생 약 학 회 지
Kor. J. Pharmacogn.
19(3):170~173(1988)

멍석딸기뿌리의 成分에 관한 硏究(Ⅰ).

(—)-Epicatechin의 分離

都 載 喆·孫 建 鎬·姜 三 植*
嶺南大學校 藥學大學·*서울大學校 生藥硏究所

Studies on the Constituents of the Roots of *Rubus parvifolius* (I).

Isolation of (—)-Epicatechin

Jae Chul Do, Kun Ho Son and Sam Sik Kang*
College of Pharmacy, Yeungnam University, Kyongsan 713-800 and
*Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea

Abstract—(—)-Epicatechin, mp 234~6°, was isolated from the fresh roots of *Rubus parvifolius* together with a sterol mixture, which was found to be a mixture of β-sitosterol (major), stigmasterol and campesterol.

Keywords—*Rubus parvifolius*, Rosaceae, (—)-epicatechin, sterols

멍석딸기(*Rubus parvifolius* L.)는 장미과(Rosaceae)에 속하는 落葉亞灌木으로서 높이 1 m 이상 자라며, 전체에 가시와 털이 있다. 6~7월에 분홍색 또는 적색꽃이 피며 7~8월에 열매가 赤熟인다.[1] 이 식물의 뿌리는 山莓根이라하여 活血, 驅瘀血, 鎭痛, 消腫, 解毒 等의 效能이 있는 것으로 보고되어 있다.[2]

성분에 대한 연구는 주로 식용으로 하는 열매에 집중되어서 유리당으로서 fructose, glucose, sucrose가, 그외 성분으로는 isocitric acid, isoquercitrin, astragalin, ascorbic acid, tannin 等이 보고되어 있으나[3], 약용으로 하는 뿌리의 성분에 대해서는 현재까지 보고된 바가 없다.

著者 等은 멍석딸기뿌리의 성분을 구명할 목적으로 뿌리를 MeOH로 추출하여 계통적 분획과정을 거쳐 ether분획에서 β-sitosterol을, N-BuOH 분획에서 (—)-epicatechin을 분리하였으므로 보고한다.

실 험 방 법

(1) 재 료

1987년 5~8월중 대구직할시 주변 야산에서 채집한 신선한 멍석딸기뿌리를 실험재료로 하였다.

(2) 기 기

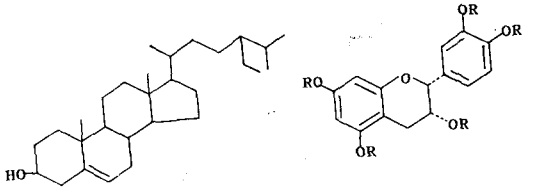
융점은 Yanaco micro melting point apparatus을 사용하여 측정하였으며 보정하지 않았다.

UV spectrum은 Gilford system 2600 spectrophotometer를 사용하여 측정하였으며 선광도는 Rudolph의 Autopol III automatic polarimeter를 사용하여 측정하였다. IR spectrum은 Perkin-Elmer 281 또는 283B spectrophotometer을 사용하였으며 KBr법으로 측정하였다. ^{1}H-NMR(80 MHz) 및 ^{13}C-NMR(20 MHz) spectrum은 Varian FT-80A spectrometer를 사용하였으며 TMS를 내부표준물질로 하여 측정하였다. Mass spectrum

은 Hewlett-Packard의 5985B GC/MS system을 사용하여 70eV에서 측정하였다.

(3) 추출 및 분리

신선한 멍석딸기뿌리 1 kg을 잘게 썰어 MeOH로 12시간씩 3회 연속 추출하여 냉각후 여과한 다음 그 여액을 감압농축하여 MeOH ext. 72.4 g을 얻었다. 이중 일부를 물에 현탁하여 ether, N-BuOH의 순서로 분획한 후 이 분획을 각각 silica gel column에 걸어 ether분획은 hexane-acetone(=9 : 1)로, N-BuOH 분획은 $CHCl_3$-MeOH-H_2O(=8 : 2 : 0.5, 하층부)로 유출하여 각각 화합물 I 및 II를 단리하였다.



I

II R= H

III R= Ac

(4) 화합물 I : MeOH로 재결정하여 백색 판상 결정을 얻었다.

