생 약 학 회 지
Kor. J. Pharmacogn.
18(3):168~176(1987)

冷草의 化學成分 硏究

李叔妍 · 劉承兆* · 池亨浚**
三育大學 藥學科 · *成均館大學校 藥學大學 · **서울大學校 生藥硏究所

Chemical Components of the Root of *Veronicastrum sibiricum* Pennell

Sook Youn Lee, *Seung Jo Yu and **Hyung-Joon Chi
Department of Pharmacy, Korea Union College · *College of Pharmacy, Seung Kyun Kwan University · **Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110, Korea

Abstract—*Veronicastrum sibiricum* (L.) Pennell (Scrophulariaceae) is a perennial herb growing in moist land. It has been used as a korean folk medicine in treating common cold, leucorrhea, cystitis and liver damage and as cholagogue. The present study dealt with the elucidation of the chemical components. From the roots of the plant, five iridoids were isolated and identified as minecoside (mp 142~3°), 6-O-veratryl catalpol ester (mp 216~8°), catalpol (mp 204~6°), aucubin (mp 180~2°) and 6-desoxy-8-isoferuloyl harpagide (mp 139~41°). Furthermore, β-sitosteryl-3-O-D-glucoside, campesteryl 3-O-D-glucoside, β-sitosterol, campesterol, stigmasterol and mannitol were also isolated.

Keywords—*Veronicastrum sibiricum* · Scrophulariaceae · iridoids · minecoside · 6-O-veratryl catalpol ester · catalpol · aucubin · 6-desoxy-8-isoferuloyl harpagide · phytosterols · β-sitosteryl-3-O-D-glucoside · campesteryl 3-O-D-glucoside · β-sitosterol · campesterol · stigmasterol · mannitol

냉초(*Veronicastrum sibiricum* (L.) Pennell)는 玄蔘科(Scrophulariaceae)에 속하는 多年生 草本으로서 우리나라 山地의 습기가 많은 곳에 自生하는 植物이다.[1~11] 이 냉초는 우리나라와 中國의 옛 本草書에는 記載되어 있지 않았으나 오랜 동안 民間에서 婦人冷症에 有效하다하여 널리 藥用으로 供用되었고 또한 그 根莖과 根을 冷草라고 稱하여 市販되어 오고 있는 植物이며, 어린 순을 숨위나물이라 하여 식용한다.[2,4~6,17] 그 동안 中國의 本草書의 外形 記載와 外形圖가 애매하여 이 식물을 草本威靈仙의 基源植物이라고 誤記되어 왔으며[3,7,11~16], 최근 中國에서는 이 식물을 斬龍劍(Zhän-Löng-Jiän)이라는 새로운 生藥名으로 記載하고 있으며 그 異名이 草本威靈仙, 狼尾巴花, 草玉梅, 山鞭草, 九折草라고 되어 있으나 全草를 使用하며 用途는 感氣, 淸熱解毒, 風濕性筋肉痛, 膀胱炎, 毒蛇咬傷 등이다.[18] 또한 日本에서도 이러한 식물의 根을 民間에서 류마티스 關節炎 등에 사용하고 있다.[19] 이러한 冷草의 成分 硏究는 아직 없었고 다만 *Veronicastrum sibiricum* var. *japonicum*에서 Shimada,[20] Inouye[21] 등이 mannitol, luteolin-7-β-neohesperidoside, luteolin-7-β-D-glucopyranoside 등을 발표하였으며 *Veronicastrum virginicum* L.의 뿌리를 美國에서 Leptandra[22]라 하여 그 成分을 3,4-dimethoxycinnamic acid로 기재하고 있다. 또 근연식물인 유럽산 *Veronica officialis*에서 Sticher[23,24] 등이 aucubin,[25,26] catalpol,[27] catalposide[28]에 이어 새로운 iridoid 화합물(minecoside,[29] verminoside,[29] veronicoside,[30] verproside,[31] mussaen-

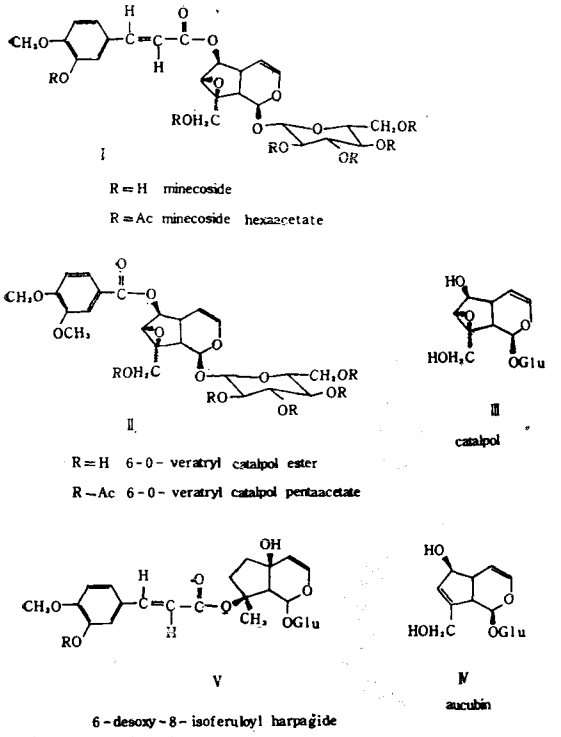


Fig. 1. Isolated compounds from the root of *Veronicastrum sibiricum*

oside,[32] ladroside[33])들을 單離報告하였다.

