

## 방울비짜루 (*Asparagus oligoclonos*)로부터 분리한 스테로이드 사포닌의 항균활성

김금숙\* · 성재덕 · 박승용<sup>1</sup> · 오세량<sup>2</sup> · 광용호

영남농업시험장, <sup>1</sup>건국대학교 수의학과, <sup>2</sup>생명공학연구소 천연물생합성 R.U.

**초 록 :** 방울비짜루의 MeOH 추출물 및 수포화 BuOH 추출물로부터 항균활성을 확인하고 그 원인물질을 구명하던 중 두 종의 steroid saponin을 분리하였다. 이들의 구조확인을 위해 <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C NMR 및 2D NMR 등 분광학적 방법을 사용하였으며 최종 이들의 구조가 25S-spirostan계 steroid saponin인 3-O-[β-D-glucopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl]-(25S)-spirostan-3β-ol 및 3-O-[β-D-glucopyranosyl-(1→2)-[β-D-xylopyranosyl-(1→4)]-β-D-glucopyranosyl]-(25S)-spirostan-3β-ol인 것으로 동정되었다. 이 두 화합물은 방울비짜루로부터는 처음으로 분리되었다. 이들 saponin의 항균활성 및 항균 스펙트럼을 검사하기 위하여 20개 균주에 대한 MIC를 실시하였다. 이들은 그중 10개 균주에 대해 100 μg/ml의 농도에서 세균의 성장을 저지하는 항균력이 있었으며 광범위한 항균 스펙트럼을 나타내었다. (1999년 12월 21일 접수, 2000년 5월 22일 수리)

### 서 론

방울비짜루는 백합과(Liliaceae)에 속하는 다년생 초본으로 약간 육질인 뿌리줄기를 약용으로 사용하여 예로부터 해수(咳嗽), 천식(喘息) 및 가래(痰)가 배출되는 증상에 사용하였던 중요한 민간 생약이다. 중국, 일본, 한국 및 러시아에 주로 분포하고 있으며 유효성분에 대한 연구는 보고된 바 없다.

백합과의 식물종은 다양한 생리적 활성의 saponin을 함유하는 것으로 널리 알려져 있으며 본 연구자들의 예비실험에서는 방울비짜루 뿌리줄기의 MeOH 추출물 및 BuOH 추출물로부터 식물균인 사과곰팡이썩음병균(*Botryosphaeria dothidea*)에 대한 항균활성을 확인할 수 있었다. 본 연구자들은 우리나라의 전통 민간 생약인 방울비짜루로부터 항균활성 물질을 분리·추적하던 중 이 식물로부터는 처음인 2종의 25S spirostan계 steroid saponin 성분을 분리하여 그 구조를 밝혔으며 20종의 균주에 대해 항균력을 검정하였기에 보고하고자 한다.

### 재료 및 방법

#### 시약 및 기기

Column chromatography용 silica gel 충전제와 precoated TLC plate는 각각 Merck사(Germany)의 Kiesel gel 60(70~230 mesh)와 Kiesel gel 60F<sub>254</sub>를 사용하였으며, column chromatography용 용매는 G.R.급을 사용하였다. <sup>1</sup>H NMR(400 MHz), <sup>13</sup>C NMR(100 MHz) 및 2D NMR spectra는 JEOL JNM-LA 400 FT-NMR(Japan)을 사용하여 측정하였으며 이때

찾는말 : 방울비짜루, *Asparagus oligoclonos*, steroid saponin, antibacterial activity, 3-O-[β-D-glucopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl]-(25S)-spirostan-3β-ol, asparanin A, 3-O-[β-D-glucopyranosyl-(1→2)-[β-D-xylopyranosyl-(1→4)]-β-D-glucopyranosyl]-(25S)-spirostan-3β-ol

\*연락처 : Tel : 82-527-350-1241; Fax : 82-527-353-3050

E-mail : kims@nyaes.go.kr

용매로 사용된 pyridine-d<sub>5</sub>는 Sigma Chemical. Co.(USA)의 것을 사용하였다. FAB-MS spectra는 JEOL JMS HX-110/110A Tandem Mass Spectrometer(Japan)로 측정하였다. 항균력 측정을 위한 Muller Hinton agar는 Difco Laboratories(USA)의 것을 사용하였다.

