

## 적콜라비 (*Brassica oleracea* var. *gongylodes*) 새싹으로부터 sterol 화합물의 분리 및 동정

이재웅<sup>1</sup> · 이대영<sup>2</sup> · 조진경<sup>2</sup> · 백남인<sup>2</sup> · 이윤형<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>경희대학교 원예생명공학과, <sup>2</sup>경희대학교 생명공학원 및 생명자원과학연구원

## Isolation and Identification of Sterol Compounds from the Red Kohlrabi (*Brassica oleracea* var. *gongylodes*) Sprouts

Jae-Woong Lee<sup>1</sup>, Dae-Young Lee, Jin-Gyeong Cho<sup>2</sup>, Nam-In Baek<sup>2</sup>, and Youn-Hyung Lee<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Horticultural Biotechnology, Kyung Hee University, Yongin 446-701, Korea

<sup>2</sup>Graduate School of Biotechnology & Institute of Life Sciences & Resources, Kyung Hee University, Yongin 446-701, Korea

Received June 15, 2010; Accepted November 15, 2010

The sprouts of *Brassica oleracea* var. *gongylodes* were extracted with 100% MeOH and the concentrated extract was partitioned with EtOAc, *n*-BuOH and H<sub>2</sub>O, successively. From the EtOAc fraction, three sterols were isolated through the repeated silica gel and ODS column chromatographies. On the basis of physico-chemical and spectroscopic data including NMR, MS, and IR, the chemical structures of the sterols were determined as  $\beta$ -sitosterol (1), brassicasterol (2), and 7-ketobrassicasterol (3). Compound 1 is usually observed in plant. Compounds 2 is observed in *Brassica* sp., and compounds 3 have very rarely occurred in natural source including plant.

**Key words:** brassicasterol, 7-ketobrassicasterol, red Kohlrabi, sprout,  $\beta$ -sitosterol

### 서 론

새싹채소는 짧은 기간 동안에 종자에서 발생하는 싹을 키워 생육 초기의 어린 배축(胚軸)과 떡잎을 식용으로 하거나, 숙근 초 등의 뿌리나 줄기를 묻어 읊을 뜨게 하여 그 싹을 식용으로 하는 채소를 말한다[Kim 등, 2006]. 전통적으로 먹어온 콩나물과 숙주나물이 새싹채소의 1세대라면, 최근에는 well-being이라는 추세로 인해 다양한 종류의 새싹채소들이 판매되고 있다.

새싹채소는 그 생육기간이 짧아 농약을 사용하지 않아 다른 채소에 비해 농약오염에 대한 걱정을 줄일 수 있고, 새싹이 돋아나는 시기에는 식물체의 성장과 생명유지에 필요한 영양소를 다량 합성하게 된다[Kim 등, 2006]. 1997년 미국 Johns Hopkins 대학의 Fahey 등이 broccoli에 함유된 항암물질인 sulforaphane의 함유량이 다 자란 broccoli보다 broccoli 새싹에서 40배 이상 많이 함유되어 있다는 것을 발견하고 나서부터 새싹채소가 사회에서 주목을 받기 시작 하였다[Fahey 등, 1997; Fahey 등, 2002]. 새싹채소가 각종 언론 매체들에 소개가 되기

시작하면서 새싹채소나 새싹채소용 종자를 판매 하는 곳들이 점점 늘어나고 있다. 각종 언론 매체나 새싹채소 판매처에서는 새싹채소들의 다양한 효능을 선전하고 있지만 효능에 대한 연구결과가 입증 된 경우는 극히 일부분이며, 대부분은 성체의 효능을 그대로 적어 놓았거나 아니면 민간에서 전해지고 있는 이야기를 적어 놓은 것이 대부분이다. 이에 아직 까지 연구가 이루어져 있지 않은 kohlrabi의 새싹을 선정하여 kohlrabi 새싹에서 이차대사 산물을 분리 후, 분리 된 성분들의 효능을 통해 kohlrabi 새싹의 기능성 식품으로써의 활용성을 알아보려고 실험을 진행하였다.

