

## 韓國產 生藥資源開發研究(第 1 報)

나도하수오根의 成分研究

韓 大 錫·趙 熙 在

Studies on the Anthraquinones of the Roots of *Polygonum ciliinerve* Owi

Dae-Suk HAN and Hi-Jae CHO

College of Pharmacy, Seoul National University

Besides the emodin, three anthraquinone derivatives were isolated from the roots of *Polygonum ciliinerve* (Nakai) Owi which is indigenous exclusively to Korea. Two of them were identified as physcion and emodin-8- $\beta$ -D-glucoside by mp, uv, ir and nmr spectra. And the third was converted to physcion and sugar by hydrolysis. The quantitative analysis of free and combined form of emodin and physcion was done by the spectrophotometry.

나도하수오 *Polygonum ciliinerve*(Nakai) Owi (*Pleuropterus ciliinervis* Nakai)<sup>1,2)</sup>는 마디풀과 (Polygonaceae)에 속하는 덩굴성 多年生草本으로서 우리나라 특산 식물의 하나이다. 補精, 強壯 및 緩下藥으로 사용되어 온 何首烏(*Polygonum multiflorum* Thunberg)<sup>2-5)</sup>와는 분류학적으로 가까우며 韓<sup>6)</sup>은 何首烏, 나도하수오, 白何首烏(*Cynanchum wilfordi* Hemsley)<sup>1)</sup>등에 대해서 연구한 바 있으며, 나도하수오에서 emodin을 분리 보고하고 나도하수오가 何首烏의 同類生藥으로 사용될 수 있을 가능성을 시사하였었다.

何首烏에 대한 연구는 衣笠등<sup>7)</sup>이 lecithin, tannin, anthraquinone의 존재를 보고했고, 月田등<sup>8)</sup>은 PPC上에서 anthraquinone 유도체들을 검출하였고, 秦등<sup>9)</sup>은 anthraquinone외에 stilbene glycoside를 분리하여 구조를 밝힌 바 있다.

Anthraquinone<sup>10)</sup>은 고등식물 외에 地衣類,<sup>11)</sup> 곰팡이類,<sup>12)</sup> 昆蟲<sup>13)</sup>등에도 분포하고 있으며, 그 중 下劑로 이용되어 온 1,8-dihydroxy anthraquinone은 Polygonaceae(*Rheum*屬), Liliaceae(A-

loe屬), Leguminosae(*Cassia*屬), Rhamnaceae (*Rhamnus*屬)등에 분포한다. 식물 생체 및 신선한 생약에서는 환원형인 anthrone으로도 존재하며 공기중에서 서서히 산화를 받아 anthraquinone으로 된다. Anthrone형은 그 작용이 격렬하여 峻下, 嘔吐 등의 증상을 나타내므로 신선한 생약은 쓰이지 않는다.<sup>14)</sup> 배당체型이 aglycon型보다 약효가 더 우수하다는 說<sup>15)</sup>도 있으며 anthraquinone은 腸內 세균들에 의해 활성형의 anthrone으로 되어 약효를 나타낸다는 說<sup>14-16)</sup>도 있다.

저자들은 한국 특산식물인 나도하수오의 계속적인 성분연구 결과 emodin외에 몇가지 anthraquinone類를 단리하였기에 anthraquinone資源生藥으로 이용될 수 있을 것으로 思料된다.

### 實驗 및 結果

#### 가) 材料 植物

강원도 명주군 왕산면에서 채집한 나도하수오

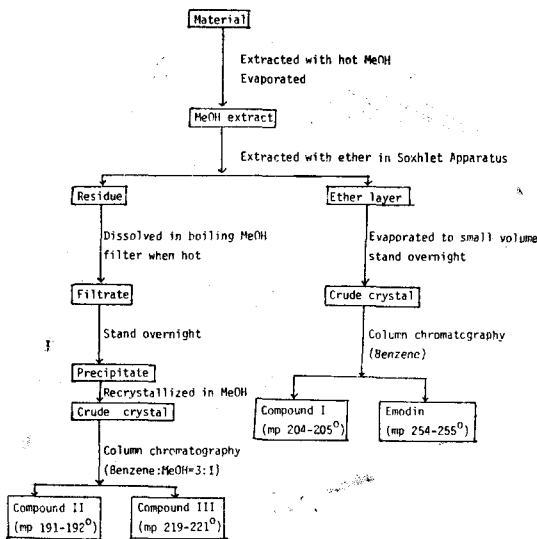
의 뿌리를 陰乾하여 사용하였다.

