

여우주머니의 Phenol 성 화합물

함인혜 · 왕도미나 · 조은선 · 조형권 · 황완균*

중앙대학교 약학대학

(Received March 1, 2001; Revised April 24, 2001)

Phenolic Compounds from *Phyllanthus ussuriensis*

Inhye Ham, Tomina Wang, Eun-Sun Cho, Hyung-Kwon Cho and Wan-Kyun Whang*

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

Abstract — The herbaceous species of *Phyllanthus* in this genus are used as hyperglycemic, diuretic, and malaria agent in the world. For the phytochemical studies and the investigation of medicinal resources in the *Phyllanthus* species, *Phyllanthus ussuriensis* (Euphorbiaceae) were used and the studies of constituents in this plant were carried out. From the aqueous fraction of methanolic extract, one flavonoid (quercetin-3-O-rutinoside), two gallotannins (gallic acid, methyl gallate), and two ellagitannins (corilagin, geraniin) were isolated through fractionation and repeated column chromatography using Amberlite XAD-4, ODS gel, and sephadex LH-20. The structures of these compounds were identified on the basis of spectroscopic evidences.

Keywords □ *Phyllanthus ussuriensis*, euphorbiaceae, quercetin-3-O-rutinoside, gallic acid, methyl gallate, corilagin, geraniin

여우주머니(*Phyllanthus ussuriensis*)는 대극과(Euphorbiaceae)에 속하는 일년초로서 높이가 15~40 cm 정도이고 가지가 갈라지며 원줄기와 가지에 잎이 같이 달리고 가지는 한쪽에 좁은 날개가 있거나 줄이 있다. 잎은 호생이며 엽병은 거의 없고, 장타원형 또는 피침형이며 잎밑이 둥글고 끝이 날카로우며 거치가 없고 길이는 2 cm이다. 뒷면에 다소 흰 빛이 돌고 가장자리가 밋밋하다. 꽃은 6-7월에 피며 황록색으로 자웅1가 이고 가지의 각각의 엽액에 착생하여 꽃이 잘고 꽃자루가 있다. 암꽃은 꽃받침 잎이 6개로서 열매일 때는 젖혀지며 긴 타원형이고 수꽃은 4~5개의 꽃받침잎과 2개의 수술 및 4개의 선체가 있다. 삭과는 납작한 구형이고 잎자루가 있으며 다소 늘어졌고 과면은 평활하며 익은 후에 3각편으로 열려 세립종자를 방출한다. 이 식물은 황무지나 밭에 야생으로 자라며, 지리적으로는

만주, 우수리에 분포한다. 우리나라에 분포하고 있는 *Phyllanthus*속 식물은 여우주머니외에도 여우구슬(*Phyllanthus urinaria*)이 알려져 있다.¹⁾

*Phyllanthus*속 식물은 중국, 인도, 인도네시아, 아프리카, 쿠바, 남미 등지의 열대, 아열대지방에서 신장, 요로 방광장애, 장염, 당뇨, B형간염, hyperglycemic agent, diuretic agent, malaria에 민간약으로 쓰여왔다.²⁻⁴⁾

*Phyllanthus*속 식물 성분에 관한 성분연구로는 *P. discoides*에서 1965년 Quevauvillet A. 등이 alkaloid 성분인 phyllalbin을,⁵⁾ 1967년 Foussard-Blanpin O. 등이 alkaloid 성분인 phyllochrysin을,⁶⁾ 1968년 Parello J.가 alkaloid 성분인 phyllantine을 분리 동정하였다.⁷⁾ *P. acuminatus*에서 Pettit G. R.이 1983년에 phyllanthostatin 1-3, phyllanthocin, phyllanthoside를,⁸⁾ 1988년에는 cytostatic lignan glycoside인 phyllanthoside A를 분리 동정하였다.⁹⁾ 또한 1992년 Takashi등은 *P. flexuosus*에서 phyllanthusiin A, B, C, D, E, geraniin, corilagin, chebulagic acid, bergenin, brevifolincar-

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 02-820-5611 (팩스) 02-816-7338

boxilic acid를 분리 동정하였고¹⁰⁾ Ishimaru등은 *P. niruri*에서 gallic acid, catechin류, phenolic compound (flavan-3-ol, galloyl derivatives)를 분리동정하였다.¹¹⁾ *P. amarus*에서 1993년 Aimon 등은 cytotoxic response를 가진 phyllanthin과 hypophyllanthin을 분리 동정하였으며¹²⁾ Foo등은 cyclidhydrolysabletannin인 amarulone¹³⁾과 di-dihydroxydiphenoyl hydrolysable tannin인 amariin을 분리 동정하였다.¹⁴⁾

한편, *Phyllanthus*속 식물의 생리활성연구에 대해서는 1985년에 Syamasundar K.V. 등이 *P. niruri*에서 분리한 phyllanthin과 hypophyllanthin이 rat에서 CCl₄와 galactosamine으로 유도한 hepatocytes에 대해 보호활성을 갖는다고 보고하였고,¹⁵⁾ 1988년 Ueno H. 등이 *P. niruri*에서 분리한 ellagitannin인 geraniin이 HIV reverse transcriptase의 저해작용과 당뇨 합병증에 관련된 angiotensin converting enzyme에 대해 높은 활성을 나타낸다고 하였고,¹⁶⁾ 1989년에 Blumberg B.S. 등이 *P. amarus*의 엑스가 hepatitis B virus의 DNA polymerase를 저해한다고 보고하였다.¹⁷⁾

