

## 일엽초의 페놀성 물질

이 민 원

중앙대학교 약학대학

### Phenolic Compound from *Lepisorus thunbergianus*

Min-Won Lee

College of Pharmacy Chung-Ang Univ., Seoul 156-756, Korea

**Abstract**—Two phenylpropanoids and one flavan 3-ol were isolated from *Lepisorus thunbergianus* (Polypodiaceae, fern), which is used as folkmedicine. Phenylpropanoids were identified as caffeic acid and chlorogenic acid, and flavan 3-ol was elucidated as (-)-epicatechin 7-O- $\beta$ -D-glucoside by physico-chemical and spectral evidences (HMQC, NOESY).

**Key words**—*Lepisorus thunbergianus*, fern, polyphenol, phenylpropanoid, flavan 3-ol glycoside.

식물의 polyphenol화합물은 여러 의약학적인 효능이 알려져 있다. 특히 탄닌과 같은 화합물은 BUN치의 저하작용<sup>1)</sup> 항정신작용<sup>2)</sup> 뇌졸중 예방효과<sup>3)</sup> 항궤양<sup>4)</sup> 항알레르기<sup>5)</sup> ACE활성억제<sup>6,7)</sup> 항암<sup>8,9)</sup> 항 AIDS바이러스 작용<sup>10,11)</sup> 등으로 나타나 있으며 항균, 항암, 항에이즈바이러스에 대한 효과가 단순한 비특이적 저해가 아닌 구조상관적인 특이적 저해로 알려지고 있어서 여러 다양한 종류의 자원식물로부터 다양한 구조의 새로운 탄닌의 분리와 구조해명이 요구된다. 본 연구자는 탄닌 및 기타 페놀성 물질의 자원의 하나로 보이는 양치식물(Fern)에 대한 연구로서 우리나라의 섬(울릉도, 제주도)의 해안 가까운 바위 등지에서 채집이 이루어지며 임질, 만성 신장염, 신우신염, 최근에는 항암목적으로 응용되고 있는 것으로 알려진 일엽초(*Lepisorus thunbergianus*)<sup>12,13)</sup>에 대해 예비실험에서 나타난 축합형 탄닌에 의한 것으로 보이는 발색 성분을 추적하여 분리를 시도한 결과 2종의 기지의 페닐프로판오이드 화합물인 caffeic acid(1), chlorogenic acid

(2) 등과 함께 1종의 flavan 3-ol을 분리하였으며, 각종 물리화학적 성상과 NOESY, HMQC 등을 이용한 각종 기기분석 데이터를 해석하여 (-)-epicatechin 7-O- $\beta$ -D-glucoside(3)로 구조를 결정하였다.

### 재료 및 방법

**실험재료**—실험에 사용한 일엽초(*Lepisorus thunbergianus* 2.3 kg)는 전초를 1997년 8월 제주도에서 구입하여 음건하여 사용하였으며 표본은 중앙대학교 약학대학 생약실에 보관하고 있다.

**시약 및 기기**—TLC는 precoated silicagel 60 F254(Merck)를 사용하였고, 반점의 확인은 UV-lamp와 FeCl<sub>3</sub>, anisaldehyde sulphuric acid 및 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(분무 후 가열)용액을 사용하였다. 컬럼 크로마토그래피는 Amberlite XAD-2(20~50 mesh, Fluka), Sephadex LH 20(75~230  $\mu$ m mesh, Pharmacia), MCI-gel CHP-20P(75~150  $\mu$ m, Mistubishi), Toyoparl HW 40F(30~60  $\mu$ m, Tosoh)를 사용하였고, IR spectrometer는

\*교신저자 : Fax 02-822-9778

Shimazu IR-435(Japan),  $^1\text{H-NMR}$  및  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrometer는 Varian Gemini 2000, 300 MHz (USA) 및 Bruker AMX-500, 500 MHz(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.

