

신나무 줄기로부터 Saponin 성분의 분리

손연경¹ · 한용남^{1,2*}

¹서울대학교 천연물과학연구소, ²약학대학

Isolation of Triterpenoid Saponins from the Stems of *Acer ginnala* Maxim.

Yeun Kyoung Son¹ and Yong Nam Han^{1,2*}

¹Natural Products Research Institute, ²College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea

Abstract – Two triterpenoid saponins were isolated from the stems of *Acer ginnala* Maxim. The structures of triterpenoid saponins were established as ilexoside O, 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-xylopyranosyl-pubescenolic acid 28- β -D-glucopyranosyl ester(1) and ilexoside K, 3-*O*- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-xylopyranosyl-pubescenolic acid 28- β -D-glucopyranosyl ester(2). Their chemical structures have been elucidated on the basis of spectral methods.

Key words – *Acer ginnala*; Aceraceae; Saponin; Triterpenoid; Ilexoside.

신나무(*Acer ginnala* Maxim)는 단풍나무과의 활엽소교목으로 잎은 대생하며 난형 또는 광피침형이고 가장자리에 톱니모양을 하고 있다. 꽃은 엷은 녹색으로 6-7월에 피며 자웅동주이고 산방상 원추화서로 가지 끝에 달리며 과실은 시과로 9월에 성숙한다. 한방에서는 잎을 지사재로 사용한다.^{1,2)}

현재까지 신나무 성분에 대한 연구로는 Bock 등이 신나무에서 가장 많이 함유되어 있는 성분으로 acertannin을 분리하였고,³⁾ Song 등은 ginnalin B · C, gallic acid, ethyl gallate, quebrachitol, ellagic acid, quercetin 등을 분리하였고 이 중에서 ginnalin B · C가 *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei* 등에 항균활성을 나타내었다고 보고하였다.⁴⁾ Park은 신나무에서 phenol성 화합물 quercitrin, isoquercitrin, rutin, quercetin-3-*O*- α -rhamnopyranosyl-2"-*O*-gallate 등을 분리하였다.⁵⁾

지금까지 신나무에서 phenol성 화합물에 관한 연구가 많이 되어왔다. 이에 본 연구에서는 신나무의 비페놀성 화합물에 대한 연구를 목적으로 신나무 메탄올 추출물 엑스로부터 2종의 triterpenoid saponin을 분리, 동정하였기에 그 결과를 보고한다.

재료 및 방법

식물재료 – 강원도 현리에 자생하는 신나무를 2001년 9월경에 채집하고 그늘에 말린 후 세절하여 식물재료로 사용하였다.

기기 및 시약 – ¹H- 및 ¹³C-NMR spectra는 Bruker, Avance-600 spectrometer로 측정하였다. Chromatography resin은 silica gel (63~200 μ m, Merck), Sephadex LH-20 (25~100 μ m, Sigma), Richroprep RP-18 (40~63 μ m, Merck)를 사용하였고 TLC plate는 TLC 60F₂₅₄ (Merck)를 사용하였다. 본 실험에 사용된 유기용매는 1급 시약으로 사용하였다.

추출 및 분획 – 신나무 줄기 3.2 kg을 음건하여 세절한 후 실온에서 MeOH로 2회 추출하였다. 이를 감압하여 농축물인 MeOH extract (685 g)을 얻었다. MeOH extract를 증류수에 현탁시킨 후 CHCl₃로 분획하여 CHCl₃ 분획물 (66 g)을 얻은 다음 수층을 BuOH로 2회 분획하여 BuOH 분획물 (300 g)을 얻었다.

