

진범의 식물화학적 성분

김대근, 곽중환, 송기원, 권학철, 지옥표, 이강노*

성균관대학교 약학대학

Phytochemical Constituents from *Aconitum pseudolaeve* var. *erectum*

Dae Keun Kim, Jong Hwan Kwak, Ki Won Song, Hack Cheol Kwon,

Ok Pyo Zee and Kang Ro Lee*

College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University, Suwon 440-746, Korea

Abstract - Four steroids and one flavonol glycoside were isolated from the ethanol extract of the whole plant of *Aconitum pseudolaeve* var. *erectum*. Their structures were identified as β -sitost-4-en-3-one, 22-dihydro-stigmast-4-en-3,6-dione, β -sitosterol, β -sitosterol-3-O- β -D-glucopyranoside and kaempferol-3-O- β -D-glucopyranoside (astragalín) on the basis of spectral data.

Key words - *Aconitum pseudolaeve* var. *erectum*: Ranunculaceae: steroid: flavonoid.

진범(*Aconitum pseudolaeve* var. *erectum* Nakai)은 미나리아재비과(Ranunculaceae)의 *Aconitum* 속에 속하는 다년초로 우리나라 산지의 그늘에 자생하며, 그 뿌리는 한약 또는 민간에서 진통, 진경, 이뇨, 거풍습약으로 사용되어 왔다.^{1,2)} 세계적으로 diterpene alkaloid가 널리 연구된 *Aconitum* 속 식물은 국내에 20종 3변종 1품종이 보고되어 있으며¹⁾ 그중 진범에 대한 성분연구로는 지하부에서 lycoctonine type의 C₁₉-diterpene계 alkaloid인 avadharidine, lycoctonine과 septentriodine 등의 alkaloid와 aromatic amide인 methyl-N-(3-carbamoylpropionyl)anthranilate와 methyl-N-(2-acetaminobenzoyl)anthranilate 등이 보고된 바 있다³⁻⁵⁾. 본 연구는 수종의 국산생약재에 대한 다제약재대성물질의 검색과정중 진범 전초의 EtOH 엑스가 유의성있는 효과를 보였으며, 따라서 활성물질의 본체를 연구하

는 과정에서 먼저 4종의 steroid 와 1종의 flavonoid 화합물을 분리하고 그구조를 확인 동정하기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 - 진범은 1993년 9월 강원도 오대산에서 채취하여 감정한 다음 신선한 상태에서 전초를 세절하여 사용하였다.

기기 및 시약 - 용점은 Gallenkamp melting point apparatus를 사용하여 측정하였으며 온도는 보정하지 않았다. UV는 Shimadzu UV 240 UV-Visible recording spectrophotometer, ¹H-NMR은 Varian Gemini-200(200MHz), ¹³C-NMR은 Bruker AMX-500 spectrometer (125MHz), Mass spectrum은 JMS-DX303 mass spectrometer(JEOL)를 사용하여 측정하였다. 추출 및 column chromatography용 용매는 시약용 1급을, 기타 시약은 특급을 사용하였다.

*교신저자 : Fax 0331-292-8800

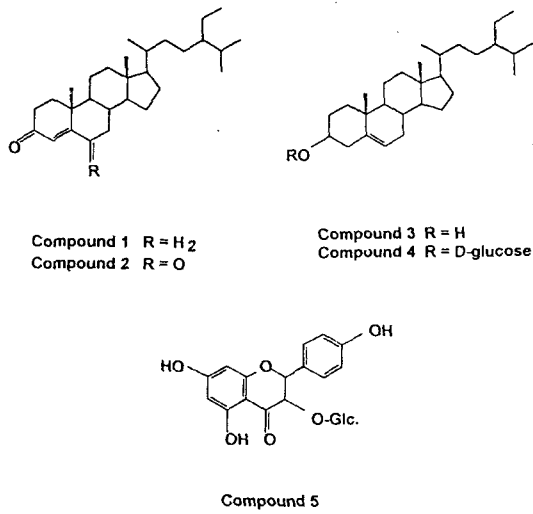


Fig. 1. Structures of compound (1-5).

