

솜양지꽃 뿌리로부터 스테로이드와 트리테르페노이드 성분의 분리

박희준* · 이경태¹ · 박종희²

상지대학교 친환경식물학부, ¹경의 대학교 약학대학, ²부산대학교 약학대학

Isolation of Two Steroids and a Triterpenoid from the Roots of *Potentilla discolor*

Hee-Juhn Park*, Kyung-Tae Lee¹ and Jong-Hee Park²

Division of Environmental Botany, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

¹College of Pharmacy, Kyung-Hee University, Seoul 130-701, Korea

²College of Pharmacy, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

Abstract – Three compounds (**1-3**) were isolated from the roots of *Potentilla discolor* (Rosaceae). The structure of compounds **1-3** were elucidated as stigmast-5-en-3-ol (β -sitosterol, **1**), 2,19 α -dihydroxy-2-oxo-urs-1,12-dien-28-oic acid (fupenjic acid, **2**), 3-O- β -D-glucopyranosylstigmast-5-en-3-ol (β -sitosterol β -D-glucopyranoside, **3**) based on physical and spectroscopic data. ¹³C-NMR assignments were completed by 2D-NMR technique. The three compounds were firstly isolated from *Potentilla discolor*.

Key words – *Potentilla discolor*, Rosaceae, steroid, fupenjic acid, ¹³C-NMR

솜양지꽃은 장미과(Rosaceae)에 속하는 다년생 초본식물로서 높이 15-30 cm이며, 잎 표면을 제외하고는 전체에 같은 털이 뻑뻑히 나고 뿌리가 몇 개로 갈라져서 방추형으로 굽어지며 원줄기는 비스듬히 자란다. 4-8월경에 꽃이 피고 꽃은 황색이고 5월부터 열매가 성숙되며 삭과는 털이 없고 갈색이다. 이 식물은 우리나라 전국 각지의 산야지 및 해변지의 구릉지 양지에 자생한다. 솜양지꽃의 뿌리를 한방에서는 번백초라 하여 약용하거나 식용하고 있다. 번백초는 한방에서 지혈, 보익에 약재로 쓴다.¹⁾ 번백초의 효능으로서 청열해독하여 지혈, 소종의 효능이 있어서 이질, 학질, 토혈, 하혈 등에 약용되어 왔다.²⁾

본 연구에서는 번백초의 약리효능물질을 밝히고자 우선 식물화학적 연구에 착수하여 스테롤, 스테롤 배당체 및 트리테르페노이드를 분리하고 구조를 결정하였으므로 보고한다.

재료 및 방법

기기 및 시약 – 용점은 Electrothermal digital melting point apparatus를 사용하여 측정하였으며 보정하지 않았다.

*교신저자 (E-mail): hjpark@sangji.ac.kr
(FAX): 033-730-0564

선광도의 측정은 JASCO DIP-360 Digital Polarimeter로 측정하였다. IR spectrum은 Bomem MB-100 FT-IR spectrometer를 이용하여 KBr disk법으로 측정하였다. 질량 스펙트럼은 Finnigan Mat TSQ-700을 사용하였고 측정시 70 eV로 이온화하였다. ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR 스펙트럼은 내부표준물질 tetramethylsilane(TMS)를 첨가하여 Bruker AM-50 spectrometer를 이용하여 측정하였다. 그리고 UV 스펙트럼은 Shimadzu사의 UV/visible Recording Spectrophotometer로 측정하였다. Silica gel은 독일 Merck사의 silica gel 60 (Art No. 7734, 0.064-0.084 mesh)제품을 사용하였고 octadecylsilane(ODS)는 일본의 YMC gel을 사용하였다. 본 실험에 사용된 각종 용매 및 시약은 1급 시약을 사용하였다.

식물재료 – 번백초의 식물재료로서 부산대학교 약초원에서 솜양지꽃(*Potentilla discolor*, Rosaceae)의 뿌리를 채집하여 사용하였다. 이 식물은 부산대학교 약학대학 박종희 교수의 감정으로 솜양지꽃임을 동정하고 사용하였으며 채집된 식물은 박종희 교수 연구실에 소장되어 있다. 이렇게 건조된 솜양지꽃의 뿌리를 세절하여 추출을 위한 식물재료로 사용하였다.

