

지칭개(*Hemisteptia lyrata*) 꽃의 성분연구(I)

하태정 · 이경동 · 이종록 · 이 준 · 박기훈 · 양민석*

경상대학교 농과대학 농화학과

Studies on the Constituents from the Flowers of *Hemisteptia lyrata* (Bunge) (I)

Tae Joung Ha, Kyung Dong Lee, Jong Rok Lee, Jun Lee,
Ki Hun Park and Min Suk Yang*

Department of Agricultural Chemistry, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea

Abstract – The leaves and flowers of *Hemisteptia lyrata* Bunge (Compositae) have been used for cure sour throat and treat tumors in traditional chinese medicine. As a result of the chemical investigation, two compounds were isolated from the CHCl₃ extract of the flowers of *H. lyrata*. On the basis of spectroscopic experiments, their structures were identified as 8-hydroxy-3-keto-10(14)-guaian-12,6-olide (Isoamberboin) and 3,8-dihydroxy-4(15),10(14),11(13)-guaiatrien-12,6-olide (8-Hydroxyzaluzanin C). They were first isolated from the genus *Hemisteptia*.

Key words – *Hemisteptia lyrata* Bunge, Compositae, Isoamberboin, 8-Hydroxyzaluzanin C.

지칭개(*Hemisteptia lyrata* Bunge)는 국화과(Compositae)에 속하는 2년생 초본으로 5월경에 홍자색 꽃이 핀다. 中藥에서는 泥胡菜라고도 불리우며 높이는 30~80 cm이고 다육질인 원뿔꼴의 뿌리가 있으며, 잎은 가늘고 긴 피침형으로 우리나라 전국의 산이나 들에서 자생한다. *H. lyrata*의 전초는 열을 내리고 해독하며 부기를 가라앉히고 어혈을 없애는 효능이 있으며, 조그마한 종기, 외상의 출혈, 골절을 치료하는 것으로 알려져 있다.¹⁾ 지칭개에 대한 성분연구는 지금까지 2종의 sesquiterpene lactone^{2,3)}과 이들의 생리활성에 관한 연구^{4,6)}이외에는 없는 실정이다. 따라서 본 연구는 이러한 연구의 일환으로 식물의 이차대사산물 중 생리활성을 가진다고 알려진 sesquiterpene lactone을 분리하고자 하였다. 그 과정에서 지칭개 꽃 CHCl₃ 추출물로부터 2종의 guaianolide계 sesquiterpene lactone을 분리하여 그 구조를 동정하였기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 – 2001년 5월, 경남 진주시 인근의 들에서 지칭개의 꽃을 채집한 후 음건 세절하여 사용하였다.

기기 및 시약 – 용점 측정은 Thomas Hoover Capillary Apparatus를 사용하여 측정하였으며 온도는 보정하지 않았다. UV spectrum은 Beckman UV/Vis spectrophotometer DU650을 사용하였으며, IR spectrum은 Bruker IFS66 FT-IR spectrophotometer를 사용하여 KBr disc법으로 측정하였다. ¹H-¹³C-NMR 및 2D-NMR spectrum은 Bruker AM 500 spectrometer를 사용하였으며 Mass spectrum은 JEOL JMS-700 spectrometer를 사용하였으며, X-ray는 SIMENS Single Crystal X-ray Diffractometer로 측정하였다. 추출 및 column chromatography용 용매는 특급을 사용하였고, column chromatography용 silica gel은 Merck사의 Kieselgel 60(70~230, 230~400 mesh)을 사용하였다.

