

복분자 딸기 잎의 탄닌

김민선 · 방근철 · 이민원*

중앙대학교 약학대학

(Received September 12, 1996)

Tannins from the Leaves of *Rubus Coreanum*

Min-Son Kim, Keun-Cheol Pang and Min-Won Lee*

College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea

Abstract—Four hydrolyzable tannins were isolated from the leaves of *Rubus coreanum*. The structures of these compounds were elucidated as methyl gallate(1), 1(β)-O-galloyl pedunculagin(2), sanguin H-2(3) and sanguin H-6(4) on the basis of physicochemical and spectroscopic evidences. These compounds were found from this plant for the first time.

Keywords □ *Rubus coreanum*, Rosaceae, hydrolyzable tannin.

복분자 딸기(*Rubus coreanum*)는 우리나라 남부에서 야생하는 과실 생약으로, 민간과 한방에서 impotence, 유정, 유뇨, 및 소변빈삭의 치료에 사용되어 왔다.^{1,2,3,4)}

본 실험실에서는 생리활성이 있는 식물의 Phenol성 물질에 대한 연구로 복분자 딸기(*Rubus coreanum*)의 줄기로부터 2종의 flavon-3-ol, 1종의 proanthocyanidin 및 1종의 ellagitannin과 잎으로부터 6종의 flavonoids, ellagic acid 및 1종의 ellagitannin을 분리하여 보고한 바 있다.^{5,6)}

본 연구는 전보에 이어 복분자 딸기 잎으로부터 추가로 분리된 4종의 가수분해성 탄닌, 즉 methyl gallate, 1(β)-O-galloyl pedunculagin, sanguin H-2, sanguin H-6의 구조에 대하여 보고하고자 한다.

실험방법

실험재료

실험에 사용한 복분자(*Rubus coreanum*, 7.0 kg) 잎은 1995년 8월 중앙대학교 약초원에서 채집하여 줄기

와 잎을 분리한 후 음건하여 사용하였다.

시약 및 기기

TLC는 precoated Silicagel 60 F₂₅₄(Merck)를 사용하였고, 반점의 확인은 UV-lamp와 FeCl₃, NaNO₂-HOAc 및 10% H₂SO₄(분무 후 가열)용액을 사용하였다. 칼럼 크로마토그래피는 Amberlite XAD-2(20~50 mesh, Fluka), Sephadex LH 20(75~230 μ m mesh, Pharmacia), MCI-gel CHP-20P(75~150 μ m, Mitsubishi), Toyopearl HW 40F(30~60 μ m, Tosoh)를 사용하였고, IR spectrophotometer는 Shimadzu IR-435(Japan), ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR spectrometer는 JNM-EX90A, 90MHz(Japan), Bruker AM-200, 200MHz(Germany) 및 Bruker AMX-500, 500MHz(Germany)를 사용하였고, EI-Mass spectrometer는 GC-MS/MS-DS, TSQ 700(U.S.A) 그리고 Negative FAB-Mass spectrometer는 VG70-VSEQ(England)를 사용하였고, Polarimeter는 Jasco DIP-370(Japan)을 사용하였다.

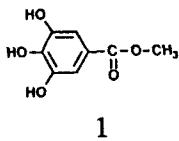
추출 및 분리

음건한 재료를 80%아세톤으로 실온에서 3회 추출하

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 02-820-5602 (팩스) 02-822-9778

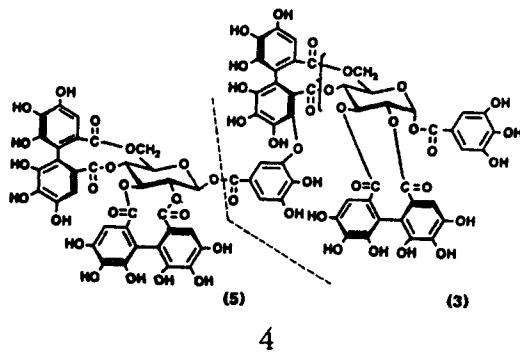
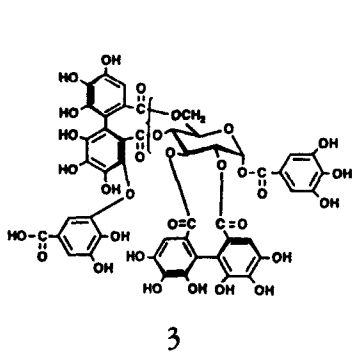
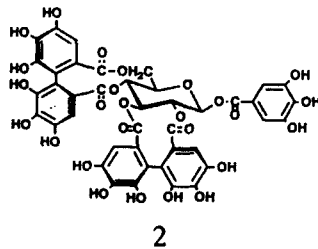
여 감압하 저온(45°C)에서 농축한 후 수층을 에테르로 탈지한 후 여과하여 Amberlite XAD-2 수지를 이용하여 물부터 시작하여 100% MeOH까지 칼럼크로마토그래피를 실시하여 분획한 후(7개 분획) 그 중 분획 5를 선택하여 Sephadex LH-20(78×300 mm), MCI-gel(H₂O-MeOH)로부터 methyl gallate(**1**, 40 mg)를 분리하였고, Sephadex LH-20(H₂O-MeOH), MCI-gel(H₂O-MeOH), Toyopearl HW-40F(60% MeOH-Me₂CO)을 반복사용하여 1(β)-O-galloyl pedunculagin(**2**, 25 mg)을 분리하였고, MCI-gel(H₂O-MeOH), Sephadex LH-20(EtOH-H₂O-Me₂CO, MeOH-H₂O-Me₂CO)을 반복사용하여 sanguin H-2(**3**, 20 mg)와 sanguin H-6(**4**, 20 mg)를 얻었다.