그리고 1997년 Ihantola-Vormisto A.가 *P. emblica*의 엑스가 human polymorphonuclear leukocyte (PMN)와 prostanoid와 leukotriene synthesis저해와 관련하여 소염작용이 있다고 연구보고 하였다.⁴⁾

1998년 정태호 박사는 특허출원을 한 Hepaguard (*Phyllanthus*속 식물의 추출물을 포함하는 B형 간염 치료제)와 관련된 식물인 한국산 야생초 여우구슬(진주초, 眞珠草 *Phyllanthus urinaria*)의 추출물을 만성 활동성 B형 간염환자에게 투여하여 12개월이 경과한 후 환자의 93%에서 혈중에 B형 간염 virus DNA가 소실되었다고 보고하였다.

1999년에 Jeena, K.J. 등이 *P. amarus*의 엑스가 anticarcinogenic activity를 가지고 있어 N-nitrosodiethylamine으로 유도한 hepatocarcinogenesis시 발생하는 glutathione S-transferase와 γ -glutamyltranspeptidase, lipid peroxide, glutamatepyruvatetransaminase의 수치를 감소시켜 chemical carcinogenesis에 대한 효과를 나타낸다고 하였고,¹⁸⁾ Liu, K.C.등이 *P. myrtifolius*와 *P. urinaria*에서 분리된 corilagin moiety 갖는 ellagitannin들이 μ M농도에서 Epstein-Barr virus DNA polymerase를 억제한다고 보고하였으며,¹⁹⁾ Hnatyszyn O. 등은 *P. sellowianus*의 지용성 및 수용성 엑스가 Human Immunodeficiency Virus type 1(HIV-1) reverse transcriptase의 polymerase와 ribonuclease H(RNase H)의 활성을 저해한다고 보고 하였고,²⁰⁾ Pauoino N. 등은 *P. urinaria*에서 분리된 methyl 및 ethylgallate가 *in vitro*에서 guineapigtra-

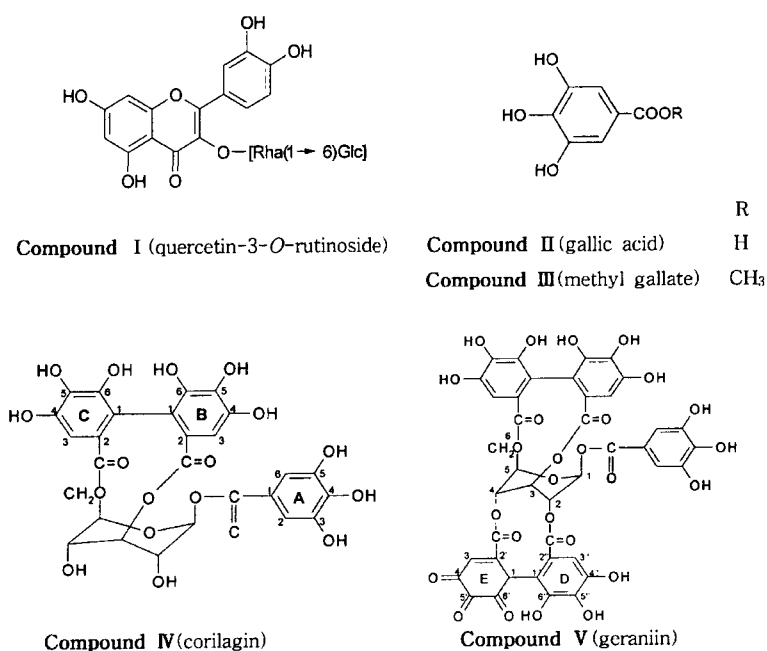


Fig. 1 - Structures of Compound I-V.

chea에서 ATP-sensitive K⁺channel의 activation과 관련하여 relaxant effect를 나타낸다고 보고하였다.²¹⁾

이상과 같이 *Phyllanthus*속 식물에 대하여 많은 연구가 진행되어 왔으나 *Phyllanthus*속 의약 자원 개발에 있어 간염치료제로 주목받고 있는 진주초의 개발외에는 국내에서의 성분 및 활성 연구는 아직 미진한 상태에 있다.

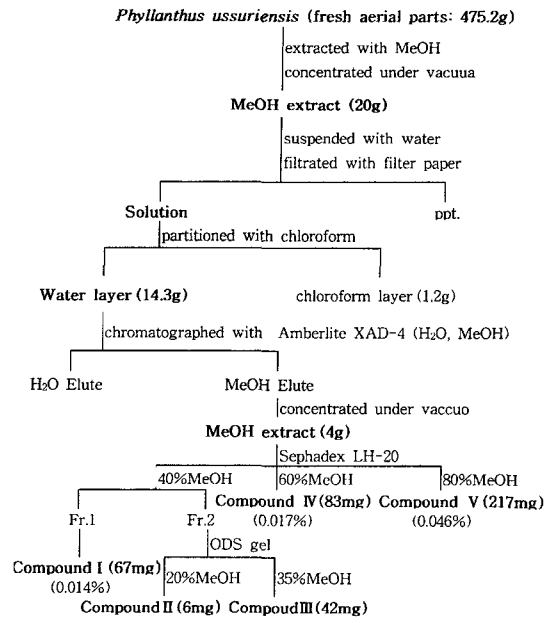
따라서 *Phyllanthus*속 식물 중에서 국내에 자생하는 여우주머니를 사용하여 의약 자원 개발 가능성과 chemotaxonomy의 일환으로 본 실험을 실시하였다.

