

## 식용 식물자원으로부터 활성물질의 탐색-IV. 달래(*Allium monanthum* Max.) 로부터 Galactosyldiglyceride의 분리

- 단 보 -

백남인\* · 안은미<sup>1</sup> · 김해영 · 박영두 · 장영진<sup>2</sup> · 김세영

경희대학교 생명공학원 및 식물대사연구센터,  
<sup>1</sup>(주) 씨이젠테크놀로지, <sup>2</sup>서울대학교 농업생명과학대학

### Development of Biologically Active Compounds from Edible Plant Sources-IV. Isolation of Galactosyldiglyceride from the *Allium monanthum* Max.

Nam-In Baek\*, Eun-Mi Ahn<sup>1</sup>, Hae-Yeong Kim, Young Doo Park, Young Jin Chang<sup>2</sup> and Se Young Kim

Department of Life Sciences & Plant Metabolism Research Center, Kyung Hee University, Suwon. 449-701,

<sup>1</sup>Scigen Technology Co., Ltd., Seoul. 135-090,

<sup>2</sup>School of Agricultural Biotechnology, Seoul National University, Suwon, 441-744, Korea.

#### Abstract

*n*-BuOH fraction obtained from MeOH extracts of *Allium monanthum* was applied to repeated silica gel column chromatographies to give a glycosyldiglyceride. The chemical structure of the compound was determined to be 1-*O*-linolenoyl-2-*O*-linolenoyl-3-*O*- $\beta$ -D-galactopyranosyl-*sn*-glycerol on the basis of NMR data and by the adaptation of chemical methods.

**Key words** - *Allium monanthum*, galactosyldiglyceride, alkaline hydrolysis, gas chromatography, NMR

#### 서 론

달래(*Allium monanthum*)는 백합과(Liliaceae)에 속하는 다년생 초본식물로 그 인경 및 연한 부분을 식용으로 하는 향신채소이다. 우리 나라 전지역의 산과 들에 자생하며, 특유의 풍미가 한국인의 기호에 맞을 뿐만 아니라, 최근에는 영양이 풍부한 자연 식품으로 인식되며 그 수요가 급증하고 있어 농가에서의 재배도 활발히 이루어지고 있다.

또한 달래는 식용으로 뿐만 아니라 약용으로도 많이 이

용되고 있으며, 한방에서는 야산(野蒜) 또는 해백(薤白)이라는 약재명으로 유통되고 있다[1]. 보혈, 신경안정, 살균 등의 효능이 있는 것으로 알려져 있고[2], 살균작용에 대한 연구결과가 보고되어 있다[1]. 영양소 위주의 일반성분은 분석되어 있으나[3], 이차대사 성분에 관해서는 alliin, methyl alliin, scorodose만이 보고되어 있을 뿐이다[1]. 같은 *Allium* 속 식물인 마늘 (*A. sativum*)은 다양한 합황 화합물을 포함하여 수십종의 성분이 보고되어 있고, 그 효능에 관한 연구 결과도 매우 많다[4].

따라서 달래로부터 2차 대사산물을 분리, 동정하고 그것들의 활성을 규명함으로써 새로운 기능성 소재를 개발하기 위하여 본 실험을 수행하였다.

\*To whom all correspondence should be addressed  
Tel: 031-201-2661, Fax: 031-204-8116  
E-mail: nibaek@khu.ac.kr

## 재료 및 방법

### 기기 및 시약

Column chromatography용 silica gel은 Kieselgel 60(70~230 mesh, Merck, Germany)을, TLC는 Kieselgel 60 F<sub>254</sub>를 사용하였고, 그 외 시약은 모두 일급 또는 특급을 사용하였다. <sup>1</sup>H-NMR(400 MHz), <sup>13</sup>C-NMR(100 MHz) 및 DEPT spectra는 JEOL JNM-LA400으로 측정하였고, IR spectrum은 Perkin-Elmer model 599B (Massachusetts, U.S.A.)로 측정하였다.

### 식물시료

수원 농수산물 시장에서 구입하여 생체를 그대로 사용하였다.

