

권백의 화학성분

신동인 · 김진웅*
서울대학교 약학대학

(Received October 10, 1994)

Chemical Constituents of *Selaginella tamariscina*

Dongin Shin and Jinwoong Kim*

College of Pharmacy, Seoul National University, San 56-1, Shinlim-dong Kwanak-ku, Seoul, 151-742, Korea

Abstract—The chemical constituents of *Selaginella tamariscina* were studied. From the *n*-hexane, chloroform and *n*-butanol soluble fractions, three compounds were isolated by chromatographic purification process. They were identified as lutein, 3 β -cholesterol and hinokiflavone by spectral analysis (IR, MS, UV, ¹H-NMR, ¹³C-NMR and DEPT). Lutein and 3 β -cholesterol were first isolated compounds from Selaginellaceae and hinokiflavone was a reported compound from this plant.

Keywords □ *Selaginella tamariscina*, Selaginellaceae, 3 β -cholesterol, lutein, hinokiflavone.

양치류(Pteridophyta)에 속하는 권백(卷柏) *Selaginella tamariscina*(Beauv.) Spring에 대한 성분연구 결과, 3종의 biflavonoid계열 화합물 즉, cryptomerin B, isocryptomerin, amentoflavone을 분리 보고한 바 있다.¹⁾ 본 연구에서는 前報에 이어 3종의 화합물을 추가로 순수하게 분리하였기에 이를 보고하고자 한다.

권백의 *n*-hexane, CHCl₃, *n*-BuOH층을 silica gel column chromatography법을 이용하여 분리한 결과, 3종의 화합물을 단리하였으며 이들 화합물들의 각종 이화학적 성질과 spectral data(IR, UV, MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR 등)를 종합한 결과, 그 구조를 3 β -cholesterol, lutein, hinokiflavone으로 결정하였다.

실험 방법

실험재료

실험재료는 경동시장에서 구입한 건조상태의 권백 *Selaginella tamariscina* 3.7 kg을 粗切하여 사용하였다.

*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

시약 및 기기

박층 크로마토그래피 판은 precoated TLC plates silica gel 60F₂₅₄(Merck Art. 5715), 컬럼 크로마토그래피용 실리카 겔은 Kiesel gel 60(230~400 mesh ASTM, Merck Art. 9385)를, vacuum 컬럼 크로마토그래피용 실리카겔은 TLC-Kiesel gel 60H(Merck Art. 11695)를 사용하였고, 융점은 Gallenkamp melting point apparatus, IR은 Perkin Elmer 1710 spectrometer, NMR은 JEOL GSX 400 NMR spectrometer 등의 기기를 사용하였고 실험에 사용된 모든 용매는 시약급 용매를 사용하였다.

추출 및 분획

추출—건조상태의 권백(3.7 kg)을 80% MeOH 3l 씩 30°C에서 5회 초음파 추출하여 추출액을 온시 여과한 후 감압농축을 거쳐 total 엑스(302 g)를 얻었고 이를 증류수로 현탁한 후, *n*-hexane으로 1l씩 5회 추출하여 *n*-hexane층(9.6 g)을, CHCl₃으로 1l씩 5회 여과하여 CHCl₃층(17 g)을, 남은 분획을 다시 *n*-BuOH로 1l씩 10회 추출하여 *n*-BuOH층(141.7 g)을 얻었고 남은 분획은 H₂O층(39 g)으로 간주했다.

분획—Hexane층은 hexane : EtOAc(40 : 1, v/v, 3 l)의 용매로 gradient silica gel column chromatography(4×112 cm)를 실시하여 각 분획을 250 ml씩 10개의 분획으로 나누었으며, CHCl₃층은 CHCl₃ : MeOH(20 : 1, v/v, 4 l)의 용매에서 gradient silica gel column chromatography(5×120 cm)을 실시하여 각 분획을 250 ml씩 10개로 분획하였다. BuOH층은 CHCl₃ : Me₂CO : AcOH(20 : 1 : 1, v/v)의 용매로 gradient silica gel column chromatography(6×120 cm)를 실시하여 각 분획을 15 ml씩 30개의 분획으로 나누었다.