著者는 韓國産 藥用植物의 成分檢索試驗[34]에서 이 冷草의 지하부에 iridoid 화합물이 존재함을 예측할 수 있었고 또한 이 植物이 소속된 玄蔘科에서 iridoid 化合物이 多數 發見되었으므로 이 식물의 主成分으로 豫測되는 iridoid 化合物에 관한 硏究를 試圖하였다.

그 결과 iridoid 化合物로서 6-O-isoferuloyl catalpol ester (Ⅰ. minecoside), 6-O-veratroyl catalpol ester(Ⅱ), catalpol(Ⅲ), aucubin(Ⅳ), 6-desoxy-8-isoferuloyl harpagide(Ⅴ), sterol 配糖體 化合物(Ⅵ)로서 β-sitosteryl-3-O-D-glucoside와 campesteryl-3-O-D-glucoside, sterol 화합물(Ⅶ)로서 β-sitosterol과 stigmasterol, campesterol, 糖 alcohol로서 mannitol(Ⅷ)을 單離하여 그 化學構造를 理化學的 및 分光學的인 方法(UV, IR, ^{1}H—NMR, ^{13}C—NMR, MS, GC, HPLC)으로 究明하였다(Fig. 1).

實 驗

1. 實驗材料

京畿道 抱川郡 永北面 雲川과 江原道 東海市 近郊에서 自生하는 冷草를 1983년 가을에 採集하여 그 地下部位(根莖과 根)를 그늘에서 말린 다음 잘게 썰어 사용하였다.

2. 試藥 및 機器

抽出·展開·溶離溶媒는 특급시약과 공업용을 규정대로 정제하여 사용하였으며 Column Chromatography는 Kieselgel 60(E. Merck)를, TLC는 Kieselgel 60$_{F-254}$(Merck)를 사용하였고 발색시약은 Anisaldehyde-H_2SO_4 용액과 10% H_2SO_4 용액을 사용하였으며 반응시약은 Trim-Hill reagent[35]를 사용하였다.

또한 사용된 기기는 융점측정은 Mitamura-Riken micro melting points apparatus를 사용했고 ultra violet(UV) spectrum은 Shimadzu model MPS-50L spectrophotometer; Gilford UV spectrophotometer를, IR spectrum은 Perkin-Elmer 283B spectrometer(KBr disk, nujol)를, 선광도 측정은 Perkin-Elmer model 243 polarimeter; Rudolph Autopol® Ⅲ automatic polarimeter를 사용했으며 ^{1}H-NMR는 Varian model EM-360 (60MHz) spectrometer; Varian FT-80A(80 MHz) spectrometer(TMS)를, ^{13}C-NMR은 Brucker (20.15MHz) spectrometer; Varian FT-80A(20 MHz) spectrometer를, mass spectrum은 Hewlett Packard model 5985B GC/MS spectrometer를 사용했고, gas chromatography는 Pye Unicam 104 chromatography를, HPLC는 Waters model 6000 high Perfermance liquid chromatograph를 사용하였다.

3. 抽出 및 分離

재료 3 kg을 수욕중에서 MeOH로 4시간씩 3회 추출한 후 감압농축하여 건조 엑기스 300 g을 얻었다. 이 MeOH 엑기스를 Scheme 1과 같이 분획하여 n-Hexane, EtOAc, H_2O 가용부로 분리하였다. EtOAc 가용부는 $CHCl_3$: MeOH (9 : 1→1 : 1)을 용리용매로 Silicagel column chromatography하여 각 물질을 분리하였다.

物質 Ⅰ

MeOH로 재결정하여 백색 무정형 결정을 얻었다. Trim-Hill 시약으로 청색을 나타냈으며 Molisch test에서도 양성반응을 나타냈다. TLC ($CHCl_3$: MeOH=3 : 1)에서 Rf 0.5이다.

Mp : 142~4° ; $[\alpha]_D^{20}$: −183°(c=0.64, CH_3OH); UV $\lambda_{max}(CH_3OH)$: 206, 244, 299, 329; IR ν_{max}^{KBr} : 3320(OH), 1720(C=O), 1655(C=C, cyclic), 1635(C=C, aliphatic); ^{1}H-NMR(CD_3OD) : 2.50 ~2.66(m, 2H, H—5, H—9), 3.65, 4.16(AB system, J=13Hz, 2H, H—10), 3.68(s, 1H, H —7), 3.90(s, 3H, OCH_3), 6.34(d, J=16Hz, 1H, H—β), 6.34(d×d, J=1Hz/6Hz, 1H, H —3), 7.62 (d, J=16Hz, 1H, H—α), 6.86~ 7.14(m, 3 aromatic H); MS(m/z) : 538(M^+), 376, 200, 194, 165; ^{13}C—NMR(pyridine-d_5) : C_1 94.96, C_3 141.7, C_4 102.6, C_5 36.5, C_6 80.6, C_7 59.70, C_8 67.0, C_9 43.4, C_{10} 60.57, C_1' 100.40, C_2' 75.13, C_3' 78.35, C_4' 71.8, C_5' 77.8, C_6' 63.0, C_1'' 128.5, C_2'' 115.85, C_3'' 148.72, C_4'' 151.3; C_5'' 112.5, C_6'' 115.85, OCH_3 56.1, C=O 167.3, α—C 146.2, β—C 123.6.

