

두릅나무 순의 Saponin에 관한 연구(II) - Saponin의 동정 -

金玲希* · 李美京** · 李萬正*

*효성여자대학교 식품과학영양학과

**한국인삼연구초연구소

(1990년 5월 12일 접수)

Studies on the Saponins in the Shoot of *Aralia Elata* (II) -Identification of the Saponins-

Young Hee Kim*, Mee Kyoung Lee** and Mahn Jung Lee*

*Department of Food Science and Nutrition Hyosung Women's University

**Korea Ginseng & Tobacco Research Institute

(Received May 12, 1990)

Abstract

We determined the structure of main saponin which extracted from the shoot of *Aralia Elata*. The results were as follows.

1. The main aglycons and sugar of the total saponins of Nr2 sample were identified as oleanolic acid and hederagenin, and glucose, arabinose and rhamnose. A probable new aglycon was isolated and inferred as 1, 3-methylenedioxy-3-dehydroxyoleanolic acid.
2. One compound of Fh saponin (named as Elatoside Fh₂) which was obtained first in this species was elucidated as 3-O- (α -L-arabinopyranosyl (1→2)- β -D-glucopyranosyl)-28-O- β -D-glucopyranosyl oleanolic acid on the basis of chemical and spectral evidence of IR, ¹H, ¹³C-NMR and MS.

I. 서 론

전보¹⁾에서 두릅나무 순의 saponin 함량과 그 패턴에 대하여 보고한 바 있다.

두릅나무 껍질에서 얻은 saponin에는 불용성의 α -taralin과 수용성의 β -taralin이 있고, 그 aglycon을 oleanolic acid이며²⁾, 당으로는 glucose, galactose, arabinose, glucuronic acid 및 methylpentose 등이 밝혀져 있다.^{2,4)}

또 뿌리에서는 Murakami 등⁵⁾이 stigmasterol 및 β -sitosterol 을 검출하였다 하고 Yosioka 등⁶⁾은 polyacetylene 화합물을, Tanaka 등⁷⁾은 diterpenic acid가 검출되지 않는다고 하였다.

뿌리의 배당체로는 oleanolic acid를 aglycon으로 하는 araloside A, B, C 등이 보고 되어 있고,^{8,12)} 이 중 araloside A와 B는 glucose, arabinose, glucuronic acid 등과

결합되어 있고 araloside C는 xylose, galactose 및 glucuronic acid 등과 결합되어 있다 한다.¹³⁾ 이 araloside A, B, C의 총량은 9.28%라고 보고되어 있다.⁴⁾ 그 후 Lutomski^{14,15)}와 Kujawa 등¹⁶⁾은 oleanolic acid를 aglycon으로 하는 9개의 배당체(araloside A-I)를 검출하였으며 연이어 oleanoside A B C D E F G H 등 8개의 saponin의 구성당을 밝혔다.¹⁷⁾ 그러나 diol나 triol type of ginsenoside는 함유하지 않는다고 하였다.¹⁸⁾

종자에는 palmitic acid, linoleic acid 및 petroselinic acid 등 지방산이 있다하고¹⁹⁾ 잎에도 saponin의 존재가 확인되었고 이것을 araligenin이라고, glucose, arabinose, galactose, glucuronic acid 및 methylpentose를 가진다고 하였다.²⁰⁾ Shibata 등은 잎 saponin의 aglycon으로 oleanolic acid와 hederagenin이 있다고 보고 하였다. 또 7개의 배당체가 있음을 밝히고 배당체의 산 가수분해에 의해 oleanolic acid, glucose, arabinose,

및 galactose를 분리했다고 하며 Saito²¹⁾ 등은 oleanolic acid와 hederagenin에 glucose, arabinose 및 rhamnose 등이 결합한 10개의 배당체가 있다고 보고하였다.

이 밖에도 두릅나무의 약리작용에 관한 보고²²⁾나 그 성분과 관련한 연구 등^{3,23,34)}이 있으나 식품으로 이용되는 순에 대한 연구는 미약한 편이다. 그러므로 순에서 얻은 각 saponin을 분리 동정하여 보았기에 정리 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. Crude saponin의 검색

1) Thin layer chromatography(TLC)에 의한 검색
추출된 crude saponin을 methanol에 녹여 5%용액으로 만들고 precoated silicagel plate(kieselgel 60, 0.1 mm, 0.2 mm, 2 mm, Merck)로 검출하였다.

전개용매는 chloroform/methanol/water(61 : 32 : 7 v/v)¹⁴⁾ 및 수포화 butanol 용액을 사용하고 Liebermann burchard 시약(LB)과³⁵⁾ 10% sulfuric acid¹⁴⁾로 발색시켜 saponin을 검색 비교하였다.

2) HPLC에 의한 검색

5% crude saponin methanol 용액을 0.45 μ m milipore filter로 여과하여 HPLC에 10 μ l씩 주입하였다. 분석조건은 column : Lichrosorb' NH₂(5 μ m, 25 \times 0.4 cm I.D.) mobile phase : acetonitrile/water(80 : 20, v/v), acetonitrile/water/n-butanol(81.5 : 18.5 : 2, v/v), flow rate : 1 ml/min. chart speed : 0.5 cm/min, detector : RI, 8X이다.

2. Crude saponin의 동정

1) 당과 aglycon의 분리

Crude saponin을 Lutomski 등¹⁵⁾의 방법에 따라 산 가수분해시켜 aglycon과 당을 얻었다(Fig. 1).

Crude saponin 50 mg에 2 N HCl(dioxane/water 1 : 1) 20 ml를 가하여 4시간 가열환류시킨 후 원량의 2/3가 되도록 감압농축하여 증류수 20 ml로 희석하였다. 여기에 chloroform 20 ml를 가하여(3회) aglycon을 모았다. 이 chloroform층을 증류수로 씻은 후 무수탄산나트륨으로 탈수, 다시 감압 농축하여 aglycon 검액으로 하였고 수층은 ionexchange resin IRA-45와 Ag₂CO₃로 중화시킨 다음 감압 농축하여 당검액으로 삼았다.

