

꽃참싸리 줄기의 성분연구

김범해 · 김창민
강원대학교 약학대학

A Study on the Constituents of Stem of *Lespedeza x nakaii* T. Lee

Beam Hae Kim and Chang Min Kim

College of Pharmacy, Kang Won University, Chun Cheon 200-701, Korea

Abstract—From the EtOAc soluble parts of *Lespedeza x nakaii* T. Lee, three flavonoids and phytosterols have been isolated and identified as genistein, 4',7-dihydroxyflavone, daidzein and a mixture of campesterol, stigmasterol and β -sitosterol.

Keywords—*Lespedeza x nakaii* · Leguminosae · flavonoid · genistein · 4',7-dihydroxyflavone · daidzein · campesterol · stigmasterol · β -sitosterol

꽃참싸리(*Lespedeza x nakaii* T. Lee)는 강원도 지역에 널리 분포되어 있고, 참싸리(*L. cyrtobotrya*)와 싸리(*L. bicolor*)의 잡종이라고 생각되며, 외부형태학적으로 볼 때 참싸리(*L. cyrtobotrya*)와 유사하나 참싸리에 비해서 화서의 길이가 잎보다 긴 것이 특색이고, 잎은 삼출엽이며 소엽은 넓은 타원형이고 약간 요두이며 銳低로서 표면에 복모가 있고 뒷면은 싸리나 참싸리와 유사하다.¹⁾

우리나라에 분포하고 있는 Genus *Lespedeza* 식물에 대해서 1965년 Lee²⁾는 10종 6변종 5품종과 12잡종으로 모두 33종류를 보고 하였다. 그의 보고서에 의하면 그가 분류한 잡종 12종류는 그 모주의 외부 형태학적인 특징에 근거하여 분류하고 있음을 알 수 있다. 이 분류에 대하여는 외부 형태학적인 특징에 더불어 식물화학적인 자료 등이 뒷받침되어야 함을 알 수 있다.

싸리속(Genus *Lespedeza*)식물의 줄기와 뿌리는 한방에서 야관문(夜關門)(*L. cuneata*) 등이라 하여 진해제, 거담제, 만성기관지염, 학질치료제, 이뇨제, 발한해열제, 지혈제, 청열제 및 건비제 등으로 쓰여왔고³⁾, 또한 민간에서는 싸리(*L. bicolor*)를 비롯한 *Lespedeza*속 식물을 피부진균치료제 및 이뇨제로 사용하고 있다.⁴⁾ 그러

나 이러한 약리작용을 나타내는 성분이 규명된 바는 없다. 이에 본 연구자는 성분연구가 전혀 되어있지 않은 꽃참싸리에 대하여 외부형태학적인 특징에 더불어 식물분류에 유용한 flavonoid계 성분을 중심으로 식물화학적인 자료를 뒷받침하고, 또한 약리활성성분 구명의 한 시도로 본 실험에 착수하게 되었다.

이에 저자 등은 본 식물의 줄기를 대상으로 실험한 결과 EtOAc 가용부에서 수종의 성분을 분리하여 그 구조를 동정하였기에 보고하고자 한다.

실험재료 및 방법

재료 - 1994년 10월 강원도 춘천군 당임리 야산일대에서 채집하여 세절하여 음건한 것을 사용하였다.

기기 - 융점은 Fisher-Johns Melting Point Apparatus를 사용하여 측정하였으며 온도는 보정하지 않았다. Infrared spectrum은 Perkin Elmer 281B spectrophotometer 및 Bio Rad FTS-7을 사용하여 KBr Disc법으로 측정하였다. ¹H-NMR과 ¹³C-NMR spectrum은 Varian Gemini-200(200MHz)을 사용하여 측정하였다. HPLC는

Waters μ -bondapack C-18(4.5 mm \times 250 mm)을 사용하였다. Lobar column은 Merck의 RP-8 size B와 RP-18 size B를 사용하였다.

