

작약 잎과 줄기의 생리활성 물질 분리 및 동정

김세종*† · 박준홍* · 최성용* · 손건호** · 김길웅***

*경북농업기술원 신물질연구소, **안동대학교 식품영양학과, ***경북대학교 농업생명과학대학

Isolated and Identification of Biological Activity Compounds from Leaves and Stem of *Paeonia lactiflora* Pallas

Se Jong, Kim*†, Jun Hong Park*, Seong Yong Choi*, Kun Ho Son**, and Kil Ung Kim***

*Research Institute of Natural Product, Gyeongbuk Agricultural Technology Administration, Uisung 769-803, Korea.

**Department of Food and Nutrition, Andong National University, Andong 760-749, Korea.

***College of Agriculture and Life Science, Kyungpook National University Daegu 702-701, Korea.

ABSTRACT : This study was conducted to identify physiologically active substances from leaves and stems of peony plant. MeOH extracts and column chromatography were employed to isolate active compounds and chemical structure were identified by IR, UV, Mass and NMR. The results obtained can be summerized as followings : Chemical structure of compound 1 was identified as oleanolic acid (white color form) of triterpenoid group, which is firstly identified from the above part of peony. Compound 2 was identified as kaempferol (yellow needle form) of flavonoid group, which was firstly identified from the root, leaf and stem of peony. Compound 3 was identified as methyl gallate (white power form) of phenol group, which was firstly identified from the above part of peony. Compound 4 was identified as astragalin (bright yellow needle form) of flavonoid group, that was firstly identified from the leaf and stem of peony. Compound 5 was identified as paeoniflorin (white color form) of monoterpene group, that was firstly identified from the above part of peony.

Key Words : *Paeonia lactiflora* P., leaf, stem, structure elucidation

서 언

최근 자연과학의 발달로 이들 자원식물들에 대한 관심이 증가되면서 인간이 유용하게 이용하기 위한 연구가 세계 각국에서 활발하게 진행되고 있다. 특히 21C 중심 산업인 생물산업의 발달에 따른 소재로서 약용 자생식물의 가치는 더욱 높아져 신약개발, 건강 식품 소재 및 신기능성 소재의 유용한 생물자원으로서 수요는 급증할 것으로 전망된다 (이 등, 2002). 이중에서도 작약은 인삼, 당귀 다음으로 수요가 많은 중요한 약초로서 많이 사용되고 있지만 대부분 뿌리만 사용되어 왔다. 작약 (*Paeonia lactiflora* Pallas)은 함박꽃이라고도 하며 미나리아재비과 (Ranunculaceae) 또는 작약과 (Paeoniaeae)에 속하는 다년생 속근초본으로 중국, 한국, 일본, 미국, 남아메리카, 유럽 (김 등, 1998; 강 등, 1992) 등지에 분포한다. 작약 뿌리의 물질 분리에 관한 연구는 Shibata and Nakahara (1963)는 paeoniflorin을, Kaneda *et al.* (1972)은 oxypaeoniflorin과 benzoylpaeoniflorin 등이 있다는 것을 보고하였고

Nishizawa *et al.* (1980)은 작약의 아세톤 추출물에서 penta-galloylglucose를 포함한 6종의 gallotannin을 분리하여 구조를 밝혔다. 또한 Shimizu *et al.* (1981)은 작약뿌리에서 paeoniflorigenone과 albiflorin을 분리하였고, 국내에서는 Kang *et al.* (1989)이 작약에서 새로운 monoterpene glucoside인 galloyl paeoniflorin을 분리하여 분광학적인 방법으로 구조를 동정하였다.

작약에서 밝혀진 성분은 뿌리에서 paeoniflorin, albiflorin, benzoic acid 등 86종이 동정되었고 (장, 1996), 꽃잎에서는 astragalin, pyrethrin, β -sitosterol, hexacosane, 안토시안 색소인 paeonin, flavonoid인 kampferid, kampferol (정과 신, 1998; Soka, 1985) 등 10종, 종자에서는 *trans*-resveratrol 1종, 잎 및 줄기에서는 albiflorin, gallic acid 등 7종이 동정되었다 (정과 신, 1998; Kim *et al.*, 2002; Choung, 2002; Choung and Kang, 1997). 작약 식물체 부위별 성분 함량 분포에서 paeoniflorin, albiflorin 및 phenolic compounds의 함량은 뇌두가 뿌리보다 높은 양상을 나타내었고 뿌리내에서는