실험에 사용된 식물인 kohlrabi(*Brassica oleracea* var. *gongylodes*)는 양귀비목(Papaveraceae) 배추과(Brassicaceae)에 속하는 2년생 채소이다. 품종은 크게 아시아군과 서유럽군으로 분류하는데, 아시아군은 잎의 색깔이 회색을 띤 녹색이고, 구경은 녹색이고 표면이 거칠다. 서유럽군은 구경이 자주색이고 표면이 매끄러우며 흰 납질로 덮여 있다[Bailey, 1975]. 꽃은 배추와 유사하며 총상꽃차례로 달리고, 종자는 꼬투리에 착생하며 직경은 약 1.8 mm이다. 지상 2~5 cm 부분에서 줄기가 비대하여 순무와 비슷한 모양이 되는데, 비대한 줄기의 지름은 8~10 cm이다[Marinova 등, 2008]. Kohlrabi의 최초재배는 기원전 8세기에 그리스, 로마시대부터 이루어졌을 것으로 추측되고, 중세기에 지중해의 북쪽 해안지대에서 개량된 것으로 추정된다. 개량된

\*Corresponding author

Phone: +82-31-201-2670; Fax: +82-31-273-2674

E-mail: younlee@khu.ac.kr

kohlrabi의 최초 재배는 1734년 아일랜드에서 이루어졌다고 기록되어 있다[Bailey, 1975]. 현재의 기본적인 재배품종은 독일에서 개량 하였다. 미국에는 19세기에 전파되었으며, 일본에는 19세기 후반에 전래되었다. 한국에서는 1800년대 초에 시험재배가 이루어진 것으로 추정된다. 현재 한국에서의 kohlrabi 재배는 주로 제주도와 충북 옥천군에 한정되어 있으며, 아직까지 한국인에게는 다소 생소한 채소이다. Kohlrabi의 효능으로는 항암작용과 면역력 향상작용이 우수하고, 소염(消炎), 냉증(冷症), 신경통, 요통, 어깨 결림에 특효라고 민간에서 전해지고 있지만 과학적 근거는 없다. Kohlrabi 성체의 성분 연구는 거의 이루어져 있지 않고[Gross 등, 1994; Macleod 등, 1990], kohlrabi 새싹의 경우도 연구가 전혀 이루어져 있지 않다.

따라서 본 연구에서는 kohlrabi 새싹의 기능성 건강 식품이나 의약품의 소재로서의 활용성을 알아보기 위해 kohlrabi 새싹에서 유용한 활성을 가지는 이차대사산물을 분리하고자 실험을 진행하였고, 그 결과 3종의 sterol을 분리하였기에 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

**공시재료.** 본 실험에 사용한 kohlrabi 새싹은 최아 후 7일차 새싹으로, 서울 강북구 수유동에 소재한 새싹채소 판매 회사인 새싹동산에서 구입하였다. 구입한 새싹은 4 아이스박스에서 넣어 가급적 빠른 시간 내에 실험실로 운반한 후 실험에 사용하였다.

**기기 및 시약.** 시료의 추출과 분획에 사용한 유기 용매는 대정화학주식회사(Siheung, Korea)에서 생산한 1급 시약을 사용하였다. Open column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel 60(Merck, Darmstadt, Germany)을, octadecylsilica gel(ODS)은 LiChroprep RP-18(Merck)의 제품을 사용하였다. Thin layer chromatography(TLC)는 Kieselgel 60 F<sub>254</sub>(Merck)와 RP-18 F<sub>254s</sub>(Merck)를 사용하였고, TLC 상의 물질 검출에는 UV lamp(Spectroline, Model ENF-240 C/F, Spectronics Corporation, Westbury, NY, USA)로 확인 후, 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 분무한 후 가열하여 발색양상을 조사하였다. NMR 스펙트럼은 Varian Inova AS 400(Varian, Palo Alto, CA, USA)으로 측정 하였다. IR 스펙트럼은 Perkin model 599B(Perkin-Elmer, Buckinghamshire, England)로 측정하였고, EI/MS는 JMSAX 505-WA(JEOL, Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였다. 녹는점은 Stanford Research System 용점측정기(SRS, Sunnyvale, CA, USA)를 사용하여 측정하였으며, 비선광도는 Polarimeter P-1020(JASCO, Tokyo, Japan)을 사용하여 측정하였다.

**Kohlrabi 새싹의 용매 추출 및 분획.** Kohlrabi 새싹(생체중 10 kg)을 100% MeOH 용액(40 L)으로 24시간 실온에서 추출 하였다. 얻어진 추출물을 여과지로 여과하고, 남은 잔사물 100% MeOH 용액(40 L)으로 2회 더 추출하였다. 얻어진 여액을 모두 합치고 45°C에서 감압 농축하였다. 얻어진 농축물을 EtOAc(3 L×3)와 H<sub>2</sub>O(3 L)로 분배 추출하였으며, EtOAc층을 제하고 남은 H<sub>2</sub>O층을 *n*-BuOH(3 L×3)로 추출 하였다. EtOAc 층을 감압 농축하여 EtOAc 분획물(70 g, BOGE)을 얻었다.