#### 식물재료

시험에 사용된 방울비짜루는 영남농업시험장 약용식물 유전자원 전시포에서 2년간 재배하여 1998년 3월에 수확한 것을 세척하여 2~3 cm 정도로 뿌리줄기를 절단하여 50°C에서 열풍 건조하였다. 건조된 재료는 분쇄하여 추출시료로 사용하였다. 표준시료는 영남농업시험장 자원식물연구실에 보관하였다.

#### 추출 및 분리

건조된 방울비짜루 뿌리줄기 3kg을 분쇄하여 실온에서 MeOH을 사용하여 5회 추출하고 여과액을 모아 진공 농축한 후 1062 g의 MeOH 추출물(MeOH ext.)을 얻었다. 이 MeOH ext.를 증류수에 현탁하여 에테르(Et<sub>2</sub>O)로 3회 탈지한 후, 수층을 다시 수포화 BuOH를 사용하여 5회 추출하여 BuOH 추출물(BuOH ext.) 125 g을 얻었다. BuOH ext. 30 g을 silica gel 과 혼합하여 유발에서 미세한 분말로 조제하여 silica gel (400 g)이 충전된 open glass column(직경 51 mm)에 적재하여 column chromatography(용출제, CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O(20:3:1)→6:4:1), 기울기 용출)를 실시하였다. 1차 silica gel column chromatography 실시로 총 20개의 소분획을 얻었으며, 이 중 3 번째 소분획(fr. 3)으로부터 MeOH 침전물로서 화합물 1(36 mg), 소분획(fr. 10)으로부터는 MeOH 침전물로서 화합물 2(117 mg)를 각각 순수 분리, 정제하여 화학구조를 규명하였다.

화합물 1 3-O-[β-D-glucopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl]-(25S)-spirostan-3β-ol: White powder, C<sub>39</sub>H<sub>64</sub>O<sub>13</sub>, Positive-ion FAB-MS(*m/z*): 763[M+Na]<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H NMR(400 MHz, pyridine-d<sub>5</sub>): see Table 1 and Table 2, <sup>13</sup>C NMR(100 MHz, pyridine-

$d_3$ ): see Table 1 and Table 2.

화합물 2 3-O- $\{\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\{\beta$ -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosyl $\}$ -(25S)-spirostan-3 $\beta$ -ol: White powder,  $C_{44}H_{72}O_{17}$ . Positive-ion FAB-MS( $m/z$ ): 895[M+Na] $^+$ ,  $^1H$  NMR(400 MHz, pyridine- $d_5$ ): see Table 1 and Table 2,  $^{13}C$  NMR(100 MHz, pyridine- $d_5$ ): see Table 1 and Table 2.

### 항균력 측정

시험물질의 항균력을 측정하는 최소발육저지농도 (Minimal Inhibitory Concentration: MIC) 시험은 National Committee for Clinical Laboratory Standard방법에 준하여 한천희석법으로 실시하였다.<sup>1)</sup> 최고농도 100  $\mu$ g/ml에서 최저농도 1.56  $\mu$ g/ml까지 2단계 희석한 시험물질이 함유된 Muller Hinton agar상에  $10^4$  Colony Forming Unit의 농도로 균을 접종한 후 37 $^{\circ}C$  배양기에서 18시간 정치배양한 뒤 육안으로 관찰하여 균의 성장이 없는 시험물질의 농도를 MIC로 판정하였다.

### 결과 및 고찰

방울비짜루의 유효성분에 대해서는 보고된 바 없으나, 백합과 식물의 대부분이 유효한 saponin류를 함유하는 것으로 알려져 있고<sup>2,5)</sup> 예비실험에서 방울비짜루의 MeOH 추출물 및 BuOH 추출물 등이 식물성 곰팡이인 사과겉무늬 썩음병균

(*Botryosphaeria dothidea*)에 대해 항진균 활성을 나타내었다. 이를 기초로 항진균성 물질을 분리하기 위해 방울비짜루(3 kg)의 분말 시료를 MeOH로 추출하고 Et $_2$ O, 수포화 BuOH 및 H $_2$ O로 극성별 계통 용매 분배 추출하여 최종 조사포닌 분획인 BuOH 분획을 얻었다. 이 BuOH 분획은 silica gel column chromatography(용출제, CHCl $_3$ /MeOH/H $_2$ O = 20 : 3 : 1 $\rightarrow$ 6 : 4 : 1, 기울기 용출)를 실시하여 최종 20종의 소분획을 얻었으며 이중 fr. 3과 fr. 10으로부터 각각 화합물 1과 화합물 2를 얻었다.

