

## 황정(黃精) 추출물의 화학구조 결정에 관한 연구( I )

신동수<sup>†</sup> · 윤중호 · 박주희 · 권기락 · 안철진 · 주우홍\* · 강진호\*\* · 문병호\*\*\*

창원대학교 화학과, \*창원대학교 생물학과  
\*\*경상대학교 농학과, \*\*\*서울대학교 농업과학 공동기기센터

### Studies on Chemical Structure Determination of *Polygonatum sibiricum* Extracts( I )

Dong-Soo Shin<sup>†</sup>, Joung-Ho Yoon, Ju-Hee Park, Ki-Rak Kwon, Chul-jin Ahn  
Woo-Hong Joo\*, Jin-Ho Kang\*\* and Byoung-Ho Moon\*\*\*

<sup>†</sup>Department of Chemistry, Changwon National University, Changwon 641-773, Korea

\*Department of Biology, Changwon National University, Changwon 641-773, Korea

\*\*Department of Agriculture, Gyeongsang National University, Chinju 660-710, Korea

\*\*\*Public Instrument Center of Agriculture Science, Seoul National University, Seoul 441-744, Korea

#### Abstract

Biologically active compounds in *Polygonatum sibiricum* were extracted using organic solvents as hexane, CHCl<sub>3</sub>, *n*-butanol corresponding each component. Compound I was purified from hexane layer and the chemical structure of compound I was characterized using <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, DEPT135, COSY, HMQC, HMBC spectrum and MS-spectrum. Consequently, the chemical structure of compound I was determined as 9,12-(9E,12E)-octade cadienoic acid.

**Key words** – *Polygonatum sibiricum*, 9,12-(9E, 12E)-Octadecadienoic acid

#### 서 론

황정(*Polygonatum sibiricum*)는 한방과 민간에서 자양(滋養) 및 강장(強壯)의 목적으로 많이 이용되어 왔으며, 여러 가지 허약증상, 영양불량, 폐결핵으로 인한 기침, 당뇨 등의 약재로도 사용되어 왔다[5]. 또한 황정에 함유되어 있는 물질들이 혈당강화 효과가 있는 것으로 보고되어 있다[1-4, 6-8]. 인슐린 부족시 포도당이 에너지원으로 이용되지 못하고 혈중농도가 증가하게 되며, 근육내의 단백질 및 지방세

포가 분해되어 gluconeogenesis를 통해 에너지원으로 대신 이용된다. 또한 간장에서의 gluconeogenesis의 증가로, 포도당의 신생과 단백질 분해가 증가하게 되고 지방세포의 분해증가도 야기되어 지방산과 glycerol의 유리가 일어난다. 지방산은 주요 에너지원이면서 acetyl-coA의 생성을 야기하여 ketone body의 과다 축적을 초래하고 유리된 지방산이 간장 내에서 중성지방으로 전환되기 때문에 합병증으로 지방간이 발생하기도 한다. 최근에는 인슐린 의존성 당뇨 외에 인슐린 비의존성 당뇨 (성인성 당뇨)가 증가

<sup>†</sup> Corresponding author

하고 있어서 건강을 위협하고 있다. 따라서 당뇨병의 치료를 위해 합성된 약물과 병행하여 천연물에서의 약리물질을 탐색하는 연구가 이루어지고 있으며 약 400여 종의 야생식용식물이 당뇨병 치료에 효과가 있다고 보고된 바 있다. 약용 또는 식용식물이 혈당강하에 대한 연구가 이루어지고 있으나, 그 대부분은 아직 약리효능과 생리적 기전 및 유효성분 분석에 대해 임상실험에서 과학적으로 입증되지 못하고 있는 실정이다. 따라서, 황정에 함유되어 있는 기능성 물질의 종류와 생리활성을 나타내는 화합물의 화학구조를 정확하게 결정하는 것이 당뇨에 대한 황정 함유물의 효과를 체계적으로 연구를 수행할 수 있을 것이다. 이에 본 연구에서는 여러 가지 유기용매를 사용하여 황정에 함유되어 있는 생리활성 물질을 분리하고, 화학적인 구조를 분광학적인 방법으로 확인하였다.