†Corresponding author: (Phone) +82-53-320-0224 (E-mail) kimsejong@hanmail.net
Received August 29, 2006 / Accepted January 31, 2007

albiflorin, gallic acid, benzoic acid 및 (-)-epicatechin이 코르크층에 더 많이 존재하였으며, paeoniflorin, (+)-taxifolin 3-O-β-D-glucopyranoside 및 (+)-catechin은 목부에 더 많이 존재한다고 하였다 (Choung, 2002). Choung (2002)은 기능성 물질로 평가되는 gallic acid는 잎에서 가장 높은 1.14%를 함유 하였고 너두, 줄기, 뿌리의 순이었으며, benzoic acid도 작약의 잎에서 1.44%로 가장 높았고 너두, 뿌리, 줄기 순으로 많았다고 하였다.

이상에서와 같이 현재까지 국내외에서 작약에 관한 생리활성 분야의 연구는 주로 뿌리에 대한 물질의 분리 및 동정 등이고 줄기나 잎에 관한 연구는 매우 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 자원이 부족한 우리나라에서 약초의 이용성을 증대시키고자 작약의 지상부인 줄기와 잎으로부터 생리활성 물질을 분리·동정한 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 시험 재료

시험에 사용된 작약 시료는 2001년 9월에 경북농업기술원 신물질연구소에서 작약 3년생의 지상부인 줄기와 잎 5 kg을 채취하여 상온에서 20일간 음건한 후 분쇄하여 시료 분말 2 kg을 만들어 사용하였다.

2. 시약 및 기기

추출 (MeOH, BuOH, Hexane, EtOAc) 및 column chromatography용 용매 (CHCl₃, Hexane, EtOAc, MeOH)는 시약용 1급을 증류하여 사용하였으며, 기타 시약은 특급을 사용하였다. Column chromatography용 silica gel은 Merck사의 Kieselgel 60 (No. 9385, 230-400mesh) 및 Kieselgel 60 (No. 7729, 230 mesh 이상)을, TLC (Thin layer chromatography) plate는 Merck사의 Precoated Kieselgel 60F₂₅₄를 사용하였다. 기기는 용점은 Yanaco사의 미량 용점측정장치, UV는 Hewlett Packard 8452A UV/Vis spectrophotometer, IR은 Mattson Polaris사의 TM (FT-IR) spectrophotometer, Mass는 Hewlett Packard HP5973N mass spectrometer, NMR은 Bruker Avance 400 spectrometer를 사용하여 측정하였으며 ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR은 내부 표준물질로서 tetramethylsilane (TMS)을 사용하였다.

3. 추출 및 분획

건조하여 분쇄한 작약 분말 2 kg을 MeOH (100%)에 7일간 침출한 후 3회 추출하여 464 g의 MeOH 추출물을 얻었다. MeOH 추출물은 hexane과 H₂O를 1:1로 한 용매에서 hexane 분획 117 g을, H₂O 층은 다시 EtOAc 용매를 사용하여 H₂O와 1:1 용매에서 EtOAc 분획 122 g을, H₂O 층은 다시

BuOH과 1:1로 희석한 용매에서 BuOH 분획 138 g과 H₂O 층 29 g을 얻었다.

EtOAc과 BuOH 추출물 각각 76 g 씩을 silica gel (No. 9385, 230-400 mesh) column에 넣고 hexane → CHCl₃ 순으로 용출한 후 column chromatography의 용매 (CHCl₃:MeOH, 97:3)의 비율로 gradient 방식의 용출을 시작하여 0:100이 될 때까지 분취하였다. 분취 농축한 sample을 각각 TLC하여 6개의 소분획 (fr. 1~6)으로 구분하였다. 이중 fr. 1을 silica gel column chromatography (CHCl₃:MeOH, 99:1 → 10:1) 하여 fr. 1-2에서 화합물 1을, fr. 1-4를 다시 column chromatography (CHCl₃:MeOH, 97:3 → 10:1)하여 fr. 1-4-3에서 화합물 2를 분리하였다. Fr. 2에서 2차 column chromatography (CHCl₃:MeOH, 95:5 → 1:1)를 하고 이중 fr. 2-3을 3차 column chromatography (CHCl₃:MeOH, 97:3 → 10:2)한 다음 fr. 2-3-2를 4차 column chromatography (CHCl₃:MeOH, 97:3 → 10:2)하여 화합물 3을 얻었다. Fr. 3에서 column chromatography (CHCl₃:MeOH, 93:7 → 10:2, CHCl₃:MeOH:H₂O, 7:3:1 → 52:28:8)하여, fr. 3-8을 얻고 다시 flash column chromatography (CHCl₃:MeOH, 10:2)하여 fr. 3-8-8로부터 화합물 4를 얻었다. 또한 fr. 3-8-2를 column chromatography (CHCl₃:MeOH, 10:1 → 2:1)하여 fr. 3-8-2-2에서 화합물 5를 얻었다.

