

이삭사초 지상부의 Tetrastilbene 성분

김대근*

우석대학교 약학대학

Tetrastilbenes from the Aerial Parts of *Carex dimorpholepis* Steudel

Dae Keun Kim*

College of Pharmacy, Woosuk University, Jeonju 55338, Korea

Abstract – Three tetrastilbene compounds were isolated from the aerial parts of *Carex dimorpholepis* Steudel (Cyperaceae) through repeated column chromatography. Their chemical structures were elucidated as kobophenol A (1), *cis*-miyabenol A (2), and kobophenol B (3), respectively, by spectroscopic analysis. These compounds were isolated for the first time from this plant.

Key words – *Carex dimorpholepis*, Cyperaceae, Tetrastilbene

재료 및 방법

이삭사초(*Carex dimorpholepis* Steudel)는 사초과(Cyperaceae)에 속하는 높이 50-80 cm까지 자라는 다년초로 우리나라 전역의 습지에서 자란다. 줄기는 총생으로 세모지고 강하다. 근생엽은 엽초가 없고 경생엽은 편평하며 너비 5-7 mm로 가장자리가 거칠다. 이삭의 길이는 3-6 cm로 원통 모양이며, 줄기 끝의 이삭은 윗부분이 암꽃, 밑부분이 수꽃이며, 다른 이삭은 모두 암꽃이다. 꽃은 5-6월에 피고 8-9월에 결실한다.¹⁾ *Carex*속 식물에 대한 연구로는 *C. distachya*에서 prenyl stilbenoid 성분으로 carexane A-C를 비롯하여,²⁾ *C. pendula*에서 oligostilbene인 miyabenol A, C와 kobophenol B가 보고되었고,³⁾ *C. kobomugi*에서 kobophenol A와 miyabenol C,⁴⁾ *C. humilis*에서 viniferin, resveratrol 등이 분리되었으며,⁵⁾ *C. pumila*에서 kobophenol B가⁶⁾ 그 외에 *Carex*속 식물에서 miyabenol A, B가⁷⁾ 보고되어 있다. 그러나 지금까지 이삭사초(*C. dimorpholepis*)에 대한 식물화학적 성분연구나 약리학적 연구가 없어 잡초로서 흔히 자라고 있는 본 식물의 자원으로서의 가치를 알아보고자 식물전초의 식물화학적 성분연구의 일환으로 본 연구를 진행하였다. Methanol 추출물의 ethyl acetate 가용분획에서 몇 가지 반복적인 column chromatography를 실시하여 3종의 oligostilbene 화합물을 단리하고, 이들 화합물의 spectral data로부터 그 구조를 확인·동정하였기에 이를 보고하고자 한다.

실험재료 – 본 실험에 사용한 이삭사초는 2014년 7월에 전북 완주군에서 채취하였으며, 연구자가 정확히 감정한 후에 음건한 후 세절하여 실험에 사용하였다(WSU-14-006).

시약 및 기기 – 분리한 화합물의 구조분석을 위해 Jeol JMN-EX 400 spectrometer(Japan)를 이용하여 NMR 자료를 확보하였다. 추출 및 분획용 시약과 TLC 및 column용 시약은 1급 용매를 재증류하여 사용하거나 특급시약을 사용하였다. Column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel 60(Art. 1.07734, 230-400 mesh, Merck)을, molecular sieve column chromatography용 packing material은 Sephadex LH-20(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, prep-HPLC용 column은 JAI GS-310 column(Tokyo, Japan)을 사용하였다. 발색시약은 10% H₂SO₄(in EtOH) 시액을 사용하였으며, UV의 검색은 254와 365 nm를 병행하였다.