실험방법

실험재료 - 본 실험에서 사용한 여우주머니 *Phyllanthus ussuriensis*의 지상부는 1998년 9월 중앙대학교 교정에서 채집하여 식물학적 감정을 거친 후 신선한 상태로 사용하였으며 표본은 중앙대학교 약학대학 약품 자원식물학 연구실에 보관하고 있다.

기기 및 시약 - 실험에 사용된 기기로는 용점에 Buchi melting point B-540(Switzerland)을 IR spectrum에는 Nicolet FT-IR Spectrophotometer Magna-750(U.S.A.)을 그리고 ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR의 경우 Varian Gemini 2000(U.S.A., 300, 75 MHz)를 사용하였다. 또한 Mass의 경우 EI-MS의 경우 Shimadzu GC-14A(Japan)를 FAB-MS의 경우 VG70-VSEQ(u.k)를 사용하여 측정하였다. 한편 TLC전개에 있어서 고정상으로 Kieselgel 60 F₂₅₄(Merck, Germany)를 이동상으로는 CHCl₃:MeOH:H₂O(70:30:4), CHCl₃:MeOH:H₂O(80:25:2.5) 및 Ethylacetate:EtOH:H₂O(8:2:1)를 그리고 발색 시약으로는 10%-H₂SO₄ in EtOH, Ethanolic-FeCl₃ 및 sodium nitrate/acetic acid를 사용하였다. 그리고 분리시 사용된 젤은 Amberlite XAD-4(Merk, Germany), Sephadex LH-20(Pharmacia Biotech, Sweden) 및 LiChroprep RP-18(Merk, Germany)을 사용하였다.

추출 및 화합물의 분리 - 신선한 재료 475.2 g을 메탄올을 용매로 하여 상온에서 냉침법으로 3회 추출, 여과하여 감압 농축하였다. 그 메탄올 엑스 20 g에 증류수를 넣고 열수욕상에서 진탕시킨 후, 냉시 여과하여 얻은 여액을 chloroform으로 5회 반복 처리하여 분획하였다. 분획한 층을 각각 감압 농축하여 수층 14.3 g과 chloroform층 1.2 g을 얻었다(Scheme 1).



Scheme 1 - Extraction and isolation of Compound I-V from the *Phyllanthus ussuriensis*.

Compound 1의 분리 - Scheme 1의 방법으로 처리하여 얻은 수층(14.3 g) 분획에 Amberlite XAD-4 column chromatography(전개용매 : H₂O→100% MeOH)를 시행하여 얻은 MeOH extract(4 g)를 Sephadex LH-20 column chromatography(전개용매 : 40% MeOH)를 이용하여 얻은 fraction 1에서 Compound 1(47 mg)을 분리하였다.

Compound 1의 물리 화학적 성상 -m.p. 214~215°C; IR_{vmax}^{KBr} cm⁻¹: 3398 (OH), 1655 (CO), 1605, 1447 (aromatic C=C), 1063 (glycosidic O); Negative FAB-MS (m/z): 609 [M-H]⁻; ¹H-NMR(CD₃OD, δ ppm): 1.12 (3H, d, J=6.3 Hz, rha CH₃), 4.53 (1H, s, rha anomeric H), 5.12 (1H, d, J=7.5 Hz, glc anomeric H), 6.21 (1H, s, H-6), 6.40 (1H, s, H-8), 6.88 (1H, d, J=8.4 Hz, H-5'), 7.64 (1H, dd, J=8.4, 2.1 Hz, H-6'), 7.68 (1H, d, J=2.1 Hz H-2'); ¹³C-NMR(CD₃OD, δ ppm): 17.9(C-6'''), 68.7(C-6''), 69.8(C-5'''), 71.5(C-3'''), 72.2(C-2'''), 72.3(C-4''), 74.0(C-4'''), 75.8(C-2'''), 77.3(C-5''), 78.3(C-3''), 95.0(C-8), 100.1(C-6), 102.6(C-1'''), 104.9(C-1''), 105.8(C-10), 116.3 (C-2), 117.9(C-9), 123.3(C-6'), 123.8(C-1'), 135.9(C-3), 146.1(C-3'), 150.1(C-4'), 158.8(C-2), 159.6(C-9),

163.3(C-5), 166.3(C-7), 179.7(C-4)

Compound II, III의 단리 - Compound I과 같이 Scheme I의 방법으로 처리하여 얻은 Fraction 2를 ODS column chromatography를 시행하여 Compound II(전개용매 : 20% MeOH) 6 mg과 Compound III(전개용매 : 35% MeOH) 42 mg을 분리하였다.

