

## 박주가리 지상부로부터 Flavonol Glycoside 성분의 분리

이소영 · 김주선 · 강삼식\*  
서울대학교 약학대학 천연물과학연구소

### Flavonol Glycosides from the Aerial Parts of *Metaplexis japonica*

So Young Lee, Ju Sun Kim and Sam Sik Kang\*

Natural Products Research Institute and College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

**Abstract** – Ten flavonol glycosides were isolated from the EtOAc fraction of the MeOH extract of *Metaplexis japonica* Makino. Structures of the flavonoids were elucidated on the basis of spectroscopic data and comparison with literature values. The flavonoids were found to be mostly common flavonol 3-glycosides. It is of interest that the sacchaide parts of the isolates were pairs of arabinosides, glucosides, galactosides, rutosides and robinobiosides of kaempferol and quercetin. All of these compounds were isolated for the first time from this plant.

**Key words** – *Metaplexis japonica*, Asclepiadaceae, isolation and identification, flavonol glycoside

박주가리(*Metaplexis japonica* Makino)는 박주가리과(Asclepiadaceae)에 속하는 덩굴성 여러해살이풀로 우리나라 전국의 들에 흔히 자라며, 일본, 만주, 중국에 분포한다. 예로부터 전초 또는 뿌리 말린 것을 나마(蘿摩)라고 하여 보기(補氣), 생유(生乳), 해독의 효능이 있고 허손노상(虛損勞傷), 양위(陽痿), 대하, 유즙불통, 단독, 창종을 치료한다고 알려져 왔다. 열매는 나마자(蘿摩子)라고 하며, 정기(精氣)를 보하고, 생기(生肌), 지혈의 효능이 있고, 허로, 양위, 금창출혈을 치료하는 것으로 알려져 있다.<sup>1)</sup> 박주가리의 성분에 관한 연구는 1962년 박주가리의 줄기와 잎에서 pregnane을 분리하였다는 보고를 시작으로, 분리된 성분들의 구조결정에 대한 연구들이 이루어졌으며,<sup>2-5)</sup> 이후 박주가리의 뿌리에서도 pregnane이 분리되어 그 구조에 대한 연구결과들이 다수 보고되었다.<sup>6-10)</sup> 또한 뿌리로부터 주성분인 pregnane glycoside가 다수 분리되어 보고되었다.<sup>11,12)</sup> 이러한 연구는 대부분 일본학자들에 의하여 수행되었으며, 우리나라에서는 박주가리 추출물의 퇴행성 뇌질환 예방에 관한 특허 이외에 이 식물에 관한 연구가 전혀 이루어진 바 없다.<sup>13)</sup> 따라서 박주가리의 pregnane 성분 이외의 성분에 관한 연구를 시도한 결과, 다수의 flavonoid성분들을 분리하였으며 그 결과를 보고하고자 한다.

### 재료 및 방법

**실험재료** – 본 연구에서 실험에 사용한 박주가리는 2011년 8월 서울대학교 관악캠퍼스 교내에서 채집하여 사용하였다.

**기기 및 시약** – 선광도는 Jasco P-1020 polarimeter를 사용하여 측정하였다. NMR은 Varian Gemini 2000 (300 MHz), Bruker Avance-400 (400 MHz), Bruker Avance-500 (500 MHz) 또는 Jeol ECA-600 (600 MHz) spectrometer를 사용하여 측정하였으며, FAB-MS는 Jeol JMS-700 high resolution mass spectrometer를 사용하였다. Column chromatography용 silica gel은 Merck의 Kieselgel 60 (no. 7734 또는 7729)을, 역상 크로마토그래피는 Merck의 LiChrorep RP-18을 사용하였다. Gel 여과는 Sephadex LH-20 (Pharmacia)을 사용하였다. TLC plate는 Merck의 Kieselgel 60 F<sub>254</sub> 또는 RP-18<sub>254S</sub> precoated plate를 사용하였다.

**추출 및 분획** – 신선한 박주가리 지상부 5 kg을 세절하여 MeOH을 가하고 3시간씩 수욕상에서 추출하여 감압 농축하는 과정을 3회 반복해 MeOH 엑스(208.9 g)를 얻었다. 이를 H<sub>2</sub>O로 현탁시켜 동량의 hexane을 가하여 진탕 방치하여 hexane 분획(60.9 g)을 얻었다. 같은 방법으로 수층에 동량의 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>를 가하여 진탕 방치하여 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 분획(7 g)을 얻었으며, 수층에 다시 동량의 EtOAc를 가하여 진탕 방치하여 EtOAc 분획(2.7 g)을, 수층에 동량의 BuOH을 가해 진탕 방치하여 BuOH 분획(24.7 g)을 얻었다.

