

우슬의 성분(I)

— 우슬의 oleanolic acid bisdesmoside —

한덕룡 · 이민원*

중앙대학교, *구주대학

(Received September 15, 1991)

Studies on the constituents of *Achyranthis Radix*(I)

— Oleanolic acid bisdesmoside from the root —

Dug-Ryong, Hahn and Min-Won Lee*

Chung Ang University, Seoul 156-756, Korea

*Faculty of Pharmaceutical Science, Kyushu University, Kyushu, Japan

Abstract—A new triterpenoidal saponin was isolated from the methanol extract of *Achyranthes fauriei* roots (Amaranthaceae). The structure of this saponin was elucidated as 3- β -D-glucopyranosyl-olean-12-en-28-O- β -D-glucopyranosyl ester.

Keywords □ *Achyranthes fauriei* (Amaranthaceae), oleanolic acid bisdesmoside, oriental medicine, *Achyranthis Radix*.

쇠무릎(*Achyranthes fauriei*)은 생약명으로는 우슬(*Achyranthis Radix*)이라 해서 동양 삼국에서는 옛부터 利尿, 鎮痛, 驅瘀血, 消腫, 胎盤不下, 腰痛, 骨膝痛, 跌打損傷, 腫 등의 치료에 쓰여져 왔다. 우리나라에서 생약으로 실용되는 것은 쇠무릎이고 일부 남부 지역에 긴잎 쇠무릎 *Achyranthes longifolia*도 쓰이고 있다.

이 계통의 생약에 대한 성분의 연구로는 oleanolic acid glycoside가 들어있다고 하였으나 그 구조에 대한 추구는 알려지지 않고 있다.

일본산 우슬 *Achyranthes fauriei*에서 γ -aminobutyric acid, betaine hydrate, succinic acid, oxalic acid, β -sitosterol, stigmasterol, β -sitosterol glycoside, stigmasterol glycoside, palmitic acid,¹⁾ inokosterone, ecdysterone²⁾이 분리되고 *Achyranthes obtusifolia*, *A. faurie* 및 *A. japonica*의 지상부에서 ecdysterone, inokosterone⁵⁾이 기타의 *Achyranthes* genus에 속하는 식물에서도 곤충 변태 호르몬인 ecdysterone, inokos-

terone의 존재가 screening되어 보고되었으며, *Achyranthes fauriei*의 종자에서는 mantanic, oleic, linoleic acid⁶⁾ 등의 분리에 관한 보고가 있다.

위에서 보는 바 *Achyranthes fauriei*의 saponin이 oleanolic acid계임이 알려졌을 뿐 그들 saponin들의 분리는 물론이고, 화학구조의 해명에는 이르지 못하고 있다. 이것은 saponin 성분의 존재가 예측되기는 하였지만 이들 saponin의 glycone part에 glucuronic acid가 연결되고, 이 free의 carboxyl기에 무기이온이鹽의 형태로 결합되어 있어 分離, 分析에 어려움이 있었기 때문에 사료된다.

저자는 total saponin을 沈澱 分離하고 이것을 다시 amberlite XAD-2 resin에 흡착시켜 가능하면 결합되어 있는 무기염을 계속 물로 처리한 다음 80% MeOH 용액으로 용출되는 부분을 모아서 농축한 다음 다시 SiO₂ column chromatography를 실시하여 compound 1, 2, 3를 분리하여 그 중의 하나인 compound 2에 대해 화학적인 추구를 실시하였다.

Achyranthes saponin 2는 백색 무정형의 결정으로 Lieberman-Burchard 반응 및 Molish test에 양성을 표시하며, IR Spectrum에 의한 소견에서 carboxyl기, -OH기, ester linkage 및 glycosidic absorption band를 관찰하였다. compound 2의 alkali hydrolysis에서 glucose와 oleanolic acid monodesmoside 2⁰를 얻을 수 있으며, 2⁰의 acidic hydrolysis에 의해서 얻어진 genin 2⁰는 *Kochia scoparia*에서 얻어진 oleanolic acid를 標品으로 하여 비교하였던 바 모든 物理化學性이 일치하였다.⁷⁾

Achyranthes saponin인 compound 2의 ¹H-NMR 소견에서 대한 quaternary methyl signal이 δ 0.08~1.09에서 7개 관찰되며 두개의 anomeric proton signal이 4.75, 6.40 ppm에서 확인되었다.

¹³C-NMR분석에 의해 Achyranthes saponin인 compound 2인 두개의 anomeric carbon signal이 95.7, 106.6 ppm에서 관찰되며 carboxyl기의 carbon은 180.2 (C-28), 173.8(glucuronic acid) ppm에서 확인된다.

compound 2의 glucuronic acid는 genin의 3-C hydroxyl기에 결합되어 있는 것이 ¹³C-NMR 소견에 의해 확인되었다.^{8,9)}

한편 negative FAB-MS에 의한 data 소견에서 glucose의 탈락에 의한 m/z : 631과 glucuronic acid (176)마저 탈락된 m/z는 455여서 이는 oleanolic acid에 해당됨을 확인하였다.