Column chromatography용 silica gel은 Merck사의 Kieselgel 60(Art. 9385 and 7734)을, TLC plate는 Kiesel gel 60 F254 precoated plate(Art. 5552, Merck)를 사용하였다. LPLC용 column 은 Lobar-A Lichroprep Si 60 (Merck) column을 사용하였다.

추출 및 분리 - 세절한 전초 약 1.5 Kg을 상온에서 EtOH로 2회 추출하여 얻은 엑스 60 g을 증류수를 가하여 현탁시키고 n-hexane, EtOAc, n-BuOH로 각각 추출하여 n-hexane 엑스(10 g), EtOAc 엑스(4 g), BuOH 엑스(10 g)를 얻었다. n-hexane 엑스를 n-hexane-EtOAc(10:1)의 용매로 silica gel column chromatography를 실시하여 6개의 subfraction(F11~F16)으로 나누었으

Table 1. ¹³C-NMR chemical shifts of compounds 1~4 (125MHz)

Carbon No.	Compound 1	Compound 2	Compound 3	Compound 4
1	35.7	35.6	35.3	36.8
2	34.0	33.8	31.7	29.2
3	199.7	199.5	71.8	76.8
4	123.7	125.5	42.3	-
5	171.7	161.1	140.8	140.4
6	33.0	202.3	121.7	121.2
7	32.1	46.8	31.9	31.4
8	35.6	34.2	31.9	31.3
9	53.8	51.0	50.2	49.6
10	38.6	39.1	36.5	36.2
11	21.0	20.9	21.1	20.6
12	39.6	39.8	39.8	38.3
13	42.4	42.5	42.3	41.8
14	56.0	56.6	56.8	56.1
15	24.2	24.0	24.3	23.8
16	28.2	28.0	28.2	27.7
17	55.9	55.9	56.1	55.4
18	11.9	11.9	11.9	11.6
19	17.4	17.5	19.4	19.1
20	36.1	36.0	36.2	35.4
21	18.7	18.7	18.8	18.6
22	33.9	34.0	34.0	33.3
23	26.1	26.1	26.1	25.4
24	45.8	45.8	45.9	45.1
25	29.2	29.2	29.2	28.7
26	19.8	19.8	19.8	19.7
27	19.0	19.0	19.0	18.9
28	23.1	23.1	23.1	22.6
29	12.0	12.0	12.0	11.7
glu.1'				100.8
2'				73.4
3'				76.9
4'				70.1
5'				76.7
6'				61.1

며, 이들 subfraction F12, F13, F14, F16에 대해서 column chromatography를 실시하여 화합물 1~4를 분리하였다. 또한 EtOAc 엑스를 EtOAc-MeOH-Water(100:15:1~25:5:4) 유출 용매로 silica gel column chromatography를 실시하여 화합물 5를 분리하였다.

화합물 1-F12 분획을 n-hexane-EtOAc(20:1)의 유출 용매로 column chromatography를 실시하여 백색의 결정성 물질 13 mg을 얻었다.

m.p.: 88~90°C;

MS (EI) m/z : 412 (M⁺), 398, 370, 356, 327, 289, 271, 229, 147, 124

¹H-NMR: (200MHz, CDCl₃, ppm) δ: 0.68 (3H, s, 18-CH₃), 0.80 (3H, d, J=7.0Hz, 26-CH₃), 0.83 (3H, d, J=7.0Hz, 27-CH₃), 0.90 (3H, d, J=6.5 Hz, 21-CH₃), 1.16 (3H, s, 19-CH₃), 5.70 (1H, s, H-4)

¹³C-NMR: (125MHz, CDCl₃, ppm) δ: Table 1 참조

화합물 2-F13 분획을 silica gel column에서 n-hexane-EtOAc(15:1) 및 n-hexane-Me₂CO (15:1)로 정제하여 백색 결정 15 mg을 얻었다.