$^1H$  NMR spectrum에서는 고자장 영역에서 methyl 기에 기인하는 두 개의 singlet signal이  $\delta$ 0.81과 0.98에서 또 두 개의 doublet signal이  $\delta$ 1.06(d,  $J$ =6.84 Hz)과 1.14(d,  $J$ =6.84 Hz)에서 각각 관측되었다.

$^{13}C$  NMR spectrum에서는 총 39개의 carbon signal이 관측되었고 이중에서  $\delta$ 109.69에서의 carbon signal은 ketal carbon에 기인한 것으로 화합물 1이 spirostane계의 steroid saponin임을 시사하였고<sup>2,6,7)</sup> DEPT spectrum에서도 이 carbon signal이 4급 carbon인 것으로 확인되어(Table 1) 이 signal을 spirostane계의 steroid saponin의 C-22의 것으로 동정할 수 있었다. 한편  $^{13}C$  NMR spectrum에서  $\delta$ 1.06의 proton signal에 상응하는  $\delta$ 16.28(C-27)의 carbon signal과 그 주위의 것으로 추론되는 carbon signal들이 각각  $\delta$ 26.21(C-24),  $\delta$ 27.55(C-25) 및  $\delta$ 65.10(C-26) 등에서 관측되므로써 이 steroid saponin은 25S-

Table 1.  $^1H$  NMR(400 MHz, pyridine- $d_5$ ) and  $^{13}C$  NMR(100 MHz, pyridine- $d_5$ ) spectral data for aglycon moieties of compound 1 and 2

No. of C	$\delta$ C		DEPT	$\delta$ H (J in Hz)	
	1	2	1 & 2	1	2
1	30.96	30.83	CH $_2$	1.45 m	1.48 m, 1.39 m
2	27.02	26.97	CH $_2$	1.99-1.89 m	1.48-1.25 m
3	75.20	75.33	CH	4.30 m	4.23 m
4	30.74	30.67	CH $_2$	1.85-1.80 m	1.91-1.68 m
5	36.85	36.61	CH	2.16 m	2.18 m
6	26.85	26.80	CH $_2$	1.99-1.89 m, 1.30-1.13 m	1.48-1.25 m
7	26.79	26.76	CH $_2$	1.99-1.89 m, 1.30-1.13 m	1.48-1.25 m
8	35.54	35.52	CH	1.48 brs	1.48 m
9	40.25	40.22	CH	1.33-1.21 m	1.31-1.22 m
10	35.27	35.23	C	-	-
11	21.16	21.13	CH $_2$	1.38-1.21 m	1.35-1.31 m
12	40.32	40.29	CH $_2$	1.69 brs, 1.07-1.06 m	1.71-1.68 m
13	40.89	40.86	C	-	-
14	56.47	56.44	CH	1.65 m	1.08-0.98 m
15	32.16	32.14	CH $_2$	2.03-1.97 m	2.01 m
16	81.34	81.39	CH	4.58 m	4.57 m
17	62.98	62.96	CH	1.81 m	1.81 m
18	16.59	16.56	CH $_3$	0.81 s	0.83 s
19	24.03	23.98	CH $_3$	0.98 s	0.98 s
20	42.49	42.46	CH	1.92-1.89 m	1.91 m
21	14.90	14.89	CH $_3$	1.14 d(6.84)	1.16 d(6.08)
22	109.69	109.67	C	-	-
23	26.42	26.40	CH $_2$	1.57-1.55 m	1.48-1.25 m
24	26.21	26.19	CH $_2$	1.57-1.55 m	1.48-1.25 m
25	27.55	27.52	CH	1.56 brs	1.60 brs
26	65.10	65.09	CH $_2$	4.10 m, 3.37 m	4.06 m, 3.37 d(10.52)
27	16.28	16.27	CH $_3$	1.06 d(6.84)	1.08 d(6.60)

Table 2.  $^1\text{H}$  NMR(400 MHz, pyridine- $d_5$ ) and  $^{13}\text{C}$  NMR(100 MHz, pyridine- $d_5$ ) spectral data for sugar moieties of compound 1 and 2

