

개느삼의 성분에 관한 연구

金 昌 玟·姜 三 植*

江原大學校 藥學科·*서울大學校 生藥研究所

(Received May 13, 1986)

Studies on the Constituents of the Stems of *Echinosophora koreensis*

Chang Min Kim and Sam Sik Kang*

Kangwon National University, Chunchun 200, and

*Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110, Korea

Abstract—From the stems of *Echinosophora koreensis* Nakai (Leguminosae) acetyloleanolic acid, oleanolic acid, Δ^5 -sterols and scopoletin were isolated and characterized by spectral data. Δ^5 -Sterols were identified as campesterol, stigmasterol and β -sitosterol in a ratio of 12%, 20% and 68% by GC/MS analysis.

개느삼 *Echinosophora koreensis* Nakai (Leguminosae)은 함북 북청, 평남 맹산 및 신흥 그리고 강원 양구 등지에 분포하고 있고, 양구가 분포 南限으로 되어 있는 우리나라 희귀식물의 하나이다.¹⁾

본 식물은 Nakai^{2,3)}가 1919년에 *Sophora koreensis* Nakai로 발표한 후, 1923년에 *Sophora* 속과는 달리 지하경에 의해 퍼져나가고 꽃이 황금색이며 꼬투리에 돌기가 있다는 이유를 들어 한국 특산 屬 식물로 동정하였으며 Hutchinson⁴⁾도 같은 이유로 *Sophorea*속에 본 속을 독립된 속으로 분류하고 있다.

개느삼의 성분에 대하여는 Murakoshi 등⁵⁻⁸⁾이 수종의 lupin계 알칼로이드를 분리하였으며 *Sophora* 속에 들어있는 matrine형 알칼로이드는 없고 *Thermopsis* 속에 가까운 sparteine형과 cytisine형 알칼로이드가 분포하고 있다고 언급하고 있다.

저자들은 본 식물의 식물화학적 특성과 그 자원적인 이용을 밝히고자 먼저 지상경의 메탄올 가용부에 대한 성분 검색을 행하고 이화학적인 시험 및 spectral data를 종합하여 acetyloleanolic acid, oleanolic acid, sterols 및 scopoletin을 구명하였기에 보고한다.

실 험 방 법

기기—용점은 Mitamura-Riken의 micromelting point apparatus를 사용하여 측정하였으며 보정하지 않았다. IR 스펙트럼은 Perkin-Elmer 281B spectrophotometer를 사용하여 KBr disc법으로 측정하였고, UV 스펙트럼은 Gilford system 2600 spectrophotometer로, 선광도는 Rudolph Autopol III automatic polarimeter로 측정하였다. NMR 스펙트럼은 TMS를 내부표준물질로 하여 Varian FT-80A spectrometer를 사용하였고, 질량 스펙트럼은 Hewlett Packard 5985B GC/MS System을 사용하였다. GC/MS의 측정조건은 OV-101 capillary column(12m)을 사용하여 칼람온도 280°C에서 콜레스테롤을 내부표준물질로 하여 70eV에서 측정하였다.

추출 및 단리—건조한 개느삼의 줄기(강원도, 양구) 2.7kg를 메탄올로 추출하여 얻은 엑기스를 hexane 및 10% 알콜성 수용액으로 분획하여 hexane 분획 15g을 얻고 계속해서 수층을 CHCl_3 (32g) 및 BuOH(64g)로 분획하였다. Hexane 및 CHCl_3 분획을 각각 SiO_2 칼람 크로마토그래피에 걸쳐 hexane-acetone(1% to 5%) 및 벤젠—에틸

(4:1) 혼합용매로 용출시켜 hexane 분획에서 화합물 1, 2 및 3을 얻었으며, CHCl_3 분획에서 화합물 4를 얻었다.

