

얼레지잎의 성분分離 및 同定에 關한 研究

이명선 · 임상철 · 박희준 *

Phthalate Ester and Flavonoids Isolated From Leaves of *Erythronium japonicum*

Myung-Sun Lee, Sang-Cheol Lim, and Hee-Juhn Park *

ABSTRACT : From the leaves of *Erythronium japonicum*(Liliaceae) fieve aromatic compounds including four flavonoids were isolated and characterized as di-*O-n*-decyphthalate, kaempferol, quercetin, astragalín and isoquercitrín on the basis of spectroscopic evidences.

얼레지는 백합과의 얼레지속 식물로서 세계적으로는 약 25종이 있으나¹³⁾ 우리나라에는 1속 1종이 있다고 기록되어 있으며⁷⁾ 산간부의 유기물 함량이 풍부한 낙엽수림 하에서 자생하고 있다⁸⁾.

林⁸⁾은 광포화점이 8만 Lux 정도이며 광보상점은 7,200 Lux로서 호광성 식물이라고 하였으며 자생지의 토양은 pH 5.5~5.3, 유기물 함량은 지표하 21~30cm에서도 6.4~7.1%로 극히 높다고 하였다.

李⁶⁾은 꽃의 안토시안 함량을 정량하여 군락지별 함량의 차이가 뚜렷이 나타난다고 하였으며 宋¹²⁾은 얼레지는 독성이 없으며 실용성의 면에서는 관상용, 식용, 공업용, 약용으로 매우 유망하다고 하였다.

이른 봄 얼레지의 지상부는 잘라서 산나물로 이용되고 인경은 찌서 식용으로 이용되기도 하며 한 방에서는 차전엽산자고라고 하여 安²⁾, 蔡³⁾는 건위, 해독, 복통, 자양 등의 약효가 있다고 하였다.

본 연구에서는 얼레지의 성분에 관한 연구의 일환으로 잎에 존재하는 물질을 분리하고 동정하였다.

材料 및 方法

1. 실험재료

1993년 5월 강원도 오대산 일대에서 채취한 얼레지(*Erythronium japonicum*)를 세척한 후 통풍이 잘 되는 그늘에서 충분히 건조시키고 분쇄하여 사용하였다.

2. 시약 및 기기

용점은 Electrothermal digital melting point apparatus를 사용하여 측정하였으며 보정하지 않았다. IR spectrum은 Bomem MB-100 FT-IR spectrometer를 사용하여 Kbr disk 법으로 측정하였으며 NMR spectrum은 Finnigan Mat TSQ-700을 사용하여 probe로 측정하였는데 100℃~800℃까지 10분간 가온하였다.

3. 추출 및 분리

재료 150g을 수욕상에서 MeOH로 3회 온침후 농축하여 MeOH 추출물 약 57g을 얻었으며 이

* 상지대학교 자원식물학과(Dept. of Botanic Resources, Sangji Univ, Wonjoo, 220-702, Korea)

〈'93. 10. 11. 接受〉

를 증류수에 현탁시키고 CHCl_3 으로 분배추출하고 농축하여 CHCl_3 ext, 약 18g을 얻었으며 수층은 다시 EtOAc로 분배추출하여 EtOAc ext. 약 11g을 얻었다.

4. CHCl_3 ext의 silica gel column chromatography
 CHCl_3 ext. 10g을 *n*-hexane-EtOAc(3:1) 용매로 silica gel column chromatography하여 분획-1에서 분획-4까지 얻었다. 이 중 분획-2는 표준품 stearic acid와 TLC하였을 때 R_f 치와 발색이 일치하였으며 분획-3 및 분획-4는 chlorophyll과 같은 청색 반점을 나타내었다. 분획-3과 분획-4를 건조하여 평량하였을 때 각각 1.11g($7.4 \times 10^{-1}\%$) 및 1.80g(1.2%)로서 높은 수득률이 얻어졌다.

