

지유의 수치에 관한 연구 —볶은 지유로부터 분리된 토멘토솔린산—

강탁립* · 박만기*

*대전대학교 한의과대학, 서울대학교 약학대학

(Received October 19, 1994)

Study on the Process of *Sanguisorbae Radix* —Tomentosolic acid Isolated from Roasted *Sanguisorbae Radix*—

Tak Lim Kang and Man Ki Park**

College of Oriental Medicine, Taejon University, Taejon, 300-120,

*College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

Abstract—Some traditional herbal drugs have been used after processing to modify its activities. For example, roasted “chiyu” (*Sanguisorbae radix*) has been used as antihemorrhagics while raw one used as anti-emetics. The composition of herbal drug is expected to be changed during this process. We tried to reveal the compositional difference between raw and roasted “chiyu”, and isolated a compound which is not present in raw one but in processed one. The structure of the isolated compound was elucidated as tomentosolic acid. The content of tomentosolic acid in roasted “chiyu” was approximately 0.05%.

Keywords □ *Sanguisorbae Radix*, Rosaceae, tomentosolic acid, processing

경험을 바탕으로 하는 전통의학에서는 생약을 개개의 성분으로 분리하지 않고 생약 그 자체를 단방 또는 복방으로 사용한다. 따라서 많은 성분들의 혼합물을 의약품으로 사용하게 되는데 이런 성분들은 크게 세가지로 첫째, 약효를 나타내는 성분, 둘째, 약효와 무관한 성분, 셋째, 부작용을 나타내거나 약효를 감소시키는 성분 등으로 분류할 수 있다. 물론 질병의 치료에 이러한 여러가지 성분 모두를 포함하는 생약 자체를 사용하는 것보다는 생약으로부터 약효를 나타내는 성분만을 분리하여 사용하는 것이 이상적인 방법일 것이다. 그러나 생약으로부터 약효 성분을 분리하는 기술이 미비하였던 시절에는 부득이 부작용을 나타내거나 약효를 감소시키는 성분도 같이 사용할 수 밖에 없었다. 이러한 문제점을 보완하기 위하여 전통의학에서는 생약을 볶거나, 찌거나, 삶는 등의 수치를 하는 경우가 많았다. 수치 과정을 통하여 부

작용을 나타내는 성분이 제거되거나 또는 약효가 약한 성분이 더 강한 성분으로 변화될 가능성도 있으나 이러한 생약의 수치법은 과학적으로 규명되지 못한 경우가 많다.

생약의 수치에 의하여 생약중의 성분의 함량이나 구조의 변화가 오고 이로 인하여 약효가 강해지거나 부작용이 적어 진다면 수치에 의하여 변화된 성분을 분리하여 그 구조를 규명하는 것은 새로운 약효 성분의 발견이나 한방의 과학화에 좋은 연구방법이라 할 것이다. 저자 등은 이러한 생약의 수치법에 관한 연구의 일환으로 한방에서 그대로는 진토제로 쓰이며 볶아서는 지혈제, 화상 치료제 등으로 사용되는¹⁾ 지유(*Sanguisorbae radix*)를 대상으로 생지유에는 존재하지 않고 볶은 지유에만 존재하는 aegiceradienol 을 볶은 지유로부터 분리하여 보고한 바 있다.²⁾ 본 연구에서는 계속하여 볶은 지유에서만 나타나는 또 다른 성분을 분리하여 그 구조를 규명하고 볶은 지유중의 함량을 분석하였다.

*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

실험방법

시약 및 기기—지유(*Sanguisorbae radix*)는 경동시장에서 구입하였다. 컬럼용 실리카겔은 Kieselgel 60(70~230 mesh, ASTM, Merck Art. 7734), Kieselgel 60(Filter than 230 mesh, ASTM, Merck Art. 7729)을 사용하였고, 박층크로마토그래피는 Kieselgel 60F₂₅₄ (layer thickness 0.25 mm, Merck Art. 5715)를 사용하였으며 발색은 UV 254 nm 및 5% H₂SO₄ 용액을 사용하였다. CDCl₃, C₅D₅N은 Merck사 제품을 사용하였다. GC는 Hewlett-Packard 5890(미국)을, UV는 Shimadzu UV-2100 Spectrometer(일본)를, IR은 Perkin-Elmer 1710 Spectrometer(영국)를, NMR은 Jeol JNM-GSX 400 Spectrometer(400 MHz, 일본)를, 질량분석기는 VG TRIO-II GC/MS system(영국)을 사용하였다.

추출 및 분획—지유 7 kg을 까만 색이 나타날 때까지 볶은 후 메탄올로 3시간 가열 추출하여 여과하는 조작을 3회 실시하고 감압 농축하여 메탄올 추출물 약 350 g을 얻었다. 이 메탄올 추출물을 물에 현탁시킨 후 분액 깔때기에서 에테르로 3회 추출하여 에테르층 약 100 g을 얻은 후 에테르 분획을 대상으로 실리카겔 컬럼을 하였다. 용매는 CHCl₃로 부터 시작하여 CHCl₃ : MeOH = 20 : 1, 10 : 1, 5 : 1, 2 : 1 등으로 순차적으로 용매의 극성을 증가시켜 용출시키고 TLC검색에 의하여 9개의 분획으로 나누었다.

