

차풀 종자로부터 Daucosterol과 Naphthalene glucoside의 분리

박준홍*, 권순진¹

경상북도농업기술원 봉화고냉지약초시험장, ¹신물질연구소

Isolation of Daucosterol and Naphthalene glucoside from Seeds of *Cassia mimosoides* var. *nomame* Makino

Jun Hong Park* and Sun Jin Kwon¹

Bonghwa Alpine medicinal Plant Experiment Station, Gyeongbuk Agricultural Technology Administration,
Bonghwa 755-843, Korea

¹Institute for Natural Products Research, Gyeongbuk Agricultural Technology Administration,
Uisong 769-803, Korea

Abstract - Daucosterol and naphthalene glycoside were isolated from the seeds of *Cassia mimosoides* var. *nomame* Makino. The isolated compounds were identified by spectral means including 1D, 2D-NMR and FAB-MS experiments. Daucosterol was characterized as β -sitosterol-3-*O*- β -D-glucoside and naphthalene glucoside was done as 2-acetyl-3-methyl-6-methoxynaphthalene-1,8-diol 8-*O*-glucosyl-(1 \rightarrow 6)-glucoside. These compounds were isolated for the first time from *Cassia mimosoides* var. *nomame* Makino.

Key words - *Cassia mimosoides* var. *nomame* Makino, seed, daucosterol naphthalene glucoside

서 언

차풀(*Cassia mimosoides* var. *nomame* Makino)은 山扁豆, 豆茶決明 또는 깃차라고도 하며 콩과에 속하는 일년초로서 북한의 일부지역을 제외한 전국과 일본, 중국, 만주 등지에 분포되어 있다(김, 1988). 이들은 주로 냇가의 양지나 강가 또는 독에서 서식한다. 높이는 30-60cm이고 흔히 가지가 갈라지며 줄기에 안으로 꼬부라진 짧은 털이 있다. 잎은 互生하고 엽병이 있으며 길이가 3-8 cm이다(이, 1985).

차풀은 이뇨, 신장염, 황달, 해열, 지사, 소화불량, 만성 변비, 수종, 각기병 등에 효능이 있으며 간장과 비장에 이롭다고 한다(Yook, 1989; 김, 1988; Yoon *et al.* 1989). Yook(1989)에 따르면 종자에 myristic acid, palmitic acid이 함유되어 있다고 하며, Yoon 등(1989)은 열매에

emodin이라는 anthraquinone 유도체를 함유하고 있다고 하였다. 차풀은 전초로서 식품원료로 사용이 가능하고 식품공전 원재료 분류에서 주원료로 사용이 가능하나 그 외의 화합물에 대하여는 성분연구가 거의 이루어지지 않은 실정이다.

따라서 본 연구는 건강보조식품과 한방기능성식품으로 개발 가능성이 높은 차풀종자를 대상으로 칼럼 크로마토그 래피를 행하여 함유된 2종의 화합물을 분리하여 화학구조를 동정하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 차풀(*Cassia mimosoides* var. *nomame* Makino) 종자는 경상북도 농업기술원 신물질연구소에서 채취하여 음건후 사용하였다.

*교신저자(E-mail) : pjh5543@empal.com

시약 및 기기

칼럼 크로마토그래피용 silica gel은 Kieselgel 60(Merck, Germany)을 사용하였고, octadecyl silica gel(ODS)은 YFLC RP-18(Yamazen, Japan)을 사용하였다. TLC는 Kieselgel 60 F₂₅₄ plate(Merck, No. 5715)를 사용하였으며 20% H₂SO₄을 분무한 후 가열하여 확인하였다.

NMR 스펙트럼은 Bruker사의 AMX-500(500MHz)을 사용하여 측정하였으며, FAB-MS는 JEOL사의 JMS-700을 사용하여 *m*-나이트로벤질 알코올을 matrix로 사용하여 측정하였다.

