

쉽싸리 전초의 성분 연구 (II)

도 재 철 · 채 주 영 · 손 중 근
영남대학교 약학대학

Studies on the Constituents of *Lycopus lucidus* (II)

Jae Chul Do, Joo Young Chai and Jong Keun Son

College of Pharmacy, Yeungnam University, Kyongsan 712-749, Korea

Abstract—Four compounds were isolated from the leaves and stems of *Lycopus lucidus* and identified as 2 α -hydroxy ursolic acid, tormentic acid, β -sitosterol glucoside and linarin by spectroscopic methods.

Keywords—*Lycopus lucidus* · Labitae · 2 α -hydroxy ursolic acid · tormentic acid · β -sitosterol glucoside · linarin

한국에 자생하는 쉽싸리(*Lycopus lucidus*)는 주로 부인병과 소염소증에 많이 사용되어 왔다.¹⁾ 저자 등은 쉽싸리의 약용부위인 전초의 성분 연구를 실시하여 betulinic acid, oleanolic acid, 3-epimaslinic acid 및 euscaptic acid를 분리하여 보고 하였으며²⁾ 이의 계속적인 연구로 2 α -hydroxy ursolic acid, tormentic acid, β -sitosterol glucoside 및 linarin을 분리하여 그 구조를 확인 하였다.

실 험 방 법

실험 재료 기기 및 시약 : 전보²⁾를 참조

추출 및 분리

건조한 쉽싸리 520 g을 세절하여 MeOH(4 l)로 12시간씩 3회 추출하여 추출액을 여과, 농축하여 52 g(10%)의 MeOH extract를 얻었다. 이 MeOH extract에 증류수 및 n-hexane을 가하여 분액 깔대기로 n-hexane층과 수층으로 분획한 다음 n-hexane층을 감압 농축하여 n-hexane extract 9.1 g(1.75%)을 얻었고, 다시 수층을 CHCl₃, EtOAc, n-BuOH 순으로 분액하여 CHCl₃

extract 20.1 g(3.87%), EtOAc extract 3.1 g(0.59%), n-BuOH extract 3.9 g(0.76%)을 얻었다. 위의 각 extract를 silica gel column chromatography(70~230 mesh, 230~400 mesh 및 230 mesh이상)하여 EtOAc extract는 CHCl₃ : MeOH(98 : 2→97 : 3→96 : 4)액으로 화합물 V, VI, VII을 분리 하였으며 동일한 방법으로 n-BuOH extract를 물포화 EtOAc : MeOH(98 : 2→97 : 3→96 : 4)로 용출하여 화합물 VIII을 분리하였다. 분리한 4종의 물질들을 각각 MeOH로 재결정하여 백색 무정형의 결정을 얻었다.

화합물 V : Mp 250~253°; IR, ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹ : 3380(OH), 1680(carboxylic C=O), 1640(C=C), 1035, 1010(sec. OH); MS, m/z(rel. int.) : 472(M⁺, 1.8), 454(M⁺-H₂O, 1.5), 426[M⁺-(H+COOH), 14.3], 408[M⁺-(H+COOH+H₂O), 2.8], 248(D/E ring, 100), 224(A/B ring, 2.7), 203(248-COOH, 51.4); ¹H-NMR, (pyridine-d₅, 300 MHz) δ : 0.99, 1.05, 1.08, 1.22, 1.28(each 3 H, s, CH₃), 0.97(3 H, d, J=6.4 Hz, CH₃), 1.01(3 H, d, J=6.8 Hz, CH₃), 2.63(1 H, d, J=11.3 Hz, H-18), 3.40(1 H, d, J=9.3