나) 抽出 및 分離

건조 재료를 MeOH로 열탕 추출한 후 감압 농축하여 MeOH진조엑기스를 얻었다. 이 엑기스를 Soxhlet장치에서 Et<sub>2</sub>O로 24시간 추출한 후 Et<sub>2</sub>O 층을 적은 용량으로 농축하여 방치시 주황색의 粗結晶이 석출되었다. 이 粗結晶을 silica gel column에서 benzene으로 流出한 후 각 fraction을 농축하고 AcOH에서 재결정하여 주황색의 침상 결정 Compound I (mp 204°~205°) 및 emodin (mp 254°~255°)을 얻었다.

한편 Et<sub>2</sub>O 추출 후의 잔사를 열 MeOH에 녹인 후 여과하여 방치했을때 생성된 주황색의 침전물을 MeOH에서 재결정하여 다량의 Compound II와 소량의 Compound III가 혼합된 조결정을 얻었고, 다시 MeOH에서의 재결정 및 benzene-MeOH(3:1)에서의 column chromatography를 통하여 Compound II (mp 191°~192°)와 Compound III (mp 219°~221°)의 침상결정을 분리하였다(Scheme 1).

Compound I, II, III의 mp를 측정한 결과 Compound I은 physcion,<sup>9,10,17~22</sup> Compound II는 emodin-8-O-β-D-glucoside<sup>10,23~26</sup>의 보고된 값과 거의 일치하였다.



Scheme 1. Extraction and separation of anthraquinone derivatives

다) TLC 및 呈色反應

MeOH 엑기스를 benzene-MeOH(3:1)을 전개 용매로 하여 Silicagel plate에서 TLC했을 때 Compound I (황색 Rf 0.82), emodin(주황색 Rf 0.64), compound III(황색 Rf 0.41), compound II(주황색 Rf 0.34)의 순서로 나타났으며 모두 5% KOH alcohol용액에 의해 적색으로 변색되었다. 또한 가수분해 했을 때 Compound II는 emodin을, Compound III는 Compound I을 생성함이 TLC上에서 관찰되었다.

라) Compound I

AcOH에서 재결정시 주황색의 침상결정으로 되었고 Rf치가 비슷한 chrysophanol과 구별하기 위해 大黃(*Rheum undulatum*)의 MeOH엑기스와 Compound I을 n-hexane-ether-MeOH(10:20:1)<sup>27</sup>을 전개용매로 해서 TLC했을 때 大黃에서의 chrysophanol이 Rf 0.65에서 physcion이 Rf 0.60에서 나타났고 Compound I은 Rf 0.60에서 나타났다.

IR:  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup> 1630(conjugated, chelated C=O); 1600, 1475(aromatic ring)<sup>10,19,21,40,41</sup>

UV:  $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$  nm 224, 255(sh), 266, 290, 435<sup>10,19,21</sup>

PMR:  $\delta$  (in CDCl<sub>3</sub>); 12.31(1H, s, OH); 12.12(1H, s, OH); 7.65(1H, sbr, H-4); 7.40(1H, d, jmeta=2.5Hz, H-5), 7.10(1H, sbr, H-2); 6.72(1H, d, jmeta=2.5Hz, H-7); 3.95(3H, s, OCH<sub>3</sub>); 2.45(3H, s, Ar-CH<sub>3</sub>)<sup>10,28</sup>

Compound I을 無水 pyridine 중에서 acetic anhydride로 acetylation하여 담황색의 acetate를 얻었다<sup>29</sup>(Fig. 1).

