

단풍마 근경의 Saponin 성분에 관한 연구

손 건 호* · 정 근 영 · 도 재 철

*안동대학교 식품영양학과 · 영남대학교 약학대학

Saponin Constituents from the Rhizomes of *Dioscorea quinqueloba*

Kun Ho Son*, Keun Young Jung and Jae Chul Do

*Department of Food and Nutrition, Andong National University, Andong 760-749 and
College of Pharmacy, Yeungnam University, Kyongsan 712-749, Korea

Abstract—Three compounds were isolated from the rhizomes of *Dioscorea quinqueloba* and identified as diosgenin 3-O- α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside, dioscin and gracillin by chemical and spectroscopic means.

Keywords—*Dioscorea quinqueloba* · Dioscoreaceae · steroidal saponin · diosgenin 3-O- α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside · dioscin · gracillin

단풍마(*Dioscorea quinqueloba* Thunb.)는 산야에서 자라는 덩굴성 다년초로서 저자 등은 전보¹⁾에서 이 식물의 근경에서 얻은 *n*-BuOH 추출물을 산 가수분해하여 HPLC법으로 정량한 결과 다량의 diosgenin을 검출하였다.

*Dioscorea*속 식물의 steroid saponin에 관한 연구는 많이 이루어졌으나²⁾, 이 식물의 saponin에 대한 보고는 없으므로 저자 등은 단풍마의 근경을 MeOH로 추출하여 3종의 diosgenin 배당체를 분리하여 그 구조를 결정하였다.

실 험 방 법

실험재료—단풍마의 근경을 제주도에서 채집하여 사용하였다.

기기 및 시약—용점은 Yanaco apparatus로서 측정하였으며, 보정하지 않았다. IR spectra는 Perkin-Elmer 283B spectrophotometer로서 KBr disc법으로 측정하였다. ¹H-NMR (300 MHz) 및 ¹³C-NMR (75.5 MHz) spectra는 Bruker AM 300 spectrometer (chemical shift는 TMS를 내부표준물질로 하여 δ 값으로 나타내었음)로 측정하였

다. 선광도는 Jasco DIP 360 digital polarimeter를 사용하였다. TLC는 precoated silica gel 60F₂₅₄ plate (Merck Art. 5715), cellulose plate는 precoated cellulose plate (Merck Art. 5552)를 사용하였으며, column chromatography용 silica gel은 Kieselgel 60 (Merck Art. 7734, 9385 및 7729)를 사용하였다.

추출 및 분리—단풍마의 근경(2 kg)을 세절하고 환류냉각장치를 사용하여 MeOH로 3회 연속 추출하여 그 추출액을 여과 후 감압하에서 농축하여 MeOH extract (87.3 g)을 얻었다. MeOH extract (20 g)를 CHCl₃-MeOH-H₂O(7:3:1, 하층부)의 용매로 silica gel column chromatography를 실시하여 6개의 분획으로 나누었다. 이 중, 2번 분획을 물포화 EtOAc-MeOH (98:2)로부터 물포화 EtOAc-MeOH (95:5)까지 극성을 증가시키면서 column chromatography를 행하여 분리된 물질을 MeOH로 재결정하여 백색분말상의 결정인 compound 1을 얻었다. MeOH extract의 3번 분획을 물포화 EtOAc-MeOH의 용매로 단계적으로 극성을 높여가며 column chromatography를 반복 실시하여 2종의 물질을 분리하였

Table I. ¹H-NMR spectral data for 1, 2 and 3 in pyridine-d₅ ^a

Proton	Compound		
	1	2	3
H-18	0.82, s	0.82, s	0.82, s
H-19	1.05, s	1.05, s	1.05, s
H-21	1.13, d(6.9)	1.12, d(6.9)	1.13, d(7.0)
H-27	0.69, d(5.2)	0.68, d(5.2)	0.69, d(5.3)
H-6	5.31, br d(4.5)	5.32, br d(4.6)	5.33, br d(4.6)
Rha-Me	1.75, d(6.2)	1.60, d(6.9) 1.74, d(6.2)	1.74, d(6.2)
Anomeric protons	5.02, d(7.0)	4.92, d(6.7)	4.93, d(7.2)
	6.35, s	5.80, s 6.34, s	5.08, d(7.8) 6.35, s

^a Data are δ (ppm), multiplicity, and J (in parentheses) in Hz.