추출 및 분리 - 세절하여 음건한 꽃참싸리줄기(3.3 kg)에 MeOH을 가하여 5시간씩 3회 추출하고 감압농축하여 갈색의 고형물질을 얻었다. 이를 다시 99% MeOH에 가열용해하여 불용분을 제거한 것을 감압농축하여 MeOH ext.로 하였다. (180 g)이 MeOH ext.에 증류수를 가하여 가열 혼화시킨 후 냉후 CHCl₃으로 추출하여 CHCl₃ ext. (28 g)를 얻었다. 남은 수층에 EtOAc를 가하여 EtOAc ext. (8 g)을 얻었고, 이 수층에 다시 n-BuOH를 가하여 n-BuOH ext. (20 g)을 얻었다. 이중 EtOAc ext.를 CHCl₃: MeOH계 용매 (9:1~1:1)로 Silicagel column chromatography를 실시하여 Fr A, B, C, D, E로 나누었으며, Fr. B를 Benzene : EtOAc = 4:1로 silicagel column chromatography를 실시하여 Subfr. B-1, B-2, B-3, B-4를 얻었다. Subfr. B-1을 Sephadex LH-20(MeOH:H₂O = 2:1)로 column chromatography를 실시하여 Compound K-4의 조결정을 얻었다. Subfr. B-2를 CHCl₃:EtOAc = 4:1로 silicagel column chromatography를 실시하여 조결정 K-1을 얻었다. 또한 Subfr. B-3를 RP-18 Lobar column chromatography(MeOH:H₂O = 2:1)를 실시하여 조결정 K-2를 얻었다. Fr. C로부터는 Benzene:EtOAc = 1:1로 silicagel column chromatography를 실시하고, 다시 Sephadex LH-20(MeOH:H₂O = 2:1)으로 column chromatography를 실시하여 조결정 K-3를 얻었다.

Compound K-1 - MeOH로 재결정을 반복하여 백색의 침상결정을 얻었다. mp: 134~8°C I.R.: ν_{\max}^{KBr} 3450 (-OH), 2950, 1470, 1380 (C-H), 1050 (C-O) cm⁻¹ ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 0.68 (3H, s, CH₃), 0.81-0.92 (9H, m, CH₃ \times 3), 1.00 (3H, s, CH₃), 3.50 (1H, m, H-3), 5.09 (0.5H, m, H-22, 23), 5.35 (1H, bd, J = 4.4 Hz, H-6); ¹³C-NMR (50.3 MHz, CDCl₃) δ : 11.8, 12.0, 18.6, 19.3, 21.2, 24.3, 26.2, 28.3, 29.3, 31.6, 31.9, 33.9, 36.2, 33.6, 37.2, 39.7, 42.3, 45.9, 50.1, 56.0, 56.9, 71.9, 121.9, 129.3, 138.5, 140.9; MS : m/z (rel. int.) 414 (1.09), 412 (0.74), 400 (0.69), 399

(0.41), 396 (0.54), 394 (0.12), 385 (0.33), 382 (0.50), 381 (0.50), 367 (0.36), 329 (1.43), 315 (5.23), 303 (0.87), 289 (0.53), 273 (1.38), 271 (2.72), 255 (2.89), 253 (3.72), 231 (3.72), 229 (3.03), 213 (8.24), 211 (1.82), 83 (17.33), 81 (14.68)