Compound 1 흰색 분말, - [α]_D²⁰ -0.3(c=1.0, Me₂CO); IRν_{max}^{KBr}cm⁻¹: 3469(OH), 3100(Aromatic CH), 2960(Aliphatic CH), 1698(C=O), 1619, 1547, 1439(Aromatic C=C); ¹H-NMR (90MHz, Me₂CO-d₆) δ: 7.10(2H, s, galloyl H), 3.79(3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR(50MHz, Me₂CO-d₆) δ: 52.2(-OCH₃), 110.0(galloyl C-2 and C-6), 121.8(galloyl C-1), 139.0(galloyl C-4), 146.3(galloyl C-3 and C-5), 167.8(-COO-); EI-MS(m/z): 184[M]⁺



Compound 2 갈색 분말 - [α]_D²⁰+15.8(c=0.1, MeOH); IRν_{max}^{KBr}cm⁻¹: 3470(OH), 1748(C=O), 1610, 1518, 1437(Aromatic C=C), 1040(Glycosidic C-O); ¹H-NMR(500MHz, Me₂CO-d₆) δ: 3.92(1H, d, J=13.4Hz, H-6), 4.52(1H, dd, J=9.8Hz and J=6.0Hz, H-5), 5.14(1H, t, J=9.8Hz, H-4), 5.16(1H, dd, J=9.8Hz and J=8.4Hz, H-2), 5.37(1H, dd, J=13.4Hz and J=6.0Hz, H-6), 5.45(1H, t, J=9.8Hz, H-3), 6.25(1H, d, J=8.4Hz, H-1), 6.68, 6.54, 6.48, 6.34(each 1H, s, HHDP-H), 7.16(2H, s, galloyl-H); Positive FAB-MS(m/z): 937[M+H]⁺

Compound 3 갈색 분말 - [α]_D²⁰-3.4(c=1.0, Me₂CO); IRν_{max}^{KBr}cm⁻¹: 3470(OH), 1748(C=O), 1610, 1518, 1439(Aromatic C=C), 1038(Glycosidic C-O); ¹H-NMR(500MHz, Me₂CO-d₆) δ: 3.76(1H, d, J=13.2Hz, H-6), 3.92(1H, m, H-5), 4.92(2H in total, m, H-3 and H-4), 5.25(1H, dd, J=9.0Hz and J=4.0Hz, H-2), 5.42(1H, dd, J=13.2 and J=6.4Hz H-6), 6.36, 6.39(each 1H, s, HHDP-H), 6.52(1H, d, J=4.0Hz, H-1), 6.70(1H, s, sanguisorboyl H), 7.11(2H, s, galloyl H), 7.14, 7.28(each 1H, d, J=2.0Hz, sanguisorboyl H); Negative FAB-MS(m/z): 1103[M-H]⁻, 633 [M-(sanguisorboyl+H)]⁻



