

그늘썩의 식물화학적 성분

문형인, 권학철, 지옥표, 이강노*

성균관대학교 약학대학

Phytochemical Constituents of *Artemisia sylvatica* Max

Hyung In Moon, Hak Cheol Kwon, Ok Pyo Zee and Kang Ro Lee*

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

Abstract—Two carotenoids and four flavonoids were isolated from the whole plant of *Artemisia sylvatica* Max. Their structures were identified as β -carotene, lutein, luteolin, rutin, pectolarigenin-7-O- β -glucopyranoside and luteolin-7-O-neohesperidoside on the basis of spectroscopic means.

Key words—*Artemisia sylvatica*: β -carotene: Lutein: rutin: pectolarigenin-7-O- β -glucopyranoside: luteolin-7-O-neohesperidoside: luteolin.

그늘썩(*Artemisia sylvatica* Max)은 국화과(Compositae)에 속하는 다년생 초본으로 전국의 산지에서 자라며, 높이가 1 m 정도이고 가지에는 거미줄 같은 털이 있으며, 꽃은 8-10월에 지름 2 mm 정도로 핀다.¹⁾ 국내에는 *Artemisia* 속 식물이 약 20여종 자생되고 있으며 문헌연구에 의하면 본 식물은 1923년 Nakai가²⁾ 식물분류학적인 분야의 연구결과를 발표한 이래로 연구의 예가 없는 것으로 나타났다. 본 연구실에서는 국내에 자생되는 *Artemisia*속 식물을 수년 동안 체계적으로 연구하고 있으므로 그늘썩의 활성연구에 선행하여 본 식물의 식물화학적 성분연구를 착수하였으며, 그 결과 carotenoid 2종 및 flavonoid 4종의 화합물을 분리 동정하였다. 분리된 화합물은 본 식물에서는 처음 보고되는 성분들이다.

재료 및 방법

실험재료—그늘썩은 1997년 9월 중순에 충남농촌

진흥원 시험포장에 자생하는 것을 채취하여 정확히 감정한 후 전초를 음건 세절하여 사용하였다(표본 SKKU-Ar-S-1).

기기 및 시약—용점은 Gallenkamp melting point apparatus를 사용하여 측정하였으며 UV는 Shimadzu spectrophotometer, IR은 JASCO FT/IR-5300(KBr disc법)를 사용하였다. ¹H- 및 ¹³C-NMR은 Bruker AMX-400 spectrometer, FAB-MS spectrum은 VG70-VSEQ(VG ANALYTICAL, UK)으로 측정하였다. 추출 및 column chromatography용 용매는 1급시약을, 기타 시약은 1급 또는 특급을 사용하였다. Column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel 60(70-230과 230-400 mesh, ASTM Art. 7734와 9385, Merck)을 사용하였고, molecular sieve column chromatography용 packing 물질은 Sephadex LH-20(Pharmacia)을 사용하였으며, TLC plate는 Kiesel gel 60F₂₅₄ precoated plate(Art. 5715, Merck)를 사용하였다.