추출 및 분리 – 채집한 음건 세절한 이삭사초 약 1.0 kg을 methanol로 가끔 진탕하면서 5시간씩 50°C에서 3회 온침 추출하였다. 그 추출액을 수욕상에서 감압농축하여 methanol 엑스 약 180 g을 얻었으며, 이 methanol 엑스에 증류수 500 ml를 가하여 현탁시키고 상법에 따라 동량의 *n*-hexane(15 g), methylene chloride(32 g), ethyl acetate(2 g) 및 *n*-butanol(9 g)의 순으로 용매 분획하였다. TLC로 각 분

*교신저자(E-mail): dkkim@woosuk.ac.kr
(Tel): +82-63 290-1574

획의 양상을 확인한 후 254 nm의 UV상에서 가장 뚜렷한 반점을 나타낸 ethyl acetate 가용분획을 TLC상에서 10% H₂SO₄ 발색시약과 UV로 검색하면서 Sephadex LH-20을 사용한 molecular sieve column chromatography와 Lobar-A Lichroprep Si 60 column을 사용한 low pressure liquid column chromatography 등을 반복 실시하고, JAI GS-310 column을 이용한 HPLC로 화합물을 정제하였다.

먼저 ethyl acetate 가용분획을 methanol을 유출용매로 Sephadex LH-20 column을 통과시켜 5개의 분획(E1-E5)으로 나누었다. E3분획을 MeOH-H₂O(1:1)을 유출용매로 JAI GS-310 column으로 정제하여 화합물 **1**(18 mg)을 분리하였다. EA4분획을 CHCl₃-EtOAc-MeOH(60:20:1)을 유출용매로 Lobar-A Lichroprep Si 60 column chromatography를 실시하여 4개의 소분획으로 나누었다(EA41-EA44). 그 중 소분획 EA42를 MeOH-H₂O(1:1)을 유출용매로 JAI GS-310 column으로 정제하여 화합물 **2**(9 mg)와 **3**(15 mg)을 각각 얻었다.

화합물 1 - A pale amorphous yellow powder, ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) see Table I, ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) see Table I, Positive ESIMS *m/z* 925 [M+H]⁺

화합물 2 - A white amorphous solid, ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) see Table I, ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) see Table I, Positive ESIMS *m/z* 907 [M+H]⁺

화합물 3 - A yellow powder, ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) see Table I, ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) see Table I, Positive ESIMS *m/z* 905 [M+H]⁺

결과 및 고찰

이삭사초로부터 얻은 methanol 엑스를 통상적인 방법으로 용매분획하여 *n*-hexane, methylene chloride, ethyl acetate 및 *n*-butanol 엑스를 제조하였다. 이 중 ethyl acetate 가용분획을 Sephadex LH-20 column과 Lobar column chromatography를 반복 실시하고 HPLC로 정제하여 3종의 화합물을 단리하였다.

화합물 **1**은 진한 황색의 무정형 분말로 얻어졌으며, ESIMS에서 *m/z* 925에서 [M+H]⁺ ion peak가 관찰되었다. ¹H-NMR spectrum에서 aromatic 영역의 δ 7.28(2H, d, *J*=8.8 Hz, H-2, 6)과 6.82(2H, d, *J*=8.8 Hz, H-3, 5), δ 6.15(2H, d, *J*=8.8 Hz, H-2', 6')와 6.40(2H, d, *J*=8.8 Hz, H-3', 5'), δ 6.42(2H, d, *J*=8.8 Hz, H-2'', 6'')와 δ 6.57(2H, d, *J*=8.8 Hz, H-3'', 5''), δ 7.02(2H, d, *J*=8.8 Hz, H-2''', 6''')와 6.71(2H, d, *J*=8.8 Hz, H-3''', 5''')에서 4개의 AA'BB' type에 기인하는 proton signal이 관찰되었다. 또한 aromatic 영역에서 δ 6.47(1H, d, *J*=2.4 Hz, H-12')과 5.94(1H, d, *J*=2.4 Hz, H-14'), δ 5.96(1H, br d, *J*=2.4 Hz, H-12''),