mp: 160~163°C: Liebermann-Burchard 반응 (양성)

MS (EI) m/z : 426 (M⁺), 412, 398, 384, 285, 243, 137, ¹H-NMR (200MHz, CDCl₃, ppm) δ: 0.70 (3H, s, 18-CH₃), 0.78 (3H, d, J=7.0Hz, 26-CH₃), 0.82 (3H, d, J=7.0Hz, 27-CH₃), 0.92 (3H, d, J=6.5Hz, 21-CH₃), 1.15 (3H, s, 19-CH₃), 6.15 (1H, s, H-4)

¹³C-NMR: (125MHz, CDCl₃, ppm) δ: Table 1 참조

화합물 3-F14 분획을 n-hexane-Me₂CO(10:1) 용매로 정제하여 백색 결정 20 mg을 얻었다.

mp: 137~140°C: Liebermann-Burchard 반응 (양성)

MS (EI) m/z : 414 (M⁺), 396, 381, 329

¹H-NMR (200MHz, CDCl₃, ppm) δ: 0.66 (3H, s, 18-CH₃), 0.77~0.87 (9H, 26, 27, 29-CH₃), 0.90 (3H, d, J=6.6Hz, 21-CH₃), 1.10 (3H, s, 19-CH₃), 3.52 (1H, m, H-3), 5.32 (1H, d, J=5.3Hz, H-6)

¹³C-NMR: (125MHz, CDCl₃, ppm) δ: Table 1 참조

화합물 4-F16 분획을 농축하여 생성된 결정성 물질을 n-hexane, EtOAc 및 MeOH로 세척하여 미백색 물질 25 mg을 얻었다.

mp: 285~287°C : Liebermann-Burchard 반응 (양성)

MS (EI) m/z : 414, 396 (100), 382, 367, 329, 303, 255

¹H-NMR (200MHz, DMSO-d₆, ppm) δ: 0.71 (3H, s, 18-CH₃), 0.85~1.02 (12H, 26, 27, 29, 21-CH₃), 1.05 (3H, s, 19-CH₃), 3.0~3.80 (sugar H), 4.95 (1H, d, J=5.0Hz, H-1'), 5.41 (1H, m, H-6)

¹³C-NMR: (125MHz, DMSO-d₆, ppm) δ: Table 1 참조

화합물 5-F21 분획을 n-hexane-EtOAc-MeOH (10:10:1) 용매로 Lobar-A column chromatography를 실시하여 황색 분말 상물질 15 mg을 얻었다.

mp: 275~280°C : Mg/HCl and Zn/HCl 반응 (양성); UV max (MeOH) nm: 266, 298sh, 320sh, 352

¹H-NMR (200MHz, DMSO-d₆, ppm) δ: 3.0~3.80 (sugar H), 5.40 (1H, d, J=7.0Hz, glu., H-1), 6.20 (1H, d, J=2.0Hz, H-6), 6.43 (1H, d, J=2.0Hz, H-8), 6.85 (2H, d, J=8.8Hz, H-3',5'), 8.02 (2H, d, 8.8Hz, H-2',6'), 10.15, 10.83 (brs, 7,4'-OH), 12.60 (1H, s, 5-OH)

¹³C-NMR (125MHz, DMSO-d₆, ppm) δ: 156.3 (C-2), 133.5 (C-3), 177.6 (C-4), 161.3 (C-5), 98.9 (C-6), 164.2 (C-7), 93.9 (C-8), 156.7 (C-9), 104.3 (C-10), 121.0 (C-1'), 131.1 (C-2',4'), 115.3 (C-3',5'), 160.0 (C-4'), 101.1 (C-1''), 74.5 (C-2''), 76.6 (C-3''), 70.2 (C-4''), 77.6 (C-5''), 61.1 (C-6'')

결과 및 고찰

n-hexane 엑스를 silica gel column chromatography 하여 분리한 화합물 1-4는 백색의 결정성 물질로서 Liebermann-Burchard 반응에 모

두 양성을 나타내었으며 MS spectrum에서 각각의 mol peak와 $^1\text{H-NMR}$ 및 $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum의 pattern으로부터 steroid 화합물임을 알 수 있었다.