Compound II의 물리화학적 성상 - m.p. 270~272°C; IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3249 (OH), 1705 (COO), 1612, 1534, 1450 (aromatic C=C); EI-MS (m/z): 170[M]⁺, 153. 125; ¹H-NMR(Acetone-*d*₆+D₂O, δ ppm): 7.12 (2H, s, galloyl H); ¹³C-NMR(Acetone-*d*₆+D₂O, δ ppm): 112.10(C-2, 6), 126.9(C-1, 139.9(C-4), 147.7 (C-3, 5), 173.5(COO)

Compound III의 물리화학적 성상 - $[\alpha]_D^{20} = -0.3^\circ$ (c=1.0, Acetone); IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3465 (OH), 2952 (aliphatic CH), 1696 (CO), 1618, 1540(aromatic C=C) 1438, 1315 (-OCH₃); EI-MS (m/z): 184[M]⁺, 153 [M-(OCH₃)]⁺, 125[M-(COOCH₃)]⁺; ¹H-NMR (Acetone-*d*₆+D₂O, δ ppm): 7.13 (2H, s, galloyl H), 3.82 (3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR(75 MHz, Acetone-*d*₆+D₂O, δ ppm): 51.9(-OCH₃), 109.5(C-2, 6), 121.0 (C-1), 138.9(C-4), 146.0(C-3, 5), 167.9(COO)

Compound IV, V의 단리 - Compound I과 같이 Scheme I의 방법으로 처리하여 얻은 수층(14.3 g) 분획에 Amberlite XAD-4 column chromatography(전개용매 : H₂O → 100% MeOH)를 시행하여 얻은 MeOH extract를 Sephadex LH-20 column chromatography를 이용하여 Compound IV(전개용매 : 60% MeOH) 83 mg과 Compound V(전개용매 : 80% MeOH) 217 mg을 분리하였다.

Compound IV의 물리화학적 성상 - IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3383 (OH), 1715 (CO), 1617, 1516, 1443(aromatic C=C), 1025 (glycosidic O); negative FAB-MS (m/z): 633[M-H]⁻, 464[M-galloyl]⁻; ¹H-NMR(Acetone-*d*₆+D₂O, δ ppm): 4.01-4.20 (2H, m, glc H-2, 6), 4.49-4.64 (2H, m, glc H-4,5), 4.85 (2H, m, glc H-3, 6), 6.39 (1H, d, *J*=2.7, H-1), 6.73, 6.86 (each 1H, s, HHDP-H), 7.14 (2H, s, galloyl-H); ¹³C-NMR (Acetone-*d*₆+D₂O, δ ppm): 62.30(glcC-4), 64.58 (glcC-6), 69.12(glcC-2), 71.39(glcC-3), 75.70(glcC-5), 94.66(glcC-1), 108.09(ring B,C-3), 110.34, 110.92 (ringA-2, 6), 116.20, 117.09(ringB, C-1), 120.61

(ringA-1), 125.63, 125.53(ringB, C-2), 137.57, 136.89 (ringB, C-5), 140.09(ringA-4), 145.27, 145.13(ringB, C-4,6), 146.21, 145.74(ring A-3, 5), 166.46, 168.08, 169.44(COO)

Compound V의 물리화학적 성상 - IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3400 (OH), 1709 (CO), 1616, 1514, 1447 (aromatic

Table I - ¹³C-NMR Spectral Data of Compound V (75 MHz, Acetone-*d*₆+D₂O)

	a	b
Ring A C-1	120.48	120.48
C-2,6	111.14	110.92
C-3,5	146.32	146.28
C-4	140.15	140.11
C=O	165.07	165.12
Ring B C-1	117.37	116.05
C-2	124.98	124.80
C-3	110.81	110.50
C-4	144.96	144.86
C-5	138.13	138.09
C-6	145.46	145.33
C=O	166.52	166.52
Ring C C-1	115.49	115.36
C-2	125.94	125.75
C-3	108.14	108.29
C-4	145.79	145.76
C-5	136.83	136.79
C-6	145.28	145.56
C=O	168.77	168.68
Ring D C-1	115.49	120.34
C-2	119.76	117.22
C-3	113.69	113.62
C-4	146.12	148.01
C-5	139.27	137.72
C-6	143.75	147.49
C=O	165.76	165.24
Ring E C-1	46.35	52.12
C-2	154.87	149.54
C-3	128.92	125.32
C-4	192.19	194.93
C-5	96.50	92.60
C-6	92.67	109.35
C=O	165.96	166.10
glucose C-1	90.97	92.02
C-2	70.13	70.69
C-3	63.47	62.52
C-4	66.10	67.05
C-5	72.81	73.48
C-6	63.99	64.01

C=C), 1037 (glycosidic O); negative FAB-MS (m/z): 951[M-H]⁻; ¹H-NMR (Acetone-*d*₆+D₂O, δ ppm): 4.31 (1H, dd, $J=8,11$ glc-H-6), 4.43(1H, m, glc-H-6), 4.76-4.95 (5H, m, glc-5,6-H[$\times 2$], DHHDP H-3), 5.17(1H, s, DHHDP H-1), 5.42-5.58(6H in total, glc-2,3,4-H[$\times 2$]), 6.26(1H, d, $J=1.5$ DHHDP H-1), 6.54(1H, s, DHHDP H-3), 6.56(2H, d, $J=1.2$ glc H-1[$\times 2$]), 6.67(2H, d, $J=4.2$ HHDP-H[$\times 2$]), 7.09-7.26 (8H in total DHHDP 3'-H[$\times 2$], H of HHDP[$\times 2$] and galloyl-2H[$\times 2$]); ¹³C-NMR (Acetone-*d*₆+D₂O, δ ppm): Table I