### 재료 및 방법

본 실험에 사용된 시험재료인 황정은 (주)산청식품에서 제공된 황정레 40 kg (1회 짚)을 사용하였다. 분쇄기에서 잘게 부순 황정을 methanol 용액으로 48시간 동안 80℃ 수욕 상에서 냉각기와 교반기를 부착하여 2회 반복 · 추출하였다. 추출용액을 거름장치로 여과하여 methanol 층을 얻은 후 methanol 층에 포함되어 있는 methanol을 감압장치를 이용하여 제거하였다. Methanol 추출액에 H<sub>2</sub>O : methanol : hexane(9 : 1 : 10, v/v)의 비율로 섞은 후 아래의 Fig. 1과 같이 hexane, CHCl<sub>3</sub>, n-butanol 순으로 각각

추출하여 추출물을 얻었다. 각 용매에서 추출하여 얻어진 추출물을 전개용매에 따른 TLC의 R<sub>f</sub> 값을 이용하여 분리하였으며, hexane층의 추출물을 분리하여 화합물 I 과 II 를 얻었다.

추출된 hexane층의 추출물을 hexane : ethyl acetate(2 : 1, 3 : 1, 9 : 1, v/v)인 전개용매를 사용하여 세 부분으로 나누어서 컬럼으로 분리하였다. 그 중에서 전개용매가 hexane : ethyl acetate = 2 : 1에서 R<sub>f</sub>값이 0.73과 0.447에 나타난 두 물질을 분리하였고, hexane : ethyl acetate = 3 : 1에서는 R<sub>f</sub>값이 0.514와 0.35에 나타난 두 물질을 분리하고, 마지막으로 hexane : ethyl acetate = 9 : 1인 전개용매에서 R<sub>f</sub>값이 0.709, 0.595, 0.481에 나타난 세 물질을 분리하였다. 같은 방법으로 추출된 CHCl<sub>3</sub> 층에서도 hexane : ethyl acetate(2 : 1, 3 : 1, 19 : 1, v/v)인 전개용매를 사용하여 세 부분으로 나누어서 분리하였다. 전개용매 hexane : ethyl acetate = 2 : 1에서 R<sub>f</sub> = 0.238에 나타난 물질을 분리하였고, hexane : ethyl acetate = 3 : 1에서는 R<sub>f</sub> = 0.308에 나타난 물질을 분리하였다. 또한 hexane : ethyl acetate = 19 : 1에서는 R<sub>f</sub>값이 0.436과 0.141에 나타난 두 물질을 분리하였다. Hexane층에서 추출된 물질을 hexane : ethyl acetate = 3 : 1의 전개용매를 사용했을 때 R<sub>f</sub> = 0.35에 나타난 물질을 화합물 I로 분리하였고, hexane : ethyl acetate = 9 : 1로 사용했을 때 R<sub>f</sub> = 0.481에 나타난 물질이 화합물 II로 분리하였으며, 본 연구에서는 화합물 I의 화학적인 구조는 기초과학연구원 센터의 Bruker, 600MHz NMR Spectrometer(reference로서 TMS를 이용하여 CDCl<sub>3</sub>하에서)과 KAIST의 MS Spectrometer에 의해 결정하였다.

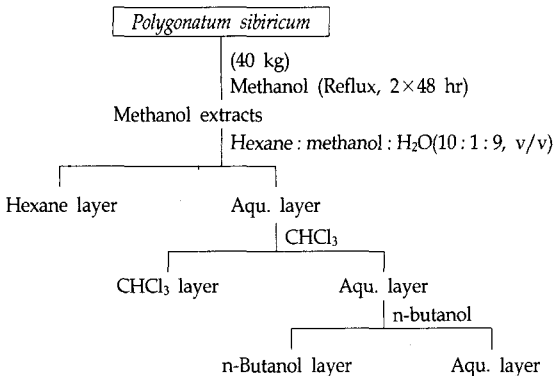


Fig. 1. Fractionation of methanolic extract from *Polygonatum sibiricum*.