5. 화합물 1의 단리

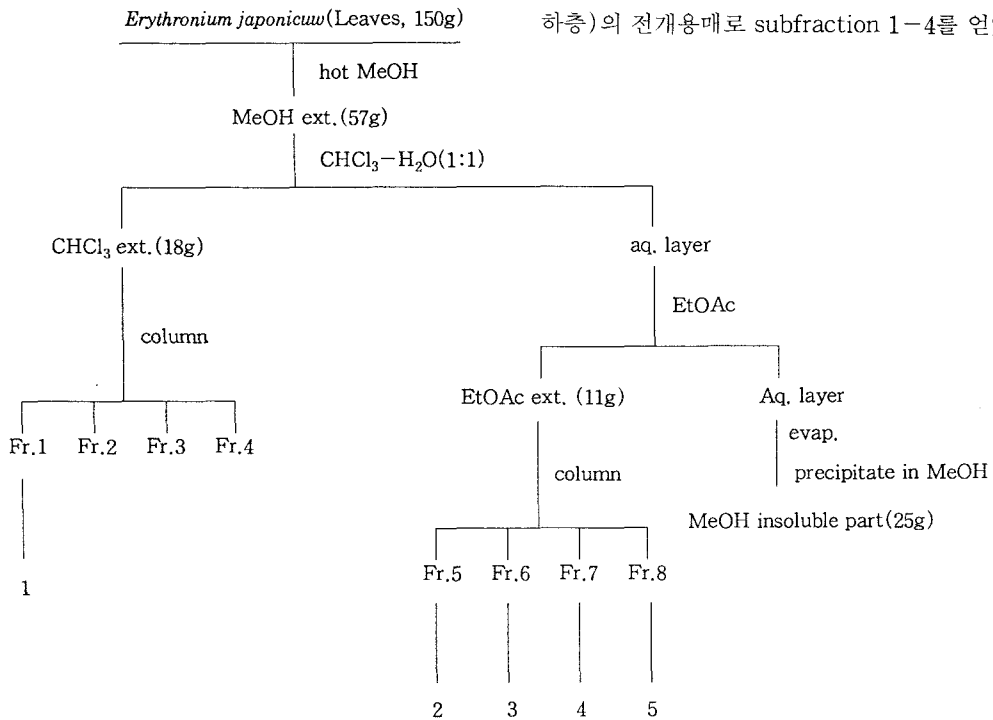
분획-1은 비극성 화합물로 추측되었으므로 내경 3cm인 column에 silica gel 19g을 충전시키고 *n*-hexane 용매만으로 전개시켜 화합물 42mg을 얻

었다.

화합물 1: colorless needles from *n*-hexane
 : IR ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 2932(C-H), 1729 (carboxylic acid ester): UV λ_{max} (*n*-hexane): 207nm; $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3)
 δ : 0.92(t, CH_3), 1.25(methylene), 1.73(m), 4.08(2H, t, $J=7.7\text{Hz}$), 7.52(1H, dd, $J=2.2$ & 8Hz), 7.69(1H, dd, $J=2.2$ & 9.8Hz):
 $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5MHz, CDCl_3): 14.1($\text{CH}_3\text{C-14}$) 19.7-39.9(methylenes), 64.4(- COOCH_2 -, C-5), 128.3 and 13.12(aromatic, C-3 or C-4), 132.7(aromatic, C-2), 167.6(carbonyl, C-1)
 ;MS(70eV, rel. int.) m/z : 446.4(M^+ , 5.8), 382.5(5.5), 321.2(11.7), 307.2 [$\text{M}-(\text{CH}_2)_9\text{CH}_3$] $^+$ (85.1), 168.1(5.2), 167.0 [$\text{M}-2(\text{CH}_2)_9\text{CH}_3+\text{H}$] $^+$ (14.7), 149.0 [$\text{C}_8\text{H}_9\text{O}_2$] $^+$ (100)

6. EtOAc ext. 의 silica gel column chromatography

EtOAc ext. 11g을 CHCl_3 -MeOH- H_2O (7:3:1, 하층)의 전개용매로 subfraction 1-4를 얻었다.



