

## 꿀담초근의 Lipid성분에 관한 연구

조영경 · 이명환 · 강현모\* · 이한구\* · 강삼식\*\*

서울여자대학교 화학과 · 중외제약 종합연구소\* · 서울대학교 천연물과학연구소\*\*

### Acylglucosyl Sterols from the Roots of *Caragana chamlagu*

Young-Kyung Cho, Myung Whan Lee, Hyun Mo Kang,\*

Han Koo Lee\* and Sam Sik Kang\*\*

Department of Chemistry, Seoul Woman's University, Seoul 139-242,

\*Choongwae Research Laboratory, Choongwae Pharma Corporation,

Kyungki 445-970 and \*\*Natural Products Research Institute,

Seoul National University, Seoul 110-460, Korea

**Abstract**—A mixture of acylglucosyl sterols together with  $\beta$ -sitosterol,  $\beta$ -sitosterol 3 $\beta$ -O-glucoside and fatty acids was isolated from the roots of *Caragana chamlagu* as their acetate forms and the structure elucidated by chemical and spectroscopic means. The major acylglucosyl sterol was  $\beta$ -sitosteryl 3-O-[6'-O-oleoyl]- $\beta$ -D-glucopyranoside while the minor components were 6'-O-palmitoyl- and 6'-O-stearoyl- $\beta$ -D-glucosyl sitosterol congeners. The isolation and structure elucidation of these acylglucosyl sterols are reported for the first time from the genus *Caragana*.

**Keywords**—*Caragana chamlagu* · Leguminosae · acylglucosyl sterols ·  $\beta$ -sitosterol 3-O-[6'-O-oleoyl]- $\beta$ -D-glucopyranoside ·  $\beta$ -sitosterol 3 $\beta$ -O-glucoside · fatty acids

꿀담초 [*Caragana chamlagu* Lamarck (Syn. *C. sinica* Redher)]는 콩과식물로서 우리나라 각지에 야생하고 있는 목본식물로, 이 식물의 뿌리는 꿀담초근(*Caraganae Radix*)으로 불리우며 민간에서 신경통, 류머티즘, 편두통, 관절염 등의 치료약으로 사용되어온 생약이다.<sup>1)</sup> 이 생약의 성분에 관해서는 sterol,<sup>2)</sup> glyceride 및 항염증 작용을 갖는 유효성분인 (+)- $\alpha$ -viniferin등<sup>3)</sup>이 보고 되었을 뿐이다. 저자들은 이 생약의 BuOH 분획에서 4종의 saponin을 처음으로 분리하여 그 화학구조를 구명하여 보고한바 있다.<sup>4)</sup> 한편 Kitanaka 등은 이 생약의 hexane extract가 mouse의 carrageenin에 의한 부종을 억제한다고 보고한 바 있으므로<sup>3)</sup> 이분획의 성분을 구명하고자 본 실험을 착수하여 주성분인 수종의 지질성분을

밝혔으므로 그 결과를 보고한다.

### 실험방법

**실험재료**—본 실험에 사용한 꿀담초근은 1989년 서울 경동시장에서 구입하여 감정후 사용하였다.

**기기—용접**은 Mitamura-Riken의 미량용접 측정기를 사용하여 측정하였으며 보정하지 않았다 IR은 Perkin-Elmer 283B, <sup>1</sup>H-NMR은 Varian FT-80A (80MHz), MS는 Hewlett Packard 5985B GC/MS, GC는 Hewlett Packard 5840A를 사용하여 측정하였다.

**추출 및 분리**—건조한 꿀담초근 2.2kg을 세절하여 MeOH로 수욕상에서 4시간씩 5회 반복하

여 추출하고, 이 추출액을 합하여 감압하에서 용매를 완전히 제거해서 적갈색의 MeOH extract를 얻었다. 이 MeOH extract에 물을 가한 후 n-hexane을 가하고 진탕해서 n-hexane fraction을 얻고, 이 n-hexane 가용부(32.4 g)를 CHCl<sub>3</sub>-MeOH로 용해시키고 소량의 silica gel에 흡착시켜 건조한 후, 이 분말을 SiO<sub>2</sub> column에 넣고 CHCl<sub>3</sub>-MeOH (gradient, 0→11%) 및 MeOH 용매로 용출시켜 34개 (E<sub>001</sub>-E<sub>034</sub>)의 subfraction을 얻었다.