4. Compound 4의 산기수분해 및 당부의 TLC

Compound 4 (40 mg)를 5% methanolic H₂SO₄ (200 ml)에 용해시킨후 수욕상에서 1시간 반응시켰고 그액에 얼음을 넣어 석출하는 침전을 여과한 후, 여액을 BaCO₃로 중화하였다. 이를 다시 여과하여 BaSO₄와 과량의 BaCO₃를 제거한후, 여액을 감압농축하여 pyridine-EtOAc-HOAc-H₂O(36:36:7:21)의 용매로 cellulose plate에 전개시켜 aniline phthalate를 발색제로 사용해서 TLC를 하였다. 이때 R_f 치는 0.42로서 D-glucose 표준품과 잘 일치하였고 침전물은 건조한 후 MeOH로 재결정하여 compound 4의 aglycone을 얻었으며, compound 2 (kaempferol)의 표준품과 TLC 및 혼용시험에서 잘 일치하였다.

화합물 1 - white powder, Libermann-Burchard test; positive, mp; 300~303°C, IR (KBr) cm⁻¹; 3445 (OH), 1694 (C=O), EI-MS m/z; 456 [M]⁺, 410 [M-COOH+H]⁺, 248 [D/E ring]⁺, 203 [D/E ring-COOH]⁺, 175, 133, 57, ¹H-NMR (pyridine-d₅) δ: 5.48 (1H, brs, H-12), 3.43 (1H, dd, J=5.7 and 9.7 Hz, H-3), 3.28 (1H, dd, J=4.0 and 13.4 Hz, H-18), 1.26, 1.22, 1.17, 1.01, 0.99, 0.93, 0.88 (3H each, s, CH₃), ¹³C-NMR (pyridine-d₅) δ: 38.9(C-1), 28.3(C-2), 78.1(C-3), 39.3 (C-4), 55.8(C-5), 18.8(C-6), 33.2(C-7), 39.7(C-8), 48.1(C-9), 37.3(C-10), 23.7(C-11), 122.5(C-12), 144.8(C-13), 42.1(C-14),

28.0(C-15), 23.8(C-16), 46.7(C-17), 42.0(C-18), 46.5(C-19), 30.9(C-20), 34.2(C-21), 33.2(C-22), 28.7(C-23), 16.5(C-24), 15.5(C-25), 17.4(C-26), 26.1(C-27), 180.2(C-28), 33.2(C-29), 23.7(C-30)

화합물 2 – yellow needle, FeCl₃, Mg/HCl 및 Zn/HCl test; positive, mp; 279~280°C, IR (KBr) cm⁻¹; 3317 (OH), 1659 (α,β-unsaturated ketone), 1616, 1568, 1508 (aromatic C=C). UV λ max nm (log ε); (MeOH) 268(4.20), 325(4.09), 366 (4.37) (MeOH + NaOMe) 282(4.35), 315(4.02), 427(4.40) (MeOH + AlCl₃) 272(4.30), 306(3.86), 353(4.02), 425(4.43) (MeOH + AlCl₃+ HCl) 272(4.28), 304(3.86), 350(4.06), 423 (4.38)(MeOH + NaOAc) 275(4.34), 309(4.07), 390(4.29) (MeOH + NaOAc + H₃BO₃) 269(4.22), 305(4.02), 369(4.34) EI-MS *m/z*; 286 [M]⁺, 258 [M-CO]⁺, 121 [B₂]⁺, 93 [B₂-CO]⁺ ¹H-NMR (CD₃OD) δ; 6.26 (1H, d, *J*=1.97 Hz, H-6), 6.77 (1H, d, *J*=1.97 Hz, H-8), 6.78 (2H, d, *J*=8.92 Hz, H-3' and 5'), 7.95 (2H, d, *J*=8.92 Hz, H-2' and 6') ¹³C-NMR (CD₃OD) δ: 148.0(C-2), 137.0(C-3), 175.9(C-4), 162.9(C-5), 99.6(C-6), 166.0(C-7), 94.8(C-8), 158.7(C-9), 103.0(C-10), 124.1(C-1'), 131.1(C-2'), 116.7 (C-3'), 161.0 (C-4'), 116.7 (C-5'), 131.1 (C-6')