Compound 4 갈색 분말 - $[\alpha]_D^{20} + 32.5$ ($c=0.2$, Me_2CO): $\text{IR } \nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$: 3430(OH), 1748(C=O), 1610, 1518, 1447(Aromatic C=C), 1045(Glycosidic OH): $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, $\text{Me}_2\text{CO}-d_6$) δ : 3.81(1H, d, $J=13.3\text{Hz}$, H-6), 3.92(1H, d, $J=13.3\text{Hz}$, H-6'), 4.22(1H, m, H-5), 4.35(1H, dd, $J=9.0\text{Hz}$ and 6.6Hz , H-5'), 5.02(1H, t, $J=10.0\text{Hz}$, H-4), 5.11(2H in total, m, H-3 and H-4'), 5.20(1H, dd, $J=9.0\text{Hz}$ and 8.5Hz , H-2'), 5.24(1H, dd, $J=13.3\text{Hz}$ and $J=6.6\text{Hz}$, H-6'), 5.29(1H, dd, $J=9.0\text{Hz}$ and $J=4.0\text{Hz}$, H-2), 5.38(1H, dd, $J=10.0\text{Hz}$ and $J=9.0\text{Hz}$, H-3'), 5.57(1H, dd, $J=13.3\text{Hz}$ and $J=6.0\text{Hz}$, H-6), 6.17(1H, d, $J=8.5\text{Hz}$, H-1'), 6.31(2H in total, s, HHDP-H), 6.38, 6.48, 6.51(each 1H, s, HHDP-H), 6.53(1H, d, $J=4.0\text{Hz}$, H-1), 6.77, 6.79(each 1H, s, HHDP-H and sanguisorboyl H), 7.10(2H, s, galloyl-H), 7.14, 7.29(each 1H, d, $J=1.9\text{Hz}$, sanguisorboyl H): Negative FAB-MS(m/z): 1869[M-H]⁻, 1103 [M-(pedunculagin+H)]⁻

결과 및 고찰

Compound 1 - 은 갈색 분말로써 FeCl_3 시약에 의해 청색으로 나타났고, $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 δ 7.10의 galloyl기에 의한 2H, δ 3.79에서 methoxyl기에 의한 3H의 signal을 나타내었고, $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서도 1개의 galloyl기에 의한 시그널(δ 110.0, 121.8, 139.0, 146.3)과 1개의 methoxyl기에 의한 시그널(δ 52.2)을 나타내었다. 또한 EI-MS스펙트럼에서 m/z 184의 [M]⁺의 분자 이온 피크를 나타내 methyl gallate로 동정하였다.⁷⁾

Compound 2 - 는 FeCl_3 시약과 NaNO_2 acetic acid에 의해 양성으로 나타나 ellagitannin임을 추정할 수 있었고⁸⁾, $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 galloyl기에 의한 δ 7.16에서 2H의 singlet과 δ 6.34, 6.48, 6.54, 6.68에서 각각 1H의 HHDP기에 의한 singlet이 나타나 1개의 galloyl기와 2개의 HHDP기가 존재하는 것으로 나타났다.

2의 glucose anomeric 시그널은 δ 6.25에서 1H의 doublet($J=8.4\text{Hz}$)으로 결합을 하고 있는 것으로 나타났다으며 H-2에 의한 δ 5.16의 double-doublet($J=$

8.4, 9.8Hz)과 coupling 하고 있어서 glucose 1번 OH에 galloyl기가 결합하고 2, 3번과 4, 6번에 HHDP기가 연결된 1(β)-O-galloyl 2, 3, 4, 6(s) HHDP-glucopyranose로써 Positive FAB-MS에서도 m/z 937에서 [M+H]⁺의 분자 이온 피크를 나타내 1(β)-O-galloyl pedunculagin으로 동정하였다.⁹⁾

Compound 3 - 은 FeCl_3 시약과 NaNO_2 acetic acid에 의해 양성으로 나타나 ellagitannin임을 추정할 수 있었고, $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 δ 7.11에서 galloyl기에 의한 2H의 singlet이 나타나고 δ 7.14, δ 7.28에서 각각 1H의 doublet($J=2.0\text{Hz}$)과 δ 6.70에서 1H의 singlet은 sanguisorboyl기에 의한 것이며 또한 δ 6.36, 6.39에서 HHDP기에 의한 각각 1H의 singlet이 나타나 1개의 galloyl 기와 1개의 sanguisorboyl기 및 1개의 HHDP기가 존재하는 것으로 나타났다.

3의 glucose anomeric proton은 δ 6.52에서 1H의 doublet($J=4.0\text{Hz}$)으로 나타났으며 H-2에 의한 δ 5.25의 double-doublet($J=9.0\text{Hz}$ 와 4.0Hz)과 coupling하고 있어서, glucose 1번 OH에 galloyl기가 결합하고 있고, 2, 3번에 HHDP기가, 4, 6번에 sanguisorboyl기가 연결된 1-O-galloyl-2,3(s)-HHDP-4,6-sanguisorboyl- α -D-glucopyranose로써, Negative FAB-Mass에서도 m/z 1103에서 [M-H]⁻의 분자이온 피크를, m/z 633에서 [M-(sanguisorboyl+H)]⁻의 fragment 이온 피크를 나타내 sanguin H-2로 동정하였다.^{8, 10)}

Compound 4 - 는 FeCl_3 시약과 NaNO_2 acetic acid에 의해 양성으로 나타나 ellagitannin임을 알 수 있었다. $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 δ 6.31(2H), 6.38, 6.48, 6.51, 6.77(각각 1H)의 singlet은 HHDP기에 의한 것이며, δ 7.10에서 galloyl기에 의한 2H의 singlet 이, δ 6.79(1H, s), 7.18, 7.29(각각 1H, d, $J=1.9\text{Hz}$)에서 sanguisorboyl기에 의한 시그널이 나타나 1개의 galloyl기, 3개의 HHDP기 및 1개의 sanguisorboyl기가 존재하는 것을 알 수 있었다.