Subfraction E<sub>005</sub> (1.6 g)를 SiO<sub>2</sub> column을 사용하여 n-hexane-EtOAc (7:1) 용매로 용출시켜 화합물 1을 얻었다.

Subfraction E<sub>015</sub> (1.4 g)를 SiO<sub>2</sub> column을 사용하여 n-hexane-EtOAc (7:1) 용매로 용출시켜 화합물 2를 얻었다.

Subfraction E<sub>018</sub> (1.2 g)을 SiO<sub>2</sub> column을 사용하여 n-hexane-EtOAc (5:8) 용매로 용출시켜 11개 (E<sub>101</sub>-E<sub>111</sub>)의 fraction으로 나누었다. 이 중 E<sub>105</sub>를 SiO<sub>2</sub> column을 사용하여 CHCl<sub>3</sub>-MeOH (30:1) 용매로 용출시켜 얻은 fraction 가운데, E<sub>202</sub>를 다시 SiO<sub>2</sub> column을 사용하여 benzene-EtOAc (2:3) 용매로 용출시켜 E<sub>304</sub>를 얻었다. E<sub>304</sub>를 건조하고 CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>가 용해된 ether 용액을 소량 가한 후 실온에서 1일간 방치하여 methylation시켰다. 이를 농축해서 건조시키고 SiO<sub>2</sub> column을 사용하여 n-hexane-EtOAc (9:5, 8:5, 7:5, 5:5) 용매로 용출시켜 16개 (E<sub>401</sub>-E<sub>416</sub>)의 fraction을 얻었다. 이 fraction중 methylation 시킨다음 TLC상에 R<sub>f</sub>치의 변화가 없는 E<sub>412</sub>에 pyridine과 acetic anhydride를 동량 가해 수욕상에서 30분간 가열하여 acetylation시키고 반응액을 질소 기류하에서 건조하여, 이를 다시 SiO<sub>2</sub> column을 사용해서 n-hexane-EtOAc (2:1) 용매로 용출시켜 화합물 3 acetate를 얻었다.

Subfraction E<sub>025</sub> (1.1g)를 건조시켜서 pyridine과 acetic anhydride를 동량 가해 수욕상에서 1시간 가열하여 acetylation 시키고, 여기에 열음물을 넣어 여과시켜 얻은 갈색잔사를 건조시켜서 SiO<sub>2</sub> column을 사용하여 n-hexane-EtOAc (7:1) 용매로 용출시켜 화합물 4 acetate를 얻었다.

화합물 1—MeOH로 재결정을 실시하여 무색

침상결정을 얻었다. mp 138~140°,  $[\alpha]_D^{25} = -36.5^\circ$  (c=0.2, CHCl<sub>3</sub>). 화합물 1은 표준품과 직접적으로 대조 (<sup>1</sup>H-NMR, MS, IR)하여 sterol의 혼합물임을 확인하였으며 GC를 실시한 결과 그 조성은  $\beta$ -sitosterol, campesterol 및 stigmasterol이 각각 84.5%, 8.9% 및 6.6%의 면적비로 혼합되었음을 알았으며 이 결과는 GC/MS에 의해서도 확인할 수 있었다.

화합물 2—IR,  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$  (cm<sup>-1</sup>): 1712, 1432, 1300; 940 (COOH dimer) 1470, 1380 (CH<sub>3</sub>), 1435 (CH<sub>2</sub>CO), 720 [(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>]; <sup>1</sup>H-NMR, (80MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 0.87 (3H, t-like, J=5.5Hz, CH<sub>3</sub>), 1.23 [s, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>], 2.00 (ca 2H, CH<sub>2</sub>CH=), 2.34 (2H, t, J=7.1Hz, CH<sub>2</sub>CO), 5.34 (ca 1H, t-like, J=5Hz, —CH=CH—); MS (30eV), m/z (rel. int.): 396 (0.8), 368 (1.2), 340 (1.8), 312 (0.6), 284 (2.2), 282 (0.5), 270 (0.7), 256 (19.1), 228 (1.2).

