

조릿대잎의 flavone 배당체 성분

윤기동, 김철영, 허 훈*

서울대학교 약학대학 종합약학연구소

The flavone glycosides of *Sasa borealis*

Ki Dong Yoon, Chul-Young Kim and Hoon Huh*

Research Institute of Pharmaceutical Science and College of Pharmacy
Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

Abstract – As part of study of the constituents of bamboo grasses, the leaves of *Sasa borealis* (Hackel) Makino (Gramineae) were examined. Friedelin, glutinol, isoorientin and isovitexin have been reported as constituents of bamboo grasses. In this study, triclin and two flavone glycosides, triclin 7-O-β-D-glucopyranoside and luteolin 6-C-α-L-arabinopyranoside have been isolated from EtOAc extract of *S. borealis*, by consecutive silica gel, Sephadex LH-20 column chromatography and a repetitive HPLC. The structures of these compounds were determined by IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, ¹³C-¹H COSY, ¹H-¹H COSY, HMBC and Mass spectral data.

Key words – *Sasa borealis* (Hackel) Makino, Gramineae, triclin, flavone glycoside, triclin 7-O-β-D-glucopyranoside, luteolin 6-C-α-L-arabinopyranoside

죽엽 (Bambusae Folium)은 벼과 (Gramineae)에 속하는 대나무 속 및 조릿대 속 식물의 잎을 말한다. 한방에서는 습대 (*Phyllostachys nigra* var. *henensis* Stapf), 왕대 (*Phyllostachys bambusoides* S. et Z), 조릿대 (*Sasa borealis* (Hackel) Makino), 섬조릿대 (*Sasa kurilensis* (Rupr.) Makino et Shibata), 제주조릿대 (*Sasa quelpaertensis* Nakai) 등의 여러 종이 함께 쓰인다. 약재로 사용되는 잎은 좁은 침형으로서 길이는 7-15 cm, 나비는 1-2 cm이고 한쪽 끝이 뾰족하고 다른 한쪽은 엽병이 붙어있다. 전체적으로 녹색을 나타내고 뒷면은 담녹색이며 기부에서 미모를 볼 수도 있으며^{1,2)} 한방에서 소염, 유산, 발한 등의 치료목적으로 사용되어 왔다.^{3,4)} 현재까지 죽엽에 대한 성분연구로는 triterpene 계열 화합물인 friedelin, glutinol 등과 flavonoid 계열 화합물인 isoorientin과 같은 물질들이 보고되고 있을 뿐이므로^{4,5)} 본 연구에서는 죽엽에 대한 체계적인 성분연구를 수행하고자 하였다. 조릿대의 잎을 80% MeOH로 sonication하여 추출한 후, CH₂Cl₂와 EtOAc 분획으로 나누고, EtOAc 분획에 대해 silica gel 및 Sephadex LH-20, HPLC 등

을 이용하여 분리, 정제한 결과 3종의 화합물을 분리하였으며 MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, ¹³C-¹H COSY, ¹H-¹H COSY, HMBC 등의 spectral data를 통하여 각각의 구조를 동정하였기에 이를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 – 본 실험에 사용한 조릿대는 충청북도 속리산 일원에서 채집한 것을 경동시장에서 구입하여 사용하였으며 서울대학교 명예교수 한대석 교수님께 감정받았다.

시약 및 기기 – IR은 JASCO의 FT/IR 300E를 사용하여 KBr disc법으로 측정하였고 용점 측정은 Büchi 535를 사용하였으며 보정하지 않았다. MS는 JEOL의 JMS-AX505WA, NMR spectrum은 JEOL GSX Spectrometer (300MHz for ¹H; 75MHz for ¹³C)와 Bruker, Avance DPX-300 (300MHz for ¹H; 75MHz for ¹³C)를 사용하였고, UV는 Shimadzu 2100 Spectrophotometer를 사용하여 측정하였다. Column chromatography용 흡착제로는 silica gel 60H (Art. 11695, Merck), Sephadex LH-20 (lipophilic, bead size 25-100 μm, Sigma)를 사용하였고 thin layer

*교신저자 : Fax : 02-884-6086

chromatography (TLC)용 plate로는 precoated silica gel 60 F₂₅₄ plate (layer thickness 0.25 mm, 20×20, Art. 5715, Merck)을 사용하였으며 HPLC의 pump는 Gilson 321, Detector는 Gilson UV/VIS 151을 사용하여 측정하였고 column으로는 YMC HPLC column (250×10 mm I.D., S-4 μm, 80A)을 사용하였다. 발색은 anisaldehyde-H₂SO₄ reagent 및 α-naphthol reagent, 1% FeCl₃ solution을 사용하였다. 추출용 유기용매는 1급 시약을 증류하여 사용하였으며, 분리 정제용 용매는 Duksan (Seoul, Korea) 제품을 사용하였다.