6.36(1H, d, *J*=2.4 Hz, H-14''), δ 5.98(2H, d, *J*=2.4 Hz, H-10, 14), 5.99(1H, d, *J*=2.4 Hz, H-12), δ 5.65(2H, d, *J*=2.4 Hz, H-10''', 14'''), δ 6.00(1H, t, *J*=2.4 Hz, H-12''')에서 모두 8개의 proton signal이 확인되었으며, 각각 coupling constant 값으로 보아 2개의 AX type과 2개의 AX₂ type의 aromatic ring 구조를 가진 것으로 추정되었다. Aliphatic 영역에서는 δ 5.52(1H, brs, H-7)와 4.21(1H, brs, H-8), δ 5.00(1H, d, *J*=3.2 Hz, H-7')과 3.37(1H, d, *J*=3.1 Hz, H-8'), δ 5.03(1H, d, *J*=3.9 Hz, H-7'')과 3.21(1H, dd, *J*=6.0, 3.8 Hz, H-8''), δ 5.12(1H, d, *J*=10.6, Hz, H-7''')와 2.98(1H, dd, *J*=10.6, 6.0 Hz, H-8''')에서 총 8개의 aliphatic proton이 관찰되었다. ¹³C-NMR spectrum은 aromatic 영역에서 12개의 oxygenated carbon으로 추정되는 peak signal을 포함하여 총 56개의 탄소를 확인하였다. 이상의 기기분석 결과로 본 화합물은 tetrastilbene 화합물로 추정하였으며, 기존 문헌의 기기분석 값과 비교해 본 결과 화합물 **1**은 kobophenol A로 구조를 확인·동정하였다.⁴⁾ Kobophenol A는 신경보호효과,⁸⁾ human osteoblast-like cell에 대하여 proliferation 증가효능⁹⁾ 및 MCF-7 cell line에 대하여 강한 세포독성¹⁰⁾ 등이 보고되어 있다.

화합물 **2**는 진한 무색의 무정형 분말로 얻어졌으며, ESIMS에서 *m/z* 907에서 [M+H]⁺ ion peak가 관찰되었다. ¹H-NMR spectrum의 aromatic 영역에서 δ 6.61(2H, d, *J*=8.8 Hz, H-2, 6)과 6.82(2H, d, *J*=8.8 Hz, H-3, 5), δ 6.44(2H, d, *J*=8.8 Hz, H-2', 6')와 6.41(2H, d, *J*=8.8 Hz, H-3', 5'), δ 6.47(2H, d, *J*=8.8 Hz, H-2'', 6'')와 δ 6.60(2H, d, *J*=8.8 Hz, H-3'', 5''), δ 6.71(2H, d, *J*=8.8 Hz, H-2''', 6''')와 6.45(2H, d, *J*=8.8 Hz, H-3''', 5''')에서 4개의 AA'BB' type에 기인하는 proton signal이 관찰되었다. 또한 aromatic 영역에서 δ 6.27(1H, d, *J*=2.4 Hz, H-12')과 6.05(1H, d, *J*=2.4 Hz, H-14'), δ 6.16(1H, d, *J*=2.4 Hz, H-12''), 6.24(1H, d, *J*=2.4 Hz, H-14''), δ 5.78(2H, brs, H-10, 14), 5.91(1H, d, *J*=2.4 Hz, H-12), δ 5.99(1H, d, *J*=2.4 Hz, H-14''), δ 6.29(1H, t, *J*=2.4 Hz, H-12''')에서 모두 8개의 proton signal이 확인되었으며, 각각의 coupling constant 값으로 보아 3개의 AX type과 1개의 AX₂ type의 구조를 가진 것으로 추정되었다. Aliphatic 영역에서는 δ 5.01(1H, d, *J*=6.0 Hz, H-7)과 3.98(1H, d, *J*=6.0 Hz, H-8), δ 5.11(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-7')과 4.39(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8'), δ 5.39(1H, d, *J*=2.7 Hz, H-7'')과 3.87(1H, d, *J*=2.7 Hz, H-8''), δ 5.90(1H, d, *J*=12.2, Hz, H-7''')와 5.86(1H, d, *J*=12.2 Hz, H-8''')에서 총 8개의 aliphatic proton이 관찰되었다. ¹³C-NMR spectrum은 aromatic 영역에서 12개의 oxygenated carbon으로 추정되는 peak signal을 포함하여 총 56개의 탄소를 확인하였다. 이상의 결과로 이 화합물은 tetrastilbene 화합물로 추정하였으며, 기존 문헌의 기기분석 값과 비교하