추출 및 분획 – 건조하고 세절한 솜양지꽃 뿌리 800 g을 메탄올로 환류 하에 5시간씩 3회 추출한 후, 이 추출액을

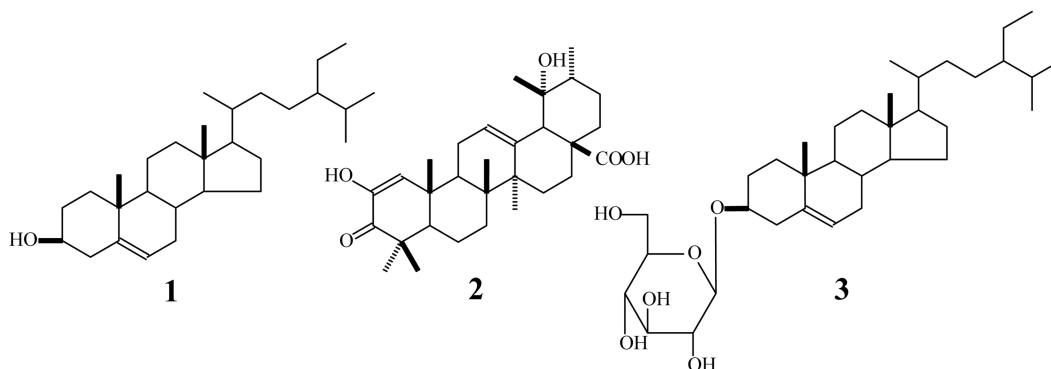


Fig. 1. Structure of compounds 1-3 isolated from the roots of *Potentilla discolor*.

여과하고 진공농축기를 이용하여 감압하에 농축하여 메탄올 추출물 59 g을 얻었다. 이 메탄올 분획 59 g을 증류수 800 ml에 현탁시키고 분획깔때기를 이용하여 클로로포름 800 ml씩으로 3회 분획한 후 클로로포름 가용부를 농축하여 클로로포름 분획물 9.8 g을 얻었다. 물 분획은 따로 클로로포름의 분획의 경우와 동일한 방법으로 에틸아세테이트와 부탄올로 순차적으로 분획하여 에틸아세테이트 분획(3.9 g) 및 부탄올 분획(15.4 g)을 제조하여 보관하였다.

성분 분리 - 클로로포름 분획물로부터 성분을 분리하기 위하여 silica gel column chromatography (ϕ 4.5 cm \times 33 cm, SiO₂ 280 g)에서 전개용매 CHCl₃-MeOH (10:1)로 전개하였다. 컬럼으로부터 용리하면서 60 ml씩 분획을 수집하면서 이들을 TLC에서 50%-H₂SO₄로 발색시킨 후 유사분획끼리 통합하여 4개의 소분획 Fr.1-Fr.4)으로 나누었다. 즉, Fr.1은 1-20 분획물을 농축한 것이며 같은 방법으로 Fr.2는 21번부터-23번의 것, Fr.3는 24-27번의 것, 그리고 Fr.4는 20번-30번까지의 것을 각각 농축한 것이다.

이 중 Fr.1을 hexane에서 재결정화를 수행하였을 때 무색의 침상정을 얻을 수 있었으며 이를 화합물 **1**이라 하였다. Fr.3로부터 순수한 화합물을 얻기 위하여 silica gel column (ϕ 2.7 cm \times 24 cm, SiO₂ 60 g)을 이용하여 전개용매 hexane-EtOAc (2:1)로 전개하였다. 전개시 10 ml씩 분획수집하였다. 이중 보유용량(retention volume) 110-140 ml에서 수집된 분획을 농축하고 메탄올에서 재결정하여 백색의 결정 화합물 **2**(28 mg)를 얻었다. 또, 보유용량 150-190 ml에서 수집된 분획들을 ODS column(ϕ 2.7 cm \times 28 cm, SiO₂ 60 g)에서 전개용매 80% MeOH로 전개하고 10 ml씩 분획수집하였다. 이 중 260-390 ml 보유용량의 것을 농축하고 MeOH에서 재결정하여 무정형 백색분말(120 mg)을 얻었으며 이를 화합물 **3**이라 하였다.

