

장대나물의 식물화학적 성분

박희욱 · 백남인¹ · 김성훈² · 권병목³ · 정인식¹ · 박미현⁴ · 김상현⁵ · 김대근*
우석대학교 약학대학, ¹경희대학교 생명공학원 및 식물대사연구센터, ²경희대학교 동서의학대학원,
³한국생명공학원, ⁴(주)이룸라이프, ⁵조선대학교 의과대학

Phytochemical Components from the Whole Plants of *Arabis glabra* (L.) Bernh.

Hee Wook Park, Nam-In Baek¹, Sung-Hoon Kim², Byoung-Mog Kwon³, In-Sik Chung¹,
Mi-Hyun Park⁴, Sang-Hyun Kim⁵, and Dae Keun Kim*

College of Pharmacy, Woosuk University, Samnye 565-701, Korea

¹Graduate School of Biotechnology & Plant Metabolism Research Center, KyungHee University, Suwon 449-701, Korea

²Graduate School of East-West Medical Science, KyungHee University, Suwon 44-701, Korea

³Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, KIST, Daejeon 305-333, Korea

⁴Erom Life Co. Ltd., Seoul 135-825, Korea

⁵Research Center for Resistant Cells, College of Medicine, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

Abstract – Five compounds were isolated from the whole plant of *Arabis glabra* (Cruciferae) through repeated silica gel and Sephadex LH-20 column chromatography. Their chemical structure were elucidated as salicylic acid, 2,5-dihydroxybenzoic acid, astragalín, rutin, and quercetin-3,7-O- β -D-digluco-pyranoside by spectroscopic analysis.

Key words – *Arabis glabra*, Cruciferae, salicylic acid, 2,5-dihydroxybenzoic acid, astragalín, rutin, quercetin-3,7-O- β -D-digluco-pyranoside

장대나물 *Arabis glabra* (L.) Bernh.은 십자화과 (Cruciferae)에 속하는 2년초로서 한국의 전도에 나뉘며 북반구, 온대에 널리 분포한다. 장대나물은 높이가 70 cm까지 자라며, 밑부분의 잎은 털이 있으나 윗부분의 잎은 털이 없고 경생엽(莖生葉)은 피침형 또는 긴 타원형이며 줄기를 감싼다. 꽃은 4-6월에 엷은 황백색으로 피고 줄기 끝에 총상으로 달린다. 꽃잎은 4개이며 과실은 장각(長角)으로 길이 4-6 cm이며 종자는 2열로 배열한다.^{1,2)}

본 식물에 대한 식물 화학적 연구는 지금까지 보고된 바가 없었다. 따라서 본 식물의 기초적인 식물화학적 성분연구를 실시하여 장대나물 전초의 MeOH 추출물에서 2종의 benzoic acid 유도체와 3종의 flavonoid 화합물을 분리하였으며, 이들의 물리화학적 성상과 spectral data로부터 그 구조를 확인·동정하였기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 – 본 실험에 사용한 장대나물은 2002년 5월에 전북 순창군에서 채취하였으며, 정확히 감정한 후에 음건제 절하여 실험에 사용하였다.

시약 및 기기 – 실험에 사용한 기기로는 융점에 Electro-thermal melting point apparatus (Denmark)를 UV는 Shimadzu UV-1601 UV-Visible spectrophotometer (Japan)를 사용하였으며 IR spectrum은 Nicolet model 205 FT-IR spectrophotometer (Japan)로 측정하였다. ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR은 Jeol JMN-EX 400 spectrometer (Japan)를, EI-MS는 VG70-VSEQ (UK)로 측정하였다. 추출 및 분획용 시약은 1급 용매를 사용하였으며, TLC 및 column용 시약 등은 1급 용매를 재분류하여 사용하거나, 특급시약을 사용하였다. Column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel 60 (Art. 1.07734, 230-400 mesh, Merck)이며, molecular sieve column chromatography용 packing material은 Sephadex LH-20

*교신저자(E-mail) : dkkim@mail.woosuk.ac.kr
(FAX) : 063-290-1567

(Pharmacia)을 사용하였다. TLC plate는 Kiesel gel 60 F₂₅₄ (Art. 1.07752, Merck), low pressure liquid chromatography (LPLC)용 column은 Lobar-A Lichroprep Si 60 (Merck) column을 사용하였다. 발색시약으로는 10% H₂SO₄ (in EtOH) 시약을 사용하였으며, UV의 검색은 254, 365 nm에서 하였다.

