

그늘모시대의 플라보노이드 성분

문형인 · 노종화 · 이강노 · 지옥표[#]

성균관대학교 약학대학

(Received November 15, 1998)

Studies on the Flavonoid Components of *Adenophora remotiflora* var. *hirticalyx*

Hyung-In Moon, Jong-Hwa Roh, Kang-Ro Lee and Ok-Pyo Zee[#]
College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University Suwon 440-746, Korea

Abstract—Four flavonoids were isolated from *Adenophora remotiflora* var. *hirticalyx*. Their structures were identified as quercetin (1), kaempferol (2), luteolin (3), pectolarigenin-7-O- β -glucopyranoside(4) on the basis of spectral data.

Keywords □ *Adenophora remotiflora* var. *hirticalyx*, kaempferol, quercetin, luteolin, pectolarigenin-7-O- β -glucopyranoside.

모시대(*Adenophora remotiflora*)는 초롱꽃과(campulaceae)에 속하는 식물로서 한반도에 두루 분포하고 만주, 우스리, 일본에도 분포하는데 화관과 화서의 형태가 다양하다.¹⁾ Nakai는 금강산과 북부산지에 채집된 것으로 화관의 길이가 4 cm 정도로 보통의 모시대보다 큰 것을 도라지 모시대(*Adenophora grandiflora* Nakai)로 신종 기록하였다.²⁾ 그러나 Kanai³⁾는 일본산 잔대속 식물의 연구에서 화관의 특징에 연속변이가 있어 종의 세분에 무리가 있다고 하였고, 중국식물도감에 Hong⁴⁾은 도라지 모시대를 모시대의 한유형으로 보았다. 일부 우리나라의 식물분류학자들 또한 한반도에는 도라지모시대가 자생하지 않는다는 보고를 하고 있다.⁵⁾ 본 연구자들 또한 지리산에서 모시대에 속하는 변종을 채집하였으나 화관의 크기가 도라지모시대의 화관의 크기에 미치지 못하여, 이⁵⁾등에 의하여 발견되어진 그늘모시대(*Adenophora remotiflora* var. *hirticalyx*)로 분류하였다. 그늘모시대는 산속 음지에 자라며 모시대보다는 화관의 크기가 훨씬 크고, 화관의 크기가 고르게 분포하는데 기인하

여 새로운 변종으로 분류된 식물이다. 모시대에 대한 성분 연구로는 Jiang⁶⁾이 뿌리로부터 지방산 4종을 분리 보고한 것 외에는 연구사례가 없으며, 그외에는 잔대속 식물분류연구에 속하여져 있었다.⁷⁾

저자들은 성분화학, 활성/약리학적 연구가 거의 수행되어 있지 않은 그늘모시대를 메탄올로 추출한 후 용매 분획하고 SRB법으로 암세포주에 대한 세포독성검정한 결과 KHOS-NP(osteosarcoma), A431(epidermoid carcinoma)의 ED₅₀이 Hexane층이 각각 75.3과 78.6 μ /ml, EtOAc층이 61.4과 65.8 μ g/ml, CHCl₃와 BuOH층에서 250 μ g/ml 이상의 수치를 나타내어, 이중 EtOAc층으로부터 유효성분분리를 시도하여 4종의 플라보노이드를 분리하고 그 화학구조를 규명하였다.

실험방법

실험재료 - 그늘모시대는 1998년 7월 지리산 세석산장 부근에서 채집하여 성균관대학교 자연과학부 식물분류학연구실에서 정확한 감정을 받아 사용하였다(표본 skku-ad-re-9807).

기기 및 시약 - 용점은 Gallenkamp melting point

[#] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 82-331-290-7705 (팩스) 82-331-292-8800

apparatus를 사용하여 측정하였으며, UV는 Shimadzu spectrophotometer, IR은 JASCO FT/IR-5300 (KBr disc법)를 사용하였다. ^1H , ^{13}C -NMR은 Bruker AMX-400 spectrometer, EI-MS spectrum은 VG70-VSEQ(VG ANALITICAL, UK)으로 측정하였다. 추출 및 column chromatography용 용매는 1급시약을, 기타 시약은 1급 또는 특급을 사용하였다. Column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel 60 (70~230 and 230~400 mesh, ASTM Art. 7734 and 9385, Merck), Low pressure용 pump는 peristaltic pump(ISCO)를 사용하였다. 그외 Sephadex LH-20(Pharmacia), TLC plate는 Kiesel gel 60F₂₅₄ pre-coated plate(Art. 7552, Merck)를 사용하였다.

