

지칭개(*Hemisteptia lyrata*) 꽃의 성분연구(II)

하태정 · 장대식 · 이경동 · 이종록 · 박기훈 · 양민석*
경상대학교 응용생명과학원

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

Tae Joung Ha, Dae Sik Jang, Kyung Dong Lee, Jong Rok Lee, Ki Hun Park, Min Suk Yang*

Division of Applied Life Science, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea

Abstract – Three diene-yn-diene chromophore type compounds were isolated from the flowers of *Hemisteptia lyrata* Bunge. On the basis of spectral data, isolated compounds were identified as heptadeca-1,7,9,13,15-pentaen-11-yne, 14-acetoxy-2,4,8,10-tetradecatetraene-6-yne and 14-hydroxy-2,4,8,10-tetradecatetraene-6-yne. They were first isolated from the genus of *Hemisteptia*.

Key words – *Hemisteptia lyrata* Bunge, Heptadeca-1,7,9,13,15-pentaen-11-yne, 14-Acetoxy-2,4,8,10-tetradecatetraene-6-yne and 14-Hydroxy-2,4,8,10-tetradecatetraene-6-yne.

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 4종의 sesquiterpen lactone^{2,4)}과 이들의 생리활성에 관한 연구^{5,7)}에 관해 보고한 바 있다. 선행연구에 이어 지칭개 꽃을 이용한 성분연구를 행한 결과 3종의 acetylenic hydrocarbon을 분리하여 그 구조를 동정하였기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 – 2001년 5월, 경남 진주시 인근의 들에서 지칭개의 꽃을 채집하여 식물학적 감정을 거친 후 경상대학교 생물학과 식물표본실(Park, K. H. 103)에 보관되어 있다.

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. 1D-NMR 및 2D-NMR spectrum은 Bruker AM 500 spectrometer를 사용하였으며 Mass spectrum은 JEOL JMS-700 spectrometer를 사용하였다. 추출 및 column chromatography용 용매는 특급을 사용하였고, column chromatography용 silica gel은 Merck사의 Kieselgel 60(70~230, 230~400 mesh)을 사용하였다.

추출 및 분리 – 음건·세절한 지칭개 전초 1 kg을 CHCl₃로 20 l에 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). F2(1.4 g)를 다시 *n*-hexane:EtOAc=99:1에서 점차 EtOAc비를 높여가며 silica gel(200 g, 230~400 mesh) column chromatography를 수행하여 다시 5개의 fraction으로 나누었다(F2-1→F2-5). F2-2에서 UV_{254 nm}에 active하며 Rf 0.7(Hex:EtOAc=99:1)인 화합물을 분리하기 위해 *n*-hexane:Ether=99:1의 혼합용매로 silica gel(100 g, 230~400 mesh) column chromatography를 수행한 후 *n*-hexane:Ether

*교신저자(E-mail) : msyang@nongae.gsnu.ac.kr

=99:1의 전개용매로 preparative TLC를 실시하여 compound **I**(36 mg)을 분리하였다. F2-4에서 UV_{254 nm}에 active하며 Rf 0.4(Hex:EtOAc=19:1)인 화합물을 분리하기 위해 *n*-hexane:EtOAc(49:1→1:1)의 전개용매로 silica gel(200 g, 230~400 mesh) column chromatography를 수행하여 compound **II**(82 mg)을 분리하였다.

소분획 F4(900 mg)로부터 UV_{254 nm}에 active하며 Rf 0.3(Hex:EtOAc=3:2)인 화합물을 분리하기 위해 *n*-hexane:EtOAc(19:1→1:1)의 전개용매로 silica gel (200 g, 230~400 mesh) column chromatography를 수행한 후 petroleum ether를 이용한 재결정으로 compound **III**(52 mg)을 분리하였다.

