

음양곽의 성분에 관한 연구(II)¹.

삼지구엽초 지하부의 성분

姜三植* · 金周善 · 姜侖廷 · 韓惠璟

서울대학교 생약연구소

Phytochemical Studies on Epimedii Herba (II)¹.

Studies on the Underground Parts of *Epimedium koreanum*

Sam Sik Kang,* Ju Sun Kim, Yoon-Jung Kang and Hye Kyoung Han

Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea

Abstract—n-Alkanes (n-nonacosane and n-hentriacontane), phytosterols (campesterol and β -sitosterol) and phytosteryl glucosides (β -sitosterol 3-O- β -D-glucopyranoside and campesterol 3-O- β -D-glucopyranoside) were isolated from the underground parts of *Epimedium koreanum* (Berberidaceae) and characterized by spectral data.

Keywords—*Epimedium koreanum* · Berberidaceae · n-alkane · n-nonacosane · n-hentriacontane · sterol · β -sitosterol · campesterol · steryl glucoside · β -sitosterol 3-O- β -D-glucopyranoside · campesterol 3-O- β -D-glucopyranoside

우리나라에서는 삼지구엽초(三枝九葉草) *Epimedium koreanum* N. (Berberidaceae)의 지상부를 淫羊藿으로 사용하고 있으나²⁾ 중국에서는 *E. grandiflorum*, *E. brevicornum* 및 *E. sagittatum*의 莖과 葉을 淫羊藿으로 사용하고 있으며, 이들의 根莖은 淫羊藿根으로 虛淋, 白濁, 白帶, 月經不調, 소아야맹증 등에 사용하고 있다.³⁾ 이들 음양곽근의 성분으로는 지금까지 flavonol glycoside^{4~11)} 및 lignan¹²⁾ 등이 보고되어 있으며 *E. koreanum*의 지하부의 성분으로써는 flavonol glycoside인 icariin^{10,11)} 및 epimedeside A¹⁰⁾가 알려졌을 뿐이다. 따라서 저자들은 삼지구엽초 지하부의 성분연구에 착수해서 CHCl_3 분획으로부터 hydrocarbon, sterol 및 sterol glycoside 등을 단리하여 그 화학구조를 규명하였기에 보고한다.

실험 방법

기기—용접은 Mitamura-Riken의 미량용접 측정기를 사용하였으며 보정하지 않았다. IR spectrum은 Perkin-Elmer 283B spectrophotometer를 사용하여 KBr disc법으로 측정하였으며 ¹H-NMR spectrum은 Varian FT-80A (80 MHz) spectrometer를 사용하여 측정하였으며 내부표준 물질로 TMS를 사용하였다. Mass spectrum은 Hewlett Packard의 HP-5985B GC/MS System을 사용하였다. GC/MS 측정시 GC측정조건은 다음과 같다.

Column : OV-1 capillary column (25 m); column temp. : 240°에서 2분간 방치한 후 이후로는 280°까지 5°/min로 승온하였다; carrier gas : He gas(12 ml/min).

실험재료—본 연구에 사용한 삼지구엽초의 지

하부는 1988년 여름에 강원도 춘천일대의 산에서 채집해서 음건하여 사용하였다. 채집 및 감정은 강원대학교 약학대학 金昌玖교수에 의뢰하였다.

추출 및 분리—건조 세절한 삼지구엽초 지하부 2.0 kg을 MeOH로 3시간씩 4회 수욕상에서 추출하여 MeOH extract를 얻고 여기에 CHCl_3 및 H_2O 를 가해서 진탕하여 CHCl_3 분획 9.9 g을 얻었다. 계속해서 수층을 EtOAc 및 BuOH로 분획해서 각각 EtOAc 분획(20.5 g) 및 BuOH 분획(30.6 g)을 얻었다. CHCl_3 분획을 SiO_2 칼럼에 걸고 CHCl_3 -MeOH 용매로 gradient elution (0%→7%)하여 22개의 subfraction을 얻었다. 이중 subfraction No. 8 (1.4 g) 및 No. 22 (0.5 g)를 다시 SiO_2 칼럼에 걸어 각각 Hexane-EtOAc (=8:2) 및 Hexane-EtOAc (=5:8→1:2)로 용출시켜 화합물 1 및 2를 얻었으며 이들 물질은 모두 Liebermann-Burchard 반응에 양성을 나타내었다.

화합물 1—MeOH로 재결정하여 백색 무정형 분말을 얻었다.

Mp 141~2°. $^1\text{H-NMR}$ spectra는 표준품인 β -sitosterol과 일치하였다.¹³⁾

화합물 2—MeOH로 재결정하여 백색 무정형 분말을 얻었다.

