

흰투구꽃 지상부의 플라보노이드

황완균 · 오인세 · 이무택 · 김일혁
중앙대학교 약학대학

Flavonoids from the Aerial Part of *Aconitum jaluense* for. *album*

Wan Kyunn Whang, In Se Oh, Moo Taek Lee and Il Hyuk Kim
College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea

Abstract—For the investigation of medicinal resources in *Aconitum* species, the studies were carried out to search the less toxic constituents than *Aconitum* alkaloid in the aerial part of *Aconitum jaluense* for. *album* (Ranunculaceae). From the BuOH fraction of MeOH extract, three flavonoid compounds, hyperoside(1), kaempferol-3-O- β -D-galactopyranoside(2), kaempferol-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside(3) were isolated and identified on the basis of their physico-chemical properties, spectroscopic evidences (UV, IR, NMR and Mass etc.) and comparison with authentics, respectively.

Keywords—*Aconitum jaluense* for. *album* · Ranunculaceae · aerial part · hyperoside · kaempferol-3-O- β -D-galactopyranoside · kaempferol-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside

흰투구꽃¹⁾ *Aconitum jaluense* for. *album* (Ranunculaceae)는 십산지역에서 자라는 다년초로서 높이가 1m에 달하고 곧게 자라며, 잎은 호생하고, 꽃은 9월에 피며 백색으로 총상화서를 이룬다.

한국, 중국 및 일본에서는 *A. carmichaeli* 및 그 근연식물의 괴경을 부자(Aconiti Tuber)라 하여 옛날부터 사용하여 왔다.²⁾

부자(附子)는 신농본초경을 비롯하여 역대 본초서 및 한방의서³⁻⁵⁾ 중에 기재되어 있는 중요한 생약으로 강심, 해열, 진정, 진통, 신진대사 촉진 및 기능항진을 목적으로 사용되어 왔으며, 팔미지황환, 사역탕, 마황부자제신탕에 배합되는 중요한 생약이고 특히 한방에서 노인성치매에 치료약으로서 부자를 사용하고 있다.

*Aconitum*속에 대한 성분연구를 보면 1966년 Isawa 등⁶⁾이 *A. carmichaeli* 에서 aconitine,

hyaconitine 및 mesaconitine을 분리 보고하였고 1982년에는 Zang 등⁷⁾이 14-benzoylmesaconine, 15-hydroxyneoline 및 isodelphinine을, 그리고 Konno 등^{8,9)}이 1982년 talatizamine, 14-acetyl-talatizamine, senbusine A,B 및 higenamine을, Hikino 등¹⁰⁻¹²⁾은 1983년 hokbusine A,B, neoline, senbusine 및 ignavine을, 또 Kitagawa¹³⁾ 등은 1984년 isotalatizidine, karakoline 등을 분리보고 하였다.

한편 지금까지 분리 보고된 *Aconitum* 성분 대부분이 독성이 강하여 약으로서 사용할 경우에 여러가지 가공처리를 거친 후 사용하였는데 이러한 가공처리를 수치라하며 재래식 방법에 의한 수치부자는 그 수치과정에 대하여 정립이 되어 있지 않기 때문에 시행하는 사람에 따라 독성을 약화시키는 정도가 다르고 효능에도 차이가 있다. 그리고 수치방법에 따라 염부자, 명부

과, 담부편 및 포부자 등으로 분류¹⁴⁾하며 방법에 따른 현대약학적 연구로는 1984년 Kitagawa 등¹⁵⁾이 수치한 부자로 부터 aconitine, hypaconitine, mesaconitine, talatizamine, 14-acetyltalatizamine, isotalatizamine, karakoline, neoline, lipoaconitine 및 lipohypaconitine 등을 분리 보고하였고, 그 결과 부자의 주성분인 aconitine, hypaconitine, mesaconitine의 함량이 현저히 감소 하는 것으로 보아 aconitine, hypaconitine, mesaconitine에 의하여 독작용이 심하게 나타나 는 것을 알 수 있었다.