\*교신저자(E-mail): sskang@snu.ac.kr  
(Tel): +82-2-880-2481

EtOAc 분획(2.7 g)을 silica gel (Merck no. 7734) column 에 걸어 물포화 EtOAc → EtOAc/MeOH/H<sub>2</sub>O (100 : 4 : 3) → MeOH 조성으로 chromatography를 실시하여 13개의 소분획 (E1 ~ E13)으로 나누었다. 소분획 E2 (200 mg)를 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O (7 : 1.5 : 0.5) 혼합용매로 silica gel (Merck no. 7729) column chromatography를 실시하여 얻은 소분획 E2-2를 MeOH을 용출용매로 Sephadex LH-20 column chromatography를 재차 실시하여 화합물 **1** (15 mg)을 얻었다. 소분획 E3 (70 mg)를 MeOH을 용출용매로 Sephadex LH-20 column chromatography를 실시하여 화합물 **2** (3 mg)와 **3** (25 mg)을 얻었다. 소분획 E5 (50 mg)를 MeOH을 용출용매로 Sephadex LH-20 column chromatography를 실시하여 화합물 **4** (5 mg)를 얻었다. 소분획 E6 (250 mg)을 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O (7 : 1.7 : 0.5) 혼합용매로 silica gel (Merck no. 7729) column chromatography를 실시하여 화합물 **5** (20 mg)를 얻었다. 소분획 E7 (50 mg)을 MeOH을 용출용매로 Sephadex LH-20 column chromatography를 실시하여 화합물 **6** (20 mg)을 얻었다. 소분획 E10 을 MeOH/H<sub>2</sub>O 혼합용매로 재결정하여 화합물 **7** (30 mg)을 얻었다. 소분획 E11 (100 mg)을 MeOH을 용출용매로 Sephadex LH-20 column chromatography를 실시하여 화합물 **8** (40 mg)을 얻었다. 소분획 E12 (300 mg)도 같은 방법으로 MeOH을 용출용매로 Sephadex LH-20 column chromatography를 실시하여 소분획 E12-4를 얻고 이를 MeOH/H<sub>2</sub>O 혼합용매로 재결정하여 화합물 **9** (25 mg)와 **10** (20 mg)을 얻었다.

**Kaempferol 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranoside (1)** – Amorphous yellowish powder.  $[\alpha]_D^{22} = -69.6^\circ$  ( $c = 0.45$ , MeOH); <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 3.20 (1H, dd,  $J = 2.4$ , 11.4 Hz, H-5''a), 3.48 – 3.53 (1H, m, H-3''), 3.56 (1H, dd,  $J = 5.4$ , 11.4 Hz, H-5''b), 3.62 – 3.68 (1H, m, H-4''), 3.70 – 3.77 (1H, m, H-2''), 5.34 (1H, d,  $J = 5.1$  Hz, H-1''), 6.20 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-6), 6.43 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-8), 6.88 (2H, d,  $J = 8.7$  Hz, H-3', 5'), 8.08 (2H, d,  $J = 8.7$  Hz, H-2', 6'), 10.33 (1H, br s, 4'-OH), 12.63 (1H, br s, 5-OH); <sup>13</sup>C-NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : Table I; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 3.39 (1H, dd,  $J = 3.5$ , 13.8 Hz, H-5''a), 3.63 (1H, dd,  $J = 2.8$ , 8.2 Hz, H-3''), 3.77 (1H, dd,  $J = 3.8$ , 13.8 Hz, H-5''b), 3.78 (1H, br s, H-4''), 3.88 (1H, dd,  $J = 6.2$ , 8.2 Hz, H-2''), 5.14 (1H, d,  $J = 6.2$  Hz, H-1''), 6.20 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-6), 6.39 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-8), 6.88 (2H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-3', 5'), 8.05 (2H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-2', 6'); FABMS  $m/z$  419  $[M + H]^+$ , 287  $[(M + H) - 132]^+$ .

**Astragalol (2, kaempferol 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside)** – Amorphous yellowish powder.  $[\alpha]_D^{22} = -22.0^\circ$  ( $c = 0.4$ ,

MeOH); <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 3.06 – 3.58 (6H, m, H-2'' – 6''), 5.46 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz, H-1''), 6.19 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-6), 6.41 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-8), 6.88 (2H, d,  $J = 9.0$  Hz, H-3', 5'), 8.04 (2H, d,  $J = 9.0$  Hz, H-2', 6'), 12.61 (1H, br s, 5-OH); <sup>13</sup>C-NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : Table I; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 3.19 (1H, ddd,  $J = 1.8$ , 4.4, 7.8 Hz, H-5''), 3.30 – 3.34 (1H, overlap with solvent, H-4''), 3.40 (1H, t,  $J = 9.1$  Hz, H-3''), 3.43 (1H, t,  $J = 9.0$  Hz, H-2''), 3.52 (1H, dd,  $J = 5.4$ , 12.0 Hz, H-6''a), 3.68 (1H, dd,  $J = 2.0$ , 12.0 Hz, H-6''b), 5.23 (1H, d,  $J = 7.2$  Hz, H-1''), 6.19 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-6), 6.38 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-8), 6.88 (2H, d,  $J = 8.7$  Hz, H-3', 5'), 8.05 (2H, d,  $J = 8.7$  Hz, H-2', 6'); <sup>13</sup>C-NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 62.6 (C-6''), 71.3 (C-4''), 75.7 (C-2''), 78.0 (C-3''), 78.4 (C-5''), 94.9 (C-8), 100.0 (C-6), 104.1 (C-1''), 105.6 (C-10), 116.1 (C-3', 5'), 122.8 (C-1'), 132.3 (C-2', 6'), 135.4 (C-3), 158.6 (C-2), 159.0 (C-9), 161.6 (C-4'), 163.1 (C-5), 166.6 (C-7), 179.5 (C-4); FABMS  $m/z$  471  $[M + Na]^+$ , 449  $[M + H]^+$ , 287  $[(M + H) - 162]^+$ .