추출 및 분리—음건세절한 그늘썩의 전초 2.5 kg을 50°C이하에서 MeOH용매로 3회 반복 추출하

*교신저자 : Fax 0331-292-8800

고 얻어진 추출액을 감압농축하여 125 g의 MeOH ex.를 얻었다. 이중 80 g을 증류수에 현탁시키고 n-hexane, EtOAc, n-BuOH의 순서로 용매 분획하여 각각의 분획 32 g, 16 g, 20 g을 얻었다. Hexane 분획 10 g을 hexane-EtOAc(8:2)부터 hexane-EtOAc(5:5)까지의 혼합용매로 silica gel column chromatography하여 9개의 소분획 H1-H9를 얻었다. 소분획 H1을 hexane-EtOAc(9:1)용매로 다시 silica gel column chromatography로 정제하여 주홍색의 화합물 1 (20 mg)을 얻었다. 또한 H7분획을 hexane-EtOAc(7:3)용매로 silica gel column chromatography를 반복 수행하여 선홍색 화합물 2 (9 mg)을 분리하였다. EtOAc 분획 10 g을 EtOAc-MeOH-H₂O(9:2:0.5)부터 CHCl₃-MeOH-H₂O(6:4:5)까지의 혼합용매로 silica gel column chromatography하여 4개의 소분획 E1-E4를 얻었다. 소분획 E1을 EtOAc-MeOH-H₂O(9:1:0.5)용매로 다시 silica gel column chromatography 및 Sephadex LH-20 column (MeOH)으로 정제하여 황색결정성 화합물 3 (5 mg)을 얻었고, E2분획을 EtOAc-MeOH-H₂O(9:2:1)용매로 silica gel column chromatography 및 MeOH용매로 Sephadex LH-20 column chromatography를 실시하여 황색 무정형의 화합물 4 (13 mg)을 분리하였다. 소분획 E3와 E4는 각각 EtOAc-MeOH-H₂O(9:4:0.5)혼합용매로 silica gel column chromatography한 후 MeOH로 재결정하여 황색결정성의 화합물 5 (10 mg)과 6 (13 mg)을 얻었다.

화합물 1 - Mp 183°C; MS (EI, 70eV) m/z 536 (M^+), 444($M^+ - 92$); IR ν_{\max}^{KBr} 2931, 2877, 1464, 1393, 1154; ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 0.75 (3H, s, 10, 10'-CH₃), 0.94(3H, s, 17, 17'-CH₃), 1.69(2H, m, Hax-2, 2'), 1.71(3H, s, 18, 18'-CH₃), 1.93(3H, s, 19, 19'-CH₃), 1.96(6H, s, 20, 20'-CH₃); ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ 12.76 (C-19, 19'), 12.82(C-20, 20'), 19.25(C-3, 3'), 21.74(C-18, 18'), 28.87(C-16, 17, 16', 17'), 33.03(C-4, 4'), 34.22(C-1, 1'), 39.67(C-2, 2'), 125.05(C-11, 11'), 126.62(C-7, 7'), 129.97(C-15, 15'), 130.84(C-10, 10'), 132.44(C-14, 14'), 136.06(C-9, 9'), 136.43(C-13, 13'), 137.26(C-

12, 12'), 137.85(C-6, 6', 8, 8').

화합물 2 - Mp 180°C; MS (EI, 70 eV) m/z 586(M^+), 550($M^+ - H_2O$), 485($M^+ - H_2O - 92$), 430($M^+ - 138$); IR ν_{\max}^{KBr} 3400(OH), 2920, 2850, 1462, 1382, 1136, 1078; UV λ_{\max} (CHCl₃) 427 (sh), 335, 278 nm; ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 0.84(3H, s, 10'-CH₃), 0.95(3H, s, 17'-CH₃), 1.05(6H, s, 17-CH₃), 1.55(HOD), 1.60(3H, s, 18'-CH₃), 1.76(2H, m, Hax-2, 2'), 1.71(3H, s, 18-CH₃), 1.89(3H, s, 19'-CH₃), 1.91(3H, s, 19-CH₃), 2.1(6H, s, 20, 20'-CH₃), 2.37(3H, m, Heq 2, 2, 4, 6'), 3.94(1H, m, H-3, 3'), 5.29 (1H, dd, J=5, 15 Hz, H-7'), 5.47(1H, s, H-4'), 6.08(1H, d, J=16 Hz, H-7), 6.18(4H, m, H-8, 8', 10, 10'), 6.26(2H, d, J=10 Hz, H-14, 14'), 6.30(2H, d, J=16 Hz, H-12, 12'), 6.63 (2H, d, J=10 Hz H-15, 15'), 6.64(2H, d, J=16 Hz H-11, 11'); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 12.7(C-19, 20, 20'), 13.09(C-19'), 21.6(C-18), 22.85(C-18'), 24.2(C-16'), 29.46(C-17'), 28.69 (C-16), 30.02 (C-17), 34.0(C-1'), 37.09(C-1), 42.48(C-4), 44.58(C-2'), 48.34(C-2), 54.9(C-6), 65.06(C-3), 65.9(C-3'), 124.4(C-11'), 124.7(C-4'), 124.89(C-11), 125.54(C-7), 126.13(C-5), 128.6(C-7'), 130.0(C-15, 15'), 130.7(C-10'), 131.27(C-10), 132.55(C-14, 14'), 137.52(C-13, 13'), 136.46(C-9, 9'), 137.70(C-12, 12'), 137.70 (C-6), 137.7(C-5), 137.9(C-8'), 138.46(C-8).