Table II. ¹³C-NMR spectral data for 1, 2 and 3 in pyridine-d₅

Carbon No.	Compound			Carbon No.	Compound		
	1	2	3		1	2	3
1	37.55	37.50	37.52	Glc C-1	100.44	100.30	100.06
2	30.23	30.16	30.11	2	79.67	78.76	77.88
3	78.01	78.14	78.53	3	77.89	76.89	89.55
4	39.03	38.99	38.76	4	71.91	77.94 ^b	69.63
5	140.93	140.84	140.84	5	78.25	77.84 ^b	77.78
6	121.74	121.78	121.84	6	62.74	61.35	62.47
7	32.25 ^a	32.22 ^a	32.25 ^a	Rha C-1	102.06	102.00	102.22
8	31.74	31.71	31.74	(\rightarrow^2 Glc) 2	72.58	72.51	72.48
9	50.34	50.33	50.33	3	72.87	72.51	72.80
10	37.18	37.14	37.18	4	74.21	74.13	74.15
11	21.13	21.11	21.12	5	69.48	70.43	69.63
12	39.91	39.88	39.91	6	18.97	18.46	18.68
13	40.50	40.47	40.50	Rha C-1		102.91	
14	56.69	56.66	56.70	(\rightarrow^4 Glc) 2		72.72	
15	32.35 ^a	32.32 ^a	32.36 ^a	3		72.81	
16	81.13	81.11	81.13	4		73.89	
17	62.95	62.92	62.95	5		69.48	
18	16.34	16.32	16.34	6		18.62	
19	19.43	19.40	19.41	Glc C-1			104.54
20	42.01	41.98	42.01	(\rightarrow^3 Glc) 2			75.00
21	15.02	15.01	15.02	3			77.07
22	109.26	109.26	109.26	4			71.54
23	31.87	31.84	31.87	5			78.70
24	29.30	29.27	29.30	6			62.47
25	30.62	30.60	30.62				
26	66.90	66.88	66.89				
27	17.32	17.30	17.32				

^{a, b}Assignments in each column may be reversed.

으며, 이들은 MeOH로 재결정하여 무색침상결정인 compound 2와 3을 얻었다.

Compound 1: mp 236~238°, $[\alpha]_D^{25} -40.1^\circ$ (*c*, 0.4 in MeOH); IR, ν_{\max}^{KBr} 3420 (OH), 1645 (C=C), 1100~1000 (C—O), 920, 900, 863, 835 [900>920, 25(*R*)-spiroketal], 810 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$: Table I 참조; $^{13}\text{C-NMR}$: Table II 참조.

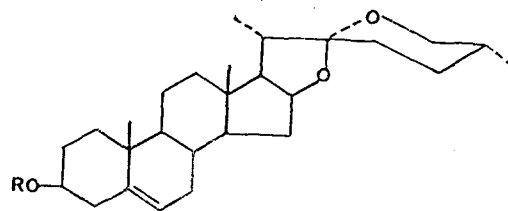
Compound 2: mp 289~292°, $[\alpha]_D^{25} -110.5^\circ$ (*c*, 0.3 in MeOH); IR, ν_{\max}^{KBr} 3420 (OH), 1640 (C=C), 1100~1000 (C—O), 920, 900, 860, 829 [900>920, 25(*R*)-spiroketal], 811 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$: Table I 참조; $^{13}\text{C-NMR}$: Table II 참조.

Compound 3: mp 295~297°, $[\alpha]_D^{25} -92.1^\circ$ (*c*, 0.4 in pyridine); IR, ν_{\max}^{KBr} 3425 (OH), 1640 (C=C), 1100~1000 (C—O), 920, 900, 865, 833 [900>920, 25(*R*)-spiroketal], 812 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$: Table I 참조; $^{13}\text{C-NMR}$: Table II 참조.

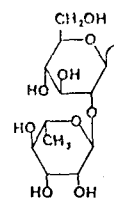
Compound 1, 2 및 3의 산가수분해—Compound 1, 2 및 3을 각각 30 mg을 4N HCl—dioxane (1:1) 9ml 혼액에서 환류냉각장치를 사용하여 수욕상에서 가수분해하고 반응액에 얼음을 가하여 석출하는 침전을 여과하였다. 침전물은 MeOH로 재결정하여 무색침상결정 (mp 205~207°)을 얻었다. 이 화합물은 diosgenin의 표준품과의 co-TLC 및 mmp에서 잘 일치하였다. 여액은 Ag_2CO_3 로 중화하고 여액을 감압농축하여 cellulose plate에서 전개용매 pyridine—EtOAc—HOAc— H_2O (36:36:7:21)로 표준품과 같이 전개시켜 aniline phthalate로 발색시킨 결과 3종의 화합물 모두 당으로서 D-glucose와 L-rhamnose를 확인하였다.