Scheme 1. Extraction, fractionation and isolation of leaves of *Erythronium japonicum*.

7. 화합물 2

Yellowish needles from MeOH solution of subfr.1; mp. 277–279°C; FeCl₃ test, Mg–HCl test, Zn–HCl test:positive; IR ν_{\max} (KBr, :3350(broad, OH), 1667(α, β -unsaturated ketone), 1620, 1575, 1510(aromatic C=C), 1375, 1245, 1175; UV λ_{\max} (MeOH)nm: 257, 269, 300 (sh), 330, 370.

8. 화합물 3

Yellowish needles from MeOH–H₂O solution of subfr.2: mp. 310–313°C:FeCl₃ test, Mg–HCl test, Zn–HCl test:positive; IR ν_{\max} (KBr, cm⁻¹):3380, 3300(OH), 1670(α, β -unsaturated ketone), 1610, 1510(aromatic C=C), 1360, 1315, 1240, 1160, 1090, 995, 817; UV λ_{\max} (MeOH)nm:258, 305(sh), 375

9. 화합물 4

Pale yellowish needles from MeOH solution of subfr.3; mp. 230–233°C: FeCl₃ test, Mg–HCl test, Zn–HCl test, Molisch test:positive; UV λ_{\max} (MeOH)nm:267, 300 (sh), 352; ¹H–NMR(300MHz, DMSO–d₆) δ : 5.45(1H, d, J=7.2 Hz, anomeric), 6.21(1H, d, J=2.1 Hz, H-6), 6.43(1H, d, J=2.1 Hz, H-8), 6.89(2H, d, J=8.8Hz, H-3', t'), 8.04(2H, d, J=8.8 Hz, H-2', 6'), 12.60(OH); ¹³C–NMR(75.5MHz, DMSO–d₆) δ : 1774.4(C-4), 164.4(C-7), 161.2(C-5), 160.0(C-4), 156.4(C-2), 156.2(C-9), 133.2(C-3), 130.8(C-2', 6'), 120.9(C-1'), 115.1(C-3', 5'), 103.9(C-10), 101.0(C-1", anomeric carbon), 98.8(C-6), 93.7(C-8), 77.4(C-5"), 76.4(C-3"), 74.2(C-2"), 69.9(C-4"), 60.9(C-6")

10. 화합물 4의 산가수분해

화합물 430mg을 5%–H₂SO₄ 수용액으로 3시간 환류한 후 냉각하고 여과하였다. EtOAc로 분배추출한 aglycone을 MeOH에서 재결정시켜 화합물 4a를 얻었으며 화합물 1과 co-TLC한 결과 일치하

였고 혼용하여도 용점강하 없었다. 수층은 BaCO₃로 중화시킨 후 여과시킨 여액을 농축하여 표품 D-glucose와 co-TLC하였을 때 일치하였다.

11. 화합물 5

Yellowish needles from MeOH solution of subfr.4: FeCl₃ test, Mg–HCl test, Zn–HCl test, Molisch test:positive; IR ν_{\max} (KBr, cm⁻¹):3500–3100(broad, OH), 1650(α, β -unsaturated ketone), 1596, 590, 1480(aromatic C=C), 1350, 1285, 1195, 1100–1000(glycoside); UV λ_{\max} (MeOH)nm:257, 359; ¹H–NMR(300MHz, DMSO–d₆) δ : 5.44(1H, d, J=7.9Hz, anomeric), 6.20(1H, d, J=1.8Hz, H-6), 6.40(1H, d, J=1.8Hz, H-8), 6.85(1H, d, J=0.2Hz, H-5'), 7.58(1H, d, J=2.4Hz, H-2'), 7.58(1H, dd, J=2.4 & 9.2Hz, H-6'); ¹³C–NMR(75.5 MHz, DMSO–d₆) δ :177.4(C-4), 164.1(C-7), 161.2(C-5), 156.3(C-2), 156.2(C-9), 148.4(C-4'), 144.7(C-3'), 133.4(C-3'), 121.5(C-1'), 121.2(C-6'), 116.2(C-5'), 115.2(C-2'), 104.0(C-10), 101.0(C-1"), 98.6(C-6), 93.(C-8), 77.5(C-5"), 76.5(C-3"), 74.1(C-2"), 69.9(C-3"), 61.0(C-6")