화합물 1은 MS spectrum에서 mol peak가 m/z 412에서 base peak로서 관찰되었으며 $^1\text{H-NMR}$ spectrum의 δ 0.68, 1.16 ppm에서 singlet으로 각각 18, 19-methyl기, 0.80과 0.83 ppm (doublet, $J=7.0$ Hz)에서 각각 26,27-methyl기가 나타났고 $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum으로부터 6개의 methyl기와 δ 199.7 ppm에서 하나의 ketone group, δ 123.7, 171.7 ppm에서 2개의 olefinic carbon signal을 확인할 수 있었다. $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서는 H-4가 δ 5.70 ppm에서 singlet peak로 나타난 것 이외에는 특징적인 peak가 없었다. 이상의 자료를 종합하여 이 물질을 β -sitost-4-en-3-one일 것으로 추정할 수 있었으며 이는 문헌의 자료⁶⁾와 비교하여 확정하였다.

화합물 2는 MS spectrum에서 m/z 426(M^+)의 mol peak 및 분열 양상, $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 δ 0.70 과 1.15 ppm 사이에서 4개의 methyl기와 2개의 angular methyl signal이 보여지며 또한 δ 6.15 ppm에서 하나의 olefinic proton이 singlet로 나타났다. Steroid 모핵에서 하나의 olefinic proton이 저자장으로 shift 되어 singlet로 나타난 점과 $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum의 δ 199.5, 202.3 ppm에서 2개의 carbonyl group, δ 125.5, 161.1 ppm에서 두 개의 olefinic carbon이 존재하는 것으로 보아 이 화합물은 22-dihydrostigmast-4-en-3,6-dione로 추정할 수 있었으며, 이는 기존 문헌^{7,8)}과 완전히 일치 하였다.

화합물 3은 $^1\text{H-NMR}$ spectrum의 δ 0.66 ppm 과 δ 1.10 ppm 사이에서 6개의 methyl signal, 3.52 ppm의 multiplet, δ 5.32 ppm이 doublet 등의 자료와, MS spectrum의 m/z 414(M^+)와 396, 381, 329의 분열 양상으로부터 β -sitosterol⁹⁾로 동정하였다.

화합물 4는 $^1\text{H-NMR}$ spectrum의 δ 0.71과 1.05 ppm에서 각각 angular methyl proton이 나타났고 또한 δ 0.85~1.02 ppm 사이에서 4개의 methyl group이 존재함을 알 수 있었다. 또한 δ 3.0~3.80 ppm에서 당의 수소가 관찰되고 δ 4.95

ppm에서 당의 anomeric proton이 $J=5.0$ Hz의 doublet로 나타나는 것으로 보아 당 1 mole이 β -configuration으로 결합된 sterol glycoside임을 알 수 있었으며¹⁰⁾ 이 화합물의 가수분해로부터 당은 D-glucose임을 확인하였다. 이상의 결과와 EI-MS에서 당이 떨어진 상태의 m/z 414 peak, $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum에서 당부분의 탄소에 대한 chemical shift로부터 본 화합물은 β -D-glucose 1번 위치의 OH가 β -sitosterol에 ether 형태로 결합된¹¹⁾ β -sitosteryl-3-O- β -D-glucopyranoside로 추정하였으며 이는 문헌상의 자료¹²⁾와 완전히 일치하였다.