β -Sitosterol (1) - mp 138-140^o, [a]_D²⁵ -37^o (MeOH, c = 0.100), IR ν_{\max} (KBr) cm⁻¹: 3400 (broad, OH), 1465 (CH₂), 1380 (CH₃), 790-840 (trisubstituted double bond); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 0.71 (3H, s, H-18), 0.84

(3H, d, J =7.0 Hz, H-26), 0.86 (3H, d, J =7.0 Hz, H-27), 0.87 (3H, t, J =7.5 Hz, H-29), 0.95 (3H, s, J =6.5 Hz, H-21), 1.03 (3H, s, H-19), 3.55 (1H, m, 3-OH), 5.37 (1H, d-like, H-6); ¹³C-NMR (125.5 MHz, CDCl₃): Table I; EIMS (m/z, rel. int.): 414 (M⁺ of β -sitosterol, 100), 329 (29), 303 (45), 289 (20.9).

Fupenjic acid (2) - mp 189-190^o, [a]_D²⁵ +45.6^o (MeOH, c=0.16), HRMS, Found m/z 484.3164; Calcd for M⁺, C₃₀H₄₄O₅: 484.3187. UV λ_{\max} (MeOH) nm: 271 (log ϵ =4.04). IR ν_{\max} (KBr) cm⁻¹: 3420 (broad, OH), 484 1690, 1670 (COOH, conjugated C=O), 1640 (C=C); ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD): 0.83 (3H, s, H-26), 0.97 (3H, d, J =7.0 Hz, H-30), 1.13 (3H, s, H-24), 1.24 (3H, s, H-29), δ 1.25 (3H, s, H-23), 1.26 (3H, s, H-25), 1.29 (3H, s, H-27), 2.58 (1H, s, H-18), 5.41 (1H, t-like, H-12), 6.37 (1H, s, H-1); ¹³C-NMR (125.5 MHz, CDCl₃): Table I; EIMS m/z (rel. int.): 484 (40, M⁺), 438 (92), 366 (52), 201 (25), 151 (43), 146 (52), 55 (base peak);

β -Sitosterol β -D-glucopyranoside (3) - White crystal, mp 270-272^o, IR ν_{\max} (KBr) cm⁻¹: 3400 (broad, OH), 1465 (CH₂), 1380 (CH₃), 790-840 (trisubstituted double bond); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃+DMSO-*d*₆) δ : Sterol moiety-0.67 (3H, s, H-18), 0.80 (3H, d, J =7.0 Hz, H-26), 0.81 (3H, d, J =7.0 Hz, H-27), 0.83 (3H, t, J =8.0 Hz, H-29), 0.89(3H, d, J =6.5 Hz, H-21), 0.97 (3H, s, H-19), 5.31 (1H, t-like, H-6), sugar moiety-4.24 (1H, d, J =7.5 Hz, H-1'), 2.95 (1H, t-like, H-2'), 3.16 (1H, m, H-3'), 3.10 (1H, m, H-4'), 3.09 (1H, m, H-5'), 3.49 (1H, dd, J =11.5, 3.5 Hz, H_a-6'), 3.67 (1H, dd, J =3.5, 11.5 Hz, H_b-6'); ¹³C-NMR (125.5 MHz, CDCl₃): Table I.

결과 및 고찰

숨양지꽃의 뿌리 추출물의 클로로포름 분획으로부터 식

Table 1. ^{13}C -NMR spectral data of compounds **1-3** (125.5 MHz)