Mp 283~4°; $[\alpha]_D^{20} = -41.5^\circ$ (C=0.2, pyridine); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} 3400, 1640, 1465, 1376, 1366, 1160, 1100, 1074, 1020, 832, 792

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD})\delta$: 0.58(3H, s, 18- CH_3), 0.90(3H, s, 19- CH_3), 4.31(1H, d, $J=7.0$ Hz, Glc H-1), 5.26(1H, br d, $J=4$ Hz, H-6).

화합물 2의 산가수분해—화합물 2 (20 mg)을 60% dioxane(95 ml) 및 c- H_2SO_4 (5 ml) 혼합에 가한후 수욕 상에서 5시간 가열한 후 빙수를 가해 석출하는 침전을 여과하였다. 침전을 SiO_2 칼럼에 걸어 CHCl_3 으로 용출시켜 백색 무정형의 genin을 얻었다.

Mp 140°; $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)\delta$: 0.67(3H, s, 18- CH_3), 1.00(3H, s, 19- CH_3), 3.45(1H, m, H-3), 5.34(1H, br d, $J=4$ Hz, H-6).

수층은 BaCO_3 를 가해 중화후 여과하고 농축해서 precoated cellulose plate를 사용해서 TLC를 실시하여 glucose를 확인하였다.¹⁴⁾

GC/MS, m/z (rel. int.) peak a: 400(M^+ , 18.0), 385(6.3), 382(8.4), 367(6.7), 315(5.1), 289(5.1), 273(4.2), 255(11.6), 231(6.5), 213(16.6), 43(100); peak b: 414(M^+ , 30.5), 399(8.5), 396(15.2), 381(9.5), 329(7.4), 303(5.6), 273(9.2), 255(16.4), 231(12.8), 213(28.2), 199(11.5), 173(14.5), 163(18.4), 159(24.7), 147(21.1), 145(34.4), 133(24.9), 43(100).

화합물 2의 acetylation—화합물 2 (20 mg)에 pyridine 및 무수초산 각 1 ml을 가해 실온에서 일야방치한 후 빙수에 가해 석출하는 침전을 여과해서 얻은 침전을 건조한 후 MeOH로 재결정해서 백색침상결정인 tetraacetate를 얻었다.

Mp 170°; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} 1754, 1640, 1465, 1457, 1435, 1375, 1365, 1220, 1038, 902, 834, 792; $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)\delta$: 0.67(3H, s, 18- CH_3), 0.98(3H, s, 19- CH_3), 2.00(6H, s, 2×OAc), 2.03(3H, s, OAc), 2.06(3H, s, OAc), 3.50(2H, m, H-3, Glc H-5), 4.07(1H, dd, $J=12.3$, 2.8 Hz, Glc H-6), 4.28(1H, dd, $J=12.3$, 4.7 Hz, Glc H-6'), 4.58(1H, d, $J=7.3$ Hz, Glc H-1), 4.82~5.22(3H, m, Glc H-2, 3, 4), 5.35(1H, brd, $J=3.4$ Hz, H-6); MS(30eV), m/z (rel. int.) 624($\text{M}^+ - 2\text{HOAc}$, 0.1), 564($\text{M}^+ - 3\text{HOAc}$, 0.1), 396(97.3), 383(19.0), 381(5.6), 355(1.0), 331[Glc(OAc) $_4^+$, 9.2], 288(8.5), 275(9.4), 271(331-HOAc, 7.5), 211(331-2HOAc, 5.7), 255(13.3), 169[331-(2HOAc+ CH_2CO), 100], 109(169-HOAc, 33.5)

실험결과 및 고찰

화합물 1은 전형적인 phytosterol의 성상을 나타내므로 sterol임을 쉽게 알 수 있었으며 $^1\text{H-NMR}$ spectrum도 β -sitosterol의 $^1\text{H-NMR}$ spectrum과 일치하였다.¹³⁾ 이 화합물의 GC/MS spectrum을 측정된 결과 Fig. 1에서 보는 바와 같이 total ionization chromatogram에서 4개의