Compound 2의 부분가수분해—Compound 2 (300 mg)을 0.5N HCl—50% EtOH 혼액에서 1시간동안 환류냉각 장치를 사용하여 수욕상에서 가수분해하였다. 가수분해물을 얼음에 석출시킨 후 여과하고 잔사를 세척, 건조시키고 이를 silica gel column에 걸어 물포화 EtOAc—MeOH (gradient)의 용매로 유출하여 prosapogenin A 및 B를 얻었다.

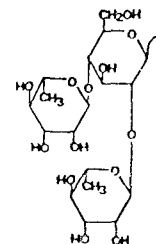
Prosapogenin A: mp 235~238°, IR, ν_{\max}^{KBr}



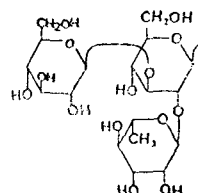
1 R =



2 R =



3 R =



3420 (OH), 1640 (C=C), 1100~1000 (C—O), 920, 900, 866, 835 [900>920, 25(*R*)-spiroketal], 810 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (pyridine- d_5) δ : 0.70 (3H, d, $J=5.2$ Hz, 27-Me), 0.83 (3H, s, 18-Me), 1.05 (3H, s, 19-Me), 1.13 (3H, d, $J=6.9$ Hz, 21-Me), 1.75 (3H, d, $J=6.4$ Hz, Rha-Me), 5.01 (1H, d, $J=7.0$ Hz, anomeric H), 5.28 (1H, br d, $J=4.1$ Hz, H-6), 6.32 (1H, br s, anomeric H); $^{13}\text{C-NMR}$ (pyridine- d_5) δ : 30.12, 78.12, 39.01 (aglycone signals C-2 to C-4), 100.24, 79.62, 77.80, 71.56, 77.85, 62.49 (glucose signals C-1 to C-6), 101.87, 72.53, 72.64, 74.21, 69.32, 18.46 (rhamnose signals C-1 to C-6).

Prosapogenin B: mp 117~120°, IR, ν_{\max}^{KBr}

3410 (OH), 1650 (C=C), 1100~1000 (C—O), 920, 900, 850, 834 [900>920, 25(R)-spiroketal], 810 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (pyridine- d_5) δ : 0.69 (3H, d, $J=5.2\text{Hz}$, 27-Me), 0.85(3H, s, 18-Me), 0.93(3H, s, 19-Me), 1.14(3H, d, $J=6.9\text{Hz}$, 21-Me), 1.70(3H, d, $J=6.4\text{Hz}$, Rha-Me,) 4.97(1H, d, $J=7.6\text{Hz}$, anomeric H), 5.30 (1H, br d, $J=4.2\text{Hz}$, H-6), 5.80(1H, br s, anomeric H); $^{13}\text{C-NMR}$ (pyridine- d_5) δ : 30.12, 78.16, 39.07 (aglycone signals C-2 to C-4), 102.61, 75.09, 76.87, 78.02, 76.46, 61.43 (glucose signals C-1 to C-6), 102.13, 72.40, 72.48, 73.32, 70.16, 18.54 (rhamnose signals C-1 to C-6).

실험결과 및 고찰

단풍마(*Dioscorea quinqueloba* Thunb.) 근경의 MeOH extract를 silica gel column chromatography를 행하여 steroidal saponin인 compound 1, 2 및 3을 분리하였다. 분리된 3종의 화합물은 모두 Liebermann-Burchard test 및 Molisch test에 양성이었으며, 이들의 IR spectra에서 OH의 흡수 및 25(R)-spiroketal moiety의 특징적인 흡수 pattern을 나타내었으므로 spirostanol 배당체들로 추정하였다.³⁾ 산 가수분해결과 3종의 화합물 모두 aglycone으로서 diosgenin, 당으로서 D-glucose와 L-rhamnose를 확인하였다.