**Kohlrabi 새싹 추출물로부터 sterol 화합물의 분리.** EtOAc

분획(70 g)으로부터 SiO<sub>2</sub> column chromatography(c.c.)(φ 10×24 cm, CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O=50:3:1→25:3:1→25:3:1→12:3:1→9:3:1→6:3:1)를 실시하여 200 mL씩 분취하였다. 각 분취액을 TLC(CHCl<sub>3</sub>-MeOH=10:1, CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O=6:3:1)로 확인하여 유사한 부분들을 함께 모으고 농축하여 19개의 분획물(BOGE-1~BOGE-19)을 얻었다. 얻어진 BOGE-2 분획[25 g, Ve/Vt (elution volume/total volume) 0.10-0.45]에 대하여 flash column chromatography(KP-Sil 100 g, *n*-hexane-EtOAc=20:1→10:1→5:1→1:1)를 실시하여 15개의 분획(BOGE-2-1~BOGE-2-15)을 얻었다. 이 중에서 BOGE-2-7 분획(4 g, Ve/Vt 0.44-0.65)에 대하여 다시 flash column chromatography(KP-Sil 100 g, *n*-hexane-EtOAc=10:1→5:1→2:1→1:1)를 실시하여 13개의 분획(BOGE-2-7-1~BOGE-2-7-13)으로 나누었다. 이 중에서 BOGE-2-7-7 분획(1.44 g, Ve/Vt 0.44-0.60)에 대하여 ODS c.c.(φ 4×14.5 cm, MeOH-H<sub>2</sub>O=30:1→50:1→100:1)를 실시하여 16개의 분획(BOGE-2-7-7-1~BOGE-2-7-7-16)으로 나누었다. 그 결과, 화합물 1[BOGE-2-7-7-13, 500 mg, Ve/Vt 0.93-0.99, TLC(SiO<sub>2</sub> F<sub>254</sub>) Rf 0.5, *n*-hexane-EtOAc=3:1]을 분리하였다. BOGE-2-7-7-11 분획[80 mg, Ve/Vt 0.78-0.85]을 상온의 MeOH에 녹였을 때 결정이 생기는 것을 확인 하여, 결정을 syringe filter(DISMIC-25HP 0.20 μm)를 이용하여 여과시킨 후 결정을 다시 CHCl<sub>3</sub>에 녹여 3개의 분획(BOGE-2-7-7-11-1~BOGE-2-7-7-11-3)을 얻었다. 그 결과, 화합물 2[BOGE-2-7-7-11-2, 29 mg, Ve/Vt 0.50-0.70, TLC(ODS F254<sub>s</sub>) Rf 0.2, MeOH-H<sub>2</sub>O=100:1]를 분리하였다. BOGE-2-10 분획[1.3 g, Ve/Vt 0.78-0.86]에 대하여 flash column chromatography(KP-Sil 100 g, *n*-hexane-EtOAc=3:1→2:1)를 실시하여 8개의 분획(BOGE-2-10-1~BOGE-2-10-8)을 얻었다. 이 중에서 BOGE-2-10-4 분획(230 mg, Ve/Vt 0.55-0.66)에 대하여 다시 ODS c.c.(φ 3.5×7.5 cm, MeOH-H<sub>2</sub>O=10:1)를 실시하여 10개의 분획(BOGE-2-10-4-1~BOGE-2-10-4-10)으로 나누었다. 그 결과, 화합물 3[BOGE-2-10-4-5, 44 mg, Ve/Vt 0.44-0.63, TLC(ODS F254<sub>s</sub>) Rf 0.25, MeOH-H<sub>2</sub>O=30:1]을 분리하였다.

화합물 1( $\beta$ -sitosterol): white powder, m.p. 136-140°C; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub> -37° (*c*=0.6, CHCl<sub>3</sub>); EI/MS *m/z* 414 [M]<sup>+</sup>; IR $\nu$  (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>) 3400, 1640, 1050, 845, 830, 802; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ <sub>H</sub>) 5.32 (1H, br. d, *J*=4.8 Hz, H-6), 3.49 (1H, m, H-3), 0.98 (3H, s, H-19), 0.89 (3H, d, *J*=6.4 Hz, H-21), 0.83 (3H, d, *J*=7.6 Hz, H-26), 0.82 (3H, t, *J*=7.6 Hz, H-29), 0.79 (3H, d, *J*=8.4 Hz, H-27), 0.65 (3H, s, H-18); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ <sub>C</sub>) Table 1.