Table I. NMR spectral data of compounds **1-3**

C	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$			$\delta_{\text{C}}^{\text{b}}$		
	1	2	3	1	2	3
1				135.6	132.8	130.2
2,6	7.28 (d, 8.8)	6.61 (d, 8.8)	6.79 (d, 8.8)	126.7	128.6	130.1
3,5	6.82 (d, 8.8)	6.49 (d, 8.8)	6.65 (d, 8.8)	116.3	116.3	116.5
4				158.2	158.1	157.6
7	5.52 (brs)	5.01 (d, 6.0)	5.16 (d, 10.7)	92.3	96.6	88.9
8	4.21 (brs)	3.98 (d, 6.0)	3.84 (dd, 10.7, 1.8)	58.6	57.3	52.7
9				147.9	147.8	170.7
10	5.98 (d, 2.4)	5.78 (brs)		106.9	107.1	63.9
11				159.5	159.2	203.9
12	5.99 (d, 2.4)	5.91 (d, 2.4)	3.34 (d, 7.9)	102.1	102.4	69.7
13				159.5	159.2	196.7
14	5.98 (d, 2.4)	5.78 (brs)	5.59 (s)	106.9	108.0	126.2
1'				134.0	134.0	132.4
2',6'	6.15 (d, 8.8)	6.44 (d, 8.8)	7.13 (d, 8.8)	127.4	128.4	129.7
3',5'	6.40 (d, 8.8)	6.41 (d, 8.8)	6.72 (d, 8.8)	116.0	115.7	116.4
4'				157.2	157.5	157.3
7'	5.00 (d, 3.2)	5.11 (d, 2.0)	3.81 (brs)	94.0	93.4	40.3
8'	3.37 (d, 3.2)	4.39 (d, 2.0)	5.68 (brs)	52.5	51.4	39.2
9'				144.8	144.1	141.0
10'				120.2	119.8	116.0
11'				162.3	162.9	160.0
12'	6.47 (d, 2.4)	6.27 (d, 2.4)	6.09 (d, 2.2)	96.3	96.9	96.8
13'				161.0	160.7	159.6
14'	5.94 (d, 2.4)	6.05 (d, 2.4)	6.97 (d, 2.2)	108.7	108.0	110.3
1''				132.0	134.2	129.7
2'',6''	6.42 (d, 8.8)	6.47 (d, 8.8)	6.75 (d, 8.8)	127.8	128.3	129.8
3'',5''	6.57 (d, 8.8)	6.60 (d, 8.8)	6.68 (d, 8.8)	115.5	116.5	116.2
4''				156.1	157.6	157.6
7''	5.03 (d, 3.8)	5.39 (d, 2.7)	4.25 (dd, 7.9, 6.8)	85.6	93.9	41.2
8''	3.21 (dd, 6.0, 3.8)	3.87 (d, 2.7)	3.82 (d, 6.8)	52.9	53.7	47.6
9''				136.6	143.2	134.3
10''				124.6	121.7	117.0
11''				161.2	161.9	161.7
12''	5.96 (d, 2.4)	6.16 (d, 2.4)	6.57 (s)	95.8	95.9	97.7
13''				158.6	160.6	155.1
14''	6.36 (d, 2.4)	6.24 (d, 2.4)		110.9	107.1	125.8
1'''				134.3	129.1	133.7
2''',6'''	7.02 (d, 8.8)	6.71 (d, 8.8)	6.87 (d, 8.8)	128.9	131.4	127.4
3''',5'''	6.71 (d, 8.8)	6.45 (d, 8.8)	6.56 (d, 8.8)	116.1	115.8	115.7
4'''				157.9	157.7	157.6
7'''	5.12 (d, 10.6)	5.90 (d, 12.2)	5.09 (s)	85.8	132.7	92.6
8'''	2.98 (dd, 10.6, 6.0)	5.86 (d, 12.2)	3.87 (s)	62.1	126.1	55.8
9'''				139.5	137.7	148.8
10'''	5.65 (d, 2.4)		5.68 (brs)	109.3	121.7	106.5
11'''				158.3	162.0	160.2
12'''	6.00 (d, 2.4)	6.29 (d, 2.4)	6.19 (d, 2.2)	103.3	97.4	102.3
13'''				158.3	158.1	160.2
14'''	5.65 (d, 2.4)	5.99 (d, 2.4)	5.68 (brs)	109.3	108.9	106.5