추출 및 분리 - 조릿대 (건조중량 10 kg)의 잎을 조밀한 후 초음파 장치(Branson-5200, Germany)를 이용하여 80% MeOH로 3회 추출하여 그 추출물을 감압 농축하여 MeOH 추출물 150 g을 얻었으며 이를 물로 현탁한 뒤 CH₂Cl₂로 분획하고 남은 수층을 EtOAc로 다시 분획한 후 이를 감압농축하여 EtOAc 추출물 약 30 g을 얻었으며 이 EtOAc 추출물을 silica gel column chromatography에 걸어서 전개용매 CHCl₃:acetone:methanol (20:1:1) 조건으로부터 점차 극성을 높여가며 용출시켜 소분획을 얻었다.

화합물 1 - 소분획 3에서 CHCl₃:acetone:methanol (20:1:1)로 전개했을 때 R_f치가 0.25이면서 anisaldehyde-H₂SO₄에 노란색, UV 365 nm에서 암갈색으로 발색하는 물질을 모아 Sephadex LH-20을 사용하여 MeOH로 재결정시켜 노란색의 결정을 분리했다(87 mg). 이 물질은 1% FeCl₃에 양성을 나타내었다.

C₁₇H₁₄O₇ - mp 291^o-292^o; IR, ν_{max} 3355 (-OH), 1654 (C=O), 1611, 1508 (aromatic C=C) cm⁻¹; ¹H-NMR (300MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.95 (1H, s), 7.31 (2H, s), 6.96 (1H, s), 6.55 (1H, d, *J*=1.95 Hz), 6.44 (1H, d, *J*=2.19 Hz), 3.87 (6H, OCH₃×2); ¹³C-NMR (75MHz, DMSO-*d*₆) δ : 182.21 (C-4), 164.55 (C-2), 164.09 (C-7, C-4), 161.83 (C-9), 157.77 (C-5), 148.63 (C-3, C-5), 140.23 (C-1), 120.83 (C-10), 104.83 (C-6', C-2'), 99.28 (C-6), 94.63 (C-8), 56.81 (-OCH₃×2); Positive FAB Mass (glycerol for matrix) *m/z* 331 [M+H]⁺, 315, 277, 275, 259, 215, 167, 153, 115.

화합물 2 - 소분획8에서 CHCl₃:acetone:methanol (20:1:1)로 전개했을 때 R_f치가 0.35이면서 anisaldehyde-H₂SO₄에 노란색, UV 365 nm에서 암갈색으로 발색하는 물질을 모아 Sephadex LH-20을 사용하여 MeOH로 재결정시켜 노란색의 결정을 분리하였다

(34 mg). 이 물질은 1% FeCl₃와 α-naphthol에 양성을 나타내었다.

C₂₃H₂₄O₁₂ - mp 260^o-261^o; IR, ν_{max} 3430 (-OH), 1660 (C=O), 1617, 1497 (aromatic C=C) cm⁻¹; ¹H-NMR (300MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.94 (1H, s), 7.57 (2H, s), 7.06 (1H, s), 6.93 (1H, d, *J*=2.19 Hz), 6.45 (1H, d, *J*=2.19 Hz), 5.04 (1-H, d, *J*=8.04 Hz), 3.87 (6H, OCH₃×2); ¹³C-NMR (75MHz, DMSO-*d*₆) δ : 164.55 (C-2), 104.24 (C-3), 182.50 (C-4), 157.32 (C-5), 99.96 (C-6), 163.44 (C-7), 95.75 (C-8), 161.52 (C-9), 120.64 (C-10), 140.42 (C-1'), 104.95 (C-2', 6'), 148.66 (C-3', 5'), 164.55 (C-4'), 100.6 (C-1''), 73.6 (C-2''), 76.9 (C-3''), 70.1 (C-4''), 77.8 (C-5''), 61.1 (C-6''); Positive FAB Mass (glycerol for matrix) *m/z* 493 [M+H]⁺, 331 [M+H-glucose]⁺, 315 (M-CH₃), 301 (M+H-CH₃×2), 277, 271, 167, 153, 115.