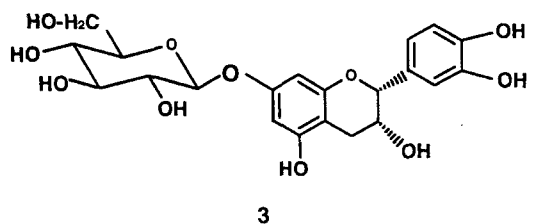
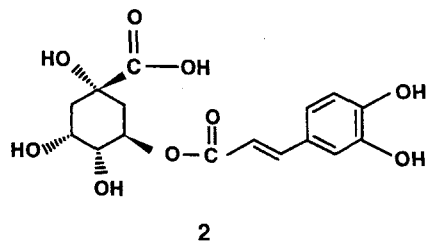
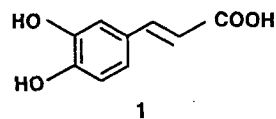
**추출 및 분리** - 음건한 재료를 80% 아세톤으로 실온에서 3회 추출하여 감압하 저온(40°C)에서 농축한 후 수층을 에테르로 탈지한 후 여과하여 Amberlite XAD-2 수지를 이용하여 몰부터 시작하여 100% MeOH까지 칼럼크로마토그래피를 실시하여 분획한 후(7개 분획) 그 중 분획 4를 선택하여 Sephadex LH-20(78×300 mm), MCI-gel(H<sub>2</sub>O-MeOH)로부터 caffeic acid(1, 100 mg)를 분리하였고, Sephadex LH-20(H<sub>2</sub>O-MeOH), MCI-gel(H<sub>2</sub>O-MeOH), Toyopearl HW-40F(60% MeOH)을 반복사용하여 chlorogenic acid(2, 240 mg)을 분리하였고, MCI-gel(H<sub>2</sub>O-MeOH), Sephadex LH-20(60% MeOH)을 반복 사용하여 (-)-epicatechin 7-O-β-D-glucoside(3, 260 mg)를 분리하였다.

**Compound 1** - 흰색 분말,  $[\alpha]_D^{20}$ -0.3(c=1.0, Me<sub>2</sub>CO); IR  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup>: 3420(OH), 3020, 1615, 1600, 1520(aromatic ring), 1640(conjugated carbonyl group);  $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 7.44(1H, d, *J*=15.9 Hz, CH=CH *trans* α-H), 7.06(1H, d, *J*=1.8 Hz, H-2'), 7.00(1H, dd, *J*=1.8, 8.1 Hz, H-6'), 6.80(1H, d, *J*=8.1 Hz, H-5'), 6.23(1H, d, *J*=15.9 Hz, CH=CH *trans* β-H);  $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 168.8(COOH), 149.0(CH=CH-COO), 146.4(C-3'), 145.5(C-4'), 126.7(C-1'), 122.0(C-6'), 116.5(CH=CH-COO), 115.9(C-5'), 115.4(C-2'); EI-MS(*m/z*): 184[M]<sup>+</sup>

**Compound 2** - 흰색 분말,  $[\alpha]_D^{20}$ +15.8(c=0.1, MeOH); IR  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup>: 3450(OH), 1709(acid), 1642(α,β-unsaturated ketone), 1600, 1534(aromatic),  $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 7.42(1H, d, *J*=15.9 Hz, caffeoyl *trans* α-H), 7.04(1H, d, *J*=1.8 Hz, H-2'), 6.99(1H, dd, *J*=8.1, 1.8 Hz, H-6'), 6.78(1H, d, *J*=8.1 Hz, H-5'),

6.15(1H, d, *J*=15.9 Hz, caffeoyl *trans* β-H), 5.07(1H, m, H-5), 3.93(1H, m, H-3), 3.58(1H, m, H-4), 2.04~1.75(4H, m, H-2, 6),  $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 175.7(COOH), 166.5(COO-), 149.1(CH=CH-COO), 146.3(C-3'), 145.7(C-4'), 126.3(C-1'), 122.1(C-6'), 116.4(C-2'), 115.5(C-5'), 115.0(CH=CH-COO), 74.1(C-1), 71.5(C-4), 71.0(C-5), 68.6(C-3), 40.9(C-2), 39.2(C-6)