^aRecorded at 400 MHz in CD₃OD/^bRecorded at 100 MHz in CD₃OD

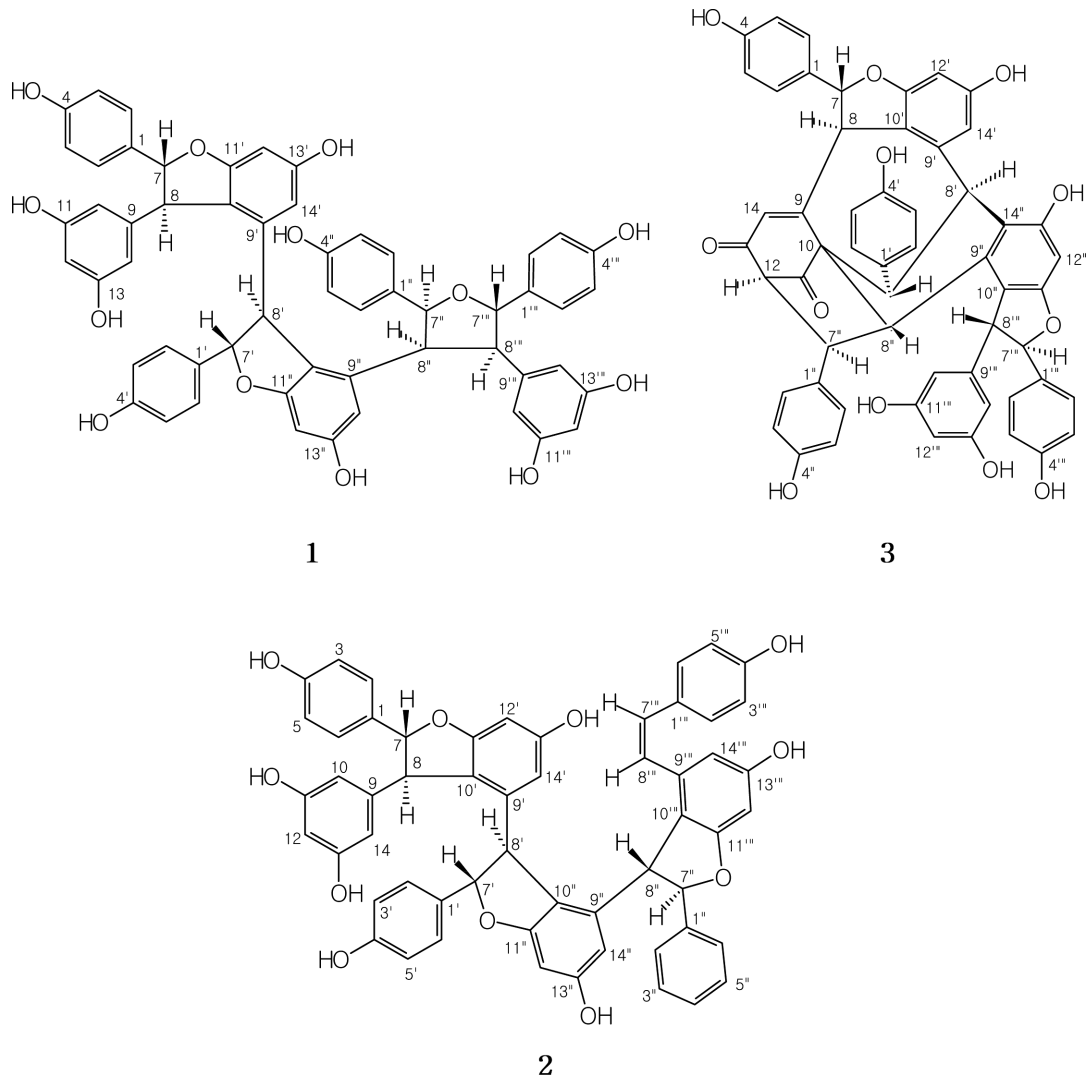


Fig. 1. Structures of compounds 1-3.

여 화합물 2는 *cis*-miyabenol A로 구조를 확인·동정하였다.³⁾ *cis*-Miyabenol A는 ecdysteroid antagonist 활성이 보고되어 있다.³⁾

화합물 3은 황색의 무정형 분말로 얻어졌으며, ESIMS에서 m/z 905에서 $[M+H]^+$ ion peak가 관찰되었다. 1H -NMR spectrum에서 aromatic 영역의 δ 6.79(2H, d, $J=8.8$ Hz, H-2, 6)과 6.65(2H, d, $J=8.8$ Hz, H-3, 5), δ 7.13(2H, d, $J=8.8$ Hz, H-2', 6')와 6.72(2H, d, $J=8.8$ Hz, H-3', 5'), δ 6.75(2H, d, $J=8.8$ Hz, H-2'', 6'')와 δ 6.68(2H, d, $J=8.8$ Hz, H-3'', 5''), δ 6.87(2H, d, $J=8.8$ Hz, H-2''', 6''')와 6.56(2H, d, $J=8.8$ Hz, H-3''', 5''')에서 4개의 AA'BB' type에 기인하는 proton signal이 관찰되었다. Aromatic 영역에서 δ 6.09(1H, d, $J=2.2$ Hz, H-12')과 6.97(1H, d, $J=2.2$ Hz, H-14'), δ 3.34(1H, d, $J=7.9$ Hz, H-12), δ 5.68(2H, brs, H-10'', 14''), δ 6.19(1H, d, $J=2.2$ Hz, H-12''')에서 모두 5개의

