

## 삼칠근(*Panax notoginseng*)으로부터 Cerebroside의 분리

조민정 · 이소영 · 김주선 · 이제현<sup>1</sup> · 최환수<sup>2</sup> · 이호영<sup>2</sup> · 하혜경<sup>2</sup> · 김정숙<sup>2</sup> · 강삼식\*  
서울대학교 약학대학 천연물과학연구소, <sup>1</sup>경희대학교 약학대학 한약학과, <sup>2</sup>한국한의학연구원

### Isolation of a Cerebroside from *Panax notoginseng*

Min Jung Cho, So Young Lee, Ju Sun Kim, Je-Hyun Lee<sup>1</sup>, Hwansoo Choi<sup>2</sup>, Ho Young Lee<sup>2</sup>,  
Hyekyung Ha<sup>2</sup>, Chungsook Kim<sup>2</sup>, and Sam Sik Kang\*

Natural Products Research Institute and College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea

<sup>1</sup>Department of Pharmaceutical Science, College of Pharmacy, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

<sup>2</sup>Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon 305-811, Korea

**Abstract** – A mixture of cerebrosides was purified from the roots of *Panax notoginseng* (Araliaceae) and characterized as 1-*O*-β-D-glucopyranosyl-(2*S*,3*S*,4*R*,8*E*)-2-[(2'*R*)-2'-hydroxypalmitoylamino]-8-octadecene-1,3,4-triol (Aralia cerebroside) and its 8*Z*-isomer (1-*O*-β-D-glucopyranosyl-(2*S*,3*S*,4*R*,8*Z*)-2-[(2'*R*)-2'-hydroxypalmitoylamino]-8-octadecene-1,3,4-triol, a major component of poke-weed cerebroside) by means of spectroscopic methods.

**Key words** – *Panax notoginseng*, Araliaceae, cerebroside

삼칠인삼 (三七人蔘) 또는 삼칠 (三七)은 오갈피과 식물인 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen의 뿌리를 말하며 우리나라에는 자생하지 않으나 장시성, 후베이성, 광시성, 쓰촨성 및 윈난성 등의 중국의 남서부 지방, 버마, 네팔 등에 분포하고 있는 여러 해살이 풀로서 각종 출혈을 멈추게 하고 어혈을 풀어주며, 부은 것을 내리고 아픔을 멎게 하는 효능이 있다. 피를 토하거나 산후에 피를 많이 흘리는 증상, 질병으로 피가 모자라는 증상, 대소변을 볼 때 피가 섞여 나오는 증상, 타박상과 골절상으로 붓고 아픈 증상, 부스럼이나 종기 등을 치료하는 것으로 알려져 있는 중요한 생약중의 하나이다.<sup>1)</sup> 이 식물로부터 약 60여종의 saponin들이 분리 보고되어 있다.<sup>2)</sup> 이들 대부분은 dammarane계로 panaxatriol계 보다는 panaxadiol계가 많으며, oleanane계 saponin들은 다른 *Panax*속 식물과는 달리 존재하지 않는 것으로 보고되어 있다.<sup>2)</sup> 이들 saponin들 이외에도 polyacetylene계 화합물이나, sesquiterpene계 화합물들, phenolic acid, sterol류, 아미노산 및 다당체들이 보고된 바 있다.<sup>3)</sup> 저자 등은 삼칠근으로부터 활성물질을 분리하고자 본 실험에 착수하여 이 식물로부터 보고된 바 없는 cerebroside를 분리하여 그 구조를 규명하였기에 보고하고자 한다.

### 재료 및 방법

**식물재료** – 경희대학교의 이제현 교수가 감정한 삼칠근 (*P. notoginseng*) 약 3.5 kg을 한의학연구원으로부터 제공받아 분쇄기로 분쇄한 후 사용하였다.

**분석기기** – EIMS는 Hewlett Packard model 5989B GC/MS system을 사용하여 측정하였으며, FABMS는 JEOL사의 JMS-AX505WA를 사용하여 *m*-nitrobenzyl alcohol을 matrix로 사용하여 측정하였다. NMR spectrum은 Varian Gemini-2000 (300 MHz) 또는 Bruker사의 AMX 500 (500 MHz)을 사용하여 측정하였다. TLC는 Kieselgel 60 F<sub>254</sub> precoated plate (Merck, No. 5715)을 사용하였으며 20% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>을 spray한 후 가열하여 확인하였다. 크로마토그래피는 Silica gel (Merck, 70-230 mesh)을 사용하여 실시하였다.