실험결과 및 고찰

*Phyllanthus*속 식물 중 우리나라에서 자생하는 여우주머니(*Phyllanthus ussuriensis*)의 성분에 대한 연구가 아직 미흡한 점에 착안하여 의약 자원 개발 가능성 타진과 chemotaxonomy의 일환으로 본 식물에 대해 천연물 화학적 방법으로 연구를 실시하였다. 신선한 재료를 메탄올을 용매로 하여 상온에서 냉침법으로 추출, 여과하여 감압 농축하고 그 메탄올 엑스에 증류수를 넣고 열수욕상에서 진탕시킨 후, 냉시 여과하여 얻은 여액을 chloroform으로 탈지한 후 수층을 여과하여 이를 Amberlite XAD-4 resin column chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography, ODS column chromatography를 실시하여 1종의 flavonoid, 2종의 gallo tannins, 2종의 ellagitannins 등 5종의 phenol성 화합물을 분리하였다. 이들의 각종 물리화학적 성상과 기기 분석 IR, EI-MS, FAB-MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR 등의 소견을 종합한 결과, Compound I은 quercetin-3-O-rutinoside(rutin), Compound II는 gallic acid, Compound III은 methyl gallate, Compound IV는 corilagin, Compound V는 geraniin으로 확인 동정하였다.

Compound I은 담황색 분말상 결정으로 FeCl₃ 반응과 Mg+HCl 반응에 양성이며 IR spectrum에서 3398(OH), 1655(conjugated C=O), 1605, 1447(aromatic C=C), 1063(glycosidic O) cm⁻¹ 등에서 강한 흡수대를 나타내므로 flavonoid 화합물로 추정하였다. Negative FAB-MS spectrum에서는 m/z 609에서 [M-H]⁻의 molecular ion peak가 관찰되었고, m/z 463 [M-(rha+H)]⁻ 및 301 [M-(rha+glc+H)]⁻에서

각각 methyl pentose 및 hexose가 탈락된 fragment ion peaks가 관찰된 것으로 보아 flavonoid 모핵에 methyl pentose와 hexose가 결합된 물질로 추정할 수 있었다.

¹H-NMR spectrum에서 δ 7.83에서의 doublet signal은 H-2'로 귀속시킬 수 있었고 δ 7.64의 dd signal 및 δ 6.88 ppm에서 나타난 $J=8.4$ Hz의 doublet signal은 각각 ¹H에 해당하는 H-6', H-5'로 서로 ortho-coupling하고 있음을 보여준다. δ 6.40 및 δ 6.21에서 나타난 signal은 각각 1H에 해당하는 H-8, H-6으로 귀속시킬 수 있었다.

또한, δ 1.12에서 나타난 $J=6.3$ Hz의 doublet signal은 3H에 해당하는 rhamnose angular methyl로 확인하였고, δ 5.12에서 나타난 $J=7.5$ Hz의 doublet signal은 1H에 해당하는 glucose의 anomeric proton이 β 결합을 하고 있음을 추정할 수 있었으며, δ 4.53의 singlet signal은 rhamnose의 anomeric proton으로 추정하였다.

¹³C-NMR spectrum에서 당으로부터 기인하는 δ 104.1, 02.6, 78.3, 77.3, 75.9, 74.1, 72.3, 72.2, 71.5, 69.8, 68.7, 17.9 로 12개의 carbon signals를 통해 2 mole의 당이 결합되어 있음을 알 수 있었고, 특히 glucose의 6번 탄소가 δ 68.7으로 약 6.3 ppm downfield shift하는 것으로 보아 rhamnose가 glucose 6번 탄소에 결합되어 있음을 알 수 있었다. 비당부의 carbon signal이 15개이고, 특히 quercetin과 비교하여 C-2, C-4 carbon이 downfield shift 되었고 C-3이 δ 135.9로 upfield shift되어 관찰되므로 C-3의 hydroxyl group에 당이 결합하여 glycosylation shift가 일어난 것을 확인할 수 있었다. δ 179.7에서 C-4의 carbonyl기를 관찰할 수 있었고 δ 146.1, δ 150.1으로 C-3', 4' carbon signal이 관찰되어 C-3', 4' 위치의 proton이 치환되어 있음을 알 수 있었다.

이상의 기기분석 결과와 문헌 data²²⁻²⁴)의 비교로 Compound I은 분자식 C₂₇H₃₀O₁₆, 인 quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside 즉 quercetin-3-O-rutinoside (rutin)로 확인 동정하였다.

Compound II는 무색침상 결정으로 FeCl₃ 시약에 청색을 나타내고, IR spectrum에서 3249 (OH), 1705 (CO), 1612, 1534, 1450(aromatic C=C) cm⁻¹ 등에서 강한 흡수대를 나타내므로 phenolic compound로 추정하였다.