화합물 3 - Mp 325-328°C; Mg-HCl, Zn-HCl, FeCl₃ test: positive.; IR ν_{\max}^{KBr} 3400(OH), 1665 (C=O), 1608, 1510, 1552 cm⁻¹; UV λ_{\max} (MeOH) 213, 256, 358 nm, (+NaOMe) 215, 331, 404 nm, (+AlCl₃) 211, 274, 327, 434 nm (+AlCl₃/HCl) 209, 256, 348 nm (+NaOAc) 222, 262, 403 nm, (+NaOAc/H₃BO₃) 223, 259, 375 nm; ¹H-NMR(400MHz, CD₃OD) δ : 6.02(1H, d, J=2Hz, H-6), 6.65(1H, d, J=2.8Hz, H-8), 6.67(1H, s, H-3), 7.51(1H, d, J=9.8Hz, H-5'), 7.54(2H, dd, J=8.2Hz, 2Hz, H-2', 6').

화합물 4 - Mp 211-213°C; Mg-HCl, Zn-HCl, FeCl₃ test: positive; FAB-MS: m/z 611(M+H)⁺; IR ν_{\max}^{KBr} 3400(OH), 1675(C=O), 1623, 1510,

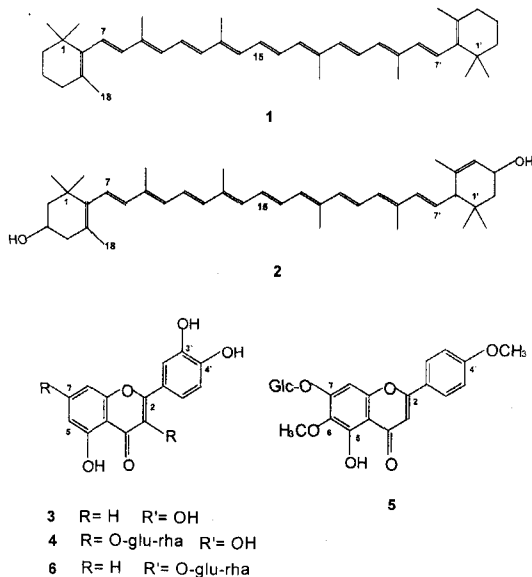


Fig. 1. Structures of compounds 1~6.

1432 cm^{-1} ; $\text{UV}\lambda_{\text{max}}$ (MeOH) 212, 258(sh), 352 nm, (+NaOMe) 273, 331, 404 nm, (+ AlCl_3) 273, 331, 427 nm, (+ AlCl_3/HCl) 258, 301(sh), 352 nm(sh), (+NaOAc) 270, 314, 387 nm, (+NaOAc/ H_3BO_3) 262 nm, 288 nm, 380 nm; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 1.08(3H, d, $J=6.7$ Hz, rhamnose-Me), 5.05(1H, s, rhamnose H-1), 5.14(1H, d, $J=6.8$ Hz, glucose H-1), 6.33(1H, d, $J=2.14$ Hz, H-6), 6.45(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 6.93(1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5'), 7.57(1H, d, $J=2.2$ Hz, H-2'), 7.59(1H, d, $J=10.76$ Hz and 2.2Hz, H-6'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100MHz, CD_3OD), 158.4(C-2), 135.6(C-3), 179.3(C-4), 162.9(C-5), 99.9(C-6), 166.6(C-7), 94.8(C-8), 159.3(C-9), 105.5(C-10), 123.5(C-1'), 117.6(C-2'), 145.7(C-3'), 149.7(C-4'), 116.9(C-5'), 123.0(C-6'), 104.7(C1-glu), 75.6(C2-glu), 78.1(C3-glu), 72.1(C4-glu), 77.1(C5-glu), 68.5(C6-glu), 102.3(C1-rha), 72.0(C2-rha), 71.3(C3-rha), 73.9(C4-rha), 69.6(C5-rha), 17.8(C6-rha).