2) 당의 검색 및 동정

자연산 낱 것 식용적기(Nr2)의 crude saponin에서 분리한 당은 TLC 및 GC로 확인하였다. TLC 분석은 cellulose plate(TLC plate, cellulose 0.1 mm, Merck제)를 사용하여 chloroform/methanol/water(65 : 45 : 10, v/v)³⁶⁾의 용매로 전개시켜 40% sulfuric acid로³⁷⁾로 발

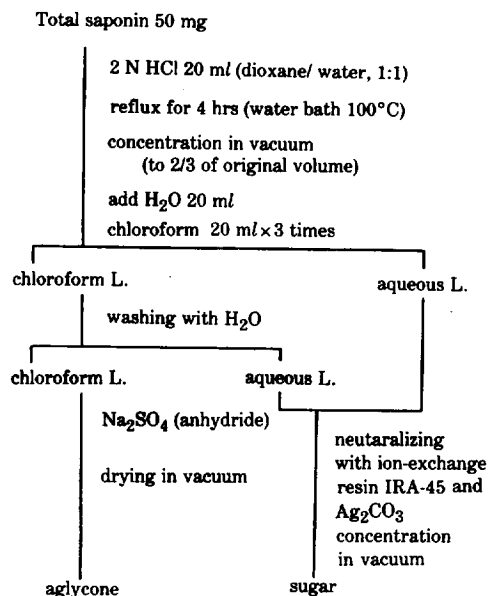


Fig. 1. Flow chart for separation of aglycon and sugar part from crude saponin.

색시켰다. 당검액을 농축한 후 TMS-imidazole 200 μ l를 가하고 완전히 밀봉한 다음 80°C에서 1시간 방치, TMS화한 후 물 1 ml를 가하고 pentane으로 추출하여 GC 분석하였다. GC의 분석조건은 column : SE-30 (0.25 mm I.D. \times 20 m) fused silica capillary, injector temp. : 250°C, detector temp. : 270°C, column pressure (N₂) : 0.6 kg/cm²였고, column temperature programming은 초기온도 130°C에서 3°C/min.로 175°C까지 승온시켰다.

3) Aglycon의 검색

감압 농축한 aglycon을 methanol에 다시 녹여서 표준품(oleanolic acid, hederagenin)과 같이 TLC로 분리시켰다. 용매 benzene/ethyl acetate(7 : 3, v/v)³⁸⁾ 용매로 전개 시켜서 10% H₂SO₄나, 3% CeSO₄용액³⁹⁾ (3 N-H₂SO₄에 용해시킴)을 분무, 110°C에서 10분간 건조시켜 발색 검색하였다.

4) Aglycon의 동정

TLC로 표준품과 비교 검색한 aglycon을 IR, NMR, 및 MS⁴⁰⁾ 등을 이용하여 동정하였다. IR spectrum은 KBr pellet을 만들어 측정하였고, MS spectrum은 electron impact(EI) method로 70 eV에서 분석하였다. ¹H-NMR spectrum은 tetramethylsilane(TMS)를 내부표준 물질로 첨가하여 화합물 Ag. 1과 표준품인 hederagenin은 pyridine-d₅를, Ag. 3와 Ag. 4, 그리고 표준품인 oleanolic acid는 chloroform-d를 용매로 분석하였고 chemical shift는 δ (ppm)로 표시하였다.

3. Fh saponin의 분리 및 동정

자연산 날 것 식용적기(Nr2)의 crude saponin을 silica gel column(ϕ 5 cm, 70~230 mesh, Merck)을 이용하여 3분획으로 나누었다. Silica gel 150 g을 glass column에 채우고 crude saponin 약 3.8 g (methanol sol.)와 silica gel 15 g을 섞어 말려서 마쇄한 시료를 그 위에 얹고 먼저 chloroform/methanol/water(8 : 2 : 0.1, v/v) 2.5 l로 용출시켜(유속 : 1~1.5 ml/min.) 분획 I를 받았다. 계속해서 chloroform/methanol/water(7 : 2 : 0.2, v/v) 2 l와 chloroform/methanol/water(61 : 32 : 7, v/v) 1 l로 용출시키고 동시에 TLC로 검정해보면서 분획 II를 받았고 나머지는 분획 III으로 하였다. 모두 400번까지의 tube (각 20ml씩)들 중 168~259번의 분획 II를 다시 Prep. HPLC로 재정제 하였으며 Prep. HPLC의 분석 조건은 column : Alltech Econosil NH₂ 10 μ , 250 \times 10 mm, mobile phase : acetonitrile/water/n-butanol(81.5 : 20 : 2, v/v), flow rate : 20 ml/min., detector : RI, 8 X였다.

Column chromatography와 Prep HPLC로 분리한 saponin을 ¹H과 ¹³C-NMR로서 동정하였다. 또 당쇄 결합을 확인하기 위하여 saponin(elatoside Fh₂)을 4% KOH (dioxane/water=1 : 1)로 가수분해 한 다음 silica gel column chromatography로 분리하고 이것을 ¹H과 ¹³C-NMR를 이용하여 확인하였다. 이 때 TMS를 내부표준 물질로 하고 pyridine-d₅를 용매로 사용하였다.

