

황기(黃芪) (*Astragalus membranaceus* Bunge.) 뿌리의 성분연구(I)

김진숙, 김연태, 김정숙*
한국한의학연구소, 한약연구부

A Study on the Constituents from the Roots of *Astragalus membranaceus* (I)

Jin Sook Kim, Yun Tai Kim and Chungsook Kim*
Department of Herbal Medicine, Korea Institute of Oriental Medicine,
Seoul 135-100, Korea

Abstract—The roots of Korean *Astragalus membranaceus* Bunge.(Leguminosae), *Astragali Radix*, were extracted following general methods. During these extractions, first of all, 1,2-benzendicarboxylic acid diisononylester(compound A), β -sitosterol(compound B), 3-O- β -D-galactopyranosyl- β -sitosterol(compound C) and stigmast-4-en-6 β -ol-3-one(compound D) were isolated. Three of these compounds were identified the first time isolation from the genus of *Astragalus*.

Key words—*Astragalus membranaceus*: 1,2-benzendicarboxylic acid diisononylester: β -sitosterol: 3-O- β -D-galactopyranosyl- β -sitosterol: stigmast-4-en-6 β -ol-3-one.

황기(黃芪) (*Astragali Radix*: *Astragalus membranaceus* Bunge.)는 콩과(Leguminosae)에 속하며 '신농본초경'에서 이시진의 해설에 따르면 색이 노랑고(黃), 오랫동안 인체를 보한다는 의미에서 芪라는 이름이 붙여졌다고 한다. 우리나라에서는 옛부터 황기뿌리를 인삼다음의 補氣藥으로써 민간에서 많이 쓰여졌으며, 중부지방 특히 강원도 정선에서 양질의 황기가 재배된다. 황기는 한국 이외에 중국(*A. chinensis* L.; *A. complanatus* R. Br.; *A. sinicus*; *A. chrysopterus*), 내몽고(*A. membranaceus* var. *mongholicus*), 일본(*A. aitosenis*), 이집트(*A. spinosus* Vahl; *A. trigonus*), 불가리아(*A. onobrychis*)에 분포하며, 주로 강장제, 이노제, 지한제 등의 민간약으로 많이 사용되고 있다. 한방에서는 보중익기탕, 황기건중탕, 십

전대보탕, 가미대보탕, 팔보회춘탕, 청서익기탕 등 수백개 처방에 황기가 포함된다. 황기(*Astragali Radix*)의 구성성분으로는 Triterpenoide glycoside계통과 Flavonoid 특히 Isoflavonoid 계통이 주로 많이 보고되어 있다. 이 연구에서는 비교적 연구가 적은 n-Hexane분획 성분들을 분리하여 화학구조를 규명하였다.

재료 및 방법

재료—강원도 정선군 신동읍에서 조광호에 의해 재배된 황기뿌리를 직구입하여, 감정한 후 사용하였다. 본 약재는 한국한의학연구소 표본실에 보관 중이다(표본번호 96-3-0001).

기기 및 시약—Column chromatography용 silicagel은 Kieselgel 60 (Merck Art. 9385, 7734)를 사용하였다. TLC는 precoated Kieselgel 60

*교신저자 : Fax 02-3442-2697

F₂₅₄(layer thickness 0.25 mm Merck Art. 5715, 5729, 5789)를 사용하였다. IR은 Analect instrument Map-66 IR spectrometer를, NMR은 Bruker AMX-500(500MHz)를, Mass는 VG Analytical/VG70-VSEQ 등을 사용하였다. 검출은 Anisaldehyde-H₂SO₄, 20% H₂SO₄, UV-lamp(254, 365 nm), 및 I₂-chamber를 사용하였으며, 시약 및 용매는 분석용 특급 또는 1급 시약을 사용하였다.