12. 화합물 5의 산가수분해

화합물 4의 산가수분해와 동일한 방법으로 처리하여 aslycone으로 화합물 4a를 얻고 당부는 D-glucose임을 표품으로 확인하였다. (co-TLC, mmp). 화합물 4a는 화합물 3과 비교하였을 때 물리화학적 성상이 일치하였다(co-TLC, mmp, UV spectrum).

結果 및 考察

화합물-1을 분획-1로 부터 silica gel column chromatography에서 색소물질로 부터 분리하여 얻었다. 화합물 1은 IR spectrum으로부터 2932cm⁻¹에서 CH, 1729cm⁻¹에서 carboxylic acid ester를 확인하였다. UV spectrum에서 207nm의 하나의 흡수 곡선을 나타내었으며,

$^1\text{H-NMR}$ 에서 방향족 수소에 기인한 δ 7.52 및 δ 7.69에서 각각 doublet doublet의 피크가 나타났으며 δ 4.08에서 $-\text{COOCH}_2^-$ 에 기인한 피크가 나타났다. $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum에서도 한 개의 CH_3 기 (14.1 ppm), $-\text{COOCH}_2^-$ 에 의한 피크(64.4 ppm) 및 방향족 탄소에 기인한 131.2 128.3 132.7 ppm의 피크를 관측하였고 에스테르 결합에 기인한

카르보닐 탄소를 167.6ppm에서 각각 관측하였다¹¹⁾. 따라서, 이 화합물을 방향족 환에 탄화수소류가 에스테르 결합한 화합물로 추측하였다. Mass spectrum에서는 그의 분자이온 m/z 446.4로부터 분자식 $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{O}_4$ (calcd:446.7)을 추측하였고 fig.1에 나타내었듯이 base peak의 m/z 149.0와 167.0은 phthalate ester임을 잘 알 수 있는 피크이다¹⁴⁾. m/z 446.4의 분자이온, m/z 307의 강한 피크 m/z 168.1의 관계로부터 두 개의 *n*-decyl group이 순차적으로 떨어진 것을 잘 알 수 있으므로 화합물이 di-*O-n*-decylphthalate임을 알 수 있었다(그림 1).

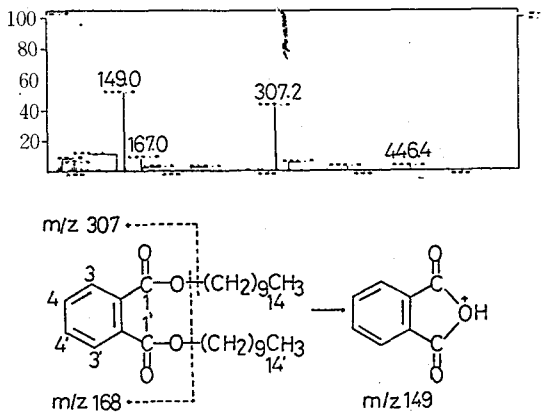


Fig 1. Mass spectrum and mass fragmentation of compound 1.

화합물 2,3은 flavonol 화합물로 추측되었고 그 화학적 성상 및 분광 데이터로부터 각각 kaempferol 및 quercetin으로 추정되었으므로 직접 표품과 혼용하여도 용점강하 없었으므로 화합물 2를 kaempferol, 그리고 화합물 3을 quercetin로 각각 동정하였다¹⁰⁾.