이에 저자 등은 현재 의학의 목적으로는 쓰이지 않고 있는 지상부의 약효성분 검색을 통하여 *Aconitum* alkaloid의 존재 유무를 검색함과 동시에 다른 약효 성분들의 함량을 검색하므로써 자원이 풍부한 지상부류의 약자원으로서의 가능성을 탐색하고자 본 연구를 실시하였다.

일차적으로 흰투구꽃 *A. jaluense* for. *album*의 지상부를 MeOH로 처리, 그 BuOH 분획에서 3종의 flavonoid 화합물을 분리하고 이들의 이화학적 실험, UV, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, Mass 등 기기분석의 spectral data 및 표품과의 비교실험을 통하여 compound 1은 quercetin-3-O-β-D-galactopyranoside(hyperoside), compound 2는 kaempferol-3-O-β-D-galactopyranoside, compound 3은 kaempferol-3-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside로 확인 동정하였으며, 이들 약효성분은 상기 흰투구꽃에서는 처음 분리, 동정한 것이다.

실 험 방 법

실험재료 및 기기—1993년 7월 강원도 광덕산 일대에서 채집하여 그 지상부를 음건, 세절한 후 사용하였고, 사용기기로는 Shimadzu IR-435, Varian Cary-3, Shimadzu GC-14A, Bruker AM-200(¹H-NMR, ¹³C-NMR), GC-MS/MS-DS, TSQ-700(EIMS), Jasco DIP 등이 이용되었다.

추출 및 분리—건조한 재료(1.8 kg)를 MeOH로 3회 반복추출하여 MeOH엑스 30 g을 얻은 후 수용액으로 하였다. 이어서 Et₂O로 탈지한 후 *n*-BuOH로 추출하여 엑스(20 g)를 만들고 MeOH

에 용해시켜 용출되는 부분만을 Sephadex LH-20 column에 loading 한후 H₂O와 MeOH의 비율을 조정하면서 chromatography 하여 fr. A→fr. C로 분획하였다.

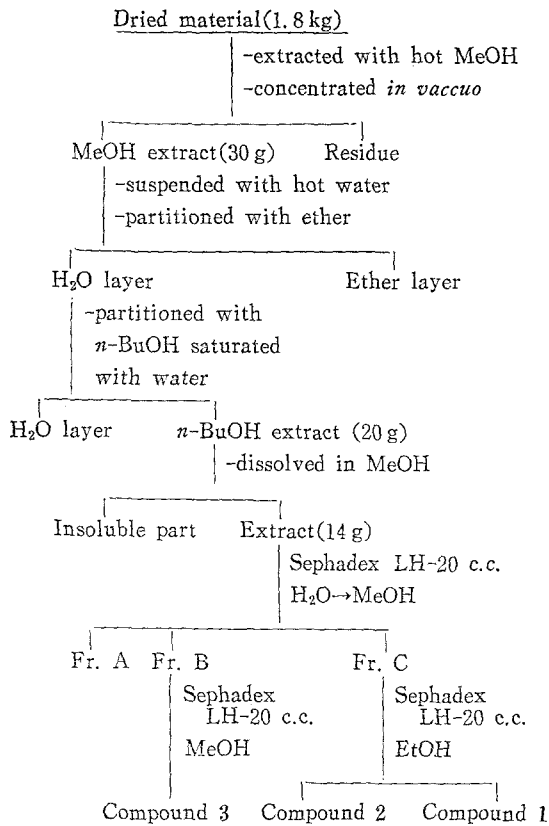
Compound 1, 2의 단리—Mg+HCl 반응에 양성을 나타내는 fr. C를 감압농축한 후 Sephadex LH-20 column chromatography(4 cm φ×40 cm, solvent: EtOH)하여 황색 분말 compound 1, 2를 얻었다.