**Compound 3** - 흰색 분말, FeCl<sub>3</sub>: 녹색; IR  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup>: 3430(OH), 1748(C=O), 1610, 1518, 1447(aromatic C=C), 1045(glycosidic C-O);  $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, Me<sub>2</sub>CO-*d*<sub>6</sub>+D<sub>2</sub>O): δ: 7.05~6.84(3H in total, H-2', 5', 6'), 6.37(1H, d, *J*=2.1 Hz, H-8), 6.10(1H, d, *J*=2.1 Hz, H-6), 4.91(1H, d, *J*=7.5 Hz, anomeric-H), 4.89(1H, H-2), 4.24(1H, m, H-3), 2.97(1H, dd, *J*=3.3, 17.4 Hz, H-4), 2.87(1H, dd, *J*=4.5, 17.4 Hz, H-4);  $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>+D<sub>2</sub>O): δ: 6.98~6.77(3H in total, H-2', 5', 6'), 6.22(1H, d, *J*=1.8 Hz, H-8), 6.02(1H, d, *J*=1.8 Hz, H-6), 4.84(1H, s, H-2), 4.82(1H, d, *J*=7.2 Hz, anomeric-H), 4.10(1H, m, H-3), 3.35~3.34(2H, m, H-4);  $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 158.1(C-7), 157.5(C-



5), 156.9 (C-9), 145.4(C-3', C-4'), 131.8(C-1'), 119.2(C-6'), 115.7(C-2'), 115.2(C-5'), 102.1 (C-10), 101.9(glc-1), 98.0(C-8), 96.7(C-6), 79.3 (C-2), 77.4(glc-5, 3), 74.2(glc-2), 70.8(glc-4), 66.5(C-3), 62.2(glc-6), 28.6(C-4)

## 결과 및 고찰

Compound 1은 흰색 무정형 분말로 FeCl<sub>3</sub> 시약에 의해 양성이며 IR spectrum에서 3450(OH), 1709 (COOH), 1642(unsaturated ketone), 1600, 1534 (aromatic)에서 각각 흡수를 나타내어 페놀성물질임을 시사하였고, <sup>1</sup>H-NMR 스펙트럼에서 전형적인 caffeic acid의 moiety인 1개의 ABX type의 signal[ $\delta$  7.06(1H, d,  $J=1.8$ Hz, H-2'), 7.00(1H, dd,  $J=1.8, 8.1$ Hz, H-6'), 6.80(1H, d,  $J=8.1$  Hz, H-5')]과 *trans* alkene 타입( $\delta$  7.44 (1H, d,  $J=15.9$  Hz, CH=CH *trans*  $\alpha$ -H), 6.23 (1H, d,  $J=15.9$  Hz, CH=CH *trans*  $\beta$ -H))의 수소가 나타났으며, <sup>13</sup>C-NMR 스펙트럼에서 탄소 9개의 caffeic acid에 의한 signal을 표품의 data와 비교하여 caffeic acid로 동정하였다.<sup>14)</sup>