物質 I의 acetyl化

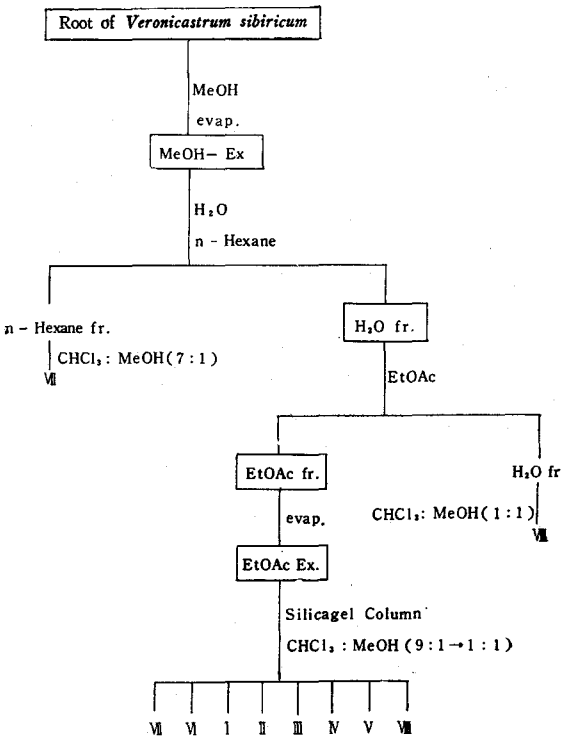
물질 I (30 mg)을 pyridine(2 ml)에 녹이고 무수초산 3 ml를 가하여 실온에서 하루밤 방치한 후 빙수를 가해 생성된 침전물을 여취하여 증류수로 수회 세척하고 MeOH에서 재결정하여 무색침상의 결정(I-a)를 얻었다.

Mp : 107~8° ; IR ν_{max}^{KBr}: 1720(C=O, ester), 1755 (C=O, acetate), 1655(C=C, enolic double bond), 1635(C=C, aromatic); ^{1}H—NMR($CDCl_3$): 2.03~2.11(5×OAc), 2.31(aromatic OAc), 2.59 ~2.69(m, 2H, H—5, H—9), 3.68(s, 1H, H— 7), 3.86 (s, 3H, OCH_3), 3.98, 5.04(AB system, J=13Hz, 2H, H—10), 6.30(d, J=16Hz, 1H, H—β), 6.29(d, J=6Hz, 1H, H—3), 7.63 (d, J=16Hz, 1H, H—α); 6.88~7.44 (3 aromatic, H); MS(m/z) : 790(M^+), 554, 331, 242, 194, 169.

物質 I의 alkali 加水分解

물질 I 30 mg을 5% KOH 5 ml를 가해 4시간 동안 환류냉각시킨 후 HCl로 중화하고 BuOH로 추출한 후 H_2O로 수회 세척하여 농축하고 MeOH로 재결정하여 무색침상결정(I-b)를 얻었다.

Mp : 172~4°(rhombic crystal) ; IR ν_{max}^{KBr}: 3400



Scheme 1. Fractionation and isolation of compounds

(OH), 1720(C=O), 1635(C=C); ^{1}H—NMR ($CDCl_3$) : 3.90(s, OCH_3), 6.35(d, J=16Hz, 1H, H—β), 7.62(d, J=16Hz, 1H, H—α), 6.86~7.52(3 aromatic H); MS(m/z) : 194 (M^+), 177, 164, 123, 81, 77.

物質 Ⅱ

MeOH로 재결정하여 백색 침상 결정을 얻었다. 이 물질은 Trim-Hill 시약으로 청색을 나타내며 Molisch 반응에서도 양성을 나타냈고 TLC ($CHCl_3$: MeOH=4 : 1)에서 Rf 0.5이다.

Mp : 216~8° ; UV $\lambda_{max}(CH_3OH)$: 226, 263, 292; IR ν_{max}^{KBr} : 3350(OH), 1710(ester), 1650(C =C, enolic double bond), 1600(aromatic double bond), 1000~1100(glycoside); ^{1}H—NMR(CD_3-OD) : 2.50~2.66(m, 2H, H—5, H—9), 3.60, 4.16(AB system, J=13Hz, 2H, H—10), 3.86 (d, 6H, 2×OCH_3), 6.36 (d, J=6Hz, H—3), 7.13~7.62(3 aromatic H); MS(m/z) : 526(M^+), 364, 200, 182, 165; ^{13}C—NMR(pyridine—d_5): C_1 94.8, C_3 141.8, C_4 102.3, C_5 36.5, C_6 81.0, C_7 59.6, C_8 66.9, C_9 43.2, C_{10} 60.3,

C_1' 100.0, C_2' 74.8, C_3' 78.7, C_4' 71.4, C_5' 77.9, C_6' 62.6, C_1'' 154.5, C_3'' 150.00, C_4'' 150.76, C_5'' 124.56, C_6'' 113.62, CO 166.7, OCH_3 56.0(×2).

物質 Ⅱ의 acetyl化

위와 같은 방법으로 물질 Ⅱ 20 mg을 acetylation하여 백색 침상 결정(Ⅱ-a)를 얻었다.

Mp : 122~4°; IR ν_{max}^{KBr}: 1725(C=O ester), 1655 (C=C cyclic); ^{1}H—NMR($CDCl_3$) : 1.98~2.14 (5×$COCH_3$), 2.54~2.72(m, 2H, H—5, H—9), 3.84(s, 3H, OCH_3), 3.96, 5.04(AB system, J=13Hz, 2H, H—10), 6.88~7.44(3 aromatic H); MS(m/z) : 736(M^+); 554, 331, 182, 169.

物質 Ⅱ의 alkali 加水分解

위와 같은 방법으로 물질 Ⅱ 20 mg을 가수분해하여 MeOH에서 재결정하여 백색 침상 결정(Ⅱ-b)을 얻었다.