*교신저자 : Fax : 055-757-0178

추출 및 분리 – 음건 · 세절한 지칭개 전초 1 kg을

CHCl₃로 20 배 침지하여 상온에서 3일 간격으로 3회 반복 추출한 후, 감압 농축하여 엑스 120 g을 취하여 *n*-hexane:EtOAc(49:1→1/1)의 혼합용매로 silica gel (1 kg, 70~230 mesh) column chromatography를 수행하여 20개의 fraction을 얻었다(F1→F20). F12(1.2 g)를 다시 *n*-hexane:EtOAc=19:1로 silica gel(200 g, 230~400 mesh) column chromatography를 수행한 후 petroleum ether를 이용한 재결정으로 compound I(36 mg)을 분리하였다. 소분획 F16(4.3 g)으로부터 CH₂Cl₂:EtOAc(19:1→1/1)의 혼합용매로 silica gel(600 g, 230~400 mesh) column chromatography를 수행하여 다시 6개의 fraction으로 분리하였다(F161→F166). 이들 분획물 중 F165(620 mg)을 CHCl₃:EtOH=49/1 및 CH₂Cl₂:EtOAc=9/1의 유출용매로 silica gel column chromatography를 반복적으로 수행한 후 compound II(23 mg)를 분리하였다.

Compound I - White needle crystal (petroleum ether); mp: 179°C dec.; UV, λ_{max}(MeOH) 208 nm; MS *m/z* (EI, 70 eV, rel. int.): 264 (M⁺, 8), 246 (M⁺-H₂O, 7), 168 (43), 139 (31), 83 (44), 71 (100), 69 (73), 53 (44); IR, ν_{max}^{KBr} 3496, 2923, 1750, 1737 and 1172 cm⁻¹; [α]_D²⁵ +139.2° (c, 1.59 in CHCl₃); ¹H-NMR, (500 MHz, CDCl₃) δ: 1.22 (3H, d, *J*=6.3 Hz, H-15), 1.44 (3H, d, *J*=7.0 Hz, H-13), 2.23~2.27 (4H in total, H-9a, 5, 7, 4), 2.48 (1H, dd, *J*=19.0, 3.0 Hz, H-2b), 2.54 (1H, dd, *J*=19.0, 8.5 Hz, H-2a), 2.61 (1H, dd, *J*=10.4, 7.0 Hz, H-11), 2.83 (1H, dd, *J*=12.5, 5.6 Hz, H-9b), 3.12 (1H, ddd, *J*=7.8, 8.8, 2.9 Hz, H-1), 3.75 (1H, m, H-8), 3.93 (1H, dd, *J*=9.0, 9.0 Hz, H-6), 4.76 (1H, s, H-14b), 5.06 (1H, s, H-14a); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 39.6 (C-1), 43.6 (C-2), 219.0 (C-3), 47.3 (C-4), 51.4 (C-5), 83.2 (C-6), 54.0 (C-7), 75.7 (C-8), 49.1 (C-9), 143.9 (C-10), 41.1 (C-11), 178.6 (C-12), 16.4 (C-13), 114.8 (C-14), 14.3 (C-15).

Compound II - White crystal (ether); mp: 150°C dec.; UV, λ_{max}(MeOH) 220 nm; MS *m/z* (EI, 70 eV, rel. int.): 262 (M⁺, 12), 244 (M⁺-H₂O, 10), 226 (M⁺-2H₂O, 6), 119 (65), 105 (55), 91 (100), 69 (87), 53 (35); IR, ν_{max}^{KBr} 3411, 2926, 1749 and 1157 cm⁻¹; [α]_D²⁰ +40.6° (c, 1.4 in CHCl₃); ¹H-NMR, (500 MHz, CDCl₃) δ: 1.73 (1H, ddd, *J*=

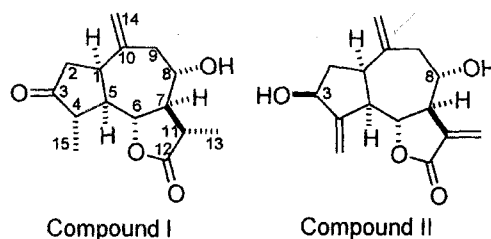


Fig. 1. Structures of the isolated compounds.