화합물 2의 methylation—화합물 2에 ethereal CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>를 가한후 실온에서 1일간 방치하여 methylester를 얻었다.

<sup>1</sup>H-NMR, (80MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 0.84 (3H, t-like, J=5Hz, CH<sub>3</sub>), 1.23 [s, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>], 1.98 (ca 2H, m, CH<sub>2</sub>-CH=), 2.26 (2H, t, J=7.2 Hz, CH<sub>2</sub>CO), 3.62 (3H, s, COOCH<sub>3</sub>), 5.31 (1H, t-like, J=5Hz, —CH=CH—).

이 methylester를 GC를 실시하여 주성분이 palmitic acid (56.5%), oleic acid (23.8%) 및 stearic acid (13.1%)이며 이들 지방산 이외에도 미량의 myristic acid (0.2%), heptadecanoic acid (2.3%), arachidic acid (1.5%), behenic acid (1%), lignoceric acid (0.7%) 및 cerotic acid (0.9%)가 혼합되어 있음을 확인할 수 있었다. 이들 미량성분의 확인은 GC/MS를 실시하여 확인하였고 주성분은 GC/MS 이외에도 표준품과 직접적으로 대조하여 이를 확정하였다.

[GC 측정조건] column: OV-101 capillary column (25 m), column temp.: 160°→280° (10 min), rate: 5°/min, chart speed: 0.5 cm/min, carrier gas: He (12 ml/min), detector: FID.

화합물 3 acetate—mp 107~109°,  $[\alpha]_D^{25} = -20^\circ$  (c=0.17, CHCl<sub>3</sub>); IR,  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$  (cm<sup>-1</sup>): 1755

(ester), 1660 (C=C), 1440, 1380 (CH<sub>3</sub>), 1234 (OAc), 1055, 1040 (glycosidic C-O), 718 [(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>]; <sup>1</sup>H-NMR, (80MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 0.67 (3H, s, 18-CH<sub>3</sub>), 0.98 (3H, s, 19-CH<sub>3</sub>), 1.25 [s, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>], 1.98, 2.00, 2.02 (each 3H, s, OAc), 2.30 (2H, t-like, J=6.9Hz, CH<sub>2</sub>CO), 3.70 (2H, m, H-5', H-3), 4.06 (1H, dd, J=12.1, 2.8Hz, H-6'), 4.29 (1H, dd, J=12.1, 4.4Hz, H-6'), 4.57 (1H, d, J=7.5Hz, H-1'), 4.93 (1H, t, J=7.5Hz, H-2'), 5.02 (1H, t, J=7.5Hz, H-4'), 5.11 (1H, t, J=7.5Hz, H-3'), 5.33 (ca 2H, m, H-6, -CH=CH-); MS (30eV), *m/z* (rel. int.): 555 [stearoyl glucosyl (OAc)<sub>3</sub><sup>+</sup>] (1.2), 553 [oleoyl glucosyl (OAc)<sub>3</sub><sup>+</sup>] (2.9), 527 [palmitoyl glucosyl (OAc)<sub>3</sub><sup>+</sup>] (1.6), 433 [553-2HOAc]<sup>+</sup> (1.0), 414 [aglycone of sitosterol]<sup>+</sup> (1.3), 412 [aglycone of stigmasterol]<sup>+</sup> (1.1), 399 [414-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (3.0), 397 [412-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (52.3), 396 [414-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (100.0), 394 [412-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (10.4), 382 [400-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (8.3), 381 [414-(H<sub>2</sub>O+CH<sub>3</sub>)]<sup>+</sup> (5.6), 379 [412-(H<sub>2</sub>O+CH<sub>3</sub>)]<sup>+</sup> (0.8), 367 [400-(H<sub>2</sub>O+CH<sub>3</sub>)]<sup>+</sup> (0.8), 289 [glucosyl (OAc)<sub>3</sub><sup>+</sup>] (1.5), 288 [414-(C<sub>7</sub>H<sub>11</sub>O+CH<sub>3</sub>)]<sup>+</sup> (2.7), 275 [414-C<sub>9</sub>H<sub>15</sub>O]<sup>+</sup> (4.4), 273 [aglycone of sterol-side chain(SC)]<sup>+</sup> (1.5), 267 [C<sub>17</sub>H<sub>33</sub>C≡O]<sup>+</sup> (3.8), 265 [C<sub>17</sub>H<sub>33</sub>C≡O]<sup>+</sup> (4.7), 255 [aglycone of sterol-(SC+H<sub>2</sub>O)]<sup>+</sup> (8.0), 239 [C<sub>15</sub>H<sub>31</sub>C≡O<sup>+</sup> or C<sub>17</sub>H<sub>35</sub><sup>+</sup>] (4.9), 229 [glucosyl (OAc)<sub>3</sub><sup>+</sup>-HOAc] (3.0), 213 [aglycone of sterol-(SC+ring D+H<sub>2</sub>O)]<sup>+</sup> (2.9), 211 [C<sub>13</sub>H<sub>27</sub>C≡O<sup>+</sup> or C<sub>15</sub>H<sub>31</sub><sup>+</sup>] (1.2), 169 [glucosyl (OAc)<sub>3</sub><sup>+</sup>-2HOAc] (5.4), 159 (20.4), 127 [glucosyl (OAc)<sub>3</sub><sup>+</sup>-(2HOAc+CH<sub>2</sub>C=O)] (3.7), 109 (6.3), 81 (3.5).