Mp : 178~80° (rhombic crystal); IR ν_{max}^{KBr}:3320 (OH), 1735(C=O acid); MS(m/z) : 182 (M^+), 167(M^+—CH_3), 137, 111, 77; ^{1}H—NMR($CDCl_3$) : 3.82(s, 6H, 2×OCH_3), 6.88~7.45 (aromatic 3H).

物質 Ⅱ-b의 methyl化

물질 Ⅱ-b 10 mg을 MeOH 소량에 용해하고 ethereal CH_2N_2를 가해 냉장고에 방치하였다. 용매를 제거한 후 재결정하여 백색 침상 결정(Ⅱ-c)을 얻었다.

Mp : 128~131°; MS(m/z) : 196(M^+), 181(M^+—CH_3), 165(M^+—OCH_3), 137, 121, 107.

物質 Ⅲ

MeOH로 재결정하여 백색 결정을 얻었다.

Molisch 반응에서 양성반응을 나타냈으며 Liebermann-Burchard 반응에서는 양성반응을 나타냈으나 Trim-Hill 시약으로는 정색되지 않았다. mp를 측정한 결과 197~200°이었으며 Catalpol 표품과 Co-TLC에서 Rf가 일치했으며 혼융시험에서도 융점강하가 없었다.

物質 Ⅳ

EtOH에서 재결정하여 mp 178~180°의 백색 분말상의 결정을 얻었다. Molisch 반응에서 양성반응을 나타냈으며 Trim-Hill 시약으로 청색을 나타냈다. Aucubin 표품과 Co-TLC에서 일치했으며 혼융시험에서도 융점강하가 없었다.

^{1}H—NMR(D_2O) : 3.10(m, 1H, H—9), 4.30 (dd, 2H, H—10), 5.12(dd, 1H, H—4), 5.23(d, 1H, J=5.0, H—1), 5.87(d, 1H, H—7), 6.32(dd, 1H, H—3).

物質 Ⅴ

MeOH로 재결정하여 미황색 무정형 물질을 얻었다. Liebermann-Burchard 반응에서 양성을 나타냈으며 Trim-Hill 시약에서 청색으로 정색하였고 Molisch 반응에서도 양성을 나타냈다.

TLC(EtOAc : MeOH : H_2O=50 : 6 : 4)에서 Rf 0.6이었다.

Mp : 139~141°; UV λ_{max}(CH_3OH) : 216, 234sh, 289, 320; IR(Nujol) : 3350, 3200(OH), 1710(C=O ester), 1650(C=C enolic double bond), 1630(C=C aromatic), 1600(C=C aromatic), 1000~1100(glycoside); ^{1}H—NMR(CD_3OD): 1.38(s, 3H, CH_3), 1.99~2.22(m, 2H, H—7), 2.30~2.62(m, 2H, H—6), 2.87(brs, 1H, H—9), 3.83(s, 3H, OCH_3), 5.44(brs, 1H, H—1); 5.82(d, 1H, J=13Hz, H—4), 6.20(m, 1H, H—3), 6.38(d, 1H, J=16Hz, H—β), 7.60(d, 1H, J=16Hz, H—α), 7.82(s, 1H, phenolic OH); ^{13}C—NMR(CD_3OD) : C_1 93.2, C_3 140.8; C_4 104.2, C_5 74.1, C_6 47.8, C_7 38.7, C_8 84.8, C_9 50.2, C_{10} 25.6, C_1' 98.9, C_2' 74.2, C_3' 78.8, C_4' 71.2, C_5' 77.2, C_6' 62.2, C_1'' 129.4, C_2'' 112.8, C_3'' 149.5, C_4'' 150.8, C_5'' 111.5, C_6'' 112.8, OCH_3 56.1, C=O 168.4, α—C 146.1, β—C 123.6; MS(m/z) : 396, 376, 320, 297, 238, 223, 208, 191, 168, 133, 107, 91, 77.

物質 Ⅵ

EtOAc로 재결정하여 백색 결정을 얻었다. Liebermann-Burchard 반응에서 양성, Molisch 반응에 양성이었다. 10% H_2SO_4 시약으로 발색했을 때 선홍색, anisaldehyde 발색에서는 청자색으로 정색되었다.

Mp : 296~298°; IR ν_{max}^{KBr} : 3400(OH), 1000~1100(glycoside).

物質 Ⅵ의 加水分解

물질 Ⅵ 20 mg을 5% HCl—MeOH 4 ml에서 5시간 환류냉각하여 반량으로 농축하고 빙수를 가하여 석출되는 침전을 여취한 후 EtOAc로 재결정하여 무색 침상 결정(Ⅵ-a)을 얻었다.

Mp : 296~298°; MS(*m/z*) : 414(M^+), 400(M^+), 329(M_1^+—C_5H_9O), 315(M_2^+—C_5H_9O), 303(M_1^+—$C_7H_{11}O$), 289(M_2^+—$C_7H_{11}O$), 273(M^+-side chain), 255(M^+—side chain-H_2O); GLC: Column 3% OV—17(80~100 mesh), Column temp., 250°; injector, 300°; Chart speed, 1cm/min; N_2 gas, 59 ml/min; β-Sitosterol t_R, 14 (64.5%); Campesterol, t_R 10(35.5%)

모액은 다시 5% HCl로 1시간동안 가수분해시킨 후 Ag_2CO_3로 중화하고 여과한 후 여액을 농축하여 cellulose plate에서 D-glucose를 확인하였다.