BuOH 분획물로부터 triterpene saponin의 분리 – BuOH 분획물 (150 g)을 60% MeOH로 충전시킨 Sephadex LH-20 (6 \times 60 cm)의 컬럼에서 70% MeOH로 용출하여 80 ml씩 분취하였다. 이 용출액을 TLC하여 Liebermann-Burchard 반응에서 자색으로 발색 되는 부분을 비페놀성 분

*교신저자(E-mail) : snake@snu.ac.kr

획으로 하고 FeCl₃ 용액을 분무하여 청색으로 발색 되는 부분을 페놀성 분획으로 선별하여 모은 다음 농축하여 각각 15 g 및 135 g을 얻었다. 이 과정을 2회 반복하여 총 비페놀성 분획물 30 g을 얻은 다음 silica gel (6×60 cm)을 충전시킨 컬럼에서 CMW(CHCl₃:MeOH:H₂O)=4:1:0.1 용매부터 시작하여 CMW=70:30:4로 극성을 높여가며 용출하여 CMW=70:30:4에서 용출된 부분을 모아 농축하여 Fr. A (2 g)을 얻었다. 여기서 Fr. A를 50% MeOH로 충전시킨 Richroprep RP-18 (4×50)의 컬럼에서 60% MeOH과 70% MeOH로 차례로 용출하고 70% MeOH에서 용출된 부분을 모아 농축하여 Fr. A1분획 (50 mg)을 얻었다. 다음으로 Fr. A1 분획

(50 mg)을 silica gel (1×15 cm)에서 CMW=70:40:4로 전개한 후 compound 1 (5 mg) 및 compound 2 (40 mg)를 얻었다.

Compound 1 – White powder. ¹H-NMR (pyridine-*d*₅, 600 MHz) δ : 0.87 (3H, s, CH₃-25), 0.96 (3H, d, *J*=7.2 Hz, CH₃-30), 1.08 (3H, s, CH₃-24), 1.17 (3H, s, CH₃-26), 1.31 (3H, s, CH₃-23), 1.37 (3H, s, CH₃-29), 1.70 (3H, s, CH₃-27), 1.76 (3H, d, *J*=6.2 Hz, Rha CH₃), 3.17 (1H, s, H-18), 3.23 (1H, dd, *J*=11.4 & 4.2, H-3), 4.87 (1H, d, *J*=6.8 Hz, Xyl H-1), 5.48 (1H, bs, H-12), 5.79 (1H, d, *J*=7.55 Hz, Glc H-1), 6.32 (1H, d, *J*=8.2 Hz, 28Glc H-1),

Table 1. ¹³C-NMR spectral data for compound 1 and 2

C	1 ¹⁾	O ²⁾	2 ¹⁾	K ²⁾	C	1 ¹⁾	O ²⁾	2 ¹⁾	K ²⁾
1	38.88	38.9	39.30	39.1	3--				
2	26.61	26.6	27.26	26.8	1'	105.76	105.8	105.76	105.4
3	89.60	90.0	89.27	89.2	2'	79.03	79.4	79.03	82.6
4	39.68	39.8	40.07	39.7	3'	78.43	77.7	78.43	77.8
5	56.01	56.8	56.37	56.1	4'	71.10	71.3	71.10	70.9
6	18.99	18.8	19.15	18.9	5'	66.59	66.5	66.59	66.6
7	33.54	33.5	33.96	33.6					
8	40.44	40.6	40.91	40.5	1''	102.35	102.4	102.35	105.6
9	47.76	47.9	48.24	47.9	2''	79.42	79.2	79.42	76.5
10	37.02	37.2	37.48	37.1	3''	78.96	78.9	78.96	77.8
11	24.02	24.2	24.48	24.1	4''	72.63	72.9	72.63	71.7
12	127.64	127.9	128.11	127.9	5''	77.76	78.9	77.76	71.8
13	138.50	138.9	136.30	138.7	6''	63.27	63.4	63.27	62.7
14	42.13	42.6	42.59	42.2					
15	29.22	29.3	29.69	29.4	1'''	101.99	101.9		
16	26.83	27.0	27.26	27.1	2'''	72.36	72.4		
17	48.34	48.5	48.81	48.4	3'''	72.63	72.6		
18	47.20	47.4	47.66	47.3	4'''	72.64	74.3		
19	73.39	73.7	74.57	73.7	5'''	69.53	69.5		
20	42.81	42.8	43.30	42.6	6'''	18.70	18.9		
21	24.70	24.9	25.15	24.7	28--				
22	31.86	31.8	32.35	31.8	1''''	95.81	98.8	95.81	95.7
23	28.41	28.6	28.60	28.3	2''''	74.11	74.2	74.11	73.9
24	16.76	17.6	17.20	17.5	3''''	77.99	78.8	77.99	78.7
25	15.58	15.7	16.14	15.8	4''''	71.23	71.4	71.23	71.3
26	17.47	16.9	17.95	16.8	5''''	79.23	78.8	79.23	78.7
27	24.29	24.4	24.79	24.4	6''''	62.19	62.5	62.19	62.5
28	177.00	177.2	177.51	177.2					
29	29.72	29.8	30.21	29.8					
30	16.02	16.2	16.51	16.2					