No. of C	$\delta\text{C}$		$\delta\text{H}$ (J in Hz)	
	1	2	1	2
3-O-Glc				
1	101.93	101.60	4.95 d(7.32)	4.86 d(5.88)
2	83.14	80.58	4.24 m	4.23 m
3	78.23	76.20 <sup>a</sup>	4.33-4.20 m	3.77 m
4	71.82	81.32	4.33 m	4.57 m
5	78.56	78.51	3.96 m	3.96 m
6	62.90 <sup>a</sup>	61.67 <sup>b</sup>	4.30 m	4.47 m, 4.41 m
Glc(terminal)				
1	105.99	105.34	5.39 d(7.6)	5.45 d(7.32)
2	77.09	77.02	4.08 m	4.04 m
3	78.19 <sup>b</sup>	76.28 <sup>a</sup>	3.87 m	3.77 m
4	71.62	71.94	4.18 m	4.23 mb
5	77.94 <sup>b</sup>	77.91	4.33-4.20 m	4.23 m
6	62.71 <sup>a</sup>	63.04 <sup>b</sup>	4.54 m, 4.56 dd (6.80, 8.32)	4.60 m, 4.44 m
Xylose				
1		105.47		5.06 d(7.56)
2		74.95		3.96 m
3		78.30		4.10 m
4		70.78		4.15 mb
5		67.32		4.08 m, 3.65 dd (10.72, 10.24)

<sup>a,b</sup>Assignments with the same superscript may be interchanged in each column.

spirostane의 구조인 것으로 확인되었다.<sup>6,8-11)</sup>

$^{13}\text{C}$  NMR spectrum의  $\delta 101.93$ 과  $105.99$ 에서의 carbon signal은 anomeric carbon으로 추론되었으며  $^1\text{H}$  NMR spectrum에서 이에 상응하는 anomeric proton signal을  $\delta 4.95$ (d,  $J = 7.32$  Hz)과  $5.39$ (d,  $J = 7.60$  Hz)에서 각각 확인하므로써 화합물 1이 구성당으로서 두 개의 당을 가지며 그 입체구조는 모두  $\beta$ -form 인 것으로 추론할 수 있었다.<sup>2)</sup> 비당부의 27개의 carbon signal을 제외한 총 12개의 carbon signal은 2개의 6탄당에 유래한 것으로 보고 문헌치를 비교한 결과 구성당의 종류는 glucose인 것으로 추론되었으며,<sup>12,13)</sup> 2D NMR spectra의 면밀한 분석으로 구성당의 배열방식과 비당부와의 결합위치 등을 결정하였다.  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum의  $\delta 101.93$ 에서의 내부 glucose의 anomeric carbon signal은 말단의 glucose C-1'의 chemical shift 값보다 고자장으로 약  $\delta 4$  정도 shift 되었는데(Table 2) 이것은 말단의 glucose가 내부의 glucose C-2'에 (1 $\rightarrow$ 2)방향으로 결합되어 생긴  $\beta$ -effect에 기인한 것으로 해석되었다. 한편 이러한 구성당의 배열방식으로 인해 내부 glucose C-2'의 chemical shift값이  $\delta 83.14$ 로서 일반적인 경우보다 약  $\delta 6$ 정도 저자장으로 shift된 것으로 해석되었다. 구성당의 비당부에 대한 결합위치는 문헌치와의 비교에서 비당부의 C-3( $\delta 75.20$ )인 것으로 추론되었다.<sup>11)</sup> 이러한 구성당의 배열방식 및 비당부에 대한 결합위치는 HMBC spectrum에 의해서 보다 확실하게 입증되었다(Fig. 1).