### Glyceride 화합물의 분리

달래 생체 18kg을 100% MeOH (18 ℓ × 2)를 가하여 실온에서 2회 추출한 후 여과지로 여과하여 감압 농축하였다. 농축물을 물 (1 ℓ)과 EtOAc (1 ℓ × 2)로 분배 추출하고, 물층을 다시 *n*-BuOH (800 ml × 2)로 분배, 추출하였다. *n*-BuOH 층을 silica gel(330g) column chromatography (CHCl<sub>3</sub>-MeOH = 10:1 → 7:1 → 5:1 → 3:1)를 실시하여 70ml씩 분취하였다. 이 분취액을 TLC로 확인하여 유사한 분획끼리 모아 농축하여 모두 16개의 분획물 (AMB-1~AMB-16)을 얻었다. 그 중 3번째 분획 (AMB-3)을 다시 silica gel(90 g) column chromatography (CHCl<sub>3</sub>-MeOH = 8:1)하여 glycosylglyceride 화합물 **1** (AMB-3-1, 193 mg)을 분리하였다.

Glycosylglyceride 화합물 **1** : Colorless oil ; IR<sub>v</sub> (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>) 3445 (br.), 2930, 1732, 1455, 1076; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ) 5.37 (12H, m, H-9, 10, 12, 13, 15, 16 in linolenoyl) 4.29 (1H, d, *J*=7.0 Hz, H-1'), 4.04-3.54 (10H, galactosyl, glycerol-oxymethine or oxymethylene), 2.79, 2.31, 2.07, 2.06, 1.59 (all 4H, each m, H-2, 8, 11, 14, 17 in linolenoyl), 1.30-1.25 (20H, m, H-3, 4, 5, 6, 7 in linolenoyl), 0.96 (6H, t, *J*=6.0 Hz, H-18 in linolenoyl); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ<sub>C</sub>) 173.88, 173.61 (C-1"; " indicates the number of linolenoyl), 131.93, 130.19, 128.29, 128.21, 127.75, 127.10 (C-9", 10", 12", 13", 15", 16"), 103.87 (C-1'; ' indicates

the number of β-D-galactopyranosyl), 74.39 (C-5'), 73.40 (C-3'), 71.12 (C-2'), 70.23 (C-2), 68.91 (C-4'), 67.99 (C-3), 62.91 (C-1), 61.37 (C-6'), 34.24-20.54 (methylene-C in linolenoyl), 14.30 (C-18").

### 화합물 1의 알칼리 가수분해 및 지방산 조성 분석

화합물 **1**(71 mg)을 10 ml MeOH 에 녹인 후 10% KOH 수용액 0.5 ml를 가하였다. 80℃에서 3시간 환류시킨 후, 반응액에 MeOH을 20 ml 가하여 희석시키고, Dowex 50 W × 8 (H<sup>+</sup> form) 수지로 중화하였다. 수지를 여과한 후, 여액을 감압하에서 농축하였다. 농축물 중의 일부를 취하여 CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>/Et<sub>2</sub>O로 에틸화 한 후 gas chromatography로 지방산을 분석하였다 GC 분석조건 : Column; Supelcowax-10 fused silica capillary 0.25 m/m × 30 m, Split ratio; 12:1, Oven temp.; Gradient [Initial temp. 120℃(4 min), Increasing rate; 3℃/min, Final temp.; 240℃(30 min)], Detector; FID, Injector temp.; 220℃, Detector temp.; 240℃, Rt : min (Kind of fatty acid, Area %); 30.46 (methyl palmitate, 3.7), 36.81 (methyl stearate, 4.2), 37.48 (methyl oleate, 2.5), 39.16 (methyl linoleate, 7.2), 41.12 (methyl linolenate, 82.4).

한편, 위에서 GC 분석하고 남은 대부분의 농축물을 silica gel (70 g) column chromatography (CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O = 6:4:1)하여 화합물 **1a** (23 mg)을 정제하였다

화합물 **1a** (galactopyranosylglycerol) : White powder ; IR<sub>v</sub> (KBr, cm<sup>-1</sup>) 3440 (br.), 2928; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ) 4.34 (1H, d, *J*=7.0 Hz, H-1' in galactosyl), 3.96-3.53 (10H, galactosyl, glycerol-oxymethine or oxymethylene); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>C</sub>) 106.31 (C-1' in galactopyranosyl), 78.17 (C-5'), 75.92 (C-3'), 73.94 (C-2'), 73.64 (C-3), 73.55 (C-2), 71.71 (C-4'), 65.32 (C-3), 63.94 (C-6').

