

## 벗풀의 식물화학적 성분

김기탁 · 문형인 · 이강노\* · 지옥표

성균관대학교 약학대학

(Received January 9, 1998)

### Phytochemical Constituents of *Sagittaria trifolia*

Ki Tack Kim, Hyung In Moon, Kang Ro Lee\* and Ok Pyo Zee

Natural Product Laboratory, College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan  
University, Suwon 440-746, Korea

**Abstract**—From the methanol extract of the whole part of *Sagittaria trifolia* ergosterol peroxide, icariside D<sub>2</sub>, thalictoside and 4-nitrophenyl β-D-glucopyranoside were isolated and their structures were identified by the physico-chemical and spectral data. This is the first report of these compounds from *S. trifolia*.

**Keywords** □ *Sagittaria trifolia*, Alismataceae, Ergosterol peroxide, Icariside D<sub>2</sub>, Thalictoside, 4-Nitrophenyl β-D-glucopyranoside.

벗풀(*Sagittaria trifolia* L.)은 택사과(Alismataceae)에 속하는 多年生 草本으로 논이나 연못에 자라며 국내에 자생하는 *Sagittaria*속 식물로는 올미(*S. pygmaea*), 소귀나물(*S. trifolia* var. *edulis*) 및 보풀(*S. aginashi*) 등이 있다.<sup>1)</sup> 벗풀의 구경은 慈姑라하여 한방에서 붕루대하(崩漏帶下) 및 석림(石淋) 등에 사용되어 왔다.<sup>2)</sup> 본 식물에서는 diterpenes, diterpene glycosides 및 nitro기를 갖는 phenolic glycosides<sup>3-4)</sup> 등이 분리 보고된 바가 있다. 본 식물에는 식물 성분으로서 특이한 nitro-phenolic glycosides<sup>4)</sup>를 함유하고 있을뿐만 아니라 성분 연구도 거의 수행되지 않았으므로 활성 연구에 선행하여 본 식물에 대한 성분 연구를 수행하였다. 그 결과 벗풀 전초의 MeOH 추출물로부터 1종의 sterol peroxide와 2종의 nitro기를 함유한 phenolic glycosides, 1종의 phenylethanoid glycoside를 분리하여 이들의 이화학적 성상 및 spectral data로부터 그 구조를 확인하였다.

### 실험 방법

**실험재료** - 본 실험에 사용한 벗풀은 1996년 9월 경기도 수원 근교의 습지에서 자생하는 것을 채집하여 감정한 후 사용하였다.

**시약 및 기기** - column packing용 silica gel은 silica gel 60 (70~230 mesh and 230~400 mesh, Merck) 을 사용하였고, TLC plate는 silica gel 60F<sub>254</sub> (Merck)을 사용하였다. 발색 시약은 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (in EtOH)을 사용하였으며 UV (254 nm, 365 nm) detection을 병행하였다. 용점 측정은 Gallenkamp melting point apparatus를 사용하였으며 온도보정은 하지 않았다. <sup>1</sup>H-NMR과 <sup>13</sup>C-NMR은 Bruker AMX-500과 Varian INOVA-500을 사용하였다. IR은 JASCO FT/IR-5300을 사용하였다. EI-MS는 VG70-VSEQ (VG Analytical, UK)를 사용하였고, FAB-MS는 EI-MS와 동일 기종으로 glycerol을 matrix로 하여 사용하였다. LPLC용 column은 Lobar A LiChroprep Si60 (Merck)을 사용하였다.

**추출 및 분획** - 반건조 중량 약 2.5 kg의 세절한 전초

\* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

(전화) 0331-290-7710 (팩스) 0331-290-7745

를 10일간 methanol로 2회 냉침하고, 50°C로 5시간 2회 온침하였다. 추출액을 수욕상에서 감압농축하여 methanol extract 215g을 얻었으며, 이를 H<sub>2</sub>O에 현탁시킨후 *n*-hexane (800 ml×2), methylene chloride (800 ml×2), ethyl acetate (800 ml×2) 및 butanol (800 ml×2)로 분획하였다.

**Compound H1의 분리** - *n*-hexane 분획 (38 g)을 *n*-hexane : EtOAc (15:1~1:1) 혼합용매로 silica gel column chromatography를 실시하여 3개의 subfraction (A-C)으로 분획하였다. 그중 subfraction C를 *n*-hexane: chlorform: acetone=4:1:1용매로 silica gel column chromatography를 반복실시하여 백색의 고형물질 23 mg을 얻었다.