화합물 4는 FeCl_3 test, Mg-HCl 및 Zn-HCl test에 양성이었다고 Molisch test에서도 양성이었으므로 플라보노이드 배당체 화합물로 추측되었다. IR spectrum으로 부터 $3500-3100\text{cm}^{-1}$ 에서 OH

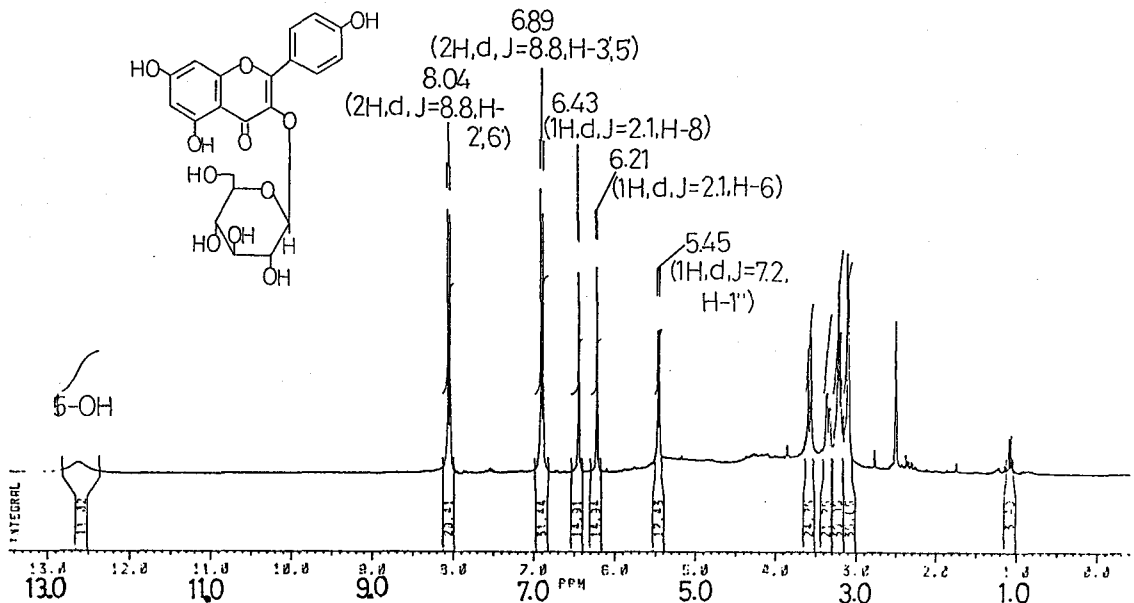


Fig 2. $^1\text{H-NMR}$ spectrum of compound 3(300MHz, DMSO-d_6).