한편, positive-ion FAB-MS spectrum의  $m/z$  763에서 분자량

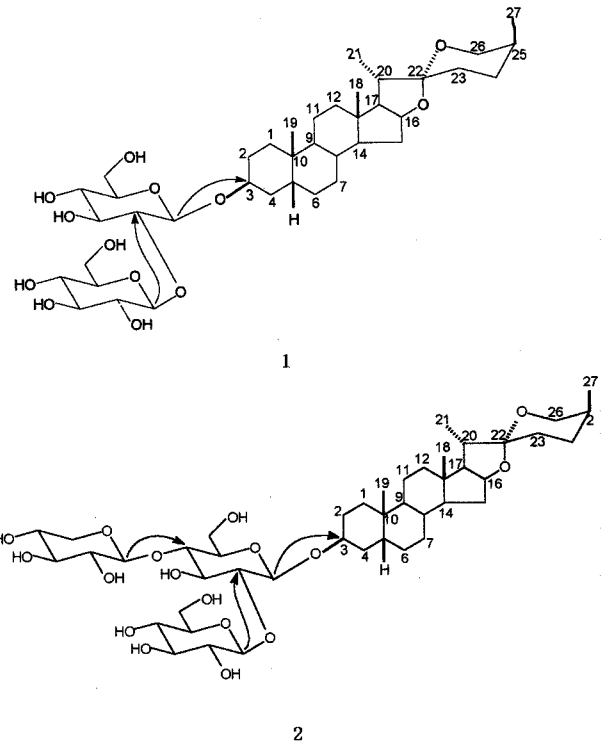


Fig. 1. The structures and HMBC-profile of compound 1 and 2.

을 나타내는  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  ion peak를 확인할 수 있었다.

이상의 NMR의 분광학적 결과와 문헌치와의 면밀한 비교 결과로 화합물 1의 화학구조는 최종 3-O-[ $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl]-(25S)-5 $\beta$ -spirostan-3 $\beta$ -ol(asparanin A)인 것으로 동정되었다. Asparanin A는 *Asparagus adscenden*에서 처음으로 분리, 보고된 물질로서<sup>13)</sup> 그 활성에 대한 연구는 보고된 바 없다.

화합물 2는  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum에서 총 44개의 carbon signal이 관측되었으며  $^1\text{H}$  NMR spectrum에서는 steroid saponin 특유의 말단 methyl 기에 기인한 proton signal들이  $\delta 0.83$ (s),  $0.98$ (s),  $1.08$ (d,  $J = 6.60$  Hz) 및  $1.16$ (d,  $J = 6.08$  Hz)에서 각각 관측되었다. 구성당의 carbon signal인 것으로 추론되는 17개의 signal을 제외한 27개의 비당부 carbon signal들은 화합물 1의 것과 거의 일치하는 것으로 보아 화합물 2는 화합물 1과 마찬가지로 (25S)-spirostane 계의 steroid saponin인 것으로 추론되었다. 구성당의 종류 및 배열방식은  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum의 chemical shift값과 문헌치와의 비교 및 2D NMR spectrum 분석으로 확인하였는데, 구성당의 종류는 2개의 glucose와 1개의 xylose인 것으로 추론하였다.<sup>5)</sup> HMBC spectrum에서 먼저  $\delta 105.47$ (anomeric carbon of terminal glucose)에서의 carbon signal과  $\delta 4.23$ (inner glucose H-2)에서의 proton signal 사이의 correlation(C-1'/H-2) 및  $\delta 105.34$  (anomeric carbon of xylose)에서의 carbon signal과  $\delta 4.57$ (inner glucose H-4)에서의 proton signal 사이의 correlation(C-1'/H-4) 등이 관측되어, 결국 구성당의 배열방식은 화합물 1과 같이 두 개의 glucose가 (1 $\rightarrow$ 2)방향으로 결합하고 추가적으로 1개의 xylose가 내부의 glucose의 C-4' 위치에 결합되어 3개의 당이 branch

**Table 3. Antibacterial activities of compounds isolated from *A. oligoclonos***

Bacteria	Minimal inhibitory concentration (µg/ml)	
	compound 1	compound 2
<i>Streptococcus pyogenes</i> 308A	100	100
<i>Streptococcus pyogenes</i> 77A	100	100
<i>Streptococcus pyogenes</i> MD8b	>100	>100
<i>Staphylococcus aureus</i> SG511	>100	>100
<i>Staphylococcus aureus</i> 285	>100	>100
<i>Staphylococcus aureus</i> 503	>100	>100
<i>Escherichia coli</i> 078	100	100
<i>Escherichia coli</i> DC O	>100	>100
<i>Escherichia coli</i> DC 2	>100	>100
<i>Escherichia coli</i> TEM	>100	>100
<i>Escherichia coli</i> 1507E	>100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 9027	100	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1592E	100	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1771	100	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1771M	50	50
<i>Salmonella typhimurium</i>	>100	>100
<i>Klebsiella oxytoca</i> 1082E	100	100
<i>Klebsiella oxytoca</i> 1552E	100	100
<i>Enterobacter cloacae</i> P99	100	100
<i>Enterobacter cloacae</i> 1321E	100	100

type으로 배열되어 있는 것으로 확인하였다(Fig. 1). 한편, positive-ion FAB-MS spectrum의  $m/z$  895에서 분자량을 나타내는  $[M+Na]^+$  ion peak를 확인할 수 있었다.