Compound 1: mp 237~239°, IR, $\nu_{\max}^{\text{KBr}}(\text{cm}^{-1})$ 3300(OH), 2900(C-H), 1655(α, β-unsaturated C=O), 1610, 1550, 1505(aromatic C=C), 1085(C-O); UV, λ_{\max} (MeOH) nm 258, 362; (MeOH+NaOMe) 272, 330, 409; (MeOH+NaOAc) 272, 324, 392; (MeOH+NaOAc+H₃BO₃) 263, 381; (MeOH+AlCl₃) 271, 419; (MeOH+AlCl₃+HCl) 268, 406; EI-MS(*m/z*) 464(M⁺), 311, 302, 153; ¹H-NMR(200MHz, DMSO-d₆) δ: 12.65(1H, s, 5-OH), 7.67(1H, dd, *J*=2.2, 8.5Hz, H-6'), 7.51(1H, d, *J*=2.2Hz, H-2'), 6.82(1H, d, *J*=8.5Hz, H-5'), 6.40(1H, d, *J*=2.0Hz, H-8), 6.21(1H, d, *J*=2.0Hz, H-6), 5.45(1H, d, *J*=7.0Hz, H-1''); ¹³C-NMR: Table I 참조.

Compound 2: mp 223~336°, IR, $\nu_{\max}^{\text{KBr}}(\text{cm}^{-1})$ 3400(OH), 2950(C-H), 1645(α, β-unsaturated C=O), 1614, 1505(aromatic C=C), 1080(C-O); UV, λ_{\max} (MeOH) nm 267, 350; (MeOH+NaOMe) 275, 325, 401; (MeOH+NaOAc) 275, 314, 392; (MeOH+NaOAc+H₃BO₃) 267, 359; (MeOH+AlCl₃) 277, 395; (MeOH+AlCl₃+HCl) 277, 395; EI-MS(*m/z*) 448(M⁺), 286, 153; ¹H-NMR(200MHz, DMSO-d₆) δ: 12.65(1H, s, 5-OH), 8.02(2H, d, *J*=8.9Hz, H-2', 6'), 6.87(2H, d, *J*=8.9Hz, H-3', 5'), 6.49(1H, d, *J*=1.9Hz, H-8), 6.21(1H, d, *J*=1.9Hz, H-6), 5.40(1H, d, *J*=6.8Hz, H-1''); ¹³C-NMR: Table I 참조.

Compound 3의 단리: Fr. B를 Sephadex LH-20 column chromatography(3 cm φ×30 cm, solvent MeOH)하여 황색 분말인 compound 3을 얻었다.

mp 165~168°, IR, $\nu_{\max}^{\text{KBr}}(\text{cm}^{-1})$ 3300(OH), 2950(C-H), 1654(α, β-unsaturated C=O), 1610,



Scheme I. The extraction and isolation of compound 1, 2, 3 from *n*-BuOH extract

1450(aromatic C=C), 1100(C-O); UV, λ_{\max} (MeOH) nm 267, 350; (MeOH+NaOMe) 276, 327, 403; (MeOH+NaOAc) 274, 314, 391; (MeOH+NaOAc+H₃BO₃) 268, 360; (MeOH+AlCl₃) 277, 393; (MeOH+AlCl₃+HCl) 277, 393; SI-MS (*m/z*) 595(M+H)⁺, 449, 287, 153; ¹H-NMR (200MHz, DMSO-d₆) δ : 12.60(1H, s, 5-OH), 8.00(2H, d, *J*=8.9Hz, H-2', 6'), 6.90(2H, d, *J*=8.9Hz, H-3', 5'), 6.44(1H, d, *J*=2.0Hz, H-8), 6.23(1H, d, *J*=2.0Hz, H-6), 5.33(1H, d, *J*=7.6Hz, H-1''), 4.40(1H, s, H-1'''), 0.99(3H, d, *J*=6.2Hz, Rha CH₃); ¹³C-NMR: Table I 참조.