C	1 (CDCl ₃)	2 (CD ₃ OD)	3 (CDCl ₃ +DMSO- <i>d</i> ₆)
1	37.3 (<i>t</i>)	128.6 (<i>d</i>)	37.3 (<i>t</i>)
2	31.7 (<i>t</i>)	143.7 (<i>s</i>)	29.8 (<i>t</i>)
3	71.8 (<i>s</i>)	201.0 (<i>s</i>)	77.6 (<i>s</i>)
4	42.3 (<i>t</i>)	43.9 (<i>s</i>)	Overlapped
5	140.8 (<i>s</i>)	53.7 (<i>d</i>)	140.9 (<i>s</i>)
6	121.7 (<i>d</i>)	18.7 (<i>t</i>)	121.6 (<i>d</i>)
7	31.9 (<i>t</i>)	32.6 (<i>t</i>)	31.9 (<i>t</i>)
8	31.7 (<i>s</i>)	38.4 (<i>s</i>)	31.9 (<i>s</i>)
9	50.2 (<i>d</i>)	42.7 (<i>d</i>)	50.1 (<i>d</i>)
10	36.5 (<i>s</i>)	41.6 (<i>s</i>)	36.7 (<i>s</i>)
11	21.1 (<i>t</i>)	23.7 (<i>t</i>)	21.1 (<i>t</i>)
12	39.8 (<i>t</i>)	128.0 (<i>d</i>)	39.9 (<i>t</i>)
13	42.3 (<i>s</i>)	138.4 (<i>s</i>)	42.3 (<i>s</i>)
14	56.8 (<i>d</i>)	40.6 (<i>s</i>)	56.7 (<i>d</i>)
15	24.3 (<i>t</i>)	28.2 (<i>t</i>)	24.3 (<i>t</i>)
16	28.2 (<i>t</i>)	25.3 (<i>t</i>)	28.2 (<i>t</i>)
17	56.1 (<i>t</i>)	47.8 (<i>s</i>)	56.0 (<i>t</i>)
18	11.9 (<i>q</i>)	53.0 (<i>d</i>)	12.1 (<i>q</i>)
19	19.4 (<i>q</i>)	73.0 (<i>s</i>)	19.5 (<i>q</i>)
20	36.2 (<i>d</i>)	41.3 (<i>d</i>)	36.0 (<i>d</i>)
21	18.8 (<i>q</i>)	26.0 (<i>t</i>)	19.0 (<i>q</i>)
22	34.0 (<i>t</i>)	37.4 (<i>t</i>)	36.0 (<i>t</i>)
23	26.2 (<i>t</i>)	27.4 (<i>q</i>)	26.1 (<i>t</i>)
24	45.9 (<i>d</i>)	21.8 (<i>q</i>)	45.7 (<i>d</i>)
25	29.2 (<i>d</i>)	19.5 (<i>q</i>)	29.3 (<i>d</i>)
26	19.1 (<i>q</i>)	16.1 (<i>q</i>)	19.4 (<i>q</i>)
27	19.8 (<i>q</i>)	24.5 (<i>q</i>)	19.5 (<i>q</i>)
28	23.1 (<i>t</i>)	184.0 (<i>s</i>)	23.1 (<i>t</i>)
29	12.0 (<i>q</i>)	27.1 (<i>q</i>)	12.2 (<i>q</i>)
30		17.3 (<i>q</i>)	
1			101.4 (<i>d</i>)
2			73.9 (<i>d</i>)
3			77.1 (<i>d</i>)
4			70.6 (<i>d</i>)
5			77.3 (<i>d</i>)
6			61.6 (<i>t</i>)

물화학적 분리과정에 의해 3종의 화합물을 순수하게 얻었다. 화합물 **1**은 IR spectrum을 측정하였을 때 3400 cm^{-1} 에서 OH기, 1465 cm^{-1} 에서 CH_2 기, 1380 cm^{-1} 에서 CH_3 기 및 $790\text{-}840\text{ cm}^{-1}$ 에서 삼치환 이중결합을 확인할 수 있다. 이 화합물의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼은 통상적으로 스테로이드의 tertiary methyl기에 기인한 18- CH_3 의 δ 0.71 및 19- CH_3 의

δ 1.03가 singlet peak로 나타나고 그 외 doublet로 나타나는 메틸 피크가 δ 0.84, 0.86, 0.95에서 관찰되었으며 triplet로 분열하는 메틸 피크가 δ 0.87에서 관찰되었다. 이와 같은 총 6개의 메틸 피크의 관찰로부터 이 화합물은 스테로이드 화합물임을 알 수 있었다. 그 외에도 olefinic proton이 δ 5.37에서 나타나고 OH의 proton이 δ 3.55에서 나타났으므로 화합물 **1**은 스테롤임을 알 수 있었다. $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서도 3-OH가 δ 71.3에서, C-5의 이중결합이 δ 140.8, 121.7에서 나타났다. 이 화합물이 β -sitosterol로 추정되었으므로 직접 문헌치³⁾와 비교하였고 그 $^{13}\text{C-NMR}$ spectral data를 Table I에 나타내었다. 이 assignment의 결과는 DEPT, $^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY-, HMQC NMR spectral data에 의해 확인된 것이다. 그러므로, 화합물 **1**은 stigmast-5-en-3-ol구조의 β -sitosterol로 동정되었으며 통상적으로 함께 나타나기도 하는 campesterol과 stigmasterol은 나타나지 않았다.