mp. 186~187°

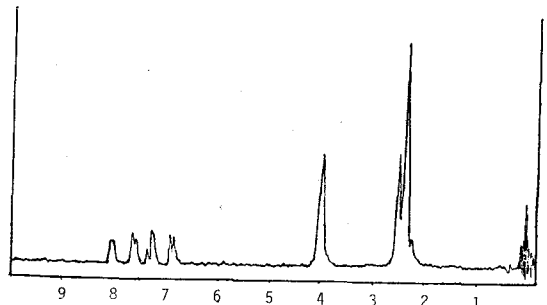


Fig. 1. PMR spectrum of Comp. I acetate(CDCl<sub>3</sub>)

PMR:  $\delta$ (in  $\text{CDCl}_3$ ) 8.03(1H, sbr, H-4); 7.70(1H, d,  $J=2.5\text{Hz}$ , H-5); 7.24(1H, sbr, H-2); 6.92(1H, d,  $J=2.5\text{Hz}$ , H-7); 3.96(3H, s,  $\text{OC-H}_3$ ); 2.50(3H, s,  $\text{Ar-CH}_3$ ); 2.44(6H, s,  $2 \times \text{Ar-OAc}$ )<sup>28,30</sup>

이상의 모든 성상은 physcion의 보고된 값과 일치하였다.

마) **Compound II**

MeOH에서 재결정시 황색 침상결정으로 석출됐다.

IR:  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$  3500~3200(OH); 1630(chelated  $\text{C}=\text{O}$ ); 1600; 1475(aromatic ring)<sup>23</sup>

UV:  $\lambda_{\text{max}}$ (MeOH) 223, 285, 425<sup>23</sup>

PMR:  $\delta$ ( $\text{DMSO-d}_6$ ) 13.01(1H, s, OH-1, disappear when  $\text{D}_2\text{O}$  treatment) 7.35(1H, sbr, H-4); 7.18(1H, d,  $J=2.5\text{Hz}$ , H-5); 7.03(1H, sbr, H-2); 6.93(1H, d,  $J=2.5\text{Hz}$ , H-7); 4.9-5.1(1H, mbr, H-1'); 3.9-3.1(6H, m, H-2', 3', 4', 5', 6', 6'); 2.39(s, br,  $\text{DMSO-d}_6$ ); 2.27(3H, s,  $\text{Ar-CH}_3$ )<sup>25,26,31-34</sup>

**Acetate:** Pyridine과 acetic anhydride로 acetylation하여 담황색의 침상결정을 얻었다.

mp 206°~208°

PMR:  $\delta$ ( $\text{CDCl}_3$ ) 7.99(1H, sbr, H-4); 7.76(1H, d, 2.5Hz, H-5); 7.34(1H, d, 2.5Hz, H-7); 7.23(1H, sbr, H-2); 5.6~5.05(4H, m, H-1', 2', 3', 4'); 4.27(2H, d,  $J=4\text{Hz}$ , H-6', 6'); 4.1~3.8(1H, m, H-5'); 2.52(3H, s), 2.47(3H, s), 2.32(3H, s)  $2 \times (\text{AcO-Ar})$ ,  $\text{CH}_3\text{-Ar}$  2.12(3H, s), 2.08(3H, s), 2.05(6H, s)  $4 \times (\text{AcO-sugar})$ <sup>28,31-34</sup>

**Aglycon:** Compound II 80mg을 MeOH 30ml 및 1%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  30ml와 함께 수욕상에서 2시간 가열하고 MeOH를 제거시킨 후 방치했을 때 aglycon이 산성 수용액에서 주황색 침상결정으로 석출됐다.

이 결정을 여과하여 AcOH에서 재결한 후 emodin 표준과 TLC(Benzene-MeOH=9:1)한 결과 Rf값이 동일하였고, 또한 혼용시험결과 용점의 강하가 없었다.

PMR:  $\delta$ ( $\text{DMSO-d}_6$ ) 12.01(1H, s, OH); 11.