13.1, 11.0, 7.6 Hz, H-2b), 2.23 (1H, ddd, *J*=13.2, 7.3, 7.3 Hz, H-2a), 2.29 (1H, dd, *J*=14.0, 3.9 Hz, H-9a), 2.70 (1H, dd, *J*=14.0, 5.1 Hz, H-9b), 2.78 (1H, m, H-7), 2.81 (1H, m, H-5), 2.97 (1H, ddd, *J*=10.8, 8.3, 8.3 Hz, H-1), 3.96 (1H, m, H-8), 4.15 (1H, dd, *J*=10.5, 9.1 Hz, H-6), 4.55 (1H, m, H-3), 4.98 (1H, s, H-14b), 5.13 (1H, s, H-14a), 5.34 (1H, dd, *J*=1.7, 1.6 Hz, H-15b), 5.48 (1H, dd, *J*=1.7, 1.6 Hz, H-15a), 6.14 (1H, dd, *J*=3.1, 0.7 Hz, H-13b), 6.26 (1H, dd, *J*=3.4, 0.7 Hz, H-13a); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 45.3 (C-1), 39.4 (C-2), 73.8 (C-3), 152.5 (C-4), 51.4 (C-5), 78.1 (C-6), 51.1 (C-7), 72.0 (C-8), 41.3 (C-9), 142.8 (C-10), 138.1 (C-11), 169.6 (C-12), 123.1 (C-13), 117.1 (C-14), 113.2 (C-15).

결과 및 고찰

Compound I은 백색의 침상 결정으로 10% H₂SO₄에 의해 갈색으로 발색되며, IR spectrum에서 3496 (OH), 2923 (aliphatic C-H), 1750 (C=O), 1737 (C=O), 1172 (C-O)cm⁻¹에서 강한 흡수대를 보였다. Mass spectrum에서는 *m/z* 264의 molecular ion peak 및 *m/z* 246의 fragment ion peak으로부터 분자내 하나의 OH group이 존재함을 확인할 수 있었다. ¹H-NMR spectrum에서 δ 1.22의 3H분의 doublet (*J*=6.3 Hz)과 δ 1.44의 3H분의 doublet (*J*=7.0 Hz)은 각각 15, 13번의 methyl proton이며, δ 4.76, 5.06의 저자장으로 shiit되어 나타나는 2H분의 singlet signal은 exo-methylene group임을 추정할 수 있다. ¹³C-NMR, DEPT 90 및 135 spectrum을 비교 분석한 결과 총 15개의 carbon signal이 관찰되었으며, δ 219.0, 178.6의 carbonyl group, δ 16.4, 14.3의 methyl group, δ 114.8의 sp² exo-methylene group, δ 49.1, 43.6에서

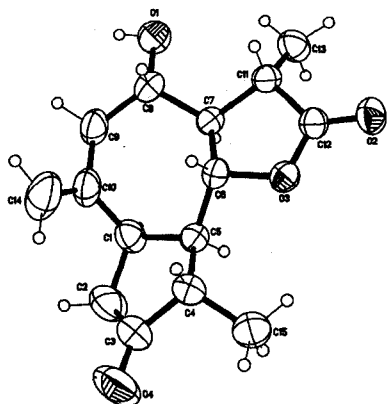


Fig. 2. ORTEP view of compound I.

의 sp^3 methylene group, δ 83.2, 75.7, 54.0, 51.4, 47.3, 41.1, 39.6의 methine group 및 δ 143.9의 quaternary carbon spectrum임을 알 수 있다. 따라서 이와 같은 결과들을 바탕으로 compound I의 총 불포화도는 6개로 이중 3개(2개의 carbonyl, 1개의 exomethylene)는 밝혀졌다. 따라서 compound I은 분자식이 $C_{15}H_{20}O_4$ 인 3고리 화합물임을 알 수 있다. 특히 1H -NMR spectrum에서 δ 2.23~2.27의 4H분의 proton은 HMQC spectrum으로부터 4개의 methine group이 심하게 overlap되어 있음을 알 수 있다. Compound I의 구조동정 및 stereochemistry를 결정하기 위해 petroleum ether로 단결정을 얻어 X-ray crystallography(Fig. 2)를 실시하여 그 구조를 결정할 수 있었다.