**Compound H1** - mp : 182~184°C, IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup> : 3342, 2955, 1458, 1377, 1045, EI-MS(m/z): 428 [M]<sup>+</sup>, 410 [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 396 [M-O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 377 [M-O<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500MHz, ppm)  $\delta$  : 0.83 (3H, s, H-18) 0.89 (3H, s, H-19), 0.92 (3H, d, J=6.8Hz, H-28), 1.10 (3H, d, J=6.6Hz, H-21), 3.97 (1H, m, H-3), 5.16 (1H, dd, J=15.2, 8.1Hz, H-22), 5.23 (1H, dd, J=15.2, 7.2Hz, H-23), 6.51 (1H, d, J=8.5Hz, H-6), 6.25 (1H, d, J=8.5Hz, H-7), <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125MHz, ppm)  $\delta$  : 12.98 (C-18), 17.55 (C-28), 18.16 (C-19), 19.63 (C-26), 19.93 (C-27), 20.62 (C-15), 20.88 (C-21), 23.41 (C-11), 28.62 (C-16), 30.16 (C-2), 33.07 (C-25), 34.72 (C-1), 36.12 (C-4), 36.97 (C-10), 39.37 (C-12), 39.69 (C-20), 42.78 (C-24), 44.57 (C-13), 51.14 (C-9), 51.71 (C-14), 56.25 (C-17), 66.47 (C-3), 79.41 (C-8), 82.14 (C-5), 130.76 (C-7), 132.34 (C-23), 135.20 (C-22), 135.41 (C-6)

**Compounds B1, B2 및 B3의 분리** - BuOH 분획 (18 g)을 THF : MeOH : H<sub>2</sub>O (10:5:1~2:3:1) 용매로 silica gel column chromatography를 실시하여 3개의 subfraction (A-C)으로 분획하였다. Subfraction A (2 g)를 EtOAc : MeOH=10:3 및 CH<sub>2</sub>-Cl<sub>2</sub> : EtOAc : MeOH=1:10:2로 silica gel column chromatography를 반복실시하여 백색의 고형물질 38 mg을 얻었다 (compound B1). Subfraction B (4 g)를 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH : H<sub>2</sub>O=15:4:1로 silica gel column chromatography를 실시하여 무색의 점액상 물질 20 mg을 얻었다 (compound B2). Subfraction

C (1 g)를 CHCl<sub>3</sub> : EtOAc : MeOH : H<sub>2</sub>O=1:10:4:1로 silica gel column chromatography를 무색의 반고형상 물질 8 mg을 얻었다 (compound B3).

**Compound B1** - IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup> : 3397, 2930, 1458, 1234, 1089, 1045, FAB-MS (m/z): 301 [M+H]<sup>+</sup> (2), 323 [M+Na]<sup>+</sup> (3), 207(6), 167(9), 115(14), 75(28), 57(19), <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 500MHz, ppm)  $\delta$  : 7.14 (2H, d, H-3,5), 7.04 (2H, d, H-2,6), 3.40~3.90 (8H, m, glucose and H- $\beta$ ) 2.77 (2H, t, J=6.5Hz, H- $\alpha$ ), <sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 125MHz, ppm)  $\delta$  : 38.72 (C- $\alpha$ ), 61.82 (C-6'), 63.69 (C- $\beta$ ), 70.68 (C-4'), 74.23 (C-2'), 77.28 (C-5'), 77.39 (C-3'), 101.80 (C-1'), 117.69 (C-2,6), 130.18 (C-3,5), 133.54 (C-4), 156.93 (C-1)

**Compound B2** - IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup> : 3375, 1520, 1167, 1047, <sup>1</sup>H-NMR (pyridine-d<sub>5</sub>, 500MHz, ppm)  $\delta$  : 7.32 (2H, d, J=9Hz, H-3,5), 7.25 (2H, d, J=9Hz, H-2,6), 5.59 (1H, d, J=7.5Hz, H-1'), 4.02~4.54 (8H, m, glucose and H- $\beta$ ) 2.95 (2H, t, J=6.9 Hz, H- $\alpha$ ), <sup>13</sup>C-NMR (pyridine-d<sub>5</sub>, 125MHz, ppm)  $\delta$  : 41.12 (C- $\alpha$ ), 63.80 (C-6'), 72.81 (C-4'), 75.59 (C- $\beta$ ), 76.52 (C-2'), 80.01 (C-5'), 80.36 (C-3'), 103.89 (C-1'), 118.39 (C-2,6), 132.03 (C-3,5), 135.32 (C-1), 158.64 (C-4)