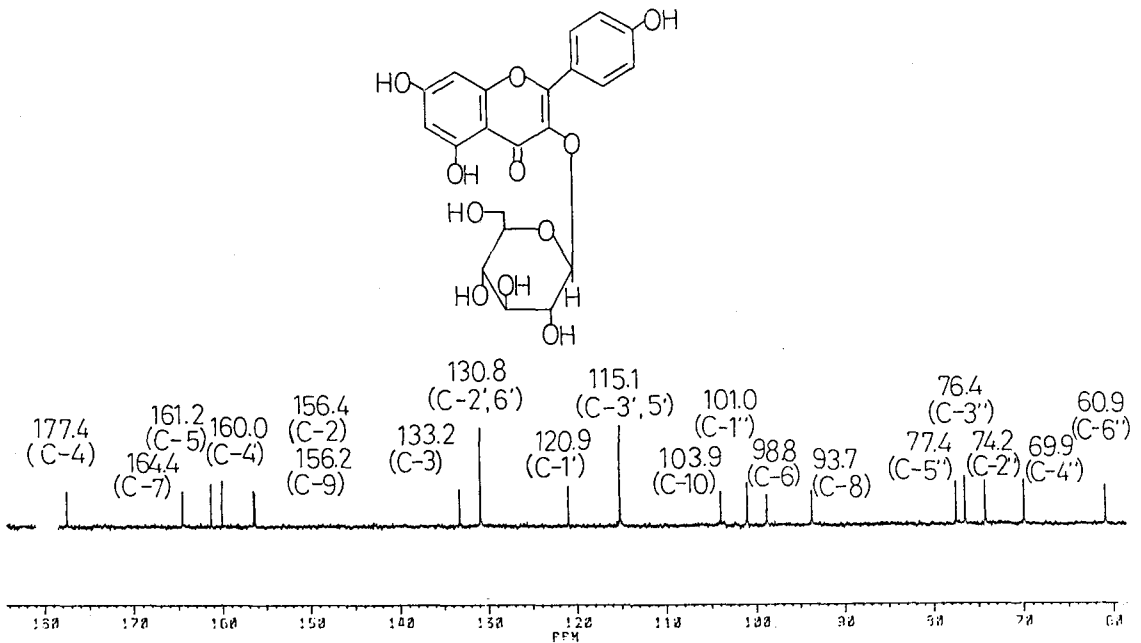


Fig 3. ^{13}C -NMR spectrum of compound 4 (75.5MHz, $\text{DMSO}-d_6$).

기 1650cm^{-1} 에서 α, β -unsaturated ketone, aromatic $\text{C}=\text{C}$ 에 의한 $1650, 1575, 1505\text{cm}^{-1}$ 등과 $1100-1000\text{cm}^{-1}$ 에서 배당체 결합을 확인하였으며 UV spectrum으로부터 두 개의 특징적인 흡수 곡선 352nm (band I) 및 267nm (band II)를 관찰하였다. ^1H -NMR spectrum(그림 2)으로부터 플라보노이드의 4'-hydroxy phenyl 기에 기인한 2개의 aromatic proton, 즉 $\delta 8.04$ (H-2', 6') 및 $\delta 6.89$ (H-3', 5')와 A-ring의 H-6과 H-8이 $\delta 6.21$ 과 $\delta 6.43$ 에서 나타나고 구성당의 anomeric proton이 $\delta 5.35$ 에 나타나며 그 결합상수는 7.2Hz 이었다. 화합물 4를 산 가수분해 하면 aglycone으로 kaempferol, 구성당으로 D-glucose을 얻었으므로 이 화합물이 kaempferol-glucoside임을 알았다. 이의 결합위치 및 결합양식은 ^{13}C -NMR spectrum(그림 3)에서 문헌치¹⁾의 kaempferol 3-O- β -D-glucopyranoside와 잘 일치하였으므로 화합물 4는 astraglin이다.

화합물 5 역시 FeCl_3 test와 Mg-HCl 및 Zn-HCl test에 양성이었다고 Molisch test에 양성이었으므로 플라보노이드 배당체 화합물임을 알 수 있었다. IR spectrum으로부터 OH기($3500-3100$),

α, β -unsaturated ketone(1650cm^{-1}), aromatic $\text{C}=\text{C}$ ($1596, 1590, 1480\text{cm}^{-1}$) 및 배당체 결합($1100-1000$)의 피크를 관측하였고 UV spectrum으로부터 플라보노이드의 특징적인 두 개의 흡수 곡선 359nm (band I) 및 275nm (band II)를 확인하였다. ^1H -NMR spectrum(그림 4)에서 이 화합물의 B-ring의 3',4'-dihydroxyphenyl기의 방향족 수소에 기인한 $\delta 7.58$ (1H, dd, $J=2.4$ & 9.2Hz , H-6'), $\delta 7.58$ (1H, d, $J=2.4\text{Hz}$, H-2') 및 $\delta 6.85$ (1H, d, $J=9.2\text{Hz}$, H-5')을 각각 관측하였고 A-ring의 H-6 및 H-8에 기인한 proton은 각각 $\delta 6.20$ 및 $\delta 6.40$ 에서 관측하였으며 $\delta 5.44$ 에서 구성당의 anomeric proton이 나타나고 그 결합상수는 7.9Hz 이었다. 이 화합물을 산 가수분해하여 aglycone으로 quercetin과 구성당의 D-glucose를 표품으로 확인하였으므로 이 화합물이 quercetin-glucoside임을 알았다. 이의 결합위치와 결합양식은 ^{13}C -NMR spectrum에서 문헌치¹⁾의 quercetin 3-O- β -D-glucopyranoside(isoquercitrin)과 잘 일치하였으므로 화합물 5를 isoquercitrin으로 동정하였다(그림 5).