추출 및 분리 - 황기뿌리를 분말화하여 80% 수성 EtOH로 실온에서 1주일 간격으로 4번 추출하였다. 이 EtOH추출물에 증류수를 약간 가한 후 n-Hexane, EtOAc, n-BuOH 순으로 계통분리하여 각각의 분획층 및 물층을 얻었다. 또 잔사를 증류수로 2일간 상온방치 후 추출하였다. 이 중 n-Hexane분획을 1차 silicagel column chromatography (CHCl₃:Me₂CO=9:1→1:1→100% EtOH)하여 25개의 소분획으로 전분리 하였다. 그중 5번째 소분획을 2차에 걸친 sio₂ column chromatography(CHCl₃:EtOAc=9:1)를 하여 화합물 A(195 mg)를 분리하였고, 6번째 소분획을 silicagel column chromatography (n-Hexane:EtOAc=1:1)하여 일부 정제된 fraction을 약 10일간 4℃에서 보관하였을 때 흰 침상 모양의 결정이 생성되었다. 이것을 감압여과한 후 결정을 MeOH로 세척하고, 다시 EtOAc로 완전히 녹인 후 재결정하여 화합물 B(43 mg)를 얻었다. 1차 column chromatography의 7번째 소분획에서도 결정이 석출되어 이를 감압여과한 후 위의 방법대로 재결정하여 TLC로 같은 화합물 B(33 mg)임을 알 수 있었다.

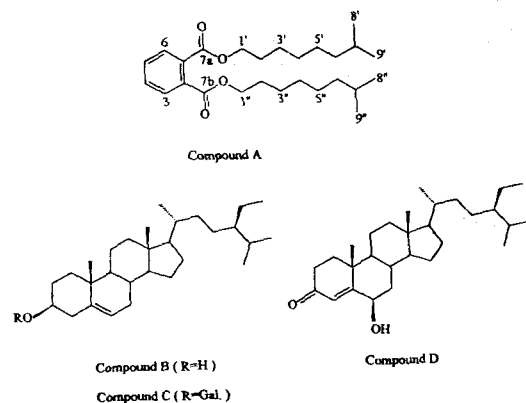
15번째 소분획을 silicagel column chromatography(CHCl₃: MeOH=9:1)하여 어느정도 정제가 된 fraction을 얻었다. 이것을 모아 농축하고 다시 CHCl₃ 한두 방울 가하여 용해한 후 4℃에 보관하였을 때, 흰색의 결정이 석출되기 시작하였다. 이것을 감압여과한 후 MeOH로 세척하고 CHCl₃에 다시 용해하여 재결정하여 화합물 D(4.4 mg)을 얻었다.

25번째 소분획을 3차에 걸친 silicagel column chromatography (EtOH:CHCl₃=4:6, 2:8, 2:8)와 preparative TLC(EtOH:CHCl₃=2:8)을하여 화합물C를 분리하였다. 이것을 CH₂Cl₂(MeOH 1-2drops)에 용해하여 감압하여 재결정하여 18 mg

의 화합물C를 얻었다.

화합물C의 TLC상에서의 산 가수분해 - 화합물 C를 TLC(Rp-18)상에 spotting한 후 C-HCl 가스로 이미 포화밀폐된 TLC-chamber에 넣어 약 20시간 방치하여 가수분해 한 후, 표준품 D-galactose(Al-drich)와 TLC(EtOAc:MeOH:H₂O:HOAc=6:2:1:1)에서 분해 산물과 비교하여 galactose임을 알 수 있었다.

화합물 A (1,2-benzendicarboxylic acid diisononylester; phthalic acid diisononylester) - 연노랑색의 oil; IR, $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$: 3050, 2920, 1728, 1600, 1580, 1464, 1380, 1286, 1124, 1074, 742; EIMS, m/z(rel. int.): 43, 57, 71, 85, 127, 149 (100), 167, 205, 223, 293, 418 (M)⁺; ¹H-NMR(500MHz, CDCl₃) δ : 0.77 (3H, d, J=6.5Hz), 0.81(3H, d, J=6.5Hz), 0.87(3H, d, J=6.5Hz), 0.89(3H, d, J=6.5Hz), 1.32(4H, m), 0.9-1.5(12H, m), 4.3(4H, m), 7.53(2H, dd, J=3.5Hz, 5.5Hz), 7.75(2H, d, J=3.5); ¹³C-NMR, DEPT: Table I 참고.