III. 결과 및 고찰

1. Crude saponin의 동정

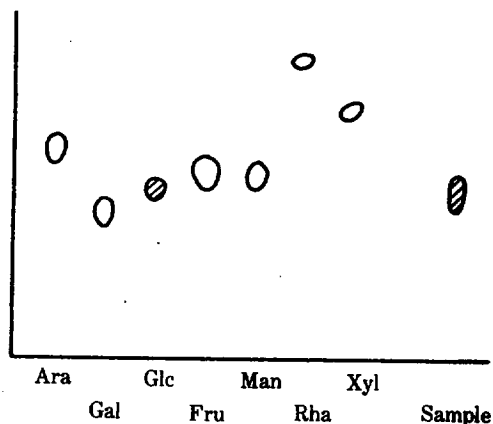


Fig. 2. Thin layer chromatogram of sugar moiety of *Aralia elata* (Nr2) saponin. Solvent system; chloroform/ methanol/ water (65: 45: 10), Detection; 40% H₂SO₄.

1) 당의 검색 및 동정

자연산 날 것 식용적기(Nr2)의 당을 당표준품 등과 함께 TLC로 분리한 결과는 Fig. 2와 같고, glucose를 확인할 수 있었다. 이것을 다시 GC로 분석한 결과(Fig. 3), 주로 α, β -glucose였고 그 밖에 arabinose 및 rhamnose도 찾아 볼수 있었다.

이는 두릅나무 수피의 glucose, glucuronic acid^{2,3}, 뿌리의 glucose, galactose, arabinose, xylose, glucuronic acid^{4,13,17}와는 차이가 있었지만 잎의 glucose, arabinose, rhamnose²¹와는 일치하였다.

2) Aglycon의 검색

두릅나무의 수피²²와 뿌리는^{8,9,15} oleanolic acid를, 그리고 잎^{4,42}의 saponin은 oleanolic acid와 hederagenin을 aglycon으로 한다는 보고가 있다. 본 연구에서는 이 두 aglycon을 표준품으로 하여 각 시료의 aglycon을 TLC로 분리하였다. 그 결과 시료가 자란 시기와 생산지에 관계없이 모두 같은 양상을 보였는데, 표준품 이외에 2개의 spot가 분리되었다. 이 결과를 바탕으로 자연산 날 것 식용적기(Nr2)의 시료를 택하여 표준품 hederagenin과 같은 위치에 나타난 aglycon(Ag. 1) 및 oleanolic acid와 같은 위치의 aglycon(Ag. 3), 그리고 표준품 이외의 aglycon 2개 중 양이 많은 4번째 aglycon(Ag. 4)을 동정하기로 하였다.

먼저 이 3개의 aglycon 등을 TLC로써 분리했는데 2 mm plate와 0.2 mm plate를 함께 이용하여 여러번 반복 정제해서 각 aglycon들을 순수 분리하였다.

3) Aglycon의 동정

Oleanolic acid와 hederagenin의 분자구조식과 분자량은 Fig. 4와 같다

(1) Ag. 1의 동정

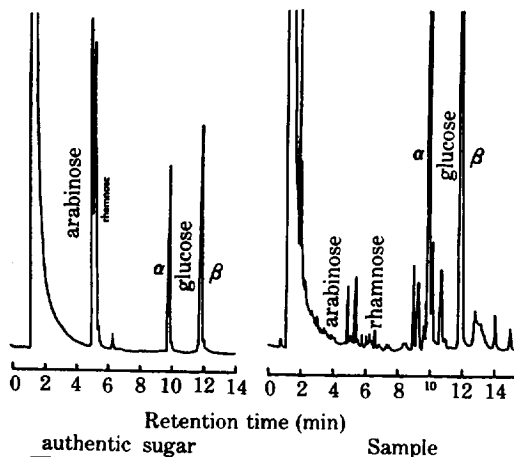


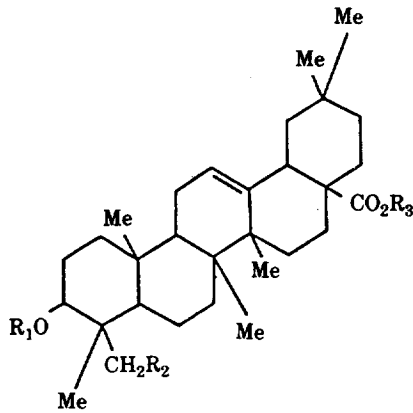
Fig. 3. GC chromatogram of sugar moiety of total saponin from Nr2.

Ag. 1은 TLC상에서 Rf치가 0.06으로서 hederagenin과 일치하였으며 IR spectrum에서 수산기에 의한 흡수(3440 cm⁻¹) 및 carboxyl기에 의한 흡수(1680 cm⁻¹)가 확인되었다.

¹H-NMR을 이용한 것에 있어서도 chemical shift 4.22(dd-like, C₃-H), 5.5(t-like, C₁₂-H), 3.4(dd, J=9, 6, C₁₈-H), 3.65(d, J=3, C₂₃-H₆) 및 6개의 singlet methyl기 signal 0.95, 0.98, 1.04, 1.05, 1.08, 1.27이 관측되었으므로 Ag. 1은 hederagenin으로 동정되었다(Table 1).

(2) Ag. 3의 동정

Ag. 3는 TLC에서 Rf치가 0.33으로 oleanolic acid와



	MW	R ₁	R ₂	R ₃
Oleanolic acid	456.7	H	H	H
Hederagenin	472.7	H	OH	H

Fig. 4. Molecular structure of oleanolic acid and hederagenin.

