

## 골담초의 이소후라본 성분

金光洙·李景道·安丙浚\*\*

中國 吉林省 延吉市 延邊醫學院, \*\*忠南大學校 藥學大學

(Received September 3, 1992)

### Some Isoflavones from the Root of *Caragana microphylla* Lam

Guang-Zhu Jin, Jing-Dao Li and Byung-Zun Ahn\*\*

Yan Bian Medical College, Yanji-City, Jilin Province, China

\*\*Chungnam National University, College of Pharmacy, Taejon 305-764, Korea

**Abstract**—Five isoflavones were isolated from the root of *Caragana microphylla* Lam. and the structures have been identified by means of chemical and physical methods. The isoflavones are 7-hydroxy-4'-methoxyisoflavone(formononetin), formononetin-7-O- $\beta$ -glucoside(ononin), 7-hydroxy-3', 4'-methylenedioxyisoflavone(pseudobaptigenin), 7-O- $\beta$ -glucopyranosyloxy-3'-hydroxy-4'-methoxyisoflavone(calycosin-7-O- $\beta$ -gluc-oxide) and maackiain.

**Keywords** □ *Caragana microphylla*, calycosin-7-O- $\beta$ -glucoside, isoflavones.

본 연구에 사용한 골담초는 중국 길림성 황청현에서 수집한 식물로서 그 식물학적인 특성을 확인한 결과 좁골담초(*Caragana microphylla* Lam.)였다. 중국 길림성의 민간에서는 술로 담가서 골담, 골습등의 치료에 사용하고 있으며 또한 후두염에도 유효하다고 되어 있다. 한방에서 주로 사용되고 있는 골담초 즉 *C. chamlagu*에 대한 성분연구는 산발적으로 행하여져 있으나, 좁골담초를 포함한 *Caragana* 속식물에 대한 성분 및 약리학적 연구는 발견되지 않고 있다. 강등<sup>1,2)</sup>은 최근 *C. chamlagu*로부터 caraganoside등 사포닌 류를 분리한 바 있고, 김 등<sup>3-5)</sup>은 동 식물의 에테르 엑스가 항염효과를 보임을 관찰하였고, 작용물질을 분리하여 그 구조를 결정한 바 (+)- $\alpha$ -veniferin임을 보고하였다. 저자등(미발표)은 좁골담초의 분말을 석유에테르로 탈지한 후 얻은 초산에틸 분획이 강한 강압작용을 그리고 초산에틸추출후의 식물체로부터 얻은 메탄올 분획은 항염작용을 보이고 있음을 발견하였다. 저자등은 좁골담초 뿌리의 강압성분 연구의

일환으로 초산에틸 분획이 함유하는 성분을 분리하는 실험에 착수하였으며 여기에 지금까지 얻어진 몇가지 후라본성분에 대하여 보고하고자 한다.

#### 실험방법

**시약 및 기기**—IR-spectrophotometer는 Perkin-Elmer 1700, NMR-spectrometer는 Jeol Gx270, Mass spectrometer는 DMS-DX-300을 사용하였다. 사용한 모든 용매는 재증류하여 해당 비점에서 증류되는 부분을 받아 사용하였다.

**추출 및 분리**—1991년 10월 길림성 황청현 동신향에서 채취한 좁골담초의 뿌리를 벗겨 음건한 후 세절하고 그 중 50kg을 취하여 메탄올로 환류 추출하였다. 건조한 후 얻어진 메탄올 엑스(4.3 Kg)를 물에 현탁시키고 이것을 석유에테르로 추출하여 그 용해부분을 제거하고, 남은 수층은 초산에틸로 3회 추출하였다. 초산에틸용분을 건조하여 초산에틸 엑스 약 250g을 얻었다.