화합물 3 - 소분획 13에서 CHCl₃:methanol (5:1)로 전개했을 때 R_f치가 0.4이면서 anisaldehyde-H₂SO₄에 노란색, UV 365 nm에서 암갈색으로 발색하는 물질을 모아 Sephadex LH-20과 HPLC로 정제하여 노란색의 화합물을 분리했다 (3.3 mg). 이 물질은 1% FeCl₃와 α-naphthol에 양성을 나타내었다.

C₂₀H₁₈O₁₀ - ¹H-NMR (300MHz, DMSO-*d*₆) δ : 13.48 (1H, s), 7.40 (2H, d, *J*=8.5 Hz), 6.85 (1H, d, *J*=8.3 Hz), 6.64 (1H, s), 6.46 (1H, s), 4.51 (1H, d, *J*=9.65 Hz); ¹³C-NMR (75MHz, DMSO-*d*₆) δ : 164.07 (C-2), 103.03 (C-3), 182.07 (C-4), 160.38 (C-5), 109.42 (C-6), 160.38 (C-7), 94.35 (C-8), 156.68 (C-9), 103.54 (C-10), 121.58 (C-1'), 113.57 (C-2'), 146.20 (C-3'), 150.40 (C-4'), 116.37 (C-5'), 119.34 (C-6'), 74.59 (C-1''), 68.37 (C-2''), 74.96 (C-3''), 69.01 (C-4''), 74.42 (C-1'), 68.82 (C-2'), 74.96 (C-3'), 69.32 (C-4'), 70.62 (C-5'); Positive FAB Mass (glycerol for matrix) *m/z* 418 [M+H]⁺, 391, 343, 329, 299, 277, 229, 137.

결과 및 고찰

화합물 1은 노란색의 결정성 화합물로 TLC상에서 UV 254 nm에서 약한 흡수를 보였으며 365 nm에서는 암갈색의 형광을 나타내었다. 또한 1% FeCl₃에 양성을 나타낸 것으로 보아 polyphenol기를 가진 flavonoid 계열의 화합물임을 유추할 수 있었다.^{6,7)} Po-

sitive FAB Mass spectrum으로부터 $[M+H]^+$ ion peak인 m/z 331을 확인하여 분자량이 330인 것을 알 수 있었으며 Retro-Diels-Alder fragmentation을 통해 생긴 153, 167 ion peak를 관찰할 수 있었다.⁸⁾ $^1\text{H-NMR}$ 에서는 12.5 ppm에서 5-OH peak를 확인할 수 있었고 B-ring에 있는 2개의 수소에 해당하는 peak를 δ 7.31 (2H, s)에서 확인하였고 δ 6.96 (1H, s)에서 C-ring에 위치한 3번 탄소에 위치하는 것으로 보이는 수소를 확인할 수 있었다. 또한, δ 6.44 (1H, d, $J=2.19$ Hz), δ 6.55 (1H, d, $J=1.95$ Hz)에서 서로 meta 위치로 coupling하는 peak는 A-ring의 6번, 8번에 위치한 수소임을 확인할 수 있었다. 또한, 3.87 ppm (6H, $\text{OCH}_3 \times 2$)에서 2개의 methoxy기를 확인하였다. $^{13}\text{C-NMR}$ 에서는 δ 182.21의 carbonyl carbon을 확인하였고 δ 164.55, 163.09, 161.83, 157.77, 148.63, 140.23, 120.83, 104.83, 99.28, 94.63에서 aromatic carbon과 olefinic carbon을 확인할 수 있었다. 또한 2개의 methoxyl carbon을 확인하였다. 이를 통해 화합물 1은 탄소 개수 15개인 flavonoid 골격에 2개의 methoxyl기를 가지는 flavone으로 추정할 수 있었으며 이를 문헌치^{9,10)}와 비교하여 tricin으로 동정하였다.

화합물 2는 노란색의 결정성 화합물로 TLC상에서 anisaldehyde- H_2SO_4 에 노란색으로 발색하고 UV 365 nm에서 암갈색으로 발색하였으며 1% FeCl_3 와 α -naphthol에 양성을 나타낸 것으로 보아 당을 가진 flavonoid 계열의 화합물임을 유추할 수 있었다.^{6,7)}