Compound I – Colorless Oil, UV, λ_{\max} (MeOH) 317 nm; MS, *m/z* (EI, 70 eV, rel. int.): 226 (M^+ , 53), 171 (M^+ -CH₂CH₂CH=CH₂, 24), 157 (M^+ -(CH₂)₃CH=CH₂, 87), 142 (M^+ -(CH₂)₄CH=CH₂, 64), 129 (100), 115 (66), 91 (67); IR, ν_{\max}^{KBr} 3020, 2926 and 1636 cm⁻¹; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 1.40 (2×2H, m, H-5, H-4), 1.80 (3H, d, $J_{16,17}=7.0$ Hz, H-17), 2.05 (2H, m, H-3), 2.11 (2H, m, H-6), 4.94 (1H, dd, $J_{1b,3}=0.9$ Hz, $J_{1b,2}=10.1$ Hz, H-1b), 4.99 (1H, tdd, $J_{1a,3}=1.5$ Hz, $J_{1a,1b}=3.2$ Hz, $J_{1a,2}=17.1$ Hz, H-1a), 5.63 (2×1H, dd, $J_{9,10}=J_{13,14}=15.1$ Hz, $J_{8,10}=J_{13,15}=3.6$ Hz, H-10, H-13), 5.75~5.82 (3×1H, m, H-2, H-7, H-16), 6.10 (2×1H, m, H-8, H-15), 6.53 (2×1H, dd, $J_{9,10}=J_{13,14}=15.5$ Hz, $J_{8,9}=J_{14,15}=10.7$ Hz, H-9, H-14); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 114.8 (C-1), 139.2 (C-2), 33.9 (C-3), 28.8 (C-4), 28.89 (C-5), 33.0 (C-6), 132.8 (C-7), 130.4 (C-8), 141.9 (C-9), 109.3 (C-10), 91.6 (C-11), 91.7 (C-12), 109.4 (C-13), 141.8 (C-14), 132.2 (C-15), 138.1 (C-16), 18.7 (C-17).

Compound II – Yellowish Oil, UV, λ_{\max} (MeOH) 317 nm; MS, *m/z* (EI, 70 eV, rel. int.): 244 (M^+ , 64), 184 (M^+ -CH₃COO, 11), 157 (M^+ -(CH₂)₂OCOCH₃, 42), 149 (100), 142 (M^+ -(CH₂)₃OCOCH₃, 54), 129 (51), 115 (58), 91 (51); IR, ν_{\max}^{KBr} 3015, 2944, 2171 and 1733 cm⁻¹; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 1.74 (2H, m, H-13), 1.78 (3H, d, $J_{1,2}=6.9$ Hz, H-1), 2.04 (3H, s, H-2'), 2.18 (2H, m, H-12), 4.06 (2H, t, $J_{13,14}=6.6$ Hz, H-14), 5.64 (2×1H, dd, $J_{4,5}=J_{8,9}=15.1$ Hz, $J_{3,5}=J_{8,10}=2.1$ Hz, H-5, H-8), 5.75~5.81 (2×1H, m, H-2, H-11), 6.09~6.12 (2×1H, m, H-3, H-10), 6.49~6.55 (2×1H, m, H-4, H-9) ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 18.9 (C-1), 133.1 (C-2), 131.3 (C-3), 141.7 (C-4), 109.4 (C-5), 91.7 (C-6), 92.2 (C-7), 110.3 (C-8), 142.2 (C-9), 131.9 (C-10), 136.5 (C-11), 29.8 (C-12), 28.6 (C-

13), 64.4 (C-14), 171.6 (C-1'), 21.5 (C-2').

