약학회지, 제23권 제1호 57~61(1979)
Yakhak Hoeji, Vol. 23 No. 1

蔓蔘의 成分 硏究

李 仁 蘭·鄭 明 姬

梨花女子大學校 藥學大學

(Received January 7, 1979)

Ihn-Rhan Lee and Myung-Hee Jung

College of Pharmacy, Ewha Womans University, Seoul 120, Korea

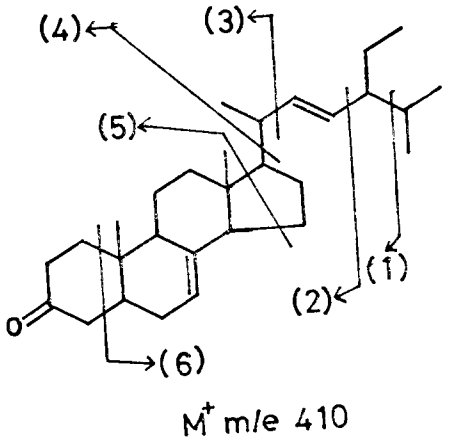
A Phytochemical Study on the Component of *Codonopsis pilosula* Roots

Abstract—A white crystlline substance, compound H ($C_{29}H_{46}O$) mp 165~6°, $[\alpha]_D$+24.7° ($CHCl_4$) was isolated from the ether extract of the underground part of *Codonopsis pilosula* (Franchet) Nannfeldt (*Campanulaceae*). Its chemical structure was identified as stigmasta-7, 22-dien-3-one (α-spinasterone).

蔓蔘 *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannfeldt (*Campanulaceae*)는 오래전부터 강장 건위, 모든 衰弱症, 糖尿病 初期 및 淋巴 및 血管系의 新陣代謝를 增進시키고 또한 혈색소를 增加시키므로서 衰弱性 貧血 및 白血病에 有效하다고 하며[1] 또한 人蔘이 體質에 맞지 않을 경우 그의 代用으로 쓰이기도[2] 한다. 그리하여 저자는 1977년 蔓蔘과 人蔘의 藥理와 化學成分을 比較 調査한 바도 있으나[3], 蔓蔘의 成分硏究는 없어 1978년 蔓蔘의 地下部의 MeOH 엑기스에서 5-(hydroxymethyl-2-furaldehyde와 天然物로써 처음으로 分離된 5-(methoxymethyl)-2-furaldehyde 등을 分離하여 報告하였다[4]. 이에 이어 含有 成分을 계속 밝히고져 Scheme Ⅱ와 같은 방법으로 처리하여, 그의 Et_2O 엑기스를 column chromatography와 preparative TLC에 의하여 sterol 化合物 compound H $C_{29}H_{46}O$, mp 165~6°, $[\alpha]_D$+24.7° ($CHCl_3$)를 單離하여 몇가지 化學方法과 各種 spectroscopy에 의하여 그의 本態를 究明한 結果 stigmasta-7, 22-dien-3-one (α-spinasterone)임이 밝혀졌다.

Stigmasta-7. 22-dien-3-one (Compd. H)-N 반응에 음성이며, 元素分析結果와 mass spec.의 M^+410에 의하여 $C_{29}H_{46}O$의 物質임을 알 수 있었다. compd H.는 Salkowski 反應과 Liebermann-Bürchard 反應에 의하여 steroid 系物質임을 추정할 수 있었다. 또한 이 物質은 Tortelli-Jaffe 反應에 음성이며 ir에서 -OH group을 볼 수 없고 한個의 oxygen은 1720cm^{-1}의 吸收로써 6-membered ring ketone[5~7]의 C=O으로 存在하며, 이는 또한 Zimmermann 反應에 양성이므로 $C_{(3)}$에 carbonyl group이 있음을 밝힌다[8].