物質 Ⅶ

EtOAc로 재결정하여 백색 침상 결정을 얻었다. Liebermann-Burchard 반응에서 처음에는 적갈색이었으나 곧 청색으로 변화하였다. TLC상에서 10% H_2SO_4 시약으로 발색할 때 처음에는 분홍색이나 곧 갈색으로 변하며 anisaldehyde-H_2SO_4 시약에서는 청자색으로 정색하였다.

Mp : 134~136°; IR ν_{max}^{KBr}: 3400(OH); ^{1}H—NMR ($CDCl_3$) : 0.67~0.99(m, 18H, CH_3×6, H—18, H—19, H—21, H—26, H—27, H—28), 5.30 (m, 1H, Δ^5 H—6); MS(*m/z*) : 414(M_1^+), 412(M_2^+), 400(M_3^+), 396(M_1^+—H_2O), 397(M_2^+—CH_3), 329(M_1^+—$C_7H_{11}O$), 255(M_1^+—side chain—H_2O).

物質 Ⅷ

MeOH과 증류수로 재결정하여 무색 침상 결정을 얻었다. 이 물질은 감미가 있으며 표품 mannitol과 Co-TLC에서 Rf치가 일치되었으며 혼융시험에서도 융점강하가 없었다. Mp : 163~165°; $[\alpha]_D^{20}$: +23° (12.8% borax soln.)

考 察

物質 Ⅰ의 化學構造

이 물질은 Trim-Hill 시약에 청색[35]으로 정색되고 anisaldehyde-H_2SO_4 발색시약으로 황갈색을 나타내는 것으로부터 iridoid의 화학골격을 가지고 있음을 인지할 수 있었고 Molisch test에서 양성을 나타내는 것으로 배당체임을 알 수 있었다.

이 물질의 UV spectrum은 λ_{max} 206, 244, 299, 329에서 흡수대를 나타내고 CH_3ONa에서 장파장으로 shift되므로 phenol성 OH의 존재를 알 수 있었다.

IR spectrum에서는 3320cm^{-1}에서 hydroxyl기, 1720cm^{-1}에서 ester 결합, 1655cm^{-1}에서 enolic double bond의 peak와 1635cm^{-1}에서 aromatic double bond의 peak를 볼 수 있었다.

또한 ^{1}H—NMR spectrum을 보면 δ2.50~2.66에서 2개의 proton 즉 H—5와 H—9이 multiplet으로 나타났으며 δ3.86의 methoxyl기가 한개 존재하는 것으로 추정할 수 있었고 δ6.34에서 H—β가 doublet으로서 J=16Hz로 나타났으며 δ7.62에는 H—α가 J=16Hz로 나타난 것으로 보아 이 두개의 proton이 trans form으로 결합되어 있음을 추정할 수 있었다.[54]

이 물질의 MS spectrum에서는 분자 이온 peak가 *m/z* 538에서 나타났으며, *m/z* 376에서 glucose가 떨어진 peak가, *m/z* 200에서 catalpol genin의 기본핵이, *m/z* 194에서 methoxyl기, hydroxyl기 그리고 α,β-불포화탄소의 이중결합이 존재하는 유기산의 peak가 나타났으며 *m/z* 165에서 intensity 100%의 iridoid 모핵의 fragment를 추정할 수 있었다. 또 이 물질을 상법에 따라 acetyl 화하여 얻은 물질 Ⅰ-a의 ^{1}H—NMR spectrum은 δ2.03~2.11에서 5개의 acetyl group의 signal을 나타냈는데 이는 물질 Ⅰ의 aglycone에 hydroxyl기가 한개 존재함을 추정할 수 있으며 δ2.31에서의 singlet은 aromatic ring에 치환된 acetyl기로서 유기산에 한개의 hydroxyl기가 존재함을 뒷받침해 준다.

또 물질 Ⅰ-a의 MS spectrum을 보면 *m/z* 790에서 분자이온 peak를, *m/z* 554에서 유기산의 acetate가 떨어진 fragment를, *m/z* 331에서 당의 acetate peak를 볼 수 있다.

이 물질을 alkali 가수분해하여 얻은 Ⅱ-b는 iridoid 모핵에 결합된 유기산으로 그 ^{1}H—NMR spectrum에서 δ3.90의 singlet인 methoxyl기가 존재함을 추정할 수 있게 하며 δ6.35와 δ7.62

Table I. ^{13}C—NMR chemical shifts of compound I (in pyridine-d_5)

C-atom	Ref.[36]	Exp.	Dif.
1	95.1	94.9	0.2
3	142.5	141.7	0.8
4	103.5	102.6	0.9
5	36.8	36.5	0.3
6	81.4	80.6	0.8
7	60.3	59.7	0.6
8	66.9	67.0	0.1
9	43.3	43.4	0.1
10	61.4	60.6	0.8
1′	99.8	100.4	0.6
2′	74.9	75.1	0.2
3′	78.7	78.4	0.3
4′	71.9	71.8	0.1
5′	77.8	77.8	0.0
6′	63.0	63.0	0.0
1″	128.9	128.5	0.4
2″	114.9	115.8	0.9
3″	148.1	148.7	0.6
4″	151.7	151.3	0.4
5″	112.6	112.5	0.1
6″	114.9	115.8	0.9
OCH_3	56.5	56.1	0.4
α	147.3	146.2	1.1
β	123.0	123.6	0.6
CO	168.8	167.3	1.5

의 doublet가 J=16 Hz인 것으로 보아 이미 언급한 바 있듯이 α,β-불포화 탄소의 수소가 trans form으로 결합되어 있는 유기산으로 추정할 수 있었다. 또 물질 I-b의 MS spectrum에서 분자이온 peak가 m/z 194에서 나타나고 m/z 177에서 hydroxyl기가 떨어진 fragment의 peak가, m/z 164에서 methoxyl기가 떨어진 fragment를 볼 수 있어 이 물질은 ferulic acid 계열의 유기산임을 추정할 수 있었으며 isoferulic acid로 동정하였다.