Table I. ^{13}C -NMR chemical shift values of compounds, 75.5 MHz

C	Compound V	Compound VI	Compound VII	C	Compound VIII	Compound VIIIa
1	48.1 ^a	47.9 ^a	37.5			
2	68.6	68.6	30.3	2	163.9	163.2
3	83.9	83.9	78.2 ^a	3	103.8	103.5 ^a
4	39.9	39.8	40.0	4	181.9	181.7
5	55.9	56.0	141.0	5	161.1	161.4
6	18.9	19.0	121.9	6	99.9	98.8
7	33.5	33.5	32.2	7	162.4	164.1
8	39.9	40.4	32.1	8	94.7	93.9
9	48.0 ^a	47.8 ^a	50.4	9	156.9	157.3
10	38.5	38.5	37.0	10	105.4	103.7 ^a
11	23.8	24.1	21.3	1'	122.7	122.8
12	125.6	128.0	39.4	2'	128.4	128.2
13	139.3	140.0	42.5	3'	114.7	114.5
14	40.1	42.2 ^b	56.9	4'	162.9	162.2
15	28.7	29.3	24.5	5'	114.7	114.5
16	24.9	26.4	28.6	6'	128.4	128.2
17	42.6	48.3	56.3	OCH ₃	55.5	55.5
18	53.6	54.6	12.0 ^b	Glucose		
19	39.5 ^b	72.7	19.5	1''	99.9	
20	39.4 ^b	42.2 ^b	36.5	2''	73.0	
21	31.1	26.9	19.1 ^c	3''	76.2	
22	37.5	38.5	34.3	4''	69.6	
23	29.4	29.3	26.5	5''	75.6	
24	17.7	17.6	46.1	6''	66.1	
25	17.0	16.9	29.6	Rhamnose		
26	17.5	17.3	19.3 ^c	1'''	100.5	
27	23.9	24.7	20.1	2'''	70.3	
28	179.9	180.7	23.5	3'''	70.7	
29	21.4	27.1	12.3 ^b	4'''	72.0	
30	17.5	16.8		5'''	68.3	
Glucose				6'''	17.7	
1			102.6			
2			75.3			
3			78.5 ^a			
4			71.7			
5			78.6 ^a			
6			62.9			

* Assignments of a, b, and c may be reversed

Hz, H-3 α), 4.10(1 H, ddd, $J=4.5, 9.2, 11.2$
 Hz, H-2 β), 5.47(1 H, t, $J=3.1$ Hz, H-12);
 ^{13}C -NMR, (pyridine- d_5 , 75.5 MHz) : Table I 참

조.

화합물 VI : Mp 278~280°; IR, $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$: 3380
 (OH), 1680(carboxylic C=O), 1640(C=C),

1040, 1020(sec. OH); MS, m/z (rel. int.): 488 (M^+ , 14.2), 470(M^+-H_2O , 6.3), 442[$M^+-(H+COOH)$, 60.2], 264(D/E ring, 8.5), 224(A/B ring, 2.5), 219(264-COOH, 8.8), 206(224- H_2O , 8.0); 1H -NMR, (pyridine- d_5 , 300 MHz) δ : 1.02, 1.09, 1.11, 1.27, 1.44, 1.71(each 3 H, s, CH_3), 1.14(3 H, d, $J=7.1$ Hz, CH_3), 3.08(1 H, s, H-18), 3.39(1 H, d, $J=9.3$ Hz, H-3 α), 4.11(1 H, ddd, $J=3.8, 9.4, 11.0$ Hz, H-2 β), 5.59(1 H, t, $J=3.2$ Hz, H-12); ^{13}C -NMR, (pyridine- d_5 , 75.5 MHz): Table I 참조.

화합물 VII: Mp 298~300°; IR, $\nu_{max}^{KBr} cm^{-1}$: 3390 (OH), 1650(C=C), 1070, 1020(glycosidic C-O); 1H -NMR, (pyridine- d_5 , 300 MHz) δ : 0.67 (3 H, s, 18- CH_3), 0.86~0.91(9 H, 26, 27, 29- CH_3), 0.95(3 H, s, 19- CH_3), 1.00(3 H, d, $J=6.5$ Hz, 21- CH_3), 5.21(1 H, d, $J=6.9$ Hz, anomeric H), 5.38(1 H, br d, $J=4.4$ Hz, H-6); ^{13}C -NMR, (pyridine- d_5 , 75.5 MHz): Table I 참조.

화합물 VIII: Mp 270~272°; IR, $\nu_{max}^{KBr} cm^{-1}$: 3420(OH), 1640(α, β -unsaturated ketone), 1480, 1600(aromatic C=C), 1070, 1030(glycosidic C-O); UV, λ_{max} , nm(log ϵ): 270 (4.10), 324 (4.15); with NaOMe 280 (4.54), 368 (3.95); with $AlCl_3$ 276 (4.28), 301 (4.18), 343 (4.35), 384 (4.10); with $AlCl_3+HCl$ 277 (4.29), 300 (4.21), 339 (4.35), 384 (4.03); with MeOH+NaOAc 271 (4.28), 320 (4.22); with NaOAc+ H_3BO_3 269(4.28), 328(4.22); 1H -NMR, (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 1.09(3 H, d, $J=6.1$ Hz, CH_3 of rhamnose), 3.87(3 H, s, -OMe), 4.53(1 H, s, anomeric H of rhamnose), 5.06(1 H, d, $J=7.1$ Hz, anomeric H of glucose), 6.45(1 H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 6.79(1 H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 6.94(1 H, s, H-3), 7.15(2 H, d, $J=9.0$ Hz, H-3' & H-5'), 8.05(2 H, d, $J=9.0$ Hz, H-2' & H-6'); ^{13}C -NMR, (DMSO- d_6 , 75.5 MHz): Table I 참조.