**추출 및 분획** – 상기 시료를 70% MeOH로 70~80°C에서 3시간씩 6회 추출하여 70% MeOH 엑스 (780 g)를 얻어 여기에 증류수를 가한 후 hexane, EtOAc 및 BuOH를 가하여 순차적으로 분획을 실시하여 hexane 분획 16.7 g, EtOAc 분획 22.5 g, BuOH 분획 424.6 g, H<sub>2</sub>O 분획 298 g을 각각 얻었다. 이들 가운데 EtOAc 분획에 대하여 성분분리에 착수하였다. 먼저 EtOAc 분획 (22 g)에 대하여 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH: H<sub>2</sub>O=7:0.5:0.5, 7:1:0.5, 7:1.5:0.5, 7:2:0.5의 용매로 silica gel

\*교신저자(E-mail) : sskang@snu.ac.kr  
(FAX) : 02-743-3323

(Merck, 7734) column chromatography를 실시하여 47개 소분획들을 얻었다. 이들 소분획 가운데 PN-E-10으로부터  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 와 MeOH의 혼합용매로 재결정을 반복하여 화합물 1 (1.03 g)을 분리하였으며, 소분획 PN-E-13에 대하여 MeOH:H<sub>2</sub>O=8:2, 9:1, 99:1의 용매로 RP<sub>18</sub> column chromatography를 실시하여 화합물 2 (43 mg)를 분리하였다. 화합물 1은 표준품과 직접 비교한 결과  $\beta$ -sitosterol glucoside임을 확인하였다.

**화합물 2** - 백색 무정형 분말. (+)-FAB-MS  $m/z$  754 [M+Na]<sup>+</sup>, 570 [(M+H)-162]<sup>+</sup>, 553 [(M+H)-179]<sup>+</sup>, 552 [(M+H)-162-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 500 [(M+Na)-fatty acid]<sup>+</sup>, 316 [long chain base+H]<sup>+</sup>, 298 [(M+H)-179-255]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (pyridine-*d*<sub>5</sub>, 300 MHz)  $\delta$ : 0.85 (3H, t-like,  $J=7.2$  Hz, CH<sub>3</sub>), 0.87 (3H, t-like,  $J=6.9$  Hz, CH<sub>3</sub>), 1.24 [s, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>], 3.86 (1H, m, H-5"), 4.00 (1H, t,  $J=7.8$  Hz, H-2"), 4.19 (2H, m, H-3", 4), 4.28 (1H, dd,  $J=4.2, 7.2$  Hz, H-3), 4.33 (1H, dd,  $J=5.4, 11.7$  Hz, H-6"a), 4.48 (1H, dd,  $J=2.1, 11.7$  Hz, H-6"b), 4.54 (1H, t,  $J=5.1$  Hz, H-2'), 4.55 (1H, dd,  $J=5.1, 10.8$  Hz, H-1a), 4.70 (1H, dd,  $J=6.9, 10.8$  Hz, H-1b), 4.95 (1H, d,  $J=7.8$  Hz, H-1"), 5.28 (1H, m, H-2), 5.42-5.56 (2H, m, H-8, 9), 8.56 (1H, d,  $J=9.0$  Hz, NH); <sup>13</sup>C-NMR (pyridine-*d*<sub>5</sub>, 125.5 MHz)  $\delta$ : 14.3 (Me), 23.0, 25.9, 26.7, 26.8, 27.6 (C-7Z), 27.9 (C-10Z), 29.5, 29.6, 29.6, 29.8, 29.9, 30.0, 30.1, 32.1 (C-7E), 32.2, 33.0 (C-10E), 33.3, 33.9, 34.0, 35.6 (C-3'), 51.8 (C-2), 62.6 (C-6"), 70.5 (C-1), 71.5 (C-4"), 72.4 (C-4, 2'), 75.2 (C-2"), 75.9 (C-3), 78.5 (C-3"), 78.6 (C-5"), 105.6 (C-1"), 130.2 (C-9Z), 130.4 (C-8Z), 130.7 (C-9E), 130.9 (C-8E), 175.7 (C-1').