화합물 2(brassicasterol): colorless needles, m.p. 154-156°C; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub> -65.7° (*c*=0.37, CHCl<sub>3</sub>); EI/MS *m/z* 398 [M]<sup>+</sup>, 383 [M-Me]<sup>+</sup>, 380 [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 365 [M-H<sub>2</sub>O-Me]<sup>+</sup>, 337 [M-C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>O]<sup>+</sup>, 271 [M-C<sub>9</sub>H<sub>17</sub>-2H]<sup>+</sup>, 255 [M-C<sub>9</sub>H<sub>17</sub>-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>; IR $\nu$  (KBr, cm<sup>-1</sup>) 3427, 2948, 2862, 1665, 1458, 1382, 1048, 968; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ <sub>H</sub>) 5.32 (1H, d, *J*=5.2 Hz, H-6), 5.16 (1H, m, H-23), 5.14 (1H, m, H-22), 3.49 (1H, m, H-3), 0.99 (3H, s, H-19), 0.98 (3H, d, *J*=6.4 Hz, H-27), 0.89 (3H, d, *J*=6.8 Hz, H-21), 0.81 (3H, d, *J*=6.8 Hz, H-28),

**Table 1.**  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{C}}$ ) chemical shifts of compounds 1, 2, and 3.

Carbon number	Compound 1	Compound 2	Compound 3
1	37.29	37.54	36.39
2	31.68	31.95	29.75
3	71.75	72.04	70.47
4	42.30	42.58	41.85
5	140.63	140.88	165.09
6	121.61	121.87	125.96
7	31.94	32.20	202.12
8	31.94	33.39	45.42
9	50.14	50.43	49.97
10	36.53	36.81	38.33
11	21.14	21.38	28.68
12	39.80	39.96	38.61
13	42.34	42.52	43.04
14	56.76	57.10	50.04
15	24.35	24.59	26.39
16	28.30	28.88	31.21
17	56.06	56.27	54.76
18	11.93	12.40	12.31
19	19.46	20.28	17.39
20	36.18	40.45	39.94
21	18.84	21.27	21.26
22	33.98	135.97	135.52
23	26.11	131.86	131.82
24	45.84	43.09	42.87
25	29.19	32.20	33.14
26	19.10	19.96	20.04
27	19.88	19.72	19.71
28	23.12	17.93	17.72
29	12.05		

0.79 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-26), 0.67 (3H, s, H-18);  $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{C}}$ ) Table 1.

화합물 3(7-ketobrassicasterol): green powder, m.p. 125-130  $^{\circ}\text{C}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}} -62^{\circ}$  ( $c=0.19$ ,  $\text{CHCl}_3$ ); EI/MS  $m/z$  412  $[\text{M}]^+$ , 412  $[\text{M}-\text{Me}]^+$ , 397  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ , 394  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}-\text{Me}]^+$ ; IR  $\nu$  (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 3349, 2956, 2871, 1712, 1677, 1458, 1370, 1045;  $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{H}}$ ) 5.67 (1H, d,  $J=1.6$  Hz, H-6), 5.17 (2H, overlap, H-22, H-23), 3.65 (1H, m, H-3), 1.18 (3H, s, H-19), 1.00 (3H, d,  $J=6.4$  Hz, H-21), 0.90 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-28), 0.82 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-26), 0.80 (3H, d,  $J=6.4$  Hz, H-27), 0.68 (3H, s, H-18);  $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{C}}$ ) Table 1.

## 결과 및 고찰

**Kohlrabi 새싹으로부터 sterol 화합물의 분리.** 콜라비 새싹을 100% MeOH로 추출하였고, 추출물을 극성에 따라 EtOAc, *n*-BuOH,  $\text{H}_2\text{O}$ 로 분배하였다. 3개의 분획 중 EtOAc 분획에 대하여  $\text{SiO}_2$ 와 ODS를 고정상으로 한 open column chromatography와 flash column chromatography를 반복 수행하여 화합물 1-3

을 분리하였다.