초산에틸 엑스 10g을 취하여 메탄올에 용해시키고

\*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

silica gel 10g을 가하여 혼합한 후 용매를 제거하고 10×40 cm의 silica gel 컬럼의 상층에 가한다. 이 컬럼을 클로로포름-메탄을 혼합액으로 극성을 높이면서 크로마토그래피를 하였다. 분획의 구분은 클로로포름/메탄올(10 : 1)로 전개된 silica gel판상에서 페놀반응과 자외선 색반응에 따라 행하였다. 클로로포름/메탄올(25 : 1)로써 R<sub>f</sub>치가 가장 높은 분획 I 약 500 mg, 동(10 : 1)로써 분획 II 약 110 mg을 얻어 메탄올에서 재결정하여 물질 III 75 mg을 얻었고, 동(8 : 1)로써 분획 III 약 350 mg, 동(6 : 1)로써 분획 IV를 얻어 메탄올에서 재결정하여 물질 V를 얻었다. 분획 I 500 mg은 다시 silica gel 컬럼에 걸어 초산에틸/석유에테르 혼합액으로 크로마토그래피를 실시하였다. 초산에틸/석유에테르(1 : 8)에서 얻은 물질을 재결정하여 물질 I 170 mg을, 동(1 : 5)에서 얻은 물질을 메탄올에서 재결정하여 물질 II 80 mg을 얻었다. 동(1 : 5)에서 얻은 물질을 메탄올에서 재결정하여 물질 II 80 mg을 얻었다. 또 분획 III 350 mg은 다시 silica gel 컬럼에 넣고 동일 용매조건으로 재 크로마토그래피를 실시하여 물질 IV 240 mg을 얻었다.

**물질 I**—무색결정; 융점 178~179°C; 원소분석: 이론치=C 67.60%, H 4.06 측정치=C 67.35%, H 5.24%; 분자량=284(MS-FAB), C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub>(284.0678); UV λ<sub>max</sub>(MeOH) nm : 310 nm(0.34), 286 nm(0.21), 209 nm(1.73); MS m/e(%) 84(M<sup>+</sup>, 100), 267(3.61), 255(2.94), 241(2.55), 215(2.72), 197(3.61), 175(9.53), 162(18.70), 151(11.54), 134(18.06), 104(5.54); IR ν<sub>max</sub><sup>KBr</sup> cm<sup>-1</sup>: 3560(OH), 1616 및 1595(aromatic), 1260(phenolic C-O), δ(ppm): 3.55-3.75[2H, qq, H-6(axial), H-6a], 4.32[1H, dd, J=9.9 Hz, 3.5 Hz, H-6(equatorial)], 5.47(1H, d, J=6.43, H-11a), 5.92(2H, d, J=7.42 Hz, -O-CH<sub>2</sub>-O-, unequivalent), 6.34(1H, d, J=2.47, H-4), 6.39(1H, s, H-10), 6.54(1H, dd, J=8.42 Hz, 2.47 Hz, H-2), 6.88(1H, s, H-7), 7.29(1H, d, J=8.41 Hz, H-1).

**물질 II**—무색결정; 융점 258~260°C; UV λ<sub>max</sub>(MeOH) nm : 249, 261, 305; IR ν<sub>max</sub><sup>KBr</sup> cm<sup>-1</sup> 3200(OH), 1636(C=O), 1040(O-CH<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ(ppm); 3.85(3H, s, OCH<sub>3</sub>), 6.91(2H, d J=9.5 Hz, H-3', H-5'), 7.01(1H, d, J=2Hz, H-8), 7.04(1H, dd, J=9 Hz, 2Hz, H-6), 7.49(2H, d, J=9Hz, H-2', H-6'), 7.96(1H, s, H-2), 8.12(1H, d, J=9Hz, H-5).