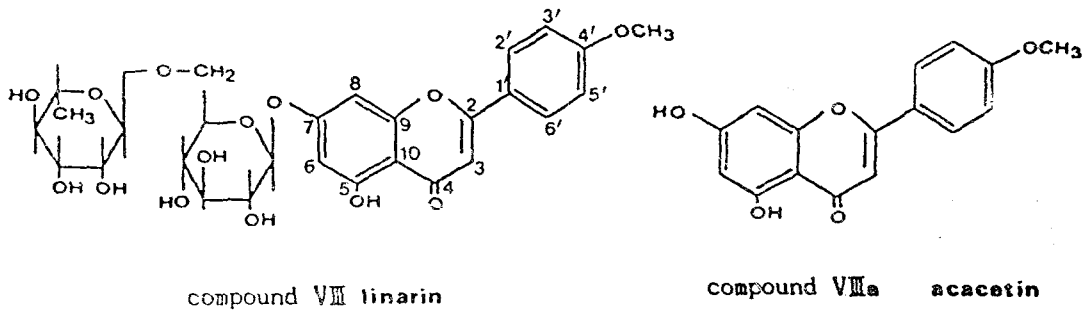
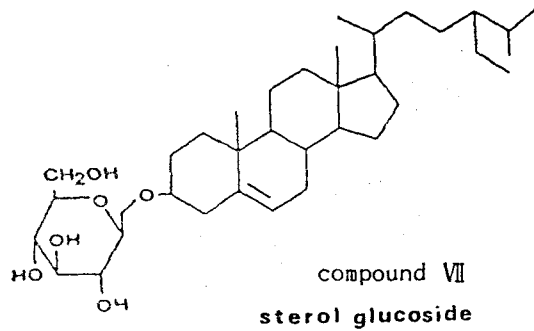
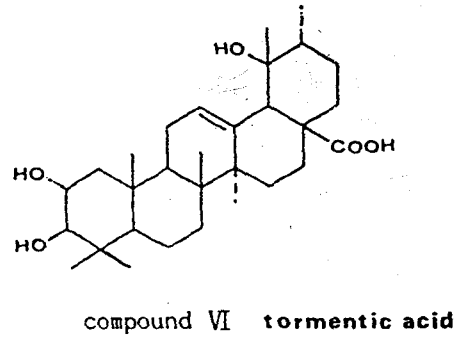
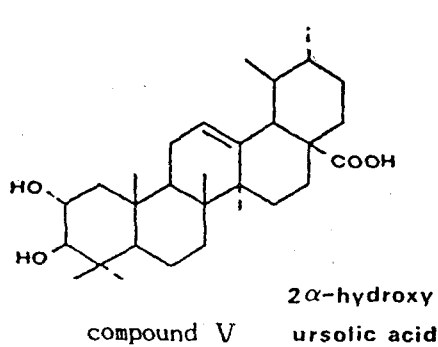
화합물 VIII의 산 가수분해: 화합물 VIII 50 mg에 4 N HCl: dioxane(1:1) 용액 15 ml를 가하여 수욕상에서 4시간 동안 가열하여 반응 시

켰다. 반응액에 얼음을 넣어 석출하는 침전물을 여과, 건조한 후 MeOH로 재결정하여 화합물 VIII의 비당부를 얻었다. Mp 266~268°; IR, $\nu_{max}^{KBr} cm^{-1}$: 3200(OH), 1670(α, β -unsaturated ketone), 1600~1500(aromatic C=C); MS, m/z (rel. int.): 284(M^+ , 100), 283(M^+-H , 7.1), 269(M^+-CH_3 , 2.1), 256(M^+-CO , 6.2), 241(256- CH_3 , 7.6), 152(A_1^+ , 5.5), 132(B_1^+ , 12.2), 124(152-CO, 4.2), 117(132- CH_3 , 3.9); UV, λ_{max} , nm(log ϵ): 268(4.28), 328(4.28); with NaOMe 275(4.26), 295(3.98), 365(3.64); with $AlCl_3$ 276(4.11), 296 (sh, 4.09), 302(4.13), 344(4.23), 380(4.01); with $AlCl_3+HCl$ 278(4.24), 296(sh, 4.23), 302 (4.25), 338(4.29), 380(3.99); with NaOAc 270 (4.44), 295(sh, 4.30), 336(4.21); with NaOAc+ H_3BO_3 268(4.36), 330(4.34); 1H -NMR, (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 3.86(3H, s, -OMe), 6.20 (1 H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 6.50(1 H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 6.85(1 H, s, H-3), 7.10(2 H, d, $J=9.0$ Hz, H-3' & H-5'), 8.02(2 H, d, $J=9.0$ Hz, H-2' & H-6'), 12.9(1 H, s, C_5 -OH); ^{13}C -NMR, (DMSO- d_6 , 75.5 MHz): Table I 참조.