Compound 2는 FeCl<sub>3</sub> 시약에 의해 양성으로 나타나고 IR 스펙트럼에서도 1과 유사한 흡수를 보여 페놀성 물질임을 추정할 수 있었고, <sup>1</sup>H-NMR 스펙트럼에서 1에 의한 signal( $\delta$ 7.42(1H, d,  $J=15.9$  Hz, caffeoyl *trans*  $\alpha$ -H), 7.04(1H, d,  $J=1.8$  Hz, H-2'), 6.99(1H, dd,  $J=8.1, 1.8$  Hz, H-6'), 6.78 (1H, d,  $J=8.1$  Hz, H-5'), 6.15(1H, d,  $J=15.9$  Hz, caffeoyl *trans*  $\beta$ -H))과 함께 [ $\delta$  5.07 (1H, m, H-5), 3.93 (1H, m, H-3), 3.58(1H, m, H-4), 2.04~1.75(4H, m, H-2, 6)]에서 4개 수소에 해당하는 2개의 methylene에 의한 signal과 3개의 OH기가 연결된 methine을 확인할 수 있었다. <sup>13</sup>C-NMR 스펙트럼에서도 1개의 caffeoyl기를 뺀 7개의 탄소의 signal은 각각  $\delta$  175.7의 COOH,  $\delta$  74.1, 71.5, 71.0, 68.6은 OH가 있는 methine,  $\delta$  40.9, 39.2는 2개의 methylene으로 quinic acid임을 알수 있었다. 즉 2는 quinic acid에 1개의 caffeoyl기가 결합된 chlorogenic acid로 추정되었고 표품의 데이터와의 비교를 통해 동정하였다.<sup>15)</sup>

Compound 3은 FeCl<sub>3</sub> 시약과 anisaldehyde

시약에 의해 양성으로 나타나 flavan 3-ol계통의 물질로 추정할 수 있었고, <sup>1</sup>H-NMR 스펙트럼에서 1개의 epicatechin moiety( $\delta$ 7.05~6.84(3H in total, H-2', 5', 6'), 6.37(1H, d,  $J=2.1$  Hz, H-8), 6.10(1H, d,  $J=2.1$  Hz, H-6), 4.89(1H, H-2), 4.24 (1H, m, H-3), 2.97(1H, dd,  $J=3.3, 17.4$  Hz, H-4), 2.87(1H, dd,  $J=4.5, 17.4$  Hz, H-4))와 1개의 당( $\delta$  4.91(1H, d,  $J=7.5$  Hz, anom.-H))의 존재를 나타내었고 <sup>13</sup>C-NMR 스펙트럼으로 부터  $\beta$ -D-glucose에 의한 signal( $\delta$  101.9(glc-1), 77.4(glc-5, 3), 74.2(glc-2), 70.8(glc-4), 62.2(glc-6))이 나타나 3은 epicatechin glucoside임을 알 수 있었다. 당의 결합 위치를 파악하기 위하여 먼저 HMQC 스펙트럼을 이용하여 DMSO-*d*<sub>6</sub> 용매에서 거의 중첩된 영역에 있는 H-2와 anomeric 수소를 분명히 하였고 이어서 NOESY 스펙트럼에서 anomeric 수소와 H-8사이의 NOE가 관찰됨에 따라 glucose는 7번의 OH에 결합되어 있음을 확인하였으며 negative FAB mass에서도  $m/z$  451에서 [M-H]<sup>-</sup> 피크를 나타내 3은 (-)-epicatechin 7-O- $\beta$ -D-glucose로 구조를 결정하였다.

## 결 론

민간약으로 쓰이는 양치식물인 일엽초(*Lepisorus thunbergianus*)로 부터 페놀성화합물로서 phenylpropanoid인 caffeic acid(1), chlorogenic acid(2)를 분리하여 동정하였고, flavan 3-ol glycoside인 (-)-epicatechin 7-O- $\beta$ -D-glucoside(3)를 분리하여 그 구조를 밝혔다. 이식물이 각종 염증성 질환(임질, 신장염) 등에 민간적으로 사용되어온 사실에 미루어 이 연구에서 분리된 caffeic acid와 chlorogenic acid가 약효에 관련된 것으로 보이며 (-)-epicatechin 7-O- $\beta$ -D-glucoside는 추가적인 약효를 추구해 볼만한 것으로 사료된다.