화합물 B(β -sitosterol) - 흰색의 침상결정; IR, $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$: 3424, 2930, 1466, 1380, 1062; EIMS, m/z (rel. int.): 414 (M)⁺(100), 399 (M-CH₃)⁺, 381(M-CH₃-H₂O)⁺, 273(M-side chain)⁺, 255(273-H₂O)⁺, 231(M-side chain-ring D)⁺, 213(231-H₂O)⁺, 145, 85, 71, 57, 43; ¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ : 0.69(3H, s, H18), 0.83 (3H, d, J=6.82Hz), 0.85(3H, d, J=6.84Hz, H 27), 0.86(3H, t, J=7.4Hz, H29), 0.93(3H, d, J=6.82Hz, H21), 1.02(3H, s, H19), 3.50(1H, OH),

Table I. ^{13}C -NMR data(CDCl_3 , 125MHz) and DEPT-analysis(CDCl_3 , 125MHz) of compound A

Carbon No.	δ (ppm)	DEPT-analysis
1	132.36	C
3	130.86	CH
4	128.81	CH
5	128.81	CH
6	130.86	CH
2	132.36	C
1'	66.16	CH_2
	32.01, 23.76	
2', 3', 4', 5'	26.12, 26.30	
2'', 3'', 4'', 5''	26.75, 28.54	CH_2
	29.45, 29.51	
	29.10, 29.23	
7**	32.93	CH
8***	13.91	CH_3
9***	14.05	CH_3
1''*	65.85	CH_2
7***	32.90	CH
8''***	14.05	CH_3
9''***	14.26	CH_3
7a	167.70	CO
7b	167.70	CO

*****The resonances with the same superscript may be reversed.

3.55(1H, m, H3), 5.35(1H, t, J=2.5, H6); ^{13}C -NMR, DEPT, ^{13}C - ^1H -cosy: Table II 참고.

화합물 C(3-O- β -D-galactopyranosyl- β -sitolsterol) - 흰색의 무정형분말; mp 180 $^\circ\text{C}$ (CH_2Cl_2 :MeOH); FAB(+):MS: 577(M+H) $^+$, 415(M+H-162) $^+$; ^1H -NMR, ^1H - ^1H -Cosy: Table III 참고; ^{13}C -NMR, DEPT, ^{13}C - ^1H -cosy: Table IV 참고.

화합물 D(stigmast-4-en-6 β -ol-3-one) - 흰색의 무정형분말; mp 180 $^\circ\text{C}$ (CHCl_3); EIMS, m/z (rel. int.) 428[M] $^+$ (15), 410[M-H $_2$ O] $^+$, 385, 287[M-side chain] $^+$ (16), 245[287-ringD] $^+$ (26), 227[245-H $_2$ O] $^+$ (15), 152, 121, 107, 95, 81, 69, 57(59), 55(93); ^1H -NMR, ^1H - ^1H -Cosy: Table V 참고; ^{13}C -NMR, DEPT, ^{13}C - ^1H -cosy: Table VI 참고.

결과 및 고찰

황기뿌리의 80% 수층 EtOH 추출물을 계통적으로 분획하여 얻은 n-Hexane분획을 SiO_2 column

Table II. ^{13}C -NMR data(CDCl_3 , 125MHz) and DEPT-analysis (CDCl_3 , 125MHz) and ^{13}C - ^1H -cosy data of compound B

Carbon	No. δ (ppm)	DEPT	^{13}C - ^1H -cosy	
			δ (ppm)	Proton No.
1	37.26	CH_2		
2	31.68	CH_2		
3	71.80	CH	3.35	H3
4	42.32	CH_2		
5	140.77	C		
6	121.69	CH	5.36	H6
7	31.92	CH_2		
8	31.94	CH		
9	50.16	CH		
10	36.51	C		
11	20.08	CH_2		
12	39.79	CH_2		
13	42.22	C		
14	56.78	CH		
15	24.29	CH_2		
16	28.22	CH_2		
17	56.08	CH		
18	11.84	CH_3	0.69	H18
19	19.03	CH_3	1.02	H19
20	36.13	CH		
21	18.77	CH_3	0.93	H21
22	33.97	CH_2		
23	26.13	CH_2		
24	45.86	CH		
25	29.29	CH		
26	19.37	CH_3	0.83	H26

Table III. ^1H -NMR data(CDCl_3 +MeOD, 500MHz) and ^1H - ^1H -cosy data of Compound C