Compound 1의 분리—*n*-hexane엑스 9.6 g을 *n*-hexane : EtOAc(40 : 1)를 전개용매로 하여 silica gel 컬럼 크로마토그래피(4×120 cm)로 분리하여 각 분획을 250 ml씩 10개의 분획으로 나누었다. 이 중 4번째 분획에서 생성된 침전물을 여과한 후 정제하여 침상 백색 결정 42 mg을 얻었다. mp: 148°C; IR ν_{\max} (KBr): 3400(OH), 2980, 2970, 2940, 2920, 1480(C=C), 1440, 1380, 1060, 1030, 980 cm⁻¹; ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 0.66(3H, s, 18-CH₃), 0.78(6H, d, *J*=6.8 Hz, 26, 27-CH₃), 0.85(3H, d, *J*=6.6 Hz, 21-CH₃), 0.99(3H, s, 19-CH₃), 3.50(1H, m, H-3), 5.29(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6) ppm; ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ : 37.20(C-1), 31.56(C-2), 70.75(C-3), 42.27(C-4), 140.73(C-5), 121.67(C-6), 31.86(C-7), 31.85(C-8), 50.08(C-9), 36.14(C-10), 20.04(C-11), 28.19(C-12), 42.21(C-13), 56.71(C-14), 22.77(C-15), 39.73(C-16), 56.09(C-17), 11.81(C-18), 19.35(C-19), 35.74(C-20), 18.67(C-21), 36.45(C-22), 23.70(C-23), 31.98(C-24), 27.97(C-25), 22.51(C-26), 22.77(C-27) ppm.

Compound 2의 분리—CHCl₃엑스 17 g을 CHCl₃ : MeOH(20 : 1)을 전개용매로 하여 silica gel 컬럼 크로마토그래피(5×120 cm)로 분리하여 250 ml씩 10개의 분획으로 나누었다. 이 중 4번째 분획 중에 anisaldehyde-H₂SO₄ 발색시약에 남색을 나타내는 물질을 정제하여 8 mg을 얻었다. mp: 180°C; IR ν_{\max} (KBr): 3400(OH), 2920, 1462(C=C), 1382, 1275, 1125, 1074, 745, 702 cm⁻¹; UV λ_{\max} (CHCl₃) (log ϵ): 427(4.63), 332(3.82), 275.5(4.08) nm; ¹H-NMR(CDCl₃, 400 MHz) δ : 0.83(3H, s, 10'-CH₃), 0.98(3H, s, 17'-CH₃), 1.05(6H, s, 16, 17-CH₃), 1.29(br.s, 3'-OH),

1.54(br.s, 3-OH), 1.61(3H, s, 18'-CH₃), 1.78(2H, ddd, *J*=2, 4, 12.5 Hz, H_{ax}-2, 2'), 1.72(3H, s, 18-CH₃), 1.89(3H, s, 19'-CH₃), 1.95(3H, s, 19-CH₃), 1.97(6H, s, 20, 20'-CH₃), 2.36(3H, m, H_{eq}-2, 2', 4, 6'), 3.98(1H, m, H-3), 4.22(1H, m, H-3'), 5.43(1H, dd., *J*=5, 15 Hz, H-7'), 5.52(1H, s, H-4'), 6.12(1H, d, *J*=16 Hz, H-7), 6.13(4H, m, H-8, 8', 10, 10'), 6.24(2H, d, *J*=10 Hz, H-14, 14'), 6.33(2H, d, *J*=16 Hz, H-12, 12'), 6.63(2H, d, *J*=10 Hz, H-15, 15'), 6.64(2H, d, *J*=16 Hz, H-11, 11'); ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ : 37.12(C-1), 48.42(C-2), 65.09(C-3), 42.55(C-4), 126.15(C-5), 137.56(C-6), 125.57(C-7), 138.49(C-8), 135.69(C-9), 131.29(C-10), 124.92(C-11), 137.56(C-12), 136.49(C-13), 132.57(C-14), 130.04(C-15), 28.72(C-16), 30.25(C-17), 21.62(C-18), 12.76(C-19), 12.81(C-20), 34.02(C-1'), 44.62(C-2'), 65.93(C-3'), 124.80(C-4'), 137.56(C-5'), 54.95(C-6'), 128.72(C-7'), 137.75(C-8'), 135.01(C-9'), 130.79(C-10'), 124.47(C-11'), 137.56(C-12'), 136.49(C-13'), 132.63(C-14'), 130.04(C-15'), 24.28(C-16'), 29.49(C-17'), 22.86(C-18'), 13.10(C-19'), 12.81(C-20') ppm.