기타 본 실험에서 얻은 지견으로는 분획-3 및 분

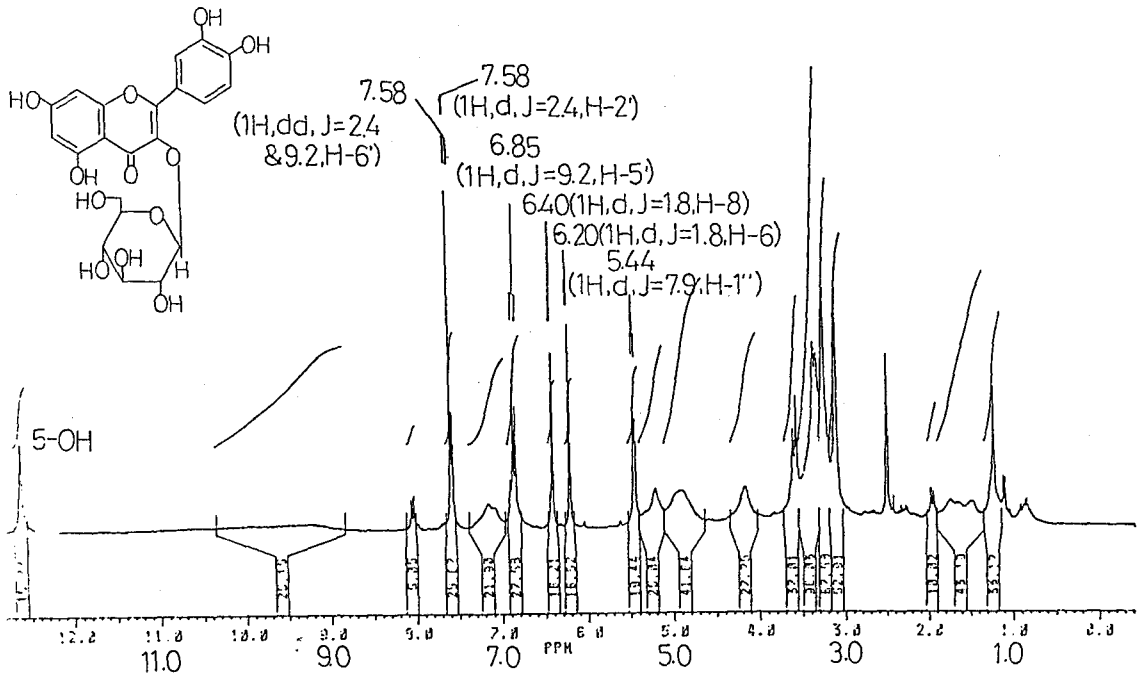


Fig 4. ^1H -NMR spectrum of compound 4 (300MHz, DMSO-d_6).