**Compound B3** - IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup> : 3385, 2922, 1543, 1390, <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 500MHz, ppm)  $\delta$  : 7.97 (2H, d, J=8.5Hz, H-3,5), 7.18 (2H, d, J=8.5Hz, H-2,6), 5.08 (1H, d, J=7.5Hz, H-1') 3.41~3.92 (6H, m, glucose), <sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 125MHz, ppm)  $\delta$  : 62.73 (C-6'), 70.58 (C-4'), 74.14 (C-2'), 77.23 (C-5'), 77.52 (C-3'), 101.02 (C-1'), 116.21 (C-2,6), 131.77 (C-3,5), 141.12 (C-4), 161.49 (C-1)

**Compound B1의 acid hydrolysis.**<sup>9)</sup> - compound B1을 TLC에 점적하여 c-HCl chamber에 24시간 방치하여 가수분해 시킨후  $\beta$ -D-glucose,  $\alpha$ -D-glucose, D-galactose 표준품과 혼합 TLC를 행하여 chloroform: methanol: water=9:3:1로 전개시킨 후 aniline phthalate시약으로 발색시켰다.

**결과 및 고찰**

Compound H1은 백색분말로 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>에서 선

홍색으로 발색되었다. 분자이온( $M^+$ ) peak가  $m/z$  428에서 나타난 EI-MS data와  $^{13}C$ -NMR data로부터 분자식이  $C_{28}H_{44}O_3$ 임을 추정하였다.  $^1H$ -NMR spectrum에서  $\delta$  0.83 (3H, s, H-18) 및  $\delta$  0.89 (3H, s, H-19)에 2개의 singlet methyl signal이 나타났고,  $\delta$  0.92 (3H, d,  $J=6.8$ Hz, H-28) 및  $\delta$  1.10 (3H, d, 6.6Hz, H-21)에서 2개의 doublet methyl signal이 나타났다.  $\delta$  5.16 (1H, dd,  $J=15.2, 8.1$ Hz, H-22) 및  $\delta$  5.23 (1H, dd,  $J=15.2, 7.5$ Hz, H-23)에서 서로 coupling하는 2개의 olefinic proton signal 이,  $\delta$  6.51 (1H, d,  $J=8.5$ Hz, H-6) 및  $\delta$  6.25 ppm (1H, d,  $J=8.5$ Hz, H-7)에서 서로 coupling하는 2개의 olefinic proton signal을 각각 관찰할 수 있었다. 또한  $\delta$  3.97 (1H, m, H-3)은 OH기가 붙은 탄소의 (carbinol) proton signal로 추정되었다.  $^{13}C$ -NMR spectrum에서 28개의 carbon peak가 관찰되었으며, 이중 olefin 영역에서  $\delta$  130.76, 132.34, 135.20, 135.41 등 4개의 peak가 나타났다.  $\delta$  66.5에서 OH가 붙은 carbinol peak 와  $\delta$  82.14 및 79.41에서 oxygen과 결합한 carbon peak를 관찰할 수 있었다. EI-MS spectrum에서  $m/z$  396 ( $M-O_2$ ) peak 와  $^{13}C$ -NMR spectrum에서  $\delta$  82.14 및 79.41 peak를보아 peroxide ring을 형성한 것으로 추정하여 peroxide발색 시약<sup>6)</sup>을 이용하여 발색한 결과 양성으로 나타나 peroxide임을 확인하였다. 이상의 결과와 기존 문헌<sup>7-9)</sup>을 비교하여 compound H1은 ergosterol peroxide로 확정하였다.