### 결과 및 고찰

황정에서 분리한 화합물 I 을 <sup>1</sup>H-nmr, <sup>13</sup>C-nmr, DEPT 135, COSY, HMQC, HMBC 스펙트럼 및 MS 스펙트럼으로 확인하여, 화합물 I의 구조가 9,12-(9E,12E)-octadecadienoic acid임을 알 수 있었다. 화합물 I의 화학구조를 확인하는 단계는 다음과 같다.

#### 1. <sup>1</sup>H-nmr 스펙트럼에 의한 구조분석

화합물 I의 화학적인 구조는 <sup>1</sup>H-nmr 스펙트럼분석에서, 작용기 (functional group)에 대한 화학적 이동 (chemical

shift)를 고려해 보면 5.3 ppm에서 olefinic proton signal (mutiplet), 1.3 ppm에서 긴 methylene (CH<sub>2</sub>) 사슬의 signal이며, 0.88 ppm은 긴 사슬의 terminal methane (CH<sub>3</sub>) 의 signal이 나타난다.

2. <sup>13</sup>C-nmr 스펙트럼에 의한 구조분석

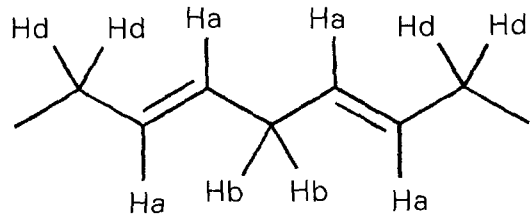
분리한 화합물에 대한 <sup>1</sup>H-nmr 스펙트럼을 통하여 이중 결합을 가진 화합물이며, methylene (CH<sub>2</sub>) 사슬이 길게 연결되어 있는 것으로 예상되므로, 이를 확인하기 위해서는 <sup>13</sup>C-nmr 스펙트럼으로 탄소의 위치를 확인할 수 있다. <sup>13</sup>C-nmr 스펙트럼에서, 179.9 ppm에서 나타난 signal은 carbonyl carbon중에서 carboxylic acid, ester 또는 amide 의 carbon signal이고, <sup>1</sup>H-nmr으로부터 예상되었듯이 130 ppm 의 4개의 signal 들은 carbon carbon double bond (olefinic carbon) 즉, 이중결합의 carbon이 두개가 있음을 알 수 있고, 24.5~34.1 ppm의 multiple signal 들은 긴 methylene carbon 의 signal임을 알 수 있다.

3. DEPT 135 스펙트럼에 의한 구조분석

<sup>1</sup>H-nmr 스펙트럼과 <sup>13</sup>C-nmr 스펙트럼을 통하여 특징적인 proton들과 탄소를 확인할 수 있었다. 위의 두 가지의 스펙트럼으로 얻은 화합물 구조에 대한 정보 외에 <sup>13</sup>C-nmr 스펙트럼에서 얻은 탄소들이 각각 몇 개의 proton을 가지고 있는지를 확인하기 위해 DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer) 스펙트럼을 찍어서 확인하였다. 이 DEPT 135 spectrum에서 보면, <sup>13</sup>C에서 보여준 signal 들이 각각의 C원자가 몇 개의 H원자를 가지고 있는지를 확인할 수 있다. 즉 quaternary carbon (C), methyne (CH), methylene (CH<sub>2</sub>), 그리고 methane (CH<sub>3</sub>) 의 탄소 signal 들을 DEPT 135°에서, CH<sub>3</sub>와 CH의 carbon signal은 위로(up), CH<sub>2</sub> signal 은 아래로 (down) 나타나는 것을 확인할 수 있다. 177.9 ppm에서 quaternary carbon (C) signal 은 사라져 보이지 않으며, 14 ppm 의 carbon signal 은 terminal CH<sub>3</sub>으로서 위로 (up) 나타나야 되는데 signal이 작아 보이지 않는다. (아마도 phase를 할 때 제대로 맞추지 못한 것 같음.) 한편, 130 ppm에서는 methyne (CH)의 peak가 위(up)로 나타나 있는 것을 확인할 수 있으며, 24.5~34.1 ppm의 methylene (CH<sub>2</sub>)의 peak 들이 아래(down)로 나타나 있는 것을 확인할 수 있다.