실험결과 및 고찰

EtOAc extract에서 분리된 4종의 화합물중 화합물 V, VI, VII은 Liebermann-Burchard test에서 양성을 나타내었다. 화합물 V, VI은 mass spectra에서 12번 위치의 이중결합에 기인하는 전형적인 retro-Diels-Alder(R.D.A.) 반응에 의해 생성된 fragment ion들이 각각 나타난다.³⁾

화합물 V는 1H -NMR spectrum에서 5개의 angular methyl기가 singlet signal로 나타나며 2개의 methyl기가 각각 doublet으로 나타나고, H-18 proton이 δ 2.63 ppm에서 doublet으로 나타나므로 urs-12-ene계열의 triterpenoid화합물임을 알 수 있다.^{4,5)} 그리고 δ 3.40 ppm과 δ 4.10 ppm에서 나타나는 2개의 oxygenated methine proton 중 저자장에서 나타나는 proton의 splitting pattern 및 이 두 proton의 chemical shift 값의 차가 0.7 ppm임으로 그 결합방식이 $2\alpha, 3\beta$ -dihydroxy임을



compound VIIIa acacatin

알 수 있었다.⁶⁾ Mass 및 ¹³C-NMR spectral data를 통해 이 화합물이 2 α -hydroxy ursolic acid임을 확인하였다.⁵⁾ 화합물 VI은 ¹H-NMR spectrum에서 H-18 proton이 δ 3.08 ppm에서 singlet으로 나타나고 H-12의 olefinic proton이 δ 5.59 ppm에서 triplet으로 나타나고 있으므로 이 화합물은 19 α -hydroxy urs-12-ene 계열의 triterpenoid 화합물로 추정된다.⁴⁾

Mass spectrum을 통해 A/B ring 부분에 존재하는 2개의 hydroxy group을 추정할 수 있고, 두 carbonyl proton의 chemical shift 및 J value가 화합물 V와 완전히 일치하므로 화합물 V와 같이 그 결합 방식이 2 α , 3 β -dihydroxy임을 알 수 있었다.⁶⁾ Mass 및 ¹³C-NMR spectral data 결과를

종합하여 tormentic acid로 확인 하였다.⁵⁾

화합물 VII은 IR spectrum에서 1070 cm⁻¹ 및 1020 cm⁻¹에서 glycosidic C-O의 stretching vibration이 나타난다. 이 화합물을 산 가수분해하여 aglycon으로 β -sitosterol을 구성당은 glucose임을 TLC로 동정하였다. 또 ¹H-NMR spectrum에서 glucose의 anomeric doublet가 δ 5.21 ppm에서 J value가 6.9 Hz로 나타나는 것으로 보아 1 mole의 glucose가 β 결합하고 있음을 알 수 있으며⁷⁾ ¹³C-NMR spectral data를 통해 이 화합물이 β -sitosterol-3-O- β -D-glucopyranoside임을 알았다.⁸⁾

화합물 VIII는 Zn-HCl 및 Mg-HCl test에서 양성반응을 나타내며 IR spectrum을 보면 1640

cm⁻¹에서 α, β -unsaturated C=O, 1070, 1030 cm⁻¹에서 glycosidic C-O를 관찰할 수 있으므로 flavonoid배당체로 추정하였다. 화합물 VIII을 산 가수분해하여 aglycon(화합물 VIIIa)과 당 혼합물을 분리하여 얻었으며 당은 표준품과 TLC로 비교하여 glucose와 rhamnose임을 확인하였다. 이 aglycon의 MeOH용액에서의 UV spectrum은 268 nm(band II)와 328 nm(band I)에서 flavone의 전형적인 흡수를 나타내고 있다.⁹⁾ AlCl₃의 존재하에 측정하였을 때 bathochromic shift하였고 이 용액에 HCl을 가하였을 때 흡수 spectrum의 pattern이 변화하지 않았으므로 C-5에 OH기가 존재하며, NaOAc 존재하에 측정하였을 때 band II가 270 nm로 shift한 것으로 보아 이 분자의 A ring의 7번 위치에 hydroxyl group이 존재함을 추정할 수 있다.