화합물 1의 단리—Hexane 분획을 칼람 크로마토그래피하여 얻은 분획 2를 MeOH로 재결정하여 침상결정을 얻었다.

mp 263–4°, $[\alpha]_D^{20} + 80.2^\circ$ (C=0.2 in CHCl_3) (Lit.⁹ mp 265–267°, $[\alpha]_D^{20} + 69^\circ$). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$; 1735, 1251(OAc), 1700(acid), 1630, 825, 815 (C=C). NMR(CDCl_3 , TMS) δ : 0.74(3H, s, CH_3), 0.85(6H, s, $2 \times \text{CH}_3$), 0.92(9H, s, $3 \times \text{CH}_3$), 1.12(3H, s, CH_3), 2.03(3H, s, OAc), 2.83(1H, dd, J=4.4 and 13.1Hz, H-18), 4.49(1H, dd, J=7.1 and 8.3Hz, H-3), 5.27(1H, t-like, J=3.1 Hz, H-12).

MS, m/z (rel. int.); 498(M^+ , 0.3), 454($\text{M}^+ - \text{CO}_2$, 0.3), 453($\text{M}^+ - \text{COOH}$, 0.2), 438($\text{M}^+ - \text{HOAc}$, 1.5), 249(A/B ring, 22.3) 248(D/E ring, 100), 233(248– CH_3 , 9.8), 203(248– COOH , 80.5), 190(24.1), 189(249– HOAc , 22.6), 175(11.7), 133(19.7).

화합물 1의 알칼리 처리—화합물 1(20mg)에 3% 알콜성 NaOH 용액을 가하고 수욕상에서 3시간 가열한 후 물을 가하여 생성하는 침전을 여과한 후 MeOH로 재결정하여 침상결정을 얻었다.

mp 307–9°, $[\alpha]_D^{20} + 65.8^\circ$ (C=0.08 in CHCl_3)

화합물 2의 단리—Hexane 분획을 칼람 크로마토그래피를 실시하여 얻은 분획 5를 알콜로 재결정하여 침상결정을 얻었다.

mp 134–8°, $[\alpha]_D^{18} - 36.6^\circ$ (C=0.17 in CHCl_3)

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$; 3420(OH), 957(disubstituted double bond), 834, 820, 795(trisubstituted double bond).

NMR(CDCl_3 , TMS) δ : 0.68(3H, s, H-18), 0.81(3H, d, J=6.7Hz, H-26 or 27), 0.84(3H, d, J=6.5Hz, H-26 or 27), 0.92(3H, d, J=6.6Hz, H-21), 1.00(3H, s, H-19), 3.50(1H, m, H-3), 5.09(ca 0.5H, m, H-22, 23), 5.35(1H, bd, J=4.4Hz, H-6).

MS, m/z (rel. int.); peak a(Rt_R :1.29) 400(M^+ , 72.2), 385($\text{M}^+ - \text{CH}_3$, 17.5), 382($\text{M}^+ -$

H_2O , 44.3), 367(385– H_2O , 26.8), 315($\text{M}^+ - 85$, 13.4), 289($\text{M}^+ - \text{C}_7\text{H}_{11}\text{O}$, 13.4), 273($\text{M}^+ - \text{SC}$, 14.4), 255($\text{M}^+ - \text{SC} - \text{H}_2\text{O}$, 35.0), 231($\text{M}^+ - \text{SC} - \text{C}_3\text{H}_6$, 19.6), 229($\text{M}^+ - \text{SC} - \text{C}_3\text{H}_8$, 15.5), 213(231– H_2O , 44.3), 81(100); peak b(Rt_R :1.38) 412(M^+ , 31.9), 394($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$, 13.9), 272($\text{M}^+ - \text{SC} - \text{H}$, 12.5), 271($\text{M}^+ - \text{SC} - 2\text{H}$, 19.4), 255($\text{M}^+ - \text{SC} - \text{H}_2\text{O}$, 34.7), 253(271– H_2O , 11.1), 229($\text{M}^+ - \text{SC} - \text{C}_3\text{H}_8$, 15.3), 213($\text{M}^+ - \text{SC} - \text{C}_3\text{H}_6 - \text{H}_2\text{O}$, 23.6), 211(229– H_2O , 11.1), 83(100); peak c(Rt_R 1.59) 414(M^+ , 64.6), 399($\text{M}^+ - \text{CH}_3$, 20.8), 396($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$, 43.7), 381(399– H_2O , 17.7), 329($\text{M}^+ - \text{C}_6\text{H}_{13}$, 12.5), 303($\text{M}^+ - \text{C}_7\text{H}_{11}\text{O}$, 10.4), 273($\text{M}^+ - \text{SC}$, 17.7), 255($\text{M}^+ - \text{SC} - \text{H}_2\text{O}$, 34.4), 231($\text{M}^+ - \text{SC} - \text{C}_3\text{H}_6$, 21.9), 229($\text{M}^+ - \text{SC} - \text{C}_3\text{H}_8$, 12.5), 213(231– H_2O , 40.6), 81(100).