## 사 사

본 연구의 일부는 1996년 학술진흥재단의 공모과제연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 인용문헌

1. Shibutani, S., Nagasawa, T., Oura, H., Nonaka, G. and Nishioka, I. (1983) Mechanism of the blood urea nitrogen-decreasing activity of rhatannin from Rhei rhizoma in the rat. I. *Chem. Pharm. Bull.* 31: 2378.
2. Ueki, S., Fugiwara, M., Nishioka, I. and Nonaka, G. (1986) Psychotropic effects of rhubarb. *Gen-daitoyoigaku* 7: 98.
3. Uchida, S., Ohta, H., Niwa, M., Mori, A., Nonaka, G., Nishioka, I. and Ozaki, M. (1990) Prolongation of life span of stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP) ingesting persimmon tannin. *Chem. Pharm. Bull.* 38: 1049.
4. Ezaki, N., Kato, M., Takizawa, N., Morimoto, S., Nonaka, G. and Nishioka, I. (1985) Pharmacological studies on *Lindera Umbellatae* Ramus, IV. effect of condensed tannins related compounds on peptic activity and stress-induced gastric lesions in mice. *Planta Med.* 34.
5. Kakegawa, H., Matsumoto, H., Endo, K., Satoh, T., Nonaka, G. and Nishioka, I. (1985) Inhibitory effect of tannins on hyaluronidase activation and on the degranulation from rat mesentery mast cells. *Chem. Pharm. Bull.* 33: 5079.
6. Inokuchi, T., Nagamatsu, A., Nonaka, G. and Nishioka, I. (1985) Inhibition of angiotensin-converting enzyme in crude drug. II. *Chem. Pharm. Bull.* 33: 264.
7. Uchida, S., Ikari, N., Ohta, H., Niwa, M., Nonaka, G., Nishioka, I. and Ozaki, M. (1987) Inhibitory effects of condensed tannins on angiotensin converting enzyme. *Japan J. Pharmacol.* 43: 242.
8. Kashiwada, Y., Nonaka, G., Nishioka, I., Chang, J.-J. and Lee, K.-H. (1992) Antitumor agents, 129. Tannins and related compounds as selective cytotoxic agents. *J. Natr. Prod.* 55: 1033.
9. Kashiwada, Y., Nonaka, G., Nishioka, I., Ballas, L.M., Jiang, J.B., Janzeng, W.P. and Lee, K.-H. (1992) Tannins as selective inhibitors of protein Kinase C. *Bioorg. Med. Chem. Letters* 2: 239.
10. Nonaka, G., Nishioka, I., Nishizawa, M., Yamagishi, T., Kashiwada, Y., Dutschman, G. E., Bonder, A.J., Kilkuskieg R.E., Cheng, Y.-C. and Lee, K.-H. (1990) Anti-AIDS agents, 2: Inhibitory effects of tannins on HIV reverse transcriptase and HIV replication in H9 lymphocyte cells. *J. Nat. Prod.* 53: 587.
11. Lee, K.-H., Kashiwada, Y., Nonaka, G., Nishioka, I., Nishizawa, M., Yamagishi, T., Bonder, A. J., Kilkuskie, R.E. and Cheng, Y.-C. (1992) Tannin and related compounds as anti-HIV agents, natural product as anti-viral agents. 69. Plenus press, New York.
12. Lee, W.-T. (1996) Colored standard illustrations of Korean plants. 31. Academy Press, Seoul.
13. Lee, S.-J. (1966) Korean folk medicine. 5. Seoul National University Publishing Center, Seoul.
14. Andary, C., Wyldes, R., Laffite, C., Private, G., and Winterwitz, F. (1982) Structures of verbascoside and orobanchosides caffeic acid sugar ester from orobanche rapum-genistae. *Phytochemistry* 21: 1123.
15. Young, H.-S., Park, J.-C., Park, H.-J., Lee, J.-H. and Choi, J.-S. (1991) Phenolic compounds of the leaves of *Eucommia ulmoides*. *Arch. Pharm. Res.* 14: 114.

(1998년 5월 10일 접수)