**화합물 3 acetate의 alkali분해-화합물 3 acetate** 10 mg에 알콜성 1% NaOH 용액 50 ml 를 가해 수욕상에서 1시간 가열하고 농축한 후 ether을 가해 진탕하여 방치한 후 ether 가용부를 제거하였다. 수층에 d-HCl을 가해 산성으로 한후 ether을 가해 진탕하여 얻은 ether층을 무수망초로 탈수한 후 농축건조하고 CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>로 methylation시켜 얻은 methylester를 화합물 2의

methylester와 같은 조건으로 GC 및 GC/MS를 실시하여 oleic acid (63%), palmitic acid (20%), stearic acid (15%) 및 myristic acid (2%)를 각각 확인하였다.

수층은 계속해서 EtOAc로 추출한 후 농축하고 MeOH로 재결정해서 mp 289~292°의 백색무정형의 물질을 얻었다. 이 물질은 화합물 4와 직접적으로 대조해서 동일물질임을 확인하였다.

**화합물 4 acetate**-MeOH로 재결정하여 백색결정을 얻었다.

mp 166~170°, [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -22.8° (c=0.3, CHCl<sub>3</sub>); IR, ν<sub>max</sub><sup>KBr</sup> (cm<sup>-1</sup>): 1752, 1220 (OAc), 1630 (C=C), 1435, 1375, 1365 (CH<sub>3</sub>), 1060 (sh), 1050 (sh), 1035 (glycosidic C-O), 835, 792 (trisubstituted C=C); <sup>1</sup>H-NMR, (80MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 0.67 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 0.98 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.98, 2.00, 2.03, 2.06 (each 3H, s, OAc), 3.60 (2H, m, H-5', H-3), 4.07 (1H, dd, J=12.3, 2.8Hz, H-6'), 4.27 (1H, dd, J=12.3, 4.7Hz, H-6'), 4.58 (1H, d, J=7.5Hz, H-1'), 4.94 (1H, t, J=7.5Hz, H-2'), 5.03 (1H, t, J=7.5Hz, H-4'), 5.12 (1H, t, J=7.5Hz, H-3') 5.35 (1H, brd, J=3.4Hz, H-6); MS (30 eV), *m/z* (rel. int.): 624 [M<sup>+</sup>-2HOAc] (0.5), 564 [M<sup>+</sup>-3HOAc] (0.5), 414 [aglycone of sitosterol]<sup>+</sup> (0.6), 412 [aglycone of stigmasterol]<sup>+</sup> (0.8), 399 [414-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (2.0), 397 [412-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (53.8), 396 [414-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (100.0), 394 [412-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (8.8), 382 [400-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (10.1), 381 [414-(H<sub>2</sub>O+CH<sub>3</sub>)]<sup>+</sup> (7.5), 379 [412-(H<sub>2</sub>O+CH<sub>3</sub>)]<sup>+</sup> (0.7), 367 [400-(H<sub>2</sub>O+CH<sub>3</sub>)]<sup>+</sup> (0.8), 331 [glucosyl (OAc)<sub>4</sub><sup>+</sup>] (8.7), 303 [414-C<sub>7</sub>H<sub>11</sub>O]<sup>+</sup> (1.2), 301 [412-C<sub>7</sub>H<sub>11</sub>O]<sup>+</sup> (1.0), 289 [400-C<sub>7</sub>H<sub>11</sub>O]<sup>+</sup> (4.9), 288 [414-(C<sub>7</sub>H<sub>11</sub>O+CH<sub>3</sub>)]<sup>+</sup> (0.9), 275 [414-C<sub>9</sub>H<sub>15</sub>O]<sup>+</sup> (15.0), 274 [400-(C<sub>7</sub>H<sub>11</sub>O+CH<sub>3</sub>)]<sup>+</sup> (4.7), 273 [aglycone of sterol-side chain (SC)]<sup>+</sup> (2.1), 271 [glucosyl (OAc)<sub>4</sub><sup>+</sup>-HOAc] (15.5), 261 [400-C<sub>9</sub>H<sub>15</sub>O]<sup>+</sup> (1.9), 255 [aglycone of sterol-(SC+H<sub>2</sub>O)]<sup>+</sup> (17.1), 213 [aglycone of sterol-(SC+ring D+H<sub>2</sub>O)]<sup>+</sup> (5.2), 211 [glucosyl (OAc)<sub>4</sub><sup>+</sup>-2HOAc] (7.5), 169 [glucosyl (OAc)<sub>4</sub><sup>+</sup>-(2HOAc+CH<sub>2</sub>C=O)] (66.

1), 147 (12.0), 109 (glucosyl (OAc)<sub>4</sub>-(3HOAc + CH<sub>2</sub>C=O)] (20.6), 85 (6.4), 43 (8.3).

**화합물 4 acetate의 alkali분해**—화합물 4 acetate 10mg을 취한 후 알콜성 3% NaOH 용액 50 ml를 가하고 수욕상에서 3시간 반응시킨 후 MeOH를 제거하였다. 반응액에 H<sub>2</sub>O과 EtOAc를 가해 진탕한 후 방치하여 EtOAc층을 제거하였다. 수층에 d-HCl을 가해 산성으로 한후 EtOAc를 가해 진탕시켜 얻은 EtOAc층을 무수망초로 탈수한 후 농축하고 MeOH로 재결정을 반복하여 백색 무정형분말인 화합물 4를 얻었다. 이 화합물은 n-hexane 분획에 존재함을 TLC로 확인하였다.

mp 293~296°, [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -41.7° (c=0.2, pyridine); IR,  $\nu_{max}^{KBr}$  (cm<sup>-1</sup>): 3400 (OH), 1630 (C=C), 1460 (CH<sub>2</sub>), 1435, 1375, 1362 (CH<sub>3</sub>), 1070, 1020 (glycosidic C-O), 830, 790 (trisubstituted C=C); <sup>1</sup>H-NMR, (80MHz, CDCl<sub>3</sub>+CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 0.58 (3H, s, 18-CH<sub>3</sub>), 0.90 (3H, s, 19-CH<sub>3</sub>), 4.31 (1H, d, J=7Hz, H-1'), 5.26 (1H, br d, J=4Hz, H-6); MS (30eV), m/z (rel. int.): 414 (15.8), 412 (2.6), 400 (3.3), 396 (100.0), 273 (8.5), 255 (26.8), 175 (10.8), 14.7 (34.3), 133 (21.1), 85 (21.1).

**화합물 4의 산가수분해**—화합물 4 10 mg을 취해서 4 N HCl-50% dioxane (1:1) 용액 50 ml를 가하고 수욕상에서 4시간 가열한 후 반응액에 물을 가해 석출하는 침전을 여과하였다. 이 침전을 MeOH로 재결정하여 부색 침상결정을 얻었다. 이 화합물은 화합물 1과 동일 물질임을 직접 대조하여 확인하였다. 물층은 Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>로 중화시키고 여과해서 얻은 여액을 감압농축하여 TLC (precoated cellulose plate, solvent: pyridine-EtOAc-HOAc-H<sub>2</sub>O=36:36:7:21)를 실시해서 D-glucose를 확인하였다.