**물질 III**—무색결정; 264~265°C; IR ν<sub>max</sub><sup>KBr</sup> cm<sup>-1</sup> 3145

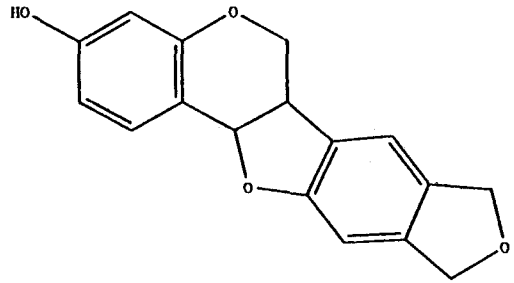


Fig. 1—Maackiain

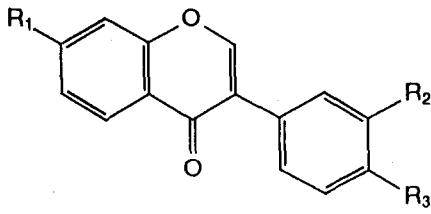
(OH): 1636(C=O), 1620, 1590(aromatic), 1242, 1045(O-CH<sub>2</sub>-O-); <sup>1</sup>H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>) δ(ppm): 6.03(2H, s, -O-CH<sub>2</sub>-O-), 6.91(1H, d, J=2 Hz, H-8), 6.96(1H, d, J=9 Hz, H-5'), 7.06(1H, dd, J=9 Hz, 2Hz, H-6), 7.09(1H, dd, J=9 Hz, H-6'), 7.14(1H, d, J=2Hz, H-2'), 7.98(1H, d, J=9 Hz, H-5).

**물질 IV**—무색결정; 융점 222°C; 원소분석(%) 이론치 C 61.40, H 5.12, 측정치 C 60.06, H 5.11; UV λ<sub>max</sub>(MeOH) nm: 252, 261, 302; MS(FAB) m/e: 431(M<sup>+</sup>+H), 268(M<sup>+</sup>-glucose); IR ν<sub>max</sub><sup>KBr</sup> cm<sup>-1</sup>: 3400(OH), 1634(C=O), 1621, 1560(aromatic), 1250(phenolic C-O), 1070-1015(sugar C-O); <sup>1</sup>H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>) δ(ppm): 3.90(3H, s, OCH<sub>3</sub>), 5.07(1H, d, J=7 Hz, anomeric H of glucoside), 7.01(2H, d, J=9.0 Hz, H-3', H-5'), 7.15(1H, dd, J=9 Hz, 2 Hz, H-6), 7.23(1H, d, J=2 Hz, H-8), 7.52(2H, d, J=9 Hz, H-2', H-6'), 8.04(1H, d, J=9 Hz, H-5), 8.41(1H, s, H-2).

**물질 V**—무색무정형 물질; UV λ<sub>max</sub>(MeOH) nm: 253, 263, 295; IR ν<sub>max</sub><sup>KBr</sup> cm<sup>-1</sup>: 3400(OH), 1631(C=O), 1618, 1503(aromatic), 1062, 1015(sugar C-O, O-CH<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>) δ(ppm): 3.82(3H, s, methoxy), 5.12(1H, d, J=7 Hz, anomeric H), 6.95(1H, d, J=2.3 Hz, H-8), 7.05(1H, d, J=8.7 Hz, 2.1 Hz, H-6'), 7.21(1H, d, J=2.5 Hz, H-2'), 8.08(1H, d, J=8.7 Hz, H-5), 8.38(1H, s, H-2).

### 실험결과 및 고찰

물질 I(Fig. 1)의 질량 분광스펙트럼에서 분자량에 해당하는 m/e=284가 주 피크로 나타났다. 페놀 양성반응과 적외선 스펙트럼의 3560 cm<sup>-1</sup>의 흡수로 보아 이물질은 페놀성물질임을 알 수 있다. UV 스



- COMP II ; R1=OH, R2=H, R3=methoxy
- COMP III ; R1=OH, R2, R3=dioxymethylene
- COMP IV ; R1=-O-glu, R2=H, R3=methoxy
- COMP V ; R1=-O-glu, R2=OH, R3=methoxy