추출 및 분리 - 신선한 장대나물 전초를 음건 세절한 다음 건조하여 얻은 시료 약 1.3 kg을 MeOH로 가끔 진탕하면서 5시간씩 50°C에서 2회 온침 추출하였다. 그 추출액을 수욕상에서 감압농축하여 MeOH 엑스 약 160 g을 얻었으며, 이 MeOH 엑스에 증류수 1 l를 가하여 현탁시키고 상법에 따라 동량의 *n*-hexane (8 g), CH₂Cl₂ (25 g), EtOAc (13 g) 및 *n*-BuOH (70 g)의 순으로 용매 분획하였다. *n*-hexane, CH₂Cl₂, EtOAc 및 *n*-BuOH 가용분획을 TLC상에서 10% H₂SO₄ 발색시약과 UV로 검색하여 뚜렷한 반점이 확인되지 않은 *n*-hexane분획을 제외한 나머지 분획을 silica gel column chromatography 및 Sephadex LH-20을 사용한 molecular sieve column chromatography와 Lobar-A Lichroprep Si 60 column을 사용한 low pressure liquid column chromatography 등을 반복 실시하여 화합물을 단리하였다. CH₂Cl₂ 분획 15 g을 *n*-hexane:CHCl₃:MeOH (8:8:1)를 용출용매로 silica gel column chromatography를 실시하여 6개의 subfraction으로 분획하였다(MC1~MC6). 그 중 MC5 subfraction을 Sephadex LH-20 column을 통과시키고 재결정을 실시하여 무색 고체 화합물 **1** (30 mg)을 얻었다. EtOAc 분획 8 g을 MeOH을 용출용매로 Sephadex LH-20 column을 통과시켜 4개의 subfraction으로 분획하였다(E1~E4). 그 중 E3 subfraction을 CHCl₃:MeOH:H₂O (20:10:1) 용매로 silica gel column chromatography를 실시하여 다시 2개 fraction으로 분획하였다(E31~E32). 이 중 E32 분획을 Lobar column (CHCl₃:MeOH:H₂O=20:10:1)으로 정제하여 무색 고체 화합물 **2** (15 mg)을 얻었다. *n*-BuOH 분획 40 g을 EtOAc:MeOH:H₂O (15:5:1)를 용출용매로 silica gel column chromatography를 실시하여 6개의 subfraction으로 분획하였다(B1~B6). 그 중 B1 subfraction을 MeOH을 용출용매로 Sephadex LH-20 column을 통과시켜 다시 6개의 fraction으로 분획하였다(B11~B16). B13 분획을 CHCl₃:MeOH:H₂O (20:10:1) 용매로 silica gel column chromatography를 실시하여 다시 2개 fraction으로 분획하였다(B131~B132). 이 중 B131 분획을 Lobar column (CHCl₃:MeOH:H₂O=20:10:1)으로 정제하여 미황색 고체 화합물 **3** (8 mg)을 얻었다. 화합물 **3**과 같이 진행하여 얻은 B132 분획을 Lobar column (CHCl₃:MeOH:H₂O=20:10:1)으로 정제하여 황색 고체 화합물 **4** (12 mg)을 얻었다. 화합물 **3**과 같이 진행하여 얻은 B14 분획을 재결정을 시도하여 미황색의 고체 화합물 **5** (15 mg)를 얻었다.