94(1H, s, OH); 7.40(1H, sbr, H-4); 7.17(1H, d,  $J=2.5\text{Hz}$ , H-5); 7.02(1H, sbr, H-2); 6.57(1H, d,  $J=2.5\text{Hz}$ , H-7); 2.40(3H, s,  $\text{Ar-CH}_3$ ); 2.57( $\text{DMSO-d}_6$ )

**Sugar:** 앞의 aglycon 결정을 위한 모액을 ethyl acetate로 진탕해 내고 수층을  $\text{Ba(OH)}_2$ 로 중화한 다음  $\text{BaSO}_4$ 의 결정을 여과하고 여액을 농축하여 표준 D-glucose와 함께 TLC하였다. 전개 용매로는 BuOH-acetic acid-ether-water(9:6:3:1)<sup>35</sup> 및  $\text{CHCl}_3\text{-MeOH}$ (3:2)를 사용하였으며, 각각 D-glucose와 동일한 Rf값 0.39 및 0.70을 나타내었다. 또한 Compound II는  $\beta$ -glucosidase를 37°에서 2시간 작용시켰을 때 emodin과 glucose로 가수분해됨을 TLC(Benzene-MeOH=3:1)로 확인하였다.

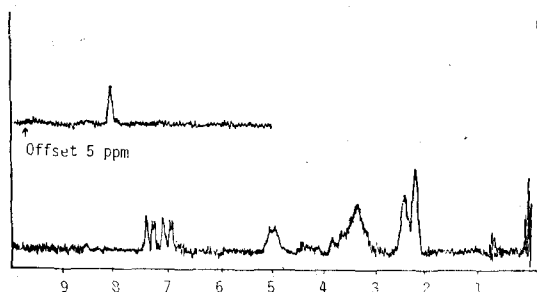


Fig. 2. PMR spectrum of Comp. II ( $\text{DMSO-d}_6$ )

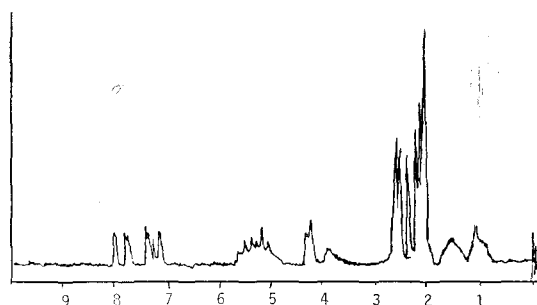


Fig. 3. PMR spectrum of Comp. II acetate( $\text{CDCl}_3$ )

바) **Compound III**

Compound III는 Compound II의 MeOH재결정 모액에서 황색의 침상결정으로 석출되었으며, mp는 219~221°로 虎杖根(*Polygonum cuspidatum*)에서 분리된 physcion-8-O- $\beta$ -D-glucoside<sup>25</sup>(mp 230°~232°)와는 차이가 있었다.

IR:  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$  3500-3200(OH); 1630(chelated

C=O); 1600(aromatic C=C)<sup>23)</sup>

UV:  $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$  nm 224, 270, 420<sup>23)</sup>

Compound III을 산으로 가수분해하여 aglycon을 physcion과 함께 Benzene-AcOEt(9:1)에서 TLC한 결과 같은 Rf값을 나타냈다.

사) Emodin 및 Physcion의 정량<sup>36~38)</sup>

Emodin 7.9mg을 정확히 취해서 EtOH 50.2ml에 녹인 후 농도별로 435nm에서 흡광도를 측정하여 검량곡선을 만들었다. 또한 physcion 6.0mg을 ethylacetate에 녹여 마찬가지로 방법으로 검량곡선을 만들었다.

뿌리를 분쇄한 후 2.0g을 취해서 Et<sub>2</sub>O로 3회, benzene으로 3회 열탕 추출한 후 용매를 유거시켜 부피를 10.8ml로 조절하였다. 이 중 0.5ml를 정확히 취해서 Benzene-MeOH(3:1)로 TLC상에서 전개하여 emodin과 physcion을 각각 분취하고 micro column에 충전시킨 후, 각각 EtOH와 AcOEt로 완전히 용출하여 총량을 5.0ml로 조절해서 435nm에서 흡광도를 측정하여 free form의 emodin과 physcion의 양을 정량하였다.

또한 같은 양 2.0g을 취해서 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 30ml 및 MeOH 30ml를 가하고 1시간 수욕상에서 가열한 후 MeOH를 증발시키고 ether로 색이 없을 때까지 추출한 후 같은 방법으로 emodin 및 physcion의 양을 구하고 위에서 구한 free form의 값을 뺀 값을 combined form의 양으로 하였다 (Table I).