Compound I의 분리—분획 8을 CHCl₃ : Acetone = 10 : 1을 용매로하여 실리카겔 컬럼을 반복 실시하여 Comp. I 분획을 얻고 이 분획을 CHCl₃를 용매로하여 재결정하여 백색 결정 약 1 g을 얻었다.

Mass [EI, m/z] (Rel. Int.%): 454(M⁺, 12.7%), 436(3.6), 408(8.2), 246(55.5), 233(79.1), 201(90.1), 187(80.9), 119(100.0); ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃, ppm): 5.47(1H, t-like, H-12), 3.22(1H, dd, H-3), 3.14(1H, s, H-18), 1.63(3H, s), 1.53(3H, s), 0.98(3H, s), 0.96(3H, s), 0.95(3H, s), 0.83(3H, s), 0.78(3H, s); ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃, ppm): 183.3, 137.3, 128.1, 127.3, 123.7, 79.0, 55.4, 49.7, 47.8, 46.8, 43.2, 39.2, 38.8, 38.7, 37.0, 33.7, 32.7, 28.3, 28.1, 28.0, 27.2, 23.3, 23.2, 21.8, 20.3, 18.2, 17.4, 16.9, 15.9, 15.7; IR: δ_{max} (KBr, cm⁻¹): 3450, 2900, 1700

Compound-I acetate—Comp. I 20 mg을 무수초산

200 μl, pyridine 200 μl에 녹이고 상온에서 10시간 반응시킨 후 감압 농축하고 CHCl₃ : MeOH = 100 : 1을 용매로하여 실리카겔 컬럼을 실시하여 Comp. I-acetate 약 18 mg을 얻었다.

¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃, ppm): 5.48(1H, t-like, H-12), 4.50(1H, dd, H-3), 3.16(1H, s, H-18), 2.05(3H, s), 0.96(3H, s), 0.87(3H, s), 0.86(3H, s), 0.83(3H, s)

Compound-I acetate methyl ester—Comp. I-acetate 10 mg을 MeOH에 녹인 후 diazomethane으로 methylation시킨 후 CHCl₃를 용매로 실리카겔 컬럼을 하여 Comp. I-acetate의 methyl ester 약 8 mg을 얻었다.

Mass [EI, m/z] (Rel. Int.%): 510(M⁺, 6.7), 451(3.1), 247(100.0), 215(26.7), 201(42.0), 187(52.1); ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃, ppm): 5.48(1H, t-like, H-12), 4.50(1H, dd, H-3), 3.64(3H, s, COOCH₃), 3.20(1H, s, H-18), 2.05(3H, s, OCOCH₃), 1.63(3H, s), 1.53(3H, s), 0.97(3H, s), 0.95(3H, s), 0.86(3H, s), 0.82(3H, s); ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃, ppm): 178.0, 171.0, 137.6, 128.3, 127.0, 123.7, 80.9, 55.5, 51.6, 50.0, 47.7, 47.0, 43.3, 39.2, 38.6, 37.7, 36.9, 33.7, 32.7, 28.3, 28.1, 28.1, 23.6, 23.4, 23.3, 21.8, 20.3, 18.2, 17.4, 17.0, 16.8, 15.9

볶은 지유중의 Comp. I의 정량—분리한 Comp. I 1 mg을 무수 pyridine 200 μl에 녹인 후 HMDS/TMCS = 2/1 혼액을 200 μl를 가하여 silylation시킨 용액을 Comp. I의 표준액으로 하였다. 따로 지유 20 g을 볶은 후 메탄올로 3회 추출하여 농축한 후 CHCl₃에 녹여 100 ml로 표선을 맞추었다. 이 때 10 ml를 취하여 용매를 날려보낸 후 앞에서와 같은 방법으로 silylation한 용액을 검액으로 하였다. 위의 검액과 표준액을 GC에 주입하여 Comp. I의 함량을 결정하였다. 이 때 GC 조건은 다음과 같이 하였다. 컬럼: Ultra-1(0.32 mm × 25 m), 검출기: FID, 오븐온도: 280°C, 주입기, 검출기 온도: 290°C, 유속: 2 ml/min, 이동상: N₂. 크로마토그램은 Fig. 1과 같다.