화합물 8의 단리—Hexane 분획을 칼람 크로마토그래피한 분획 8을 MeOH로 재결정하여 침상결정을 얻었다.

mp 303–9° (Lit.¹⁰ mp 310°)

이 물질은 화합물 1을 알칼리분해하여 얻은 물질과 직접적으로 대조(mmp, tlc, IR)하여 동일한 물질임을 확인하였다.

화합물 4의 단리— CHCl_3 분획을 칼람 크로마토그래피를 실시하여 얻은 분획 12를 메탄올로 재결정하여 판상결정을 얻었다.

mp 204° (Lit.¹¹ mp 204–5°).

UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}} \text{nm} (\log \epsilon)$; 230(4.17), 254(3.72), 261(sh, 3.69), 299(3.74), 346(4.11).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$; 3335(OH), 1703(C=O), 1610, 1567, 1511(aromatic C=C), 1291, 1018(C–O–C).

NMR(CDCl_3 , TMS) δ : 3.94(3H, s, OCH_3), 6.24(1H, d, J=9.5Hz, H-3), 6.83(1H, s, H-5), 6.90(1H, s, H-8), 7.58(1H, d, J=9.5Hz, H-4).

MS, m/z (rel. int.); 192(M^+ , 100), 177($\text{M}^+ - \text{CH}_3$, 64.9), 164($\text{M}^+ - \text{CO}$, 25.4), 149($\text{M}^+ - \text{CO} - \text{CH}_3$, 53.1), 121(149– CO , 20.9), 79(13.7), 69(24.2).

실험결과 및 고찰

화합물 1은 Liebermann-Burchard 반응에 양성이고 그의 IR 스펙트럼에서 acetoxy기로 추정되는 밴드가 1735 및 1251 cm^{-1} 에서 강하게 나타나며 1700 cm^{-1} 에서 산에 기인하는 밴드가 나타나는 것으로 보아 산 및 acetoxy기가 있는 triterpene계의 물질로 추정되었다. 이상의 결과는 NMR 스펙트럼에서 7개의 tertiary methyl기가 δ 0.74~1.12ppm에서 나타나며 하나의 acetoxy singlet가 2.03ppm에서 나타나고, acetoxy기에 인접한 carbinol proton이 4.49ppm에서 J value 7.1 및 8.3Hz의 double doublets로 나타나는 것으로 보아 acetoxy기는 triterpene계의 3번 탄소에 결합된 것으로 생각된다.¹²⁾ 또 olefinic proton이 5.27ppm에서 t-like로 나타나며 H-18 proton이 2.83ppm에서 J value 4.4 및 13.1Hz의 double doublets로 나타나는 것으로 보아 이 물질은 olean-12-en-28-oic acid로 추정된다.^{13,14)} 이 물질의 질량스펙트럼은 분자량이 m/z 498에서 나타나고 retro Diels-Alder 분해에 의해 D/E ring 부분이 m/z 248에서 베이스 피이크로, 또 A/B ring 부분이 m/z 249에서 나타나고 m/z 248에서 산이 떨어져서 나타나는 피이크가 m/z 203에서 강한 강도를 나타내는 것으로 보아 이 산은 C-17 위치에 결합되었다.¹⁵⁾ 따라서 이 물질은 acetyl-oleanolic acid로 결정하였으며, 이 물질을 알칼리 분해시켜 얻은 물질은 oleanolic acid임을 표준품과 직접적인 방법으로 확인하였다.