### 화합물 1의 산가수분해 및 구성당의 동정

화합물 **1** (5 mg)에 3% HCl (H<sub>2</sub>O-MeOH = 1:1) 34 ml를 가하고 1시간동안 환류하였다. 반응액에 Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>를 첨가하여 중화시킨 후 여과하였다. 여액 중에 생성된 당의 동정은 silica gel TLC를 이용하여 수행하였다. 전개용매 : CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O = 6:4:1, R<sub>f</sub> value of galactopyranose : 0.34.

## 결과 및 고찰

식용 식물자원으로부터 활성물질을 탐색하기 위한 연구의 일환으로 달래를 MeOH로 추출하였고, 이 추출물을 극성에 따라 EtOAc, *n*-BuOH 및 H<sub>2</sub>O로 분획하였다. 각 분획을 silica gel TLC를 이용하여 함유성분을 추정하였고, 그중 자외선 조사와 10% 황산으로 발색하였을 때, 다양한 성분이 함유된 것으로 판명된 *n*-BuOH 분획으로부터 silica gel column chromatography를 실시하여 glycosylglyceride 화합물 1을 분리하였다.

화합물 1, colorless oil, 은 IR spectrum에서 강한 수산화기 (3445 cm<sup>-1</sup>) 및 ester (1732 cm<sup>-1</sup>)의 흡수 peak가 관찰되어, ester 결합을 가진 배당체로 추정되었다. NMR spectrum으로부터 이 화합물은 몇 가지 화합물의 혼합물로 추정되었는데, 우선은 그 중에서 가장 주요성분으로부터 유래한 signal을 해석하여 구조를 구명하고자 하였다. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)에 있어서 1개의 hemiacetal signal이 δ 4.29에서 관측되었고, δ4.04-3.54에서 다수의 signal이 관측되어 1분자의 당이 존재하는 것으로 판명되었다. 또한 δ 5.37에서 관측된 다수의 olefine signal과 δ0.96에서 관측된 말단 methyl, δ2.79, 2.31, 2.07, 2.06, 1.59에서 관측된 allyl methylene, 그리고 δ1.30-1.25에서 관측된 methylene signal 들로부터 불포화도가 높은 지방산의 존재가 확인되었다. 따라서 화합물 1은 1분자의 당과 불포화지방산으로 이루어진 glycosylglyceride 화합물로 추정되었다. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) spectrum에 있어서도 2개의 carbonyl (δ 173.88, 173.61), 6개의 olefine-methine (δ131.93, 130.19, 128.29, 128.21, 127.75, 127.10), 1개의 anomer (δ103.87) signal이 관측되었다. 또한 δ74.39-61.37에서 모두 8개의 oxygenated-carbon signal이 관측되었는데, DEPT 측정결과 이중 5개는 methine carbon, 3개는 methylene carbon 인 것으로 판명되었다. Glycerol에서 유래한 3개의 signal (δ 70.23, 67.99, 62.91)을 제하고 남은 5개의 signal의 chemical shift를 문헌[5]과 비교한 결과, 구성당은 galactopyranose로 판명되었다. 또한 <sup>1</sup>H-NMR에 있어서 anomeric proton의 coupling constant 값이 7.0 Hz 인 점으로부터 β-결합하고 있는 것으로 밝혀졌다. 한편, 화합물 1의 glycerol의 *sn*-C-3 signal만이 <sup>13</sup>C-NMR에 있어서 δ67.99에서 관측되어 glycosidation shift가 인정되어, galactopyranose는 *sn*-C-3 수산

기에 결합하고 있는 것을 알 수 있었다. 고자장 영역에서는 10개의 methylene과 1개의 methyl signal이 관측되어 가장 다량으로 함유되어 있는 구성지방산은 2중 결합 3쌍을 가지고 18개의 탄소로 이루어진 linolenic acid 로 추정되었다.