화합물 VIIIa의 mass spectrum에서 ring C의 retro-Diels-Alder 반응에 기인하는 fragment ion이 m/z 152와 m/z 132에서 각각 나타난다.¹⁸⁾ 화합물 VIIIa의 ¹H-NMR spectrum에서 하나의 methoxyl group에 기인하는 singlet을 δ 3.86 ppm에서 확인할 수 있고, symmetric한 두쌍의 proton들에 의한 AB system의 특징적인 peak를 δ 7.10 ppm과 δ 8.02 ppm에서 각각 doublet($J=9.0$ Hz)으로 관찰할 수 있는 것으로 미루어 볼 때 methoxyl group은 B-ring의 C-4' 위치에 결합함을 알 수 있다. δ 6.85 ppm에서의 singlet과 δ 6.20 ppm과 δ 6.50 ppm에서 2개의 meta-coupled doublet($J=2.0$ Hz)들은 각각 3, 6, 8번 proton에 기인함을 알 수 있다. ¹³C-NMR spectral data를 통해 화합물 VIIIa는 acacetin임을 알 수 있었다.¹¹⁾ 화합물 VIII는 aglycon과는 달리 NaOAc 존재하에서 band II의 shift를 나타내지 않았으므로 당은 aglycon의 7번에 결합함을 추정할 수 있고 ¹H-NMR spectrum에서 δ 4.53 ppm과 δ 5.06 ppm에서 두개의 anomeric proton에 기인하는 흡수가 나타나고 ¹³C-NMR spectrum에서는 C-7이 upfield shift하는 것으로 보아 C-7 위치에 2 mole의 당이 결합하고 있음을 알 수 있으며, 각 signal의 해석으로 terminal rhamnose가 안쪽 glucose의 6번에

결합함을 알 수 있었다. 이상의 data는 linarin¹¹⁾의 data와 잘 일치 하였으므로 이 화합물을 linarin으로 동정하였다. 이 화합물들은 쉽사리에서는 처음 분리된 물질들이다.

결 론

쉽사리(*Lycopus lucidus*)의 전초를 추출하여 EtOAc extract와 n-BuOH extract로 부기 4종의 화합물을 분리하여 구조를 동정한 결과 2 α -hydroxy ursolic acid, tormentic acid, β -sitosterol glucoside 및 linarin으로 확인하였다.

(1991년 8월 31일 접수: 9월 15일 수리)

문 헌

1. 陳孝仁: 圖說 漢方 醫學 大辭典(中國 藥學 大全) 第2卷, 講談社, 東京, 182 (1980).
2. Do, J.C., Chai, J.Y. and Son, K.H.: *Kor. J. Pharmacogn.* 22, 166 (1991).
3. Sourgens, H., Winterhoff, H., Gumbinger, H.G. and Kemper, F.H.: *Planta Med.* 45, 78 (1982).
4. Yamagishi, T., Zhang, D.C., Chang, J.J., Mcphah, D.R., Mcphah, A.T. and Lff, K.H.: *Phytochem.* 27, 3213 (1988).
5. Numata, A., Yang, P., Takashi, C., Fujiki, R., Nabaе, M.M. and Fujika, E.: *Chem. Pharm. Bull.* 37, 648 (1989).
6. Kojima, H. and Ogura, H.: *Phytochem.* 28, 1703 (1989).
7. Mahato, S.B., Ganguly, A.N. and Sahu, N.P.: *Phytochem.* 21, 959 (1982).
8. Iribarren, A.M. and Pomilio, A.B.: *J. Nat. Prod.* 46, 752 (1983).
9. Mabry, T.J., Markham, K.R. and Thomas, M.B.: *The Systematic Identification of Flavonoids* p. 41 (1970).
10. Valesi, A. G., Rodriguez, E., Velde, G.V. and Mabry T.J.: *Phytochem.* 11, 2821 (1972).
11. Woo, E.H. and Woo, W.S.: *Arch. Pharm. Res.* 12, 223 (1989).