Compound III – Crystall, mp: 95°C dec.; UV, λ_{\max} (MeOH) 317 nm; MS, *m/z* (EI, 70 eV, rel. int.): 202 (M^+ , 100), 187 (M^+ -CH₃, 5), 169 (M^+ -CH₃-H₂O, 8), 157 (M^+ -CH₂CH₂OH, 46), 141 (60), 128 (85), 115 (76), 91 (57); IR, ν_{\max}^{KBr} 3440, 2924, 2280 and 1630 cm⁻¹; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 1.68 (2H, m, H-13), 1.78 (3H, d, $J_{1,2}=6.9$ Hz, H-1), 2.21 (2H, q, $J=7.1$ Hz, H-12), 3.65 (2H, t, $J_{13,14}=6.4$ Hz, H-14), 5.62 (2×1H, dd, $J_{4,5}=J_{8,9}=15.9$ Hz, $J_{3,5}=J_{8,10}=2.1$ Hz, H-5, H-8), 5.78~5.82 (2×1H, m, H-2, H-11), 6.10~6.15 (2×1H, m, H-3, H-10), 6.53 (2×1H, dd, $J_{3,4}=J_{9,10}=10.8$ Hz, $J_{4,5}=J_{8,9}=15.9$ Hz, H-4, H-9) ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 18.3 (C-1), 132.5 (C-2), 130.4 (C-3), 141.2 (C-4), 108.8 (C-5), 91.1 (C-6), 91.5 (C-7), 109.6 (C-8), 141.5 (C-9), 131.2 (C-10), 136.6 (C-11), 29.1 (C-12), 31.9 (C-13), 62.3 (C-14).

결과 및 고찰

Compound I은 무색의 유상물질로 10% H₂SO₄에 의해 연한 녹색으로 발색되는 물질로 IR spectrum에서 2926 (aliphatic C-H), 1636 (C=C)cm⁻¹에서 강한 흡수대를 보였다. Mass spectrum에서는 *m/z* 226의 molecular ion peak 및 *m/z* 171 [M^+ -CH₂CH₂CH=CH₂]⁺, *m/z* 157 [M^+ -(CH₂)₃CH=CH₂]⁺, *m/z* 142 [M^+ -(CH₂)₄CH=CH₂]⁺의 특징적인 fragment ion peak를 관찰할 수 있었다. ¹³C-NMR, DEPT 90 및 135 spectrum을 비교 분석한 결과 총 17개의 carbon signal이 관찰되었으며, δ 18.7의 methyl group, δ 28.9, 28.9, 33.0, 33.9의 sp³ methylene group, 114.8의 sp² methylene group, δ 109.3, 109.4, 130.4, 132.2, 132.8, 138.1, 139.2, 141.8, 141.9의 methine group 및 δ 91.6, 91.7의 quaternary carbon

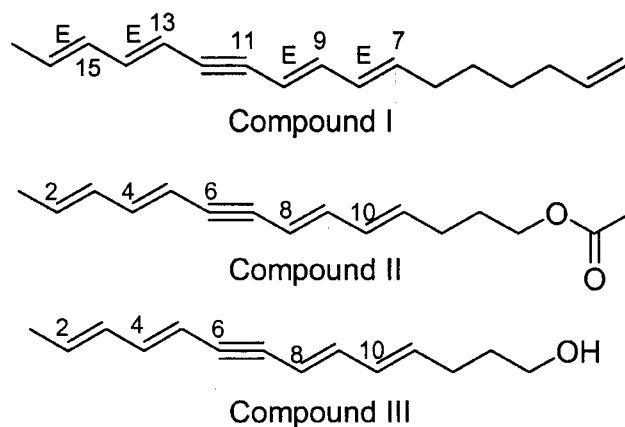


Fig. 1. The structures of isolated compounds.

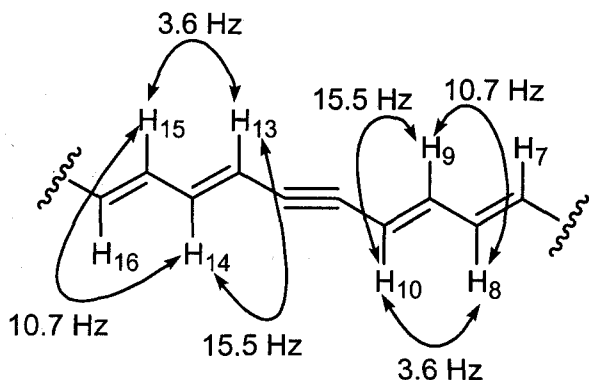


Fig. 2. Selective J value of compound I.