결과 및 고찰

Compound 1—Compound 1은 Mg+HCl 반응에서 양성이고, IR spectrum에서의 양상을 관찰

Table I. ¹³C-NMR spectral data of compound 1, 2, 3(DMSO-d₆, 50 MHz)

Carbon No.	1	2	3
2	156.4	156.1	156.7
3	133.7	133.6	133.5
4	177.7	177.3	177.6
5	161.4	160.6	161.4
6	98.9	98.3	99.0
7	164.3	164.7	164.3
8	93.7	93.2	94.0
9	156.4	156.3	157.0
10	104.1	104.8	104.2
1'	121.4	120.8	121.1
2'	115.4	129.9	131.1
3'	145.0	115.0	115.3
4'	148.6	160.3	160.1
5'	116.1	115.0	115.3
6'	122.2	131.1	131.1
Galactose			
1''	102.0	101.5	
2''	71.4	71.4	
3''	73.4	73.2	
4''	68.1	68.1	
5''	76.0	76.0	
6''	60.3	60.3	
Glucose			
1'''			101.6
2'''			74.4
3'''			76.6
4'''			70.2
5'''			76.0
6'''			67.1
Rhamnose			
1''''			101.0
2''''			70.6
3''''			70.8
4''''			72.1
5''''			68.4
6''''			17.9

하여 flavonoid계 화합물로 추정하였다. 또한, UV spectrum에서 258, 362 nm에서 흡수대를 나타내므로 flavonol 유도체로 추정할 수 있었고, shift 시약으로 NaOMe를 가했을 때 band I이 409 nm로 47 nm 장파장 이동하였고, 330 nm에서 새로운 흡수대가 관찰됨으로서 4'-OH, 7-OH가 존재함을 추정할 수 있었다. NaOAc를 가했을 때

band II가 14 nm 장파장으로 이동함으로써 7-OH가 존재함을 인지하고, 여기에 H_3BO_3 를 가했을 때 band I이 392 nm로 30 nm 장파장 이동함으로써 B ring에 *ortho*-dihydroxyl group의 존재를 추정하였다. $AlCl_3$ 와 HCl을 가했을 때 band I이 406 nm로 44 nm 장파장으로 이동하여 5-OH가 존재함을 알 수 있어서 모핵은 quercetin type^{16,17}의 flavonol로 추정 되었다.

EI-MS에서 m/z 464(M^+)의 molecular ion peak를 얻었고 *retro*-Diels Alder fragmentation¹⁸⁾에 의한 m/z 311, 153 fragment ion peak를 관찰하였고, $[M-hexose]^+$ 인 m/z 302 fragment ion peak를 관찰함으로써 quercetin 모핵에 hexose가 결합되어 있는 물질로 추정되었다.

1H -NMR spectrum에서 나타나는 signal은 전형적인 quercetin의 spectral pattern과 같고 당부의 galactose의 anomeric proton이 δ 5.39 ppm에서 $J=7.6$ Hz의 doublet signal로 관찰되고 있고¹⁷⁾, ^{13}C -NMR spectrum^{19,20)}에서도 C-3가 δ 133.7 ppm으로 관찰되어서 치환되어 있음을 알 수 있었고, δ 177.7 ppm에서 C-4의 carbonyl기를 관찰하였다. 또한, δ 145.0과 δ 148.6 ppm을 관찰하여 B ring의 C-3'와 4'가 치환되어 있음을 알 수 있었으며, δ 102.0 ppm에서 galactose의 anomeric carbon signal을 확인할 수 있었다.

이상의 결과로 compound 1은 quercetin에 galactose가 결합되어 있는 물질로 추정하고 가수분해하여 당부분을 gas chromatography로 표준과 비교하여 β -D-galactopyranose를 확인하였으며, quercetin-3-O- β -D-galactopyranoside (hyperoside)의 data²¹⁾와 비교 동정하였다.

