

좁갈매나무의 페놀성 성분

당티란훙 · 윈디엔닷 · 채홍복 · 심광해 · 배기환 · 김영호*
충남대학교 약학대학

Phenolic Components from the Leaves and Twigs of *Rhamnus taquetii*

Dang Thi Lan Huong, Nguyen Tien Dat, Xing Fu Cai, Gwanghai Shen,
KiHwan Bae, and Young Ho Kim*

College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

Abstract – One anthraquinone and four flavonoids were isolated from the extract of leaves and twigs of *Rhamnus taquetii*. By physicochemical and spectral methods, their structures were identified as physcion (1), keampferol (2), rhamnocitrin (3), quercetin (4), and 3-O-methyl quercetin (5).

Key words – *Rhamnus taquetii*, Rhamnaceae, physcion, keampferol, rhamnocitrin, quercetin, 3-O-methyl quercetin.

좁갈매나무 (*Rhamnus taquetii*)는 갈매나무과 (Rhamnaceae)에 속하는 낙엽관목으로서 제주도 한라산의 표고 1,000 m 이상에서 자라는 한국특산식물이다. 높이는 1 m에 달하고 작은 가지에는 털이 있으나 점차 없어지며 오래된 가지는 가지 끝이 가시로 변한다. 잎은 호생하며 도란형이고 끝이 뾰족하며 길이 1–2 cm로서 뒷면에만 털이 있고 가장자리에 둔한 톱니가 있다. 꽃은 암수딴그루로서 4수성이며 잎겨드랑이에 1–2송이씩 달린다. 열매는 핵과로서 도란형 구형이며 밑이 세로로 갈라진다. 개화기는 5–6월이며 결실기는 9–10월로서 주로 관상용으로 사용된다.¹⁾ *Rhamnus* 속에 속하는 식물 성분으로는 anthraquinone과 그 배당체, flavonoid 등의 화합물이 주로 보고 되었으며,^{2,3)} anthraquinone 화합물은 항암활성, 세포독성, 사하작용, 광감각효과, 혈관 확장효과 등을 나타내는 것으로 보고되었다.⁴⁾ 국내에는 *Rhamnus* 속에 속하는 식물이 7종 보고되어 있으며,⁵⁾ 그 중 좁갈매나무에 대하여는 이제까지 성분연구나 활성연구가 수행되어 있지 않다. 국내에 자생하는 한국특산식물로부터 유효성분을 분리하여 생물학적 다양성 연구에 기여하고자 본 연구를 수행하였으며, 그 연구의 일환으로 좁갈매나무로부터 5종의 화합물을 분리하여 그 구조를 규명하였기에 이를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

재료 – 실험에 사용한 좁갈매나무는 2000년 6월 제주도 한라산에서 채집하여 충남대학교 약학대학 배기환 교수의 식물학적인 동정을 거친 후 실험에 사용하였으며, 표본 (CNU- 20119)은 충남대학교 약학대학 표본실에 보관하였다.

기기 및 시약 – 용점은 Yanako micro melting point apparatus를 사용하여 측정하였으며 온도는 보정하지 않았다. UV와 FT-IR 스펙트럼은 Beckman Du-650 UV-VIS spectrometer와 Jasco Report-100 IR spectrometer를 사용하여 측정하였다. ¹H 및 ¹³C-NMR은 Bruker DRX-300 NMR spectrometer를 사용하여 측정하였다. FAB-MS는 JEOL-JMS-HX/HX110A tandem mass spectrometer를 사용하여 positive mode로 측정하였다. Column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel 60 (Art 9385, 7734, Merck)을 사용하였고, TLC plate로는 Kiesel gel 60 F₂₅₄ (0.25 mm, Merck)를 사용하였다.

추출 및 분리 – 음건한 좁갈매나무의 줄기와 잎 2 kg을 구별하지 않고 세절하여 MeOH로 3회 추출하고 감압농축하여 MeOH 엑스 200 g을 얻었다. 이 메탄올 엑스에 증류수 1 L를 가하여 현탁시키고 동량의 dichloromethane과 ethylacetate로 차례로 분획하여 dichloromethane 엑스 46 g과 ethylacetate 엑스 16 g을 얻었다. dichloromethane 엑스를 hexane-ethylacetate (5 : 1→1 : 1)의 혼합용매로 silica gel