Compound 3의 분리—10개의 부탄을 층의 분획 중에서 2번째 분획 21.6 g을 전개용매 CHCl₃ : Acetone : AcOH (20 : 1 : 1)를 이용하여 silica gel 컬럼 크로마토그래피(6×120 cm)를 실시하여 각 분획을 15 ml씩으로 하여 30개의 분획으로 나누었다. 이 중 20~30번째 분획에서 생성된 침전물을 정제하여 밝은 황색 분말 47 mg을 얻었다. mp>300°C; IR ν_{\max} (KBr): 3400(OH), 1658(C=O), 1610, 1580(C=C), 1560, 1500, 1430, 1380, 1360, 1290, 1240, 1170, 840 cm⁻¹; UV λ_{\max} (MeOH) (log ϵ): 336.6(5.27) nm; ¹H-NMR(400 MHz, DMSO-d₆) δ : 6.19(1H, d, *J*=1.95 Hz, H-6), 6.47(1H, d, *J*=1.96 Hz, H-8), 6.71(1H, s, H-3''), 6.84(1H, s, H-3), 6.93(2H, d, *J*=8.8 Hz, H-3''', H-5'''), 7.04(2H, d, *J*=8.28 Hz, H-3', H-5'), 7.95(2H, d, *J*=8.8 Hz, H-2''', H-6'''), 8.05(2H, d, *J*=8.8 Hz, H-2', H-6'), 8.29(1H, s, H-8''), 10.4(2H, br.s, 4'', 7''-OH), 12.88(1H, s, 5-OH), 13.19(1H, s, 5''-OH) ppm; ¹³C-NMR(100 MHz, DMSO-d₆) δ : 163.2(C-2), 104.0(C-3), 182.1(C-4), 161.6(C-5), 98.9(C-6), 164.3(C-7), 94.6(C-8), 157.4(C-9), 103.8(C-10), 124.2(C-1'), 128.4(C-

2'), 115.3(C-3'), 161.6(C-4'), 115.3(C-5'), 128.4(C-6'), 164.3(C-2''), 102.6(C-3''), 181.8(C-4''), 153.1(C-5''), 124.7(C-6''), 157.3(C-7''), 94.1(C-8''), 153.8(C-9''), 104.1(C-10''), 121.1(C-1'''), 128.6(C-2'''), 116.0(C-3'''), 160.7(C-4'''), 116.0(C-5'''), 128.6(C-6''') ppm.

실험결과 및 고찰

Compound 1은 ¹H-NMR에서 0.6~1.0 ppm 사이에 5개의 methyl peak, 5.0 ppm에서 1개의 double bond peak와 3.5 ppm의 hydroxyl peak의 존재 및 ¹³C-NMR상에서의 27개의 탄소수로 1개의 OH기와 double bond가 있는 sterol 계열임을 예상하여 LB test를 시행한 바, 적자색의 전형적인 steroid 양성 반응을 나타내었다.

¹H-NMR 상에서 0.66 ppm과 0.99 ppm의 methyl peak가 singlet으로 나타나 18, 19번의 axial methyl proton peak로 추정하였고, 0.78 ppm에 나타난 26, 27번 methyl기의 proton은 25번 methyl기의 proton에 의해 doublet(*J*=6.8 Hz)으로 나타났으며, 0.85 ppm의 methyl peak는 20번 위치의 proton에 의해 6.6 Hz의 doublet으로 나타나 20번 위치가 치환되어 있지 않는 형태임을 예상하였다. 이들 3개의 side chain에 위치한 methyl proton의 chemical shift가 완전 포화된 형태의 side chain의 chemical shift를 나타내어 side chain에 hydroxyl이나 double bond가 없는 포화된 steroid임을 알 수 있었다.²⁾