4. COSY 스펙트럼에 의한 구조분석

확인하고자 하는 분자내의 H원자와 인접한 H원자의 상호작용을 COSY spectrum(Fig. 2)을 이용하여 확인하였다. 5.35 ppm signal (a)은 2.78 ppm signal (b)과 사각형을 이루므로 5.35 ppm (a)에서 나타나는 H 원자들은 2.78 ppm (b)에서 나타나는 H 원자와 상호작용을 하는 것을 알 수 있으며, 또한 5.35 ppm (a)에서 나타나는 H원자들은 2.05 ppm signal (d)과도 사각형을 이루므로 5.35 ppm (a)에서 나타나는 H 원자들은 2.05 ppm (d)에서 나타나는 H 원자들과 상호작용을 하는 것을 알 수 있으므로, 이러한 data로부터 다음과 같은 화합물의 부분적인 구조를 유추할 수 있다.



한편, 2.35 ppm signal (c)은 1.65 ppm signal (e)과 사각형을 이루므로 서로 인접한 H 원자임을 알 수 있으며, 1.65 ppm (e)은 1.30 ppm signal (f)과 상호작용이 있음을 알 수 있다. 또한 1.30 ppm (f, 긴 사슬 signal)은 0.88ppm (g)와 상호작용 하는 것을 보아 terminal CH<sub>3</sub> 임을 다시

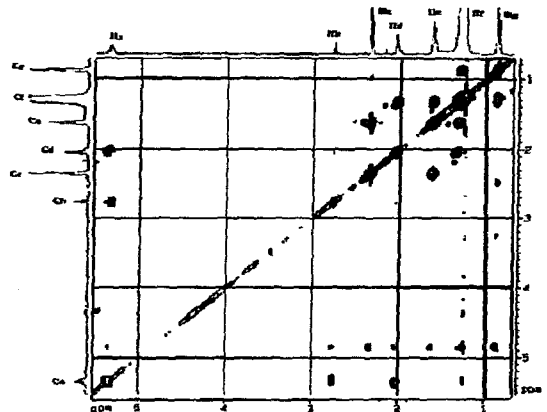


Fig. 2. COSY spectrum of compound I extracted from rhizomes of *P. sibiricum*.

한번 확인 할 수 있다.

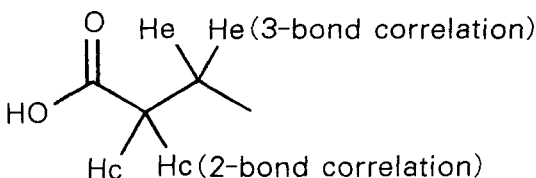
5. HMQC 스펙트럼에 의한 구조분석

확인하고자 하는 화합물의 분자 내 H 원자와 C 원자의 one-bond connection을 HMQC 스펙트럼으로 확인하였다. HMQC의 스펙트럼에서는 각각의 탄소원자에 붙어있는 수소원자를 2차원 도표를 이용하여 나타내는데, X축은 H-spectrum을, Y축은 C-spectrum을 보여주고 H와 C의 signal이 서로 교차하여 만나는 점을 통해서 서로 연결되어 있음을 알 수 있다. <sup>1</sup>H-nmr과 <sup>13</sup>C-nmr, DEPT 135° 스펙트럼을 통하여 확인할 수 있었던 것처럼, olefinic proton 5.35 ppm signal(a)은 탄소의 130 ppm 과 연결되어 있으므로 4개의 탄소 signal은 2개의 이중결합이 분자 내에 있음을 보여 준다. H의 0.88 ppm (g)의 terminal CH<sub>3</sub> signal은 탄소의 14 ppm 과 연결되어 있으므로 terminal signal임을 알 수 있다. 나머지 H-signal들도 carbon signal과 연결시켜서 H-C의 단일결합을 이루고 있음을 알 수 있으며, 각각의 탄소 signal에 H-signal번호를 붙여서 C(a), C(b), C(c), C(d), C(e), C(f), C(g)로 확인할 수 있다.