## 결과 및 고찰

화합물 2의 <sup>1</sup>H-NMR spectrum을 살펴보면  $\delta$  8.56 (1H, d,  $J=9.0$  Hz)에서 나타나는 NH signal과  $\delta$  4.95 (1H, d,  $J=7.8$  Hz)에서 나타나는 당의 anomeric proton, 또한 CH<sub>3</sub> 및 long-chain (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>에 기인하는 signal들이  $\delta$  0.85, 0.87 및  $\delta$  1.24에서 나타나는 것으로 보아 이 물질은 cerebroside임을 쉽게 추정할 수 있었다.<sup>4,8)</sup>  $\delta$  3.86~ $\delta$  4.50에서 당의 특징적인 signal을 확인할 수 있었으며, 이외에도  $\delta$  5.42~5.56 (m)에서 olefinic proton에 기인하는 signal들을 확인할 수 있었다. (+)-FAB-MS spectrum을 보면  $m/z$  754에서 [M+Na]<sup>+</sup>를 확인할 수 있으며,  $m/z$  570 [(M+H)-162]<sup>+</sup>와  $m/z$  552 [(M+H)-162-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>를 확인하여 hexose가 결합하고 있음을 추정할 수 있었다.<sup>9,10)</sup> 또한 Scheme 1에서 볼 수 있는 바와 같이  $m/z$  500 및  $m/z$  255에서 각각 fragment ion들이 나타나고 있는 것으로 보아 oxygenated C16에 해당하는 지방산이 amide결합하고 있음을 추정할 수 있고, long-chain base는 C-4에 이중결합이 하나 존재하는 sphingosine type보다는 phytosphingosine type임을 추정할 수 있었다. 한편 <sup>13</sup>C-NMR spectrum에서 long-chain base의 C-1~C-4에 해당하는 chemical shift값이 각각  $\delta$  70.5 (C-1), 51.8 (C-2), 75.9 (C-3) 및 72.4 (C-4)에서 나타나고 있으므로 가능한 4개의 diastereomer중 (2*S*,3*S*,4*R*)-phytosphingosine type의 long-chain base임을 확인할 수 있었다.<sup>11,12)</sup> 이외에도  $\delta$  175.7에서 amide결합하고 있는 지방산의 carbonyl carbon (C-1')를 확인할 수 있었다. Long-chain base에 존재하는 하나의 이중결합의 결합방식은 이 물질의 <sup>13</sup>C-NMR spectrum에서  $\delta$  27.6 (C-7)과  $\delta$  27.9 (C-10)에서 *cis* (Z),  $\delta$  32.1 (C-7)과  $\delta$  33.0

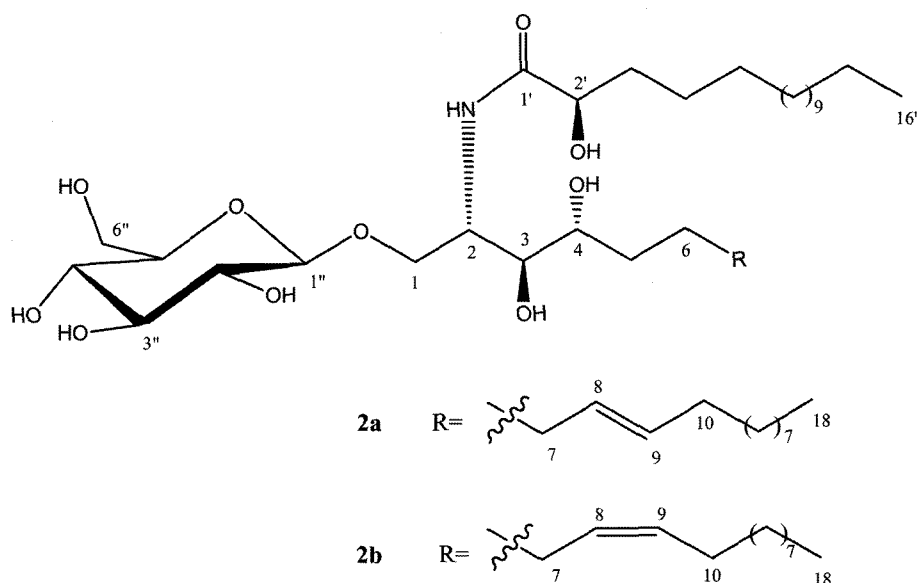
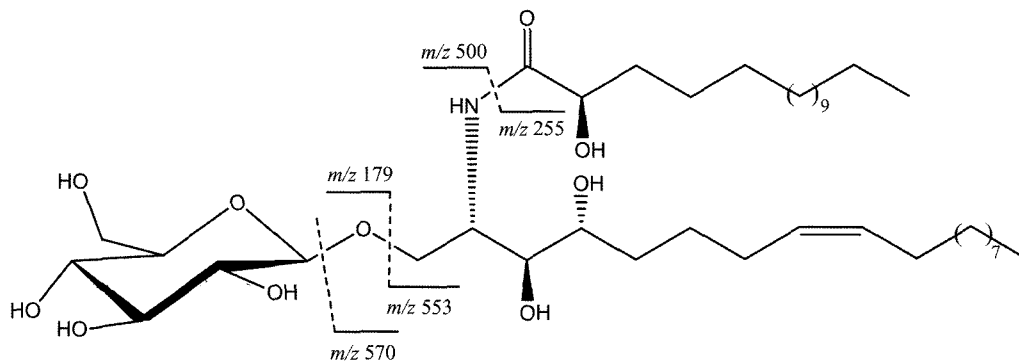