Table I. Content of anthraquinones.

Free		Combined	
Emodin	Physcion	Emodin	Physcion
0.06%	0.01%	0.89%	0.13%

考 察

Compound I의 PMR data에서 ring proton의 순서는 4,5,2,7의 순서로 되는데, 이는  $\alpha$ 位的 proton들이 이웃의 carbonyl기의 영향으로  $\beta$ 位的 proton들보다 더 저자장으로 shift되는 것이라 생각되며, 5,7 proton은 2.5Hz의 meta coupling

constant를 갖는 doublet으로 되는데 반해, 2,4의 proton은 doublet으로 되지 않았는데 Banks<sup>13)</sup> 등은 3位的 methyl기로 인한 benzylic coupling 때문이라 설명하고 있다.

Compound II의 glucose의 결합위치에 대한 결정은, compound II의 PMR에서 chelated OH가 13.01에서 한개만이 나타나고 compound II-acetate의 PMR에서 당의 acetyl기가 4개 도입됨으로 미루어 glucose 1분자가 1 또는 8위치에 붙음을 알 수 있으며,  $\beta$ -glucosidase에 의해 가수분해되므로  $\beta$ 결합을 하고 있음을 알 수 있다. Steglich<sup>28)</sup> 등은 emodin glucoside의 3가지 isomer에 대한 NMR에서의 ring proton들의 acylation shift를 보고한 바 있는데 (Fig. 4), compound II에 대한 acylation shift를 구해본 결과 (Table II) glucose가 8위치에 붙은 isomer와 일치하였으므로 compound II는 emodin-8-O- $\beta$ -D-glucoside임이 밝혀졌다. 또한 Hörhammer<sup>39)</sup>, Murakami<sup>25)</sup> 등은 methylation한후 가수분해하여 화학적인 방법, 또는 mass spectrometry를 통하여 당의 위치를 결정한 바 있다.

Compound III은 mp가 physcion-8-O- $\beta$ -D-glucoside와 10°정도 차이가 났으나 UV, IR data는

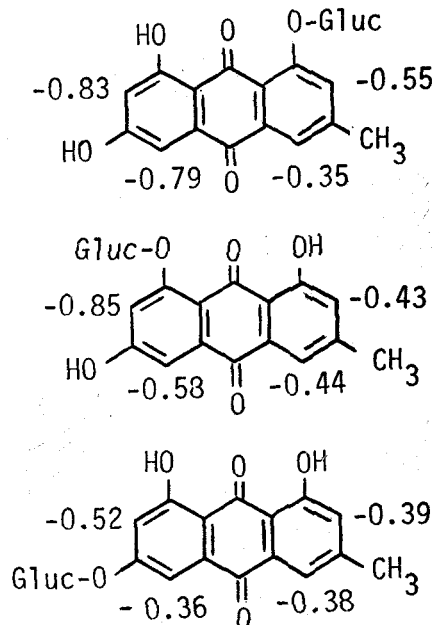


Fig. 4. Acylation shift of three isomers.

Table II. Acylation shift of Compound I.

Compounds	2	4	5	7
$\delta H$ arom(per-trimethylsilyl aglycon)	6.80	7.53	7.18	6.46
$\delta H$ arom(per-acetyl glycoside)	7.23	7.99	7.76	7.34
$\Delta Ac$	-0.43	-0.46	-0.58	-0.86

$$\Delta Ac = \delta H \text{ arom(per-trimethylsilyl aglycon)} - \delta H \text{ arom(per-acetyl glycoside)}$$

보고된 값과 거의 일치하였다. 순수하게 얻은 양이 적어서 당의 결합 위치, 당의 종류 및 결합된 당의 mole수를 확인하지 못하였다.

### 結 論

1. 나도하수오(*PolYGONUM cilinerve* Owi)에 대한 成分 研究 結果 physcion 및 emodin-8-0- $\beta$ -D-glucoside를 分離 同定하였다.