이상의 여러 所見을 종합하여 Achyranthes saponin인 compound 2의 구조는 3-O-β-D-glucopyranosyl-olean-12-en-28-β-D-glucopyranosyl ester로 동정하였다.

실 험

공시재료 - 실험재료는 1988년 7~8월에 중앙대학교 구내에 자생하는 *Achyranthes fauriei*를 수집하고 기원이 정확한 것을 확인하고 음건하여 재료로 사용하였다.

실험기기 - 용점은 electrothermal digital melting point apparatus를 사용하였으며 실측된 용점은 보정하지 않았다.

IR spectra는 Bio-Rad FT infrared spectrophotometer model FTS-40을, ¹³C-NMR spectra는 JEOL GX400 spectrophotometer를 썼으며 chemical shift는

δ(ppm)로 표시하였다.

원소분석은 Perkin Elmer 240 elemental analyzer를, 비선광도는 Autopol TM III atomic polarimeter를 써서 측정하였다.

추출 및 분리 - 음건한 공시재료 3 kg을 취하여 細切하여 MeOH로 3회 온침하였으며, 추출액은 합하여 감압농축한 다음 소량의 순 MeOH에 녹이고 불용물은 제거한다. MeOH 가용부를 15배 용량의 순 acetone에 注加하고 교반하면 흰색의 침전이 생성된다. 저온에서 24시간 방치한 다음, 침전을 여취하고 이 침전을 300 ml의 정제수에 녹인 다음 amberlite XAD-2 resin 4.5 l를 충전한 5×120 cm 컬럼에 서서히 吸着케 하여 5시간 방치 후 H₂O, 50%, 80%, 100% MeOH용액을 각각 순차적으로 가하여 흡착물을 탈리시킨다. 80% MeOH용액에 의해 탈리, 용출되는 부분만을 취하여 이를 합쳐 bisdesmoside fraction을 얻는다. bisdesmoside fraction에 대해 SiO₂ column chromatography(용매 CHCl₃ : MeOH : H₂O = 60 : 40 : 10 v/v)을 실시하여 compound 2와 3을 각각 순수분리하였다.

이번 보고에서는, compound 2가 triterpenoidal bisdesmoside임을 예지하고 실험을 실시하여 화학구조를 규명하였다.

산·알카리분해 - Compound 2(30 mg)를 2 N-HCl : Dioxane(1 : 1) 혼액 120 ml에 가하고 90°C에서 5시간 반응시켜 가수분해시켰다. 별도로 compound 2(30 mg)를 0.5 N-KOH MeOH용액 150 ml에 가하고 1시간 가열하여 알카리 분해를 시행하였다.

이상의 두 실험에서 얻어진 산 및 알카리 가수분해액을 각각 amberlite MB-3 column을 통과시켜 여분의 산, 알카리를 중화시킨 다음 각각 공시하였다.

산 분해에 의해서는 genin으로서 2⁰와 glycone으로서 glucose, glucuronic acid를, 알카리 분해액에서는 glucose와 monodesmoside인 2⁰를 얻는다. 2⁰는 다시 산 가수분해에 의해서 2⁰과 glucuronic acid를 얻게 된다.

Saponin 2

백색의 결정성 가루이며, 가수분해에 의해 얻어진 2⁰는 ¹³C-NMR의 소견 및 標品 oleanolic acid와의 비교에 의해서 物理, 化學의 性狀이 일치하였으며, mixed m.p. 실험에 의해서도 용점의 강하가 없었다. 따라서 2⁰는 oleanolic acid로 동정하였다.

Table I—¹³C-NMR chemical shift in pyridine d₅(ppm)

carbon No.	2 ^{b)} (oleanolic acid)	2
3	78.1	89.2
12	123.0	122.9
13	144.1	144.2
23	28.8	28.3
24	16.0	17.0
28	180.2	176.5
3-O-sugar moiety		
GlcUA 1		106.6
2		75.0 ^{a)}
3		75.7
4		72.9
5		75.2
6		173.8
28-O-sugar-moiety		
Glc 1		95.7
2		74.1
3		78.8
4		71.1
5		79.3 ^{b)}
6		62.2

^{a,b)}Assignment may be reversed each column GlcUA: β-D-glucuronic acid, Glc: β-D-glucopyranose

Compound 2는 다음과 같은 여러 物性을 지닌다.
m.p.280~283°C [α]_D+23.0°(c=1.0 pyridine)

Anal. calcd. for C₄₂H₆₆O₁₄: C 63.5% : H 8.3,
Found : C 62.7 : H 8.05.