Fig. 2—Isoflavones

펙트럼의 310 nm에서는 낮은 흡광계수를 보이는 흡수가 일어나는 것으로 보아 이 물질은 polyoxygenated benzene 환을 갖고 있음을 알 수 있다. NMR의 8.54 ppm에 중수소와 치환되는 OH기가 있으며 그 이하의 장에서는 흡수 피이크가 보이지 않는다. 이를 다른 말로 표현하면 이물질은 C-4에 카르보닐기와 C-5의 OH(>10 ppm)기간에 킬레이트성 수소를 갖는 통상의 후라본류에는 해당되지 않는다. 5.90 ppm에서는 dioxomethylene기가 있고, 5.47 ppm에 나타나는 이중선은 benzyl alcohol형 수소에 해당하고 이웃에 6 Hz로 카플링할 수 있는 수소하나를 갖고 있다. 3.5~3.75 ppm 및 4.20~4.28 ppm에서 에테르형 수소 3개가 나타나 있다. 이와같은 데이터를 근거로 문헌분석을 행한 결과 이물질의 분광학적 데이터가 *Sophora japonica*,<sup>6)</sup> *S. subprostrata*,<sup>7)</sup> *S. tomentosa*<sup>8)</sup> 및 *Trifolium pratense*<sup>9,10)</sup>에서 분리된 d-또는 l-maackiain의 그것과 같음을 알 수 있었다. 물질 II(Fig. 2)는 페놀 반응을 보이는 두번째 물질로써 1635 cm<sup>-1</sup>의 적외선 흡수대로 보아 후라본의 카르보닐기가 존재함을 쉽게 알 수 있다. NMR상에서 보면 7.96 ppm에 단일 피이크가 나타나는데 이는 이소후라본의 H-2에 특유한 것이며, 3.85 ppm에 메톡시기가, 6.91 및 7.49 ppm에 나타나는 dd로 보아 para-disubstituted benzene고리가 있음을 알 수 있다. 8.12 ppm의 이중선(9 Hz)는 이소후라본의 H-5에 해당하는 피이크로 그 짝지음상수가 9 Hz인 것으로 보아 오르토-카플링이 일어난 것을 쉽게 알 수 있다. 즉 H-6과 카플링 한 것이다. H-6이 7.04 ppm에서 메타-카플링한 dd로 나타난다. 이들 일련의 사실들을 종합하여 보면 C-7에 oxy기가

존재함을 쉽게 알 수 있다. 이들 데이터를 비교분석한 결과 물질 II는 갈근,<sup>11)</sup> 감초속식물<sup>12-14)</sup> 등으로부터 분리된 formononetin (7-hydroxy-4'-methoxyisoflavone)의 데이터와 동일함을 알 수 있었다.

물질 III도 페놀반응을 하며 그의 NMR상 8.28 ppm의 단일 피이크는 이소후라본의 H-2에 특유한 것이다. 7.98 ppm에 나타나는 J=9.02 Hz의 이중선은 물질 2의 경우와 마찬가지로 H-5에 해당되고 그 카플링 대상은 H-6임을 알 수 있다. 물질 II의 경우와 마찬가지로 C-7에 oxy기가 있음이 확실하다. 6.03 ppm의 단일 피이크는 2개의 수소에 해당하고 이는 dioxymethylene기임에 틀림없다. 이 데이터들은 *Trifolium pratense*<sup>15)</sup>에서 분리된 pseudobaptigenin의 NMR 데이터와 같았다.

물질 IV는 그 자외선 흡수의 모양[(261 nm,305(sh) nm)]으로 판단하면 물질 II의 그것과 같은 발색단을 갖고 있음을 알 수 있다. 추출용매에 대한 용해도와 silica gel컬럼상의 성질로 보아 이 물질은 물질 II보다 고극성임을 쉽게 알 수 있다. NMR상의 3.0 ppm~3.80 ppm 범위와 5.07 ppm에서 한 단위의 당의 존재를 인정할 수 있었다. 물질을 가수분해(2% 염산성 에탄올 용액에서 30분간 환류)하고 TLC비교를 행한 결과 아글리콘은 물질 II와 같고 당부분은 포도당임을 확인할 수 있었다. NMR상의 5.07 ppm의 피이크 7 Hz의 coupling constant를 보이는 것으로 보아 당은 β형으로 결합되었음을 알 수 있다. 종합하면 이물질은 葛花<sup>16)</sup> 및 *Wistaria floribunda*<sup>17)</sup>에서 분리된 formononetin 7-O-β-glucoside(omonin)임이 틀림없다.

물질 V의 자외선 흡수대를 보면 263 nm, 295 nm (sh)로 이는 이소후라본의 일반적 흡수모양에 속한다. 이물질은 적외선 흡수의 3400 cm<sup>-1</sup> 부위에 강한 OH 신축이 나타나는 것으로 보아 배당체일 가능성이 크다. NMR상의 피이크 모양은 dioxymethylene부분을 제외하고는 대체적으로 물질 III의 그것과 같다. 즉 8.38 ppm의 단일 피이크는 이소후라본에 특유한 H-2에 해당하며, 8.08 ppm의 이중선(9.1 Hz)은 7-hydroxyisoflavone에 특유한 피이크모양이다. 이 물질은 페놀반응을 나타내는 것으로 보아 구조중에 페놀기가 있으며, 3.82 ppm에 메톡시기가 있다. NMR이 물질 III과 유사한점으로 보아 B-고리의 치환상태가 물질 III의 그것과 유사함을 알 수 있다. 즉 B-고리에 3'와 4' 위치에 OH, 메톡시기가 존재함을 추측할 수 있다.