최종적으로 이 화합물 2의 화학구조는 3-O- $\{\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\{\beta$ -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosyl $\}$ -(25S)-5 $\beta$ -spirostan-3 $\beta$ -ol로 동정되었다. 이 화합물은 Makiko 등에 의해 *Asparagus officinalis*로부터 처음으로 분리, 보고되었으며 이들은 이 화합물의 *Candida*, *Cryptococcus*, *Trichophyton*, *Microsporium* 및 *Epidermophyton* 속 등 총 28종의 fungi 균주에 대한 항균균 작용에 대해서도 보고하였다.<sup>9)</sup>

화합물 1과 2는 방울비짜루(*A. oligoclonos*)로부터는 처음으로 분리되었다.

화합물 1과 2의 항균 활성을 20개 균주에 대한 MIC 시험에 의해 측정해 본 결과 *Streptococcus* 속 중 *S. pyogenes* 308A, *S. pyogenes* 77A에서 MIC가 100 µg/ml 정도의 항균력을 보인 반면 *S. pyogenes* MD8b에서는 MIC가 100 µg/ml 이상이었다. *Staphylococcus* 속과 *Salmonella* 속에 대해서는 두 화합물 모두 항균력을 보이지 않았으며 *Escherichia* 속에서는 유일하게 *E. coli* O78 균주에 대해서만 MIC가 100 µg/ml로 항균력이 인정되었다. *Pseudomonas* 속에 대해서는 4균주 모두에서 두 화합물이 MIC가 100 µg/ml 정도의 항균력을 나타내었는데 특히 *P. aeruginosa* 1771M 균주는 MIC가 50 µg/ml로서 가장 감수성이 있었다. *Klebsiella* 속과 *Enterobacter* 속의 각각 2균주에 대해서는 MIC가 100 µg/ml으로 두 화합물 모두 항균력을 나타내었다(Table 3). 종합적으로, 화합물 1 및 2는 균주에 따라 50~100 µg/ml의 MIC 값을 갖는 항균력을 갖고 있으며, 그람 양성균 혹은 그람 음성균에 편향되지 않는 광범위한 항균 스펙트

럼을 나타내었다.

이상과 같이 화합물 1과 2는 항균 활성정도가 유사한 경향을 나타내었는데 이러한 경향으로 화합물 1과 2의 항균 활성이 당부의 조성보다는 비당부의 sarsasapogenin 구조에 더 크게 의존하는 것으로 추론되어지나 보다 확실한 근거를 위해서는 화합물들의 가수분해를 통해 당부를 제거하고 얻은 비당부만의 활성을 검증하여 활성과 구조의 상관성에 대해 검토해야 할 것으로 생각된다.

방울비짜루(*A. oligoclonos*)로부터 분리된 steroid saponin인 화합물 1과 2는 비록 개발된 합성 항균제로서의 치료효과는 기대할 수 없으나 천연물질로서 일부 인체유해세균에 대한 항균력은 우수하므로 천연 항균제로서 가치를 인정할 수 있을 것으로 기대되어 추후 더 많은 연구를 통해 방울비짜루 추출물의 천연항균제로서의 이용가능성에 대한 검토 및 두 화합물에 대한 생리활성 연구가 지속되어야 할 것으로 사료된다.

