

음양곽의 Flavonoid 성분에 관한 연구

姜三植 · 申國鉉 · 鄭淳侃* · 曹義煥*

서울대학교 생약연구소 · 三進製藥*

Flavonoids from *Epimedium koreanum*

Sam Sik Kang, Kuk Hyun Shin, Sun Gan Chung* and Eui Hwan Cho*

Natural Products Research Institute, Seoul National University Seoul, 110-460 and

Sam Jin Pharmaceutical Co., Ltd.*, Seoul, 121-210, Korea

Abstract—Three flavonoids were isolated from *Epimedium koreanum* and identified as quercetin(1), anhydroicaritin-3-O- α -rhamnoside(2) and icariin(3) by spectroscopic methods. The former two compounds are the first isolation from this plant.

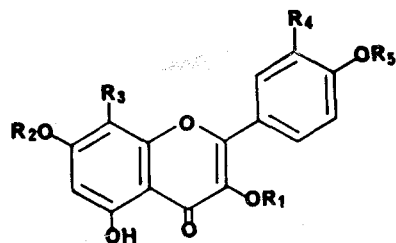
Keywords—*Epimedium koreanum* · Berberidaceae · flavonoid · quercetin · anhydroicaritin-3-O- α -rhamnoside · icariin

음양곽은 강장, 음위, 강심등의 목적으로 사용되는 중요한 생약이며 우리나라에서는 삼지구엽초 *Epimedium koreanum* N.(Berberidaceae)의 지상부위를 여름에 베어 말린것을 사용하고 있다. 지금까지 보고된 *Epimedium*속 식물의 성분에 관해서는 flavonoid^{1~12)}, alkaloid^{13,14)}, lignan¹⁴⁾ 및 phenylethanoid glycoside, ionone유도체, sesquiterpene glycoside^{16,17)}이 보고되어 있다. *E. koreanum*으로부터는 flavonoid인 icariin^{18,19)}, epimidoside A¹⁸⁾등이 밝혀졌으며 이중 icariin은 hypotensive effect^{19,20)}를 나타내는 유효성분으로 밝혀졌으며, 최근에 새로운 flavonoid glycoside인 epimedin A, B 및 C가 보고²¹⁾ 되었다. 저자들은 이 식물의 화학적 성분연구에 착수하여 이미 보고된 icariin(3)외에 quercetin(1) 및 anhydroicaritin-3-O- α -rhamnoside(2)를 단리하였기에 보고한다.

실험방법

음점은 Mitamura-Riken의 미량용점측정기를 사용하였으며 보정치 않았다. IR spectrum은

Perkin-Elmer 283B를 사용하여 KBr disc 방법을 사용하였고, ¹H-NMR spectrum은 Varian FT-80A(80MHz)를 사용하여 측정하였으며 용매는 DMSO-d₆를 사용하였다. 내부표준물질로는 TMS를 사용하였다. Mass spectrum은 Hewlett-



- 1 $R_1 = R_2 = R_3 = R_5 = H, R_4 = OH$
- 2 $R_1 = R_{ha}, R_2 = R_4 = H, R_5 = CH_3$
 $R_3 = -CH_2CH=C(CH_3)_2$
- 3 $R_1 = R_{ha}, R_2 = Glc, R_4 = H, R_5 = CH_3$
 $R_3 = -CH_2CH=C(CH_3)_2$

Packard의 HP 5985B GC/MS system을 사용하였다. 선광도는 Rudolph의 Autopol III를 사용하여 측정하였다.

추출 및 분리—시판 음양곽을 20%에타놀로 수욕상에서 추출하여 얻은 엑기스를 감압농축하고 이를 CH_2Cl_2 및 증류수를 가해 진탕한후 분리하여 CH_2Cl_2 분획을 얻었다. 계속하여 수층을 EtOAc로 추출하여 EtOAc 분획을 얻었다. CH_2Cl_2 및 EtOAc 분획을 각각 실리카 겔 칼럼에 걸고 CH_2Cl_2 분획은 hexane-EtOAc(0, 50%, 75% 및 100%)으로 용출시켜 화합물 A(1) 및 B(2)를 얻었으며, EtOAc분획은 EtOAc-MeOH- H_2O (100:16.5:13.5)로 용출시켜 화합물 C(3)를 얻었다.

화합물 A(1)—메타놀로 재결정하여 미황색의 무형정분말인 1를 얻었다.