그 결과로부터 1H - 1H COSY spectrum의 H-13(δ 1.44)은 vicinal proton H-11(δ 2.61)과, H-11은 H-7(δ 2.23~2.27)과 상관관계를 가지며 H-7은 인접한 H-6(δ 3.93) 및 H-8(δ 3.75)과 cross peak을 보였고 H-8은 H-9a/b(δ 2.83, 2.23~2.27)과 상관관계를 나타내고 더 이상의 교차 peak는 없었다. 또한 H-7과 인접해 있는 H-6은 인접한 위치에 H-5(δ 2.23~2.29)과 상관관계를 보였으며, H-5의 vicinal proton인 H-4(δ 2.23~2.29), H-1(δ 3.12)과 약한 상관관계를 보였다. H-1은 H-2(δ 2.50)과 교차 peak를 보이고, H-4는 H-15(δ 1.22) methyl기와 상관관계를 보였다. 4차 탄소에 의해 연결이 이루어지지 않은 부분의 정보를 얻기 위해 HMBC(Fig. 3)로 long range coupling을 관찰하였으며 stereochemistry를 결정하기 위해 NOESY(Fig. 3) spectrum을 조사한 결과 compound I은 8-hydroxy-3-keto-10(14)-guaien-12,6-olide로 *Jurinea maxima*, *Cy-*

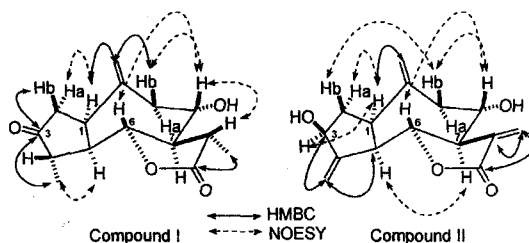


Fig. 3. Important HMBC and NOESY correlations of compound I and II.

nara scolyms 등의 식물에서 분리된 guaianolide인 isoamberboin (maximolide)^{7,8)}으로 동정하였으며, 이 화합물은 지칭개에서는 처음으로 분리 보고된 것이다.

Compound II는 무색 결정으로 10% H_2SO_4 에 의해 청록색으로 발색되며, IR spectrum에서 3411 (OH), 2926 (aliphatic C-H), 1749 (C=O), 1157 (C-O) cm^{-1} 에서 강한 흡수 peak을 확인할 수 있으며, Mass spectrum에서 m/z 262에서 molecular ion peak을 확인할 수 있었다. m/z 244, 226의 fragment peak으로부터 분자내 2개의 OH group이 있음을 알 수 있었다. 1H -NMR spectrum에서 저자장으로 shift되어 나타나는 δ 6.26, 6.14, 5.48, 5.34, 5.13, 4.98의 6H분의 signal로부터 분자내 3개의 exo-methylene group이 있음을 알 수 있다. ^{13}C -NMR spectrum에서 총 15개의 carbon signal이 관찰되며, δ 169.6의 carbonyl group, δ 123.1, 117.1, 113.2의 3개의 sp^2 methylene group, δ 41.3, 39.4의 2개의 sp^3 methylene group, δ 78.7, 73.8, 72.0, 51.4, 51.1, 45.3의 6개의 methine group 및 δ 152.5, 142.8, 138.1의 3개의 quaternary carbon spectrum으로부터 compound II의 총 불포화도는 7개중 4개(1개의 carbonyl, 3개의 exomethylene)는 밝혀졌다. 따라서 compound II는 분자식 $C_{15}H_{18}O_4$ 인 3고리 화합물임을 알 수 있다. 1H - 1H COSY spectrum에서 H-13(δ 6.26, 6.14)는 allylic 위치의 H-7(δ 2.78)과 H-7은 vicinal proton H-6(δ 4.15)과 H-8(δ 3.96)과 상관관계를 보였으며 H-6은 인접한 H-5(δ 2.81)과 cross peak을 보였고, H-5는 H-15(δ 5.48, 5.34)와 allylic coupling 및 vicinal proton인 H-1(δ 2.97)과 교차 peak을 관찰 할 수 있으며 H-1은 인접해있는 H-2(δ 2.23, 1.73)와 상관관계를 보이며 H-2는 vicinal proton H-3(δ 4.55)과 cross peak을 보였다. 그리고 H-3은 allylic 위치인 H-15와 상관관계를 그릴 수 있다. H-8은 인접해 있는 H-9(δ 2.70,