화합물 **2**는 IR 스펙트럼에서 3420 cm^{-1} 에서 OH와 1670 cm^{-1} 에서 α,β -unsaturated carbonyl기를 보였다. 또 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 모두 30개의 피크를 보였으므로 화합물 **1**이 트리테르펜임을 의미하였다. 먼저, $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 모두 7개의 메틸 피크를 보였으며 이 중 δ 0.97에서 나타난 피크는 double로 분열($J=7.0\text{ Hz}$)하여 관찰되었으므로 이 화합물은 ursane계 triterpene임을 알 수 있었다. 계속하여 olefinic proton이 δ 5.41에서 triplet으로 관찰되었는데 이것은 H-12이며, 또 하나의 olefinic proton이 δ 6.37에서 singlet로 나타났다. 이러한 전반적인 NMR spectral data의 검토로부터 A-고리는 diosphenol 고리로 되어있음을 추측하였다. $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서는 두 개의 이중 결합에 기인한 δ 128.6, 143.7과 128.0, 138.4에서 관찰되었고, α,β -unsaturated ketone의 케톤 피크가 δ 201.0에서 나타났으며, C-28의 carboxyl 피크가 δ 184.0에서 관찰되었다. 일반적으로 장미과 식물에서는 자주 19α -hydroxyursane-type triterpene이 나타나고 더욱이 A-고리에는 2,3-dihydroxy기가 존재하는 triterpene인 경우가 발견된다.⁴⁾ 19-OH가 δ 73.0에서 관찰되었으며 C-1, C-2 및 C-3가 δ 128.6, 143.7 및 201.0에서 관찰되어 A-고리가 dionphenol-type으로 되어 있음을 뒷받침하였다. 그러므로, 화합물 **2**는 2,19 α -dihydroxy-2-oxo-urs-1,12-dien-28-oic acid(fupenjjic acid)의 구조임을 알 수 있었다. 화합물 **3**은 HRMS에서 그 분자식이 $\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_5$ 로 나타났고 EIMS에서는 그 분자이온이 m/z 484에서 관찰되었다. Hattori 등⁵⁾은 *Rubus chingii*의 과실로부터 fupenjjic acid를 분리한 바 있으며 본 화합물과 mp 및 $[\alpha]_D$ 의 값이 일치하였으므로 화합물 **3**은 2,19 α -dihydroxy-2-oxo-urs-1,12-dien-28-oic acid 구조의 fupenjjic acid 화합물로 동정되었다. Table I에 나타난 $^{13}\text{C-NMR}$ spectral data의 assignment는 $^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY, HMQC 및 DEPT NMR 스펙트럼을 이용하여 완성하였다.