IR_v^{KBr}cm⁻¹ 3400(brs, -OH), 1730(-ester), 1690
(-COOH), 1640(C=C), 1110, 1027(-C-O)

¹H-NMR(pyridine d₅): 0.82(3H, s), 0.91(3H, s),
0.95(3H, s), 0.95(3H, s), 1.09(3H, s), 1.28(3H, s),
1.30(3H, s), 5.4(s, olefinic H), 4.75(1H, d J=2.4 Hz
anomeric), 6.30(1H, d, J=7.9 Hz)

Negative FAB-MS m/z: 793[M-], 631[M-162
(glucose)], 455[M-162-176(GlcUA)], [oleanolic
acid-]

¹³C-NMR data(Table I)

결과 및 고찰

최무릎의 뿌리에서 3종의 saponin을 분리하여 그
중에서 compound 2를 순수분리 정제하여 그 화학
구조를 밝혔다.

Achyranthes속 식물의 성분과 관해서는 수종의 In-
sect-Moulting substance가 분리되어 ecdysterone,
inokosterone 등으로 알려져 있다.

그러나 saponin에 관해서는 oleanolic acid를 ge-
nin으로 하는 saponin이라는 것만 알려졌을 뿐 그
순수분리와 화학구조에 대한 추구는 없다. 이는 이들
saponin에는 glucuronic acid를 glycone으로 하고 있기
때문에 glucuronic acid의 carboxyl기에 연결된 무기
이온들이 순수분리와 기기적인 해석을 接近시키지
않는 것에 그 원인이 있다고 해석된다.

저자는 이점에 감안하여 粗 saponin을 acetone 침
전법에 의해서 분리하고 이것을 amberlite XAD-2 co-
lumn에 흡착시키고, 무기이온의 용출이 없어질 때까
지 계속해서 물로 세척하여, 가능한한 무기이온을
제거시키고, 여기서 얻는 (80% MeOH) bisdesmo-
side fraction을 다시 SiO₂ column chromatography를
시행하여 compound 2를 얻었다.

Compound 2는 실험지부에 기재한 여러 조작에
의해서 3-β-D-glucuronopyranosyl-olean-12-en-28-D-
β-D-glucopyranosyl ester로 동정하였다. 이 물질이
이 식물에서 얻어지는 최초의 saponin인 동시에 비록
구조는 간단한 oleanolic acid bisdesmoside이지만
신규의 물질인 것이다.

이 외의 saponin은 정제가 되고 기기적인 분석이
가능하게 되면 그 결과에 대해서는 차후에 보고할
것이다.

결 론

최무릎에서 3종의 saponin을 분리하여 그 중에서
compound 2를 amberlite XAD-2 수지에서 분리하고
정제하여 그 構造를 oleanolic acid monodesmoside인
3-β-D-glucuronopyranosyl-olean-12-en-28-D-β-D-
glucopyranosyl ester를 동정하였다.

이 성분은 천연제에서는 처음 나온 신규의 물질이다.

문 헌

- 1) 竹本常松, 小川俊太郎, 西本喜重: 牛膝の成分研究(第
1報): 藥學雜誌 87, 1463(1967).
- 2) 竹本常松, 小川俊太郎, 西本喜重: 牛膝の成分研究(第
2報) 昆蟲變態 호르몬의 分離: 藥學雜誌 87, 1469

- (1967).
- 3) 竹本常松, 小川俊太郎, 西本喜重, 谷口忍: 牛膝の成分研究(第4報) 台湾産 イノユズチから 昆蟲變態ホルモンの分離; 藥學雜誌 **87**, 1478(1967).
 - 4) 竹本常松, 小川俊太郎, 西本喜重, 顔混榮, 阿部建司, 佐藤伊雄, 大沢啓助, 高橋三雄: シマイノユズチ根から Ecdysterone の分離: 牛膝の成分研究(第5報); 藥學雜誌 **87**, 1521(1967).
 - 5) 竹本常松, 小川俊太郎, 西本喜重, 平山, 谷口忍: 牛膝の成分研究(第7報) Achyranthes屬 および Cyathus屬植物中の 昆蟲變態活性物質; 藥學雜誌 **88**, 1293(1968).
 - 6) 小川俊太郎, 西本喜中, 岡本尚子, 竹本常松: 牛膝の成分研究(第8報); 藥學雜誌 **91**, 916(1971).
 - 7) Wan-kyunn Whang, and Dug-Ryong Hahn; Saponins from the Fructus of Kochia scoparis, *Arch. Pharm. Res.* **14**, 176(1991).
 - 8) Haruhisa Kizu, Shingo Kitagayama, Fukio Nakatani, Tsuyoshi Tomimor. and Tsuneo Namba.: Studies of hederanepalensis K. Koch, *Chem. Pharm. Bull.* **33**, 3324(1985).
 - 9) Seiichi Takabe, Tadahiro Takeda, Ying jie Chen. and Yukio Ogihara: Triterpenoid Glycosides from the Root of Tetrapanax papyriferum K. Koch. III. Structure of Four new saponins, *Chem. Pharm. Bull.* **33**, 4701(1985).