EI-MS spectrum에서 m/z 170[M]⁺의 molecular ion peak를 나타내었고 ¹H-NMR spectrum에서는 δ 7.12에서 수소적분치 2H에 해당하는 galloyl기의 H-2,6에 의한 singlet signal을 나타내었으며, ¹³C-NMR spectrum에서는 δ 112.1에서 C-2,6 δ 139.9에서 C-4 δ 147.7에서 C-3,5 δ 173.5에서 COOH에 의한 carbonyl signal이 관찰하였다.

이상의 기기분석결과와 문헌 data²⁵⁻²⁶의 비교로 Compound I은 분자식 C₇H₆O₅, mp 270-272°C인 gallic acid로 확인 동정하였다.

Compound III는 흰색분말로 FeCl₃ 시약에 청색을 나타내고, IR spectrum에서 3465 (OH), 2952 (aliphatic CH), 1696 (CO), 1618, 1540 (Aromatic C=C) 1438, 1315 (-OCH₃) cm⁻¹ 등에서 강한 흡수대를 나타내어 phenolic 화합물로 추정하였다.

EI-MS spectrum에서 m/z 184[M]⁺의 molecular ion peak를 나타내었고 m/z 153 및 125에서 각각 [M-(OCH₃)]⁺ 및 125[M-(COOCH₃)]⁺의 fragment ion peak를 관찰할 수 있었다. ¹H-NMR spectrum에서는 δ 7.12에서 수소적분치 2H에 해당하는 galloyl기에 의한 singlet signal과 methoxy기에 의한 3H의 singlet signal이 δ 3.82에서 관찰되었다. ¹³C-NMR spectrum에서는 δ 110.0에서 C-2,6를 δ 139.0에서 C-4를 δ 146.0에서 C-3,5를 δ 167.9에서 COOH에 의한 carbonyl signal, 그리고 methoxy기에 의한 signal이 δ 51.9에서 관찰되었다.

이상의 기기분석 결과와 문헌 data²⁷의 비교로 Compound III는 분자식 C₈H₈O₄인 methylgallate로 확인 동정하였다.

Compound IV는 백색분말로 FeCl₃시약 및 NaNO₂ acetic acid 시약에 의해 양성으로 나타나고 3383(OH), 1715(C=O), 1616, 1516 (aromatic C=C) 및 1025 (glycosidic O) cm⁻¹에서 강한 흡수대를 관찰할 수 있어 ellagitannin계열임을 추정할 수 있었다.

Negative FAB-MS에서는 m/z 633에서 [M-H]⁻의 molecular ion peak를 m/z 465에서 [M-(galloyl-H)]⁻의 gallic acid가 탈락된 fragment ion peak를 관찰할 수 있었다.

¹H-NMR Spectrum에서는 δ 7.14에서 galloyl기에 의한 2H 분의 singlet signal과 δ 6.73과 6.86에서 각각 1H 분의 HHDP기에 의한 singlet signal이 나타나 이 compound내에 각각 한 개의 galloyl기와 HHDP기

가 존재하는 것을 알 수 있었다.

δ 6.39에서 $J=2.7$ Hz인 1H의 doublet signal은 glucose anomeric proton이 α 결합 하는 것으로 추정할 수 있었으며, δ 4.01-4.20, δ 4.49-4.64, δ 4.85에서 나타난 multiplet signal은 glucose proton의 H-2,6, H-4,5, H-3,5로 귀속시킬 수 있었다.

¹³C-NMR spectrum에서 당으로부터 기인하는 δ 62.3, 64.6, 69.1, 71.4 75.7의 5개의 signal과 δ 94.7에서 glucose의 C-1 signal이 관찰되어 한 개의 glucose가 결합되어 있는 것을 추정할 수 있었다. glucose의 C-1 signal이 일반적인 glucose의 moiety와 비교하여 약 δ 10 ppm정도 large upfield shift함이 관찰되었는데 이는 ⁴C₁ glucose core를 갖는 galloyl glucose들이 galloyl group의 산화적 coupling으로 HHDP group(viz. ellagitannin)을 갖는 tannin으로 metabolization될 때 O-3과 O-6/O-2와 O-4에 위치하는 galloyl group사이에서 발생하는 산화적 coupling은 ⁴C₁ core를 ¹C₄ core(boat conformation) 핵으로 conformation change를 일으키는 원인이 되고 또한 hydroxyl group의 C-O bonding의 orientation에 변화를 동시에 수반하므로 이 conformation change가 glucose carbon signal의 chemical shift에 영향을 준다는 사실에 기인하여 이 compound가 ¹C₄ core(boat conformation)를 갖는 ellagitannin임을 추정할 수 있었으며 δ 169.4, 168.1, 166.5 ppm에서 -COO-에 의한 peak가 관찰되었다.

이상의 기기분석 결과와 문헌 data^{28,29}의 비교로 Compound IV는 분자식 C₂₇H₂₂O₁₈, m.p. 211-212°C인 corilagin으로 확인 동정하였다.

Compound V는 황색분말로 FeCl₃시약 및 NaNO₂ acetic acid 시약에 의해 양성으로 나타나고 3400 (OH), 1709(CO), 1616, 1514, 1447(aromatic C=C) 및 1037(glycosidic C-O) cm⁻¹에서 강한 흡수대를 관찰할 수 있어 ellagitannin계열임을 추정할 수 있었다.