### 결과 및 고찰

콜담초에서 분리한 물질들을 극성이 증가하는 순서대로 화합물 1~4로 하였다. 이 중 화합물 3 및 4는 방해물질로 인해 순수분리를 할 수 없었으므로 이들 물질들이 함유된 분획을 acetylation

시켜 얻은 acetate를 chromatography를 실시해서 순수물질을 얻을 수 있었다.

화합물 1은 Liebermann-Burchard test에서 양성을 나타내며 이 화합물의 IR, <sup>1</sup>H-NMR 및 MS spectra를 통하여 sterol임을 추정할 수 있었다. 이를 표준품과 직접적으로 대조하여 확인할 수 있었으며 GC를 실시해서 이 화합물은  $\beta$ -sitosterol이 주성분이며 (84.5%) 소량의 campesterol (8.9%) 및 stigmasterol (6.6%)이 혼합된 혼합물임을 알 수 있었고 GC/MS에 의해서 이를 확인할 수 있었다.

Sung등<sup>2)</sup>의 보고에 의하면 콜담초의 sterol은 이들 3성분이외에도 cholesterol 및 brassicasterol이 함유되어 있다고 보고하고 있으나 본 실험에서 얻은 화합물 1에는 이들 sterol은 함유되어 있지 않음을 확인하였다.

화합물 2의 IR spectrum을 보면 1712, 1432, 1300 및 940cm<sup>-1</sup>에서 COOH dimer, 1470 및 1380 cm<sup>-1</sup>에서 CH<sub>3</sub>, 1435 cm<sup>-1</sup>에서 CH<sub>2</sub>CO 그리고 720 cm<sup>-1</sup>에서 (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>의 존재를 나타내는 흡수 band를 보이므로 이 화합물을 지방산으로 추정하였다.

이와같은 추정은 <sup>1</sup>H-NMR spectrum을 통해서 확인할 수 있었다. Methyl기에 해당하는 signal이 triplet로  $\delta$  0.87에서 나타났고, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>의 proton이  $\delta$  1.23에서 singlet로 나타났으며, 이외에도 double bond에 기인한 olefinic proton이  $\delta$  5.34에서 triplet로 나타난 것으로 불포화지방산이 함유되어 있음을 추정하였다.

이 화합물의 MS spectrum에서는 m/z 396 [CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>24</sub>COOH], 368 [CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>22</sub>COOH], 340 [CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>20</sub>COOH], 312 [CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>18</sub>COOH], 284 [CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>COOH], 282 [CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CH=CH(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>COOH], 270 [CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>15</sub>COOH], 256 [CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>COOH] 및 228 [CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub>COOH]에서 각각 cerotic, lignoceric, behenic, arachidic, stearic, oleic, heptadecanoic, palmitic 및 myristic acid의 molecular ion peak로 추정되는 fragment ion들이 나타나는 것으로 이들 성분의 존재를 추정할 수 있었다.

화합물 2를 methylation시켜서 얻은 methyl ester를 GC 및 GC/MS를 실시해서 분석한 결과

palmitic, oleic 및 stearic acid가 각각 56.5%, 23.8% 및 13.1%로 주성분임을 알았고, 이외에도 myristic, heptadecanoic, arachidic, behenic, lignoceric 및 cerotic acid가 각각 미량 함유되어 있는 혼합물임을 알았다.