화합물 1 - mp 157~158°C; MS(EI, 70 eV, *m/z*) : 138

(M⁺), 120, 92 (100), 64; UV, λ_{max} (MeOH) 305, 290; IR, ν_{max}^{KBr} 3350 (OH), 1650 (COOH), 1540 cm⁻¹; ¹H-NMR, (400 MHz, CD₃OD) δ: 7.82 (1H, dd, *J*=7.6, 2.0 Hz, H-6), 7.41 (1H, m, H-4), 6.88 (1H, dd, *J*=8.4, 2.0 Hz, H-3), 6.84 (1H, m, H-5). ¹³C-NMR, (100 MHz, CD₃OD) : 173.5 (COO), 163.1 (C-2), 136.5 (C-4), 131.5 (C-6), 120.0 (C-3), 118.1 (C-5), 113.8 (C-1).

화합물 2 - mp 203~204°C; ¹H-NMR, (400 MHz, CD₃OD) δ: 7.30 (1H, d, *J*=2.8 Hz, H-6), 6.78 (1H, dd, *J*=8.0, 2.8 Hz, H-4), 6.65 (1H, d, *J*=8.0, H-3). ¹³C-NMR, (100 MHz, CD₃OD) δ: 176.5 (COO), 155.6 (C-2), 149.8 (C-5), 121.7 (C-4), 119.7 (C-3), 117.5 (C-6), 117.0 (C-2).

화합물 3 - mp 184~185°C; UV, λ_{max} (MeOH) 265, 303, 350; IR, ν_{max}^{KBr} 3425, 1660, 1020 cm⁻¹; ¹H-NMR, (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.54 (1H, s, 5-OH), 10.43 (2H, 7, 4'-OH), 8.01 (2H, d, *J*=8.8 Hz, H-2', 6'), 6.86 (2H, *J*=8.8 Hz, H-3', 5'), 6.42 (1H, d, *J*=1.8 Hz, H-8), 6.18 (1H, d, *J*=1.8 Hz, H-6), 5.39 (1H, d, *J*=7.2 Hz, Glc H-1), 3.60-3.09 (sugar H). ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆); (Table I).

화합물 4 - mp 187~189°C; UV, λ_{max} (MeOH) 260, 270sh, 298sh, 360; IR, ν_{max}^{KBr} 3400 (OH), 1650 (C=O) cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.56 (1H, s, 5-OH), 10.81, 9.67, 9.18 (each 1H, 7, 3', 4'-OH), 7.54 (2H, dd, *J*=8.5, 2.0 Hz, H-2', 6'), 6.85 (1H, d, *J*=8.8 Hz, H-5'), 6.41 (1H, d, *J*=1.8 Hz, H-8), 6.18 (1H, d, *J*=1.8 Hz, H-6), 5.30 (1H, d, *J*=7.0 Hz, Glc H-1), 4.40 (1H, brs, Rha H-1), 3.80 - 3.04 (sugar H), 1.00 (3H, d, *J*=6.0 Hz, Rha CH₃). ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆); (Table I).

화합물 5 - mp 219~220°C; UV, λ_{max} (MeOH) 258, 269sh, 358; IR, ν_{max}^{KBr} 3420 (OH), 1660 (C=O) cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.52 (1H, s, 5-OH), 7.61 (1H, d, *J*=2.8 Hz, H-2'), 7.57 (1H, dd, *J*=8.0, 2.8 Hz, H-6'), 7.18 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-5'), 6.43 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8), 6.20 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6), 5.44 (1H, d, *J*=7.2 Hz, H-1"), 4.86 (1H, d, *J*=6.8 Hz, H-1"). ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆); (Table I).

결과 및 고찰

장대나물 전초로부터 얻은 MeOH 엑스를 통상적인 방법으로 분획하여 *n*-hexane, CHCl₃, ethyl acetate 및 *n*-butanol 엑스를 제조하였다. 이 중 TLC 검색에서 10% H₂SO₄ 분무 시액에 양성 반응을 보인 CHCl₃, ethyl acetate 및 *n*-butanol 분획물을 silica gel과 Sephadex LH-20 column chromatography를 반복 실시하여 2종의 aromatic 화합물과 3종의 flavonoid 성분을 단리하였다.