Table 1. ¹H-NMR spectra data in pyridine-d₅

Compound	Methyl groups	C ₃ -H	C ₁₂ -H	C ₁₈ -H	C ₂₃ -H
Hederagenin	0.94, 0.99, 1.01, 1.07 (×2), 1.25	4.23 (dd-like)	5.5 (t-like)	3.33 (dd, J=6, 6)	3.73 (d, J=9)
Ag.1	0.95, 0.98, 1.04, 1.05, 1.08, 1.27	4.22 (dd-like)	5.5 (t-like)	3.4 (dd, J=9, 6)	3.65 (d, J=9)

Table 2. ¹H-NMR spectra data in chloroform-d

Compound	Methyl groups	C ₃ -H	C ₁₂ -H	C ₁₈ -H	-H ₂
Oleanolic acid	0.77, 0.78, 0.90, 0.91, 0.93, 0.99, 1.14	3.21 (dd-like)	5.29 (t-like)	2.84 (dd, J=6, 6)	
Ag.3	0.76, 0.78, 0.90, 0.91, 0.93, 0.99, 1.14	3.21 (dd-like)	5.29 (t-like)	2.82 (dd, J=4.5, 4.2)	
Ag.4	0.74, 0.91, 0.93, 0.97, 1.10, 1.14, 1.25	3.20 (dd-like)	5.29 (t-like)	2.82 (dd, J=3.6, 4.2)	4.73 (d, J=5.9) 5.10 (d, J=5.8)

일치하였다. IR 분석결과 3410 cm⁻¹(-OH), 1680 cm⁻¹(-COOH)의 흡수가 확인되었다. ¹H-NMR에 있어서는 chemical shift 3.21(dd-like, C₃-H), 5.29(t-like, C₁₂-H), 2.82(dd, J=4.5, 4.2, C₁₈-H) 및 7개의 Singlet methyl기 signal(0.76, 0.78, 0.90, 0.91, 0.93, 0.99, 1.14)이 관측되었으므로 oleanolic acid로 판정되었다(Table 2).

(3) Ag. 4의 동정

Ag. 4는 TLC상에서 Rf치 0.45로 oleanolic acid보다 약간 높은 위치에서 검출되었고 IR 분석 결과 수산기(3400 cm⁻¹) 및 carboxyl기(1690 cm⁻¹)의 흡수가 확인되었다. ¹H-NMR에 있어서는 7개의 singlet methyl기 signal(chemical shift 0.74, 0.91, 0.93, 0.97, 1.10, 1.14, 1.25) 및 3.20(dd-like, C₃-H), 5.29(t-like, C₁₂-H), 2.82(dd, J=3.6, 4.2, C₁₈-H)가 관측되었고 그외에 4.73(d, J=5.9), 5.10(d, J=5.8)이 특징적으로 관측되었다(Table 2).

MS spectrum은 ¹²Δ-unsaturated oleanene과 ursene계에 속하는 모든 화합물의 C-ring에서 Retro-Diels-Alder reaction에 의한 fragmentation을 일으켜 a ion과 b ion을 생성한다.⁴³⁾ Ag. 4의 MS spectrum(Fig. 5)을 보면

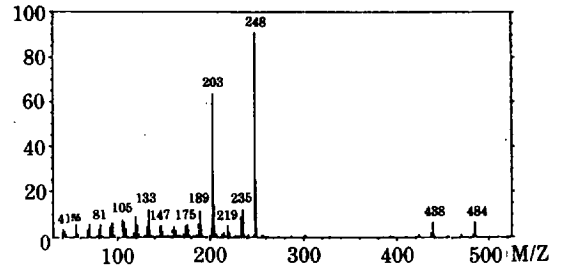


Fig. 5. Mass spectrum of Ag. 4.

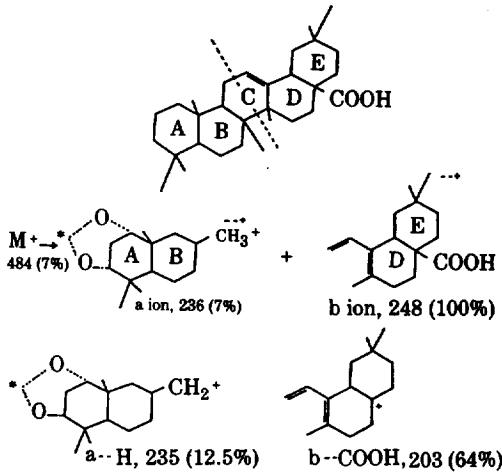


Fig. 6. Mass spectrum fragmentation of Ag. 4.

분자이온(M^+) 피크인 484(7%)의 RDA제열에 의해 생성된 a ion의 236(7%), 235(12.5%)와 b ion의 248(100%), 203(64%) 등이 관측되었다. 이것으로 Ag. 4의 분자량은 484로 oleanolic acid보다 28이 많으며 base peak가 b ion의 m/z 248이며 이보다 28이 많은 피크는 확인되지 않는 반면 a ion에서는 oleanolic acid에서 볼 수 있는 208보다 28이 많은 236이 확인되어 a ion에 unknown part가 있을 것으로 추정된다(Fig. 6). 1H -NMR에서 특이하게 관측된 chemical shift 4.73(-O*CH₂-O-), 5.10(-O*CH₂-O-)으로 Fig. 6의 점선의 구조를 추정할 수 있으며 3.6~3.8 ppm에서 관측된 signal로써 Fig. 7의 a)의 C₁-H 혹은 b)의 C₂-H로 추정되었다. 따라서 Ag. 4는 a)와 b)의 혼합물로 생각되나 b)의 5원환 보다는 a)의 6원환이 보다 안정하므로 a)가 더 많은 비율로 존재할 것이라 사료된다.

본 결과로 미루어 보면 분리된 Ag. 4는 구조상으로 보아 원래 두릅에 존재하는 aglycon일 가능성도 있고, 또 한편으로는 여러 가지 처리과정에서 생성되었을지도 모를 oleanolic acid의 유도체일는지 명확하지 않다.

2. Fh saponin의 분리 및 구조

1) Fh saponin의 분리

자연산 날 것 식용적기(Nr2)속에 특히 많은 'b' saponin의 구조를 밝히기 위해서 crude saponin 3, 8 g을 column chromatography로서 3분획으로 분리 하였다. 그 중 분획 II는 약 0.9 g이었고, TLC로 점정할 결과 대부분이 'b'였으며 이것을 Elatoside Fh라 명명하였다. elatoside Fh를 Prep. HPLC로 재정제할 결과 Fh₁과 Fh₂ 2개의 saponin이 분리되었다. 이 중 elatoside Fh₂(최우 피크)의 구조를 밝히기로 하였다.