¹⁾ compound 1 and 2 were measured in pyridine-*d*₅ at 300 MHz.

²⁾ illexoside O and K were cited from reference 9 and pyridine-*d*₅ at 20 MHz.

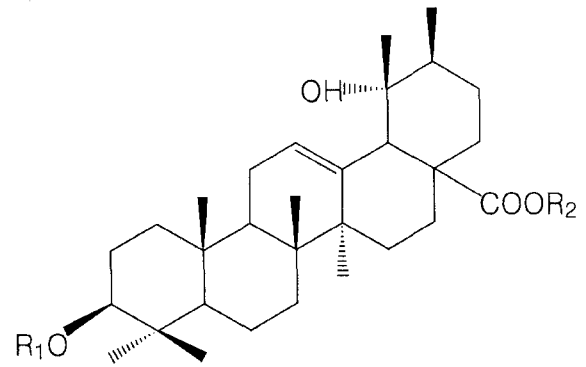
6.39 (1H, s, Rha H-1). ¹³C-NMR (pyridine-*d*₅, 300 MHz); see Table 1.

Compound 2 – White powder. ¹H-NMR (pyridine-*d*₅, 600 MHz) δ: 0.91 (3H, s, CH₃-25), 1.00 (3H, d, *J*=6.9 Hz, CH₃-30), 1.16 (3H, s, CH₃-24), 1.22 (3H, s, CH₃-26), 1.27 (3H, s, CH₃-23), 1.41 (3H, s, CH₃-29), 1.73 (3H, s, CH₃-27), 3.20 (1H, s, H-18), 3.26 (1H, *J*=11.4 & 4.2 Hz, H-3), 5.12 (1H, d, *J*=6.6 Hz, Xyl H-1), 5.39 (1H, d, *J*=7.6 Hz, Glc H-1), 5.57 (1H, bs, H-12), 6.37 (1H, d, *J*=8.2 Hz, 28Glc H-1). ¹³C-NMR (pyridine-*d*₅, 300 MHz) : see Table 1.

결과 및 고찰

두 화합물의 NMR spectrum에서 각각 7개의 tertiary methyl group 및 화합물 1의 δ 0.96 (3H, d, *J*=7.2 Hz), 화합물 2의 δ 1.00 (3H, d, *J*=6.9 Hz)에서 methyl doublet peak 와 anomeric 수소들을 통해서 ursane계열 triterpenoid saponin임을 추측할 수 있었고, H-H cosy, DEPT, HMQC, HMBC 를 통해서 aglycone과 당의 분석, 이들의 결합위치를 확인 하였다.

Compound 1 (Fig. 1)은 흰색분말로 얻었다. ¹H-NMR에서 δ 0.87~1.70 사이에 7개의 methyl기, δ 3.17 (1H, s)에서 18 번 수소, δ 5.48 (1H, bs)에서 이중결합탄소의 12번 수소를 관찰할 수 있었다. Aglycone의 구조를 확인하기 위하여 compound 1의 ¹³C-NMR spectrum에서 30번 탄소의 methyl기가 α (equatorial)인 pomolic acid^(6,7)와 비교하여 18번 탄소 및 22번 탄소 값이 고자장으로, 29번 탄소 값이 저자장



	R ₁	R ₂
compound 1	-Xyl ² -Glu ² -Rha	Glu
compound 2	-Xyl ² -Glu	Glu

Fig. 1. The structures of compounds isolated from *Acer ginnala* M.