화합물 3은 NMR 측정시 CDCl_3 에 용해도가 좋지 않았으므로 $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$ 의 용매 중에서 측정하였다. 실험항에 나타내었듯이 18- CH_3 와 19- CH_3 가 각각 singlet로 δ 0.67과 0.80에서 나타나고 29- CH_3 가 triplet로 δ 0.83에서 나타나고 21- CH_3 , 26- CH_3 및 27- CH_3 가 모두 doublet로 δ 0.89, 0.80, 0.81에서 관찰되어 총 6개의 메틸 피크가 나타났으므로 이 화합물은 스테로이드 화합물로 추측되었다. 그리고, H-6에 기인한 δ 5.31이 β -sitosterol의 olefinic proton으로 생각되었다. 또 당부의 anomeric proton이 δ 4.24에서 결합상수(coupling constant)가 7.5 Hz로 나타났다. ^{13}C -NMR 스펙트럼에서도 β -D-glucopyranose에 기인한 data가 Table I에서와 같이 잘 assignment되었다. 그러므로, 화합물 3은 β -sitosterol β -D-glucopyranoside로 추측되므로 문헌치의 ^{13}C -NMR spectral data와 비교하여 잘 일치하였으므로 Table I에 나타내었다.⁶⁾ 화합물 3은 β -sitosterol β -D-glucopyranoside의 용점 값이 일치하였으므로 이 화합물을 3-O- β -D-glucopyranosylstigmast-5-en-3-ol 구조의 화합물로 동정하였다. 한편 Wang 등⁷⁾이 *Potentilla chinensis*에서 수종의 triterpenoid와 Li 등⁸⁾이 *Potentilla multicaulis*에서 역시 수종의 triterpenoid 성분을 분리한 바 있다. 또, Jang 등⁹⁾은 최근 *Potentilla discolor*에서 rosamultin, tetracendroside B, 4-O-methyllellagic acid 3-O- α -L-rhamnopyranoside, vanillic acid 4-O- β -D-glucopyranoside를 분리한 바 있으나 본 연구에서 확인된 3종의 화합물은 솜양지꽃에서 처음으로 분리된 화합물이다. 특히 fupenjjic acid는 현재까지 *Potentilla* 속 식물에서 처음으로 분리된 화합물이다.

결 론

솜양지꽃의 뿌리에서 3종의 화합물을 분리하고 각종 분광분석의 결과 stigmast-5-en-3-ol(β -sitosterol), 2,19 α -dihydroxy-2-oxo-urs-1,12-dien-28-oic acid(fupenjjic acid), 2,19 α -dihydroxy-2-oxo-urs-1,12-dien-28-oic acid(fupenjjic acid)로 확인되었다. 이 화합물들에 대한 ^{13}C -NMR assignment를 2D-NMR 스펙트럼의 해석에 의해 가능하였다. 그리고 솜양지꽃으로부터 이 3종 화합물의 분리는 본 연구가 처음이다.

사 사

이 논문은 2007년도 상지대학교 교내 연구비 지원에 의한 것임

인용문헌

1. Kim, T. J. (1996) Botanical Resources of Korea, 130-130, Seoul Publishing Center Seoul.
2. Shoyakan (ed.) (1985) Encyclopedia of Chinese Medicinal Drugs, 2438-2438, Shanghai Science & Technology, Tokyo.
3. Choi, Y. H., Kim, J. S., Seo, J. H., Lee, J. W., Kim, Y. S., Ryu, S. Y., Lee, K. R., Kim, Y. K. and Kim, S. H. (2004) Chemical constituents of *Brassica campestris* ssp *pekinensis*, *Kor. J. Pharmacogn.* **35**: 255-258.
4. Park, H. J., Jung, H. J., Nam, J. H., Lim, S. C., Kim, W. B. (2006) Chemical characterization and utilization of 19 α -hydroxyursane-type triterpenoids in *Rubus* species, *Kor. J. Plant. Res.* **19**: 563-572.
5. Hattori, M., Kuo, K. -P, Shu, Y. -Z., Tezuka, Y., Kikuchi, T. and Namba, T. (1988) A triterpene from the fruits of *Rubus chingii*, *Phytochemistry* **27**: 3975-3976.
6. Xu, Y. N., Kim, J. S., Kang, S. S., Son, K. H., Kim, H. P., Chang, H. W. and Bae E. H. (2002) Components from the roots of *Chaenomeles japonica*, *Kor. J. Pharmacog.* **33**: 267-271.
7. Wang, Q. H., Li, Z. Y., Shen, H. W., Lin, H. W., Shu, W. and Zhou, J. B. (2006) Studies on triterpenoids from *Potentilla chinensis*, *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* **31**: 1434-1436.
8. Li, P. L., Lin, C. J., Zhang, Z. X., Jia, Z. J. (2007) Three new triterpenoids from *Potentilla multicaulis*, *Chem Biodivers.* **4**: 17-24.
9. Jang, D. S., Yoo, N. H., Kim, J. M., Lee, Y. M., Yoo, J. L., Kim, Y. S. and Kim, J. S. (2007) An ellagic acid rhamnoside from the roots of *Potentilla discolor* with protein glycation and rat lens aldose reductase inhibitory activity, *Nat. Prod. Sci.* **13**: 160-162.

(2007년 11월 4일 접수)