임을 알 수 있다. 이 2개의 quaternary carbon의 chemical shift로부터 compound I은 삼중결합을 가지고 있음을 알 수 있으며, HMQC spectrum에서 비슷한 chemical shift 값을 가지는 탄소들이 proton에서도 중첩되어 관찰되었다. $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 δ 4.99 (1H, tdd, $J_{1a,3}=1.5$ Hz, $J_{1a,1b}=3.2$ Hz, $J_{1a,2}=17.1$ Hz, H-1a) 및 δ 4.94 (1H, dd, $J_{1b,3}=0.9$ Hz, $J_{1b,2}=10.1$ Hz, H-1b)의 terminal vinyl proton이 관찰되었으며, 9개의 olefinic proton [δ 5.63 (2 \times 1H, dd, $J_{9,10}=J_{13,14}=15.1$ Hz, $J_{8,10}=J_{13,15}=3.6$ Hz, H-10, H-13), δ 5.75~5.82 (3 \times 1H, m, H-2, H-7, H-16), δ 6.10 (2 \times 1H, m, H-8, H-15), δ 6.53 (2 \times 1H, dd, $J_{9,10}=J_{13,14}=15.5$ Hz, $J_{8,9}=J_{14,15}=10.7$ Hz, H-9, H-14)]들이 관찰되었다. $^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY spectrum에서 H-1a/b (δ 4.99, 4.94)는 vicinal proton인 H-2 (δ 5.75~5.82) 및 allylic position인 H-3 (δ 2.05)과 cross peak이 관찰되고, H-3은 H-4 (δ 1.40), H-4는 H-5 (δ 1.40)와 상관관계를 각각 관찰할 수 있었다. H-5는 인접한 위치의 H-6 (δ 2.11)과 H-6은 H-7 (δ 5.75~5.82), H-7은 H-8 (δ 6.10), H-8은 vicinal proton인 H-9 (δ 6.53)와 allylic proton인 H-10 (δ 5.63)과 교차 피크를 관찰할 수 있었다. 또한 H-9는 vicinal proton H-10 (δ 5.63)과 cross peak을 관찰할 수 있으며 더 이상의 상관관계를 찾을 수 없었다. 그리고 terminal methyl인 H-17 (δ 1.80)은 또한 vicinal proton인 H-16 (δ 5.75~5.82) 및 allylic 위치에 있는 H-15 (δ 6.10)와 상관관계를 볼 수 있으며, H-15는 H-14 (δ 6.43), H-14는 H-13 (δ 5.63)과 cross peak을 관찰할 수 있었다. Compound I의 이중결합으로 conjugation된 부분의 configuration은 $^1\text{H-NMR}$ spectrum의 coupling constant로 결정하였다. 즉 H-10,13 (δ 5.63)과 인접한 위치 H-9,14 (δ 6.53)의 coupling constant value가 15.5 Hz로서 trans (*E*) 형태로 존재하고 있음을 알 수 있다(Fig. 2). 따라서 이상의 결과들로부터 compound I은 11번 위치에 삼중결합을 가지고 있으며 1, 7, 9, 13 및 15번 위치에 trans (*E*) 형으로 2중 결합을 가지고 있

는 화합물인 heptadeca-1,7,9,13, 15-pentaen-11-yne임을 알 수 있었다. 이 화합물은 *Dahlia merckii* Lehm⁸⁾에서 처음 분리된 화합물로 지칭개에서는 아직 분리 보고되지 않은 화합물이다.