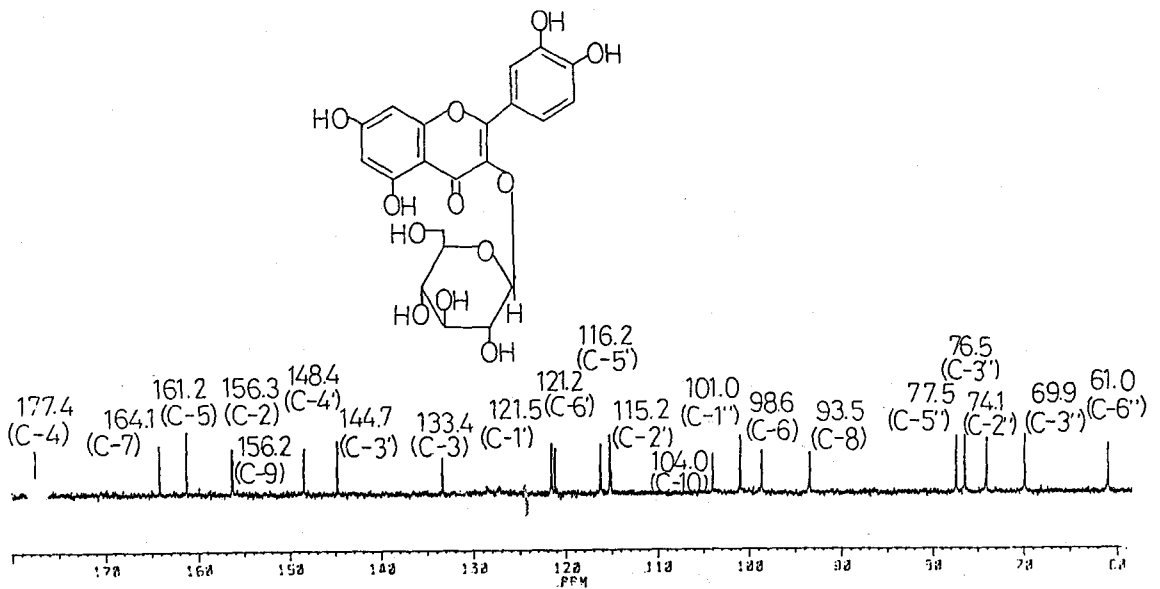


Fig 5. ^{13}C -NMR spectrum of compound 5 (75.5MHz, DMSO-d_6).

획-4에서 chlorophyll이 높은 수득률로 분리되고 (각각 7.4×10^{-1} 및 1.2%) 환원당 등을 함유하는 수

층의 MeOH 불용부가 25g에 달하였으므로 이의 영양학적 평가에 관한 것은 차후의 과제라 생각된다.

摘 要

어린 잎을 식용으로 하고 전초를 차전엽산자고라 하여 강장약 및 진해제로 사용되는 얼레지(*Erythronium japonicum*)의 잎의 성분 연구에 착수하여 phtalate ester인 di-O-n-decylphthalate, flavonol인 kaempferol 및 quercetin, 그리고 그들의 glucoside인 astragalol 및 isoquercitrin의 구조를 동정하였다.

引用 文 獻

1. Agrawal, P.K. 1989. Carbon-13 NMR of Flavonoids, Elsevier. PP. 335-337.
2. 安德均. 1983. 鄉藥採取月令(註解). 世宗大王 記念事業會. P.130
3. 채영복 등: 한국유용식물자원연구총람, 한국화학연구소, P.568(1988).
4. 金在佶. 1984. 原色天然藥物大事典(下卷). 南山堂. P. 222
5. Yoshitma, K. Kozueishi, Yasuda, H. 1980. A Chromatographic Survey of Anthocyanins in the Flora of Japan 1, J, Fac. Sci., Shinshu Univ. 15:19-26.
6. 李明善. 林相喆. 朴熙俊. 1993. 얼레지 화피에

함유된 안토시아닌 색소의 균락지별 함량. 생약학회지. 24:251-254.

7. 李永魯. 1976. 한국동식물도감, (식물편, 계절 식물). 문교부 PP. 154-155.
8. 林相喆. 1990. 얼레지의 生育環境, 形態特性, 生長 및 成分分析에 關한 研究. 東國大學校 大學院. 博士學位論文
9. 西 興子. 1990. 主婦の友百科シリーズ. 新版 山野草百科カラ百科. P. 77
10. Park, H. J. Young, H.S. Park, K.Y. Rhee, S.H. Chung, H.Y. Choi, J.S. 1991. Hewonoids from the whorl plants of *Orstachys Japanless*. Arch. pherm, Res 14:167-171
11. Pouchert, C.J. The Aldrich Library of ^{13}C and ^1H FT NMR Spectra, (Vol.2) Aldrich Chemical Co., Inc. P. 1275
12. 宋柱澤. 1974. 韓國資源植物總攬. 國策文化社. P. 936
13. 菅原久夫 1990. 日本の野草(春), 小學館. PP. 210-211
14. Waller. G.R. Dermer, O.C. 1980. Biochemical applications of mass spectroscopy. John & Sons. New York P. 970.