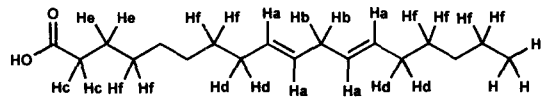
6. HMBC 스펙트럼에 의한 구조분석

확인하고자 하는 화합물의 분자 H와 C의 2 또는 3-bond를 HMBC 스펙트럼으로 확인하였다. HMBC의 2차원 spectrum은 앞의 data로부터 얻은 부분적인 구조를 서로 연결시켜 정확한 분자의 구조를 확인할 수 있는 방법이다. 먼저 2.3 ppm의 H-signal(c)은 179.9 ppm의 carbonyl carbon과 상호작용을 나타낸다. 1.6 ppm의 H-signal(e)도 역시 carbonyl carbon과 상호작용이 있다. 따라서, 179.9 ppm의 carbonyl carbon은 2.3 ppm의 H-signal(c)과 1.6 ppm의 H-signal(e)과의 상호작용으로 다음과 같은 부분적인 구조를 가지는 것으로 확인할 수 있다.

왜냐하면, Hc는 carbonyl carbon과 2-bond 상호작용을, He는 3-bond 상호작용을 하고 있으며, Hc가 He보다 do-



wnfield인 것은 α-위치인 Hc가 carbonyl group에 의하여 전자를 더 많이 끌려가기 때문에 나타나는 현상이다. 따라서, 이 두 부분의 부분적인 구조는 fatty acid로서 연결되어 있음을 HMBC로 확인할 수 있으며, Mass data (Mw = 280)를 통해 지방산의 사슬의 숫자를 알 수 있으며, 다음과 같이 화합물 I의 구조는 9,12-(9E,12E)-octadecadienoic acid임을 알 수 있다.



〈화합물 I〉

요 약

당뇨에 대한 황정의 약효가 알려지면서 황정의 생리활성 연구가 많이 진행되고 있다. 따라서 본 연구에서는 황정 추출물의 hexane층에서 생리활성 물질로 기대되는 새로운 화합물 I를 분리하고, 분리한 화합물의 화학적인 구조를 분광학적인 방법에 의하여 확인하였다. <sup>1</sup>H-nmr, <sup>13</sup>C-nmr, DEPT135, COSY, HMQC, HMBC 스펙트럼 및 MS 스펙트럼으로 확인하여 화합물 I의 구조가 9,12-(9E,12E)-octadecadienoic acid임을 알 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 1998년도 농림부에서 시행한 농림수산 현장 애로기술개발사업 연구결과의 일부로서 지원하여 주심에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. Akhtar, M. S., Ali, M. R. 1985. *Planta Medica*. **51**, 81.
2. Akhtar, M. S., Kham, Q. M., Khaliq, T. 1984. *Planta Medica*. **50(2)**, 138-142.
3. Bailey, C. J., Day, C. 1989. *Diabetic Care*. **12**, 553.
4. Bajpai, M. B., Asthana, R. K., Sharma, N. K., Chatterjee, S. K., Mukherjee, S. K. 1991. *Planta Medica*. **57**, 102.
5. Brill, S., Dean, E. 1994. *Hearst Books, New York., USA. Solomon's seal*. 261.

황정(黃精) 추출물의 화학구조 결정에 관한 연구(I)

6. Day, C., Cartwright, T., Provost, J., Bailey, C. J. 1990. *Planta Medica*. **56**, 426.
7. Iyorra, M. D., Paya, H. 1988. *Planta Medica*. **55(4)**, 282.
8. Villarm, A., Paya, H., Hortiguera, M. D., Corte, D. 1986. *Planta Medica*. **52(1)**, 43.