Compound B1은 백색분말로 10%  $H_2SO_4$ 에 흑갈색으로 발색되었다. FAB mass spectrum에서  $[M+H]^+$ 이 301로,  $[M+Na]^+$ 이 323으로 나타났으며,  $^1H$ -NMR,  $^{13}C$ -NMR 및 DEPT spectra로부터 분자식이  $C_{14}H_{20}O_7$ 임을 추정하였다.  $^1H$ -NMR spectrum에서  $\delta$  7.15 (2H, d,  $J=8.5$ Hz) 및  $\delta$  7.03 (2H, d,  $J=8.5$ Hz) signal로부터 aromatic환의 para위치에 치환기가 도입되었음을 추정하였다.  $\delta$  4.87 (1H, d) signal은 당의 anomeric proton으로 추측되었고,  $\delta$  2.77 (2H, t,  $J=6.5$ Hz) peak는 aromatic 환에 결합한 methylene signal로 추측할 수 있었다.  $^{13}C$ -NMR과 DEPT spectra에서  $\delta$  156.93 (C),  $\delta$  133.54 (C),  $\delta$  130.18 (CH),  $\delta$  117.69 (CH)은 aromatic carbon signal로 추정되었고,  $\delta$  101.80 (CH) signal은 당의 anomeric carbon으로 생각되었다. Aromatic ring에 결합한 당의 조성을 확인하기 위하여 당의 가수분해 실험을 실시

하여 표준당과 혼합 TLC를 실시한 결과  $\beta$ -D-glucose임을 확인하였다. 이상의 결과와 기존문헌<sup>10,11)</sup>의 자료를 비교한결과 이 물질은 icariside D<sub>2</sub>로 추정하였으며, 이들 자료와 문헌<sup>10,11)</sup>의 자료가 완전히 일치하여 이물질은 icariside D<sub>2</sub>로 결정하였다.

Compound B2는 투명한 무정형 물질로 10%  $H_2SO_4$ 에 흑갈색으로 발색되었다. IR spectrum에서  $3375\text{ cm}^{-1}$ 의 OH band 및  $1520\text{ cm}^{-1}$ 의 asymmetric  $NO_2$  band를 확인하였다.  $^1H$ -NMR spectrum에서  $\delta$  7.32 (2H, d,  $J=8.5$ Hz) 및 7.25 (2H, d,  $J=8.5$ Hz) signal 로부터 aromatic환이 para위치로 치환기가 도입 되었음을 알 수 있었다.  $\delta$  4.87 (1H, d) signal 은 당의 anomeric proton 으로 추정되었고,  $\delta$  2.80 (2H, t,  $J=6.5$ Hz)은 aromatic ring에 결합한 methylene signal로 추정할 수 있었다.  $^{13}C$ -NMR spectrum에서 compound B1과 유사한 양상의 12개의 carbon peak를 관찰할 수 있었다. 그러나 compound B1과는 다르게 63.69에서 peak가 나타나지 않고  $\delta$  73.18에서 peak가 나타난 것으로 보아 compound B1의 hydroxyl기가 nitro기로 치환 되었음을 추정하였다. 이상의 결과와 기존의 문헌<sup>12)</sup>을 비교하여 compound B2는 thalictoside로 확정하였다.

Compound B3는 백색 분말로 10%  $H_2SO_4$ 에 의해 흑갈색으로 발색되었다. FAB mass spectrum에서  $[M+H]^+$ 이 302로 나타났으며, IR spectrum에서  $3385\text{ cm}^{-1}$ 의 OH band,  $1543\text{ cm}^{-1}$ 의 asymmetric  $NO_2$  및  $1390\text{ cm}^{-1}$ 의 symmetric  $NO_2$  band를 확인할 수 있었다.  $^1H$ -NMR spectrum에서  $\delta$  7.96 및 7.12 signal 로부터 aromatic환이 para위치로 치환되어 있

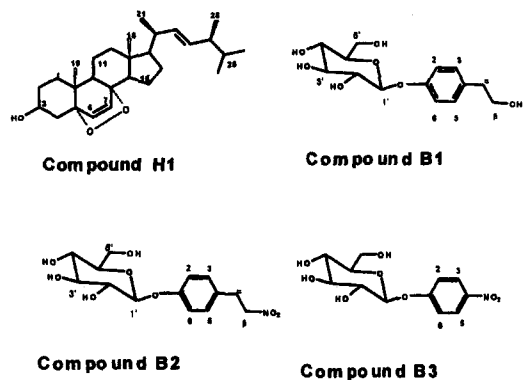


Fig. 1—Structures of compounds isolated from *sagittaria trifolia*.