¹³C-NMR에서 44.0, 49.9 ppm에 나타난 2개의 4급 탄소는 그 chemical shift로 보아 주변에 hydroxyl기가 없는 10번과 13번 탄소임을 알 수 있고, 148.7 ppm의 4급 탄소 peak와 128.8 ppm의 3급 탄소 peak는 steroid핵의 5번과 6번 위치에 연결된 double bond의 chemical shift를 나타내어 3번 위치에 OH기가 붙어있는 cholest-5-en-3β-ol-으로 추정하였다.³⁾

MS spectrum상에서 *m/z* 368 (M-18), *m/z* 301 (M-85), *m/z* 275(M-111), *m/z* 273(M-113), *m/z* 231 (M-155) peak 등의 전형적인 3β-cholesterol의 MS pattern을 나타내었고 문헌상의 ¹³C-NMR data와 일치하였으며 표품과 비교하여 3β-cholesterol로 동정하였다(Fig. 1 참조).

Compound 2는 anisaldehyde-H₂SO₄발색시 진한 남색을 띠는 결정으로 ¹H-NMR에서 0~2 ppm 사이에

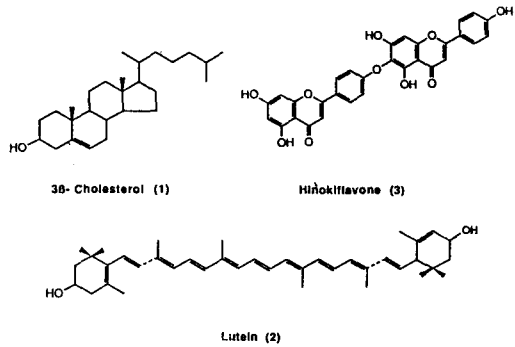


Fig. 1—The structures of isolated compounds (1~3) from *Selaginella tamariscina*.

10개의 methyl peak와 5~7 ppm사이에 14개의 proton peak를 나타내고 ¹³C-NMR 상에서 40개의 탄소수를 나타내며 MS spectrum에서 M⁺(*m/z*=568)에서 OH기가 탈락되어⁴⁾ 생성된 M⁺-92(*m/z*=458), M⁺-106(*m/z*=444)peak의 존재로 C₄₀-carotenoid 계열임을 예상하였다.

¹H-NMR에서 0.82 ppm에서 1.10 ppm사이에 4개의 methyl peak가 나타나는데 이는 6개의 isoprenoid가 all-*trans* 형태로 축합되어 형성된 linear형태 lycopene의 end dimethyl기들이 1.70 ppm 이하에서 나타나는 데 비해 이 물질은 저자장에서 peak가 나타나므로 cyclo-hexane end group이 양쪽에 있는 cyclo-carotenoid임을 추정할 수 있었다.⁵⁾ 0.83(3H, 16'-CH₃), 0.98(3H, 17'-CH₃)ppm에서 나타난 2개의 methyl peak들이 2개의 methyl기가 중첩되어 나타난 1.05 (6H, 16, 17-CH₃)ppm의 peak보다 고자장에서 나타나므로 이들 두 종의 dimethyl기들은 서로 다른 cyclohexane end group을 가지고 있음을 예상할 수 있었다.⁶⁾

6.65 ppm의 저자장 쪽에 별 다른 peak가 나타나지 않고 6.14 ppm(2H, H-8, 8'), 6.33 ppm(2H, H-12, 12')에서 나타난 두 peak의 coupling constant가 16 Hz로 나타나 side chain인 tetraene이 all-*trans* 형태로 결합되어 있음을 추정할 수 있었다.¹⁷⁾

6.12(d, H-7), 2.36(m, H_{eq}-2), 3.98(m, H-3)ppm 등의 peak들은 한쪽 end group이 β형으로 연결되어 있음을 알 수 있었으며 5.43(m, H-7'), 4.22(m, H-3), 5.52(s, H-4')ppm 등의 peak들은 side chain의 다른 한쪽이 ε형 결합을 하고 있음을 추정할 수 있었다.⁸⁾