proton signal이 확인되었으며, 각각 coupling constant 값으로 보아 1개의 AX type과 1개의 AX₂ type의 구조를 가진 것으로 추정되었으며, 그 외에 δ 5.57(1H, s, H-12''), δ 5.59(1H, s, H-14)에서 2개의 singlet signal이 관찰되었다. Aliphatic 영역에서는 δ 5.16(1H, d, $J=10.7$ Hz, H-7)와 3.84(1H, dd, $J=10.7, 1.8$ Hz, H-8), δ 3.81(1H, brs, H-7')과 5.68(1H, brs, H-8'), δ 4.25(1H, dd, $J=7.9, 6.8$ Hz, H-7'')과 3.82(1H, d, $J=6.8$ Hz, H-8''), δ 5.09(1H, s, H-7''')와 3.87(1H, s, H-8''')에서 총 8개의 aliphatic proton이 관찰되었다. ^{13}C -NMR spectrum은 aromatic 영역에서 10개의 oxygenated carbon으로 추정되는 peak signal과 δ 170.7과 196.7에서 2개의 carbonyl carbon peak가 관찰되어 모두 총 56개의 탄소를 확인하였다. 이상의 기기분석 결과로 본 화합물은 2개의 carbonyl carbon을 가지고 있는 tetrastilbene 화합물로 추정하였으며, 기존 문헌의 기기분석 값과 비교하