Mp $310\sim 3^\circ$ (Lit.²² mp $310\sim 2^\circ$); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} 3380, 3300, 1670, 1610, 1510, 1360, 1315, 1240, 1160, 1090, 817; UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm(log ϵ) 256(4.30), 270(sh, 4.16), 305(sh, 3.91), 372(4.34); $\lambda_{\text{max}}^{\text{NaOAc}}$ 269(sh, 4.23), 270(4.24), 323(4.01), 388(4.28); $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeONa}}$ 248(4.26), 323(4.17); $\lambda_{\text{max}}^{\text{NaOAc}+\text{H}_3\text{BO}_3}$ 262(4.34), 334(sh, 4.24), 394(4.40); $\lambda_{\text{max}}^{\text{AlCl}_3}$ 272(4.35), 351(sh, 3.68), 460(4.51); $\lambda_{\text{max}}^{\text{HCl}+\text{AlCl}_3}$ 270(4.36), 301(sh, 3.86), 354(4.01), 428(4.38); MS m/z (rel. int.) 302(M^+ , 93.0), 301(M-1, 31.1), 286(12.7), 274(M-CO, 10.7), 273(M-HCO, 16.0), 245[M-(CO+HCO), 27.5], 229(34.4), 228(29.1), 217[M-(2CO+HCO), 13.1], 200(11.5), 153(A ring, 59.0), 142[(M- H_2O)²⁺, 22.1], 137(B ring, 59.0), 128[(M- H_2O -CO)²⁺, 44.7], 109(B ring-CO, 21.7), 44(100); ¹H-NMR(DMSO- d_6 + D_2O) δ : 6.23(1H, d, $J=2\text{Hz}$, H-6), 6.48(1H, d, $J=2\text{Hz}$, H-8), 6.93(1H, d, $J=8.2\text{Hz}$, H-5'), 7.57(1H, dd, $J=8.2$ and 2Hz , H-6'), 7.63(1H, d, $J=2\text{Hz}$, H-2').

화합물 B(2)—메타놀로 재결정하여 미황색 침상결정인 2를 얻었다.

Mp $205\sim 6^\circ$; $[\alpha]_D^{25} = -80^\circ$ (c, 0.135, pyridine) (Lit.⁹ mp $203\sim 4^\circ$); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} 3400, 3240, 1655, 1610, 1595, 1508, 1256, 1180,

1055, 1036, 832; UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm(log ϵ) 272(4.34), 302(4.07), 350(3.96); $\lambda_{\text{max}}^{\text{NaOAc}}$ 280(4.38), 306(sh, 4.07), 360(3.91); $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeONa}}$ 283(4.49), 310(sh, 4.18), 380(4.09); $\lambda_{\text{max}}^{\text{NaOAc}+\text{H}_3\text{BO}_3}$ 273(4.34), 302(sh, 4.18), 352(4.07); $\lambda_{\text{max}}^{\text{AlCl}_3}$ 281(4.39), 309(4.28), 348(4.20), 414(3.99); $\lambda_{\text{max}}^{\text{HCl}+\text{AlCl}_3}$ 281(4.09), 306(4.00), 345(4.00), 410(3.78); ¹H-NMR(DMSO- d_6) δ : 0.82(3H, d, $J=4.3\text{Hz}$, rha- CH_3), 1.66, 1.70(3H each, s, =C< $\begin{smallmatrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{smallmatrix}$), 3.88(3H, s, OCH₃), 5.29(1H, brs, anomeric H), 6.35(1H, s, H-6), 7.15(2H, d, $J=8.7\text{Hz}$, H-3', 5'), 7.89(2H, d, $J=8.7\text{Hz}$, H-2', 6'), 10.83(1H, brs, 7-OH), 12.55(1H, brs, 5-OH).

화합물 C(3)—메타놀로 재결정하여 미황색의 침상결정인 3를 얻었다.