Proton No.	δ (ppm)	Multiplcity	J(Hz)	^1H - ^1H -cosy
3	3.50	m		
6	5.30	m		
18	0.61	s		
19	0.94	s		
21	0.85	d	6.49	H20
26	0.74	d	7.08	H25
27	0.76	d	7.08	H25
29	0.78	t	7.08	H28
1'	4.40	d	6.74	H2'
2'	3.25	dd	6.74, 10.11	H1', H3'
3'	3.40	m		H2', H4'
4'	3.40	m		H3', H5'
5'	3.20	m		H4', H6'a, H6'b
6'a	3.70	dd	13.48, 4.72	H5', H6'b
6'b	3.78	dd	13.48, 3.37	H5', H6'a

nonyl기가 phthalic acid에 ester결합을 하고 있는 것을 알 수 있으며, ester결합을 하고 있는 CH₂기는 ¹H-NMR spectrum에서 δ4.3(m)에서 나타난다. aliphatic proton의 수가 38개인 것을 통하여 diisononyl기가 phthalic acid에 결합되어 있음을 알 수 있다. IR spectrum에서 aliphatic CH band와 aromatic CH band 이외에 1728 cm⁻¹에서 C=O기 band와 1286 cm⁻¹와 1124 cm⁻¹에서 ester band(=C-O-C, asymmetric stretching band), 1600, 1580, 1464, 1074, 742 cm⁻¹에서 O-substituted phenyl band를 볼 수 있다.²⁾ 또한 EIMS spectrum에서 phthalate의 특징적인 fragment인 m/z 149, 167, 205, 223이 나타났으며,³⁾ 또 이외에 mass library spectrum과 비교한 결과 C₂₈H₄₆O₄인 1,2-benzenedicarboxylic acid diisononyl ester임을 알 수 있다.⁴⁾

β-sitosterol인 화합물 B는 spectral data^{5,6)} 및 표준물질(Wako, code no. 309-01401)과 TLC로 비교 확인하였다.

화합물 C는 ¹H-NMR spectrum에서 δ5.3에서 한 개의 olefin proton(H6) peak와 δ0.61의 H 18(s), δ0.85의 H21(d, J=6.49 Hz), δ0.74의 H 26(d, J=7.08Hz), δ0.76의 H27(d, J=7.08Hz) δ0.78의 H29(t, J=7.08Hz)의 peak들과 ¹³C-NMR data를 통하여 β-sitosterol과 같음을 알 수 있다. 그러나 δ79.08에 나타난 carbon peak는 β-sitosterol과 비교할 때 약 8 ppm정도가 저자장으로 이동된 것을 통하여, 이 위치에 당 한분자가 결합된 것을 추측할 수 있다⁷⁾. 또한 δ4.4에서 coupling constant가 6.74Hz인 doublet으로 나타난 proton은 ¹³C-¹H-cosy에서 δ100.96의 carbon signal과 일치하는 β-type의 anomeric proton임을 추측할 수 있다. δ3.20에서 3.78 사이에 6개의 proton peak들이 있으며 이 peak들은 ¹³C-¹H-cosy에서 δ60에서 70 사이의 peak들과 일치하였다. 또 FAB(+)Mass에서 m/z 599(M+Na)⁺, 577(M+H)⁺, 415(M+H-162)⁺를 통하여 β-sitosterol에 한 분자의 hexose가 결합된 것을 짐작할 수 있다. 이 당은 문헌과의 비교⁸⁾와, TLC상에서의 산 가수분해를 통하여 β-D-galactopyranose임을 알 수 있다. 그러므로 화합물 C는 3-O-β-D-galactopyranosyl-β-sitosterol임을 알 수 있다.