화합물 3 – white powder, FeCl₃ test; Positive, mp; 197 ± 1°C, IR (KBr) cm⁻¹; 3410(OH), 1678(ester), 1541(aromatic C=C), 1465, 1036, 753, UV λ max nm (log ε): 276(3.9), 219(4.2), EI-MS *m/z*; 184 [M]⁺ (65), 166 [M-H₂O]⁺ (1), 153[M-OCH₃]⁺ (100), 125 [M-COOCH₃]⁺ (36), ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 6.92 (2H, s, H-2 and H-6), 3.73 (3H, s, O=COCH₃), ¹³C-NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*₆) δ; 119.5(C-1), 108.7(C-2, 6), 145.8(C-3, 5), 138.6(C-4), 166.5(O=CO), 51.8(OCH₃)

화합물 4 – bright yellow, FeCl₃, Mg/HCl, Zn/HCl 및 molisch test; positive, mp; 184 ± 1°C, IR (KBr) cm⁻¹; 3446 (OH), 1664 (α,β-unsaturated ketone), 1608, 1556, 1507 (aromatic C=C), 1061 (glycosidic C-O). UV λ max nm (log ε) (MeOH); 267(4.29), 309(4.07), 350(4.21), (MeOH + NaOMe) 275(4.39), 326(4.14), 401(4.43), (MeOH + AlCl₃); 274(4.31), 305(4.02), 352(4.19), 397(4.20), (MeOH + AlCl₃ + HCl); 275(4.31), 302(4.04), 346(4.17), 396(4.10), (MeOH + NaOAc); 275(4.43), 309(4.09), 384(4.23), (MeOH + NaOAc + H₃BO₃); 268(4.30), 305(4.06), 353(4.24), ¹H-NMR (DMSO-*d*₆) δ; 5.45 (1H, d, *J*=7.2 Hz, anomeric H), 6.19 (1H, d, *J*=2.1 Hz, H-6), 6.41 (1H, d, *J*=2.1 Hz, H-8), 6.87 (2H, d, *J*=8.9 Hz, H-3' and 5'), 8.03 (2H, d, *J*=8.9 Hz, H-2' and 6'), ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆) δ; 156.5(C-2), 133.4(C-3), 177.7(C-4), 161.4(C-5), 98.9(C-6), 164.4(C-7), 93.9(C-8),

156.6(C-9), 104.2(C-10), 121.2(C-1'), 131.1(C-2'), 115.3(C-3'), 160.2(C-4'), 115.3(C-5'), 131.1(C-6'), 3-O-Glc, 101.0(C-1''), 74.4(C-2''), 77.7(C-3''), 70.1(C-4''), 76.6(C-5''), 61.0(C-6'')

화합물 5 – White powder, IR (KBr) cm⁻¹; 3420 (OH), 1713 (ester), 1602, 1585 (C=C), 1075 (glycosidic C-O), 1100~1000 cm⁻¹, UV λ max nm (log ε); 231, 274, ¹H-NMR (CD₃OD) δ; 1.36 (3H, s, CH₃), 5.49 (1H, s, H-9), 7.44~7.64 (3H, m, H- 3'', 4'', 5''), 8.03 (2H, dd, *J*=1.9, 7.9 Hz H-2'', 6'') ¹³C-NMR (CD₃OD) δ; 89.7(C-1), 87.6 (C-2), 44.9(C-3), 106.8(C-4), 44.4(C-5), 72.1(C-6), 23.8(C-7), 6.21(C-8), 102.7(C-9), 20.0(C-10), 100.0(C-1'), 75.4(C-2'), 78.4(C-3'), 72.1(C-4'), 78.4(C-5'), 63.3(C-6'), 131.6(C-1''), 131.1(C-2''), 130.0 (C-3''), 134.8(C-4''), 130.0(C-5''), 131.1 (C-6''), 168.4(C-7'')