**Guaijaverin (3, quercetin 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranoside)** – Amorphous yellowish powder.  $[\alpha]_D^{22} = -65.0^\circ$  ( $c = 0.35$ , MeOH); <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 3.21 (1H, dd,  $J = 2.1$ , 11.1 Hz, H-5''a), 3.51 (1H, dd,  $J = 2.7$ , 6.9 Hz, H-3''), 3.60 (1H, dd,  $J = 5.1$ , 11.1 Hz, H-5''b), 3.61 – 3.67 (1H, m, H-4''), 3.75 (1H, dd,  $J = 5.1$ , 6.9 Hz, H-2''), 5.27 (1H, d,  $J = 5.1$  Hz, H-1''), 6.18 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-6), 6.39 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-8), 6.83 (1H, d,  $J = 8.7$  Hz, H-5'), 7.50 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-2'), 7.66 (1H, dd,  $J = 2.4$ , 8.7 Hz, H-6'), 12.65 (1H, br s, 5-OH); <sup>13</sup>C-NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : Table I; <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 3.40 (1H, dd,  $J = 2.9$ , 13.2 Hz, H-5''a), 3.63 (1H, dd,  $J = 3.0$ , 8.5 Hz, H-3''), 3.80 – 3.83 (2H, m, H-4'', 5''b), 3.89 (1H, dd,  $J = 6.6$ , 8.5 Hz, H-2''), 5.15 (1H, d,  $J = 6.6$  Hz, H-1''), 6.18 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-6), 6.38 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-8), 6.86 (1H, d,  $J = 8.7$  Hz, H-5'), 7.57 (1H, dd,  $J = 2.1$ , 8.7 Hz, H-6'), 7.74 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-2'); <sup>13</sup>C-NMR (75.5 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 66.9 (C-5''), 69.1 (C-4''), 72.9 (C-3''), 74.1 (C-2''), 94.8 (C-8), 100.0 (C-6), 104.7 (C-1''), 105.6 (C-10), 116.2 (C-2'), 117.4 (C-5'), 122.9 (C-6'), 123.0 (C-1'), 135.7 (C-3), 146.0 (C-3'), 150.0 (C-4'), 158.5 (C-2), 158.7 (C-9), 163.0 (C-5), 166.4 (C-7), 179.5 (C-4); FABMS  $m/z$  435  $[M + H]^+$ , 303  $[(M + H) - 132]^+$ .

**Isoquercitrin (4, quercetin 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside)** – Amorphous yellowish powder.  $[\alpha]_D^{22} = -15.7^\circ$  ( $c = 0.25$ ,

MeOH);  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 5.45 (1H, d,  $J = 7.2$  Hz, H-1''), 6.19 (1H, d,  $J = 1.6$  Hz, H-6), 6.40 (1H, d,  $J = 1.6$  Hz, H-8), 6.84 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz, H-5'), 7.57 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-2'), 7.58 (1H, dd,  $J = 2.1, 9.9$  Hz, H-6'), 12.63 (1H, br s, 5-OH);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : Table I;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 3.21 (1H, ddd,  $J = 2.2, 5.3, 9.6$  Hz, H-5''), 3.34 (1H, t,  $J = 9.1$  Hz, H-4''), 3.42 (1H, t,  $J = 8.5$  Hz, H-3''), 3.47 (1H, t,  $J = 9.0$  Hz, H-2''), 3.56 (1H, dd,  $J = 5.3, 11.8$  Hz, H-6'a), 3.70 (1H, dd,  $J = 2.2, 11.8$  Hz, H-6'b), 5.23 (1H, d,  $J = 7.4$  Hz, H-1''), 6.19 (1H, d,  $J = 1.9$  Hz, H-6), 6.38 (1H, d,  $J = 1.9$  Hz, H-8), 6.86 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz,

H-5'), 7.58 (1H, dd,  $J = 2.0, 8.7$  Hz, H-6'), 7.70 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-2'); FABMS  $m/z$  487  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 465  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 303  $[(\text{M} + \text{H}) - 162]^+$ .

Trifolin (**5**, kaempferol 3-O- $\beta$ -D-galactopyranoside) – Amorphous yellowish powder.  $[\alpha]_D^{23} = -20.1^\circ$  ( $c = 0.35$ , MeOH);  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 3.29 – 3.65 (6H, m, H-2'' – H-6''), 5.41 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-1''), 6.20 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-6), 6.43 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-8), 6.86 (2H, d,  $J = 9.0$  Hz, H-3', 5'), 8.07 (2H, d,  $J = 9.0$  Hz, H-2', 6'), 10.27 (1H, br s, 4'-OH), 12.62 (1H, br s, 5-OH);  $^{13}\text{C-NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : Table I;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 3.43 (1H, br t,  $J = 6.2$