한편 $C_{(17)}$에 結合된 side chain의 fragment pattern (scheme I-(1) 및 (2))에서 m/e 367(M^+—C_3H_7), m/e 325 (M^+—C_6H_7) 등과 nmr의 δ1.03 (J=8.1Hz, doublet)은 $C_{(24)}$에 isopropyl proton signal이며, δ0.89 (J=… Hz, triplet)은 $C_{(29)}$의 methyl proton signal이며, 그뿐 아니라 m/e 367 및 325는 또한 $C_{(24)}$에 ethyl radical이 있음이 證明된다. $C_{(21)}$의 methyl proton은 δ1.31 (J=9Hz, doublet)과 m/e 299 (C_8H_{15}) 및 m/e 271 (M^+-$C_{10}H_{19}$) 등은 $C_{(20)}$에 methyl group이 있음을 시사하며[6,9] 특히 m/e 271은 $C_{(17)}$에 結合된 side chain이 떨어져 나간 것을 알 수 있으며(Scheme I-(4)) 탈락된 side chain의 size에 의하여 本物質은 phytosterol임이 예상되며 특히 mmr에서 전형적인 steroid 化合物. proton signal spectrum[5,9]을 관찰 할 수 있었으며, m/e 229 (M^+-$C_{13}H_{25}$)(Scheme I-(5))는 또한 Dring의 開裂에 의하여 生成한 것이며, nmr서 δ0.89~1.34 (angular methyl group) 中 δ0.89는 $C_{(18)}$의 methyl group이며[7], δ1.34는 $C_{(19)}$의 methyl group[7]임을 알 수 있었다.



(1) m/e 367 (M^+-C_3H_7)

(2) m/e 325 (M^+-C_6H_{13})

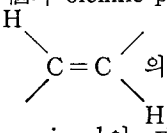
(3) m/e 299 (M^+-C_8H_{15})

(4) m/e 271 (M^+-$C_{10}H_{19}$)

(5) m/e 229 (M^+-$C_{13}H_{25}$)

(6) m/e 341 (M^+-C_4H_6O+H)

Scheme I—Mass Fragmentation of Compound H(stigmasta-7, 22-dien-3-one, α-spinasterone)

compd. H는 또한 uv, ir, nmr spectrum에서 aromaticity를 전혀 찾아 볼 수 없었으나, bromination되며 ozonolysation에 의하여 ethylisopropylacetaldehyde를 生成하므로[10] $C_{(24)}$에 ethyl group과 Δ^{22}-unsaturation인 物質임을 알 수 있을 뿐 아니라 그의 2個의 olefinic proton의 conformation을 考慮할때 ir에서 960cm^{-1}의 吸收 band는 transolefinic  의 δ_{C-H}[6,11]임을 알수 있었다. nmr의 δ5.4 (3H, multiplet)에 3個의 olefinic proton signal이 관찰되는데 이는 Δ^{22}-unsaturation에 의한 2個의 olefinic proton과 trisubstituted olefinic bond에 의한 1個의 proton으로 예상되므로 trisubstituted double bond가 compd. H의 구조의 어느 位置에 있는가를 확인해 볼 때, uv spectrum에서 $C_{(3)}$의 carbonyl group conjugation double bond의 spectrum을 관찰할 수 없었으므로 ring A에는 없을 뿐 아니라 nmr의 δ2.3 (4H, multiplet)은 ring A의 carbonyl group에 대하여 α-proton에 해당되며[5,6] m/e 341(M^+-$C_4H_{6-1}O$)(Scheme 1-(6))은 또한 이를 뒤받침하며[12], mass peak의 m/e 229 (M^+-$C_{13}H_{25}$)는 ring D에도 trisubstituted olefinic proton이 없음이 證明된다. 따라서 trisubstituted olefinic proton이 있을 가능한

位置는 ring B의 $C_{(5)}$~$C_{(6)}$, $C_{(7)}$~$C_{(8)}$이나 ring C의 $C_{(9)}$~$C_{(11)}$에 있을 수 있는데, ir에서 1650cm^{-1}, 750cm^{-1}의 吸收 band는 $C_{(7)}$~$C_{(8)}$의 cis olefinic δ_{C-H}의 trisubstituted olefinic proton 임을 예상케 하므로[6] 표품 α-spinasterol을 Sarett oxidation 시켜서 α-spinasterone을 만들어 比較 TLC를 施行 하였던 바 一致되므로 한個의 trisubstituted olefinic bond의 位置가 ring B의 $C_{(7)}$~$C_{(8)}$에 있음이 各各 確認되었다.

以上의 各種 spectrum과 몇가지 확인반응결과를 종합 검토할 때 compd. H는 stigmasta-7, 22-dien-3-one (α-spinasterone)으로 밝혀졌다(Scheme I).