Mp 133~6°; $[\alpha]_D^{18}$- 20° (c 0.18, $CHCl_3$); IR $\nu_{max}^{KBr}cm^{-1}$ 3420(OH), 1640(C=C), 959(disubstituted double bond), 836, 801(trisubstituted double bond); MS *m/z*(rel. int.) 414(M^+, 91.8), 412(M^+, 1.2), 400(M^+, 8.9), 399(414-CH_3, 29.7), 397(412-CH_3, 16.1), 396(414-H_2O, 49.3), 367[400-(H_2O+CH_3), 2.7], 329(414-C_6H_{13}, 14.4), 303(414-$C_7H_{11}O$, 18.4), 273(M-sc, 36.1), 255(M-sc-H_2O, 50.5), 231(M-sc-C_3H_6, 36.4), 229(M-sc-C_3H_8, 17.6), 213(M-sc-C_3H_6-H_2O, 63.9), 43(100); ^{1}H-NMR ($CDCl_3$)δ : 0.66(3H, s, 18-CH_3), 0.99(3H, s, 19-CH_3), 3.50(1H, m, H-3), 5.36(1H, brd, *J*=4.3Hz, H-6); ^{13}C-NMR: see Table I.

(5) 화합물 II : $CHCl_3$ 및 MeOH혼액으로 재결정하여 백색무정형 분말을 얻었다.

Mp 234~6°; $[\alpha]_D^{18}$- 41.3° (c 0.3, MeOH); UV λ_{max}^{MeOH}nm(log ε) 234(3.88), 281(3.53); $\lambda_{max}^{MeOH+NaOH}$ 291(3.72), 326(sh, 3.45), 435(3.29); IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} 3450(OH), 1625, 1520, 1468(aromatic C=C), 1440(CH_2), 1260, 1180, 1140, 1095, 1045; ^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ:2.54(2H, m, H-4), 4.05(1H, t-like, *J*=3Hz, H-3), 4.75(1H, brs, H-2), 5.74(1H, d, *J*=2.2Hz, H-6), 5.91(1H, d, *J*=2.2Hz, H-8), 6.68(2H, brs, H-5′, 6′), 6.91(1H, brs, H-2′), 8.66, 8.69, 8.84 and 9.04(ca 1/2H each, 3′-OH, 4′-OH, 7-OH and

Table I. ^{13}C-NMR chemical shifts of compounds I, II and III.

carbon No.	I[a]	carbon No.	II[b]	III[a]
C-1	37.3	C-2	78.3	76.8
C-2	32.0	C-3	65.2	66.7
C-3	71.9	C-4	28.4	26.0
C-4	42.4	C-5	156.5*	149.9
C-5	140.8	C-6	95.5	108.7
C-6	121.7	C-7	156.0*	149.9
C-7	31.7	C-8	94.5	108.0
C-8	31.7	C-9	156.8	155.1
C-9	50.2	C-10	98.8	109.6
C-10	36.6	C-1′	130.9	135.9
C-11	21.1	C-2′	115.1	122.0
C-12	39.9	C-3′	144.7	142.0
C-13	42.4	C-4′	144.7	142.1
C-14	56.8	C-5′	115.1	123.2
C-15	24.3	C-6′	118.3	124.3
C-16	28.3	OAc		20.5
C-17	56.2			20.7
C-18	19.3*			21.0
C-19	11.9			167.9
C-20	36.2			168.1
C-21	18.6*			168.3
C-22	34.0			168.8
C-23	26.2			170.3
C-24	45.9			
C-25	29.3			
C-26	19.8*			
C-27	19.2*			
C-28	23.1			
C-29	12.0			

[a] in $CDCl_3$, [b] in DMSO-d_6

* Assignments in each column are reversible.

5-OH); ^{13}C-NMR: see Table I; MS *m/z*(rel. int.) 290(M^+, 8.6), 272($M-H_2O$, 1.4), 152(B ring, 38.0), 139(A ring, 100), 123(B ring-CHO, 33.5)

(6) 화합물 II의 acetylation : 화합물 II를 Ac_2O 및 pyridine을 사용하여 실온에서 하루 방치하여 acetate(III)을 얻었으며 이를 MeOH로 재결정하여 백색침상결정을 얻었다.

Mp 157° ; $[\alpha]_D^{18}$ -17.2°(c 0.3, $CHCl_3$); IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} 1770, 1740, 1210(acetate); ^{1}H-NMR ($CDCl_3$)δ: 1.92(3H, s, OAc), 2.29(12H, s, 4×OAc), 2.91(2H, m, H-4), 5.11(1H, brs, H-2), 5.39(1H, t-like, *J*=2.6Hz, H-3), 6.57(1H, d, *J*=2.3Hz, H-6), 6.68(1H, d, *J*=2.3 Hz, H-8), 7.25(1H, d, *J*=2.3Hz, H-2′), 7.30(1H, d, *J*=7.5Hz, H-5′), 7.50(1H, dd, *J*=2.3 and 7.5Hz, H-6′); ^{13}C-NMR: see Table I; MS *m/z*(rel. int.) 500(M^+, 3.2), 458($M-CH_2CO$, 4.6), 440(M-HOAc, 20.1), 416($M-2CH_2CO$, 4.8), 398[M-(HOAc+CH_2CO), 52.9], 374($M-3CH_2CO$, 3.7), 332[$M-4CH_2CO$, 1.2], 223(A ring, 21.8), 194(B ring-$2CH_2CO$, 27.9), 181(A ring-CH_2CO, 40.6), 152(B ring-$3CH_2CO$, 47.0), 123(152-CHO, 44.5), 139(A ring-$2CH_2CO$, 53.5), 43(100)