추출 및 분리 - 그늘모시대 전초의 반건조중량 1.8 Kg을 MeOH를 용매로 하여 3회 4시간씩 환류 반복 추출하고 얻어진 추출액을 감압농축하여 93 g의 메탄올 엑기스를 얻었다. 메탄올 엑기스를 증류수 800 ml에 현탁시키고 n-hexane(1L×2), CHCl_3 (1L×2), EtOAc(1L×2), n-BuOH(1L)의 순서로 차례로 용매 분획하여 각각의 분획 9 g(hexane분획) 및 4 g(CHCl_3 분획), 11 g(EtOAc분획), 18 g(BuOH분획)을 얻었다.

EtOAc 분획 11 g을 EtOAc-MeOH(9:0.5)에서 EtOAc-MeOH- H_2O (6:4:2)까지의 혼합용매로 peristaltic pump를 이용한 low pressure silica gel column chromatography(이하 LPCC)를 시행하여 5개의 소분획 E1(1.3 g), E2(2.4 g), E3(3.7 g), E4(1.0 g), E5(1.3 g)를 얻었다. 소분획 E2을 EtOAc-MeOH(9:1) 용매로 다시 LPCC를 시행하고 Sephadex LH-20 column(MeOH)으로 정제하여 황색결정의 화합물 **1**(15 mg)과 화합물 **2**(5 mg)을 얻었고, 소분획 E3와 E4는 각각 EtOAc-MeOH- H_2O (8:4:0.5)혼합용매로 LPCC한 후 MeOH로 재결정하여 연한 황색결정 화합물 **3**(11 mg)와 미색결정 화합물 **4**(8 mg)을 얻었다.

화합물 4의 산기수분해⁹⁾

화합물 **4**를 TLC에 점적하여 c-HCl chamber에 하루간 방치하여 가수분해시킨후 표품당(Aldrich co.)과 Co-TLC를 행하여 $\text{CH}_3\text{Cl} : \text{MeOH} : \text{water} = 9:3:1$ 로 전개시킨후 aniline phthalate시약으로 발색시켰으며 그 결과 조성당이 glucose임이 확인되었다.

화합물 1 - mp 310~313°C; shinoda test : positive. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3380(OH), 1676(C=O), 1608, 1516,

1235(aromatic C-O) cm^{-1} ; UV λ_{max} (MeOH) 260, 272, 303, 376 nm, (+ AlCl_3) 274, 353, 462nm(+ AlCl_3/HCl) 272, 302, 360, 426 nm, (+NaOAc) 270, 324, 390 nm, (+NaOAc/ H_3BO_3) 264, 336, 396 nm; ^1H -NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ : 6.25(1H, d, $J=2\text{Hz}$, H-6), 6.50(1H, d, $J=2.0\text{Hz}$, H-8), 6.95(1H, d, $J=8.2\text{Hz}$, H-5'), 7.56(1H, dd, $J=2.0\text{Hz}$, 8.2Hz, H-6'), 7.62(1H, brs, H-2'), 12.53(1H, brs, 5-OH). MS m/z 302(M^+ , 100), 153(A_1+H), 137(B_2)

화합물 2 - mp 276~278°C; shinoda test : positive. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3430(OH), 1658(C=O), 1508, 1516, 1253(aromatic C-O) cm^{-1} ; UV λ_{max} (MeOH) 267, 326 370nm, (+ AlCl_3) 272, 305, 352, 426 nm(+ AlCl_3/HCl) 258, 272, 304, 353, 425 nm, (+NaOAc) 277, 308, 385 nm, (+NaOAc/ H_3BO_3) 266, 320, 370 nm; ^1H -NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ : 6.20(1H, d, $J=2\text{Hz}$, H-6), 6.43(1H, d, $J=2.0\text{Hz}$, H-8), 6.95(2H, d, $J=8.9\text{Hz}$, H-3',5'), 8.05(2H, d, $J=8.9\text{Hz}$, H-2', 6'), 12.46(1H, brs, 5-OH). MS m/z 286(M^+ , 100), 153(A_1+H), 121(B_2)

화합물 3 - mp 325~328°C; Mg-HCl, Zn-HCl, FeCl_3 solution test : positive. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3400(OH), 1665(C=O), 1608, 1510, 1552(aromatic C=C) cm^{-1} ; UV λ_{max} (MeOH) 213, 256, 358 nm, (+NaOMe) 215, 331, 404 nm, (+ AlCl_3) 211, 274, 327, 434 nm(+ AlCl_3/HCl) 209, 256, 348 nm, (+NaOAc) 222, 262, 403 nm, (+NaOAc/ H_3BO_3) 223, 259, 375 nm; ^1H -NMR(400MHz, CD_3OD) δ : 6.04(1H, d, $J=2\text{Hz}$, H-6), 6.65(1H, d, $J=2.8\text{Hz}$, H-8), 6.69(1H, s, H-3), 7.48(1H, d, $J=9.8\text{Hz}$, H-5'), 7.55(2H, dd, $J=8.2\text{Hz}$, 2Hz, H-2', 6').