화합물 3 acetate, mp 107~109°, 도 Liebermann-Burchard test 및 Molisch test에 양성반응을 나타내며, IR spectrum을 보면 1755 cm<sup>-1</sup>에서 ester, 1660 cm<sup>-1</sup>에서 double bond (C=C), 1440 및 1380 cm<sup>-1</sup>에서 CH<sub>3</sub>, 1234 cm<sup>-1</sup>에서 OAc, 1055 및 1040 cm<sup>-1</sup>에서 glycosidic C-O bond 그리고 718 cm<sup>-1</sup>에서 (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>의 존재를 나타내는 흡수 band를 보이는 것으로 보아 acylated steryl glycoside로 추정된다.<sup>5-7)</sup>

이 화합물의 <sup>1</sup>H-NMR spectrum을 보면 δ 0.67 과 δ 0.98에서 각각 angular methyl기에 기인한 singlet signal이 나타나고 δ 1.98, 2.00 및 2.02에서 각각 hexose의 acetoxy기에 의한 singlet signal이 나타나며, δ 1.25에서 long chain의 methylene기에 기인한 signal이 나타나는 것으로 증명이 되었다. 이외에도 당의 anomeric proton이 δ 4.57에서 J=7.5Hz의 doublet으로 나타나므로 이 당은 sterol의 3-OH와 β-결합하고 있음을 보여주고 있다. 또한 당의 methine 및 methylene proton들이 δ 3.7~5.11 사이에서 나타나고 있는데, 이는 steryl glucoside acetate<sup>8)</sup>와 완전히 일치하고 있으므로 당은 glucose로 추정하였다. 그리고 glucose의 H-6 methylene proton에 기인한 2개의 double doublet이 각각 δ 4.06 및 4.29에서 나타나는데 이는 이 위치에 지방산이 결합된 acylated steryl glucoside acetate의 문헌치와 완전히 일치하는 것으로 화합물 3에서도 지방산이 glucose의 6번 위치에 결합되어 있음을 알 수 있었다.<sup>5-7)</sup> 이 화합물을 alkali분해시켜서 mp 289~292°인 steryl glucoside와 지방산을 얻을 수 있었다. 이 steryl glucoside는 β-sitosteryl 3-O-β-D-glucopyranoside의 표준품<sup>9)</sup>과 직접 대조해서 완전히 일치하는 것으로 보아 그 화학구조를 결정할 수 있었으며, 지방산은 화합물 2에서와 같이 methylation시키고 GC 및 GC/MS에 의해 oleic acid (63%)가 주성분이며, 이 외에도 palmitic (20%), stearic (15%) 및 myristic acid

(2%)가 함유되어 있음을 알았다.

따라서 화합물 3의 화학구조는 β-sitosteryl 3-O-[6'-O-oleoyl]-β-D-glucopyranoside로 확정하였다. 이 외에도 화합물 3에는 화합물 1에서와 같이 β-sitosterol 외에 campesterol 및 stigmasterol이 미량 함유되어 있으며, oleic acid외에 palmitic, stearic 및 myristic acid가 소량 함유되어 있음을 MS 등으로 확인할 수 있었다.

Acylated steryl glucoside는 식물에 널리 분포하고 있는 지질성분중의 하나이다. 그러나 화합물 3에서와 같이 oleic acid가 주성분으로 이루어진 화합물은 드물며, 미량성분으로서 그 존재가 확인된 acylated steryl glucoside는 콩<sup>10)</sup>이나 인삼<sup>11)</sup> 등에서 분리되어 보고된 바가 있을 뿐이다.

화합물 4 acetate, mp 166~170°, 는 alkali로 deacylation 시키면 화합물 4로 되며, 이 물질은 이 식물의 n-hexane fraction에 존재함을 TLC로 확인하였다.

화합물 4, mp 293~296°, 는 Liebermann-Burchard test 및 Molisch test에 각각 양성반응을 나타내므로 steryl glycoside로 추정되었다. 따라서 이 물질을 산 가수분해시키면 sterol과 당은 glucose를 확인할 수 있었으므로 steryl glucoside임을 알았다. 산 가수분해시켜 얻은 sterol은 화합물 1과 완전히 일치함을 확인하였으므로 β-sitosterol에 미량의 campesterol과 stigmasterol이 함유되어 있음을 알았다. 화합물 4 acetate의 MS spectrum에서 가장 high mass region에서 나타나는 fragment ion은 m/z 624로, 이는 분자량에서 2 mole의 acetic acid가 탈리되어 생성된 ion임을 알았다. 화합물 1과 같이 β-sitosterol, stigmasterol 및 campesterol에 기인하는 fragment ion들이 각각 나타나고, 이 외에도 acetylglucosyl pyronium ion에 해당하는 ion peak가 m/z 331에서 나타나고 여기서 각각 acetic acid 및 acetic acid와 CH<sub>2</sub>C=O group이 탈리되어 생성된 ion들이 m/z 271, 211, 169 및 109 등에서 강하게 나타나고 있음을 보여주고 있다.<sup>12)</sup>