추출 및 분리

차풀종자 300 g을 분쇄하고, MeOH에 24시간 침지하여 실온에서 추출하였다. 추출물을 여과하고, 남은 것은 동일한 방법으로 2회 더 추출하였다. 얻어진 여액을 모두 합쳐 감압 농축하여 MeOH 추출물(33 g)을 얻었다. 얻어진 MeOH 추출물을 hexane(2L×2)/H₂O(2L)로 분배추출하였고, H₂O층을 EtOAc(2L×2)/H₂O(2L)로 분배 추출하였고, 다시 H₂O층을 *n*-BuOH(2L×2)/H₂O(2L)로 분배 추출하였다. 각 층을 감압 농축하여 hexane 분획(9.7 g) EtOAc 분

획(1.0 g), *n*-BuOH 분획(7.4 g)과 H₂O 분획(14.6 g)을 각각 얻었다.

이중 *n*-BuOH 분획(7.4 g)으로부터 실리카겔 칼럼 크로마토그래피(CHCl₃:MeOH=10:1→5:1→3:1→1:1)를 실시하여 분획하였고, 이 분획을 TLC로 확인하여 유사한 것끼리 모아 15개의 소분획으로 나누었다. 그 중에서 5분획(0.5 g)에 대하여 ODS 칼럼 크로마토그래피(MeOH:H₂O=1:1)를 실시하여 화합물 **1**(43 mg)을 분리하였다. 그리고 12분획(0.9 g)에 대하여 ODS column chromatography(MeOH:H₂O=1:1)를 실시하여 화합물 **2**(57 mg)을 분리하였다.

화합물 **1**-White powder, FAB-MS : *m/z* 599[M+Na]⁺ ; ¹H-NMR(500 MHz, pyridine-*d*₅, δ) 5.38(1H, br. *d*, *J*=5.0 Hz, H-6), 5.07(1H, *d*, *J*=8.0 Hz, glc-1'), 1.01(3H, *d*, *J*=6.0 Hz, H-21), 0.96(3H, *s*, H-19), 0.91(3H, *d*, *J*=3.0 Hz, H-27), 0.89(3H, *d*, *J*=3.5 Hz, H-26), 0.69(3H, *s*, H-18) ; ¹³C-NMR(120 MHz, pyridine-*d*₅, δ) ; (Table 1).

화합물 **2**-Yellow powder, FAB-MS : *m/z* : 571[M+H]⁺ ; ¹H-NMR(500 MHz, DMSO-*d*₆, δ) 7.08(1H, *s*, H-4), 7.07(1H, *d*, *J*=2.0 Hz, H-7), 6.89(1H, *d*, *J*=3.0, H-5),

Table 1. ¹³C-NMR spectral data of compound **1** isolated from seeds of *Cassia mimosolides* var. *nomame* Makino

Carbon	δ_c (ppm)	DEPT	Carbon	δ_c (ppm)	DEPT
1	37.4	CH ₂	19	19.9	CH ₃
2	30.8	CH ₂	20	36.9	CH
3	79.1	CH	21	19.5	CH ₃
4	39.8	CH ₂	22	34.7	CH ₂
5	141.4	C	23	26.9	CH ₂
6	122.4	CH	24	46.6	CH
7	32.7	CH ₂	25	30.0	CH
8	32.6	CH	26	20.5	CH ₃
9	50.9	CH	27	19.7	CH ₃
10	40.5	C	28	23.9	CH ₂
11	21.8	CH ₂	29	12.7	CH ₃
12	38.0	CH ₂	1'	103.1	CH
13	43.0	C	2'	75.8	CH
14	57.3	CH	3'	79.0	CH
15	25.0	CH ₂	4'	72.2	CH
16	29.0	CH ₂	5'	78.6	CH
17	56.8	CH	6'	63.3	CH ₂
18	12.5	CH ₃			

*Spectra was measured in pyridine-*d*₅.