Negative FAB-MS에서는 m/z 951에서 [M-H]⁻의 molecular ion peak를 관찰할 수 있었다.

이 화합물은 ¹H-NMR과 ¹³C-NMR spectrum에 의해 equilibration에 의한 structural transformation한다는 것을 알 수 있었다(Fig. 2).

¹H-NMR spectrum에서 mutarotation(a)전에 δ 5.17과 6.54에서 나타나는 methine과 vinyl proton의 singlet signal이 mutarotation 동안 감소하게 되고,

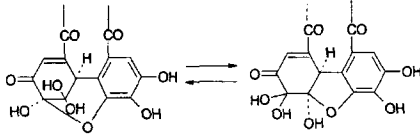


Fig. 2 - Structure of Dehydrohexahydroxydiphenoyl group (DHHDP).

상호적으로 새로 형성된 δ 4.76-4.95 ppm의 1H (DHHDP-H-3)와 δ 6.26에서의 doublet signal($J=1.5$ Hz)은 자동적으로 증가함을 알 수 있었다. 또한 δ 6.56에서 $J=1.2$ Hz의 doublet signal glucose anomeric proton이 α 결합을 하고 있음을 추정하게 하였다.

13 C-NMR Spectrum에서는 equilibration에서의 현상으로 각각의 carbon spectrum이 2개의 peak로 관찰되었고, 특히 ring D와 E의 carbon resonance의 equilibration($a \rightleftharpoons b$)으로 chemical shift가 변하는 것을 확인할 수 있었다. 또한 δ 46.35의 (a)의 methine carbone peak는 equilibration상태에서 (b)의 δ 52.12로 나타남이 관찰되었고, (a)에서 3개의 ketone중 하나는 δ 192.19 ppm에서, hydrated ketone(hemiacetal)의 두 peak는 각각 δ 96.50과 92.67에서 나타나고, equilibration상태에서 (b)에서는 δ 194.93, δ 92.60, δ 109.35로 나타났다. 또한 equilibration상태에서의 ring E에서의 C-6 carbon signal의 δ 92.67에서 δ 109.35로의 large down field shift는 pyranose에서 furanose로의 transformation과 관련됨을 추정할 수 있었다.

이상의 기기분석 결과와 문헌 data^{10,28-30}의 비교로 Compound V는 분자식 $C_{41}H_{28}O_{27}$, m.p 218-221°C 인 geraniin으로 확인 동정하였다.

결 론

*Phyllanthus*속 식물 중 우리나라에서 자생하는 여우주머니(*Phyllanthus ussuriensis*)의 의약 자원 개발 가능성과 chemotaxonomy의 일환으로서, *Phyllanthus*속 식물로 현재까지 국내에서 연구된 진주초와의 비교를 통하여 여우주머니의 약품으로서의 개발 가능성을 타진하고자, 여우주머니에 대한 천연물 화학적인 연구를 통해 본 실험을 실시하였다.

여우주머니의 메탄올 추출물의 H_2O 가용부를 Amberlite XAD-4 resin column chromatography,

Sephadex LH-20 column chromatography, ODS column chromatography를 실시하여 1종의 flavonoid (Compound I), 2종의 gallotannins(Compound II, III), 2종의 ellagitannins(Compound IV, V)등 5종의 phenol성 화합물을 분리하였다. 이들의 각종 물리화학적 성상과 기기 분석 IR, EI-MS, FAB-MS, 1H -NMR, ^{13}C -NMR등의 소견을 종합한 결과, Compound I은 quercetin-3-O-rutinoside($C_{27}H_{30}O_{16}$), Compound II는 gallic acid($C_7H_6O_5$), Compound III은 methyl gallate($C_8H_8O_4$), Compound IV는 corilagin($C_{27}H_{22}O_{18}$), Compound V는 geraniin($C_{41}H_{28}O_{27}$)으로 확인 동정하였으며, 주성분은 corilagin 및 geraniin임을 확인하였다.

이상 5종의 화합물은 여우주머니에서 처음 분리된 물질들이다.

문 헌

- 1) 정태현 : 한국동식물도감, 식물편(목, 초본류)上, 문교부, P. 696 (1965).
- 2) Unander D. W. : *Phyllanthus Species* : In Vitro Culture and the Production of Secondary Metabolites, *Biotechnology in Agriculture & Forestry* **37**, 304 (1996).
- 3) Calixto J. B., Santos A. R., Cechinel Filho V., Yunes R. A. : A review of the plants of the genus *Phyllanthus*: their chemistry, pharmacology, and therapeutic potential, *Med. Res. Rev.* **18**(4), 225 (1998).
- 4) Ihantola-Vormisto A., Summanen J., Kakaanranta H. : Anti-inflammatory activity of extracts from leaves of *Phyllanthus emblica*, *Planta Med.* **63**(6), 518 (1997).
- 5) Quevauviller A. : Analkaloid of *Phyllanthus discoides* (Euphorbiaceae) phyllalbine, a central and periperal sympathomimeric, *Therapie.* **20**(4), 1033 (1965).
- 6) Foussard-Blanpin O. : On phyllochrysin, an alkaloid from *Phyllanthus discoides*, Euphorbiaceae, *Therapie.* **22**(2), 303 (1967).
- 7) Parello J. : Structure of phyllanthine, a minor alkaloid from *Phyllanthus discoides* Muell. Arg, *Bull Soc Chim Fr.* **3**, 1117 (1968).
- 8) Pettit G. R. : Structure of the principal antineoplastic glycosides of *Phyllanthus acuminatus* Vahl, *Can. J. Chem.* **61**, 2630 (1983).