**Table I.**  $^{13}\text{C-NMR}$  data of compounds **1–10** in  $\text{DMSO-}d_6$

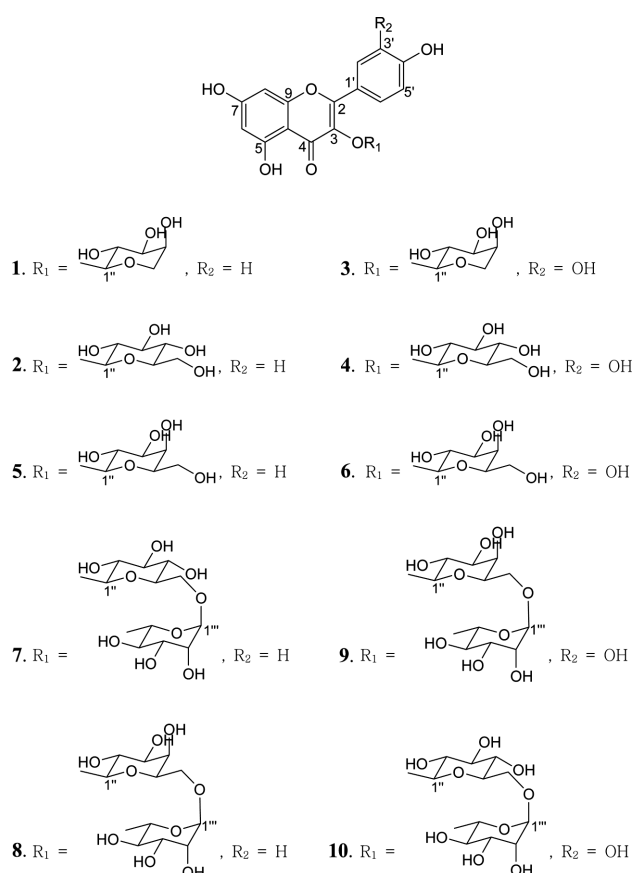
No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2	156.2	156.4*	156.3	156.1	156.3*	156.2*	156.5	156.4	156.3	156.6
3	133.5	133.1	133.7	133.3	133.2	133.4	133.2	133.3	133.4	133.3
4	177.5	177.3	177.4	177.4	177.5	177.4	177.3	177.4	177.3	177.3
5	161.2	161.2	161.2	161.2	161.2	161.2	161.2	161.2	161.2	161.2
6	98.7	98.8	98.8	98.7	98.7	98.6	98.7	98.7	98.7	98.7
7	164.4	164.6	164.6	164.2	164.3	164.1	164.3	164.3	164.3	164.2
8	93.7	93.7	93.5	93.5	93.7	93.4	93.8	93.7	93.5	93.6
9	156.3	156.1*	156.2	156.3	156.4*	156.1*	156.8	156.5	156.3	156.4
10	103.9	103.8	103.8	103.9	103.9	103.8	103.9	103.8	103.8	103.9
1'	120.7	120.9	120.9	121.6	120.9	121.0	120.9	120.8	121.9	121.1
2'	131.0	130.8	115.7	115.2	131.0	115.1	130.9	130.9	115.1	116.2
3'	115.3	115.0	145.0	144.8	115.1	144.8	115.1	115.0	144.8	144.7
4'	160.1	159.9	148.6	148.5	160.0	148.4	159.9	159.9	148.5	148.4
5'	115.3	115.0	115.3	116.2	115.1	115.9	115.1	115.0	115.9	115.2
6'	131.0	130.8	122.1	121.1	131.0	121.9	130.9	130.9	121.0	121.6
	Ara	Glc	Ara	Glc	Gal	Gal	Glc	Gal	Gal	Glc
1''	101.2	100.9	101.4	100.9	101.6	101.7	101.3	102.0	102.0	101.2
2''	70.8	74.2	70.7	74.1	71.2	71.2	74.2	71.1	71.1	74.1
3''	71.5	77.4	71.6	77.5	73.1	73.1	76.3	72.9	73.0	76.4
4''	66.0	69.8	66.1	69.9	67.9	67.9	69.9	68.0	68.0	70.0
5''	64.2	76.4	64.3	76.5	75.8	75.8	75.7	73.5	73.5	75.9
6''		60.8		61.0	60.2	60.1	66.9	65.3	65.1	67.0
							Rha	Rha	Rha	Rha
1'''							100.7	100.0	100.0	100.7
2'''							70.3	70.6*	70.6*	70.4
3'''							70.6	70.4*	70.4*	70.5
4'''							71.8	71.9	71.9	71.8
5'''							68.2	68.2	68.2	68.2
6'''							17.7	17.9	17.9	17.7

\*Signals may be interchanged.

H, H-5''), 3.51 (1H, dd,  $J = 6.2, 11.1$  Hz, H-6'a), 3.52 (1H, dd,  $J = 3.2, 9.6$  Hz, H-3''), 3.61 (1H, dd,  $J = 5.9, 11.1$  Hz, H-6'b), 3.78 (1H, dd,  $J = 7.8, 9.6$  Hz, H-2''), 3.81 (1H, br d,  $J = 3.2$  Hz, H-4''), 5.13 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-1''), 6.20 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-6), 6.40 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-8), 6.87 (2H, d,  $J = 8.9$  Hz, H-3', 5'), 8.07 (2H, d,  $J = 8.9$  Hz, H-2', 6');  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 62.0 (C-6''), 70.0 (C-4''), 73.0 (C-2''), 75.0 (C-3''), 77.1 (C-5''), 94.8 (C-8), 99.9 (C-6), 105.0 (C-10, 1''), 116.1 (C-3', 5'), 122.7 (C-1), 132.4 (C-2', 6'), 135.6 (C-3), 158.5 (C-9), 159.1 (C-2), 161.6 (C-4), 163.0 (C-5), 166.1 (C-7), 179.7 (C-4); FABMS  $m/z$  449  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 287  $[(\text{M} + \text{H}) - 162]^+$ .