Compound II는 미황색의 유상물질로 10% H_2SO_4 에 의해 연녹색으로 발색되며, IR spectrum에서 2944 (aliphatic C-H), 2171 ($\text{C}\equiv\text{C}$), 1733 ($\text{C}=\text{O}$), 1237 ($\text{C}-\text{O}$) cm^{-1} 에서 강한 흡수 peak을 확인 할 수 있으며, Mass spectrum에서는 m/z 244의 molecular ion peak 및 m/z 184 [$\text{M}^+-\text{CH}_3\text{COO}$] $^+$, m/z 157 [$\text{M}^+(\text{CH}_2)_2\text{OCOCH}_3$] $^+$, m/z 142 [$\text{M}^+(\text{CH}_2)_3\text{OCOCH}_3$] $^+$ 의 특징적인 fragment ion peak을 관찰할 수 있었다. $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT 90 및 135 spectrum에서 총 16개의 carbon을 가지고 있으며 δ 21.5, 18.9의 methyl group, δ 28.6, 29.8, 64.4의 methylene group, δ 109.4, 110.3, 131.3, 131.9, 133.1, 136.5, 141.7, 142.2의 methine group 및 δ 91.7, 92.2, 171.6의 quaternary carbon 임을 알 수 있다. 따라서 모든 chemical shift 값으로부터 분자내 삼중결합 및 acethyl group을 가지고 있는 diene-yn-diene chromophore 화합물임을 알 수 있다. $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 δ 1.78 (3H, d, $J_{1,2}=6.9$ Hz, H-1)의 terminal methyl proton이 관찰되었으며, 8개의 olefinic proton [δ 5.64 (2 \times 1H, dd, $J_{4,5}=J_{8,9}=15.1$ Hz, $J_{3,5}=J_{8,10}=2.1$ Hz, H-5, H-8), δ 5.75~5.81 (2 \times 1H, m, H-2, H-11), δ 6.09~6.12 (2 \times 1H, m, H-3, H-10), δ 6.49~6.55 (2 \times 1H, m, H-4, H-9)]들이 관찰되었다. 또한 compound II의 이중결합으로 conjugation된 부분의 configuration은 $^1\text{H-NMR}$ spectrum의 coupling constant로 결정하였다. 즉 H-5,8 (δ 5.64)이 인접한 위치 H-4,9와의 coupling constant value가 15.1 Hz로서 trans (*E*) 형태로 존재함을 알 수 있었으며, HMBC에서 acethyl group의 carbonyl은 H-14 (δ 4.06)과 long-range coupling이 관찰되었다. 따라서 이상의 결과들로부터 compound II은 6번 위치에 삼중결합을 가지고 있으며 2, 4, 8 및 10번 위치에 trans (*E*) 형으로 2중 결합을 가지며 14번 위치에 acethyl group을 가진 14-acetoxy-2,4,8,10-tetradecatetraene-6-yne임을 알 수 있었다. 이 화합물은 *Dahlia merckii* Lehm에서 처음 분리된 화합물로 지칭개에서는 아직 분리 보고되지 않은 화합물이다.

Compound III는 무색 결정성 물질로 10% H_2SO_4 에 의해 미황색으로 발색되며, IR spectrum에서 3440 ($-\text{OH}$), 2924 (aliphatic C-H) 및 1630 ($\text{C}=\text{C}$) cm^{-1} 에서 강한 흡수 peak을 확인 할 수 있으며, Mass spectrum에서는 m/z 202의 molecular ion peak 및 m/z 187 [M^+-CH_3] $^+$, 169 [$\text{M}^+-\text{CH}_3-\text{H}_2\text{O}$] $^+$, 157 [$\text{M}^+-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$] $^+$ 의 특징적인 fragment ion peak을 관찰할 수 있었다. $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT 90 및 135 spectrum에서 총 14개의 carbon을 가지고 있으며 δ 18.3의