화합물 5 - Mp 179-180 $^{\circ}\text{C}$: Mg-HCl, Zn-HCl, FeCl_3 test: positive; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3400(OH), 1660 (C=O), 1623, 1510, 1432, 1063 cm^{-1} ; $\text{UV}\lambda_{\text{max}}$ (MeOH) 250, 273, 313 nm, (+NaOMe) 245, 268, 367 nm, (+ AlCl_3) 259, 285, 336 nm (+

AlCl_3/HCl) 258, 283, 337 nm (+NaOAc) 268, 367 nm (+NaOAc/ H_3BO_3) 274, 322 nm; $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CD_3OD) δ : 3.1-3.7(sugar H), 3.77(3H, s, 4'- OCH_3), 3.88(3H, s, 6- OCH_3) 4.7 (1H, d, $J=6.0$ Hz, anomeric H of glu.), 6.63 (1H, s, 8-H), 6.93(1H, s, 3-H), 6.99(2H, d, $J=9.0$ Hz, 3,5'-H), 8.05(2H, d, $J=9.0$ Hz, 2',6'-H); $^{13}\text{C-NMR}$ (100MHz, DMSO-d_6), 165.4(C-2), 104.8(C-3), 183.3(C-4), 153.0(C-5), 133.5(C-6), 157.2(C-7), 95.4(C-8), 152.8(C-9), 106.4(10), 124.1(C-1'), 129.5(C-2'), 115.7(C-3'), 169.7(C-4'), 115.7(C-5'), 129.5(C-6'), 100.8(C1-glc), 73.6(C2-glc), 76.1(C3-glc), 70.1(C4-glc), 77.1(C5-glc), 61.5(C6-glc), 62.3(OCH_3), 56.3(OCH_3).

화합물 6 - Mp 200-205 $^{\circ}\text{C}$: Mg-HCl, Zn-HCl, FeCl_3 test: positive; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3400(OH), 1675 (C=O), 1623, 1510, 1432 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6) δ : 1.22(3H, d, $J=6.8$ Hz, rhamnose-Me), 5.19(1H, s, rhamnose H-1), 5.42(1H, d, $J=8.9$ Hz, glucose H-1), 6.33(1H, d, $J=2.8$ Hz, H-6), 6.80(1H, s, H-3), 6.84(1H, d, $J=2.8$ Hz, H-8), 7.04(1H, d, $J=9.8$ Hz, H-5'), 7.53(1H, d, $J=2.8$ Hz, H-2'), 7.57(1H, d, $J=9.1$ Hz and 2.6Hz, H-6'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6), 164.4(C-2), 103.8(C-3), 181.3(C-4), 160.0(C-5), 99.5(C-6), 161.2(C-7), 94.4(C-8), 156.8(C-9), 105.4(10), 121.1(C-1'), 114.5(C-2'), 145.7(C-3'), 150.7(C-4'), 116.9(C-5'), 119.0(C-6'), 97.8(C1-glc), 76.6(C2-glc), 76.0(C3-glc), 71.1(C4-glc), 77.2(C5-glc), 100.3(C1-rha), 71.1(C2-rha), 70.3(C3-rha), 71.9(C4-rha), 68.6(C5-rha), 17.9(C6-rha).