Table 2. ¹H, ¹³C-NMR and HMBC spectral data of compound **2** isolated from seeds of *Cassia mimosolides* var. *nomame* Makino

Carbon	δ _c (ppm)	DEPT	HMBC
1	151.2	C	
2	123.2	C	
3	136.9	C	
4	118.7	CH	C-2, CH ₃
5	101.1	CH	C-7
6	158.4	C	
7	103.1	CH	C-8, C-9
8	155.2	C	
9	108.6	C	
10	133.7	C	
3-CH ₃	19.5	CH ₃	C-2, C-3, C-4
2-COCH ₃	32.2	CH ₃	COCH ₃
2-COCH ₃	204.5	C	
6-OCH ₃	55.4	CH ₃	
Glucose			
1'	102.3	CH	C-8
2'	73.4	CH	
3'	76.2	CH	
4'	69.9	CH	
5'	75.9	CH	
6'	68.9	CH ₂	
Glucose			
1"	103.7	CH	Glc-6'
2"	73.5	CH	
3"	76.7	CH	
4"	70.1	CH	
5"	77.0	CH	
6"	61.1	CH ₂	

*Spectra was measured in DMSO-*d*₆.

5.11(1H, *d*, *J*=8.0 Hz, glc-1'), 4.22(1H, *d*, *J*=8.0 Hz, glc-1''), 3.84(3H, *s*, 6-OCH₃), 2.51(3H, *s*, 2-COCH₃), 2.23(3H, *s*, 3-CH₃); ¹³C-NMR(120 MHz, DMSO-*d*₆, δ), DEPT, HMBC; (Table 2).

화합물의 산가수분해

차풀 중자로 부터 분리된 화합물 **1**과 **2**의 구성당을 확인 하기 위해 다음과 같이 산가수분해를 실시하였다. 화합물 을 5 mg에 6 N HCl을 가하고 6시간 동안 환류추출하여 가 수분해한 후 감압농축기로 농축하여 염산 및 용매를 제거 시켜 건조하였다. 건조물을 10% 메탄올 수용액으로 용해 한 후 EtOAc를 가하여 분획하고 물층을 취하여 농축한 다

음 TLC를 이용하여 화합물의 구성당을 확인하였다. 당표 준품과 TLC (isopropanol:MeOH:H₂O:HOAc=7:1:1:1)상 에서의 분해산물을 비교하여 구성당을 확인하였다.

결과 및 고찰

차풀 중자를 MeOH로 추출하고 *n*-hexane, EtOAc, *n*-BuOH 및 수층으로 분획하고 *n*-BuOH 분획을 대상으 로 column chromatography를 실시하여 2종의 화합물을 분리하여 화학구조를 동정하였다.

화합물 **1**은 ¹H-NMR spectrum에서 C-18과 C-19의 methyl group의 proton signal은 각각 δ_H 0.69와 0.96에

서 singlet으로, C-21의 methyl proton의 signal은 δ_H 1.01에서 doublet($J=6.5\text{Hz}$)으로, C-26과 C-27의 methyl group의 proton signal은 각각 δ_H 0.89와 0.91에서 doublet($J=3.5\text{Hz}$, $J=3.0\text{Hz}$)으로 나타났다. Olefinic proton (H-6)의 signal은 δ_H 5.38에서 broad singlet으로 나타났다. Glucose의 anomeric proton은 δ_H 5.07에서 $J=8.0\text{Hz}$ 의 doublet으로 나타나므로 glucose는 genin에 beta-결합하고 있음을 알 수 있었다.

^{13}C -NMR spectrum에서 두 개의 olefinic carbon의 signal이 각각 δ_C 141.4와 122.4에서 나타났고, 여섯 개의 methyl carbon의 signal들은 δ_C 12.5(18- CH_3), 19.9(19- CH_3), 19.5(21- CH_3), 20.5(26- CH_3), 19.7(27- CH_3) 및 12.7(29- CH_3)로 나타나서 이 화합물이 β -sitosterol임을 알 수 있었다(Kojima *et al.*, 1990), 그리고 δ 79.10에서 나타난 carbon peak는 β -sitosterol과 비교할 때 약 8 ppm 정도가 저자장으로 이동된 것을 통하여, 이 위치에 당 한분자가 결합된 것을 추측할 수 있다(Greca *et al.*, 1990; Anmed *et al.*, 2000).

그리고 FAB-Mass spectrum을 보면 m/z 599에서 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 를 확인할 수 있으며, 결합된 당의 종류는 산가수분해한 후 TLC분석을 통하여 β -sitosterol-3-O- β -D-glucoside로 예상되었으며 문헌치(Moghaddam *et al.*, 2006)와의 비교에 의해 확인되었다.