Positive FAB Mass spectrum에서는 $[M+H]^+$ ion peak인 m/z 493을 확인하여 분자량이 492임을 확인할 수 있었고 당 부위가 떨어져 나간 것으로 추정되는 m/z 331 ion peak와 Retro-Diels-Alder fragmentation을 통해 생긴 153 ion peak를 확인할 수 있었다.⁸⁾ $^1\text{H-NMR}$ 은 화합물 1과 유사한 pattern을 보이는데 δ 12.94에 5-OH peak를 확인할 수 있었으며 δ 7.57에서 2', 6 번 탄소에 결합한 2개의 수소에 해당하는 peak를 확인하였고, δ 7.06에서는 3번 탄소에 결합한 수소를 δ 6.93, 6.45에서는 coupling constant 2.19 Hz로 meta 위치로 coupling하는 8번, 6번 탄소에 결합한 수소를 확인할 수 있었다. 5.04 ppm에서는 coupling constant 8.04 Hz의 doublet로 존재하는 peak를 확인할 수 있었는데 이는 당의 anomeric proton으로 유추하였으며 그 chemical shift와 anomeric proton의 coupling constant가 8.04 Hz인 것으로 미루어 볼 때 결합한 당이 glucose이고 β -

linkage로 결합하고 있음을 추정할 수 있었다. 화합물 1 (tricin)과 비교해 볼 때 8번, 6번 탄소에 결합한 수소의 chemical shift가 각각 0.38, 0.1 ppm downfield shift되어 있음을 볼 수 있었다. 이로 인해 당이 tri-cin 골격의 7번 위치에 결합한 O-glycoside임을 추정할 수 있었다. $^{13}\text{C-NMR}$ 에서는 화합물 1과 비교해 볼 때 거의 일치하는 chemical shift를 볼 수 있었지만 7번 탄소가 0.65 ppm upfield shift되어 있고 7번 위치에서 ortho에 해당하는 6번, 8번 탄소가 각각 0.7, 1.13 ppm downfield shift되어 있는 것으로 보아 위의 $^1\text{H-NMR}$ 에서 유추했듯이 당이 7번 탄소에 결합했음을 알 수 있었다.¹¹⁾ 당은 $^{13}\text{C-NMR}$ 의 chemical shift를 문헌치와 비교한 결과 β -D-glucose로 동정하였다. HMBC spectrum을 이용하여 당의 anomeric proton이 tricin 모핵의 7번 탄소와 correlation함을 확인하였고 이상의 결과를 토대로 화합물 2는 분자량이 492의 flavone glycoside 계열인 tricin 7-O- β -D-glucopyranoside¹²⁾로 동정하였다(Fig. 1).

화합물 3은 TLC상에서 anisaldehyde- H_2SO_4 에 노란색, UV 365 nm에서 암갈색으로 발색하는 노란색의 화합물로 1% FeCl_3 와 α -naphthol에 양성을 나타내는 것으로 보아 당을 가진 flavonoid 계열의 화합물임을 유추할 수 있었다.^{6,7)} Positive FAB Mass spectrum에서는 $[M+H]^+$ ion peak인 m/z 419를 확인하여 분자량이 418임을 확인하였고 $^1\text{H-NMR}$ 에서 δ 13.48에서 5번 탄소에 결합한 OH를 확인할 수 있었으며 δ 7.40에서 coupling constant 8.5 Hz를 가지는 2', 6 탄소에 결합하는 것으로 추정되는 수소를 확인하였고 δ 6.85에서 coupling constant 8.5 Hz로 6 탄소에 결합한 수소와 ortho 위치로 coupling하는 5 탄소에 결합한 수소를 확인하였고 δ 6.64 ppm에서 3번 탄소에 결합한 수소를 δ 6.46에서 8번 탄소에 결합한 수소를 확인하였다. 이러한 $^1\text{H-NMR}$ data를 통해 이 화합물의 골격이 luteolin 골격을 가짐을 유추할 수 있었다.¹¹⁾ δ 4.51에서 coupling constant 9.65 Hz의 doublet를 볼 수 있었는데 이는 당의 anomeric pro-