결과 및 고찰

화합물 1은 Libermann-Burchard test에 양성을 나타내었으며, IR spectrum은 3445 cm⁻¹에서 OH, 1694 cm⁻¹에서 C=O 에 기인한 흡수 band를 나타내었고, EI-MS spectrum에서 molecular ion peak가 *m/z* 456에서 나타나며, HCOOH가 떨어져서 생성된 ion peak가 *m/z* 410에서 나타났다. 또한 olean-12-ene계에서 나타나는 전형적인 retro-Diels-Alder fragmentation에 의한 fragment ion peak가 *m/z* 248에서 base peak로 나타나고 이 ion에서 COOH가 떨어져 생성된 ion peak가 *m/z* 203에서 강하게 나타나는 것으로 보아 이 COOH기는 C-17에 결합된 것임을 알 수 있었다. 이 화합물의 ¹H-NMR spectrum을 보면 0.88~1.26 ppm에서 7개의 methyl singlet이 나타나며 3.28 ppm에서 H-18 proton이 double doublet으로 나타나며 oxygen bearing proton의 chemical shift가 3.43 ppm에서 *J*=9.7, 5.7 Hz의 double doublet으로 나타나는 것으로 보아 이 위치에 결합된 OH는 β 결합함을 알 수 있었고 5.48 ppm에서 1개의 olefinic proton에 의한 흡수가 관찰되었다. 이상의 결과로서 이 화합물은 1개의 OH group과 1개의 double bond를 함유한 oleanane 계열의 triterpenoid임을 추정할 수 있었다. ¹³C-NMR spectrum에서는 모두 30개의 signal이 나타났으며 78.1 ppm에서 OH를 함유한 carbonyl carbon의 signal이 나타났고, 122.5 및 144.8 ppm에서 나타난 이중결합의 흡수로서 12번과 13번 탄소 사이에 이중결합이 존재하며 180.2 ppm에서 C-28의 COOH에 의한 흡수를 볼 수 있었다. 이상의 결과를 종합하면, 이 화합물은 oleanane계의 triterpenoid인 oleanolic acid임을 알 수 있었고, 기존 문헌 (Son *et al.*, 1998; 강, 1987)과의 비교에서도 모든 내용이 잘 일치하였다. Oleanolic acid는 Kang *et al.* (1993)이 작약의 뿌리에서 분리 보고한 바 있으나 작약의

지상부에서는 본 연구를 통해 처음 분리되었다.

화합물 2는 황색침상 결정의 단일물질로 얻어졌으며, FeCl₃, Mg/HCl 및 Zn/HCl test (Markham, 1982a)에서 양성을 나타내었다. 화합물 2의 물리화학적 특성은 IR spectrum은 3317 cm⁻¹에서 OH, 1659 cm⁻¹에서 α,β-unsaturated ketone 및 1616, 1568, 1508 cm⁻¹에서 aromatic double bond의 흡수를 나타내었으므로 이 화합물을 flavonoid 계열의 화합물로 추정하였다 (Hiraoka & Maeda, 1979). UV spectrum에서는 MeOH 용액에서 band I이 366 nm, band II가 268 nm에서 흡수극대치를 나타내므로, 이 화합물은 flavonoid계 화합물 중 3번 위치에 유리 수산기가 결합된 flavonol 화합물로 추정되었으며, MeOH 용액에 NaOMe를 가하고 측정한 UV spectrum에서 band I (427 nm)이 bathochromic shift (+61 nm)하고 intensity가 감소하지 않은 점으로 보아 flavonol의 4' 위치에 유리 수산기가 존재함을 알 수 있었다. MeOH 용액에 NaOAc를 가하고 측정한 UV spectrum에서는 band II (275 nm)가 bathochromic shift한 점으로 7번 위치에 유리 수산기가 존재하고, AlCl₃ 첨가에 의해서는 band I (425 nm)이 bathochromic shift (+59 nm)하고 여기에 HCl 첨가로 흡수극대치가 shift하지 않은 점으로 이 화합물에는 5번 위치에 유리 수산기가 존재하며 ortho-dihydroxy group이 존재하지 않음을 알 수 있었다 (Mabry *et al.*, 1970). 화합물 2의 EI-MS에서는 molecular ion peak가 m/z 286에서 base peak로 나타났으며, flavonol의 C ring에서 retro-Diels Alder fragmentation에 의하여 생성되는 전형적인 fragment ion인 [A+H]⁺ fragment peak가 m/z 153에서, [B₂]⁺ 및 [B₂-CO]⁺ fragment peak가 각각 m/z 121과 m/z 93에서 나타났다 (Markham, 1982b). 화합물 2의 ¹H-NMR spectrum에서는 B ring의 symmetric한 두쌍의 proton들에 기인하는 signal이 6.78 ppm 및 7.95 ppm에서 J=8.9, J=8.9 Hz의 doublet로 나타나고, A ring의 6번, 8번의 meta-coupling proton들에 기인하는 doublet이 J=1.97, J=1.97 Hz로써 각각 6.26 ppm 및 6.77 ppm에서 나타났다. 이상의 결과로서 compound 2는 3번에 유리 수산기가 있는 flavonol 화합물의 5, 7 및 4' 위치에 OH기가 치환되어 있는 5,7,4-trihydroxy flavonol인 kaempferol임을 알 수 있었으며, 이는 화합물 2의 ¹³C-NMR에 chemical shift를 보면 기 보고된 kaempferol의 문헌 (Lee *et al.*, 1994; Park *et al.*, 2000; Park *et al.*, 2000)과 비교해 본 결과 잘 일치함을 알 수 있었다. Kaempferol은 작약의 뿌리 및 잎과 줄기에서는 처음으로 분리되었다.