Compound 1의 $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 diosgenin의 4개의 methyl group에 기인하는 signal 외에 δ 5.02 (1H, d, $J=7.0\text{Hz}$)와 6.35 (1H, s)에서 2개의 anomeric proton의 signal이 관찰되는 점으로 보아 1 mole의 glucose가 β 결합하고 1 mole의 rhamnose는 α 결합함을 알 수 있다.⁴⁾ $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum에서 1 mole의 rhamnose가 terminal sugar로서 관찰되고⁵⁾, 안쪽 glucose moiety의 signal 중 anomeric carbon의 signal (δ 100.44)이 upfield shift하고 C-2의 chemical shift가 4.55ppm downfield shift함으로서 glucose의 2번에 terminal rhamnose가 결합함을 알 수 있다. 이상의 결과로부터 compound 1을 diosgenin 3-O- α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyra-

noside로 동정하였다.

compound 2의 $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 2 mole의 rhamnose 및 1 mole의 glucose에 해당하는 anomeric proton의 signal이 δ 4.92(1H, d, $J=6.7\text{Hz}$), 5.80(1H, s) 및 6.34 (1H, s)에서 나타났다. 이 화합물을 부분가수분해하여 2종의 prosapogenin을 얻었으며, 이들 각각의 $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ spectral data 및 문헌치⁶⁾와의 비교로서, prosapogenin A는 diosgenin 3-O- α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside로서 compound 1과 동일하며, prosapogenin B는 diosgenin 3-O- α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranoside로 확인하였다. 이상의 결과로서 compound 2는 diosgenin 3-O- α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 2)-[α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopyranoside로 동정하였으며, dioscin의 표준품과의 비교⁶⁾에서도 동일한 화합물임을 확인하였다.

Compound 3의 $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 anomeric proton의 signal이 δ 4.93 (1H, d, $J=7.8\text{Hz}$), 5.08(1H, d, $J=7.8\text{Hz}$) 및 6.35 (1H, s)에서 나타나므로 2 mole의 glucose가 β 결합하고, 1 mole의 rhamnose는 α 결합함을 추정할 수 있다. $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum에서 각각 1 mole씩의 terminal glucose와 rhamnose에 해당하는 signal이 관찰되므로 이 화합물은 당부가 branch로 결합된 triside임을 알 수 있다. 또한 안쪽 glucose의 chemical shift가 compound 1의 경우와 비교하여 볼 때 C-2, C-3, C-4가 각각 -1.79ppm, +11.66ppm, -2.28ppm씩 glycosidation shift하므로써 1개의 terminal rhamnose는 안쪽 glucose의 C-2에, 1개의 terminal glucose는 C-3에 결합함을 추정할 수 있다. 이상의 결과로서 compound 3을 diosgenin 3-O- α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 2)-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranoside으로 추정하고, gracillin과의 직접 비교⁶⁾ (mmp, co-TLC, ^1H - 및 $^{13}\text{C-NMR}$)로서 동일한 화합물임을 확인하였다.

결 론

단풍마(*Dioscorea quinqueloba* Thunb.)의 근경

을 MeOH로 추출하여 얻은 extract를 column chromatography를 행하여 3종의 steroid saponin을 분리하여 그 구조를 동정하였다. 그 결과 diosgenin 3-O- α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside(1), dioscin (2) 및 gracillin (3)으로 확인하였으며, 문헌기지의 물질들이나 이 식물에서는 처음으로 분리되었으며 그 함량이 풍부한 것으로 보아 단풍마는 steroid saponin 자원식물로서 활용이 기대된다.

감사의 말씀—실험재료를 채집하는데 도움을 주신 강원대학교 약학대학 김창민 박사님과 고경수 박사님에게 깊은 감사를 드립니다.

<1993년 7월 30일 접수 : 8월 3일 수리>

문헌

1. Kim, C.M., Son, K.H., Kim, S.H. and Kim, H. P.: *Arch. Pharm. Res.* 14, 305 (1991).
2. Voigt, G. and Hiller, K.: *Sci. Pharm.* 55, 201 (1987).
3. Wall, M.E., Eddy, C.R., McClellan, M.L. and Klumpp, M.E.: *Anal. Chem.* 24, 1337 (1952).
4. Mahato, S.B., Ganguly, A.N. and Sahu, N.P.: *Phytochemistry* 21, 959 (1982).
5. Seo, S., Tomita, Y. Tori, K. and Yoshimura, Y.: *J. Am. Chem. Soc.* 100, 3331 (1978).
6. Kim, S.W., Chung, K.C., Son, K.H. and Kang, S.S.: *Kor. J. Pharmacogn.* 20, 76 (1989).