實 驗

抽出—市販 蔓蔘 5kg을 MeOH로 抽出하여, 약 배량의 물에 부유시킨 뒤 Et_2O로 처리하여 Et_2O 가용부를 취하였다.

分取된 Et_2O 尸을 sodium sulfate anhydrous로 완전히 脫水處理하여 증발농축 후 TLC와 column chromg. 用의 檢體로 하였다.

物質의 分離 및 精製— Et_2O Ext.를 silica gel TLC에서 각종의 nonpolar solvent와 polar solvent system의 ratio로 분리 시도하였던 바 그 중 $CHCl_3$ 전개제와 10% H_2SO_4를 發色시약으로 써서 Fig. 2에서와 같이 8가지 物質이(Rf. 0.11, 0.21, 0.35, 0.53, 0.59, 0.66, 0.76, 0.86) 가장 잘 분리됨을 확인하였다.

TLC에 의하여 분리된 8가지의 spot 중 Rf=0.86 (compd. H) spot는 다른 7가지 spot에 비해 농도가 짙고 크므로 이를 silica gel 60 column (20m×1m)에서 $CHCl_3$ 전개액으로 chromatography를 시행하여 백색 결정성 物質을 얻었다.

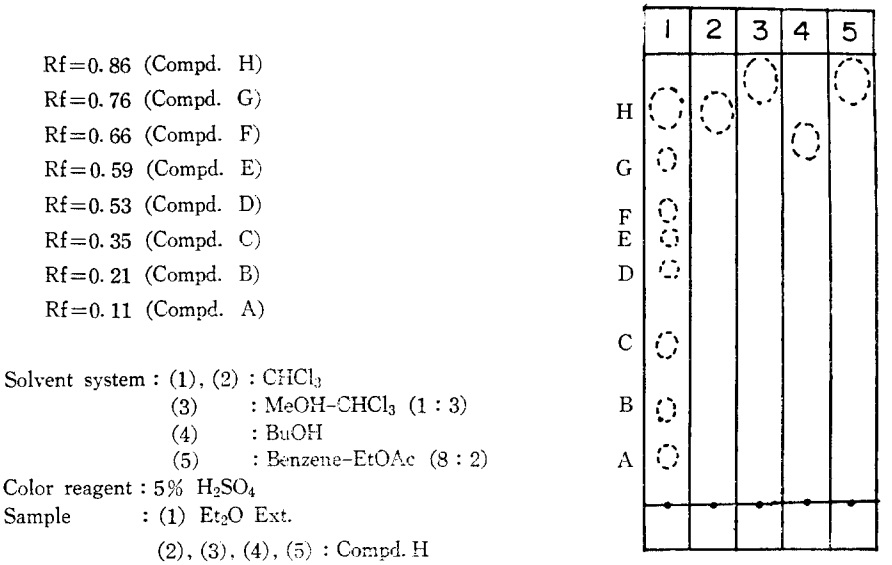


Fig. 2—Thin Layer Chromatogram of Sample (1), (2), (3), (4) and (5)

이 物質의 순도를 확인하기 위하여 glc (carrier gas; N_2, column: OV-17, program temp: 130~260°C. program rate: 10cm/min. flow rate; 0.6)에서 compd. H는 Rt. 0.6min. 外에

compd. G는 Rt. 0.8min.의 物質이 혼재되고 있어 preparative TLC (silica gel G plate, 20×20cm×0.25mm)에 의하여 Rt. 0.6min.의 物質을 순수하게 얻었다.

한편, 이 물질은 Fig. 2에서 보는 바와 같이 전개용매계 MeOH-$CHCl_3$ (1 : 3)에서 Rf=0.96, BuOH에서 Rf=0.80, Benzene-EtoAc (8 : 2)에서 Rf=0.96의 spot만이 나타남을 확인함으로써 단일성분임을 알 수 있었으며, 이 物質은 mp 165~6°, $CHCl_3$ 용액에서 $[\alpha]_D$+24.7°로 測定되었다. 원소분석결과 compd. H는 C 81.51%, H 11.46%이며, N반응에 음성을 나타내어 $C_{29}H_{46}O$에 대한 이론치 C 84.88%, H 11.22%와 잘 일치한다.