**Hyperoside (6, hyperin, quercetin 3-O- $\beta$ -D-galactopyranoside)** – Amorphous yellowish powder.  $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -17.1^\circ$  ( $c = 0.15$ , MeOH);  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 5.37 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-1''), 6.20 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-6), 6.40 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-8), 6.81 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-5'), 7.52 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-2'), 7.67 (1H, dd,  $J = 2.4, 8.4$  Hz, H-6'), 12.63 (1H, br s, 5-OH);  $^{13}\text{C-NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : Table I;  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 3.46 (1H, ddd,  $J = 0.9, 6.3, 6.2$  Hz, H-5''), 3.54 (1H, dd,  $J = 6.3, 11.1$  Hz, H-6'a), 3.55 (1H, dd,  $J = 3.3, 9.6$  Hz, H-3''), 3.64 (1H, dd,  $J = 6.0, 11.1$  Hz, H-6'b), 3.81 (1H, dd,  $J = 7.5, 9.6$  Hz, H-2''), 3.84 (1H, dd,  $J = 0.6, 3.9$  Hz, H-4''), 5.17 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-1''), 6.19 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-6), 6.39 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-8), 6.86 (1H, d,  $J = 8.7$  Hz, H-5'), 7.58 (1H, dd,  $J = 2.1, 8.7$  Hz, H-6'), 7.84 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-2');  $^{13}\text{C-NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 61.9 (C-6''), 70.0 (C-4''), 73.2 (C-2''), 75.1 (C-3''), 77.2 (C-5''), 94.7 (C-8), 100.0 (C-6), 105.4 (C-1'), 105.5 (C-10), 116.1 (C-5'), 117.7 (C-2), 122.9 (C-1', 6'), 135.7 (C-3), 145.8 (C-3'), 150.0 (C-4), 158.5 (C-9), 158.7 (C-2), 163.0 (C-5), 166.3 (C-7), 179.5 (C-4); FABMS  $m/z$  465  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 303  $[(\text{M} + \text{H}) - 162]^+$ .

**Nicotiflorin (7, kaempferol 3-rutinoside, kaempferol 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside)** – Yellowish needles.  $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -1.6^\circ$  ( $c = 0.3$ , MeOH);  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 0.98 (3H, d,  $J = 6.2$  Hz, H-6'''), 4.37 (1H, br s, H-1'''), 5.31 (1H, d,  $J = 7.4$  Hz, H-1''), 6.19 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-6), 6.40 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-8), 6.87 (2H, d,  $J = 8.7$  Hz, H-3', 5'), 7.98 (2H, d,  $J = 8.7$  Hz, H-2', 6'), 12.55 (1H, br s, 5-OH);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : Table I;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 1.11 (3H, d,  $J = 6.2$  Hz, H-6'''),



**Fig. 1.** Structural formulas of compounds 1–10

3.24 (1H, t,  $J = 8.8$  Hz, H-4''), 3.27 (1H, t,  $J = 9.6$  Hz, H-4''), 3.36 (1H, dd,  $J = 4.3, 10.6$  Hz, H-6'a), 3.39 – 3.43 (1H, m, H-3''), 3.39 – 3.45 (1H, m, H-2''), 3.40 – 3.48 (1H, m, H-5''), 3.51 (1H, dd,  $J = 3.4, 9.4$  Hz, H-3''), 3.62 (1H, dd,  $J = 1.6, 3.4$  Hz, H-2''), 3.80 (1H, br d,  $J = 10.6$  Hz, H-6'b), 4.51 (1H, d,  $J = 1.3$  Hz, H-1'''), 5.12 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz, H-1''), 6.20 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-6), 6.40 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-8), 6.88 (2H, d,  $J = 8.9$  Hz, H-3', 5'), 8.05 (2H, d,  $J = 8.9$  Hz, H-2', 6');  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 17.9 (C-6'''), 68.6 (C-6''), 69.7 (C-5'''), 71.5 (C-4''), 72.1 (C-2''), 72.3 (C-3'''), 73.9 (C-4'''), 75.8 (C-2''), 77.2 (C-5''), 78.2 (C-3''), 94.9 (C-8), 100.0 (C-6), 102.4 (C-1'''), 104.6 (C-1''), 105.7 (C-10), 116.1 (C-3', 5'), 122.8 (C-1), 132.4 (C-2', 6'), 135.5 (C-3), 158.6 (C-9), 159.4 (C-2), 161.5 (C-4), 163.0 (C-5), 166.2 (C-7), 179.4 (C-4); FABMS  $m/z$  595  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 449  $[(\text{M} + \text{H}) - 146]^+$ , 287  $[(\text{M} + \text{H}) - 146 - 162]^+$ .

**Kaempferol 3-robinobioside (8, biorobin, kaempferol 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-galactopyranoside)** – Amorphous yellowish powder.  $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -27.3^\circ$  ( $c = 0.5$ , MeOH);  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 1.06 (3H, d,

$J = 5.9$  Hz, H-6'''), 4.39 (1H, d,  $J = 1.4$  Hz, H-1'''), 5.31 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-1''), 6.19 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-6), 6.42 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-8), 6.86 (2H, d,  $J = 8.7$  Hz, H-3', 5'), 8.05 (2H, d,  $J = 8.7$  Hz, H-2', 6'), 12.57 (1H, br s, 5-OH);  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : Table I;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, CD $_3$ OD)  $\delta$ : 1.17 (3H, d,  $J = 6.2$  Hz, H-6'''), 3.27 (1H, t,  $J = 9.4$  Hz, H-4'''), 3.38 (1H, dd,  $J = 6.7, 10.1$  Hz, H-6''a), 3.49 (1H, dd,  $J = 3.2, 9.7$  Hz, H-3'''), 3.51 – 3.56 (2H, m, H-3'', 5''), 3.58 (1H, dd,  $J = 1.6, 3.2$  Hz, H-2'''), 3.61 (1H, br t,  $J = 6.1$  Hz, H-5''), 3.72 (1H, dd,  $J = 5.6, 10.1$  Hz, H-6''b), 3.72 (1H, br d,  $J = 2.4$  Hz, H-4''), 3.78 (1H, dd,  $J = 7.8, 9.6$  Hz, H-2''), 4.51 (1H, d,  $J = 1.1$  Hz, H-1'''), 5.04 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-1''), 6.21 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-6), 6.40 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-8), 6.88 (2H, d,  $J = 8.9$  Hz, H-3', 5'), 8.08 (2H, d,  $J = 8.9$  Hz, H-2', 6');  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, CD $_3$ OD)  $\delta$ : 18.0 (C-6'''), 67.4 (C-6''), 69.7 (C-5'''), 70.2 (C-4''), 72.1 (C-2'''), 72.3 (C-3'''), 73.0 (C-2''), 73.9 (C-4''), 75.1 (C-3''), 75.4 (C-5''), 94.9 (C-8), 100.0 (C-6), 101.9 (C-1'''), 105.5 (C-1''), 105.6 (C-10), 116.1 (C-3', 5'), 122.7 (C-1'), 132.5 (C-2', 6'), 135.7 (C-3), 158.6 (C-9), 159.4 (C-2), 161.6 (C-4), 163.0 (C-5), 166.1 (C-7), 179.6 (C-4); FABMS  $m/z$  617 [M + Na] $^+$ , 595 [M + H] $^+$ , 449 [(M + H) – 146] $^+$ , 287 [(M + H) – 146 – 162] $^+$ .