Fig. 1. Structure of Cerebroside (2).



Scheme 1. Positive-ion FAB Mass Fragmentation of the Major Component of 2.

(C-10)에서 *trans* (*E*)로 결합되어 있는 이중결합에 인접한 allylic carbon signal들을 확인할 수 있었으므로<sup>13,14)</sup> 이는 다른 식물들에서 존재하고 있는 cerebroside에서와 마찬가지로 *cis/trans* isomer들의 혼합물임을 알 수 있었으며 이는  $\delta$  130.2, 130.4, 130.7, 130.9에서 각각 나타나고 있는 두 쌍의 olefinic carbon signal들이 나타나는 것으로도 이를 확인할 수 있었다. Long-chain base의 C-1에 결합하고 있는 당은 이 물질의 <sup>13</sup>C-NMR spectrum에서 glucose에 해당하는 전형적인 signal들이 나타나고 있는 것으로 보아 쉽게 glucose가 결합되어 있음을 알 수 있었다. 또한 자연에서 나타나는 glucose는 거의 대부분 D-pyranose형으로 존재하는 것으로 보고되고 있고, 당의 H-1"의 *J*값이 7.8 Hz를 나타내므로  $\beta$ -결합하고 있음을 알았다. 이중결합의 결합위치 및 지방산의 C-2에 결합되어 있는 OH기의 configuration은 이 화합물의 물리화학적 성상 및 분광학적 데이터가 식물에서 분리되고 있는 cerebroside에서 흔히 확인할 수 있는 바와 같이  $\Delta^8$  및 *R*-configuration임을 확인할 수 있었다.<sup>4,7)</sup> 이상의 결과들을 종합하여 화합물 2는 두릅나무에서 분리 보고한 바 있는 aralia cerebroside<sup>4)</sup> [1-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(2*S*,3*S*,4*R*,8*E*)-2-[(2'*R*)-2'-hydroxypalmitoylamino]-8-octadecene-1,3,4-triol, 2a]와 상륙의 뿌리에서 분리 보고한 바 있는 poke-weed cerebroside<sup>5)</sup>의 주성분 중의 하나인 1-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(2*S*,3*S*,4*R*,8*Z*)-2-[(2'*R*)-2'-hydroxypalmitoylamino]-8-octadecene-1,3,4-triol (2b)의 혼합물로 동정하였다. Cerebroside는 매우 다양한 생리활성을 나타내는 성분으로 식물에서는 물론이고, 해양생물, 동물 및 곰팡이 등에서도 발견되고 있다.<sup>15-18)</sup> 삼칠로부터 분리된 이 cerebroside성분은 *Panax*속 식물에서는 처음으로 분리된 성분으로 이 성분의 생리활성에 관한 연구가 요구되고 있다.

## 결 론

한방에서 어혈, 지혈 등의 목적으로 사용되고 있는 주요한 생약중의 하나인 삼칠근으로부터 cerebroside를 분리하

여 분광학적 방법을 이용하여 aralia cerebroside [1-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(2*S*,3*S*,4*R*,8*E*)-2-[(2'*R*)-2'-hydroxypalmitoylamino]-8-octadecene-1,3,4-triol, 2a]와 상륙의 뿌리에서 분리 보고한 바 있는 poke-weed cerebroside의 주성분 중의 하나인 1-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(2*S*,3*S*,4*R*,8*Z*)-2-[(2'*R*)-2'-hydroxypalmitoylamino]-8-octadecene-1,3,4-triol (2b)의 혼합물로 동정하였다.

## 사 사

본 연구는 21세기 프론티어연구개발사업인 자생식물이용 기술개발사업단의 연구비지원 (과제번호 PF0321102-00)에 의해 수행되었습니다.