아세틸화한 물질의 NMR을 보면 7.21 ppm의 H-2'는 8.08 ppm으로 이동하는 것으로 보아 C-3'상에 OH가 결합되어 있다. 이와같은 아세틸화이동으로 보아 B-고리는 3'-hydroxy-4'-methoxy기로 치환되어있음이 확인되었고, 동시에 당의 결합위치는 C-7의 OH인것도 확인되었다. 이 물질을 가수분해하여 확인 한바 당 부분은 포도당이 있으며, 아글리콘부분은 *Trifolium pratense*에서 분리된 calycosin의 NMR 데이터와 동일한 데이터를 나타내었다. 물질 V의 NMR상 5.12 ppm의 피이크는 당의 아노머 수소의 해당하며 그 짝지음 상수가 7 Hz임으로  $\beta$  결합을 하고 있다.

결론적으로 이 물질은 calycosin-7-O- $\beta$ -glucoside으로 현재까지의 문헌에서 발견되지 않았다.

여기서 분리된 7-hydroxyisoflavone들의 NMR상의 특성은 H-2의 화학적이동이 용매의 성질에 따라 차이가 많이 난다는 것이다. 즉 formononetin-7-O- $\beta$ -glucoside를 DMSO에 용해시켜 NMR을 얻어 보면 H-2는 8.30 ppm에, 그리고 그의 트리메틸실릴화 물질을  $CCl_4$ 을 용매로 하는 경우 7.9 ppm에 나타난다. DMSO의 이와같은 상자기성 효과는 isoflavone인 pseudo-baptigenin의 H-2, flavone인 hymenoxin의 H-3에서도 나타난다.<sup>18)</sup> hymenoxin의 H-3인 경우  $CCl_4$ 에서 6.30 ppm, DMSO에서는 6.85 ppm의 화학적 이동을 보인다. 이와같은 용매효과는 보다 체계적으로 연구되어야 할 것이다.

최근 Yamashita<sup>19)</sup> 등은 genistein, orobol등 이소푸라본오이드가 topoisomerase II를 m-AMSA, VP-6 등 기존 항암제와 비교될 정도로 *in vitro* 저지작용을 보인다고 보고하고 있어서 이소푸라본의 약화학적연구에 흥미를 불러이르키고 있다.

## 결 론

좁골담초(*Caragana microphylla* Lam.)의 뿌리로 부터 5종의 이소푸라본 화합물을 분리하여, 화학적 및 물리적방법으로 그 구조를 결정한 바 다음과 같은 물질임을 확인하였다; Maackiain, 7-hydroxy-4'-methoxyisoflavone(formononetin), formononetin-7-O- $\beta$ -glucoside(ononin), 7-hydroxy-3', 4'-methylenedioxyisoflavone(pseudobaptigenin) 및 7-O- $\beta$ -glucopyranosyloxy-3'-hydroxy-4'-methoxyisoflavone(calycosin-7-O- $\beta$ -glucoside).

Isoflavone의 NMR 스펙트럼상 H-2는 사용용매에 따라 그 화학적이동이 달랐다. 즉 물질 IV의 trimethylsilyl ether를 사염화탄소를 용제로 사용하는 경우 H-2는 7.9 ppm, 천연물자체를 DMSO에 녹여 얻은 스펙트럼에서는 8.30 ppm에서 나타났다.

## 감사의 말씀

물질 II, III 및 V의 FAB MS 스펙트럼을 촬영해 주신 충북대학교 약학대학 문동철, 이용문 양교수와 식물을 확인해주신 충남대학교 약학대학 배기환 교수께 감사드립니다.