*교신저자(E-mail) : yhk@cnu.ac.kr
(FAX) : 042-823-6566

column chromatography를 수행하여 9개의 분획을 얻었다 (Fr. A-I). Fr. E를 다시 100% dichloromethane과 hexane-dichloromethane (1 : 1)의 전개용매로 차례로 silica gel column chromatography를 수행하여 화합물 **1** (8.0 mg)을 얻었으며 Fr. H를 CHCl₃-MeOH (30 : 1)과 CHCl₃-EtOAc (10 : 1)의 전개용매로 반복하여 silica gel column chromatography를 수행하여 화합물 **2** (4.8 mg)와 화합물 **3** (42.0 mg)을 얻었다. Ethylacetate 엑스 (15 g)의 경우는 CHCl₃-MeOH (10 : 1→1 : 1)을 전개용매로 silica gel column chromatography를 실시하여 9개의 분획 (Fr. a-i)을 얻은 후, 다시 Fr. f를 YMC*GEL ODS-A를 고정상으로 하고 CHCl₃-MeOH-H₂O (70 : 15 : 10, 하층)을 유출용매로 하여 silica gel column chromatography를 실시하여 화합물 **4** (28.0 mg)와 화합물 **5** (87.0 mg)을 얻었다.

화합물 1 - Orange crystal; mp 198 - 200°C; UV λ_{\max} MeOH (log ϵ) 229 (3.23), 269 (3.24) nm; EI-MS m/z 284 [M]⁺; ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 7.55 (1H, s, H-4), 7.29 (1H, d, $J=2.5$ Hz, H-5), 7.01 (1H, s, H-2), 6.61 (1H, d, $J=2.5$ Hz, H-7). ¹³C-NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ : 190.7 (C-9), 181.9 (C-10), 166.5 (C-6), 165.1 (C-8), 162.4 (C-1), 148.4 (C-3), 135.2 (C-11), 133.1 (C-14), 124.4 (C-4), 121.2 (C-2), 114.0 (C-13), 108.1 (C-5), 106.7 (C-12), 106.7 (C-7), 56.0 (OMe), 22.1 (CH₃).

화합물 2 - Orange powder; mp 283 - 286°C; UV λ_{\max} MeOH (log ϵ) 245 (3.07) nm; EI-MS m/z 286 [M]⁺; ¹H-NMR (pyridine-*d*₅, 600 MHz) δ : 8.48 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-2', 6'), 7.31 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-3', 5'), 6.84 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 6.74 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6); ¹³C-NMR (pyridine-*d*₅, 150 MHz) δ : 177.2 (C-4), 165.5 (C-7), 162.3 (C-5), 160.6 (C-4'), 157.3 (C-9), 147.5 (C-2), 137.6 (C-3), 130.4 (C-2', 6'), 123.1 (C-1'), 116.3 (C-3', 5'), 104.3 (C-10), 99.1 (C-6), 94.2 (C-8).

화합물 3 - Orange powder; mp 226 - 228°C; UV λ_{\max}

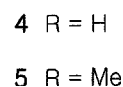
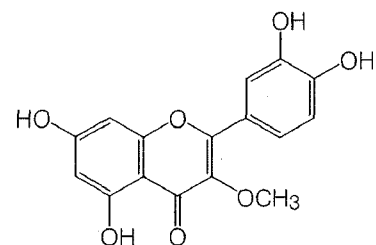
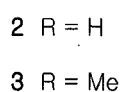
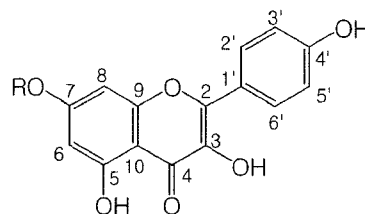
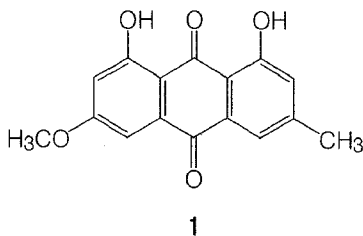
MeOH (log ϵ) 242 (3.61), 251 (3.61) nm; EI-MS m/z 286 [M-CH₃OH]⁺; ¹H-NMR (pyridine-*d*₅, 300 MHz) δ : 8.38 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-2', 6'), 7.15 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-3', 5'), 6.52 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-8), 6.40 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6), 3.74 (3H, s, OCH₃). ¹³C-NMR (pyridine-*d*₅, 75 MHz) δ : 176.9 (C-4), 165.1 (C-7), 161.5 (C-5), 160.3 (C-4'), 156.2 (C-9), 147.5 (C-2), 137.5 (C-3), 130.0 (C-2', 6'), 122.7 (C-1'), 115.9 (C-3', 5'), 105.0 (C-10), 97.6 (C-6), 91.6 (C-8), 55.6 (OCH₃).