**Quercetin 3-robinobioside [9, quercetin 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-galactopyranoside]** – Yellowish needles.  $[\alpha]_D^{22} = -15.8^\circ$  ( $c = 0.3$ , MeOH);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 1.06 (3H, d,  $J = 6.2$  Hz, H-6'''), 4.41 (1H, d,  $J = 1.0$  Hz, H-1'''), 5.32 (1H, d,  $J = 7.7$  Hz, H-1''), 6.19 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-6), 6.39 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-8), 6.82 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz, H-5'), 7.52 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-2'), 7.65 (1H, dd,  $J = 2.2, 8.5$  Hz, H-6'), 12.59 (1H, br s, 5-OH);  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : Table I; FABMS  $m/z$  633 [M + Na] $^+$ , 611 [M + H] $^+$ , 465 [(M + H) – 146] $^+$ , 303 [(M + H) – 146 – 162] $^+$ .

**Rutin [10, quercetin 3-rutinoside, quercetin 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside]** – Amorphous yellowish powder.  $[\alpha]_D^{24} = +1.5^\circ$  ( $c = 0.45$ , MeOH);  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 0.99 (3H, d,  $J = 6.1$  Hz, H-6'''), 4.38 (1H, br s, H-1'''), 5.34 (1H, d,  $J = 7.3$  Hz, H-1''), 6.19 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-6), 6.38 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-8), 6.84 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-5'), 7.53 (1H, br s, H-2'), 7.54 (1H, dd,  $J = 1.8, 8.0$  Hz, H-6'), 12.59 (1H, br s, 5-OH);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : Table I; FABMS  $m/z$  611 [M + H] $^+$ , 465 [(M + H) – 146] $^+$ , 303 [(M + H) – 146 – 162] $^+$ .

## 결과 및 고찰

교내에서 채집한 신선한 박주가리 지상부를 세절한 후 MeOH을 가하여 수욕상에서 추출한 후 농축하여 MeOH 엑스를 얻었다. 얻은 MeOH 엑스를 물에 현탁시켜 동량의 hexane, CH $_2$ Cl $_2$ , EtOAc, BuOH을 순차적으로 가하여 분획하였다. TLC로 확인한 결과 flavonoid 성분들이 EtOAc와 BuOH 분획에 함유되어 있음을 확인하고 다수의 flavonoid 성분들이 함유되어 있는 것으로 추정되는 EtOAc 분획을 silica gel column chromatography를 실시하여 13개의 소분획으로 나누었다. 소분획 E2로부터 kaempferol 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranoside (**1**)를<sup>14)</sup> 분리하여 확인하였다. 소분획 E3 으로부터 astragalin (**2**)과<sup>15)</sup> guaijaverin (**3**)을<sup>16,17)</sup> 분리하였으며, 소분획 E5로부터 isoquercitrin (**4**)을<sup>18)</sup> 분리하여 확인하였다. 소분획 E6 으로부터 trifolin (**5**)을,<sup>19)</sup> 소분획 E7로부터 hyperoside (**6**)를<sup>19)</sup> 각각 분리 확인하였다. 소분획 E10 으로부터 nicotiflorin (**7**)을,<sup>20,21)</sup> 소분획 E11로부터 kaempferol 3-robinobioside (**8**)를<sup>22)</sup> 각각 분리하였고, 소분획 E12로부터 침상형의 quercetin 3-robinobioside (**9**)와<sup>22)</sup> 무정형 분말의 rutin (**10**)을<sup>15)</sup> 재결정을 통해 분리하여 확인하였다. 이들 10종의 flavonoid 성분들은 대부분이 이미 오래전부터 다수의 식물로부터 분리 보고된 바 있는 전형적인 flavonol glycoside 성분들임을 알 수 있으나, 흥미로운 사실은 aglycone들이 kaempferol 및 quercetin으로 이들의 C3-OH에 arabinopyranose, glucopyranose, galactopyranose, rutinoside 및 robinobioside 등이 결합되어 쌍으로 존재하고 있음을 알 수 있다. 이와 같이 aglycone만 달리하는 쌍으로 구성된 flavonol glycoside들이 존재한다고 보고된 식물들은 흔히 발견되지 않고 있다.<sup>23)</sup> 박주가리과(Asclepiadaceae)에 속하는 식물로부터는 flavonol O-glycoside가 주로 분포하며 특히 isoquercitrin, hyperoside, rutin같은 quercetin O-glycoside가 함유되어 있음을 화학분류(chemotaxonomy)의 관점에서 보고된 바 있으나,<sup>24,25)</sup> 본 연구결과도 이와 같은 chemotaxonomy의 관점에서 일치하고 있음을 알았다.