더우기 물질 I의 ^{13}C—NMR에서 보여주는 모든 peak도 Table I에서와 같이 문헌치와 일치하였다.[36]

이상의 결과를 종합해 볼 때 이 물질은 catalpol 모핵에 isoferulic acid가 ester 결합을 하고 있는 유럽산 *Veronica officinalis*에서 Sticher 등이 단리한 minecoside의 성상과 일치하였고 spectral data (UV, IR, ^1H—NMR, MS, ^{13}C—NMR)도 일치하였으므로 물질 I은 minecoside로 동정하였다.

物質 II의 化學構造

이 물질은 Trim-Hill 시약에 청색을 나타내며 Molisch test에서 양성을 나타내는 것으로 보아 iridoid 계열의 배당체임을 추정할 수 있다. 이 물질의 UV spectrum을 보면 λ_{max}^{MeOH} 226, 263, 292 nm에서 흡수 peak가 나타났으며[37] IR spectrum에서는 물질 I에서 볼 수 있었던 1635 cm^{-1}의 enolic double bond의 peak가 나타나지 않았으며 ^1H—NMR spectrum에서는 δ 3.86에서의 peak가 doublet으로 나타난 것으로 보아 methoxyl기 2개가 존재함을 알 수 있으며 δ 6.34와 δ 7.61에서 물질 I에서의 J=16 Hz의 doublet이 나타나지 않은 것으로 보아 α,β-불포화 탄소의 수소가 이 화합물에는 존재하지 않음을 추정할 수 있었다.[38] 그러나 다른 위치의 peak는 물질 I과 동일한 것으로 나타났다. 또한 MS spectrum에서는 m/z 526에서 분자 이온 peak는 나타나지 않았지만, m/z 364에서 glucose가 떨어진 peak를 볼 수 있었고, m/z 200에서 catalpol genin의 peak를, m/z 182에서 유기산의 peak를 볼 수 있으며, m/z 165에서 intensity 100%의 iridoid 모핵의 peak를 볼 수 있었다. 이 물질의 ^{13}C—NMR spectrum을 볼 때 물질 I에서 나타났던 α,β 탄소의 peak를 볼 수 없었으며 δ 56.1에서의 methoxyl기의 peak는 intensity가 물질 I의 두배 정도 되며 C_1'', C—2″, C—3″의 peak가 저자장 shift된 것을 알 수 있었다. 이 물질을 상법에 따라 acetyl化한 물질 II-a의 ^1H—NMR spectrum에서는 물질 I에서 볼 수 있었던 δ 2.31에서의 aromatic acetyl기의 peak가 나타나지 않은 점으로 보아 유기산에는 hydroxyl기 대신 methoxyl로 methylation되어 있음을 추정할 수 있었다. MS spectrum에서도 m/z 554에서의 catalpol pentaacetate의 peak는 물질 I의 acetate 화합물에서의 peak와 동일하나 m/z 194 대신 m/z 182의 peak가 나타난 것으로 보아 분자량 194의 isoferulic acid 대신 분자량 182의 유기산이 결합되어 있음을 추정할 수 있다. 이 유기산의 구조를 알

기 위해 물질 Ⅱ을 alkali 가수분해하여 백색 침상 결정(Ⅱ-b)를 얻어 이 물질의 ^{1}H—NMR spectrum을 보면 δ 3.82에서 methoxyl기가 doublet으로 나타났음을 알 수 있고 다시 이 물질 Ⅱ-b를 methyl 化하여 methyl ester(Ⅱ-c)를 얻은 후 물질 Ⅱ-b의 MS spectrum과 Ⅱ-c의 Mass Spectrum을 비교해 볼 때 각각의 분자 이온 peak가 m/z 182, m/z 196이므로 Ⅱ-b의 carboxyl기의 H대신 methyl기가 치환된 것을 인지할 수 있었다.

이상의 모든 spectral data를 종합해 볼 때 물질 Ⅱ-b는 methoxyl기가 aromatic ring에 두개가 결합되어 있는 유기산으로 모든 물리적 성상이 1951년 Hirshberg[39]가 단리한 것으로 보고되어 있는 veratric acid와 일치했으므로 물질 Ⅱ는 catalpol에 varatric acid가 ester 결합하고 있는 6-O-veratryl catalpol ester로 동정 확인하였다.

物質 Ⅲ의 同定

이 물질은 Molish test에서 양성반응을 나타내었으므로 당이 존재함을 알 수 있었고 Liebermann-Burchard 반응에서는 양성이지만 Trim-Hill 시약에서는 정색하지 않으며[35] TLC에서 catalpol과 Rf치가 일치함을 확인하고 융점이 198~200°이므로 catalpol 표품과 혼융시험을 했을 때 융점강하가 없어 catalpol로 동정하였다.

物質 Ⅳ의 同定

이 물질은 Molish 반응에서 양성이고 Trim-Hill 시약에서 청색을 나타내었으므로 iridoid 배당체로 추정하였으며 TLC에서 aucubin과 Rf치가 일치함을 확인하고 융점이 178~180°로서 표품 aucubin과 혼융시험에서 융점강하가 없었다. 이 물질의 ^{1}H—NMR을 보면 δ 3.10에서 multiplet으로 나타난 것이 10위치의 2개의 proton이며 δ 5.12에서의 double doublet은 4위치의 proton임을 알 수 있다. 또 δ 5.23에서 J=5.0의 1위치의 proton의 peak를 볼 수 있으며 δ 5.87에서 7위치의 doublet을 볼 수 있고 δ 6.32에서 3위치의 doublet을 볼 수 있었다. 이것으로 미루어 이 물질은 iridoid 배당체로 처음 단리되었던 aucubin으로 동정하였다.