Mp 239° ; $[\alpha]_D^{25} = -82.3^\circ$ (c, 0.175, pyridine) (Lit.¹¹ mp 231.5°); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} 3370, 1650, 1605, 1595, 1508, 1256, 1180, 1100~1020, 830, 810; UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm(log ϵ) 272(4.63), 317(4.37), 351(4.29); $\lambda_{\text{max}}^{\text{NaOAc}}$ 272(4.63), 317(4.38), 352(4.30); $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeONa}}$ 280(4.64), 375(4.07); $\lambda_{\text{max}}^{\text{NaOAc}+\text{H}_3\text{BO}_3}$ 272(4.63), 318(4.39), 353(4.32); $\lambda_{\text{max}}^{\text{AlCl}_3}$ 281(4.59), 308(4.32), 348(4.44), 416(4.20); $\lambda_{\text{max}}^{\text{HCl}+\text{AlCl}_3}$ 281(4.58), 307(4.36), 343(4.43), 415(4.17); ¹H-NMR(DMSO- d_6) δ : 0.82(3H, d, $J=4\text{Hz}$, rha- CH_3), 1.63, 1.71(3 H each, s, =C< $\begin{smallmatrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{smallmatrix}$), 3.88(3H, s, OCH₃), 5.04(1H, d, $J=7\text{Hz}$, anomeric H), 5.32(1H, brs, anomeric H), 6.67(1H, s, H-6), 7.16(2H, d, $J=8.6\text{Hz}$, H-3', 5'), 7.93(2H, d, $J=8.6\text{Hz}$, H-2', 6'), 12.59(1H, brs, 5-OH).

화합물 B(2) 및 C(3)의 가수분해—화합물 B(2) 및 C(3)를 각각 취한후 dioxane 10 ml, 60% dioxane 15 ml 및 $\text{C-H}_2\text{SO}_4$ 5 ml씩 가한 후 5시간 수욕상에서 가열하였다. 반응액에 각각 빙수를 가하고 침전을 여과한 후 여액을 BaCO_3 로 중화하여 여과후 농축하고 cellulose plate를 사용하여 TLC를 실시²²하여 화합물 B로부터는 rhamnose, 화합물 C로부터는 glucose 및 rhamnose를 확인하였다.

실험결과 및 고찰

화합물 A(1), B(2) 및 C(3)은 모두 Shinoda test에 양성이고, 이중 B(2) 및 C(3)는 Molisch test에도 양성인것으로 보아 flavonoid glycoside로 추정되었다. 화합물 A(1)의 IR spectrum은 1670cm^{-1} 에서 α, β -unsaturated C=O의 band가 나타나며, UV spectrum에서 256 및 372 nm에서 각각 band II 및 band I의 peak가 관찰되므로 3-OH free인 flavonol로 추정된다.²³⁾ 이 물질의 shift reagent에 대한 spectrum의 변화, $^1\text{H-NMR}$ 및 mass spectrum의 해석등으로 이 물질은 quercetin으로 결정하였으며 표준품²²⁾과 직접적으로 대조하여 이를 확정하였다.

화합물 B(2)는 IR spectrum상에서 α, β -unsaturated C=O (1655cm^{-1}) 및 glycosidic C—O ($1055, 1036\text{cm}^{-1}$)의 존재를 추정할 수 있었으며 산 가수분해에 의해 rhamnose를 확인 할 수 있었다. UV spectrum상에서 272 및 350 nm에서 band II 및 band I의 peak가 관찰되므로 3-OH가 치환된 flavonol glycoside로 추정된다.²³⁾ Shift reagent에 의한 UV spectrum의 변화를 검토한 바 이 화합물에는 탄소 5번 및 7번 위치에 유리 OH의 존재를 추정할 수 있었다. 이는 $^1\text{H-NMR}$ spectrum상에서도 확인할 수 있었다(δ 12.55, 10.83). 또한 δ 3.88에서 하나의 OCH_3 singlet, δ 0.82에서 $J=4.3\text{Hz}$ 의 rhamnose methyl doublet, δ 5.29에서 rhamnose의 anomeric proton이 확인되었다. δ 1.66 및 1.70에서 나타나는 이중결합에 인접한 두개의 methyl singlet는 Epimedium 속에 널리 분포된 flavonoid에 결합된 γ, γ -dimethylallyl기 중의 methyl기로 추정되며 이 γ, γ -dimethylallyl기는 이 화합물이 AlCl_3 를 가하였을 때 UV상에서 band I의 peak가 64nm bathochromic shift되는 것으로 봐서 chelated OH기에 대하여 ortho위치 즉 C-6보다는 C-8에 결합된 것으로 추정된다.²⁴⁾ 이상의 결과로 이 화합물은 최근 동속식물인 *E. sagittatum*에서 분리된 anhydroicaritin-3-O- α -rhamnoside⁹⁾로 추정되며 문헌에 보고된 이 화합물의 물리화학적 성질 및 spectral data가 화합물 B(2)와 잘 일치되므로

이를 확인하였다.