화합물 5는 Mg/HCl 과 Zn/HCl 반응에서 양성으로 나타난 점과 UV 흡수 spectrum으로부터 flavonol glycoside임을 추정하였다.¹³⁾ $^1\text{H-NMR}$ spectrum의 δ 3.0~3.80 ppm에서 당의 proton이 나타났고 또한 δ 5.40 ppm에서는 당의 anomeric proton이 $J=7.0$ Hz의 doublet으로 관찰되었다. δ 6.20과 6.43 ppm에서 $J=2.0$ Hz(doublet)의 meta coupling된 형태로 H-6, H-8이 각각 존재하며 δ 6.85 과 8.02 ppm에서는 각각 두 개의 proton이 $J=8.8$ Hz의 ortho coupling된 형태로 나타나므로 flavonol 골격의 5,7,4' 위치에 hydroxy기의 존재를 확인하였다. 이상의 결과와 가수분해에 의한 당의 확인 및 $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum의 chemical shift로부터 화합물 5는 OH group이 3개 치환된 flavonoid glycoside인 kaempferol-3-O- β -D-glucopyranoside (astragalinal)로 추측할 수 있었으며, 문헌의 자료¹⁴⁾와 완전히 일치하였다.

결 론

진범전초의 EtOH 추출물을 n-hexane, EtOAc 및 n-BuOH로 용매 분획하여 n-hexane 분획으로부터 β -sitost-4-en-3-one, 22-dihydrostigmast-4-en-3, 6-dione, β -sitosterol 및 β -sitosterol-3-O- β -glucopyranoside를 분리하였고, EtOAc 분획에서 kaempferol-3-O- β -D-glucopyranoside(astragalinal)를 분리하여 그 구조를 규명하였다. 진범에서 이 물질들은 처음 분리되어 보고되는 것이다.

인용문헌

1. 이창복(1989) 대한식물도감.359-365. 향문사, 서울.
2. 김재길(1984) 원색천연약물대사전(하권), 86. 남산당, 서울.
3. Chung, B.S. and Lee, H.S. (1988) studies on Korean *Aconitum* Species (IV), Alkaloids of *Aconitum pseudolaeve* var. *erectum*. *Kor. J. Pharmacogn.* 19: 181-187.
4. Lee, H.S. and Chung, B.S. (1989) Studies on Korean *Aconitum* species(V). On the Chemical constituents of *Aconitum pseudolaeve* var. *erectum*. *Kor. J. Pharmacogn.* 20: 6-9.
5. Lee, H.S., Ahn, Y.K. and Han, D.S. (1989) A New aromatic amide from the roots of *Aconitum pseudolaeve* var. *erectum*. *Kor. J. Pharmacogn.* 20: 215-218.
6. Suga, T. and Kondo, S. (1974) Alkanes and Triterpenoids of *Quercus glauca*. *Phytochemistry* 13: 522.
7. Tunmann, P. and Grimm, H.J. (1974) Ueber ein Steroidketon in der Wurzel von *Sambucus ebulus*. *L. Arch. Pharm.* 307: 891.
8. Aiello, A., Fattorusso, E., Magno, S. and Menna, M. (1991) Steroids of the marine sponge *Cinachyra tarentina*: Isolation of cholest-4-ene-3,6-dione and (24R)-24-ethylcholest-4-ene-3, 6-dione. *J. Nat. Prod.* 54: 281-285.
9. Do, J.C., Son, K.H. and Kang, S.S. (1988) Studies on the constituents of the roots of *Rubus parvifolius* (L). Isolation of (-)-epicatechin. *Kor. J. Pharmacogn.* 19:170.
10. Mahato, S.B., Ganguly, A.N. and Sagu, N.P. (1982) Steroid saponins. *Phytochemistry* 21: 959.
11. Agrawal, P.K. (1992) NMR spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides. *Phytochemistry* 31: 3307.
12. Park, S.W., Yook, C.S. and Lee, H.K. (1994) Chemical components from the fruits of *crataegus pinnatifida* var. *psilosa*. *Kor. J. Pharmacogn.* 25: 328-335.
13. Markham, K.R. (1982) Techniques of flavonoid identification.37-45. Academic Press, London.
14. Okuyama, T., Hosoyama, K., Hiraga, Y., Kuro-no, G. and Takemoto, T. (1978) The constituents of *Osmunda* spp. II. a new flavonol glycoside of *Osmunda asiatica*. *Chem. Pharm. Bull.* 26: 3071.

(1996. 3. 20. 접수)