**화합물 1의 구조 동정.** 화합물 1(white powder)은 TLC로 전개하고 10%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 를 이용하여 발색 시 적색으로 발색되었다.  $[\alpha]_{\text{D}}$  값은  $-37^{\circ}$  ( $c=0.6$ ,  $\text{CHCl}_3$ )로 확인 되었다. EI/MS에서의 분자이온 피크( $m/z$  414  $[\text{M}]^+$ )로부터 분자량이 414로 결정되었다. IR 스펙트럼에서 3400(O-H stretching), 1640(C=C stretching), 그리고 1050(C-O stretching)의 작용기를 갖는 것으로 확인하였다.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum(400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{H}}$ )을 살펴보면 저자장 영역에서 olefine methine proton signal( $\delta_{\text{H}}$  5.32) 1개와 oxygenated-methine proton signal( $\delta_{\text{H}}$  3.49) 1개가 발견되었다. 고자장 영역에서 다수의 methyl, methylene, 및 methine signal이 관측되어 triterpenoid 혹은 steroid로 추정 하였다. Methyl기의 개수는 총 6개로 singlet methyl proton signal( $\delta_{\text{H}}$  0.98, 0.65) 2개와, doublet methyl proton signal( $\delta_{\text{H}}$  0.89, 0.83, 0.79) 3개, triplet methyl proton signal( $\delta_{\text{H}}$  0.82) 1개가 관측되었고 이를 통해 sterol화합물 중에서 stigmastane골격의 sterol로 추정하였다.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum(100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{C}}$ )에서 모두 29개의 signal이 관측되어, stigmastane골격의 sterol임이 확인되었다. DEPT(Distortionless Enhanced by Polarization Transfer) 실험을 통하여 각 탄소의 다중도를 확인하였다. 1개의 olefine quaternary carbon signal( $\delta_{\text{C}}$  140.63)과 1개의 olefine methine carbon signal( $\delta_{\text{C}}$  121.61)이 관측되어 이중결합이 존재함이 확인되었다. 또한 1개의 oxygenated-methine carbon signal( $\delta_{\text{C}}$  71.75)이 관측되어 hydroxyl기가 하나 존재하는 것을 확인하였다. 고자장 영역에서는 6개의 methyl carbon signal( $\delta_{\text{C}}$  11.93, 12.05, 18.84, 19.10, 19.46, 19.88)이 관측되었다. 이 화합물의 스펙트럼 데이터를 문헌 값[Song 등, 2003; Kim 등 2004]과 비교한 결과 stigmast-5-en-3 $\beta$ -ol( $\beta$ -sitosterol)로 동정하였다.  $\beta$ -Sitosterol은 대부분의 식물체에 존재하는 화합물로 주요 활성으로는 항바이러스활성, 항염증활성, 해열작용을 나타내는 것으로 보고되고 있다[Corbella, 1997].

**화합물 2의 구조 동정.** 화합물 2(colorless crystals)는 TLC로 전개하고 10%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 를 이용하여 발색 시 균등색으로 발색되었다.  $[\alpha]_{\text{D}}$  값은  $-65.7^{\circ}$  ( $c=0.37$ ,  $\text{CHCl}_3$ )로 확인 되었다. EI/MS에서의 분자이온 피크( $m/z$  398  $[\text{M}]^+$ )로부터 분자량이 398로 결정되었다. IR 스펙트럼에서 3427(O-H stretching), 1665(C=C stretching), 그리고 1048(C-O stretching)의 작용기를 갖는 것으로 확인하였다.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum(400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{H}}$ )을 살펴보면, 화합물 1과 유사한 양상을 보였다. 저자장 영역에서 olefine methine proton signal( $\delta_{\text{H}}$  5.32 (H-6), 5.16 (H-23), 5.14 (H-22)) 3개, oxygenated-methine proton signal( $\delta_{\text{H}}$  3.49) 1개가 발견되었고, 고자장 영역에서 다수의 methyl, methylene, 및 methine signal이 관측되어 triterpenoid 혹은 steroid로 추정할 수 있었다. Methyl기의 개수는 총 6개로 singlet methyl proton signal( $\delta_{\text{H}}$  0.99, 0.67) 2개와, doublet methyl proton signal( $\delta_{\text{H}}$  0.98, 0.89, 0.81, 0.79) 4개가 관측되었다. 따라서 sterol화합물 중에서 ergostane 골격의 sterol로 추정하였다.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum(100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{C}}$ ) 및 DEPT 실험에서 모두 28개의 signal이 존재하는 것을 통해 ergostane골격의 sterol임을 확인하였다. 1개의 olefine quaternary carbon signal( $\delta_{\text{C}}$