음을 추측할 수 있었다.  $\delta$  5.01 (1H, d,  $J=7.5\text{Hz}$ ) signal은 당의 anomeric proton signal로 추정되었다.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum에서  $\delta$ 161.50, 116.21, 141.12 및 133.50은 aromatic carbon peak로 추정되었고,  $\delta$  101.02에서는 당의 anomeric carbon이 관찰되었다. 이상의 결과와 기존문헌<sup>13)</sup>의 data를 비교하여 compound B3를 4-nitrophenyl  $\beta$ -D-glucopyranose로 확정하였다.

결 론

벗풀(*Sagittaria trifolia* L.)은 택사과(Alismataceae)에 속하는 다년생 초본으로 한방에서 붕루대하 및 석립등에 사용하여 왔다. 국내에 자원적으로 매우 풍부하지만 화학적 성분연구 및 생리활성 연구가 미약하여 본 식물의 활성연구에 선행하여 식물화학적 성분연구에 착수하였다. 벗풀 전초의 MeOH추출물을 column chromatography를 반복 실시하여 4종의 화합물을 분리하였고 이화학적 성상 및 spectral data를 기초로 compound H1은 ergosterol peroxide, compound B1은 icariside D<sub>2</sub>, compound B2는 thalictoside 그리고 compound B3는 4-nitrophenyl  $\beta$ -D-glucopyranose로 그 구조를 확인 동정 하였으며, 이 4종의 화합물은 모두 이 식물에서 최초로 분리 보고되는 화합물들이다.

문 헌

- 1) 이창복 : 대한 식물도감, 향문사, 서울, p.76 (1989).
- 2) 동국대학교 한의과대학 본초학회 번역: 중국본초도감 (제2권), 여강출판사, 서울, p. 301 (1994).
- 3) Yamazawa, K., Kato, K. and Yamaguchi, R. : Bitter principle of tubers of *Sagittaria trifolia*. *Agric. Biol. Chem.* **50**, 3179 (1986).
- 4) Yoshikawa, M., Yamaguchi, S., Murakami, T., Matsuda, H., Yamahara, J. and Murakami N. :

Absolute stereostructures of trifoliones A, B, C, D, new biologically active diterpene from the tuber of *Sagittaria trifolia* L. *Chem. Pharm. Bull.* **41**, 1677 (1993).

- 5) 우원식 : 천연물화학 연구법, 서울대학교 출판부, 서울, p. 182 (1996).
- 6) 이강노 : 천연물 연구에서의 peroxide 성분. *생약학회지* **22**, 145 (1991).
- 7) Gunatilaka, A. M., Gopichand, Y., Schmitz, F. J. and Djerassi, C. : Minor and trace sterol in marine invertebrates. 26. Isolation and structure elucidation of nine new 5 $\alpha$ , 8 $\alpha$ -epidioxy sterols from four marine organism. *J. Org. Chem.* **46**, 3960 (1981).
- 8) 신동인, 김진웅 : 수오공의 화학성분. *약학회지* **38**, 770 (1996).
- 9) Kim, D. S., Baek, N. I., Oh, S. R., Jung, K. U., Lee, I. S., Kim, J. H. and Lee, H. K. : Anticomplementary activity of ergosterol peroxide from *Naematoloma fasciculare* and rearrangement of NMR data. *Arch. pharm. Res.* **20**, 201 (1997).
- 10) Miyase, T., Ueno, A., Takizawa, N., Kovayashi, H. and Oguchi, H. : Onone and lignan glycosides from *Epimedium diphyllum*. *Phytochemistry* **28**, 3483 (1989).
- 11) Lalonde, R. T., Wong, C. and Tsai, A. I. : Polyglucosidic metabolites of oleaceae. The Chain sequence of oleoside aglucon, tyrisol, and glucose units in three metabolites from *Fraxinus americana*. *J. Am. Chem. Soc.* **98**, 3007 (1976).
- 12) Hiroshi, I. and Hideo, I. : Isolation of thalictoside. *Chem. Pharm. Bull.* **34**, 726 (1986).
- 13) Knops, M., Schuphan, I. and Schmidt, B. : Biotransformation of 4-nitrophenol by permenter grown cell suspension culture of soybean (*Glycine max*): isolation and identification of conjugates. *Plant Science* **109**, 215 (1995).