## 인용문헌

1. 배기환 (2003) 건강보감, 245. 교학사, 서울.
2. Wang, C.-Z., McEntee, E., Wicks, S., Wu, J.-A., and Yuan, C.-S. (2006) Phytochemical and Analytical Studies of *Panax notoginseng* (Burk.) F.H. Chen, *J. Nat. Med.*, **60**: 97-105.
3. Komakine, N., Okasaka, M., Takaishi, Y., Kawazoe, K., Murakami, K., and Yamada, Y. (2006) New Dammarane-Type Saponin from Roots of *Panax notoginseng*, *J. Nat. Med.*, **60**: 135-137.
4. Kang, S.S., Kim, J.S., Xu, Y.N., and Kim, Y.H. (1999) Isolation of a New Cerebroside from the Root Bark of *Aralia elata*, *J. Nat. Prod.*, **62**: 1059-1060.
5. Kang, S.S., Kim, J.S., Son, K.H., Kim, H.P., and Chang, H.W. (2001) Cyclooxygenase-2 Inhibitory Cerebrosides from *Phytolacca Radix*, *Chem. Pharm. Bull.*, **49**: 321-323.
6. Ryu, J.-Y., Kim, J.S., and Kang, S.S. (2003) Cerebrosides from *Longan Arillus*, *Arch. Pharm. Res.*, **26**: 138-142.
7. Kim, J.S., Byun, J.H., and Kang, S.S. (2001) Isolation of Soya-cerebroside I from the Roots of *Trichosanthes kirilowii*, *Nat. Prod. Sci.*, **7**: 27-32.
8. Jung, J.H., Lee, C.-O., Kim, Y.C., and Kang, S.S. (1996)

- New Bioactive Cerebrosides from *Arisaema amurense*, *J. Nat. Prod.*, **59**: 319-322.
9. Falsone, G., Cateni, F., Visintin, G., Lucchini, V., Wagner, H., and Seligmann, O. (1994) Constituents of Euphorbiaceae 12. Comm. (1) Isolation and Structure Elucidation of Four New Cerebrosides from *Euphorbia biglandulosa* Desf., *IL FARMACO*, **49**: 167-174.
  10. Falsone, G., Cateni, F., Baumgartner, M., Lucchini, V., Wagner, H., and Seligmann, O. (1994) Constituents of Euphorbiaceae 13. Comm. (1) Isolation and Structure Elucidation of Five Cerebrosides from *Euphorbia characias* L., *Z. Naturforsch.*, **49B**: 135-140.
  11. Sugiyama, S., Honda, M., and Komori, T. (1990) Stereochemistry of the Four Diastereomers of Phytosphingosine, *Liebigs Ann. Chem.*, 1069-1078.
  12. Sugiyama, S., Honda, M., Higuchi, R., and Komori, T. (1991) Stereochemistry of the Four Diastereomers of Ceramide and Ceramide Lactoside, *Liebigs Ann. Chem.*, 349-356.
  13. Couperus, P.A., Clague, A.D.H. and Van Dongen, J.P.C.M. (1976)  $^{13}\text{C}$  Chemical Shifts of Some Model Olefins, *Org. Magn. Reson.*, **8**: 426-431.
  14. Fusetani, N., Yasumuro, K., Matsunaga, S., and Hirota, H. (1989) Haliclamines A and B, Cytotoxic Macrocyclic Alkaloids from a Sponge of the Genus *Haliclona*, *Tetrahedron Lett.*, **30**: 6891-6894.
  15. Koga, J., Yamauchi, T., Shimura, M., Ogawa, N., Oshima, K., Umemura, K., Kikuchi, M., and Ogasawara N. (1998) Cerebrosides A and C, Sphingolipid Elicitors of Hypersensitive Cell Death and Phytoalexin Accumulation in Rice Plants, *J. Biol. Chem.*, **273**: 31985-31991.
  16. Hori, T. and Sugita, M. (1993) Sphingolipids in Lower Animals, *Prog. Lipid Res.*, **32**: 25-45.
  17. Liao, J., Tao, J., Lin, G. and Liu, D. (2005) Chemistry and Biology of Sphingolipids, *Tetrahedron*, **61**: 4715-4733.
  18. Muralidhar, P., Radhika, P., Krishna, N., Venkata Rao, D., and Rao, C.B. (2003) Sphingolipids from Marine Organisms: A Review, *Nat. Prod. Sci.*, **9**: 117-142.

(2006년 3월 25일 접수)