구성당을 확인하기 위하여 화합물 1을 염산으로 산가수 분해하여 얻어진 반응액을 표준품과 함께 TLC로 검정한 결과 D-galactose만이 검출되었다. 또한 구성지방산의 종류 및 조성을 결정하기 위하여 ester 결합을 KOH로 처리하여 끊어내고, 얻어진 지방산 혼합물을 diazomethane으로 처리하여 지방산의 methyl ester 혼합물을 얻었다. 이 혼합물을 gas chromatography로 분석하여 구성지방산의 종류는 표준품과의 retention time을 비교하여 결정하였고, 조성비는 peak의 면적비로부터 환산하여 구하였는데, linolenic acid 가 82.4%로 월등히 많았고, linoleic acid, stearic acid, palmitic acid 및 oleic acid가 각각 7.2, 4.2, 3.7, 2.5 %를 차지하고 있는 것으로 나타났다. 이상의 결과를 종합하여 화합물 1의 화학구조를 1-*O*-linolenoyl-2-*O*-linolenoyl-3-*O*-β-D-galactopyranosyl-*sn*-glycerol로 결정하였다 (Fig. 1).

달래와 같은 *Allium* 속 식물로부터 glyceride 화합물의 분리, 동정에 관한 보고는 이번이 처음이다. 또한 다수의 glycosylglyceride 화합물에서 함암[6], 고지혈증[7] 개선과 관련된 연구결과가 보고되고 있어, 이 화합물에 대해서도 추후 다양한 생물활성에 관하여 연구할 가치가 있다고 본다.

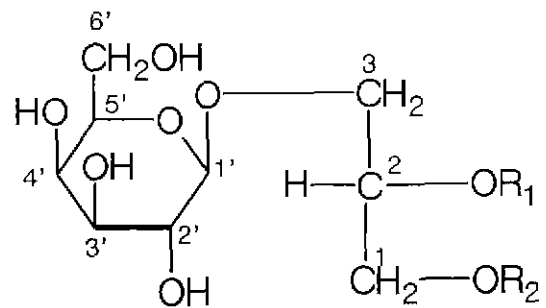


Fig. 1. Chemical structures of galactosyldiglyceride isolated from the *Allium monanthum* Max.

## 요 약

달래 MeOH 추출물의 *n*-BuOH 분획으로부터 silica gel column chromatography를 반복하여 glycosylglyceride 화

합물을 분리하였다. 이 화합물의 화학구조는 NMR data 의 해석 및 화학반응을 적용하여 1-O-linolenoyl-2-O-linolenoyl-3-O-β-D-galactopyranosyl-sn-glycerol로 결정하였다.

### 감사의 글

이 논문은 과학기술부 및 한국과학재단에서 지원하는 우수연구센터사업 (SRC) 연구비에 의해 수행되었습니다.

### 참 고 문 헌

1. Shogakukan. 1985. Encyclopedia of Chineses Drugs, pp. 226, Shanghai Science & Technology Press, Tokyo.
2. Chang, J. K. 1996. Wild herbs for health. pp. 210, Nexus CO. Ltd., Seoul.
3. Lim, W. K., S. K. Park, J. W. Rhu, D. M. Sah, M. S. Lee and K. O. Rhim. 1997. Resources of botany, pp. 267-269, Seoil, Seoul.
4. Landshuter, J., E. M. Lohmuller and K. Knobloch. 1994. Purification and Characterization of a C-S-Lyase from Ramson, the Wild Garlic, *Allium ursinum*. *Planta Med.* **60**, 343-347.
5. Seo, S., Y. Tomita, K. Tori and Y. Yoshimura. 1978. Determination of the Absolute Configuration of a Secondary Hydroxy Group in a Chiral Secondary Alcohol Using Glycosidation Shift in Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* **100**, 3331-3339.
6. Shirahashi, H., N. Murakami, M. Watanabe, A. Nagatsu, J. Sakakibara, H. Tokuda, H. Nishino and A. Iwashima. 1993. Isolation and identification of anti-tumor-promoting principles from the fresh-water cyanobacterium *Phormidium tenue*. *Chem. Pharm. Bull.* **41**, 1664-1666.
7. Tsukatani, S., S. Yamada, A. Tokumurra, T. Miyamoto and K. Takauchi. 1976. Isolation of an acute hypotensive substance from bovine brain lipid fraction. *Chem. Pharm. Bull.* **24**, 2294-2299.

(Received December 15, 2000; Accepted January 18, 2001)