실험결과 및 고찰

화합물 I, mp 133~6°,은 Liebermann-Burchard 반응에 양성이고 그의 IR spectrum은 전형적인 sterol의 spectrum을 보여주므로 sterol로 추정하였다. ^{1}H-NMR spectrum에서 δ0.66 및 0.99에서 각각 C-18 및 C-19의 methyl기의 signal이 나타나고 δ5.36에서 olefinic proton이 나타나는 것으로 보아 이중결합은 5번탄소에 있는 것으로 추정된다.[4] Mass spectrum에서 분자량 peak가 *m/z* 414, 412 및 400에서 각각 나타나는 것으로 보아 β-sitosterol외에 미량의 stigmasterol 및 campesterol이 함유된 sterol의 혼합물로 추정된다.[5] 이와 같은 추정은 이 물질의 ^{13}C-NMR spectrum을 측정하여 문헌치[6]의 그것과 비교하여 확인할 수 있었으며 표준품과 직접적으로 대조하여 이를 확인하였다.[5]

화합물 II, mp 234~6°,는 $FeCl_3$용액에 양성이며 1% vanillin+HCl용액에서 선홍색을 나타내므로 flavan-3-ol 즉 catechin으로 추정되었으며[7] UV 및 IR spectrum도 각각 이를 뒷받침해주고 있다. 이 물질의 ^{1}H-NMR spectrum은 H-2 proton이 B ring에 의해 broad한 singlet로 δ4.75에서 나타났고 δ4.05에서 *J*=3 Hz의 triplet-like로 H-3 proton이 나타나는 것으로 보아 (−)-cis catechin type임을 보여주고 있다.[10] 또한 A 및 B ring은 각각 C-5,7 및 C-3′ 및 4′위치에 OH 기가 치환되어 있음을 보여주었다.[11] Mass 및 ^{13}C-NMR spectrum도 이를 증명하고 있으므로[12~14] 이화합물은 (−)-epicatechin으로 확인 하였다.

이물질을 상법에 따라 acetylation시켜 얻은 acetate(III), mp 157°, 의 NMR 및 mass spectrum도 4개의 aromatic acetate 및 하나의 aliphatic acetate를 나타내고 있으며 (−)-cis 즉 2R, 3R-stereochemistry를 갖는 catechin 즉 (−)-epicatechin임을 더욱 확실히 알 수 있었다.

이들 물질은 이식물의 뿌리에서는 처음으로 확인된 물질이다.

〈1988년 6월 24일 접수 : 8월 31일 수리〉

문 헌

1. 李昌福 : 大韓植物圖鑑 p. 441, 鄕文社 (1979).
2. 金在佶 : 原色天然藥物大事典 上卷 p. 418, 南山堂 (1984).
3. 송주택 : 한국자원식물 p. 482, 美都文化社 (1983).
4. Garg, V.K. and Nes, W.R.: *Phytochem.* **23**, 2925 (1984).
5. Kim, C.H. and Kang, S.S.: *Yakhak Hoeji* **30**, 139 (1986).
6. Chang, I.-M., Yun (Choi), H.S. and Yamasaki, K.: *Kor. J. Pharmacogn.* **12**, 12 (1981).
7. Zapesochnaya, G.G. and Ban'kovskii, A.I.: *Khim. Prirodn. Soedin.* 665 (1971) [*Chem. Natl. Compds.* **7**, 664 (1971)].
8. Jurd, L.: The Chemistry of Flavonoid Compounds, Pergamon Press, Oxford (1962).
9. Pouchert, C.J.: The Aldrich Library of Infrared

Spectra, 2nd ed., Aldrich Chemical Co., Inc., Milwaukee p. 601 (1975).

10. Clark-Lewis, J.W., Jackman, L.M., and Spotswood, T.M.: *Aust. J. Chem.* **17**, 632 (1964).
11. Batterham, T.J. and Highet, R.J.: *Aust. J. Chem.* **17**, 428 (1964).
12. Clark-Lewis, J.W.: *Aust. J. Chem.* **21**, 3025 (1968).
13. Porter, L.J., Newman, R.H., Foo, L.Y., and Wong, H.: *J. Chem. Soc. Perkin* I. 1217 (1982).
14. Markham, K.R. and Chari, V.M.: The Flavonoids, Chapman and Hall, London, p. 19 (1982).