화합물 4 - Yellow powder, mp 310 - 313°C; UV λ_{\max} MeOH (log ϵ) 229 (3.23), 269 (3.24) nm; EI-MS m/z 302 [M]⁺; ¹H-NMR (acetone-*d*₆, 300 MHz) δ : 7.82 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-2'), 7.70 (1H, dd, $J=2.1, 8.5$ Hz, H-6'), 7.00 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-5'), 6.51 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 6.26 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6). ¹³C-NMR (acetone-*d*₆, 75 MHz) δ : 176.5 (C-4), 164.9 (C-7), 162.2 (C-5), 157.7 (C-9), 148.3 (C-4'), 146.9 (C-2), 145.7 (C-3') 136.7 (C-3), 123.7 (C-1'), 121.4 (C-6'), 116.1 (C-5'), 115.7 (C-2'), 104.1 (C-10), 99.1 (C-6), 94.4 (C-8).

화합물 5 - Yellow powder, mp 282 - 285°C; EI-MS m/z 285 [M-OMe]⁺; ¹H-NMR (pyridine-*d*₅, 300 MHz) δ : 7.69 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-2'), 7.58 (1H, dd, $J=2.1, 8.5$ Hz, H-6'), 7.00 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-5'), 6.48 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 6.25 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 3.86 (3H, s, OCH₃). ¹³C-NMR (pyridine-*d*₅, 75 MHz) δ : 179.5 (C-4), 164.8 (C-7), 163.2 (C-5), 157.8 (C-9), 156.7 (C-2), 149.0 (C-4'), 145.8 (C-3') 139.2 (C-3), 123.0 (C-1'), 122.1 (C-6'), 116.3 (C-5'), 116.2 (C-2'), 105.8 (C-10), 99.3 (C-6), 94.3 (C-8), 60.1 (OCH₃).

결과 및 고찰

좁쌀매나무의 가지와 잎을 MeOH로 추출하여 얻은 MeOH



엑스를 dichloromethane과 ethylacetate로 분획하여 dichloromethane 엑스와 ethylacetate 엑스를 얻었다. dichloromethane 엑스를 silica gel column chromatography를 반복 실시하여 anthraquinone 화합물 **1**과 flavonoid 화합물 **2**와 **3**을 얻었다. Ethylacetate 엑스의 경우는 silica gel column과 YMC*GEL ODS-A column chromatography를 실시하여 화합물 **4**와 **5**를 얻었다.

화합물 **1**은 오렌지색 결정으로서 mp 198–200°C를 나타내었으며, EI-MS spectrum에서 m/z 284에서 molecular ion peak를 나타내었다. $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 δ 7.55 (1H, s)와 δ 7.01 (1H, s)에서 anthraquinone의 H-4와 H-2에 기인한 proton signal을 관찰할 수 있었으며, δ 7.29 (1H, d, $J=2.5$ Hz)와 δ 6.61 (1H, d, $J=2.5$ Hz)의 proton signal은 H-5와 H-7의 proton으로 추정하였다. $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum에서는 총 16개의 carbon signal을 관찰할 수 있었으며, 각 탄소의 chemical shift를 문헌에 보고된 data^{6,7)}와 비교한 결과 physcion과 잘 일치하였으므로 화합물 **1**을 physcion으로 동정하였다.

화합물 **2**는 오렌지색 분말로서 FeCl_3 반응에 양성으로 phenolic 화합물임을 알 수 있었으며, 융점은 283–286°C를 나타내었고, EI-MS spectrum의 m/z 286에서 molecular ion peak를 관찰할 수 있었다. $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 δ 8.48 (2H, d, $J=8.8$ Hz)과 δ 7.31 (2H, d, $J=8.8$ Hz)의 proton signal은 4' 위치가 치환된 flavonoid B-ring의 2'와 6'의 proton과 3'와 5'의 proton으로 추정하였으며, δ 6.84 (1H, d, $J=2.0$ Hz)와 δ 6.74 (1H, d, $J=2.0$ Hz)의 proton signal은 5, 7-dioxygenated flavonoid A ring의 8번과 6번 위치의 proton으로 추정하였다. $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum에서는 총 15개의 carbon signal을 관찰할 수 있었으며, 각 탄소의 chemical shift를 문헌에 보고된 data⁸⁾와 비교한 결과 kaempferol과 잘 일치하였다. 화합물 **3**은 **2**와 동일한 양상의 $^1\text{H-NMR}$ 과 $^{13}\text{C-NMR}$ pattern을 나타내었으나 $^1\text{H-NMR}$ 의 δ 3.74에서 한 개의 methoxy group의 peak를 추가로 확인할 수 있었으며 $^{13}\text{C-NMR}$ data를 kaempferol의 data와 비교한 결과 C-6과 C-8의 carbon의 chemical shift가 고자장 shift된 것으로 보아 kaempferol의 C-7에 methoxy group이 결합한 rhamnocitrin으로 동정하고 물리화학적 성질과 chemical shift를 문헌치⁹⁾와 비교한 결과 잘 일치함을 알 수 있었다.