화합물 2는 ^1H -NMR 스펙트럼에서 벤젠환의 acetyl group의 proton signal이 δ_H 2.51에서, methyl group의 proton signal이 δ_H 2.23에서 singlet으로 나타났으며, methoxyl group의 proton signal이 δ_H 3.84에서 singlet

으로 나타났다. Aromatic proton에서 기인된 signal이 δ_H 7.08에서 singlet으로, 2개의 meta-coupled proton은 δ_H 6.89($J=3.0\text{Hz}$)와 7.07($J=2.0\text{Hz}$)에서 doublet으로 나타났다. 당에서 기인된 proton peak가 δ_H 3.02~5.27 사이에서 관측되었으며, 두개의 anomeric proton signal, 즉 δ_H 5.11($J=8.0\text{Hz}$)과 δ_H 4.22($J=8.0\text{Hz}$)으로 볼때 β -결합임을 알 수 있었고, 산가수분해에서 D-glucose만으로 구성되어 있는 것을 알 수 있었다.

^{13}C -NMR spectrum에서 oxygenated quaternary carbon signal이 C-1(151.2), C-6(158.4), C-8(155.2)에서 관측되었다. Glycoside linkage 부위는 HMBC에서 C-8과 glucose-1' 사이에 long range C-H coupling으로 C-8에 연결되어 있는 것을 알 수 있었다. 1개의 methoxyl group(δ_H 3.84)와 COCH_3 (δ_H 2.51)은 C-6, C-2와 각각 long range C-H coupling을 하고 있었다.

기존의 문헌(Choi *et al.*, 1995; Lin and Wei, 1993; Demirezer *et al.*, 2001)의 NMR 데이터와의 비교로 화합물 2는 2-acetyl-3-methyl-6-methoxynaphthalene -1,8-diol 8-O-glucosyl-(1 \rightarrow 6)-glucoside로 구조결정하였다.

차풀 종자 MeOH 추출물의 BuOH 가용부에서 분리한 2종의 화합물 중 화합물 2인 naphthalene glycoside는 차풀에서 처음 분리된 화합물이다.

화합물 1인 daucosterol은 많은 식물에 존재하는 물질로, 암세포 발생과 관련된 활성인 FPTase 저해효과(Kim *et al.*, 2004) 및 살충효과와 관련된 항섭취효과(Carlos *et al.*, 2005)가 보고되어진 바 있다. 화합물 2인 naphthalene glycoside은 Rhamnus nakaharai(Lin and Wei, 1993)

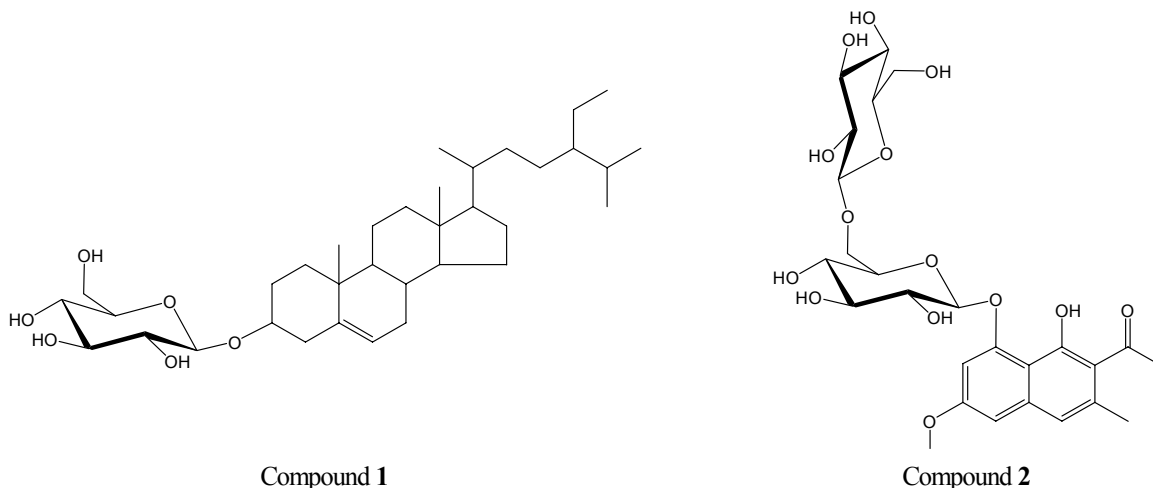


Fig. 1. Structures of compound 1 and compound 2 isolated from seeds of *Cassia mimosolides* var. *nomame* Makino.

