.9	41.0	40.9	54.6
19	49.4	45.9	45.9	72.7
20	150.4	30.6	30.9	42.4
21	29.7	33.8	33.8	27.0
22	37.0	32.4	32.5	38.5
23	28.0	28.1	28.5	29.5
24	15.3	15.6	21.8	22.3
25	16.1	15.3	16.5	16.7 ^c
26	16.1	16.9	17.2	17.3
27	14.7	26.0	26.1	24.7
28	180.0	179.9	183.4	180.9
29	109.7	33.1	33.1	27.1
30	19.4	23.6	23.6	16.8 ^c

* Assignments of a, b and c may be reversed.

(CDCl₃, 75.5 MHz) : Table I 참조.

화합물 IV : Mp 269~270°; IR, ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹ : 3434(OH), 1691(carboxylic C=O), 1637(C=C); MS, m/z (rel. int.) : 488(M⁺, 6.0), 442 [M⁺-(H+COOH), 10.8], 264(D/E ring, 3.0), 246(A/B ring, 1.9), 224(M⁺-264, 1.8), 219 (264-COOH, 2.4); ¹H-NMR, (pyridine-d₅, 300 MHz) δ : 0.90, 0.99, 1.11, 1.26, 1.41, 1.64 (each 3 H, s, CH₃), 1.12(3 H, d, $J=6.6$ Hz, CH₃), 3.03(1 H, s, 18-H), 3.61(1 H, d, $J=3.1$ Hz, H-3 β), 4.29(1 H, ddd, $J=9.3, 4.1, 3.0$ Hz, H-2 β), 5.58(1 H, t, $J=2.8$ Hz, 12-H); ¹³C-NMR, (pyridine-d₅, 75.5 MHz) : Table I 참조.

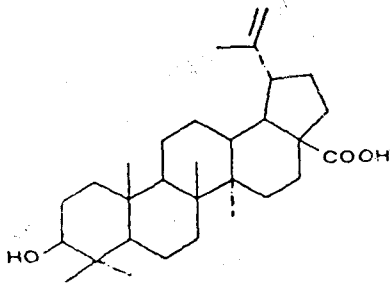
실험결과 및 고찰

각 extract에서 분리된 4종의 화합물은 모두 Liebermann-Burchard test에서 양성을 나타내었다.

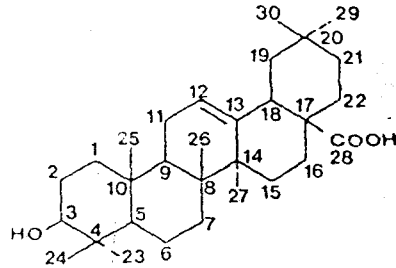
화합물 I은 IR spectrum에서 1635, 880 cm⁻¹에서 특징적인 exocyclic C=C의 흡수가 나타나고

그의 ¹H-NMR spectrum에서 6개의 methyl singlet signal의 흡수를 볼 수 있고 δ 4.61 ppm과 δ 4.74 ppm에서 exocyclic methylene proton에 기인하는 signal이 관찰되는 점으로 보아 lupan계의 triterpenoid 화합물임을 알 수 있다.⁵⁾ Mass spectrum에서 molecular ion이 m/z 456에서 나타나고 이 화합물의 ¹³C-NMR spectrum 및 기타 모든 data가 betulinic acid의 문헌치⁶⁾와 일치하였으므로 화합물 I을 betulinic acid로 확인하였다.

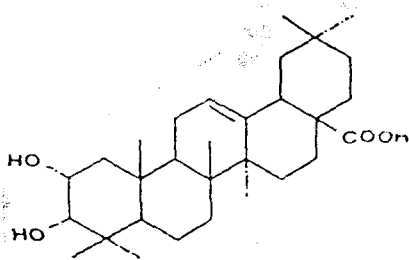
화합물 II, III, IV는 mass spectrum에서 12번 위치의 이중결합에 기인하는 전형적인 retro-Diels-Alder(R.D.A.) 반응의 fragment ion들이 각각 나타난다.⁷⁾ 화합물 II의 ¹H-NMR spectrum에서 oxygenated methine proton이 δ 3.23 ppm에서 double doublet($J=10.1, 4.5$ Hz)로 나타나는 것으로 보아 C-3에 하나의 OH기가 equatorial 위치에 결합되어 있음을 알 수 있고 δ 2.82 ppm에서 H-18 proton이 double doublet($J=9.7, 4.4$ Hz)으로 나타나는 것으로 보아 이 물질은 β -amyrin 계열의 triterpenoid 화합물임을 추정할 수 있으며, 그 ¹³C-NMR spectral data는 oleanolic acid의 문헌치⁸⁾와 잘 일치하였다. 화합물 III 역