2.29)과 H-9는 더 이상의 상관관계를 찾을 수 없었다. 4차 탄소에 의해 연결이 이루어지지 않은 부분의 정보 및 입체 구조에 대한 정보를 얻기 위해 HMBC (Fig. 3) 및 NOESY (Fig. 3)를 관찰한 결과 compound II는 3,8-dihydroxy-4(15),10(14),11(13)-guaiaatriene-12,6-olide로 *Amberboa muricata*에서 분리된 8-hydroxyzaluzanin C⁹⁾로 동정되었으며, 이 화합물은 지칭개에서는 처음으로 분리 보고된 것이다.

결 론

지칭개(*Hemisteptia lyrata*)의 화학적 성분 연구를 목적으로 지칭개 꽃을 CHCl₃로 추출하여 얻은 엑스를 다양한 용매조건에 의한 silica gel column chromatography를 반복적으로 실시한 후 재결정에 의해 2종의 sesquiterpene lactone계 화합물을 순수 분리하였다. 이들 화합물들에 대한 물리화학적 성상, 1D, 2D-NMR, MS, IR, X-ray등의 spectral data를 검토한 결과 compound I은 isoamberboin으로 동정되었으며, compound II는 8-hydroxyzaluzanin C로 동정되었다. 이들 두 화합물들은 지칭개에서는 처음으로 분리 보고된 화합물이다.

감사의 글

본 연구는 21세기 프론티어연구개발사업인 자생식물이용기술개발사업단의 연구비지원(PF002106-02) 및 두뇌한국 21 사업에 의해 수행되었습니다.

인용문헌

1. 김창민, 신민교, 안택균, 이경순 역(1998) 중약대사전. 1091, 도서출판 정담, 서울.
2. Jang, D. S., Yang, M. S. and Park, K. H. (1998) Sesquiterpene Lactone from *Hemisteptia lyrata*. *Planta Med.* **64**: 289-290.
3. Jang, D. S., Ha, T. J., Yang, M. S. and Park, K. H. (1999) Hemisteptins with Cytotoxic Activity from *Hemisteptia lyrata*. *Planta Med.* **65**: 765-766.
4. Jang, D. S., Park, K. H., Kim, H. M., Hong, D. H., Chun, H. K., Kho, Y. H. and Yang, M. S. (1998) Biological Activities of Sesquiterpene Lactones Isolated from Several Compositae Plants. Part 1 Cytotoxicity Against Cancer Cell Lines. *Kor. J. Pharmacogn.* **29**: 243-247.
5. Jang, D. S., Kwon, B. M. and Yang, M. S. (1999) Biological Activities of Sesquiterpene Lactones Isolated from Several Compositae Plants. Part 2 FPTase Inhibitory Activity. *Kor. J. Pharmacogn.* **30**: 70-73.
6. Jang, D. S., Park, K. H., Ko, H. L., Lee, H. S., Kwon, B. M. and Yang, M. S. (1999) Biological Activities of Sesquiterpene Lactones Isolated from Several Compositae Plants. Part 3 Inhibitory Activity on Nitric Oxide Release and ACAT. *Kor. J. Pharmacogn.* **30**: 74-78.
7. Buckingham, J. (1992) Dictionary of Natural Products. CHAPMAN & HALL, London, D-02217.
8. Corbella, A., Gariboldi, P., Jommi, G., Samek, Z., Holub, M., Drożdż, B. and Bloszyk, E. (1972) Absolute stereochemistry of cynaropicrin and related guaianolide. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 386.
9. Buckingham, J. (1992) Dictionary of Natural Products. CHAPMAN & HALL, London, D-02004.

(2001년 8월 6일 접수)