등의 극소수의 식물에만 분포하는 성분으로 생리활성 연구가 거의 진행된 바 없어 활성관련 많은 연구가 요구되는 성분이다.

차풀은 전초로서 식품원료로 사용이 가능하고 식품공전 원재료 분류에서 주원료로 사용되므로 다양한 기능성을 가진 제품개발에 유용하게 활용할 수 있는 소재가 될 수 있을 것으로 판단되며, 차풀의 효능을 규명하는데 보다 체계적이고 활발할 연구가 필요하다고 사료된다.

적 요

차풀 종자로부터 함유된 성분을 규명하고자 column chromatography법을 이용하여 분리한 결과 BuOH 분획으로부터 2종의 화합물을 분리하였다. 이들 화합물에 대하여 ¹H-NMR, ¹³C-NMR, FAB-MS를 통하여 그 구조를 동정한 결과 각각 daucosterol과 naphthalene glycoside이었으며, 이중 naphthalene glycoside는 차풀 종자에서 처음으로 분리한 화합물이다.

인용문헌

Ahmed A.G., M.M. El-Olemy, E. Abdel-Sattar, M. El-Said and M. Niwa. 2000. Cardenolides and β -Sitosterol Glucoside from *Pergularia tomentosa* L. *Natural Product Sciences* 6(3): 142-146.

Carlos, R.P., G. Matias, C.G. Jose, E.S. Marta and E.T. Carlis. 2005. Insecticidal and antifeedant effects of *Junellia aspera*

(Verbenaceae) triterpenes and derivatives on *Sitophilus oryzae*. *J. Stored Prod. Res.* 41:433-443.

Choi J.S., J.H. Jung, H.J. Lee, J.H. Lee and S.S. Kang. 1995. A naphthalene glycoside from *Cassia tora*. *Phytochemistry* 40(3): 997-999.

Demirezer Ö, A. Kuruüzüm, I. Bergere, H.J. Schiewe and A. Zeeck. 2001. Five naphthalene glycosides from the roots of *Rumex patientia*. *Phytochemistry* 56: 399-402.

Greca M.D., P. Monaco and L. Previteva. 1990. Stigmasterols from *Typha latifolia*. *J. Nat. Prod.* 53: 1430-1435.

Kim, D.H., M.J. Song, K.M. Han, M.M. Bang, B.M. Kwon, S.H. Kim, D.K. Kim, I.J. Chung, M.H. Park, N.I. Baek. 2004. Development of biologically active compounds from edible plant sources-X. Isolation of lipids from the flower of *Campsis grandiflora* K. Schum and their inhibitory effect of FPTase. *J. Korea Soc. Appl. Biol. Chem.* 47(3): 357-360.

Kojima H.N., A.H. Sato and H. Ogura. 1990. Sterol glucosides from *Prunella vulgaris*. *Phytochemistry* 29: 2351-2355.

Lin C.N. and B.L. Wei. 1993. Anthraquinone and naphthalene glycosides from *Rhamnus nakaharai*. *Phytochemistry* 33: 905-908.

Moghaddam, F.M., M.M. Farimani, S. Salahvarzi and G. Amin. 2006. Chemical constituents of dichloromethane extract of cultivated *Satureja khuzistanica*. *eCAM* 2006, 1-4.

Yook C.I. 1989. *Coloured medicinal plants of Korea*. Academy publishing Co. Seoul, Korea.

Yoon K.B. and J.K. Chang. 1989. *Healthy herbs*. Seok Oh publishing Co., Seoul, Korea.

김태정. 1988. 한국의 자원식물 II. 서울대학교출판부. p. 199.

이창복. 1985. 원색대한식물도감. 향문사. p. 583.

(접수일 2008.8.7; 수락일 2009.1.10)