최초로 이들 flavonoid들의 화학구조를 구명할 때는 분광학적 기술이 발전되지 않은 시기였으므로 결합하고 있는 당의 절대구조(D/L)나 결합방식( $\alpha/\beta$ ) 등에 있어 명확하게 밝혀지지 않은 화합물들이 많다. 예를 들면 isoquercitrin (**4**)은 1909년 처음으로 면화 꽃으로부터 분리되어,<sup>26)</sup> 1927년에 그 구조가 quercetin 3-O-glucoside로 결정되었으며,<sup>27)</sup> 1952년에 처음으로 합성되었다.<sup>28)</sup> 그러나 현재 Merck Index에 기재된 것을 보면 isoquercitrin은 quercetin 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside로 규정하고 있으나,<sup>29)</sup> 대부분의 문헌에서는 quercetin 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside로 규정되어 있는 실정이다.<sup>30)</sup> 또한 flavonoid는 NMR 측정시 대개의 경우 용매로 DMSO- $d_6$ 로 용해시켜 측정하는 것이 일반적인 경우이나, 배당체의 경우

에는 실험부에 기재된 바와 같이 DMSO- $d_6$  보다는 오히려 CD<sub>3</sub>OD에 용해시켜 측정하는 것이 훨씬 당에 기인하는 proton signal들이 겹치지 않고 분해능이 좋은 spectrum을 보여주고 있음을 알았다.

Nicotiflorin (7)의 NMR data에 대하여 CD<sub>3</sub>OD 용매 중에서 측정된 data가 보고되었으나,<sup>20)</sup> 이후 C-2와 C-4의 carbon chemical shift값이 서로 바뀌어져 있음을 확인하여 수정 발표하였다.<sup>21)</sup> 본 연구에서도 2D NMR data를 종합하여 이를 확인하였다. Kaempferol 3-robinobioside (8, biorobin)는 1963년 *Atropa belladonna*의 앞에서 kaempferol 3-rhamnogalactoside라는 성분이 분리되어 보고된 바 있다.<sup>31)</sup> 이후 콩과식물(*Robinia*속 및 *Lespedeza*속)를 포함한 다수의 식물로부터 분리되었으나,<sup>30)</sup> 1976년 합성에 의해 처음으로 그 구조가 명확하게 kaempferol 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-galactopyranoside로 밝혀졌으며,<sup>32)</sup> 1986년 처음으로 DMSO- $d_6$  용매 중에서 측정된 NMR data가 보고되었다.<sup>22)</sup> 이후에도 여러 식물로부터 분리 보고된 바 있으며 NMR data도 보고된 바 있으나,<sup>30)</sup> CD<sub>3</sub>OD 용매 중에서 측정된 2D NMR data를 종합하여 그 결과를 제시하였다. 또한 지금까지 수많은 식물로부터 분리 보고된 rutin (10)의 NMR data도 많은 논문에서 다수의 오류가 존재함을 확인하고 2D NMR data를 종합하여 DMSO- $d_6$  용매 중에서 측정된 carbon chemical shift 값을 Table I에 제시하였다.

박주가리의 성분에 관한 연구는 주성분으로 알려진 pregnane glycoside에 대해서만 이루어져 있으며, flavonoid 성분에 관한 연구는 본 연구에서 처음으로 이루어진 것으로, 분리된 모든 화합물들이 박주가리로부터 처음으로 분리되는 화합물임을 알았다.

## 결 론

박주가리 지상부의 EtOAc 분획으로부터 10종의 flavonoid 화합물들을 분리하여 각각 kaempferol 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranoside (1), astragalol (2), guajaverin (3), isoquercitrin (4), trifolin (5), hyperoside (6), nicotiflorin (7), kaempferol 3-robinobioside (8), quercetin 3-robinobioside (9) 및 rutin (10)으로 구조를 결정하였다. 박주가리의 flavonoid 성분에 관한 연구는 본 연구에서 처음으로 이루어진 것으로 분리된 모든 화합물이 이 식물로부터 처음으로 분리 확인된 물질임을 알았다.

## 사 사

본 연구는 BK21사업에 의해 일부 지원되었으며 이에 감사드린다.