Compound 2—Compound 2는 Mg+HCl 반응에서 양성이며, IR spectrum에서 flavonoid의 전형적인 흡수대를 나타내었고, UV spectrum에서 flavonol 유도체의 특징적인 흡수대인¹⁷⁾ 267 및 350 nm에서의 흡수가 관찰되었다. shift 시약인 NaOMe를 가했을 때 band I의 극대파장이 401 nm로 51 nm 장파장 이동하고 intensity가 증대하므로 C-4' 위치에 OH가 존재함을 알 수 있었고, NaOAc를 가했을 때 band II가 275 nm로 8 nm 장파장 이동하므로 C-7 위치에 OH가 존재함을 알 수 있었다. 또한 $AlCl_3$ 를 가했을 때 band I

이 395 nm로 45 nm 장파장 이동하였으며 이 극대파장은 HCl을 가해도 변화가 없었으므로 C-5 위치에 OH가 존재하고 B ring의 C-3'에 OH가 존재하지 않는 kaempferol type^{16,17)}의 flavonol로 추정되었다.

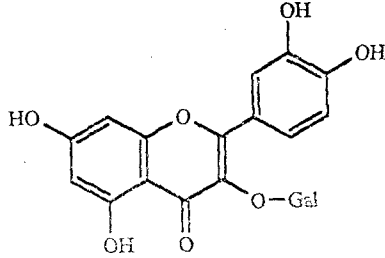
EI-MS에서 molecular ion peak가 m/z 448(M^+)으로 관찰되었으며, $[M-hexose]^+$ 인 m/z 286의 base peak인 fragment ion peak를 관찰하였다.

1H -NMR에서는 $J=6.8$ Hz의 doublet signal이 δ 5.40 ppm에서 관찰되고, δ 8.02 ppm에서 C-2', 6'와 δ 6.87 ppm에서 C-3', 5'의 각각 $J=6.8$ Hz의 doublet signal을 관찰할 수 있었고 당부분의 signal을 제외하면 kaempferol의 proton signal과 일치하였다. ^{13}C -NMR에서도 δ 101.9 ppm에서 anomeric carbon signal이 관찰되었고 δ 60~80 ppm 사이에서 당으로부터 기인하는 5개의 signal을 관찰할 수 있었다. 이상의 결과로 compound 2는 kaempferol에 hexose가 결합되어 있는 화합물로 추정하였고 가수분해하여 당부분을 gas chromatography로 표준과 비교하여 β -D-galactopyranose를 확인하였으며, kaempferol-3-O- β -D-galactopyranoside의 spectral data²⁰⁾와 비교한 결과 일치하였다.

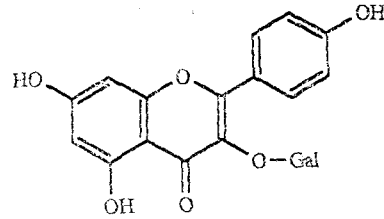
Compound 3—Compound 3은 Mg+HCl 반응에서 양성이며, IR spectrum에서 flavonoid의 전형적인 흡수대를 나타내었고, UV spectrum에서 flavonol 유도체의 특징적인 흡수대인^{16,17)} 267 및 350 nm에서의 흡수가 관찰되었다. 또한 여러가지 shift 시약을 가하였을 때 compound 2와 동일한 양상을 관찰할 수 있어 kaempferol type의 flavonol로 추정되었다.

SI-MS에서 molecular ion peak가 m/z 595 $[M+H]^+$ 로 관찰되었으며, $[(M+H)-methyl\ pentose]^+$ 인 m/z 449의 fragment ion peak와 $[(M+H)-(hexose+methyl\ pentose)]^+$ 인 m/z 287의 fragment ion peak를 관찰하였다.

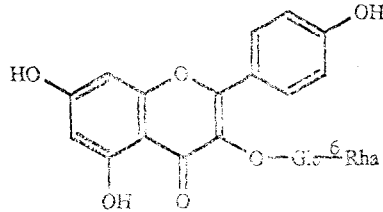
1H -NMR에서는 A ring, B ring으로부터 기인하는 signal은 compound 2와 동일하였지만 $J=7.6$ Hz의 doublet signal이 δ 5.55 ppm에서 관찰되고, δ 4.40 ppm에서 singlet signal과 rhamnose의 methyl signal에 해당하는 $J=6.2$ Hz의 doublet signal이 δ 0.99 ppm에서 관찰할 수 있었고 당부분