화합물 C(3)도 IR, UV 및 $^1\text{H-NMR}$ spectra 상에서 화합물 B(2)와 매우 유사하나 UV spectrum상에서 NaOAc에 의해 band II의 peak에 변화가 없는 것으로 보아서 또 하나의 당이 7번 OH와 결합된 것으로 사료된다. 이 화합물은 이미 이 식물로부터 그 존재가 보고된 icariin으로 추정되며 표준품과 직접적으로 대조한 결과 완전히 일치하므로 icariin으로 결정하였다.

Quercetin(1)은 Epimedium속에서 처음으로 분리된 화합물이며 anhydroicaritin-3-O- α -rhamnoside(2)는 이屬에서 두번째로 분리 확인된 물질이다.

결 론

음양곽의 flavonoid성분을 분리 확인한 결과 이미 그 존재가 보고된 icariin(3)외에 Epimedium속에서 처음으로 분리 확인된 quercetin(1) 및 *E. koreanum*에서는 처음으로 분리된 anhydroicaritin-3-O- α -rhamnoside(2)로 결정하였다.

감사의 말씀—Icariin의 표준품을 제공해 주신 Gifu Pharmaceutical University(일본)의 M. Mizuno교수에게 감사드립니다.

(1988년 1월 29일 접수 : 2월 20일 수리)

문 헌

1. Akai, S.: *Yakugaku Zasshi* 55, 537(1935).
2. Akai, S. and Matsukawa, Y.: *Yakugaku Zasshi* 55, 705(1935).
3. Akai, S. and Nakazawa, K.: *Yakugaku Zasshi* 55, 719(1935).
4. Akai, S., Imaida, M., and Matsukawa, T.: *Yakugaku Zasshi* 55, 1139(1935).
5. Takemoto, T., Daigo, K., and Tokuoka, Y.: *Yakugaku Zasshi* 95, 312(1975).
6. Takemoto, T., Daigo, K., and Tokuoka, Y.: *Yakugaku Zasshi* 95, 321(1975).
7. Takemoto, T., Daigo, K., and Tokuoka, Y.: *Yakugaku Zasshi* 95, 698(1975).
8. Takemoto, T., Daigo, K., and Tokuoka, Y.:

- Yakugaku Zasshi* 95, 825(1975).
9. Mizuno, M., Hanioka, S., Suzuki, N., Iinuma, M., Tanaka, T., Liu, X.-S., and Min, Z.-D.: *Phytochemistry* 26, 861(1987).
 10. Yoshitama, K.: *Bot. Mag. Tokyo* 97, 429(1984).
 11. Fujita, M., Itokawa, H., and Koyama, M.: *Tokyo Yakka Daigaku Kenkyu Nempo* 21, 50(1971).
 12. Yang, C.-H., Liu, H.-K., and Wu, C.-L.: *Chung Ts'ao Yao* 11, 444(1980).
 13. Tomita, H. and Ishii, H.: *Yakugaku Zasshi* 77 114(1957).
 14. Tomita, H. and Ishii, H.: *Yakugaku Zasshi* 77, 212(1957).
 15. Tokuoka, Y., Daigo, K., and Takemoto, T.: *Yakugaku Zasshi* 95, 557(1975).
 16. Miyase, T., Ueno, A., Takizawa, N., Kobayashi, H., and Karasawa, H.: *Chem. Pharm. Bull.* 35, 1109(1987).
 17. Miyase, T., Ueno, A., Takizawa, N., Kobayashi, H. and Oguchi, H.: *Chem. Pharm. Bull.* 35, 3713(1987).
 18. Xu, S., Wang, Z., Wu, L., Wang, N., and Chen, Y.: *Zhongcaoyao* 13, 9(1982).
 19. Liu, B.-Q., Ma, H.-S., and Mou, P.: *Chung Ts'ao Yao* 11, 201(1980).
 20. Liu, C., Yu, Q., and Zhang, L.: *Zhongcaoyao* 13, 414(1982).
 21. Oshima, Y., Okamoto, M., and Hikino, H.: *Heterocycles* 26, 935(1987).
 22. Kang, S.S. and Woo, W.S.: *Kor. J. Pharmacogn.* 15, 176(1984).
 23. Mabry, T.J., Markham, K.R., and Thomas, M.B.: *The Systematic Identification of Flavonoids*, Springer, Berlin (1970).