## 문 헌

- 1) Lee, Y. B., Yoo, S. J., Kim, J. S. and Kang, S. S.: Saponins from the root of *Caragana chamlagu*. *Kor. J. Pharmacogn.*, **21**, 193-194(1990).
- 2) Lee, Y. B., Yoo, S. J., Kim, J. S. and Kang, S. S.: Triterpenoid saponins from the root of *Caragana sinica*. *Arch. Pharm. Res.*, **15**, 62-68(1992).
- 3) Kwak, J. H. and Kim, I. H.: Study on the antiinflammatory activity of *Caragana chamlagu* Lamarck. *Kor. J. Pharmacogn.*, **5**, 179(1974).
- 4) Sung, H. K. and Kim, I. H.: Studies on the sterols of *Caragana chamlagu* Lamarck. *Yakhak Hoeji* **22**, 219(1978).
- 5) Kitanaka, S., Ikezawa, T., Yasukawa, K., Yamanouchi, S., Takido, M. Sung, H. K. and Kim, I. H.: (+)-a-Veniferin, an antiinflammatory compound from *Caragana chamlagu* root. *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 432-435(1990).
- 6) Komatsu, M., Yokoe, I. and Shirataki, Y.: Studies on the constituents of *Sophora species*. X. Constituents of the root of *Sophora japonica* L. *Yakugaku Zasshi* **96**, 254(1976).
- 7) Namba, T.: *Colored Illustration of Wakan-Yaku* I. II., Hoikusha Publishing Co., LTD, Japan (1980).
- 8) Komatsu, M., Yokoe, I. and Shirataki, Y.: Studies on the constituents of *Sophora species*. XII. Constituents of the aerial part of *Sophora tomentosa* L. *Chem. Pharm. Bull.*, **26**, 1274(1978).
- 9) Higgins, V. J. and Smith, D. G.: Separation and

- identification of two pterocarpanoid phytoalexins produced by red clover leaves. *Phytochemistry* **62**, 235(1972).
- 10) Shibata, S. and Nishikawa, Y.: Constituents of Japanese and Chinese crude drugs. VII. Constituents of the roots of *Sophora subprostrata* and *Sophora japonica*. *Chem. Pharm. Bull.*, **11**, 167(1963).
  - 11) Kurihara, T. and Kikuchi, M.: Studies on the constituents of flowers. VI. Components of the flowers of *Pueraria thunbergiana* Benth. *Yakugaku Zasshi* **96**, 1486(1976).
  - 12) Mitscher, L. A., Park, Y. H., Omoto, S., Clark III, G. W. and Clark, D.: Antimicrobial agents from higher plants, *Glycyrrhiza glabra* L. *Heterocycles* **9**, 1533(1978).
  - 13) Elgamal, M. H. A. and Fayez, M. B. E.: Isolation of formononetin from the roots of *Glycyrrhiza glabra* collected locally. *Indian J. Chem.*, **10**, 128 (1972).
  - 14) Saitoh, T., Noguchi, H. and Shibata, S.: Chemical studies on the oriental plant drugs. XLIV. A new isoflavone and the corresponding isoflavones of licorice root. *Chem. Pharm. Bull.*, **26**, 144(1978).
  - 15) Biggs, D. R. and Lane, G. A.: Identification of isoflavones calycosin and pseudobaptigenin in *Trifolium pratense*. *Phytochemistry* **17**, 1683(1978).
  - 16) Kurihata, T. and Kikuchi, M.: The constituents of the essential oils from *Lamium purpureum* L. *Yakugaku Zasshi* **96**, 1388(1976).
  - 17) Tanaka, I. Ohsaki, K. and Takahashi, K.: Constituents of medicinal plants. XV. Constituents of the bark and wood of *Wisteria floribunda*. *Yakugaku Zasshi* **96**, 1388(1975).
  - 18) Mabry, T. J., Markham, K. R. and Thomas, M. B.: *The Systematic Identification of Flavonoids*, Springer-Verlag, New York, "Heidelberg", Berlin, pp. 291, 320-321(1970).
  - 19) Yamashita, Y., Kawada, Sz and Nakano, H.: Induction of mammalian topoisomerase II dependent DNA cleavage by nonintercalative flavonoids, genistein and orobol. *Biochem. Pharmacol.*, **39**, 737-744 (1990).