2) Elatoside Fh₂의 구조

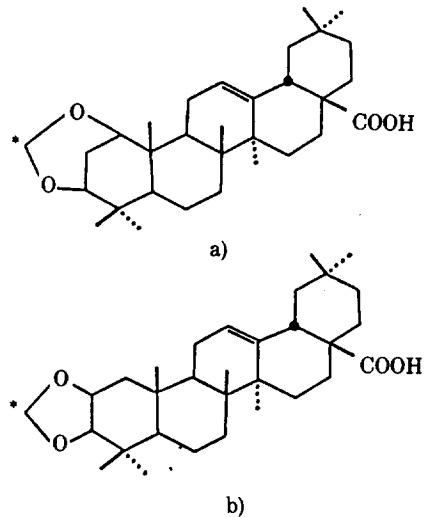


Fig. 7. Structure of Ag. 4.

- a) 1.3-methylenedioxy-3-dehydroxyoleanolic acid.
- b) 2.3-methylenedioxy-3-dehydroxyoleanolic acid.

(1) Aglycon의 동정

Elatoside Fh₂을 ^{13}C -NMR 및 1H -NMR spectrum으로 검토한 결과 triterpenoid에 3분자의 sugar가 결합하고 있는 saponin으로 추정되었다.

우선 ^{13}C -NMR에서 aglycon부의 chemical shift를 methyl oleanolic acid와 chikusetsusaponin의 chemical shift를 비교해 보면(Fig. 8, Table 3) triterpenoid인 oleanolic acid⁴⁴⁾와 거의 일치하며 다만 3번 탄소만이 elatoside Fh₂는 88.7 ppm, methyl oleanolate는 78.6 ppm.으로 크게 다르게 나타났으나 이것은 3번째 수산기에 당이 결합함으로써 10 ppm 정도가 저자장쪽으로 이동하는 것은 glycosidation shift⁴⁵⁾에 의한 효과 때문으로 보인다. 또 chikusetsusaponin⁴⁶⁾ (oleanolic acid의 C₃ 수산기와 C₂₈ carboxyl기에 당이 결합) 있어도 3번 탄소의 chemical shift가 89.3 ppm에 나타난 사실로도 확인할 수 있다. 이상의 ^{13}C -NMR로부터 elatoside Fh₂의 aglycon은 oleanolic acid라 추정할 수 있겠다.

한편 1H -NMR에서 oleanolic acid로부터 유래하는 C₃-H의 chemical shift 3.33(m), C₁₂-H의 5.31(t-like), C₁₈-H의 2.80(dd, J=17, 17) 및 7개의 singlet methyl기 signal(0.88, 0.96, 0.99, 1.03, 1.12, 1.27, 1.84)이 관측됨에 따라 aglycon은 oleanolic acid라고 판명되었다.

(2) Oleanolic acid와 당의 결합위치

당이 결합되어 있는 위치는 C₃ 수산기와 C₂₈ carboxyl기로 추정된다. C₃ 수산기는 ^{13}C -NMR chemical shift로 비추어 glycosidation shift를 보임으로써 당과 결합되었음을 알 수 있으며 C₂₈ carboxyl기의 ^{13}C -NMR

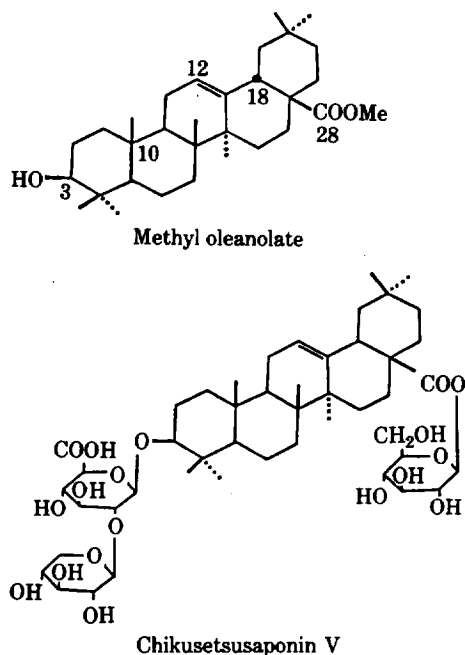


Fig. 8. Structure of methyl oleanolate and chikusetsusaponin V.

chemical shift가 175.9 ppm으로 oleanolic acid의 그것보다 1.9 ppm 고자장쪽으로 이동해서 관측된 것과 당부에 있어서 anomeric carbon signal이 95.9 ppm에 관측됨에(Table 4) 따라 glucose가 C₂₈ carboxyl기에 ester glycoside 결합(고자장 shift)을 이루고 있음을 알 수가 있다.

(3) 구성당의 종류 및 당체결합

Elatoside Fh₂를 가수분해하여 TLC로 확인한 결과 구성당의 종류는 arabinose 및 glucose였으며 ¹³C-NMR에서는 당부에서 유래된 17개의 signal이 인정되었다. 그 중 11 signal은 free arabinose 및 glucose의 ¹³C-NMR chemical shift에 귀속⁴⁴⁾되었으므로 각각 말단 arabinose 및 말단 glucose의 존재가 확인되었으며(Table. 4). 이 중 anomeric carbon에 해당하는 signal이 95.9 ppm으로 carboxyl에 결합한 glucose의 anomeric carbon으로 추정되었다. 남은 6개의 signal도 glucose에서 유래하는 signal로 추정되었으나 2위 탄소에 해당하는 signal이 84.1 ppm으로 free glucose의 2위(74.8 ppm)보다 10 ppm 정도 저자장쪽으로 이동⁴⁵⁾한 것으로 보아 glucose의 2위에 다른 한 분자의 sugar가 결합하고 있는 것을 알 수 있다.