Compound K-2 - MeOH로 재결정을 반복하여 연한 갈색의 침상결정을 얻었다. m.p.: 301~302°C UV: MeOH, λ_{\max} nm, 260, 328 (shoulder) I.R.: ν_{\max}^{KBr} 3400 (-OH), 2930 (C-H), 1645 (α,β -unsaturated; C=O), 1625, 1520, 1470 (aromatic C=C) cm⁻¹ ¹H-NMR (200 MHz, CD₃OD) δ 8.09 (1H, s, H-2), 7.41 (2H, d, J = 8.7 Hz, H-2', 6'), 6.89 (2H, d, J = 8.7 Hz, H-3', 5'), 6.38 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-8), 6.26 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-6); ¹³C-NMR (50.3 MHz, CD₃OD) δ 154.0 (C-2), 123.9 (C-3), 181.4 (C-4), 163.7 (C-5), 99.7 (C-6), 164.7 (C-7), 94.3 (C-8), 158.8 (C-9), 106.1 (C-10), 122.9 (C-1'), 131.0 (C-2'), 115.8 (C-3'), 158.2 (C-4'), 115.8 (C-5'), 131.0 (C-6')

Compound K-3 - MeOH로 재결정을 반복하여 연한 갈색의 침상결정을 얻었다. m.p.: 300°C 이상 UV: MeOH, λ_{\max} nm, 227, 255 (shoulder), 312 (shoulder), 329; ¹H-NMR (200 MHz, CD₃OD) δ 10.4 (1H, bd, -OH), 7.93 (2H, d, J = 8.75 Hz, H-2', 6'), 7.88 (1H, d, J = 8.69 Hz, H-5), 6.92 (1H, dd, J = 8.69 Hz, J = 2.92 Hz, H-6), 6.94 (2H, d, J = 8.75 Hz, H-3', 5'), 6.98 (1H, d, J = 2.92 Hz, H-8), 6.74 (1H, s, H-3); ¹³C-NMR (50.3 MHz, CD₃OD) δ 162.59 (C-2), 104.33 (C-3), 176.26 (C-4), 126.36 (C-5), 114.71 (C-6), 162.38 (C-7), 102.34 (C-8), 157.33 (C-9), 116.1 (C-10), 121.67 (C-1'), 128.03 (C-2', 6'), 15.79 (C-3', 5'), 160.65 (C-4')

Compound K-4 - MeOH로 재결정을 반복하여 연한 갈색의 침상결정을 얻었다. m.p.: 330°C UV: MeOH, λ_{\max} nm, 238 (shoulder), 249, 259 (shoulder), 303 (shoulder) I.R. : ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹ 3400 (-OH), 1645 (C=O), 1520, 1470 (C=C) ¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆) δ 9.6 (1H, bd, -OH), 7.37 (2H, d, J = 8.70 Hz, H-2', 6'), 7.95 (1H, d, J =

8.79 Hz, H-5), 6.92 (1H, dd, $J = 8.79$ Hz, $J = 2.20$ Hz, H-6), 6.8 (2H, d, $J = 8.70$ Hz, H-3', 5'), 6.85 (1H, d, $J = 2.20$ Hz, H-8), 8.29 (1H, s, H-2) $^{13}\text{C-NMR}$: 50.3 MHz ($\text{CD}_3\text{OD} + \text{DMSO-d}_6$) δ 155.0 (C-2), 124.8 (C-3), 178.0 (C-4), 129.1 (C-5), 116.9 (C-6), 164.9 (C-7), 103.8 (C-8), 160.1 (C-9), 118.8 (C-10), 126.2 (C-1'), 132.0 (C-2', 6'), 116.8 (C-3', 5'), 159.2 (C-4')

결과 및 고찰

Compound K-1 - 이 화합물은 IR spectrum에서 3450 (-OH), 2950, 1470, 1380 (C-H), 1050 (C-O) cm^{-1} 의 강한 흡수대를 나타내었다.^{5,7)} $^1\text{H-NMR}$ 에서는 0.68 ppm과 1.00 ppm 사이에서 6개의 methyl signal을 관찰할 수 있었으며, 3.50 ppm에서의 multiplet을 관찰할 수 있었고, 5.09 ppm 및 5.35 ppm에서 이중결합을 관찰할 수 있어서 phytosterol의 일종으로 추정할 수 있었으며, $^{13}\text{C-NMR}$ 에서 71.9, 140.9, 121.9 ppm에서 나타나는 탄소 signal로 보아 3번탄소에 hydroxyl기와 C-5, 6의 이중결합이 있는 것으로 추정하였으며, 또한 129.4 ppm 및 138.5 ppm에서 나타나는 탄소 signal로 C-22, 23의 이중결합을 예상할 수 있었다.