또한 4에는 2개의 anomeric proton에 의해 δ 6.53에서 ^1H 의 doublet($J=4.0\text{Hz}$)과 δ 6.17에서 1H의 doublet($J=8.5\text{Hz}$)이 나타나 각각 α 및 β 결합을 하고 있는 dimeric ellagitannin임을 나타내었다.

먼저 δ 6.53에서 H-1의 anomeric proton(1H, d, $J=4.0\text{Hz}$)이 H-2에 의한 δ 5.29의 double-doublet ($J=9.0\text{Hz}$ 와 4.0Hz)과 coupling하고 있는 것으로 보

아 galloyl기가 C-1의 OH에 α 결합하고, H-2, 3, 4, 6가 저자장으로 shift하였으므로 2, 3번에 HHDP기가 4, 6.번에 sanguisorboyli기가 연결되어 있는 sanguin H-2(3)의 존재가 나타나 있으며, δ 6.17의 저자장으로 shift한 또 다른 한 개의 glucose의 그룹에는 H-2', 3', 4', 6'가 저자장으로 shift하였으며, 남아있는 2개의 HHDP기가 이 위치에 결합하고 있으며 glucose H-1'가 $J=8.5\text{Hz}$ 의 doublet으로 나타나 β -결합으로, 먼저 언급한 sanguin H-2(3)에 연결된 형태로 추정되었다. 따라서 이와 같은 패턴은 sanguin H-2(3)와 pedunculagin(5)을 합해 놓은 것과 같은 형태의 dimeric ellagitannin의 구조로 결합위치에 있어서는 4의 $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 $1(\beta)\text{-O-galloyl pedunculagin(2)}$ 과 sanguin H-2(3)의 존재가 그대로 나타나고 있는 것으로 보아 (화학구조 참조) 4는 sanguin H-2(3)와 pedunculagin(5)이 galloyl기를 중심으로 ester 결합한 sanguin H-6로써, Negative FAB-Mass에서도 m/z 1869에서 $[\text{M-H}]^-$ 의 분자이온 피크를, m/z 1103에서 sanguin H-2(3)의 fragment 이온 피크를 나타내 sanguin H-6로 동정하였다.^{9, 10)}

감사의 말씀

본 연구의 일부는 1996년 중앙대학교 학술연구조성비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문헌

1) 정태현 : 한국식물도감(木本部), 서울, 이문사, p. 182

- (1974).
- 2) 本草綱目草部 第18卷 覆盆子. 本草綱目通釋. 1030.
 - 3) Dr. Tsuneo Namba : The Encyclopedia of Wakan-Yaku(Traditional Sino-Japanese Medicines) with Color Pictures **1**, 327 (1993).
 - 4) Perry, L. M. : Medicinal Plants of East and Southeast Asia Attributed Properties and Uses. The MIT Press, Cambridge, p.346 (1980).
 - 5) Lee, Y. -A and Lee, M. -W. : Tannins from *Rubus coreanum*. *Kor. J. Pharmacogn.* **26**, 27 (1995).
 - 6) 이민원 : 복분자 딸기 잎의 페놀성 물질. *약학회지* **39**, 200 (1995).
 - 7) Martino, V. S., Graziano, M. N., Hnatyszyn, O. and Coussio, J. D. : Phenolic Compounds of *Terminalia triflora*, *Planta Med.* **27**, 226 (1975).
 - 8) Nonaka, G., Tanaka, T. and Nishioka, I. : Tannins and Related Compounds. Part 3. A New Phenolic Acid, Sanguisorbic acid Dilactone, and Three New Ellagitannins, Sanguins H-1, H-2, and H-3, from *Sanguisorba officinalis*. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1**, 1067 (1982).
 - 9) Nonaka, G., Tanaka, T. and Nishioka, I. : A Dimeric Hydrolyzable Tannin, Sanguin H-6 from *Sanguisorba officinalis*. *Chem. Pharm. Bull.* **30**, 2255 (1982).
 - 10) Tanaka, T., Nonaka, G. and Nishioka, I. : Tannins and Related Compounds. Part 28. Revision of the Structures of Sanguin H-6, H-2, and H-3, and Isolation and Characterization of Sanguin H-11, a Novel Tetrameric Hydrolyzable Tannin, and Seven Related Tannins, from *Sanguisorba officinalis*. *J. Chem. Research(M)*, 2001 (1985).