화합물 3은 백색 분말상 결정의 단일물질로 분리되었다. 화합물 3의 물리화학적 특성은 IR spectrum에서는 benzene ring과 ester, OH의 강한 흡수 band가 나타났으며 UV spectrum에서는 276 및 219 nm에서 흡수 극대 파장을 보였다. EI-MS spectrum에서 molecular ion이 m/z 184에서 나타났고,

m/z 125 [M-COOCH₃]⁺의 peak로서 이 화합물을 phenolic acid의 ester로 추정하였다. 또한 acylium ion에 해당하는 fragment ion이 m/z 153에서 base peak로 나타나는 것으로 보아 aromatic ring에는 3개의 hydroxyl기가 치환되었음을 알 수 있었다. ¹H-NMR spectrum에서 3.73 ppm에서 methyl ester의 methyl singlet이 나타났으며 6.92 ppm에 2개의 aromatic proton에 기인하는 흡수가 singlet으로 나타나는 것으로 보아 3개의 hydroxyl group은 benzene의 3, 4, 5번에 연속하여 치환되었음을 알 수 있었다. ¹³C-NMR spectrum에서는 166.5 ppm에서 galloyl group의 carbonyl carbon peak가 나타났고, 119.5(C-1), 108.7(C-2, 6), 145.8(C-3, 5), 138.6(C-4) ppm에서 6개의 aromatic carbon signal이 나타나며 51.8 ppm에서 carbomethoxyl carbon의 peak가 관찰되었다. 상기 결과를 종합하여 보면 이 화합물의 구조는 methyl gallate로 동정되었으며, Park *et al.* (1996b), Shoyama *et al.* (1990) 및 Park *et al.* (2000)의 연구 결과와 잘 일치하였고, 작약의 지상부에서는 처음으로 분리·동정되었다.

화합물 4는 미황색 결정의 단일물질로 분리되었으며, FeCl₃, Mg/HCl, Zn/HCl 및 molisch test (Markham, 1982a)에서 양성을 나타내었다. 화합물 4의 물리화학적 특성은 IR spectrum은 3446 cm⁻¹에서 OH, 1664 cm⁻¹에서 α,β-unsaturated ketone, 1608, 1556, 1507 cm⁻¹에서 aromatic double bond 및 1061 cm⁻¹에서 glycosidic C-O의 흡수가 나타나는 점으로 보아 flavonoid 배당체로 추정되었다 (Hiraoka & Maeda, 1979). 이 화합물을 산 가수분해한 aglycone은 화합물 2와 동일한 kaempferol, 구성당은 D-glucose임을 확인하였다. ¹H-NMR spectrum에서는 aglycone인 kaempferol에 상응하는 H-6 및 H-8은 각각 6.19 및 6.41 ppm에서 J=2.1 Hz로 meta-coupling하고, 6.87 ppm과 8.03 ppm에서 J=8.9 Hz로 H-2', 6'과 H-3', 5'이 ortho-coupling하여 나타났고, 1개의 anomeric proton에 의한 doublet이 J=7.2 Hz로 나타났으므로 화합물 4는 1 mole의 glucose가 β 결합하고 있음을 알 수 있었다 (Mahato *et al.*, 1982). UV spectrum에서는 MeOH 용액에서 band I이 350 nm, band II가 267 nm에서 각각 흡수극대를 나타내므로 이 화합물은 3번 OH기에 glucose가 결합되어 있음을 추정할 수 있었다 (Mabry *et al.*, 1970). 이는 화합물 4의 ¹³C-NMR spectrum에서 2, 3 및 4번 탄소의 chemical shift를 화합물 2 (kaempferol)의 chemical shift와 비교해 본 결과, 3번 탄소의 chemical shift가 3.6 ppm upfield shift되고, 2번과 4번 탄소의 chemical shift가 각각 8.5 ppm, 1.8 ppm씩 downfield shift된 것으로 3번 탄소에 glucose가 결합하고 있음을 알 수 있었다 (Markham *et al.*, 1978). 이상의 결과로서 화합물 4의 화학구조는 kaempferol 3-O-β-D-glucopyranoside인 astragalín으로 확인되었으며 Lee *et al.* (1994), Park *et al.* (1995)이 각각 엘레지 잎, 두충나무 잎에서 분리한 물질과 잘