Mass spectrum을 보면 m/z 414 (M^+ , 1.09)와 399 (0.41), 396 (0.54), 381 (0.50), 329 (1.43), 303 (0.87), 273 (1.38), 255 (2.89), 230 (3.72), 229 (3.03), 213 (8.24), 81 (14.68) 그리고, m/z 412 (M^+ , 0.74), 394 (0.12), 271 (2.72), 255 (2.89), 253 (3.72), 229 (3.03), 213 (8.24), 211 (1.82), 83 (17.33) 또한, m/z 400 (M^+ , 0.69), 385 (0.33), 382 (0.50), 367 (0.36), 315 (5.23), 289 (0.53), 273 (1.38), 255 (2.89), 231 (3.72), 229 (3.03), 213 (8.24), 81 (14.68)로 분열 패턴이 나타나는 것으로 보아 이 화합물은 각각 β -sitosterol, stigmasterol, campesterol이 혼합되어 있는 물질로 추정할 수 있었으며 이를 문헌치^{8,9,10)}와 비교한 결과 일치함을 보았다.

Compound K-2 - 이 화합물은 IR spectrum에서 3400 (-OH), 2930 (C-H), 1645 (C=O), 1625, 1520, 1470 (C=C) cm^{-1} 의 흡수대를 나타내었고,

UV spectrum에서는 isoflavone의 전형적인 spectrum인 260 nm와 328 nm (shoulder)에서 흡수대를 나타내었다.^{11,12)}

$^1\text{H-NMR}$ spectrum에서는 8.09 ppm (1H, s)에 나타나는 proton signal은 전형적인 isoflavone의 2번 proton임을 알 수 있었으며^{13,14)}, 7.41 ppm (2H, d, $J = 8.7$ Hz) 및 6.89 ppm (2H, d, $J = 8.7$ Hz)의 proton signal은 isoflavone의 4' 위치가 치환된 B-ring의 2'과 3' 및 5'과 6' 수소의 o -coupling ($J = 8.7$ Hz)에 기인한 것으로 7.41 ppm의 proton signal을 2' 과 6' 위치의 수소로, 6.89 ppm의 proton signal을 3'과 5' 위치의 수소로 추정하였다.¹³⁾ 또한 6.38 ppm (1H, d, $J = 2.2$ Hz)와 6.26 ppm (1H, d, $J = 2.2$ Hz)의 proton signal은 5 및 7 위치가 치환된 A-ring의 6 및 8 위치의 수소가 m -coupling ($J = 2.2$ Hz)하는 것에 기인한 것으로 보아 6.38 ppm의 proton signal을 8 위치의 수소로, 6.26 ppm의 proton signal을 6 위치의 수소로 추정하였다.¹³⁾

$^{13}\text{C-NMR}$ spectrum에서는 4번 탄소에 기인하는 carbon signal을 181.4 ppm에서 확인하였으며, 따라서 이 화합물은 5번 탄소가 치환되어 있는 것을 확인할 수 있었으며¹⁴⁾ 131.0 ppm 및 115.8 ppm에 나타나는 carbon signal은 4'-탄소가 치환되어서 기인하는 2 carbon intensity의 unsubstitued aromatic carbon으로써, 131.0 ppm에 나타나는 carbon signal을 2' 및 6' 탄소로, 115.8 ppm에 나타나는 carbon signal을 3' 및 5' 탄소로 동정할 수 있었다. 따라서 Compound K-2를 4',5,7- trihydroxyisoflavone으로 추정하였으며, 이를 문헌치^{13,15)}와 비교하여 genistein으로 확정하였다.