결과 및 고찰

화합물 1은 주홍색 결정성물질로서 mp 183 $^{\circ}\text{C}$, anisaldehyde- H_2SO_4 시약에서 진한남색으로 발색되었다. $^1\text{H-NMR}$ (56H), $^{13}\text{C-NMR}$ (40C) 및 MS spectrum($M^+=536$)로부터 분자식이 $\text{C}_{40}\text{H}_{56}$ 임을 추정하였다. $^1\text{H-NMR}$ 의 80.75, 0.94, 1.71, 1.93, 1.96 ppm에서 methyl group, 86.10-6.74에서는 이중결합성 proton peak, $^{13}\text{C-NMR}$ 에서는 이중결

합지역의 11개의 대칭적 peak, MS spectrum의 분열양상($M^+ - 92: M^+ - C_7H_8$) 및 분자량의 1/2값에서 proton 하나가 떨어진 값인 m/z 267 존재 등의 자료로부터 화합물 1은 대칭성 carotenoid계열임을 예상하였다.³⁻⁵ 상기의 자료와 문헌상의 β -carotene⁴의 자료와 비교한 결과 완전히 일치하여 화합물 1은 β -carotene으로 동정하였다.

화합물 2은 anisaldehyde- H_2SO_4 발색시 진한남색을 띄는 선홍색의 결정으로, 1H -NMR 및 ^{13}C -NMR spectra 양상이 화합물 1과 유사하여 carotenoid로 추측하였다. 1H -NMR spectrum에서 H-11(6.64), H-15(6.63)의 chemical shift값이 H-12(6.30), H-14(6.26), H-10(6.18)의 chemical shift값보다 down field에서 나타난 것으로 보아 polyene side chain이 모두 *trans* 형태임을 알 수 있었다.⁶ 또한 1H -NMR상에서 δ 6.08(H-7), 3.98(H-3), 2.37(H-4) ppm의 존재로 *cis*형태인 β 결합으로 연결되어 있음을 알 수 있었고, δ 5.47(H-4'), 5.29(H-7'), 3.94(H-3) ppm 등의 존재로 ϵ 결합으로 이루어진 것을 추측할 수 있었으며, lutein⁷의 1H -NMR, ^{13}C -NMR 및 MS data들과 비교한 결과 정확히 일치하여 동일구조로 확정하였다.

화합물 3은 Mg-HCl, Zn-HCl 및 $FeCl_3$ test에 양성반응을 나타내었으며, 256, 358 nm의 UV흡수 극대로부터 flavone골격을 가졌음을 예측하였고 shift reagent에 의한 UV 흡수 spectrum의 이동으로부터 flavonoid골격의 5, 7, 3', 4'에 유리상태의 OH기가 있음을 예측하였다.⁸ 1H -NMR spectrum의 δ 7.51, 7.54에서 각각 flavonoid B ring의 H-5'와 H-2', 6' proton이 관찰되었고 또한 δ 6.67 ppm에서 H-3 proton이 관찰된 결과로부터 화합물 3은 luteolin임을 추정하였고 문헌 spectral data^{9,10}와의 비교로부터 확정하였다.

화합물 4는 Mg-HCl, Zn-HCl 및 $FeCl_3$ test에 양성반응을 나타내었으며, 258, 352 nm의 UV흡수 극대화로부터 flavone골격을 가졌음을 예측하였고 shift reagent에 의한 UV 흡수 spectrum의 이동으로부터 flavonoid골격의 5, 7, 3', 4'에 유리상태의 OH기가 있음을 알았다. 1H -NMR spectrum의 δ 6.93, 7.57, 7.59 ppm에서 각각 flavonoid B ring의 H-5'와 H-6', H-2' proton이 관찰되었고, 당의 결합 위치는 quercetin¹¹과 화합물 3의 ^{13}C -

NMR data를 비교하였을 때 C-3의 carbon signal이 130.3 ppm에서 135.61 ppm으로 저자장 shift된 점으로부터 flavonoid골격의 3번 위치에 결합되었음을 확인하였다. 이상의 결과로부터 화합물 4는 rutin임을 알았으며 이는 문헌 spectral data¹²와의 비교로부터 확정하였다.