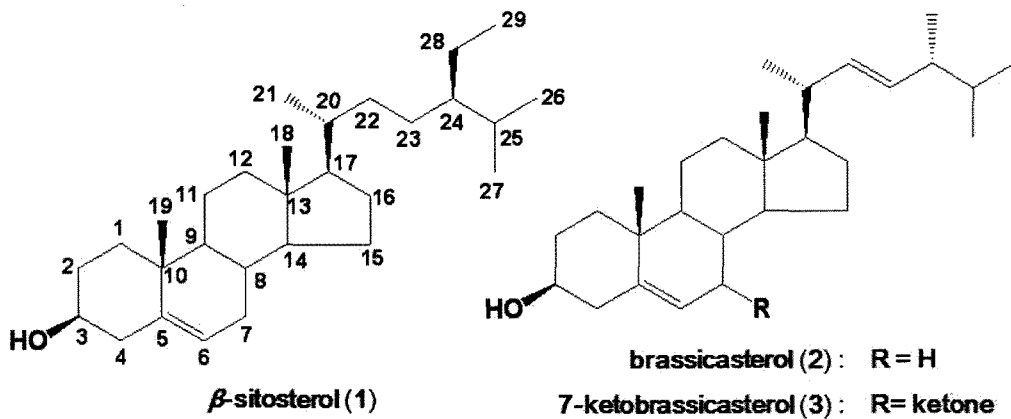


Fig. 1. Structures of compounds 1, 2, and 3 from the red kohlrabi sprouts.

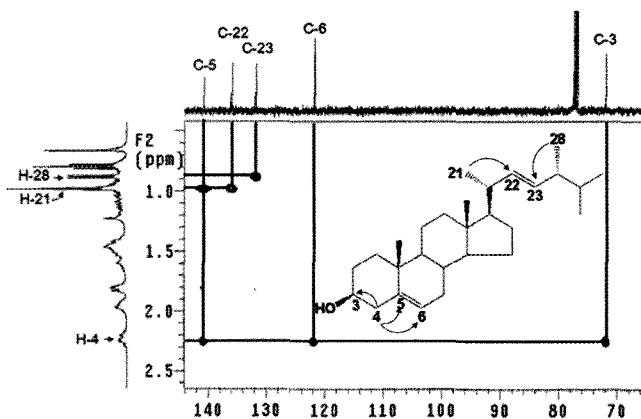


Fig. 2. HMBC spectrum of compound 2 ( $\text{CDCl}_3$ ) from the red kohlrabi sprouts. Arrows indicate correlations between  $^1\text{H}$ -NMR signals and  $^{13}\text{C}$ -NMR signals in the HMBC spectrum.

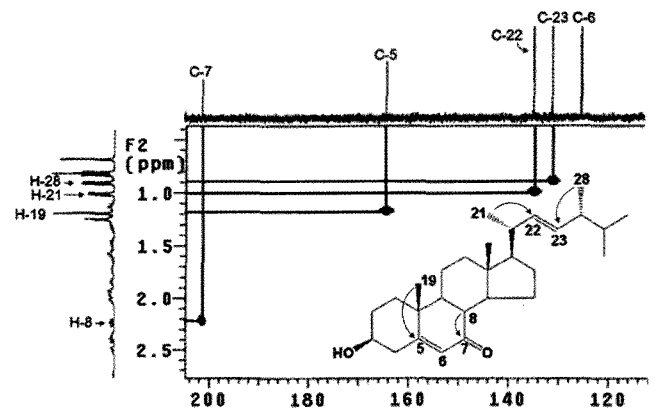


Fig. 3. HMBC spectrum of compound 3 ( $\text{CDCl}_3$ ) from the red kohlrabi sprouts. Arrows indicate correlations between  $^1\text{H}$ -NMR signals and  $^{13}\text{C}$ -NMR signals in the HMBC spectrum.