이상으로써 말단 arabinose와 말단 glucose의 존재, C₂₈-carboxyl기에 glucose의 결합 glucose의 2번 수산

Table 3. ¹³C-NMR chemical shifts of methyl oleanolate, Elatoside Fh₂ and Chikusetsusaponin in pyridine-d₅

Carbon no.	Methyl oleanolate	Elatoside Fh ₂	Chikusetsusaponin
1	39.3	39.6	38.7
2	28.2	27.2	26.7
3	78.6	88.7 (+10.1)	89.3
4	39.3	39.0	39.5
5	56.2	55.9	55.8
6	19.0	18.5	18.5
7	33.0	33.2	33.2
8	40.1	40.1	39.9
9	48.4	49.1	48.1
10	37.7	37.1	36.9
11	23.9	23.7	23.7
12	123.0	123.2	122.5
13	144.4	144.4	144.2
14	42.2	42.1	42.1
15	28.4	28.1	28.2
16	23.9	24.6	23.7
17	47.3	47.2	47.0
18	42.2	41.3	41.7
19	46.5	47.2	46.2
20	30.9	30.8	30.8
21	34.4	33.4	34.1
22	33.0	32.3	32.7
23	28.8	28.1	28.2
24	16.3	17.0	16.7
25	15.6	15.7	15.5
26	17.3	17.6	17.5
27	26.1	26.7	26.1
28	177.8	175.9 (-1.9)	176.4
29	33.5	33.2	33.2
30	23.9	23.7	23.7
OMe	51.3	23.7	23.7

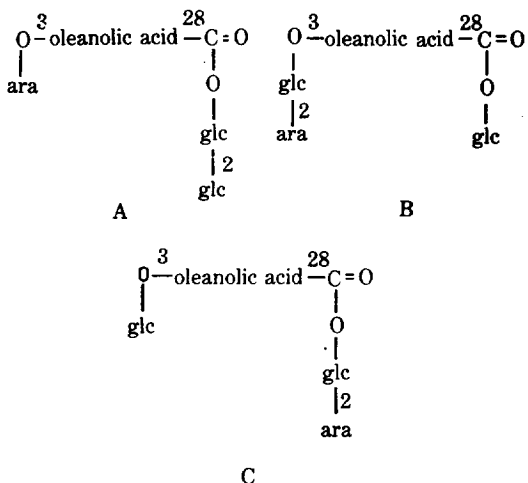
기에 다른 sugar의 결합 등을 추정할 수가 있고 이를 종합해 보면 Fig. 9과 같은 3경우의 구조를 가정할 수 있겠다.

이들 구조 가운데 어느 것인지를 확인하기 위하여 elatoside Fh₂를 alkali 가수분해(carboxyl기의 당분리)하여 ¹H와 ¹³C-NMR를 이용하여 분석하였다(Table 5). 그 결과 당으로부터 유래한 11개의 signal이 free glucose 및 arabinose의 ¹³C-NMR에 귀속되었으므로 C₂₈-carboxyl기에 결합된 당은 glucose임이 확인되었다. 그리고 glucose의 2위 탄소에 해당하는 signal이 84.1 ppm으로 free glucose의 2위(74.8 ppm)보다 10 ppm 정도 저자장쪽으로

Table 4. ^{13}C -NMR chemical shifts of sugars of Elatoside Fh_2 in pyridine- d_5

	Elatoside Fh_2		Free sugars	
	carbon no.	chemical shift		chemical shift
28-Glc	1	95.9 (-9.5)	D-Glc	105.4
	2	75.7		74.8
	3	78.4		78.1
	4	71.1		71.4
	5	78.7		78.1
	6	62.7 ^{c)}		62.5
3-Glc	1	106.4 ^{a)}		105.4
	2	84.1 (+9.3)		74.8
	3	79.4 ^{b)}		78.1
	4	71.5		71.4
	5	78.9 ^{b)}		78.1
	6	62.2 ^{c)}		62.5
2'-Ara	1	107.4 ^{a)}	L-Ara	105.9
	2	71.9		72.2
	3	74.2		74.4
	4	69.3		69.1
	5	67.0		66.6

* ^{a)}, ^{b)}, ^{c)}; mutually probable

**Fig. 9.** Probable bonding type of sugar moieties in Elatoside Fh_2 .

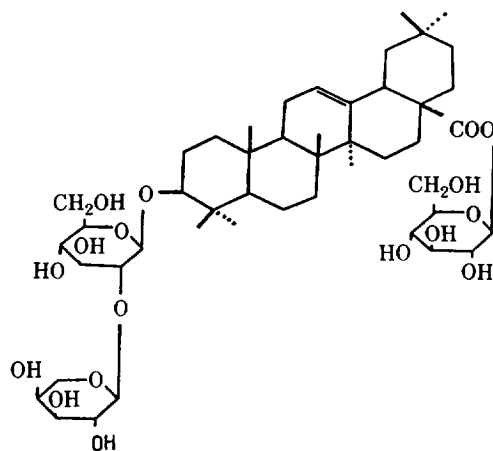
이동한 것으로 보아 glucose의 2위에 arabinose가 결합된 것을 알 수 있다. 따라서 elatoside Fh_2 는 B와 같은 구조를 하고 있는 것으로 추정된다.