Table I. ^{13}C -NMR spectral data of compounds 3-5

C	3	4	5
2	156.3	156.5	155.9
3	133.1	133.4	134.1
4	177.5	177.4	177.9
5	161.2	161.3	161.5
6	98.7	98.6	99.1
7	164.0	164.3	164.6
8	93.7	93.7	94.0
9	156.4	156.7	156.8
10	104.1	104.0	104.4
1'	120.9	121.3	121.4
2'	131.0	115.4	115.6
3'	115.1	144.8	116.9
4'	160.1	148.5	146.3
5'	115.1	116.4	116.9
6'	131.0	121.6	124.7
1''	100.4	101.3	101.5
2''	74.3	74.3	74.4
3''	77.5	76.5	76.7
4''	70.0	70.1	70.2
5''	76.4	76.0	77.8
6''	61.0	67.1	61.2
1'''		100.8	101.0
2'''		70.5	73.5
3'''		70.7	76.1
4'''		71.9	70.0
5'''		68.3	77.4
6'''		17.9	61.0

Recorded at 100 MHz in DMSO- d_6

화합물 1은 mp 157~158°C의 무색 침상 결정으로서 UV 365 nm에서 파란 형광으로 관찰되었으며, EIMS에서 분자량이 138로 나타났다. ^1H -NMR spectrum에서 δ 7.82 (1H, dd, $J=7.6, 2.0$ Hz), 7.41 (1H, m), 6.88 (1H, dd, $J=8.4, 2.0$ Hz), 6.84 (1H, m)에서 4개의 proton signal만이 관찰되었다. ^{13}C -NMR spectrum에서는 총 7개의 carbon signal을 관찰할 수 있었으며, δ 173.5의 signal은 carbonyl carbon으로 나머지 peak (δ 163.1, 136.5, 131.5, 120.0, 118.1, 113.8)는 aromatic 영역의 carbon임을 추정할 수 있었다. 이상의 결과를 검토한 결과 화합물 1은 carbonyl기 1개를 포함한 2치환된 aromatic 화합물임을 추정할 수 있었으며, 기존 문헌³⁾과 비교하여 salicylic acid로 확인 동정하였다.

화합물 2는 mp 203~204°C의 무색 침상 결정으로서 UV 365 nm에서 파란 형광으로 관찰되었다. ^1H -NMR spectrum에서 δ 7.30 (1H, d, $J=2.8$ Hz), 6.78 (1H, dd, $J=8.0, 2.8$ Hz), 6.65 (1H, d, $J=8.0$ Hz)에서 3개의 proton signal이 확인되었다. ^{13}C -NMR spectrum에서는 총 7개의 carbon signal을 관찰할 수 있었는데, δ 176.5의 signal은 carbonyl carbon으로 나머지 peak (δ 155.6, 149.8, 121.7, 119.7, 117.5, 117.0)는 aromatic 영역의 carbon임을 추정할 수 있었다.

이상의 결과를 검토한 결과 화합물 2는 carbonyl기 1개를 포함하여 3치환된 aromatic 화합물임을 추정할 수 있었으며, 기존 문헌⁴⁾과 비교하여 2,5-dihydroxybenzoic acid로 확인 동정하였다.

화합물 3은 mp 184~185°C의 미황색 분말로서 flavonoid 정색반응인 FeCl_3 , Mg-HCl , Zn-HCl 에 양성을 나타내었고, Molish test에도 양성을 나타내어 flavonoid glycoside로 추정하였다. UV spectrum에서 band I 및 II에 기인하는 흡수가 350과 265 nm에서 관찰되므로 flavonol의 3번 OH가 치환된 flavonol-3-O-glycoside임을 추정^{5,6)}할 수 있었으며, 산 가수분해 결과 glucose와 aglycone으로서 kaempferol임을 확인하였다.

^1H -NMR spectrum은 δ 8.01과 6.86에서 *ortho* coupling ($J=8.8$ Hz)하는 각 2개의 proton에 의한 doublet이 관찰되었고, δ 6.42, 6.18에서 6, 8번으로 추정되는 proton이 *meta* coupling으로 나타나고 있음을 확인하였다. δ 3.09 - 3.60에서 sugar proton에 의한 signal이 존재하고 δ 5.39에서는 glucose의 anomeric proton signal이 $J=7.2$ Hz의 doublet으로 관찰되므로 β 결합을 하고 있는 glucose 1 mol을 알 수 있었으며, 이는 ^{13}C -NMR spectrum에서도 확인할 수 있었다.