여 화합물 3은 kobophenol B로 구조를 확인·동정하였다.^{3,6)} Kobophenol B에 대해서는 ecdysteroid antagonist 활성³⁾ 및 *Staphylococcus aureus*에 대한 항미생물 활성이⁶⁾ 보고되어 있다.

결 론

이삭사초의 methanol 추출물 중 ethyl acetate 가용분획에서 3종의 화합물을 분리하였으며, 이들의 spectral data로부터 구조를 확인한 결과 kobophenol A (1), cis-miyabenol A (2) 및 kobophenol B (3)로 각각 확인·동정하였다. 이 화합물들은 모두 이삭사초로부터 처음 보고되는 화합물로 식물 화학적 성분연구의 기초자료로 사용할 수 있을 것으로 생각되며, 향후 동정된 화합물 및 본 식물에 대한 활성연구가 필요할 것으로 사료된다.

인용문헌

1. Lee, Y. N. (2006) *New flora of Korea II*, 636, Kyo-Hak Publishing Co., LTD, Seoul.
2. D'Abrosca, B., Fiorentino, A., Golino, A., Monaco, P., Oriano, P. and Pacifico, S. (2005) Carexanes: prenyl stilbenoid derivatives from *Carex distachya*. *Tetrahedron Lett.* **46**: 5269-5272.
3. Meng, Y., Bourne, P. C., Whiting, P., Šik, V. and Dinan, L. (2001) Identification and ecdysteroid antagonist activity of three oligostilbenes from the seeds of *Carex pendula* (Cyperaceae). *Phytochemistry* **57**: 393-400.
4. Kurihara, H., Kawabata, J., Ichikawa, S., Mishima, M and Mizutani, J. (1991) Oligostilbenes from *Carex kobomugi*. *Phytochemistry* **30**: 649-653.
5. Lee, S.-H., Shin, N.-H., Kang, S.-H., Park, J. S., Chung, S. R., Min, K. R. and Kim, Y. (1998) α -Viniferin: a prostaglandin H2 synthase inhibitor from root of *Carex humilis*. *Planta Med.* **64**: 204-207.
6. Kawabata, J., Mishima, M., Kurihara, H. and Mizutani, J. (1991) Kobophenol B, a tetrastilbene from *Carex pumila*. *Phytochemistry* **30**: 645-647.
7. Kawabata, J., Mishima, M., Kurihara, H. and Mizutani, J. (1995) Stereochemistry of two tetrastilbenes from *Carex* species. *Phytochemistry* **40**: 1507-1510.
8. Lee, S. R., Kwak, J. H., Kim, H. J. and Pyo, S. (2007) Neuroprotective effects of kobophenol A against the withdrawal of tropic support, nitrosative stress, and mitochondrial damage in SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **17**: 1879-1882.
9. Kwak, J. H., Lee, S. R., Park, H. J., Byun, H. E., Sohn, E. H., Kim, B. O., Rhee, D. K. and Pyo, S. (2013) Kobophenol A enhances proliferation of human osteoblast-like cells with activation of the p38 pathway. *Int. Immunopharmacol.* **17**: 704-713.
10. Jiang, C., Wang, W. Z., Liao, X. J., Zeng, D. Q., Ling, T., Xu, S. L., Zeng, J. Z. and Chen, H. F. (2015) Chemical constituents and cytotoxicity assay research in small polar substances from *Vitis thunbergii* var. *taiwaniana*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* **40**: 2999-3004.

(2016. 11. 14 접수; 2016. 12. 08 심사;
2016. 12. 12 게재확정)