methyl group, δ 29.1, 31.9, 62.3의 methylene group, δ 108.8, 109.6, 130.4, 131.2, 132.5, 136.6, 141.2, 141.5의 methine group 및 δ 91.1, 91.5의 quaternary carbon 임을 알 수 있다. 따라서 이상의 정보들로부터 분자내 삼중결합 및 hydroxyl group을 가지고 있는 diene-yn-diene chromophore 화합물임을 알 수 있다. 또한 $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 δ 1.78 (3H, d, $J_{1,2}=6.9$ Hz, H-1)의 terminal methyl proton이 관찰 되었으며, 8개의 olefinic proton [δ 5.62 (2 \times 1H, dd, $J_{4,5}=J_{8,9}=15.9$ Hz, $J_{3,5}=J_{8,10}=2.1$ Hz, H-5, H-8), δ 5.78~5.82 (2 \times 1H, m, H-2, H-11), δ 6.10~6.15 (2 \times 1H, m, H-3, H-10), δ 6.53 (2 \times 1H, dd, $J_{3,4}=J_{9,10}=10.8$ Hz, $J_{4,5}=J_{8,9}=15.9$ Hz, H-4, H-9)]들이 관찰되었다. 또한 $J_{4,5}=J_{8,9}$ 의 값이 15.9 Hz로 이중결합으로 conjugation된 부분의 configuration은 trans (*E*) 형태로 존재함을 알 수 있다. 따라서 이상의 결과들로부터 compound **III**은 6번 위치에 삼중결합을 가지고 있으며 2, 4, 8 및 10번 위치에 trans (*E*) 형으로 2중 결합이 conjugation 되어 있으며 14번 위치에 hydroxyl group을 가진 14-hydroxy-2,4,8,10-tetradecatetraene-6-yne임을 알 수 있었다. 이 화합물은 *Cotula coronopifolia*⁹⁾에서 처음 분리된 화합물로 지칭개에서는 아직 분리 보고되지 않은 화합물이다.

결 론

지칭개(*Hemisteptia lyrata*)의 화학적 성분 연구를 목적으로 지칭개 꽃을 CHCl_3 로 추출하여 얻은 엑스를 다양한 용매조건에 의한 silica gel column chromatography를 반복적으로 실시한 후 preparative TLC 및 petroleum ether를 이용한 재결정으로 3종의 diene-yn-diene chromophore 화합물을 순수 분리하였다. 이들 화합물들에 대한 물리화학적 성상, 1D, 2D-NMR, MS, IR 등의 spectral data를 검토한 결과 compound **I**은 heptadeca-1,7,9,13,15-pentanen-11-yne, compound **II**는 14-acetoxy-2,4,8,10-tetradecatetraene-6-yne, compound **III**은 14-hydroxy-2,4,8,10-tetradecatetraene-6-yne으로 동정되었으며, 화합물 모두 지칭개에서는 처음으로 분리 보고된 화합물이다.

감사의 글

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

인용문헌

1. 김창민, 신민교, 안덕균, 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) Hemistepsins with Cytotoxic Activity from *Hemisteptia lyrata*. *Planta Med.* **65**: 765-766.
4. Ha, T. J., Lee, K. D., Lee, J. R., Lee, J., Park, K. H. and Yang, M. S. (2001) Studies on the Constituents from the Flowers of *Hemisteptia lyrata* (Bunge) (I). *Kor. J. Pharmacogn.* **32**(3): 238-241.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. Neuschild, K., Christensen, L. P. and Lam, J. (1992) An Acetylenic Hydrocarbon from *Dahlia merckii*. *Phytochemistry* **31**(12): 4353-4354.
9. Bohlmann, F., Bornowski, H. and Christian, A. (1966) Ueber die Polyine aus *Cotula coronopifolia* L. *Chem. ber.* **99**: 2828-2834.

(2002년 4월 4일 접수)