으로 이동하는 것을 볼 때 30번 탄소의 methyl기가 β 위치에 결합됨을 알 수 있었다. 또한 compound 1의 3번 수소 (α)가 2번 axial 위치의 수소(β)와 coupling하여 *J* 값이 11.4 Hz를 나타내어 3번 수소는 α (axial) 위치에 xylose 분자는 β (equatorial) 위치에 결합됨을 알 수 있었다. 이상의 결과로 aglycone을 30(S)-3β, 19α-dihydroxyurs-12-en-28-oic acid로 결정하였고, 이는 pubescenolic acid로 보고된 바가 있다.⁽⁸⁾ ¹H-NMR에서 4개의 anomeric 수소를 나타내었다. 4.87 (1H, d, *J*=6.8 Hz)에서 D-xylose, 5.79 (1H, d, *J*=7.6 Hz)에서 D-glucose, 6.32 (1H, d, *J*=8.2 Hz)에서 C₂₈-D-glucose,

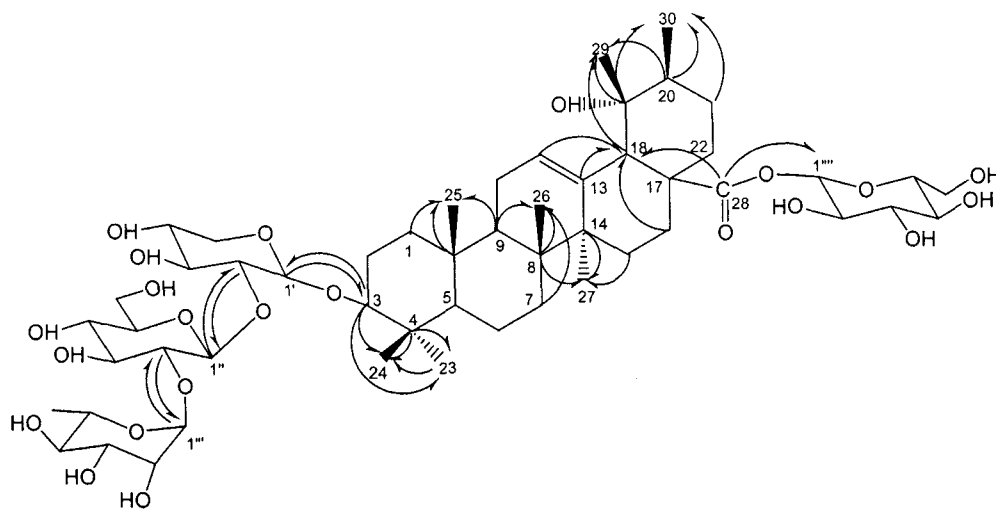


Fig. 2. Heteronuclear multiple bond correlations (HMBC) for compound 1. Arrows point from carbon to proton.

6.39 (1H, s)에서 L-rhamnose의 anomeric 수소를 나타내었고, D-xylose, D-glucose, C₂₈-D-glucose는 β결합, L-rhamnose는 α결합하고 있음을 알 수 있었다. HMBC를 통하여 aglycone 3번 수소가 xylose의 anomeric 탄소와, xylose 2번 탄소가 glucose의 anomeric 수소와, glucose의 2번 탄소가 rhamnose의 anomeric 수소와, 28번 탄소는 D-glucose의 1번 탄소와 correlation됨을 확인하였다(Fig. 2). 이상의 자료를 기초로 compound 1은 3-O-α-L-rhamnopyranosyl(1→2)-β-D-glucopyranosyl(1→2)-β-D-xylopyranosyl-pubescenolic acid 28-β-D-glucopyranosyl ester로 결정하였다.