140.88]과 3개의 olefine methine carbon signal [ $\delta$  121.87(C-6), 131.86 (C-23), 135.97 (C-22)]이 관측되어 이중결합이 2개 존재함이 확인되었다. 또한 1개의 oxygenated-methine carbon signal [ $\delta$  72.04]이 관측되어 hydroxyl기가 하나 존재하는 것을 확인하였다. 고자장 영역에서는 6개의 methyl carbon signal [ $\delta$  12.40, 17.93, 19.72, 19.96, 20.28, 21.27]이 관측되었다. 이웃하는 탄소와 수소의 연결고리를 확인 할 수 있는 HMBC 실험을 통해 이중결합의 위치를 확인 하였다(Fig. 2). H-4번 methylene proton signal [ $\delta_{\text{H}}$  2.25]이 olefine quaternary carbon signal [ $\delta$  140.88 (C-5)]과 olefine methane carbon signal [ $\delta$  121.87 (C-6)], 그리고 oxygenated-methine carbon signal [ $\delta$  72.04 (C-3)]에 correlation을 보이는 것을 통해 5번과 6번에 이중결합이 있음을 확인하였다. 또한 H-21과 H-28 doublet methyl proton signal [ $\delta_{\text{H}}$  0.81, 0.89]이 2개의 olefine methine carbon signal [ $\delta$  131.86 (C-22), 135.97 (C-23)]과 각각 correlation을 보이는 것을 통해 22번과 23번에 이중결합이 있음을 확인하였다. 따라서 화합물 2는 배추과 식물에서 흔히 발견되는 (24S)-methylcholest-5,22-dien-3 $\beta$ -ol(brassicasterol)로 구조동정 하였다. Brassicasterol은 배추과 식물에서만 주로 발견되는 물질로 항암 작용[Malikova 등, 2008]과, 미생물 증식 억제작용, 항염증작용이 보고되어 있다[Corbella, 1997].

화합물 3의 구조 동정. 화합물 3(green powder)는 UV파장 365 nm를 이용하여 UV를 비추었을 때 붉은 색의 spot으로 보였고, TLC로 전개하고 10%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 를 이용하여 발색 시 황색으로 발색되었다. [ $\alpha$ ]<sub>D</sub> 값은  $-62^\circ$  ( $c=0.19$ ,  $\text{CHCl}_3$ )로 확인 되었다. EI/MS에서의 분자이온 피크( $m/z$  412 [M]<sup>+</sup>)로부터 분자량이 412로 결정되었다. IR 스펙트럼에서 3349(O-H stretching), 1712(C=O stretching), 1677(C=C stretching), 그리고 1045(C-O stretching)의 작용기를 갖는 것으로 확인하였다.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum(400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ )을 살펴보면 화합물 2와 유사한 양상을 보였다. 저자장 영역에서 olefine methine proton signal [ $\delta$  5.67 (H-6), 5.17 (H-22), 5.17 (H-23)] 세개와 oxygenated-methine proton signal [ $\delta$  3.65] 1개가 발견되었고, 고자장 영역에서 다수의 methyl, methylene, 및 methine signal이 관측되어 triterpenoid 혹은 steroid로 추정할 수 있었다. Methyl 기의 개수는 총 6개로 singlet methyl proton signal [ $\delta$  1.18, 0.68] 2개와, doublet methyl proton signal [ $\delta$  1.00, 0.90, 0.82, 0.80] 4개가 관측되었고,  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum(100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) 및 DEPT 실험에서 모두 28개의 signal이 존재하는 것을 통해 ergostane 골격임을 확인하였다. 저자장 영역에서 1개의 carbonyl carbon signal [ $\delta$  202.12]이 관측되어 1개의 ketone group이 존재함을 확인하였다. 1개의 olefine quaternary carbon signal [ $\delta$

165.09]과 3개의 olefine methine carbon signal[ $\delta_c$  125.96, 131.82, 135.52]이 관측되어 이중결합이 2개 존재함을 확인하였다. 또한 1개의 oxygenated-methine carbon signal[ $\delta_c$  72.04]이 관측되어 hydroxyl기가 하나 존재하는 것을 확인하였다. 고자장 영역에서는 6개의 methyl carbon signal[ $\delta_c$  12.31, 17.39, 17.72, 19.71, 20.04, 21.26]이 관측되었다. HMBC 실험을 통해 이중결합의 위치를 확인 하였다(Fig. 3). 8번 methine proton signal[ $\delta_H$  2.15]이 carbonyl carbon signal[ $\delta_c$  202.12]과 correlation을 보이는 것을 통해 7번 carbon에 ketone기가 있음을 확인하였다. H-19 singlet methyl proton signal[ $\delta$  1.18]과 olefine quaternary carbon signal[ $\delta_c$  165.09 (C-5)] 1개가 correlation을 보이는 것을 통해 5번과 6번에 이중결합이 있음을 확인하였다, 또한 H-21과 H-28 doublet methyl proton signal 2개[ $\delta_H$  1.00, 0.90]와 olefine methine carbon signal 2개가[ $\delta_c$  131.82 (C-23), 135.52 (C-22)] 각각 correlation을 보이는 것을 통해 22번과 23번에 이중결합이 있음을 확인하였다. 따라서 화합물 3은 (24S)-Methylcholest-5,22-dien-3 $\beta$ -ol-7-one(7-ketobrassicasterol)로 구조동정 하였다. 7-Ketobrassicasterol은 해면류인 *Clzonia copzosa*에서 처음 분리된 물질로[Notaro 등, 1992], brassicasterol과 구조가 유사하고 공역 ketone기가 존재하는 것으로 보아 좋은 활성이 기대되는 물질이다. 따라서 well-being 식품으로 주목 받고 있는 새싹 채소 중 하나인 kohlrabi 새싹을 이용하여 건강 기능성 식품 및 의약품의 개발이 이루어 질 수 있을 것으로 기대한다.