物質 Ⅴ의 化學構造

이 물질은 미황색 hygroscopic substance로서 Trim-Hill 시약으로 정색되었으며 Molisch test에서도 양성반응을 나타내는 것으로 보아 iridoid 배당체임을 추정할 수 있었다.

이 물질의 UV spectrum을 보면 λ_{max}^{MeOH} 216 nm에서 최대 흡수를 나타내고 234 nm에서는 shoulder되고 289 nm, 320 nm 에서 흡수대를 나타냈다. IR spectrum에서는 3350 cm^{-1}에서 hydroxyl기를, 1710 cm^{-1}에서 ester 결합의 C=O기, 1650cm^{-1}에서 enolic carbon의 double bond를, 1630에서 aromatic carbon의 double bond를 볼 수 있었으며 1600 cm^{-1}에서 aromatic carbon의 double bond를, 1000~1100 cm^{-1}에서 glycoside의 존재를 알 수 있었다.

이 물질의 ^{1}H—NMR에서 δ 1.38에서 8위치의 methyl기가 singlet으로 나타났고 δ 1.99~2.62에서 6위치와 7위치의 proton 4개가 multiplet으로 나타났으며[38] δ 2.87에서 9위치의 proton이 broad singlet으로 나타났다.[40] 또 δ 3.82에서 phenol성 methoxyl기의 peak가 singlet으로 나타났으며 δ 5.44에서 1위치의 proton의 signal이, δ 5.82에서 4위치의 proton이 J=13Hz의 doublet으로 나타났으며 δ 6.20에서 3위치의 proton, δ 6.38과 δ 7.60에 J=16 Hz의 α—H과 β—H이 AB system으로 나타났으며 δ 7.82에서 나타났던 singlet가 D_2O 처리로 없어진 것으로 보아 phenol성 OH가 존재함을 인지할 수 있었다.

또한 이 물질의 ^{13}C—NMR에서는 δ 60~100에서 glucose의 6개의 carbon peak를 볼 수 있었고 δ 56.1에서 methoxyl기의 존재를, δ 25.6에서 8위치 carbon에 결합되어 있는 methyl기의 peak를 인지할 수 있고 δ 146.1에서 α—C, δ 123.6에서 β—C의 존재를 알 수 있으며 물질 Ⅰ의 유기산(isoferulic acid)의 peak와 거의 동일한 위치에서 C_1''~C_6''의 peak를 인지할 수 있었다.

MS spectrum에서도 유기산의 peak와 iridoid 모핵의 peak를 추정할 수 있었다.

이러한 모든 결과를 종합해 볼 때, 이 물질은 harpagide의 구조를 중심으로 6위치의 hydroxyl기는 존재하지 않으며 8위치의 hydroxyl기의 H대신 isoferulic acid가 결합된 구조로 추정된다.

物質 Ⅵ의 同定

이 물질은 Liebermann-Buchard test에서 처음

에는 적갈색이었으나 점차 엷은 녹색으로 변화하였으며 IR spectrum에서는 3400cm^{-1}에서 hydroxyl기, 1000~1100cm^{-1}에서 glycoside의 흡수 peak를 추정할 수 있었고 산 가수분해에 의해 mp 128~132°의 genin과 D-glucose를 얻었다. 이 genin(Ⅵ-a)의 MS spectrum을 보면 m/z 414에서 분자이온 peak가 나타나고, 또 Δ^5-sterol의 특징적 peak가 m/z 329, 303, 275에 나타나는 것으로 보아[41] β-sitosterol임을 알 수 있다. 이 물질은 β-sitosterol-3-O-D-glucoside로 동정하였다.

또한 GC에서 두 peak를 볼 수 있었는데 campesterol이 공존함을 알 수 있었다.

物質 Ⅶ의 同定[42]

이 물질은 Liebermann-Buchard test에서 양성반응을 나타냈으며 물질 Ⅵ에 비해 극성이 매우 낮아 EtOAc에서 재결정하였다. 이 물질의 ^{1}H—NMR spectrum을 보면 δ 0.67에서 18위치의 methyl기의 proton이 singlet으로 나타났으며 δ 0.77과 δ 0.85에서 두개의 doublet로 26, 27, 29 위치의 methyl기가 doublet로 δ 0.99에서 19위치의 methyl기가 singlet으로 나타났으며[42] δ 5.32에서 5위치의 이중결합의 multiplet의 peak를 볼 수 있었다. 이 물질의 MS spectrum을 보면 m/z 414에서 분자이온 peak가 intensity 100%로 나타났으며 m/z 329, 303, 275에서 Δ^5-sterol의 특징적 peak가 나타난 것으로 보아 β-sitosterol임을 알 수 있고 m/z 412, m/z 400의 peak에서 볼 때 소량의 stigmasterol과 campesterol이 혼재되어 있음을 알 수 있다. 또한 HPLC에서도 다른 sterol의 peak가 나타남을 알 수 있었다.