화합물 D는 EIMS spectrum에서 분자량 m/z 428 peak를 나타내며, ¹H-NMR spectrum에서는 δ5.75에서 한 분자의 olefin proton이 singlet로 나타났으며, 또한 stigmastane의 특징적인 6개의 methyl peak들이 δ0.6에서 δ1.35 사이에 나타났다. δ4.28에서 한 분자의 proton이 triplet(J=1.92Hz)으로 나타났다. 이 proton은 ¹³C-¹H-Cosy에서 δ73.16 peak와 일치하는 carbinol proton임을 알 수 있다. Triplet인 multiplicity를 통하여 OH기가 β위치임을 알 수 있다. 즉 OH기가 α인 경우 6번 proton이 4번 위치의 olefin proton과 OH기가 β인 경우보다 거리가 더 가깝기 때문에 약 δ6.20에서 peak가 나타날 것이며,⁷⁾ 또 diaxial coupling(6βH×7αH)와 axial-equatorial coupling(6βH×7βH)와 4번 위치의 proton과의 allylic coupling에 의해 doublet of doublet of doublet로 나타날 것이다.⁹⁾ δ4.60의 broad한 singlet peak가 D₂O를 가한 후 사라진 것을 통하여 OH기임을 알 수 있다. ¹³C-NMR spectrum에서 δ200.41의 signal를 통하여 CO기가 있음을 알 수 있다. EIMS spectrum에서 m/z 287(M-side chain)⁺, 특히 m/z 245(287-ring D)⁺, 227(245-H₂O)⁺ 및 152(M-side chain-42-93)⁺ 등의 3-keto-6-hydroxy-Δ⁴-steroid의 특징적인 fragment들을 찾을 수 있다.⁹⁾ 모든 data를 종합분석한 결과 화합물 D는 분자량 428(C₂₉H₄₆O₂)에 해당하는 hydroxyenone인 stigmast-4-en-6β-ol-3-one임을 알 수 있다. 화합물 B를 제외한 3종의 화합물은 *Astragalus* species에서 처음 분리되었음을 알 수 있다.

결 론

황기 뿌리로부터 1,2-benzenedicarboxylic acid diisononylester, β-sitosterol, 3-O-β-D-galactopyranosyl-β-sitosterol, stigmast-4-en-6β-ol-3-one를 분리하였다. 이중 β-sitosterol을 제외한 성분들을 *Astragalus*속에서 처음으로 분리하였다.

사 사

본 연구는 보건복지부 지원과 보건의료기술연구

Table IV. ^{13}C -NMR data($\text{CDCl}_3+\text{MeOD}$, 125MHz) and DEPT-analysis($\text{CDCl}_3+\text{MeOD}$, 125MHz) and ^{13}C - ^1H -cosy data of compound C

Carbon No.	$\delta(\text{ppm})$	DEPT	^{13}C - ^1H -cosy	
			$\delta(\text{ppm})$	proton No.
1	37.11	CH_2		
2	29.49	CH_2		
3	79.08	CH	3.50	H3
4	38.59	CH_2		
5	140.14	C		
6	122.04	CH	5.30	H6
7	31.70	CH_2		
8	31.70	CH		
9	50.06	CH		
10	39.63	C		
11	21.92	CH_2		
12	36.58	CH_2		
13	42.19	C		
14	56.62	CH		
15	24.13	CH_2		
16	28.08	CH_2		
17	55.94	CH		
18	11.67	CH_3	0.61	H18
19	19.14	CH_3	0.94	H19
20	35.99	CH		
21	18.60	CH_3	0.85	H21
22	33.83	CH_2		
23	25.98	CH_2		
24	45.74	CH		
25	29.05	CH		
26	19.60	CH_3	0.74	H26
27	18.85	CH_3	0.76	H27
28	22.94	CH_2		
29	11.78	CH_3	0.78	H29
1'	100.96	CH	4.40	H1'
2'	73.42	CH	3.25	H2'
3'	76.25	CH	3.40	H3'
4'	70.02	CH	3.40	H4'
5'	75.56	CH	3.20	H5'
6'	61.78	CH_2	3.70, 3.78	H6'

Table V. ^1H -NMR data(CDCl_3 , 500MHz) and ^1H - ^1H -cosy data(CDCl_3 , 500MHz) of compound D

Proton No.	$\delta(\text{ppm})$	Multiplicity	J(Hz)	^1H - ^1H -cosy
4	5.75	s	/	/
6	4.28	t	1.92	H7
OH*	4.60	s	/	/
18	0.65	s	/	/
9	1.31	s	/	/
21	0.75	d	6.4	H20
26	0.86	d	6.4	H25
27	0.77	d	6.4	H25
29	0.78	t	7.11	H28