Compound 1



Compound 2



Compound 3

의 signal을 제외하면 compound 2의 proton signal과 일치하였다. ^{13}C -NMR에서도 101.0, 101.6 ppm에서 2개의 anomeric carbon signal이 관찰되었고 60~80 ppm사이에서 당으로부터 기인하는 9개의 signal을 관찰할 수 있었고 또한 17.9 ppm에서 methyl signal을 관찰할 수 있었다. 이상의 결과로 compound 3은 kaempferol에 hexose와 methyl pentose가 결합되어 있는 물질로 추정하고 가수분해하여 당부분을 gas chromatography로 표준과 비교하여 α -L-rhamnopyranose와 β -D-glucopyranose를 확인하였으며, kaempferol-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside의 data^{18,19)}와 비교한 결과 일치하였다.

결 론

흰투구꽃 지상부의 BuOH분획에서 3종의 flavonoid 화합물을 분리하여 이화학적 실험 및 spectral data(UV, IR, NMR, Mass, etc.)를 통하여 compound 1은 quercetin-3-O- β -D-galactopyranoside(hyperoside), compound 2는 kaempferol-3-O- β -D-galactopyranoside, compound 3은

kaempferol-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside로 동정하였으며, 이들 성분은 상기 흰투구꽃에서는 처음으로 분리, 동정한 것이다.

(1994년 8월 14일 접수 : 8월 31일 수리)

문 헌

1. 이창복 : 대한식물도감, 향문사, p. 361 (1989).
2. 相賀徹夫 : 中藥大辭典, 上海科學出版社, 小學館, p. 1482(1985).
3. Tanaka, S.: *Jap. J. Pharmacol.* 2, 144 (1953).
4. Liu, S.F. and Yang, Y.Z.: *Acta Pharmacol. Sin.* 4, 110 (1983).
5. 이경순 : 분초학, 진명출판사, p. 179 (1975).
6. Iwasa, J. and Naruto, S.: *Yakugaku Zasshi* 86, 585 (1966).
7. Zhang, D., Li, H. and Shang, W.: *Zhongcaoyao* 13, 481 (1982).
8. Konno, C., Shirasaka, M. and Hikino, H.: *J. Nat. Prod.* 45, 128 (1982).
9. Konno, C., Murayama, M., Sugiyama, K., Murakami, K., Takahashi, M. and Hikino, H.:

- Planta Med.* 51, 160 (1985).
10. Hikino, H., Kuroiwa, Y. and Konno, C.: *J. Nat. Prod.* 46, 178 (1983).
 11. Hikino, H., Takahashi, M. and Konno, C.: *Shoyakugaku Zasshi* 37, 1 (1983).
 12. Hikino, H., Kuroiwa, Y. and Konno, C.: *J. Nat. Prod.* 46, 179 (1983).
 13. Kitagawa, I., Chen, Z.L., Yoshihara, M. and Yoshigawa, M.: *Yakugaku Zasshi* 104, 858 (1984).
 14. 육창수 : 한약학 II, 광명의학사, p.321 (1992).
 15. Kitagawa, I., Chen, Z.L., Yoshihara, M. and Yoshigawa, M.: *Yakugaku Zasshi* 104, 848 (1984).
 16. Markham, K.R.: *Techniques of flavonoid identification*, Academic Press, p.36 (1982).
 17. Mabry, J., Markham, K.R. and Thomas, M.B.: *The systematic identification of flavonoids*, Springer-Verlag, p.35 (1970).
 18. Markham, K.R.: *Techniques of flavonoid identification*, Academic Press, p.87 (1982).
 19. Harborne, J.B., Mabry, T.J.: *The Flavonoids—Advances in Research—*, Chapman and Hall, p.47 (1982).
 20. Agrawal, P.K.: *Carbon-13 NMR of flavonoids*, Elsevier, p.334 (1989).
 21. Oh, I.S., Whang, W.K. and Kim, I.H.: *Arch. Pharm. Res.* in press (1994).