화합물 2도 L.B. test에 양성이고 그의 IR 스펙트럼은 전형적인 스테롤의 스펙트럼을 보여 주었다. NMR 스펙트럼상에서 C-18 및 19의 angular methyl기의 signal이 각각 δ 0.68 및 1.00ppm에서 나타나고 5.35ppm에서 olefinic proton이 나타나는 것으로 보아 이중결합이 5번 탄소에 있는 것으로 추정된다.¹⁶⁾ 이 물질을 GC/MS로 분석한 결과 3개의 피이크가 나타났으며 이들 각 피이크에 대한 molecular ion peak는 피이크 a(relative t_R = R_{T_R} : 1.29)가 m/z 400에서, 6(R_{T_R} : 1.38)가 m/z 412에서, C(R_{T_R} : 1.59)가

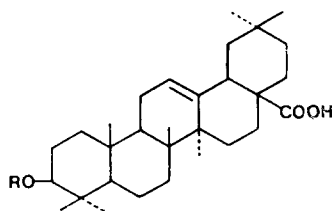
m/z 414에서 나타났으며, 이들 각 molecular ion peak에서 분해되어 나타나는 분열 패턴은 campesterol, stigmasterol 및 β -sitosterol의 표준품과 일치하며, 콜레스테롤에 대한 상대 retention time도 일치하는 것으로 보아 화합물 2는 campesterol, stigmasterol 및 β -sitosterol이 각각 12%, 20% 및 68%의 비로 존재하는 스테롤의 혼합물로 확인하였다.

화합물 3도 L.B. test에 양성이며 화합물 1을 알칼리로 처리하여 얻은 oleanolic acid와 TLC에서 일치하며 혼용시험에서도 용점강하가 없고 IR 스펙트럼도 일치하는 것으로 보아 oleanolic acid로 확정하였다.

화합물 4의 UV 스펙트럼은 230 및 346nm에서 두개의 main band가 나타나는 것으로 보아 hydroxy coumarin 유도체¹⁷⁾임을 추정할 수 있다. 그의 IR 스펙트럼은 페놀성 OH로 추정되는 피이크가 3335 cm^{-1} 에서 나타나며 방향성 이중결합에 기인하는 피이크가 1610, 1567, 1511 cm^{-1} 에서 나타났다, 이 외에도 카르보닐 피이크가 1703 cm^{-1} 에서, 메톡실기에 기인되는 피이크가 1291 및 1018 cm^{-1} 에 나타나고 있다. 이 화합물의 NMR 스펙트럼은 전형적인 쿠마린 유도체의 H-3 및 H-4 proton에 기인하는 doublet가 각각 δ 6.24 및 7.58ppm에서 J=9.5Hz로 나타나며¹⁸⁾, 하나의 메톡실기에 기인하는 singlet가 δ 3.94에서 나타나고, 각각 δ 6.83 및 6.90ppm에서 singlet로 나타나는 두개의 방향성 프로톤은 메톡실 및 하이드록실기가 C-6 및 7에 결합되어 있음을 보여 준다. 따라서 화합물 4는 scopoletin으로 추정되며 질량스펙트럼도 문헌¹¹⁾의 그것과 잘 일치하므로 화합물 4는 scopoletin으로 확정하였다.

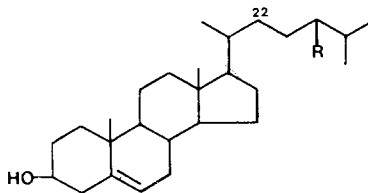
결 론

Echinosophora koreensis Nakai의 줄기로 부터 triterpene계의 acetyl-oleanolic acid (1), oleanolic acid(3) 외에 스테롤(2) 및 쿠마린 성분인 scopoletin (4)를 분리하여 이화학적 및 spectral data를 종합하여 그 화학구조를 결정하였다. 스테롤은 GC/MS로 확인한 결과 campesterol, stigmasterol 및



1 R = Ac

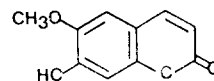
3 R = H



2 R = CH₃ ; campesterol

R = C₂H₅ , Δ²²; stigmasterol

R = C₂H₅ ; β-sitosterol



4

β-sitosterol이 12%, 20% 및 68%의 비로 존재하는 혼합물임을 확인하였다.