일치하였다. Astragalin은 작약의 잎과 줄기에서는 처음으로 분리되었다.

화합물 5는 백색의 단일 물질로 분리하였다. 화합물 5의 물리화학적 특성은 IR spectrum은 3420 cm⁻¹에서 OH, 1713 cm⁻¹에서 ester, 1602 및 1585 cm⁻¹에서 aromatic C=C, 1075 cm⁻¹에서 glycosidic C-O에 기인한 흡수 band를 볼 수 있었다. UV spectrum에서는 benzoyl group에 의한 peak가 231 nm에서 극대 peak를 나타내며 이외에도 274 nm에서 약한 흡수 peak가 나타났다. ¹H-NMR spectrum에서 1.36 ppm에서 CH₃ singlet signal, 5.49 ppm에서 특징적인 acetal proton, 7.44~8.03 ppm에서 5개의 aromatic proton signal들이 나타나고 있다. ¹³C-NMR spectrum에서는 1 set의 terminal glucose에 의한 6개 peak가 나타나고 aglycone은 phenyl ester에 기인하는 7개의 carbon signal 외에 1개의 acetal 및 1개의 hemiacetal carbon을 포함한 signal을 볼 수 있었다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 이 화합물은 paeoniflorin으로 동정되었으며 이 화합물은 작약의 뿌리에서 보고 (Kang *et al.*, 1993; 강과 손, 2000) 된 paeoniflorin의 data와 일치하였다. 작약의 잎과 줄기에서 분리한 paeoniflorin은 작약 지상부에서는 처음 분리되었다.

적 요

작약의 지상부인 잎과 줄기에서 물질을 분리·동정하기 위해 MeOH 추출 및 column chromatography하여 단일 물질 5종을 분리하였으며, 분리한 물질에 대하여 IR, UV, Mass, NMR 등을 이용하여 화학구조를 동정하였다.

그 결과 oleanolic acid, kaempferol, methyl gallate, astragalol, paeoniflorin의 구조가 확인되었으며 이들 화합물은 작약의 지상부인 잎과 줄기에서는 처음으로 분리되었다.

LITERATURE CITED

Choung MG (2002) Variation of Bioactive Component Contents in plant parts of *Paeonia lactiflora* Pall. *Korean J. Medicinal crop Sci.* 10(5):392-398.

Choung MG, Kang KH (1997) Isolation and determination of paeoniflorin and albiflorin in Korea peony (*Paeonia lactiflora* P.) root. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* 5(4):249-254.

Hiraoka A, Maeda M (1979) A new acylated flavonol glycoside from *Cyathea contaminans* Copel. and its distribution in the Pterophyta. *Chem. Pharm. Bull.* 27(12):3130-3136.

Kaneda M, Iitakawa Y, Shibata S (1972) Chemical studies on the oriental plant drugs X. The absolute structures of paeoniflorin, albiflorin, oxypaeoniflorin and benzoylpaeoniflorin isolated from Chinese peony root. *Tetrahedron* 28:4309-4317.

Kang SS, Kim JS, Yun HS, Han BH (1993) Phytochemical studies on Paeoniae Radix. *Kor. J. Pharmacogn.* 24(3):247-250.