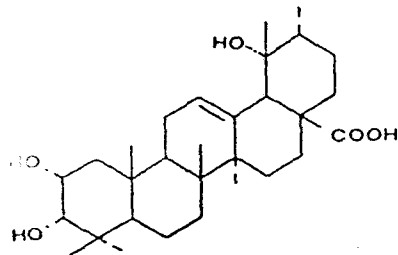
compound I betulinic acid



compound II oleanolic acid



compound III 3-epimaslinic acid



compound IV euscaptic acid

시 $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 H-18 proton이 δ 2.81 ppm에서 double doublet($J=10.1, 5.9$ Hz)으로 나타나는 것으로 보아 β -amyrin 계열의 triterpenoid 화합물임을 추정할 수 있다. 또한 δ 3.41 ppm 및 δ 3.99 ppm에서 나타나는 2개의 carbinyl proton의 J value가 각각 2.1 Hz 및 11.5, 5.6, 2.9 Hz인 점으로 미루어 보아 $2\alpha, 3\alpha$ -dihydroxy 기가 존재함을 추정할 수 있었다. 이와 같은 추정은 $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum에서 확정할 수 있었다. 즉 C-3에 결합된 axial OH에 대해서 γ gauche 위치에 있는 C-1 및 C-5의 chemical shift 값이 maslinic acid와 비교해 볼 때 γ gauche effect에 의해 각각 7.9 ppm 및 6.2 ppm upfield shift되고 3번 hydroxy와 antiform인 C-24의 chemical shift 값이 4.12 ppm downfield shift되는 것^{8,9}으로 보아 C-2와 C-3 위치의 그 결합방식이 $2\alpha, 3\alpha$ -dihydroxy인 3-epimaslinic acid로 동정 하였으며 기타 모든 data가 문헌치¹⁰와 잘 일치하였다.

화합물 IV는 $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 6개의 angular methyl singlet signal과 하나의 methyl doublet signal이 나타나고 H-18 proton이 화합물 II 및 III과는 달리 δ 3.03 ppm에서 singlet으로 나타났으므로 C-19에 OH기가 α 로 결합된 ursene계열의 화합물임을 추정할 수 있으며, A/B ring에 존재하는 2개의 OH에 기인하는 $^1\text{H-NMR}$ 및 $^{13}\text{C-NMR}$ data값이 화합물 III과 일치하므로 이 화합물은 $2\alpha, 3\alpha, 19\alpha$ -trihydroxy urs-12-en-28-oic acid 즉 euscaptic acid임을 추정할 수 있었다. 그 외 모든 data값을 문헌치와 비교하여 이 화합물을 euscaptic acid로 확인하였다.¹¹ 위의 물질들은 습싸리에서는 처음으로 분리된 물질들이다.

결 론

습싸리의 전초를 추출하여 CHCl_3 extract와 EtOAc extract로부터 4종의 triterpenoid 화합물을 분리하여 구조를 동정한 결과 betulinic acid, oleanolic acid, 3-epimaslinic acid 및 euscaptic acid로 확인하였다.

(1991년 8월 31일 접수 : 9월 15일 수리)

문 헌

1. 陣存仁; 圓說漢方醫學大辭典(中國藥學大全) 第2卷 講談社, 東京, 182 (1980).
2. Ryabinin, A.A. and Matyukhina, L.G.: *Zhur. Obshchei Khim.* 31, 1033 (1961).
3. Jeremic, D., Macura, S. and Milosavljevic, S.: *Tetrahedron* 41, 357 (1985).
4. Aufmkolk, M., Ingbar, J.C., Amir, S.M., Sourgens, H., Winterhoff, H., Hesch, R.D. and Ingbar, S.H.: *Endocrinology* 115, 527 (1984).
5. Patra, A., Chaudhuri, S.K. and Panda, S.K.: *J. Nat. Prod.* 51, 217 (1988).
6. Siddiqui, S., Hafeez, F., Begum, S. and Siddiqui, B.S.: *J. Nat. Prod.* 51, 229 (1988).
7. Budzikiewicz, H., Wilson, J.M. and Djerassi, C.: *J. Am. Chem. Soc.* 85, 3688 (1963).
8. Kang, S.S.: *Kor. J. Pharmacogn.* 18, 151 (1987).
9. Gruver, S.H., Guthrie, J.P., Stothers, J.B. and Tan, C.T.: *J. Magn. Res.* 10, 227 (1973).
10. Seo, S., Tomita, Y. and Tori, K.: *J. Am. Chem. Soc.* 103, 2075 (1981).
11. Yi, L.G., Gray, A.I. and Waterman, P.G.: *J. Nat. Prod.* 52, 162 (1989).