실험결과 및 고찰

Comp. I은 질량 스펙트럼에서 분자 이온 피크인 454와 retro-Diels-Alder fragmentation에 의한 피크인 246, 201, 187, 119 등이 확인되어 이 물질은 분자량

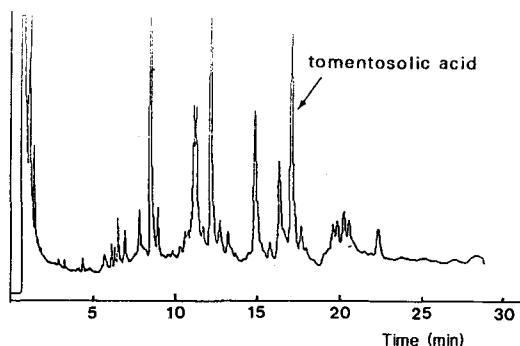


Fig. 1—Gas Chromatogram of MeOH extract of roasted *Sanguisorbae radix*.

454인 12-unsaturated ursane 계열의 triterpenoid임을 알 수 있었다. IR 스펙트럼에서는 3450 cm^{-1} 에서 OH, 2900 cm^{-1} 에서 aliphatic H, 1700 cm^{-1} 에서 COOH 등을 확인 할 수 있었다. 또한 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 5.5 ppm에서 12번 위치의 메틴 수소(1H, t-like), 3.2 ppm에서 3번 위치의 옥시메틴 수소(1H, dd), 3.14 ppm에서 18번 위치의 diallylic proton(1H, s), 1.63~0.78 ppm에서 7개의 메틸기의 수소를 확인 하였다. $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 30개의 피크를 확인 하였으며, 183.3 ppm에서 한개의 카르복실기의 탄소와 120~140 ppm에서 12, 13과 19, 20의 올레핀 탄소, 79.0 ppm에서 3번 위치의 탄소 등을 확인할 수 있었다.

또한 Comp. I을 acetylation시킨 화합물의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 4.50 ppm에서 acetylation에 의해 chemical shift 변화를 일으킨 3번 위치의 수소(1H, dd), 2.05 ppm에서 아세틸 피크를 확인할 수 있었다. Comp. I-acetate를 methylation시킨 화합물의 질량 스펙트럼을 측정 한 결과 Comp. I보다 56이 증가한 510에서 분자 이온 피크가 확인 되었다. 이 화합물의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 3.64 ppm에서 methylation에 의해 새로 생성된 메틸피크를 확인하였고, $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 178.0 ppm에서 카르복실기의 탄소, 171.0 ppm에서 아세틸 탄소를 확인하였다.

이러한 스펙트럼 자료는 Barton 등³⁾이 *Vangueria tomentosa*로부터 분리한 tomentosolic acid의 자료³⁻⁷⁾와 잘 일치하여 이 화합물을 tomentosolic acid로

동정하였다. 이 물질은 생지유에는 존재하지 않고 볶은 지유에만 존재하는 변이물이며 지유의 성분으로 알려진 ziyu-glycoside류가 열처리에 의해 당이 떨어져나가고 19, 20번 위치에서 탈수반응이 일어나 이 중결합이 만들어지면서 형성된 물질로 사료된다.

볶은 지유의 메탄올 추출물을 TMS 유도체화한 후 GC를 이용하여 Comp. I을 정량한 결과 볶은 지유중의 함량은 0.05%이었다.

결 론

볶은 지유의 MeOH extract에서 열처리에 의하여 새로 생성된 물질을 분리하여 tomentosolic acid로 동정하였다. 이 화합물은 열처리에 의하여 새로 생성된 변이물로 그 함량은 약 0.05% 이었다.

문 헌

- 1) 상해과학기술출판사편, 중약대사전, 이학관, 1985.
- 2) Park, M. K., Park, J. H., Kim, J. M., Kim, W. Y. and Oh, J. Y., Study on the process of *Sanguisorbae officinalis*, *J. Korean Soc. Anal. Sci.*, **6**, 391 (1993).
- 3) Barton, D. H. R., Cheung, H. T., Daniels, P. J. L., Lewis, K. G. and McGhile, J. F., The triterpenoids of *Vangueria tomentosa*, *J. Chem. Soc.*, 5163 (1962).
- 4) Wada, H., Nakata, H. and Hirata, Y.: *Sanguisorbigenin*, A triterpene obtained from *Sanguisorbae officinalis*, *L., Yakugaku Zasshi*, **84**, 477 (1964).
- 5) Kondo, Y. and Takemoto, T.: Studies on the constituents of Diyu. I. on *sanguisorbigenin*, *Yakugaku Zasshi*, **84**, 367 (1964).
- 6) Yoshioka, I., Sugawara, T., Ohsuka, A. and Kitagawa, I.: Soil bacterial hydrolysis leading to genuine Aglycone. III, the structure of glycosides and genuine aglycone of *Sanguisorbae radix* *Chem. Pharm. Bull.*, **19**, 1700 (1971).
- 7) Bermejo, J. and Breton, J. L., Terpenoids of the micromerias. -I. two new triterpenic acids isolated from *Micromeria benthami* Webb et Berth., *Tetrahedron letters*, 4649 (1967).