Kang SS, Shin KH, Chi HJ (1989) Galloylpaeoniflorin, a new monoterpene glucoside from paeony roots. *Korean Journal Pharmacogenosy* 20(1):48-49.

Kim HJ, Ha SC, Choi SW (2002) Inhibition of tyrosinase and lipoxygenase activities by resveratrol and its derivatives from seeds of *Paeonia lactiflora*. *Nurtaceuticals & Food* 7(4):447-450.

Lee MS, Lim SC, Park HJ (1994) Phthalate ester and flavonoids isolated from leaves of *Erythronium Japonicum*. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* 2(1):67-72.

Mabry TJ, Markham KR, Thomas MB (1970) The systematic identification of flavonoids, Springer-Verlag, N. Y. p. 41-56.

Mahato SB, Ganguly AN, Sahu NP (1982) Steroid saponins. *Phytochemistry* 21:959-977.

Markham KR (1982a) Techniques of Flavonoid Identification, Academic Press, London p. 70-71.

Markham KR (1982b) Techniques of Flavonoid Identification, Academic Press, London p. 87-90.

Markham KR, Ternai B, Stanley R, Geiger H, Mabry TJ (1978) Varvone-13 NMR studies of flavonoids-III. Naturally occurring flavonoid glycosides and their acylated derivatives, *Tetrahedron* 34:1389-1397.

Nishizawa M, Yamagishi T, Nonaka GI, Nishioka I (1980) Structure of gallotannins in paeoniae radix. *Chem. pharm. Bull.* 28(9):2850-2852.

Park HJ, Kwon SH, Yun SY, Lee KT (2000) Isolation of steroids and flavonoids from the herbs of *Hypericum ascyron* L. *Kor. J. Pharmacogn.* 31(1):39-44.

Park JC, Kim SH (1995) Flavonoid analysis from the leaves of *Eucommia ulmoides*. *Journal of the Korean Society of Food and nutrition* 24(6):901-905.

Park JG, Park JC, Hur JM, Park SJ, Choi DR, Shin DY, Park KY, Cho HW, Kim MS (2000) Phenolic compounds from *Orostachys Japonicus* having anti-HIV-1 protease activity. *Natural product sciences* 6(3):117-121.

Park JC, Yu YB, Lee JH, Choi JS, Ok KD (1996b) Phenolic compounds from the rachis of *Cedrela sinensis*. *Kor. J. Pharmacogn.* 27(3):219-223.

Shibata S, Nakahara M (1963) Studies on the constituents of Japanese and Chinese crude drugs. VIII. Paeoniflorin, a glucoside of Chinese paeony root (1). *Chem. Pharm. Bull.* 11:372-378.

Shimizu M, Hayashi T, Morita N, Kimura I, Kimura M (1981) Paeoniflorigenone, a new monoterpene from peony root. *Tetrahedron Lett.* 22:3069-3070.

Shoyama Y, Yamada Y, Nishioka I, Matsunaka H (1990) Depigmentation and Inhibition of cell growth of B-16 melanoma cells by compounds isolated from *Paeonia suffruticosa* callus. *Plant Cell Reports* 8:11-713.

Soka T (1985) Encyclopedia of Chinese Medicine 3:2066-2070. Tokyo, Japan.

Son KH, Kuon SY, Kim HP, Chang HW, Kang SS (1998) Constituents from *Syzygium aromaticum* Merr. *et Perry* 4(4): 263-267.

강광희, 정상환, 정명근 (1992) 고 Paeoniflorin 작약품종선발에 관한 연구. 과학기술처. UR 대응농업기술개발과제.

강삼직 (1987) Amyrin계 화합물의 ¹³C-NMR spectroscopy. 생약학 회지 18:151-167.

작약 잎과 줄기의 생리활성 물질 분리 및 동정

강삼식, 손건호 (2000) 천연물성분 구조결정법. 서울대학교출판부 p. 1-884.

김창민, 신민교, 이경순, 안덕균 (1998) 중약대사전 4:2179-2189. 제8권. 도서출판 정담 p. 4839-4845.

이철희, 이형규, 박경국, 박철호, 이부용, 성락술, 이승호 (2002) 생물산업 발전을 위한 자원식물의 이용. 충북대학교 생물건강산

업개발연구 센터.

장일무 (1996) 전통동양약물데이터 베이스. 서울대학교 천연물과학연구소.

정보섭, 신민교 (1998) 도해향약(생약)대사전(식물편). 도서출판영림사 p. 523-527.