## 인용문헌

- Bae, K.-H. (2000) Medicinal Plants of Korea, 414, Kyo-Hak Publishing Co., Ltd., Seoul.
- Mitsuhashi, H., Nomura, T., Shimizu, Y., Takemori, I. and Yamada, E. (1962) Studies on the constituents of Asclepiadaceae plants. VIII. On the components of *Metaplexis japonica* Makino. 1. *Chem. Pharm. Bull.* **10**: 811-817.
- Mitsuhashi, H. and Nomura, T. (1964) On the structure of ramanone. *Steroids* **3**: 271-276.
- Mitsuhashi, H. and Nomura, T. (1964) On the structure of pergularin. *Chem. Pharm. Bull.* **12**: 1523-1525.
- Nomura, T. and Mitsuhashi, H. (1972) Components of *Metaplexis japonica* Makino. *Chem. Pharm. Bull.* **20**: 1344-1347.
- Mitsuhashi, H. and Nomura, T. (1965) Studies on the constituents of Asclepiadaceae plants. XV. On the components of *Metaplexis japonica* Makino. II. *Chem. Pharm. Bull.* **13**: 274-280.
- Mitsuhashi, H. and Nomura, T. (1965) Studies on the constituents of Asclepiadaceae plants. XVI. On the components of *Metaplexis japonica* Makino. III. The structure of benzoylramanone. *Chem. Pharm. Bull.* **13**: 1332-1340.
- Mitsuhashi, H., Nomura, T. and Hirano, M. (1966) Studies on the constituents of Asclepiadaceae plants. XIX. Components of *Metaplexis japonica* Makino. IV. *Chem. Pharm. Bull.* **14**: 717-726.
- Nomura, T., Yamada, S. and Mitsuhashi, H. (1979) Studies on the constituents of Asclepiadaceae plants. XIV. On the components of *Metaplexis japonica* Makino. VI. The structures of 7-oxygenated-pregnane derivatives. *Chem. Pharm. Bull.* **27**: 508-514.
- Nomura, T., Fukai, T. and Kuramochi, T. (1981) Components of *Metaplexis japonica* Makino. VII. Structure of a new 7-oxygenated pregnane derivative. *Planta Med.* **41**: 206-207.
- Warashina, T. and Noro, T. (1998) Steroidal glycosides from the roots of *Metaplexis japonica*. *Phytochemistry* **49**: 2103-2108.
- Warashina, T. and Noro, T. (1998) Steroidal glycosides from the roots of *Metaplexis japonica* M. Part II. *Chem. Pharm. Bull.* **46**: 1752-1757.
- Kim, H. C., Bu, Y. M., Kim, M. Y., Kim, J. G., Park, J. Y., Song, M. K., Nirmala, J. and Nabaraj, P. (2010) Composition containing *Metaplexis japonica* extract or fraction for preventing and treating neurodegenerative diseases. *Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo*, Pat. no. 1020100052119.
- Begum, A. S., Sahai, M., Fujimoto, Y., Asai, K., Schneider, K., Nicholson, G. and Suessmuth, R. (2006) A new kaempferol diglycoside from *Datura suaveolens* Humb. & Bonpl. ex. Willd. *Nat. Prod. Res.* **20**: 1231-1236.
- Park, S. Y., Kim, J. S., Lee, S. Y., Bae, K. H. and Kang, S. S. (2008) Chemical constituents of *Lathyrus davidii*. *Nat. Prod. Sci.* **14**: 281-288.

16. Fraisse, D., Heitz, A., Carnat, A., Carnat, A.-P. and Lamaison, J.-L. (2000) Quercetin 3-arabinopyranoside, a major flavonoid compound from *Alchemilla xanthochlora*. *Fitoterapia* **71**: 463-464.
  17. Arima, H. and Danno, G.-I. (2002) Isolation of antimicrobial compounds from Guava (*Psidium guajava* L.) and their structural elucidation. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **66**: 1727-1730.
  18. Yean, M. H., Kim, J. S., Hyun, J. W., Bae, K.-H. and Kang, S. S. (2012) Triterpenoids and Phenolics from *Geum japonicum*. *Kor. J. Pharmacogn.* **43**: 107-121.
  19. Kim, J. S., Kang, S. S., Lee, M. W. and Kim, O. K. (1995) Isolation of flavonoids from the leaves of *Aralia continentalis*. *Kor. J. Pharmacogn.* **26**: 239-243.
  20. Kazuma, K., Noda, N. and Suzuki, M. (2003) Malonylated flavonol glycosides from the petals of *Clitoria ternatea*. *Phytochemistry* **62**: 229-237.
  21. Nahrstedt, A., Hungeling, M. and Petereit, F. (2006) Flavonoids from *Acalypha indica*. *Fitoterapia* **77**: 484-486.
  22. Brasseur, T. and Angenot, L. (1986) Flavonol glycosides from leaves of *Strychnos variabilis*. *Phytochemistry* **25**: 563-564.
  23. Kang, S. S., Cordell, G. A., Soejarto, D. D. and Fong, H. H. S. (1985) Alkaloids and flavonoids from *Ricinus communis*. *J. Nat. Prod.* **48**: 155-156.
  24. Sankara Subramanian, S. and Nair, A. G. R. (1968) Flavonoids of some Asclepiadaceous Plants. *Phytochemistry* **7**: 1703-1704.
  25. Heneidak, S., Grayer, R. J., Kite, G. C. and Simmonds, M. S. J. (2006) Flavonoid glycosides from Egyptian species of the tribe Asclepiadeae (Apocynaceae, subfamily Asclepiadoideae). *Biochem. System. Ecol.* **34**: 575-584.
  26. Perkin, A. G. (1909) CCXXXIV.-The colouring matter of cotton flowers. *Gossypium herbaceum*. Part II. *J. Chem. Soc., Trans.* **95**: 2181-2193.
  27. Attree, G. F. and Perkin, A. G. (1927) XXXVI.-The position of the sugar nucleus in the quercetin glucosides. *J. Chem. Soc.* 234-240.
  28. Ice, C. H. and Wender, S. H. (1952) The synthesis of isoquercitrin. *J. Am. Chem. Soc.* **74**: 4606.
  29. The Merck Index (2001). Thirteenth ed., 934. Merck & Co., Inc., Whitehouse Station, NJ.
  30. Harborne, B. and Baxter, H. (1999) The Handbook of Natural Flavonoids. Vol. 1, John Wiley & Sons, Chichester.
  31. Steinegge, E., Sonanin, D. and Tsingarida, K. (1963) Solanaceae flavones. III. Flavonoids of belladonna leaf. *Pharm. Acta Helv.* **38**: 119-124.
  32. Farkas, L., Vermes, B., Ngrdi, M. and Klmn, A. (1976) The final structure of robinin and biorobin and their total synthesis. *Phytochemistry* **15**: 215-218.
- (2012. 8. 10 접수; 2012. 9. 7 심사; 2012. 9. 10 게재확정)