(4) Anomeric 탄소와 결합양식

Glucose의 경우 ^1H -NMR에 있어서 anomeric proton의 J치(coupling constant)가 β 결합은 7-8 Hz, α 결합은 2-4 Hz¹⁷⁾인 사실로부터 elatoside Fh_2 는 glucose

Table 5. ^{13}C -NMR chemical shifts of Elatoside Fh_2 -alkaline hydrolyzate in pyridine- d_5

Aglycon moiety		Sugar moiety	
1	39.0	3-Glc	1 106.1
2	27.3		2 84.1 (+9.3)
3	88.6		3 78.2
4	38.8		4 71.5
5	55.9		5 78.6
6	18.5		6 62.5
7	33.4		
8	39.9		
9	49.1	2'-Ara	1 107.3
10	37.0		2 71.8
11	23.2		3 74.8
12	123.8		4 69.2
13	145.3		5 66.9
14	41.6		
15	28.1		
16	23.8		
17	47.3		
18	42.1		
19	47.2		
20	31.0		
21	36.1		
22	32.4		
23	29.1		
24	17.0		
25	15.6		
26	17.5		
27	26.7		
28	177.8		
29	33.4		
30	23.8		

**Fig. 10.** Structure of Elatoside Fh_2 .

2분자의 anomeric proton signal이 각각 6.33(d, J=8.0) 및 5.39(d, J=7.8)에 관측됨에 따라 공히 β 결합을 하고 있는 것으로 판명되었다. 또한 $^{13}\text{C-NMR}$ 에 있어서 C_1 수산기에 결합한 glucose의 anomeric carbon signal이 106.4 ppm로 관측되었으므로 (α 결합은 101 ppm)⁴¹ β 결합이라는 것이 확인되었다.

한편 arabinose의 경우 $^{13}\text{C-NMR}$ 에 있어서 anomeric carbon의 chemical shift가 α 결합은 105.9 ppm, β 결합은 102 ppm⁴¹인 사실로부터 elatoside Fh₂는 arabinose의 anomeric carbon signal이 107.4 ppm에서 관측됨에 따라 α 결합을 하고 있는 것으로 판명되었다. 또한 $^1\text{H-NMR}$ 에서도 5.30 ppm에서 arabinose의 anomeric proton의 J치가 8.0 Hz로 α 결합⁴⁸이라는 것이 확인되었다.

이상의 결과를 종합하면 elatoside Fh₂의 구조(Fig. 10)는 3-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl-28-O- β -D-glucopyranosyl]oleanolic acid라고 추정된다. 이것은 Saito²¹ 등이 *Aralia elata* 잎 saponin에서 보고한 saponin 등의 구조와 달랐다.

IV. 적 요

두릅나무 순의 saponin을 추출하여 그 구조를 밝혀 본 결과는 다음과 같다.

1. 자연산 날 것 식용적기의 crude saponin에서 aglycon으로 oleanolic acid와 hederagenin 외에 1,3-methylenedioxy-3-dehydroxyoleanolic acid를 동정하였으며 당으로 α , β -glucose와 arabinose, rhamnose를 확인하였다.

2. 자연산 날 것 식용적기에 가장 많은 'b' saponin (elatoside Fh₂)을 분리하여 동정한 결과 그 구조는 3-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl]-28-O- β -D-glucopyranosyl oleanolic acid라 추정된다.

참고문헌

- 이만정 · 김영희: 두릅나무 순의 saponin에 관한 연구, (1) saponin의 분리 및 함량, 한식문화지, (5)2, 1990.
- 森田智: 民間糖尿病に用ひられる生薬の研究(其ノ四), たらきの成分(第三報) 水に不溶なるサホニン體の成狀. 藥學, 51, 17(1931).
- 森田智: 民間糖尿病に用ひられる生薬の研究(其ノ一), たらきの皮の成分について. 藥學, 49, 660(1929).
- L.B. Malchukovsky, G.M. Takhtobaeva, I.E. Kopylova, N.I. Libizov: Determination of The Total Sum of Aralosides A.B.C in The Roots of *Aralia Mandshurica*. Farmaciya (Moskva), 21(6), 45 (1972).
- T. Murakami, H. Itokawa, A. Matsushima, N. Ikekawa: Studies on the Constituents of the Root Bark of *Aralia elata* Seemann (Araliaceae) and on " - Sitosterol". J. Pharm. Soc. Japan, 83(4), 427 (1963).
- I. Yosioka, T. Kimura, H. Imagawa, K. Takara: Studies on Polyacetylenic Compounds. I. Occurrence in Higher Plants. (1). *Leguminosae, Araliaceae, Umbelliferae and Cornaceae*. Yakugaku Zasshi, 86(12), 1216 (1966).
- O. Tanaka, Y. Yasuda, K. Yamasaki, S. Mihashi: Comparative Study on the Constituents of Some *Aralia* Species and Notice of the Original Plants of Crude Drug "Duhuo". Yakugaku Zasshi, 92(8), 1058 (1972).
- G.B. Elyakov, et al.: Triterpenoid Saponin. Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser. Khim., 1605 (1962).
- N.K. Kochetkov, A.J. Khorlin et al.: Triterpene Saponin. Zhur. Obshchei Khim., 31(2), 658 (1961).
- N.K. Kochetkov, A.J. Khorlin: Oligoside, ein neuer Typ von Pflanzenglykosiden. Arzneim-Forsch, 16, 101 (1966).
- 高木修造, 田中公子: たらきの成分について. 武庫川女大, 10, S · 157(1962).
- A.J. Khorlin et al.: Triterpene Saponin. Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser. Khim., 2008 (1963).
- A.J. Khorlin, L.V. Bakinovskii, V.J. Vasskovskij: Araloside A.B.C from *Aralia elata* Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser. Khim., 1338 (1964).
- J. Lutomski, N. Thoi Nham: Studies on the Saponin Fraction from the Root of *Aralia Mandshurica* Rupr. et Maxim (Part I). Herba Polonica, 23(1), 5 (1977).
- J. Lutomski, N. Thoi Nham: Studies on the Saponin Fraction from the Root of *Aralia Mandshurica* Rupr. et Maxim (Part II). Herba Polonica, 23(2), 93 (1977).
- E. Segiet-Kujawa: Densitometric Determination of Oleanolic acid Glucosides in some *Araliaceae* Species. Herba Polonica, 28(3-4), 133 (1982).
- J. Lutomski, N. Thoi Nham: Studies on the Saponin Fraction from the Root of *Aralia Mandshurica* Rupr. et Maxim (Part III). Herba Polonica, 23(3), 183 (1977).
- B. Martinez, E.J. Staba: The Physiological Effects of *Aralia*, *Panax* and *Eleutherococcus* on Exercised Rats. Japan. J. Pharmacol., 35, 79 (1984).
- G. Kurono, T. Sakai, K. Tochiori, K. Fukuda: Über die Fettsäuren von *Araliaceae* Pflanzen. III Mitteilung. Über die Fettsäuren von dem Samen des *Aralia elata* Seem. var. *canescens* Nakai. Kanazawa Daigaku Yakugakubu Nempo, 7(1), 1 (1957).
- A.W. van der Haar: Untersuchungen über die Saponine. Ber., 55, 3041 (1922).
- 霧藤節生, 角田繁也, 田村洋典, 長村洋一, 西田丰志: 日本生薬學會, 第 35年會, 講演要地(1988).
- 柴田耕: 糖尿病に對スル木皮ノ效力に就テ. 中央醫, 130, 98(1916).