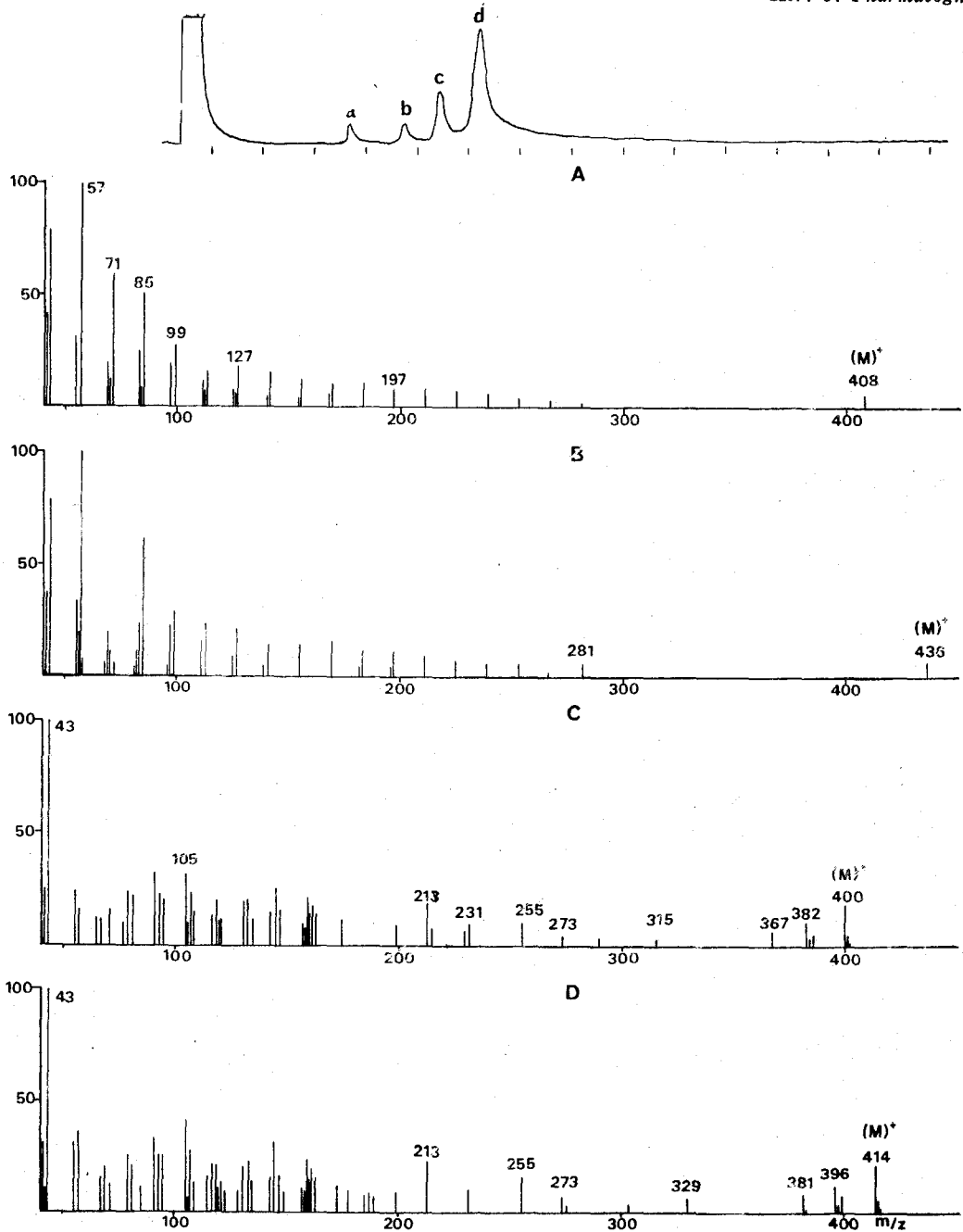


Fig. 1. GC/MS spectra of compound 1

A: MS spectrum of peak a
C: MS spectrum of peak c

B: MS spectrum of peak b
D: MS spectrum of peak d

peak가 나타나므로 각 peak의 mass spectrum을 측정하고 a~d까지의 spectrum을 얻을 수 있었다. Spectrum a 및 b는 spectrum pattern이 거의 일치함을 알 수 있으며 단지 high mass

region에서 M^+ 로 추정되는 fragment ion만이 각각 m/z 408 및 m/z 436에서 나타나고 있을 뿐이다. 따라서 이 두물질은 같은 계열의 화합물임을 알 수 있으며 전형적인 $[C_nH_{2n+1}]^+$ 에 해당

하는 fragment ion들과 $[C_nH_{2n-1}]^+$ 에 해당하는 ion들이 나타나는 것으로 보아 straight-chain alkane계 화합물임을 알 수 있다.¹⁵⁾ 따라서 peak a에 해당하는 물질은 $n-C_{29}H_{60}$ 인 n-nonacosane이며 peak b에 해당하는 물질은 $n-C_{31}H_{64}$ 인 n-hentriacontane으로 확인하였다. peak c 및 d는 각각 campesterol 및 β -sitosterol의 mass spectrum과 일치함을 알았다.¹³⁾