## 초 록

Kohlrabi 새싹을 100% MeOH을 이용하여 추출하였고, 그 추출물을 EtOAc, *n*-BuOH 및 H<sub>2</sub>O을 이용하여 분획을 나누고 감압농축 하였다. EtOAc에 대한 silica gel과 ODS column chromatography를 반복 수행하여 3개의 sterol 화합물을 분리하였다. 분리 한 물질의 물리적, 화학적, 및 NMR, MS, IR과 같은 분광학적 데이터를 측정하였고, 그것을 해석하여 sterol 화합물인  $\beta$ -sitosterol(1), brassicasterol(2) 및 7-ketobrassicasterol(3)로 구조동정 하였다. 화합물 1은 대부분 식물에서 발견되는 물질이다. 화합물 2는 배추과 식물에서 발견되는 물질이며, 화합물 3은 식물에서 드물게 발견되는 물질이다.

**Key words:** 새싹, 콜라비, brassicasterol, 7-ketobrassicasterol,  $\beta$ -sitosterol

## 감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린 21 (과제번호: 20100301-

061-221-001-05-00, 20100301-061-009-001-04-00)에 의해 수행된 과제로 연구비 지원에 감사 드립니다.

## 참고문헌

- Bailey LH (1975) Kohlrabi for stock-feeding. In *Cyclopedia of American Agriculture: Vol. II-crops*, pp. 389-390. Macmillan Publishing, New York, NY, U.S.A.
- Corbella A (1997) Applications of phytosterols as active principles. *Cosmetic News* **20**, 419-421.
- Fahey JW, Zhang YS, and Talalay P (1997) Broccoli sprouts: an exceptionally rich source of inducers of enzymes that protect against chemical carcinogens. *Proc Natl Acad Sci* **94**, 10367-10372.
- Fahey JW, Haristoy X, Dolan PM, Kensler TW, Scholtus I, Stephenson KK, Talalay P, and Lozniewski A (2002) Sulforaphane inhibits extracellular, intracellular, and antibiotic-resistant strains of *Helicobacter pylori* and prevents benzo[a]pyrene-induced stomach tumors. *Proc Natl Acad Sci* **99**, 7610-7615.
- Gross D, Porzel A, and Schmidt J (1994) Indole phytoalexins from the kohlrabi (*Brassica oleracea* var. *gongyloides*). *J Biosci* **49**, 281-285.
- Kim DH, Song MJ, Han KM, Bang MH, Kwon BM, Kim SH, Kim DK, Jung IS, Park MH, and Baek NI (2004) Development of biologically active compounds from edible plant sources-X. Isolation of lipids from the flower of *Campsis grandiflora* K. Schum. and their inhibitory effect on FPTase. *J Korean Soc Appl Biol Chem* **47**, 357-360.
- Kim YJ, Park HT, and Han HS (2006) A study on the production and marketing of sprouts and leaf vegetable. *Korea Rural Economic Institute* **26**, 5-6.
- Macleod G and Macleod Aj (1990) The glucosinolates and aroma volatiles of green kohlrabi. *Phytochemistry* **29**, 1183-1187.
- Malikova J, Swaczynova J, Kolar Z, and Strnad M (2008) Anticancer and antiproliferative activity of natural brassinosteroids. *Phytochemistry* **69**, 418-426.
- Marinova MD and Tchorbantov BP (2008) Brassicaceae plants as a new source of food grade peptidases. *Bulg Chem Commun* **40**, 397-400.
- Notaro G, Piccialli V, and Sica D (1992) Steroidal hydroxyketones and closely related diols from the marine sponge *Clzonia copzosa*. *J Nat Prod* **55**, 1588-1594.
- Song MC, Hong YH, Kim DH, Kim DK, Chung IS, Lee YH, Kim SH, Park MH, Kim IH, Kwon BM, and Baek NI (2003) Development of biologically active compounds from edible plant sources-. Isolation of sterol compounds from the aerial parts of garland (*Chrysanthemum coronarium* L.). *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* **46**, 376-379.