結 論

冷草(*Veronicastrum sibiricum* (L) Pennell)의 地下部位에서 iridoid 配糖體 5種을 單離하여 諸理化學的 및 分光學的 方法으로 究明한 바 物質 Ⅰ은 6-O-isoferuloyl catalpol ester(minecoside), 物質 Ⅱ는 6-O-veratryl catalpol ester, 物質 Ⅲ은 catalpol, 物質 Ⅳ는 aucubin으로 同定하였으며 物質 Ⅴ는 6-desoxy-8-isoferuloyl harpagide의 化學構造를 갖는 新物質로 推定할 수 있었다.

이외에 sterol glycoside로서 β-sitosteryl-3-O-D-glucoside와 campesteryl-3-O-D-glucoside를 分離 同定하였으며 sterol로서 β-sitosterol, campesterol 및 stigmasterol을 分離 同定하였고 糖으로는 mannitol을 單離하였다.

〈1987년 7월 4일 접수 : 7월 25일 수리〉

文 獻

1. 森爲三 : 朝鮮植物名彙 朝鮮總督府, 318 (1921).
2. 鄭台鉉 : 朝鮮野生藥用植物(林業試驗場 報告22號), 209 (1936).
3. 朝鮮生物學會 : 朝鮮植物名集 草本篇, 118 (1949).
4. 鄭台鉉 : 韓國植物圖鑑(下), 新志社 601 (1956).
5. 尹口炳 · 李圭哲 : 韓國產 野生藥用植物(第一篇), 林業試驗場, 111 (1959).
6. 林基興 : 藥用植物學 各論, 東明社, 264 (1961).
7. 金永在 外 : 藥品資源植物學, 集賢社, 315 (1964).
8. T. Nakai: A Synoptica Sketch of Korean Flora, 日本國立博物館, 104 (1952).
9. 李春寧 · 安鶴洙 : 韓國植物名鑑, 范學社, 198 (1963).
10. 李昌福 : 大韓植物圖鑑, 鄕文社, 674 (1980).
11. 金在佶 : 原色天然藥物大事典 1, 南山堂, 137 (1984).
12. 石戶谷勉 : 北支那의 藥草, 同仁會, 38 (1931).
13. T. Ishidoya: Chinesiche Drogen Vol. Ⅱ, 104 (1934).
14. 難波恒雄 : 原色和漢藥圖鑑, 保育社, 112 (1980).
15. 石戶谷勉 : 朝鮮藥學雜誌, **15**(3), 186 (1935).
16. 佐藤潤平 : 漢藥의 原植物, 日本學術振興會, 186 (1959).
17. 金一赫 外 : 藥品植物學 各論, 韓國學習敎材社, 378 (1983).
18. 江蘇醫學院 : 中葯大辭典(上), 2723 (1978).
19. 奧田拓男 : 藥用植物大事典, 廣川書店, 114 (1963).
20. Shimada, H., Nomura, S., Hisada, Y. and Nishimura, J.: *Yakugakuzasshi* **91**(1), 137 (1971).
21. Inouye, H., Aoki, Y., Wagner, H., Hoerhammer, L. and Budweg, W.: *Chemical Abstracts* **71**, 102182 u (1969).
22. Youngken: A Textbook of Pharmacognosy 798 (1950).
23. Sticher, O. and Afifi-Yazar, F.Ü.: *Planta Medica* **32A**, 45 (1977).
24. Sticher, O. and Junod-Busch U.: *Pharm. Acta.*

Helv., **50**(5), 127 (1975).
25. Scarpati, M.L. and Guiso, M.: *Gazz. Chim. Ital.* **97**, 1209 (1967).
26. Bailleul, F., Delaveau, P., Rabaron, A., Plat, M., and Koch, M.: *Phytochemistry* **16**, 723 (1977).
27. Duff, R.B., Bacon, J.S.D., Mundie, C.M., Tarmer, V.C., Russell, J.D. and Forrester, A.R.: *Biochem. J.* **96**, 1 (1965).
28. Bobbitt, J.M., Spiggle, D.W., Mahboob, J., H. Schmid and W. von Philipsborn: *J. Org. Chem.* **31**, 500 (1966).
29. Sticher, O. and Afifi-Yazar, F.Ü.: *Helv. Chim. Acta* **62**(2), 535 (1979).
30. Sticher, O. and Afifi-Yazar, F.Ü.: *Helv. Chim. Acta* **62**(2), 530 (1979).
31. Sticher, O., Nishimura, H. and Inouye, H.: *Planta Med.* **36**, 268 (1979).
32. Takeda, Y., Nishimura, H. and Inouye, H.: *Phytochemistry* **16**, 1401 (1977).
33. Afifi-Yazar, F.U. and Sticher, O.: *Helv. Chim. Acta* **64**, 16 (1981).
34. Chi, H.J. and Lee, S.Y.: *Kor. J. Pharmacogn.* **13**(4), (1982).
35. Harborne, J.B.: Phytochemical Methods 100 (1976).
36. Ratan, K.C., Afifi-Yazar, F.Ü. and Sticher, O.: *Tetrahedron* **36**, 2317 (1980).
37. Bianco, A., Bonini, C., Guiso M. *et al.*: *Gazz. Chim. Ital.* **107**, 67 (1977).
38. Joshl, K.C., Prakash, L. and Singh, L.B.: *Phytochemistry* **14**, 1441 (1975).
39. Hirshberg H, and Lavie D. *et al.*: *J. Chem. Soc.* 1030 (1951).
40. Scarpati, M.L. and Guiso, M.: *Tetrahedron* **23**, 4709 (1967).
41. Choi, J.S.: Ph.D. Thesis, Chemical Studies on the Roots of *Patrinia scabiosaefolia* 65 (1984).
42. Glenn, W., Patterson, E. and Gooden, L.: *Phytochemistry* **11**, 1781 (1972).