화합물 2도 steryl glycoside로 쉽게 추정할 수 있었다. 산 가수분해에 의해 glucose를 확인할 수 있었으며 genin 부분은 화합물 1과 같은 조건으로 GC/MS한 결과 β -sitosterol에 소량의 campesterol이 혼합되어 있음을 알았다. 이 물질을 acetylation시켜 tetraacetate를 얻었으며 이의 1H -NMR spectrum을 보면 δ 2.00(6H), 2.03(3H), 2.06(3H) ppm에서 4개의 acetoxyl singlet signal들이 나타나고 δ 4.58에서 $J=7.3$ Hz의 glucose의 anomeric proton이 doublet로 나타나는 것으로 보아 1 mole의 glucose가 β 결합으로 glycoside 결합을 하고 있음을 알 수 있었다. 이와 같은 사실은 이물질의 MS spectrum에서 tetraacetyl glucose의 carbonium ion이 m/z 331에서 나타나는 것으로도 추정할 수 있었다.¹⁶⁾ 1H -NMR spectrum상의 δ 3.5~5.2 ppm 사이에서 나타나는 glucose의 methylene 및 methine proton들의 coupling pattern이 peracetylated glucose의 1H -NMR spectrum¹⁷⁾과 완전히 일치하는 것으로 화합물 2는 β -sitosterol 3-O- β -D-glucopyranoside임을 알 수 있었다. 따라서 화합물 2는 β -sitosterol 3-O-glucoside에 소량의 campesterol 3-O-glucoside가 혼합되어 있는 물질임을 알았다.

감사의 말씀—실험 재료의 채집 및 감정을 해주신 강원대학교 약학대학 金昌致 교수에게 감사의 뜻을 표한다.

(1990년 2월 11일 접수 : 3월 2일 수리)

문 헌

1. Previous paper; Kang, S.S., Shin, K.H., Chung,

- S.G. and Cho, E.H.: *Kor. J. Pharmacogn.* 19, 93 (1988).
2. 지형준, 이상인, 대한 약전의 한약(생약) 규격집 주해서, 한국메디칼 인덱스사, 서울 p.304 (1988).
 3. 江蘇新醫學院, 中藥大辭典, Vol. 1, 上海科學技術出版社, pp.46-49 (1975).
 4. Takemoto, T., Daigo, K. and Tokuoka, Y.: *Yakugaku Zasshi* 95, 312 (1975).
 5. Tokuoka, Y., Daigo, K.: and Takemoto, T.: *Yakugaku Zasshi* 95, 321 (1975).
 6. Tokuoka, Y., Daigo, K., and Takemoto, T.: *Yakugaku Zasshi* 95, 698 (1975).
 7. Fukai, T. and Nomura, T.: *Phytochem.* 27, 259 (1988).
 8. Mizuno, M., Iinuma, M., Tanaka, T., Sakakibara, N., Fujikawa, T., Hanioka, S., Ishida, Y., Liu, X.-S. and Murata, H.: *Phytochem.* 27, 3645 (1988).
 9. Mizuno, M., Iinuma, M., Tanaka, T., Sakakibara, N., Nishi, M., Inada, A. and Nakanishi, T.: *Phytochem.* 28, 2527 (1989).
 10. Xu, S., Wang, Z., Wu, L., Wang, N. and Chen, Y.: *Zhongcaoyao* 13, 9 (1982) [CA 97, 188143d].
 11. Liu, B.-Q., Ma, H.-S., and Mou, P.: *Chung Ts'ao Yao* 11, 201 (1980) [CA 94, 90117m].
 12. Tokuoka, Y., Daigo, K., Takemoto, T.: *Yakugaku Zasshi* 95, 557 (1975).
 13. Kim, C.M. and Kang, S.S.: *Yakhak Hoeji* 30, 139 (1986).
 14. Kim, S.W., Chung, K.C., Son, K.H., Kang, S.S.: *Kor. J. Pharmacogn.* 20, 76 (1989).
 15. McLafferty, F.W., Interpretation of Mass Spectra, 2nd Ed. Benjamin Inc., Reading, Massachusetts, pp.98-113 (1973).
 16. Biemann, K., DeJongh, D.C., and Schnoes, H.K.: *J. Am. Chem. Soc.* 85, 1763 (1963).
 17. Lemieux, R.U. and Stevens, J.D.: *Can. J. Chem.* 43, 2059 (1965).