화합물 4 - mp 179~180°C; Mg-HCl, Zn-HCl, FeCl_3 solution test : positive; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3400(OH), 1660(C=O), 1623, 1510, 1432(aromatic C=C), 1063(glycosidic C-O) cm^{-1} ; UV λ_{max} (MeOH) 273, 333 nm, (+NaOMe) 283, 325 nm, (+ AlCl_3) 279, 305, 356, 389 nm(+ AlCl_3/HCl) 278, 304, 339, 385 nm(+NaOAc) 221, 335 nm(+NaOAc/ H_3BO_3) 274, 333 nm; ^1H -NMR(400MHz, CD_3OD) δ : 3.1~3.7(Sugar H), 3.77(3H, s, 4'- OCH_3), 3.89(3H, s, 6'- OCH_3) 4.77(1H, dd, $J=6.0\text{Hz}$, 1.8Hz, anomeric H.), 6.95(1H, s, 3-H), 6.99(2H, d, $J=9.0\text{Hz}$, 3',5'-H), 8.05

(2H, d, $J=9.0\text{Hz}$, 2',6'-H (100 MHz, DMSO- d_6), 165.4(C-2), 105.7(C-3), 183.3(C-4), 152.6(C-5), 133.5(C-6), 157.2(C-7), 96.4(C-8), 152.8(C-9), 106.4(10), 124.1(C-1'), 129.6(C-2'), 115.7(C-3'), 168.7(C-4'), 116.9(C-5'), 123.0(C-6'), 101.8(C1-Glc), 73.6(C2-Glc), 76.1(C3-Glc), 70.8(C4-Glc), 77.4(C5-Glc), 61.7(C6-Glc), 62.4(6-OCH₃), 56.6(4'-OCH₃).

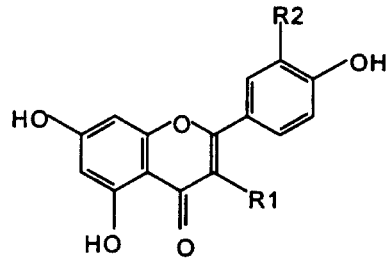
결과 및 고찰

그늘모시대의 에틸아세테이트층에서 각종 column chromatography를 행하여 quercetin의 3종의 화합물을 분리하였다.

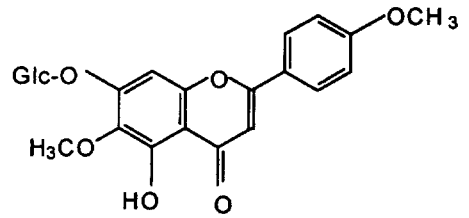
화합물 1은 shinoda test에 양성반응을 나타내었으며, 272, 376 nm의 UV흡수극대화로부터 flavone골격을 가졌음을 예측하였고 shift reagent에 의한 UV 흡수 spectrum의 이동으로부터 flavonoid골격의 3, 5, 7, 3', 4'에 유리상태의 OH기가 있음을 알았다.⁹⁾ ¹H-NMR spectrum의 δ 6.95, 7.56, 7.62 ppm에서 각각 flavonoid B ring의 1H에 해당하는 signal이 나타나는 것으로 보아 3', 4'위치에 OH기가 치환되어 있음을 확인할 수 있었다. MS spectrum에서도 m/z 302의 분자량과(A₁+H)이온이 153, (B₂)이온이 137에서 강하게 나타나 본 화합물을 quercetin¹⁰⁾으로 확정하였다.

화합물 2는 shinoda test에 양성반응을 나타내었으며, 267, 370 nm의 UV흡수극대화로부터 flavone골격을 가졌음을 예측하였고 shift reagent에 의한 UV 흡수 spectrum의 이동으로부터 flavonoid골격의 3, 5, 7, 4'에 유리상태의 OH기가 있음을 알았다.⁹⁾ ¹H-NMR spectrum에서 A ring의 H-6, H-8에 기인하는 meta coupling($J=1.9\text{Hz}$)을 하고 있는 2개의 doublet가 각각 δ 6.20과 6.43 ppm에서 나타나고 있으며, δ 6.95, 8.05 ppm에서 각각 flavonoid B ring의 ortho coupling($J=9.8\text{Hz}$)을 하고 있는 2개의 doublet가 나타나고 12.46 ppm에서 5-OH의 signal이 나타나며, MS spectrum에서도 m/z 286의 분자량과(A₁+H)이온이 153, (B₂)이온이 121에서 강하게 나타나 본 화합물을 kaempferol¹⁰⁾으로 확정하였다.