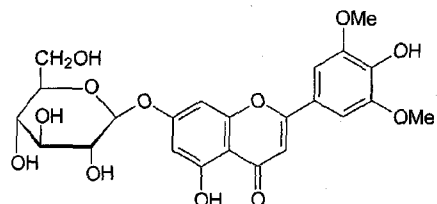


Fig. 1. Structure of tricetin 7-O- β -D-glucopyranoside

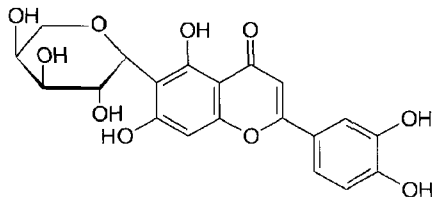


Fig. 2. Structure of luteolin 6-C- α -L-arabinopyranoside

ton으로 추정하였고 chemical shift가 4.51 ppm인 것으로 보아 C-glycoside임을 추측할 수 있었다.¹¹⁾ ¹³C-NMR에서 골격을 문헌치¹⁰⁾에 나와 있는 luteolin과 비교해 볼 때 6번 탄소의 chemical shift가 약 10 ppm downfield shift한 것으로 보아 당이 6번 위치에 결합하였음을 알 수 있었다. 당 부분의 chemical shift는 74.96, 74.42, 70.62, 69.32, 68.82 ppm이었고 5탄당으로 확인하였으며 그 ¹H-NMR data에서 anomeric proton의 chemical shift, coupling constant와 ¹³C-NMR의 chemical shift를 문헌치¹⁰⁾와 비교한 결과 α -L-arabinose임을 확인하였다.^{10,11)} 최종적으로 HMBC spectrum으로 확인하여 anomeric proton이 6번 탄소와 correlation 함을 확인하였다. 이상의 결과에서 화합물 3은 flavone glycoside 계열의 분자량 318을 가지는 luteolin 6-C- α -L-arabinopyranoside로 동정하였다.¹³⁻¹⁴⁾(Fig. 2)

결 론

조릿대(*Sasa borealis* (Hackel) Makino)의 80% Me OH 추출물을 CH₂Cl₂와 EtOAc 분획으로 나눈 후 EtOAc 분획을 silica gel 및 Sephadex LH-20, HPLC 등의 column chromatography를 통하여 화합물 1, 2, 3을 분리하였으며 IR, MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, ¹³C-¹H COSY, ¹H-¹H COSY, HMBC 등의 spectral data를 통하여 화합물 1은 triclin, 화합물 2는 triclin 7-O- β -D-glucopyranoside, 화합물 3은 luteolin 6-C- α -L-arabinopyranoside로 동정하였다. 화합물 2, 3은 조릿대속에서 처음 분리, 보고되는 물질이다.

감사의 글

본 연구는 교육부의 두뇌한국 21의 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. 정보섭, 김일혁, 김재길 (1984) 원색천연약물대사전. 272. 남산당, 서울.
2. 정영호 (1991) 식물대백과 : 현화식물편. 259. 아카데미서적, 서울.
3. 송주택 (1986) 식물학대사전. 1126-1127. 거북출판사, 서울.
4. 難波恒雄 (1994) 和漢藥百科圖鑑. 92-95. 保育社, 東京.
5. Tanaka, N., Wada, H., Fuchino, H., Inoue, Y., Yasuda, D., Kanda, S., Kiyokawa, C., Ashida, N., Suzuki, T., Yamazaki K. and Hakamatsuka, N. (1988) Constituent of bamboos and bamboo grasses. *Yakugaku Zasshi* 118(8): 332-337.
6. 류경수, 한대석, 유승조, 정보섭, 성충기 역편 (1991), 천연물화학. 217-235. 도서출판 영림사, 서울.
7. Silverstein, R. M., Bassler G. C. and Morrill, T. C. (1991) *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. 5th edition, 165-225. John Wiley and Sons Inc., New York.
8. Pramanikand, B. N. and Das, P. R. (1989) Molecular ion enhancement using salts in FAB matrices for studies on complex natural products. *J. Nat. Prod.* 52(3): 534-546.
9. Bhattacharyya, J., Stagg, D., Mody, N. V. and Miles, D. H. (1978) Constituents of *Spartina cynosuroides*: Isolation and ¹³C-NMR analysis of triclin. *J. Pharm. Sci.* 67(9): 1325-1326.
10. Agrawal, P. K. (1989) *Carbon-13 NMR of flavonoids*, 136. Elsevier, New York.
11. Harborne, J. B. (1988) *The Flavonoids*, 441-497. Chapman & Hall, New York.
12. Minamikakawa, T. and Akazawa, T. (1965) Flavonoid pigment in rice leaves and the isolation of glucotricin. *Agr. Biol. Chem.* 29(5): 428-435.
13. Ishikura, N. and Yoshitama, K. (1988) C-glycosylflavones of *Mucuna sempervirens*. *Phytochemistry* 27(5): 1555-1556.
14. Kato, T. and Morita, Y. (1990) C-glycosylflavones with acetyl substitution from *Rumex acetosa* L. *Chem. Pharm. Bull.* 38(8): 2277-2280.

(2000년 6월 9일 접수)