Compound 2 (Fig. 1)는 흰색분말로 얻었다. aglycone은 ¹H-NMR과 ¹³C-NMR에서 compound 1의 값과 일치하여 pubescenolic acid임을 알 수 있었다. 한편 compound 2는 ¹H-NMR에서 3개의 anomeric 수소를 나타내었다. 5.12 (1H, d, J=6.8 Hz)에서 D-xylose, 5.39 (1H, d, J=7.6 Hz)에서 D-glucose, 6.37 (1H, d, J=8.2 Hz)에서 C₂₈-D-glucose의 anomeric 수소가 나타났고, D-xylose, D-glucose, C-28-D-glucose는 β결합하고 있음을 알 수 있었다. HMBC를 통하여 aglycone 3번 수소가 xylose의 anomeric 탄소와, xylose 2번 탄소가 glucose의 anomeric 수소와, 28번 탄소는 D-glucose의 1번 탄소와 correlation됨을 확인하였다. 이상의 자료를 기초로 compound 2는 3-O-β-D-glucopyranosyl(1→2)-β-D-xylopyranosyl-pubescenolic acid 28-β-D-glucopyranosyl ester로 결정하였다.

이상의 두 화합물 compound 1 및 2는 모동청에서 분리된 ilexoside O 및 K의 기기분석 data⁹⁾와 비교, co-TLC한 결과 compound 1과 2는 각각 ilexoside O와 K로 동정하였다.

결 론

신나무(*Acer ginnala* Maxim) 줄기에서 비페놀성 화합물을 분리하고자 BuOH 분획으로부터 Sephadex LH-20를 실

시하여 페놀성 화합물을 제거한 다음 silica gel과 Richroprep RP-18를 실시하여 3-O-α-L-rhamnopyranosyl(1→2)-β-D-glucopyranosyl(1→2)-β-D-xylopyranosyl-pubescenolic acid 28-β-D-glucopyranosyl ester (ilexoside O)와 3-O-β-D-glucopyranosyl(1→2)-β-D-xylopyranosyl-pubescenolic acid 28-β-D-glucopyranosyl ester(ilexoside K) 두 종의 화합물을 분리하였다. 신나무에서 triterpenoid saponin의 불리는 본 연구가 처음이다.

인용문헌

1. 이창복(1980) 대한식물도감. 509. 향문사, 서울.
2. 육창수(1997) 생약도감, 319. 경원, 서울.
3. Bock, K., LaCour, N. F., Jensen, S. F. and Nielsen, B. J. (1980) The structure of accertannin. *Phytochemistry* **19**: 2033.
4. Song, C.Q., Zhang, N., Xu, R. S., Song, G. Q., Sheng, Yu. and Hong, S. H. (1982) Studies on the antibacterial constituents of the leaves of *Acer ginnala* Maxim. *Chem. Nat. Prod., Proc. Sino-Am. Sym.* 244-247.
5. Park, W.Y. (1996) Phenolic compounds from *Acer ginnala* Maxim. *Kor. J. Pharmacogn.* **27**(3): 212-218.
6. Sahpaz, S., Gupta, M. P. and Hostettmann, K. (2000) Triterpene saponins from *Randia formosa*. *Phytochemistry* **54**: 77-84.
7. Quyang, M. A., Wang, H. Q., Liu, Y. Q. and Yang, C. R. (1997) Triterpenoids saponins from the leaves of *Ilex latifolia*. *Phytochemistry* **45**: 15010-1505.
8. Han, Y. N., Baik, S. K., Kim, T. H. and Han. B. H. (1987) Triterpenoids of *Ilex pubescens*. *Arch. Pharm. Res.* **10**: 121-131.
9. Han, Y. N., Baik, S. K., Kim, T. H. and Han. B. H. (1987) New triterpenoid saponins of *Ilex pubescens*. *Arch. Pharm. Res.* **10**: 132-141.

(2002년 8월 8일 접수)