Compd. H의 spectrum-UV; $\lambda_{max}^{CHCl_3}$ 210nm

ir : $CHCl_3$에 녹혀서 측정한 結果(reference; air, thickness: 0.1mm) ν_{CH}2900cm^{-1} (aliphatic), 1650, 750cm^{-1}(trisubstituted cis olefinic δ_{C-H}), 1720cm^{-1} (6-membered ring C=O), 960cm^{-1} (transoid olefinic ν_{C-H})등을 관찰하였다.

nmr: 검체를 $CDCl_3$에 녹여 internal reference TMS로 35°C에서 90MHz로 測定한 結果 δ0.89~2.3에 集中된 spectrum 中 δ0.89~1.34 (angularmethyl group)은 δ0.89 (18—Me), δ1.34 (19-Me)로 보며, δ1.26~1.36 (doublet, 21-Me), δ0.99~1.08 (doublet, isopropyl), δ0.82~0.89~0.99~1.08 (doublet, isopropyl), δ0.82~0.89~0.99 (triplet, 29-Me), δ2.3 (4H, multiplet, C=O group에 대하여 α位의 proton), δ5.4 (3H, multiplet, 7, 22-dien olefinic proton)의 signal을 관찰하였다.

mass : M^+ m/e 410 ($C_{29}H_{46}O$) 59%, m/e 367 (M^+-C_3H_7) 36%, m/e 341 (M^+-C_4H_5O+H) 100%, m/e299 (M^+-C_8H_{15}) 36%, m/e271 (M^+-$C_{10}H_{19}$) 28%, m/e 229(M^+-$C_{13}H_{25}$) 23% m/69 peak가 특징적으로 나타났으며, 그밖에도 m/e 328, 269, 245 등의 peak를 볼 수 있었다.

Compd. H의 化學反應—nitrogen test, hydrolysation, diazocoupling시험, Tortelli-Jaffe 反應에 음성을 나타내며, Liebermann-Bürchard, Salkowski, Zimmermann反應, 불포화시험등에는 양성을 나타내었다. 한편 side chain의 olefinic double bond를 확인키 爲하여 건조 methylene chloride와 건조 pyridine에다 ozone을 1.52 molar solution이 되게하여 compd. H 微量을 넣고 dry ice temp.에서 magnetic stirrer가 장치된 시험관에서 反應시킨 것을 compd. H와 比較 TLC한 결과 Rf 값이 다른 物質의 spot가 4個가 確認되는 同時에 한便 反應物을 ir에서 測定한 결과 960cm^{-1}의 吸收 band의 消失은 確認하였다. 그뿐아니라 표품 α-spinasterol을 sarett oxidation시킨 뒤 compd. H와 比較 TLC를 施行하여 一致되므로 nuclear double bond의 位置(Bring의 $C_{(7)}$~$C_{(8)}$)와 Δ^{22}-unsaturation olefinic double bond의 位置등을 確認하였다.

표품 α-spinasterol을 제공해 주신 서울대학교 생약연구소 소장 우원식 박사에게 깊은 사의를 표한다. 이 論文은 1978年度 峨山社會福祉事業財團에서 支給된 硏究費에 의한 것이며, 同財團에 대하여 사의를 표하는 바이다.

문 헌

1. 李樹猷, 現代中藥之硏究, 正中書店, 대만 673, 1970.
2. 李尙仁, 李草學, 醫藥社, 서울, 146(1975).
3. 李仁蘭, 生藥學會誌, 8, 2(1977).

4. 李仁蘭, 藥學會誌, **22**, 1(1978).
5. S. K. Nigam, G. Misra, C. R. Mitra, *Phytochemistry*, **10**, 1954(1971).
6. S. B. Mahato, N. L. Dutta, *ibid.*, **11**, 2116(1972).
7. P. Sengupta and H. N. Khastoir, *Tetrahedron*, **19**, 123(1963).
8. R. Zimmermann, Z. *Physical. Chem.*, **300**, 141(1955).
9. K. Yamaguchi, Spectral Data of Natural Products, **1**, 194(1970).
10. A. Guiteras, *Ann. Chem.*, **494**, 116(1932).
11. K. Nakanishi, T. Guto, S. Ito *et al.*, Natural Products Chemistry, **1**, 521(1974).
12. K. Yamaguchi, Spectral Data of Natural Products, **1**, 194(1970).