이상의 결과로 화합물 3은 kaempferol-3-O- β -D-glucopyranoside (astragalol)으로 추정하였으며, 기존 문헌 data^{7,8)}와 비교하여 이를 확정하였다.

화합물 4는 mp 187~189°C의 황색 분말로서 flavonoid 정색반응인 FeCl_3 , Mg-HCl , Zn-HCl 에 양성을 나타냈고, Molish test에도 양성을 나타내어 flavonoid glycoside로 추정하였다. UV spectrum에서 band I 및 II에 기인하는 흡수가 360과 260 nm에서 관찰되므로 flavonol의 3번 OH가 치환된 flavonol-3-O-glycoside임을 추정^{5,6)}할 수 있었으며, 산 가수분해 결과 glucose와 rhamnose 및 aglycone으로서 quercetin임을 표품과 비교하여 확인하였다.

^1H -NMR spectrum은 δ 5.30 (d, $J=7.0$ Hz)과 4.40에서 glucose와 rhamnose의 anomeric proton signal이 관찰되었으며, δ 1.00 (3H, d, $J=6.0$ Hz)은 rhamnose의 methyl로 추정되는 peak가 관찰되었다. ^{13}C -NMR spectrum에서도 δ 101.3과 100.8에서 2개의 anomeric carbon signal로 추정되는 peak가 관찰되어 2 mol의 sugar가 결합되어 있음을 확인할 수 있었다.

이상의 결과로 화합물 4는 quercetin에 sugar 부분으로 glucose와 rhamnose로 이루어진 rutinose를 가지고 있는 화합물로 추정하였으며, 문헌⁹⁻¹¹⁾조사 결과 quercetin-3-O- $[\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside] (rutin)으로 확정하였다.

화합물 5는 mp 219~220°C의 미황색 분말로서 flavonoid 정색반응인 FeCl_3 , Mg-HCl , Zn-HCl 에 양성을 나타내었고, Molish test에도 양성을 나타내어 flavonoid glycoside로 추정

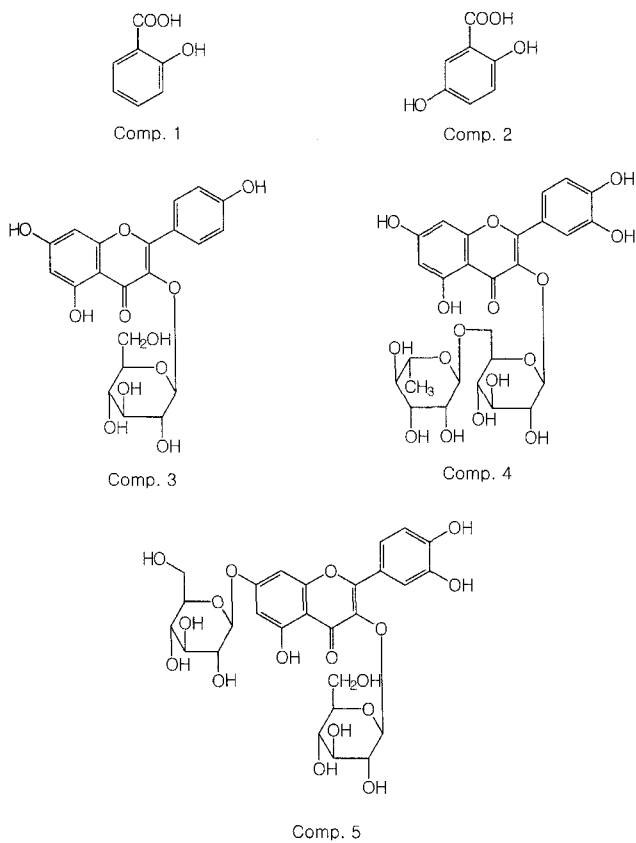


Fig. 1. Structures of compounds 1-5.

하였다. 산 가수분해 결과 glucose와 aglycone으로서 quercetin 임을 표품과 비교하여 확인하였다.