*Disappear after addition of H_2O **Table VI.** ^{13}C -NMR data(CDCl_3 , 125MHz) and DEPT-analysis(CDCl_3 , 125MHz) and ^{13}C - ^1H -cosy data of compound D

Carbon No.	$\delta(\text{ppm})$	DEPT	^{13}C - ^1H -cosy	
			$\delta(\text{ppm})$	Proton No.
1	37.09	CH_2		
2	34.24	CH_2		
3	200.41	C		
4	126.31	CH	5.75	H4
5	168.47	C		
6	73.16	CH	4.28	H6
7	38.52	CH_2		
8	29.72	CH		
9	53.63	CH		
10	37.98	C		
11	20.97	CH_2		
12	39.60	CH_2		
13	42.51	C		
14	55.89	CH		
15	24.14	CH_2		
16	28.15	CH_2		
17	56.07	CH		
18	11.98	CH_3	0.65	H18
19	19.48	CH_3	1.31	H19
20	36.10	CH		
21	18.74	CH_3	0.75	H21
22	34.10	CH_2		
23	26.20	CH_2		
24	45.85	CH		
25	29.18	CH		
26	19.78	CH_3	0.86	H26
27	19.02	CH_3	0.77	H27
28	23.08	CH_2		
29	11.95	CH_3	0.78	H29

chromatography하여 4종의 화합물을 분리하였다.

화합물 A는 ^1H -NMR spectrum에서 δ 7.35와 δ 7.75에서 각각 2개의 proton에 해당하는 peak가 doublet of doublet($J=3.5, 5.5\text{Hz}$), doublet($J=3.5\text{Hz}$)로 나타났다. 이는 phthalic acid의 4개의 proton에 해당되며, phthalic acid의 ^{13}C -NMR data와 비교한 결과 일치하였다.¹⁾ 또한 δ 0.6에서 δ 1.9 사이와 δ 4.3에는 38개에 해당하는 Aliphatic proton들의 peak들이 나타나 있다. 특히 4개의 methyl doublet(δ 0.77, δ 0.81, δ 0.87, δ 0.89) peak와 EIMS spectrum에서 C_3H_7 에 해당하는 m/z 43를 통하여 isopropyl기의 존재를 추측할 수 있다. 뿐만 아니라 $m/z(\text{C}_4\text{H}_9)$, 71(C_5H_{11}), 85(C_6H_{13})와 C_9H_{19} 에 해당하는 m/z 127를 통하여 iso-

개발사업 과제에 의해 수행되었기에 이에 감사 드립니다.

인용문헌

1. Pouchert C. J. and Behnke, J. (1993) The Aldrich Library of ^{13}C and ^1H FTNMR spectra. 2. 1088A. Aldrich chemical company, Inc.
2. Nakanish, K. (1977) Infrared absorption spectroscopy. 225. Holden-day Inc., San francisco.
3. Pretsch, E., Clerc, T., Seibl, Q. and Simon, W. (1989) Tables of spectral data for structure determination of organic compounds. Springer-Verlag, Berlin.
4. Mass Library Spectrum, Public/NIST, CAS No.: 28553-12-0.
5. Sadikum, A., Aminah, I., Ismail, N. and Ibrahim, P. (1996) Sterols and Sterol glycosides from the leaves of *Gynura procumbens*. *Nat. Prod. Sci.* 2: 19-23.
6. Rubinstein, I., Goad, L. J., Clague, A. D. and Mulheirn, J. L. (1976) The 220MHz NMR spectra of phytosterols. *Phytochemistry* 15: 195-200.
7. Greca, M. D., Monaco, P. and Previteva L. (1990) Stigmasterols from *Typha latifolia*. *J. Nat. Prod.* 53: 1430-1435.
8. Kouam, T., Nkengfack, A. E., Fomum, Z. T., Ubilias, R., Tempesta, M. S. and Meyer, M. (1991) Two new triterpenoid saponins from *Erythrina sigmoidea*. *J. Nat. Prod.* 54: 1288-1292.
9. Khan, A. Q. and Malik, A. (1989) A Sterol from *Calotropis procera*. *Phytochemistry* 28: 2859-2861.

(1996년 11월 8일 접수)