화합물 5은 Mg-HCl, Zn-HCl 및 $FeCl_3$ test에 양성반응을 나타내었으며, 1H -NMR spectrum에서 당의 anomeric proton이 δ 4.7 ppm, $J=6.0$ Hz 값으로 보아 당이 β -결합으로 존재하는 것을 추정하였고, ^{13}C -NMR spectrum 및 산 가수분해를 통하여 얻어진 aglycone의 spectra data와 당의 표품을 이용한 co-TLC를 통하여 화합물 5는 pectolarigenin-7-O- β -glucopyranoside임을 추측하였고, 문헌 spectral data¹²와의 비교로부터 확정하였다.

화합물 6은 $FeCl_3$, Mg/HCl, Zn/HCl 첨가할 때와 Molisch test에서 양성반응을 보여 flavonoid glycoside로 추정하였고, 산 가수분해 결과 glucose, rhamnose 및 luteolin을 표품과 비교하여 확인하였다. 1H -NMR data 중 δ 5.42(d, 9.8Hz)에서 1H의 anomeric proton만 관찰되므로 1 mol의 β -glucopyranosyl moiety가 존재함을 추정하였으며, ^{13}C -NMR data에서 luteolin의 문헌치⁹와 비교하여 볼 때 이 화합물의 경우 C-7에서 glycosylation shift가 관찰되므로 luteolin-7-O-neohesperidoside¹³로 결정하였다.

결론

그늘속 전초의 MeOH추출물을 hexane과 EtOAc로 용매분획 하여 hexane 액기스로부터 2종의 carotenoid (β -carotene, lutein)를 분리하였으며, EtOAc 액기스로부터 4종의 flavonoid (rutin, pectolarigenin-7-O- β -glucopyranoside, luteolin, luteolin-7-O-neohesperidoside)를 분리하여 구조를 확인 동정하였으며, 이들 화합물은 본 식물에서는 처음 보고되는 것이다.

인용문헌

1. 이창복 (1989) 대한식물도감, 180. 향문사, 서울.
2. Nakai. (1923) Fl. Sylv. 14, 116. Korea.
3. Enzell, C. R., Francis, G. W. and Liaenjenzen.

- S. (1969) Mass spectrometric studies of carotenoids, 2. A survey of fragmentation reaction. *Acta Chem. Scand.*, 23: 727-750.
4. Koyama, Y. (1995) Carotenoids Vol B: spectroscopy, 163-183. Birkhauser Verlag, Basel.
5. Subramaninn G. B. (1986) Enamine condensation on derivatives of leuritic acid and synthesis of (*Z*)-9-tricosenes, its (*E*)-isomer and (*E*)-13-heptacosene. *Tetrahedron* 42: 3967-3972.
6. Goodwin, T. W. (1980) The biochemistry of the carotenoid, 2nd ed., Champman and Hall, London and Newyork.
7. Andrews, A. G. and Liaajensen, S. (1973) Animal carotenoids-8: Synthesis of β,γ -carotene and γ,γ -carotene. *Acta Chem. Scand.* 27: 1401.
8. Marby, T. J., Markham, K. R. and Thomas, M. B. (1970) The Systematic identification of flavonoids, 33-61. Springer-Verlag, New York.
9. Hwang, Y. J., Lee, S. H., Ryu, S. Y., Ahn, J. W., Kim, E. J., Ro, J. S. and Lee, K. S. (1994) Chemical study on the phenolic compounds from *Glechitsia japonica*. *Kor. J. Pharmacogn.* 25: 11-19.
10. Sterdahl, B.-G. (1978) Chemical studies on Bryophytes. 19. Application of ^{13}C NMR in structural elucidation of flavonoid C-glucosides from *Hedwigia ciliata*. *Acta Chem. Scan. B* 32: 93-97.
11. Berghöfer, R. and Hölzl, J. (1987) Biflavonoids in *Hypericum perforatum*: Part 1. Isolation of I3, II8-Biapigenin. *Planta Medica* 53: 216-217.
12. Agrawal, P. K. (1989) Carbon-13 NMR of flavonoids. 446. Elsevier, Amsterdam.
13. Inagaki, I., Sakushima, A., Hisada, S., Nishibe, S. and Morita N. (1974) Comparison of lonicerin and veronicastroside. *Yakugaku Zasshi* 94(4): 524-525.

(1998년 12월 16일 접수)