## 참고문헌

- National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (1993) Document M7-A3: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria That Grow Aerobically, Villanova, Pa.
- Miamki, Y., Nakamura, O., Sashida, Y., Nikaido, T. and Chmoto, T. (1995) Steroidal saponins from the bulbs of *Triteleia lactea* and their inhibitory activity on cyclic AMP phosphodiesterase. *Phytochemistry* **38**(5), 1279-1286.
- Shao, Y., Chin, C. K., Ho, C. T., Ma, W., Garrison, S. A. and Huang, M. T. (1996) Anti-tumor activity of the crude saponins obtained from asparagus. *Cancer Letters* **104**, 31-36.
- Shao, Y., Poobrasert, O., Kennelly, E. J., Chin, C. K., Ho, C. T., Huang, M. T. Garrison, S. A. and Cordell, G. A. (1997) Steroidal saponins from *Asparagus officinalis* and their cytotoxic activity. *Planta Medica* **63**, 258-262.
- Shimotamada, M., Suzuki, M., Sonta, H., Maruyama, M. and Okubo, K. (1990) Antifungal activity of the saponin fraction obtained from *Asparagus officinalis* L. and its active principle. *Agric. Bio. Chem.* **54**(10), 2553-2557.
- Bernardo, R. R., Pinto, A. V. and Parente, J. P. (1996) Steroidal saponins from *Smilax officinalis*. *Phytochemistry* **43**(2), 465-469.
- Mimaki, Y., Kameyama, A., Kuroda, M., Sashida, Y., Hirano, T., Oka, K., Koike, K. and Nikaido, T. (1997) Steroidal glycosides from the underground parts *Hosta plantaginea* var. *jaonica* and their cytostatic activity on leukaemia HL-60 cells. *Phytochemistry* **44**(2), 305-310.
- Agrawal, P. K., Jain, D. C., Gupta, R. K. and Thakur, R. S. (1985) Carbon-13 NMR spectroscopy of steroidal saponins and steroidal saponins. *Phytochemistry* **24**(11), 2479-2496.
- Dragalin, I. P. and Kintia, P. K. (1975) Steroidal saponins of *Yucca filamentosa*: Yuccoside C and Protouccoside C. *Phytochemistry* **14**, 1817-1820.
- Lee, S. H., Ryu, S. Y., Choi, S. U., No, Z. S. and Kim, S. K. (1995) Antitumor agent from the rhizome of *Anemarrhena asphodeloides*. *Kor. J. Pharmacogn.* **26**(1), 47-50.
- Saito, S., Nagase, S. and Ichinose, K. (1994) New steroidal

- saponins from the rhizomes of *Anemarrhena asphodeloides* Bunge (Liliaceae). *Chem. Pharm. Bull.* **42**(11), 2342-2345. 3893-3898.
12. Li, X. C., Wang, D. Z. and Yang, C. R. (1990) Steroidal saponins from *Chlorophytum malayense*. *Phytochemistry* **29**(12), 13. Sharma, S. C., Chand, R. and Sati, O. P. (1982) Steroidal saponins of *Asparagus adscendens*. *Phytochemistry* **21**(8), 2075-2078.

---

**Steroidal Saponins from the Rhizomes of *Asparagus oligoclonus* and their Antibacterial Activity**

Geum Soog Kim\*, Jae Duck Seong, Seung Yong Park<sup>1</sup>, Sei Ryang Oh<sup>2</sup> and Yong Ho Kwack (National Yeongnam Agricultural Experiment Station, R.D.A. Miryang 627-130, Korea; <sup>1</sup>Department of Veterinary Medicine, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea; <sup>2</sup>Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, P.O. Box 115, Yusong, Taejeon 305-600, Korea)

**Abstract:** Two steroidal saponins were isolated from MeOH extract of the rhizomes of *Asparagus oligoclonus*. Using the spectroscopic techniques of <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C NMR and 2D NMR, they were identified as 3-O-[β-D-glucopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl]-(25S)-spirostan-3β-ol and 3-O-[β-D-glucopyranosyl-(1→2)-[β-D-xylopyranosyl-(1→4)]-β-D-glucopyranosyl]-(25S)-spirostan-3β-ol, respectively. They were first isolated from *A. oligoclonus*. The *in vitro* antibacterial activities as well as antibacterial spectrums against 20 bacteria strains were investigated with MIC test. Both saponins inhibited the growth of 10 bacteria strains at the concentration of 100 μg/ml.

**Key words:** *Asparagus oligoclonus*, antibacterial activity, steroid saponin, 3-O-[β-D-glucopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl]-(25S)-spirostan-3β-ol, asparanin A, 3-O-[β-D-glucopyranosyl-(1→2)-[β-D-xylopyranosyl-(1→4)]-β-D-glucopyranosyl]-(25S)-spirostan-3β-ol

\*Corresponding author