감사의 말씀

본 실험의 일부를 수행해 준 강원대 약학과 金洙光, 權容秀 및 安奎尊군에게 감사한다.

문헌

- 1) Lee, W.C.: Korean Endemic Plants. *J. Kor Pl. Tax.*, 1, 14 (1969).
- 2) Nakai, T.: Notulae ad plantas Japonicae et Koreae. *Bot. Mag.* (Tokyo), 37, 1 (1919).
- 3) Nakai, T.: Genera nova Rhamnacearum et Leguminosarum ex Asia Orientali. *Bot. Mag.* (Tokyo), 37, 29 (1923).
- 4) Hutchinson, J.: *The Genera of Flowering Plants*, Oxford Univ. Press (London), pp.320 (1964).
- 5) Murakoshi, I., Fukuchi, K., Haginiwa, J., Ohmiya, S. and Otomasu, H.: N-(3-Oxobutyl) cytosine: a new Lupin Alkaloid from *Echinosophora koreensis*. *Phytochemistry*, 16, 1460 (1977).
- 6) Murakoshi, I., Watanabe, M., Haginiwa, J., Ohmiya, S. and Otomasu, H.: (-)-N-Ethylcytosine, a Lupin Alkaloid from the Flowers of *Echinosophora koreensis*. *Phytochemistry*, 21, 1470 (1982).
- 7) Murakoshi, I., Kidoguchi, E., Kubota, M., Haginiwa, S. and Otomasu, H.: Lupin Alkaloids from *Echinosophora koreensis*. *Phytochemistry*, 21, 2385 (1982).
- 8) Murakoshi, I., Watanabe, M., Okuda, T., Kidoguchi, E., Haginiwa, J., Ohmiya, S. and Otomasu, H.: Lupin Alkaloids from Flowers of *Echinosophora koreensis*. *Phytochemistry*, 24, 2707 (1985).
- 9) Zakaria, M.B., Jeffreys, J.A.D., Waterman, P.G. and Zhong, S.M.: Naphthoquinones and Triterpenes from Some Asian *Diospyros* species. *Phytochemistry*, 23, 1481 (1984).
- 10) Yang, H.S., Choi, S.K., Han, B.H., Kang, S.S. and Woo, W.S.: Sterols and Triterpenoids from *Codonopsis lanceolata*. *J. Pharm. Soc. Korea*, 19, 209 (1977).
- 11) Gunasekera, S.P., Cordell, G.A. and Farnsworth, N.R.: Constituents of *Nealchornea yapurenis*. *J. Nat. Prod.*, 43, 285 (1980).
- 12) Kang, S.S., and Woo, W.S.: Triterpenes from the Seeds of *Phytolacca* species. Proc. of the 2nd ROR-ROC Symposium on Natural Products Sciences, Seoul, pp.49-55 (1985).
- 13) Cheung, H.T. and Yan, Y.C.: Constituents of Dipterocarpaceae Resins. Triterpenes of *Shorea acuminata* and *S. resinanigra*. *Aust. J. Chem.*, 25, 2003 (1972).
- 14) Johns, S.R., Lamberton, J.A., Morton, T.C., Soares, H., and Willing, R.I.: Triterpenes of *Lantana tiliaefolia*. 24-Hydroxy-3-oxo-12-en-28-oic Acid. A New Triterpene. *Aust. J. Chem.*, 36, 2537 (1983).
- 15) Budzikiewicz, H., Wilson, J.M., and Djerassi, C.: Mass Spectrometry in Structural and Stereochemical Problems. *J. Am. Chem. Soc.*, 85, 3688 (1963).
- 16) Garg, V.K. and Nes, W.R.: Codisterol and other Δ⁵-Sterols in the Seeds of *Cucurbita maxima*. *Phytochemistry*, 23, 2925 (1984).
- 17) Scott, A.I.: *Interpretation of the Ultraviolet Spectra of Natural Products*. Pergamon, p.140 (1964).
- 18) Nielsen, B.E.: Coumarins of Umbelliferous Plants. *Dansk Tidsskr. Farm.*, 44, 111 (1970).