또한 <sup>1</sup>H-NMR spectrum은 화합물 3 acetate의 <sup>1</sup>H-NMR spectrum과 매우 유사하다. 다만 acyl proton에 해당하는 signal들이 화합물 4 acetate

의  $^1\text{H-NMR}$  spectrum에는 없을 뿐이므로 이 화합물의 화학구조는  $\beta$ -sitosteryl 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside임을 확인하였으며, 표준품과도 직접 대조하여 확인하였다.<sup>8,9)</sup>

## 결 론

콜담초(*Caragana chamlagu* Lamarck)근을 MeOH로 추출하여 얻은 MeOH extract를 계통분획해서 그 중 n-hexane fraction을 column chromatography하여 지질성분인 화합물 1~4를 얻었다. 이 중 화합물 3 및 4는 각각의 acetate로서 순수분리를 하였다. 이 화합물들의 화학구조를 화학적 및 분광학적 분석결과를 종합하여 다음과 같이 결정하였다.

1. 화합물 1은 mp 138~140°인 무색침상결정으로  $\beta$ -sitosterol, campesterol 및 stigmasterol의 혼합물로 결정하였다.

2. 화합물 2는 palmitic, oleic, stearic acid가 주성분이고, 그 외에 myristic, heptadecanoic, arachidic, behenic, lignoceric 및 cerotic acid가 함유된 지방산의 혼합물임을 확인하였다.

3. 화합물 3 acetate는  $\beta$ -sitosteryl 3-O-[6'-O-oleoyl]- $\beta$ -D-glucopyranoside acetate로 결정하였고, sterol 성분으로 campesterol 및 stigmasterol과 acyl 부분으로 palmitic, stearic 및 myristic acid가 함유되어 있음을 확인하였다.

4. 화합물 4는 mp 293~296°인 백색 무정형분말로  $\beta$ -sitosteryl 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside로 결정하였고, sterol 성분으로 campesterol 및 stig-

asterol 이 함유되어 있음을 확인하였다.

〈1992년 1월 8일 접수 : 2월 6일 수리〉

## 문 헌

1. Lee, S.J.: Korean Folk Medicine, Seoul, p.77 (1966).
2. Sung, H.K. and Kim, I.H.: *Yakhak Hoeji* 22, 219 (1978).
3. Kitanaka, S., Ikezawa, T., Yasukawa, K., Yamanoouchi, S., Takido, M., Sung, H.K. and Kim, I.H.: *Chem. Pharm. Bull.* 38, 432 (1990).
4. Lee, Y.B., Yoo, S.J., Kim, J.S. and Kang, S.S.: *Arch. Pharm. Res.* 15, 000 (1992).
5. Woo, W.S. and Kang, S.S.: *J. Pharm. Soc. Korea* 18, 203 (1974).
6. Geng, P.-W., Fukuyama, Y., Wang, R., Bao, J. and Nakgawa, K.: *Phytochem.* 27, 1895 (1988).
7. Guevara, A.P., Lim-Sylianco, C.Y., Dayrit, F.M. and Finch, P.: *Phytochem.* 28, 1721 (1989).
8. Kim, S.W., Chung, K.C., Son, K.H. and Kang, S.S.: *Kor. J. Pharmacogn.* 20, 76 (1989).
9. Kang, S.S., Kim, J.S., Kang, Y.J. and Han, H.K.: *Kor. J. Pharmacogn.* 21, 56 (1990).
10. Kiribuchi, T., Mizunaga, T. and Funahashi, S.: *Agric. Biol. Chem.* 30, 770 (1966).
11. Lin, T.-D. and Lin, M.-C.: *J. Chinese Chem. Soc.* 23, 107 (1976).
12. Budzikiewicz, H., Djerassi, C. and Williams, D.H.: *Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry*, Holden-Day, Inc., San Francisco, Vol. II, p.203 (1964).