Compound K-3 - 이 화합물의 UV spectrum은 227, 255 (shoulder), 312 (shoulder) 및 329 nm에서 흡수대를 나타내어 이 화합물을 flavone류로 추정하였으며,¹³⁾ $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서는 6.74 ppm (1H, s)에서 나타나는 proton signal을 flavone의 3번 위치의 proton으로 추정할 수 있었으며¹³⁾ 7.93 ppm (2H, d, $J = 8.75$ Hz)와 6.94 ppm (2H, d, $J = 8.75$ Hz)의 proton signal을 4' 위치가 치환된 B-ring의 2'과 3' 및 5'과 6' 수소의 o -coupling ($J = 8.75$ Hz)에 기인한 것으로

7.93 ppm의 proton signal을 2'과 6'위치의 수소로, 6.94 ppm의 proton signal을 3'과 5'위치의 수소로 추정하였다.¹³⁾ 또한, 7.88 ppm (1H, d, $J = 8.69$ Hz)와 6.92 ppm (1H, dd, $J = 8.69$, $J = 2.92$ Hz) 및 6.98 ppm (1H, d, $J = 2.92$ Hz) proton signal들은 7-oxygenated A-ring에서 나타나는 ABX type의 proton signal로 o -coupling ($J = 8.69$ Hz)하는 7.88 ppm의 proton signal을 5 위치의 수소로, o -coupling ($J = 8.69$ Hz) 및 m -coupling ($J = 2.92$ Hz)을 하는 6.92 ppm의 proton signal을 6위치의 수소로, m -coupling ($J = 2.92$ Hz)하는 6.98 ppm의 proton signal을 8위치의 수소로 추정하였다.¹³⁾

¹³C-NMR spectrum에서는 4번 탄소에 기인하는 carbon signal을 176.26 ppm에서 확인하였으며, 이 carbon signal의 위치로 보아 이 화합물은 5-deoxyflavone임을 확인할 수 있었다.¹⁴⁾ 또한, 128.03 ppm 및 115.79 ppm에 나타나는 carbon signal은 4'-탄소가 치환되어서 기인하는 2 carbon intensity의 unsubstituted aromatic carbon으로써, 128.03 ppm에 나타나는 carbon signal을 2' 및 6' 탄�로, 115.79 ppm에 나타나는 carbon signal을 3' 및 5' 탄�로 동정할 수 있었다. 이를 종합하여 Compound K-3를 4',7-dihydroxyflavone으로 추정하였으며, 이는 APT(attached proton test)¹⁵⁾의 결과 및 문헌치¹⁶⁾와 비교하여 정확히 일치함을 확인하였다.

Compound K-4 - 이 화합물의 UV spectrum은 238 (shoulder), 249, 259 (shoulder), 303 (shoulder)에서 흡수대를 나타내어 이 화합물을 isoflavone류로 추정하였으며,¹³⁾ ¹H-NMR spectrum에서는 8.29 ppm (1H, s)에서 나타나는 proton signal을 isoflavone의 2번위치의 proton으로 추정할 수 있었으며¹³⁾ 7.37 ppm (2H, d, $J = 8.70$ Hz)과 6.8 ppm (2H, d, $J = 8.70$ Hz)의 proton signal을 4'위치가 치환된 B-ring의 o -coupling ($J = 8.70$ Hz)에 기인한 것으로 7.37 ppm의 proton signal을 2'과 6'위치의 수소로, 6.8 ppm의 proton signal을 3'과 5'위치의 수소로 추정하였다.¹³⁾ 또한, 7.95 ppm (1H, d, $J = 8.79$ Hz)과 6.92 ppm (1H, dd, $J = 8.79$, $J = 2.20$ Hz) 및 6.85 ppm (1H, d, $J = 2.20$ Hz)의 proton signal