화합물 3는 Mg-HCl, Zn-HCl 및 FeCl₃ solution



Kaempferol R1= OH R2= H
 Quercetin R1=OH R2= OH
 Luteolin R1=H R2=OH



Pectolarigenin-7-O- β -glucopyranoside

Fig. 1—Flavonoid compounds of *Adenophora remotiflora* var. *hirticalyx*.

test에 양성반응을 나타내었으며, 256, 358 nm의 UV흡수극대화로부터 flavone골격을 가졌음을 예측하였고 shift reagent에 의한 UV 흡수 spectrum의 이동으로부터 flavonoid골격의 5, 7, 3', 4'에 유리상태의 OH기가 있음을 알았다. ¹H-NMR spectrum의 δ 7.48, 7.55 ppm에서 각각 flavonoid B ring의 H-5'와 H-2', 6' proton이 관찰되었고 또한 δ 6.69 ppm에서 H-3 proton이 관찰된 결과로부터 화합물 3는 luteolin임을 알았으며 이는 문헌 기재 spectral data^{11,12)}와의 비교로부터 확인하였다.

화합물 4은 Mg-HCl, Zn-HCl 및 FeCl₃ solution test에 양성반응을 나타내었으며, ¹H-NMR spectrum의 δ 4.77 ppm에서 sugar anomeric proton이 $J=6.0\text{Hz}$ 의 coupling constant를 갖는 것으로 보아 당이 δ -configuration하고 있는 것을 알았고, ¹³C-NMR data에서도 1 mole의 glucopyranose가 결합되어 있음과 산 가수분해를 통하여 얻어진 aglycone의 spectra data와 sugar의 표품을 이용한 co-TLC를 통하여 화합물 4은 pectolarigenin-7-O- β -glucopyranoside임을 알았으며 이는 문헌 기재 spectral data¹³⁾와의

비교로부터 확인하였다.

결 론

그늘모시대추출물의 에틸아세테이트 용매분획층을 column chromatography하여 4종의 플라보노이드화합물을 분리하였으며 각종 이화학적 성상과 spectra data로 pectolinarigenin-7-O- β -glucopyranoside, quercetin, luteolin, kaempferol임을 확인하였으며 이들 화합물들은 본 식물에서는 처음으로 보고되는 것이다.

문 헌

- 1) Ohwi, J. Flora of Japan. Smithsonian Inst., Washinton D.C (1965).
- 2) Nakai, T. Plantae novae Asiaticae.(II) Adenophora grandiflora Nakai. *Bot. Mag. Tokyo* **23**, 118 (1909).
- 3) Kanai, H. An approach to a logical identification of japanese plant. 1. Identification chart of Japanese species of the genus Adenophora. *Bull. Nall sci. Mus. ser. B.* **4**, 155 (1978).
- 4) Hong, D. Flora republicae popularis. *Sinicae* **73**(2), 94 (1983).
- 5) 이상태, 정영재, 이종구. 그늘모시대. 한국식물분류학회. **20**(3), 191 (1990).
- 6) Jiang, P. and Gao, Z. Chemical constituents of adenophora stricta Miq. *Chung Kuo Chung Yae Tsa Chin. Aug.* **15**(8) 486 (1990).
- 7) Gao, Z. Pharmacognostical study on the chinese drug nanshen. *Chung Kuo Chung Yae Tsa Chin. Feb.* **16**(2) 72 (1991).
- 8) 우원식 : 천연물화학연구법. 서울대학교 출판부. P. 182 (1996).
- 9) Marby, T. J., Markham, K. R. and Thomas, M. B. *The Systematic identification of Flanonoids*, pp. 33-61. Springer-Verlag, New York (1970).
- 10) 김주선, 땃두릅의 항산화성분. 서울여자대학교 박사학위논문 (1995).
- 11) Hwang, Y. J., Lee, S. H., Ryu, S. Y., Ahn, J. W., Kim, E. -J., Ro, J. S. and Lee, K. S. Chemical Study on the Phenolic Compounds from *Glechtsia japonica*. *Kor. J. Pharmacogn.* **25**, 11-19 (1994).
- 12) Österdahl, B. G. Chemical Studies on Bryophytes. 19. Application of ¹³C NMR in Structural Elucidation of Flavonoid C-Glucosides from *Hedwigia ciliata*. *Acta Chemica Scandinavica B* **32**, 93 (1978)
- 13) Agrawal, P. K. *Carbon-13 NMR of Flanonoids*, 446. Elsevier, Amsterdam (1989).