2. 乾燥한 뿌리에 대한 anthraquinone 定量 結果 emodin이 physcion에 비해 월등히 多量 含有 되었고 또 配糖體型이 aglycon 型보다 훨씬 많 이 存在했다.

### 參 考 文 獻

- 鄭台鉉: 韓國植物圖鑑, 下卷, p-172 (1956)
- 李昌福: 大韓植物圖鑑, 鄉文社, p-304 (1980)
- 林基興: 藥用植物學 各論, 東明社, p-101 (1971)
- 大井次三郎: 日本植物誌, p-550 (1953)
- 牧野富太郎: 新日本植物圖鑑, p-123 (1961)
- 韓大錫: 생약학회지, 4(2), 83 (1973)
- 衣笠豊, 辰濃商次郎: 藥學雜誌, 42, 144 (1922)
- 月田潔, 橫田ミヤ: 藥學雜誌, 74, 230 (1954)
- 秦清之, 小澤貢, 馬場きみ江: 藥學雜誌, 95, 211 (1975)
- R.H. Thomson: Naturally Occurring Quinones, 2nd Ed. Academic Press, New York (1971)
- 柴田承二: 藥學雜誌, 61, 320 (1941)
- S. Shibata, T. Murakami, O. Tanaka, G. Chihara and M. Sumimoto: Chem. Pharm. Bull., 3, 274 (1955)
- H.J. Banks, D.W. Cameron and W.D. Raverty: Aust. J. Chem., 29(10), 2231 (1976)
- 刈米達夫: 最新植物化學, p-83 (1976)

- E. Steinegger, R. Hänsel: Lehrbuch der Pharmakognosie, Springer Verlag, p-153 (1972)
- M. Dreessen, J. Stragier and H. Eyssen: Planta Medica, 39, 246 (1980)
- M. Takido: Chem. Pharm. Bull., 6, 397 (1958)
- K.C. Joshi, R.K. Bansal and P. Singh: Z. Naturforsch., 29c, 296 (1974)
- M. Tabata, et al.: Lloydia, 38, 131 (1974)
- M. Takido, et al.: Lloydia, 40, 191 (1976)
- H. Berrurier, et al.: Planta Medica, 31, 208 (1977)
- S. Takahashi, et al.: Planta Medica, 33, 389 (1978)
- H. Wagner und L. Hörhammer: Z. Naturforsch., 18b, 89 (1963)
- L. Hörhammer, G. Bittner und H. Porhammer: Naturwissenschaften, 51, 310 (1964)
- T. Murakami, K. Ikeda and M. Takido: Chem. Pharm. Bull., 16, 2299 (1968)
- H. Okabe, K. Matsuo and I. Nishioka: Chem. Pharm. Bull., 21, 1254 (1973)
- 金基光: "韓國產 大黃에 存在하는 anthraquinone 類", 서울대학교 석사학위논문 (1980)
- W. Steglich and W. Lösel: Tetrahedron, 25, 4391 (1969)
- M. Sharma and S. Rangaswami: Indian J. of Chem., 15B, 884 (1977)
- W. Steglich, E.T. Petersen and W. Reninger: Phytochem., 11, 3299 (1972)
- H. Wagner und H.P. Hörhammer Jr.: Z. Naturforsch., 24b, 1408 (1969)
- H. Wagner und G. Demuth: Z. Naturforsch., 29c, 204 (1974)
- R.D. Tiwari and J. Singh: Phytochem., 18, 906 (1978)
- G. Demuth, H. Hinz, O. Seligmann and H. Wagner: Planta Medica, 33, 53 (1978)

35. J.B. Harborne: *Phytochemical Methods*, Chapman and Hall, London, p-218 (1973)
36. N.F.X III, *Danthron*, (1970)
37. 池亨浚, 任東秀: *생약학회지*, 6, 5 (1975)
38. S. Shibata and M. Takido: *藥學雜誌*, 72, 1311 (1952)
39. L. Hörhammer, H. Wagner und E. Müller: *Chem. Ber.*, 98, 2859 (1965)
40. O. Tanaka: *Chem. Pharm. Bull.*, 6, 18 (1958)
41. O. Tanaka: *Ibid.*, 6, 24 (1958)

<1981년 12월 21일 접수>