23. 森田智, 茄藤徳藏: 民間糖尿病に用ひられる生薬の研究(其ノ三). 薬学, **50**, 380(1930).
24. 森田, 加藤: 民間糖尿病に用ひられる生薬の研究. 薬学, **5**, 80(1931).
25. M. Sugiura, T. Yanase, Y. Yamaguchi, S. Senda: Studies of Components with Drug Action of *Aralia elata* Seemann (I). The Control Action of Blood Sugar Level of Bark Extract. 崎 薬科大学紀要, **13**, 37(1963).
26. 이명렬, 이장순, 서화중: 두릅나무추출물이 Alloxan으로 유발된 家兎의 高血糖에 미치는 영향. 한국영양식량학회지, **17**(1), 57(1988).
27. J. Wojcicki, L. Samochowiec: Comparative Evaluation of *Aralia mandshurica* Rupr. et maxim. and *Clendula officinalis* L. Saponosides effect on lipid level in blood serum and liver homogenates. Herba polonica, **26**(4), 233 (1980).
28. L. Samochowiec: Pharmakologische untersuchungen der saponogiden von *Aralia mandshurica* Rupr. et maxim. und *Calendula officinalis* L. Herba polonica, **29**(2), 151 (1983).
29. I.I. Brekhaman, I.V. Dardymov: New substances of plant origin which increase nonspecific resistance, Ann. Rev. Pharmacol., **9**, 419 (1969).
30. 차종환: 한국산 야생용식물의 성분조사 (I). 식물학회지, **7**(4), 1(1964).
31. 권혁희, 김인복, 김소희, 김은숙, 김정화, 유정렬: 한국 식품의 영양성분에 관한 연구(XVI). 한국영양식량학회지, **13**(3), 334(1984).
32. 김을상, 임경상: 한국 상용식품 중 칼슘과 수산함량에 관한 연구. 한국영양학회지, **10**(4), 292(1977).
33. 김용두, 양원모: 산채의 성분에 관한 연구. 한국영양식량학회지, **15**(4), 10(1986).
34. 함승시: 산채류 가열증의 돌연변이 억제 작용에 관한 연구. 한국농화학학회지, **31**(1), 38(1988).
35. H. Wagner, S. Bladt, E.M. Zgainski: Plant Drug Analysis. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, p.301 (1984).
36. S. Yahara, O. Tanaka, T. Komori: Saponis of the Leaves of *Panax ginseng* C.A. Meyer. Chem. Pharm. Bull. **24**(9), 2204 (1976).
37. E. Heftmann: Chromatography-A Laboratory Handbook of Chromatographic and Electrophoretic Methods. Van Nostrand Rein Hold Co., p.664 (1975).
38. 한용남, 최강주, 최영숙, 류숙박: 인삼 사포닌의 순품 제조. 인삼연구보고, p.369(1978).
39. 조성환, 조한옥, 김재욱: 한국인삼의 Saponin에 관한 연구(제 1보). Saponin fraction 별 정량 방법에 관하여. 한국농화학학회지, **19**(4), 233(1976).
40. 위재준, 박종대, 김만옥, 이형주: 인삼으로 부터 분리된 케놀성 향산화 성분의 동정. 한국농화학학회지, **32**(1), 50 (1989).
41. 董方超, 王文英, 崔貞淑: 中藥通報, **11**(7), 428(1986).
42. S. Shibata, O. Tanaka, K. Soma, Y. Omori: On the Sapogenin of the Leaves of *Aralia elata* Seemann, 生薬, **17**, 50 (1963).
43. H. Budzikiewicz, et al., J. Am. Chem. Soc., **85**, 3688 (1963).
44. S. Seo, Y. Tomita, K. Tori, Y. Yoshimura: Determination of the Absolute Configuration of a Secondary Hydroxy Group in a Chiral Secondary Alcohol Using Glycosidation Shifts in Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. Journal of the American Chemical Society, **100**, 3331 (1978).
45. O. Tanaka: Application of ¹³C-Nuclear Magnetic Resonance Spectrometry to Structural Studies on Glycosides: Saponins of *Panax* spp. and Natural Sweet Glycosides. Yakugaku Zasshi, **105**(4), 323 (1985).
46. 森田俊信: アジア産 *Panax* (ニンジン) 屬 植物の化學的研究. 廣島大學博士學位論文 (1986).
47. 노경희, 김을상: 홍삼 및 도라지 분말이 흰쥐의 혈청 및 간 지질에 미치는 영향. 한국 영양식량학회지, **13**(4), 413(1984).
48. R.J. Abraham and P. Loftus 著, 竹内敬人譯: Proton and Carbon-13 NMR Spectroscopy. 化學同人, p.54 (1978).