들은 7-oxygenated A-ring에서 나타나는 ABX type의 proton signal로 o -coupling ($J = 8.79$ Hz)하는 7.95 ppm의 proton signal을 5위치의 수소로, o -coupling ($J = 8.79$ Hz) 및 m -coupling ($J = 2.20$ Hz)을 하는 6.92 ppm의 proton signal을 6 위치의 수소로, m -coupling ($J = 2.20$ Hz)하는 6.85 ppm의 proton signal을 8위치의 수소로 추정하였다.¹³⁾

¹³C-NMR spectrum에서는 4번 탄소에 기인하는 carbon signal을 178 ppm에서 확인하였으며, 이 carbon signal의 위치로 보아 이 화합물은 5-deoxyflavone임을 추정할 수 있었다.¹⁴⁾ 또한, 132 ppm 및 116.8 ppm에 나타나는 carbon signal은 4'-탄소가 치환되어서 기인하는 2 carbon intensity의 unsubstituted aromatic carbon으로써, 132 ppm에 나타나는 carbon signal을 2' 및 6' 탄�로, 116.8 ppm에 나타나는 carbon signal을 3' 및 5' 탄�로 동정할 수 있었다. 이를 종합하여 Compound K-4를 4',7-dihydroxyisoflavone (daidzein)으로 추정하였으며, 이를 APT 결과 및 문헌치¹⁴⁾와 비교하여 일치함을 확인하였다.

결 론

참싸리 (*L. cyrtobotrya*)와 싸리 (*L. bicolor*)의 잡종인 꽃참싸리 (*Lespedeza × nakaii*)의 지상부를 대상으로 EtOAc 가용부에서 β -sitosterol, stigmasterol, campesterol, 4',5,7-trihydroxyisoflavone(genistein), 4',7-dihydroxyflavone, 4',7-dihydroxyisoflavone (daidzein)을 분리하여 그 구조를 동정하였다.

(1994년 12월 19일 접수)

참고문헌

1. 李昌福: 大韓植物圖鑑, 郷文社, p 470 (1989).
2. Lee, T.B.: *Seoul. Nat. Univ. For.* 2, 1 (1965).
3. Kee, C.H.: *The Pharmacology of Chinese Herbs*, CRC press, 222 (1993).
4. Lee, S.J.: *Report on Korean Folk-Medicine*, Seoul Nat. Univ., Korea, pp. 75-101 (1972).

5. Do, J.C., Son, K.H., Kang, S.S.: *Kor. J. Pharmacogn.* **19(3)**, 170 (1988).
6. Kim, C.M., Kang, S.S. : *Kor. J. Pharmacogn.* **17(3)**, 195 (1986).
7. Baek, S.H., Seo, W.J., Bae, K.H., Jin, K.D. : *Yakhak Hoeji* **34(1)**, 64 (1990).
8. Kim, C.M., Kang, S.S.: *Kor. J. Pharmacogn.* **17(3)**, 195 (1986).
9. Kim, C.M., Kang, S.S.: *Kor. J. Pharmacogn.* **30(3)**, 139 (1986).
10. Oh, I.S.: Thesis for the Degree of Doctor of Jung-ang Univ., 38 (1993).
11. Marby, T.J., Markham, K.R. and Thomas, M.B.: *The Systemic Identification of Flavonoids*, Springer-Verlag, 166 (1970).
12. Markham, K.R.: *Techniques of flavonoid identification*, Academic press, 39 (1982).
13. Marby, T.J., Markham, K.R. and Thomas, M.B.: *The Systemic Identification of Flavonoids*, Springer-Verlag, pp. 267-273 (1970).
14. Markham, K.R.: *Techniques of flavonoid identification*, Academic press, 77 (1982).
15. Agrawal, P. K. : *Carbone-13 NMR of Flavonoids*, Elsevier, pp. 183-235 (1989).
16. Shirataki, Y., Yokoe, I. and Komatsu, M.: *J. Nat. Prod.*, **49**, 645 (1986).