¹³C-NMR에서 tertiary alcohol의 methine peak가

65.9(C-3')ppm과 65.1(C-3)ppm에서 나타나므로 hydroxyl기가 cyclohexane ring내에 존재함을 알 수 있었고 이들 두개의 peak와 cyclohexane ring내의 double bond peak(125.6, 126.0, 138.0 ppm)의 chemical shift를 종합하여⁹⁾ xanthophyll인 lutein [(3R, 3'R, 6'R)- β , ϵ -carotene-3, 3'-diol]의 ¹³C-NMR data를 비교한 바 일치하였다.¹⁰⁾ (Fig. 1 참조).

Compound 3는 전보에서 발표한 hinokiflavone type(I-4'-O-II-6) biflavonoid인 isocryptomerin, cryptomerin B와 거의 유사한 양상의 spectrum(IR, UV, ¹H-NMR, ¹³C-NMR)을 나타내나,¹¹⁾ 위의 두 물질의 각종 spectrum에서 나타난 methoxyl peak가 없으며, 그 외에 다른 치환기를 가지고 있지 않으므로 hinokiflavone으로 추정되어 문헌상의 hinokiflavone의 ¹H-NMR,¹²⁾ ¹³C-NMR¹³⁾ data와 비교한 바 일치하여 hinokiflavone으로 결정하였다(Fig. 1 참조).

감사의 말씀

이 논문의 연구는 서울대학교 약학대학 신의약품 개발연구센터의 지원으로 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

문헌

- 1) Shin D. and Kim, J.: Flavonoid constituents of *Seselinella tamariscina*, *Kor. J. Pharmacogn.* **22**, 207 (1991).
- 2) Rubinstein I, Goad L. J., Clague A. D. H. and Mulheirn L. J.: The 220 MHz NMR spectra of phyto sterol, *Phytochemistry* **15**, 195 (1976).
- 3) Reigh H. J., Jautelat M., Messe M. T., Weigert F. J. and Roberts J. D.: Nuclear magnetic resonance

spectroscopy, Carbon-13 spectra of steroids, *J. Am. Chem. Soc.* **91**, 7445 (1969).

- 4) Enzell C. R. and Francis G. W.: Mass spectrometric studies of carotenoids, *Acta Chem. Scand.* **22**, 1054 (1964).
- 5) Goodwin T. W.: *The Biochemistry of the Carotenoids*, 2nd Ed., Chapman and Hall, London, p.1 (1980).
- 6) Britton G. and Goodwin T. W.: *Carotenoid Chemistry and Biochemistry*, 1st Ed. Pergamon Press, Oxford, p. 107 (1982).
- 7) Pfander H., Gerspacher M., Rychner M. and Schwabe R.: *Key to Carotenoids* 2nd Ed, O. Straub, Birkhauser Verlag, Basel, p. 61 (1987).
- 8) Englert G., Moss B. O. and Weedon C. L.: Polycopene, a tetra-*cis* carotene with two hindered *cis* double bonds, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 545 (1979).
- 9) Buchecker R., Hamm P. und Eugster C. H.: Absolute Konfiguration von Xanthophyll(lutein), *Helv. Chim. Acta* **57**, 631 (1974).
- 10) Moss G. P.: Carbon-13 NMR spectra of carotenoids, *Pure and Appl. Chem.* **47**, 97 (1976).
- 11) Kawano N.: Chemical constituents of the plants of Coniferae and allied orders. XLVI. On the isolation of hinokiflavone from the leaves of *Cryptomeria japonica* D. Don. *Yakugaku Zasshi* **11**, 1647 (1960).
- 12) Chen F. C., Lin Y. M. and Liang C. M.: Biflavonyls from drupes of *Rhus succedanea*, *Phytochemistry* **13**, 276 (1974).
- 13) Markham K. R., Sheppard C. and Geiger H.: ¹³C-NMR studies of some naturally occurring amentoflavone and hinokiflavone biflavonoids, *Phytochemistry* **26**, 3335 (1987).