- 9) Pettit G. R. : Isolation and Structure of the cytostatic lignan glycoside phyllanthostatin A, *J. Nat. Prod.* **51**(6), 1104 (1988).
- 10) Yoshida T. : Hydrolyzable tannins with $^1\text{C}_4$ Glucose core from *Phyllanthus flexuosus* Muell. Arg, *Chem Pharm. Bull.* **40**(1), 53 (1992).
- 11) Ishimaru K., Yoshimatsu K. : Phenolic constituents in tissue cultures of *Phyllanthus niruri*, *Phytochemistry*, **31**, 2015 (1992).
- 12) Aimon Somanabandhu : ^1H -and ^{13}C -NMR assignments of phyllanthin and hypophyllanthin: lignans that enhance cytotoxic responses with cultured multidrug-resistant cells, *J. Nat. Prod.* **56**(2), 233 (1993).
- 13) FooL. Y. : Amarulone, a noble cyclic hydrolysable tannin from *Phyllanthus amarus*, *Nat. Prod. Lett.*, **3**, 45 (1993).
- 14) FooL. Y. : Amariin, a di-dehydrohexahydroxydiphenoylhydrolysable tannin from *Phyllanthus amarus*, *Phytochemistry*, **33**, 487 (1993).
- 15) Syamasundar K. V., Singh B., Thakur R. S. : Anti-hepatotoxic principles of *Phyllanthus niruri* herbs, *J Ethnopharmacol* **14**, 41 (1985).
- 16) Ueno H. : Chemical and pharmaceutical studies on medicinal plants in Paraguay. Geraniin, an angiotensin-converting enzyme inhibitor from "paraparaimi", *Phyllanthus niruri*, *J. Nat. Prod.*, **51**(2), 357 (1998).
- 17) Blumberg B. S., Millman I. : Hepatitis B virus and hepatocellular carcinoma-treatment of HBV carriers with *Phyllanthus amarus*, *Cancer Detect Prev*, **14**(2), 195-199 (1989).
- 18) Jeena K. J., Joy K. L., Kuttan R. : Effect of *Embllica officianlis Phyllanthus amarus* and *Picrorrhiza kurroa* on N-nitrosodiethylamine induced hepatocarcinogenesis, *Cancer Lett* **8**, 136(1), 11-6 (1999).
- 19) Liu K. C., Lin M. T., Lee S. S. : Antiviral tannins from two *Phyllanthus* species, *Planta Med* **65**(1), 43 (1999).
- 20) Hnatyszyn O., Broussalis A., Herrera G. : Argentin plant extracts active against polymerase and ribonuclease H activities of HIV-1 reverse transcriptase, *Phytother Res.* **13**(3), 206 (1999).
- 21) Paulino N., Pizzolatti M. G., Yunes R. A. : The mechanisms underlying the relaxant effect of methyl and ethyl gallates in the guinea pig trachea in vitro : contribution of potassium channels, *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* **360**(3), 331 (1999).
- 22) Hasan A., Ahmed I., Jay M. and Voirin V. : Flavonoid glycosides and anthraquinone from *Rumex chalepensis*, *Phytochemistry*, **39**(5), 1211 (1995).
- 23) Markham K. R. and Chari V. M. in *The Flavonoids : Advances in Research*, ed, J. B. Harborne and T. J. Mabry. Chapman and Hall, London, New York, p.19 (1982).
- 24) 마충운, 함인혜, 황완균 : 골담초엽의 플라보노이드, 약학회지, **43**(2), 143 (1999).
- 25) Park, J. C., Young, H. S., Lee, S. H. : A Tannin Compound Isolated from the Underground Part of *Rosa rugosa* Thunb, *Kor. J. Pharmacogn.* **24**(4), 319 (1993).
- 26) Park, W. Y., Lee, S. C., Ahn, B. T., Lee, S. H., Ro, J. S., Lee, K. S. : Phenolic compounds from *Acalypha australis* L., *Kor. J. Pharmacogn.* **24**(1), 20 (1993).
- 27) Martino, V. S., M. N., Hnatyszyn, O. and Coussio, J. D. : Phenolic compounds of *Terminalia triflora*, *Planta Med.* **27**, 226 (1975).
- 28) Yoshida T. and Okuda T. : ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance spectra of corilagin and geraniin, *Heterocycles*, **14**(11) (1980).
- 29) Hatano T., Yoshida T., Shingu T. and Okuda T. : Tannins Having $^1\text{C}_4$ Glucose and C-Glucosidic linkage, *Chem, Pharm, Bull.* **36**(10), 3849 (1988).
- 30) Okuda T., Yoshida T., and Hatano T. : *Constituents of Geranium thubergii* Sieb. et Zucc. Part 12. Hydrated Stereostructure and Equilibration of Geraniin, *J. C. S. Perkin I Received*, 5th January (1981).