¹H-NMR spectrum은 olefinic field의 δ 6.20 (1H, d, J=2.0 Hz), 6.43 (1H, d, J=2.0 Hz)의 signal은 A-ring의 H-6, H-8이 meta coupling하여 doublet로 나타났으며, δ 7.61 (1H, d, J=2.8 Hz), 7.57 (1H, dd, J=8.0, 2.8 Hz), 7.18 (1H, d, J=8.0 Hz)에서 전형적인 ABX coupling system으로 관찰되어 B-ring의 3와 4가 치환된 화합물임을 추정할 수 있었다. 또한 δ 5.44 (1H, d, J=7.2 Hz)와 4.86 (1H, d, J=6.8 Hz)에서 2개의 anomeric proton signal이 관찰되었다. ¹³C-NMR spectrum에서도 δ 101.5와 101.0에서 2개의 anomeric carbon signal로 추정되는 peak가 관찰되어 2 mol의 sugar가 결합되어 있음을 확인할 수 있었다.

이상의 결과로 화합물 5는 2개 glucose가 결합된 quercetin으로 추정하였으며, 문헌¹²⁾조사 결과 quercetin-3,7-O-β-D-digluconopyranoside로 확정하였다.

결 론

장대나물 전초의 MeOH추출물 중 methylene chloride분획 및 ethyl acetate분획과 n-BuOH분획에서 5종의 화합물을

단리하였으며, 이들의 물리화학적 성상과 spectral data로부터 구조를 확인한 결과 salicylic acid (1), 2,5-dihydroxybenzoic acid (2), kaempferol-3-O-β-D-glucopyranoside (astragaloside) (3), quercetin-3-O-[α-L-rhamnopyranosyl(1→6)-β-D-glucopyranoside] (rutin) (4), quercetin-3,7-O-β-D-digluconopyranoside (5)로 각각 확인·동정하였다.

이 화합물들은 모두 본 식물로부터 처음 분리·보고되는 화합물이다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린 21 사업에서 지원하는 연구비에 의해 연구되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. 이창복 (1986) 대한식물도감, 396, 향문사, 서울.
2. 이우철 (1996) 원색한국기준식물도감, 135, 아카데미서적, 서울.
3. Han, B. H., Park, M. H., and Han, Y. N. (1981) Studies on the antioxidant components of Korean ginseng (III)-Identification of phenolic acids. *Arch. Pharm. Res.* **4**(1): 53-58.
4. Scott, K. N. (1972) Carbon-13 nuclear magnetic resonance of biologically important aromatic acids. I-Chemical shifts of benzoic acid and derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* **94**(24): 8564-8568.
5. Markham, K. R. (1982) Techniques of flavonoid identification. 36-51, Academic Press, London.
6. Mabry, T. J., Markham, K. R., and Thomas, M. B. (1970) The systematic identification of flavonoids, 33-40, Springer-Verlag, New York.
7. Do, J. C., Yu, Y. J., Jung, K. Y., and Son, K. H. (1992) Flavonoids from the leaves of *Polygala japonica*. *Kor. J. Pharmacogn.* **23**: 9-13.
8. Do, J. C., Jung, K. Y., and Son, K. H. (1992) Flavonoid glycosides from the fronds of *Pyrrosia lingua*. *Kor. J. Pharmacogn.* **23**: 276-279.
9. Kim, S. H., Hwang, K. T., and Park, J. C. (1992) Isolation of flavonoids and determination of rutin from the leaves of *Ulmus parviflora*. *Kor. J. Pharmacogn.* **23**: 229.
10. Markham, K. R. and Chari, V. M. (1992) The Flavonoids. Chapman and Hall, London, New York, 19.
11. Hasan, A., Anne, K., Jay, M., and Voirin, V. (1995) Flavonoid glycosides and anthraquinone from *Rumex chalepensis*. *Phytochemistry.* **39**: 1211.
12. Averett, J. E. and Mabry, T. J. (1971) Flavonoids of the American species of *Leucophysalis* (Solanaceae). *Phytochemistry* **10**: 2199-2200.

(2004년 10월 24일 접수)