화합물 **4**는 황색 분말로서 mp 310–313°C를 나타내었으며, EI-MS spectrum의 m/z 302에서 molecular ion peak를 관찰할 수 있었다. $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 δ 7.82 (1H, d, $J=2.1$ Hz), δ 7.70 (1H, dd, $J=2.1, 8.5$ Hz), δ 7.00 (1H, d, $J=8.5$ Hz)의 proton은 각각 flavonoid의 3'와 4' 위치가 치환된 B-ring의 2'와 6', 5'의 proton으로 추정하였으며, δ 6.51

(1H, d, $J=2.0$ Hz)와 δ 6.26 (1H, d, $J=2.0$ Hz)의 proton signal은 5, 7-dioxygenated flavonoid A ring의 8번과 6번 위치의 proton으로 추정하였다. 관찰된 총 15개 탄소의 chemical shift를 문헌에 보고된 data¹⁰⁾와 비교한 결과 quercetin과 잘 일치하였다. 화합물 **5**는 $^1\text{H-NMR}$ spectrum으로부터 quercetin의 구조에 한 개의 methoxy group이 추가로 결합된 화합물로서, $^{13}\text{C-NMR}$ data를 문헌치¹¹⁾와 비교한 결과 3-O-methyl quercetin으로 동정하였다.

결 론

좁갈매나무의 잎과 잔가지의 메탄올 엑스로부터 각종 크로마토그래피를 실시하여 5종의 화합물을 분리하였으며, 이 화학적 성상과 각종 spectral data로부터 구조를 동정한 결과 physcion (**1**), kaempferol (**2**), rhamnocitrin (**3**), quercetin (**4**), 3-O-methyl quercetin (**5**)으로 동정하였다.

사 사

본 연구는 과학재단의 특정기초연구(R01-2002-000-00276-0)의 지원에 의하여 이루어졌으며 이에 감사드린다. 또한 NMR과 MS spectrum은 기초과학지원연구원 (KBSI)의 기기를 사용하였다.

인용문헌

1. 이창복(1980) 대한식물도감, 531. 향문사, 서울.
2. Coskun, M., Satake, T., Hori, K., Saiki, Y., and Tanker, M. (1990) Anthraquinone glycosides from *Rhamnus libanoticus*. *Phytochemistry* **29**: 2018-2020.
3. Lin, C. N., Chung, M. I., and Lu, C. M. (1990) Anthraquinones from *Rhamnus formosana*. *Phytochemistry* **29**: 3903-3905.
4. Mai, L. P., Gueritte, F., Dumontet, V., Tri, M. V., Hill, B., Thoison, O., Guenard, D., and Sevenet T. (2001) Cytotoxicity of rhamnosylanthraquinones and rhamnosylanthrones from *Rhamnus nepalensis*. *J. Nat. Prod.* **64**: 1162-1168.
5. 이상태(1997) 한국식물검색집, 259. 아카데미서적, 서울.
6. Chi, H. J. and Kim, H. S. (1986) Phytochemical studies on *Reynoutria Radix* (Hu-Zhang). *Kor. K. Pharmacog.* **17**: 73-77.
7. Coskun, M., Tanker, N., Sakushima, A., Kitagawa, S., and Nishibe, S. (1984) An anthraquinone glycosides from *Rhamnus pallasii*. *Phytochemistry* **23**: 1485-1487.
8. Okuyama, T., Hosoyama, K., Hiraga, Y., Kurono, G., and Takemoto, T. (1978) The constituents of *Osmunda* spp. II. A new flavonol glycoside of *Osmunda asiatica*. *Chem. Pharm.*

- Bull.* **26**: 3071-3078.
9. Barbera, O., Sanz, J. F., Sanchez-Parareda, J., and Marco, J. A. (1986) Further flavonol glycosides from *Anthyllis onobrychioides*. *Phytochemistry* **25**: 2361-2365.
 10. Agrawal, P. K. (1989) Carbon-13 NMR of flavonoids, 154. Elsevier, Amsterdam-Oxford-New York-Tokyo.
 11. Roitman, J. N. and James, L. F. (1985) Chemistry of toxic range plants. Highly oxygenated flavonol methyl ethers from *Gutierrezia microcephala*. *Phytochemistry* **24**: 835-848.

(2004년 3월 20일 접수)